

第10章 受精卵(胚)移植

2章 受精卵移植各論

1 過剰排卵処理

(1) 採卵プログラムの作成

- ア 発情日を0日として計画を作成する。
- イ ホルモン剤投与は漸減投与法で、投与量は以下のとおり。

【FSH】アントリンR10（前葉性卵胞刺激ホルモン）

10～15日から3日間、筋肉内に投与

- ・黒毛和種経産牛及びホルスタイン種未経産牛：18AU（4, 4, 3, 3, 2, 2）
- ・黒毛和種未経産牛：15AU（3.5, 3.5, 2.5, 2.5, 1.5, 1.5）
- ・ホルスタイン種経産牛は30AU（6, 6, 4, 4, 3, 3, 2, 2）

【PG】プロナルゴンF（トロメタミンジノプロスト）

FSH投与3日目に2回に分けて筋肉内に投与

- ・黒毛和種経産牛及びホルスタイン種未経産牛：40mg（25, 15）
- ・黒毛和種未経産牛：35mg（20, 15）
- ・ホルスタイン種経産牛は50mg（30, 20）

【CIDR】イージーブリード

- ・黄体検査後、アプリケーターを使用して膈内挿入する。
- ・CIDRの除去は、1回目のPG投与後に直ちに行う。

受精卵採取（過剰排卵処置）日程表（例）

作成：平成 年 月 日

農家住所氏名			
供 胚 牛	品 種	名 号	
	個体識別番号	登録番号	
	生年月日	産 歴	
交配種雄牛		血液番号	

平成 年			性 周 期	処 理 内 容 等		
月	日	曜日		午前（朝）	午後（夜）	摘 要
			0	発情		
			7	黄体確認 CIDR挿入		
			11	FSH 4AU	FSH 4AU	FSH量：18AU
			12	FSH 3AU	FSH 3AU	
			13	FSH 2AU PG25mg CIDR抜去	FSH 2AU PG15mg	
			-1		発情徴候の観察	
			0	発情徴候の観察	(人工授精)	
			1	(人工授精)		
			7	採卵		

*FSH：アントリンR10 PG：プロナルゴンF CIDR：イージーブリード

(2) 黄体検査

発情後 7～9 日目に、超音波診断装置等を利用して実施する。

明瞭な黄体が確認された場合に採卵を実施する。黄体形成不全や、排卵せず卵胞が遺残している場合は、採卵を見送る。

(3) 人工授精

発情を確認後、約 24 時間後に原則として 1 回実施する。

2 受精卵の採取

(1) 牛の保定・麻酔

供卵牛を保定する。また、直腸内の努責を防ぐため、尾椎硬膜外麻酔を実施する。投与薬は、塩酸プロカイン 40～60mg (2～3ml) である。また、塩酸プロカインが奏効せず直腸の努責が継続する場合や尾椎間が不明瞭で注射が困難な場合などは、必要に応じてパドリン (臭化プリフィニウム) 75mg (10ml) を筋肉内投与する。

(2) 採取操作

外陰部からバルーンカテーテルを子宮内に挿入し、エンブリオテック (片側子宮に 800～900ml) をかん流させて受精卵を回収する。回収液はMコンフィルターに直接受ける。左右子宮角に同様な操作を行う。



図1 受精卵採取と子宮かん流装置

(3) 採取後の処置

イソジン液を子宮内に 50ml 注入し、PG 製剤を筋肉内投与する。

(4) 受精卵検査

Mコンフィルター内をエンブリオテックで洗浄し、回収液をシャーレ (大) 内に移し、実体顕微鏡で受精卵を検索する。受精卵はシャーレ (小) にパスツールピペットで移す。回収した受精卵の発育ステージと品質を判定する。

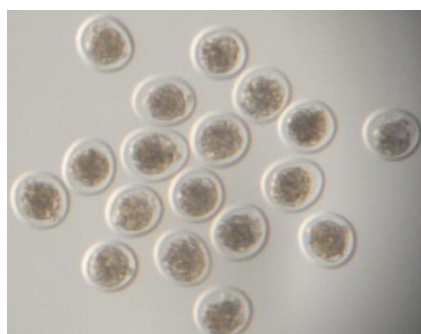


図2 採取した受精卵



図3 受精卵検査

3 受精卵凍結

(1) 凍結方法

凍結液に浮遊させた受精卵をストローに吸引する。ストローに血統情報等を記載したラベルを貼付する。

(2) 凍結媒液（ダイレクト法）

凍結媒液は、受精卵移植推進チームでは、1.5Mエチレングリコール+0.1Mシュークロース+20%子牛血清加を加えたエンブリオテックを使用している。

(3) 凍結プログラム

凍結液に見合った冷却プログラムをプログラムフリーザーに設定しておく。

【一般的なプログラム】

植氷温度ホールド（ $-5 \sim -6^{\circ}\text{C}$ ）→植氷→冷却（ $-0.3 \sim -0.5^{\circ}\text{C}/\text{分}$ ）
→冷却終了→液体窒素に投入

(4) 融解方法

融解方法は受精卵証明書等に記載してある方法のとおりとする。

【一例】

液体窒素からストローをすばやく取り出し、10秒間空气中にホールド後、 $25 \sim 30^{\circ}\text{C}$ 温湯に10秒間浸漬。



図4 植氷

4 受精卵の移植

(1) 受卵牛の選定

超音波診断装置等を利用して卵巢反応、子宮の収縮状況を検査し判断する。

受卵牛は、明瞭な発情を示したものとし、明瞭な黄体を有し、発情時のような子宮の収縮がないことを確認する。

受卵牛検査は発情日を0日として5～6日目に行い、移植当日の検査により黄体実質が5～6日目より充実していることを確認し、必要に応じて黄体機能強化のため、HCG製剤を投与する。

(2) 受卵牛と受精卵の日齢の同調

発情日を0日として7日±1日が移植適期である。受精卵の発育ステージと移植日との関係については、後期桑実胚は6～7日目、初期胚盤胞は7日目、胚盤胞は7～8日目に移植を目安とする。

(3) 移植

受卵牛が動かないように保定を確実に行う。

直腸内の努責を防ぐため尾椎硬膜外麻酔等を実施する。移植は、外陰部や膣内の雑菌を子宮内に持ち込まないように衛生的に行う。除糞後外陰部を洗浄・消毒する。技術者も手指をよく洗浄・消毒しておく。

凍結受精卵の場合は、作成者が指定した条件で融解する。

移植は黄体側子宮角に移植器を挿入して行う。子宮頸管や子宮内膜に損傷を与え出血させないように細心の注意を払う。