

第二十章 實驗動物之生產方法與生殖性狀

一、前言

為使應用動物於人本科學的行為符合動物保護法的規範，進行動物試驗者應對這具複雜生命現象的研究材料有基本的認識。本章簡介常見實驗動物：諸如小鼠(mouse)、大鼠(rat)、倉鼠(hamster)、天竺鼠(guinea pig)及兔(rabbit)的繁殖生產方法以及列述基本生殖性狀。並在常見的繁殖方法中，試使讀者瞭解維持實驗動物遺傳品質與生產法間的關係。期藉這些資訊能使進行動物試驗者自實驗設計，乃至於獲取動物時，皆能考量如何獲取最佳品質動物；及如何以最少的動物數量來完成研究。

二、實驗動物配種生產方法：依遺傳特性需求

(一)依遺傳特性可將實驗動物分為3類

1.遺傳基因具多樣性的逢機配種族群(random bred stock; 或稱 outbred stock)。

2.個體間具高度遺傳相似性的品系(genetically controlled strain)如經兄妹(brother×sister)或親子交配，至少 20 代所育成的近親品系(inbred strain)；將一品系之一特定遺傳特性以連續反交(backcross)於另一品系數代的方式所育成的同源近親品系(congenic inbred strain)；以二品系進行一代雜交，使之具特定特徵及/或產生雜交優勢的第一代雜交品系(F_1 hybrid)等。

3.在早期胚經基因轉殖(transgenic)或基因標的(gene targeting)等分子生物學程序所育成的遺傳工程品系(genetic engineered strain)。

(二)配種制度

依據基本遺傳原理，選擇最適當的配種制度，方可成功地繁殖實驗動物。依遺傳特性所衍生出之配種制度如下：

1.逢機配種族群配種法

(1)逢機配種係應用嚴謹的配種制度，使繁殖族群中的個體維持遺傳的多樣性，換言之，此類配種制度乃以盡量避免兄妹或親代與子代間發生近親交配。

(2)常見的逢機配種族群的配種制度為環型成對配種系統(circular pairing system)(圖 20-1 上)與環型配種系統(circular system)(圖 20-1 下)。此二配種制度是將繁殖種原進行分組配種(至少 4 組)，依擬定產能與物種特性決定分組數量，每組可有若干雄種鼠與雌種鼠，而分組越多則越不易發生近親交配。

(3)在一個封閉之繁殖族群(closed colony)，因原種源數有限，隨繁殖代數(generation)增加，近親交配的機率增加，每增加一代之機率= $1/8$ (種母總數+種公總數)，所以逢機族群在繁殖過程，應儘量延長換種時間，換言之，應避免種鼠僅生育 1-2 胎即淘汰，以減少族群代數快速增加。再者，

不應因動物獲取不易，即僅引進幾隻種源，自行繁殖，此除易失去研究的真確性，亦易因人為的錯誤而犧牲實驗動物，有違動物保護原則。

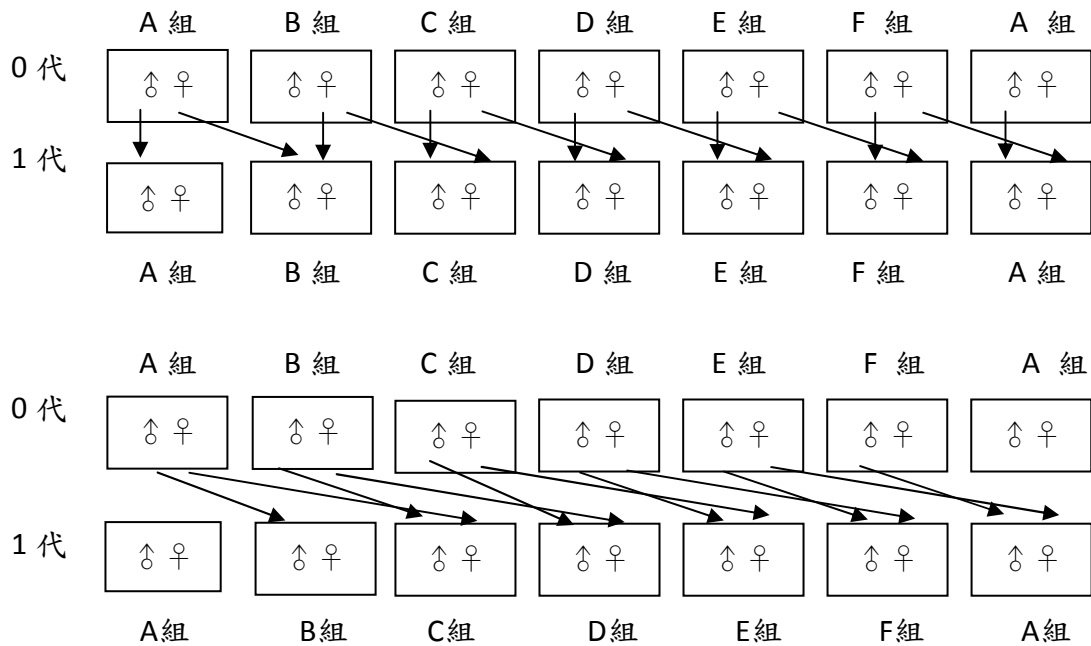


圖20-1、逢機配種族群的環型成對配種系統(上)與逢機配種族群的環型配種系統(下)。上圖之環型成對配種之圖例是將繁殖族群分為A-F共6組，每組有若干隻種鼠，當擬淘汰第0代之種鼠時，應將其所生育之子代(第1代)依圖中之方式分組，例如第0代A組所生育之種用第1代雄鼠仍屬A組，而A組所生育之雌鼠則成為B組之新種母。其它各組在留種時，也以相同之原則。下圖也是將繁殖族群分為A-F共6組，在留種時，則將親代A組所生育之雄仔鼠移至子代B組，而A組所生育之雌仔鼠則成為子代C組之新種母。其它各組在留種時，也以相同之原則。如此在續代時，則可使發生近親交配的機率降至最低。

2. 近親品系配種法

目前近親品系小鼠已有數百個品系，大鼠約有100種，而倉鼠依不同支系亦有幾十種，天竺鼠除了常用的Strain 2及13外，另有10種以上，兔也有10種以上。

- (1) 在生產一已建立之近親品系時，雖近親品系之個體間的遺傳同質性(isogensity)已超過99.5%，一般而言，不應完全以逢機族群的配種制續代(見下)，以避免在續代過程中，無法及時發現突變、誤配等遺傳污染(genetic contamination)等。
- (2) 當實驗動物中心引進既有之近親品系種源進行繁殖，應選出一對繁殖力最強的兄妹種鼠作為爾後繁殖動物的共同祖先，配種後將其後代依預定族群

大小，留3-6對兄妹作為核心種源(foundation colony)的支系，以後核心種源的每一支系自行以兄妹配種方式繁衍下一代。而每一核心種源的支系選數對兄妹後代傳遞給族譜記錄繁殖群(pedigreed expansion colony)，仍以兄妹配種方法繼續配種，組成族譜記錄繁殖群，族譜記錄繁殖群的種全來自上一層的核心種源，而其所有子代並不自行留下而是送到生產族群全部打散採用逢機配種繁殖，此族群可自行以逢機配種大量繁衍二至四代(若需求的產量大時，甚至可以到六代)，此稱生產族群(production colony)，其所生產之動物供研究人員使用(如圖20-2、圖20-3)。生產族群在逢機配種時每一代不可逆回上代留種。核心種源及族譜記錄繁殖群，每對種鼠都有完整的血親記錄號碼系統，以便日後篩選新種之用，逢機配種則不需有太多記錄。此系統因上層的兄妹配種的種數目少，而下層生產族群種的數目多，整個繁殖族群形成一個金字塔型，稱金字塔型配種繁殖。

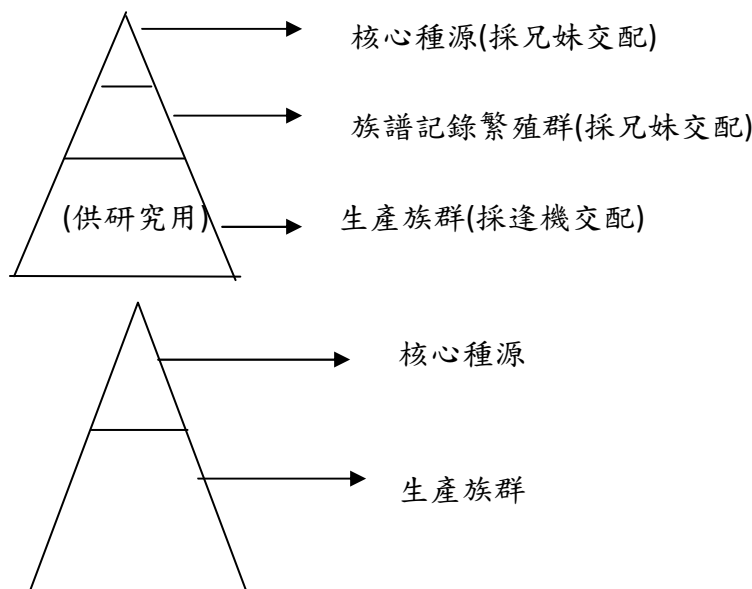


圖20-2 近親品系金字塔型配種繁殖圖。上圖：通常每一週生產超過50隻的近親品系繁殖族群，可考慮將之分成3個次族群，即核心種源、族譜記錄繁殖群以及生產族群。這3族群之關係請見內文。下圖：若所需之繁殖族群產能很小，則可將之分成兄妹交配並作族譜紀錄的核心種源；以及僅需作逢機交配的生產族群。

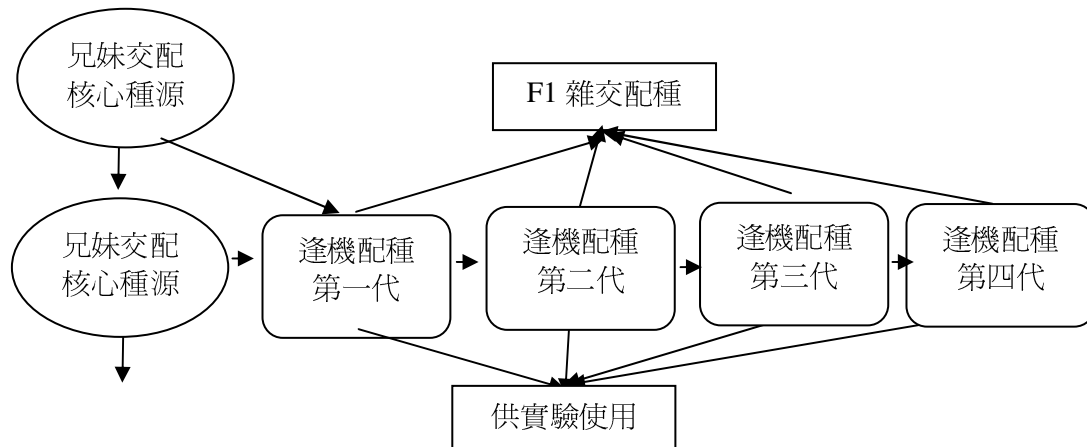


圖20-3 近親品系配種繁殖圖。圖左的橢圓形為兄妹交配的核心種源族群，圖右的長方形為逢機交配的生產族群，用於逢機交配的生產族群最後一代與本近親品系繁殖族群的最原始核心種原間，不應超過6代。F₁雜交品系可直接由逢機配種族群所生產者，進行交配。

- (3)近親品系因使用量少，相對繁殖需求量也少，因此可以將圖二上之金字塔型配種繁殖圖修正成圖二下之簡化型金字塔配種法，即不建立族譜記錄繁殖群，僅含核心種源及生產族群，繁殖方法由兄妹配種的核心種源子代直接送到生產族群以逢機配種方法繁殖供研究用(圖20-3)。
- (4)近親配種的核心種源不應永遠逐代繁衍，每當續代5-7代後，應分析核心種源族譜各支系成員之繁殖表現，選取其中表現最好支系中的一對兄妹種源，重新編號，使其成為此繁殖族群的新原始祖先，以此新核心種源取代原來的核心種源動物。此複雜的程序除可避免近親配種續代過多後，各支系所衍生的動物之遺傳性狀產生差異外，並可避免近親交配多代後可能產生的近親繁殖衰退(inbreeding depression)。當然，在重新擇取核心種源過程中，進行疾病監測以確保新種原健康，並施行遺傳監測也是新核心種源篩選的條件。
- (5)已建立之同源近親品系動物生產方法與一般近親品系相同，惟此類應用連續反交數代的遺傳學方法，在將特定基因座(gene locus)帶入一近親品系的動物時，也將該基因座附近之基因一併帶入，故在生產數代後，常需再行數代之反交，以減少干擾。再者，有些基因座在homozygous下，無法存活或不具生殖能力，故必須使用heterozygous動物作種，這類之同源近親品系特稱為segregating Inbred strain。

3. 第一代雜交(F₁)鼠配種法

- (1)近年來生物醫學研究日趨重要，常有研究人員要求實驗動物中心提供F₁雜交鼠，F₁雜交鼠是指兩種近親品系配種(intercross)所生產之第一代，其親代一定來自兩種近親品系，其子代不再繼續配種。
- (2)應用F₁雜交鼠的目的有二：一為應用二不同近親品系互交所產生的雜交優勢，使其雜交鼠對環境的適應比其原父系或母系強，如由NZB與NZW所得之F₁仔代，為重要的紅斑性狼瘡模式動物。
- (3)父系與母系互相交換產生的雜交鼠其特性也各有不同，因此雜交鼠的生產一定要知道父系或母系出處。這通常可由雜交鼠名字看出，其命名先寫母系再寫父系，例如：BCF1小鼠是由C57BL/6♀×BALB/c♂，又如B6D2F1小鼠是由C57BL/6♀×DBA/2♂雜交而來，常有研究人員不明白而混淆，配種時宜小心(表20-1)。

表20-1 常見的第一代雜交鼠及其出處

F1雜交鼠	母系	父系
BCF1	C57BL/6	BALB/c
B6D2F1	C57BL/6	DBA/2
NZBWF1	NZB	NZW

4. 應用建立同源近親品系的方式育成特定基因轉殖動物模式

- (1) 自從第一隻基因轉殖小鼠在 80 年代初被成功地做出，應用基因工程於哺乳動物的技術，如基因轉殖和基因剔除已快速地被應用於各式生物醫學研究。
- (2) 這類動物在闡釋複雜的生命現象與對疾病機制的研究上，是非常有用的工具。而應用基因工程動物作為新的模式動物也正快速的發展中，然而順利育成的基因工程動物僅為特定動物模式的候選者，需再經由研究人員不斷地試驗和實驗動物學者合作，才易發展為模式動物。
- (3) 基因轉殖或剔除而產生與原來近親品系相近而含特別基因的動物，其遺傳特性與原來的近親品系相似，為了保留新動物的特別基因，必需將新動物與原品系再交配，其配種方法為將其子代經基因篩選符合實驗結果之小鼠，連續與原品系交配，即反交 10-12 代後，待該基因穩定了則可當成一新的品系以兄妹交配繼續繁殖，這樣育成的新品系因與原近親品系遺傳背景類即同源近親品系。

三、實驗動物配種生產方法：依物種、族群與品系等特性、生產管理以及研究目的而定。

(一) 實驗動物配種生產方法除依要求之動物遺傳型式外，應選擇適當的配種系統。實際的配種系統選擇常常衡量物種的特性、成本、飼育空間、需求量等因素，配種系統可分為永久配種及暫時配種兩類，茲敘述如下：

1. 永久配種(permanently mated groups)：雌、雄動物在性成熟後配種，此後至淘汰皆飼育在一起，雌性動物在分娩、哺育時也不將雄性動物分開，永久配種又分為兩類：

(1) 一公一母(monogamy)：一對雌雄個體的配對終生。此種配對常應用於具產後發情(Postpartum estrus)或雄鼠參與照顧新生仔的物種。常用此法的動物如小鼠、大鼠、沙鼠及天竺鼠。此外，近親品系核心種源族群應用此配種制，以利各式必要記錄的登錄。

(2) 一公多母(polygamy)與多公多母：一隻或一隻以上的雄性個體與多隻雌性個體配種。此系統也可允許產後發情配種而有生產大量子代的優點。缺點是無法作精確的生產記錄。應用此系統時，必須使用空間夠大的飼育籠。

2. 暫時配種(temporarily mated group)：雌、雄動物僅配種時才置於同一籠，配種的時間依不同動物可由數分鐘到數天，一旦確知雌性動物已接受交配或確認已懷孕則將之移至待產之飼育籠。

(1) 一公多母(polygamy; Harem system)：一雄性動物與兩隻以上的雌性動物關一起的配種系統，是以最少種用動物而生產最大量子代的配種系統。雌性動物確認懷孕後，移至另一籠待產。此系統適用於小鼠、大鼠與倉鼠。

(2) 人工配種(hand-mating systems)：雌、雄動物分開飼養，僅配種時才置一飼育籠，配種時間很短。此系統可減少配種動物的飼養量並提供準確的

記錄，惟人力需求高，此系統適用於兔子、靈長類及犬等。

- (二)選種與淘汰：選種在繁殖效率上扮演重要的角色，留種動物必須是健康、年輕、並不具侵略性(aggressive)，雌性動物更應具良好的母性。生產獲得之子代應檢查體型及外觀(conformation)，為利於飼養管理及疾病預防，汰換種用動物時，應盡量以飼育室為單位換種。若第一胎產仔太小或太弱，則雌鼠應提早淘汰。此外，當有疾病徵兆者或子代有不良遺傳徵兆出現，應立即汰種，並送疾病診斷或遺傳分析單位檢查。
- (三)經驗之累積：每一物種都有其繁殖生理特性，除了教科書裡所列舉的生物生理特性外，另有許多的特性需於飼養過程長時間觀察得來，如倉鼠在泌乳期因營養不足須補充青料或減仔，又如有些近親品系小鼠特別喜歡群居生活，逢機配種小鼠產後發情期配種率高，近親品系小鼠因飼料營養不足導致3週大體重仍常不足，這些特性將會影響繁殖的離乳率、配種率及初生鼠的死亡率。所以在制定配種制度時應列入特別的對策如減仔、提早或延後離奶等。
- (四)繁殖記錄：詳實的記錄是動物配種的要素，以下為繁殖族群應具備的資料：
- 1.動物的物種、族群、品系或品種(breed)。
 - 2.祖先的出處。
 - 3.編號。
 - 4.性別。
 - 5.生日及配種日。
 - 6.幼鼠初生日及產仔數。
 - 7.幼鼠死亡數目或淘汰數量。
 - 8.離乳日及離乳數。
 - 9.離乳動物之性別。
 - 10.獸醫相關資料。
- (五)特別的照顧：供育種與繁殖的動物常需特別照顧，如小鼠、大鼠及倉鼠在哺育時，需供應洽當的巢料，並避免使用底網式之飼育籠，以免幼鼠陷入底網之縫隙；土撥鼠、兔、貓及犬可給一生產箱，供其哺育新生動物。新生動物由出生到離乳都應小心觀察及看護，妊娠中的動物除供給足夠的食物及水以便哺育健康的下一代外，適當尺寸的動物籠及控制環境的溫、濕度並讓幼鼠遠離直吹的縫隙風(draft)，也需特別留意。總之對育種動物提供良好的飼育環境，並施行持續的健康監測是生產高品質實驗動物的保證。

參考文獻

1. 洪昭竹等(1993) 國家實驗動物繁殖及研究中心管理及使用手冊.
2. 翟振剛(1995) 實驗小鼠遺傳，行政院國家科學委員會國家實驗動物繁殖及研究中心編印.I&II:1-19.(民國八十四年)
3. Festing , Michael F.W.(1979). Inbred Strains in Biomedical Research, Oxford University Press, Inc. 3:28-35.
4. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (1996). National Research Council, National Academy Press, USA.
5. Hafez, E.S.E.(1970) Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory

Animals, Lea & Febiger, Philadelphia.

6. Harkness JE & Wagner JE. (1995). The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents. 4th Edn. Williams & Wilkins. Baltimore.
7. Poole, Trevor B.(1999). The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals, 7th Edn . Blackwell Science Ltd, Part I (5):28-44.

表20-2 一般實驗動物配種方法

種 別	永久配種		暫時配種	
	一公一母*	一公多母	一公多母	人工配種
齧齒目與兔形目				
小鼠	+	+	—	—
大鼠	+	—	+	—
中國倉鼠	+	—	—	+
敘利亞倉鼠	+	—	—	+
沙鼠	+	—	—	—
天竺鼠	—	+	+	—
土撥鼠	—	—	+	—
兔	—	—	—	+
肉食動物				
貓	—	—	+	+
狗	—	—	—	+
貂	—	—	+	—
靈長類				
狨猴(Marmoset)	+	—	—	—
恆河猴(Rhesus monkey)	—	+	—	+
狒狒(Baboon)	—	+	—	+
鳥類				
雞	—	+	—	—
鵪鶉(Quail)	—	+	—	—

* 此系統為許多近親品系採用