1. 注意事项：①选择的实验材料要新鲜，处理时间不易过长

②在加入细胞裂解缓冲液前，细胞必须均匀分散，以减少DNA团块形成。

③ 提取的DNA不易溶解：不纯，含杂质较多；加溶解液太少使浓度过大。沉淀物太干燥，也将使溶解变得很困难。

④电泳检测时DNA成涂布状：操作不慎；污染核酸酶等。

⑤分光光度分析DNA的A280/A260小于1.8；不纯，含有蛋白质等杂质。在这种情况下，应加入SDS至终浓度为0.5%，并重复步骤2～8。

⑥酚/氯仿/异戊醇抽提后，其上清液太黏不易吸取：含高浓度的DNA，可加大抽提前缓冲液的量或减少所取组织的量。

2. 组成核酸的碱基(G, A, T, C）在260 nm处具有强吸收峰，所以通过测定260 nm的吸收峰即可对DNA进行定量。但有时也会因为所处溶液的pH值不同而导致吸光系数的不同，因此，一般在中性pH值左右的环境中进行测定。这种方法常用于测定比较纯的样品。

核酸样品中最常有的其它吸光物质为蛋白质，由于蛋白质在280 nm处具有强吸收峰，因此测定A260/A280比率，可以判断DNA的纯度。纯化的DNA及RNA的A260/A280 比值应分别接近1.8 及2.0，当溶液中含有蛋白质时，会造成A260/A280 比值降低。

计算原溶液的浓度（A）：

A260×转换因子×稀释因子 = 原溶液DNA浓度 (μg/ml) 每吸光单位

转换因子：双股DNA为50 μg/ml；单股DNA或RNA为40 μg/ml

计算原溶液的摩尔数（以500 bp大小的DNA片段为例）：

每个脱氧核苷酸的平均分子量近似为324.5，因此分子量=500×324.5=162250

摩尔浓度(mol/L)=A/162250×1000

1. 浓缩的限制性内切酶可在使用前以1×限制酶缓冲液稀释，切勿用水稀释以免酶变性。

2. 购买的限制性内切酶多保存于50%甘油中，于-20℃是稳定的。进行酶切消化时，将除酶以外的所有反应成分加入后即混匀，再从-20℃冰箱中取出酶，立即放置于冰上。每次取酶时都应更换一个无菌吸头，以免酶被污染。加酶的操作尽可能快，用完后立即将酶放回-20℃冰箱。

3.尽量减少反应体积，但要确保酶体积不超过反应总体积的10%，否则酶活性将受到甘油的抑制。

4.通常延长时间可使所需的酶量减少，在切割大量DNA时可用。在消化过程中可取少量反应液进行微量凝胶电泳以检测消化进程。

5.注意星号酶切活力。