

- 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の濃度及び長さほどのくらいですか。
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 µlに対してEthachinmateを1 µl加えることになっていますが、DNA溶液が100 µlより少ない場合はどうすれば良いですか。
A5 Ethachinmateは1 µl加えて下さい。DNA沈殿を可視化するためには1 µl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 µlの場合、3 M Sodium Acetate 1.7 µl, Ethachinmate 1 µl)
- Q6** DNA溶液が300 µl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 µl以上の場合、Ethachinmateは溶液の量に関係なく3 µl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 µlの場合、3 M Sodium Acetate 19.8 µl, Ethachinmate 3 µl)
- Q7** DNA溶液を2回以上エタノール沈殿したいのですが、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** プロテティ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 × 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/>



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	3,200円
312-01791		0.2 ml	16,000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!



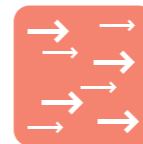
微量核酸の回収が可能

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

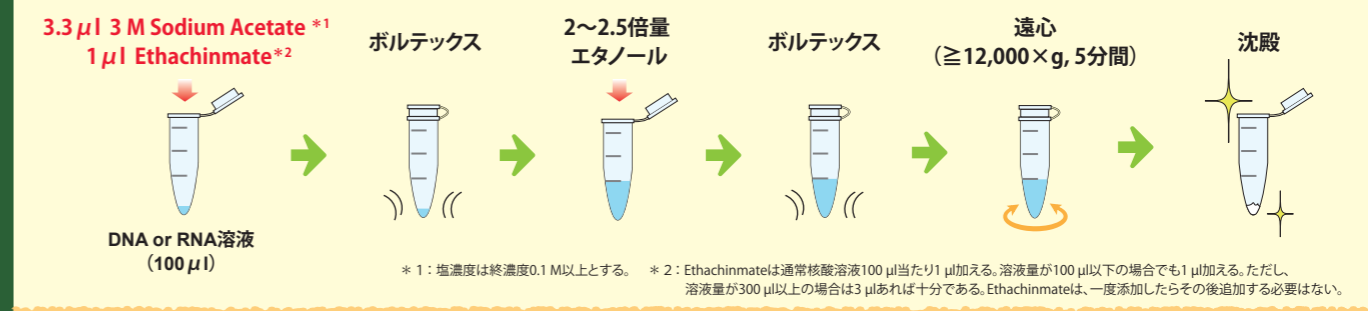
回収した核酸は、水やバッファーに容易に溶け、しかも混在する Ethachinmate は酵素反応を全く阻害しません。



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



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

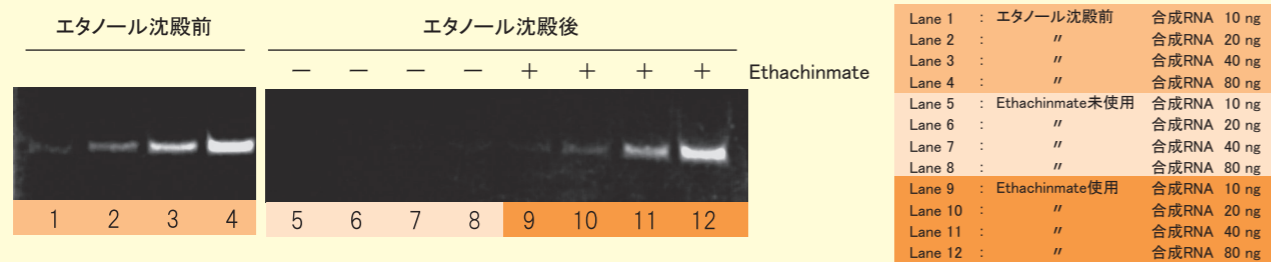
エタ沈メイトの実験例

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。

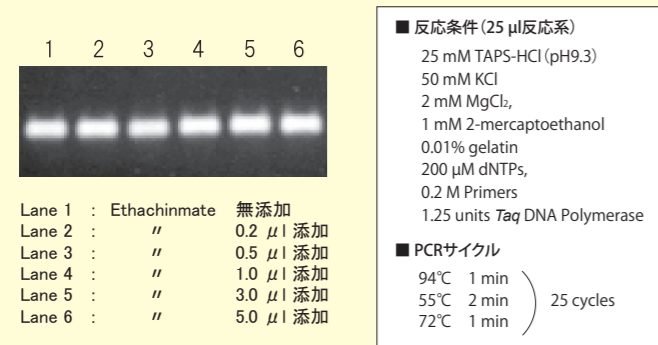
サンプル： 合成RNA (10 ng, 20 ng, 40 ng, 80 ng)
 エタノール沈殿： 各100 μlの合成RNA溶液に、3 M Sodium Acetate 3.3 μl, Ethachinmate 1 μlを加えて行った。エタノール沈殿はすべてのサンプルについてエタノールを添加及び混合後、すぐに遠心を行った。
 電気泳動： 15% ポリアクリルアミドゲルを使用(全量を泳動)。



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。



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

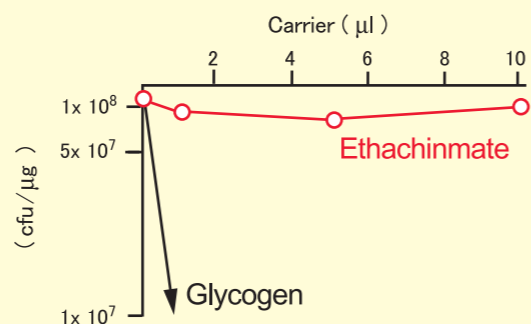
*通常使用時の濃度に相当する。

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 μl) 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 μl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 μg/ml:アンピシリン)に塗布し、37°Cにて一晩静置

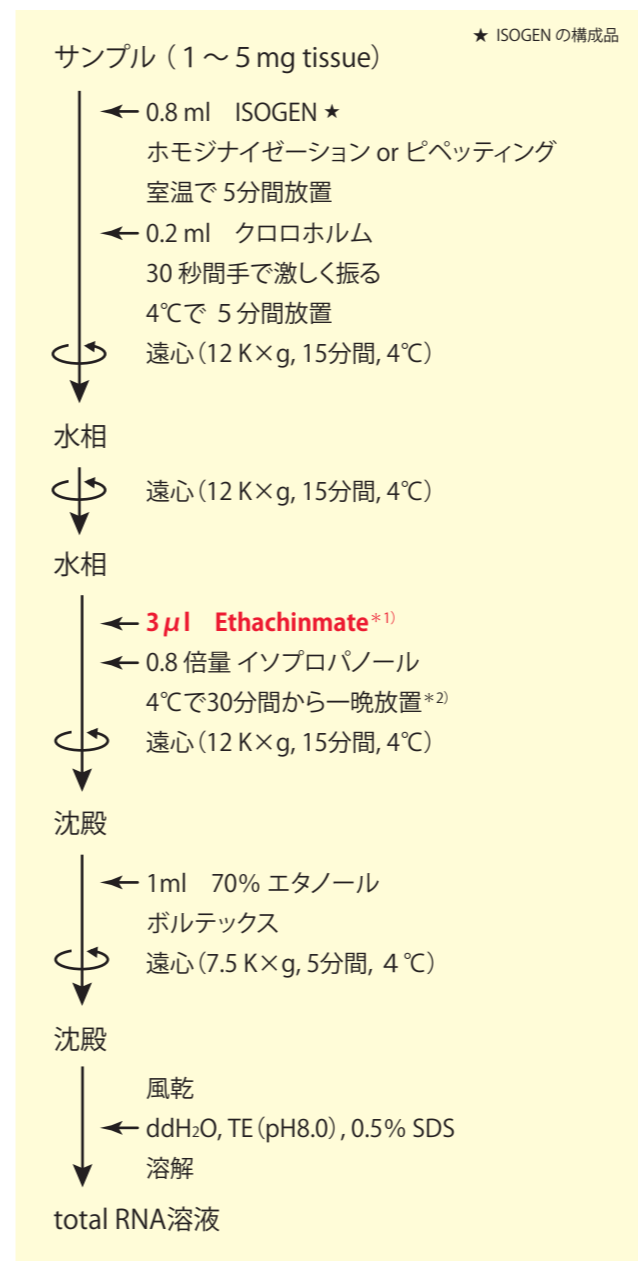


エタ沈メイトを用いたプロトコール例

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 >



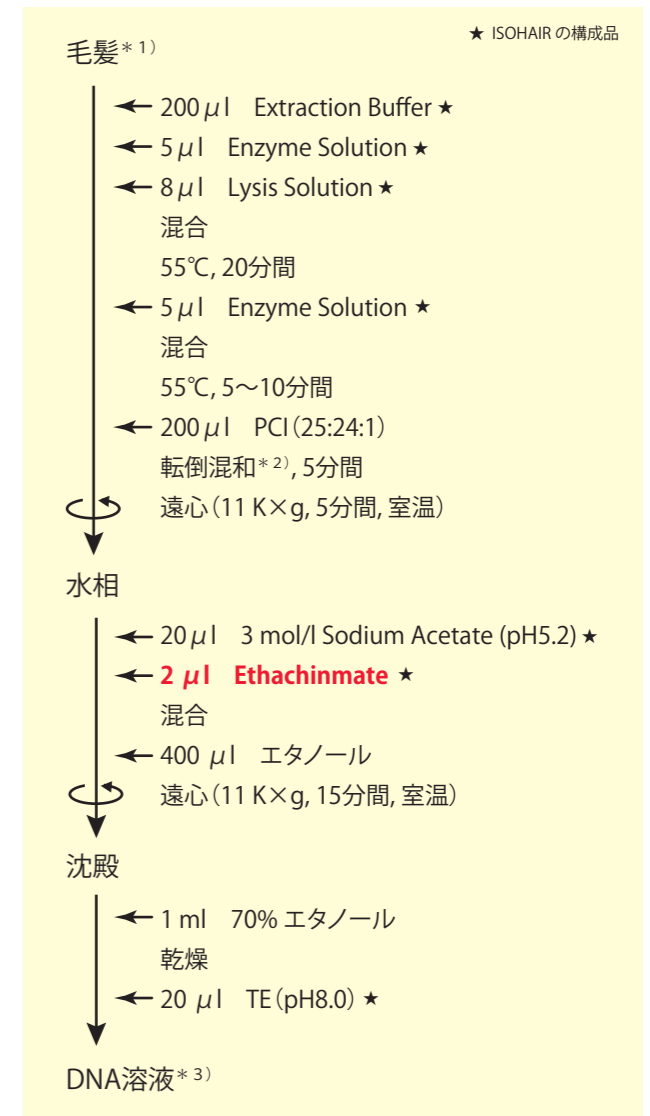
弊社では、ラット下垂体またはヒト肝針生検材料1~5mgを用いた場合のRNAの収量は、4~8 μg / 1~5 mg wet weightという結果が得られた。

*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。

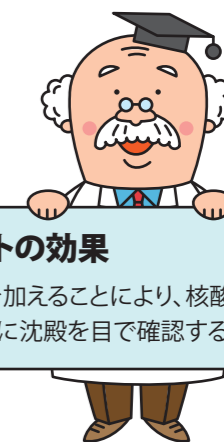
2) ISOHAIRを用いた毛髪からのDNA抽出

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) 毛根部分の場合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。