



维生素 B1 检测试剂盒

VB1 Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK520V

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES520	40mL×1 瓶	4℃保存;
AK520-A	8mL×1 瓶	4℃保存;
AK520-B	6mL×1 瓶	4℃保存;
AK520-C	8mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK520-D	16mL×1 瓶	4℃保存;
AK520-E	10mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK520-标准品	粉剂×1 支	4℃保存; 临用前加入 1 mL 试剂 A, 配成 5 mg/mL 的标准液

※ 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 B1 (Vitamin B1, VB1) 是构成脱羧辅酶的主要成分, 参与细胞代谢中的三羧酸循环, 是维持机体正常代谢必须的水溶性维生素, 在生物体能量代谢中有重要的作用。

原理: VB1 在碱性条件下还原铁氰化钾生成亚铁氰化钾, 亚铁氰化钾与 Fe^{3+} 在弱酸条件下生成普鲁士蓝, 在 704nm 有特征吸收峰。

自备用品:

可见分光光度计、1ml 玻璃比色皿、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 AK520-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 (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 AK520-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 704nm, 蒸馏水调零。
2. 将 5mg/mL 标准液用试剂 A 稀释为 200、100、50、25、12.5、6.25ug/mL 的标准溶液备用。
3. 在 EP 管中依次加入下列试剂:

	空白管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)
AK520-A	100		
样品		100	
标准液			100
AK520-B	80	80	80

AK520-C	100	100	100
充分混匀，80℃反应 10min			
ES520	80	80	80
AK520-D	220	220	220
AK520-E	120	120	120
H ₂ O	300	300	300
充分混匀，静置 20min，于 1ml 玻璃比色皿，蒸馏水调零，测定 704nm 处吸光值，记为 A 空白管、A 测定管和 A 标准管，空白管只要做 1-2 管。			

VB1 计算公式：

标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的 A 标准为 y 轴（A 空白为标准品 0 点），绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 A 测定带入方程得到 x（mg/mL）。

1. 按蛋白浓度计算

$$\text{VB1 含量 (mg/mg prot)} = x \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times \text{Cpr}) = x \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算

$$\text{VB1 含量 (mg/g)} = x \times V_{\text{提取}} \div W = 0.6x \div W$$

3. 按细胞数量计算

$$\text{VB1 含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} = x \times V_{\text{提取}} \div \text{细胞数量 (万个)} = 0.6x \div \text{细胞数量 (万个)}$$

4. 按液体体积计算

$$\text{VB1 含量 (mg/mL)} = x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} = x$$

注：V 样：加入样本体积，0.1mL；V 提取：样本提取体积，0.6mL；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线性范围吸光值，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。