

Fecha _____

Folio _____

No. de ítem _____

Patógeno	Iniciador	pb
PVY N	PY13	315
	PY14	

Nombre del Programa: _____

Termociclador utilizado:

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

Cabezal :

A	B
---	---

Síntesis de cDNA

Reactivos	Concentración Inicial	Concentración final	Volumen 1x (µL)	Volumen Mix (µL)
Agua ° PCR	--	--	7.25	0
Buffer de PCR	10 X	1 X	2	0
MgCl2	50 mM	5 mM	2	0
dNTP's	10 mM	1 mM	2	0
Oligo d(T)	50 µM	2.5 µM	1	0
Inhibidor de RNA	40 U/µL	20 U/Rxn	0.5	0
RT M-MLV	200 U/µL	50 U/Rxn	0.25	0
RNA	100 ng/µL	25 ng/µL	5	--
Volumen final RT			20	

No. De Reacciones _____

Temperatura	Tiempo	Ciclo
42 °C	30 min	1
99 °C	5 min	1
5 °C	5 min	1

Amplificación por F

Reactivos	Concentración Inicial	Concentración final	Volumen 1x (µL)	Volumen Mix (µL)
Agua ° PCR	---	---	15.625	0
Buffer de PCR	10 X	1X	2.5	0
MgCl2	50 mM	2mM	0.75	0
dNTP's	10 mM	0.1 mM	0.125	0
PY13	10 µM	0.5 µM	1.25	0
PY14	10 µM	0.5 µM	1.25	0
Taq polimerasa	5 U/µL	2,5 U/Rxn	0.5	0
cDNA	---	---	3	--
Volumen final			25	

Temperatura	Tiempo	Ciclo
94 °C	4 min	1
94 °C	1 min	35
58 °C	1 min	
72 °C	1 min	
72 °C	5 min	1
12°C	∞	1

Anotaciones:

Secuencia de oligos

PY13 :TTCTAATCTGTGCTCTGGCAG

PY14 :CATTACGCTCTCATTAAAGGAGT

Referencia

Xu, H., Nie, J., and De Boer, S. H. (2005) Differentiation and molecular detection of Canadian necrotic strain of Potato virus Y. Canadian Journal Plant Pathology 27:125-131

Observaciones _____

Rúbrica del técnico _____