



アルコール沈殿用共沈剤 エタ沈メイト

Ethachinmate

Code No.	製品名	包装単位	希望納入価格(税別)
318-01793	Ethachinmate	0.02 ml	3,600円
312-01791		0.2 ml	17,800円

※ 本製品には 3 M Sodium Acetate が添付されています



エタ沈メイトについて

核酸 (DNA 及び RNA) をエタノールまたはイソプロパノール沈殿させる際に共沈剤として使用するアクリルアミド系の高分子キャリアー溶液です。塩の存在下 (例えば >0.1 mol/l Sodium Acetate) で本品を加えてアルコール沈殿を行うだけで、高効率な核酸回収ができます。また、グリコーゲンなどの生体由来物質ではないため、生体由来の微量核酸混入の心配がありません。

DNase RNase free!



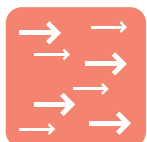
微量核酸の回収が可能

20 ng/ml 以上の DNA (>100 塩基対) および RNA (>120 塩基) が定量的に回収できます。低分子 RNA も効率良く回収できます。



迅速なアルコール沈殿

-20°Cあるいは-80°Cのインキュベーションが不要なので、アルコール添加後直ちに遠心できます。



酵素反応を阻害しない

回収した核酸は、水やバッファーに容易に溶け、しかも混在する Ethachinmate は酵素反応を全く阻害しません。



沈殿が目で確認できる

Ethachinmate 自身が、アルコール沈殿によって沈殿を形成するので、微量な核酸の場合でも大切な試料を洗い流してしまう心配はありません。

プロトコール

3.3 μ l 3 M Sodium Acetate *1
1 μ l Ethachinmate *2

ボルテックス

2~2.5倍量
エタノール

ボルテックス

遠心
($\geq 12,000 \times g$, 5分間)

沈殿



DNA or RNA溶液
(100 μ l)

* 1: 塩濃度は終濃度0.1 M以上とする。 * 2: Ethachinmateは通常核酸溶液100 μ l当たり1 μ l加える。溶液量が100 μ l以下の場合でも1 μ l加える。ただし、溶液量が300 μ l以上の場合は3 μ lあれば十分である。Ethachinmateは、一度添加したらその後追加する必要はない。

・本紙掲載の製品仕様や価格を予告なく変更する場合があります。・表示価格は2025年4月現在の希望納入価格(税別)です。最新情報は弊社HPをご確認ください。

製造元 **株式会社ニッポンジーン**

〒930-0834 富山市問屋町二丁目7番18号
TEL: 076-451-6548 FAX: 076-451-6547
URL: <https://www.nippongene.com>

販売元 **富士フィルム 和光純薬株式会社**

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)
フリーダイヤル 0120-052-099 フリーファックス 0120-052-806

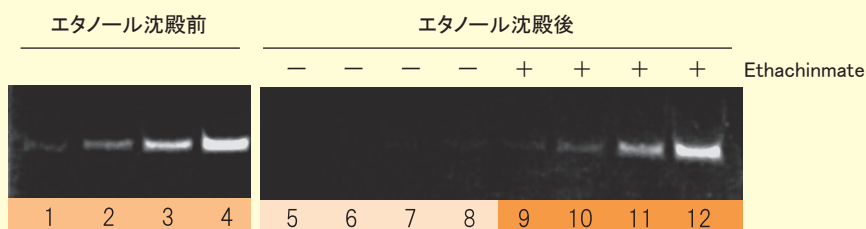
エタ沈メイトの実験例

①エタ沈メイトで効率良く核酸回収ができます！

実験例 1：低分子RNAのエタノール沈殿

21塩基の合成RNAをエタノール沈殿し、Ethachinmateを添加した場合(+)と添加しなかった場合(-)での回収量を比較した。

サンプル： 合成RNA (10 ng, 20 ng, 40 ng, 80 ng)
 エタノール沈殿： 各100 μ lの合成RNA溶液に、3 M Sodium Acetate 3.3 μ l、Ethachinmate 1 μ lを加えて行った。エタノール沈殿はすべてのサンプルについてエタノールを添加及び混合後、すぐに遠心を行った。
 電気泳動： 15% ポリアクリルアミドゲルを使用(全量を泳動)。

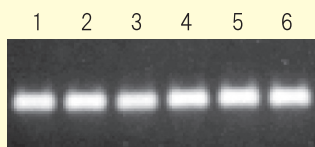


Lane 1	エタノール沈殿前	合成RNA 10 ng
Lane 2	"	合成RNA 20 ng
Lane 3	"	合成RNA 40 ng
Lane 4	"	合成RNA 80 ng
Lane 5	Ethachinmate未使用	合成RNA 10 ng
Lane 6	"	合成RNA 20 ng
Lane 7	"	合成RNA 40 ng
Lane 8	"	合成RNA 80 ng
Lane 9	Ethachinmate使用	合成RNA 10 ng
Lane 10	"	合成RNA 20 ng
Lane 11	"	合成RNA 40 ng
Lane 12	"	合成RNA 80 ng

②酵素反応を阻害しません！

実験例 2：Taq DNA Polymerase

Ethachinmate存在下で、約600 bpのDNA領域をTaq DNA Polymeraseを用いて増幅した。



Lane 1 : Ethachinmate 無添加
 Lane 2 : " 0.2 μ l 添加
 Lane 3 : " 0.5 μ l 添加
 Lane 4 : " 1.0 μ l 添加
 Lane 5 : " 3.0 μ l 添加
 Lane 6 : " 5.0 μ l 添加

■ 反応条件 (25 μ l 反応系)

25 mM TAPS-HCl (pH9.3)
 50 mM KCl
 2 mM MgCl₂
 1 mM 2-mercaptoethanol
 0.01% gelatin
 200 μ M dNTPs,
 0.2 M Primers
 1.25 units Taq DNA Polymerase

■ PCRサイクル

94°C 1 min
 55°C 2 min
 72°C 1 min) 25 cycles

③吸光度測定に影響しません！

実験例 3：吸光度測定への影響

Ethachinmateの260 nm及び280 nmにおける吸光度を調べた。

Ethachinmate	A ₂₆₀	A ₂₈₀
原液	0.16	0.11
100倍希釈液*	0.00	0.00

*通常使用時の濃度に相当する。

④トランスフォーメーションを阻害しません！

実験例 4：トランスフォーメーション

Competent *E. coli* JM 109 (Code No. 316-01353) を用いて、Ethachinmateによるトランスフォーメーション効率への影響を調べた。

Competent *E. coli* JM 109 (100 μ l) を氷中にて融解

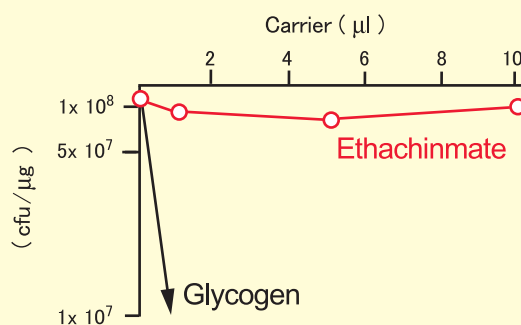
← pBR322 DNA 0.1 ng,
 ← Ethachinmate or Glycogen

氷中にて20分間静置

熱処理 (水浴, 42°C, 45秒間) 後、氷中にて2分以上静置

全量を400 μ lのHi-Competence Broth (Code No. 319-01343) を含む試験管に移し、37°Cにて60分間振とう

LBプレート(100 μ g/ml:アンピシリン)に塗布し、37°Cにて一晩静置

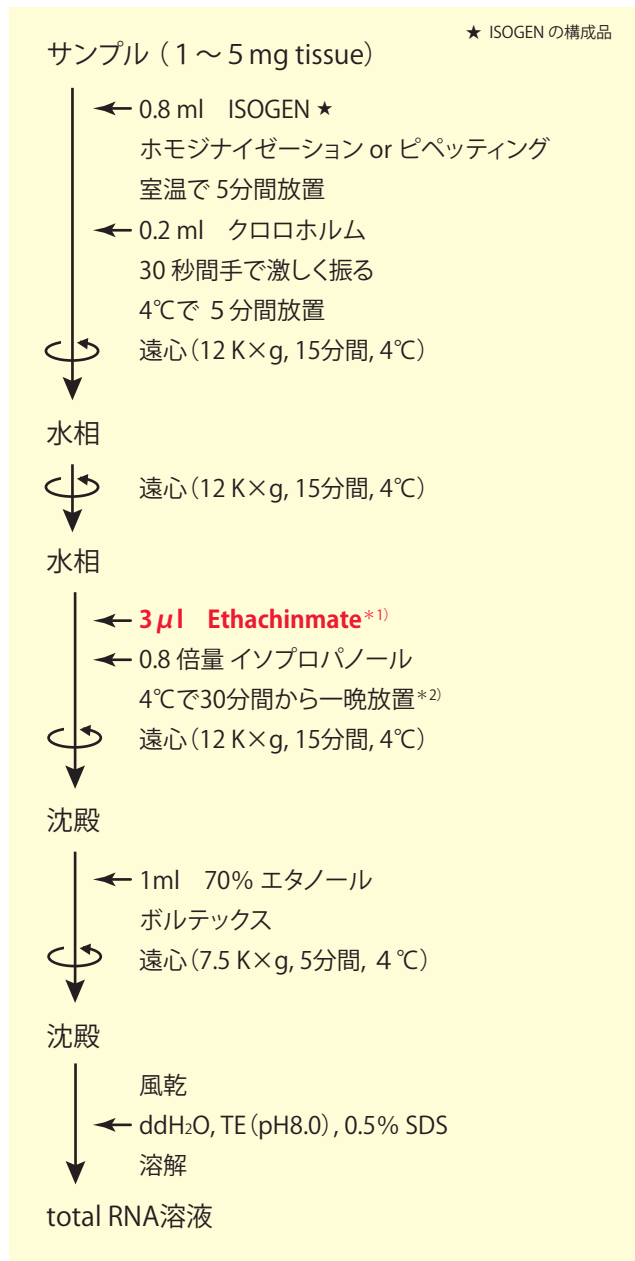


エタ沈メイトを用いたプロトコール例

1) ISOGENを用いた微量サンプルからのTotal RNA抽出

微量な試料からのRNA抽出には、ISOGEN (Code No.311-02501) の基本プロトコールを若干変えたほうがうまくいく場合がある。以下は、微量試料(ラット下垂体またはヒト肝針生検材料)を用いた場合の例である。

< ISOGEN 製品マニュアルより: 微量試料からのRNAの単離 >



弊社では、ラット下垂体またはヒト肝針生検材料1~5mgを用いた場合のRNAの収量は、4~8 μg/1~5 mg wet weightという結果が得られた。

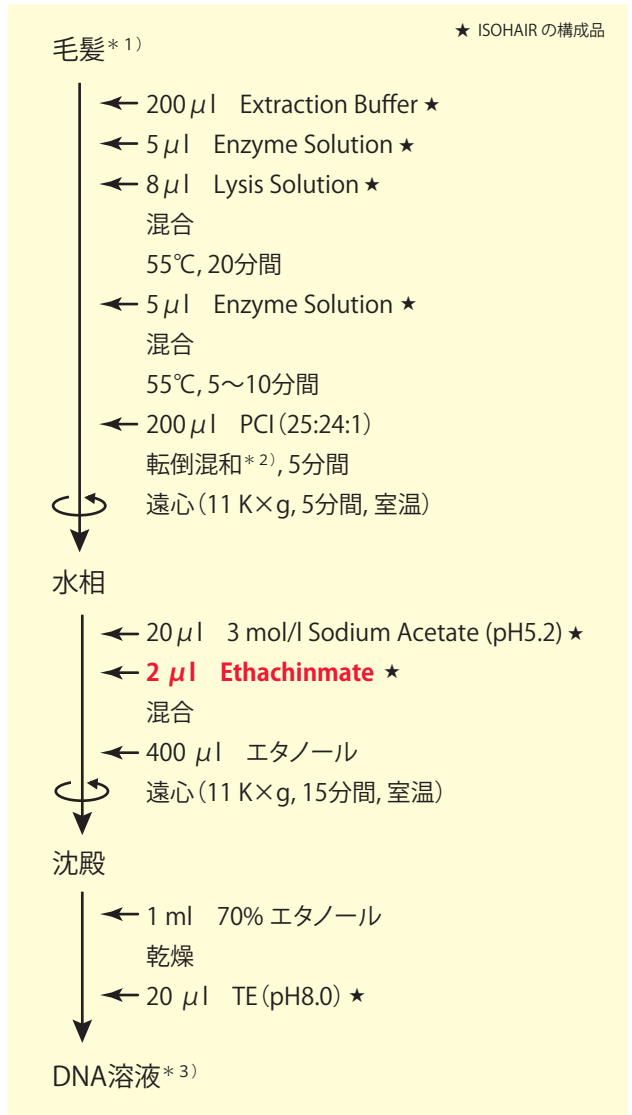
*1) 溶液中に塩類が含まれているため、ここでは3 mol/l Sodium Acetate (pH 5.2) を加える必要はない。

*2) -20°C以下では夾雑物が多くなるので4°Cが望ましい。この状態で、通常RNAの沈殿は見えない。

2) ISOHAIRを用いた毛髪からのDNA抽出

ISOHAIR (Code No.319-03401) は、ヒトの毛髪・爪からDNAを抽出するためのキットである。毛髪の主成分はケラチンという非常に分解しにくいタンパク質であるが、ISOHAIRを使用すると約30分間で毛髪を完全に溶解することが可能で、約1時間でDNAを得ることができる。

< ISOHAIR 製品マニュアルより: 標準プロトコール >



*1) 毛根部の場合1 cm、毛幹部の場合2~6 cm、爪の場合1 mm角2個 (0.5 mg) 程度必要である。

*2) ボルテックスなどの激しい操作は避ける。

*3) 必要があればRNase処理を行う。



エタ沈メイトの効果

エタ沈メイトを加えることにより、核酸を効率よく回収でき、さらに沈殿を目で確認することができる。



Q & A

詳細情報はこちらから ▶ <https://www.nippongene.com/siyaku/>

Q1 Ethachinmateとは何ですか。

A1 核酸 (DNA及びRNA) をエタノール沈殿またはイソプロパノール沈殿させる際に使用するアクリルアミド系の高分子キャリアー溶液です。

Q2 RNAの回収に使用できますか。

A2 本品はDNase, RNase freeであることを確認していますので、RNAの回収に問題なく使用できます。【実験例 1 参照】

Q3 定量的に回収できるDNAまたはRNAの濃度及び長さはどのくらいですか。

A3 20 ng/ml以上のDNA(100 bp以上)およびRNA(120 base以上)が定量的に回収できます。

Q4 260 nmの吸光度測定による定量に影響はありますか。

A4 ありません。【実験例 3 参照】

Q5 プロトコールでは、DNA溶液100 μ lに対してEthachinmateを1 μ l加えることになっていますが、DNA溶液が100 μ lは少ない場合はどうすれば良いですか。

A5 Ethachinmateは1 μ l加えて下さい。DNA沈殿を可視化するためには1 μ l以上のEthachinmateが必要です。なお、添付の3 M Sodium Acetateは比例換算して適量を加えて下さい。
(例: DNA溶液50 μ lの場合、3 M Sodium Acetate 1.7 μ l, Ethachinmate 1 μ l)

Q6 DNA溶液が300 μ l以上の場合、Ethachinmateはどのくらいの量を添加すれば良いですか。

A6 DNA溶液が300 μ l以上の場合、Ethachinmateは溶液の量に関係なく3 μ l加えて下さい。Ethachinmateを過剰に加える必要はありません。なお、添付の3 M Sodium Acetateは比例換算して適量を加えて下さい。
(例: DNA溶液600 μ lの場合、3 M Sodium Acetate 19.8 μ l, Ethachinmate 3 μ l)

Q7 DNA溶液を2回以上エタノール沈澱したいのですが、2回目以降にもEthachinmateを加えた方が良いですか。

A7 Ethachinmateは一度添加したらその後追加する必要はありません。Ethachinmateを繰り返し加えるとDNA溶液が粘稠になり、以後の操作に支障をきたす場合もあります。

Q8 凍結させた場合、Ethachinmateの効果に影響はありますか。

A8 ありません。

Q9 オートクレーブ処理した場合、Ethachinmateの効果に影響はありますか。

A9 ありません。

Q10 Ethachinmateを含むDNA溶液をフェノール、クロロホルム処理した場合、Ethachinmateの効果に影響はありますか。

A10 ありません。

Q11 電気泳動パターンに対する影響はありますか。

A11 ありません。ただし、電気泳動条件によっては、数十kbp以上のDNAのバンドがブロードになることがあります。

Q12 制限酵素反応に対する影響はありますか。

A12 ありません。

Q13 T4 DNA Ligaseの反応に対する影響はありますか。

A13 ありません。

Q14 AMV Reverse TranscriptaseのcDNA合成反応に対する影響はありますか。

A14 ありません。ただし、Ethachinmateはアクリルアミド系のポリマー溶液で、アミノ基が含まれております。後の実験にアミノ基を利用した反応を行う場合には、Ethachinmateが影響することがありますのでご注意ください。

Q15 Taq DNA PolymeraseによるPCRに対する影響はありますか。

A15 ありません。【実験例 2 参照】

Q16 Klenow Fragmentの反応に対する影響はありますか。

A16 ありません。

Q17 大腸菌の形質転換に対する影響はありますか。

A17 ありません。エレクトロポレーションにおいても影響しません。【実験例 4 参照】

Q18 *in vitro* パッケージングに対する影響はありますか。

A18 λ ファージの*in vitro* パッケージング効率は若干低下します。

Q19 Ethachinmateを加えてエタノール沈殿するとモノヌクレオチドは沈殿しますか。

A19 8 merおよび17 merのオリゴヌクレオチドを用いた実験では、Ethachinmate添加の有無に関わらず、回収率に変化はありません。

Q20 ホルムアミドを含むハイブリダイゼーション溶液中で変性しますか。

A20 変性しません。

Q21 プロットイングに影響はありますか。

A21 ありません。

Q22 シークエンス反応に影響はありますか。

A22 サイクルシークエンス法、ダイデオキシ法(サンガー法)においては影響がないことを確認しております。

Q23 リアルタイムPCRに対する影響はありますか。

A23 ありません。

Q24 Ethachinmateを添加すると沈殿がチューブからはがれやすくなってしまいますか。

A24 はがれやすい傾向があります。したがって、遠心後(12,000 \times g, 5分間)のエタノールの除去は、デカンテーションを行わずにピペットで吸い取るようにして下さい。

エタ沈メイトのその他のQ&Aや実験例は
ニッポンジーンのホームページをご覧ください。
<https://www.nippongene.com/siyaku/>

