

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 9,000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、東京理科大学の松永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

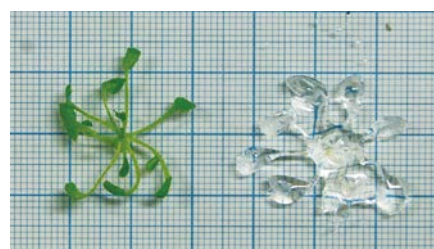


図 1. TOMEI-Iにより透明化したイネ(上)とシロイヌナズナ(下)

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。



図 2. TOMEI-IIにより透明化されたシロイヌナズナ

1) J. Hasegawa, Y. Sakamoto, S. Nakagami, M. Aida, S. Sawa, S. Matsunaga, *Plant Cell Physiol.* **2016**, 57, 462.

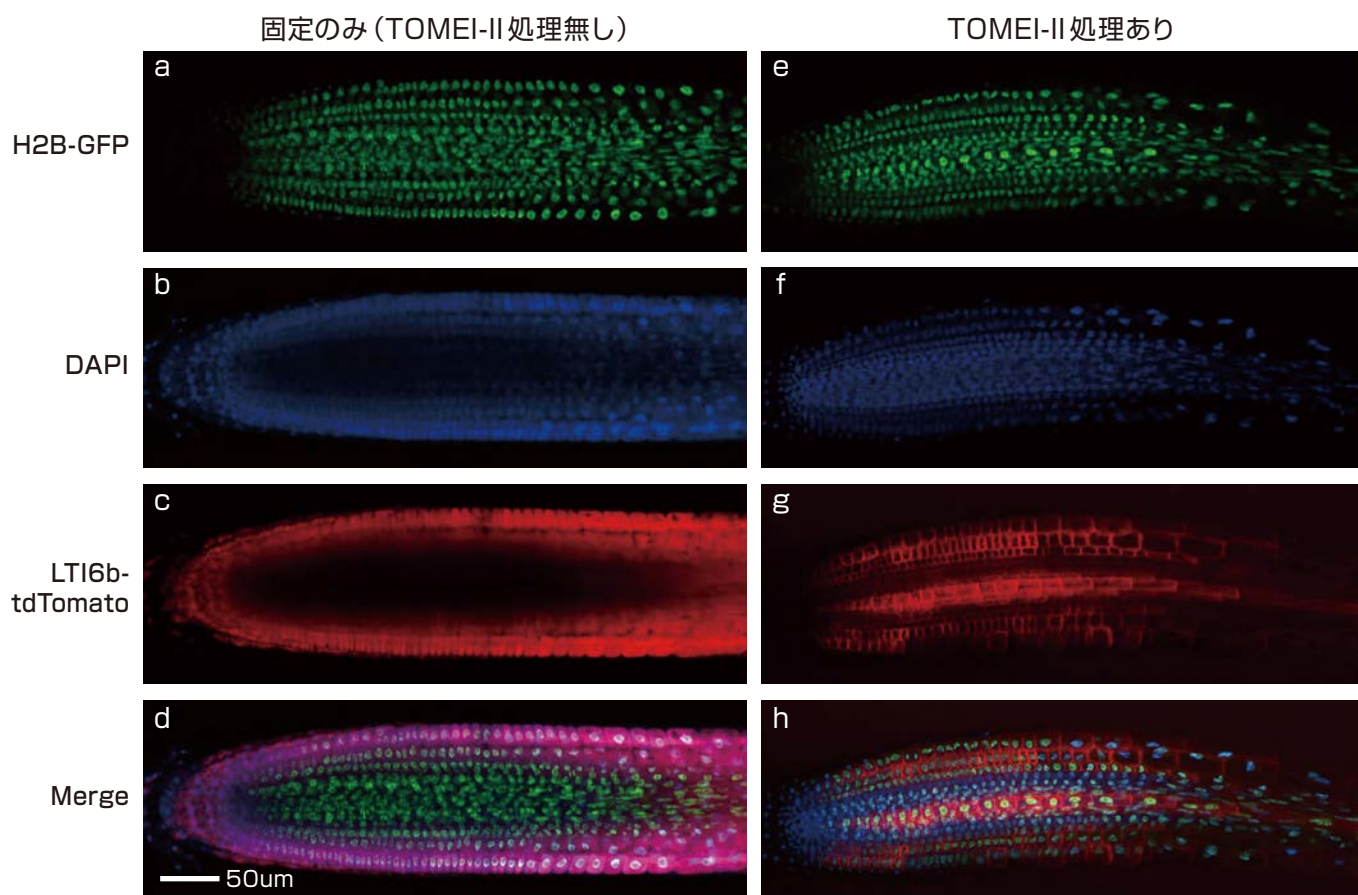


図3. 共焦点顕微鏡により得られたシロイヌナズナの根の光学切片画像

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、東京理科大学の坂本勇貴研究員および松永幸大教授のご厚意により提供いただいております。

関連製品

Paraformaldehyde

DAPI・2HCl [for Biochemical Research]

Acetic Acid

Evans Blue

25g 1,700円 / 500g 2,900円 **[P0018]**

5mg 5,300円 **[A2412]**

300mL 1,800円 **[A2035]**

25g 9,900円 **[E0197]**

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, 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 5µg/mL で30分, Calcofluor White 染色の場合はそれぞれ Calcofluor White M3R 1g/L, Evansblue 0.5g/L で10分が目安ですが, 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℃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静置5分間する。 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5μg/mL で30分、Calcofluor White 染色の場合はそれぞれCalcofluor White M3R 1g/L, Evansblue 0.5g/L で10分が目安ですが、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 ▶▶▶

透明化



東京化成工業株式会社

■本社営業部 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町4-10-2 TCIビル2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

□化成部品 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町4-10-1
Tel: 03-5651-5171 Fax: 03-5640-8021
E-mail: finechemicals@TCIchemicals.com

弊社製品取扱店

やむを得ず品目の削除や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を無断で転載あるいは複製することをご遠慮ください。