

【KOD FXトラブルシューティング】

トラブル	考えられる要因	対策
増幅産物が見られない。 増幅量が少ない。	サイクル	3ステップのサイクルで行う。アニーリング温度を $T_m - 10^\circ\text{C}$ 程度まで下げる。 サイクル数を2~5サイクル程度増やす。
	プライマー	プライマーの品質を確認する。→再調製・再合成する。 プライマーを再設計し直す。
	鋳型DNAの純度・量	鋳型DNAの純度を確認する（特に RNA 等が多量にコンタミしていないかを確認する）。→鋳型DNAの精製度を上げる。 適量の鋳型DNAを使用する。＜検討例3ご参照＞
スミア、エキストラバンドが見られる。	サイクル	サイクル数を2~5サイクル程度減らす。 ステップダウンPCRを行う。
	プライマー	プライマーの品質を確認する。→再調製・再合成する。 プライマーを再設計し直す。
	鋳型DNA量	適量の鋳型DNAを使用する。
	酵素量	酵素使用量を 0.5~0.8U/50 μl 反応系程度に下げる。