

甲基乙二醛（MG）含量试剂盒说明书

（货号：ADS-F-MG001 分光法 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（10⁴）：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:

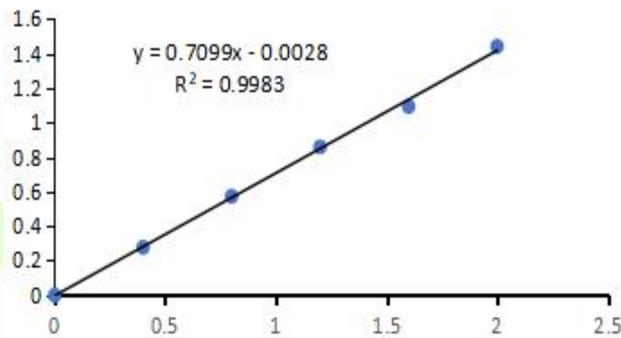
试剂组分 (μL)	测定管	对照管
试剂一	720	
蒸馏水		720
样本	80	80
混匀，室温静止 30min，将液体全部转移至 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中，在 336nm 处读取吸光值。 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

【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， $\Delta A = A - A_0$ 标准 A0 浓度。		