

## TMB Chromogen Solution (HRP-based ELISA)

### TMB 显色液 (ELISA HRP 显色用)

产品编号: PL0047

规格: 100ml、500ml

#### 产品简介:

TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) 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  $H_2O_2$  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 nm。传统的 TMB 显色试剂通常以 AB 液形式提供 (TMB 和  $H_2O_2$  溶液分到两管, 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, 我们采用最新的 TMB 显色技术, 将所有相关试剂混合配成单一溶液, 本产品具有以下特点:

- 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。

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 200 $\mu$ l 即用型的显色液, 做简单孵育, 加入 ELISA 终止液 (BL1171A) 或 2M  $H_2SO_4$  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。

#### 使用方法:

1、使用之前, 取出适量 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 200 $\mu$ l 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 10-20 $\mu$ l 样品, 之后加入 200 $\mu$ l 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 50 $\mu$ l ELISA 终止液 (BL1171A) 或 2M  $H_2SO_4$  终止反应, 溶液由蓝色转变为黄色, 随后在 450nm 测定吸光度。或着在 370nm 或 652nm 测定吸光度。

#### 常见问题:

##### 一、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。

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HRP 结合物。

## 二、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。

## 注意事项：

1、TMB 对人体有刺激性，操作时请小心，并注意适当防护以避免直接接触人体或吸入体内。

2、本产品为无色至微蓝色透明溶液，如果发现 TMB 显色液出现混浊或颜色变成较深的蓝色，应该停止使用。

3、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 保存条件：

4℃避光保存，有效期一年。

