



***in situ* Hybridization法の自動化  
研究のスピードアップと信頼性の向上に**

**ベンタナHXシステム ディスカバリー  
&  
リボマップシステム**

Ventana HX System Discovery™  
&  
RiboMap™ System

## in situ Hybridization法の自動化

### 研究のスピードアップと信頼性の向上に

#### - 「ベンタナHXシステム ディスカバリー」と「リボマップシステム」 -

ベンタナ・ジャパン株式会社 企画・学術部

#### 【 1. はじめに 】

最近の分子生物学およびその周辺技術の進歩には著しいものがある。遺伝子解析技術の進歩により、遺伝子の一次構造を得ることは容易になった。また、ゲノム・ESTクローン・cDNAなどの様々なデータベースあるいはライブラリーが充実してきたことにより、断片的な配列からでも全配列情報やクローニングされた遺伝子を得ることも難しくなくなってきた。このような状況で、研究の興味は機能解析へと向かっているが、その中でもコアテクニックである *in situ* Hybridization法 (ISH法) は組織中のmRNA発現を可視化できることで注目を浴びている技法である。しかし、ISH法は熟練を要するものであり、より簡便に、より再現性良くできることが求められている。

それと同時に、DNAマイクロアレイやプロテオミクスなど遺伝子・蛋白質の発現解析を網羅的に行える技法が進展するにつれ、一度の解析で興味深い遺伝子が数十～数百単位で見つかるようになったことから、それに続く解析のひとつとしてのISH法も大量に処理することが求められるようになってきている。

「ベンタナHXシステム ディスカバリー」(HX-ディスカバリー)と「リボマップシステム」は、この二つの要求、簡便に再現性良くできること、大量に処理できること、に応えることのできるISH法自動化システムである。HX-ディスカバリーはISH法を自動処理することを目的として開発された機械でユニークなテクノロジーが使われている。リボマップシステムは、HX-ディスカバリー上で使用される試薬・バッファー・プロトコールの総称でmRNAを対象としたISH法に最適化したものである。

ここでは、HX-ディスカバリーとリボマップシステムについて、その特長とテクノロジー、そして期待する良好な結果を得るためのコツについて紹介する。

#### 【 2. HX-ディスカバリー 】

HX-ディスカバリーはISH法を自動処理することを目的として開発されたシステムである。HX-ディスカバリーでは、ISH法および免疫組織化学染色法 (IHC法) を主として、その他にTUNEL法、FISH法、DNAマイクロアレイのハイブリダイゼーションを処理することができる。



図1 HX-ディスカバリー外観

HX-ディスカバリーの最大の特長は、全自動システムということである。自動処理の範囲は、脱パラフィンから始まり、前処理、プローブ添加、変性、ハイブリダイゼーション、洗浄、発色さらに対比染色までを全く手を触れずに処理することが可能である。また、スライドは反応温度を含めて個別に管理されるので、様々な反応条件(ステップ数、時間、温度)を同時に試すことができる。これは、特に新しいプローブや切片を用いて反応条件の検索を行う場合には、ハイブリダイゼーションの温度や時間などを少しずつ変えて同時に処理するなど、条件検索がスムーズに行える。標準的なmRNA対象のISH法は約10時間で処理が完了するので、夕方に染色を開始して帰宅し、翌朝には結果が得られ、その結果を見て、また夕方に染色を開始するといったように毎日20種類の違う条件の結果を得ることができる。検出が容易な遺伝子などを対象にした場合は、最短4時間弱で染色が可能である。

HX-ディスカバリーでは独自の技術が採用されていて、処理性能の向上と操作性の改善に役立っている。

ここでは、システムの概要を述べた後、ユニークな技術について解説を加える。

#### HX-ディスカバリーの概要

HX-ディスカバリーの外観を図1に示す。最上部の機械は処理モジュールと呼び、この内部で染色を行う。その下にあるのがバッファーモジュールでここから各種バッファーを処理モジュールへ供給する。処理モジュール内部は、図2のようにになっている。



図2 処理モジュールの内部



図3 ベンタナ・エアミキサー

黒いブロックが環状に配置されているが、これはそれぞれ独立したスライドヒーターであり、スライドはこの上に水平に配置される。スライドヒーターは20個あり、一度に20枚のスライドを処理できる。この環状の台をスライドカローセルと呼び、運転中は一定速度で回転して、いわばベルトコンベアーの役割をはたしている。

スライドカローセルの奥には、同心円状に配置された装置が見える。これらによって、スライド上の反応液を洗い流す、スライド上に乗っているバッファー量を調整する、試薬を添加する、スライド上の反応液を油状の膜(液体カバースリップ)で覆う、といった処置が施される。試薬が添加されたら、スライドはユーザーによって設定された時間・温度でインキュベートされる。この間、スライドはスライドヒーターによって正確にコントロールされた温度に保たれ、さらにベンタナ・エアミキサーと呼ばれる装置から空気噴流が図3に示すように吹き付けられてスライド上の反応液を攪拌する。

これら、反応液の洗浄、試薬の添加、インキュベーションという一連の流れを繰り返すことでISH法を自動化している。

## 特長

### 染色性の向上

HX-ディスカバリーは、染色性を向上させるために様々な工夫がされている。ベンタナ・エアミキサーか

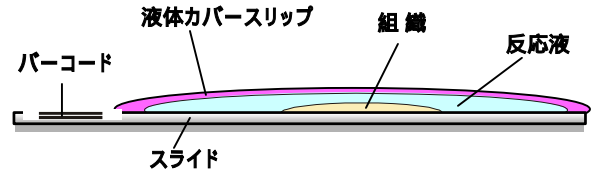


図4 液体カバースリップの模式図

らコントロールされた空気の噴流をスライドガラスに吹き付けて反応液を攪拌する。これは、図4に示すように、液体カバースリップによって覆っていることで可能になる技術で、反応性を向上するとともにムラのない均一な反応を行うことができる。また、37 から95 まで設定可能なスライドヒーターによって正確に意図した温度で反応が行える。

切片が剥がれないように、やさしく確実に反応済み試薬を洗い流すジェット・スライド・ウォッシャーや、蒸発を防ぎ反応温度を安定に保つ液体カバースリップも染色性の向上に貢献している。

### 操作性の向上

HX-ディスカバリーは操作性にも考慮している。スライドと試薬はそれぞれバーコードで管理されている。スライドはプロトコル番号を指定するバーコードを貼付することにより、スライドヒーターの自由な位置に配置することが可能で、機械が自動的にスライドを見分けるのでスタート時にセット位置などの余計な入力か



図5 ソフトウェア

必要ない。試薬も自由な配置ができて余計な入力が必要なく、その上、プロトコルの実行に必要な試薬を自動的に判別し、コンピューターのデータベースを参照し、それらの残り回数と有効期限などもチェックするため、試薬量の不足や試薬のセット忘れなどのケアレスミスが全く無くなる。また、機械を操作したり、プロトコルを作成・編集したり、試薬の管理を行うのは、Microsoft® Windows®上で動作するソフトウェアによって行われる(図5)。このソフトウェアは、シンプルなインターフェースにより容易に操作に習熟できるよう設計されている。

### フレキシブルなプロトコル

研究の目的に合わせてプロトコルが組めるようにフレキシビリティを持たせている。充分な数のステップを用意したプロシージャと呼ばれるフォーマットにしたがって簡単な操作でプロトコルを組むことができ、1,000種類のプロトコルを設定・保存することができる。このプロシージャは、目的の染色に合わせていくつも用意されている。

### 豊富な拡張性

HX-ディスカバリーでは1モジュールで最大20枚のスライドを一度に処理できる。1台のコンピューターで8つまでのモジュールを同時にコントロールすることができるので、最大160枚まで同時処理が可能である。モジュールの増設は、1本のケーブルでつなぐだけでできる。

今回は、ISH法およびIHC法の自動化システムであるHX-ディスカバリーを紹介しているが、ベントナでは、

IHC法の専用モジュールや特殊染色の専用モジュールも販売しており、これらも自由に組み合わせることで増設が可能である。

## 【3. リボマップシステム】

リボマップシステムは、HX-ディスカバリー専用のアプリケーションで、ホルマリンまたはパラホルムアルデヒドで固定されたパラフィン包埋組織切片および凍結切片でジゴキシゲニン(DIG)標識RNAプローブを用いてmRNAを検出するようにデザインされた試薬、バッファー、プロトコルの総称である。中心をなすのは「リボマップキット」と名付けた処理試薬とハイブリダイゼーション・バッファーのキットである。それに各種のバッファーが加わる。

リボマップシステムは、最適化された試薬と標準のプロトコルを使うことで、煩雑なISH法をより簡便に再現性良くできるようになり、信頼性を提供できるように設計されている。

### リボマップシステムの試薬

リボマップキットは、RiboPrep、RiboClear、RiboFix、RiboHybeの4つの試薬で構成されている。

RiboPrepは、ホルムアルデヒドをベースにした固定剤で切片を確実に固定してmRNAの流出を防ぎシグナルの増感・バックグラウンドの減少を行う。

RiboClearは、酸処理を行う試薬でシグナル強度が上がりシャープになる働きがある。

RiboFixは、洗浄の直後、抗体の前に再度固定をすることでバックグラウンドの減少を行う。

RiboHybeは、HX-ディスカバリー上で最適化されたハイブリダイゼーション・バッファーである。HX-ディスカバリーでは、スライド洗浄後、一定量のバッファーがスライド上に残り、そこにRiboHybeで希釈されたプローブを加える方式を取っている。そのため塩やホルムアミドなどがHX-ディスカバリー上で使うときに標準的な濃度になるように高めに調製されているほかに、シグナルの増感とバックグラウンドの低下に寄与する成分がいくつか加味されている。

通常、ISH法で使用されるハイブリダイゼーション・バッファーや幾つかの試薬は用時調製の必要がある

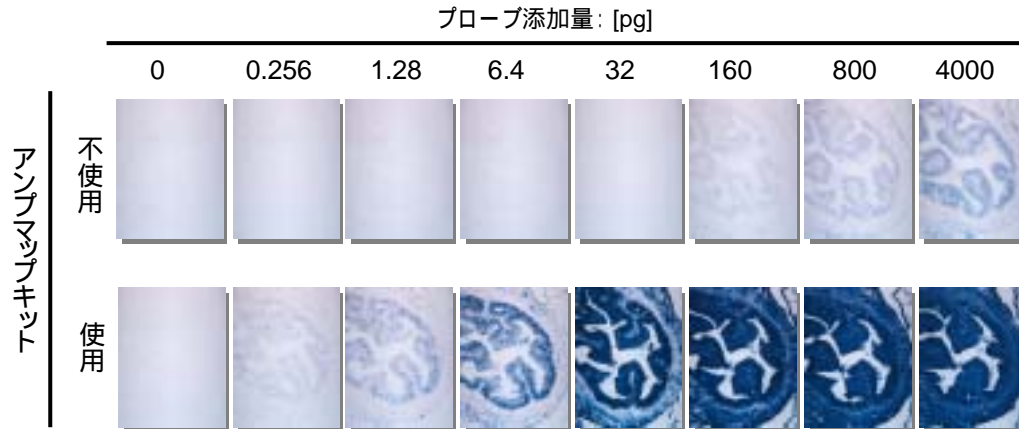


図6 組織試料: マウス卵管 (ホルマリン固定・パラフィン包埋)  
プローブ: 28s rRNA (DIG標識オリゴDNAプローブ)

が、リボマップキットは室温保存可能な調製済みの試薬からなっている。その他、リボマップシステムでは、SSCに相当するバッファー「リボ洗浄バッファー」や熱処理用の「リボCCバッファー」などがある。リボ洗浄バッファーは、バックグラウンドを抑えるように調整されたSSCの代替品である。また、リボマップシステムの独特の処理には熱処理を行ってシグナルを増感することがある。IHC法では抗原賦活化のための一般的な熱処理であるが、リボCCバッファーを使って同様の処理を行い、Protease処理を併用することでシグナルの検出感度を格段に上げることが可能となる。NBT/BCIPによる発色は、ブルーマップキットを用いて自動的に行うことができる。

### ブルーマップキット

ブルーマップキットは、NBT/BCIPによる発色を感度良く、自動的に行う発色キットであり、結果の再現性を高めることができる。HX-ディスカバリーでは、発色工程を的手法で行うことも可能であるが、ブルーマップキットは、発色時間をスライドごとに変えて同時に染色することが可能で、再現性の良い結果が得られ、発色作業と確認の手間もなくなり、時間の短縮も可能となるので、使用することを奨める。

ブルーマップキットは、次の5つの試薬から構成されている。

SA-Alk, PAB-Block, BlueMap NBT,  
BlueMap BCIP, Activator

### アンブマップキット

アンブマップキットは、TSA(Tyramide Signal Amplification)を用いた増感キットであり、ISH法では、リボマップキットと発色キットであるブルーマップキットと共に用いられるようになっており、反応条件は最適化されている。このアンブマップキットは、プロトコルに簡単に組み込むことができ、発現量が低い場合でもシグナルを得られるようになってきている。

28s rRNAを対象としたオリゴDNAプローブを用いて、その効果を検討した例を図6に示す。プローブを系列希釈して添加し、アンブマップキットを使用した場合と使用しなかった場合のシグナル強度を比較した。

アンブマップキットは、次の7つの試薬から構成されている。

PO Inhibitor, AmpMap TSA H2O2,  
AmpMap TSA Block, Rabbit anti DNP,  
Goat anti-Rabbit Biotin, AmpMap SA-HRP,  
TSA DNP

<i>Ventana Reagents</i>	<i>ISH Protocol Steps</i>	
<b>EZ Prep</b>	Deparaffinization	
<b>RiboMap Kit</b>	<b>RiboPrep</b>	Fixation
	<b>RiboClear</b>	Acid Treatment
	<b>RiboCC</b>	Cell Conditioning
	<b>Protease 1, 2, 3</b>	Protease Digestion
	<b>RiboHybe</b>	Hybridization (DIG Riboprobe)
	<b>RiboWash</b>	Stringency Wash
	<b>RiboFix</b>	Fixation
<b>Antibody Diluent</b>	Biotin-labeled Anti-DIG Antibody	
<b>BlueMap Kit</b>	SA-AP AP Substrate	

表1 リボマップシステムによるISH法の流れ

<i>RiboMap System Protocol for Paraffin-embedded Tissue Section</i>			
<b>Step</b>	<b>Reagents</b>	<b>Temp.</b>	<b>Time</b>
Pre-Treatment	RiboPrep	37	30min.
	RiboClear	37	10min.
	RiboCC	Mild CC (95 )	6min.
	Protease 2	37	2min.
Probe Dilution	XXng/Slide in 200ul RiboHybe		
Denature		70	10min.
Hybridization		65	6 hrs.
Wash 1 <sup>st</sup>	0.1x RiboWash	65	6min.
2 <sup>nd</sup>	0.1x RiboWash	65	6min.
3 <sup>rd</sup>	0.1x RiboWash	65	6min.
Post-Fixation	RiboFix	37	10min.
Antibody	x 500 antiDIG-Biotin	37	30min.
Detection	BlueMap Kit	42	3-6 hrs.
Counterstain	NFR counterstain	42	6min.

表2 パラフィン切片での代表的なプロトコール例

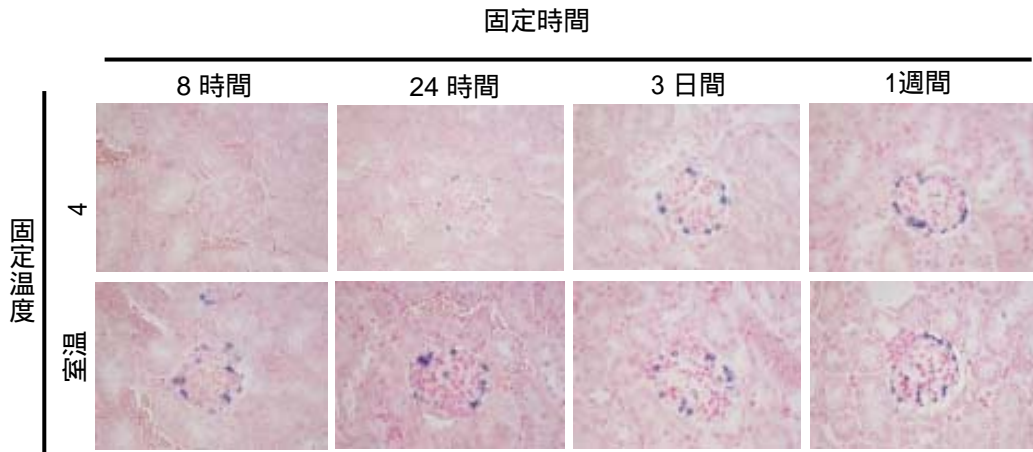


図7 組織試料: マウス腎臓(ホルマリン固定・パラフィン包埋)  
プローブ: VEGF (DIG標識RNAプローブ)

### リボマップシステムのプロトコール

リボマップシステムによるISH法の流れは、表1のとおりである。ユーザーはこのプロトコールに沿って、各ステップの条件を変化させることで、各種生物、臓器、器官などの切片に対応することが可能である。パラフィン切片での代表的なプロトコール例を表2に示す。

今回、表には示さないが、凍結切片の場合やオリゴDNAプローブの場合などでの代表的なプロトコール例も用意している。これらの代表的なプロトコールを元にして、プローブ濃度やハイブリ温度、さらにProtease処理の強弱やNBT/BCIPの反応時間、など数カ所の条件を振って検討することで、ほとんどのケースで特異的なシグナルを得ることができる。但し、低発現量のmRNAを検出するためには、切片の作製や取り扱いが正しく、さらにプローブの設計が適切であることが前提条件となる。切片の状態がよく、プローブの設計が適切である場合にリボマップシステムを用いて染色を行った結果は特異的なシグナルが高い確率で得られている。

#### 【4. 良好な染色結果を得るために】

ISH法では組織試料やプローブの作成・取り扱いが非常に重要であることは、一般に知られている。適切

に準備された試料を使用しなければ染色プロトコールをいくら変えても期待する良い結果は得られない。

HX-ディスカバリーでのISH法の染色結果に大きな影響を及ぼす要素には次のものがある。

1. 組織試料の作成
2. プローブの添加量
3. ハイブリダイゼーション温度

この他にも、プロテアーゼ処理の強さ、プローブの配列などもあるが、ここでは3項目について説明する。次に、これらの内容を踏まえて、効率よく条件検討できる手順を説明する。

#### 1. 組織試料の作成

特に重要な要素となるのが組織の固定である。HX-ディスカバリーではしっかりと固定をすることにより染色性が向上する。図7に固定条件を変えた染色例を示す。これによると室温で固定した場合、8時間の固定のみ若干シグナル強度が落ちるが、1週間まで固定時間を延ばしてもものまで全体として良好な染色が得られている。しかし、4℃では8時間、24時間の固定では不十分で3日間固定したもので初めて室温24時間固定のサンプルと同程度になっている。

このように試料の固定は非常に重要である。図7の実験の結果も踏まえて、弊社で推奨する試料の作製・

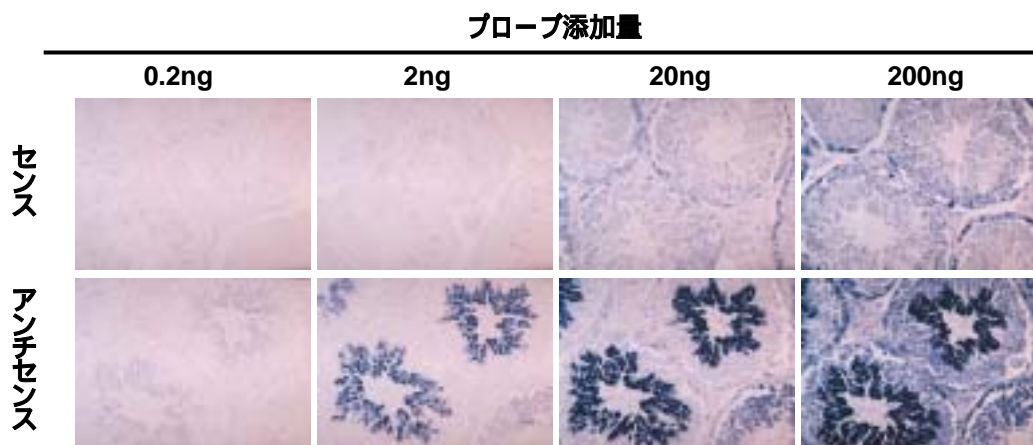


図8 組織試料: マウス精巢 (ホルマリン固定・パラフィン包埋)  
プローブ: Protamine (DIG標識RNAプローブ)

取り扱い方法について、次に述べる。

### 組織採取時の注意点

通常、固定は、組織などの形態を保持することを示すが、mRNAの検出を行うISH法では、RNaseによるmRNAの分解を防ぐために、1秒でも素早く固定することが必要である。

- ・灌流固定が可能ならば、できるだけ行う。
- ・組織片取得後、速やかに固定液に浸漬する。
- ・組織片に固定液が迅速に浸透するように、厚さは5mm以下にする。
- ・浸漬固定は、固定液(10%中性緩衝ホルマリンまたは4%パラホルムアルデヒド)を使用し、室温・24時間以上を行う。

HX-ディスクカバーでは、組織の固定が不十分であると良い結果を得ることが困難となるので、固定液が浸透しやすいように組織を小さく切り、浸漬固定をしっかりと行うことが重要である。

### 切片作製と取り扱いの注意点

mRNAを検出するISH法においては、RNaseによるmRNAの分解を防ぐために、薄切に使用する器具、水、環境などをなるべくRNase Freeな状態に保つことが重要である。

- ・切片を貼付するスライドは、コーティングスライド(推奨: 松浪硝子工業のAPSコート)を用いる。

- ・スライドは、素手では扱わず、なるべく保存期間の短いものを使用する。
- ・新しいマイクローム刃を使い、切片は、5~8 $\mu$ mの厚さに切る。
- ・薄切の際には、息を吹きかけない。
- ・切片を浮かせる水や湯延ばし用の湯は、MiliQ水を用いる。
- ・切片の剥がれを防ぐために、切片は十分に(40、16時間)乾燥させる。
- ・作成した切片は、なるべく一週間以内に使用する。
- ・切片を長期保存する場合は、スライドケース内にシリカゲルを入れ、ケースの蓋の隙間をビニールテープなどでしっかり密封し、-80で保存する。
- ・-80で保管していた切片を取り出すときには、結露を避けるため、充分室温に戻してから開封する。

切片を作製する代表的な方法は、パラフィン切片と凍結切片があり、それぞれ利点と欠点があるが、HX-ディスクカバーでは、パラフィン切片を使用した方が形態の保持や取り扱いの点からも期待する結果を得やすいので、パラフィン切片を使用することを推奨する。

## 2. プローブの添加量

適切なシグナルを得るためには、適切なプローブと適切な添加量が必要である。 プローブ添加量が少な

いとシグナル自体得られないが、プローブ添加量が多くなりすぎると非特異的な吸着から起こるバックグラウンドが上昇する(図8)。このため、適切なプローブ添加量を検討することが重要になる。添加するプローブ量を正確にするため、作製したRNAプローブの収量を検定することが非常に大事になる。

- ・特異的なプローブができていないかを確認するため、電気泳動を行う。
- ・DIG活性測定を確認するため、ドットプロット法を行う。
- ・RNAプローブは分解されやすいので、小分けして-20℃で貯蔵する。

### 3. ハイブリダイゼーション温度

プローブ濃度による非特異的な吸着が無い適切な濃度を選んでも、プローブの配列によっては、センスプローブあるいはアンチセンスプローブ、またはその両方でバックグラウンドが見られるときがある。ハイブリダイゼーション温度を適切に設定することで、これらのバックグラウンドを無くせるケースがよくある。HX-ディスカバリーでは、スライド毎に個別のヒーターで温度を管理しているため、複数のハイブリダイゼーション温度を一度のRUNで簡単に検討することが可能なので、ハイブリダイゼーション温度を検討することを奨める。

#### プロトコールの検討手順

パラフィン切片でDIG標識RNAプローブを用いてmRNAを検出する際、リボマップシステムを使用して、効果的に良い結果を得る方法について説明する。

まず初めに上述の表2で示した代表的なプロトコール例を用いて、プローブ添加量を2ng/slide、10ng/slide、50ng/slideの3種類で検討する。つまり、アンチセンスプローブおよびセンスプローブを各3濃度で6枚、コントロールのアンチセンスプローブおよびセンスプローブの各1枚とプローブを入れない(No probe)1枚を同時にRUNし、計9枚を試してみるのが良い。No probeは、バックグラウンドがみられた場合に、プローブ由来のバックグラウンドであるか、抗体などの他の要因によるものなのかを見極めるために必要であるので、1回目のRUNにはNo probeも検討すること。

1回目のRUNの結果でアンチセンスプローブ、センスプローブの両方に発色があった場合には、プローブ量を2ng/slideにし、ハイブリダイゼーション温度の条件を65℃、67℃、69℃の3種類で行う。つまり、アンチセンスプローブおよびセンスプローブをハイブリダイゼーション温度の3条件で6枚、コントロールのアンチセンスプローブおよびセンスプローブの各1枚、計8枚を2回目のRUNで行う。

1回目のRUNの結果でアンチセンスプローブ、センスプローブの両方で発色が見られない場合は、次の方法のいずれか検討する。プローブ添加量を50ng/slideにし、ハイブリダイゼーション温度の条件を65℃、63℃、61℃、59℃の4種類で行う。1回目のRUNの条件にアンブマップキットを使用した方法を行う。プローブ添加量を50ng/slide、250ng/slideに上げて行う。

1回目のRUNの結果で、アンチセンスプローブに発色が見られず、センスプローブに発色が見られた場合は、プローブを再検討することを奨める。





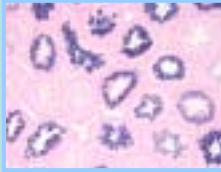











以上の手順は、期待する結果を効果的に得るための手順として示したが、状況によっては、異なる場合がある。また、オリゴDNAプローブを用いた場合や凍結切片を用いた場合などでは異なるので注意すること。














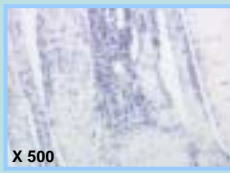
### 【6. おわりに】

「ベンタナHXシステム ディスカバリー」は、脱パラフィンから対比染色までの一連の工程を処理する自動化システムである。洗練された操作性と良好な染色性・再現性によりISH法を簡便且つ大量に処理することが可能になる。また、「リボマップシステム」によってISH法の条件検討がより容易になり、再現性良くできるようになった。それに加えて、HX-ディスカバリーは、ISH法に限らずIHC法・TUNEL染色、DNAチップのハイブリダイゼーションにも応用可能である。

HX-ディスカバリーとリボマップシステムは、1台のシステムで20枚の違う条件のプロトコールを同時に処理し、毎日結果を得ることができるので、染色の信頼性とスピードアップを通して研究に貢献できる極めて有用なシステムである。

リボマップシステムを使用したISH法の例

<p>Tissue : Mouse Embryo Section: Paraffin 5 <math>\mu</math> m Probe : DIG labeled RNA probe (500 base) Target : STEF</p>   <p><u>Antisense probe</u>      <u>Sense probe</u></p>	<p>Tissue : Mouse Salivary Grand Section: Paraffin 5 <math>\mu</math> m Probe : DIG labeled RNA probe (307 base) Target : NGF</p>   <p><u>Antisense probe</u>      <u>Sense probe</u></p>
<p>Tissue : Mouse Testis Section: Paraffin 5 <math>\mu</math> m Probe : DIG labeled RNA probe (325 base) Target : Protamine</p>   <p><u>Antisense probe</u>      <u>Sense probe</u></p>	<p>Tissue : Mouse Brain Section: Paraffin 5 <math>\mu</math> m Probe : DIG labeled RNA probe (528 base) Target : Neurofilament-M</p>   <p><u>Antisense probe</u>      <u>Sense probe</u></p>
<p>Tissue : Mouse Brain Section: Paraffin 5 <math>\mu</math> m Probe : DIG labeled RNA probe (401 base) Target : Myelin-Associated Glycoprotein</p>   <p><u>Antisense probe</u>      <u>Sense probe</u></p>	<p>Tissue : Mouse Brain Section: Paraffin 5 <math>\mu</math> m Probe : DIG labeled RNA probe (455 base) Target : Microtubule-Associated Protein 2</p>   <p><u>Antisense probe</u>      <u>Sense probe</u></p>
<p>Tissue : Mouse Kidney Section: Paraffin 5 <math>\mu</math> m Probe : DIG labeled RNA probe (500 base) Target : VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)</p>   <p><u>Antisense probe</u>      <u>Sense probe</u></p>	<p>Tissue : Mouse Embryo Section: Fixed Frozen 10 <math>\mu</math> m Probe : DIG labeled RNA probe Target : MyoD</p>   <p><u>Antisense probe</u>      <u>Sense probe</u></p>

<p>Tissue : Rat Brain                      Section: Paraffin 5 <math>\mu</math> m                      Probe : DIG labeled RNA probe (600 base)                      Target : VDCC Alpha 1A</p>   <p><u>Antisense probe</u>                      <u>Sense probe</u></p>	<p>Tissue : Rat Brain                      Section: Paraffin 5 <math>\mu</math> m                      Probe : DIG labeled RNA probe (514 base)                      Target : MCH</p>   <p><u>Antisense probe</u>                      <u>Sense probe</u></p>
<p>Tissue : Rat Brain                      Section: Fresh Frozen 10 <math>\mu</math> m                      Probe : DIG labeled RNA probe (600 base)                      Target : VDCC Alpha 1A</p>   <p><u>Antisense probe</u>                      <u>Sense probe</u></p>	<p>Tissue : Rat Kidney                      Section: Paraffin 7 <math>\mu</math> m                      Probe : DIG labeled RNA probe (309 base)                      Target : AQP2</p>   <p><u>Antisense probe</u>                      <u>Immunohistochemistry</u></p>
<p>Tissue : Human Stomach                      Section: Paraffin 5 <math>\mu</math> m                      Probe : DIG labeled RNA probe (400 base)                      Target : VEGF-A165</p>   <p><u>Antisense probe</u>                      <u>Sense probe</u></p>	<p>Tissue : Rat Tongue                      Section: Fresh Frozen 10 <math>\mu</math> m                      Probe : DIG labeled RNA probe (450 base)                      Target : Gi2</p>  <p><u>Antisense probe</u></p>
<p>Tissue : Rat Tongue                      Section: Fresh Frozen 10 <math>\mu</math> m                      Probe : DIG labeled RNA probe (1.2 k base)                      Target : PLC 2</p>  <p><u>Antisense probe</u></p>	<p>Sample: Rice Shoot Apex                      Section: Paraffin 10 <math>\mu</math> m                      Probe : DIG labeled RNA probe (500 base)                      Target : Histon</p>   <p>X 100                      X 500</p> <p><u>Antisense probe</u></p>



**ベントナ・ジャパン株式会社**

〒220-8135 神奈川県横浜市みなとみらい12-2-1  
横浜ランドマークタワー 35階

TEL: 045-228-5071 FAX: 045-228-5070

ホームページ: <http://www.ventanamed.co.jp/>