

Quantificação de DNA por espectrofotometria

Os ácidos nucleicos podem ser detetados/quantificados por análise do seu espectro de absorção. As bases púricas e pirimídicas dos nucleótidos absorvem luz ultravioleta, tendo um pico de absorção máxima a cerca de 260 nm. Neste contexto, quanto mais elevada for a absorção de luz pela amostra de ácido nucleico, maior será a sua concentração.

Tendo como base o referido, a quantificação de ácidos nucleicos pode ser feita num espectrofotómetro expondo a amostra a luz UV a 260 nm.

Nas aulas de LM1 será utilizado o equipamento Genova Nano Spectrophotometer.

Procedimento:

- 1) Ligar o equipamento, seleccionar o modo DNA e em seguida dsDNA.
- 2) Abrir a tampa e limpar com um lenço humedecido em água esterilizada as duas “cabeças de leitura” (superior e inferior).
- 3) Pipetar 2 µl do tampão de eluição.
- 4) Carregar na tecla do branco (). Aguardar a leitura.
- 5) Repetir o procedimento de limpeza com o lenço humedecido.
- 6) Pipetar 2 µl da amostra de DNA na cabeça de leitura inferior. Fechar a tampa.
- 7) Carregar na tecla  e aguardar a leitura.
- 8) Registar os resultados.