

※整理番号		
-------	--	--

第二種使用等拡散防止措置確認申請書（機関届出実験）

2017年 4月 12日

学長 殿

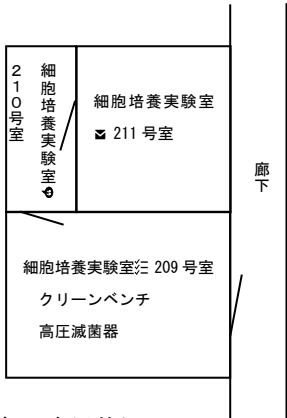
所属 総合分析実験センター
 申請者
 氏名 永野 幸生

印

佐賀大学遺伝子組換え実験安全管理規則第12条第6項の規定に基づき、下記の第二種使用等の実施について届出ます。

第二種使用等の名称		鼻行類 <i>Hopsorrhinus aureus</i> のミトコンドリアDNAの分子進化的解析
第二種使用等をする場所	名称	総合分析実験センター（理工学部9号館）・209、210、211号室
	所在地	郵便番号（840-8502）佐賀県佐賀市本庄町一番地
		電話番号 0952-28-8898
実験の管理者	所属部局及び職名	総合分析実験センター・助教授
	氏名	永野 幸生
	住所	郵便番号（840-8502）佐賀県佐賀市本庄町一番地
		電話番号 0952-28-8898
		ファクシミリ番号 0952-28-8896
電子メールアドレス nagano@cc.saga-u.ac.jp		
第二種使用等の目的及び概要	種類	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">1. 微生物使用実験</div> 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) きのこ作成実験 5. 細胞融合実験

	<p>目的</p>	<p>1941年、鼻で歩く一群の哺乳類が南太平洋のハイアイアイ群島で発見された。鼻行類と名付けられた一群の動物群の様相はHarald Stümpke博士の歴史的な名著Bau und Leben der Rhinogradentia (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1967、邦訳：「鼻行類」日高敏隆・羽田節子訳、思索社、1987年) に詳しく記述されている。動物学上、20世紀最大の発見とも言われている。しかし、鼻行類に関する標本等は、核実験による全ハイアイアイ群島の消滅のため、現存していないとされていた。そのため、鼻行類の分子進化的位置づけは謎であった。</p> <p>最近、旧日本軍が、Stümpkeによる記載以前に、鼻行類を発見しており、さらに鼻行類の一つ<i>Hopsorrhinus aureus</i>の標本を作製していたことが判明した。この研究では、この標本を材料にして、そのミトコンドリアDNAの塩基配列を決定し、鼻行類の分子進化的位置づけを解明することを目指す。</p>
	<p>概要</p>	<p>鼻行類の一つ<i>Hopsorrhinus aureus</i> (クラス1) の標本からDNAを抽出し、それを基質として、ミトコンドリアDNAのDループのコンセンサス配列でPCRを行う。次に、宿主として大腸菌DH5α (K12株、クラス1、B1) を用いて、このPCR産物をネガティブポジティブ選択ベクターpZErO-2にクローニングし、塩基配列を決定する。この実験は、P1且つB1に属する。</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>(1) 分類学上の位置及び実験分類 哺乳綱、鼻行目、トビハナアルキ科、トビハナアルキ (<i>Hopsorrhinus</i>) 属、<i>aureus</i>種 (クラス1)</p> <p>(2) 病原性、有害物質の産生性その他の特性 病原性、有害物質の産生性はない。</p>
	<p>供与核酸の特性</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 ミトコンドリアDNAのPCR産物</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 ミトコンドリアDNAのDループ (遺伝子がコードされていない領域)、大きさは500 bp程度。</p>
	<p>ベクター等の特性</p>	<p>(1) 名称、由来する生物の分類学上の位置及び実験分類 pZErO-2 (Invitrogen社)、大腸菌K12株 (クラス1) および大腸菌に感染するファージ (f1) に由来する。</p> <p>(2) 構成 大腸菌lacプロモーター、クローニング部位 (それぞれ、サルモネラ菌および大腸菌に感染するファージであるSP6およびT7由来の合成配列を含む)、<i>lacZα</i> (大腸菌βガラクトシダーゼのα断片をコード)、<i>ccdB</i> (大腸菌Fプラスミド上の遺伝子)、f1オリジン (大腸菌に感染するファージf1の複製起点)、カナマイシン耐性遺伝子、PUCオリジン (ColE1プラスミドを起源とする複製起点)</p> <p>(3) 伝達性及び宿主特異性 宿主として用いる大腸菌DH5αは、他の大腸菌にこのベクターを伝達することはできない。また、このベクターは大腸菌のみを宿主とする。</p> <p>(4) 薬剤耐性遺伝子その他のマーカー遺伝子の特性 マーカー遺伝子としてカナマイシン耐性遺伝子をもつ。</p>

	宿主等の特性	大腸菌K12株DH5 α (B1認定宿主) を宿主として用いる。
	遺伝子組換え生物等の特性 (宿主等との相違を含む。)	ベクターにより、カナマイシン耐性が付与される。
	遺伝子組換え生物等を保有している動物、植物又は細胞等の特性	該当しない。
拡散防止措置	区分及び選択理由	核酸供与体は、クラス1である。宿主およびベクターはB1認定宿主ベクター系である。これらのことから、拡散防止措置はP1とした。
	施設等の概要	<p>(1) 主要な施設、設備及び機器の位置及び名称 総合分析実験センター (理工学部 9 号館) 2 階</p>  <p>(2) 施設等の確認状況 この実験室がP1実験室の要件を満たすことは、組換えDNA実験安全主任者によって2017年4月に確認済。</p>
	遺伝子組換え生物等を不活化するための措置	遺伝子組換え生物を含む廃液及び同生物が付着した実験器具は、高圧滅菌 (121 $^{\circ}$ C、20分) により不活化する。
その他		実施予定期間：2017年5月1日から2022年3月31日

[備考]

- 申請者が法人の場合にあつては、「申請者の氏名」については、法人の名称及び代表者の氏名を記載し、「申請者の住所」については、主たる事務所の所在地を記載すること。
- 氏名 (法人にあつては、その代表者の氏名) を記載し、押印することに代えて、本人 (法人にあつては、その代表者) が署名することができる。
- 「第二種使用等の名称」については、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。
- 「名称及び所在地」については、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。
- 「実験の管理者」については、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。
- 「その他の連絡先」については、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。
- 「種類」については、当該第二種使用等が該当するすべての項目を選ぶこと。

- 8 「概要」については、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。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、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
- 9 「確認を申請する使用等」については、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。）。
- 10 「核酸供与体の特性」については、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、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。）である供与核酸が由来する核酸供与体に関しては、次に掲げる項目についての記載を省略することができる。
- (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
- 11 「供与核酸の特性」については、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、次に掲げる項目についての記載を省略することができる。
- (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
 - (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
 - (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。）
- 12 「ベクター等の特性」については、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。
- (1) 名称、由来する生物の分類学上の位置及び実験分類
 - (2) 構成
 - (3) 伝達性及び宿主特異性
- 13 「宿主等の特性」については、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。
- (1) 分類学上の位置及び実験分類
 - (2) 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
 - (3) 繁殖又は増殖の様式
 - (4) 病原性、有害物質の産生性その他の特性
 - (5) 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。）
 - (6) 12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。）
- 14 「遺伝子組換え生物等の特性（宿主等との相違を含む。）」については、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。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。
- (1) 組換え核酸の移入方法及び育成の経過（継代数を含む。）
 - (2) 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。）
 - (3) 繁殖又は増殖の様式

- (4) 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
- (5) 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。）
- 15 「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」については、13の(1)から(4)まで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。
- 16 「区分及び選択理由」については、原則として、別表第二、別表第三、別表第四又は別表第五の左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。
- 17 「施設等の概要」については、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。
- (1) 主要な施設、設備及び機器の位置及び名称
 - (2) 培養設備等の総容量（大量培養実験の場合に限る。）
 - (3) 施設等の確認状況
 - (4) 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
 - (5) 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。）
- 18 「遺伝子組換え生物等を不活化するための措置」については、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。
- 19 「その他」については、次に掲げる項目について記載すること。
- (1) 第二種使用等の実施予定期間
 - (2) 動物を飼育する施設等の管理者による確認状況（動物使用実験の場合に限る。）
 - (3) 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。）
- 20 ※印の欄には、記載しないこと。
- 21 この用紙は、日本工業規格A4のつづり込式とすること。
- 22 様式中に書ききれないときは、「別紙のとおり」と記載し、別紙に記載することができる。また、関連する文献がある場合には、様式中に「参考文献」と記載し、当該文献の写しを添付する。