

## Quang phổ kế đo thể tích micro Colibri: Phép đo DNA sợi đơn với thể tích thấp

*Colibri Microvolume Spectrometer: Low volume measurement of ssDNA*

### Giới thiệu

#### Introduction

Phép đo axit nucleic với thể tích micro là một thao tác thường nhật được tiến hành trong rất nhiều phòng thí nghiệm về khoa học sự sống. Các bazơ nitơ trong phân tử nucleotit hấp thụ ánh sáng ở 260 nm vậy nên bước sóng này được sử dụng để xác định nồng độ DNA. Những ứng dụng phổ biến thường là định lượng mẫu chuẩn trước khi giải trình tự và PCR hoặc xác định độ tinh sạch của mẫu.

Độ hấp thụ quang riêng của axit nucleic được thiết lập:

Dựa trên giá trị độ hấp thụ quang riêng trung bình ở 1 OD cho  $0.020 (\mu\text{g/ml})^{-1} \text{cm}^{-1}$  DNA sợi đôi,  $0.027 (\mu\text{g/ml})^{-1} \text{cm}^{-1}$  DNA sợi đơn và  $0.025 (\mu\text{g/ml})^{-1} \text{cm}^{-1}$  RNA mà phép đo axit nucleic được tiến hành mà không cần dựng đường chuẩn.

*Measurements of DNA in microvolumes have become a routine operation in many life science laboratories. As the nitrogenous bases in nucleotides absorb light at 260 nm, this wavelength can be used to determine the DNA concentration. Typical applications are quantification of template prior to sequencing and PCR or measurement of sample purity.*

*Extinction coefficients of nucleic acids are well established:*

*Based on the average extinction at 1 OD of  $0.020 (\mu\text{g/ml})^{-1} \text{cm}^{-1}$  for double-stranded DNA,  $0.027 (\mu\text{g/ml})^{-1} \text{cm}^{-1}$  for single stranded DNA and  $0.025 (\mu\text{g/ml})^{-1} \text{cm}^{-1}$  for RNA, nucleic acid measurements can be done without using a standard curve.*

Berthold Detection Systems GmbH  
Bleichstrasse 56–68  
D-75173 Pforzheim/Germany

Phone: +49(0)7231/9206-0  
Fax: +49(0)7231/9206-50  
E-Mail: [contact@titertek-berthold.com](mailto:contact@titertek-berthold.com)  
Internet: [www.titertek-berthold.com](http://www.titertek-berthold.com)

## Vật liệu

### Materials

- Máy quang phổ kế đo thể tích micro Colibri sản xuất bởi Titertek-Berthold
- Oligo nucleotit (26 bazơ, X11 Clal dành cho đoạn oligo nucleotit có trình tự 5'-cgatcgatatgaaaaggacttttg cttacacgg-3', mua từ <https://www.biomers.net/>)
- Nước cất hai lần, pipette và đầu tips, ống ly tâm

## Phương pháp

### Methods

Máy Colibri tự động tính toán nồng độ mẫu. Mỗi loại axit nucleic có sẵn chu trình thao tác riêng.

*Sample concentration will be automatically calculated by Colibri. Different protocols are available for each nucleic acid type.*

Axit nucleic (Nucleic Acids)	Độ hấp thụ quang riêng (Extinction coefficient) [ $\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$ ]	Chu trình Colibri (Colibri protocol)
DNA sợi đôi (Double stranded DNA)	50	dsDNA-50
DNA sợi đơn (Single stranded DNA)	33	ssDNA-33
RNA	40	RNA-40

Các thao tác tiến hành phép đo DNA Oligo nucleotit sợi đơn như sau.

*Here we report the measurement of ssDNA Oligonucleotide.*

Đầu tiên, nồng độ của mẫu gốc oligo nucleotit được xác định. Cứ mỗi 2  $\mu\text{l}$  mẫu được đo lặp lại bốn lần. Sau đó, dung dịch gốc được pha loãng theo tỉ lệ 1:5 bằng nước cất hai lần. Pha loãng dần ở tỉ lệ 1:2 với nước cất hai lần đã được chuẩn bị từ trước. Mỗi phép đo được tiến hành với ba lần lặp, thể tích mỗi lần là 2  $\mu\text{l}$ . Trước khi đo, mẫu trống được xác định bằng nước cất hai lần.

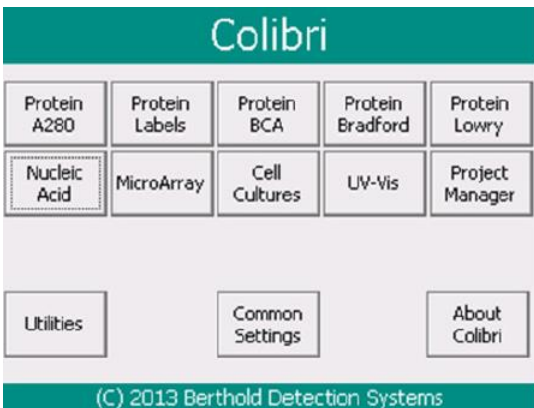
*In a first step the concentration of the oligonucleotide stock solution was determined. 2  $\mu\text{l}$  were measured in quadruplicates. Afterwards the stock solution was diluted 1:5 with  $\text{ddH}_2\text{O}$ . A 1:2 dilution series in  $\text{ddH}_2\text{O}$  was prepared. Measurements were taken in triplicates, measurement volume was 2  $\mu\text{l}$  each. Prior to each measurement series the blank was determined by using  $\text{ddH}_2\text{O}$ .*

Cài đặt phần mềm:

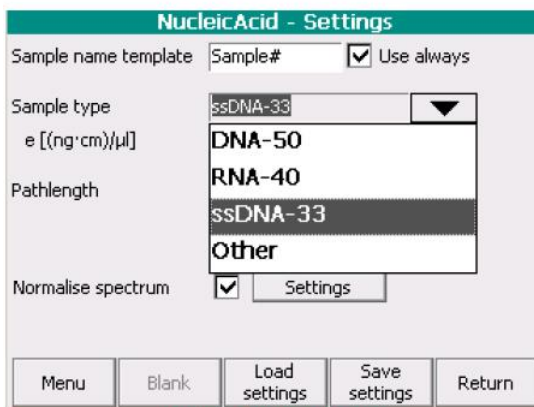
- Chu trình: Axít nucleic, ssDNA-33
- Độ dài quang trình: Thường (1 mm)

Software settings:

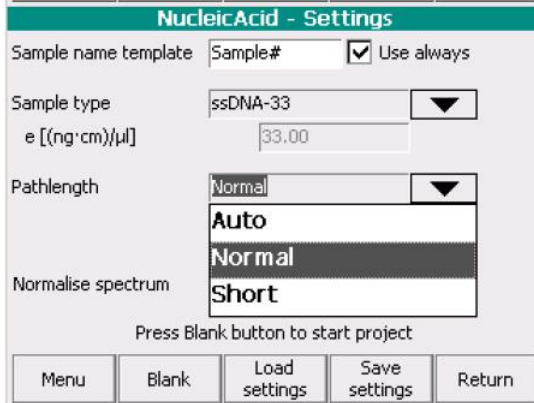
- Protocol: Nucleic Acid, ssDNA-33
- Pathlength: Normal (1mm)



a) Màn hình chính – chọn chu trình Nucleic Acid  
a) Main screen – select Nucleic Acid protocol



b) Chọn chu trình ssDNA-33 cho loại mẫu DNA sợi đơn  
b) Select ssDNA-33 for single stranded DNA



c) Chọn chế độ “Thường” cho độ dài quang trình  
c) Select Normal pathlength

Hình 1. Màn hình Colibri hiển thị các thông số thiết lập chu trình phép đo DNA sợi đơn  
Figure 1. Colibri screens showing setup of a ssDNA measurement protocol

## Kết quả

### Results

## Nồng độ

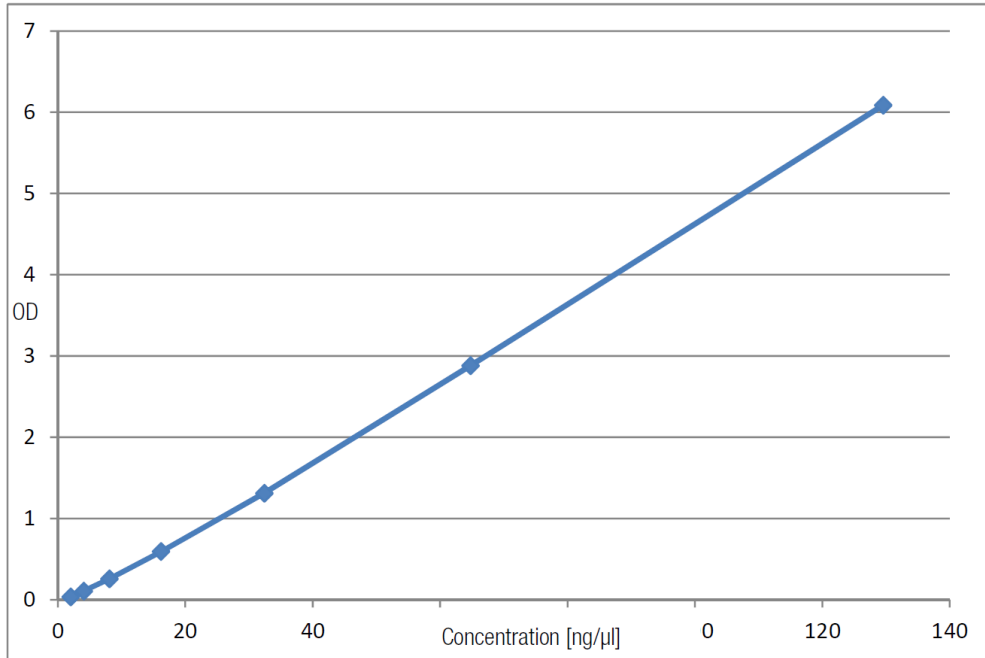
### Concentration

Nồng độ mẫu oligonucleotit gốc đo được là 647.75 ng/ $\mu$ l. *Concentration of the oligonucleotide stock solution was calculated 647.75 ng/ $\mu$ l.*

## Pha loãng dần

### Dilution series

Hệ số pha loãng (dung dịch gốc) [Dilution (stock solution)]	Giá trị đo ở 260 nm (Measurement values 260 nm) [OD]			Giá trị trung bình (Mean)	Độ lệch chuẩn (Standard Deviation)	Hệ số biến thiên (CV) [%]
1:5	6,094	6,087	6,078	6,086	0,0065	0.11 %
1:10	2,877	2,882	2,888	2,882	0,0045	0.16 %
1:20	1,307	1,309	1,318	1,311	0,0048	0.36 %
1:40	0,591	0,589	0,595	0,592	0,0025	0.42 %
1:80	0,254	0,258	0,259	0,257	0,0022	0.84 %
1:160	0,101	0,105	0,112	0,106	0,0045	4.29 %
1:320	0,033	0,036	0,036	0,035	0,0014	4.04 %



**Hình 2.** Chuỗi DNA oligonucleotit sợi đơn pha loãng dần đo ở 260 nm bằng Colibri  
*Figure 2. Dilution series of ssDNA oligonucleotide measured at 260 nm with Colibri*

## Kết luận

### Conclusion

Máy quang phổ kế đo thể tích micro Colibri thể hiện tính tuyến tính và độ nhạy tuyệt vời tới 1 ng/μl DNA sợi đơn. Chu trình được thiết kế sẵn và chức năng tính toán tự động nồng độ mẫu khiến phép đo trở nên thật nhanh chóng và thuận tiện.

*The Colibri microvolume spectrometer shows excellent linearity and sensitivity down to 1 ng/μl ssDNA. Predefined protocols and automatic calculation of sample concentration makes measurement fast and convenient.*

## Lời cảm tạ

### Acknowledgement

Sarah Becker, KIT Karlsruhe, Germany, Department of Developmental Biology hỗ trợ cung cấp mẫu và nơi tiến hành thí nghiệm

*Samples and labspace provided by Sarah Becker, KIT Karlsruhe, Germany, Department of Developmental Biology*