

1、一个标准的分子生物学实验室应该具备哪些硬件和软件？

答：一个标准的分子生物学实验室应包含以下部分：

实验室（24-25）、仪器分析室（精密光学）、离心机室、细胞培养室、放射性核素操作室、冷室（4 -8）、暗室（自显影、³²P、蛋白）、消毒室、洗涤室、水处理室、恒温室（16，37）、动物饲养室等。

2、离心机都有哪些？划分依据？

答、普通离心机：最大转速为 6000r/min、最大离心力为 6000g

高速离心机：最大转速为 25000r/min、最大离心力为 89000g

超速离心机：最大转速为 90000r/min、最大离心力为 694000g

离心机分类依据：

高速离心机是指转速高达 20000到 25000r/min ,主要用于生物大分子的微量操作。

超速离心机以其能超过 500000g(75000r/min , r=8cm) 的离心力。

普通离心机转速在 6000r/min , 最大离心力 6000g

3、实验室常规的仪器设备？

答：温度控制系统：应该具备不同温控级别的冰箱，其中最常使用的有：4℃，

-20℃，-80℃ 冰箱；37℃ 温箱；烤箱；100℃ 水浴摇床；水的净化装置；消毒设备；计量系统：常用的电子天平等，可调式微量移液器等、PH 计、紫外可见分光光度计；其他设备：微波炉，真空加热干燥箱，电泳凝胶干燥器，凝胶成像系统等。

4、核酸纯化的试剂有哪些？都有什么作用，原理是是么？如何辨别酚是否能使用？不能使用的原因是什么？加入八羟基喹啉的作用是什么？β-巯基乙醇的作用又是什么？水饱和酚和 TE 饱和酚分别用在提取什么核酸上？酚怎么保存？

答：

核酸纯化过程中涉及到的主要试剂：酚，氯仿，异戊醇。

酚：可有效地变性蛋白质，但是不能完全抑制 RNA 酶活性，而且酚能溶解 10-15% 的水，从而能溶解一部分 poly(A)RNA。

氯仿：变性蛋白质，能加速有机相与液相分层，去除植物色素和蔗糖。

异戊醇：异戊醇可以降低表面张力，减少在去除蛋白质过程中产生的泡沫，另外，异戊醇有助于分相，使离心后的上层含 DNA 的水相、中间的变性蛋白相及下层有机溶剂相维持稳定，最后用氯仿处理，是去除核酸溶液中的微量酚。用乙醚处理，可去除微量氯仿。

酚如果无色透明可以使用，变色（结晶曾现粉红色或黄色）则不可以使用。因为：酚已经被氧化而成醌、二酸，酚氧化物可破坏核酸的磷酸二酯键，并引起 DNA 链的交联。

加入八羟基喹啉的作用：减少酚的氧化；提供颜色指示（黄色），使酚抽提时分层界面易于鉴别，同时也指示酚的储存时间与质量；抑制 RNA 酶的活力；螯合金属离子并抑制 DNA 酶作用。

β-巯基乙醇：是还原剂减少酚被氧化。

水饱和酚用在提 RNA；

TE 饱和酚用在 DNA。

蒸馏酚要装入棕色试剂瓶中，4℃ 保存一个月。

乙醇的作用：核酸盐可被一些有机溶剂沉淀，通过沉淀可浓缩核酸，加乙醇的目的

的就是沉淀核酸。

5、沉淀核酸加什么阳离子？提取那一种核酸加什么离子？作用原理是什么？

答：核酸是多聚阴阳离子的水溶性化合物，它与钠、钾、镁、形成的盐在许多种有机溶剂中不溶解，但也不会被有机溶剂变性，形成两相。

氯化钠用于沉淀提取液里含有 SDS 的 DNA 样；

醋酸铵：反转录酶、DNA 聚合酶、Tag 酶、以及末端转移酶和磷酸化酶等催化的生化反应，为去除未掺入的 dNTP 和 NTP，普遍使用铵离子沉淀核酸，但是铵盐是 T4 噬菌体多核苷酸激酶的抑制剂！在 DNA 需要进行磷酸化和末端补平反应时，不能采用铵盐沉淀；

氯化锂：在 0.8mol/L LiCl 的强离子浓度条件下，可溶解 tRNA 与 5S RNA，而大分子量的 mRNA、rRNA 则不溶解，可通过离心进行分离，常用于 mRNA 提取。

氯化镁： Mg^{2+} 是核酸沉淀中的有效离子，当核酸浓度低于 0.1ug/ml 或长度小于 100 个核苷酸时，加入 10mM/L Mg^{2+} 可明显提高核酸沉淀的回收率。

醋酸钾：沉淀效果和醋酸钠相同，但是核酸的钾盐形式很难溶于含有 SDS 的溶液，所以，如果在提取核酸的缓冲液中有 SDS 时，不易采用。

6、沉淀核酸常见的温度，时间，离心转速和时间通常在什么范围之内？

答：一般条件下的 DNA 沉淀，使用 0℃ 冰水，10~15 分钟可达到实验的要求。

大多数的 DNA 沉淀可在 0~4℃，12000g 离心 10 分钟即可，对于浓度低于 20ng/ml 的 DNA 沉淀，上述离心条件也可以完成。如 DNA 片段小于 100 个核苷酸时，则需要超速离心；27000r/min，1-2 小时，4℃ 条件下进行。如果对于 pg 水平的核苷酸，则应该加入 tRNA 作为载体进行共沉淀。

7、为什么要用乙醇沉淀核酸？

答：沉淀 DNA 时，乙醇是首选的有机溶剂，它对盐类沉淀少，DNA 沉淀中所含的微量乙醇易蒸发去除。在适当的盐离子浓度下，2 倍体积的 95%乙醇可有效沉淀 DNA，对于 RNA，则需要将乙醇的量增加 2.5 倍

8、核酸的定量，定量的原理是什么？纯度，完整性有哪些手段评价？核酸如何保存？

答：组成核酸分子的碱基，均具有一定的吸收紫外线特性，最大吸收值在波长 250~270nm 之间，利用这一特性可以用紫外分光光度法定量测定核酸。在波长 260nm 紫外线下，1 OD 值的光密度相当于双链 DNA 浓度为 50ug/ml；单链 DNA 或 RNA 为 40ug/ml；单链寡核苷酸为 20ug/ml。可以此来计算核酸样品的浓度。

分光光度法即可测定核酸的浓度，也可确定核酸的质量。A260/280 的比值：DNA 为 1.8，如果比值高于 1.8，说明 DNA 制剂中有 RNA 存在；如果比值低于 1.8，说明污染有蛋白质或提取过程中残留的酚等，RNA 样品 OD 260/280 的比值小于 2

完整性可以用琼脂糖凝胶电泳检测，在有标准 Marker 存在下，通过电泳跑出的条带多少、大小可以比对提取的核酸是否完整。

DNA：最好是溶于 TE 中于 4℃ 保存，其中 EDTA 是通过整合金属 2 价离子，来抑制 DNA 酶的活性。TE 的 pH 为 8，是为了减少 DNA 的脱氨反应，放在 -70℃ 能保存 5 年以上。

RNA：溶于 0.3mol/L 醋酸钠 (pH5.2)或双蒸消毒水中，储放于 -70℃。长期保存可以以沉淀的形式储存于乙醇中，在 -20℃ 的情况下，非常安全。

9、何为限制性内切酶？分类？各个类型的特点？常用的主要二是型限制性内切酶有哪些特点？

答：核酸限制性内切酶：是一类能识别双链 DNA 中特定碱基顺序的核酸水解酶。这些酶都是从原核生物中发现的。

分为 I、II、III

I 型酶：属于复合功能酶，兼有修饰和切割 DNA 两种特性，需要 Mg^{2+} 、ATP 和 S-腺苷酰甲硫氨酸作为辅助因子，在 DNA 降解时伴随有 ATP 的水解。即它具有核酸内切酶、甲基化酶、ATP 酶、和 DNA 解旋酶四种活性。若酶的识别位点上两条 DNA 链均未甲基化，就能行使内切酶功能，切割 DNA；如果一条 DNA 链上被甲基化，这个酶就发挥修饰功能，使另一条 DNA 链甲基化。显著特点：在 DNA 链上的识别位点和切割位点不一致！

III 型酶：与 I 型限制性内切酶的特性类似，也有甲基化功能，但是无 ATP 和 DNA 解旋酶活力。不同的是它能在 DNA 链上的特异位点切割，其切割位点在识别位点以外。所以，应用价值不大。

II 型酶：通常指的是 DNA 限制性内切酶，

II 型酶分别由限制酶和修饰酶两种不同的酶组成。

II 型限制酶分子量小，需要 Mg^{2+} 作为催化反应辅助因子，它们能识别双链 DNA 的特异序列，并在这个顺序内进行切割，产生特异的 DNA 片段。

识别序列一般为 4~6 个碱基对，识别的顺序为反转重复序列，且富含 GC。

II 型 DNA 限制性内切酶的靶序列大小决定了它切割 DNA 后产生 DNA 片段的长短。若 DNA 链上的碱基随机分布，在一条很长的 DNA 链上，对于识别 4 个核苷酸的内切酶，平均 44 个核苷酸长度就出现一个靶序列；

II 型 DNA 限制性内切酶切割双链 DNA 后产生三种不同的切口：1) 在识别顺序的对称轴上，对双链同时切割形成平末端；2) 在识别顺序的双侧末端切割 DNA 双链，于对称轴的 5' 末端切割产生 5' 端突出的粘性末端 (EcoR I)；3) 反之，产生 3' 端突出的粘性末端 (如 Pst I)。

II 型 DNA 限制性内切酶不具有甲基化修饰活性，这一功能由相应的修饰酶承担。它们识别同一 DNA 特定序列，发挥不同的作用。

一些特殊性质的少数 II 限制性内切酶：

1、异源同工酶，也称同裂酶：是不同来源分离出来的不同酶，但是具有相同的识别序列，切割 DNA 的方式可以相同，也可不同。

2、Subset 酶：识别与切割顺序相互有关的酶，如：Sma I 的 6 个核苷酸序列中包含有 Hpa II 的四个核苷酸序列

3、远距离裂解酶：这类酶的识别位点与切割位点不一致，它们在某一核苷酸区域与识别序列相结合，然后滑行到识别序列以外的另一个位点进行切割，这一特性与 I 型酶类相似，但是，它的切割位点与识别位点是一定的，而且没有 I 型酶那么远，一般为 10 个碱基左右。

4、可变酶：这类酶是 II 型酶中的一个特例，它们的识别序列中的 1 个或几个核苷酸是可变的，并且其识别序列一般大于 6 个碱基。

II 酶通常指的是 DNA 限制性内切酶，II 型酶分别由限制酶和修饰酶两种不同的酶组成。II 型限制酶分子量小，需要 Mg^{2+} 作为催化反应辅助因子，它们能识别双链 DNA 的特异序列，并在这个顺序内进行切割，产生特异的 DNA 片段。

II 型限制酶的识别序列一般为 4~6 个碱基对，识别的顺序为反转重复序列，即具

有 180° 的旋转对称性，且富含 GC。

10、二型限制性内切酶酶切之后会产生什么样的末端？并图示出来？ 3' 突起， 5' 突起，平端？

答： II 型 DNA 限制性内切酶切割双链 DNA 后产生三种不同的切口： 1) 在识别顺序的对称轴上，对双链同时切割形成平末端； 2) 在识别顺序的双侧末端切割 DNA 双链，于对称轴的 5' 末端切割产生 5' 端突出的粘性末端 (EcoR I)； 3) 反之，产生 3' 端突出的粘性末端 (如 Pst I)。

平端 Alu I: **AGT GCG TAG CTC GCG TAG T**
 TCACG CATC GAG CGC ATCA

5' 端突起的黏性末端

EcoR I: 5' **-AGTGC G** **AATTC GCGTAG- 3'**
 3' **-TCACG CTTAA** **GCGCATC- 5'**

3' 端突出的粘性末端 Pst I 酶切：

5' **-TAAGTG CTGCA** **GGCGT-3'**
3' **-ATTCAC G** **ACGTC CGCA-5'**

11、限制性酶切缓冲体系化学成分，其作用？加牛血清白蛋白的作用？反应温度通常是多少？酶切时间与酶量有什么关系？怎样计算？酶多加或者少加有什么关系？为什么要定在 50 微升？ 200 微升行不行？加 EDTA 为什么能终止反应？部分酶切？

答：反应缓冲液的成分主要是： Tris.Cl、 NaCl 和 Mg²⁺，内切酶都需要 Mg²⁺ 作为辅助因子， Buffer 的 pH 一般为 7.2-7.6 之间。

有的限制性内切酶的反应需要 BSA，加小牛血清的作用是稳定酶的构象

绝大多数限制性内切酶的反应温度为 37℃。

酶解时间可通过加大酶量而缩短。酶量少，可通过延长酶解时间以达到完全酶解 DNA 的目的。同时与加入的 DNA 量也有关。

酶的量根据酶催化活性和 DNA 的量来计算：酶的活性单位是 1 小时内 50ul 容积中，酶解 1ug DNA 所需要的酶量，那么先测定所要酶切的 DNA 样的量 X 微克，那么酶溶液的量： X 乘以酶活性单位就等于所加酶体积。加入的酶量或容积不能超过反应总体积的 10%。

可以通过加入 EDTA 来终止酶切，因为 EDTA 为镁离子的螯合剂，从而使酶失去活性终止酶切。

部分酶切就是利用上一原理，通过在一定时间内加入 EDTA 来中断酶切实现。部分酶切即原本 DNA 链上有 2 个酶切位点，但是我们想只在一个位点酶切，而另外一个位点不发生酶切，可以调整加入 EDTA 的时间实现部分酶切。

12、影响电泳的四大因素？不同构型的 DNA 在电泳时的迁移速率关系？琼脂糖凝胶电泳中 EB 染色原理？借助什么工具检测？

答：分子大小、电荷多少、颗粒形状、空间构型。

质粒 DNA 存在闭环 (I 型, CC)，单链开环 (II 型, OC)，线型 (III 型, L)。三者之间的迁移率，一般为 I 型 > III 型 > II 型。

溴化乙锭 (ethidium bromide, EB) 是一种荧光染料，扁平分子，可以嵌入核酸双链的配对碱基之间，在紫外线激发下，发出红色荧光。激发荧光的能量来至两个方面，一是核酸吸收波长为 260nm 的紫外线后将能量传送给溴乙锭，二是结合

在 DNA 分子中的 EB 本身，主要吸收波长为 300nm 和 360nm 的紫外线的能量，两方面的能量，最终激发 EB 发射出波长为 590nm 的可见光谱红橙区的红色荧光。染色一般是在凝胶或电泳缓冲液中加入终浓度为 0.5 ug/ml 的 EB；染色 10 min；EB 见光易分解，所以保存在棕色试剂瓶中 4℃ 储存。（备注：视题的分值答题，小题只需简略，答题详尽）

借助于凝胶成像系统来检测电泳情况，在紫外光（波长为 300nm）下照射激发荧光，并且拍照。

13、质粒 DNA 提取后会出现几种情况？3 种带个代表什么，分别在什么位置？

答：在提取质粒后，视操作人员的技术熟练程度可分为 3 中情况：质粒 DNA 存在闭环（I 型，CC），单链开环（II 型，OC），线型（III 型，L）。

在电泳时三者之间的迁移率，一般为 I 型>III 型>II 型。所以在琼脂糖电泳后在凝胶（自点样孔往下依次排列为）单链开环的质粒 ---- 线性质粒 ----- 闭合环状质粒。

14、电泳缓冲液 PH 范围，此时核酸带什么电荷，电泳是往那一电极移动？点样点在那一电极，电极怎么接？

答：琼脂糖凝胶电泳的 PH 范围在 8.0-8.3，此时由于外界 PH 值大于核酸分子的 PI 值，核酸带负电荷，在电泳时往正极移动。

样品点在靠电源负极，外接电源，黑色线接负极，红色线接正极。

15、两种指示染料的名字，分子量各是多少？优缺点？

答：溴酚蓝 (bromophenol blue, Bb): 分子量为 670 道尔顿，呈蓝紫色，在不同浓度的凝胶中，迁移速度基本相同，它的分子筛效应小，近似于自由电泳，故被普遍用作指示剂，在 0.6%, 1%, 2% 的琼脂糖凝胶电泳中，其迁移率分别与 1KB, 0.6KB 和 0.15KB 的双链线性 DNA 片段大致相同。

二甲苯青蓝 (xylene cyanol, Xc): 分子量为 554.6 道尔顿，呈蓝色，携带电荷比溴酚蓝少，在凝胶中迁移率比溴酚蓝慢，在 5% 的 PAGE 和含 7-8mOL/L 尿素 PAGE 胶中迁移率分别相当于 260mer 和 130mer 的寡核苷酸。

16、聚丙烯酰胺凝胶电泳的原理，分辨范围是多大？琼脂糖胶的分辨率？跟琼脂糖凝胶电泳的差别？

答：与 SDS 结合的蛋白质的构型发生变化，在水溶液中 SDS-蛋白质复合物都具有相似的形状，使得 SDS-PAGE 电泳的泳动率不再受蛋白质原有电荷与形状的影响。因此，各种 SDS-蛋白质复合物在电泳中不同的泳动率只反映了蛋白质分子量的不同。这就是 SDS-PAGE 的原理。

聚丙烯酰胺凝胶电泳适合于低分子量蛋白质（低于 100 道尔顿）、寡聚核苷酸的分离和 DNA 的序列分析。聚丙烯酰胺凝胶的孔径小，可分离小片段 DNA（5-500bp），效果最好，聚丙烯酰胺凝胶电泳具备分离相差一个核苷酸的不同 DNA 片段的特性。

琼脂糖凝胶的孔径大，可以分离长度为 100bp 至 60kb 的 DNA 分子。

区别：DNA 电泳一般使用的都是琼脂糖凝胶电泳，电泳的驱动力靠 DNA 骨架本身的负电荷。

聚丙烯酰胺（PAGE）凝胶电泳用于蛋白质与寡糖核苷酸的分离。电泳的驱动力靠与蛋白质结合的 SDS 上所携带的负电荷。蛋白质电泳（一般指 SDS-PAGE）

根据蛋白分子量亚基的不同而分离蛋白。蛋白质亚基的电泳迁移率主要取决于亚基分子量的大小，电荷因素可以忽视。

相同点：样品都是带负电荷的，从负极向正极移动，移动的距离都和样品的分子量有关。而且这两个电泳体系可以互相交换使用。进行大分子蛋白质电泳时，可以考虑换用琼脂糖凝胶，因为该体系孔径大。相反，如果需要精确到各位数碱基的 DNA 电泳也可以使用聚丙烯酰胺凝胶系统，因为使用该系统可以将相差一个碱基的两条 DNA 链分开。

不同点：样品不同；结果的观察方法不同：DNA 电泳普遍使用 EB 做染料，在紫外灯下观察；而蛋白电泳使用的考马斯亮蓝染色，还需要经过脱色步骤，不过观察起来比较简单；胶体系的差别：DNA 电泳通常是一胶跑到底，而蛋白质电泳则会有分离胶和浓缩胶之区别。

17、聚丙烯酰胺凝胶电泳的流程？

答：配置各种试剂（胶的母液包含分离胶和浓缩胶、电泳缓冲液、现配的过硫酸铵等）---制胶-----灌胶先注入分离胶后----浓缩胶----组装电泳装置----加电泳缓冲液-----点样----接通电源跑电泳----染色---脱色---检测----数据处理

18、分离核酸的原则？纯化的核酸应达到什么要求？

答：保证核酸一级结构完整

排除其它分子的污染

核酸样品中不应存在对酶有抑制作用的有机溶剂和过高浓度的金属离子。

其它生物大分子如蛋白质、多糖和脂类分子的污染应降低到最低程度。

排除其它核酸分子的污染，如提取 DNA 时，应去除 RNA 分子。

19、提取核酸时的注意事项？

答：简化操作步骤，缩短提取过程，以减少各种有害因素对核酸分子的破坏。

减少化学因素对核酸的降解，避免过酸或过碱，pH 多在 4-10。

减少物理因素对核酸的降解，物理因素主要有机械剪切力，高温等。

防止核酸的生物降解，如细胞内外来的各种核酸酶。（其中： Mg^{2+} ， Ca^{2+} 使用 EDTA）。

20、提取 RNA 的注意事项？什么是外源 RNase，什么是内源 RNase？

答：提取 RNA 时，要创造一个无 RNase 的环境！一是避免外源 RNase 的污染，二是尽力抑制内源 RNase 的活力！

外源 RNase 是指来源于手、实验器皿、试剂等；内源 RNase 指来源于样品中的组织细胞。

21、去除外源性 RNase 的污染？

答：1) 操作者的手、口、、手套、口罩。

2) 空气中飞尘携带的微生物。

3) 玻璃器皿等、应用 0.1%DEPC 处理水浸泡处理。

4) 塑料制品采用一次性用品。

5) 所有试剂的配制，要用 0.1%DEPC 处理水。

6) RNA 提取用的酚、乙醇等应该专用。

7) 实验中使用的甲酰胺，要去离子。

8) 所用的化学试剂要新开瓶。

22、DEPC 是什么？有何作用？怎样保存此溶液？抑制 RNA 酶活性的两个常用试剂？

答： DEPC 即焦碳酸二乙酯

DEPC 能是蛋白质乙基化而破坏 RNase 的活性。

DEPC 在 Tris 中，易分解成为 CO₂ 和乙醇，在 0.1 mol/L Tris.Cl, pH7.5 溶液中极不稳定，半衰期仅为 1.25 分钟。保存在 4℃。

盐酸胍、异硫氰酸胍是一类强力的蛋白质变性剂，可溶解蛋白质，并使蛋白质二级结构消失，细胞结构降解，核蛋白迅速与核酸分离，所以，又称解偶剂，和十二烷基肌氨酸钠是目前抑制 RNA 酶活性的两种常规试剂。

23、质粒 DNA 提取的主要步骤？

答：

1) 细菌的培养：分离单菌落，接种适当的抗生素培养基中培养，细菌生长，质粒自主复制。

2) 细菌的收集与裂解：细菌的裂解方法很多，如去污剂法、沸水热裂法、碱变性法、有机溶剂法和酶法等。

3) 质粒 DNA 的纯化：质粒 DNA 的提取方法有煮沸法、碱法、SDS 法等，现在大多数采用试剂盒。

4) 质粒的检测：琼脂糖凝胶电泳或分光光度计检测质粒的提取纯度和量。

24、什么是探针？核酸探针那几类？什么叫人工合成探针，特点是？设计注意原则？

答： 探针 (probe)，是指能与特定的靶分子发生特异性相互作用的分子，并可以被特殊的方法所探知。

分为：基因组 DNA 探针、RNA 探针、cDNA 探针、人工合成的寡核苷酸探针四类。

人为的有目的的设计短的（人工合成的寡核苷酸探针一般只有 15~30bp），并且标记的核酸序列就称之为人工合成探针，特点：即使一个碱基不配对，也会显著影响其溶解温度（T_m）值，因此，它特别适合于基因点突变分析；由于序列的复杂性降低，杂交所用的时间也短。短核苷酸探针所带的标记物也少，特别是非放射性标记时，其灵敏度较低。

设计寡核苷酸探针一般应遵循以下几个原则：

探针长度：0~50bp；

G：C 对含量：40-60%；

不可有探针内部互补序列，不应有碱基的反向互补配对，否则会形成探针内部的发夹结构；

避免有同一碱基的连续出现；利用计算机软件分析。

进行同源性比较，如果此寡核苷酸序列与非靶基因序列有 70%以上的同源性，或连续 8 个以上的碱基序列相同，则最好不用。

标记物主要有同位素和地高辛等

25. 蓝白斑筛选原理

答：用于蓝白斑筛选的载体如 pUC 系列，M13 系列，pGEM

糖苷酶基因即 LacZ 基因的调控序列和氨基端（N 端）146 个氨基酸编码序列

LacZ，在 IPTG 的诱导下编码肽，另外在载体 LacZ 基因上的还组装了一个多克隆位点，但不影响 LacZ 基因的功能。宿主细胞：为 lacZ⁻ M15 基因型的细胞，含有 - 半乳糖苷酶羧基端（C 端）部分序列，可以编码 片断。

片断各自都没有酶活性，但两者结合后，就表现出 - 半乳糖苷酶活性（- 互补作用），即在加入 X-gal 和 IPTG 的培养基中，- 半乳糖苷酶把 X-gal

分解成深蓝色的 5-溴-4-靛蓝，该菌落或噬菌斑呈现蓝色。

当 MCS插入一个外源 DNA片段时，由于破坏了 肽的阅读框，会造成 LacZ 基
-互补作用，就不能产生具有活性的酶。就不能分解 X-gal，
生成蓝色产物，所以在加入 X-gal 和 IPTG的培养基中，有重组质粒的为白色的
菌落或噬菌斑。

26. 如何对核酸进行定性，定量的分析

答：

1、核酸的定量：分光光度法即可测定核酸的浓度。在波长 260nm紫外线下，1 OD
值的光密度相当于双链 DNA浓度为 50ug/ml；单链 DNA或 RNA为 40ug/ml；单链
寡核苷酸为 20ug/ml。可以此来计算核酸样品的浓度。

2、核酸纯度：A260/280 的值 DNA为 1.8，比 1.8 高说明有 RNA存在，比 1.8 低，
说明有蛋白质或酚类污染，对于 RNA为 1.95 以上。

3、完整性：DNA: 用琼脂糖凝胶电泳检测条带大小； RNA: 用甲醛变性的琼脂糖
凝胶电泳检测条带大小，以检测完整性。