

注意) 明朝体で記載されている部分(備考欄を含む)は、該当する実験において記載すべき内容です。
特に備考欄には、実験内容を理解するために必要な情報を記載する必要があります。

*太字で記載されている内容は申請書類作製上の注意事項です。

1) 大腸菌で目的の遺伝子が入ったプラスミドを作成、もしくはそのプラスミドを増やすだけの実験									
供与体・ベクター・宿主の組み合わせ									
核酸 供与体	核酸 供与体 の クラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	宿 主 の ク ラ ス	保 有 動 物 等	拡 散 防 止 措 置 の 区 分	備 考
マウス (Mus musculus)	1		Id1 Id2 Id3 Id4 E2A など	pBluescri pt II など	大腸菌 (K12株由 来) DH5α XL-1 Blue など	1		P1	<p>*ベクターに含まれる薬剤耐性遺伝子は、プラスミドを所持している大腸菌を選別する目的でのみ使用する場合には、記載しないこと(例えば、アンピシリン Amp など)。</p> <p>*ベクターに含まれる薬剤耐性遺伝子が哺乳類細胞などにおけるプラスミド保持の選択に用いられる場合には、その薬剤耐性遺伝子に加えて、プロモーター情報も記載する必要がある。</p> <p>*ネオマシン耐性遺伝子は G418, ネオマイシン、カナマイシン耐性を付与する機能を持つ。従って、原核生物、真核生物どちらでも発現するプロモーターを持ったベクターも多く、その場合、哺乳類細胞などにおけるプラスミド保持の選択に用いられる。</p> <p>*よくわからない場合には、Amp 以外の薬剤耐性遺伝子とそのプロモーターは記載すること。</p>
*右に記載した「供与核酸」の核酸供与体を記載すること。			<p>*実際にベクターに組込む遺伝子名を記載すること。</p> <p>*ベクターに組込む目的のタンパク質をコードする遺伝子だけでなく、使用する元のベクターに新たに組み込まれた他の DNA (例えばプロモーターなど) に関する情報を記載する必要がある。</p> <p>*以下の遺伝子の記載漏れがないか確認してから提出すること ①プロモーター、②蛍光タンパク質、③薬剤耐性遺伝子 (以下全ての表において確認すること。)</p>	<p>*実際に使用するベクター名を記載すること。</p> <p>*GST や、各種生物で発現させることを目的としたベクターを使用する場合、そのベクターに含まれている、供与体・供与核酸を記載する必要がある。</p>	<p>*実際に使用する大腸菌名を記載</p>				

2) 大腸菌で目的の遺伝子が入ったプラスミドを増やした後、そのプラスミドを培養細胞(株)に導入する実験→細胞や細胞株自身は生物ではないため、(その細胞をマウスに移植するような実験を行わない場合には、)細胞への導入実験の部分は記載する必要はないが、その旨備考欄に記載すること(記載例参照)。

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸供与体	核酸供与体のクラス	未同定核酸実験に係る供与核酸	同定済み核酸実験に係る供与核酸	ベクター	宿主	宿主のクラス	保有動物等	拡散防止措置の区分	備考
マウス (Mus musculus)	1		Id1 Id2 Id3 Id4 E2A など	pcDNA	大腸菌 (K12 株由来) DH5α XL-1 Blue	1		P1	大腸菌で作成したプラスミドの複製と調整。上記プラスミドを細胞株に導入する。
CMV (cytomegalovirus)	2		CMV プロモーター		*実際に使用する大腸菌名を記載すること。				

3) 大腸菌(DH5αやXL1-Blueなど)で、目的の遺伝子が入ったプラスミドを作成もしくは増やした後、そのプラスミドをタンパク発現用大腸菌(BL21やBL21(DE3))に導入してタンパク質を発現させる実験
注: BL21(DE3)は、遺伝子組換え大腸菌である。

3-1) BL21 を使用して発現させる場合

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸供与体	核酸供与体のクラス	未同定核酸実験に係る供与核酸	同定済み核酸実験に係る供与核酸	ベクター	宿主	宿主のクラス	保有動物等	拡散防止措置の区分	備考
マウス	1		Id1 Id2 Id3 Id4 E2A など *発現させたい遺伝子	pGEX-6P-1	大腸菌 (K12 株由来) DH5α XL-1 Blue	1		P1	大腸菌で作成したプラスミドの複製と調整
Schistosoma (住血吸虫)	2		GST		大腸菌 (B 株由来) BL21			P1	上記プラスミドを用いた、タンパク発現用大腸菌でのタンパク質発現 *BL21 と BL21 (DE3) は別の大腸菌です。(pET7 システムが使えるのは、T7RNA pol が組み込まれた BL21 (DE3) である) 下欄参照のこと。
大腸菌	1		Tac プロモーター						
大腸菌	1		lacI						

3-2) BL21 (DE3) を使用して発現させる場合

マウス	1		Id1 *発現させたい遺伝子	pET21a *ベクターに入っている核酸を左	大腸菌 (K12 株由来) DH5α	1		P1	大腸菌で作成したプラスミドの複製と調整
T7 phage	1		T7						

			promoter	欄に記載すること。	XL-1 Blue など				
人工合成 DNA	1		T7-Tag His-Tag						
E. coli.	1		lacI						
T7 phage	1		T7 RNA polymerase	*大腸菌に組み込まれている核酸を左欄に記載すること。	大腸菌(B株由来) BL21 (DE3)	1		P1	上記プラスミドを用いた、タンパク発現用大腸菌でのタンパク質発現 *pET システムが使えるのは、T7RNA pol が組み込まれた BL21 (DE3) である

3-3) BL21(DE3)変異体を使用してタンパク質を発現させる実験

核酸 供与体	核酸 クラス	未同定核酸 実験に係る 供与核酸	同定済み 核酸実験 に係る 供与核酸	ベクター	宿主	宿主 の クラス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区分	備考
マウス	1		Id1 *発現させたい遺伝子	pET21a *ベクターに入っている核酸を左欄に記載すること。	大腸菌 (K12 株由来) DH5α XL-1 Blue など	1		P1	* Agilent 社より販売されているタンパク質発現用大腸菌。CodonPlus の tRNA 情報の詳細は不明のため、大腸菌の正確な系統名か由来(購入元)を記載すること。
T7 phage	1		T7 promoter						
人工合成 DNA	1		T7-Tag His-Tag						
E. coli.	1		lacI						
T7 phage	1		T7 RNA polymerase	*大腸菌に組み込まれている核酸を左欄に記載すること。	大腸菌 (B 株由来) BL21- CodonPlus (DE3)-RIL	1		P1	*記載している大腸菌はすでにカナマイシン耐性を獲得しているため、使用するベクターの薬剤耐性遺伝子に注意が必要。 *T7 RNA polymerase に限らず、BL21 の様々な変異体を使用する場合には、BL21 に組み込まれた全ての供与核酸と核酸供与体も記載すること。
大腸菌	1		カナマイシン耐性遺伝子	*他のベクターを使用する場合には実際に使用するベクター名を記載すること。					

4) 大腸菌で目的の遺伝子が入ったプラスミドを作成し増やした後、そのプラスミドを用いてトランスジェニックマウスを作成する実験

注1：譲渡されたマウスを使用する場合は、大腸菌を宿主とした実験は行わないため青字記載部分は除く。さらに、赤字記載部分の指示に従い情報を加えること。

注2：実験に使用せず、遺伝子組換えマウスを飼育しているだけでも以下の記載が必要である。

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸 供与体	核酸 供与体 のクラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	宿 主の ク ラス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区分	備考
マウス	1		Id1 Id2Id3 Id4 E2A など *マウス遺 伝子のプロ モーターや エンハンサー など、使用 する供与 核酸を全て 記載すること。	pCAG など *pCAG に含 まれる CAG プロモーター は CMV エンハンサー +beta- actin プロ モーター +beta- globin plyA で構成 される。各 構成要素に ついて記載 が必要。他 のプロモーター を使用 する場合も 同様に構成 要素全てを 記載すること。	大腸菌 (K12 株由 来) DH5α XL-1 Blue など	1		P1	CAG エンハンサー/ プロモーター 制御下で、各マウス 遺伝子を発現 するトランスジ ェニックマウス 作成用プラスミ ド。 各遺伝子 (Id1, Id2, E2A など)そ れぞれについて、 トランスジ ェニックマウスを 作成する。
Cytomegalovirus	2		CMV エン ハンサー						
ニワトリ (Gallus gallus domestic us)	1		beta- actin プ ロモーター		マウス	1		P1A	上記プラスミド を用いて作成さ れたトランスジ ェニックマウス。 *他の研究室で 作成されたマウス の場合、作成研究室・ 提供研究室などの 情報等を記載する こと。
アナウサギ (Oryctol agus cuniculus)	1		beta- globin polyA						
*右に記載 した「供与 核酸」の核 酸供与体 を記載す ること。			*プロモ ーターやエン ハンサーな どタンパク 質に翻訳さ れない部分 も含めて記 載すること。						

5) 大腸菌で目的の遺伝子が入ったプラスミドを作成し増やした後、そのプラスミドを用いてノックアウトマウスを作成する実験 (古典的 KO マウス)

注1 : 譲渡されたマウスを使用する場合は、大腸菌を宿主とした実験は行わないため青字記載部分は除く。さらに、赤字記載部分の指示に従い情報を加えること。

注2 : 実験に使用せず、遺伝子組換えマウスを飼育しているだけでも、以下の記載が必要である。

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸 供与体	核酸 供与体 の クラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	ク ラ ス の 宿 主 の	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区 分	備考
マウス	1		Id1 Id2 Id3 Id4 E2A など 上記遺伝 子座	pBluescri pt *何らかの ベクター配 列が挿入さ れたマウス の場合には そのベクタ ー名を記載 する必要が ある。また、 マウスに持 ち込まれた 供与核酸の 情報も記載 すること。	大 腸 菌 (K12 株由 来) DH5α XL-1 Blue など	1		P1	マウスの各遺伝 子座にネオマイ シン耐性遺伝子 を挿入すること により、ノック アウトマウスを 作成するための プラスミド。 各遺伝子それぞ れについて、ノ ックアウトマウ スを作成する。
クレブシ エラ・ニ ューモニ アエ (Klebsie lla pneumoni ae)	2		ネオマイ シン/カナ マイシン 耐性遺伝 子(バクテ リアトラ ンスポン Tn5)		マウス	1		PIA	上記プラスミド を用いて作成さ れたノックアウ トマウス。 ノックアウトマ ウスにはTKが導 入されていない。
マウス	1		PGK promoter						
Herpes simplex virus	2		チミジン キナーゼ (TK)						*他の研究室で 作成されたマウ スの場合、作成 研究室・提供研 究室などの情 報等を記載す ること。

6) 大腸菌で目的の遺伝子が入ったプラスミドを作成し増やした後、そのプラスミドを用いてコンディショナルノックアウトマウスを作成する実験

注1：遺伝子を欠損させる (LoxP 配列を持つ) マウスと、遺伝子を欠損させるために必要な Cre を発現するマウス (Cre トランスジェニックマウス) の両方について記載して下さい。

記載例では、上部にコンディショナルノックアウトマウス、下部に Cre の Tg を記載している。

注2：譲渡されたマウスを使用する場合は、青字記載部分は除く。さらに、明朝体赤字記載部分を記載し、太字の赤字記載部分の指示に従い情報を加えること。

注3：実験に使用せず、遺伝子組換えマウスを飼育しているだけでも、以下の記載が必要である。

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸 供与体	核酸 供与体 の クラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	ク 宿 主 の ラ ス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区分	備考
マウス	1		Id1 Id2 Id3 Id4 E2A など 遺伝子座	pBluescri pt	大 腸 菌 (K12 株由 来) DH5α XL-1 Blue など	1		P1	マウス各遺伝子 座に loxP 配列が 挿入されたマウ スを作成するた めのプラスミド。 各遺伝子それぞ れについて、マウ スを作成する。
バクテリ オファージ P1 (bacte riophage P1)	1		loxP 配列		マウス	1		P1A	上記プラスミド を用いて作成さ れたコンディシ ョナルノックア ウトマウス。 マウス各遺伝子 座に loxP 配列が 挿入されたコン ディショナルノッ クアウトマウス *他の研究室で作 成されたマウスの 場合、作成研究室・ 提供研究室などの 情報等を記載する こと。 *loxP サイトを組 み込んだコンディ ショナルノックア ウトマウスを作成 するための手法は 複数あるが、とり あえず最終的に組 み込まれた LoxP 配 列に関する記載が あれば良い。 *LoxP 以外に挿入 された核酸配列が 機能的に重要な場 合、その核酸に関 する情報を記載す ること。
*右に記載 した「供与 核酸」の核 酸供与体 を記載す ること。			*必要があ れば、その 他の (作成 に使用し た) 核酸情 報を記載す ること。						

マウス *プロモーターに使用した配列が由来する核酸供与体を記載すること。	1		CD19 CD4 プロモーター など *ここでは2つの Cre Tgを作成する場合を例として示している。	pBluescript など *使用したベクターを記載	大腸菌 (K12 株由来) DH5α XL-1 Blue など	1		P1	各プロモーター制御下で Cre が発現するような、トランスジェニックマウスを作成するためのプラスミド。
バクテリオファージ P1 (bacteriophage P1)	1		Cre		マウス	1		P1A	上記プラスミドを用いて作成されたトランスジェニックマウス。 各プロモーター制御下で Cre が発現するような、トランスジェニックマウス *他の研究室で作成されたマウスの場合、作成研究室・提供研究室などの情報等を記載すること。
ヒト	1		ERT2 改変エストロゲン受容体 *Creの核移行を制御する目的でERとの融合タンパク質を作成する場合の記載方法。通常の Cre の Tg では ERT2 は記載しないこと。						
*右に記載した「供与核酸」の核酸供与体を記載すること。			*上記以外の Tg 作成に使用する供与核酸を全て記載すること。						

7) 大腸菌で目的の遺伝子が入ったプラスミドを作成し増やした後、そのプラスミドを用いてコンディショナルノックアウトマウスを作成する実験

注1：遺伝子を欠損させる (LoxP 配列を持つ) マウスと、遺伝子を欠損させる Cre を発現する Cre トランスジェニックマウス (CreTg) の両方について記載して下さい。

記載例では、上部にコンディショナルノックアウトマウス、下部に Cre の Tg を記載している。

コンディショナルノックアウトマウスは6) に記載した内容と同じであるが、7) では、Cre 発現マウスの作成方法が異なる。Cre を発現させたい遺伝子座にゲノム編集技術を用いて Cre (もしくは CreERT2) をノックインしたマウスを作成する実験の記載例を示す

注2：譲渡されたコンディショナルマウスを使用する場合は、青字記載部分は除く。さらに、明朝体赤字記載部分を記載し、太字の赤字記載部分の指示に従い情報を加えること。

注3：ゲノム編集技術で他研究室において作成された CreTg マウスを譲渡された場合、緑字記載部分は除く。さらに紫字記載部分の指示に従い情報を加えること。

注4：合成 RNA と組換え Cas9 タンパク質をマウス受精卵に打ち込んで作成した Cre トランスジェニックマウスの場合は guide RNA のベクター名は記載しない。

注5：実験に使用せず、遺伝子組換えマウスを飼育しているだけでも、以下の記載が必要である。

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸 供与体	核酸 供与体 の クラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	宿 主 の ク ラ ス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区分	備考
マウス	1		Id1 Id2 Id3 Id4 E2A など 遺伝子座	pBluescri pt	大 腸 菌 (K12 株由 来) DH5α XL-1 Blue など	1		P1	マウス各遺伝子 座に loxP 配列が 挿入されたマウ スを作成するた めのプラスミド。 各遺伝子それぞ れについて、マウ スを作成する。
バクテリ オファージ P1 (bacte riophage P1)	1		loxP 配列		マウス	1		P1A	上記プラスミド を用いて作成さ れたコンディシ ョナルノックア ウトマウス。
*右に記載 した「供与 核酸」の核 酸供与体 を記載す ること。			*必要があ れば、その 他の (作成 に使用し た) 核酸情 報を記載す ること。						マウス各遺伝子 座に loxP 配列が 挿入されたコン ディショナルノッ クアウトマウス *他の研究室で作 成されたマウス の場合、作成研究室・ 提供研究室などの 情報等を記載す ること。 *loxP サイトを組 み込んだコンディ ショナルノックア ウトマウスを作成 するための手法は 複数あるが、とり あえず最終的に組 み込まれた LoxP 配 列に関する記載が あれば良い。

									*LoxP 以外に挿入された核酸配列が機能的に重要な場合、その核酸に関する情報を記載すること。
マウス *プロモーターに使用した配列が由来する核酸供与体を記載すること。	1		CD19 CD4 プロモーターなど *ノックインするターゲット遺伝子座を記載すること。	pBluescript	大腸菌 (K12 株由来) DH5α XL-1 Blue など	1		P1	各プロモーター制御下で Cre (もしくは CreERT2) が発現するような、ノックイントランスジェニックマウスを作成するためのプラスミド。
バクテリオファージ P1 (bacteriophage P1)	1		Cre						
ヒト	1		ERT2 改変エストロゲン受容体 *Creの核移行を制御する目的で ER との融合タンパク質を作成する場合の記載方法。通常の Cre の Tg では ERT2 は記載しないこと。		マウス	1		P1A	上記プラスミドを用いて作成されたノックイントランスジェニックマウス。 *他の研究室で作成されたマウスの場合、作成研究室・提供研究室などの情報等を記載すること。 *CRISPR/Cas9 を用いてノックインした場合は、備考欄にその旨を記載すること。
S, pyogenes *Cas9 の由来の細菌名を記載すること。 *In vitro 転写で作成した場合は、適切な供与体および、供与核酸(プロモーター含む)も記載すること。	2		crRNA tracrRNA *一本鎖 guideRNA を使用した場合も同様に記載すること。	guide RNA 作成用ベクター名 (guide RNA, promoter 名) *guide RNA を in vitro 転写で作成した場合は、そのベクター名を記載する。また、どの供与核酸が含まれているのか、わかるように記載する。					

8) CRISPR/Cas9 を用いてゲノム編集マウスを作成した実験 (修復エラーによるノックアウトマウス作成や、遺伝子にタグをつける実験, 外から加えた DNA を特定の遺伝子座に組み込むノックイン実験など)

注1: 譲与されたマウスを実験に使用する場合でも、全ての項目の記載が必要である。
 注2: 実験に使用せず、遺伝子組換えマウスを飼育しているだけでも、以下の記載が必要である。

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸 供与体	核酸 供与体 の クラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	ク 宿 主 の ス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区分	備考
マウス *宿主と同じ	1	*目的遺伝子の生体内での機能が推定できないものはこちらに記載すること。	*標的の遺伝子 *遺伝子名等の名称がない場合は、編集した領域についての説明を記載すること。	*ガイドRNAを in vitro 転写で作成した場合は、ベクター名を記載すること。 *ベクターに含まれる薬剤耐性遺伝子などの情報も供与体に記載すること。	マウス *ゲノム編集を行った対象	1		P1A	CRISPR/Cas9 を用いて作成 *ゲノム編集を行った手法を記載すること。 *改変により生じた変化も記載すること。 (挿入・欠損・塩基置換のうち該当するもの) *修復時のエラーによる遺伝子ノックアウトマウスの作成を意図した実験の場合には、本実験とは関係のない人工合成核酸導入実験に当たる項目「人工合成核酸」として記載してある内容は記載しないこと。
S, pyogenes *Cas9 の由来の細菌名を記載すること。	2		crRNA tracrRNA *一本鎖 guideRNA を使用した場合も同様に記載すること						
人工合成核酸 *Flag など人工合成核酸を挿入した場合は上記のように記載する *これは、ゲノム編集技術を用いて、ある遺伝子に特定のアミノ酸 (Flag) を付加する実験の例であり、通常のゲノム編集による遺伝子ノックアウトでは記載する必要はない。	1		Flag タグなど						
*ノックインする遺伝子等があれば、その記載も必要			*7) の記載例にある CreERT2 などの記載方法を参照すること。						

9) TALEN や ZFN を用いてゲノム編集マウスを作成した実験

注1：分譲されたマウスを実験に使用する場合でも、項目の記載は必要

注2：実験に使用せず、遺伝子組換えマウスを飼育しているだけでも、以下の記載が必要である。

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸 供与体	核酸 供与体 の クラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	宿 主の ク ラス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区分	備考
マウス *宿主と同じ	1	*目的遺伝子の生体内での機能が推定できないものはこちらに記載すること。	*標的の遺伝子 *遺伝子名等の名称がない場合は、編集した領域についての説明を記載すること。	*TALEN, ZFN などを発現させるベクターを記載すること。	マウス *ゲノム編集を行った対象	1		PIA	TALEN, ZFN など *ゲノム編集を行った手法を記載すること。 *改変により生じた変化も記載すること。 (挿入・欠損・塩基置換のうち該当するもの)
*ベクターに含まれる核酸供与体を記載すること。									

10) レトロウイルスを作成し、細胞に感染させる実験									
供与体・ベクター・宿主の組み合わせ									
核酸 供与体	核酸 供与体 のクラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	宿 主の ク ラ ス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区 分	備考
マウス	1		E2A など *過剰発現 させたい遺 伝子等	MSCV- IRES-EGFP *使用する レトロウイ ルス作作用 のベクター を記載する こと(使用 するベクタ ーに合わせ て供与核酸 の欄に必要 な遺伝子名 を記載する こと)	大腸菌 (K12株由 来) DH5αなど	1		P1	①. EGFP をバイ シストロニック に発現させる MSCV ベクターに E2A 遺伝子を導 入する実験(感染 させた細胞など に E2A を過剰発 現させることが できる)
Murine stem cell virus (MSCV)	2	LTR *LTR以外の ウイルス由 来核酸があ る場合は、 その核酸に ついて記載 すること。							
脳心筋炎 ウイルス (Enceph alomyocar ditis virus, EMCV)	2	IRES							
オワンク ラゲ (Aequore a Victoria)	1		EGFP *過剰発現 させたい遺 伝子や、ウ イルス由来 でない核酸 などが含ま れている場 合、ここに 記載するこ と。(各種プ ロモーター、 蛍光タン パク質、 薬剤耐性遺 伝子等)						
マウス	1		E2A など		MSCV(増殖 力欠損株)	2	Plat- E(パッケ ージング 細胞) や Plat- A(パッケ ージング 細胞) など	P2	②. 自立増殖能を 失った組換えレ トロウイルスの 作成実験 PlatE はレトロ ウイルスに必要 なGag, Pol, Env 遺伝子を発現す るための遺伝子 が導入された細 胞。この細胞にウ イルスにパッケ ージングされる レトロウイルス コンストラクト を導入すること で、自己複製能を
脳心筋炎 ウイルス (Enceph alomyocar ditis virus, EMCV)	2	IRES							
オワンク ラゲ (Aequore a Victoria)	1		EGFP						

									<p>持たないレトロウイルスが作成される。</p> <p>*パッケージング細胞を使用しない場合（レンチウイルスなど）の記載方法は、別のページの記載例を参照すること。</p>
マウス	1		E2A など		MSCV（増殖力欠損株）	2	マウス腫瘍細胞	P2	③、②で作成した組換えレトロウイルスの腫瘍細胞への接種実験
脳心筋炎ウイルス	2		IRES						
オワンクラゲ	1		EGFP						

11) 購入もしくは譲与されたレトロウイルスを細胞に感染させる実験（ウイルス作成実験を行わない場合）
 注：備考欄で、ウイルスが自己複製能を持つか持たないか選択すること（重要）

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸 供与体	核酸 供与体 の クラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	宿 主の ク ラス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区分	備考
マウス	1		E2A など *過剰発現 させたい遺 伝子等		MSCV（増 殖力欠損 株）	2	マウス腫 瘍細胞	P2	宿主が自己複製 能を 持つ・持たない
脳心筋炎 ウイルス (Enceph alomyocar ditis virus, EMCV)	2		IRES						*ウイルスを購入 した場合、製品情 報を備考欄に記載 すること。(製品の 資料・ホームペー ジに記載されてい る情報を調べ、分 かる範囲で全ての 核酸情報を記載 し、封じ込めレベ ルを判定すること。)
オワンク ラゲ (Aequore a Victoria)	1		EGFP *過剰発現 させたい遺 伝子や、ウ イルス由来 でない核酸 が含まれて いる場合、 ここに記載 すること。 (各種プロ モーター、 蛍光タンパ ク質、薬剤 耐性遺伝子 等)						*例えばこのウイ ルスは、目的の遺 伝子(ここではE2A など)とEGFPを IRESを介してパイ シストロニックに 発現させるMSCV であるため、この ように記載した。 *他研究室で作成 したウイルスを譲 り受けた場合、ウ イルス作成研究室 から情報を提供し てもらった上で、 本表を完成し封じ 込めレベルを判定 すること。(ウイ ルス作製研究室の情 報も記載すること。)

1 2) レトロウイルスを作成し、細胞に感染させた後、その細胞をマウスに接種する実験 もしくは、レトロウイルスを直接マウスに感染させる実験									
供与体・ベクター・宿主の組み合わせ									
核酸 供与体	核酸供与体 のクラス	未同定核酸 実験に係る 供与核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	宿主の クラス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区分	備考
マウス	1		E2A など *過剰発現 させたい遺 伝子等	pMX *使用する レトロウイ ルス作作用 のベクター を記載する こと (使用 するベクタ ーに合わせ て供与核酸 の欄に必要 な遺伝子名 を記載する こと)	大腸菌 (K12 株由 来) DH5α	1		P1	①. pMX ベクター に E2A 遺伝子 をクローニン グする実験 (感染させた 細胞で E2A を 過剰発現させ ることができる)
Molony murine leukemia virus; 増 殖力欠損 株 (MMLV)	2		LTR *過剰発現 させたい遺 伝子や、ウ イルス由来 でない核酸 が含まれて いる場合、 核酸供与体 ごとに供与 核酸を記載 すること。 (各種プロ モーター、 蛍光タンパ ク質、薬剤 耐性遺伝子 など)						
マウス	1		E2A など		MMLV (増殖 力欠損株)	2	Plat- E (バッケ ーシング 細胞)	P2	②. 自立増殖能を 失った組換えレ トロウイルスの 作成実験 PlatE はレトロ ウイルスに必要 な Gag, Pol, Env 遺伝子を発現す るための遺伝子 が導入された細 胞。この細胞にウ イルスにバッケ ーシングされる レトロウイルス コンストラクト を導入すること で、自己複製能 を持たないレト ロウイルスが作 成される。 *パッケージン グ細胞を使用し ない場合 (レン チウイルスなど) の記載方法は、 別のページの記 載例を参照す ること。

マウス	1		E2A など		MMLV(増殖力欠損株)	2	マウス腫瘍細胞	P2	③. ②で作成した組換えレトロウイルスの腫瘍細胞への接種実験
マウス	1		E2A など		マウス	1		P1A	④. ③で作成したレトロウイルスを感染させた腫瘍細胞をマウスに移植する動物作成実験(培地等に、レトロウイルスが含まれていないことを確認済の場合)
マウス	1		E2A など		MMLV(増殖力欠損株)	2	マウス	P2A	⑤. ③で作成したレトロウイルスを感染させた腫瘍細胞に、レトロウイルスが含まれている可能性がある状態の腫瘍細胞を接種する、動物接種実験・作成実験
					マウス	1			
マウス	1		E2A など		MMLV(増殖力欠損株)	2	マウス	P2A	⑥. ②で作成した組換えレトロウイルスをマウスに接種する、動物接種実験 *マウス腫瘍細胞を使用せず、本実験⑥だけ行う場合には、③、④、⑤の項目は記載しない
					マウス	1			

13) パッケージング細胞を用いずレトロウイルスを作成する実験

注1：作成済みの組換えレトロウイルスを購入した場合には、赤字部分・青字部分の記載項目を除いて記載すること

注2：遺伝子組換えレトロウイルス作成キット等を購入してレトロウイルスを作成した場合には、説明書に示された情報を正しく赤字部分に記載すること

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸 供与体	核酸 供与体 のクラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	ク 宿 主 の ス ラス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区分	備考
MMLV (Molony murine leukemia	2		LTR	pHAN-puro	大腸菌 (DH5a) など	1		P1	組換えレトロウイルスの作製に関わるプラスミドの作製と、作製したプラスミドの大腸菌での複製と調整
ヒト	1		U6 プロモーター	*実際に使用するvectorを記載すること。 *使用するvectorに含まれる遺伝子と、ターゲットとなる遺伝子名を正確に左欄に記載すること。	レトロウイルス (増殖力欠損株)	2	培養細胞 (ヒト HEK293T 細胞)	P2	
マウス	1		Id1 Id2 Id3 Id4 E2A 等 <レトロウイルスベクターで実際に発現させる遺伝子名>						
ヒト	1		PGK プロモーター						
Streptomycines	1		Puromycin 耐性遺伝子		レトロウイルス (増殖力欠損株)	2	培養細胞 (C2C12、X63 等)	P2	培養細胞にレトロウイルスを感染させ、目的の遺伝子を定常的に発現する細胞株の樹立を行う。
サイトメガロウイルス	2		CMV プロモーター	pHIT60 (CMV-gag-pol)			*レトロウイルスを感染させる細胞を記載		*ウイルスをどのように使用するかでこの部分の記載方法は変わります。そういった場合には別の記載例を参照すること。
MMLV	2		MMLVψ						
MMLV	2		gag						
MMLV	2		pol						
サイトメガロウイルス	2		CMV プロモーター、エンハンサー	pHIT456 (CMV-amphotropic env)					
MMLV	2		Amphotropic env						

14) アデノ随伴ウイルスを作成し、マウスに感染させる実験

注1：作成済みの組換え AAV ウイルスを購入した場合には、赤字部分・青字部分の記載項目を除いて記載すること

注2：遺伝子組換え AAV 作成キット等を購入して AAV を作成した場合には、説明書に示された情報を正しく赤字部分に記載すること

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸 供与体	核酸 供与体 のクラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	宿 主の ク ラス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区分	備考
アデノ随 伴ウイル ス	1		末端逆位 反復配列 ITR	pAAV- EF1a-DIO- ChETA- EYFP	大腸菌 (DH5a) など 実際に 使用予定 の大腸菌 を記載	1		P1	組換え AAV 作製に 関わるプラスミ ドの作製と、作製 したプラスミド の大腸菌での複 製と調整
ヒト	1		EF1a プロ モーター	Cre 存在 下で ChETA- EYFP が発 現する組 換え AAV vector を 使用した 場合。	AAV (増殖 力欠損株)	1	培養細胞 (ヒト HEK293T 細胞) *アデノ随 伴ウイルス 作製に 使用する 細胞株を 記載	P1	培養細胞を使っ た組換え AAV の作 製 この方法で作成 された AAV は自己 複製能を持たない ことが確認され ている。
クラミド モナス			チャンネル ロドプシ ン (ChR, ChETA)						
オワンク ラゲ	1		蛍光タン パク質遺 伝子 (EYFP)	*左の欄に 記載する遺 伝子名や、 この欄に記 載する vector 名は 実際に使用 するものを 確認して記 載すること。	AAV (増殖 力欠損株)	1	マウス	P1A (P2A)	組織特異的に Cre を発現するマウ スの組織に AAV を 感染させて実験 を行う。 AAV ウイルスの動 物への感染は摂 取実験に該当し、 感染した結果で きる遺伝子組換 えマウスは動物 作成実験に該当 する。 この方法で作成 された AAV は自己 複製能を持たない ことが確認され ている。
P1 ファー ジ	1		loxP 配列 (DIO カセ ット)		AAV を感染 させるマウ ス名 (別の欄で 示した組 織特異的に Cre を発現 するマウ スの系統 名を記入 すること)	1		(AAV の マウス への感 染実験 は、本 学では P2A レ ベルで 行う)	
アデノウ イルス	2		アデノウ イルス E2A	pHelper					
アデノウ イルス	2		アデノウ イルス E4						
アデノウ イルス	2		アデノウ イルス VA						
アデノ随 伴ウイル ス	1		Rep	pAAV-RC2, pAAV-RC6					
アデノ随 伴ウイル ス	1		Cap (RC2/RC6)						

1 5) shRNA を発現させるレンチウイルスを作成し、作成したレンチウイルスをマウスに感染させる実験									
注1：作成済みの組換えレンチウイルスを購入した場合には、赤字部分・青字部分の記載項目を除いて記載すること									
注2：遺伝子組換えレンチウイルス作成キット等を購入してレンチウイルスを作成した場合には、説明書に示された情報を正しく赤字部分に記載すること									
供与体・ベクター・宿主の組み合わせ									
核酸 供与体	核酸 供与体 のクラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	宿 主の ク ラ ス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区 分	備考
レンチウ イルス	1		LTR	pLK0.1- puro (Addgene #8453)	大腸菌 (DH5a) 等 実際に 使用予定 の大腸菌 を記載	1		P1	組み換えレン チウイルスの作 製に関わるプ ラスミドの作 成や、増幅
ヒト	1		U6 プロモ ーター	*実際に使 用する vectorを記 載すること。 *使用する vectorに含 まれる遺伝 子と、ター ゲットとな る遺伝子名 を正確に左 欄に記載す ること。	Lentiviru s (増殖力 欠損株)	2	培養細胞 (ヒト HEK293T 細胞) *レンチウ イルス作 製に使用 する細胞 株を記載	P2	培養細胞を使 った組み換え レンチウイルス の作製。 この方法で作 成されたレン チウイルスは 自己複製能を 持たないこと が確認され ている。
マウス			Id1 Id2 Id3 Id4 E2A など <shRNA に より発現を 抑制する遺 伝子の名称>						
ヒト	1		PGK プロ モーター	*shRNA で はないウイ ルスの場合 には実験に 適したレン チウイルス ベクターを 記載すること。	Lentiviru s (増殖力 欠損株)	2	マウス	P2A	マウスにレン チウイルスを 感染させて実 験を行う。 *マウスに レンチウイ ルス感染さ せるこの実 験は、ウイ ルスが宿主 の P2A 実 験。ウイ ルスがマ ウスに感 染した後 は、宿主 がマウス の P1A 実 験に当 たるので、 この実 験の封じ 込めレ ベルは P2A に なる。
Streptom ycines	1		Puromycin 耐性遺伝 子		マウス *遺伝子 組換えマ ウスに感 染させる 場合、こ こにはマ ウスの系 統名のみ を記載す ること。 (ここに 記載した マウスは、 別の欄で どのような 遺伝子 組換えマ ウスであ るのかを 示して必 要あり)	1			
サイトメ ガロウイ ルス	2		CMV エン ハンサー	psPAX2 (Addgene #12260)					
ニワトリ	1		b-actin プロモ ーター						
HIV	2		gag						
HIV	2		pol						
サイトメ ガロウイ ルス	2		CMV プロ モーター、 エンハン サー	pMD2.G (Addgene #12259)					
水疱性口 内炎ウイ ルス	2		VSV-G						

15) パッケージング細胞を用いずレトロウイルスを作成する実験

注1：作成済みの組換えレトロウイルスを購入した場合には、赤字部分・青字部分の記載項目を除いて記載すること

注2：遺伝子組換えレトロウイルス作成キット等を購入してレトロウイルスを作成した場合には、説明書に示された情報を正しく赤字部分に記載すること

供与体・ベクター・宿主の組み合わせ

核酸 供与体	核酸 供与体 の クラス	未同定核 酸実験に 係る供与 核酸	同定済み 核酸実験 に係る供 与核酸	ベクター	宿主	宿 主の ク ラス	保有動物 等	拡散 防止 措置 の 区分	備考
MMLV (Molony murine leukemia	2		LTR	pHAN-puro *実際に使 用する vectorを記 載するこ と。 *使用する vectorに含 まれる遺伝 子と、ター ゲットとな る遺伝子名 を正確に左 欄に記載す ること。	大腸菌 (DH5a) 等 *実際に使 用予定の大 腸菌を記載	1		P1	組換えレトロウ イルスの作製に 関わるプラスミ ドの増幅
ヒト	1		U6 プロモ ーター		レトロウ イルス (増 殖力欠損 株)	2	培養細胞 (ヒト HEK293T 細胞) *レトロウ イルス作 製に使用 する細胞 株を記載	P2	培養細胞を使っ た組換えレトロ ウイルスの作製。 この方法で作成 されたレトロウ イルスは自己複 製能を持たない ことが確認され ている。
マウス	1		Id1 Id2 Id3 Id4 E2A 等 <レトロウ イルスベ クターで 実際に発 現させる 遺伝子名>						
ヒト	1		PGK プロ モーター		レトロウ イルス (増 殖力欠損 株)	2	培養細胞 (C2C12、 X63 等) *レトロウ イルスを 感染させ る細胞を 記載	P2	培養細胞にレト ロウイルスを感 染させ、目的の遺 伝子を定常的に 発現する細胞株 の樹立を行う。 *ウイルスをどの よう使用するか でこの部分の記 載方法は変わ ります。そうい った場合には別 の記載例を参 照すること。
Streptom ycines	1		Puromycin 耐性遺伝 子						
サイトメ ガロウイ ルス	2		CMV プロ モーター	pHIT60 (CMV-gag- pol)					
MMLV	2		MMLVψ						
MMLV	2		gag						
MMLV	2		pol						
サイトメ ガロウイ ルス	2		CMV プロ モーター、 エンハン サー	pHIT456 (CMV- amphotrop ic env)					
MMLV	2		Amphotrop ic env						

*各自使用する核酸供与体や供与核酸に合わせて、下の各項目を記載する。ここに記載されているのは、記載例であり、内容は完全ではない部分もあるので注意すること。

<p>核酸供与体の特徴および生物学的リスク</p>	<p>*主に使用している大腸菌やウイルス、マウスなどについて簡潔に記載例を参考に記載してください。また、ヒトに対する病原性がある核酸供与体の場合は、記載例(青字)のように個別に記載してください。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・本実験で使用する大腸菌は K12 株 (株名を記載) 由来のもので、病原性や毒性を持たない。 ・ MMLV は pol, gag, env を欠損しており、感染後新たなウイルスを作成することはできない。本実験で使用する MMLV はマウス特異的に感染するため、ヒトに対する病原性はない。 ・本実験で使用するマウスは、病原性や毒性を持たない。 ・ 〇〇ウイルスは、ヒトに〇〇病を引き起こす。
<p>単離予定の核酸または、供与核酸ならびに、その産物の特徴と性質</p>	<p>本実験で使用する遺伝子は同定済み遺伝子であり、かつ、哺乳動物等に対する病原性、伝達性に関与しないことが推定される。単離する予定の核酸には生理活性物質が含まれており、細胞の遊走・接着を誘導し、増殖や生存をある程度支持するものもあると考えられる。</p> <p>*注意</p> <p>①未同定の供与核酸を使用する場合は、核酸供与体と供与核酸について詳細を記載してください。(その場合、上述の記載例に、「下記未同定供与核酸を除き」の文言を加えること)</p> <p>②cDNA ライブラリや CRISPR ライブラリを使用する場合は、その核酸供与体と詳細を記載してください。</p>
<p>ベクターの特徴・伝達性・宿主依存性</p>	<p>*ベクターの用途別に特徴・伝達性・宿主依存性等を記載してください。下記記載例を参考に、各自が使用するベクターの名称と、特徴・伝達性・宿主依存性について記載してください。</p> <p>①サブクローニング用ベクター pBlueScript, pBS, pGEM-T, pTA2, pYX, pXJ40, 〇〇(その他のベクター名称)および、その派生ベクター：ベクターに薬剤耐性遺伝子を持ち、大腸菌に薬剤耐性機能を付加できる。宿主ゲノムとの核酸の交換や持ち出しについての報告はない。</p> <p>②大腸菌用発現ベクター pGEX, pET21a-d(+), 〇〇(その他のベクター名称)および、その派生ベクター：ベクターに薬剤耐性遺伝子を持ち、大腸菌に薬剤耐性機能を付加できる。宿主ゲノムとの核酸の交換や持ち出しについての報告はない。</p> <p>③動物細胞発現ベクター pCDNA, pCMV-SPORT6, pGL3, pHRG-TK, pRL, pCAG, 〇〇(その他のベクター名称)および、その派生ベクター：ベクターに薬剤耐性遺伝子を持ち、大腸菌および動物細胞に薬剤耐性機能を付加できる。宿主ゲノムとの核酸の交換や持ち出しについての報告はない。</p>
<p>宿主の特徴・遺伝子交換範囲とその機構</p>	<p>*クラス別に宿主の特徴と・遺伝子交換範囲とその機構について簡潔に記載してください。</p> <p>(クラス 1)</p> <p>①大腸菌 (DH5a, XL-1Blue, 〇〇, 大腸菌の名称) : K12 株由来</p> <p>②大腸菌 (□□, 大腸菌の名称) : 〇株由来</p> <p>①②ともに実験室外で増殖不可能。ヒトへの病原性はない。</p> <p>③マウス : 自然界に広範に存在する</p> <p>(クラス 2)</p> <p>④〇〇ウイルス : 自立的な増殖・感染欠損株。細胞に感染後、ゲノム DNA へ組み込まれる。マウスにのみ感染する。</p>

	<p>⑤△△ウイルス：自立的な増殖・感染欠損株。細胞に感染後、ゲノムDNAへ組み込まれる。ヒトに△△病を引き起こす。</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>*使用する遺伝子組換え生物等について、記載してください。 下記記載例を参考に、各自の実験に合わせて記載してください。</p> <p>①遺伝子組換え大腸菌 本実験に使用する各種大腸菌株は、プラスミドベクターによる形質転換により、プラスミドベクターが所持している薬剤耐性を獲得する。導入した核酸により、増殖性・病原性や生存性が変化しない。</p> <p>②遺伝子組換えマウス 本実験で用いる遺伝子組換えマウスは、生理活性や免疫系などが野生型と比べて変化するが、生態系に影響するものではない。これらのマウスは、ウイルス受容体遺伝子を保持していない。 *供与核酸がウイルス受容体でないことを明記してください。</p> <p>③遺伝子組換えレトロウイルス 本実験で用いる遺伝子組換えレトロウイルスは、増殖性・病原性や生存性が変化しない。自立的な増殖力・感染力を保持していない。 *遺伝子組換えウイルスが、自立的な増殖力・感染力を保持しているか否かについて、必ず記載してください。</p>
<p>宿主 - ベクター系の特徴・ 拡散防止措置（生物学的封じ込め）の程度および不活化の方法</p>	<p>*宿主-ベクター系は以下の3つに分類できます。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 認定宿主ベクター系 (B1 レベルの生物学的封じ込め) 2. 特定認定宿主ベクター系 (B2 レベルの生物学的封じ込め) 3. 認定系ではない <p>使用する組換え大腸菌等が、それぞれ、上記のどれに当たるか記述したうえで、これらを、アルコール消毒、高圧湿熱滅菌、或いは、SDS-アルカリ液処理等にて不活化する旨、記入してください。</p>
<p>遺伝子組換え生物等（組換え体）または、遺伝子組換え生物等（組換え体）を接種する動植物の特性およびリスク</p>	<p>*遺伝子組換え生物を接種した動植物や、パッケージング細胞、ウイルスを感染させた細胞や、腫瘍細胞などの培養細胞等を接種したマウスについて、など下記記載例を参考に、各自の実験に合わせて記載してください。</p> <p>①○○マウス：組換え○○ウイルスの接種により、…となる。</p> <p>②○○細胞：ウイルスゲノム cDNA をトランスフェクトすることにより組換え○○ウイルスが産生される。</p> <p>③その他の培養細胞：組換え○○ウイルスを接種することにより薬剤耐性となる。接種細胞から新たなウイルスは産生されないが、継代・クローン化により十分に接種液が希釈されるまでは、接種ウイルスが残存している可能性がある。</p> <p>④腫瘍細胞接種マウス：腫瘍細胞を接種した○○マウス(野生型や遺伝子組換えマウスの名称を入れる)は、病原性および毒性を所持していない。</p>
<p>大量培養実験に係る遺伝子組換え微生物、遺伝子組換え動植物、または遺伝子組換え生物等（組換え体）を接種した動植物の拡散防止措置（封じ込め措置）</p>	<p>*本項目には、通常の遺伝子組換え微生物についても含まれます。</p> <p>*拡散防止措置の決定には、以下①～⑦の項目が関与するため、①～⑦について記載してください。</p> <p>下記記載内容のうち、太字（青字）の方に当てはまる項目がある場合、当てはまる項目が「供与体・核酸・ベクターの組み合わせ」欄のどれに該当するのかも示してください。</p> <p>①供与核酸が同定済か未同定か</p> <p>②遺伝子組換え大腸菌が認定宿主ベクター系であるか否か</p> <p>③遺伝子組換えマウスの供与核酸がウイルス受容体遺伝子を所持しているか否か</p>

	<p>④遺伝子組換えウイルスは自立的な増殖力・感染力を保持しているか否か</p> <p>⑤宿主がクラス2で、供与核酸が薬剤耐性遺伝子の組合せか否か</p> <p>⑥供与核酸が蛋白性毒素遺伝子か否か</p> <p>⑦供与核酸が宿主となる大腸菌やウイルス等の病原性や伝達性に関係するか否か</p>
遺伝子組換え生物等（組換え体）の実験終了後の処置	<p>実験に使用した組換え体(大腸菌・各種ウイルス)は、焼却処分もしくはオートクレーブ処理後廃棄する。</p> <p>実験に使用した組換え体(マウス)は安楽死後、焼却処分する。</p>

<p>拡散防止措置（物理的封じ込め）に係る施設・設備</p>	<p>実験室・飼育室等見取り図</p> <p>(部屋名・部屋の拡散防止措置の区分を明確に記載すること)</p>	<p>*「遺伝子組換え実験施設設置承認申請書」で申請し承認がおりた部屋と、飼育施設等について記載する。</p> <p>実験室に関しては、承認申請書に添付した見取り図を貼り付けること。オートクレーブや安全キャビネット等の位置がわかるようにする。</p> <p>飼育施設は、マウス等を飼育している部屋の見取り図と、拡散防止方法について記載する。</p>
	<p>構造</p>	<p>*P3以上の施設の場合に記入すること。</p> <p>「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核酸防止措置等を定める省令」別表第二、三 P3 レベルに記載されている構造であることがわかるように記載する。</p>
	<p>設備</p>	<p>院生研究棟研究室(3:P2, P1A)：安全キャビネット、オートクレーブを有する</p> <p>*P2以上の施設の場合に記入すること。また、その設備ならびに装置の名称を記入すること</p>