

【KOD FX Neoトラブルシューティング】

問題	対策	具体例・目安
増幅産物が見られない。 増幅産物が少ない。	サイクル条件を変更する。	伸長時間を60 sec./ kb に延長する。
		サイクル数を 2~5 サイクル増やす。
		3 ステップサイクルで行う。 3 ステップサイクルでアニーリング温度を Tm-5~Tm-10°C に下げる。
		ステップダウンサイクルで行う(特に 10 kb 以上の長鎖ターゲットで有効な場合がある)。
	使用しているテンプレートの量、品質を確認する(特に、テンプレートに RNA 等がコンタミしていないか確認する)。	テンプレートの量を増やす。
		阻害物質の影響を減らすため、テンプレート量を減らす。
		テンプレートの調製法を検討する。
		テンプレートを精製する。
		RNA による阻害をなくすため、cDNA サンプル量を減らす。
	使用しているプライマーの量、品質を確認する。	RNA を分解もしくは除去する。
		プライマー濃度を 0.3 μM から 0.15 μM (終濃度) にする(特に 10 kb 以上の長鎖ターゲットで有効な場合がある)。
		プライマーを再調製、再合成する。 プライマーを設計し直す。
	使用酵素量を増やす。	標準 1 U を 1.5~2.0 U に増やす。
スミア、エキストラバンドが見られる。	サイクル条件を変更する。	3 ステップサイクルで行っている場合、2 ステップサイクルに変更する。
		2 ステップサイクルで行っている場合、ステップダウンのサイクルで行う。
		サイクル数を 2~5 サイクル程度減らす。
	使用しているテンプレートの量を確認する。	テンプレートの量を減らす。
	使用しているプライマーの品質を確認する。	プライマーを再調製、再合成する。 プライマーを設計し直す(長めのプライマーを設計するとスミア、エキストラバンドが解消する場合がある)。
使用酵素量を減らす。	標準 1 U を 0.5~0.8 U に下げる。	
TA クローニングできない。	専用のキットを用いる。	専用 TA クローニングキット「TArget Clone™ -Plus- (Code No. TAK-201)」を用いる。 (KOD FX Neo の増幅産物の末端は平滑化されています。)