infoPoint

Biologische Puffer

Anwendung

Viele biochemische Prozesse werden schon durch schon durch minimale Änderung der freien H^+-Ionen-Konzentration deutlich beeinträchtigt. Daher ist es in der Regel notwendig, die H^+-Konzentration in vitro durch Zugabe eines geeigneten Puffers zum Medium zu stabilisieren, ohne jedoch die Funktion des untersuchten Systems zu beeinträchtigen.

Ein Puffer hält den pH-Wert einer Lösung konstant, indem er Protonen aufnimmt, die bei Reaktionen freigesetzt werden, oder indem er Protonen abgibt, wenn sie bei Reaktionen verbraucht werden.

In dieser Broschüre sind die am häufigsten verwendeten Puffersubstanzen und ihre jeweiligen physikalischen und chemischen Eigenschaften zusammengefasst.

Schlüsselwörter

- Eigenschaften des Puffers
- Wirksamer pH-Bereich
- Vorbereitung von Pufferlösungen
- Gängige Pufferlösungen

Praktische Tipps - Vorbereitung von Pufferlösungen

Empfehlungen für die Einstellung des pH-Wertes eines Puffers und der Lagerbedingungen

Temperatur

Je nach Puffersubstanz kann der pH-Wert in Abhängigkeit von der Temperatur variieren. Es ist daher ratsam, den pH-Wert so weit wie möglich auf die für die Untersuchung verwendete Arbeitstemperatur einzustellen.
So liegt beispielsweise der physiologische pH-Wert für die meisten Säugetierzellen bei 37°C zwischen 7,0 und 7,5.
Die Temperaturabhängigkeit eines Puffersystems wird als d(pKa)/dT ausgedrückt, was die Änderung des pK_a bei einer Temperaturerhöhung um 1°C beschreibt.

Titration

1. Im Allgemeinen wird der pH-Wert mit NaOH/KOH oder HCl eingestellt. Durch langsame Zugabe einer starken Säure oder Base unter kräftigem Rühren werden lokal hohe Konzentrationen von H^+- oder OH^--Ionen vermieden. Geschieht dies nicht, können die Puffersubstanzen chemische Veränderungen erfahren, die sie inaktivieren oder so verändern, dass sie eine hemmende Wirkung haben (Ellis & Morrison 1982).
2. Unter Rühren löst sich CO_2 in der Lösung. Rühren Sie Lösungen vorsichtig um, um den pH-Wert genau zu messen.
3. Liegt ein Puffer in protonierter Form (Säure) und in nicht-protonierter Form (Base) vor, kann der pH-Wert auch durch Mischen der beiden Substanzen eingestellt werden.
4. Die Einstellung der Ionenstärke einer Pufferlösung (falls erforderlich) sollte in gleicher Weise wie die Einstellung des pH-Wertes bei der Auswahl des Elektrolyten erfolgen, da sich dieser je nach verwendetem Elektrolyten erhöht.
5. Werden dem Puffer andere Komponenten zugesetzt (z. B. EDTA, DTT, Mg^{2+}, ß-Mercaptoethanol), so sind auch Änderungen des pH-Werts zu berücksichtigen und der pH-Wert sollte erneut getestet werden.
6. In Gegenwart von zweiwertigen Metallionen können Karbonat- oder Phosphatpuffer Präzipitate bilden.

Wie kann eine mikrobielle Kontamination von Pufferlösungen verhindert werden?

1. Lösungen durch Filtration über eine 0,22 µm-Filtereinheit oder durch Autoklavieren sterilisieren.
2. Zugabe von 0,02% (3 mM) Natriumazid.
3. Lagerung bei +4°C.
4. Bereiten Sie hochkonzentrierte Stammlösungen vor.

PanReac AppliChem
ITW Reagents

Biologische Puffer

Produkt-Nummer	Produktname	CAS-Nummer	Packungsgrößen	Puffersubstanz (Kurzbezeichnung)	Name der Puffersubstanz
A1060	ACES für Pufferlösungen	7365-82-4	1 kg, 10 kg	ACES	N-(2-Acetamido)-2-aminoethansulfonsäure
A0838	2-Amino-2-methyl-1-propanol für Pufferlösungen	124-68-5	4 kg	AMP	2-Amino-2-methyl-1-propanol
A1025	Bis-Tris für Pufferlösungen	6976-37-0	250 g, 500 g, 1 kg	BIS-Tris	[Bis-(2-hydroxyethyl)-imino]-tris-(Hydroxymethylmethan)
131015	Borsäure zur Analyse, ACS, ISO	10043-35-3	500 g, 1 kg, 5 kg	Borsäure	
A1067	Glycin für die Molekularbiologie	56-40-6	1 kg, 5 kg	Glycin	
A1069	HEPES für Pufferlösungen	7365-45-9	100 g, 500 g, 1kg, 5 kg	HEPES	N-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-N'-ethansulfonsäure
A3724	HEPES für die Molekularbiologie		250 g, 500 g, 1 kg		
A1072	HEPPSO für Pufferlösungen	68399-78-0	100 g	HEPPSO	N-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-N'-2-Hydroxypropansulfonsäure
A1074	MES - Monohydrat für Pufferlösungen	145224-94-8	250 g, 1 kg	MES	2-(N-Morpholino)-Ethansulfonsäure
A1076	MOPS für Pufferlösungen	1132-61-2	250 g, 1 kg, 5 kg	MOPS	3-(N-Morpholino)-propansulfonsäure
A2947	MOPS für die Molekularbiologie		500 g, 1 kg		
A1079	PIPES für Pufferlösungen	5625-37-6	500 g	PIPES	Piperazin-N,N'-bis(2-Ethansulfonsäure)
A1084	TES für Pufferlösungen	7365-44-8	1 kg	TES	2-[Tris(hydroxymethyl)-methylamino]-Ethansulfonsäure
A1085	Tricin BioChemica	5704-04-1	250 g, 1 kg, 5 kg	Tricin	N-[Tris(hydroxymethyl)-methyl]-glycin
A1379	Tris für Pufferlösungen	77-86-1	1 kg, 5 kg	Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
A1086	Tris zur Analyse, ACS, ultrapure		1 kg, 5 kg, 10 kg		
A2264	Tris für die Molekularbiologie		500 g, 1 kg, 5 kg		

Biologische Puffer

PanReac AppliChem ITW Reagents

pKa (25°C, 100 mM)	Wirksam pH-Bereich	Autokla-vierbar	Temperatur Abhängigkeit [d(pKa)/dT]	Kompatibilität mit Protein-Assays (Konzentrationsgrenzen)			Kommentare, Auswirkungen in verschiedenen Versuchen
				BCA	Lowry	Bradford	
6.78	6.1 - 7.5	+	-0.020		+		Signifikante Absorption von UV-Licht bei 230 nm; bindet Cu^{2+}
9.69	8.7 - 10.4	n.a.	-0.032				
6.46	5.8 - 7.2	+	-0.017	+			Ersatz für Cacodylat. Kann autoklaviert oder mit DEPC behandelt werden
9.23 (pK_1), 12.74 (pK_2), 13.80 (pK_3)	8.5 - 10.2	+	-0.008 (pK_1)	(10 mM)			Bildet kovalente Komplexe mit Mono- und Oligosacchariden, Ribose Untereinheiten von Nukleinsäuren, Pyridin-Nukleotiden, Glycerin
2.35 (pK_1), 9.78 (p K_2)	2.2 - 3.6, 8.8 - 10.6	+	-0.0025 (pK_2)	(1 M)	(2.5 mM)	(0.1 M)	Stört den Bradford-Protein-Assay
7.48	6.8 - 8.2	+*	-0.014	–	+		Kann Radikale bilden, nicht geeignet für Redox-Studien
7.85	7.1 - 8.5	n.a.	-0.010	–	+		Kann Radikale bilden, nicht geeignet für Redox-Studien
6.10	5.5 - 6.7	+	-0.011	–	+		Ersatz für Kakodylat
7.14	6.5 - 7.9	+*	-0.011	–	+		Teilweise abgebaut beim Autoklavieren in Gegenwart von Glukose; vernachlässigbare Metallionenbindung. Kann autoklaviert werden (Farbveränderung hat keinen Einfluss auf die Pufferkapazität)
6.76	6.1 - 7.5	+	-0.0085	–	+		Kann Radikale bilden, nicht für Redoxstudien geeignet. Kann mit DEPC behandelt werden
7.40	6.8 - 8.2	+	-0.020	–	+		Bindet Cu^{2+}
8.05	7.4 - 8.8	+	-0.021	+	+		Bindet stark Cu^{2+}; die Zugabe von Cu^{2+} im Lowry-Assay ermöglicht die Verwendung; wird durch Flavine photooxidiert; Ersatz für Barbital (Veronal)
8.06	7.5 - 9.0	+	-0.028	(0.1 M)	(250 mM)	(2 M)	hohe Temperaturempfindlichkeit; pH-Wert sinkt bei jeder 10-fachen Verdünnung um 0,1 Einheiten; inaktiviert DEPC, kann mit Aldehyden/Ketonen Schiff'sche Basen bilden, da es ein primäres Amin ist; ist an einigen enzymatischen Reaktionen beteiligt (z. B. alkalische Phosphatase); toxisch für viele Zellen, da es aufgrund seiner relativ guten Fettlöslichkeit in Zellen eindringt

*Bei HEPES, Imidazol, MOPS, TEA und anderen wird die Filtration dem Autoklavieren vorgezogen.

Biologische Puffer

IP-022DE;202404

Rezepturen für häufig verwendete Pufferlösungen und -bestände

Zur Herstellung von 1 Liter Pufferlösung die Bestandteile in ca. 800 mL entionisiertem Wasser auflösen, den pH-Wert einstellen, entionisiertes Wasser auf 1000 mL Endvolumen auffüllen und ggf. sterilisieren.

HeBS-Transfektionspuffer (2X)

HEPES	11.9 g/L	(0.050 M)
Na_2HPO_4	0.21 g/L	(1.5 mM)
NaCl	16.4 g/L	(0.280 M)

Genau (!) pH 7,1 mit NaOH einstellen; filtern und sterilisieren; Aliquots bei –20°C lagern

MOPS-Puffer (1X)

MOPS	41.85 g/L	(0.2 M)
Na-Acetat	41.02 g/L	(0.5 M)
EDTA-Na_2·$2H_2O$	3.72 g/L	(0.01 M)

pH-Wert 7,0 einstellen; filtern, nicht autoklavieren; MOPS-Lösungen färben sich beim Erhitzen dunkel; im Dunkeln lagern und verwerfen, wenn sie gelb werden

PBS Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (10X)

KH_2PO_4	2.4 g/L	(0.018 M)
Na_2HPO_4	14.4 g/L	(0.101 M)
NaCl	80 g/L	(1.369 M)
KCl	2 g/L	(0.027 M)

pH-Wert (20°C): 7,4; autoklavieren

SDS-Tris-Glycin-Puffer (10X) "Laemmli"-Puffer

Produktnummer A1415

Tris	30.29 g/L	(0.25 M)
Glycin	144.13 g/L	(1.92 M)
SDS	10 g/L	(1%)

pH ~8,3; pH-Wert nicht mit zusätzlichen Ionen einstellen; leichte Abweichungen können toleriert werden

SSC-Puffer (20X)

Produktnummer A1396

tri-Na-Zitrat ·$2H_2O$	88.23 g/L	(0.3 M)
NaCl	175.32 g/L	(3 M)

pH-Wert auf 7,0 einstellen; autoklavieren

TAE-Puffer (50X)

Produktnummer A4686

Tris	242.30 g/L	(2 M)
EDTA-Na_2·$2H_2O$	18.6 g/L	(0.05 M)
Essigsäure eisig	60.05 g/L	(1 M)

pH-Wert auf 8,5 einstellen

TBE-Puffer (10X)

Produktnummer A3945

Tris	107.81 g/L	(0.89 M)
Borsäure	55.03 g/L	(0.89 M)
EDTA-Na_2·$2H_2O$	7.44 g/L	(0.02 M)

pH-Wert auf 8,3 einstellen; autoklavieren

TBS-Puffer (1X, Tris gepufferte Kochsalzlösung) Rezeptur 1

Tris	3 g/L	(0.025 M)
KCl	0.2 g/L	(2.68 mM)
NaCl	8 g/L	(0.137 M)
Phenolrot (Optionaler pH-Indikator)	0.015 g/L	

pH-Wert auf 7,4 einstellen; filtern, sterilisieren oder autoklavieren

TBS-Puffer (1X, Tris gepufferte Kochsalzlösung) Rezeptur 2

Tris-Cl	15.76 g/L	(0.1 M)
NaCl	8.77 g/L	(0.15 M)

pH-Wert auf 7,5 einstellen; autoklavieren

TE-Puffer (100X)

Tris	121.14 g/L	(1 M)
EDTA-Na_2·$2H_2O$	37.22 g/L	(0.1 M)

pH-Wert auf 8,0 einstellen; üblicherweise werden auch pH-Werte von 7,0, 7,4, 7,5 oder 7,6 verwendet; autoklavieren

Referenzen:

1. Ellis, K.J. & Morrison, J.F. (1982) Methods in Enzymol. 87, 405-426. Buffers of constant ionic strength for studying pH-dependent processes.
2. Good, N. E. & Izawa, S. (1972) Methods in Enzymol. 24, 53-68. Hydrogen Ion Buffers.
3. Laemmli, U.K. (1970) Nature 227, 680-685. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.
4. Ausubel, F.A., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. & Struhl, K. (eds.) (200 1) Current Protocols in Molecular Biology, page A.2.5. (Suppl. 40) Greene Publishing & Wiley-Interscience, New York.
5. Sambrook, J. & Russel, D.W. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2rd Edition, page A1.17. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

AppliChem GmbH
Ottoweg 4
D-64291 Darmstadt
Germany
Phone +49 6151 9357 0
Fax +49 6151 9357 11
info.de@itwreagents.com

ITW Reagents, S.R.L.
Corso Milano 31
I-20900 Monza (MB)
Italy
Phone +39 039 9530 360
Fax +39 039 9530 361
info.it@itwreagents.com

Panreac Química S.L.U.
C/ Garraf 2, Polígono Pla de la Bruguera
E-08211 Castellar del Vallès (Barcelona)
Spain
Phone +34 937 489 400
Fax +34 937 489 401
info.es@itwreagents.com

itwreagents.com