

Code No. 193-18455

For Tissue Optical Clearing Reagent

SCALEVIEW-A2

【Introduction】

Dr. Atsushi Miyawaki et al. developed a water-based optical clearing reagent, *Scale*, which clears fixed biological samples without quenching fluorescent protein.

SCALEVIEW-A2, bodily tissues can be cleared of their opacity to provide a clearly defined image.

【Additional required materials】

Reagents :

- 1) Paraformaldehyde (Code No. 160-16061)
- 2) 1 × PBS(−) (Code No. 164-25511)
- 3) Sucrose (Code No. 194-00011)
- 4) Immersion solution

Please use the immersion solution recommended by microscope manufactures.

Equipments :

- 1) 50 mL conical centrifuge tube
- 2) Seesaw shaker (for fragile samples)
- 3) Recommended fluorescence microscopes and objectives for SCALEVIEW-A2 treated samples
 1. Multiphoton microscope : OLYMPUS, model : FVMPE-RS
 - Multiphoton dedicated objectives :
 - OLYMPUS, model : XLPLN25XSVM : 25 ×, NA = 1.0, WD = 4 mm
 - OLYMPUS, model : XLSLPLN25XSVM : 25 ×, NA = 0.95, WD = 8 mm
 - OLYMPUS, model : XLPLN10XSVM : 10 ×, NA = 0.6, WD = 8 mm
 - Objectives :
 - OLYMPUS, model : UPLSAPO30XSIR : 30 ×, NA = 1.05, WD = 0.8 mm
 2. Confocal microscope : OLYMPUS, model : FV3000
 - Objectives :
 - OLYMPUS, model : UPLSAPO30XS : 30 ×, NA = 1.05, WD = 0.8 mm
 - OLYMPUS, model : UPLSAPO40XS : 40 ×, NA = 1.25, WD = 0.3 mm
 - OLYMPUS, model : UPLSAPO60XS : 60 ×, NA = 1.30, WD = 0.3 mm
 - OLYMPUS, model : UPLSAPO100XS : 100 ×, NA = 1.35, WD = 0.2 mm

【Procedure】

A case for making mouse brain transparent according to reference (1).

- 1) Transcardially perfuse an anesthetised mouse with 4 % paraformaldehyde (PFA)/PBS (pH 7.5~8.0).
- 2) Remove the whole brain and subject it to post-fixation in 4 % PFA/PBS at 4 °C for 10 hrs and cryo-protection in 20% sucrose/PBS at 4 °C for 24 hrs.
- 3) Embed the sample in OCT compound and freeze it with liquid nitrogen.
- 4) Thaw and rinse the sample in PBS, and fix it again with 4 % PFA/PBS for 20 min at room temperature.
- 5) Clear the sample by incubation in SCALEVIEW-A2 at room temperature.

More than 30 mL of SCALEVIEW-A2 is required for an adult mouse brain.

A full week of incubation may be necessary for transparency. During incubation, stir slowly using an orbital shaker.

Exchanging SCALEVIEW-A2 each day accelerates the transparency process.

The sample might be expanded 10-30% in one direction after incubation.

- 6) Perform deep imaging of the transparent brain using an appropriate dipping objective lens. Use SCALEVIEW-A2 as the immersion medium.
If necessary, immobilize the sample to the bottom of the imaging vessel with agarose.
- 7) The transparent brain can be stored for a long time in SCALEVIEW-A2 at 4 °C.

【Caution】

- 1) Ingredients may precipitate on storage at temperatures below 0 °C. Staying at room temperature (about 25 °C) returns the agent dissolved without deterioration of performance.
- 2) After the experiments, remove the residual solution from the objective lens by wiping with gauze moistened with absolute alcohol.
- 3) Be aware that the solution may cause metal corrosion (solid iron, copper, gunmetal, aluminum, etc.).
- 4) At wavelengths over 1,300 nm images may appear.

【Storage】

Store below 25 °C in the dark.

【Package】

500 mL

【Related Products】

Code No.	Description	Size
160-16061	Paraformaldehyde	100 g
164-25511	1 × PBS(-)	5 L
194-00011	Sucrose	100 g

【Reference】

- 1) Hama, H. *et al.* : *Nat Neurosci*, **14**, 1481 (2011).

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : + 81-6-6203-3741
Facsimile : + 81-6-6201-5964
<http://fwk.fujifilm.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road
Richmond, VA 23237
U.S.A.
Telephone : + 1-804-271-7677
Facsimile : + 1-804-271-7791
<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstrasse 12
D-41468 Neuss
Germany
Telephone : + 49-2131-3111-0
Facsimile : + 49-2131-311100
<http://www.wako-chemicals.de>

コード No. 193-18455

組織透明化用 SCALEVIEW-A2

【はじめに】

宮脇敦史博士らにより、水溶性で蛍光タンパク質の蛍光を損なうことなく簡便に生体組織を透明化する方法Scaleが開発されました。

SCALEVIEW-A2はホルマリンで固定された生体試料における光の吸収や蛍光を損なうことなく、光の散乱を除く働きを持つ水溶性の溶液です。SCALEVIEW-A2に浸漬するだけで哺乳類動物の脳などの生体組織を透明することが可能です。

【本品以外に準備するもの】

試 薬：

- 1) パラホルムアルデヒド（コード No. 160-16061）
- 2) 1 × PBS（コード No. 164-25511）
- 3) スクロース（コード No. 194-00011）
- 4) イマージョン液
各顕微鏡メーカー推奨のものをご使用下さい。

器 具：

- 1) 50 mL コニカルチューブ
- 2) シューカー
- 3) SCALEVIEW-A2透明化標本向け推奨蛍光顕微鏡と推奨対物レンズ
 1. 2光子励起顕微鏡（オリンパス社製 FVMPE-RSなど）
 - 多光子対物レンズ：オリンパス社製 多光子専用対物レンズ
 - OLYMPUS, model : XLPLN25XSVMP : 25 ×, NA = 1.0, WD = 4 mm
 - OLYMPUS, model : XLSLPLN25XSVMP : 25 ×, NA = 0.95, WD = 8 mm
 - OLYMPUS, model : XLPLN10XSVMP : 10 ×, NA = 0.6, WD = 8 mm
 - 対物レンズ：オリンパス社製 シリコーン浸対物レンズ
 - OLYMPUS, model : UPLSAPO30XSIR : 30 ×, NA = 1.05, WD = 0.8 mm
 2. 共焦点顕微鏡（オリンパス社製 FV3000など）
 - 対物レンズ：オリンパス社製 シリコーン浸対物レンズ
 - OLYMPUS, model : UPLSAPO30XS : 30 ×, NA = 1.05, WD = 0.8 mm
 - OLYMPUS, model : UPLSAPO40XS : 40 ×, NA = 1.25, WD = 0.3 mm
 - OLYMPUS, model : UPLSAPO60XS : 60 ×, NA = 1.30, WD = 0.3 mm
 - OLYMPUS, model : UPLSAPO100XS : 100 ×, NA = 1.35, WD = 0.2 mm

【操作方法】

以下の内容は、参考文献1)におけるマウス脳の透明化実験の概略です。

- 1) マウスを4 % paraformaldehyde (PFA) /PBS (pH 7.5～8.0) で灌流固定する。
- 2) 脳を取り出した後、4 % PFA/PBSで固定 (4 ℃、10 hrs) し、20 % Sucrose/PBSに置換 (4 ℃、24 hrs) する。
- 3) OCTコンパウンドで包埋し、液体窒素で凍結する。
- 4) 凍結した脳をPBSで解凍・洗浄し、4 %PFA/PBSで再固定する (室温、20 min)。
- 5) 固定された脳をSCALEVIEW-A2中に浸漬する (室温)。

〈注意・ポイント〉

アダルトマウス脳1個につき30 mL以上のSCALEVIEW-A2をご使用下さい。

透明化には1週間以上必要です。浸漬中は、シェーカー等でゆっくり振とうさせてください。1日毎にSCALEVIEW-A2を交換すると、透明化が進みやすくなります。

SCALEVIEW-A2に浸漬することで、脳は1方向につきリニアに10～30 %程度膨潤します。

- 6) 脳が透明化した後、SCALEVIEW-A2を浸液として使用し、深部観察ができる。

〈注意・ポイント〉

観察時、必要に応じて脳が動くことを防ぐためにアガロースなどで容器底面に脳を固定して下さい。

- 7) 観察が終わったら、脳を再びSCALEVIEW-A2で浸漬し4 ℃で保存することができる。

【注意点】

- 1) 冷蔵温以下で保管した場合、成分が析出することがあります。室温 (25 ℃程度) 放置により溶解し性能は復帰します。
- 2) 使用后、対物レンズ先端に付着しているSCALEVIEW-A2はガーゼで乾拭きと水拭き後、極く少量の無水アルコールをガーゼに含ませて入念に拭き取って下さい。
- 3) SCALEVIEW-A2は、無垢の鉄、銅、砲金、アルミ等を腐食させることがあります。
- 4) 1,300 nmより長い波長を利用する場合、取得画像が暗くなります。

【保存条件】

25 ℃以下保存・遮光保存

【包装】

500 mL

【関連製品】

Code No.	品 名	容量
160-16061	パラホルムアルデヒド	100 g
164-25511	1 × PBS(-)	5 L
194-00011	スクロース	100 g

【参考文献】

- 1) Hama, H. *et al.* : *Nat Neurosci*, **14**, 1481 (2011).

製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社
大阪府中央区道修町三丁目1番2号
Tel : 06-6203-3741

2305KA2