

## 【KOD DNA Polymerase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                  | MgCl <sub>2</sub> 濃度を上げる。        | 標準 1.0mM を 1.2mM に上げる。<br>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。                    | T <sub>m</sub> -10℃まで下げる。                           |
|                             | 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。<br>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。                    | プライマーの(T <sub>m</sub> -2~T <sub>m</sub> )℃に上げる。     |
|                             | MgCl <sub>2</sub> 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ー、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 の量を確認する。              | テンプレートの量を減らす。                                       |
|                             | MgCl <sub>2</sub> 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 2.5U を 1.25~2.0U に下げる。                           |
| TA クローニングができない              | 専用のキットを用いる。                      | TARget Clone™ -Plus-を用いる。                           |