



改訂 マウス・ラット 実験ノート

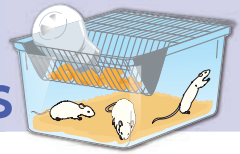


改訂版の発刊にあたり	中釜 斉
初版 序	中釜 斉

第1章 マウス・ラットを用いた実験をはじめるとにあって

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	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	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	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	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

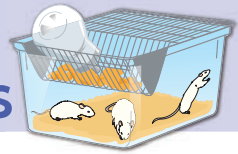
I. 飼育・管理と観察の仕方	庫本高志	47
I-1 動物実験に影響を与える因子		47
I-2 SPF領域（バリア領域）への入退室と観察の仕方		47
II. ケージ交換の基本とコツ	庫本高志	52
II-1 注意点と手順		52
III. 安楽死法	庫本高志	55
III-1 心構えと安楽死法の種類		55

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 臍垢（スメア）検査のやり方	4 交配
5 プラグ（臍栓）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. ジェノタイピング（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



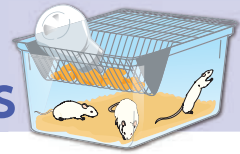
IV-5	ジェノタイピングの実例と注意点	94
	1 トランスジェニック（遺伝子導入）系統	2 ノックアウトマウス, ノックインマウス
	3 ゲノム編集を用いて作出された系統	4 PCRプライマーのデザイン
V.	微生物モニタリング	98
V-1	微生物モニタリングの意義	99
V-2	感染症の成立過程	99
	1 病原体と病原性	2 種差と系統差
	3 感染経路	4 症状
V-3	微生物モニタリングの設計	101
	1 モニタリング計画の立て方	2 対象微生物の選定
	3 免疫不全動物の微生物モニタリング	
V-4	検査法と検体	102
	1 培養, 鏡検	2 PCRによる核酸検出
	3 血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	糞便検体の採取	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 ドナープラスミド	
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	北田一博	195
索引		202