

【KOD -Plus- 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 1 min./ 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)。 |
| | MgSO ₄ 濃度を変更する。 | 標準 1.5 mM を 2.0 mM に上げる (特に 10 kb 以上の長鎖ターゲットで有効な場合がある)。 |
| | | GC rich ターゲットでは、標準 1.5 mM を 1.0 mM に下げる。 |
| | 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 等がコンタミしてないか確認する)。 | テンプレートの量を増やす。 |
| | | テンプレートを精製し直す。 |
| | | RNA による阻害をなくすため、cDNA サンプル量を減らす。 |
| | | RNA を分解もしくは除去する。 |
| 使用しているプライマーの量、品質を確認する。 | プライマー濃度を低くする (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。 | |
| 添加剤を加える。 | DMSO を終濃度 2~5% になるように添加する。[添加にあたっては、説明書 5. (2) 添加剤について、をお読みください] | |
| スメア、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。 |
| | MgSO ₄ 濃度を下げる。 | 標準 1.5 mM を 1.0 mM に下げる。 |
| | 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メア、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 -Plus- Neo の増幅産物の末端は平滑化されています。> |