



INSTITUT FÜR ANGEWANDTE LABORANALYSEN GMBH

Simplex[®] Easy Wine

DNA-Extraktion von
Mikroorganismen aus Wein und Most

DNA-extraction
of microorganisms in wine and grape must



REF: Q300

Version 01/26

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

Simplex[®] Easy Wine

1. Verwendungszweck

Schnelle und zuverlässige Extraktion von Mikroorganismen-DNA aus Wein und Most

2. Packungsinhalt

Das Kit enthält Reagenzien für 100 Präparationen bzw. 10 Extraktionen:

1 x Easy-Reagent (10 mL – 100 rxn; 1 mL – 10 rxn)

1 x Wine Solution

1 x Washing Solution

3. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

3.1 Geräte:

Heizblock oder Wasserbad, 37 °C – 95 °C

Zentrifuge passend für 1,5 – 2,0 mL Reaktionsgefäße

Pipetten

“Vortex”

3.2 Reagenzien und Verbrauchsmaterialien:

safe-lock Reaktionsgefäße 1,5 – 2,0 mL

passende, sterile Filterspitzen

Einweghandschuhe

Lyticase (Sigma ohne DNA und RNA)

4. Vorsichtsmaßnahmen

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

5. Lagerung

Alle Reagenzien bei Raumtemperatur lagern.

6. Anzeichen für Reagenzienverfall

Bei korrekter Handhabung keine bekannt.

7. Vorbereitungen

Lyticase Lösung herstellen:

5U / μ L in Lyticasepuffer (50 % 1 x TE + 50 % Glycerol, pH 7.5 - 8.0).

Nach Herstellung bei -20 °C lagern.

Easy-Reagent Wine solution herstellen:

Vor der ersten Benutzung den gesamten Inhalt der Wine Solution (violetter Deckel) in die **Easy-Reagent** Lösung geben und gut mischen. Anschließend das Etikett "**Easy- Reagent Wine**" aufkleben. Der entstandene Puffer ist für 4 Monate bei Raumtemperatur stabil.

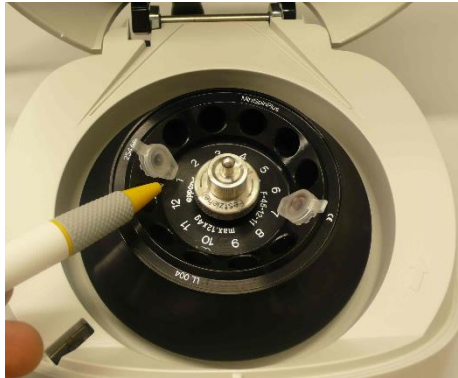
Ist die Washing Solution trübe oder gefroren, die Lösung einige Minuten bei 45 °C erwärmen.

8. DNA-Extraktion

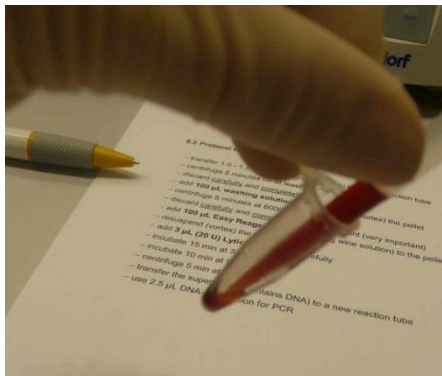
8.1 DNA-Extraktion aus Hefen

Protokoll für 1 mL Wein oder Most

1. die Probe gut mischen und 1,0 mL in ein 1,5 mL Reaktionsgefäß geben
2. die Reaktionsgefäße immer in der gleichen Ausrichtung in die Zentrifuge stellen, so dass selbst bei nicht sichtbarem Pellet die Position des Pellets bekannt ist



3. 5 min. bei 15.500 x g zentrifugieren
4. den Überstand vorsichtig und vollständig immer von der gegenüberliegenden Seite zum Pellet abziehen



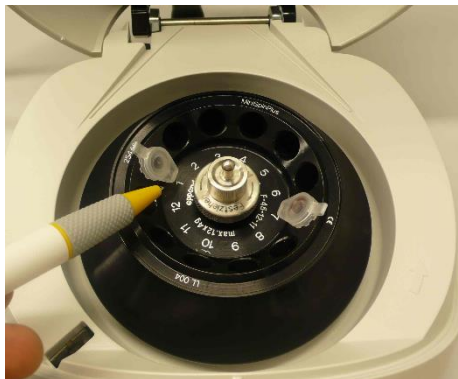
5. das Pellet vollständig in **100 µL Washing Solution** resuspendieren (vortexen oder pipettieren)
6. 5 min. bei 15.500 x g zentrifugieren
7. den Überstand vorsichtig und vollständig abziehen (**sehr wichtig!**)
Optional: ist der Überstand nach dem Waschschrift noch stark rot gefärbt, die Waschschritte 1-2 mal wiederholen (5.-7.)
8. **100 µL Easy-Reagent Wine** (enthält die Wine Solution) zum Pellet geben
9. das Pellet vollständig resuspendieren (vortexen oder pipettieren)
10. **3 µL (15 U) Lyticase** hinzugeben und gut mischen

11. 15 min. bei 37 °C +/- 1 °C inkubieren
12. 10 min. bei 95 °C +/- 1 °C inkubieren
13. 5 min. bei 15.500 x g zentrifugieren
14. den Überstand (enthält DNA) in ein neues 1,5 mL safe-lock Reaktionsgefäß überführen (**Achtung**: keine Reste aus dem Pellet mitüberführen)
15. 2,5 µL DNA in die PCR einsetzen

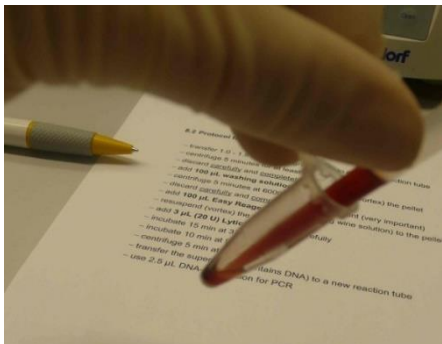
8.2 DNA-Extraktion aus Bakterien und Hefen

Protokoll für 1 mL Wein oder Most

1. die vorangereicherte Probe gut mischen und 1 mL in ein 1,5 mL Reaktionsgefäß geben
2. die Reaktionsgefäße immer in der gleichen Ausrichtung in die Zentrifuge stellen, so dass selbst bei nicht sichtbarem Pellet die Position des Pellets bekannt ist



3. 5 min. bei 400 x g zentrifugieren
4. den Überstand (enthält die Bakterien) vorsichtig und vollständig immer von der gegenüberliegenden Seite zum Pellet (enthält die Hefen) abziehen und in ein neues 1,5 mL safe-lock Reaktionsgefäß überführen



5. den Überstand zur Gewinnung der Bakterien 5 min. bei 15.500 x g zentrifugieren

6. die Pellets vollständig in **100 µL Washing Solution** resuspendieren (vortexen oder pipettieren)
7. 5 min. bei 15.500 x g zentrifugieren
8. den Überstand vorsichtig und vollständig abziehen (**sehr wichtig!**) und verwerfen
Optional: ist das Pellet nach dem Waschschrift noch stark rot gefärbt, die Waschrunde 1-2 mal wiederholen (5.-7.)
9. **100 µL Easy-Reagent Wine** (enthält die Wine solution) zum Pellet geben
10. das Pellet vollständig resuspendieren (vortexen oder pipettieren); bei den **Bakterien mit Schritt 13 fortfahren**
11. **zur Hefe 3 µL (15 U) Lyticase** hinzugeben und gut mischen
12. 15 min. bei 37 °C +/- 1°C inkubieren
13. 10 min. bei 95 °C +/- 1°C inkubieren
14. 5 min. bei 15.500 x g zentrifugieren
15. den Überstand (enthält DNA) in ein neues 1,5 mL safe-lock Reaktionsgefäß überführen (**Achtung:** keine Reste aus dem Pellet mitüberführen)
16. 2,5 µL DNA in die PCR einsetzen

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.

Simplex[®] Easy Wine

1. Intended use

Fast and optimal DNA-extraction from microorganisms in wine samples and grape must

2. Content

The kit contains sufficient reagents for 100 or 10 extractions:

1 x Easy-Reagent (10 mL – 100 rxn; 1 mL – 10 rxn)

1 x Wine Solution

1 x Washing Solution

3. Materials required but not provided

3.1 Instruments

Heating block or water bath 37 °C – 95 °C (98.6 - 203 °F)

Microcentrifuge for 1.5 – 2.0 mL reaction tubes

Pipettes

“Vortex”

3.2 Reagents and plastic ware

safe-lock reaction tubes 1.5 – 2.0 mL

suitable filter tips

single use gloves

Lyticase (Sigma without DNA and RNA)

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 the kit at room temperature.

6. Indications of deterioration of reagents

In case of accurate handling deterioration unknown.

7. Preliminary preparations

Prepare Lyticase stock solution:

5U / μ L in lyticase buffer (50 % 1xTE + 50 % Glycerol, pH 7.5 - 8.0).

Store solution at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($-4\text{ }^{\circ}\text{F}$)

Prepare Easy-Reagent Wine solution:

Before first use add the total content of the Wine Solution (violet cap) to the Easy-Reagent and mix well. Please paste up the enclosed sticker "**Easy-Reagent Wine**". The resulting buffer is stable for 4 months at room temperature.

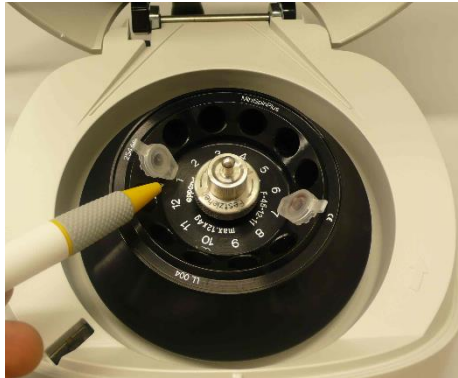
If the Washing Solution is turbid or frozen incubate the solution some minutes at $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($113\text{ }^{\circ}\text{F}$) till it is clear.

8. DNA Extraction

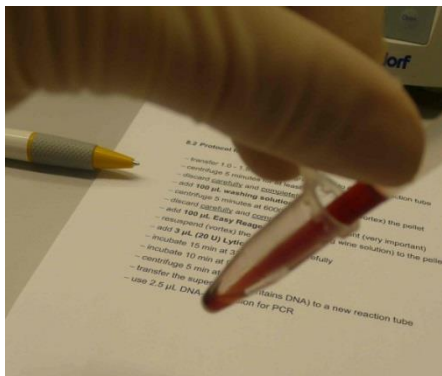
8.1 DNA-Extraction from yeast

Protocol for 1 mL wine or grape must

1. mix the sample and transfer 1.0 mL to a 1.5 mL safe-lock reaction tube
2. place the tubes always in the same manner into the centrifuge (lid of the tube), so that even when no pellet will be visible, it will be clear where the cells/pellet will be



3. centrifuge 5 minutes for 15500 x g
4. discard carefully and completely the supernatant. Aspirate from the opposite side of the pellet



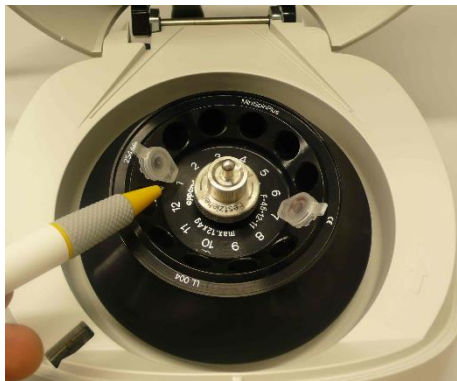
5. resuspend the pellet completely in **100 μ L Washing Solution** (vortex or pipetting)
6. centrifuge 5 minutes at 15500 x g
7. discard carefully and completely the supernatant (**very important**)
Optional: if the pellet shows after the washing step strong red flavour, repeat the washing step once or twice (5.-7.)
8. add **100 μ L Easy-Reagent Wine** (including Wine solution) to the pellet
9. resuspend the pellet completely (vortex or pipetting)
10. add **3 μ L (15 U) Lyticase** and mix carefully
11. incubate 15 min at 37 °C +/- 1°C (98,6 °F +/- 1,8 °F)

12. incubate 10 min at 95 °C +/- 1°C (203 °F +/- 1,8 °F)
13. centrifuge 5 min at 15500 x g
14. transfer the supernatant (contains DNA) to a new 1.5 mL safe-lock tube
Attention: transfer no pellet
15. use 2.5 µL DNA-suspension for PCR

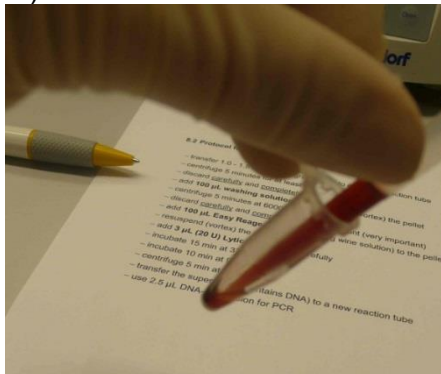
8.2 DNA-Extraction from bacteria and yeast

Protocol for 1 mL wine or grape must

1. mix the sample and transfer 1.0 mL sample to a 1.5 mL safe-lock reaction tube
2. place the tube always in the same manner into the centrifuge (lid of the tube), so that even when no pellet will be visible, it will be clear where the cells/pellet will be



3. centrifuge 5 minutes at 400 x g
4. transfer the supernatant (contains the bacteria) carefully and completely to a new 1.5 ml safe-lock reaction tube. Aspirate from the opposite side of the pellet (contains the yeast).



5. Centrifuge the supernatant 5 minutes at 15500 x g
6. **resuspend** the pellets completely in **100 µL Washing Solution** (vortex or pipetting)
7. centrifuge 5 minutes at 15500 x g
8. discard carefully and completely the Washing Solution (**very important**)

Optional: if the pellets shows after the washing step strong red flavour, repeat the washing step once or twice (5.-7.)

9. add **100 µL Easy-Reagent Wine** (including Wine Solution)
10. resuspend completely (vortex) the pellets; **for bacteria**, proceed to step 13
11. **For yeast** add **3 µL (15 U) Lyticase** and mix carefully
12. incubate 15 min at 37 °C +/- 1°C (98,6 °F +/- 1,8 °F)
13. incubate 10 min at 95 °C +/- 1°C (203 °F +/- 1,8 °F)
14. centrifuge 5 min at 12000 x g
15. transfer the supernatant (contains DNA) to a new 1.5 mL safe-lock reaction tube
Attention: transfer no pellet
16. use 2.5 µL DNA-suspension for PCR