【KOD FLEX PCR Master Mixトラブルシューティング 】

問題	対策	具体例･目安
増幅が見られない。 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。 アニーリング温度を下げてTmからTm-5℃の間で検討する。
		縮重プライマーを使用している場合、アニーリング時間を 10 sec.から 30 sec.に伸ばす。
	使用しているテンプレートの量、品質を確認する（特に、テンプレートに過剰の 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。
		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 0.3μM から 0.1μM（終濃度）まで段階的に減らして検討する（特に 10 kb 以上の長鎖ターゲットで有効な場合がある）。
		縮重プライマーを使用している場合はプライマー濃度を上げる。[p4 オプション参照]
		プライマーを再調製、再合成する。
	プライマー配列を変更する。	プライマーを再設計する。[3. (1) 参照]
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。
		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量、品質を確認する。	プライマーを再調製、再合成する。
		プライマー濃度を 0.1μM（終濃度）まで段階的に減らして検討する。
	プライマー配列を変更する。	プライマーを再設計する（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）。[p2 参照]
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（本製品 の増幅産物の末端は平滑化されている）。

TOYOBO

＜製品の内容・技術に関するお問合せ＞
東洋紡（株）バイオプロダクト営業部　テクニカルライン
TEL 06-6348-3888　　FAX 06-6348-3833
開設時間 9:00~12:00, 13:00~17:00 (土日祝日、休日を除く)
E-mail: tech_osaka@toyobo.jp
[URL] https://lifescience.toyobo.co.jp/