



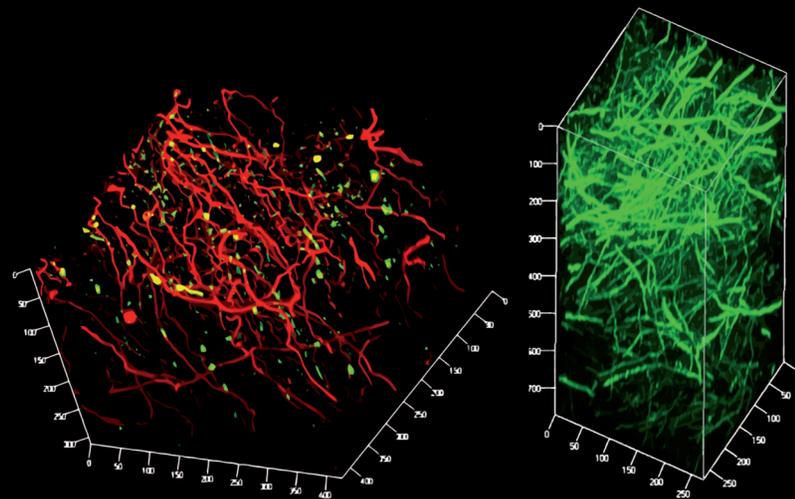
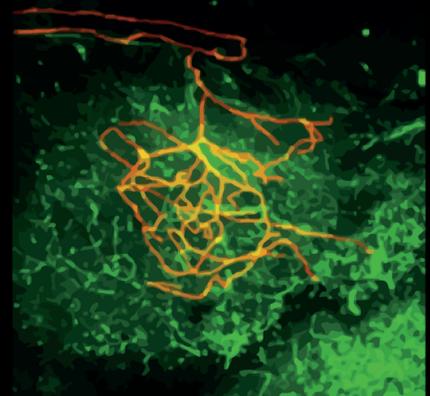
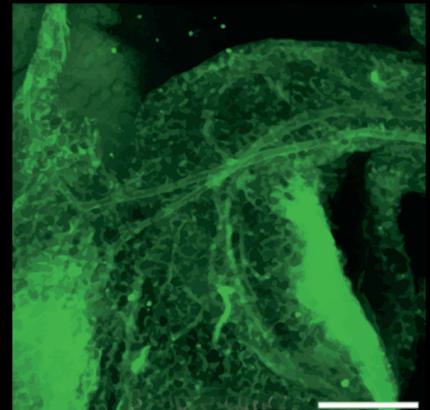
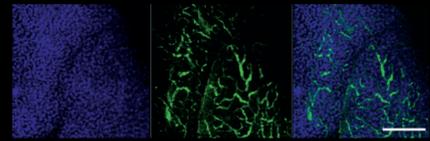
METODO CLARITY IN MICROSCOPIA

Micrografie ottenute applicando il metodo CLARITY (Clear, Lipid-exchanged, Anatomically Rigid, Imaging/immunostaining compatible, Tissue hydrogel) su campioni istologici tridimensionali.

A sinistra, ricostruzioni 3D di tessuto corticale murino e umano. Le immagini sono tratte da "Bringing CLARITY to the human brain: visualization of Lewy pathology in three dimensions" pubblicato da Alan King Lun Liu, et al. in *Neuropathology and Applied Neurobiology* (2016).

A destra, vasi pancreatici in un pancreas intatto di topo adulto (12 settimane). In alto, i tre pannelli contengono diverse visualizzazioni del tessuto pancreatico murino chiarificato e, a sinistra, non chiarificato (la barra misura 200 μ m). Più in basso, la proiezione tridimensionale del pancreas senza i vasi capillari (barra = 300 μ m) e, ancora più sotto, con i capillari.

Le immagini provengono da "Improved application of the electrophoretic tissue clearing technology, CLARITY, to intact solid organs including brain, pancreas, liver, kidney, lung, and intestine" pubblicato da Hyunsu Lee, et al. in *BMC Developmental Biology*, dicembre 2014.



Come nel precedente, anche in questo numero parliamo di una tecnica di imaging che non ha principalmente a che fare con lo strumento per osservare un certo oggetto, ma che piuttosto opera una speciale trasformazione nell'oggetto da osservare. In questo caso non si tratta di aumentarne le dimensioni (come accade con la microscopia a espansione, di cui abbiamo parlato nel numero scorso), ma di renderlo trasparente. Serve cioè non solo per vedere il campione più nei dettagli, ma anche e soprattutto per avere una visione complessiva del suo interno.

L'impresa di rendere trasparenti i tessuti biologici era già stata tentata all'inizio del

secolo scorso ed è stata realizzata all'inizio di questo secolo con la tecnica 3D-ISCO (3D Imaging of Solvent-Cleared Organs), che non permette però una perfetta conservazione delle strutture che interessa visualizzare. La metodica con cui sono stati realizzati i campioni visualizzati nelle immagini che stiamo presentando, conosciuta come CLARITY (approssimativo acronimo del lungo sintagma inglese Clear Lipid-exchanged Anatomically Rigid Imaging/immunostaining compatible Tissue hydrogel), è invece in grado di fornire una perfetta mappatura 3D della distribuzione di determinati complessi molecolari in specifici organi. CLARITY è stata utilizzata soprattutto nelle

neuroscienze, perché permette di ottenere la completa trasparenza rispetto alla luce dell'intero cervello, ma può essere utilmente applicata anche ad altri organi interni, come polmoni, pancreas e fegato. Anche in questo caso, come in quello della microscopia a espansione, la trasformazione viene operata grazie alle proprietà chimico-fisiche di un gel. Dopo la polimerizzazione, si forma una matrice stabile su cui si fissano le molecole che interessa visualizzare, mentre i lipidi vengono lavati via usando un detergente che non danneggia le macromolecole. Il risultante complesso idrogel-tessuto può poi essere immunocolorato e visualizzato con appropriate tecniche microscopiche.