

# NTSR1的结构动力学和变构效应研究

司沁晨, 吴志祥, 李春华\*

北京工业大学化学与生命科学学院, 北京

收稿日期: 2024年3月23日; 录用日期: 2024年4月18日; 发布日期: 2024年4月28日

## 摘要

神经降压素受体-1 (the neurotensin receptor 1, NTSR1)是一种G蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptor, GPCR), 通过响应胞外侧的刺激重排受体的中间层, 在胞内侧形成一个容纳效应蛋白的空腔。NTSR1在中枢神经系统、心血管系统、胃肠道消化系统中表现出重要的生物学活性, 是关键的药物靶点。基于各向异性网络模型(anisotropic network model, ANM), 本文系统地分析了NTSR1的结构动力学和变构效应。通过计算慢运动和快运动模式下残基的均方涨落及运动相关性, 识别出了与受体结构稳定性和信号转导相关的重要残基, 揭示了保守基序间的协同关联。微扰响应扫描(perturbation-response scanning, PRS)给出了残基的敏感-效应性矩阵, 描述了受体内的变构通讯网络。这项工作有助于深入对NTSR1功能机制的理解, 为基于结构的药物设计提供了理论指导。

## 关键词

NTSR1, 变构效应, 各向异性网络模型, 微扰响应扫描

# Study on Structural Dynamics and Allosteric Effects of NTSR1

Qinchen Si, Zhixiang Wu, Chunhua Li\*

College of Chemistry and Life Science, Beijing University of Technology, Beijing

Received: Mar. 23<sup>rd</sup>, 2024; accepted: Apr. 18<sup>th</sup>, 2024; published: Apr. 28<sup>th</sup>, 2024

## Abstract

The neurotensin receptor 1 (NTSR1) is a G-protein-coupled receptor (GPCR). GPCRs rearrange the middle layer of the receptor in response to extracellular stimuli to form a cavity on the intracellular side that accommodates effector proteins. NTSR1 exhibits important biological activities in the central nervous system, cardiovascular system, and gastrointestinal digestive system, being an impor-  
\*通讯作者。

**tant drug target. In this work, the structural dynamics and allosteric effects of NTSR1 are systematically analyzed through the anisotropic network model (ANM). The important residues related to structural stability and signal transduction patterns of the receptor are identified by the residual mean square fluctuation for slow and fast motion modes. Motion correlation analysis reveals positively correlated motions between conserved motifs in class A GPCRs. The sensitivity-response matrix obtained by perturbation-response scanning (PRS) describes the allosteric communication network within the receptor. This work contributes to a deeper understanding of the functional mechanism of NTSR1 and provides theoretical guidance for structure-based drug design.**

## Keywords

NTSR1, Allosteric Effects, Anisotropic Network Model, Perturbation-Response Scanning

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

G 蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptors, GPCRs)是最大的一类细胞膜蛋白家族, 批准上市的药物中超过三分之一作用于 GPCRs [1]。神经降压素受体-1 (the neurotensin receptor 1, NTSR1)属于 A 类 GPCR 家族, 主要与内源性多肽神经降压素(neurotensin, NTS)特异性结合, 在中枢神经系统、心血管系统、胃肠道消化系统中表现出重要的生物学活性, 被认为是治疗帕金森病、精神分裂症、高血压和癌症的关键靶点[2] [3] [4] [5]。深入理解 NTSR1 的功能机制对于合理药物设计而言至关重要。

在实验研究方面, 2012 年 White 等人首次解析了 NTSR1 结合多肽激动剂 NTS 的复合物晶体结构, 揭示了内源性配体的结合模式[6]。2019 年 Kato 等人报道了 NTSR1 偶联 Gi1 蛋白的复合物冷冻电镜结构, 展示了受体处于完全活化状态的构象[7]。然而, 静态的实验结构不足以描述 NTSR1 复杂的激活过程。在理论研究方面, 分子动力学(molecular dynamics, MD)模拟被广泛地用于探索 NTSR1 的结构与功能关系。2015 年 Lee 等人利用 MD 模拟研究了影响 NTSR1 热稳定性的结构和能量因素[8]。2018 年 Cong 等人的 MD 模拟指出 NTSR1 中正构口袋的小幅振荡能够改变 W321<sup>6.48</sup> 残基的侧链指向, 进而调控受体激活[9]。2020 年 Nagarajan 等人的 MD 模拟捕捉到了 NTSR1 F358<sup>7.42</sup>A 突变体的构成性激活[10]。

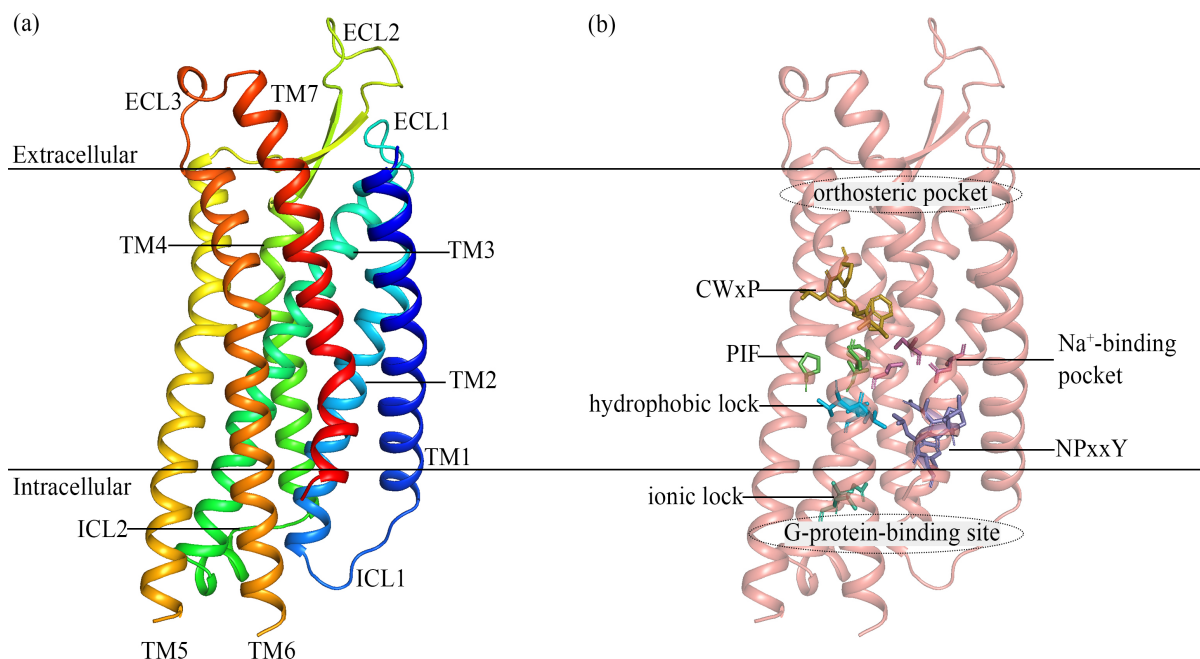
对于研究生物大分子的结构与功能关系而言, 实验成本过于昂贵, MD 模拟又耗时漫长, 粗粒化的弹性网络模型(elastic network model, ENM)恰好能够解决这些问题。高斯网络模型[11] (Gaussian network model, GNM)和各向异性网络模型[12] (anisotropic network model, ANM)是研究蛋白质结构动力学的两种有效的 ENM, 后者额外考虑了残基运动的方向性, 能够提供更丰富的动力学信息。在 ENM 中, 低频慢运动模式通常描述了与蛋白质功能相关的大尺度协同运动, 而高频快运动模式则反映了蛋白质局部结构的不规则性, 其下高涨落的残基被认为是稳定蛋白质结构的热点[13]。此外, 基于 ENM 的运动相关性分析可以揭示残基间的协同关联程度[14]。进一步, 微扰响应扫描(perturbation-response scanning, PRS)方法还可被用于进一步识别蛋白质变构效应中的关键残基[15]。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 研究体系

从蛋白质数据库(Protein Data Bank)中下载类活性态的 NTSR1 晶体结构(PDB ID: 6YVR [16]) (见

图 1(a)。去除融合蛋白后,初始结构包含 7 个跨膜螺旋(transmembrane helices, TMs, TM1-TM7: I61-K92, S97-V131, G138-H173, S182-M208, T231-G275, P297-I334, T340-V372)、2 个胞内环(intracellular loops, ICLs, ICL1-ICL2: K93-Q96, P174-M181)和 3 个胞外环(extracellular loops, ECLs, ECL1-ECL3: H132-F137, G209-D230, S335-W339), ICL3 未被解析, 共计 285 个残基, 采用 Ballesteros 等人定义的 GPCR 残基编号方案[17], 残基的上标被标记为 X.YY, 数字 X 对应于残基所在的 TM 螺旋(从 1 到 7), YY 为相对于该螺旋中最保守的残基(YY 值为 50)的位置。若 TM3 中最保守的残基是 Arg167, 则其标识符为 3.50, 即 Arg167<sup>3.50</sup>。对于残基 Y324<sup>6.51</sup>, 表示在 TM6 中最保守残基 Pro3236.50 之后的第 1 个残基处。



**Figure 1.** (a) Crystal structure of NTSR1 (PDB ID: 6YVR) and (b) distribution of important conserved motifs  
**图 1.** (a) NTSR1 的晶体结构(PDB ID: 6YVR)和(b) 重要保守基序的分布

## 2.2. 各向异性网络模型

在 ANM 中, 蛋白质的三维结构被粗粒化为弹性网络, 残基简化为网络中的节点, 通常用  $C\alpha$  原子表示。当节点间距离小于截断半径  $r_c$  (本文选取 30 Å) 时, 认为节点间存在相互作用, 用弹簧连接。基于上述简化, 体系的势能可表示为:

$$V_{ANM} = \frac{1}{2} \gamma \sum_{ij}^N (R_{ij} - R_{ij}^0)^2 \quad (1)$$

其中,  $R_{ij}$  和  $R_{ij}^0$  分别为节点  $i$  和节点  $j$  之间的瞬时向量和平衡向量,  $\gamma$  为连接两节点间弹簧的力常数,  $N$  为网络中节点的个数。蛋白质的运动模式由 Hessian 矩阵  $\mathbf{H}$  决定:

$$\mathbf{H} = \begin{pmatrix} h_{11} & h_{12} & \cdots & h_{1N} \\ h_{21} & h_{22} & \cdots & h_{2N} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ h_{N1} & h_{N2} & \cdots & h_{NN} \end{pmatrix} \quad (2)$$

势能的二阶导数  $\mathbf{h}_{ij}$  是  $\mathbf{H}$  的子矩阵, 当  $i \neq j$  时,  $\mathbf{h}_{ij}$  可表示为:

$$\mathbf{h}_{ij} = \begin{pmatrix} \frac{\partial V}{\partial X_i \partial X_j} & \frac{\partial V}{\partial X_i \partial Y_j} & \frac{\partial V}{\partial X_i \partial Z_j} \\ \frac{\partial V}{\partial Y_i \partial X_j} & \frac{\partial V}{\partial Y_i \partial Y_j} & \frac{\partial V}{\partial Y_i \partial Z_j} \\ \frac{\partial V}{\partial Z_i \partial X_j} & \frac{\partial V}{\partial Z_i \partial Y_j} & \frac{\partial V}{\partial Z_i \partial Z_j} \end{pmatrix} \quad (3)$$

当  $i=j$  时可表示为:

$$\mathbf{h}_{ii} = -\sum_{i \neq j} \mathbf{h}_{ij} \quad (4)$$

分解  $\mathbf{H}$  矩阵得到  $3 \times N$  个特征值和特征向量, 特征值小的特征向量描述的低频慢运动模式对应与蛋白质功能相关的大尺度协同运动; 特征值大的特征向量则反映了与蛋白质结构稳定性相关的高频快运动模式。在 ANM 中, 残基的均方涨落(mean square fluctuations, MSFs)可表示为:

$$\langle \Delta \mathbf{R}_i \cdot \Delta \mathbf{R}_i \rangle = \frac{k_B T}{\gamma} (\mathbf{H}_{3i-2,3i-2}^{-1} + \mathbf{H}_{3i-1,3i-1}^{-1} + \mathbf{H}_{3i,3i}^{-1}) \quad (5)$$

残基间的交叉相关涨落可表示为:

$$\langle \Delta \mathbf{R}_i \cdot \Delta \mathbf{R}_j \rangle = \frac{k_B T}{\gamma} (\mathbf{H}_{3i-2,3j-2}^{-1} + \mathbf{H}_{3i-1,3j-1}^{-1} + \mathbf{H}_{3i,3j}^{-1}) \quad (6)$$

$k_B$  是玻尔兹曼常数,  $T$  是绝对温度。 $\mathbf{H}^{-1}$  是  $\mathbf{H}$  的逆矩阵。

残基间归一化的运动相关系数可表示为:

$$C_{ij} = \frac{\langle \Delta \mathbf{R}_i \cdot \Delta \mathbf{R}_j \rangle}{\sqrt{\langle (\Delta \mathbf{R}_i)^2 \rangle \cdot \langle (\Delta \mathbf{R}_j)^2 \rangle}} \quad (7)$$

其中,  $C_{ij}$  介于 -1 和 1 之间, 正值表示残基间的运动方向相似, 绝对值越接近于 1, 残基间的运动相关性越高。

### 2.3. 微扰响应扫描

微扰响应扫描用于计算扰动残基  $i$  时残基  $j$  的响应, 识别与蛋白质变构有关的重要残基。基于胡克定律  $\mathbf{F} = \mathbf{H}\Delta\mathbf{R}$ , 计算受到外力扰动后所有残基位置的改变量  $\Delta\mathbf{R}$ 。对残基  $i$  施加外力  $\mathbf{F}^i$ :

$$\mathbf{F}^i = (000 \dots \Delta F_x^i \Delta F_y^i \Delta F_z^i \dots 000) \quad (8)$$

所有残基的位置改变量  $\Delta\mathbf{R}$  可表示为:

$$\Delta\mathbf{R}^i = \mathbf{H}^{-1} \mathbf{F}^i \quad (9)$$

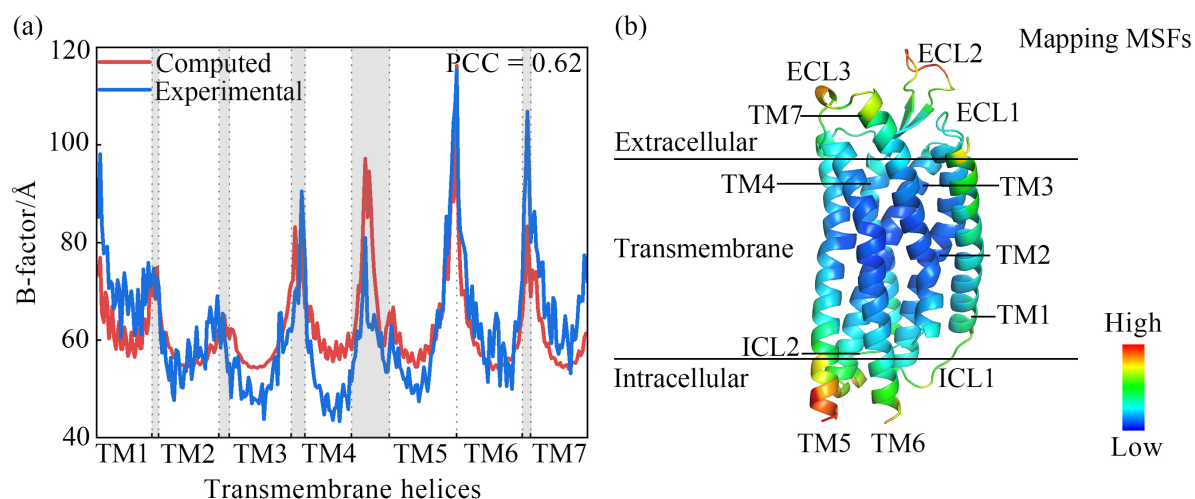
在本项工作中对每个残基分别施加 7 个方向的单位力, 包括  $x$ 、 $y$ 、 $z$ 、 $xy$ 、 $xz$ 、 $yz$  和  $xyz$  方向( $xy$  方向:  $1, 1, 0$ ), 得到响应矩阵  $\mathbf{P}$ 。矩阵中每列的平均值用来衡量该残基影响其他残基的能力, 代表该残基的效应性, 位于效应性曲线峰值附近的残基与信号转导有关; 每行的平均值对应该残基的敏感性, 对应峰值处的残基通常是与蛋白质变构有关的功能性位点[18]。

## 3. 结果与讨论

### 3.1. 基于 ANM 的实验与理论均方涨落比较

B 因子(B-factor), 又称温度因子, 可以表征生物大分子的结构柔性。B 因子越大, 蛋白质的结构柔

性越高。残基的均方涨落与 B 因子的变化趋势一致[11], 准确预测 MSFs 是基于 ANM 研究蛋白质结构动力学的基础。如图 2(a)所示, 白色背景标记了跨膜螺旋区域(TM1-TM7), 灰色背景则标记了连接跨膜螺旋的 Loop 区域(ICL1-ICL2, ECL1-ECL3), 在最优参数下 ANM 计算的理论 MSFs 与实验 B 因子之间的皮尔逊相关系数(Pearson's correlation coefficient, PCC)达到 0.62。将 ANM 计算的理论 MSFs 映射到受体的三维结构上, 红色和蓝色分别表示 MSF 值的高低(见图 2(b))。其中, MSF 较大的残基主要分布在连接跨膜螺旋的 Loop 区域, 这与其相对松散的残基排列方式有关; MSF 较小的残基则集中在跨膜螺旋区域, 体现了  $\alpha$ -螺旋内残基的紧密堆叠, 这与此前研究一致[8]。综上, ANM 能够较好地再现 NTSR1 的结构柔性数据, 适用于后续的详细分析。



**Figure 2.** (a) Distribution of MSFs calculated by ANM and experimental B-factors at the residue level; (b) mapping of theoretical MSFs calculated by ANM on the three-dimensional structure of NTSR1

**图 2.** (a) ANM 计算的 MSFs 和实验 B-factors 在残基水平上的分布; (b) ANM 计算的理论 MSFs 在 NTSR1 三维结构上的映射

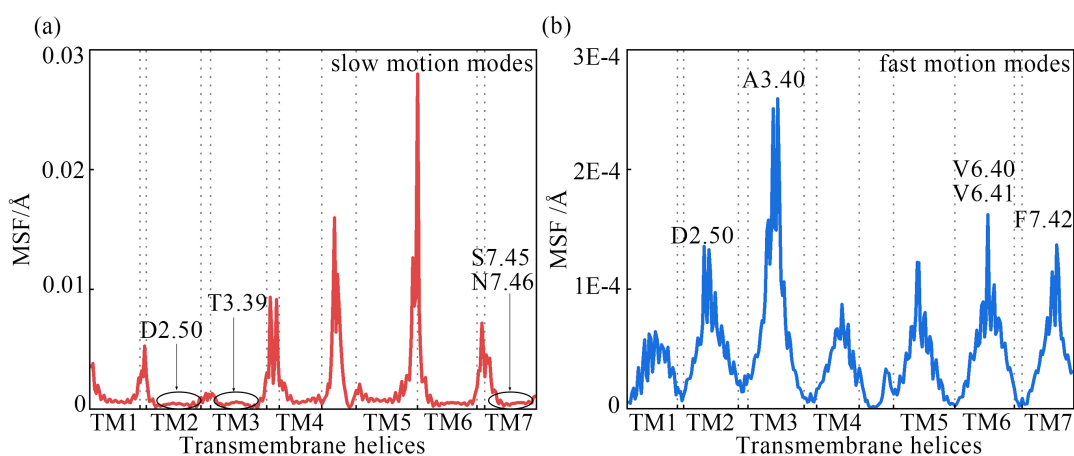
### 3.2. NTSR1 的低频慢运动模式分析

在生物大分子中, 大尺度的功能性构象变化通常与全局低频慢运动模式相关。此前研究表明, 慢运动模式下 MSF 较小的残基可能充当了 GPCR 激活过程中的关键节点[19]。为了进一步研究 NTSR1 的结构动力学性质, 图 3(a)展示了受体在前两个慢运动模式下的均方涨落分布。如图所示, MSF 分布的低谷多位于跨膜螺旋区域, 峰值则对应胞外侧与胞内侧的连接 Loop 区域, 表明基于 ANM 的低频慢运动模式可以较好地地区分 NTSR1 不同的结构域。

在 A 类 GPCR 中有 6 个序列保守但空间疏离的重要基序: CWxP、PI (A) F、NPxxY、钠离子结合口袋(Na<sup>+</sup>-binding pocket)、疏水锁(hydrophobic lock)和离子锁(ionic lock) (见图 1(b))。在钠离子结合口袋中, 钠离子的结合将受体的构象系综偏向失活状态, 从而减弱受体与激动剂的亲和力[6]。如图 3(a)所示, 从前两个慢运动模式下 MSF 较小的区域中(如图 3(a)中标记)成功识别出了保守的钠离子结合口袋残基, 如 TM2 中的 D113<sup>2.50</sup>、TM3 中的 T156<sup>3.39</sup>、TM7 中的 S361<sup>7.45</sup> 和 N365<sup>7.49</sup>。其中, D113<sup>2.50</sup> 是 NTSR1 关键的钠离子配位残基, 此前研究发现 D113<sup>2.50</sup>A 突变严重削弱了 NTSR1 与 G 蛋白(G-proteins)的偶联并显著抑制了内源性激动剂 NTS 介导的生物学活性[20]。此外, D113<sup>2.50</sup> 与 T156<sup>3.39</sup>、S362<sup>7.46</sup> 和 NPxxY 基序中的 N365<sup>7.49</sup> 共同构成了广泛的氢键网络, 从而稳定钠离子结合口袋, 驱使受体偏向活性状态[21]。因此, 上述残基可能充当了 NTSR1 信号转导路径的关键微开关。

### 3.3. NTSR1 的高频快运动模式分析

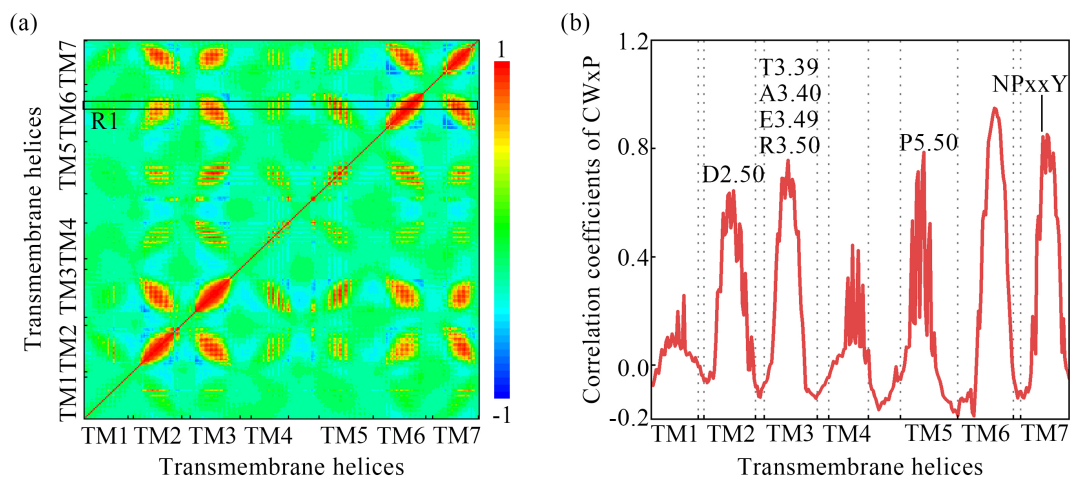
蛋白质局部结构的不规则性可以由高频快运动模式描述。在快运动模式下, MSF 较大的残基通常作为稳定蛋白质结构的热点。图 3(b)展示了受体在前两个快运动模式下残基的 MSF 分布。高涨落的残基集中在跨膜螺旋的中心区域, 其中包含: D113<sup>2.50</sup>、A157<sup>3.40</sup>、V313<sup>6.40</sup>/V314<sup>6.41</sup> 和 F358<sup>7.42</sup>, 它们均位于 NTSR1 的重要保守基序。D113<sup>2.50</sup> 参与钠离子结合口袋的形成, 再次体现了其重要作用。A159<sup>3.40</sup> 位于 PI (A) F 基序, 被称为经典的传输开关(transmission switch), 偶联胞外侧正构口袋和胞内侧 G 蛋白结合位点, 进而调控受体激活[22] [23]。V313<sup>6.40</sup> 和空间上邻近的 V314<sup>6.41</sup>、V160<sup>3.43</sup> 共同构成了 TM6-TM3 之间的疏水锁, 在受体激活过程中, 疏水锁的打开促进了 TM6 胞内侧外移[24]。F358<sup>7.42</sup> 位于 NTSR1 正构口袋下方, 与 W321<sup>6.48</sup> 和 Y324<sup>6.51</sup> 共同构成了一个疏水簇。F358<sup>7.42</sup>A 突变直接影响了 W321<sup>6.48</sup> 的动力学性质, 导致 NTSR1 构构性激活[8]。综上, 基于 ANM 的高频快运动模式识别出的残基在 NTSR1 激活过程中发挥着关键作用。



**Figure 3.** Distribution of MSFs calculated by ANM corresponding to the first two slow (a); and fast; (b) motion modes at the residue level

**图 3.** ANM 计算的前两个慢运动(a); 和快运动; (b) 模式对应的 MSFs 在残基水平上的分布

### 3.4. 运动相关性分析



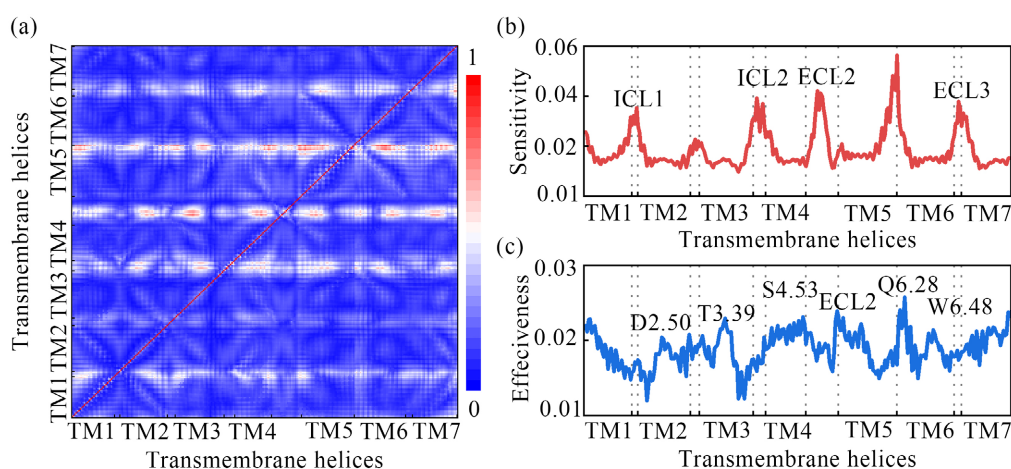
**Figure 4.** (a) Motion correlation between residues in NTSR1; (b) distribution of motion correlation coefficients between the CWxP motif and the rest of the receptor

**图 4.** (a) NTSR1 中残基间的运动相关性; (b) CWxP 基序与受体其他部分之间的运动相关系数分布

残基间的运动相关系数可以衡量蛋白质内部运动的关联程度[14]。为了提高信噪比,基于对残基均方涨落贡献大于 50%的慢运动模式集合进行了运动相关性分析。如图 4(a)所示,红色区域代表了残基间的正相关运动,蓝色区域则表示负相关。沿运动相关性矩阵的对角线可以较为清晰地将受体结构划分为 7 个独立的区域,分别对应 TM1-TM7,且相邻跨膜螺旋间的运动呈现出显著的正相关性,再次表明 ANM 能够准确区分 NTSR1 不同的结构域。此外,重要保守基序之间也存在较强的正相关运动。特别地,CWxP 和 NPxxY 基序分别调控 TM6 和 TM7 胞内侧的移动,直接影响下游效应蛋白的结合[7] [25]。将 CWxP 基序与其他残基之间的运动相关系数(见图 4(a),R1 区域)加和后计算平均值,得到其与受体其他部分之间的运动相关系数分布(见图 4(b))。

如图所示, TM2 中的 D113<sup>2.50</sup>、TM3 中的 T156<sup>3.39</sup>、A157<sup>3.40</sup>、E166<sup>3.49</sup> 和 R167<sup>3.50</sup>、TM5 中的 P249<sup>5.50</sup> 和 TM7 中的 NPxxY 与 CWxP 基序之间的运动均呈现出显著的正相关性。其中, D113<sup>2.50</sup> 和 T156<sup>3.39</sup> 是钠离子的配位残基, E166<sup>3.49</sup> 和 R167<sup>3.50</sup> 属于胞内侧的离子锁, A157<sup>3.40</sup> 和 P249<sup>5.50</sup> 是 PI (A) F 基序的一部分。钠离子结合口袋和 PI (A) F 基序在前文中已有提及,这里不再赘述。E166<sup>3.49</sup> 与 R167<sup>3.50</sup> 之间的盐桥又被称为离子锁,在受体的激活过程中, TM6 外移会破坏该组静电相互作用,重新定位 R167<sup>3.50</sup> 的侧链至受体 G 蛋白结合位点的中心,直接参与 G 蛋白  $\alpha 5$  亚基的识别[7]。综上, NTSR1 中重要基序间的运动相互关联,是受体激活通路中的重要组成节点。

### 3.5. 微扰响应扫描分析



**Figure 5.** (a) Sensitivity-effector matrix of NTSR1 and distribution of sensitivity, (b) and effectiveness, (c) coefficients at the residue level

**图 5.** (a) NTSR1 的敏感 - 效应性矩阵及敏感性, (b) 和效应性, (c) 系数在残基水平上的分布

基于线性响应理论,微扰响应扫描是研究蛋白质变构路径的有效方法,已被广泛地用于揭示信号转导过程中的关键节点[15]。如图 5(a)所示,通过构建 NTSR1 的敏感 - 效应性矩阵以识别受体胞外侧正构口袋与胞内侧 G 蛋白结合位点之间变构通讯的关键残基。高敏感性残基主要分布在靠近正构口袋和效应蛋白结合位点的 Loop 区域及 TM5/TM6 胞内侧(见图 5(b))。实验结构表明,正构口袋附近的 Loop 区域直接与内源性多肽 NTS 接触,这种结合模式导致了正构口袋的收缩,与受体激活有关[16]。此外, ECL2 作为 A 类 GPCR 的门控开关,其构象变化影响配体的亲和力和选择性[26]。胞内侧效应蛋白结合位点附近的高敏感残基(包括 TM5/TM6 胞内侧、ICL1 和 ICL2)则选择性参与不同效应蛋白介导的信号通路[7] [27]。如图 5(c)所示,效应性曲线共有 6 个局部峰值,其中包含 D113<sup>2.50</sup>、T156<sup>3.39</sup> 和 W321<sup>6.48</sup>。重要的是, W321<sup>6.48</sup> 被称为 A 类 GPCR 中的“toggle switch” [22]。此前研究表明, W321<sup>6.48</sup> 的侧链指向受到 F358<sup>7.42</sup>

控制, 前者的侧链倾斜弯曲了 TM6 胞内侧, 打开一个容纳 G 蛋白的空腔[9]。综上, 通过 PRS 识别出的关键残基参与配体的结合与变构信号传递, 主导了 NTSR1 的变构调控。

#### 4. 结论

本项工作探索了 NTSR1 的结构动力学并识别出了与受体变构信号转导相关的重要残基。首先, 通过构建最优参数的 ANM, 实验与理论 B-factor 的 PCC 达到 0.62, 较好地区分了受体不同的结构域, 验证了理论模型的合理性。然后, 从低频慢运动模式下的 MSF 中识别出了保守的钠离子结合口袋, 强调了钠离子配位残基在 NTSR1 激活过程中的调控作用。对高频快运动模式而言, 从高涨落的残基中识别出了一些重要的保守基序, 如 PI (A) F 基序、疏水锁等, 共同构成了 NTSR1 变构信号转导路径上的关键节点。此外, 运动相关性分析表明受体重要基序之间的运动还存在较强的正向关联。最后, 采用 PRS 方法对受体进行微扰, 敏感性高的区域主要位于胞外侧正构口袋和胞内侧效应蛋白结合位点附近, 分别参与配体识别和效应蛋白偶联。重要的是, 从效应性曲线中识别出了高度保守的 W321<sup>6,48</sup> “toggle switch”。作为 A 类 GPCR 激活过程中最为关键的结构元件, W321<sup>6,48</sup> 的侧链构象变化直接触发了 TM6 胞内侧的运动。这项工作有助于深入对 NTSR1 功能机制的理解, 为基于结构的药物设计提供了理论指导。

#### 参考文献

- [1] Santos, R., Ursu, O., Gaulton, A., Bento, A.P., Donadi, R.S., Bologa, C.G. and Oprea, T.I. (2017) A Comprehensive Map of Molecular Drug Targets. *Nature Reviews Drug Discovery*, **16**, 19-34. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.230>
- [2] Kalafatakis, K. and Triantafyllou, K. (2011) Contribution of Neurotensin in the Immune and Neuroendocrine Modulation of Normal and Abnormal Enteric Function. *Regulatory Peptides*, **170**, 7-17. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2011.04.005>
- [3] St-Gelais, F., Jomphe, C. and Trudeau, L.-É. (2006) The Role of Neurotensin in Central Nervous System Pathophysiology: What Is the Evidence? *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, **31**, 229-245.
- [4] Boules, M., Li, Z., Smith, K., Fredrickson, P. and Richelson, E. (2013) Diverse Roles of Neurotensin Agonists in the Central Nervous System. *Frontiers in endocrinology*, **4**, Article 36. <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00036>
- [5] Mustain, W.C., Rychahou, P.G. and Evers, B.M. (2011) The Role of Neurotensin in Physiologic and Pathologic Processes. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, **18**, 75-82. <https://doi.org/10.1097/MED.0b013e3283419052>
- [6] White, J.F., Noinaj, N., Shibata, Y., Love, J., Kloss, B., Xu, F. and Tate, C.G. (2012) Structure of the Agonist-Bound Neurotensin Receptor. *Nature*, **490**, 508-513. <https://doi.org/10.1038/nature11558>
- [7] Kato, H.E., Zhang, Y., Hu, H., Suomivuori, C.-M., Kadji, F.M.N., Aoki, J. and Huang, W. (2019) Conformational Transitions of a Neurotensin Receptor 1—Gi1 Complex. *Nature*, **572**, 80-85. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1337-6>
- [8] Lee, S., Bhattacharya, S., Tate, C.G., Grisshammer, R. and Vaidehi, N. (2015) Structural Dynamics and Thermostabilization of Neurotensin Receptor 1. *The Journal of Physical Chemistry B*, **119**, 4917-4928. <https://doi.org/10.1021/jp510735f>
- [9] Cong, X., Fiorucci, S. and Golebiowski, J. (2018) Activation Dynamics of the Neurotensin G Protein-Coupled Receptor 1. *Journal of Chemical Theory and Computation*, **14**, 4467-4473. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b00216>
- [10] Nagarajan, S., Alkayed, N.J., Kaul, S. and Barnes, A.P. (2020) Effect of Thermostable Mutations on the Neurotensin Receptor 1 (NTSR1) Activation State. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, **38**, 340-353. <https://doi.org/10.1080/07391102.2019.1573705>
- [11] Bahar, I., Atilgan, A.R. and Erman, B. (1997) Direct Evaluation of Thermal Fluctuations in Proteins Using a Single-Parameter Harmonic Potential. *Folding and Design*, **2**, 173-181. [https://doi.org/10.1016/S1359-0278\(97\)00024-2](https://doi.org/10.1016/S1359-0278(97)00024-2)
- [12] Atilgan, A.R., Durell, S., Jernigan, R.L., Demirel, M.C., Keskin, O. and Bahar, I. (2001) Anisotropy of Fluctuation Dynamics of Proteins with an Elastic Network Model. *Biophysical Journal*, **80**, 505-515. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(01\)76033-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(01)76033-X)
- [13] Bahar, I., Atilgan, A.R., Demirel, M.C. and Erman, B. (1998) Vibrational Dynamics of Folded Proteins: Significance of Slow and Fast Motions in Relation to Function and Stability. *Physical Review Letters*, **80**, Article 2733. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.80.2733>



- [14] Gong, W., Liu, Y., Zhao, Y., Wang, S., Han, Z. and Li, C. (2021) Equally Weighted Multiscale Elastic Network Model and Its Comparison with Traditional and Parameter-Free Models. *Journal of Chemical Information and Modeling*, **61**, 921-937. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c01178>
- [15] Penkler, D., Sensoy, O.Z., Atilgan, C. and Tastan Bishop, O.Z. (2017) Perturbation-Response Scanning Reveals Key Residues for Allosteric Control in Hsp70. *Journal of Chemical Information and Modeling*, **57**, 1359-1374. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00775>
- [16] Deluigi, M., Klipp, A., Klenk, C., Merklinger, L., Eberle, S.A., Morstein, L. and Kamenecka, T.M. (2021) Complexes of the Neurotensin Receptor 1 with Small-Molecule Ligands Reveal Structural Determinants of Full, Partial, and Inverse Agonism. *Science Advances*, **7**, eabe5504. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abe5504>
- [17] Ballesteros, J.A. and Weinstein, H. (1995) Integrated Methods for the Construction of Three-Dimensional Models and Computational Probing of Structure-Function Relations in G Protein-Coupled Receptors *Methods in Neurosciences*, **25**, 366-428. [https://doi.org/10.1016/S1043-9471\(05\)80049-7](https://doi.org/10.1016/S1043-9471(05)80049-7)
- [18] Dutta, A., Krieger, J., Lee, J.Y., Garcia-Nafria, J., Greger, I.H. and Bahar, I. (2015) Cooperative Dynamics of Intact AMPA and NMDA Glutamate Receptors: Similarities and Subfamily-Specific Differences. *Structure*, **23**, 1692-1704. <https://doi.org/10.1016/j.str.2015.07.002>
- [19] 陈磊, 巩卫康, 李春华. 基于各向异性网络模型研究  $\delta$  阿片受体的动力学与关键残基[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2022, 49(6): 1146-1154.
- [20] Martin, S., Botto, J.-M., Vincent, J.-P. and Mazella, J. (1999) Pivotal Role of an Aspartate Residue in Sodium Sensitivity and Coupling to G Proteins of Neurotensin Receptors. *Molecular Pharmacology*, **55**, 210-215. <https://doi.org/10.1124/mol.55.2.210>
- [21] Krumm, B.E., White, J.F., Shah, P. and Grisshammer, R. (2015) Structural Prerequisites for G-Protein Activation by the Neurotensin Receptor. *Nature Communications*, **6**, Article No. 7895. <https://doi.org/10.1038/ncomms8895>
- [22] Filipek, S. (2019) Molecular Switches in GPCRs. *Current Opinion in Structural Biology*, **55**, 114-120. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.03.017>
- [23] Trzaskowski, B., Latek, D., Yuan, S., Ghoshdastider, U., Debinski, A. and Filipek, S. (2012) Action of Molecular Switches in GPCRs-Theoretical and Experimental Studies. *Current Medicinal Chemistry*, **19**, 1090-1109. <https://doi.org/10.2174/092986712799320556>
- [24] Egloff, P., Hillenbrand, M., Klenk, C., Batyuk, A., Heine, P., Balada, S. and Plückthun, A. (2014) Structure of Signaling-Competent Neurotensin Receptor 1 Obtained by Directed Evolution in Escherichia Coli. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **111**, E655-E662. <https://doi.org/10.1073/pnas.1317903111>
- [25] Krumm, B.E., Lee, S., Bhattacharya, S., Botos, I., White, C.F., Du, H. and Grisshammer, R. (2016) Structure and Dynamics of a Constitutively Active Neurotensin Receptor. *Scientific reports*, **6**, Article 38564. <https://doi.org/10.1038/srep38564>
- [26] Wheatley, M., Wootten, D., Conner, M.T., Simms, J., Kendrick, R., Logan, R.T. and Barwell, J. (2012) Lifting the Lid on GPCRs: The Role of Extracellular Loops. *British Journal of Pharmacology*, **165**, 1688-1703. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01629.x>
- [27] Yin, W., Li, Z., Jin, M., Yin, Y.-L., De Waal, P.W., Pal, K. and Gao, J. (2019) A Complex Structure of Arrestin-2 Bound to a G Protein-Coupled Receptor. *Cell Research*, **29**, 971-983. <https://doi.org/10.1038/s41422-019-0256-2>