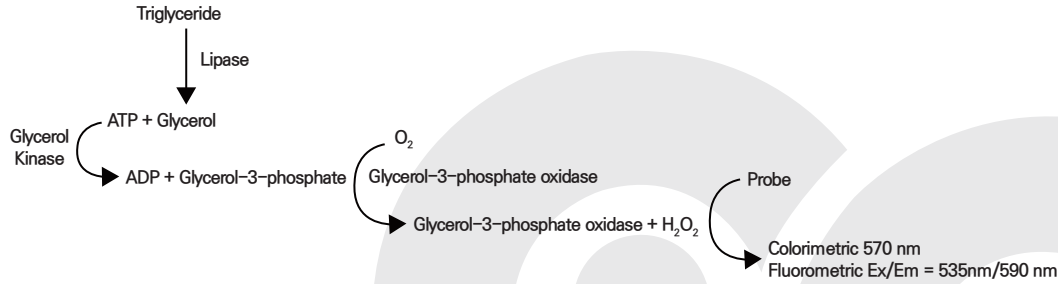


## PicoSens™ Triglyceride Assay Kit (Colorimetric / Fluorometric)

(BM-TGR-100, 100 assays, Store at -20°C)

### 실험 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 Triglyceride의 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 준비사항 및 보관방법

- ▶ 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 solution은 Clear한 Solution일 때 사용이 가능합니다. 만약 Aqueous phase로 나누어져 있다면 Hot water bath에 2-3 min 정도 넣고 녹인 후, RT로 식히고 30 sec 간 Vortexing을 해줍니다.

### Sample type

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

### Sample preparation

#### 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 식혀줍니다. 더 확실히 녹여 주기 위해 위의 과정을 한 번 더 진행합니다. 그 후 Centrifuge를 2 min 간 진행하여 위에 Supernatant만 떠서 진행하고, 실험 진행 전 D.W. 에 10배 희석하여 사용합니다.

#### Serum

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

## 실험 과정

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

## Colorimetric method

### Standard preparation

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

STD No.	Vol. of 1 mM Standard solution ( $\mu\text{L}$ )*	Assay Buffer ( $\mu\text{L}$ )*	Final STD Vol. in well ( $\mu\text{L}/\text{well}$ )	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.

- 준비된 Sample 2~50  $\mu\text{L}$ 를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 Triglyceride Assay Buffer로 50  $\mu\text{L}$  가 되도록 조정합니다.
- 준비된 Standard solution을 각 Well에 50  $\mu\text{L}$  씩 분주합니다.
- 분주한 Standard well 과 Sample well에 Lipase를 2  $\mu\text{L}$ 씩 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 $\mu\text{L}/\text{well}$ )	Background Control (50 $\mu\text{L}/\text{well}$ )
Assay Buffer	46 $\mu\text{L}$	48 $\mu\text{L}$
Enzyme Mix	2 $\mu\text{L}$	- $\mu\text{L}$
Probe	2 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$

- \* 50  $\mu\text{L}/\text{well}$  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  $\mu\text{L}$  씩 분주합니다.  
\* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 준비한 Background control well에 Background control mix 50  $\mu\text{L}$ 를 분주합니다.
- 빛을 차단하여 상온에서 30 min 동안 Incubation 후 Microplate reader로 흡광도 570 nm에서 측정합니다.

## Fluorometric method

### Standard preparation

1 mM Standard solution 10  $\mu\text{L}$ 와 Triglyceride Assay Buffer 90  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여 100  $\mu\text{M}$  Standard solution을 만들어 아래 표와 같이 만듭니다.

STD No.	Vol. of 100 $\mu\text{M}$ Standard solution ( $\mu\text{L}$ )*	Assay Buffer ( $\mu\text{L}$ )*	Final STD Vol. in well ( $\mu\text{L}/\text{well}$ )	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  $\mu\text{L}$ 를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 Triglyceride Assay Buffer로 50  $\mu\text{L}$  가 되도록 조정합니다.
- 준비된 Standard solution을 각 Well에 50  $\mu\text{L}$  씩 분주합니다.
- 분주한 Standard well 과 Sample well에 Lipase를 2  $\mu\text{L}$ 씩 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 (Fluorometric)	Mix	
	Reaction (50 $\mu\text{L}/\text{well}$ )	Background Control (50 $\mu\text{L}/\text{well}$ )
Assay Buffer	47.6 $\mu\text{L}$	49.6 $\mu\text{L}$
Enzyme Mix	2 $\mu\text{L}$	- $\mu\text{L}$
Probe	0.4 $\mu\text{L}$	0.4 $\mu\text{L}$

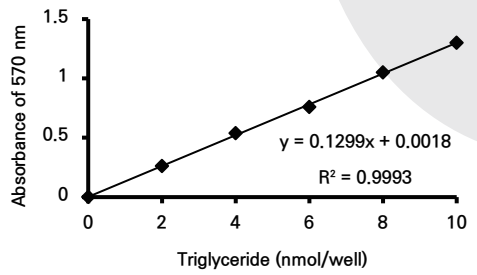
- \* 50  $\mu\text{L}/\text{well}$  기준으로 Sample과 Standard well 수를 고려하되 총 소요량보다 약 10% 많은 Reaction mix를 준비합니다. (사용 전 Spin-down)
- Sample과 Standard solution을 분주한 Well에 혼합한 Reaction mix를 50  $\mu\text{L}$  씩 분주합니다.  
\* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 준비한 Background control well에 Background control mix 50  $\mu\text{L}$ 를 분주합니다.
- 빛을 차단하여 상온에서 30 min 동안 Incubation 후 Fluorometric microplate reader로 Excitation/Emission = 535 nm/590 nm 에서 측정합니다.

## 결과 분석

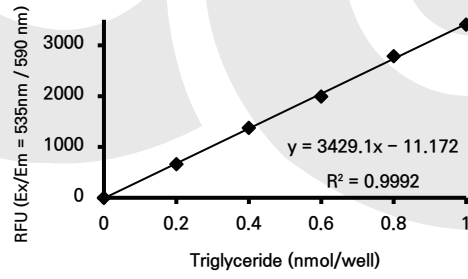
- **Triglyceride molecular weight: 885.43 g/mol**
  - 각 Standard well과 Sample well의 Duplicate 또는 Triplicate 측정값의 평균값을 구합니다.
  - 모든 측정값에서 Blank 값을 뺍니다.
- \* Sample background control을 설정한 경우 Sample의 측정값에서 Sample background control 측정값과 Blank 측정 값을 모두 뺍니다.
- Standard curve에 Sample의 OD 값을 대입하여 구한 Triglyceride의 양으로 다음 식을 이용하여 Sample 내 Triglyceride의 농도를 구합니다.

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

- C : Sample의 Triglyceride 농도 (nmol/ $\mu$ l)  
B : 측정 Well의 Triglyceride 양 (nmol)  
V : Well에 분주한 Sample의 Volume ( $\mu$ l)  
D : Sample 희석 배율



Triglyceride standard curve (Colorimetric)



Triglyceride standard curve (Fluorometric)

### 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™ Total Cholesterol Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)
BO-TBR-200	OxiTec™ TBARS Assay kit (Colorimetric)
BM-GLY-100	PicoSens™ Free Glycerol Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)

\* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.