

Review article

Fetal bovine serum in cell culture

Sompong Boonhai*Department of Antiserum and Standard Cell Preparation, National Blood Centre, Thai Red Cross Society, Bangkok, Thailand*

Abstract

The purpose of this literature review is to summarize the procedures for producing fetal bovine serum (FBS), various testing standards, manufacturing sources, benefits, and applications of FBS in cell culture media preparation. FBS is the most widely used serum for in vitro eukaryotic cell culture. It is commonly used in biomedical research, drug development, and biomanufacturing. Due to its very low antibody levels and a higher content of growth factors, it is versatile in a wide range of cell culture applications. FBS is derived from peripheral blood collected from bovine fetuses through closed collection systems at slaughterhouses. A protein called bovine serum albumin (BSA) is the major component of FBS and plays a key role in maintaining osmotic balance and molecular transport within the cell culture medium. In addition to BSA, FBS is a rich source of growth and adhesion factors, lipids, hormones, nutrients, and electrolytes essential for supporting cell growth in culture. FBS is typically added to basic cell culture media such as Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) or Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI) at concentrations of 5.0% – 20.0%.

Keywords: Fetal bovine serum, cell culture, bovine serum albumin.

***Correspondence to: Sompong Boonhai**, Department of Antiserum and Standard Cell Preparation, National Blood Centre, Thai Red Cross Society, Bangkok 10330, Thailand.

E-mail: aiscivic@hotmail.com

Received: December 20, 2025

Revised: April 30, 2026

Accepted: May 20, 2026

บทฟื้นฟูวิชาการ

การใช้ซีรัมจากตัวอ่อนวัวในงานเพาะเลี้ยงเซลล์

สมพงษ์ บุญให้

ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการทบทวนวรรณกรรมนี้คือการสรุปขั้นตอนการผลิตซีรัมจากตัวอ่อนวัว (fetal bovine serum, FBS) มาตรฐานการทดสอบต่าง ๆ แหล่งที่มาของการผลิต ประโยชน์และการนำ FBS มาประยุกต์ใช้ในการเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ FBS เป็นซีรัมที่ใช้กันอย่างแพร่หลายที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ยูคาริโอตในหลอดทดลอง ซีรัมนี้มักถูกใช้ในงานวิจัยชีววิทยาทางการแพทย์ การพัฒนายา และการผลิตทางชีวภาพ เนื่องจากมีระดับแอนติบอดีต่ำและมีปัจจัยการเจริญเติบโตมากกว่า จึงทำให้มีความหลากหลายในการใช้งานเพาะเลี้ยงเซลล์หลายประเภท FBS ได้มาจากเลือดที่เก็บรวบรวมจากตัวอ่อนวัว ผ่านระบบเก็บตัวอย่างแบบปิดที่โรงฆ่าสัตว์ โปรตีนที่เรียกว่าอัลบูมิน (bovine serum albumin, BSA) เป็นองค์ประกอบหลักของ FBS มีบทบาทสำคัญในการรักษาสมดุลออสโมซิสและการขนส่งโมเลกุลภายในอาหารเลี้ยงเซลล์ นอกจาก BSA แล้ว FBS ยังเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยปัจจัยการเจริญเติบโตและการยึดเกาะ ไขมัน ฮอริโมน สารอาหาร และอิเล็กโทรไลต์ที่จำเป็นต่อการสนับสนุนการเจริญเติบโตของเซลล์ในการเพาะเลี้ยง โดยทั่วไปจะเติม FBS ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์พื้นฐาน เช่น Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) หรือ Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 - ร้อยละ 20

คำสำคัญ: ซีรัมจากตัวอ่อนวัว, การเพาะเลี้ยงเซลล์, อัลบูมินในซีรัมวัว.

Fetal bovine serum (FBS) คือซีรัมจากตัวอ่อนวัว ซึ่งขาดเซลล์ ไฟบริน และสารช่วยการแข็งตัวของเลือด แต่ประกอบด้วยสารอาหารและสารโมเลกุลขนาดใหญ่ จำนวนมากที่ จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ อัลบูมินในซีรัมวัว (Bovine Serum Albumin, BSA) เป็นองค์ประกอบหลักของ FBS ซึ่งจำเป็นต่อการบำรุงรักษา และการเจริญเติบโตของเซลล์ที่เพาะเลี้ยง^(1,2) นอกจากนี้ FBS ยังมีโมเลกุลขนาดเล็กหลายชนิด เช่น กรดอะมิโน น้ำตาล ไขมัน และฮอร์โมน FBS ถูกนำมาใช้ในหลากหลายรูปแบบ หนึ่งในการใช้งานหลักของ FBS คือการเพาะเลี้ยงเซลล์ ยูคาริโอต ซึ่งมีการใช้ FBS ในความเข้มข้นถึงร้อยละ 20 หรือสูงกว่า⁽³⁾ โดย FBS ให้สารอาหารและสารช่วยการเจริญเติบโตที่จำเป็นมากมายที่เชื้อต่อการอยู่รอดและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ อย่างไรก็ตาม สิ่งสำคัญคือต้องทราบว่า FBS ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ของมนุษย์อาจทำให้เกิดสิ่งประดิษฐ์ จากการวิจัย เซลล์ของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงด้วยซีรัมของมนุษย์ มีพฤติกรรมแตกต่างจากเซลล์ที่เพาะเลี้ยงด้วย FBS⁽⁴⁾ FBS ยังใช้ในการวิจัย ผลิต และควบคุมวัคซีนสำหรับมนุษย์และสัตว์ รวมถึงยาชีววัตถุ และใช้เพื่อยับยั้งการย่อยทริปซิน⁽⁵⁾ หรือใช้เป็นสารป้องกันในกระบวนการแช่แข็งเซลล์ (cell freezing)⁽⁶⁾ FBS อาจไม่ใช่อาหารเสริมที่ดีที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ การใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ที่ปราศจากซีรัม (Serum-Free Media) ซึ่งเติมด้วย BSA, Insulin-Transferrin-Sodium Selenite (ITS) และ Epidermal Growth Factor (EGF) สามารถให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าหรือเทียบเท่ากับ FBS โดยการปรับปรุงคุณภาพตัวอ่อนวัวและส่งเสริมกระบวนการ Trophoblast Invasion โดยมีข้อดีคือส่วนประกอบคงที่ ลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนไวรัส และควบคุมสภาวะการเลี้ยงเซลล์ได้ดีกว่า⁽⁷⁾

เหตุผลที่ใช้ซีรัมจากตัวอ่อนวัว (FBS) เมื่อเทียบกับ ซีรัมวัวแรกเกิดหรือซีรัมวัวที่โตเต็มวัย

เมื่อเปรียบเทียบกับซีรัมจากลูกวัวแรกเกิด และวัวโตเต็มวัย ซีรัมจากตัวอ่อนวัว (FBS) ให้สภาวะที่เหมาะสมกว่าสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์นอกสิ่งมีชีวิต เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารส่งเสริมการเจริญเติบโตสูง มีอิมมูโนโกลบูลินต่ำ และมีความเสี่ยงต่ำต่อสารยับยั้งที่อาจรบกวนการเจริญของเซลล์ นอกจากนี้ FBS ยังมีระดับโปรตีนคอมพลีเมนต์ (complements) ต่ำกว่าซีรัมของวัวที่โตเต็มวัยหรือในซีรัมวัวแรกเกิดคอมพลีเมนต์เหล่านี้มีผลเสียต่อการทำลายเซลล์ที่เพาะเลี้ยงจากกระบวนการทำงานของภูมิคุ้มกัน

ความแตกต่างระหว่างซีรัมและพลาสมา

ซีรัมและพลาสมาได้มาจากเลือดทั้งหมดโดยใช้การปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนประกอบต่าง ๆ รวมถึงเซลล์ เม็ดเลือดแดง ความแตกต่างระหว่างพลาสมาและซีรัมคือโปรตีนที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือดมีอยู่ในพลาสมา แต่ถูกกำจัดออกจากซีรัมแล้ว โดยทั่วไปพลาสมาจะถูกเตรียมโดยการเติมสารต้านการแข็งตัวของเลือดลงในเลือด ก่อนการปั่นเหวี่ยง แต่โปรตีนที่ทำให้เลือดแข็งตัวจะไม่ถูกกำจัดออก ซีรัมจะถูกเตรียมโดยการปล่อยให้เลือดแข็งตัว ก่อนการปั่นเหวี่ยง หรือโดยการปั่นเหวี่ยงแบบเข้มข้น/แบบก้าวหน้า ดังนั้นไฟบริโนเจนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือดจึงไม่ปรากฏในซีรัม

มาตรฐานการทดสอบ FBS ก่อนบรรจุและจำหน่าย

สมาคมอุตสาหกรรมซีรัมนานาชาติ (International Serum Industry Association, ISIA) ซึ่งเป็นองค์กรการค้าของผู้ผลิตซีรัม ได้กำหนดแนวทางปฏิบัติสำหรับการกำหนด มาตรฐานการควบคุมคุณภาพ ภายใต้แนวทางปฏิบัตินี้ จำเป็นต้องทำการทดสอบต่อไปนี้ตามวิธีการที่กำหนดไว้ โดยใช้วิธีการเฉพาะ และผลการทดสอบต้องแสดงเป็นใบรับรองการวิเคราะห์ (Table 1)⁽⁸⁾

การทดสอบเอนโดท็อกซิน

เอนโดท็อกซิน หรือที่เรียกว่า ไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ (LPS) หรือ ไลโปลิโกแซ็กคาไรด์ (LOS) มาจากเยื่อหุ้มชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบ และมีส่วนทำให้เกิดอาการทางคลินิกของแบคทีเรียแกรมลบที่ก่อโรคหลายชนิด ในร่างกาย เอนโดท็อกซินทำให้เกิดไข้และการอักเสบ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเซลล์จะทำให้เกิดการตอบสนองของเซลล์ที่แตกต่างกัน การตรวจวัดเอนโดท็อกซิน เป็นขั้นตอนสำคัญในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาและอุปกรณ์ทางการแพทย์ โดยใช้หลักการตรวจจับสารพิษจากแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งมี 2 วิธีหลักคือ 1) การทดสอบ Limulus Amebocyte Lysate (LAL) (มาตรฐานดั้งเดิม) และ 2) วิธีสมัยใหม่ Recombinant Factor C assay ที่มีความไวสูงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าวิธีการหลัก ในการตรวจวัดเอนโดท็อกซิน LAL Assay เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้สารสกัดจากเลือดแมงดาทะเล (Limulus polyphemus) ซึ่งจะจับตัวเป็นเจลหรือเปลี่ยนสีเมื่อสัมผัสกับเอนโดท็อกซิน มีความไวสูงมาก ในขณะที่การตรวจด้วยวิธี Recombinant Factor C Assay จะเป็นวิธีสังเคราะห์

Table 1. Minimum serum test requirements. ⁽⁸⁾

Test
Bacteria and fungi - sterility testing
Mycoplasma
Cytopathic agents - viral testing
Hemadsorbing agents - viral testing
Bovine virus diarrhea - viral testing
pH measurement
Osmolality
Total protein, determined by the Biuret method
Endotoxin
Hemoglobin
Electrophoretic pattern
Performance testing, such as stem cell culture
Radial immunodiffusion
Immunoglobulin
Gamma-glutamyl transferase (GGT)

แบบใหม่ที่จำลองเอนไซม์ตัวแรกในกระบวนการ LAL ผ่านเทคโนโลยีพันธุวิศวกรรม โดยไม่ต้องใช้เลือดแมงดาทะเล ทำให้ยั่งยืนกว่าแต่มีความแม่นยำสูงเทียบเท่ากัน ⁽⁹⁾

การยับยั้งการทำงานของ FBS ด้วยความร้อน (heat inactivation)

วิธีการรักษา FBS ที่พบบ่อยคือการยับยั้งการทำงานของ FBS ด้วยความร้อน โดย FBS จะถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 56 °C เป็นเวลา 30 นาทีในอ่างน้ำพร้อมเขย่าเป็นครั้งคราว วัตถุประสงค์คือการยับยั้งการทำงานของส่วนประกอบต่าง ๆ ของระบบคอมพลีเมนต์ที่มีอยู่ใน FBS ⁽¹⁰⁾ และยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ที่อาจยังไม่ทราบแน่ชัดอื่น ๆ ก่อนหน้านั้น การยับยั้งการทำงานของ FBS ด้วยความร้อนมีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดการปนเปื้อนของไมโคพลาสมา ซึ่งไม่ใช่ปัญหาอีกต่อไป เนื่องจากผลิตภัณฑ์ในซีรัมทั้งหมดถูกกรองผ่านรูพรุนที่มีขนาดเล็กพอที่จะกำจัดไมโคพลาสมาได้ ทั้งนี้ ควรสังเกตว่าการยับยั้งการทำงานของ FBS ด้วยความร้อนอาจมีผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ เช่น ลดความสามารถในการยึดเกาะกับพื้นผิวของเซลล์ที่เพาะเลี้ยง ⁽¹¹⁾ ผู้จำหน่ายหลายรายแนะนำให้ผู้ใช้หลีกเลี่ยงการยับยั้งการทำงานของ FBS ด้วยความร้อนสำหรับ

ความต้องการในการเพาะเลี้ยงเซลล์ส่วนใหญ่ ในแต่ละกรณีขอแนะนำให้ประเมินความจำเป็นในการยับยั้งการทำงานของ FBS ด้วยความร้อนในการใช้งานเฉพาะ เนื่องจากเซลล์แต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อการยับยั้งการทำงานของ FBS ด้วยความร้อนที่แตกต่างกัน ^(12,13)

การบำบัดด้วยถ่าน (charcoal treatment)

ถ่านกัมมันต์สามารถจับกับโมเลกุลโพลีฟิสิก จึงถูกนำมาใช้เพื่อกำจัดฮอร์โมนต่างๆ เช่น แอนโดรเจน เอสตราไดออล โปรเจสเตอโรน คอร์ติซอล เทสโทสเตอโรน ไตรไอยโดไทโรนีน (T3) และไทรอกซีน (T4) ออกจาก FBS ฮอร์โมนลิพิดในซีรัมเหล่านี้มีแนวโน้มที่จะรบกวนระบบภูมิคุ้มกันและวิธีการทดสอบอินซูลิน L Zhao L, และคณะ ได้ตรวจวัดการเติบโตของเซลล์เนื่องจากในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เสริมด้วยซีรัมที่สกัดด้วยถ่าน(ความเข้มข้นร้อยละ 10) ⁽¹⁴⁾

ไดอะลิซิส (Dialysis)

ไดอะลิซิส สามารถกำจัดโมเลกุลทั้งหมดที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 10,000 มวลโมเลกุล ออกจาก FBS ได้ ซึ่งรวมถึงโมเลกุลทั้งแบบมีขั้วและไม่มีขั้ว ฮอร์โมน ไซโตไคน์ กลูโคส กรดอะมิโน และอื่นๆ อีกมากมายถูกกำจัดออก

ไดอะลิซิส ยังกำจัดยาปฏิชีวนะและโมเลกุลภายนอกอื่น ๆ ใน FBS อีกด้วย FBS ที่ผ่านไดอะลิซิส จาก Thermo Fisher Scientific ถูกนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ขาดกลูโคส⁽¹⁵⁾ มะเร็งท่อน้ำดีของตับอ่อนสำหรับการศึกษา SILAC mass spec⁽¹⁶⁾ และการศึกษา SILAC อื่น ๆ⁽¹⁷⁾ และในการเพาะเลี้ยงเซลล์ HeLa ด้วย Met analogue L-AHA pulse-chase เพื่อตรวจจับโปรตีนอายุยืนด้วย click-chemistry⁽¹⁸⁾ และอื่นๆ⁽¹⁹⁾

การฉายรังสีแกมมา (Gamma-irradiation)

การฉายรังสีแกมมาอาจเป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการฆ่าเชื้อ FBS โดยทั่วไป FBS จะถูกกรองผ่านตัวกรองขนาด 0.1 ไมครอนเมตร หลายครั้งเพื่อกำจัดจุลินทรีย์ การฉายรังสีแกมมาสามารถยับยั้งการทำงานของไวรัสที่พบได้ทั่วไปในโคได้ อย่างไรก็ตาม ไวรัสบางชนิด เช่น พาร์โวไวรัส มีความต้านทานต่อการฉายรังสีแกมมา

การลดระดับ Immunoglobulin G (IgG) FBS

การลดระดับ IgG ใน FBS เป็นขั้นตอนสำคัญสำหรับงานวิจัยที่ไวต่อการปนเปื้อนของแอนติบอดีจากวัว เนื่องจาก FBS ปกติมี IgG อยู่ประมาณ 70-300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งอาจรบกวนผลการทดลองได้ วิธีการลด IgG ใน FBS (IgG Depletion Methods) ได้แก่ 1) Affinity Chromatography ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมที่สุด โดยใช้เรซินที่จับกับโปรตีนจำเพาะ ได้แก่ Protein A หรือ Protein G Immobilized บน agarose beads ซึ่งจะจับกับ Fc region ของ bovine IgG โดยตรง 2) Ion Exchange Chromatography เป็นวิธีที่ใช้เรซินประเภท Diethylaminoethyl (DEAE) เพื่อแยก IgG ออกจากส่วนประกอบอื่นๆ ในซีรัมโดยใช้หลักการแลกเปลี่ยนประจุ 3) Sequential Chromatography คือการใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีหลายขั้นตอนรวมกันเพื่อลดปริมาณ IgG ให้ได้ถึงระดับต่ำมาก (ultra-low) คือมี IgG < 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร การทดลองหรือการทดสอบที่ต้องการ IgG ต่ำ (Low IgG FBS Applications) เช่น การผลิตแอนติบอดีด้วย Hybridoma Cells เพื่อไม่ให้ bovine IgG ปนเปื้อนในแอนติบอดีที่ต้องการผลิต (Monoclonal Antibody Production) หรือการทดสอบทางภูมิคุ้มกัน (Immunoassay) ที่ต้องการความแม่นยำสูง เช่น ELISA หรือ Western blot (WB) ที่ใช้แอนติบอดีที่เกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (cross-react) กับแอนติบอดีวัว ซึ่งจะทำให้เกิด background สูง

ประเทศผู้ผลิต FBS

ประเทศผู้ผลิต FBS รายใหญ่และการกำกับดูแลแหล่งผลิตหลัก ได้แก่ สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์, แคนาดา และกลุ่มอเมริกาใต้/กลาง (เช่น บราซิล, ชิลี, อุรุกวัย) ส่วนการควบคุมคุณภาพจะมีหน่วยงานรัฐบาลควบคุมอย่างเข้มงวด เช่น United States Department of Agriculture (USDA) ของสหรัฐอเมริกา, Department of Agriculture, Fisheries and Forestry (DAFF) ของออสเตรเลีย และ Ministry for Primary Industries (MPI) ของนิวซีแลนด์ ซึ่งประเทศนิวซีแลนด์ได้รับการยอมรับว่าปลอดโรคในวัวสูงที่สุด เช่น โรคปากและเท้าเปื่อย (Foot and Mouth Disease; FMD) ตามด้วยออสเตรเลียและสหรัฐฯ ซึ่งทำให้ FBS จากแหล่งเหล่านี้มีราคาสูงกว่า

FBS เกรด USDA มาจากประเทศที่ได้รับการรับรองจาก USDA ว่าปลอดโรค FMD และโรควัวบ้า (Bovine spongiform encephalopathy; BSE) การนำเข้าสามารถนำเข้าสู่สหรัฐอเมริกาและหลายประเทศทั่วโลกได้โดยตรง โดยผ่านการตรวจเช็คทางสัตวแพทย์ที่เข้มงวดการทดสอบ FBS จากออสเตรเลียต้องผ่านการทดสอบไวรัสจำเพาะ เช่น Akabane และ Bluetongue มากกว่านิวซีแลนด์ ส่วน FBS เกรดยุโรป (EU Grade) มีข้อกำหนดสอดคล้องกับมาตรฐานของสหภาพยุโรป การจำหน่ายเป็นที่นิยมและขายได้ในยุโรป เอเชีย และประเทศที่ไม่ได้เน้นข้อกำหนดเฉพาะของ USDA การจัดการผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในยุโรปมักผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อเพิ่มเติม เช่น การฉายรังสีแกมมา (Gamma Irradiation) เพื่อความปลอดภัย โดยสรุปแล้ว การเลือกเกรดของ FBS ขึ้นอยู่กับข้อกำหนดของงานวิจัยงบประมาณ และข้อจำกัดในการนำเข้าของแต่ละประเทศ

วิธีการดูแลและเก็บรักษา FBS

FBS ควรเก็บแช่แข็งที่อุณหภูมิ -5 °C ถึง -20 °C และสามารถละลายได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 2 °C ถึง 8 °C การแบ่งส่วนและแช่แข็งซีรัมเป็นส่วนเล็กๆ มักจะเป็นหลอดขนาด 50 มิลลิลิตร เพื่อหลีกเลี่ยงการแช่แข็งและละลายหลายครั้ง โดยทั่วไปมักจะมีตะกอนเกิดขึ้นหลังจากการละลาย ตะกอนเหล่านี้ อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีนในซีรัมบางส่วนสามารถกำจัดออกได้ด้วยการปั่นเหวี่ยงสั้นๆ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของซีรัม

Table 2. Suppliers and the numbers of publications citing their FBS (with catalog numbers, if available) in the survey. ⁽⁸⁾

Supplier	Brand	N	Reference
Thermo Fisher	Gibco	99	⁽²⁰⁾ , 10500-064 ⁽²¹⁾ , 16000-044 ⁽²²⁾ , 10270-106 ⁽²³⁾ , ⁽²⁴⁾
GE LifeScience (was Thermo Fisher)	Hyclone	49	⁽²⁵⁾ , SH30071 ⁽²⁶⁾
MilliporeSigma		33	F7524 ^(27, 28)
Gemini Bio-Products		11	100-106 ⁽²⁹⁾
Atlanta Biologicals		9	S12150 ⁽³⁰⁾ , S11550 ⁽³¹⁾
PAA Laboratories		7	⁽³²⁾
Omega Scientific		4	^(33,34)
Seradigm		3	1500-500 ^(35,36)
Corning		3	⁽³⁷⁾ , 35-010-CV ^(38,39)
Wisent		2	080450 ⁽⁴⁰⁾ , 081150 ⁽²⁶⁾
Biochrom		2	^(41,42)
Pan-Biotech		2	P30-3602 ^(43,44)
TaKaRa Bio		1	631106 ⁽⁴⁵⁾
WELGENE		1	⁽⁴⁶⁾
Bovogen		1	⁽²⁷⁾
Biowest		1	⁽⁴⁷⁾
Accurate Chemical & scientific		1	AIAM6840 ⁽²⁹⁾
VWR		1	89510-186 ⁽⁴⁸⁾

N, numbers of publications.

การคัดเลือกซีรัมจากตัวอ่อนวัว

ผู้จำหน่ายหลายรายจัดหา FBS ที่มีเกรดประเทศต้นกำเนิด และกระบวนการบำบัดที่แตกต่างกัน FBS เองก็เป็นส่วนผสมที่ซับซ้อน และมีความแตกต่างกันไปในแต่ละเกรด ผู้จำหน่าย และล๊อต ดังนั้น จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องกำหนดกระบวนการคัดเลือกและประเมิน FBS ควรศึกษาเอกสารประกอบเพื่อพิจารณาว่า FBS ที่เลือกสรรมานั้นเคยถูกใช้ในงานวิจัยที่คล้ายคลึงกัน หรือใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบเดียวกันอย่างไร และควรให้ความสนใจกับความผันแปรที่อาจเกิดขึ้นในแต่ละล๊อตของ FBS อย่างใกล้ชิด เพื่อช่วยในเรื่องนี้ Labome ได้ทำการสำรวจการใช้งาน FBS จากสิ่งพิมพ์ทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งจะกล่าวถึงด้านล่างเพื่อช่วยให้ผู้วิจัยสามารถเลือก FBS ที่เหมาะสมที่สุด (Table 2) ⁽⁸⁾

การประยุกต์ใช้ FBS ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

การประยุกต์ใช้หลักของ FBS ในงานวิจัยและอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ FBS ถูกใช้เป็นส่วนผสมหลักในอาหารเลี้ยงเซลล์พื้นฐาน (Basal media) เพื่อให้เซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ได้อย่างเหมาะสม งานด้านการผลิตวัคซีน (Vaccine production) ในอุตสาหกรรมยา ใช้ FBS เลี้ยงเซลล์ไฮสท์สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัส เพื่อผลิตวัคซีนในปริมาณมาก งานวิจัยด้านเทคโนโลยีชีวภาพและเภสัชกรรม ใช้ในการทดลองที่เกี่ยวกับมะเร็ง วิศวกรรมเนื้อเยื่อ และการทดสอบความเป็นพิษของสารเคมี งานด้านการแช่แข็งเซลล์ (Cryopreservation) ใช่วัสดุร่วมกับสารป้องกันการแข็งตัว (Cryoprotectants) เพื่อรักษาเซลล์ให้มีชีวิตอยู่ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ นอกจากนี้ยังใช้ในงานด้านการปฏิสนธิในหลอดทดลอง (In Vitro Fertilization, IVF) โดยใช้ในการเลี้ยงตัวอ่อนในกระบวนการช่วยการเจริญพันธุ์

ปัจจุบันค่ายผลิตน้ำยาแอนติบอดีและผลิตภัณฑ์เซลล์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้นำ FBS มาใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญในอาหารเลี้ยงเซลล์ เพื่อพัฒนาและผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดโมโนโคลนัล แอนติบอดี (Monoclonal Antibody Reagents) เช่น Anti-A, Anti-B และ Anti-D เพื่อใช้ในการตรวจกรองและยืนยันหมู่โลหิต โดยการเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับ Hybridoma (Hybridoma Culture Medium) โดยสรุปขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ (เช่น RPMI 1640 หรือ DMEM) มีดังนี้

1. เตรียมอาหารพื้นฐาน โดยเตรียมผงอาหารเลี้ยงเซลล์ (เช่น RPMI-1640) ละลายในน้ำปราศจากเชื้อ (Deionized water) ตามปริมาณที่กำหนด
2. เติมสารอาหารเสริม เติมสารประกอบสำคัญ ได้แก่ L-glutamine ยาปฏิชีวนะ (เช่น Penicillin-Streptomycin) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย
3. ปรับค่า pH ของอาหารเลี้ยงเซลล์ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม (ประมาณ 7.20 - 7.25) ด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO₃) และกรดหรือเบสเจือจาง
4. การกรองปราศจากเชื้อ นำอาหารที่เตรียมได้ ผ่านการกรองปราศจากเชื้อ (Sterile Filtration) ผ่านแผ่นกรองขนาด 0.2 ไมครอนเมตร
5. เติม FBS ปริมาณที่เหมาะสม ปกติใช้ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 10 - ร้อยละ 20 เพื่อให้เป็นอาหารที่สมบูรณ์ (Complete Medium) ช่วยในการเจริญเติบโตของเซลล์ hybridoma
6. ตรวจสอบคุณภาพ (Quality Control) โดยการบ่มอาหารที่ผสมเสร็จแล้ว ในตู้อบ CO₂ incubator เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนก่อนนำไปใช้งานจริง กระบวนการนี้ช่วยให้ได้น้ำยาตรวจหมู่โลหิตชนิดโมโนโคลนัลแอนติบอดี (Monoclonal Antibody) ที่มีคุณภาพสูงตามมาตรฐาน

เอกสารอ้างอิง

1. Shah G. Why do we still use serum in the production of biopharmaceuticals?. Dev Biol Stand 1999;99:17–22.
2. Even M, Sandusky CB, Barnard ND. Serum-free hybridoma culture: ethical, scientific and safety considerations. Trends Biotechnol 2006;24:105–8.
3. Kitchen P, Salman MM, Halsey AM, Clarke Bland C, MacDonald JA, Ishida H, et al. Targeting aquaporin-4 subcellular localization to treat central nervous

system edema. Cell 2020;181:784–99.e19.

4. Heger JI, Froehlich K, Pastuszek J, Schmidt A, Baer C, Mrowka R, et al. Human serum alters cell culture behavior and improves spheroid formation in comparison to fetal bovine serum. Exp Cell Res 2018;365:57–65.
5. Nicetto D, Donahue G, Jain T, Peng T, Sidoli S, Sheng L, et al. H3K9me3-heterochromatin loss at protein-coding genes enables developmental lineage specification. Science 2019;363:294–7.
6. Laskowski TJ, Hazen AL, Collazo RS, Haviland D. Rigor and reproducibility of cytometry practices for immuno-oncology: a multifaceted challenge. Cytometry A 2020;97:116–25.
7. Mesalam A, Lee KL, Khan I, Chowdhury MMR, Zhang S, Song SH, et al. A combination of bovine serum albumin with insulin-transferrin-sodium selenite and/or epidermal growth factor as alternatives to fetal bovine serum in culture medium improves bovine embryo quality and trophoblast invasion by induction of matrix metal. Reprod Fertil Dev 2019;31:333–46.
8. Johnson M. Fetal Bovine Serum. Mater Methods 2012;2:117.
9. Piehler M, Roeder R, Blessing S, Reich J. Comparison of LAL and rFC assays-participation in a proficiency test program between 2014 and 2019. Microorganisms 2020;8:418.
10. Triglia RP, Linscott WD. Titers of nine complement components, conglutinin and C3b-inactivator in adult and fetal bovine sera. Mol Immunol. 1980;17:741–8.
11. Giard D. Routine heat inactivation of serum reduces its capacity to promote cell attachment. In Vitro Cell Dev Biol 1987;23:691–7.
12. Okano S, Hurley DJ, Vandenplas ML, Moore JN. Effect of fetal bovine serum and heat-inactivated fetal bovine serum on microbial cell wall-induced expression of procoagulant activity by equine and canine mononuclear cells in vitro. Am J Vet Res 2006;67:1020–4.

13. Kuznetsov SA, Mankani MH, Bianco P, Robey PG. Enumeration of the colony-forming units-fibroblast from mouse and human bone marrow in normal and pathological conditions. *Stem Cell Res* 2009; 2:83–94.
14. Zhao L, Han X, Lu J, McEachern D, Wang S. A highly potent PROTAC androgen receptor (AR) degrader ARD-61 effectively inhibits AR-positive breast cancer cell growth in vitro and tumor growth in vivo. *Neoplasia* 2020;22:522–32.
15. Zhang T, Xu D, Trefts E, Lv M, Inuzuka H, Song G, et al. Metabolic orchestration of cell death by AMPK-mediated phosphorylation of RIPK1. *Science* 2023;380:1372–80.
16. Capello M, Vykoukal JV, Katayama H, Bantis LE, Wang H, Kundnani DL, et al. Exosomes harbor B cell targets in pancreatic adenocarcinoma and exert decoy function against complement-mediated cytotoxicity. *Nat Commun* 2019;10:254.
17. Hamilton WB, Mosesson Y, Monteiro RS, Emdal KB, Knudsen TE, Francavilla C, et al. Dynamic lineage priming is driven via direct enhancer regulation by ERK. *Nature* 2019;575:355–60.
18. Li Z, Wang C, Wang Z, Zhu C, Li J, Sha T, et al. Allele-selective lowering of mutant HTT protein by HTT-LC3 linker compounds. *Nature* 2019;575:203–9.
19. Tsvetkov P, Coy S, Petrova B, Dreishpoon M, Verma A, Abdusamad M, et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins. *Science* 2022;375:1254–61.
20. Acevedo Rua L, Mumme M, Manferdini C, Darwiche S, Khalil A, Hilpert M, et al. Engineered nasal cartilage for the repair of osteoarthritic knee cartilage defects. *Sci Transl Med* 2021;13:eaaz4499.
21. Verschueren E, Husain B, Yuen K, Sun Y, Paduchuri S, Senbabaoglu Y, et al. The immunoglobulin superfamily receptome defines cancer-relevant networks associated with clinical outcome. *Cell* 2020;182:329–44.e19.
22. Brigidi GS, Hayes MGB, Delos Santos NP, Hartzell AL, Texari L, Lin PA, et al. Genomic decoding of neuronal depolarization by stimulus-specific NPAS4 heterodimers. *Cell* 2019;179:373–91.e27.
23. Pandolfini L, Barbieri I, Bannister AJ, Hendrick A, Andrews B, Webster N, et al. METTL1 Promotes let-7 MicroRNA Processing via m7G Methylation. *Mol Cell* 2019;74:1278–90.e9.
24. Frotin F, Schueder F, Tiwary S, Gupta R, Korner R, Schlichthaerle T, et al. The nucleolus functions as a phase-separated protein quality control compartment. *Science* 2019;365:342–7.
25. Li L, Lai F, Hu X, Liu B, Lu X, Lin Z, et al. Multifaceted SOX2-chromatin interaction underpins pluripotency progression in early embryos. *Science* 2023;382:ead5516.
26. Laflamme C, McKeever PM, Kumar R, Schwartz J, Kolahdouzan M, Chen CX, et al. Implementation of an antibody characterization procedure and application to the major ALS/FTD disease gene C9ORF72. *Elife* 2019;8:e48363.
27. Frohner IE, Mudrak I, Schüchner S, Anrather D, Hartl M, Sontag JM, et al. PP2AC Phospho-Tyr307 Antibodies Are Not Specific for this Modification but Are Sensitive to Other PP2AC Modifications Including Leu309 Methylation. *Cell Rep* 2020;30:3171–82.e6.
28. Frohner IE, Mudrak I, Kronlachner S, Schüchner S, Ogris E. Antibodies recognizing the C terminus of PP2A catalytic subunit are unsuitable for evaluating PP2A activity and holoenzyme composition. *Sci Signal* 2020;13:eaax6490.
29. Freeman SA, Uderhardt S, Saric A, Collins RF, Buckley CM, Mylvaganam S, et al. Lipid-gated monovalent ion fluxes regulate endocytic traffic and support immune surveillance. *Science* 2020;367: 301–5.
30. Shwartz Y, Gonzalez Celeiro M, Chen CL, Pasolli HA, Sheu SH, Fan SM, et al. Cell Types Promoting Goosebumps Form a Niche to Regulate Hair Follicle Stem Cells. *Cell* 2020;182:578–93.e19.

31. Dong JX, Lee Y, Kirmiz M, Palacio S, Dumitras C, Moreno CM, et al. A toolbox of nanobodies developed and validated for use as intrabodies and nanoscale immunolabels in brain neurons. *Elife* 2019;8:e48750.
32. Garcia-Jove Navarro M, Kashida S, Chouaib R, Souquere S, Pierron G, Weil D, et al. RNA is a critical element for the sizing and the composition of phase-separated RNA-protein condensates. *Nat Commun* 2019;10:3230.
33. Crowley SJ, Bruck PT, Bhuiyan MA, Mitchell Gears A, Walsh MJ, Zhangxu K, et al. Neoleukin-2 enhances anti-tumour immunity downstream of peptide vaccination targeted by an anti-MHC class II VHH. *Open Biol* 2020;10:190235.
34. Calvanese V, Nguyen AT, Bolan TJ, Vavilina A, Su T, Lee LK, et al. MLLT3 governs human haematopoietic stem-cell self-renewal and engraftment. *Nature* 2019;576:281–6.
35. Skokos D, Waite JC, Haber L, Crawford A, Hermann A, Ullman E, et al. A class of costimulatory CD28-bispecific antibodies that enhance the antitumor activity of CD3-bispecific antibodies. *Sci Transl Med* 2020;12:eaaw7888.
36. Albregues J, Shields MA, Ng D, Park CG, Ambrico A, Poindexter ME, et al. Neutrophil extracellular traps produced during inflammation awaken dormant cancer cells in mice. *Science* 2018;361:eaao4227.
37. Bellail AC, Jin HR, Lo HY, Jung SH, Hamdouchi C, Kim D, et al. Ubiquitination and degradation of SUMO1 by small-molecule degraders extends survival of mice with patient-derived tumors. *Sci Transl Med* 2021;13:eabh1486.
38. Petri K, Zhang W, Ma J, Schmidts A, Lee H, Horng JE, et al. CRISPR prime editing with ribonucleoprotein complexes in zebrafish and primary human cells. *Nat Biotechnol* 2022;40:189–93.
39. Kaelberer MM, Buchanan KL, Klein ME, Barth BB, Montoya MM, Shen X, et al. A gut-brain neural circuit for nutrient sensory transduction. *Science* 2018;361:eaat5236.
40. Worrall D, Ayoubi R, Fotouhi M, Southern K, McPherson PS, Laflamme C. The identification of high-performing antibodies for TDP-43 for use in Western Blot, immunoprecipitation and immunofluorescence. *F1000Res* 2023;12:277.
41. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 2020;181:271–80.
42. Liu X, Li J, Cadilha BL, Markota A, Voigt C, Huang Z, et al. Epithelial-type systemic breast carcinoma cells with a restricted mesenchymal transition are a major source of metastasis. *Sci Adv* 2019;5:eaav4275.
43. Schulte Schreppeing J, Reusch N, Paclik D, Baßler K, Schlickeiser S, Zhang B, et al. Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment. *Cell* 2020;182:1419–40.e23.
44. Schaupp L, Muth S, Rogell L, Kofoed Branzk M, Melchior F, Lienenklaus S, et al. Microbiota-Induced Type I Interferons Instruct a Poised Basal State of Dendritic Cells. *Cell* 2020;181:1080-96.e19.
45. Lu Y, Brommer B, Tian X, Krishnan A, Meer M, Wang C, et al. Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision. *Nature* 2020;588:124–9.
46. Kim H, Kim J, Yu S, Lee YY, Park J, Choi RJ, et al. A Mechanism for microRNA arm switching regulated by uridylation. *Mol Cell* 2020;78:1224–36.e5.
47. Yasuda S, Tsuchiya H, Kaiho A, Guo Q, Ikeuchi K, Endo A, et al. Stress- and ubiquitylation-dependent phase separation of the proteasome. *Nature* 2020;578:296–300.
48. Lee A, Hudson AR, Shiowski DJ, Tashman JW, Hinton TJ, Yerneni S, et al. 3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human heart. *Science* 2019;365:482–7.