



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 01/26

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., die älter sind und potenziell abgestorbene Hefezellen enthalten.

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 ohne DNA und RNA), **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 / μ L in Lyticasepuffer (50 % 1 x TE + 50 % Glycerol, pH-Wert 7,5 – 8,0) **In PCR-Kits mit lyophilisierten PCR-Streifen ist die Lyticase bereits im PCR-tube vorgelegt (s. Handbuch PCR-Kit)**

Nach Herstellung bei -20 °C lagern.

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 μ 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 μ L QuickGEN yeast buffer und das Pellet resuspendieren
9. Inkubation für 5 min. bei 95 °C

Optional für Hefen: Nach der Inkubation 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)

10. 2.5 μ L der DNA in die PCR einsetzen

*** sterile Kochsalz- oder Ringerlösung, kein ddH₂O 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 μ 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 μ L QuickGEN yeast buffer und das Pellet resuspendieren
9. Inkubation für 5 min. bei 95 °C

Optional für Hefen: Nach der Inkubation 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)

10. 2.5 μ L der DNA in die PCR einsetzen

*** sterile Kochsalz- oder Ringerlösung, kein ddH₂O verwenden**

Rechtlicher Hinweis: Diese Angaben entsprechen dem heutigen Stand unserer Kenntnisse und sollen über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten informieren. Sie haben nicht die Bedeutung, bestimmte Eigenschaften der Produkte oder deren Eignung für einen konkreten Einsatzzweck zuzusichern. GEN-IAL übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien. Defekte Produkte werden ersetzt. Darüber hinaus gehende Ansprüche für direkte oder indirekte Schäden oder Kosten aus der Nutzung der Produkte entstehen nicht.

QuickGEN Yeast Sample Preparation Centrifugation

1. Intended use

Microbial DNA-Extraction from samples with high yeast cell counts e.g. yeast tanks, propagation etc., that are older and may contain dead yeast cells.

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:

5 U / μ L in lyticase buffer (50 % 1 x TE + 50 % Glycerol, pH-Wert 7.5 – 8.0). **In PCR-Kits with freeze-dried PCR stripes the tubes contain lyticase (s. PCR Kit manual).**

Store solution at -20 °C (- 4 °F)

8. DNA-Extraction

A. Protocol for yeast samples, yeast tanks ($>10^9$ 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 μ L 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 μ L 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)

10. Use 2.5 μ L of the DNA for PCR

* e.g. sterile Ringer Solution or NaCl, do not use ddH₂O

B. Protocol for yeast samples, propagation (10^5 - 10^9 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 μ L 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 μ L 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)

10. Use 2.5 μ L of the DNA for PCR

* e.g. sterile Ringer Solution or NaCl, do not use ddH₂O