

RNAScope™ 2.5 HD Assay-Red 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
	☐	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
	☐	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
➤	☐	パラフィルム	切片上で試薬が広がりにくい時に

任意	✓	必要品／便利品	備考
	☐	1～2L メスシリンダー	試薬調整
➤	☐	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
➤	☐	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）

接着培養細胞 (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
	☐	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)
	☐	チャンバーを外し洗浄			室温	PBS	乾燥を避けしっかり細胞が浸かる量で洗浄	
	☐	固定	30分		室温	10%NBF 又は 4%PFA/PBS		
	☐	洗浄	1分	×2	室温	PBS		
	☐	50%エタノール	5分		室温	50%エタノール	試薬は新しいものを使用する	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		室温	100% エタノール		
	☐	100% エタノール	10分		室温	100% エタノール		
➤	☐	ストップポイント	～6カ月		-20℃	100% エタノール	～6カ月	
	☐	70%エタノール	2分		室温	70%エタノール		
	☐	50%エタノール	2分		室温	50%エタノール		
	☐	洗浄	10分		室温	PBS		
	☐	過酸化水素 (H2O2)	10分		室温	Hydrogen Peroxide	内在性ペルオキシダーゼ (POD) 失活 H2O2が切片上で拡がりにくい可能性がある	H2O2を拡げるににくいとき、 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	PBS		染色バット、金属ラック等
	☐	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 細胞が乾燥しない様に注意	
	☐	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：proteaseの希釈濃度> 並行してプローブのプレヒート（40℃、15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
	☐	洗浄	1分	×2	室温	PBS	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℃	プローブ液		
	☐	洗浄	2分		室温	1×wash buffer	蒸留水や超純水で50倍希釈 希釈前に析出の有無を確認、作り置き可能	
➤	☐	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™ 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ブ等 【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	
☐	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	マイクロピペット、1.5mlチューブ、 チューブラック等
☐	洗浄			室温	蒸留水～超純水	流水で洗浄	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
☐	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、オーブン
☐	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-techné.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