

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		アデノウイルス発現系を用いたABC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	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、全ての教職育員・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	講師	5	5	受講済(2019)	

<p>実験の種類 (拡散防止措置)</p> <p>(※該当するもの全てにチェックする)</p>	<p>微生物使用実験 (■ P 1 ■ P 2 □ P 3)</p> <p>大量培養実験 (□ L S 1 □ L S 2 □ L S C)</p> <p>動物使用実験</p> <p>動物作成実験 (□ P 1 A □ P 2 A □ P 3 A)</p> <p>動物接種実験 (□ P 1 A ■ P 2 A □ P 3 A)</p> <p>植物等使用実験</p> <p>植物作成実験 (□ P 1 P □ P 2 P □ P 3 P)</p> <p>植物接種実験 (□ P 1 P □ P 2 P □ P 3 P)</p> <p>きのこ作成実験 (□ P 1 P □ P 2 P □ P 3 P)</p> <p>ゲノム編集実験等 (□ 有)</p> <hr/> <p>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)</p>
<p>実験の目的</p> <p>(※目的を簡潔に記入する)</p>	<p>アデノウイルス発現系を用いて、ABC 遺伝子の野生型 (WT) およびドミナントネガティブ変異型 (DN) を培養細胞およびマウス個体に強制発現させて、ABC 遺伝子の〇〇機能を <i>in vitro</i> 実験および <i>in vivo</i> 実験により解析する。</p>
<p>実験の概要</p> <p>(※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 アデノウイルスベクターへの ABC 遺伝子のクローニング シヤトルベクター (pShuttle-ABC-WT、pShuttle-ABC-DN) より、制限酵素処理により導入遺伝子を切り出して、アデノウイルスベクター (pAdeno-X；非増殖性 E1 欠損型) に挿入する。</p> <p>② アデノウイルスのパッケージング ①で構築したアデノウイルスベクター (pAdeno-X-ABC-WT、pAdeno-X-ABC-DN) を大腸菌 DH5α で増幅し、精製後、制限酵素処理により線状化する。その線状化した遺伝子を E1 遺伝子発現 HEK293 細胞 (パッケージング細胞) に導入し、組換えアデノウイルスを産生する。その培養上清から市販キットで高力価ウイルスを精製する。</p> <p>③ 培養細胞での ABC 遺伝子発現実験 ②の精製ウイルスを用いて、培養血管内皮細胞および培養血管平滑筋細胞に ABC-WT および ABC-DN を発現させて、ABC 遺伝子の〇〇機能を <i>in vitro</i> 解析する。</p> <p>④ マウス個体での ABC 遺伝子発現実験 ②の精製ウイルスをマウスの静脈内に投与して、ABC-WT および ABC-DN を血管内皮細胞および血管平滑筋細胞に発現させて、〇〇機能を <i>in vivo</i> 解析する。</p> <p>★なお、ウイルスベクター・ウイルス溶液の取り扱いは、エアロゾルの発生に注意しながら、安全キャビネット内で実施する。</p>
<p>不活化の措置</p> <p>(※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℃、20 分以上) 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%アルコール噴霧および 1%SDS 溶液で清掃する。

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)	ABC遺伝子（cDNA、野生型(WT)・変異型(DN)） 同定済 病原性なし	pShuttle (pUC系)	E. coli K-12株 (クラス1)	該当しない	P1 (B1-EK1)	Adeno-X発現システム（タカラ㈱）
		pAdeno-X	E. coli K-12株 (クラス1)	該当しない	P2 (B1-EK1)	実験の概要① (pAdeno-X；非増殖性E1欠損型)
			アデノウイルス (クラス2)	HEK293細胞 (備考参照)	P2	実験の概要②、③（E1遺伝子発現HEK293細胞でのウイルス産生&培養細胞感染実験）
				マウス C57BL/6J	P2A	実験の概要④ (マウスへの感染実験)

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)	ウイルス等を使用するので、本項目は該当しない
	遺伝子組換え動物・遺伝子組換え分子(保有動物)の名称等	
	動物作成実験の具体的処置	
	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)	
	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)	
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)	マウス (C57BL/6J)
	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)	組換えアデノウイルス (pAdeno-X-ABC-WT、pAdeno-X-ABC-DN) 非増殖性E1欠損型のアデノウイルスであり、E1遺伝子発現HEK293細胞のみで増殖する。E1を発現していない動物細胞やヒト等への病原性や伝搬性は無いと考えられる。
	動物接種実験の具体的処置 (※ウイルス等を使用する場合)	安全キャビネット内で、マウスの尻静脈にアデノウイルス溶液を注入する。ウイルス感染により、血管系組織に発現したABC遺伝子の〇〇機能を <i>vivo</i> 解析する。 組換えアデノウイルスは非増殖性E1欠損型であり、マウス個体中では増殖できない。マウスに感染後、ウイルスは数日間で消失すると考えられる。感染マウスは、P2A実験室(アイソレーター)で飼育する。
	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(P2A)」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、△△△△△△

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	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
	〇〇学部研究棟	共同実験室(P2) (□□□号室)	P2	<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 checked="" 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)	実験室名 (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	隔離実験室	P2A	<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 checked="" 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
				<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