

## Protocolo de PCR para la detección del gen *optrA*

Nombre primer	Gen	Secuencia 5'--3'
optrA-F	optrA	AGGTGGTCAGCGAACTAA
optrA-R		ATCAACTGTTCCCATTCA

Tamaño amplicon	Ciclado
1395 pb	Desnaturalización inicial = 94°C por 5min; Ciclado =30-35 ciclos de:94°C 30seg -- 46° 30seg -- 72°C 90seg; Extensión final = 72°C por 10min

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
Wang Y, et al. JAC, Vol.70:2182–2190, 2015. <a href="https://doi.org/10.1093/jac/dkv116">https://doi.org/10.1093/jac/dkv116</a>
<b>Control positivo: M8653</b> Confiere resistencia a linezolid (oxazolidinonas) y fenicoles