



國立中興大學動物科學系遺傳育種研究室近 20 年來從事動物 DNA 鑑識之研究，其中利用 DNA 指紋技術，發現很多動物之種別及性別 DNA 分子標記，可以利用簡單的 PCR 操作及電泳，快速、準確的予以鑑定。素食不能摻雜動物原料、為防止狂牛症蔓延飼料不能添加肉骨粉、回教徒不吃豬肉、高價駝鳥肉不能以較廉價之鵪鶉肉或牛肉混充，這些問題可以利用種別 DNA 標記鑑定解決。有的動物從外觀不容易判定性別，但配種、買賣時需要確切知道性別，性別 DNA 分子標記的鑑定可以解決這個問題。本文將針對本研究室開發之快速、準確的動物 DNA 分子鑑定性別技術與應用作介紹。

DNA 分子鑑定技術鑑定動物性別之必要性

動物性別之鑑定無論是經濟動物生產效益或寵物買賣等皆有其實質之必要性，而且是越早越好，對畜產業之經濟生產業而言性別更是重要，此乃因性別之差異，在飼養管理、市場的價格及經濟收益亦有差異。選性繁殖有其經濟上之價值。例如公乳牛不會產乳，母才

會產乳。又如雞蛋生產者只飼養雌性雞隻生蛋，至於雄性雞隻一孵化出來便予淘汰，以免只吃飼料而不下蛋。另在鳥類方面，基於配種或買賣上之需要，性別之分辨有其實益。若以駝鳥與鴿子性別之鑑定為例來說明，輸入「駝鳥性別」、「鴿子性別」的關鍵字利用 Google 搜尋，所採用之方法均是從外觀分辨其性別，惟大部分的鳥類雌雄外形

非常接近，不易準確從外表判斷性別；如果利用侵入性的方法，如外科解剖，除了造成鳥類傷亡之外，在非生殖季時因生殖腺萎縮，亦難以判定其性別。

性別鑑定技術的發展及其應用

動物性別在受精時即已決定，哺乳動物之性染色體，雌性為 XX，雄性為 XY。鳥類之性染色體，雌性為

ZW，雄性者為 ZZ。性別對動物的生長發育、疾病感受性、外在形態與生態特性有重大關聯。近年來發展迅速的哺乳動物性別控制技術包括針對精子及埋植前胚胎兩種性別鑑定系統。在精子性別鑑定方面有 Barr-body 鑑定技術、percoll density gradient 遠心分離法、laminar flow fractionation 流體分離法、free-flow 電泳法、流動細胞測定儀

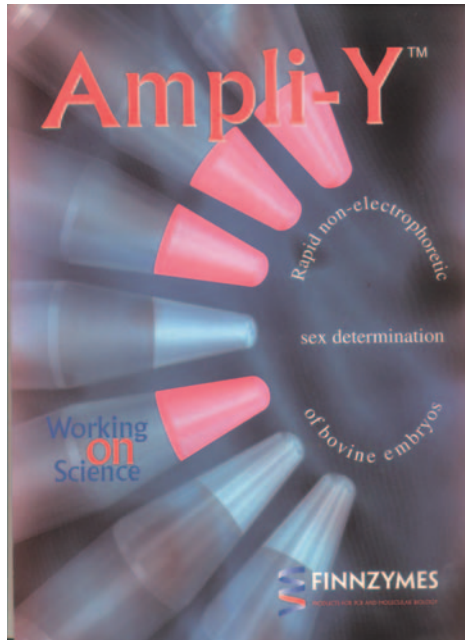


圖 1. 牛性別鑑定套組

(flow cytometry) 來分離帶有特殊染色體的精子，惟尚無法準確的達到選性繁殖之目的。如果利用胚分切與胚移置，配合 DNA 分子鑑定性別技術，則可達到控制後代性別的目的。日本荷蘭種牛登錄規程規定：「異卵異性雙胞胎需經產仔後始能登錄，但經鑑定為非 Freemartin 者不在此限。」；台灣荷蘭種乳牛登錄辦法實施細則亦

規定「異性雙胞胎牛，俟該女牛分娩後始得辦理登錄，但經親子鑑定或基因比對證明不是雌性雄相體者不在此限。」。異性雙胞胎牛，是否為雌性雄相體，如果利用 DNA 分子鑑定技術，性別即可判別，毋須等該女牛分娩後再決定是否能辦理登錄。惟雖然早期鳥類性別研究，除了以行為、外形、音頻或築巢行為的生態判斷外，利用細胞染色

體差異來鑑定鳥類性別也被研究，然而這些方法皆無法普遍且準確的判斷各種鳥類的性別。一直到 1990 年代 Griffiths 利用一種 DNA 分子鑑定技術來判定鳥類性別後，鳥類研究有了新的發展。目前世界上利用 DNA 分子鑑定技術鑑定哺乳動物或鳥類之性別，已有商業上的鑑定用套組販售 (圖 1 及圖 2)。

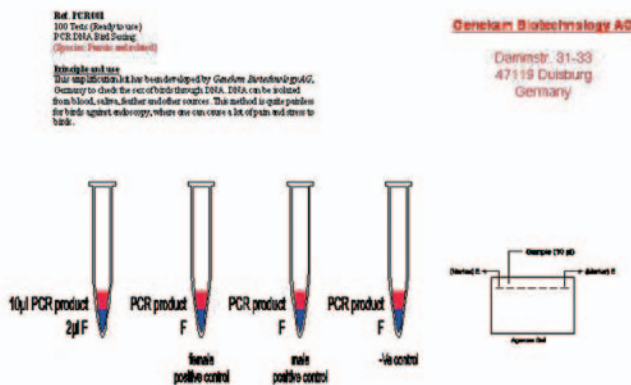


圖 2. 鸚鵡性別鑑定套組

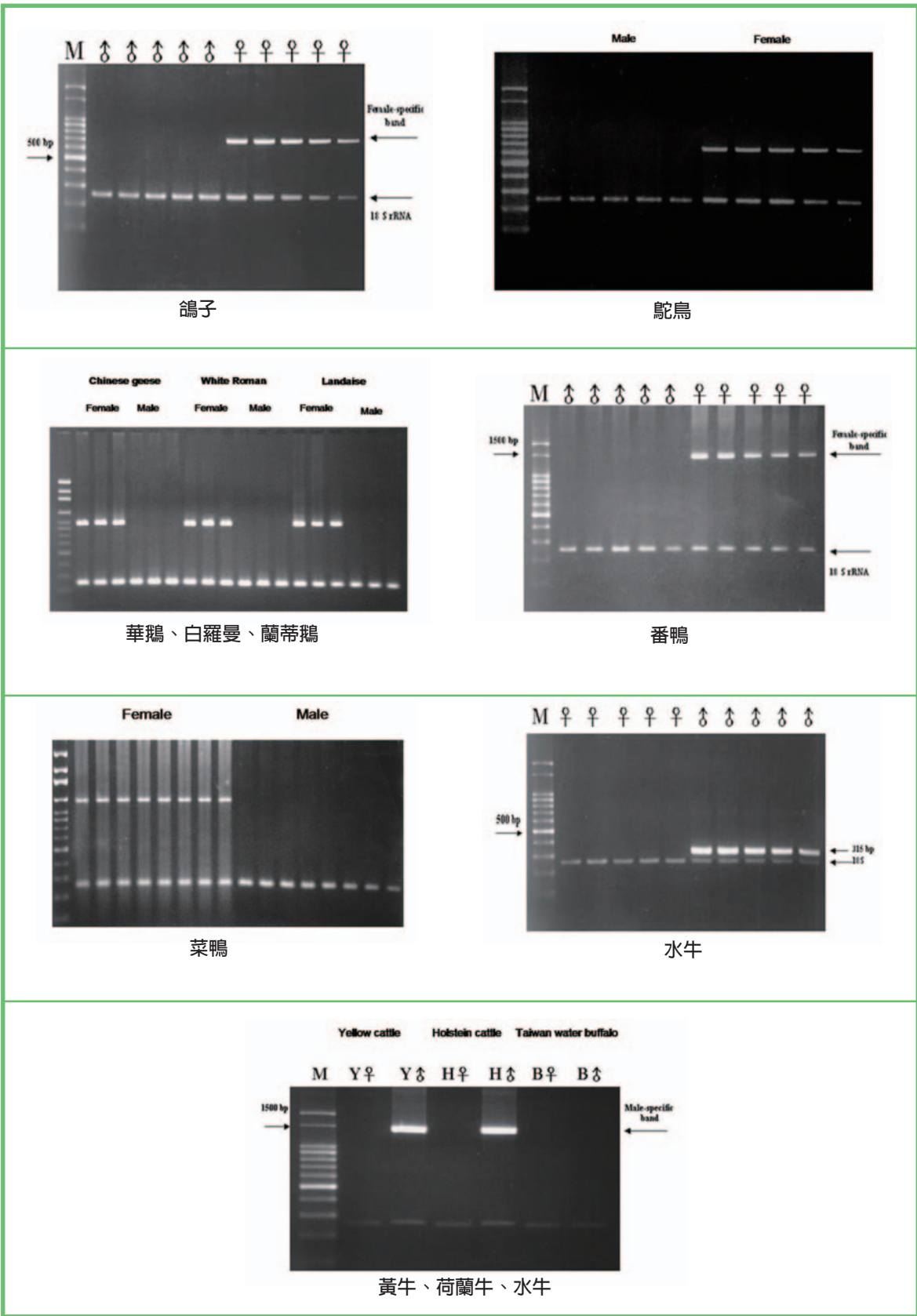


圖 3. 利用 DNA 分子鑑定性別技術鑑定各種動物性別

DNA 分子鑑定性別技術之建立

動物性別鑑定的重要性及利用傳統外觀方法分辨性別的缺點已如前述。顯示開發快速、且準確率達 100% 的鑑定方法極為必要。DNA 分子鑑定性別技術的開發就能達成這個目的。

近年來，性染色體 DNA 序列的發現，加上 DNA 增殖技術的研發，各種動物包括胚移植前之性別鑑定準確率大為提高，而由於鑑定時間縮短及分析方法簡化，此項技術上的突破，對於傳統性別鑑定方法造成極大的衝擊。在 DNA 層次的性別鑑定，研究者可以利用包括逢機增殖多態性 DNA (RAPD)、逢機增殖微衛星多態性指紋 (random amplified microsatellite polymorphisms, RAMPO) 及增殖片段長度多態性 (amplified fragment length polymorphism, AFLP) 等方法，從 DNA 指紋中出現的性別特異環帶進行性別鑑定。

中興大學動物科學系遺傳育種研究室所建立之 DNA 分子鑑定動物性別技術，是先建立 DNA 指紋，找出雌性或雄之特異環帶，分辨出雌雄性別。但研究團隊並不以此為滿足，進一步將 DNA 指紋中雌性或雄之特異環帶的 DNA 純化出來，構築入質體中，然後以雙去氧核苷酸序列分析法加以定序，再依據雌性或雄之特異環帶的 DNA 序列設計引子，以動物之基因組 DNA 為模板，以利簡單的以 PCR 增殖出雌性或雄之特異環帶，電泳後就可鑑定出動物之性別。這個方法的好處是操作簡單、快速且準確率達 100%。本研究室以利用此一方式，陸續建立多種動物之 DNA 分子鑑定性別技術 (圖 3)。這些選殖出來之雌性或雄之特異序列，經上網與世界上前人發表之序列比對，發現均為前人所未發現之新序列，故應可歸屬

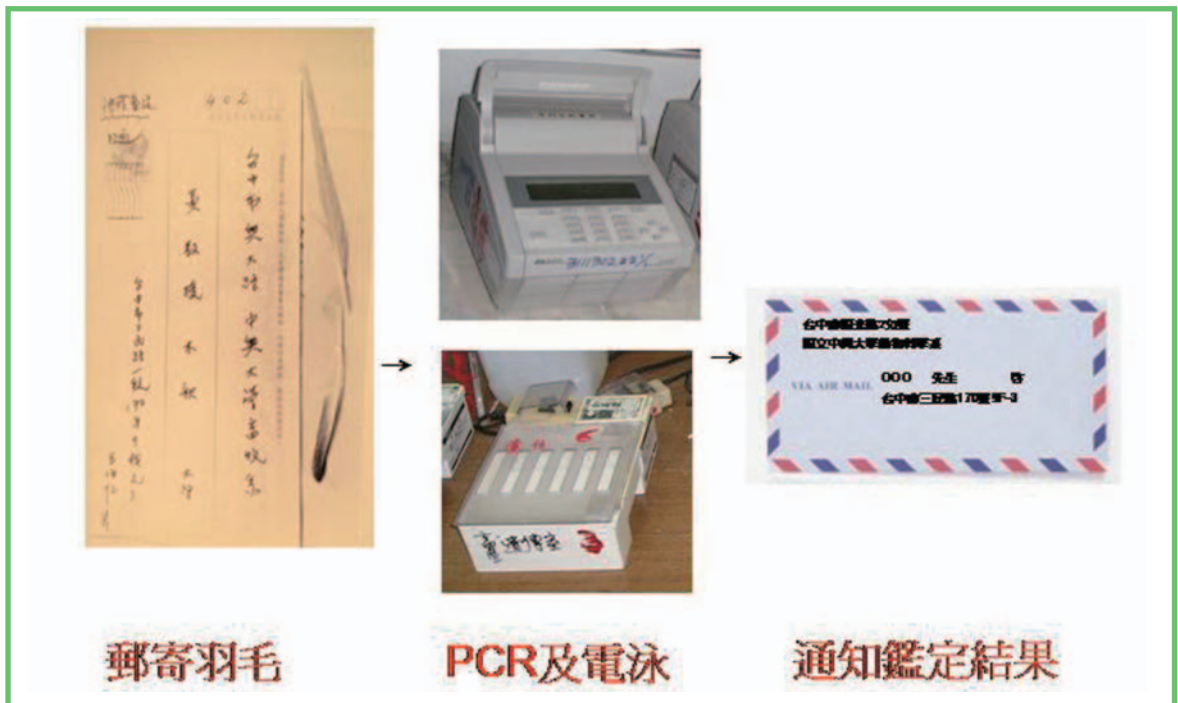


圖 4. 將駝鳥羽毛郵寄至實驗室，鑑定性別後，將結果通知場主

專利法中所謂之新發明。這些 DNA 分子鑑定動物性別技術，由於相當具有市場上之實用性，已提出專利申請，有的已獲專利許可，有部分案件尚在審核中。

未來展望

鑑定動物性別，毋需昂貴設備、操作簡單、快速、準確率達 100% 是基本要求，惟有如此才可能具有市場普及性與競爭力。中興大學動物科學系遺傳育種研究室開發之 DNA 分子鑑定動物性別技術，在設備需求方面，除了一般實驗室通常基本的離心機、電泳設備外，僅需 1 台價值新台幣 10 餘萬元之 PCR 儀就可進行，毋需昂貴設備。上述鑑定動物性別所需之引子、反應條件本研究室均已建立，僅需進行簡單的 PCR 增殖及將增殖產物電泳，性別立判，整個過

程至多 5 小時內應可完成。所以不但操作簡單、快速，且準確率可達 100%。供試樣品可來自血液、組織、胚等。為了方便樣品之採集及運送，在駝鳥方面，研究室接受業者將駝鳥羽毛裝入信封，以郵寄方式寄來鑑定，結果成功的鑑定出性別，並將鑑定結果通知業者(圖 4、5)。這種鑑定模式的好處是實驗室無須派人到現場採樣(尤其對已長大的駝鳥採血相當不容易)，業者可隨時視需要寄送樣品，確屬方便、經濟又節省人力。其他動物將來亦擬比照辦理。將來研究室擬依動物別，利用已開發之技術，組合各種動物之性別鑑定套組。使用簡易的方法及設備，就可鑑定動物的性別，這些套組成本很低，深信該產品在世界上會有相當大的市場潛力。

中興大學動物科學系遺傳育種研究室：
04-2287-0613

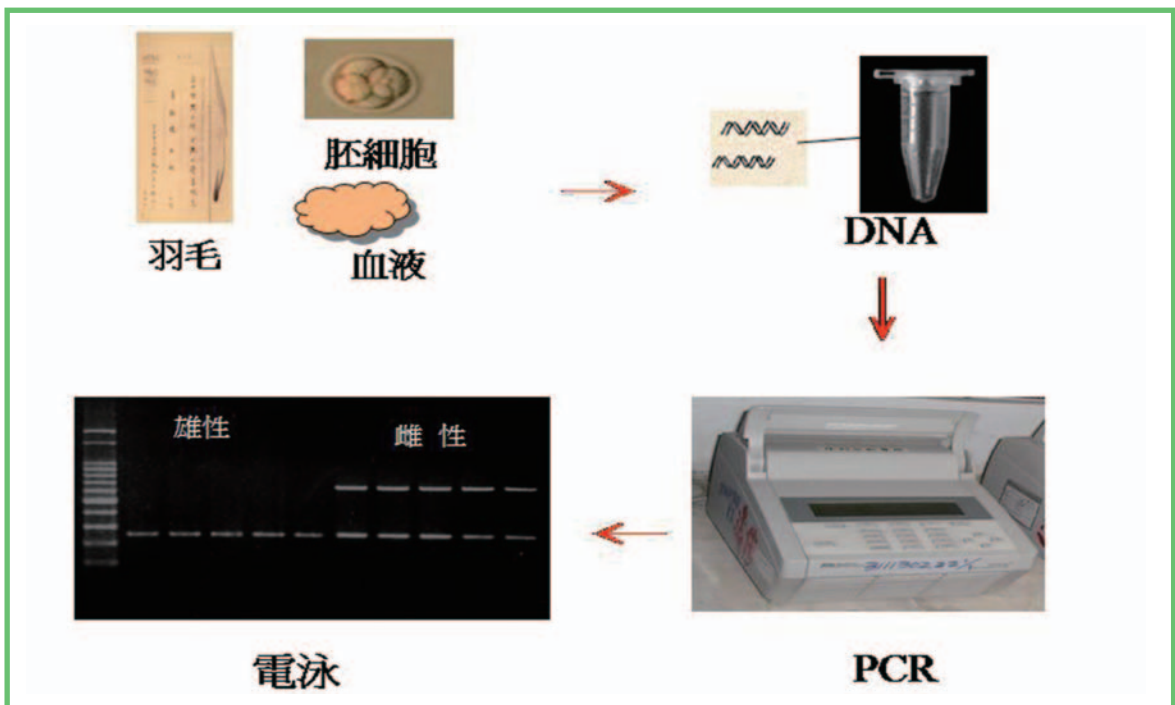


圖 5. 以 DNA 分子鑑定技術鑑定動物性別流程