

NOG および次世代 NOG マウスの取り扱い注意事項

NOG/Jic(NOD/Shi-scid,IL-2R γ KO)マウスは、T細胞、B細胞およびNK細胞欠損の他に、樹状細胞やマクロファージの機能低下、補体活性の欠失といった特徴を持つ重度免疫不全動物であります。したがって、ヌードマウスや scid マウスなどの免疫不全系統に比べて、輸送中、飼育中および実験処置などのストレスに敏感に反応し、更に病原性微生物に対する防御反応も低く、衰弱、死亡することを、今までに経験してまいりました。

そこで、NOG マウスおよび NOG マウスを背景に開発した遺伝的改良を加えた次世代 NOG マウスシリーズ(以下、NOG マウスとして表記)を皆さま方に安心して使っていただくために、飼育水準の確認、輸送箱からのマウス受け入れ、飼育管理および実験処置などの基本的な注意事項を以下に記載しました。

この注意事項は、飼育期間あるいは実験期間が長期になるほど重要度が増します。当該施設の動物施設管理責任者様あるいは管理獣医師様と綿密なお打合せをお願いいたします。

(1) 飼育水準の確認事項

1) 飼育室と設備

- ① SPF マウスが厳格に飼育できる装置(ビニールアイソレータ、IVCラック、陽圧型クリーンラック、その他複合装置)を準備して頂き、NOG マウスの隔離環境を整備してください。
- ② 飼育室内を温度 23～25℃、湿度 40～60%の範囲内に維持できる専用の飼育環境を用意し、以下事例の通り NOG 系統以外のマウス系統との混同飼育を避けてください。
 - * 隔離飼育装置がない場合は NOG マウス専用の飼育室とする。
 - * 隔離飼育装置がある場合は、飼育管理および実験処置等はクリーンベンチ内で実施しなければなりません。飼育室を他の研究者と共有する場合は、クリーンベンチ等作業動線の十分な消毒作業が必須です。
- ③ 飼育装置が決まりましたら、NOG マウス飼育エリア内において、動物、ヒト、飼育器材等の作業動線を図面上に展開し、汚物等との重複がないことを確認してください。
また、飼育作業、動物実験等の作業順位について NOG マウスが最上位になるように(あるいは消毒操作を加える等)SOPを作成してください。リスク軽減のため飼育作業者は滅菌済みの着衣またはガウン、マスク、キャップ、手袋、履物の常時着用を推奨します。飼育器材、固形飼料、その他すべての導入物品は滅菌、あるいは十分な消毒を実施することが必須です。具体的には2)をご参照ください。

2) 飼育器材、器具

- ① NOG 専用の飼育器具(ケージ、フタ、給水瓶、ラベルホルダーなど)を使用してください。
 - * IVCラック、クリーンラックなどを使用しないオープンラック飼育の場合は、ケージ内環境を安定させるために、ケージ毎にフィルターキャップの着用を推奨します。
- ② 滅菌済み飼育器材の保管は周囲環境に大きく左右されます。NOG 専用の滅菌バックなどを準備し、使用時までには密閉収容を維持できる保管状況を作ってください。
 - * 飼育ラック内や飼育室内の清掃用具についても同様で、NOG 専用品を用いて、他系統のものを使い回さないように配慮してください。
- ③ 飼料は放射線滅菌(30KGy 以上)または高圧蒸気滅菌(121℃、30分)された固形飼料

(日本クレア製 CA-1 を推奨)を使用してください。滅菌確認のためインジケーターの使用を推奨します。

- ④ 飲水は濾過滅菌または高圧蒸気滅菌(121℃、30分)された水道水を使用してください。

☑ (2) マウスの受け入れ時の諸注意

1) 受入

- ① 到着時間を把握し、輸送箱を放置すること無く、速やかにマウスを飼育室のケージ内に導入できるよう配慮してください。
- ② 輸送箱を導入する際には、施設で定められた消毒薬液を用意して輸送箱全面の清拭消毒を実施してください。
- ③ 飼育ケージにマウスを収容する際は輸送箱の蓋を開けた後に手袋の付け替えと消毒を推奨します。
- ④ 輸送ストレスによりマウスが過敏な状態であることから、移し替えと受け入れ直後の状態観察は丁寧に行ってください。
- ⑤ 納品時にマウスの異常が観察された場合は、マウス体重および写真を記録として残して、当該マウスに対して隔離等の処置を施してください。特に、夏季ならびに冬季における温度変化が著しい季節の空輸ではトラブルのリスクが高まるため、これに配慮した実験計画の立案を推奨します。
- ⑥ 納品時に死亡等が確認された場合は、翌2営業日以内に連絡頂ければ、無償にて代替えます。

☑ (3) 飼育管理上の注意事項

1) 状態観察

受け入れ後の給餌量ならびに給水量変化はもとより一般状態変化にも注意してください。輸送ストレス等で立毛、体重減少等が見られることがあります。その場合もマウス体重および写真を記録として残してください。

2) ケージ交換

- ① ケージ交換前には施設で定められた消毒薬液を用意して、作業台を必ず清拭消毒してください。
- ② ケージ交換は収容匹数にもよりますが、週1回以上とし、給餌(補充)、給水(交換)も微生物的汚染からのリスク低減のため同時期に行ってください。
(給水瓶は週交換、蓋と飼料は月交換を推奨します)
- ③ ストレスによる失調を避けるため、マウスの移し替えは丁寧に行ってください。
また、ケージ交換毎に手袋の消毒を実施してください。
- ④ ケージ交換終了後は、作業台および飼育室内の掃き掃除と清拭消毒を必ず実施してください。
- ⑤ 飼育室および飼育装置の更新は年に1回程度とし、消毒し直してから使用してください。

3) NOG 以外のマウス系統との同室飼育について

B6 や BALB などの非免疫不全系統との同時飼育は禁忌ですが、IVC 等による隔離飼育となる場合はクリーンベンチ内での操作を必須とし、さらに管理担当者を分ける(NOG 専任担当とするなど)ことを推奨します。

なお、クリーンベンチが無い場合は日常管理の作業順位は NOG を必ず最上位とし、作業

管理の徹底(同時作業を行わないこと、重複した際は飼育室の床の清掃・清拭消毒を実施すること)、作業台を共用する場合は必ず清拭消毒を実施することに配慮してください。

2) 微生物検査

- ① NOG マウスを3か月以上長期飼育する場合は微生物検査を実施してください。検査項目は飼育エリアでモニタリングを行っている検査項目に加えて、免疫正常動物では日和見感染菌とされ、ヒトから持ち込まれる可能性のある緑膿菌、黄色ブドウ球菌、*Pneumocystis spp*は必ず検査項目に追加してください。
- ② NOG マウスは免疫不全のため血清検査ができません。血清検査用にモニターマウスを選ぶ場合は、しかるべきブリーダーより免疫不全グレードのマウス(ヌードマウスのヘテロ)とNOG マウスの併用を推奨します。
- ③ 衰弱、体重減少、立毛等外観に異常が見られた時には、出来るだけ速やかに隔離するとともに、微生物検査を実施してください。

3) 異常個体発見時の対応

- ① 速やかに異常個体の隔離を検討してください。
- ② 微生物検査および病理学的検査を実施し、感染症等が疑われた場合は定められた対処策を実行してください。

(4) 実験処置

1) X線照射前処置

- ① X線照射室の環境整備に十分な注意を払ってください。特に照射装置が「共有設備」であることが多いため、実験前の装置および関連機材の消毒を実施してください。特に照射時に用いる照射トレイの滅菌を確実に行ってください。
- ② 飼育室からX線照射室への移動で、微生物統御がなされていないエリアを通過する場合は、輸送箱、滅菌袋等を多重に用いることで外界への暴露から防御してください。
- ③ 実中研では「1.5Gy、生後7週以上」で実施しています。照射線量は、照射装置の出力、照射トレイの形状、照射中のマウス位置などで変わりますので、予備検討をお願いします。
- ④ X線照射による不調など、特に実験中の飼育観察やハンドリングには十分な注意を払ってください。

2) 腫瘍および細胞の移植

- ① 微生物的汚染の可能性のある検体をマウスに移植した場合、重篤な感染症を引き起こされる可能性があります。移植前に検体の無菌検査を実施し、陰性を確認の上、移植することを強くお勧めします。やむを得ず無菌検査が実施できない場合や、微生物陽性の検体をマウスに摂取する場合は、移植後、感染症が発生する可能性を考慮し、別の飼育装置に隔離するとともに、マウスの健康状態を注意深く観察してください。
- ② 特に微生物的汚染の可能性のある検体処理後は、作業導線に十分な注意を払ってください。

3) その他

納品後は1週間程度の順化期間を設定し、マウスの変化に注意を払ってください。

☑ (5) 禁止事項

- ① 使用同意書を遵守し NOG マウスの繁殖を試みたりしないでください。
- ② NOG マウスを雌雄同一のケージに入れる等、繁殖しうる環境におかないでください。
- ③ 本マウスの飼育に関しては、関連法規を遵守し、P1A レベルの飼育施設で適切に飼育管理し、その脱走、紛失、盗難等の防止に努めてください。

本書類は NOG マウス導入以前に必ず熟読していただき、不明点あるいはご相談点があればご連絡ください。飼育環境整備等に関するコンサルテーションにも対応させていただきますので、ardd@ciem.or.jp までお気軽にお問い合わせください。

公益財団法人 実中研
動物資源技術センター