



## 使用LAMBDA 465 紫外/可见分光光度计 进行寡核苷酸的 定量分析

### 介绍

涉及核酸的分子操作的效率,很大程度上受到样品中核酸浓度和纯度的影响。利用其对紫外光的吸收,可以简便的进行寡核苷酸的定量分析。因此利用紫外光分析,可以得到样品浓度的信息。

本应用报告介绍了使用LAMBDA™ 465紫外/可见分光光度计进行寡核苷酸的定量分析。

### 原理

为了确定寡核苷酸的含量,需要读取260nm和280nm的吸光度。260nm处吸光度可用来计算样品中核酸的浓度。 $A_{260}$ 吸光度为1,大概对应浓度为25 $\mu\text{g/ml}$ 的寡核苷酸。

这个测试可直接进行样品浓度的计算。

$$[\text{寡核苷酸}] \mu\text{g/ml} = A_{260} \times 25 \times \text{稀释倍数}$$

这里,  $A_{260}$ 为260nm处吸光度

25为寡核苷酸的消光系数

试剂和仪器

寡核苷酸 (23mer)

去离子水

LAMBDA 465紫外/可见分光光度计

UV Lab软件

比色皿 (10mm光程, 半微量池)

实验步骤

- 1. 将寡核苷酸溶解于去离子水
- 2. 将样品逐步稀释, 得到一系列浓度溶液
- 3. 在视图栏里选择“定量标准”
- 4. 仪器参数如下 (见图1)

实验设置

数据类型: 吸光度

采样: 单池

模式: 较快 (光谱数: 1, 扫描数: 10, 积分数: 1, 增益: 1)

实验类型: 定量标准

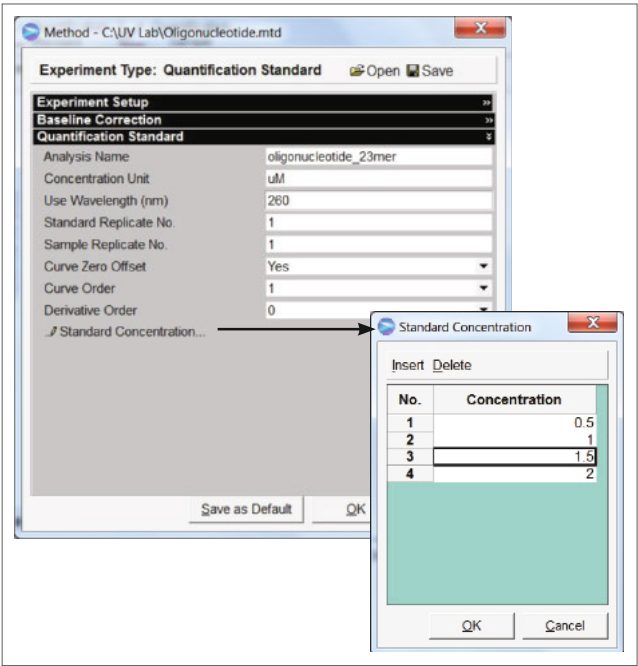


图1. 寡核苷酸定量实验设置

结果

1. 寡核苷酸浓度

表1给出了 $A_{260}$ 的结果和浓度。

图2和图3显示了光谱和标准曲线。

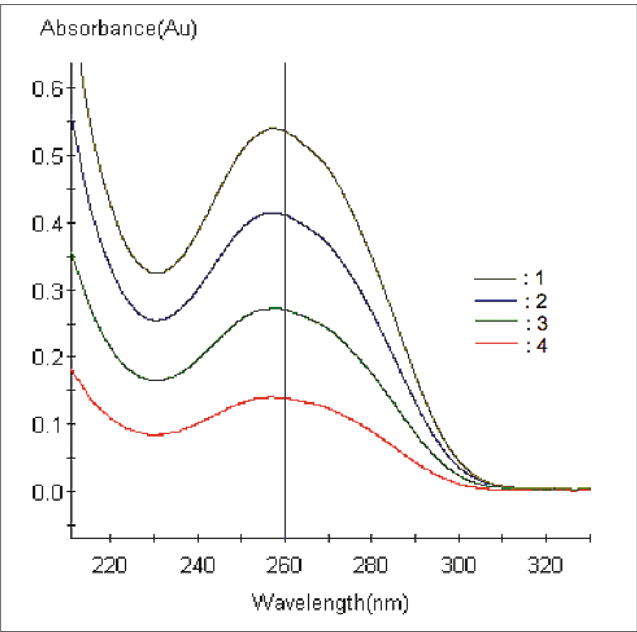


图2. 寡核苷酸的光谱

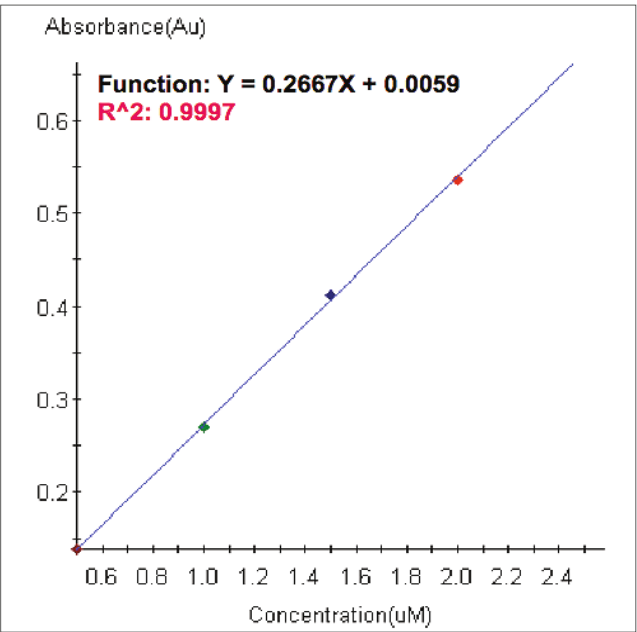


图3. 寡核苷酸的标准曲线

表1. 浓度和 $A_{260}$ 值

Spectrum No.	Conc. (uM)	Au (260 nm)
4	0.5	0.1387
3	1.0	0.2704
2	1.5	0.4120
1	2.0	0.5360

## 结论

使用LAMBDA 465紫外/可见分光光度计和UV Lab软件, 进行了寡核苷酸的定量分析。浓度范围为0.5~2.0 $\mu$ M。使用LAMBDA 465, 可快速获得光谱数据, 并有良好的灵敏度。使用UV Lab<sup>TM</sup>软件, 有效的进行了数据处理和定量分析。

## 参考文献

1. Maniatis, F.L., Fritsch, E.F., Sambrook, J., Molecular Cloning: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Press, New York, 1982.
2. Robert E. Farrell, Jr., RNA Methodologies: Academic Press, 1993.

珀金埃尔默企业管理（上海）有限公司  
地址：上海 张江高科技园区 张衡路1670号  
邮编：201203  
电话：021-60645888  
传真：021-60645999  
[www.perkinelmer.com.cn](http://www.perkinelmer.com.cn)



要获取全球办事处的完整列表, 请访问[http:// www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs](http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs)

版权所有 ©2014, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。