

## 在大肠杆菌中分别表达汉滩病毒囊膜糖蛋白 G1 和 G2

黄长形 杨为松 杭长寿\* 白雪帆 李光玉

(第四军医大学唐都医院传染科, 西安 710038)

\*(中国预防医学科学院病毒学研究所, 北京 100052)

R373.32

**A** 提 要 利用 PCR 方法扩增了汉滩病毒 76-118 株囊膜糖蛋白 G1 和 G2 的编码区基因, 并将 PCR 产物克隆到 T-载体中, 用限制性内切酶将 G1 和 G2 的编码区基因切下, 并克隆到表达载体 pBV220 中构建 G1 和 G2 的表达质粒。诱导表达后在 SDS-PAGE 凝胶中未见表达产物带, 表达的 G1 和 G2 能与部分抗 G1 和 G2 的单克隆抗体发生反应, 但用 Western-blot 方法不能检测到表达产物。用表达的 G1 和 G2 免疫小白鼠能刺激小白鼠产生特异性抗汉滩病毒的抗体, 间接免疫荧光抗体的滴度可分别达到 1:160 和 1:320。

关键词 汉滩病毒, 囊膜糖蛋白 G1, 囊膜糖蛋白 G2, 表达 大肠杆菌

汉滩病毒囊膜糖蛋白 G1 和 G2 由 M 片段基因编码, M 片段基因只有一个大的开放读框, 编码一种大的前体蛋白, 在细胞内质网内大的前体糖蛋白被加工成 G1 和 G2 两个小的糖蛋白。糖蛋白 G1 和 G2 的功能与该蛋白的空间结构和糖基化关系密切。为了探讨非糖基化的非真核细胞加工的 G1 和 G2 蛋白的功能, 本研究在大肠杆菌中表达了 G1 和 G2, 为了更好地探讨独立的 G1 和 G2 的免疫特性, 利用 PCR 方法, 分别将 G1 和 G2 的编码区基因从含汉滩病毒 M 片段基因 cDNA 的质粒中扩增出来, 克隆到大肠杆菌表达质粒 pBV220 中, 构建分别表达 G1 和 G2 的两个表达质粒, 并在大肠杆菌中进行表达。

## 材料和方法

## 1 材料

## 1.1 质粒和宿主菌

质粒 MS6 由美国 Schmaljohn 博士惠赠, 含 76-118 株病毒 M 基因全片段 cDNA; 汉滩病毒核蛋白表达质粒 pBVS 22 由本室构建<sup>[1]</sup>; 表达载体质粒 pBV220, 质粒 pGEM-5ZF(+) 和宿主菌 TG1 由本室保存。

## 1.2 单克隆抗体和恢复期肾综合征出血热病人血清

抗 G1 单抗 B-100, 2D5, 3D5, 抗 G2 单抗 8E10 和抗糖蛋白单抗(抗 G1 或 G2 未定)3G1, JD 04 由病毒所杭长寿教授惠赠; 抗核蛋白单抗 A35 购自中国预防医学科学院病毒所; 病人恢复期血清由本室收集。

## 1.3 荧光抗体和酶标抗体

异硫氰酸荧光素标记的羊抗鼠 IgG 抗体购自北京生物制品研究所; 辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG 和羊抗人 IgG 抗体购自 Sigma 公司; 辣根过氧化物酶标记的 A35 由本室制备。

收稿日期: 1996-12-06, 修回日期: 1997-03-24

其他作者: 第四军医大学唐都医院传染科 孙永涛 张文彬 周永兴

#### 1.4 汉滩病毒抗原片

汉滩病毒(76-118株)抗原片由本室自行制备。

#### 1.5 实验动物

昆明小鼠购自于本校实验动物中心,试验前剪尾取血,用间接荧光法检测是否有抗汉滩病毒抗体,所有试验小鼠均为阴性。

#### 1.6 试剂

PCR试剂盒购自 Promega 公司;限制性内切酶、T4DNA 连接酶购自 Behringer Mannheim、中国医学科学院基础所及华美生物工程公司;低熔点琼脂糖、IPTG、X-gal 为 Fluka 公司产品;硝酸纤维素膜为浙江黄岩化工厂产品。

### 2 方法

#### 2.1 扩增基因

分别扩增 76-118 株和 A9 株病毒 G1 和 76-118 株 G2 编码区基因。

##### 2.1.1 引物 由北京中国科学院微生物研究所合成。

G1 引物: +5'-CCGAATTCATGGGGATATGGAAGTG-3'(41~57)

EcoRI

-5'-CCGGATCCTATGCACTTGCAGCCCA-3'(1969~1984)

BamHI

正链引物从汉滩病毒 G1 的第一个起始密码(ATG)开始,负链引物到 M 片段基因的 1984 位核苷酸,并在其后加上了终止密码 TAG;正负链之间包含了 G1 编码区基因和 G1 与 G2 之间的分子量约为 6 kD 的多肽;为了方便克隆,在正、负链引物上分别加上了 EcoRI 和 BamHI 酶切位点(G1 编码区基因中无此二种酶切位点)及两个保护性碱基。

G2 引物: +5'-GGAATTCATGTCAGAGACACCATTAACCTCC-3'(1985~2007)

EcoRI

-5'-CCGGATCCTAGTAGTAGACACCG(3602~3616)

BamHI

正链引物从 M 片段的 1985 位核苷酸开始,在其之前加上一个起始密码 ATG,负链引物到 M 片段的结尾;正负链引物之间包含有 G2 的编码区和 M 片段基因 cDNA 的 3' 末端非编码区基因;与 G1 的引物一样,分别在正负链引物上加上 EcoRI 和 BamHI 酶切位点(G2 编码区基因中没有这两种酶切位点)。

2.1.2 PCR 扩增反应 G1 和 G2 编码区基因的 PCR 扩增按常规方法进行,模板为质粒 M56;取 PCR 反应产物进行琼脂糖凝胶电泳,以检测 PCR 产物的大小及纯度。

2.1.3 PCR 产物回收 用低熔点琼脂糖方法回收 PCR 产物,方法详见参考文献<sup>[2]</sup>。回收后的 PCR 产物取一部分进行琼脂糖凝胶电泳,估计回收产物的量。

#### 2.2 PCR 产物克隆

利用 T 载体克隆 PCR 产物,T 载体的制备按参考文献<sup>[3]</sup>进行,连接反应及质粒的转化按常规方法进行,构建过程见图 1,G1 和 G2 的 PCR 产物的克隆质粒分别命名为 pAT76G1 和 pAT76G2。

#### 2.3 克隆筛选和鉴定

2.3.1 观察质粒大小进行初步筛选。

2.3.2 初步鉴定 分别用 G1 和 G2 区的引物从初步筛选的 G1 和 G2 克隆质粒扩增 G1 和 G2 特异性核酸片段,对筛选的质粒进行初步鉴定。

G1 引物 B6(+ ) 5'-ATACCCAAGTAAGTTGGAGAGG-3' (269~290)

B5(- ) 5'-AATATCAAAGATCCCATG-3' (631~648)

G2 引物 M1(+ ) 5'-GATAGGAATGATTGTTTTGT-3' (2495~2514)

M2(-) 5'-CCATCAGGGTCTTTCCA-3' (2877~2861)

PCR方法同前。PCR产物电泳后观察有无目的核酸产物带,G1的扩增产物大小为377 bp,G2的扩增产物的大小为367 bp。

2.3.3 酶切鉴定 G1所用的内切酶有EcoRI,BamHI,HindIII,PvuII和BglII;G2所用的内切酶包括EcoRI,BamHI,HincII BstE II.酶切按常规方法进行。

#### 2.4 构建G1和G2的表达质粒

用EcoRI和BamHI从上述PCR产物克隆的阳性质粒中切下G1和G2编码基因,并用低熔点琼脂糖方法加以回收,同样用EcoRI和BamHI切割表达载体质粒pBV220,用低熔点琼脂糖法回收酶切后的载体质粒。将G1和G2编码区基因分别与酶切后的载体质粒相连接,连接产物转化TG1钙化菌,筛选和鉴定过程同步骤3。构建过程见图2。所得G1和G2的表达质粒分别命名为pB76G1和pB76G2。

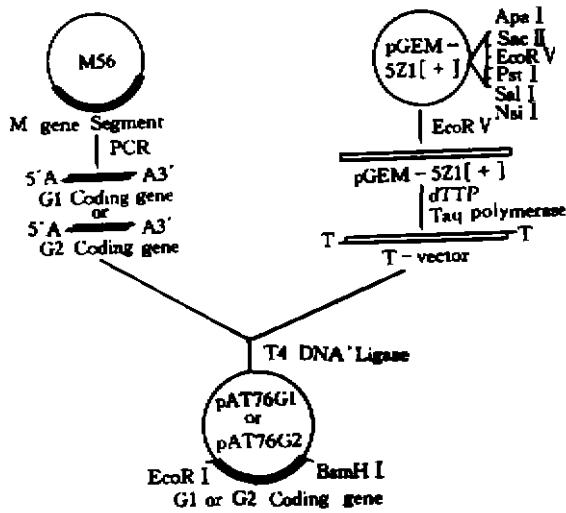


图1 质粒 pAT76G1 和 pAT76G2 构建过程示意图

Fig 1 Construction of plasmids pAT76G1 and pAT76 G2

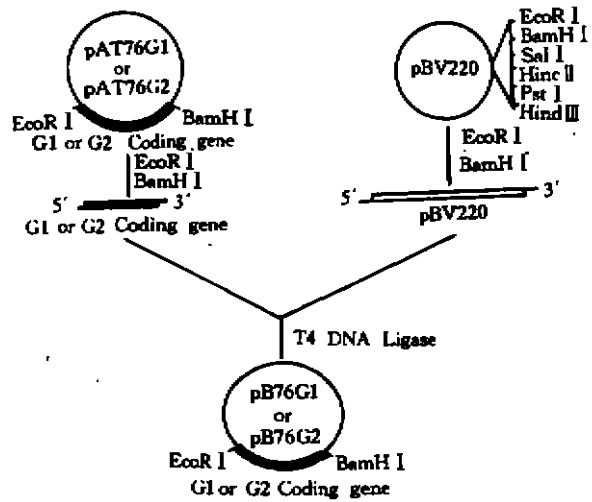


图2 质粒 pB76G1 和 pB76G2 构建过程示意图

Fig 2 Construction expression plasmid pB76G1 and pB76G2

#### 2.5 G1 和 G2 在大肠杆菌中表达

2.5.1 G1 和 G2 的阳性克隆菌株接种于 A+ 的 LB 平板,37℃ 培养 16 h,挑起单个菌落接种于 3 mL A+ LB 培养基,30℃ 振荡过夜,按 1:25 比例转种于 25 mL (A+) LB 培养基,30℃ 剧烈振荡培养,细菌密度达 0.8 OD<sub>600</sub> 时转入 42℃ 水浴摇床振荡培养,诱导表达;诱导前和诱导后 2、4、6 h 分别取 1 mL 培养的菌液,收集细菌后用于 SDS-PAGE。并收集诱导 6 h 的细菌,冻融后超声破碎细菌,裂解产物用于 ELISA 检测。

2.5.2 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)和 Western-blot SDS-PAGE 按参考文献<sup>[2]</sup>进行。电泳后用考马氏亮兰 R250 染色,观察 G1 和 G2 表达情况。SDS-PAGE 后的 G1 和 G2 表达产物转印到硝酸纤维素膜上,用 20% 的小牛血清封闭硝酸纤维素膜后,用恢复期肾综合征出血热患者的血清作一抗,稀释度为 1:200,37℃ 反应 2 h,辣根过氧化物酶标羊抗人 IgG 抗体作二抗,37℃ 反应 1 h,洗膜后用 DAB 显色,观察硝酸纤维素膜上是否有特异性显色带。

2.5.3 用间接 ELISA 方法检测 G1 和 G2 的表达 细菌裂解液经 12000 r/min 4℃ 离心 10 min 收集上清,沉淀用 8 mol/L 尿素 37℃ 浸泡 1 h,用细菌裂解上清和沉淀尿素浸泡物包被 ELISA 板(1:50,1:100),4℃ 过夜,2% 的牛血清白蛋白 4℃ 封闭过夜,洗涤后加抗 G1 和 G2 的单抗,4℃ 反应过夜,洗涤后加酶标抗小鼠 IgG 抗体,37℃ 反应 30 min,洗板后加底物显色。

2.6 表达的 G1 和 G2 免疫小鼠

2.6.1 表达 G1、G2 和核蛋白(NP)免疫小鼠 免疫方法同参考文献<sup>[4]</sup>。

2.6.2 免疫小鼠血清中抗汉滩病毒抗体的检测 采用间接免疫荧光方法,具体步骤同参考文献<sup>[4]</sup>。

2.6.3 用杆状病毒表达的汉滩病毒 G1 和 G2 作抗原,检测免疫小鼠血清中抗汉滩病毒 G1 和 G2 的抗体。以汉滩病毒 G1 和 G2 重组杆状病毒感染的 S-f 9 细胞制备抗原片,用间接荧光法加以检测。

结 果

1 76-118 株和 A9 株 G1 和 76-118 株 G2 编码区基因的扩增

PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳后,在紫外灯下可见特异性的目的产物, G1 的大小在 2.0 kb 左右, G2 的大小在 1.7kb 左右, 见电泳结果照片(图 3)。

2 PCR 产物克隆

PCR 产物成功地克隆到 T-载体质粒中。PCR 产物与载体连接产物转化细菌生长后可见蓝白斑;挑白斑菌落培养提质粒,质粒电泳后可见质粒在凝胶上迁移速度不一,选取迁移速率慢的质粒行特异性 PCR 和酶切鉴定,实验结果符合预期结果。

3 构建 G1 和 G2 表达质粒

表达质粒构建因为利用了两个双酶切位点,构建十分便利,筛选出的阳性克隆经异性 PCR 扩增和酶切电泳得以证实。PCR 鉴定结果见图 4,酶切电泳结果分别见图 5~8。

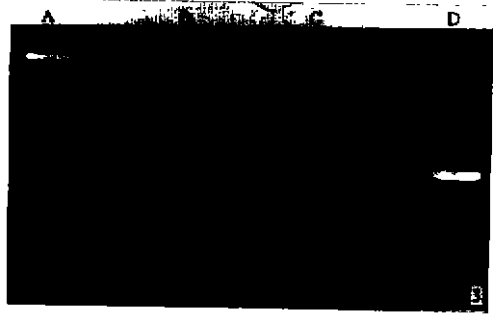


图3 G1 和 G2 编码区基因 PCR 扩增产物  
 Fig 3 The PCR product of G1 and G2 coding region gene  
 (A.  $\lambda$ DNA/HindIII; B. 76-118 G1; C. 76-118 G2; D. A<sub>9</sub> G1)

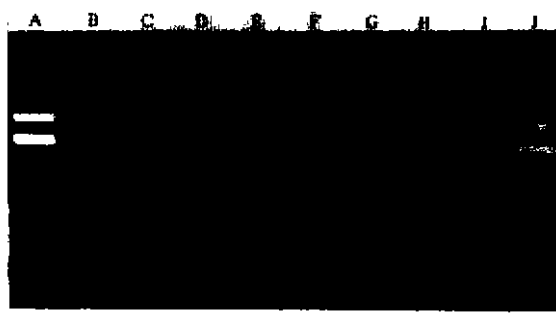


图4 PCR 鉴定结果  
 Fig4 The analysis of plasmid  
 pAT76G1, pAT76G2,  
 pB76G1 and pB76G2 with PCR  
 A. pBR322/ ;BatNI  
 B. pGEM-5zf(+), primerB5 and B6;  
 C. pAT76G1, primerB5 and B6;  
 D. pBV220, primerB5 and B6;  
 E. pGEM-5zf(+), primer M1 and M2;  
 G. pAT76G2, primer M1 and M2;  
 H. pBV220, primer M1 and M2;  
 I. pB76G2, primer M1 and M2;  
 J. pBR322

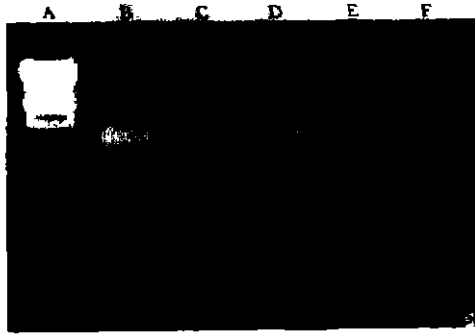


图 5 质粒 pAT76G1 限制性内切酶分析

Fig 5 The analysis of plasmid pAT76G1 with restriction endonucleases (A.  $\lambda$  DNA/HindIII; B. EcoRI; C. EcoRI and BamHI; D. HindIII; E. PvuII; F. BglII)

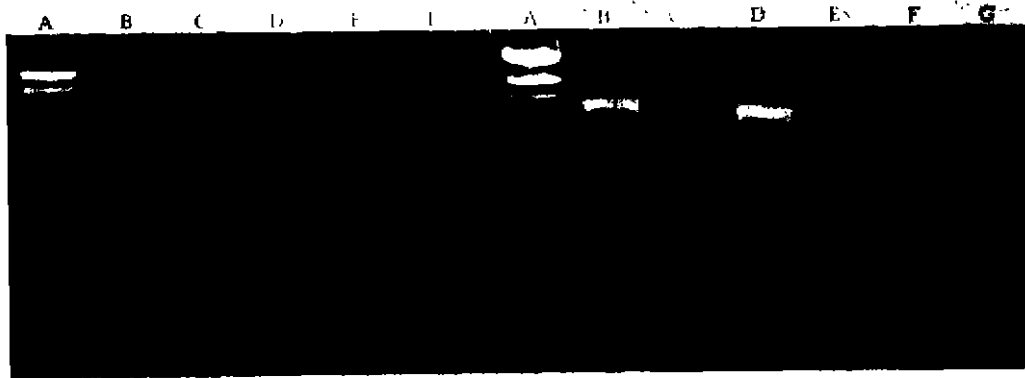


图 6 质粒 pAT76G2 限制性内切酶分析

Fig 6 The analysis of plasmid pAT76G2 with restriction endonucleases (A.  $\lambda$  DNA/HindIII; B. EcoRI; C. BamHI; D. EcoRI and BamHI; E. HincII; F. BstE II)

图 7 质粒 pB76G1 限制性内切酶分析

Fig 7 The analysis of plasmid pB76G1 with restriction endonucleases (A.  $\lambda$  DNA/HindIII; B. EcoRI; C. EcoRI and BamHI; D. ClaI; E. HindIII; F. PstI; G. PvuII)

#### 4 G1 和 G2 在大肠杆菌中表达

G1 和 G2 在大肠菌中表达试验在检测上遇到了比较大的困难,但效果不理想,最后选用诱导表达细菌免疫小鼠抗汉坦病毒抗体的方法。

4.1 诱导表达后细菌 SDS-PAGE 电泳后很难发现 G1 和 G2 产物带,只有在诱导和 SDS-PAGE 合适时 G1 能见到一条很细的 G1 蛋白条带(约 75 kb),而基本不能观察到 G2 的表达产物带(图 9)。

利用病人恢复期血清行 Western-blot 检测,虽然用了多份病人血清反复检测也未检测到特异性表达产物。

4.2 利用 ELISA 方法检测抗 G1 和 G2 单抗与表达 G1 和 G2 的反应性,发现 2D5、3D5 能与 G1 表达产物反应,8E10、JD 04 拟与 G1 和 G2 都发生反应,3G1 与 G2 反应,检测结果见表 1。

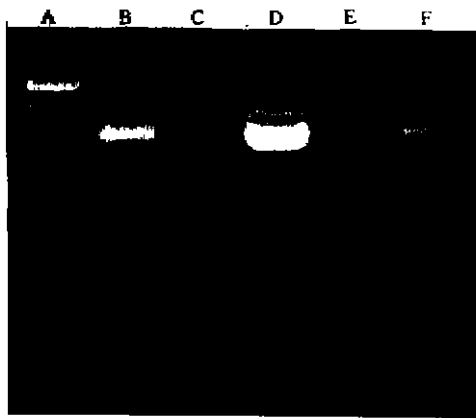


图8 质粒 pB76G2 限制性内切酶分析  
Fig 8 The analysis of plasmid pB76G2 with restriction endonucleases (A.  $\lambda$  DNA/Hind III; B. EcoRI; C. EcoR I and BamHI; D. BstE II; E. Hinc II; F. Pst I)



图9 pB76G1 和 pB76G2 表达产物 SDS-PAGE  
Fig 9 The SDS-PAGE of expression product of plasmid pB76G1 and pB76G2  
A. Protein molecular weight standard; B. pBV220. C. pB76G1, Non-induction; D. pB76G1, induction; E. pB76G2, Non-induction; F. pB76G2, induction; G. pBVS 22, induction

表1 抗 G1 和 G2 单抗检测 G1 和 G2 表达产物的 ELISA 结果  
Table 1 The ELISA test of expressed G1 and G2 with McAb to G1 and G2

抗原 Antigen	单克隆抗体 McAb	McAb							
		2D5	3D5	B100	JD04	8E10	3G1	A35	
G1 上清 G1 supernatant		0.14	0.11	0.04	0.37	0.21	0.07	0.08	
G1 沉淀 G1 precipitate		0.14	0.13	0.04	0.15	0.21	0.08	0.10	
G2 上清 G2 supernatant		0.09	0.05	0.03	0.15	0.18	0.19	0.09	
G2 沉淀 G2 precipitate		0.09	0.04	0.03	0.38	0.18	0.17	0.12	
NP 上清 NP supernatant		0.08	0.06	0.08	0.12	0.12	0.10	2.50	

由于表达的 G1 和 G2 未经纯化且单抗与表达产物反应较弱, 试验结果不稳定, 须严格控制反应条件。

### 5 表达产物 G1 和 G2 免疫小鼠

表达产物能够诱导小鼠产生抗汉坦病毒的抗体, 经用不同的实验方法证实了该结果的可靠性。

5.1 免疫小鼠血清抗汉滩病毒抗体间接荧光法检测结果 本实验前后共免疫 3 批小鼠, 得到了一致的结果, 约 80% 以上的免疫小鼠能产生特异性抗体, 免疫荧光检测结果见图 10, 抗体滴度见表 2。

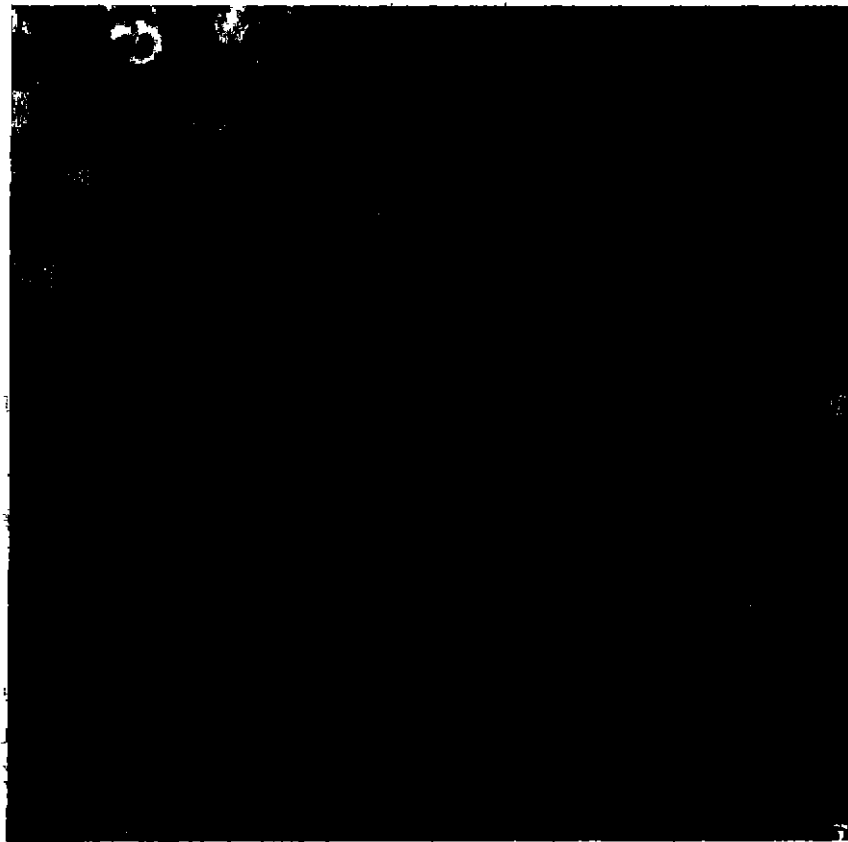


图 10 表达 NP, G1 和 G2 免疫小鼠血清中抗汉滩病毒抗体免疫荧光检测结果

Fig 10 The immunofluorescent detection of antibody against Hantaan virus in sera of mice immunized with expressed NP, G1 and G2 (A. NP; B. G1; C. G2; D. Negative control)

5.2 用 G1 和 G2 重组杆状病毒感染的细胞制备抗原片 检测免疫小鼠血清与之反应性, 结果核蛋白免疫血清不能发生反应, 而 G1 和 G2 免疫的阳性血清能与之发生反应。

通过上述试验证实 G1 和 G2 在大肠杆菌中得到有效表达, 但表达水平低, 有待进一步提高。

表 2 表达产物 G1 和 G2 免疫小鼠血清抗汉滩病毒间接荧光抗体滴度

Table 2 The IFA titer of antibody against Hantaan virus in sera of mice immunized with recombinant HTNV G1 and G2 proteins

鼠号 Mouse No.	G1	G2	对照 Control
1	1:160	1:320	—
2	1:80	1:160	—
3	1:80	1:80	—
4	1:20	1:40	—
5	—	—	—

## 讨 论

### 1 PCR 产物克隆

利用平端连接方法进行 PCR 产物的克隆常常不易克隆成功。根据粘性末端核酸片段容易连接的理论,人们发展了将内切酶位点加在引物两端的 PCR 产物克隆方法,但 PCR 产物两端内切酶位点的外端缺少必要数量的碱基保护,酶切效果不佳。分析发现 PCR 产物平端克隆困难较大的原因是 Taq 酶有一种在 PCR 产物 3' 末端加上一个脱氧腺嘌呤核苷(A)的功能,实际上 PCR 产物是一种带有粘性末端的核酸片段。根据这一发现, Morchak<sup>[3]</sup> 和 Holton<sup>[5]</sup> 等发明一种 PCR 产物 T-克隆载体,它们用 EcoRV 酶切 pBlurscript 质粒,用 Taq 酶在 PCR 反应缓冲系统中在 EcoRV 的平端切口 3' - 末端加上一个脱氧胸腺嘧啶核苷酸(T),制备了所谓 T-载体, A-T 相匹配,就很容易将 PCR 产物克隆到载体质粒上,实践证明此方法的确是一种 PCR 产物克隆的简便易行的方法。

本实验在直接用酶切 PCR 产物构建 G1 和 G2 表达质粒失败的情况下,选择了这一方法,顺利地克隆 G1 和 G2 编码区,用双酶切将 G1 和 G2 编码区基因从 PCR 产物克隆质粒中切下,连接到表达载体质粒中,构建 G1 和 G2 表达质粒,该法快速简便、省时、省力。

### 2 原核表达汉滩病毒 G1 和 G2 的检测

由于汉滩病毒 G1 和 G2 的抗原位点对空间结构依赖性较强,经 SDS-PAGE 变性后转印到硝酸纤维素膜上的 G1 和 G2 基本不能与肾综合征出血热病人血清、汉滩病毒免疫的动物血清和抗 G1 和 G2 的单抗反应,即 Western-blot 法基本不能用于汉滩病毒 G1 和 G2 的检测。本研究曾尝试用 Western-blot 方法检测表达的 G1 和 G2,虽然使用了 10 多份恢复期患者的血清,仍然不能在转印的硝酸纤维素膜上监测表达的 G1 和 G2。

ELISA 方法是一种客观简便并可初步定量的方法,我们成功地运用间接 ELISA 方法检测了大肠杆菌表达的汉滩病毒 NP。用同样方法检测大肠杆菌表达的汉滩病毒 G1 和 G2,但效果不理想,原因是 G1 和 G2 表达量低,且大肠杆菌表达的 G1 和 G2 的抗原位点有丢失,所以一部分单抗不能与之反应,能反应的单抗亲和力也有所下降。只好采用诱导后的 G1 和 G2 表达细菌裂解物免疫小鼠,而后检测免疫小鼠血清中是否存在抗汉滩病毒特异性抗体来间接检测 G1 和 G2 是否得以表达。这种方法的缺点是明显的:(1)不直观,不能直接检测大肠杆菌中是否表达 G1 和 G2,也就不能很好定量;(2)过程复杂、费时费力;(3)容易引起假阳性结果,因为在免疫小鼠的过程中如果动物饲养室条件不佳,有野鼠出入,很可能实验小鼠被感染汉滩病毒,这就要求保证实验小鼠的饲养环境无野鼠出没,设立对照组,并对免疫阳性结果从多方面加以证实,在本研究中保证了上述条件。尽管如此,在其它方法不能有效检测大肠杆菌表达 G1 和 G2 时,本方法不失为一种有实用价值的方法。

本研究成功地在大肠杆菌中表达了汉滩病毒的 G1 和 G2,但表达水平低,表达的 G1 和 G2 失去了部分抗原位点,尽管如此,仍然能诱导动物产生抗汉滩病毒 G1 和 G2 的抗体,与文献<sup>[6,7,8]</sup>报道的结果相比,抗体滴度不低于用真核细胞表达 G1 和 G2 免疫动物诱导产生的抗体滴度。



## 参 考 文 献

- 1 黄长形,李盈盈,杨为松等.肾综合征出血热病毒核蛋白在大肠杆菌中表达及其产物的初步应用.中华传染病杂志,1996,14(2):28-31.
- 2 J. 萨姆布鲁克等著,金冬雁等译.分子克隆——实验指南.第二版.科学出版社,1992.
- 3 Maechuk D, Drumm M, Saulin A *et al.* Construction of T- vectors, a rapid and general system for direct cloning of unmodified PCR products. *Nucleic Acids Research*, 1991, 19(5):1154.
- 4 黄长形,李光玉,杨为松等.原核细胞表达的肾综合征出血热病毒核蛋白免疫原性及免疫保护作用的研究.中国病毒学,1996,11(3):225-229.
- 5 Holton TA, Graham MW. A simple and efficient method for direct cloning of PCR products using ddT-tailed vectors. *Nucleic Acids Research*, 1991, 19(5):1156.
- 6 Schmaljohn CS, Chu YK, Schmaljohn AL *et al.* Antigenic subunits of Hantaan virus expressed by baculovirus and vaccinia virus recombinants. *J of Virol*, 1990, 64(7):3162-3170.
- 7 Yoshimatsu K, Yoo YC, Yoshida R *et al.* Protective immunity of Hantaan virus nucleocapsid and envelope protein studied using baculovirus-expressed proteins. *Arch Virol*, 1993, 130:365-376.
- 8 石晓宏,宋干,杭长寿等.重组杆状病毒表达汉坦病毒结构蛋白在实验动物中的免疫应答.中华微生物学和免疫学杂志,1995,15(4):238-241.

## Expression of Hantaan Virus Envelope Glycoproteins G1 and G2 in *E. coli*

Huang Changxing Yang Weisong Hang Changshou *et al*

(Tangdu Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710038)

The expression vector plasmid pBV220 was used to express the envelope glycoproteins G1 and G2 of Hantaan virus in *E. coli*. First, the coding frame genes of G1 and G2 were amplified by PCR, and cloned into the PCR product cloning T-vector, then they were cut off using restriction endonucleases from the T-vector cloning plasmids. Last, the expression plasmids of G1 and G2 were constructed by ligating the coding frames of G1 and G2 with expression vector plasmid. The expressed proteins could not be seen on SDS-PAGE gel. They could be reacted with a part of monoclonal antibodies against Hantaan virus G1 and G2, but not be tested in Western blot. Mice were immunized with expressed G1 and G2, antibody against Hantaan virus could be tested in the sera of the immunized mice, the IFA (Indirect Immunofluorescence Assay) antibody titers were 1:160 and 1:320, respectively.

**Key words** Hantaan virus, Envelope glycoprotein G1, Envelope glycoprotein G2, Expression