

## 维生素 B1 (Vitamin B1, VB1) 试剂盒说明书

### 微量法 100T/96S

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	VS002-100T/96S	Storage
提取液: 液体	70ml	4°C
试剂一: 液体	1ml	4°C
试剂二: 液体	2ml	4°C
试剂三: 液体	2ml	4°C避光
试剂四: 液体	5ml	4°C
试剂五: 液体	3ml	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/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、恒温水浴锅、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, 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 20-30min)。
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, 16000rpm 离心 10min, 取上清测定。

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



3. 血清：直接测定。

**测定操作：**

	空白管	测定管
样品 (μl)		20
试剂一 (μl)	20	
试剂二 (μl)	16	16
试剂三 (μl)	20	20
充分混匀，80°C反应 10min		
提取液 (μl)	16	16
试剂四 (μl)	44	44
试剂五 (μl)	24	24
H <sub>2</sub> O (μl)	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， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

**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：μg/ml；y 为  $\Delta A$  (A 测定管-A 空白管)

1. 按照蛋白含量计算

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

2. 按照样本质量计算

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

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

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

V 样总：加入提取液**体积**，1ml；Cpr：蛋白浓度，mg/ml；W：样本质量，g

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：μg/ml；y 为  $\Delta A$  (A 测定管-A 空白管)

1. 按照蛋白含量计算

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

2. 按照样本质量计算

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

3. 按照细胞数量计算



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

4. 按照液体体积计算

$$\begin{aligned}\text{VB1 含量 } (\mu\text{g}/\text{ml}) &= (\Delta A - 0.0031) \div 0.0085 \\ &= 117.65 \times (\Delta A - 0.0031)\end{aligned}$$

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 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, 将样本稀释后再重新测定, 并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 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

