

Ab-Carrier™ とGFP抗体を用いた 抗原分子 (GFP) の HeLa 細胞への導入

実験プロトコール

HeLa 細胞を 12-well plate に播種

(1.0×10^5 cell / well; 培地液量 MEM (+10% FBS) 1 mL / well)

↓ 37°C, 5% CO₂ 存在下, 24 時間 培養

GFP 溶液に抗GFP抗体を添加する (抗原抗体複合体形成)

rGFP (0.2mg/mL)	Anti-GFP (0.2mg/mL)	PBS	Total Volume
1 μ L	10 μ L	9 μ L	20 μ L

↓ 室温, 60分間 静置

Ab-Carrier 1 μ L 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 μ L / 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 \times 2 回 洗浄

↓

共焦点レーザー顕微鏡観察

↓

0.25% Trypsin-EDTA 100 μ L / well を添加

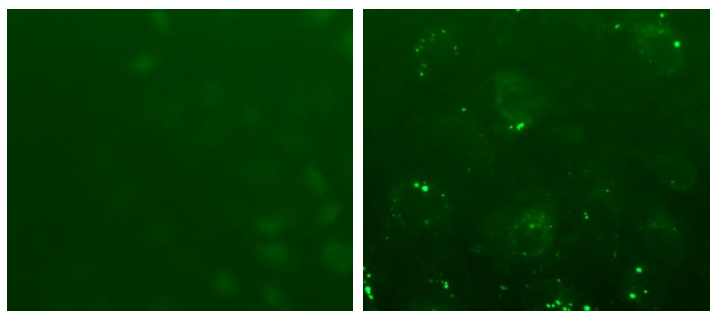
↓ 37°C, 5% CO₂ 存在下, 2 分間 インキュベーション

MEM (+10% FBS) 1 mL を添加

↓

FACS (CYTOMICS FC 500 ; Beckman社)

図1. 共焦点レーザー顕微鏡像



Ab-Carrier (-)

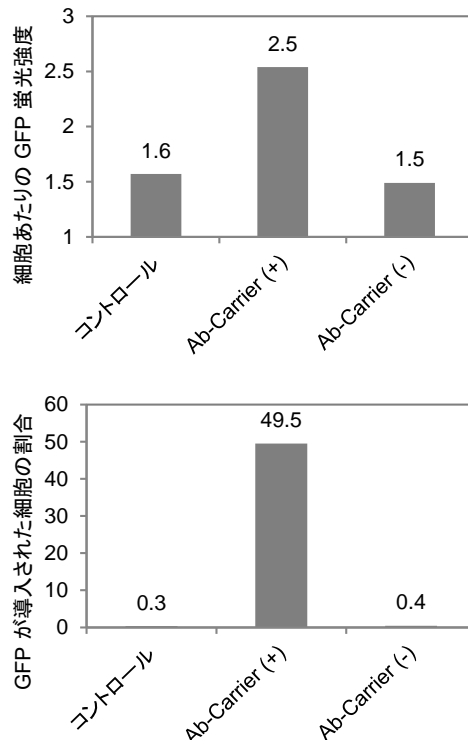
Ab-Carrier (+)

(徳島大学 篠原康雄先生 ご提供データ)

- ・ GFP (抗原タンパク質)
(0.2 mg/mL ; Cat No. MB-0752; フナコシ社)
- ・ 抗GFP抗体 (rabbit polyclonal IgG)
(0.2mg/mL ; Cat No.29779 , フナコシ社)

※脱塩処理により、防腐剤(NaNO₃)を除去し、溶媒をPBSに置換した後に使用。

図2. FACSによる分析結果



GFPと抗GFP抗体(ウサギIgG)を混和し、室温で1時間反応後、反応液にAb-Carrierを添加し、室温で20分間反応させた。反応液を細胞に添加し、37°C、5% CO₂ 存在下で4時間インキュベーション後に、共焦点レーザー顕微鏡による蛍光観察を行った。細胞あたりのGFP 蛍光強度およびGFPが導入された細胞の割合は、FACSにより評価した。抗体とともにGFPが細胞に導入され、細胞内にGFP蛍光が観察された。GFPの細胞内への導入は、FACSによる評価結果からも裏付けられた。これらの結果から、Ab-Carrier は、抗体のみならず、抗原分子も細胞内に導入可能であることが確かめられた。

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>