

RNAScope™ 2.5 HD Assay-Red 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	必要品/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
☐	マイクロビベット	試薬分注・滴下
☐	マイクロビベットのチップ	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
☐	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
☐	ノ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	必要品/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	ビーターの上で賦活化液を沸騰する為
☐	電子レンジ	賦活化液の余熱に利用
☐	ピンセット (大)	沸騰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
☐	1～3L 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	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	
☐	☐	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	
☐	☐	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	
☐	☐	ベイクング	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
☐	☐	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	
☐	☐	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 試薬は新しいものを使用する	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		
☐	☐	乾燥	5分		室温			
☐	☐	過酸化水素 (H2O2)	10分		室温	Hydrogen Peroxide	内在性ペロキシダーゼ (POD) の失活 H2O2が切片上で拡がりにくい可能性がある	マイクロビベットのチップ/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 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 Plus	<条件検討: 反応時間> 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
☐	☐	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 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
☐	☐	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に調整 ⇒水で1 Lまでメスアップ ⇒オートクレープで滅菌	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 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 【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	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	マイクrobiベット、1.5mlチューブ、 チューブラック等
□	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	
□	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	
□	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	乾燥機、オープン
□	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robiベット、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
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