

甲基乙二醛(MG)含量测试定试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号：JL-T0942

有效期：6个月

规格：48T(20S)/96T(44S)

保存温度：2-8℃

实验原理：

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。

检测范围：0.1-5 μ mol/mL, 灵敏度：0.1 μ mol/mL

注意事项：

1. 不能使用过期产品, 不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用, 以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病, 所有的样品都应管理好, 按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂, 使用前请甩几下, 使粉剂落入底部。

产品组成:

试剂名称	规格 (48T/20S)	规格 (96T/44S)	保存条件
提取液	58mL×1 瓶	116mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×3 瓶	粉剂×5 瓶	2-8℃保存
标准品	3.6μL×1 瓶	3.6μL×2 瓶	2-8℃保存, 避光

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水。

样本处理及要求:

- 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.1-5μmol/mL, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩, 样本的稀释液为提取液。
- 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性
- 血清(浆)等液体样本**: 直接测定。若浑浊, 离心后取上清测定。
- 组织样本**: 按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例(例如约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液) 进行匀浆, 匀浆后, 4℃, 12000 g 离心 10min, 取上清液转移至新的 EP 管中, 4℃, 12000 g 再次离心 10min, 取全部上清置冰上待测。如需检测蛋白浓度, 可留取部分上清用于蛋白浓度测定。

咨询电话: 400-0066-400

网址: www.jonln.com

5. **细菌/细胞样本**：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌/细胞数量 (10^4)：提取液 (mL) 为 500~1000：1 的比例(建议按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液)，超声波破碎细菌或细胞 (功率 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次)，10000 g，离心 10min，取上清待测。

检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **试剂一**：临用前取一瓶加入 4mL 蒸馏水，混匀并加热溶解，应为无色，变黄色则废弃，配好后通常能保存 8 小时。
3. **标准工作液配置**：临用前取一瓶加入 996.4 μ L 提取液，混匀后配置成 20 μ mol/mL 标准品溶液。配置好后 2-8 $^{\circ}$ C 可保存 3 天。20 μ mol/mL 标准品按下表用对应量的提取液稀释成以下浓度的标准品工作液：0 μ mol/mL、0.2 μ mol/mL、0.4 μ mol/mL、0.8 μ mol/mL、1.2 μ mol/mL、1.6 μ mol/mL、2 μ mol/mL、3 μ mol/mL。
(注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。)

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度 (μ mol/mL)	0	0.2	0.4	0.8	1.2	1.6	2	3
20 μ mol/mL 标准品 (μ L)	0	5	10	20	30	40	50	75
提取液 (μ L)	500	495	490	480	470	460	450	425

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准管加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用提取液稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 336nm。
2. 样本测定 (在石英 96 孔板中依次加入) :

试剂名称 (μL)	标准孔	测定孔	对照孔
试剂一	180	180	
不同浓度标准品	20		
蒸馏水			180
样本		20	20
混匀, 避光室温静置 30min, 于 336nm 处读取各孔 OD 值。			

实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$

2. 按样本质量计算：

甲基乙二醛 (MG) 含量($\mu\text{mol/g}$ 质量) $= [(\Delta A-b) \div a \times V_{\text{样}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \times$

$N = (\Delta A-b) \div a \div W \times N$

3. 按细菌或细胞密度计算：

甲基乙二醛 (MG) 含量($\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}$) $= [(\Delta A-b) \div a \times V_{\text{样}}] \div (V_{\text{样}} \times 500) \times N = (\Delta$

$A-b) \div a \times N \div 500$

4. 按液体体积计算：

甲基乙二醛 (MG) 含量($\mu\text{mol/mL}$) $= [(\Delta A-b) \div a \times V_{\text{样}}] \div V_{\text{样}} \times N = (\Delta A-b) \div a \times N$

注：

y: 标准品 OD 值-空白孔 OD 值

ΔA : 测定孔 OD 值-对照孔 OD 值

(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

N: 样本稀释倍数

x: 标准品的浓度

500: 细胞或细菌数量, 万

a: 标曲的斜率

W: 样品质量, g

b: 标曲的截距

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL

$V_{\text{提}}$: 加入提取液体积, 1mL

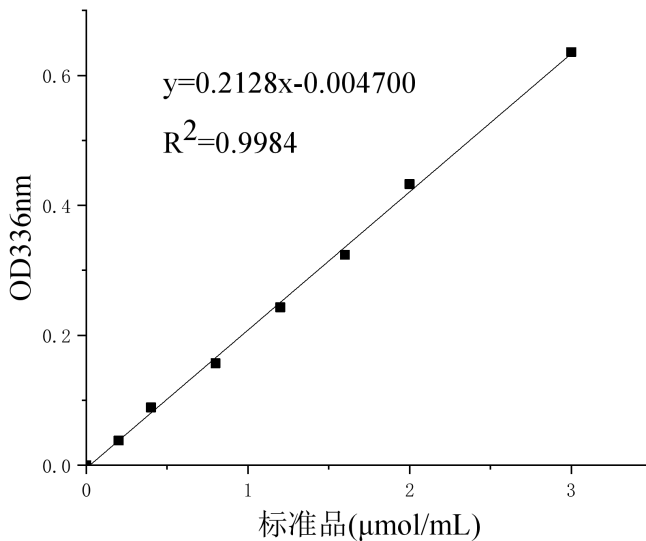
参考样本数据:

以下数据仅供参考:

样本类型	稀释倍数	参考值
大鼠血清	不稀释	0.177 μ mol/mL
大鼠肾脏 (10%匀浆)	5 倍稀释	3.408 μ mol/g
绿萝 (10%匀浆)	5 倍稀释	9.454 μ mol/g

参考曲线:

$y=0.2128x-0.004700$, $R^2=0.9984$, x 是标准品的浓度 (μ mol/mL), y 是 ΔA 。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjls@163.com

网 址：www.jonln.com