

# マウス・ラット 実験ノート

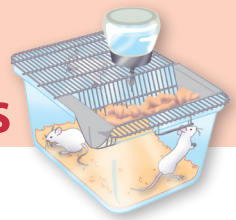


序	中釜 斉
---	------

## 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

1. マウス・ラットを用いた実験	14	
1-1 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	
1-2 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	
1-3 マウス・ラットを用いた実験の種類と流れ	17	
2. 動物実験で結果を出すためのノウハウ	19	
2-1 事前に実験計画を練り抜く	19	
2-2 マウス・ラットの都合に合わせる	20	
2-3 動物実験手技を洗練させる	21	
3. マウス・ラット実験の倫理的・法的規制	21	
3-1 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
3-2 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律
4. 種・系統の選択法	26	
4-1 マウスかラットか	26	
4-2 マウス系統の選択	27	
4-3 ラット系統の選択	27	
5. マウス・ラットの入手方法	29	
5-1 業者から購入可能なもの	29	
5-2 国内のリソースセンターから分与してもらうもの	29	



5-3 国外のリソースセンターから分与してもらうもの	30
5-4 研究者に分与してもらうもの	31

## 第2章 基礎知識・取り扱い方

落合雅子, 中釜 斉 33

<b>1. 飼育・実験に必要な基礎知識</b>	33
1-1 生物学的特性	33
1 マウス, ラットは夜行性	2 繁殖・寿命
1-2 導入前の基礎知識	34
1 動物導入までの主な手続き	2 感染について
1-3 導入時の基礎知識	35
<b>2. 保定法</b>	36
2-1 手による保定	37
1 マウス	2 ラット
2-2 器具を使用する保定法	38
2-3 逃げられたら	39
<b>3. 個体識別（マーキング）法</b>	40
3-1 永久的個体識別法	40
1 麻酔について	2 2～6匹までの識別
3 番号による識別	4 ラットの場合の9匹までの識別
3-2 暫定的個体識別法	43
3-3 その他の永久的個体識別法	44

## 第3章 研究のための飼育・管理の仕方

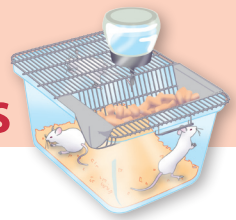
45

<b>1. 飼育・管理と観察の仕方</b>	庫本高志	45
1-1 動物実験に影響を与える因子		45
1-2 SPF 領域（バリア領域）への入退室と観察の仕方		45
<b>2. ケージ交換の基本とコツ</b>	庫本高志	50
2-1 注意点と手順		50
<b>3. 安楽死法</b>	庫本高志	53
3-1 心構えと安楽死法の種類		53
3-2 麻酔下での頸椎脱臼法		54
3-3 炭酸ガスによる窒息		55

<b>4. 死体処理の仕方</b>	庫本高志	56
4-1 心構えと処理の実際		56
<b>5. 胚（2細胞期胚）や精子の超低温保存法</b>	滝澤明子, 庫本高志	57
5-1 マウス・ラットの2細胞期胚の保存方法		58
5-2 マウス精子凍結保存方法		63

## 第4章 研究のための繁殖・交配 目加田和之, 中田初美, 吉木 淳 67

<b>1. 繁殖・交配の基礎知識と方法</b>	67
1-1 動物を導入する前に	67
1-2 マウス・ラットの性周期と繁殖	67
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <b>1</b> 雌雄判別法  <b>3</b> 膣垢（スメア）検査のやり方  <b>5</b> プラグ（膣栓）確認のやり方  <b>7</b> 分娩 </div> <div> <b>2</b> 性成熟  <b>4</b> 交配  <b>6</b> 妊娠と妊娠時の世話  <b>8</b> 哺乳・離乳 </div> </div>	
<b>2. 系統維持に必要な知識と交配方法</b>	72
2-1 代表的な系統の種類	72
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <b>1</b> 近交系  <b>3</b> コンジェニック系  <b>5</b> クローズドコロニー </div> <div> <b>2</b> リコンビナント近交系  <b>4</b> ミュータント系 </div> </div>	
2-2 交配方法	76
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <b>1</b> 兄妹交配  <b>3</b> スピードコンジェニック法  <b>5</b> 不妊ノックアウト・ミュータント系統の維持方法 </div> <div> <b>2</b> 戻し交配  <b>4</b> 交雑  <b>6</b> 検定交配 </div> </div>	
<b>3. 系統の維持の仕方と研究のための繁殖計画</b>	78
3-1 系統維持のための個体管理法	78
■ 記録の重要性	
3-2 研究のための繁殖計画	79
■ 繁殖のための計算式	
<b>4. ジェノタイピング（遺伝子型の判定法）</b>	79
4-1 DNAの抽出（マウス・ラット組織からのゲノムDNA精製）	80
4-2 PCR反応	82
4-3 アガロースゲルの作製	83
4-4 電気泳動と染色	85
4-5 ジェノタイピングの実例と注意点	86
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <b>1</b> トランスジェニック（遺伝子導入）系統  <b>3</b> 自分でPCRプライマーをデザインする </div> <div> <b>2</b> ノックアウトマウス </div> </div>	



## 第5章 基本的な実験手法

90

<b>1. 投与法</b>	平川公昭	90
1-1 腹腔内投与法		90
1-2 静脈内投与		92
1-3 経口投与法		93
1-4 皮下投与法		94
<b>2. 採血法</b>	平川公昭	95
2-1 マウス・ラットの腹大動脈採血（全採血）		95
2-2 マウス・ラットの尾静脈採血（一部採血）		96
2-3 マウス・ラットの外頸静脈採血（一部採血）		97
<b>3. 麻酔法</b>	平川公昭	98
3-1 全身麻酔の種類		98
3-2 腹腔内投与による全身麻酔		98
3-3 吸入による全身麻酔		100
<b>4. 解剖法</b>	平川公昭	100
<b>5. 分子生物学的手法</b>	庫本高志	106
5-1 ゲノム DNA の精製		107
5-2 トータル RNA の抽出		110
5-3 タンパク質の抽出		113

## 第6章 研究への応用・手法の紹介

119

<b>1. マウス・ラットでできること</b>	北田一博, 庫本高志	119
1-1 実験をはじめる前に		119
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		
1-2 初代培養		121
1-3 <i>in vivo</i> イメージング		123
1-4 移植実験		124
1 臓器移植	2 細胞移植	
3 細胞移植実験で注意すべき点		
1-5 発がん実験		125
1-6 抗体作製法		127
1-7 行動解析		130
1 Y字型迷路試験	2 モリス水迷路試験	
3 放射状迷路試験	4 ロータロッド試験	

<b>2. 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の概略</b>	高橋利一, 塩田 明	132
2-1 トランスジェニックマウス（ラット）の作出		132
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マウス（Tg マウス）を作出する手順の概略		
3 組換えBACクローンを利用した“セミノックイン <sup>®</sup> ”アプローチによるTgマウス（ラット）の確実な作出		
2-2 遺伝子ターゲティングマウスの作出		137
1 遺伝子ターゲティングマウスを作出する際のポイント		
2 遺伝子ターゲティングマウスを作出する手順		
2-3 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		139
<b>3. 便利なデータベース紹介とその使用法</b>	真下知士	139
3-1 マウス系統を検索する		139
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センター（国内マウス系統の検索）		
3-2 ラット系統を検索する		142
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）		
3-3 マウス・ラットの遺伝子情報を調べる		144
<b>4. 便利な受託機関紹介とその使用法</b>	真下知士	148
4-1 マウス・ラットを胚／精子で凍結保存する		148
4-2 マウス・ラットの微生物検査（モニタリング）を依頼する		150
4-3 マウスの特性解析を依頼する		151
<b>付録① コピーして使える便利な付録</b>		156
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」		
<b>付録② トラブルシューティング</b>	北田一博	159
<b>索引</b>		166

