

## GOOD-Puffer – Puffer für die Biochemie und Molekularbiologie

### Auswahlkriterien für Puffersysteme, Beispiel TRIS-Puffer

Übersetzen Sie die Kernaussagen des folgenden englischen Textes stichwortartig. Erklären Sie die Hintergründe.

**GOODS buffers** are twelve buffering agents selected and described by NORMAN GOOD and colleagues in 1966. GOOD selected the buffers based on a number of criteria which make them candidates for use in biochemistry and biological research. Many remain staples (deutsch: Grundstoffe) in modern biology laboratories. GOOD sought to identify buffering compounds which met several criteria likely to be of value in biological research.

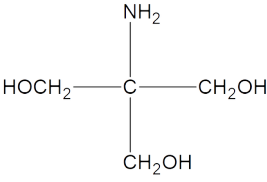
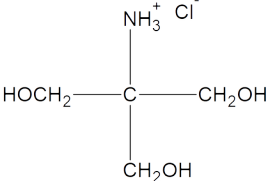
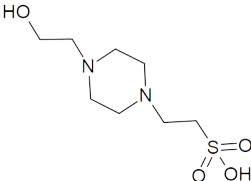
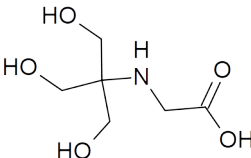
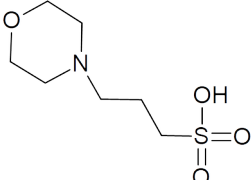
1. **pK<sub>a</sub>**. Because most biological reactions take place at near-neutral pH between 6 and 8, ideal buffers would have pK<sub>a</sub> values in this regime to provide maximum buffering capacity there.
2. **Solubility**. For ease in handling and because biological systems are in aqueous systems, good solubility in water was required. Low solubility in nonpolar solvents (fats, oils, and organic solvents) was also considered beneficial, as this would tend to prevent the buffer compound from accumulating in nonpolar compartments in biological systems: cell membranes and other cell compartments.
3. **Membrane impermeability**. Ideally, a buffer will not readily pass through cell membranes, this will also reduce the accumulation of buffer compound within cells.
4. **Minimal salt effects**. Highly ionic buffers may cause problems or complications in some biological systems.
5. **Stability**. The buffers should be chemically stable, resisting enzymatic and non-enzymatic degradation.
6. **Optical absorbance**. Buffers should not absorb visible or ultraviolet light at wavelengths longer than 230 nm so as not to interfere with commonly-used spectrophotometric assays.
7. **Ease of preparation**. Buffers should be easily prepared and purified from inexpensive materials.

*Quelle: Engl. Wikipedia, Stichwort: GOOD's buffers (gekürzt)*

### Aufgaben zu GOOD-Puffersubstanzen (siehe Tabelle auf der Rückseite)

1. Geben Sie die Substanzklassen der vorgestellten GOOD-Puffersubstanzen an und benennen Sie vorkommende funktionelle Gruppen.
2. Die vorgestellten Substanzen zeigen keine Absorption im fotometrisch relevanten Wellenlängenbereich ( $\lambda = 270 - 850 \text{ nm}$ ). Welches entsprechendes Strukturmerkmal fehlt diesen Substanzen?
3. Beschreiben Sie zwei Möglichkeiten, um 1 L eines TRIS-Puffer mit  $c(\text{TRIS}) = 250 \text{ mmol/L}$  herzustellen.
4. Geben Sie für alle vorgestellten Substanzen die Strukturformeln der korrespondierenden Säure-Basen-Paare an.

## Überblick über einige GOOD-Puffersubstanzen

Abkürzung und Namen	Strukturformel	Bemerkungen
<b>TRIS</b> 2-Amino-2-(hydroxymethyl)- 1,3-propandiol oder Tris(hydroxymethyl)aminomet han, Trometamol, Tris-Base, Trizma		<p><b>Eigenschaften:</b> pH-Wert einer 1M-Lösung des Stoffs: pH = ca. 10-12, (<math>pK_s</math> der korresp. Säure <math>pK_s = 8,1</math> siehe TRIS-HCl). <math>M(\text{TRIS}) = 179,17 \text{ g/mol}</math></p> <p><b>Herstellung:</b> Wirkt als schwache Base für sich allein noch nicht puffernd. Erst muss ein Anteil der Base durch HCl in die korrespondierende Säure überführt werden: TRIS in <math>\text{H}_2\text{O}</math> lösen und mit halbkonz. HCl den gewünschten pH-Wert einstellen und auf das benötigte Endvolumen auffüllen. ODER: TRIS und TRIS-HCl im gewünschten Verhältnis mischen.</p> <p><b>Verwendung:</b> Überall wo mit <b>Nucleinsäuren</b> und <b>Nucleotiden</b> gearbeitet wird, Verwendung als puffernder Bestandteil <b>des TAE-Puffers</b> (in Kombination mit EDTA).</p>
<b>TRIS-HCl</b> Tris-Hydrochlorid, Trizma- Hydrochlorid		<p><b>Eigenschaften:</b> pH-Wert einer 0,5M-Lösung des Stoffs: pH = 3,5 – 5, korrespondierende Säure von TRIS</p> <p><b>Verwendung:</b> Wird manchmal anstelle von konz. HCl benutzt um den pH-Wert von TRIS (siehe oben) auf den gewünschten pH-Wert einzustellen (Mischen von Tris mit TRIS·HCl).</p> <p><b>Bemerkung:</b> Das organische Ion ist die korrespondierende Säure von TRIS</p>
<b>HEPES</b> 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1- piperazinyl)- ethansulfonsäure		<p><b>Eigenschaften:</b> <math>pK_s \approx 7,5</math>; gut wasserlöslich, HEPES-haltige Lösungen sollten möglichst vor Licht geschützt werden, weil sonst zytotoxisches <math>\text{H}_2\text{O}_2</math> entstehen kann.</p> <p><b>Herstellung:</b> Der Grundstoff wird in Wasser gelöst und durch Zutropfen von NaOH-Lösung bis zum gewünschten pH-Wert wird die zwitterionische Form teilweise in die korrespondierende Base überführt.</p> <p><b>Verwendung:</b> HEPES wird häufig in der Zellkulturtechnik benutzt. Die Pufferwirkung hängt nur wenig von der Temperatur ab und bleibt auch bei höheren <math>\text{CO}_2</math>-Konzentrationen (bedingt durch die Zellatmung) bestehen.</p>
<b>TRICIN</b> N-(Tri(hydroxymethyl) methyl)glycin		<p><b>Eigenschaften:</b> <math>pK_{s2} \approx 8,0</math>, gut wasserlöslich (max. 0,8 mol/L), pH-Wert der wässrigen Lösung: pH = 4,4 – 5,2, Lösung kann autoklaviert werden, liegt in wässriger Lösung überwiegend zwitterionisch vor (deprotonierte Carboxylgruppe, protonierte Aminogruppe)</p> <p><b>Herstellung:</b> Durch Zutropfen von NaOH wird die Zwitterionische Form teilweise in korrespondierende Base überführt, bis der gewünschte pH-Wert erreicht ist,</p> <p><b>Verwendung:</b> Tricin wird als Puffersubstanz bei Elektrophoresen und zur Resuspension von Zellpellets benutzt.</p>
<b>MOPS (3-                      Morpholinopropan-1-                      sulfonsäure) und MES</b> (2-(N-morpholino)- ethansulfonsäure)	 <p>(MOPS)</p>	<p><b>Eigenschaften:</b> MES besitzt eine ähnliche Strukturformel wie MOPS (siehe Abbildung), nur ist die C-Kette ein C-Atom kürzer. Der <math>pK_s</math>-Wert von MOPS liegt bei ca. <math>pK_s = 7,2</math>, während MES einen <math>pK_s</math>-Wert von 6,2 besitzt.</p> <p><b>Herstellung:</b> Die wässrigen Lösungen haben einen sauren pH-Wert. Durch Zutropfen von NaOH wird ein Anteil der zwitterionischen Form in die korrespondierende Base überführt und die Pufferwirkung stellt sich ein.</p> <p><b>Verwendung:</b> Während MES im leicht sauren Bereich eingesetzt wird, dient MOPS zur Abpufferung im neutralen Bereich. Beide Stoffe kommen in der Natur nicht vor und können von Bakterien nicht verstoffwechselt werden. Sie werden in der Zellkulturtechnik und Nucleinsäure-Elektrophoresen (Agarose-Gelelektrophoresen) benutzt.</p>

