

不同区段 HIV-1 *env* 基因在 Bac-to-Bac 昆虫细胞杆状病毒表达系统中的表达及检测

谢小燕, 郭庆, 程通, 李少伟, 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: 利用昆虫细胞杆状病毒表达系统, 将从一株 HIV-1 阳性克隆质粒中获得的几个 HIV 包膜蛋白基因片段, 克隆入转移载体中得到重组病毒。用此重组病毒感染昆虫细胞后表达出 3 种 HIV 包膜蛋白, 即 GP120-41P、GP41T、GP41P, 分别含有 HIV-1 包膜糖蛋白 GP120 及部分 GP41, 删除了 N 端 12 个疏水氨基酸的 GP41 和仅有主要表位约 240 个氨基酸的 GP41。收获后分别以 Western-blotting 和 EIA 检测, 有较好的免疫学活性, 其中 GP41T 的活性最强。该实验为 HIV 包膜蛋白的结构研究提供了依据, 加以改进后可能有免疫检测的价值。

关键词: Bac-to-Bac 昆虫杆状病毒表达系统; 人免疫缺陷病毒; 包膜蛋白; 抗原; 表达

中图分类号: Q786 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8721(2002)01-0015-06

由于艾滋病(AIDS, 获得性免疫缺陷综合症)对人类的威胁正在激增, 全面了解人免疫缺陷病毒(HIV)的结构和功能、及时的检测和有效的治疗已经越来越成为当务之急。鉴于至今仍无有效的预防和治疗手段, 检测试剂的研制就显得尤为重要。EIA 是目前最普及的 HIV 检测手段, 通常都要利用抗原检测血清中的抗体, 因此抗原的选择十分关键。

HIV *env* 基因编码镶嵌于病毒包膜的糖蛋白 GP120 和 GP41, 感染 HIV 的病人体内针对 Env 的抗体产生较早且一般终生存在, 加上 Env 蛋白的特异性好, 使它成为诊断试剂的首选抗原^[1,2]。近年来, 各种形式的包膜蛋白通过不同的生物反应器加以表达、纯化, 包括真核的 CHO、杆状病毒表达系统及原核的大肠杆菌等^[3-5], 其主要表位的合成肽也开始出现^[6]。在血清学诊断中, 目前常用的合成肽无法模拟构相型表位, 而原核细胞基因工程产物缺少糖基化修饰, 真核系统表达构相、糖基化水平相对较高, 但不免存在一些生产上的劣势。为了进一步探究 Env 蛋白结构与功能的关系, 在真核系统中表达其主要表位, 获得高活性的重组蛋白, 进而发展检测试剂, 我们也将 *env* 基因在杆状病毒表达系统中分区段进行表达。而 Bac-to-Bac 杆状病毒表达

系统是发展较新的一套表达系统, 从获得重组有外源基因的克隆到收获目的蛋白大约只需 9 天时间^[7]。我们将它运用于 HIV 的研究中。

材料和方法

1 菌株、细胞株和质粒 *E. Coli* DH5 α 由本实验室保存; *E. Coli* DH10Bac、SF9 昆虫细胞株为 GIBCO/BRL 公司产品。pBluescrip⁺ KS 由本实验室保存, pFastBad 为 GIBCO/BRL 公司产品。HIV-1 基因克隆 pNL4-3 来自法国巴斯德研究所(GeneBank: M19921.1), 包含有 HIV-1 NY5 株和 LAY 株的部分序列。

2 酶和其他分子生物学试剂 限制性内切酶、连接酶均购于华美生物公司。引物由上海生工公司合成。TNM-FH 昆虫细胞培养基(1000ml Grace's 培养基中加酵母粉 3.3g, 乳白蛋白水解物 3.3g)中的 Grace's 培养基、乳白蛋白水解物购于 GIBCO/BRL 公司。酵母粉购于 OXOID 公司。抗生素购于华北制药厂。IPTG、X-gal 购于 Sigma 公司。Cellfectin 购于 GIBCO/BRL 公司。辣根过氧化物酶标记 HIV-1 包膜蛋白基因工程产物 HRP-ENV9 由北京万泰公司赠送。其它试剂为进口或国产分析纯试剂。

3 血清标本 抗 HIV-1 IgG 抗体阳性、阴性血清由厦门新创公司赠送。其中 BD1-BD18 为 18 份抗 HIV-1 抗体阴性血清, IC、FJ(3)、FJ(10)为 3 份抗 HIV-1 抗体阳性血清, Cutoff/10 是该公司设定为抗 HIV-1 抗体阳性临界值的血清。

4 重组 bacmid 的获得

4.1 HIV gp160 和 gp41 基因片段的 PCR 扩增、克隆及鉴定^[5] 设计引物以高保真 Taq 酶由 pNL4-3 中扩增出 2.5kb 的 HIV-1 *env* 全基因 gp160(引物 UP1、LOW, pNL4

收稿日期: 2001-01-06; 修回日期: 2001-05-08

基金项目: 国家重点科技(攻关)计划(96-920-37-09); 福建省计委重点攻关项目(96010)

作者简介: 谢小燕(1976-), 女, 在读硕士研究生, 研究细胞分子生物学。

通信作者: 夏宁邵

- 3 位点 6221- 8782) 和删除了 gp41 N 端 12 个疏水氨基酸后的 gp41t 片段(引物 UP3 和 LOW, pNL4- 3 位点 7747- 8782)。

引物: UP1 5'- AACTGCAGCGATGAGAGTGAAGGAGAAGTA - 3'

Pst iv

UP3 5'- AACTGCAGCGATGGCA GTGG GAATAGGAGC - 3'

Pst iv

LOW 5'- GCTCTAGATAGCAAAATCCTTTCCAAGC - 3'

Xba iv

两片段扩增后,用 Promega 公司的 Wizard™ plus PCR 纯化 Kit 回收,一般酶切片段用华粤公司的片段回收 Kit 回收,以边切边连方法分别克隆到 pBluescript ③ KS 的 *Sma* iv 单位点中(图 1),连入 gp160 的质粒为 L68(反插),连入 gp41t 的质粒为 L41(反插),酶切后琼脂糖电泳鉴定正确。

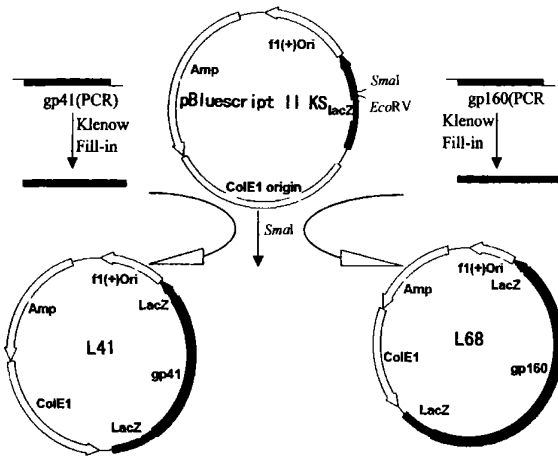


图 1 HIV- 1- gp41t 和 gp160 在 pBluescript ③ KS 中的亚克隆

Figure 1 Subcloning of HIV- 1- gp41t and gp160 in pBluescript ③ KS

按分子克隆常规程序从 HIV- 1- gp160 的亚克隆质粒 L68 中,以 *Pst* iv/*Hind* ③切下 2kb 的片段,该片段含有 gp120 的全基因和部分 gp41 基因,回收后插入 pFastBac1 的同样位点中,转化克隆经酶切鉴定得到正确的 pFB- gp120- 41p(图 2)。从 HIV- 1- gp41 的亚克隆质粒 L41 中,以 *Pst* iv 单酶切下 1kb 的片段。pFastBac1 载体经 *Pst* iv 单酶切完全后,再经 CIAP 处理,与片段同样回收并连接,酶切鉴定筛选正向插入的克隆即 pFB- gp41t(图 2)。在 pFastBac1 载体 MCS 中,第一个内切酶识别位点 *Bam* H iv 上以单酶切和 CIAP 处理,同时从亚克隆 L41 中,用 *Bam* H iv 单酶切出 700bp 的片段,以 Kit 回收载体和片段并连接,酶切鉴定正向插入的克隆即 pFB- gp41p(图 2)。

4.2 获得重组 Bacmid^[6] 获得在转移载体 pFasBac 中嵌入了 HIV 包膜蛋白基因片段的转移载体后,将转移质粒转化 TSS 致敏缓冲液制备的 *E. coli* DH10Bac 感受态细胞。该细胞含有穿梭质粒 bacmid 和辅助质粒。37℃ 100r/min 震荡培养 4h 后,转移质粒在辅助质粒提供的转座酶的作用下发生转座,多角体启动子控制的表达盒被插入 bacmid 的

LacZ 编码区,并使 DH10Bac 获得庆大霉素抗性,通过涂布含 X- gal、IPTG、庆大霉素、卡那霉素和四环素的 LB 平板筛选白色菌落,挑入含 3 种同样抗性的液体 LB 培养基,37℃ 震荡培养过夜,碱法小量提取重组病毒 DNA(bacmid)。

在 bacmid 的 *LacZ* 基因上下游设有 M13 引物互补序列,以 M13 引物 PCR 扩增(94℃ 50s, 55℃ 50s, 72℃ 2min, 30 个循环, 72℃ 10min),所得的片段大小用于确证转座的成功与否。

5 昆虫细胞的培养和转染、感染^[3] 在无茵的 TNM- FH 培养基中加入 10% 经 56℃ 灭活 30min 的胎牛血清,成为完全培养基。按 1: 3 体积加入新鲜完全培养基,用弯头滴管吹下一瓶 Sf9 细胞,接种到 3 个培养瓶中,27℃ 培养 3 天后,再按同样的方法继续传代。利用 Cellfectin 按其操作守则将 bacmid 转染对数生长前期的 Sf9 细胞,3 天后收集上清,以 1: 100 的体积比进行二次感染表达,即以病毒上清接种对数生长前期的 Sf9 细胞。

6 表达产物的获得 感染 3 天后收集细胞,每 2× 10⁷ 细胞以 5ml 细胞提取液(含 280mmol/L 蔗糖、10mmol/L HEPES pH7. 4、2mmol/L DTT、1mmol/L EDTA)洗涤 3 次,再以 1ml PBS (Na₂HPO₄ 8. 4mmol/L, NaH₂PO₄ 1. 9mmol/L, NaCl 150mmol/L, pH7. 4)重悬,液氮- 室温反复冻融 3 次,每次 15min,随后经超声破碎,共 6 次,每次 30s, 4℃ 下进行。破碎物经 4℃ 12 000r/min 离心 30min,获得细胞裂解上清。

7 免疫活性检测^[5] 各取 3 种感染细胞及空白对照细胞的裂解上清 40μl 进行 SDS- PAGE 电泳,按《分子克隆》方法,以一份抗 HIV- 1(+) IgG 阳性血清 1: 1000 稀释,用 Western- blotting 检测免疫活性。同时将这 4 种裂解上清以 CB (50mmol/L NaHCO₃ pH9. 6) 1: 50 稀释,各 150μl 4℃ 包被过夜,再经洗涤,200μl 5% 脱脂奶 37℃ 封闭 2h,加入抗体(50μl 血清)和酶标抗原(100μl, 原核细胞基因工程产物, 万泰公司赠送),于 37℃ 共同孵育 30min,经洗涤、显色、终止等步骤,用酶联免疫双抗原夹心法检测抗 HIV- 1 抗体阳性和阴性血清。

结 果

1 重组病毒的获得^[7]

未发生重组的 bacmid,以 M13 引物扩增得到 300bp 大小的片段;重组后的 bacmid,经相应的 PCR 扩增得到转座子内侧片段约 2 300bp 以及克隆片段大小之和的片段。其中包括重组 gp120- 41p 的约为 2 300+ 1 946= 4 246bp,重组 gp41t 的 2 300+ 1 040= 3 340bp,重组 gp41p 的 2 300+ 705= 3 005bp (图 3)。

提取的 bacmid 用 Cellfectin 转染对数生长前期的 Sf 细胞,第 3 天细胞陆续出现悬浮、膨大、裂解的现象,这时收取含有病毒的上清,存于 4℃ 备第二次

感染表达。

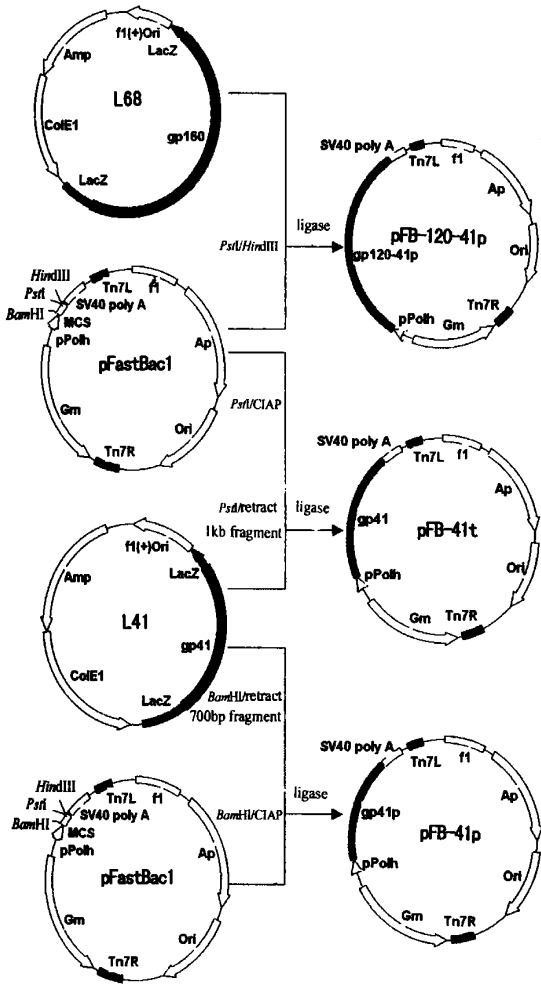


图2 pFB- gp120- 41p, pFB- gp41t, pFB- gp41p 的构建
Figure 2 Construction of pFB- gp120- 41p, pFB- gp41t and pFB- gp41p

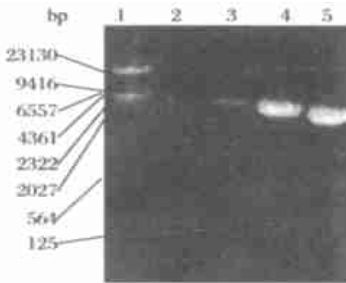


图3 PCR 扩增鉴定重组的 bacmid

Figure 3 Recombinant bacmid identified by PCR amplification

Lane1. λ DNA/ *Hind* III marker; Lane2. Non- recombinant bacmid as PCR template; Lane3. Recombinant bacmid of gp120- 41p as PCR template; Lane4. Recombinant bacmid of gp41t as PCR template; Lane5. Recombinant bacmid of gp41p as PCR template.

2 HIV- 1 gp120- 41p, gp41t 及 gp41p 的表达和特异性

以含病毒的上清接种对数生长前期的 Sf9 细胞, 27℃培养 3 天, 收获细胞, 超声破碎, 离心, 获得的上清用于免疫检测(图 4)。

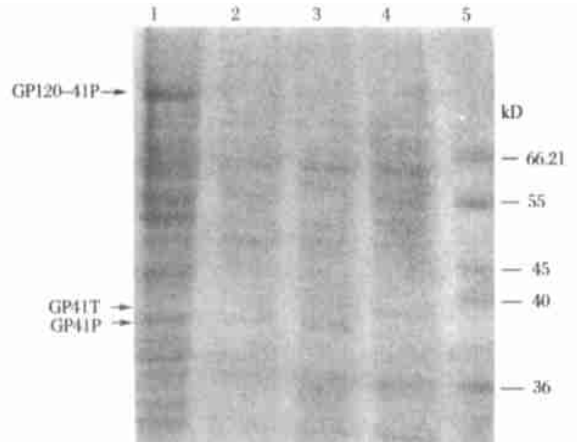


图4 细胞裂解上清 10% SDS- PAGE

Figure 4 10% SDS- PAGE analysis of supernatant of cell lysates

Lane 1. gp120- 41p; Lane 2. Blank Sf9; Lane 3. gp41p; Lane 4. gp41t; Lane 5. Protein marker.

利用一份 HIV- 1 IgG 抗体强阳性血清, 该血清已经 HIV- 1 *env* 基因部分表位嵌合蛋白原核表达产物检测试剂验证, 用 Western- blot 检测了 3 种裂解上清的免疫活性(图 5), 并以阴性血清反应为阴性对照(未显示)。同时还将裂解上清以一定的稀释度进行包被, 用酶联免疫双抗原夹心法检测了 3 份抗 HIV- 1 抗体阳性的和 18 份阴性的血清(表 1、表 2)。

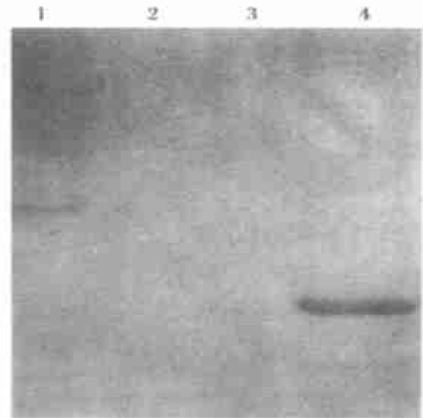


图5 Western- blotting 检测细胞裂解上清活性

Figure 5 Western- blotting analysis of the activity of supernatant of the cell lysate

Lane 1. gp120- 41p; Lane 2. Blank Sf9; Lane 3. gp41p; Lane 4. gp41t.

表 1 细胞裂解上清 EIA 双抗原夹心法检测 18 份 HIV- 1 抗体阴性血清

Table 1 18 HIV- 1 antibody negative serum samples detected with supernatants of cell lysates by the method of sandwich EIA

Coated protein	Average	Standard deviation	Maximum value	Minimum value	Cutoff
gp41t	0.016	0.010	0.036	0.000	0.048
gp41p	0.029	0.029	0.099	0.005	0.087
gp120- 41p	0.021	0.014	0.050	0.004	0.063
Blank Sf9	0.009	0.002	0.004	0.012	0.027

Cutoff(co) = average × 3.

表 2 细胞裂解上清 EIA 双抗原夹心法检测 3 份 HIV- 1 抗体阳性血清 [OD/(S/CO)]

Table 2 3 HIV- 1 antibody positive serum samples detected with supernatants of cell lysates by the method of Sandwich EIA

Coated protein	IC	FJ(3)	FJ(10)	Cutoff/10
gp41t	0.208/4.33	0.243/5.06	0.203/4.23	0.363/7.56
gp41p	0.175/2.01	0.163/1.87	0.204/2.34	0.368/4.23
gp120- 41p	0.124/1.97	0.072/1.14	0.411/6.52	0.141/2.24
Blank Sf9	0.011/0.41	0.010/0.37	0.009/0.33	0.011/0.41

S/CO = OD/CO.

检测结果显示, 3 种蛋白都有一定的免疫活性, 其中 gp41t、gp120- 41p 的重组蛋白 EIA 夹心法检测的 P/N 值都接近或超过 10, 而阴性血清的检测结果中没有出现高于该检测系统的 Cut off 值, Western- blotting 也有明显的反应带。将病毒盲传 10 代后, 重组蛋白的抗原活性仍不减弱。而培养上清中几乎检测不到 HIV 包膜蛋白的活性(结果未显示)。

讨 论

杆状病毒表达系统的发展很快, 由于它既具有和哺乳动物细胞蛋白相似的复杂修饰和后处理过程, 又能够进行高效的表达, 对脊椎动物的感染性却极小, 因此, 已经广泛地应用在功能研究甚至生产上。Bac- to- Bac 表达系统是该系统发展的第 5 代, 同以往系统相比, 它利用了穿梭质粒 bacmid, 在大肠杆菌中高效复制后再提纯用于转染昆虫细胞, 大大提高了效率, 缩短了时间。最近又有新一代以商品化的形式出现^[4]。

基于杆状病毒表达系统作为一种真核表达系统表达的蛋白具有折叠和糖基化, 近于真实构相, 表达量较大, 而且能够可溶性地表达一些原核系统难以表达的大分子量蛋白。这些优点使我们选择它来表达较完整的 HIV 包膜蛋白。因为包膜蛋白是一种

大分子量糖蛋白, 是 HIV 的主要免疫原之一, 几乎所有的 EIA 检测试剂都必须依赖对于其抗体的检测, 确定它的构相, 找出优势表位, 对于其抗体检测的灵敏度和准确性十分重要, 利用杆状病毒表达系统可能满足这一需要。

HIV 感染的机体中 *env* 基因首先翻译为 88kD 的前体蛋白, 糖基化后达到 160kD, 即 gp160, 经过剪切最终成为外膜蛋白 gp120 和跨膜蛋白 gp41^[1]。gp120 的变异区之一 V3 含有主要中和决定簇(principal neutralization determinant, PND), 它和 4 个变异区形成一个大的环状结构, 具有很强的抗原性, 可刺激机体产生特异性中和抗体^[2]。此外, 跨越 gp120 与 gp41 交界区(ENV473~ 518aa) 的 46 个氨基酸是高亲水区和高保守区, 因此也被认为是高免疫原性区。而 Fenouillet 等研究发现^[8], gp41 中有一段保守而且糖基化位点集中的区域, 即 gp160 中 gp41 段的 615~ 645 位氨基酸残基, 其中有 3 个糖基化位点: Asn- 621、- 630、- 642, 对于促进 gp160 在细胞内的转运, 尤其是在高尔基体中转运有着重要的作用。同时 gp41 中的这些残基对于 gp41 和 gp120 的非共价结合, 以及 gp160 的剪切都有着重要的影响。因此, 在构建 gp120 转移载体的同时, 并入了 gp41 的前 421bp 序列, 得到 pFB- gp120- 41p。而 gp41 较 gp120 更为保守, 且不含高变区, gp41 的 N 端 12 个氨基酸为疏水肽段, 在病毒进入敏感细胞中发挥着融膜的作用。但这些疏水氨基酸对于 gp41 的抗原性没有帮助, 在表达过程中反而会因为嵌膜而降低蛋白的表达量^[9]。因此通过 PCR 扩增避开这一段, 以引物 UP3 和 LOW 扩增获得删除了 gp41N 端 12 个疏水氨基酸后的 gp41t 片段。此外, 为避免转移载体中目的基因 ATG 前无关前导序列对蛋白表达量的影响, 选择经 Eplot 分析所得的编码 HIV- 1- gp41 的主要表位段构建 pFB- gp41p。三者的关系如图 6。

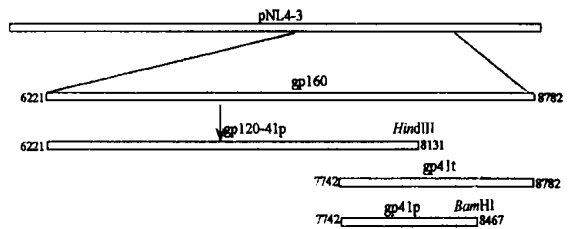


图 6 gp120- 41p、gp41t、gp41p 在原质粒 pNL4- 3 上的相互位置关系

Figure 6 The sites of gp120- 41p, gp41t and gp41p in the plasmid pNL4- 3

实验证明, HIV-1 的包膜蛋白仅在细胞裂解上清中有小量表达。大量糖基化的结果使表达的蛋白分子量还略大于预期值^[10]。但以昆虫细胞和杆状病毒表达与人源的交叉反应弱,表现出较高的特异性。由于实验中仅对细胞进行了超声破碎获取上清,产物的纯度不够,也不可避免地在 EIA 检测中出现了少数假阳性的结果;偏低的表达量又使目的蛋白在包被总蛋白中所占比例偏低,造成阳性结果的读值普遍不高。Western-blot 中可能由于 GP120-41P 被部分剪切而出现多条反应带(见图 5-Lane1)。

3 种蛋白免疫活性的比较,由强到弱依次为 gp41t、gp120-41p 和 gp41p,这可能是由于 gp41t 删除了 gp41N 端的一段疏水氨基酸序列,表达时不至嵌合于膜上,表达效率较高;而 gp41p 对 gp41t 的删除影响了主要表位的构相,导致免疫原性的降低。gp120 是 HIV-1 所编码的蛋白质中为数不多的具有良好的激发机体中和抗体能力的蛋白,在本实验中,可能由于表达后嵌膜不易分离,或是过量糖基化产生类似于机体中的免疫逃避的能力而导致反应较弱,也可能因分子量过大导致产量的降低。

在 EIA 检测中,我们利用了一段原核细胞基因工程产物-HIV 包膜蛋白重组抗原 ENV9,以其辣根过氧化物酶标记物作为酶标抗原,采用双抗原夹心法检测 Bac-to-Bac 系统表达的 HIV-1 包膜蛋白抗原。目前国内的抗原表达检测中,间接法是最常用的方法。它利用酶标抗体进行检测,具有简便、灵敏度高的优点,但对抗原的纯度要求极高。非特异性抗体的存在容易导致假阳性。采用双抗原夹心法,以原核和真核两种来源的相同表位抗原检测特异抗体,不仅缩短了检测时间,也提高了检测的准确性。

因此,杆状病毒可以稳定地表达 HIV 包膜蛋白并较真实地体现其结构和功能上的特点,有助于对 HIV 的全面了解。如果能进一步减少操作工艺流程,提高表达产量以利于纯化,则很有可能应用于检测试剂的生产中,配合其他来源的抗原以提高检测的特异性。它作为一种真核表达系统在病毒的研究中发挥重要作用。

参考文献:

- [1] Allan J S, Coligan J E, Barin F, et al. Major glycoprotein antigens that induce antibodies in AIDS patients are encoded by HTLV-III [J]. *Science*, 1985, 228: 1091-1094.
- [2] Profy A T, Salinas P A, Eckler LI, et al. Epitope recognized by the neutralizing antibodies of an HIV-1 infected individual [J]. *J Immunol*, 1990, 144: 4641-4647.
- [3] Kang C Y. Expression of human immunodeficiency virus genes using baculovirus expression system. [J] *Mol Biotechnol*, 1997, 8(2): 173-187
- [4] Chen S S. Expression and processing of human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein [J]. *Intervirology*, 1996, 39(4): 242-248
- [5] Ellinger S, Mach M, Kornk K, et al. Cleavage and purification of prokaryotically expressed HIV gag and env fusion proteins for detection of HIV antibodies in the ELISA [J]. *Virology*, 1991, 180(2): 811-813
- [6] Smith R S, Parks E. Synthetic peptide assays to detect human immunodeficiency virus types 1 and 2 in seropositive individuals [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 1990, 114(3): 254-258
- [7] LIFE/TECHNOLOGIES, Bac-to-Bac™ baculovirus expression systems instruction manual [M]. 4
- [8] 萨姆布鲁克 J, 弗里奇 E. F, 曼尼阿蒂斯 J. 分子克隆实验指南 [M]. 第一版. 北京: 科学出版社, 1995.
- [9] Luckow V A, Lee S C, Barry G F, et al. Efficient generation of infectious recombinant baculoviruses by site-specific transposon-mediated insertion of foreign genes into a baculovirus genome propagated in *Escherichia coli* [J]. *J Virol*, 1993, 67(8): 4566-4579.
- [10] Gritsun T S, Mikhailov M V, Roy P, et al. A new, rapid and simple procedure for direct cloning of PCR products into baculoviruses [J]. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25: 1864-1865.
- [11] Fenouillet E, Jones I M. The glycosylation of human immunodeficiency virus type 1 transmembrane glycoprotein (gp41) is important for efficient intracellular transport of the envelope precursor gp160 [J]. *J Gen Virol*, 1995, 76: 1509-1514.
- [12] Wang J J, Steel S, Wisniewolski R, et al. Detection of antibodies to human T-lymphotropic virus type III by using a synthetic peptide of 21 amino acid residues corresponding to a highly antigenic segment of gp41 envelope protein [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83: 6159-6163.
- [13] Butters T D, Yudkin B, Jacob G S, et al. Structural characterization of the N-linked oligosaccharides derived from HIV gp120 expressed in lepidopteran cells [J]. *Glycoconjugate J*, 1998, 15: 83-88.

Expression and Detection of Different Fragments of HIV-1 Envelope Genes in a Bac-to-Bac Baculovirus Insect cell Expression System

XIE Xiaoyan, GUO Qing, CHENG Tong, LI Shaowei, ZHANG Jun, XIA Ningshao

(Key Laboratory of Cell Biology and Tumor Cell Engineering of Ministry of Education, Xiamen University, Xiamen 316005, China)

Abstract: Bac-to-Bac baculovirus expression vector system (BEVS) was used to express foreign proteins. Several HIV env genes were subcloned from a HIV-1 positive clone pNL4-3 to the transfer vector pFastBac1. The genes carried by pFastBac1 were transported to baculovirus DNA-bacmid and formed recombinant bacmid within the DH10Bac *E. coli* strain. Then transfected and infected Sf9 insect cells with recombinant bacmid and baculovirus and obtained three HIV-1 env recombinant proteins: GP120-41P, GP41T and GP41P, representing HIV-1 envelope glycoprotein GP120 and part of GP41, truncated GP41 with 12 hydrophobic amino acid deleted from GP41 5' end and main epitope of GP41, respectively. The expressed products were harvested and analysed with Western blot and EIA. They were found all had immune activity, and GP41T was the best one of all. Our work helps to study the structure of HIV envelope proteins. Once improved, it may be used in immunoassay.

Key words: Bac-to-Bac baculovirus/insect cell expression system; human immunodeficiency virus; envelope protein; antigen; expression