



## 维生素 B6 检测试剂盒 VB6 Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK521V

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES521	35mL×1 瓶	4℃保存
AK521-A	15mL×1 瓶	4℃保存
AK521-B	20mL×1 瓶	4℃避光保存
AK521-C	20mL×1 瓶	4℃避光保存
AK521-标准品	粉剂×1 支	4℃保存; 临用前加入 1 mL 蒸馏水, 配成 5mg/mL 的标准液

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

**意义:** 维生素 B6 (Vitamin B6, VB6) 又称吡哆素, 其包括吡哆醇、吡哆醛及吡哆胺, 在体内以磷酸酯的形式存在, 是一种水溶性维生素, 在细胞中参与多种蛋白质和氨基酸的代谢, 对生物体具有极其重要的作用。

**原理:** VB6 与 4-氨基安替比林在强氧化剂作用下生成稳定的黄色化合物, 在 400nm 有特征吸收峰。

自备用品:

可见分光光度计、微量玻璃比色皿、天平、研钵、离心机、恒温水浴锅、蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 组织: 将样品磨碎, 按照质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 0.6mL ES521) 加入提取液, 60℃浸提 30min, 加蒸馏水 0.4mL, 混匀后于 25℃, 13000g 离心 10min, 取上清测定 (动物组织等蛋白含量较高的样本建议离心 20-30 分钟)。
2. 细胞: 按照细胞数量 ( $10^4$  个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 0.6mL ES521), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 加蒸馏水 0.4mL, 混匀后于 25℃, 13000g 离心 10min, 取上清测定。
3. 血清等液体: 直接测定。

测定步骤:

1. 可见分光光度计调节波长到 400nm, 蒸馏水调零。
2. 将 5mg/mL 标准液用蒸馏水稀释为 250、125、62.5、31.25、15.625、7.8ug/mL 的标准溶液备用。
3. 在 EP 管中依次加入下列试剂:

	测定管 (μL)	标准管 (uL)	空白管 (ul)
蒸馏水			200
样品	200		
标准液		200	
AK521-A	200	200	200
AK521-B	300	300	300
AK521-C	300	300	300

充分混匀, 室温反应 30min 左右 (视情况而定, 液体变黄色为止), 于 1ml 玻璃比色皿, 测定 400nm 处吸光值, 记为 A 空白管、A 标准管和 A 测定管,  $\Delta A$  标准=A 标准管-A 空白管。空白管只需做

1-2 管。

#### VB6 计算公式:

标准曲线的绘制:

以各个标准溶液的浓度为 x 轴, 其对应的  $\Delta A$  标准为 y 轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程  $y=kx+b$ , 将  $\Delta A$  带入方程得到 x (ug/mL)。

1. 按蛋白浓度计算

$$\text{VB6 含量 (ug/mg prot)} = x \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times \text{Cpr}) = x \div \text{Cpr}$$

※ 蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))

2. 按样本鲜重计算

$$\text{VB6 含量 (ug/g)} = x \times V_{\text{提取}} \div W = 0.6x \div W$$

3. 按细胞数量计算

$$\text{VB6 含量 (ug/10}^4 \text{ cell)} = x \times V_{\text{提取}} \div \text{细胞数量 (万个)} = 0.6x \div \text{细胞数量 (万个)}$$

4. 按液体体积计算

$$\text{VB6 含量 (ug/mL)} = x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} = x$$

注: V 样: 加入样本体积, 0.2mL; V 提取: 样本提取体积, 0.6mL; Cpr: 样本蛋白浓度, ug/ml; W: 样本质量, g;

#### 注意事项:

1. 若测定结果中吸光值超过线性范围吸光值, 请将样本稀释后进行测定, 并在计算公式中乘以稀释倍数。
2. 蛋白浓度较高的样品, 比如动物组织, 若显色完成后有沉淀产生, 将样本稀释后再测定, 在计算公式中乘以稀释倍数。
3. 显色完成后立即进行测定。