

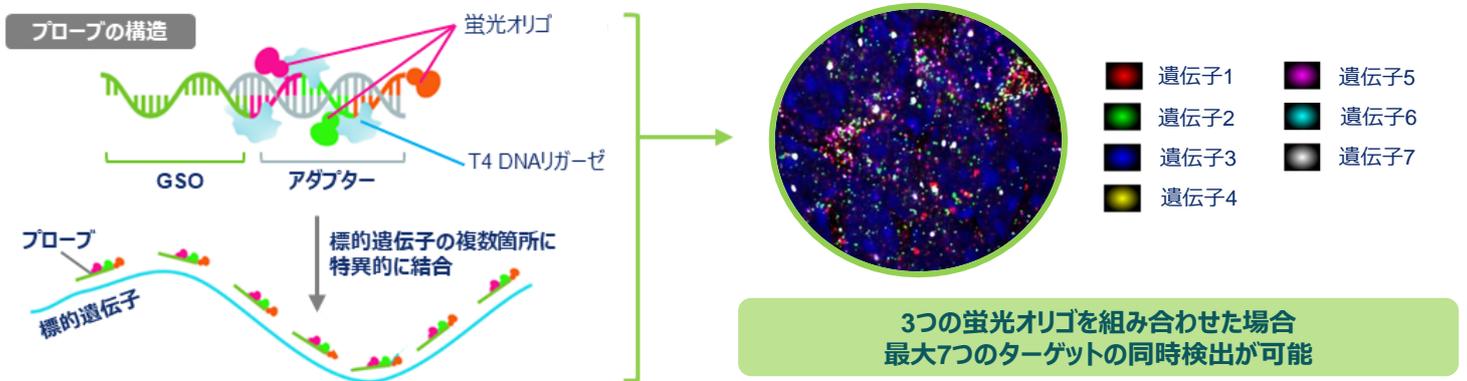
# 単一のハイブリダイゼーションで複数の遺伝子発現を検出可能！！ smFISH解析用プローブ合成サービス



PixelBiosciences社（ドイツ）は、独自の技術を採用したsmFISH（single molecule Fluorescence In Situ-Hybridization）解析用のNovaFISHプローブのカスタム合成を行っています。単一のハイブリダイゼーションで複数の遺伝子発現を検出することが可能です。

## 1回のハイブリダイゼーション反応で複数遺伝子の発現を視覚的に検証

smFISH（Single Molecule Fluorescence In Situ Hybridization）は、サンプル内の標的遺伝子がどこで発現しているかを明らかにするための手法です。本プローブは、蛍光オリゴと標的遺伝子特異的オリゴ(GSO)をT4DNAリガーゼを用いて結合することで合成されます。一つの標的遺伝子に対して配列の異なる特異的なプローブが複数設計されるため、より強力なイメージングを可能とします。さらに、蛍光標識の組み合わせを調節することにより、1回のハイブリダイゼーション反応で最大7遺伝子の発現を視覚的に区別して検出することが可能です（オプションの蛍光標識を追加することで、さらに多くの遺伝子を同時に検出可能）。

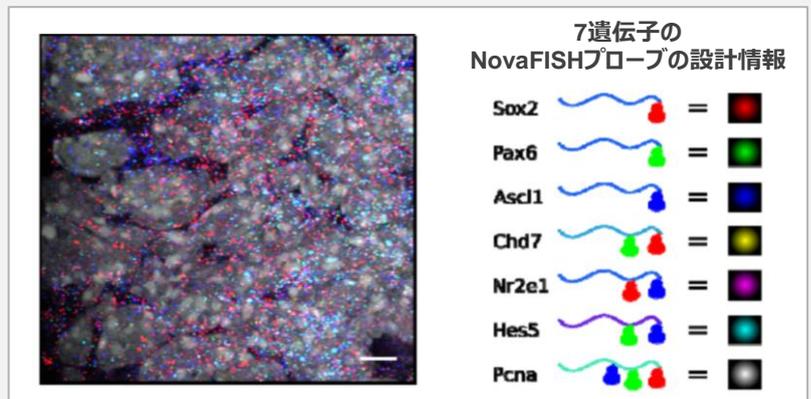


### 解析例1【マウス脳における7遺伝子検出】

E12.5マウス胎児脳室帯および脳室下帯サンプルを使用して7遺伝子を同時にイメージングした結果

#### 文献情報

Autonomous combinatorial color barcoding for multiplexing single molecule RNA visualization  
Yong-Sheng Cheng, et al. bioRxiv 127373;  
doi: <https://doi.org/10.1101/127373>

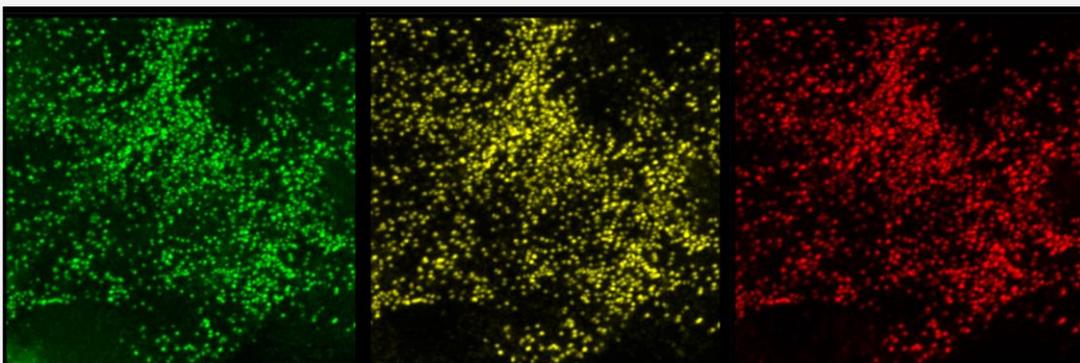


### 解析例2【3つの蛍光を組み合わせたGapdh遺伝子検出プローブ】

Gapdh-Atto488

Gapdh-Atto565

Gapdh-Atto647N



## smFISHプローブ合成依頼方法

smFISHプローブの合成依頼は、下記情報の提供が必要となります。弊社製品ページに掲載されている合成依頼シートからも必要情報をご確認いただけます。

### 【キット内容物】

- カスタム合成されたNovaFISHプローブ（各プローブ長：17-21bp）
- Hybridization solution（2xSSC, 2M Urea, 10% dextran sulfate, 5x Denhardt's solution）
- Wash solution（2xSSC, 2M Urea）

### 1) プローブの種類を選択

「NovaFISHプローブ」と「NovaFISH plusプローブ」の2つからお選びいただけます。「NovaFISH plusプローブ」は、通常よりバックグラウンドが高く、低いクオリティーのRNAが含まれると予想されるFFPEサンプルでも機能する様に蛍光シグナルがおよそ9倍に増強されています。

### 2) 標的遺伝子情報の提供

生物種と遺伝子名/Ensembl gene ID / transcript ID等をご提供ください。

### 3) 蛍光標識の選択

プローブに結合する蛍光標識とその組み合わせをご選択ください。  
Atto488 / Atto565 / Atto647N

※有償オプションで以下の標識もお選びいただけます。

蛍光標識：

atto452 / atto465 / atto520 / atto532 / atto550 / atto594 /  
atto610 / atto633 / atto655 / atto680 / atto700 / atto740 /  
attoRho12

酵素標識：

FITC / Texas Red / DIG / Biotin / DNP

### 4) キットの反応数の選択

20反応・80反応

※上記以上の反応数をご希望の場合はご相談ください。

※1つのNovaFISHキットにつき、標的遺伝子1つのプローブを作成します。  
複数の遺伝子を検出する場合は、複数キットをご注文いただく形になります。

### 【蛍光標識について】

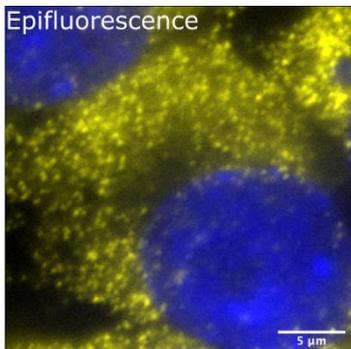
蛍光標識		
Merge画像での見え方	色の組み合わせ	プローブ模式図
	緑	
	赤	
	青	
	緑+赤	
	赤+青	
	緑+青	
	緑+赤+青	

- ◆ 検出する各蛍光に疑似カラー（緑、赤、青）を設定することで、最大7遺伝子を同時にイメージします。プローブに結合される蛍光を検出可能な蛍光顕微鏡フィルターをお持ちであるか、下記表からご確認ください。
- ◆ NA>1.3の60倍以上のオイル対物レンズを使用した共焦点顕微鏡でのイメージングが推奨されます（蛍光ドットの直径は65nm以下）。

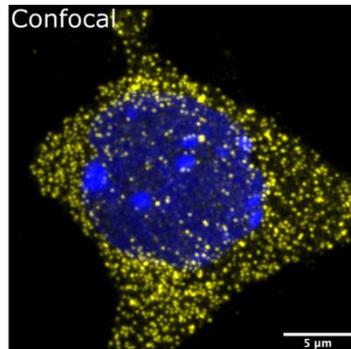
疑似カラー	蛍光色素	励起波長	蛍光波長	
	緑	Atto488	500nm	520nm
	赤	Atto565	564nm	590nm
	青	Atto647N	646nm	664nm

## イメージングの推奨事項

NovaFISHは、主に共焦点顕微鏡でサンプルをイメージングすることを推奨しています。また、smFISH RNA蛍光ドットは非常に小さく、生体サンプルに密集している可能性があります。各NovaFISH 蛍光ドットは65 nm以下の直径のドットとして表示されます。良好な解像度を得るために、NA>1.3の60倍以上の倍率のオイル対物レンズの使用が推奨されます。定量解析を行う場合は、50nm/ピクセル以上の解像度で画像データを取得することで精度の高い解析が可能です。



落射蛍光顕微鏡



共焦点顕微鏡

対物レンズ倍率	開口数 (NA)	レンズタイプ	使用例
< 25×	0.5-0.8	空気水浸	空間分離能が不十分であり、解像度が低い
40×	1.2	水浸	高密度のRNA蛍光ドットの場合解像度が低い
63×	1.4	油浸	優れた解像度
100×	1.4	油浸	非常に優れた解像度

フィルジェン 株式会社



【お問い合わせ】 試薬機器部

TEL : 052-624-4388 FAX : 052-624-4389

メール : biosupport@filgen.jp URL : https://filgen.jp/

代理店

(Apr.2024)