文章编号:1000-5404(2012)15-1533-05

论著

# 2-NBDG 检测 H9c2 心肌细胞葡萄糖摄取能力的研究

叶 林,陆 凯,张冬颖,覃 数 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院心血管内科)

[摘要] **目的** 评估荧光标记2-脱氧葡萄糖(2-deoxyglucose,2-DG)即2-NBDG(2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diaxol-4-yl)amino]-2-deoxyglucose,2-NBDG)作为光学探针检测H9c2心肌细胞葡萄糖摄取的能力。**方法** 间接免疫荧光法测定H9c2心肌细胞葡萄糖转运体(GLUT-1、GLUT-4)的表达。用不同浓度2-NBDG和不同孵育时间处理H9c2心肌细胞,探讨其量效-时效关系,荧光酶标仪测定2-NBDG孵育H9c2细胞的最适浓度和时间。以2-NBDG最适浓度孵育H9c2心肌细胞,同时用共聚焦显微镜和流式细胞仪检测细胞内荧光强度差异,观察心肌细胞摄取2-NBDG情况。使用竞争性抑制剂D型葡萄糖(D-Glu)与2-NBDG共同孵育H9c2心肌细胞,观察D-Glu对2-NBDG的竞争性抑制情况。**结果** 间接免疫荧光法显示H9c2心肌细胞高表达GLUT-1、GLUT-4。2-NBDG孵育H9c2心肌细胞的最适浓度和时间分别为100 μmol/L和30 min。共聚焦成像和流式细胞仪均显示H9c2心肌细胞能有效摄取2-NBDG,加入D-Glu后使心肌细胞内荧光信号强度分别降低27.0%和46.7%($P<0.01$)。运用2-NBDG检测细胞葡萄糖摄取的方法,证实胰岛素能促进H9c2心肌细胞葡萄糖的摄取。**结论** 2-NBDG能迅速被高表达GLUT-1、GLUT-4的H9c2心肌细胞摄取并滞留于细胞内,且可以被D-Glu竞争性抑制,表明2-NBDG可作为一个方便且敏感的探针,用于检测细胞葡萄糖摄取的能力。

[关键词] 2-NBDG;H9c2心肌细胞;葡萄糖摄取
[中图法分类号] R322.11; R329-33; R329.25 [文献标志码] A

# 2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxyglucose as fluorescence probe to detect glucose uptake in H9c2 cells

Ye Lin, Lu Kai, Zhang Dongying, Qin Shu (Department of Cardiology, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To assess the possibility of a deoxyglucose analog 2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxyglucose (2-NBDG) as a fluorescence probe to detect the glucose uptake in H9c2 cells. **Methods** Glucose transporter 1 (GLUT1) and glucose transporter 4 (GLUT 4) proteins in H9c2 cells were identified by indirect immunofluorescence (IIF) assays. H9c2 cells were incubated with 2-NBDG at a cohort concentration for different periods and the most suitable concentration and exposure period were determined by fluorescence microplate reader. H9c2 cells were incubated with 100 μmol/L 2-NBDG for 30 min with or without D-Glu, a potent competitive inhibitor of 2-NBDG. After the incubation, the 2-NBDG uptake was observed and recorded by confocal laser scanning microscopy (CLSM) and flow cytometry (FCM). **Results** Over-expressed GLUT1 and GLUT 4 proteins were discovered in H9c2 cells. The most suitable concentration and exposure period for H9c2 cells incubation were 100 μmol/L 2-NBDG and 30 min. After incubated with 2-NBDG with or without D-Glu, bright green fluorescence of the 2-NBDG in H9c2 cells was observed under CLSM. The intracellular accumulation of 2-NBDG fluorescence was decreased to 27% (CLSM) and 46.7% (FCM) ($P<0.01$) in groups of co-incubating with D-Glu. 2-NBDG was used to detect cell glucose uptake and confirmed that insulin to promote glucose uptake in H9c2 cells. **Conclusion** 2-NBDG is quickly transported by GLUT1 and GLUT4 and accumulated in the H9c2 cells, which can be inhibited by D-Glu. 2-NBDG may be used as an optical probe for glucose uptake in H9c2 cells.

[**Key words**] 2-NBDG;H9c2 cells;glucose uptake

Corresponding author: Qin Shu, E-mail: Qinshu@21cn.com

[通信作者] 覃 数,E-mail: Qinshu@21cn.com

葡萄糖摄取实验广泛用于细胞糖代谢研究,目前常用检测方法有:直接检测培养前后细胞培养液中葡萄糖浓度差异[1];氚标记2-脱氧葡萄糖检测法[2-3];前者简单易行但精确性较差,后者敏感性高、易定量,但费用昂贵、有辐射损伤,寻求敏感性高、特异性强、无辐射损伤、易于检测的方法具有重要意义。

目前2-脱氧葡萄糖荧光类似物(2-NBDG)被用于细胞葡萄糖摄取及代谢的研究,不涉及电离辐射,具有检测方便,分辨率高等优点[4]。已有2-NBDG用于乳腺癌细胞[5]及脂肪细胞[6]等糖摄取研究的报道,但少见2-NBDG用于检测心肌细胞糖摄取的相关实验报道。本实验拟通过荧光酶标仪、共聚焦显微镜及流式细胞仪等多种实验方法观察分析H9c2心肌细胞摄取2-NBDG的能力,探索2-NBDG作为荧光探针检测心肌细胞葡萄糖摄取的可行性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及仪器

DMEM/F12细胞培养基、胎牛血清(HyClone);2-NBDG(Invitrogen);Anti-GLUT1、Anti-GLUT-4(北京博奥森生物技术有限公司);FITC标记羊抗兔二抗、Cy3标记羊抗兔二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司);胰蛋白酶、多聚甲醛、BSA、防荧光淬灭封闭剂、EDTA、CCK-8、D型葡萄糖(D-Glu)(碧云天生物技术研究所);37 ℃细胞培养箱(Thermo Forma,美国),荧光酶标仪(MD,美国);流式细胞仪(BD,美国);激光共聚焦显微镜(LeicaTCS-SPI,德国);KRB溶液(Krebs-Ringer's HEPES [KRH] buffer)配方:129 mmol/L NaCl,4.7 mmol/L KCl,1.2 mmol/L $KH_2PO_4$,1.0 mmol/L $CaCl_2$,1.2 mmol/L $MgSO_4$,5.0 mmol/L $NaHCO_3$,10 mmol/L HEPES,pH 7.4。

### 1.2 细胞培养

H9c2心肌细胞购自中科院上海细胞生物学研究所,是源于大鼠胚胎细胞、具有骨骼肌与心肌功能的特异心肌细胞株系。H9c2心肌细胞培养于含有10%胎牛血清的DMEM/F12培养液中,5% $CO_2$培养箱37 ℃贴壁培养,待细胞长至瓶壁面积的90%左右时用含有0.02% EDTA的0.25%胰蛋白酶消化传代。用免疫荧光法检测GLUT-1、GLUT-4蛋白表达的细胞组接种于24孔板,用于荧光酶标仪检测H9c2心肌细胞摄取2-NBDG能力的各组细胞接种于96孔板,用于流式细胞仪检测细胞荧光强度的细胞组接种于6孔板培养,细胞达到同步化后给予相应的处理因素。

### 1.3 方法

1.3.1 H9c2心肌细胞GLUT-1、GLUT-4的表达 H9c2心肌细胞于长至90%瓶壁面积时进行爬片,即细胞接种于每孔预置盖玻片的24孔板内,细胞长至玻片面积的50% ~60%时用PBS漂洗3次,每次2~3 min;4%多聚甲醛固定20 min;PBS漂洗3次,每次2~3 min;5% BSA封闭60 min;加入一抗即兔抗鼠GLUT-1抗体(1∶100稀释)和兔抗鼠GLUT-4抗体(1∶100稀释),4 ℃湿盒过夜;次日再用PBS漂洗3次,每次2~3 min。检测GLUT-1的细胞组加入FITC标记羊抗兔IgG二抗(1∶50稀释),检测GLUT-4的细胞组加入Cy3标记羊抗兔IgG二抗(1∶50稀释),37℃孵育1 h;PBS漂洗3次后用防荧光淬灭封片剂封片,激光共聚焦显微镜下观察并成像。

1.3.2 荧光酶标仪读数检测心肌细胞摄取2-NBDG的能力 H9c2心肌细胞接种于96孔板,每孔约$10^5$细胞,孵育48 h后,细胞长至约90%,行细胞葡萄糖摄取实验。

1.3.2.1 测定H9c2心肌细胞摄取2-NBDG最佳浓度 实验分组:除空白对照组(NC组,不加入2-NBDG)外,按浓度梯度设立6个2-NBDG处理组:25、50、100、200、300、400 μmol/L组。每个组6个孔,细胞长至孔板面积的90%时,分别用不同浓度的2-NBDG处理H9c2心肌细胞(0~400 μmol/L),37 ℃孵育30 min后用KRB洗2次,荧光酶标仪读数,在激发波长/发射波长(Ex/Em)为488/520的条件下测值(Ex/Em,488/520 nm),通过检测细胞内荧光强度变化来评估H9c2心肌细胞摄2-NBDG的情况。最后每组细胞内加入CCK-8 10 μl孵育细胞4 h,再用酶标仪读数(波长为490 nm)。通过CCK-8来校正每组荧光强度因细胞数量差异而导致的误差。各浓度组重复3次。

1.3.2.2 测定H9c2心肌细胞摄取2-NBDG最佳时间 用H9c2心肌细胞摄取2-NBDG最佳浓度(100 μmol/L)处理细胞,37 ℃培养箱内孵育。除对照组(NC组)外,按照孵育时间设立5处理组:5、15、30、45、60 min组。不同时间孵育后均KRB溶液洗2次,荧光酶标仪读数(Ex/Em,488/520 nm),检测细胞内荧光强度变化;最后每组细胞内加入CCK-8 10 μl孵育4 h,再用酶标仪读数,通过CCK-8来校正每组荧光强度因细胞数量差异而导致的误差。各时间组重复3次。

1.3.3 2-NBDG孵育H9c2心肌细胞后激光共聚焦显微镜成像 H9c2心肌细胞分为3组接种在共聚焦专用培养皿中培养24 h,第1组为空白对照组(NC组),第2组为荧光葡萄糖摄取组(2-NBDG组),第3组为荧光葡萄糖+D型葡萄糖抑制组(2-NBDG+D-Glu组)。细胞长至皿底面积的50%后用KRB溶液洗3次,第1组加入200 μl KRB,第2组加入200 μl 2-NBDG(100 μmol/L),第3组同时加入100 μl 2-NBDG(200 μmol/L)和100 μl D-Glu(100 mmol/L),处理组2-NBDG终浓度为100 μmol/L,均在37 ℃孵育30 min后,KRB洗3次,在各组培养皿中加入100 μl KRB,运用激光共聚焦显微镜观察并摄像。

1.3.4 流式细胞仪定量检测2-NBDG孵育后H9c2细胞内平均荧光强度 与激光共聚焦显微镜成像检测荧光强度实验分组相同,H9c2细胞分为3组:NC、2-NBDG、2-NBDG+D-Glu组。H9c2细胞接种在6孔板中培养48 h后KRB洗3次,NC组加入500 μl KRB,2-NBDG组加入2-NBDG 500 μl(100 μmol/L),2-NBDG+D-Glu组加入2-NBDG 250 μl(200 μmol/L)和D-Glu 250 μl(100 mmol/L),处理组2-NBDG终浓度为100 μmol/L,37 ℃孵育30 min后KRB溶液洗3次,0.25%胰蛋白酶消化后收集细胞,流式细胞仪每组检测105细胞内的平均荧光强度表达。各实验组数为3个,实验重复3次。

1.3.5 胰岛素及2-NBDG处理H9c2心肌细胞后流式细胞仪检测细胞内平均荧光强度 H9c2心肌细胞分为3组,接种在6孔板中培养48 h后KRB洗3次,第,1组为空白对照组,第2组为荧光葡萄糖(2-NBDG)摄取对照组,第3组胰岛素为处理组。

2、3 组 2-NBDG 浓度为 100 μmol/L,3 组胰岛素浓度为 100 μmol/L。加入相应处理后,37 ℃孵育 30 min 后 KRB 溶液洗 3 次。0.25% 胰蛋白酶消化后收集细胞,流式细胞仪检测 105 细胞的平均荧光强度表达。各实验组数为 2 个,实验重复 3 次。

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理,计量资料 2 组间比较应用独立样本 $t$ 检验,多组间比较采用单因素方差分析。所获得激光共聚焦图片采用德国 Definiens Tissue Studio 分析软件分析细胞内平均荧光强度。

## 2 结果

### 2.1 H9c2 心肌细胞表达 GLUT-1、GLUT-4 免疫荧光共聚焦成像结果

间接免疫荧光法检测结果显示:H9c2 细胞质及胞膜均强表达 GLUT-1(图 1A)、GLUT-4(图 1B),胞核内未见表达。

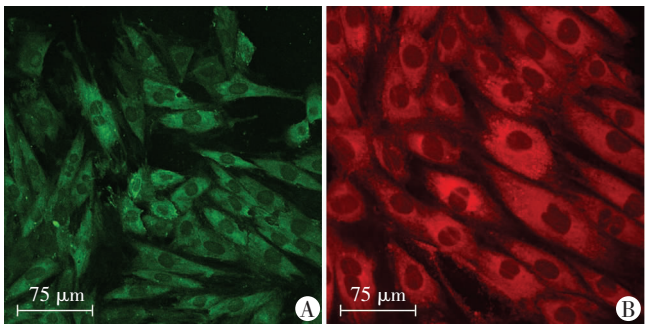
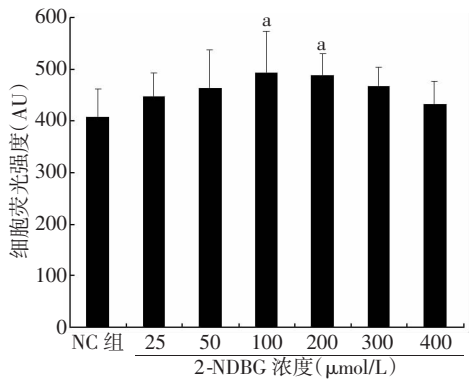



**图 1 激光共聚焦显微镜观察 GLUT-1(A)和 GLUT-4(B)在 H9c2 心肌细胞的表达**

### 2.2 2-NBDG 检测心肌细胞葡萄糖摄取的时效及量效关系

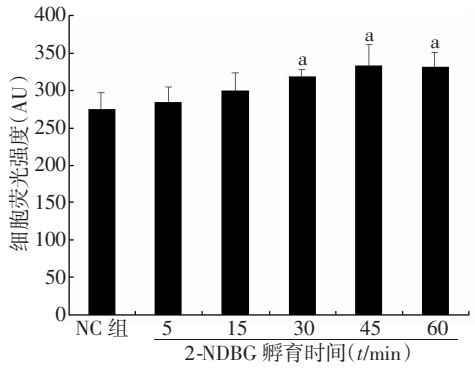
2.2.1 筛查处理 H9c2 心肌细胞的最佳 2-NBDG 浓度 6 个梯度浓度处理组中,100 μmol/L 和 200 μmol/L 两个 2-NBDG 组 H9c2 心肌细胞荧光强度值较 NC 组显著增高($P<0.05$),这 2 组组间无统计学差异($P>0.05$),其他各个浓度组与 NC 组比较均无统计学差异。因 100 μmol/L 2-NBDG 处理 H9c2 心肌细胞时,较易于观察细胞荧光强度变化,故选择 100 μmol/L 2-NBDG 浓度用于后续实验。见图 2。




a:$P<0.05$,与 NC 组比较

**图 2 H9c2 心肌细胞摄取 2-NBDG 的量效关系**

2.2.2 筛查 2-NBDG 处理 H9c2 心肌细胞的最佳时间 H9C2 心肌细胞摄取 2-NBDG 随时间延长而增加,30 min 后渐进入平台期。30、45、60 min 3 个时间组 H9c2 摄取荧光强度均显著高于 NC 组($P<0.05$),但 3 个组间比较无统计学差异($P>0.05$),取 30 min 为 2-NBDG 处理 H9c2 心肌细胞最适孵育时间。见图 3。




a:$P<0.05$,与 NC 组比较

**图 3 H9c2 心肌细胞摄取 2-NBDG 的时效关系**

### 2.3 H9c2 心肌细胞摄取 2-NBDG 后细胞荧光强度变化

2.3.1 激光共聚焦扫描显像 NC 组无荧光信号表达(图 4A)。激光共聚焦扫描成像显示 2-NBDG 组细胞内有强绿色荧光信号(93.32 ± 7.60)(图 4B),2-NBDG + D-Glu 组 H9c2 细胞内也有绿色荧光信号表达(68.51 ± 3.56)(图 4C),但较单纯 2-NBDG 孵育组荧光信号减弱 27%($P<0.05$)。表明 H9c2 细胞能有效摄取 2-NBDG,荧光葡萄糖聚集在细胞膜和细胞质内,D-Glu 能抑制 H9c2 细胞对 2-NBDG 的摄取。

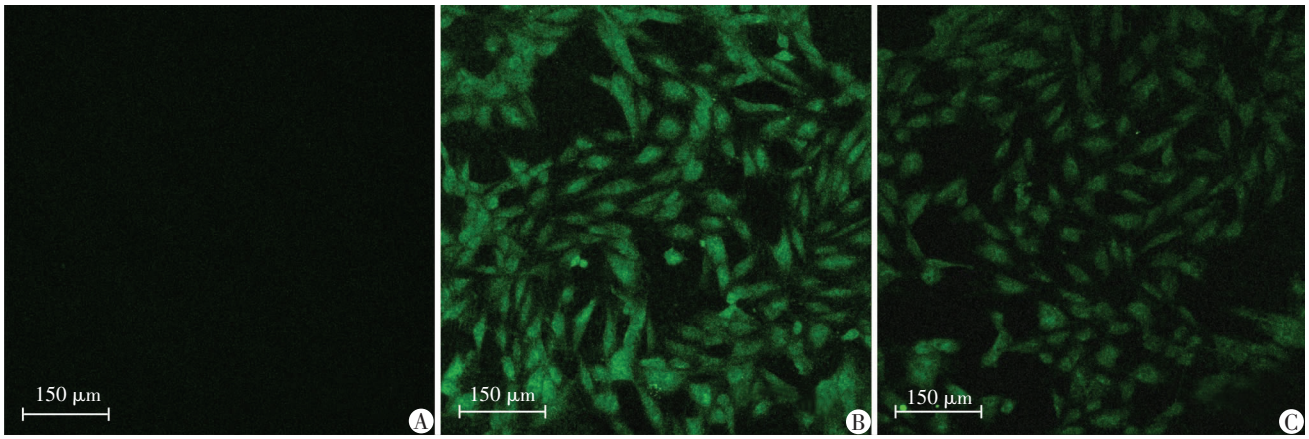
2.3.2 流式细胞仪检测 对照组未加入 2-NBDG,H9c2 心肌细胞自发荧光强度为(4.35 ± 0.51)(图 5A);2-NBDG 组荧光强度为(51.17 ± 5.09)(图 5B),显著高于对照组($P<0.01$);2-NBDG + D-Glu 组荧光强度为(27.27 ± 2.48)(图 5C),较单纯 2-NBDG 组降低 46.7%($P<0.01$),但仍显著高于 NC 组。

### 2.4 2-NBDG 检测胰岛素处理 H9c2 心肌细胞后细胞葡萄糖摄取的能力

H9c2 心肌细胞自发荧光强度为(3.82 ± 0.23)(图 6A);2-NBDG 组荧光强度为(78.13 ± 10.96)(图 6B),显著高于对照组($P<0.01$);2-NBDG + 胰岛素组荧光强度为(109.09 ± 11.67)(图 6C),较单纯 2-NBDG 组增加 39.6%,证明胰岛素可促进心肌细胞葡萄糖摄取($P<0.01$)。结果表明 2-NBDG 可作为一个简便有效的荧光探针检测心肌细胞葡萄糖摄取的能力。

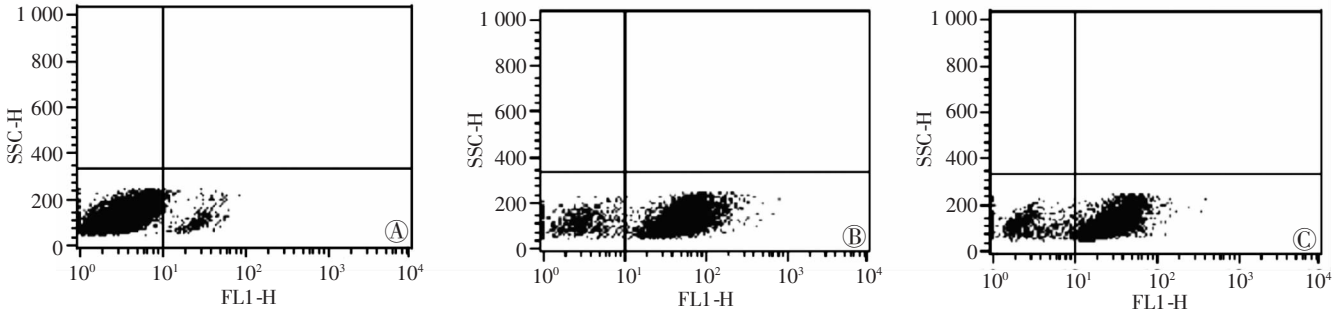
## 3 讨论

心肌细胞和心肌组织的葡萄糖代谢研究多采用放射性标记葡萄糖检测法。细胞试验用氚标记葡萄糖(H-2-脱氧葡萄糖)检测法[7],动物或人体试验用氟代脱氧葡萄糖(18F-FDG)正电子发射断层扫描(PET)检测法[8]。而这些方法存在辐射损伤且需特殊仪器(如 PET),因此,寻找更简便、安全、无辐射的方法具有重要意义。



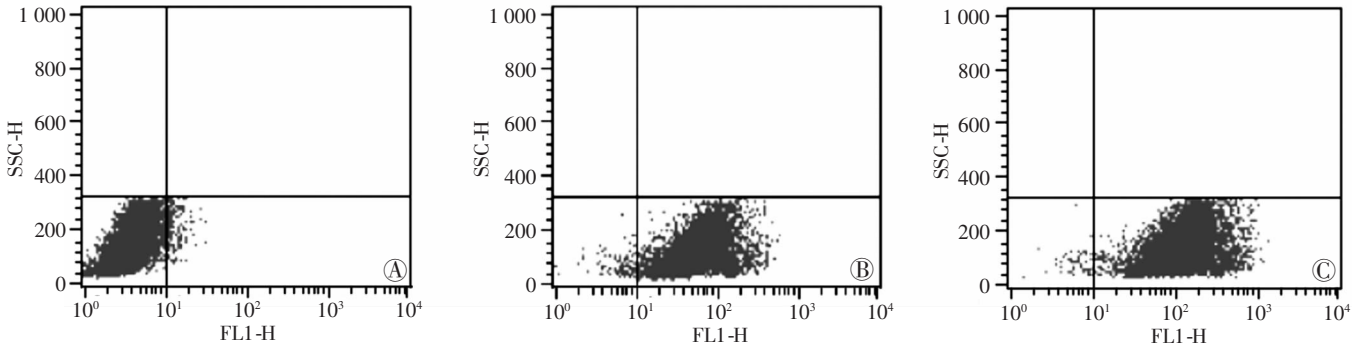

A:NC 组;B:2-NBDG 组;C:2-NBDG + D-Glu 组

**图 4　激光共聚焦成像观察各组 H9C2 心肌细胞摄取 2-NBDG 及其竞争性抑制**




A:NC 组;B:2-NBDG 组;C:2-NBDG + D-Glu 组

**图 5　流式细胞仪检测各组 H9c2 心肌细胞摄取 2-NBDG 后细胞平均荧光强度**




A:NC 组;B:2-NBDG 组;C:2-NBDG + 胰岛素组

**图 6　流式细胞仪检测 2-NBDG 证实胰岛素能促进 H9c2 心肌细胞葡萄糖的摄取**

2-脱氧葡萄糖(2-DG)是天然 D 型葡萄糖衍生物,通过葡萄糖转运体蛋白进入细胞。2-DG 第 2 位氧原子被荧光基团 NBD 取代即形成 2-DG 的荧光类似物,即荧光标记 2-脱氧葡萄糖(2-NBDG)。Yoshioka 等[9]于 1996 年发现 2-NBDG,并证实其与 2-DG 类似,可通过葡萄糖转运体蛋白进入活细胞。2-NBDG 激发波长为 488 nm,发射波长为 542 nm[10],能够被荧光酶标仪、荧光显微镜及流式细胞仪等仪器探测。文献[11]报道:2-NBDG 可被肿瘤细胞、脂肪细胞摄取,摄取速度和程度与 2-DG 相同,2-NBDG 胞内代谢方式也与 2-DG 相似,也在胞内形成磷酸化复合物而聚集,最终通过磷酸化酶缓慢水解。由于 2-NBDG 含荧光基团,可被相应设备检测显影,为用于检测葡萄糖代谢的探针奠定了基础。

心肌细胞葡萄糖跨膜转运主要依赖于葡萄糖转运体蛋白[12-13]。有相关实验表明 2-NBDG 被摄取进入

细胞也是依赖于葡萄糖转运体蛋白[4],本实验通过间接免疫荧光技术,证实 H9c2 心肌细胞质、胞膜均有 GLUT-1 和 GLUT-4 表达,可作为心肌细胞摄取 2-NBDG 的基础。我们采用了荧光酶标仪、激光共聚焦扫描成像和流式细胞仪 3 种技术,同时检测 H9c2 心肌细胞摄取 2-NBDG 后细胞荧光强度的变化。荧光酶标仪检测细胞葡萄糖摄取简便易行;激光共聚焦扫描成像可见直观的细胞图像,但分析需要特殊的图片分析软件和方法;流式细胞仪不能观察到细胞摄取荧光信号的直观效果,但能快速给出易于分析的结果,3 种方法都能快速检测 H9c2 心肌细胞的葡萄糖代谢情况,但又各有所长,可据适宜仪器选择。3 种方法均证实:2-NBDG 可被 H9c2 心肌细胞快速摄取,H9c2 心肌细胞摄取 2-NBDG 后细胞内荧光信号显著增强,加入 D 型葡萄糖(D-Glu)同时孵育后细胞摄取 2-NBDG 程度减弱,表明该摄取作用能被 D-Glu 抑制,提示 2-NBDG 与 D-Glu 间存在葡萄糖转运体的竞争性抑制,证明 H9c2 心肌细胞摄取 2-NBDG 依赖于葡萄糖转运蛋白,这与文献报道肾脏细胞中结果相类[14]。由于 H9c2 心肌细胞能高表达 GLUT-1、GLUT-4,2-NBDG 可被此 2 种葡萄糖转运体转运进入细胞内,故 2-NBDG 可作为研究 H9c2 心肌细胞葡萄糖摄取的一个敏感探针。

通过探讨 2-NBDG 处理 H9c2 心肌细胞的时效和量效关系,我们确定了最适 2-NBDG 处理浓度为 100 μmol/L,最适处理时间为 30 min。从浓度曲线上可观察到:2-NBDG 被 H9c2 细胞快速摄取入胞内,摄取程度与 2-NBDG 孵育浓度在一定范围内(<100 μmol/L)成正相关,随着浓度进一步增加,H9c2 细胞摄取 2-NBDG 能力并不随 2-NBDG 浓度增加而增加。时间曲线上:30 min 内,2-NBDG 孵育时间与 H9c2 细胞摄取 2-NBDG 程度正相关;30 min 后,H9c2 细胞摄取能力逐渐进入平台期。45、60 min 与 30 min 相比,H9c2 细胞摄取 2-NBDG 量并无显著性增加($P>0.05$)。故 100 μmol/L 2-NBDG 孵育 H9c2 心肌细胞 30 min 可能是较为合理的浓度和时间。

我们采用 2-NBDG 检测细胞葡萄糖摄取的方法,运用其最佳处理浓度和时间与胰岛素共同孵育 H9c2 心肌细胞,通过检测胰岛素处理前后细胞内荧光强度变化即可得出细胞摄取葡萄糖的能力,最终证实胰岛素有促进心肌细胞葡萄糖摄取的作用。与运用氚标记葡萄糖(H-2-脱氧葡萄糖)的方法证实胰岛素促进心肌细胞葡萄糖摄取结果一致。但采用 2-NBDG 检测细胞葡萄糖摄取的方法,更简便易行,且无辐射等危害,具有较强的实用性。

综上所述,我们首先证实了 H9c2 心肌细胞高表达 GLUT1 和 GLUT4,其次验证了 2-DG 的荧光类似物 2-NBDG 能够有效的被 H9c2 心肌细胞摄取,使其具有作为探测 H9c2 心肌细胞葡萄糖代谢探针的可行性,证实 2-NBDG 用于 H9c2 心肌细胞葡萄糖摄取能力的荧光检测简便易行,为探讨心肌细胞和组织葡萄糖代谢的新方法提供了思路,其应用前景可观。

## 参考文献:

[1] Yin J, Hu R, Chen M, *et al*. Effects of berberine on glucose metabolism in vitro[J]. Metabolism, 2002, 51(11): 1439 - 1443.

[2] Ho R C, Alcazar O, Fujii N, *et al*. p38gamma MAPK regulation of glucose transporter expression and glucose uptake in L6 myotubes and mouse skeletal muscle[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2004, 286(2): R342 - R349.

[3] 黄缄, 黄庆愿, 高钰琪, 等. 缺氧习服大鼠骨骼肌葡萄糖转运体特点的研究[J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(18): 1607 - 1610.

[4] Millon S R, Ostrander J H, Brown J Q, *et al*. Uptake of 2-NBDG as a method to monitor therapy response in breast cancer cell lines[J]. Breast Cancer Res Treat, 2011, 126(1): 55 - 62.

[5] 胡慧, 单秀红, 朱伟, 等. 2-NBDG 用于乳腺癌 MDA-MB-231 细胞荧光检测研究[J]. 江苏大学学报: 医学版, 2010, 20(3): 216 - 219.

[6] Zhang W Y, Lee J J, Kim I S, *et al*. 7-o-methylaromadendrin stimulates glucose uptake and improves insulin resistance in vitro [J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(9): 1494 - 1499.

[7] 傅敢, 刘巍, 陈方平, 等. 活化血小板葡萄糖摄取及血小板膜整合素对其的影响[J]. 湖南医科大学学报, 2003, 28(1): 41 - 43.

[8] Williams S P, Flores-Mercado J E, Port R E, *et al*. Quantitation of glucose uptake in tumors by dynamic FDG-PET has less glucose bias and lower variability when adjusted for partial saturation of glucose transport[J]. EJNMMI Res, 2012, 2: 6.

[9] Yoshioka K, Takahashi H, Homma T, *et al*. A novel fluorescent derivative of glucose applicable to the assessment of glucose uptake activity of Escherichia coli[J]. Biochim Biophys Acta, 1996, 1289(1): 5 - 9.

[10] O'Neil R G, Wu L, Mullani N. Uptake of a fluorescent deoxyglucose analog (2-NBDG) in tumor cells[J]. Mol Imaging Biol, 2005, 7(6): 388 - 392.

[11] Ball S W, Bailey J R, Stewart J M, *et al*. A fluorescent compound for glucose uptake measurements in isolated rat cardiomyocytes[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2002, 80(3): 205 - 209.

[12] Davey K A, Garlick P B, Warley A, *et al*. Immunogold labeling study of the distribution of GLUT-1 and GLUT-4 in cardiac tissue following stimulation by insulin or ischemia[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 292(4): H2009 - H2019.

[13] Yu B, Schroeder A, Nagy L E. Ethanol stimulates glucose uptake and translocation of GLUT-4 in H9c2 myotubes *via* a Ca(2+)-dependent mechanism[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000, 279(6): E1358 - E1365.

[14] Blodgett A B, Kothinti R K, Kamyshko I, *et al*. A fluorescence method for measurement of glucose transport in kidney cells[J]. Diabetes Technol Ther, 2011, 13(7): 743 - 751.

(**收稿**:2012-03-01;**修回**:2012-03-26)

(编辑 张 维)