

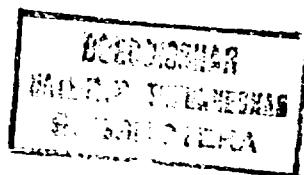


СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1705300 A1

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

(51)5 С 07 Н 21/00



ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

- (21) 4138620/13
(22) 24.10.86
(46) 15.01.92. Бюл. № 2
(71) Институт биоорганической химии АН
БССР
(72) В.П. Егорова, Д.Ю. Ланда, А.Г. Шпаков-
ский, И.А. Брунс и В.В. Велика
(53) 575.224.2 (088.8)
(56) Биохимия, 1977, т. 42, № 10, с. 1783.
(54) СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ ДЕЗОКСИРИ-
БОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ ОРГА-
НОВ ЖИВОТНЫХ

2

(57) Изобретение относится к получению би-
охимических препаратов. Цель изобретения
состоит в увеличении выхода ДНК и сокра-
щении времени выделения. Орган, измель-
ченный до состояния фарша, продавливают
через пресс, на выходе которого имеется
решетка с диаметром отверстий 5-8 мм, в
жидкий азот или смесь диэтиловый эфир -
сухой лед. Выход ДНК селезенки коровы
770-830 мг на 100 г сырья. Время выделения
3,5 ч. 1 табл.

Изобретение относится к получению би-
охимических препаратов, конкретно к полу-
чению ДНК из органов животных, и может
быть использовано для крупномасштабного
выделения ДНК.

Целью изобретения является повыше-
ние выхода ДНК и сокращение времени вы-
деления.

Измельченный до состояния фарша ор-
ган замораживают путем продавливания
фарша через решетку с размерами отвер-
стий 5-8 мм в сосуд, содержащий жидкий
азот или смесь эфир-сухой лед.

Пример 1. 1 кг селезенки пропускают
через мясорубку. Фарш помещают в ци-
линдр пресса, на выходе которого имеется
решетка с отверстиями диаметром 5 мм, и
продавливают в жидкий азот. После замора-
живания в течение 3 мин фарш извлекают из
сосуда при помощи сита, а затем помещают
в морозильник ($t < -20^{\circ}\text{C}$), где он хранится
до выделения. Перед выделением фаршу да-
ют возможность оттаить (20 мин), затем раз-
мельчают при помощи гомогенизатора и
реконструируют в 5 л стандартного солево-

го раствора, фильтруют через пластмассо-
вую сетку с ячейками размером 2 мм и цен-
трифицируют при 2500 об/мин (2000g) в
течение 10 мин при 0°C . Осадок повторно
гомогенизируют в 5 л стандартного солево-
го раствора и центрифугирование повторя-
ют (5 мин). Осадок реконструируют в 5 л
стандартного солевого раствора, добавляют
1,2 л 17%-ного раствора додецилсульфата
натрия и нагревают до 65°C . Раствор охлаж-
дают до 10°C и добавляют 5 л раствора 5 М
 NaCl , имеющего температуру 0°C . Раствор
центрифугируют в течение 30 мин (2500
об/мин). ДНК осаждают из надосадочной
жидкости одним объемом этанола. Осадок
последовательно промывают в 60, 70, 80,
100%-ном изопропаноле. Содержание бел-
ка в образце определяют методом Лоури,
содержание РНК — путем хроматографии на
оксиапатите. Характеристика ДНК: выход
760 мг на 100 г фарша (что составляет 94%
исходной ДНК, белка 0.8%, РНК 2.0%,
мол. м. $2.6 \cdot 10^7$ Д).

Пример 2. 1 кг селезенки коровы
пропускают через мясорубку. Фарш поме-

(19) SU (11) 1705300 A1

щают в цилиндр пресса, на выходе которого имеется решетка с отверстиями диаметром 8 мм и продавливают в смесь дизтиловый эфир-сухой лед. Все остальные операции проводят, как в примере 1.

При мер 3. 1 кг селезенки коровы пропускают через мясорубку. Фарш помещают в цилиндр пресса, на выходе которого имеется решетка с диаметром отверстий 7 мм и продавливают в жидкий азот. Все остальные операции проводят как в примере 1.

При мер 4. 1 кг почек коровы пропускают через мясорубку. Фарш помещают в цилиндр пресса, на выходе которого имеется решетка с диаметром отверстий 5 мм, продавливают в жидкий азот. Все остальные операции проводят как в примере 1.

Аналогичным образом осуществляют выделение ДНК из легких, сердца и печени. Результаты выделения отражены в таблице.

Таким образом, изобретение позволяет повысить выход ДНК и сократить время вы-

деления ДНК с мол.м. не менее 10^7 Д, содержащей не более 2.0% белка, осадок которой имеет белый цвет (цвет ДНК иногда включают в технические условия, например, ТУ 10П-555-71. ДНК высокополимерная из селезенки крупного рогатого скота).

Формула изобретения

Способ выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты из органов животных, включающий замораживание органа, измельчение, гомогенизацию, отмыкание ядерного материала гомогената, депротеинизацию и спиртовое осаждение ДНК, отличающийся тем, что, с целью повышения выхода и сокращения времени выделения, орган измельчают до состояния фарша, а замораживание осуществляют путем продавливания фарша через решетку с диаметром отверстий 5-8 мм в жидкий азот или смесь дизтиловый эфир - сухой лед.

При- мер	Орган коровы	Замораживаю- щая среда	Диа- метр от- верстия решет- ки, мм	Выход ДНК (г/1 кг органа)	Содер- жание белка, %	Содер- жание РНК, %	Мол.м. (Д)
1	Селезенка	Жидкий азот	5	7,60	0,8	2,0	2.6×10^7
2	Селезенка	Эфир-сухой лед	8	7,90	0,8	2,5	2.0×10^7
3	Селезенка	Жидкий азот	7	7,70	0,7	2,4	2.0×10^7
4	Почки	Жидкий азот	5	1,80	0,6	2,4	- * -
5	Легкие	Жидкий азот	5	3,10	0,7	1,9	2.5×10^7
6	Сердце	Жидкий азот	5	1,40	0,6	1,7	- * -
7	Печень	Жидкий азот	5	2,10	0,6	2,8	- * -

Редактор В. Трубченко

Составитель Т. Забойкина
Техред М. Моргентал

Корректор М. Максимишинец

Заказ 168

Тираж

Подписьное

ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул. Гагарина, 101