

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
CARRERA DE AGRONOMÍA
BIOLOGÍA MOLECULAR

Cuantificación de ácidos nucleicos

Usar H₂O o TE (1X) como solvente para suspender los ácidos nucleicos, y colocar cada muestra en una cubeta de cuarzo. Blanquear el espectrofotómetro con una muestra de solvente. Para lecturas más precisas de las muestras de ácidos nucleicos de interés, diluir la muestra para dar lecturas entre 0.1 y 1.0.

Para 1 cm de camino óptico, la densidad óptica a 260 nm (OD₂₆₀) es igual a 1.0 para las siguientes soluciones:

- 50 µg/mL de dsDNA
- 33 µg/mL de ssDNA
- 20-30 µg/mL de oligonucleótidos
- 40 µg/mL de RNA

La contaminación de soluciones de ácidos nucleicos provoca una cuantificación espectrofotométrica imprecisa. Calcular el radio OD₂₆₀/OD₂₈₀ para una indicación de la pureza del ácido nucleico.

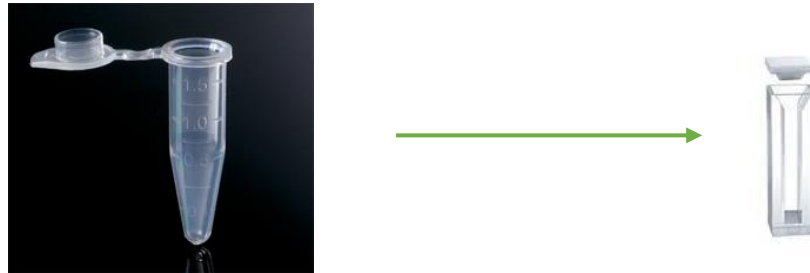
ADN puro tiene un radio OD₂₆₀/OD₂₈₀ de ~1.8.

ARN puro tiene un radio OD₂₆₀/OD₂₈₀ de ~2.0.

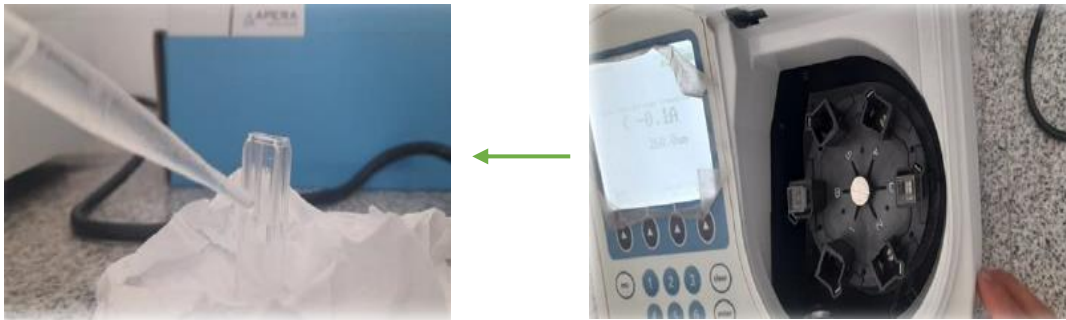
Bajos radios pueden ser causa de contaminación por proteínas o fenoles.

PRÁCTICA LABORATORIO BIOLOGÍA MOLECULAR-UTC

1. Factor de dilución: 14 Agua ultrapura: 1 ADN



2. Calibrar muestra en blanco y correr las muestras objetivo



3. Realizar los cálculos de cuantificación

Para 1 cm de camino óptico, la densidad óptica a 260 nm (OD₂₆₀) es igual a 1.0 para soluciones 50 µg/mL de dsDNA.

Muestra de dsDNA diluida 15X. La muestra diluida da una lectura de 0.45 en un espectrofotómetro a OD₂₆₀. Para determinar la concentración de ADN en la muestra original, se realiza los siguientes cálculos:

- Concentración dsDNA = 50 µg/mL × OD₂₆₀ × factor de dilución
- Concentración dsDNA = 50 µg/mL × 0.45 × 15
- Concentración dsDNA = 337.5 mg/mL

Referencias bibliográficas

Barbas III, C., Burton, D., Scott, J. and Silverman, G. Adapted from *General Procedures*, Appendix 3, in *Phage Display*, by Carlos F. Barbas III, Dennis R. Burton, Jamie K. Scott, and Gregg J. Silverman (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA.

Séptimo B. (2022) *Biología Molecular y Biotecnología. Práctica: Cuantificación de ácidos nucleicos mediante espectrofotometría*. Universidad Técnica de Cotopaxi.

Mg. Sc. Juan Morales
Fitomejoramiento_Genética_Biotecnología



Firmado electrónicamente por:

JUAN MARCELO
MORALES SEGOVIA

29/09/2022