

## 甲基乙二醛（MG）含量试剂盒说明书

（分光法 48 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 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体×5 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉体全部落入瓶底，每瓶加入 8mL 蒸馏水，混匀备用（应为无色，若变色则需废弃）。
标准品	液体 mL×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

### 三、所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、可调式移液器、研钵、蒸馏水。

### 四、甲基乙二醛（MG）含量检测：

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℃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<sup>4</sup>）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

#### 2、上机检测：

① 紫外分光光度计预热 20min 以上，调节波长至 336nm，蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入下列试剂：

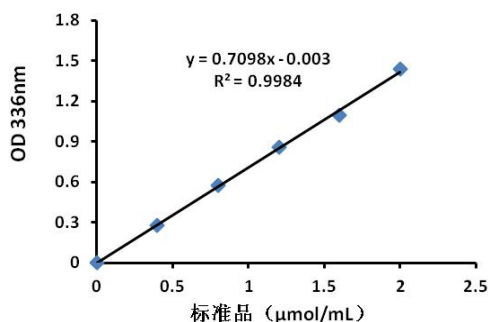
试剂名称（ $\mu\text{L}$ ）	测定管	对照管
试剂一	720	
蒸馏水		720
样本	80	80
混匀，室温静止 30min，将液体全部转移至 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中，在 336nm 处读取吸		

光值。ΔA=A 测定管-A 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  $y = 0.7098x - 0.003$ ；x 为标准品浓度（μmol/mL），y 为吸光值 ΔA。



2、按样本重量计算：

$$\begin{aligned} \text{甲基乙二醛(MG)含量}(\mu\text{mol/g 重量}) &= [(\Delta A + 0.003) \div 0.7098 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 1.41 \times (\Delta A + 0.003) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按液体体积计算：

$$\text{甲基乙二醛(MG)含量}(\mu\text{mol/mL}) = (\Delta A + 0.003) \div 0.7098 \times D = 1.41 \times (\Delta A + 0.003) \times D$$

4、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{甲基乙二醛(MG)含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.003) \div 0.7098 \times V1] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 1.41 \times (\Delta A + 0.003) \div 500 \times D \end{aligned}$$

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。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（15μmol/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. μmol/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。