

変更点の実験従事者や期間の変更のみならば、遺伝子組換え実験計画書ではなく遺伝子組換え期間および実験従事者変更届を提出

様式第1号(別紙1)

遺伝子組換え実験計画書

2021年 1月 11日

申請の種類	実験の区分 (該当項目全てにチェックを入れること。)	経費
<input checked="" type="checkbox"/> 新規 ※実験場所および飼養・栽培等場所の見取り図添付 (別紙)  <input type="checkbox"/> 変更 (注1) (承認年月日: 年 月 日, 承認番号: 第 号) ※修正箇所がわかるよう、修正箇所に蛍光ペン等でマークをすること	<input checked="" type="checkbox"/> 微生物使用実験 <input type="checkbox"/> 大量培養実験 <input type="checkbox"/> 植物作成実験 <input type="checkbox"/> 動物作成実験 <input type="checkbox"/> 植物接種実験 <input type="checkbox"/> 動物接種実験 <input checked="" type="checkbox"/> きのこと作成実験 <input type="checkbox"/> 細胞融合実験 (異なる分類学上の科に属する生物の細胞融合) <input type="checkbox"/> 教育目的実験 (講義など)  <input type="checkbox"/> 動物実験 (動物実験審査結果通知書 承認年月日: 年 月 日) <input checked="" type="checkbox"/> カルタヘナ法非該当の遺伝子操作実験 (ノックインを伴わないゲノム編集、ヒトへの遺伝子導入、胚性ではない細胞・臓器への遺伝子導入など) <input type="checkbox"/> その他 ( )	<input checked="" type="checkbox"/> 校費 <input type="checkbox"/> 文科省等科研費 <input type="checkbox"/> その他 ( )

組換え微生物の使用などで培養設備容量が20Lを超える場合。

第2種省令において、きのこは植物的な扱いとなり、特別枠です。二種省令を参考にして該当する項目全てにチェックを入れる。カルタヘナ法非該当の実験でも、遺伝子の改変を伴う場合は本申請書にて報告してください。

第二種使用実験 (第一種使用実験は本書式で審査できません) (注2)	<input checked="" type="checkbox"/> 機関実験 <input type="checkbox"/> 大臣確認実験 (第二種使用等拡散防止措置確認申請をすること。)	
大臣確認実験となる根拠	該当無し	
遺伝子組換え生物または海外における遺伝資源等の種類・入手先 <input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	生物種など	入手先・連絡先・運搬方法
	①	①
遺伝子組換え生物等の譲渡等 (譲渡・提供・委託) <input checked="" type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 未定	生物種など	相手先・連絡先・運搬方法
	<i>Icc4</i> 遺伝子破壊シイタケ株 (ゲノム編集)	〇〇大学 <input type="checkbox"/> 〇〇 △△教授・0749-28-8200 <input type="checkbox"/> 〇〇研究室より直接入手
カルタヘナ法以外の関係法令等の規制	<input type="checkbox"/> 感染症法 (厚生労働省) <input type="checkbox"/> 家畜伝染病予防法 (農林水産省) <input type="checkbox"/> 植物防疫法 (農林水産省) <input type="checkbox"/> その他 ( )	

二種省令第5条に拡散防止措置が定められていない実験は大臣確認が必要になります。不明の場合は選択しないでください。

実験の名称	<i>シイタケ</i> におけるメラニン生成遺伝子 <i>Icc4</i> および <i>tyr</i> 遺伝子の破壊		
実験実施期間	2021年 4月から2026年 3月まで 5年 0ヶ月間 (上限は5年間とする。) (変更後の開始時期: 平成 年 月から)		
実験責任者	所属機関・部局・職名	環境科学部・教授	
	氏名	〇〇 ■■ (内線: 〇〇)	組換えDNA実験経験年数 〇〇年
実験場所	部屋番号	B6-305	
	名称	生物学実験室	
	適合確認	<input checked="" type="checkbox"/> 確認済 (確認日: 年 月 日) <input type="checkbox"/> 未確認 (様式第1号 (別紙4) 実験場所および飼養・栽培等場所の見取り図を提出します。)	
飼養・栽培等場所名	生物学実験室		

変更しても最初の申請で認められた実験期間は延長されません。

実験責任者は滋賀県立大学の教員のみです。

未確認の実験室について室内の見取り図を添付する。使用予定実験室内にオートクレーブが設置されていない場合、オートクレーブまでの経路を明記する。

実験従事者 (注1)	所属部局等・職名	氏名	宿主及びその取扱い経験年数	組換えDNA実験経験年数
	環境科学研究科 M1	県大太郎	0年	0年
実験の目的	シイタケ ( <i>Lentinula edodes</i> ) におけるDOPAメラニン生成遺伝子、 <i>Icc4</i> 、 <i>Tyr</i> 遺伝子をRNA干渉により抑制し、シイタケ黒変現象における <i>Icc4</i> 、 <i>Tyr</i> 遺伝子の重要性について確認する。その上で、CRISPR/Cas9を用いたゲノム編集技術にて <i>Icc4</i> 、 <i>Tyr</i> 遺伝子の破壊を行う。			
実験の概要 (必要に応じて図などを添付する) (注3)	シイタケ ( <i>Lentinula edodes</i> ) の全ゲノム配列とRNA-seq解析データを参照して <i>Icc4</i> 、 <i>Tyr</i> 遺伝子一部配列をクローン化、二本差RNA (dsRNA) またはショートヘアピンRNA (shRNA) を発現するような組換え遺伝子をそれぞれ構築する。構築の過程では大腸菌の形質転換を伴う。得られた組換え遺伝子群をそれぞれシイタケへ導入し、子実体における黒変現象の変化について観察する。子実体は形成後数日で胞子を飛散させるが、胞子を形成する前に収穫して容器に密封して試験を行う。さらに子実体形成用の菌床は胞子飛散を防ぐ防護措置をとる。 <i>Icc4</i> または <i>Tyr</i> 遺伝子の抑制でシイタケ子実体黒変が抑制できた場合、crRNAを化学合成し、市販のCas9タンパク質などと供にシイタケへ導入、 <i>Icc4</i> または <i>Tyr</i> 遺伝子破壊株の選抜を行う。			

当該申請実験に従事予定の教員、学生、ポスドク、非常勤職員等全員記載する。実験期間途中で実験従事者を変更する場合は遺伝子組換え期間および実験従事者変更届を提出

実験内容を分野外の人間にもわかりやすく示してください。必要ならば図を使用してください。図は別紙に示しても結構です。記入欄も広げてかまいません。

Accession numberがあれば示してください。また、配列情報や図を添付してもかまいません。

動物、植物、微生物、さらに微生物のなかでも原核生物、真菌、原虫、寄生虫、ウイルス・ウイロイドの区別がつくように記載してください。(第2種省令においてウイルス・ウイロイドは微生物扱いになり、宿主として記載する必要があります。) クラスについては次の頁を参考にしてください。

次項に示すベクターDNAの一部であっても、認定系でなく、審査対象となる場合はこの項にも示してください。

導入予定の核酸とその供与体に関する情報							
核酸の区分	核酸の同定、未同定の区別 (注4)	遺伝子の名称・機能・毒性・自立的増殖力・感染性 (注5)	核酸の種類	核酸供与体 (和名と学名)	核酸供与体の自然界における分布	核酸供与体の分類学上の位置とクラス	核酸供与体の毒素生産性 (蛋白性毒素産生の場合はLD50)、発がん性、伝達性、自立的増殖力、感染性 (注5) など
A	同定	<i>Icc4</i> 遺伝子 フェノールオキシダーゼ	一部DNA断片およびRNA断片	シイタケ <i>Lentinula edodes</i>	普遍的	菌界担子菌門、クラス1	該当無し
B	同定	<i>Tyr</i> 遺伝子 チロシナーゼ	一部DNA断片およびRNA断片	シイタケ <i>Lentinula edodes</i>	普遍的	菌界担子菌門、クラス1	該当無し
C	同定	BAR遺伝子 チロシナーゼ	ベクターDNAの一部	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	普遍的	真正細菌界放線菌門、クラス1	該当無し

宿主ベクター系					
宿主ベクター系の区分	宿主（和名と学名）	ベクター（名称、由来、伝達性と宿主特異性） （注6）	認定系の場合は二種告知別表第1における区分と名称、非認定系の場合は宿主の別表第2における区分と分類学上の位置 （注7）	非認定系宿主の自然界における分布	非認定系宿主の特記事項（病原性、毒性、発がん性、遺伝子交換の可能性、特筆すべき生活様式など）
I	大腸菌 <i>Escherichia coli</i>	pENTER (pUC系)	B1, EK1	該当無し	該当無し
II	シイタケ <i>Lentinula edodes</i>	pZeroActBAR (pUC系ベクターにBAR遺伝子が組み込まれている)	クラス1	普遍的	該当無し
III	シイタケ <i>Lentinula edodes</i>	pl-Cbx (pUC系ベクターにシイタケ由来のカルボキシ耐性遺伝子が組み込まれている)	クラス1	普遍的	該当無し
IV	シイタケ <i>Lentinula edodes</i>	CRISPR/Cas9	クラス1	普遍的	該当無し

認定系の場合は二種告知別表第1に基づき記入

認定系以外の場合は二種告知別表第2を参考に以下に示す二種省令第三条に規定されるクラスを記入

第三条 実験分類の名称は次の表の上欄に、各実験分類に属する宿主又は核酸供与体は同表の下欄に、それぞれ定めるとおりとする。

一 クラス1	微生物、きのこ類及び寄生虫のうち、哺乳綱及び鳥綱に属する動物（ヒトを含む。以下「哺乳動物等」という。）に対する病原性がないものであって、文部科学大臣が定めるもの並びに動物（ヒトを含み、寄生虫を除く。）及び植物
二 クラス2	微生物、きのこ類及び寄生虫のうち、哺乳動物等に対する病原性が低いものであって、文部科学大臣が定めるもの
三 クラス3	微生物及びきのこ類のうち、哺乳動物等に対する病原性が高く、かつ、伝播性が低いものであって、文部科学大臣が定めるもの
四 クラス4	微生物のうち、哺乳動物等に対する病原性が高く、かつ、伝播性が高いものであって、文部科学大臣が定めるもの

（遺伝子組換え実験に係る拡散防止措置の区分及び内容）

導入核酸と宿主ベクター系の組み合わせ			
実験番号	核酸の区分の記号	宿主ベクター系の区分の記号	物理的封じ込めレベル（注8）
①	A	I	<input checked="" type="checkbox"/> P1、 <input type="checkbox"/> P2、 <input type="checkbox"/> P3、 <input type="checkbox"/> P1A、 <input type="checkbox"/> P2A、 <input type="checkbox"/> P3A、 <input type="checkbox"/> LSC、 <input type="checkbox"/> LS1、 <input type="checkbox"/> LS2、 <input type="checkbox"/> P1P、 <input type="checkbox"/> P2P、 <input type="checkbox"/> P3P、 <input type="checkbox"/> その他（ ）
②	B	I	<input checked="" type="checkbox"/> P1、 <input type="checkbox"/> P2、 <input type="checkbox"/> P3、 <input type="checkbox"/> P1A、 <input type="checkbox"/> P2A、 <input type="checkbox"/> P3A、 <input type="checkbox"/> LSC、 <input type="checkbox"/> LS1、 <input type="checkbox"/> LS2、 <input type="checkbox"/> P1P、 <input type="checkbox"/> P2P、 <input type="checkbox"/> P3P、 <input type="checkbox"/> その他（ ）
③	A, C	II	<input type="checkbox"/> P1、 <input type="checkbox"/> P2、 <input type="checkbox"/> P3、 <input type="checkbox"/> P1A、 <input type="checkbox"/> P2A、 <input type="checkbox"/> P3A、 <input type="checkbox"/> LSC、 <input type="checkbox"/> LS1、 <input type="checkbox"/> LS2、 <input checked="" type="checkbox"/> P1P、 <input type="checkbox"/> P2P、 <input type="checkbox"/> P3P、 <input type="checkbox"/> その他（ ）
④	B, C	II	<input type="checkbox"/> P1、 <input type="checkbox"/> P2、 <input type="checkbox"/> P3、 <input type="checkbox"/> P1A、 <input type="checkbox"/> P2A、 <input type="checkbox"/> P3A、 <input type="checkbox"/> LSC、 <input type="checkbox"/> LS1、 <input type="checkbox"/> LS2、 <input checked="" type="checkbox"/> P1P、 <input type="checkbox"/> P2P、 <input type="checkbox"/> P3P、 <input type="checkbox"/> その他（ ）
⑤	A	III	<input type="checkbox"/> P1、 <input type="checkbox"/> P2、 <input type="checkbox"/> P3、 <input type="checkbox"/> P1A、 <input type="checkbox"/> P2A、 <input type="checkbox"/> P3A、 <input type="checkbox"/> LSC、 <input type="checkbox"/> LS1、 <input type="checkbox"/> LS2、 <input checked="" type="checkbox"/> P1P、 <input type="checkbox"/> P2P、 <input type="checkbox"/> P3P、 <input type="checkbox"/> その他（ ）
⑥	B	III	<input type="checkbox"/> P1、 <input type="checkbox"/> P2、 <input type="checkbox"/> P3、 <input type="checkbox"/> P1A、 <input type="checkbox"/> P2A、 <input type="checkbox"/> P3A、 <input type="checkbox"/> LSC、 <input type="checkbox"/> LS1、 <input type="checkbox"/> LS2、 <input checked="" type="checkbox"/> P1P、 <input type="checkbox"/> P2P、 <input type="checkbox"/> P3P、 <input type="checkbox"/> その他（ ）
⑦	A	IV	<input type="checkbox"/> P1、 <input type="checkbox"/> P2、 <input type="checkbox"/> P3、 <input type="checkbox"/> P1A、 <input type="checkbox"/> P2A、 <input type="checkbox"/> P3A、 <input type="checkbox"/> LSC、 <input type="checkbox"/> LS1、 <input type="checkbox"/> LS2、 <input type="checkbox"/> P1P、 <input type="checkbox"/> P2P、 <input type="checkbox"/> P3P、 <input checked="" type="checkbox"/> その他（カルタヘナ法の対象外）

認定系以外のベクターの場合はベクターの構造が分かるように書く。必要に応じて図をつける。

二種省令別表第二から第五条を参考に記入する。

P1, P2, P3 微生物実験

P1A, P2A, P3A 動物実験

P1P, P2P, P3P 植物実験（きのこは植物扱いになる）

LSC, LS1, LS2 大量培養実験

⑧	B	IV	□P1、□P2、□P3、□P1A、□P2A、□P3A、□LSC、□LS1、□LS2、□P1P、□P2P、□P3P、■その他（カルタヘナ法の対象外）
---	---	----	---

二種省令別表第二から第五条を参考に判断基準を書く。

物理的封じ込めレベルの根拠			
実験番号	理由	遺伝子組換え生物などの特性(宿主などとの相違を含む)(注9)	遺伝子組換え生物等を保有している動物、植物または細胞等の特性(注10)
①	クラス1生物の毒性を持たない遺伝子の機能しない断片（RNA干渉分子発現用）をB1（K1）認定宿主ベクター系でクローン化するため。	カナマイシン耐性となる。	該当無し
②	クラス1生物の毒性を持たない遺伝子の機能しない断片（RNA干渉分子発現用）をB1（E K1）認定宿主ベクター系でクローン化するため。	カナマイシン耐性となる。	該当無し
③	クラス1生物の薬剤耐性遺伝子、宿主由来のRNA干渉分子発現用配列、pUC系ベクター配列をクラス1生物であるヒラタケへ導入するため。	ピアラホス耐性となる。 <i>Icc4</i> 遺伝子が発現抑制あれ、メラニンが生産できない可能性がある。	該当無し
④	クラス1生物の薬剤耐性遺伝子、宿主由来のRNA干渉分子発現用配列、pUC系ベクター配列をクラス1生物であるヒラタケへ導入するため。	ピアラホス耐性となる。 <i>Tyr</i> 遺伝子が発現抑制あれ、メラニンが生産できない可能性がある。	該当無し
⑤	宿主由来の薬剤耐性遺伝子、宿主由来のRNA干渉分子発現用配列、pUC系ベクター配列をクラス1生物であるヒラタケへ導入するため。	カルボキシシン耐性となる。 <i>Icc4</i> 遺伝子が発現抑制あれ、メラニンが生産できない可能性がある。	該当無し
⑥	宿主由来の薬剤耐性遺伝子、宿主由来のRNA干渉分子発現用配列、pUC系ベクター配列をクラス1生物であるヒラタケへ導入するため。	カルボキシシン耐性となる。 <i>Tyr</i> 遺伝子が発現抑制あれ、メラニンが生産できない可能性がある。	該当無し
⑦	市販されているCas9タンパク質と合成したcrRNAの導入により目的部位を切断、非相同末端結合により遺伝子破壊を行う。	<i>Icc4</i> 遺伝子が破壊され、メラニンが生産できない可能性がある。	該当無し
⑧	生成されたCas9タンパク質と合成したcrRNAの導入により目的部位を切断、非相同末端結合により遺伝子破壊を行う。	<i>Tyr</i> 遺伝子が破壊され、メラニンが生産できない可能性がある。	該当無し

組換え体ウイルスおよびウイロイド等を宿主に用いる場合、あるいは、組換え体ウイルスおよびウイロイド等を保有する細胞を接種する場合、その遺伝子組換え生物等を保有させている動物、植物および細胞等の種名、系統名等を記載すること。

拡散防止措置	特定飼育区画、特定網室として必要な拡散防止措置の具体的内容(注11)	組換えシイタケの菌糸は常に密封した容器にて培養する。
	機器の規格(注12)	<input checked="" type="checkbox"/> 適正 <input type="checkbox"/> 不適正
	遺伝子組換え生物等を不活化するための措置(注13)	オートクレーブ処理(120°C-15min)による不活化
	実験室間の移動の手段(注14)	該当無し
その他		

動物使用実験、植物等使用実験で該当する場合に記入すること。前者にあっては組換え動物等の習性に応じた逃亡の防止のための二重の設備の内容、後者にあっては外部からの昆虫の侵入の防止設備、排水を回収するための設備、花粉等の外部への飛散を防止するための措置の具体的内容について記載すること

拡散防止に関わる全ての機器がJIS規格などに規定された適正なものであること

二種省令第七条に従う。拡散を防ぐための構造を持つ容器を用い、容器には取扱いに注意する旨の表示を貼ることが求められる。

# 関係法令の全体像

(環境省ホームページ <http://www.bch.biodic.go.jp/hourei1.html>)

	第一種使用等関係	第二種使用等関係
法律	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（平成15年 法律第97号） ・目的、定義、規則の枠組み、命令、罰則等	
政令	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における主務大臣が定める政令（平成15年 政令第263号） ・各措置に関わる主務大臣の分担の考え方	
	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二十四条第一項の規定により納付すべき手数料の額を定める政令（平成16年 政令第21号） ・生物検査の手数料	
省令	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施行規則（平成15年財務・文部科学・厚生労働・農林水産・経済産業・環境省令第1号） ・第一種使用等と第二種使用等の共通事項（生物及び遺伝子組換え技術の定義、情報提供や輸出に関する取扱いなど）	
		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（平成16年 文部科学省・環境省令第1号） ・執るべき拡散防止措置の内容、確認手続き
		遺伝子組換え生物等の第二種使用等のうち産業上の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（平成16年財務・厚生労働・農林水産・経済産業・環境省令第1号） ・執るべき拡散防止措置の内容、確認手続き
告示	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三条の規定に基づく基本的事項（平成15年 財務省・文部科学省・厚生労働省・農林水産省・環境省告示第1号） ・施策の実施に関する事項、使用者が配慮すべき事項等	
		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の規定に基づき認定宿主ベクター系等を定める件（平成16年文部科学省告示第7号）
	遺伝子組換え生物等の第一種使用等による生物多様性影響評価実施要領（平成15年財務・文部科学・厚生労働・農林水産・経済産業・環境省告示第2号）	遺伝子組換え生物等の第二種使用等のうち産業上の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別表第一号に基づき厚生労働大臣が定めるG I L S P 遺伝子組換え微生物（平成16年厚生労働省告示第27号）  遺伝子組換え生物等の第二種使用等のうち産業上の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別表第一号の規定に基づき経済産業大臣が定めるG I L S P 遺伝子組換え微生物（平成16年経済産業省告示第13号）

二種使用における拡散防止措置  
以下「二種省令」と略す

二種使用における認定宿主ベクター系  
以下「二種告知」と略す

文部科学省ライフサイエンス課  
<http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/kankeihourei.html>