

EasyTune™小鼠Treg细胞诱导分化试剂盒

Catalog #DM101

#Version 26.02



Immuno-X™

Eynos LifeScience co., Ltd

Make Research Easier

产品简介

EasyTune™ 小鼠Treg细胞诱导分化试剂盒可以高效地诱导小鼠Naïve CD4+ T细胞分化为调节性T细胞（Treg）。本品包含经过免疫功能验证的细胞因子组合，可以高效地诱导Foxp3+细胞。本产品适用于：研究小鼠初始T细胞的分化调控及Treg功能；建立体外扩增并使初始T细胞向Treg亚群极化的实验方案

- 样品制备建议配合英诺思生物 EasyIso™ mouse Naive CD4 T cell isolation kits ([#SN4104](#))使用
- 细胞培养建议配合英诺思生物小鼠T淋巴细胞培养基（[#C400100](#)）和小鼠CD3/CD28 T细胞激活磁珠([#AM2001](#))

试剂盒组分

产品名称	规格	溶解方式	功能
Human IL-2	10 µg	PBS溶解，分装冻存-80℃	该细胞因子可以激活小鼠IL2受体
Human TGFbeta（反复冻溶不稳定）	10 µg	PBS溶解，分装冻存-80℃	该细胞因子可以激活小鼠TGFbeta受体

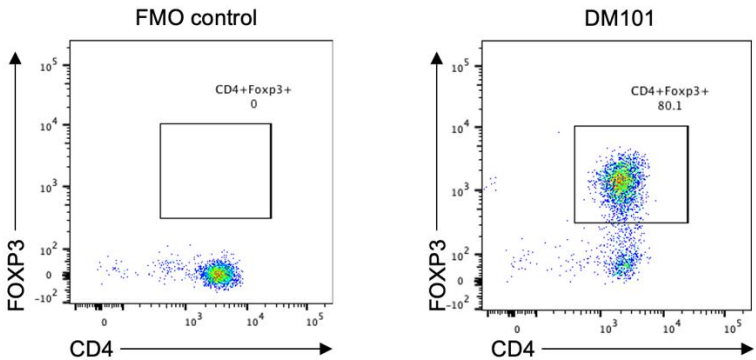
PBS - phosphate-buffered saline 运输条件：4℃运输

设备和试剂要求

- 试剂：T淋巴细胞培养基（[#C400100](#)）和小鼠CD3/CD28 T细胞激活磁珠([#AM2001](#))
- 耗材：细胞培养板等
- 仪器：离心机

温馨提示

- 推荐细胞因子溶解后，分装冻存于-80℃，避免反复冻溶
- 细胞分选等操作中建议采用英诺思生物FACS Buffer（[#EISO0500](#)），提高细胞得率和存活率
- 确保每一步无菌操作，谨防污染



如图：从C57B6/J小鼠脾脏中分选出Naïve CD4 T细胞后，将细胞重悬到小鼠T淋巴细胞培养基中后铺到96孔平底板中，再加入小鼠CD3/CD28 T细胞激活磁珠和DM101。细胞经过诱导5天后，染色CD4和FOXP3（需破核染色）进行分析，可以得到Treg细胞。



试剂预制备

步骤	操作说明	剂量和时间
1	10 µg IL-2溶解于1 mL PBS中（浓度为10 ng/µL），分装成为多管在-80°C冻存。 Note: 诱导Treg分化时，稀释1000倍添加到T淋巴细胞培养基中（终浓度为10 ng/mL）	溶解IL-2
2	10 µg TGFbeta溶解于1 mL PBS中（浓度为10 ng/µL），分装成为多管在-80°C冻存。 Note: 诱导Treg分化时，稀释1000倍添加到T淋巴细胞培养基中（终浓度为10 ng/mL）	溶解TGFbeta

诱导分化

步骤	操作说明	剂量和时间
1	从小鼠脾脏中分选得到Naïve CD4 T细胞，并进行细胞计数。 Note: 分选过程中选用优质分选Buffer，确保细胞活率； 选用健康SPF环境中的小鼠，饲养环境较差或者炎症模型小鼠体内的naïve CD4T细胞比例较低	制备样本
2	采用小鼠T淋巴细胞培养基重悬小鼠Naïve CD4 T细胞，终浓度为 5×10^5 /mL	5×10^5 cells/mL
3	取适量体积细胞加入孔板中 Note: 600 µL到48孔板中	细胞铺板
4	混匀并加入适量小鼠CD3/CD28 T细胞激活磁珠 Note: 7.5 µL激活磁珠到48孔板中	加入激活磁珠
5	加入IL-2和TGFbeta细胞因子到细胞中 Note: 如0.6 µL IL-2和0.6 µL TGFbeta细胞因子加入到48孔板中	加入细胞因子
6	T细胞激活48-72小时之间，T细胞换液和分孔 Note: 将细胞收集到离心管中，400 g离心5分钟，去除上清后，用1.2 mL T淋巴细胞培养基重悬细胞，将细胞铺到24孔板中 本步骤不需要更换T细胞激活磁珠，只需要换液即可	换液和培养板
7	加入IL-2和TGFbeta细胞因子到细胞中继续培养2天（共计培养5天） Note: 如1.2 µL IL-2和1.2 µL TGFbeta细胞因子加入到48孔板中	加入细胞因子
8	收集细胞染色鉴定	100 µL/mL

Treg细胞染色方法（本步骤仅供参考，需要参考破膜固定的试剂使用方法）

步骤	操作说明	剂量和时间
1	收集诱导好的细胞，400 g离心3分钟后，加入FACS buffer重悬	收集细胞
2	加入anti-CD4流式抗体进行膜蛋白染色，室温10分钟即可	膜蛋白染色
3	加入FACS buffer洗涤细胞一次，400 g离心3分钟后去除上清	洗涤一次
4	细胞进行固定破核处理	固定破核
5	加入anti-Foxp3抗体染色30分钟（这一步需要加入相同颜色的Isotype Control）	Anti-Foxp3抗体染色
6	加入FACS buffer洗涤细胞2次，800g离心去除上清 Note: 破膜固定的细胞需要调高离心转速，降低细胞损失	洗涤2次
7	流式分析	检测诱导细胞指标