



## AmpC-plasmidico CMY/CIT

### Protocolo de PCR para la detección del gen *cmY/cit*

Nombre primer	Gen	Secuencia 5'--3'
CITMF	CMY-2 (*)	TGGCCAGAACTGACAGGCAAA
CITMR		TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC

Tamaño amplicon	Ciclado
462 pb	Desnaturalización inicial = 94°C por 5min; Ciclado =30-35 ciclos de:94°C 30seg -- 64° 30seg -- 72°C 30seg; Extensión final = 72°C por 5min

Reacción de PCR --> Vol. final = 25ul	
Reactivo	Volumen
ADN	2,5 ul
Buffer 10X	2,5 ul
MgCl <sub>2</sub> (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 <sub>2</sub> O	17,6 ul
<b>Vol. Final</b>	<b>25 ul</b>

Referencia
Pérez-PérezandHanson,(JCM40:2153-2162,2002)
(*) CMY-2 es la variante más común. Los primers amplifican también los siguientes genes y variantes: LAT-1/4;CMY-2/7,BIL-1