様式２

**組 換 え D N A 実 験 計 画 書**

　　　年　　　月　　　日

|  |  |
| --- | --- |
| 申請の種類 注01 | ☑　新規　　　□　変更　　　□　継続 |
| 実験の種類 注02 | □　第一種使用等　　　　　　☑　第二種使用等 |
| ☑　微生物使用実験  　□　大量培養実験  　動物使用実験  　　　□　動物作成実験　　☑　動物接種実験  　植物等使用実験  　　　□　植物作成実験　　□　植物接種実験　　□　きのこ作成実験  　□　細胞融合実験 |
| 拡散防止措置の区分 注02 | ☑　Ｐ１　　　　☑　Ｐ２　　　　□　Ｐ３  　☑　Ｐ１Ａ　　　□　Ｐ２Ａ　　　□　Ｐ３Ａ　　　☑　特定飼育区画  　□　Ｐ１Ｐ　　　□　Ｐ２Ｐ　　　□　Ｐ３Ｐ　　　□　特定網室  　□　ＬＳＣ　　　□　ＬＳ１　　　□　ＬＳ２ |
| 公的経費 注03 | ☑　有  　　　　　□　科学研究費　　　☑その他  　□　無 |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 実験実施  機関 | 所在地 | | (〒514-8507)  津市上浜町１５１５ | | |
| 名称 | | 三重大学 | | |
| 代表者の職名 | | 学長 | | |
| 氏名 | | ××××× | | |
| 実験課題名 | | | アデノウィルスベクターを用いたヒトサイトカインＸＸの腫瘍抑制作用の解析 | | |
| 実験実施期間 注04 | | | 承　認　日　　　から　　　　　　X　年　X　月　　まで | | |
| 実験責任者 | 所属部局の所在地 | | (〒514-8507)  津市江戸橋２－１７４ | | |
| 所属機関 | | 三重大学 | | |
| 部局 | | XX学部 | | |
| 職名 | | 教授 | | |
| 氏名 | | ××××× | | |
| 連絡先 | 電話 | 059-231-XXXX | | |
| ファックス | 059-231-XXXX | | |
| E-mail | XXX@doc.medic.mi-u.ac.jp | | |
| 実験場所 | 所在地 | | (〒514-8507)  津市江戸橋２－１７４ | | |
| 名称　（部局・棟名等） | | 三重大学（生命科学研究支援センター・動物実験施設バイオハザード実験室） | | |
| 実験従事者（学生・院生含む）注05 | 氏名 | | 所属機関 | 所属部局 | 職名（学年） |
| ×××× | | 三重大学 | XX学部 | 助手 |
| ×××× | | 三重大学 | 医学部 | 医学科４年 |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |

|  |  |
| --- | --- |
| 実験の目的 | ヒトサイトカインｘｘについて、担癌動物個体を用いて抗腫瘍作用を解析し  臨床応用への可能性を検討する。 |
| 実験の概要 注06 | ヒトサイトカインカインｘｘのｃＤＮＡをアデノウィルスベクターに挿入し発現ベクターを構築し、感染性アデノウイルスを作成する。組み換えアデノウィルスを担癌動物に腹腔投与により感染し、個体における抗腫瘍効果を形態学的、分子生物学的に検討する。 |
| 当該組換えDNA実験を行う必要性 注07 | 培養実験系では得られない個体レベルの結果を得る必要性があるため。 |
| 実験における病原性  又は感染性リスク注07-1 |  |

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 供与体・ベクター・宿主の組み合わせ 注08 | 核酸  供与体 注09 | 供与核酸の種類と名称等 注10 | ベクター 注11 | 宿主等 注12 | 保有動植物  等 注13 | 拡散防止措  置の区分 注14 | 備考 注15 |
| ウサギ | βｸﾞﾛﾋﾞﾝ遺伝子ﾎﾟﾘA付加ｼｸﾞﾅﾙ領域（ゲノムDNA）、  βｱｸﾁﾝﾌﾟﾛﾓｰﾀｰ領域（ゲノムDNA） | pBS | E.coli K12株由来(XL1Blue) |  | P1-B1 | 組換えウィルスゲノム構築のため。 |
| ヒト | XX遺伝子（cDNA） |
| ヒトアデノウィルス | E1およびE3欠失ｹﾞﾉﾑDNA | pUC系  （市販品Adeno-XYZアデノウィルスベクター） | E.coli K12株由来(XL1Blue) |  | P2-B1 | 組換えウィルスゲノム構築のため。供与核酸は市販Adeno-XYZアデノウィルスベクターに組み込まれたものでありは生物学的リスクはない。 |
|  |  | 上記導入遺伝子挿入組換えウィルス | ﾋﾄ由来細胞  （293細胞） | P2 | 組換えウィルス産生のため。組換えウィルスはE1およびE3を欠失ため生物学的リスクはない。 |
|  |  | 上記組換えウィルスマウス（Balb/c系統） |  | 特定飼育区画  P1A  （接種後に特定飼育区画以外で実験する場合はP1Aの措置をし、実験場所を追加記載すること。） | 動物への接種実験。ただし、接種後、ウィルス粒子が消失するまでは、保有動物として扱う。 |

|  |  |
| --- | --- |
| 核酸供与体の特徴及び生物学的リスク 注16 | ヒトアデノウィルスはヒトに感染するが、本実験では野生型供与体生物そのものは扱わないため、実験従事者に対する生物学的リスクはない。 |
| 単離予定の核酸又は供与核酸並びにその産物の特徴及び性質 注17 | 該当なし |
| ベクターの特徴、伝達性及び宿主依存性 注18 | 用いるアデノウィルスベクターはE1およびE3を欠損しているため、E1でトランスフォームされた２９３細胞の様な特殊な細胞以外では増殖しない。  添付資料参照（ウィルスベクターを用いる実験を行う場合はベクターの構造や宿主の性質、安全性を確保する仕組み等が記載されたマニュアルやカタログを添付すること） |
| 宿主の特徴、遺伝子交換範囲とその機構 注19 | 遺伝子交換により増殖性ウィルスが生成する可能性は極めて低いと考えられる。 |
| 宿主−ベクター系の特徴及び不活化の方法 注20 | 用いるアデノウィルスベクターはE1およびE3を欠損しているため、E1でトランスフォームされた２９３細胞の様な特殊な細胞以外では増殖しない。  高圧蒸気滅菌により不活化する。 |
| 組換え動植物作出時における、核酸導入の段階及びその方法 注21 | 組換えアデノウィルスの感染により組換え動物個体を作出する。 |
| 組換え体又は組換え体を接種する動植物の特性及びリスク 注22 | 使用する組換えアデノウィルスはマウスに感染するが、増殖は出来ない欠損ウイルスであるので、マウスへの病原性は極めて弱い。 |
| 組換え動植物、組換え体を接種した動植物または大量培養実験に係る組換え微生物、の管理方法等 注23 | 組換え体を接種したマウスは逃亡防止用ネズミ返しを備えた感染動物飼育室で飼育される。排泄物は床敷と共に高圧蒸気滅菌後焼却、飼育水は数日ごとに  適時更新する。 |
| 実験終了後の組換え体の処置 注24 | 組換え微生物、細胞およびウィルスは使用後高圧蒸気滅菌を行う。  組換え体を接種した動物は深麻酔を施行後、安楽死せしめ焼却処分する。 |
| 事故時の対応（薬剤等の備蓄・対処法） 注25 | 10％ホルマリン、次亜塩素ソーダ、70％アルコールを常備し、噴霧または塗布等によって消毒を行う。 |

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 拡散防止措置に係る施設・設備 | 位置 注26 | 部局 | 生命科学研究支援センター | 棟名称 | 動物実験施設 | 階 | ３階 |
| 室名称（番号） | 340室、336室 | | | | |
| 使用する実験室の部屋名  部屋の位置ならびにオートクレーブ、安全キャビネットなど安全性を確保するための設備の位置を示す平面図平面図を記入する、あるいは添付する事。  adenoFig.jpg | | | | | |
| 設備 注27 | 高圧滅菌器、安全キャビネット、ネズミ返し | | | | | |

|  |  |
| --- | --- |
| 実験責任者の確認 | 本実験を行うにあたり、関連する法律・法令並びに学内規則を遵守し組換え体の拡散を防止するとともに、実験従事者全員に対し組換えDNA実験に関する十分な教育訓練を行い、更に実験従事者の健康管理に必要な定期健康診断（一般健康診断・特別健康診断）の受診を徹底し、実験の安全確保に努めます。 |
| ｘｘ年　ｘｘ月　ｘｘ日 |
| 実験責任者　氏名　　　××　×× |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 安全主任者の確認 | 所属部局 | XXXX |
| 職名 | XXXX |
| 氏名 | XXXX |

**組換えDNA実験計画書　記入要領**

本様式の各項目に記入する。記入できない場合は別紙を添付し、該当項目に別紙番号を記入すること。

**各記入欄について、以下の注の指示により記入の必要が無い場合には、空欄とせず必ず「該当無し」等と記入すること。**

注01．該当項目にチェックを入れ、変更の場合は前回の承認（届け出）番号及び年月を記入すること。ェックを入れるんを替えんだんをらびににックを入れること。

注02．本計画において該当する項目すべてにチェックを入れること。

注03．公的経費の有無について該当項目にチェックを入れるとともに、ある場合はその種類を記入すること。

注04．予定している実験実施期間（５年を限度とする）を記入すること。

注05．**全ての実験従事者を記入する**こと。ここに記載のない者を組換えDNA実験に従事させてはならない。

注06．実験の流れが明確になるように、簡潔に記入する。

注07．**大量培養実験、動物接種実験、植物等接種実験、脊椎動物のタンパク質性毒素産生遺伝子を扱う実験**が含まれる場合は、当該実験を行う必要性について簡潔に記入すること。

注07-1

【Ｐ3以上の実験または実験責任者がリスクが高いと判断した場合に記入】実験責任者は、事前に医学部附属病院救命救急センター及び組換えＤＮＡ実験安全委員会に報告する。

注08．核酸供与体、ベクター、宿主等の**組み合わせ毎に番号、直線、罫線等でまとめ**、相互の関連を明らかにすること。

注09．核酸供与体となる生物の種名、系統名等を記載すること。

注10．ゲノムDNA、相補DNA、合成DNA等の種類や名称等を記載すること。

注11．ベクターの名称を記載すること。**なお、ウイルスはベクターとして用いる場合であっても宿主として扱われるので、宿主等の欄に記載する。**

注12．宿主名を記載すること。ウイルスをベクターとして用いる場合は、この欄にウイルス名を記載する。

注13．遺伝子組換え生物等を保有させている動物、植物及び細胞等の種名、系統名を記載すること。

注14．実験段階毎に、実験を実施する間に執る拡散防止措置の区分および認定宿主ベクター系を用いる場合にはそのレベルを記載すること（P1-B1等）。

注15．各実験段階における主な目的（組換えDNA作出、培養細胞への接種等）を簡潔に記載すること。

注16．**【クラス１以外の場合のみ記入】**核酸供与体について、拡散防止措置の区分並びに必要に応じてその特徴、自然界における分布、病原性、寄生性、腐生性などの実験従事者に対するリスクについて記入すること。また、タンパク質性毒素を産生する場合はLD50及び毒素遺伝子の構造について記入すること。

注17．**【P2・P2A・P2P以上の実験・大量培養実験の場合のみ記入】**単離・使用する核酸又はその産物等について簡潔な説明を記入すること。

注18．**【認定宿主−ベクター系以外の場合のみ記入】**ベクターの由来・薬剤耐性・特異形質等の特徴、伝達性、宿主依存性について記入し、必要に応じて実験結果・文献を添付すること。

注19．**【認定宿主−ベクター系以外の場合のみ記入】**微生物を宿主とする場合は、栄養要求性、薬剤耐性、至適生育条件等の特徴を、培養細胞をウイルスの宿主として使用する場合は、宿主内における宿主の核酸や共存するウイルス由来の核酸との遺伝情報の交換の可能性について記入すること。また、宿主に病原性、発がん性及び毒素産生性がある場合は、その説明についても記入すること。

注20．**【認定宿主−ベクター系以外の場合のみ記入】**微生物を宿主とする宿主－ベクター系を用いる場合には、宿主の生存能力、伝播性、不活化の方法と予測される不活化の効率を記入すること。

注21．**【組換え動植物を作出する場合に記入】**卵、胚、種子、生体など核酸導入時の細胞の分化段階及び導入方法を記入すること。

注22．**【動物接種実験または植物接種実験の場合に記入】**組換え又は組換え体の接種により新たに獲得することが予想される形質について記入すること。感染性、病原性、寄生性、腐生性又は毒素産生性等の形質が変化すると予想される場合は、その旨明記すること。

注23．**【動植物使用実験または大量培養実験の場合に記入】**培養・飼育・栽培時における漏出・逃亡・飛散防止に係る管理方法、種子・水・排泄物等の不活化の方法等について記入すること。

注24．**【動植物使用実験または大量培養実験の場合に記入】**実験終了後の組換え体の処置（廃棄・保管等）の方法について記入すること。

注25．**【P2・P2A・P2P以上の実験のうち哺乳類に対し病原性を持つものを扱う場合のみ記入】**抗生物質・血清・ワクチン等の準備、使用方法について明記すること。また培養・飼育時において組換体が漏出・逃亡・飛散した場合の対処法について簡潔に記載すること。

注26．**【P2・P2A・P2P以上の実験、動植物使用実験または大量培養実験の場合に記入】**実験施設が位置する部局・棟名称・階数・室名称（室番号）を記載した上で、平面構造について図示し、必要な設備等（高圧滅菌器、安全キャビネット等）の位置を示すこと。

注27．**【P2・P2A・P2P以上の実験、動植物使用実験または大量培養実験の場合に記入】**必要な設備（高圧滅菌器、安全キャビネット、ネズミ返し等）の有無を明記する。