Z6 14 Integration of the GFP gene in chicken embryos using replication defective retroviral vectors packaged with vesicular stomatitis virus G glycoprotein envelopes

Mo Sun Kwon[1] and Teoan Kim
[1]Dept of Biology, Keimyung Univ. Taegu, Korea, Dept. of Physiology, School of Medicine Catholic Univ. of Daegu

The advantages of retrovirus-mediated gene transfer are technical easy, efficient expression and genetic stability. Despite the high potency of the retrovirus vector system in gene transfer, one of the drawbacks is difficult in concentration of virus stock. To overcome this problem, we tested a new retrovirus vector system producing the progeny retrovirus particles encapsidated with VSV-G (vesicular stomatitis virus G glycoprotein). The infectivity of this virus was not sacrificed by ultracentrifugal concentration and the host cell range extends from all mammarian to fish embryos. Virus titer after 1,000 × concentration was more than 108 CFU/㎖ on most of the target cell lines. We applied this pantropic viruses in transgenic chicken production by injecting the concentrated (100×) stock into blastoderm layer of stage X chicken embryos. The survival rate of chicken embryos after injection was about 20% and gene integration rate in surviving embryos was scored almost 100%. Analyses of RT-PCR and fluorescence microscopy, however, showed no evidence of the transgene expression.

Z6 15 Effects of Leptin and Fatty Acids on Induction of Apoptosis in Pancreatic β -Cells Isolated from Sprague Dawely Rat

이주은[1,3], 장인석[2], 황대연[1], 김용규[1], 신동환[1], 황진희[1], 임채형[1], 조정식[1], 채갑용[1], 이광호[3]
[1]식품의약품안전청 실험동물자원실, [2]진주산업대학교 동물생명과학과, [3]중앙대학교 생물학과

췌장 β 세포에 지방이 축적되는 lipotoxicity 현상은 Type 2 diabetes (None Insulin Dependent Diabetes Mellitus: NIDDM)의 발생과 상당히 밀접한 관계가 있으며, 췌장 β세포의 lipoapoptosis는 세포막형성에 관여하는 sphingomyelin의 전구체인 ceramide의 과생산에 의해 유도된다는 보고가 있다. 그러나, 지방산 종류에 따른 췌장 β세포에서의 apoptosis 유발 기작에 대해서는 아직까지 보고된 바가 없다. 또한, 지방세포에서 생성되며 지질대사, 음식섭취 및 체중조절에 관여하는 leptin과 leptin receptor와의 관계 역시 췌장 세포에서 명확하게 밝혀져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 8주령 SD rat의 췌장으로부터 islet을 분리하는 기술을 확립하고, 배양된 islet 세포에 불포화지방산 (n-3: linolenic acid; n-6: linoleic acid), 포화지방산 (stearic acid), conjugated linoleic acid (CLA)를 포함하는 4 가지의 지방산을 처리한 후 이들이 췌장 β세포의 apoptosis에 미치는 영향과 leptin의 농도에 따른 leptin receptor 발현정도를 분석함으로써 췌장 β세포에서인슐린 분비 기능과의 관계를 확인하고자 하였다. 그 결과 SD rat으로부터 마리 당 평균 약 500개의 islet을 분리하는데 성공하였으며, 4종류의 지방산 중 포화지방산인 stearic acid를 처리한 경우에서 apoptosis의 증거 중 하나인 DNA fragmentation 현상이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 RT-PCR 방법을 이용하여 분리된 islet 세포에서의 Bcl-2와 Bax가 지방산의 종류에 따라 서로 다른 발현양상을 나타낸다는 사실을 관찰하였다. islet 세포에 leptin을 농도별로 (0nM, 100nM 및 200nM) 처리한 후, leptin receptor의 발현 양상을 관찰한 결과 leptin이 췌장 leptin receptor 발현에는 유의한 영향을 미치지 않는다는 사실을 확인하였다. 이러한 연구 결과는 지방산의 종류에 따라 췌장 세포에서의 apoptosis 유발효과가 상이하며각종 지방산에 의한 apoptosis 유발정도와 leptin receptor 발현은 무관하다는 가능성을 시사하고 있다.