

生化学用緩衝剤

生体成分の分離・精製や組織培養を行なうにあたって、溶液内の pH を一定に保つ必要がある。適当な弱酸とその共役塩基の混合溶液が pH 緩衝液として利用される。陸生生物の生体成分の pH は普通 6.5 ~ 7.5 で、海生生物とくに海藻類は pH 8 程度であるから、生化学用途としては pH 6 ~ 8 の範囲を緩衝できるものでなければならない。Good らは生化学緩衝剤としての望ましい条件を考慮して、Zwitter ion 構造をもつ各種のアミノエタンスルホン酸、アミノプロパンスルホン酸誘導体を合成し、その有用性を明らかにした。これらは次に示すような特長をもっている。

- 1) 水に良く溶け、濃厚な緩衝液が作成できる、
- 2) 生体膜を透過しにくい、
- 3) 酸解離平衡が濃度、温度、イオン組成の影響を受けにくい、
- 4) 金属イオンとの錯形成能が小さい、
- 5) 化学的に安定で、再結晶による高純度精製が可能、
- 6) 可視、紫外部に吸収を持たないために、目的成分の検出が容易である。

グッド緩衝剤の最適 pH 範囲を表に示した。又、標準的なグッド緩衝溶液の調製法を次頁に示した。

表 グッド緩衝剤の利用最適 pH 範囲

pKa(20)	化合物	5	6	7	8	9	10	11
6.15	MES		5.5	7.0				
6.46	Bis-Tris		5.7	7.3				
6.60	ADA		5.8	7.4				
6.80	PIPES		6.1 - 7.5					
6.90	ACES		6.0 - 7.5					
6.95	MOPSO		6.2 - 7.4					
7.15	BES		6.6	8.0				
7.20	MOPS		6.5	7.9				
7.50	TES		6.8	8.2				
7.55	HEPES		6.8	8.2				
7.6	DIPSO		6.9	8.1				
7.7	TAPSO		7.0 - 8.2					
7.85	POPSO		7.2 - 8.5					
7.9	HEPPSO		7.4	8.6				
8.0	EPPS		7.5	8.5				
8.15	Tricine		7.8	8.8				
8.35	Bicine		7.7	9.1				
8.4	TAPS		7.7	9.1				
9.5	CHES		8.6 - 10.0					
10.0	CAPSO		9.3 - 10.7					
10.40	CAPS		9.7	11.1				

グッド緩衝液の調製法

() ADA、PIPES、POPSO の場合

(A) 0.1mol/l モノナトリウム塩溶液調製 (1000ml)

ADA, PIPES, POPSO の遊離酸は難溶のためモノナトリウム塩溶液を調製して使用する。

ADA 19.026g (PIPES 30.237g、 POPSO 39.846g) と NaOH (水酸化ナトリウム) 4g を脱イオン水 300 ~ 400ml に完全に溶解した後、脱イオン水で全容を 1000ml とする。

--- A 液とする。

(B) 0.1mol/l NaOH 溶液調製 (1000ml)

NaOH 4g を脱イオン水 200 ~ 300ml に溶解した後、

脱イオン水で全容を 1000ml とする。--- B 液とする。

(C) 緩衝液の調製

A 液 25ml に B 液 0ml, 5ml, 10ml, 15ml, 20ml を加えた時の pH(20) が表() のとおりである。

A 液に希望の pH になるように B 液を加える。

表 (I)

B 液 (0.1mol/l NaOH)		0ml	5ml	10ml	15ml	20ml
A 液						
0.1mol/l ADA(Na)	25ml	5.8	6.6	6.9	7.3	7.8
0.1mol/l PIPES(Na)	25ml	5.6	6.4	6.8	7.2	7.7
0.1mol/l POPSO(Na)	25ml	6.4	7.3	7.7	8.1	8.5

(II) Bis-Tris の場合

(A) 0.1mol/l Bis-Tris 溶液調整 (250ml)

Bis-Tris 5.231g を脱イオン水で溶解し、全容を 250ml とする。---A 液とする。

(B) 0.1mol/l HCl 溶液調整 (250ml)

塩酸 2.25ml(0.9115g HCl) を脱イオン水で溶解後、全容を 250ml とする。---B 液とする。

(C) 緩衝液の調製

A 液 25ml に B 液 0ml, 5ml, 10ml, 15ml を加えた時の 20 における各々の pH が表 II のとおりである。

A 液に希望の pH になるように B 液を加える。

表 (II)

B 液 (0.1mol/l HCl 溶液)		0ml	5ml	10ml	15ml
A 液					
0.1mol/l Bis-Tris	25ml	9.5	7.1	6.6	6.1

(III)(I)(II) 以外のもの

(A) 0.1mol/l 遊離酸溶液調製 (1000ml)

ACES 18.22g を脱イオン水 300 ~ 400ml に完全に溶解した後、脱イオン水で全容 1000ml とする。---A 液とする。

*他の化合物については次のとおりである。

BES	21.325g	Bicine	16.317g	CAPS	22.131g	CHES	20.729g
DIPSO	24.328g	EPPS	25.233g	HEPES	23.831g	HEPPSO	28.635g
MES	21.325g	MOPS	20.927g	MOPSO	22.527g	TAPS	24.328g
TAPSO	25.928g	TES	22.925g	Tricine	17.917g		

(B) 0.1mol/l NaOH 溶液調製 (1000ml)

(I)(B) と同様に調整する。---B 液とする。

(C)(C) 緩衝液の調製

A 液 25ml に B 液 0ml, 5ml, 10ml, 15ml, 20ml を加えた時の pH(20) が表(III) のとおり

である。

A 液に希望の pH になるように B 液を加える。

表 (III)

B 液 (0.1mol/l NaOH)			0ml	5ml	10ml	15ml	20ml
A 液							
0.1mol/l	ACES	25ml	4.6	6.6	7.0	7.3	7.7
0.1mol/l	BES	25ml	3.8	6.6	7.0	7.4	8.0
0.1mol/l	Bicine	25ml	5.1	7.8	8.2	8.6	10.4
0.1mol/l	CAPS	25ml	6.8	10.0	10.5	10.8	11.2
0.1mol/l	CHES	25ml	5.9	9.0	9.4	9.7	10.1
0.1mol/l	DIPSO	25ml	4.4	6.9	7.3	7.7	8.1
0.1mol/l	EPPS	25ml	5.2	7.3	7.8	8.2	8.8
0.1mol/l	HEPES	25ml	5.3	7.0	7.4	7.7	8.1
0.1mol/l	HEPPSO	25ml	5.7	7.6	7.8	8.2	8.6
0.1mol/l	MES	25ml	3.7	5.6	6.0	6.4	8.4
0.1mol/l	MOPS	25ml	3.8	6.6	7.0	7.4	8.8
0.1mol/l	MOPSO	25ml	3.9	6.2	6.6	7.0	7.4
0.1mol/l	TAPS	25ml	4.6	7.8	8.3	8.6	9.0
0.1mol/l	TAPSO	25ml	4.7	7.0	7.4	7.8	8.2
0.1mol/l	TES	25ml	4.4	6.7	7.4	7.7	8.2
0.1mol/l	Tricine	25ml	4.9	7.5	7.9	8.3	8.6

注) 希望の pH に調整する際は pH メーターを用いて下さい。