

Corning® 3D 組織透明化試薬

クイックスタートガイド

CORNING

STOP

Corning 3D 組織透明化試薬をご使用前に、必ずお読みください

Corning 3D 組織透明化試薬は、組織の透明化と可視化を簡単に行えるようデザインされていますが、その過程を最適化するためのベストプラクティスがあります。本クイックスタートガイドは、組織サンプルを標識、透明化、イメージングを行う前に考慮すべき注意事項と準備の手順を概説しています。ご一読ください。

標識の最適化

浸透

標識

透明化

イメージング

Corning 3D 組織透明化試薬の性能を最大限発揮させるために、次のステップに従ってください

蛍光タンパク質

核の染色と細胞生死判別のための染色

免疫標識を行わない場合は、浸透と標識のプロセスは省略できます

直接透明化のステップへ進み、
4℃のエタノールで脱水する（裏面参照）

製造元の指示に従って染色を行い、組織を固定し、
脱水と透明化のステップに進む（裏面参照）

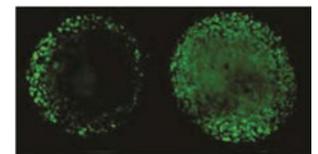
免疫標識

抗体濃度の最適化は組織の透明化を成功させるために非常に重要なステップです。数日かけて組織染色を最適化することをお勧めします。結果的には余計な時間と手間をかけずに済みます。

1. 抗体希釈率と反応時間の最適化：6 サンプル以上の *in vitro* モデルを使用して、希釈率を 1:500 から 1:50、反応時間を 30 分から 12 時間、の間で検討してください。
2. 共焦点顕微鏡で画像を撮り、Z セクションが均一に染色されていることを確認してください。
3. 抗体濃度が低すぎるとシグナルノイズ (S/N) 比が小さくなり、高すぎると表層での抗体結合量が多くなって内部が暗くなります。
4. 抗体溶液は、観察したい組織を完全に覆っている必要があります。

最適化の概要

ひとつの培養で条件を検討 → 均一性と深度を確認



標識が不均一

標識が均一

浸透

3D 細胞培養モデル		
1X	PBS	15 分
1X	MeOH (免疫組織化学染色) または EtOH (蛍光タンパク質)	15 分
1X	20% DMSO/MeOH または 20% DMSO/EtOH	15 分
1X	MeOH または EtOH	15 分
1X	Triton X-100 を添加した 1X PBS	15 分



注意: 溶液を交換するときは、3D 細胞培養モデルがきちんとマイクロプレート
の底にあることを確認してください。



標識

3D 細胞培養モデル		
1X	浸透バッファー	15 分
1X	ブロッキングバッファー	30 分
1X	抗体バッファー	30 分
必要に応じて核染色を追加		
5X	1X 洗浄バッファー	15 分
1X	抗体バッファー	30 分
5X	1X 洗浄バッファー	15 分
必要に応じて二次抗体を添加		
1X	PBS	15 分



注意: 抗体の反応時間は対象とするモデルによって 30 分から 12 時間まで幅
があります。



透明化

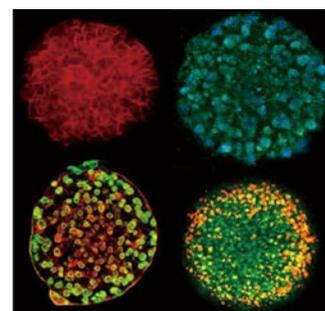
3D 細胞培養モデル		
1X	MeOH または EtOH	15 分
1X	Corning® 3D 組織透明化試薬	15 分

スターターキットに含まれるもの

	浸透バッファー		Corning 3D 組織透明化試薬
	ブロッキングバッファー		
	抗体バッファー		
	10X 洗浄バッファー		

イメージング

1. Corning 3D 組織透明化試薬で透明化したら、イメージングを行うにあたって透明化した 3D 細胞培養モデルはそのままマイクロプレートに残すか、3D 培養モデルを覆う十分量の Corning 3D 組織透明化試薬とともに別のスライドガラスに移します。
2. Corning 3D 組織透明化試薬を使用して透明化した 3D 細胞培養モデルは、共焦点顕微鏡あるいは広視野の顕微鏡でのイメージングが可能です。光学的な Z セクションは共焦点顕微鏡では観察できません。
3. 3D 細胞培養モデルのイメージングにはハイコンテンツ共焦点イメージングシステムが最適です (例、Opera Phenix®/Operetta (PerkinElmer)、CellInsight™ CX7 LZR/LED (Thermo Fisher)、IN Cell analyzer 6000/6500 (GE)、ImageXpress® (Molecular Devices))。
4. 最適な品質の画像を得るためには、平底のガラスボトムプレート (カタログ番号 4580) や Corning スフェロイドマイクロプレート (カタログ番号 4512、4520) を用いて、ハイコンテンツ共焦点イメージングシステムでレーザー励起して観察することをお勧めします。



特定の情報または保証については、www.corning.com/lifesciences の保証書のページをご覧ください。

保証・免責事項: 特に記載がない限り、記載中の製品は研究用機材および試薬です。診断、または治療用途には使用しないでください。コーニングライフサイエンスは本製品の臨床又は診断用途でのいかなるパフォーマンスについても保証しません。

詳しい製品情報または技術情報については、www.corning.com/lifesciences をご覧いただくか、または 800.492.1110 までお問い合わせください。米国以外の地域では、+1.978.442.2200 にお問い合わせいただくか、最寄りのコーニングの営業所にご連絡ください。

CORNING

Corning Incorporated
Life Sciences

836 North St.
Building 300, Suite 3401
Tewksbury, MA 01876
t 800.492.1110
t 978.442.2200
f 978.442.2476

www.corning.com/lifesciences

アジア太平洋

オーストラリア/
ニュージーランド
t 61 427286832

中国本土
t 86 21 3338 4338
f 86 21 3338 4300

インド
t 91 124 4604000
f 91 124 4604099

日本

t 81 3-3586 1996
f 81 3-3586 1291

韓国
t 82 2-796-9500
f 82 2-796-9300

シンガポール
t 65 6572-9740
f 65 6735-2913

台湾
t 886 2-2716-0338
f 886 2-2516-7500

ヨーロッパ

CSEurope@corning.com

フランス
t 0800 916 882
f 0800 918 636

ドイツ
t 0800 101 1153
f 0800 101 2427

オランダ
t 020 655 79 28
f 020 659 76 73

英国
t 0800 376 8660
f 0800 279 1117

その他ヨーロッパ諸国

t +31 (0) 206 59 60 51
f +31 (0) 206 59 76 73

中南米
grupoLA@corning.com

ブラジル
t 55 (11) 3089-7400

メキシコ
t (52-81) 8158-8400