

組織透明化試薬

1細胞レベルでの解像度で解析を実現

CUBIC



データ提供先
国立研究開発法人理化学研究所
洲崎悦生先生、上田泰己先生

CUBIC Trial Kit 概略

CUBIC (clear, unobstructed brain / body imaging cocktails and computational analysis)は、上田泰己博士らにより開発された、組織透明化・3次元イメージング・画像解析の組み合わせによる網羅的細胞解析技術です。CUBICで使用する組織透明化試薬 (ScaleCUBIC試薬)は尿素にアミノアルコールを加えた水溶性透明化試薬であり、サンプルを試薬に浸すだけの簡便かつ効果的で再現性の良い手法になります。CUBICは動物等の全身・臓器丸ごと透明化することが可能です。さらに、シート照明型蛍光顕微鏡 (LSFM)を用いることで、全身の細胞を1細胞解像度で3次元イメージとして取得することが可能です。

CUBICは、1個体の生命現象とその原理を解明できることから、生物学だけでなく、多くの分野においても大きな貢献が期待できます。本キットは、1) ScaleCUBIC-1 Solution、2) ScaleCUBIC-2 Solution、3) Mounting Solution 1 (RI = 1.498)、4) Mounting Solution 2 (RI = 1.467) の4成分で構成されております。キット成分を調整し、透明化を行うことが可能です。

CUBIC 組織透明化プロトコル例 (臓器丸ごと)

* 各工程使用試薬量の目安は12-15 mLになります。洗浄は上記の5-10倍量目安に使用下さい。

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。

	洗浄	前置換	脱脂		洗浄	前置換	透明化	観察	
	灌流固定 + 後固定 4 %PFA/PBS(-)	PBS	50 % Sca/e CUBIC-1 Solution	Sca/e CUBIC-1 Solution	Sca/e CUBIC-1 Solution	PBS	50 % Sca/e CUBIC-2 Solution	Sca/e CUBIC-2 Solution	マウンティング**
処理温度	4 °C	RT	RT	37 °C	37 °C	RT - 37 °C	RT	RT - 37 °C	RT
処理時間	1 day	1 day	1 day	2 days	6 - 8 days*	1 day	1 day	2 days	

* 2日ごとに新しい溶液に交換して下さい。

** Kit中に含まれる 1) Mounting Solution 1 (RI = 1.498) と2) Mounting Solution 2 (RI = 1.467) を3 : 7 で混合 (RI = ~1.49) し、使用下さい。

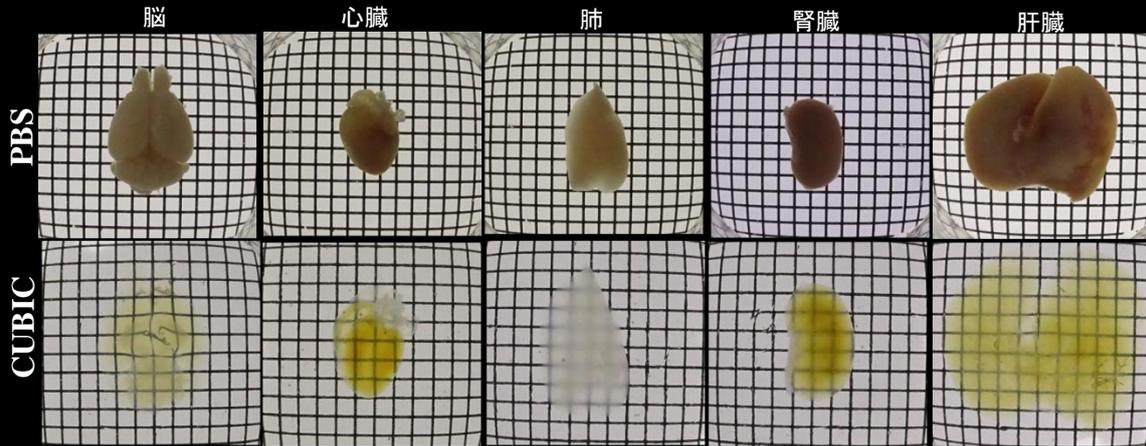


図1. CUBICを用いたマウス臓器丸ごとの透明化例

CUBIC 組織透明化プロトコル例 (2 mm スライス切片)

* 各工程使用試薬量の目安は2.5 mLになります。洗浄は上記の5-10倍量目安に使用下さい。

	洗浄	前置換	脱脂	洗浄	前置換	透明化	観察	
	灌流固定 + 後固定 4 %PFA/PBS(-)	PBS	50 % Sca/e CUBIC-1 Solution	Sca/e CUBIC-1 Solution	PBS	50 % Sca/e CUBIC-2 Solution	Sca/e CUBIC-2 Solution	マウンティング**
処理温度	4 °C	RT	RT	37 °C	RT - 37 °C	RT	RT - 37 °C	RT
処理時間	1 day	1 day	6 - 24 hrs	2 days	1 day	1 day	1 - 2 days	

* 各工程使用試薬量の目安は2.5 mLになります。洗浄は上記の5-10倍量目安に使用下さい。

** Kit中に含まれる 1) Mounting Solution と 2) Mounting Solution 2を2 : 8もしくは3 : 7 で混合 (RI = ~1.49) し、使用下さい。

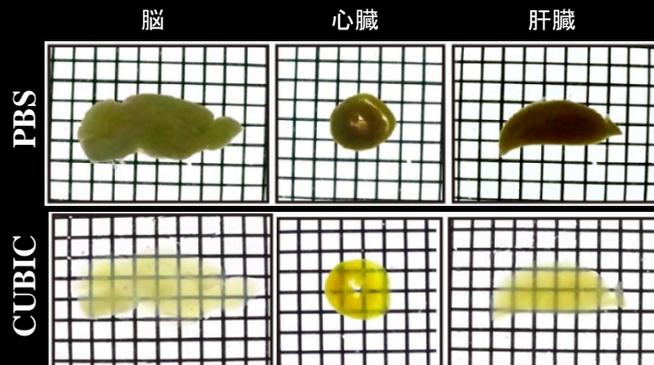


図2. CUBICを用いたマウス組織スライスの透明化例

CUBIC 蛍光タンパク質発現組織適応例

* 各工程使用試薬量の目安は12-15 mLになります。
洗浄は上記の5-10倍量目安に使用下さい。

	洗浄	前置換	脱脂		洗浄	蛍光色素染色	洗浄	前置換
灌流固定 + 後固定 4 %PFA/PBS(-)	PBS	50 % Sca/e CUBIC-1 Solution	Sca/e CUBIC-1 Solution	Sca/e CUBIC-1 Solution	PBS	PI(5 µg / mL) ***	PB(10 mM)	50 % Sca/e CUBIC-2 Solution
処理温度	4 °C	RT	37 °C	37 °C	RT - 37 °C	RT	RT	RT
処理時間	1 day	1 day	2 days	6 - 8 days*	1 day	2 days	> 1 day	1 day
透明化	観察	* 2日ごとに新しい溶液に交換して下さい。						
Sca/e CUBIC-2 Solution	マウンティング**	** Kit中に含まれる 1) Mounting Solution 1 (RI = 1.498) と2) Mounting Solution 2 (RI = 1.467) を3 : 7で混合 (RI = ~1.49) し、使用下さい。						
RT - 37 °C	RT	*** 下記データは、【PI 5 µg / mL in PBS (NaCl 1.5 M), 0.05 % NaN ₃ 】を使用しています。						
2 days								

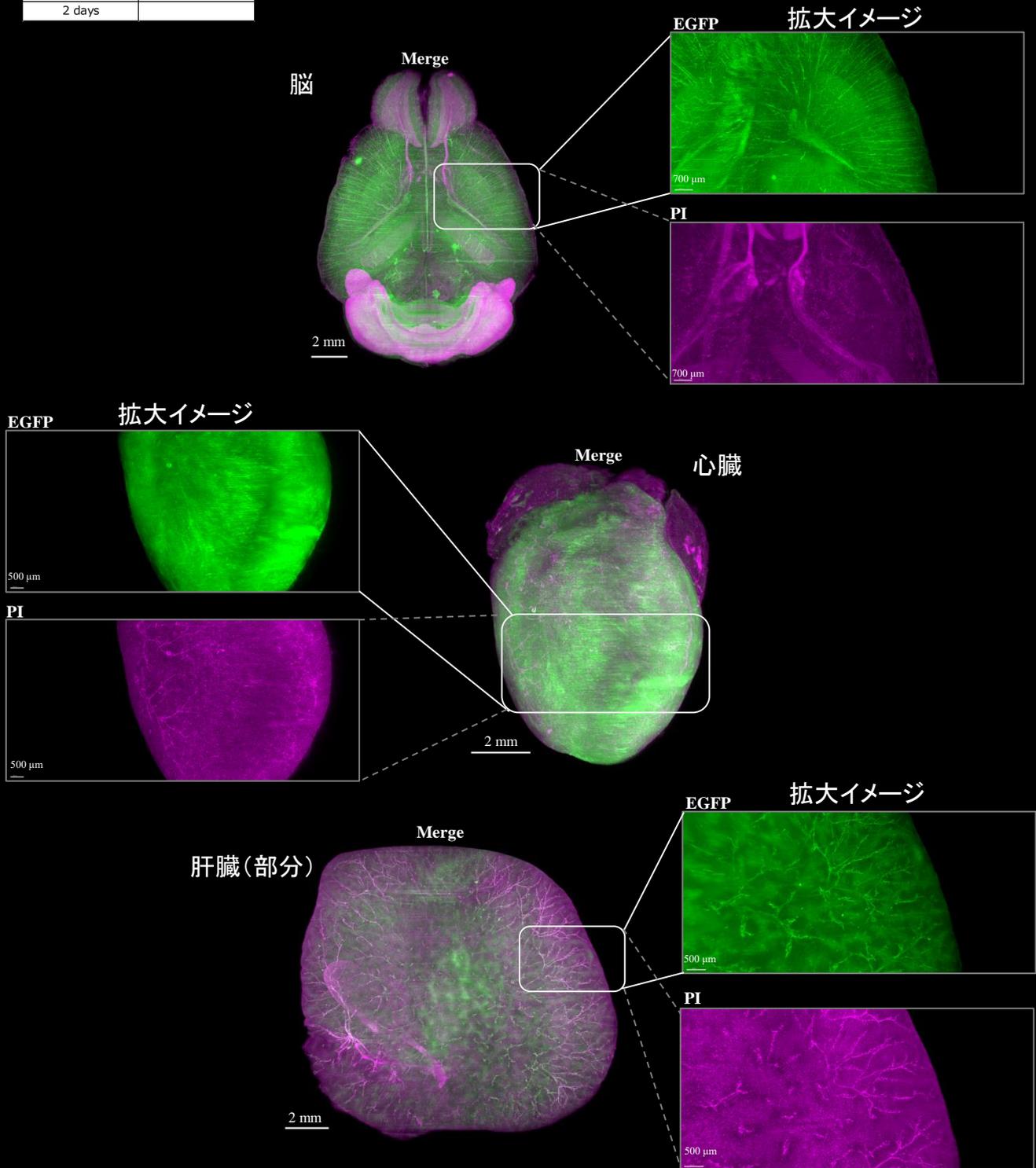


図3. CUBIC処理(PI染色)したCAG-EGFP Tg マウスをLSFMを用いて臓器まるごと観察

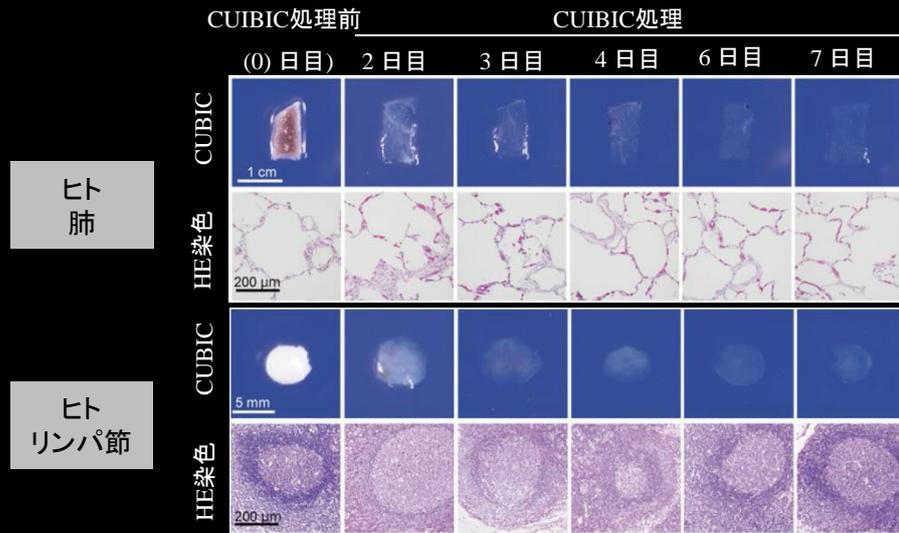


図4. CUBIC処理したヒト臓器片例
- CUBIC処理後、パラフィン包埋、薄切、HE染色が可能 -

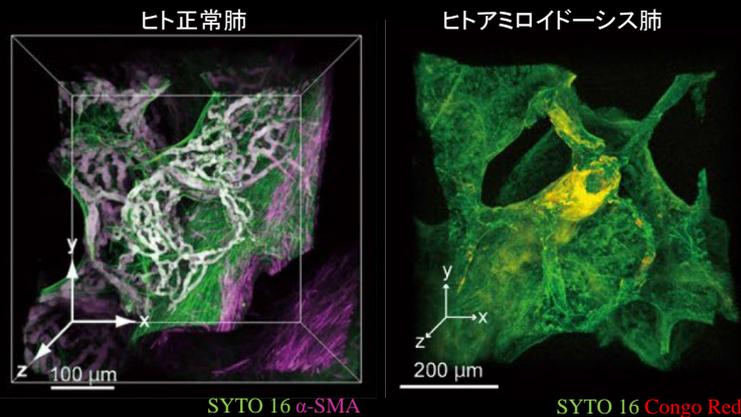


図5. CUBIC処理したヒト病理組織検体を共焦点顕微鏡で観察

【参考文献】

- 1) E. A. Susaki et al. : *Cell*, **157**(3),726 (2014).
- 2) K. Tainaka et al. : *Cell*, **159**(4),911 (2014).
- 3) E. A. Susaki et al. : *Nature Protocols*, **10**,1709 (2015).
- 4) S. Nojima et al. : *Scientific Reports*, **7**,9269 (2017).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
290-80801	CUBIC Trial Kit	組織透明化用	1kit	45,000

Ref²…2~10℃保存 F²…-20℃保存 F⁸⁰…-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 特定^毒-II…毒物 劇^毒-I 劇^毒-II 劇^毒-III…劇物 毒^薬…毒薬 劇^薬…劇薬 危^険…危険物 向^精…向精神薬 特^麻…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^タ…カルタヘナ法
 覚^{せい}…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。覚^保
 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
 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