

冷凍乾燥技術應用於

種畜禽精子保存

◎遺傳育種組／林秀蓮、吳明哲

畜禽精子冷凍乾燥發展緣由

抗凍保護劑廣泛地被使用於保存各種動物之精、卵及胚，然而高濃度之抗凍保護劑常具細胞毒性，且在冷凍前的添加和解凍後的移除過程中，極易造成細胞內外滲透壓的急遽變動，操作不當時，對細胞將造成無法回復的傷害。此外，超低溫凍存所需之液態氮設備維護成本高昂，在跨國輸出時亦需考量高壓氣體空中運輸安全性及時效性等問題。因此，各國研究人員積極尋求可以改善或取代傳統冷凍保存方式之新型保存技術，其中，精子冷凍乾燥（freezing-drying, FD）便是一種發展中的技術。

冷凍乾燥技術的演進

冷凍乾燥技術最早是應用在食物的保存上。多數考古學家認為，這種保存食物的方法起源於南美洲印加文明。至於在冷凍生物學（cryobiology）的發展，最初科學家是抱持著醫學臨床應用而發想的，因而在20世紀初投入大量資金與人力研究開發有關病毒、細菌、藥物、抗生素、血漿、細胞及組織等生物樣本的冷凍乾燥技術。

英國劍橋大學Christopher Polge教授在1949年將雞精液混合含有甘油的稀釋保護液後，進行冷凍乾燥移除精子中90%水分，在室溫下保存二小時後進行復水，其中有

50%雞精子仍具活力。後續不斷有研究人員把相同的技術嘗試應用在人及牛的精子上，但結果全然宣告失敗。一直到了1998年，終於再度有令人振奮的消息傳出，日本Teruhiko Wakayama博士及Ryuzo Yanagimachi博士，在科學期刊Nature Biotechnology發表論文，闡述其成功地由冷凍乾燥的小鼠精子進行單一精子注射技術（Intracytoplasmic Sperm Injection, ICSI）生產出正常後代的結果。應用冷凍乾燥精子可成功產生後代的物種，包括有小鼠、大鼠、倉鼠、兔、牛、馬及豬。

精子冷凍乾燥的原理及操作步驟

在冷凍乾燥的過程中，冷凍的步驟會使得精子中的溶劑—水分形成冰晶，而原本溶在水分中的溶質將會被析出，在冰晶與冰晶之空隙區形成其晶體。在精子冷凍完成之後的主要（第一次）乾燥過程中，冷凍乾燥機將透過降低壓力及加溫程序，以啟動精液樣品中冰晶的昇華而移除絕大部分的水分。此階段完成後，仍然會有一些水分吸附在精子樣品表面，必須透過次要（第二次）乾燥過程，藉由再次加溫蒸發水分及排除水蒸氣壓力來完成最後水分的移除。圖1為精子冷凍乾燥研究之操作步驟。

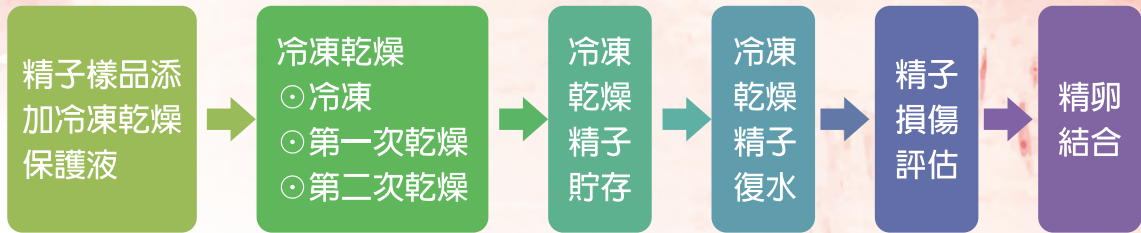


圖1. 精子冷凍乾燥研究操作過程

畜禽精子冷凍乾燥技術的未來展望

精子冷凍乾燥技術目前所遭遇的最大瓶頸，即冷凍乾燥後精子的DNA完整性及受精能力雖未受損，但卻會失去泳動的能力，因此必須藉助ICSI的顯微操作，將精子送入卵中完成受精作用。此方法在哺乳類動物可行，卻無法在生殖系統更加複雜的鳥禽類操作。因此，對於家禽精子冷凍乾燥後的受精作用，必須發展出新的人工生殖操作技術，以解決實際應用上的問題。

細胞的脫水乾燥，在自然環境中並不少見，這種現象可在線蟲動物門（Nematoda）、緩步動物門（Tardigrata）、昆蟲綱（Insecta）及鹵蟲屬（Artemia）等動物身上觀察到。甚至於在哺乳類的蝙蝠，為因應冬眠現象而演化出的貯精系統，其機制亦與細胞脫水乾燥有關。Learn from nature！或許大自然中有我們亟欲尋求的解答，再加上現代的科學儀器設備日新月異急速更迭，研究人員可以觀察到越來越多從前無法觸及的細胞現象和生理機制。「精子冷凍乾燥保存」距離動物場實際的應用，在現在看來或許仍是天方夜譚，但也許在未來的某一天，也能像動物複製的技術在100年前聽起來就像是個神話，但在如今卻已在許多物種普遍證實是可行的一項人工生殖技術。

參考文獻

- Gil, L., Olaciregui, M., Luno, V., Malo, C., Gonzalez, N. & Martinez, F. 2014. Current status of freeze-drying technology to preserve domestic animals sperm. *Reprod Domest Anim*, 49 Suppl 4, 72-81.
- Patrick, J. L., Elliott, G. D. & Comizzoli, P. 2017. Structural integrity and developmental potential of spermatozoa following microwave-assisted drying in the domestic cat model. *Theriogenology*, 103, 36-43.

