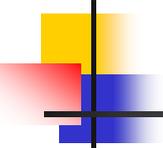


家畜選性繁殖

種畜禽研究團隊—種畜選性精液之產業化應用

103年6月10日
畜產試驗所 曲鳳翔



大綱

- 計畫目的、計畫架構與主要內容
- 計畫已獲得之主要成果與重大突破
- 與相關計畫之配合
- 後續工作構想之重點

計畫目的

- 在國家畜產現代化過程中，動物性蛋白的自給自足和品質升級更需藉助於新興的科技，使之融入傳統的畜牧飼養管理裡，來增加畜產業的生產效率。
- 尤其在人工生殖方面因為相關配套技術平台之成熟化，許多新興技術具有產業應用價值卻未被傳統畜牧業者所接受並落實於生產效能之提升。

計畫目的

- 國內乳山羊及水鹿產業人工授精比率不及百分之一，根據統國內乳山羊平均每頭每日泌乳量約1.4公斤，相較法國荷蘭等先進國家3~4公斤平均泌乳量，差距高達50%以上。
- 水鹿高產茸個體僅佔全數15%。歸咎其因乃是未落實冷凍精液生產及工授精技術應用等因素，造成優良種公未能充分應用於國內畜群遺傳淺能改進。
- 「繁殖」是乳牛場的命脈，特別期盼要繁殖出「母」的乳牛，因為只有母牛才能生產出牛乳，為酪農帶來財富。因此，每位酪農都非常期待乳牛繁殖之性別控制。



計畫目的

- 新興之人工生殖技術例如選性繁殖、胚體外生產、內視鏡少量精子人工授精、玻璃化配子冷凍、母畜發情同期化及超級排卵、胚移置等，隨著科技技術發展日漸成熟已達落實產業應用提升生產效能之階段，將相關繁殖技術加以修飾組裝，使其能有效應用於產業界。



計畫目的

- 經濟動物皆有著特殊性別之需求，例如乳牛及乳羊皆需要雌畜生產乳汁，鹿茸則只有公鹿方能生產，肉用家畜則以公畜有較佳的生長及屠體性狀。

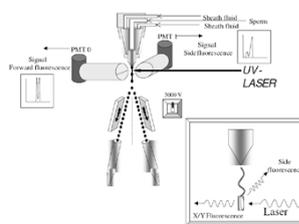
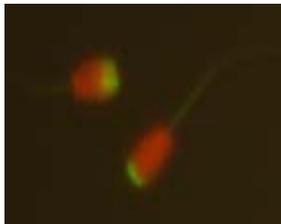
仔畜性別價格差異比較

仔乳女牛：仔乳公牛	5~10 : 1
仔水公鹿：仔母水鹿	3~5 : 1
仔乳女羊：仔乳公羊	2 : 1
仔肉公羊：仔肉女羊	2~3 : 1



計畫目的

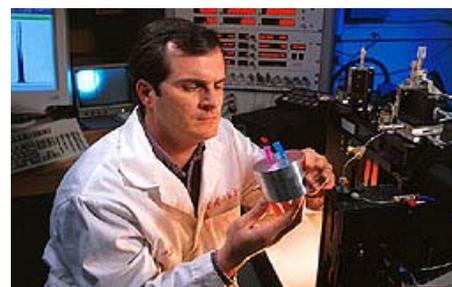
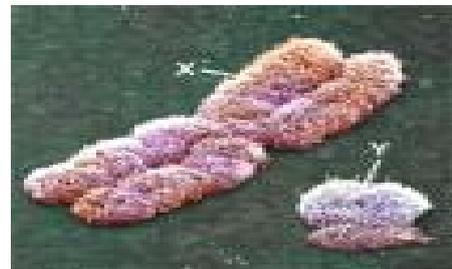
- 目前性別控制繁殖以精子之性別分離最具產業應用價值，此一方法可利用流式細胞儀(Flow cytometry)快速辨識精子中X或是Y染色體的差異量來大量生產單一性別精液，其鑑別速率已可達每秒上樣40000隻精子，回收公母精子每秒各4000隻以上，且正確率依分離速度條件可達85%以上，方便性及生產效率皆相當高。

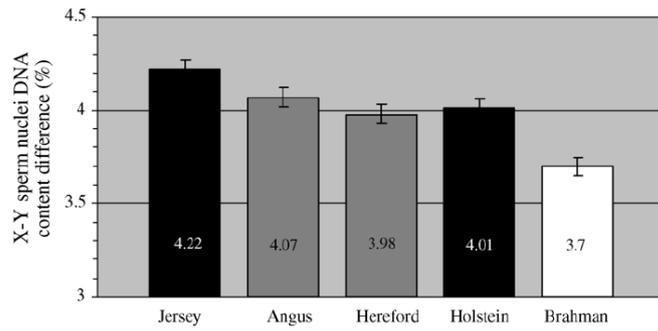
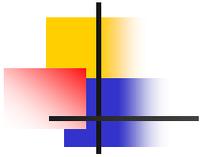


How sperm are sexed

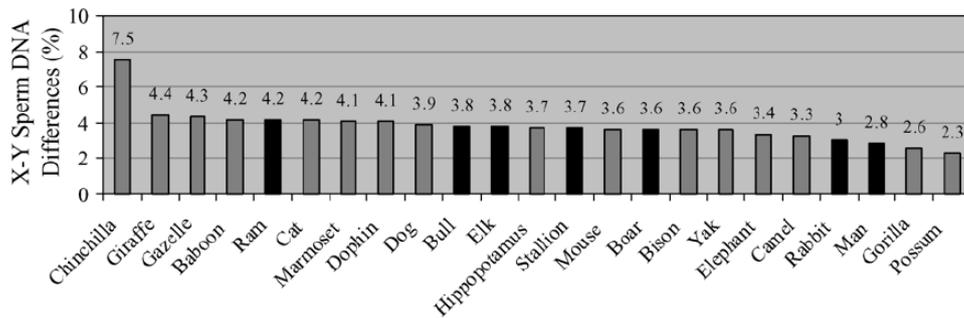
精子分離的原理

- the X-sperm contains more DNA than the Y-sperm (approximately 4% more in the case of cattle)
X-精子比Y-精子染色體多4%
- X-sperm bind more dye than Y-sperm, they give off 4% more fluorescence, which the computer can recognize flow cytometric cell sorter
利用螢光染色與雷射判讀其差異
- this technology is characterized by high costs, complexity of implementation and lower pregnancy rates than with control sperm.
分離過程會對精子造成一定程度的傷害





不同品種牛隻其X-Y精子染色體量的差異也不同



D.L. Garner 2006

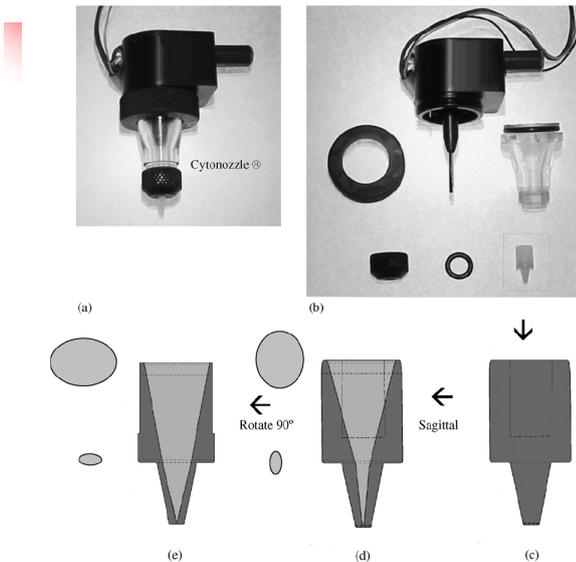
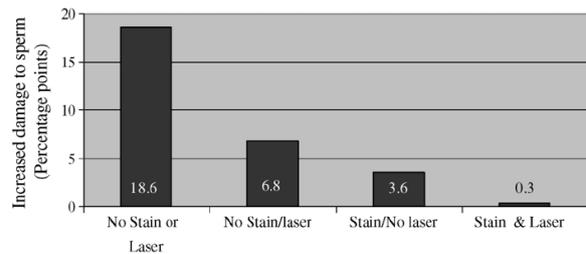


Fig. 3. Illustration of an assembled Cytanozzle[®] (a); a disassembled nozzle showing the flow chamber, tapered injection needle and the ceramic tip [surrounded by dotted lines] (b); a profile of the ceramic tip (c); sagittal section of the tip showing the narrowest elliptical orienting configuration [shaded cross sections of the tip interior are shown on the immediate left of the tip] (d); and a sagittal section after rotation of the tip 90° the illustrate the widest portion of the elliptical internal bore of the tip [shaded cross sections of the tip interior are shown on the immediate left of the tip] (e).



分離過程造成的傷害主要來自

1. 雷射光照射
2. DNA 螢光染色
3. 稀釋與等待時間
4. 噴發壓力

D.L. Garner 2006

精子的型態越扁平對性別分離越有利

Sambar deer

8.4

(red deer:
8.0)

6.0 (4.5)



37.8 (30.6)

X-Y difference 3.8

143.6

高雄場與生理組 2010

Dimensions and profiles of sperm heads and flow cytometric sorting indices for some domestic mammals and man^a

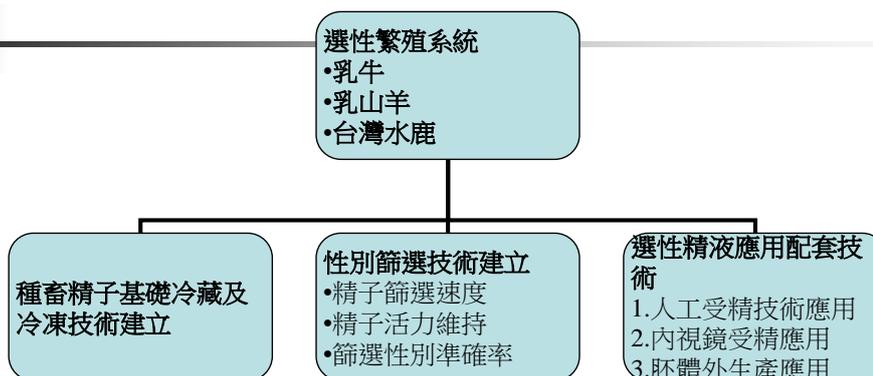
Dimension	Bull	Boar	Ram	Rabbit	Cat	Dog	Horse	Man
Length (μm)	9.1	9.0	8.1	7.7	7.7	7.0	6.5	4.6
Head sagittal section								
Width (μm)	4.7	5.0	4.0	4.5	3.2	3.5	3.4	3.2
Head profile								
Area (μm^2)	34.5	37.5	26.6	28.0	19.0	20.9	15.2	10.8
X-Y difference (%)	3.8	3.6	4.2	3.0	4.2	3.9	3.9	2.8
Sorting index ^b	131	115	112	84	80	82	59	31

^a Compiled from Mann [67] Mann and Lutwak-Mann [68], Johnson [7], Welch and Johnson [6], Garner [11], Garner and Seidel [13] and Seidel and Garner [14].

^b An approximation of the ability to flow cytometric sort sperm consisting of the head profile area (μm^2) \times X-Y Sperm DNA difference (%).

D.L. Grarner 2006

計畫架構與主要內容



1. 建立乳牛、乳山羊及台灣水鹿應用流式細胞分選儀精子過程之冷藏冷凍模式。
2. 水鹿、山羊及乳牛X、Y精子分離條件之評估及其技術建立。
3. 配合體外胚生產與胚性別鑑定等人工生殖技術測試種畜精子性別篩選效率。
4. 胚胎性別鑑定技術建立，細胞採樣顯微操作技術之練習，新鮮胚細胞樣品之採集、性別鑑定及胚移置整體流程之規劃與實施，選性胚移置後其準確性之評估。
5. 建立水鹿、山羊選性精液之少量精子體外受精，及選性胚體外生產及胚移置技術。
6. 建立台灣種畜選性精液生產及產業應用模式。

計畫已獲得之主要成果

一. 試驗設備建立



精子性別分選設備 流式細胞儀

- 分選速度: 上樣40000個 / 每秒回收理想性別精子公母各4000個 / 每秒以上
- 性別正確率: 85%以上
- 精子活力維持: 分選過程精子耗損活力30%以下

100年8月組裝完成

1. 強化雷射水冷系統



The hot exchanger is insufficient in power

Cooling system 50KW*2

tower of frozen water

因應商業量產針對精子性別分離設備雷射冷卻
系統之設施功能強化 101年7月完成

2. 雷射電路系統重新配置



原本Delta 接法

	紅線	白線	黑線	綠線
紅線	X	219.6V AC	220.2V AC	222.3V AC
白線	X	X	220.4V AC	221.7V AC
黑線	X	X	X	1.96V AC
綠線	X	X	X	X

改善成 Y 接法

	紅線	白線	黑線	綠線
紅線	X	219.6V AC	220.2V AC	110VA C
白線	X	X	220.4V AC	110VA C
黑線	X	X	X	110VA C
綠線	X	X	X	X



The fuse is burnt 4 times one year

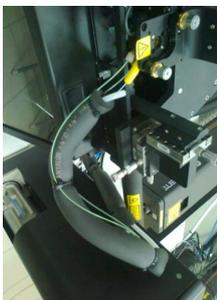


- 200mW is too high ?
- We have tried 180mW can not separating X and Y sperm effectively

Coherent的雷射電源要求是3相4線Y接，
依工程師提供附件檔修正 102年7月完成

3. 精子樣品區收集區及管路溫度控制

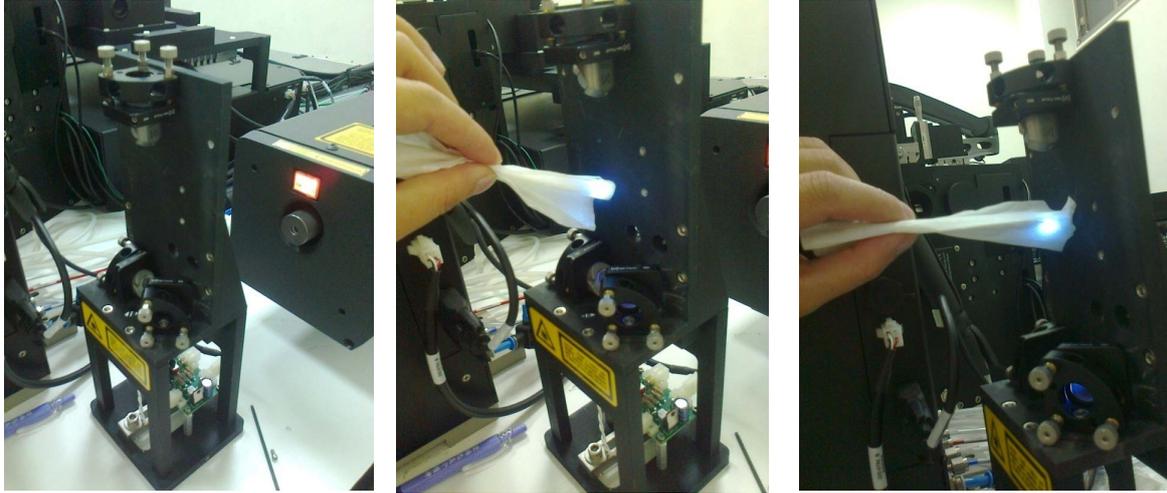
Sample Channel Temperature control



- After staining sperm always keep in 4°C

為維持精子活力品質精子上樣區、噴嘴管線及回收區均加設溫控於4 °C
102年10月完成

4. 雷射光源系統折射鏡及濾鏡更換為耐高頻鏡面



因雷射衰退追溯原因為光學鏡面因高功率雷射長時間運作造成度膜侵蝕剝落
103年3月完成

計畫已獲得之主要成果 一. 試驗設備建立



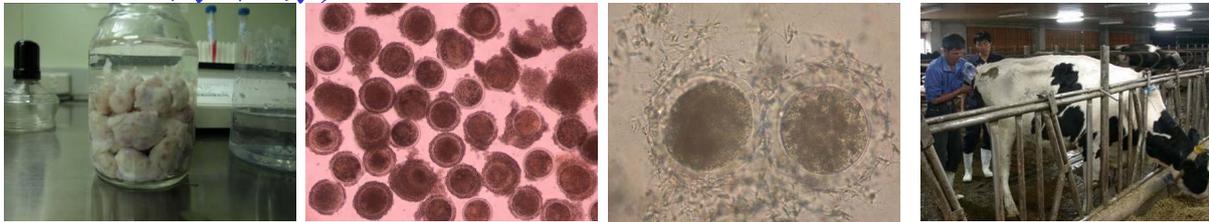
計畫已獲得之主要成果

二. 基礎人工生殖技術之建立

- 乳牛、山羊、水鹿採精及精子冷藏冷凍技術



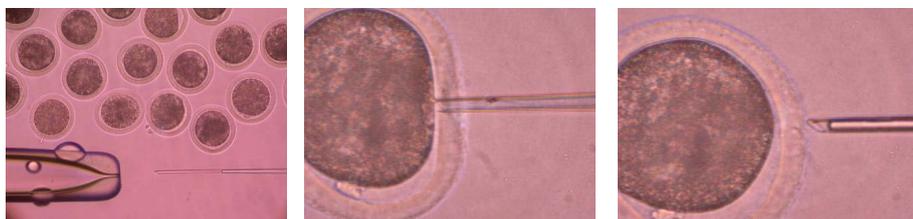
- 乳牛、山羊、水鹿胚體外生產系統（恆春分所、生理組、高雄場）



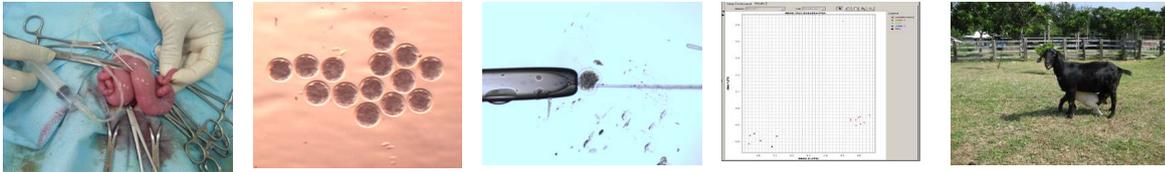
- 內視鏡少量精子人工授精(恆春分所、台東場、生理組、高雄場)



- 單一精子注入(生理組)



■ 性別控制胚生產系統建立 (生理組、恆春分所)



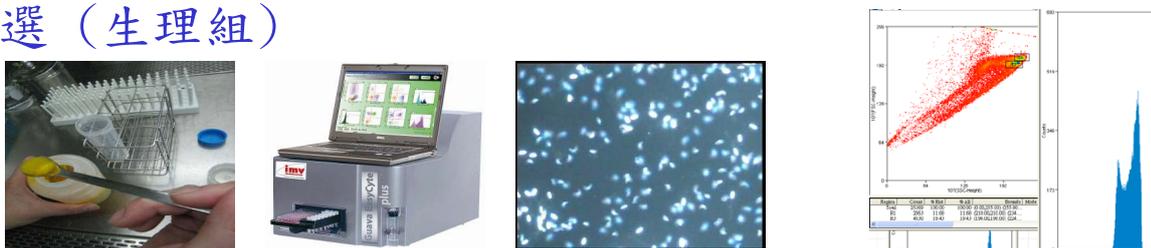
■ 精子型態及分離條件之評估冷藏保存技術建立 (恆春分所、新竹分所、生理組、高雄場)



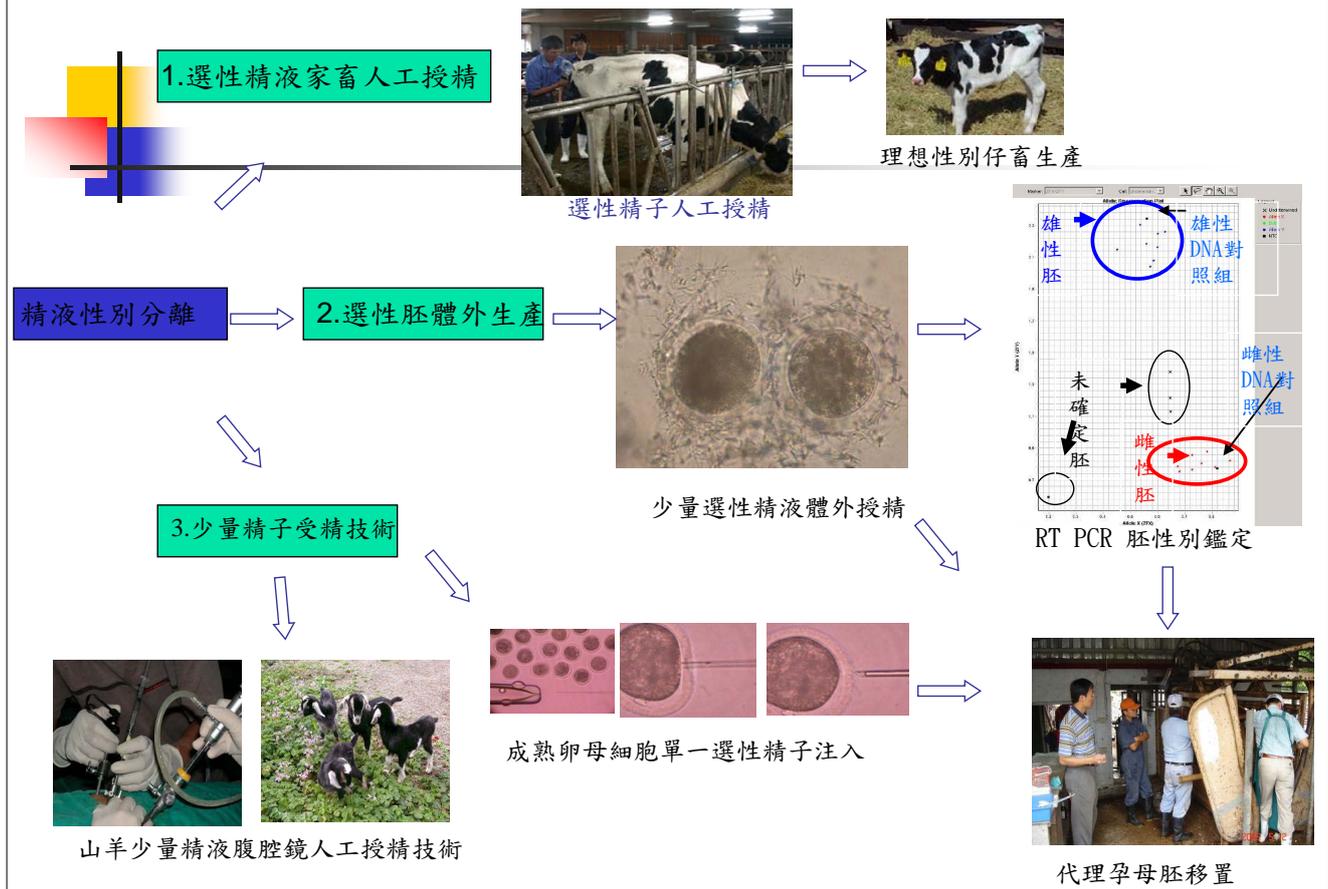
■ 應用乳牛選性精進行液人工授精及牛胚體外生產 (生理組、新竹分所)



■ 建立乳牛、山羊及水鹿種畜精子冷藏保存與性別篩選 (生理組)



選性繁殖技術平台之相關人工生殖技術



計畫已獲得之主要成果

三. 精子性別篩選技術建立

1. 建立乳牛、乳山羊及水鹿選性精液之採精與染色冷藏作業模式



1. 種畜採精後以基礎液 稀釋液調整濃度為4億/ml 37°C 保存。
2. 分裝染色以8 ul 81.2 mM (H33342)/4億/ml 34 °C 1h條件下進行染色。
3. 染劑在34 °C 避光環境下進行染色 1h，染色結束後加入10% LDLCG base稀釋液進行1:1稀釋。
4. 再緩慢降溫至4 °C 保存及運輸至畜試所生理組。

精子分選前洗滌及染色步驟



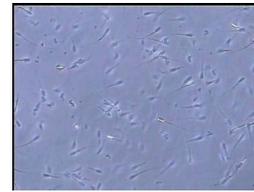
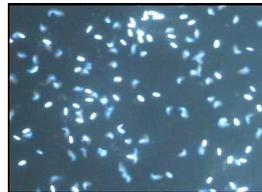
精子分選前洗滌及染色步驟

■ 在新鮮精液採集後，無須以洗滌液清洗精子，以增加精子上機分離性別前之活力。且在染色過程中，不添加精子冷藏保護劑，以穩定染色效果。

Citric + fructose + 0.3% BSA + hochest33342

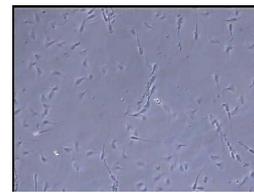
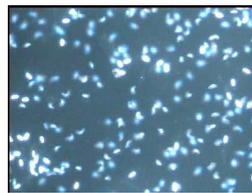


Sperm standing before sorting



染色後 6 hours 小時

染色後 0 hours 小時



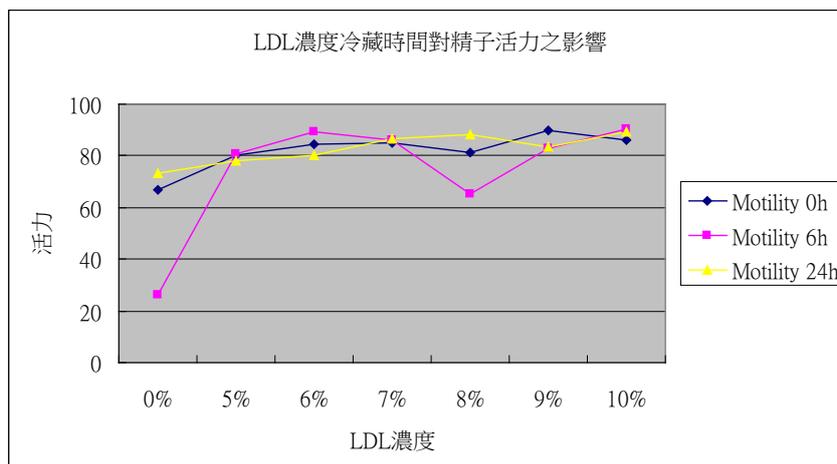
染色後 12 hours 小時

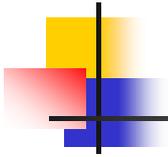
染色後 24 hours 小時

Fluorescence
Continues obviously
8.12 mM Hoechst 33342 solution and
incubated at 34° C for 1 hours

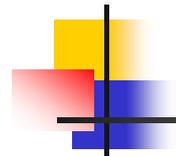
2. 冷藏保護劑之改良

利用純化之LDL取代蛋黃作為精子保護劑每周固定
生產100公克提供種公牛種鹿及種山羊使用





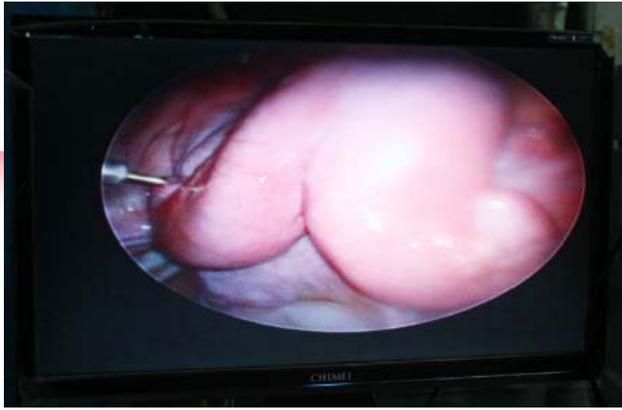
LDL 萃取與應用



3. 以選性精液進行腹腔鏡人工授精懷孕率之評估



Taiwan Native Deer



水鹿子宮



水鹿子宮角注精



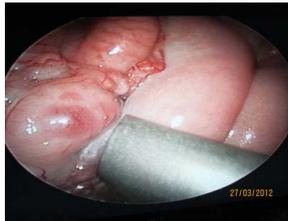
水鹿子宮角注精



水鹿子宮角進子宮體處注精

腹腔鏡人工授精流程

- 鎮定。Rompun 2% (Bayer 藥廠) 0.5 mL/頭，肌肉注射
- 上架剃毛。
- 手術區域以 碘酒(tincture of iodine)與75%酒精(alcohol)消毒。
- 覆蓋上覆巾。
- 於兩側乳頭近頭側約3-5公分處以手術刀畫下各1公分，穿過皮膚深達肌肉層之切口。
- 以穿刺器穿刺入腹腔，插入腹腔鏡窺鏡及注射器進行腹腔鏡AI。



卵巢排卵點觀察
The ovary ovulates
point observing



子宮角中段位置
注精 uterus angle
injection



四、精子篩選流程之改善

A. 設定乳牛、山羊、水鹿鞘液配方

Ram Sheath Fluid

Ingredient	Amount	
MQ H2O	1000mL	5000mL
Trizma base (free)	36.34g	181.7g
D-Fructose	5g	25g
Citric acid (monohydrate)	19.9g	99.5g
Penicillin G (sodium salt)	0.058g	0.29g
Streptomycin sulfate	0.05g	0.25g

Bovine Sheath Fluid Procedure

Reagents :

1.MQ H2O			4.5L
2.Sigma® Trizma® Base	(T-1503)	$C_4H_{11}NO_3$	119.40g
3.Sigma® Citric Acid	(C-7129)	$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$	58.15g
4 Sigma® D(-)Fructose	(F-0127)	$C_6H_{12}O_6$	42.75g
5 Sigma® Hydrochloric Acid	(H-7020)	HCl	20.0mL
6 Sigma® Penicillin G	(P-3032)		0.29g
7 Sigma® Streptomycin Sulfate	(S-1277)		0.25g

水鹿精子選性分離用鞘液

N-Trishydroxymethyl-methyl-2-aminomethane-sulphonic acid (TES)	1.2g
Trishydroxymethyl-methyl-aminomethane(Tris)	0.2g
Penicillin G + Streptomycin	2.5ml
Glucose	1.6g
Fructose	1.6g
Distilled water	To 100ml
pH(以1N NaOH或1N HCL滴定)	7.0

C. 精子基本性狀分析

- 利用法國IMV（卡蘇）公司之精子分析儀（微細管流式細胞儀）配合 CytoSoft v 5.4.1 beta 5之軟體分析精子存活率（Viability）、頭帽及胞膜完整性（Acrosome and sperm membrane integrity）、粒線體完整性等參數。

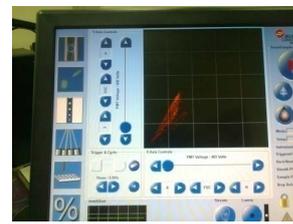


D. 精子分選流程改善

精子上機前準備



removes bubbles Check the water column



After sorting sample will Precipitate and divide layer

E. 選性精液之回收與冷凍



五、精子篩選與人工授精 乳牛選性精液製作

產製新竹分所乳公牛選性冷凍精液309劑，每劑含300萬隻單一性別精子



1. 公牛採精後以TCG base 稀釋液調整濃度為4億/ml 37°C保存。
2. 分裝染色以8 ul 81.2 mM (H33342)/4億/ml 34 °C 1h條件下進行染色。
3. 染劑在34 °C避光環境下進行染色 1h，加入10% LDLTCG base稀釋液進行1:1稀釋。
4. 再緩慢降溫至4 °C保存及運輸至畜試所生理組。

影響公牛精液品質因素

1. 熱季
2. 採精間距
3. 疫苗接種

水鹿冷凍選性精液製作

製作代號	製作日期	耳號	分選後精子濃度(百萬)	分選後體積(ml)	分選後活力(0-5)
DX10	102.9.12	97Q-3	13.1	4	3.5
DY10	102.9.12	97Q-3	11.65	3.5	3.5
DX11	102.9.12	97Q-3	4.14	7	3.5
DY11	102.9.12	97Q-3	6.19	3.5	3.5
DX12	102.9.12	97Q-3	5.85	6	2
DY12	102.9.12	97Q-3	4.92	7	2
DX13	102.9.12	97Q-3	6.36	2.5	1.5
DY13	102.9.12	97Q-3	5.02	3.5	1.5
DX14	102.9.12	97Q-3	6.33	2.5	1.5
DY14	102.9.12	97Q-3	5.04	3.25	1.5

製作代號	製作日期	耳號	分選後精子濃度(百萬)	分選後體積(ml)	分選後活力(0-5)
FDX1	102.10.2	4105			
FDY1	102.10.2	4105			
FDX2	102.10.2	4105	5.31		3
FDY2	102.10.2	4105	4.71		3.5
FDX3	102.10.2	4105	3.2		3.5
FDY3	102.10.2	4105	3.03		3.5
FDX4	102.10.2	4105	3.47		
FDY4	102.10.2	4105	2.59		
FDX5	102.10.2	4105	2.7		3.5
FDY5	102.10.2	4105	2		3.5
FDX6	102.10.2	4105	3.13		3.5
FDY6	102.10.2	4105	3.07		3.5
FDX7	102.10.2	4105	2.3		3.5
FDY7	102.10.2	4105	2.6		3.5
FDX8	102.10.2	4105	2.96		
FDY8	102.10.2	4105	2.54		
FDX10	102.10.2	4105	3.47		
FDY10	102.10.2	4105	3.38		
FDX11	102.10.2	4105	2.4		
FDY11	102.10.2	4105	2.29		
FDX12	102.10.2	4105	3.05		
FDY12	102.10.2	4105	2.9		
FDX13	102.10.2	4105	3.25		
FDY13	102.10.2	4105	2.99		
FDX14	102.10.2	4105	2.89		
FDY14	102.10.2	4105	2.88		

製作代號	製作日期	耳號	分選後精子濃度(百萬)	分選後體積(ml)	分選後活力(0-5)
FDX15	102.10.2	4105		3.02	
FDY15	102.10.2	4105		3	
FDX16	102.10.2	4105		2.9	
FDY16	102.10.2	4105		3.04	
FDX17	102.10.2	4105		2.56	
FDY17	102.10.2	4105		2.09	
FDX18	102.10.2	4105		3.5	
FDY18	102.10.2	4105		3.29	
FDX19	102.10.2	4105		3.01	
FDY19	102.10.2	4105		3.04	
FDX20	102.10.2	4105		2.74	
FDY20	102.10.2	4105		3.6	
FDX21	102.10.2	4105		2.97	
FDY21	102.10.2	4105		3.19	
FDX22	102.10.2	4105		3.27	
FDY22	102.10.2	4105		3.33	
FDX23	102.10.2	4105		2.96	

水鹿精液分選及人工授精

102年台灣水鹿選性精液內視鏡人工授精AI

日期	星期	週期	備註
9月16日	二		
17	三		
18	四	0	CIDR植入6頭
19	五	1	
20	六	2	
21	日	3	
22	一	4	
23	二	5	
24	三	6	
25	四	7	
26	五	8	選性分離(冷凍)
27	六	9	
28	日	10	15:00 eCG 330 IU
29	一	11	
30	二	12	15:00 CIDR拔除 PG 2ml
31	三	13	
10月1日	四	14	選性分離(冷藏) 14:00採精 17:30開始分選 公鹿: 4105 4億/ml, 4ul highest/份, 35°C 1h
2	五	15	10:00 腹腔鏡AI
3	六		
4	日		
5	一		

耳號	冷藏精液	位置
1	99Q-12(10:00) Y4 (2.59M), Y2(4.71M)	單孃子宮角
2	98Q-162	黏著
3	00Q-18(14:10) Y3 (3.03M), Y11(5.67M), Y15(5.88M)	單孃子宮角
4	00Q-2(14:25) Y17 (5.13M), Y18(3.29M), Y19(3.04M)	單孃子宮角
5	00Q-4(14:37) Y9(5.03M), Y12(5.89M), Y20(6.79M)	雙孃子宮角

台灣水鹿選性精液人工授精

日期	星期	週期	備註
9月24日	二	0	CIDR植入6頭
25	三	1	
26	四	2	
27	五	3	
28	六	4	
29	日	5	
30	一	6	
10月1日	二	7	
2	三	8	
3	四	9	
4	五	10	15:00 eCG 330 IU
5	六	11	
6	日	12	15:00 CIDR拔除 PG 2ml
7	一	13	
8	二	14	選性分離(冷藏)
9	三	15	10:00 AI
10	四	16	
11	五	14	
12	六	15	
13	日		
14	一		
15	二		

耳號	精液	位置
1	94Q-0076 Y3(3M) Y15 (6M) Y9(6M)	通過子宮頸
2	94Q-1009 Y34(12M) Y33 (12M)	通過子宮頸
3	94Q-0066 Y26(12M) Y25 (12M)	通過子宮頸
4	94Q-0095 Y29 (6M) Y35(12M)	通過子宮頸
5	98Q-106 Y7 (6M) Y29 (6M)	通過子宮頸
6	98Q-102 Y21(12M) Y24 (12M)	通過子宮頸

共製作水鹿冷藏選性精液35劑冷凍115劑選性精液內視鏡人工授精4頭 AI 6頭
其中8頭懷孕

山羊選性精液製作

羊號	日期	精液	精液量	活力	品質
DK1	102.10.15	SM01	3.1	5	0.5
DK2	102.10.15	SM01	11.65	3.5	0.5
DK3	102.10.15	SM01	4.14	7	0.5
DK4	102.10.15	SM01	6.19	3.5	0.5
DK5	102.10.15	SM01	8.5	5	0.5
DK6	102.10.15	SM01	4.02	7	0.5
DK7	102.10.15	SM01	6.36	2.5	0.5
DK8	102.10.15	SM01	0.02	2.5	0.5
DK9	102.10.15	SM01	0.33	2.5	0.5
DK10	102.10.15	SM01	0.04	2.5	0.5
DK11	102.10.16	SM03	11.1	5	0.5
DK12	102.10.16	SM03	11.65	3.5	0.5
DK13	102.10.16	SM03	4.14	7	0.5
DK14	102.10.16	SM03	6.19	3.5	0.5
DK15	102.10.16	SM03	8.5	5	0.5
DK16	102.10.16	SM03	4.02	7	0.5
DK17	102.10.16	SM03	6.36	2.5	0.5
DK18	102.10.16	SM03	0.02	2.5	0.5
DK19	102.10.16	SM03	0.33	2.5	0.5
DK20	102.10.17	SM01	0.04	2.5	0.5
DK21	102.10.17	SM01	0.33	2.5	0.5
DK22	102.10.16	SM01	11.65	3.5	0.5
DK23	102.10.17	SM01	4.14	7	0.5
DK24	102.10.17	SM01	6.19	3.5	0.5
DK25	102.10.17	SM01	8.5	5	0.5
DK26	102.10.17	SM01	4.02	7	0.5
DK27	102.10.17	SM01	6.36	2.5	0.5
DK28	102.10.17	SM01	0.02	2.5	0.5
DK29	102.11.15	SM02	0.33	2.5	0.5
DK30	102.11.15	SM02	0.04	2.5	0.5
DK31	102.11.15	SM02	11.1	5	0.5
DK32	102.11.15	SM02	11.65	3.5	0.5
DK33	102.11.15	SM02	4.14	7	0.5
DK34	102.11.15	SM02	6.19	3.5	0.5
DK35	102.11.15	SM02	8.5	5	0.5
DK36	102.11.15	SM02	4.02	7	0.5
DK37	102.11.15	SM02	6.36	2.5	0.5
DK38	102.11.15	SM02	0.02	2.5	0.5
DK39	102.11.15	SM02	0.33	2.5	0.5
DK40	102.11.15	SM02	0.04	2.5	0.5
DK41	102.11.15	SM02	11.1	5	0.5

DK42	102.11.15	SM01	11.65	3.5	0.5
DK1	102.11.15	SM01	4.14	7	0.5
DK2	102.11.15	SM01	6.19	3.5	0.5
DK3	102.11.15	SM01	8.5	5	0.5
DK4	102.11.15	SM01	4.02	7	0.5
DK5	102.11.15	SM01	6.36	2.5	0.5
DK6	102.11.15	SM01	0.02	2.5	0.5
DK7	102.11.15	SM01	0.33	2.5	0.5
DK8	102.11.15	SM01	0.04	2.5	0.5
DK9	102.11.15	SM01	11.1	5	0.5
DK10	102.11.15	SM03	11.65	3.5	0.5
DK11	102.11.15	SM01	4.14	7	0.5
DK12	102.11.15	SM03	6.19	3.5	0.5
DK13	102.11.15	SM03	8.5	5	0.5
DK14	102.11.15	SM03	4.02	7	0.5
DK15	102.11.15	SM03	6.36	2.5	0.5
DK16	102.11.15	SM03	0.02	2.5	0.5
DK17	102.11.15	SM03	0.33	2.5	0.5
DK18	102.11.15	SM03	0.04	2.5	0.5
DK19	102.11.15	SM01	11.1	5	0.5
DK20	102.11.15	SM01	11.65	3.5	0.5
DK21	102.11.15	SM01	4.14	7	0.5
DK22	102.11.15	SM01	6.19	3.5	0.5
DK23	102.11.15	SM01	8.5	5	0.5
DK24	102.11.15	SM01	4.02	7	0.5
DK25	102.11.15	SM01	6.36	2.5	0.5
DK26	102.11.15	SM01	0.02	2.5	0.5
DK27	102.11.15	SM01	0.33	2.5	0.5
DK28	102.11.15	SM02	0.04	2.5	0.5
DK29	102.11.15	SM02	11.65	3.5	0.5
DK30	102.11.15	SM02	4.14	7	0.5
DK31	102.11.15	SM02	6.19	3.5	0.5
DK32	102.11.15	SM02	8.5	5	0.5
DK33	102.11.15	SM02	4.02	7	0.5
DK34	102.11.15	SM02	6.36	2.5	0.5
DK35	102.11.15	SM02	0.02	2.5	0.5
DK36	102.11.15	SM02	0.33	2.5	0.5
DK37	102.11.15	SM02	0.04	2.5	0.5
DK38	102.11.15	SM02	11.65	3.5	0.5
DK39	102.11.15	SM02	4.14	7	0.5
DK40	102.11.15	SM02	6.19	3.5	0.5
DK41	102.11.15	SM02	8.5	5	0.5

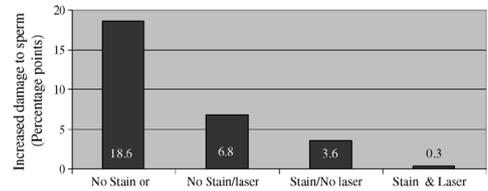
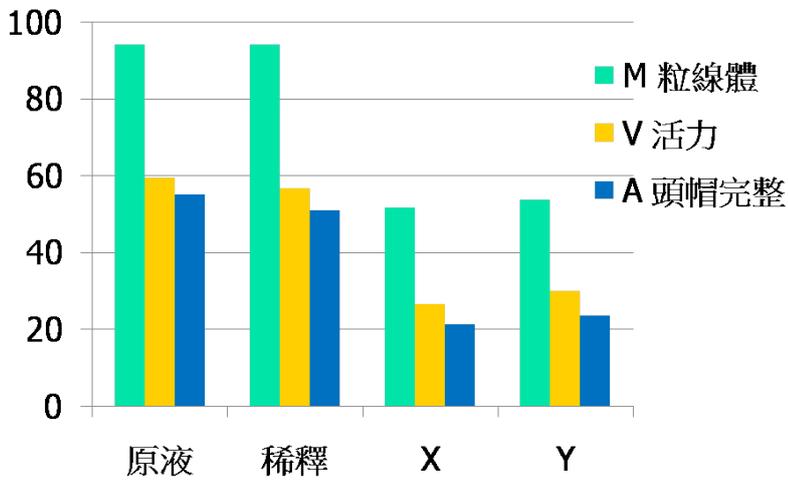
山羊選性精液內視鏡人工授精

編號	羊號	選性精液	懷孕診斷	備註
1	326	X3 X8/2	YES	♀ ♀ ♂
2	305	X11 X8/2	NO	♀ ♀
3	258	Y3 Y11/2	NO	
4	235	Y8 Y11/2	YES	♂ ♂
5	324	X14 X2	YES	
6	333			膀胱刺破
7	328	Y2 Y14	YES	西達掉落
8	312	X17 X20 X23	NO	
9	313	Y23 Y20	YES	♂ ♀
11	246	X4 X6/2	NO	
12	334	X9 X6/2	YES	
13	392	Y9 Y3/2	NO	♂
14	327	Y6 Y3/2	YES	



產製山羊選性精液84劑，以內視鏡人工授精12頭次其中7頭懷孕，分娩10頭仔羊僅有一頭性別錯誤。另於恆春分所進行10頭次AI其中4頭懷孕。

性別分選對精液品質影響



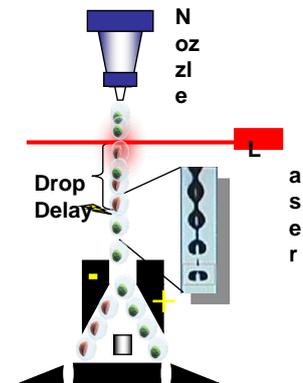
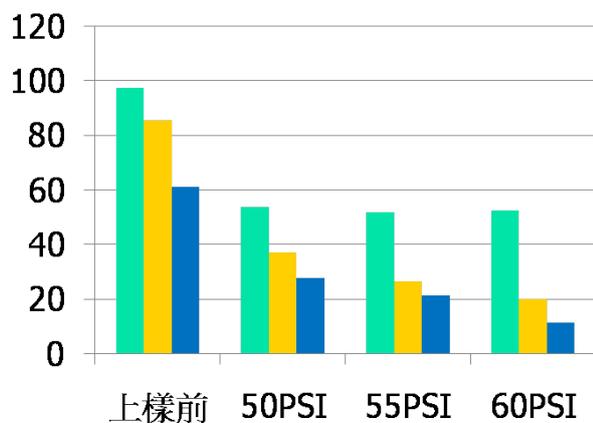
D.L. Grarner 2006



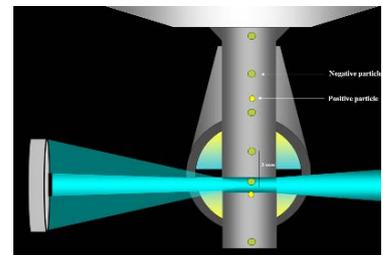
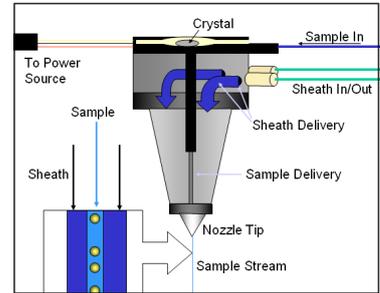
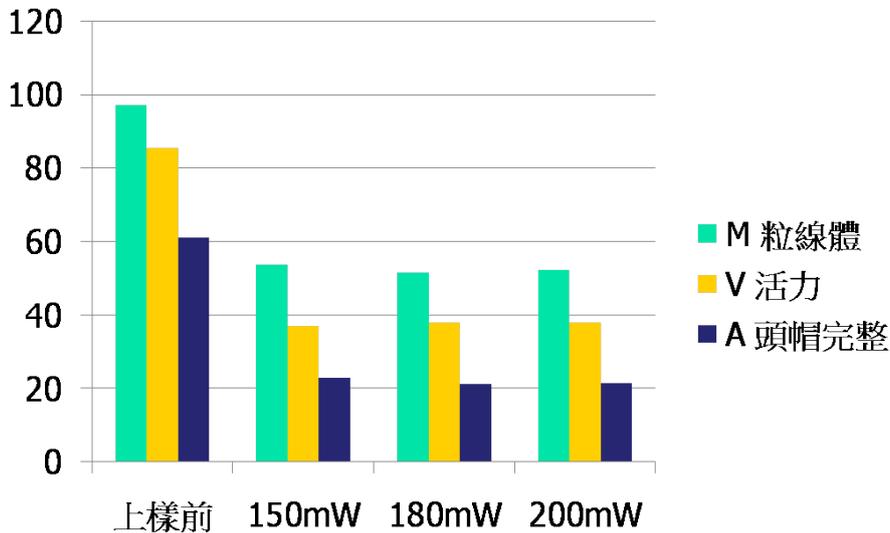
分離過程造成的傷害主要來自

1. 雷射光照射
2. DNA 螢光染色
3. 噴發壓力及稀釋與等待時間

性別分選噴發壓力對精液品質影響

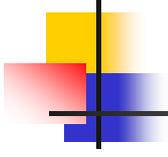


性別分選雷射強度對精液品質影響



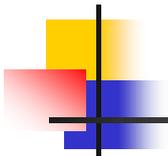
計畫已獲得之主要成果

- 學術成就：現今國內尚無任何生產家畜選性精液的公司或單位，想要取得選性精子皆須由國外進口，而此些精液之單價皆非常昂貴，除乳牛之外之其他經濟動物，於國外也無商業生產，因此建立相關技術是國內業界所迫切期望的。
- 技術創新：
 1. 建立高性能之精子篩選儀器作業系統，利用精子篩選儀器開發乳牛、山羊與水鹿X、Y精子分離技術
 2. 建立少量選性精子內視鏡人工受精技術
 3. 應用純化之LDL作為選性精液之冷藏保護劑
 4. 開發拋棄式內視鏡精子注入管並申請專利
 5. 建立利用流式細胞儀進行精子性別分離後精子冷藏冷凍技術



計畫已獲得之主要成果

- 經濟效益：因此其樣品分離速度為每秒鐘40000隻精子，在此狀況下每秒可分選回收4000隻以上固定性別精子。以單部機器運作一個工作日10小時計算，可分選1億隻以上單一理想性別精子，若以目前商業販售美國進口之乳牛選性精液裝填量1500000隻/每劑模式進行分裝，每個工作天可生產66劑選性精液。在國際市場上平均每劑選性精液比一般精液多出1500元商品價值，因此推算一台機器運作一天將可為家畜冷凍精液產品加值大約10萬元台幣。
- 社會影響：
 1. **提升管理效能**：單一性別畜禽的生產體系不但可有更為簡單且一致性高的管理方式，而且所生產的畜產品也可有更高的生產效率和品質的一致性。
 2. **動物福利**：未經選性繁殖操作所生產的後裔，基於生產效率的理由，約有一半非產業所希冀的性別者，只能以極度低於期望的性別之價格出售，或以犧牲的方式去淘汰處理，甚至造成生產成本極大的浪費。
 3. **動物保育**：亦可預防遺傳疾病的發生，更可應用於瀕危動物之復育。



與相關計畫之配合

- 選性精液應用需搭配人工授精及其他人工生殖技術。
- 乳牛人工授精已普及化，可再進一步搭配胚體外生產系統，利用體外授精的方式生產特定性別的體外乳牛胚。
- 乳山羊及水鹿，則需配合冷凍精液製作技術開發、人工授精落實及其他人工生殖技術方能強化選性繁殖技術之應用。

後續工作構想之重點

- 依山羊精子性別分選操作流程為基礎，經調整後建立台灣水鹿及乳牛之精子性別分選操作流程。
- 為能達成選性精液商業量產模式，針對儀器設備之雷射水冷系統、樣品溫控系統、電壓穩定性及液流系統進行改裝調整，使其能負荷高速及長時間之精子性別分離作業。
- 選性精液體外受精模式不同於一般精液，其獲能作用與受精環境時間等條件須進一步調整。

