

共焦点レーザー顕微鏡を用いた抗 CD3 抗体-CdSe/ZnS 量子ドット結合体の生細胞内への導入過程の観察

Observation of Uptake Process of Anti CD3-Antibody-CdSe/ZnS Quantum Dot Conjugate into Live Cells Using Confocal Laser Scanning Microscopy

埼玉大院理工 °宇高 光、福田 武司、鎌田 憲彦、鈴木 美穂

Saitama Univ. °Hikari Udaka, Takeshi Fukuda, Norihiko Kamata, Miho Suzuki

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

(はじめに) 半導体ナノ粒子である量子ドット (QD) は蛍光強度が高く、光安定性にも優れる蛍光材料としてバイオイメージング応用が進められている¹⁾。本研究では QD 表面に部分還元した抗 CD3 抗体を固定化し、生細胞内への自発的な取り込みの様子を共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) にて観察した。生細胞への導入には、T 細胞表面に発現する CD3 と抗 CD3 抗体間の結合を介したエンドサイトーシスを利用した。

(実験) 1,6-Hexanediamine を結合させた CdSe/ZnS QD を精製後、アミノ基及びチオール基と反応する二架橋剤 Sulfo-SMCC を QD 表面のアミノ基と反応させた。次に還元剤 Tris(2-carboxyethyl)phosphine hydrochloride (TCEP-HCl) を用いて得られた抗 CD3 ハーフ抗体のチオール基と上記の QD を 1 日反応させた。

この混合溶液を CD3 陽性 Jurkat 細胞と 0°C、1 h 培養し洗浄後、37°C にて 24h 培養し CLSM にて細胞観察を行った。抗体未修飾 CdSe/ZnS QD にも上記と同様の処理を行った。

(結果) 抗体未修飾の QD と抗 CD3 抗体を結合させた QD の CLSM による観察結果をそれぞれ Fig. 1 (a) 及び 1 (b) に示す。Jurkat 細胞と QD を 0°C で 1 h 培養し洗浄した直後 (0 time) は、QD 及び QD-抗 CD3 抗体結合体の両者から細胞表面で QD 由来の蛍光 (605 nm) が検出された。未修飾 QD でも非特異的な吸着による蛍光が検出されたが、抗体を修飾した QD の方が蛍光強度が高く、高効率に細胞表面に吸着した。一方、24 時間後には細胞内部での蛍光が検出され、QD が細胞表面から内部へ移動していることが確認された。以上のことから部分還元した抗体を用いて生細胞への QD の自発的な取り込み過程を観察することに成功した。

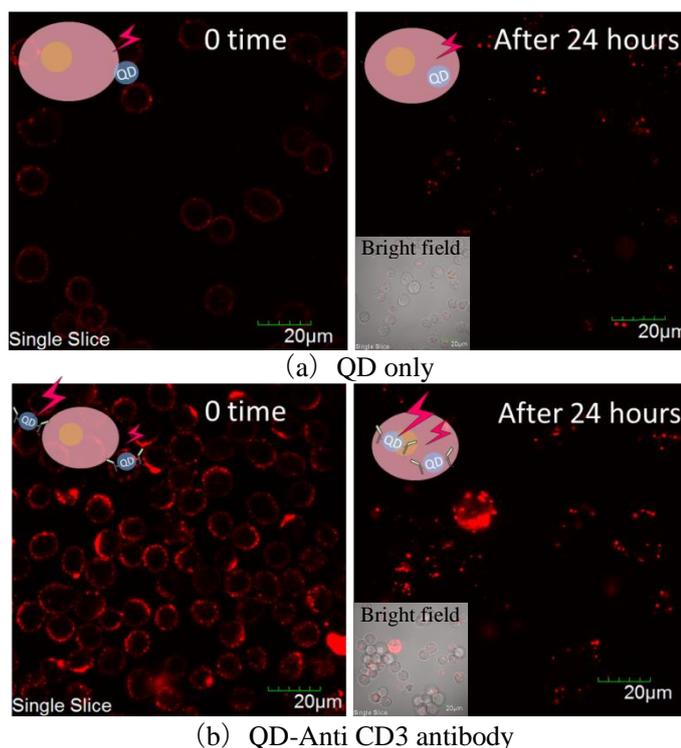


Fig. 1 共焦点レーザー顕微鏡像

一方、24 時間後には細胞内部での蛍光が検出され、QD が細胞表面から内部へ移動していることが確認された。以上のことから部分還元した抗体を用いて生細胞への QD の自発的な取り込み過程を観察することに成功した。

1. T. Fukuda, T. Kurabayashi, N. Funaki, H. Udaka, M. Suzuki, Anal. Sci., vol.32, pp.529-534 (2016).