

高文昊, 杜露平, 侯立婷, 等. 猪 CD205 分子 *CysR-FN* II 截短基因的克隆表达及应用[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(5): 1272-1277.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2022.05.014

猪 CD205 分子 *CysR-FN* II 截短基因的克隆表达及应用

高文昊^{1,2}, 杜露平^{1,3}, 侯立婷^{1,3}, 于晓明^{1,3}, 陈瑾^{1,3}, 冯秀丽², 郑其升^{1,3}, 程海卫^{1,3}

(1. 江苏省农业科学院动物免疫工程研究所/国家兽用生物制品工程技术研究中心/江苏省食品质量与安全重点实验室, 江苏南京 210014; 2. 南京农业大学动物医学院, 江苏南京 210095; 3. 江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏扬州 225009)

摘要: 为克隆表达编码猪 CD205 分子的 *CysR-FN* II 截短基因片段, 并验证其生物学活性, 提取了猪淋巴组织总 RNA, 并合成 cDNA, 利用 PCR 方法扩增编码猪 CD205 分子的 *CysR-FN* II 截短基因, 构建 pET-32a-*CysR-FN* II 原核重组表达质粒, 转化至大肠杆菌 BL21, 分别进行诱导表达与蛋白质纯化, 利用制备的目的蛋白免疫小鼠获得多克隆抗体, 经间接免疫荧光试验和流式细胞分析鉴定。SDS-PAGE 与 Western Blot 鉴定结果显示, 目的蛋白以可溶性形式表达, 大小约 4.0×10^4 , 与理论值一致。一次免疫后 14 d 抗体效价达 1:3 200。间接免疫荧光试验和流式分析结果显示, 获得的多克隆抗体可与猪骨髓来源树突状细胞发生特异性结合。说明该重组表达蛋白质具有相应的生物学活性, 可用于猪 CD205 抗原靶向研究。

关键词: 猪; CD205; *CysR-FN* II 截短基因; 原核表达; 生物学活性

中图分类号: S852.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2022)05-1272-06

Cloning, expression and application of *CysR-FN* II truncated gene of porcine CD205

GAO Wen-hao^{1,2}, DU Lu-ping^{1,3}, HOU Li-ting^{1,3}, YU Xiao-ming^{1,3}, CHEN Jin^{1,3}, FENG Xiu-li², ZHENG Qi-sheng^{1,3}, CHENG Hai-wei^{1,3}

(1. Institute of Veterinary Immunology & Engineering, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/National Research Center of Engineering and Technology for Veterinary Biologicals/Jiangsu Key Laboratory for Food Quality and Safety, Nanjing 210014, China; 2. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou 225009, China)

Abstract: To clone and express the truncated *CysR-FN* II gene fragment encoding porcine CD205 molecule and verify its biological activity, the total RNA of porcine lymphoid tissue was extracted, and cDNA was synthesized. The *CysR-FN* II truncated gene encoding porcine CD205 molecule was amplified by PCR method, the recombinant expression plasmid pET-32a-*CysR-FN* II was constructed and transformed into *Escherichia coli* BL21, and the induced expression and protein purification were performed, respectively. The polyclonal antibodies were obtained by immunizing mice with the prepared target protein, and identified by indirect immunofluorescence assay and flow cytometry. The results of SDS-PAGE and Western blot showed that the target protein was expressed in a

soluble form, with a size of about 4.0×10^4 , which was consistent with the theoretical value. The antibody titer reached 1:3 200 after 14 days of primary immunization. The results of indirect immunofluorescence assay and flow cytometry analysis indicated that the polyclonal antibodies obtained in this study could specifically bind to porcine

收稿日期: 2022-06-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(32102690); 江苏省农业科技自主创新项目[CX(20)3096]

作者简介: 高文昊(1999-), 男, 河南许昌人, 学士, 主要从事兽用免疫增强剂研究。(E-Mail) wenhao.gao@outlook.com

通讯作者: 程海卫, (E-Mail) chw5673@126.com

bone marrow-derived dendritic cells. The recombinant protein has the corresponding biological activity and can be used for the study of porcine CD205 antigen targeting.

Key words: pig; CD205; *CysR-FN II* truncated gene; prokaryotic expression; biological activity

树突状细胞(Dendritic cell, DC)作为专职抗原递呈细胞,可以借助其表面不同的受体进行抗原的捕获、加工与递呈,从而刺激机体产生免疫反应。1995年, Witmer-Pack等发现了小鼠DC细胞表面的一种特异性的抗原递呈受体——CD205^[1]。CD205属于C型凝集素受体中的巨噬细胞甘露糖受体家族,又称为DEC-205或Ly75^[2],在组织中分布广泛,高度表达于DC细胞和胸腺上皮细胞,在B细胞、T细胞、NK细胞和巨噬细胞中表达较少或几乎不表达^[3]。CD205是目前在机体淋巴器官T细胞区域的DC细胞中表达最广泛的唯一受体^[4],参与抗原递呈过程并起到关键作用。研究结果显示,与非靶向抗原相比较,CD205靶向可以使OVA抗原递呈效率提高至少100倍,抗原用量减少近1 000倍^[5]。通过将乙肝病毒preS抗原靶向至CD205,可以在小鼠体内产生高效的IgG1和IgG2a抗体反应,对乙肝病毒感染产生预防和治疗效果^[6-8]。上述研究结果显示,CD205靶向可以减少抗原用量,诱导高效的免疫应答,在抗病毒感染方面具有良好的发展潜力,已成为新型疫苗制剂研发与应用领域的前沿热点。

CD205靶向在兽医领域研究日益受到关注,但其效应机制尚不清楚。本研究拟选择猪CD205分子为研究对象,结合原核表达系统的诸多优势^[9],针对编码猪CD205的N端胞外区的*CysR-FN II*截短基因片段进行克隆表达及蛋白质纯化,制备多克隆抗体,并对其功能进行鉴定,验证本研究所获得的重组蛋白的生物学活性,为猪CD205特异性抗体的研制及猪CD205抗原靶向研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

6~8周龄ICR系清洁级雌性小鼠购于南京市青龙山动物繁殖场。RNA提取试剂盒、DNA回收试剂盒均为捷瑞公司的产品,荧光抗体(Anti-mouse-IgG FITC, anti-pig-CD1 APC)购于上海优宁维公司。大肠杆菌BL21、DH5 α 和pET-32a质粒均由本实验室保存。根据NCBI上公布的编码猪CD205分子的*CysR-FN II*截短基因(GenBank: GQ420669.1)设计

PCR引物(表1),由上海生工生物有限公司合成。

表1 本研究用引物对序列

Table 1 Sequences of primers used in this study

引物	序列(5'→3')
205R	ATGATCACCCCGCTGAA
205F	GATGTACGCTTCTTTCCAGC
205M-R	GGATCCATGATCACCCCG
205M-F	AAGCTTGATGTACGCTTCTTTC

下划线标识为BamH I酶切位点,斜体标识为Hind III酶切位点。

1.2 pET-32a-*CysR-FN II*重组质粒的构建与蛋白质表达

1.2.1 猪淋巴总RNA的提取和cDNA的合成 取猪新鲜的淋巴结,运用Trizol法按照说明书操作提取RNA,按照反转录试剂盒说明书操作合成cDNA。

1.2.2 *CysR-FN II*截短基因的扩增及鉴定 以合成cDNA为模板,使用引物205R和205F,PCR扩增*CysR-FN II*截短基因。反应条件为:95℃ 3 min;95℃ 30 s,54.5℃ 30 s,72℃ 45 s,共30个循环;72℃ 10 min。扩增产物进行琼脂糖电泳鉴定,对目的条带进行纯化回收。将回收产物与pMD18-T载体连接,转化至DH5 α 感受态细胞,随机挑选单克隆进行菌落PCR鉴定,将阳性克隆进行测序分析。

1.2.3 添加酶切位点 利用方法1.2.2所述阳性克隆为模板,使用引物205M-R和205M-F,通过PCR扩增在*CysR-FN II*截短基因的两端添加酶切位点。反应条件为:95℃ 3 min;95℃ 30 s,58℃ 30 s,72℃ 45 s,共30个循环;72℃ 10 min。之后鉴定步骤同方法1.2.2。

1.2.4 重组表达质粒的构建 利用限制性内切酶Bam H I和Hind III分别对方法1.2.3所述阳性克隆质粒和pET-32a质粒(本实验室保存)进行双酶切,酶切产物经1%琼脂糖电泳鉴定,利用试剂盒进行纯化和回收。经过夜连接后,转化至BL21感受态细胞,通过菌落PCR鉴定和双酶切鉴定,阳性克隆进行测序分析。

1.2.5 重组蛋白的表达及纯化 利用方法1.2.4所述阳性克隆接种至LB液体培养基中(含0.1%氨苄青霉素),37℃培养至对数期,加入终浓度为1

mmol/L 的异丙基- β -D-硫代半乳糖苷 (IPTG), 23 °C 进行诱导表达。之后, 离心收集菌体, 并使用高压均质机进行高压破碎, 分别利用 SDS-PAGE 和 Western Blot 方法对表达产物进行鉴定。使用 Ni^{2+} 亲和层析柱纯化, 并进行鉴定。

1.3 CysR-FN II 多克隆抗体的制备与功能鉴定

1.3.1 小鼠免疫 使用纯化后的目的蛋白对小鼠进行免疫, 每只小鼠皮下免疫注射 50 μg 。注射后第 14 d 采血并收集血清。

1.3.2 抗体效价测定 利用纯化后的目的蛋白作为抗原包被酶标板, 将免疫后血清倍比稀释, 使用 HRP 标记的羊抗鼠 IgG 作为二抗, 检测免疫后 14 d 血清中 CysR-FN II 抗体水平。

1.3.3 猪骨髓来源树突状细胞的诱导分化 参考 Carrasco 等的方法^[10]诱导分化猪骨髓来源树突状细胞 (Bone marrow-derived dendritic cell, BMDC)。取新鲜的猪胸骨, 使用 PBS 冲洗猪胸骨得到细胞悬液。裂解红细胞后, 使用淋巴细胞分离液 Ficoll-Paque 获得淋巴细胞悬液, 在补充有 10% 胎牛血清、2 mmol/L 谷氨酰胺、100 U/ml 青霉素、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 链霉素和 50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 2-巯基乙醇的 RPMI-1640 培养基中进行培养。使用 25 ng/ml 重组猪粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子诱导骨髓细胞分化, 之后隔日半量换液, 持续培养至第 7 d, 收获细胞。

1.3.4 间接免疫荧光法鉴定 将方法 1.3.3 所获得的新鲜猪 BMDC 培养于细胞爬片上, 待细胞融合度达到 75% 时, 取出爬片并用 PBS 漂洗。之后添加 4% 多聚甲醛固定 15 min, 使用 1% Triton 室温透化 5 min, PBS 漂洗。分别使用免疫前血清和免疫后血清与猪 BMDC 细胞 37 °C 孵育 1 h。依次使用 anti-mouse-IgG FITC、anti-pig-CD1 APC、DAPI 染色, 用激光共聚焦显微镜 (PerkinElmer 公司) 观察。

1.3.5 流式细胞术分析 取方法 1.3.3 所获得的新鲜猪 BMDC ($1\text{ ml } 1 \times 10^6$) 于 2 支 1.5 ml 无菌离心管中, 1 支依次利用免前血清、anti-mouse-IgG FITC、anti-pig-CD1 APC 进行染色, 另 1 支依次用免后血清、anti-mouse-IgG FITC、anti-pig-CD1 APC 染色。利用 BD Accuri C6 流式细胞仪分别检测两组猪 BMDC 中鼠 IgG 与猪 CD1 双阳性 (Mouse-IgG⁺CD1⁺) 的数量, 比较免疫前血清和免疫后血清孵育后猪 DC 细胞的特异性荧光强度。

2 结果与分析

2.1 CysR-FN II 基因的扩增及鉴定

以 cDNA 为模板, 根据编码猪 CD205 分子的 CysR-FN II 截短基因设计引物, 进行 PCR 扩增及琼脂糖电泳检测。结果如图 1 所示, 泳道 1 在 500 bp 与 750 bp 之间出现目的基因条带, 大小与预期相符合。同时测序分析结果显示序列正确, 无突变。

2.2 CysR-FN II 基因酶切位点的扩增及鉴定

利用获得的 CysR-FN II 目的基因作为模板, 并设计含酶切位点 Bam H I 和 Hind III 的引物, 进行 PCR 扩增, 扩增后进行琼脂糖凝胶电泳检测。结果如图 1 所示, 泳道 2 在 500 bp 与 750 bp 之间出现目的基因条带, 大小与预期相符合。同时测序分析结果显示序列正确, 无突变。

2.3 重组表达质粒 pET-32a-CysR-FN II 的构建与鉴定

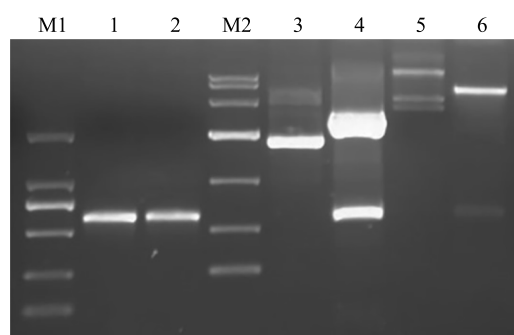
分别利用 Bam H I 和 Hind III 对 pMD-18T-CysR-FN II 质粒和 pET-32a 质粒进行酶切鉴定, 酶切产物经电泳检测, 结果如图 1 所示, 酶切处理前后的 pMD-18T-CysR-FN II 片段大小与预期结果一致。回收目的条带, 并与 pET-32a 质粒双酶切产物进行连接, 构建重组表达质粒 pET-32a-CysR-FN II, 转化至 BL21 感受态细胞。进行 PCR 及双酶切鉴定, 结果如图 1 所示, 酶切处理前后的 pET-32a-CysR-FN II 片段大小, 与预期结果一致。所获得的阳性克隆测序结果正确。

2.4 目的蛋白的可溶性表达与鉴定

重组表达质粒 pET-32a-CysR-FN II 经 IPTG 低温诱导后, 收集菌体进行高压破碎, 并收集破碎后的样品。分别用诱导前的全菌样品、诱导后的全菌样品、破碎后的上清液样品以及破碎后的沉淀样品进行 SDS-PAGE 与 Western Blot 鉴定。结果如图 2A 所示, 诱导后的全菌样品 (泳道 2) 以及破碎后的上清液样品 (泳道 3) 均在相对分子质量 4.0×10^4 左右出现目的条带, 相对分子质量与预期结果一致, 且为可溶性表达。蛋白质印迹结果如图 2B 所示, 诱导后的全菌样品 (泳道 2) 以及破碎后的上清液样品 (泳道 3) 在约 4.0×10^4 处检测到目的条带。

2.5 重组蛋白 CysR-FN II 的纯化

重组表达质粒 pET-32a-CysR-FN II 表达产物经过多次纯化和 SDS-PAGE 鉴定, 摸索出最适合的纯



M1:DL2000 DNA marker, 从上至下条带依次为2 000 bp、1 000 bp、750 bp、500 bp、250 bp、100 bp;泳道 1:经 PCR 扩增的编码猪 CD205 分子的 *CysR-FN II* 截短基因;泳道 2: *CysR-FN II* 酶切位点的鉴定;泳道 M2: DL10000 DNA marker, 从上至下条带依次为 10 000 bp、7 000 bp、4 000 bp、2 000 bp、1 000 bp、500 bp、250 bp;泳道 3: 未经酶切处理的重组质粒 pMD-18T-*CysR-FN II*;泳道 4:双酶切重组质粒 pMD-18T-*CysR-FN II* 的产物;泳道 5:未经酶切处理的重组表达质粒 pET-32a-*CysR-FN II*;泳道 6:双酶切重组表达质粒 pET-32a-*CysR-FN II* 的产物。

图 1 *CysR-FN II* 截短基因的扩增以及重组表达质粒的构建

Fig.1 Amplification of *CysR-FN II* truncated gene and construction of the recombinant expression plasmid

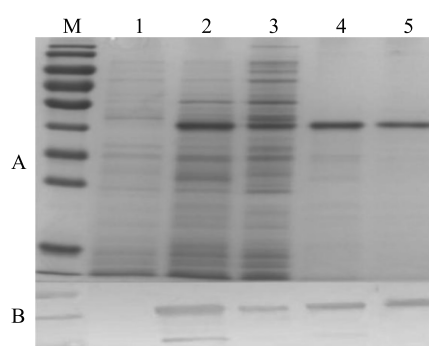
化条件,即洗脱液含 50 mmol/L 咪唑时杂蛋白去除效率最高,且目的蛋白损失较少。纯化后的目的蛋白经 SDS-PAGE 及 Western Blot 鉴定,结果如图 2A、2B 所示,泳道 5 在 4.0×10^4 左右出现单一的目的条带,纯度估计在 90% 以上。

2.6 重组蛋白 *CysR-FN II* 免疫小鼠血清抗体检测

免疫注射后第 14 d,采用间接 ELISA 方法,对血清中抗体效价进行检测。结果如图 3 所示,血清倍比稀释至 1:6 400 时, OD_{450} 数值仅为 0.052,与阴性血清相比, $P/N < 1.5$,判定为阴性,即抗体效价为 1:3 200。

2.7 间接免疫荧光鉴定 *CysR-FN II* 多克隆抗体与猪 BMDC 的共定位特性

利用获得的新鲜猪 BMDC,制作细胞爬片,分别与免前血清、免后血清进行孵育。PBS 漂洗后依次使用 anti-mouse-IgG FITC、anti-pig-CD1 APC、DAPI 染色,激光共聚焦显微镜观察结果如图 4 所示,免疫前血清试验组中未观察到绿色荧光,免疫后血清试验组中在胞膜及胞质中可见绿色荧光,且与 APC 所标记的红色荧光共定位,该结果表明本试验所获得的 CD205 多克隆抗体可以与猪 BMDC 发生特异性结合。



A 图为 SDS-PAGE 鉴定重组蛋白 *CysR-FN II* 表达及纯化结果,其中泳道 M 为蛋白质 Marker,从上至下 10 条条带相对分子质量依次为 2.50×10^5 、 1.50×10^5 、 1.00×10^5 、 7.0×10^4 、 5.0×10^4 、 4.0×10^4 、 3.5×10^4 、 2.5×10^4 、 2.0×10^4 、 1.5×10^4 ;B 图为 Western Blot 鉴定重组蛋白 *CysR-FN II* 表达及纯化结果,其中泳道 M 为蛋白质 Marker,从上至下 3 条条带相对分子质量依次为 5.0×10^4 、 4.0×10^4 、 3.5×10^4 。泳道 1:诱导前的全菌样品;泳道 2:诱导后的全菌样品;泳道 3:诱导后的全菌破碎后的上清液样品;泳道 4:诱导后的全菌破碎后的沉淀样品;泳道 5:诱导后的全菌纯化后的目的蛋白样品。

图 2 重组蛋白 *CysR-FN II* 表达及纯化鉴定

Fig.2 The expression and purification of the recombinant protein *CysR-FN II*

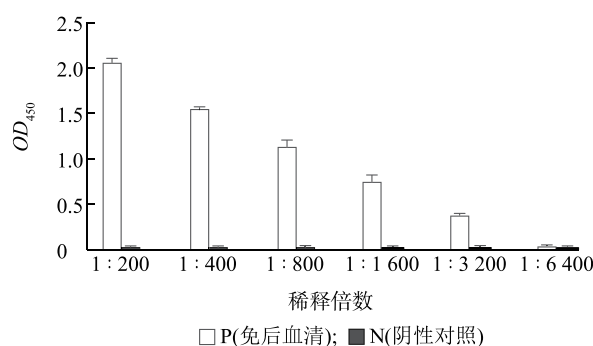
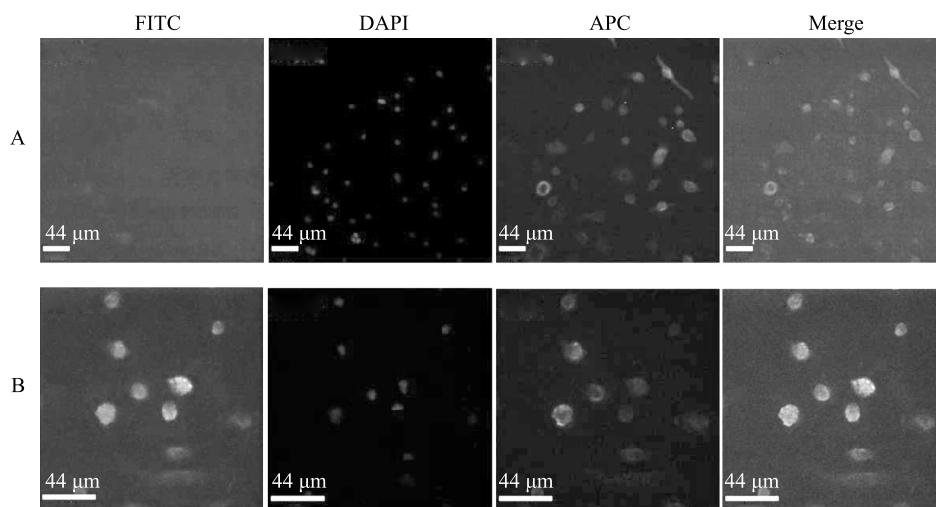


图 3 重组蛋白 *CysR-FN II* 免疫小鼠 14 d 后抗体效价测定

Fig.3 Antibody titer determination of mice immunized with the recombinant protein *CysR-FN II* after 14 days

2.8 流式细胞分析 *CysR-FN II* 多克隆抗体与猪 BMDC 结合特性

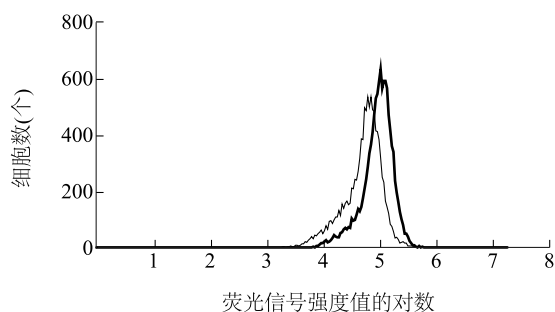
利用获得的新鲜猪 BMDC,分别与免疫前血清、免疫后血清进行孵育,使用荧光抗体标记后,经流式细胞仪检测猪 BMDC 的 mouse-IgG⁺ CD1⁺ 数。结果如图 5 所示,左侧曲线代表免疫前血清实验组检测到的绿色荧光强度,右侧曲线代表免疫后血清实验组检测到的绿色荧光强度,免疫后血清的绿色荧光强度与免疫前相比明显增强,表明本试验所获得的多克隆抗体可以与猪 BMDC 发生特异性结合。



A 组为免疫前血清实验组;B 组为免疫后血清实验组。分别使用 anti-mouse-IgG FITC;DAPI 和 anti-pig-CD1 APC 进行标记。

图 4 激光共聚焦显微镜鉴定所获得的 CysR-FN II 多克隆抗体与猪 BMDC 的共定位特性

Fig.4 Identification of the colocalization characteristics of CysR-FN II polyclonal antibody with porcine bone marrow-derived dendritic cell (BMDC) by laser confocal microscope



图中左侧实线表示免疫前血清实验组流式检测 FITC 通道荧光强度,右侧实线表示免疫后血清实验组流式检测 FITC 通道荧光强度。

图 5 流式分析所获得的 CysR-FN II 多克隆抗体与猪 BMDC 结合特性

Fig.5 Identification of the binding characteristics of CysR-FN II polyclonal antibody with porcine BMDC by flow cytometric analysis

3 讨论

CD205 作为首个报道的 DC 细胞特异性抗原递呈受体,是在机体淋巴器官 T 细胞区域的 DC 细胞中表达最广泛的唯一受体,在抗原递呈过程中具有关键作用^[11-12]。CD205 作为抗原靶向的研究热点,已经在多种病毒的疫苗设计中被研究^[13-14]。同时针对免疫耐受的现象,可以通过 CD205 靶向抗体的作用,增强抗原的递呈,激活 DC 细胞,进而诱导

病毒特异性的免疫反应^[15]。截至目前,多个 CD205 靶向人用疫苗已进入临床试验阶段^[6-7]。CD205 靶向在兽医领域研究日益受到关注,但其效应机制尚不清楚,而关于 CD205 靶标蛋白的制备,均是利用真核系统进行表达制备,表达产物虽具有一定的生物学活性,但产量较低,耗时费力^[16-18]。

本试验拟利用原核系统表达编码猪 CD205 分子的 CysR-FN II 截短基因,所制备的目的蛋白经 SDS-PAGE 和 Western Blot 鉴定,均以可溶性形式表达,且相对分子质量与理论值一致。使用纯化后的蛋白质对小鼠进行免疫,免疫后 14 d 抗体效价达 1 : 3 200。间接免疫荧光实验和流式细胞分析结果均表明本试验所制备的多克隆抗体可以与猪 BMDC 发生特异性结合,即本试验所制备的目的蛋白具有一定的生物学活性。后续研究将利用所制备的 CysR-FN II 目的蛋白,制备猪 CD205 特异性抗体,为研究猪 CD205 抗原靶向奠定基础,并对 CD205 介导抗原靶向递呈的作用机理进行研究,为新型疫苗设计提供参考依据。

参考文献:

- [1] WITMER-PACK M D, SWIGGARD W J, MIRZA A, et al. Tissue distribution of the DEC-205 protein that is detected by the monoclonal antibody NLDC-145; II. Expression in situ in lymphoid and nonlymphoid tissues [J]. Cellular Immunology, 1995, 163 (1): 157-162.

- [2] KATO M, NEIL T K, CLARK G J, et al. cDNA cloning of human DEC-205, a putative antigen-uptake receptor on dendritic cells [J]. Immunogenetics, 1998, 47(6): 442-450.
- [3] EAST L, ISACKE C M. The mannose receptor family [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2002, 1572(2/3): 364-386.
- [4] KATO M, MCDONALD K J, KHAN S, et al. Expression of human DEC-205 (CD205) multilectin receptor on leukocytes [J]. International Immunology, 2006, 18(6): 857-869.
- [5] SAVEANU L, CARROLL O, WEIMERSHAUS M, et al. IRAP identifies an endosomal compartment required for MHC class I cross-presentation [J]. Science, 2009, 325(5937): 213-217.
- [6] RIEKE D T, KELLER U. A CD205-directed antibody drug conjugate-lymphoma precision oncology or sophisticated chemotherapy? [J]. Haematologica, 2020, 105(11): 2504.
- [7] GAUDIO E, TARANTELLI C, SPRIANO F, et al. Targeting CD205 with the antibody drug conjugate MEN1309/OBT076 is an active new therapeutic strategy in lymphoma models [J]. Haematologica, 2020, 105(11): 2584.
- [8] MERLINO G, FIASCARELLI A, BIGIONI M, et al. MEN1309/OBT076, a first-in-class antibody-drug conjugate targeting CD205 in solid tumors [J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2019, 18(9): 1533-1543.
- [9] AHMAD I, NAWAZ N, DARWESH N M, et al. Overcoming challenges for amplified expression of recombinant proteins using Escherichia coli [J]. Protein Expression and Purification, 2018, 144: 12-18.
- [10] CARRASCO C P, RIGDEN R C, SCHAFFNER R, et al. Porcine dendritic cells generated in vitro: morphological, phenotypic and functional properties [J]. Immunology, 2001, 104(2): 175-184.
- [11] LI Q, YE C, ZHAO F, et al. PgtE enzyme of Salmonella enterica shares the similar biological roles to plasminogen activator (Pla) in interacting with DEC-205 (CD205), and enhancing host dissemination and infectivity by Yersinia pestis [J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 791799.
- [12] WAKITANI S, KAWABATA R, YASUDA M. Insufficiency of CD205-positive cortical thymic epithelial cells in immature Japanese Black cattle with severe thymic abnormalities and poor prognosis [J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2022, 245: 110379.
- [13] YONG L, LI M, GAO Y, et al. Identification of pro-inflammatory CD205+ macrophages in livers of hepatitis B virus transgenic mice and patients with chronic hepatitis B [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 1-11.
- [14] JAHAN S T, SADAT S M A, HADDADI A. Design and immunological evaluation of anti-CD205-tailored PLGA-based nanoparticulate cancer vaccine [J]. International Journal of Nanomedicine, 2018, 13: 367.
- [15] FLORES-MENDOZA L, VELAZQUEZ C, BRAY J, et al. Development and characterization of a monoclonal antibody against porcine CD205 [J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2012, 146(1): 74-80.
- [16] GULLY B S, VENUGOPAL H, FULCHER A J, et al. The cryo-EM structure of the endocytic receptor DEC-205 [J]. Journal of Biological Chemistry, 2021, 296: 100127.
- [17] TRIPP C H, VOIT H, AN A, et al. Laser-assisted epicutaneous immunization to target human skin dendritic cells [J]. Experimental Dermatology, 2021, 30(9): 1279-1289.
- [18] ZHONG Q, LU Y, XU W, et al. The differentiation of new human CD303+ Plasmacytoid dendritic cell subpopulations expressing CD205 and/or CD103 regulated by Non-Small-Cell lung cancer cells [J]. International Immunopharmacology, 2021, 99: 107983.

(责任编辑:张震林)