


## Isolierung von Hefe-DNA

(Liang, Q., and Richardson, T. (1992). BioTechniques 13, 730-732.)

- Eppendorf-Tube: mit ca. 0.2 g glass beads füllen (Sigma G-8772)
- 100 µl Lysis-buffer zugeben (2.5 M LiCl; 50 mM Tris-HCl pH8.0; 4% Triton X100, 62.5 mM EDTA)
- Hefe-Kolonie (nicht direkt von der Trafo-Platte, 2-3 mm groß) darin suspendieren
- 100 µl Phenol/Chloroform 1:1 zugeben
- Vortexen: 2 min full speed
- Zentrifugieren: 14000 rpm 2 min
- Überstand mit 80 µl Isopropanol fällen
- Zentrifugieren: 30 min 14000 rpm 4°C
- Pellet mit 100 µl 70% EtOH (4°C) waschen
- Zentrifugieren: 4 min 14000 rpm 4°C
- Pellet 5 min bei R.T. trocknen
- Aufnehmen in 10 µl 0.1x TE (weniger Salze als 1x TE - besser für Elektro-Trafo)

## PCR aus Hefe-DNA

A.dest.	33.5 µl
10x Puffer (Biolab)	5 µl
25 mM MgCl <sub>2</sub>	6 µl (final conc.: 3 mM)
Primer 1	0.5 µl (50 ng; pGAD-for.-Primer für Library)
Primer 2	0.5 µl (50 ng; pGAD-rev.-Primer für Library)
Hefe-DNA	3 µl (Präp. w.o.)
dNTP's (20 mM)	1 µl
Taq (Biolab)	0.5 µl (2 units)

am Trioblock: 0:	94°C 1min	
1:	52°C 1 min	
2:	72°C 1 min	
3:	72°C 5 min	
4:	4°C -	