様式２

**組 換 え D N A 実 験 計 画 書**

必要に応じて行の高さは自由に変更してもかまいません。　　　　　　　　　　　　XX　年　XX　月　XX　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 | | XXXX | | |
| 実験課題名 | | | 高等植物の種子形成に関わる制御遺伝子群の機能解析 | | |
| 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)  津市上浜町1515 | | |
| 所属機関 | | 三重大学 | | |
| 部局 | | 生命科学研究支援センター | | |
| 職名 | | 助教授 | | |
| 氏名 | | 三重太郎 | | |
| 連絡先 | 電話 | xxx-xxx-xxxxxx | | |
| ファックス | xxx-xxx-xxxxxx | | |
| E-mail | zzz@zzz.mie-u.ac.jp | | |
| 実験場所 | 所在地 | | (〒514-8507)  津市上浜町1515 | | |
| 名称　（部局・棟名等） | | 三重大学生命科学研究支援センター　遺伝子実験施設 | | |
| 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　太　郎 | | 三重大学 | 生命科学研究支援センター | 助教授 |
| ○　○　○　○ | | 三重大学 | 生物資源学部 | 助手 |
| ○　○　○　○ | | 三重大学 | 生物資源学部 | Ｄ２ |
| ○　○　○　○ | | 三重大学 | 生物資源学部 | Ｍ２ |
| ○　○　○　○ | | 三重大学 | 生物資源学部 | Ｍ１ |
| ○　○　○　○ | | 三重大学 | 生物資源学部 | Ｂ４ |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |
|  | |  |  |  |

|  |  |
| --- | --- |
| 実験の目的 | シロイヌナズナにおいて同定されている種子形成制御遺伝子群のイネホモログ遺伝子の詳細な機能を調べ、イネの種子形成制御メカニズムに関する知見を得る。 |
| 実験の概要 注06 | シロイヌナズナにおいて同定されている種子形成制御遺伝子群のイネホモログ遺伝子(cDNA)を単離する。単離したcDNAおよびその変異誘導体をCaMV35Sプロモーターにつなぎ、イネに導入したトランスジェニック植物を作成する。作成したトランスジェニック植物を用いて種子形成の様子を観察する。 |
| 当該組換えDNA実験を行う必要性 注07 | 種子形成制御遺伝子群の機能を解析するためには、それらの遺伝子を過剰発現する植物の表現型を解析することが不可欠であるため。 |
| 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 | 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 |
| イネ | cDNA  種子形成制御遺伝子群のイネホモログ | pUC系プラスミドベクター | λZAPII等のλファージベクター |  | P1-B1 | cDNAの単離 |
| イネ | cDNA  種子形成制御遺伝子群のイネホモログ | pUC系プラスミドベクター  pIG121-Hm（Tiプラスミドバイナリーベクター） | JM109等K12株由来の大腸菌 |  | P1-B1 | コンストラクションおよびプローブ調製 |
| イネ  カリフラワーモザイクウィルス | cDNA  ゲノム  種子形成制御遺伝子群のイネホモログ | pUC系プラスミドベクター  pIG121-HmTiプラスミドバイナリーベクター | Agrobacterium tumefacience EHA10株 | イネカルス | P1-B1 | 植物形質転換用アグロバクテリウム作成およびイネカルスへの接種 |
| イネ  カリフラワーモザイクウィルス  大腸菌 | cDNA  ゲノム  種子形成制御遺伝子群のイネホモログ |  | イネ |  | P1P | 植物を用いる実験（作成および使用） |

|  |  |
| --- | --- |
| 核酸供与体の特徴及び生物学的リスク 注16 | 該当なし　（空欄にせず必ず「該当なし」と記入して下さい。以下同じ） |
| 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　（P1実験の場合） |
| ベクターの特徴、伝達性及び宿主依存性 注18 | 該当なし　（認定宿主ベクター系を使用する場合） |
| 宿主の特徴、遺伝子交換範囲とその機構 注19 | 該当なし　（認定宿主ベクター系を使用する場合） |
| 宿主−ベクター系の特徴及び不活化の方法 注20 | 該当なし　（認定宿主ベクター系を使用する場合） |
| 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 | イネ胚盤由来カルスとアグロバクテリムの共存培養による遺伝子導入。 |
| 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 | イネへの遺伝子導入により遺伝子発現のパターンの変化が予想されるが感染性、病原性、寄生性、腐生性又は毒素産生性等の形質が付与されるリスクはない。 |
| 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 | 組換え植物を栽培する閉鎖系温室は室実験室から前室を隔て出入りする構造になっており、組換え植物や花粉、種子が外界に飛散することはない。排水は貯留し、外部には排出しない構造となっている。 |
| 実験終了後の組換え体の処置 注24 | オートクレーブ等により滅菌、死滅させて廃棄する。組換え体微生物の一部は凍結保存、組換え植物の一部は種子として保存し、将来の実験に備える。 |
| 事故時の対応（薬剤等の備蓄・対処法） 注25 | 該当なし　（P1実験の場合） |

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 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 | 遺伝子実験施設 | 階 | 1および3階 |
| 室名称（番号） | 温室(1)および準備室(110号室) 、３階315、317および318号室 | | | | |
| 遺伝子１-3階.jpg.jpg  オートクレーブ  **③**  **④**  **②**  **①**  部屋の位置ならびに安全性を確保するための設備の位置を示す平面図を記入あるいは添付すること | | | | | |
| 設備 注27 | 閉鎖系温室、グロースキャビネット、オートクレーブ | | | | | |

|  |  |
| --- | --- |
| 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。 |
| ○　年　○　月　○　日 |
| 実験責任者　氏名　　　××　×× |

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

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。なお、動物作成実験および植物作成実験とは、組換え動植物の**使用および作成**を意味する。したがって、組換え動植物を使用するのみでも作成実験となる。

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。