

【SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCRトラブルシューティング】

現象	原因	対策
リアルタイム PCR でシグナルが出ない、あるいは遅れて検出される	細胞数が多すぎる	<ul style="list-style-type: none"> ・過剰の細胞由来成分により RT 反応や qPCR 反応が阻害される場合があります。播種する細胞を低減するか、ライセートを Lysis Solution : Stop Solution = 5:1 混合液にて希釈して RT 反応に添加してください。
	RNA が分解している	<ul style="list-style-type: none"> ・細胞の種類によっては RNase の活性が強く、ライセート中の RNase を完全に失活できない場合があります。このような細胞では、細胞溶解後、ライセートを氷上に移し、速やかに RT 反応を行い、cDNA 化することをお勧めいたします。一般的なセルラインではライセートは氷上で 2 時間程度安定です（説明書 p.17 参照）。 ・サンプル数が多く、Lysis Solution 添加 5 分後の Stop Solution の添加が困難な場合、サンプルを氷上に移して待機させてください（説明書 p.6 参照）。 ・ライセートを保存する場合は -80°C で凍結し、凍結融解はできる限り少なくしてください。 ・細胞は用時調製したものをご使用ください。アッセイ用に凍結保存しておく場合は、培養後、PBS(-) で洗浄した細胞から PBS(-) を除去し、-80°C で凍結してください。
	逆転写反応液の添加量が多すぎる	<ul style="list-style-type: none"> ・本製品の RT 反応液を qPCR 反応液へ最大 15% 添加しても直線性には問題ないことを確認していますが、使用する qPCR 試薬の性質によっては、この許容量が低下する可能性があります。逆転写反応液の添加量を減らしてください。 ・本製品以外の RT 試薬をご使用の場合、qPCR 反応への持込許容量が変わる可能性があります。予備実験をしてご使用ください。
定量性が低い	細胞溶解時に均質に混合されていない	<ul style="list-style-type: none"> ・Lysis Solution、Stop Solution 添加後に攪拌ムラが生じないように混合してください。