

BaseScope™ Assay-Duplex クイックガイド (for FFPE 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

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	新しいものを用意
<input type="checkbox"/>	キシレン	新しいものを用意
<input type="checkbox"/>	蒸留水や超純水	新しいものを用意
<input type="checkbox"/>	温度計	100℃前後の測定が可能なものを推奨
<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、ハイキングなど
<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"/>	スチーマー/オイルバス/ヒーター付きスターラー等	賦活化液を沸騰させる為
<input type="checkbox"/>		ライドガラスを入れることができればなんでもよい

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	ヒーターの上で賦活化液をポイルする為
<input type="checkbox"/>	電子レンジ	賦活化液の余熱に利用
<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"/>	50ml 遠沈管	試薬原液分注用
<input type="checkbox"/>	1.5 ml チューブ	染色液調製
<input type="checkbox"/>	メスシリンダー	試薬調製
<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)

FFPEサンプル (For BaseScope)

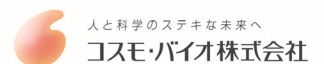
任意	ステップ	時間	回数	温度	試薬	メモ	装置・器具
<input type="checkbox"/>	固定・薄切	固定	16-32時間	室温	10%NBF	16時間未満或いは32時間以上の場合にはRNAscopeの結果が期待以下になる可能性がある	
<input type="checkbox"/>	薄切	脱水・包埋・薄切	ホルマリン固定用の一般的なプロトコルで可			薄切の推奨は5 +/- 1µm	
<input type="checkbox"/>	脱パラフィン	ストップポイント		室温		包埋済みブロックは乾燥剤と共に室温で保存可能 (1年以上保存予定の場合は乾燥剤と共に冷蔵保存推奨) 薄切スライドは乾燥剤と共に室温で3か月保存可能	
<input type="checkbox"/>	脱パラフィン	ハイキング	60分	60℃		脱パラ効率をあげ、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"/>	脱パラフィン	ストップポイント	~1週間	室温		乾燥剤を入れ、埃が被らないように	
<input type="checkbox"/>	脱パラフィン	キシレン	5分	×2	室温	キシレン	日常行われている方は、普段のプロトコルで可
<input type="checkbox"/>	脱パラフィン	100% エタノール	2分	×2	室温	100% エタノール	試薬は新しいものを使用する
<input type="checkbox"/>	脱パラフィン	乾燥	5分		60℃		しっかり乾燥させる
<input type="checkbox"/>	POD失活	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が切片上で拡がりにくい可能性がある
<input type="checkbox"/>	POD失活	洗浄	上下3-5回	×2	室温	蒸留水~超純水	切片の剥離がないことを確認しながら
<input type="checkbox"/>	POD失活	賦活化液によるポイル	15分	98~102℃	1X Target Retrieval Buffer	一旦温度が下がるので、再度温度が上がってから時間を測る事 目安: 500mlビーカーでポイル⇒350ml準備 <条件検討: 反応時間; USMのAppendix A参照>	染色バット、金属ラック等
<input type="checkbox"/>	POD失活	洗浄	上下3-5回	×2	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"/>	POD失活	100% エタノール	3分		室温	100% エタノール	脱水
<input type="checkbox"/>	POD失活	乾燥			室温		室温やドライヤーなど、任意の方法で
<input type="checkbox"/>	細胞処理	* ハイキング	~30分	60℃			切片の剥離防止に有効
<input type="checkbox"/>	細胞処理	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"/>	細胞処理	ストップポイント	~0/N	室温		インクが乾くまで~オーバーナイト (0/N)	
<input type="checkbox"/>	細胞処理	プロテアーゼ処理	30分	40℃	Protease III (For Rhodents) Protease IV (Human or NHP)	<条件検討: 反応時間、温度; USMのAppendix A参照> 並行してプローブのプレヒート (40℃、15分)	【試薬反応温度維持】ハイブリオープン
<input type="checkbox"/>	細胞処理	洗浄	上下3-5回	×2	室温	蒸留水~超純水	プロテアーゼによる切片のダメージの有無を確認
<input type="checkbox"/>	細胞処理	ハイブリダイゼーション	2時間	40℃	各プローブ		【試薬反応温度維持】ハイブリオープン
<input type="checkbox"/>	細胞処理	洗浄	2分	室温	1 x wash buffer	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"/>	細胞処理	ストップポイント	0/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に調整 ⇒水で1 Lまでメスアップ ⇒オートクレーブで滅菌	スチーマー/オイルバス/ヒーター付きスターラー等 アルミ箔/サランラップ等、500mlビーカー、温度計、ピンセット
						切片の剥離やダメージの程度を確認	
					↑		BaseScope試薬

BaseScope™ Duplex

ステップ	時間	回数	温度	試薬	メモ	装置・器具
洗淨	2分		室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	【スライド洗淨】 染色バットと金属ラック
AMP1	30分		40℃	AMP1		
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	【洗淨液を吸い取る】 綿棒、キムタオルやキムワイブ等
AMP2	30分		40℃	AMP2		【試薬反応温度維持】 ハイブリオープン
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
AMP3	15分		40℃	AMP3		
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
AMP4	30分		40℃	AMP4		
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
AMP5	30分		40℃	AMP5		
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
AMP6	15分		40℃	AMP6		
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
AMP7	30分		室温	AMP7	反応時間を延長するとシグナル増強 ＜条件検討：反応時間＞	
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
AMP8	15分		室温	AMP8		
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
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
洗淨	2分		室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	【スライド洗淨】 染色バットと金属ラック
AMP9	15分		40℃	AMP9		
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	【洗淨液を吸い取る】 綿棒、キムタオルやキムワイブ等
AMP10	15分		40℃	AMP10		【試薬反応温度維持】 ハイブリオープン
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
AMP11	30分		室温	AMP9		
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
AMP12	15分		室温	AMP10		
洗淨	2分	×2	室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	
GREEN	10分		室温	Green-A Green-B	基質液調整 (Green-A : Green-B = 50:1)	マイクロピペット、1.5mlチューブ、 チューブラック等
洗淨	5分		室温	1 x wash buffer	洗淨後、洗淨液をしっかりと除く 乾燥・剥離に注意	【スライド洗淨】 染色バットと金属ラック
対比染色	~30秒		室温	50% Gillの ヘマトキシリン	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 ※ヘ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
洗淨			室温	水道水	流水で洗淨	
アンモニア水			室温	0.02% アンモニア	青味を出すため (bluing)、炭酸リチウムも可	
洗淨			室温	水道水	流水で洗淨	
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、Greenが水に可溶	乾燥機、オープン
風乾	5分		室温			
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たらず	染色バット、金属ラック
封入			室温	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-technique.com



人と科学のステキな未来へ
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