

甲基乙二醛 (MG) 含量试剂盒说明书

(货号: BP10047F 紫外法 48 样 有效期: 3 个月)

一、指标介绍:

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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 5 瓶	4℃避光保存	每瓶: 1. 开盖前注意使粉体落入底部 (可手动甩一甩); 2. 加入 8mL 蒸馏水, 混匀备用 (若变深黄色则需废弃)。 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
标准品	液体 1 支	4℃避光保存	1. 若重新做标曲, 则用到该试剂; 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制; 3. 溶解后的标品一周内用完。

三、实验器材:

研钵 (匀浆机)、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅 (烘箱、培养箱、金属浴)、1ml 石英比色皿、离心管、紫外分光光度计、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本 (例如不同类型或分组) 进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

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℃离心 10min, 取上清液转移至新的 EP 管中, 12000rpm, 4℃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℃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、检测步骤：

- ① 紫外分光光度计预热 30min 以上（等仪器过自检程序亦可），调节波长至 336nm，蒸馏水调零。
- ② 在 EP 管中依次加入下列试剂：

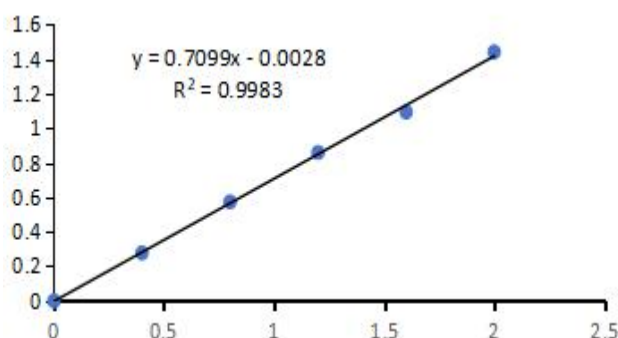
试剂组分 (μL)	测定管	对照管
试剂一	720	
蒸馏水		720
样本	80	80
混匀，室温静止 30min，将液体全部转移至 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中，在 336nm 处读取吸光值。 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

【注】：1. 若 A 测定值大于 2，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 120μL，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 $y = 0.7099x - 0.0028$ ；x 为标准品浓度（μmol/mL），y 为吸光值 ΔA 。



2、按样本重量计算：

$$\begin{aligned} \text{甲基乙二醛(MG)含量}(\mu\text{mol/g 重量}) &= [(\Delta A + 0.0028) \div 0.7099 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 1.41 \times (\Delta A + 0.0028) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{甲基乙二醛(MG)含量}(\mu\text{mol/mg Prot}) &= [(\Delta A + 0.0028) \div 0.7099 \times V1] \div (Cpr \times V1 \div V) \times D \\ &= 1.41 \times (\Delta A + 0.0028) \div Cpr \times D \end{aligned}$$

4、按液体体积计算：

$$\text{甲基乙二醛(MG)含量}(\mu\text{mol/mL}) = (\Delta A + 0.0028) \div 0.7099 \times D = 1.41 \times (\Delta A + 0.0028) \times D$$

5、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{甲基乙二醛(MG)含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0028) \div 0.7099 \times V1] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 1.41 \times (\Delta A + 0.0028) \div 500 \times D \end{aligned}$$

V---样品提取液总体积，1mL；

V1---测定时所取样本的体积，0.08mL；

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；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒

附：标准曲线制作过程：

- 1 标曲为非必做实验，用户可根据实验需求制作标曲，亦可直接采用说明书计算公式进行结果计算。
- 2 标准品母液浓度为 15 $\mu\text{mol/mL}$ 。将母液用提取液稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2. $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本调整标准品浓度。
- 3 标品稀释参照表如下：

吸取标准品母液 200 μL ，加入 1.3mL 提取液，混匀得到 2 $\mu\text{mol/mL}$ 的标品稀释液待用。						
标品浓度 $\mu\text{mol/mL}$	0	0.4	0.8	1.2	1.6	2
标品稀释液 μL	0	40	80	120	160	200
提取液 μL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

- 4 依据测定管的加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂组分 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
试剂一	720	720
样本	80	
提取液		80
混匀，室温静止 30min，将液体全部转移至 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中，在 336nm 处读取吸光值， $\Delta A = A_{\text{标准}} - A_0$ 浓度。		