

受精卵移植技術 実践マニュアル Q&A 集



はじめに

受精卵移植には、過剰排卵処置—人工授精—採卵や、体外受精などの技術を使い、時間と経費をかけて、遺伝的改良や増殖を目的とした「受精卵」を使います。

この受精卵は、受精卵移植師や獣医師により受卵牛に移植されますが、この時に的確な操作が行われなければ、貴重な改良素材を失うだけでなく、準備した受卵牛が不受胎となることで生産農家が損失を被ることになります。

そこで、本編となる「受精卵移植技術実践マニュアル」では、受精卵移植を行なう上での原則的な注意点、基本的な技術に視点をおいて編集し、受精卵の取り扱いから移植までの一連の流れをできるだけ簡略に、かつ要点のみを記載しました。

本書 Q & A 集は、本編である「受精卵移植技術実践マニュアル」の副読本として作成したものです。本編には記載しきれなかった細かな事項や、研修会などで実際に移植に携わる技術者から寄せられた質問や疑問点などを「受精卵移植技術実践マニュアル」の項目別に整理して解説したものです。

受精卵移植に携わる方々に、少しでもお役に立てれば幸いです。

■ 執筆者（敬称略）

岩田尚孝（東京農業大学農学部畜産学科）

牛島 仁（千葉県畜産総合研究センター市原乳牛研究所）

後藤太一（イーハトーブ・ブリーディングサービス）

砂川政広（砂川リプロ・E T・サポート）

平田統一（国立大学法人岩手大学農学部附属寒冷フィールドサイエンス教育研究センター御明神牧場）

鬼頭武資（社団法人家畜改良事業団前橋種雄牛センター）

古舘 誠（社団法人家畜改良事業団十勝種雄牛センター北海道事業所）

INDEX

- Q. 1 滅菌と消毒について…………… 4
Q. 2 手指消毒などに使用するアルコールは 70%とされていますが、なぜですか？ … 5

■ I. 受卵牛の選定 6

(1) 発情確認

- Q. 3 正常な外部発情徴候とは？…………… 6
Q. 4 外部発情徴候の発現時間と持続時間について…………… 6
Q. 5 発情をどのような方法で確認したら良いですか？…………… 7
Q. 6 排尿について（機序？必ず排尿があるの？発情後の排尿の傾向は？）…………… 7
Q. 7 受胎性の高い牛を発情で選別できないでしょうか？…………… 8
Q. 8 発情粘液が濁る場合と濁らない場合がありますが？…………… 8
Q. 9 繁殖観察記録表（台帳）作成について…………… 8
Q.10 周期的発情とは？…………… 8

(2) 黄体期の生殖器の性状

- Q.11 移植対象から除外すべき黄体のサイズ、形状は？…………… 9
Q.12 囊腫様黄体とは？…………… 9
Q.13 囊腫様黄体の識別方法は？…………… 9
Q.14 共存卵胞があっても移植は可能ですか？…………… 10
Q.15 子宮収縮のある場合、移植は可能ですか？…………… 10
Q.16 受胎率向上のためのホルモン処置は有効ですか？…………… 10

(3) 発情同期化・ホルモン処置

- Q.17 発情同期化処置の代表例を教えてください。…………… 11
Q.18 腔内留置型黄体ホルモン製剤挿入後に見られる粘液の白濁は、
受胎性に悪影響をおよぼしませんか？…………… 11
Q.19 無発情牛や繁殖障害牛への受精卵移植利用は可能ですか？…………… 11

■ II. 移植器具器材の準備 12

- Q.20 受精卵移植に用いる器具器材の取り扱い上の注意点を教えてください。…………… 12
- Q.21 ビニルカバーとキャップ付きシース管カバーはどちらが良いですか？…………… 12
- Q.22 移植器の種類を教えてください。…………… 13

■ III. 受卵牛の準備 15

- Q.23 移植適期について教えてください。…………… 15
- Q.24 移植時に受卵牛は保定しなければいけませんか？…………… 15
- Q.25 外陰部の洗浄と消毒は、どの程度実施すべきものでしょうか？…………… 16
- Q.26 受卵牛を準備している場所ではいけない具体例はありますか？…………… 16
- Q.27 外陰部の洗浄と消毒を終えた後に陰唇に糞が付着した場合の対処方法は？…………… 16

■ IV. 凍結受精卵の保管・融解 17

- Q.28 凍結受精卵の保管や取り扱い方法の注意点を教えてください。…………… 17
- Q.29 凍結受精卵の融解方法の注意点について教えてください。…………… 18
- Q.30 外気温の違いによって融解方法を変えるべきでしょうか？…………… 19
- Q.31 融解操作について衛生面での注意点を教えてください。…………… 19
- Q.32 ストロウの綿栓部分をつかむ理由は？ …………… 20
- Q.33 ストロウは移植器にセットするのですか、それともシース管にセットするのですか？ …… 20
- Q.34 ストロウをセットした移植器の温度管理はどのようにしたらよいのですか？…………… 20
- Q.35 移植の準備から融解、移植までの一連の手順を教えてください。…………… 21

■ V. 受精卵の移植 22

- Q.36 移植する受精卵の個数は、受胎率に影響しますか？…………… 22
- Q.37 受卵牛の大きさによって、生まれる子牛の大きさは違いますか？…………… 22
- Q.38 体外受精卵を移植した場合、子牛の生時体重は大きくなりますか？…………… 22
- Q.39 受卵牛の産歴は受胎性に影響しますか？…………… 22
- Q.40 移植の難易度と受胎率は関係あるのですか？…………… 23
- Q.41 移植部位は黄体側の子宮角に限らなくてもよいのですか？…………… 23
- Q.42 両側排卵の場合は、どちらに移植すればよいのですか？…………… 23
- Q.43 受精卵のランクや発育ステージは、受胎に影響しますか？…………… 23
- Q.44 子宮深部とはどのような場所を指すのですか？…………… 24
- Q.45 受精卵を押し出す速さは受胎に関係するのですか？…………… 24
- Q.46 子宮頸管もしくは子宮角で出血した可能性があるとするれば、どう対処するのですか？ …… 24

Q.1 滅菌と消毒について

A 目的とする清潔レベルに応じて、滅菌と消毒とを使い分けることが大切です。

滅菌とは、すべての微生物およびウイルスを殺滅または除去することです。滅菌方法には、火炎滅菌、高圧蒸気滅菌（オートクレーブ）、乾熱滅菌、エチレンオキシドガス滅菌（EO 滅菌）、 γ 線滅菌および濾過滅菌などがあります。

消毒とは、対象とする微生物の数を害のない程度にまで殺滅もしくは除去して減らすために用いる処置法であり、煮沸消毒や消毒薬による方法がありますが、必ずしも微生物をすべて殺滅する方法ではありません。

滅菌の代表的な方法として、高圧蒸気滅菌とEO 滅菌があります。

高圧蒸気滅菌は器機が整備されていれば効率も良く毒性もありませんが、滅菌の対象となる器具等が熱に耐えられることが条件となります。

EO 滅菌は、熱に耐えられずに高圧蒸気滅菌ができない器具が対象となります。しかし、エチレンオキシドガスは残留毒性の強いガスですので、残留ガスが安全な値まで低下するまで2週間は滅菌した器具が使用できません。

いずれの場合も、滅菌済みか未滅菌かの確認を包装紙に印刷されているインジケータにより行う必要がありますし、包装に破損がないか、有効期限が切れていないかの確認も必要です。

消毒方法には、加熱消毒と消毒薬による方法があります。

加熱消毒の代表は、煮沸消毒です。これは、沸騰した水の中に対象となる器具等を沈めて15分間以上煮沸する方法です。

アルコール消毒は、消毒薬による方法の代表です。アルコール等の消毒薬で、微生物の菌体を構成するタンパク質の変性や酵素阻害などを起こさせて微生物を不活化させます。

ガーゼや脱脂綿等に消毒薬を染み込ませて表面を拭き取る方法と、スプレー等により消毒薬を噴霧する方法がありますが、十分量の消毒薬を用いないとすぐに乾燥してしまい、消毒不良となる場合もあります。したがって、十分量の消毒薬を染み込ませたガーゼや脱脂綿等を固く絞って使用します。しかし、すべての微生物に万能な消毒薬はありません。消毒薬や消毒法を過信しないことが大切です。

受精卵移植で一般的に使われる滅菌および消毒方法とその対象を、下記表に記しました。

	方 法	対 象	注 意 点
滅菌	高圧蒸気滅菌（オートクレーブ）	金属製の移植器や拡張棒	滅菌後、器具を乾燥させて保管
	EO 滅菌	プラスチック製のシース管、シース管カバー	滅菌後2週間以上経過してから使用する
消毒	70%アルコール	ストロー、ストローカッター、技術者の手指、受卵牛の陰唇粘膜	継続使用によりアルコールが蒸発し、効果が低下することがあり注意を要する
	逆性石鹼液	受卵牛の外陰部、腔鏡	使用時ごとに調整する

Q.2 手指消毒などに使用するアルコールは 70%とされていますが、なぜですか？

A 消毒とは、一種の化学反応です。スムーズに化学反応を起こさせるためには、水分の存在が重要な役割を果たします。

水とアルコールの分子組成が 1 : 1 となるように混ぜたアルコール液を、消毒したい部位に塗布すると、アルコール液が広がって疎水面をつくり、細胞をガードしている細胞膜を破壊して、細胞内のタンパク質を溶け出させることで消毒効果があると解釈されています。

そのときのアルコール液、すなわち水とアルコールの分子組成が 1 : 1 となるのが 70%のアルコールです。

疎水とは、水に溶解しにくい（あるいは水と混ざりにくい）性質のことを言います。

分子組成の 1 : 1 が 70%に相当するわけですから、70%以下や 80%を超えると消毒効果は徐々に弱まってしまいます。無水エタノール（99.5%）では、大腸菌に対する殺菌作用は確認できなかったという報告もあるように、濃ければ著しい消毒効果があるわけではありません。

アルコールは細胞膜内に容易に入り込むことができる性質があるので、瞬時に細菌を殺すことができますが、耐性のある菌も存在するので万能ではありません。また、すぐに蒸発するので、持続性はありません。

I. 受卵牛の選定

(1) 発情確認

Q.3 正常な外部発情徴候とは？

A 発情は、内分泌に支配される子宮や卵巣の状態で観察できる内部発情徴候と、外部発情徴候と呼ばれる発情行動や陰部の状態の確認に大別されます。

外部発情徴候には、乗駕許容、いわゆるスタンディング発情を観察することが一番適切です。スタンディング発情とは、他の牛に乗駕されても静かにしている状態をいいます。

それに伴う2次兆候としては、発情粘液の漏出や陰唇粘膜の腫脹や発赤、他の牛に乗駕しようとする行動（マウンティング）などがあります。



乗駕許容（スタンディング発情・左）

Q.4 外部発情徴候の発現時間と持続時間について

A 発情発現の時刻は、夜間に多いといわれています。発情の持続時間は、10～24時間と個体によりかなりの差があります。

実際の現場では、夜中あるいは常時観察することは難しいので、毎朝牛が起きる前に陰部を観察して発情粘液を発見することが良いとされています。

Q.5 発情をどのような方法で確認したら良いですか？

A スタンディングを確認する方法が一番確実です (Q.3)。

スタンディングを確認する方法として、

- 尾根部にチョークを塗布しておき、乗駕されて塗布したチョークが剥がれ落ちる
 - 乗駕されると化学反応で赤色に染まるマーカを尾根部に貼り付ける
- などの方法がありますが、これらは牛が自由に行動できる飼育環境にないと効果がありません。

繫留して飼育されている場合には乗駕行動ができないので、

- 外部徴候（咆哮や隣接牛へのマウンティング行動等）
- 発情粘液の漏出
- 外陰部の徴候

により発情を発見します。

発情徴候が明瞭でない個体は、直腸検査により卵巣を触診して発育した卵胞の存在を確認すると共に、子宮の収縮性の有無を確認することが必要です。

最近、歩数の増加により発情の開始を知ることができる装置が販売されています。設備投資が必要となりますが、牛が自由に移動できる放し飼いのみならず、繫留状態でも利用可能といわれています。



発情粘液の漏出

Q.6 排尿について（機序？必ず排尿があるの？発情後の排尿の傾向は？）

A 発情時に子宮に強い収縮が生じ、子宮粘膜の毛細血管が破れることによって血液が排出される現象を、俗に「排尿」と呼んでおり、ほとんどの牛の子宮内で観察されるといわれています。

しかし、必ず排尿が観察されるとは限りません。とくに経産牛では外部に血液が出にくいために観察されにくく、未経産牛では観察されやすい傾向にあります。

排尿が観察されるのは、排卵後1日が多く、長くても2日後までで、一般に鮮血が観察されます。それ以降では、鮮血ではなく暗褐色となります。ただし、まれではありますが、発情中に排尿が観察される牛もいます。

排尿がみられたから排卵したということではなく、あくまでも子宮内の毛細血管の破綻の結果であるということを理解してください。

排尿の確認だけでは、発情日および排卵日を特定することはできません。

排尿の確認だけで受卵牛を選定することは勧められません。



排尿

Q.7 受胎性の高い牛を発情で選別できないでしょうか？

A

発情を見て移植後の受胎性を正しく推定することはできませんが、明瞭な発情を示し、排卵が確認できた牛を受卵牛に選定することにより、高い受胎性を期待できます。

Q.8 発情粘液が濁る場合と濁らない場合がありますが？

A

発情粘液が濁っている場合、とくに粘液全体が均一な軽度の不透明感を示す場合には疾病を疑う必要はありません。発情の始まる前兆時、あるいは発情の終了時などに見られます。

子宮内膜炎や子宮蓄膿症などを起こしている場合の粘液は、全体がクリーム状の粘液であったり、濃い白点が透明な発情粘液中に混在しています。そのような場合、粘液をスライドグラスに載せて染色し顕微鏡で観察すると、白血球（好中球）や細菌などが観察できます。このような場合には、移植（あるいは人工授精）を行っても受胎を得ることは困難ですので、移植は中止しましょう。

処置としては、獣医師による治療を受ける必要があります。



白濁粘液

Q.9 繁殖観察記録表（台帳）作成について

A

受精卵移植に限らず、繁殖管理のためには絶対に必要です。

移植の可否や、分娩後の子宮の回復等を判断する上でも必要となる記録です。経営上からも、空胎期間を短縮するために農家に記録表を作成してもらいましょう。

Q.10 周期的発情とは？

A

牛の正常発情周期に沿って、概ね 18 日から 25 日の周期で発情が回帰することです。

(2) 黄体期の生殖器の性状

Q.11 移植対象から除外すべき黄体のサイズ、形状は？

A 黄体のサイズ（大きさ）や形状のみで、移植ができるか否かを判断はすべきではありません。

発情を確認したならば、黄体のサイズや形状と共に子宮の収縮等を確認する必要があります。移植時期の生殖器は黄体ホルモンの支配下であり、発情ホルモンが抑制されている状態です。移植可能な黄体期には、子宮の収縮や腫大がなく、陰唇の腫脹もなく、水様性の粘液も観察されない状態となっています。

黄体の大きさについては、絶対的な基準はありません。未経産牛では 10mm 以上、経産牛では 15mm 以上を移植可能な黄体の大きさの目安と考えます。

Q.12 囊腫様黄体とは？

A 囊腫様黄体は通称 CCL (Cystic Corpus Luteum) といわれ、内部に液体を貯留した状態の黄体を指しますが、黄体の正常な状態の一つといわれています。

超音波診断装置でいろいろな黄体を観察してみると、三分の一が CCL、三分の一は黄体内に少量の液を含んでおり、残り三分の一は黄体内部に液体がない黄体であるといわれています。

いずれの黄体も、血中黄体ホルモン値に差は認められませんので、移植を行う対象となります。

Q.13 囊腫様黄体の識別方法は？

A 囊腫様黄体（CCL）の簡単な識別方法は、黄体内の液を軽く圧をかけることにより液が漏出すると、数時間後には元の黄体の大きさに復元することで確認されます。

熟達した技術者は、液の漏出後に黄体組織が残るために、卵胞が排卵した場合とは異なることで CCL と確認することができます。数時間後に元の大きさに復元するのは、液の漏出後に血液が充満するためです。

Q.14 共存卵胞があっても移植は可能ですか？

A 直腸検査で黄体を確認する際、卵胞の存在を認めることがあります。
超音波診断装置でいろいろな牛の卵巣を観察すると、卵巣には大小の違いはあっても常に卵胞が存在していることがわかります。

大きな卵胞が黄体と共存していても、Q.11 で説明したとおり、子宮が発情ホルモンの影響を受けていない状態、すなわち子宮が収縮していない状態であれば、移植には差し支えありません。共存卵胞があっても、それを強制的に潰すことは勧められませんし、その必要もありません。かえって不要な出血を招き、卵巣癒着等の障害をひき起こしかねません。

Q.15 子宮収縮のある場合、移植は可能ですか？

A 明瞭な子宮の収縮が感じられた場合、移植は中止すべきです。

「収縮程度の許容範囲はどこまでか？」「どの程度の収縮であれば移植が可能か？」という質問に答えるのはとても難しいことですが、発情時と類似した収縮が認められた場合には移植を中止しましょう。

また、水様の粘液が認められる、あるいは陰唇の腫脹が認められる、などの状況の有無を含めて、総合的に判断することが望まれます。

判断に迷った場合には、移植を中止することが賢明ではないでしょうか。

Q.16 受胎率向上のためのホルモン処置は有効ですか？

A 移植前後にホルモンを投与することにより受胎率が向上するかは意見が分かれ、明確な結論が得られていません。

一般に、黄体期の血中黄体ホルモン濃度は2～6 ng/ml と個体ごとで濃度の違い（数値の幅）が大きいので、ホルモンを投与して効果を検証することも難しいといえます。

(3) 発情同期化・ホルモン処置

Q.17 発情同期化処置の代表例を教えてください。

A

発情同期化処置の要点は、予定した日に発情を発現させることにあります。

一般的に受卵牛が黄体期である場合、プロスタグランジン (PGF_{2α}) を注射することで、概ね3日後に発情が来ます。ただし、この方法は受卵牛が発情後5日から15日の牛であり、かつ卵巣に黄体が存在するということが条件です。それ以外の状態の牛にPGF_{2α}を投与しても、効果が期待できません。

最近では、腔内留置型黄体ホルモン製剤が利用される例も多くみられます。この場合、発情周期と無関係に製剤を腔内に挿入し、2週間後に抜去すると90%程度の牛に、2～3日以内に発情が来ます。

これらの方法を組み合わせたり、排卵誘発剤を加えた方法などさまざまな方法が考えられていますが、どの方法が優れているか劣っているかということは一概に言えません。

それぞれの目的と日程を勘案して処置法を決めるもので、処置を担当する獣医師と経費を含めて相談することが必要です。

Q.18 腔内留置型黄体ホルモン製剤挿入後に見られる粘液の白濁は、受胎性に悪影響をおよぼしませんか？

A

発情同期化処置の目的で腔内留置型黄体ホルモン製剤を挿入した後、腔から白濁粘液が排出される場合があります。

白濁粘液は、挿入された腔内留置型黄体ホルモン製剤を腔粘膜が異物と判断するため、腔粘膜からの分泌液の漏出が盛んとなり、そこに体表などの常在菌が介在して白濁するものと考えられています。

しかし、腔粘液が白濁した程度では、その後の人工授精や受精卵移植の受胎率にほとんど影響をおよぼさないといわれています。

腔粘液の白濁は、挿入時にアプリケーションを逆性石鹼液を使い消毒することと（腔内留置型黄体ホルモン製剤に含まれるプロゲステロンは、有機溶媒に溶出してしまうため、逆性石鹼液の利用をお勧めします）、衛生的な作業をおこなうことで防止できます。

Q.19 無発情牛や繁殖障害牛への受精卵移植利用は可能ですか？

A

そのような雌牛でも、適切な治療を受けて発情が回帰し、直腸検査により子宮や黄体機能が正常と判断できる場合には移植可能です。

II. 移植器具器材の準備

Q.20 受精卵移植に用いる器具器材の取り扱い上の注意点を教えてください。

A 人工授精と受精卵移植では、使用する一部の器具器材の衛生管理が異なります。発情期の子宮は、収縮運動や頸管粘液の分泌が活発で、細菌感染を防除・排除するように働きます。これに対し、黄体期の子宮は細菌増殖に適した状態になるので、移植器を介して子宮に侵入した細菌が排除され難く、感染がおきやすいといえます。

従って、受精卵移植で高い受胎性を得るためには、使用する器具器材の取り扱いに一層の注意を払う必要があります。

器具器材の取り扱い上の注意点について、以下に列記します。

- 購入時のシース管は滅菌されていますが、開封した時点で滅菌の効果は低下します。そこで、シース管 1 本毎にシース管カバーを取り付け、エチレンオキサイドガスによる滅菌（EO 滅菌）を行います。
- 個々に滅菌された移植器やシース管を販売しているメーカーもあります（Q.22 参照）。
- ガス滅菌された器具は、毒性が完全に無くなるまで約 2 週間使用できません。
- ガスが残存する器具器材や未滅菌の器具器材を使用することがないように、定期的にチェックしましょう。

Q.21 ビニルカバーとキャップ付きシース管カバーはどちらが良いですか？

A シース管カバーは、膣前庭部の細菌を子宮内に持ち込まないようにするためシース管に取り付ける器材です。

シース管カバーには、ビニルカバーとキャップ付きカバーの 2 種類が市販されています。

ビニルカバーは安価で利用性も高いのですが、膣壁に張り付いて破れることがあります。移植器を挿入する際に外陰唇を指で開いて挿入することにより、このトラブルを回避することができます。

キャップ付きカバーはビニルカバーに比較すると高価ですが、移植時の汚染防止に効果があり、作業がより衛生的になります。

国内で入手できるカバーの種類を下の表に示しましたので、それぞれの特徴に留意して選択、使用してください。

種類	名称	メーカー	型番	問合せ先
ビニルカバー	サヤカバー	株式会社野澤組	Z A 4 6 0	株式会社野澤組
	牛受精卵移植器用カバーチューブ	ミサワ医科工業株式会社		ミサワ医科工業株式会社
キャップ付きカバー	キャップ付きシース管カバー	富士平工業株式会社	N F A 4 9 3	富士平工業株式会社

Q.22 移植器の種類を教えてください。

A 国内で市販されているステンレス製の移植器を下の表にまとめました。

名 称	メーカー	型 番	特 徴	問合先
受精卵注入器 (未経産牛用)	富士平工業株式会社	NFA483	一般的に使われている移植器。	富士平工業株式会社
未経産牛用 受精卵移植器	IMV社 (カスー式)	ZA035	一般的に使われている移植器。	株式会社野澤組 株式会社十勝畜産貿易
普及型受精卵移植器 (経産牛用)	IMV社 (カスー式)	ZA030	一般的に使われている移植器。ZA035よりしなりにくい。	株式会社野澤組 株式会社十勝畜産貿易
牛用受精卵移植器	ミサワ医科工業株式会社	モ1号 モ1号ショートタイプ	使い捨て移植器。外径3.6mm。頸管粘液目詰まり防止の2重構造型。移植器が一体型になっているので、ストローを移植器先端に移送する際、内芯を用いる。ショートタイプは未経産牛用で全長46cmの移植器。	ミサワ医科工業株式会社
牛用受精卵移植器	ミサワ医科工業株式会社	モ2号 モ2号ショートタイプ	シース管不要のノースガンタイプの移植器。外径3.6mmと他社に比べて細く、反復滅菌利用が可能。ショートタイプは未経産牛用で全長46cmの移植器。	ミサワ医科工業株式会社
牛用受精卵移植器	ミサワ医科工業株式会社	モ3号	反復滅菌利用が可能な移植器。外径3.6mm。先端中編部が肉厚で、拡張棒の感覚で移植が可能。	ミサワ医科工業株式会社

各社の連絡先等

富士平工業株式会社	☎ 03-3812-2271	http://www.fujihira.co.jp/
株式会社野澤組	☎ 03-3216-3469	http://www.nosawa.co.jp/
株式会社十勝畜産貿易	☎ 0155-64-4062	http://www6.ocn.ne.jp/~tcb/
ミサワ医科工業株式会社	☎ 03-3617-7210	http://www.misawa-medical.co.jp/

国内で市販されているシース管を下の表にまとめました。

名 称	メーカー	型 番	特 徴	問合先
受精卵注入器 (未経産牛用)	富士平工業 株式会社	N F A 4 9 0	一般的に使われている シース管、外径 3.7mm。 頸管粘液目詰まり防止 の 2 重構造型。	富士平工業株式会社
カス一式未経産牛用 受精卵移植器 (サヤ) (Z A 0 3 5 用)	I M V 社 (カス一式)	Z A 1 3 2	一般的に使われている シース管 (青色) 外径 3.7mm。	株式会社野澤組 株式会社十勝畜産貿易
カス一式未経産牛 用受精卵移植器 (サヤ+サヤカバー)	I M V 社 (カス一式)	Z T 1 3 4	シース管 (青色) にサ ヤカバーが付き、個別 包装。滅菌済み	株式会社野澤組
カス一式普及型受精 卵移植器 (サヤ) (Z A 0 3 0 用)	I M V 社 (カス一式)	Z A 1 3 1	一般的に使われている シース管 (白色) 外径 4.1mm。	株式会社野澤組 株式会社十勝畜産貿易

注：本書に掲載した移植器等の販売元の電話番号やホームページアドレス等は、平成 21 年 3 月末現在の連絡先です。

また、掲載した各種製品は、平成 21 年 3 月末現在に市販されているものです。

Ⅲ. 受卵牛の準備

Q.23 移植適期について教えてください。

A

発情日を0日目として、7日±1日が移植適期です。

例えば、金曜日に発情を観察した場合、移植は翌週の木曜日、金曜日、および土曜日となります。移植は木曜日でも可能ですが、金曜日、土曜日に行う方が、より望ましいです。

Q.24 移植時に受卵牛は保定しなければいけませんか？

A

移植操作時に受卵牛が動いてしまい、移植器で子宮内膜を傷つけてしまうことがあります。

移植を終えた後で、『牛が動かなかっただら完璧だったのに』などと振り返ることのないよう、確実な操作で移植をするために受卵牛は保定しましょう。

枠場があれば、枠場を利用することをお勧めしますが、どの農家にも枠場があるわけではありません。そこで、技術者は連動スタンション、タイストール、フリーストールなどでの移植を想定し、それぞれの状況に応じて保定する方法を考え、対処方法を身につけてください。

また、受卵牛だけに意識を向けるのではなく、受卵牛に隣接する無拘束の牛にも注意を払う必要があります。

受卵牛ばかりに集中していると、隣の牛がチョツカイを出すこともあります。尾振りなどで、せっかく清拭した部分や、移植器を汚されたりすることがありますから、隣接牛の拘束にも十分な注意を払う必要があります。

▼保定方法



①連動スタンションを利用した保定



②保定枠を使用した保定



③仕切り扉を利用した保定



④荷造りバンドによる保定



⑤前肢を高くして保定

Q.25 外陰部の洗浄と消毒は、どの程度実施すべきものでしょうか？

A 通常、移植前に除糞を兼ねた直腸検査を行います。これにより汚れた陰部とその周辺を洗浄・消毒します。

洗浄は、「糞の痕跡を残さない」こと。

流水が使える場合は糞を洗い流し、水が垂れないように、洗浄部位をしっかりと拭き取ることがポイントです。

流水が使えない場合には逆性石鹼液に浸したペーパータオルを使って、タオルに糞が付着しなくなるまで繰り返し拭き取ることも一つの方法です。

洗浄を終えた後、固く絞ったアルコール綿を使って「陰部周囲の消毒」をします。続いて、陰唇粘膜を「内から外へ」拭き、消毒をします。



外陰部の清拭



陰唇粘膜の消毒

Q.26 受卵牛を準備している場所ではいけない具体例はありますか？

A 受卵牛を準備している場所や移植を行う場所の付近で、粉塵が発生するような給餌作業が行なわれていたり、作業車が往来するような場合には、畜主に作業をいったん止めてもらうようにしてください。

Q.27 外陰部の洗浄と消毒を終えた後に陰唇に糞が付着した場合の対処方法は？

A 陰部の洗浄と消毒を行なっている途中、あるいは終了した後に糞や尿が排泄され、陰部周辺が汚れた場合には、改めて再び洗浄からやり直します (Q.25)。

IV. 凍結受精卵の保管・融解

Q.28 凍結受精卵の保管や取り扱い方法の注意点を教えてください。

A 以下の3点に注意して保管してください。

(1) 受精卵の収納と記録・表示

目的の受精卵をスムーズに融解するためには、どのキャニスター（液体窒素ボンベの縁に吊される缶の入れ物）のどのケーン（キャニスターに収納する受精卵を小分けするために用いる入れ物）に何の受精卵を収納しているのかが一目で分かる仕分け方法を工夫する必要があります。

また、凍結受精卵の受入や使用歴は台帳へ正確に記録し、保管している液体窒素ボンベにも表示すると良いでしょう。

(2) ストローの保管方法

ストローは、常に液体窒素に浸かった状態で保管することが鉄則です。凍結受精卵の扱いは、凍結精液とは違うと考えてください。

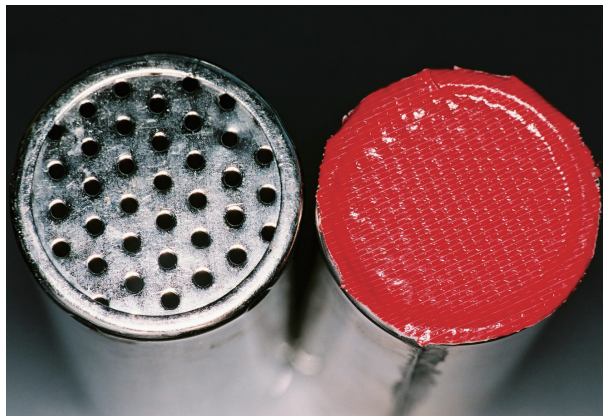
ストローを液体窒素から出して少しでも温度変化を与えると、 -196°C で安定していた氷晶が不安定となり、目に見えないヒビが入る（フラクチャー・プレーン）可能性が高くなります。ストローには、1個の受精卵しか入っていません。受精卵は、精子と比べると大きく、運悪くヒビが受精卵の付近に生じてしまうと、透明帯や受精卵そのものが破壊されてしまいます。

(3) ストローは液体窒素中で操作する

ストローの印字を確認したり、保管している液体窒素ボンベから別のボンベへストローを移動するなどの操作を行うときには、同じキャニスターに入れた他のストローが空気に曝されないように注意しなければなりません。

発泡スチロール容器などに液体窒素を満たし、その中にキャニスターごと移動して作業するなど、周到に準備してから実施します。

融解のためにストローを取り出すなど短時間の引き上げ操作では、キャニスターの底をガムテープなどで塞いでおくだけでも、ストローが液体窒素の中に浸った状態を維持できます。



キャニスターの底を塞ぐ工夫

Q.29 凍結受精卵の融解方法の注意点について教えてください。

A

以下の3点に注意して実施してください。

(1) 融解方法は発売元の指示書に従う

凍結受精卵は、凍結方法の違い（耐凍剤の種類や濃度、ストローへの充填方法など）により、融解方法が異なります。融解方法は発売元が指定する方法に従ってください。

適切な方法で融解しなければ、受精卵の生存性が損なわれます。凍結受精卵を購入する際、購入先から必ず融解方法の指示書（マニュアル）を入手してください。

(2) 必ずタイマーと温度計を使う

指示書（マニュアル）に従った融解をするために、タイマーと温度計は必ず使ってください。自分の感覚だけで時間や温度を判断すると正確性を欠くため、受精卵の生存性が損なわれる原因になります。

一般に、液体窒素中から取り出したストローを直接温湯に入れると、ストロー内の温度が急激に上昇して受精卵周囲に氷晶が走る可能性が高くなり、時には受精卵そのものが破壊されます（Q.28）。

その危険を回避するため、ストローを温湯に入れる前にいったん空気中に曝します。ただし、必要以上長い時間空気中に保持すると、受精卵を危険温度域（ $-80 \sim -40^{\circ}\text{C}$ ）に曝すことになります。

逆に空気に曝す時間が短くても、操作の意味をなしません。指示書に示された時間を正確に計りながら操作をする必要があります。

次に、受精卵の危険温度域を短時間で通過させるために、指示書に定められた温度の温湯中に定められた時間入れて、ストローをゆっくり動かしながら融解を終了します。



タイマー、温度計、ピンセット、ストローカッター

(3) 環境や衛生管理に気をつける

風が当たる場所で融解作業を行うことは、温度管理上、また衛生的な取り扱いの観点から避けなければいけません。とくに、肌を感じる程度の風ですらストロー内の温度は急激に上昇します。また、風は周囲のゴミやチリを巻き上げ、ストローや移植器を汚す原因になります。



融解場所の例

Q.30 外気温の違いによって融解方法を変えるべきでしょうか？

A

融解方法を変える必要はありません。

融解手順や融解温度を正しく守れば、生活温度の範囲では受精卵の生存性に影響をおよぼさないことが分かっています。むしろ、外気温の違いが影響するのは、融解後の受精卵に対してです。

外気温が高い、あるいは低いことで、融解後のストロー内の温度変化が起きないように配慮することが重要です (Q.34)。

Q.31 融解操作について衛生面での注意点を教えてください。

A

以下の3点に留意して実施してください。

(1) まず手指を消毒する

直腸検査や受卵牛の保定等を行った後の移植技術者の手指は、糞便などで汚れています。

融解操作を行う前に、まず手指を流水と石鹼でよく洗い、その後でアルコール消毒してください。

(2) ストローやストローカッターはアルコール消毒する

受精卵移植は、移植器を用いて子宮頸管を經由し、ストロー中の受精卵を子宮内に注入する技術です。移植時期の子宮は細菌感染リスクが高いため、移植に用いる器具等は衛生的に取り扱う必要があります (Q.20)。

液体窒素中にも細菌が生存することが知られており、また温湯で融解したストローや、一般の環境の中にあるストローカッターには細菌が付着していますので、アルコール消毒を必ず行って下さい。

(3) アルコール綿は固く絞る

アルコールをたっぷり含んだアルコール綿でストローやストローカッターを拭いた場合、表面からアルコールがなかなか気化せず、残ってしまう場合があります。

また、アルコールが気化しても水分が残ることも考えられます。

アルコールには細胞を殺してしまう性質がありますので、アルコール分が残っていれば受精卵にも悪影響がおよぶと考えられます。

水分が残った場合には、移植液の浸透圧が変化し受精卵の活力に影響するかも知れません。

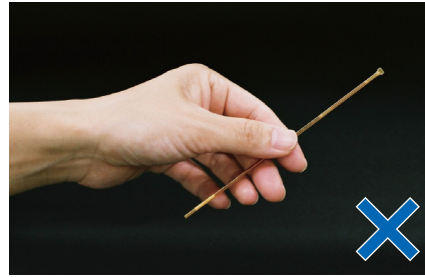
なお、長く作り置きしたアルコール綿は、アルコールが気化して消毒力が落ちている場合があります。

Q.32 ストローの綿栓部分をつかむ理由は？

A ストローを取り扱う場合は、必ず綿栓部分をつかむようにします。
一般に、受精卵はストローの中央付近に封入されています。その周辺を手指でつかむと、受精卵周囲の培養液の温度が上昇し、受精卵の生存性に悪い影響を与える可能性が高くなります。また、せっかくアルコール消毒したストローを指で触ることは、再度汚染させることにもつながります。融解したストローを取り扱う場合には、必ず綿栓部分をつかみます。



ストローの持ち方 良い例



ストローの持ち方 悪い例

Q.33 ストローは移植器にセットするのですか、それともシース管にセットするのですか？

A ストローはシース管にセットします。
次に、移植器をシース管に挿入して装着します。
ストロー開口部を衛生的に取り扱うために、必ずシース管にセットしましょう。

Q.34 ストローをセットした移植器の温度管理はどのようにしたらよいですか？

A 受精卵は温度変化に敏感なので、急激な温度変化を与えないように注意します。

基本的には受卵牛の近くで融解して、すぐに移植することが理想ですが、現実にはなかなかそうもいきません。

受卵牛の近くで融解ができない場合、無風で直射日光が当たらない場所で指示書どおりに融解した後、ストローを移植器にセットして移植場所まで移動することになります。その場合でも、急激な温度変化がないよう気を配って下さい。

とくに、厳寒地域で受精卵が温度変化の影響を受ける可能性がある場合と判断した場合には、受精卵を融解、セットする前に移植器を適温に保温し、融解後も適温を維持するようにします。

発泡スチロール製など断熱性に優れた容器に、市販の保冷剤を暖めて敷き詰め、その上に移植器を並べて温度管理することも1つの方法です。



発泡スチロールと暖めた保冷剤

Q.35 移植の準備から融解、移植までの一連の手順を教えてください。

A 手順の一例です。

受精卵を融解する前に、必要な器材を揃え、手指をアルコール消毒し、手順を再確認して、スムーズに作業を行えるように準備します。

- ① 融解場所を選定。
- ② 流水と石鹼で手指の洗浄。
- ③ 融解のための温湯を準備。
- ④ 手指のアルコール消毒と乾燥。
- ⑤ 移植器具等の準備。
固く絞ったアルコール綿でストローカッターと移植器を消毒する。
移植器にストッパーと内芯を装着する。
- ⑥ 移植する受精卵の保管場所（キャニスター、ケーンなど）を確認。
- ⑦ 融解時の使用器具、温湯の温度、融解方法と手順の再確認。
- ⑧ シース管が入った滅菌バックを開封。
- ⑨ 融解。
ストップウォッチをスタート。
ストローを液体窒素から取り出す（写真1）。
空気中で一定時間保持（写真2）。
ストローを温湯中に一定時間浸漬（写真3）。
固く絞ったアルコール綿でストローを消毒・乾燥。
ストローカッターでストロー先端の空気層部分を切断。
- ⑩ 移植器への装着。
ストローをシース管に挿入する。
移植器をシース管に挿入、しっかりセットされたことを確認後、
ストッパーで固定。
- ⑪ 速やかに受精卵に移植。

▼凍結受精卵の融解



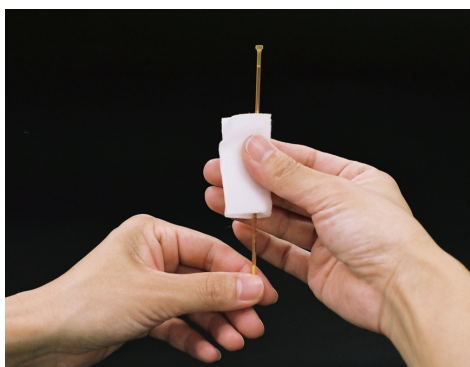
写真1



写真2



写真3



ストローの消毒



シース管への挿入

V. 受精卵の移植

Q.36 移植する受精卵の個数は、受胎率に影響しますか？

A 原則は、受卵牛1頭に1個の受精卵を移植します。

受卵牛1頭に2個の受精卵を移植することで受胎率が向上するという報告もありますが、受胎後の流産、分娩事故等の発生頻度が高くなる可能性があります。安易に2個以上の受精卵を移植することは避けた方が賢明です。

2卵移植で子牛を生産した場合、フリーマーチンの発生などで登録の取得や子牛を繁殖牛として用いる上での問題が生じることもあります。

Q.37 受卵牛の大きさによって、生まれる子牛の大きさは違いますか？

A 子牛の生時体重を左右する大きな要因としては、受卵牛の大きさというより、受卵牛の栄養状態や移植する受精卵の血統などが考えられます。ただ、子牛の生時体重に影響を与える真の原因は、未だに解明されていません。

Q.38 体外受精卵を移植した場合、子牛の生時体重は大きくなりますか？

A 体外受精卵を移植した場合、生まれる子牛の生時体重が大きくなるという事例があります。

その多くは、予定日より10～14日間以上分娩が遅延することが主な原因と考えられています。

そこで、分娩予定日に分娩徴候が現れず、あるいは予定日から数日間状況を見ていても分娩徴候が現れない場合には、獣医師に相談して誘起分娩を行うようにして下さい。

Q.39 受卵牛の産歴は受胎性に影響しますか？

A さまざまな調査報告結果から、未經産牛は経産牛と比べて受胎性が優れています。

また、経産牛では産歴が進むと受胎性が低下する傾向が分かっています。分娩後の子宮の回復状態の良し悪しが受胎に影響をおよぼしますから、分娩後の栄養状態の管理が大切です。

Q.40 移植の難易度と受胎率は関係あるのですか？

A

基本的に子宮頸管を通過させるのに時間がかかっても、子宮内膜を傷つけて出血させたり、細菌感染を招いたりするような行為がなければ、受胎率が低下することはありません。

早く子宮頸管を通過させようとあせることなく、落ち着いた操作が望まれます。慣れないうちは、子宮頸管拡張棒を利用することも一つの方法です。

Q.41 移植部位は黄体側の子宮角に限らなくてもよいのですか？

A

子宮に移植された受精卵は、透明帯から脱出して伸長し、やがて着床します。このとき着床を成立させるためには、黄体の維持が不可欠な要素です。

受精卵の栄養膜細胞から分泌されるインターフェロン τ （タウ）という物質が、黄体を退行させる働きのあるプロスタグランジンの分泌を変化させ、結果として黄体の退行を抑制します。

この子宮を介した受精卵と黄体の密接な相互関係から、黄体側へ移植するのが原則です。非黄体側に移植した場合でも妊娠は可能ですが、受胎率は低くなるといわれています。

Q.42 両側排卵の場合は、どちらに移植すればよいのですか？

A

直腸検査により左右の卵巣にそれぞれ黄体が認められる場合、排卵を確認した黄体側の子宮角へ移植を行います。

両側で排卵していることが明確であった場合、あるいは排卵確認を行っていなかった場合には、移植前の黄体検査時に左右の卵巣の黄体を触診して、より充実した黄体が存在する側に移植するのが好ましいでしょう。

Q.43 受精卵のランクや発育ステージは、受胎に影響しますか？

A

受精卵のランクは、受胎率に影響をおよぼす要因の一つです。

受精卵の品質は、顕微鏡下で受精卵を観察して、形態的に「Excellent」、「Good」、「Fair」、「Poor」の4段階にランク付けします。この判断基準は、一般的に国際胚移植学会(IETS)のマニュアルに記載されている写真が基本とされています。

凍結受精卵では、Excellent と Good と判断された受精卵が凍結保存されます。

新鮮卵移植の際には、Excellent、Good ならびに Fair ランクの受精卵が移植されます。

品質の判断は、主観を極力取り除いて客観的に判断しますが、より多くの受精卵を観察して判断できるような訓練が必要です。

また受精卵のステージの差は、供卵牛の栄養状態や、採取時期や授精後の日数といった人為的な要因が影響する場合があります。一般的には発育の進んだ受精卵が遅れている受精卵に比べ、品質が良いと考えられます。高い受胎率を維持するには、受精卵と受卵牛の日齢（授精日＝受卵牛の発情日）を同調させる必要があります。

Q.44 子宮深部とはどのような部位を指すのですか？

A 一般に、子宮深部とは子宮角の湾曲部を指します。

「深部に移植する」という表現をよく耳にするとと思いますが、経産牛では子宮の長さや移植器の長さにより、受精卵を移植できる場所に物理的な限界があることもあります。また、自分が深部であると思ったほどには、子宮角先端に届いていないことも多いです。深部を目指すあまりに、子宮内膜を損傷することのないようにすべきです。

Q.45 受精卵を押し出す速さは受胎に関係するのですか？

A 受精卵を子宮内に注入する速さは大きな問題にはなりません。

Q.46 子宮頸管もしくは子宮角で出血した可能性があるとしたら、どう対処するのですか？

A 子宮頸管で出血した場合は、出血の度合いによってその影響が変わります。出血が大量の場合、ストレスとして働く、直接受精卵の活力を損なう、もしくは子宮環境を損なうなどが考えられますが、ごく少量の場合は、受胎率にさほど影響しません。


一方、子宮角で出血を起こした場合、受胎を望むのは難しい状況になります。

出血は、移植後に移植器を抜き出し、シース間の先端やシース管と移植器の間に侵入した血液で知ることになります。

子宮頸管および子宮角いずれも出血後の対処法はありません。

なぜ出血が起きたのか、移植器の進め方、子宮の保持の仕方など謙虚に見直し、出血させないように技術を身につける必要があります。

受精卵移植技術 実践マニュアル Q&A 集



発行 平成 21 年 3 月
社団法人家畜改良事業団
家畜バイテクセンター
東京都品川区東品川 3-21-10