

慶應義塾動物実験計画書

慶應義塾長 殿

受付番号: _____

実験課題名は簡潔かつ理解しやすく記入する

更新・修正の場合、旧承認番号を記入する

_____ 月 _____ 日 提出

1	実験課題名			
	区分	<input checked="" type="checkbox"/> 新規 <input type="checkbox"/> 更新※1 <input type="checkbox"/> 修正※1※2	承認番号(更新・修正) []	<input type="checkbox"/> 試験研究 <input type="checkbox"/> 教育訓練 <input type="checkbox"/> その他
	苦痛の категория	<input checked="" type="checkbox"/> B <input checked="" type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/> E	承認期限: 承認日から1年	

※1 更新・修正の場合、現行(旧)承認番号を右枠に記入 ※2 実験手技等に大幅な変更が生じた場合(修正箇所は「赤字」などでわかり易く記載すること)

2	実験担当者	氏名	慶應 太郎	所属	〇〇〇〇 学教室	登録番号	0001
		職位/身分	准教授	連絡先	×××××	経験の 有無	※3
		学部	〇〇学部	Mail	××××@keio.jp		
	部門	氏名	慶應 一郎	職位/身分	教授		
		所属	〇〇〇〇 学教室				
		所属	〇〇〇〇 学教室				
		連絡先	×××××				
		Mail	××××@keio.jp				
		氏名	三田 次郎	所属	〇〇〇〇 学教室	登録番号	0××2
		職位/身分	職員	連絡先	×××××	経験の 有無	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無
		学部	〇〇学部	Mail	××××@keio.jp		
		氏名		所属		登録番号	
		職位/身分		連絡先		経験の 有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
		学部		Mail			
		氏名		所属		登録番号	
		職位/身分		連絡先		経験の 有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
		学部		Mail			
		氏名		所属		登録番号	
		職位/身分		連絡先		経験の 有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
		学部		Mail			
		氏名		所属		登録番号	
		職位/身分		連絡先		経験の 有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
		学部		Mail			
		氏名		所属		登録番号	
		職位/身分		連絡先		経験の 有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
		学部		Mail			

「9. 想定される苦痛の категория」の欄を参照し、想定されるすべての categoria に「■」する

当該動物種を用いた動物実験の経験の有無を記入する

動物実験委員会が行う講習会を受講し、動物実験実施者として登録番号を取得した者でなければならない
番号の記載がない者、誤っている者は登録致しません

複数のキャンパスで実験を行う場合、それぞれのキャンパスにおける主たる従事者に「○」を付ける
研究組織が複雑になる場合は、必要に応じて、各キャンパスにおける部門責任者を追加し、「13. その他参考事項」
の欄にその旨を記入する

「実験従事者」記載欄が足りないときは5枚目に記入

※3 当該動物を用いた動物実験の経験の有無を記入する ※4 実験責任者は主たる実験従事者となるのでここには記載しない。動物実験講習会を受講し動物実験実施者として登録番号を取得した者でなければならない。(番号の記載がない者は登録致しません) 複数のキャンパスで実験を行う場合、それぞれのキャンパスにおける主たる従事者に「○」を付けること。必要に応じて、各キャンパスにおける部門責任者を追加し、13 その他参考事項の欄にその旨を記入すること

委員会 記入欄	修正意見等		
	審査結果	<input type="checkbox"/> 本実験計画は慶應義塾動物実験規程に適合する <input type="checkbox"/> 本実験計画は慶應義塾動物実験規程に適合しない	
	審査終了		

研究計画と方法

研究目的・意義・予想される成果 (できるだけ平易な用語で表現すること)

本研究の目的は、細菌の薬剤耐性機構を利用したテトラサイクリン誘導型遺伝子発現システムおよびステロイドホルモン受容体を利用したタモキシフェン誘導型リコンビナーゼ発現システムをトランスジェニック(TG)マウスに導入することである。

様々な組織特異性を持つプロモーターの下流に各 activator 遺伝子を繋いだ発現ユニットを構築し、これをマウス受精卵にマイクロインジェクションする。作製された TG マウスの中から、組織特異性が高い家系(ライン)や導入遺伝子の誘導率が高い家系を選び系統化する。このように誘導可能な発現系を有するマウス群を作製することは、マウスに導入した遺伝子を任意の時間や組織で発現させることを可能とし、より精度の高い実験系を確立することが可能となる。

実験方法 (概要と実験処置を箇条書き、図、フローなどで判りやすく説明すること。外科的処置を行う場合は、使用動物数、麻酔薬名、投与経路、用量、手術時間、麻酔から覚醒させる存命手術かどうか、など具体的に記述すること。各実験処置について予想される苦痛度を記入すること)

概要:

1. 過剰排卵させた雌マウスを雄と交配し、交尾した雌マウスを頸椎脱臼により安楽死させ、輸卵管内の受精卵を採取する。
2. この受精卵に DNA 溶液をマイクロインジェクションする。
3. 注入された受精卵を偽妊娠雌マウスの輸卵管内へ移植する。偽妊娠雌マウスは精管結紮した雄マウスと交配することによって作出する。
4. 生まれたファウンダーマウスは 4 週齢目にエーテル麻酔下で耳パンチによる標識と尻尾(2mm)のバイオプシーを行う。
5. 導入遺伝子が検出されたマウスは交配し子マウスを得る。
6. 子マウスは頸椎脱臼による安楽死後、全身の臓器を回収し遺伝子の発現状態を検討する。

3

実験処置

1. 外科手術

(1) 精管結紮手術(動物種③雄 20) (苦痛度 C)

- ① Avertin(2, 2, 2, トリプロモエチルアルコールとして 450mg/kg)0. 6ml を腹腔内注射し麻酔する。
- ② 十分麻酔が効いていることを確認後、腹側中央部の皮膚および腹壁を切開し、精巣を引き出し両側の精管を結紮する。精巣を腹腔内に戻し、皮膚および筋層を縫合糸(絹糸)で縫合する。
- ③ 手術時間は 20 分程度である。

(2) 輸卵管内移植手術(動物種③雌 80 匹) (苦痛度 C)

- ① 同様に Avertin で麻酔する。
- ② 背部皮膚および筋層を切開し、卵巣を引き出し、輸卵管の膨大部に、受精卵を吸い込んだガラスキャピラリーを挿入し、移植する。卵巣を腹腔内に戻し、皮膚および筋層を縫合糸(絹糸)で縫合する。
- ③ 手術時間は 20 分程度である。

2. 過剰排卵処置(腹腔内投与) (苦痛度 B)

- (1) 過剰排卵は PMSG(妊馬血清性腺刺激ホルモン)5 単位/マウス(0. 05ml)を腹腔内投与し、48 時間後に hCG(胎盤性性腺刺激ホルモン)5 単位/マウス(0. 05ml)を腹腔内投与し、直後に B6 の雄と交配する。翌日交尾したマウスを陰栓によって確認する。

動物種①:マウス B6C3F1 ♀(100 匹)はマイクロインジェクション用の受精卵を採取するために用いる。

動物種②:マウス C57BL/6 ♂(20 匹)は動物種①との交配用である。

動物種③:マウス ICR ♂/ ♀は雄には精管結紮手術(20 匹)を、雌には受精卵の輸卵管内移植手術(80 匹)を行う他、一部は繁殖用に用いる。

動物種④:作製されたマウスで、TG マウスと確認されたものは繁殖に用い、子マウスは臓器採取のため安楽死される。

この方法は「マウス胚の操作マニュアル」(近代出版)に記述されている、一般的に認められた方法である。

動物にどのような処置を加えるかについて、箇条書き、フロー、図 などを用いて簡潔かつ具体的に記述する

外科的処置を行う場合は、使用数、麻酔薬名、投与経路、用量、体積(volume)、手術時間、麻酔から覚醒させる実験かどうか、など具体的に記述する

安楽死した動物から材料を採取する場合は、その旨を簡潔に記載し、採取後の実験については概要のみを記入する

投薬を行う場合は、投与動物数、薬剤名、投与経路、用量、体積(volume)、投薬計画(時期と回数など)を具体的に記述する

放射線照射を行う場合、照射動物数、照射線量、照射計画、無処置対照群の有無など具体的に記述する

各処置ごとに苦痛度を自己評価し記入する

※ 該当する項目の「□」をすべて「■」にし、「___匹」には使用数を記入すること

使用動物	①	②	③	④
動物種	マウス	マウス	マウス	マウス
系統名等	B6C3F1	C57BL/6	ICR	※下記備考を参照
微生物学的品質		SPF	SPF	SPF
入手先 機関名で記載		日本クレア	オリエンタル酵母	自家繁殖(作出)
性別	♀	♂	♂/♀	♂/♀
年間使用数	100	20	100	200
飼養保管場所 登録番号で記載	医-01	医-01	医-01	医-01
実験場所	×××	医-01	RSP1S1	RSP1S1
備考	簡潔に記入すること。複数系統に同じ処置を施すような場合、処置群ごとにまとめ、系統名等は「備考」あるいは「項目3」に記入する(使用動物④を参照) 使用匹数は「6. 外科的処置」および「9. 想定される苦痛のカテゴリー」と整合性をとる 「飼養保管場所」は登録番号で記入する			MHC-GFP , PO-Cre

※ 「飼養保管場所」は登録番号で記入する

		使用動物			
動物実験を必要とする理論的根拠及び使用数算定根拠		①	②	③	④
1) in vitro ではなく、動物学的過程を検索する		■	■	■	■
2) 動物実験を必要とする理論的根拠および使用動物数算定根拠には、該当する項目を「■」にする		■	■	■	■
3) 動物実験を必要とする理論的根拠および使用動物数算定根拠には、該当する項目を「■」にする		■	■	■	■
4) 認知された動物モデルであり 膨大なデータが蓄積されている		■	■	■	■
① 深麻酔下で処置し覚醒させずに安楽死させる実験		■	■	■	■
② 覚醒させる実験(通常の外科手術)		■	■	■	■
③ これらを組み合わせたり繰り返し手術する実験		■	■	■	■
の3類型に分け記入し、類型毎に用いる動物の匹数を記入する		■	■	■	■
8) その他(具体的な内容)		□	□	□	□

外科的処置		■ 外科的処置を行う		□ 外科的処置を行わない → 7へ		①	②	③	④
1) 外科的処置後、処置が終了した時点で、麻酔下で動物は安楽死される		□	□	□	□	□	□	□	□
注: 安楽死した動物からの臓器摘出は外科的処置ではない		___匹	___匹	___匹	___匹	___匹	___匹	___匹	___匹
2) 外科的処置後、動物を生存させる		□	□	■	□	□	■	□	□
注: すべての動物に対して無菌的な手技を用いなければならない		___匹	___匹	100匹	___匹	___匹	___匹	___匹	___匹
3) 同一の動物に対して2回以上外科的処置を繰り返す		□	□	□	□	□	□	□	□
理由;		___匹	___匹	___匹	___匹	___匹	___匹	___匹	___匹
麻酔薬名; Avertin(トリプロモエチルアルコール)	投与量; 450mg/kg	投与経路; 腹腔内注射							
処置後動物の管理	■ 頻回の観察	■ 保温	□ 補液	□ 特別食の給餌	□ 栄養剤の投与				
2),3)の場合に記入	□ 鎮痛薬投与 薬品名;	□ 抗生物質投与 薬品名;							
	□ その他(具体的に);	外科処置以外の処置には、必要事項を記入する							

外科的処置以外の処置		①	②	③	④
1) 安楽死した動物からの臓器摘出	摘出臓器名; 輸卵管(受精卵)、脳、心、胚、肝、腎、精巣、卵巣	■	□	□	■
2) 組織または細胞の移植	種類;	□	□	□	□
3) 採血、耳パンチなどの簡単な処置	□ 採血 ■ 耳パンチ □ その他(具体的に);	■	■	■	■
4) 薬剤の投与	薬品名; PMSG, hCG	■	□	□	□
	投与量/体積; 5IU/0.05ml				
	組織刺激性; □有 ■無				
	毒性/発ガン性; □有 ■無				
	投与経路; 腹腔内注射				
5) その他の非外科的処置	内容;	□	□	□	□

※ 該当する項目の「□」をすべて「■」にし、「_」匹には使用数を記入すること

		使用動物			
		①	②	③	④
8	危険物を用いる動物実験	<input checked="" type="checkbox"/> 該当する		<input type="checkbox"/> 該当しない→ 9へ	
	1) 遺伝子組換え実験	申請: <input checked="" type="checkbox"/> 済み <input type="checkbox"/> 予定 (コピーを添付すること)			
	承認番号: ○○-△△-××	申請日: 2010/4/20			
	動物使用実験: <input checked="" type="checkbox"/> 作成 <input type="checkbox"/> 接種	拡散防止措置の区分: <input type="checkbox"/> P1A <input type="checkbox"/> P2A			
	2) 人工ヌクレアーゼを用いたゲノム編集動物				
	3) 感染実験	申請: <input type="checkbox"/> 済み <input type="checkbox"/> 予定 (コピーを添付すること)			
安全度区分: <input type="checkbox"/> BSL1 <input type="checkbox"/> BSL2 <input type="checkbox"/> BSL3	申請日:				
微生物名;					
4) 放射性同位元素	核種;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5) 放射線使用実験	線種;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6) 化学発癌・重金属使用実験	種類;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

危険物を用いる動物実験では、それぞれのキャンパスにおいて該当する安全委員会の承認を得ること
当該委員会へ申請中(予定)の場合は申請書のコピーを添付する

想定される苦痛の 카테고리には、資料を参照し、計画中の処置により動物が受ける苦痛の程度を自己評価する

想定される苦痛の 카테고리		慶應義塾動物実験規程および関連法規集を参照すること			
		①	②	③	④
9	B 動物に対してほとんど、あるいはまったく不快感を与えないと思われる実験 (保定、注射、採血、標準的な安楽死法など)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
		100匹	20匹	_匹	200匹
	C 動物に対して軽いストレスまたは痛み(短時間持続するもの)を伴うと思われる実験 (カテーテルの挿入、アジュバントを用いた免疫、簡単な手術など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		_匹	_匹	100匹	_匹
D 回避できない重度のストレスまたは痛み(長時間持続するもの)を伴うと思われる実験 (手術後に著しい不快感を伴うもの、長時間の拘束、動物を凶暴にする処置、動物を死に至らしめる毒性試験、放射線障害、ストレスやショックの研究など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	_匹	_匹	_匹	_匹	
E 無麻酔下の意識のある動物に耐え得る限界に近い、またはそれ以上の痛みを与えられると思われる実験 (筋弛緩薬の投与のみによる外科的処置や重度の火傷・外傷、ストリキニーネあるいはストレスを与えて動物を殺すことなど)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	_匹	_匹	_匹	_匹	

動物の苦痛軽減、排除の方法		①	②	③	④
10	1) 短時間の保定・拘束及び注射など軽微な苦痛の範囲であり、特に処置を講ずる必要はない	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	2) 科学上の目的を損なわない苦痛軽減方法は存在せず、処置できない	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	3) 麻酔薬・鎮痛薬等を使用する 薬品名: Avertin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	経路: 腹腔内注射 投与量: 450mg/kg				
	4) 動物が耐えがたい痛みを伴う場合、適切な時期に安楽死措置をとるなど人道的エンドポイントを考慮する	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5) その他 具体的に;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

安楽死法		動物死体の処理方法		
11	<input type="checkbox"/> 麻酔薬等の使用 薬品名;	12	<input checked="" type="checkbox"/> 動物実験センターに委託	
	経路;		投与量;	<input type="checkbox"/> 外部業者に委託
	<input checked="" type="checkbox"/> 炭酸ガス		<input type="checkbox"/> その他;	<input type="checkbox"/> その他;
	<input checked="" type="checkbox"/> 頸椎脱臼(中枢破壊)			

13	その他参考事項	過去の動物実験計画書承認実績、学内関連委員会への申請状況、飼養保管施設・動物実験室の承認状況、研究グループの組織などを記入する
	過去の動物実験計画書承認実績、学内関連委員会への申請状況、承認状況などを記入する	

※ 1枚目に記載出来ない実験従事者はこちらに記入

実験従事者の追加記載					
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			
氏名	氏名	所属	登録番号		
	職位/身分	連絡先	経験の有無	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
	学部	Mail			

1ページ目に記載できない「実験従事者」がある場合、こちらに記入
 義塾動物実験委員会が行う講習会を受講し、動物実験実施者として登録番号を取得した者でなければならない

2 実験従事者※4