

【MagExtractor –PCR & Gel Clean up– トラブルシューティング】

1. 収量が低い

原因	対策
エタノールの除去が 不完全	スピンドウン後、75%エタノールを注意深く除去してください。
溶出が不十分	10mM Tris-HCl(pH8.0) または、TE bufferにて溶出した方が溶出効率が上昇することがあります。また、55°Cにて2min.ほど 加温することによりさらに溶出効率を上昇させることができます。
吸着時間が不適切	吸着を過剰に行うと収量が低下することがあります。至適吸着時間は、DNA溶液からの場合は1～2min.、ゲルからの場合は約2min.です。
溶出時の攪拌が不十分	溶出時に磁性ビーズの懸濁が不十分な場合、収量が低下することがあります。スピンドウンした後などは、ビーズが底に固まってしまうことがありますので良くほぐすようにしてください。特に、アガロースゲルからの精製ではビーズが分散しにくくなる傾向にあります。
アガロースゲルの量が0.3gを越えている	アガロースゲルの量を減らしてください。
2%以上のアガロースを使用している	アガロースゲルの量を減らしてください。
洗浄液による洗浄を行っていない	アガロースゲルからDNAを回収するときは、必ず洗浄液による洗浄を行ってください。

2. 回収した核酸の吸光度による定量が不正確

原因	対策
洗浄が足りない	吸着液には紫外部に吸収を有する物質が含有されています。回収した核酸を定量する場合は、洗浄液および75%エタノールによる洗浄を行ってください。
吸着液を持ち込んでいる	吸着液には紫外部に吸収を有する物質が含有されています。吸着液の除去を注意深く行ってください。チューブのキャップなどに付着した吸着液をティッシュなどで拭うことにより改善されることがあります。

回収した核酸を用いた反応がうまくいかない

原因	対策
塩が反応を阻害している	75%エタノール洗浄を2回に増やして行ってください。吸着液、洗浄液は、高濃度の塩を含有していません。
エタノールが反応を阻害している	エタノール乾燥を行うプロトコールに従って行ってください。
酵素が完全に除去できていない	反応液中のアルカリホスファターゼなどの酵素を完全に除去する場合は、洗浄液および75%エタノールによる洗浄を行ってください。
反応に用いている酵素量が少ない	アガロースゲルから回収した核酸の場合、反応に用いる酵素量を通常より濃く設定することにより良好な結果が得られることがあります。
使用しているアガロースのグレードが低い	高グレードのアガロースを使用してください。
アガロースゲルからバンドを切り出す際に紫外線を当てすぎている	Long wave(365nm付近)の紫外線にて切り出しを行ってください。