

RNAscope™ 2.5 HD Assay-Brown 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>

* 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。

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/>



任意	✓	必需品/便利品	備考
	☐	染色バット	染色枚数が少ない場合は
	☐	スライドガラス用ラック	メーラー（5枚入）でも可
	☐	エタノール	新しいものを用意
	☐	キシレン	新しいものを用意
	☐	蒸留水や超純水	新しいものを用意
	☐	温度計	100℃前後の測定が可能なものを推奨
	☐	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、ベイクンなど
>	☐	ドライヤー	切片乾燥
>	☐	パラフィルム	切片上で試薬が広がりにくい時に
	☐	スチーマー/オイルバス	賦活化液を沸騰させる為
	☐	/ヒーター付きスターラー等	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	✓	必需品/便利品	備考
>	☐	アルミ箔/サランラップ等	賦活化液沸騰時の液の蒸発を防ぐ
	☐	500ml ビーカー	ヒーター上で賦活化液をボイルする為
	☐	電子レンジ	賦活化液の余熱に利用
>	☐	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/キムワイブ	スライドガラス上の余分な水分を取るため
>	☐	50ml 遠沈管	試薬原液分注用
>	☐	1.5 ml チューブ	発色液調製
>	☐	メスシリンダー	試薬調製
>	☐	1 ~ 3 L ボトル	wash buffer 保存用
>	☐	カバーガラス	
	☐	Gill's ヘマトキシリン	Gillを推奨
	☐	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 前処理

任意	✓	ステップ	時間	回数	温度	試薬	メモ	装置・器具
	☐	固定・薄切	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	
	☐	固定・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	
	☐	脱色・包埋・薄切						
	☐	ストッポポイント			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	
	☐	ベイクン	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
>	☐	ストッポポイント	~1週間		室温		乾燥剤を入れ、埃が被らないように	
	☐	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	染色バット、金属ラック等
	☐	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	
	☐	乾燥	5分		室温			
	☐	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
	☐	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	染色バット、金属ラック等
	☐	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>	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
	☐	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	
	☐	100% エタノール	3分		室温	100% エタノール	脱水	
	☐	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	~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	
>	☐	ストッポポイント	~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 Plus	<条件検討：反応時間> 並行してフ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
	☐	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	
	☐	ハイブリダイゼーション	2時間		40℃	各フローブ		【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
>	☐	ストッポポイント	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
						↑		RNAscope試薬

RNAscope™ 2.5 HD BROWN							
✓	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プ等 【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	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	
□	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	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	1滴の滴下量が他の試薬より多いため、 滴下し過ぎに注意	
□	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	マイクロピペット、1.5mlチューブ、 チューブラック等
□	DAB	10分		室温	DAB-A、DAB-B	基質液調製（DAB-A：DAB-B = 1:1） DABは発癌性物質なので、グローブ着用	
□	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 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	青味を出すため (bluing)、炭酸リチウムも可	
□	洗浄			室温	水道水	流水で洗浄	
□	70% エタノール	2分	×2	室温	70% エタノール		
□	100% エタノール	2分	×2	室温	100% エタノール	しっかりと脱水する	
□	キシレン	5分	×2	室温	キシレン		
□	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-technne.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