

LipiRADICAL[®] Green <Lipid Radical Detection Reagent>

商品コード FDV-0042

※本商品は研究用です。研究以外には使用できません。

商品背景

脂質過酸化反応 (lipid peroxidation; LPO) は酸化ストレスによって誘導される脂質分解過程のひとつです (図 1)。LPO には、1) 酸化促進物質 (pro-oxidant) による誘導と、2) リポオキシゲナーゼやシトクローム P450 などの酸化酵素による誘導の二つの主要な誘導経路が存在し、いずれの経路においても初期生成物として脂質ラジカル種が産生されます。1) 酸化促進物質によって誘導される LPO では、活性酸素 (Reactive oxygen species: ROS) などの酸化促進物質が、不飽和脂肪酸を有する脂質、特に多価不飽和脂肪酸 (Polyunsaturated fatty acid: PUFA) を有する脂質を攻撃することで、脂質ラジカル ($L\cdot$) が産生されます。脂質ラジカル ($L\cdot$) は容易に酸化されて過酸化脂質ラジカル ($LOO\cdot$) に変換されますが、過酸化脂質ラジカルは不安定であり、他の脂質分子から速やかに水素ラジカルを引き抜き、過酸化脂質 ($LOOH$) と新たな脂質ラジカル ($L\cdot$) を産生します。2) 酸化酵素によって誘導される LPO では、PUFA を含む脂質がリポオキシゲナーゼによって過酸化脂質 ($LOOH$) に酸化され、さらに $LOOH$ が鉄イオンなどの金属イオンによって過酸化脂質ラジカル ($LOO\cdot$) もしくはアルコキシラジカル ($LO\cdot$) に変換されます。1) および 2) の経路によって脂質ラジカル ($L\cdot$) が生成されると、脂質ラジカル ($L\cdot$) はラジカル連鎖反応によって拡散していきます (ラジカル成長段階)。このラジカル連鎖反応は抗酸化物質が過酸化脂質ラジカル ($LOO\cdot$) 種に水素を供与することで停止し、結果的に、マロンジアルデヒド (MDA)、アクロレイン、プロパナール、ヘキサナール、4-ヒドロキシヘキサナール (4-HNE) 等の様々なアルデヒドが産生されます。これらアルデヒドはタンパク質や DNA/RNA のような生体分子に対する反応活性種であり、それらを攻撃して二次反応産物を産生することで細胞毒性を示します。そのため、これら反応活性アルデヒドはフェルトーシスや ER ストレスによる組織損傷の原因因子であると考えられています。LPO の分子機構や生命現象における役割を理解するためには、脂質ラジカル種を検出・定量化する手法が必要ですが、既存手法の適用範囲は極めて限られています。例えば、ラジカル生成物を検出する主な手法として電子スピン共鳴法 (ESR) が上げられますが、細胞に応用することはできません。

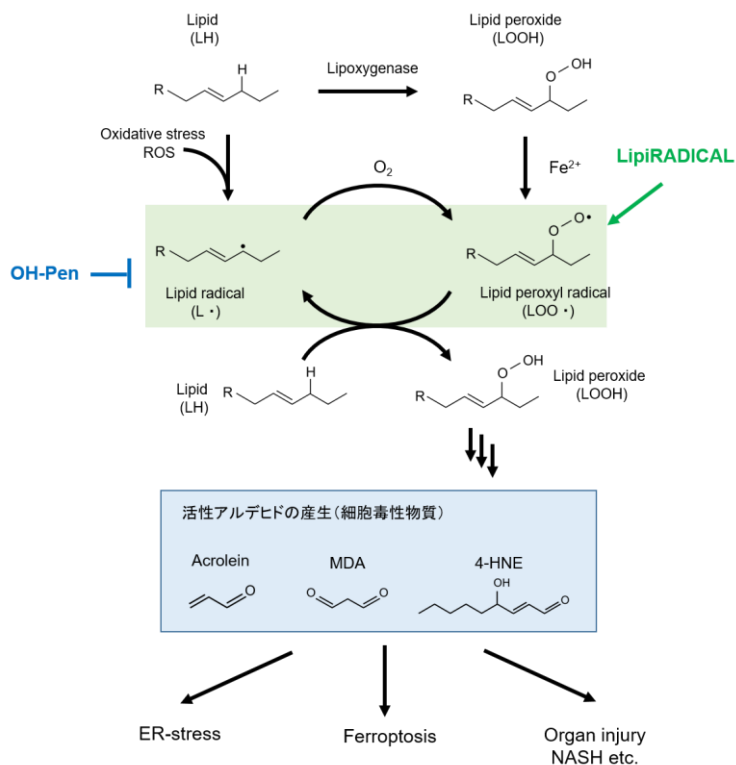
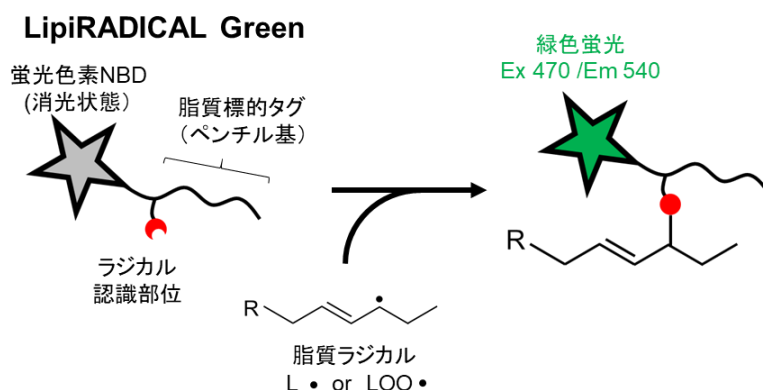


図 1 LPO における脂質ラジカル種の概要

LipiRADICAL® Green は脂質ラジカル種に応答する世界初の蛍光プローブです（参考論文 1 での化合物名は NBD-Pen）。LipiRADICAL® Green は、緑色蛍光色素 NBD とニトロキシラジカル誘導体が複合体となった分子プローブです（図 2）。プローブ中の NBD の蛍光は分子内ラジカル部位によって強く消光されていますが、プローブと脂質ラジカル種（L・および LOO・）がラジカルカップリングによって共有結合を形成すると、蛍光強度が著しく回復されます。LipiRADICAL® Green は、脂質ラジカル種を選択的に検出し、活性酸素ラジカルとは反応しないことが明確に検証されています。LipiRADICAL® Green は LPO 研究のための革新的な分子ツールであり、生体試料中の脂質ラジカル種を半定量的に検出することができる他、細胞内脂質ラジカル種のイメージングや、LC/MS による脂質ラジカル種の同定・分析も可能です。さらに当社では脂質ラジカル種の特異的阻害物質である OH-Pen（#FDV-0043）も販売しています。



商品情報

商品コード：FDV-0042

包装：0.1 mg

組成式：C₁₉H₂₈N₅O₄

分子量：390.21 g/mol

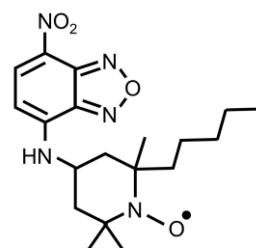
溶解性：DMSO に溶解

蛍光特性：

励起波長 420-500 nm （極大吸収波長 ~470 nm）

蛍光波長 520-600 nm （最大蛍光波長 ~540 nm）

※FITC 用の汎用フィルターセットに対応しています。



アプリケーション

- ・ *in vitro* での脂質ラジカル種の蛍光検出
- ・ 蛍光顕微鏡による脂質ラジカル種の生細胞イメージング
- ・ *in vitro* および *in cellulo* における LPO 抑制因子や抗酸化物質のスクリーニング
- ・ 蛍光 LC/MS-MS による脂質ラジカル種の構造解析

溶解方法と保存方法

溶液方法: 1 mM/100% DMSO を推奨

保存温度（溶解前）: -20℃ で保存。

保存方法（溶解後）: DMSO 溶液として調製後は小分注し遮光条件下 -20℃ で保管
凍結融解の繰り返しは避け、小分注品の使い切りを推奨

使用方法

In vitro での脂質ラジカル種検出の一般的なプロトコル

＜精製された脂質とラジカル誘導剤を用いる場合＞

1. PUFA などの脂質とラジカル誘導剤を混合させた反応溶液を調製する。
2. 反応溶液に LipiRADICAL[®] Green を添加する。
3. 適切なインキュベーション時間後、蛍光 (Ex. 470 nm/ Em. 540 nm) を測定する。

＜細胞抽出液、血液、biofluids のような生体試料を用いる場合＞

1. ラジカル誘導剤添加もしくは無添加の生体試料を調製する。
2. 反応溶液に LipiRADICAL[®] Green を添加する。
3. 適切なインキュベーション時間後、蛍光 (Ex. 470 nm/ Em. 540 nm) を測定する。

生細胞での脂質ラジカル種イメージングの一般的なプロトコル

1. フェノールレッド不含の無血清培地または HEPES-buffered saline (HBS)などの適切なバッファーで 1 μ M の LipiRADICAL[®] Green 溶液を調製する。
2. 細胞から培養培地を除き、PBS 等で複数回洗浄する。
3. 細胞に 1.で調製した LipiRADICAL[®] Green 溶液を添加する。
4. 細胞を 37°C で 10 分間以上インキュベートする。
5. (オプション) 細胞を PBS もしくは培地で洗浄し、過剰な試薬を取り除く。
6. (オプション) 必要に応じて細胞に酸化促進剤を添加し、脂質ラジカル種の産生を促進させる。
7. 生細胞観察を行う。

生細胞での脂質ラジカル種イメージングの一般的なプロトコル

LipiRADICAL[®] Green を用いた動物実験は実験条件の最適化が必要となります。

参考文献 1-5 をご参照ください。

脂質ラジカル種の構造解析

Appendix をご覧ください。

Appendix : 脂質ラジカル種の構造解析

LipiRADICAL[®] Green は *in vitro* や細胞での脂質ラジカル種の検出だけでなく、脂質ラジカル種の全種同定や構造解析にも応用することができます。本項では、LipiRADICAL[®] Green を用いた脂質ラジカル種構造解析のための基本的な操作を記載します。Figure A1 に構造解析の概略を示します。

Step-1 LipiRADICAL[®] Green による脂質ラジカル種の蛍光修飾

脂質ラジカル種を含む各種生体試料において、脂質ラジカル種の LipiRADICAL[®] Green による NBD 蛍光色素のラベリングが可能です。脂質を含むフラクションは、Bligh/Dyer 法などの既存の脂質精製手法によって抽出することができます。

Step-2 蛍光 LC /MS-MS 分析

蛍光ラベル化、抽出された脂質混合物は、蛍光検出液体クロマトグラフィー（LC-FL）／高分解タンデム質量分析計（HRMS-MS）によって分析することができます。蛍光ラベル化された脂質は LC-FL で検出され、その分子量が HRMS-MS によって分析されます。

Step-2 構造推定

脂質ラジカル種の構造は LC-FL／HRMS-MS の MS シグナルから推定することができます。LipiRADICAL[®] Green 付加部分の理論分子量は 389.2068（計算値）であるため、脂質ラジカル種の元の分子量は以下の式によって推定できます。

$$[\text{脂質ラジカル種}] = [\text{総分子量（検出された分子量）}] - [\text{付加部分（389.2068）}]$$

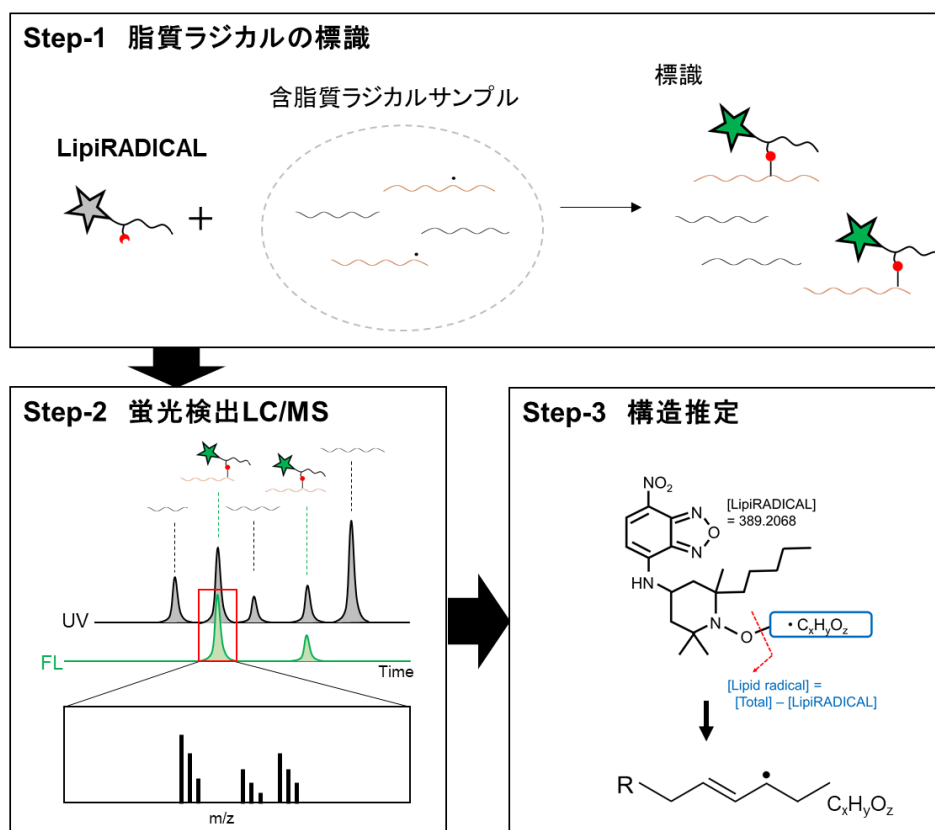


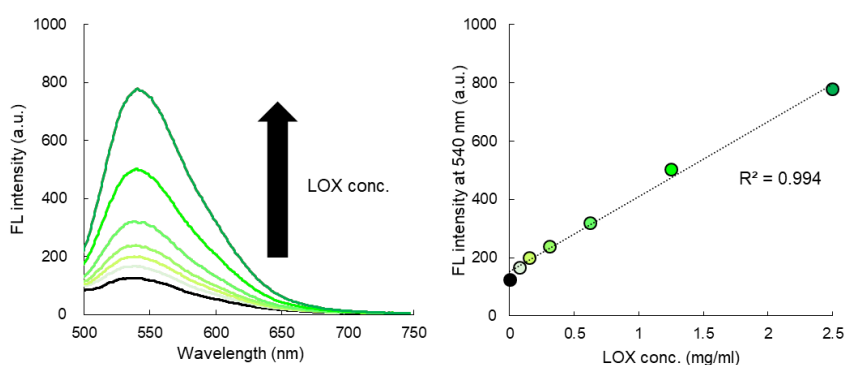
図 A1 LipiRADICAL Green による脂質ラジカル種構造解析の概要

分析手法の詳細なプロトコルは文献 5 に記載されています。文献 5 では *in vitro* で LOX や酸化促進剤によって 5 種類の PUFA から誘導された 132 の脂質ラジカル種が同定されています。

参考データ

蛍光スペクトル

LipiRADICAL® Green をアラキドン酸とリポオキシゲナーゼ (LOX) の混合物に添加し、470 nm の励起光による蛍光スペクトルを測定しました。LOX が含まれない系 (黒線) においては、蛍光シグナルは大きく消光されているが、LOX を含む系においては、緑色蛍光 (500-650 nm, 最大~540 nm) が検出され、蛍光強度は LOX の量依存的に増加していた。



特異性

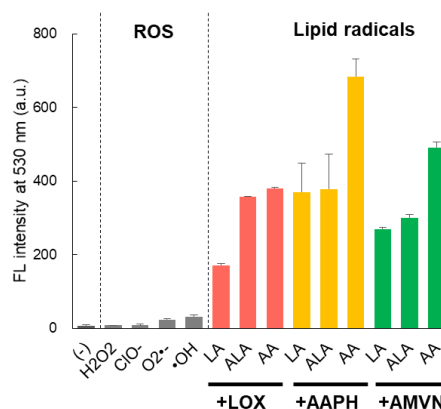
LipiRADICAL® Green を以下の試薬で処理したのち、蛍光強度 (Ex. 470 nm/Em. 530 nm) を測定した。検討した全ての活性酸素種では LipiRADICAL Green の蛍光はほとんどみられず、LOX や酸化促進剤 AAPH 及び MeO-AMVN 共存下において、多価不飽和脂質 (ラウリン酸 (LA), α -ラウリン酸 (ALA), アラキドン酸 (AA)) で処理した場合のみ、緑色蛍光が観察された。

試薬条件

LipiRADICAL Green (5 μ M)

H₂O₂, ClO₂⁻, KO₂, for O₂^{-•}, •OH: 0.5 mM

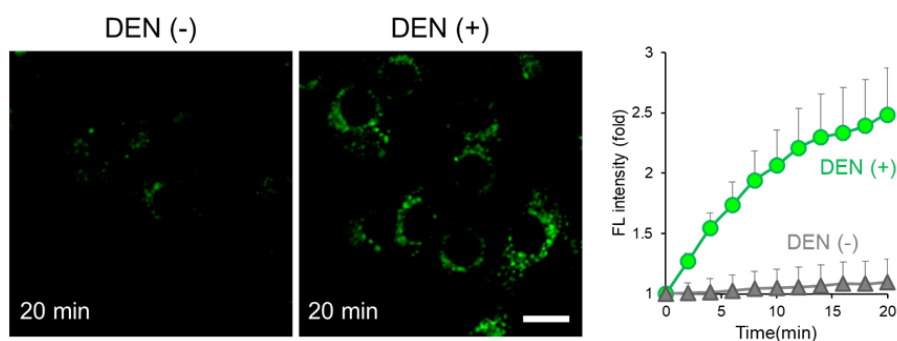
各脂質(0.5 mM)+LOX (2.5 μ g/ml), AAPH (10 mM), MeO-AMVN (50 μ M)



アプリケーションデータ

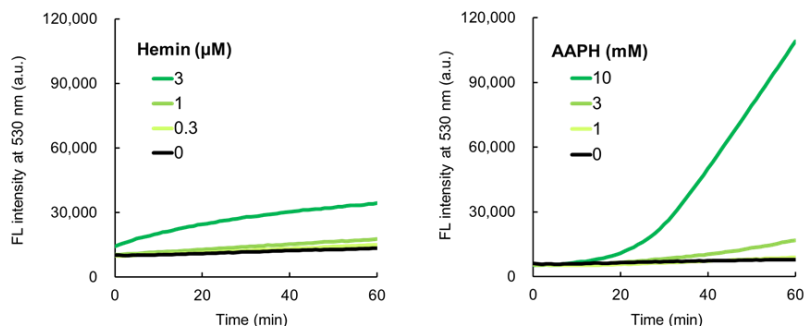
生細胞におけるジエチルニトロサミン (DEN) 誘導脂質ラジカル種の検出

Hepal-6 細胞を LPO 誘導剤である Diethylnitrosamine (DEN, 30 mM) 存在下または非存在下で LipiRADICAL® Green (1 μ M) 処理し、共焦点レーザー蛍光顕微鏡 (Ex. 458 nm/ Em. 490-674 nm) で 2 分おきに 20 分間細胞を観察した。その結果、DEN 処理細胞において LipiRADICAL® Green の蛍光強度が明確に増加した。



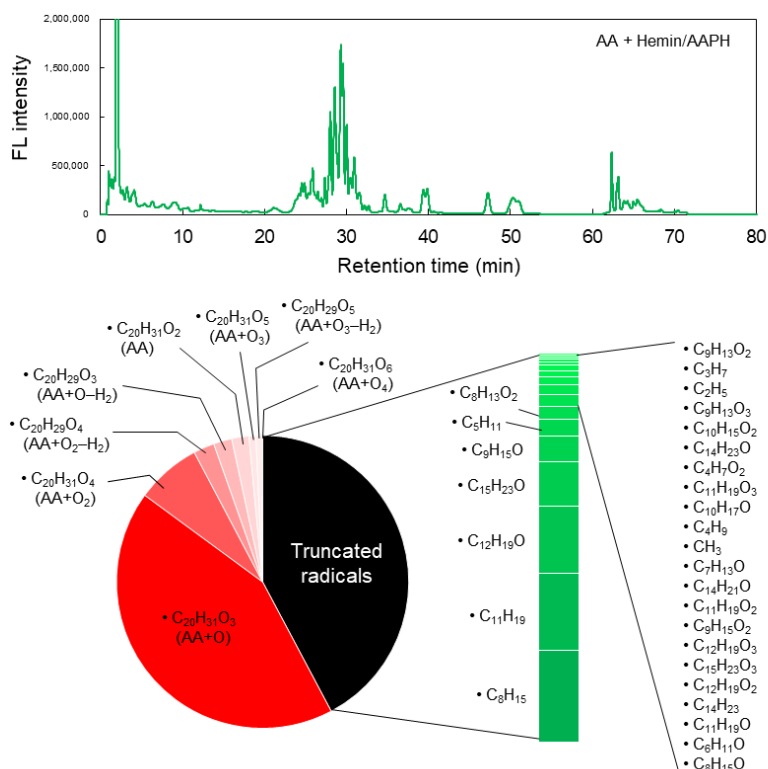
LDL から誘導された脂質ラジカル種の *in vitro* での検出

精製低密度リポタンパク質 (LDL, 20 μ g タンパク質/mL) と酸化促進剤であるヘミンまたは AAPH および LipiRADICAL® Green (10 μ M) を混合し、緑色蛍光 (Ex. 470 nm/ Em. 530 nm) を 37°C で 60 分間経時的に測定した。ヘミン、AAPH とともに緑色蛍光の増加がみられ、LDL の粒子から脂質ラジカル種が経時的に発生していることが分かった。



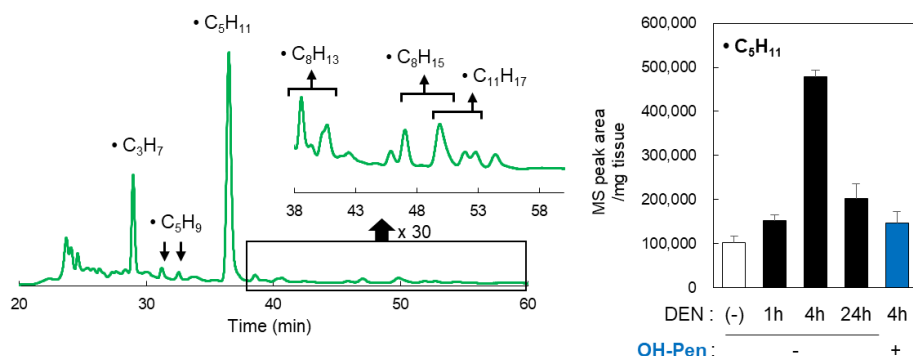
In vitro におけるアラキドン酸由来脂質ラジカル種の構造解析

アラキドン酸 (AA; 500 μ M) を酸化促進剤であるヘミン (10 μ M)、AAPH (50 mM) と 60 分間インキュベートしたのち、5 μ M の LipiRADICAL® Green を添加し、さらに室温で 15 分間インキュベートしました。その後、脂質成分を Bligh Dyer 法で抽出し、LC-FL/MS-MS 法で分析をおこなったところ、図上段の蛍光クロマトグラム (Ex. 470 nm/ Em. 530 nm) が得られた。次いで各々の蛍光ピークを MS-MS 解析によって分析し、アラキドン酸から誘導された脂質ラジカル種のプロファイルを図下段に示す。AA の全長の炭素鎖を持つラジカルが 8 種類、炭素鎖がフラグメント化したラジカルは 29 種類同定された。各ラジカルの相対量はそれぞれのピーク面積から算出した。※実験手順と分析条件の詳細は参考文献 5 をご覧ください。



マウス *In vivo* における脂質ラジカルの構造解析

発がん物質として知られる diethylnitrosamine (DEN, 100 mg/kg 体重) をマウスに静脈注射し、1、4、24 時間後にマウスを麻酔処理し、LipiRADICAL® Green (2.5 μ mol/kg 体重) を静脈注射した。LipiRADICAL® Green の特異性を検証するため、脂質ラジカル種の特異的阻害剤である OH-Pen (商品コード #FDV-0042; 10 μ mol/kg 体重) も LipiRADICAL® Green の前にマウスに投与した。その後、マウスから肝臓を取り出してメタノールでホモジナイズし、脂質成分を Bligh Dyer 法で抽出した。脂質サンプルを LC-FL/MS-MS 法で分析したところ (図左)、DEN 添加 4 時間後には高いレベルで脂質ラジカル種の生成が検出された。計 11 の脂質ラジカル種が同定されが、一例として \cdot C₅H₁₁ ラジカルの例を右図に示す。OH-Pen で前処理をしたマウスにおいては、DEN によるラジカルの生成が明確に阻害されていることが分かった。



参考文献

1. Yamada *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, **12**, 608-613 (2016) Fluorescence probes to detect lipid-derived radicals.
2. Enoki *et al.*, *Chem. Commun.*, **53**, 10922-10925 (2017) Lipid radicals cause light-induced retinal degeneration.
3. Ishida *et al.*, *Free Radical Biol. Med.*, **113**, 487-493 (2017) Detection and inhibition of lipid-derived radicals in low-density lipoprotein.
4. Mishima *et al.*, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **31**, 280-296 (2020) Drug Repurposed as anti-ferroptosis agents suppress organ damage, including AKI, by functioning as lipid peroxyl radical scavengers.
5. Matsuoka *et al.*, *Anal. Chem.*, **92**, 6993-7002, (2020) Method for structural determination of lipid-derived radicals.

免責事項

本商品は学術研究成果を基にフナコシ株式会社が商品化したもので、2020 年 11 月時点における公開研究報告を基に広告文章およびマニュアル (以下、商品資料) を作成しています。今後の当該研究分野の発展および各種学術知見の拡大にともない、商品資料作成時の学術的解釈が変更になる可能性があり、最新性・確実性を保証するものではありません。また、本商品の仕様および商品資料を予告なく変更する場合がございます。最新の情報に関しましては、弊社までご確認いただきますようお願い申し上げます。

LipiRADICAL™ Green <Lipid Radical Detection Reagent>

Catalog NO. FDV-0042

Research use only, not for human or animal therapeutic or diagnostic use.

日本語版はこちらから
ダウンロードできます。
①弊社ウェブサイトより
Webページ番号検索にて
【70873】で検索
②QRコードより



Product Background

Lipid peroxidation (LPO) is one of the several degradation processes of lipids under oxidative stress (Figure 1). Primary products in LPO are lipid radicals and there are two major initiators to induce LPO process, pro-oxidants and lipid oxidative enzymes, including lipoxygenase (LOX) and cytochrome P450 (CYP). 1) For pro-oxidant-induced LPO, lipids containing unsaturated fatty acid, especially polyunsaturated fatty acids (PUFAs), are attacked by pro-oxidants, including reactive oxygen species (ROS) and form lipid-derived radicals. Lipid radical ($L\cdot$) can be easily oxidized to lipid peroxy radical ($LOO\cdot$). Unstable $LOO\cdot$ immediately extracts a hydrogen from another lipid molecule generating a lipid hydroperoxide (LOOH) and a new lipid radical ($L\cdot$). 2) Another pathway enzyme-induced LPO, lipids containing PUFAs are oxidized to lipid hydroperoxides (LOOH), which decomposes to lipid peroxy radicals $LOO\cdot$ or alkoxy radicals $LO\cdot$ by metal ions (Fe^{2+} etc.). Once lipid radical is produced by the above two processes, lipid radicals expand the radical chain reaction (radical propagation step). In the termination reaction, antioxidants donate a hydrogen atom to the lipid peroxy radical ($LOO\cdot$) species resulting in the formation of many different aldehydes, including malondialdehyde (MDA), acrolein, propanal, hexanal, and 4-hydroxynonenal (4-HNE). These aldehydes are cytotoxic because reactive aldehydes attack biomolecules (proteins, DNA/RNA, etc.) to form secondary products. These reactive aldehydes are considered causative factors of organ injury, ferroptosis and ER-stress. To understand the molecular mechanism and physiological relevance of LPO, detection and quantification methods for lipid radicals are required. However, the conventional detection methods are highly limited. For example, electron spin resonance (ESR) is a major strategy to detect radical products but not applied to cell-based applications.

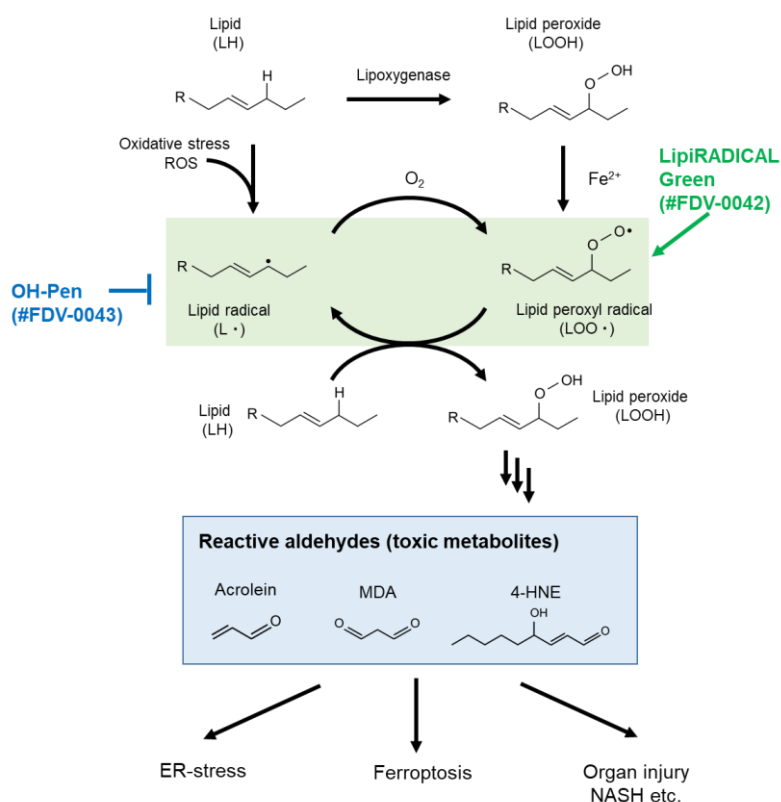


Figure 1. Overview of lipid radicals in LPO pathway

“**LipiRADICAL™ Green**” is the world’s first lipid radical-responsive fluorescent dye (original compound name **NBD-Pen** in Ref. 1). “**LipiRADICAL™ Green**” is a green fluorescent dye NBD-conjugated nitroxyl radical-derivative (Figure 2). Although this compound contains NBD, the probe’s fluorescence is highly quenched by intramolecular radical moiety. When the probe reacts with lipid radicals via radical-radical coupling forming a covalent bond to lipids, the fluorescent intensity is drastically recovered. “**LipiRADICAL™ Green**” is well validated to selectively detect lipid radicals, not reactive oxygen radicals. “**LipiRADICAL™ Green**” enable us to semi-quantification of lipid radicals in biological samples, to image cellular lipid radicals and to identify and analyze the molecular structure of lipid radicals with LC/MS system. “**LipiRADICAL™ Green**” is an innovative and powerful tool for LPO research. Funakoshi also has lipid radical-specific inhibitor, OH-Pen (#FDV-0043).

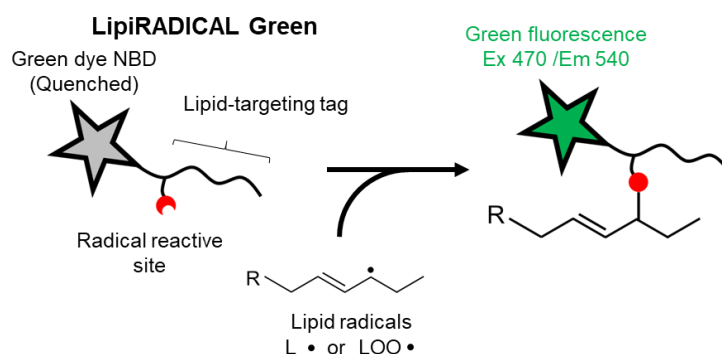


Figure 2. Principle of LipiRADICAL™ Green

Description

Catalog Number: FDV-0042

Size: 0.1 mg

Formulation: C₁₉H₂₈N₅O₄ •

Molecular weight: 390.21g/mol

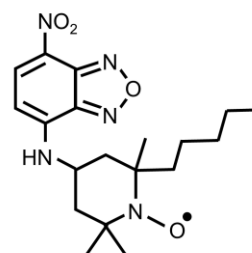
Solubility: Soluble in DMSO

Ex/Em:

Ex. 420-500 nm (maximum ~470 nm)

Em. 520-600 nm (maximum ~540 nm)

*Conventional FITC filter sets are compatible.



Application

- *In vitro* detection of lipid radicals by fluorescent detection
- Live cell imaging of lipid radicals by fluorescent microscopy
- Screening of LPO suppressor or antioxidant both *in vitro* or *in cellulo*
- Structural analysis of lipid radicals by fluorescent-LC/MS-MS

Reconstitution and Storage

Reconstitution: stock solution recommended concentration 1 mM in 100% DMSO.

Storage :

Store powder at -20°C.

After reconstitution in DMSO, aliquot and store at -20 °C, avoid repeated freeze-thaw cycles.

Protect from light.

How to use

General procedure of lipid radical detection *in vitro*

In the case of using pure lipids with any radical inducers

1. Prepare reaction mixture containing lipids such as PUFA and any radical inducers
2. Add "**LipiRADICAL™ Green**" to the reaction mixture
3. Measure fluorescence (Ex 470 nm/ Em 540 nm) after the appropriate incubation time

In the case of using any biological samples such as cell lysate, blood, biofluids etc.

1. Prepare biological samples with or without any radical inducers
2. Add "**LipiRADICAL™ Green**" to the sample
3. Measure fluorescence (Ex 470 nm/Em 540 nm) after the appropriate incubation time

General procedure of lipid radical imaging in live cells

1. Prepare 1 μ M "**LipiRADICAL™ Green**" in serum-free and phenol red-free medium or appropriate buffer such as HEPES-buffered saline (HBS) etc..
2. Remove culture medium and wash cells PBS several times
3. Add "**LipiRADICAL™ Green**"-containing medium to cells.
4. Incubate cells at 37°C for over 10 min.
5. (Optional) Wash cells with PBS or medium to remove excess reagent
6. (Optional) Add any pro-oxidants to cells to promote the production of lipid radical
7. Observe cells under live condition

General procedure of lipid radical detection *in vivo*

In vivo animal experiments of "**LipiRADICAL™ Green**" requires experimental optimization.

Please refer to Ref.1-5 and optimize proper usage.

General procedure of structural analysis of lipid radicals

Please see the [Appendix](#).

Appendix: Structural analysis of lipid radicals

Not only detecting lipid radicals *in vitro* and cells but also “LipiRADICAL™ Green” applies to the comprehensive identification and structural analysis of lipid radicals. This appendix describes basic instruction for structural analysis of lipid radicals with “LipiRADICAL™ Green”. Figure A1 shows a diagram of the structural analysis of lipid radicals.

Step-1 Fluorescent labeling of lipid radicals by “LipiRADICAL™ Green”

Using any biological samples containing lipid radicals, “LipiRADICAL™ Green” can label lipid radicals with the NBD fluorescent dye. Lipid fraction is extracted by conventional lipid purification methods such as Bligh/Dyer method.

Step-2 Fluorescent LC /MS-MS analysis

The labeled and extracted lipid mixture is applied to liquid chromatography (LC) with fluorescent detection (LC-FL)-high resolution tandem mass spectrometry (HRMS-MS). Labeled lipid-adducts are detected by LC-FL and its mass is detected by HRMS-MS

Step-3 Structural estimation

Lipid radical structures are estimated from MS signals detected by LC-FL/HRMS-MS. The theoretical molecular weight of LipiRADICAL™ adduct is 389.2068 (calculated) and the original molecular weight is estimated with the following equation.

$$[\text{Lipid radical}] = [\text{Total MS (detected MS)}] - [\text{LipiRADICAL}^{\text{TM}} \text{ adduct (389.2068; calculated)}]$$

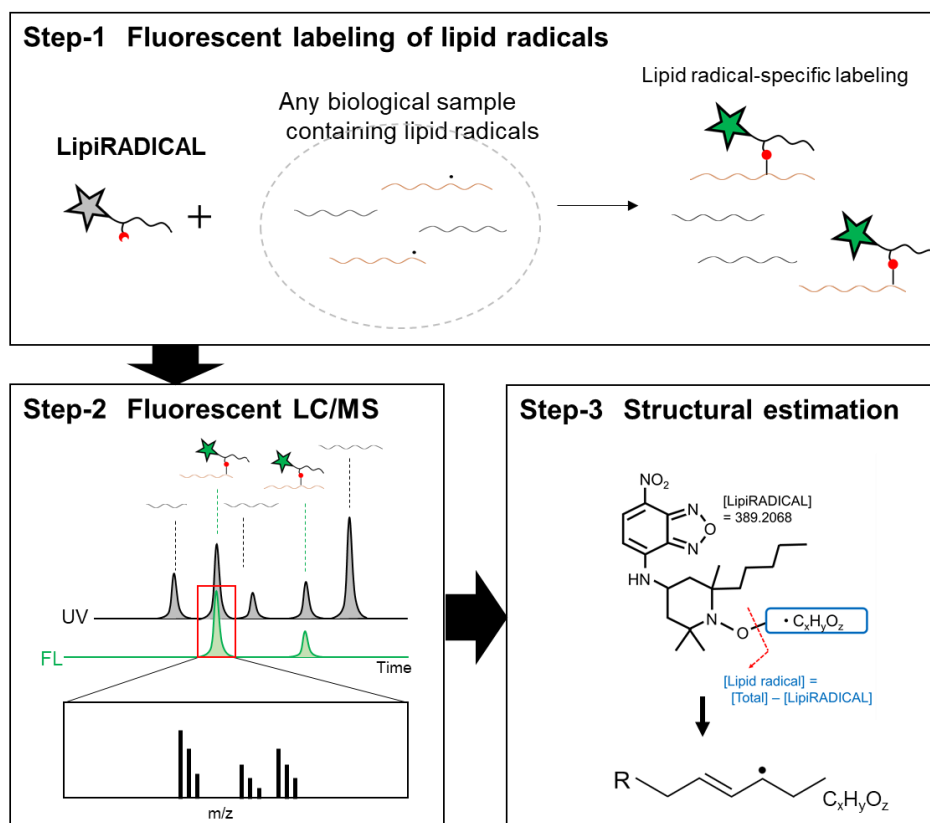


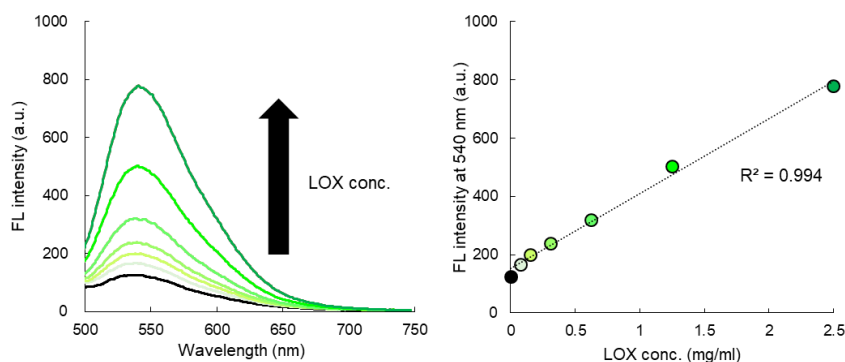
Figure A1. Diagram of Structural Analysis of Lipid Radicals

Detail protocol and analytical methods are shown in Ref 5. Ref 5 shows 132 lipid radicals derived from 5 PUFAs with LOX or pro-oxidants *in vitro*.

Reference data

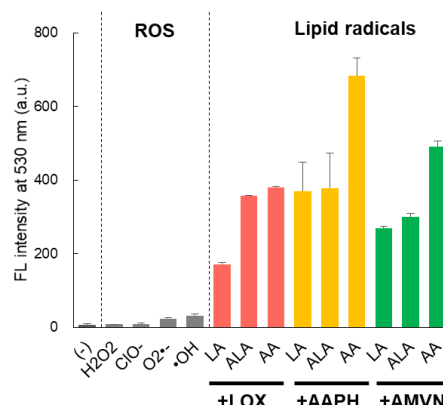
Fluorescent spectrum

“**LipiRADICAL™ Green**” was added to arachidonic acid-lipoxygenase (LOX) mixtures and observed fluorescence excited by 470 nm light. In the absence of LOX enzyme, the fluorescent signal was highly quenched (Black line). In the presence of LOX enzyme, green fluorescence (500-650 nm, maximum ~540 nm) was detected in LOX dose-dependent manner.



Specificity

“**LipiRADICAL™ Green**” was treated with the following reagents and fluorescent intensity (Ex 470 nm/Em 530 nm) was observed. All reactive oxygen species had little effects on the fluorescent intensity of “**LipiRADICAL™ Green**”. Green fluorescence was only observed under the polyunsaturated lipids (lauric acid (LA), α -lauric acid (ALA) or arachidonic acid (AA)) with LOX enzyme or pro-oxidants including AAPH and MeO-AMVN.



Reagents and conditions

LipiRADICAL™ Green (5 μ M)

H₂O₂, ClO₂, KO₂ for O₂⁻ • and •OH : 0.5 mM

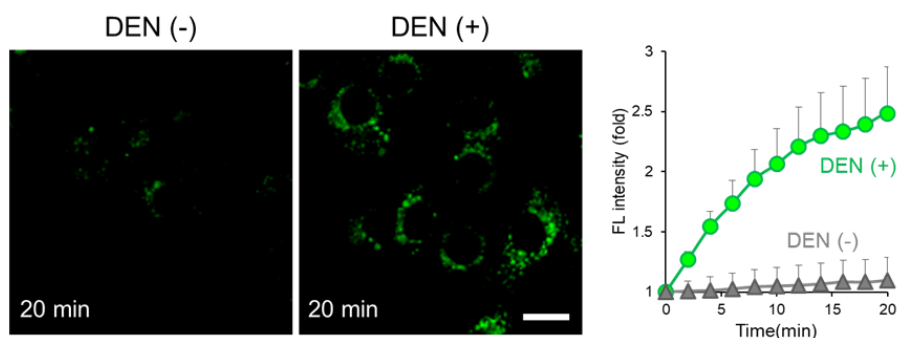
Lipids (0.5 mM) with LOX (2.5 μ g/ml), AAPH (10 mM) or

MeO-AMVN 50 μ M

Application data

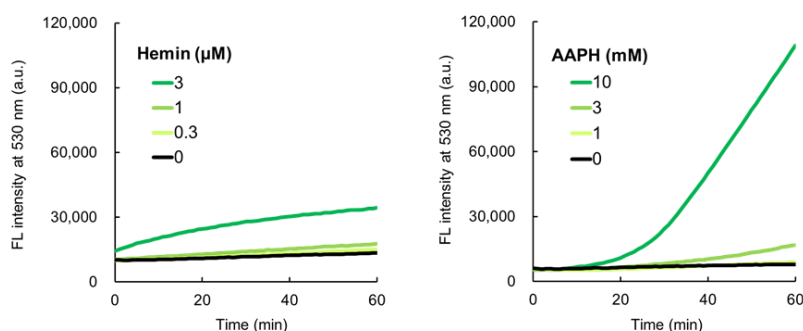
Cell-based detection of lipid radicals induced by diethylnitrosamine (DEN)

Hep1-6 cells were treated with 1 μ M of “**LipiRADICAL™ Green**” for 20 min. For inducing an LPO signal, the cells were co-treated with diethylnitrosamine (DEN, 30 mM), an LPO initiator, and “**LipiRADICAL™ Green**”. Immediately after DEN addition, the cells were observed by confocal microscopy (Ex.458 nm/ Em. 490-674 nm) for 20 min with 2 min interval. The fluorescent signal of “**LipiRADICAL™ Green**” from the DEN-treated cells clearly increased.



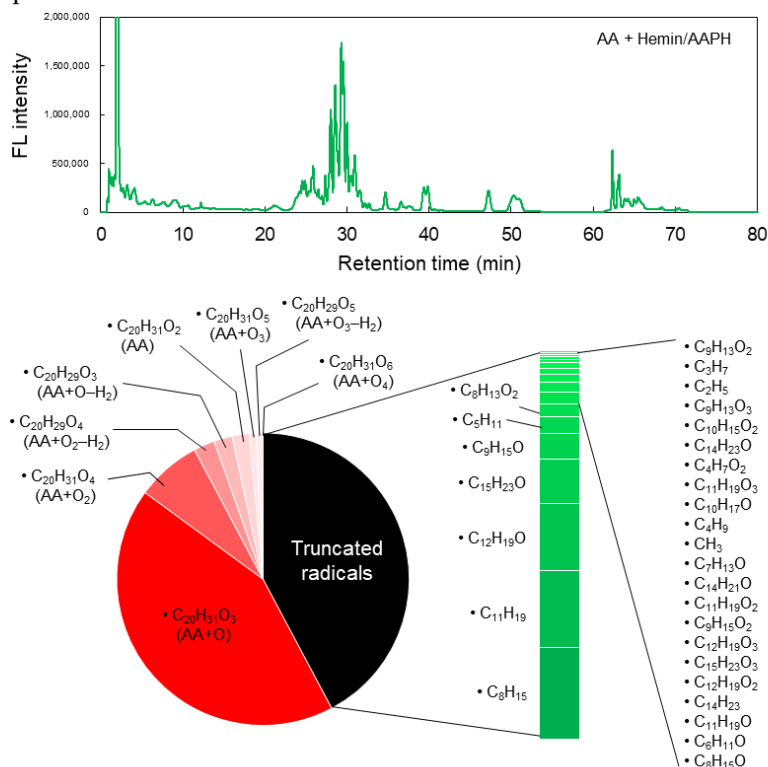
in vitro detection of lipid radicals derived from LDL

Purified low-density lipoprotein (LDL, 20 μg protein/mL) was mixed with pro-oxidants hemin or AAPH and “**LipiRADICAL™ Green**” (10 μM) and the green fluorescence (Ex. 470 nm/ Em 530 nm) was measured for 60 min at 37°C. Both hemin and AAPH increased green fluorescence indicating the production of lipid radicals from LDL particles in a time-dependent manner.



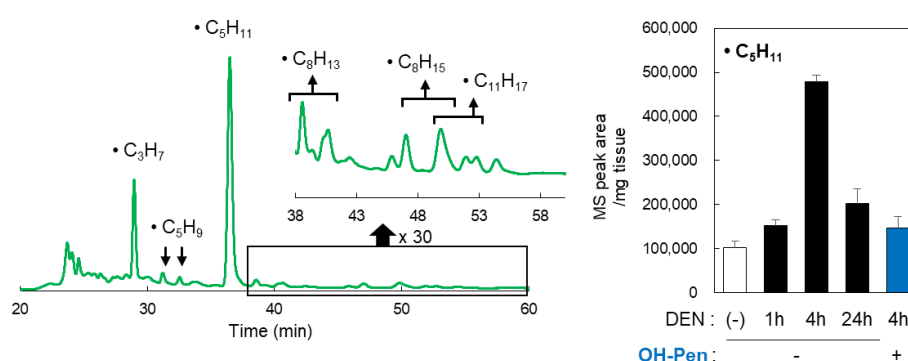
Structural analysis of lipid radicals derived from arachidonic acid *in vitro*

Arachidonic acid (AA; 500 μM) was incubated with pro-oxidants hemin (10 μM) and AAPH (50 mM) mixture for 60 min. After incubation, 5 μM of “**LipiRADICAL™ Green**” was added to the reaction mixture and incubated for 15 min at R.T. Lipid components were extracted by the Bligh and Dyer method and analyzed by the LC-FL/MS-MS technique. (Upper panel) The fluorescent chromatogram is shown (Ex. 470/E. 530 nm). Several fluorescent peaks were observed and each peak was further analyzed by MS-MS. (Lower panel) Product profiles of AA-derived radicals are shown. MS-MS analysis identified a total of 8 full-length AA radicals and 29 truncated radicals. The relative abundances of each radical were calculated from each peak area. Detailed experimental protocol and analytical procedure are described in Ref.5.



Structural analysis of lipid radicals *in vivo*

A well-known carcinogen, diethylnitrosamine (DEN, 100 mg/kg body weight), was injected intraperitoneally into mice and after 1, 4 and 24 hours, mice were anesthetized. Anesthetized mice then received intraperitoneal injections of “**LipiRADICAL™ Green**” (2.5 μmol/kg body weight). To check the specificity of “**LipiRADICAL™ Green**”, OH-Pen, a specific inhibitor of lipid radical (Catalog no. #FDV-0042; 10 μmol/kg body weight) was also injected into the mice before “**LipiRADICAL™ Green**” injection. The liver was removed from the mice and homogenized with methanol. Lipid solution was extracted from the liver homogenate according to the Bligh and Dyer method. Lipid samples were applied to LC-FL/MS-MS for analysis (Left). After 4 hours of treatment of DEN, there was a high production of lipid radicals. A total of 11 lipid radicals were identified. (Right) An example, a $\cdot C_5H_{11}$ radical. OH-Pen-preinjection clearly inhibited the production of lipid radicals derived from DEN treatment.



Reference

1. Yamada *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, **12**, 608-613 (2016) Fluorescence probes to detect lipid-derived radicals.
2. Enoki *et al.*, *Chem. Commun.*, **53**, 10922-10925 (2017) Lipid radicals cause light-induced retinal degeneration.
3. Ishida *et al.*, *Free Radical Biol. Med.*, **113**, 487-493 (2017) Detection and inhibition of lipid-derived radicals in low-density lipoprotein.
4. Mishima *et al.*, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **31**, 280-296 (2020) Drug Repurposed as antiapoptosis agents suppress organ damage, including AKI, by functioning as lipid peroxyl radical scavengers.
5. Matsuoka *et al.*, *Anal. Chem.*, **92**, 6993-7002, (2020) Method for structural determination of lipid-derived radicals

Disclaimer/免責事項

This product has been commercialized by Funakoshi Co., Ltd. based on the results of academic research, and the advertisement text, figures and manuals (hereinafter “Product information”) have been prepared based on published research reports on November, 2020. The academic interpretation at the time of creation of the Product Information may change in accordance with future developments in the relevant research field and expansion of various scientific findings, and the latest version and certainty of the Product Information are not guaranteed. The specifications of this product and the Product Information are subject to change without notice. Please contact us for the latest information.

本商品は学術研究成果を基にフナコシ株式会社が商品化したもので、2020年11月時点における公開研究報告を基に広告文章およびマニュアル(以下、商品資料)を作成しています。今後の当該研究分野の発展および各種学術知見の拡大にともない、商品資料作成時の学術的解釈が変更になる可能性があり、最新性・確実性を保証するものではありません。また、本商品の仕様および商品資料を予告なく変更する場合がございます。最新の情報に関しましては、弊社までご確認いただきますようお願い申し上げます。



E-mail Newsletter
Sign Up

Japanese



English



Related products

AcroleinRED™ <Cell-based Acrolein Detection Reagent>

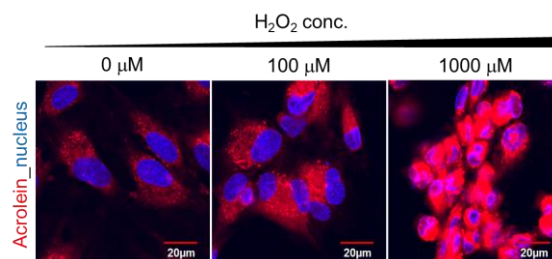
Acrolein is a LPO downstream aldehyde and one of the most toxic oxidative stress marker. AcroleinRED™ is the world first cell-based acrolein detection reagent.

Catalog No. FDV-0022

Size 0.5 mg

Features

- Easy and quick protocol
- Enable to monitor acrolein production under live cells with various stimulations



CellFluor™ GST <Cell-based GST Activity Assay Reagent >

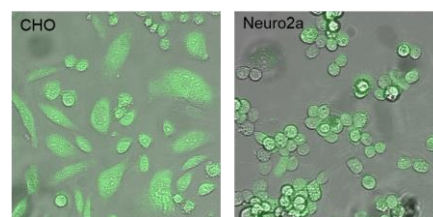
Glutathione *S*-Transferases (GSTs) are major detoxication enzyme family which neutralize LPO-derived toxic aldehydes. CellFluor™ GST is a novel fluorescent probe for monitoring wide GST members' activity both in cell and *in vitro*. CellFluor™ GST releases green fluorophore rhodamine 110 upon GST activities. This probe has cell-permeability and can detect intracellular GST activity.

Catalog No. FDV-0031

Size 0.1 μmol

Features

- Easy and quick protocol
- Broad specificity for various GST family members
- Ex/Em: 496 nm/520 nm (commercial FITC filters are available)



FAOBlue™ <Fatty Acid Oxidation Detection Reagent>

FAOBlue™ is a cell-based fatty acid beta-oxidation (FAO) detection dye which emits blue fluorescence upon FAO activity. FAOBlue™ enables to quantitatively monitor cellular FAO activities under various conditions.

Catalog No. FDV-0033

Size 0.2 mg

Features

- Recommended Ex/Em: ~405 nm / 460 nm
- Enable to detect cellular FAO activity directly without any specific equipment, only need microscopy.
- Monitor drug-induced change of FAO activity quantitatively.

