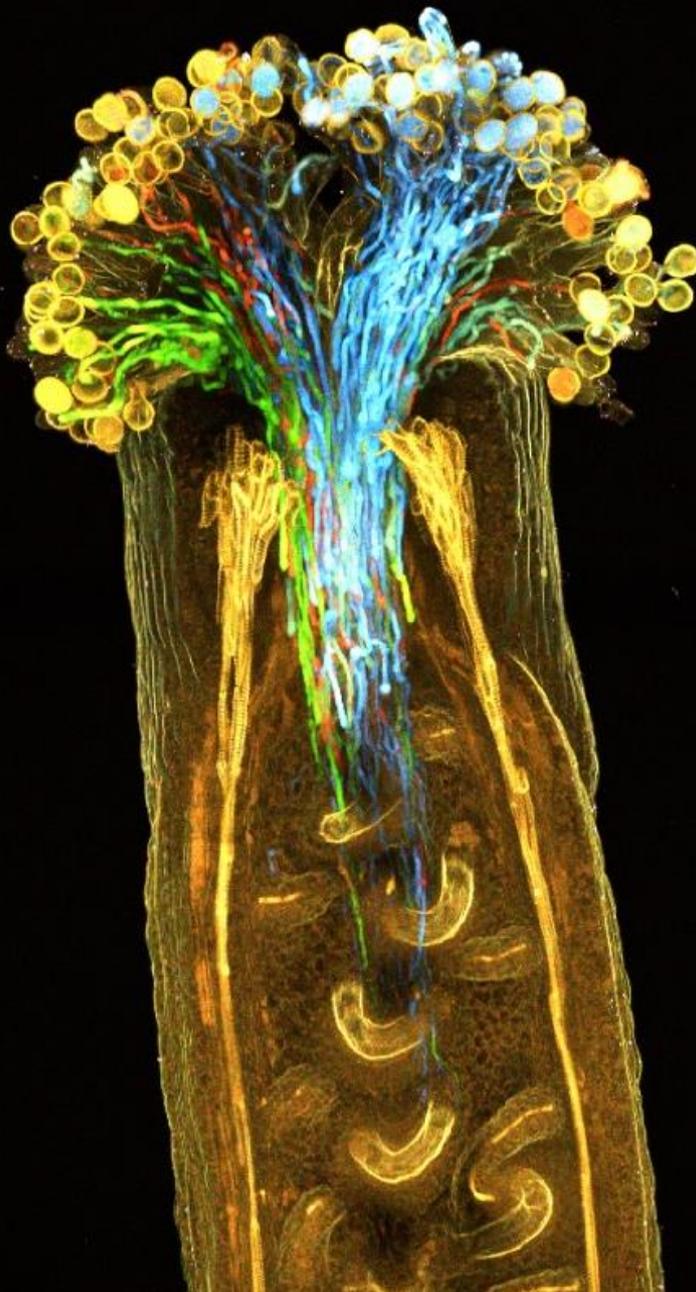


植物透明化試薬

# ClearSee™



データ：名古屋大学，トランスフォーメティブ生命分子研究所，栗原大輔特任准教授・水多陽子さきがけ研究者より提供

ClearSee™ を用いた透明化方法は **1) 固定、2) 洗浄、3) 透明化** の3ステップです。  
 詳しくは製品に添付されてますプロトコルをご確認下さい。下記は、シロイヌナズナの葉、幼植物を例にした場合です。

## 1. 固定

①4%パラホルムアルデヒド溶液を用いて、サンプルを固定する\*1。

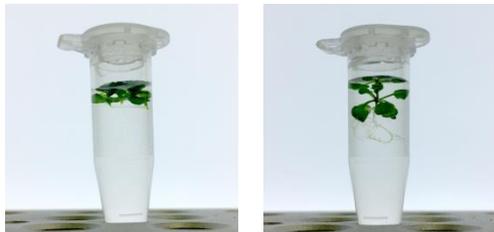


写真1. 固定液に浸けたシロイヌナズナの葉・幼植物

②デシケーターにサンプルを入れ、真空ポンプにより減圧し、室温で30分、静置し、固定する。この作業を2回繰り返す。減圧中に植物試料が飛び出るのを防ぐために、マイクロチューブのフタを開け、パラフィンフィルムで密封し、針で通期穴を数カ所開ける\*2,3。



写真2. 減圧中、マイクロチューブの中に泡が見える様子

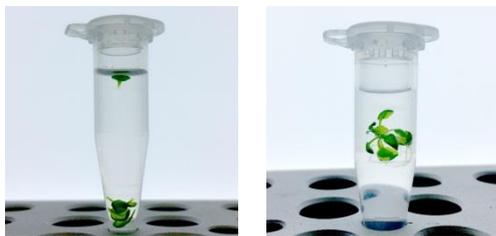


写真3. 固定処理後のシロイヌナズナの葉・幼植物

## 2.. 洗浄

固定液を除き、1x PBSを1 ml加えて1分間静置する。  
 1x PBSを除き、新しい1x PBSを1 ml加えて1分間静置する。  
 この作業を2回繰り返す。

## 3. 透明化処理

1x PBSを除き、ClearSee™を1.3 ml加える。  
 マイクロチューブのフタを開けたままパラフィンフィルムで密封し、針で通気穴を数カ所開ける。デシケーターに入れ、真空ポンプにより減圧し、室温で1時間、静置する。  
 パラフィンフィルムを外し、マイクロチューブのフタを閉め、遮光して室温で静置し、透明化する\*4。  
 必要に応じて、新しいClearSee™で置換する。

## 4. 透明化処工程

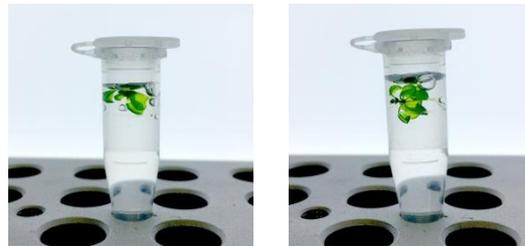


写真4. ClearSee™ 中のシロイヌナズナの葉・幼植物



写真5. サンプルのまわりに除かれたクロロフィルが見える様子 (1~2日後)

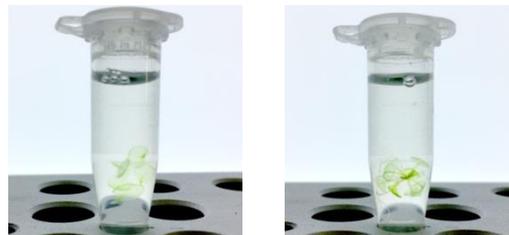


写真6. 新しいClearSee™に置換したサンプル

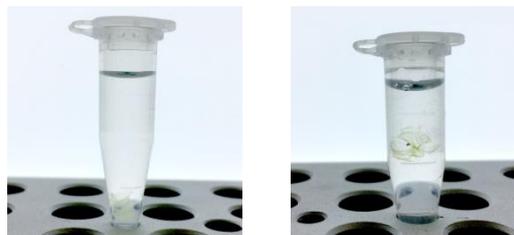


写真7. 透明になったシロイヌナズナの葉・幼植物 (3~5日後)

ClearSee™ を用いた透明化方法に必要なもの：

- 1) オートクレーブ、2) 局所排気装置 (ドラフトチャンバーなど)、3) 真空ポンプ、4) デシケーター、5) 60℃恒温器、6) 蛍光顕微鏡
- 7) コニカルチューブ、8) マイクロチューブ、9) パラフィンフィルム、10) 針、11) ピンセット、12) カバーガラス、13) スライドガラス、14) ワセリン・グリース

### 【注意点】

1. 植物生体試料は空気を含んでいるため、溶液を加えると液面に浮きます。固定液に植物試料ができるだけ浸かるようにしてください。
2. デシケーターの設定は-90 kPaを目安として下さい。植物試料によっては減圧が強すぎる場合があります。減圧が強すぎると、植物組織・細胞を破壊してしまいます。減圧を始めると、植物試料から空気が抜けるため、泡がでます。泡がゆっくりでる強さに減圧を調整してください。
3. 減圧から大気圧に戻す場合は、ゆっくり戻して下さい。急激に大気圧に戻すと、植物組織・細胞を破壊する原因となります。固定の減圧処理を2回実施することで、植物試料への固定液の浸透が促進されます。
4. 透明化にかかる時間は植物種・組織により異なりますが、目安としては次の通りです。  
 根：1~2日、葉・幼植物：4~7日、めしべ：2週間、成熟組織：4週間。

### 5. 観察

スライドガラスの上にワセリンやグリースなどで囲いを作り、ClearSee™を適量のせる。ピンセットで植物試料を移し、カバーガラスをのせて、蛍光顕微鏡下で観察する。ClearSee™は乾燥してしまうと析出するので、ワセリンやグリースなどで乾燥を防ぐ。観察後は、ClearSee™が入ったマイクロチューブに植物試料を戻すと、保存することができる。

また、ClearSee™で透明化した植物試料は、蛍光色素で染色することも可能。細胞核を染色するときはビスベンズイミドH33258三塩酸塩、ビスベンズイミドH33342やDAPIを終濃度10 µg/ml、細胞壁を染色するときは終濃度1 mg/mlになるようにClearSee™の中に加えて、1時間静置後、新しいClearSee™に置換して、1時間静置後に、蛍光顕微鏡下で観察する。

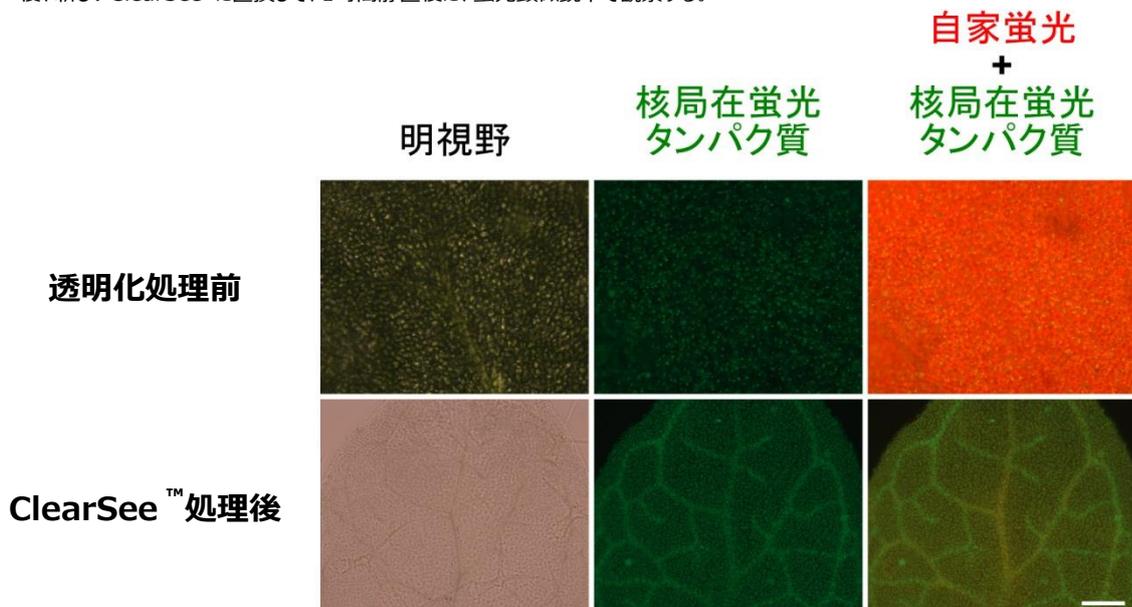


図1. 透明化したシロイヌナズナの葉は、明視野では透明に見え、クロロフィルの赤い自家蛍光がなくなる。丸ごと葉が観察できるので、内部にある維管束の蛍光タンパク質も観察できる。スケールバーは200 µm。

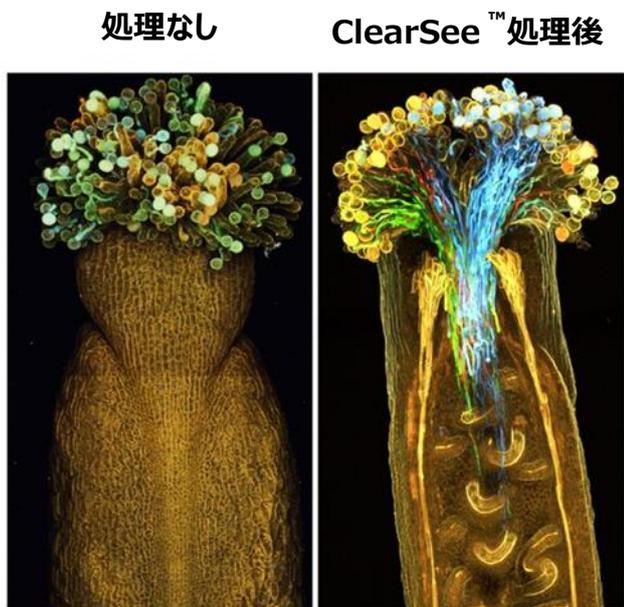
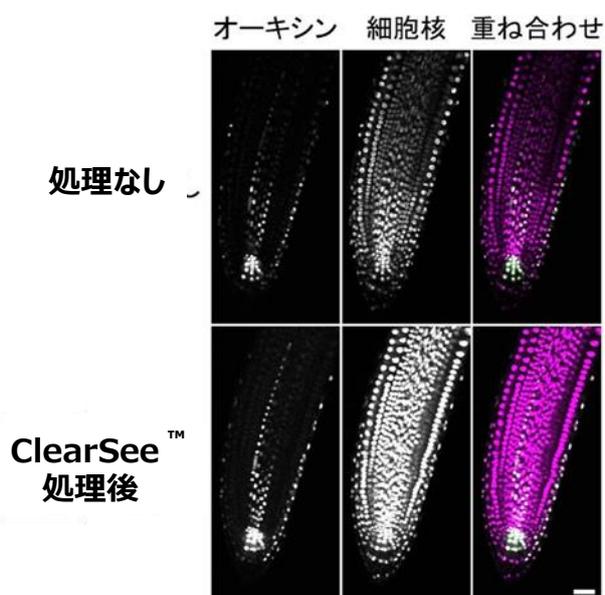


図2. ClearSee™により透明化しためいべを丸ごと蛍光観察  
花粉管を4色の蛍光タンパク質で(青色、緑色、黄色、赤色)で目印をつけている。

Kurihara et al. (2015)より改変して転載。



スケールバーは30µm

図3. ClearSee™により4日間処理したシロイヌナズナの根。  
オーキシシン応答細胞の核を緑色、全身の細胞核を紫色で示す  
Kurihara et al. (2015)より改変して転載。

## ClearSeeAlpha 観察例



### ClearSeeAlphaとは？

ClearSee™に亜硫酸ナトリウムが50mMとなるように添加した改良版のClearSee™が、ClearSeeAlphaです。従来のClearSee™では、いくつかの植物種の葉や果実の透明化を行う場合、酸化によって茶色に変色してしまい観察が困難でしたが、亜硫酸ナトリウムによる還元作用で、クリアに観察が可能になりました。ClearSeeAlphaは必要に応じて用時調製して下さい。

タバコ 子房

トレンア めしべ

シロイヌナズナ 角果



図4. 左のチューブ：ClearSee™、真ん中：ClearSee改良品（+50mM 2-アミノエタノール塩酸塩）、右：ClearSeeAlpha（+50mM 亜硫酸ナトリウム）  
Kurihara et al., (2021)より改変して転載。

## 参考文献

1. Kurihara, D. et al., *Development*, **142**(3), 4168-4179 (2015).
2. Kurihara, D. et al., *Plant Cell Physiol.*, **62**(8), 1302-1310 (2021).

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
031-25151	ClearSee™	植物透明化用	50mL	21,000
160-16061	Paraformaldehyde	組織固定用	100g	2,400
162-16065			500g	4,600
194-05631	2mol/L Sodium Hydroxide Solution	容量分析用	100mL	1,430
196-05635			500mL	1,600
163-25265	10×PBS(-)	細胞培養用	500mL	3,500
164-25511	1×PBS(-)	生化学用	5L	17,600
198-03412	Sodium Sulfite	試薬特級	25g	1,150

Refr…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 I…特定毒物 I II…毒物 I II III…劇物 毒…毒薬 劇…劇薬 危…危険物 向…向精神薬 麻…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 化禁1…化学兵器禁止法 第一種指定物質 化禁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。国  
 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](http://www.e-reagent.com)