

DOI: <https://doi.org/10.18454/jbg.2023.22.8>**АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МУТАЦИЙ НА АФФИННОСТЬ СВЯЗЫВАНИЯ В КОМПЛЕКСАХ ACE2 И RBD S-БЕЛКА КОРОНАВИРУСОВ**

Научная статья

**Богданова Е.А.<sup>1,\*</sup>, Тычинин Д.И.<sup>2</sup>, Новоселецкий В.Н.<sup>3</sup>**<sup>1</sup> ORCID : 0009-0002-4019-157X;<sup>3</sup> ORCID : 0000-0003-4090-4859;<sup>1,2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация<sup>3</sup> Совместный университет Московского государственного университета и Пекинского политехнического института, Шэньчжэнь, Китай

\* Корреспондирующий автор (eabogdanova.bioinf[at]gmail.com)

**Аннотация**

Методы, разрабатываемые для определения аффинности, имеют как и прикладное значение при поиске и разработке новых лекарств, так и значение для фундаментальной биофизики – поиск основных паттернов взаимодействия и автоматизированное описание систем интерфейсов белковых структур. В данной работе произведена оценка экспериментально полученных структур 30 комплексов рецептора ACE2 (Ангиотензинпревращающий фермент 2) с RDB (S-белок мутантного и дикого типа коронавирусов SARS-CoV и SARS-CoV-2, включая многочисленные мутантные формы последнего). Также проведен детальный структурный анализ, выявлены статистически значимые основные структурные элементы, вносящие высокий вклад в аффинность для комплексов с сильным связыванием ( $K_d < 30$  nM). Полученная модель позволяет по-новому взглянуть на присутствие и вклад отдельных атомных групп в аффинность.

**Ключевые слова:** белок-белковые взаимодействия, аффинность связывания, коронавирус, RBD-ACE2, биоинформатика.

**AN ANALYSIS OF THE EFFECT OF MUTATIONS ON THE AFFINITY OF BINDING IN THE ACE2 AND RBD COMPLEXES OF THE CORONAVIRUS S-PROTEIN**

Research article

**Bogdanova E.A.<sup>1,\*</sup>, Tychinin D.I.<sup>2</sup>, Novoseletsky V.N.<sup>3</sup>**<sup>1</sup> ORCID : 0009-0002-4019-157X;<sup>3</sup> ORCID : 0000-0003-4090-4859;<sup>1,2</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation<sup>3</sup> Joint University of Moscow State University and Beijing Polytechnic Institute, Shenzhen, China

\* Corresponding author (eabogdanova.bioinf[at]gmail.com)

**Abstract**

The methods developed for affinity determination have both applied significance in the search and development of new drugs and importance for fundamental biophysics – search for basic interaction patterns and automated description of protein structure interface systems. In this work the experimentally obtained structures of 30 complexes of ACE2 (Angiotensin-converting enzyme 2) receptor with RDB (S-protein of mutant and wild-type coronaviruses SARS-CoV and SARS-CoV-2, including numerous mutant forms of the latter) were evaluated. A detailed structural analysis was also carried out, and statistically significant major structural elements were identified that make a high contribution to affinity for complexes with strong binding ( $K_d < 30$  nM). The obtained model allows to take a new look at the presence and contribution of individual atomic groups to affinity.

**Keywords:** protein-protein interactions, binding affinity, coronavirus, RBD-ACE2, bioinformatics.

**Введение**

Проникновение вируса SARS-CoV-2 в организм человека начинается со взаимодействия RBD-домена его S-белка с белком ACE2, выполняющим роль рецептора. С начала пандемии были описаны сотни тысяч вариантов вируса, которые в настоящее время объединены, согласно сервису Nextstrain.org [1], в 26 клад. Каждый вариант вируса отличается от референсного варианта наличием уникального набора мутаций. Сервис Nextstrain.org рассчитывает и представляет данные о скорости накопления таких мутаций, причем скорость накопления мутаций планомерно увеличивается. Так, в период с декабря 2019 по ноябрь 2021 года эта скорость составляла 23 замены в год, а затем выросла до 50 замен в год, что совпало по времени с появлением высокопатогенного штамма Омикрон. Основным накопителем мутаций, в силу своего размера и функциональной важности является S-белок. Помимо этого, свободные S1-субъединицы белка шипов вируса SARS-CoV-2 могут действовать в качестве фактора патогенеза COVID-19 [2]. Таким образом, наблюдения за накоплением мутаций подтверждают, что мутации в S-белке циркулирующих вариантов SARS-CoV-2 накапливаются со значительной скоростью, которая, вероятно, будет увеличиваться. Причиной этого является избирательное давление со стороны иммунитета хозяина, приобретенного в результате предыдущих инфекций и/или прививок, которое продолжает стимулировать быструю эволюцию [3].

В настоящее время в банке данных белковых структур PDB содержится более сотни структур комплексов hACE2-RBD SARS CoV-2, причем как нативного ACE2 и исходной формы RBD, так и их многочисленных мутантных форм. Список включает в себя штаммы альфа, бета, гамма, дельта, каппа, омикрон, а также многие другие варианты. Кроме того, имеются данные о структурах комплексов hACE2-RBD SARS CoV. Столь обширные структурные данные позволяют провести анализ молекулярных взаимодействий между RBD и hACE2 и выявить типичные и уникальные контакты между остатками.

Из литературных данных следует, что наиболее значимыми для связывания являются три области (hot spot). Первая локализована вокруг LYS353, располагающегося на интерфейсе ACE2, и стабилизируется взаимодействиями, образованными остатками THR500, ASN501, GLN 498, TYR505 со стороны RBD и LYS353, ASP38, TYR41, GLN42, LEU45 и ASN330 ACE2. Мутации в вышеописанных позициях значимо влияют на аффинность связывания, так, например, выявлено, что замена аспарагина на тирозин в 501 позиции RBD у альфа штамма SARS-CoV-2 значительно увеличивает аффинность [4], [5]. Вторая область ассоциирована с LYS31, стабилизируется контактами, образованными LEU455, GLU484, LYS417 RBD, которые взаимодействуют с ASP30 и непосредственно с LYS31 [6]. Также в мутантах дикого штамма обнаружен GLN493, который усиливает взаимодействие в данной области. Третья область расположена вблизи N конца ACE2, с которым взаимодействует короткая петля RBM вдали от основного интерфейса, что обеспечивает более обширную область взаимодействий [7]. Критически важными для стабилизации этой области являются следующие остатки RBD: ALA475, GLY476 и PHE486, первые два взаимодействуют с SER19, а третий с MET82 и LEU79 [8]. При этом ранее показано, что мутации в позиции GLY476, а также ALA475 негативно сказываются на аффинности связывания [9].

Межмолекулярные взаимодействия в комплексе RBD-ACE2 подробно освещаются практически в каждой работе, посвященной той или иной расшифрованной структуре (ссылки на 6LZG, 6M0J, 7EKN, 7LO4, 7WHN), однако в них практически не уделяется внимание молекулам воды, расположенным на интерфейсе взаимодействия или в его окрестности. Между тем, структуры комплексов RBD-ACE2, полученные методом рентгеновского структурного анализа с высоким разрешением (как правило, 2,5 Ангстрем или лучше), содержат большое число молекул кристаллизационной воды. Так, в структурах 6LZG, 6M0J, 7EKN, 7LO4 и 7WHN содержится 322, 80, 250, 132 и 131 молекул воды, соответственно. Большая часть этих молекул расположена в карманах на поверхности hACE2, однако заметное число находится и в окрестности интерфейса взаимодействия этого белка с RBD (рис. 1). Интересно отметить, что множества молекул воды, находящиеся в этих структурах, с одной стороны, пересекаются, что позволяет выявить наиболее консервативные сайты связывания воды, а с другой стороны, дополняют друг друга, практически не создавая стерических затруднений. Это наблюдение, вероятно, позволяет создать молекулярную модель интерфейса, содержащую в себе все возможные молекулы воды.

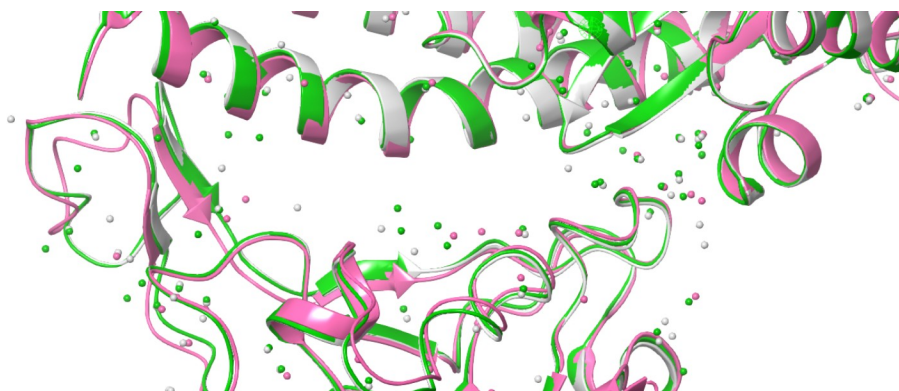


Рисунок 1 - Молекулы воды на интерфейсе взаимодействия RBD-ACE2 на примере структур 6LZG, 7EKN и 7LO4  
DOI: <https://doi.org/10.18454/jbg.2023.22.8.1>

*Примечание: совмещение выполнено по остаткам, образующим интерфейс или прилегающим к ним. Среднеквадратичное отклонение структур по Ca-атомам < 1 Ангстрема*

Наблюдение за влиянием мутаций на энергию взаимодействия в комплексах показали [10], [11], что эффект оказывают, в том числе мутации, не расположенные непосредственно на интерфейсе взаимодействия. В частности, выявлено, что процентное содержание полярных остатков в областях, не входящих непосредственно в интерфейс связывания коррелирует с аффинностью связывания, особенно явно это наблюдается в комплексах с ограниченной конформационной подвижностью [12].

При этом анализ интерфейса белок-белковых взаимодействий позволяет выявить ключевые пары остатков, которые вносят наиболее существенный вклад в связывание белков. Целью данной работы стал статистический анализ межатомных расстояний и выявление пар атомов, положительно и отрицательно влияющих на связывание.

#### **Методы и принципы исследования**

В результате анализа литературы были отобраны 30 структур комплекса ACE2 и RBD вирусов SARS CoV (3 структуры) и SARS CoV-2 (27 структур), включая исходный вариант, а также различные штаммы и инженерные

варианты (приложение 1). Для комплексов авторами было измерено значение константы диссоциации ( $K_d$ ). С целью последующего изучения комплексов они были разделены на два класса: низкоаффинные ( $K_d > 30$  нМ, 11 комплексов) и высокоаффинные ( $K_d < 30$  нМ, 19 комплексов).

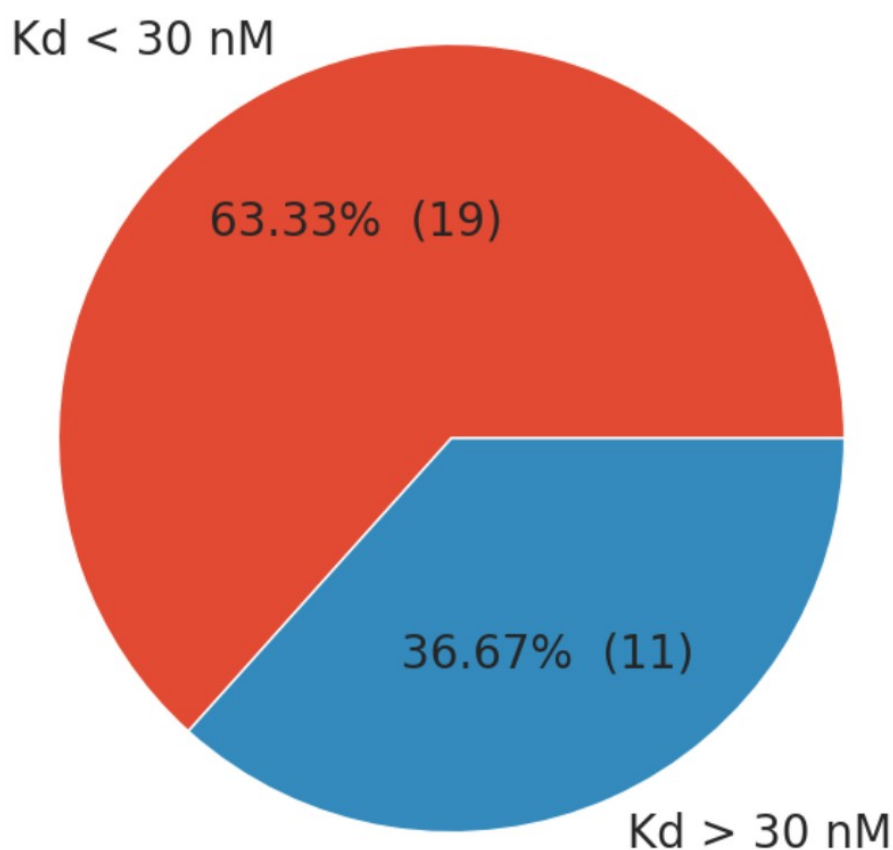


Рисунок 2 - Структура набора данных, всего 30 комплексов ACE2-RBD, 19 из которых были определены в группу высокой аффинности, 11 в группу низкой  
DOI: <https://doi.org/10.18454/jbg.2023.22.8.2>

Для дальнейшего рассмотрения в каждом из комплексов были оставлены только атомы RBD и ACE2 (из контактирующих цепей). Во-первых, каждый был отнесен к одному из 15 типов, аналогичных используемым в силовом поле CHARMM [13], причем некоторые исходные типы похожих атомов (например, СТ2 и СРх) нами были объединены в один тип. Во-вторых, для каждой из цепей в полученных структурах был осуществлен расчет площади поверхности атомов, доступной растворителю (SASA), с помощью алгоритма Шрейка-Рупли [14], реализованного в пакете программ biopython. Экспонированными атомы признавались в том случае, если поверхность, доступная для растворителя превышала  $5 \text{ \AA}^2$ .

Каждый из комплексов представлен в виде матрицы потенциальных контактов атомов групп, согласно типизации тяжелых атомов в силовом поле CHARMM (приложение 2), таких групп 15. Расчет расстояний производился с помощью программного пакета MDAnalysis. Вычислительный алгоритм учитывает возможность взаимодействия атомов в том случае, если атомы разных цепей находятся на заданных интервалах расстояний; эмпирически было установлено 4 таких интервала: 2-4, 4-5, 5-6, 6-10  $\text{ \AA}$ .

Создание матриц расстояний: для каждого комплекса изначально таблица взаимодействий представляла вид, где по столбцам 15 групп атомов для цепи, соответствующей ACE2, по строкам – 15 групп атомов для цепи RBD соответственно, в значениях ячеек отражено количество связей на заданном интервале расстояний (пусть идентификатор PDB структуры 6LZG, а диапазон расстояний 6-10  $\text{ \AA}$ ) (табл. 1).

Таблица 1 - Таблица взаимодействий для структуры 6LZG. По вертикали атомы RBD, по горизонтали - ACE2, диапазон расстояний 6-10  $\text{ \AA}$

DOI: <https://doi.org/10.18454/jbg.2023.22.8.3>

| CHARMM atom-types | NH1 | O   | ... | NH3 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|
| NH1               | 9   | 13  | ... | 0   |
| O                 | 10  | 31  | ... | 2   |
| ...               | ... | ... | ... | ... |

|     |   |   |     |   |
|-----|---|---|-----|---|
| NH3 | 3 | 9 | ... | 0 |
|-----|---|---|-----|---|

Далее двумерный массив 15x15 преобразовывался в одномерный, вида 120x1 (табл. 2).

Таблица 2 - Матрица атомов RBD-ACE2 для структуры 6LZG, расположенных на расстоянии 6-10Å

DOI: <https://doi.org/10.18454/jbg.2023.22.8.4>

|      | NH1 vs NH1 | NH1 vs O | O vs O | NH3 vs NH1 | NH3 vs O | NH3 vs NH3 | .. (n =120) |
|------|------------|----------|--------|------------|----------|------------|-------------|
| 6LZG | 9          | 23       | 31     | 3          | 11       | 0          | ..          |

Для каждого из выбранных интервалов расстояний составлены матрицы, таких интервалов 4, следовательно, количество признаков для одного комплекса составляет  $4 \times 120 = 480$  признаков.

На полученных вышеприведенных матрицах произведена проверка соответствия структурных комплексов, посредством критерия Брея-Кертиса в пакете программ *scipy*. Несходство Брея-Кертиса измеряется в диапазоне от 0 до 1, где 0 означает, что два образца имеют одинаковый состав (то есть они имеют общие количественные признаки), а 1 означает, что два образца не имеют общих признаков. Стоял вопрос о возможном исключении комплексов с низким разрешением из-за неопределенности координат атомов в структурах, определенных криоэлектронной спектроскопией. По итогу, комплексы с низким разрешением ( $>3 \text{ \AA}$ ) были также включены в рассмотрение, поскольку критерий не превышал для всей выборки значение 0,2, что говорит о высокой структурной согласованности комплексов.

### Результаты и обсуждение

При подробном изучении межатомных расстояний в исследуемых структурах был выделен ряд особенностей. Так, минимальное среди всех структур расстояние между атомами N ( $2,5 \text{ \AA}$ ) наблюдается для GLN42 (NE2, NH2) – GLN498 (NE2, NH2) в структуре 7EKE, и  $3,0 \text{ \AA}$  в структурах 7E3J, 7VX4. Во всех этих случаях связи эти атомы N между собой не образуют. Но всё было бы иначе в случае разворота остатка Q498: образовались бы водородные связи сразу и с Q42, и с Y501. По-видимому, это говорит о том, что конформация Q498 в этих структурах не является оптимальной.

В целом ситуация близкого расположение двух атомов азота, являющихся донорами атомов водорода, довольно распространена: GLN42 (NE2, NH2) – GLN498 (NE2, NH2) и LYS353 (NZ, NH3) – ASN501 (ND2, NH2) в 7VX5; GLU35 (N, NH1) – GLN493 (NE2, NH2) в 7EKE. Пары с большим расстоянием между атомами взаимодействия также не демонстрируют и, на первый взгляд, особого интереса не представляют.

Вместе с тем контакты HIS34 (NE2, NR2, NY) – GLN493 (NE2, NH2) на расстоянии  $3 \text{ \AA}$  в структурах 7SY2, 7SY6, 7SY8 и HIS34 (NE2, NR2, NY) – LYS417 (NZ, NH3) на расстоянии  $3,3 \text{ \AA}$  в структуре 7KJ2 являются примером редкой в белках водородной связи между атомами азота [15].

На редкость минимальное среди всех структур расстояние между атомами O ( $2,2\text{--}2,3 \text{ \AA}$ ) наблюдается и в случае атомов TYR83 (OH, OH1) – ASN487 (OD1, O) 7VX4 и 7VX5. Напротив, эта же пара в большинстве других структур находится на значительно большем расстоянии ( $3\text{--}4 \text{ \AA}$ ). Такое нетипичное расстояние между атомами, наблюдаемое в структурах, полученных с низким разрешением ( $3,8\text{--}3,9 \text{ \AA}$ ), возможно, говорит о недостаточном качестве конформации в последних.

Между тем, выявлено несколько признаков, которые могут быть интерпретированы, как образование связи между остатками посредством одной или большего числа молекул воды. В частности, таковой является связь между остатками G354 (ACE2) и V503 (RBD), опосредованная двумя молекулами воды (наблюдается в структуре 6LZG и ряде других из PDB).

Далее, на основании полученных матриц, проводился сравнительный анализ групп комплексов с разными показателями аффинности.

Для выявления структурных паттернов, для заданных групп комплексов использован U-критерий Манна–Уитни, такой подход позволил выделить 34 статистически-значимых ( $p\text{-value} < 0,05$ ) дифференциальных признака из 480. На рисунке 3 на тепловой карте изображены наиболее значимые 22 из них.

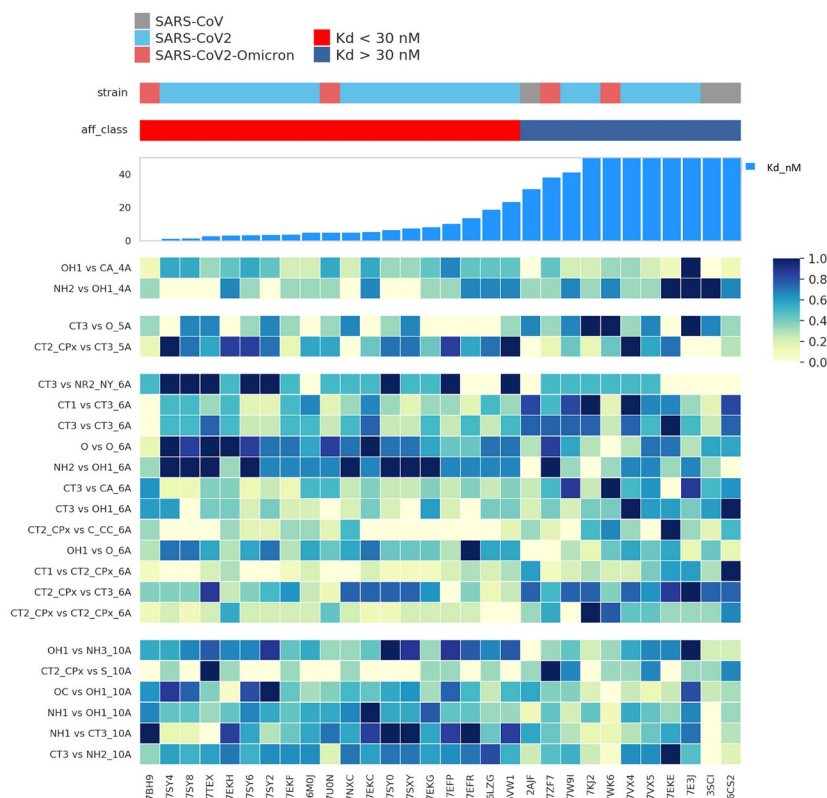


Рисунок 3 - Репрезентация структурных паттернов, отличающихся среди двух групп аффинности  
DOI: <https://doi.org/10.18454/jbg.2023.22.8.5>

*Примечание: отражены 22 наиболее значимых признака выявленных U-критерием, 4 блока тепловой карты - 4 диапазона дистанций, префикс к каждому признаку обозначает крайнюю границу диапазона (4A = 2-4Å, 5A = 4-5Å, 6A = 5-6Å, 10A = 6-10Å), абсолютные значения нормированы медианным шкалированием внутри каждого признака для удобства визуального восприятия*

Стоит заметить, что большая часть из значимых признаков положительно коррелирует с аффинностью связывания между RBD и ACE2, т.е. чем больше контактов данного типа, тем выше сила связывания и наоборот. Среди подобных признаков можно выделить расположение многочисленных пар ароматических и алифатических атомов углерода в интервалах 2-4 и 4-5 Å, реализующих гидрофобные контакты (CA, CT3, CT2, CPx). К отрицательно влияющим на связывание были отнесены, например, пары алифатических атомов углерода в интервале 5-6 Å (зависимость является статистически значимой,  $p\text{-value} < 0,01$ ). Можно предположить, что наличие таких пар говорит о нереализованности потенциальных гидрофобных контактов и, напротив, о возможном наличии молекулы воды между двумя гидрофобными атомами.

Несмотря на значительное число полярных атомов на интерфейсе, не было выявлено признаков, которые можно было бы интерпретировать как образование Н-связи непосредственно между остатками. Это означает, что высоко- и низкоаффинные комплексы не отличаются друг от друга по количеству Н-связей между атомами белка.

На рисунке 4 подробнее рассмотрены аминокислотные пары для контакта OH1-NH2 на расстоянии 5-6 Å, количество которого положительно влияет на аффинность связывания ( $p\text{-value} < 0,01$ ). Так, можно выделить две значимые пары, имеющие данный контакт, представленные в основном в высокоаффинных комплексах: GLN42-TYR449 и GLN498-TYR41. Как уже было выявлено ранее GLN42 ACE2 и TYR449 RBD действительно образуют водородную связь и участвуют в стабилизации hot spot 353 [16], а пара GLN498(RBD)-TYR41(ACE2) образует Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия и стабилизирует эту же область связывания на интерфейсе [17].

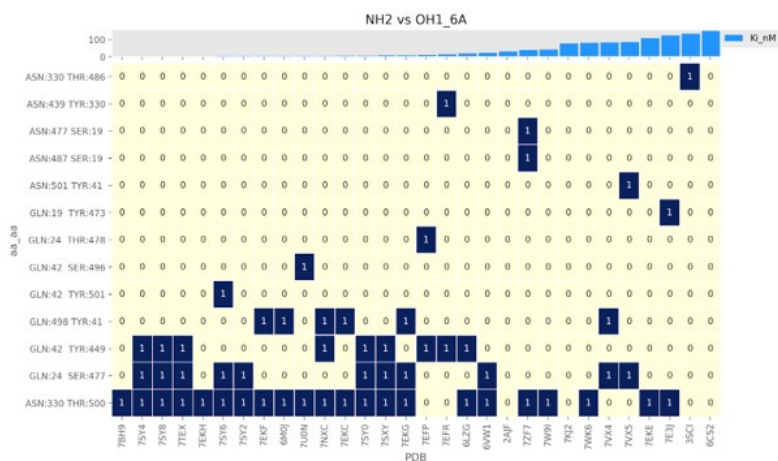


Рисунок 4 - Наиболее значимые аминокислотные пары, образующие контакт NH2-OH1 на расстоянии 5-6 Å  
DOI: <https://doi.org/10.18454/jbg.2023.22.8.6>

Одной из наиболее известных пар взаимодействующих остатков является TYR501-LYS353, данная пара идентифицируется для признака OH1-NH3 на расстоянии 4-5 Å. Как видно на рисунке 5, данная пара остатков по этому признаку характерна также только для высокоаффинных комплексов.

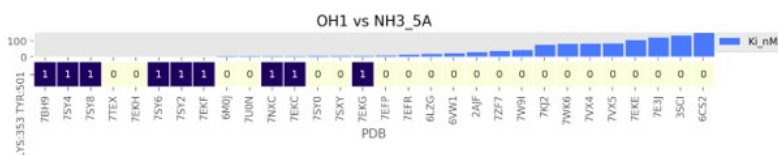


Рисунок 5 - Наиболее значимые аминокислотные пары, образующие контакт NH3-OH1 на расстоянии 4-5 Å  
DOI: <https://doi.org/10.18454/jbg.2023.22.8.7>

Данная закономерность подтверждается в ранних исследованиях по изучению структуры комплекса RBD-ACE2. Объясняется это тем, что тирозин дополнительно вступает в стекинг-взаимодействие с TYR41 (данный контакт также определяется моделью как значимый для повышения силы связывания), которое частично создает гидрофобный туннель для углеводородной части бокового радикала LYS353, усиливая и стабилизируя при этом его ионное взаимодействие с GLY496 RBD [7], как следствие, значительно увеличивая аффинность.

По итогу для всех значимых признаков производилось определение конкретных а/о (аминокислотных остатков), атомы которых входят в тот или иной признак. На рисунке 6 приведены наиболее характерные пары а/о и разница частот их встречаемости для всех отобранных контактов. Можно заметить, что в зависимости от пары K353 (ACE2) кардинально может измениться аффинность комплекса. Варианты Y505 и Y501 (RBD) являются характерными для группы комплексов высокой аффинности; варианты R403, Y484, Y491 (RBD) - характерны для группы комплексов низкой аффинности.

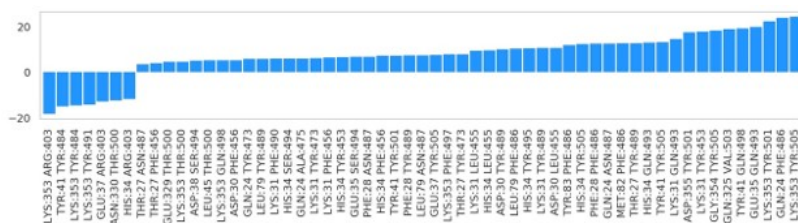


Рисунок 6 - Разница частоты встречаемости значимых а/о (аминокислотных остатков), с нормировкой на размер выборки, применительно к группам низкоаффинных и высокоаффинных комплексов  
DOI: <https://doi.org/10.18454/jbg.2023.22.8.8>

Примечание: в отрицательных значениях - пары а/о, характерные для низкоаффинных комплексов, в значениях больше 10 - характерные для высоко-аффинных комплексов, центральная группа от 0 до 10 - контакты характерные для двух групп

**Заключение**

Полученные результаты открывают перспективу использования данных о межатомных расстояниях для оценки аффинности связывания не только между RBD и ACE2, но и в других белок-белковых комплексах. Кроме того, большое число выявленных статистически значимых признаков, относящихся к неполярным атомам, свидетельствуют о важности гидрофобных контактов и расположения относительно них молекул воды в образовании комплексов RBD-ACE2.

**Дополнительные материалы**

Дополнительные материалы доступны на онлайн-странице статьи.

**Конфликт интересов**

Не указан.

**Рецензия**

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

**Supplementary materials**

Supplementary materials are available online on the article's webpage.

**Conflict of Interest**

None declared.

**Review**

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

**Список литературы на английском языке / References in English**

1. Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 with subsampling focused globally since pandemic start. — 2018 — URL: <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time?l=clock> (accessed: 09.09.2023)
2. Letarov A.V. Free SARS-CoV-2 Spike Protein S1 Particles May Play a Role in the Pathogenesis of COVID-19 Infection / A.V. Letarov, V.V. Babenko, E.E. Kulikov // *Biochemistry Moscow*. — 2021. — 86. — p. 257–261. DOI: 10.1134/S0006297921030032.
3. Magazine N. Mutations and Evolution of the SARS-CoV-2 Spike Protein / N. Magazine, T. Zhang, Y. Wu, M. C. McGee // *Viruses*. — 2022. — 14(3). — p. 640. DOI: 10.3390/v14030640.
4. Jawad B. Key Interacting Residues between RBD of SARS-CoV-2 and ACE2 Receptor: Combination of Molecular Dynamics Simulation and Density Functional Calculation / B. Jawad, P. Adhikari, R. Podgornik, W. Ching // *Journal of Chemical Information and Modeling*. — 2021. — 61 (9). — p. 4425–4441. DOI: 10.1021/acs.jcim.1c00560.
5. Salleh M.Z. Structural Evaluation of the Spike Glycoprotein Variants on SARS-CoV-2 Transmission and Immune Evasion / M.Z. Salleh, J.P. Derrick, Z.Z. Deris // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2021. — 22(14). — p. 7425. DOI: 10.3390/ijms22147425.
6. Wang Q. Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2 / Q. Wang, Y. Zhang, L. Wu, S. Niu, C. Song // *Cell*. — 2020. — 181. — p. 894 - 904. DOI: 10.1016/j.cell.2020.03.045.
7. Geng Q. Structural Basis for Human Receptor Recognition by SARS-CoV-2 Omicron Variant BA.1 / Q. Geng, K. Shi, G. Ye, W. Zhang, H. Aihara // *Journal of virology*. — 2022. — 96(8). DOI: 10.1128/jvi.00249-22.
8. Nelson-Sathi S. Mutational Landscape and in Silico Structure Models of SARS-CoV-2 Spike Receptor Binding Domain Reveal Key Molecular Determinants for Virus-host Interaction / S. Nelson-Sathi, P.K. Umasankar, E. Sreekumar // *BMC Mol and Cell Bio*. — 2022. — 23. DOI: 10.1186/s12860-021-00403-4.
9. Yang Y. Key Residues of the Receptor Binding Domain in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Mediating the Interactions with ACE2: a Molecular Dynamics Study / Y. Yang, Y. Zhang, Y. Qu, C. Zhang, X. W. Liu // *Nanoscale*. — 2021. — 13(20). — p. 9364–9370. DOI: 10.1039/d1nr01672e.
10. Kastiris P.L. Explicit Treatment of Water Molecules in Data-driven Protein–protein Docking: the Solvated HADDOCKing Approach / P.L. Kastiris, A.D. Dijk, A.M. Bonvin // *Methods Mol Biol*. — 2012. — 819. — p. 355–374. DOI: 10.1007/978-1-61779-465-0\_22.
11. Lensink M.F. Blind Prediction of Interfacial Water Positions in CAPRI / M.F. Lensink, I.H. Moal, P.A. Bates, P.L. Kastiris, A.S. Melquiond // *Proteins*. — 2013. — 82. — p. 620–632. DOI: 10.1002/prot.24439.
12. Kastiris P. L. Proteins Feel More than They See: Fine-tuning of Binding Affinity by Properties of the Non-interacting Surface / P. L. Kastiris, J. P. Rodrigues, G. E. Folkers, R. Boelens, A. M. Bonvin // *Journal of Molecular Biology*. — 2014. — 426(14). — p. 2632–2652. DOI: 10.1016/j.jmb.2014.04.017.
13. Brooks B.R. CHARMM: The Biomolecular Simulation Program / B.R. Brooks, C.L. Brooks, A.D. MacKerell, L. Nilsson, R.J. Petrella, B. Roux // *Journal of Computational Chemistry*. — 2009. — 30.
14. Shrake A. Environment and Exposure to Solvent of Protein Atoms. Lysozyme and Insulin / A. Shrake, J.A. Rupley // *Journal of Molecular Biology*. — 1973. — 79(2). — p. 351–371. DOI: 10.1016/0022-2836(73)90011-9.
15. Herschlag D. Hydrogen Bonds: Simple after All? / D. Herschlag, M. M. Pinney // *Biochemistry*. — 2018. — 57(24). — p. 3338–3352. DOI: 10.1021/acs.biochem.8b00217.
16. Koley T. Structural Analysis of COVID-19 Spike Protein in Recognizing the ACE2 Receptor of Different Mammalian Species and its Susceptibility to Viral Infection / T. Koley, S. Madaan, S.R. Chowdhury // *3 Biotech*. — 2021. — 11. DOI: 10.1007/s13205-020-02599-2.
17. Lan J. Structural Insights into the SARS-CoV-2 Omicron RBD-ACE2 Interaction / J. Lan, X. He, Y. Ren // *Cell Res*. — 2022. — 32. — p. 593–595. DOI: 10.1038/s41422-022-00644-8.