

**20X SSC Buffer, pH 7.0
(20X Saline-Sodium Citrate Buffer)**

Contains 3 M sodium chloride
0.3 M sodium citrate
DNase, RNase and protease-none detected

Catalog Number **ML 012-01**
Storage Temperature 15~30°C

제품설명

SSC (Saline-Sodium Citrate) buffer는 핵산을 membrane 등의 고정체에 부착, 고정하여 원하는 핵산의 유무를 확인하거나 핵산의 반응유무를 확인하는 다음의 실험들에 사용되는 완충용액이다; (1) Southern hybridization, (2) Northern hybridization, (3) Transfer and fixation of denatured RNA to uncharged nylon membranes at neutral pH, (4) Dot and slot hybridization of purified RNA, 그리고 (5) Blocking agents for southern and northern hybridization. 20X SSC buffer는 높은 농도의 salt를 제공해주는데 이는 핵산이 membrane에 binding할 때 고농도의 salt를 필요로 하기 때문이다.

ML 012-01 에는 175.3 g의 sodium chloride와 88.2 g의 sodium citrate가 1 L의 초순수 물 (**ML 019-02**)에 녹여져 있다. 이 용액은 20X로 농축된 SSC buffer이므로 용도에 따라서 초순수 물 (**ML 019-02**)에 10X, 6X, 2X, 또는 0.1X 등으로 희석하여 사용한다.

보관 및 안정성

20X SSC buffer는 15~30°C에서 보관하여야 한다. 액상 시약의 변성은 (1) 침전물 또는 부유물, (2) 용액의 탁해짐, (3) 색의 변화, 그리고 (4) pH의 변화 등으로 나타날 수 있다. 유효기간은 제품 라벨에 표시되어 있다.

주의

For *In Vitro* Use Only

Components	ML 012-01
Sodium chloride	175.3 g/L (3.0 M)
Sodium citrate	88.2 g/L (0.3 M)

Product Profile	
Appearance	Clear colorless solution
pH at RT	6.7 ~ 7.3
DNase, RNase, and Proteinase	None Detected
Suitability	Suitable for use in nucleic acid hybridization Sterilized by autoclaving (121°C, 20 min) and 0.2 µm filtration system. Sterility tests are performed in accordance with protocols described in USP.
Sterility	

Hybridization

Hybridization이란 한 가닥으로 된 핵산이 이와 상보적인 염기서열을 가지는 다른 한 가닥의 핵산과 만나 이중 나선을 형성하는 현상으로 DNA-DNA 결합을 이용하는 것을 Southern hybridization이라 하고 RNA-DNA 또는 RNA-RNA 결합을 이용하는 것을 Northern hybridization이라 한다.

Southern Hybridization

1975년 Southern에 의해 DNA 조각을 전기영동하여 분리한 후 nitrocellulose membrane에 옮겨서 특정 DNA 조각을 확인하는 기법이 개발되었다. 이 방법을 요약하면 다음과 같다. (1) 원하는 DNA (genomic DNA 또는 plasmid DNA) 를 restriction enzyme으로 자르고 전기영동하여 DNA 조각을 분획한다. (2) Alkali를 처리하여 2중 가닥을 단일 가닥으로 denaturation한다. (3) nitrocellulose 또는 nylon membrane으로 DNA를 옮긴다. (4) baking 또는 UV radiation으로 DNA를 membrane에 고정시킨다. (5) radiolabeled 또는 fluorescencelabeled 된 probe를 hybridization시킨다. (6) 적절한 방법으로 원하는 DNA 조각에 결합된 probe를 확인한다.

Northern Hybridization

Southern hybridization과 원리는 유사하지만 DNA와 RNA의 특성이 다른 점을 고려하여 그 방법은 약간의 차이가 있다. 이 방법을 요약하면 다음과 같다. (1) 원하는 RNA를 전기영동하여 RNA 조각을 분획한다. (RNA는 원래가 단일 가닥이므로 이 성질을 유지할 수 있도록 formaldehyde나 glyoxal/DMSO 등의 denaturing agent를 처리하여 전기영동 한다). (2) nitrocellulose 또는 nylon membrane으로 DNA를 옮긴다. (3) baking 또는 UV radiation으로 DNA를 membrane에 고정시킨다. (4) radiolabeled 또는 fluorescence-labeled 된 probe를 hybridization시킨다. (5) 적절한 방법으로 원하는 DNA 조각에 결합된 probe를 확인한다.

Blocking agents for nucleic acid hybridization

Blocking agents란 membrane 표면에 DNA가 없는 부분에도 probe가 binding하여 선명한 결과를 얻지 못하게 되는 것을 방지하기 위해 처리하는 것으로 아래의 Denhardt's reagent 와 BLOTTO (bovine lacto transfer technique optimizer)가 주로 사용되고 있다.

50X Denhardt' s Reagent

1% (w/v) Ficoll 400
1% (w/v) polyvinylpyrrolidone
1% (w/v) bovine serum albumin (fraction V)

1X BLOTTO

5% (w/v) nonfat dried milk
0.02% sodium azide

사용방법 (1)

6X SSC (or SSPE)
5X Denhardt' s Reagent
1% SDS

100 mg/ml denatured, sheared salmon sperm DNA

사용방법 (2)

6X SSC (or SSPE)
0.05~0.1X BLOTTO

참고문헌

Sambrook, J., et. al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed. 2001. A.1. Cold Spring Harbor Laboratory.
Southern, E. M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.* 98:503-517.