

Taq'Ozyme Purple Mix (avec supplément $MgCl_2$) 200 réactions

RÉFÉRENCE : OZYA003-200

VOLUME : Taq'Ozyme Purple Mix : 5 x 1 ml
 $MgCl_2$ (25 mM) : 1 ml

STOCKAGE : -20°C ou +4°C

DURÉE DE VIE : à réception un an à -20°C ou 3 mois à +4°C

DESCRIPTIF :

Taq'Ozyme Purple Mix est un mélange 2X prêt à l'emploi. Il facilite l'utilisation et diminue les erreurs de pipettage. Le dépôt des produits de PCR sur gel est direct. Deux colorants inertes, un rouge et un bleu sont ajoutés au mélange permettant un contrôle visuel de la distribution et le suivi de la migration en gel. Ces colorants n'interfèrent pas avec les applications en aval. Une solution de $MgCl_2$ à 25 mM est fournie séparément permettant les optimisations.

Migration des colorants en agarose	Gel 0,5-1,5%	Gel 2-3%
Marqueur Bleu	4-10 Kb	200-750 pb
Marqueur Rouge	1-2 Kb	125-200 pb

DÉFINITION DE L'UNITÉ :

Une unité est définie comme la quantité d'enzyme qui incorpore 10 nmoles de dNTPs dans un fragment d'ADN en 30 min à 74°C.

PROTOCOLE STANDARD :

Ce protocole est adapté pour une réaction de 50 μ l à partir de matrices purifiées. Les amorces ont préférentiellement une température de fusion (T_m) proche de 60°C. C'est un point de départ pour les optimisations (voir "Optimisations" dans le Manuel d'Utilisation en ligne).

Après décongélation complète de chaque réactif, bien homogénéiser à l'aide d'un vortex puis centrifuger brièvement tous les réactifs avant leur utilisation.

1. Les réactifs sont mélangés dans un micro-tube stérile, dans l'ordre suivant :

Réactif	Volume	Conc. finale
Taq'Ozyme Purple Mix	25 μ l	1X
Amorce sens (ex : 20 μ M)	0,5 μ l	0,2 μ M
Amorce anti-sens (ex : 20 μ M)	0,5 μ l	0,2 μ M
Matrice d'ADN	Plasmide : 10 ng ADNg : 200 ng ADNc non dilué [§] : < 5 μ l	< 500 ng/50 μ l
Eau stérile redistillée	q.s.p* 50 μ l	-
Volume final	50 μ l	

q.s.p* : quantité suffisante pour

§ : aliquot d'un mélange réactionnel de transcription inverse

2. Le mélange réactionnel est vortexé doucement puis centrifugé brièvement pour rassembler l'échantillon au fond du tube.

3. Programmation du thermocycleur :

Etape	Température	Temps	Cycles
Dénaturation initiale	95°C	2 min	1
Dénaturation	95°C	30 sec	25-35
Hybridation	55°C*	30 sec	
Elongation	72°C	1 min [§]	
Extension finale	72°C	5 min	1
Stockage (option)	4°C	variable	1

* : ou $T_m - 5^\circ C$ sur le T_m le plus bas des deux amorces si le T_m des amorces est différent de 60°C

§ : 1 min/Kb pour les amplicons > 1 Kb

TABLEAU D'OPTIMISATION DE MgCl₂ (OPTIONNELLE) :

L'optimisation de la concentration en MgCl₂ peut être nécessaire pour certaines amorces. Le volume de MgCl₂ (25 mM) à ajouter est indiqué ci dessous :

Concentration finale en MgCl ₂	Volume de MgCl ₂ (25 mM) à ajouter dans 50 µl
1,5 mM	-
2,0 mM	1 µl
2,5 mM	2 µl

PRÉCAUTIONS :

Conserver le mélange réactionnel sur la glace jusqu'au démarrage des cycles de PCR. **Eviter les congélations/décongélations répétées.** Taq'Ozyme Purple Mix n'est pas adapté pour des amplicons de plus 3 kb (4 kb en plasmide) ou contenant plus de 60% de GC. Si besoin voir la section "Produits associés".

COMPOSANTS :

5 x 1 ml Taq'Ozyme Purple Mix 2X
1 ml MgCl₂ (25 mM)

COMPOSITION 1X :

KCl 10 mM ; Tris HCl 20 mM, pH 9,0 ; (NH₄)₂SO₄ 16 mM ; Triton X-100 0,1% ; MgCl₂ 1,5 mM ; dNTPs 200 µM ; ADN polymérase Taq 2,5 unités (dans 25 µl de Mix) ; traces de colorants rouge et bleu ; stabilisateurs d'enzymes et amplificateurs de PCR.

SOLUTION DE MgCl₂ : 25 mM

MANUEL D'UTILISATION :

www.ozyme.fr/proto-taqpurple



PRODUITS ASSOCIÉS :

Taq'Ozyme - OZYA001-1000
Taq'Ozyme HS - OZYA002-250
EmeraldAmp® MAX PCR Master Mix (PCR > 5 Kb, séquences GC riches) - TAKRR320A
ExactLadder® DNA PreMix 100 bp Plus - OZYC001-100
ExactLadder® DNA PreMix 2 log - OZYC002-100
dNTP PreMix - 4 x 10 mM - OZYD001-500

POUR COMMANDER :

www.ozyme.fr

OZYME

Parc d'Activités du Pas du lac
10, Avenue Ampère
78 180 Montigny-Le-Bretonneux
France

Email : commande@ozyme.fr

Tél : +33 (0) 1 34 60 15 16

Fax : +33 (0) 1 34 60 92 12

NUMERO DE FICHE TECHNIQUE :

OZYA003-200-0713

**PRODUIT A USAGE DE RECHERCHE
UNIQUEMENT**