

RNAscope® Fluorescent Multiplex Reagent クイックガイド (for fixed 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
	☐	染色バット	染色枚数が少ない場合は メーラー (5枚入) でも可
	☐	スライドガラス用ラック	
	☐	エタノール	
	☐	蒸留水や超純水	
	☐	温度計	賦活化液ボイル温度を測定する
	☐	マイクロピペット	試薬分注・滴下
	☐	マイクロピペットのチップ	試薬分注・滴下
▷	☐	乾燥機	切片乾燥、ベイクングなど
▷	☐	ドライヤー	切片乾燥
	☐	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、その中にス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
▷	☐	アルミ箔/サランラップ等	賦活化液ボイル時の液の蒸発を防ぐ
	☐	500ml ビーカー	試薬調製
	☐	1~2L メスシリンダー	試薬調製
▷	☐	パラフィルム	切片上で試薬が広がりにくい時に
▷	☐	ピンセット (大)	ボイル時のスライドラック取り扱い
▷	☐	ピンセット (小)	パラフィルムやカバーガラスの取り扱い
▷	☐	キムタオル	スライドガラス上の余分な水分を取るため
▷	☐	キムワイブ	
▷	☐	綿棒	
▷	☐	50ml 遠沈管	試薬原液分注用
▷	☐	1~3L ボトル	wash buffer 保存用
	☐	カバーガラス	

固定凍結 (Fixed 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
	☐	洗浄	5分		室温	PBS	コンパウンドを洗いおとす	染色バット、金属ラック等
	☐	ベイクング	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
	☐	後固定	15分		4℃	新鮮な10%NBF又は 新鮮な4%PFA/PBS		
	☐	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	染色バット、金属ラック等
	☐	70%エタノール	5分		室温	70%エタノール		
	☐	100% エタノール	5分	×2	室温	100% エタノール		
	☐	乾燥	5分		室温		切片の剥離防止に有効	
▷	☐	* ベイクング	~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
	☐	賦活化液によるボイル	~5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>	スチーマー/オイルバス/ヒーター 付きスターラー等
	☐	洗浄	30秒	×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	
	☐	100% エタノール	3分		室温	100% エタノール	脱水	アルミ箔/サランラップ等、 500mlビーカー、温度計、ピン セット
	☐	乾燥	5分		室温		室温やドライヤーなど、任意の方法で	
▷	☐	* ベイクング	~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
	☐	疎水バリア作製			室温	ImmEdge Hydrophobic Barrier Pen	指定のペン以外ではインクが溶けやすい	
▷	☐	ストップポイント	~O/N		室温		インクが乾くまで~オーバーナイト (O/N)	
	☐	プロテアーゼ処理	30分		40℃	Protease III	<条件検討: 反応時間、温度、プロテアーゼ> 並行して プローブのプレヒート (40℃、10分)	ハイブリオープン、専用トレイ、 専用スライドホルダー ※プロテアーゼを扱げにくいと き⇒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
	☐	洗浄	1分	×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	
	☐	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
	☐	洗浄	2分		室温	1×wash buffer	洗浄バッファー作製 蒸留水や超純水で50倍希釈 希釈前に析出の有無を確認、数カ月保存可能	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 イスポの50ml遠沈管やピペット等
▷	☐	ストップポイント	O/N		室温	5×SSC	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
						↑	RNAscope試薬	

RNAscope® Fluorescent Multiplex

✓	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-FL		
☐	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	15分		40℃	AMP2-FL		
☐	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	30分		40℃	AMP3-FL		
☐	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-FL	Alt A、Alt B又はAlt Cのいずれかを選択して使用	
☐	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	
☐	DAPI				DAPI	DAPI入り封入剤をお使いの場合はスキップ	
☐	封入				蛍光退色防止剤入の 水溶性封入剤	推奨：ProLong™ Gold Antifade Mountant (cat#P36930)	マイクロピペット、カバーガラス、キムタオル、マッペ等

	Amp 4 Alt A-FL	Amp 4 Alt B-FL	Amp 4 Alt B-FL
C1	Alexa 488	Atto 550	Atto 550
C2	Atto 550	Alexa 488	Atto 647
C3	Atto 647	Atto 647	Alexa 488



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