

高灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用)

产品编号	产品名称	包装
P0206-100ml	高灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用)	100ml
P0206-500ml	高灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用)	500ml

产品简介:

- 高灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用) (High Sensitivity TMB Chromogen Solution for ELISA, High Sensitivity TMB Substrate Solution for ELISA, or High Sensitivity TMB Solution for ELISA), 简称高灵敏TMB或高敏TMB, 是一种采用了最新单一溶液TMB显色技术, 通过辣根过氧化物酶(HRP)催化TMB显色, 用于ELISA等的低背景、高灵敏显色液。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。
- 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[1,2]。蓝色产物通常可以在370nm或620-650nm测定吸光度。辣根过氧化物酶催化TMB显蓝色后可以使用碧云天的TMB显色终止液(450nm, 不含硫酸) (P0215)、TMB显色终止液(650nm, 无腐蚀性) (P0217)或自行配制的2M H₂SO₄终止反应。加入TMB显色终止液(450nm, 不含硫酸)或硫酸后, 溶液呈黄色, 此时可以在450nm测定吸光度; 加入TMB显色终止液(650nm, 无腐蚀性)后, 溶液保持蓝色不变, 此时可在620-650nm测定吸光度。
- 本显色液为即用型单组份溶液, 无需另外添加过氧化氢等试剂。通常的TMB显色试剂由多个组份组成, 必须在使用前进行配制, 并且容易产生沉淀, 使用相对不太方便, 并且也容易导致检测结果不太稳定。本显色液采用了最新的TMB显色技术, 把所有的相关试剂全部配制在一个溶液中, 仅由单一溶液组成, 简化了操作步骤, 并且使检测结果更加稳定可靠。
- 本显色液为水溶液, 其中不含DMF或DMSO等有机溶剂, 也不含酒精, 使用安全无毒。
- 本产品与TMB显色液(ELISA HRP显色用) (P0209)相比, 具有更快的反应速率和约2倍的检测灵敏度; 反应速率介于P0209和超灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用) (P0208)之间。本产品和P0209及P0208与相同浓度辣根过氧化物酶(HRP)标记Streptavidin反应速率和检测灵敏度的比较参见图1。

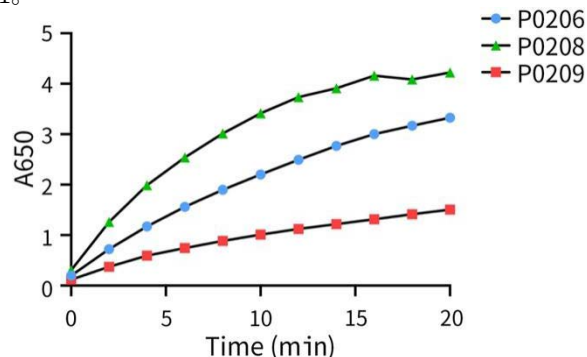


图1. 碧云天高灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用) (P0206)、超灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用) (P0208)和TMB显色液(ELISA HRP显色用) (P0209)检测反应动力学和检测灵敏度的对比图。辣根过氧化物酶标记Streptavidin (A0303)用PBS进行稀释后, 取20 μ l加入孔板中, 各加入100 μ l P0206 (本产品)、P0208和P0209, 使辣根过氧化物酶标记Streptavidin (A0303)的反应浓度为原液浓度的0.0001%, 反应在25 $^{\circ}$ C下持续进行, 并且每2分钟检测一次650nm处的吸光度。从结果可知, P0206反应速率约为P0209的2倍, 但低于P0208。实测数据会因试剂、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 本产品和TMB显色液(ELISA HRP显色用) (P0209)相比, 具有更高的检测灵敏度和更低的检测下限。本产品和P0209及P0208对不同浓度辣根过氧化物酶(HRP)标记Streptavidin的检测效果参见图2。

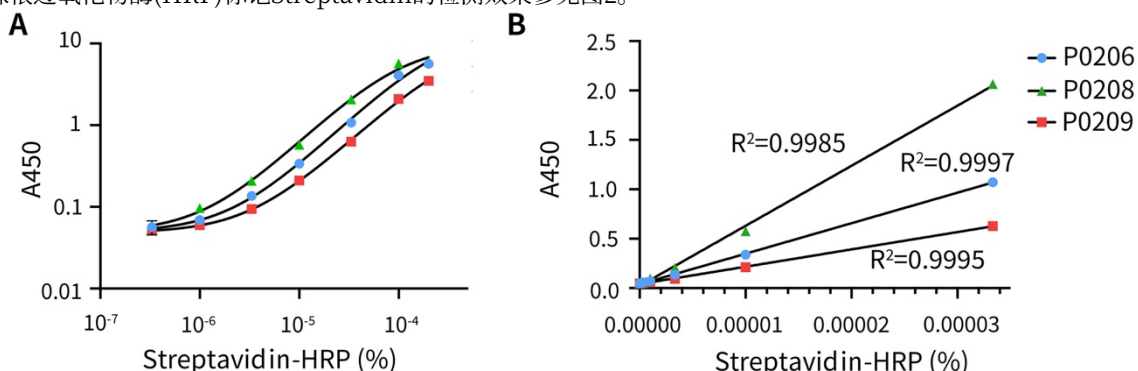


图2. 碧云天高灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用) (P0206)、超灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用) (P0208)和TMB显色液(ELISA HRP显色用) (P0209)检测效果图。将辣根过氧化物酶标记Streptavidin (A0303)用PBS进行梯度稀释后, 各取20 μ l加入孔板中, 加入100 μ l P0206 (本产品)、P0208和P0209, 使HRP标记Streptavidin在反应中浓度如图中所示。室温避光孵育5分钟后, 加入100 μ l TMB显色终止液(450nm, 不含硫酸) (P0215)终止反应, 检测450nm处的吸光度。图A为检测的标准曲线, HRP标记Streptavidin浓度为横坐标, A450为纵坐标, 并进行了ELISA中常用到的四参数拟合(Four parameter logistic regression, 4PL)。图B为检测低浓度HRP标记Streptavidin的吸光度, 并进行了线性拟合。从图中可见, 在适宜的HRP浓度范围内, P0206的检测信号值约为P0209的2倍。实测数据会因试剂、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 本试剂盒最常用于ELISA检测, 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。
- 用于ELISA检测时, 每个样品通常使用0.1毫升显色液, 每100ml本产品共可以检测约1000个样品。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P0206-100ml	高灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用)	100ml
P0206-500ml	高灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用)	500ml
—	说明书	1份

保存条件:

4°C避光保存, 一年有效。

注意事项:

- 本产品不推荐-20°C避光冻存。本产品反复冻融3次, 检测信号会下降约10%。
- 本产品应避免暴露于直射光源下, 避免接触热源、金属以及氧化物。
- 使用时建议吸出或倒出所需用量使用, 尽量避免直接从瓶中进行移液操作; 未使用的多余溶液请勿倒回。
- 本产品为无色至微黄色透明溶液, 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。
- 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。
- 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, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 对于ELISA检测:
 - a. 使用前请将高灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用)平衡至室温。
 - b. 参考ELISA试剂盒的实验步骤, 在与辣根过氧化物酶标记的抗体孵育后, 用适当洗涤液洗涤3-5次, 每次3-5分钟。
 - c. 洗涤完毕后, 去除洗涤液, 加入100微升高灵敏TMB显色液。
 - d. 室温避光孵育3-30分钟, 直至显色至预期深浅。本产品反应速度较快, 如有必要可适当缩短反应时间。
 - e. 直接在370nm或620-650nm测定吸光度。或加入100微升碧云天的TMB显色终止液(450nm, 不含硫酸) (P0215)或TMB显色终止液(650nm, 无腐蚀性) (P0217), 或自行配制2M H₂SO₄终止反应, 随后在相应波长测定吸光度。
2. 对于在96孔板内进行的其它适当检测 (例如检测组织或细胞样品内源性的过氧化物酶):
 - a. 直接在96孔板内每孔加入10-20微升样品。
 - b. 加入100微升高灵敏TMB显色液。
 - c. 室温避光孵育3-30分钟或更长时间, 直至显色至预期深浅。
 - d. 直接在370nm或620-650nm测定吸光度。或加入100微升碧云天的TMB显色终止液(450nm, 不含硫酸) (P0215)或TMB显色终止液(650nm, 无腐蚀性) (P0217), 或自行配制2M H₂SO₄终止反应, 随后在相应波长测定吸光度。

常见问题:

1. 背景显色太深。
 - a. 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, 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。
 - b. 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。
 - a. 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。
 - b. 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。
 - c. 可以适当延长显色时间。
 - d. 可以考虑使用更灵敏的TMB显色液, 如碧云天超灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用) (P0208)以获得更好的显色效果。
 - e. 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。

参考文献:

1. Josephy PD, Eling T, Mason RP. J Biol Chem. 1982. 257(7):3669-3675.
2. Liem HH, Cardenas F, Tavassoli M, Poh-Fitzpatrick MB, Muller-Eberhard U. Anal Biochem. 1979. 98(2):388-393.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
P0206-100ml	高灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用)	100ml
P0206-500ml	高灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用)	500ml
P0208-100ml	超灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用)	100ml
P0208-500ml	超灵敏TMB显色液(ELISA HRP显色用)	500ml
P0209-100ml	TMB显色液(ELISA HRP显色用)	100ml
P0209-500ml	TMB显色液(ELISA HRP显色用)	500ml
P0215-100ml	TMB显色终止液(450nm, 不含硫酸)	100ml
P0215-500ml	TMB显色终止液(450nm, 不含硫酸)	500ml
P0217-100ml	TMB显色终止液(650nm, 无腐蚀性)	100ml

Version 2023.11.15