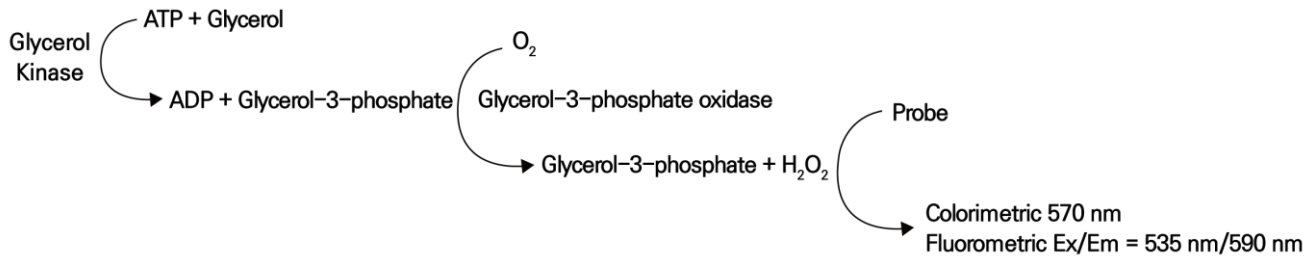


# PicoSens™ Free Glycerol Assay Kit

## (Colorimetric / Fluorometric)

BM-GLY-100, 100 assays

### 제품 원리



BIOMAX PicoSens™ Free Glycerol Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)에서 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 Glycerol의 양을 확인할 수 있습니다.

### 제품의 구성 및 보관 조건

| Components                        | Size   | Storage |
|-----------------------------------|--------|---------|
| Glycerol Assay Buffer             | 25 ml  | -20°C   |
| Glycerol Enzyme Mix (Lyophilized) | 1 vial |         |
| Glycerol Probe                    | 200 µl |         |
| Glycerol Standard (100 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
- ▶ 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.

### Glycerol Assay Buffer

사용 후 -20 °C 또는 4 °C에 보관합니다.

### Glycerol Enzyme Mix

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

### Glycerol Probe

사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

### Glycerol Standard

사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

## Sample type

- Animal tissues
- Cell culture: Adherent or Suspension cells
- Serum

## Sample preparation

### Serum

Serum sample의 경우, Anti-oxidants을 제거 하기 위해 실험을 진행하기 전에 Carrez Reagent Kit (BM-CAR-100) 사용을 권장합니다.

### Tissue / Cell

$1 \times 10^6$  Cells이나 10 mg의 Tissues를 Glycerol Assay Buffer 500  $\mu$ l에 넣고 Homogenize 합니다. 그 후 10,000 xg에서 10 min 간 Centrifuge한 후, 상층액을 새로운 Tube로 옮깁니다. 추출한 Sample 은 필요에 따라 Carrez Reagent Kit (BM-CAR-100)를 이용하여 정제합니다.

\* Sample 결과에 영향을 줄 수 있는 단백질, 지질 또는 Turbidity를 제거하기 위한 전처리가 필요할 시 당사로 문의 바랍니다. (Cat# BM-CAR)

## 실험 과정

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

## Colorimetric method

### Standard preparation

100 mM Glycerol Standard 10  $\mu$ l와 Glycerol Assay Buffer 990  $\mu$ l를 혼합하여 1 mM Standard solution을 만들어 아래 표와 같이 만듭니다.

| STD No. | Vol. of 1 mM Standard solution ( $\mu$ l)* | Assay Buffer ( $\mu$ l)* | Final STD Vol. in well ( $\mu$ l/well) | Final STD Amount in well ( $\mu$ g/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  $\mu$ l를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 Glycerol Assay Buffer로 50  $\mu$ l가 되도록 조정합니다.

- Serum sample일 경우 10  $\mu$ l 분주 후 Glycerol Assay Buffer로 50  $\mu$ l가 되도록 조정합니다.

② 준비된 Standard solution을 각 Well에 50  $\mu$ l씩 분주합니다.

③ 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                  | 46 $\mu$ l                 | 48 $\mu$ l                           |
| Enzyme Mix                    | 2 $\mu$ l                  | - $\mu$ l                            |
| Probe                         | 2 $\mu$ l                  | 2 $\mu$ l                            |

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

④ 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.

⑤ 빛을 차단하여 상온에서 30 min 동안 Incubation 후 Microplate reader로 흡광도 570 nm에서 측정합니다.

## Fluorometric method

### Standard preparation

100 mM Glycerol Standard 10  $\mu$ l와 Glycerol Assay Buffer 990  $\mu$ l를 혼합하여 1 mM Standard solution을 만듭니다.  
1 mM Standard solution 10  $\mu$ l와 Glycerol 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 ( $\mu$ g/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 Fatty Acid Assay Buffer로 50  $\mu$ l가 되도록 조정합니다.
- 준비된 Standard solution을 각 Well에 50  $\mu$ l씩 분주합니다.
- 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                  | 47.5 $\mu$ l               | 49.5 $\mu$ l                         |
| Enzyme Mix                    | 2 $\mu$ l                  | - $\mu$ l                            |
| Probe                         | 0.5 $\mu$ l                | 0.5 $\mu$ 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

### - Glycerol molecular weight: 92.09 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 Palmitic acid 의 양으로 다음 식을 이용하여 Sample 내 Glycerol의 농도를 구합니다.

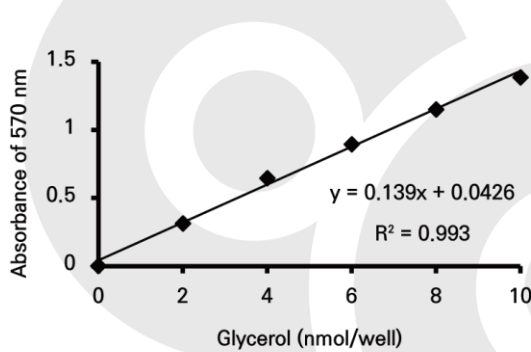
$$C \text{ (nmol/}\mu\text{l or }\mu\text{mol/ml or mM)} = B/V \times D$$

C : Sample 의 Glycerol 농도 (nmol/μl)

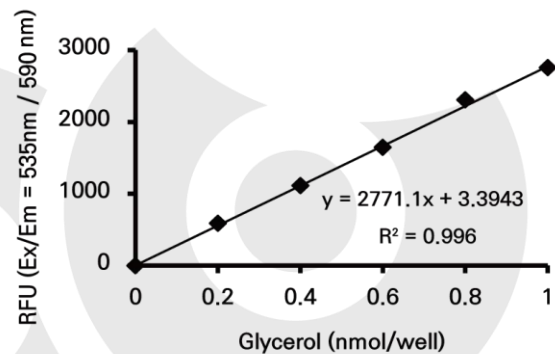
B : 측정 Well의 Glycerol 양 (nmol)

V : Well 에 분주한 Sample의 Volume (μl)

D : Sample 희석 배율



Glycerol standard curve (Colorimetric)



Glycerol 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-TGR-100 | PicoSens™ Triglyceride Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)        |
| - BM-CHO-100 | PicoSens™ Total Cholesterol 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**