วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อใช้วิธีคอมเพททิทีฟ เอนไซม์ลิงค์อิมมูนโนซอร์เบนท์แอสเซ (Competitive ELISA) สำหรับการวิเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำนมของโคนม โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เปรียบเทียบปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของโคนมหลังคลอดระหว่างฤดูร้อน (เดือนมีนาคม 2547 – พฤษภาคม 2547) และฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายน2547 – มกราคม 2548) เปรียบเทียบการทำงานของรังไข่ครั้งแรกของโคนมหลังคลอดระหว่างโคนมพันธุ์ลูกผสมและพันธุ์แท้ฟรีเชียน และเปรียบเทียบผลของการผลิตน้ำนมต่อการทำงานของรังไข่หลังคลอด โดยเก็บตัวอย่างน้ำนมปริมาณ 30 มิลลิลิตร (ลูกผสม 7 ตัว และพันธุ์แท้ 7 ตัว) เก็บสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ทุกวันจันทร์ และวันศุกร์จากฟาร์มโคนม ณ ศูนย์วิจัย และบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ โคนมที่เก็บตัวอย่างเป็นโคหลังคลอดไม่เกิน 15 วัน โดยเก็บติดต่อกันนาน 135 วัน หรือจนกระทั่งตั้งท้อง ดังนั้นในการศึกษาจึงใช้ Progesteron-3 (O-carboxymethyl)oxim-BSA เป็นแอนติเจนกระตุ้นหนูขาวตัวเล็กสายพันธุ์ BALB/c ตรวจหาความสามารถในการสร้างแอนติบอดีด้วยวิธีการ Indirect ELISA เมื่อตรวจพบว่าหนูสร้างแอนติบอดีแล้ว จึงนำไปสู่การผลิตเซลล์ลูกผสม (Hybridoma) จากผลการศึกษาพบว่า สามารถเกิดเซลล์ลูกผสมทั้งหมด 40 หลุม จากทั้งหมด 576 หลุม (6.9 %) เมื่อนำกลุ่มโคลนที่ได้ทั้ง 40 หลุมตรวจหาการผลิตแอนติบอดีด้วยวิธี Indirect ELISA ผลที่ได้คือมีกลุ่มโคลนที่สามารถให้ผลเป็นบวกเท่ากับ 37 หลุม (92.5 %) และเลือกกลุ่มโคลนที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรสูงที่สุด คือ 4B2 และได้กราฟมาตรฐานที่มี 50 % Binding เท่ากับ 10 พิโคกรัมต่อ 50 ไมโครลิตร จากการใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีเพื่อวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน จากการศึกษาปัจจัยเนื่องจากฤดูกาลต่อวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด (Day to first postpartum ovarian activity) พบว่า เมื่อรวมกลุ่มโคนมในฤดูร้อนโดยไม่คำนึงถึงสายพันธุ์ จะมีวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด (43.50 ± 10.75 วัน) ยาวนานกว่ากลุ่มโคนมที่คลอดลูกในฤดูหนาว (15.83 ± 1.74 วัน) ซึ่งมีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูร้อน พบว่า โคนมลูกผสมมีวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด (40.00 ± 15.50 วัน) ไม่แตกต่างจากโคนมพันธุ์แท้ (47.00 ± 18.02 วัน) ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูหนาว พบว่า โคนมลูกผสมมีวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด (18.25 ± 1.44 วัน) ไม่แตกต่างจากโคนมพันธุ์แท้ (15.47 ± 1.02 วัน) ($P > 0.05$) นอกจากนี้โคนมที่เลี้ยงในฤดูร้อนจะมีปริมาณโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด น้อยกว่าโคนมที่เลี้ยงในฤดูหนาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จำนวนครั้งในการผสมเทียมต่อการผสมติดของโคนมที่เลี้ยงในฤดูหนาวน้อยกว่าโคนมที่เลี้ยงในฤดูร้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และโคนมที่ผลิตน้ำนมน้อยมีการทำงานของรังไข่ครั้งแรกหลังคลอดเร็วกว่าโคที่ผลิตน้ำนมต่ำ (17.00 ± 1.40 และ 39.30 ± 1.10 วัน ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) จากงานวิจัยครั้งนี้สรุปได้ว่าโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์โปรเจสเตอโรนในน้ำนมโคนมและพบว่าโคนมที่เลี้ยงในฤดูหนาวมีการผลิตโปรเจสเตอโรนมากกว่าและการทำงานของรังไข่หลังคลอดเร็วขึ้น จำนวนครั้งการผสมเทียมต่อการผสมติดมากกว่าโคที่เลี้ยงในฤดูร้อน และโคนมที่มีการผลิตน้ำนมมากจะทำให้การทำงานของรังไข่หลังคลอดช้ากว่าโคนมที่ให้ผลผลิตน้ำนมน้อยกว่า

The objectives of this study were to use the competitive ELISA for the determination of postpartum progesterone in cows 's milk by using monoclonal antibodies against progesterone, to compare milk progesterone production between summer (March – May 2004) and winter (November 2004 – January 2005) and also between low and high milk production cows to level of milk progesterone, the day to first postpartum ovarian activity and amount of AI to conception rate in parturition dairy. Thirty milliliter of milk samples (7 crossbred and 7 purebred) were collected every Monday and Friday at Chiang Mai Livestock Research and Breeding Center over the period from calving until 135 days postpartum or until cows were diagnosed as pregnant. Progesteron-3 (O-carboxymethyl)oxim-BSA was used as an antigen to immunize BALB/c mice and the antibody production was measured by Indirect ELISA technique. Hybridoma production was done after BALB/c ' antibody was detected. It was found that there were hybridoma cells in 40 out of 576 wells (6.9 %). Ninety – three percent (37/40) of these hybridoma clone were able to produce antibodies. After one limited dilution experiment, was produced One clone, 4B2. A monoclonal antibody was used in the competitive ELISA system. The standard curve of the ELISA showed that, at point of 50 % binding, progesterone at 10 pg/ 50 µl could be measured. Monoclonal antibody to determine the level of progesterone was found that by using the day to first postpartum ovarian activity in parturition dairy cows in summer, without breed consideration, was longer (43.5 ± 10.75 days) than in parturition dairy cows in the winter season (15.83 ± 1.74 days) was significantly different ($P < 0.05$). Comparing parturition dairy cows in summer, it was found that the day to first postpartum ovarian activity in crossbred (40.00 ± 15.50 days) and purebred (47.00 ± 18.02 days) ($P > 0.05$) was not significantly different. Comparing parturition dairy cows in the winter season, it was found that the day to first postpartum ovarian activity in crossbred (18.25 ± 1.44 days) and purebred (15.47 ± 18.02 days) ($P > 0.05$) was significantly different, level of milk progesterone in dairy cows in winter was higher than dairy cows in summer season was significantly different ($P < 0.05$). Amount of AI to conception rate in parturition dairy, it was found that in dairy cows in winter less than dairy cows in summer season was significantly different ($P < 0.05$). High milk yield production of dairy cows had the day to first postpartum ovarian activity rapid than low milk yield production of dairy cows. The study could concluded that the produced monoclonal antibody could be used to determine milk progesterone of dairy cows and it was found that the level of progesterone, the day to first postpartum ovarian activity and amount of AI to conception rate in parturition dairy cows in winter was better than dairy cows in summer season. Cows with low milk production resume there ovarian activity higher than milk production group.