

Рассмотрим методику выделения ДНК на примере ДНК плазмид. ДНК из плазмидосодержащих бактериальных клеток выделяют с помощью традиционной техники, заключающейся в получении клеточных экстрактов в присутствии детергентов и последующем удалении из экстрактов белков фенольной экстракцией. Полная очистка плазмидной ДНК от белков, РНК и других соединений проводится в несколько стадий. После того как клетки разрушены, например, с помощью лизоцима (растворены их стенки), к экстракту добавляют детергент, чтобы растворить мембраны и инактивировать некоторые белки. Большинство хромосомной ДНК удаляют из получаемых препаратов обычным центрифугированием.

Часто для полной очистки используют хроматографию. Если требуется очень тщательная очистка, используют высокоскоростное центрифугирование в градиенте плотности CsCl с использованием этидия бромид. Оставшаяся хромосомная ДНК будет фрагментирована в линейную, тогда как плазмидная ДНК останется ковалентно закрытой. Поскольку этидий бромид менее плотен, чем ДНК, то при ультрацентрифугировании в центрифужной пробирке будет «выкручиваться» два кольца — плазмидная ДНК и хромосомная ДНК. Плазмидную ДНК отбирают для дальнейшей работы, хромосомную ДНК выбрасывают.

Пехов А. П. Биология с основами экологии. Серия «Учебники для вузов. Специальная литература» — 2000.