

【SuperPrep® II Cell Lysis & RT Kit for qPCR トラブルシューティング】

現象	原因	対策
リアルタイム PCR でシグナルが出ない、あるいは遅れて検出される	細胞数が多すぎる	<ul style="list-style-type: none"> ・過剰の細胞由来成分により RT 反応や qPCR 反応が阻害される場合があります。播種する細胞を低減するか、ライセートを Lysis Solution にて希釈して RT 反応に添加してください。
	RNA が分解している	<ul style="list-style-type: none"> ・細胞の種類によっては RNase の活性が高く、ライセート中の RNase を完全に失活できない場合があります。このような細胞では、細胞溶解後、ライセートを氷上に移し、速やかに RT 反応を行い、cDNA 化することをお勧めいたします。一般的なセルラインではライセートは氷上で6時間程度安定です。 ・ライセートを保存する場合は-80℃で凍結し、凍結融解はできる限り少なくしてください。 ・細胞は用時調製したものをご使用ください。アッセイ用に凍結保存しておく場合は、培養後、PBS(-)で洗浄した細胞から PBS(-)を除去し、-80℃で凍結してください。
	逆転写反応液の添加量が多すぎる	<ul style="list-style-type: none"> ・本製品の RT 反応液を qPCR 反応液へ最大 15%添加しても直線性には問題ないことを確認していますが、使用する qPCR 試薬の性質によっては、この許容量が低下する可能性があります。逆転写反応液の添加量を減らしてください。THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (Code: QPS-201)をご使用の場合 RT 反応液の qPCR 反応液への添加は最大 10%までとしてください。 ・本製品以外の RT 試薬をご使用の場合、qPCR 反応への持込許容量が変わる可能性があります。予備実験をしてご使用ください。
定量性が低い	細胞溶解が不十分	<ul style="list-style-type: none"> ・Lysis Solution 添加後に攪拌ムラが生じないように十分攪拌してください。