

使用安捷伦 Seahorse XF 解决方案开展线粒体毒性评估的原则

作者

George W. Rogers,
Lisa Winer,
Melanie Schwalfenberg,
Natalia Romero,
Yoonseok Kam
安捷伦科技有限公司

摘要

安捷伦 Seahorse XF 分析仪用于研究多种研究领域的细胞代谢，包括药物诱导的线粒体毒性评估。线粒体耗氧量的直接测量可以用作特异且灵敏的指标，对药物诱导的线粒体毒性进行评估。药物诱导的线粒体毒性是药物开发中的常见问题。本白皮书介绍了一项定制的 XF 检测解决方案，用于使用标准化参数检测线粒体毒性。该解决方案具有以下主要特点：

- 能够识别和区分线粒体毒性的不同模式
- 对毒性强度进行标准化的定量测量
- 提供检测质量和性能评估的指标，提供可靠的数据结果
- 快速且直接的检测设置，可用于化合物筛选或剂量响应分析

本白皮书针对上述要素，概述了安捷伦 Seahorse XF 线粒体毒性测定解决方案的方法 and 设计，重点介绍了线粒体毒性指标 (MTI) 的推导。MTI 是新型标准化参数，能够对线粒体毒性的强度和类型做出直观的定量评估。

前言

线粒体毒性是药物开发中的常见问题，因为大多数真核细胞利用线粒体产生代谢功能所需的大部分三磷酸腺苷 (ATP)，同时调节关键的细胞过程。药物可以通过抑制电子传递链 (ETC) 蛋白质复合物、ATP 合酶和其他氧化磷酸化 (OxPhos) 成分、三羧酸 (TCA) 循环酶、各种线粒体转运体、线粒体转录和转化机制，采用多种方式破坏线粒体功能（图 1），同时可通过 ETC 与 ATP 合成的解偶联进行抑制⁽¹⁾。

过去的 15 年中，在开发各种高通量、适合应用的临床前细胞器模型和体外细胞模型方面取得了很大进展。在评估线粒体功能障碍和毒性的检测方法中，基于耗氧量的方法被视为信息更丰富、更为灵敏的方法⁽²⁻⁴⁾。在这些方法中，使用安捷伦 Seahorse XF 技术直接测量线粒体耗氧量，已被充分证明是一种兼具特异性和灵敏性的手段^(1,2)。

为了向研发药物的研究人员提供易用的可靠方法，我们开发了一种定制的检测试剂盒：安捷伦 Seahorse XF 线粒体毒性测定试剂盒。该试剂盒采用专用的工作流程和分析工具开发而成。该检测试剂盒通过直接评估线粒体功能的变化，为鉴别线粒体毒性化合物提供了标准解决方案。XF 线粒体毒性检测设计使用改进的加样策略，并自动计算关键数据。该解决方案与 XF Pro 平台、软件和消耗品结合使用，通过新定义的 MTI 指标，提供蕴含丰富信息的数据，灵敏度更高、特异性更强、通量更大，可以快速准确地进行数据解析。此外，检测性能的评价指标 Z' 被用于建立和维持结果数据的高可靠性。

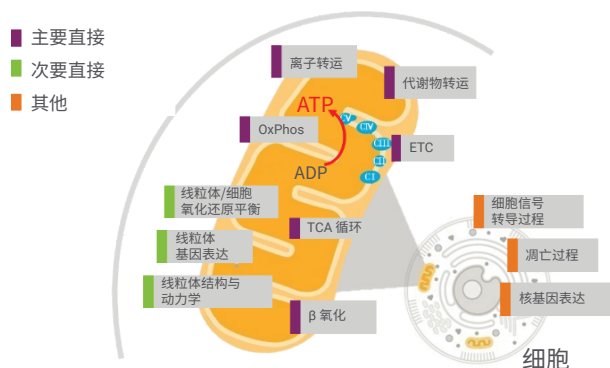


图 1. 药物诱导线粒体毒性的潜在靶标的关键线粒体和细胞过程。主要的直接靶点包括代谢物和离子转运、TCA、脂肪酸氧化 (FAO)、ETC 以及 OxPhos 机制。次级直接靶点包括氧化还原平衡、线粒体基因表达、结构与动力学。影响其他上游流程（如细胞信号转导、凋亡和核基因表达）的药物也可能导致下游线粒体毒性。本图仅用于说明目的，所提供内容并不全面

方法

在 XF 线粒体毒性测定解决方案中，XF 线粒体毒性测定试剂盒可实时测量线粒体功能，同时针对线粒体毒性检测定制了软件功能，从而可以：

- 以高灵敏度准确一致地识别线粒体毒性
- 明确区分线粒体毒性的不同模式
- 对毒性强度提供标准化的定量测量
- 评估分析质量，提供可靠的数据结果
- 为化合物筛查或剂量响应分析提供快速、直接的检测设计和直观的数据解析

这使得线粒体消耗能量，将质子从基质泵至 IMS，重新建立质子动力势，从而导致呼吸速率 (OCR) 提高。然而，线粒体 ATP 合成通常受到损害或完全丧失，最终对细胞代谢产生不利影响。与测量 FCCP OCR 类似，若与仅测量基础 OCR 相比，测量寡霉素 OCR 提供了识别解偶联剂所需的特异性，扩展了检测解偶联所致的线粒体毒性的动态范围。

OxPhos 抑制（仅基础 OCR 降低）：OxPhos 活性的抑制（即 ATP 合酶、ANT 和 P_iT）被归类为 OxPhos 抑制（图 2B）。虽然基础 OCR 的变化可用于评估线粒体毒性，但仅通过基础 OCR 测量来推断线粒体毒性仍存在一些不足。如上所述，基础 OCR 的动态范围小于寡霉素 OCR 或 FCCP OCR 的范围。该情况会导致灵敏度降低，并且通常会降低信噪比。在基础呼吸条件下，由于细胞的能量需求较低，其对有毒化合物的敏感度通常也会较低，进一步加剧了该问题。尽管如此，若寡霉素 OCR 和 FCCP OCR 均未降低，但化合物显著抑制基础 OCR 时，基础 OCR 仍然可以用于指示 OxPhos 抑制。若化合物根据该定义被确定为 OPI（图 2A），建议开展进一步研究，验证毒性模式。下文将进一步讨论用于确定 OPI 的标准详细内容。

总之，与对应的对照组相比，根据测试化合物的 FCCP OCR、寡霉素 OCR 和/或基础 OCR 的反应，XF 线粒体毒性检测可确定三种不同类型的线粒体毒性：a) 直接/间接抑制 ETC 或其他线粒体过程，b) 将 ETC 与 OxPhos 解偶联，c) 对 OxPhos 机制产生特异性抑制或仅通过基础 OCR 检测到的任何潜在抑制。此外，在基础呼吸以外的生物能量条件下测量 OCR（即寡霉素 OCR 和 FCCP OCR），可以提高化合物线粒体毒性效应评估的特异性和敏感度。

定义线粒体毒性指数 (MTI)

在建立了支持特异性（毒性类型）和灵敏度更高的检测方法之后，接下来要设计一个标准化量表，对毒性强度进行量化。这需要在检测中纳入适当的对照测量/组，从而定义解偶联和抑制的上下限（即定义检测解偶联和抑制的动态范围）。该无量纲指标即为线粒体毒性指数 (MTI)，其推导和定义如下。

针对抑制定义 MTI：抑制导致的线粒体毒性是指与阴性对照测量值相比，测试化合物的 FCCP OCR 降低（即 0% 抑制），在这种情况下，为溶剂组的最大 FCCP OCR。相反，100% 抑制则是根据阳性对照测量值确定的，为 Rot/AA 组的最小 FCCP OCR。

抑制 MTI 值的推导形式如下：

$$\text{抑制 MTI} = \frac{X - \text{NC}}{\text{NC} - \text{PC}}$$

其中：

X 是测试化合物的最大 FCCP OCR。

NC 是阴性对照（溶剂组的最大 FCCP OCR）。

PC 为阳性对照（Rot/AA 组的最小 FCCP OCR）。

可以表示为：

$$\text{抑制 MTI} = \frac{\text{最大 FCCP OCR}_{\text{测试}} - \text{最大 FCCP OCR}_{\text{溶剂}}}{\text{最大 FCCP OCR}_{\text{溶剂}} - \text{最小 FCCP OCR}_{\text{Rot/AA}}}$$

应用该方程会使抑制的 MTI 分数为负值，通常介于 0 和 -1 之间，如图 3 所示。

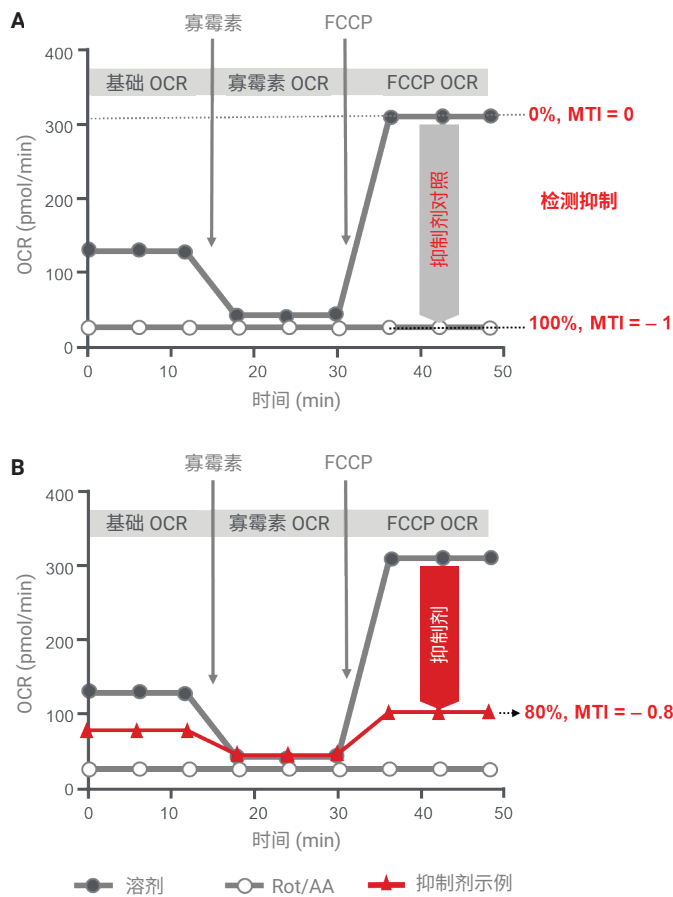


图 3. 针对抑制定义 MTI。(A) 如果与溶剂组 (MTI = 0) 相比，测试化合物导致 FCCP OCR 降低，则该化合物被归类为抑制剂。注意，Rot/AA 组的 FCCP OCR 作为抑制的阳性对照 (MTI = -1)。(B) MTI = -0.8 的抑制剂示例

针对解偶联定义 MTI：解偶联导致的线粒体毒性是指，与阴性对照测量值相比（即 0% 解偶联）相比，测试化合物的寡霉素 OCR 升高，在这种情况下，为溶剂组的最小寡霉素 OCR。相反，100% 解偶联则是根据阳性对照测量值确定的，为溶剂组的最大 FCCP OCR。

解偶联 MTI 值的推导形式如下：

$$\text{解偶联 MTI} = \frac{X - \text{NC}}{\text{PC} - \text{NC}}$$

其中：

X 是测试化合物的最大寡霉素 OCR。

NC 是阴性对照（溶剂组的最小寡霉素 OCR）。

PC 是阳性对照（溶剂组的最大 FCCP OCR）。

可以表示为：

$$\text{解偶联 MTI} = \frac{\text{最大寡霉素 OCR}_{\text{测试}} - \text{最小寡霉素 OCR}_{\text{溶剂}}}{\text{最大寡霉素 OCR}_{\text{溶剂}} - \text{最小寡霉素 OCR}_{\text{溶剂}}}$$

应用该方程会使解偶联的 MTI 分数为正值，通常介于 0 和 1 之间，如图 4 所示。

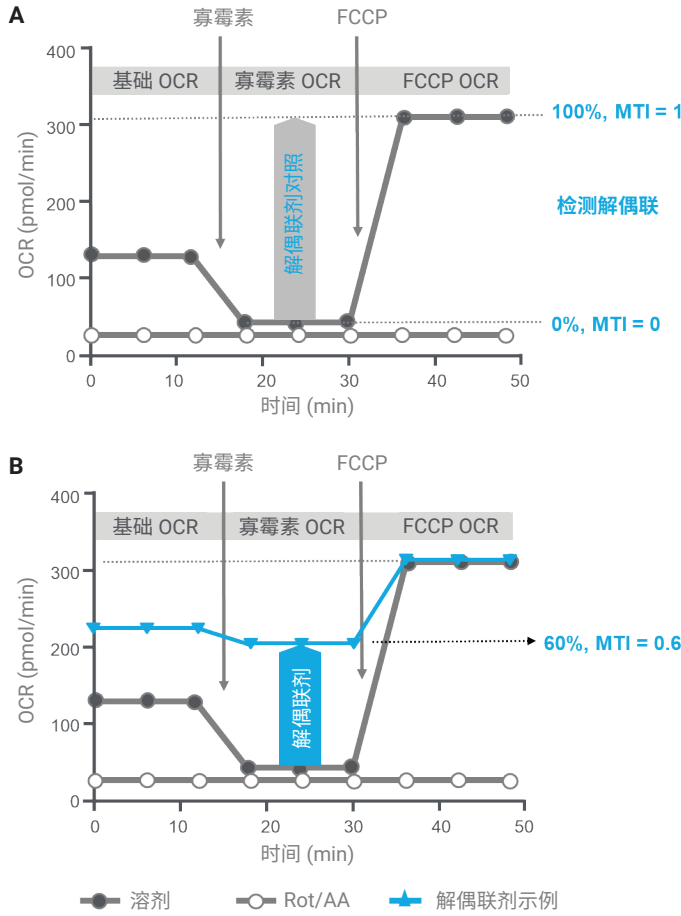


图 4. 定义 MTI。(A) 如果与溶剂组（阴性对照，MTI = 0）相比，测试化合物导致寡霉素 OCR 降低，则该化合物被归类为解偶联剂。注意，溶剂组的 FCCP OCR 作为解偶联的阳性对照 (MTI = 1)。(B) MTI = 0.6 的解偶联剂（尼美舒利）示例

总之，MTI 是指与相应对照组相比，针对解偶联和/或抑制得出的测试化合物影响的分数值。解偶联的 MTI 为正指数；抑制的 MTI 为负指数。表 1 汇总了对照组和 MTI 量表。数据转换后，将为每个孔生成解偶联和抑制的 MTI。这个直观的参数可提供有关线粒体毒性强度（绝对值）和类型（正值和负值）的信息，有助于解析检测结果。

定义 OPI 导致的线粒体毒性：如前文所述，线粒体功能降低导致线粒体毒性的特殊情况是指对 ATP 合酶或 OxPhos 机制的其他成分产生直接抑制，即 OPI。该类型抑制通常会导致基础 OCR 降低，而寡霉素 OCR 和 FCCP OCR 不会受到显著影响（图 5）。

为了区分 OxPhos 抑制与其他毒性模式，采用以下两个标准。测试化合物必须满足两个标准，才能认定为 OPI（标准 1 和标准 2）：

标准 1：基础 OCR 的最低 z 分数 < -3

标准 2：FCCP OCR 的最高 z 分数 > -3

基础 OCR 的 Z 分数 = $\frac{x - \mu}{\sigma}$

其中：

x 是测试化合物的基础 OCR。

μ 是溶剂组基础 OCR 的平均值。

σ 是溶剂组基础 OCR 的标准差。

和

FCCP OCR 的 Z 分数 = $\frac{x - \mu}{\sigma}$

其中：

x 是测试化合物的最大 FCCP OCR。

μ 是溶剂组最大 FCCP OCR 的平均值。

σ 是溶剂组最大 FCCP OCR 的标准差。

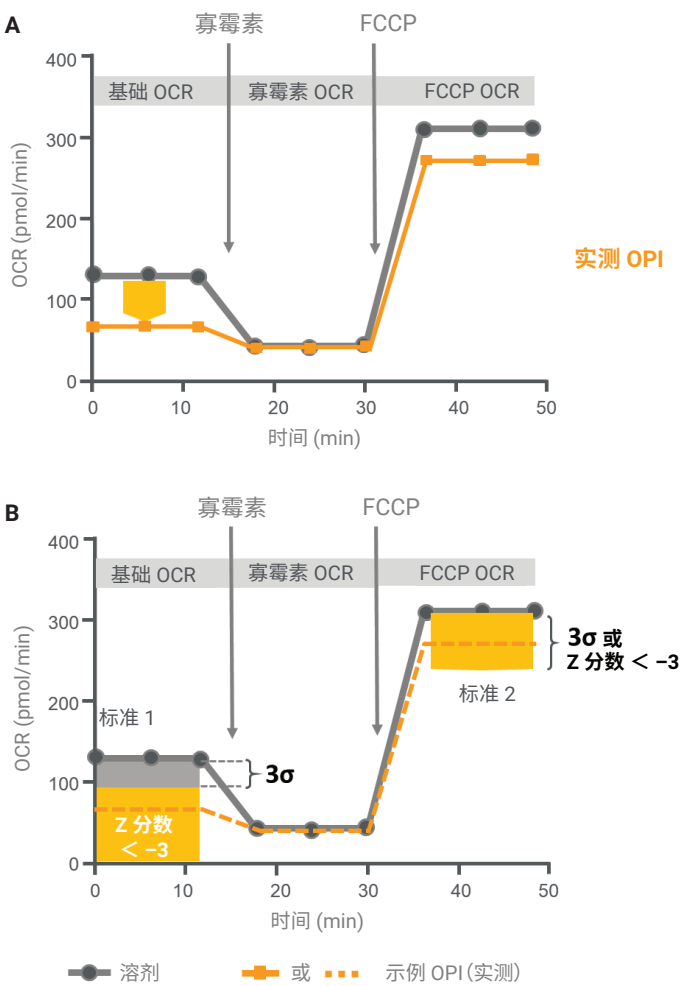


图 5. 定义 OPI 的条件或标准。(A) 说明 OxPhos 抑制定义的动力学图。(B) 用于检测 OPI 的两个标准。如果测试化合物处理导致基础 OCR 降低 (z 分数 < -3) 且未导致 FCCP OCR 显著降低 (z 分数 > -3)，则该化合物被归类为 OPI。请注意，没有为 OPI 计算 MTI 值

表 1. 用于确定解偶联和抑制的 MTI 量表定义的对照测量和组

模式	对照	测量	组	解偶联 (%)	抑制 (%)	MTI
解偶联	阴性	最小寡霉素 OCR	溶剂	0	NA	0
	阳性	最大 FCCP OCR	溶剂	100	NA	1
抑制	阴性	最大 FCCP OCR	溶剂	NA	0	0
	阳性	最小 FCCP OCR	Rot/AA	NA	100	-1

将 OPI 检测的窗口（标准）与溶剂组中基础 OCR 和 FCCP OCR 获得的标准误差（即噪音）相关联，Z 分数可以对潜在 OXPHOS 抑制事件（相对于解偶联或抑制）进行特定区分（ $p < 0.005$ ）。这些标准用于降低该毒性模式报告假阳性的可能。如果符合这些标准，化合物会被检测为线粒体毒性 OPI。观察 OPI 检测情况后，建议开展下游检测（例如 XF 线粒体毒性剂量响应分析或其他正交检测），进一步研究和表征该类毒性。

XF 线粒体毒性检测性能指标

在定义线粒体毒性的定量指标（MTI 值）后，还需要评估检测性能的质量。将根据对照组（表 1）OCR 测量值计算的 Z' 用于评估检测性能，确保稳健的 MTI 输出。Z' 是一项筛查窗口系数，当在测量动态范围内使用两个极端参比对照品时，该系数可用作高通量筛查的无量纲统计特性⁽⁵⁾。图 6A 显示了评估 Z' 的检测窗口。这些检测窗口用于计算抑制剂和解偶联剂的 MTI。

在 XF 线粒体毒性检测中，解偶联和抑制对应的 Z' 计算如下：

$$Z' = 1 - \frac{(3\sigma_{PC} + 3\sigma_{NC})}{|\mu_{PC} - \mu_{NC}|}$$

其中：

μ_{PC} 是阳性对照的平均 OCR。

μ_{NC} 是阴性对照的平均 OCR。

σ_{PC} 是阳性对照的标准差。

σ_{NC} 是阴性对照的标准差。

为了验证基于 MTI 的毒性筛查，测试检测的稳健性和一致性，根据安捷伦 Seahorse XF 线粒体毒性测定试剂盒用户指南中描述的标准 XF 线粒体毒性检测方案，使用 HepG2 细胞对不同板/不同天数的 Z' 进行比较⁽⁶⁾。如图 6 所示，使用交互的板布局，将 XF Pro M 板分为两组：溶剂组和 Rot/AA 组（图 6B）。一般来说，Z' 值应大于 0.5，从而保证筛查检测结果的可靠性。结果表明，无论是归一化数据还是未归一化数据，解偶联和抑制的 Z' 值均 > 0.5，且与孔板布局、板间或日间因素无关（图 6C）。数据表明，使用 HepG2 细胞开展 Seahorse XF 线粒体毒性检测的动态检测窗口对于线粒体毒性筛查应用是有意义的。

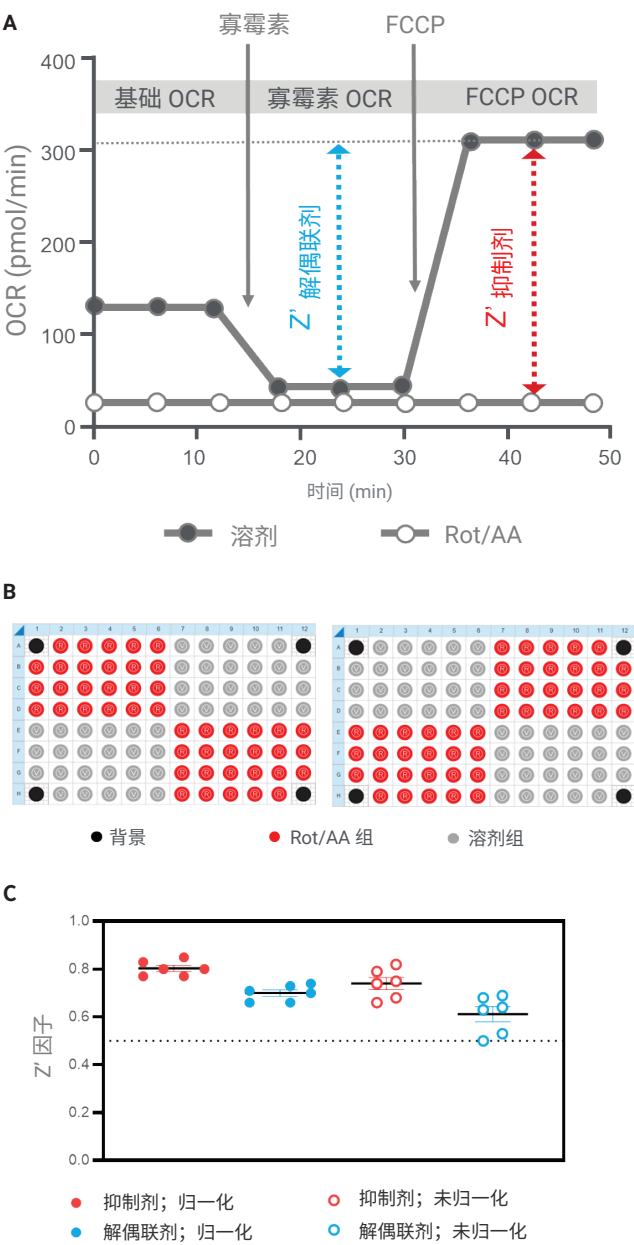


图 6. 使用 Z' 评估安捷伦 Seahorse XF 线粒体毒性检测的性能。(A) 用于计算解偶联（蓝色）和抑制（红色）的 Z' 的动态范围。(B) 显示对照组布局的孔板分布图（每个板 n = 46）；溶剂组（灰色）和 Rot/AA 组（红色）。(C) 连续三天获取的 Z' 值汇总，无论数据是否归一化为安捷伦 Seahorse XF 成像和归一化系统计数的细胞数

应用

XF 线粒体毒性检测的基本应用包括在固定浓度下筛查化合物，以及通过计算 IC₅₀ 或 EC₅₀ 值开展剂量响应分析。本文提供了这两个应用的概念验证示例，使用了几种已知可引起线粒体毒性的化合物。所有检测均按照安捷伦 Seahorse XF 线粒体毒性测定试剂盒用户指南⁽⁶⁾ 中所述的方案开展，使用安捷伦 Seahorse Analytics 进行数据处理和分析。

筛查分析

作为该检测的一项应用示例，使用 XF 线粒体毒性检测评估了几种已知可引起不同线粒体毒性效应的化合物（包括解偶联、直接 ETC 抑制和直接 OxPhos 抑制）。将 HepG2 细胞暴露在固定浓度 (100 μmol/L) 的八种化合物中 1 小时，然后进行 XF 线粒体毒性检测。使用 Seahorse Analytics 将 OCR 测量值转换为每种化合物的 MTI 值，结果见柱状图和孔板分布图（图 7）。本研究中，确定了毒性作用的类型（抑制、解偶联或 OxPhos 抑制），并通过 MTI 值进行了定量。结果与以前的报告一致⁽⁷⁻¹⁰⁾。有关结果的详细讨论，请参见 Kam 等人编写的安捷伦应用简报⁽¹¹⁾。

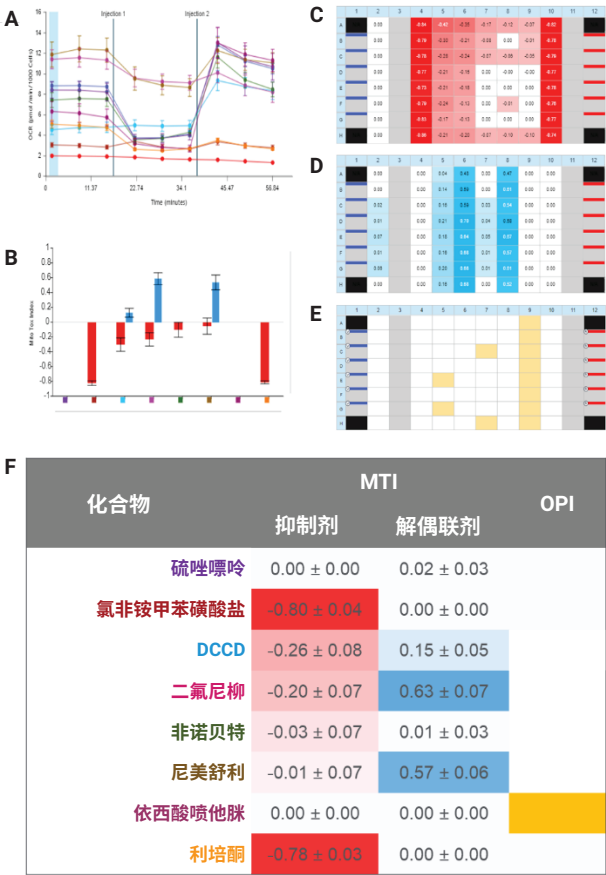


图 7. 安捷伦 Seahorse XF 线粒体毒性筛查检测结果。(A) 显示测试化合物和对照组的 XF 动力学 OCR 数据。(B) 每种化合物产生的 MTI 值的柱状图。(C 至 E) 显示抑制剂和解偶联剂 MTI 以及 OPI 检测的板热力图。(F) 各类测试化合物的 MTI 值和 OPI 检测汇总表 (n = 8)

剂量响应分析

该方法的另一个关键考虑因素是化合物浓度对线粒体毒性强度的影响。由于 MTI 值是针对每个孔计算的值，因此该参数也可用于计算剂量-响应曲线，从而评估与化合物浓度有关的毒性强度，即 MTI 值与化合物剂量的关系。使用 Seahorse Analytics，基于希尔方程的四参数剂量-响应曲线拟合模型计算 EC₅₀ 和 IC₅₀⁽¹²⁾。

EC₅₀，其中希尔斜率 > 0，

$$MTI = \text{底部} + \frac{\text{顶部}-\text{底部}}{1 + \left(\frac{EC_{50}}{\text{剂量}}\right)^{\text{希尔斜率}}}$$

IC₅₀，其中希尔斜率 < 0，

$$MTI = \text{底部} + \frac{\text{顶部}-\text{底部}}{1 + \left(\frac{IC_{50}}{\text{剂量}}\right)^{\text{希尔斜率}}}$$

为了证明 XF 线粒体毒性检测在评估线粒体毒性化合物效力方面的实用性，使用两种抑制剂（氯非铵甲苯磺酸盐和利培酮）和两种解偶联剂（二氟尼柳和尼美舒利）开展了剂量响应分析。在开展检测之前，将 HepG2 细胞在 10 种浓度的化合物中暴露 1 小时。如图 8 所示，将动力学 OCR 测量转化为基于 MTI 的剂量-响应曲线，以分别获得抑制和解偶联的 IC₅₀ 和 EC₅₀ 值。

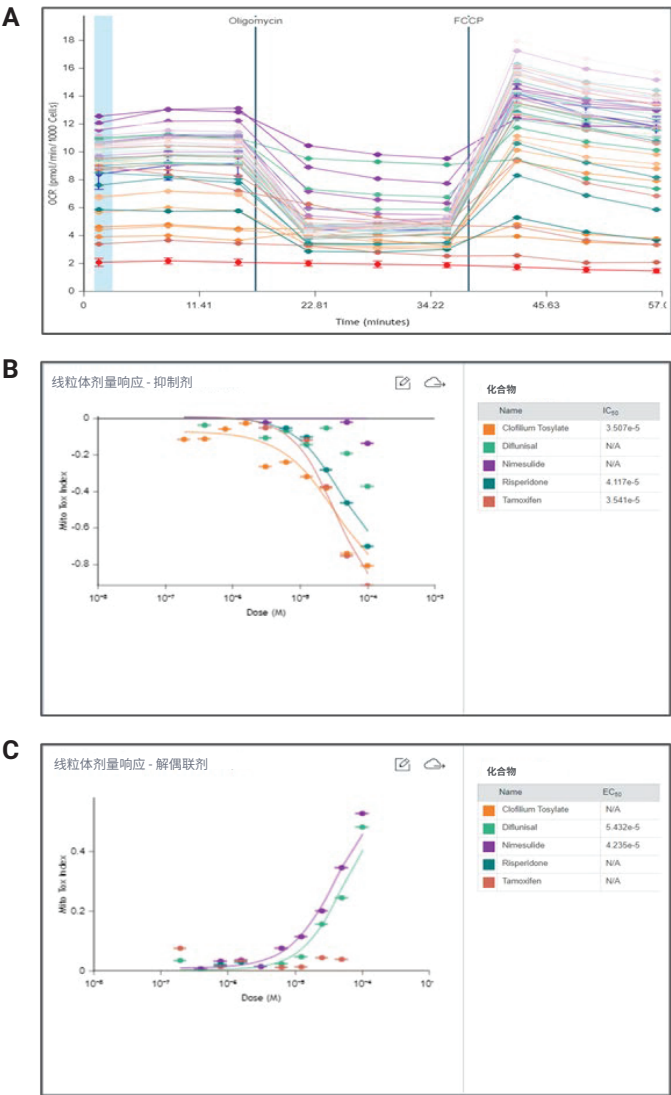


图 8. 线粒体毒性化合物的剂量响应分析。(A) 动力学 OCR 测量。(B) MTI 值与抑制剂（氯非铵甲苯磺酸盐和利培酮）的剂量之间的关系，以及各自的 IC₅₀ 值。(C) MTI 值与解偶联剂（二氟尼柳和尼美舒利）的剂量之间的关系，以及各自的 EC₅₀ 值

数据解析的注意事项

剂量对线粒体毒性模式的影响：如图 8 所示，包括尼美舒利在内的四种化合物显示出典型的剂量反应，其 IC₅₀ 和 EC₅₀ 值表明存在抑制和解偶联。然而，如果尼美舒利的浓度升高，毒性模式表现就会改变。在相对较低的浓度（0 至 100 μmol/L）下，尼美舒利表现为解偶联剂，可导致寡霉素 OCR 升高，但对于 FCCP OCR 几乎没有影响。但随着浓度的增加（100 μmol/L 至 2 mmol/L），解偶联 MTI 从 0.55 降至 0，同时，抑制程度从 -0.05 增加至 -1（图 9A）。事实上，许多解偶联剂都有可能存在该现象，在浓度相对较低的情况下，表现出解偶联效应，在较高浓度下则表现出抑制效应⁽¹³⁾，该现象还说明了在初始化合物筛查检测后进行剂量响应分析的益处。

一些 OPI 也出现了线粒体毒性模式的这种剂量依赖性变化。例如，寡霉素、DCCD 和依西酸喷他脒是已知的 ATP 酶抑制剂 (OPI)。在图 7 所示的筛查检测中，依西酸喷他脒被检测为 OPI。然而，DCCD 显示的 MTI 值为 -0.26，未被检测为 OPI。在筛查检测后开展了剂量响应分析，发现了两种不同类型的结果（图 9B）。针对寡霉素和依西酸喷他脒，在测试浓度范围内报告了 OPI，表明对 OxPhos 系统的某个成分具有特异性抑制作用。相比之下，针对 DCCD，仅在测试的最低浓度（25 μmol/L）下观察到了 OxPhos 抑制，而在较高浓度下，该化合物引发抑制活性（图 9B 和 9C）。这些案例表明，如果在知道线粒体毒性模式与调查具有相关性后，那么除了初始单剂量筛查之外的下游检测（例如剂量依赖性化合物暴露）也可能具有必要性。

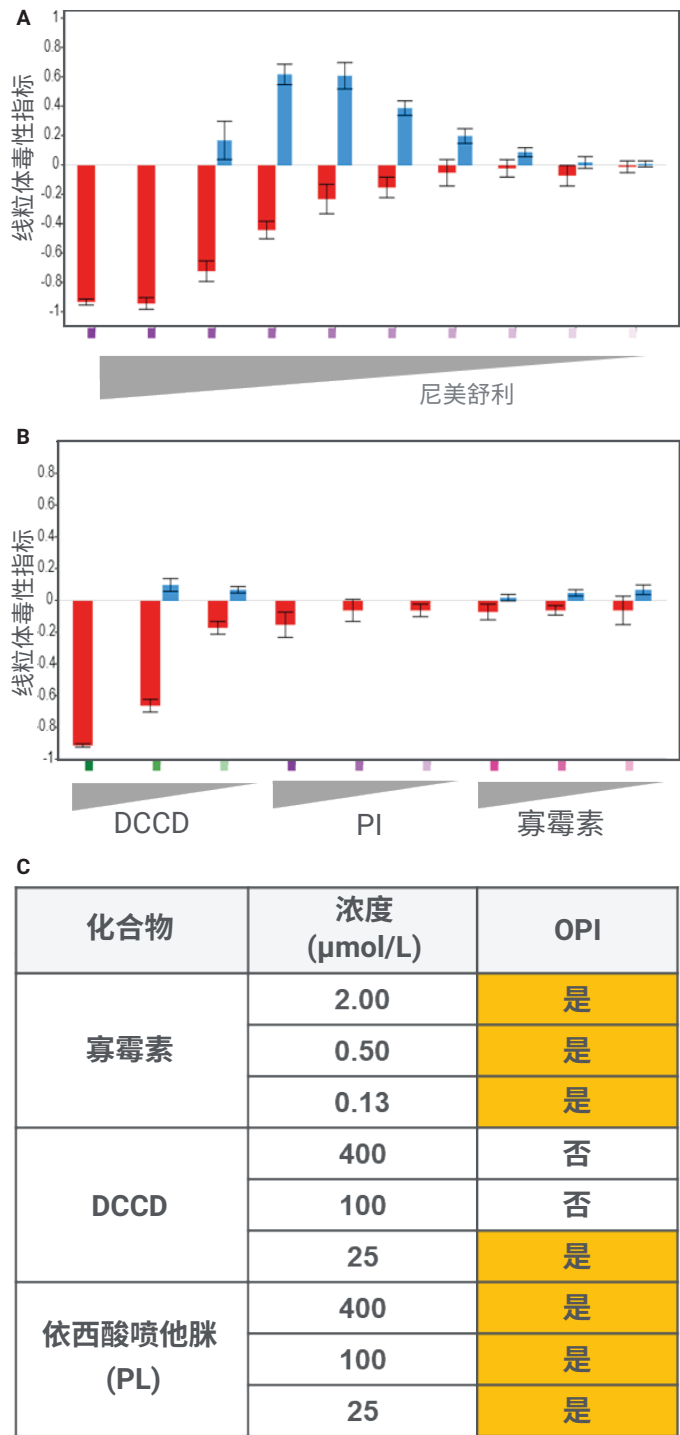


图 9. 剂量对线粒体毒性模式表现的影响。(A) 不同浓度尼美舒利的 MTI 值柱状图。(B) 寡霉素、二环己基碳二亚胺 (DCCD) 和依西酸喷他脒在不同浓度下的柱状图。(C) 不同剂量下检测到的每种化合物的 OPI (n = 8)

扩展化合物处理的效果：线粒体毒性与细胞毒性以及数据归一化：除了浓度对线粒体毒性的影响外，另一个需要考虑的关键变量是化合物暴露于细胞的时长。XF 线粒体毒性检测主要用于评估急性线粒体毒性，即在几分钟到几小时内检测对线粒体功能的不利影响。虽然化合物暴露更长时间通常是有保证的（甚至是必要的，取决于细胞摄取化合物的动力学），但由于线粒体功能障碍加速细胞毒性，或细胞毒性反过来加速线粒体功能障碍，这些长时间化合物暴露（数小时到数天）可能会产生下游效应。请注意，在某些情况下，细胞数量的数据归一化可能会掩盖细胞毒性作用。如图 10 所示，MTI 值没有变化，但在暴露于 500 $\mu\text{mol/L}$ 尼美舒利的 48 小时内，细胞数量减少。归一化数据表明，解偶联和抑制的 MTI 值不会随时间（4、24 和 48 小时）发生显著变化。然而，如果数据没有归一化，在更长的时间内（4 小时与 24 小时和 48 小时），解偶联和抑制的程度分别会降低和升高。MTI 值的这些变化可归因于尼美舒利在 24 小时和 48 小时时间点的细胞毒性作用，因为在化合物暴露的这些较长时间内，细胞数量（分别为对照组的 63% 和 34%）显著减少。总之，建议仔细检查结果数据，确保进行准确解析。

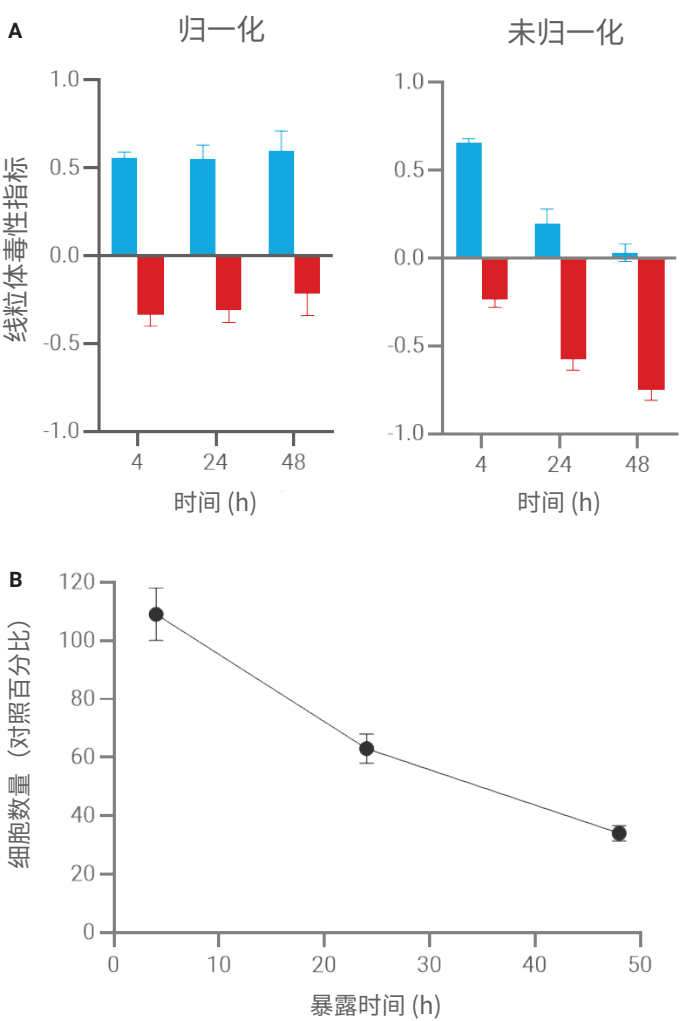


图 10. 细胞毒性和数据归一化对 MTI 值的影响：(A) 使用归一化和未归一化 OCR 数据计算 MTI 值时，在化合物暴露 4、24 和 48 小时后，500 $\mu\text{mol/L}$ 尼美舒利的 MTI 值。(B) 化合物暴露 4、24 和 48 小时后的细胞数（对照组的百分比）

结论

总之，线粒体耗氧量的直接测量可以用作特异且灵敏的指标，对药物诱导的线粒体毒性进行评估。药物诱导的线粒体毒性是药物开发中的常见问题。本白皮书介绍了安捷伦 Seahorse XF 线粒体毒性检测，这是一种用于评估线粒体毒性的定制检测方法，可以高度灵敏地识别和明确区分线粒体毒性的不同模式。同时，该检测方法引入了毒性强度的标准化定量测量：MTI。此外，为了保证生成数据的质量，提供了检测性能指标 (Z')。在检查治疗性化合物的线粒体毒性时，这种检测设计和相应的输出参数既可实现快速、直接的实施，也可实现对筛查或剂量响应类型检测进行直观可靠的数据解析。

参考文献

1. Tilmant et al. *Toxicol. in Vitro*. **2018**, 52, 374–383. DOI:10.1016/j.tiv.2018.07.012
2. Will & Dykens. *Expert Opin. Drug. Metab. Toxicol.* **2014**, 10:8, 1061–1067. DOI:10.1517/17425255.2014.939628
3. Hynes et al. *Toxicol. in Vitro*. **2013**, 27, 560–569. DOI:10.1016/j.tiv.2012.11.002
4. Dykens et al. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. **2007**, 7(2), 161–175. DOI:10.1586/14737159.7.2.161
5. Zhang et al. *J. Biomol. Screen.* **1999**, 4(2), 67–73. DOI:10.1177/108705719900400206
6. 安捷伦 Seahorse 线粒体毒性测定试剂盒用户指南，安捷伦科技公司，出版号 5994-3715ZHCN
7. Pitay et al. *Human Molecular Genetics* **2016**, 25(4), 715–727. DOI:10.1093/hmg/ddv509
8. Cikánková et al. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* **2019**, 392, 1209–1223. DOI: 10.1007/s00210-019-01665-8
9. Nadanaciva et al. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2013**, 272 (2), 272–280. DOI: 10.1016/j.taap.2013.06.019
10. Ludewig et al. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, 38(5), 1123–1128. DOI: 10.1128/AAC.38.5.1123
11. Kam et al. 用于线粒体毒性检测和表征的定制化 XF 工作流程，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-4778ZHCN，**2022**
12. Gesztelyi et al. *Arch. Hist. Exact Sci.* **2012**, 66, 427–438. DOI: 10.1007/s00407-012-0098-5

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

仅供科研使用。不用于临床诊断用途。

RA44652.408275463

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，2022
2022年4月15日，中国出版
5994-4732ZHCN