



Preparación de Phosphate Buffered Saline (PBS)

Created: Apr 2, 2008; Last modified: Apr 22, 2008, Version: 2.0

La Solución Salina Amortiguada por Fosfatos (PBS) constituye una solución amortiguadora de pH comúnmente empleada para procedimientos bioquímicos. Su osmolaridad y concentración de iones (Cl^- , Na^+ y K^+) es muy semejante a la del líquido extracelular de los mamíferos. Esta solución se prepara a partir de Cloruro de Sodio, Fosfato de Sodio y, en algunas formulaciones, con Fosfato de Potasio. Esta solución es isotónica y no-tóxica para las células de los mamíferos. El PBS se emplea como vehículo neutro para células, ya que no modifica el perfil de expresión y funcionamiento celular normal. Esta solución es empleada comúnmente para lavar células a través de centrifugación. El PBS puede ser empleado como diluyente para métodos de desecación de biomoléculas, ya que las moléculas de agua presentes en el PBS se adhieren alrededor de la biomolécula permitiendo inmovilizarla a una superficie sólida. Esta monocapa de agua evita que la biomolécula sea desnaturalizada (o sufra modificaciones conformacionales) en el proceso de desecación. Los amortiguadores a base de carbonatos también son empleados para este procedimiento, aunque con menor éxito. El PBS también es empleado como referencia espectral para procedimientos de elipsometría por absorción proteica. El PBS puede ser complementado con aditivos para procedimientos específicos. La adición de EDTA, por ejemplo, permite disgregar células cuando estas forman agregados. La incorporación de Zinc, no obstante, no es recomendada ya que provoca la precipitación de otras sales constituyentes.

Procedimiento:

1. Prepare 100 mL de Acido Clorhídrico 1M (1M HCl) agregando 8.62 mL de HCl concentrado a 91 mL de dH_2O previamente colocados en un vaso de precipitados de 250 mL. **¡No agregar el agua al ácido!** Mezcle en una plancha agitadora magnética durante 5 minutos. Afore a 100 mL con dH_2O .
2. Prepare 100 mL de Hidróxido de Sodio 10M (10M NaOH) agregando 40 g de NaOH a 40 mL de dH_2O previamente colocados en un vaso de precipitados de 250 mL. Mezcle con una barra magnética en una plancha agitadora hasta que el NaOH se haya disuelto por completo. Afore a 100 mL con dH_2O . **¡Precaución, esta reacción es exotérmica!**
3. Añada las sales (ver nota #1) a un vaso de precipitados adecuado para el volumen de la solución por preparar. De acuerdo a la **Tabla de Preparación** mostrada a continuación.
4. Añada el 80% del volumen de dH_2O requerido y mezcle encima del agitador magnético hasta diluir las sales.
5. Ajuste el pH a 7.4 con 1M HCl o 10M NaOH (según sea necesario) empleando para ello una pipeta de transferencia de plástico (ver nota #2) mientras se monitorea el pH. Añada las soluciones de HCl o NaOH gota a gota.
6. Afore la solución con dH_2O al volumen final requerido.





7. Filtre la solución a través de unidades de filtración o discos de 0.45 μm para eliminar partículas suspendidas.
8. Esterilice en autoclave.
9. Dentro del Gabinete de Seguridad Biológica (GSB) y bajo técnica aséptica, distribuya alícuotas de 50 mL en tubos cónicos esterilizados.
10. Almacene a temperatura ambiente (uso rutinario) o bajo refrigeración entre 4 y 8 $^{\circ}\text{C}$.

Tabla de preparación

1X	Cf	250 mL	500mL	1000mL	10X [†]	Cf	250 mL	500mL	1000mL
NaCl	138 mM	2.015 g	4.03 g	8.06 g	NaCl	1.380 M	20.15 g	40.3 g	80.6 g
KCl	3 mM	0.055 g	0.11 g	0.22 g	KCl	30 mM	0.55 g	1.1 g	2.2 g
Na ₂ HPO ₄	8.1 mM	0.2875 g	0.575 g	1.15 g	Na ₂ HPO ₄	81 mM	2.875 g	5.75 g	11.5 g
KH ₂ PO ₄	1.5 mM	0.05 g	0.10 g	0.20 g	KH ₂ PO ₄	15 mM	0.5 g	1.0 g	2.0 g
dH ₂ O	—	cbp 250 mL	cbp 500 mL	cbp 1 L	dH ₂ O	—	cbp 250 mL	cbp 500 mL	cbp 1 L

Notas

1. Limpie perfectamente bien la balanza con la brocha para evitar el acarreo de contaminantes y la corrosión de la balanza o de las superficies de acero inoxidable.
2. Las soluciones 10X de PBS poseen un pH ~6.8 que se corrige automáticamente a pH 7.4 una vez llevadas a 1X. Por ello en el caso de las soluciones 10X, no es necesario ajustar el pH sino hasta que son llevadas a 1X. Las soluciones 1X no presentan variaciones de pH dependientes de temperatura.

Referencias

1. Dulbecco R, Vogt M. Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses. J Exp Med. 1954 Feb;99(2):167-82.





2. Wikipedia contributors. Phosphate Buffered Saline. Wikipedia, The Free Encyclopedia. May 23, 2008, at 03:30 UTC. Available at: http://en.wikipedia.org/wiki/Phosphate_buffered_saline .
3. The Lab Rat.com 1X/10X Phosphate Buffered Saline (PBS) Recipe .
<http://www.thelabrat.com/protocols/3.shtml> and [4.shtml](http://www.thelabrat.com/protocols/4.shtml).

Revision history

- 1.0 Original document.
- 2.0 Changes to document format only.

