

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

令和〇年〇月〇日

文部科学大臣 殿

氏名
申請者
住所

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><u>[記載要領]</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。</p> <p><u>[記載例]</u> GFPを導入した組換え〇〇ウイルスの作成を通じた〇〇ウイルス感染経路の解明</p>
第二種使用等をする場所	名称	<p><u>[記載要領]</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。 (研究場所を外部で借りる場合も同様。)</p> <p><u>[記載例]</u> 〇〇県〇〇市〇〇町〇番地 〇〇大学〇〇キャンパス東棟 171 研究室、172 研究室</p>
	所在地	<p>郵便番号 (〇〇〇-〇〇〇〇) <u>[記載例]</u> 〇〇県〇〇市〇〇〇〇</p> <p>電話番号 〇〇-〇〇〇〇-〇〇〇〇</p>
	所属機関の名称及び職名	<p><u>[記載要領]</u> 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。</p> <p><u>[記載例]</u> 〇〇大学〇〇学部教授</p>
事務連絡先	氏名	〇〇 〇〇
	住所	<p>郵便番号 (〇〇〇-〇〇〇〇) <u>[記載例]</u> 〇〇県〇〇市〇〇〇〇</p> <p>電話番号 〇〇-〇〇〇〇-〇〇〇〇</p> <p>ファクシミリ番号 〇〇-〇〇〇〇-〇〇〇〇</p> <p>電子メールアドレス 〇〇〇@〇〇.〇〇</p>
	所属機関の名称及び職名	<p><u>[記載要領]</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。</p>
	氏名	〇〇 〇〇
	住所	<p>郵便番号 (〇〇〇-〇〇〇〇) <u>[記載例]</u> 〇〇県〇〇市〇〇〇〇</p> <p>電話番号 〇〇-〇〇〇〇-〇〇〇〇</p> <p>ファクシミリ番号 〇〇-〇〇〇〇-〇〇〇〇</p> <p>電子メールアドレス 〇〇〇@〇〇.〇〇</p>
第二種使用等の目的及び概要	種類	<ol style="list-style-type: none"> 1. 微生物使用実験 2. 大量培養実験 3. 動物使用実験 <ol style="list-style-type: none"> (1)動物作成実験 (2)動物接種実験 4. 植物等使用実験 <ol style="list-style-type: none"> (1)植物作成実験

	<p>(2)植物接種実験 (3)きのこ作成実験 5. 細胞融合実験</p> <p><u>[記載要領]</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。</p>
目的	<p><u>[記載例]</u> 〇〇ウイルスの感染機構解明のため、GFP 導入組換え〇〇ウイルスを作成し、ヒト培養細胞に感染させる。 (2～3行程度にて、内容が把握できるものとして下さい。)</p>
概要	<p><u>[記載要領]</u> 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。</p> <p>(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</p> <p><u>[記載例]</u></p> <p>【手順1】 ・〇〇ウイルスのクローニング（機関承認） 大腸菌を用いて〇〇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、組換え〇〇ウイルスの全長ゲノムを精製する。 [拡散防止措置 PO]</p> <p>【手順2】 ・GFP 導入した組換え〇〇ウイルスの作成（大臣確認） 手順1で作成した全長ゲノムを〇〇細胞に導入し、組換え〇〇ウイルスを得る。 [拡散防止措置 PO]</p> <p>【手順3】 ・組換え〇〇ウイルスのヒト培養細胞への感染（大臣確認） 手順2で得た組換えウイルスを、ヒト培養細胞である〇〇細胞に接種し、解析に用いる。 [拡散防止措置 PO]</p>
確認を申請する使用等	<p><u>[記載要領]</u> 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><u>[記載例]</u> 組換え〇〇ウイルスは、自立的な増殖力及び感染力を保持しているウイルスであるため、別表第一の一号へに該当する。</p>

		<p><u>[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1月29日 文部科学省・環境省令第1号）]</u>（</p> <ul style="list-style-type: none"> ・別表第一の一号イ 宿主又は核酸供与体のいずれかが第三条の表各号の下欄に掲げるもの以外のものである遺伝子組換え生物等（認定宿主ベクター系を用いた遺伝子組換え生物等であって、核酸供与体がウイルス及びウイロイド以外の生物（ヒトを含む。）であるもののうち、供与核酸が同定済核酸であり、かつ、哺乳動物等に対する病原性及び伝達性に関係しないことが科学的知見に照らし推定されるものを除く。） ・別表第一の一号ロ 宿主の実験分類又は核酸供与体の実験分類のいずれかがクラス4である遺伝子組換え生物等 ・別表第一の一号ハ 宿主の実験分類がクラス3である遺伝子組換え生物等 ・別表第一の一号ニ 認定宿主ベクター系を用いていない遺伝子組換え生物等であって、核酸供与体の実験分類がクラス3であるもののうち、供与核酸が同定済核酸でないもの又は同定済核酸であって哺乳動物等に対する病原性若しくは伝達性に関係し、かつ、その特性により宿主の哺乳動物等に対する病原性を著しく高めることが科学的知見に照らし推定されるもの ・別表第一の一号ホ 宿主の実験分類がクラス2である遺伝子組換え生物等（ウイルス又はウイロイドであるものを除く。）であって、供与核酸が薬剤耐性遺伝子（哺乳動物等が当該遺伝子組換え生物等に感染した場合に当該遺伝子組換え生物等に起因する感染症の治療が困難となる性質を当該遺伝子組換え生物等に対し付与するものに限る。）を含むもの ・別表第一の一号ヘ 自立的な増殖力及び感染力を保持したウイルス又はウイロイド（文部科学大臣が定めるものを除く。）である遺伝子組換え生物等であって、その使用等を通じて増殖するもの ・別表第一の一号ト 供与核酸が、哺乳動物等に対する半数致死量が体重一キログラム当たり百マイクログラム以下である蛋白性毒素に係る遺伝子を含む遺伝子組換え生物等（宿主が大腸菌である認定宿主ベクター系を用いた遺伝子組換え生物等であって、供与核酸が哺乳動物等に対する半数致死量が体重一キログラム当たり百ナノグラムを超える蛋白性毒素に係る遺伝子を含むものを除く。） ・別表第一の一号チ イからトまでに掲げるもののほか、文部科学大臣が定めるもの
<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><u>[記載要領]</u> 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</p>

		<p>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。</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><u>【記載例】</u> 以下の番号は、概要欄に示す手順と同一である。</p> <p>【手順 1】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・〇〇ウイルス：学名〇〇、クラス〇。 ヒト特異的に感染する。感染した場合、発熱等の症状を起す。 ・オワンクラゲ：学名〇〇、クラス 1。病原性はない。 <p>【手順 2、3】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・オワンクラゲ：学名〇〇、クラス 1。病原性はない。 <p>(大臣確認が不要な箇所（本記載例での手順 1）については、必ずしも記載を要しません。)</p>
	<p>供与核酸 の特性</p>	<p><u>【記載要領】</u> 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。</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 (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。)</p> <p><u>【記載例】</u> 以下の番号は、概要欄に示す手順と同一である。</p> <p>【手順 1】 〇〇ウイルス全長 cDNA：〇〇ウイルスの全長ゲノム（〇〇kb）。 塩基配列情報は、別紙〇のとおり。</p> <p>EGFP：オワンクラゲ由来であり、GFP 蛋白を産生する。 〇〇kb</p> <p>【手順 2、3】 EGFP:手順 1 に記載したとおり。</p>
	<p>ベクター 等の特性</p>	<p><u>【記載要領】</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。</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 (2)構成 (3)伝達性及び宿主特異性</p> <p><u>【記載例】</u> 以下の番号は、概要欄に示す手順と同一である。</p> <p>【手順1】 ・p〇〇プラスミド：大腸菌(クラス1)由来のプラスミド。構成は別紙〇のとおり。</p>
	<p>宿主等の特性</p>	<p><u>【記載要領】</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。</p> <p>(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）。</p> <p><u>【記載例】</u> 以下の番号は、概要欄に示す手順と同一である。</p> <p>【手順1】 ①大腸菌(〇〇株) 学名 <i>Escherichia coli</i> ②・・・・ ③・・・・ ④・・・・ ⑤・・・・</p> <p>【手順2及び3】 ①〇〇属ウイルス 学名 <i>abc def</i> 実験分類 クラス〇 ②自然界に広く分布 ③マウスの〇〇において感染が拡大する ④感染により、〇〇病を引き起こす ⑤・・・・</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>【記載要領】</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。</p>

		<p>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。</p> <p>(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。）</p> <p><u>【記載例】</u> 以下の番号は、概要欄に示す手順と同一である。</p> <p>【手順1】 ・大腸菌 ○○ウイルス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、生存性が変化することは想定されない。</p> <p>【手順2及び3】 ・○○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。本ウイルスは、GFPを導入していることから、感染細胞内で発光するため、感染動態の解明に寄与するものである。</p> <p>（カルタヘナ法では、「宿主」とは、組換え核酸が移入される生物とされています。（組換えの母体となる生物です。）ウイルス等の感染先、いわゆる感染宿主は「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」としており、次ページの欄に記載となります。</p> <p>本事例の手順3では、 宿主：○○ウイルス 保有している…：培養細胞)</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>【記載要領】</u> 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。</p> <p><u>【記載例】</u> 以下の番号は、概要欄に示す手順と同一である。</p> <p>【手順3】</p>

	<p>・ヒト〇〇細胞 ヒト健常者から単離された肝臓細胞であり、病原性を有するものではない。 組換え〇〇ウイルスが感染することで、〇〇ウイルスが増殖し、細胞が死滅することが想定される。</p> <p>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、生息可能な環境 ③繁殖・増殖の様式 ④病原性、有害物質の産生性</p>
<p>拡散防止措置</p>	<p><u>【記載要領】</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。</p> <p><u>【記載例】</u> 以下の番号は、概要欄に示す手順と同一である。</p> <p>【手順2】 ・GFP導入した組換え〇〇ウイルスの作成（大臣確認） 拡散防止措置をP〇とする。 〇〇ウイルスの実験分類はクラス〇であるが、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。</p> <p>【手順3】 ・組換え〇〇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P〇とする。 手順2で作成した組換えウイルスを、非組換えの培養細胞に接種するものであり、2と同様の理由によりP〇とする。</p>
<p>施設等の概要</p>	<p><u>【記載要領】</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。</p> <p>(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。）</p> <p><u>【記載例】</u> 〇〇大学 〇〇キャンパス 〇〇棟 〇号室 施設の位置等は別紙のとおり。</p> <p>(※申請に関係しない生物を飼育・栽培している場合の記載例：本</p>

		<p>施設では申請に関係しないマウスを同時に飼育しているが、飼育箱を分け、表示を付すことで、明確に区分けしている。）</p> <p>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：平成〇年〇月〇日</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>〔記載要領〕</u></p> <p>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。</p> <p><u>〔記載例〕</u></p> <p>組換え生物はオートクレーブ処理（〇〇℃、〇〇分）で不活化する。オートクレーブ処理できないものは、〇〇パーセント次亜塩素酸を噴霧し、〇〇分放置する。 組換え生物が付着した器材も同様の処理を行う。</p>
<p>その他</p>		<p><u>〔記載要領〕</u></p> <p>次に掲げる項目について記載すること。</p> <p>(1)第二種使用等の実施予定期間 (2)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 (3)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。） (4)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。）</p> <p><u>〔記載例〕</u></p> <p>実施予定期間：大臣確認通知受理後～令和〇〇年〇月〇日</p> <p>本申請は〇〇大学遺伝子組換え実験安全委員会（委員長：〇学部教授〇〇〇〇）の審査を受け、拡散防止措置について令和〇年〇月〇日に適切であると判断された。</p> <p>（※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、文部科学省に連絡する。）</p>

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	<p><u>[記載要領]</u> 核酸供与体となる生物の種名、系統名、クラス分類を記載</p> <p><u>[記載例]</u> 〇〇ウイルス(クラス未分類)</p>	<p><u>[記載要領]</u> ゲノムDNA、相補DNA、合成DNA等の供与核酸の種類や名称等を記載</p> <p><u>[記載例]</u> ゲノム cDNA ・構造領域: ・非構造タンパク遺伝子領域: ・非翻訳領域</p>	<p><u>[記載要領]</u> ベクターの名称を記載。なお、ウイルスは、ベクターとして用いる場合であっても、宿主として扱われる。</p> <p><u>[記載例]</u> pUC〇〇</p>	<p><u>[記載要領]</u> 宿主の種名、系統名等を記載</p> <p><u>[記載例]</u> <i>E.coli</i>(DH5α)(クラス1)</p>	<p><u>[記載要領]</u> 遺伝子組換え生物等を保有している動物、植物及び細胞等の種名、系統名を記載</p> <p><u>[記載例]</u> —</p>	<p><u>[記載要領]</u> 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を参考に実際に執る拡散防止の区分を記載</p> <p><u>[記載例]</u> P1</p>	<p><u>[記載要領]</u> 以下を記載 (1)遺伝子組換え生物等及び拡散防止措置の組合せのうち該当する場合には、その旨・大臣確認である旨 (2)認定宿主-ベクター系を用いる場合には、その区分 (3)各段階における主な目的等 (4)使用する実験室、実験区画、実験区域、飼育区画及び網室</p> <p><u>[記載例]</u> 〇〇認定系:〇〇ウイルスレプリコンコンストラクトの作製 大臣確認実験 (〇〇大学〇〇棟〇〇室)</p>
2	<p><u>[記載例]</u> —</p>	<p><u>[記載例]</u> 上記1で作製した組換え核酸</p>		<p><u>[記載例]</u> 非増殖性組換え 〇〇ウイルス(クラス未分類)</p>	<p><u>[記載例]</u> 〇〇細胞</p>	<p><u>[記載例]</u> P2</p>	<p><u>[記載例]</u> 〇〇の作製 大臣確認実験 (〇〇大学〇〇棟〇〇室)</p>