

關於血清的那些事兒（二） 反覆凍融對血清的影響



你是否還在為血清凍融問題所困擾！

未用完的解凍血清是否可以繼續凍存使用！！

多次凍融是否影響細胞生長和血清品質！！！！

HyClone 通過科學的實驗資料

來為你“排憂解難”



材料與方法

選取任一批次 HyClone Cosmic Calf™ Serum (加強型小牛血清-貨號：SH30413)和 HyClone Characterized Fetal Bovine Serum (澳洲優級胎牛血清-貨號：SH30084)用於此研究。

- (1) 每個批次選取 5 瓶並標記 1×到 5×
- (2) 瓶 1×保持凍存狀態，瓶 2×至 5×常溫解凍。
- (3) 在解凍過程中，每 20-30 分鐘混合操作一次。
- (4) 待完全解凍後，立即於-20°C 下重新凍存至隔夜。
- (5) 瓶 3×至瓶 5×分別再進行 1 次、2 次、3 次凍融。



生長研究

選取 5 種細胞株，測定各個血清的培養性能。表 1 中列出了細胞株及基礎培養基的類型。所有的培養基需添加 10% 的待測血清。針對貼壁細胞，以 $1.0 \times 10^4/cm^2$ 的活細胞密度接種到 T25 培養瓶中(三個平行試驗)。當細胞融合率達到 90%時，計數。若為懸浮細胞，以 $8.0 \times 10^3/mL$ 的活細胞密度接種到 T25 培養瓶中，從第三天開始，每天計數一次，直到細胞活率下降(培養條件：37 °C 5%CO₂)。



生化分析

所有瓶裝血清樣品進行生化實驗測定，確定血清成分是否有明顯變化。



沉澱分析

比濁法測定樣品中的沉澱物，並通過肉眼檢測的方法判斷多次解凍/凍存是否會增加微粒物質的數量。

	種類	形態學分類	組織來源	基礎培養基
VERO	非洲綠猴腎細胞	成纖維細胞	腎	DMEM (貨號 SH30234.01)
CHO-K1	中國倉鼠卵巢細胞	上皮細胞	卵巢	Ham's F12 (貨號 SH30226.01)
MRC-5	人胚肺細胞	成纖維細胞	肺	DMEM
Sp2/0-Ag14	小鼠骨髓瘤細胞	懸浮細胞	骨髓瘤	DMEM
FOX-NY	小鼠淋巴瘤細胞	懸浮細胞	骨髓瘤	DMEM

表 1. 細胞及培養基類型



結果與討論

- 圖 1 到圖 5 是細胞生長的結果，細胞密度沒有明顯的變化。
- 血清生化分析結果(可向岑祥詢問)，血清成分沒有明顯的變化。
- 濁度分析結果(表 2)表明微粒物質的數量沒有明顯的變化。所有結果都經肉眼確認。

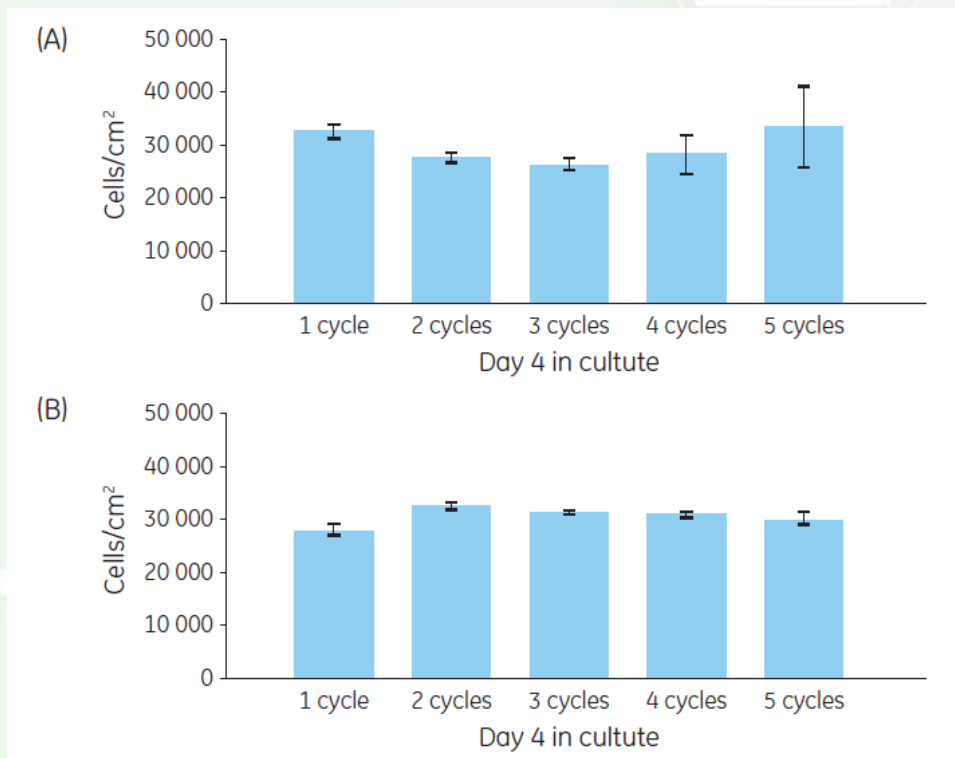


圖 1. MRC-5 細胞生長結果(DMEM +10% FBS(A)或加強型小牛血清(B))

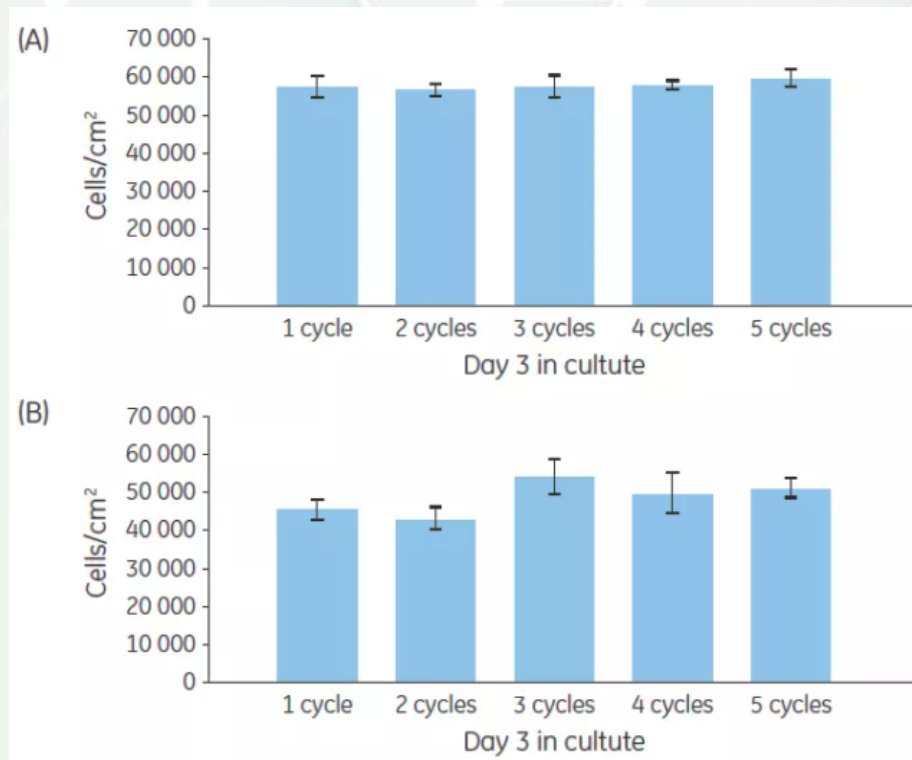


圖 2. VERO 細胞生長結果(DMEM +10% FBS(A)或加強型小牛血清(B))

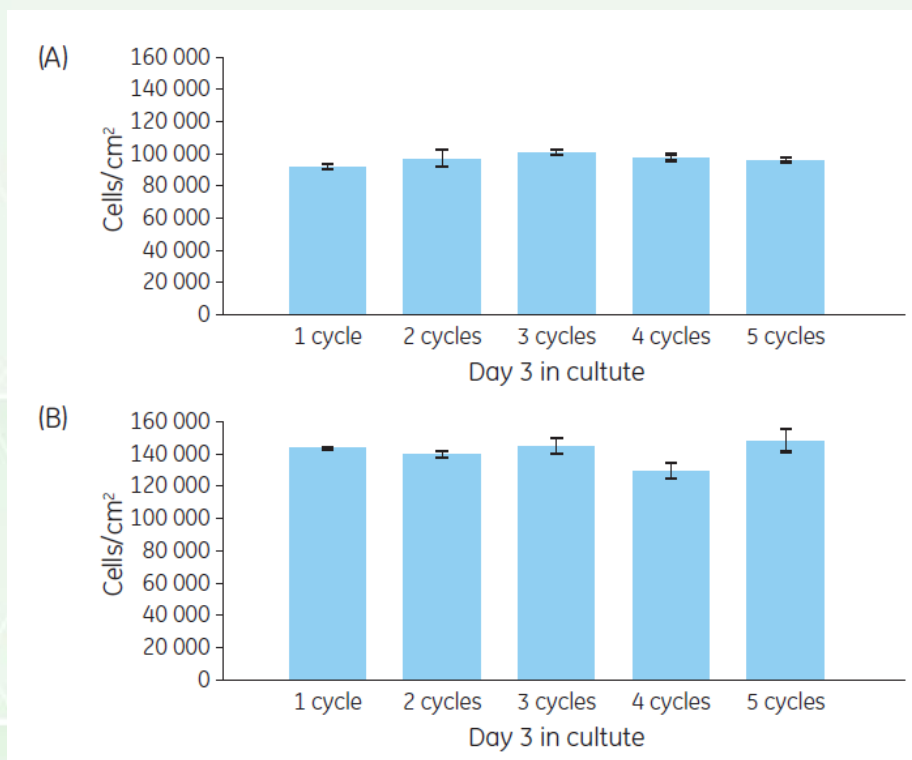


圖 3. CHO-K1 細胞生長結果(Ham's F12 +10% FBS(A)或加強型小牛血清(B))

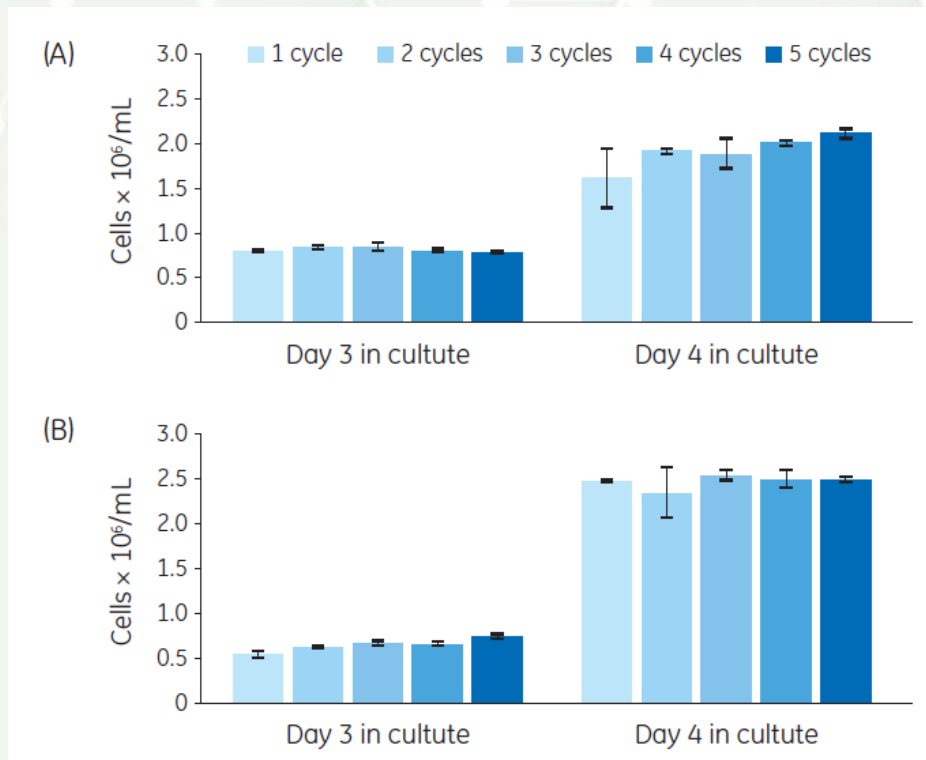


圖 4. FOX-NY 細胞生長結果(DMEM +10% FBS(A)或加強型小牛血清(B))

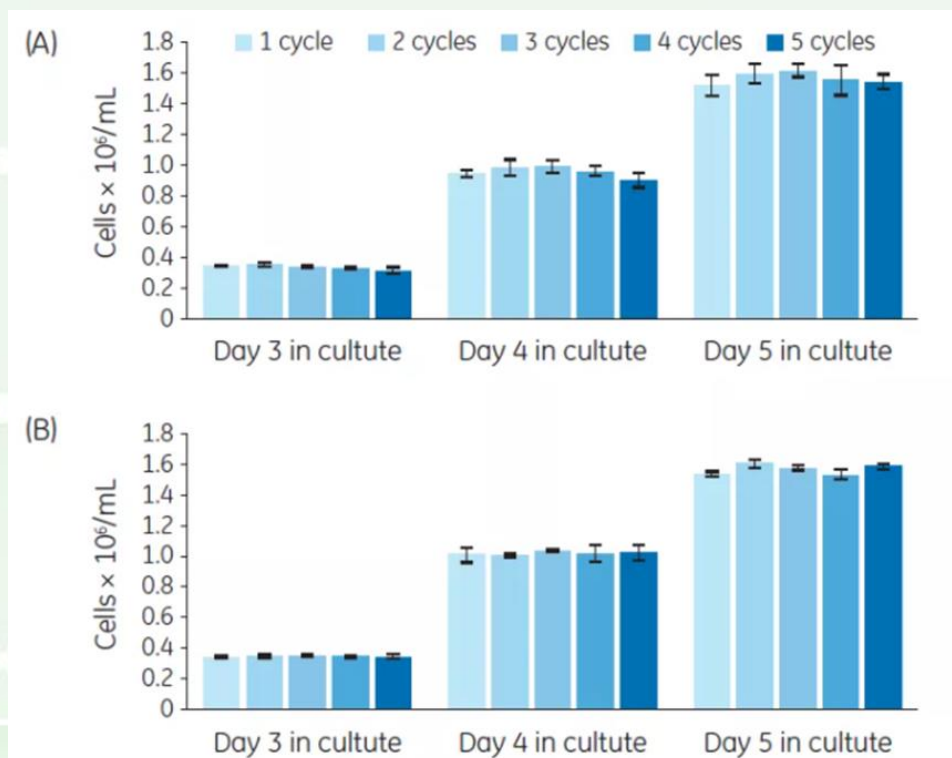


圖 5. Sp2/0-Ag14 細胞生長結果(DMEM +10% FBS(A) 或加強型小牛血清(B))

濁度測定 (NTU)	次數 (解凍/凍存)				
	1×	2×	3×	4×	5×
加強型小牛血清 (SH30413)	34.6	35.5	36.3	35.4	35.3
澳大利亞血清 (SH30084)	10.5	10.3	10.3	10.2	9.97

表 2. 血清濁度分析結果(多次解凍/凍存)



結論

經過 5 次解凍/凍存迴圈的血清在細胞生長性能、生化分析資料和濁度方面沒有明顯的變化，我們認為血清經多次解凍/凍存迴圈(可達 5 次)之後，不會影響細胞的生長。雖然測定資料顯示，經過多達 5 次解凍/凍存血清性能並未出現明顯的下降，但反復凍融會造成血清的沉澱增多，給後續處理帶來麻煩，我們建議血清的解凍/凍存次數越少越好。

更多產品[資訊請點我](#)