

Flag-Tag（竞争法）快速检测卡

货号	规格
RA10084	10T
RA10084	100T

常温保存，保质期一年

一、简介

Flag-Tag（竞争法）快速检测卡是基于胶体金侧向层析技术的蛋白半定量检测试剂。主要结构由样品垫、金标垫、层析膜、吸水纸、背板等组成。在层析膜上固定有金标抗体的二抗（质控线）和带有 Flag-tag 的蛋白（检测线）；在金标垫上固定有胶体金标记的抗 Flag-Tag 的单克隆抗体。当待测样品滴加到样品垫时，通过毛细作用，液体向金标垫移动。当不含有 Flag-Tag 蛋白的待测样品通过金标垫时，Flag-Tag 金标抗体随着层流移动到检测线位置，与固定在检测线上的带有 Flag-tag 的蛋白发生特异性结合，并在检测线上形成紫红色条带；当含有 Flag-Tag 蛋白的待测样品通过金标垫时，Flag-Tag 金标抗体与待测样本中的 Flag-Tag 蛋白发生特异性的结合，样本中含有的 Flag-Tag 蛋白越多，与之结合的金标 Flag-Tag 抗体越多，剩余的游离 Flag-Tag 金标抗体越少，随着层流移动到检测线位置，游离的 Flag-Tag 金标抗体与固定在检测线上的带有 Flag-tag 的蛋白发生特异性结合，并在检测线上形成淡淡的紫红色条带或者不显带。当复合物移动到质控线时，Flag-Tag 金标抗体被包被在质控线的金标抗体二抗所捕获，并在质控线上形成紫红色条带。通过判读层析膜上检测线和质控线是否显色及显色的强弱，判断样品中是否存在 Flag-Tag 蛋白。本卡检测下限为 $1\mu\text{g/mL}$ ，即当待测样品中 Flag-Tag 蛋白的浓度达到 $1\mu\text{g/mL}$ 及以上浓度时，检测线的强度会被有效的削弱，显示出淡淡的紫红色条带或不显色。当检测样品中 Flag-Tag 蛋白浓度在 $1\mu\text{g/mL}$ 至 $10\mu\text{g/mL}$ 时，检测线颜色的深浅与样品中 Flag-Tag 蛋白的浓度呈负相关。当样本中的 Flag-Tag 蛋白浓度达到 $10\mu\text{g/mL}$ 以上时，检测线发生消线即无肉眼可见条带出现。

二、用途

原核表达系统、真核表达系统获得的 Flag-Tag 蛋白产物，均可以使用本检测卡进行快速检测。

三、组成

1) 检测卡；2) 层析液；3) 说明书

四、使用方法

1. 将本检测卡包装打开，将卡平放在实验台面上；
2. 待测样本的预稀释：
若待测标签蛋白浓度已知，则利用试剂配套的层析液直接稀释样本至 $3\mu\text{g/mL}$ ；
若待测标签蛋白浓度未知，则利用试剂配套的层析液对来源于细菌裂解液的待测样本进行 25 倍稀释，对哺乳动物细胞上清或者裂解液的待测样本进行 5 倍稀释，涡旋震荡混匀；
3. 用微量移液器吸取 $20\mu\text{L}$ 稀释后的待检标本，滴加到样品孔中；
4. 向样品孔中滴加 $50\mu\text{L}$ 层析液（滴瓶垂直滴加 2 滴），10-15 分钟后即可判读结果。

备注： 对于表达丰度低的重组标签蛋白，对其进行稀释后其浓度有低于本产品检测下限的可能性，从而导致检测结果的假阴性。这种情况下，可用未经稀释的样本原液进行 20ul 加样，再加入 50ul 配套层析稀释液完成层析过程。但值得注意的是，此种情况下，样本中复杂的基质对检测可能产生一定的干扰，设置与样本相同基质成分的阴性对照尤为必要，通过比对待测样本检测线条带与阴性对照检测线条带的显色强弱即可知道标签蛋白是否表达。

如果经过预稀释操作后的样本检测结果显示检测线显色极为微弱、肉眼难以判别，则存在样本浓度过高的可能性（如预稀释操作后的样本浓度超过 10 μ g/ml），那么建议将预稀释后的样本进行第二次 10 倍稀释后重复检测，如果观察到检测线有可见条带产生，那么说明初次检测确实是蛋白浓度过高引起的检测线显色微弱。

五、常见洗涤剂与盐的兼容性上限如下表：

名称	浓度上限
NaCl	0.25M
Urea	0.4M
TritonX-100	1%
Tween-20	1%
SDS	0.20%
NP-40	1%
EDTA	5mM
甘油	10%
KCl	0.25M
CHAPS	1.0%
RIPA	100%

六、结果判断

1. 在检测窗中，质控线和检测线均显色，且检测线显色强度与阴性对照一致即为阴性；
2. 质控线显色，检测线不显色或者检测线显色强度明显弱于阴性对照，检测结果为阳性；
3. 质控线不显色，无论检测线是否显色，均表明试剂失效，检测无效。（如图）

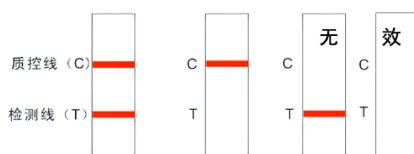


图 检测卡显色样式

七、问题及解决

现象	可能的原因	解决
检测线相较于阴性对	待测样本中不含有	检查是否使用了与待测样本对应的检测卡

照没有出现可见的显色削弱	Flag-Tag 蛋白	通过 ELISA 或 WB 方法验证标签蛋白的存在
检测线显色强度很微弱	样本浓度高于检测卡的工作浓度范围上限	对待测样本进行二次稀释后重复测试
质控线没有出现可见条带	误操作	请按照说明书操作步骤重复检测，并确认样本中添加的裂解和萃取试剂浓度在推荐范围内
	检测卡超过效期	请使用有效期内的检测卡