



维生素 B6 检测试剂盒

VB6 Assay Kit

微量法

产品编号: AK521M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES521	70mL×1 瓶	4℃保存
AK521-A	1mL×1 瓶	4℃保存
AK521-B	5mL×1 瓶	4℃保存
AK521-C	8mL×1 瓶	4℃避光保存
AK521-D	8mL×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 试剂 A, 配成 10 mg/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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、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 (10⁴ 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/酶标仪, 调节波长到 400nm, 蒸馏水调零。
2. 将 10mg/mL 标准液用试剂 A 稀释为 1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625mg/mL 的标准溶液备用。
3. 在 EP 管中依次加入下列试剂:

	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
AK521-A	40			40
样品		40		
标准液			40	
AK521-B	40	40	40	40
AK521-C	60	60	60	60
AK521-D	60	60	60	60

充分混匀，25℃反应 20min，于微量玻璃比色皿/96 孔板，测定 400nm 处吸光值，记为 A 空白管和 A 测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。空白管只要做一管。

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 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 ΔA 带入方程得到 x (mg/mL)。

1. 按蛋白浓度计算

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

2. 按样本鲜重计算

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

3. 按细胞数量计算

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

4. 按液体体积计算

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

注：V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：加入样本体积，0.04mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g。V 提取：样本提取体积，1mL；V 样：加入的样本体积，0.04mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

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

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。