



**CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA FITOSANITARIA
LABORATORIO DE VIROLOGÍA**

Fecha _____

Folio _____

No. De Dictamen _____

Patogeno	Iniciador	Secuencia	pb
18S	18S FOR	ACGGATCGCACGGCCTTCGTG	300
	18S REV	ACCAGACTTGCCCTCCAATGG	

No. De Reacciones 0

SÍNTESIS DE cDNA

Reactivos	Concentración Inicial	Concentración final	Volumen (µL) 1x	Volumen (µL) Mix
RNA	100-10 ng/µL	25-2.5 ng/µL	5	---
Agua ° PCR	--	--	7.75	
Buffer PCR	5 X	0.5 X	2	
MgCl2	50 mM	5.0 mM	2	
dNTP's	10 mM	1.0 mM	2	
Hexámeros	10 µM	0.25 µM	0.5	
Inhibidor de RNA	40 U/µL	20 U/Rxn	0.5	
RT M-MLV	200 U/µL	50 U/Rxn	0.25	
Volumen final RT			20	

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

REACCIÓN DE PCR

Reactivos	Concentración Inicial	Concentración final	Volumen 1x (µL)	Volumen Mix (µL)
Buffer de PCR	10 X	1 X	2.5	
MgCL2	50 mM	1.5 mM	0.75	
dNTP's	10 mM	0.2 mM	0.5	
18S Fw	10 µM	0.4 µM	1	
18S Rv	10 µM	0.4 µM	1	
Taq polimerasa	5 U/µL	1 U/Rxn	0.25	
cDNA	--	--	1	---
Agua ° PCR	--	--	18	
Volumen final			25	

Temperatura	Tiempo	Ciclo
94 °C	90 s	1
94 °C	40 s	30
55 °C	40 s	
72 °C	1 min	1
72 °C	3 min	

Referencia

Zamboni, A., Pierantoni L. y De Franceschi, P. (2008).

Observaciones _____

Rúbrica del técnico _____

Rúbrica de supervisión _____