



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；

※ 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/酶标仪、微量石英比色皿/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 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 (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 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		40
AK521-A	40	
AK521-B	40	40
AK521-C	60	60
AK521-D	60	60

充分混匀，25℃反应 20min，于微量石英比色皿/96 孔板，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：

- a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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, 0.2mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.04mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 0.1818x + 0.0205$, $R^2 = 0.9986$

1. 按蛋白浓度计算

$$\text{VB6 含量 } (\mu\text{g}/\text{mg prot}) = (\Delta A - 0.0205) \div 0.1818 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = 27.52 \times (\Delta A - 0.0205) \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算

$$\text{VB6 含量 } (\mu\text{g}/\text{g}) = (\Delta A - 0.0205) \div 0.1818 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) = 27.52 \times (\Delta A - 0.0205) \div W$$

3. 按细胞数量计算

$$\text{VB6 含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (\Delta A - 0.0205) \div 0.1818 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) = 27.52 \times (\Delta A - 0.0205) \div \text{细胞数量}$$

4. 按液体体积计算

$$\text{VB6 含量 } (\mu\text{g}/\text{mL}) = (\Delta A - 0.0205) \div 0.1818 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 27.52 \times (\Delta A - 0.0205)$$

注: $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.2mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.04mL; $V_{\text{样总}}$: 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。