

## 行動実験用マウスの準備方法

2017/04/10 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かいていきます（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きます。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\*<sup>1</sup>。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\*<sup>2</sup>。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<sup>\*3</sup>。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<sup>\*4</sup>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、原則として予め以下の7つの書類を本学委員会等に提出する必要があります。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、作成に必要な情報を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. 組み換えDNA実験計画書
3. 遺伝子組み換えの概要がわかる遺伝子情報（7.で代用可能）
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. 飼育形態調査レポート（本学の書式）
6. 実験動物搬入届け（本学の書式）
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）

詳しくは担当者にご確認ください。

提出先： e-mail: [cgbb@fujita-hu.ac.jp](mailto:cgbb@fujita-hu.ac.jp) TEL：0562-93-9383

### 【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。

〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ケ窪1番地98  
藤田保健衛生大学 総合医科学研究所  
「脳関連遺伝子機能の網羅的解析拠点」

### ※注釈

**F** 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。

**G** 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。

**H** 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。

**I** 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

