

# MonoFas<sup>®</sup> 植物DNA抽出キット12 トラブルシューティング

トラブル	予想原因	対処法
DNA回収量が少ない	① 試料とBuffer A12の混和が不十分のために試料溶解が不完全	試料に加えたBuffer A12の量を確認する 試料にBuffer A12を500 µL、試料の量が多い場合はBuffer量を調整する 新しい試料で再度DNA抽出を行なう
	② Buffer A12中での試料溶解、変性が不完全	植物試料の溶解を確認する 新しい試料で再度DNA抽出を行なう
	③ 溶解後にBuffer B12を添加していない	Buffer B12(150 µL)を正確に添加したか確認する 新しい試料で再度DNA抽出を行なう
	④ スピнкаラムにロードする前にBuffer C12を添加していない	Buffer C12(400 µL)を正確に添加したか確認する 新しい試料で再度DNA抽出を行なう
	⑤ DNAの溶出が効率的でない	Buffer E12を添加する際は、モノリス表面の中央部分に添加し、モノリス全体に行き渡るようにする 溶出効率を高めるため、スピнкаラムにBuffer E12あるいは精製水をピペットで添加後、遠心操作前に室温でスピнкаラムを1分間インキュベートする
	⑥ Bufferを間違えて使用	各工程に使用するBufferをプロトコールの順序に従って使用したかを確認する 新しい試料で再度DNA抽出を行なう
	⑦ 多量のBuffer E12で溶出	既定量のBuffer E12で溶出する
抽出・精製した核酸のA260/A280比率が高い	① スピнкаラムにロードする前にBuffer C12を添加していない	新しい試料で再度DNA抽出を行なう
	② Buffer A12とBuffer B12が残っている、またはBuffer D12による洗浄が不十分	抽出DNAをエタノール沈澱して回収する
	③ RNAの残留量が多い	本キットではAmylase, RNase A処理は行わないため、糖やRNAを含まないDNAが必要な場合は、抽出後にRNase A処理を行う RNase A 溶液での処理方法: RNAを除去する場合、溶出液200 µLに対し0.5 µLのRNase A(20 mg/mL)溶液を入れ、37°Cで15分間インキュベーションする
	④ 溶出液中にBuffer D12が残留、不純物が混入	溶出の前に洗浄ステップを行ったことを確認する スピнкаラムにBuffer D12 500 µLを添加後、5分間室温でインキュベートしてから、遠心する
抽出・精製したDNAが酵素反応効率が低い	① 溶出液中のDNA量が不十分	溶出液中にDNAが少ない場合は、溶出液量を10 µLまで減らすことができる 又は必要に応じて、DNAを真空濃縮するか、使用する試料量を増やして、再度抽出を行なう スピнкаラム上に残留したDNAは溶出ステップ後に、同一溶出液を再度カラムにアプライし溶出ステップを繰り返して回収できる
	② 調製中の阻害物質	可能性のある原因をトラブル及び対処法の「精製した核酸のA260/A280比率が低い」の項をチェックする
	③ PCR増幅反応の効率が悪い	PCR増幅反応にテンプレートとして添加する溶出液の量を調節する 添加された溶出液量を調節して増幅システムを再度至適化する
全体的にDNAの抽出・精製効率が悪い	① Buffer A12が残っている、溶出液中にBuffer D12が残留、不純物が混入	取り扱い説明書通りの試料量で使用する 最高速度で1分間あるいは全ライゼートがモノリスを通過するまで遠心分離する 本取扱説明書の各工程が確実に実行されていないため、各工程を確認しながら実行する
	② 溶出液中に変性ssDNAを含む	用意した反応液を95°Cで2分間インキュベート後、室温まで冷却し、その後酵素を加えて酵素反応させる

# MonoFas<sup>®</sup> 植物DNA抽出キット12 トラブルシューティング

トラブル	予想原因	対処法
DNA回収量が多い	① PCR増幅反応の感度が低下、増幅が上手く行かない、不純物の影響が大きい	PCR増幅反応にテンプレートとして添加する溶出液の量を調節する 溶出DNAを滅菌水で希釈して使用する
	② 試料量が多く、完全に溶解されてない	溶出DNAを希釈する(微量、高純度) 溶出液量を100 $\mu$ Lまで増加することにより、不純物によるPCR反応阻害を抑制する