

## 维生素 B6 (Vitamin B6, VB6) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

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	VS003-50T/48S	Storage
提取液: 液体	35ml	4°C
试剂一: 液体	1ml	4°C
试剂二: 液体	12ml	4°C
试剂三: 液体	18ml	4°C避光
试剂四: 液体	18ml	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、恒温水浴锅、1 ml 玻璃比色皿、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<sup>4</sup> 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)		200
试剂一 (μl)	200	
试剂二 (μl)	200	200
试剂三 (μl)	300	300
试剂四 (μl)	300	300
充分混匀, 25°C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。		

### 计算公式:

标准曲线:  $y = 0.3635x + 0.0205$ ,  $R^2 = 0.9986$

#### 1. 按照蛋白含量计算

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

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

#### 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, 1ml; V 样: 加入样本体积, 0.2ml; V 样总: 加入提取液体积, 1ml; Cpr: 蛋白浓度, mg/ml; W: 样本质量, g

### 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。

