

使用安捷伦 XF 底物氧化压力测试揭示 细胞代谢表型和功能

作者

George W. Rogers
安捷伦科技公司，
美国加利福尼亚州拉荷亚

Lisa P. Winer
安捷伦科技公司，
美国马萨诸塞州列克星敦市

Ryan McGarrigle
安捷伦科技公司，
爱尔兰科克

Alice Gao
安捷伦科技公司，
美国马萨诸塞州列克星敦市

James Hynes
安捷伦科技公司，
爱尔兰科克

摘要

安捷伦 Seahorse XF 技术可以实时测定活细胞的能量代谢，提供与细胞活力和适应性直接相关的关键功能信息。安捷伦 Seahorse XF 底物氧化压力测试可以提供关键指标，有助于研究与细胞表型和功能相关的或细胞表型和功能所需的特定线粒体底物。本研究概述了该分析策略，讨论了得到的相关数据，如何将这些方法更好地应用于癌症和免疫细胞代谢领域，以及该分析策略与药物发现的关系。

前言

代谢是目前公认的在正常和疾病状态下影响许多重要细胞功能的关键因素^[1,2]。通过对照实验确定底物需求可以为多个研究领域提供有用信息，包括癌症、免疫功能障碍、心血管疾病、神经退行性疾病和干细胞疾病模型中的药物靶标识别和验证^[3,4,5]。

安捷伦 Seahorse XF 技术是一种免标记的集成平台，它能够与 XF 分析仪、探针板、分析试剂盒和软件无缝结合，提供细胞代谢功能的实时动力学数据。基于该平台，安捷伦提供了多种 XF 分析试剂盒，能够提供从细胞功能的广泛评估到代谢机制的具体细节的全方位信息，如图 S1 所示。

安捷伦开发了一套用于测定细胞内底物氧化的优化分析方法，即 XF 底物氧化压力测试。这些分析方法可以研究驱动线粒体活动的 3 种主要底物：长链脂肪酸 (LCFA)、葡萄糖/丙酮酸和/或谷氨酰胺 (图 1)。利用特定底物氧化通路的抑制剂进行 XF 细胞线粒体压力测试，对线粒体进行全面评估，在底物需求较少 (即基础呼吸) 和底物需求较多 (即最大呼吸) 的条件下研究细胞，其中在底物需求较多时细胞更多地依赖关键底物 (图 2)。使用这些试剂盒能够更方便地研究特定的底物氧化过程，以及它们在激活、增殖和分化等基本细胞功能中的重要作用。此外，它们还可用于表征对遗传操控、药物干预或与特定底物氧化相关的特定疾病相关微环境的响应。

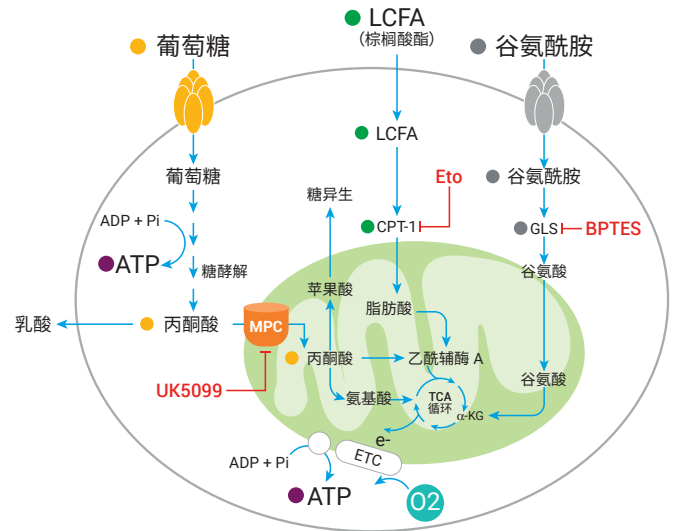


图 1. 主要的代谢通路，包括糖酵解、TCA 循环、电子传递链 (ETC) 和氧化磷酸化 (OXPHOS)。突出显示了葡萄糖/丙酮酸、谷氨酰胺和长链脂肪酸氧化。红线/红字表示葡萄糖/丙酮酸、LCFA 和谷氨酰胺代谢的相关抑制剂，这些抑制剂继而特异性限制了相应底物的氧化

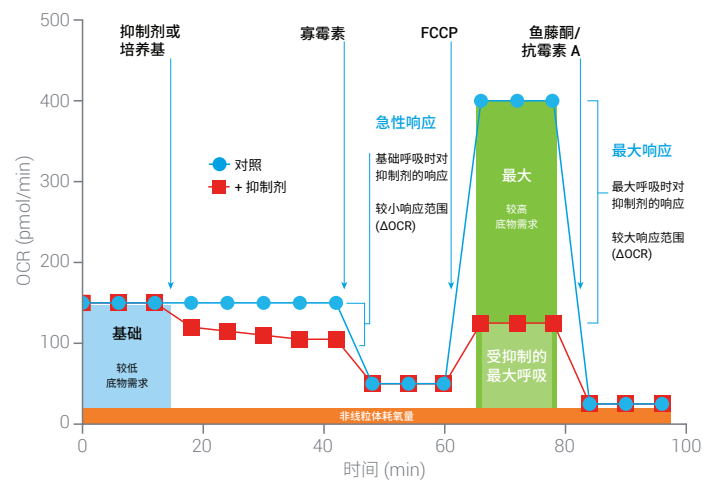


图 2. 对底物需求而言至关重要的呼吸参数的安捷伦 Seahorse XF 底物氧化压力测试曲线。在存在或不存在抑制剂时，连续添加化合物，测定基础呼吸参数、对抑制剂 (乙莫克舍、UK5099 或 BPTES) 的急性响应以及最大呼吸参数。值得注意的是，虽然在基础条件下可以检测到较小的变化，即急性响应，但在高底物需求条件下 (如 FCCP)，往往会出现更大的响应，从而显示出细胞氧化所研究底物的能力的差异

实验部分

所有细胞系均按照制造商的建议进行培养。对于 XF 分析，将 A549 细胞接种于 XF96 细胞培养微孔板中，培养基为添加了 2 mmol/L Glutamax 和 10% 血清的 DMEM F12 (Corning 10-090-CV)，接种密度为 1.5×10^4 细胞/孔。将 C2C12 细胞接种于 XF96 细胞培养微孔板中，培养基为添加了 4 mmol/L 谷氨酰胺、1 mmol/L 丙酮酸和 10% 血清的 DMEM 高浓度葡萄糖培养基 (Gibco 11960)，接种密度为 1.2×10^4 细胞/孔。将 HepG2 细胞接种于 XF96 细胞培养微孔板中，培养基为添加了 2 mmol/L Glutamax 和 10% 血清的 DMEM 低浓度葡萄糖培养基 (Gibco 11885)，接种密度为 2.0×10^4 细胞/孔。所有细胞均在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养过夜。次日，用底物氧化分析培养基 (XF DMEM pH 7.4 + 10 mmol/L XF 葡萄糖，1 mmol/L XF 丙酮酸，2 mmol/L XF 谷氨酰胺) 洗涤细胞 2 次，37 °C 无 CO₂ 条件下培养 60 分钟。将细胞板转移到 XFe96 分析仪进行分析，在 A 口加入乙莫克舍 (4 μmol/L)、UK5099 (2 μmol/L) 或 BPTES (3 μmol/L)，然后连续添加寡霉素 (1.5 μmol/L)、FCCP (所有 3 种细胞类型均为 1.5 μmol/L) 和鱼藤酮/抗霉素 A (各 0.5 μmol/L) (最终浓度)。然后使用 Cytation 5 仪器对细胞进行计数 (用于归一化)。

所有的 XF 分析均按照“XF 底物氧化用户指南”进行，包括化合物稀释和探针板的准备。

采用安捷伦 Seahorse Analytics 计算基础呼吸、急性响应和最大呼吸的底物氧化压力测试参数。Seahorse Analytics 中定义了这些参数。每种细胞添加抑制剂后的基础 OCR 百分比和最大 OCR 百分比 (图 7) 的计算公式如下所示，并使用 Microsoft Excel 绘图：

- **添加抑制剂后的基础 OCR 百分比** = [(基础 OCR + 急性响应 OCR) / 基础 OCR] × 100%
- **存在抑制剂时的最大 OCR 百分比** = [(最大对照 OCR - 最大抑制 OCR) / 最大对照 OCR] × 100%

材料

材料	供应商
A549 细胞系	ATCC
C2C12 细胞系	ATCC
HepG2 细胞系	ATCC
DMEM/F12 培养基	Corning
DMEM 高浓度葡萄糖培养基	Gibco
DMEM 低浓度葡萄糖培养基	Gibco
Glutamax	Gibco
血清	Hyclone
XF96 组织培养板	安捷伦
XFe96 探针板	安捷伦
XF 校准物	安捷伦
XF DMEM pH 7.4 分析培养基	安捷伦
XF 葡萄糖	安捷伦
XF 丙酮酸	安捷伦
XF 谷氨酰胺	安捷伦
XF 长链脂肪酸氧化压力测试试剂盒	安捷伦
XF 葡萄糖/丙酮酸氧化压力测试试剂盒	安捷伦
XF 谷氨酰胺氧化压力测试试剂盒	安捷伦
Seahorse XFe96 分析仪	安捷伦
Cytation 5	BioTek, 安捷伦旗下成员

XF 底物氧化压力测试：实验策略和分析设计

XF 底物氧化压力测试将 XF 细胞线粒体压力测试 (MST) 与下列底物通路特异性抑制剂相结合 (图 1)：

- 乙莫克舍 (Eto) 通过抑制肉毒碱棕榈酰基转移酶 1a (CPT1a) 来抑制 LCFA 的氧化^[6]
- UK5099 通过抑制线粒体丙酮酸载体蛋白 (MPC) 来抑制葡萄糖或丙酮酸的氧化^[7]
- BPTES 通过谷氨酰胺酶 1 (GLS-1) 抑制谷氨酰胺的氧化^[8]。注意，BPTES 不能抑制谷氨酰胺酶 2 (GLS2)

MST 是一种公认的用于研究线粒体功能的强大工具，与这些抑制剂结合使用，可以揭示对特定代谢底物的依赖性。基础呼吸速率和最大呼吸速率是 MST 报告线粒体功能的关键指标。在底物氧化背景下，基础呼吸速率，尤其是最大呼吸速率在很大程度上受到细胞对可用底物的运输能力和氧化能力的影

响^[9]。无论是在基础条件下还是在对更高的底物需求（最大呼吸）做出响应时，该方法都非常适合于评估细胞底物需求。图 2 概述了标准底物氧化分析和相关分析参数的动力学曲线。

为了进行底物氧化压力测试，确定了基础呼吸参数，然后添加相应的通路抑制剂。对抑制剂的急性响应要经过多个测试周期（通常为 6 个），然后按照标准顺序添加寡霉素、FCCP 和鱼藤酮/抗霉素 A。

通过测试可以获得丰富的信息，因为所描述的设计可以提供基础呼吸数据以及基础底物需求条件下通路抑制的影响，同时还能表征通路抑制对最大呼吸的影响，反映在较高的底物需求下，细胞对特定代谢通路损伤的敏感性。

每个试剂盒使用相关抑制剂在优化（最终）浓度下用于测试一种底物：

- 乙莫克舍 (4 μmol/L) 抑制 LCFA 氧化
- UK5099 (2 μmol/L) 抑制葡萄糖或丙酮酸的氧化
- BPTES (3 μmol/L) 抑制谷氨酰胺的氧化（最终浓度）

在分析培养基中的葡萄糖 (10 mmol/L)、丙酮酸 (1 mmol/L) 和谷氨酰胺 (2 mmol/L) 底物饱和的条件下进行标准底物氧化压力测试分析。长链脂肪酸来源于细胞内源性脂质/LCFA，因此

与细胞类型有关。图 3 概述了每种 XF 底物氧化压力测试的标准方法和分析条件。注意，除了抑制剂不同，方法是相同的。

对抑制剂的响应（图 2）表明，在所采取的实验条件下，细胞需要或者依赖于特定的底物，在下面的讨论部分进行了进一步解释，但总的来说，这一标准底物氧化分析旨在回答以下类型的问题：

- 细胞对特定的底物有需求吗？
- 细胞是高度依赖于特定的底物，还是其他底物也能满足细胞的需求？
- 如果对细胞实施遗传操控或药物暴露等干预措施，线粒体底物需求或依赖性将受到何种影响？

与大多数 XF 分析一样，通常是在研究人员设计的预处理或干预措施后进行底物氧化压力测试。这可能是在 XF 分析前几小时至几天对细胞采取慢性干预措施（如遗传操控或长期药物暴露），也可能是在 XF 分析前采取急性干预措施（如药物暴露）（图 3）。在某些情况下，可以同时采取慢性和急性干预措施（例如，通过化合物暴露来拯救遗传功能障碍）。这些试剂盒可单独使用（即针对一个特定底物），用于研究一系列干预措施或化合物如何影响特定底物的氧化；或作为一个补充套装

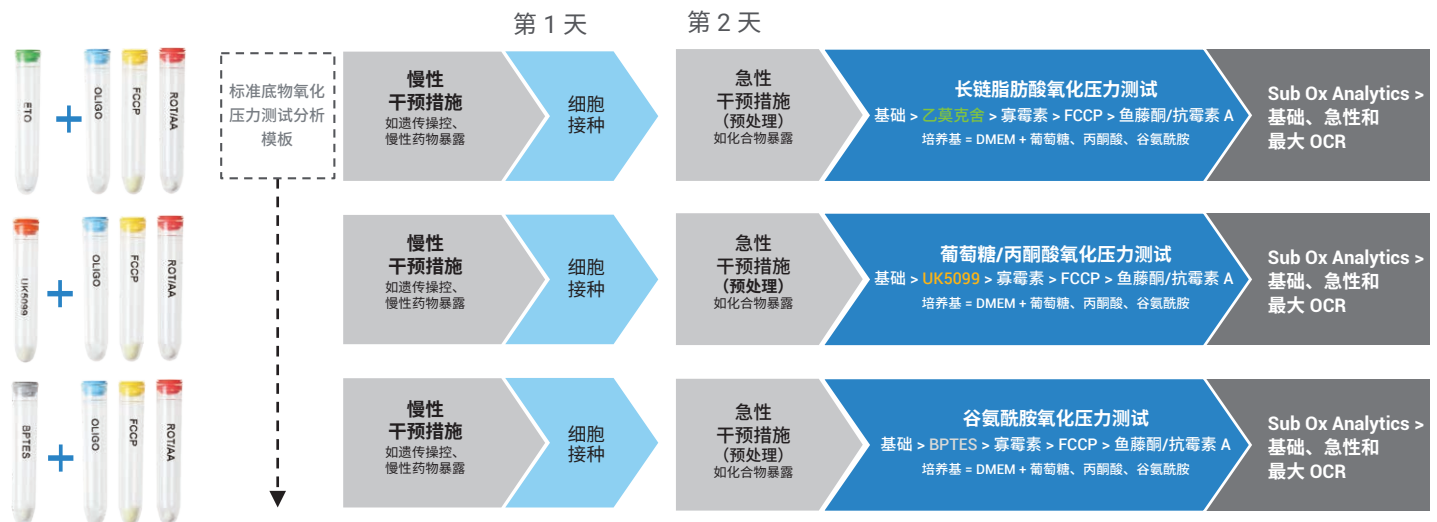


图 3. 使用安捷伦 Seahorse XF 底物氧化压力测试试剂盒研究线粒体底物需求或依赖。每个试剂盒都使用相关抑制剂测试单一底物：乙莫克舍抑制 LCFA 的氧化，UK5099 抑制葡萄糖或丙酮酸的氧化，BPTES 抑制谷氨酰胺的氧化。在分析之前采取慢性或急性干预措施（遗传操控/药物暴露），以了解这些调控对特定线粒体底物氧化的影响。更多信息见正文

(即侧重于两个或两个以上的底物) 来阐明一项给定的干预措施对底物氧化和线粒体功能的整体影响。“XF 底物氧化压力测试用户指南” 根据各种实验场景提供了多个分析模板设计建议, 图 4 展示了一种简单的分析设计模板, 用于生成所示数据。

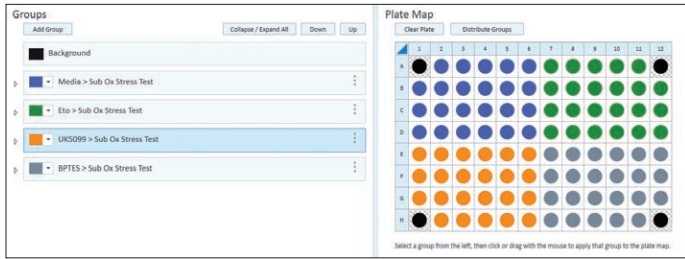


图 4. 使用多种试剂盒/抑制剂进行底物氧化压力测试的安捷伦 XFe96 分析模板。使用 3 种不同的抑制剂来测试一种细胞类型的分组名称和板布局, 包括一个对照组 (从 A 口添加分析培养基)。该模板一式 3 份, 只改变使用的细胞类型 (A549、C2C12 或 HepG2)。所有分析中, 所有其他分析模板信息和 XF 仪器指令都是相同的

值得注意的是, 对于长链脂肪酸氧化 (LCFAO) 的具体研究, 提供了单独的先进方案和专用试剂盒。该试剂盒还提供了其他组分, 包括 XF 棕榈酸酯-BSA 底物; “XF 底物氧化压力测试用户指南” 中给出了完整的分析方案。

结果与讨论

XF 底物氧化压力测试的应用

3 种底物氧化压力测试 (葡萄糖/丙酮酸、长链脂肪酸和谷氨酰胺) 各使用一份试剂盒, 利用前面所述的标准分析方法和模板来测试 3 种标准细胞系 (图 2-图 4)。本文的实验部分和“XF 底物氧化压力测试用户指南” 详细描述了细胞培养、细胞接种和 XF 分析准备。

图 5 (图 A、B 和 C) 分别展示了 A549、C2C12 和 HepG2 细胞的 OCR 动力学曲线。HepG2 细胞的底物氧化压力测试参数: 基础呼吸、急性响应和最大呼吸, 如图 6 所示。

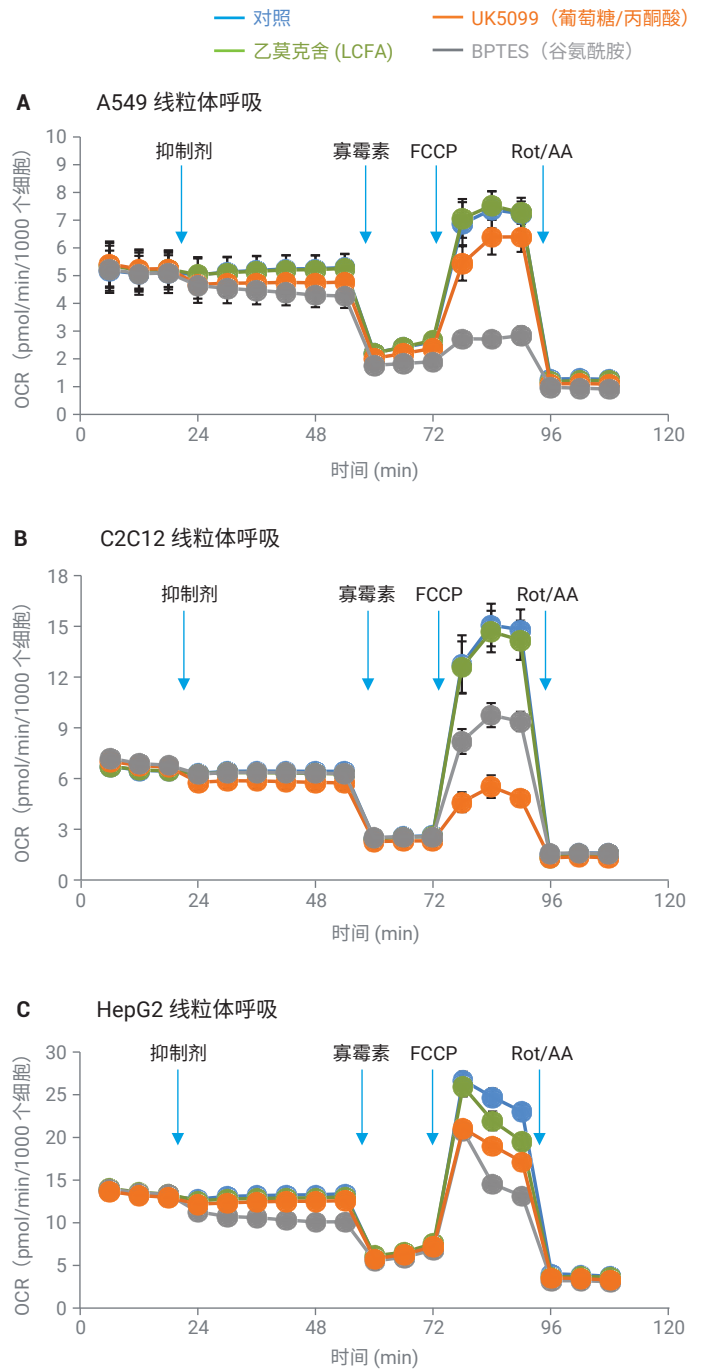


图 5. 使用 XF 葡萄糖丙酮酸、长链脂肪酸和谷氨酰胺氧化压力测试试剂盒比较 A549、C2C12 和 HepG2 细胞的底物氧化。A549 (A)、C2C12 (B)、HepG2 (C) 细胞接种于安捷伦 XF96 细胞培养板, 过夜培养。将细胞用于 XF 底物氧化压力测试, 添加分析培养基 (对照)、乙莫克舍 (LCFA 氧化)、UK5099 (葡萄糖/丙酮酸氧化) 或 BPTES (谷氨酰胺氧化), 然后按照常用顺序添加寡霉素、FCCP 和鱼藤酮/抗霉素 A。XF 分析培养基 = XF DMEM, pH 7.4 + 10 mmol/L 葡萄糖, 1 mmol/L 丙酮酸和 2 mmol/L 谷氨酰胺。每种细胞类型均进行 3 天的分析 (即 n = 3), 利用安捷伦 Seahorse Analytics 对生成的数据进行编译和处理。以 \pm SEM 的形式报告误差

研究表明，每种细胞的基础呼吸参数与预期结果相同，在添加抑制剂之前，所有条件下的基础 OCR 相同。添加抑制剂后，相对于基础分析条件下的呼吸参数，每种细胞均表现出一种可检测到的但相对较小的急性响应。然而，在最大呼吸条件下（即线粒体对底物需求更高的条件下），对抑制剂的响应显著增强，测试的 3 种细胞类型对不同抑制剂的不同响应变得明显。

例如，在 A549 细胞中（图 5A），对 BPTES 的响应较大，而对 UK5099 的响应较小，对乙莫克舍无响应。这表明，A549 细胞在高底物需求条件下对谷氨酰胺氧化的依赖程度较高。相比之下，C2C12 细胞对 UK5099 和 BPTES 均表现出显著的响应（图 5B），表明这两种底物都是细胞在最大底物需求条件下所需要的。相反，在最大呼吸条件下，HepG2 细胞对葡萄糖/丙酮酸、LCFA 和谷氨酰胺表现出更平衡的依赖性（图 5C），因为结果表明对 UK5099、乙莫克舍和 BPTES 都有显著的响应。图 7 总结了添加抑制剂后 3 种细胞类型的基础 OCR 百分比以及存在抑制剂时的最大 OCR 百分比。值得注意的是，在底物需求增加的情况下，评估线粒体底物依赖性时，最大呼吸的变化是最有用的参数。

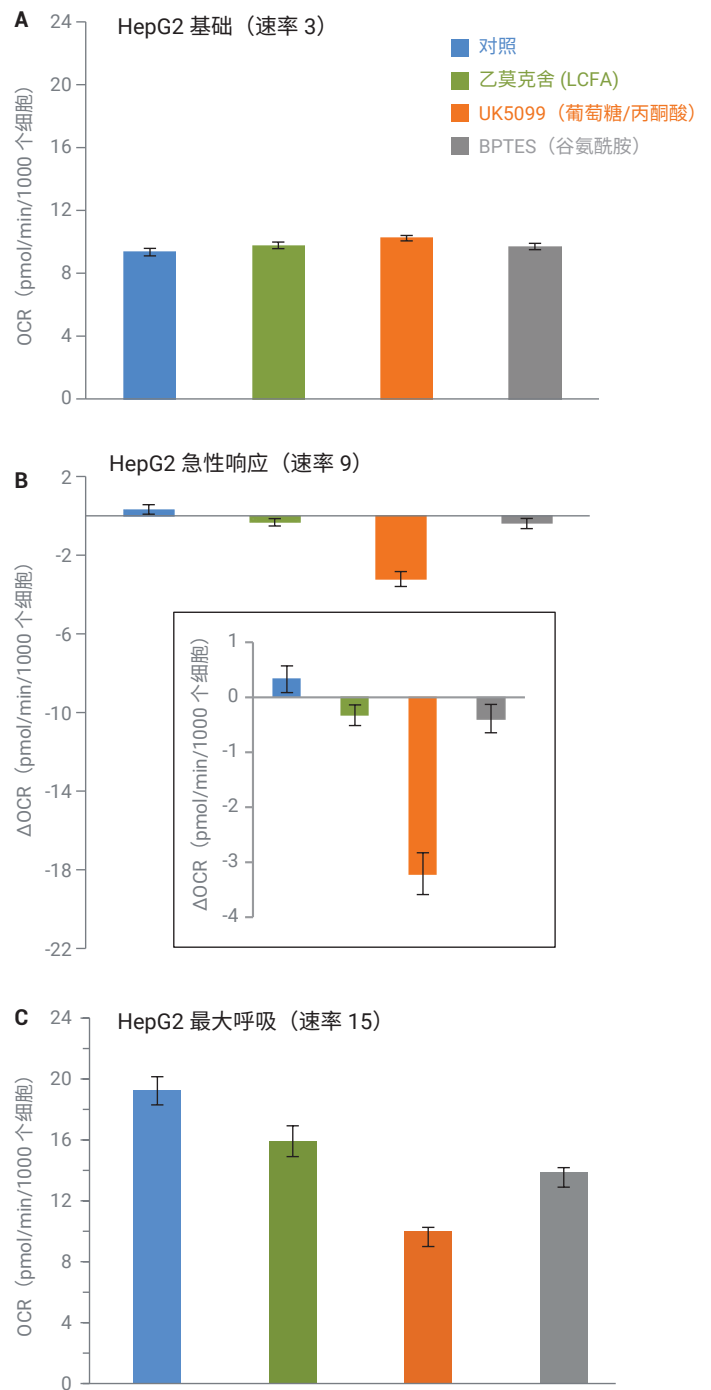
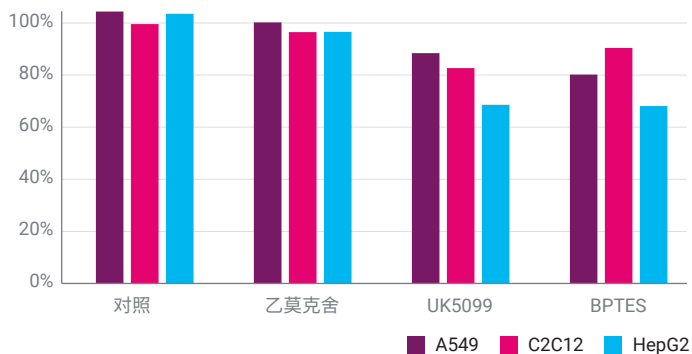
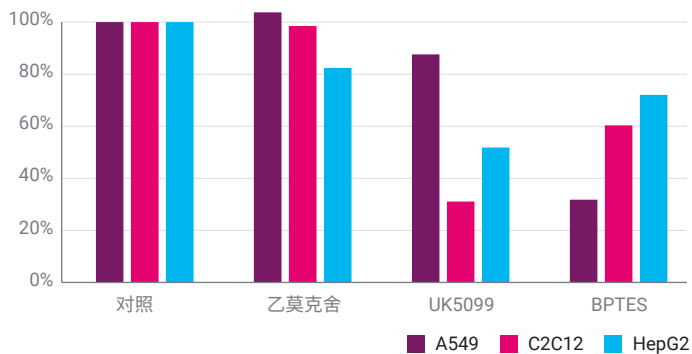


图 6. HepG2 细胞底物氧化压力测试参数（基础呼吸、急性响应和最大呼吸）的示例。(A) 基础呼吸速率。(B) 急性响应；注意这一值为相对于基础呼吸速率的 OCR 变化值 (Δ)。(C) 存在相应抑制剂时的最大呼吸速率。使用安捷伦 Seahorse Analytics，由图 5 的动力学曲线获得相应的图和值。对于 A549 和 C2C12 细胞，也计算了相同的参数（数据未展示）

A 添加抑制剂后的基础 OCR 百分比



B 抑制剂存在时的最大 OCR 百分比



C

基础 OCR 百分比	LCFA (乙莫克舍)	葡萄糖/丙酮酸 (UK5099)	谷氨酰胺 (BPTES)
A549	100%	88%	80%
C2C12	96%	83%	90%
HepG2	97%	69%	68%

D

最大 OCR 百分比	LCFA (乙莫克舍)	葡萄糖/丙酮酸 (UK5099)	谷氨酰胺 (BPTES)
A549	104%	88%	32%
C2C12	97%	31%	60%
HepG2	82%	52%	72%

图 7. 比较 A549、C2C12 和 HepG2 细胞的底物氧化。(A) 加入抑制剂后的基础 OCR 百分比, (B) 存在抑制剂时的最大 OCR 百分比, 由图 5 中每种抑制剂的数据获得。表 C 和表 D 分别汇总了图 A 和图 B 的数据。有关百分比值的计算公式, 请参阅实验部分。值得注意的是, 与基础呼吸条件下的急性响应相比, 最大呼吸条件 (底物需求增加) 下对抑制剂的敏感性增加, 并且不同细胞类型对抑制剂的响应存在很大差异

底物氧化与癌症和免疫细胞代谢、药物发现的相关性，以及建议的应用

了解底物的依赖性对于开发许多疾病的治疗方法是至关重要的。因此，研究调控代谢的基因、蛋白质和通路对于开发针对各种疾病的新靶标而言，是一种非常有前景的方式（图 8）。新证据表明，代谢物本身，包括特定线粒体底物的氧化，可以驱动细胞功能和表型，涉及增殖、分化以及功能障碍/疾病^[6]。

底物可用性是癌细胞增殖的驱动因素。底物不仅促进癌细胞的恶化和增殖，而且特定底物的可用性是肿瘤微环境影响化疗疗效的一个关键特征^[10]。就药物开发而言，更好地了解癌细胞代谢的底物需求是至关重要的。癌症的治疗策略包括靶向多个代

谢通路，包括糖酵解、TCA 循环、电子传递链 (ET) 和氧化磷酸化 (OXPHOS)，以及丙酮酸、谷氨酰胺和脂肪酸氧化（图 1）。例如，虽然研究表明小鼠 p53 KrasG12D 肺癌中谷氨酰胺氧化很少^[11]，但多项体外研究（包括 PDAC 细胞）表明谷氨酰胺氧化起主要作用，这表明呼吸作用具有合成代谢作用，促进增殖癌细胞中天冬氨酸的生物合成^[12]。

研究表明，前列腺癌细胞中使用最广泛的生物能量代谢通路之一是增强棕榈酸酯的吸收和脂肪酸的氧化，为满足肿瘤细胞的生物能量需求提供了另一条途径，并且新证据表明，胰腺癌细胞在低营养条件下尤其依赖线粒体的氧化磷酸化，线粒体代谢代表了一种关键的代谢易感性^[12]。

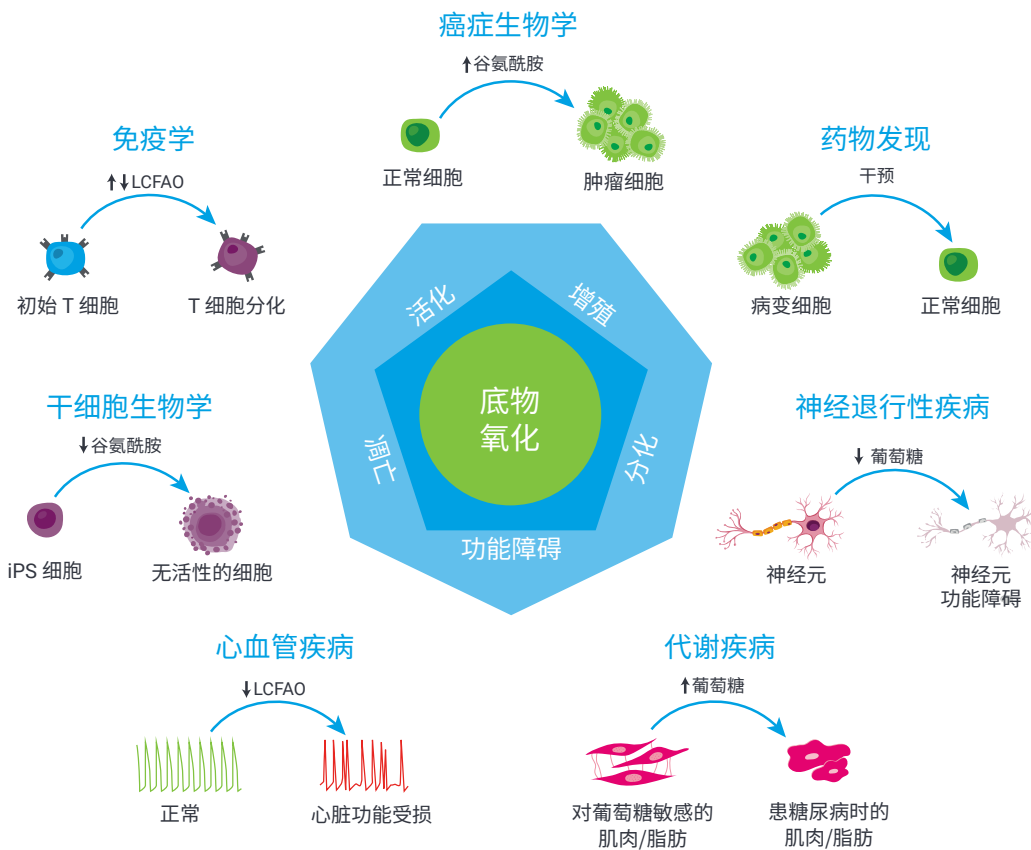


图 8. 线粒体底物氧化驱动细胞表型和功能/功能障碍的示例。安捷伦 Seahorse XF 底物氧化压力测试有助于研究和了解哪些特定的线粒体底物与特定的细胞表型和功能相关或特定的细胞表型和功能需要哪些特定的线粒体底物

在实验设计方面，图 9A 概述了一种可能的情况，用于测试一种癌症类型的多种遗传变异体（自然变异或基因工程变异），以了解细胞是否具有相似或独特的底物氧化“特征”，以及这些底物是否与细胞增殖或转化有关。还可以提供代谢特性信息，促进治疗方法的开发。

细胞能量代谢也被认为能影响许多免疫细胞通路，是免疫细胞功能和谱系定向的指标和控制器。有趣的是，代谢物本身可以直接影响免疫细胞的分化和功能^[6]。因此，改变代谢机制和生成代谢物可以调节免疫功能。例如，谷氨酰胺代谢通过促进 TCA 循环在 M2 巨噬细胞极化中起关键作用，并促进在经过“训练”的免疫系统发现的稳定表型的生成^[13]，而阳性中枢记忆 T 细胞摄入葡萄糖和甘油来合成脂肪酸和甘油三酯，然后通过脂解反应促进脂肪酸氧化 (FAO)^[14]。

关于免疫细胞功能和底物氧化分析，图 9B 说明了 XF 底物氧化压力测试如何与各种类型的免疫细胞（初始、激活、记忆等）一起使用，来研究细胞实现正确分化和功能时对一种或多种底物的依赖性，以及如何通过特定底物的氧化来操控或控制免疫细胞命运。

到目前为止，代谢编程正成为改变免疫细胞活化、分化和功能的关键机制^[15]。构成免疫应答的不同细胞的不同代谢需求为分离表型和功能提供了独特的机会。一种癌症免疫疗法是对自体 T 细胞进行体外培养和遗传操控，在过继转移方案（包括嵌合抗原受体 (CAR) T 细胞疗法）中将 T 细胞重新注入体内。此处，对 T 细胞进行遗传改造以表达嵌合蛋白，这些嵌合蛋白将高度特异性的抗肿瘤抗体肽和 T 细胞活化的刺激通路连接起来^[3]。最近研究了靶向抑制性免疫细胞，如肿瘤内的 Treg 细胞、骨髓来源的抑制细胞和 M2 巨噬细胞。所有这些亚群都具有独特的代谢特征，这表明通过遗传操控或药物暴露可以获得较高的靶向特异性^[3]。

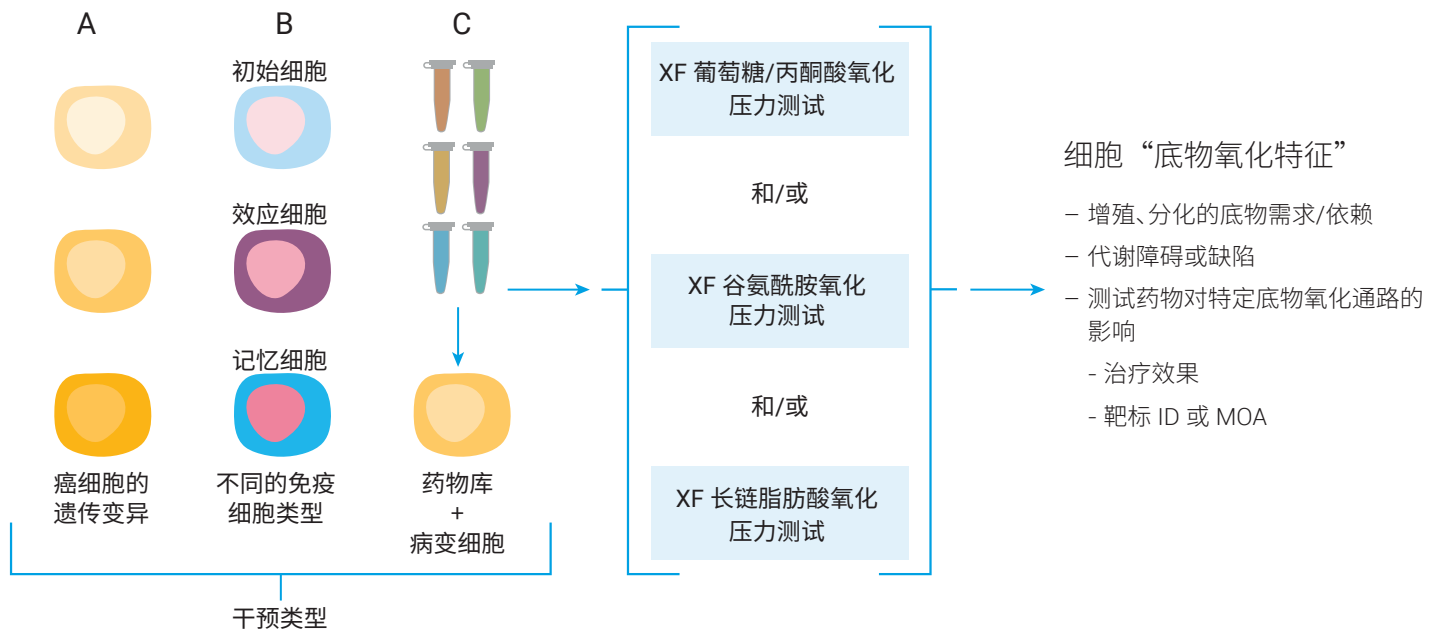


图 9. 底物氧化压力测试分析设计示例。将安捷伦 XF 底物氧化压力测试应用于 (A) 癌细胞生物学、(B) 免疫细胞功能和 (C) 药物发现领域的可能的实验设计。更多详细信息，请参见结果与讨论

结论

关于药物测试和药物开发的实验设计，这些类型的分析可用于测定药物对特定线粒体底物氧化通路的影响，以了解化合物对功能障碍性细胞的潜在治疗效果，或促进药物靶标的识别并阐明作用机制。在这里，可以研究药物暴露时间（慢性或急性）和药物浓度等变量（图 9C）。

本研究介绍了安捷伦 XF 底物氧化压力测试的分析设计和概念验证，用于了解哪些底物与特定的细胞功能或表型相关或特定的细胞功能或表型需要哪些底物。这些试剂盒提供了一套经优化的、便捷的快速解决方案，通过评估 3 种主要的线粒体底物（长链脂肪酸、葡萄糖/丙酮酸和/或谷氨酰胺）来测定细胞底物氧化，能够实时提供丰富的多参数信息，而基于底物摄取或底物利用情况的终点分析法无法获得这些信息。当研究细胞是否需要特定的底物时，或者研究应用于细胞的某种干预措施是否影响线粒体对特定底物的氧化时，建议使用本实验设计。这一功能信息有助于研究细胞如何改变或转移底物的氧化以进行激活、增殖和分化等关键细胞功能。

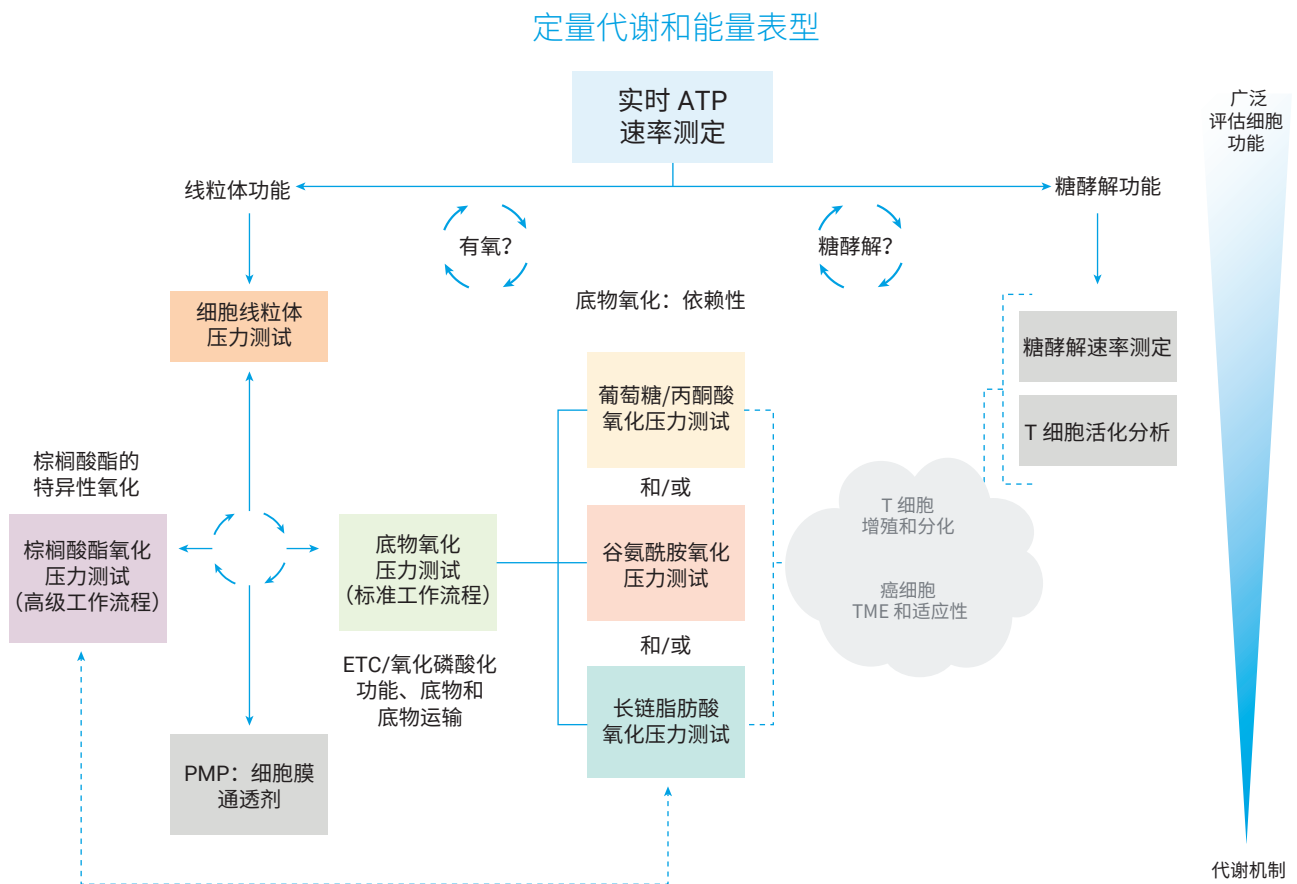


图 S1. 安捷伦提供多种 XF 分析试剂盒，能够提供从细胞功能的广泛评估到代谢机制的具体细节的全方位信息。一旦发现线粒体功能发生变化，下一步需重点研究产生这种变化的原因，包括葡萄糖/丙酮酸、谷氨酰胺和长链脂肪酸氧化的影响

参考文献

1. Marx, V. How to Follow Metabolic Clues to Find Cancer's Achilles Heel. *Nat. Methods* **2019**, *16*, 221–24
2. Vander Heiden, M. G.; DeBerardinis, R. J. Understanding the Intersections Between Metabolism and Cancer Biology. *Cell* **2017**, *168*, 657–69
3. Beezhold, K.; Byersdorfer, C. A. Targeting Immuno-Metabolism to Improve Anti-Cancer Therapies. *Cancer Letters* **2018**, *414*, 127–35
4. Corbet, C. Stem Cell Metabolism in Cancer and Healthy Tissues, Pyruvate in the Limelight. *Frontiers in Pharmacology* **2018**, *8*
5. Patel, C. H. *et al.* Targeting Metabolism to Regulate Immune Responses in Autoimmunity and Cancer. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2019**, *18*, 669–88
6. Divakaruni, A. S. *et al.* Etomoxir Inhibits Macrophage Polarization by Disrupting CoA Homeostasis. *Cell Metab.* **2018**, *28*, 490–503.e7
7. Hildyard, J. C. *et al.* Identification and Characterisation of a New Class of Highly Specific and Potent Inhibitors of the Mitochondrial Pyruvate Carrier. *Biochim Biophys Acta* **2005**, *1707*, 221–30
8. Robinson, M. M. *et al.* Novel Mechanism of Inhibition of Rat Kidney-Type Glutaminase by Bis-2-(5-phenylacetamido-1,2,4-thiadiazol-2-yl)ethyl sulfide (BPTES). *Biochemical Journal* **2007**, *406*, 407–14
9. Divakaruni, A. S. *et al.* Analysis and Interpretation of Microplate-Based Oxygen Consumption and pH Data. *Methods Enzymol.* **2014**, *547*, 309–54
10. Kalyanaraman, B. *et al.* a review of the Basics of Mitochondrial Bioenergetics, Metabolism, and Related Signaling Pathways in Cancer Cells, Therapeutic Targeting of Tumor Mitochondria with Lipophilic Cationic Compounds. *Redox Biology* **2018**, *14*, 316–27
11. Kerr, E. M.; Martins, C. P. Metabolic Rewiring in Mutant Kras Lung Cancer. *Febs. J.* **2018**, *285*, 28–41
12. Kalyanaraman, B. Teaching the Basics of Cancer Metabolism, Developing Antitumor Strategies by Exploiting the Differences Between Normal and Cancer Cell Metabolism. *Redox Biology* **2017**, *12*, 833–42
13. Viola, A. *et al.* The Metabolic Signature of Macrophage Responses. *Frontiers in Immunology* **2019**, *10*
14. Raud, B. *et al.* Fatty Acid Metabolism in CD8(+) T Cell Memory: Challenging Current Concepts. *Immunological Reviews* **2018**, *283*, 213–31
15. Domínguez-Andrés, J.; Joosten, L. A. B.; Netea, M. G. Induction of Innate Immune Memory: The Role of Cellular Metabolism. *Current Opinion in Immunology* **2019**, *56*, 10–16

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

仅限研究使用。不可用于诊断目的。

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2019
2019年12月19日，中国出版
5994-1623ZHCN
DE.5391782407

