

EasyTune™ 小鼠Th2细胞诱导分化试剂盒

Catalog #DM103

#Version 26.01



Immuno-X™

Eynos LifeScience co., Ltd

Make Research Easier

产品简介

EasyTune™ 小鼠Th2细胞诱导分化试剂盒(DM103)可以诱导小鼠Naïve CD4⁺ T细胞分化为Th2细胞。本品包含经过免疫功能验证的细胞因子和中和抗体组合，可以高效地诱导IL-4⁺细胞。本产品适用于：研究小鼠初始T细胞的分化调控及Th2功能；建立体外扩增并使初始T细胞向Th2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)和细胞分选buffer (#EISO0500)
- 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	子货号	保存条件	功能
Human IL-2	10 µg	CTK301	-80℃	该细胞因子可以激活小鼠IL2受体
Mouse IL-4	10 µg	CTK402	-80℃	该细胞因子可以激活小鼠IL4受体
Anti-mouse IFNγ Antibody	1 mL	AB2509	4℃	阻断IFNγ的功能

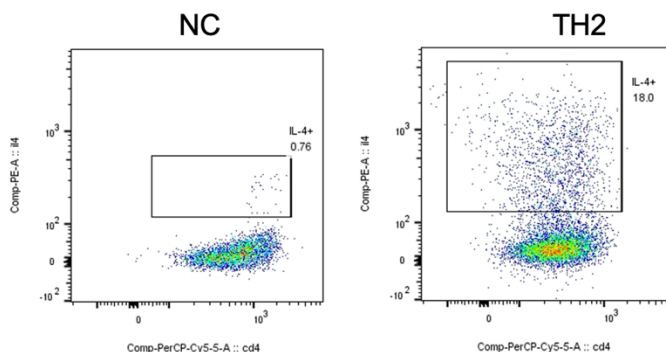
运输条件：4℃运输

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48孔平底板中，再加入小鼠CD3/CD28 T细胞激活磁珠和DM103。细胞经过诱导5天后，染色CD4和IL-4（需破膜染色）进行分析，可以得到Th2细胞。



试剂预制备

步骤	操作说明	剂量和时间
1	10 µg human IL-2溶解于1 mL PBS中（浓度为10 ng/µL），分装成为多管在-80℃冻存。 Note: 诱导Th2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 mouse IL-4溶解于125 µL PBS中（浓度为80 ng/µL），分装成为多管在-80℃冻存。 Note: 诱导Th2分化时，稀释1000倍添加到T淋巴细胞培养基中（终浓度为80 ng/mL）	溶解IL-4
3	在小鼠T淋巴培养基中，按照1:1000的比例加入IL-2、IL-4细胞因子；1:100的比例加入anti-mouse IFNγ中和抗体 Note: 10 mL培养基加入10 µL IL-2和10 µL IL-4细胞因子；加入100 µL anti-mouse IFNγ中和抗体	配置完全培养基（ 现配现用 ）

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 CD4 T细胞比例较低	制备样本
2	采用小鼠T淋巴细胞培养基（含细胞因子和抗体）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	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（含细胞因子和抗体）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
6	收集细胞染色鉴定	流式鉴定

Th2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
1	在细胞中，加入 PMA（1 µM）+ Ionomycin（5 µM）在37℃培养1小时
2	再加入Brefeldin A（10 µg/mL）刺激 4-5 小时
3	表面染色：抗 CD4抗体染色，4℃ 避光孵育 30 分钟（CD4可能出现内吞情况，应增加流式抗体剂量）
4	固定破膜：使用固定/破膜试剂盒
5	胞内染色：抗 IL-4抗体（效应因子），4℃ 避光孵育 30 分钟
6	流式细胞仪检测：鉴定 CD4 ⁺ IL-4 ⁺ Note:破膜固定的细胞需要调高离心转速，降低细胞损失
7	流式分析