

甲基乙二醛(MG)含量测试定试剂盒

分光法 48 样

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。

试剂盒组成和配制

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°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

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。

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°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); 12000rpm4°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 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 (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

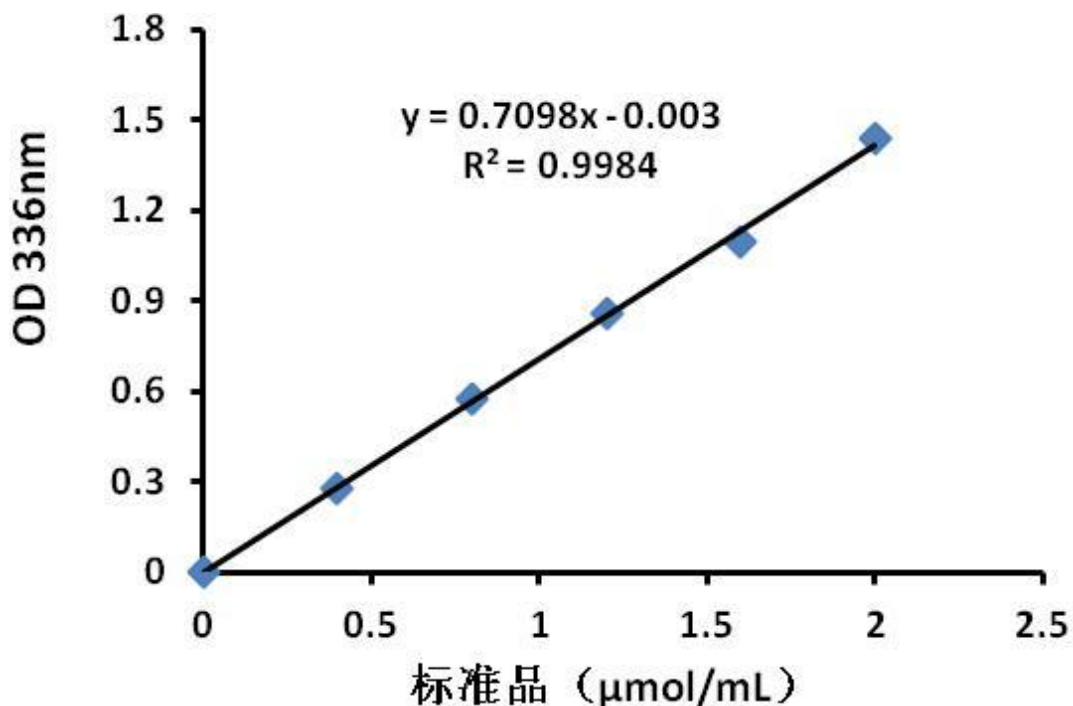
处读取吸光值。 $\Delta A = A$ 测定管 - A 对照 (每个样本做一个自身对照)。

- [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 120 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。

结果计算

1、标准曲线方程:

$y = 0.7098x - 0.003$; 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:

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

= $1.41 \times (\Delta A + 0.003) \div W \times D$

3、按液体体积计算:

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

4、按细胞数量计算:

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

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 ($15\mu\text{mol}/\text{mL}$):
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. $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 。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。