

Protocolo de PCR para la detección del gen *mcr-1* en aislamientos de bacilos gram-negativos

Nombre primer	Gen	Secuencia 5'--3'
CLR5-F	mcr-1	CGGTCAGTCCGTTTGTTTC
CLR5-R		CTTGGTCGGTCTGTAGGG

Tamaño amplicon	Ciclado
309 pb	Desnaturalización inicial = 94°C por 5min; Ciclado= 30-35 ciclos: 94°C 30seg -- 45° 30seg -- 72°C 30seg; Extension final = 72°C por 5min

Reacción de PCR --> Vol. final = 25ul	
Reactivo	Volumen
ADN	2,5 ul
Buffer 10X	2,5 ul
MgCl ₂ (50 mM)	0,75 ul
dNTP's (10 mM)	0,5 ul
Taq pol (5U/ul)	0,15 ul
Primer Forward (10 µM)	0,5 ul
Primer Reverse (10 µM)	0,5 ul
H ₂ O	17,6 ul
Vol. Final	25 ul

Referencia
Liu, YY. et al. Lancet Infect Dis 2015. Nov18 http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7