

**BMG LABTECH**  
The Microplate Reader Company



# 用Reader就可以得知 腫瘤細胞的代謝率

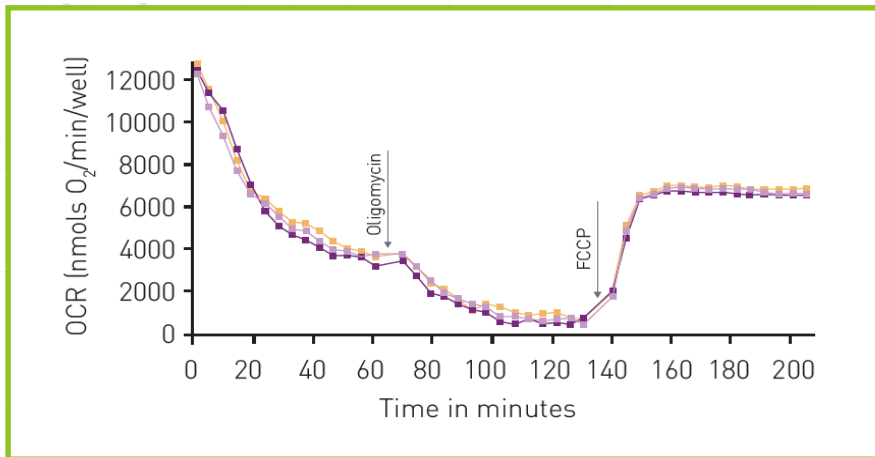
撰文：熊泰綸

培養細胞用的培養基中含有許多細胞生長時所需的養分，細胞呼吸 (Cell Respiration) 為細胞將有機養分氧化分解後，轉換成能量的化學作用。真核細胞中的粒線體透過氧化反應將有機物分解為更小的分子，如葡萄糖進行糖解作用，將能量轉移到NADH及FADH<sub>2</sub>中，最後經過一連串的电子傳遞，將參與反應的H<sup>+</sup>還原生成H<sub>2</sub>O，而能量被轉化成ATP儲存，提供生物體活動使用。電子傳遞鏈在粒線體的膜間腔與基質會形成電位差，H<sup>+</sup>最後會從粒線體膜間腔流回至粒線體基質，並促進ATP的合成，這樣的過程也被稱為氧化磷酸化作用。



大部分正常細胞皆由有氧呼吸的途徑產生能量，一個葡萄糖分子可以生成30~32個ATP分子，而若進行無氧呼吸作用，一個葡萄糖分子轉化為乳酸的過程只能生成2個ATP分子，相差了將近16倍之多。不同來源的正常細胞之間代謝機制是有差異的，相對的因為外在因素導致變異的腫瘤細胞與正常細胞間的代謝機制可能更有差異，因此藉由監控氧氣消耗率 (Oxygen Consumption Rate, OCR) 以及細胞外酸化率 (Extracellular Acidification Rate, ECAR) 的變化可判定其代謝機制的差異。愛爾蘭粒線體代謝套組偵測大廠Luxcel Biosciences開發的MitoXpress® Stress Test Kit及pH-Xtra™ Stress Test 利用時間差螢光原理(Time-Resolved Fluorescence, TRF)，避免Excitation與Emission光譜互相干擾，提升偵測的靈敏度，以及配合酵素動力法的動態偵測模式，有效率的計算出代謝機制所需的耗氧率及細胞外酸化率。

## 氧氣消耗率〈Oxygen Consumption Rate〉

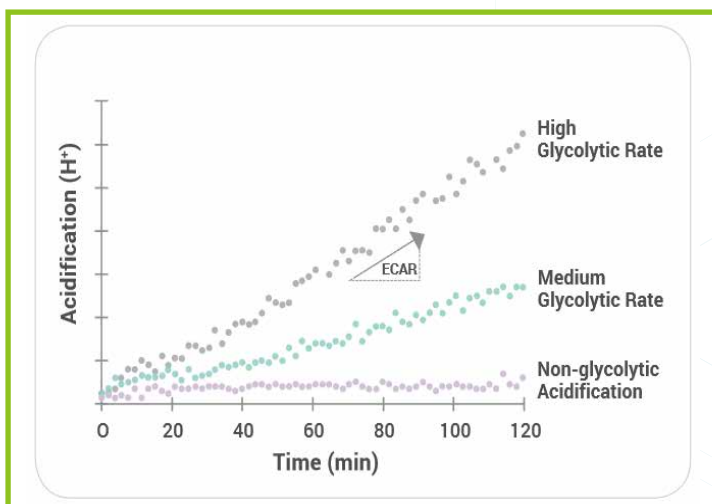


圖一、OCR偵測為利用螢光探針來檢測細胞代謝過程中進行有氧呼吸的能力。初期的40分鐘環境控制氧氣濃度與培養基溶氧量漸進穩定期，此時加入Oligomycin抑制粒線體中ATP的生成，降低細胞對氧的消耗；而FCCP則會使粒線體內膜兩側電位差崩解，促使電子傳遞鏈加速進行，增加細胞耗氧率。

OCR消耗是最直接、也最有效地評估細胞代謝和粒線體功能的參數；Luxcel MitoXpress® Stress Test套組為一帶有螢光物質的探針，其螢光訊號會依氧氣濃度而有所差異。當有氧氣存在時，氧氣會抑制此探針發出螢光，故當在高氧下，螢光訊號偏低；反之，低氧情況下時，螢光訊號即會增強。（如圖1）

## 細胞外酸化率〈Extracellular Acidification Rate〉

通常偵測細胞的糖解作用會以細胞外的酸化程度表示，Luxcel糖解套組是利用對 $H^+$ 敏感的螢光探針偵測pH的改變，而達到檢測ECAR的目的。當環境酸化(pH降低)時，此探針螢光訊號變強；反之，則螢光訊號變弱。此套組便藉由此螢光變化，檢測粒線體代謝狀況，搭配(pH-Xtra™ Stress Test Companion Kit)更可偵測細胞在不同壓力條件下，糖解作用的改變。（如圖2）



圖二、利用pH-Xtra™ Glycolysis Assay可以有效的偵測ECAR，直接地指出細胞內的糖分解能力，不需其他額外實驗參數修正CO<sub>2</sub>導致的誤差。

近年來許多的研究中，學者不斷找尋正常細胞與腫瘤細胞間病理間或是生物標誌上的不同表現。一般的CO<sub>2</sub>培養箱O<sub>2</sub>濃度的值約為20%，而根據研究顯示，一般活體內的氧氣濃度條件約為5~10%，因此部分的研究學者，也開始觀察腫瘤細胞在低氧環境(Hypoxia Environment)中的表現，藉由設定細胞在低氧環境中培養進行實驗。然而即使在細胞實驗中培養箱可調整O<sub>2</sub>與CO<sub>2</sub>濃度，但細胞代謝實驗為一個動態設計，在進行耗氧率與細胞外酸化率測定的同時，螢光儀的氣體控制更為重要。因此，氣體控制儀搭配多功能判讀儀更是不可或缺的小幫手。

來自德國的BMG CLARIOstar®全波長螢冷光判讀儀，專利LVF單色器設計可任意調整波長與頻寬，提高靈敏度，配合螢冷光上下方判讀皆採用無光纖設計，訊號傳遞不耗損，再弱螢光都偵測得到。此外CLARIOstar®有專屬的氣體控制儀，可獨立調整O<sub>2</sub>與CO<sub>2</sub>濃度，讓細胞進行代謝測試時不受外在環境氣體濃度不穩的干擾，準確地獲得細胞耗氧率與酸化率。



CLARIOstar® 全功能盤式判讀儀



ACU 氣體控制儀

## 代謝相關套組

Cat. Number	Product Name	No. of Wells
MX-200	MitoXpress® Xtra Oxygen Consumption Assay	100
MXC-600	MitoXpress® Stress Test Companion Kit	55
MXC-500	MitoXpress® FAO Assay	55
MX-300	MitoXpress® Intra Intracellular Oxygen Assay	100
PH-200	pH-Xtra™ Glycolysis Assay	100
PHC-300	pH-Xtra™ Stress Test Companion Kit	55

產品詳情請洽岑祥當區業務

