

HIV-1(ヒト免疫不全ウイルス)感染の免疫学的解析
のための組換えキメラ・タンパクLacZ-Envおよび
Gag-Envの有用性

森本素子*¹、斉藤 敦*²、上羽 登*¹、中田篤男、品川日出夫*²

AIDS Research and Human Retroviruses 9(10):971-978(1993)

**Use of the Recombinant Chimera Proteins, LacZ-Env
and Gag-Env, for Immunological Studies on HIV-1
Infection**

Motoko Morimoto*¹, Atsushi Saitoh*², Noboru Ueba*¹,
Atsuo Nakata, and Hideo Shinagawa*².

ABSTRACT To use Env proteins as antigens for detection of the human immunodeficiency virus type-1(HIV-1) antibodies, we attempted to overexpress the Env proteins in *Escherichia coli*. To study the epitopes in the Env proteins recognized by the sera of HIV carriers, various regions of the proviral DNA encoding the Env region were fused to the 3' end of the *lacZ* gene. The immunolotting analysis of the LacZ-Env(512-611) and LacZ-Env(721-826) proteins with the 41 positive sera revealed that the former and the latter immunologically reacted 100 and 78% of the sera, respectively. To avoid rare false-positive reactions due to the LacZ moiety of the fusion protein, we attempted to express the Env(512-611) alone or Gag-Env(512-611) under the control of bacteriophage T7 promotor. Although we could express only a low level of the Env(512-611) peptide in *E. coli*, we succeeded in producing large amounts of the Gag(121-406)-Env(512-611) and Gag(308-406)-Env(512-611) proteins as chimeric proteins. Both of these chimera proteins strongly reacted with the 41 positive sera. We purified these proteins and analyzed the immunological reactivity by dot blot with the 60 positive sera and the 84 normal sera. As little as 20 ng of the dotted proteins was enough for the reaction with the positive sera, whereas as much as 320 ng of them did not show false-positive reactions with the normal sera. We obtained highly purified Gag-Env proteins with

highly specific seroreactivity, which should be useful for diagnosis and prognosis.

ヒト免疫不全ウイルス(HIV-1)の抗体を検出するための抗原としてEnv(包膜)タンパクを用いる目的で、大腸菌でEnvタンパクを大量に発現させることを試みた。ヒト免疫不全ウイルス感染者の血清によって認識されるEnvタンパクの抗原エピトープを解析するために、Envタンパクの様々な領域をコードするプロウイルスDNAの各種領域をLacZ(β -ガラクトシダーゼ遺伝子)の3'-末端に繋ぎ合わせた融合遺伝子を作成した。LacZ-Env(512-611)とLacZ-Env(721-826)融合タンパクと41人の陽性血清との免疫ブロティング分析から、前者は100%、後者は78%の血清と陽性反応を示した。融合タンパク中の β -ガラクトシダーゼによる偽陽性反応を避けるため、Env(512-611)およびGag-Env(512-611)をT7フェージ・プロモーターによって発現させることを試みた。大腸菌ではEnv(512-611)タンパクを少量にしか発現させることができなかったが、Gag(121-406)-Env(512-611)およびGag(308-406)-Env(512-611)のキメラ・タンパクは大量に発現させることができた。両者とも41個の陽性者血清と強い陽性反応を示した。これらのタンパクを精製し、60個の陽性者血清と84個の非感染者血清とプロット法による免疫反応によって調べた。陽性血清との反応には20ngの少量のタンパクをプロットすれば十分で、320ngをプロットしても非感染者血清との偽陽性反応は見られなかった。高度に精製したGag-Envタンパクが非常に特異的反応を示すことから、診断と病状経過の検定に利用できると考えられる。

*1 Osaka Prefectural Institute of Public Health 大阪府立公衆衛生研究所

*2 Osaka University 大阪大学