

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>

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/>



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>

* 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"/>	染色ハット	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、ヘイキングなど
<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/サララップ等	賦活化液ボイル時の蒸発を防ぐ
<input type="checkbox"/>	500ml ビーカー	ヒーターの上で賦活化液をボイルする為
<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)	ボ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	発色液調製
<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 miRNAscope)

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時間未満または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"/>	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"/>	ヘイキング	60分		60℃		脱バラ効率をあげ、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"/>	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"/>	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	染色ハット、金属ラック等
<input type="checkbox"/>	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"/>	乾燥	5分		60℃		しっかり乾燥させる	
<input type="checkbox"/>	後固定	~16時間 2時間		室温	10%NBF 12%ホルムアルデヒド	この後細胞内部が各試薬に暴露される為再固定する 試薬は新しいものを使用する	染色ハット、金属ラック等
<input type="checkbox"/>	洗浄	2分		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"/>	乾燥	5分		60℃		しっかり乾燥させる	
<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が切片上で拡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"/>	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	染色ハット、金属ラック等
<input type="checkbox"/>	賦活化液によるボイル	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ビーカーでボイル⇒350ml準備 <条件検討: 反応時間、温度; USMのAppendix A参照>	スチーマー/オイルバス/ ヒーター付きスターラー等
<input type="checkbox"/>	100% エタノール	3分		室温	100% エタノール	切片の剥離やダメージの程度を確認	アルミ箔/サララップ等、500mlビーカー、 温度計、ピンセット
<input type="checkbox"/>	乾燥			室温		脱水	
<input type="checkbox"/>	* ヘイキング	~30分		60℃		室温やドライヤーなど、任意の方法で	
<input type="checkbox"/>	切片剥離防止					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"/>	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"/>	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"/>	プロテアーゼ処理	30分		40℃	Protease III	<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"/>	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"/>	ハイブリタイゼーション	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"/>	洗浄	2分		室温	1x 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"/>	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/サララップ等、500mlビーカー、 温度計、ピンセット
<input type="checkbox"/>						切片の剥離やダメージの程度を確認	
					↑	miRNAscope試薬	

miRNAscope™ 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
□	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	【洗浄液を吸い取る】 綿棒、キムタオルやキムワイブ等
□	AMP2	15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	【試薬反応温度維持】 ハイブリオープン
□	AMP3	30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	15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		室温	AMP5	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	
□	AMP6	15分		室温	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	
□	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	
□	洗浄			室温	蒸留水~超純水	流水で洗浄	マイクロピペット、1.5mlチューブ、 チューブラック等
□	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	
□	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	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



人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

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