

以WST-8酵素還原反應法 評估土雞精液品質

◎生理組／林秀蓮、陳裕信、陳立人

土雞精液品質檢測的重要性

人工授精技術（Artificial insemination）廣泛地應用在種雞產業，而精液品質之優劣攸關著種雞群的配種繁殖效率。母雞群施以人工授精時，若能選用品質良好的公雞精液，除可降低配種次數以減少現場工作量外，並可提高種蛋受精孵化率，二者皆可讓種雞業者更有效率地執行配種繁殖計畫，提升種雞場經營管理收益。此外，精液性狀為進行公雞選種重要指標之一，其可能為親代傳遞至子代之遺傳因子之一，可謂影響種雞育種工作甚鉅。

目前用以檢測土雞精液品質之技術

電腦輔助精子分析系統（computer-assisted sperm analysis, CASA）及流式細胞儀（flow cytometry, FC）可分別針對精子運動活力及精子構造功能進行檢測。CASA為透過位相差顯微鏡即時拍攝精子影像，並搭配分析運算軟體，對精子活力及型態異常百分比進行判讀計算；使用FC檢測精液品質時，首先須將精液樣品以特異性螢光染劑進行標記，接著透過FC對精子細胞懸浮液進行判讀，用於評估精子之構造功能完整性（例如細胞膜完整性、頭帽完整性、粒線體完整性及DNA完整性等）。CASA與FC可提供準

確、可靠、客觀及高效率之分析結果，然而所需各項設備及螢光染劑套組價格高昂且檢測人員必須經過繁瑣之操作訓練，為此兩種分析技術無法在種雞產業普及應用之主要原因。

WST-8酵素還原反應法原理

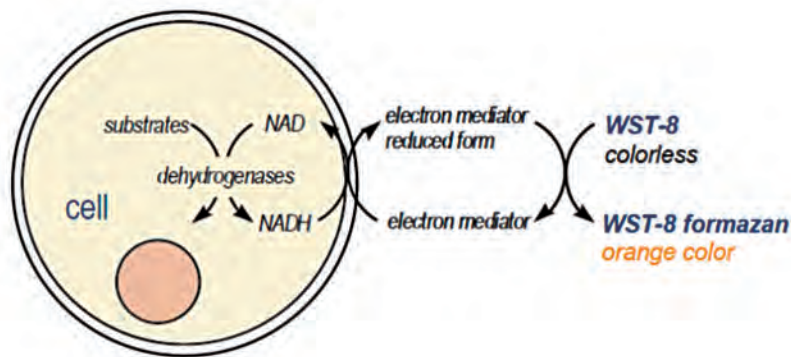
WST-8（2-[2-methoxy-4-nitrophenyl]-3-[4-nitrophenyl]-5-[2,4-disulfophenyl]-2H-tetrazolium, monosodium salt）在有電子耦合試劑存在的情況下，可被粒線體內的脫氫酶還原生成橙黃色的WST-8 formazan（圖1），其顏色深淺和細胞數目在一定範圍內呈現線性關係。WST-8 formazan之生成多寡取決於細胞內脫氫酶活性，細胞活性越大則顏色越深，其可直接反映存活細胞的數量。

應用 WST-8 酵素還原反應法檢測土雞精液品質

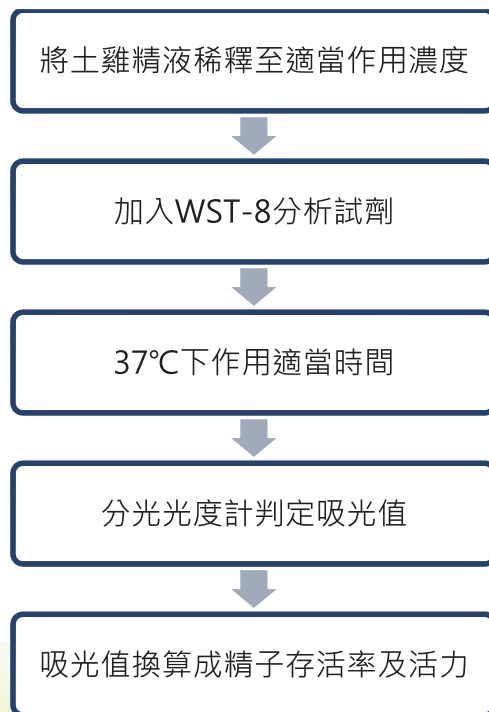
WST-8酵素還原反應法是一種簡單、快速及可靠的分析方法，目前已被廣泛地應用在許多不同細胞的研究上，每年發表之科學期刊文獻數大量累積中。畜試所將此技術應用於土雞精液品質檢測上，已陸續建立各項相關檢測條件，包括反應濃度、作用溫度、作用時間及標準曲線等，並將相關研究成果發表於2018年British Poultry Science期刊

中。應用WST-8酵素還原反應法檢測土雞精液品質之操作流程（圖2）包括：1. 將精液稀釋至適當作用濃度，2. 加入WST-8分析試劑，3. 以分光光度計進行吸光值判定及4. 將吸光值轉換成精子存活率及活力的數據。相較於CASA及FC而言，WST-8酵素還原反應

法具有操作簡便及設備成本低之優點，為極具潛力的精液品質檢測方法。未來可將相關技術推廣應用於臺灣土雞配種繁殖計畫及選育工作上，以簡便有效且經濟的方式進一步提升種雞場經營管理收益。



▲圖1. WST-8酵素還原反應（摘錄自Dojindo Molecular Technologies, Inc. 產品使用手冊）



▲圖2. WST-8酵素還原反應法檢測土雞精液品質之操作流程