

# 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](mailto:dshcherbakov@gmail.com)