

维生素 B6 (Vitamin B6, VB6) 试剂盒说明书

微量法 100T/96S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

维生素 B6 (Vitamin B6) 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。

测定原理：

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。

组成：

产品名称	VS004-100T/96S	Storage
提取液：液体	70ml	4°C
试剂一：液体	1ml	4°C
试剂二：液体	5ml	4°C
试剂三：液体	8ml	4°C避光
试剂四：液体	8ml	4°C避光
说明书	一份	

自备仪器和用品：

天平、研钵、离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、恒温水浴锅、蒸馏水。

样本处理：

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 提取液）加入提取液，60°C浸提 30min，加蒸馏水 0.4ml，混匀后于 25°C，16000rpm 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 提取液），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°C，16000rpm 离心 10min，取上清测定。
3. 血清：直接测定。

测定操作：

	空白管	测定管

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



样品 (μl)		40
试剂一 (μl)	40	
试剂二 (μl)	40	40
试剂三 (μl)	60	60
试剂四 (μl)	60	60
充分混匀, 25°C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。		

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. 按照蛋白含量计算

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

$$= 13.76 \times (\Delta A - 0.0205) \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算

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

$$= 13.76 \times (\Delta A - 0.0205) \div W$$

3. 按照细胞数量计算

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

$$= 13.76 \times (\Delta A - 0.0205) \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

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

$$= 13.76 \times (\Delta A - 0.0205)$$

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

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. 按照蛋白含量计算

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

$$= 27.52 \times (\Delta A - 0.0205) \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算

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

$$= 27.52 \times (\Delta A - 0.0205) \div W$$

3. 按照细胞数量计算

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

$$= 27.52 \times (\Delta A - 0.0205) \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

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

$$= 27.52 \times (\Delta A - 0.0205)$$

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

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



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。

