



Flag 标签蛋白快速检测试剂盒（竞争法）

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 操作步骤.....	1
3. 结果分析.....	2
4. 常见问题解答.....	2
5. 订购信息及相关产品.....	2

1. 产品介绍

1.1 产品简介

Flag 标签蛋白快速检测试剂盒（竞争法）采用胶体金免疫层析法原理快速定性检测细胞培养上清、细胞/细菌裂解产物或蛋白纯化后的 Flag 标签蛋白。主要结构由样品垫、金标垫、层析膜、吸水纸、背板等组成。在层析膜上质控线（C 线）处固定有可与金标抗体结合的二抗，检测线（T 线）处固定了带有 Flag-tag 的蛋白，在金标垫上固定有胶体金标记的抗 Flag-Tag 的单克隆抗体和鸡 IgY 单克隆抗体。

检测时，样本滴加进样品垫处，并在毛细效应下向层析膜方向层析。当不含 Flag-tag 蛋白的样本通过金标垫时，Flag-tag 金标抗体从垫子中释放并与 T 线处的 Flag-tag 蛋白特异性结合，从而在 T 线处出现一条红色条带（阴性结果）；当样本中含有 Flag-tag 蛋白时，Flag-tag 金标抗体与样本中的 Flag-tag 蛋白发生特异性结合，未反应的 Flag-tag 金标抗体会与 T 线处的 Flag-tag 蛋白反应，T 线出现一条红色条带，样本中含有的 Flag-tag 蛋白越多，T 线颜色越浅直至完全不显色（阳性结果）。在测试中，无论被检样本中是否存在 Flag-tag 蛋白，鸡 IgY 金标抗体都可与 C 线二抗反应，并形成一条红色条带。质控 C 线所呈现的红色条带是判断层析过程是否正常的标准。本品用于快速定性检测细胞培养上清、细胞/细菌裂解产物或蛋白纯化后的 Flag 标签蛋白。

1.2 产品包装和保存条件

组分名称	规格（2T）	规格（10T）
检测卡	2 个	10 个
稀释液	1 ml	5 ml

在 4~30℃条件下保存，有效期为 12 个月。避免阳光直晒，阴凉处保存，不可冷冻保存。

1.3 检测范围

1.3.1 检测灵敏度：1 μg/ml，当样品中 Flag-Tag 含量低于 1 μg/ml 时，肉眼不易区分；

1.3.2 推荐检测区间：1-50 μg/ml，当检测样品中的 Flag-Tag 蛋白在 1-50 μg/ml 时，检测 T 线的颜色深浅与样品中 Flag-Tag 蛋白的浓度呈负相关，当样本中的 Flag-tag 蛋白浓度达 50 μg/ml 以上时，T 线处肉眼观察无明显条带出线。

1.4 检测样本要求

1.4.1 本检测试剂适用检测细胞培养上清、细胞/细菌裂解产物或蛋白纯化后产物，如果样品出现明显浑浊，请离心后取上清检测；

1.4.2 测试前，冷藏的样本须恢复至室温，冷冻的样本须完全融化后，混匀，恢复至室温后再检测。

1.5 常见试剂耐受性

组分名称	耐受上限
氯化钠	0.5 M
尿素	0.4 M
Triton X-100	0.5%
Tween-20	0.5%
SDS	0.025%
EDTA	5 mM
KCl	0.25 M
NP-40	1%
CHAPS	1%
RIPA	90%
甘油	10%

2. 操作步骤

注：为了结果的准确性，每次测试前需设置阴性对照卡（阴性对照卡加入的样本应同待测样本有相同基质组成，并确定不含 Flag-Tag 蛋白），通过与阴性对照卡检测线显色强弱的比对，判断 Flag 标签蛋白表达的情况。

2.1 取出试纸条，平衡至室温；





2.2 待测样本的预稀释：

（1）只判断有无 Flag-tag 蛋白：对于细胞培养上清、细胞/细菌裂解产物样品，不用稀释，可直接上样检测；对于蛋白纯化后产物样品，可根据需要使用配套稀释液稀释一定比例后上样检测。

（2）判断目标蛋白表达趋势或纯化状态：若待测标签蛋白浓度已知，则将蛋白浓度稀释至 1ug/ml；若待测标签蛋白浓度未知，则将样本按一定比例稀释，直至检测线出现与阴性对照有明显区分的条带，后续则可按同样比例稀释不同条件下的样本，测试观察检测线显色深浅判断蛋白表达或纯化状态。

2.3 加样：将试纸条平放在台面，吸取 80 μ l 样品添加至加样孔，加样时注意不要产生明显气泡，计时器记时，等待 10 分钟判读结果。

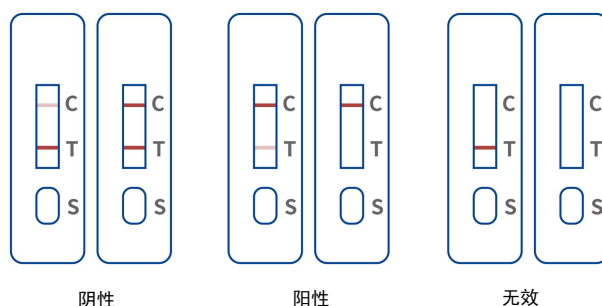
3. 结果分析

3.1 阴性结果：质控线 C 和检测线 T 都出现红色条带，且 T 线强度与阴性对照一致；见下图示例。

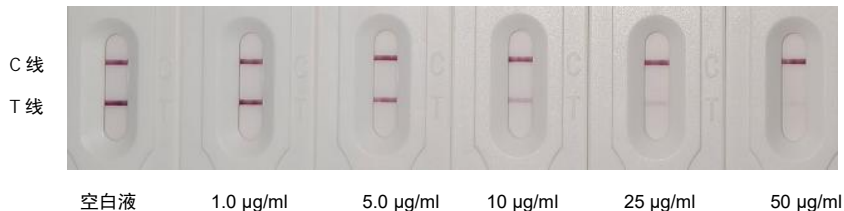
3.2 阳性结果：质控线 C 出现红色条带，检测线 T 显色强度明显弱于阴性对照或不出现红色条带；见下图示例。

3.3 无效结果：质控线 C 不出现红色条带，此时需重新检测。见下图示例。

注：样品中不含 Flag 标签蛋白时，检测线 T 显色最深，随着样品中 Flag 标签蛋白含量的增加，检测线 T 显色逐渐减弱，直至显色消失。



3.4 样品浓度梯度显色示例



4. 常见问题解答

问题	原因分析	推荐解决方案
质控线非常浅或消失	样本中干扰物质较多，或 PH 不合适	使用配套稀释液将样本稀释一定比例测试。
胶体金测试发现颜色发黑或发蓝	样本中可能含有氧化剂或还原剂，或 pH 不合适导致胶体金遭到破坏	
测试的样本 T 线显示比阴性对照浅，结果跑胶发现没有蛋白表达	阴性对照溶液未使用与待测样本同样的基质，导致显色偏差	阴性对照卡使用不含标签蛋白的同基质溶液比对。
	蛋白表达量可能还比较低，未达到跑胶的检测范围	蛋白表达可多等待一段时间再测试或使用 ELISA 等其他手段加以复验。
检测卡测试同样质量浓度的不同 Flag 标签蛋白时，T 线显色有较大差距	试纸检测的是蛋白上的 Flag 标签，相同质量浓度的不同蛋白中可能含有的 Flag 标签数量有较大差异造成显色差异	试纸只能作为定性或半定量产品在蛋白表达及纯化时观测有无及发展趋势的辅助检测手段，不能准确定量蛋白的浓度

5. 订购信息及相关产品

名称	规格	货号
Flag 标签蛋白快速检测试剂盒（竞争法）	10T	SLB050K02

