



一般研究用キット

# SARS-CoV-2 Spike S1/ACE2 Binding, Inhibitor Screening Kit

Cat. No. COV-K01

2023年1月23日作成

[www.cosmobio.co.jp](http://www.cosmobio.co.jp)

## 【1-1】背景と特長

世界的に大流行している新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の原因ウイルス (SARS-CoV-2) の細胞への感染は、ウイルス膜表面から突出した Spike タンパク質が体細胞のアンジオテンシン変換酵素2(ACE2) 受容体に結合することから始まります (図 1)<sup>1</sup>。Spike タンパク質は2つのサブユニットから構成され、S1 サブユニットは ACE2 受容体との結合、S2 サブユニットはウイルス膜と細胞膜の融合に関与します<sup>2</sup>。本キットは Spike タンパク質 S1 サブユニットと ACE2 受容体タンパク質の結合を、リコンビナントタンパク質を用いて測定可能なキットです。被験物質存在下における結合能を測定することで、阻害剤の探索を行うことができます。

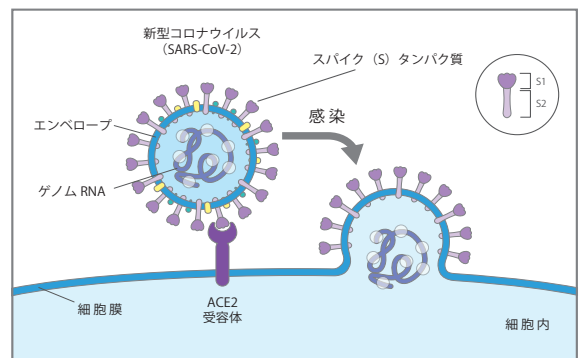


図 1. SARS-CoV-2 感染機構 (細胞侵入機構)

## 【1-2】測定原理

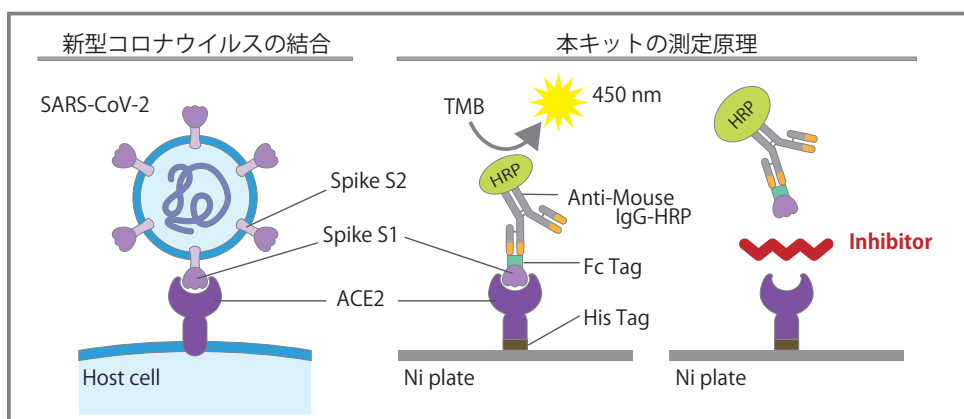


図 2. 本キットの測定原理

マルチウェルプレート上にヒト ACE2 タンパク質 (ACE2-His tag) を固相化し、SARS-CoV-2 Spike タンパク質 S1 サブユニット (S1-Fc tag) を結合させます。ACE2-His tag タンパク質と S1-Fc tag タンパク質の結合は、Anti-Mouse IgG-HRP を用いて検出します。S1-Fc tag タンパク質反応時に被験物質を共に添加することで、被験物質による結合阻害活性を評価することが可能です (図 2)。

**【I-3】キット構成**

本キットは、96 ウェルプレート 1 枚分のアッセイが可能です。

保存温度：4℃

No.	内容	濃度	容量	性状	取扱上の注意
1	ACE2-His tag	100 µg/mL (100x)	50 µL	緑キャップ	取扱う際には眼鏡・手袋などの保護具を着用の上、人体の接触を避けるよう十分に配慮してください。
2	S1-Fc tag	20 µg/mL (100x)	50 µL	青キャップ	
3	Anti-Mouse IgG HRP	(100x)	50 µL	赤キャップ	
4	Assay Buffer	(1x)	50 mL		
5	Wash Buffer	(10x)	50 mL		
6	Substrate Solution (TMB)	(1x)	10 mL		
7	Stop Solution (0.6N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	(1x)	10 mL		
8	Inhibitor Control (ε-poly-L-lysine)	(10x)	50 µL	黄キャップ	

**ご準備いただくもの（その他必要なもの）**

- Ni コート 96 ウェルプレート (QIAGEN 社、Ni-NTA HisSorb Plates Cat. No. / ID: 35061 推奨)
- 1 µL ~ 1000 µL マイクロピペット
- マルチチャンネルピペット
- リザーバー
- プレートリーダー (450 nm 吸光度が測定可能なもの)

**【II】サンプルの調製方法****【II -1】固相化 ACE2 溶液の調製**

100 µg/mL ACE2 -His tag (100x) を Assay Buffer にて 100 倍希釈します。

**【II -2】Wash Buffer の調製**

Wash Buffer (10x) を精製水で 10 倍希釈します。

**【II -3】測定サンプル溶液の調製**

測定サンプルは Assay Buffer を用いて適宜希釈します。

Inhibitor Control は Assay Buffer を用いて 10 倍希釈します。

**【II -4】S1 タンパク質溶液 (200 ng/mL) の調製**

20 µg/mL S1-Fc tag (100x) を Assay Buffer で 100 倍希釈します。

**【II -5】Anti-Mouse IgG HRP 溶液の調製**

Anti-Mouse IgG HRP (100x) を Assay Buffer で 100 倍希釈します。

### 【III】測定方法

・必要なウェル数を算定し、その他のウェルはプレートシールで覆います。

- 1 【II -1】で調製した固相化 ACE2 溶液を Ni プレートの各ウェルに 50  $\mu$ L ずつ加えます。
- 2 プレートにシール後、室温で静置し 2 時間固相化します。
- 3 固相化 ACE2 溶液を除去し、【II -2】で調製した Wash Buffer を各ウェルに 200  $\mu$ L ずつ加え、洗浄します。この操作を 3 回行います。
- 4 Assay Buffer を各ウェルに 100  $\mu$ L ずつ加え、室温で 30 分間静置してブロッキングを行います。
- 5 Assay Buffer を除去し、【II -3】で調製した測定サンプル溶液または Inhibitor Control を各ウェルに 50  $\mu$ L 加え、さらに【II -4】で調製した S1 タンパク質溶液 (200 ng/mL) を各ウェルに 50  $\mu$ L ずつ添加します。
- 6 プレートにシール後、室温で静置し 1 時間反応します。
- 7 測定サンプルと S1 タンパク質の混合溶液を除去し、【II -2】で調製した Wash Buffer を各ウェルに 200  $\mu$ L ずつ加え、洗浄します。この操作を 3 回行います。
- 8 【II -5】で調製した Anti-Mouse IgG HRP 溶液を各ウェルに 50  $\mu$ L ずつ添加します。
- 9 プレートにシール後、室温で静置し 1 時間反応します。
- 10 Anti-Mouse IgG HRP 溶液を除去し、【II -2】で調製した Wash Buffer を各ウェルに 200  $\mu$ L ずつ加え、洗浄します。この操作を 3 回行います。
- 11 Substrate Solution を各ウェルに 100  $\mu$ L ずつ添加し、15 分間静置し発色します。
- 12 Stop Solution を各ウェルに 100  $\mu$ L ずつ添加し、反応を停止します。
- 13 プレートリーダーで吸光度を測定します (測定波長: 450 nm)。

### 【IV】測定例 – 被験物質による結合阻害活性 –

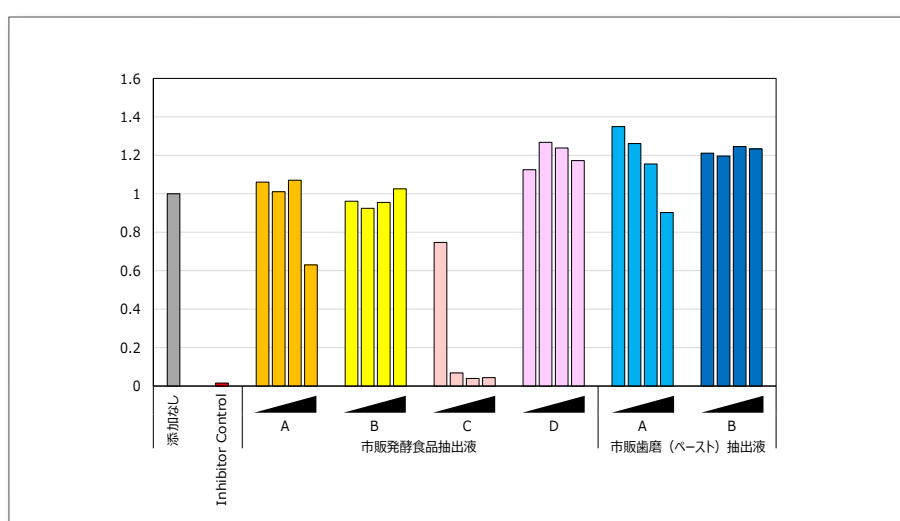


図 3. 様々なサンプルによる測定例

市販発酵食品抽出液および市販歯磨抽出液をそれぞれ段階希釈 (0.16、0.8、4、20%) してサンプル溶液とし、S1/ACE2 タンパク質の結合阻害活性を比較した。測定値はサンプル添加なしの場合を 1 とした相対値で表記した。

SARS-CoV-2 Spike S1/ACE2 Binding, Inhibitor Screening Kit  
Cat. No. COV-K01[www.cosmobio.co.jp](http://www.cosmobio.co.jp)

## 【V】参考文献

1. Shang, J. *et al.* Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **117**, 11727–11734 (2020)
2. Huang, Y., Yang, C., Xu, X. feng, Xu, W. & Liu, S. wen. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacol. Sin.* **41**, 1141–1149 (2020)
3. Yoshizato, K. *et al.* Cloaking the ACE2 receptor with salivary cationic proteins inhibits SARS-CoV-2 entry. *J. Biol. Chem.* mvac054, [https://doi.org/10.1093/jb/mvac054\(2022\)](https://doi.org/10.1093/jb/mvac054(2022))

## 本商品をご利用になられた文献、発表データを募っております。

本商品をご利用いただき投稿された論文、学会発表/パネルなどを送付いただきましたお客様に粗品を進呈させていただきます。ご提供いただきました論文などは、WEB やカタログ、技術資料を通じて多くの研究者の方への技術情報として利用させていただく場合がございます。是非皆様のご協力をお願いいたします。

### 送付方法

#### 郵 送

〒047-0261 北海道小樽市銭函3丁目513番2  
コスモ・バイオ株式会社 札幌事業所宛

#### E-mail

[primarycell@cosmobio.co.jp](mailto:primarycell@cosmobio.co.jp)

※ PDF ファイルにてお送りください。



コスモ・バイオ株式会社  
COSMO BIO CO., LTD.

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル  
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>

#### ● 営業部 (お問い合わせ)

TEL : (03) 5632-9610 FAX : (03) 5632-9619  
TEL : (03) 5632-9620

#### ● 札幌事業部 (技術的なお問い合わせ)

TEL : (0134) 61-2301 FAX : (0134) 61-2295  
E-mail : [primarycell@cosmobio.co.jp](mailto:primarycell@cosmobio.co.jp)