

動物透明化試薬 CUBIC

製品

CUBIC trial kit (including mounting solution)

; CUBIC-L 50mL、CUBIC-R+(M) 50mL、観察用封入剤 (RI = 1.520) 50mL の
組織透明化に必要な試薬が揃ったキット 1kit 25,000円 [C3942]

CUBIC-L ; 脱脂・脱色用 25mL 5,000円 / 100mL 16,500円 / 500mL 58,000円 [T3740]

CUBIC-R+(N) ; 屈折率調整用 25mL 4,500円 / 100mL 13,000円 / 500mL 40,000円 [T3983]

CUBIC-R+(M) ; 屈折率調整用 25mL 6,600円 / 100mL 19,800円 [T3741]

CUBIC-B ; 脱灰用 25mL 5,500円 / 100mL 18,000円 [T3780]

CUBIC-HL ; 自家蛍光を落としての強力脱脂用 25mL 5,500円 / 100mL 18,000円 [T3781]

CUBIC-P ; 灌流用 25mL 5,500円 / 100mL 18,000円 [T3782]

CUBIC-X1 ; 肥大化用 25mL 4,400円 / 100mL 14,300円 [T3866]

CUBIC-X2 ; 肥大化させての屈折率調整用 25mL 4,400円 / 100mL 14,300円 [T3867]

CUBIC-HV™1 3D immunostaining kit

; 3次元サンプルの免疫染色用キット
カゼインが溶解されている調製済みバッファー入り 1kit 98,000円 [C3708]

CUBIC-HV™1 3D immunostaining kit (Casein separately)

; 3次元サンプルの免疫染色用キット
バッファー中のカゼインが小分けにされており長期保存向き
1kit 98,000円 [C3717]

CUBIC-HV™1 3D nuclear staining kit

; 3次元サンプルの核染色用キット 1kit 48,000円 [C3709]

関連製品

観察用封入剤 (RI = 1.520) [CUBIC-R+ 用] 50mL 9,800円 [M3294]

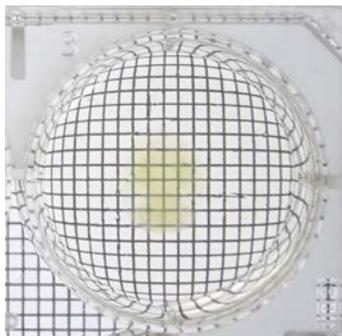
観察用封入剤 (RI = 1.467) [CUBIC-X2 用] 50mL 4,500円 [M3292]

Pig Brain Fragment [for CUBIC] 1vial 5,000円 [P2904]

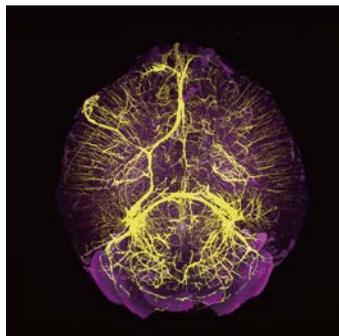
ホルマリン (37%) 25mL 2,100円 / 300mL 2,600円 [F0622]

Mouse Anti-NeuN Monoclonal Antibody 0.1mg/vial 25,000円 [M3586]

Goat Anti-Mouse IgG₁ Fab Fragment Cyanine 3 Conjugate 0.05mg/vial 12,000円 [G0598]



透明化したマウス全脳



透明化と核染色、免疫組織染色した
マウス全脳

本製品は東京大学・理化学研究所の
上田泰己教授らによって開発され、
理化学研究所のライセンスを受けて
製品化したものです。

CUBIC-HV™は株式会社CUBICStarsの
登録商標です。

特長

- 有機溶媒を用いず水系溶媒で完結。廃液処理の手間が手間が削減。蛍光タンパクのシグナルも保持。
- 蛍光タンパクが発現したトランスジェニックの動物を用いて、透明化後に蛍光タンパクが観察可能。
- 電気泳動装置等の特殊な機器は不要。

- **Basic protocol ; 2種類の試薬に浸すだけでマウス全身、動物各臓器の透明化が可能。**

CUBIC-L [T3740] : 脱脂・脱色用

CUBIC-R+(N) [T3983]、CUBIC-R+(M) [T3741] : 透明化用

CUBIC-R+(N) [T3983]とCUBIC-R+(M) [T3741]の違いについて……

CUBIC-R+(N) [T3983]は廉価でありハンドリングがしやすいものです。

蛍光シグナルが減衰することがありますが、浸漬後、数日程度は問題なく観察できます。

CUBIC-R+(M) [T3741]は蛍光シグナルの保持により優れています。CUBIC-R+(N) [T3983]とCUBIC-R+(M) [T3741]のいずれも冬場などの低温時は、稀にサンプル内で析出することがあります。その場合は37°Cに数日間置くと解消します。

以上から、まずCUBIC-R+(N) [T3983]でお試しの後、蛍光シグナルが観察できないようならCUBIC-R+(M) [T3741]の使用を推奨しております。

- **Optional protocol ; 透明化処理の困難であった組織の透明化に適した試薬をご用意。**

CUBIC-B [T3780] : 骨用

CUBIC-HL [T3781] : 高脂肪組織用

- **灌流固定と合わせて灌流させることで更なる透明化処理の効率化。**

CUBIC-P [T3782]

- **Expansion protocol ; 動物組織を肥大化させつつ透明化させることが可能。**

CUBIC-X1 [T3866] : 組織肥大化用

CUBIC-X2 [T3867] : 肥大化した組織のサイズを維持したまま透明化用

- **3次元サンプルの均一な染色のためのキットをご用意。**

CUBIC-HV™1 3D immunostaining kit [C3708] : 免疫染色用キット

バッファーにカゼインが溶解されているので、すぐにお使いになれます。

CUBIC-HV™1 3D immunostaining kit (Casein separately) [C3717] : 免疫染色用キット

バッファー中のカゼインが小分けにされているので長期保存に向いております。

CUBIC-HV™1 3D nuclear staining kit [C3709] : 核染色用キット

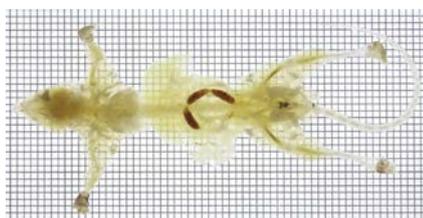
- **肥大化させることで顕微鏡による画像取得が容易。**

- **光シート顕微鏡 (LSFM) や共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) により細胞解像度でのイメージングが可能。**

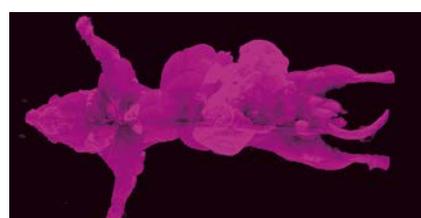
- **お手持ちの顕微鏡の動作確認用の試験サンプルとしてブタ脳 [P2904] をご用意。**

4%PFA/PBSで固定したブタの脳が、約1cm立方に切断されて1個入っています。

P2904をPBSで室温2時間で2回洗浄した上で、CUBIC-Lによる脱脂工程に入ってください。



マウス全身透明化



全身透明化とヨウ化プロピジウム (PI) による染色

使用方法: マウス臓器透明化手順

固定 4% PFA 1 day	洗浄 x 3 PBS > 2 hr x 3	(前置換) 50% CUBIC-L 6 - 24 hr	脱脂 CUBIC-L > 2 days	洗浄 x 3 PBS > 2 hr x 3	(染色) Stains > 3 days	(洗浄 x 3) PBS > 2 hr x 3	(後固定) 1% FA 1 day	(後固定) 1% FA 1 hr	(洗浄 x 3) PBS > 2 hr x 3	前置換 50% CUBIC-R+ 1 day	透明化 CUBIC-R+ > 1 day
-----------------------	-----------------------------	-----------------------------------	---------------------------	-----------------------------	----------------------------	-------------------------------	-------------------------	------------------------	-------------------------------	------------------------------	----------------------------

工程	試薬	温度	時間	備考
臓器摘出				灌流固定後。
固定	4% PFA in PBS	4°C	1 day	
洗浄 x 3	PBS	RT	> 2 hr x 3	穏やかに振とう(以下の工程も同様)。計1日程度。
(前置換)	50% CUBIC-L	37°C or RT	6 - 24 hr	CUBIC-Lと水を等量混合したもの。任意工程。
脱脂	CUBIC-L	37°C	> 2 days	CUBIC-Lは1日目、2日目、以降は2日ごとに新しいものに取り替える。
洗浄 x 3	PBS	RT	> 2 hr x 3	計1日程度。
(染色)	Stains	RT	> 3 days	任意工程。
(洗浄 x 3)	PBS	RT	> 2 hr x 3	計1日程度。染色した場合に行う。
(後固定)	1% FA	4°C	1 day	37%ホルマリン [F0622]をPBSで希釈したもの。染色した場合に行う。
(後固定)	1% FA	37°C	1 hr	4°C 一晚後のものを続いて37°Cに移す。染色した場合に行う。
(洗浄 x 3)	PBS	RT	> 2 hr x 3	染色した場合に行う。
前置換	50% CUBIC-R+(N) or 50% CUBIC-R+(M)	RT	1 day	CUBIC-R+(N)またはCUBIC-R+(M)と水を当量混合したもの。
透明化	CUBIC-R+(N) or CUBIC-R+(M)	RT	> 1 day	

透明化例

● 臓器摘出後の成体マウス脳



● 4mL 50% CUBIC-Lでの一晩室温振とうによる前置換した後



● 4mL CUBIC-Lでの5日間37°C振とうによる脱脂した後(1,2,4日目にCUBIC-Lを入替)



● PBSによる洗浄後、4mL 50% CUBIC-R+(M)での一晩室温振とうによる前置換した後



● 4mL CUBIC-R+(M)での一晩室温振とうによる透明化後、観察用封入剤 (RI = 1.520) [M3294] に浸しての観察



それぞれの写真は試薬に浸した状態で撮影しております。
透明化の手順には
CUBIC-R+(N) [T3983] もしくは
CUBIC-R+(M) [T3741] を
お使いください。

- 臓器に光が透過する
- 使用後のCUBIC-Lに色がつかない
上記の点が脱脂・脱色完了目安

使用試薬量

- CUBIC-L : 14 mL
- CUBIC-R+(M) : 6 mL

左の手順の試薬は5mLチューブの容器を用いた場合の容量です。お使いの容器により必要量は変わります。チューブを横にして臓器がほぼ試薬に浸る程度の液量で、臓器の直径よりやや大きめのチューブを用いてください。

PFA : パラホルムアルデヒド、RT : 室温

使用方法: マウス脳の肥大透明化手順

固定 4% PFA 1 day	洗浄 x 3 PBS > 2 hr x 3	前置換 50% CUBIC-L 3 hr	脱脂 CUBIC-L 5 - 14 days	洗浄 PBS 1 day	染色 Stains 3 days	洗浄 PBS 1 day	後固定 1% FA 1 day	後固定 1% FA 1 hr	洗浄 x 3 PBS > 2 hr x 3	肥大化 CUBIC-X1 2.5 days	透明化 CUBIC-X2 1.5 days
-----------------------	-----------------------------	----------------------------	------------------------------	--------------------	------------------------	--------------------	-----------------------	----------------------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------

工程	試薬	温度	時間	備考
臓器摘出				灌流固定後。
固定	4% PFA in PBS	4°C	1 day	
洗浄 x 3	PBS	RT	> 2 hr x 3	穏やかに振とう (以下の工程も同様)。計 1 日程度。
前置換	50% CUBIC-L	37°C	3 hr	CUBIC-L と水を等量混合したもの。
脱脂	CUBIC-L	37°C	5 - 14 days	CUBIC-L は 4 日ごとに新しいものに取り替える。 1 週齢マウス脳: 5 days 3 週齢マウス脳: 7 days 8 週 - 6 月齢マウス脳: 14 days
洗浄	PBS	RT	1 day	
染色	Stains	RT	3 days	
洗浄	PBS	RT	1 day	
後固定	1% FA	4°C	1 day	37% ホルマリン [F0622] を PBS で希釈したもの。
後固定	1% FA	37°C	1 hr	4°C 一晩後のものを続いて 37°C に移す。
洗浄 x 3	PBS	RT	> 2 hr x 3	
肥大化	CUBIC-X1	4°C	2.5 days	
透明化	CUBIC-X2	RT	1.5 days	CUBIC-X2 は 12 時間ごとに新しいものに取り替える。

透明化例

- 成体マウス脳を洗浄後、3mL 50% CUBIC-L での前置換
- 3mL CUBIC-L での 14 日間 37°C 振とうによる脱脂 (4,8,12 日目に CUBIC-L を入替)
- PBS による洗浄、染色剤による染色、PBS による洗浄後、30mL CUBIC-X1 での 2.5 日間 4°C 振とうによる肥大化
- 40mL CUBIC-X2 での 1.5 日間室温振とうによる透明化 (12,24 時間後に CUBIC-X2 を入替)
- 観察用封入剤 (RI = 1.467) [M3292] に浸しての観察

使用試薬量

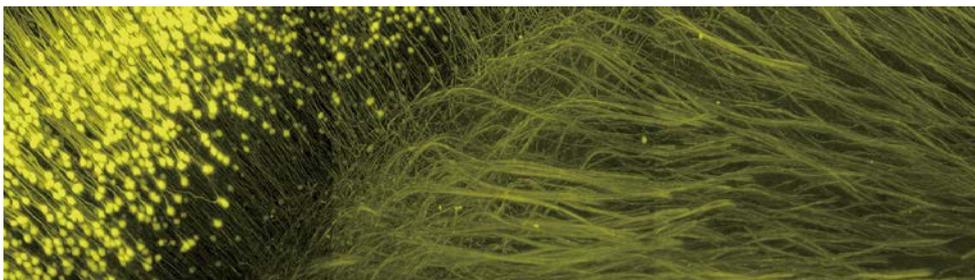
- ▶ CUBIC-L : 10.5 mL
- ▶ CUBIC-X1 : 30 mL
- ▶ CUBIC-X2 : 120 mL

お使いの容器により必要量は変わります。

* 核染色には 30 µg/mL ヨウ化プロピジウム (PI)、1.5 M NaCl を含む PBS でおこなってください。

肥大化した後の臓器はもろいので取扱には注意してください。

PFA: パラホルムアルデヒド、RT: 室温



肥大透明化後の形質転換したマウス脳の拡大図

3次元サンプルの組織染色

3D 組織染色キット CUBIC-HV™

サンプルの全てを観察対象に。

CUBIC-HV™は、大型検体用の3D 組織染色キットです。



画像提供：理化学研究所

特長

- 3次元サンプルの内外を均一に染色可能なバッファーや核染色剤、抗体入りキットです。
- 本キットだけでは透明化ができないので、透明化には CUBIC-L [T3740] と CUBIC-R+(N) [T3983] または CUBIC-R+(M) [T3741] を別途お買い求めください。

キット内容



CUBIC-HV™1 3D immunostaining kit 1kit 98,000円 [C3708]

- 2 x Immunostaining Buffer (for 10 tests)
- 1 x Immunostaining Washing Buffer (for 10 tests)
- 10 x Immunostaining Additive (for 10 tests)
- Anti NeuN Mouse IgG1 antibody (1mg/mL) (for 2 tests)
- 10 packs of 15mL tube

CUBIC-HV™1 3D immunostaining kit (Casein separately) 1kit 98,000円 [C3717]

- 2 x Immunostaining Buffer (without Casein) (for 10 tests)
- Casein Sodium from Milk (Subdivided)
- 1 x Immunostaining Washing Buffer (for 10 tests)
- 10 x Immunostaining Additive (for 10 tests)
- Anti NeuN Mouse IgG1 antibody (1mg/mL) (for 2 tests)
- 10 packs of 15mL tube

(Casein は使用直前に2 x Immunostaining Bufferに溶解させてください。溶解に2時間ほどかかります。)

CUBIC-HV™1 3D nuclear staining kit 1kit 48,000円 [C3709]

- 1 x 3D Nuclear Staining Buffer (for 10 tests)
- 100 x 3D nuclear staining washing buffer (for 10 tests)
- 200 x DAPI.2HCl (1mg/mL in Water) [for Cell Staining] (for 10 tests)
- 100 x Propidium Iodide (1mg/mL in Water) [for Cell Staining] (for 10 tests)
- 10 packs of 5mL tube

上記容量は成体マウス脳を用いた場合です。キットの製品構成は予告なく変更されることがあります。

参考文献 E. A. Susaki, H. R. Ueda, et al., *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 1982. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15906-5>

*CUBIC-HV™は株式会社CUBICstarsの登録商標です。

技術情報は株式会社CUBICstarsのウェブサイトでもご覧いただけます。
<https://www.cubicstars.com/cubic-hv/index.html>

 CUBIC-HV

参考文献

CUBIC-X1, CUBIC-X2を用いた、マウス脳の肥大化例

A three-dimensional single-cell-resolution whole-brain atlas using CUBIC-X expansion microscopy and tissue clearing
T. C. Murakami, T. Mano, S. Saikawa, S. A. Horiguchi, D. Shigeta, K. Baba, H. Sekiya, Y. Shimizu, K. F. Tanaka, H. Kiyonari, M. Iino, H. Mochizuki, K. Tainaka, H. R. Ueda, *Nat. Neurosci.* **2018**, *21*, 625.
<https://doi.org/10.1038/s41593-018-0109-1>

CUBIC-L, CUBIC-R+, CUBIC-B, CUBIC-HL, CUBIC-Pを用いた、マウス全身・脳・肺・肝臓・肢・腎臓の透明化、マーモセット脳の透明化、ヒト脳・腎臓・肝臓・肺の透明化例 (CUBICによる透明化後の免疫染色プロトコール)

Chemical Landscape for Tissue Clearing based on Hydrophilic Reagents
K. Tainaka, T. C. Murakami, E. A. Susaki, C. Shimizu, R. Saito, K. Takahashi, A. Hayashi-Takagi, H. Sekiya, Y. Arima, S. Nojima, M. Ikemura, T. Ushiku, Y. Shimizu, M. Murakami, K. F. Tanaka, M. Iino, H. Kasai, T. Sasaoka, K. Kobayashi, K. Miyazono, E. Morii, T. Isa, M. Fukayama, A. Kakita, H. R. Ueda, *Cell Rep.* **2018**, *24*, 2196.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.07.056>

マウス全身・脳・肺の透明化例

Whole-Body Profiling of Cancer Metastasis with Single-Cell Resolution
S. I. Kubota, K. Takahashi, J. Mishida, Y. Morishita, S. Ehata, K. Tainaka, K. Miyazono, H. R. Ueda, *Cell Rep.* **2017**, *20*, 236.
<https://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2017.06.010>

マウス脳、マーモセット脳の透明化例

Whole-Brain Imaging with Single-Cell Resolution Using Chemical Cocktails and Computational Analysis
E. A. Susaki, K. Tainaka, D. Perrin, F. Kishino, T. Tawara, T. M. Watanabe, C. Yokoyama, H. Onoe, M. Eguchi, S. Yamaguchi, T. Abe, H. Kiyonari, Y. Shimizu, A. Miyawaki, H. Yokota, H. R. Ueda, *Cell* **2014**, *157*, 726.
<https://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.042>

CUBIC灌流による、マウス全身・心臓・肺・腎臓・肝臓の透明化例

Whole-Body Imaging with Single-Cell Resolution by Tissue Decolorization
K. Tainaka, S. I. Kubota, T. Q. Suyama, E. A. Susaki, D. Perrin, M. Ukai-Tadenuma, H. Ukai, H. R. Ueda, *Cell* **2014**, *159*, 911.
<https://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.034>

CUBICのヒト病理組織診断への応用例

CUBIC pathology: three-dimensional imaging for pathological diagnosis
S. Nojima, E. A. Susaki, K. Yoshida, H. Takemoto, N. Tsujimura, S. Iijima, K. Takachi, Y. Nakahara, S. Tahara, K. Ohshima, M. Kurashige, Y. Hori, N. Wada, J. Ikeda, A. Kumanogoh, E. Morii, H. R. Ueda, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 9269.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-09117-0>

CUBIC-HV™キットによる全臓器・全身スケールの3次元組織染色・観察

Versatile whole-organ/body staining and imaging based on electrolyte-gel properties of biological tissues
E. A. Susaki, C. Shimizu, A. Kuno, K. Tainaka, X. Li, K. Nishi, K. Morishima, H. Ono, K. L. Ode, Y. Saeki, K. Miyamichi, K. Isa, C. Yokoyama, H. Kitaura, M. Ikemura, T. Ushiku, Y. Shimizu, T. Saito, T. C. Saido, M. Fukayama, H. Onoe, K. Touhara, T. Isa, A. Kakita, M. Shibayama, H. R. Ueda, *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 1982.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-15906-5>

テクニカルガイドもご用意しています



or <https://bit.ly/3tV6CSq>

透明化に関するQ&Aはこちらから



or <https://bit.ly/3b6F6La>

製品の詳細は TCI のウェブサイトへ ▶▶▶



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・研究用にも使用するものです。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。