

動物生命科学研究センターにおける実験動物の取扱いについて（講義・日本語）
Introduction of how to handle laboratory animals (Lecture in Japanese)

守村 敏史・土屋 英明（動物生命科学研究センター）

Toshifumi Morimura, Hideaki Tsuchiya (Research Center for Animal Life Science)

医学研究用の実験動物使用において、「大学」という機関の特徴はマウスが汎用される点である。また各大学において差はあるが、遺伝子改変・編集マウスの使用が増加しているのも特徴であり、本学も同様の傾向にある。動物生命科学研究センター（以下、動物センター）は、マウスユーザーが最も多いが、その他の各種実験動物、感染実験および遺伝子組換え実験が実施可能である。関連法令、ならびに動物愛護と福祉の観点にたつて策定されている滋賀医科大学動物実験規程を遵守し、実施していただきたい。

動物センターに導入される実験動物は微生物学的検査の結果が明らかでなければならない。汚染動物が導入されると、他の動物に汚染を拡げ、たとえ非病原性の病原体であっても、免疫学的な挙動の変化が実験結果に影響を与えることがある。重篤なアウトブレイクは、飼育室あるいは施設単位での淘汰を余儀なくされる。最近では多くの系統の遺伝子改変マウスが、実験動物繁殖業者ではなく、大学等の研究機関から導入されることが多く、後者には微生物学的統御の貧弱な機関もあり、注意を払わなければならない。

現在、動物センターのマウス飼育室はすべて遺伝子組換え P1A の封じ込めを施している。さらに感染実験室として、げっ歯類で ABSL2 と 3 レベルを各 1 室、サル類用で ABSL2 を 1 室と ABSL3 を 2 室備えてあり、それぞれ P2A および P3A の実験も可能となっている。

遺伝子組換え動物が指定エリア外へ逸走、逸走措置を講じずにエリア外にいる状態は法に触れることになるので注意していただきたい。特にマウスのケージ交換の際、胎子が床敷きに紛れていないかなど、注意して確認いただきたい。

平成 24 年に「動物の愛護及び管理に関する法律」が改正され平成 25 年 10 月に施行された。これに伴い動物実験の 3Rs は厳格化され、すべての動物実験において、より適正な遂行と事務手続きが求められるようになった。動物への苦痛軽減には、適切な取扱い方法を身につけるとともに、適切な麻酔方法が必要とされる。本講義では、飼育室への入退室から、ケージ交換、個体識別法、雌雄鑑別法、繁殖法、麻酔法、投与法、採血法に至るまでの基礎的な手技に関して、当センターで作成したビデオを使用して詳しく説明する。その他、微生物学的基準、遺伝子組換えマウスを扱う際の注意点について説明する。

The use of laboratory mice including gene-modified or edited ones is a major characteristic in “Universities” of laboratory animal science in Japan. In our university, feeding number of mice is also increasing every year. On the other hand, we prepare breeding rooms not only for various laboratory animal species, but also infectious and gene-modified animal rooms. As for handling laboratory animals in RCALS, we would like to ask every user to be followed a Japanese law for animal welfare and gene-modification, and a rule for the animal experimentations in institutional animal care and use committee (IACUC) of SUMS.

RCALS could accept certified laboratory animals that are examined with microbiological profiles, because contaminated-animals have a possibility to spread the infectious organisms to other animals housed already in RCALS. We should also take care for some non-pathogenic micro-organisms, because they might affect to the immunological event in any animal strains,

e.g. immunodeficiency strains. If it happens to severe outbreak by pathogenic micro-organism, we will decide euthanasia for all animals in the breeding room of RCALS. Recently, there are so many cases that the gene-modified mice are moved from other universities or national institutes, but not from commercial breeding companies. Some laboratory animal facilities in universities or national institutes are very poor for microbiological controls. We should also take care for the cases, when mice are provided from that like universities or national institutes.

All breeding rooms for mice in RCALS are confined by P1A shield. Furthermore, there are infectious laboratory animal rooms for P2A / ABSL2 and P3A / ABSL3 (rodents and nonhuman primates) in RCALS.

If gene-modified animals are escaped to outside of shielded areas as P1A to P3A, our university will be penalized from the Japanese government based on Cartagena law. Especially in the case for gene-modified mice, please take care for not to leave neonate mice in old cages, when users try to change from old to new cages at the rearing period.

A Japanese law, “Act on Welfare and Management of Animals”, was improved on 2013. The 3Rs policy on animal experimentations was made stricter, and then all users was also required to follow strictly the law. To decrease the pain in the examined animals, we should practice precise technique for handling animals and anesthetic or analgesic methods. In this lecture, we will introduce precise procedures, e.g. how to enter and exit RCALS, to renew animals’ cages, to identify individuals examined, to differentiate female or male, to perform anesthesia, to administer any agents, and to collect samples. In addition to it, we will explain some attentions about biosafety and gene-modified shields.

Handling of experimental animal (mouse, rat and rabbit)



実験動物の取扱手技
(マウス、ラットおよびウサギについて)



Research Center for Animal Life Science
動物生命科学センター

Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

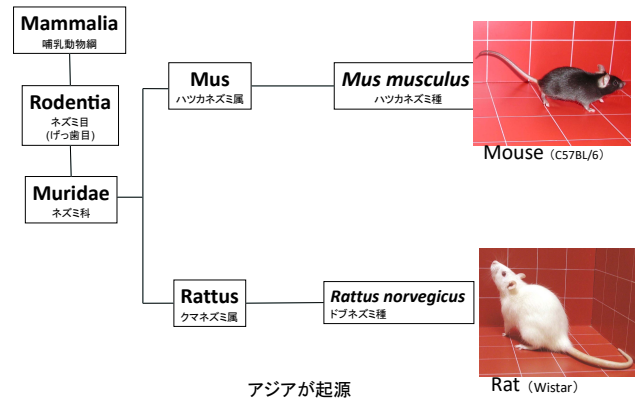
3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

Genealogical tree of Mouse and Rat

マウス、ラットについて



Character (mouse)

マウスの特徴



● Most frequently used animal in experiment

実験動物の中で最も多く使用されている

理由: 1) 小型、飼育スペースをあまり必要としない、2) 飼育管理や実験処置が容易、3) 世代期間が短く、産子数が多い、4) 成熟が早く寿命が短い、生涯にわたる実験に有利、5) 多くの近交系、ミュータント系、疾患モデルが樹立されている、6) 遺伝的背景が明確で、遺伝子の塩基配列が明らかになっている、7) 遺伝子操作技術、クローン技術等が確立されている

使用分野

Safety test 安全性試験、Genetics 遺伝学、Microbiology 微生物学、Oncology 腫瘍学、Pharmacology 薬理学、Embryology 発生学、Developmental engineering 発生工学、Regenerative medicine 再生医学

● The production of various transgenic mice is possible

遺伝子改変動物が多く作出されている

Character (Rat)

ラットの特徴



● It is very similar to a mouse in shape but is much bigger than mouse.

マウスに比べ体が大きいぶん、血液やその他の生体材料を得やすく、外科手術にも十分利用できる
It is easy to get blood and other materials and is available enough for surgery.

使用分野

栄養学、繁殖生理学、薬理学、生化学、免疫学、内分泌学、歯学、行動・心理学、腫瘍学、毒性学

● Not have gallbladder (胆のうが無い)

クローズドコロニーが多く使われている
近交系も400系以上

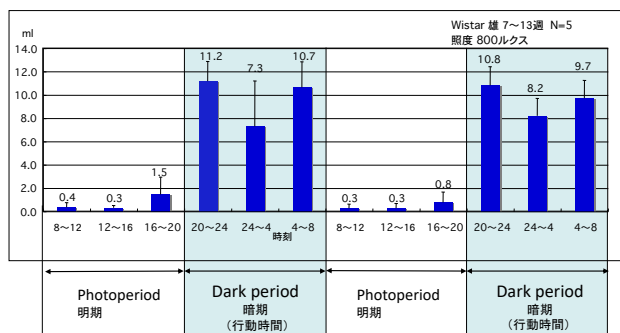
General physiology properties

	Mouse (Nocturnal)	Rat (Nocturnal)
weight of adult(g)		
female	20~40	200~400
male	25~40	300~700
Length(cm)	7	15~20
Tail length(cm)	7	15~20
Lifespan (year)	2~3	2~3
Body temperature (°C)	36.5~38.5	37.5~38.5
Water intake (ml/day)	6	35
Food intake (g/day)	4~6	12~15

General physiology properties

	Mouse (Nocturnal)	Rat (Nocturnal)
weight of adult(g)		
female	20~40	200~400
male	25~40	300~700
Length(cm)	7	15~20
Tail length(cm)	7	15~20
Lifespan (year)	2~3	2~3
Body temperature (°C)	36.5~38.5	37.5~38.5
Water intake (ml/day)	6	35
Food intake (g/day)	4~6	12~15

Circadian rhythms of water intake in male rat



(1985) Exp.Anim.,34:57-62

Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

Entrance to rodent room

- Entrance to the RCLAS センターへの入室
- Entrance to each animal room 各飼育区域
 - BS area
 - 2F SPF area
 - 3F SPF area

動物生命科学センター

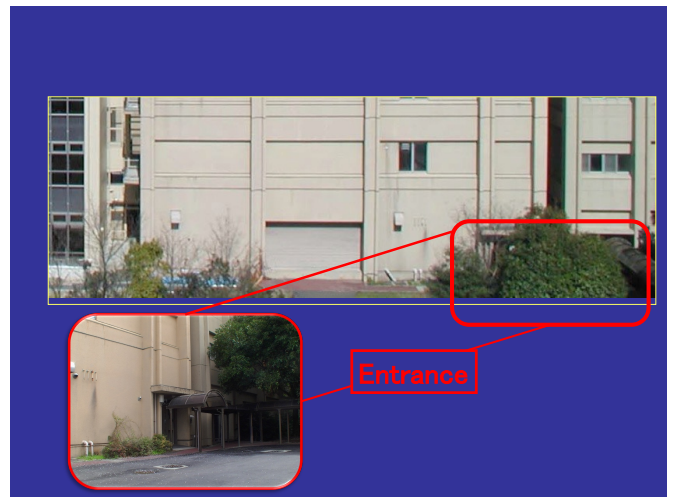


Entrance to the RCLAS

センターへの入館

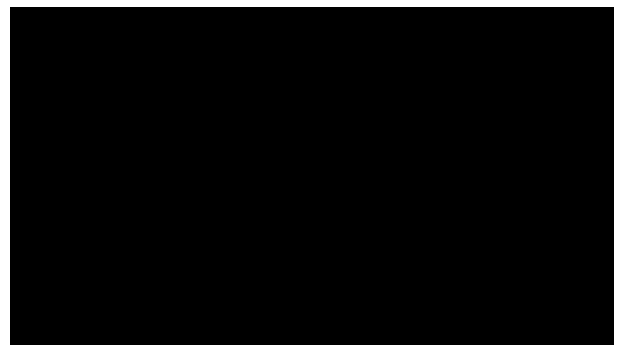


Entrance for User



Entrance to the RCLAS

「遺伝子組換え生物(小型げっ歯類)の拡散防止措置に伴うP1A管理区域の拡大について」のご案内



2F SPF Area

Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

Cage exchange

ケージ交換

- Breeding device for Radentsマウス、ラット用飼育装置
- Removal of cage from rack(breeding device)ケージの取り出し
- Rat cage exchangeラットのケージ交換
- Mouse cage exchangeマウスのケージ交換
- Setting to breeding device飼育装置への設置

Breeding device for Rodents

マウス・ラット用飼育装置



前面扉排気型



跳ね上げ扉型



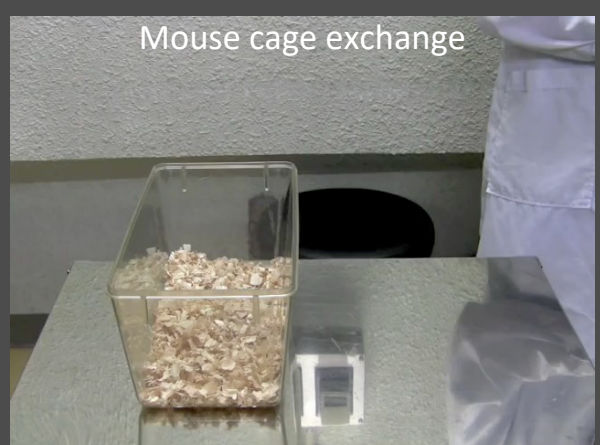
エアカーテン型

Removal of cage from rack (breeding device)

ケージの取り出し



Mouse cage exchange



Rat cage exchange



Prevention of water leak accident

(漏水により実験中の動物が死亡する可能性もある)

- Water supply equipment with coil spring flip-up

スプリング跳ね上げ式給水装置

実用新案登録

給水装置の取扱い不備による漏水を防止できる。
全ての飼育装置に設置。

- Otherその他防止方法

ケージ交換の際等に必ず給水ノズルの確認を必ず行う

- ・水が出ているか
- ・水が出たままになっていないか
- ・少しでもおかしいと感じた場合は、センター職員に連絡する

(連絡がつかない場合は、他の場所を利用するか、給水瓶を使用する)



Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- **Individual identification** 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

Individual identification method

暫定的方法

• Dye coating (plorio acid)

色素塗布法



1~3ヶ月間
判別可能

• 毛刈り Clipping

7~10日間判別可能



ケージに付けたラベルによる識別と併用

永久的方法

• Ear punch(ing)

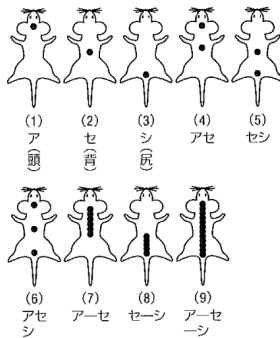


- イヤータグ Ear tag
- 入墨 Tattoo
- ICチップ IC tip

Dye coating 色素塗布法による個体識別

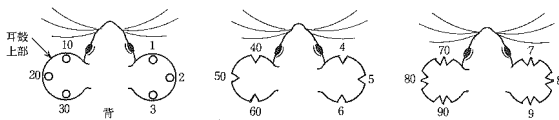


色素: 動物専用マーカー

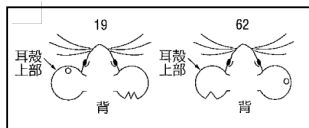


Individual identification by ear punch(ing)

耳パンチ法による個体識別



例



Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- **Sexing** 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website センターのホームページ

Sexing 雌雄鑑別法

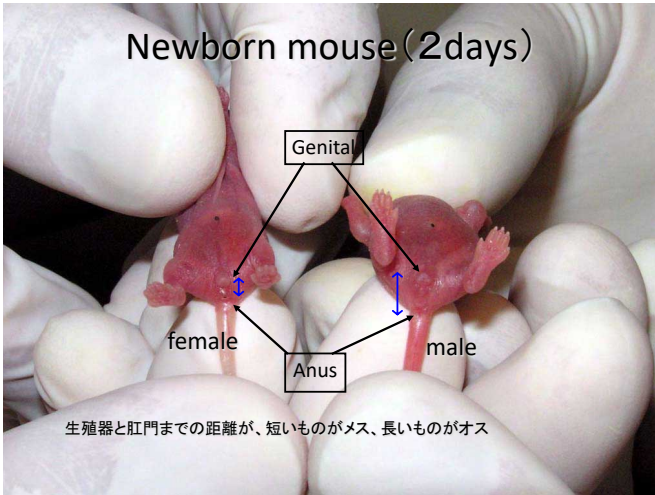
• Newborn 新生個体



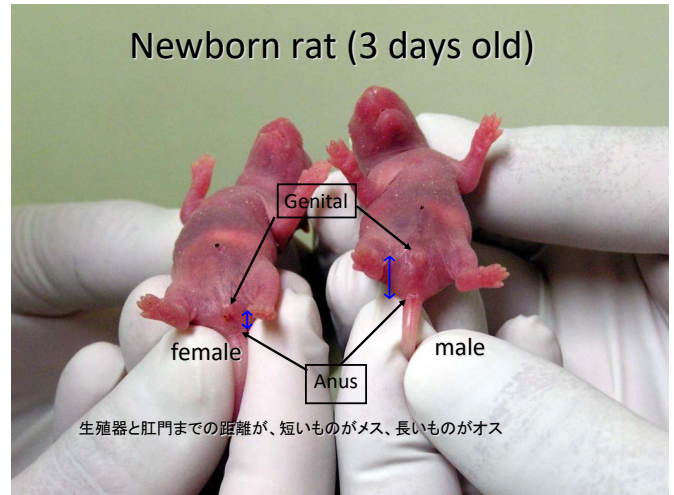
• Adult 成熟個体



Newborn mouse (2 days)



Newborn rat (3 days old)



Adult mouse (10-week old)



- メスの膣口の存在
- オスは陰嚢部の膨らみと陰茎の存在

Adult rat (10-week old)



- メスの膣口の存在
- オスは陰嚢部の膨らみと陰茎の存在

Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- **Breeding method 繁殖に関する手技**
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website センターのホームページ

Technique of Breeding

繁殖に関する手技

- Sexual cycle check 性周期の確認
- Mating 交配
- Mating check 交配の確認

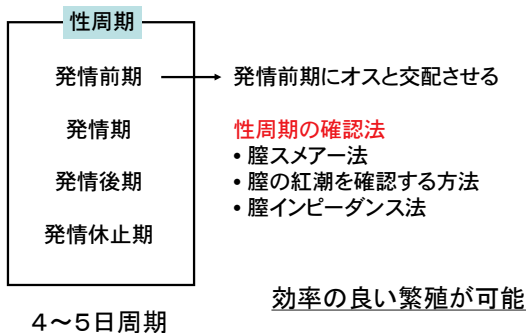
Condition of breeding

	mouse	rat
Sexual cycle (days)	4~5	4~5
Breeding (weeks)	8~10	12~16
Pregnancy (days)	18~21	21~23
Birth weight (g)	0.5~1.5	5
Ablactation (days)	21	21
Ablactation weight (g)	10	40~50

Condition of breeding

	mouse	rat
Sexual cycle (days)	4~5	4~5
Breeding (weeks)	8~10	12~16
Pregnancy (days)	18~21	21~23
Birth weight (g)	0.5~1.5	5
Ablactation (days)	21	21
Ablactation weight (g)	10	40~50

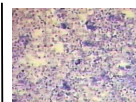
Sexual cycle in Rodents



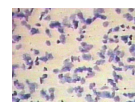
Method of vaginal smear

(膣スメアーの顕微鏡像)

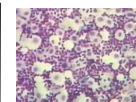
・膣の粘膜組織の変化による、性周期の判定法。スポイト、綿棒などで、膣スメアーを採取しギムザ染色後検鏡。



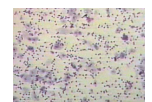
Proestrus
発情前期
(9~18時間)
有核上皮細胞がほとんど



Estrus
発情期
(21~23時間)
角化細胞のみ



Metestrus
発情後期
(半日~1日)
多数の白血球と有核上皮細胞



Diestrus
発情休止期
(約1日半)
スメアー量が少なく、やや白血球が多い

↓
Mating ♂
オスと交配

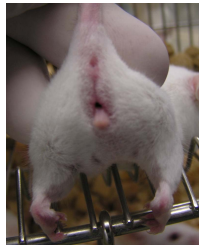
Determination of proestrus cycle phase by vaginal state

膣の状態により(発情前期)を判定

- Check the flush of vagina 膣の紅潮を確認



Proestrus
発情前期

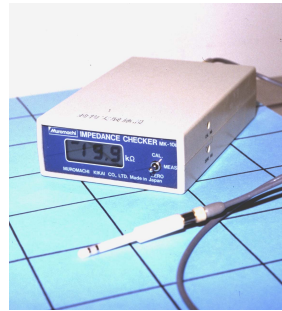


Other

↓
Mating ♂
オスと交配

The Vaginal Impedance Checker

膣インピーダンス法



- 膣粘膜の交流電気抵抗値(インピーダンス)が性周期により変化する
- 膣インピーダンス値が3~4kΩ以上であれば、発情前期と判定
- ラットでは確率が高い

IMPEDANCE CHECKER 膣インピーダンスチェッカー

Mating check

交配の確認

Mating

- > Until next morning with male(♂)
交配はオスと翌朝まで同居させる

Plug check in mouse マウスの膣栓確認

- > Next morning, check the plug of a female mouse 交配翌日の朝にメスマウスの膣を確認する。



Plug (+)



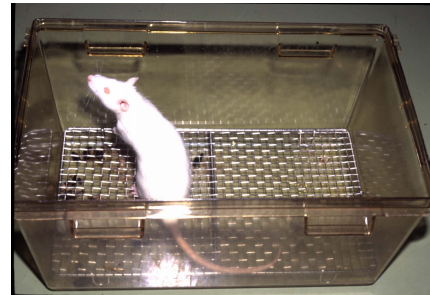
Plug (+)



Plug (-)

Rat breeding using bottom mesh cage

網ケージを用いたラットの交配



- A rat plug drops immediately

ラットは膣栓がすぐに落下する

- Check the dropped plug in the bottom mesh cage 膣栓を確認するため網ケージに入れ

Rat Plug

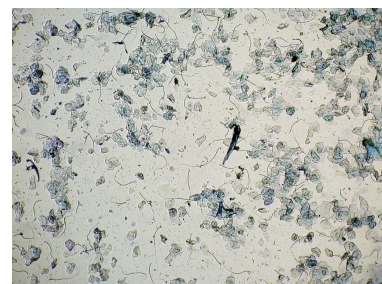
プラグ (膣栓)



Check spermatozoa in vagina

膣内の精子を確認

膣スメアーを採取して精子を確認する



Delivery 分娩

Rodents deliver babies 21 days after mating

交配を確認したマウス、ラットはその後約21日で分娩する。

- Pregnancy check the size of the abdomen at 13 days 13日目ごろには腹部の大きさを確認できる
- Not to excite the mother to 2-3 days before deliver 出産前の2~3日は、母親を刺激しない



No cage exchange **X**

ケージ交換等

妊娠した子が少ないと、正常に分娩しない場合が多い

Postpartum oestrus 後分娩発情

分娩終了後に発情が起こる。このときに受精すれば妊娠と哺乳が同時に進み、効率よく繁殖が行われるが、妊娠期間が延長し、母体の消耗も激しいとされる

Growth/Ablactation 子の発育・離乳

- 出生時 体毛は無く、目、耳は開いていない
- 5~6日 耳介展開・毛生
- 12日 開眼
- 15日 飼料を食べる
- 3週 離乳



離乳時には

- 固形飼料、水を摂取できる事を確認
(自動給水での摂水状況に不安がある場合は給水瓶による給水も有効)

Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

Anesthesia 麻酔法

• Injection anesthesia 注射麻酔

Anesthetic

Combination/mixture

Ketamine + Xylazine combination 塩酸ケタミン+塩酸キシラジン 混合
Medetomidine + Midazolam + Butorphanol tartrate combination
塩酸メドミジン+ミダゾラム+酒石酸ブトルファンール混合

• Inhalation anesthesia 吸入麻酔

Anesthetic

Isoflurane イソフルラン
Sevoflurane セボフルラン

Dose

注射麻酔薬の投与量

● Ketamine + Xylazine combination

• 塩酸ケタミン+塩酸キシラジン 混合

Per kg of body weight

Mouse : Ketamine 80-100 mg + Xylazine 10 mg ; for 20-30 min.

Rat : Ketamine 75-100 mg + Xylazine 8 mg ; for 20-30 min.

マウス : 80-100mg + 10mg (腹腔内投与) : 20-30分

ラット : 75-100mg + 8mg (腹腔内投与) : 20-30分

塩酸ケタミン+塩酸キシラジン混合麻酔薬の
投与量(体重1kg)あたり

● Medetomidine + Midazolam + Butorphanol tartrate combination

一般名	塩酸メドミジン	ミダゾラム	酒石酸ブトルファンール	生理食塩水	
商品名	ドミツール	ミダゾラム「サンド」	ベトルファンール		
マウス必要量	0.75 mg/kg	4 mg/kg	5 mg/kg	—	最終液量
必要原液量	1.875 ml	2 ml	2.5 ml	18.625 ml	25ml
濃度	7.5 μg	40 μg	50 μg	—	/100 μl

Inhalation anesthesia

吸入麻酔

Anesthetic

Isoflurane (ISOFLU®) イソフルラン

Sevoflurane (SEVOFRANE®) セボフルラン

麻酔薬 イソフルラン(商品名:イソフル)
セボフルラン(商品名:セボフラン)

Concentration and flow rate (Isoflurane) with face mask

Mouse : 1.5~2.5%、200~400ml/min

Rat : 1.5~2.5%、400~600ml/min



Inhalation anesthesia with face mask

Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

Administration

投与法

- Intraperitoneal administration 腹腔内投与
- Oral administration 経口投与
経口ゾンデ針、飼料や飲水に混合
- Intravenous administration 静脈内投与
caudal vein 尾静脈
- Subcutaneous administration 皮下投与
dorsocervical 頸背部

Intraperitoneal administration

腹腔内投与法

- Needle (23-27G) 注射針
- Syringe 注射筒
- Alcohol swab/antiseptic cotton アルコール綿花



Intraperitoneal administration to mouse



Intraperitoneal administration to rat

Oral administration (by feeding needle)

経口投与(経ロゾンデ針を使用)

• Feeding needle 経ロゾンデ針



For rat (9cm)

For mouse (8cm)

先端約1/4の所を中心に曲げておく

• Syringe 注射筒



Mouse Oral administration



Rat Oral administration

給水瓶と粉末給餌器



飼料や飲水に混合して投与する

Tail vein injection

Intravenous administration

尾静脈投与

• Needle 注射針

Mouse; 27G

Rat ; 25G or 27G

• Syringe 注射筒

• Alcohol swab、Styptic cotton アルコール綿花止血用綿花

• Glass container for animal fixing

専用の保定器または肉厚のガラス容器

Glass container for animal fixing

保定器



単位:cm



Subcutaneous administration

皮下投与

- Needle 注射針 Mouse; 25~27G
Rat ; 23~25
- Syringe 注射筒
- Alcohol swab、Styptic cotton アルコール綿花止血用綿花



Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

Blood collection 採血法

- 一部採血 尾静脈
背中足静脈
(眼窩静脈叢)

- Exsanguination 全採血 心腹後頸 大動脈 大静脈 臓脈 脈

Tail vein blood collection

尾静脈採血

- Needle (23G~25G) or Blade 注射針
- Glass container for animal fixing 専用の保定器または肉厚のガラス容器
- Alcohol swab、Styptic cotton アルコール綿花止血用綿花
- Hematocrit kapillaren ヘマトクリット毛細管



Mouse tail vein blood collection



Rat tail vein blood collection

Heart blood collection

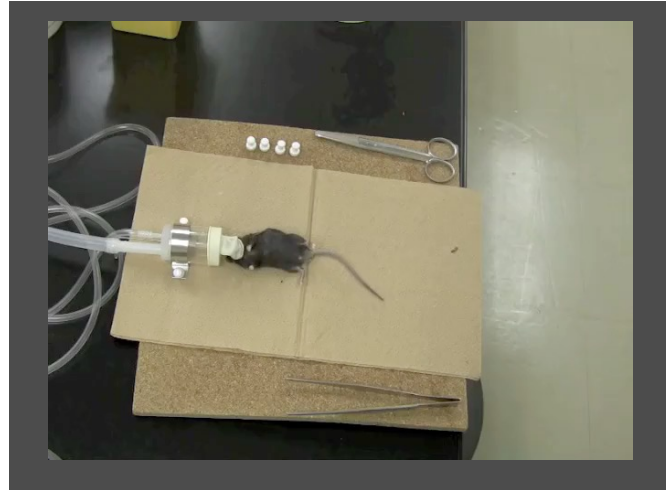
心臓採血

▪ Needle 注射針 Mouse; 22~23G
Rat ; 19~22G

▪ Syringe 注射筒

▪ 小動物用固定台

▪ 剪刀、無鉤ピンセット



Abdominal aorta blood collection

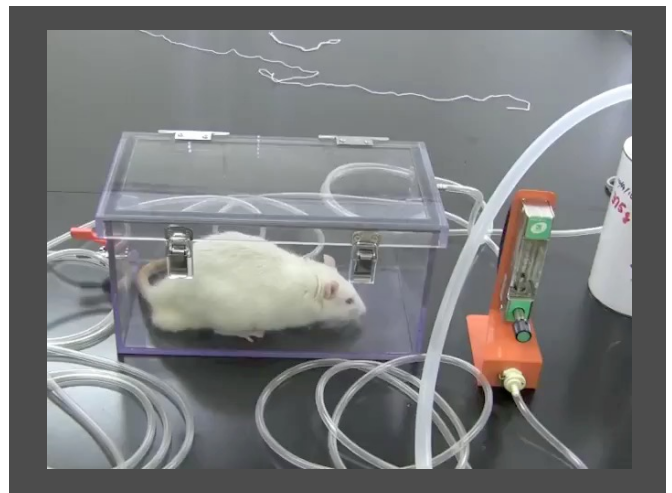
腹大動脈採血

▪ Needle 注射針 Mouse; 22~23G
Rat ; 19~22G

▪ Syringe 注射筒

▪ 小動物用固定台

▪ 剪刀、無鉤ピンセット



Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- **Microorganisms test** 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

Microbiological Testing 微生物検査について

- Microbiological criteria/standard センターに搬入する動物の微生物学的基準
→ センターにマウスやラットを搬入する際に、陰性である必要がある微生物検査項目
- Microbiological testing system in RCALS センターでの微生物検査体制
→ センターで定期的に行っている微生物検査

Microbiological criteria/standard 搬入動物の微生物学的基準

Mouse

◎: 必須 14 項目

Rat

◎: 必須 15 項目

Mouse hepatitis virus (マウス肝炎ウイルス)	◎	Sialodoryodentis virus (SDAV) (唾腺腺腫炎ウイルス)	◎
Sendai virus (HVJ) (センダイウイルス)	◎	Sendai virus (HVJ) (センダイウイルス)	◎
Ectromelia virus (エクトロミアウイルス)	◎	Hanta virus (ハンタウイルス)	◎
Lymphocytic choriomeningitis virus (リンパ球性脳脊髄膜炎ウイルス)	◎	Mycoplasma pulmonis (肺炎マイコプラズマ)	◎
Clostridium piliformis (Tyzzer's organism) (ティザー菌)	◎	Salmonella spp. (サルモネラ菌)	◎
Mycoplasma pulmonis (肺炎マイコプラズマ)	◎	Clostridium piliformis (Tyzzer's organism) (ティザー菌)	◎
Escherichia coli O15 a.c.K10 (大腸菌 O15)	○	Corynebacterium kutscheri (ネズミコリネ菌)	◎
Salmonella spp. (サルモネラ菌)	◎	Bordetella bronchiseptica (気管支炎菌)	◎
Corynebacterium kutscheri (ネズミコリネ菌)	◎	Pasteurella pneumotropica (パストレラ)	◎
Pasteurella pneumotropica (パストレラ)	◎	Streptococcus pneumoniae (肺炎球菌)	◎
Giardia muris (ランブル鞭毛虫)	◎	Giardia muris (ランブル鞭毛虫)	◎
Spironucleus muris (スピロスピラ)	◎	Spironucleus muris (スピロスピラ)	◎
Helminths (parasites) (寄生虫)	◎	Helminths (parasites) (寄生虫)	◎
Mouse rotavirus (EDMV) (マウスロタウイルス)	○	Cilia-associated respiratory (GAR) bacillus (カーバチルス菌)	○
Mouse encephalomyelitis virus (TMEV) (マウス脳脊髄炎ウイルス)	○	Mouse encephalomyelitis virus (TMEV) (マウス脳脊髄炎ウイルス)	○
Pneumonia virus of mice (PVM) (マウス肺炎ウイルス)	◎	Pneumonia virus of mice (PVM) (マウス肺炎ウイルス)	◎
Mouse adenovirus (マウスアデノウイルス)	◎	Mouse adenovirus (マウスアデノウイルス)	◎
Reovirus type 3 (レオウイルス タイプ3)	○	Reovirus type 3 (レオウイルス タイプ3)	○
Cilia-associated respiratory (GAR) bacillus (カーバチルス菌)	○	Rat parvovirus (RNV) (ラットパルボウイルス)	○
Helicobacter hepaticus (ヘリコバクター)	○		
Mouse parvovirus (MPV) (マウスパルボウイルス)	○		

◎: 必須、○: 望まれるが必須ではない

必須項目が陰性でなければ搬入できない

Microbiological testing system in RCALS

センターでの微生物検査体制

微生物学的統御と感染症発生並びに拡散防御を目的

モニター動物 3ヶ月間隔



剖検、抗体検査等微生物検査

剖検 獣医師(2名)

日本実験動物医学会認定実験動物専門医
日本獣医師会認定獣医病理学専門医

技術職員(3名)

実験動物技術指導員、実験動物準指導員
実験動物一級技術者、二級技術者

Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- **Contract service in RCALS** センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

Contract service in RCALS

受託業務

- Cryopreservation of and offspring production from frozen embryo
受精卵の凍結保存、凍結受精卵からの産子作製
- Cleaning (SPF) by embryo transfer
受精卵移植によるクリーニング
- Production of transgenic mouse (mice)
トランスジェニックマウス作製

Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

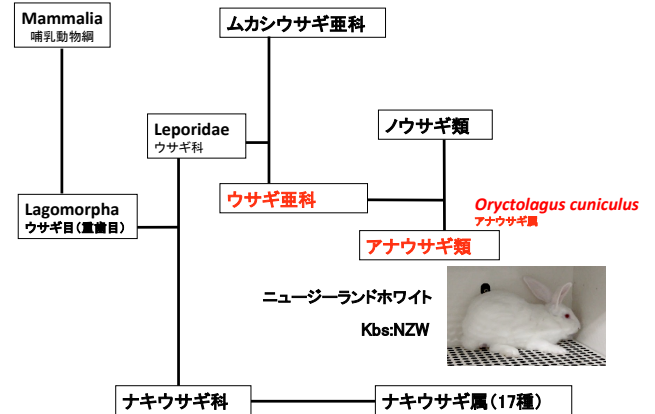
- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

Rabbit ウサギについて



Variety of *Oryctolagus cuniculus* アナウサギの品種

- アンゴラ種、チンチラ種、レックス種 : 毛皮用
- フレミッシュジャイアント種、カリフォルニア種 : 食肉用
- 日本白色種、ニュージーランドホワイト種 : 毛皮・食肉兼用
- ヒマラヤン種、イングリッシュ種、ダッチ種 : 愛玩用

日本白色種: 明治時代の初期に輸入された種々の外来種を交雑して白色外来種が作られ、大正末期から昭和にかけて、NZWとフレミッシュジャイアントを交配して毛質と肉質を改良したもので、わが国では実験用として最も多く使われている。

ニュージーランドホワイト: アメリカで作出された毛皮と食用の兼用種である。ニュージーランドレッドにフレミッシュジャイアントとアンゴラを交配したもので、外国では実験用として最も多く使われている。

実験動物としての使用分野

- 発熱試験:** ヒトに発熱を起こす物質が医薬品のなかに含まれているかどうかを調べる試験
- * 静脈注射がしやすい(耳静脈が太くて明瞭)
 - * 体温が測定しやすい(直腸に体温計を挿入)(体温平均 39.5°C)

免疫血清の作製

- * 抗体の産生がよい

その他

再奇性試験、薬物代謝試験、薬効試験、薬物の毒性試験、皮膚や粘膜に対する薬物作用の研究、インシュリンの検定など

ウサギの一般的生理値

成熟時体重	2.5~5.0kg
出生時体重	40~100g
寿命	7~8年
体温	38.3~40.1°C
摂水量	300~400ml/日
摂餌量	100~150g/日
性成熟	4ヶ月
繁殖適期	雄: 5~6ヶ月、雌: 7~8ヶ月、約3年間
発情周期	3~12日
排卵	交尾刺激
妊娠期間	30~35日(平均31日)
産子数	平均6~8匹
離乳	30~45日

ウサギの一般的生理値

成熟時体重	2.5~5.0kg
出生時体重	40~100g
寿命	7~8年
体温	38.3~40.1°C
摂水量	300~400ml/日
摂餌量	100~150g/日
性成熟	4ヶ月
繁殖適期	雄: 5~6ヶ月、雌: 7~8ヶ月、約3年間
発情周期	3~12日
排卵	交尾刺激
妊娠期間	30~35日(平均31日)
産子数	平均6~8匹
離乳	30~45日

Rabbit breeding device(rack) in RCALS

動物センターウサギ飼育装置



アニコンラック(水溜り方向気流式)

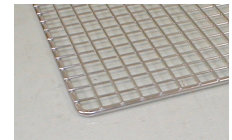


ゼット式水洗ラック

The ANICON cage



材質:FRP
サイズ:300×485×335mm
ステンレススノコ



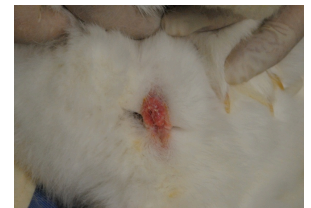
ケージサイズ、スノコの材質に問題



Sexing of adult animals 成熟個体の雌雄判別



Male



Female

陰茎の有無
陰茎と肛門の間隔(広い方がオス)
陰囊の存在

Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device(rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website

センターのホームページ

動物福祉を考慮したイヌ飼育装置

今回、滋賀医科大学動物生命科学研究センターの老朽化したイヌ飼育室を改修するにあたり、イヌの飼育管理において必要不可欠と考えられる、運動および周囲とのコミュニケーションによる動物福祉について考慮したイヌ飼育装置を開発、導入したので紹介する。

1. 運動できるスペースを設けた ケージ配置



- ケージを飼育室の中央に配置
- 周囲に余裕をもったスペース
- 床はエポキシノンスリップ塗装



ペン式ケージ



- 側面板はフェノール樹脂製板またはステンレスメッシュ製板を必要に応じて交換
- 側面板を取り外す事で多頭飼育にも対応
- ケージ内寸：巾1,510mm×奥行1,750mm×高さ1,900mm
- EU実験動物保護指令2010、実験動物の管理と使用に関する指針第8版NRC/ILARに準拠

ケージ外周での運動



- 飼育室内に運動できるスペース
- 容易なケージからの一時的な解放
- 他のイヌとの接触

2. スロープ付きロフト

ケージ内には、巾1,450mm×奥行350mm×高さ570mmのスロープ付きポリプロピレン樹脂製ロフトを備え、三次元的な空間利用ができる構造

ロフトで運動するイヌ



- ケージ内でスロープを上り下りする動運
- 洗浄作業時にはロフトへの避難

作業台としての使用



- ケージ内での観察や処置等の際には作業台として利用可能

3. 馴化トレーニング

ケージの性能を十分に発揮させ、動物福祉に配慮した飼育管理を行うため順化トレーニングを実施

トレーニング内容

1. 飼育担当者がイヌに声をかけてケージ内に入る
2. イヌの体を触りながらリードを取り付ける
3. リードを持ってスロープを昇降するトレーニング
4. ロフト上で静止するトレーニング
5. リードを持ってケージ外周を回るトレーニング
6. リードを外してケージ外周を自由に行動する
7. (この間に担当者はケージ内を洗浄、消毒)
8. イヌをケージ内に戻して給餌

まとめ

これらの構造およびトレーニングを実施することにより、イヌはケージ内でロフトを用いた運動やケージ外周を力強く走る運動を覚え、作業者とのコミュニケーションに適した飼育環境が構築された。

また、イヌがロフト上での静止を覚える事で処置などの作業性が向上した。

以上により動物福祉に配慮したイヌの飼育管理を容易かつ恒常的に行う事が可能になったと考えている。

Overview

1. Rodent (mouse and rat)

- Entrance to animal room 飼育室への入室
- Cage exchange ケージ交換
- Individual identification 個体識別法
- Sexing 雌雄鑑別法
- Breeding method 繁殖に関する手技
- Anesthesia 麻酔法
- Administration 投与方法
- Blood collection 採血法
- Microorganisms test 微生物検査について
- Contract service in RCALS センターでの受託業務

2. Rabbit ウサギについて

- Breeding device (rack) 飼育装置について
- Fixing of animal 保定方法
- Sexing 雌雄鑑別法

3. Dog イヌについて

4. RCALS website センターのホームページ

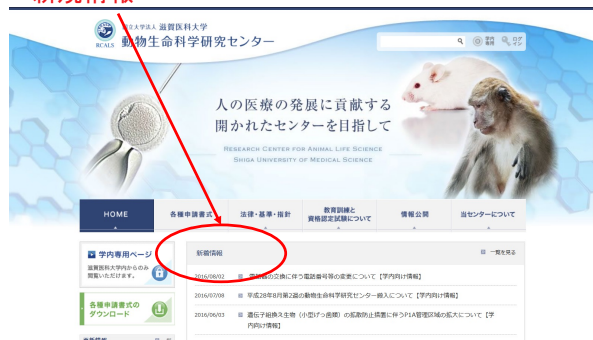
RCALS website 動物生命科学研究センターHP

Organizational Chart
講座・施設



RCALS

New information 新規情報



For inside user

学内ユーザ向け情報



For inside user

学内ユーザ向け情報



Summary

まとめ

センターを利用した動物実験を実施されるにあたり、今回の講習ならびにHPを活用して頂きますようお願いいたします。

不明な点等がありましたら、遠慮なくセンター職員までお問い合わせください。

利用者の皆様の御要望に、可能な限り対応し、より利用しやすいセンターとなるよう努めて参ります。

「遺伝子組換え生物の譲与等にかかる申請書及び情報提供書」にかかる添付書類

病原体安全管理規定による病原体等の取り扱い手続き

「遺伝子組換え生物の譲与等にかかる申請書及び情報提供書」

にかかる添付書類

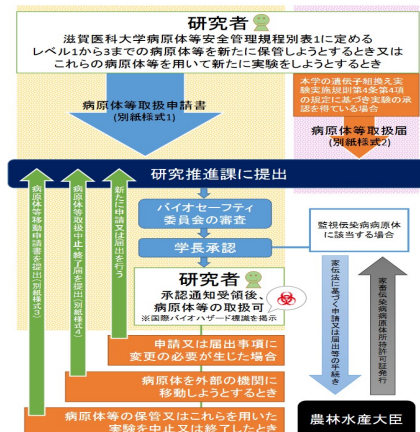
添付書類	区分			譲り受け		購入		輸出
	譲与	提供	委託	国内	国外	国内	国外	
1) 本学の遺伝子組換え実験安全委員会承認	○	○	○	○	○	○	○	○
2) 本学の動物実験委員会承認 (動物の譲与・譲り受け等の場合)	○	○	○	○	○	○	○	○
3) 相手機関の遺伝子組換え実験安全委員会承認	○	○	○	○	注1	/	/	注1
4) 相手機関からの譲与・譲り受け等についての承諾	任意	任意	任意	○	○	/	/	任意
5) 相手先からの情報提供書	/	/	/	○	注2	注2	注2	/

注1) 入手可能な場合 注2) 納品後の提出でもよい

○ …本学から外部への移動

○ …外部から本学への移動

病原体安全管理規定による病原体等の取り扱い手続き



各種実験手続き等に関するお問い合わせ

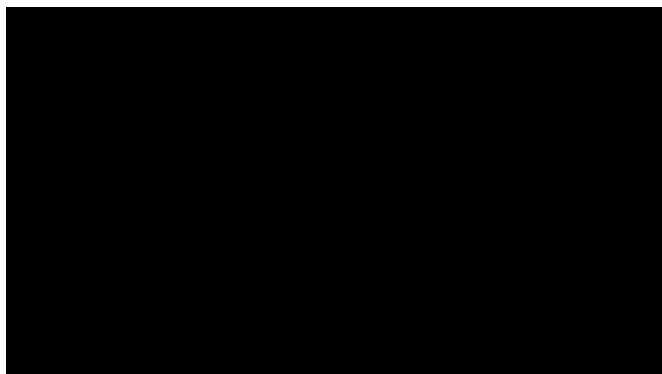
研究推進課研究支援係

TEL: 077-548-2110

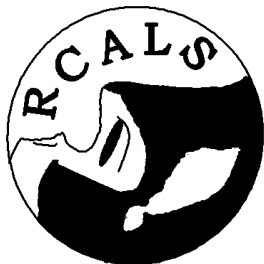
E-mail: hqkenkyu@belle.shiga-med.ac.jp

まるっと滋賀医大-教職員-研究・産学官連携-各種実験手続き

<https://www.shiga-med.ac.jp/research-and-collaboration/support/>



実験動物の取扱手技
(マウス、ラットおよびウサギについて)



動物生命科学センター