



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 017 496** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁵ **A 61 K 35/60, C 07 H 21/04**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21), (22) Заявка: 4910247/14, 28.12.1990

(46) Дата публикации: 15.08.1994

(56) Ссылки: 1. Авторское свидетельство СССР N 780444, кл. C 07D 13/06, 1985. 2. Авторское свидетельство СССР N 487897, кл. C 07D 7/026, 1975.

(71) Заявитель:

Вайнберг Юрий Петрович,
Ладыгин Александр Евгеньевич,
Каплина Элли Николаевна,
Аносова Идия Григорьевна

(72) Изобретатель: Вайнберг Юрий Петрович,
Ладыгин Александр Евгеньевич, Каплина Элли
Николаевна, Аносова Идия Григорьевна

(73) Патентообладатель:

Вайнберг Юрий Петрович,
Ладыгин Александр Евгеньевич,
Каплина Элли Николаевна,
Аносова Идия Григорьевна

(54) СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ НАТРИЕВОЙ СОЛИ ДНК

(57) Реферат:

Изобретение относится к получению биологически активных веществ, а именно к способу получения натриевой соли нативной ДНК, которая может найти применение в химико-фармацевтической промышленности. Целью изобретения является увеличение выхода целевого продукта и сокращение потерь в процессе получения натриевой соли нативной ДНК, сокращение количества этилового спирта, используемого при получении целевого продукта. Сущность способа заключается в том, что в процессе получения натриевой соли ДНК путем обработки гомогената исходного сырья детергентом и высококонцентрированным

раствором хлористого натрия, отделения в образовавшейся реакционной массе жидкой фазы и последующих очистки и выделения целевого продукта используют обработку реакционной массы ультразвуком с последующим выделением и очисткой нативной ДНК с помощью баромембранных методов - ультрафильтрации и диафильтрации. Преимуществами предлагаемого способа являются отсутствие стадий пересаживания натриевой соли нативной ДНК, связанное с этим уменьшение потерь и увеличение выхода целевого продукта, значительно меньшее количество используемого при получении натриевой соли нативной ДНК этилового спирта. 1 табл.



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 017 496** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁵ **A 61 K 35/60, C 07 H 21/04**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 4910247/14, 28.12.1990

(46) Date of publication: 15.08.1994

(71) Applicant:

VAJNBERG JURIJ PETROVICH,
LADYGIN ALEKSANDR EVGEN'EVICH,
KAPLINA EHLLI NIKOLAEVNA,
ANOSOVA IDIJA GRIGOR'EVNA

(72) Inventor: VAJNBERG JURIJ PETROVICH,
LADYGIN ALEKSANDR EVGEN'EVICH, KAPLINA
EHLLI NIKOLAEVNA, ANOSOVA IDIJA
GRIGOR'EVNA

(73) Proprietor:

VAJNBERG JURIJ PETROVICH,
LADYGIN ALEKSANDR EVGEN'EVICH,
KAPLINA EHLLI NIKOLAEVNA,
ANOSOVA IDIJA GRIGOR'EVNA

(54) **METHOD OF DNA SODIUM SALT ISOLATION**

(57) Abstract:

FIELD: chemical-pharmaceutical industry.
SUBSTANCE: method involves treatment of
initial raw homogenate with detergent and
high-concentrated solution of sodium
chloride, separation of liquid phase in
reaction mass formed following by
purification and isolation of the end
product. Reaction mass is treated by
ultrasonic oscillation following by

isolation and purification of native DNA
using ultrafiltration and diafiltration.
Advantages of method proposed: absence of
reprecipitation stages of native DNA sodium
salt, decrease of losses, increase of the
end product yield, diminished consumption of
ethanol used for the end product preparing.
EFFECT: enhanced yield of product,
diminished loss of product, decreased
ethanol consumption. 1 tbl

Изобретение относится к получению биологически активных веществ, а именно к способу получения натриевой соли нативной ДНК из молок осетровых рыб, эритроцитов крови цыплят селезенки свиньи и др., которая может найти применение в химико-фармацевтической промышленности.

Известен способ получения натриевой соли нативной ДНК, в котором гомогенат исходного сырья обрабатывают детергентом (например, додецилсульфатом натрия) и высококонцентрированным раствором NaCl, отделяют жидкую фазу реакционной смеси от осадка фильтрацией или центрифугированием. Из фильтрата или супернатанта, содержащих натриевую соль ДНК, избыточное количество хлористого натрия, цитрата натрия и балластных органических веществ, двойным переосаждением этиловым спиртом выделяют очищенную соль нативной ДНК [1].

Недостатками указанного способа являются: длительность и усложненность процесса, большой расход этанола, низкий выход основного продукта.

Наиболее близким к изобретению по технической сущности и достигаемому результату является способ получения нативной ДНК [2].

Недостатками известного способа является медленное растворение ДНК, при осуществлении стадий переосаждения, заметно ухудшающее производительность процесса, увеличивающее потери целевого продукта (до 25%), использование больших количеств этилового спирта на очистку и выделение целевого продукта (на 1 кг натриевой соли нативной ДНК расходуется около 3,5 тонн этилового спирта).

Целью изобретения является увеличение выхода целевого продукта за счет обработки ультразвуком реакционной массы, концентрирования ультрафильтрацией и отмыванием целевого продукта диафильтрацией.

Это достигается тем, что в предлагаемом способе выделения натриевой соли ДНК путем обработки гомогената сырья детергентом и высококонцентрированным раствором хлористого натрия, отделения в образовавшейся реакционной массе жидкой фазы и последующих очистки и выделения целевого продукта используют обработку реакционной массы ультразвуком с последующим выделением и очисткой нативной ДНК с помощью баромембранных методов - ультрафильтрации и диафильтрации.

Отличительными особенностями предлагаемого изобретения от способа прототипа являются использование ультразвуковой обработки реакционной массы и осуществление очистки целевого продукта от избытка солей и балластных веществ диафильтрацией, концентрирование целевого продукта методом ультрафильтрации.

Пример 1. 1 кг замороженных молок осетровых рыб измельчают, гомогенизируют в цитратно-солевом растворе (ССЦ), состоящем из 0,15 М хлористого натрия и 0,015 М цитрата натрия, промывают трижды

ядерный материал ССЦ. Отмытый ядерный материал помещают в реактор, куда добавляют ССЦ, 6% раствор додецилсульфата натрия в 45% -ном этиловом спирте, нагревают до 60°C, добавляют равный объем 5 М раствора хлористого натрия, перемешивают, охлаждают до 12-16°C, реакционную массу обрабатывают ультразвуком, отделяют выпавший осадок балластных веществ от раствора ДНК фильтрацией реакционной массы через кизельгур на нутч-фильтре. Фильтрат концентрируют на мембране с размером пор 0,45 мкм (потери ДНК при этом до 3%) и затем отмывают концентрат диафильтрацией на той же мембране до отрицательной реакции на белок в пермеате.

Полученная натриевая соль ДНК имеет следующие характеристики: - содержание белка не более 1,5% - молекулярная масса 450 кДальтон - молекулярный эффект 44% - содержание РНК не более 2% - содержание полисахаридов не более 2%.

Пример 2. 1 кг охлажденной крови цыплят гомогенизируют в ССЦ, промывают трижды ядерный материал раствором ССЦ. Далее как в примере 1.

Полученная натриевая соль ДНК имеет следующие характеристики: - содержание белка не более 1,5% - молекулярная масса 420 кДальтон - гиперхромный эффект 44% - содержание РНК не более 2% - содержание полисахаридов не более 2%.

Пример 3. До стадии концентрирования фильтрата обработка сырья как в примере 1, 2. Концентрирование фильтрата производят на мембранах с размером пор 0,8 мкм. Потери ДНК составляют при этом 23%.

Пример 4. До стадии концентрирования фильтрата - как в примерах 1, 2. Концентрирование фильтрата проводят на мембранах с размером пор 0,05 мкм. Скорость процесса фильтрования уменьшилась в 10 раз.

Ниже приводится сводная таблица с результатами примеров.

Таким образом, предложенный способ выделения натриевой соли ДНК из тканей животного происхождения позволяет получить повышенный выход целевого продукта высокой степени очистки с повышением производительности процесса и уменьшением расхода этанола.

Формула изобретения:

СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ НАТРИЕВОЙ СОЛИ ДНК из тканей животного происхождения путем гомогенизации исходного сырья в цитратно-солевом растворе, обработки гомогената додецил-сульфатом и высококонцентрированным раствором хлористого натрия, прогрева реакционной массы при 60°C, ее охлаждения с последующим выделением и очисткой целевого продукта, отличающийся тем, что, с целью повышения выхода целевого продукта, реакционную смесь обрабатывают ультразвуком, жидкую фазу отделяют, концентрируют ультрафильтрацией на мембранах с диаметром пор 0,05 - 1 мкм и концентрат, содержащий целевой продукт, отмывают диафильтрацией.

№	Ультра- и диафильтр.		Мол. масса ДНК, кДа	Выход ДНК, %
	Дпор	Скорость, л/м ² ч		
1	0,45	50	450	97
2	0,45	50	420	97
3	0,80	65	450	77
4	0,05	0,5	430	99
5 (прототип)				75