

TMB One Solution (HRP-based ELISA)

单组分 TMB 显色液 (ELISA, HRP 显色用)

产品信息

产品名称	产品编号	规格	储存
TMB One Solution (HRP-based ELISA) 单组分 TMB 显色液 (ELISA, HRP 显色用)	36602ES60	100ml	4°C 避光保存

产品描述

TMB, 即3, 3',5, 5'-Tetramethylbenzidine, 中文全称3,3',5,5'-四甲基联苯胺, 是辣根过氧化物酶 (HRP) 的常用显色底物之一。在HRP的催化下, TMB被过氧化氢 (H₂O₂) 氧化生成蓝色产物。主要吸收峰在370nm和652nm。在加入硫酸或者磷酸终止上述反应后, 产物转变为黄色, 最大吸收峰为450 m。传统的TMB显色试剂通常以AB液形式提供 (TMB和H₂O₂溶液分到两管, 仅在使用前才可混合使用), 并且容易产生沉淀, 使用起来相对不方便, 且容易导致操作误差。为克服以上缺点, 我司采用最新的TMB显色技术, 将所有相关试剂全部混合配成单一溶液。具有以下优点:

- 1) 即开即用, 操作简单, 使用前无需做AB液混合的准备; 检测灵敏度不低于AB液体系;
- 2) 仅由单一溶液组成, 简化了操作步骤, 也降低了操作误差, 结果更加稳定;
- 3) 含有独特的稳定剂, 保证溶液4°C下长期保存;
- 4) 相比于其他HRP酶显色底物 (如ABTS和OPD) 相比, 检测灵敏度更高, 而且本TMB溶液不含有DMF或DMSO等有机溶剂, 安全无毒;
- 5) 另外, TMB溶液可分为沉淀可溶型和沉淀不可溶型, 前者适用于ELISA及其他通过液体反应检测HRP的应用, 后者适用于WB或其他通过沉淀反应检测HRP的应用。

本品为单一溶液形式且沉淀可溶型的TMB显色液, 适用于ELISA检测, 操作时只需加入200μl即用型的显色液, 做简单孵育, 加入2M H₂SO₄终止反应后, 即可用分光光度计在450nm处测定吸光度。本品可供完成约500个样品的检测。另外, 本品也可用于血液或血红蛋白等样品中过氧化物酶量的检测。

运输和保存方法

冰袋运输。4°C避光保存, 一年有效。

注意事项

- 1) TMB 对人体有刺激性, 请注意适当防护。
- 2) 正常情况, 本显色液呈现无色或者淡蓝色 (OD_{650nm}<0.04)。若是出现浑浊, 或者颜色明显很蓝, 应停止使用。
- 3) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用方法

- 1) 使用之前, 取出适量单组份 TMB 显色液, 使其回到室温再开始使用;
- 2) **对于 ELISA 检测:** 参考 ELISA 检测试剂盒的实验步骤, 当加入 HRP 标记的抗体并孵育一段时间后, 用适当洗涤液洗涤 3-5 次, 每次 3-5min。洗涤完毕后, 去除洗涤液, 加入 200μl TMB 显色液。
对于在 96 孔板内进行的其他适当检测 (如检测组织或细胞样品内源性过氧化物水平): 直接在 96 孔板内加入 10-20μl 样品, 之后加入 200μl TMB 显色液;
- 3) 室温避光孵育 3-30min 或更长时间 (可长达 24h), 直至显色至预期深浅 (此时反应液为蓝色)。
- 4) 加入 50μl 2M H₂SO₄ 终止反应, 溶液由蓝色转变为黄色, 随后在 450nm 测定吸光度。**或直接在 370nm 或 652nm 测定吸光度。**

常见问题

1. 背景显色太深

- 1) 如果背景（没有样品的对照）显色太深，一方面需考虑使用适当的封闭液进行封闭，如商业化的封闭液或者商业化的和一抗相同来源的血清（5-10%）进行封闭。另一方面，直接使用经过适当亲和吸附的二抗，以减小二抗的非特异性交叉吸附。
- 2) 可以考虑缩短显色时间，或降低二抗浓度。另外，选择适当强度的洗涤液，或延长洗涤时间也会有所帮助。
- 3) 可考虑TMB底物本身反应过于强烈。为了避免沉淀的产生，可在终止反应后马上读数，或者进一步稀释一抗和/或HRP结合物。

2. 没有显色或显色太弱

- 1) 适当提高一抗或二抗的浓度。检测二抗效果，滴一滴稀释二抗在离心管内，检测二抗是否被正常显色。
- 2) 可以考虑使用更加灵敏的放大检测体系，例如使用生物素检测体系。
- 3) 可以适当延长显色时间。
- 4) 如果上述改进不能获得预期效果，可以考虑更换效果更好的一抗或 ELISA 试剂盒。

相关产品

36315ES60 TMB One Solution (HRP-based IHC/WB) 单组分 TMB 显色液（组化或者膜，HRP 显色）100ml