

O.D.値からの Total pmole 計算方法

1. 数値説明

(1) O.D.値：

対象 oligoDNA 全量を 1mL で溶解した時の UV260nm における吸光度 A260nm。

(2) 「nA,nC,nG,nT,nR,⋯,nN,nI」：

A,C,G,T は四種類の各塩基の略式表記。

R~N は Mixed base (Degenerate base) の国際表記。

I は Inosine-base の略式表記。

n は対象 oligoDNA 一分子中に含まれる上記各種塩基の個数。

(3) 15.4 等の数値：

各種塩基の吸光係数。一般的には $15,400[\text{L}\cdot\text{mole}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}]$ などと表すが、ここでは便宜上 1/1000 した 15.4 の値を用いている。従って吸光係数の単位は $[\text{L}\cdot\text{mmole}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}]$ である。

2. 計算式説明

(1)

O.D.値 (A260nm) は吸光度を表すので、吸光係数で除することで、その吸光度を示す溶液中の oligoDNA 濃度が算出される。但し以下のように求まる濃度の単位は $[\text{mmole/L}]$ である。

$$(\text{O.D.値}) [\text{無名数}] / (\text{吸光係数}) [\text{L}\cdot\text{mmole}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}] = (\text{oligoDNA 濃度}) [\text{mmole/L}]$$

(2)

算出するものは対象 oligoDNA 全量の物質質量 (pmole 数) であり、それはここで溶液 1mL 中に存在する oligoDNA 全量にあたる。(1) で算出された濃度単位が $[\text{mmole/L}]$ であるので、その値を 1000 で除することによって 1mL 中の oligoDNA の物質質量が算出される。但し以下のように求まる物質質量の単位は $[\text{mmole}]$ である。

$$(\text{oligoDNA 濃度}) [\text{mmole/L}] / 1000 = (\text{溶液 1mL 中の oligoDNA の物質質量}) [\text{mmole}]$$

(3)

物質質量の単位を $[\text{pmole}]$ に合わせるため、(2) で算出された物質質量を 10^9 倍 (1,000,000,000 倍) することによって物質質量 $[\text{pmole}]$ が算出される。

(4)

まとめると $\{ (\text{O.D.値}) / (\text{吸光係数}) / 1000 \} \times 1,000,000,000 = \text{物質質量} [\text{pmole}]$ となり、更にまとめると

$$\{ (\text{O.D.値}) \times 1,000,000 \} / (\text{吸光係数}) = \text{物質質量} [\text{pmole}] \text{ となる。}$$

(5)

最終的に (4) の計算式を各種塩基の吸光係数と個数で表し直すと以下ようになる。

$$\begin{aligned} & [(\text{O.D.値}) (\text{A260nm})] \times 1,000,000 \\ & \div \{ (nA \times 15.4) + (nC \times 7.4) + (nG \times 11.5) + (nT \times 8.7) + (nR \times 13.4) + (nY \times 8.0) \\ & + (nM \times 11.4) + (nK \times 10.1) + (nS \times 9.4) + (nW \times 12.0) + (nH \times 10.5) + (nB \times 9.2) \\ & + (nV \times 11.4) + (nD \times 11.8) + (nN \times 10.7) + (nI \times 7.2) \} \end{aligned}$$