



## 维生素 B1 检测试剂盒

### VB1 Assay Kit

微量法

产品编号：AK520M

产品规格：100T/96S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES520	70mL×1 瓶	4℃保存；
AK520-A	1mL×1 瓶	4℃保存；
AK520-B	2mL×1 瓶	4℃保存；
AK520-C	2mL×1 瓶	4℃避光保存；
AK520-D	5mL×1 瓶	4℃保存；
AK520-E	3mL×1 瓶	4℃避光保存；

※ 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/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、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. 在 EP 管中依次加入下列试剂：

	空白管 (μL)	测定管 (μL)
样品		20
AK520-A	20	
AK520-B	16	16
AK520-C	20	20
充分混匀，80℃ 反应 10min		
ES520	16	16
AK520-D	44	44
AK520-E	24	24

H <sub>2</sub> O	60	60
充分混匀，静置 20min，于微量石英比色皿/96 孔板，蒸馏水调零，测定 704nm 处吸光值，记为 A 空白管和 A 测定管， $\Delta A = A$ 测定管 - A 空白管。		

### VB1 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： $y = 0.017x + 0.0031$ ， $R^2 = 0.9991$ ；x 为标准品浓度： $\mu\text{g/mL}$ ；y 为  $\Delta A$  (A 测定管 - A 空白管)

##### 1. 按蛋白浓度计算

$$\text{VB1 含量 } (\mu\text{g/mg prot}) = (\Delta A - 0.0031) \div 0.017 \div \text{Cpr} = 58.8 \times (\Delta A - 0.0031) \div \text{Cpr}$$

##### 2. 按样本鲜重计算

$$\text{VB1 含量 } (\mu\text{g/g 鲜重}) = (\Delta A - 0.0031) \div 0.017 \div (W \div V \text{ 样总}) = 58.8 \times (\Delta A - 0.0031) \div W$$

##### 3. 按细胞数量计算

$$\text{VB1 含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (\Delta A - 0.0031) \div 0.017 \div (\text{细胞数量} \div V \text{ 样总}) = 58.8 \times (\Delta A - 0.0031) \div \text{细胞数量}$$

##### 4. 按液体体积计算

$$\text{VB1 含量 } (\mu\text{g/mL}) = (\Delta A - 0.0031) \div 0.017 = 58.8 \times (\Delta A - 0.0031)$$

**注：**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： $y = 0.0085x + 0.0031$ ， $R^2 = 0.9991$ ；x 为标准品浓度： $\mu\text{g/mL}$ ；y 为  $\Delta A$  (A 测定管 - A 空白管)

##### 1. 按蛋白浓度计算

$$\text{VB1 含量 } (\mu\text{g/mg prot}) = (\Delta A - 0.0031) \div 0.0085 \div \text{Cpr} = 117.65 \times (\Delta A - 0.0031) \div \text{Cpr}$$

##### 2. 按样本鲜重计算

$$\text{VB1 含量 } (\mu\text{g/g 鲜重}) = (\Delta A - 0.0031) \div 0.0085 \div (W \div V \text{ 样总}) = 117.65 \times (\Delta A - 0.0031) \div W$$

##### 3. 按细胞数量计算

$$\text{VB1 含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (\Delta A - 0.0031) \div 0.0085 \div (\text{细胞数量} \div V \text{ 样总}) = 117.65 \times (\Delta A - 0.0031) \div \text{细胞数量}$$

##### 4. 按液体体积计算

$$\text{VB1 含量 } (\mu\text{g/mL}) = (\Delta A - 0.0031) \div 0.0085 = 117.65 \times (\Delta A - 0.0031)$$

**注：**V 样总：加入提取液体积，1mL；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 2，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。
4. 标准曲线线性范围为 0.1-10 $\mu\text{g/mL}$ 。