

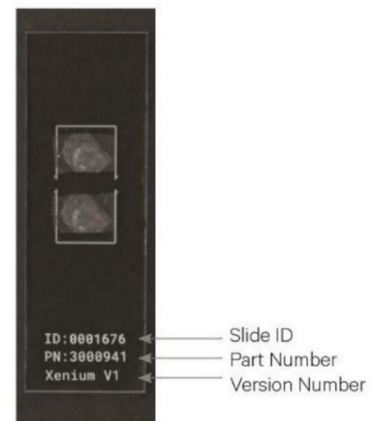
## Xenium In Situ for FFPE – Sample Preparation Guide

株式会社マクロジェン・ジャパン

※ 分析には、必ず **Xenium 専用スライド** をご使用ください。

- Xenium 専用スライドは弊社で購入可能です。
- スライドの白い枠線の中にサンプル組織切片 (Section) を貼り付ける必要があります。サイズは  $235 \text{ mm}^2$  (10.45 mm x 22.45 mm) です。
- 白い枠線には位置情報などが含まれているため、手で触れたり Section に覆われたりした場合、解析に影響を及ぼします。ご注意ください。
- スライド下部には Slide ID、Part Number Version Number のラベルが付いています。ラベルが付いている面に Section を貼り付けてください。

Xenium Slide with Tissue Sections



- ご希望される組織領域を正確に解析するために、お客様が直接 Sectioning を実行し、スライド形態でご依頼いただくことをおすすめいたします。

### 1. Xenium 専用スライドの保管/準備

購入、受け取り後、Section 張り付ける前の Xenium 専用スライドは、必ず **-20°C** で保管してください。

開封されたスライドは Desiccator (室温) で約 1 週間保管することができます。

Xenium 専用スライドの表面は触れないでください。

Sectioning の前に Xenium 専用スライドを **室温にて 30 分間安定化** する必要があります。

### 2. 組織の準備

FFPE tissue block は 4°C で保管する必要があります。

### 3. Sectioning スピード

Section 作成時の Sectioning スピードが速いと、断面に亀裂の発生や、組織ブロックが損傷する可能性があります。 **ゆっくりとした Sectioning スピード** で処理する必要があります。

### 4. Section の厚さ

Section の厚さは **5 μm** を推奨します。

## 5. Water Bath 温度設定 & Section Floating Time

Section を伸展するためには、適切な温度設定と Floating Time が重要となります。

一般的な組織では Water Bath 温度 **42°C** 設定が推奨されます。Xenium 専用スライドを使用する前に一般スライドでテストを進めて最適な条件を決めることをお勧め致します。

Section の伸展に時間がかかりすぎる場合は、Water Bath の温度を 1~2°C 高く設定し、Section Floating Time を増やします。

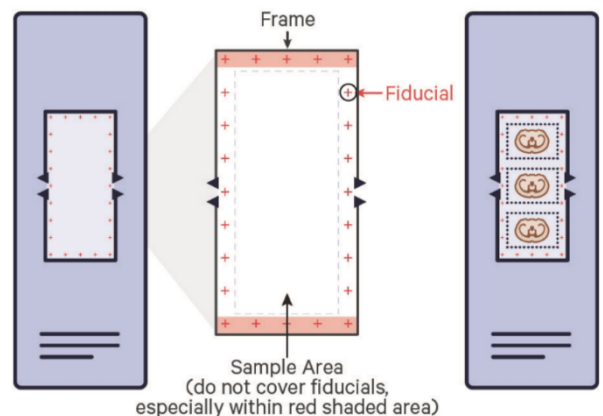
一方で、Section が急速に伸展し亀裂が発生した場合は、Water Bath 温度を 1~2°C 低く設定し、Section Floating Time を短縮します。

## 6. Tissue Section Quality Control

目的の組織位置を正確に解析するために、別途一般スライドへ Section を貼り付け、Hematoxylin & Eosin (H&E) 染色後の組織形態を確認することをお勧めします。

## 7. Xenium 専用スライドへの Section の貼り付け

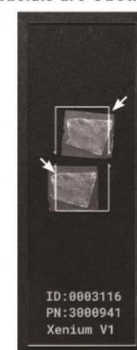
- Xenium 専用スライドに Section を配置する前の最初の Section 2 枚は廃棄します。
- Xenium 専用スライドのサンプル領域内に Section を張り付ける場合は、必ず枠線内側の fiducial 部分に組織が重ならないようにご注意ください。
- スライド上の組織 Section は亀裂、裂け目、折りたたみがなく、均一であることが必要です。また、組織 Section は、他の組織 Section またはパラフィンと重ならないようにしてください。
- 組織 Block がサンプル領域よりも大きい場合は 組織 Block を Trimming した後に、Sectioning する必要があります。Trimming された組織を扱う場合、断面には細心の注意が必要です。
- Xenium 専用スライドに Section を一度張り付けると、解析性能低下の原因になるため、Section の貼り付け位置の変更（再配置）はできません。



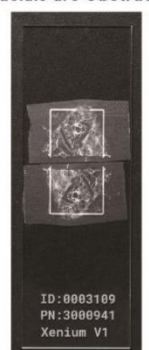
Correctly Placed



Incorrectly Placed - Fiducials are Obstructed



Incorrectly Placed - Fiducials are Obstructed



- Section を誤って配置した場合には、新しい Section を配置するために追加の Xenium 専用スライドを購入する必要がありますのでご注意ください。

## 8. Section 配置後の Xenium 専用スライド乾燥処理と Incubation

Section を貼り付けた Xenium 専用スライドは立てた状態で、Section の上部/下部に溜まった水が除去されるまで室温で乾燥させてください。

乾燥のために扇風機を使用することは可能ですが、風が強くないように調整してください。

扇風機を使用しない場合、スライドを室温で最大 **30 分間** 乾燥します。Section とスライドに **水分が残らない** ようにします。

スライドを乾燥した後、Section dryer oven (推奨) または Thermal cycler で Incubation する必要があります。



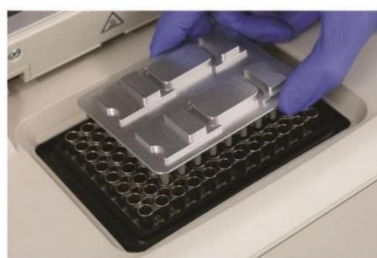
### ※Section dryer oven ご利用時

乾燥したスライドを Section dryer oven に置き、**蓋を閉じた状態で 42°C 3 時間** Incubation します。

### ※Thermal Cycler ご利用時

Xenium Thermocycler Adapter を 42°C に設定した Thermal cycler の表面に均一に接触するように配置します。Section が上向きになるようにスライドを Xenium Thermocycler Adapter の上に置いた後、スライドの下面全体が Xenium Thermocycler Adapter と接触していることを確認します。Section に触れる危険があるため、**必ずふたを開けたままで 42°C 3 時間** Incubation します。

#### Incubation in a Thermal Cycler



Place Thermocycler Adaptor



Incubate Slide

Section dryer oven または Thermal cycler で Incubation した後 Desiccator に入れて室温で一晩保管して十分に乾燥させます。

## 9. Incubation 組織スライドの保管

Desiccator 入れた状態において、室温で最大 4 週間まで保管できます。

## 10. 組織スライドの発送準備

Section を貼り付けた Xenium 専用スライドの乾燥と Incubation が完了すると、お届けした Desiccator に下記の順に梱包します。

製作されたスライドは H&E スライドと一緒にスライドケースに入れて蓋を閉めます。

スライドケースを Desiccator 内に置き、緩衝剤で完全に覆います。

緩衝剤は同封されていた除湿剤で覆い、蓋をしっかりと閉めます。

Desiccator は緩衝剤を詰めた発泡スチロールボックスに入れます。

※気温の高い真夏には冷蔵パック（アイスパック）を一緒に同封してください。



## 11. 組織スライドの発送と依頼

梱包したサンプルを弊社宛に発送してください。

発送方法についてはオーダーシートに記載しております。

必ずご確認ください。

### ※ FOV 設定

スライド発送後 3 日以内に Profiling する Field Of View (FOV) を H&E 画像に表示してメールにて下記アドレスへお送りください。

ngs@macrogen-japan.co.jp

