

AFFINILUTE MIP – NNAL

(タバコ特異4-(メチルニトロソアミノ)-1-(3-ピリジル)-1-ブタン(NNK)代謝物)

分子認識ポリマー (Molecular Imprinted Polymer: MIP) は、ターゲット化合物や類似の構造を持つ化合物のグルーブを高い選択性で捕足することを目的と設計された、高度に架橋された特殊なポリマーです。MIPはターゲット化合物と構造の似た鋳型分子を導入して合成し、構造的かつ化学的にターゲット化合物と補完的な空洞を形成することで大変優れた選択性を実現しています。MIPを用いた化合物抽出を行う場合は、このアプリケーションノートに記載するメソッドを実践することが大変重要です。

LC-MS-MS分析のためのNNAL抽出

水性の生体サンプル(例:尿)からNNAL (タバコ特異4-(メチルニトロソアミノ)-1-(3-ピリジル)-1-ブタン(NNK)代謝物)を選択的に抽出するために開発されたメソッドです。このメソッドは再現性が高く、約90%の回収率を実現します。また、5 ppt以下の検出限界を達成できます。

抽出手順：流速～0.5 mL (ターゲット溶出は～0.2 mL/min)を推奨

ターゲット	NNAL
サンプルマトリックス	ヒト尿
一般事項	このメソッドではフリーNNALとトータルNNAL (フリーNNAL+NNAL-glucuronide)を抽出することができます
サンプルの準備	フリーNNAL: NNAL d3 (200pg/mL) 内部標準をサンプルに添加する。 5000rpm/10分間遠心分離し、酢酸で上澄み液のpHを6-7に調整する。 フローを向上させるため50mM/pH6.4リン酸二水素アンモニウムバッファーでサンプルを1:1に希釈する。 トータルNNAL: ヒト尿5mLを50mM/pH6.4リン酸二水素アンモニウム10mLで希釈する。 100ng/mL [¹³ C ₆]NNAL内部標準20 μLを添加し、20,000unit/mL β-グルクロニダーゼ溶液 (Type IX-A from E. coli) 0.5mLを加え、37°Cで24-48時間インキュベートする。 その後、サンプルを0.45μmフィルターでろ過する。
1.コンディショニング/平衡化	<ul style="list-style-type: none"> 1mL ジクロロメタン 1mL メタノール 1mL 脱イオン水 サンプルロード前にカラムを乾燥させないでください
2.サンプルロード 推奨流速:～0.5mL/min	希釈したサンプルをアプライ 最大で5mL (希釈前の尿サンプル量で)のサンプルアプライが可能 (サンプル量が増えると回収率が低下する可能性があります)
3.洗浄 (干渉成分の溶出) 注意事項:各洗浄ステップ間に軽く吸引を行ってください	<ul style="list-style-type: none"> 1mL 脱イオン水 x 2回 (塩および親水性マトリックス成分の選択的な溶出・除去) 10分間吸引し残留水分を除去 1mL トルエン 1mL トルエン:DCM (9:1, v:v) 1mL トルエン:DCM (4:1, v:v) 2分間吸引し残留溶媒を除去
4.ターゲット溶出 推奨流速:～0.2mL/min	1mL の10%メタノール/ジクロロメタンで2回溶出を行う。各回の間に軽く吸引を行う。 蒸発させ、分析前にLC移動相 (150μLの10 mM、pH6.1のギ酸アンモニウム)により再構成する。

推奨分析手法: LC-MS-MS

Column: Ascentis® Express C18, 5 cm x 2.1 mm I.D., 2.7 µm particle size (581307-U)
Instrument: API3200MS/MS
mobile phase: 10mM ammonium formate (pH6.1) (A) and acetonitrile (B)
flow rate: 0.5mL/min.
temperature: 25°C
Detection: API3200MS/MS
Injection volume: 10 µL
MRM transitions:

Analyte	Q1	Q3	Time (ms)	DP	EP	CEP	CE	CXP
NNAL Quantification	210.00	180.20	200	27	5	10	14	5
NNAL-d ₃ Quantification	213.00	183.20	200	27	5	10	14	5
NNAL Identification	210.00	93.20	200	27	5	10	27	5
NNAL-d ₃ Identification	213.00	93.20	200	27	5	10	27	5

Approximate Retention Time:

NNAL 2.1min.
NNAL-d₃ 2.0min.

Ion mode: Positive
Ion source: Turbospray, ESI
Ion spray voltage: 4000V
Source temp.: 400°C

Gradient:	Min.	A%	B%
	0.00	90	10
	1.50	70	30
	2.50	70	30
	2.60	90	10
	4.50	90	10

オーダーインフォメーション

品番	製品	クラス選択性※	数量	定価(税別)
M06-0002-G	AFFINILUTE MIP - NNAL 25 mg/ 10 mL (タバコ特異4-(メチルニコトソアミノ)-1-(3-ピリジル)-1-プタノン(NNK)代謝物)	—	50	¥62,900
M06-0002-B	AFFINILUTE MIP - NNAL 25 mg/ 3 mL (タバコ特異4-(メチルニコトソアミノ)-1-(3-ピリジル)-1-プタノン(NNK)代謝物)	—	50	¥62,900

関連製品

品番	製品	クラス選択性※	数量	定価(税別)
M21-0005-G	AFFINILUTE MIP - TSNAs 50 mg/ 10 mL (タバコ特異ニコトソアミン)	○	50	51,100
M21-0005-B	AFFINILUTE MIP - TSNAs 50 mg/ 3 mL (タバコ特異ニコトソアミン)	○	50	¥51,100

※クラス選択性:類似構造を持つ複数の化合物を補足する性質

バイオタージ・ジャパン株式会社

本社: 〒136-0071 東京都江東区亀戸1-14-4, 6F
TEL 03-5627-3123 FAX 03-5627-3121
大阪: 〒532-0011 大阪市淀川区西中島7-1-29, 6F
TEL 06-6838-9311 FAX 06-6838-9312
URL: <http://www.biotage.co.jp/> E-mail: Japan_Info@biotage.com



www.biotage.com