EXTRACCION DE RNA TOTAL USANDO TRIZOL

1. Moler muestra en Nitrógeno liquido
2. Agregar 1mL de Trizol por cada 200mg de micelio molido (1 mL de trizol=1 volumen)
3. Vortex medio por 10 min
4. Centrifugar 12,000 rpm/10 min
5. Recuperar el sobrenadante
6. Agregar 0.2 vol de cloroformo:isoamílico (24:1)
7. Vortex bajo 2 min
8. Temp. Ambiente 2-3 min
9. Centrifugar 12,000 rpm/ 15 min
10. Recuperar fase acuosa
11. Agregar 0.2 vol. De cloroformo
12. vortex bajo 2-3 min
13. centrifugar 12,000 rpm/15 min
14. recuperar fase acuosa
15. Agregar 0.25 vol isopropanol y 0.25 vol solucion salina concentrada (Citrato de sodio 0.8M y NaCl 1.2 M)
16. Mezclar por inversion e incubar a Temp. Ambiente por 10 min
17. Centrifugar 12,000 rpm/10 min
18. Decantar y lavar la pastilla con 1 vol de etanol 70% (en DEPC)
19. Vortex bajo 30 seg
20. Centrifugar 7,500 rpm/ 5 min
21. decantar y lavar con 1 vol de etanol 75% (en DEPC)
22. Vortex bajo 30 seg
23. centrifugar 7,500 rpm/5 min
24. Decantar y secar la pastilla a Temp. Ambiente
25. Resuspender en H2O DEPC (Puede calentarse a 55o C/ 10 min)