

<SA- β -gal staining>

1. Preparation

- i) Fix solution (2% formaldehyde + 0.2% glutaraldehyde in PBS)
X-Gal solution (25 mg/ml of X-Gal in DMF)

- ii) Staining solution

5 mM potassium ferricyanide($K_3[Fe(CN)_6]$)

5 mM potassium ferrocyanide($K_4[Fe(CN)_6]$)

2 mM $MgCl_2$

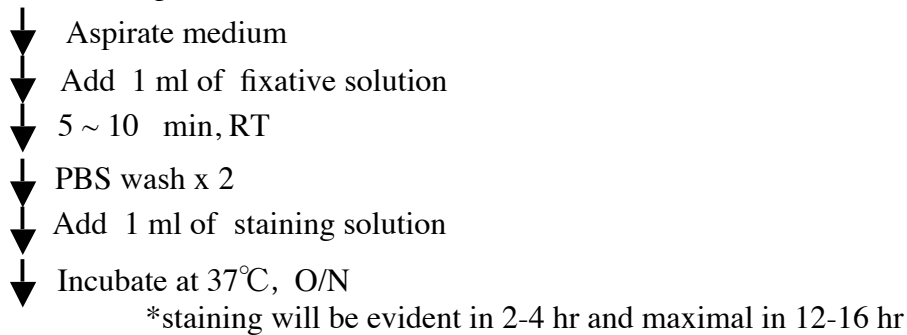
in citric acid/sodium phosphate buffer solution pH6.0 (#)

before staining samples, add X-Gal solution to 0.5 mg/ml (1/50 dilution)

- iii) Preservation solution (10% formaldehyde + 5 mM EDTA in PBS)

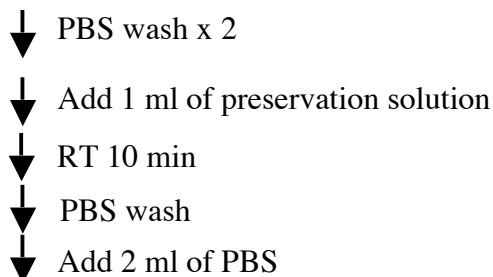
2. Procedure

Cells in 6 well plate



Microscope (It is easy to observe without phase contrast)

To preserve samples



Preserve at 4°C

To prepare citric acid/sodium phosphate buffer solution, mix 0.1M citric acid and 0.2M disodium hydrogenphosphate solution, following table.

pH6.0 is important in this assay!

クエン酸 - リン酸緩衝液 (pH 2.6~7.0)

- ① 0.1 M クエン酸 : 19.21 g/L (M.W. 192.1)
 ② 0.2 M リン酸水素二ナトリウム : 35.6 g/L

準備試薬 (二水和物 M.W. 178.0)

あるいは53.6 g/L

(七水和物 M.W. 268.0)

調製方法

- ① クエン酸とリン酸水素二ナトリウム溶液を下に示した割合で混合する。
 ② 最終容積を脱イオン水で100 mLに合わせる。

クエン酸 (mL)	44.6	39.8	35.9	32.3	29.4	26.7	24.3	22.2	19.7	16.9	13.6	6.5
リン酸水素二ナトリウム (mL)	5.4	10.2	14.1	17.7	20.6	23.3	25.7	27.8	30.3	33.1	36.4	43.6
pH	2.6	3.0	3.4	3.8	4.2	4.6	5.0	5.4	5.8	6.2	6.6	7.0