

BaseScope™ Assay-Red クイックガイド (for fresh frozen tissue)

アッセイを始める前に

サンプル作製方法の確認: 試薬キットおよび

サンプルタイプ毎に用意されている推奨プロトコル(英語版)をご確認ください。

各種プロトコルは下記のウェブページよりご覧になれます。

<https://acdbio.com/documents/product-documents>

手順の確認: RNAScope™の実験手順を動画で解説しています。

実験の様子や流れを事前にご確認ください。

<https://www.cosmobio.co.jp/support/technology/rnascope/rnascope-videos-adc.asp>

製品の詳細はこちら

QRコードからも

日本語クイックガイドや

実験動画をご覧になれます。

<https://www.cosmobio.co.jp/s/002/>



* 染色工程には推奨プロトコル(英語版)と異なる部分がございますが、アッセイ結果に影響はございません。

任意	必要品/便利品	備考
<input type="checkbox"/>	染色バット	染色枚数が少ない場合は
<input type="checkbox"/>	スライドガラス用ラック	メーラー (5枚入) でも可
<input type="checkbox"/>	エタノール	Freshなものを用意
<input type="checkbox"/>	キシレン	Freshなものを用意
<input type="checkbox"/>	蒸留水や超純水	Freshなものを用意
<input type="checkbox"/>	温度計	賦活化液ポイル温度を測定する
<input type="checkbox"/>	マイクロピペット	試薬分注・滴下
<input type="checkbox"/>	マイクロピペットのチップ	試薬分注・滴下
<input type="checkbox"/>	乾燥機	切片乾燥、ペイキングなど
<input type="checkbox"/>	ドライヤー	切片乾燥
<input type="checkbox"/>	パラフィルム	切片上で試薬が広がりにくい時に
<input type="checkbox"/>	固定液	10%NBF or 4%PFA/PBS 新鮮なものを用意

任意	必要品/便利品	備考
<input type="checkbox"/>	アルミ箔/サランラップ等	賦活化液ポイル時の液の蒸発を防ぐ
<input type="checkbox"/>	500ml ビーカー	試薬調製
<input type="checkbox"/>	1~2L メスシリンダー	試薬調製
<input type="checkbox"/>	ピンセット (大)	ポイル時のスライドラック取り扱い
<input type="checkbox"/>	ピンセット (小)	パラフィルムやカバーガラスの取り扱い
<input type="checkbox"/>	キムタオル/キムワイブ	スライドガラス上の余分な水分を取るため
<input type="checkbox"/>	綿棒	
<input type="checkbox"/>	50ml 遠沈管	試薬原液分注用
<input type="checkbox"/>	1.5 ml チューブ	発色液調製
<input type="checkbox"/>	1~3L ボトル	wash buffer 保存用
<input type="checkbox"/>	カバーガラス	
<input type="checkbox"/>	Gill's ヘマトキシリン	Gillを推奨
<input type="checkbox"/>	アンモニア	色出し、ブルーイング (青味を出すため)

新鮮凍結 (Fresh Frozen) サンプル 前処理

任意	✓	ステップ	時間	回数	温度	試薬	メモ	装置・器具
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	解剖と摘出	~5分					染色バット、金属ラック等
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	氷上で厚さ5mm以下にcut			on ice		包埋で利用するモールドをドライアイスの温度に10分間平衡化させる	シャーレ、モールド
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	OCT包埋	5分		on dry ice	Dry Ice & OCT	組織の余分な水分をペーパーで除きドライアイス上のモールドの中でOCTに包埋する	発泡スチロールボックス
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	薄切			-15~-20℃		推奨は10-20um OCTブロックは少なくとも1時間前に-80℃から出しCryostat内部の温度に慣らしておく	Cryostat, microtome
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	乾燥	1-2時間		-20℃		薄切後のスライドガラスはcryostatの中で乾燥	Cryostat
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ストップポイント	~3か月		-80℃		乾燥後の薄切スライドは-80℃で3か月保存可能	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	固定	1時間		4℃	10%NBF又は4%PFA/PBS	-80℃から取り出したスライドガラスを素早く固定液に入れる	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	洗浄		x1		PBS		染色バット、金属ラック等
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	50%エタノール	5分		室温	50%エタノール	部分的に剥がれてたり切片にしわが寄っていないか確認 試薬は新しいものを使用する	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	70%エタノール	5分		室温	70%エタノール		
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	100%エタノール	5分	x2	室温	100%エタノール		
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ストップポイント	~1週間		-20℃	100%エタノール		長引くとRNAが分解する恐れあり
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	乾燥	5分		室温		切片の剥離防止に有効	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ペイキング	~30分		60℃		切片の剥離防止に有効	ハイブリオープン/乾燥機等
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	疎水バリア作成	5分		室温	ImmEdge Hydrophobic Barrier Pen	指定のペン以外ではインクが溶けやすい	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	過酸化水素 (H2O2)	10分		室温	Hydrogen Peroxide	内在性ペルオキシダーゼ (POD) の失活 H2O2が切片上で広がりにくい可能性がある	マイクロピペットのチップ/ カバーガラス/パラフィルム等
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	洗浄	上下3-5回	x2	室温	蒸留水~超純水		染色バット、金属ラック等
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	プロテアーゼ処理	30分		室温	Protease IV	<条件検討: 反応時間、温度、プロテアーゼの種類> 並行してプローブのプレヒート (40℃、15分)	プロテアーゼを広げにくい時→ マイクロピペットのチップ/ カバーガラス/パラフィルム等
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	洗浄	上下3-5回	x2	室温	蒸留水~超純水	切片の剥離やダメージの程度を確認	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ハイブリダイゼーション	2時間		40℃	各プローブ	洗浄バッファー作成 蒸留水や超純水で50倍希釈 希釈前に析出の有無を確認、数か月保存可能	ハイブリオープン バッファー保存のためのボトル、 1~2Lメスシリンダー、デイスボの 50ml遠沈管やピペット等
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	洗浄	2分		室温	1xwash buffer		
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ストップポイント	O/N		室温	5xSSC	20X SSC (saline Sodium Citrate)バッファー 蒸留水もしくは超純水800mlに NaCl: 175.3 g + クエン酸ナトリウム: 88.2 g ⇒1M HClで滴下してpH 7.0に調製 ⇒水で1 Lまでメスアップ ⇒オートクレーブで滅菌	染色バット、金属ラック等
						↑		BaseScope試薬

BaseScope™ RED

✓	ステップ	時間	回数	温度	試薬	メモ	装置・器具
□	洗浄	2分		室温	1×wash buffer	洗浄後、洗浄液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	【スライド洗浄】 染色バットと金属ラック 【洗浄液を吸い取る】 綿棒、キムタオルやキムワイブ等 【試薬反応温度維持】 ハイブリオープン
□	AMP1	30分		40℃	AMP1		
□	洗浄	2分	×2	室温	1×wash buffer	洗浄後、洗浄液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
□	AMP2	30分		40℃	AMP2		
□	洗浄	2分	×2	室温	1×wash buffer	洗浄後、洗浄液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
□	AMP3	15分		40℃	AMP3		
□	洗浄	2分	×2	室温	1×wash buffer	洗浄後、洗浄液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
□	AMP4	30分		40℃	AMP4		
□	洗浄	2分	×2	室温	1×wash buffer	洗浄後、洗浄液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
□	AMP5	30分		40℃	AMP5		
□	洗浄	2分	×2	室温	1×wash buffer	洗浄後、洗浄液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
□	AMP6	15分		40℃	AMP6		
□	洗浄	2分	×2	室温	1×wash buffer	洗浄後、洗浄液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
□	AMP7	30分		室温	AMP7	室温、反応時間を延長するとシグナル増強 <条件検討：反応時間>	
□	洗浄	2分	×2	室温	1×wash buffer	洗浄後、洗浄液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
□	AMP8	15分		室温	AMP8		
□	洗浄	2分	×2	室温	1×wash buffer	洗浄後、洗浄液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
□	発色	Fast Red	10分	室温	Fast Red-A Fast Red-B	基質液調整 (RED-A : RED-B = 60:1) 混合後は3-5分以内に使用する	マイクロピペット、1.5mlチューブ、 チューブラック等
□	洗浄			室温	蒸留水~超純水	流水で洗浄	
□	対比染色	~30秒		室温	50% Gillの ハマトキシリン	視野が明るく観察しやすいため、Gillを推奨	染色バット、金属ラック ※ハマトキシリンが落ちにくいので 専用のものを用意するとよい
□	洗浄			室温	水道水	流水で洗浄	
□	アンモニア水			室温	0.02% アンモニア	アルカリで青味を出すため (bluing)、炭酸リチウムも可、 Fast Redの染まりが悪い時はスキップ	
□	洗浄			室温	水道水	流水で洗浄	
□	乾燥	15-30分		60℃		エタノール脱水の代わり Fast Redがエタノールに溶けてしまうため	乾燥機、オーブン
□	キシレン	~2秒		室温	キシレン	封入剤をなじませるため 一瞬だけつけるもしくははたらす	染色バット、金属ラック
□	封入	封入		室温	EcoMount / Vectamount		マイクロピペット、カバーガラス、 キムタオル、マッペ等



商品に関するお問い合わせ
TEL: 080-7372-3503 担当: 平林
EMAIL: acd_japan@bio-techne.com

商品に関するお問い合わせ
TEL: 03-5632-9610 (受付時間 9:00 ~ 17:30)
FAX: 03-5632-9619

本社所在地 〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル