

行動実験用マウスの準備方法

2014/04/10 版

【行動実験に必要なマウスの数】

私たちの研究室では、コントロール群（普通は野生型のオス）約 20 匹、実験群（普通はホモのノックアウトマウスのオス）約 20 匹を最初の網羅的スクリーニングに使用することにしています（このグループを 1st batch と呼びます）。経験上、これだけの数があれば、差があるものであれば統計的な有意差がでますし、なければなりません。少ない匹数ですと、2～3匹のはずれ値を持つマウスの存在によって、あるはずの差がマスクされてしまったり、無いはずの差が見た目に出てしまったりします。20 匹をそろえるのが難しくても、できるだけ 15 匹以上はそろえるようにしてください。1st batch で得られた結果によっては 2nd batch のマウスで実験を行います。例えば、p 値が微妙な場合 ($0.01 < p < 0.10$) の場合、本当は小さいが確かな差があるのかもしれないし、あるいはただのアーチファクトかもしれません。また、別の実験を行うことによって特定の仮説を検証する必要が出てくるかもしれません。従いまして、2nd batch 用のマウスを用意するため、1st batch を作製した親のマウスはオス・メスを分離してとっておくことをお勧めしています（「行動実験用マウスの準備」の項を参照）。

【オス・メスについて】

私たちの研究室では、実験には特別な理由がないかぎりオスを使用することにしています。この理由は、1) オスとメスで行動の特性が異なることが普通で、データを合わせて統計にかけることに問題があり、必要な N の数が 2 倍近くに増えてしまい飼育ケージ数が増え実験に長い時間がかかってしまうことと、2) 装置や飼育ラックに残ったメスの臭いによって、オスの行動が影響されてしまうことを防ぐ、等の理由からです。

【ヘテロの雌マウス 40 匹の作成方法】

1 ケージにヘテロの雄 1 匹とバックグラウンドの雌 4 匹を一緒に入れます*¹。これを 8 セット作り、合計 8 匹の雄と 32 匹の雌を掛け合わせます*²。C57BL/6J の場合、通常 160 匹程度の子供のマウスが得られ、ヘテロの雌マウスが 40 匹程度得られます。

ホモの雄マウスがいる場合、上記の半分の掛け合わせ（ホモの雄マウス 4 匹

とバックグラウンドの雌マウス16匹) を行うことでヘテロの雌マウスが40匹程度得られます。

【行動実験用マウスの準備】

1ケージにヘテロの雄1匹とヘテロの雌4匹を一緒に入れます。これを10セット作り、合計10匹の雄と40匹の雌をヘテロ同士で掛け合わせます^{*3}。C57BL/6Jの場合、通常200匹程度の子供のマウスが得られ、ホモと野生型の雄マウスが20匹ずつ程度得られています。掛け合わせる前に、それらのマウスが9週齢程度になる頃の行動実験室内の飼育室の予約が、空いているか確認をとってください。

25～30日齢で離乳を済ませ、なるべく早い時期に遺伝子型判定を行います。ホモと野生型それぞれ2匹を1ケージに入れて^{*4}合計10ケージ(20ペア)程度セットアップします。最も若いマウスが約9週齢の時に行動実験施設に移動し、1週間慣らした後に行動実験を始めます。都合により移動が遅くなる場合でも、約13週齢になるまでに行動実験施設への移動を済ませることをお勧めします。

【バックグラウンドの系統について】

行動の各種特性はバックグラウンドの系統によって大きく影響を受けます。亜系統間(例えばC57BL/6JとC57BL/6N)でも行動の違いが確認されていますので、バッククロスを行う亜系統にもご注意ください。バックグラウンドの系統に複数の系統が混ざっている場合、最低6世代程度はバッククロスを行って下さい。これについては、場合によっていくつかの対処法がありますので、ご相談下さい。

【必要書類】

施設外からマウスを搬入する際には、予め以下の7つの書類を提出して頂く必要があります。動物実験計画書および遺伝子組み換え生物等実験計画書は承認されるまで時間がかかりますので早めにご用意いただければと思います。何かの微生物について陽性が見られる場合には事前に搬入可能かをご相談ください。

1. 動物実験計画書

2. 遺伝子組み換え生物等実験計画書 (3. の遺伝子地図を添付)
3. 遺伝子組み換えの概要がわかる遺伝子地図
4. 当該マウスが飼育されている飼育室で過去1年間に実施された、
すべての微生物検査成績書 (施設によって搬入基準が異なりますので
担当者にご確認下さい)
5. 実験動物授受のための動物健康及び飼育形態調査レポート
(国動協様式・4号 ;
https://cbsn.neuroinf.jp/modules/xoonips/detail.php?item_id=24645
よりダウンロードしてご使用ください。)
6. 系統動物個体またはその子孫の供与等の計画書
7. 遺伝子組換え生物の移動に係る情報提供書 (第二種使用等)

提出先：

〒444-8585 岡崎市明大寺町字西郷中38
自然科学研究機構 生理学研究所
行動・代謝分子解析センター 行動様式解析室

担当者にメールでお送り下さい。

FAX：0564-55-7727 (FAX のみの提出でも可能です)

【マウスの輸送】

以下の住所にマウスの搬入をお願いします。

〒444-8585 岡崎市明大寺町字西郷中38
自然科学研究機構 生理学研究所
行動・代謝分子解析センター 行動様式解析室

電話番号：0564-55-7727

※注釈

1. 各研究施設で定められた 1 ケージあたりのマウスの匹数を超えないようにしてください。

2. 24 匹の雌を掛け合わせてすべての雌が出産し、ちょうど 40 匹のヘテロ雌が得られた例があります。しかし、少なくとも 28 匹の雌を掛け合わせた方が安全だと思われます。

3. 少なくとも 36 匹の雌を掛け合わせた方が良いと思われます。雌親が子供を食殺する可能性のあるマウスは、40 匹以上の雌マウスを掛け合わせる必要があります。

4. ケージの再編成の際には以下の点を考慮して下さい：

- ・なるべく週齢が離れないこと
- ・なるべく複数のケージのマウスを混在させないこと
- ・耳穴で ID を決めている場合、なるべく耳穴を増やさないこと

また、すべての行動実験に用いるマウスの誕生日がなるべく近いこと（可能であれば 2 週間以内）を考慮に入れて再構成します。

行動実験のとき個体識別が容易にできないと、実験ミスにつながりますので、マウスを搬入される段階では、最終的に、以下のような簡単な耳穴番号表記にお願いします。

(例) マウスを背中側から見て

左耳パンチ穴 1 個と右耳にパンチ穴 2 個のとき → L1R2

