

半導体量子ドット、その合成法と生命科学への応用



技術解説

神 隆*

Semiconductor quantum dots:
their synthesis and application to bioscience

Key Words : Semiconductor, Quantum dots, Fluorescence,
Synthesis, Bioscience

1. はじめに

半導体量子ドットとは直径が2-10 nm程度の量子井戸構造を有するナノ結晶で、ここ10年間でその合成法および蛍光プローブとしての応用にはめざましい発展があった。現在蛍光プローブとして利用されている代表的な量子ドットは II-V 属の半導体の CdSe や CdTe である。これらの量子ドットは、従来の有機系色素や蛍光蛋白質に比べるとはるかに明るく光退色しにくいいため、細胞あるいは生体での蛍光イメージング用プローブとして非常に優れている。

量子ドットが蛍光イメージング用プローブとして利用できるようになったのは、化学合成にもとづく高輝度量子ドットの大量合成が可能になったおかげである。1993年、MITのBawendiらのグループは、配位性有機化合物を溶媒として有機金属化合物を熱分解させることで高輝度発光の CdS、CdSe、CdTe 量子ドットを得る化学合成法を開発した¹⁾。一般にこの方法で得られる高輝度量子ドットは非常に疎水性が高く、水には溶解しない。水溶化するためには、量子ドット表面を化学修飾して親水性にする必要がある。しかし、コア構造のみの量子ドットでは水溶化すると蛍光が消失してしまう欠点があった。

量子ドットを水溶液系での蛍光プローブとして応

用するには、コア/シェル構造の量子ドットの開発を待たねばならなかった。Guyot-Sionnest²⁾ (1996年) およびBawendi³⁾ (1997年) らのグループによるコア/シェル型 CdSe/ZnS 量子ドットの報告が、水溶性蛍光プローブとしての応用を加速した。翌年には、Alivisatos⁴⁾ およびNie⁵⁾ らのグループがそれぞれ独立に量子ドットの細胞イメージング用蛍光プローブとしての有効性を Science 誌上に報告した。これ以降、蛍光を発する高輝度量子ドットの合成、生命科学分野での応用に関する研究報告は急激に増大している (図1)。本稿では、高輝度量子ドットの合成法、量子ドットを水溶化し蛍光プローブとして応用するための表面修飾法、生命科学分野での応用について概説する。

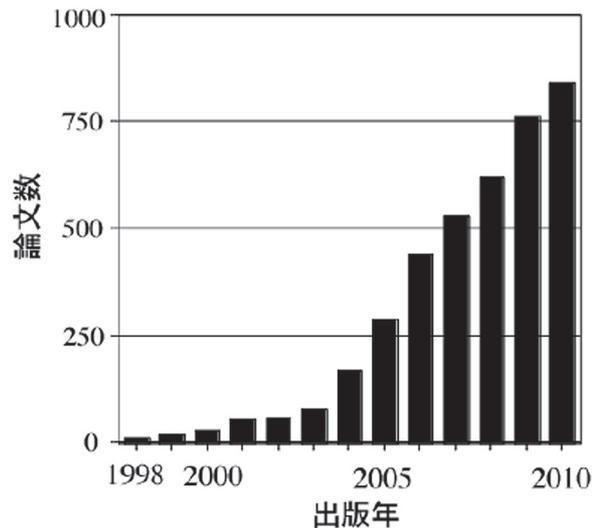


図1. データベース (SciFinder) により、“蛍光”と“量子ドット”をキーワードとして検索した1998年以降論文数の推移。



*Takashi JIN

1960年3月生
北海道大学大学院博士課程化学専攻単位
取得退学 (1988年)
現在、大阪大学免疫学フロンティア研究
センター ナノバイオマテリアル研究室
特任教授 理学博士 ナノバイオマテ
リアル合成

TEL : 06-6879-4425

FAX : 06-6879-4427

E-mail : jin@fbs.osaka-u.ac.jp

2. 半導体量子ドットの光学特性

半導体量子ドットは従来の蛍光色素や蛍光蛋白質

にはない非常にユニークな光学特性（ブロードな吸収とスペクトル幅の狭い蛍光発光）を有している。バイオ系蛍光プローブとして応用する上で特に優れているのが、発光波長のサイズ依存性と抗光退色性である。発光波長は量子ドットの粒径に依存するため、多色蛍光の量子ドットプローブの作製が可能である。また、有機色素等に比べ光励起による退色が起こりにくいため、一分子蛍光測定や長時間での蛍光測定に適している。

半導体量子ドットは 10^2 から 10^4 個の原子から構成されるナノ結晶であり、その電子状態は価電子帯および伝導帯からなるバンド構造を形成している（図2）。価電子帯および伝導帯のエネルギー差はバンドギャップと呼ばれ、基底状態で電子はすべて価電子帯を満たしているが、バンドギャップより大きいエネルギーの光子を吸収すると価電子帯から伝導帯へ電子遷移が起こる。量子ドットではバンドギャップより大きなエネルギーの光ならどんな波長の光でも吸収する。そのため、量子ドットの吸収スペクトルは、非常にブロードになる。荷電子帯には正の電荷をもった正孔がまた伝導帯には励起電子が存在し、電子と正孔とが再結合するとき光子を放出する。これが半導体量子ドットの蛍光である。

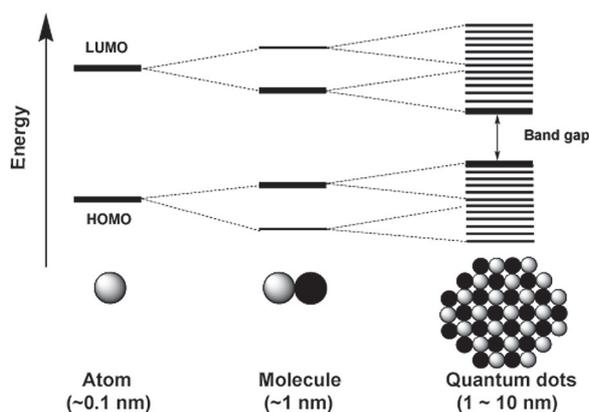


図2. 原子、分子、量子ドットのエネルギー準位の相関を示した模式図 (HOMO: 最高占有分子軌道, LUMO: 最低未占有分子軌道)。

半導体量子ドットのバンドギャップは、ナノ結晶のサイズが大きくなるとともに減少する（量子サイズ効果）。そのため、量子ドットの発光波長は著しいサイズ依存性を示す。図3には量子ドットの蛍光スペクトルを示した。CdSe量子ドットでは、粒径

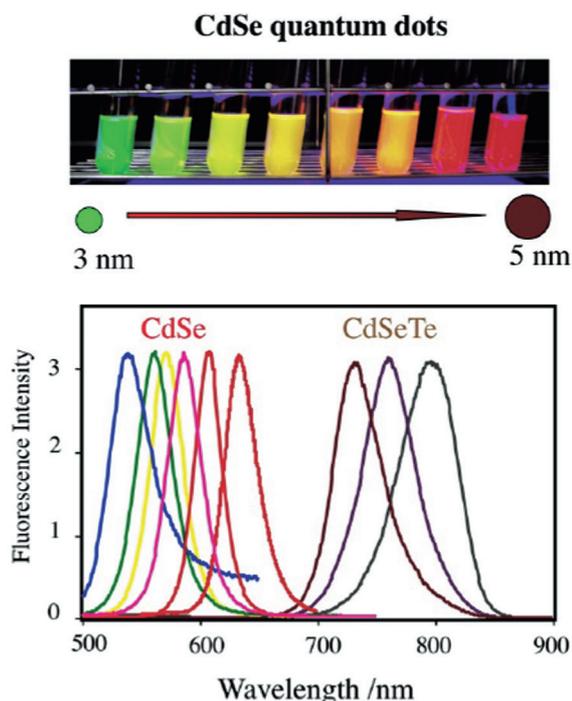


図3. CdSe および CdSeTe 量子ドットの蛍光スペクトル (480 nm 励起)。写真はクロロホルム中での CdSe 量子ドットの蛍光像 (365 nm 励起) である。

を約3 nm から5 nm にまで変えることによって青緑から赤まで発光 (500-650 nm) させることができる。一般に量子ドットの粒径は、合成に用いる有機金属化合物の熱分解反応の温度あるいは反応時間により制御することが可能である。また、量子ドットのバンドギャップは半導体の種類にも依存する。現在では、ZnSe, CdS, CdSe, CdSeTe, PbS, PbSeなどの半導体により可視から近赤外 (400-2000 nm) で発光する量子ドットを合成することができる⁶⁾。

3. 半導体量子ドットの合成法

半導体量子ドットの合成法は、トップダウン法とボトムアップ法の2つに分けられる。トップダウン法とは、バルクの半導体基板に電子ビームリソグラフィや分子線エピタキシー法などを用いて半導体ヘテロ構造を構築し量子ドットを作製する方法である。これまでに GaAs/AlGaAs や ZnTe の II-VI 属量子ドットが作製されている。この作製法では、量子ドットの形、サイズなどのナノ構造の制御が容易である。

ボトムアップ法とは液相でおこなう化学合成法の中で、蛍光プローブ用量子ドットの大量合成が可能である。量子ドットの化学合成法は、大きく分け

て水溶液と有機溶媒中での合成法の2つに分けられる。水溶液中での方法は主に CdTe 量子ドットの合成に用いられている。この方法では、チオール系化合物を保護剤としてカドミニウム塩の水溶液にテルル化水素ナトリウムなどを反応させることによって CdTe 量子ドットを合成する。この方法の利点は、100℃以下の比較的温和な反応条件で水溶性の量子ドットが得られる点にある。しかし、有機溶媒中で合成した場合に比べ、発光スペクトル幅がブロードでなることや水溶液中で凝縮しやすいなどの欠点がある。

高輝度な量子ドットを得るための最も一般的な合成法は、配位性有機溶媒中で有機金属化合物を熱分解する方法である。この方法は1993年 Bawendi らによって CdE (E=S, Se, Te) の量子ドットの合成法としてはじめて報告された¹⁾。この合成法では、配位性有機化合物であるトリオクチルフォスフィン (TOP) やトリオクチルフォスフィンオキシド (TOPO) を溶媒として、ジメチルカドミニウムおよび S, Se, Te の TOP 錯体あるいは有機金属化合物を 300℃の高温で熱分解し量子ドットを合成する。しかし、このような量子ドットでは、表面修飾により水溶化すると蛍光は消失してしまう。そのため水溶液中での蛍光プローブとしては応用できない。この問題を解決したのがコア/シェル型の量子ドット (図4) である^{2,3)}。コア/シェル型の量子ドットでは、バンドギャップの大きい半導体でコア部分を被覆するため、光励起により生成した電子-正孔対 (励起子) はコア内に閉じ込められる。その結果、量子ドット表面での無輻射遷移確率が減少し、発光の量子収率および量子ドットの安定性が増大する。CdSe/ZnS のコア/シェル量子ドットでは現在 50%

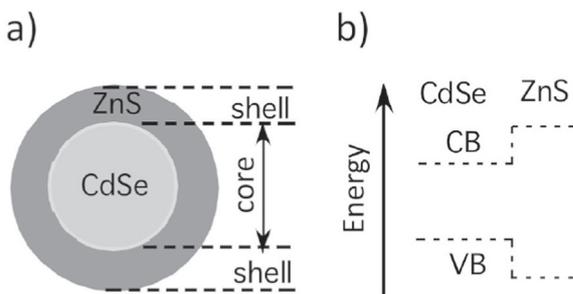


図4. 最も典型的な量子ドットである CdSe/ZnS のコア/シェル構造 (a) とエネルギーダイアグラム (b) の模式図 (CB: 伝導帯, VB: 荷電子帯)。

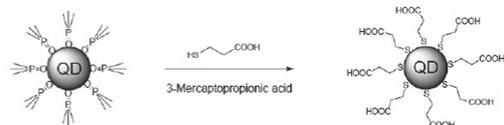
以上の量子収率が達成されている⁷⁾。また CdSe/CdS/ZnS, CdSe/ZnSe/ZnS などのマルチシェル構造をもつ量子ドットではさらに高い量子収率の値が報告されている⁷⁾。

4. 表面修飾による半導体量子ドットの水溶化

配位性有機溶媒中で合成された高輝度量子ドットは、その表面が TOPO や HDA (ヘキサデシルアミン) で被覆されているため、非常に疎水性が高く水へは溶解しない。そのため、量子ドットを水溶化するには、表面修飾をして親水性にする必要がある。その方法には、表面の有機層を両親媒性のチオール化合物などで置換する方法 (配位子置換法) と表面の有機層を残したまま両親媒性ポリマーで被覆する方法 (カプセル化法) の二種類がある。

チオール系化合物などを利用する配位子置換法は、操作が簡便であり比較的粒径の小さな水溶性量子ドットを作製するのに適している。チオール系化合物は疎水性表面 (TOPO 被覆) をもつ量子ドットとテトラヒドロフランなどの有機溶媒中で混合するだけで容易に配位子置換を起こす (図5 (a))。この方法の欠点は、表面修飾による発光の量子収率の低下である。この原因としては、配位子交換に伴う量子ドット表面での格子欠陥の生成が考えられる。たとえば、TOPO 被覆 CdSe 量子ドットをメルカプト酢酸などで配位子交換すると量子ドットの蛍光は完全に消失する。またコア/シェル CdSe/ZnS 量子ドットの場合でも、シェル構造の厚さが十分でない

a) Ligand exchange



b) Encapsulation

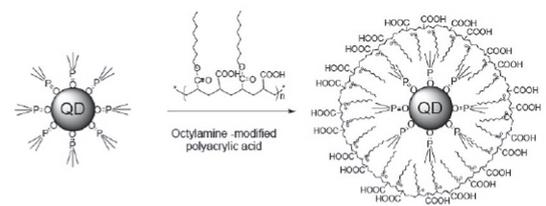


図5. 表面修飾による量子ドットの水溶化法。(a) 配位子置換法 (疎水性の TOPO を 3-メルカプトプロピオン酸などで置換し表面を親水性にする方法)、(b) カプセル化法 (疎水性の量子ドットを両親媒性ポリマーで被覆し表面を親水性にする方法)。

とチオール系化合物で置換した場合著しい蛍光輝度の低下をもたらす。

一方、両親媒性ポリマーによるカプセル化では、配位子置換法とは異なり TOPO などの疎水性有機層を残したまま水溶化するため、蛍光輝度の著しい低下は起こらない。しかし、分子量の大きい両親媒性ポリマーで表面修飾するため生成した水溶性量子ドットの粒径が大きくなる。Invitrogen から市販されている CdSe/ZnS 量子ドットの場合、ポリアクリルアミン系の両親媒性ポリマーで被覆されており非常に高輝度ではあるが、粒径は 15nm 程度の大さきになっている。図 5 (b) には、ポリアクリルアミン系の両親媒性ポリマーを使った量子ドットの水溶化法を示した。この方法では、まずクロロホルムなどの有機溶媒に疎水性の量子ドットと両親媒性ポリマーを溶解させる。次に減圧下で溶媒を蒸発させた後、水あるいは緩衝液を加え両親媒性ポリマーにより被覆された水溶性の量子ドットを得る。配位子交換反応とは異なり、両親媒性ポリマーによる表面被覆では得られる水溶性量子ドットの粒子径分布が広がるため、ゲル濾過や超遠心などで精製する必要がある。これまで様々な配位子置換法、カプセル化法が量子ドットの水溶化に用いられているが、被覆剤の調整法、水溶化の簡便さ、得られる水溶性量子ドットの輝度や安定性、精製法などにおいて長所短所がある。

配位子置換あるいはカプセル化法によって量子ドットを水溶化するための表面修飾剤には、市販品として入手容易なものから合成が必要なものまで数十種類が報告されている。その中には合成化合物であるチオールやポリエチレンジアミン、天然物由来のペプチド、糖鎖、リン脂質など様々なタイプのものがある。量子ドットを生体で応用するためには、当然ながら毒性のない表面修飾剤が望ましい。ここでは、我々が開発したグルタチオン (GSH) を被覆剤とした量子ドットの表面修飾法^{8,11)}を紹介する (図 6)。グルタチオンは分子内に 1 つのチオール基を有する天然のトリペプチドであり、人工的なチオール化合物のように毒性や腐食性をもたない。そもそもグルタチオンは生体内には mM レベルで存在しており、非常に生体親和性の高い化合物である。またグルタチオンは入手が容易であり価格も安い。グルタチオンは、TOPO あるいは HDA で被覆された量子ドッ

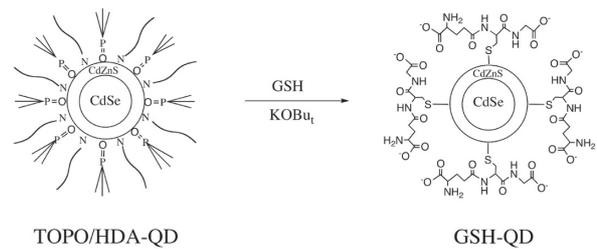


図 6. グルタチオン (還元型, GSH) を用いた配位子置換法による量子ドットの表面修飾。カリウムブトキシド (KOBu₄) は、グルタチオンのカルボン酸の脱プロトン化剤として用いている。

ととテトラヒドロフラン中で混合するだけで容易に配位子置換を起こす。量子ドットの表面がグルタチオンで置換されるとテトラヒドロフランには溶解しなくなり沈殿を生ずる。この沈殿物を遠心により分離し、カリウムブトキシドを脱プロトン化剤として加えると水へ溶解する。過剰なカリウムブトキシドは PBS 緩衝液を用いて透析により除去すればよい。こうして得られたグルタチオン被覆水溶性量子ドットは、表面にカルボキシル基とアミノ基が露出しているため抗体やペプチドなどの生体分子を容易に結合させることができる。

5. 量子ドットへの生体分子修飾法

量子ドットは、有機蛍光色素や蛍光蛋白質などに比べ非常に高輝度でかつ励起光による退色が起こりにくい。そのため長時間での高感度な蛍光観察が可能である。また、1 波長で励起して多色蛍光で観測することも容易であり、量子ドットへ抗体やレセプターに対するリガンドを修飾することにより、マルチカラー蛍光プローブの開発が可能である。図 7 には、グルタチオン被覆量子ドットへのモノクロナール HER2 抗体 (IgG) の修飾法について 3 種類の反応スキームを示した。HER2 とは、ヒト上皮細胞増殖因子の受容体と類似の構造を持つ癌遺伝子の一つである Human Epidermal Growth Factor Type 2 (ヒト上皮細胞増殖因子受容体 2 型) の略であり、転移性乳癌細胞の 20 - 30% に HER2 受容体が過剰発現していることが知られている。

量子ドット表面にはカルボキシル基およびアミノ基が露出しているため様々なカップリング反応が利用でき、a) EDC/sulfo-NHS, b) iminothiolane/sulfo-SMCC, c) sulfo-SMCC のカップリング試薬を使用した抗体の修飾法を示している。最初の

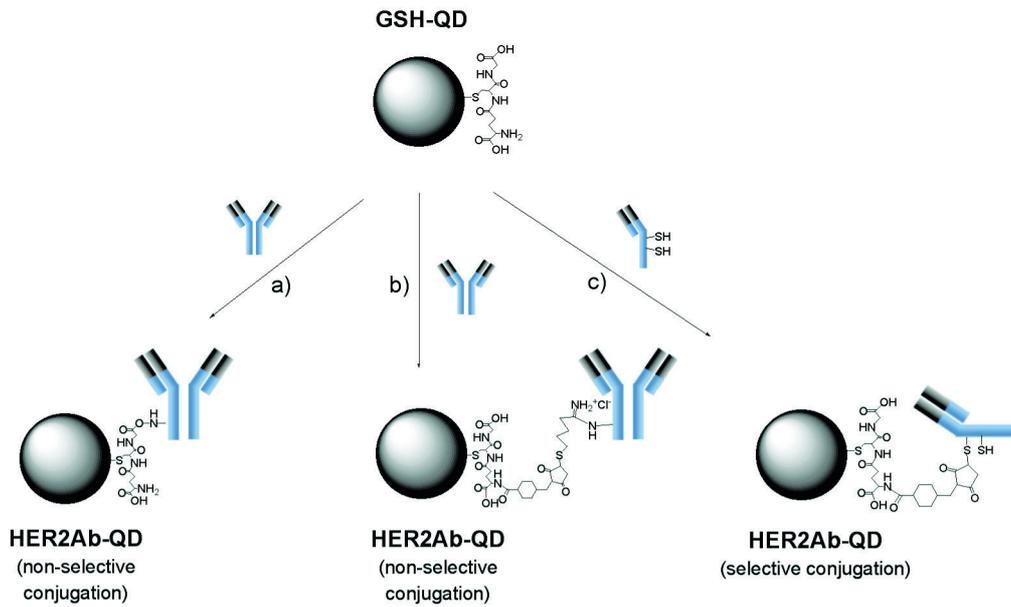


図7. グルタチオン被覆量子ドット (GSH-QD) 表面への抗 HER2 抗体修飾法。
a) EDC/sulfo-NHS, b) iminothiolane/sulfo-SMCC, c) sulfo-SMCC カップリング。

EDC/sulfo-NHS カップリングは、最も一般的に用いられる方法で、量子ドット表面のカルボキシル基を活性化し抗体のアミノ基と結合させる。2番目の iminothiolane/sulfo-SMCC では、まず抗体のアミノ基に iminothiolane を反応させ、抗体-iminothiolane 誘導体の SH 基と sulfo-SMCC で活性化された量子ドット表面のアミノ基を結合させる。これら2つの抗体修飾法は、量子ドットと抗体のアミノ基との非特異的な結合である。3番目は、DTT還元した抗体の SH 基と sulfo-SMCC で活性化されたアミノ基を結合させる方法である。この方法では、前者2つの方法に比べ抗体の抗原認識部位がカップリング反応によりブロックされないため抗体活性が維持される

と考えられる。図8には、この方法で作製した HER2 抗体修飾量子ドットによるヒト乳癌細胞 (KPL4)¹²⁾ の蛍光イメージングを示した。この細胞株では細胞膜上に HER2 受容体が過剰発現しており、数 nM 程度の抗体修飾量子ドットによって癌細胞が検出できる。HER2 受容体の発現量の低い HeLa 細胞では、抗体修飾量子ドットによる特異的結合は確認できなかった。

6. デュアルモーダル量子ドット

生体での蛍光イメージングにおいては、MRI (核磁気共鳴画像法) や PET (陽電子断層撮影法) と異なり3次元情報が得られない。生体ではプローブから発せられる蛍光は組織の中で多重散乱されるため蛍光イメージングの画像から位置情報を得るのは困難である。また、生体内には様々な内在性色素が存在し蛍光の再吸収がおこるため、観測された蛍光強度からターゲットとする生体分子の絶対的な濃度を評価することも難しい。蛍光イメージングにおけるこれらの欠点を補うためには、MRI や PET での同時測定も可能なマルチモーダル量子ドットが望ましい。MRI では、造影剤として鉄やガドリニウムなどの常磁性イオンが使われる。また、PET では陽電子崩壊する放射性核種が使われる。我々は、ガドリニウム錯体を近赤外発光の量子ドット表面に修

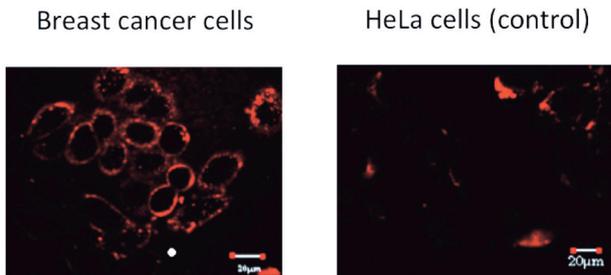


図8. 抗 HER2 抗体修飾量子ドット (650 nm) によるヒト乳がん細胞 (KPL4) の蛍光イメージング。KPL4 細胞では、細胞表面に HER2 受容体が過剰発現しているため細胞膜が染色される。一方、コントロールである HeLa 細胞では HER2 受容体の発現量は KPL4 細胞に比べ格段に少ない。

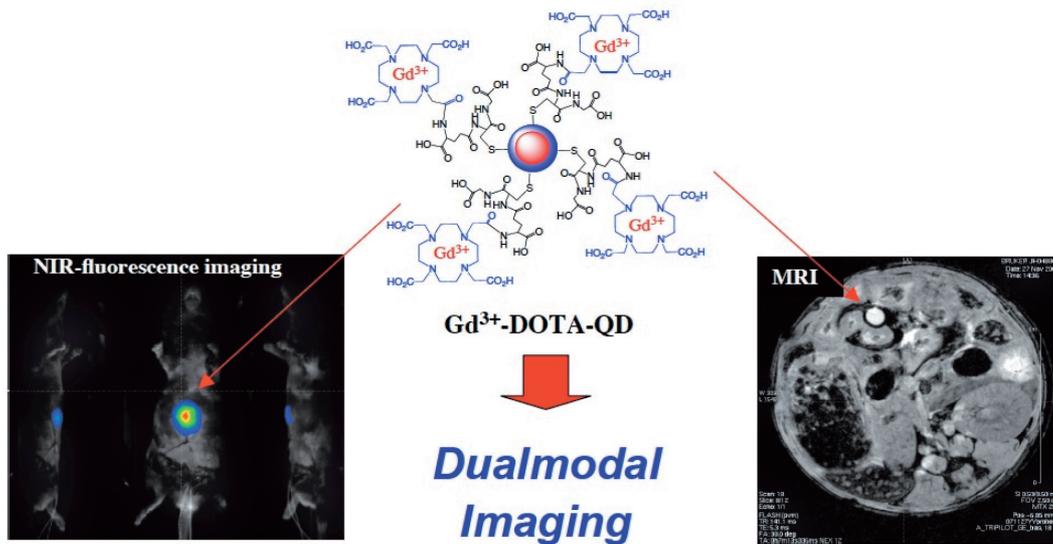


図9. ガドリニウム修飾 CdSeTe/CdS 近赤外量子ドットによる近赤外蛍光と MRI のデュアルイメージング。マウス腹腔に $10\mu\text{M}$ の量子ドットを含むファントム (直径 1.5mm ポリエチレンチューブ) を挿入した。

飾して、生体イメージング用のデュアルモード量子ドットを開発した¹³⁾。

デュアルモード量子ドットは、約 800 nm に蛍光ピークをもち、695 nm で励起した場合の蛍光輝度は、最も一般的な有機系の近赤外発光色素である ICG (インドシアニングリーン) にくらべ数十倍高い。同時に、 T_1 および T_2 強調 MRI 画像において高感度な造影機能を示す。図9には、デュアルモード近赤外発光量子ドットを用いてマウスでおこなった近赤外蛍光/MRI イメージングの結果を示した。

7. 量子ドットの生体光イメージングにおける応用

量子ドットを従来の有機蛍光色素と比べたときの最も優れた点は近赤外領域での高輝度発光である。波長で 800 nm 以上になると、高輝度に近赤外蛍光を発する水溶性有機系色素はほとんどない。インドシアニンググリーン (ICG) では水中での量子収率はわずか 1-2% 程度である。シアニン系の近赤外有機蛍光色素は共役系が長いため、一般に水での溶解性・安定性は高くない。一方、近赤外量子ドットは有機色素にくらべて格段に輝度が高く、水溶化した場合の溶解性も十分高い。我々は、グルタチオン被覆の水溶性 CdSeTe/CdS 量子ドット (発光波長 800-900nm) で 20-40% に量子収率を実現している¹⁴⁾。このような高輝度発光近赤外量子ドットは、生体レ

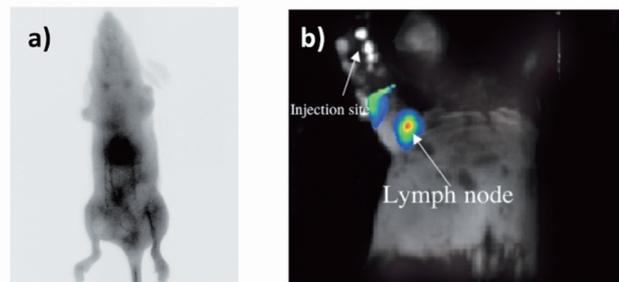


図10. 近赤外量子ドット (CdSeTe/CdS) によるマウスの血管造影 (a) およびマウス上肢のリンパ節イメージング。

ベルでの蛍光イメージングの光造影剤として優れた特性を示す。図10 (a) は、ヌードマウスの尾静脈から $1\mu\text{M}$ の濃度の PEG 修飾量子ドット $100\mu\text{L}$ 注入して取得した血管造影像である。黒い部分は、量子ドットによる近赤外蛍光を示しており、肝臓及び肝門脈などの血管が明瞭に確認できる。図10 (b) は、C57BL/6J マウスにおける上肢リンパ節の近赤外蛍光像である。これも同程度の量を注入して取得した。量子ドットは注入箇所から上肢リンパ節に移動し、リンパ節の場所は非侵襲的に確認できる。マウスでの血管造影およびリンパ節の近赤外蛍光イメージングの結果は、近赤外量子ドットが小動物レベルでは生体蛍光イメージングで、実用可能な光造影剤であることを示している。

最後に量子ドットを用いた生体イメージングの興味深い例としてヌードマウスにおける乳がん腫瘍の

近赤外蛍光検出を示す。乳がんのモデルマウスは、ヒト乳がん KPL-4 細胞の 10^7 個を 5 週令のメス BALB/c マウスの第 1 乳房に移植して作製した。大きさが 5 mm 程度の腫瘍ができるまでには 1-2 週間を要する。近赤外量子ドット (CdSeTe/CdS) をヒト乳がん KPL-4 細胞に集積させるため、量子ドット表面には抗 HER2 抗体 (ハーセプチン) を結合させている。図 11 には抗 HER2 抗体修飾近赤外量子ドットをマウス尾静脈から注入して 5 分後の明視野像と近赤外蛍光像を示している。蛍光画像でもっとも輝度の高い部分は肝臓である。尾静脈から注入した量子ドットは心臓、肺を通過し 1 分以内で肝臓に集積する。このような肝臓への集積は ICG のような有機色素でも同様であり、肝臓のクッパー細胞による貪食が関係している。一方、乳がん腫瘍部分の蛍光輝度は、その周辺部位にくらべ明らかに高くなっており、明視野像と比較すると腫瘍部分に量子ドットが集積していることは明瞭である。生体透過性のよい近赤外光といえども生体深部での癌の検出となると組織による散乱や吸収があるため表面に出てくる光の量はいちじるしく減少する。近赤外量子ドットを用いた蛍光イメージングは生体の比較的表面にある乳がんなどの検出には非常に有効であると考えられる。

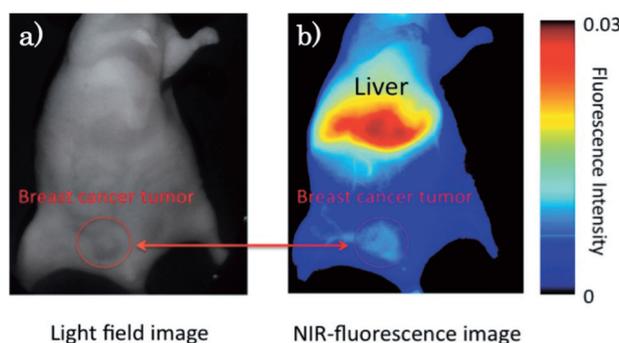


図 11. 抗 HER2 抗体修飾近赤外量子ドットによる乳がん腫瘍のイメージング。
a) 明視野像、b) 近赤外蛍光像 (励起波長: 730 nm)。
蛍光像はマウス尾静脈から $100 \mu\text{L}$ の量子ドット ($1 \mu\text{M}$) を注入後 5 分経過したときの画像である。

8. おわりに

ここ 10 年で量子ドットの合成、応用研究にはめざましい発展があった。しかし、いまだ量子ドットの合成では、重要な課題が残されている。1 つは、高輝度でサイズが小さくてブリンキング (一分子レ

ベルで観測される蛍光の点滅減少) のない量子ドットの開発である。量子ドットのブリンキングは 1 分子レベルで蛍光検出するとき障害となる。様々な生体反応を 1 分子レベルで研究するためには、ブリンキングがなくなるべく小さいマルチカラーの量子ドットプローブが求められる。もう 1 つの課題は、近赤外波長領域 900-1500 nm で高輝度に発光する近赤外量子ドットの合成法の開発と生体イメージングへの応用である。この波長領域は、“第 2 の生体の光学窓” とよばれ、生体の光イメージングにおいて飛躍的な高感度化をもたらすと期待されている。その理由はこの波長領域では、自家蛍光および組織による吸収・散乱が著しく改善されるからである。今後近赤外量子ドットの重要性は、生体蛍光イメージング分野で増々高まるものと考えられる。その他にも、ケージド量子ドットや膜電位、pH、酸素分圧などの外部環境¹¹⁾ に応答する多様な量子ドットプローブの開発が課題としてあげられる。このような高機能化をベースにして、今後 10 年で量子ドットが生体蛍光イメージング用造影剤として実用化されることを期待したい。

References

- 1) Murray, C. B., D. J. Norris and M. G. Bawendi: “Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = S, Se, Te) semiconductor nanocrystallites”, *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 8706-8715 (1993)
- 2) Hines, M. A. and P. Guyot-Sionnest: “Synthesis and characterization of strongly luminescing ZnS-capped CdSe nanocrystals”, *J. Phys. Chem.* **100**, 468-471 (1996)
- 3) Dabbousi, B. O., J. Rodriguez-Viejo, F. V. Mikulec, J. R. Heine, H. Mattoussi, R. Ober, K. F. Jensen and M. G. Bawendi: “(CdSe) ZnS core-shell quantum dots: synthesis and characterization of a size series of highly luminescent nanocrystallites”, *J. Phys. Chem. B.* **101**, 9463-9475 (1997)
- 4) Bruchez, Jr. M., M. Moronne, P. Gin, S. Weiss and A. P. Alivisatos: “Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels”, *Science*, **281**, 2013-2016 (1998)

- 5) Chan, W. C. W. and S. Nie: "Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection", *Science*, **281**, 2016-2018 (1998)
- 6) Medintz, I. L., T. Uyeda, E. R. Goldman and H. Mattoussi: "Quantum dot bioconjugates for imaging, labeling and sensing", *Nat. Mater.* **4**, 435-446 (2005)
- 7) Talapin, D. V., I. Merkis, S. Götzinger, A. Kornowski, O. Benson and H. Weller: "CdSe/CdS/ZnS and CdSe/ZnSe/ZnS core-shell-shell nanocrystals", *J. Phys. Chem. B.*, **108**, 18826-18831 (2004)
- 8) Tiwari, D. K., S.-I. Tanaka, Y. Inouye, K. Yoshizawa, T. M. Watanabe and T. Jin: "Synthesis and characterization of anti-HER2 antibody conjugated CdSe/CdZnS quantum dots for fluorescence imaging of breast cancer cells", *Sensors*, **9**, 9332-9354 (2009)
- 9) Liu, W., H. S. Choi, J. P. Zimmer, E. Tanaka, J. V. Frangioni, and M. Bawendi: "Compact cystein-coated CdSe(ZnCdS) quantum dots for in vivo applications", *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 14530-14531 (2007)
- 10) Qu, L. and X. Peng: "Control of photoluminescence properties of CdSe nanocrystals in growth", *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 2049-2055 (2002)
- 11) Jin, T., A. Sasaki, M. Kinjo and J. Miyazaki: "A quantum dot-based ratiometric pH sensor", *Chem. Commun.*, **46**, 2408-2410 (2010)
- 12) Kurebayashi, J., T. Otsuki and C. K. Tang: "Isolation and characterization of a new human breast cancer cells, KPL-4, expressing the Erb B family receptors and interleukin-6", *Br. J. cancer*, **79**, 707-717 (1998)
- 13) Jin, T., Y. Yoshioka, F. Fujii, Y. Komai, J. Seki and A. Seiyama: "Gd³⁺-functionalized near-infrared quantum dots for in vivo dual modal (fluorescence / magnetic resonance) imaging", *Chem. Commun.*, 5764-5766 (2008)
- 14) Jin, T., F. Fujii, Y. Komai, J. Seki, A. Seiyama and Y. Yoshioka: "Preparation and characterization of highly fluorescent, glutathione-coated near infrared quantum dots for in vivo fluorescence imaging", *Int. J. Mol. Sci.*, **9**, 2044-2061 (2008)

