

植物を短時間で透明化する試薬 TOMEI

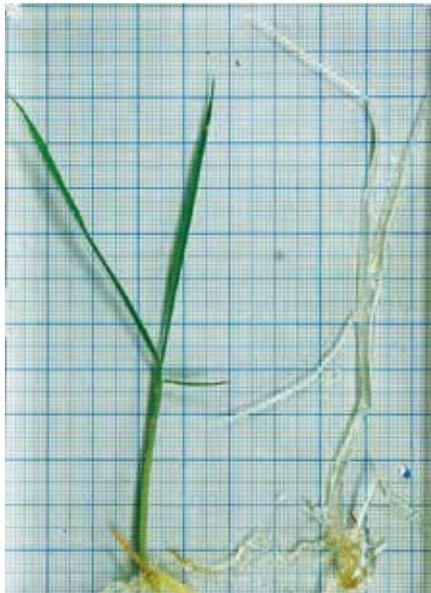
植物の内部構造を解剖せずに明瞭な観察が可能

Tissue-Clearing Reagent TOMEI [for Plants]

100mL 11,000円 [T3530]

- 特長**
- 簡便で迅速に、植物の透明化が可能
 - 共焦点顕微鏡で、より深部まで観察可能

「TOMEI」による植物透明化手法は、松永幸大 教授らにより開発されました。モデル植物であるイネやシロイヌナズナを、わずか数時間で透明化することが可能です¹⁾。この手法を用いることで、より深部の内部構造をより明瞭に観察できます。



無処理 TOMEI処理



図1. TOMEI-Iにより透明化したイネ(上)とシロイヌナズナ(下)

植物透明化手法「TOMEI-I」は、クロロフィルなどによる自家蛍光が無くなりますが蛍光タンパク質の蛍光を減弱させるため、蛍光色素染色のみでの観察に適しています。

一方、植物透明化手法「TOMEI-II」は「TOMEI-I」よりマイルドな手法であるため自家蛍光はあまり減りませんが、サンプルの透明度は上昇し蛍光タンパク質の検出に適しています。

固定のみ

TOMEI-II処理後



図2. TOMEI-IIにより透明化されたシロイヌナズナ

引用文献 1) J. Hasegawa, Y. Sakamoto, S. Nakagami, M. Aida, S. Sawa, S. Matsunaga, *Plant Cell Physiol.* **2016**, 57, 462.
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcw027>

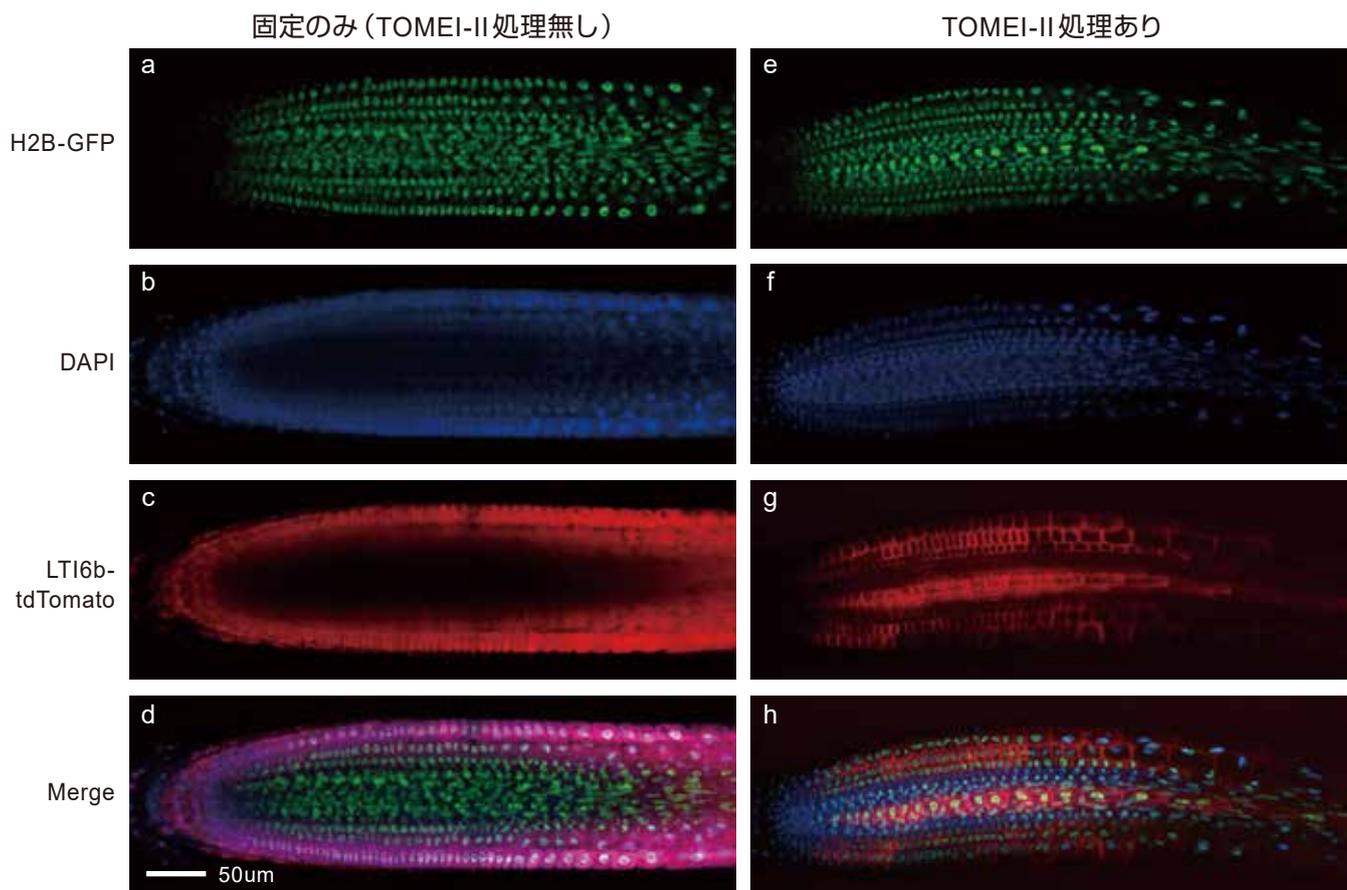


図3. 共焦点顕微鏡により得られたシロイヌナズナの根の光学切片画像

DAPI (青) と H2B-GFP (緑) で細胞核が、LTI6b-tdTOMATO (赤) で細胞膜が検出されています。

a ~ h はいずれも根の中央部の観察像です。

H2B-GFP (a, e) の蛍光は固定のみ (a) のみ、TOMEI-II 処理あり (e) いずれにおいても強く検出できています。DAPI (b) および LTI6b-tdTOMATO (c) において、固定のみでは根の中央部の蛍光を観察することが難しいです。一方、TOMEI-II 処理後の根では中央部の細胞でも DAPI (f) および LTI6b-tdTomato (g) の蛍光が検出できています。

※画像データおよび各種情報は、坂本勇貴先生および松永幸大先生のご厚意により提供いただいております。

関連製品

Paraformaldehyde

25g / 500g [P0018]

DAPI 2HCl [for Biochemical Research]

5mg [A2412]

Acetic Acid

300mL [A2035]

Evans Blue

25g [E0197]

Tissue-Clearing Reagent iTOMEI-D [for Plants]

5mL / 25mL [T3940]

Tissue-Clearing Reagent iTOMEI-M (RI 1.40) [for Plants]

5mL / 25mL [T4003]

使用例1：蛍光タンパク質を検出する方法「TOMEI-II」

透明化方法「TOMEI-II」は、レポーター遺伝子として共発現させた GFP や YFP などの蛍光タンパク質の観察に適しています。

試薬

固定液 (4% パラホルムアルデヒド in PBS pH 7.0) ※用時調製することをお勧めします。

PBS

染色液

透明化試薬 TOMEI (TCI 製品コード **T3530**)

10%、30%、50%、70% TOMEI (PBS 希釈)

(サンプルが根の場合、20%TOMEI)

操作

固定	1. 十分量の固定液にサンプルを室温で固定する。 (固定の時間はサンプルの種類や大きさに合わせて検討が必要です。) (サンプルが地上部の場合は、真空ポンプやシリンジを用いて、固定液中で脱気を行ってください。)	
	2. 固定液を取り除き、PBS を添加して室温で5分間静置する。 3. PBS を取り除き、再度 PBS を添加し室温で10分間静置する。 4. PBS を取り除き、再度 PBS を添加し室温で10分間静置する。	
染色	PBS を取り除き、染色液を添加、室温で遮光にて静置する。 ^{*1} (二重染色を行う場合は、洗浄後再び染色のステップを行ってください。)	
洗浄	1. 染色液を取り除き、PBS を添加し室温で10分間静置する。 2. PBS を取り除き、PBS を添加し室温で10分間静置する。 3. PBS を取り除き、PBS を添加し室温で10分間静置する。	
透明化	地上部サンプル	地下部サンプル(根)
	1. PBS を取り除き、10%TOMEI を添加後、遮光し室温にて10分間静置する。 2. 10%TOMEI in PBS を取り除き、30%TOMEI を添加後、遮光し室温にて10分間静置する。 3. 30%TOMEI in PBS を取り除き、50%TOMEI を添加後、遮光して室温にて10分間静置する。 4. 50%TOMEI in PBS を取り除き、70%TOMEI を添加後、遮光して室温にて10分間静置する。 5. 70%TOMEI in PBS を取り除き、100%TOMEI を添加後、遮光して室温にて10分間静置する。 6. 100%TOMEI を取り除き、100%TOMEI を添加後、遮光し室温にて1時間静置する。 (透明化の時間はサンプルによって検討が必要です。) 7. スライドガラス上にサンプルを TOMEI で封入 ^{*2} し、観察する。	1. PBS を取り除き、20%TOMEI を添加後、遮光し室温にて10分間静置する。 2. スライドガラス上にサンプルを20%TOMEI で封入し、観察する。

^{*1} : DAPI 染色の場合は 0.5 µg/mL で 30 分間、Calcofluor White 染色の場合はそれぞれ Calcofluor White M3R 1 g/L、Evansblue 0.5 g/L で 10 分間が目安ですが、目的などに合わせて調整してください。

^{*2} : 蛍光タンパク質の蛍光が弱くなる場合は、50%TOMEI 処理後、60%TOMEI で 10 分間処理し溶液を取り除いたうえで、再度 60%TOMEI で 1 時間処理、60%TOMEI で封入し観察すると解決する場合があります。

使用例2：蛍光色素染色のみで解析する方法「TOMEI-I」

透明化方法「TOMEI-I」は、DAPI 染色や Calcofluor White 染色などの蛍光色素による染色のみで観察を行う場合に適しています。

試薬

固定液 (酢酸：エタノール=1：3) ※用時調製することをお勧めします。

PBS

70% エタノール (PBS 希釈)

30% エタノール (PBS 希釈)

染色液

透明化試薬 TOMEI (TCI 製品コード **T3530**)

(サンプルが根の場合、PBS 希釈した 20%TOMEI)

操作

固定	1. 十分量の固定液にサンプルを室温 (20 ~ 25°C 程度) で、固定する。 (固定の時間はサンプルの種類や大きさに合わせて検討が必要です。 シロイヌナズナの実生では、1 ~ 2 時間程度が目安です。) 2. 固定液を取り除き、70% エタノールを添加し室温で 5 分間静置する。 3. 70% エタノールを取り除き、30% エタノールを添加し室温で 5 分間静置する。 4. 30% エタノールを取り除き、PBS を添加し室温で 5 分間静置する。	
染色	PBS を取り除き、染色液 ^{*3} を添加、室温で遮光にて静置する。 (二重染色の場合は、以下の洗浄後、再び染色洗浄のステップを繰り返してください。)	
洗浄	1. 染色液を取り除き、PBS を添加し室温で 10 分間静置する。 2. PBS を取り除き、PBS を添加し室温で 10 分間静置する。 3. PBS を取り除き、PBS を添加し室温で 10 分間静置する。	
透明化	地上部サンプル	地下部サンプル(根)
	1. PBS を取り除き、TOMEI を添加後、室温で遮光にて 20 分間静置する。 (透明化の時間はサンプルによって検討が必要です。) 2. スライドガラス上にサンプルを TOMEI で封入し、観察する。	1. PBS を取り除き、20%TOMEI を添加後、室温で遮光にて 10 分間静置する。 2. スライドガラス上にサンプルを 20%TOMEI で封入し、観察する。

*3：DAPI 染色の場合は 0.5 µg/mL で 30 分間、Calcofluor White 染色の場合はそれぞれ Calcofluor White M3R 1 g/L、Evansblue 0.5 g/L で 10 分間が目安ですが、目的などに合わせて調整してください。

製品の詳細は TCI のウェブサイトへ ▶▶▶

TCI 植物透明



東京化成工業株式会社

試薬製品について

■本社営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
 Tel: 03-3668-0489 Fax: 03-3668-0520 E-mail: Sales-JP@TCIchemicals.com

■大阪営業部 〒541-0041 大阪府大阪市中央区北浜1-1-21 第2中井ビル1階
 Tel: 06-6228-1155 Fax: 06-6228-1158 E-mail: osaka-s@TCIchemicals.com

スケールアップ、受託サービス(合成・開発・製造)について

□化成品営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
 Tel: 03-5651-5171 Fax: 03-5640-8021 E-mail: finechemicals@TCIchemicals.com

弊社製品取扱店

本誌掲載の化学品は試験・研究用のみ使用するものです。化学知識のある専門家以外の方のご使用はお避けください。品目や製品情報等、掲載内容の変更を予告なく行う場合があります。内容の一部または全部の無断転載・複製はご遠慮ください。