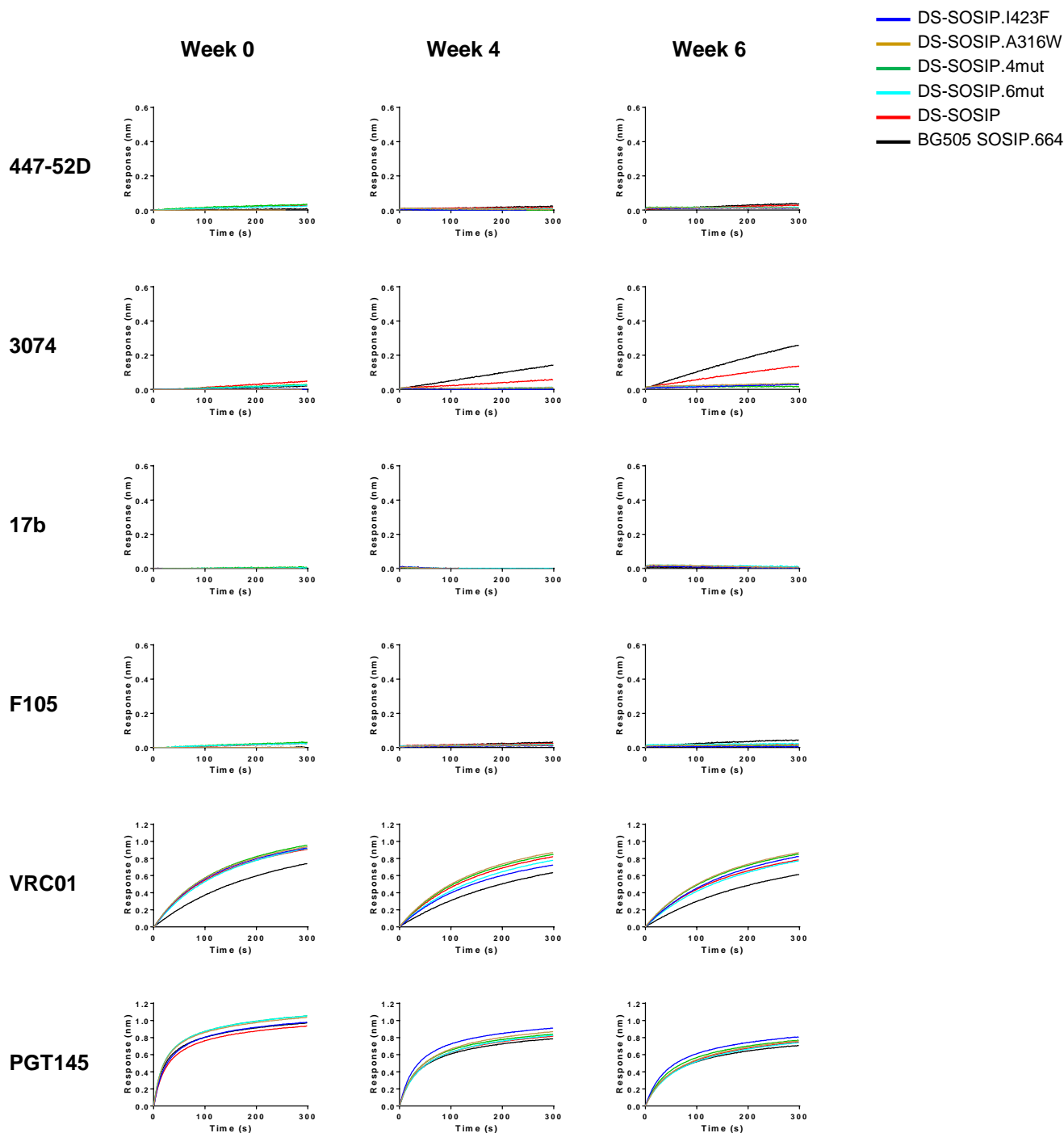


# Figure S1



**Figure S1. Protein stability overtime.** Frozen trimer variants were thaw and diluted to 62.5ug/ml with PBS. Their antigenicity as measured by Bio-Layer Interferometry at time of thaw and then after 4 or 6 weeks of incubation at 37° C. Antigenicity was measured against antibodies that recognize open forms of the trimer (e.g. 447-52D, 3074, 17b, F105) and is shown in the top four rows and against antibodies that recognize closed forms of the trimer (e.g. VRC01 and PGT145) and is shown in the bottom two rows.

**Table S1. DS-SOSIP variants selected based on computational structure-based design to stabilize the conformationally flexible region. (A) Clusters of spatially proximal, conformationally flexible residues selected for mutation (B) Mutational combinations generated.**

(A)

Cluster	Residues		
	V1/V2	V3	$\beta$ 20- $\beta$ 21
1	V134, L175	I322, I326	-
2	V134, N136, M150	I326	-
3	L154	N300, N302, N320	-
4	V120, L122, Q203	Y318	-
5	V120	I309, Q315	-
6	E153, Y177	Q328	I420
7	I116	-	I424, M426, Q432

(B)

Mutations	Cluster(s)
V134F/L175M/I322M/I326M	1
V134F/I322Y/I326M	1
V134I/L175W/I322F/I326M	1
V134F/N136W/M150H/I326M	2
V134F/N136W/M150F/I326L	2
V134I/N136W/M150F/I326L	2
V134F/N136F/M150L/I326M	2
L154M/N300M/N302M/T320L	3
L154F/N300L/N302M/T320L	3
L154W/N300L/N302G/T320F	3
V120F/Q203M/Y318M	4
V120I/Q203M/Y318W	4
V120W/Q203M/Y318W	4
V120F/Q315M	5
V120W/Q315F	5
Y177W/I420M	6
Y177W/Q328F/I420M	6
L116M/M426F/Q432M	7
L116M/M426F/Q432W	7
M426F/Q432L	7
V134F/L175M/I322M/I326M/N136W/M150H	1, 2
V134I/L175W/I322F/I326L/N136W/M150F	1, 2
V120F/Q203M/Y318M/Q315M	3, 4
V120W/Q203M/Y318W/Q315F	3, 4
L154M/N300M/N302M/T320L/Y177W/I420M	5, 6
L154W/N300L/N302G/T320F/Y177W/Q328F/I420M	5, 6

**Table S2. Antigenicity of BG505 SOSIP.664 variants that showed high reactivity toward quaternary antibodies CAP256-VRC26.09 and PGT145.**

Mutations	CAP256-VRC26.09	PGT145	F105	17b+sCD4	17b	PGT122	VRC01	447-52D	447-52D+sCD4	PGT151
501C/A662C	(++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)
538C/Q652C	(++)	(+++)	-	(++)	-	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(++)
N195C/A433C	(++)	(+++)	-	-	-	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)
S199C/A433C	(+++)	(+++)	-	-	-	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)
R304C/Q440C	(++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	(+++)	-	-	(+++)
F159Y	(+++)	(+++)	-	(++)	-	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)
I323Y	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)
F159Y/I323Y	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)
L544Y	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)
F223W	(++)	(+++)	-	(+)	-	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)
L544Y/L537Y	(+++)	(+++)	(+)	(+++)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+)
L544Y/F223W	(++)	(+++)	-	(++)	-	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(++)
L544Y/L537Y/F223W	(++)	(+++)	-	(++)	-	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	-
V580L	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)
V583L	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	(+++)	(+)	(+++)	(+++)
V580L/V583L	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)
W69P	(++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(++)
V68P	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
T71P	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
V75W	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
V75F	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
V75M	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
V208W	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
V208F	(+++)	(+++)	(+)	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
A58C/I77C	(++)	(+++)	-	(+++)	-	(++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
D57C/I77C	(++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
N67P	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
H66P	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
N67P/H66P	(++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
W112I	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
W112M	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
W427I	(++)	(+++)	-	(+)	-	(+++)	ND	(+++)	(++)	(+++)
W427M	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
R429N	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
R429L	(++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
R429L/W427M	(++)	(+++)	-	-	-	(+++)	ND	(+++)	(++)	(+++)
G431G/C/S199C	(++)	(++)	-	-	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(++)
V120W	(+++)	(+++)	-	(+++)	(++)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
316W	(++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
I309W	(+++)	(+++)	-	(+++)	(++)	(+++)	ND	(+)	(++)	(+++)
S115W	(+++)	(+++)	(+)	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
P118W	(++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
Delta_P206	(+++)	(+++)	-	(++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
A70Y	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
A70F	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
L111Y	(+++)	(+++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
L111F	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
T202P	(+++)	(++)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
V120T	(+++)	(+++)	-	(+++)	(++)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
I573T	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
G594N	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
I573T/G594N	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
I573T/G594N/K574E	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
I573T/G594N/K574T	(+++)	(+++)	-	(+++)	(+)	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
K117W	(++)	(++)	-	(+++)	-	(+++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)
S110W	(++)	(++)	-	(+++)	(+)	(++)	ND	(+++)	(+++)	(+++)

ND: Not determined

**Table S3. ELISA results in 96-well format. SCORE = (CAP256-VRC26.09+PGT145) / ((447-52D+CD4) + (3074+CD4)). Designs selected for large-scale characterization are in bold.**

Constructs	17b+CD4	3074	3074+CD4	447-52D	447-52D+CD4	F105	PGT122	PGT145	VRC01	CAP256-VRC26.09	SCORE
BG505-SOSIP	0.11	1.21	1.26	0.32	0.58	0.22	1.34	0.65	1.46	0.62	0.70
DS-SOSIP	0.14	1.29	1.37	0.46	0.53	0.23	1.34	0.77	1.36	0.66	0.75
DS-SOSIP mutations	17b+CD4	3074	3074+CD4	447-52D	447-52D+CD4	F105	PGT122	PGT145	VRC01	CAP256-VRC26.09	SCORE
<b>L154M/N300M/N302M/T320L</b>	<b>0.17</b>	<b>1.38</b>	<b>1.57</b>	<b>0.47</b>	<b>0.40</b>	<b>0.30</b>	<b>1.61</b>	<b>1.22</b>	<b>1.74</b>	<b>1.33</b>	<b>1.30</b>
<b>A316W</b>	<b>0.17</b>	<b>0.99</b>	<b>1.21</b>	<b>0.15</b>	<b>0.24</b>	<b>0.17</b>	<b>1.47</b>	<b>0.97</b>	<b>1.37</b>	<b>0.89</b>	<b>1.28</b>
N302F	0.17	1.30	1.41	0.36	0.62	0.14	1.62	1.21	1.63	1.29	1.23
<b>L154M/N300M/N302M/T320L/Y177W/I420M/I423F</b>	<b>0.16</b>	<b>1.35</b>	<b>1.42</b>	<b>0.21</b>	<b>0.45</b>	<b>0.14</b>	<b>1.37</b>	<b>0.96</b>	<b>1.34</b>	<b>1.10</b>	<b>1.11</b>
L154F/N300L/N302M/T320L	0.14	1.31	1.51	0.25	0.40	0.31	1.42	0.91	1.47	1.07	1.04
I309W	0.15	0.51	0.94	0.06	0.09	0.17	1.15	0.67	1.18	0.36	1.00
A204W	0.15	1.41	1.62	0.40	0.70	0.14	1.60	1.12	1.56	1.11	0.96
Q432F	0.15	1.31	1.41	0.43	0.66	0.14	1.45	0.97	1.42	0.97	0.94
I307W	0.16	1.26	1.49	0.12	0.18	0.17	1.41	0.95	1.38	0.61	0.94
I430F	0.15	1.48	1.53	0.44	0.66	0.15	1.61	0.98	1.55	1.04	0.92
R429N	0.15	1.22	1.29	0.37	0.59	0.16	1.37	0.84	1.40	0.87	0.91
F159Y	0.15	1.32	1.45	0.38	0.63	0.14	1.44	0.84	1.44	1.01	0.89
A436W	0.16	1.42	1.59	0.46	0.65	0.15	1.43	0.95	1.38	0.97	0.86
G594N	0.11	1.29	1.18	0.35	0.44	0.24	1.39	0.67	1.67	0.71	0.85
H66P	0.17	1.27	1.47	0.40	0.63	0.15	1.39	0.89	1.38	0.86	0.83
V75M	0.16	1.23	1.42	0.37	0.52	0.17	1.46	0.87	1.39	0.74	0.83
I323Y	0.15	1.36	1.62	0.41	0.62	0.15	1.39	0.94	1.46	0.88	0.81
V120T	0.11	1.35	1.36	0.88	0.46	0.29	1.39	0.66	1.67	0.81	0.81
F159Y/I323Y	0.16	1.36	1.50	0.42	0.65	0.15	1.38	0.82	1.35	0.88	0.79
L544Y/L537Y	0.11	1.34	0.76	0.83	0.51	0.21	1.18	0.51	1.42	0.50	0.79
V172F	0.15	1.38	1.64	0.38	0.64	0.16	1.33	0.83	1.29	0.94	0.78
W427M	0.15	1.26	1.35	0.29	0.40	0.14	1.17	0.70	1.13	0.65	0.77
A70F	0.17	1.31	1.54	0.46	0.57	0.16	1.40	0.85	1.37	0.77	0.77
A204F	0.15	1.46	1.71	0.45	0.78	0.15	1.44	0.89	1.46	1.01	0.77
W112I	0.17	1.20	1.27	0.42	0.46	0.18	1.28	0.67	1.17	0.64	0.76
V583L	0.15	1.27	1.50	0.37	0.59	0.15	1.41	0.84	1.37	0.74	0.76
V208F	0.14	1.33	1.54	0.40	0.67	0.14	1.39	0.88	1.38	0.78	0.75
L111Y	0.16	1.30	1.48	0.41	0.53	0.17	1.36	0.85	1.35	0.65	0.75
I307F	0.16	1.26	1.53	0.18	0.32	0.15	1.26	0.83	1.26	0.55	0.75
T71P	0.15	1.11	1.34	0.29	0.48	0.14	1.21	0.71	1.27	0.65	0.74
V580L	0.17	1.27	1.50	0.37	0.47	0.24	1.34	0.72	1.27	0.72	0.73
V120F/Q315M	0.14	1.27	1.43	0.21	0.32	0.14	1.03	0.61	1.05	0.66	0.72
L154F	0.14	1.40	1.60	0.43	0.60	0.14	1.30	0.84	1.35	0.74	0.72
Y177W/I420M	0.16	1.44	1.49	0.43	0.54	0.15	1.23	0.77	1.30	0.68	0.71
L544Y	0.11	1.25	1.14	0.57	0.54	0.24	1.35	0.60	1.54	0.60	0.71
L111F	0.17	1.23	1.36	0.42	0.48	0.20	1.46	0.74	1.37	0.57	0.71
V208W	0.15	1.35	1.52	0.44	0.58	0.16	1.37	0.84	1.29	0.65	0.71
E164F	0.15	1.37	1.51	0.37	0.58	0.13	1.26	0.70	1.22	0.77	0.70
V75F	0.16	1.35	1.52	0.43	0.57	0.15	1.23	0.79	1.31	0.63	0.68
V68P	0.15	1.38	1.52	0.42	0.65	0.14	1.35	0.78	1.35	0.69	0.68
I430W	0.14	1.46	1.51	0.41	0.61	0.14	1.23	0.74	1.21	0.67	0.67
V580L/V583L	0.14	1.44	1.47	0.43	0.51	0.14	1.26	0.66	1.22	0.66	0.67
Q432W	0.17	1.37	1.45	0.36	0.58	0.15	1.14	0.68	1.09	0.65	0.65
L154W	0.15	1.39	1.58	0.42	0.62	0.14	1.26	0.76	1.30	0.68	0.65
A70Y	0.15	1.10	1.38	0.34	0.50	0.15	1.20	0.69	1.17	0.53	0.65
I573T/G594N	0.15	1.50	1.36	0.49	0.51	0.20	1.35	0.59	1.54	0.63	0.65
T202F	0.15	1.34	1.47	0.44	0.50	0.23	1.17	0.70	1.19	0.58	0.65
R304C/Q440C	0.15	1.43	1.59	0.07	0.09	0.13	0.89	0.57	0.96	0.50	0.64
V75W	0.16	1.39	1.51	0.41	0.57	0.15	1.18	0.69	1.14	0.61	0.62
Q315F	0.15	1.21	1.43	0.14	0.18	0.16	1.02	0.51	0.89	0.49	0.62
F223W	0.15	1.43	1.46	0.41	0.51	0.14	1.15	0.59	1.08	0.62	0.62

**Table S3. ELISA results. (Cont.)**

DS-SOSIP mutations	17b+CD4	3074	3074+CD4	447-52D	447-52D+CD4	F105	PGT122	PGT145	VRC01	CAP256-VRC26.09	SCORE
I573T	0.15	1.41	1.52	0.43	0.54	0.14	1.07	0.59	1.07	0.62	0.61
L544Y	0.11	1.25	1.14	0.57	0.54	0.24	1.35	0.60	1.54	0.60	0.61
R429L	0.15	1.41	1.52	0.43	0.54	0.14	1.07	0.59	1.07	0.62	0.61
I573T/G594N	0.15	1.50	1.36	0.49	0.51	0.20	1.35	0.59	1.54	0.63	0.59
F223W	0.15	1.43	1.46	0.41	0.51	0.14	1.15	0.59	1.08	0.62	0.59
A58C/T77C	0.15	1.52	1.55	0.46	0.49	0.14	1.06	0.58	1.07	0.62	0.57
I573T	0.10	1.66	1.46	0.81	0.54	0.18	1.33	0.58	1.57	0.54	0.56
T202W	0.15	1.36	1.47	0.41	0.49	0.15	0.99	0.58	1.00	0.52	0.56
R304C/Q440C	0.15	1.43	1.59	0.07	0.09	0.13	0.89	0.57	0.96	0.50	0.56
P118W	0.15	1.37	1.53	0.45	0.53	0.15	1.03	0.56	0.97	0.50	0.55
Delta_P206	0.12	1.19	1.29	0.38	0.79	0.17	1.19	0.55	1.20	0.55	0.55
F176W	0.16	1.43	1.53	0.46	0.57	0.15	1.00	0.53	0.97	0.58	0.53
N67P/H66P	0.16	1.35	1.50	0.41	0.56	0.16	1.02	0.52	0.94	0.36	0.53
V120W	0.17	1.11	1.38	0.34	0.42	0.29	1.06	0.52	1.00	0.47	0.53
R429L/W427M	0.17	1.32	1.42	0.36	0.52	0.15	1.01	0.51	0.96	0.55	0.52
Q315F	0.15	1.21	1.43	0.14	0.18	0.16	1.02	0.51	0.89	0.49	0.52
L544Y/L537Y	0.11	1.34	0.76	0.83	0.51	0.21	1.18	0.51	1.42	0.50	0.50
T538C/Q652C	0.14	1.54	1.56	0.58	0.63	0.13	0.92	0.49	0.86	0.35	0.45
W69P	0.15	1.50	1.63	0.42	0.52	0.13	1.03	0.49	0.96	0.36	0.44
V134I/N136W/M150F/I326L	0.15	1.58	1.59	0.53	0.56	0.15	0.79	0.42	0.83	0.34	0.43
M426F/Q432L	0.14	1.41	1.38	0.40	0.48	0.13	0.86	0.41	0.81	0.38	0.42
Q315W	0.15	1.12	1.30	0.30	0.24	0.15	0.85	0.40	0.73	0.36	0.41
V120W/Q315F	0.15	1.26	1.30	0.19	0.20	0.19	0.82	0.40	0.75	0.27	0.39
T198W	0.16	1.38	1.50	0.54	0.55	0.24	0.99	0.40	0.99	0.37	0.39
Y177W/Q328F/I420M	0.14	1.37	1.45	0.25	0.35	0.14	0.74	0.38	0.70	0.31	0.38
G431G/C/S199C	0.16	1.45	1.61	0.58	0.63	0.17	0.81	0.36	0.81	0.29	0.37
W427I	0.14	1.10	1.20	0.21	0.26	0.13	0.74	0.35	0.80	0.30	0.37
V120W/Q203M/Y318W	0.15	1.41	1.37	0.48	0.53	0.17	0.79	0.35	0.81	0.36	0.35
V120I/Q203M/Y318W	0.14	1.41	1.35	0.42	0.51	0.15	0.77	0.35	0.86	0.43	0.33
L116M/M426F/Q432M	0.14	1.40	1.46	0.40	0.47	0.13	0.78	0.32	0.75	0.31	0.29
E153W	0.15	1.38	1.35	0.49	0.47	0.17	0.68	0.28	0.75	0.21	0.27
L544Y/L537Y/F223W	0.11	1.32	1.36	0.78	0.50	0.13	0.93	0.23	1.01	0.23	0.25
L116M/M426F/Q432W	0.15	1.44	1.45	0.44	0.47	0.13	0.58	0.23	0.51	0.20	0.25
K117W	0.12	1.23	1.13	0.36	0.30	0.14	0.85	0.20	0.98	0.16	0.24
V120F/Q203M/Y318M/Q315M	0.15	1.08	1.13	0.30	0.37	0.14	0.59	0.19	0.54	0.17	0.23
V134F/N136F/M150L/I326M	0.17	1.60	1.61	0.70	0.63	0.15	0.55	0.16	0.72	0.13	0.22
S110W	0.12	1.27	1.18	0.41	0.44	0.15	0.87	0.16	1.02	0.21	0.19
E153F	0.14	1.40	1.43	0.47	0.47	0.15	0.63	0.16	0.55	0.15	0.18
V120F/Q203M/Y318M	0.14	1.16	1.17	0.57	0.62	0.14	0.57	0.15	0.61	0.18	0.16
L125W/I194W	0.18	2.20	1.84	1.35	1.26	0.13	1.07	0.13	0.99	0.05	0.14
L154W/N300L/N302G/T320F	0.14	1.41	1.38	0.24	0.25	0.13	0.50	0.13	0.46	0.17	0.13
L544Y/F223W	0.11	1.33	1.34	0.49	0.53	0.12	0.78	0.12	0.89	0.13	0.08
V134F/L175M/I322M/I326M/N136W//M150H	0.14	1.40	1.39	0.59	0.56	0.13	0.18	0.08	0.42	0.07	0.08
L154W/N300L/N302G/T320F/Y177W/Q328F/I420M	0.14	1.40	1.31	0.11	0.13	0.13	0.15	0.06	0.01	0.06	0.07
V134F/N136W/M150F/I326L	0.16	1.62	1.52	0.50	0.48	0.14	0.39	0.05	0.42	0.06	0.06
V120W/Q203M/Y318W/Q315F	0.16	1.07	1.13	0.10	0.15	0.17	0.34	0.03	0.28	0.06	0.05
V134I/L175W/I322F/I326L/N136W/M150F	0.15	1.49	1.46	0.40	0.39	0.12	0.19	0.03	0.24	0.05	0.04
V134F/I322Y/I326M	0.14	1.60	1.48	0.60	0.57	0.14	0.25	0.03	0.50	0.06	0.04
V134F/N136W/M150H/I326M	0.14	1.62	1.53	0.60	0.58	0.14	0.29	0.02	0.46	0.06	0.04
T202P	0.12	1.33	1.20	0.82	0.75	0.15	0.59	0.02	0.69	0.03	0.04
V134F/L175M/I322M/I326M	0.14	1.53	1.49	0.68	0.63	0.13	0.23	0.02	0.44	0.06	0.03
V134I/L175W/I322F/I326M	0.14	1.62	1.51	0.58	0.53	0.13	0.20	0.01	0.39	0.05	0.03

**Table S4. Data collection and refinement statistics.**

	BG505 DS-SOSIP.4mut with PGT122 and 35O22 Fabs	BG505 DS-SOSIP.6mut with PGT122 and 35O22 Fabs
<b>Data collection</b>		
Space group	P6 <sub>3</sub>	P6 <sub>3</sub>
Cell dimensions		
<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> (Å)	131.45, 131.45, 312.35	128.38, 128.38, 313.13
$\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ (°)	90.0, 90.0, 120.0	90.0, 90.0, 120.0
Resolution (Å)	50-4.10 <sup>*</sup> ; 50- 3.40 (4.28-4.03, 4.03-3.83, 3.83-3.66, 3.66-3.52, 3.52-3.40) <sup>†</sup>	50-4.30 <sup>*</sup> ; 50-3.50 (4.41-4.27, 4.27-4.15, 4.15-4.04, 4.04-3.94, 3.94-3.85, 3.85-3.77, 3.77-3.69, 3.69-3.63, 3.63-3.56, 3.56-3.50)
<i>R</i> <sub>sym</sub>	0.129 <sup>*</sup> (0.521 <sup>*</sup> ); 0.149 (0.555, 1.014, 1.248, 1.149, 1.136)	0.078 <sup>*</sup> (0.270 <sup>*</sup> ); 0.145 (0.379, 0.554, 0.705, 0.856, 0.811, 1.095, 1.055, 1.027, 1.197, 1.562)
CC <sub>1/2</sub>	(0.968 <sup>*</sup> ); (0.962, 0.746, 0.567, 0.650, 0.345)	(0.891 <sup>*</sup> ); (0.893, 0.867, 0.680, 0.602, 0.533, 0.397, 0.313, 0.312, 0.347, 0.299)
<i>I</i> / $\sigma$ <i>I</i>	14.91 <sup>*</sup> (2.94 <sup>*</sup> ); 12.0 (1.97, 1.00, 0.67, 0.54, 1.62)	7.6 <sup>*</sup> (2.1 <sup>*</sup> ); 4.3 (2.1, 1.1, 0.8, 0.6, 0.8, 0.4, 0.4, 0.5, 0.3, 0.5)
Completeness (%)	84.0 <sup>*</sup> (50.8 <sup>*</sup> ); 61.0 (50.0, 41.3, 33.9, 25.1, 17.4)	74.5 <sup>*</sup> (54.8 <sup>*</sup> ); 63.2 (54.9, 55.1, 52.1, 52.7, 54.3, 51.4, 49.3, 48.6, 44.4, 40.9)
Redundancy	8.6 <sup>*</sup> (6.5 <sup>*</sup> ); 7.8 (6.5, 5.8, 4.9, 3.9, 2.5)	2.6 <sup>*</sup> (2.1 <sup>*</sup> ); 2.3 (2.1, 2.0, 1.9, 1.8, 1.7, 1.7, 1.6, 1.5, 1.5, 1.4)
<b>Refinement</b>		
Resolution (Å)	41.48 - 3.41 (3.91-3.71, 3.71-3.55, 3.55-3.41)	38.98 - 3.50 (4.64-4.22, 4.22-3.92, 3.92-3.69, 3.69-3.50)
No. unique reflections	25638	18609
<i>R</i> <sub>work</sub> / <i>R</i> <sub>free</sub>	0.2412/0.2882 (0.3186/0.3554, 0.3359/0.4268, 0.3431/0.4536)	0.2155/0.2989 (0.2377/0.3656, 0.602/0.3321, 0.2938/0.357, 0.2795/0.4043)
No. atoms	12029	11964
Protein	11294	11210
Ligand (glycans)	735	754
B-factors (Å <sup>2</sup> )	106	113
Protein	105	113
Ligand (glycans)	132	114
R.m.s deviations		
Bond lengths (Å)	0.004	0.004
Bond angles (°)	0.861	0.676
Ramachadran Favored %	92.95	89.88
Ramachadran Allowed %	99.31	99.16
MolProbity all-atoms clashscore	13.98	8.28
MolProbity score	2.9	2.36
<b>Overall resolution (Å)<sup>‡</sup></b>	4.1	4.3
<b>PDB ID</b>	5UTY	5UTF

<sup>\*</sup> Data processing statistics based on the overall resolution cutoff determined as: completeness greater than 50% and *I*/ $\sigma$ *I* greater than 2, as mentioned in the Methods.

<sup>†</sup> Statistics for the highest-resolution shell are shown in parentheses.

<sup>‡</sup> Overall resolution determined as: completeness greater than 50% and *I*/ $\sigma$ *I* greater than 2, as mentioned in the Methods.

Table S5. Neutralization of sera from guinea pigs immunized with different DS-SOSIP variants.

serum/plasma dilutions  
>100,000  
10,000-100,000  
1,000-10,000  
100-1,000  
10-100

ID50	Sample	8G595.W6M.C2.T323N.5G3			Q23.17.5G3			Q842.412.5G3			Q168.a2.5G3			Q461.e2.5G3			D3263.B.5G3			JRC5F.JB.5G3			SF162.L5.5G3			TRO.11.5G3			CAP256.206.C9.5G3			DU156.12.5G3			DU422.01.5G3			HW965.26.5G3			ZM109.4.5G3			ZM233.6.5G3			SIVmac251.30.5G3		
		Tier 2			Tier 2			Tier 2			Tier 2			Tier 2			Tier 1			Tier 2			Tier 2			Tier 2			Tier 2			Tier 1			Tier 2			Tier 2			non HIV								
		Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30	Wk6	Wk18	Wk30			
BG595 SOSIP.664	CGP 605-1	<10	903	2,451	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	125	421	<10	<10	<10	<10	29	370	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	18	1,212	4,754	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10			
	CGP 605-2	<10	10	190	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10			
	CGP 605-3	<10	359	204	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10			
	CGP 605-4	<10	58	2,055	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10			
	CGP 605-5	<10	3,914	13,668	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10			
DS-SOSIP	CGP 606-1	<10	3,686	2,885	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	54	33	<10	<10	<10	<10	34	104	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	1,319	1,776	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10			
	CGP 606-2	<10	1,192	2,168	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	53	75	<10	<10	<10	<10	1,325	2,683	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	29	10,187	18,750	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10		
	CGP 606-3	<10	19,903	58,779	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	139	82	<10	<10	<10	<10	6,138	17,031	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	49	39	45	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10		
	CGP 606-4	<10	3,316	2,502	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	703	948	<10	<10	<10	<10	3,066	3,072	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	109	14,386	17,618	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10		
	CGP 606-5	<10	575	1,136	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	175	164	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	46	1,091	1,992	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10		
DS-SOSIP A316W	CGP 607-1	<10	9,416	25,782	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	171	75	<10	<10	<10	<10	289	279	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	1,889	1,758	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10			
	CGP 607-2	<10	1,104	1,465	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	60	<10	<10	<10	<10	12	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	26	1,686	1,581	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
	CGP 607-3	<10	1,493	7,512	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	123	43	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	120	1,553	1,162	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
	CGP 607-4	<10	900	2,747	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	48	627	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	197	415	308	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
	CGP 607-5	<10	385	449	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	161	689	<10	<10	<10	<10	49	927	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	104	2,076	3,099	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
DS-SOSIP 1423F	CGP 608-1	<10	68	379	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	32	39	<10	<10	<10	<10	53	95	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	43	811	1,124	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
	CGP 608-2	<10	1,211	4,079	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	12	32	<10	<10	<10	<10	52	11	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	276	220	493	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
	CGP 608-3	<10	413	1,337	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	26	37	<10	<10	<10	<10	125	145	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10						
	CGP 608-4	<10	10,205	45,665	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	132	53	<10	<10	<10	<10	165	247	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	38	1,752	1,788	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
	CGP 608-5	<10	17,282	36,331	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	10	34	<10	<10	<10	<10	73	700	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	84	184	957	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
DS-SOSIP 6mut	CGP 609-1	<10	454	1,458	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	171	80	<10	<10	<10	<10	450	1,184	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	143	2,859	4,441	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
	CGP 609-2	<10	750	2,486	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	24	45	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	28	55	181	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
	CGP 609-3	<10	511	93,640	128,682	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	14	42	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
	CGP 609-4	<10	12,444	36,692	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	182	154	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10						
	CGP 609-5	<10	10,440	18,741	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	16	24	<10	<10	<10	<10	81	264	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	159	465	542	<10	<10	<10	<10	<10	<10					
DS-SOSIP 6mut	CGP 610-1	<10	492	2,747	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	28	10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	29	66	126	<10	<10	<10	<10	<10</						