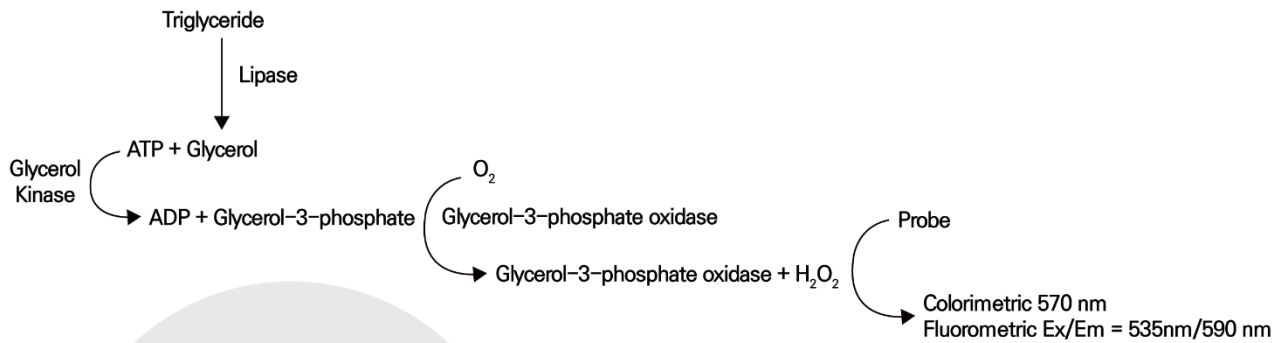


# PicoSens™ Triglyceride Assay Kit

## (Colorimetric / Fluorometric)

BM-TGR-100, 100 assays

### 제품 원리



BIOMAX PicoSens™ Triglyceride Assay Kit (Colorimetric / Fluorometric) 에서 Triglyceride가 Lipase로 인해 Glycerol과 Fatty acid로 분해됩니다. 그 후 Glycerol(Glycerol-6-phosphate)의 인산화과정에서 발생하는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 Probe가 반응하여 흡광도 570 nm, 형광 Excitation/Emission = 535 nm/590 nm에서 측정되며 이를 통해 Sample 내의 Triglyceride 의 양을 확인할 수 있습니다.

### 제품의 구성 및 보관 조건

| Components                            | Size   | Storage |
|---------------------------------------|--------|---------|
| Triglyceride Assay Buffer             | 25 ml  | -20°C   |
| Triglyceride Enzyme Mix (Lyophilized) | 1 vial |         |
| Triglyceride Lipase (Lyophilized)     | 1 vial |         |
| Triglyceride Probe                    | 200 µl |         |
| Triglyceride Standard (1 mM)          | 300 µl |         |

\* 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 -20°C 보관 시 1년간 안정적입니다.

## 검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ 96-well Microplate (Clear, Flat bottom)
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ Water bath
- ▶ Colorimetric microplate reader (570 nm filter) or  
Fluorometric microplate reader (Excitation/Emission = 535 nm/590 nm filter)

## 실험 전 준비 사항 및 보관 방법

- 제품의 모든 구성품은 상온에서 놔두어 완전히 녹인 후 사용합니다.
- Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.

### Triglyceride Assay Buffer

사용 후 -20 °C 또는 4 °C에 보관합니다.

### Triglyceride Enzyme Mix

Triglyceride Assay Buffer 220 µl를 넣고 녹입니다. 사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

### Triglyceride Lipase

Triglyceride Assay Buffer 220 µl를 넣고 녹입니다. 사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

### Triglyceride Probe

사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

### Triglyceride Standard

사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

\* *Standard solution*은 *Clear한 Solution*일 때 사용이 가능합니다. 만약 *Aqueous phase*로 나누어져 있다면 *Hot water bath*에 2-3 min 정도 넣고 녹인 후, *RT*로 식히고 30 sec 간 *Vortexing*을 해줍니다.

## Sample type

- Animal Tissues : Liver, pancreas, heart etc.
- Cell culture : Adipocytes etc.
- Biological fluids : Serum, plasma etc.

## Sample preparation

### Serum

Serum sample의 경우 보통 0.1~6 mM의 Triglyceride을 함유하고 있으므로 Direct로 넣어 사용하실 수 있습니다.

### Tissue / Cell

Tissues (~100 mg), Cells (~1 X 10<sup>7</sup>)이나 Non-aqueous samples의 경우 5% NP-40 in D.W.이 함유된 1 ml 용액에 Homogenize한 후, 80~100°C Water bath에서 2~5 min 간 Heating합니다. 그 후 용액을 RT로 식혀 줍니다. 더 확실히 녹여 주기 위해 위의 과정을 한 번 더 진행합니다. 그 후 Centrifuge를 2 min 간 진행하여 위에 Supernatant만 떼서 진행하고, 실험 진행 전 D.W. 에 10배 희석하여 사용합니다.

## 실험 과정

- \* 미지의 Sample 또는 처음 측정하는 Sample의 경우 측정값이 Standard curve 내에 위치하도록 예비실험 진행한 후 사용을 권장합니다.
- \* Sample의 측정 값이 높은 Background 값을 가지면 측정에 사용한 동일 양의 Sample 을 Background control로 준비합니다.
- \* Standard는 실험할 때마다 Standard solution으로 희석하여 사용하며 희석한 Standard solution은 재사용하지 마십시오.

## Colorimetric method

### Standard preparation

1 mM Triglyceride Standard를 가지고 아래표와 같이 Standard solution을 만들어 사용합니다.

| STD No. | Vol. of 1 mM Standard solution (μl)* | Assay Buffer (μl)* | Final STD Vol. in well (μl/well) | Final STD Amount in well (nmol/well) |
|---------|--------------------------------------|--------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| Blank   | 0                                    | 50                 | 50                               | 0                                    |
| 2       | 2                                    | 48                 | 50                               | 2                                    |
| 3       | 4                                    | 46                 | 50                               | 4                                    |
| 4       | 6                                    | 44                 | 50                               | 6                                    |
| 5       | 8                                    | 42                 | 50                               | 8                                    |
| 6       | 10                                   | 40                 | 50                               | 10                                   |

\* Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.

① 준비된 Sample 2~50 μl를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 Triglyceride Assay Buffer로 50 μl가 되도록 조정합니다.

② 준비된 Standard solution을 각 Well에 50 μl씩 분주합니다.

③ 분주한 Standard well 과 Sample well에 Lipase를 2 μl씩 넣고 상온에서 20 min 동안 Incubation 합니다.

\* 만약 Sample에 Glycerol 성분이 있을 것으로 생각되면 Lipase를 처리하지 않고 얻은 실험 결과값을 Glycerol background control로 설정하여 결과값을 보정해야 합니다.

④ Reaction mix를 아래와 같이 만들어 준비합니다.

\* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 Background control mix를 준비합니다.

| Kit components (Colorimetric) | Mix                   |                                 |
|-------------------------------|-----------------------|---------------------------------|
|                               | Reaction (50 μl/well) | Background Control (50 μl/well) |
| Assay Buffer                  | 46 μl                 | 48 μl                           |
| Enzyme Mix                    | 2 μl                  | - μl                            |
| Probe                         | 2 μl                  | 2 μl                            |

\* 50 μl/well 기준으로 Sample과 Standard well 수를 고려하되 총 소요량보다 약 10% 많은 Reaction mix를 준비합니다. (사용 전 Spin-down)

⑤ Sample과 Standard solution을 분주한 Well에 혼합한 Reaction mix를 50 μl씩 분주합니다.

\* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 준비한 Background control well에 Background control mix 50 μl를 분주합니다.

⑥ 빛을 차단하여 상온에서 30 min 동안 Incubation 후 Microplate reader로 흡광도 570 nm에서 측정합니다.

## Fluorometric method

### Standard preparation

1 mM Standard solution 10  $\mu$ l와 Triglyceride Assay Buffer 90  $\mu$ l를 혼합하여 100  $\mu$ M Standard solution을 만들어 아래 표와 같이 만듭니다.

| STD No. | Vol. of 100 $\mu$ M Fatty Acid Standard ( $\mu$ l) * | Assay Buffer ( $\mu$ l) * | Final STD Vol. in well ( $\mu$ l/well) | Final STD Amount in well (nmol/well) |
|---------|------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------|
| Blank   | 0                                                    | 50                        | 50                                     | 0                                    |
| 2       | 2                                                    | 48                        | 50                                     | 0.2                                  |
| 3       | 4                                                    | 46                        | 50                                     | 0.4                                  |
| 4       | 6                                                    | 44                        | 50                                     | 0.6                                  |
| 5       | 8                                                    | 42                        | 50                                     | 0.8                                  |
| 6       | 10                                                   | 40                        | 50                                     | 1.0                                  |

\* Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.

- 준비된 Sample 2~50  $\mu$ l를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 Triglyceride Assay Buffer로 50  $\mu$ l가 되도록 조정합니다.
- 준비된 Standard solution을 각 Well에 50  $\mu$ l씩 분주합니다.
- 분주한 Standard well 과 Sample well에 Lipase를 2  $\mu$ l씩 넣고 상온에서 20 min 동안 Incubation 합니다.  
\* 만약 Sample에 Glycerol 성분이 있을 것으로 생각되면 Lipase를 처리하지 않고 얻은 실험 결과값을 Glycerol background control로 설정하여 결과값을 보정해야 합니다.
- Reaction mix를 아래와 같이 만들어 준비합니다.

\* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 Background control mix를 준비합니다.

| Kit components (Colorimetric) | Mix                        |                                      |
|-------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
|                               | Reaction (50 $\mu$ l/well) | Background Control (50 $\mu$ l/well) |
| Assay Buffer                  | 47.6 $\mu$ l               | 49.6 $\mu$ l                         |
| Enzyme Mix                    | 2 $\mu$ l                  | - $\mu$ l                            |
| Probe                         | 0.4 $\mu$ l                | 0.4 $\mu$ l                          |

\* 50  $\mu$ l/well 기준으로 Sample과 Standard well 수를 고려하되 총 소요량보다 약 10% 많은 Reaction mix를 준비합니다. (사용 전 Spin-down)

- Sample과 Standard solution을 분주한 Well에 혼합한 Reaction mix를 50  $\mu$ l씩 분주합니다.  
\* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 준비한 Background control well에 Background control mix 50  $\mu$ l를 분주합니다.
- 빛을 차단하여 상온에서 30 min 동안 Incubation 후 Fluorometric microplate reader로  
Excitation/Emission = 535 nm/590 nm 에서 측정합니다.

## 결과 분석

- Triglyceride molecular weight: 885.43 g/mol

- 각 Standard well과 Sample well의 Duplicate 또는 Triplicate 측정값의 평균값을 구합니다.

- 모든 측정값에서 Blank 값을 뺍니다.

\* Sample background control을 설정한 경우 Sample의 측정값에서 Sample background control 측정값과 Blank 측정 값을 모두 뺍니다.

- Standard curve에 Sample의 OD 값을 대입하여 구한 Triglyceride의 양으로 다음 식을 이용하여 Sample 내 Triglyceride의 농도를 구합니다.

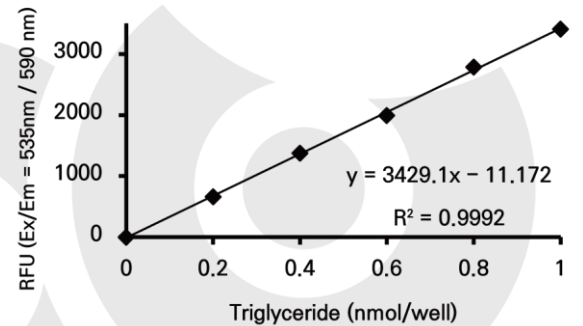
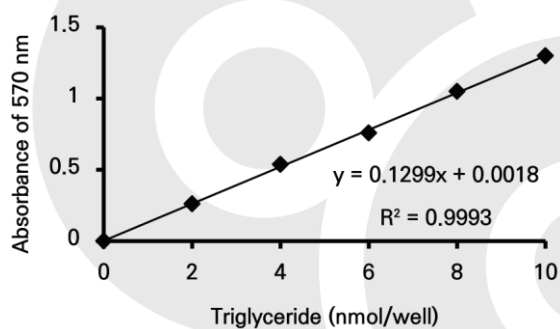
$$C \text{ (nmol/}\mu\text{l or umol/ml or mM)} = B/V \times D$$

C : Sample 의 Triglyceride 농도 (nmol/μl)

B : 측정 Well 의 Triglyceride 양 (nmol)

V : Well 에 분주한 Sample 의 Volume (μl)

D : Sample 희석 배율



## Related products

|              |                                                                             |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| - BM-CDL-100 | PicoSens™ HDL, LDL/VLDL Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)               |
| - BM-FFA-100 | PicoSens™ Free Fatty Acid Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)             |
| - BM-CHO-100 | PicoSens™ PicoSens™ Total Cholesterol Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric) |
| - BM-GLY-100 | PicoSens™ Free Glycerol Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)               |
| - BO-TBR-200 | OxiTec™ TBARS Assay kit (Colorimetric)                                      |

**\* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.**



Homepage : [www.biomax.com](http://www.biomax.com)

Shopping mall : [www.biomaxmall.com](http://www.biomaxmall.com)

E-mail : [info@scgbiomax.com](mailto:info@scgbiomax.com)

Tel : 02-3296-3158 / Fax : 02-973-2858

(주) 바이오맥스 : 경기 구리시 갈매순환로166번길 46, 금강펜테리움 IX타워 CORE-C, 7층

**Note**