

Ab-Carrier[™] を用いた 各動物種 IgG の HeLa 細胞への導入効率の比較

実験プロトコール

HeLa 細胞を 12-well plate に播種

(1.0 × 10⁵ cell / well; 培地液量 MEM (+10% FBS) 1 mL / well)

↓ 37°C, 5% CO₂ 存在下, 24 時間 培養

FITC 標識 IgG (0.1 mg/mL) 20 μL に Ab-Carrier 1 μL を加え、よく混和

↓ 室温, 20 分間 静置

24 時間培養後の HeLa 細胞に反応液 21 µL / well を添加

→ 37°C, 5% CO₂ 存在下, 4 時間 インキュベーション

培地を除去し、PBS で 1 mL / well × 2 回 洗浄

蛍光顕微鏡観察 (EVOS デジタル倒立顕微鏡;LMS社)

0.25% Trypsin-EDTA 100 µL / well を添加

→ 37°C, 5% CO₂ 存在下, 2 分間 インキュベーション

MEM (+10% FBS) 1 mL を添加

FACS (CYTOMICS FC 500; Beckman社)

表1. 抗体導入活性(FACSにより評価)

上段:抗体が導入された細胞の割合(%) 下段:細胞あたりの抗体導入量

(相対蛍光強度)

ヤギ ポリクローナル IgG	93.2%
	14.0
ウサギ ポリクローナル lgG	92.6%
	17.9
マウス モノクローナル lgG1	81.1%
	3.6
マウス モノクローナル lgG2a	78.1%
	4.8

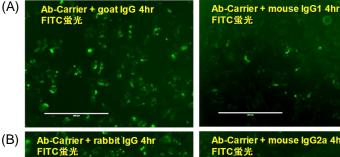


図1. FITC標識抗体導入4時間後の HeLa細胞の蛍光顕微鏡像

- (A) ヤギ ポリクローナル IgG
- (B) ウサギ ポリクローナル IgG
- (C) マウス モノクローナル IgG1
- (D) マウス モノクローナル IgG2a

緑:FITC標識抗体 スケールバー:200µm

(C)

(D)

12-well plate に播種24時間後のHeLa細胞(1.0×10^5 cells / mL)に、抗体トランスフェクション試薬 Ab-Carrier と各種 FITC 標識 IgG (ヤギ、ウサギ、マウス(IgG1, IgG2a))の各ミクスチャーを添加し、4 時間培養後の細胞を蛍光顕微鏡(位相差)により観察した。大部分の細胞内に、導入された抗体の蛍光が観察された(図1)。抗体が導入された細胞の割合(抗体導入率)および、細胞あたりの抗体導入量(相対蛍光強度)は、FACSによって評価した。ヤギ・ウサギIgG は90% 以上、マウス IgG1は80%以上、マウスIgG2aは75%以上とすべての種類で高い抗体導入率を示した。

プロテノバ株式会社

〒769-2604

香川県東かがわ市西村1488番地1 TEL 0879-49-0702 / FAX 0879-49-0703 ホームページ http://protenova.com