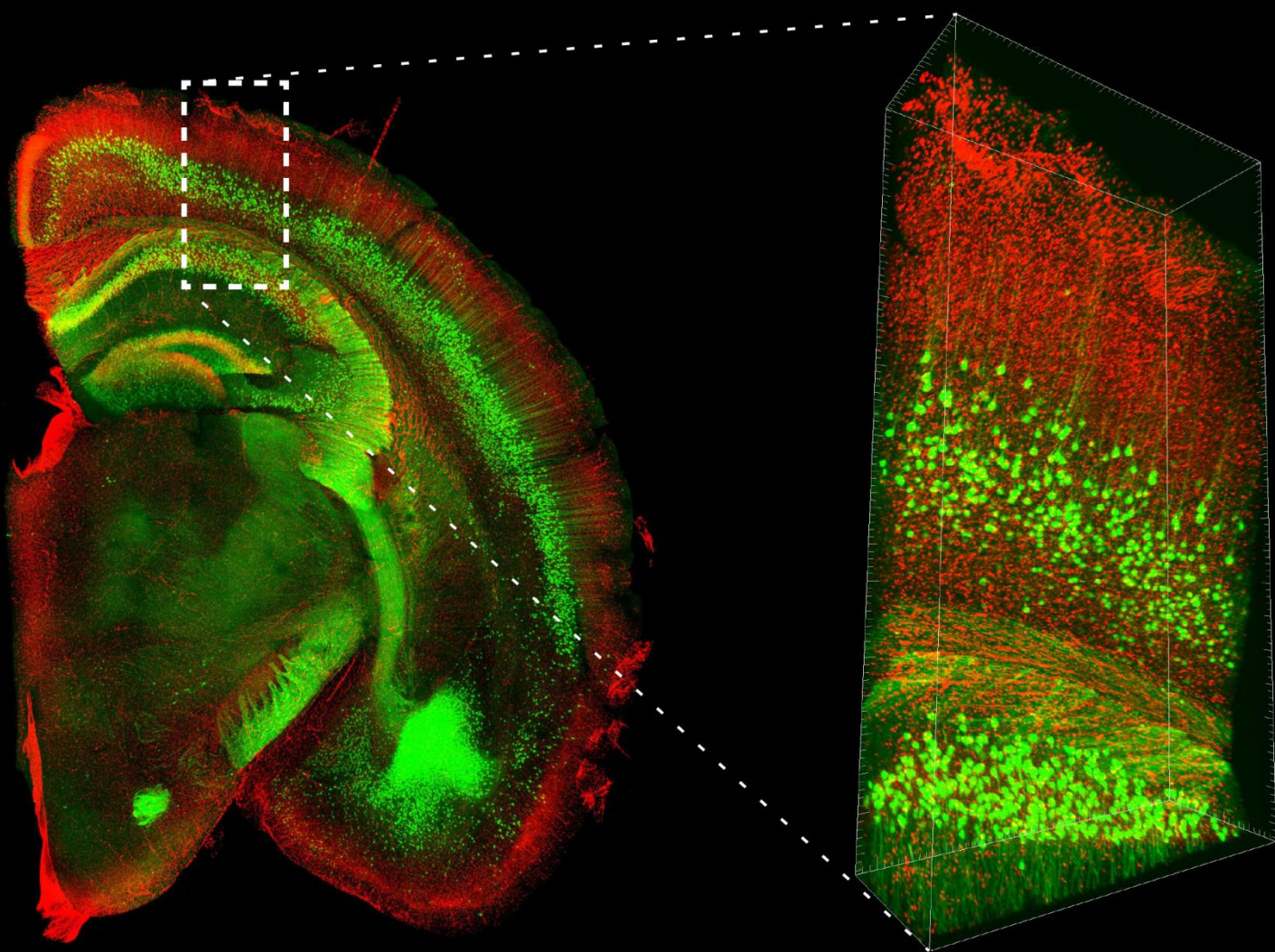


組織透明化試薬

脳科学を革新する光学的アプローチ

SCALEVIEW[®]-S



データ提供元:

国立研究開発法人理化学研究所

脳神経科学研究センター細胞機能探索技術研究チーム / 光量子工学研究センター生命光学技術研究チーム

濱裕先生、星田哲志先生、宮脇敦史先生

協力: オリンパス株式会社

SCALEVIEW®-S 概略

ScaleS技術は、尿素とソルビトールを主成分とする組織透明化試薬群から構成されます。当技術を開発した理化学研究所の脳神経科学研究センターおよび光量子工学研究センターはさらなる改良を行い、優れた透明化能力と微細構造や蛍光シグナルを保持する能力を併せ持つバージョンを作製しました。当社は理化学研究所よりライセンスを受け、これら成果物をセット化し、このたびSCALEVIEW®-Sの製品化に至りました。SCALEVIEW®-Sは、蛍光タンパク質を含む生体標本を透明化するだけでなく、分厚い標本を抗体や蛍光色素で標識する工程にも威力を発揮し、とくに脳組織病理標本の解析ツールとして活躍することが期待されます。

SCALEVIEW®-S 組織透明化プロトコル例 (マウス脳半球由来の1-2 mm厚スライスの場合)

*マウス脳半球由来の1-2 mm厚スライスの場合、試薬使用量目安は下記になります。透明化処理及びマウンティング:5 ml。

	固定	透明化処理						観察	
	灌流固定 + 固定 4%PFA/PBS(-) [pH7.6-7.8]	透明化処理1. SCALEVIEW®-S0	透明化処理2. SCALEVIEW®-S1	透明化処理3. SCALEVIEW®-S2	透明化処理4. SCALEVIEW®-S3	洗浄 deScale Solution	透明化処理5. SCALEVIEW®-S4	透明化処理6. SCALEVIEW®-SMT	マウンティング SCALEVIEW®-SMT 蓋溜
処理温度	4℃	37℃	37℃	37℃	37℃	4℃	37℃	37℃	RT
処理時間	灌流固定 + 3days	30 min	30 min	30 min	30 min	3 hrs×2	12 ~ 24 hrs	1 hr	

*組織透明化プロトコルにおいてはサンプルサイズにより、使用する試薬量、処理時間が変わるので注意が必要です。また、サンプルはできるかぎり灌流固定後に摘出・再固定してください。

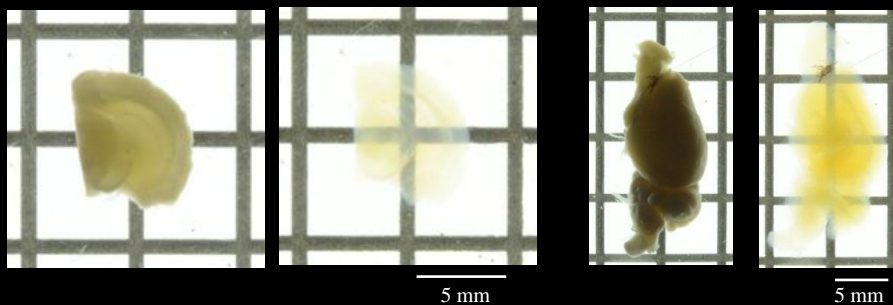


図1. SCALEVIEW®-Sを用いたマウス脳の透明化例

左から順に、マウス脳スライス(1 mm厚)のSCALEVIEW®-S処理前後、マウス脳半球のSCALEVIEW®-S処理前後

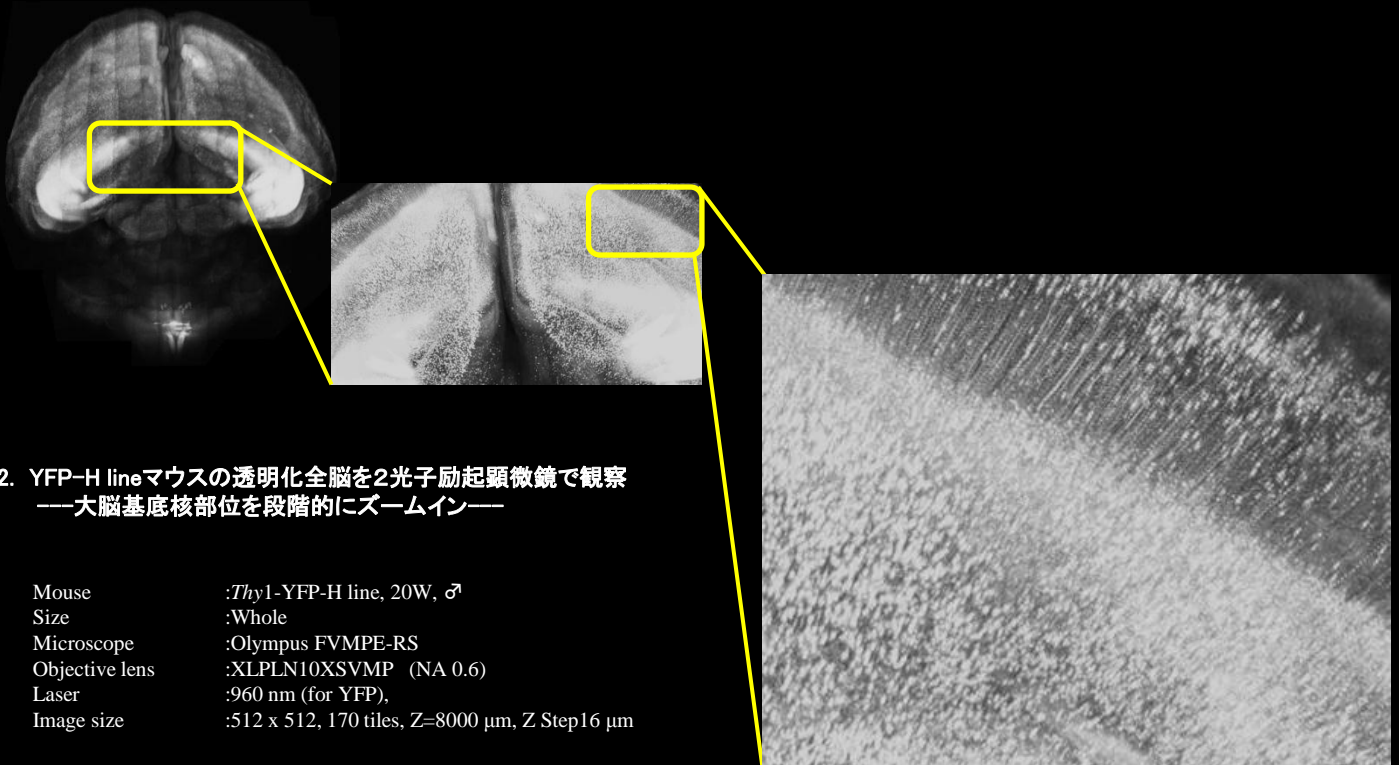


図2. YFP-H lineマウスの透明化全脳を2光子励起顕微鏡で観察
——大脳基底核部位を段階的にズームイン——

Mouse :Thy1-YFP-H line, 20W, ♂
Size :Whole
Microscope :Olympus FVMPE-RS
Objective lens :XLPLN10XSVM (NA 0.6)
Laser :960 nm (for YFP),
Image size :512 x 512, 170 tiles, Z=8000 μm, Z Step 16 μm

免疫組織染色: AbScale プロトコル

*マウス脳半球由来の1-2 mm厚スライスの場合、試薬使用量目安は下記になります。
前処理は各試薬:10 ml、抗体染色:1.5 ml、透明化:10 ml、マウンティング:10 ml。

	固定	前処理					抗体染色		
	灌流固定 + 固定 4%PFA/PBS(-) [pH7.6-7.8]	前処理1. SCALEVIEW®-S0	透過処理1 SCALEVIEW®-A2	透過処理2 8M Urea Solution	透過処理3 SCALEVIEW®-A2	洗浄 deScale Solution	ブロッキング 1% Blocking Reagent(Roche)/PBS(-)	抗体染色 例: 標識Iba1抗体 /AbScale Solution	洗浄 AbScale Solution
処理温度	4℃	37℃	37℃	37℃	37℃	4℃	RT	37℃	RT
処理時間	灌流固定 + 3days	4 hrs	4 hrs	12 hrs	4 hrs	6 hrs	2 hrs	> 1 day	2 hrs x 1, 1 hr x 1
		抗体染色	透明化	観察					
	再固定 4%PFA/PBS(-) [pH7.6-7.8]	洗浄 deScale Solution	透明化 SCALEVIEW®-S4	マウンティング SCALEVIEW®-S4					
	4℃	4℃	37℃	RT					
	1 hr	6 hrs	6 - 8hrs						

*AbScale Solution:0.33 M 尿素、0.1%(wt/vol) Triton X-100を含むPBS(-)溶液

Iba1 (RF635: Green) Amyloid-β (Alexa Fluor 488: Red) Tomato lectin (Texas Red: Blue)

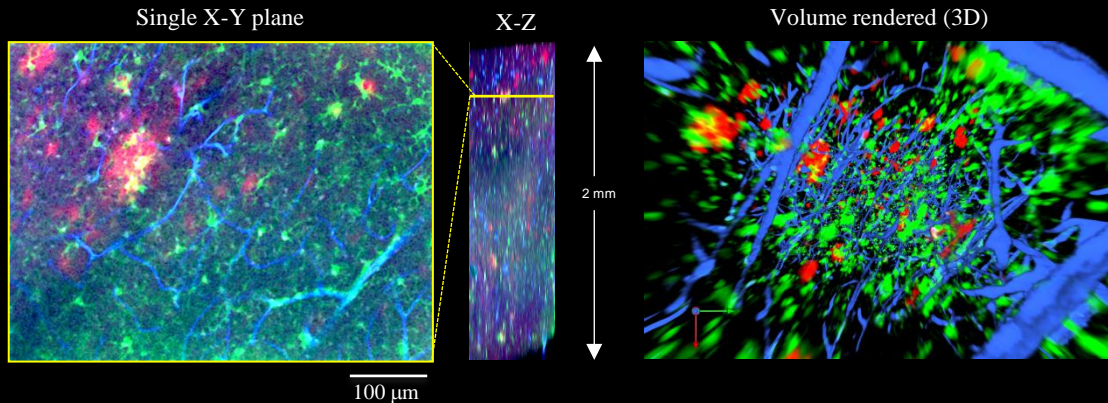


図3. アルツハイマーモデルマウス(17ヶ月齢)脳スライス(2 mm厚)のAbScale法による免疫組織染色画像例

Microscope (CLSM) :Olympus FV1200
Objective lens :XLPLN10XSVM (NA 0.60)

蛍光色素染色: ChemScale プロトコル

*マウス脳半球由来の1-2 mm厚スライスの場合、試薬使用量目安は下記になります。
前処理は各試薬:10 ml、蛍光色素染色:8 ml、洗浄:10 ml、透明化:10 ml。

	固定	前処理					蛍光色素染色		
	灌流固定 + 固定 4%PFA/PBS(-) [pH7.6-7.8]	前処理1. SCALEVIEW®-S0	透過処理1 SCALEVIEW®-A2	透過処理2 8M Urea Solution	透過処理3 SCALEVIEW®-A2	洗浄 deScale Solution	蛍光染色 例:DAPI(500nM), PI(1μg/ml)/SCALEVIEW®-A2	洗浄 SCALEVIEW®-A2	洗浄 deScale Solution
処理温度	4℃	37℃	37℃	37℃	37℃	4℃	37℃	37℃	4℃
処理時間	灌流固定 + 3days	4 hrs	4 hrs	12 hrs	4 hrs	6 hrs	6 - 8 hrs	2 hrs x 1, 1 hr x 1	3 hrs
		透明化	観察						
		透明化 SCALEVIEW®-S4	マウンティング SCALEVIEW®-S4						
		37℃	RT						
		6 - 8hrs							

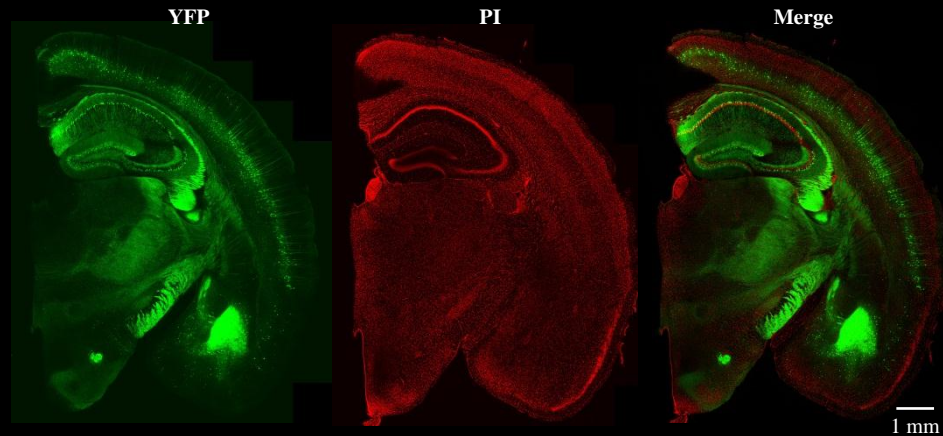


図4. ChemScale処理(PI染色)したYFP-H lineマウスの脳半球スライス(2 mm厚)を共焦点レーザー走査型顕微鏡(倒立)を用いて観察

Mouse :Thy1-YFP-H line, 42W, ♂
Size :Coronal Slice (2 mm)
Microscope (CLSM) :Olympus FV3000 (Inverted)
Objective lens :UPLSAPO10x2 (NA 0.40)
Laser :488 nm (for YFP), 561 nm (for PI)

SCALEVIEW®-S Neurosphereの観察例

*Neurosphereの場合、試薬使用量目安は下記になります。
前処理および透明化は各試薬:1.2 ml。
抗体染色は、AbScaleプロトコルに基づきます。

	前処理						抗体染色		
	固定	前処理1	透過処理1	透過処理2	透過処理3	洗浄	ブロッキング	抗体染色	洗浄
	固定 4%PFA/PBS(-) [pH7.6-7.8]	SCALEVIEW®-S0	SCALEVIEW®-A2	8M Urea Solution	SCALEVIEW®-A2	deScale Solution	1% Blocking Reagent(Roche)/PBS(-)	例: 細胞Iba1抗体 /AbScale Solution	AbScale Solution
処理温度	RT	37℃	37℃	37℃	37℃	4℃	RT	37℃	RT
処理時間	1 hr	4 hrs	4 hrs	12 hrs	4 hrs	6 hrs	2 hrs	> 1 day	2 hrs×1, 1 hr×1
	抗体染色		透明化		観察				
	再固定 4%PFA/PBS(-) [pH7.6-7.8]	洗浄 deScale Solution	透明化 SCALEVIEW®-S4		マウンティング SCALEVIEW®-S4 1hr振とう後 マウンティング				
処理温度	RT	4℃	37℃		RT				
処理時間	1 hr	3 hrs	4 hrs						

*透明化後、1.5%(wt/vol)アガロースを用いて包埋し不動化します。

Primary Neurosphere from Adult Rat Hippocampus (5 days in vitro)

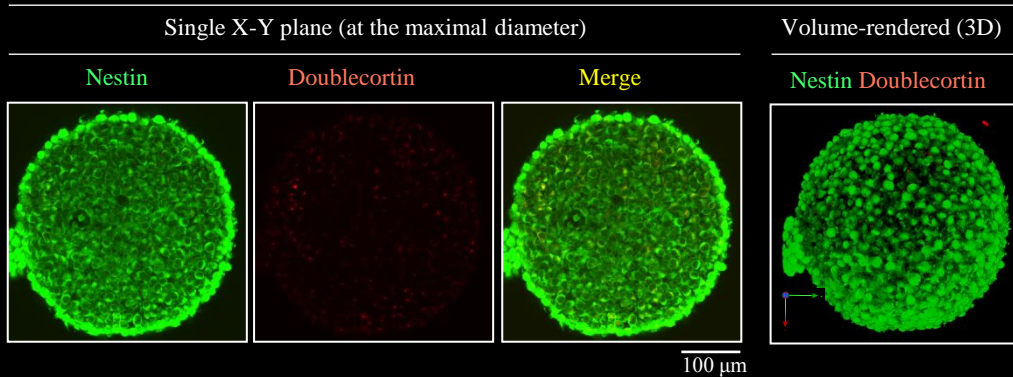


図5. アダルトラットの海馬から調製した神経幹細胞のNeurosphereの3次元免疫染色 - AbScale法を使用 -

Microscope (CLSM) : Olympus FV1000
Objective lens : U MPLFLN10XW (NA 0.3)

参考文献

- 1) Hama, H. et al. : *Nature Neuroscience* **14**, 1481 (2011).
- 2) Hama, H. et al. : *Nature Neuroscience* **18**, 1518 (2015).
- 3) Hama H, et al. : *Protocol Exchange* (2016), doi:10.1038/protex.2016.019

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
193-18455	SCALEVIEW-A2	組織透明化用	500ml	10,000
196-18521	SCALEVIEW-S0	組織透明化用	250ml	12,000
193-18531	SCALEVIEW-S1	組織透明化用	250ml	12,000
190-18541	SCALEVIEW-S2	組織透明化用	250ml	12,000
197-18551	SCALEVIEW-S3	組織透明化用	250ml	12,000
194-18561	SCALEVIEW-S4	組織透明化用	250ml	12,000
191-18571	SCALEVIEW-SMt	組織透明化用	250ml	15,000
041-34425	deScale Solution	組織透明化用	500ml	12,000
299-79901	SCALEVIEW-S Trial Kit	組織透明化用	1kit	45,000

SCALEVIEWは、オリンパス株式会社の登録商標です。
SCALEVIEWの名称は、富士フイルム和光純薬株式会社より使用許諾を受けている登録商標です。

Ref. ...2~10℃保存 [F] ...-20℃保存 [-80] ...-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。
 特定 毒-I ...特定毒物 毒-II ...毒物 劇-I ...劇物 毒 ...劇薬 危 ...危険物 向 ...向精神薬 特原 ...特定麻薬向精神薬原料
 審-1 ...化審法 第一種特定化学物質 審-2 ...化審法 第二種特定化学物質 化兵1 ...化学兵器禁止法 第一種指定物質 化兵2 ...化学兵器禁止法 第二種指定物質 カルタヘナ法
 覚せい剤取締法...「覚せい剤原料研究者又は取扱者」の免許を取得して、ご購入に際しては、譲受証及び譲渡証による受け渡しが必要となります。 関
 国民保護法...生物・毒薬兵器の製造、使用防止のため、「毒薬等」を試験研究用に使用することを確認する証を頂戴しております。 毒薬等
 上記以外の法律及び最新情報は、siyaku.com (http://www.siyaku.com/) をご参照ください。

- 本文に記載しております試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、「医薬品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。
- 希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)
 東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)

- 九州営業所 ● 中国営業所
- 東海営業所 ● 横浜営業所
- 筑波営業所 ● 東北営業所
- 北海道営業所

フリーダイヤル 0120-052-099
 フリーファックス 0120-052-806
 試薬URL : https://labchem.wako-chem.co.jp

■ FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation ■ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH
 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA Fuggerstraße 12, 41468 Neuss, Germany
 TEL: +1-804-714-1920 FAX: +1-804-271-7791 TEL: +49-2131-311-0 FAX: +49-2131-311-100

Online Catalog: www.e-reagent.com