

LABIO 21

Japanese Society for Laboratory Animal Resources



公益社団法人

日本実験動物協会

Tel. 03-5215-2231 Fax. 03-5215-2232

<http://www.nichidokyo.or.jp/> E-mail: jsla@nichidokyo.or.jp

【特集 教育セミナーフォーラム2023】

新しい分子生物学技術を用いた生体機能解析

【連載特集】

実験動物の再利用について(Ⅲ)



未来に繋げる技術と信頼

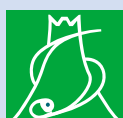


SLCの業務内容

- 生物検定・安全性試験・薬理試験を含む様々な試験に最適な動物の生産・供給。
 - SPF動物 ●疾患モデル動物 ●Tg動物 ●Conventional動物
- ◆安全性試験(非GLP)および薬効薬理試験などの受託サービス。
- ◆トランスジェニックマウス・ラットおよびノックアウトマウスの作製。
- ◆マウス・ラットのSPF化(子宮切断術・受精卵移植)、受託飼育、体外受精および顕微授精技術を用いた希少動物の飼育のお手伝い。
- 臓器摘出モデル動物・痛覚過敏モデル動物・薬物病態モデル動物・カテーテル挿入モデル動物・特殊処置モデル動物などの外科的病態モデル動物の供給。
- PMI社製マウス・ラット・モルモット・ウサギ・新世界ザル・イヌ・フェレット等の飼育飼料の供給。
 - 一般飼育用飼料／**LabDiet** ●特殊飼料／**TestDiet**

PMI社HPアドレス <http://www.labdiet.com> | **LabDiet**の日本語資料は日本エスエルシー(株)へご請求ください。

上記の ■ 項目のお問い合わせは本社各エリア営業専用電話までお問い合わせください。
上記の ◆ 項目のお問い合わせはBTセンターまでお問い合わせください。



SLC

日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市西区湖東町3371番地の8
TEL (053) 486-3178(代) FAX (053) 486-3156
— <http://www.jslc.co.jp/> —

営業専用
T E L 関東エリア(053)486-3155(代)
関西エリア(053)486-3157(代)
九州エリア(0942)41-1656(代)

BTセンター (053)437-5348(代)



絵 石井 朗

イラストレーター

1984年よりイラストレーター及川正通氏のスタジオに所属し、エアブラシによるイラストの作成。2000～2012年まで及川スタジオの依頼でコンピューター作画での情報誌（ぴあ）表紙の制作に携わる。2012年以降は、これ迄に蓄積したコンピューター技術を用いて、イラスト以外にもアニメーション・音楽制作など範囲を拡げて活動している。

エーアイ・イラスト・コンプ社 代表

目 次

巻頭言	第70回日本実験動物学会総会に向けて（杉山文博）	4
巻頭言	日本実験動物技術者協会の理事長就任にあたって（中野洋子）	5
特集	教育セミナーフォーラム2023（テーマ：新しい分子生物学技術を用いた生体機能解析）	
	化学遺伝学・DREADD法と生体機能解析への応用（比嘉なつみ、奥野浩行）	5
	In utero 遺伝子導入法について（田川義晃）	8
	ゲノム編集マウス作製を全て体内で可能な新規法 <i>i</i> -GONAD（佐藤正宏）	10
連載特集	実験動物の再利用について（Ⅲ）	
	ビーグルのRehoming（安倍宏明、石川玄）	13
	研究に使用された動物のリホーミングガイドライン：動物の世話と使用に関する施設と個人向け（James T Pearson）	16
トピックス	「神経科学分野における霊長類を対象とする実験ガイドライン」の目的と解説（中村克樹）	19
	パルスパワーによるアニサキスの不活性化とパルスパワーで処理したアジ肉の品質評価（鬼塚千波里、浪平隆男）	23
私の研究	ゲノム編集による遺伝子改変オポッサムの作製（清成寛）	27
ラボテック	動物実験施設における核酸分解可能な気相式除染システムの導入とその運用（小木曾昇ら）	31
海外文献情報	ハンドリングや実験処置がマウスに及ぼす影響について考える（久和茂）	36
海外散歩	コロナ禍に地球の裏側に行ってみた（その1）（山田章雄）	38
	ほんのひとりと	39
特例認定校の指導方法の紹介（2）	湘央生命科学技術専門学校（花輪俊宏）	41
実験動物技術者試験を受験して（末廣真奈、鹿野貴紗子、犬塚千嘉、山本貴博）		42
日本実験動物学会の動き／日本実験動物技術者協会の動き		44
協会だより		45
KAZE		46

MSRSII

Maximum Safety Research Space

個別換気ケージシステム

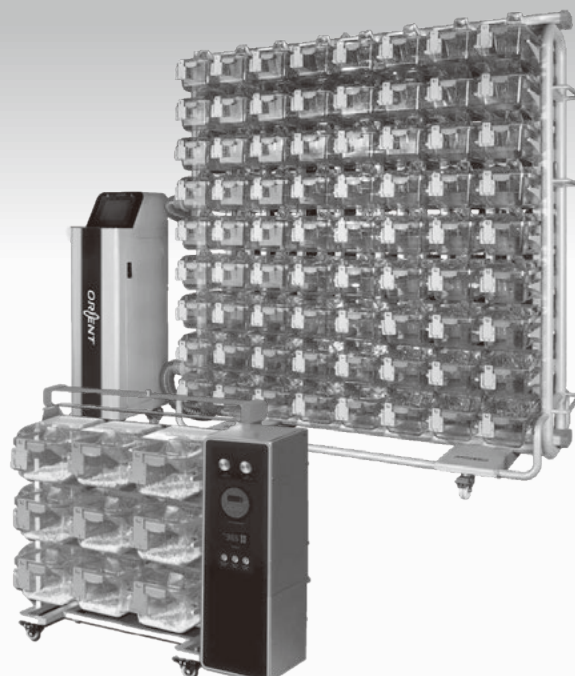
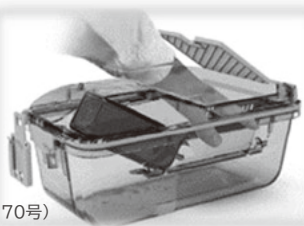
高品質・低価格を実現！

限られたスペースに対応します！

- ◆ ケージカバーを外さずに給餌・給水が可能
- ◆ カーボン及びHEPAフィルター排気により脱臭、
空気汚染を防止
- ◆ ラベルは3色から選択可能
- ◆ ILAR指針対応

Top open Grill

特許登録番号（特許第6431470号）



6ケージ～ 幅広くご用意しております



オリエンタル酵母工業株式会社

バイオ事業本部 リサーチソリューション部

TEL : 03-3968-1192 FAX : 03-3968-4863 <https://www.oyc.co.jp/bio/>

Webサイトは
こちら



第70回 日本実験動物学会総会に向けて

大会長 杉山 文博

(筑波大学生命科学動物資源センター)

このたび、「公益社団法人日本実験動物学会」の定期大会である『第70回日本実験動物学会総会(大会)』を令和5年(2023年)5月24日(水)~26日(金)の3日間、つくば市の「つくば国際会議場」にて開催することとなりました。

つくばでの本大会開催はこれで3回目となります。第41回(今道大会長)、そして第60回大会(小幡大会長)がつくばで開催され、それから10年の節目である第70回大会をつくばで開催できること、たいへん光栄に存じます。第60回大会は人生に例えられ還暦での開催でしたが、本大会は『古希』での開催となり、たいへんめでたく、本学会の益々の発展を祈念し、新たな気持ちで開催にのぞみたいと考えております。

本学会は、実験動物に関わる教育・研究に止まらず、実験動物を用いた最先端医薬品開発・高度医療技術開発、またそれらを支える実験動物の飼育や解析機器の開発から販売まで、幅広い分野の皆様により構成されております。そのような皆様方が一堂に集い、語り合うことにより、本学会の目的である『実験動物学及びその関連領域の進展、普及を図り、もって我が国における学術の進展及び科学技術の振興に寄与』するものと考え、本大会のテーマを「語ろう実

験動物 〜より広く・より深く〜」としました。

一人でも多くの皆さんに本大会に参加いただくため、大会ホームページ(<https://cfmeeting.com/jalas70/>)も一新し、ワイド画面に鮮やかなイラストを掲載することとしました。多様な実験動物と実験手技そして支援が素晴らしい成果を生み革新的な医療に繋がる大会になることを願ったイラストです。ホームページでは遊び心で兎年に因んだ細工も施していますので是非ご覧ください。ポスターも3種類(縦型、横型、英語版)ホームページから入手できますので、関係の皆様への周知にご利用いただけると、嬉しく存じます。英語版は公開の機会も少ないので本頁の下部に載せさせていただきます。

特別講演は2演題(特別講演1:基礎科学の進歩が切り開く新しい

移植医療(中内啓光先生)、特別講演2:遺伝子改変マウスによる新視神経ペプチド産生ニューロンの機能解明(櫻井武先生))、シンポジウムは8枠、LASセミナーは3枠、優秀発表賞セッション、口頭発表(一般)セッション、ポスター発表セッション、8つのランチョンセミナー、6つのホスピタリティールーム、年次総会・学会賞授賞式・受賞講演、情報交換会そして器材展示会と盛りだくさんとなっております。詳細は実験動物ニュース(2023年Vol.72 No.1およびNo.2、<https://www.jalas.jp/info/news.html>)で紹介されておりますので是非ご覧ください。

皆様方のご参加を心よりお待ちしております。

(日動協ホームページ、LABIO 21カラーの資料の欄を参照)



日本実験動物技術者協会の 理事長就任にあたって

一般社団法人日本実験動物技術者協会

理事長 中野 洋子

2022年10月より、一般社団法人日本実験動物技術者協会（実技協）の理事長の任を拝命いたしました、中野洋子（なかのひろこ）と申します。この場をお借りして、関係のみなさまにご挨拶申し上げます。

実技協は、人の健康や福祉につながる科学研究の発展のために避けることのできない動物実験を、洗練された実験技術や適切な実験動物飼育管理などを通じて支える、実験動物技術者を主とする団体です。1966年7月に実験動物技術者懇談会として発足し、1975年4月に日本実験動物技術者協会へと発展的に改称・改組され、2017年には一般社団法人となりました。日本実験動物協会様には、実験動物技術者1級・2級の資格取得の維持、また技術や知識の向上のため各種講習会等の開催をいただき、会員の多くがその活動に支えられておりますことを心より感謝申し上げます。

一般社団法人として7期目を迎える実技協は、先達の方々が培ってきた活動を引継ぎつつ、社会にも目を向けた活動を展開させていく所存です。昨今、動物実験の実施を取り巻く社会環境は、国内外における実験動物に対する福祉的配慮の動向に大きく影響を受けています。実験動物の福祉的配慮を

進めることが、結果として動物実験の再現性のある精度の高いデータ取得につながることも、近年の研究成果から明らかにされてきています。今や実験動物への福祉的配慮は、“愛護の気風の招来”のためだけではなく、科学的データの精度にかかわる重要な取り組みとなっています。

2005年に「動物の愛護及び管理に関する法律」が改正され、動物実験の実施における3Rsの遵守が明記されました。2012年の改正では、5Freedomsの確保が基本原則に盛り込まれ、人間の飼育下にある動物のwelfareは欠くことができないものであるという認識が示され、実験動物の飼育管理等における福祉的配慮の必要性も示されました。

実技協の会員の多くは、職場において実験動物の飼育管理や実験補助業務等に従事し、日々実験動物に接しながら業務を行っています。言い換えると、実験動物に最も近いところから、専門性を生かした福祉的配慮を行える立場にあります。2010年からは、毎年開催される全国大会で“職場における飼育環境の改善や実験動物福祉に関する発展的な技術開発等、実験動物技術者としての創意工夫の評価”と“洗練された専門的技術の創造と開発を行う者の奨励”を目的

として、実験動物福祉奨励賞の表彰を始め、現在も継続実施しています。実験動物たちの息づかいを直に感じながら、業務を通じて行い得る福祉的な取り組みを、実験技術の洗練と5Freedoms確保の両面から継続させていく所存です。

一方、ここ20年間で実験動物技術者等の職場環境は大きく変化しています。動物実験を支える方々の雇用形態が大きく変化し、大学等の正規技術職員の削減や企業における業務の効率化の一環として、飼育管理業務の業務委託化や派遣社員・パートでの起用などが進んでいます。この雇用形態の変化は、実験動物技術者等の知識および技術習得の場の確保にも変化をきたし、求められる専門性の向上や維持、次世代への技術の伝承を困難にする社会的状況を生んでいると感じます。2019年末からはCOVID-19の流行も重なり、これらの知識や技術習得の場を提供するわたしたちの活動形態も見直しが必要となりました。内外からの複雑な状況を乗り越えて、実験動物関連の福祉的な改善に取り組むためには、関係学協会のみなさまとの連携は欠くことができません。引き続きみなさまとともに活動を進めたいと考えておりますので、どうぞよろしくお願い申し上げます。

「新しい分子生物学技術を用いた生体機能解析」

1. 化学遺伝学・DREADD 法と生体機能解析への応用

■比嘉 なつみ、奥野 浩行

鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科
生化学・分子生物学分野

はじめに

生体組織や細胞の生理的機能やその分子機構を明らかにするためには、現象の観察のみでは限界があり、細胞機能や分子シグナル等を抑制あるいは活性化した際の影響を調べて因果関係を検討することが必要である。古典的には、特定の受容体に対する作用薬（アゴニスト）や拮抗薬（アンタゴニスト）を投与した際の細胞・生体応答を調べる薬理学的手法により、さまざまな生理機能の理解が進んできた。一方、分子生物学、遺伝学、発生工学の発展により、個体において特定の分子を特定の組織や細胞で欠損したり、特定の細胞自体を除去したりする方法が次々と開発され、生体における細胞機能や分子シグナルを解析する際の強力なツールとして用いられている。

しかしながら、これらの方法はいくつかの弱点・欠点を含んでいる。例えば、薬剤の特異性や選択性、対象受容体の発現パターンなどによっては、解析対象の組織や細胞以外での影響を考慮する必要があり、結果の解釈が難しくなる。また、遺伝子欠損や細胞除去は基本的に不可逆操作であるため、再現性の確認には新たな実験を行う必要があり、また、欠損に対する代償性応答なども考慮する必要がある。

そこで、これらの弱点を克服した方法の開発が精力的に進められてきた。本講演では、近年特に神経系の研究に広く用いられるようになった“化学遺伝学 (chemogenetics)”と呼ばれる新しい手法についての概説とその応用例について紹介する。なお、ほぼ同時期に開発・発展してきた手法として“光遺伝学 (optogenetics)”があるが、その詳細については割愛する。本稿においては、化学遺伝学と光遺伝学のそれぞれのメリット、デメリットについて簡単な考察を行う。

化学遺伝学：歴史と現在

多種多様な受容体や酵素類を選択的に活性化あるいは阻害する化合物は、基礎研究での利用のみならず、がんをはじめとする様々な疾患に対する治療薬候補となりうる。とくに、ヒトにおいて約 800 種類存在する G タンパク質共役受容体 (GPCR) は様々な生体機能に関わっており、創薬における主要な標的分子群である。GPCR は似たようなリガンドに応答するファミリーを形成していることも多く、選択的なアゴニストの開発が求められていた。

化学遺伝学に関する最初の報告は 1991 年に米製薬企業メルク社の研究所からの論文である^[1]。この報告では、GPCR の一つである $\beta 2$ アドレナリン受容体のリガンド結合部位の一つのアミノ酸に変異を導入したところ、オリジナ

ルの受容体には結合しない化合物によって活性化されるようになった。このことは生理活性を持たない合成リガンドとその化合物にのみ応答する変異型受容体の特異的ペアを自由にデザインできる可能性を示している。その後 2000 年代後半にかけて、オピオイド受容体やセロトニン受容体、ヒスタミン受容体などを用いた変異型 GPCR と合成リガンドのペアがいくつも開発された。このような遺伝子工学を用いた変異型受容体と合成リガンドによる選択的な受容体活性化法を“化学遺伝学”と呼ぶ (図 1)。残念ながら、初期の化学遺伝学ツールの多くは、リガンドの特異性・選択性があまり高くなかったため応用範囲が限られていた。

化学遺伝学が現在の形で広まったのは、米国ノースカロライナ大学ブライアン・ロス教授らの研究室で開発された、ヒト由来ムスカリン型アセチルコリン受容体をもとにした変異型受容体と合成リガンド clozapine-N-oxide (CNO) の組み合わせである designer receptors exclusively activated by designer drugs (DREADDs) の報告以降である^[2]。彼らは Gq タンパク質共役型の Gq-DREADD 分子と Gi タンパク質共役型の Gi-DREADD 分子を開発した。そのうち現在最も広く使われているものは、前者は hM3Dq、後者は hM4Di という変異型受容体であり、いずれも CNO で活性化され

「教育セミナーフォーラム 2023」は、「新しい分子生物学技術を用いた生体機能解析」をテーマとして、3月6日～20日に WEB (ビデオ・オン・デマンド) 形式で開催しました。その講演要旨をもとに再編集し、本号に掲載します。

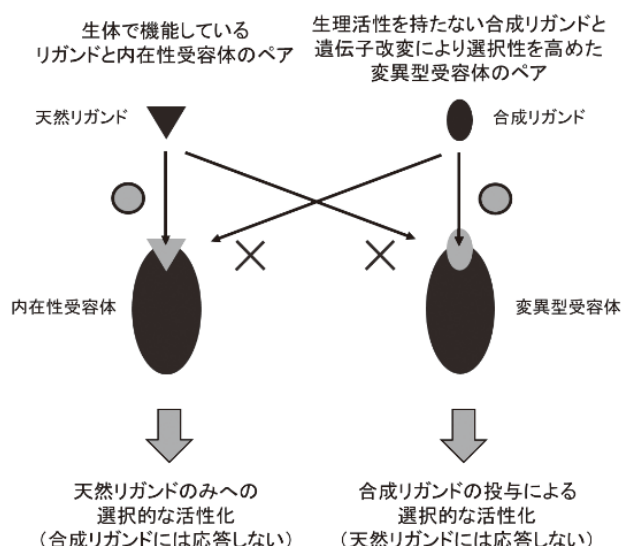


図1 化学遺伝学概念

化学遺伝学とは、生理活性を持たない化合物とその化合物にのみ選択的に応答するように変異をいれたタンパク質のペアを用いて、生体において細胞内シグナルを操作することにより組織や細胞の機能を解析する方法である。

る。その結果、hM3Dqを発現する細胞では細胞内 Ca^{2+} の上昇を引き起こす。また、hM4Diの活性化は細胞内 cAMP 濃度の減少を引き起こす。このため CNO の投与により標的細胞において Ca^{2+} や cAMP が関わる様々な細胞内イベントを人為的に操作することが可能となるのである。例えば、神経細胞においては、hM3Dq の CNO による活性化は神経興奮を引き起こし、hM4Di の活性化では神経細胞の興奮抑制あるいは神経伝達物質放出の抑制を引き起こす。

最近では GPCR ではなく、イオンチャネルをベースとした化学遺伝学ツールも開発されている。選択的化合物をアゴニストとすることで変異を施したリガンド結合ドメイン PSAM と陽イオンチャネルとのキメラタンパク質 (PSAM-5HT3) あるいは陰イオンチャネルとのキメラタンパク質 (PSAM-GlyR) などが報告されており^[3]、合成リガンド依存的なイオン流入を利用して神経細胞や筋細胞の興奮性を制御することが可能である。

また、上記の受容体の選択的活性化と相補的な考え方として、選択的な阻害剤の開発も進められて

いる。例えば、アミノ酸変異を導入した変異型リン酸化酵素と選択性の高い阻害剤のペアの創出法が報告されている^[4]。これらも広義の化学遺伝学ツールとして扱われるべきものであろう。

化学遺伝学の神経科学およびその他における応用例

脳・神経系は神経細胞やグリア細胞をはじめとする多種多様の細胞から構成されている。さらに神経細胞やグリア細胞には機能の異なるさまざまな種類が存在し、これらが複雑なネットワークを形成している。また、脳や脊髄は数百以上の機能的・解剖学的に異なる領域に分かれている。現在、このような複雑な脳・神経系の機能を担う神経回路や細胞の解析が精力的に進められているが、このために化学遺伝学は必須ツールとなっている。

脳機能の解明に化学遺伝学が使われた応用例はすでかなりの報告があり、とてもすべてを講演時間内では網羅できない。2023年1月現在、論文データベース PubMed において関連ワードで検索をかけると 1800 報以上の論文

がヒットする (図2)。

初期の応用例を紹介すると、食欲や睡眠に関わる神経細胞に hM3Dq や hM4Di を発現させて CNO 投与により食欲や睡眠を人為的に調節した、という結果が 2011 年に報告されている。その後、意欲や報酬に関わる神経回路の同定をはじめ、情動、社会性行動、生殖や養育行動、疼痛などに関わる神経回路や回路を構成する細胞種の同定に化学遺伝学が用いられている。

さて、私たちの研究室では学習や記憶に関わる神経回路と分子機構の研究を進めている。これまで国内外の研究グループなどにより、記憶機構解明をめざした化学遺伝学や光遺伝学によるアプローチ例が報告されてきたが^[5, 6]、我々の研究室でもこれらの技術を用いた解析を以前より行ってきた。最近我々は、マウスにおいて hM4Di を用いて記憶想起時の海馬の活動を抑制すると、その後の記憶維持が障害される、ということを見出し (未発表)、現在その詳細を解析している。

近年、Compound 21 や deschloroclozapine (DCZ) などの、CNO よりも使いやすい DREADD アゴニストが開発されている^[7]。とくに DCZ の hM3Dq、hM4Di に対する結合親和性は、汎用されている CNO に比べて 2 桁程度高

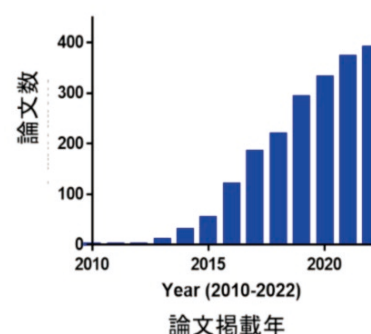


図2 脳研究分野における化学遺伝学に関する論文数の増加
“DREADD” “hM4Di” “hM3Dq” “chemogenetic” のいずれかと “brain” を含む論文を米国 NIH データベース PubMed において検索した。

く ($K_i = \sim$ 数 nM)、かつ、脳移行性も高いため^[8]、私たちの研究室では DREADD 実験のアゴニスト第一選択肢としている。

また、最近の記憶研究におけるトピックスの一つとして、これまであまり注目されていなかったグリア細胞が長期記憶の形成に深く関わっていることが明らかにになった^[9]。この研究でも細胞内シグナルを活性化する Gq/Gi-DREADD ツールが有効に利用されている。

さらには神経科学以外の研究分野にも化学遺伝学は適用されている。例えば、Gq-DREADD の活性化による膵臓 β 細胞からのインスリン放出促進^[10]や、肝臓細胞における Gi-DREADD の活性化による HGF の放出促進^[11]などの例が報告されており、各組織や細胞での Gq タンパク質共役型および Gi タンパク質共役型の機能の解析に用いられている。

さいごに：化学遺伝学と光遺伝学

化学遺伝学では、変異型受容体を目的の組織や細胞に発現させることができさえすれば、あとは合成リガンドを投与（多くの場合、腹腔あるいは筋肉内注射）するだけで任意のタイミングで標的組

織・細胞の活動を操作することができる。このため光ファイバーなどを介した光照射を必要とする光遺伝学に比べてかなり実験系が簡易である。解析対象が体や組織の深部にある場合や広範である場合には化学遺伝学が選択される場合が多い。

一方、化学遺伝学実験における作用開始時間や効果持続時間は化合物の投与方法および体内動態に依存するため、厳密な時間コントロールは困難である。多くの場合、時間的な正確さは分～時間の単位となり、光遺伝学の持つミリ秒～秒単位の正確さには遠く及ばない。

このように化学遺伝学と光遺伝学は相補的な技術であり、目的に応じて選択されるべきものである。両技術は、今後の生命科学研究・動物実験において、ますます中心的な手法となるであろう。遺伝子発現やエピゲノムなどの制御も含めた更なる化学遺伝学技術の発展が、新たなブレークスルーを生み出すことを期待している。

参考文献

1. Strader, C.D., et al., *Allele-specific activation of genetically engineered receptors*. J Biol Chem, 1991. **266**(1): p. 5-8.

2. Roth, B.L., *DREADDs for Neuroscientists*. Neuron, 2016. **89**(4): p. 683-94.
3. Magnus, C.J., et al., *Ultrapotent chemogenetics for research and potential clinical applications*. Science, 2019. **364**(6436).
4. Bishop, A.C., et al., *A chemical switch for inhibitor-sensitive alleles of any protein kinase*. Nature, 2000. **407**(6802): p. 395-401.
5. Garner, A.R., et al., *Generation of a synthetic memory trace*. Science, 2012. **335**(6075): p. 1513-6.
6. Zhu, H., et al., *Chemogenetic inactivation of ventral hippocampal glutamatergic neurons disrupts consolidation of contextual fear memory*. Neuropsychopharmacology, 2014. **39**(8): p. 1880-92.
7. Zhang, S., et al., *Molecular basis for selective activation of DREADD-based chemogenetics*. Nature, 2022. **612**(7939): p. 354-362.
8. Nagai, Y., et al., *Deschloroclozapine, a potent and selective chemogenetic actuator enables rapid neuronal and behavioral modulations in mice and monkeys*. Nat Neurosci, 2020. **23**(9): p. 1157-1167.
9. Kol, A. and I. Goshen, *The memory orchestra: the role of astrocytes and oligodendrocytes in parallel to neurons*. Curr Opin Neurobiol, 2021. **67**: p. 131-137.
10. Guettier, J.M., et al., *A chemical-genetic approach to study G protein regulation of beta cell function in vivo*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(45): p. 19197-202.
11. Rossi, M., et al., *Hepatic Gi signaling regulates whole-body glucose homeostasis*. J Clin Invest, 2018. **128**(2): p. 746-759.

2. In utero 遺伝子導入法について

■田川 義晃

鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科
神経筋生理学分野

はじめに

In utero electroporation（子宮内電気穿孔法、以下 IUE）は、主に発生期のマウスの脳への簡便な遺伝子導入技術である。実験動物（本稿では主にマウスを対象とする）への外来性遺伝子導入の方法には他に、受精卵や ES 細胞を使った遺伝子改変やウイルスベク

ターを用いた方法があるが、IUE には①任意のプラスミドベクター（基本的に導入する遺伝子に長さの制限がなく、調整も容易である）を導入できる、②遺伝子導入の手法と導入動物の維持が容易なため多種類の目的遺伝子の導入を試すことが可能であり、複数の発現ベクターを組み合わせを変えて共発現させることも可能である、③脳の片半球や目的の部位のみに遺伝子導入が可能である、などの利点がある。また、受精卵や ES 細胞

を使った遺伝子改変やウイルスベクターの適用が難しい実験動物にも IUE が適用されている（例えばフェレット：後述）。これらの利点を生かして多くの研究が報告されているので、以下にその一部を紹介する。

脳神経系の発生メカニズムに関する研究

脳神経系の発生は、様々な液性因子や転写調節因子などによる脳領域の誘導と形成、細胞の運命決

定の過程を含む。IUEを用いて脳領域の誘導と形成のメカニズムを明らかにした先駆的な研究として、液性因子の1つFGF8がマウス大脳の前方領域の形成に関与することを示した研究がある^[1]。他にもIUEを用いて様々な液性因子や転写調節因子の過剰発現や発現機能抑制する実験が行われ、脳領域の誘導や形成に関わるシグナル分子の同定がされてきた。また、大脳は6層構造からなるが、その層形成の諸過程（神経前駆細胞の増殖、神経細胞分化、神経細胞移動）に関わる分子細胞メカニズムの解明にもIUEは多大な貢献をしてきた^[2, 3]。

IUEの特長の1つは、複数の発現ベクターを共発現できることである。IUEでは脳のすべての細胞に遺伝子導入できるわけではないため、遺伝子導入された細胞とされていない細胞を区別する必要があり、その目的にはGFPやRFPなどの蛍光タンパク質が用いられる。上記の研究では、機能を調べたい分子の過剰発現や機能抑制のためのプラスミドベクターと、細胞標識のための蛍光タンパク質発現ベクターが必要であり、別々の発現ベクターとして遺伝子導入してもほぼ同じ細胞に共発現できることが報告されている。

蛍光タンパク質は遺伝子導入された細胞の標識だけでなく、細胞形態の解析にも用いられる。脳の神経細胞は複雑な樹状突起形態と軸索投射パターンを示し、これは個々の神経細胞や神経ネットワークの機能にとって極めて重要である。IUEによる蛍光タンパク質発現によって、脳の神経投射パターン^[4]、個々の神経細胞の樹状突起形態^[5]、ライブイメージング技術を用いて樹状突起形成のダイナミクスの可視化^[6]などが可能となっている。また、樹状突起上に作られる興奮性のシナプスを反映するスパインの数や位置、細

胞内の様々な小器官も蛍光タンパク質で可視化できる。

現在、蛍光タンパク質をもとに、神経細胞の機能を解析したり活動を操作したりする様々な分子ツールが開発されている。IUEによって神経活動記録のための分子ツールを遺伝子導入する実験^[7, 8]、神経活動を操作する光遺伝学や化学遺伝学のツールを発現させる実験が行われている。これらは、IUEが神経発生の研究だけでなく、より発達時期の後期の神経機能の研究にも有用であることを示している。

IUEの応用

IUEによる遺伝子導入は、マウス以外の実験動物の脳へも適用されている。マウスの脳にはシワがなく、霊長類の脳の形成メカニズムの研究にはシワをもつ実験動物、例えばフェレットの脳を用いた研究が行われている^[9]。また、IUEによる遺伝子導入は、生命科学研究だけでなく、脳神経疾患のモデル動物研究にも利用されている。脳形成の異常や神経発達症に関与すると思われる責任分子の発現や機能を遺伝子操作する実験により、疾患の病態をモデル動物の脳で一部再現する研究が行われている^[10, 11]。多くのヒト疾患では、1つの疾患の1つの責任分子に対しても多数の異なる部位の変異が同定されており、受精卵やES細胞を使った遺伝子改変を用いて多数の疾患モデルを作成することは多大な時間と手間がかかる。IUEであれば疾患変異をもつプラスミドベクターを多種類試すことが可能である。IUEはすべての細胞に遺伝子導入できるわけではないため正確な意味で疾患モデル動物とはならないが、疾患の病態を一部再現できること、IUEで多種類の変異の表現系をスクリーニングした後に受精卵やES細胞を使った遺伝子改変に進むことなど、

利点を生かした使い方がされている。

最後にIUEとゲノム編集技術を組み合わせた研究を紹介する。脳の細胞に内在性に発現するタンパク質の局在を可視化する目的で、IUEによるゲノム編集によって内在性タンパク質にタグを付ける研究が報告されている^[12]。より効率のよい、またマウスだけでなくフェレットの脳にも適用できるIUEによるゲノム編集の方法も報告されている^[13]。

参考文献

1. Fukuchi-Shimogori T, Grove EA. Neocortex patterning by the secreted signaling molecule FGF8. *Science*, 2001, 294(5544):1071-4. doi: 10.1126/science.1064252.
2. Tabata H, Nakajima K. Efficient in utero gene transfer system to the developing mouse brain using electroporation: visualization of neuronal migration in the developing cortex. *Neuroscience*, 2001, 103(4):865-72. doi: 10.1016/s0306-4522(01)00016-1.
3. Saito T, Nakatsuji N. Efficient gene transfer into the embryonic mouse brain using in vivo electroporation. *Dev Biol.*, 2001, 240(1):237-46. doi: 10.1006/dbio.2001.0439.
4. Mizuno H, Hirano T, Tagawa Y. Evidence for activity-dependent cortical wiring: formation of interhemispheric connections in neonatal mouse visual cortex requires projection neuron activity. *J Neurosci.*, 2007, 27(25):6760-70. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1215-07.2007.
5. Bando Y, Irie K, Shimomura T, Umeshima H, Kushida Y, Kengaku M, Fujiyoshi Y, Hirano T, Tagawa Y. Control of Spontaneous Ca²⁺ Transients Is Critical for Neuronal Maturation in the Developing Neocortex. *Cereb Cortex*, 2016, 26(1):106-117. doi: 10.1093/cercor/bhu180.
6. Mizuno H, Luo W, Tarusawa E, Saito YM, Sato T, Yoshimura Y, Itohara S, Iwasato T. NMDAR-regulated dynamics of layer 4 neuronal dendrites during thalamocortical reorganization in neonates. *Neuron*, 2014, 82(2):365-79. doi: 10.1016/j.neuron.2014.02.026.
7. Hagihara KM, Murakami T, Yoshida T, Tagawa Y, Ohki K. Neuronal activity is not required for the initial formation and maturation of visual selectivity. *Nat Neurosci.*, 2015, 18(12):1780-8. doi: 10.1038/nn.4155.
8. Bando Y, Sakamoto M, Kim S, Ayzenshtat I, Yuste R. Comparative Evaluation of Genetically Encoded

- Voltage Indicators. Cell Rep., 2019, 26(3):802-813.e4. doi: 10.1016/j.celrep.2018.12.088.
9. Kawasaki H, Iwai L, Tanno K. Rapid and efficient genetic manipulation of gyrencephalic carnivores using in utero electroporation. Mol Brain, 2012, 5:24. doi: 10.1186/1756-6606-5-24.
 10. Kamijo S, Ishii Y, Horigane S, Suzuki K, Ohkura M, Nakai J, Fujii H, Takemoto-Kimura S, Bito H. A Critical Neurodevelopmental Role for L-Type Voltage-Gated Calcium Channels in Neurite Extension and Radial Migration. J Neurosci., 2018, 38(24):5551-5566. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2357-17.2018.
 11. Nakagawa-Tamagawa N, Kirino E, Sugao K, Nagata H, Tagawa Y. Involvement of Calcium-Dependent Pathway and β Subunit-Interaction in Neuronal Migration and Callosal Projection Deficits Caused by the Cav1.2 I1166T Mutation in Developing Mouse Neocortex. Front Neurosci., 2021, 15:747951. doi: 10.3389/fnins.2021.747951.
 12. Mikuni T, Nishiyama J, Sun Y, Kamasawa N, Yasuda R. High-Throughput, High-Resolution Mapping of Protein Localization in Mammalian Brain by In Vivo Genome Editing. Cell, 2016, 165(7):1803-1817. doi: 10.1016/j.cell.2016.04.044.
 13. Tsunekawa Y, Terhune RK, Fujita I, Shitamukai A, Suetsugu T, Matsuzaki F. Developing a de novo targeted knock-in method based on in utero electroporation into the mammalian brain. Development, 2016, 143(17):3216-22. doi: 10.1242/dev.136325.

3. ゲノム編集マウス作製を全て体内で可能な新規法*i*-GONAD —開発から最近の動向まで—

■佐藤 正宏

国立成育医療研究センター
ゲノム医療研究部

2013 年後半に開発された CRISPR/Cas9 系などのゲノム編集の進展に伴い、この 9 年の間、当該技術を用いた標的遺伝子の KO (knock out)、KI (knock-in) などの遺伝子改変動物 (gene-engineered animals) の作製が急速に加速した。その多くは、受精卵 (一細胞期胚, zygotes) を体外に取り出し、その核あるいは細胞質にゲノム編集試薬を顕微注入する方法 (microinjection, MI)、あるいは、当該試薬を含む溶液の中で胚を電気穿孔に付す方法 (electroporation, EP) であった (図 1A)。また、稀であるが、ウイルス、特に、アデノ随伴ウイルスベクター (AAV vector) を含む培地の中で胚を感染させる方法も用いられた。これら *in vitro* でゲノム編集された胚は、更に、その発生を促すため、仮親♀マウスの生殖道 (卵管あるいは子宮) に移植 (egg transfer, ET) する必要がある。このようなアプローチ (*ex vivo* handling of embryos) は、時間手間がかかり、煩雑である。特に、偽妊娠状態にある仮親を作製するための、精管結紮マウス作製、偽妊娠♀のタイムリーな調製、ET という難しいスキルを要する操作が求められる。卵管内にある

受精卵に直接遺伝子操作はできないか。いわゆる、「体内で受精卵を遺伝子操作する方法」が模索されてきた。

2005 年、Sato ^[1] は「妊娠マウス卵管内の着床前胚に直接遺伝子を導入すれば、transgenic あるいは KO マウスが作製できるのでは？」と考え、妊娠マウス (Day 0.5; 前期受精卵に相当) の卵管内に EGFP 発現プラスミド DNA + trypan blue マーカーの混合液を注入し、続いて、卵管全体を電極で押さえ、矩形波を発生する *in vivo* electroporation (EP) を施した。これにより、プラスミド DNA が受精卵に取り込まれることを予想した。用いた electroporator は、今は廃盤になっている BTX 社の T-820 という機器であった。遺伝子導入の翌日、マウスを解剖。卵管での蛍光発現を観察すると、卵管膨大部領域に明確な蛍光が見られた。しかし、着床前胚での蛍光は皆無であった。この場合、卵管上皮細胞に遺伝子導入が達成されたので、この方法を GTOVE (gene transfer to oviductal epithelium) と名付けた。

何故、受精卵には遺伝子導入が出来ないのかを考えた時、前期受精卵を覆う顆粒膜細胞がプラスミド DNA の胚への移入を妨げているのでは？と考えた。そこで、マウス 2 細胞期に GTOVE を行っ

た。この時期には既に卵子を覆う顆粒膜細胞が自然に脱落していたからである。結果、30 ~ 60% の胚 (モルラ) に蛍光の強弱はあったが、遺伝子導入の痕跡が認められた ^[2]。しかし、この場合、electroporator の選択が重要のようで、現行の機器、例えば、NEPA Gene、あるいは、BEX の機器を用いて検討したが、未だ、プラスミド DNA の導入には成功していない。

我々は 2015 年、GTOVE を用いて妊娠マウス卵管内にある着床前胚 (2 細胞期胚) を体内で直接ゲノム編集できる新規法を開発した (図 1B)。結果、胚へのゲノム編集が成功したので、GTOVE から GONAD (Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery system) へ名称を変更した ^[3]。GONAD を詳しく紹介すると、まず、発情期♀マウスを♂マウスと交配後、交配プラグが確認された♀マウス (2 細胞期相当) を麻酔処置し、動物の背側から、皮膚 / 筋肉層の切開後、卵巣 / 卵管 / 子宮を露出させた。実体顕微鏡観察下、2 細胞期胚を含む卵管膨大部内にゲノム編集成分 (1-2 μ L : Cas9 mRNA + guide RNA + trypan blue) を呼吸制御の micropipette を用いて注入した。注入液は trypan blue などの色素を含むため、注入後、卵管膨大部全体が青く染まる。注入後、

直ちに、卵管全体をピンセット型の電極で挟み、*in vivo* EP（矩形波）を施した（図1B）。すると、卵管内に投じられたゲノム編集成分は、受精卵を囲む透明体を突き抜け、卵子の内部に導入される。そして、卵子内の標的遺伝子に対し、indel 変異（塩基の欠失あるいは挿入）を引き起こす。*in vivo* EP 後、卵巣/卵管/子宮を元の位置に戻し、切開部を閉じ、麻酔を解除する。そして、通常飼育を行う。結果、調べた胎仔の内、～60% は indel を有していた。このように、GONAD は顕微注入や胚移植などの高度なスキルは必要とせず、時間も要せず、初心者でも簡単にアクセスできる。

前出の GONAD 法は、2 細胞期胚を標的とした *in vivo* ゲノム編集であった。この場合、2 細胞期胚の片方の割球にのみゲノム編集が誘発される可能性があるため、その結果、子孫マウスの体内では、ゲノム編集を起こした割球由来の細胞とゲノム編集を起こしていない割球由来の細胞とがモザイク的に存在することになる。このようなモザイク変異を回避するには、受精卵にゲノム編集を行う必要がある。しかし、受精卵はその前期（プラグ確認日の午前中 Day 0.4 頃；～11:00）には、卵胞細胞に囲まれ、この時期に GONAD 法を適用しても、ゲノム編集用試薬は卵胞細胞に trap され、受精卵へのゲノム編集は失敗に帰していた。しかし、受精卵後期（Day 0.7 頃；～16:00）では、卵胞細胞も卵子から剥がれ始め、この時期に GONAD を行えば、ゲノム編集用試薬は胚内に入り、ゲノム編集が可能となることが判った。我々はこれを GONAD の改良法として *i*-GONAD (improved GONAD) と呼んだ^[4]。因みに、*i*-GONAD 法では導入するゲノム編集試薬も ribonucleoprotein (RNP) (Cas9 タンパクと gRNA

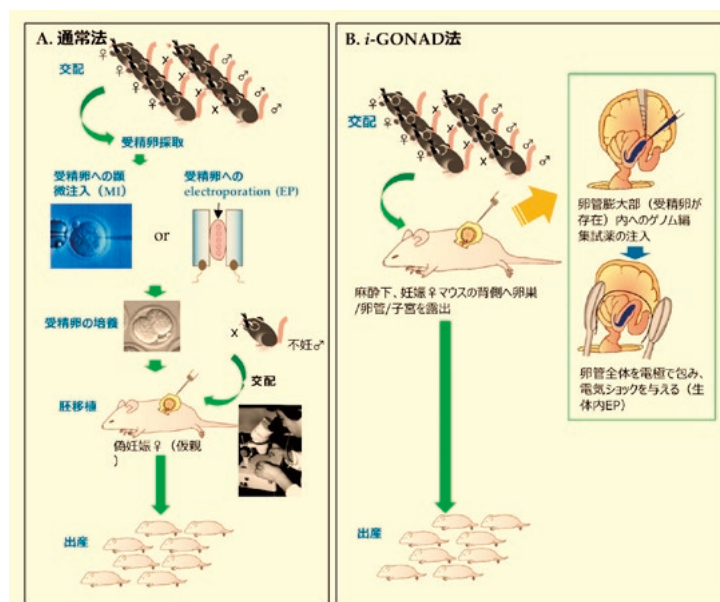


図1 ゲノム編集マウス作製における通常法と*i*-CONAD法との違い。通常法 (MI, EP) は、受精卵の*ex vivo*処置を伴うもので、処置が煩雑。費用、時間、労力がかかる。他方、*i*-GONAD法では、受精卵の*in vivo*処置を伴うもので、処置が簡単。費用、時間、労力もかからない。

との複合体) + Fast Green FCF (KI の場合、ドナー DNA として *in vitro* 合成一本鎖 DNA を使用) を用いた。その結果、自然出産される新生仔の内、60-100% は indel、20-40% は KI を有していた。

以来、*i*-GONAD に関する幾つかの改良法が発表された。例えば、2018 年、Yoon ら^[5] は、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用い、CRISPR 系成分を卵管膨大部に注入。受精卵のゲノム編集に成功した。我々はこれを「AAV-based GONAD」と呼んだ^[6]。2020 年、卵丘細胞を分離させる hyaluronidase を受精卵前期の卵管膨大部に注入し、その後、CRISPR 系成分を卵管膨大部に注入、続いて、*in vivo* EP を施すと、これまでの不可能であった受精卵前期へのゲノム編集が可能となった^[7]。同年、Sato ら^[8] は受精卵後期、2 細胞期に連続して *i*-GONAD が出来ることを示し、*si*-GONAD (sequential *i*-GONAD) と呼んだ。2022 年、*i*-GONAD による標的遺伝子への tag の挿入^[9]、CRISPR 系成分を卵管膨大部に注入後、3 分待った後で *in vivo* EP を施すだけで、

受精卵前期へのゲノム編集が達成出来ることが示された^[10]。即ち、受精卵前期、受精卵後期、2 細胞期については、*i*-GONAD による胚のゲノム編集が可能であることが示された。胚が卵管内にあれば、*in vivo* EP は原則可能であるため、4-cell, 8-cell, morulae, early blastocysts へのゲノム編集も可能と考えられる。特に、8-cell から morulae にかけては、胎盤形成に寄与する trophectoderm、胚体となる inner cell mass が生じる時期になるため、その時期での *i*-GONAD は、上記 2 者の細胞型がなぜ生じるかの分子機構を探る一つのツールになり得るかもしれない。

2015 年の GONAD の報告以来、*i*-GONAD を用いた遺伝子改変動物の作製は、マウスの他、ラット、ハムスター、野生マウスで成功例が報じられている。特に、ハムスターの場合、胚が光に過敏であるため、*in vitro* での胚操作は難しいとされる。*i*-GONAD はそのような限界を取り払うことができた。おそらく、何らかの理由で胚の操作が *in vitro* では難しい種でも *i*-GONAD を用いれば、遺伝

子改変動物作製は可能となるかもしれない。

現在まで、世界で40報以上の論文において*i*-GONADを用いての遺伝子改変動物作製の成功例が報じられている。標的とした遺伝子は、*Acrosin*, *Agouti*, *Ak040954*, *ATF5*, *Axdnd 1*, *Cdkn1a*, *Cdkn2a*, *Clcf1*, *COL4A3*, *COL4A4*, *COL4A5*, *COL7A1*, *Dll1*, *eEF2*, *Fgf10*, *Fos11*, *Foxe3*, *Gbx2*, *GGTA1*, *Gm30413*, *Gm44386*, *Hprt*, *Kit*, *Klrc2*, *Mecp2*, *Mov101l*, *Nrsn2*, *Pafah1b1*, *Pax6*, *Pitx3*, *Plagl1*, *Serpina3n*, *Tis21*, *Tprkb*, *Tyr* などである [11]。

このように、*i*-GONADが遺伝子改変動物を作製する一つの有効な方法と認知されつつある [12, 13]。本発表では、上記のような知見を紹介しながら、様々な遺伝子改変動物作製への可能性・限界性を論じたい。

文献

1. Sato M. Intraoviductal introduction of plasmid DNA and subsequent electroporation for efficient *in vivo* gene transfer to murine oviductal epithelium. *Mol Reprod Dev* 2005;71:321-330.
2. Sato M et al., *In vivo* gene transfer in mouse preimplantation embryos after intraoviductal injection of plasmid DNA and subsequent *in vivo* electroporation. *Syst Biol Reprod Med* 2012;58:278-287.
3. Takahashi G et al., Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery system: a novel microinjection independent genome engineering method in mice. *Sci Rep* 2015;5:11406.
4. Ohtsuka M et al., *i*-GONAD: a robust method for *in situ* germline genome engineering using CRISPR nucleases. *Genome Biol* 2018;19:25.
5. Yoon Y et al., Streamlined *ex vivo* and *in vivo* genome editing in mouse embryos using recombinant adeno-associated viruses. *Nat Commun* 2018;9:412.
6. Sato M et al., Recent advances and future perspectives of *in vivo* targeted delivery of genome-editing reagents to germ cells, embryos, and fetuses in mice. *Cells* 2020;9:799.
7. Kaneko T and Tanaka S. Improvement of genome editing by electroporation using embryos artificially removed cumulus cells in the oviducts. *Biochem Biophys Res Commun* 2020;527:1039-1042.
8. Sato M et al., Sequential *i*-GONAD: An improved *in vivo* technique for CRISPR/Cas9-based genetic manipulations in mice. *Cells* 2020;9:546.
9. Aoto K et al., Generation of flag/DYKDDDDK epitope tag knock-in mice using *i*-GONAD enables detection of endogenous CaMKII α and β proteins. *Int J Mol Sci* 2022; 23:11915.
10. Takabayashi S et al., Successful *i*-GONAD in mice at early zygote stage through *in vivo* electroporation three min after intraoviductal instillation of CRISPR-ribonucleoprotein. *Int J Mol Sci* 2022;23:10678.
11. Sato M et al., Recent advances in *in vivo* genome editing targeting mammalian preimplantation embryos. In: "CRISPR Technology" Edited by: Yuan-Chuan Chen pp. 1-42, Rijeka, 2022: InTechOpen.
12. Burgio G. Redefining mouse transgenesis with CRISPR/Cas9 genome editing technology. *Genome Biol* 2018;19:27.
13. <https://brcf.medicine.umich.edu/new-transgenic-core-capabilities/> New Genome-Editing Capabilities with the Transgenic Core. by dupontr | Jan 18, 2021 | Breaking News, Services



貴重なデータを保持した実験動物を
安全・確実・清潔に全国へお届けします。

お客様の多彩なニーズにお応えできる車両をご用意

1 t 保冷車 (空調車) 9 台	4 t 保冷車エアサス (空調車) 1 台
2 t 保冷車 (うち空調車 3 台) 4 台	4 t 保冷車エアサス PG (空調車) 2 台
3 t 保冷車 PG (空調車) 3 台	4 t 保冷車 (温調車) 1 台
	4 t 保冷車 (空調車) 2 台



マウス・ラット輸送箱

滅菌した輸送箱を事前にお届け致します。

サル輸送ケージ

特定外来生物の飼養等の許可を受けているケージをご用意しております。

ブタ用荷台柵

ケージに入らないブタ・遺伝子改変ブタにご対応致します。



カーテン・フィルタ・ネズミ返し

積載室の温度管理や虫を防ぐためのカーテン、大気中の砂・ほこり・カビ・菌等の不純物を防ぐためのフィルタ、積載室の動物 (遺伝子改変動物) の逃亡防止のためにネズミ返しの設置をしています。



最大 1 億円の車両保険

保冷装置、温度調節機などの破損、故障の際に運送中のものが壊れたり、死んでしまった場合は補償になります。
万が一動物輸送中に冷蔵機が故障した場合の対応は菱重コールドチェーンの全国のロードサービスで 24 時間 365 日対応します。

 **Kuzuu Vector Science Inc.**
~Siculus imperium transportation of ago bestia pro medical~
有限会社葛生運送 メディカルバイオ・アニマル輸送部

千葉県成田市新田 280-1
TEL 0476-73-2403
FAX 0476-73-2419

葛生運送 

<http://www.kuzuu.transport.com>
info@kuzuu.transport.com

実験動物の再利用について (Ⅲ)

1. ビーグルの Rehoming の取り組み

■安倍 宏明、石川 玄

マーシャル・バイオリソース・
ジャパン株式会社

近年、動物実験に対する社会からの圧力は厳しく、昨年9月の欧州議会では動物実験の段階的廃止の法案が批准されており、社会へ動物実験の必要性や動物福祉の取り組みなどを公開する必要性に迫られている¹⁾。この一つの手段として健康な動物を研究所外部に提供するRehoming（動物を譲渡）が方法として用いられる場合がある。

Rehomingに関しては欧州では2010/63/EU指令書のArticle29にて公衆衛生、動物の健康、環境に危険がなく、動物のウェルビーイングを守るために適正な基準を設けていれば実施を勧めている²⁾。同様に米国食品医薬品局（Food and Drug Administration）においても退役した動物の提供について認めている³⁾。

UKにおける実情の報告として、2020年6月19日号のPLOS ONEのTess Skidmoreらによる英国100施設にRehomingに関してア

ンケート結果がある²⁾。41施設から回答があり、2015–17年でのRehomingした実績のある施設は19施設にのぼる。イヌ、ネコ、ウマが多く、使用数に対して割合が少ないものの魚やげっ歯類も行われている。実験動物のRehomingには賛成ばかりではなく、動物実験は科学的要求を至上目的としていることから、安楽殺の必要性を訴え、Rehomingに関わる時間、コスト、物流面での問題からの反対意見も挙げられる。他にも里親探しの団体とのネットワークづくりやメディア対応も敬遠される要因としてあげられ、苦労しながら進めていることが伺える。

さて、当社米国施設では過去より従業員に譲渡することがあったが、2020年より新たにプロジェクトチームを立ち上げ、より幅を広げて従業員の友人や知り合い、外部の里親探しの団体に譲渡している。その他、獣医学部へ避妊手術及び動物トレーニング用に提供し、こちらも最終的にはペットとしてRehomingされている。このプロジェクトには時間と費用が掛かり、経営層の理解が不可欠であ

る。また、獣医グループとも緊密な連携をとる必要があり、全社的な取り組みにしなければならない。当社では専用の社内掲示板を用いて募集動物、譲渡先からの写真や手紙、そしてそれを見た社員からのフィードバックやコメントを共有している。この取り組みにより従業員エンゲージメント、動物福祉、倫理的判断、社会との関係性の点において利点を有していると考え、行っている⁵⁾。

また、日本においては、Beagle R programを行っており、これは、実験動物の再活用（Reutilize）、安楽殺に対する精神ストレスの軽減（Reduction）、動物の命を取り扱うことの責任（Responsibility）から名付けている。Rehomingの他にも動物実験施設での再利用や獣医大学の解剖実習への死亡個体の活用がある⁶⁾。

Beagle R programは2016年8月より開始しており、2017–22年にてRehomingに限ると計64頭のビーグルおよび19頭のネコを研究施設から家庭へ提供している（Table1）。なお、研究所での再利用（動物病院での供血用動物も含

Table1 Beagle R programでの提供実績（2017—2022年）

	研究用		解剖実習		一般向け		総件数	頭（体）数
	件数	頭数	件数	体数	件数	頭数		
2017年	0	0	2	4	3	6	5	10
2018年	1	2	5	18	2	3	8	23
2019年	4	8	8	21	7	21	19	50
2020年	1	4	7	43	5	10	13	57
2021年	1	8	1	3	3	15	5	26
2022年	2	4	6	23	9	28	17	55
計	9	26	29	112	29	83	67	221
ネコ2頭（輸血ドナー）			ネコ19頭					

む）にて26頭（内ネコ2頭）、獣医大学の解剖実習用に安楽殺されたビーグルを計112体提供している。

これらのプログラムにご協力頂ける施設はまだ多いとは言えないものの、ペットとして提供することが決まれば、譲渡する動物の健康の確認を行い、里親探しのための紹介資料を作っていただいている。里親探しは大変苦労のかかる箇所であり、簡単に見つかるものではない。活動開始から5年を超えている現在では、過去に譲渡した方々を中心にしたネットワーク（マーシャルビーグルの飼い主および関係者の“マービークラブ”）があり、こちらのグループを介して募っている。ただし、このネットワークの維持も定期的なイベントなど交流を続ける必要があり、当社では写真共有サイトの開設、年に一度の写真コンテスト（優秀作品は当社のカレンダーにも採用）、オンラインで譲渡会をライブ中継（過去5回実施）定期的なオフ会（リアル2回、オンライン3回）

を実施している。また、困りごとなどもメンバー同士で気軽に相談できるように努めている⁷⁾。

なお、犬のRehomingに関係する日本の法令として狂犬病予防法と動物愛護及び管理に関する法律の遵守は必須であり、また多くの譲渡施設の気になる問題である。プログラムを運用する前に茨城県動物指導センター、農林水産省と相談をしながら、本件の運用について出荷する研究施設側に大きな負担をかけることなく如何に運用できるかを探った。研究所敷地内では試験研究用のビーグルであり、提供後は自治体への登録も合わせて抹消していただいている。あらたな家庭に移動した後に住居地の自治体にて新規登録をしていただくことで、問題となりうる動物の目的の変更に伴う混乱、その所有権の移転、そして譲渡後の新しい家庭での法令順守の問題は未然に防げている。勿論、譲渡先には、元実験動物の意味・意義を深く理解して頂くとともに、ワクチ

ン、動物福祉の健康維持への取り組み、その後の生涯飼育について書類を用いてお願いしている。

近年では実験動物業界の方々にもBeagle R programについて好意的に捉えられているケースが出てきている。一方、実際に行うとなると苦労は多く、まだこのような譲渡プログラムを公に話されているところは極めて少ない。実際に譲渡する前には必ず当社から直接、電話またはオンラインで打ち合わせを行い、元実験動物であること、動物実験の意義、そこにおける安楽殺の必然性について必ず説明を行い、理解を得ることを前提にしている。それでもお渡しする前日に急遽、キャンセルを受けるケースやお渡しするまで数日間、預かるといったことも生じている。2017年からの経験により、トラブルの未然防止もできる方法はある程度、理解しており、それらは事前に提供する“よくある質問”の書類や事前の電話などでの説明の際に活用している。

Table2 Beagle R programに満足している対象者

飼育管理者	5	62.5%
私	4	50.0%
同僚	4	50.0%
本社	3	37.5%
間接部門	2	25.0%
私の家族/隣人	1	12.5%
研究者	1	12.5%

今までの活動を振り返ると、順風満帆とは決して言えるものではない。特に毎回、譲渡先の方々には電話にて動物実験の意義の説明は大変重要である一方で、相手先の背景、考え方、譲渡を受けたい理由も様々であり、説明を聞いて辞められる方も一定数いる。この説明する機会は譲渡後にはなかなかないこともあり、大変貴重である。一方で短時間でしか許されない中、相手の興味がどこにあるかを突き止め、丁寧に対応する必要がある。毎回、かなり緊張するものであるが、この時間は社会とつながりを強く感じられる得難い体験機会である。

このBeagle R programによる実験動物業界への効果はどのようなものがあるのか2022年4月にアンケートを実施した⁸⁾。6施設8名から回答があり、最も効果を得ているのは、“飼育管理者”となる(Table2)。次に“私”、“同僚”と続き、他部門や研究者にも波及する可能性がある事が認められた。また、

Table 3 提供元施設へのBeagle R programによる効用

動物福祉への意識向上	7	87.5%
動物実験への興味/理解の向上	5	62.5%
日常の取り扱いの向上	4	50.0%
アウトリーチへの意識向上（社会へ情報開示）	4	50.0%
社内コミュニケーションの増加	4	50.0%
従業員エンゲージメント向上	4	50.0%
動物実験の質の向上	2	25.0%
社外・自宅でのコミュニケーションの増加	1	12.5%
CF（思いやり疲労）対策	1	12.5%

満足することによりそれがどのような効果を示した表がTable3となる。“動物福祉への意識”や“理解”の向上が見られ、“従業員のエンゲージメント向上”だけでなく、“アウトリーチ”をはじめとして社外への説明する材料の提供になっていることが伺える。これらは、当社が最初に意図していたことでもあり、飼育担当者の満足が動物福祉の向上へ役立ち、それが取り扱うビーグルの健康状態の維持、向上につながることを期待している。これらが動物実験の結果をより洗練させ、医薬品の開発を促進することにつながると期待している。

実際にRehomingで提供した後のビーグルを追跡することで動物福祉を考える良い機会にもなっている。写真1は1歳9カ月令で提供した際の写真であり、写真2はその一年後となる。Rehomingでペットとして家庭で飼われることにより、あらためて犬における運動やスペースの広さの重要性が示唆さ



写真1 提供時写真（1歳9カ月）



写真2 写真1の犬の譲渡一年後

れる。

なお、現在のシステムも改善する余地は大きい。海外事例では研究施設における避妊手術やトレーニング、引き渡しする家庭へのより詳細な聞き取りを行う事前確認が挙げられる。また、今後は当社を介さずに直接、提供するようにできることも始まることだろう。これらは近い将来の取り組み

課題と言える。

Rehomingの取り組みが、実験動物関係者一人一人の日々の動物へのケア及び動物福祉向上へ繋がると共に、社会への説明責任にも使用することが期待される。

以上が当社の経験や知識となり、皆様方と共有することにより各施設で検討し、始める機会になれば幸いである。

- 1) <https://sciencebusiness.net/news/parliament-votes-through-demand-faster-phase-out-animal-testing-research>
- 2) Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes Text with EEA relevance (europa.eu)
- 3) <https://www.outsourcing-pharma.com/Article/2020/02/11/FDA-introduces-lab-animal-retirement-program>
- 4) A semi-structured questionnaire survey of laboratory animal rehoming practice across 41 UK animal research facilities Tess Skidmore, Emma Roe PLOS ONE June 19,2020
- 5) マーシャル・バイオリソース・ジャパン株式会社主催ウェビナー2021年9月20日開催 「米国マーシャル社のRehomingへの取り組み」 安倍 宏明
- 6) 実験動物技術者協会関西支部 2017年4月23日 「Public EngagementとしてのBeagle R program」 安倍 宏明
- 7) 静岡実験動物研究会 2021年10月29日 「Beagle R programのオンラインでの取り組み」 安倍 宏明 石川 玄
- 8) 実験動物技術者協会 2022年10月14日 C5「Rehomingされた施設へのアンケート調査」 安倍 宏明 石川 玄

2. 研究に使用された動物のリホーミングガイドライン：動物の世話と使用に関与する施設と個人向け

■James T Pearson

国立循環器病研究センター／
Monash University, Australia

科学的目的のための動物の世話および使用に関するオーストラリアの規範

オーストラリアでは、研究や教育に使用されていた動物のリホーミングに関する自主的なガイドラインが、各州および準州で個別に作成されている。オーストラリア内のすべての研究および教育機関は、「科学的目的のための動物の世話および使用に関するオーストラリアの規範」を遵守する必要がある。ただし、あらゆる目的での動物の飼育および使用は、各州の法律に準拠する。多くの国とは対照的に、動物福祉を統治する権限は、単一の国家機関ではなく、オーストラリアの州によって異なる。その結果、各州および準州で任命された認可機関は、各大学および研究所で動物の研究および教

育を担当する地域の動物倫理委員会 (AEC) を監督し、一元的に規制する。各州の権威の自律性は、各州が研究と教育で使用する動物のリホーミングのための独自の自主的なガイドラインを開発した主な理由である。ガイドラインの詳細とアクセシビリティは州によって異なるが、基本的な内容は州間で比較的一貫している。

リホーミング処理方法の概要

オーストラリアのコードによると、研究または教育に動物を使用するためのAECへの申請では、研究の完了時に、動物がの1) 再利用され、2) リホーム、3) 通常の飼育条件または自然原産地 (在来種の場合)、あるいは4) 組織の共有を考慮して、安楽死処分されるという規定が必要である。オーストラリア全土で、リホーミングガイドラインは、飼いならされた、非在来種 (ラクダ、鹿、水牛、野ウサギ)

および在来種の動物 (一部の例外を除く、例えワニ類) に適応される。しかし、ウサギに関してはリホーミングが可能な州は限られている。研究に動物を使用するための申請時に可能な場合は、動物のリホーミングの可能性を具体的に詳細に説明する必要がある。特に、研究が動物の幸福に影響を与えておらず、動物の行動が将来の幸福に与える影響が最小限で新しい環境に適応する可能性高いことを示している場合は、リホーミングを強く進める。

重要なことは、動物のリホーミングはAECの承認を得た場合のみ実施でき、獣医師または経験豊富な動物技術者による動物の行動記録と最終的な行動評価のリビューの対象となる。リホーミングに適さないと見なされる動物には、遺伝子組み換え動物、慢性疾患、妊娠中および離乳していない (後日のリホーミングは可能)、

または攻撃的な動物が含まれる。動物のリホーミングは研究者とAECが動物福祉機関と協力して頻繁に実施し、個人または承認された動物出展者（動物園）との配置を確保している。リホーミングされる在来種動物を受け取る個人や動物出展者は在来種飼育免許証を持つことが必須である。

リホーミング実施する段取りの概要（リホーミング成約から引き渡しまで）

研究機関がリホーミングを採用するためには、リホーミングを実施するための内部反対が存在しないことが重要である。反対は、コストや余分な作業に対する誤解が原因である可能性がある。初めには、研究機関内の法務局は、責任、運送条件、所有権などを規定したリホーミング成約を策定することが不可欠である。動物が関与した研究詳細の開示がないことが重要な条件となる。在来種の動物に対して生息地に返せる許可が認めている在来種飼育免許証の指定が含まれていることを確認する必要がある。また、リホーミング成約を結ぶには、動物、施設および動物管理員を守るためNPO法人に対する基本合意書が重要と思考される。シェルターの場合、どのような飼育ケージ容量や状態が許容範囲とされるのか事前に明確に記載する必要がある。繁殖可能な週齢・年齢を過ぎた動物を、繁殖目的で他の施設や動物展示業者にリホーミングしないこと。

リホーミングを実施する機関は所有権移転登記申請書を策定する。その様式の中、動物を受け取る側の適性可能なアンケートが記載される（例文¹⁾）、また所有者に対してリホーミング実施の際、その期待に応えるための目的である。リホーミングによるストレスを最小限にする。飼育条件と限らず、動物に対するエンリッチメントの有無を把握し、個人所有者の家族構成や飼育経験も思考される。次にAECが所有権移転登記申請書をレビューする。リホーミングが決定した後、動物に対する準備が必須である。リホーミング実施する機関はイヌとネコの去勢が義務づけ（州の法律によって）、マイクロチップ処理、寄生虫の駆虫処理などを行い、搬送2—3日前獣医師により健康状態をチェックする。最後に動物の搬送のための適切な措置を講じる。リホーミングした1か月後AEC委員が動物の新所有者にフォローアップを行ってからリホーミング完了するか必要に応じて再リホーミングを検討する。

リホーミングの現状

ビクトリア州とニュウサウスウェールズ州でのリホーミングガイドラインの現在の対応は、主要な大学によってまだ検討されている。しかし、様々な中型研究所や研究施設（オーストラリアシンクロトロン施設を含む）は、ラットとウサギをリホーミングするか、胎仔における研究課題で使用

された母体のウサギとヒツジをリホーミングする計画を立てている。現時点、リホーミングが行い成功している例はリホーミング研究機関の所属する個人、研究機関の間のリホーミング（再利用を含め）、またリホーミングNPOと動物シェルター施設に引き渡した。特に、ニュウサウスウェールズ州のLiberty Foundation (NPO)²⁾は、全ての州および準州の研究機関との確立された契約を通じて、研究動物をリホーミングする登録慈善団体である。この財団は現在、5機関から合計400匹を超えるマウス、ラット、モルモット、ウサギ、ネコ、イヌのリホーミングを成功している。同じように、ビクトリア州にあるBeagle Freedom Australia (NPO)³⁾が主にBeagle犬のリホーミングを成功している。イヌを個人が引き取る前まで自然が多い環境で更生・順化している。

現在、オーストラリアの研究機関がリホーミングを実施するため施設経費で維持しているが、リホーミング準備処置の去勢手術などは獣医師のボランティア活動で行っている。リホーミング実施により生じた問題は主に2つ、リホーミングプロセスに不慣れな方が参加して、間違った判断により時期尚早の搬送につながったこと、また、リホーミングに係る職員が無関心になったことである。こういう問題点を避けるにはまず、管理員や研究者がリホーミング各ステップで正しく行うためにその作業の文書化される必要がる。文書

化により正しいプロセスを強化される。また、無関心を予防するには、内部報告のみでも職員に対してのフィードバックやリホーミング成功の統計情報を伝えるPRが効果的である。

オーストラリアの最近経験で、NPOシェルターや動物救護団体の増加があって、レスキューおよび研究機関からリホーミングされる動物のための許可される飼育方法でなかったという例があった。ビクトリア州の政府は現在、救護された動物およびリホーミング動物を受け入れる第三者機関の基準をより良く管理するために、リホーミング政策を改訂している。

謝辞

今回のオーストラリアのリホーミングガイドラインまた、リホーミング実施に関するレポートはピクトリア州で動物のリホーミングを行っている獣医師Shari Cohen 先生(メルボルン大学客講師、shari.cohen@unimelb.edu.au, リホーミング経験350匹以上また政府の動物福祉アドバイザー)また獣医師Mitzi Klein先生(Animal Welfare Organisation Victoria)の個人意見および経験に基づいて述べたものである。

参考:

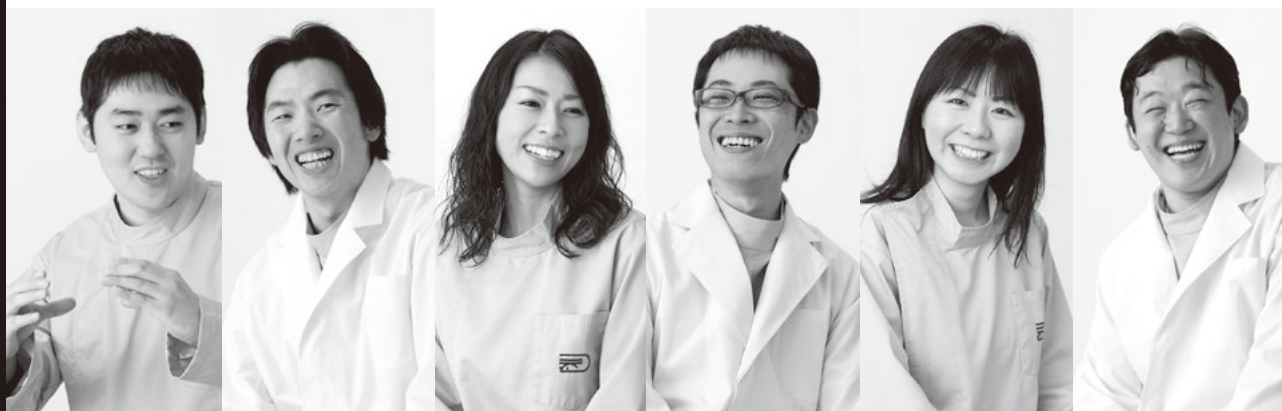
- 1) Research Animal Rehoming Guidelines: For establishments and individuals involved in the care and use of animals for research and teaching in NSW. Animal Research Review Panel Guideline 27, Department of Primary Industries/Animal Welfare. <https://www.animaethics.org.au/policies-and-guidelines>
- 2) Liberty Foundation (NSW): <https://www.libertyfoundation.org.au/>
- 3) Beagle Freedom Australia (Victoria): <https://www.beaglefreedomaustralia.org/about-us/>

私たちは「実験動物技術者集団」です。

We are Technologist of Laboratory Animals.

みなさまの開発・研究のためのパートナーとして、医療や科学の明るい未来のお手伝いを致します。

- 実験動物総合受託事業
- 技術者派遣事業
- 職業紹介事業



本社 〒160-0022 東京都新宿区新宿5丁目18番14号 新宿北西ビル7階 TEL 03-6457-3751 FAX 03-6457-3752
西日本事業部 〒530-0001 大阪府大阪市北区梅田1丁目11番 4-1100号 大阪駅前第四ビル11階10号室 TEL 06-4799-9820 FAX 06-4799-9011
九州事業部 〒810-0001 福岡県福岡市中央区天神5丁目5番8号 福岡ビル5階 TEL 092-753-6697 FAX 092-753-6698

【一般労働者派遣事業(般) 13-080297】
【有料職業紹介事業 13-コ-080309】



株式会社 アニマルケア
www.animal-care.co.jp

●お気軽にお問い合わせください

0120-011419

「神経科学分野における霊長類を対象とする実験ガイドライン」の目的と解説

京都大学 ヒト行動進化研究センター
中村 克樹

1. はじめに

日本神経科学学会が2020年8月に「神経科学分野における霊長類を対象とする実験ガイドライン」(https://www.jnss.org/animal_primates)を策定した。翌年の4月には英語版も公開した。このガイドラインの策定に至った経緯と目的、そしてこのガイドラインの構成およびここで掲げた目標を解説する。ガイドラインでは「霊長類」という語を用いているが、本稿では「サル類」という語を用いる。霊長類という語にはヒトが含まれるので、英語の nonhuman primate であることを明確にするためである。動物実験がヒトの健康や福祉を実現する医学・生命科学研究に欠くことのできないものであるということは論を俟たない。なかでも研究成果からヒトでの結果を外挿するためには、サル類を対象とした研究でなければならない課題がたくさんある。本稿が、日本におけるサル類を用いた研究の更なる発展の一助となることを願う。

2. 経緯と目的

現在、さまざまな分野の研究

が世界規模で行われるようになってきている。特に脳研究ではそれが顕著であり、2013年に米国で、脳の構造・機能・情報処理の全容解明を目的とする国家プロジェクトの Brain Initiative がスタートした。同年、EUでも Human Brain Project がスタートした。こうしたプロジェクトに続き、日本・カナダ・韓国・オーストラリア・中国といった国々でも脳研究の国家プロジェクトが開始された。これら7カ国が協定を結んで、脳研究の国際連携を促進する目的で2020年に International Brain Initiative (<https://www.internationalbraininitiative.org/>)が発足した。こうした背景もあり、さまざまな国際共同研究が盛んに行われるようになっていく。共同研究を実際に実施する場合だけではなく、すでに終わった実験で取得したデータを共有する場合でも、共同研究の相手国でどのような条件で実験が行われたのか、自国のガイドラインを満たす条件でデータを取得していたのかどうかが問題とされる。具体的には、動物の扱いが不適切であった場合には、

そのような条件で取得したデータは共有することができないと判断される。このような場合、対外的に「このガイドラインに準拠してデータを取得した」と説明できる、分かりやすいガイドラインがあると、国際共同研究が円滑に進められる。

分かりやすいガイドラインとして例えば、米国には National Academies of the National Research Council が発行している「GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS (Eighth Edition)」(「実験動物の管理と使用に関する指針(第8版)」)日本実験動物学会が監訳)が、EUには「DIRECTIVE 2010/63/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes」がある。ところが日本では、動物実験の規制がかなり複雑で分かりにくい。そのため、海外の研究者から「日本では動物実験を制約なく自由に実施できる」という誤った意見を聞くこともある。

適正な動物実験の実施に関し

て大きく2つのポイントが考えられる。1つは実験動物の適切な飼養・保管、つまり、動物を適切に飼育することである。図1の右側を見ていただきたい。日本では、すべての動物を対象とした環境省の「動物の愛護及び管理に関する法律」があり、この法律に動物実験を立案するにあたって配慮すべき原則である3Rの原則（Replacement、Reduction、Refinement）も記載されている。さらに実験動物に関しては「実験動物の飼養及び管理並びに苦痛の軽減に関する基準」がある。日本で動物実験を行う場合には、これらに従わなければならない。もう1つは動物実験の適切な実施、つまり、適切な方法で実験をすることである。図1の左側を見ていただきたい。ここでは文部科学省の管轄下にある機関で研究してい

る場合を示している。文部科学省が定めた「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」（https://www.mext.go.jp/b_menu/hakusho/nc/06060904.htm）があり、これに従わなければならない。厚生労働省や農林水産省も別途指針を定めている。さらに、文部科学省と厚生労働省が、各研究機関が参考にできるガイドラインの策定を日本学術会議に依頼し、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（<https://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-20-k16-2.pdf>）が作られた。また、国立大学法人動物実験施設協議会が機関内規定のひな型（https://www.kokudoukyou.org/index.php?page=kankoku_index）を作成しており、これらを参考に各研究機関が機関内規定を定めている。日本の現状は、ここで紹

介した法律や指針などに準拠して、機関内規定に基づき動物実験を実施する。各研究機関の長（大学であれば学長）が最終的に動物実験の責任を負う、いわゆる機関管理の体制である。こうした複雑な構造が海外の人には分かりにくい。個人的には、左上の点線で囲った部分に実験動物の飼養や動物実験の実施を対象とする法律を定めて、環境省の定める法律からは実験動物を除き、愛玩動物や展示動物などの動物と区別するとより分かりやすくなると考えている。

国際共同研究の円滑な実施という目標だけではなく、日本におけるサル類を用いた研究を、特に飼育・管理面で国際基準を満たすレベルに持ち上げるという目標を掲げ、日本神経科学学会でガイドラインを策定する目

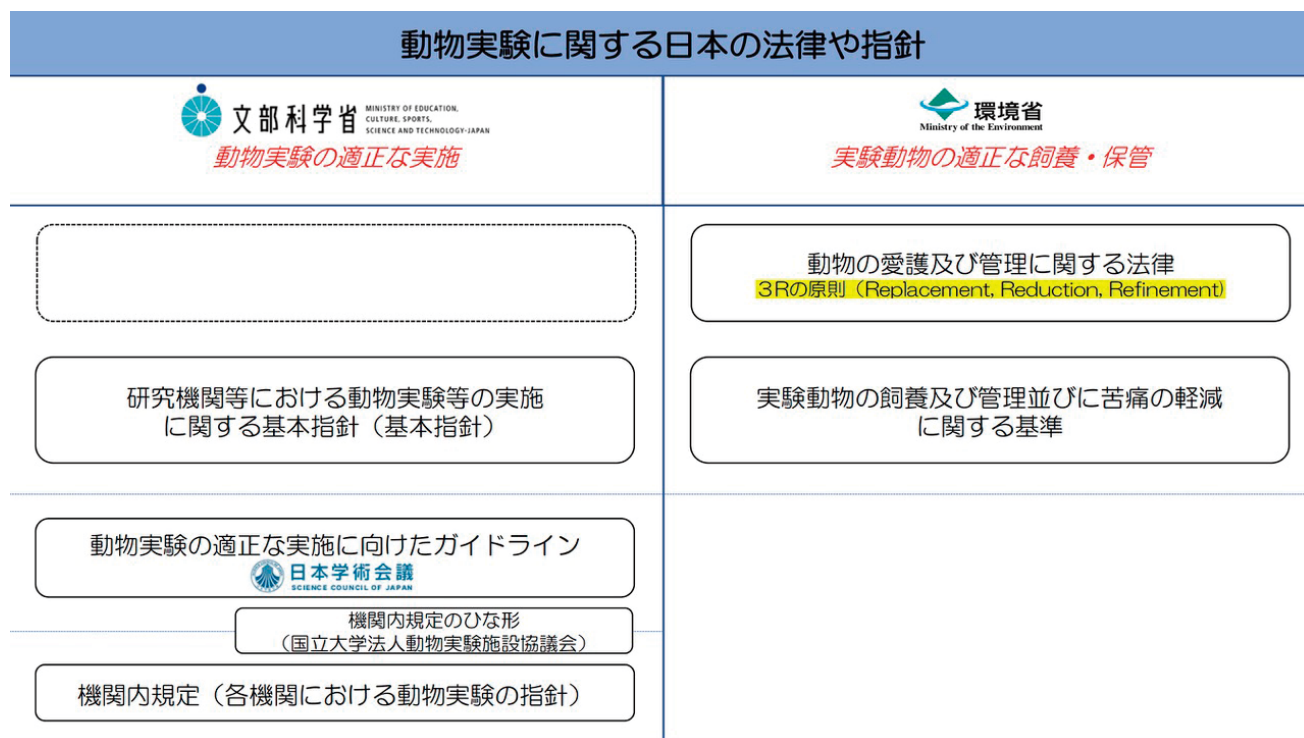


図1 動物実験に関する日本の法律や指針

的で2018年に委員会を立ち上げた。つまり、研究者が中心として、ボトムアップの形でガイドラインを策定し始めたのである。委員は、大学等の研究者が中心となったが、獣医師の資格を有するメンバーや企業の研究者も加わっていた。現在の国際基準の1つは、先述した米国の指針である。EUでは米国の指針より厳しい条件もあるが、例えばNational Institutes of Healthの研究費を用いて研究するために、いくつかの機関が米国の指針に基づくAAALAC International (<https://www.aaalac.org/>)の認証を取得している。我々も米国の指針を念頭におきながらガイドラインの策定作業を行った。最終的な内容を、動物実験の専門家や実験動物の専門家などの有識者に確認してもらい、コメントをいただいた。委員と有識者のリストは最後に掲載されている。

3. 内容構成

本ガイドラインは、サル類の中でも現在日本で多く用いられているマカクザル（ニホンザル・アカゲザル・カニクイザルなど）とマーモセットを対象とした、2部構成となっている。各々の生態的特徴に基づき扱いを変える必要があるため、また、マカクザルは特定動物あるいは特定外来生物に指定されているので特別な手続きや配慮が必要なため、別々に作成した。しかし、それ以外は基本的に同じ内容構成で、第I節：基本指針、第II節：飼

養環境と管理、第III節：獣医学的管理、第IV節：ウェルビーイング、第V節：実験の計画と実施、という構成である。これまでにサル類の実験経験がない人にも具体的なイメージを抱いてもらえるように、本ガイドラインでは各項目において、理念だけではなく具体的な数値や薬品名なども別添資料として記載した。例えば、飼育室の温湿度や換気回数や必要な照度など、さらには麻酔薬や鎮痛薬の種類や容量や投与方法などである。詳細は個々の項目を参照いただきたい。また、可能な範囲で引用文献をつけて記載した。マカクザルに関するこれまでの知見はおもにアカゲザルやカニクイザルで得られたもので、ニホンザルで調べたものは非常に少ない。今後、マカクザルでも種ごとの差が問題になるかも知れない。

4. 掲げた2つの目標

ガイドラインの「まえがき」に記述したように、今回大きく2つの目標を掲げている。1つは複数頭飼育の可能な設備を導入するという目標である。米国の指針に記載されているサル類の最小飼育スペースを、これまで多くの日本の研究者が、その大きさのケージで個別飼育しても良いと誤って解釈してきた。現在多くの研究機関では、誤った解釈に基づき作製されたケージを用いて飼育している。米国の指針に書かれている値は、「ペア飼育または群飼育している霊長類のための最小飼育スペース」で

ある。個別飼育は特段の理由が必要であり、また個別に飼育する場合にはもっと大きなスペースが必要であると考えられている。最新の日本語訳では、この点が正しく訳されていて、本文中にも「相性のよいペアまたは大きな集団で飼育する」と記載されている。まだまだ日本で実現できていない複数頭飼育を、本ガイドラインでは明確に目標として掲げ、まずは複数頭飼育が可能な設備を整えることを記載した。ケージの改修や更新は一朝一夕にはできないかもしれないため、10年という猶予期間を設けている。

もう1つの目標は獣医学的管理に関するものである。欧米の研究機関の仲間と話をするとき、彼らが（驚きとともに）日本の体制に関してもっとも指摘するのが、獣医学的管理である。実は、米国の指針でももっとも重要視しているのが獣医学的管理である。例えばAAALACにしても、ケージサイズが多少小さくとも、ソフト面の管理体制が充実していると評価されれば、認証が得られることがある。逆に、獣医学的管理が十分になされていなければ、どれだけ立派な施設であっても認証は得られない。こういう点を多くの研究に携わる人に理解してもらうことも狙いの1つである。残念ながら日本では、獣医師の管理のない状況で研究者だけで実験を実施しているところがまだ少なくない。所属機関の獣医師でなくとも、少なくとも外部の獣医

師との連携体制を整えることを目標として掲げた。これは5年の猶予期間とした。獣医学的管理に関して、日本には大きな問題がある。1つは、日本では獣医師の多くがイヌやネコなどのペットを対象とした職につく。また、大学等でサル類を対象として勉強する機会もほとんどない。サル類の実験を世界基準で実施するためには、サル類を診ることのできる獣医師を育てるシステムが必要である。もう1つ大きな問題は、日本の研究機関には独立した獣医師の部署がないところもあるという点である。研究者と独立した立場で意見ができる獣医師の割合が海外に比べて明らかに少ない。これらの点を解決することが重要である。

5. 終わりに

日本神経科学学会として、行動研究を含めた神経科学分野の研究を対象とした実験ガイドラインを策定した。海外からも分かりやすいガイドラインができたので、論文に「このガイドラインに準拠した」と書くことは簡単である。しかし、ガイドラインができたとしても、現在の日本にはこのガイドラインを満たしている研究機関はまだ少ない。重要なことは、このガイドラインをどのように活用していくのかということである。このガイドラインには現状で何の拘束力もない。極端に言えば、無視しても何の問題も起こらない。序文で「本ガイドラインを参考に、各研究機関においてよ

り適切な管理を実施いただきたい。」と記述した。先述したように日本は機関管理の体制である。多くの研究機関でガイドラインを改定するときの参考にしていただけると幸いである。多くの研究者が、これが現状での世界基準であることを認識して、それに向けて少しでも近づき、近い将来その基準を満たすことができるように努力することが大切である。また、どの研究分野の研究でも、サル類を対象とする場合には、このガイドラインが参考になるはずである。他の研究分野へも広がっていくことを期待したい。

バイオサイエンス
トータルサポート企業として
生命科学の発展に
大きく貢献する
株式会社ケー・エー・シー

KAC

**創立 45 周年記念研究助成
研究テーマ募集中***

動物実験総合支援事業・
受託試験事業・研究用
試薬提供事業の
3つの柱で製薬会社や
大学等研究機関の
ニーズにお応えしています。

*当社は会社創立 45 周年記念事業として「実験動物学分野における研究」を対象に
研究助成を行います。募集要項など、詳細は当社ホームページをご参照ください。

株式会社 ケー・エー・シー 京都市中京区西ノ京西月光町40番地

URL : <https://www.kacnet.co.jp/>

パルスパワーによるアニサキスの不活性化とパルスパワーで処理したアジ肉の品質評価

熊本大学大学院 自然科学教育部
株式会社ジャパンシーフーズ
鬼塚 千波里

熊本大学産業ナノマテリアル研究所
浪平 隆男

1. はじめに

アニサキスは世界中の海に広く分布し、多くの海産物に寄生している線虫である。魚を生食することにより、ヒトに感染しアニサキス症を引き起こす場合があるため、古くから問題とされてきた。アニサキス症の原因となるものは、主に *Anisakis simplex*, *Anisakis physeteris*, *Pseudoterranova decipiens* の3種であり、ヒトへの感染はこの第3期幼虫 (L3) によるものである⁽¹⁾。

これまでに、アニサキスの殺虫へさまざまな方法が試されてきたが、現状、加熱以外でアニサキスを不活化できる実用的な方法は冷凍に限られ、それには十分な冷凍時間を確保する必要がある⁽²⁾。欧州食品安全機関 (FESA) は-24℃で24時間冷凍することがアニサキスの殺虫に有効であると報告している⁽³⁾。しかし、冷凍はドリップの流出や食感の軟化、血合肉の褐色化など、魚肉の品質低下を引き起こすことも知られている。

パルスパワーとは蓄えた電気エネルギーを短い時間で取り出すことで得られる瞬間的に大きな電力である。気体および液体、気体、生体とその応用先は多岐にわたっており、生物分野への応用としては、パルス電界 (Pulse Electric Field) による殺菌技術がよく知られている。今回は、パルスパワーにより魚身内部のアニサキスを不活性化することに成功し、パル

ス処理した魚身の品質評価をおこなったので、その成果⁽⁴⁾を紹介する。

2. パルス電流によるアニサキスの不活性化

2.1 魚身試験体およびパルスパワー発生装置

アニサキス L3 幼虫は長崎沖で漁獲されたマサバの内臓から採取し、PCR-Restriction Fragment Polymorphism (PCR-RELP) 法⁽⁵⁾により、*Anisakis pegreffii*であることを確認している。アニサキスの不活化を確認するための試験体として、図1a及び図1bに示すように、マアジのフィーレ (3枚おろしにした半身) に切れ込みを入れ、その真ん中あたりにアニサキス10隻を入れ、トランスグルタミナーゼにて接着することで、アニサキスが寄生した状態のフィーレを模擬的に作製した。

パルスパワー電源として、コンデンサ容量40 μF もしくは80 μF のコンデンサバンク回路を充電電圧15 kVにて動作させた。それぞれの1パルスあたりの蓄積エネルギーは4.5 kJ及び9.0 kJである。アジフィーレを殺虫処理する空間は直径40cmのステンレス製平行平板電極間となり、その電極間距離は11cmとした。その電極を図1c及び図1dに示すように180Lのバッファ塩水で満たしたプラスチック製円筒タンク内へ沈め、電極間 (処理空間) にフィーレを入

れたメッシュかごを設置してパルス電流を流した。実験では下部電極に空けた穴からポンプによってかごの中へ水流を噴出させることでフィーレを攪拌しながらパルス電流を印加した。なお、初期塩水温度は5~6℃とした。

パルス電流印加時の典型的な電圧・電流及び電力・エネルギー波形を図2に示す。これらは、コンデンサ容量80 μF 、充電電圧15 kV、バッファ塩水導電率5 mS/cmの条件における波形である。電圧、電流、電力のピーク値は、それぞれ15 kV (1万5千ボルト)、6 kA (6千アンペア)、100 MW (1億ワット) であり、電流ピーク10%以上の時間幅は約380 μs であった。このパルスパワーをフィーレの入った電極間へ繰り返し印加することになる。

2.2 アニサキスの不活性化

寄生虫の生死判定基準は自発的な運動である⁽⁶⁾。アニサキスをその活性温度である37℃のウォーターバスで温め、ピンセットで刺激して反応がないものを「不動 (不活化)」とした。処理直後は気絶状態にあるものが多く、正確な判定ができないことから、24時間後、48時間後に観察を行い、不動率 (全数に対する「不動」数の割合) を算出した。アニサキスはパルス処理直後にフィーレから取り出し、観察まで生理食塩水に入れて4℃の冷蔵庫で保管した。

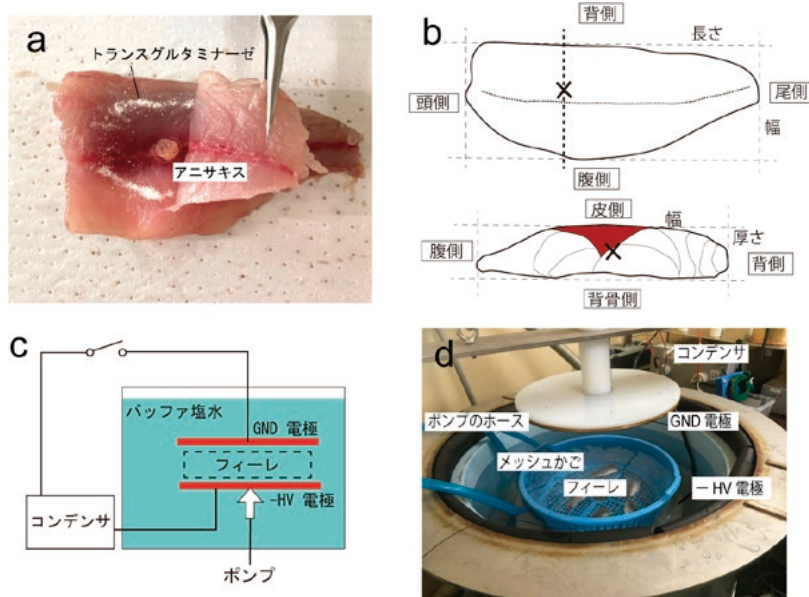


図1 (4) (a) アニサキス入りフィーレの作製、(b) フィーレ内のアニサキスの位置、(c) 実験装置の模式図、(d) 実験装置の写真

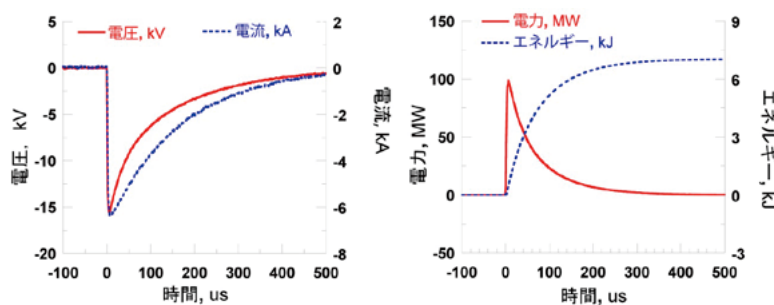


図2 (4) 典型的な電流電圧波形及び電力エネルギー波形（コンデンサ容量80 μ F、充電電圧15 kV、塩水導電率5 mS/cm）

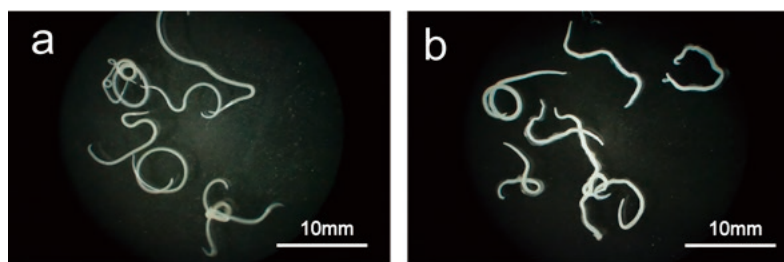


図3 (4) 未処理のアニサキス (a)、パルス処理24時間後のアニサキス (b)

アニサキス入りのフィーレへパルス大電流を繰り返し印加することにより、アニサキスを不活性化できることが確認された。不動判定したアニサキスの多くは、図3に示すように、時間が経つと膨化・白濁し、死亡していることが確認された。なお、その殺虫要因は、いわゆる感電死というほかないの

が現状であり、今後、その殺虫機序が明らかにされることが期待される。

2.3 塩水導電率及び印加回数の不動率への影響

アジフィーレ 5.5 kg（約 250 フィーレ）にアニサキス入りフィーレを 5 枚（アニサキスは計 50 隻）

入れてパルスを印加した。食塩を水に溶かし、バッファ塩水の導電率を 0.2（水道水）、2.0, 5.0, 8.5, 11.5 mS/cm に調整してコンデンサ容量 40 μ F、印加周波数 1 Hz にてそれぞれ 500 回のパルスを印加した。

塩水導電率とアニサキスの不動率の関係を図 4a に示す。パルス電流印加後、24 時間経過時には、5.0 及び 8.0 mS/cm のバッファ塩水導電率時に、48 時間経過時には、バッファ塩水導電率 5.0 mS/cm 時に、最も不動率が高かった。これより、バッファ塩水導電率 5 mS/cm が最も効果的にアニサキスを不活化できる条件、即ち、最も大きな電流がフィーレ及びアニサキスへ流れた条件であると言える。なお、インピーダンス計測法による導電率測定では、100 kHz でのアジフィーレの導電率は 8 mS/cm 程度であった。

電極間へ流れる電流について考えてみると、主たる電流経路となる塩水と処理対象であるアジフィーレの導電率の関係が大きく影響する。簡易的には、電極間にて、塩水とフィーレは並列接続された抵抗と考えることができる。塩水の導電率が高い、即ち、塩水の抵抗が小さいと電極間全体の電流は大きくなり、アニサキスの感電へ有効に働くと考えられるが、その導電率がフィーレのそれと比較して高すぎると、電流は塩水へ一方的に偏ることとなり、結果として、フィーレへ流れる電流の割合及びその絶対量が小さくなる。そのため、今回の殺虫への最適バッファ塩水導電率 5 mS/cm は、8 mS/cm というアジフィーレの導電率時に最も大きな電流が分配される条件であったと考えられる。

続いて、アジフィーレ 7 kg に

アニサキス入りフィーレ 5 枚（アニサキスは計 50 隻）を入れてパルス印加した。導電率を 5 mS/cm に固定し、コンデンサ容量 80 μ F、印加周波数 1 Hz で 100, 200, 300, 400, 500 回のパルス印加してそれぞれ不動率を求めた。

パルス印加回数とアニサキスの不動率の関係を図 4b に示す。印加回数が多くなるほど不動率は高くなり、500 回にて 24 時間後、48 時間後ともに 100 % に達した。このことから、パルス印加によるアニサキスへのダメージは、回数に応じて蓄積していき、それが致命的なレベルに達することで死亡していると考えられる。

3. パルス処理した魚肉の品質評価

3.1 官能評価

パルス処理（フィーレ 3 kg、コンデンサ容量 80 μ F、印加周波数 2.5 Hz、バッファ塩水導電率 5 mS/cm、450 回印加）した魚身の官能評価を行った。この条件におけるアニサキスの不動率は 100 % であり、パルス処理後の魚身温度は約 20 $^{\circ}$ C、バッファ塩水の温度は約 11 $^{\circ}$ C であった。未処理品をコントロールとし、パルス処理したフィーレを 7 段階評点法で評価した（+3：非常に良い、+2：やや良い、+1：わずかに良い、0：同等、-1：わずかに悪い、-2：やや悪い、-3：非常に悪い）。評価項目は、色（血合いの色、身の色）、におい（魚臭さ）、食感（弾力・身のしっかりした感じ）、味（魚臭さ、旨味）、総合評価とした。

官能評価の結果を図 5 に示す。パルス処理 1 日及び 3 日経過後のフィーレとも、未処理品にはやや劣るものの、いずれの項目においてもその平均値は 0（未処理品と同等）から -1（未処理品よりわ

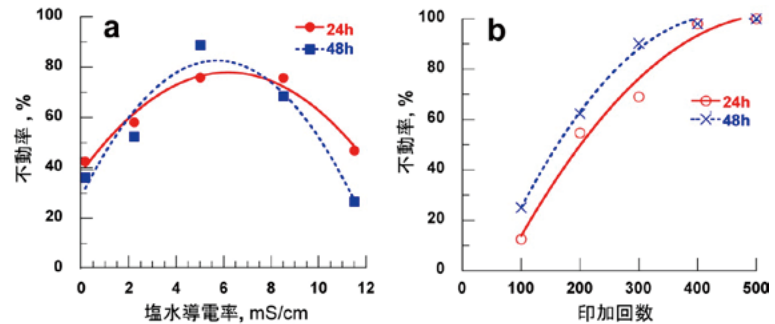


図4 (4) (a) 塩水導電率と不動率の関係、(b) 印加回数と不動率の関係

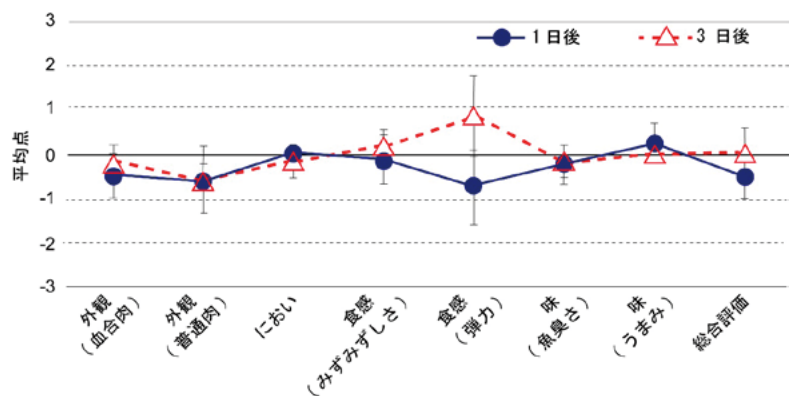


図5 (4) パルス処理品の官能評価結果（エラーバーは標準偏差を示す (n=8)）

ずかに悪い）の間であり、生（非冷凍）の刺身としての品質を十分に保っていると考えられる。

3.2 食感測定

小型卓上試験機（EZ Test, 島津製作所）を使用し、破断試験を行った。同魚群のアジを用い、未処理品、パルス処理品、解凍品（急速冷凍後 1 ヶ月間保管）を各 9 枚測定した。パルス処理品は、フィーレ 3 kg にコンデンサ容量 80 μ F、印加周波数 2.5 Hz、バッファ塩水導電率 5 mS/cm で 300 回印加したものを使用し、破断試験治具として、前歯での咀嚼を想定した幅 10 mm、厚み 1.5 mm の金属板を使用した。試験では、図 6a のように皮側から背側の魚肉へ荷重をかけ、フィーレ 1 枚につき 2 箇所測定した。治具で魚肉を押す速度は 10 mm/min であり、

その荷重の経時変化より弾性率と破断試験力を読み取った。典型的な測定波形は図 6b のようになる。

未処理品、パルス品、解凍品の弾性率と破断試験力の計測値を表 1 に示す。解凍品では弾性率と破断試験力が未処理品に比べて著しく低くなったが、パルス処理品は未処理品とほぼ同等であり、同等の食感を保っていると考えられる。

3.3 色彩測定

未処理品、パルス処理品、解凍品（急速冷凍後 3 日間保管）の明度及び色度（ L^* a^* b^* 値）を分光式色差計（日本電色工業製 SA5500）にて測定した。フィーレはすべて同じ魚群のものを用いた。パルス処理品については、コンデンサ容量 80 μ F、印加周波数 2.5 Hz、塩水導電率 5 mS/cm で 400 回印加したものを使用した。

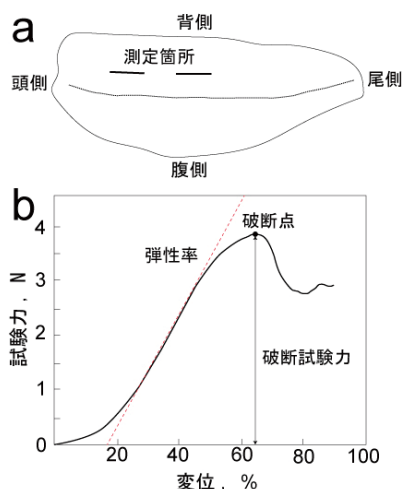


図6 (4) (a) 破断試験の測定箇所、(b) 典型的な破断試験の測定波形と測定パラメータ

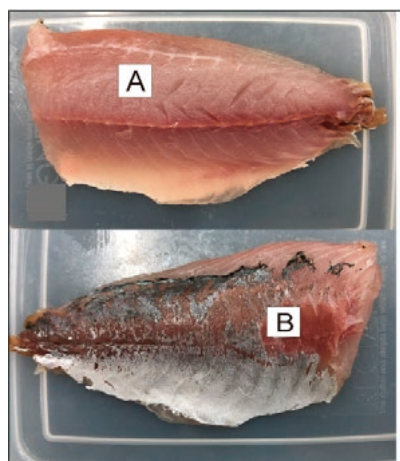


図7 (4) 色差計の測定箇所 (A: 普通肉、B: 血合肉)

それぞれ、図7に示すように普通肉 (A) と血合肉 (B) を測定した。いずれも保管パックの開封後、5℃で4時間置いた後に測定した。

L*a*b* 表色系は、明度をL* 値、色相と彩度をa* 値、b* 値で表す。L* 値は数値が大きいほど白色に近く、数値が小さいほど黒色に近いことを示す。a* 値は数値が大きい

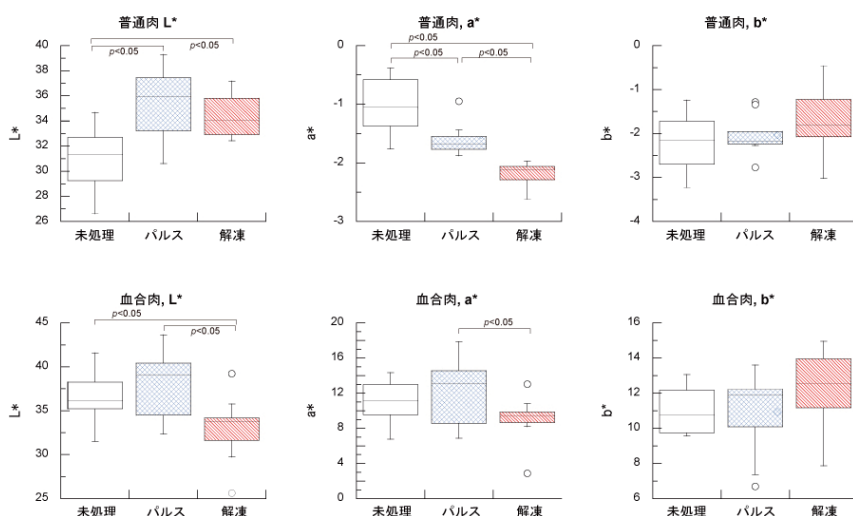


図8 (4) 未処理品、パルス品、解凍品の明度・色相・彩度 (n=10)

いほど赤色、小さいほど緑色、b* 値は数値が大きいほど黄色、小さいほど青色であることを示す。

測定結果を図8に示す。血合肉の赤みはヒトの刺身に対する鮮度感に大きく影響するため、血合肉のa* 値に注目すると、パルス品は未処理品と同等、かつ、解凍品と比べて優位に大きい (= 赤い) 結果となった。これより、パルス品は解凍品に比べて商品価値が高く保たれていると考えられる。

4. まとめ

水産業界にて長年の課題となっていたアニサキス (症) であるが、冷凍によらない新しい解決方法として、パルスパワーを用いたアニサキス殺虫技術を開発した。その殺虫技術は、魚身の品質をほとんど低下させることなく、魚身の内部にいるアニサキスを完全に不活性化することができ、今後、魚介類の安心・安全な生での喫食へ大きく貢献すること

が期待されている。

参考文献

1. 日本食品衛生協会 (2013) 食中毒予防必携第3版
2. D.A. Wharton, O. Aalders, "The response of Anisakis larvae to freezing", Journal of Helminthology, 76(4), 363-368 (2002) DOI: 10.1079/JOH2002149
3. EFSA, "Scientific opinion on risk assessment of parasites in fishery products", EFSA Journal, 8(4), 1543 (2010)
4. C. Onitsuka, K. Nakamura, D. Wang et al, "Inactivation of anisakis larva using pulsed power technology and quality evaluation of horse mackerel meat treated with pulsed power", Fisheries Science, 88, 337-344 (2022) DOI: 10.1007/s12562-022-01593-2
5. A. Umehara, Y. Kawakami, J. Araki, A. Uchida, "Molecular identification of the etiological agent of the human anisakiasis in Japan", Parasitology International, 56(3), 211-215 (2007) DOI: 10.1016/j.parint.2007.02.005
6. 日本食品衛生協会 (2015) 食品衛生検査指針 微生物編, p.814

(日動協ホームページ、LABIO21 カラーの資料の欄を参照)

表1 未処理品、パルス処理品、解凍品の破断試験の測定結果 (n=9)

	未処理品	パルス処理品		解凍品	
	平均値±SD	平均値±SD	t-test	平均値±SD	t-test
弾性率 [N/mm ²]	10.79±2.08	10.26±1.51	n.s.	6.98±1.18	**
破断試験力 [N]	3.04±0.54	3.15±0.46	n.s.	2.61±0.41	*
n.s.: 非有意 * : p<0.05 ** : p<0.01					

ゲノム編集による遺伝子改変 オポッサムの作製

理化学研究所 生命機能科学研究センター
生体モデル開発チーム

清成 寛

はじめに

これまで遺伝子破壊（ノックアウト）や挿入（ノックイン）といった遺伝子改変動物の作製にはES（embryonic stem）細胞を用いたジーンターゲット法が用いられてきたが、ゲノム編集技術、特にCRISPR/Casシステムを用いた遺伝子改変により、これまで2年近くを要した遺伝子改変マウスの作製もわずか2、3ヶ月で可能となった。しかしながら、ゲノム編集技術の最も注目すべきは、遺伝子改変動物作製の速さではない。ES細胞を介さず、直接受精卵を用いた遺伝子改変が可能であることから、ES細胞が樹立されていたマウスを中心とした非常に限られた動物種のみならず、その作製の可能性は多くの動物種へと広がった。

哺乳類は、原獣類（単孔類）、後獣類（有袋類）、真獣類（有胎盤類）の3つに分類されるが、有胎盤類はマウスを中心によく研究が進められており、単孔類は年に1回数個の卵しか産まないため、研究対象としてはあまり相応しくな

い。そこで我々は、有袋類に着目した。有袋類は、他の哺乳類になんような特徴を有する。中でも有名なのは、未熟仔を出産する事である。従って、仔は出生後、母体外にてその後の様々な臓器や器官発生を完了する必要がある。一般的に、有袋類といえば、コアラやカンガルーなど大型の動物を想像するだろうが、今回我々が対象としたのは、有袋類の中でも小型（マウスより大きく、ラットより小さい）のハイイロネズミオポッサム（学名：*Monodelphis domestica*）（以下、オポッサム）である。オポッサムは、アメリカ大陸に生息しており、有袋類と呼ばれるにも関わらず育児嚢（袋）を持っていない。1年中繁殖が可能で、多産であることから、欧米では50年程前から実験動物として利用されている。近年我々は、このオポッサムを用いて有袋類では初となる、遺伝子改変オポッサムの作製に成功¹⁾したので本稿にて紹介する。

ホルモン投与による採卵時期のコントロール

オポッサムは、マウスやラットと異なり発情前期の特定が困難であり、また、発情周期も規則的には回っていないと言われているため²⁾、雌雄を同居させた場合、早くても交尾までに4～7日ほどを要する（図1）。また、プラグ（膣栓）もつかないため、交尾の確認はカメラによる動画撮影によって行う必要がある。多少の不便さはあるものの単に採卵するだけであれば交尾のタイミングにバラツキがあっても問題ないのだが、実際に遺伝子改変個体を作製する際には、後述するように移植用の雌（レシピエント）と移植する受精卵のステージを合わせる必要がある。しかし、単に同居させるだけでは、レシピエントとホスト（採卵用）の雌が同時期に交尾することは稀であったため、ホルモンによる交尾誘導を試みた。まず、マウスやラットでも利用しているPMSG（牝馬血清性腺刺激ホルモン）を30IU腹腔内投与し、雄と同居させたところ、全て

の個体において同居日当日に交尾を確認できた。ところが、いざ採卵してみると、未受精卵や異常卵しか得られなかった。その後、PMSGの濃度の最適化を行ったところ、1IUの濃度で正常な受精卵が得られたものの、交尾のタイミングは同居日から観察最終日である7日後までばらついてしまった。そこで更に、PMSG投与72時間後に5IUのhCG（ヒト絨毛性ゴナドトロピン）を投与したところ、交尾が確認できたほとんどのペアは同居後2日以内であり（図1）、雌からは正常な受精卵が得られた。このように、ホルモン投与による交尾誘導は、交尾日をより限定的にでき、これにより、カメラによる交尾確認もこの2日間に限定することができるようになった。

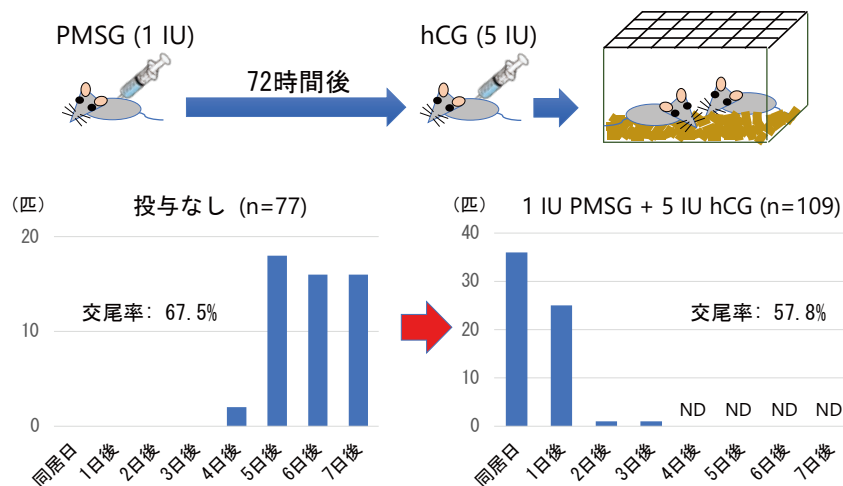


図1 ホルモン投与後の交尾日の変化

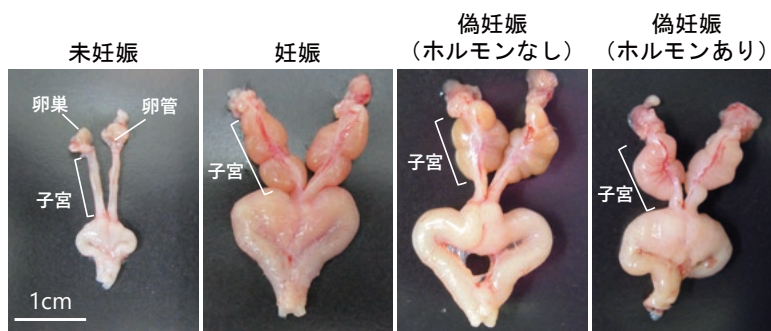


図2 オポッサム子宮の肥厚具合の比較
偽妊娠メスは、ホルモン投与後、或いはホルモン投与なしで精管結紮オスと交配して作製したもの。
(Kiyonari et al., Curr Biol. 2021のデータより改変)

レシピエントへの受精卵移植技術の確立

次に、受精卵の移植技術の確立を試みた。これまで有袋類ではいくつかの種で受精卵の移植が試みられてきたが、まだ産仔を得ることに成功したという報告はなかった³⁾⁴⁾。そこでまず我々は、マウスやラットと同様に雌オポッサムと精管結紮雄オポッサムを交配させることで、偽妊娠オポッサムの作製に着手した。オポッサムの精管はかなり細く、当初は見つける事が困難であった。作製した精管結紮雄は、複数回による雌

との交配により産仔の有無を確認した上で実験に用いた。妊娠状態にあることの確認は、カメラによる交尾行動と移植時の子宮の肥厚具合により判断した（図2）。偽妊娠オポッサムは、受精卵の採卵時と同様、ホルモン投与による交尾誘導を行ったものと、ホルモン投与なしで単に同居させたものの2種類を用いた。移植する受精卵は、基本的に偽妊娠雌と同日に交尾確認できた雌から採取したものを使用し、採卵後すぐに偽妊娠雌に移植した。結果、ホルモ

ン投与なしの偽妊娠雌からは産仔を得ることができたものの、ホルモン投与した偽妊娠雌からは産仔が得られなかった。ホルモン投与した雌と通常の雄（精管結紮なし）とを交配した場合は問題なく産仔が得られていたため、ホルモン投与による影響はないと考えていたが、何度実施してもホルモン投与した偽妊娠雌から産仔が得られることはなかった。原因についてはまだ不明である。レシピエント側の交配コントロールができないため、多少の困難は

あったが、ホストとなる採卵用雌のコントロールができただけでもかなり効率よく実験を行う事ができた。これは、有袋類において受精卵移植によって産仔が得られた初めての結果でもあった。

マイクロインジェクション法によるゲノム編集

受精卵を用いたゲノム編集には、マイクロインジェクション法とエレクトロポレーション法がある。エレクトロポレーション法であれば特別な技術を必要とせず、特にGONAD法⁵⁾であれば、受精卵を体外に出す必要もないため移植の必要もない。ただし、エレクトロポレーション法では遺伝子ノックアウト、および小さなDNA（オリゴDNA等）のノックインしかできない。一方でマイクロインジェクション法は、高度な技術を要する代わりに、遺伝子ノックアウトに加え、プラスミドのような大きなサイズのDNAのノックインが可能である。我々は、将来的なノックインオポッサムの作製を視野に入れていたこともあったが、もう1つの大きな理由によりマイクロインジェクション法を選択せざるを得なかった。オポッサムの排卵は交尾により誘起され、交尾後約20時間で排卵する。オポッサムの卵管はマウスに比べ非常に長いにも関わらず交尾後24時間で子宮まで下りてくる。つまりオポッサムの

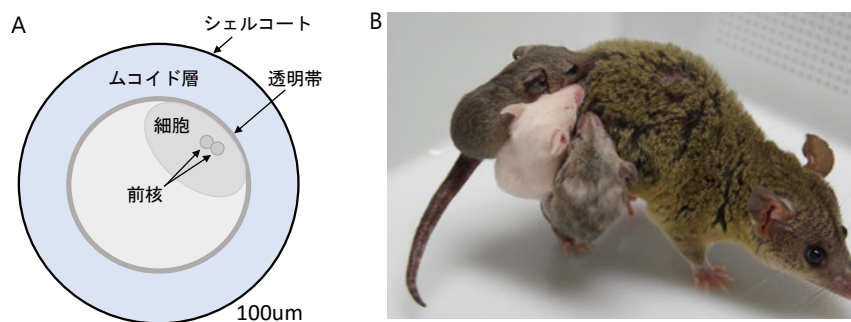


図3 オポッサムの受精卵と遺伝子改変オポッサム
(A) 交尾後、約34時間の受精卵の模式図。(B) 母親の背中にしがみついたゲノム編集によりチロシナーゼ遺伝子に変異をもつ仔。(上) ヘテロ変異、(中) ノックアウト (両遺伝子変異)、(下) モザイク (一部の細胞がノックアウト)。

卵（未受精卵および受精卵）が卵管に存在するのはわずか4時間である。加えて、マウスやラットのように受精の場である卵管膨大部も明確でないため、GONAD法の適用は難しい。また、受精卵の直径は約300～400μmと大きく、透明帯の外側は分厚いムコイド層とシェルコートと呼ばれる硬い殻のような構造で覆われているため（図3A）、体外でのエレクトロポレーション法も困難であると判断し、マイクロインジェクション法によるゲノム編集を選択した。

上述したように、オポッサムの受精卵は透明帯の外側にムコイド層、シェルコートがあったため、通常のマイクロインジェクション法ではインジェクション針を細胞内まで挿入することが困難であった。我々はこの問題を2つの方法によりクリアした。1つ目は、より早期の受精卵をマイクロインジェクションに用いた事である。当初、オポッサム飼育室

は明期（8時～22時）、暗期（22時～8時）で運用していた。オポッサムは暗期に入ってから2時間以内に交尾することが多いため、翌々日の朝8時の採卵で、交尾後32～34時間の受精卵が得られる。実験を繰り返していく中で、より早いステージの受精卵の方がシェルコートが不完全な為か、インジェクション針が挿入しやすいことがわかった。そこで、明暗周期を2時間後ろにずらすことで（明期（10時～24時）、暗期（24時～10時））、朝8時の採卵で交尾後30～32時間の受精卵が取得できるようになり、以前に比べて針が挿入しやすくなった。2つ目はピエゾを用いた事である。一般的に、ピエゾは核移植や顕微授精などに使用されているが、マウス受精卵を用いたマイクロインジェクションにおいて、ピエゾを使用する事により受精卵にスムーズにインジェクション針を挿入でき、結果、産仔率が大幅に改善されることを以前我々は報告した⁶⁾。こ

表1 前核期胚を用いたチロシナーゼ遺伝子座のゲノム編集結果

♀	injectionした 受精卵数	移植した 受精卵数	産仔数	毛色	変異をもつ 産仔数
1	18	18	0	—	—
2	18	18	0	—	—
3	16	16	3	野生色 3	3
4	25	25	5	野生色 5	1
5	15	14	2	白色 1、モザイク 1	2
6	11	11	2	白色 2	2
7	12	11	2	野生色 2	2
8	18	18	5	白色 2、モザイク 1、 野生色 2	5

れをオポッサムのマイクロインジェクションにも適用した結果、マウス同様、比較的スムーズにインジェクション針を挿入できるようになった。以上の2点により、オポッサムの受精卵にもマイクロインジェクション法を適用することが可能となった。

遺伝子改変オポッサムの誕生

標的とした遺伝子はチロシナーゼ遺伝子で、受精卵（前核期胚）にCRISPR/Cas9システムを用いて遺伝子ノックアウトを試みた。チロシナーゼ遺伝子は、ゲノム編集効率を評価する上で他の動物種においてもよく用いられる遺伝子であり、2本ある染色体のうち、1本の染色体上のチロシナーゼ遺伝子破壊では見た目上の変化はないが、2本共に破壊した場合には、メラニン色素欠乏症となり、アルビノ（毛色は白く、目は赤色）の表現型を示す⁷⁾⁸⁾⁹⁾。gRNAはチロシナーゼ遺伝子座の

エクソン4内に2箇所を設定し、マイクロインジェクション後にホルモン投与なしの偽妊娠オポッサムに移植した結果を示す（表1）。計8回のマイクロインジェクションの実施により、チロシナーゼ遺伝子座に変異を持つ産仔が多数得られ、中には、両遺伝子座の変異（ノックアウト）の表現型を示すアルビノ個体も得られた（図3B）。

おわりに

今回、我々はオポッサムを用いて有袋類では初となる遺伝子改変個体を得る事に成功した。ゲノム編集の到来により原理的には全ての生物種において遺伝子改変の可能性が高まったことは事実である。しかしながらその一方で、遺伝子改変に必要なゲノム情報の整備、生殖・発生工学技術の確立など、そのハードルは未だ高い。特にこれらの技術が確立されている有胎盤類であるマウスと

進化的な系統樹が離れば離れるほど、その確立は難しいと考えられる。今回の報告により、新たな生物を対象とした遺伝子改変により、まだまだ多くの謎にまつまれている様々な生物の生命現象を解き明かす一助となれば幸いである。

参考文献

1. Kiyonari H, Kaneko M, Abe T, et al. Targeted gene disruption in a marsupial, *Monodelphis domestica*, by CRISPR/Cas9 genome editing. *Curr Biol*. 2021;31(17):3956-63 e4.
2. Baggott LM, Davisbutler S, Moore HDM. Characterization of Estrus and Timed Collection of Oocytes in the Gray Short-Tailed Opossum, *Monodelphis-Domestica*. *J Reprod Fertil*. 1987;79(1):105-14.
3. Tyndalebischoe CH. Blastocyst Transfer in Marsupial *Setonix Brachyurus*. *J Reprod Fertil*. 1963;6(1):41-&.
4. Breed WG, Leigh CM. Successful embryo transfer in a small dasyurid marsupial, *Sminthopsis crassicaudata*. *Theriogenology*. 1996;45(5):1075-80.
5. Gurumurthy CB, Takahashi G, Wada K, et al. GONAD: A Noval CRISPR/Cas9 Genome Editing Method that Does Not Require Ex Vivo Handling of Embryos. *Curr Protoc Hum Genet*. 2016;88:15.8.1-15.8.12.
6. Abe T, Inoue KI, Furuta Y, et al. Pronuclear Microinjection during S-Phase Increases the Efficiency of CRISPR-Cas9-Assisted Knockin of Large DNA Donors in Mouse Zygotes. *Cell Rep*. 2020;31(7):107653.
7. Yen ST, Zhang M, Deng JM, et al. Somatic mosaicism and allele complexity induced by CRISPR/Cas9 RNA injections in mouse zygotes. *Dev Biol*. 2014;393(1):3-9.
8. Honda A, Hirose M, Sankai T, Yasmin L, Yuzawa K, Honsho K, et al. Single-step generation of rabbits carrying a targeted allele of the tyrosinase gene using CRISPR/Cas9. *Exp Anim Tokyo*. 2015;64(1):31-7.
9. Rasys AM, Park S, Ball RE, et al. CRISPR-Cas9 Gene Editing in Lizards through Microinjection of Unfertilized Oocytes. *Cell Rep*. 2019;28, 2288-2292 e2283.

動物実験施設における 核酸分解可能な気相式除染 システムの導入とその運用

小木曾 昇¹、アルムニア フリオ¹、高野 一路^{1, 2}、鈴木 康司³、岡崎 利彦⁴

1：国立長寿医療研究センター研究所 2：(株) ケー・エー・シー

3：(株) シーライブ 4：大阪大学医学部附属病院未来医療開発部未来医療センター

1. はじめに

実験動物施設における SPF 環境下、清浄区域への飼育機器や器材、実験機器類等の物品搬入は、病原性微生物を持ち込まないために滅菌または除染、消毒処置を行う必要がある。主な滅菌（除染）法には、オートクレーブ（AC）滅菌法とガス滅菌（除染）法があり、滅菌物の耐熱性または非耐熱性により使い分けられている。また、飼育室内で感染症が発生した際や、飼育室や感染実験室のクリーン化を行うための滅菌（除染）には、ガス等を用いた空間除染が行われている。

平成 13 年（2001 年）エチレンオキシドガス（EO ガス）、平成 20 年（2008 年）ホルムアルデヒドが、突然変異誘発性や発がん性などの人体への影響を含む管理上の問題から労働基準法や労働安全衛生法施行令に基づき特定化学物質障害予防規則（特化則）が改正された。施設の現場においては、従前の漏えい防止または緊急時のための措置、作業主任者の選任や保護具着用等に加えて、ガスの発散による労働者の暴露を防止するための措置（発散抑制措置）、作業環境

測定、その他の措置として作業記録の保存（30 年間）等々が盛り込まれた。その様な理由から、医療用で汎用されている過酸化水素ガス、二酸化塩素ガス、オゾンガス、過酢酸製剤、低温蒸気ホルムアルデヒドガス等が実験動物施設においても使用されることになった。そこで、国立長寿医療研究センター（以下、長寿研）は、2012 年に開設した新実験動物施設の設計および建築段階で、非耐熱性の滅菌（除染）設備が考慮されていなかった致命的なハンディを背負いつつ稼働に間に合わせるため、①設備機器の導入時（インシャルコスト）と導入後（ランニングコスト）が比較的安価である、②特化則適用除外であり労働安全衛生に適していること、③滅菌（除染）対象物の浸透性が良好であり腐食性が少ないもの、④装置が洗浄室や飼育室、実験室への移動可能であること、⑤除染後のサニテーション（清拭）

が不要等の点から、メタノールの触媒反応による気相式除染システム（図 1）に着目し実験動物施設に導入し運用を始めた。本システムは 2021 年 3 月に装置（シーライブ社、steriXcure SX100CMS）を更新した。

2. 気相式除染技術の特徴と特性

銅（Cu）を触媒として酸化銅とメタノール（MeOH）の酸化還元反応を制御することにより、最適な複合ガスを生成している。ガスの主要成分は、ホルムアルデヒド（HCHO）80 ～ 250ppm とメタノール 1000 ～ 6000ppm を含む水素（H₂）、二酸化炭素（CO₂）、酸素（O₂）、窒素（N₂）、水分子（H₂O）の組成で、容積に応じた一定量のメタノールで生成されたガス成分は暴露後に強制的に分解処理される。

装置には触媒反応炉を搭載しており、触媒の化学反応は供給されるメタノールと空気のに

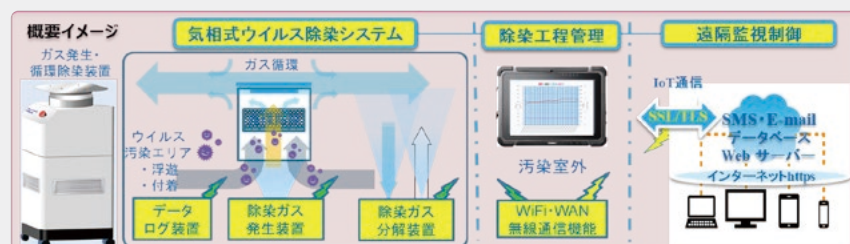


図1 気相式除染システム概要図

よって調整される。この反応中は外部からの熱エネルギーを必要としない自己反応状態であり、除染ガスとして機能する混合ガス成分の混合比を制御することで、除染対象の病原体に対する有効性を発揮する。

この除染ガスには、核酸（DNA, RNA）を 99.99% 分解する能力を有しており、病原体核内の核酸を分解し失活させることが確認されている（図 2,3）ことが、他の滅菌（除染）装置では検証されていないまたは明らかにされていない。さらにコロナウィルス（SARS-CoV2）への有効性は減少率 99.994%, LRV4.20 を発揮（4Log）し、室内空気中の混合ガスがウイルスを巻き込んで、脂質からなるエンベロープの二重膜（破壊）、エンベロープ膜上の膜タンパク質（変性）、タンパク質からなるウイルス殻（カプシド変性）、核内のゲノム RNA（分解）等の作用に依り失活すると想定されている。



図2 dsDNA分解イメージ



図3 RNA分解

3. 滅菌（除染）・燻蒸法の特徴と比較

医療機関や実験動物施設で使用されている滅菌（除染）法^{1) 2)}は、EO ガス滅菌、過酸化水素低温ガスプラズマ滅菌、過酸化水素ガス低温滅菌、低温蒸気ホルムアルデヒド滅菌が主なものであるが、EO ガス滅菌が確実な滅菌であるような記述をしたものもある。以下に各滅菌（除染）法の特徴を示す（図 4）。

①EOガス滅菌

微生物が持つタンパク質、核酸を変性させることにより、微生物を殺滅する方法である。EO ガスは、爆発性があるため、通例、二酸化炭素などで 10 ～ 30 % に希釈して用いる。EO ガスは、反応性の強いアルキル化剤であるので、EO ガスと反応する製品または EO ガスを吸収しやすい製品の滅菌には適用できない。

②過酸化水素ガスプラズマ滅菌

作業工程は約 1 時間で滅菌が終了し、直ぐに使用できることと毒性がないことが特徴である。ランニングコストは他の滅菌装置に比べて高くつく。セルロース、ガーゼ、スポンジ、粉末、液体は滅菌できないし、包装紙もポリエチレンやポリプロピレン製が必要である。

細い管腔を有する器材にもブースターを取り付けて滅菌できるが、ガスプラズマやガスの拡散を障害する包装形状には注意が必要である。

③過酸化水素ガス滅菌

過酸化水素による滅菌は、過酸化水素がもつ酸化力又は過酸化水素をプラズマ状態にすることにより発生するラジカルによる酸化反応によって、微生物を殺滅する方法である。加熱法と比較して低い温度での滅菌が可能であるが、セルロースを材料として用いた使い捨ての作業衣、メンブランフィルターなど過酸化水素を吸着するような被滅菌物（例、紙、

殺菌方法 殺菌性能	ホルマリン 燻蒸	過酸化水素 ガス	過酢酸 ガス	二酸化塩素 ガス	オゾン	エチレン オキシサイドガス	Biovector / steriX 複合ガス
殺菌剤	加熱蒸散 (架橋)	試薬噴霧 (酸化)	試薬噴霧 (酸化)	ガス発生 (酸化)	オゾン発生 (酸化)	EOGポンペ (アルキル化)	ガス発生 (核酸分解)
有効成分の状態	蒸気	ミスト→蒸発	ミスト→蒸発	ガス	ガス	ガス	ガス
拡散性	低	中	中	高	中	高	高
空間浄化適応性	△	△	○	○	○	×	○
ダクト送達性	×	×	×	○	△	—	○
金属等に対する 腐食性	△	△	△	△	×	—	○
殺菌力 有効濃度 (ppm)	1600～2000 3500～5000	80～150 200～800	6	360	1～6 CT60	—	150～250
精密器材への適用	×	△	△	△	×	—	○
運転サイクル (100m ³ 以上)	2日	半日～ 1日	半日～ 1日	1/4～ 1/3日	半日～ 1日	—	半日～ 1日
危険度 (許容濃度)	TLV- TWA/STEL 0.1/0.3ppm	TLV-TWA 1ppm	TLV-STEL 0.4 ppm	TLV- TWA/STEL 0.1/0.3ppm	管理濃度 0.1ppm	管理濃度 1ppm特化則	TLV- TWA/STEL 0.1/0.3ppm

図4 滅菌(除染)の特徴と比較

(注) 本表は独自調査によりまとめたものであり、ガイドラインに基づくものでない。
用途や運用により評価がそれぞれ異なる。
エチレンオキシサイドガスは空間除染に使用しないので注意が必要である。

シーライプ資料より引用

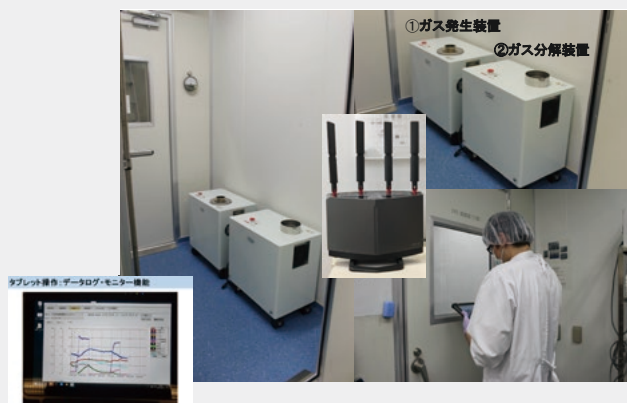


図5 パスルールの気相式除染システム (steriXcure)

リネン、綿布、ガーゼ、セルロース、液体や粉末)では、滅菌効果が減少するため、このような被滅菌物の滅菌法としては適していない。

④低温蒸気ホルムアルデヒド滅菌

機械的制御として圧力、温度、時間をモニターし、予備加熱、空気除去、プレコンディショニング後に滅菌工程を行い、その後にRO水の蒸気パルスとエアパルスによる離脱を行う。OH基による蛋白質の凝固と核酸のメチル化によって滅菌される。対象器材は基本的にEOG滅菌と同じで、包装材としては不織布が推奨されている。滅菌コンテナの使用は確定されていない。ホルムアルデヒドは国際がん研究機関が、発がん性があると認定しており、EOGと同様に特定化学物質障害予防規則に含まれている。

滅菌(除染)法には、殺菌剤により有効成分の状態(ガス、蒸気、ミスト)により拡散性(浸透性含む)、空間浄化の適応性(臭気含む)、金属等に対する腐食性を含めた精密機器や器材の適用性、耐圧チャンバー(容器)の要不要、装置の移動式可否、等々の特徴があるため、滅菌(除染)する物品や使用する場所により選択する必要がある。

4. 気相式除染システムの装置と具体的な運用

除染システムの仕様は、除染ガス発生装置とガス分解装置、および操作用タブレット端末からなる(図5)。操作用タブレット端末には、除染ガス発生装置の発生時間、濃度制御、暴露時間、分解装置の運転時間等のプログラム設定を行う。2つの装置は除染する部屋(チャンバー)内に設置する。装置の運転前の準備として、除染ガス発生装置のメタノール供給タンクにメタノールを入れて電源オンにする。そ

の後の操作は不要で自動運転になる。また、装置の運転中には、メタノールの残量、除染する部屋(チャンバー)の温・湿度、装置の中の反応温度等が端末で確認できる。除染する場所は、日常の洗浄室のパスルーム(10m³)以外に、2年毎のメンテナンス(フィルター交換)を行うP3A感染実験室(50m³)で実施している。

(1) 洗浄室パスルールの除染

除染工程は、①ガス発生時間約30分→②ガス暴露時間約180分(ホルムアルデヒドガス想定濃度160-200ppmで制御)→③ガス分解時間約60分→④ガス排気時間約120分(排気開始10-15分後には部屋内のホルムアルデヒドガス想定濃度は0ppm)である(図6)。この工程は、最もガスの残留性が少ない人への労働安全性を考慮したプログラム設定である。

除染時には、ケミカルインジケーター(CI, 毎回)およびバイオリジカルインジケーター(BI, 使用頻度により2-4ヶ月毎)を用いた除染効果(ガス浸透性含む)を定期的に行っている。その結果を図7に示した。

除染する物品は、飼育器材、実験器具・器材等(チューブ、採血管、グローブやゴム・ビニール袋類、掃除用具)、実験機器類(例. 行動実験機器)、精密機器類(例. パソコン、タブレット)をエレクターシェルフの棚に置いて除染を行う(図8)。この部屋の広さ(10m³)では、2m近くの実験机や冷凍・冷蔵庫、冷却遠心機等も除染した。高頻度の除染によりパソコン(100回以上)、ガス発生装置及び分解装置だけでなく、実験器具・器材等の腐食は認められなかった(図9)。

(2) P3A感染実験室の空間除染の一例

除染工程は、①ガス発生時間約180分→②ガス暴露時間約240分(ホルムアルデヒドガス想定濃度160ppmで制御)→③ガス分解時間約360分→④ガス排気時間約510分(排気開始10-15分後には部屋内のホルムアルデヒドガス想定濃度は0ppm)である(図10)。また、実験室(空間)のガス除染効率(拡散)を上げるために、サーキュレーターを2台使用した。

除染時には、ケミカルインジケーターおよびバイオリジカルインジケーターを用いた除染効果(ガス浸透性含む)をその都度行っている。その結果を図11に示した。

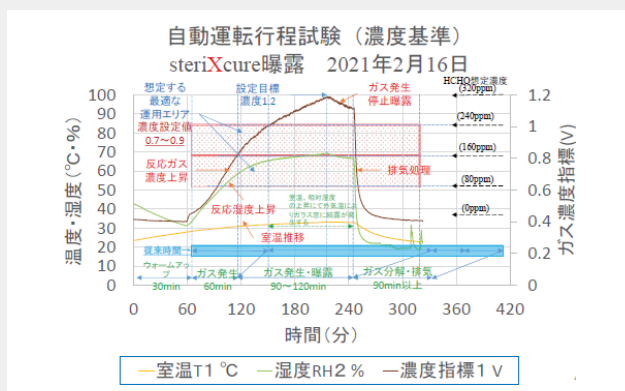


図6 パスルールの除染工程



図10 P3A感染実験室

steriXcure 検査結果	※ガス発生基準での運転 (センサー故障、2段階、3段階、4段階、5段階、6段階、7段階)											
	検査項目	検査結果	1段階	2段階	3段階	4段階	5段階	6段階	7段階	8段階	9段階	10段階
2.5ml/100ml	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果
	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果
	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果
	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果
A1000-00172	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果
	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果
	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果
	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果
A1000-00172	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果
	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果
	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果
	試験項目	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果	試験結果

図7 パスルールのBI培養結果



図8 複合ガス除染した物品類



図9 複合ガス除染した電子機器類 ※腐食や劣化は観察されなかった

5. おわりに

長寿研における気相式除染システムを使用した運用面を中心にその特徴を示した。その特徴とは、①低温除染が可能である、②オートクレーブ（高圧蒸気滅菌器）のような容器（チャンバー）がなくても、小さな部屋（空調ダンパー、排気用ダクトは必要）で十分除染は可能である、③除染による物品の腐食性や残留性はほとんど認められない、④装置のインシヤルコストおよびランニングコストも安価である、⑤日常のメンテナンスも不要等である。また、本システムの除染方法の運用から、施設が稼働してから感染事故は発生していない。

本システムの装置は、医療用の滅菌装置として認可が取得できていないが、対象物により滅菌手法を使い分けられているように、PCやUSBメモリー等、通常の滅菌法では腐食や水分により使用できなくなる対象物を簡便に除染できる滅菌レベルの手段として、用途に限定した除染バリデーションを実施して運用を行っている。

以上、本システムは多くの特徴と長所を有し、EOガスやホルマリンガス滅菌に劣らない実用性のある装置として実験動物施設の運用に適していて高く評価でき、さらに新型コロナ感染防止にも適用できる次世代の除染技術³⁾として大きく期待できる。

参考文献等

- 1) 手術医療の実践ガイドライン (改訂第三版), 手術医学Vol 40, 96-116, 2019
- 2) 滅菌保証ガイドライン2021, 日本医療機器学会
- 3) Nature Vol.598, No.7882, 28 October 2021

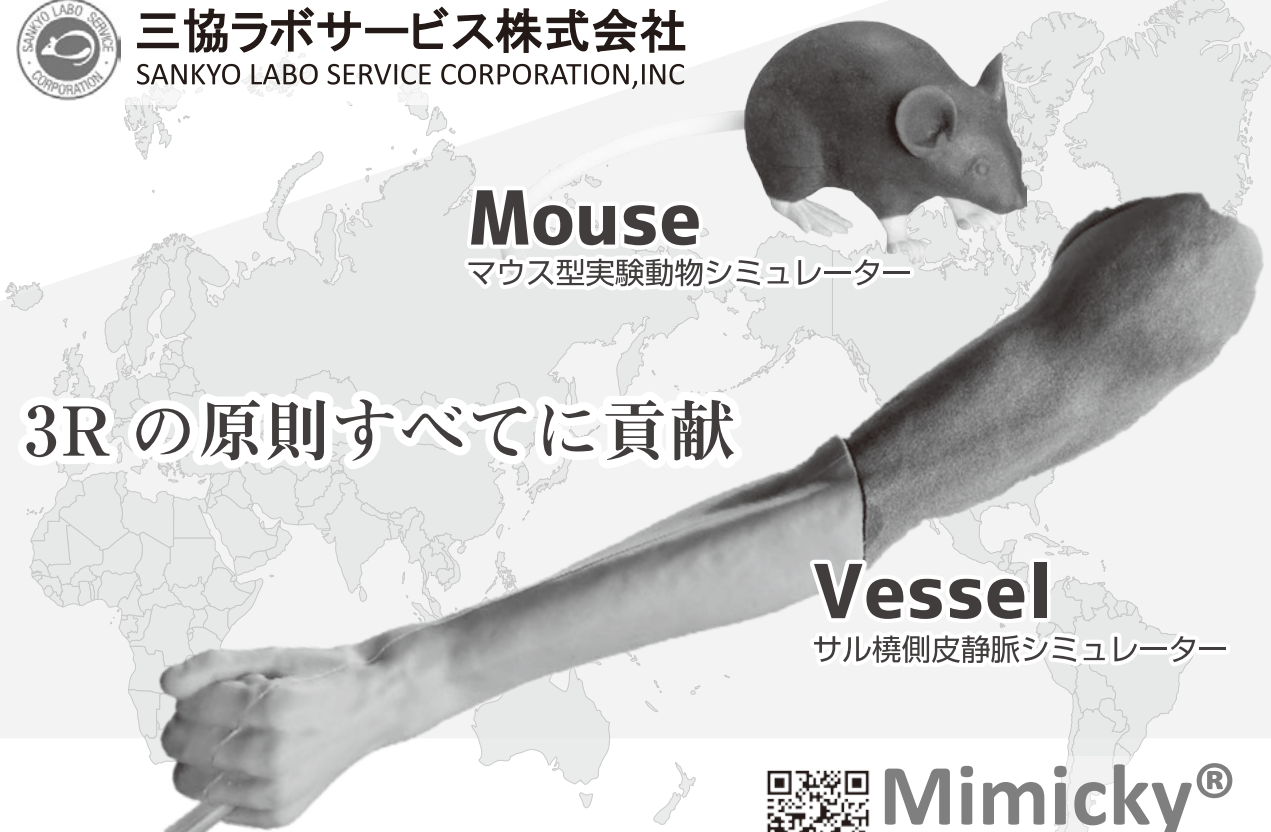
(日動協ホームページ、LABIO21 カラーの資料の欄を参照)

Biovector 曝露									
培養試験表	燻蒸工程	ガス発生(2.5H)→ガス燻蒸(4H)→ガス分解6H→エアレーション(8.5H)					陽性数/BI数		
		7月6日13:00～ 7月6日17:00～		7月6日21:00～		7月7日2:30～		陰性数/BI数	
P3A	培養結果表		日本薬局方による培養日数 (7日間)						
培養投入2020/07/11	BI設置場所	培養記号	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目	7日目
1: <i>Bacillus atrophaeus</i> ATCC #9372 Mesa Strip 1次包装 (グラシン紙)	テーブル上	P3A_BI①1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI①1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	安全キャビ内	P3A_BI②1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI②1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	奥右角椅子上	P3A_BI③1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI③1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	ゲージ2-4内	P3A_BI④1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI④1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	準備室中央	P3A_BI⑤1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI⑤1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	コントロール	P3A_BI⑥1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI⑥1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
培養投入2020/07/11	BI設置場所	培養記号	撮影2020/07/12	撮影2020/07/13	撮影2020/07/14	撮影2020/07/15	撮影2020/07/16	撮影2020/07/17	撮影2020/07/18
2: <i>Bacillus pumilus</i> ATCC #27142 Mesa Strip 1次包装 (グラシン紙)	テーブル上	P3A_BI①1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI①1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	安全キャビ内	P3A_BI②1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI②1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	奥右角椅子上	P3A_BI③1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI③1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	ゲージ2-4内	P3A_BI④1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI④1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	準備室中央	P3A_BI⑤1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI⑤1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	コントロール	P3A_BI⑥1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI⑥1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
培養投入2020/07/11	BI設置場所	培養記号	撮影2020/07/12	撮影2020/07/13	撮影2020/07/14	撮影2020/07/15	撮影2020/07/16	撮影2020/07/17	撮影2020/07/18
3: <i>Geobacillus stearothermophilus</i> ATCC #7953 Spore Strip 1次包装 (グラシン紙)	テーブル上	P3A_BI①1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI①1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	安全キャビ内	P3A_BI②1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI②1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	奥右角椅子上	P3A_BI③1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI③1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	ゲージ2-4内	P3A_BI④1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI④1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	準備室中央	P3A_BI⑤1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI⑤1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	コントロール	P3A_BI⑥1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
		P3A_BI⑥1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1

図11 P3A感染実験室 BI培養結果



三協ラボサービス株式会社
SANKYO LABO SERVICE CORPORATION, INC



Mouse
マウス型実験動物シミュレーター

3R の原則すべてに貢献

Vessel
サル焼側皮静脈シミュレーター



Mimicky®
Experimental procedure Simulator



ハンドリングや実験処置がマウスに及ぼす影響について考える

東京大学 大学院農学生命科学研究科 附属食の安全研究センター
久和 茂

一般に、教育訓練は知識と技術の習得からなる。知識については講習会形式、あるいは最近ではeラーニングによって実施されることが多い。一方、技術の習得については一堂に会して行われる研修会形式のものもあるが、先輩から実際の仕事を通じて教わるケース（OJT）が多いと思われる。なお、OJTは伝統を守ることに適しているが、技術革新が起こりにくく陳腐化してしまうリスクがある。

訳の分からない概念的な話を持ち出してしまったが、動物実験においても教育訓練は重要であり、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」や「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」にも教育訓練のことが謳われている。今回、日常的なハンドリングや実験処置がマウスへどのような影響を与えるか、あるいは与えていたか検討した2報の論文を紹介する^{1, 2)}。

最初に紹介するのは、マウスのハンドリング方法に関する論文である。ケージ交換の際に手あるいはピンセットでマウスの尾や背部を持って、新しいケージに移している人は依然多いと

思われる。一方、かなり以前にHurstらは人間が能動的にマウスをつかんで移動させるのではなく、トンネルやカップに動物を誘導し、それらを用いて動物を新しいケージに移す方が動物に対するストレスは小さいと報告している³⁾。その後も、マウスのケージ間の移動方法が及ぼす影響に関する研究はしばしば報告されている⁴⁻⁶⁾。今回紹介するNovakらの論文¹⁾もこのテーマに関する一連の研究の1つと位置付けられる。用いた動物はBALB/cとC57BL/6の2系統の雌雄のマウスである。実験は異なる2つの条件で行われているが、通常の飼育管理を模してデザインされた実験について紹介する。この実験では、実際の飼育管理のプロトコルに準じて、週1回のケージ交換および週2回の観察を行う際に、尾を持ってハンドリング（尾群）、あるいは筒状のトンネルを使ってマウスをハンドリング（トンネル群）し、それを5週間続けた後にマウスの情動解析に用いられる自発的相互作用試験、高架式十字迷路試験、血漿コルチコステロン値測定、ショ糖嗜好性テスト、巣作りスコア、体重および臓器

（胸腺・副腎）重量測定などを行い、ハンドリング方法がマウスの情動に及ぼす影響を評価した。

さて結果だが、自発的相互作用試験、高架式十字迷路試験、血漿コルチコステロン値、ショ糖嗜好性テスト、巣作りスコア、副腎重量（体重比）などの評価項目でBALB/cマウスの方がC57BL/6マウスよりも強いストレスを受けていたことが示めされた（系統差）。また、血漿コルチコステロン値や副腎重量（体重比）は雌の方が大きかった（性差）。しかし、今回の実験では自発的相互作用試験においてのみハンドリングによる差がみられたが、その他の評価項目においては差がみられなかった。「尾を用いたハンドリングでも多くの場合、問題ないのでは？」との考えも浮かぶが、著者らは動物に対するストレスはより小さい方が動物福祉の観点から望ましいとし、動物の情動に日常的なハンドリングが及ぼす影響を評価するにはさらなる研究が必要であると結んでいる。

つぎに紹介するAssenmacherらの論文²⁾は、私にとっては少なからずショッキングなものであった。本研究は2017年～

2022年にペンシルベニア大学獣医学部の比較病理部門で動物実験で安楽死処分された1000匹（雌636匹、雄364匹）のマウスの死後分析の結果である。つまり、マウス死体の2次利用になる。供試死体の内訳は基本的な実験処置（拘束、採血、腹腔内注射など）を受けたマウスが864匹、飼育だけで実験処置を受けていないマウスが136匹であった。マウスは炭酸ガスで安楽死処分され、剖検され、全身をホルマリン固定され、病理組織学的検索が行われた。サンプルは2次利用なので、マウス系統は多様で、免疫不全系統であるNSGが過半数、その他C57BL/6背景の遺伝子改変マウス、CD1、DBA/2、Swissマウスなどが含まれていた。マウスの週齢も10～26週齢が7割近くを占めていたが、10週齢未満や26週齢以上のものも含まれていた。実験処置も静脈内注射（ $n = 661$ ）、腹腔内注射（ $n = 509$ ）、眼窩下静脈叢採血（ $n = 317$ ）、顔面/上顎静脈叢採血（ $n = 164$ ）や腫瘍の移植、行動学試験など様々で、これらの処置が複数回繰り返されたり、あるいは組合せて行われたりするマウスも珍しくなかった。

その結果、椎骨、肋骨の骨関節病変が1000匹中、62例見つかった。拘束などの基本的な実験処置を受けたマウスがほとんどで（61匹/864匹、約7%）、一方、実験処置を受けていないマウスでは、骨関節損傷は1匹だけだった（1匹/136匹、約0.7%）。病理組織学的観察およびマイクロCTスキンの結果より、肋骨骨折では仮骨形成が認められ

たことから外傷性であることが示唆された。外傷性骨関節損傷の発生率は実験処置マウスで有意に高かった（7% vs 0.7%、 $p = 0.0018$ ）、実験処置に関連すると結論されている。2次利用のサンプルであるため限られた点しか解析できなかったが、外傷性骨関節損傷はNSGマウスよりもC57BL/6マウスで、雌よりも雄で比率が高かったようだ。また、高齢の動物で多い傾向がみられたが、特定の実験処置（眼窩下静脈叢採血、顔面/上顎静脈叢採血、腹腔内注射）との関連は認められなかったと記載されている。なお、マウスの骨関節病変は2015年にカナダのグループから報告されているが⁷⁾、実験処置との関連性を明確に示したのは本研究が初めてのことである。

次に採血に関連すると推測される所見について述べられている。最近、わが国では眼窩下静脈叢採血を推奨していない機関が多くなってきていると思われるが、本研究では1000匹中、317匹に眼窩下静脈叢採血が行われており、その内の133匹で眼球あるいは眼球周囲への貫通外傷によると思われる変化が認められたと報告されている。軽度の炎症性細胞浸潤から重篤な全眼球炎に至っていたものまでであったようだ。なお、眼窩下静脈叢採血は米国では生存マウスに処置することが許容されているが、カナダでは終末処置としてのみ許されている。

わが国では眼窩下静脈叢に代わる採血場所として顔面/上顎静脈叢が増えつつあるが、本研究では164匹のマウスがここか

ら採血され、その内の39匹に当該部位に病理組織学的変化がみられたと記載されている。中には脳内にまで病変が及んでいたケースもあったようだ。

最後に、腹腔内注射を受けたマウス509匹のうち、92匹に異常が観察されたと報告されている。内訳は、腹膜炎（ $n = 82$ ）、腹腔内出血（ $n = 21$ ）、臓器穿孔（ $n = 16$ ）などである。人間が行うことなので、ミスは起こるかもしれないが、約2割近くのマウスに異常があったというのは多すぎないだろうか。是非、わが国でも同様の解析をしてほしいと思った。

いまさらであるが、骨折や炎症は痛みを誘発する。予期されていない骨折や炎症は動物福祉の観点から許されるものではない。また、痛みは動物の生理反応にも影響するだろうし、骨折や炎症は生理的あるいは免疫学的な多種のパラメーターに影響し、動物実験成績をも修飾する可能性がある。

実験動物の基本的な飼育管理や実験手技の重要性について再認識し、またそれらの教育訓練について改めて考えさせられた報告であった。

参考文献

- 1) Novak J et al. Sci Rep. 2022; 12: 20938.
- 2) Assenmacher CA et al. Animals. 2022; 12: 3234.
- 3) Hurst J and West R. Nat Methods. 2010; 7: 825-826.
- 4) Gouveia K and Hurst JL. PLoS One. 2013; 8: e66401.
- 5) Clarkson JM et al. Sci Rep 2018; 8: 2448.
- 6) Doerning CM et al. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2019; 58: 767-773.
- 7) Adissu HA et al. Vet Pathol. 2015; 52: 967-976.

海外散歩

アルゼンチン+南極

コロナ禍に地球の裏側に行ってみた
(その1)

山田 章雄

プロローグ

2020年1月15日私たち夫婦は港区芝にある旅行代理店にいた。2019年に中国武漢で発生した新型コロナウイルス感染症が、パンデミックに至るとはほとんどの人が予想できなかったところだ。直前の土曜日には恒例の新年会が開催され大いに賑わったし、西東京市の成人式、某団体の賀詞交換会も例年通りだった。その週末には新年会を兼ねた友人の古希祝も行われた。即ち全てが日常と寸分違わなかったのである。私たちは数日前の新聞で見た南極旅行の広告に触発され、ペンギンたちに会いに行きたくなっていたのである。極地旅行専門の代理店を探し出し、話を聞きに来たところだったのである。担当者と話をするうち、私たちの気持ちは固まった。一世一代の南極旅行の申し込みをしてしまったのである。

その後新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は世界中で猛威を振るい、いつの間にか人類史でも稀にみるようなパンデミックに世界が襲われることになった。当然ながら私たちが申し込んだ2021年1月に予定されていた南極クルーズも中止された。

それからさらに1年が経ち、経由地のアルゼンチンもアメリカ合衆国も制限はあるものの外国人を受け入れ始めた。南極クルーズの催行会社であるQuark Expeditionsも私たちの予約購入した新造船 Ultramarine 号によるクルーズは実施すると決めていた。即ち、2022年1月のクルーズには私たちも参加できる条件が整ったのである。2021年11

月ごろにはアルゼンチンの感染者数は日本と同様、極めて低下し、安全な旅も可能に思えたため、参加を決断したのである。

ところが、12月に入ってコロナウイルスの変異株オミクロン株が出現し、感染性が非常に高いことからアルゼンチンも含めて世界各地で急速な感染拡大となった。2022年1月21日出発の30日前まではクルーズの変更が可能であったが、様子を見ている間にこの期限を過ぎてしまった。ルビコン川を渡ってしまったのである。

旅の準備

アルゼンチンは90日以内の滞在にはビザは不要である。一方、アメリカはトランジットであっても入国審査が必要な世界でもまれにみる、ある意味身勝手な横暴な国である。ESTA申請をせねばならない。2018年のコスタリカ行きの際に取得したESTAは期限が切れているためである。これまでであれば旅に必要な手続きはESTA申請だけであったのが、コロナ禍での旅の場合、さらなる準備が必要だ。アルゼンチン入国には出発72時間前以降にコロナウイルスへの感染の有無を検査し、その陰性結果証明を搭乗時に提出する必要がある。検体は唾液でも鼻腔粘膜でも可であるが、抗原検査は不可で、PCRでなければならない。アメリカは出発1日前の陰性証明が必要で、こちらは抗原でも構わない。そこで出発前日の10時に浜松町にあるクリニックで検査を受け、当日夕刻に陰性証明をメールで受領した。

両国とも他にワクチンの接種証明および宣誓書の提出を求めている。アルゼンチンは加えてCOVID-19をカバーする旅行保険に加入することと、それを証明するドキュメントの提出が必要である。これらのすべてを準備し、無事に出国できる体制は整ったのではあるが、その間に登場したオミクロン株がこれまで以上の勢いで世界各地に拡大し、アルゼンチンもアメリカも記録的な感染者数となってしまった。それでも両国とも国境の閉鎖はしていないし、Quark社もクルーズは予定通りに実施する構えであった。トンガでの大噴火、アメリカ東海岸のArctic Blast、アルゼンチンの異常高温、北米における5G導入による混乱など先行きを不安にさせられるような事態も生じたが、いずれも私たちの旅には影響するほどのものではなかった。

旅立ち

2022年1月20日

いつも通り出発時間の2時間前くらいに成田まで行くつもりだったが、コロナ対応で増えた手続きに時間を要するかもしれないということで、早めに家を出ることにした。Webチェックインが受け付けてもらえなかったのも若干の不安材料だった。スカイライナーはガラガラ。空港も人影はまばらだった。チェックインは始まっており、カウンターに行ったら、キオスクでチェックインしてみてもと言われた。試してみたがチェックインできない。再度カウンターに出向くと、他の客のいない席

があるので変更してはどうかという提案だった。ファーストクラスへアップグレードされるのかという淡い期待ははかなく消えたが、確かに周囲に他人のいないキャビンは安心感がある。桜ラウンジは閉鎖しており、ファーストクラスラウンジを使うよう指示された。前回も桜ラウンジは工事中で利用できず、どうやら桜とは縁がないようだ。16:35 搭乗開始。17:16 出発。機内もガラガラで飛行も順調、周りに誰もいない席で結構睡眠もとれた。

9:37 ロサンゼルス着。以前ヒューストンでアメリカ入国した際はキオスク利用をさせられ、その後の審査も長蛇の列、税関もひどく混雑していた記憶があるが、今回はキオスクなし、入国審査も問題なく、あっさり入国してしまい物足りなささえ感じさせられた。荷物を一度ピックアップして税関を通り、再び

預ける。次の乗り継ぎのマイアミでは荷物はスルーで行くことを確認する。ターミナル B からターミナル 4 へ、隣のターミナルなので歩いて移動する。ここから先はエコノミーなのでラウンジも使えず、搭乗ゲート近くの椅子で時間をつぶすが、周りにはかなりの人がいて、成田との違いを実感した。クロワッサンサンドイッチで軽くお腹を満たす。乗り継ぎ時間 2 時間 56 分。

13:11 発マイアミ行きの座席はラッキーなことにプレミアムエコノミー席だった。つまみと飲み物が2回サーブされた。飛行時間4時42分。ゆったりとした気分でマイアミに到着20:41。ゲート前ではマスクなしで電話に向かって大声で話す輩や、同じくマスクなしで延々と喋り続けるカップルから遠ざかる場所探しに苦勞する。乗り継ぎ時間2時間22分。

23:40 マイアミ発。ブエノス

アイレスに向かう。南米大陸上陸は初めてだ。人種差別ではないがユダヤ系の男性は長い顎髭を生やしていることが多い。マスクが役立たないことは明らかで、これが欧米での感染拡大に寄与している可能性がある。アメリカン航空のエコノミー席は結構ピッチが広いのと後ろに席がない場所の二人席だったので、割と狭さを感じずに済んだ。飛行時間9時間。日本から合計28時間55分。

紙面の都合により、この続きは次号掲載になりますが、最終目的である南極の旅の様子は、以下の URL (YouTube) でご覧いただけますので是非ご覧ください。

YouTube

「ペンギンたちに会いに行く」

<https://youtu.be/0B-07n-X0bk>

[illegible]

ほんのひとりごと

『ある晴れた夏の朝』

小手鞠るい 著作

偕成社 1,400 円 + 税

最近、SDGsという言葉をよく聞きます。メディアは地球規模で人類を含めた地球上の生命に関わる問題を真剣に見直さなければならぬと盛んに報じています。これは現実の問題であり我々は真剣に取り組まなければなりません。このようなとき、我々日本人は何を振り返り、どのように考え行動したら良いかについてこの本が参考になると思います。

本書には二つのポイントがあります。一つ目はこの本がアメリカの高

校生が原爆をテーマに公開討論（ディベート：debate）を行うもので、これまでの日本の教育課程の中では十分議論されてこなかった視点です。そして、二点目はディベートです。我々は得てして議論で相手を打ち負かし、議論の後には、口論したという想いで相手と気まづくなってしまう、ディベートは日本人には不得意なものであると思いがちですが、この考えを見直すきっかけになる内容であると思います。自分の考えを公開するにあたっては感情だけではなく事実を正確に伝えることに

努め、そして、相手の話を真摯に受け止め、人にはいろいろな意見・考えがあることを理解し、その上で自分の意見を収斂させ胸を張って意見を公開することを著者が思い願った作品となっています。

小手鞠るいさん、は1956年岡山に生まれ、1992年にアメリカに移住して若手成人向け文学を発行し、本書も2018年初版で、2021年8月に翻訳され多くの国で公開されています。

〔選評 森村 栄一〕

バイオサイエンスの基礎部分をサポートしています

トータルビジネスサポーター (ワンストップサービス対応可能)

ビルメンテナンス業務



設備運転保守業務



清掃業務



警備業務



広域管理業務

ビジネスサポート業務



ラボ・サービス業務

- 飼育管理業務
- 器具洗浄業務
- 動物実験補助
- バイオ関連事業



フードサービス業務



IT サービス業務



フロント・受付・
国際サービス業務



エンジニアリング
業務

東京ビジネスサービス株式会社

〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6 丁目 14 番 1 号

TEL 03-3344-4551(代表) FAX 03-3344-6695

お問い合わせ ラボ・サービス部 TEL 03-3344-4550

<https://www.tbs-net.co.jp>



特例認定校の指導方法の紹介(2)

実験動物2級技術者受験資格特例認定校における指導方法の紹介

◎ 花輪 俊宏

湘央生命科学技术専門学校
応用生物科学科

当学科の前身であるバイオ学科が当時の社団法人日本実験動物協会（現 公益社団法人日本実験動物協会）から専門学校初の特例認定校として認定を受けたのが1998年5月28日のことでしたが、それから25年の歳月が流れました。当学科学生が初めて受験した1998年度から今年度（2022年度）まで、延べ251名が受験して227名が合格しました（合格率90.4%）。その間、2008年度からはじまった成績優秀者表彰では、受験者がいなかった2020年度を除く2022年度までの14年間で33名が受賞、専門学校の部第1位も8回受賞しております。認定を受けてからの10年間は、2004年度と2006年度の2回、受験者全員が合格を果たしたものの、個々の年度の合格率を見ると初回の50%を最低に、安定して受験者全員が合格できる環境からはほど遠いものでした。しかし、成績優秀者表彰がはじまったのがきっかけとなったのか、2009年度から2019年度まで11年連続して受験者全員が合格を果たし、継続して受

験者全員の合格を実現できる環境がなんとか整いました。その後、2020年度は受験者がおらず、2021年度は再び受験者全員合格を果たしたものの、今年度（2022年度）は不合格者が出て、当学科の連続全員合格の記録が途絶えてしまいました。今後は、この建て直しも大きな課題です。

今回、標記のテーマで記事を書く機会をいただきましたが、当学科は特例認定校として特別な指導を実施してきた訳ではありません。ただ一つ言えることは、学生の不合格は指導側の責任という考えのもと、どうすれば学生が勉強しやすいか、どうすれば学生が合格できるかということを考えて続けてきたということです。学科試験対策では、指定テキストの内容から問題集や模擬試験問題を作成したり、公表されている学科試験問題をテキストのページ順に並べ替えて勉強しやすくしたりしています。また、今年度の試験からは増補改訂された新しい教科書からの出題となりましたので、模擬試験の実施ではそれを踏まえ、特に新しく入ってきた内容の問題を独自に作成して、過去の学科試験問題の一部と入れ替えて模擬試験を実施しました。実技

試験対策では、実際の実験動物を使った実技練習を行うことは当然ですが、試験に関係する動物、器材や標本等はできるだけ実物を見られるような環境を整えています。近年は新型コロナウイルスの影響で、実技試験がペーパーでの実施となっております。そちらの対応も行っています。そして、これらの実験動物教育は、卒業生講師と一緒に創ってきました。実験動物技術者としての就職が増加したのも、この間、卒業生講師陣が中心となって同窓会主催で実験動物技術講習会を開催したり、卒業後に実験動物1級技術者資格認定試験を受験することを見据えて、実習内容を組み立てたりするなどの努力を繰り返してきてくれたからです。そして、そのような環境の中から実験動物指導員や準指導員が次々に生まれていることは喜ばしいことです。今後もこのよき伝統が続くように、学科としてもできる限りのことをしていきたいと思っています。

最後に、公益社団法人日本実験動物協会を中心とする実験動物業界の皆様には、今後ともご指導・ご鞭撻を賜りたく、よろしくお願い申し上げます。

実験動物技術者試験を受験して

実験動物2級技術者試験の合格体験記

広島アニマルケア専門学校 末廣 真奈

この度は、成績優秀者表彰（専門学校の部第一位）という名誉な賞をいただきありがとうございます。

実験動物2級技術者資格認定試験に合格するために、実験動物学の講師が仰ったことをノートにメモを取ることを意識しました。そのノートや教科書をスマートフォンで撮影することで、いつでも空いた時間に勉強ができる工夫を凝らしました。そのおかげで、通学中に繰り返し見るという習慣を身につけることに繋がり、記憶に定着させることができたと思います。

広島アニマルケア専門学校では、実験動物（マウスとラット）の飼育管理や投薬の練習を行うことができるので、その経験を通して知識を身につけました。教科書に載っているケージ交換や投薬などを行う際の注意点、健康観察などを意識しながら飼育、投薬の練習を行ってきました。そして、実験動物に異常があった時の対応を想像し、教科書やノートを何度も見直して試験に挑みました。

実験動物技術者は動物と関わる職業であるため、動物のことを愛し、命の重さを踏まえて接することが必要です。実験動物が限られ

た時間と環境の中でのなるべく不快な思いをしないようにという思いがあったから今まで頑張ってきたと思います。また、担当講師が作成した試験の予想問題が的確で、すごくわかりやすかったので合わせて勉強に励むことができました。

試験会場が県外でしたので、新幹線の中で友人と試験問題を予想したり、知識を共有したりなど皆で試験に取り組むことができたのが良い思い出です。

最後に、今まで試験勉強を支えてくださった講師の皆様にお礼申し上げます。

実験動物2級技術者試験を受験して

クミアイ化学工業株式会社 安全性評価研究室 鹿野 貴紗子

現在の会社へ新卒で就職し、もうすぐ2年が経ちます。私の所属する研究室では、新規化合物の安全性を評価するため、主にマウスやラットなどの実験動物を扱った毒性試験を行なっています。私自身、大学では培養細胞や微生物を主に扱っており、動物実験の経験は浅かったため、基礎を一から学ぶ必要がありました。1年間の実務を経験した後、今回、実験動物2級技術者試験を受験することとなりました。

資格試験の勉強を通じて、各実験動物の特徴や飼育管理、実験方法など、動物実験の土台となる知

識を幅広く身に付けることができました。それにより、自社の施設ではどのような点に注意しなければならないのか、理解して作業できるようになりました。

学科の勉強に対して、実技の習得にはより一層努力しました。保定や投与など、なかなか直ぐには習得できず、挫けそうになることもありました。けれども、先輩方に指導していただきながら、日々動物と接し続けることで、徐々にコツを掴むことができました。安定した実験技術を身に付けることは、信頼性の高い試験結果を得ることだけでなく、動物の苦痛を最

小限に抑えることや、自身の安全を守ることにおいても非常に重要だと感じています。これからも技術の向上に向けて、鍛錬を重ねていきたいと思っています。

今回、試験に無事合格することができ、大きな自信となりました。今後も、身に付けた基礎を活用して、責任を持って動物実験に取り組んでまいります。最後に、このような機会を与えてくださった日本実験動物協会の皆様、会社の先輩方に深く感謝申し上げます。ありがとうございました。

まず初めに、成績優秀者としてこのように合格体験記を執筆する機会を頂き感謝申し上げます。コロナウイルスが蔓延し、一昨年は1級の実技試験が中止となり、昨年度は生体を用いない試験となりました。そのような中で、コロナ禍以前のように生体を使用した実技試験を実施して頂く機会をいただけたこと、嬉しく思います。

試験に向けた練習を行うに当たって、最も大事だと感じたのは、正しい知識を持って実験動物の命をあますこと無く扱うこと、その次に、手技を行うことをためらわないことです。練習では一人あたり数十匹も

のマウス・ラットを扱ったことから個々の特徴を判別することができました。触れ合うだけならば普段の愛らしい表情であったものの練習するにあたって小さな身体だとは思えないほどの力強さを感じました。逃げようとして私たちを蹴る脚の力強さ、保定が甘く、うまく針を刺せなかったときの叫ぶような鳴声、麻酔後にだんだんと弱くなっていく胸の動きと暗くなっていく眼を、見て、聞き、彼らの命を強く感じました。勉強を初めてすぐの頃、1級技術者試験用のテキストの分厚さに驚き、新たな単語を見ることにひどくためらいを感じたことを覚えています。

しかし、今となっては、彼らのためにも、正しい知識を身につけ、適切に扱い、わからないことやできないことは何度も聞いて繰り返し練習することが大切だと感じています。これから試験に臨む方の中には、初めて動物に実験的な手技を行うことへ躊躇いをもつ方が多いとは思いますが、どうか勇気をもって彼らと接することができたらと思います。

最後に、試験に向けて様々な準備をしていただいた実験動物技術者試験関係者の皆様、ご自身の時間を割いてご指導いただきました先生方、共に精進してきた仲間、大学関係者の方々に深く御礼申し上げます。

以前から、私にとって実験動物1級技術者試験は取得困難な資格というイメージがあり受験することを迷っていましたが、上司の勧めもあり挑戦の気持ちで今回受験することに決めました。

学科試験対策ではテキストを何度も読み書きして内容を理解していききました。テキストの範囲は広く、量も多く、覚えるという点ではとても大変な作業でしたが、日々取り扱っている実験動物についてより深く学べたことは楽しく感じることもできました。

実技試験対策では、講師の方に教わりながら保定・投与・採血・解剖・

手術等を繰り返し練習して、不得意だと感じた部分が見つかるたびに、うまくいかない原因を追究して、講師の方に助言を求めながら改善する事を繰り返していききました。

また、白河研修を受講することによって、練習してきた手技に自信を持つことができ、さらに講師の方のレベルの高い手技を見ることにより良い刺激になりました。また、社外の実験動物を取り扱う方々と交流できたことも、良い刺激となりました。

今回、実験動物を取り扱うための基礎知識の重要性を知ることができたことが私にとって大きな学びとなりました。日常業務の中で何とな

く当たり前に行っていることの根拠や理由を知ることができ、今後は視野を広げて業務を行っていきたくです。また、手技を行うにあたり、順化・保定を確実に行うことにより、動物へのストレスが最小限に抑えられるといった基本的な事がいかに重要かを再認識できました。

最後に多くの方々のおかげで今回このような結果を出すことができました。この場を借りて感謝を申し上げます。今後はさらなる知識の取得、技術の向上を求めながら学んだことを生かして、会社や実験動物業界に貢献していきたいです。

日本実験動物学会の動き

第70回日本実験動物学会総会

テーマ：語ろう実験動物～より広く・より深く～

大会長：杉山文博（筑波大学）

日 時：2023年5月24日（水）～26日（金）

会 場：つくば国際会議場

つくば市竹園2-20-3 TEL：029-861-0001

アクセス <https://www.epochal.or.jp/access/>

参加方法およびプログラム等は第70回日本実験動物学会総会ホームページ（<https://cfmeeting.com/jalas70/>）をご覧ください

第18回実験動物管理者等研修会

日 時：2023年6月29日（木）～30日（金）

会 場：北海道大学大学院獣医学研究院

〒060-0818 北海道札幌市北区北18条西9丁目

アクセス <https://www.vetmed.hokudai.ac.jp/access/>

参加方法およびプログラム等は日本実験動物学会ホームページ（<https://jalas.jp/>）をご覧ください。

動物福祉ポスターについて

日本実験動物学会 動物福祉・倫理委員会では、実験動物を用いた生命科学・医学研究の重要性を、関係者のみならず、一般の方々にも広く理解してもらう必要があると考え、動物実験の必要性を啓蒙するポスターをシリーズ化して配布しております。今回新たなポスターを作成しましたので、以下のURLをご参照のうえ、希望される場合は、日本実験動物学会事務局へご連絡下さい。

<https://www.jalas.jp/fukushi-kyouiku/poster.html>

日本実験動物技術者協会の動き

第57回日本実験動物技術者協会総会のご案内

会 期：2023年10月19日（木）～21日（土）

会 場：コラッセふくしま（福島県福島市）

テーマ：徹する～科学のために、動物のために～

大会長：石橋 崇（東北大学加齢医学研究所実験動物管理室）

ホームページ：<https://www.adthree.com/jaeat2023/>

北海道支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
第48回支部通常総会・特別講演会	2023年6月	札幌市内	企画(仮):長期飼育マウスのエンリッチメントならびに動物福祉への取組

東北支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
東北支部総会	2023年8月頃予定	調整中	企画中

関東支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
実技講習会 動物実験基本手技	2023年 7月20日～22日予定	日本獣医生命科学大学 予定(武蔵野市)	マウス、ラットの基本的な取扱い、投与、解剖などの基本手技に関する座学と実技講習

詳細は関東支部ホームページ(<http://www.jaeat-kanto.jp/>)を参照ください。

東海北陸支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
実験動物と動物実験 基本的動物実験手技	2023年7月頃予定	藤田医科大学(豊明市) 予定	動物実験倫理や法律基本的動物実験手技実習

詳細は東海北陸支部ホームページ(www.jaeat-tokaihokuriku.org/)を参照ください。

関西支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
2023年度春季大会	2023年5月13日	オンライン開催	動物福祉の延長線上～当たり前を変えたひとつの出会いから考える～
第78回実験動物学習会(実技)	2023年6月頃	神戸大学(神戸市)予定	新入社員や動物実験2級技術者試験受験者を対象として検討中
第13回マウス・ラット上級技術講習会	2023年7月29日、30日	岡山大学(岡山市)	マウス・ラットの実技講習(1級技術者レベル)

詳細は関西支部ホームページ(<http://www.jaeat-kansai.org/>)を参照ください。

九州支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
九州支部勉強会(仮)	2023年6月頃	オンライン開催	企画中
第28回九州地区 実験動物技術研修会	2023年9月初旬	熊本開催あるいはオンライン開催	実験動物に関する講義およびマウス・ラット等を用いた基礎技術研修を行う。

詳細は、日本実験動物技術者協会ホームページ(<http://jaeat.org/>)を参照下さい。

1. 委員会等活動状況

委員会名等	開催日	備考
第1回生産対策委員会	5.1.11	令和4年度実験動物販売数調査計画他
第3回実験動物福祉調査・評価委員会	5.1.19	福祉調査報告と調査概要書内容の検討他
第1回実験動物福祉委員会	5.1.26	動愛法見直しへの対応他
第18回実験動物技術指導員研修会	5.3.4	実技指導教材について他(web開催)
教育セミナーフォーラム2023	5.3.6 ~ 20	新しい分子生物学技術を用いた生体機能解析(オンデマンド配信)
第3回総務会	5.3.10	第79回理事会の議題他
第2回実験動物利用計画審査委員会	5.3.13	令和4年度実験動物利用に関する自己点検他
第4回実験動物福祉調査・評価委員会	5.3.13	福祉調査・評価、認証のまとめ他
第79回理事会	5.3.17	令和5年度事業計画及び予算他
第1回モニタリング技術委員会	5.4.10	令和5年度活動計画について他
第1回情報委員会	5.4.27	LABIO21 No.90の企画

2. 行事予定

行事	開催日	備考
監事会	5.5.12	令和4年度事業、収支決算の監査
第80回理事会	5.5.23	令和4年度事業報告他
第39回定時総会	5.6.14	令和4年度収支決算、事業報告他
技術指導員の面接審査	5.6.22	5月に募集開始
「日常の管理」研修会	5.6.17	日本獣医生命科学大学
微生物モニタリング技術研修会	5.7.7 ~ 8	(公社)実験動物中央研究所
実験動物2級技術者学科試験	5.8.6	全国の各所
通信教育スクーリング	5.8.26 ~ 27	東京、京都
実験動物基本実技研修会(2級及び1級水準)	5.8.26 ~ 27	日本獣医生命科学大学
実験動物高度技術者養成研修会(白河研修)	5.9.13 ~ 15	(独)家畜改良センター中央畜産研修施設
実験動物1級技術者学科試験	5.9.16	東京、大阪 他
実験動物2級技術者実技試験	5.11.25	東京、大阪 他
実験動物1級技術者実技試験	5.11.26	東京、京都
教育セミナーフォーラム2024	—	調整中
第19回実験動物技術指導員研修会	—	調整中

行事によっては開催日等が変更になる場合もありますのでご留意ください。

3. 令和4年度実験動物技術指導員表彰

日動協の実験動物技術指導員表彰規程に基づき以下の方々が表彰されましたのでご報告いたします。

【協会会長奨励賞受賞者】

布野聡子、吉田忍、大塚純、後藤洋平、岩井淳、島津伸也、亀井淳、村田信次、小林良輔、以上9名
(協会会長功労賞については、該当者はいませんでした。)

4. 令和4年度実験動物生産施設等福祉認証事業の概要報告

令和4年度の実験動物生産施設等福祉認証事業に係る福祉認証調査は、12機関、19施設について行った。そのうち、更新のための調査施設は16施設、新規調査施設は3施設であった。その結果、令和5年3月末の時点でいずれも認証「可」となった。よって、当協会において現時点での認証施設数は計40施設(令和2年度認証12施設、令和3年度認証9施設、令和4年度認証19施設)となった。令和4年度の認証施設のうち、公表を希望された施設を次頁に示す。

なお、令和5年度については、事業内容としてはほぼ前年度と同様の予定で計画している。

令和4年度実験動物生産施設等福祉認証 施設一覧（掲載希望施設）

機関名	施設名
ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン(株)	厚木飼育センター
日本エスエルシー(株)	春野支所
日本エスエルシー(株)	引佐支所
(株)オリエンタルバイオサービス	南山城研究所
(株)オリエンタルバイオサービス	神戸BMラボラトリー
(株)星野試験動物飼育所	星野試験動物飼育所
日本クレア(株)	富士生育場
日本クレア(株)	石部生育場
北山ラベス(株)	箕輪生産場
北山ラベス(株)	伊那生産場
(株)特殊免疫研究所	宇都宮事業所
(株)イブバイオサイエンス	イブバイオサイエンス研究所
日本クレア(株)	八百津生育場
(株)アイビーテック	成田ラボ
(株)ホクドー	洞爺ラボ
ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン(株)	プレコンディショニングサービスセンター
日本全業工業(株)	中央研究所 臨床開発センター AEC-A棟
(株)アイビーテック	神戸ラボ



新型コロナウイルスが国内に侵入し、感染拡大が起きて3年が経過しましたが、まだまだ当時の不安が残る現状であると思います。当初は目に見えない脅威に怯え、生活環境がそれまでの生活様式から一変してしまいました。そして、ワクチン開発が進み、個別や集団接種が実施されるまで、我々は感染の恐怖を感じる中で、マスク着用と3密を守る事で必死に不安な生活を過ごしてきました。当初は国産ワクチンの開発が多く研究者により進められ、早期の開発が期待されていましたが、日本政府が選んだワクチンは米国からの輸入となりました。日経バイオの記事によると、日本の開発能力や研究開発費の問題ではなく、WHOが提唱した国際目標である次のパンデミックが起きてから100日以内に診断薬やワクチン、治療法の実用化を目指す「100日ミッション(100 Days Mission:100DM)」に乗り遅れたことにあると掲載されています。その理由は、DNAワクチンやmRNAワクチンの開発研究の初期の段階で遺伝子組換え実験が必要となりますが、日本が批准しているカルタヘナ法により、病原性や伝搬性というリスクにおいて宿主・拡散供与体の特性、拡散防止措置などをまとめた資料を大臣が承認する必要であり、そのため煩雑な手続きを経なければならず時間がかかってしまったためと聞き唖然となってしまいました。

パンデミックと言う、人類を襲い、人に対して高い病原性を示す未知なるウイルス感染症に対し、ワクチン開発を行う為には煩雑な手続きと科学的根拠と安全性を提示して申請しなければならないという事は法を守る上で必要であると思いますが、この現状のままで良いのかと自問してしまいました。

〔森村 栄一〕

STAFF

情報委員会

担当理事	武石 悟郎	GORO TAKEISHI
委員長	山田 章雄	AKIO YAMADA
委員	大和田 一雄	KAZUO OHWADA
〃	岡村 匡史	TADASHI OKAMURA
〃	木藤 実	MINORU KITO
〃	久和 茂	SHIGERU KYUWA
〃	三枝 順三	JUNZO SAEGUSA
〃	新関 治男	HARUO NIIZEKI
〃	森村 栄一	EIICHI MORIMURA
事務局	工藤 慈晃	NARIAKI KUDO
〃	畔上 二郎	JIRO AZEGAMI
〃	瀧澤 芳夫	YOSHIO TAKIZAWA

制作 株式会社 ティ・ティ・アイ TTI

新しい発見を 変わらない品質で



私たち日本クレアは、生命のあらゆる可能性を探求し発展させる基盤として、
動物愛護のグローバルな視点に立った世界最高品質の実験動物を提供して参ります。



CLEA Japan, Inc.

MISSION

We discover precise genomic solutions for disease and empower the global biomedical community in our shared quest to improve human health.

疾患に対する精密なゲノムソリューションを探索し、世界中の生物医学コミュニティに活力を与えることです。
その根底にあるのは「人々の健康を改善したい」という私たち皆の探求心です。

メールニュースのご案内

JAX IN JAPAN NEWS AND INSIGHTS



ジャクソン・ラボラトリー・ジャパンの
最新情報をお届けするメールニュースは
こちらからご登録いただけます。

ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社

WEBサイトURL: www.jax.or.jp | お問い合わせアドレス: ask@jax.or.jp