



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

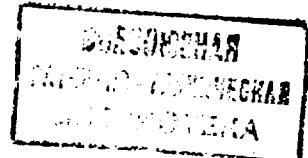
(19) SU (11) 1705301 A1

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

(51)5 С 07 Н 21/04

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



1

- (21) 4140037/13
(22) 24.10.86
(46) 15.01.92. Бюл. № 2
(71) Институт биоорганической химии АН
БССР
(72) В.П. Егорова, Д.Ю. Ландо и А.Г. Шпаков-
ский
(53) 576.224.2 (088.8)
(56) Anal. Biochem 1978, 85, № 2, р. 609.

(54) СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ИЗ СЕЛЕ-
ЗЕНКИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
(57) Изобретение относится к получению би-
охимических препаратов. Цель изобретения

2

состоит в увеличении выхода целевого про-
дукта и ускорении способа. Способ заклю-
чается в том, что селезенку крупного
рогатого скота пропитывают водой в тече-
ние 5-60 мин, замораживают, измельчают,
гомогенизируют. Затем проводят отмык-
ку ядерного материала стандартным солевым
раствором, депротеинизацию с помощью
хлористого натрия и додецилсульфата на-
трия, часть скоагулированного белка отде-
ляют фильтрацией, лизат центрифигируют,
еще раз фильтруют и осаждают ДНК изопро-
панолом. Выход ДНК 750-850 мг на 100 г
селезенки, время выделения 4.5 ч.

Изобретение относится к получению би-
охимических препаратов, конкретно к спо-
собу получению ДНК из селезенки крупного
рогатого скота. Изобретение может быть ис-
пользовано для крупномасштабного полу-
чения ДНК.

Целью изобретения является ускорение
способа и увеличение выхода целевого про-
дукта.

Селезенку крупного рогатого скота
пропитывают водой в течение 5-60 мин, замораживают, измельчают, гомогенизируют, проводят отмык-
ку ядерного материала стандартным солевым раствором, депротеинизируют ядерный материал с помощью додецилсульфата натрия и хлористого на-
трия, в присутствии которых белок отделяется от ДНК и коагулируют. Часть скоагулированного белка отде-
ляют фильтрацией, затем лизат центрифигируют и еще раз фильтруют. ДНК осаждают этанолом. Выход ДНК составляет 750-850 мг на 100 г селезенки, время выделения 4.5 ч.

Пример 1. Селезенку коровы пропи-
тывают водой в течение 30 мин и заморажи-
вают сухим льдом. Селезенку с помощью
ножа и молотка разрубают на куски и про-
кручивают через мясорубку. Взвешивают
100 г фарша, добавляют 500 мл стандартно-
го солевого раствора (SSC, 0,15M NaCl +
0,015M цитрат натрия, pH 7,2) и гомогенизи-
руют в течение 2 мин с помощью гомогени-
затора РТ-1. Гомогенат фильтруют через
сетку с ячейками размером 2 мм и центри-
фигируют в одном стакане центрифуги (2500
об/мин, 10 мин, 0°C). После центрифугиро-
вания осадок повторно гомогенизируют 1
мин в 600 мл SSC и повторяют центрифуги-
рование в течение 5 мин. Осадок ресуспен-
дируют 10 с с помощью гомогенизатора в
600 мл SSC и приливают при перемешива-
нии 120 мл 17%-ного раствора додецилсуль-
фата натрия. Смесь нагревают до 60°C при
перемешивании и через 10 мин добавляют
200 мл 5M NaCl. Перемешивание продолжа-
ют 15 мин и затем раствор охлаждают до

10°C. Добавляют при перемешивании 500 мл 5 M NaCl, охлажденного до 0°C. Смесь фильтруют через два слоя марли и затем центрифугируют (2500 об/мин, 30 мин, 0°C). Надосадочную жидкость фильтруют самотеком через стеклянный фильтр (размер пор 300-500 мкм). Полученные 1350 мл раствора ДНК осаждают путем добавления одного объема этанола. Осадок промывают последовательно 60, 70, 80 и 100%-ным изопропанолом. Выход ДНК составил 740 мг, что составляет 82% от общего содержания ДНК при мол.м. $2 \cdot 10^7$ дальтон, содержании 2.5%, белка 0.7%, гиперхромизм 40%.

Пример 2. Селезенку коровы пропитывают водой в течение 5 мин и замораживают сухим льдом. Далее все операции проводят, как в примере 1. Выход 850 мг на 100 г селезенки, содержание белка 0.6%, содержание РНК 2.6%, гиперхромизм 39.2%, мол.м. $2.3 \cdot 10^7$ дальтон.

Пример 3. Селезенку коровы пропитывают водой в течение 60 мин и замораживают сухим льдом. Далее все операции проводят как в примере 1. Выход – 820 мг на 100 г селезенки, содержание белка 0.8%.

содержание РНК 2.4%, гиперхромизм 40%. Мол.м. $2.1 \cdot 10^7$ дальтон.

Преимущества данного способа выделения ДНК заключаются в том, что он позволяет повысить выход ДНК на 100 г селезенки до 750-850 мг, более чем в 5 раз сократить время выделения, использование низкоскоростных центрифуг (менее 2500g) с большим рабочим объектом, которые используются в заводских условиях, причем суммарное время центрифугирования сокращается от 2.5 ч до 45 мин.

При этом ДНК имеет мол.м. не менее $2 \cdot 10^7$ дальтон, содержит белка не более 1.5%, осадок которой имеет белый цвет.

Формула изобретения

Способ выделения ДНК из селезенки крупного рогатого скота, включающий замораживание сырья, гомогенизацию, отмывку ядерного осадка, депротеинизацию, центрифугирование материала и спиртовое осаждение ДНК, отличающийся тем, что, с целью ускорения способа и увеличения выхода целевого продукта, селезенку перед замораживанием выдерживают в воде 5-60 мин, а до и после центрифугирования проводят фильтрацию материала.

Редактор В. Трубченко

Составитель Т. Забойкина
Техред М. Моргентал

Корректор М. Кучерявая

Заказ 168

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

Подписьное

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