

人TL1A-DR3抑制试剂盒（TR-FRET）

【产品名称】

人TL1A-DR3抑制试剂盒（TR-FRET）

【规格】

100 Tests & 500 Tests

【货号】

FRT-03

【用途】

1. 本试剂盒可用于筛选人TL1A与人DR3结合的抑制剂。
2. 本试剂盒仅供研究使用(RUO)。

【背景】

TL1A（TNF-like cytokine 1A）和DR3（Death Receptor 3）是免疫系统中两个重要的分子，它们分别属于TNF（肿瘤坏死因子）超家族和TNF受体超家族。由抗原呈递细胞（APC）产生的TL1A与淋巴细胞上的DR3结合，为活化的淋巴细胞提供共刺激信号，DR3信号传导不仅影响效应淋巴细胞的增殖和细胞因子产生，还对调节性T细胞的发育和抑制功能具有重要影响。与DR3不同，DcR3作为诱饵受体，能够与TL1A结合但不传递信号，从而限制TL1A/DR3复合物的功能，DcR3的存在可以减弱T细胞的活化，并下调促炎细胞因子的分泌，这种调控作用有助于防止过度的免疫反应，避免组织损伤和自身免疫疾病的发生。TL1A、DR3和DcR3共同构成了一个复杂的细胞因子系统，该系统通过精细调控淋巴细胞的活化和功能，积极参与免疫应答的调节。

人TL1A-DR3抑制试剂盒（TR-FRET）可以在1小时内检测到均相体系中人TL1A与人DR3结合的抑制剂，具有灵敏度高、检测时间短、使用方便的特点。

【检测原理】

本试剂盒应用TR-FRET竞争法。将生物素标记的人TL1A蛋白与钕螯合物标记的亲合素混合后作为能量供体（Donor），使用特定荧光素FA标记人DR3蛋白作为能量受体（Acceptor）。实验将包括3个简单的步骤：

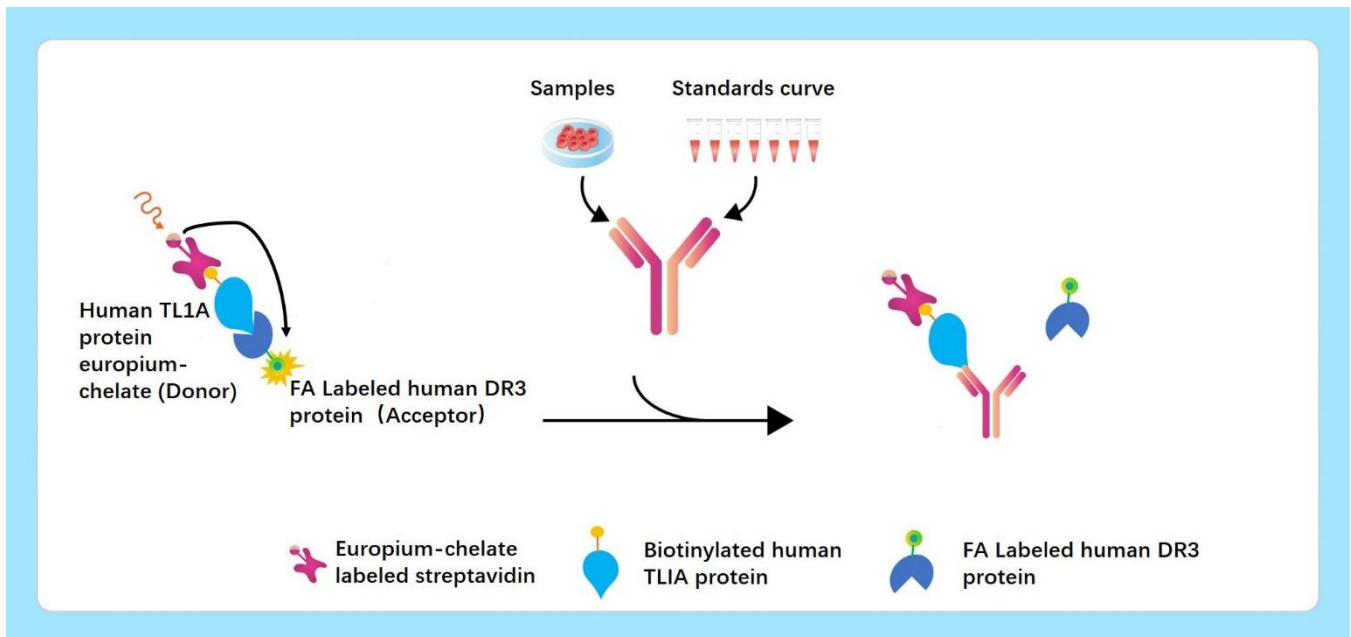
- 1) 先将样本与Donor混合，室温孵育0.5小时；
- 2) 再加入FA标记的人DR3蛋白（Acceptor），室温孵育0.5小时；
- 3) 使用酶标仪TR-FRET模块读取665 nm和620 nm的荧光信号。

根据公式 $\text{Ratio} = \frac{\text{Signal } 665 \text{ nm}}{\text{Signal } 620 \text{ nm}} \times 10^4$ 计算Ratio值，Ratio值与样本中抗体的含量呈负相关。

当检测样本中不含人TL1A与人DR3结合的抑制剂，钕螯合物偶联的人TL1A蛋白（Donor）将与FA标记的人DR3蛋白（Acceptor）结合，此时能量供体和能量受体非常接近，能量供体在特定光源激发下发出的620 nm的信号，该信号被能量受体接收，发出665 nm的信号。

当检测样本中含有人TL1A与人DR3结合的抑制剂，将阻止其与FA标记的人DR3蛋白（Acceptor）结合，从而无法发生能量传递，检测信号减弱。

图 1 实验原理图



【产品组份】

表1.产品组份

ID	组份名称	规格 (100tests)	规格 (500tests)	物理状态	存储条件	
					未开启	已开启
FRT02-C01	Human TL1A Protein Europium-chelate	100 tests	500 tests	干粉	2-8°C, 避光	-70°C, 避光
FRT02-C02	FA Labeled Human DR3 Protein	100 tests	500 tests	干粉	2-8°C, 避光	-70°C, 避光
FRT02-C03	Human Anti-TL1A Neutralizing Antibody	20 µg	100 µg	干粉	2-8°C	-70°C
FRT02-C04	Sample Dilution Buffer	10 mL	10 mL	液体	2-8°C	2-8°C
FRT02-C05	Detection Buffer	10 mL	10 mL	液体	2-8°C	2-8°C

【需要但未提供的实验仪器与耗材】

1. 单道、多道微量移液器和移液器吸头：需满足10 µL、100 µL、1000 µL加样需求
2. 微孔板振荡器
3. 酶标仪，含TR-FRET模块，可检测665nm/620nm荧光信号
4. 离心管：1.5 mL，10 mL
5. 计时器
6. 96孔浅孔白色酶标板或384孔白色酶标板：如HTRF 96-well, white plate, low volume (Revvity, 货号66PL96100); White Opaque 384-well Microplate (Perkinelmer, 货号6007299)
7. 用于冻干组分重构用的去离子水或蒸馏水

【储存条件】

1. 未开封：试剂盒保存于2-8°C，有效期见外包装箱标签。
2. 已开封：试剂盒开封后各组份按照表1存贮条件保存，有效期自开封之日起为30天。

注：不要使用过期试剂。

【试剂准备】

使用前将所有试剂恢复至室温 (20°C-25°C)。如果溶液中有晶体形成，需平衡溶液至晶体完

全溶解（可将溶液放置于恒温培养箱37°C平衡10-15 min）。

按照表2建议，用超纯水将所提供的冻干品配制成存储溶液，在室温下溶解15至30分钟，轻轻吹吸混匀，避免剧烈摇动或涡旋。重构的存储液应在-70°C保存，建议冻融次数不要超过2次。

注：Human TL1A Protein Europium-chelate与FA Labeled Human DR3 Protein存储液应避光保存。

表2. 配制方法

ID	组份名称	规格 (100tests)		规格 (500tests)		存储液浓度
		总量	重构水体积	总量	重构水体积Vol.	
FRT02-C01	Human TL1A Protein Europium-chelate	100 tests	60 μ L water	500 tests	300 μ L water	约 15 μ g/mL
FRT02-C02	FA Labeled Human DR3 Protein	100 tests	120 μ L water	500 tests	600 μ L water	约 400 μ g/mL
FRT02-C03	Human Anti-TL1A Neutralizing Antibody	20 μ g	100 μ L water	100 μ g	500 μ L water	200 μ g/mL

【检测流程】

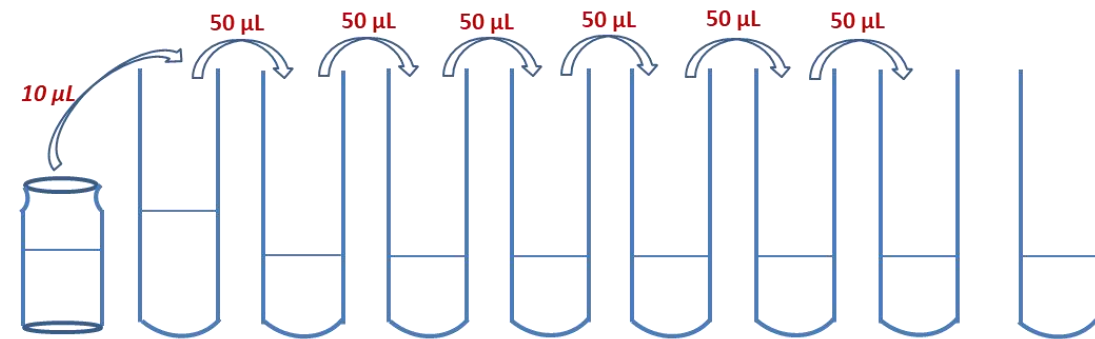
1. 加样

1.1 根据实验需要对样本进行系列稀释。

1.2 若使用试剂盒内的 Human Anti-TL1A Neutralizing Antibody (FRT03-C03)作为参考品，请按照图 2 用 Sample Dilution Buffer 进行稀释处理。将待检测的样本用 Sample Dilution Buffer 进行合理的稀释处理。

1.3 每孔加入 10 μ L 稀释处理后的参考品或样本。

图 2 Human Anti-TL1A Neutralizing Antibody 参考品工作液的制备

Tubes/ Solution Code	Anti-TL1A Neutralizing Antibody Stock Solution	Std 7	Std 6	Std 5	Std 4	Std 3	Std 2	Std 1	Std 0 (Blank)
Operating									
Solution Conc.	200 µg/mL	20 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2.5 µg/mL	1.25 µg/mL	0.625 µg/mL	0.3125 µg/mL	0 µg/mL
Dilution Buffer Vol.		90 µL	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL

2. 加 Donor

将 Human TL1A Protein Europium-chelate 存储液使用 Detection Buffer 稀释 10 倍, 配制为 Donor 工作液, 该工作液现用现配。每孔加入 5 µL Donor 工作液, 用封板膜将微孔板封好, 在室温 (20°C -25°C) 震荡 (400-600 rpm) 孵育反应 30 分钟。

3. 加 Acceptor

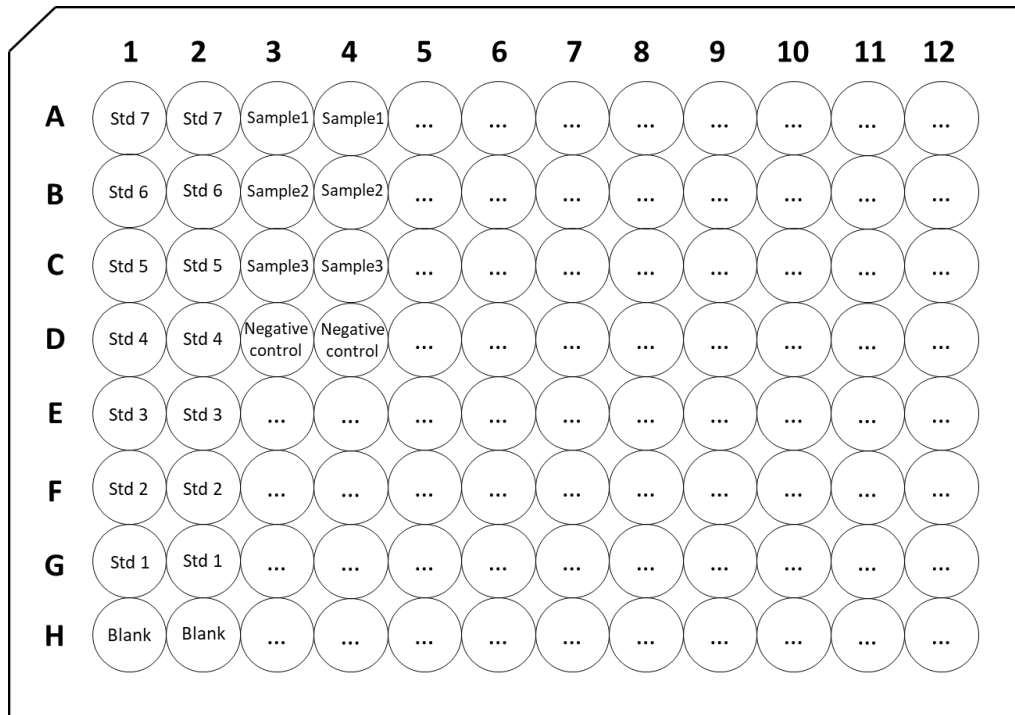
将 FA Labeled Human DR3 Protein 存储液使用 Detection Buffer 稀释 5 倍, 配制为 Acceptor 工作液, 该工作液现用现配, 避光保存。每孔加入 5 µL Acceptor 工作液, 用封板膜将微孔板封好, 在室温 (20°C-25°C) 震荡 (400-600 rpm) 孵育反应 30 分钟。

根据实验需要参考图 3 和表 3 进行微孔板加样设计, 在对应板孔内加入对应反应液。

表 3. 微孔板加样设计参考

	1	2	3	4
A	10 μ L Std7 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Std7 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Sample1 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Sample1 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液
B	10 μ L Std6 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Std6 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Sample2 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Sample2 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液
C	10 μ L Std5 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Std5 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Sample3 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Sample3 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液
D	10 μ L Std4 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Std4 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Sample Dilution Buffer 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Detection Buffer	10 μ L Sample Dilution Buffer 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Detection Buffer
E	10 μ L Std3 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Std3 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液
F	10 μ L Std2 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Std2 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液
G	10 μ L Std1 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Std1 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液
H	10 μ L Sample Dilution Buffer 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液	10 μ L Sample Dilution Buffer 5 μ L Donor 工作液 5 μ L Acceptor 工作液

图 3. 微孔板设计参考



4. 读数

用酶标仪 TR-FRET 模块读取 665 nm/620 nm 信号。

5. 计算 Ratio

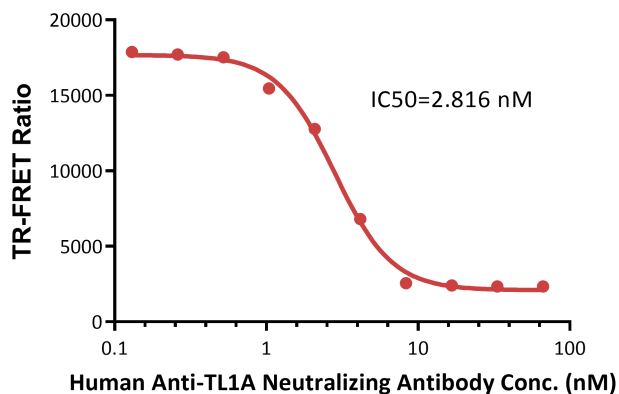
参考公式 $\text{Ratio} = \frac{\text{Signal } 665 \text{ nm}}{\text{Signal } 620 \text{ nm}} \times 10^4$ 计算 Ratio。

【注意事项】

1. 本产品仅供科研使用，不能用于治疗 and 诊断。
2. 请严格按使用说明进行操作。
3. 不同批号的试剂不能混用。不可与其他厂家试剂混用。
4. 使用前各组份需平衡至室温，保证溶液晶体全部溶解。请在无尘洁净的环境下进行操作使用。
5. 试剂盒请在 2-8℃ 保存，请勿使用超过有效期的试剂盒。
6. 请根据实验需要配制各组分工作液，工作液即配即用，不可保存。

【典型数据】

每次实验，每块酶标板都需要设置标准曲线，具体 Ratio 值可能因不同实验室、实验员或设备而不同，不同型号酶标仪不同增益下检测荧光信号具体数值不同，具体应根据设备调整参数，如果信号过强，可以调低仪器的增益，建议参阅酶标仪用户手册中的说明。以下示例数据来源于 BMG Labtech CLARIOstar Plus 酶标仪，结果仅供参考。



Anti-TL1A Neutralizing Antibody		Signal	Signal	Ratio
浓度 (µg/mL)	浓度 (nM)	665 nm	620 nm	
10	66.6667	12703	54227	2343
5	33.3334	12621	53802	2346
2.5	16.6667	12263	51081	2401
1.25	8.3333	12661	49607	2552
0.625	4.1667	30277	44462	6810
0.3125	2.0833	55048	43078	12779
0.15625	1.0417	65675	42464	15466
0.078125	0.5208	68969	39344	17530
0.0390625	0.2604	74806	42242	17709
0.01953125	0.1302	73479	41091	17882
0	0	76147	41034	18557