

乙醇沉淀DNA

乙醇沉淀DNA是DNA纯化、浓缩的关键步骤,本Protocol为实验室常规操作

1. 提前检查4°C冰箱中是否有无水乙醇、75%乙醇和醋酸钠
2. 对需要浓缩或纯化的DNA测浓度、体积,并计算预期浓度
3. 根据DNA样品体积,加入1/10体积NaAc (3M, pH=5.2)平衡DNA的负电荷,拇指混匀
4. 加入2倍体积预冷的无水乙醇, **轻柔地** 颠倒混匀,此时可以看到白色絮状物,置于-20°C冰箱中至少10 min,时间充裕时通常过夜冷冻析出
! 此时需要避免对沉淀猛烈冲打,防止DNA断裂
5. 13200 rpm, 5 min离心,注意观察有无白色沉淀,吸走上清
6. 加入1 mL冰预冷的75%乙醇,将管底沉淀弹起,13200 rpm, 5 min离心,吸走上清(可以用蓝枪头加白枪头的方法,确保吸干乙醇)
7. 放入超净台中吹风5min,使乙醇完全挥发
8. 根据计算,加入灭菌的18兆欧水,充分溶解,大拇指混匀
9. 测浓度、纯度

关于使用OD₂₆₀和OD₂₈₀表征DNA浓度和纯度的说明

一般来说, OD₂₆₀代表核酸的吸光度, OD₂₈₀代表蛋白质的吸光度, OD₂₃₀来评估样品中是否存在一些污染物,如碳水化合物,多肽,苯酚等。理论上,纯RNA的OD₂₆₀/OD₂₈₀值为2,纯DNA的OD₂₆₀/OD₂₈₀的值为1.8,较纯净的核酸OD₂₆₀/OD₂₃₀比值通常大于2.0

修订日期 2023-10-08