

MỐI QUAN HỆ GIỮA OD₂₆₀ VÀ LƯỢNG OLIGO

Lượng oligo thường được xác định bằng cách đo mật độ quang ở bước sóng 260nm (OD₂₆₀)

I. Cách xác định OD của một dung dịch oligo

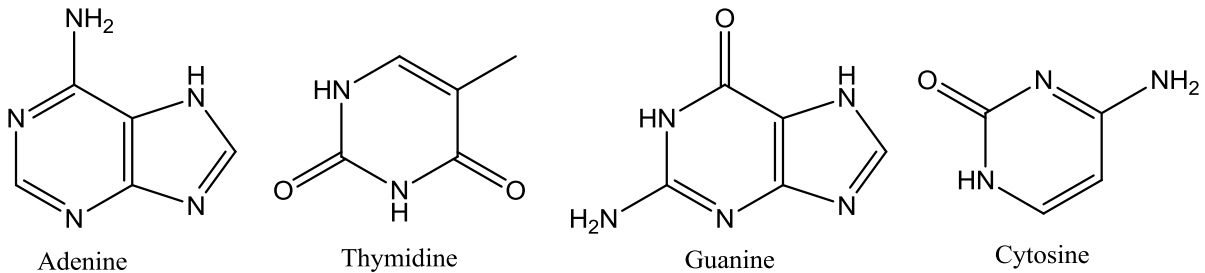
OD₂₆₀ được xác định bằng cách sử dụng phương trình Beer-Lambert:

$OD = A = \epsilon * C * l$, trong đó:

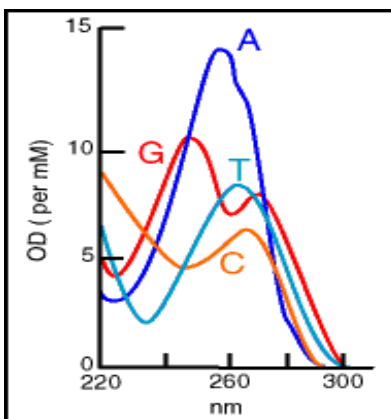
- ϵ : hệ số hấp thụ phân tử ở 260nm (UV)
- C: nồng độ dung dịch (mol/L)
- l: quãng đường ánh sáng đi qua (cm).

Phương pháp này dựa vào sự hấp thụ ánh sáng UV(260nm) của các bazơ của oligo:

- Bazơ Purine: Adenine (A) và Guanine (G)
- Bazơ Pyrimidine: Cytosine (C) và Thymine (T)



Hệ số hấp thụ của mỗi bazơ là khác nhau, vì vậy với nồng độ như nhau, chỉ số OD₂₆₀ của mỗi base sẽ khác nhau. Sau đây là thứ tự của hệ số hấp thụ phân tử: $\epsilon_A > \epsilon_T > \epsilon_G > \epsilon_C$.



Hình 1: OD₂₆₀ của A, T, G, C ở cùng nồng độ

II. Định nghĩa giá trị OD trong việc xác định lượng oligo:

OD₂₆₀ của một dung dịch oligo luôn luôn được tính dựa trên 1ml dung dịch oligo đó. Giá trị OD₂₆₀ của một dung dịch oligo phụ thuộc vào số lượng oligonucleotides (bazo) chứa trong dung dịch và bản chất của các bazo trong oligo, nếu số lượng oligo càng nhiều và số lượng bazo A trong oligo đó cũng vậy thì oligo có OD₂₆₀ cao.

1. Bảng sau cho thấy mối quan hệ giữa chiều dài của oligo và lượng oligo: Với cùng một chỉ số OD, một oligo dài hơn sẽ có lượng thấp hơn so với oligo ngắn hơn.

Tên oligo	Trình tự (5' – 3')	Chiều dài (bases)	Giá trị OD	Lượng (nmol)	Phản ứng PCR (10pmol/phản ứng)
Trình tự - 1	ACGTACGTACGTACGT	16	1	5.9	590
Trình tự - 2	ACGTACGTACGTACGTACGT	20	1	4.7	470
Trình tự - 3	ACGTACGTACGTACGTACGTACGT	24	1	3.9	390

2. Bảng phía dưới cho thấy mối quan hệ giữa bản chất các bazo và lượng oligo: Với cùng một chỉ số OD, một chuỗi trình tự A sẽ có lượng thấp hơn so với chuỗi trình tự C, G, T

Tên oligo	Trình tự (5' – 3')	Chiều dài (bases)	Giá trị OD	Lượng (nmol)	Phản ứng PCR (10pmol/phản ứng)
Trình tự - A	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	20	1	3.2	320
Trình tự - G	GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG	20	1	4.2	420
Trình tự - T	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT	20	1	6.0	600
Trình tự - C	CCCCCCCCCCCCCCCCCCC	20	1	7.1	710