

4. QUANTIFICAÇÃO EM ESPECTROFOTÔMETRO:

Luciana Correia de Almeida Regitano

Os ácidos nucleicos absorvem luz no comprimento de onda de 260 nm. Para fazer a leitura no espectrofotômetro, normalmente se utiliza uma diluição em água. Para estimar a concentração de DNA utiliza-se a seguinte relação: $1 \text{ OD}_{260} = 50 \mu\text{g}$ DNA dupla-hélice (Regitano, 2001; Sambrook, 2002).

Dessa forma, a concentração de DNA na amostra é obtida pelo seguinte cálculo:

$$[\text{DNA}] = \text{Valor da leitura em O.D.} \times 50 \times \text{Fator de diluição}$$

As proteínas absorvem luz no comprimento de onda de 280 nm. Sendo assim, a relação A_{260}/A_{280} fornece um parâmetro de avaliação da qualidade das preparações de ácidos nucleicos. Valores inferiores a 1,8 resultam de contaminação com proteína.

Utilize o espaço abaixo para anotar o resultado da quantificação:

Amostra	OD₂₆₀	OD₂₈₀	Razão	Concentração

A concentração de RNA nas amostras também será avaliada por espectrofotometria, tendo uma alíquota de amostra de RNA dissolvida em água deionizada, na proporção de 1:100 (5µL de DNA: 495 µL de água deionizada

