

【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 による障害をなくすため、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]	
スミア、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ミア、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。>