

## TMB 基質套組使用說明

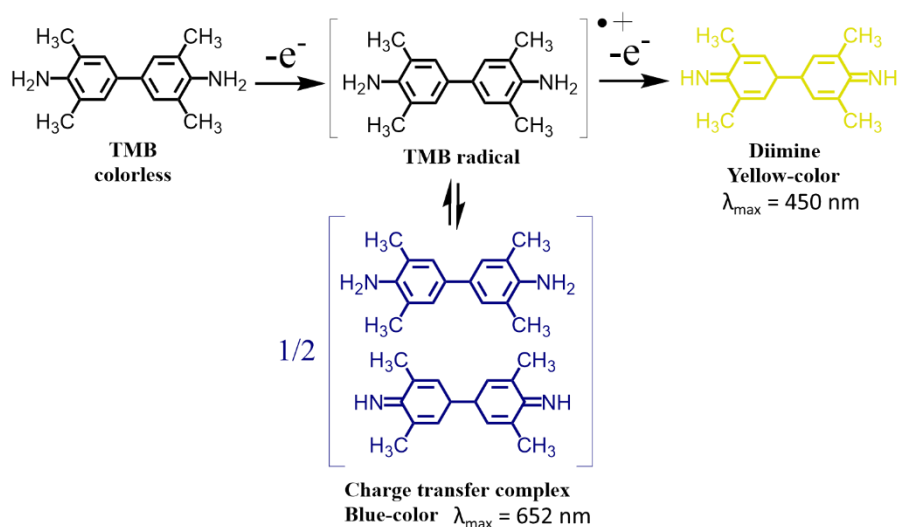
## TMB Substrate Kit Product Information

## 快速使用指引

1. 存放條件：必須在避光與冷藏下(4 °C)存放，正確保存可存放逾一年。
2. 使用 96 孔盤，每孔位各添加 50 μL TMB 與 50 μL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution，共 100 μL。
3. 孵育 30-60 分鐘。在 620-650 nm 處，讀取可見光吸收強度。
4. 加入 100 μL 終止液 ( 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液 )。
5. 在 450 nm 處，讀取可見光吸收強度。

## 一、產品簡介

聚創新材料之“易來視®TMB基質套組”專為辣根過氧化物酶(HRP)檢測而設計。如圖一所示，以3,3',5,5'-四甲基聯苯胺 (TMB)，做為ELISA、ELISPOT、IHC 和 Western blotting等檢測方法之顯色基質，提供高訊號和高靈敏度。當使用可見光光譜儀或孔盤酶標儀時，TMB可被過氧化物酶催化產生藍色，並在 620-650 nm處讀取。透過添加2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 終止液，藍色變為黃色，從而能夠更準確地測量 450 nm處的強度。而當使用於轉漬方式時，TMB基質將產生之藍色痕跡，可標定在發生氧化反應的膜表面或組織樣本上。



圖一、TMB基質溶液原理說明圖

## 二、套組內容、運送與儲存：

|                                                   |                |      |             |
|---------------------------------------------------|----------------|------|-------------|
| 套組組成                                              | 1000T 包裝       | 運送   | 儲存          |
| TMB solution (Reagent A)                          | 50 mL 棕色螺蓋塑膠瓶  | 室溫避光 | 4 °C避光可保存一年 |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> solution(Reagent B) | 50 mL 白色螺蓋塑膠瓶  |      |             |
| Stop solution                                     | 100 mL 白色螺蓋塑膠瓶 |      |             |

### 三、產品使用步驟：

#### 1. 96 孔盤酶標儀：

- 1.1 將所有溶液回溫至室溫。
- 1.2 每孔位各添加 50  $\mu\text{L}$  TMB 與 50  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  solution，共 100  $\mu\text{L}$ 。  
PS.建議按 1:1 比例，先混合所需體積，在分注到各孔位，以減少孔位間的誤差。
- 1.3 室溫孵育 30 至 60 分鐘。
- 1.4 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  終止液 ( 2 N 硫酸水溶液 )。
- 1.5 在 450 nm 處，讀取可見光吸收強度。

#### 2. 西方轉漬法：

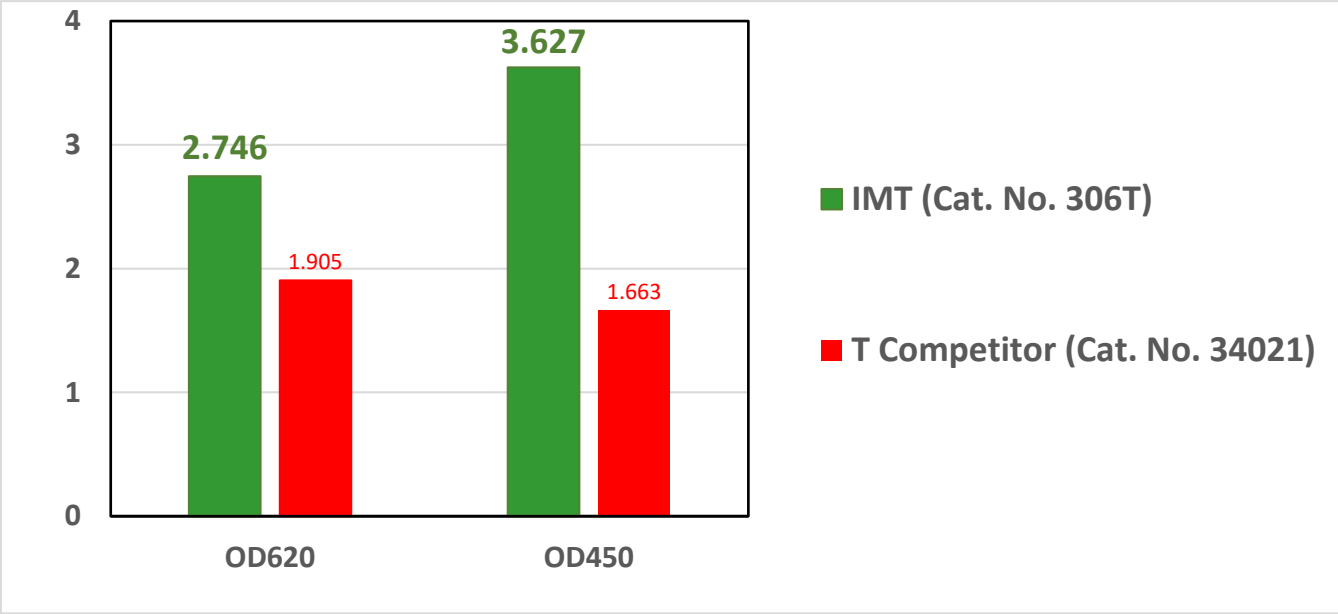
- 2.1 將所有溶液回溫至室溫。
- 2.2 從轉移裝置中取出印跡膜，並以封閉緩衝液在室溫下振盪 10-30 分鐘，封閉未反應位點。
- 2.3 加入一抗，在室溫下振盪孵育膜 1 小時。
- 2.4 用 PBS-T 清洗膜。
- 2.5 加入 HRP 標記的二抗，室溫振盪孵育膜 1 小時。
- 2.6 用 PBS-T 清洗膜。
- 2.7 視所需體積，按 1:1 比例，混合本產品之 TMB 與  $\text{H}_2\text{O}_2$  solution。
- 2.8 將膜置於上述混合液，液面完全覆蓋過膜，在搖床晃動下，仔細監測顯色情況。用去離子水沖洗膜終止反應。

#### 3. 組織化學染色：

- 3.1 將所有溶液回溫至室溫。
- 3.2 將組織切片以 HRP 標記的二抗一起孵育後，以 PBS 沖洗組織 3 次。
- 3.3 視所需體積，按 1:1 比例，混合本產品之 TMB 與  $\text{H}_2\text{O}_2$  solution。
- 3.4 加入上述混合液，覆蓋組織切片，在搖床晃動下，仔細監測顯色情況。
- 3.5 用去離子水沖洗切片，終止反應。

注意：TMB 顯色後，可溶於酒精和有機溶劑，因此，請使用水性複染劑和封固劑。

四、本產品與市售品平行測試結果：



圖二、上圖為本產品與市場其他品牌平行測試結果。使用 10  $\mu$ L 濃度為 12.5 ng/mL 的 HRP 溶液，添加 50  $\mu$ L TMB 與 50  $\mu$ L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液，在室溫下孵育 45 分鐘，測量 OD620。隨後加入 100  $\mu$ L stop solution，測量 OD450。

聚創新材料股份有限公司  
IMT FORMOSA New Materials Co., Ltd.  
電話 Phone: 0926-159317  
電郵 Email: [polycreatives@outlook.com](mailto:polycreatives@outlook.com)  
聯絡人 Contact: Peter Hsu

