

维生素 B1 (Vitamin B1, VB1) 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 B1 (Vitamin B1) 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。

测定原理:

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。

组成:

产品名称	VS001-50T/48S	Storage
提取液: 液体	35ml	4°C
试剂一: 液体	1ml	4°C
试剂二: 液体	5ml	4°C
试剂三: 液体	5ml	4°C避光
试剂四: 液体	12ml	4°C
试剂五: 液体	6ml	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, 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 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, 13000g 离心 10min, 取上清测定。
3. 血清: 直接测定。

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



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线: 0518-81263339

官网:<http://www.bio149.com>

测定操作:

	空白管	测定管
样品 (μl)		100
试剂一 (μl)	100	
试剂二 (μl)	80	80
试剂三 (μl)	100	100
充分混匀, 80°C反应 10min		
提取液 (μl)	80	80
试剂四 (μl)	220	220
试剂五 (μl)	120	120
H ₂ O (μl)	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 空白管和 A 测定管, ΔA=A 测定管-A 空白管。		

计算公式:

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 ΔA (A 测定管-A 空白管)

1. 按照蛋白含量计算

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

2. 按照样本质量计算

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

3. 按照细胞数量计算

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

4. 按照液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{VB1 含量 } (\mu\text{g/ml}) &= (\Delta A - 0.0031) \div 0.017 \\ &= 58.8 \times (\Delta A - 0.0031) \end{aligned}$$

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。
4. 标准曲线线性范围为 0.1-10 $\mu\text{g/ml}$ 。

