

甲基乙二醛 (MG) 含量试剂盒说明书

(货号: ADS-W-MG001 微板法 96 样)

一、产品简介:

甲基乙二醛 (methylglyoxal, MG), 又称丙酮醛, 是几种代谢途径产生的副产物, 也是植物受到环境胁迫时产生的一种常见的有毒醛类化合物。高浓度的 MG 是一种细胞毒素, 而低浓度的 MG 作为一种信号分子, 调节细胞代谢、种子萌发、植物生长、发育、生殖等多种生理过程和耐逆性形成的获得, 故 MG 具有双重作用。

甲基乙二醛 (MG) 和 1,2-邻苯二胺反应生成的产物在 336nm 下有最大吸收峰, 通过检测该产物在 336nm 的值进而计算得出样本中甲基乙二醛 (MG) 含量。

二、测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	粉体 5 瓶	4°C 保存	临用前甩几下使粉体全部落入底部, 再加入 4mL 蒸馏水, 混匀备用 (若变深黄色则需废弃)。
标准品	液体 1 支	4°C 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板 (也可选择 UV 板)、可调式移液器、研钵、蒸馏水。

四、甲基乙二醛 (MG) 检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

称取 0.1g 样本, 先加入 1mL 的提取液, 冰浴匀浆, 12000rpm, 4°C 离心 10min, 取上清液转移至新的 EP 管中, 12000rpm, 4°C 再次离心 10min, 取全部上清液待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取

② 液体样本:

澄清的液体样本直接检测; 若浑浊则需 12000rpm, 室温离心 10min, 取上清液备用。

③ 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10^4): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 336nm。

② 在 96 孔板 (也可选择 UV 板) 中依次加入下列试剂:

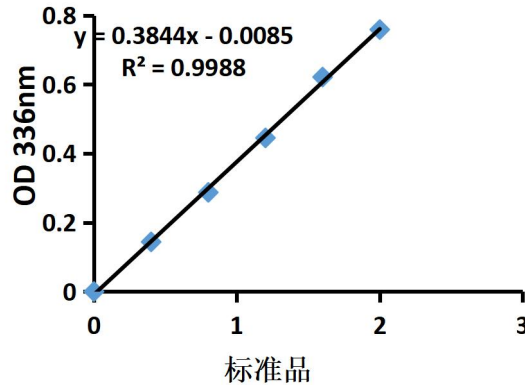
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂一	180	
蒸馏水		180
样本	20	20
混匀, 室温静止 30min, 在 336nm 处读取吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

【注】：1. 若 A 测定值大于 1.8，样本可用蒸馏水稀释，稀释倍数 D 代入计算公式计算。

2. 若 ΔA 在零附近，可增加样本取样质量 W（如增加至 0.2g），或增加样本加样量 V1（如增至 40 μ L，则试剂一相应减少），则改变后的 W 和 V1 代入计算公式计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程为 $y = 0.3844x - 0.0085$ ；x 为标准品浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ），y 为吸光值 ΔA 。



2、按样本重量计算：

$$\begin{aligned} \text{甲基乙二醛(MG)含量}(\mu\text{mol/g 重量}) &= [(\Delta A + 0.0085) \div 0.3844 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 2.6 \times (\Delta A + 0.0085) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按液体体积计算：

$$\text{甲基乙二醛(MG)含量}(\mu\text{mol/mL}) = (\Delta A + 0.0085) \div 0.3844 \times D = 2.6 \times (\Delta A + 0.0085) \times D$$

4、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{甲基乙二醛(MG)含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0085) \div 0.3844 \times V1] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 2.6 \times (\Delta A + 0.0085) \div 500 \times D \end{aligned}$$

V---样品提取液总体积，1mL；

V1---测定时所取样本的体积，0.02mL；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；

D---自行稀释倍数，未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

1 制备标准品母液（15 $\mu\text{mol/mL}$ ）：

2 把母液用提取液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2. $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。