DNA-/RNA-Konzentrationsbestimmung

J. Arnemann

Abteilung Molekulargenetik, Labor Dr. Wisplinghoff, Köln, Deutschland

Synonym(e) Nukleinsäure-Quantifizierung

Englischer Begriff nucleic acid quantitation

Definition Die Bestimmung der DNA- bzw. RNA-Konzentration wird fotometrisch durch Messung der Absorption im UV-Bereich bei 260 und 280 nm ermittelt und folgt dabei dem Lambert-Beer-Gesetz.

Beschreibung Die extrahierte DNA zeigt bei Darstellung als Absorptionsspektrum zwischen 230 und 320 nm ein Absorptionsmaximum bei A₂₆₀ (260 nm). Der Wert A₂₈₀ (280 nm) wird zur Bestimmung der Reinheit der DNA und RNA

gemessen und als Quotient A₂₆₀/A₂₈₀ dargestellt. Ein Quotient von 1,8–2,0 entspricht dabei einer reinen und sauber extrahierten DNA bzw. RNA, während Werte <1,8 oftmals auf Verunreinigungen, z. B. durch Proteine, hinweisen. Die Reinheit und sichere Konzentrationsbestimmung der DNA bzw. RNA ist für eine Mehrzahl der Applikationen unersetzlich.

Die DNA- bzw. RNA-Konzentration (c) wird berechnet nach der Formel

$$C [\mu\text{g/mL}] = A_{260} \times \text{Verdünnungsfaktor} \times \text{Extinktionskoeffizient.}$$

Der spezifische Extinktionskoeffizient beträgt 50 für doppelsträngige DNA, 40 für einzelsträngige RNA/DNA und 20 für Oligonukleotide.

Literatur

Hauk A (2003) Quantifizierung von DNA durch Absorptionsmessung. *Biologie in unserer Zeit* 43:278–280