

【KOD -Plus- / KOD -Plus- Ver.2 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	MgSO ₄ 濃度を上げる。	標準 1.0mM を 1.2mM に上げる。 プラスミドの場合は 1.5~2.0mM に上げる。
	アニーリング温度を下げる。	Tm-10°C下げる。
	サイクル数を増やす。	+2~5 サイクル増やす。
	使用しているテンプレート DNA, プライマーの品質を確認する。	テンプレート DNA に RNA 等がコンタミしていないか確認する。
	サンプル中に大量の RNA 成分が混在している。	サンプルを希釈して使用する。 RNA を分解もしくは除去する。
非特異的増幅産物が見られる	アニーリング温度を上げる。	68°C以上に上げてはならない。
	ステップダウン PCR を行う。	
	MgSO ₄ 濃度を下げる。	標準 1.0mM を 0.8mM に下げる。
	新しいプライマーセットを設計する。	
バックグラウンドにスメア、エキストラバンドが見られる	サイクル数を減らす。	2~5 サイクル程度減らす。
	テンプレート DNA の量を減らす。	
	MgSO ₄ 濃度を下げる。	標準 1.0mM を 0.8mM に下げる。
	使用酵素量を下げる。	標準 1U を 0.5~0.8U 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。	TArget Clone™ -Plus-を用いる。
10× Buffer for KOD -Plus-を解凍した際に沈殿が生じる	析出物を溶解する。	ボルテックスなどで析出物を完全に溶解する。