

センター長等	監督者
(竹)	(相澤)

受付番号: [CDB H23-039]

動物実験計画承認申請書 (新規・**継続**・変更)

申請日: 平成24年 2月 24日

神戸研究所長 殿

所 属	CDB ゲノム・リプログラミング研究チーム
所 属 長	若山 照彦 (印)
動物実験責任者*(職名)	若山 照彦 (印) (チームリーダー)
内線: 4403	FAX: 4414
e-mail: teru@cdb.riken.jp	

(*動物実験従事者の中から所属長が指名: 規程第14条参照)

動物実験実施規程第24条の規定に基づき、下記の動物実験計画の承認を申請致します。

記

【申請区分】

<input type="checkbox"/> 新規
<input checked="" type="checkbox"/> 継続 (前・課題番号: 承AH14-13-19)
<input type="checkbox"/> 変更* (現・課題番号:)
(*変更申請の場合、承認済みの全内容を記載し、今回追加/変更を申請する箇所に下線、また削除する箇所は見え消し(取り消し線をひく等)にしてください。)
変更の概要(簡潔に):

1. 研究課題名

核移植によるクローン個体作出方法の検討並びに核の初期化機構の解明

2. 研究の目的

クローンマウスの作製及びメカニズムの解明

3. 動物を用いる必要性

(具体的に)
完全な初期化は、正常なクローン個体が得られることによって初めて成し遂げられる。そのため初期化のメカニズムを解明するためには、動物より採取した新鮮卵子及びドナー細胞を用い、偽妊娠雌の卵管もしくは子宮へ移植して出産させることが不可欠である。なお、ウサギについては異種動物の卵子を比較するため、飼育などは行わず卵子のみの使用となる。

4. 動物使用の代替法の検討状況

代替法がない 代替法では精度が不十分
 その他 ()

5. 動物実験実施予定期間 (期間は2事業年度以内とする)

開始/変更希望日 [平成24年4月1日] ~ 終了予定日 [平成25年3月31日]

* 年度途中から実験を開始する場合、実験開始希望日の2箇月前までには、提出して下さい。

* 年度初めから実験を開始希望の場合は、前年度の2月15日までに提出して下さい。

6. 実験の概要

6-1 内容と苦痛度

1) 内容 (実験の具体的な流れを簡潔に記入してください。)

①ホルモン剤の投与による誘起排卵処置後、翌日雌マウスを頸椎脱臼により安楽死させたのち、未受精卵を採取する。ウサギについては動物業者からホルモン投与済みの動物を購入する。ウサギは、生後3ヶ月以内(300グラム前後)であり、麻酔薬は卵子を活性化あるいは殺してしまうので、炭酸ガス吸入法による安楽死措置を実施する。
②マイクロマニピュレーションを用いて卵子の核を体細胞の核と置き換え、核移植胚を作成する。
③一部の胚は染色し、ドナー核が初期化の影響をどのように受けているのか調べる。
④良好な発生を示した胚を、偽妊娠を誘導した雌マウスの卵管あるいは子宮に胚移植用キャピラリーを用いて移植し(ネブタール麻酔下にて腹側部を切開)産仔を得る。
⑤クローンマウスを自然交配させ繁殖能力などの正常性を調べる。

2) 実験操作と苦痛度 (該当項目をチェックし、項目毎に具体的内容を書いてください。)

項目	具体的操作*	苦痛度**
<input checked="" type="checkbox"/> 材料採取	過剰排卵処置により卵子を得る。また卵丘細胞や尻尾の上皮細胞などの体細胞をドナー細胞として用いる。	苦痛度区分： B
<input checked="" type="checkbox"/> 試料投与	性腺刺激ホルモン及びペントバルビタールなどの麻酔剤。	苦痛度区分： B
<input type="checkbox"/> 感染実験		
<input type="checkbox"/> 放射線関連 (RI投与、放射線照射、X線照射)		
<input checked="" type="checkbox"/> 外科的処置	作出した胚をペントバルビタールにより麻酔下のマウスの卵管あるいは子宮へ移植する。	苦痛度区分： C
<input checked="" type="checkbox"/> 繁殖	作出したクローンマウスの繁殖能力を調べるために、自然交配して子孫をとる。	
<input type="checkbox"/> 行動の観察		
<input type="checkbox"/> 環境ストレス		
<input type="checkbox"/> 特殊飼育		
<input checked="" type="checkbox"/> その他 ()	耳パンチ等により個体識別用のマーキングを行う。	苦痛度区分： B

*苦痛度Dの場合は、使用予定数と人道的エンドポイントも記入してください。

**苦痛度の区分表を参照し、該当する苦痛度(B~D)を記入してください。

6-2 動物の苦痛軽減のための処置 (安楽死処置に際しての麻酔薬の使用については6-3へ記載のこと)

(動物種毎に記載してください。)

動物種	苦痛軽減処置方法	
マウス	<input checked="" type="checkbox"/> 麻酔法	<input type="checkbox"/> エーテル・適量・吸入 <input checked="" type="checkbox"/> その他 (薬品名、投与量・方法) マウスを保定し、ペントバルビタール30mg/kg を注射器により腹腔に注射する。
	<input checked="" type="checkbox"/> 保定法	(方法、使用器具名、保定時間) 手保定
	<input type="checkbox"/> その他	(具体的に記載。苦痛の軽減処置を行わない場合は、その理由も記入してください。)

※必要に応じて行を追加してください。

推奨値：ペントバルビタール(商品名：ネブタール)腹腔内注射投与麻酔では、マウスの場合30-50mg/kg, ラットの場合30-40mg/kg。

6-3 安楽死処置方法など動物の終末処置

1) 動物の安楽死処置方法 (動物種毎に記載してください。)

動物種	終末処置方法	
ウサギ	<input type="checkbox"/> 麻酔薬の投与 (通常麻酔量の3~5倍以上)	(薬品名・投与量・方法)
	麻酔下での; <input type="checkbox"/> 断頭 <input type="checkbox"/> 灌流固定	(麻酔薬品名・投与量・方法)
	<input type="checkbox"/> 中枢破壊 (頸椎脱臼など)	
	<input checked="" type="checkbox"/> 炭酸ガス吸入	
	<input type="checkbox"/> その他	(具体的に記載)
マウス	<input type="checkbox"/> 麻酔薬の投与 (通常麻酔量の3~5倍以上)	(薬品名・投与量・方法)
	麻酔下での; <input type="checkbox"/> 断頭 <input type="checkbox"/> 灌流固定	(麻酔薬品名・投与量・方法)
	<input checked="" type="checkbox"/> 中枢破壊 (頸椎脱臼など)	
	<input checked="" type="checkbox"/> 炭酸ガス吸入	
	<input type="checkbox"/> その他	(具体的に記載)

※必要に応じて行を追加してください。

2) その他 (動物を他の実験へ利用など)

--

3) 死体(臓器、組織)等の廃棄

<input checked="" type="checkbox"/> 飼育管理者に依頼
<input type="checkbox"/> その他 ()

6-4 安全管理に特に注意を払う必要がある実験 (他の承認または届出など)

項目	申請時の承認番号等
<input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> 有 (有の場合は、以下の該当項目をチェックし、承認番号等を記載)	
<input checked="" type="checkbox"/> 遺伝子組換え実験	承H15-2
<input checked="" type="checkbox"/> 麻薬 (ケタミンなど*)・向精神薬 (ペントバルビタールなど*)の使用	向H15-02
<input type="checkbox"/> エックス線照射	
<input type="checkbox"/> (放射線障害予防規程に係る) 放射性物質及び放射線発生装置の使用	
<input type="checkbox"/> 微生物等使用実験	
<input type="checkbox"/> その他 ()	

* ケタミン: ケタミン及びその塩、ケタラールなど。
ペントバルビタール: ペントバルビタール及びその塩、ネンブタール、ソムノベンチルなど。

7. 実験等実施施設名 (施設は、登録されている必要があります。)

施設の区分	動物種	施設名		
		建物	階	号室
飼育施設	マウス			
	マウス			
保管施設	マウス			
	マウス			

実験施設	ウサギ	
	マウス	
	マウス	
	マウス	

※必要に応じて行を追加してください。

※注：遺伝子組換え実験に該当する場合は、その規程にも従って下さい。

8. 使用予定動物（科学上の利用の目的を達する事ができる範囲において、できる限りその利用に供される動物の数を少なくすること。）（記載しきれない場合は別紙にて添付、または列を増やしてください。）

動物種	ウサギ	マウス	マウス
系統の種類*	非組換え 非組換え 近交系 SLC: NZW	非組換え 非組換え クロスドコロニー ICR	非組換え 非組換え 近交系 ⑤BALB/c
使用予定数(匹)** (1年目)	30	2000	50
使用予定数(匹)** (2年目)	30	2000	50
使用予定数の根拠	マウスとは異なる動物種の卵子を調べる必要があるため、実験終了期間までに30匹必要	完全なクローン個体を得る目的のため1人1日2-3匹の仮親が必要。(研究者7名)	①～⑤の系統間の差を調べるため、1系統50程度必要
搬入元			
微生物学的清浄度***	SPF	SPF	SPF
特記事項			

動物種	マウス	マウス	マウス
系統の種類*	非組換え 非組換え 近交系 ④129/Sv	非組換え 非組換え 近交系 ③DBA/2	非組換え 非組換え 近交系 ②C3H/He
使用予定数(匹)** (1年目)	50	50	50
使用予定数(匹)** (2年目)	50	50	50
使用予定数の根拠	①～⑤の系統間の差を調べるため、1系統50程度必要	①～⑤の系統間の差を調べるため、1系統50程度必要	①～⑤の系統間の差を調べるため、1系統50程度必要
搬入元			
微生物学的清浄度***	SPF	SPF	SPF
特記事項			

動物種	マウス	マウス	マウス
系統の種類*	非組換え 非組換え 近交系 ①C57BL/6	非組換え 非組換え 交雑系 B6D2F1	組換え 組換え Tg GFP
使用予定数(匹)** (1年目)	50	4500	50
使用予定数(匹)** (2年目)	50	4500	50
使用予定数の根拠	①～⑤の系統間の差を調べるため、1系統50程度必要	完全なクローン個体を得る目的のため1人1日卵子150個(5匹分)必要(研究者7名)	マーカーとして用いるため、各実験に数匹づつ必要
搬入元			
微生物学的清浄度***	SPF	SPF	SPF
特記事項			

動物種	マウス	マウス	
系統の種類*	組換え 組換え Tg DsRed	組換え 組換え Tg CENP-A-GFP, CENP-I-GFP, CENP-O-GFP, CENP-50-GFP	
使用予定数(匹)** (1年目)	50	30	
使用予定数(匹)** (2年目)	50	30	
使用予定数の根拠	マーカーとして用いるため、各実験に数匹づつ必要	一度に数匹を実験に用い、それを年に5回ほど行う	
搬入元			
微生物学的清浄度***	SPF	SPF	
特記事項			

- * 「非組換え」：非遺伝子組換え動物、「組換え」：遺伝子組換え動物、どちらかを選んでください。
(遺伝子組換え動物の入手・使用等は、遺伝子組換え実験に該当し、あらかじめ別途申請、承認が必要となります。また、搬入・搬出時にも、手続きが必要となります。)
- ** 使用予定動物数は、系統の維持繁殖等に使用する分を含めた総動物数を記入してください。但し、胎児（誕生前）を使用する場合、胎児の数ではなく、母獣の数を記入してください。
- *** 動物の微生物学的清浄度については、SPF・CVの別を記載してください。サルについては、飼育施設等で指定されている検査項目について（B-virus等+or-）で記載して下さい。

9. 備考

--

以上

注意：新規または継続申請の場合は、「動物実験従事者届（様式第3号）」を併せて提出してください。