

## ИССЛЕДОВАНИЕ КАРДИОТОКСИЧНОСТИ

Метод используется для предсказания кардиотоксичности препарата по связыванию с hERG-каналами сердца *in vitro*. Ген специфических калиевых каналов (K<sup>+</sup>-каналов) сердца человека (ген hERG, human ether-a-go-go-related gene) кодирует белки калиевых каналов, согласованная работа которых играет ключевую роль в процессе сердцебиения и определяет форму и длительность потенциала действия в клетках сердечной мышцы. Блокировка hERG-каналов сердца приводит к смертельно опасным последствиям: нарушению реполяризации миокарда, увеличению продолжительности QT интервала и желудочковой тахикардии. Уникальной особенностью этих каналов является их относительно быстрая инактивация вследствие высокой чувствительности к внеклеточным катионам, а также медленная активация и деактивация. Эта комбинация воротных механизмов приводит к изменению свойств канала. По-видимому, за счет этой высокой чувствительности можно объяснить, почему множество химических соединений избирательно блокируют именно hERG-каналы.

Определение влияния препаратов на hERG-каналы сердца проводится с помощью *in vitro* тест-системы Predictor hERG FP Assay, основанной на методе анализа по поляризации флуоресценции. Этот конкурентный и гомогенный метод иммуноанализа без стадий разделения и промывки является одним из наиболее перспективных в фармацевтической индустрии, поскольку обладает высокой специфичностью, чувствительностью, относительно низкой стоимостью и простотой проведения анализа. Метод основан на изменении депольаризации излучаемого света в результате быстрого вращения небольших флуоресцентных молекул (трейсеров). Если трейсер связывается с большой молекулой и тем самым увеличивает ее молекулярный объем, то вращение крупной молекулы замедляется, и излучаемый свет остается в той же плоскости, в которой он был возбужден. Изменение поляризации измеряется с помощью микропланшетного ридера, флуоресценция измеряется с помощью фильтров поляризованного возбуждения и эмиссии. Два измерения проводятся для каждой лунки. Измеряют флуоресценцию перпендикулярной плоскости возбуждения ("P-канал") и флуоресценцию параллельной плоскости возбуждения ("S-канал"). По данным Predictor™ hERG FP Assay получают профили фармакологической безопасности веществ для калиевых каналов hERG (исследование IC<sub>50</sub>).

### Краткое описание метода

Для анализа используется мембранная фракция, содержащая белок hERG-каналов (Predictor hERG Membrane) и обладающая высоким сродством к красному флуоресцентному лиганду канала hERG - трейсеру (Predictor™ hERG Tracer Red). Когда трейсер связан с белком, то производит высокую флуоресцентную поляризацию. Конкуренты (например, E4031 или тестируемые соединения), которые привязываются к белку hERG-каналов, вытесняют трейсер. Освобожденный трейсер мешает выделению депольаризованного света относительно источника возбуждения, поляризация уменьшается. Чем ниже значение поляризации, тем большее сродство имеет конкурент к белку hERG-канала.

**Протокол теста на определение связывания с hERG-каналами сердца**

<b>Набор</b>	Predictor™ hERG Fluorescence Polarization Assay Kit (Invitrogen)
<b>Число повторов</b>	4 повтора для каждой концентрации
<b>Концентрация ДМСО</b>	1%
<b>Метод анализа</b>	Поляризация флуоресценции
<b>Контроли</b>	Негативный контроль ( 0% связывания)- hERGмембраны и трейсер; Позитивный контроль- E4031; Фоновый сигнал (бланк) 1 % ДМСО;
<b>Анализируемые параметры</b>	-% Связывания вещества или IC50; -Поляризация, mP; -Сигнальное окно, ΔmP; -S/N и Z-фактор
<b>Формат</b>	6 соединений + контроль

Подробнее: <https://chemrar.ru/invitro-metabolizm-adme/>По вопросам проведения исследований:  
Кониная Дарья Олеговна  
Менеджер по развитию исследовательских сервисов,  
ООО «НИИ ХимПар»  
E-mail: [konina@chemrar.ru](mailto:konina@chemrar.ru)  
Тел.: +7 (495) 925-30-74 +доб.(521)