

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		<input checked="" type="checkbox"/> 新規 <input type="checkbox"/> 継続 <input type="checkbox"/> 変更 (継続・変更の場合、既得承認番号: 福大第 号) (※変更の場合、該当箇所の下線を引くこと)				
課題名		XYZ遺伝子の細胞・個体レベルでの機能解析				
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	○○学部△△学科□□学	資格	教授		
	氏名	福岡 太郎	印	㊟		
	内線	○○○○				
	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	○○学部△△学科□□学	教授	15	10	受講済(2019)
	○○ ○○	○○学部△△学科□□学	助教	3	3	受講済(2019)
○○ ○○	○○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	

<p>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)</p>	<p>微生物使用実験 (<input checked="" type="checkbox"/> P 1 <input type="checkbox"/> P 2 <input type="checkbox"/> P 3) 大量培養実験 (<input type="checkbox"/> L S 1 <input type="checkbox"/> L S 2 <input type="checkbox"/> L S C) 動物使用実験 動物作成実験 (<input checked="" type="checkbox"/> P 1 A <input type="checkbox"/> P 2 A <input type="checkbox"/> P 3 A) 動物接種実験 (<input type="checkbox"/> P 1 A <input type="checkbox"/> P 2 A <input type="checkbox"/> P 3 A) 植物等使用実験 植物作成実験 (<input type="checkbox"/> P 1 P <input type="checkbox"/> P 2 P <input type="checkbox"/> P 3 P) 植物接種実験 (<input type="checkbox"/> P 1 P <input type="checkbox"/> P 2 P <input type="checkbox"/> P 3 P) きのこ作成実験 (<input type="checkbox"/> P 1 P <input type="checkbox"/> P 2 P <input type="checkbox"/> P 3 P) ゲノム編集実験等 (<input type="checkbox"/> 有)</p> <hr/> <p>大臣確認の適用 (<input checked="" type="checkbox"/> 無) (※有の場合は、大臣確認申請書に記載する)</p>
<p>実験の目的 (※目的を簡潔に記入する)</p>	<p>XYZ 遺伝子の野生型およびドミナントネガティブ変異型を導入した培養細胞およびトランスジェニックマウスを用いて、さらに XYZ 遺伝子の完全ノックアウトマウスも用いて、XYZ 遺伝子の〇〇機能を <i>in vitro</i> 実験及び <i>in vivo</i> 実験により解析する。</p>
<p>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)</p>	<p>1. XYZ 遺伝子の cDNA クローニング ヒト組織由来 First Strand cDNA (市販) を鋳型として、特異プライマーにより野生型 XYZ 遺伝子を PCR で増幅し、pGEM ベクターにサブクローニングする。</p> <p>2. 発現コンストラクトの作成 1. のクローンを鋳型として、・・・によりドミナントネガティブ (DN) 変異型 XYZ 遺伝子を構築する。次に、野生型および変異型 XYZ 遺伝子を pcDNA 発現ベクターに挿入し、大腸菌 DH5 α で増幅し、細胞導入用 DNA を精製する。</p> <p>3. 培養細胞での XYZ 遺伝子発現実験 2. の細胞導入用 DNA をリポフェクション法により HeLa 細胞に導入し、XYZ 遺伝子の〇〇機能を <i>in vitro</i> 解析する。 (参考: P1 レベル相当実験)</p> <p>4. トランスジェニック(TG)マウスの作成&機能解析 pBluescript ベクターに、<input type="checkbox"/><input type="checkbox"/>プロモーター+野生型・変異型 XYZ 遺伝子を挿入し、TG マウス作成用コンストラクトを構築する。・・・により、受精卵導入用 DNA 断片 (トランスジーン) を精製する。実際の TG マウスは〇〇受託会社で作成する。得られた TG マウスをアニマルセンターに搬入して、〇〇機能を <i>in vivo</i> 解析する。</p> <p>5. ノックアウト(KO)マウスの作成&機能解析 $\Delta\Delta$受託会社に外注して、XYZ 遺伝子 KO マウスを作成する。得られた KO マウスをアニマルセンターに搬入して、〇〇機能を <i>in vivo</i> 解析する。</p>
<p>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)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・オートクレーブ処理 (121$^{\circ}$C、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)
ヒト (クラス1)	XYZ遺伝子 (cDNA、野生型・変異型) (Tg) 同定済 病原性なし	pGEM pcDNA pBluscript	E. coli K-12株 (クラス1)	該当しない	P1 (B1-EK1)	発現ベクター名：pcDNA-XYZ-WT/DN
マウス (クラス1)	□□プロモーター (ゲノムDNA) 同定済 病原性なし	該当しない	マウス C57BL/6J (クラス1)	該当しない	PIA	TGマウス名称：□□-XYZ-WT/DN-TGマウス (○○受託会社で作成)
マウス (クラス1)	XYZ遺伝子 (KO) (ゲノムDNA) 同定済 病原性なし	該当しない	マウス C57BL/6J (クラス1)	該当しない	PIA	KOマウス名称：XYZ-KOマウス (△△受託会社で作成)
マウス (クラス1)	PGKプロモーター (ゲノムDNA) 同定済 病原性なし					
大腸菌 (クラス1)	Neo耐性遺伝子 (ゲノムDNA) 同定済 病原性なし					

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(保有動物)の名称等	①□□-XYZ-WT-TGマウス: □□プロモーター+野生型XYZ遺伝子導入 ②□□-XYZ-DN-TGマウス: □□プロモーター+変異型XYZ遺伝子導入 ③XYZ-K0マウス: XYZ遺伝子の完全欠損 (Neo耐性遺伝子置換)
	動物作成実験の具体的処置	外注 (〇〇受託会社、△△受託会社) により、作成したTGマウス (①②) およびK0マウス (③) をアニマルセンターに搬入し (遺伝子情報提供書添付)、△△麻酔下で〇〇機能を <i>in vivo</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)	<ul style="list-style-type: none"> ・ 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: ○○○○○○、△△△△△△	
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)	

動物使用実験以外の施設・設備	建物名 (※建物・実験施設の配置図を添付)	実験施設名 (部屋番号)	拡散防止 措置区分	拡散防止措置チェック項目 (※該当するもの全てにチェックする)
	〇〇学部研究棟	共同実験室 (△△△号室)	P1	<input checked="" type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input checked="" type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
	〇〇学部研究棟	〇〇学実験室 (□□□号室)	P1	<input checked="" type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input checked="" type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
				<input type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
				<input type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
				<input type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
				<input type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
				<input type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
				<input type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
動物使用実験の施設・設備	建物名 (※建物・実験施設の配置図を添付)	実験施設名 (部屋番号)	拡散防止 措置区分	拡散防止措置チェック項目 (※該当するもの全てにチェックする)
	アニマルセンター	マウス (4)	PIA	<input checked="" type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input checked="" type="checkbox"/> 動物の逃亡防止措置あり <input checked="" type="checkbox"/> 「組換え動物飼育中」の表示あり <input checked="" type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
	アニマルセンター	実験室 (1)	PIA	<input checked="" type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input checked="" type="checkbox"/> 動物の逃亡防止措置あり <input checked="" type="checkbox"/> 「組換え動物飼育中」の表示あり <input checked="" type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
				<input type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input type="checkbox"/> 動物の逃亡防止措置あり <input type="checkbox"/> 「組換え動物飼育中」の表示あり <input type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
				<input type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input type="checkbox"/> 動物の逃亡防止措置あり <input type="checkbox"/> 「組換え動物飼育中」の表示あり <input type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり
				<input type="checkbox"/> 実験中は窓扉を全て閉める <input type="checkbox"/> 動物の逃亡防止措置あり <input type="checkbox"/> 「組換え動物飼育中」の表示あり <input type="checkbox"/> 同建物内に高圧滅菌装置あり <input type="checkbox"/> 同実験施設内に安全キャビネットあり

遺伝子組換え実験安全委員会 承認番号 (福大第 号)	西暦 年 月 日 安全委員会として、本実験が適切に計画されていることを認める。 委員長・氏名 印
-------------------------------	--