

## TMB substrate solution for ELISA

### 产品描述

TMB, 即3, 3', 5, 5' -Tetramethylbenzidine, 是辣根过氧化物酶的常用底物。在辣根过氧化物酶或其他适当过氧化物酶的催化下, TMB会产生可溶性蓝色产物。在加入终止液后, 可使用酶标仪进行检测。当使用H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>或者HCl作为终止液时, 将产生黄色产物, 通过使用酶标仪在 450 nm 处实现准确的强度测量。当使用NaF作为终止液时, 在650nm处有较强光吸收, 可在620-650nm测定吸光度。

通过辣根过氧化物酶(HRP)催化TMB显色, 本产品可用于ELISA等实验的显色。本显色液也可以用于检测血液或血红蛋白等样品中的过氧化物酶含量。

### 产品组分及储存条件

产品名称	K1131-100 mL	K1131-500 mL
TMB substrate solution for ELISA	100 mL	500 mL
4°C 避光保存, 一年有效。		

### 操作流程

#### 1. 对于ELISA检测:

- (1) 根据ELISA试剂盒的实验步骤, 在与HRP标记的抗体或者链霉素孵育完成后, 用适当洗涤液洗涤3-5次, 在最后一次清洗完成后, 置于厚吸水纸上拍干。
- (2) 每孔加入100  $\mu$ L TMB显色液。
- (3) 室温避光孵育10-30min或更长时间, 直至显色至预期深浅。
- (4) 当使用2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>终止反应时, 加入50  $\mu$ L 2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 随后测量450 nm 吸光度。当使用浓度较低的酸作为终止液时, 比如0.16 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 建议加入100  $\mu$ L。您也可以选择加入其它的终止液, 并使用相应的波长进行检测。

#### 2. 对于在96孔板内进行的其他合适检测 (例如检测组织或细胞样品内源性的过氧化物酶):

- (1) 直接在96孔板内每孔加入10-20 $\mu$ L样品。
- (2) 加入100 $\mu$ L TMB显色液。
- (3) 室温避光孵育10-30min或更长时间, 直至显色至预期深浅。
- (4) 加入显色终止液终止反应, 使用酶标仪进行测量。

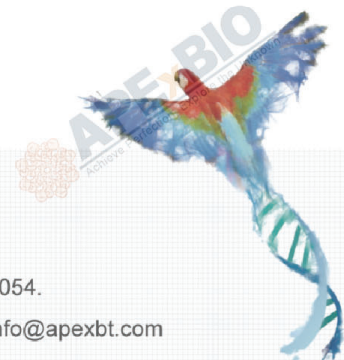
## ■ 注意事项

### 1. 背景显色太深

- (1) 如果背景显色太深，一方面需考虑使用适当的封闭液进行封闭，例如选购适当的封闭液或使用和一抗相同来源的血清(10%)进行封闭。另一方面，请选购经过适当吸附的二抗，以减小二抗的非特异性吸附。
- (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。

### 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，检测二抗是否可以被正常显色。
- (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。



**APExBIO Technology**  
**www.apexbt.com**

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com