

一、什么是血清

血清，指血液凝固后，在血浆中除去纤维蛋白原及某些凝血因子后，分离出的淡黄色透明液体或指纤维蛋白原已被除去的血浆。血清的主要作用是提供基本营养物质，包括激素、维生素、转运蛋白、微量元素、扩散因子和生长因子等细胞增殖和维持的必需成分，促进细胞生长。

二、血清的有什么作用

血清的成分十分复杂，既有协助物质运输的蛋白、营养物质，还有促进细胞生长的激素和因子等，正因为血清这种天然成分的复杂性，使得血清在细胞培养过程中发挥了多种功能：

- 1、提供维持细胞指数生长的激素，某些含量微小营养物、低分子营养物质，促进细胞生长繁殖；
- 2、提供结合蛋白，促进细胞识别和利用维生素、脂类和其他激素等；
- 3、提供贴壁因子，是细胞贴壁、铺展在玻璃或塑料培养基质上所需因子的来源；
- 4、提供蛋白酶抑制剂，使细胞消化时残留的胰蛋白酶失活，保护细胞不受伤害；
- 5、提供 pH 缓冲，有酸碱缓冲液的作用，保护细胞不受伤害；
- 6、有些情况下结合蛋白质能与有毒金属和热原质结合，起到解毒作用；
- 7、提供营养，含有各种蛋白可提供细胞分裂所需的营养物质，弥补基础培养基中没有或含量很少的营养物质。（注：如培养基成分已经较为丰富完善，例如 DEME 培养基，则血清提供的营养物质作用不明显。）

三、各种分类的血清有什么特点

常见的血清供体动物，主要有牛、马、猪、兔、鸡等，其中细胞培养最常用的就是牛血清

（一）按牛的年龄划分

血清的不同成分及其含量会因供血动物的性别、年龄、生理条件和营养条件的不同而有所差异。牛的年龄也成为区分牛血清种类的一个重要的考虑因素。牛血清根据供体年龄可分为胎牛血清、新生牛血清、小牛血清、成牛血清和供体牛血清。国内外对不同等级牛血清的定义有所区别，国际上主要参考欧洲药典和美国药典颁布的指南，国内则以 2015 版《中华人民共和国药典》为标准。中国药典仅对新生牛血清做出了规定。

	2015年版《中华人民共和国药典》	欧洲药典EP 9.0	美国药典USP40
胎牛血清 Fetalbovine serum	未提及	胎牛	胎牛，心脏穿刺取血
新生牛血清 Newborn calf serum	出生14小时以内(禁食禁水)	出生20天内	出生20天内
小牛血清 Calf serum	未提及	出生20天-12个月内	出生20天-12个月内
成牛血清 Adult bovine serum	未提及	成牛	出生12个月后
供体牛血清 Donor bovine serum	未提及	隔离区内活体反复供血	隔离区内活体反复供血， 出生12-36个月内

1. **胎牛血清：**胎牛在母体内与外界隔绝，通过心脏穿刺采血，血清中营养成分和细胞因子含量高、异源物质少，品质最佳。常规来说，年龄越小的牛血清，细胞培养效果越好。胎牛血清培养效果好于新生牛。是科学研究中最常使用的血清，适用于绝大多数原代细胞和细胞系。
2. **新生牛血清：**新生牛出生后控制在一定的时间内采血，成分上比较接近胎牛血清，且来源相较于胎牛血清更加充足，性价比更高，适合培养比较容易生长的肿瘤细胞系，可以满足有大规模生产血清需求的企业。

- 3. 小牛血清、成牛血清：**随着小牛的生长发育，血清成分会发生变化，如免疫球蛋白含量增加，血清所含的促细胞生长因子、激素及其他活性物质的组份与比例也不同。该类血清异源物质增多，成分也比较复杂，所以对细胞培养的干扰因素比较多，因此小牛血清和成牛血清一般不用于细胞培养，更多用作封闭液、稀释液等；
- 4. 供体牛血清：**是通过对牛群来源管控、物理隔离和检验检疫，减少外源因子的污染，且利用活体反复采血的方法来生产牛血清，主要作为医药生产用血清。

不同牛龄血清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分与比例不同。常规来说，年龄越小的牛血清，细胞培养效果越好。其中胎牛由于还未接触外界，血液中所含抗体、补体等对细胞生长有害的成分最少，血清的质量最高。根据血清质量从优到次排序依次为，胎牛>新生牛>小牛>成年牛。所以目前多数科研人员选择胎牛血清进行细胞培养。

（二）按血源地划分

目前国际市场上，质量最好的牛血清主要来自北美、南美、西欧、澳洲和新西兰等国家及地区，因为这些地区拥有大量优质牧场、畜牧业相当发达，这使他们成为全球胎牛血清产业最发达、发展最快的地方。

- 1. 新西兰、澳洲：**这两个地方非常的特殊，它们都是被海洋包围天然分割开的一块独立土地，从地理上来说，本身就减少来自外界的环境污染，再加上非常适合牛生长的环境，产出的血清当然就跟它们产出的牛奶一样，质量很高。澳洲是世界第一养牛基地，拥有世界上最大的养牛场——安娜溪（Anna Creek）养牛场，有多大呢？面积超过了以色列、斯洛文尼亚和黎巴嫩等 80 多个国家和地区，相当于是北京和上海的总和。这也是为啥澳洲牛血清在市场上“香”的重要原因。
- 2. 北美：**北美拥有先进科学技术，血浆的采集、处理拥有国际领先的设备和流程，产出的牛血清质量也是不错的，但是中国对北美源地的血清是限制进口的。

近些年来，生物安全问题受到广泛关注。尤其自新冠病毒疫情爆发以来，生物安全已经上升到国家战略层面。我国《生物安全法》也已于 2021 年 4 月 15 日起施行，加强生物资源进出口监管和提高国家生物安全监管能力。作为生物安全监管的重要部分，与科研人员密切相关的实验室安全也被纳入《生物安全法》。

所以，目前中国海关总署允许进口的牛血清产地只有澳大利亚、新西兰和南美的乌拉圭，市面上其他源地的进口牛血清可以说都是“水货”都是非法走私来的，安全性无法保证。

最后还有一点，不管是国产还是进口血清，大部分都是不测抗生素的，国外，抗生素的使用很严格，用量也很少，每头奶牛的产品包括血清都可以溯源的，因此可以做到胎牛血清中不含抗生素或含量极低；国内，抗生素的滥用已成了普遍现象，血清中残留很高，对细胞培养极为不利，这是国产血清质量差的重要原因。

（三）根据不同品质分

区分胎牛血清很重要的一点就是血清的内毒素含量，内毒素含量越低的血清，级别就越高，以胎牛血清为例：

当血清中内毒素含量 $\leq 10\text{EU/ml}$ 时，此血清为特级胎牛血清；

当血清中内毒素含量 $> 10\text{EU/ml}$ ， $\leq 25\text{EU/ml}$ 时，此血清为优级胎牛血清；

当血清中内毒素含量 $\geq 25\text{EU/ml}$ 时，此血清为标准级胎牛血清；

目前，由于同一厂家，不同批次的血清，内毒素数值也可能有较大差异，因此很多血清厂家在名称上已不注明级别。但使用者仍可通过检测报告进行甄别。

（四）根据不同处理分

- 1. 透析胎牛血清：**透析过滤去除 10kD 以下小分子（如次黄嘌呤和胸腺核苷），避免外源小分子对细胞产生干扰。适合脉冲示踪实验（例如同位素标记特定小分子加入到培养体系中，以研究细胞代谢），也适合转染 CHO 后的筛选等应用。
- 2. 去外泌体血清：**通过超速离心法去除绝大部分外泌体的血清，适用于外泌体相关细胞实验研究。
- 3. 超低 IgG 的血清：**使用亲和层析等工艺，去除 IgG，使其水平低于标准值，适用于抗体、病毒和病毒反应以及细胞表面抗原表位相关研究。
- 4. 活性炭/葡聚糖处理的血清：**可降低血清中类固醇激素的浓度，例如雌二醇、孕酮、皮质醇、睾酮、T3 和 T4。适用于相关激素研究的实验。

四、怎么判断血清的优劣？

牛血清本身的主要指标，国内外对牛血清的指标要求有所区别，国际上主要参考欧洲药典（EP10.0）和美国药典（USP43），目前国内牛血清的质量标准是 2020 版《中华人民共和国药典》三部通则（3604 新生牛血清检测要求），对**血清的外观理化性质、生化指标、微生物、病毒**等都有详细的规定。

项目	欧洲药典(EP10.0)	美国药典(USP43)	中国(兽)药典(2020版)新生牛血清
pH		7.00-8.00	7.00-8.50
渗透压	280-365(胎牛)	280-360(胎牛)	
mOsmol/kg	240-340(其它)	240-340(其它)	250-330
总蛋白含量	30-45mg/ml(胎牛) >=35mg/ml(其它)	3.0-4.5g/dl(胎牛) 3.5-6.0g/dl(新生小牛) 5.0-8.0g/dl(小牛供体牛) 6.0-10.0g/dl(成牛)	35-50g/L
血红蛋白	<=4mg/ml	<30mg/dl	<200mg/l
内毒素	<10EU/mL(供体牛) <25EU/mL(胎牛) <100EU/mL(其它)	<10EU/ml(胎牛)	<10EU/ml
无菌检测	阴性	阴性	阴性
支原体检测	阴性	阴性	阴性
大肠杆菌噬菌体	--	--	阴性
病毒检测	阴性	至少不得检出BVDV BPV、BAV、BTVBRSV REO、RV	不得检出BVDV BAV、BPV、PI3 REO、RV
促细胞生长	未明确要求	HFL1、Mv1 Lu、HL-60、Vero、CHO	药典：Sp2/0细胞或其他适宜细胞 兽药典：Sp2/0细胞

（一）外观

- 1. 颜色：**根据血红蛋白含量的不同，胎牛血清可表现出黄色或红色，实际上，血红蛋白含量的高低对血清质量并无直接影响，这个指标的意义在于能体现出采血过程的严谨规范程度。胎牛血清或多或少总有点溶血，因为真正的胎牛血清凝血功能差，红细胞容易破裂。
- 2. 澄清度：**高质量的胎牛血清由于蛋白和脂类等物质含量低，表现为稀薄、清淡，而新生牛血清，相对而言更加粘稠，颜色略深。
- 3. 血清沉淀：**血清有沉淀，是质量问题？血清中的沉淀是由纤维蛋白的凝聚产生，对血清质量没有任何影响，沉淀的产生原因很多，跟加工生产方式、是否反复冻融密切相关。虽然沉淀并不直接影响血清的质量，但对细胞的显微观察有一定的阻碍。

（二）理化检测

- 1. 总蛋白：**中国药典规定血清中总蛋白含量应为 35-50g/L。一般胎牛血清的总蛋白含量相对较低，随着牛龄增加，血清中蛋白含量也会增加。

2. 血红蛋白：血红蛋白的含量经常直观体现在牛血清产品的外观颜色，血清一般是淡黄色，有时也会偏红，这是正常现象，牛血清中的红色来自于血红蛋白中结合的血红素。中国药典规定血清中血红蛋白应不超过 200 mg/L。实际上，血红蛋白含量的高低对血清的细胞培养效果并无直接影响，但良好的生产工艺能降低红细胞的溶血。
3. 内毒素：内毒素是革兰氏阴性菌破裂后的细胞壁的成分，不同细胞在对内毒素的耐受性上表现出极大的差异，中国药典规定血清内毒素含量 $\leq 10\text{EU/ml}$ 。内毒素含量越低，表明血清处理环境越干净。

（三）微生物检测

1. 细菌、真菌等生物在生产过程中几乎都能 100%控制。
2. 支原体可以通过 3 次 $0.1\ \mu\text{m}$ 无菌过滤去除。
3. 噬菌体主要来源于采血、生产环境，是否出现噬菌体污染是检测牛血清加工过程中是否受到外源性污染的一个重要指标。

（四）病毒检测

牛血清富含各种营养，如果怀孕母牛本身携带有病毒，血清就会受到污染。因此，从源头上保证母牛健康、没有各种传染病，建立血清溯源机制，选择经检疫的正规渠道的血清，才有质量保障。

（五）细胞增殖测试

血清的成分含量复杂，不同批次之间也存在差异，为了检测不同批次血清对特定体外细胞株生长的效力，需要对每一批次的血清进行细胞培养测试。按照中国药典要求选取 Sp2/O-Ag14 进行细胞增殖实验，测定细胞生长曲线、倍增时间、克隆率及单细胞增殖率，同时测试多种常见细胞系如 MRC-5、ST、293T、CHO、VERO 等细胞的生长率，为血清品质评估提供多角度参考。