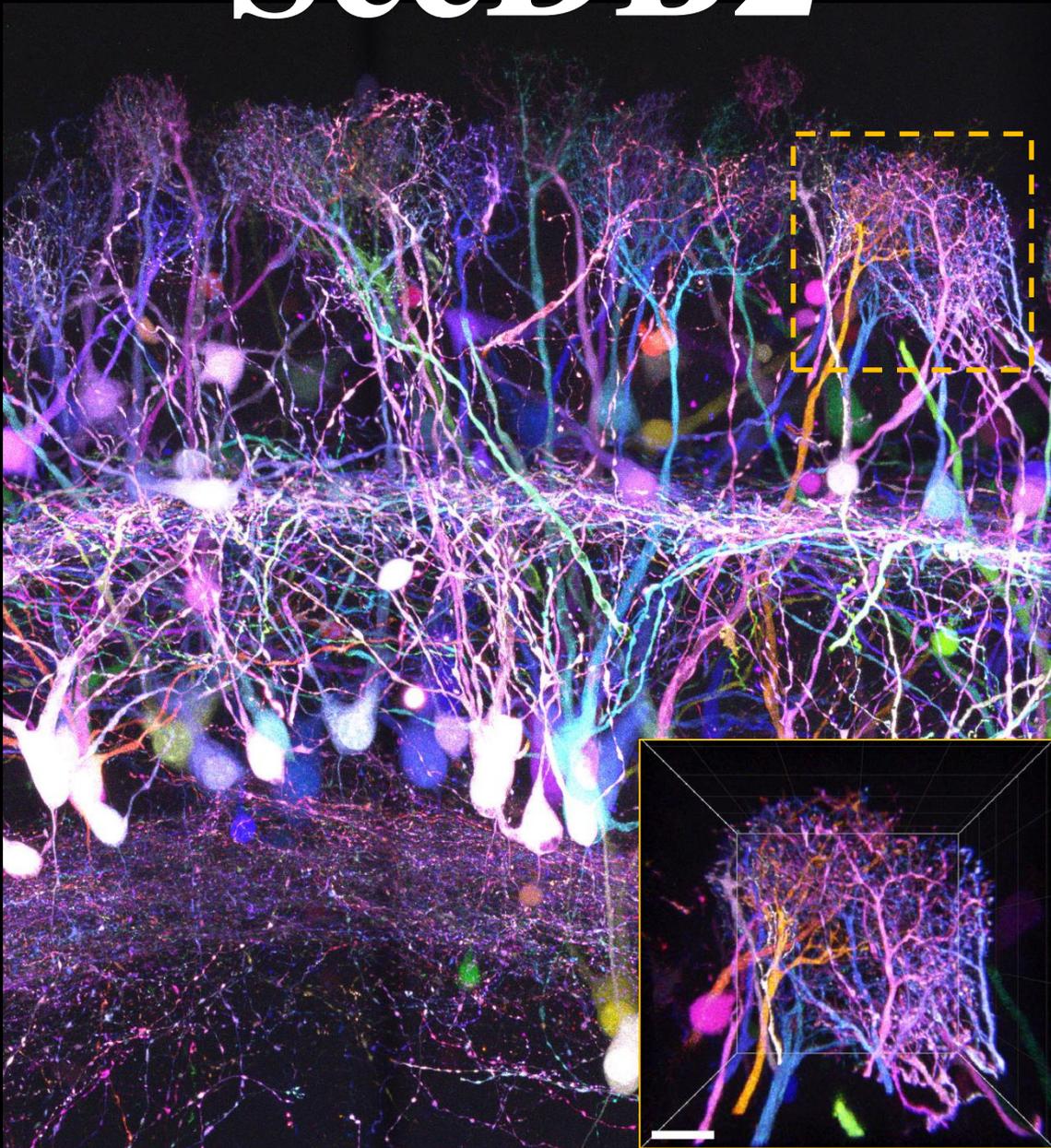


組織透明化試薬

組織深部を高解像・高輝度解析

SeeDB2



Brainbow 法は、3色の蛍光タンパク質をうまく組み合わせて中間色を作り出すことで、多くの神経細胞を異なる色で標識できる方法です。Brainbow法の改良版「TetBow 法」は個々の神経細胞を異なる色で、かつ高輝度で染色することが可能な方法です。さらにはSeeDB2を用いると蛍光輝度を最大限保ったまま神経細胞を立体的に観察することが可能になります。図はマウス嗅球僧帽細胞・房飾細胞を Tetbow 法で標識したデータ。スケールバーは20 μm 。

- 1) Ke, M. T., Fujimoto, S. and Imai, T.: *Nat Neurosci*, **6** (8),1154 (2013).
- 2) Ke, M. T., Fujimoto, S. and Imai, T.: *Bio-protocol* **4**(3), e1042 (2014).
- 3) Ke, M. T., and Imai, T.: *Curr Protoc Neurosci*, **66**,2.22.1-2.22.19 (2014).
- 4) Ke et al.: *Cell Reports* **14**, 2718(2016)
- 5) SeeDB Resources (<https://sites.google.com/site/seedbresources/>): updated information and technical TIPS from the authors
- 6) Sakaguchi et al.: *eLife* **7**, e40350(2018).

データ提供元:
国立大学法人 九州大学医学研究院
坂口理智先生、今井猛先生

SeeDB2 Trial Kit 概略

データ提供元:
 国立研究開発法人理化学研究所
 柯孟岑 先生、今井猛 先生(九州大学医学研究院)

SeeDB2は柯孟岑、今井猛博士らにより開発された新しいタイプの組織透明化試薬です。SeeDB2は特に蛍光タンパク質によって標識されたサンプルの3次元高解像イメージングに最適です。SeeDB2Gはグリセリンの屈折率(1.46)に、SeeDB2Sはオイルの屈折率(1.52)に合わせてあり、それぞれグリセリン浸レンズ、油浸レンズを用いた観察において、深部でも球面収差によるボケ(分解能の低下)が生じないように最適化されています。また、特筆すべき点として、SeeDB2においては蛍光タンパク質の蛍光が非常に安定に保持されており、PBSや他の市販のマウント剤よりも優れています。このため、SeeDB2は蛍光タンパク質で標識されたサンプルのマウント剤としても最適です。厚みのあるサンプルだけでなく、細胞生物学用の薄いサンプルや組織切片のマウントにも使用可能です。本キットは1) サボニン、2) SeeDB2G solution、3) SeeDB2S solution、4) PBSの4成分で構成されています。Permeabilization solution、Clearing Solutionの各種試薬を調整し、透明化を行うことが可能なキットになります。

SeeDB2 組織透明化プロトコル例(マウス脳0.5-2 mm厚スライスの場合)

	透明化処理						観察
	固定 4%PFA/PBS(-)	Permeabilization solution	Clearing Solution 1	Clearing Solution 2	Clearing Solution 3 (SeeDB2G)	Clearing Solution 4 (オプション) (SeeDB2S)	マウンティング SeeDB2G or SeeDB2S
処理温度	4 °C	RT	RT	RT	RT	RT	RT
処理時間	1 day	12 - 16 hrs	6 - 24 hrs	6 - 10 hrs	> 12 hrs	> 12 hrs	

*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。



図1. SeeDB2を用いたマウス脳の透明化例
 マウス脳スライス(1.5 mm厚)のSeeDB2処理前後

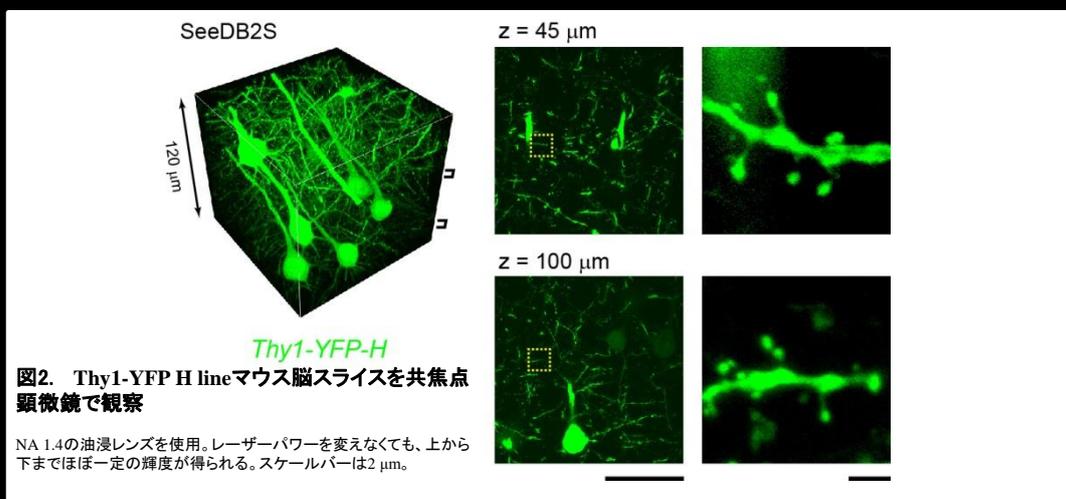


図2. Thy1-YFP H lineマウス脳スライスを共焦点顕微鏡で観察

NA 1.4の油浸レンズを使用。レーザーパワーを変えなくても、上から下までほぼ一定の輝度を得られる。スケールバーは2 μm。

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
294-80701	SeeDB2 Trial Kit	組織透明化用	1kit	55,000

☑️…2~10°C保存 ☒…-20°C保存 ☒…-80°C保存 表示が無い場合は室温保存です。
 特定 ☒-I …特定毒物 ☒-II …毒物 ☒-III …劇物 ☒ …毒薬 ☒ …劇薬 ☒ …危険物 ☒ …向精神薬 ☒ …特定麻薬向精神薬原料
 ☒-1 …化審法 第一種特定化学物質 ☒-2 …化審法 第二種特定化学物質 ☒ …化学兵器禁止法 第一種指定物質 ☒ …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。☒
 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。☒☒☒
 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 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA TEL: +1-804-714-1920 FAX: +1-804-271-7791
 ■ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH Fuggerstraße 12, 41468 Neuss, Germany TEL: +49-2131-311-0 FAX: +49-2131-311-100

Online Catalog: www.e-reagent.com

【関連製品】

SeeDB Trial Kit 概略

SeeDBは、フルクトースをベースとした透明化試薬になります。共焦点顕微鏡や2光子励起顕微鏡を使用して深部イメージングが可能であり、蛍光タンパク質・神経トレーサーを用いての蛍光神経回路の全貌解明や定量解析のなど様々なアプリケーションに利用することができます。

SeeDBを用いて透明化したサンプルの屈折率は1.49と高くなります。

本キットは1) SeeDB:20w/v% Fructose Solution、2) SeeDB:40w/v% Fructose Solution、3) SeeDB:60w/v% Fructose Solution、4) SeeDB:80w/v% Fructose Solution、5) SeeDB:100w/v% Fructose Solution、6) SeeDBの6成分で構成されております。各種試薬を順次用いることで、透明化を行うことが可能なキットになります。

SeeDB 組織透明化プロトコル例(マウス脳0.5-2 mm厚スライスの場合)

	透明化処理						観察	
	固定 4%PFA/PBS(-)	SeeDB:20w/v% Fructose Solution	SeeDB:40w/v% Fructose Solution	SeeDB:60w/v% Fructose Solution	SeeDB:80w/v% Fructose Solution	SeeDB:100w/v% Fructose Solution	SeeDB	マウンティング SeeDB
処理温度	4℃	RT	RT	RT	RT	RT	RT	RT
処理時間	1 day	4 - 8 hrs	4 - 8 hrs	4 - 8 hrs	> 12 hrs	> 12 hrs	24 hrs	

・〈注意、ポイント〉

サンプルはSeeDB液でマウントしてください。SeeDBを用いて透明化処理したサンプルの屈折率は1.49と高くなります。このため、対物レンズにはグリセリン浸レンズ、油浸レンズ、透明化用レンズが適していますが、水浸レンズでも深さ2mm程度までであれば問題ありません。イメージングには各メーカー推奨のイメージング液をご使用ください。SeeDB液をイメージングに用いないでください。ドライレンズ(屈折率1.0)や水浸レンズ(屈折率1.33)を用いて画像取得する場合は、深さの数値を補正する必要があります(補正式については参考文献参照)。

1. SeeDB処理例

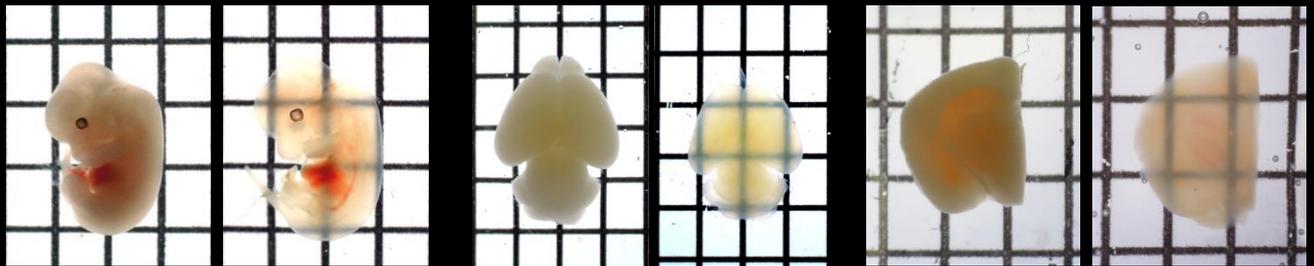


図1. SeeDBを用いた生体試料の透明化した例

左から順に、マウス胎仔(胎仔12日)、新生仔マウス(生後3日)の全脳、成体のマウス脳スライス(8週齢、厚さ2mm)をSeeDBで透明化処理した例。

2. SeeDB観察例

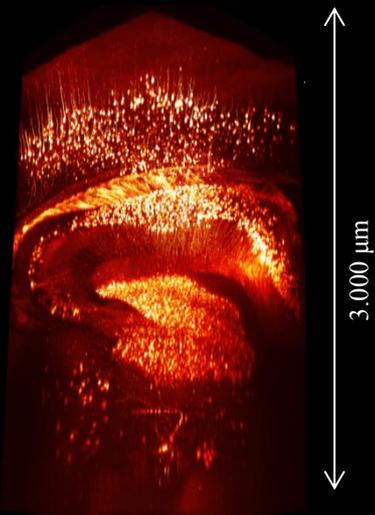


図2. 2光子励起顕微鏡を用いて取得したThy1-YFP-Hマウス(10週齢)の脳の蛍光画像
オリンパス社製 多光子専用対物レンズ: XLPLN10XSVMPを用いて観察した例。

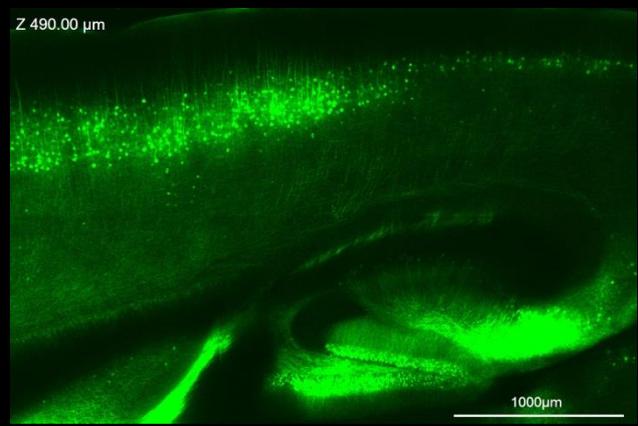


図3. 共焦点顕微鏡を用いて取得したThy1-YFP-Hマウス(10週齢)の脳の蛍光画像
オリンパス社製 シリコン浸対物レンズ: UPLSAPO 10X2を用いて観察した例。

透明化組織観察用容器

See Through Chamber

See Through Chamberは、厚みのある透明化サンプルを顕微鏡で観察する際に使用する観察容器です。

観察容器は、透明化サンプルを観察しやすくするために加工したシリコンゴムシート、カバーガラス、スライドガラスの10セット構成になります。

スペーサーとなるシリコンゴムのシート厚は0.3 mm、0.5 mm、1.0 mm、2.0 mm、3.0 mmの計5種類を用意しており、サンプルの厚さに応じて最適なサイズを選んで使用することが可能です。

シリコンゴムシートは両面に保護シートが貼付しており、使用時に剥がすことで、スライドガラス、カバーガラスと密着した状態で使用することが可能です。



【参考文献】

- 1) Ke, M. T., Fujimoto, S. and Imai, T. : *Nat Neurosci* ,6 (8),1154 (2013).
- 2) Ke, M. T., Fujimoto, S. and Imai, T.: *Bio-protocol* 4(3), e1042 (2014).
- 3) Ke, M. T., and Imai, T. : *Curr Protoc Neurosci* ,66,2.22.1-2.22.19 (2014).
- 4) Ke et al.,: *Cell Reports* **14**, 2718(2016)
- 5) SeeDB Resources (<https://sites.google.com/site/seedbresources/>): updated information and technical TIPS from the authors.

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
294-80701	SeeDB2 Trial Kit	組織透明化用	1kit	55,000
294-35631	See Through Chamber, 0.3mm thick	組織透明化用	10set	7,500
291-35641	See Through Chamber, 0.5mm thick	組織透明化用	10set	7,500
295-35661	See Through Chamber, 1.0mm thick	組織透明化用	10set	7,500
292-35671	See Through Chamber, 2.0mm thick	組織透明化用	10set	7,500
299-35681	See Through Chamber, 3.0mm thick	組織透明化用	10set	7,500

【関連製品】

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
291-70601	SeeDB Trial Kit	組織透明化用	1kit	30,000

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 …毒薬 劇 …劇薬 危 …危険物 向 …向精神薬 特 …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 …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。寛

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。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。

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

Online Catalog: www.e-reagent.com