

MonoFas[®] DNA精製キット I トラブルシューティング

トラブル	予想原因	対処法
DNA回収率低い	① ゲル断片、PCR産物に加えたBuffer Aの量が異なる	ゲル片、PCR産物に加えたBuffer Aの量を確認してください ・ゲル片10 mgに対して10 µL (等量) ・PCR産物10 µLに対して100 µL (10倍量)
	② ゲルが完全に溶解していない	ゲルが完全に溶解したことを確認、溶解時間を長くする 溶解中に2~3回試料を攪拌(ボルテックス)する
	③ 溶出用Buffer Cが拡散していない	Buffer Cをモノリスの中央部分に添加する
	④ 溶出液の調整不良	調整した溶出液のpHが、8.0~8.5である事を確認する
蛍光シーケンスできない	① シークエンスPCR反応時のDNA濃度が低い	シーケンスPCR時のDNA濃度をあげる、エタノール沈殿によりDNAを濃縮する
	② シークエンスPCR反応時のDNA濃度が高い	シーケンスPCR時のDNA濃度を薄める
制限酵素処理ができない	① 酵素濃度、消化時間が不十分	酵素量と消化時間を増やす、適切な温度と最適緩衝液で消化する
	② 抽出・精製したDNAにエタノールと塩が残っている	遠心時にスピニングカラムの蓋が開いているか再確認する DNAをエタノール沈殿する
	③ 溶出液中に変性一本鎖DNAを含む	精製前のPCR産物を95°Cで2分間熱処理し、ゆっくり室温まで冷却する その後スピニングカラムを用いて精製する
精製度が低い	Buffer Aが残っている Buffer Bが残っている Buffer Bによる洗浄が不十分 遠心回転数・時間が不十分	遠心時にスピニングカラムの蓋が開いているか再確認する DNAをエタノール沈殿で精製後、必要に応じて再度スピニングカラムで精製する
精製DNAをアガロースゲルにアプライできない	Buffer Bが残っている	遠心時にスピニングカラムの蓋が開いているか再確認する 精製DNAを再度スピニングカラムで精製する Binding Buffer量を2倍に増やす
精製DNAのバンドがはっきりしない	DNAがヌクレアーゼで分解してしまった	精製試料は、なるべく新しいPCR産物を用いる 各種Bufferの期限を確認する 各種Bufferを再度滅菌する

MonoFas[®] DNA精製キット I トラブルシューティング

トラブル	予想原因	対処法
クローニングの効率が低い	Buffer Aが残っている ① Buffer Bが残っている アガロースゲルが混入 ② 溶出液中にプライマー・ダイマーが混入	プロトコールを再度確認し、各ステップを忠実に実行する 20 bpより大きいプライマーやダイマーが形成され完全に除去されていない、吸着ステップの後、35%塩酸グアニジン水溶液で洗浄し、その後洗浄Buffer Bで洗浄し、溶出ステップに進む