

维生素 B6 含量检测试剂盒 (微量法) (本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0372	维生素 B6 含量检测试剂盒 (微量法)	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 70mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 1mL × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 5mL × 1 支	4℃
试剂三	液体 8mL × 1 瓶	4℃, 避光
试剂四	液体 8mL × 1 瓶	4℃, 避光

一、产品说明

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。

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。

二、自备材料

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。

三、样品准备

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℃ 浸提 30min, 加蒸馏水 0.4mL, 混匀后于 25℃, 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 (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 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℃, 16000rpm 离心 10min, 取上清测定。

3、血清: 直接测定。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样品		40
试剂一	40	
试剂二	40	40

试剂三	60	60
试剂四	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。		

五、VB6 含量的计算

A. 用 96 孔板测定的计算方法如下:

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

1、按照样本蛋白浓度计算:

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

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

2、按照样本鲜重计算:

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

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

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

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

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. 用微量石英比色皿的计算方法如下:

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

1、按照样本蛋白浓度计算:

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

$$= 27.52 \times (\Delta A - 0.0205) \div C_{\text{pr}}。$$

2、按照样本鲜重计算:

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

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

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:

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

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。

六、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。