



OZYME

Des femmes et des hommes
au service de vos recherches

+33 (0)1 34 60 24 24 - info@ozyme.fr
www.ozyme.fr

OZYME

Des femmes et des hommes
au service de vos recherches

MANUEL D'UTILISATION :

En ligne sur la fiche produit OZYA001-5000

POUR COMMANDER :

www.ozyme.fr

OZYME
6 bd Georges Marie Guynemer
ZAC Charles Renard - Bât. G
78210 SAINT-CYR-L'ÉCOLE
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 :

OZYA001-5000-122021

PRODUIT A USAGE DE RECHERCHE UNIQUEMENT

Taq'Ozyme - 5 000 unités

RÉFÉRENCE : OZYA001-5000

CONCENTRATION : 5 unités/µl

VOLUME : 5 x 200 µl

STOCKAGE : -20°C

DURÉE DE VIE : deux ans à réception dans les conditions recommandées

DESCRIPTIF :

la **Taq'Ozyme** est une **Taq** ADN Polymérase thermostable utilisable pour des applications de PCR standard. Un tampon de réaction et une solution de MgCl₂ séparée sont inclus pour faciliter les optimisations.

DÉFINITION DE L'UNITÉ :

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

PROTOCOLE STANDARD :

Ce protocole est adapté pour une réaction de 50 µl 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 (section "Optimisations" dans le Manuel d'Utilisation en ligne).

PROCOLE STANDARD (suite) :

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	Concentration finale
Eau stérile redistillée	q.s.p* 50 µl	-
Tampon de réaction 10X	5 µl	1X
MgCl ₂ 25 mM	3 µl	1,5 mM
dNTP (mélange 10 mM de chaque)	1 µl	200 µM chacun
Amorce sens (ex : 20 µM)	0,5 µl	0,2 µM
Amorce anti-sens (ex : 20 µM)	0,5 µl	0,2 µM
Taq'Ozyme (5 u/µl)	0,5 µl	2,5 unités /50 µl
Matrice d'ADN	Plasmide : 10 ng ADNg : 200 ng ADNc non dilués : < 5µl	< 500 ng /50 µl
Volume final	50 µl	-

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	Nombre de 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 (optionnel)	4°C	variable	1

* : ou Tm-5°C sur le Tm le plus bas des deux amorces, si le Tm des amorces est différent de 60°C
§ : 1 min/Kb pour les amplicons >1 Kb

PRÉCAUTIONS :

Conserver le mélange réactionnel sur la glace jusqu'au démarrage des cycles de PCR. Eviter les congélations/décongélation répétées. La Taq'Ozyme n'est pas adaptée pour des amplicons de plus de 4 Kb (6 Kb en plasmide) ou contenant plus de 60% de GC.

COMPOSANTS :

5 x 200 µl Taq'Ozyme
10 x 1 ml tampon de réaction 10X
10 x 1 ml MgCl₂ 25 mM

TAMPON DE STOCKAGE (Taq'Ozyme) :

Tris-HCl 50 mM, pH 8,0 ; NaCl 100 mM ; EDTA 0,1 mM ; DTT 1 mM ; glycérol 50% ; Nonidet P-40 0,5% ; Triton X-100 0,5%

TAMPON DE RÉACTION 10X (sans Mg²⁺, optimisé pour 200 µM de dNTP) :

Tris-HCl 100 mM, pH 9,0 ; KCl 100 mM ; (NH₄)₂SO₄ 80 mM ; Triton X-100 1%