

杆状病毒对不同哺乳动物细胞基因转移及表达效率的研究

许辰煜 程通 卢五迅 陈敏 吴婷 王颖彬 张军* 夏宁邵

(厦门大学细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室, 厦门 361005)

摘要 研究已证实杆状病毒可进入某些哺乳动物细胞,这提示了可将重组杆状病毒作为一种对哺乳动物细胞的新型基因转移载体。利用已构建的重组杆状病毒 BacV-CMV-EGFP,以含病毒的 Sf9 细胞培养上清同时孵育多种哺乳动物细胞,利用流式细胞术检测报告基因在不同细胞株中的转移效率及表达效率。共使用了 20 种哺乳动物细胞株,其中有 12 种人类组织细胞,7 种小鼠组织细胞,1 种猴组织细胞。实验结果显示携带 CMV 启动子的重组杆状病毒可有效进入多数哺乳动物细胞,其中对人、猴来源细胞的基因转移效率显著高于对鼠源细胞,对贴壁细胞的基因转移效率显著高于对悬浮细胞。同时,通过脂质体 LipofectAMINE 将携带有 CMV 启动子和 EGFP 基因的哺乳动物细胞表达质粒 pCDNA3.1-EGFP 分别转染部分特别是被认为杆状病毒进入能力较低的细胞株,结果显示 CMV 启动子在这些细胞中均可有效引导 EGFP 基因的表达,因此认为携带了 CMV 启动子的重组杆状病毒对不同哺乳动物细胞基因转移效率能基本反映出杆状病毒对不同种哺乳动物细胞的进入能力。通过综合比较携带 CMV 启动子的杆状病毒对不同种属及组织来源细胞的基因转移及表达效率,可看出杆状病毒对灵长类动物贴壁细胞的基因转移及表达效果是较好的,而对小鼠来源的细胞及悬浮培养细胞却并不十分理想,这表明将重组杆状病毒作为一种对哺乳动物细胞的基因转移工具,仍有其局限性,不一定对所有的细胞都合适,在应用时应予以充分考虑。

关键词 Bac-to-Bac 昆虫细胞-杆状病毒表达系统, CMV 启动子, 绿色荧光蛋白, 流式细胞术, 哺乳动物细胞

中图分类号 Q813 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3061(2004)01-0073-05

对哺乳动物细胞进行基因转移是基因功能及基因治疗研究中必不可少的重要环节。近年来研究发现杆状病毒可有效进入部分哺乳动物细胞,因此杆状病毒也成为向哺乳动物细胞转移外源基因的一个新途径^[1-3]。

Hofmann 等研究认为杆状病毒对哺乳动物细胞有明显的组织特异性,主要进入肝细胞^[4]。Boyce 等的实验结果也支持这一观点^[5]。但后来的研究发现,杆状病毒也可有效进入除肝细胞外的其它多种哺乳动物细胞,甚至对部分细胞的基因转移效率还高于对肝细胞^[6,7]。造成这种前后结论不同的原因可能在于不同研究者所使用的启动子和报告基因各不相同,以及所采用的检测方法的灵敏度也各有差异。CMV 启动子来源于巨细胞病毒,是目前在哺乳动物细胞基因表达中最常用的启动子之一。绿色荧光蛋白基因(GFP)因其无细胞毒性、无需外源底物或辅助因子、便于检测,被认为是一种较理想的报告基因。流式细胞仪主要用于检测细胞的各种光信号,可对细胞数量、单个细胞荧光强度等指标进行精确定量,且

检测灵敏度高。因此将 GFP 与流式细胞术相结合,用于评估携带 CMV 启动子的重组杆状病毒对哺乳动物细胞的基因转移及表达效率较为理想,与其他方法相比具有更好的准确性和精确性。

我们已构建了携带 CMV 启动子可在哺乳动物细胞中表达增强型绿色荧光蛋白(eGFP)的重组杆状病毒 BacV-CMV-EGFP,并证明了直接使用含重组杆状病毒的昆虫细胞培养上清即可对哺乳动物细胞进行高效的外源基因转移^[8]。本研究继续探讨了将此种方法应用于多种不同类型及组织来源的哺乳动物细胞的可行性,同时研究了携带 CMV 启动子的重组杆状病毒在不同类型及组织来源的哺乳动物细胞中报告基因的表达效率。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株和病毒: Sf9 昆虫细胞株购自 Invitrogen 公司。CV1、293、143B、Hep G2、FLC/PRF/5、BNL 1ME A、7R、1、WF38、DMS-114、JC、L-929、P815、PT67

收稿日期:2003-07-11,修回日期:2003-10-13。

基金项目:“863”计划资源环境技术领域青年基金(No. 2001AA628120)。

* 通讯作者。 Tel: 86-592-2184110; Fax: 86-592-2184110; E-mail: zhangj @jingxian. xmu. edu. cn

细胞株购自 ATCC, HeLa、CHO、NIH3T3、Raji、CNE、MCF7、BGC-223 细胞株由本实验室保存。pcDNA3.1-EGFP、LCL-cm 细胞、重组杆状病毒 BacV-CMV-EGFP 为本实验室构建。

1.1.2 实验试剂: Grace 培养基、乳白蛋白水解物、DMEM、RPMI1640、MEM 培养基及细胞培养用胎牛血清购于 Invitrogen 公司。酵母粉购于 OXOID 公司。抗生素购于华北制药厂。其它试剂为进口或国产分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 昆虫细胞的培养及感染^[9]: 在无菌的 Grace 培养基中加入 10% 经 56 灭活的胎牛血清, 成为完全培养基。用 50mL 细胞培养瓶培养 Sf9 细胞, 当细胞生长至瓶底覆盖率为 80% 左右, 用弯头滴管吹下 Sf9 细胞, 按 1:3 的比例接种到 3 个培养瓶中, 27 培养 3d 后再按同样的方法继续传代。将 -80 储存的重组杆状病毒解冻后加入一瓶 Sf9 细胞进行活化, 4d 后收集培养上清, 再以 1:20 的体积比进行二次感染, 以获得病毒滴度更高的培养上清。

1.2.2 病毒效价的空斑检测: Sf9 细胞以 80% 覆盖率铺于 6 孔板中, 置 28 培养 1d, 将收集的重组杆状病毒以 10 倍梯度稀释后接种 Sf9 细胞, 感染 1h 后加入 2mL 用 Grace 配制的低熔点琼脂糖 (0.8g/mL), 置 28 培养 5d, 用中性红染色后计算空斑数量。本实验在感染后第 4 天收集含病毒培养上清, 用空斑实验鉴定病毒的滴度 (Plaque forming unit, PFU, 空斑形成单位)。

1.2.3 重组杆状病毒对哺乳动物细胞的基因转移: 哺乳动物细胞用胰酶消化吹散后铺 24 孔培养板, 每孔细胞数量约为 5×10^4 。37 培养 12h 后弃去原培养基, 加入 500 μ L 已收集的含重组杆状病毒的培养上清或其稀释液, 置 37 8h 后更换为原培养基。继续培养 48h 后进行观察和检测。

1.2.4 脂质体 LipofectAMINE 转染哺乳动物细胞: 哺乳动物细胞以 70% 的贴壁率铺于 24 孔培养板, 37 培养 12h。取待转染质粒 1 μ g 溶于 100 μ L 无血清培养基中 (solution A), 取 LipofectAMINE 2 μ L 溶于 100 μ L 无血清培养基中 (solution B), 再将 solution A、B 温和混匀, 在室温下放置 45min。吸去 24 孔培养板中的培养基, 以 1mL 无血清培养基洗涤细胞 3 次, 加入 500 μ L 无血清培养基, 再将 solution A、B 混合液加于孔中, 37 孵育 6h。吸去 24 孔板中的混合液, 再加入 500 μ L 完全培养基进行培养。48h 后进行观察和检测。

1.2.5 绿色荧光的观察: 表达绿色荧光蛋白的细胞置于 Nikon TE200 倒置荧光显微镜下采用蓝光激发

观察, 用数码相机 Nikon coolpix990 采集荧光图像。

1.2.6 流式细胞仪检测基因转移效率及阳性细胞平均荧光强度: 待检测的细胞经胰酶消化并吹散为单细胞悬液, 1 500r/min 离心 5min, 用含 5% 胎牛血清的 PBS 重新悬浮。细胞悬浮液经 200 目的尼龙网过滤后使用流式细胞仪 (Beckman Coulter EPICS XL) 检测, 激发波长为 488nm, 检测波长为 525nm, 用 EX-PO32 软件对采集的数据进行分析。每个细胞样品收集大约 2×10^4 个细胞, 以未加病毒处理的细胞作为阴性对照, 设定 eGFP 阳性细胞区 (B 区), 使阴性对照细胞样品在 B 区中的细胞数不超过 2%。基因转移效率为细胞样品在 B 区中的细胞数量百分率减去阴性对照细胞样品在 B 区中的数量百分率; 阳性细胞平均荧光强度为细胞样品在 B 区中细胞荧光强度的平均值。

2 结 果

2.1 重组杆状病毒对不同哺乳动物细胞的基因转移及表达效率的比较

本研究中共使用了 HepG2、CV1、P815、FLC/PRF/5、143B、CHO、HeLa、Raji、JC、NIH3T3、293 等 20 种哺乳动物细胞株, 其中 12 种人类组织细胞, 7 种小鼠组织细胞, 1 种猴组织细胞。将含有重组杆状病毒 BacV-CMV-EGFP 的 Sf9 细胞培养上清 (1.2×10^7 PFU/mL) 用哺乳动物细胞完全培养基 1 倍稀释后直接孵育哺乳动物细胞 (moi = 50), 12h 后更换为原培养基, 48h 后用流式细胞仪检测报告基因转移效率和阳性细胞平均荧光强度, 结果如表 1 所示。从结果可以看出, 使用将带毒 Sf9 细胞培养上清直接孵育哺乳动物细胞的方法, 重组杆状病毒可有效进入大多数不同组织类型的哺乳动物细胞。

2.2 CMV 启动子在不同哺乳动物细胞中的活性

由于我们是通过报告基因表达的检测来对杆状病毒进入哺乳动物细胞的能力进行评价, 因此报告基因在不同细胞中的表达水平的差异可能会对评价结果造成影响。本研究使用的报告基因是 EGFP 基因, 其特点是无细胞毒性、检测方便、灵敏度较高, 是目前较常用的报告基因。CMV 启动子也是哺乳动物细胞表达中最常用的启动子之一, 已广泛应用于在多种哺乳动物细胞中表达不同的目的蛋白。CMV 启动子在不同的细胞中可能具有不同的活性。假如重组杆状病毒可高效进入某种哺乳动物细胞, 但 CMV 启动子在这种细胞中的活性极低, 报告基因的表达难以检测, 这样就必然会低估杆状病毒对该种哺乳动物细胞的进入能力。因此我们选用了部分特别是被认为杆状病毒进入能力较低的细胞株, 通

过脂质体转染的方式将携带有 CMV 启动子和 EGFP 报告基因的质粒转入细胞中进行表达,以验证 CMV 启动子在这些细胞中的活性。pcDNA3.1-EGFP 为本实验室构建的在 CMV 启动子后带 EGFP 基因的哺乳动物细胞表达质粒。通过脂质体 LipofectAMINE

将 pcDNA3.1-EGFP 分别转染入 CHO-K1、JC、PT67、293 等细胞株,转染 48h 后用流式细胞仪检测转染效率和 eGFP 荧光强度,结果如表 2 所示。可以看出,由 CMV 启动子在多种不同的哺乳动物细胞中均可有效引导 EGFP 基因的表达。

表 1 BacV-CMV-EGFP 对不同哺乳动物细胞的基因转移效率及表达效率的比较

Table 1 Comparison of mammalian gene-transfer and expression efficiencies of Baculovirus BacV-CMV-EGFP

Organism	Tissue	Growth properties	Transduction efficiency	Mean fluorescence intensity
Human				
WI-38	Lung fibroblast	Adherent	88.05 %	227.8
Hela	Adenocarcinoma	Adherent	88.42 %	48.7
Hep G2	Hepatocellular carcinoma	Adherent	87.94 %	188.2
293	Kidney	Adherent	79.32 %	46.4
HL-60	Hepatoma	Adherent	75.76 %	78.2
143B	Osteosarcoma	Adherent	70.79 %	54.8
MCF-7	Gastric carcinoma	Adherent	71.42 %	72.3
BGC-223	Breast carcinoma	Adherent	68.62 %	66.4
DMS 114	Small cell lung cancer	Adherent	53.17 %	92.8
CNE	Nasopharyngeal carcinoma	Suspension	0.50 %	7.8
Raji	Burkitt's lymphoma	Suspension	1.39 %	4.4
LCL-cm	B lymphocyte	Suspension	0.69 %	9.4
Mouse				
BNL 1ME A. 7R. 1	Liver	Adherent	49.80 %	39.3
CHO-K1	Ovary	Adherent	29.13 %	26.2
L-929	Subcutaneous connective tissue	Adherent	23.16 %	35.2
JC	Adenocarcinoma	Adherent	14.61 %	24.6
PT67	Embryo fibroblast	Adherent	7.41 %	12.4
NIH3T3	Embryo fibroblast	Adherent	7.42 %	13.6
P815	Mastocytoma	Suspension	0.68 %	5.6
Monkey				
CV1	Normal kidney	Adherent	88.76 %	126.6

表 2 pcDNA3.1-EGFP 通过脂质体转染对不同哺乳动物细胞的基因转移及表达效率的比较

Table 2 Comparison of mammalian gene-transfer and expression efficiencies of pcDNA3.1-EGFP transfected cell lines

Organism	Tissue	Growth properties	Transduction efficiency	Mean fluorescence intensity
Human				
WI-38	Lung fibroblast	Adherent	24.53 %	58.3
Hep G2	Hepatocellular carcinoma	Adherent	18.60 %	79.4
Hela	Adenocarcinoma	Adherent	19.82 %	42.7
293	Kidney	Adherent	61.45 %	86.6
Raji	Burkitt's lymphoma	Suspension	5.56 %	14.6
LCL-cm	B lymphocyte	Suspension	7.62 %	17.4
Mouse				
BNL 1ME A. 7R. 1	Liver	Adherent	13.09 %	19.1
CHO-K1	Ovary	Adherent	47.36 %	48.6
JC	Adenocarcinoma	Adherent	12.54 %	22.8
PT67	Embryo fibroblast	Adherent	22.63 %	31.6
NIH3T3	Embryo fibroblast	Adherent	25.31 %	35.3
P815	Mastocytoma	Suspension	12.78 %	16.8

2.3 重组杆状病毒对悬浮细胞系与贴壁细胞系基因转移效率的比较

本实验所使用的细胞分属于灵长类及小鼠类,我们将重组杆状病毒对这两类细胞中的悬浮细胞系与

贴壁细胞系的基因转移效率进行了归纳比较,结果如表 3 所示。从结果可看出,在灵长类动物的细胞中重组杆状病毒对贴壁细胞系的基因转移效率均要显著高于对悬浮细胞系的基因转移效率 ($t = 20.6484, P <$

0.05),在小鼠类细胞中只有一种悬浮细胞系,无法进行统计比较,但其基因转移效率也明显低于同种属的贴壁细胞系。此外从比较结果还可看出,在不同种属间,重组杆状病毒对灵长类贴壁细胞系的基因转移效率显著高于对小鼠类贴壁细胞系($t = 7.9674, P < 0.05$),而对灵长类和小鼠类悬浮细胞系的基因转移效率均很低,二者之间的差别不明显。

表3 重组杆状病毒对不同种属悬浮细胞与贴壁细胞基因转移效率的比较

Table 3 Comparison of the transduction efficiencies in adherent and suspend culture cells of different organisms transduced with Bac V-CMV-EGFP

		Adherent	Suspend
Primate	Total	10	3
	Mean transduction efficiency	77.25% ±11.37%	1.12% ±0.53%
Mice	Total	6	1
	Mean transduction efficiency	21.84% ±15.85%	0.61%

2.4 重组杆状病毒基因转移效率与细胞组织器官来源的关系

我们将重组杆状病毒对同一种属内不同组织器官来源细胞的基因转移效率进行比较。从表1的结果可看出,在灵长类的贴壁细胞系中,杆状病毒对不同组织来源细胞株的基因转移效率存在差别,而对同一组织器官来源的不同细胞株的基因转移效率也存在较明显差别,例如杆状病毒对肝癌细胞株 HepG2 的基因转移效率就要高于同是肝癌细胞的 PLC/PRF/5 ($t = 28.6597, P < 0.05$),对同是肺来源的 WF38 细胞株(SV40 转化肺成纤维细胞)的基因转移效率要远高于小细胞肺癌细胞株 DMS114 ($t = 35.0416, P < 0.05$)。在小鼠类的贴壁细胞系中也存在相似的情况。因此可以认为杆状病毒对哺乳动物细胞的基因转移效率与细胞的组织来源没有显著的必然联系。

3 讨 论

将昆虫细胞杆状病毒用于对哺乳动物细胞进行基因转移目前已证明是一种行之有效的办法。在已有的研究中,利用重组杆状病毒对哺乳动物细胞进行基因转移时多使用的是经超速离心纯化后的病毒。使用这种方法有利于获得大量高纯度的病毒,但这需要培养较多的细胞以生产大量的病毒,操作起来也较为复杂繁琐。我们在过去的实验中已证实了经重组杆状病毒感染后的 Sf9 细胞培养上清中的

病毒滴度即可满足对哺乳动物细胞进行高效基因转移实验的需要,可无需再对病毒进行浓缩纯化,这样就有效提高实验的效率和方便性。在本研究中,我们继续证实了此种方法可有效应用于对多种不同类型及组织来源的哺乳动物细胞进行的外源基因转移实验。

我们在实验中共使用了 20 种哺乳动物细胞株,其中有 12 种人类组织细胞、7 种小鼠组织细胞及 1 种猴组织细胞。从结果可看出使用将带毒 Sf9 细胞培养上清直接孵育哺乳动物细胞的方法,携带报告基因的重组杆状病毒可有效进入多数种类的哺乳动物细胞。其中,重组杆状病毒对人、猴来源的贴壁细胞的基因转移效率显著高于对鼠源贴壁细胞,但在悬浮细胞上未表现出这种种属间的差异。这说明了杆状病毒对哺乳动物细胞尤其是对贴壁细胞系的进入能力可能具有一定的种属差异性。此外从结果还可看出,杆状病毒对悬浮细胞的进入能力很低。实验中共使用了 4 株悬浮细胞,3 株为人组织来源,一株为鼠源,其外源基因转移效率均低于 2%,均显著低于同一种属中的贴壁细胞系。在 Condreay 等用纯化的重组杆状病毒进行的感染实验中也有类似的现象^[10]。这种现象说明了杆状病毒对哺乳动物细胞的进入能力的不同可能也与细胞的生长性质有关。目前对于杆状病毒进入哺乳动物细胞的机制尚未明确阐明,仍在继续研究之中。

由于我们是通过报告基因表达的检测来对杆状病毒进入哺乳动物细胞的能力进行评价,因此报告基因在不同细胞中的表达水平的差异可能会对评价结果造成影响。我们选用了部分特别是被认为杆状病毒进入能力较低的细胞株,通过脂质体转染的方式将携带有 CMV 启动子和 EGFP 报告基因的质粒转入细胞中进行表达。从转染实验的结果可看出,CMV 启动子在这些哺乳动物细胞中均可有效引导 EGFP 基因的表达,尽管其表达水平在不同细胞中可能存在差异,但均可为仪器所检测。因此可认为携带 CMV 启动子的重组杆状病毒对不同哺乳动物细胞基因转移效率的差异能够基本反映出杆状病毒对不同种哺乳动物细胞的进入能力。

外源基因在靶细胞中的高表达是我们在许多实验中追求的重要目标之一。从本实验的结果来看,报告基因的表达效率并不完全与基因转移效率成正比。如 HeLa 细胞的基因转移效率与 WF38 细胞相似,但其阳性细胞的平均荧光强度仅为后者的 1/5 左右,而 DMS 114 细胞的基因转移效率显著低于 HeLa 细胞,但其阳性细胞的平均荧光强度却显著高于后者。这表明报告基因在靶细胞中的表达受到多

种因素的影响,病毒对细胞的进入能力只是其中一方面,其所使用的启动子在目的细胞中的活性,细胞合成蛋白的能力,以及所表达的外源蛋白自身对细胞可能产生的影响等均可能会对表达结果造成影响。同时我们也注意到,携带 CMV 启动子的重组杆状病毒可进入大部分哺乳动物细胞,但其对小鼠来源的细胞及悬浮培养细胞的基因转移及表达效果并不十分理想,这表明将重组杆状病毒作为一种对哺乳动物细胞的基因转移工具,有其一定的局限性,不一定对所有的细胞都合适。因此,在利用杆状病毒作为对哺乳动物细胞的基因转移表达载体时,我们既要考虑所使用的细胞是否能被重组杆状病毒所高效进入,同时也要考虑其他多方面的因素,例如采用一种在目的细胞中具有较高活性的启动子等。

REFERENCES (参考文献)

- [1] Merrihew RV, Clay WC, Condeary JP *et al.* Chromosomal integration of transduced recombinant baculovirus DNA in mammalian cells. *J Virol*, 2001, **75**:903 - 909
- [2] Kost TA, Condeary JP. Recombinant baculoviruses as mammalian cell gene-delivery vectors. *Trends Biotechnol*, 2002, **20**(4):173 - 180
- [3] Huser A, Hofmann C. Baculovirus vectors: novel Mammalian cell gene-delivery vehicles and their applications. *Am J Pharmacogenomics*, 2003, **3**:53 - 63
- [4] Hofmann C, Sandig V, Strauss M *et al.* Efficient gene transfer into human hepatocytes by baculovirus vectors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**:10099 - 10103
- [5] Boyce FM, Bucher NL. Baculovirus mediated gene transfer into mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**:2348 - 2352
- [6] Shoji I, Aizaki H, Tani H *et al.* Efficient gene transfer into various mammalian cells, including non-hepatic cells, by baculovirus vectors. *J Gen Virol*, 1997, **78**:2657 - 2664
- [7] Yap CC, Ishii K, Aoki Y *et al.* A hybrid-baculovirus-T7 RNA polymerase system for recovery of an infectious virus from cDNA. *Virology*, 1997, **231**:192 - 200
- [8] Cheng T(程通), Xu CY(许辰煜), Wang YB(王颖彬) *et al.* Rapid and efficient expression of foreign genes in mammalian cells by baculovirus vectors. *Chinese Journal of Biotechnology* (生物工程学报), 2003, **19**(5):581 - 587
- [9] Bac-to-Bac baculovirus expression systems instruction manual. Invitrogen life technologies, 2002
- [10] Condeary JP, Witherspoon SM, Clay WC *et al.* Transient and stable gene expression in mammalian cells transduced with a recombinant baculovirus vector. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**(1):127 - 132

Mammalian Gene-transfer and Expression Efficiencies of Baculovirus BacV-CMV-EGFP

XU Chen Yu CHENG Tong LU Wu-Xun CHEN Min WU Ting WANG Ying-Bin ZHANG Jun* XIA Ning-Shao
(Key Laboratory of Cell Biology and Tumor Cell Engineering of Ministry of Education, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract It has been reported that baculoviruses could serve as a new gene-transfer vehicle for mammalian cells. We have previously constructed recombinant baculovirus BacV-CMV-EGFP and have proven that mammalian cells could be effectively infected by the recombinant baculovirus. In this report, we studied the efficiency of baculovirus to deliver exogenous gene into twenty mammalian cells, including twelve human cell lines (WF38, HeLa, HepG2, 293, PLC/PRF/5, 143B, MCF7, BGC-223, DMS 114, CNE, Raji, LCL-cm), seven murine cell lines (BNL 1ME A. 7R. 1, CHO-K1, L-929, J.C, PT67, NIH3T3, P815) and one monkey cell line (CV1). Results showed that most mammalian cell lines could be transduced by the recombinant baculovirus, the transduction efficiencies of the human and monkey cell lines were markedly higher than that of murine cell lines, and the transduction efficiencies in adherent culture cell lines higher than that of suspend culture cell lines, implying that the infection efficiency of the baculovirus may be correlative with the organism used and the growth properties of the cell lines. The plasmid pcDNA3.1-EGFP, which contains the CMV promoter and EGFP reporter gene, was next transfected by LipofectAMINE into a number of mammalian cells, especially those cells that were low in the baculovirus transfection. Results showed that the CMV promoter could effectively direct the expression of the reporter gene in these mammalian cells. Therefore the gene-expression efficiencies in different mammalian cell lines by the recombinant baculovirus which contains the same CMV promoter were dictated by the ability of the baculovirus to enter the cell lines. This study suggested that the recombinant baculovirus vector is more suitable for gene expression in primate adherent culture cells than in murine cells and suspend culture cells.

Key words Bac-to-Bac baculovirus/insect cell expression system, CMV promoter, green fluorescent protein, FCM, mammalian cells

Received: 07-11-2003

This work was supported by Grant from 863 Program (No. 2001AA628120).

* Corresponding author. Tel: 86-592-2184110; Fax: 86-592-2184110; E-mail: zhangj@jingxian.xmu.edu.cn