

# IL-6 抗体-CdSe/ZnS 量子ドット結合体を用いたバイオセンサーの作製 及び蛍光免疫測定法による評価

## Fabrication of the Biosensor Using IL-6 Antibody-CdSe/ZnS Quantum Dot Conjugate and Evaluation with Fluorescenceimmunoassay

○宇高 光、福田 武司、鎌田 憲彦、鈴木 美穂 (埼玉大院理工)

○Hikari Udaka, Takeshi Fukuda, Norihiko Kamata, Miho Suzuki (Saitama Univ.)

E-mail: s15mp206@mail.saitama-u.ac.jp

(はじめに) 蛍光検出技術は低侵襲・高感度且つ簡便であるため、病気の診断分野での発展が期待されている。そこで、高輝度・長寿命且つシャープな蛍光ピークを示す量子ドット (QD) 蛍光体に着目した。本研究では、CdSe/ZnS QD を用いた Interleukin-6 (IL-6) 抗体の標識化方法の確立及びサンドウィッチ系-マイクロプレート法における免疫測定法 (Quantum Dot Linked ImmunoSorbent Assay : QLISA) による定量分析を検討した。

(実験) Hexanediamine を結合した CdSe/ZnS 量子ドットを精製後、Sulfo-SMCC を反応させた。一方、Dithiothreitol (DTT) を用いて IL-6 モノクローナル抗体のジスルフィド結合を切断し、上記の QD と 1 日反応させた。また DTT を用いた抗体の還元状態は SDS 電気泳動で評価した。次に、IL-6 ポリクローナル抗体をマイクロプレートの表面に固相化した後、IL-6 抗原を固定化した。そして作製した QD 標識化 IL-6 モノクローナル抗体を用いて蛍光検出を行った。

(結果) Fig. 1 にモノクローナル IL-6 抗体の還元剤 (DTT) 濃度依存性を SDS-PAGE で確認した結果を示す。IL-6 抗体が DTT で還元されており、ターゲット分子である半分に切断された抗体 (75 kDa) が最も多く存在するのは、DTT 濃度が 800–1000  $\mu\text{M}$  であった。そこで、1 mM の DTT で還元したモノクローナル IL-6 抗体を QD で標識化して QLISA 法で評価した。Fig. 2 に IL-6 (抗原) 濃度と蛍光強度の関係を示す。ここで縦軸は (抗原有りの蛍光強度 - 抗原無しの蛍光強度) である。5 pg/mL – 500 ng/mL の濃度で蛍光強度の抗原濃度依存性を示した。この結果から CdSe/ZnS QD による IL-6 抗体の標識化に成功し、下限濃度 5 pg/mL と高感度化を実現した。

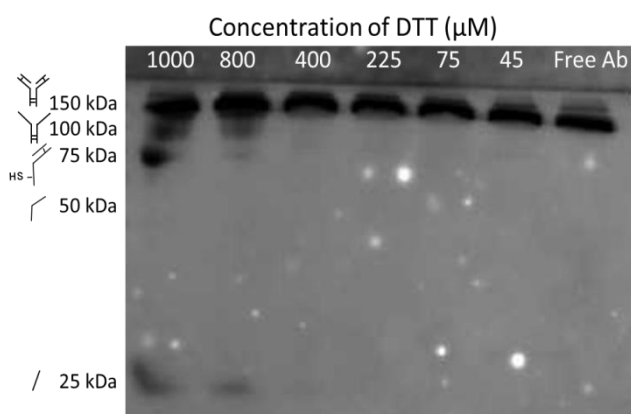


Fig. 1 異なる DTT 濃度で還元した IL-6 抗体の電気泳動結果

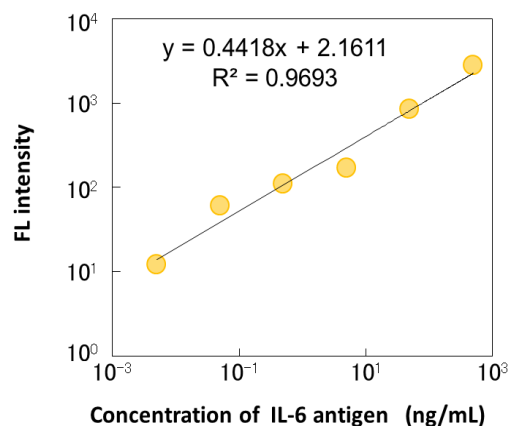


Fig. 2 QLISA 法による QD 標識化モノクローナル抗体による IL-6 検出結果