

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
23. Juni 2022 (23.06.2022)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2022/129221 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
G01N 1/30 (2006.01) *G01N 33/483* (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2021/085981

(22) Internationales Anmeldedatum:
15. Dezember 2021 (15.12.2021)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
20215089.2 17. Dezember 2020 (17.12.2020) EP

(71) Anmelder: **MOBICRON GMBH** [DE/DE]; Lotzestr. 22a,
37083 Göttingen (DE).

(72) Erfinder: **DIEKMANN, Stephan**; Lachen-Birkenallee 13,
86911 Diessen (DE). **WOUTERS-BUNT, Fred S.**; Schild-
weg 8A, 37085 Göttingen (DE).

(74) Anwalt: **PATENTANWÄLTEOLBRICHT, BUCH-
HOLD, KEULERTZ PARTNERSCHAFT MBB**; Betti-
nastraße 53-55, 60325 Frankfurt am Main (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA,
MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU,
RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST,
SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ,
RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ,
DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT,
LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI,
SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz
3)

(54) **Title:** IMPROVED METHOD FOR OPTICALLY CLEARING A TISSUE SAMPLE FOR A LIGHT MICROSCOPY EXAMINATION

(54) **Bezeichnung:** VERBESSERTES VERFAHREN ZUR OPTISCHEN KLÄRUNG EINER GEWEBEPROBE ZUR LICHTMIKROSKOPISCHEN UNTERSUCHUNG

(57) **Abstract:** The invention relates to a method for producing transparent tissue samples of a biological or human tissue for a light microscopy examination, having the steps a) dewatering the tissue sample using a dewatering solvent and b) clearing the dewatered tissue sample by transferring same into an embedding medium which contains an aromatic ester. The aromatic ester is a phenylacetic acid ester. In comparison to the benzyl benzoate/benzyl alcohol mixtures and methyl salicylate-benzyl benzoate mixtures conventionally used until now as embedding media, the aromatic ester has the advantage of being usable as a pure substance, in exactly the same way as a dibenzyl ether. Because the pure substance already has the desired refractive index, the refractive index does not need to be set by mixing the embedding medium. Furthermore, the aromatic ester is non-toxic, has a low degree of volatility, and allows a cold storage of the transparent tissue.

(57) **Zusammenfassung:** Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung transparenter Gewebeproben eines biologischen bzw. humanen Gewebes zur lichtmikroskopischen Untersuchung, umfassend die Schritte a) Entwässern der Gewebeprobe mit einem entwässernden Lösungsmittel und b) Klären der entwässerten Gewebeprobe durch Einlegen in ein Einbettungsmedium enthaltend einen aromatischen Ester. Der aromatische Ester ist ein Phenyllessigsäureester. Gegenüber den bisher üblicherweise benutzten Einbettungsmedien Benzylbenzoat/Benzylalkohol-Mischungen und Methylsalicylat-Benzyl Benzoat-Mischungen besitzen die aromatischen Ester den Vorteil, dass sie, genau wie Dibenzylether, als reine Substanz eingesetzt werden können. Da bereits die reine Substanz den gewünschten Brechungsindex erreicht, muss der Brechungsindex nicht durch Anmischen des Einbettungsmediums eingestellt werden. Darüber hinaus sind sie ungiftig, haben eine geringe Flüchtigkeit und erlauben es, das transparente Gewebe gekühlt zu lagern.

WO 2022/129221 A1