

基因轉殖與複製技術在養豬產業之應用

杜清富

台灣動物科技研究所 研究員兼組長

前言

台灣為海島型國家，自然資源及在地飼料生產有限；地處熱帶及亞熱帶，高溫高溼降低生產效率；平地少、人口及豬口多而密集，因而增加豬隻疾病防疫控制之難度。落實管理及防疫可顯著降低生產成本，諸如減少飼料浪費、水量浪費及廢水處理、批次化配種，以及強化生產醫學管理及疫苗使用。惟現今氣候變遷，極端溫度變化，爆發疾病多變，甚至在因應節能減碳及降低碳足跡要求，使我們不禁要問生物科技，尤其豬隻基因轉殖與複製技術，是否可為養豬產業做些什麼？或幫得上什麼？台灣一年四季均可不間斷地吃得到當季好吃的水果，當然這是因水果的品種多、育種技術精良及諸多科技配合的結果；相對豬隻品種多樣性較少、世代間距長的限制及科技投入成本較高，僅能往終端成品(豬肉)做品牌訴求？本文將簡要敘述基因轉殖及複製技術在養豬產業可能應用之潛力，而不討論其在生物醫學或實驗動物方面之產業應用。

技術簡介

基因轉殖是將一段外源基因藉由不同方法殖入豬隻基因體內，使豬隻帶有一段外來基因，目前較成熟方法為使用高倍顯微鏡將 DNA 直接注射至受精卵內之原核內，所出生仔豬約在 10% 左右會是攜帶外來 DNA 之基因轉殖豬。複製技術是將體細胞藉由細胞置至去核豬卵內，再經電激活重新啟動移置體細胞核之基因表現，目前以使用卵數及移置發育重組胚數估算，出生之複製豬成功機率仍僅在 1% 以下。複製技術在技術上也常被應用來進行基因轉殖，即在進行細胞核移置前，可先將 DNA 送至細胞內，先獲得基因轉殖細胞，甚至可再篩選已表現外來基因性狀(或輔助標記基因)之細胞再進行複製，所出生之複製豬隻即是基因轉殖豬。當然在技術及工時(或人力)層面，複製技術較顯術注射難度高出甚多，目前已有使用新徒手複製技術，在低倍解剖顯微鏡下，徒手持分切刀片將體外成熟卵對半分切，將無細胞核半球卵與供核細進行胞融合及聚合，目前也可成功獲得一胎多生之複製豬。

基因轉殖技術發展之應用

此節先以目前國內外學者研發進行介紹，諸如生長素基因、植酸酶基因、豬乳鐵蛋白基因、熱緊迫蛋白質基因、纖維素消化酶基因及歐米茄-3(omega-3)脂肪酸轉移酶基因等基因轉殖豬隻之成果簡要回顧，再進一步檢視此等研發對未來養豬產業發展可能之著力點。

生長素基因轉殖豬：自「超級小鼠」產製成功，該基因轉殖小鼠較同胎同胞體型大超過約 2 倍，被認為有可能以相同模式，轉殖牛隻生長素基因至豬隻基因體，可獲得快速生長及體型巨大之超級豬，在成功產製生長素基因轉殖豬結果驗證下，顯示此案例並未如科學家預期，基因轉殖豬不僅體型未有改變，豬隻甚至很容易緊迫及胃潰瘍，有膝關節脆弱容易產生病變，公豬無性慾母豬無週期等繁殖障礙問題，後來檢討此等缺陷，一般咸認為此等基因轉殖策略，基因轉殖豬持續分泌高量生長素，違背生長素每 4~6 小

時出現分泌高峰之蛋白質內泌素生理特性，以致造成豬隻產生病態，違反動物之福祉。後來，美國農部改產製第一型類胰島素生長因子(IGF-1，為生長素調控生長機制之執行因子)，克服前述生理缺陷及疾病現象，不過其減少脂肪堆積量及加速瘦肉生長之效果亦較不理想。

植酸酶及纖維素消化酶基因轉殖豬：一般家畜動物無法消化飼料中有機磷(如植物飼料中植酸)及纖維素，兩者在養豬產業造成大量排泄物，需進行廢水處理及造成環境污染等社會負面印象及成本負擔。加拿大學者首先將大腸桿菌之植酸酶基因改由唾液腺分泌之基因啟動子調控，當豬隻吃飼料時即啟動植酸酶分泌混入飼料中，該基因分泌之酵素一如在飼料中添加之酵素，可提高飼料中有機磷之消化利用，甚至可降低豬糞中有機磷達 75%，該基因轉殖豬因此被命名為「環保豬」，目標在降低養豬廢水之環境污染。此部分台大鄭登貴教授領導團隊，亦進行植酸酶基因轉殖豬產製，並修改轉殖基因於小腸表現，不僅與前述「環保豬」一樣在吃飼料時啟動基因表現，甚至迴避胃酸環境可能降低酵素活性力價；此外，鄭教授團隊同時進行分解纖維素之基因進行多基因轉殖豬產製，期望基因轉殖豬可分解飼料中纖維素，轉化纖維素為能量，此等研發可對養豬產業造成巨大之衝擊，不僅可減少豬糞量，並可根本提升豬隻對飼料中植物性不可消化能量轉為可消化能，一如反芻動物利用植物能量。

豬乳鐵蛋白質基因轉殖豬：本例為為我國第一個整合型之基因轉殖研發案，前養豬研究所朱瑞民所長整合包括台大鄭登貴教授、養豬所楊天樹博士及李坤雄博士、中興黃木秋教授及畜產試驗所許登造博士，進行基因轉殖家畜產製之研發計畫。在豬隻方面，新生仔豬常因下痢而減少離乳頭數，因此該計畫選植牛乳白蛋白質基因啟動子及豬乳鐵蛋白質 cDNA，所構築之轉殖基因，成功產製基因轉殖豬，一般分娩母豬一週內在乳中分泌高量乳鐵蛋白質，一週後即急遽下降，該轉殖基因可持使母豬在一週後持續分泌高量乳鐵蛋白質，增加小豬吸收鐵、抑制腸道細菌生長及增強小豬免疫力，總和結果確實達到提高仔豬之離乳頭數，確實可協助養豬產業。

歐米茄-3 脂肪酸轉移酶基因轉殖豬：在增加豬隻肥肉中 omega-3 脂肪酸含量之研發方面，首先由美國匹茲堡大學醫學中心研究人員在進行心血管疾病研究時，藉由豬隻為動物模式探討脂肪中 omega-3 與 omega-6 脂肪酸含量變化與發生心血管疾病之關係，該研究人員進一步推論，如豬隻脂肪中 omega-3 不飽和脂肪酸含量增加應該對消費者健康是有益的，因此，認為此等基因轉殖豬豬肉應可訴求為有益健康之健康肉；該團隊一位主要研究人員為大陸裔，目前亦進一步參與大陸生技公司開發業務，成功產製基因轉殖牛，預計提高牛乳脂肪中有益不飽和脂肪酸含量。

熱緊迫蛋白質基因轉殖豬：台灣高溫高濕環境造成畜產生產效率降低，微生物繁殖快提升疾病防疫成本，因此是否可藉由基因轉殖緩解豬隻熱緊迫，提升豬隻熱季飼料採食量、生長及繁殖效率，乃由動科所副所長李文權博士團隊成功產製熱緊迫蛋白質基因轉殖豬，惟熱緊迫涉及生理反應層面之廣，甚至在未達實驗定義熱緊迫條件之前，豬隻採食量應已顯著下降，或者熱緊迫類似綜合代謝症候，不易由單一基因所調控。

複製豬隻發展及應用

在2002年Infigen和Genmark公司首次以成年公豬體細胞成功複製出兩頭(一頭約克夏

及一頭漢布夏)遺傳性能優良之種公豬，開啟生物技術在傳統遺傳育種應用之腳步。尤其在頂級種公豬因年老或疾病因素需淘汰時，可藉由體細胞冷凍保存及複製技術，將該豬隻之生命繼續延續，並延伸其產值。優良種豬遺傳性狀保存，目前養豬產業，一般認為以冷凍精液為最方便及經濟，但配合體細胞複製技術改進，體細胞之冷凍保存相較於冷凍精液應更為簡易，甚至可冷凍在-80℃冰箱，無須添加也不必怕忘了添加液態氮，將更為簡便；甚且同時保存完整的基因組DNA（兩套染色體），而不似冷凍精液保存配子，僅具半套DNA之遺傳特性。

不過體細胞複製動物因使用已分化體細胞，於核移置後因基因上位遺傳(epigenetics)，造成體細胞復育分身具有缺陷，諸如巨胎、大舌頭與大胎盤等等現象，甚至在體細胞複製牛有解剖缺陷之例子，惟此等缺陷具動物種別差異及可藉技術純熟而降低，目前在體細胞複製豬隻方面則無前述現象。甚至複製公豬之繁殖性能及其後裔窩仔數及性比例均與一般豬隻無差異。此外，大陸學者報告複製中國金華豬，亦顯示復育之金華豬發身日齡、懷孕期、窩仔數、育成率等繁殖性狀與一般金華豬者無差異，在複製豬後裔除出生仔豬重較輕之外，其他平均日增重及屠體性狀，亦與一般金華豬無差異，因此複製技術在對高育種潛力之豬隻具有其應用價值。

在利用複製豬和其子代生產之食品，與其他人工繁殖技術和自然配種方式生產並無差異，在食品衛生安全方面，美國食品藥物管理局(FDA)發表相關規範，說明複製家畜產品，並不需特別訂定檢驗項目及檢測值，甚至上市時不需特別標示即可上市出售。目前歐盟食品安全管理局亦同意美國FDA之結論，同意歐盟國家發展之體細胞複製家畜可進入食物鏈，甚且歐盟種豬協會亦贊同歐盟食品安全管理局之此一決定。

未來展望

基因轉殖一詞被統整稱為「基因改造」後，從字面會意「改造」二字實為令人恐懼之大工程，事實上美國自始至今均使用「基因工程」稱之，加拿大則使用「生技」稱之，不落入歐盟使用GMO用語，估不論名詞使用差異，已造成社會不好印象。就台灣自然資源有限之處境，實應有所認知及魄力，借用生物技術之力，從無中生有，為畜產再進行加值。新近基因轉殖方面科學家也在嘗試，應用微小核糖核酸(siRNA)之原理，進行可中和病毒性病原之感染，期望可產製具抵抗特殊病原之基因轉殖豬。例如，大陸吉林大學畜牧獸醫學院在2008年即發表抗豬瘟病毒基因轉殖之複製豬誕生，雖然目前該基因轉殖豬尚無後續功能測試報告，不過是否可藉由基因轉殖及複製技術，提升豬隻抗病能力，實為此領域學者極想詢問之答案。

動科所在94年已可成功產製一胎多產複製種公豬，評估其生長性能，具前述上位遺傳現象，分身之複製豬生長性能與本尊確實有一段差距，惟其精液在進行冷凍保存及解凍後，可正常配種，所生之子代明顯恢復遺傳本尊生長性能之成績。此外，種公豬是以生長性能為檢定項目，此等生長性能為具中等遺傳變異率，可預期其遺傳給後裔之機率甚高；反之，相關影響繁殖基因之性能遺傳變異率較低，具高繁殖性能之母豬，其遺傳組合如為最佳調控繁殖性能之基因組合，是否可藉由體細胞核移置之複製技術，產製出保有同樣具高繁殖性能遺傳組合之母豬，亦值得吾人檢視。