



CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA FITOSANITARIA
LABORATORIO DE VIROLOGÍA

Fecha _____

Folio _____

No. De Dictamen _____

Patogeno	Iniciador	pb
SCV	SCV deta	345
	SCV detb	

Nombre del Programa: _____

Termociclador utilizado:

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Cabezal :

A	B
---	---

Técnica de RT-PCR (Dos pasos)

Reactivos	Concentración Inicial	Concentración final	Volumen (µL) 1 reacción	Volumen (µL) Mix
RNA	50-100 ng/ul	--	5	--
Agua ° PCR			6.5	
SCV detb	10 µM	0.25 µM	0.5	
Volumen subtotal			12	

Buffer de 5x	5 X	1.0 X	4	
dNTP´s	10 mM	0.5 mM	1	
DTT	100 mM	10 mM	2	
M-MLV	200 U/µL	100 U/rnx	1	
Volumen subtotal			8	
Volumen final RT			20	

Buffer de PCR	10 X	1X	2.5	
MgCl2	50 mM	1.5mM	0.75	
dNTP´s	10 mM	0.2 mM	0.5	
SVBV deta	10 µM	0.4 µM	1	
SVBV detb	10 µM	0.4 µM	1	
Taq polimerasa	5 U/µL	1.25 U/rnx	0.25	
cDNA	--	--	2.5	
Agua ° PCR			16.5	
Volumen final			25	

No. De Reacciones _____

Temperatura	Tiempo	Ciclo
70 °C	10 '	1

Temperatura	Tiempo	Ciclo
37 °C	10 '	1

Temperatura	Tiempo	Ciclo
42 °C	50 '	1
70 °C	10 '	1

Temperatura	Tiempo	Ciclo
94 °C	2 '	1
94 °C	1 '	35
58 °C	40 s	
72 °C	40 s	
72 °C	5 '	1

Anotaciones

Secuencias de oligos

SCVdeta CATTGGTGGCAGACCCATCA
SCVdetb TTCAGGACCTATTTGATGACA

Referencia

Thompson, J. R., Wetzel, S., Klerks, M.M., Vaskova, D., Schoen, C.D., Spak, J. y Jelkmann, W. 2003. Multiplex RT-PCR detection of four aphid-borne strawberry viruses in *Fragaria* spp. in combination with a plant mRNA specific internal control. *Journal of Virological Methods* 111 : 85-93

Observaciones _____

Rubrica del técnico _____