

# 猪 Fc $\gamma$ R III 和 $\gamma$ 链共转染 Marc-145 细胞系的建立

邬成业<sup>1</sup>, 史平玲<sup>2</sup>, 乔松林<sup>1</sup>, 王爱萍<sup>2</sup>, 郝慧芳<sup>1</sup>, 杜晓明<sup>2</sup>, 王林林<sup>2</sup>, 张改平<sup>1</sup>

(1. 河南省农业科学院 农业部动物免疫学重点开放实验室 河南省动物免疫学重点实验室 河南 郑州 450002;

2. 郑州大学 生物工程系 河南 郑州 450001)

**摘要:** 为了建立稳定表达猪 Fc $\gamma$ R III ( Porcine Fc gamma receptor III, poFc $\gamma$ R III ) 的 Marc-145 细胞系, 从 PAM 细胞中提取总 RNA, 应用 RT-PCR 技术获得猪 Fc $\gamma$ R III 和  $\gamma$  链的 cDNA, 并构建 PIREShyg3- $\gamma$  和 pcDNA3.1-Fc $\gamma$ R III 真核表达质粒; 用脂质体共转染 Marc-145 细胞, 经潮霉素 B (300 mg/L) 和 G418 (400 mg/L) 共筛选获得稳定表达猪 Fc $\gamma$ R III 的细胞系; 运用 RT-PCR、玫瑰花环试验和流式细胞术对细胞系进行了鉴定。结果表明, 成功构建了猪 Fc $\gamma$ R III 和  $\gamma$  链真核表达载体, 建立了稳定表达猪 Fc $\gamma$ R III 的细胞系, 表达于转染细胞表面的猪 Fc $\gamma$ R III 受体分子能与猪 IgG 特异结合。

**关键词:** 猪 Fc $\gamma$ R III 受体;  $\gamma$  链; 共转染; Marc145 细胞

**中图分类号:** Q78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2011)01-0006-05

## Establishment of Marc-145 Cell Line Transfected with the Porcine Fc $\gamma$ R III and Gamma Chain

WU Cheng-ye<sup>1</sup>, SHI Ping-ling<sup>2</sup>, QIAO Song-lin<sup>1</sup>, WANG Ai-ping<sup>2</sup>, HAO Hui-fang<sup>1</sup>,  
DU Xiao-ming<sup>2</sup>, WANG Lin-lin<sup>2</sup>, ZHANG Gai-ping<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Animal Immunology of the Ministry of Agriculture, Henan Provincial Key Laboratory of Animal Immunology, Henan Academy of Agriculture Sciences, Zhengzhou 450002, China;

2. Department of Bioengineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** The objective of the present study is to establish the Marc-145 cell line that stably expresses porcine poFc $\gamma$ R III (porcine Fc gamma receptor III, poFc $\gamma$ R III). The total RNA was extracted from porcine alveolar macrophage (PAM), and poFc $\gamma$ R III and  $\gamma$ -chain cDNAs were cloned by RT-PCR, then they were inserted into the eukaryotic expression vectors pcDNA3.1(+) and PIREShyg3 respectively. The marc-145 cell line was stably transfected with pcDNA3.1-poFc $\gamma$ R III and PIREShyg3- $\gamma$  plasmids by Lipofectamine2000, then the co-transfected cells were selected by HygromycinB (300 mg/L) and G418 (400 mg/L). The expression of poFc $\gamma$ R III on transfected cells was verified through RT-PCR, rosetting test and FCM. The eukaryotic expression vectors were successfully constructed and the Marc-145 cell line with stable poFc $\gamma$ R III expression was obtained. The Marc-145 cell transfected with the poFc $\gamma$ R III cDNA were able to bind porcine IgG.

**Key words:** poFc $\gamma$ R III receptor;  $\gamma$  chain; Co-transfection; Marc-145 cell line

Fc 受体 (FcR) 是特异亲和免疫球蛋白 (Ig) Fc 片段的细胞表面分子, 广泛表达于效应细胞和免疫辅助细胞表面。Fc 受体介导免疫细胞与抗原抗体复合物及其他细胞间的相互作用, 是体液免疫与细胞免疫间的桥梁。目前发现的 FcR 大多数属于免疫球蛋白超家族基因, 根据其功能可分为 2 类: 一类

存在于免疫效应细胞表面, 能够结合抗原-抗体复合物引起各种免疫应答; 另一类受体为多聚 Ig 受体 (pIgR) 和 Ig 转运受体 (FcRn), 它们负责转运 Ig 穿过上皮细胞表面, 上皮细胞表达的 FcRn 可减少循环 IgG 的降解数量<sup>[1,2]</sup>。Fc 受体当中, 研究最为清楚的是 IgG Fc 受体 (Fc $\gamma$ Rs)。研究表明, Fc $\gamma$ Rs 在免疫防

收稿日期: 2010-10-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30730068)

作者简介: 邬成业 (1981-), 男, 河南信阳人, 在读硕士, 主要从事细胞生物学研究。

通讯作者: 张改平 (1960-), 男, 河南内黄人, 研究员, 博士, 博士生导师, 中国工程院院士, 主要从事病毒与分子免疫学研究。

御和自身免疫中起着关键的作用<sup>[3-9]</sup>,是治疗过敏、肿瘤、自身免疫性疾病和传染病的理想药物靶标<sup>[10]</sup>。

目前鉴定的 FcγRs 根据结构不同可分为 5 个亚类: FcγRI( CD64)、FcγRII( CD32)、FcγRIII( CD16)、moFcγRIV 和 boFcγ2R<sup>[11,12]</sup>,其中 FcγRIII( CD16) 为 50 ~ 80 kDa 的膜糖蛋白,在巨噬细胞、肥大细胞和 PMN 细胞中均有表达,是唯一在 NK 细胞表达的 Fc 受体, FcγRIII 在血液单核细胞中未见表达,但在单核细胞分化的腹腔巨噬细胞和巨噬细胞中表达<sup>[13]</sup>。FcγRIII 含有 2 个 Ig 样胞外区结构域,为中低亲和力受体。猪 FcγRIIIA 是首个克隆的家畜 FcγRIII 基因,在多形核细胞( Polymorphonuclear ,PMN) 中为 45 kDa 糖蛋白,其胞内区与 FcR γ 链及其他亚基相连。只有通过共转染 FcR γ 链,才能在细胞表面表达 FcγRIIIA<sup>[14]</sup>。为此,本研究构建了猪 FcγR III 和 FcR γ 链基因的真核表达质粒,共转染 Marc-145 细胞,以建立稳定表达 FcγR III 的细胞系,为进一步研究该受体介导的免疫功能奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

表 1 猪 FcγR III 和猪 γ 链表达引物

Tab.1 Expression primer of poFcγR III and γ chain

引物 Primers	序列 Sequences	酶切位点 Enzyme-digested sites
SusBFcIIIF	5'-TGTAAGCTTATGTGGCAGCTGCTGTC-3'	Hind III
SusBFcIIIR	5'-TCTGGATCCTTATCCTCCTTTGTC-3'	BamH I
SusBγF	5'-GCCGCTAGCTCCTTACCCAAGATGATT-3'	Nhe I
SusBγR	5'-CCTGGATCCCAAAGGGCATCTGTTCTA-3'	BamH I

1.2.2 总 RNA 的提取及 RT-PCR 按照参考文献[15]的方法分离 PAM,然后再按照宝生物公司 RNAisoReagent 总 RNA 提取操作步骤提取 PAM 细胞总 RNA,对提取的 PAM 总 RNA 进行反转录以合成 cDNA。cDNA 合成方法按 Reverse Transcriptase M-MLV 说明进行,具体操作方法如下:先在 Microtube 管中配制下列模板 RNA/引物混合液:模板 RNA 10 μL,Oligo( dT) 18 Primer ( 50 μmol/L) 4 μL,RNase free ddW 14 μL,70℃ 保温 10 min 后迅速在冰上急冷 2 min 以上,离心数秒。在上述 Microtube 管中加入 5 × M-MLV Buffer 8 μL,dNTP Mixture ( 10 mmol/L) 2 μL,RNase Inhibitor ( 40 U/μL) 1 μL,Rtase M-MLV( RNaseH<sup>-</sup>) ( 200 U/μL) 1 μL,即总体积 40 μL,然后 42℃ 保温 1 h,70℃ 保温 15 min,冷存备用。

1.2.3 猪 FcγRIII 和 γ 链的扩增 以反转录获取的猪 PAM 细胞 cDNA 为模板,分别扩增 FcγRIII 和

1.1.1 菌种、质粒及细胞 *E. coli* JM109 菌株( 购自大连宝生物工程有限公司),pcDNA3. 1 质粒( Invitrogen 公司)、Marc-145 细胞由河南省动物免疫学重点实验室保存,Marc-145 细胞以含 10% 新生牛血清( 杭州四季青) 的 DMEM 培养基( Invitrogen) 培养;PIRESHyg3 质粒为北京协和医院查晓军惠赠。PAM 细胞( 自制)。

1.1.2 工具酶和试剂 限制性内切酶、Ex Taq 酶和 DNA 回收试剂盒等购自宝生物( 大连) 有限公司;试剂 RNAisoReagent、G418、潮霉素 B( hygromycin B) 和 Lipofectin2000 为 Invitrogen 公司产品;新生牛血清为杭州四季青生物工程材料有限公司产品;质粒纯化试剂盒购自 Qiagen 公司;质粒小量提取试剂盒购自杭州爱思进生物技术有限公司;引物序列合成及基因测序由上海生物工程有限公司完成。

### 1.2 方法

1.2.1 引物设计 参照 GenBank 上猪 FcγRIII cDNA 序列 ( AF372453) 和猪 γ 链 cDNA 序列 ( AF148221) ,利用 Primer 5. 0 设计合成上、下游表达引物 SusBFcIIIF、SusBFcIIIR 及 SusBγF、SusBγR,在上下游引物分别引入限制性酶切位点( 表 1)。

γ 链基因,FcγRIII 链基因扩增体系:模板 cDNA 2 μL,上游引物 SusBFcIIIF 1 μL,下游引物 SusBFcIIIR 1 μL,Ex Taq 酶 10 μL,双蒸水 6 μL,共 20 μL;PCR 条件为:94℃ 3 min;94℃ 1 min,58℃ 50 s,72℃ 70 s,34 个循环后 72℃ 10 min 充分延伸。γ 链基因扩增体系:模板 cDNA 2 μL,上游引物 SusBγF 1 μL,下游引物 SusBγR 1 μL,Ex Taq 酶 10 μL,双蒸水 6 μL,共 20 μL;PCR 条件为:95℃ 8 min;94℃ 30 s,58℃ 30 s,72℃ 40 s,30 个循环后 72℃ 6 min 充分延伸。在 1% 琼脂糖凝胶中电泳,回收扩增产物。

1.2.4 重组表达载体的构建及鉴定 按照上述 PCR 条件大量扩增猪 FcγR III 和 γ 链基因片断,将 FcγRIII 经 Hind III 和 BamH I,γ 链经 Nhe I 和 Hind III 酶切后,装入同酶切的 pcDNA3. 1 和 PIREShyg3 载体,构建成真核表达载体 pcDNA3. 1-poFcγR III 和 PIREShyg3-γ,转化大肠杆菌 *E. coli* JM109,对克隆子进行菌落 PCR 鉴定,鉴定正确的阳性克隆子经扩大

培养提取质粒后进一步进行酶切鉴定。最后将酶切鉴定均为阳性的送上海生工测序,以确定基因插入的位置、大小及读码框是否正确。

### 1.2.5 细胞转染

1.2.5.1 质粒制备 用 Qiagen 质粒提取试剂盒提取纯化真核表达质粒 pcDNA3.1-poFcγR III 和 PIREShyg3-γ, 然后用 Bgl II 将质粒线性化,经 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定,并回收目的片段,以核酸蛋白分析仪测定 DNA 含量。

1.2.5.2 细胞转染与筛选 利用脂质体 Lipofectamine™ 2000 转染试剂以线性化 pcDNA3.1-poFcγR III 和 PIREShyg3-γ 质粒共转染 Marc-145 细胞。转染 48 h 后,消化转染细胞,以 20 mL 含 400 mg/L G418 和 300 mg/L 潮霉素的 DMEM/10 完全培养基重悬细胞,然后转至 96 孔培养板,每孔 200 μL,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,每 3~4 d 换液 1 次。转染后 10 d 左右,待细胞克隆长至约 1/2 孔时,消化细胞克隆,将细胞转至 24 孔培养板扩大培养,待进一步克隆。

1.2.5.3 转染细胞的克隆 以有限稀释法对上述经过 G418 和潮霉素双重筛选的阳性转染细胞进行克隆,建立稳定表达 poFcγRIII 细胞株。即用含 400 mg/L G418 + 300 mg/L HygB 的 DMEM/10 选择培养基稀释细胞至 5~10 cells/mL,加到含饲养细胞的 96 孔细胞培养板上,每孔 100 μL,置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 10~15 d,同时选用正常的 Marc-145 细胞为对照,采用相似的细胞密度进行铺板,分别加入含有 400 mg/L G418 和 300 mg/L 潮霉素的 DMEM/10 培养基进行培养。

### 1.2.6 细胞系的鉴定

1.2.6.1 RT-PCR 鉴定 将亚克隆生长起来的细胞用含有 400 mg/L G418 和 300 mg/L 潮霉素的 DMEM/10 培养基进行扩大培养并对细胞进行总 RNA 提取,反转录成 cDNA 为模板进行 FcγRIII 和 γ 链基因片段扩增,PCR 后 1% 琼脂糖凝胶电泳。

1.2.6.2 玫瑰花环试验 参照文献 [16],以玫瑰花环试验检测 poFcγRIII 在 Marc-145 转染细胞表面与其配体猪 IgG 的结合。鸡红细胞用 PBS 配成 5% 的红细胞悬液,取 200 μL 5% 的红细胞悬液与 20 μL 猪 IgG (0.65 g/L) 混合,在 4℃ 孵育 2 h,用 PBS 漂洗 3 次,最终配成 0.5% 的猪 IgG-RBC 悬液;在 96 孔板中培养 pcDNA3.1-poFcγR III 和 PIREShyg3-γ 质粒共转染 Marc-145 细胞,待其长成单层,以预温的无血清 DMEM/0 培养基 (37℃) 漂洗细胞,加入 DMEM/0 培养基,每孔 200 μL,37℃ 孵育 2 h,以洗

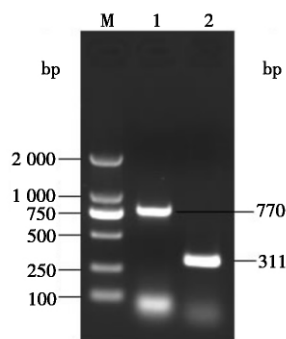
脱结合在细胞表面的猪 IgG;将 0.5% 猪 IgG-RBC 悬液缓慢加到细胞单层,每孔 50 μL,37℃ 孵育 10 min,室温静置 35 min;用 PBS 轻柔漂洗 6 次;用甲醇 (含 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 室温固定细胞 10 min,PBS 漂洗 3 次;每孔加 100 μL PBS,在显微镜下观察细胞表面形成的玫瑰花环;在细胞单层加入 10 mg/L HRP 标记的羊抗猪 IgG 抗体,每孔 50 μL,37℃ 孵育 30 min;用 PBST 充分洗涤,以 AEC 染色试剂盒染色;用显微镜观察玫瑰花环中 RBC 的显色。

1.2.6.3 流式鉴定 通过流式细胞术检测猪 IgG 与克隆化的 Marc-145 细胞结合。取空白 Marc-145 细胞和共转染后的细胞各一瓶,用预冷的 PBS 漂洗 2 次,然后将细胞消化,1 000 r/min 离心 5 min 后用适当洗涤液悬浮分装到 EP 管中,300 g、4℃ 条件下离心 5 min,去上清。将鉴定有活性的猪 IgG (4.0 g/L) 在 62℃ 热聚合 10~15 min 后用洗涤液 10 倍稀释加入对应管中,200 μL/管。冰上孵育 30 min,300 g、4℃ 下离心 5 min,去上清,用 PBS 洗 2~3 次,加入用 PBS 50 倍稀释的二抗 (荧光标记的兔抗猪二抗),100 μL/管,冰上孵育 30 min,300 g、4℃ 下离心 5 min,去上清,用 PBS 洗 2~3 次后用 600 μL 洗涤液悬起 (10<sup>5</sup>~10<sup>6</sup> cells/mL 为宜),冰上放置待过流式细胞仪。

## 2 结果与分析

### 2.1 基因的克隆结果

以猪 PAM cDNA 为模板,分别扩增猪 FcγRIII 和 γ 链基因,PCR 结果进行 1% 琼脂糖凝胶电泳,分别获得 770 bp 和 311 bp 的 2 条带 (图 1),与预期大小相符。



M. DNA Marker (DL2000); 1. FcγRIII 基因片段; 2. γ 链基因片段。  
M. DL2000 Marker; 1. FcγRIII genes; 2. γ genes.

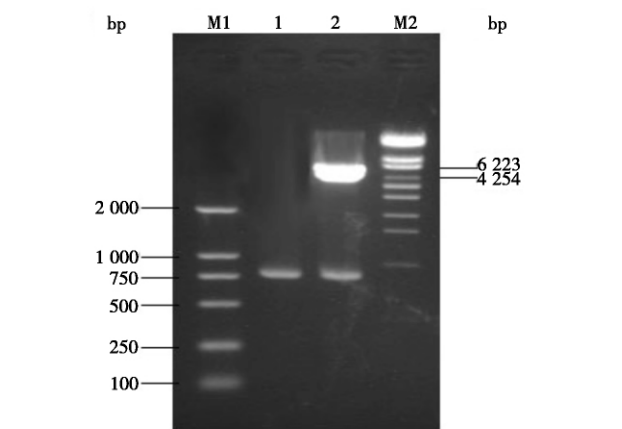
图 1 猪 FcγRIII 和 γ 链基因的克隆结果

Fig. 1 Results of poFcγRIII and γ chain genes cloning

### 2.2 真核表达质粒的构建

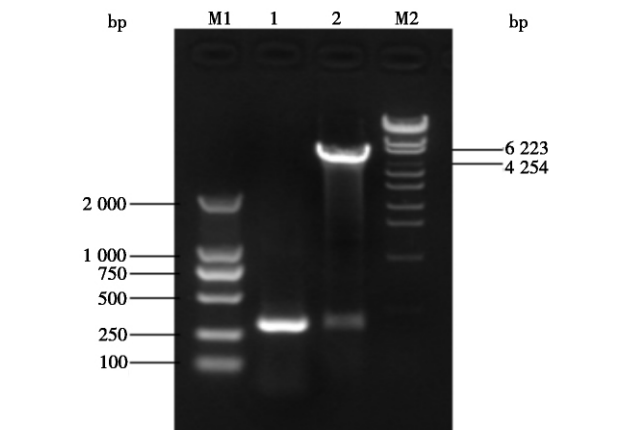
将猪 FcγRIII 全长基因片段克隆到 pcDNA3.1 的巨细胞病毒启动子 (P<sub>CMV</sub>) 下游,经 PCR 及 Hind

III /BamH I 双酶切鉴定(图 2);同时将猪 γ 链全长基因克隆到 PIRESHyg3 的巨细胞病毒启动子(P<sub>CMV</sub>)下游,经 PCR 及 *Nhe* I /BamH I 双酶切鉴定(图 3),所有结果均显示成功构建了 2 种真核表达质粒 pcDNA3.1-poFcγR III 和 PIRESHyg3-γ,而且测序结果也表明猪 FcγR III 基因片段及 γ 链基因分别正确插入到 pcDNA3.1、PIRESHyg3 表达载体,插入位置和方向都正确。



M1. DNA Marker; 1. FcγR III 基因特异性片段; 2. pcDNA3.1-FcγR III 酶切结果; M2. λ-EcoT14 Marker。  
M1. DL2000 marker; 1. Pocine FcγR III; 2. The products from pcDNA 3.1-FcγR III digested by *Hind* III /BamH I; M2. λ-EcoT14 Marker.

图 2 重组质粒 pcDNA3.1-FcγR III 的 PCR 和双酶切鉴定  
Fig. 2 Identification of the plasmid pcDNA3.1-FcγR III



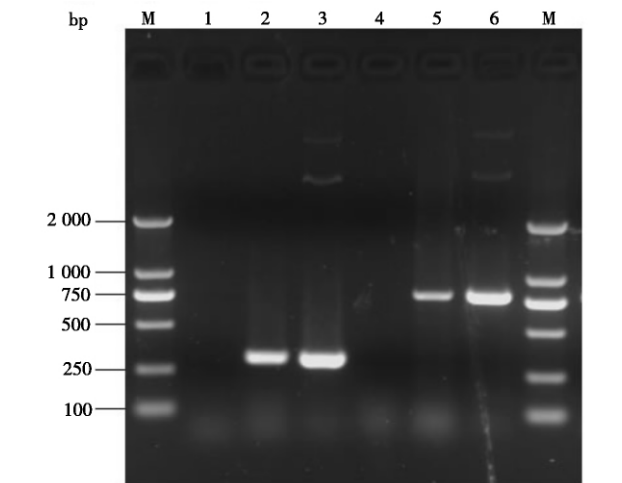
M1. DNA Marker; 1. 猪 γ 链特异片段; 2. PIRESHyg3-γ 双酶切结果; M2. λ-EcoT14 Marker。  
M1. DL2000 marker; 1. Pocine gamma chain; 2. The products from PIRESHyg3-γ digested by *Nhe* I /BamH I; M2. λ-EcoT14 Marker.

图 3 重组质粒 PIRESHyg3-γ 的 PCR 和双酶切鉴定  
Fig. 3 Identification of the plasmid PIRESHyg3-γ

2.3 共转染细胞系的 RT-PCR 鉴定

对共转染 FcγR III 和 γ 链基因后建立的 Marc-145 细胞系进行总 RNA 提取,反转录成 cDNA 后作为模板再进行 PCR 验证,同时以构建好的真核表达质粒和空白 Marc-145 细胞的 cDNA 为模板进行 PCR 作为阳性和阴性对照,1% 琼脂糖凝胶电泳结果如图 4, FcγR III 和 γ 链基因成功转入 Marc-145 细

胞,从基因水平上说明细胞系构建成功。

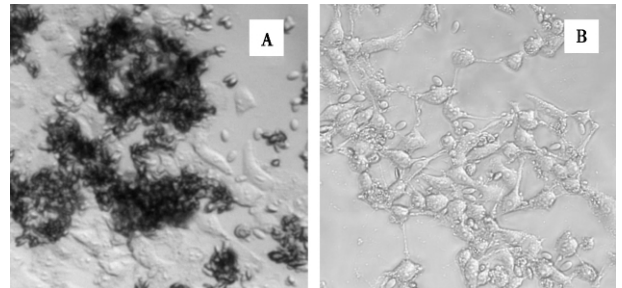


M. DNA Marker(2 000 bp); 1. 阴性对照; 2. γ 基因特异性片段; 3. 阳性对照; 4. 阴性对照; 5. FcγR III 基因特异性片段; 6. 阳性对照。  
M. DL2000 Marker; 1. Negative control; 2. γ genes (311 bp); 3. Positive control; 4. Negative control; 5. FcγR III genes (770 bp); 6. Positive control.

图 4 从 Marc-145 细胞系 mRNA 扩增 poFcγR III 和 γ  
Fig. 4 PCR amplification of poFcγR III and γ from Marc-145 cell line

2.4 共转染细胞系的玫瑰花环试验鉴定

以玫瑰花环试验检测 Marc-145 转染细胞与配体结合。在转染细胞周围成明显的玫瑰花环(图 5-A),而未转染的 Marc-145 对照细胞没有玫瑰花环的形成(图 5-B),表明表达于转染细胞表面的 poFcγR I 受体分子能与猪 IgG 特异结合。



A. 转染 poFcγR III 和 γ 链的细胞系; B. 空白 Marc-145 细胞。  
A. Transfect poFcγR III and γ genes cell line; B. Control Marc-145 cell.

图 5 FcγR III 和 γ 链基因共转染细胞的玫瑰花环试验(100 ×)  
Fig. 5 Rosetting analysis of Marc-145 cell line co-transfected with poFcγR III and γ genes(100 ×)

2.5 共转染细胞系的流式鉴定

通过流式细胞术检测猪聚合 IgG 与克隆化的转染 Marc-145 细胞的结合。结果表明,细胞系与猪 IgG 特异结合(图 6)。

3 讨论

将基因克隆到真核表达载体,并转入到相应的宿主细胞中,从而观察宿主细胞的变化是研究基因功能的一种有效方法。本研究通过分离猪肺泡巨噬

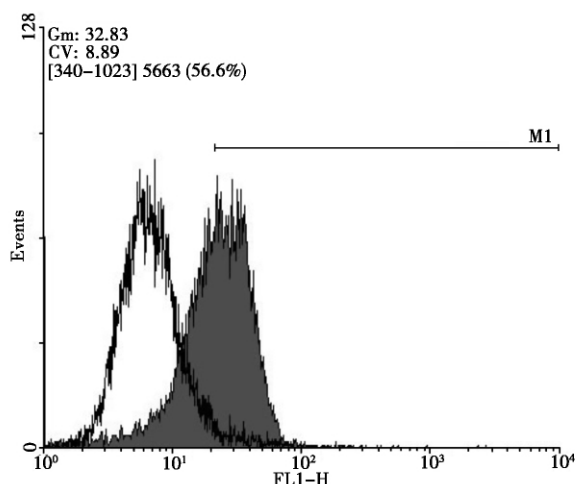


图6 流式细胞分析  $Fc\gamma RIII$  和  $\gamma$  链基因  
共转染 Marc-145 细胞系与 IgG 的结合

Fig. 6 Flow cytometric analysis the binding of porcine  
IgG with the whole molecule of poFc $\gamma$ RIII and  $\gamma$   
expressed on the Marc-145

细胞,提取其总 RNA 并逆转录为 cDNA,以 cDNA 为模板通过 PCR 的方法获得了猪  $Fc\gamma RIII$  和  $\gamma$  链基因的编码区,并分别成功地将其插入 pcDNA3.1 和 PIREShyg3 载体的 Pcmv 启动子下游,构建了 pcDNA3.1-poFc $\gamma RIII$  和 PIREShyg3- $\gamma$  的真核表达载体。经 PCR、双酶切及测序鉴定后,通过脂质体介导将 pcDNA3.1-poFc $\gamma RIII$  和 PIREShyg3- $\gamma$  重组质粒转染 Marc-145 细胞,经 G418 和潮霉素双重筛选建立了稳定表达猪  $Fc\gamma RIII$  和  $\gamma$  链基因细胞系。为鉴定该细胞系是否能正确表达目的基因,本研究以未转染 pcDNA3.1-poFc $\gamma RIII$  和 PIREShyg3- $\gamma$  的 Marc-145 细胞作为对照,应用 RT-PCR 技术、玫瑰花环试验和流式细胞术检测到 poFc $\gamma RIII$  基因在 Marc-145 细胞中能有效表达。

大量研究表明,猪  $Fc\gamma RIII$  基因与  $\gamma$  链基因共表达于多种细胞的表面<sup>[6,9]</sup>,故而将猪  $Fc\gamma RIII$  基因与  $\gamma$  链基因共同转染 Marc-145 细胞,通过 G418 和潮霉素双重筛选标记连续筛选和克隆获得了稳定表达猪  $Fc\gamma RIII$  基因的 Marc-145 细胞系。国内外研究表明,PRRSV 存在抗体依赖增强作用(ADE)<sup>[9]</sup>,ADE 的产生与免疫细胞表面的 Fc 受体有关,即病毒抗原与特异性抗体形成免疫复合物,然后借助细胞表面的 Fc 受体与靶细胞结合,从而促进病毒更容易进入细胞,进行有效复制并引起感染。因此,本研究建立的细胞系将为评价及揭示 PRRSV ADE 作用分子机制提供了可能。

## 参考文献:

- [1] Takai T. Fc receptors and their role in immune regulation and autoimmunity [J]. J Clin Immunol 2005 25(1): 1 - 18.
- [2] 史平玲,王爱萍,乔松林,等. 家畜 IgG Fc 受体研究进展[J]. 河南农业科学 2010 (1): 124 - 128.
- [3] Zhang G. Bovine IgG Fc Receptors (PhD Thesis) [D]. University of Hertfordshire, Hatfield, 1994.
- [4] Daeron M. Fc receptor biology [J]. Annu Rev Immunol, 1997, 15: 203 - 234.
- [5] Baudino L, Nimmerjahn F, Azeredo da Silveira S, et al. Differential contribution of three activating IgG Fc receptors (Fc gamma R I, Fc gamma R III, and Fc gamma R IV) to IgG2a- and IgG2b-induced autoimmune hemolytic anemia in mice [J]. J Immunol 2008, 180: 1948 - 1953.
- [6] Cohen-Solal J F, Cassard L, Fridman W H, et al. Fc $\gamma$  receptors [J]. Immunol Lett 2004, 92: 199 - 205.
- [7] Ravetch J V. Fc receptors [J]. Curr Opin Immunol, 1997, 9: 121 - 125.
- [8] Ravetch J V, Bolland S. IgG Fc receptors [J]. Annu Rev Immunol 2001, 19: 275 - 290.
- [9] Nimmerjahn F, Anthony R M, Ravetch J V. Agalactosylated IgG antibodies depend on cellular Fc receptors for in vivo activity [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104: 8433 - 8437.
- [10] 张玉杨,张改平,乔松林,等. 猪 IgG II 类 Fc 受体基因真核表达重组质粒的构建及表达 [J]. 华北农学报, 2007 22(4): 52 - 55.
- [11] Kacsokovics I. Fc receptors in livestock species [J]. Vet Immunol Immunopathol 2004, 102(4): 351 - 362.
- [12] Nimmerjahn F, Ravetch J V. Fc gamma receptors: old friends and new family members [J]. Immunity, 2006, 24(1): 19 - 28.
- [13] Flesch B K, Neppert J. Functions of the Fc receptors for immunoglobulin G [J]. J Clin Lab Anal, 2000, 14(4): 141 - 156.
- [14] Sweeney S E, Halloran P J, Kim Y B. Identification of a unique porcine Fc $\gamma RIII\alpha$  molecular complex [J]. Cell Immunol, 1996, 172: 92 - 99.
- [15] 冯丽丽,张丽萍,张改平,等. 脂多糖对猪肺泡巨噬细胞分泌 IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  的影响 [J]. 河南农业科学, 2009(3): 106 - 109.
- [16] Zhang G, Young J R, Tregaskes C R, et al. Cattle Fc gamma R II: molecular cloning and ligand specificity [J]. Immunogenetics, 1994, 39: 423 - 427.