

改訂 マウス・ラット 実験ノート



改訂版の発刊にあたり 中釜 齊

初版 序 中釜 齊

第1章 マウス・ラットを用いた実験をはじめるにあたって

北田一博 14

I. マウス・ラットを用いた実験	14
I-1 マウス・ラットを用いた実験とは	14
① 動物実験のメリット	14
② 動物実験の考え方	
I-2 なぜ、マウス・ラットなのか	16
① マウス・ラットで研究をするメリット	16
② マウス・ラットの特徴	
I-3 マウス・ラットを用いた実験の種類と流れ	17
II. 動物実験で結果を出すためのノウハウ	18
II-1 事前に実験計画を練り抜く	19
II-2 マウス・ラットの都合に合わせる	20
II-3 動物実験手技を洗練させる	21
III. マウス・ラット実験の倫理的・法的規制	21
III-1 マウス・ラット実験の倫理的な考え方	22
① 3R	22
② 人道的エンドポイント	
③ コスト・ベネフィット	
III-2 マウス・ラット実験の法的規制	23
① 動物福祉に関する法規	23
② 動物実験の実施に関する法規	
③ 遺伝子改変やマウス・ラットの輸入に関する法規	
IV. 種・系統の選択法	27
IV-1 マウスかラットか	27
IV-2 マウス系統の選択	28
IV-3 ラット系統の選択	28
V. マウス・ラットの入手方法	30
V-1 業者から購入可能なもの	30



V-2 国内のリソースセンターから分与してもらうもの	30
V-3 国外のリソースセンターから分与してもらうもの	31
V-4 研究者に分与してもらうもの	32

第2章 基礎知識・取り扱い方

今井俊夫, 落合雅子 34

I. 飼育・実験に必要な基礎知識	34	
I-1 生物学的特性	34	
① 体重・習性：マウス, ラットは夜行性	② 寿命・繁殖	
I-2 導入前の基礎知識	35	
① 遺伝子組換えと遺伝子編集により作製された動物の取り扱い		
② 動物実験計画書の策定	③ 動物導入までの主な手続き	
I-3 導入時の基礎知識	37	
① 動物の飼育室・実験室への搬入	② 動物室の衛生管理と感染症の防止について	
II. 保定法	39	
II-1 用手的な保定	39	
① マウス	② ラット	
II-2 器具を用いる保定法	41	
II-3 逸走した場合の対応	42	
III. 個体識別（マーキング）法	42	
III-1 マーキング（耳介）	42	
① 2～6匹までの識別	② 番号による識別	
③ ラットの場合の9匹までの識別	④ 識別用のタグを用いる方法	
III-2 マーキング（被毛）	44	
III-3 マーキング（尾）	45	
III-4 マーキングに使用する器具と麻酔の利用	45	

第3章 研究のための飼育・管理の仕方

47

I. 飼育・管理と観察の仕方	47
I-1 動物実験に影響を与える因子	47
I-2 SPF領域（バリア領域）への入退室と観察の仕方	47
II. ケージ交換の基本とコツ	52
II-1 注意点と手順	52
III. 安楽死法	55
III-1 心構えと安楽死法の種類	55

III-2 麻酔下での頸椎脱臼法	56
III-3 炭酸ガスによる窒息	57
IV. 死体処理の仕方	庫本高志 58
IV-1 心構えと処理の実際	58
V. 胚や精子の超低温保存法	滝澤明子, 小林俊寛, 吉見一人 59
V-1 マウス・ラットの2細胞期胚の保存方法	60
V-2 マウス精子凍結保存方法	65
VI. 体外受精と胚移植	小林俊寛, 吉見一人 68
VI-1 マウス・ラットの体外受精方法	68
VI-2 マウス・ラットの胚移植方法	71

第4章 研究のための繁殖・交配

綾部信哉, 水野沙織, 吉木 淳 74

I. 繁殖・交配の基礎知識と方法	74
I-1 動物を導入する前に	74
I-2 マウス・ラットの性周期と繁殖	74
1 雌雄判別法	2 性成熟
3 膣垢（スメア）検査のやり方	4 交配
5 プラグ（陰栓）確認のやり方	6 妊娠と妊娠時の世話
7 分娩	8 哺乳・離乳
II. 系統維持に必要な知識と交配方法	79
II-1 代表的な系統の種類と交配方法	79
1 近交系	2 コンジェニック系
3 ミュータント系	4 リコンビナント近交系
5 クローズドコロニー	6 交雑群
II-2 系統の維持・交配に有用なその他の方法	84
1 不妊となるノックアウト・ミュータント系統の維持	
2 トランスジェニックホモ型確定のための検定交配	
III. 系統の維持の仕方と研究のための繁殖計画	85
III-1 系統維持のための個体管理法	85
■ 記録の重要性	
III-2 研究のための繁殖計画	86
■ 繁殖のための計算式	
IV. ジェノタイプング（遺伝子型の判定法）	87
IV-1 DNAの抽出（マウス・ラット組織からのゲノムDNA精製）	88
IV-2 PCR反応	89
IV-3 アガロースゲルの作製	91
IV-4 電気泳動と染色	93



IV-5 ジェノタイピングの実例と注意点	94
1 トランスジェニック（遺伝子導入）系統	
2 ノックアウトマウス, ノックインマウス	
3 ゲノム編集を用いて作出された系統	
4 PCR プライマーのデザイン	
V. 微生物モニタリング	98
V-1 微生物モニタリングの意義	99
V-2 感染症の成立過程	99
1 病原体と病原性	2 種差と系統差
3 感染経路	4 症状
V-3 微生物モニタリングの設計	101
1 モニタリング計画の立て方	2 対象微生物の選定
3 免疫不全動物の微生物モニタリング	
V-4 検査法と検体	102
1 培養, 鏡検	2 PCR による核酸検出
3 血清学的検査による抗体検出	
V-5 感染症が疑われる個体を発見したら	104
V-6 粪便検体の採取	104

第5章 基本的な実験手法

106

I. 投与法	平川公昭 106
I-1 腹腔内投与法	107
I-2 静脈内投与法	108
I-3 経口投与法	109
I-4 皮下投与法	110
I-5 筋肉内投与法	111
II. 採血法	平川公昭 112
II-1 マウス・ラットの腹大動脈採血（全採血）	112
II-2 マウス・ラットの尾静脈採血（一部採血）	113
II-3 マウス・ラットの外頸静脈採血（一部採血）	114
III. 麻酔法	平川公昭 115
III-1 全身麻酔の種類	115
III-2 腹腔内投与による全身麻酔	115
III-3 吸入による全身麻酔	116
IV. 解剖法	平川公昭 117
V. 分子生物学的手法	庫本高志 124
V-1 ゲノムDNAの精製	124
V-2 トータルRNAの抽出	127
V-3 タンパク質の抽出	130

I. マウス・ラットでできること	136
I-1 実験をはじめる前に	北田一博 136
① マウス・ラットを用いて、どのような実験ができるか	
② 週齢に応じてできる実験の種類	
I-2 初代培養	庫本高志 139
I-3 <i>in vivo</i> イメージング	庫本高志 140
I-4 移植実験	石田紗恵子 141
① 細胞移植実験	② 臓器移植実験
③ 免疫不全動物	
I-5 発がん実験	庫本高志 143
I-6 抗体作製法	北田一博 145
I-7 行動解析	石田紗恵子 148
① オープンフィールド試験	② Y字型迷路試験
③ 8方向放射状迷路試験	④ モリス水迷路試験
⑤ ロータロッド試験	
II. トランスジェニックマウス（ラット）・遺伝子ターゲティングマウス作出	後藤元人, 高橋利一 151
II-1 トランスジェニックマウス（ラット）の作出	151
① トランスジェニックマウス（ラット）を利用する目的	
② トランスジェニック（Tg）マウス作出手順	
③ 組換えBACクローンを利用したアプローチによるTgマウス（ラット）の確実な作出	
II-2 遺伝子ターゲティングマウスの作出	156
① 遺伝子ターゲティングマウスを利用する目的	
② 遺伝子ターゲティングマウス作出手順	
II-3 トランスジェニックマウス, 遺伝子ターゲティングマウスの使用上の注意	159
III. ゲノム編集を用いた遺伝子改変マウス・ラットの作製	吉見一人, 真下知士 160
III-1 ゲノム編集の原理	160
III-2 受精卵でのゲノム編集	160
III-3 Cas9およびgRNAの入手, 設計	161
① Cas9	② gRNA
III-4 ノックイン用ドナーDNAの設計, 調製	162
① 一本鎖オリゴDNA (ssODN)	② 長鎖一本鎖DNA (lssDNA)
③ ドナーブラスミド	
III-5 受精卵への導入法	164
① 受精卵の準備	② Cas9タンパク質およびgRNAの導入
③ 偽妊娠雌マウス・ラットへの移植	④ 遺伝子改変個体の遺伝子型解析
III-6 遺伝子改変動物作製支援	170
IV. 便利なデータベース紹介とその使用法	吉見一人, 真下知士 171
IV-1 マウス系統を検索する	171
① IMSR (世界中のマウス系統を検索できる便利なサイト)	
② 理化学研究所バイオリソース研究センター (国内マウス系統の検索)	
IV-2 ラット系統を検索する	174
① RGD (世界のラット系統の検索)	
② ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」 (NBRP-Rat)	
IV-3 マウス・ラットの遺伝子情報を調べる	176



V. 便利な受託機関紹介とその使用法	吉見一人, 真下知士	180
V-1 マウス・ラットを胚／精子で凍結保存する		180
V-2 マウス・ラットの微生物検査（モニタリング）を依頼する		182
V-3 マウスの特性解析を依頼する		184
付録① コピーして使える便利な付録		188
① ケージラベル	② 飼育管理日誌	
③ 解剖用「臓器取り忘れ防止シート」		
付録② マウス・ラット実験の便利な資料集	渡邊歩美, 庫本高志	191
① マウス・ラットの特徴比較	② マウス系統の特徴	
③ ラット系統の特徴	④ 動物実験関連業者	
付録③ トラブルシューティング		195
索引		202