

尿による牛の妊娠診断法の研究 (第2報)

鈴木 和 也

(化学研究室)

A study on the Diagnosis of Pregnancy by Cow's Urine……No. 2

Kazuya SUZUKI

(Lab. of Chemistry, Fac. of Education, Kagoshima Univ.)

I 緒 言

著者は先に牛尿による妊娠診断法¹⁾ならびにその適合度のいづらかを報告したが、その例数および被検物の確認におよばず不十分な点があった。今回は、これをさらに追試し、本反応陽性物質の本態についても検索を進めたのでここに報告したい。

すなわち、牛尿のアセトン処理後、沈殿物の水溶液をパーパークロマトグラフィ²⁾で展開し、そのフラクションを調べたが、妊娠尿成分においては Rf 値 0.10 および 0.32 附近に、非妊娠尿成分においては 0.14 附近にスポットが現われ、両者の分画が明確であった。

なお、被検物が下垂体前葉性あるいは胎盤性性腺刺激ホルモン^{3), 4)}に由来する可能性もいづらかの比較クロマトグラフィを通して推定することができたのでここに報告する。

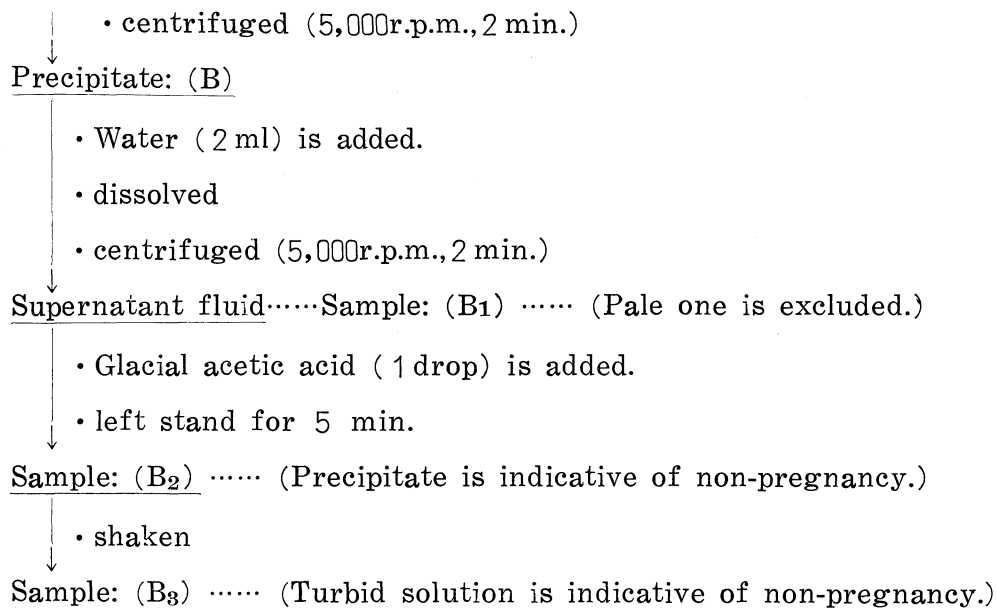
II 実験材料および方法

〔1〕 妊娠反応

実験材料および方法の詳細は前報¹⁾ 既述のとおりである。略記すればつぎの Table 1—1 ならびに Table 1—2 の如くなる。

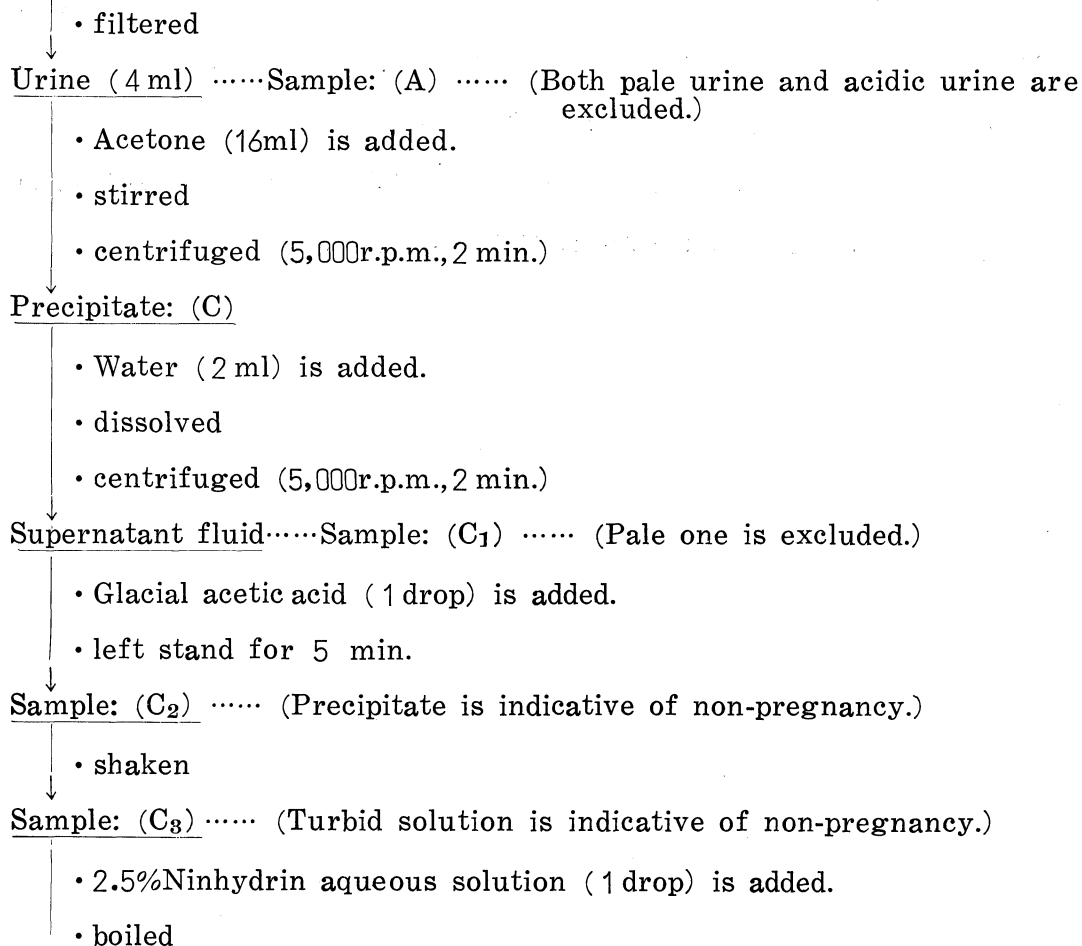
Table 1—1

Cow's urine	
↓	• filtered
↓	
Urine (4 ml)	……Sample: (A) …… (Both pale urine and acidic urine are excluded.)
	• Acetone (10ml) is added.
	• stirred



以上の操作で検体B₂およびB₃において沈殿も濁りも生じないもののみについてTable 1—2の操作を行う。

Table 1—2

Cow's urine

↓
Sample: (D) …… (If the reaction is positive, it is indicative of pregnancy.

Otherwise, non-pregnancy.)

以上の処理を実施例についてまとめるとTable 2のとおりである。

1
Table 2: Basic Data for Cow's Pregnancy

(A)		(B)			(C)			(D)	decision
color	pH	color (B ₁)	precipitate (B ₂)	turbidity (B ₃)	color (C ₁)	precipitate (C ₂)	turbidity (C ₃)	ninhydrin color	
+	7.2→	+	+						(-)
+	"	+	-	+					(-)
+	"	+	-	-	+	+			(-)
+	"	+	-	-	+	-	+		(-)
+	"	+	-	-	+	-	-	-	(-)
+	"	+	-	-	+	-	-	+	(+)

(注) ・空欄は処理不要箇所である。

- ・ + ; 着色、沈殿、濁りあるいは呈色の認められるもの。
- ・ - ; 着色、沈殿、濁りあるいは呈色の認められないもの。
- ・ (+) ; 妊娠反応陽性のもの。
- ・ (-) ; 妊娠反応陰性のもの。
- ・ 尿色のうすいもの、pH7.0以下の尿は本試験の対象から除く。

径15m/m の試験管に尿を満たし、上視（白紙バック）したとき赤味を含まないものを尿色のうすいものとする。

〔2〕 ペーパークロマトグラフィによる沈殿Cの検討

1. 試料の調製

- i 牛尿：Table 2において明瞭な妊娠反応陽性および陰性を示した牛の早朝尿を採取し、新鮮なうちにTable 3の処理を行った。

Table 3

Cow's urine

↓
・ filtered

↓
Urine (4 ml)

- ・ Acetone (16ml) is added.
- ・ stirred
- ・ centrifuged (5,000r.p.m., 2 min.)

↓
Precipitate: (C)
 ↓
 • Water (1 ml) is added.
 • dissolved
 • centrifuged (5,000r.p.m., 2 min.)
 ↓
Supernatant fluid
 (Sample for chromatography)

ii 性腺刺激ホルモン: Synahorin (帝国臓器製品、下垂体前葉性性腺刺激ホルモンと胎盤性性腺刺激ホルマン1:9の割合に混合、50家兎単位)を使用、この40mgを水1mlにとかした。

2. ペーパークロマトグラフィ

常法²⁾に従って上記の試料につきペーパークロマトグラフィを行った。展開条件は次のとおりである。

- i 濾紙; 東洋濾紙No.51 (2×40cm)
- ii 展開溶媒; n-ブタノール・水・氷酢酸系 (4:2:1)
- iii 展開; 11~12時間、約25°C. 上昇法20cm
- iv 顕色法; 展開後濾紙をとり出し室温で乾燥し0.25%ニンヒドリンn-ブタノール (水飽和) 溶液を噴霧し、室温で乾燥し90°~100°Cで5分間加熱し、Rf 値を決定する。

III 実験結果および考察

〔1〕妊娠反応

68例につき、当該妊娠診断法を適用し、Table 4の結果を得た。

Table 4 : Results Obtained through the Present Method

Section	Reaction	Pregnant or Non-Pregnant	Positive	Negative	Total
7~30days after artificial insemination	Pregnant		1(5)	0(0)	1(5)
	Non-pregnant		0(0)	10(18)	10(18)
31~90days(Pregnant)	Pregnant		2(6)	0(0)	2(6)
3~10months(Pregnant)	Pregnant		13(28)	0(0)	13(28)
Non-artificial insemination	Non-pregnant		0(0)	42(93)	42(93)
Total		—	16(39)	52(101)	68(150)

(註) 妊娠尿、非妊娠尿にかかわらず尿色のうすいもの、およびpH7.0以下のものは除いたものである。

・印は分娩直後の牛6頭を含む。

() 内の数字は前回との合計である。

Table 4 にみられるように結果は前報の通りであった。即ち、

- (1) 妊娠のかなり早期に妊娠診断が可能である。
- (2) 妊娠期間を通して陽性反応を持続するように推定される。
- (3) 非妊時および発情期においても陰性反応を示す。
- (4) 分娩後は速やかに陰性を呈しはじめる。

また、沈殿 B および沈殿 C は乾燥状態で氷室に保存すると 1 カ月位は安定であるが、水溶液では不安定である。

なお、本法の欠点をあげると濾過尿が常時濁っているもの (3 例あったが) は不適である。これは永久黄体、卵巣腫瘍などの病的なものではないかと思われる。また尿色のうすいもの、および pH7.0 以下の尿は本試験の対象にならない。これを解決するために尿色のうすいものの沈殿 B および沈殿 C の数本分を水 2 ml にとかして同様に試験したが、変化がみられなかった。また pH7.0 以下の尿について原尿を希アンモニア水で pH8.0 に調整して同様な操作を試みたが変化がみられなかった。これらの尿には妊娠反応陽性物質が相対的に少ないものと考えられる。

また、Synahorin (性腺刺激ホルモン、帝国臓器製品、50 家兎単位) 1 A (40mg) を水 4 ml にとかしてアセトン処理を行ない、同様に妊娠反応を行なったところ、陽性反応を示した。このことにより妊娠反応陽性を呈する物質は下垂体前葉性性腺刺激ホルモンあるいは胎盤性性腺刺激ホルモンの由来するものではないかと思われる。

〔2〕 ペーパークロマトグラフィによる沈殿 C の検討

ペーパークロマトグラフィの実験結果を Table 5 に示す。

Table 5: Rf Value of precipitate-C and Synahorin(n-Butanol·H₂O·CH₃COOH;4:2:1)

Rf Value											0.72	0.67	0.68	0.71	
											—	0.53	0.53	0.52	
											—	0.46	0.46	0.46	
		0.33	0.32	0.31	0.32	0.32					0.34	0.32	0.32	0.34	
		0.29	0.28	0.27	—	0.28	0.30	0.28	0.30	0.30	0.29	0.29	—	—	0.30
		0.26	0.24	0.24	0.26	0.25	0.25	0.24	0.25	0.25	0.26	0.25	0.27	0.27	0.26
		0.21	0.21	0.20	0.21	0.20	0.22	0.21	0.21	0.20	0.21	0.21	0.22	0.21	0.21
		—	—	—	—	—	0.14	0.16	0.15	0.14	0.13	—	—	—	—
	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	—	—	—	—	—	0.10	0.10	0.09	0.10	
	0.05	0.05	0.04	0.05	0.05	0.04	0.04	0.05	0.04	0.05	0.05	0.03	0.03	0.04	
section	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	
	Pregnant					Non-pregnant					Synahorin				

妊娠尿成分と非妊娠尿成分の著明な相違点をあげると 妊娠尿成分においてはRf値0.10および0.32附近に非妊娠尿成分においては0.14附近にスポットが現われ、両者の分画が明確である。

SynahorinのRf値は0.46、0.53および0.70附近の部分を除いては妊娠尿成分のRf値と一致する。このRf値0.46、0.53および0.70附近のスポットはSynahorinが下垂体前著性性腺刺激ホルモンと胎盤性性腺刺激ホルモンの混合製剤(1:9)を用いたためと考えられ、量的にみると妊娠尿成分は胎盤性性腺刺激ホルモンに属するのではないかと思われるが、詳細については今後の究明にまちたい。

IV 摘 要

牛尿に化学的処理を行ない 150例中39例の妊娠牛を検出し、その被検物の本態についても考究した。

- (1) 妊娠のかなり早期に妊娠診断が可能である。
- (2) 妊娠期間を通して陽性反応を持続するように推定される。
- (3) 非妊娠尿では発情期においても陰性反応を呈する。
- (4) 分娩後は速やかに陰性反応を呈する。
- (5) さらにペーパークロマトグラフィによって妊娠尿成分および非妊娠尿成分の間に差異が認められた。
- (6) 両者の著明な相違点をあげると妊娠尿成分においては Rf 値0.10および 0.32附近に非妊娠尿成分においては0.14附近にスポットが現われ、両者の分画が明確であった。
- (7) 妊娠反応陽性を呈する物質は下垂体前葉性性腺刺激ホルモンあるいは胎盤性性腺刺激ホルモンではないかと思われる。

本研究は本学部、故斉藤信康先生、田代一男先生、船元重春先生、恒吉正己先生の御懇篤な御指導によって実施された。

なお、資料の収集に当っては鹿児島市の山崎(愛)牧場、山崎(秀)牧場、久永牧場、谷山市の鮫島牧場、重富町の福田牧場の各位に多大の御便宜と御協力をいただいた。あわせて深甚の謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) 鈴木和也：尿による牛の妊娠診断法の研究（第1報）研究紀要17, 21, 鹿児島大学教育学部（昭40）
- 2) 柴田村治：ペーパークロマトグラフ法の実際，共立出版（昭36）
- 3) 赤堀四郎・水島三一郎：蛋白質化学，3, 488 共立出版（昭39）
- 4) 松島早苗・出口雅三：ホルモンと臨床，8, 749（1960）

Summary

The writer found 39 out of 150 cows to be pregnant by applying chemical treatment to their urine.

- (1) It is possible to conform pregnancy in its early stage by this method.
- (2) It seems that the positive reaction is observed throughout pregnancy.
- (3) The urine from non-pregnant cows showed no response to the test even at the oestrus.
- (4) Soon after delivery the urine showed a negative reaction.
- (5) Paper chromatography researches revealed that there are differences between the composition of pregnant cows' urine and that of non-pregnant cows' urine.
- (6) The remarkable differences between them are as follows:
Spots appear in the neighborhood of Rf 0.10 and 0.32 in the case of pregnant cows, and in the neighborhood of Rf 0.14 in non-pregnant.
- (7) It is surmised that the material which shows the positive reaction symptomatic of pregnancy is Gonadotropic hormone.