

Flag-His-Tag 快速检测卡

货号	规格
RA10085	10T
RA10085	100T

常温保存，保质期一年

一、简介

Flag-His-Tag 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。在层析膜上固定有山羊抗鼠 IgG 多克隆抗体（质控线）和鼠抗 Flag-Tag 单克隆抗体（检测线）；在金标垫上固定有胶体金标记的鼠抗 His-Tag 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。当含有 Flag-His-Tag 蛋白的液体通过金标垫时，即与胶体金标记的鼠抗 His-Tag 单克隆抗体结合。复合物移动到检测线时，被固定在检测线上的鼠抗 Flag-Tag 单克隆抗体所捕获。随着被捕获的复合物的堆积，在检测线上呈现出紫红色条带。当复合物移动到质控线时，羊抗鼠 IgG 抗体捕获胶体金标记的鼠单克隆抗体，在质控线上呈现出紫红色条带。通过判读层析膜上检测线和质控线是否显色，判断样品中是否存在 Flag-His-Tag 蛋白。本卡检测下限为4ng/mL，当检测样品中 Flag-His-Tag 蛋白浓度在4ng/mL 至500ng/mL 时，检测线颜色的深浅与样品中 Flag-His-Tag 蛋白的浓度呈正相关；在 Flag-His-Tag 蛋白浓度超过500ng/ml 至10μg/ml 范围内，检测线强度维持在高强度，不会因待测物过多而出现检测线显色的明显减弱。

二、用途

原核表达系统、真核表达系统获得的 Flag-His-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：

合适样本的预稀释操作（让待测蛋白的浓度通过稀释落在本检测试剂 4-500ng/ml 的工作浓度范围内）对样本检测结果的准确性至关重要。过高的蛋白浓度（大于 500ng/ml）会引起检测线条带显色的减弱或者是显色强度的饱和，导致蛋白浓度判读失真；过低的蛋白浓度（小于 4ng/ml）会引起检测线条带显色过于微弱，导致肉眼难以判读结果。

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 100ng/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、哺乳动物、酵母和昆虫细胞裂解物的待测样本进行 50 倍稀释，涡旋震荡混匀；

3. 用微量移液器吸取 20μl 稀释后的待检标本，滴加到样品孔中；

4. 向样品孔中滴加 50 μ l 层析液（滴瓶垂直滴加 2 滴），10-15 分钟后即可判读结果。

注：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、肉眼难以判别或者比预期浓度严重偏低，则存在样本浓度过高的可能性（如样本浓度超过 1mg/ml），那么建议将预稀释后的样本进行第二次 100 倍稀释后重复检测，如果观察到检测线有可见条带产生，那么说明确实是蛋白浓度过高引起的；如果仍未观察到可见条带，说明您的待测物中不含有 Flag-His-Tag 蛋白或者其含量低于 200ng/ml；如果怀疑蛋白浓度过低造成检测线显色微弱，可以降低预稀释操作中的稀释倍数至 10 倍，我们不建议预稀释倍数低于 10 倍，因为在这种情况下检测结果容易受到蛋白溶液中复杂成分的干扰导致检测准确性降低。

五、常见洗涤剂与盐的兼容性上限如下表：

名称	浓度上限
NaCl	1.5M
Urea	0.4M
TritonX-100	1%
Tween-20	1%
SDS	0.20%
NP-40	1%
EDTA	7.5mM
甘油	10%
KCl	1.5M
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即为阳性；
2. 质控线显色，检测线不显色，检测结果为阴性；
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）

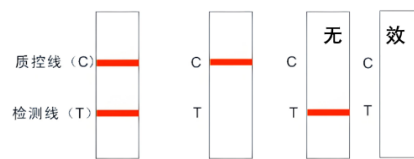


图 检测卡显色样式

七、问题及解决

现象	可能的原因	解决
检测线没有出现可见条带	待测样本中不含有 Flag-His-Tag 蛋白	检查是否使用了与待测样本对应的检测卡
		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	样本浓度低于检测卡的工作浓度范围下限	降低样本稀释倍数至 10 倍稀释重新检测
	样本浓度高于检测卡的工作浓度范围	样本进行二次稀释使其浓度符合检测卡

	围上限	的工作范围
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
	检测卡超过效期	请使用效期内的检测卡