

关于血清的常见问题

血清是细胞培养中最重要的元素之一。因此，我们特别整理了一些实验室里常会遇到的问题，供大家参考：

1、 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。我们建议血清应保存在 -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。

2、 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)。

3、 如何避免血清中产生沉淀？ 按如下操作可避免沉淀的产生：

- (1) 解冻血清时，请随时将之摇晃均匀，使温度及成分均一，减少沉淀的发生。
- (2) 血清分装冻存时，须规则摇晃均匀（小心勿造成气泡），使温度与成分均一。
- (3) 勿直接由-20℃直接至 37℃解冻，因温度改变太大，容易造成蛋白质凝结而发生沉淀。解冻胎牛血清时，请按照所建议的逐步解冻法（-20℃至 4℃至室温），若胎牛血清解冻时改变的温度太大（如-20℃至 37℃），实验显示非常容易产生沉淀物。
- (4) 勿将血清置于 37℃太久，否则血清会变得浑浊，同时血清中许多较不稳定的成份也会因此受到破坏，从而影响血清的品质。
- (5) 血清的热灭活非常容易造成沉淀物的增多，若非必要，可以无须做此步骤。
- (6) 若必须做血清的热灭活，请遵守 56℃，30 分钟的原则，并且随时摇晃均匀。温度过高，时间过久或摇晃不均匀，都会造成沉淀物的增多。

4、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。

5、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。

6、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！（如确实需要去除补体，建议直接购买热灭活特级胎牛血清，货号:04-121-1A，规格：500ml）

7、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；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。