

# 種畜禽研究團隊

## —種畜精子分離篩選與選性繁殖生產系統

### 一、計畫總目標：

建立選性繁殖之產業應用技術平台。

### 二、整體計畫架構：

⇒ 種畜禽產業研究團隊整體計畫架構

⇒ 99-102年 種畜禽產品加值方法之研究

⇒ 生殖細胞供應體系研究

⇒ 種畜精子分離篩選與選性繁殖生產系統

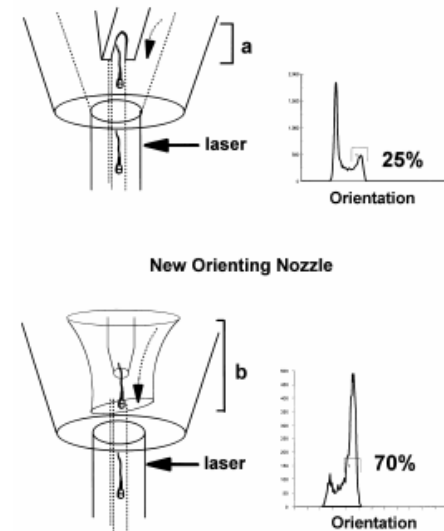
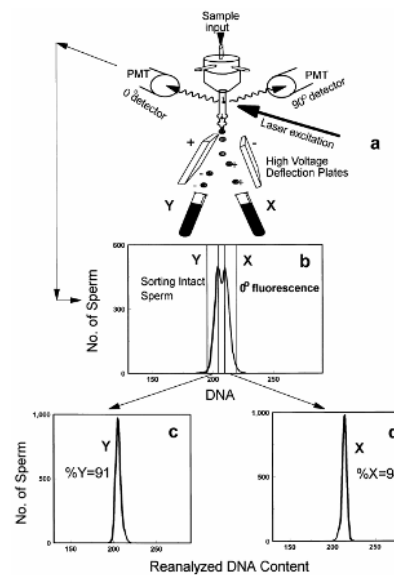
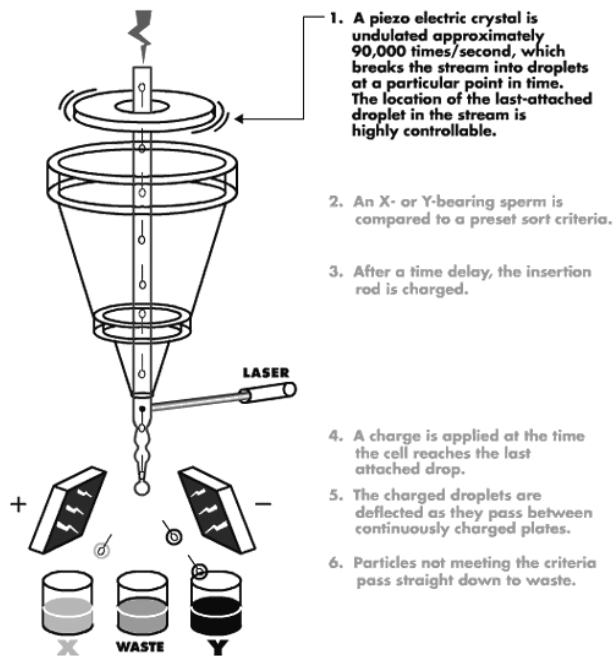
### 三、99年度目標：

1. 建立高性能之精子篩選儀器作業系統。
2. 利用精子篩選儀器開發山羊與水鹿X、Y精子分離技術，及進行經性別篩選後回收之精子品質評估。
3. 利用胚胎性別鑑定方式有效提昇公母之性比例、種畜利用價值與未來商品化應用之可行性。
4. 建立選性精液之少量精子人工授精與體外受精，以及選性胚體外生產及胚移置技術。

# MoFlo XDP' s sorting system 精子性別分離儀之效能

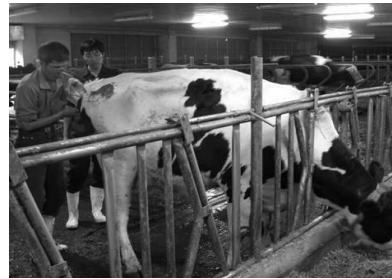


- Drop formation frequency: 200 kHz
  - 每秒可震出 200,000 顆水珠
  - 為維持分選純度，平均每 3 顆水滴含有 1 顆細胞為最佳狀態
- Sort speed up to 70,000 eps
  - Purity > 99% ; Yield > 90%
- IntelliSort: 自動化協助設定分選條件，並監控分選過程
- 4Way sorting
- 3 different sort modes and mixed mode
  - Enrich mode
  - Purity mode
  - Single mode
- CyClone deposition system



# 選性繁殖技術平台之相關人工生殖技術

1. 選性精液家畜人工授精



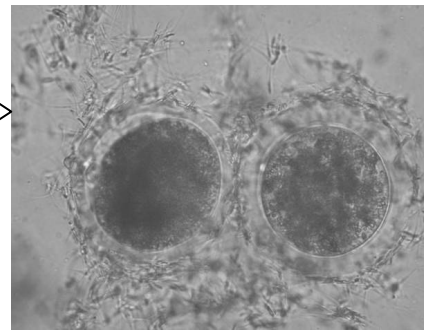
選性精子人工授精



理想性別仔畜生產

精液性別分離

2. 選性胚體外生產

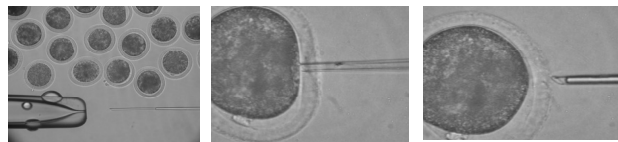


少量選性精液體外授精

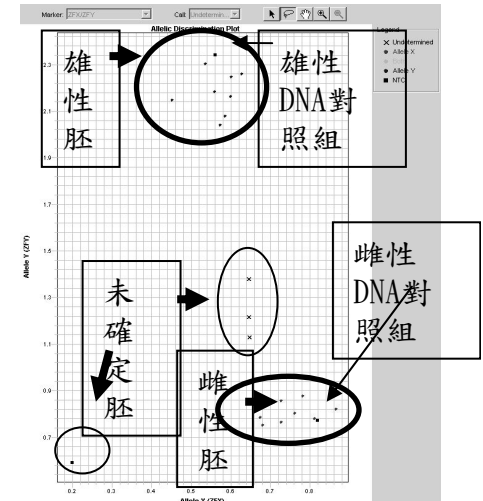
3. 少量精子受精技術



山羊少量精液腹腔鏡人工授精技術



成熟卵母細胞單一選性精子注入



RT PCR 胚性別鑑定



代理孕母胚移置

# 種畜禽研究團隊-種畜精子分離篩選與選性繁殖生產系統

## 一、計畫總目標：

建立選性繁殖之產業應用技術平台。

## 二、整體計畫架構：

↳種畜禽產業研究團隊整體計畫架構

↳99-102 年 種畜禽產品加值方法之研究

↳生殖細胞供應體系研究

↳種畜精子分離篩選與選性繁殖生產系統

## 三、99 年度目標：

1. 建立高性能之精子篩選儀器作業系統。
2. 利用精子篩選儀器開發山羊與水鹿 X、Y 精子分離技術，及進行經性別篩選後回收之精子品質評估。
3. 利用胚胎性別鑑定方式有效提昇公母之性比例、種畜利用價值與未來商品化應用之可行性。
4. 建立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。

## 四、績效目標及衡量指標：

1. 建立高性能之精子篩選儀器作業系統，理想性別正確率 85% 以上。
2. 利用精子篩選儀器開發山羊及水鹿 X、Y 精子分離技術，及進行經性別篩選後回收之精子品質評估。
3. 以選性精液進行家畜人工授精、少量精子體外受精、選性胚體外生產及胚移置。

## 五、預定研究主題及執行情形：

動物性別控制(sex control)即為利用現代生物技術下，有目的的按照人們的生產要求，

控制動物後代的性別比例。動物性別控制的方法主要有3種，即X精子、Y精子分離法(Flow cytometrically - sorted sperm)、環境因素控制法和早期胚性別鑑定法 (embryo sexing)。目前在生產實踐中易於推廣應用和較為成熟的方法應該為早期胚性別鑑定法及日漸成熟之X精子、Y精子分離法。早期胚性別鑑定是指依據胚中存在的染色體類型、胚中X染色體相關酶的活性、雄性胚中存在的H-Y抗原及SRY基因等特徵對移植前胚進行胚性別鑑定，一般而言，此類胚檢測需要高超之胚內分溝細胞擷取技術，並能將擷取之胚單一分溝細胞利用核酸擴充儀(PCR)，針對上述欲分析基因特性進行分析，從而確認胚之性別，根據Thibier (2003) 之統計，在2002年加拿大之全國進行胚性別鑑定後再行此類胚移置之數量約3800個，之中的1260個胚為經冷凍解凍後移植胚，僅佔全國胚移置總數之甚少比率，顯然此方法雖可達到商業上之選性繁殖要求，但其鑑定上的過程繁複、耗費人力與胚存活率不高等缺點，促使生產一個經性別鑑定之胚成本高於50美元，本法異於其優點，即可以同時進行體細胞基因之分析與診斷，通常該類基因多為與經濟性狀相關或牛隻疾病相關基因之分析確認，待將來有更多之相關基因被發現與驗證後，勢必將可提供更好之推廣與一般酪農戶之接受度。X精子、Y精子分離法是指依據X精子、Y精子兩條性染色體DNA含量不同，利用流式細胞分離法測量DNA含量能將含X染色體和Y染色體的精子分離，在經過過去幾年的發展與改善，目前已可達到每小時分離1000萬單一性別精子，分離之準確率約為90%，起今為止，家畜之牛羊豬皆有相關文獻提出，目前一台適當的流式細胞儀的價格超過美金60萬元(約台幣2000萬元)，相關水、電、溫濕度控制、精液冷凍保存、儀器維修保養、操作人員之訓練費用所需，Seidel, 2003曾估算一間試驗室，在設置有兩台流式細胞儀及配置相關人員之成本，第一年將花費超過美金200萬(台幣6千6百萬元)，但是，在利用性別鑑定後之精液進行人工授精，可提高場內單一性別子代出生數目，甚至可以加快改善全場牛隻世代遺傳改良之速率，此外，選性之精液對懷孕率與分娩率是否有影響？根據新近之試驗表明，574頭經單一性別精液受精與385頭經一般精液人工受精後，比較其懷孕長度、胎犢之死亡率、出生體重或離乳後存活率上並無顯著差異，然而其缺點為精蟲分離速度上似乎不夠快、分離後之精子存活率因而下降、高生產成本及優良性狀公牛精液之取得的困難，其他尚有無法預先進行，類似早期胚胎性別鑑定所能提供之相關基因之分析。動物性別控制是動物生物技術中一項重要的高新技術，動物生產的

許多重要經濟性狀如肉蛋乳毛茸麝香等的生產都與性別有關，都需要特定性別的動物進行生產。因此動物性別控制技術的應用必將給動物生產乃至畜牧產業帶來巨大的經濟效益。

遭遇問題及解決措施：

家畜禽後裔性別的控制，長久以來，一直為畜牧生產業者所努力與期待。因此，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。然而，在自然狀況之下，家畜禽後裔的性比例（雄性：雌性）雖然並非恰好 1:1，其範圍約在上、下 10 個百分點左右。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。家畜選性冷凍精液之生產與應用於畜牧生產上為重要的人工生殖技術，藉由改變性比率而增加公畜或母畜的生產，將可提升產業競爭力及加速遺傳改進速率。除此之外，亦可預防遺傳疾病的發生。本計劃規劃利用精子篩選儀器並取得家畜精子性別篩選之專利授權，於本所生理組完成精子篩選儀器之組裝與試運作，並完成專職人員的操作與初級維護的訓練。並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，建立最佳化種畜精子性別篩選的操作參數。以選性繁殖技術配合目前已有之動物生殖技術其效果更為顯著。這些技術除了可以解決動物的生殖障礙，更可以加速育種改良的速度。例如，家畜卵母細胞的體外成熟、體外受精、體外培養系統完整建立、生殖細胞的冷凍保存、胚的性別鑑定、胚移置等技術。家畜的許多重要經濟性狀如肉、蛋、毛與茸等之生產都與性別有關，都需要特定性別的動物進行生產。例如以水鹿而言，公畜之經濟價值更甚於母畜。我國在水鹿鮮茸之經濟價值甚高，然鑒於優良種公鹿價格十分昂貴，對於鹿農而言公鹿數量增加，也代表其經濟產值的提升。因此若能結合精液性別篩選鑑定技術，則可有效擴增優良性能種公畜之族群，更可於短時間內大量產製優良種鹿之雄性後代，而增加農民收益。針對水鹿 X、Y 精子分離條件、經性別篩選精液冷藏、冷凍技術與性別篩選精液之人工授精技術平台技研發建立，將必使台灣水鹿事業帶來巨大的經濟效益。乳山羊及乳牛則以母畜為主要經濟生產性別標的，利用選性精液進行人工授精，或搭配其他生殖技術進行選性體外胚生產、胚移置等相關技術應用，對於該產業競爭力之提升有很大的幫助。