

## 维生素 B6 检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1243

保存：4℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、液体样本

### 产品简介

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，肉类、全谷类、蔬菜和坚果类中含量较高。在机体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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析各种生物样品中维生素 B6 含量。其原理是 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 400nm 有特征吸收峰。通过测定 400nm 下吸光度来计算 VB6 含量。

### 产品内容

| 试剂盒组分 | 规格    |       | 储存条件   |
|-------|-------|-------|--------|
|       | 48T   | 96T   |        |
| 提取液   | 35mL  | 70mL  | 4℃保存   |
| 试剂一   | 4mL   | 4mL   | 4℃保存   |
| 试剂二   | 2.5mL | 5mL   | 4℃保存   |
| 试剂三   | 4mL   | 8mL   | 4℃避光保存 |
| 试剂四   | 4mL   | 8mL   | 4℃避光保存 |
| 标准品   | 粉剂×1支 | 粉剂×1支 | 4℃保存   |

### 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 400nm 处的吸光度）及恒温箱

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

离心机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

### 试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

标准品：10mg 维生素 B6，临用前加入 1mL 试剂一，配成 10mg/mL 的标准液。溶解后的标准品可 4℃保存 1 个月或-20℃长期保存。

标准曲线设置：按下表所示，用试剂一将 10mg/mL 标准品稀释为 0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625mg/mL 的标准溶液。

|       | 标准品体积（μL）    | 试剂一体积（μL） | 标准品浓度（mg/mL） |
|-------|--------------|-----------|--------------|
| 标准品 1 | 16μL 10mg/mL | 384       | 0.4          |

## 产品说明书

|       |                              |     |         |
|-------|------------------------------|-----|---------|
| 标准品 2 | 200μL of 标准品 1 (0.4mg/mL)    | 200 | 0.2     |
| 标准品 3 | 200μL of 标准品 2 (0.2mg/mL)    | 200 | 0.1     |
| 标准品 4 | 200μL of 标准品 3 (0.1mg/mL)    | 200 | 0.05    |
| 标准品 5 | 200μL of 标准品 4 (0.05mg/mL)   | 200 | 0.025   |
| 标准品 6 | 200μL of 标准品 5 (0.025mg/mL)  | 200 | 0.0125  |
| 标准品 7 | 200μL of 标准品 6 (0.0125mg/mL) | 200 | 0.00625 |

**注意：每次实验，请使用新配制的标准品。**

### 样本制备

**组织：**称取约 0.1g 样本，加入 0.6mL 提取液匀浆，60℃浸提 30min，加去离子水 0.4mL，混匀后于 25℃，16000 rpm 离心 10min，取上清测定（动物组织及其他蛋白含量较高的样本建议离心 20-30 分钟或反复离心 2-3 次至上清无混浊）。

**细胞或细菌：**收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 0.6mL 提取液，超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），60℃浸提 30min，加去离子水 0.4mL，混匀后于 25℃，16000rpm 离心 10min，取上清测定。

**液体样本：**直接检测。

**注意：**推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 6 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 400nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

|      | 标准 (μL) | 空白 (μL) | 测定 (μL) | 对照 (μL) |
|------|---------|---------|---------|---------|
| 样本   | 0       | 0       | 40      | 40      |
| 试剂一  | 0       | 40      | 0       | 0       |
| 标准品  | 40      | 0       | 0       | 0       |
| 试剂二  | 40      | 40      | 40      | 40      |
| 试剂三  | 60      | 60      | 60      | 60      |
| 试剂四  | 60      | 60      | 60      | 0       |
| 去离子水 | 0       | 0       | 0       | 60      |

充分混匀，25℃反应 20min，400nm 处测定吸光值 A，计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，空白和标准曲线只需要测一次。

**注意：**1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果  $\Delta A_{\text{测定}}$  小于 0.005 可适当加大样本量。如果  $\Delta A_{\text{测定}}$  大于 2.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。蛋白浓度较高的样本，比如动物组织、豆类种子等，若显色完成后有沉淀产生，将样本稀释后再测定，计算结果乘以稀释倍数。

### 结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入方程计算出 y 值 (mg/mL)。

2. 样本维生素 B6 含量计算

(1) 按样本质量计算：VB6 (mg/g 质量) =  $y \times V_{\text{提取}} \div W = y \div W$

(2) 按液体样本体积计算：VB6 (mg/mL) =  $y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} = y$

(3) 按细胞或细菌细胞数量计算：VB6 (mg/ $10^4$  cells) =  $y \times V_{\text{提取}} \div \text{细胞数量 (万个)} = y \div \text{细胞数量}$

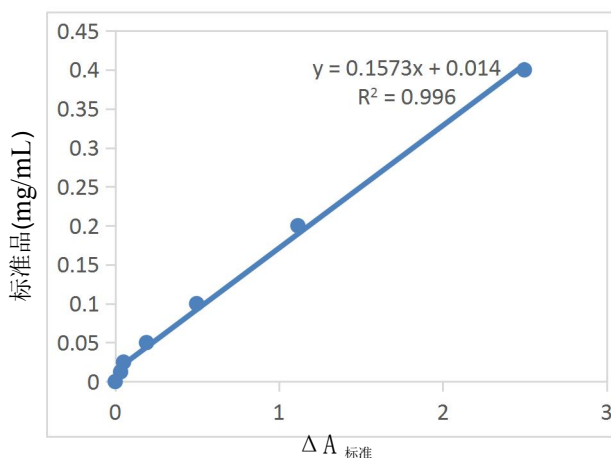
(4) 按蛋白浓度计算：VB6 (mg/mg prot) =  $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = y \div \text{Cpr}$

## 产品说明书

$V_{\text{提取}}$ : 样本提取体积, 1mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入的样本体积, 0.04mL;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g;  
细胞数量: 以万为单位。

### 结果展示

典型标准曲线



### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品:

PMK1242 维生素 B1 检测试剂盒 (微量法)

PMK1241 维生素 E 检测试剂盒 (微量法)

PMK1030 还原型抗坏血酸 (AsA) / 维生素 C 检测试剂盒 (微量法)

PMK1164 葡萄糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1181 还原糖检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

