

Stanovení koncentrace a čistoty DNA

Je-li koncentrace DNA ve vzorku dostatečná, lze ji změřit **přímou fotometrií** v UV oblasti. Díky velkému množství purinových zbytků má čistá DNA absorpční maximum při **260 nm**, přičemž přibližně platí, že absorbanci 1 má roztok DNA o koncentraci $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Při 260 nm však absorbují i **bílkoviny**, jejichž spektrum má díky tyrosinovým skupinám široký vrchol s maximem při 280 nm. V praxi se často odhaduje čistota DNA podle **poměru absorbancí** při 260 a 280 nm. Čistá DNA má A_{260}/A_{280} přibližně 1,8 (čím je poměr vyšší, tím je DNA čistší).

Při práci se zředěnými roztoky DNA není přímá fotometrie dostatečně citlivá. V tom případě se ke stanovení její koncentrace používají nejčastěji **interkalační fluorescenční barviva**. Jsou to látky, které obsahují několik kondenzovaných aromatických jader, takže mají planární strukturu. Díky ní se mohou „vklínit“, **interkalovat mezi vlákna** dvoušroubovic DNA, přičemž **zvyšují** svou **fluorescenci**. Prototypem interkalačních barviv je ethidiumbromid (3,5-diamino-6-ethyl-2-fenylfenanthridiumbromid).