



超敏型单组分TMB显色液（HRP-ELISA专用）说明书

货号：WGD-X-3100161

一 产品介绍

TMB，即 3,3',5,5'-四甲基联苯胺，是 HRP 酶的常用显色底物，在 HRP 酶的催化下会产生可溶性蓝色产物。加入 TMB 显色终止液（450 nm 或 650 nm）后可在相应波长测定吸光度。在 HRP 酶的显色反应体系中，TMB 因比其它色原具有更高的灵敏度且无致癌性被广泛应用。

超敏型单组分 TMB 显色液（HRP-ELISA 专用）为即用型单组分溶液，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，需在使用前进行配制且容易产生沉淀，使用相对不便，易导致检测结果不稳定。本品采用最新的单组分显色技术，简化了操作步骤，具有低本底、稳定、批间差小、不同灵敏度可选等优点，提供了优越的信号反应体系。由于生成可溶性蓝色产物，不适用于膜或者组化显色。

二 产品目录

产品名称	规格
超敏型单组分 TMB 显色液（HRP-ELISA 专用）	50 mL

三 产品组成

组分	含量
超敏型单组分 TMB 显色液	50 mL

四 产品用途

适用于 ELISA 试剂盒的研发和生产应用。

五 产品特点

1. 即用型单组分溶液，无需另外添加过氧化氢等试剂。
2. 灵敏度高，低至皮克级的检测限。
3. 显色速度快，根据条件 3 ~ 30 min 内完成显色。
4. 背景低，底物在 650 nm 检测时 OD 值小于 0.05。
5. 不含任何有机溶剂，也无需有机溶剂稀释。

六 注意事项

1. 本系列产品显色生成可溶性蓝色产物，不适用于膜或者组化显色。
2. 本系列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。
3. 使用时提前吸出或倒出所需用量，避免直接从瓶中进行移液；未使用的多余溶液请勿倒回。
4. 本系列产品为无色至微黄色透明溶液，如出现混浊或颜色变成较深的蓝色，应停止使用。
5. 本系列产品仅限于专业人员科研使用，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。
6. TMB 对人体有刺激性，操作时请小心并注意适当防护以免直接接触人体或吸入体内，请穿实验服并戴一次性手套。



使用方法

一、对于 ELSIA 检测：

- 1. 使用前请将 TMB 显色液（ELISA HRP 显色用）平衡至室温。
- 2. 参考标准 ELISA 实验步骤，在 96 孔板中完成孵育和洗涤。
- 3. 洗涤完毕后，去除洗涤液，加入 100 μ L TMB 显色液。
- 4. 室温避光孵育 3 ~ 30 min，直至显色至预期深浅。
- 5. 加入 100 μ L TMB 终止液（450 nm 或 650 nm）终止反应，并在相应波长测定吸光度。

二、对于在 96 孔板内进行的其它检测（如检测组织或细胞样品内源性过氧化物酶）：

- 1. 直接在 96 孔板内每孔加入 10 ~ 20 μ L 样品。
- 2. 加入 100 μ L TMB 显色液。
- 3. 室温避光孵育 3 ~ 30 min 或更长时间，直至显色至预期深浅。
- 4. 加入 100 μ L TMB 终止液终止反应，稳定后在相应波长测定吸光度。

储存和运输条件

2 ~ 8℃避光保存，有效期为 24 个月。2 ~ 8℃运输。

常见问题及解决方法

问题	可能原因	解决办法
信号弱或无信号	抗原抗体结合出现问题	优化孵育结合过程或更换更优抗体
	抗原或一抗、二抗的量不足	增加抗原或一抗、二抗的量
	HRP 酶活性低	测试方法见表格注释*
	显色时间不足或室温过低	延长显色时间，适当提高显色温度
高背景	显色液变质	更换新的显色液，避免污染
	封闭不合适	选择合适的封闭液进行封闭，如我司的 AC0409/AC0701
	非特异性结合	选用经过优化的二抗，以减少二抗的非特异性吸附
	洗涤不充分	增加洗涤时间、次数
	显色时间过长	缩短显色时间
沉淀或浑浊	抗原或一抗、二抗、HRP 浓度过高	稀释一抗、二抗、HRP 浓度
	系统中存在 SDS	不使用 SDS
	显色时间过长	缩短显色时间

*为检测系统活性，在白色 96 孔板中加入 100 μ L 显色液，再添加 100 μ L 适当比例稀释的 HRP 标记二抗（例如 5 ~ 10 万倍），溶液应当迅速变为蓝色。