

胎牛血清使用中的常见问题

1. 胎牛血清在细胞培养中的主要功能是什么？

胎牛血清是细胞培养中量最大的天然培养基，含有丰富的细胞培养必需的营养成分，具有极为重要的功能。胎牛血清提供能促进细胞指数增长的激素、基础培养基中没有或含量微小的营养物质，以及某些低分子营养物质；提供结合蛋白，识别维生素、脂类、金属离子，并与有毒金属和热源物质结合，起解毒作用；同时也是细胞贴壁、铺展生长所需因子的来源；能起酸碱度缓冲作用，提供蛋白酶抑制剂，细胞传代时使剩余胰蛋白酶失活，保护细胞不受损伤。

2. 如何储存和解冻血清才不会使产品质量受损？

将血清从冷冻箱取出后，先置于 2~8℃ 冰箱使之融解，然后在室温下使之全融。但必须注意的是，融解过程中必须规则地摇晃均匀。

长时间储存在 2-8℃ 时，血清中的各种蛋白和脂蛋白（如冷凝集素、纤维蛋白原、玻粘连蛋白等）可能聚集而形成沉淀或可见的混浊。因此，推荐在 -20℃ 以下储存血清，并避免反复冻融。

建议血清应保存在 -20℃。若存放于 4℃ 时，请勿超过一个月。若一次无法用完一瓶，建议无菌分装血清至恰当的灭菌容器内，再放回冷冻。

3. 血清中包含絮状沉淀，它们是什么，怎么处理？

沉淀包含纤维蛋白和脂蛋白。这是正常特性，不会影响产品性质。要除去沉淀，离心血清（400g，1-2 分钟）或者简单的让其沉淀在瓶子底部，将血清小心的转移到另一个无菌瓶里（一般不建议采用过滤的方法除去沉淀，因为沉淀会堵塞滤膜而无法过滤）。大多情况轻轻摇动沉淀并加热至 37℃ 就会再溶解。所以，使用产品时要摇动并加热血清至 37℃，沉淀会自然消失。

4. 实验室如何选择适合的血清？

国内一致认为进口品牌澳洲血清是最好的，也是最贵的，但是很多使用者经验显示，并不是价格决定质量，一般不是太娇气的细胞，国产的胎牛血清就够用了。此外，国际品牌代理商又鱼龙混杂，所以买到假货的可能性也很大。所以，选择正规的血清还是要走正规渠道。现在很多国产品牌也拥有国际品牌生产胎牛血清的工艺，例如 CellMax 胎牛血清，拥有澳洲和国内血源多种等级产品，价格也很合理。

5. 培养基中添加了血清和抗生素后，可长期保存吗？

一旦您在新鲜培养基中添加了血清和抗生素时，您应该在两到三周内使用它。因为一些抗生素和血清中的基本成分在解冻后就开始降解。

6. 为什么要热灭活血清?

加热可以灭活补体系统。激活的补体参与溶解细胞事件，刺激平滑肌收缩，细胞和血小板释放组胺，激活淋巴细胞和巨噬细胞。在免疫学研究，培养 ES 细胞、平滑肌细胞时，推荐使用热灭活血清。

7. 有必要做热灭活吗?

实验显示，经过正确处理的热灭活血清，对大多数的细胞而言是不需要的。经此处理过的血清对细胞的生长只有微小的促进，或完全没有任何作用，甚至通常因为高温处理影响了血清的质量，而造成细胞生长速率的降低。而经过热处理的血清，沉淀物的形成会显著的增多，这些沉淀物在倒置显微镜下观察，像是“小黑点”，常常会让研究者误以为是血清遭受污染，而把血清放在 37℃ 环境中，又会使此沉淀物更增多，使研究者误认为是微生物的分裂扩增。

若非必须，可以不需要做热处理这一步。不但节省时间，更确保血清的质量！

8. 细胞培养中出现黑点是污染吗?如何处理?

一旦您在细胞培养的过程中发现有黑点生成，首先，要肉眼观察培养基是否混浊，然后，在镜下观察培养细胞生长的状态，黑点是否游动。如果细胞被污染，微生物则会大量繁殖，培养基就会迅速变黄、变混浊。污染包括细菌污染、支原体污染等。

如果在镜下观察细胞，生长状态良好，与黑点出现前相比，没有任何变化，那么，黑点的出现可能与以下几种情况有关：

- (1) 细胞生长过老，破碎的细胞残骸；
- (2) 血清质量不好，反复冻融的结果；
- (3) 配制培养基的 pH 值偏高，不宜细胞生长；
- (4) 配制培养基的水质、容器不合格。可应用离心、过滤的方法去除这些黑点；
- (5) 培养原代细胞中出现小黑点，可能是原代组织中的杂质，多次传代可以消除。

9. 细胞培养中如何防止黑点生成?

- (1) 尽可能地减少血清冻融次数。
- (2) 培养基无需 37℃ 水浴。
- (3) 培养基保持最佳 pH 值 7.0- 7.2。
- (4) 严格控制配制培养基的水质，容器定期刷洗。
- (5) 掌握细胞传代的最佳时机，细胞切勿生长过老。

10. 小牛血清和胎牛血清有何区别

来源不同:胎牛血清(Fetal Bovine Serum ,FBS) 是在屠宰怀孕母牛的时候,通过心脏穿刺采血获取的胎牛的血清,新生牛(小牛)血清(Calf serum, CS)采自出生 10 至 14 天的小牛。

组份与比例不同:两者所含的促细胞生长因子、促贴附因子、激素及其他活性物质等组份与比例不同,用途与用法不同:某些细胞必需胎牛血清才能生长,而有些细胞只需小牛血清即可,使用浓度不同,一般在 5%-10%,有特殊要求的浓度在 20%。

CellMax