

自動化系統在魚類染色體操作之應用研究

趙乃賢、林式修、陳雨農
水產養殖組

本研究目的為探討細胞級生物技術中之魚類染色體操作，導入自動化和生物技術結合之實務，並配合農委會鼓勵以知識經濟協助產業之政策，強化我國水產研發的利基，以期展現國際競爭力。

以玫瑰鯽 (*Puntius semifasciolatus*, Chinese barb) 和泥鰍 (*Misgurnus anguillicaudatus*, Pond loach) 為試驗對象種，建立雌性種魚之催熟和順利採得多量質佳卵粒以分析其受精後極體排出時間，研發第一項技術平台。結果指出 25 °C 下，優質卵受精後，50% 出現極體時間在玫瑰鯽為 11 分 42 秒，泥鰍為 12 分 33 秒；釋放極體時間則分別為 11 分 50 秒和 12 分 42 秒。人為染色體操作時抑制極體排出之有效時間十分緊湊，掌握必須高度技術。

雄性種魚依魚種不同，但皆經基礎、初階、進階抗凍劑配合，使用三項降溫程式完成其各別精液最佳冷凍保存流程之確認，據以建立玫瑰鯽和泥鰍精液庫。綜合效果指出，玫瑰鯽精液可以初階抗凍劑 Trehalose 及 FW1 作大量保存。至於泥鰍精液，由於其甚具耐超低溫操作之特性可簡化其前處理，僅採用抗凍劑 15% DMSO 及 FW3 即可 (圖 1)。目前個別大量保存 120 份和 150 份長年可隨時隨地應用之超低溫冷凍精液於液態氮中，此為已研發之技術平台二。

本年度研發之技術平台三為構築流式細胞儀判讀細胞內染色體流程，玫瑰鯽和泥鰍之稚苗先以 trypsin 處理，使解離再加固定液研磨成細胞懸浮液，或成魚之血球細胞，以 PARTEC Kit A 內含之 DAPI 染色並上機測試。分析結果顯示，流式細胞儀 PARTEC CA II 適合測知魚類細胞 DNA 含量並進而據以得知這些細胞所屬個體是否經由人為染色體操作已成功地形成多倍體 (圖 2)。

本年度為本計畫第一年，設備之安裝和改進花費時間甚多。本計畫執行需用多項技術平台，而針對對象魚種的一些技術需自行開發且由基礎確實作起，方不至影響後續實驗的正確方向。目前已逐一建立各項有關技術平台，期待日後整合以達成目的。

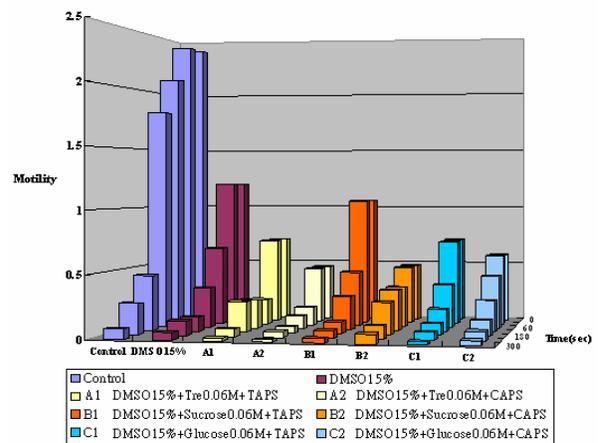


圖 1 泥鰍精液進階抗凍劑效果比較

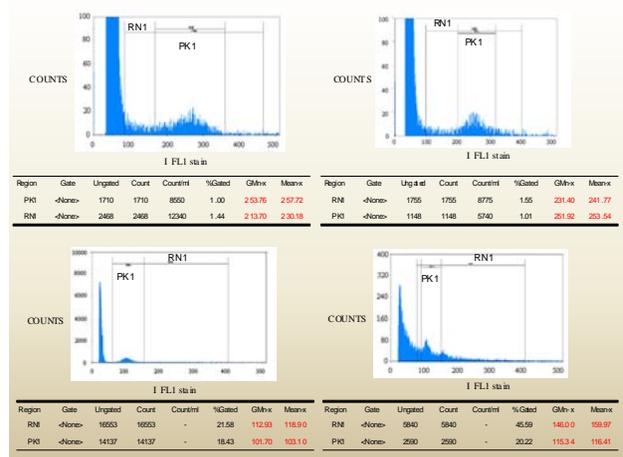


圖 2 玫瑰鯽胚體細胞分離以流式細胞儀測 DNA 含量