

## For Tissue Optical Clearing Reagent SCALEVIEW-S Trial Kit

### Introduction

Dr. Atsushi Miyawaki et al. developed a sorbitol-based optical clearing method, Scale S.

SCALEVIEW-S is a high-performance clearing method that blessed with effective clearing and tissue/signal preservation. It is also noteworthy that this method is able to preserve highly fluorescence signal of fluorescent proteins and ultrastructure of cell membranes.

SCALEVIEW-S is a simple and reproducible method of accurate visualization of biological tissue.

### Kit contents

This kit includes 6 components.

(1) SCALEVIEW-S0	100 ml × 1bottle
(2) SCALEVIEW-S1	100 ml × 1bottle
(3) SCALEVIEW-S2	100 ml × 1bottle
(4) SCALEVIEW-S3	100 ml × 1bottle
(5) SCALEVIEW-S4	100 ml × 1bottle
(6) SCALEVIEW-SMt	100 ml × 1bottle

Note : This kit needs an optional deScale solution (Code No. 041-34425).

### Storage

Store in the dark at 2-10°C

### Additional required materials

#### Reagents

- 1) Paraformaldehyde (Code No.160-16061)
- 2) 1 × PBS (-) (Code No. 164-25511)
- 3) Agarose

#### Equipments :

- 1) 5 ml/15 ml/30 ml/50 ml conical centrifuge tube
- 2) Culture dish (100 mm, 60 mm, and 35 mm diameter) (for each sample)
- 3) Seesaw shaker
- 4) Fluorescence microscope and Recommend Objective lenses for SCALEVIEW-S treated samples.
  1. Multiphoton microscope OLYMPUS, model : FVMPE-RS
    - Multiphoton dedicated objectives :
      - OLYMPUS, model : XLPLN10XSVMP : 10x, NA=0.6, WD=8 mm
      - OLYMPUS, model : XLSLPLN25XGMP : 25x, NA=1.0, WD=8 mm
    - 2. Confocal microscope: OLYMPUS, model : FV3000
      - Objectives:
        - OLYMPUS, model : UPLSAPO10X2 : 10x, NA=0.4, WD=3.1 mm
        - OLYMPUS, model : UCPLFLN20X : 20x, NA=0.7, WD=0.8-1.8 mm

### 【Procedure】

#### (Fixation)

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

- 1) Transcardially perfuse an anesthetized mouse with 4% paraformaldehyde (PFA)/PBS (pH 7.6 ~ 7.8).
- 2) Remove the whole brain and subject it to post-fixation in 4% PFA/PBS at 4°C for 8-72 hrs.
- 3) Wash the samples in PBS.
- 4) Prepare vibratome sections (optional, 0.2-3 mm thick)

#### (Clearing) (1-2 mm brain samples)

- 5) Transfer the sample into 5 ml of SCALEVIEW-S0 solution and incubate it with gentle shaking (10 rpm) at 35-40°C for 30min.
- 6) Transfer the sample into 5 ml of SCALEVIEW-S1 solution and incubate it with gentle shaking (10 rpm) at 35-40°C for 30min.
- 7) Transfer the sample into 5 ml of SCALEVIEW-S2 solution and incubate it with gentle shaking (10 rpm) at 35-40°C for 30min.
- 8) Transfer the sample into 5 ml of SCALEVIEW-S3 solution and incubate it with gentle shaking (10 rpm) at 35-40°C for 30min.
- 9) Transfer the sample into 5 ml of deScale Solution and incubate it with gentle shaking (10 rpm) at 4°C for 30min × 2 times.
- 10) Transfer the sample into 5 ml of SCALEVIEW-S4 solution and incubate it with gentle shaking (10 rpm) at 35-40°C for 12-24 hours.
- 11) The transparency can be evaluated by eye at this stage. If the sample is successfully cleared, the brain sample should look amber under a light source.
- 12) Transfer the sample into 5 ml of SCALEVIEW-SMt solution and incubate it with gentle shaking (10 rpm) at 35-40°C for 1 hour.

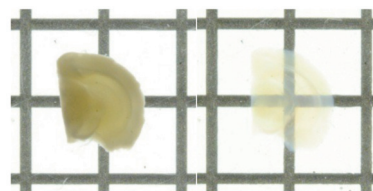


Figure 1. Transmittance images of 1mm brain slice before and after clearing with SCALEVIEW-S.

#### (Imaging)

- 13) Mount onto an imaging chamber. Use appropriate amount of SCALEVIEW-SMt solution to mount the sample. Observe the SCALEVIEW-S cleared samples using fluorescence microscopy.

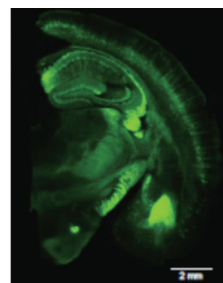


Figure 2. Confocal imaging of adult hemisphere brain (Thy1-YFP-H mouse).

Note :

- For thicker brain slices (>2 mm) or hemisphere mouse brain whole mouse brain, incubation time in each step can become longer and SCALEVIEW-S solutions in each step can increase amount (e.g. hemisphere brain 25 ml, whole brain 40 ml each).
- SCALEVIEW-SMt mounted samples will not be solidified. If necessary for each sample, 1.5-3.0% melting agarose can be added to minimize movement artifacts during imaging.

【References】

- 1) Hama, H. et al. : Protocol Exchange (2016).
- 2) Hama, H. et al. : Nat Neurosci, **18**, 1518 (2015).

【Related Products】

Code No.	Description	Size
196-18521	SCALEVIEW-S0	250 ml
193-18531	SCALEVIEW-S1	250 ml
190-18541	SCALEVIEW-S2	250 ml
197-18551	SCALEVIEW-S3	250 ml
194-18561	SCALEVIEW-S4	250 ml
191-18571	SCALEVIEW-SMt	250 ml
041-34425	deScale Solution	500 ml
160-16061	Paraformaldehyde	100 g
164-25511	1 × PBS(-)	5 L

**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://www.wako-chem.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. 299-79901

組織透明化用  
**SCALEVIEW-S Trial Kit**

【はじめに】

ScaleS は宮脇敦史博士らにより開発されたソルビトールを主体とした組織透明化試薬です。SCALEVIEW-S Trial Kit は、Scale S の技術に基づいた製品になります。

SCALEVIEW-S は透明化能力を向上させ、さらには構造やシグナルを適切に保持・維持する能力を併せ持つ特長を有します。さらには、組織内に発現する蛍光タンパク質の蛍光は明るく保持することができ、細胞膜などの微細構造も形態維持することが可能です。

SCALEVIEW-S は透明化工程操作が簡便であり、組織中の標識された構造物を再現よく定量的に観察可能な透明化方法になります。

【キット内容】

本キットは 6 つの構成部材からなります。

- (1) SCALEVIEW-S0 100 ml × 1 本
- (2) SCALEVIEW-S1 100 ml × 1 本
- (3) SCALEVIEW-S2 100 ml × 1 本
- (4) SCALEVIEW-S3 100 ml × 1 本
- (5) SCALEVIEW-S4 100 ml × 1 本
- (6) SCALEVIEW-SMt 100 ml × 1 本

本キットは deScale Solution (Code No.041-34425) が別途必要になります。

【保存条件】

2-10℃・遮光保存

【キット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) アガロース

器具：

- 1) 5 ml/15 ml/30 ml/50 ml コニカルチューブ(サンプルに合わせて使用)
- 2) プラスチックベトリディッシュ (100 mm、60 mm 径若しくは 35 mm 径) (サンプルに合わせて使用)
- 3) シーソーシェーカー
- 4) SCALEVIEW-S 透明化標本向け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)
    - 推奨多光子対物レンズ：オリンパス社製 多光子専用対物レンズ
      - OLYMPUS, model : XLPLN10XSVMP : 10x, NA=0.6, WD=8 mm
      - OLYMPUS, model : XLSLPLN25XGMP : 25x, NA=1.0, WD=8 mm
  2. 共焦点顕微鏡 (オリンパス社製 FV3000 など)
    - 使用可能対物レンズ：オリンパス社製
      - OLYMPUS, model : UPLSAPO10X2 : 10x, NA=0.4, WD=3.1 mm
      - OLYMPUS, model : UCPLFLN20X : 20x, NA=0.7, WD=0.8-1.8 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。

(固定)

- 1) マウスを 4% paraformaldehyde (PFA)/PBS (pH 7.6 ~ 7.8) で灌流固定する。
- 2) 脳を取り出した後、4%PFA/PBS で固定 (4℃、18-72 hrs) する。
- 3) PBS で洗浄する。
- 4) ピプラトームを用いてスライスを作成する (必要に応じて 0.2-3 mm 厚等)

(脳スライスサンプル (1-2 mm) の透明化例)

- 5) 5 ml の SCALEVIEW-S0 が入ったチューブにサンプルを移し、シェーカー (10 rpm) で 35-40℃、30 分間振とうする。
- 6) 5 ml の SCALEVIEW-S1 が入ったチューブにサンプルを移し、シェーカー (10 rpm) で 35-40℃、30 分間振とうする。
- 7) 5 ml の SCALEVIEW-S2 が入ったチューブにサンプルを移し、シェーカー (10 rpm) で 35-40℃、30 分間振とうする。
- 8) 5 ml の SCALEVIEW-S3 が入ったチューブにサンプルを移し、シェーカー (10 rpm) で 35-40℃、30 分間振とうする。
- 9) 5 ml の deScale Solution が入ったチューブにサンプルを移し、シェーカー (10 rpm) で 4℃、30 分間× 2 回振とうする。
- 10) 5 ml の SCALEVIEW-S4 が入ったチューブにサンプルを移し、シェーカー (10 rpm) で 35-40℃、12-24 時間振とうする。
- 11) この時点で、組織が適度に透明化されていることを確認する。
- 12) 5 ml の SCALEVIEW-SMt が入ったチューブにサンプルを移し、シェーカー (10 rpm) で 35-40℃、1 時間振とうする。

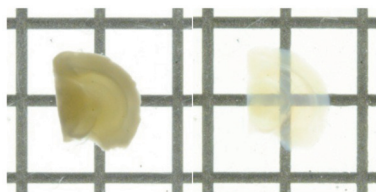


図 1. 大人のマウス脳 1mm スライス切片を用いて SCALEVIEW-S 処理した例

(観察)

- 13) SCALEVIEW-S 処理した脳サンプルを SCALEVIEW-SMt に浸した状態で共焦点レーザー顕微鏡若しくは 2 光子励起顕微鏡を用いて観察する。

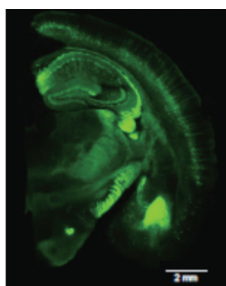


図 2. 共焦点顕微鏡を用いて取得した Thy1-YFP-H マウス脳 42 週齢の蛍光画像

注意事項:

- 2 mm 以上の脳スライスや脳半球、全脳を透明化するにはそれぞれのステップの時間が長くなる可能性があります。また、各ステップの試薬使用量も増えます。(例: 脳半球: 25 ml、全脳: 40 ml)。
- SCALEVIEW-SMt でマウントしたサンプルは固化しません。観察時、必要に応じて脳が動くことを防ぐために 1.5-3.0% アガロースを用いて容器底面にサンプルを固定して下さい。

### 【参考文献】

- 1) Hama, H. et al. : *Protocol Exchange* (2016).
- 2) Hama, H. et al. : *Nat Neurosci*, **18**, 1518 (2015).
- 3) 濱裕、日置寛之、並木香奈、星田哲志、黒川裕、宮脇敦史: 生体の科学, 68 (1), 85 (2017).
- 4) 日置寛之、濱裕、孫在隣、黄晶媛、並木香奈、星田哲志、黒川裕、宮脇敦史: 日本薬理学雑誌, 149 (4), 173 (2017).

### 【関連製品】

Code No.	Description	Size
196-18521	SCALEVIEW-S0	250 ml
193-18531	SCALEVIEW-S1	250 ml
190-18541	SCALEVIEW-S2	250 ml
197-18551	SCALEVIEW-S3	250 ml
194-18561	SCALEVIEW-S4	250 ml
191-18571	SCALEVIEW-SMt	250 ml
041-34425	deScale Solution	500 ml
160-16061	Paraformaldehyde	100 g
164-25511	1 × PBS(-)	5 L

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

1803KA1