



---

INSTITUT FÜR ANGEWANDTE LABORANALYSEN GMBH

# QuickGEN Yeast Sample Preparation Centrifugation

Mikrobielle DNA Extraktion aus stark hefehaltigen Getränkeproben

Microbial DNA extraction of yeast containing samples



**REF: Q005**

Version 01/20

GEN-IAL GmbH  
Tel: 0049 2241 2522980  
Fax: 0049 2241 2522989  
info@gen-ial.de  
www.gen-ial.de

# QuickGEN Yeast Sample Preparation Centrifugation

## 1. Verwendungszweck

Mikrobielle DNA-Extraktion aus Proben mit hohen Hefezellzahlen z.B. Hefetanks, Propagation etc.

## 2. Packungsinhalt

Das Kit enthält Reagenzien für 100 Extraktionen:

1 x QuickGEN yeast buffer

2 x Enzyme

## 3. Zusätzlich erforderliches Material

### 3.1. Geräte

- Heizblock oder Wasserbad 65 °C – 95 °C
- Zentrifuge
- Pipetten
- "Vortex"

### 3.2. Reagenzien und Verbrauchsmaterialien

- für Hefe DNA-Extraktion: Lyticase (Sigma L2524), **in PCR-Kits mit lyophilisierten PCR-Streifen ist die Lyticase bereits im PCR-tube vorgelegt (s. Handbuch PCR-Kit)**
- Kochsalz- oder Ringerlösung
- sterile Falcon-tubes 15 mL, 50 mL
- safe-lock Reaktionsgefäße 1,5 – 2,0 mL
- passende, sterile Filterspitzen
- Einweghandschuhe

## 4. Vorsichtsmaßnahmen

Grundsätzlich vorsichtiger Umgang mit Chemikalien. Nicht einatmen oder verschlucken. Haut- und Augenkontakt vermeiden.

## 5. Lagerung

Den QuickGEN yeast buffer bei Raumtemperatur 15 – 30 °C und das Enzym nach Anbruch bei -20 °C lagern.

## 6. Anzeichen für Reagenzienverfall

Bei korrekter Handhabung keine bekannt.

## 7. Vorbereitungen

Lyticase Lösung herstellen:

5 U /  $\mu$ L in Lyticasepuffer (50 % 1 x TE + 50 % Glycerol, pH-Wert 7,5 – 8,0)

Nach Herstellung bei -20 °C lagern.

**In PCR-Kits mit lyophilisierten PCR-Streifen ist die Lyticase bereits im PCR-tube vorgelegt (s. Handbuch PCR-Kit)**

## 8. DNA-Extraktion aus hefehaltigen Proben

### A. Protokoll für Hefeproben, Hefetanks ( $>10^9$ cfu/mL)

1. Probe mischen und 1 mL Probe in ein steriles 50 mL Falcon tube überführen
2. Die Probe **1:20** verdünnen (1 mL Probe + 19 mL Verdünnungspuffer\*)
3. Die Verdünnung gut mischen und 1 mL in ein 1.5 mL Reaktionsgefäß überführen
4. Zugabe von 20  $\mu$ L Enzyme
5. Inkubation für 30 min. bei 65 °C
6. Zentrifugation der Probe für 5 min. bei 15500 x g
7. Überstand entfernen
8. Zugabe von 250  $\mu$ L QuickGEN yeast buffer und das Pellet resuspendieren
9. Inkubation für 5 min. bei 95 °C

**Optional für Hefen:** Nach der Inkubation 3  $\mu$ L (15 U) Lyticase hinzugeben und gut mischen. In PCR-Kits mit lyophilisierten PCR-Streifen ist die Lyticase bereits im PCR-tube vorgelegt (s. Handbuch PCR-Kit) und dieser Schritt nicht erforderlich.

10. 2.5  $\mu$ L der DNA in die PCR einsetzen

\* sterile Kochsalz- oder Ringerlösung, kein ddH<sub>2</sub>O verwenden

### B. Protokoll für Hefeproben z.B. Propagation ( $10^5$ - $10^9$ cfu/mL)

1. Probe mischen und 1 mL Probe in ein steriles 15 mL Falcon tube überführen
2. Die Probe **1:10** verdünnen (1 mL Probe + 9 mL Verdünnungspuffer\*)
3. Die Verdünnung gut mischen und 1 mL in ein 1.5 mL Reaktionsgefäß überführen
4. Zugabe von 20  $\mu$ L Enzyme
5. Inkubation für 30 min. bei 65 °C
6. Zentrifugation der Probe für 5 min. bei 15500 x g
7. Überstand entfernen
8. Zugabe von 250  $\mu$ L QuickGEN yeast buffer und das Pellet resuspendieren
9. Inkubation für 5 min. bei 95 °C

**Optional für Hefen:** Nach der Inkubation 3  $\mu$ L (15 U) Lyticase hinzugeben und gut mischen. In PCR-Kits mit lyophilisierten PCR-Streifen ist die Lyticase bereits im PCR-tube vorgelegt (s. Handbuch PCR-Kit) und dieser Schritt nicht erforderlich.

10. 2.5  $\mu$ L der DNA in die PCR einsetzen

\* sterile Kochsalz- oder Ringerlösung, kein ddH<sub>2</sub>O verwenden

# QuickGEN Yeast Sample Preparation Centrifugation

## 1. Intended use

Microbial DNA-Extraction from samples with high yeast cell counts e.g. yeast tanks, propagation etc.

## 2. Content

The kit contains reagents for 100 extractions:

1 x QuickGEN yeast buffer

2 x Enzyme

## 3. Materials required, but not provided

### 3.1 Instruments

- Heating block or waterbath 65 °C – 95 °C (149 °F - 203 °F)
- Centrifuge
- Pipettes
- "Vortex"

### 3.2 Reagents and plastic ware

- for yeast DNA-extraction: Lyticase (Sigma L2524), **in PCR-Kits with freeze-dried stripes the PCR-tubes contain lyticase (s. PCR Kit manual).**
- sodium chlorid or Ringer solution
- steril Falcon tubes 15 mL, 50 mL
- safe-lock reaction tubes 1.5 – 2.0 mL
- suitable filter tips
- single use gloves

## 4. Warnings

Careful use with personal protection according to good laboratory practice is recommended. Do not incorporate. Avoid skin and eye contact with all solutions.

## **5. Storage**

Store QuickGEN yeast buffer at room temperature 15 °C – 30 °C ( 59 °F – 86 °F) and Enzyme after opening at -20 °C (- 4 °F).

## **6. Indications of deterioration of reagents**

In case of accurate handling deterioration unknown

## **7. Preliminary preparations**

Prepare Lyticase solution:

U /  $\mu$ L in lyticase buffer (50 % 1 x TE + 50 % Glycerol, pH-Wert 7.5 – 8.0).

Store solution at -20 °C (- 4 °F)

**In PCR-Kits with freeze-dried PCR stripes the tubes contain lyticase (s. PCR Kit manual).**

## 8. DNA-Extraction

### A. Protocol for yeast samples, yeast tanks (>10<sup>9</sup> cfu/mL)

1. Transfer 1 mL sample in a sterile 50 mL Falcon tube
2. Dilute the sample **1:20** (1 mL sample + 19 mL dilution buffer\*)
3. Transfer 1 mL of the dilution to a 1.5 mL reaction tube
4. Add 20 µL enzyme
5. Incubate 30 min. at 65 °C
6. Centrifuge the sample for 5 min. at 15500 x g
7. Remove the supernatant
8. Add 250 µL QuickGEN yeast buffer and resuspend the pellet
9. Incubate 5 min. at 95 °C

**Optional for yeast: After incubation add 15 U Lyticase** and mix the sample. **In PCR-Kits with freeze-dried PCR stripes the tubes contain lyticase (s. PCR Kit manual)** and this step is not necessary.

10. Use 2.5 µL of the DNA for PCR

\* e.g. sterile Ringer Solution or NaCl, do not use ddH<sub>2</sub>O

### B. Protocol for yeast samples, propagation (10<sup>5</sup> - 10<sup>9</sup> cfu/mL)

1. Transfer 1 mL sample in a sterile 15 mL Falcon tube
2. Dilute the sample **1:10** (1 mL sample + 9 mL dilution buffer\*)
3. Transfer 1 mL of the dilution to a 1.5 mL reaction tube
4. Add 20 µL enzyme
5. Incubate 30 min. at 65 °C
6. Centrifuge the sample for 5 min. at 15500 x g
7. Remove the supernatant
8. Add 250 µL QuickGEN yeast buffer and resuspend the pellet
9. Incubate 5 min. at 95 °C

**Optional for yeast: After incubation add 15 U Lyticase** and mix the sample. **In PCR-Kits with freeze-dried PCR stripes the tubes contain lyticase (s. PCR Kit manual)** and this step is not necessary.

10. Use 2.5 µL of the DNA for PCR

\* e.g. sterile Ringer Solution or NaCl, do not use ddH<sub>2</sub>O