

Nanodrop OneC 常见问题解答

1. 如何判定基座有无污染?

把水当做样品检测，吸光值应 $\leq 0.04A$ ，若偏高，说明基座有污染。

2. 如何清洁基座上干燥的样品?

用无尘纸蘸取 0.5%次氯酸钠、乙醇或者稀酸溶液擦拭基座上下表面。再用 ddH₂O 擦拭基座几次。

3. 检测结果出现负值?

可能原因：检测基座不干净。

解决方法：先清洁基座，再用去离子水反复做空白调整。

4. 哪些因素影响实验的重复性?

- √ 样品均一性----样品轻微混匀
- √ 上样量----1.5-2uL
- √ 样品基座污染----每次检测前清洗
- √ 重复检测同一液滴----每次滴加新的样品
- √ 检测浓度过低----2-15000ng/uL dsDNA
- √ 基座损伤----基座修复

注意：数据偏差的正常范围，dsDNA： $\leq 100 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 时， $\pm 2 \text{ ng}/\mu\text{L}$ ； $> 100 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 时， $\pm 2\%$

5. 如何判定核酸纯度?

A260/A280----DNA ≈ 1.8 ，RNA ≈ 2.0

值偏低→ 蛋白质/多肽/酚类物质在 280nm 有强吸收

值偏高→ DNA 样品有 RNA 污染，RNA 样品降解成寡核苷酸或有异硫氰酸胍

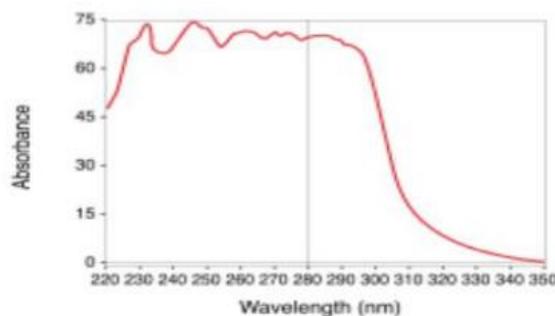
A260/A230----比值理论上应大于 A260/A280，2.0-2.2 最佳

值偏低→ EDTA/碳水化合物/苯酚/盐酸胍在 230nm 有吸收

6. 为何说用 A280 测蛋白浓度不准?

A280 法检测原理：色氨酸、酪氨酸以及苯丙氨酸这三个芳香族氨基酸，存在苯环共轭双键结构，在 280nm 波长附近有吸收峰，其他氨基酸无吸收，所以 280nm 吸光值只能作为蛋白质的粗定量，不能准确反映蛋白浓度。想要获得准确的定量结果，可以使用比色法检测，如 BCA，Bradford，Lowry 和 Pierce 660 等

7. 如果在检测 A280 时出现下图的峰形?



可能是由于样品中的蛋白浓度过高了，可以将样品稀释后再做检测。

8. 是否有溶剂使用的限制?

不能使用氢氟酸，因为它会腐蚀基座的石英光纤。其他的生命科学实验室常规的溶剂，如稀酸等都可以使用，只需在检测后擦拭干净。