

高速 AFM を用いた還元抗体の CdSe 量子ドット表面修飾過程の動的評価

In Situ Evaluation of Surface Modification of CdSe Quantum Dot with Reduced Antibody Using High-Speed Atomic Force Microscope

埼玉大院理工¹, 大阪大学², 金沢大学バイオ AFM-RFC³, 金沢大学理工⁴, JST-CREST⁵

宇高 光¹, 馬越 貴之², 内橋 貴之^{3,4,5}, 安藤 敏夫^{3,5}, ○福田 武司¹, 鈴木 美穂¹

Saitama Univ.¹, Osaka Univ.², Bio-AFM FRC, Kanazawa Univ.³,

Coll. Sci. & Eng., Kanazawa Univ.⁴, JST-CREST⁵

Hikari Udaka¹, Takayuki Umakoshi², Takayuki Uchihashi^{3,4,5}, Toshio Ando^{3,5}, ○Takeshi Fukuda¹,

Miho Suzuki¹

E-mail: fukuda@fms.saitama-u.ac.jp

(序論) 半導体量子ドット (QD) は蛍光強度が高く、光退色に強い抗体などの機能性タンパク質と組み合わせた生体用蛍光マーカー (標識) として期待されている。しかし、QD や抗体などの複合体の結合状態は応用面で重要な要素であるにも関わらず、QD 表面へのタンパク質固定化の様子を直接観察した例はない。本研究では、部分還元し官能基を露出した抗 CD3 抗体が CdSe/ZnS QD 表面上に固定化される様子を高速 AFM でリアルタイム観察した結果を報告する。

(実験) 1,6-Hexanediamine を結合させた CdSe/ZnS QD を精製後、二架橋剤 Sulfo-SMCC を QD 表面のアミノ基と反応させた。次にマイカ上に 100 万倍希釈した (3-Aminopropyl) triethoxysilane を 2 μ L 滴下後、QD 溶液 (1 nM, 2 μ L) を加えて固定化した。その後、PBS buffer に浸し、抗 CD3 抗体 (5 μ g/mL) を添加した。ここで、還元剤 Tris(2-carboxyethyl) phosphine hydrochloride (TCEP-HCl: 0-5 mM) の濃度依存的に抗体が QD 上に固定化される様子を高速 AFM で観察した。

(結果) TCEP-HCl 濃度が 0 mM の時、基板上的 QD に抗体は結合せず、1 mM では QD に抗体の特異的なアタックが観察されたが、ほとんど結合しなかった。結合に最適な TCEP-HCl 濃度は 5 mM で、QD 表面上に抗体が固定化されていく様子が観察された。AFM 像から解析した結果、濃度 5 mM では QD 1 個当たりに固定化された抗体数は 4.32 ± 1.15 個であり、電気泳動で評価した抗体の還元状態の分子量の結果とも整合性が取れていた。以上、本研究では還元抗体が QD に付着する姿を直接可視化することに初めて成功し、固定化した抗体数も単分子レベルで解析することを合わせて達成した。

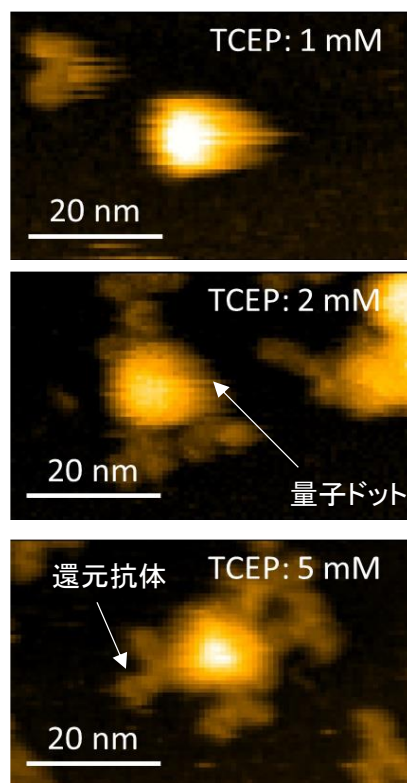


Fig. 1 High-speed AFM images of CdSe/ZnS QD-reduced antibody by TCEP-HCl.