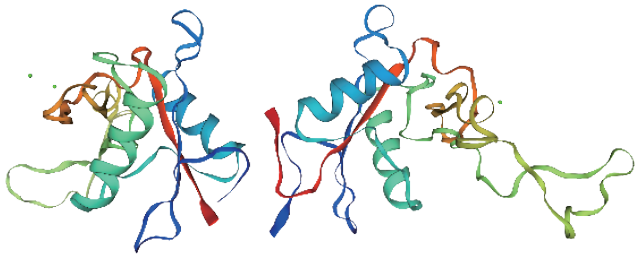
Mannose Receptor (MRC1)



图一：Mannose Receptor蛋白结构。图片来源：SWISS-MODEL。

Mannose Receptor 靶点介绍

蛋白功能

- Mannose Receptor 即甘露糖受体（又名 CD206），是一种高度糖基化的 I 型跨膜蛋白，主要存在于巨噬细胞，树突细胞和无血管内皮细胞的表面。
- Mannose Receptor 能够介导可溶性和颗粒状碳水化合物结构的内在化，从而参与先天免疫。
- Mannose Receptor 通过巨噬细胞介导糖蛋白的内吞作用，可以结合硫酸化和非硫酸化的多糖链。
- Mannose Receptor 充当细菌、真菌和其他病原体的吞噬受体或登革热病毒包膜蛋白 E 的受体。

蛋白表达

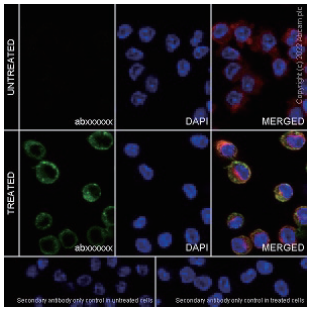
- 高表达于肺和淋巴组织中。

蛋白定位

- Mannose Receptor 蛋白定位于细胞膜和内体膜。

异构体 & 翻译后修饰

- 人　（P22897）：异构体 1：166kD（预测）
  异构体 2：57kD（预测）
- 小鼠（Q61830）：165kD（预测）
- 大鼠（D3ZD31）：165kD（预测）
- Mannose Receptor 存在二硫键及糖基化修饰。



图二：Mannose Receptor ICC实验结果图，Anti-Mannose Receptor antibody [EPR25215-277] (ab300621)。Untreated: Raw 264.7。Treated: IL-4 (40 ng/ml)处理Raw 264.7 细胞 4 天，然后 IL-10 (40 ng/ml) 再处理 4天。
绿色：Mannose Receptor，红色：alpha Tubulin，蓝色：DAPI。

WB 实验贴士

注意事项

- Mannose Receptor（CD206）主要在巨噬细胞和树突状细胞表达，也可在淋巴、肝和脾内皮、肾系膜细胞、气管平滑肌细胞和视网膜色素上皮中表达。建议选择表达量较高的样本作为阳性对照，例如肺。
- Mannose Receptor（CD206）是一种预测约 166kDa 的膜结合蛋白，煮样可能会引起蛋白聚集，若无信号，建议样本制备后不煮样。
- Mannose Receptor 在大脑中的表达在生命的第一周达到最高，此后急剧下降，在整个成年期保持在低水平。因此在正常全脑裂解液中，很难检测到信号。
- Mannose Receptor 还有存在可溶性的形式，可溶性 CD206 存在于人树突状细胞、人巨噬细胞和小鼠巨噬细胞的培养基中，也存在于人和小鼠血清中。研究发现，CD206 的可溶形式分子量比膜结合形式更小。
- Mannose Receptor 还存在翻译后修饰，例如糖基化修饰，因此实际检测分子量可能比预测分子量大。
- 在炎症反应过程中，IL-4 和 IL-13 会刺激 Mannose Receptor（CD206）表达会上调。对于部分细胞如 RAW264.7，IL-4 和 IL-10 处理会增加 CD206 的表达，因此刺激处理有利于解决 WB 实验时无信号或信号弱等问题。（可参考阳性对照）

阳性对照

- 肺组织裂解液。

阴性对照（无表达或弱表达）

- 小鼠：脑组织裂解液，RAW 264.7 全细胞裂解液。
- 大鼠：脑组织裂解液。

结果示例

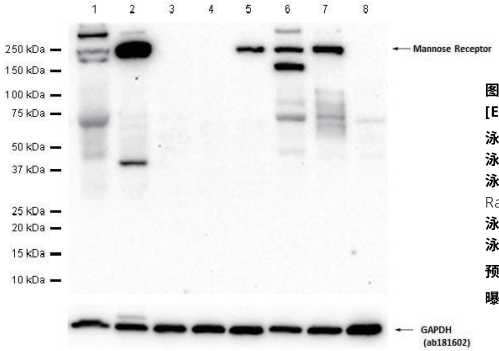


图 三：WB-Anti-Mannose Receptor antibody [EPR25215-277] (ab300621)

泳道1：小鼠肺组织裂解液。 **泳道2：**小鼠肝脏组织裂解液。
泳道3：小鼠脑组织裂解液。 **泳道4：**Raw264.7全细胞裂解液。
泳道5：20ng/ml IL-4和10uM Dexamethasone处理18小时的Raw264.7全细胞裂解液。
泳道6：大鼠肺组织裂解液。 **泳道7：**大鼠肝脏组织裂解液。
泳道8：大鼠脑组织裂解液。 **上样量：**20μg/泳道。
预测条带大小：166kDa **观察条带大小：**200kDa
曝光时间：3分钟。 **封闭液和抗体稀释液：**5%脱脂奶粉。

关键控制点

在实验中除了需要注意常规问题外，还要特别关注以下关键控制点：

- 样本制备：» 添加足够量的蛋白酶抑制剂以避免靶标蛋白降解。
  - » 整个样本制备过程中，保持样本置于冰上。
  - » 通过 Bradford 分析、Lowry 分析或 BCA 分析测定样本总蛋白浓度。
  - » 若煮样后无信号或信号弱，强烈推荐不要煮样，防止蛋白聚集。
- 电　　泳：» 使用新鲜制备的裂解液。
  - » 至少上样 20μg 总蛋白进行电泳。
  - » 分子量大的靶标蛋白 (分子量 >100 kDa)，推荐使用 8% 分离胶。
- 转　　膜：» 在转膜缓冲液中添加终浓度为 0.1% 的 SDS。
  - » 充分冲洗 PVDF 膜，确保膜上残留甲醇全部去除。
  - » 建议转膜缓冲液中甲醇浓度为 10%。
  - » 强烈建议转膜完成后使用丽春红染色，确定转膜是否成功。

IHC 实验贴士

注意事项

- Mannose Receptor（CD206）主要在巨噬细胞和树突状细胞表达，也可在淋巴、肝和脾内皮、肾系膜细胞、气管平滑肌细胞和视网膜色素上皮中表达。建议选择表达量较高的样本作为阳性对照，例如肺和肝组织。
- Mannose Receptor 在小鼠和大鼠肝脏巨噬细胞和窦内皮细胞染色阳性，在小鼠脾脏巨噬细胞染色阳性，在小鼠肺癌间质细胞染色阳性。

阳性对照

- 人、大鼠和小鼠肺组织和肝脏组织。

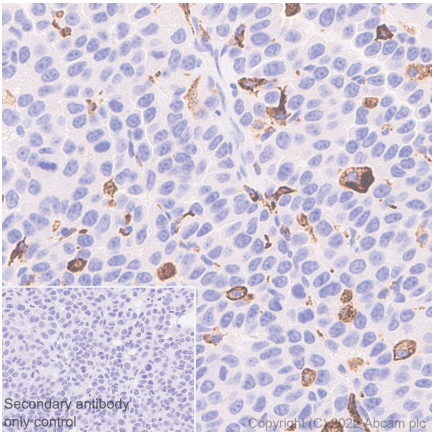


图　五：IHC- Anti-Mannose Receptor antibody [EPR25215-277] (AB300621)

样品名称：小鼠肺癌组织石蜡切片。

一　抗：使用ab300621，稀释比1/2000。

抗原修复方法：热抗原修复，Tris-EDTA buffer (pH 9.0, epitope retrieval solution 2)，20分钟。

检测方法：DAB

其它描述：使用Leica Bond®RX系统和标准protocol进行实验。小鼠肺癌间质细胞染色阳性。

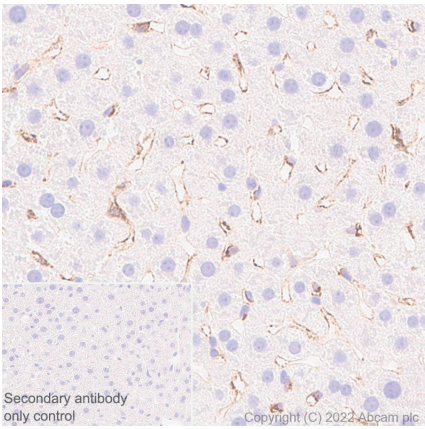


图　六：IHC- Anti-Mannose Receptor antibody [EPR25215-277] (AB300621)

样品名称：大鼠肝脏组织石蜡切片

一　抗：使用ab300621，稀释比1/2000。

抗原修复方法：热抗原修复，Tris-EDTA buffer (pH 9.0, epitope retrieval solution 2)，20分钟。

检测方法：DAB

其它描述：使用Leica Bond®RX系统和标准protocol进行实验，大鼠肝脏巨噬细胞和窦内皮细胞染色阳性。

关键控制点

在实验中除了需要注意常规问题外，还要特别关注以下关键控制点：

- 样本固定：» 样本固定时间取决于组织块大小与组织类型，但对于大多数样本，室温固定 18-24 小时较为合适。
  » 过度固定则会封闭抗原表位，虽然抗原修复会暴露其中一部分表位，但如果组织固定时间非常长（如一周以上），则会发生抗原修复后依然无信号的现象。
- 抗原修复：» 抗原修复条件需要优化，推荐使用热诱导的抗原修复方法，可以尝试在高压锅中对玻片进行 110℃修复 15min。
- 抗体孵育：» 建议在湿盒中进行抗体孵育，防止发生干片现象。
  » 使用信号放大系统来获得更强的实验信号，如使用 Polymer 耦连的 HRP 二抗进行 IHC 实验。

参考文献

PMID: 19683778, 19683778, 18434610, 32397365, 11320646, 20801507, 30591689, 25250030, 28679964.