

分类号:  
学号: 20222114069

密级:  
单位代码: 10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



miRNA-21/HIF-1 $\alpha$ /H<sup>+</sup>轴维持甲状腺乳头状癌  
酸性微环境及诱导肿瘤细胞增殖侵袭的研究

学位申请人	韩涛
指导教师	木拉提 副教授 梁学奇 副教授
申请学位类别	专业硕士
专业名称	临床医学
研究领域	外科学
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子  
2025年05月

分类号:  
学号: 20222114069

密级:  
单位代码: 10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### miRNA-21/HIF-1 $\alpha$ /H<sup>+</sup>轴维持甲状腺乳头状癌酸性微环境及诱导肿瘤细胞增殖侵袭的研究

学位申请人	韩涛
指导教师	木拉提 副教授 梁学奇 副教授
申请学位类别	专业硕士
专业名称	临床医学
研究领域	外科学
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子  
2025年05月

**miR-21/HIF-1 $\alpha$ /H<sup>+</sup> axis maintains the acidic microenvironment  
of thyroid tumors and induces tumor proliferation and migration**

A Dissertation Submitted to

**Shihezi University**

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

**Master of Clinical Medicine**

By

**Han Tao**

(Surgery)

Dissertation Supervisor: Prof. MULATI

May,2025

# 石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

## 学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：韩涛

时间：2025年05月26日

## 使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：韩涛

时间：2025年05月26日

导师签名：韩涛

时间：2025年05月26日

## 摘要

目的：检测临床甲状腺肿瘤瘤体 pH 表达，结合术后病理报告，分析瘤体 pH 与肿瘤性质及淋巴结转移情况相关性；验证 miRNA-21 促进人甲状腺乳头状癌细胞酸性微环境建立并诱导甲状腺乳头状癌增殖侵袭及转移及酸性微环境负反馈对 miRNA-21 影响；在人甲状腺乳头状癌细胞系中，验证 miRNA-21 通过稳定 HIF-1  $\alpha$ ，增强甲状腺乳头状癌无氧糖酵解基因及蛋白质表达，产生酸性微环境。

方法：1、检测临床甲状腺肿瘤的瘤体、癌旁 0.5cm、正常组织 pH；2、利用 miRNA-21mimics、miRNA-21inhibitor 及脂质体转染建立不同表达含量的人甲状腺乳头状癌细胞（TPC-1）分组，连续培养 5 天，不同时间点检测培养液 pH,利用 CCK8/EDU/Transwell/Western Blot 检测不同组别甲状腺乳头状癌增殖、迁移、侵袭蛋白表达，并裸鼠成瘤实验验证 miRNA-21 促肿瘤增殖、促酸性微环境结果，同时建立不同 pH 环境适应性培养的甲状腺乳头状癌细胞，检测外泌体中 miRNA-21 表达含量；3、利用 TCGA、GEO 数据库的分析 miRNA-21 靶向基因 PHDmRNA，建立 miRNA-21mimics、miRNA-21mimics+HIF-1  $\alpha$  抑制、NC、空白组、缺氧环境组，检测 HIF-1  $\alpha$ 、PHD、HK2、LDHA、PKM2 相关的 mRNA 和蛋白质含量表达。

结果：1、甲状腺肿瘤中，瘤体与癌旁 0.5cm、正常组织 pH 具有显著差异（ $p < 0.01$ ），恶性肿瘤瘤体 pH 与淋巴结转移具有显著相关性（ $p < 0.01$ ）；2、miRNA-21mimics、miRNA-21inhibitor、NC 组上清液 pH 具有显著差异（ $p < 0.01$ ）；miRNA-21mimics、miRNA-21inhibitor、NC 组增殖情况具有显著差异（ $p < 0.01$ ）；miRNA-21mimics、miRNA-21inhibitor、NC 组肿瘤细胞迁移及侵袭蛋白表达具有显著差异（ $p < 0.05$ ）；不同 pH 培养条件下甲状腺乳头状癌产生外泌体 miRNA-21 含量具有显著差异（ $p < 0.05$ ）；3、miRNA-21 靶向 PHDmRNA，干扰 HIF-1  $\alpha$  标记识别，稳定常氧状态下 HIF-1  $\alpha$ ，促进无氧糖酵解中 PKM2/HK2/LDHAmRNA 及蛋白质表达。

结论：1、甲状腺良性肿瘤与恶性肿瘤对比，瘤体、癌旁 0.5cm、正常组织 pH 具有显著差异；恶性肿瘤 pH 与甲状腺乳头状癌淋巴结转移具有显著相关性（ $P < 0.01$ ）；2、miRNA-21 促进甲状腺乳头状癌细胞酸性微环境建立并诱导甲状腺乳头状癌增殖侵袭及转移，并酸性微环境有利于外泌体 miRNA-21 产生；3、miRNA-21 靶向 PHDmRNA，稳定常氧状态下 HIF-1  $\alpha$ ，从而促进无氧糖酵解，建立酸性微环境

**关键词：**甲状腺乳头状癌；淋巴结转移；缺氧诱导因子-1  $\alpha$ ；酸性微环境；miRNA-21

## Abstract

**Object:**The pH expression of clinical thyroid tumor masses was detected, and combined with postoperative pathological reports, the correlation between tumor mass pH and tumor nature and lymph node metastasis was analyzed; the promotion of miRNA-21 in the establishment of acidic microenvironment in human papillary thyroid carcinoma cells and its induction of proliferation, invasion and metastasis of papillary thyroid carcinoma and the effect of acidic microenvironment on miRNA-21 were verified; in human papillary thyroid carcinoma cell lines, it was verified that miRNA-21 enhanced the expression of hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$  (HIF-1  $\alpha$ ), and the expression of genes and proteins related to anaerobic glycolysis in papillary thyroid carcinoma, thereby generating an acidic microenvironment.

**Method:** 1. Detect the pH of the tumor mass, 0.5 cm adjacent to the tumor and normal tissues in clinical thyroid tumors. 2. Establish different expression levels of human papillary thyroid carcinoma cells (TPC-1) groups by using miRNA-21 mimics, miRNA-21 inhibitor and liposome transfection, continuously culture for 5 days, detect the pH of the culture medium at different time points, and use CCK8/EDU/Transwell/Western Blot to detect the proliferation, migration and invasion protein expression of different groups of papillary thyroid carcinoma cells. At the same time, verify the results of miRNA-21 promoting tumor proliferation and acidic microenvironment by nude mouse tumor formation experiments, and establish papillary thyroid carcinoma cells adapted to different pH environments to detect the expression of miRNA-21 in exosomes. 3. Analyze the target gene PHD mRNA of miRNA-21 using TCGA and GEO databases, establish miRNA-21 mimics, miRNA-21 mimics + HIF-1  $\alpha$  inhibition, NC, blank group and hypoxia environment group, and detect the expression of HIF-1  $\alpha$ , PHD, HK2, LDHA and PKM2 related mRNA and proteins.

**Result:**

1. In thyroid tumors, the pH of the tumor mass and the adjacent 0.5 cm normal tissue showed significant differences ( $p < 0.01$ ), and the pH of the tumor mass in malignant tumors was significantly correlated with lymph node metastasis ( $p < 0.01$ ).

2. The pH of the supernatant in the miRNA-21 mimics, miRNA-21 inhibitor, and NC groups showed significant differences ( $p < 0.01$ ); the proliferation of the miRNA-21 mimics, miRNA-21 inhibitor, and NC groups showed significant differences ( $p < 0.01$ ); the expression of tumor cell migration and invasion proteins in the miRNA-21 mimics, miRNA-21 inhibitor, and NC groups showed significant differences ( $p < 0.05$ ); the content of miRNA-21 in exosomes produced by papillary thyroid carcinoma under different pH culture conditions showed significant differences ( $p < 0.05$ ).

3. miRNA-21 targets PHD mRNA, interferes with HIF-1  $\alpha$  labeling recognition, stabilizes HIF-1  $\alpha$  under normoxia, and promotes the expression of PKM2/HK2/LDHA mRNA and proteins in anaerobic glycolysis.

Conclusion:

1. Compared with malignant tumors, benign thyroid tumors have significant differences in tumor size, pH of the tumor margin and normal tissues by 0.5 cm. The pH of malignant tumors is significantly correlated with lymph node metastasis of papillary thyroid carcinoma ( $P < 0.01$ ).

2. miRNA-21 promotes the establishment of acidic microenvironment in papillary thyroid carcinoma cells and induces proliferation, invasion and metastasis of papillary thyroid carcinoma. The acidic microenvironment is conducive to the production of exosomal miRNA-21.

3. miRNA-21 targets PHD mRNA and stabilizes HIF-1  $\alpha$  under normoxic conditions, thereby promoting anaerobic glycolysis and establishing an acidic microenvironment.

**Key words:** papillary thyroid carcinoma; lymphatic metastasis; hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$  ; Acidic microenvironment; miRNA-21

# 目录

摘要 .....	I
ABSTRACT .....	II
中英文缩略词 .....	VI
第 1 章 前言 .....	1
第 2 章 材料与方法 .....	3
2.1 材料及数据库信息来源 .....	3
2.2 研究对象 .....	3
2.2.1 纳入标准 .....	3
2.3 实验材料及方法 .....	3
2.3.1 实验设备 .....	3
2.3.2 实验试剂 .....	5
2.3.3 实验方法及步骤 .....	7
2.3.4 miRNA-21mimic、miRNA-21inhibitor 转染及 qT-PCR 检测表达 .....	7
2.3.5 上清液 pH 检测 .....	8
2.3.6 CCK8、EDU、Transwell 检测 .....	8
2.3.7 Western Blot 检测 .....	9
2.3.8 miR-21 靶向基因分析 .....	12
2.3.9 缺氧及酸性培养环境建立 .....	12
2.3.10 mRNA 检测 .....	13
2.3.11 双荧光素酶实验 .....	15
2.3.12 裸鼠实验 .....	16
2.3.13 外泌体提取及鉴定 .....	16
2.4 统计学方法 .....	17
第 3 章 结果 .....	18
3.1 甲状腺良性肿瘤与甲状腺乳头状癌的 pH 具有显著差异 .....	18
3.1.1 甲状腺乳头状癌瘤体中、瘤旁 0.5cm 及正常组织 pH 呈阶梯性分布 .....	18
3.1.2 miR-21 与甲状腺乳头状癌关系 .....	19
3.2 miR-21 促进 PTC 酸性微环境建立并诱导肿瘤细胞增殖侵袭 .....	20
3.2.1 miR-21 促进 PTC 酸性微环境建立 .....	20
3.2.2 miR-21 促进 PTC 细胞增殖迁移 .....	21

3.2.3 miR-21 促进 PTC 细胞侵袭蛋白表达 .....	21
3.2.4 miR-21 对裸鼠瘤体影响 .....	23
3.2.5 不同 pH 条件 PTC 细胞 miRNA-21 表达 .....	23
3.2.6 不同 pH 条件 PTC 侵袭蛋白 MMP2/MMP9/ICAM-1 表达 .....	23
3.3 miR-21 调控 PHD 影响 HIF-1 $\alpha$ 稳态致甲状腺癌糖酵解增强 .....	24
3.3.1 miRNA-21 靶向脯氨酸羟化酶家族 (PHD2) .....	24
3.3.2 miRNA-21 靶向缺氧应激压力 .....	25
3.3.3 miRNA-21 靶向能量代谢重编程 .....	25
3.3.4 PHD、HIF-1 $\alpha$ 、LDHA 高表达与甲状腺乳头状癌预后差相关 .....	25
3.3.5 miR-21 调控 PHD 影响 HIF-1 $\alpha$ 稳态致甲状腺癌无氧糖酵解增强 .....	28
第 4 章 讨论 .....	30
4.1 酸性微环境量化在 PTC 中的意义及关系 .....	30
4.2 miR-21 核酸分子在 PTC 中的意义及关系 .....	32
第 5 章 结论 .....	33
第 6 章 文献综述 .....	34
6.1 肿瘤微环境 (TME) 概述 .....	35
6.2 外泌体 miR-21 与甲状腺乳头状癌的关系 .....	36
6.3 HIF 与甲状腺乳头状癌的关系 .....	36
6.4 展望 .....	37
参考文献 .....	38
致谢 .....	43
作者简介 .....	44
导师评阅表 .....	45

## 中英文缩略词

英文缩写名称	英文全名	中文名称
TPC-1	Human papillary thyroid carcinoma	人甲状腺乳头状癌细胞
miR-21	microRNA-21	微小 RNA-21
mRNA	Messenger ribonucleic acid	信使 RNA
HIF-1 $\alpha$	hypoxia inducible factor-1 $\alpha$	缺氧诱导因子-1 $\alpha$
MOPS	3-Morpholinopropanesulfoinc Acid	3-吗啉丙磺酸
miRNA-21mimics	microRNA-21mimics	微小 RNA-21 模拟物
miRNA-21inhibitor	microRNA-21inhibitor	微小 RNA-21 抑制物
qT-PCR	Quantitative Real-time PCR	逆转录实时定量聚合酶 链式反应
cDNA	Complementary DNA	互补 DNA
GAPDH	reduced glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase	甘油醛-3 磷酸脱氢酶
PHD	prolyl hydroxylase	脯氨酸羟化酶
LDHA	lactic dehydrogenase	乳酸脱氢酶
HK2	hexokinase-2	己糖激酶
PKM	pyruvate kinase	丙酮酸脱氢酶
MMP2	matrix metalloproteinase-2	金属基质蛋白酶-2
MMP9	matrix metalloproteinase-9	金属基质蛋白酶-9
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1	细胞黏附分子-1
LNM	lymphatic metastasis	淋巴结转移
US	ultrasound	超声
TME	tumor microenvironment	肿瘤微环境

## 第1章 前言

据最新数据统计甲状腺癌已经是男性第九大、女性中第四大常见的癌症类型，占目前全球恶性肿瘤新发病例的13%，其中甲状腺乳头状癌在甲状腺癌中占比90%<sup>[1]</sup>。虽然甲状腺乳头状癌的死亡率较低，但是逐年增加的患病率大大增加了甲状腺肿瘤患者的焦虑和管理随访的经济成本。目前针对甲状腺癌的术前检查包括超声检查<sup>[2]</sup>、细针穿刺活检（FNAB）<sup>[3]</sup>、基因组检测<sup>[4]</sup>，但均存在一定的缺陷性，临床利用现有的三种辅助诊断方法对淋巴结转移的诊断也存在很大的不足。

Warburg 效应，作为肿瘤细胞较为特殊代谢特点，即在氧气存在下和线粒体的存在下仍然行无氧糖酵解，将葡萄糖转化为乳酸的代谢特征，这不仅仅是对肿瘤细胞对缺氧环境的单方面适应，也是自身代谢改变选择后的结果。它代表了恶性表型的关键组成部分，并且代表了癌细胞代谢重编程的中心特征——即无氧糖酵解，这样的有氧代谢改变为无氧代谢的特点被认为是“癌症的标志”<sup>[5]</sup>。减弱有氧糖酵解（即葡萄糖转化为丙酮酸），加强无氧糖酵解然后形成乳酸，最终造成酸性微环境是在致癌作用（肿瘤发生）的早期获得的，甚至在肿瘤细胞暴露于低氧条件下之前，这不但是恶性肿瘤缺氧导致的代谢改变，也是在基因层面上恶性肿瘤改变代谢编程的特征。Warburg 表型构成了70-80%的人类癌症的代谢特征，这是由缺氧引起的转录因子缺氧诱导因子-1（HIF-1）的激活、癌基因激活、肿瘤抑制因子功能丧失、信号通路改变以及与肿瘤微环境（TME）成分的相互作用相互作用之间引起的，不止在基因层面的相互影响，有时也与表观机制协同工作，不单是外界环境对代谢的影响，也是肿瘤本身代谢改变的结果<sup>[6][7][8]</sup>。

Warburg 效应反映了癌细胞的代谢与正常细胞代谢区别的特点，这样的癌细胞代谢会驱动癌细胞持续增殖和加速恶性进展。Warburg 效应就揭示了肿瘤细胞在有氧条件下仍然依赖糖酵解途径来产生能量，并且在这个过程中会产生大量的乳酸，使得肿瘤微环境呈酸性，其中无氧糖酵解中关键酶及基因表达在酸性微环境的建立及维持中起到至关重要的作用，例如 PKM2、HK2、LDHA、葡萄糖转运蛋白等，这样的无氧代谢相关基因及蛋白表达直接增强细胞中乳酸的产生。而酸性肿瘤微环境通过增强癌细胞恶性和抑制人体正常细胞免疫两个重要途径来实现其促肿瘤功能，这已经在众多的实体肿瘤中得到验证<sup>[9][10]</sup>。

HIF 是一种转录因子，由一个氧不稳定的  $\alpha$  单位和一个组成型表达的  $\beta$  单位组成。它参与各种过程，包括胚胎发育、免疫、葡萄糖代谢、红细胞生成和血管生成。HIF 的调节主要取决于氧张力，其中，在常氧条件下（通常是生理条件），被含有脯氨酰羟化酶结构域的酶（PHD）羟基化的 HIF-1  $\alpha$  被 von Hippel-Lindau（VHL）蛋白和泛素连接

酶复合物识别并泛素化<sup>[11]</sup>。由于细胞增殖迅速和血管生成异常，瘤内缺氧在肿瘤发生过程中容易发生，并与不良预后和治疗耐药性相关<sup>[12]</sup>。因此，缺氧诱导因子-1 $\alpha$ （HIF-1 $\alpha$ ）在肿瘤细胞适应低氧微环境中起着关键作用，HIF-1 $\alpha$ 调控的广泛转录反应涉及葡萄糖代谢、细胞能量学、血管生成、细胞生长等。例如碳酸酐酶(CA)、MCT-4和NHE-1/-6，以及增加或恢复细胞血管供应的基因，例如血管内皮生长因子（VEGF）增加血供维持葡萄糖摄取、改变糖酵解产生有利于肿瘤生长的微环境<sup>[13][14][15]</sup>。

miR-21作为肿瘤外泌体一类核酸分子，已经从既往肿瘤代谢“废物”转变为肿瘤细胞间、和正常细胞检测的交流方式之一。作为影响非编码区翻译的小核酸分子，miR-21在甲状腺乳头状癌细胞中具有较高表达。目前也有联系miR-21在甲状腺乳头状癌表达与预后联系，但是对其机制探索上不明朗<sup>[16]</sup>，而在最新相关甲状腺大规模基因转录研究中表明miRNA-21作为甲状腺癌的特异性致癌miRNA<sup>[17]</sup>，表明miRNA-21在甲状腺乳头状癌中的特殊“地位”，其功能和机制有待进一步研究。

## 第2章 材料与方法

### 2.1 材料及数据库信息来源

通过在TCGA官网(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)中,检索在PTC组和正常组中的表达情况,并下载其数据集。获得512例PTC样本和59例正常样本的基因的表达量并进行可视化分析。

### 2.2 研究对象

人甲状腺癌细胞(THC-1)购买于国家认证细胞培养物保藏中心

由2023年10月至2024年3月期间在石河子大学第一附属医院甲乳外科进行的甲状腺肿瘤切除的患者。诊断为复发的患者以及术前接受放疗、化疗、生物治疗的患者被排除在外。147例患者纳入研究。其中,排除髓样癌1例。

所有患者均经经验丰富的医师及病理检查手段确诊;所有入选患者获得知情同意。本研究由石河子大学医学院伦理审查委员会(批件号:2024ZD060)批准。所有入选患者均获得知情同意。

#### 2.2.1 纳入标准

免疫组化组:所有病例均由经病理检查证实的PTC及癌旁正常组织,病理标本均由多位高年资病理专家确诊。患者行甲状腺手术术前未曾接受放疗、化疗或内分泌治疗等。既往无其他恶性肿瘤病史。

### 2.3 实验材料及方法

#### 2.3.1 实验设备

设备名称	型号	生产厂家
切片机	SW-CJ-2D型	苏州 净化
超净工作台	/	美国 Rainin PiPet-Lite
高压灭菌锅	Icen-24R	杭州 奥盛
高速冷冻离心机	CFX-Connect 96	Bio-Rad
PCR 仪	pH60S-Z	中国三信仪表厂

设备名称	型号	生产厂家
荧光定量 PCR 仪	DHG-9240A	上海 一恒
pH60S-Z 笔式 ph 计	HH-W600	中国 金南
鼓风干燥箱	MTV-1	杭州 奥盛
数显恒温水浴锅	ROS-S15	武汉 吉百瑞
微型涡旋混合仪	Nano-300	杭州 奥盛
实验室超纯水器	无 RNA 酶	AXYGEN
超微量分光光度计	SW-CJ-2D 型	苏州 净化
离心管及各种枪头	YM75	上海 三申
生物安全柜	Spantech 公司	BSC-1300 II B2
CO <sub>2</sub> 恒温培养箱	Thermo 公司	311
倒置荧光显微镜	Leica 公司	DMIL LED
酶标仪	杭州奥盛	AMR-100
Transwell 小室	NJ 公司	BD Biosciences,
电泳仪	JY600C	北京君意东方
干式恒温容器	K30	杭州奥盛仪器
超高速高速冷冻离心机器	iCEN-24R	杭州奥盛
台式低速冷冻离心机	3-5R	上海托莫斯
移液枪	不同型号	Rainin PiPet-Lite
加热恒温水浴锅	SHHW21420A II	天津泰斯特
冷冻冰箱	BCD-196TMZL	中国海尔公司
全自动化学光谱发光分析仪器	Tanon-5200	上海天能公司
UPT 超纯水仪器	ULUPURE	MilliPORE 公司
电子天平	FA2004C	上海越平
涡旋混合器	SCI-VS	上海芃奇
磁力搅拌器	DJ-1	常州荣华
摇床	HX-S800	上海皓庄
全自动洗板机	APW-200	杭州奥盛
生物样品均质仪	Bioprep-24	杭州奥盛
抗体孵育盒	赠品	Bioswamp

设备名称	型号	生产厂家
灰度分析软件	/	Image J
图像分析软件	Adobe PhotoShop	Adobe
MIC-101 缺氧小室细胞缺氧装置	Billups-rothenberg	MIC-101
HIF-1 $\alpha$ 抑制剂	Oltipraz	64224-21-1
盐酸	/	/
MOPS (3-吗啉丙磺酸)	Bioswamp	1001054
手术直剪	J21070	上海金钟
组织镊	J41050	上海金钟
电子天平	FA2004C (e=10d d=0.1mg)	上海越平科学仪器制造有限公司
电子显微镜	JEM2100	日本电子
高速冷冻离心机	Icen-24R	杭州 奥盛

### 2.3.2 实验试剂

试剂名称	生产厂家	货号
RPMI-1640 型号基础培养基	Hyclone 公司	SH30809.01B
胎牛血清	Gibco 公司	10270-106
PBS	solarbio	P1010
胰蛋白酶	solarbio	T1350
Opti-MEM 培养基	Gibco 公司	31985-062
Lipofectamine® RNAiMAX 转染试剂	Invitrogen 公司	13778030
BeyoClick™ EdU-488 细胞增殖检测试剂盒	碧云天	C0071S
甲醛液	国药集团化学试剂有限公司	10010018
Triton X-100 试剂	solarbio	T8210
CCK8 试剂盒	Bioswamp	BCCK0500
5×即沉 SDS-PAGE 上样缓冲液	Bioswamp	PW9220

试剂名称	生产厂家	货号	
免染 PAGE 胶一步法制备试剂盒 10%	Bioswamp	PW9223	
免染 PAGE 胶一步法制备试剂盒 12%	Bioswamp	PW9224	
SDS-PAGE 快速电泳缓冲液 (50×)	Bioswamp	PW9226	
快速转膜缓冲液 (50×)	Bioswamp	PW9227	
低背景无蛋白快速封闭液	Bioswamp	PW9228	
Western Blot 一抗稀释液	Bioswamp	PW9216	
Tween-20	阿拉丁	T104863	
Super ECL plus 超敏化学发光检测试剂盒	Bioswamp	PW9209	
RIPA 裂解液(强, 含抑制剂)	Bioswamp	WB9201	
广谱蛋白酶抑制剂混合物(EDTA-Free, 100×, 储存液)	Bioswamp	WB9206	
BCA 蛋白定量试剂盒	Bioswamp	BBCAPCK500	
Western Protein Marker I (可显影)	Servicebio	G2086-250UL	
PVDF 转移膜	Bioswamp	BY09-PW9230-3	
PHD(Rabbit)	Bioawamp	PAB33290	1:1000
HIF-1 $\alpha$ (Rabbit)	Bioawamp	PAB58074	1:1000
LDHA(Rabbit)	Bioawamp	RMAB55	1:1000
$\beta$ -Actin(mouse)	proteintech	66009-1-1	1:10000
Goat anti-Rabbit IgG(goat)	Biosharp	BL003A	1:20000
Goat anti-mouse IgG(goat)	bioswamp	SAB4371	1:20000
		4	
HK2 (Rabbit)	Bioawamp	PAB30271	1:1000
PKM(Rabbit)	Bioawamp	RMAB54	1:1000
		296	
MMP2(Rabbit)	Bioawamp	PAB58438	1:1000