

学部長印	
病院長印	

遺伝子組換え実験計画書（第二種使用等の機関実験）Ver. 2

西暦 2020年 4 月 1 日

申請の種類		☒ 新規 ☐ 継続 ☐ 変更 (継続・変更の場合、既得承認番号：福大第 号) (※変更の場合、該当箇所に下線を引くこと)				
課題名		ゲノム編集によるXXX遺伝子欠損マウスの作成と機能解析				
実施期間		西暦 2020年 5 月 1日から西暦 2025年 4 月 31日まで (※最長5年以内)				
実験責任者	所属	〇〇学部△△学科□□学		資格	教授	
	氏名	福岡 太郎		印	㊟	
	内線	〇〇〇〇				
	e-mail	@fukuoka-u.ac.jp				
実験従事者 (※実験責任者を含む、全ての教育職員・学生等を記入する)	氏名	所属	資格	経験年数 (年間)		備考 (※教育訓練等の受講年度、実施条件等)
				遺伝子組換え実験	ウイルス使用実験	
	福岡 太郎	〇〇学部△△学科□□学	教授	15	10	受講済(2019)
	〇〇 〇〇	〇〇学部△△学科□□学	助教	3	3	受講済(2019)
〇〇 〇〇	〇〇学部△△学科□□学	大学院生	0	0	受講済(2019) 実験責任者の指導下で実施	

実験の種類(拡散防止措置) (※該当するもの全てにチェックする)	微生物使用実験 (☒ P 1 ☐ P 2 ☐ P 3) 大量培養実験 (☐ L S 1 ☐ L S 2 ☐ L S C) 動物使用実験 動物作成実験 (☒ P 1 A ☐ P 2 A ☐ P 3 A) 動物接種実験 (☐ P 1 A ☐ P 2 A ☐ P 3 A) 植物等使用実験 植物作成実験 (☐ P 1 P ☐ P 2 P ☐ P 3 P) 植物接種実験 (☐ P 1 P ☐ P 2 P ☐ P 3 P) きのこ作成実験 (☐ P 1 P ☐ P 2 P ☐ P 3 P) ゲノム編集実験等 (☒ 有) 大臣確認の適用 (☒ 無) (※有の場合は、大臣確認申請書に記載する)
実験の目的 (※目的を簡潔に記入する)	ゲノム編集により XXX 遺伝子欠損マウスを受託作成し、XXX 遺伝子の臓器・個体レベルの各種機能を <i>in vitro</i> 実験および <i>in vivo</i> 実験により解析する。
実験の概要 (※遺伝子組換え生物等の作成・使用等を項目別に記載する)	① Cas9-gRNA 発現ベクターの構築 XXX ゲノム遺伝子に対して設計した guide RNA 配列をコードする oligo DNA を合成し、pCAG-Cas9-U6-gRNA 発現ベクター (Addgene) に挿入する。構築した発現ベクターを大腸菌 DH5 α で増幅し、導入用 DNA を精製する。 ② 切断部位修復(相同組換え)のドナーDNA 合成 ①で設計した Cas9 切断部位 (XXX ゲノム遺伝子の開始コドン直後) に終止コドン挿入するドナーDNA として、single strand oligo DNA (ssDNA) を合成する。 ③ マウス受精卵への遺伝子導入&受容雌マウスへの移植 外注 (〇〇受託会社) により、マウス受精卵に、①の pCAG-Cas9-U6-gRNA 発現ベクターと②の ssDNA を同時にインジェクションし、受容雌マウスに移植する。 ④ ノックアウトマウス(ゲノム編集)の <i>in vivo</i> & <i>in vitro</i> 機能解析 受託作成したノックアウトマウス (ゲノム編集により終止コドン挿入) をアニマルセンターに搬入して、各種機能を <i>in vivo</i> 解析する。また、同マウスから〇〇臓器や〇〇細胞を調製して、各種機能を <i>in vitro</i> 解析する。
不活化の措置 (※遺伝子組換え生物等を不活化する方法を記載する)	・オートクレーブ処理 (121℃、20 分以上) および薬液処理 (次亜塩素酸溶液) で不活化する。 ・遺伝子改変マウスは安楽死措置後、屍体を焼却処分する。 ・実験台は 70%アルコール噴霧で清掃する。

遺伝子組換え生物等および拡散防止措置の一覧表（※罫線で区分して記載する）						
核酸供与体 （クラス） （※種名・系統名等）	供与核酸 （※ゲノムDNA、cDNA、合成DNA等の種類・名称、同定・未同定、病原性・伝播性等）	ベクター （※名称・系統名等、 特殊ベクターは簡易マップを添付）	宿主 （クラス） （※種名・系統名、 ウイルス名等）	保有動物等 （※種名・系統名、 ウイルス産生細胞名等）	拡散防止措置区分 （認定宿主ベクター系等の区分・名称）	備考 （※遺伝子組換え生物等の 名称・提供元等）
マウス （クラス1）	XXXゲノム遺伝子を標的とした合成DNA（gRNA用、ドナーDNA用） 同定済 病原性なし	pCAG-Cas9-U6-gRNA （pUC系）	E. coli K-12株 （クラス1）	該当しない	P 1 （B1-EK1）	ベクター購入： Addgene
化膿連鎖球菌 （クラス2）	Cas9（cDNA） 同定済 病原性なし		マウス C57BL/6J （クラス1）	該当しない	PIA	KOマウス名称：XXX-KOマウス（ゲノム編集）（〇〇受託会社で作成）

動物使用実験の内容 (※植物の場合、動物を植物に置換えて記載する)	動物の種名(系統名)	マウス (C57BL/6J)
	遺伝子組換え動物・遺伝子組換え分子(保動物)の名称等	XXX-KOマウス：ゲノム編集によりXXXゲノム遺伝子の開始コドン直後に終止コドンを挿入
	動物作成実験の具体的処置	外注 (〇〇受託会社) により、前核期受精卵に、pCAG-Cas9-U6-gRNA 発現ベクターと ssDNA ドナーを同時にインジェクションし、受容雌マウスに移植する。得られた XXX-KO マウス (ゲノム編集) をアニマルセンターに搬入し (遺伝子情報提供書添付)、各種機能を <i>in vivo</i> 解析および <i>in vitro</i> 解析する。
	動物接種実験の具体的処置 (※ウイルス等を使用しない場合)	該当しない
	動物管理方法 (※逃亡防止の設備・措置等、 個体管理法等を記載する)	・入口に「組換え動物飼育中 (P1A)」の表示をする。 ・逃亡防止のため、入口にネズミ返し、排水口・排気口等にネットを設置する。 ・耳パンチ法で個体識別する。
	備考 (※該当する動物実験計画書の承認番号等を記入する)	動物実験計画書の承認番号：〇〇〇〇〇〇、△△△△△△
ウイルス等を使用する動物使用実験の内容	動物の種名(系統名)	ウイルス等を使用しないので、本項目は該当しない
	ウイルス名(ベクター)・遺伝子組換え分子の名称等 (※ヒトへの感染性の有無、他生物での増殖性の有無を記載する)	
	動物接種実験の具体的処置 (※ウイルス等を使用する場合)	
	動物管理方法 (※逃亡防止の設備・措置等、 個体管理法等を記載する)	
	備考 (※該当する動物実験計画書の承認番号等を記入する)	

