

令和3年度 動物実験計画書

受付 No.

筑波大学長 殿

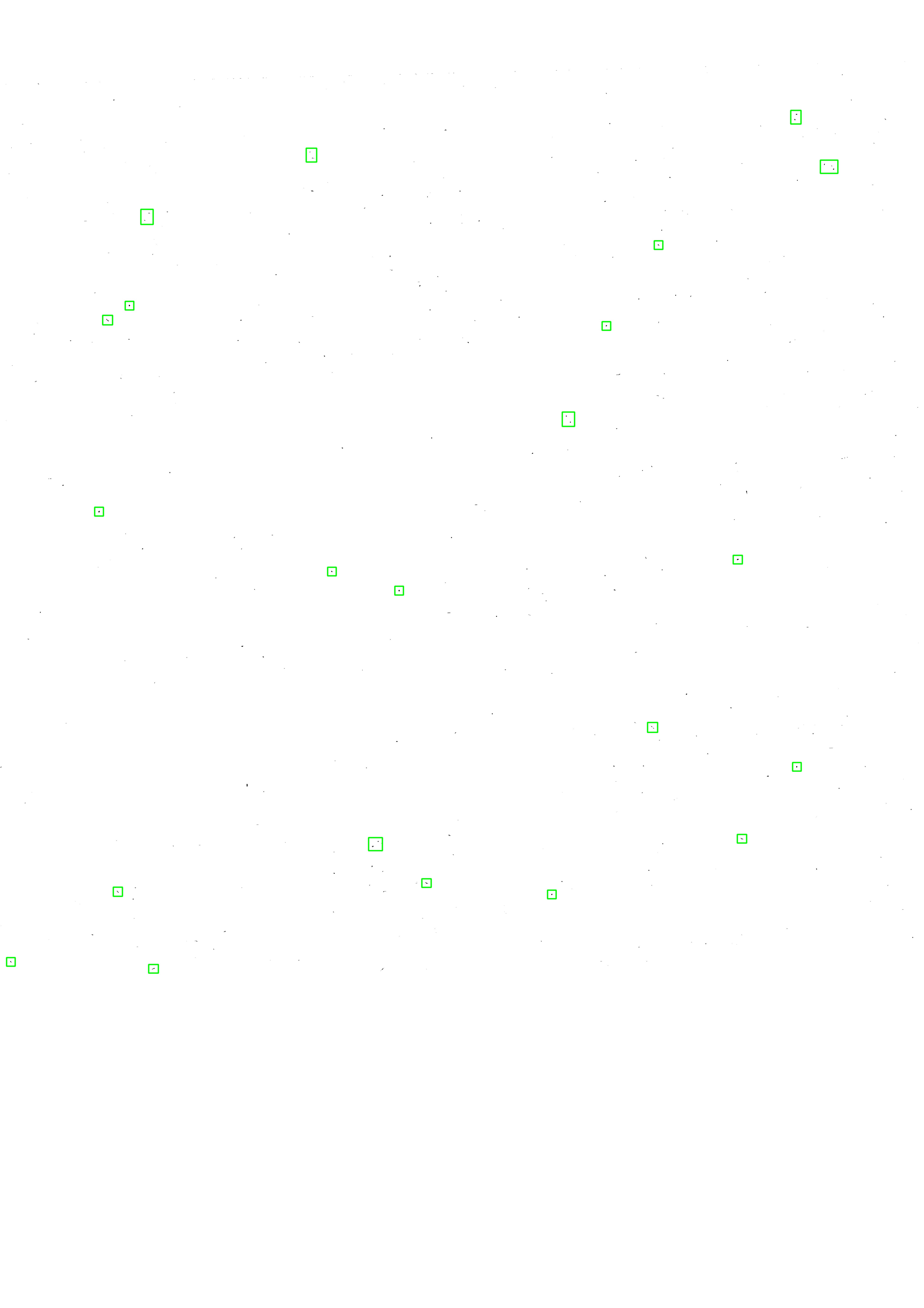
申請日 年 月 日

動物実験責任者	所 属	医学医療系		職 名	准教授	
	氏 名	水野 聖哉	印又は署名	動物実験に関する全学講習会の受講	<input checked="" type="checkbox"/> 有	
	連絡先	TEL: 029-853-3393		<input checked="" type="checkbox"/> e-mail:konezumi@md.tsukuba.ac.jp		
研究課題名	<input type="checkbox"/> 開示可 <input checked="" type="checkbox"/> 開示不可 (理由:研究のプライオリティ保護) <input type="checkbox"/> 新規 <input checked="" type="checkbox"/> 継続 亜種系間 F1 マウスにおける不稔原因遺伝子座の解析					
	実験期間	承認の日 ~ 2022年 5月 31日		(対象となる実験予定期間: 2021年6月1日~2022年5月31日)		
飼養保管施設	<input checked="" type="checkbox"/> ■生命科学動物資源センター A,B棟					
動物実験室	<input checked="" type="checkbox"/> (飼養保管施設に併設した動物実験室以外を使用する場合に記入。)					
動物実験実施者	氏 名	所属系・職名 (学生は所属・年次)	全学講習会の受講	氏 名	所属系・職名 (学生は所属・年次)	全学講習会の受講
	村田 知弥	医学医療系・助教	有	下山 紗智子	医療科学類・4年	有
	鈴木 颯	生命システム・3年	有			
	森本 健斗	生命システム・2年	有			
	大徳 陽子	生命科学動物資源センター職員	有			
	三上 夏輝	HBP・1年	有			
代替法の検討	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 代替法がない <input type="checkbox"/> 2. 代替法の精度が不十分 <input type="checkbox"/> 3. その他 ()					
予想される苦痛の程度	<input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> B <input checked="" type="checkbox"/> C ※ 別表1 動物実験の倫理カテゴリーを参照。 <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/> E					
実験動物	動物の種類	系 統	性 别	匹 数	微生物学的品質 (導入時の品質を記入)	入 手 先
	マウス マウス マウス	C57BL/6J PWK/Ph (B6・PWK)F1	オス・メス オス・メス オス・メス	各 200 匹 各 110 匹 各 50 匹	<input checked="" type="checkbox"/> SPF <input type="checkbox"/> コンベンショナル <input type="checkbox"/> その他 ()	<input checked="" type="checkbox"/> 動物生産業者 <input type="checkbox"/> 大学 <input checked="" type="checkbox"/> 研究所 <input checked="" type="checkbox"/> その他 (センター内で繁殖)
研究目的と意義、実験の必要性	<input type="checkbox"/> 開示可 <input checked="" type="checkbox"/> 開示不可 (理由:研究のプライオリティ保護) ※ 直接的な目的だけでなく、その動物実験が必要な理由、他の方法で代替できない理由、その動物実験の科学的・社会的意義等について具体的に記載する。					
	異なる亜種間の F1 個体では不稔形質が出現することが報告されている。この不稔形質の遺伝学的解析には <i>mus musculus domesticus</i> 系の C57BL/6J マウスと <i>mus musculus musculus</i> 系の PWD/Ph マウスの交雑モデルが有用であると報告されており、このモデルより不稔の原因遺伝子や原因遺伝子座がいくつか発見された。PWK/Ph は PWD/Ph の近位系統であり、PWK/Ph と C57BL/6 マウスとの F1 個体においても不稔形質は出現するが、詳細な表現形解析と遺伝学的解析は行われておらず、新たな原因遺伝子が発見できる可能性がある。本研究により不妊の原因や進化のメカニズムの一端を明らかできる可能性があるが、稔性の確認は動物の使用なしには実施できないために、本研究には実験動物を不可欠である。					

	<p><input type="checkbox"/> 開示可 <input checked="" type="checkbox"/> 開示不可 (理由:研究のプライオリティ保護)</p> <p>※ 実験群、使用匹数及びその算出根拠、動物に加える処置の内容及び期間、使用機器等を具体的に記入するとともに、実験方法に科学的な妥当性があることを記載する。</p>
	<p>① PKW/Ph マウスの維持 【PKW/Ph:♂♀各 100 匹】</p> <p>PKW/Ph マウス同士を自然交配し、系統を維持する。</p> <p>② F1 マウスの作出と解析 【PKW/Ph:♂♀各 5 匹, C57BL/6:♂♀各 5 匹, F1:♂♀各 50 匹】</p> <p>PKW/Ph マウスと C57BL/6J マウスを自然交配し、F1 マウスを得る。F1 マウスはペントバルビタールによる深麻酔化で滅菌生理食塩水により心臓灌流し、精巣を採取する。</p> <p>③ 候補遺伝子領域欠損マウスの作製 【C57BL/6:♂♀各 200 匹】</p> <p>不妊の原因候補遺伝子領域が特定するために、興味のある遺伝子領域をランダムなサイズで欠失させた変異アレルをもつ ES 細胞からキメラマウスを作製し、精巣の病理学的解析により精子形成に異常があるのかを確認する。具体的には以下の操作を実施する。</p> <p>3-1) 過排卵 ・♀マウスに PMSG、hCG のホルモン剤を皮下および腹腔内投与する（各一回）。</p> <p>3-2) 初期胚採取 3-2-1) 自然交配卵 ・hCG 投与後に♂マウスと交配し、翌朝に膣栓が認められた個体を頸椎脱臼にて安樂死させ、卵管より初期胚を採取する。</p> <p>3-2-2) 体外受精卵 ・hCG 投与 16 時間後、頸椎脱臼にて安樂死させ、卵管より卵子を採取する。また、頸椎脱臼にて安樂死させた♂マウスの精子を、上記卵子に媒性する。</p> <p>3-3) 遺伝子操作 ・エレクトポレーターにより受精卵細胞質へ RNA とタンパク（生殖細胞に必須の遺伝子を標的とした CRISPR-Cas9）を導入する。</p> <p>3-3) 融合胚の作製 ・上記の RNA を導入した胚と標的の領域を欠失させた ES 細胞とを凝集させる。</p> <p>3-4) 胚移植 ・偽妊娠したマウスを全身麻酔後、上記の凝集胚を子宮に移植する。</p> <p>3-5) 出産 ・誕生したキメラマウスはペントバルビタールによる深麻酔化で滅菌生理食塩水により心臓灌流し、精巣を採取する。</p>
	<p>※ 実験処置により予想される障害、症状、苦痛の程度及びその軽減方法について記載。（例：全身症状の悪化や特に、苦痛の程度が高い場合には、人道的エンドポイントを設定し、記載する。（例：全身症状の悪化や腫瘍サイズの増加（体重の 10 %まで）が見られる場合には、実験を終了し、安樂死させる。）</p>
実験内容	<p>苦痛軽減法 (麻酔法等)</p> <ul style="list-style-type: none"> 全身麻酔は 3 種混合麻酔薬の腹腔内投与もしくはインフルアンの吸入による全身麻酔。 尾部組織採取は幼若時に尾端部の僅かな組織の採取を行うため無麻酔下で行う。 各実験を経験が浅い実施者が行う場合は、熟練者の指導下で実施する。 遺伝子改変により全身症状の悪化が見られた個体は速やかに安樂死する。 <p>) の過剰投与</p> <p><input type="checkbox"/> 麻酔薬 ()</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> CO₂</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 頸椎脱臼</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 全身麻酔下での全採血等</p> <p><input type="checkbox"/> その他 ()</p> <p><input type="checkbox"/> 特殊実験に該当しない</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 遺伝子組換え生物使用実験</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 承認済</p> <p><input type="checkbox"/> 承認申請中</p> <p>※1</p>
特殊実験区分	<p><input type="checkbox"/> 感染動物実験</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 有害物質投与動物実験</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 放射性同位元素・放射線使用動物実験</p> <p><input type="checkbox"/> イヌ・ネコ・サル使用実験</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> P1A</p> <p><input type="checkbox"/> P2A</p> <p><input type="checkbox"/> P3A</p> <p><input type="checkbox"/> BSL1</p> <p><input type="checkbox"/> BSL2</p> <p><input type="checkbox"/> BSL3</p> <p>(様式 2 を添付する。) ※2</p> <p>(様式 2 を添付する。)</p> <p>※1 遺伝子組換え生物使用実験は、別途「遺伝子組換え実験計画承認申請書」の承認申請が必要です。</p> <p>※2 感染動物実験 (BSL2, BSL3) は、別途「研究用微生物等利用・保管届出申請書」の届出又は承認申請が必要です。</p>

委員の意見	動物実験委員会委員長確認
学長承認欄	承認日： 年 月 日 承認番号： 第 号 筑波大学長

(注) 太枠内のみ記入して下さい。



令和3年度 動物実験計画書

受付 No.

筑波大学長 殿

申請日 年 月 日

動物実験責任者	所 属	医学医療系		職 名	准教授
	氏 名	水野 聖哉	印又は署名	動物実験に関する全学講習会の受講 ■有	
	連絡先	TEL: 029-853-3393		e-mail:	konezumi@med.tsukuba.ac.jp
	<input checked="" type="checkbox"/> 開示可 <input type="checkbox"/> 開示不可 (理由)			<input type="checkbox"/> 新規 <input checked="" type="checkbox"/> 繼続	
研究課題名	胚操作・動物実験の基本技術の実習 (医療科学類)				
実験期間	承認の日	～	2021年 8月 4日	(対象となる実験予定期間: 2021年6月1日～2022年5月31日)	
飼養保管施設	<input checked="" type="checkbox"/> 生命科学動物資源センター A,B棟				
動物実験室	(飼養保管施設に併設した動物実験室以外を使用する場合に記入。)				
動物実験実施者	氏 名	所属系・職名 (学生は所属・年次)	全学講習会の受講	氏 名	所属系・職名 (学生は所属・年次)
	杉山文博	医学医療系・教授	有	石田みゆき	同上
	村田知弥	医学医療系・助教	有	履修学生	有
	長谷川賀一	生命科学動物資源センター・職員	有		
	谷本陽子	同上	有		
	大徳陽子	同上	有		
代替法の検討	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 代替法がない <input type="checkbox"/> 2. 代替法の精度が不十分 <input type="checkbox"/> 3. その他 ()				
予想される苦痛の程度	<input type="checkbox"/> A <input checked="" type="checkbox"/> B <input type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/> E		※別表1 動物実験の倫理カテゴリを参照。		
実験動物	動物の種類	系統	性 別	匹 数	微生物学的品質 (導入時の品質を記入)
	マウス	ICR	オス・メス	50	<input checked="" type="checkbox"/> SPF <input type="checkbox"/> コンペソショナル <input type="checkbox"/> その他 ()
	<input checked="" type="checkbox"/> 開示可 <input type="checkbox"/> 開示不可 (理由) ※直接的な目的だけでなく、その動物実験が必要な理由、他の方法で代替できない理由、その動物実験の科学的・社会的意義等について具体的に記載する。				
研究目的と意義、実験の必要性	現在、不妊治療医療において生殖技術に携わる関係者が果たしている役割は大きい。そして、これらの生殖細胞を取り扱う技術者、いわゆる胚培養士などの力量が大きく治療成績を左右する結果を生むことも事実である。したがって、多くの優秀な生殖医療に関わる臨床検査技師を育成するためにも医療学類の学生に胚操作の現場を体験させることは重要と思われる。ヒトの胚操作はマウスにおける胚操作技術の応用である。そこで、本実習では医療学類の学生にマウスの初期胚の操作を体験させることを目的とする。				

実験内容	<p><input checked="" type="checkbox"/> 開示可 <input type="checkbox"/> 開示不可 (理由 ※ 実験群、使用匹数及びその算出根拠、動物に加える処置の内容及び期間、使用機器等を具体的に記入するとともに、実験方法に科学的な妥当性があることを記載する。)</p> <p>①過剰排卵ホルモン処置：PMSG および hCG をマウス腹腔内に1回48時間間隔で投与する。 (教官もしくは職員が実施)</p> <p>②体外受精</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 教官もしくは職員が頸椎脱臼にて安樂死 以下学生が行う。 <input type="checkbox"/> 開腹し精巢上体尾部および卵管を採材する。 <input type="checkbox"/> 精巢上体尾部より精子、卵管より卵子を採取する。 <input type="checkbox"/> 採取した卵子および精子を用いて体外受精を実施、観察する。 <p>③移植</p> <ul style="list-style-type: none"> 以下は教官もしくは職員が行う <input type="checkbox"/> 假妊娠マウスを全身麻酔下、顕微鏡下で背側腹部を一部切開し卵巣・卵管を露出させ、顕微鏡下で卵管より受精卵を移植、背側切開部を縫合する。その後、頸椎脱臼にて安樂死させる。 <p>実習は、1グループ10名程度として、1グループに2名程度の指導者(教官及び職員など)を充てる。</p>
	<p>※ 実験処置により予想される障害、症状、苦痛の程度及びその軽減方法について記載。 特に、苦痛の程度が高い場合には、火道的エンドポイントを設定し、記載する。(例：全身症状の悪化や腫瘍サイズの増加(体重の10%まで)が見られる場合には、実験を終了し、安樂死させる。)</p>
苦痛軽減法 (麻酔法等)	全身麻酔は3種混合麻酔薬の腹腔内投与により行う。
安楽死法	<input type="checkbox"/> 麻酔薬 () の過剰投与 <input type="checkbox"/> CO ₂ <input checked="" type="checkbox"/> 頸椎脱臼 <input type="checkbox"/> 全身麻酔下での全採血等 <input type="checkbox"/> その他 ()
特殊実験区分	<p><input checked="" type="checkbox"/> 特殊実験に該当しない</p> <p><input type="checkbox"/> 遺伝子組換え生物使用実験 <input type="checkbox"/> 承認済 <input type="checkbox"/> 承認申請中 ※1 <input type="checkbox"/> P1A <input type="checkbox"/> P2A <input type="checkbox"/> P3A</p> <p><input type="checkbox"/> 感染動物実験 <input type="checkbox"/> BSL1 <input type="checkbox"/> BSL2 <input type="checkbox"/> BSL3 (様式2を添付する。) ※2 <input type="checkbox"/> (様式2を添付する。)</p> <p><input type="checkbox"/> 有害物質投与動物実験</p> <p><input type="checkbox"/> 放射性同位元素・放射線使用動物実験</p> <p><input type="checkbox"/> イヌ・ネコ・サル使用実験</p> <p>※1 遺伝子組換え生物使用実験は、別途「遺伝子組換え実験計画承認申請書」の承認申請が必要です。</p> <p>※2 感染動物実験(BSL2, BSL3)は、別途「研究用微生物等利用・保管届出申請書」の届出又は承認申請が必要です。</p>
委員の意見	
動物実験委員会委員長確認	
学長承認欄	<p>承認日： 年 月 日 承認番号： 第</p> <p>筑波大学長</p>

(注) 太枠内のみ記入して下さい。

（注）太枠内のみ記入して下さい。

承認番号：	第
年	月
日	号

筑波大学長

令和4年度 動物実験計画書

受付 No. _____

筑波大学長 殿

申請日 年 月 日

動物実験責任者	所 属	医学医療系		職 名	准教授	
	氏 名	水野 聖哉		印又は署名	<input checked="" type="checkbox"/> 動物実験に関する全学講習会の受講 <input type="checkbox"/> 有	
	連絡先	TEL: 029-853-3393		e-mail:konezumi@md.tsukuba.ac.jp		
研究課題名	<input type="checkbox"/> 開示可 <input checked="" type="checkbox"/> 開示不可 (理由: 研究のプライオリティ保護) <input type="checkbox"/> 新規 <input checked="" type="checkbox"/> 繼続					
	CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子改変動物作製法の確立					
実験期間	承認の日 ~ 2023年 5月 31日		(対象となる実験予定期間: 2022年6月1日~2023年5月31日)			
飼養保管施設	<input checked="" type="checkbox"/> 生命科学動物資源センター A, B棟					
動物実験室	(飼養保管施設に併設した動物実験室以外を使用する場合に記入。)					
動物実験実施者	氏 名	所属系・職名 (学生は所属・年次)	全学講習会の受講	氏 名	所属系・職名 (学生は所属・年次)	全学講習会の受講
	杉山 文博	医学医療系・教授	有	玉里 友宏	生命システム・4年	有
	村田 知弥	医学医療系・助教	有	池田 祥久	生命システム・4年	有
	谷本 陽子	動物資源センター職員	有	鈴木 風	生命システム・4年	有
	石田 みゆき	同上	有	森本 健斗	生命システム・3年	有
	大徳 陽子	同上	有	三上 夏輝	HBP・2年	有
	壱岐 夏海	同上	有	NLK Chi	HBP・2年	受講予定:R4年4月
	長谷川 賀一	同上	有	下山 紗智子	HBP・1年	有
	加藤 花名子	同上	有	依馬 朋香	フロンティア・2年	有
竹村 めぐみ	同上	有	佐藤 優芽	医療科学類・4年	受講予定:R3年4月	
代替法の検討	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 代替法がない <input type="checkbox"/> 2. 代替法の精度が不十分 <input type="checkbox"/> 3. その他 ()					
予想される苦痛の程度	<input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> D	<input type="checkbox"/> B <input type="checkbox"/> E	<input checked="" type="checkbox"/> C	※別表1 動物実験の倫理カテゴリーを参照。		
実験動物	動物の種類	系 統	性 別	匹 数	微生物学的品質 (導入時の品質を記入)	入手先
	マウス	C57BL/6 ICR 遺伝子改変マウス	オス <input type="checkbox"/> メス	2,000 (合計)	<input checked="" type="checkbox"/> SPF <input type="checkbox"/> コンベンショナル <input type="checkbox"/> その他 ()	<input checked="" type="checkbox"/> 動物生産業者 <input type="checkbox"/> 大学 <input type="checkbox"/> 研究所 <input checked="" type="checkbox"/> その他 (センター内で繁殖)
研究目的と意義、実験の必要性	<input type="checkbox"/> 開示可 <input checked="" type="checkbox"/> 開示不可 (理由: 研究のプライオリティ保護) ※直接的な目的だけでなく、その動物実験が必要な理由、他の方法で代替できない理由、その動物実験の科学的・社会的意義等について具体的に記載する。					
	遺伝子改変マウスは遺伝子機能を生体内で解析できる貴重な生物資源である。最近、遺伝子改変マウスに関わる労力と時間を大幅に削減させるゲノム編集技術が開発された。なかでも、CRISPR/Cas9は、ゲノム編集の際に最も有用な人工制限酵素である。医学・生物学研究の基盤となっている遺伝子改変マウスを、このCRISPR/Cas9を用いて迅速に作製することは、極めて重要な課題である。					
	そこで、我々はCRISPR/Cas9を用いて様々な遺伝子に対するノックアウト・ノックイン・条件付きノックアウトマウスを安定的に作製する方法の確立を目指す。 加えて、Cas9およびgRNAを全身で発現する成体マウスにおけるin vivoゲノム編集を実施する。					

	<input type="checkbox"/> 開示可 <input checked="" type="checkbox"/> 開示不可 (理由: 研究のプライオリティ保護) ※ 実験群、使用匹数及びその算出根拠、動物に加える処置の内容及び期間、 使用機器等を具体的に記入する とともに、実験方法に科学的な妥当性があることを記載する。
実験内容	1) 過排卵 ・♀マウスに PMSG、hCG のホルモン剤を皮下および腹腔内投与する(各一回)。
	2) 初期胚採取 ・体外受精:hCG 投与16時間後、頸椎脱臼にて安樂死させ、卵管より卵子を採取する。 融解した精子を、上記卵子に媒性する。
	3) 遺伝子操作 ・マイクロマニピュレータにより受精卵前核へ DNA 断片を導入する。 ・マイクロマニピュレータにより受精卵細胞質へ RNA を導入する。 ・エレクトロポーラーにより受精卵細胞質へ RNA とタンパクを導入する。 ・ES 細胞を用いたキメラ胚作製。
	4) 胚移植 ・偽妊娠したマウスを全身麻酔後、卵管もしくは子宮に操作胚を移植する。
	5) 出産 ・自然分娩後、離乳時に尾部先端を採取、遺伝型を検査、陽性個体のみを系統維持する。
	6) 遺伝型の解析 ・ファウンダーマウスの尾を切断し、DNA を抽出する。 ・ファウンダーマウスと野生型マウスを交配して得た F1 で変異遺伝子の遺伝様式を確認する。
	苦痛軽減法 (麻酔法等)
安樂死法	<input type="checkbox"/> 麻酔薬 () の過剰投与 <input checked="" type="checkbox"/> CO ₂ <input checked="" type="checkbox"/> 頸椎脱臼 <input checked="" type="checkbox"/> 全身麻酔下での全採血等 <input type="checkbox"/> その他 ()
特殊実験区分	<input type="checkbox"/> 特殊実験に該当しない <input checked="" type="checkbox"/> 遺伝子組換え生物使用実験 <input checked="" type="checkbox"/> 承認済 <input type="checkbox"/> 承認申請中 ※1 ■P1A □P2A □P3A <input type="checkbox"/> 感染動物実験 <input type="checkbox"/> BSL1 <input type="checkbox"/> BSL2 <input type="checkbox"/> BSL3 (様式 2 を添付する。) ※2 <input type="checkbox"/> 有害物質投与動物実験 (様式 2 を添付する。) <input type="checkbox"/> 放射性同位元素・放射線使用動物実験 <input type="checkbox"/> イヌ・ネコ・サル使用実験
委員の意見	
	動物実験委員会委員長確認
学長承認欄	承認日: 年 月 日 承認番号: 第 号 筑波大学長

(注) 太枠内のみ記入して下さい。

令和4年度 動物実験計画書

受付 No.

筑波大学長 殿

申請日 年 月 日

動物実験責任者	所 属	医学医療系		職 名	准教授	
	氏 名	水野 聖哉		印又は署名	動物実験に関する全学講習会の受講	<input checked="" type="checkbox"/> 有
	連絡先	TEL: 029-853-3393		e-mail:konezumi@md.tsukuba.ac.jp		
研究課題名	<input checked="" type="checkbox"/> 開示可 <input type="checkbox"/> 開示不可 (理由)			<input type="checkbox"/> 新規 <input checked="" type="checkbox"/> 繼続		
	実験動物科学実習「動物実験の基本技術の習得」(フロンティア医科学)					
実験期間	承認の日 ~ 2022年 6月 24日			(対象となる実験予定期間: 2022年6月1日~2023年5月31日)		
飼養保管施設	<input checked="" type="checkbox"/> 生命科学動物資源センター A,B棟					
動物実験室	(飼養保管施設に併設した動物実験室以外を使用する場合に記入。)					
動物実験実施者	氏 名	所属系・職名 (学生は所属・年次)	全学講習会の受講	氏 名	所属系・職名 (学生は所属・年次)	全学講習会の受講
	杉山文博	医学医療系・教授	有	大徳陽子	同上	有
	村田知弥	医学医療系・助教	有	加藤花名子	同上	有
	長谷川賀一	生命科学動物資源センター・職員	有	履修学生	フロンティア医学・1年及び2年	有
	古矢恵子	同上	有			
	谷本陽子	同上	有			
代替法の検討	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 代替法がない <input type="checkbox"/> 2. 代替法の精度が不十分 <input type="checkbox"/> 3. その他 ()					
予想される苦痛の程度	<input type="checkbox"/> A <input checked="" type="checkbox"/> B <input type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/> E		※ 別表1 動物実験の倫理カテゴリーを参照。			
実験動物	動物の種類	系 統	性 别	匹 数	微生物学的品質 (導入時の品質を記入)	入 手 先
	マウス ラット	ICR Wister-Imamichi hi	オス・メス オス・メス	60 25	<input checked="" type="checkbox"/> SPF <input type="checkbox"/> コンベントショナル <input type="checkbox"/> その他 ()	<input checked="" type="checkbox"/> 動物生産業者 <input type="checkbox"/> 大学 <input type="checkbox"/> 研究所 <input type="checkbox"/> その他 ()
研究目的と意義、実験の必要性	<input checked="" type="checkbox"/> 開示可 <input type="checkbox"/> 開示不可 (理由) ※ 直接的な目的だけでなく、その動物実験が必要な理由、他の方法で代替できない理由、その動物実験の科学的・社会的意義等について具体的に記載する。					
	医学・生命科学の研究に必要な動物実験の基本技術を習得するため、マウス及びラットの取り扱い方法、注射法、麻酔法、採血法、安樂死法、組織採取法、胚操作法などの実習を行う。 (3コマ×2日の実習) 研究者や高度技術者の養成を目的とする大学院教育に不可欠である。					

実験内容	<p><input checked="" type="checkbox"/> 開示可 <input type="checkbox"/> 開示不可 (理由)</p> <p>※ 実験群、使用匹数及びその算出根拠、動物に加える処置の内容及び期間、使用機器等を具体的に記入するとともに、実験方法に科学的な妥当性があることを記載する。</p> <p>1) ラットを用いて、取扱法（保定法）、個体識別、生理食塩水の注射を行った後、麻酔、採血、安楽死させ、剖検、組織採取を、実習として行う。ラットを1匹／1名として使用。他にデモンストレーション及び予備として5匹を使用する。</p> <p>2) マウスを用いて、安楽死させたマウスより卵子及び精子を採取し、体外授精や胚操作を実習として行う。マウスを2.5匹／1名として使用。他にデモンストレーション及び予備として20匹を使用する。</p> <p>実習は、1グループ5名として、1グループに1名以上の指導者（教員、技官、TAなど）を充てる。</p>
苦痛軽減法 (麻酔法等)	<p>※ 実験処置により予想される障害、症状、苦痛の程度及びその軽減方法について記載。特に、苦痛の程度が高い場合には、人道的エンドポイントを設定し、記載する。（例：全身症状の悪化や腫瘍サイズの増加（体重の10%まで）が見られる場合には、実験を終了し、安楽死させる。）</p> <p>各処置は苦痛の程度はBに相当し、苦痛の程度は軽度である。しかし、初心者が含まれることが予想されるため、事前に指導者によるデモンストレーションやビデオで各処置の要点を説明した後に、実技指導を行う。また、各処置がスムーズにできず、動物への負担が大きいと指導者が判断した場合は、その動物を安楽死させ、予備の動物を使用する。</p> <p>麻酔の実習では、イソフルランによる吸入麻酔、3種混合麻酔薬の腹腔内投与による全身麻酔を行なう。</p>
安楽死法	<p><input type="checkbox"/> 麻酔薬（ ）の過剰投与</p> <p><input type="checkbox"/> CO₂</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 頸椎脱臼</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 全身麻酔下での全採血等</p> <p><input type="checkbox"/> その他（ ）</p>
特殊実験区分	<p><input checked="" type="checkbox"/> 特殊実験に該当しない</p> <p><input type="checkbox"/> 遺伝子組換え生物使用実験 <input type="checkbox"/> 承認済 <input type="checkbox"/> 承認申請中 ※1 <input type="checkbox"/> P1A <input type="checkbox"/> P2A <input type="checkbox"/> P3A</p> <p><input type="checkbox"/> 感染動物実験 <input type="checkbox"/> BSL1 <input type="checkbox"/> BSL2 <input type="checkbox"/> BSL3 (様式2を添付する。) ※2 <input type="checkbox"/> 有害物質投与動物実験 (様式2を添付する。)</p> <p><input type="checkbox"/> 放射性同位元素・放射線使用動物実験</p> <p><input type="checkbox"/> イヌ・ネコ・サル使用実験</p> <p>※1 遺伝子組換え生物使用実験は、別途「遺伝子組換え実験計画承認申請書」の承認申請が必要です。 ※2 感染動物実験 (BSL2, BSL3) は、別途「研究用微生物等利用・保管届出申請書」の届出又は承認申請が必要です。</p>
委員の意見	
	□□ 動物実験委員会委員長確認
学長承認欄	<p>承認日： 年 月 日 承認番号： 第 号</p> <p style="text-align: right;">筑波大学長</p>

(注) 太枠内のみ記入して下さい。

令和4年度 動物実験計画書

受付 No.

筑波大学長 殿

申請日 年 月 日

動物実験責任者	所 属	医学医療系		職 名	准教授	
	氏 名	水野 聖哉		印又は署名	動物実験に関する全学講習会の受講	<input checked="" type="checkbox"/> 有
	連絡先	TEL: 029-853-3393		e-mail:konezumi@md.tsukuba.ac.jp		
研究課題名	<input type="checkbox"/> 開示可 <input checked="" type="checkbox"/> 開示不可 (理由:研究のプライオリティ保護) <input type="checkbox"/> 新規 <input checked="" type="checkbox"/> 繼続					
	初期発生および配偶子形成における細胞接着関連遺伝子の機能解析					
実験期間	承認の日 ~ 2023年5月31日		(対象となる実験予定期間: 2022年6月1日~2023年5月31日)			
飼養保管施設	<input checked="" type="checkbox"/> 生命科学動物資源センター A,B棟					
動物実験室						(飼養保管施設に併設した動物実験室以外を使用する場合に記入。)
動物実験実施者	氏 名	所属系・職名 (学生は所属・年次)	全学講習会の受講	氏 名	所属系・職名 (学生は所属・年次)	全学講習会の受講
	杉山 文博	<input checked="" type="checkbox"/> 医学医療系・教授	有	加藤花名子	同上	有
	村田 知弥	医学医療系・助教	有	鈴木 鳩	生命システム4年	有
	谷本 陽子	動物資源センター職員	有	森本 健斗	生命システム3年	有
	石田 みゆき	同上	有	三上 夏輝	HBP・2年	有
	大徳 陽子	同上	有	NLK Chi	HBP・2年	有
	壹岐 夏海	同上	有	依馬 朋香	フロンティア・2年	有
長谷川 賀一	同上	有				
代替法の検討	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 代替法がない <input type="checkbox"/> 2. 代替法の精度が不十分 <input type="checkbox"/> 3. その他 ()					
予想される苦痛の程度	<input type="checkbox"/> A	<input type="checkbox"/> B	<input checked="" type="checkbox"/> C	※ 別表1 動物実験の倫理カテゴリーを参照。		
実験動物	動物の種類	系 統	性 别	匹 数	微生物学的品質 (導入時の品質を記入)	入 手 先
	マウス	C57BL/6 ICR 遺伝子改変マウス	オス・メス	600 (合計)	<input checked="" type="checkbox"/> SPF <input type="checkbox"/> コンベンショナル <input type="checkbox"/> その他 ()	<input checked="" type="checkbox"/> 動物生産業者 <input type="checkbox"/> 大学 <input type="checkbox"/> 研究所 <input checked="" type="checkbox"/> その他 (センター内で繁殖)
研究目的と意義、実験の必要性	<input type="checkbox"/> 開示可 <input checked="" type="checkbox"/> 開示不可 (理由:研究のプライオリティ保護) ※ 直接的な目的だけでなく、その動物実験が必要な理由、他の方法で代替できない理由、その動物実験の科学的・社会的意義等について具体的に記載する。					
	当研究室が保有する複数の細胞接着に関わる遺伝子欠損マウス系統において、配偶子形成不全や胎生致死を示す異常形質が見出された。そこで、この異常表現形質を詳細に解析し、その遺伝子機能解析を行うことを本研究の目的とする。					
	本研究を行うにあたり、上記の遺伝子欠損マウスにおける発生学的・組織学的な詳細が必要であり、動物実験は必要不可欠な手段である。					
実験内容	<input type="checkbox"/> 開示可 <input checked="" type="checkbox"/> 開示不可 (理由:研究のプライオリティ保護) ※ 実験群、使用匹数及びその算出根拠、動物に加える処置の内容及び期間、使用機器等を具体的に記入するとともに、実験方法に科学的な妥当性があることを記載する。					

	<p>1) 遺伝子改変マウスの系統維持と新規系統作製</p> <ul style="list-style-type: none"> ・野生型と遺伝子改変マウスを交配し、ヘテロ変異マウスを作製。 ・ヘテロ変異マウス同士を交配しサンプリング個体を作製。 ・<i>flox</i> マウスと <i>cre</i> マウスを交配し cKO 個体を作製。 <p>2) 胚発生の形態解析</p> <ul style="list-style-type: none"> ・妊娠マウスを全身麻酔下で放血もしくは還流固定する。 ・胎児を摘出し、遺伝子発現パターンを <i>in situ</i> で解析する。 <p>3) 配偶子形成解析</p> <ul style="list-style-type: none"> ・頸椎脱臼により安楽死させたマウスより精巣もしくは卵巣を採材する。 ・各組織を固定し免疫染色で遺伝子発現パターンを解析する。 <p>4) 卵巣移植実験</p> <ul style="list-style-type: none"> ・レシピエントとなる EGFP を全身で強発現する GRR マウス(10 週齢前後)を 3 種混合麻酔薬で麻酔する。 ・ドナーである cKO マウスは頸椎脱臼で安楽死処分し、その後に卵巣を採材する。 ・麻酔下の GRR マウスの背を消毒後に 1 cm 程度の切開し、両側の卵巣を体外に取り出し、卵巣の 1/3 ほどを切除する。 ・空いた空間に cKO の卵巣を移植後、切開部は手術用クリップで留める。 ・ドナーマウスは、麻酔から覚めるまで 37 度に設定したホットプレート上に置き保温する。 ・覚醒後は通常通り方法で 7 週間飼育する。この時、日々観察を行い、全身状態の悪化が見られた場合には安楽死処分する。 ・7 週間後に頸椎脱臼により安楽死処分した後に卵巣摘出し、卵母細胞の生存を確認する。
苦痛軽減法 (麻酔法等)	<p>※ 実験処置により予想される障害、症状、苦痛の程度及びその軽減方法について記載。</p> <p>特に、苦痛の程度が高い場合には、人道的エンドポイントを設定し、記載する。(例：全身症状の悪化や腫瘍サイズの増加(体重の 10 %まで)が見られる場合には、実験を終了し、安楽死させる。)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・3 種混合麻酔薬の腹腔内投与もしくはイソフルランの吸入により全身麻酔を行う。 ・尾部採取は幼若時に尾端部の僅かな組織の採取を行うため無麻酔下で熟練者が行う。 ・経験が浅い実施者が各実験を行う際は、経験者の指導の元で行う。 ・頻繁に動物を観察し、異常が見られた場合は、実験のエンドポイントを考慮し、安楽死を行う。
安楽死法	<input type="checkbox"/> 麻酔薬 () の過剰投与 <input checked="" type="checkbox"/> CO ₂ <input checked="" type="checkbox"/> 頸椎脱臼 <input checked="" type="checkbox"/> 全身麻酔下での全採血等 <input type="checkbox"/> その他 ()
特殊実験区分	<input type="checkbox"/> 特殊実験に該当しない <input checked="" type="checkbox"/> 遺伝子組換え生物使用実験 <input checked="" type="checkbox"/> 承認済 <input type="checkbox"/> 承認申請中 ※1 <input checked="" type="checkbox"/> P1A <input type="checkbox"/> P2A <input type="checkbox"/> P3A <input type="checkbox"/> 感染動物実験 <input type="checkbox"/> BSL1 <input type="checkbox"/> BSL2 <input checked="" type="checkbox"/> BSL3 (様式 2 を添付する。) ※2 <input type="checkbox"/> 有害物質投与動物実験 <input type="checkbox"/> 放射性同位元素・放射線使用動物実験 <input type="checkbox"/> イヌ・ネコ・サル使用実験 <p>※1 遺伝子組換え生物使用実験は、別途「遺伝子組換え実験計画承認申請書」の承認申請が必要です。 ※2 感染動物実験(BSL2, BSL3)は、別途「研究用微生物等利用・保管届出申請書」の届出又は承認申請が必要です。</p>
委員の意見	<div style="text-align: right;">動物実験委員会委員長確認</div>
学長承認欄	承認日： 年 月 日 承認番号： 第 号 筑波大学長

(注) 太枠内のみ記入して下さい。