



CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA FITOSANITARIA  
LABORATORIO DE VIROLOGÍA

Fecha \_\_\_\_\_

Folio \_\_\_\_\_

No. De Dictamen \_\_\_\_\_

Patógeno	Iniciador	pb
PVYntn	A	443
	S6	

Nombre del Programa: \_\_\_\_\_

Termociclador utilizado: 

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

Cabezal : 

A	B
---	---

**RT-PCR en un paso**

Reactivos	Concentración Inicial	Concentración final	Volumen (µL) 1X	Volumen Mix (µL)
Agua ° PCR	---	---	9.625	
Buffer de PCR	10 X	1 X	2.5	
DTT	100 mM	10 mM	2.5	
MgCl2	50 mM	2.5 mM	1.25	
dNTP's	10 mM	0.25 mM	0.625	
A	10 µM	0.8 µM	2	
S6	10 µM	0.8 µM	2	
Inhibidor de RNA	40 U/µL	20 U/Rxn	0.5	
RT M-MLV	200 U/µL	100 U/Rxn	0.5	
Taq polimerasa	5 U/µL	2,5 U/Rxn	0.5	
RNA	100 ng/µL	12 ng/µL	3	---
<b>Volumen final</b>			<b>25</b>	

No. De Reacciones \_\_\_\_\_

Temperatura	Tiempo	Ciclo
42 °C	45 min	1
94 °C	5 min	1
94 °C	1 min	35
55 °C	1 min	
72 °C	1 min	
72 °C	10 min	1
12 °C	∞	1

**Anotaciones**

Secuencia de oligos

A :CATTGTGCCCAATTGCC

S6 :GGTGAAGCTAATCATGTCAAC

Referencia

Nie, X. And Sing, R. P. 2002. A new approach for the simultaneous differentiation of biological and geographical strain of Potato virus Y by uniplex and multiplex RT-PCR. Journal of virological methods. 104:41-54.

Observaciones \_\_\_\_\_

Rúbrica del técnico \_\_\_\_\_