

＜第二種使用等拡散防止措置確認申請書の記入方法＞

(注) 赤線部分：「研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令」における大臣確認の申請様式に定められている事項

青字部分：各欄における記入上の留意事項

別記様式（第9条関係）

整理番号		
------	--	--

第二種使用等拡散防止措置確認申請書

年 月 日

文部科学大臣 殿

氏名 法人の名称及び代表者の氏名 印（署名可）
 申請者 （法人の場合）
 住所 主たる事務所の所在地
（法人の場合）

遺伝子組換え生物等の第二種使用等をする間に執る拡散防止措置の確認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第13条第1項の規定により、次のとおり申請します。

		第二種使用等の名称	<p style="color: red;"><u>当該第二種使用等の目的及び概要を簡潔に表す名称を記載すること。</u></p> <p><記入上の留意事項> 良い例：「 ウイルスの欠損変異株を用いた新規ワクチンの開発」 悪い例：「ゲノム情報に基づく細胞内代謝の解析」</p>
	第二種使用等をする場所	名称	<p style="color: red;"><u>当該第二種使用等に用いるすべての実験室、実験区画、実験区域、飼育区画及び網室についてそれぞれ記載すること。</u></p> <p><記入上の留意事項> 良い例：「 大学 研究所 研究棟 1階123実験室及び2階212動物飼育室」 悪い例：「 学部 研究室」</p>
		所在地	郵便番号（ ） 電話番号 可能な限り直通番号を記載して下さい。代表番号の場合は内線も記載して下さい。
事務連絡先	実験の管理者	所属機関の名称及び職名	<u>当該第二種使用等をする場所において当該第二種使用等を直接管理する者について記載すること。</u>
		氏名	
		住所	郵便番号（ ） 電話番号 可能な限り直通番号を記載して下さい。代表番号の場合は内線も記載して下さい。 ファクシミリ番号 電子メールアドレス
		その他の連絡先	所属機関の名称及び職名 職名が記載されていないケースが多いのでご注意願います。 氏名 <u>実験の管理者以外に事務連絡先がある場合に限り、当該事務連絡先について記載すること。</u> <記入上の留意事項> 大学の研究協力課等、書類業務の窓口となる部署が決まっている場合にその担当者を記入して下さい。機関ごと、あるいは実施場所ごとに可能な限り一本化していただくようお願いします。 住所 郵便番号（ ） 電話番号 可能な限り直通番号を記載して下さい。代表番号の場合は内線も記載して下さい。 ファクシミリ番号 電子メールアドレス

<p>第二種使用等の目的及び概要</p>	<p>種類</p>	<p>1. 微生物使用実験 2. 大量培養実験 3. 動物使用実験 (1) 動物作成実験 (2) 動物接種実験 4. 植物等使用実験 (1) 植物作成実験 (2) 植物接種実験 (3) きのこと作成実験 5. 細胞融合実験</p> <p><u>当該第二種使用等が該当するすべての項目を選ぶこと。</u></p> <p>< 記入上の留意事項 > 該当する項目を で囲むか、該当しない項目を番号ごと抹消線で消して下さい(削除はしないで下さい)。 (例1) (例2) 1. 微生物使用実験 2. 大量培養実験</p>
	<p>目的</p>	<p>< 記入上の留意事項 > 良い例:「 遺伝子に変異を導入した××ウイルスを培養細胞に感染させ、その性状を解析することにより、××ウイルス開発のための基礎データを得る。」 悪い例:「 遺伝子変異を導入した××ウイルスを作製する。」</p>

概要

当該第二種使用等に係るすべての遺伝子組換え生物等及び当該第二種使用等をする間に執るすべての拡散防止措置の区分について、当該第二種使用等の過程がわかるように記載すること。

< 記入上の留意事項 >

一連の実験の流れについて、具体的に用いる手法と封じ込めの方法も併せて詳細に記述して下さい。また、実験全体の流れが一目でわかる図（ポンチ絵）及び別紙の「遺伝子組換え生物等及び拡散防止措置の一覧表」を作成し、添付して下さい。拡散防止措置の区分（P3レベル等）はこの流れに沿って、実験の段階ごとに記述して下さい。また、この欄で遺伝子組換え生物等及び拡散防止措置の一覧表を参照して下さい。

良い例：

1. 細胞に感染した××ウイルスに対し、ウイルス遺伝子の相同配列とLox P配列を結合したベクターpBelobAC11のHindIII分解産物を相同組換えで導入する（P2レベル）。別紙1-a.
 2. 細胞から単離した組換え××ウイルスを大腸菌株HS996に導入する（P2レベル）。別紙1-b.
 3. BACを有する上記HS996遺伝子組換え大腸菌にpBAD-αβγ(Muylers et al. 1999)を導入する（P2レベル）。別紙1-c.
 4. ××ウイルスの遺伝子を*in vitro* mutagenesisによって改変し、ベクターpBluescript II SK+のSmaIサイトに挿入して大腸菌株JM109を形質転換する（P2レベル）。別紙1-d.
 5. 4.の改変遺伝子をPCRによって増幅する。別紙2-a.
 6. 3.のBACとpBAD-αβγを有するHS996形質転換体に改変遺伝子を導入し、ET組換えにより改変遺伝子を有する組換え××ウイルスを得る（P2レベル）。別紙2-b.
 7. 得られた、BAC配列と改変遺伝子を有する組換え××ウイルスを培養細胞株に感染させ、感染性があり自立的に増殖する組換え××ウイルスを得る（P2レベル）。別紙2-c.
 8. 培養細胞株にCreリコンビナーゼを発現する組換えアデノウイルスAxCANCReを感染させてBACの配列を除去し、改変遺伝子を有する組換え××ウイルスを得る（P2レベル）。別紙2-d.
- 遺伝子組換え生物及び拡散防止措置の一覧は別紙2参照。

悪い例：

ウイルスの精製およびクローニングを行い(詳細は別紙1.参照)、得られたウイルスのクローンに変異導入を行う(詳細は別紙2.参照)。変異を導入した感染性クローンを培養細胞にトランスフェクションする(詳細は別紙3.参照)。上記全ての実験はP2レベルで行なう。

当該第二種使用等をする間に執る拡散防止措置の区分の中に特定飼育区画又は特定網室がある場合には、次に掲げる項目についても併せて記載すること。

- (1) 当該第二種使用等に係る組換え動物等又は組換え植物等の系統数又は個体数
- (2) 当該第二種使用等に用いる飼育区画又は網室の面積
- (3) 当該第二種使用等に係る組換え動物等の飼育又は当該第二種使用等に係る組換え植物等の栽培の方法

< 記入上の留意事項 >

特定飼育区画を用いる実験の場合は、上記に加え飼育の規模と方法(室面積、系統ごとの個体数、飼育方法、回数など)についても可能な限り詳細に記入して下さい。

	<p>確認を申請する 使用等</p>	<p>当該第二種使用等が該当する別表第一の号番号について記載すること（遺伝子組換え実験の場合に限る。）。</p> <p>< 記入上の留意事項 > 条項の記号番号のみを記入するのではなく、「改変 遺伝子を有する組換え ウイルスは、自立的な感染力を保持したウイルスである遺伝子組換え生物であって、 に感染させてその性状を解析する過程において科学的知見に照らして増殖することが推定される。よって、この過程における遺伝子組換え生物の使用は二種省令別表第一第一号へに該当し大臣確認を要する。」のように、該当する項目を明確にしつつ詳細に記述して下さい。また、該当する項目全てについて記述して下さい。</p>
<p>遺伝子組換え 生物等の特性</p>	<p>核酸供与体の特性</p>	<p>当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等の核酸供与体に関し、（１）、（２）に掲げる項目について記載すること（遺伝子組換え実験の場合に限る。）。ただし、薬剤耐性遺伝子その他のマーカー遺伝子及び発現調節遺伝子（目的遺伝子に係るものを除く。）である供与核酸が由来する核酸供与体に関しては、省略することができる。</p> <p>（１） 分類学上の位置及び実験分類 （２） 病原性、有害物質の産生性その他の特性</p> <p>< 記入上の留意事項 > 1. 「Human Immunodeficiency Virus (HIV) 1型：レトロウイルス科レンチウイルス属ウイルス（クラス3）」のように記述して下さい。 2. 「病原性、有害物質産生性その他の特性」は、過去の報告や知見に基づいて記述して下さい。 3. マーカー遺伝子等である供与核酸のうち当該実験に用いるベクターに本来組み込まれているものに係る核酸供与体に関しては、「ベクターの特性」の項目に記入して下さい。</p>

<p>供与核酸の特性</p>	<p>当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等の供与核酸に関し、次に掲げる項目について記載すること（遺伝子組換え実験の場合に限る。）。ただし、薬剤耐性遺伝子その他のマーカー遺伝子及び発現調節遺伝子（目的遺伝子に係るものを除く。）である供与核酸に関しては、省略することができる。</p> <p>(1) 種類（ゲノム核酸、相補的デオキシリボ核酸、合成核酸等）及び一般的名称</p> <p>(2) 構成要素（目的遺伝子、発現調節遺伝子等）の機能、大きさ及び構成</p> <p>(3) 塩基配列情報又は日本DNAデータベース等の塩基配列データベースのアクセッションナンバー（供与核酸が同定済核酸である場合に限る。）</p> <p>< 記入上の留意事項 ></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 用いる供与核酸（遺伝子）が選抜マーカーあるいはレポーターとして広く一般的に用いられているもの（市販品等）であって、実験の主な目的ではない場合は、後出の「ベクターの特性」の欄に記入して下さい。 2. 「一般的名称」は、「オワンクラゲ緑色蛍光タンパク質」、「大腸菌由来ハイグロマイシン耐性遺伝子」、「バクテリオファージP1由来Creリコンビナーゼ」のように、由来がわかる記述として下さい。 3. 「構成」については別項のベクターと合わせて、 <ol style="list-style-type: none"> 1) どのような長さの 2) どのような構成のものが 3) どのような向きで 4) ベクターのどの部分に 5) どの制限酵素サイトを用いて導入されるのかがわかる図を別途作成し、添付して下さい。 4. 欠損・置換等の変異を導入した供与核酸を用いる場合などは、その詳細がわかる図を別途作成し、添付して下さい。 5. 「機能」については、例えば遺伝子の産物がどのような性質を持っているか、それが病原性や毒素産生性に関係していないかなどについて記述して下さい。 6. 塩基配列がすでに明らかになっている供与核酸については、データベースのアクセッションナンバーを記入あるいは塩基配列そのものを別紙で添付して下さい。 7. 論文やカタログのコピーは、必要に応じ当該実験用にわかりやすく整理、加筆等して下さい。 8. マーカー遺伝子等である供与核酸のうち当該実験に用いるベクターに本来組み込まれているものに関しては、「ベクターの特性」の項目に記入して下さい。
----------------	--

ベクター等の特性	<p><u>当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等のベクターに関し、次に掲げる項目について記載すること（遺伝子組換え実験の場合に限る。）。このほか、薬剤耐性遺伝子その他のマーカー遺伝子の特性についても併せて記載すること。</u></p> <p>(1) <u>名称、由来する生物の分類学上の位置及び実験分類</u> (2) <u>構成</u> (3) <u>伝達性及び宿主特異性</u></p> <p>< 記入上の留意事項 ></p> <p>1. 「名称」は、「pUC119（大腸菌用クローニングベクター）」「pBI121（RK2系パイナリーベクター）」のように、付与された記号番号の他に簡単な説明を付けて下さい。</p> <p>2. 「由来する生物の分類学上の位置及び実験分類」については、「Human Immunodeficiency Virus (HIV) 1型：レトロウイルス科レンチウイルス属ウイルス（クラス3）」のように記述して下さい。「構成」については、別項の供与核酸と併せて、構造図を別途作成し、添付して下さい。論文やカタログのコピーはそのまま添付せず、当該実験用にわかりやすく加筆・修正して下さい。</p> <p>3. 「伝達性」はウイルスベクターやトランスポゾン、F因子などによる細胞や個体間でのベクターや供与核酸の移動の可能性と、その際の宿主ゲノムとの核酸の交換や持ち出しについてのこれまでの知見や報告（あるいはその可能性に関する考察）を記述して下さい。</p> <p>4. 供与核酸の項目でマーカー遺伝子についての記載を省略した場合は、ここに記載して下さい。</p>
宿主等の特性	<p><u>遺伝子組換え実験の場合には当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等の宿主に関し、細胞融合実験の場合には当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等の親生物（法第2条第2項第2号に掲げる技術の利用により得られた核酸又はその複製物が由来する生物をいう。以下同じ。）に関し、次に掲げる項目について記載すること。</u></p> <p>(1) <u>分類学上の位置及び実験分類</u> (2) <u>自然環境における分布状況及び生息又は生育が可能な環境</u> (3) <u>繁殖又は増殖の様式</u> (4) <u>病原性、有害物質の産生性その他の特性</u> (5) <u>栄養要求性、薬剤耐性及び至適生育条件（微生物（ウイルス又はウイロイドであるものを除く。）である遺伝子組換え生物等の使用等をする場合に限る。）</u> (6) <u>「ベクター等の特性」に掲げる項目（宿主がウイルス及びウイロイドである場合に限る。）</u></p> <p>< 記入上の注意 ></p> <p>1. 「分類学上の位置及び実験分類」については、「核酸供与体」の項(ア)を参照して下さい。</p> <p>2. 「病原性、有害物質産生性その他の特性」は、過去の報告や知見に基づいて記述して下さい。すでにこれらの項目に関して実験データを得ている場合は、その詳細を別紙等で添付して下さい。</p> <p>3. その他の項目については、例えば、微生物であれば、何から（どのような環境から）単離されたか、栄養要求性、実験室外で増殖可能か、他の微生物と遺伝子交換を行うかなどについて広く記載して下さい。</p>

<p>遺伝子組換え生物等の特性(宿主等との相違を含む。)</p>	<p><u>遺伝子組換え実験の場合にあつては当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等の宿主と比べて、細胞融合実験の場合にあつては当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等の親生物と比べて、当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等に新たに付与されることが予想される又は付与された特性を記載すること。</u></p> <p>< 記入上の留意事項 > 導入される供与核酸の特性によって、宿主にどのような形質が新たに付与されているのか(付与されたときに予想される形質に関する考察)を記述して下さい。</p> <p><u>このほか、当該第二種使用等をする間に執る拡散防止措置の区分の中に特定飼育区画又は特定網室がある場合には、当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等に関し、次に掲げる項目についても併せて記載すること。</u></p> <p>(1) <u>組換え核酸の移入方法及び育成の経過(継代数を含む。)</u> (2) <u>供与核酸の存在状態及び供与核酸による形質の発現の安定性(遺伝子組換え実験の場合に限る。)</u> (3) <u>繁殖又は増殖の様式</u> (4) <u>生育又は生存に対し、第二種使用等をする場所における気象条件によって受ける影響</u> (5) <u>微生物である遺伝子組換え生物等の残存性及び当該遺伝子組換え生物等の他の生物への伝播性(当該第二種使用等に係る植物である遺伝子組換え生物等の作成に微生物である遺伝子組換え生物等を用いた場合に限る。)</u></p> <p>< 記入上の留意事項 > 組換え体の作出に用いた方法について段階を追って具体的に記述して下さい。導入した供与核酸の予想される動態(細胞内あるいは細胞間での動き、後代への伝わり方など)について記述し、ゲノムへの組み込みや発現に関するデータ等がある場合は必要に応じて別紙として添付して下さい。また、微生物である遺伝子組換え生物等を接種した動植物については、特定飼育区画の拡散防止措置に移行する際に、それらの残存性についてのデータを添付して下さい。</p>
<p>遺伝子組換え生物等を保有している動物、植物又は細胞等の特性</p>	<p><u>「宿主等の特性」に掲げる項目のうち関係する項目を記載することに加え、当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等を保有していない動物、植物又は細胞等と比べて、当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等を保有している動物、植物又は細胞等に新たに付与されることが予想される又は付与された形質について記載すること。</u></p> <p>< 記入上の留意事項 > 1. 「宿主の特性」において記載する項目のうち該当するものすべてについて記載して下さい。 2. 培養細胞や組織片等「生物」として定義されていない細胞等(ウイルスのパッケージング細胞、組換え核酸と同時に移入する核酸の情報を含む。)についても記載して下さい。</p>

<p>拡散防止措置</p>	<p>区分及び選択理由</p>	<p><u>原則として、別表第二、別表第三、別表第四又は別表第五の上欄に掲げる拡散防止措置の区分のうち、当該第二種使用等をする間に執る拡散防止措置の区分をすべて記載し、選択した理由をそれぞれ具体的に記載すること。</u></p> <p>< 記入上の留意事項 > 「確認を申請する使用等」で記載した実験部分を含め、全ての拡散防止措置について「第二種使用等の目的及び概要」に記した実験のどの部分が別表のどの項目に当てはまるのかを、具体的に記述して下さい。 (例) 遺伝子のクローニング [「概要」欄に対応した表題] 拡散防止措置の区分：P2 レベル (大臣確認実験) 選択理由：宿主である ウイルスの実験分類はクラス2、核酸供与体××の実験分類はクラス2、作成される組換えワクシニアウイルスの病原性・伝播性は、供与核酸によって付与される性質によって変化しないと推定されるので、当該組換え ウイルスの実験分類はクラス2であることから、P2レベルの拡散防止措置を執る。 <あるいは> 作成される組換え ウイルスの病原性・伝播性は、 ウイルスの××表面抗原によって組織指向性が変化して病原性が増大する可能際があるので、当該組換え ウイルスの実験分類はクラス2であるが、P3レベルの拡散防止措置を執る。</p>
	<p>施設等の概要</p>	<p><u>選択した拡散防止措置に関し、次に掲げる項目について記載すること。</u></p> <p>(1) <u>主要な施設、設備及び機器の位置及び名称、区分に応じ、二種省令で定められた設備等</u> (2) <u>培養設備等の総容量 (大量培養実験の場合に限る。)</u> (3) <u>安全委員会等による施設等の確認状況 (日時等)</u> (4) <u>実験室、実験区画、実験区域、飼育区画又は網室内において当該第二種使用等に関係しない動物が飼育され、又は植物が栽培されている場合には、当該動物の飼育又は植物の栽培の状況</u> (5) <u>第二種使用等をする場所の周辺における組換え植物等と交雑する植物の存在の有無及び当該交雑を防止する措置 (第二種使用等をする間に執る拡散防止措置の区分を特定網室とする場合に限る。)</u></p> <p>< 記入上の留意事項 > 施設については、拡散防止措置の種類に応じて当該施設を含む敷地図、施設の全体図、フロア図、実験区画の詳細図 (設備等を可能な限り記載)、実験室や拡散防止措置に係る設備の構造図、空調や培養に係る設備のフロー図等を別紙として添付して下さい。また、各実験区画の拡散防止措置についても図面中に記載して下さい。 二種省令の公布日 (平成16年1月29日) 以降、機関の安全委員会等による確認が行われた日を記入して下さい。</p>
	<p>遺伝子組換え生物等を不活化するための措置</p>	<p><u>当該第二種使用等をする間に執る拡散防止措置に関し、当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等を含む廃棄物並びに当該第二種使用等に係る遺伝子組換え生物等が付着した機器及び器具についての遺伝子組換え生物等を不活化するための措置並びにその有効性を記載すること。</u></p> <p>< 記入上の留意事項 > 例えば、“使用した器具および組換えウイルスはオートクレーブ処理 (121、20分) で不活化する”、“実験終了後に0.2Nの水酸化ナトリウムでラインを2度洗浄することにより、組換え体を不活化する”のように具体的な処理が特定できるように記述して下さい。また、宿主の特性や導入遺伝子産物の回収のため、特殊な条件で不活化を行う場合は、その方法の有効性を示す具体的なデータを求めることがあります。</p>

その他	<p><u>次に掲げる項目について記載すること。</u></p> <p>(1) <u>第二種使用等の実施予定期間（平成 年 月～x年x月）</u></p> <p>(2) <u>遺伝子組換え生物等の安全な取扱いについて検討する委員会等の設置状況及び当該委員会等の委員長の職名及び氏名等</u></p> <p>(3) <u>動物を飼育する施設等の管理者による実験計画の確認状況（動物使用実験の場合に限る。）</u></p> <p>(4) <u>事故時等緊急時における対処方法（大量培養実験の場合に限る。）</u></p>
-----	--

[備考]欄は提出する申請書からは必ず削除して下さい。