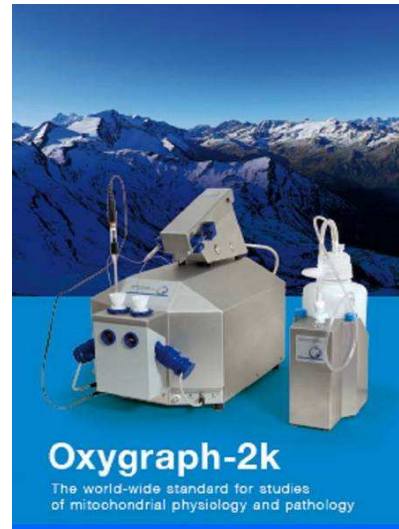


线粒体呼吸功能测定系统

一、综述

高分辨率呼吸测定系统 HRR 的应用：

- 先天或后天线粒体疾病的诊断
- 肌病和神经肌肉的病理诊断
- 细胞功能及细胞死亡的研究
- 氧化性应激
- 缺血再灌注损伤
- 衰老及老化
- 药理学测试



高分辨率：高精度、最小的样品量

样品名称	使用量	仓体积	温度
心脏线粒体	0.01mg protein	2.0 ml	37 ° C
肌纤维	1mg wet weight	2.0 ml	37 ° C
内皮细胞	0.2 *10 ⁶ cells	2.0 ml	37 ° C
T 淋巴细胞	1*10 ⁶ cells	2.0 ml	37 ° C

高通量呼吸测定系统

◆ 少量样品、有限氧耗的常规呼吸监测：线粒体、氧化酶、少量的细胞培养、少量活检、病理现象导致的呼吸微弱（细胞凋亡，线粒体或新陈代谢疾病，老化，离体-再灌注损伤，过氧应激）、突变导致呼吸能力下降、微生物培养、抗氧化系统、低水平呼吸检测，生理细胞内氧水平或氧活性

广泛的需求

1、常规分析氧化磷酸化，如氧化还原信号肽、氧化应激、缺血再灌注、衰老、退变以及遗传疾病、凋亡、癌症研究以及药物测试、细胞信号传导、环境应激。对非专业人士来说，O2K 提供稳定而可靠的操作，强大的软件可以实现校正、数据采集及图表显示以及数据分析等功能，氧传感的长期稳定性确保可以进行长期实验，而且可以数月不用更换膜和电解质。

2、在细胞培养及药理学测试中，往往需要高通量实验，O2K 具备两个仓，可以同步进行实验，也可以通过购买多台 O2K 实现高通量实验。

3、在活的或者可渗透化处理细胞、转基因模型的少量组织、人的活检等样品的氧化磷酸化酶系检测中，需要通过高分辨率来获得高精度结果（甚至在通过高度稀释后），如每仓中要求<1 mg 新鲜肌肉组织或<500.000 细胞时。

4、多传感器应用： pH, NO, H₂O₂, 离子选择电极等

二、O2k 主机



Oxygraph-2k Core (Series E)

O2k-主机—满足最简单的高分辨呼吸测定实验要求

O2K 因为其独特的设计和特异的选材，使其具有传统溶氧仪不具备的高分辨性：

1、实验仓的设计：

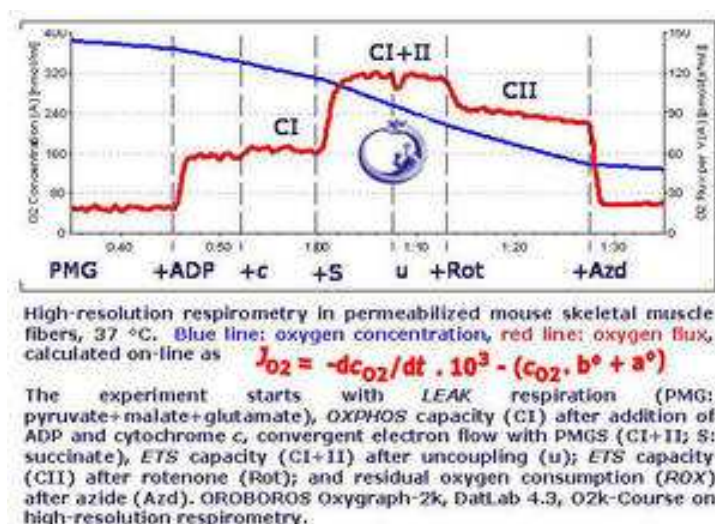


The glass chamber and PEEK stirrer of the Oxygraph-2k

公司采用少量的样品，避免了采用小体积所导致的问题。随着仓体积的减小，表面及/体积的值增加，边界效益会造成更大的误差，对氧扩散而言更是如此。单位样品消耗氧的速率随着仓体积的减小而增加，副作用会大大提高。也就是说，随着仓的体积的减小，就会大大降低系统的敏感性，经过多年的实验，我们认为 1.5-2.0 cm³ 对大多数实验来说是最合适的。因此，我们对体积的选择，不是最小的，二是最适合的。

功能强大的 DatLab 软件

[DatLab 4.3](#) 是最新的软件，用于进行系统控制、数据采集、在线显示氧浓度及氧通量波形、记录大气压、试验温度、热控制系统功率、在线和离线数据分析、多传感器监测、自动要注射控制等。



极谱氧传感器

我们为极谱氧传感器设计了一个大的阴极(直径 2mm)，这样确保传感器的敏感性，确保高的信噪比和低的零氧信号漂移。带角度仓和阴极接触方式确保在转子转动下最好的氧扩散，进而可以最好的监测氧浓度变化。

特别的材料选择，最小化系统氧扩散

通过适当选择反应器材料，额可以最小化扩散影响。O2K 的具体做法是：

- 1、淘汰甲基丙烯酸甲脂反应仓，使用玻璃仓。
- 2、使用 PVDF 塞子或者钛金属塞子，以及钛金属注射孔
- 3、使用 PEEK 或者 PVDF 包裹的转子，舍弃传统的特氟龙包裹的转子
- 4、使用 Viton0 型环和丁基, 帕拉港橡胶密封，确保零氧扩散。

温度控制单元

集成的电子控制温控系统

02K 采用内置的温控系统，替代传统的水浴控温，具有更高的温度稳定性 ($\pm 0.001\text{ }^{\circ}\text{C}$) 和更高的精度。温度范围是室温 4 (或者室温) -47 摄氏度。从 20 升高到 30 摄氏度仅需要 15 分钟，而从 30 摄氏度降低到 20 摄氏度，则需要 20 分钟。



三、自动微量加药系统 TIP2k



作为传统的步进注射的替代品，TIP2K 是一个程控变速注射系统。可以根据程序控制实现分段注射，也可以进行连续注射。

滴定

程控自动滴定，滴定体积从 0.05 到 250 μl ，可以改变滴定间隔以及滴定时间。

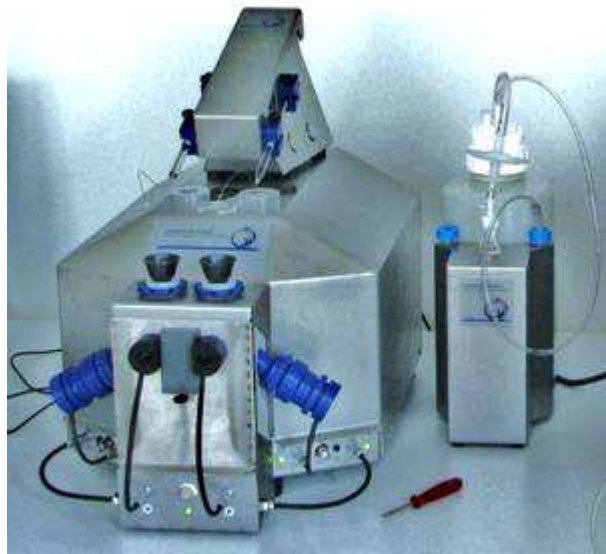
注射

- **稳态注射**：可以在接近稳态下以消耗的速率进行底物注射，程控注射速度从 0.01 到 25 $\mu\text{l} \cdot \text{s}^{-1}$ 。
- 变速注射，通过不断的连续滴定不断改变效应器浓度
- 软件控制实现反馈控制：根据氧浓度的变化决定注射的速度。

四、O2k 荧光检测模块

光学传感器放置于玻璃仓的前窗处，用来测量过氧化氢产量 (*Amplex red*)、ATP 产量 (*Mg green*)、线粒体膜电位 (*Safranin*)、钙离子浓度 (*green*) 以及其他用途。该模块包括用于两个仓的光学传感器、光学过滤器、传感器固定器、两个黑色 PEEK 塞子、高光密度电子控制器、数据采集及记录软硬件等。

O2K 主机支持该模块，D 系列主机需要多传感器电子升级。



五、线粒体膜电位

采用多传感器系统，可以同时监测氧浓度和线粒体膜电位或者钙离子浓度（通过更换不同的膜来实现），多传感器系统提供了一个电压信号监测功能，用来监测膜电位或者钙离子浓度。该系统包括离子选择电极和参考电极，通常包括憎水阳离子如 TPP^+ ， TPMP^+ 及 Ca^{2+} ， Mg^{2+} 等

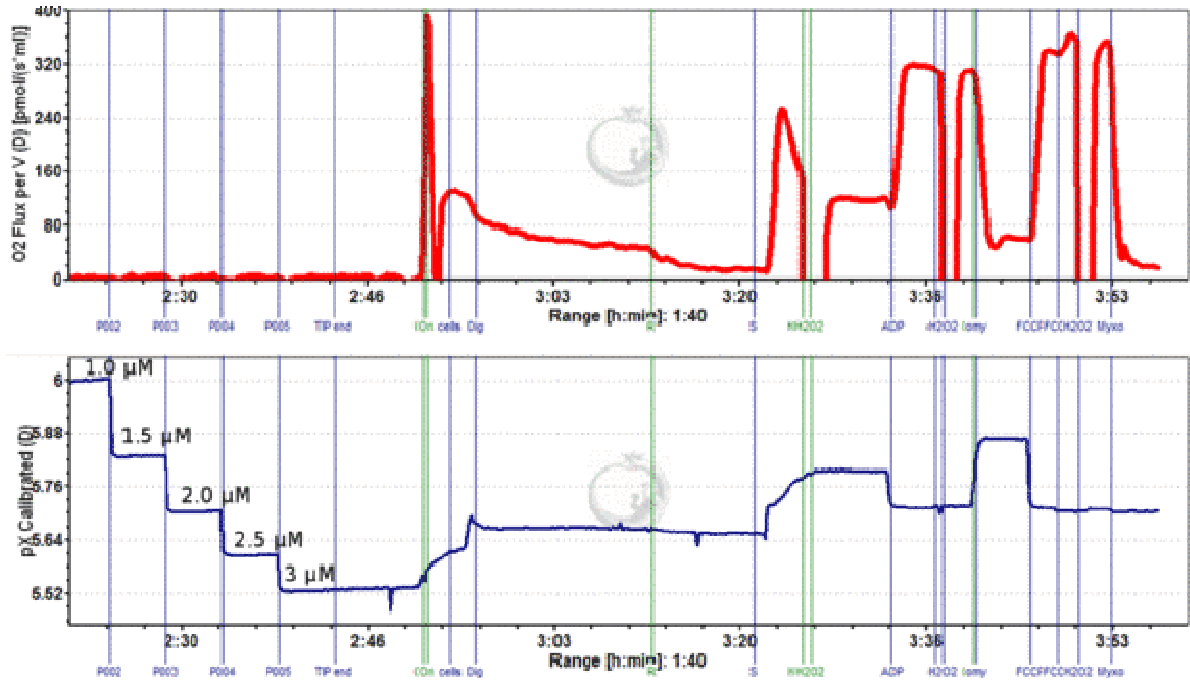


Figure 1: Simultaneous determination of respiratory activity (top graph) and changes in the mitochondrial membrane potential (bottom graph) in the acute lymphoblastic leukemia cell line C7H2. Cell density: $5.7 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ in MiR06.

六、PH 监测模块

生物能学: 同步监测氧及 PH 值, 特别适用于化学渗透偶联机制的发现和质子泵的 H^+/O_2 化学计量比定量检测等。

细胞生理学: 完整细胞的有氧酵解可以通过测量质子产物(间接但连续监测乳酸酯及相应的溶液的酸性)来实现量化, 同时进行监测氧浓度和氧消耗。在一个缓冲培养液中, 与质子产物相对应的 PH 变化很小, 因此需要低缓冲能力的溶液。在各种代谢条件下, 乳酸产物是产生酸性的显性机制。因此, PH 测量时一个非常好的间接测量有氧酵解方法。

pH 系统

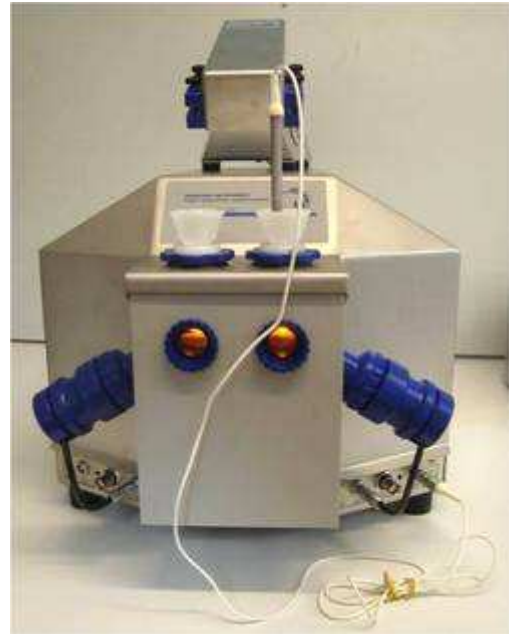
O2K 系统中的 PH 监测, 同样需要多电极系统升级, 结合自动微量加药射泵可以进行恒定的 PH 实验环境下实验。

七、NO 等自由基监

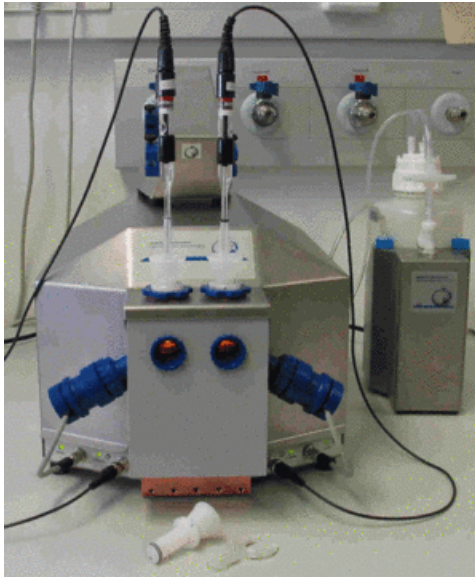
该技术由 Dr. Susana Cadenas (Madrid, ES) 最先使用，使用 NO 传感器同步进行 O₂ 和 NO 的测量，评估完整细胞低氧情况下的氧动力学，同样可以进行 H₂S、H₂O₂ 等自由基检测。

对所有的 O₂K 来说，进行二者的同步测量都是可能的，不同系列的设备，需要不同的配件。

通过集成额外的两个电流放大器，这样使用相应的传感器即可进行自由基检测。测量的电流会立即换算成点呀信号，通过放大器放大然后由软件输出。



八、多电极系统



Simultaneous monitoring of pH and oxygen in two chambers of the O2k-MultiSensor System and pH titration with the TIP2k.

O2K 是一款以主机为基础的模块化设备，可应用于线粒体生理学、生物能学以及生物医学。主机部分确保了高分辨性，多传感器系统可以满足更多要求，包括之前所述的的各项应用。

[O2k-Fluorescence Module](#)

[Mitochondrial Membrane Potential and Oxygen](#)

[Ca²⁺ and Oxygen](#)

[pH and Oxygen](#)

[NO and Oxygen](#)

[H₂O₂ and Oxygen](#)

[Cytochrome Spectra and Oxygen](#)

九、Power-02k

02K 具备高分辨性，通过使用多个 02K 结合，可以实现高通量性。在以下实验室，使用了 6 台 02K

- [AT Innsbruck Gnaiger E](#)
- [DK Copenhagen Dela F](#)
- [NZ Auckland Hickey AJ](#)

而以下的实验室使用了 3-5 台 02K

- [BE Liege Votion DM](#)
- [CA Rimouski Blier PU](#)
- [CA Guelph Holloway GP](#)
- [CH Bern Djafarzadeh S](#)
- [FR Angers Douay O](#)
- [DK Copenhagen Boushel R](#)
- [DK Copenhagen Quistorff B](#)
- [DE Duesseldorf Roden M](#)
- [EE Tartu Seppet EK](#)
- NO_Trondheim_Rognmo O
- [SE Lund Elmer E](#)
- [US FL Gainesville Leeuwenburgh C](#)
- [US NC Greenville Neuffer PD](#)
- [US OH Cincinnati Clark JF](#)