

放医研の無菌マウス作出に関する技術について

石原 直樹¹、新妻 大介¹、伊藤 正人¹、大久保 喬司¹、藤井 功輔¹ 上野 渉²、
石田 有香²、小久保 年章²、館野 香里¹、中台 妙子²、
大谷 鉄也³、相沢 賢司⁴、西川 哲²
(株)サイエンス・サービス¹、放射線医学総合研究所 実験動物開発・管理課²、
日本クレア(株)³、トキワ科学器械(株)⁴

【目的】 ビニールアイソレーター（以下 VI と略）は無菌マウスの作出時や汚染されたマウスを子宮切断術により帝王切開し、清浄化する時に使用されており、摘出した胎児は無菌状態の VI 内で飼育する。VI の全体図を図 1 に示したがこの VI の日常の作業では飼育器材、飼料、汚物を搬出入する際に無菌状態を維持する為に厳重な作業が要求される。搬出入口となるステリルロックにビニール製の内蓋を密着させるため従来、ゴム製の留具が使用されてきたがこの留具は装着時の作業に煩雑さがあったため作業時間を短縮でき、ゴム製の留具と同程度の密着性のある金属製の留具を試作し、その実用性を検討した。

また VI 内に器具、機材を搬入するために用いる滅菌缶のフィルターの剥離作業の改善方法についても検討し、更に帝王切開した胎児の里親の適否が無菌マウスの作出やマウスの清浄化の結果を左右するので里親に適した系統についても検討した。

図 1



搬出入口
(ステリルロック)

【材料と方法】

①図 2 に今回試作した金属製留具を示したがこの留具は金属のフックに留金を引っ掛けて、ワンタッチで留める事が出来る。この留具の実用性を検討するため、作業経験者及び未経験者の装着に要する時間を測定し、アイソレーター内部の無菌検査を 30 ヶ月に渡って行った。

図 2



②滅菌缶の剥離作業の改善については従来使用しているアメリカンフィルターと中性能フィルターを併用した方法について検討した。

③里親として適した系統を検索するため当所で維持・生産されていた、15 系統のマウスの系統について、3 世代分の(213 親 743 分娩)の育成カードより分娩仔を喰殺した親の割合を調べた。里親として汎用されている ICR 系マウスと今回、調査した結果から喰殺が見られなかった、C3H 系マウスを里親として胎児を実際に哺育させた

【結果】①試作した金属製留具の使用

①表 1, 2 に作業経験者と未経験者がゴム製留具を使用した所要時間と表 3, 4 に作業経験者と未経験者が金属製留具を使用した所要時間の比較を示した。この表から明らかなようにゴム製留具と異なり金属製留具の場合、作業経験者と未経験者の作業時間は同等であった。VI 内部の微生物検査の結果は 30 カ月にわたってすべて陰性であり、内部は無菌状態を維持していることが分かった。

ゴム製留具を使用した際の所要時間

表 1

経験者	第 1 回目	第 2 回目	第 3 回目	平均値
作業者 A	25 秒	16 秒	15 秒	18.6 秒
作業者 B	23 秒	20 秒	30 秒	24.3 秒
作業者 C	23 秒	22 秒	21 秒	22 秒

総平均値 21.6 秒

表 2

未経験者	第 1 回目	第 2 回目	第 3 回目	平均値
作業者 D	53 秒	32 秒	32 秒	39 秒
作業者 E	48 秒	28 秒	31 秒	35.6 秒
作業者 F	48 秒	22 秒	31 秒	33.6 秒
作業者 G	62 秒	68 秒	59 秒	63 秒
作業者 H	86 秒	48 秒	48 秒	60.6 秒

総平均値 46.6 秒

金属製留具を使用した際の所要時間

表 3

経験者	第 1 回目	第 2 回目	第 3 回目	平均値
作業者 A	15 秒	36 秒	32 秒	27.5 秒
作業者 B	20 秒	30 秒	22 秒	24 秒
作業者 C	36 秒	19 秒	20 秒	25 秒

総平均値 25.4 秒

表 4

未経験者	第 1 回目	第 2 回目	第 3 回目	平均値
作業者 D	45 秒	30 秒	24 秒	33 秒
作業者 E	25 秒	24 秒	28 秒	25.6 秒
作業者 F	26 秒	17 秒	14 秒	19 秒
作業者 G	39 秒	20 秒	43 秒	34 秒
作業者 H	20 秒	20 秒	21 秒	20.3 秒

総平均値 26.4 秒

②滅菌缶のフィルター剥離作業の改善

図 3-1 に従来、行っているアメリカンフィルターを滅菌缶に 3 重巻きし、剥離した状態を示した。

図からも明らかなように滅菌缶に付着している、一方、図 3-2 にはアメリカンフィルターより目が粗い中性能フィルター（呉羽テック社製品）を 1 枚巻いたのち、アメリカンフィルターを 3 重巻きした滅菌缶の剥離状態を示したが明らかに滅菌缶にフィルターが付着せず容易に剥がす事が出来た。なお無菌検査では、無菌状態は維持している。



アメリカンフィルター3枚
巻き滅菌缶



併用（中性能1枚＋高性能3枚）

③里親に適した系統についての検討

表-5 に里親に適した系統を検索するため調査した結果を示した。

表-5

喰殺した親の割合
80%以上：RFM/Ms（17匹）、C57BL/6J（17匹）、
50%～75%：A/J（12匹）、B10.D2（18匹）、C57BL/10（13匹）、
C3H/HeNrs - <i>At^{tm1Awb}</i> /NrsFnt（17匹）、B10.Thy.1.1（21匹）、
C57BL/6J-bg- <i>nu/nu</i> （14匹）、STS/A（14匹）、
BALB/c- <i>nu/nu</i> （12匹）、
30%以下：C.B-17/Icr（13匹）、B10BR/Sn（8匹）、
喰殺無し：C3H/He（11匹）

その結果 RFM/Ms と C57BL/6J の系統は 80%以上の喰殺が見られ、A/J を含む 8 系統では 50%～75% であった。C3H/He 系統には喰殺がなく里親に適していることが確認できた。

表-6 に帝王により摘出した仔を哺育させ、喰殺率を確認した。その結果、C3H 系が里親に適していると判断した。

表 6

喰殺率の結果			
里親系統	里仔系統	里仔の哺育時の喰殺率	
		実仔あり哺育時 (喰殺匹数/里仔匹数)	里仔のみ哺育 (喰殺匹数/里仔匹数)
Slc:ICR	C3H/HeSlc	76.1% (16／21)	100% (30／30)
	C57BL/6CrSlc	63.1% (24／38)	82.0% (41／50)
	Slc:ICR	5.7% (2／35)	10.4% (5／48)
C3H/HeSlc	Slc:ICR	0.0 % (0／16)	0.0% (0／26)
	C3H/HeSlc	0.0% (0／13)	4.7% (1／21)
C3H/HeNrs	C3H/HeNrs	5.4% (2／37)	15.7% (12／76)

【考察】試作した金属製留具の装着に要する所要時間は初心者・経験者とも同等であり、3 年間の使用期間を通じていずれの時点でも無菌検査の結果はすべて陰性でありゴム製留具と同等の実用性があると判断した。中性能フィルターとアメリカンフィルターを併用した結果、滅菌缶にフィルターが付着せず、剥離作業が円滑に行え、作業時間の軽減につながった。喰殺に関しても従来里親として汎用されていた ICR 系マウスよりも C3H 系のマウスの方が里親として適していると判断した。