

フローサイトメトリーを用いた抗 CD3 抗体-CdSe/ZnS 量子ドット結合体の生細胞内への導入効率評価

Evaluation of Uptake Rate of Anti CD3-Antibody-CdSe/ZnS Quantum Dot Conjugate into Live Cells Using Flow Cytometry

○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) 半導体量子ドット (QD) は、光安定性に優れ、広い吸収領域にシャープな発光スペクトルを有する蛍光材料としてバイオイメージングへの応用が進められている。本研究では QD 表面に抗 CD3 抗体を固定化し、生細胞内への自発的取り込み方法を検討した。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、Flow cytometer を用いて導入効率を評価した。

(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 4°C、1 h 培養した。最後に過剰な混合液を除去後、37°C にて 1 日培養し、Flow cytometry (Fig. 1) を行った。抗体未修飾 CdSe/ZnS QD にも上記と同様の処理をした。

(結果) 抗体未修飾の QD と抗 CD3 抗体を結合させた QD の Flow cytometry の結果をそれぞれ Fig. 2 及び 3 に示す。縦軸は QD (Em. 605 nm) 由来の蛍光強度、横軸は細胞の自家蛍光由来の強度、プロットの色が細胞の密度を表す。Jurkat 細胞のみを測定した結果、Area 1 に細胞の自家蛍光が検出された。一方、細胞と抗体未修飾 QD の場合、その領域よりわずかに QD 由来の蛍光強度が高い領域 (Area 2) にピークが見られた (Fig. 2)。これは細胞表面に非特異吸着した QD 由来の蛍光と考えられ、非特異的に細胞内まで取り込まれた割合は 5.3%であった。一方、QD-抗 CD3 抗体結合体を用いた場合には、全細胞中の 68.1%が QD を自発的に取り込んでいることが分かった (Fig. 3)。

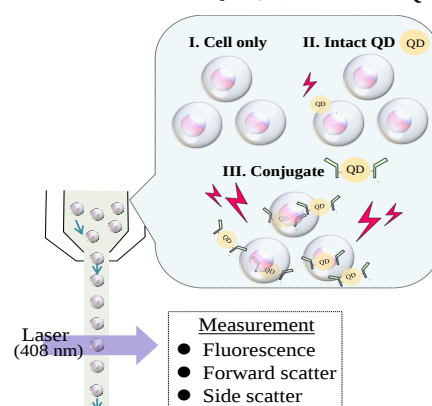


Fig. 1 Flow cytometry 概要図

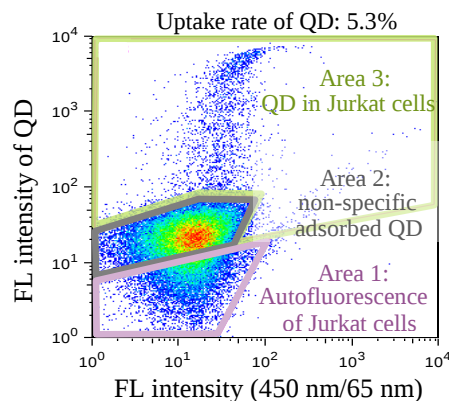


Fig. 2 Jurkat cell+Intact QD

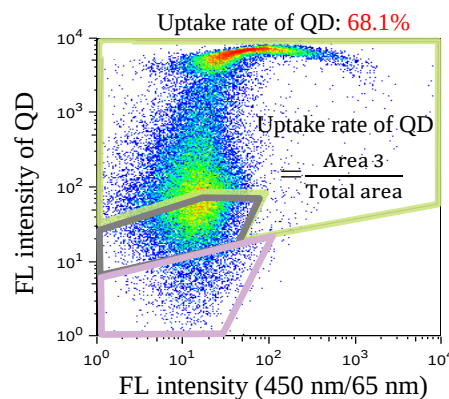


Fig. 3 Jurkat cell+Conjugate