

# РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ  
№ 2753608

### Способ получения нуклеината натрия из микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijerinck

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Курская государственная сельскохозяйственная академия имени И.И. Иванова" (RU)*

Авторы: *Роик Богдан Олегович (RU), Наумов Михаил Михайлович (RU), Лукьянов Вячеслав Анатольевич (RU), Наумов Николай Михайлович (RU)*

Заявка № 2020100825

Приоритет изобретения 09 января 2020 г.

Дата государственной регистрации  
в Государственном реестре изобретений  
Российской Федерации 18 августа 2021 г.

Срок действия исключительного права  
на изобретение истекает 09 января 2040 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ибрагимов



KU 2753608 C2



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

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

(52) СПК  
C12P 19/34 (2020.08); C07H 21/00 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2020100825, 09.01.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
09.01.2020

Дата регистрации:  
18.08.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 09.01.2020

(43) Дата публикации заявки: 09.07.2021 Бюл. № 19

(45) Опубликовано: 18.08.2021 Бюл. № 23

Адрес для переписки:

305021, г. Курск, ул. К. Маркса, 70, Курская  
ГСХА

(72) Автор(ы):

Роик Богдан Олегович (RU),  
Наумов Михаил Михайлович (RU),  
Лукьянов Вячеслав Анатольевич (RU),  
Наумов Николай Михайлович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Курская государственная  
сельскохозяйственная академия имени И.И.  
Иванова" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2081915 C1, 20.06.1997. RU  
2244008 C1, 10.01.2005. RU 2617947 C2,  
28.04.2017. WO 9728171 A1, 07.08.1997. US  
5155018 A, 13.10.1992.

(54) Способ получения нуклеината натрия из микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijerinck

## (57) Формула изобретения

1. Способ получения нуклеината натрия из микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijerinck, заключающийся в том, что производят предварительную подготовку сухой лиофилизированной биомассы зеленой микроводоросли, для чего 50 г сухой лиофилизированной биомассы микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijerinck, штамм ИФР № С-111, помещают в емкость, приливают 0,5 н. охлажденную хлорную кислоту, промывают клеточную массу в течение 5 мин энергичным перемешиванием, затем центрифугируют в течение 10 мин при 3500 об/мин, надосадочную жидкость, содержащую кислоторастворимые вещества, отбрасывают, к полученной гомогенной массе приливают этиловый спирт и продолжают промывать клеточный осадок в течение 5 мин, этиловый спирт, экстрагировавший пигменты и липиды, отделяют центрифугированием в течение 10 мин при 3500 об/мин, затем подготовленную биомассу количественно помещают в трехгорлую круглодонную колбу биореактора, смывают осадок 400 мл цитратно-солевого раствора, состоящего из 20% раствора натрия хлорида и 1% натрия цитрата, смешанных в пропорции 1:1 по объему, с рН раствора 7, добавляют к смеси 40 мл детергента натрия додецилсульфата с концентрацией 100 мл/дм<sup>3</sup> для дополнительного лизиса клеточных мембран и стенок ядра, затем 10 мл изоамилового спирта, нагревают смесь до 90-100°С медленно, в течение 40-60 мин, затем в течение

2-3 ч выдерживают при температуре кипения с постоянным перемешиванием, по окончании процесса смеси дают остыть до комнатной температуры, обрабатывают ультразвуком, центрифугируют и надосадочную жидкость, содержащую нуклеиновые кислоты, переносят количественно в высокую емкость, измеряют объем гидролизата и осаждают из него нуклеиновые кислоты добавлением при помешивании к охлажденному до 1-3°C ацетону в отношении 1:2, затем помещают емкость с гидролизатом и осадителем в морозильную камеру на 3 часа, образовавшиеся при этом в осадке хлопья нуклеиновых кислот собирают центрифугированием, промывают осадок 70% этиловым спиртом, центрифугируют, а затем высушивают в токе воздуха, азота в лабораторном концентраторе и растирают в порошок до мелкодисперсного состояния.

2. Способ получения нуклеината натрия из микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijerinck, заключающийся в том, что производят предварительную подготовку сухой лиофилизированной биомассы зеленой микроводоросли, для чего 50 г сухой лиофилизированной биомассы микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijerinck, штамм ИФР № С-111, помещают в емкость, приливают 0,5 н. охлажденную хлорную кислоту, промывают клеточную массу в течение 5 мин энергичным перемешиванием, затем центрифугируют в течение 10 мин при 3500 об/мин, надосадочную жидкость, содержащую кислоторастворимые вещества, отбрасывают, к полученной гомогенной массе приливают этиловый спирт и продолжают промывать клеточный осадок в течение 5 мин, этиловый спирт, экстрагировавший пигменты и липиды, отделяют центрифугированием в течение 10 мин при 3500 об/мин, затем подготовленную биомассу количественно помещают в трехгорлую круглодонную колбу биореактора, смывают осадок 370 мл цитратно-солевого раствора, состоящего из 20% раствора натрия хлорида и 1% натрия цитрата, смешанных в пропорции 1:1 по объему, с рН раствора 7, добавляют к смеси 30 мл детергента натрия додецилсульфата с концентрацией 100 мл/дм<sup>3</sup> для дополнительного лизиса клеточных мембран и стенок ядра, нагревают смесь до 90-100°C медленно, в течение 40-60 мин, затем в течение 2-3 ч выдерживают при температуре кипения с постоянным перемешиванием, по окончании процесса смеси дают остыть до комнатной температуры, обрабатывают ультразвуком, центрифугируют и надосадочную жидкость, содержащую нуклеиновые кислоты, переносят количественно в высокую емкость, измеряют объем гидролизата и осаждают из него нуклеиновые кислоты добавлением при помешивании к охлажденному до 1-3°C ацетону в отношении 1:2, затем помещают емкость с гидролизатом и осадителем в морозильную камеру на 3 ч, образовавшиеся при этом в осадке хлопья нуклеиновых кислот собирают центрифугированием, промывают осадок 70% этиловым спиртом, центрифугируют, а затем высушивают в токе воздуха, азота в лабораторном концентраторе и растирают в порошок до мелкодисперсного состояния.