別記様式（第９条関係）

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　　国立大学法人〇〇大学

申請者　　　　　　学長　〇〇　〇〇

住所　　○○県○○市○○○○

　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 | ［記載要領］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。　※既に確認した申請の一部を変更して再申請する場合は、前回申請と区別するとともに関係が分かるよう「その２」等の番号を付してください［記載例］GFPを導入した組換え○○ウイルスによる感染経路の解明（その２） |
| 第二種使用等をする場所 | 名称 | ［記載要領］当該第二種使用等に用いる全ての実験室、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。［記載例］○○キャンパス東棟 1F 171研究室、172研究室○○キャンパス東棟 1F 173飼育室 |
| 所在地 | 郵便番号（○○○－○○○○）○○県○○市○○○○ |
| 電話番号　○○－○○○○－○○○○ |
| 事務連絡先 | 実験の管理者 | 所属機関の名称及び職名 | ［記載要領］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。［記載例］○○大学○○学部教授 |
| 氏名 | ○○　○○ |
| 住所 | 郵便番号（○○○－○○○○）○○県○○市○○○○ |
| 電話番号　○○－○○○○－○○○○ |
| 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 | ［記載要領］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。［記載例］○○大学○○部研究支援課○○係 |
| 氏名 | ○○　○○ |
| 住所 | 郵便番号（○○○－○○○○）○○県○○市○○○○ |
| 電話番号　○○－○○○○－○○○○ |
| ファクシミリ番号　○○－○○○○－○○○○ |
| 電子メールアドレス　○○○@○○.○○ |
| 第二種使用等の目的及び概要 | 種類 | ［記載要領］当該第二種使用等が該当する全ての項目を選ぶこと。［記載例］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）きのこ作成実験５．細胞融合実験　 |
| 目的 | ※２～３行程度にて、内容が把握できるものとしてください。［記載例］○○ウイルスの感染機構解明のため、GFP導入組換え○○ウイルスを作成し、培養細胞や実験動物に感染させる。 |
| 概要 | ［記載要領］当該第二種使用等に係る全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全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。⑴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⑵当該第二種使用等に用いる飼育区画又は網室の面積⑶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※各実験について、大臣確認が必要な実験に該当するかや実際に執る拡散防止措置のレベルが分かるようにしてください。［記載例］【実験１】・○○ウイルスゲノムのクローニング（機関承認）大腸菌を用いて○○ウイルス全長ゲノム等を含むプラスミドを増幅させる。増幅させたプラスミドから、組換え○○ウイルスの全長ゲノムを精製する。［拡散防止措置　P2］【実験２】・GFP導入した組換え○○ウイルスの作出（大臣確認）実験１で作成した全長ゲノムを○○細胞に導入し、組換え○○ウイルスを得る。［拡散防止措置　P3］【実験３】・組換え○○ウイルスの培養細胞への感染（大臣確認）実験２で得た組換えウイルスを、ヒト培養細胞である○○細胞に接種し、解析に用いる。［拡散防止措置　P3］【実験４】・組換え○○ウイルスのマウスへの感染（大臣確認）実験２で得た組換えウイルスをマウスに接種し、解析に用いる。［拡散防止措置　P3A］ |
| 確認を申請する使用等 | ［記載要領］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。）［記載例］組換え○○ウイルスは、宿主の実験分類がクラス３であるため、別表第一の第一号ハに該当する。また同ウイルスのマウスへの感染実験は別表第一の第三号イに該当する。　 |
| 遺伝子組換え生物等の特性 | 核酸供与体の特性 | ［記載要領］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。⑴分類学上の位置及び実験分類⑵病原性、有害物質の産生性その他の特性※核酸供与体と供与核酸の対応がすぐに分かるよう、対応する番号等をふってください。［記載例］(1) ○○ウイルス（クラス３）○○科○○属ウイルス。二種告示名は○○。感染により、○○病を引き起こす。(2) オワンクラゲ（クラス１）　 |
| 供与核酸の特性 | ［記載要領］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。⑴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⑵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⑶塩基配列情報又は日本ＤＮＡデータバンク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。）※核酸供与体と供与核酸の対応がすぐに分かるよう、対応する番号等をふってください。［記載例］(1) ○○ウイルス全長cDNA○○ウイルスの全長ゲノム（○○kb）。（Accession number：○○) (2-1) EGFP(2-2) EYFP　 |
| ベクター等の特性 | ［記載要領］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。⑴名称、由来する生物の分類学上の位置及び実験分類⑵構成⑶伝達性及び宿主特異性※組換えウイルスを遺伝子導入用ツールとして用いる場合、そのウイルスは宿主として扱われます。宿主等の特性欄に記載をお願いします。［記載例］・pUC○○：大腸菌(クラス１)由来のプラスミド。アンピシリン耐性遺伝子、CMV（クラス２）由来のプロモーターを含む。構成は別紙○のとおり。　　 |
| 宿主等の特性 | ［記載要領］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。⑴分類学上の位置及び実験分類⑵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⑶繁殖又は増殖の様式⑷病原性、有害物質の産生性その他の特性⑸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。）⑹ベクター等の特性欄の記載要領に掲げる項目（宿主がウイルス及びウイロイドである場合に限る）。［記載例］・大腸菌(K12株)（クラス１）学名*Escherichia coli*。人工的な培地と無菌的な環境でのみ生育可能。病原性を持たない細菌。・○○ウイルス（クラス３）○○科○○属ウイルス。二種告示名は○○。自然界に広く分布。マウスの○○において感染が拡大し、感染により、○○病を引き起こす。構成は別紙〇のとおり。 |
| 遺伝子組換え生物等の特性（宿主等との相違を含む。） | ［記載要領］遺伝子組換え実験の場合にあっ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っ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。⑴組換え核酸の移入方法及び育成の経過（継代数を含む。）⑵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。）⑶繁殖又は増殖の様式⑷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⑸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。）［記載例］・組換え大腸菌○○ウイルスゲノムのクローニングに用いる。組換えによって、増殖性・病原性や、生存性が増大することは想定されない。また、細胞侵入能は付与されない。ウイルス由来の遺伝子は発現しないことから、ウイルス由来のウイルス粒子やウイルスタンパク質の産生はない。アンピシリン耐性。・組換え○○ウイルス○○ウイルスは自然界に存在する一般的なウイルス。組換えによっても、自立的な増殖力を維持するが、増殖性・病原性や、生存性が変化することは想定されない。 |
| 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 | ［記載要領］宿主等の特性欄の記載要領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。［記載例］・哺乳動物由来培養細胞（HEK293細胞等）組換え○○ウイルスの産生・感染により、細胞変性が起こり、細胞は死滅することが想定される。・マウス（BALB/c等）　組換え○○ウイルスが感染することで、○○の症状を引き起こし、死に至る可能性がある。 |
| 拡散防止措置 | 区分及び選択理由 | ［記載要領］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全て記載し、選択した理由をそれぞれ具体的に記載すること。［記載例］【実験１】・○○ウイルスゲノムのクローニング（機関承認）拡散防止措置をP2とする。供与核酸は同定済核酸であり、病原性や増殖性に関係しない。ウイルス粒子やウイルスタンパク質の産生はなく、宿主の実験分類はクラス１のためP1の拡散防止措置で実施可能だが、施設の都合上、P2の拡散防止措置を執る。【実験２】・GFP導入した組換え○○ウイルスの作成（大臣確認）拡散防止措置をP3とする。宿主である○○ウイルスの実験分類はクラス３であり、本実験により、組換えウイルスの病原性や感染性が、宿主と比較して増大することはないため。【手順３】・組換え○○ウイルスのヒト培養細胞への感染（大臣確認）拡散防止措置をP3とする。実験２で作成した組換えウイルスを培養細胞に接種するものであり、実験２と同様の理由によりP3とする。【実験４】・組換え○○ウイルスのマウスへの感染（大臣確認）拡散防止措置をP3Aとする。実験２で作成した組換えウイルスをマウスに接種するものであり、実験２と同様の理由によりP3Aとする。 |
| 施設等の概要 | ［記載要領］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。⑴主要な施設、設備及び機器の位置及び名称⑵培養設備等の総容量（大量培養実験の場合に限る。）⑶施設等の確認状況⑷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⑸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。）［記載例］○○大学○○キャンパス東棟　171研究室：P2実験室施設の位置等は別紙〇のとおり。オートクレーブ、安全キャビネットを設置。○○大学○○キャンパス東棟　172研究室：P3実験室施設の位置等は別紙〇のとおり。オートクレーブ、安全キャビネット、肘で操作することができる手洗い設備を設置。実験室内は陰圧制御されている。○○大学○○キャンパス東棟　173飼育室：P3A実験室施設の位置等は別紙〇のとおり。オートクレーブ、安全キャビネット、自動で操作することができる手洗い設備、ねずみ返しを設置。実験室内は陰圧制御されている。当該実験施設の二種省令第四条及び第五条に定める拡散防止措置への適合性を確認した日：令和◯年◯月◯日なお、当該実験室の拡散防止措置の適応性については、申請時も満たされている。 |
| 遺伝子組換え生物等を不活化するための措置 | ［記載要領］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。［記載例］組換え生物や組換え生物が付着した器材は、オートクレーブ処理（○○℃、○○分）で不活化する。オートクレーブ処理できないものは○○パーセント次亜塩素酸ナトリウム溶液に浸漬して○○分間放置することで不活化し、プラスミド抽出過程では、アルカリSDSにより組換え大腸菌を不活化する。また、組換えウイルスを接種したマウスは、安楽死させた後、オートクレーブ処理（○○℃、○○分）を行い、体内の組換えウイルスを完全に不活化する。　 |
| その他 | ［記載要領］次に掲げる項目について記載すること。⑴第二種使用等の実施予定期間⑵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⑶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。）⑷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。）※既に確認した申請の一部を変更して再申請する場合は、前回申請と関係が分かるよう前回申請の文書番号や変更点を記載してください［記載例］実施予定期間：大臣確認通知受理後～令和○○年○月○日本申請は◯◯大学遺伝子組換え実験安全委員会（委員長：○学部教授○○○○）の審査を受け、拡散防止措置について令和◯年◯月◯日に適切であると判断された。　本申請の承認後、動物実験委員会に動物実験計画の申請を予定している。本申請は、令和◯年◯月◯日に確認済みの第二種使用等拡散防止措置(〇文科振第〇号）に関して、供与核酸の追加を行ったものである。（※大量培養実験の場合の記載例：別紙の社内規則により、環境中への漏出を防ぐとともに、漏出した場合文部科学省に連絡する。） |

**別表**

**遺伝子組換え生物等及び拡散防止措置の一覧表**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 実験 | 核酸供与体 | 供与核酸 | ベクター | 宿主等 | 保有動植物等 | 拡散防止措置の区分 | 備考 |
| 1 | ［記載要領］核酸供与体となる生物の名称、実験分類を記載［記載例］○○ウイルス（クラス３）オワンクラゲ（クラス１） | ［記載要領］供与核酸の名称等を記載［記載例］全長cDNAEGFPEYFP | ［記載要領］ベクターの名称を記載［記載例］pUC○○ | ［記載要領］宿主となる生物（細胞融合実験の場合には親生物）の名称を記載［記載例］大腸菌（クラス１） | ［記載要領］遺伝子組換え生物等を保有している動物、植物及び細胞等の名称を記載［記載例］－ | ［記載要領］実際に執る拡散防止の区分を記載［記載例］Ｐ２ | ［記載要領］以下を記載主な使用目的等大臣確認の要否使用場所認定宿主-ベクター系を用いる場合にはその区分［記載例］○○ウイルスゲノムのクローニング機関承認実験○○キャンパス東棟 1F 171研究室B1 |
| ２ | ［記載例］－ | ［記載例］上記１で作製した組換え核酸 | ［記載例］－ | ［記載例］○○ウイルス(クラス３)  | ［記載例］哺乳動物由来培養細胞 | ［記載例］Ｐ３ | ［記載例］GFP導入した組換え○○ウイルスの作出大臣確認実験○○キャンパス東棟 1F 172研究室 |
| ３ | ［記載例］－ | ［記載例］－ | ［記載例］－ | ［記載例］上記2で作出した組換え○○ウイルス  | ［記載例］哺乳動物由来培養細胞 | ［記載例］Ｐ３ | ［記載例］組換え○○ウイルスのヒト培養細胞への感染大臣確認実験○○キャンパス東棟 1F 172研究室 |
| ４ | ［記載例］－ | ［記載例］－ | ［記載例］－ | ［記載例］上記2で作出した組換え○○ウイルス  | ［記載例］マウス | ［記載例］Ｐ３Ａ | ［記載例］組換え○○ウイルスのマウスへの感染大臣確認実験○○キャンパス東棟 1F 173飼育室 |