

**Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии
«Вектор»**

Тест система: Конкурентный иммуноферментный анализ ACE2-S SARS-CoV-2

Мишень/тест-система	Ингибиторы взаимодействия рецептора ACE2 с поверхностным белком S SARS-CoV-2
Клеточная линия (при наличии)	-
Метод детекции	Фотометрия
Активность	Ингибирование
Методы контроля	Положительный контроль: моноклональное антитело Nb6 Отрицательный контроль: ДМСО

Краткое описание тест-системы

Тест-система основана на конкурентном ИФА для проведения первичного скрининга потенциальных противовирусных агентов, способных блокировать взаимодействие поверхностного белка S с клеточным рецептором ACE2.

Протокол

В лунках 96-луночных планшетов сорбировать полноразмерный белок S или рецептор-связывающий домен S белка в 96-луночный планшет в концентрации 200 нг/лунку в фосфатном-солевом буфере (PBS, pH 7.2), инкубация в течение 18 часов при температуре +4°C. Затем планшеты необходимо промыть буфером PBS-T и добавить блокирующий буфер (1% казеина в PBS-T) 1 ч при 37 °C. После промывки в лунку добавить растворы соединений в ДМСО (в концентрации 10 мг/мл) разбавленные фосфатным-солевым буфером до концентрации 500 мкг/мл, инкубировать 1 ч при 37 °C. После трехкратной промывки PBS-T добавить ACE2 меченный пероксидазой и инкубировать в течение 1 часа при 37°C. После промывки добавить 50 мкл раствора субстрата ТМВ. После 15 минут реакцию остановить 50 мкл 1M HCl и измерить оптическую плотность при 450 нм с использованием многорежимного считывателя микропланшетов Varioskan Lux (Thermo Fisher Scientific Inc.).

Интерпретация результатов

Для тестирования ингибирующей способности предоставленных соединений определяют величину IC50, за которую принимают концентрацию тестируемого вещества, снижающую уровень оптической плотности на 50% от наблюдаемого без добавления ингибитора. Статистическую обработку данных и расчет IC50 проводили в программе GraphPad Prism 6 (Ver. 6.04) методом нелинейной регрессии.

Ссылки на методику или ее аналоги, описанные в литературе (при наличии)

1. Mordvinova, E.D.; Nikitina, P.A.; Yarovaya, O.I.; Volosnikova, E.A.; Murashkin, D.E.; Isaeva, A.A.; Koldaeva, T.Y.; Perevalov, V.P.; Salakhutdinov, N.F.; Shcherbakov, D.N. Inhibitors of the RBD-ACE-2 Found among a Wide Range of Dyes by the Immunoassay Method. *Chemosensors* 2023, 11, doi:10.3390/chemosensors11020135.

Препарат сравнения, использованный для валидации методики; результаты валидации

Нет информации.

Дополнительные характеристики

Количество вещества для проведения одного исследования	500 мМ
Производительность тест-системы	60 веществ в неделю

Организация

Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 630559, р.п.Кольцово, Новосибирская область, Россия

Контактное лицо

Щербаков Дмитрий Николаевич; эл. почта: dshcherbakov@gmail.com