



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	8mL×1 瓶	4℃保存
AK521-B	15mL×1 瓶	4℃保存
AK521-C	20mL×1 瓶	4℃避光保存
AK521-D	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 试剂 A，配成 5 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、1ml 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:

- 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）。
- 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。
- 血清等液体：直接测定。

测定步骤:

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

	测定管 (μL)	标准管 (uL)	空白管 (ul)
AK521-A			200
样品	200		
标准液		200	
AK521-B	200	200	200
AK521-C	300	300	300
AK521-D	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)，于微量玻璃比色皿/96 孔

板，测定 400nm 处吸光值，记为 A 空白、A 标准和 A 测定，空白管只要做 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 A 标准为 y 轴（A 空白为标准品 0 点），绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 A 测定带入方程得到 x (mg/mL)。

1. 按蛋白浓度计算

$$\text{VB6 含量 (mg/mg prot)} = x \times V \text{ 提取} \div (V \text{ 提取} \times C_{\text{pr}}) = x \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本鲜重计算

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

3. 按细胞数量计算

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

4. 按液体体积计算

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

注：V 样：加入样本体积，0.2mL；V 提取：样本提取体积，0.6mL；C_{pr}：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。