

## Total RNA extraction

QIAGEN RNeasy Mini Kit (11/6/2003 Y.Yagi)

Frozen sample (～100  $\mu$  L 以下)

150  $\mu$  L RLT を加え、homogenize with motor pestle,  
450  $\mu$  L RLT を加えチューブを振ってよく混ぜる

遠心 3min 12,000rpm

上清を new tube に移す。

+600  $\mu$  L 70% Et-OH. Mix w/ pipet.

カラムにのせる (700  $\mu$  L ずつ 2 回に分けて行う).

遠心 15sec 10,000rpm

flow through を捨てる

+700  $\mu$  L RW1

遠心 15sec 10,000rpm

チューブを換える

+500  $\mu$  L RPE

遠心 15sec 10,000rpm

flow through を捨てる

遠心 1min. 10,000rpm

チューブを collection tube に変える

溶出: 30  $\mu$  L RNase free water x2 times

Measure OD (濃度を測って次の実験に用いる)