

畜産技術レポート

第49号

島根県立畜産試験場（繁殖技術科）

TEL= 0853-21-2631 FAX=0853-21-2632 URL= <http://www2.pref.shimane.jp/tikusi/index.html>

ウシにおけるホルモン測定法とその活用

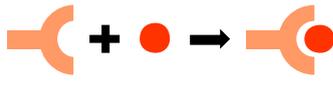
ホルモンとは？

内分泌腺（たとえば卵巣や子宮など）で合成、分泌され、血液を介して標的となる器官や細胞に運ばれ、そこで生理的な調節作用を表す物質をいいます。

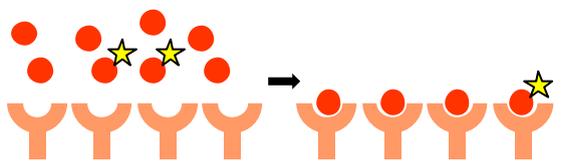
ウシの繁殖機能の調節には多くのホルモンが関わっており、これらのホルモン濃度を測定することで繁殖周期等における変化や異常を知ることができます。

ホルモンの測定法

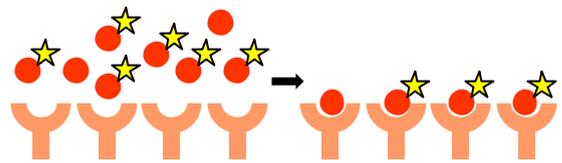
ホルモンの測定は、抗原（ホルモンなど）と強い親和性と特異性をもつ抗体が結合する反応を利用した免疫測定法によって主に行われます。



免疫測定法では、標識した抗原をサンプルといっしょに反応させることで、サンプル中の抗原量を知ることができます。標識に用いる物質によって、放射免疫測定（RIA）、酵素免疫測定（EIA）、蛍光免疫測定（FIA）に大別されます。



サンプル中の抗原（●）量が多い
抗体に結合する標識抗原（●★）量が少なくなる
カウントされる標識が少なくなる



サンプル中の抗原（●）量が少ない
抗体に結合する標識抗原（●★）量が多くなる
カウントされる標識が多くなる

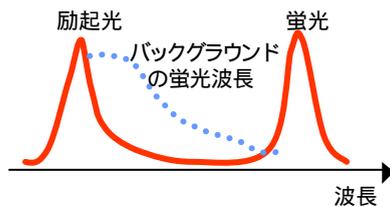
しかし、各測定法とも、放射性物質の使用や測定操作の煩雑さなどの理由から、特殊な研究を除いては家畜における利用例はあまり多くないのが現状です。

時間分解蛍光免疫測定（TR-FIA）

標識に利用するユーロピウム（Eu）の特徴

1. 励起波長と蛍光波長の差が大きい

2. 蛍光寿命が極めて長い



蛍光を測定するときに励起光の影響を受けにくい

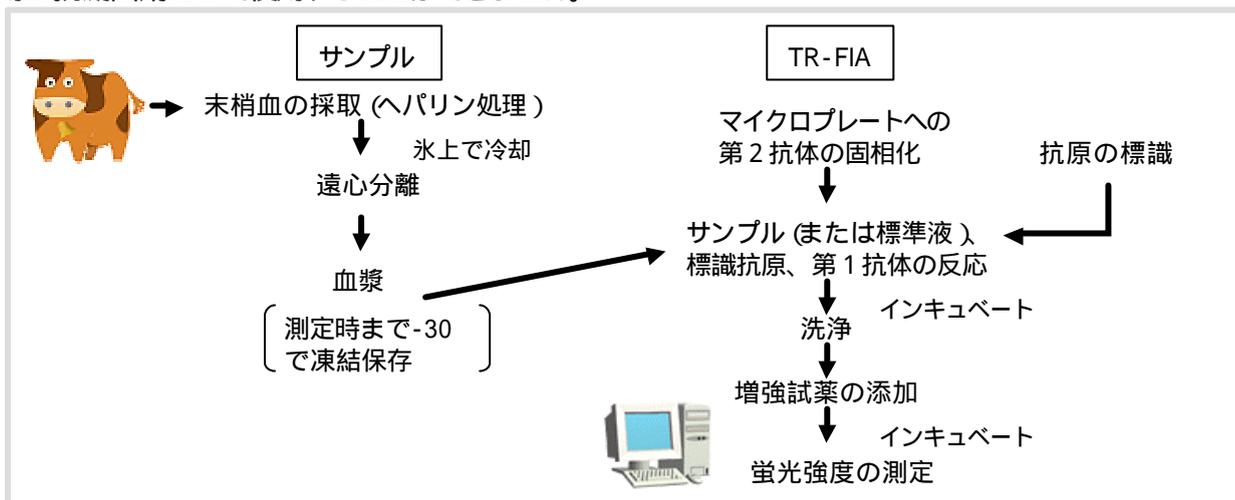
Eu標識体	500 μ秒
共存物質や励起散乱光	0.01 μ秒以下

励起光を照射してから一定時間おいてから蛍光を測定することにより、バックグラウンドや励起時の散乱光が消失してから選択的に蛍光を測定できる（「時間分解～」の名前の由来）

時間分解蛍光免疫測定 (TR-FIA)は、最近開発されたFIAの一種で、標識に特殊な金属 (ユーロピウム :Eu)を利用してします。このTR-FIAは従来の方法に比べて標識操作が簡便であることに加え、RIAに匹敵する測定感度が得られることから、家畜におけるホルモン測定にも利用されるようになりました。

TR-FIAの測定操作

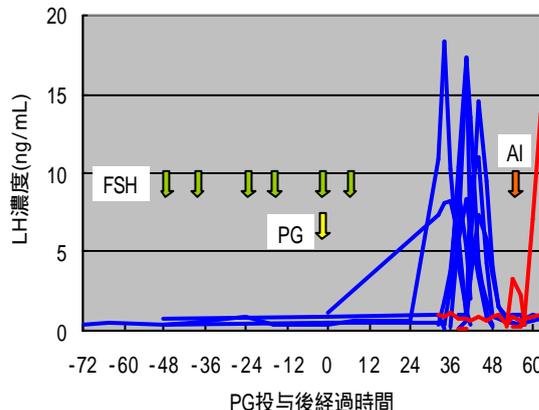
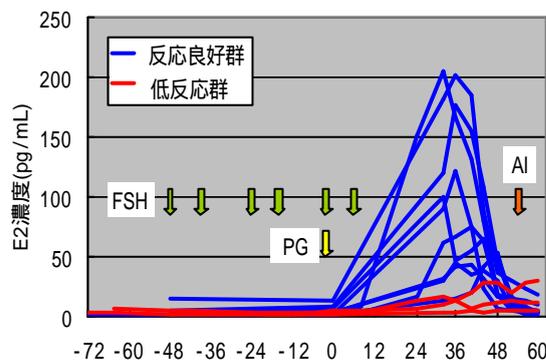
TR-FIAの測定サンプルには血漿 (ヘパリン処理)を使用します。サンプルの採取から測定までの流れは下図のとおりです。なお、EDTAは測定に関係する反応に悪影響を及ぼすため、TR-FIA用の抗凝固剤として使用することができません。



ホルモン測定を活用

TR-FIAによって、繁殖に関する種々のホルモン測定が可能となりました。そこで、過剰排卵処理した供胚牛における血中ホルモン濃度についてTR-FIAを利用し経時的に測定したところ、下図のような結果が得られました。この結果は、胚採取成績についての解析を進めていく上で重要なステップとなりました。

現在、プロゲステロン (P4)、エストラジオール17-β (E2) および黄体形成ホルモン (LH) の測定が可能であり、卵胞刺激ホルモン (FSH)についても測定系を検討しています。今後、これらのホルモン測定を利用して、牛における生産技術の高位安定化に活用できるようにしたいと考えています。



過剰排卵処理した供胚牛における血中ホルモン濃度の推移

胚採取時の推定黄体数及び回収卵数から、過剰排卵処理に対する反応良好群 (青線)と低反応群 (赤線)に区分した。反応良好群ではPG投与後32時間からE2濃度のピークとLHサージが認められるのに対し、低反応群では明瞭なE2濃度の上昇が認められずLHサージも遅れて出現している。