



## 酸化ストレスマーカー アクロレインを細胞で検出する試薬

# AcroleinRED



AcroleinRED は、フェニルアジドがアクロレインと特異的かつ迅速に反応することを利用した試薬です。細胞から産生されたアクロレインに TAMRA を標識することで、アクロレインを可視化することができます。内在性または外部刺激依存的に過剰産生されるアクロレインを生細胞で簡便に検出、相対定量することができます。

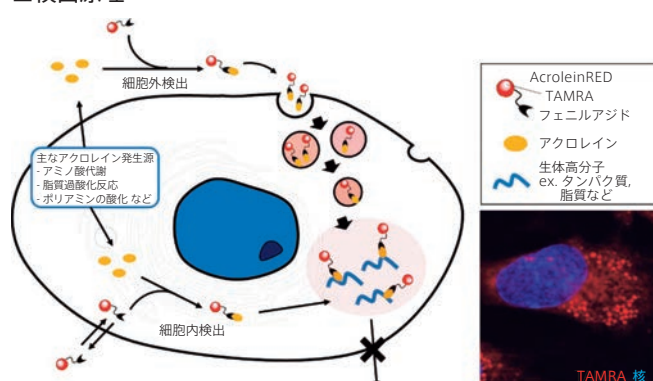
※本製品は研究用です。研究用以外には使用できません。

※本製品は理化学研究所 開拓研究本部 田中生体機能合成化学研究室の研究成果をもとにフナコシ(株)が製品化し、販売しています。

※アクロレインと試薬の反応生成物および生体分子に付加した状態が蛍光シグナルとして検出されるため、アクロレインの局在を可視化するものではありません。本製品では局在観察はできませんのでご留意下さい。

原著論文 Pradipta A. R. et al., ACS Sens., 1, 623~632 (2016).

### ■検出原理



#### AcroleinRED がアクロレインを検出する細胞内外の 2 つの経路

##### ①細胞内アクロレインの検出

AcroleinRED は膜透過性を有するため、細胞膜を透過して細胞内でアクロレインと反応し、4-formyl-1,2,3-triazoline を形成する。

##### ②細胞外に放出されたアクロレインの検出

細胞膜の脂質過酸化反応により産生するアクロレインは細胞外へ放出されている。アクロレインは細胞外で速やかに AcroleinRED と反応し、4-formyl-1,2,3-triazoline はエンドサイトーシス経路によって細胞内に取り込まれる。

①、②いずれの経路でも、4-formyl-1,2,3-triazoline は細胞内で無作為に生体分子(タンパク質など)と反応し、細胞内に緊留されることで細胞を染色する。

## MEMO

### アクロレイン (Acrolein; 2-propenal) とは

アクロレインは最も単純な構造の  $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和アルデヒドで、環境的要因(食事、飲酒、タバコの煙、排気ガスなど)と生理的要因(脂質過酸化反応、酵素依存的なスレオニン・メチオニンの代謝やポリアミンの酸化など)により発生します。また、がんやアルツハイマー、脳梗塞など、酸化ストレスを原因とする疾患においても細胞にアクロレインが過剰に発生し、さらに酸化ストレスを亢進させると考えられています。

アクロレインは化学的反応性が非常に高く、生体内のタンパク質、核酸や脂質などとすみやかに反応して、無差別に機能を破壊することから、酸化ストレスマーカーとして認知され始めています。しかし、アクロレインの単純な構造、高い反応性から検出が難しく、十分な解析が進んでいませんでした。

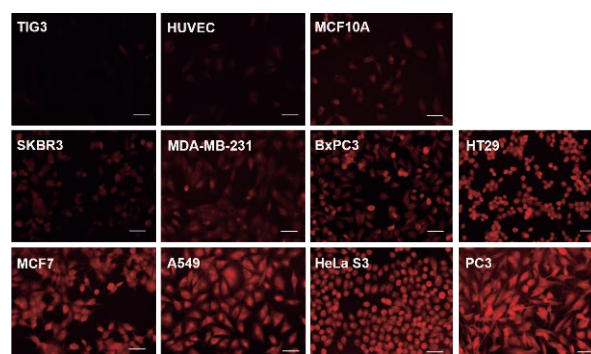
### 特長

- 他の不飽和アルデヒド (crotonaldehyde, *trans*-2-octenal, methacrolein), スチレンには反応しません。
- 前処理不要かつ簡便な操作で検出できます。
- 既存の定量法に比べて高感度 (100 nM) です。
- ローダミンのフィルターセットで観察できます。
- 測定波長: 励起 560 nm / 蛍光 585 nm

### 操作方法概略

操作方は PolyamineRED (p.18 参照) と同様ですが、一部インキュベーション時間などが異なります。詳細はフナコシ Web をご覧下さい。

### 使用例

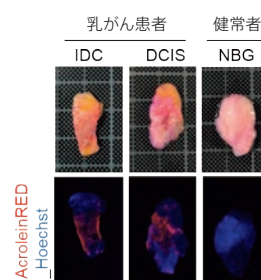


#### 細胞種ごとのアクロレイン産生量の比較

正常細胞 3 種類およびヒトがん細胞株 8 種類について、AcroleinRED によりアクロレイン産生量の相対比較を行った。正常細胞に比べ、がん細胞でアクロレイン産生量が有意に増加していることが分かる。

がん細胞の種類ごとにアクロレイン産生量に差があることが明らかになった。

原著論文 Tanei T. et al., Adv Sci. 6 (2), 1801479, (2018). [PMID: 30693189]



IDC; invasive ductal carcinoma  
DCIS; ductal carcinoma *in situ*  
NBG; normal breast gland

#### 組織中アクロレインの可視化

乳がん患者由来の乳腺組織 (IDC; invasive ductal carcinoma, DCIS; ductal carcinoma *in situ*) および正常乳腺組織 (NBG; normal breast gland) を抽出直後に非固定状態で AcroleinRED (20  $\mu$ M)/Hoechst 混合溶液に浸し、5 分間静置しアクロレイン・細胞核を染色した。組織を洗浄後に蛍光顕微鏡で観察を行った。AcroleinRED により乳がん組織では赤色蛍光が観察されたが、正常乳腺組織では観察されなかった。このように、非固定状態の抽出組織を本製品で染色することが可能である。

乳がん患者由来試料におけるアクロレインを可視化できた。

品名	メーカー	商品コード	包装	価格 (¥)
AcroleinRED (Cell-based Acrolein Detection Reagent)	FNA	FDV-0022	0.5 mg /	38,000