

細胞培養試験済み生理緩衝液

製品番号	製品名	物理的 性状 ^A	pKa (37 °C)	Δ pKa/°C	無水物の 分子量	使用 濃度 (mM)	緩衝 領域 (37 °C)
B 4554	BES	P	6.9	-0.016	213.2	10-20	6.2-7.6
B 4429	BIS-TRIS	P	6.36	-0.008	209.2	10-20	5.7-7.1
E 0276	EPPS	P	7.85	-0.015	132.1	10-20	7.1-8.5
G 3915	GLYCYLGLYCINE	P	7.95	-0.025	132.1	10-20	7.2-8.6
H 4034	HEPES	P	7.31	-0.014	238.3	10-28	6.6-8.0
H 3784	HEPES•Na	P	7.31	-0.014	260.3	10-28	6.6-8.0
H 0887	HEPES (1.0 M)	AF	7.31	-0.014	238.3	10-28	6.6-8.0
M 3183	MOPS	P	7.01 ^C	-0.008	209.3	10-20	7.0-8.4
P 1851	PIPES	P	6.66	-0.009	302.4	10-20	6.0-7.4
S 5761	SODIUM BICARBONATE	P	6.28	-0.0055	84.0	2-26	5.4-6.9
S 8761	SODIUM BICARBONATE (7.5%)	AF	6.28	-0.0055	84.0	2-26	5.4-6.9
T 5566	TAPSO ^B	P	7.4	-0.018	259.3	4-50	6.8-8.0
T 5691	TES	P	7.16	-0.02	229.2	10-20	6.5-7.9
T 5861	TRICINE	P	7.8	-0.021	179.2	>50	7.1-8.5
T 6066	TRIZMA BASE	P	7.82	-0.031	121.1	10-20	6.8-8.8
T 5941	TRIZMA HYDROCHLORIDE	P	7.82	-0.031	157.6	10-20	6.8-8.8

^A製品は粉末 (P) または無菌充填溶液 (AF) として販売しています。

^B米国特許番号4,246,194

^Cシグマ・アルドリッチによる定量

バイオリジカルバッファー

HEPES緩衝培地

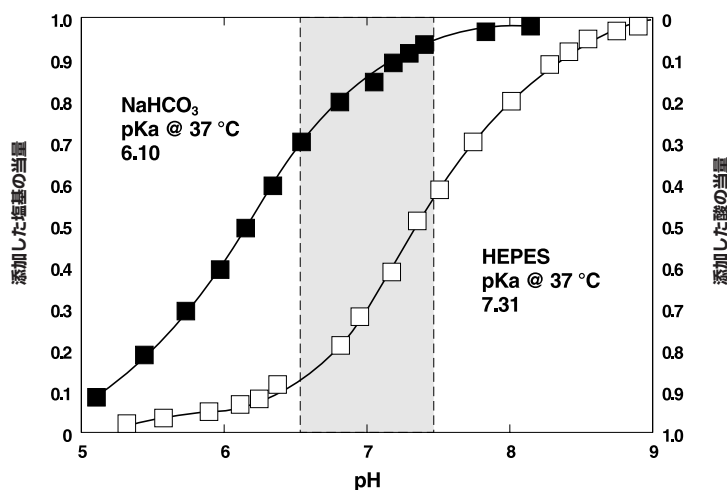
シグマ・アルドリッチのHEPES (N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid) 緩衝粉末培地には、15~30 mMのHEPESが配合されています。通常のリン酸・重碳酸*バッファー系と併用した場合、HEPES添加培地はHEPES非添加培地よりも適切なpH領域 (37°CでpH 7.2~7.4) を維持する効果に優れています。この培地は、開放系でも閉鎖系でも使用できるよう設計されています。

*注：重碳酸塩は、粉末培地を溶液に調製する際に適切な濃度になるよう添加します。重碳酸ナトリウム添加量を参照してください。

pH制御：HEPES添加細胞培養用培地

図1は、37°Cにおける重碳酸ナトリウムバッファーおよびHEPESバッファーの理論上の滴定曲線を示しています。重碳酸ナトリウムバッファー系にHEPESを添加すると、理論上の緩衝領域が適切な生理pH領域に近くなります。

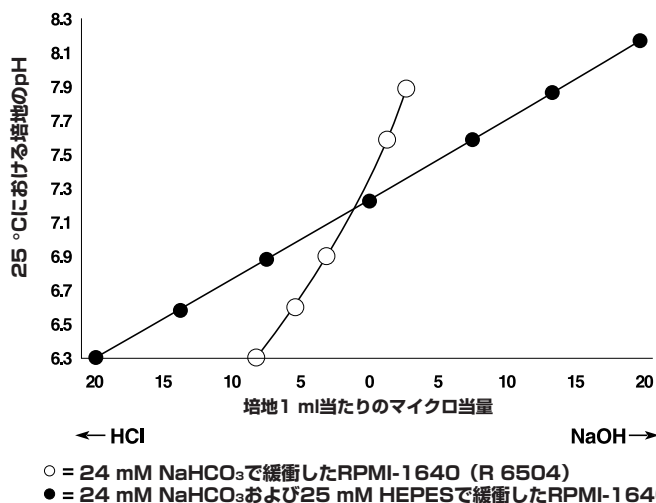
図1：37°CにおけるNaHCO₃バッファーおよびHEPESバッファーの滴定曲線



シグマ・アルドリッチの研究室では、緩衝能が向上し、かつ細胞損傷が最小限になるような適切な濃度のHEPESを粉末培地に添加しています。図2は通常のリン酸/重碳酸バッファー系を用いたRPMI-1640 (製品番号R 6504) およびリン酸・

重碳酸バッファー系を用いたリン酸/重碳酸バッファーおよび25 mM HEPESを含有するRPMI-1640 (製品番号R 4130) の滴定曲線を示しています。

図2：リン酸/NaHCO₃またはリン酸/NaHCO₃/HEPESで緩衝した増殖培地の滴定曲線

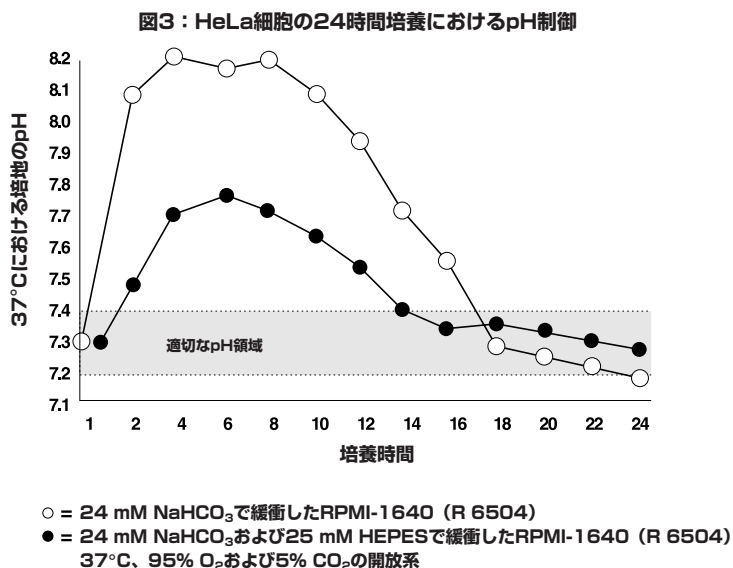


バイオリジカルバッファー

pH制御：HEPES添加細胞培養用培地

図3は、HeLa細胞の24時間の増殖および代謝によって、HEPESを含有しないRPMI-1640（製品番号R 6504）およびHEPESを含有するRPMI-1640（製品番号R 4130）のpHが変動する様子を示しています。HEPESを含有する培地はpHの急激な変動を抑えています。シグマ・アルドリッチのすべての

組織培養用粉末培地と同じく、HEPESを含有する粉末培地も、生理的重量オスモル濃度を維持するために塩化ナトリウム濃度を低くする必要がある場合を除いて、初出の培地組成に基づいて製造しています。塩化ナトリウム濃度は、各培地に付属の説明書に記載されています。



重炭酸ナトリウムおよびHEPESに加えて、シグマ・アルドリッチは細胞培養試験済みの有機両性イオン性バッファーを販売しています。推奨濃度（本章の技術情報を参照）は、次ページの参考文献に報告されている濃度です。ある特定の細胞株のほか、初代培養細胞に対する毒性が明らかな場合、有機

バッファーの濃度を下げる必要があります。培地に有機バッファーが含有されている場合、培地のオスモル濃度が正常な生理濃度領域（250～325 mOsm/Kg）を超えて上昇するおそれがありますが、塩化ナトリウム濃度を下げることによって正常値に戻すことができます。

バイオリジカルバッファー

pH調節 : BUFFERALL

Bufferall (製品番号B 8405)

培地のpHの変化は哺乳動物細胞の増殖に悪影響を及ぼしますが、各細胞株に適するpHは様々ではありません。培地をpH 6~8の生理領域に維持するために、リン酸・重碳酸バッファーが利用されています。これらのバッファーには、次のような問題点があります。

- (1) 緩衝した培地のpHが大きく変動する
- (2) リン酸は代謝に関わっているほか、陽イオンを沈殿させる
- (3) 重碳酸の緩衝作用は二酸化炭素に依存しているため、重碳酸塩の溶解性が限られている

1966年、Goodらは化学的に安定で、溶解性が高く、細胞に浸透しない両性イオン性バッファーを開発しました。Goodバッファーは、他の有機バッファーと同様、生理pH領域を維持します。個々のバッファーは、pKaを中心として上下約2 pH

単位の範囲内で最も高い効果を示します。これらのバッファーを組み合わせると、細胞培養で観察される大きなpH変化が抑制されると報告されています。

シグマ・アルドリッチのBufferallは、7.2、7.55および8.0のpKaを有する3種類のバイオリジカルバッファーを組み合わせたものです。Bufferallは、pH 7.0~8.0を外れる変化の抑制に効果的な汎用バッファー系です。Bufferallは、重碳酸塩よりもはるかに優れた緩衝能を有しています(図1)。重碳酸塩を含有する培地でも含有しない培地でも、Bufferallを添加することによって、生理pH領域を維持する能力が大きく向上します(図2)。Bufferallは、シグマ・アルドリッチの研究室で試験したいずれの細胞株の増殖に対しても有害な影響を及ぼしていません。

図1 : 25°C、0.03% CO₂におけるBufferallの滴定曲線

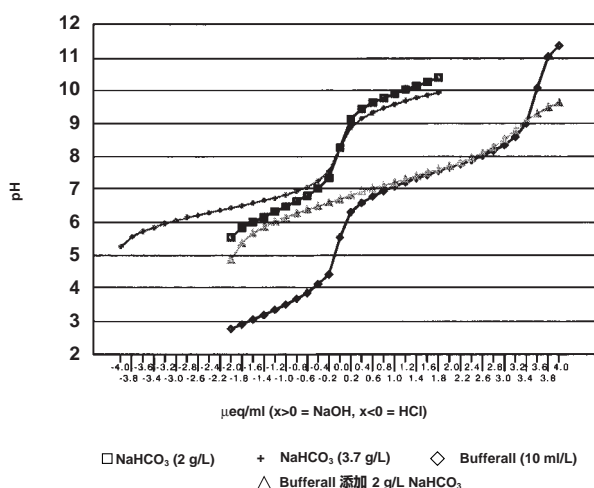
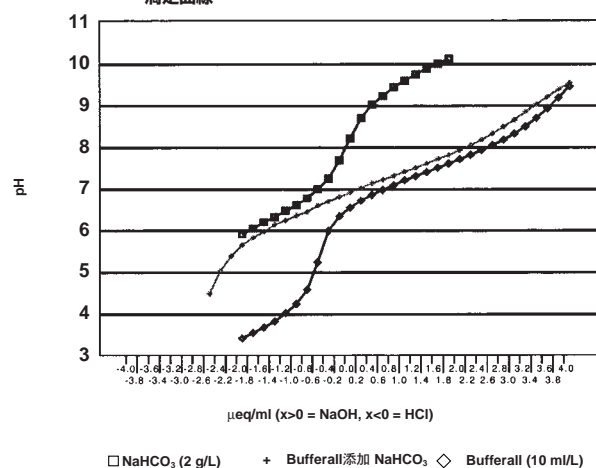


図2 : 25°C、0.03% CO₂におけるRPMI中のBufferallの滴定曲線



参考文献

1. C. Mackenzie, et al., *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, 141-156, 1961.
2. A. Taylor, *J. Cell Biol.*, **15**, 201-209, 1962.
3. H. Eagle, *Science*, **174**, 500-503, 1971.
4. N. Good, et al., *Biochem.*, **5**, 467, 1966.
5. C. Ceccarini and H. Eagle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**, 299, 1971.

バイオリジカルバッファー

重炭酸ナトリウム添加量表

7.5% Sodium Bicarbonate Solution (製品番号S 8761) または S 5761) を使用する場合、1倍 (等倍濃度) 粉末培地に適した重炭酸ナトリウム濃度は、下表のようになります。

粉末培地	製品番号	7.5% NaHCO ₃ Solution (ml/L)	NaHCO ₃ Powder (g/L)
AMES' MEDIUM	A 1420	25.7	1.932
BGJb	B 6644	46.6	3.5
BME EBSS	B 9638	29.3	2.2
BME HBSS	B 9763	4.7	0.35
CMRL-1066	C 0422	29.3	2.2
DME/F-12 w/o phenol red	D 2906	16.0	1.2
DME/F-12 HYBRI-MAX®	D 6905	16.0	1.2
DME/F-12	D 9785	16.0	1.2
DME/F-12	D 8900	16.0	1.2
DME/F-12	D 0547	16.0	1.2
DME HEPES	D 1152	49.3	3.7
DME w/o phenol red	D 2902	49.3	3.7
DME Deficient	D 3656	49.3	3.7
DME Deficient	D 3916	49.3	3.7
DME Deficient	D 5030	49.3	3.7
DME AUTO-MOD™	D 5280	49.3	3.7
DME	D 5523	49.3	3.7
DME	D 5648	49.3	3.7
DME HYBRI-MAX®	D 6655	49.3	3.7
DME HYBRI-MAX®	D 6780	49.3	3.7
DME	D 7777	49.3	3.7
EBSS w/o phenol red	E 3261	29.3	2.2
EBSS	E 6132	29.3	2.2
EBSS HYBRI-MAX®	E 9509	29.3	2.2
F-12 (Coon's Modification)	F 6636	35.7	2.676
FISCHER'S	F 5008	15.0	1.125
Glasgow MEM	G 6148	36.7	2.75
HBSS w/o phenol red	H 1387	4.7	0.35
HBSS	H 2387	4.7	0.35
HBSS w/o phenol red	H 4891	4.7	0.35
HBSS	H 6136	4.7	0.35
HBSS HYBRI-MAX®	H 6393	4.7	0.35
H-Y HYBRI-MAX®	H 9014	46.6	3.5
IMDM HYBRI-MAX®	I 2510	40.3	3.024
IMDM	I 7633	40.3	3.024
KREBS-HENSELEIT	K 3753	28.0	2.1
KREBS-RINGER	K 4002	16.8	1.26
McCOY'S 5A	M 4892	29.3	2.2
McCOY'S 5A	M 6523	29.3	2.2
McCOY'S 5A w/o phenol red	M 9270	29.3	2.2

バイオリジカルバッファー

重炭酸ナトリウム添加量表

粉末培地	製品番号	7.5% NaHCO ₃ Solution (ml/L)	NaHCO ₃ Powder (g/L)
MCDB-131	M 8537	15.7	1.176
MCDB-151	M 6645	15.7	1.176
MCDB-153	M 7403	15.7	1.176
MCDB-302	M 2021	15.7	1.176
M-199 HBSS	M 0393	4.7	0.35
M-199 EBSS HEPES	M 2520	29.3	2.2
M-199 HBSS w/o phenol red	M 3274	4.7	0.35
M-199 EBSS w/o phenol red	M 3769	29.3	2.2
M-199 EBSS	M 5017	29.3	2.2
MEM EBSS	M 0268	29.3	2.2
MEM JOKLIK	M 0518	26.7	2.0
MEM EBSS NEAA	M 0643	29.3	2.2
MEM Alpha	M 0644	29.3	2.2
MEM EBSS AUTO-MOD™	M 0769	29.3	2.2
MEM Alpha	M 0894	29.3	2.2
MEM HBSS NEAA	M 1018	4.7	0.35
MEM EBSS HEPES	M 2645	29.3	2.2
MEM EBSS NEAA, w/o phenol red	M 3024	29.3	2.2
MEM HBSS NEAA, w/o phenol red	M 3149	4.7	0.35
MEM EBSS w/o phenol red	M 4144	29.3	2.2
MEM HBSS	M 4642	4.7	0.35
MEM for Suspension	M 4767	29.3	2.2
MEM EBSS Deficient	M 7270	29.3	2.2
MEM EBSS	M 7395	29.3	2.2
MEM EBSS NEAA with LAH	M 7399	29.3	2.2
NCTC 135	N 3262	29.3	2.2
NCTC 135 HYBRI-MAX®	N 5138	29.3	2.2
Nut Mix F-10 HEPES	N 1387	16.0	1.2
Nut Mix F-12 HEPES	N 4388	15.7	1.176
Nut Mix F-10	N 6635	16.0	1.2
Nut Mix F-12	N 6760	15.7	1.176
Nut Mix F-12K	N 3520	33.3	2.5
RPMI-1640 Deficient	R 1383	26.7	2.0
RPMI-1640 HEPES	R 4130	26.7	2.0
RPMI-1640 HYBRI-MAX®	R 5382	26.7	2.0
RPMI-1640	R 6504	26.7	2.0
RPMI-1640 Deficient	R 7130	26.7	2.0
RPMI-1640 HYBRI-MAX®	R 8005	26.7	2.0
RPMI-1640 w/o phenol red	R 8755	26.7	2.0
SFPF	S 2772	30.0	2.25
SWIM'S S-77	S 2513	29.3	2.2
TYRODE'S SALTS	T 2145	13.3	1.0
WAYMOUTH MB752/1	W 1625	29.9	2.24
WILLIAMS' MEDIUM E	W 4125	29.3	2.2