



维生素 B6 检测试剂盒

VB6 Assay Kit

可见分光光度法

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	1mL×1 瓶	4℃保存;
AK521-B	12mL×1 瓶	4℃保存;
AK521-C	18mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK521-D	18mL×1 瓶	4℃避光保存;

※ 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 390nm 有特征吸收峰。

自备用品:

可见分光光度计、1 mL 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 AK521-A) 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 AK521-A), 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 390nm, 蒸馏水调零。
2. 在 EP 管中依次加入下列试剂:

	空白管 (μL)	测定管 (μL)
样品		200
AK521-A	200	
AK521-B	200	200
AK521-C	300	300
AK521-D	300	300

充分混匀, 25℃ 反应 20min, 于 1mL 玻璃比色皿, 蒸馏水调零, 测定 390nm 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: $y = 0.3635x + 0.0205$, $R^2 = 0.9986$

1. 按蛋白浓度计算

$$\text{VB6 含量 } (\mu\text{g}/\text{mg prot}) = (\Delta A - 0.0205) \div 0.3635 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = 13.76 \times (\Delta A - 0.0205) \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算

$$\text{VB6 含量 } (\mu\text{g}/\text{g}) = (\Delta A - 0.0205) \div 0.3635 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) = 13.76 \times (\Delta A - 0.0205) \div W$$

3. 按细胞数量计算

$$\text{VB6 含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (\Delta A - 0.0205) \div 0.3635 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) = 13.76 \times (\Delta A - 0.0205) \div \text{细胞数量}$$

4. 按液体体积计算

$$\text{VB6 含量 } (\mu\text{g}/\text{mL}) = (\Delta A - 0.0205) \div 0.3635 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 13.76 \times (\Delta A - 0.0205)$$

注: $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 1mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.2mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 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 1, 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。