

RNAscope® Fluorescent Multiplex Reagent クイックガイド (for cultured cells)

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 メーラー (5枚入) でも可
<input type="checkbox"/>	スライドガラス用ラック	
<input type="checkbox"/>	エタノール	
<input type="checkbox"/>	蒸留水や超純水	
<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、ベイクングなど
<input type="checkbox"/>	ドライヤー	切片乾燥

任意	必要品/便利品	備考
<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"/>	1~2L メスシリンダー	試薬調製
<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	スライドガラス上の余分な水分を取るため
<input type="checkbox"/>	キムワイブ	
<input type="checkbox"/>	綿棒	
<input type="checkbox"/>	50ml 遠沈管	試薬原液分注用
<input type="checkbox"/>	1~3L ボトル	wash buffer 保存用
<input type="checkbox"/>	カバーガラス	

培養細胞 (Cultured cell) 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"/>	前日に細胞をまく				培養液	翌日細胞を固定する時点で コンフルエントが80-90%になるように	チャンバースライド (Fisher Scientific cat#08-774-25)
<input type="checkbox"/>	洗浄			室温	PBS	乾燥を避けしっかり細胞が浸かる量で洗浄	染色バット、金属ラック等
<input type="checkbox"/>	固定	30分		室温	新鮮な10%NBF 又は 新鮮な4%PFA/PBS		
<input type="checkbox"/>	洗浄		×2	室温	PBS		
<input type="checkbox"/>	50%エタノール	5分		室温	50%エタノール		
<input type="checkbox"/>	70%エタノール	5分		室温	70%エタノール		
<input type="checkbox"/>	100% エタノール	5分		室温	100% エタノール		
<input type="checkbox"/>	100% エタノール	10分		室温	100% エタノール		
<input type="checkbox"/>	ストップポイント	~6カ月		-20℃	100% エタノール	~6カ月	
<input type="checkbox"/>	70%エタノール	2分		室温	70%エタノール		
<input type="checkbox"/>	50%エタノール	2分		室温	50%エタノール		
<input type="checkbox"/>	洗浄	10分		室温	PBS		
<input type="checkbox"/>	疎水バリア作製	~1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"/>	プロテアーゼ処理	10分		室温	Protease III (多くのセルラインには PBSで15倍希釈)	<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)	プロテアーゼを拡げにくいとき、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
<input type="checkbox"/>	洗浄	1分	×2	室温	PBS	切片の剥離やダメージの程度を確認	
<input type="checkbox"/>	ハイブリダイゼーション	2時間		40℃	プローブ液		【試薬反応温度維持】 ハイブリオープン ハイブリオープン
<input type="checkbox"/>	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	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
<input type="checkbox"/>	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® Fluorescent Multiplex

✓	ステップ	時間	回数	温度	試薬	メモ	装置・器具
<input type="checkbox"/>	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
<input type="checkbox"/>	AMP1	30分		40℃	AMP1-FL		
<input type="checkbox"/>	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	
<input type="checkbox"/>	AMP2	15分		40℃	AMP2-FL		
<input type="checkbox"/>	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	
<input type="checkbox"/>	AMP3	30分		40℃	AMP3-FL		
<input type="checkbox"/>	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	
<input type="checkbox"/>	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	
<input type="checkbox"/>	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	
<input type="checkbox"/>	DAPI				DAPI	DAPI入り封入剤をお使いの場合はスキップ	
<input type="checkbox"/>	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



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



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: 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