General Health and Neurological Screening (GHNS)

はじめに

テストバッテリーを行う前に、マウスの一般的な健康状態、筋力、神経学的所見をみる。実験者には GHNS を通してマウスの取り扱いに慣れてもらう。また、マウスを実験者に慣らすというハンドリングの意味もある。

実験内容

1ー4：<u>飼育室内で行う</u>

1.	Rectal Temperature	直腸温測定
2.	Body Weight	体重測定
3.	Whisker	ひげの状態
4.	Coat	体毛の状態

5ー11：<u>防音室内で行う</u>

5.	Righting Reflex（RF）	ひっくり返して元に戻るか
6.	Whisker-Twitch（WT）	ひげを触ったときの反応
7.	Ear-Twitch（ET）	耳を触ったときの反応
8.	Reaching	宙づりしたときに前の机に手を伸ばすか
9.	Wire hang test（WH）	逆さにした金網に捕まっていられるか
10.	Grip Strength	握力測定
11.	Key Jangling	鍵束を振る音への反応(聴覚)、痙攣感受性

1ー9 と 10,11 は 2 日に分けて行う。

1 日目：1ー4 が終了後、ケージを防音室に運び、最低 30 分馴化させた後 5ー9 を行う。

2 日目：ケージを防音室に運び、最低 30 分馴化させた後 10, 11 を行う。

実験

実験を行う前に必ずワークシートの記入欄に日付(Date)、時刻(Time)、実験者(Experimenter Name)、気温(Room Temp.)を記入すること。

以下の順番で行っていく。一匹につき 1ー4、5ー11 をそれぞれ通して行う。

1. Rectal Temperature

・ 用意するもの：　直腸温用体温計、ミネラルオイル（PCR で使うような物。1.5ml のチューブに小分けしておく）、測定が終了したマウスを入れる空き

ケージ。

・余計なストレスをかけないよう、飼育室内で素早く測定する。スムーズに測定出来るようにならないとマウスが暴れてしまい体温が上昇してしまう。初心者は本実験の前に必ずテスト用マウスで慣れるまで練習すること。

1) ケージから無作為にマウスをとり出し、金網にしがみ捕まらせておく。<u>個体識別（耳穴の確認等）は測定後に行うこと。</u>

2) しっぽを上に引っ張り、肛門が見えるようにする。写真（→）のように人差し指と親指で尻尾をつまみ、中指で尻尾の付け値を抑えるようにするとよい。それ以外でマウスの身体を触ってしまうとマウスが嫌がり動いてしまう。

3) 体温計の先のプローブにミネラルオイルをつけて、肛門から直腸へプローブを半分以上入れる。通常スムーズに入るので、無理に入れようとしない。ミネラルオイルは各 strain 毎に使い捨てにする。

4) 温度が安定したところで数値をチェック(仮記録)して、マウスの個体情報(耳穴)を確認した後に体重計測のためのカップ(あるいは空きケージ)へ移し、測定値と順番をワークシートに記録する。

注意事項

・体温測定は飼育ラックから 1 ケージずつ出して行う。マウスはラックから出しただけで、興奮し体温が上昇するため、まとめて出さない。

・マウスは追い回すと体温がどんどん上昇するため、シート順通りでなく、選択したものから測定する。

・以上のことから体温測定が遅い順番のマウスの体温が高くなる可能性があるため、体温測定した順番をワークシートに記録しておく。解析時に実験群と統制群で測定の順番に偏りがないかをチェックする。

2. *Body Weight*

・マウスをカップの中に入れて、電子ばかりにのせて体重を測る。マウスは上からカップに入れようとすると抵抗するので、カップを横にして入れる。電子ばかりの数値が安定したところで記録する。

3, 4. *Whisker, Coat*

・ ひげが短くなっていないか、なくなっていないかをチェックする。
・ 体毛がはげていないか、毛並みがきちんと整えられているか等をみる。

1〜4 が終了したマウスは空きケージに入れて待機させる。１ケージ４匹の測定が終了したらものとケージに戻し、飼育ラックに入れ、次に測定するケージを用意する。

5〜8. *Neurological Screening*

・ 用意するもの： 金網、綿棒（15 cm 程度）
・ 実験に用いるマウスのケージを防音室に移動させ 30 分馴化させる。

Righting Reflex

- マウスを裏返し、正立反射の有無を見る。通常裏返らないか、すぐに元に戻る。裏返らないか、すぐに元に戻れば正立反射有りとして OK とする。

Whisker Twitch

- マウスを金網（下にキムタオルを敷く）に乗せ、シッポをつまんで引っ張り気味にして、マウスの視界に入らないよう尻尾の方から棒で左右のひげを触る。
- 通常触った方を向く。反応があれば OK とする。
- 棒は綿棒の綿のついていない方の先端を使用する。

Ear Twitch

- Whisker Twitch と同様にマウスの視界に入らないよう尻尾の方から棒で左右の耳を触る。反応があれば OK とする。

Reaching

- マウスの尻尾を持って逆さに吊るし、マウスの顔を机の角へ近づける。通常マウスは手を机に伸ばす。この反応があれば OK とする。反応がなければ、視力障害や触覚 (ひげ) の異常を疑う。

9. *Wire-hang test*

・ 用意するもの： Wire-hang 装置、ストップウォッチ

1) Wire-hang 装置の金網、下の引き出しを次亜水で掃除。
2) 引き出しの中にキムタオルを敷いておく。
3) マウスをケージから取り出し、金網に置く。金網には裏表があるので

注意する。凸凹のない平らな面を使う。

4) マウスが金網の上にいるのを確認して、金網をひっくり返す。金網の縁に手を伸ばしている時にひっくり返すとそのまま手が離れて落ちることがあるので注意する。

5) マウスが金網に捕まっている時間をストップウォッチで測定する。途中でマウスが落ちたらそのときの時間を記録する。60 秒できたら「60+」とする。筋力低下が予想されるマウスでは時間を 180 秒に延長してもよい。

10. *Grip Strength*

・用意するもの： Grip Strength 測定器

1) 測定器は滑らないように棚の上に直接置く。

2) 測定器の目盛りを 0 に戻す。

3) しっぽをつかんだ状態でマウスを片手に乗せる。

4) 網の部分に両前肢だけを引っ掛け、しっぽだけを持って後肢を宙に浮かせた状態にする（写真→）。

5) しっぽを軽く引っ張ると、マウスは逃げようとして前肢で網を引っ張る。3 回か引っ張らせて、目盛りが一番大きくふれたときを記録する。

- 後肢を網に引っ掛けさせてはいけない。
- 何回もやらせるとマウスが慣れてしまい、あまり引っ張らなくなってしまうので注意する。

11. *Key Jangling*

・用意するもの： 鍵束

マウスを WH 装置の引き出しにいれ、近くで鍵束をじゃらじゃらと音を立てる。痙攣発作を起こさなければ OK とする。痙攣発作が起きた場合は Seizure と記録する。通常マウスはその音に反応してびくついたり逃げ出したりする。

解析

得られた結果は全てワークシートファイルに入力する。数値の得られる実験(Body Weight, Rectal Temperature, Wire Hang, Grip Strength) に関しては StatView で取り込んで分散分析をする。

得られた数値を DeltaGraph のテンプレートファイルに入力し、グラフを改訂する。エラーバーは標準誤差(Standard Error of Means)を用いる。