

CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA FITOSANITARIA
 LABORATORIO DE VIROLOGÍA

Fecha _____

Folio _____

 No. De Dictamen _____

Patogeno	Iniciador	pb
SVBV	SVBV deta	422
	SVBV 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/µL	--	5	--
Agua ° PCR			6.5	
SVBV 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	2.0mM	0.8	
dNTP's	10 mM	0.4 mM	0.7	
SVBV deta	10 µM	0.5 µM	1	
SVBV detb	10 µM	0.5 µM	1	
Taq polimerasa	5 U/µL	1.25 U/ rnx	0.25	
cDNA (/µL)			2	---
Agua ° PCR			11.75	
Volumen final			20	

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
52 °C	40 s	
72 °C	40 s	
72 °C	5 '	1

Anotaciones
Secuencias de oligos

SVBVdetaf AGTAAGACTGTTGGTAATGCCA

SVBVdetb TTTCTCCATGTAGGCTTTGA

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 _____
