

## 동물실험계획 승인신청서

접수일자 : . . .

연구 과제명	(국문) 광학이미징 및 융합기술 개발을 통한 척수 부분손상과 회복기전 연구			
	(영문) Investigating physiological mechanisms underlying incomplete spinal cord injury and recovery by developing optical imaging and fusion techniques			
연구 책임자	성 명	정웅규	직 위	부교수
	소 속	UNIST / 바이오메디컬 공학과		
	연락처	C.P)052-217-2542 TEL)010-8464-0110	E-mail	wgjung@unist.ac.kr
	동물실험윤리교육 이수번호		K-2021-46434636	

\* 동물실험계획 심의 후 승인 된 건에 한해서만 승인번호를 부여합니다. \*

### [ 윤리적 동물실험 방법의 준수 ]

- 본인은 UNIST 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee) 규정 및 동물실험 관련 법규를 준수할 것을 약속합니다.
- 본인은 제출한 계획서의 실험 방법을 준수할 것이며 방법 또는 실험동물 마리 수 등 계획을 변경할 경우 변경신청서를 통해 동물실험윤리위원회에 이를 알리고 동의를 얻을 것입니다.
- 본인은 동물이 참을 수 없는 고통을 호소하거나 질병에 이환되었을 때 안락사를 포함한 수의사의 응급조치가 이루어지는 것에 동의합니다(응급조치 전에 수의사의 지시가 있을 것입니다).
- 생체효능검증실 시설을 이용하여 동물실험에 참여하는 경우, 해당 하는 모든 연구자는 생체효능검증실 이용자 교육과 동물실험윤리 교육을 이수하였습니다.
- 본 계획서와 연관이 있는 논문 발표 후 해당 논문에 대한 정보를 위원회에 제공할 것입니다.
- 과제 승인 기간은 최대 1년임을 확인하였으며, 1년이 초과할 경우 기간 만료 전 재승인(연장)신청을 통해 동물실험윤리위원회에 이를 알리고 동의를 얻을 것입니다.

계획서에 기재된 사항들은 정확하며 위 사실의 위반 시 동물실험 및 동물실험시설의 이용 제한을 포함한 불이익을 감수할 것을 아래와 같이 서약합니다.

2023 년 07 월 15 일

연구책임자 \_\_\_\_\_ 정웅규 (사인)





## 1. 실험 수행 기본 정보 (Information of Investigators)

1-1. 동물실험 수행자에 대한 정보를 기입하여 주십시오.

성명 (Name)	소속 (Department)	직급 (Position)	연락처(Contact) (Cell-phone#)	동물실험윤리교육 이수번호	연구자의 역할 (Role) (담당연구자/참여연구자)
정웅규	바이오메디컬공학과	부교수	010-8464-0110	K-2021-46434636	수술 (연구책임자)
이은지	바이오메디컬공학과	대학원생	010-3958-4420	BIC Study-202112-217 4	수술,조직채취,안락사 (관리담당연구자)
김명주	바이오메디컬공학과	대학원생	010-9380-8427	BIC Study-202303-572	수술,조직채취,안락사 (참여연구자)
백연우	바이오메디컬공학과	연구원	010-5916-1388	BIC Study-202303-524	수술,조직채취,안락 사 (참여연구자)

\* 동물실험을 수행할 모든 연구자를 기입하기 바라며, 각 연구자가 실험 중 어떤 역할을 하는지 기입해 주십시오.

연구책임자가 직접 동물실험을 수행할 경우 아래와 같이 위 란에 해당 정보를 기입하여 주시기 바랍니다.

\* 관리담당연구자는 동물실험윤리위원회(IACUC) 및 생체효능검증실과 연락 및 관련 업무 관리를 담당해야 합니다.  
반드시 한 명 이상 지정해야 합니다.

1-2. 실험수행 기간

동물실험윤리위원회 승인일 ~ 2024년 5 월 15 일 까지 / 총 ( 2 )년 중 ( 2 )년째

\* 1회 과제 승인 기간은 최대 1년이며, 1년을 초과하여 실험이 진행 될 경우, 반드시 기간 만료 전 재승인(연장) 신청이 이루어  
져야 합니다.

\* 재승인 신청은 최대 2회(총 연구기간 3년)까지 가능합니다.

## 2. 동물실험의 범주 및 종류 (Grade and Procedure of Study)

## 2-1. 동물실험의 범주를 선택하여 주십시오. (Level of Pain)

	Grade A: 죽은 생물체를 이용하는 실험 또는 식물, 세균, 원충 또는 무척추동물을 이용한 교육 또는 연구
	Grade B: 척추동물을 사용하지만 거의 스트레스를 주지 않는 교육 또는 연구
	Grade C: 척추동물을 대상으로 단시간의 경미한 통증 또는 스트레스가 가해지는 교육 또는 연구
V	Grade D: 척추동물을 대상으로 중등도 이상의 고통이나 억압을 동반하는 교육 또는 연구
	Grade E: 척추동물을 대상으로 극심한 고통이나 억압 또는 회피할 수 없는 스트레스를 동반하는 교육 또는 연구

## 2-2. 동물실험의 종류를 선택하여 주십시오. (V) (Select Procedure)

	시료의 투여 및 접종 (Material injection or inoculation)	V	재료 및 시료의 채취 (Sampling)		유전 및 육종 (Genetics or Breeding)
V	외과적 처치 (Surgical procedure)		방사선 조사 (Irradiation)		감염 (Infection)
V	생리적 상태 및 행동 관찰 (Observation of physical status or behavior)		발암 (Carcinogenesis)		기타 (Other)

## 3. 실험동물 (Laboratory Animals)

- \* 생체효능검증실험로 동물을 반입할 경우, 지정된 동물생산회사에서는 신청 후 다음 주에 반입 가능합니다.  
(대한바이오파마, 오리엔트바이오, 중앙실험동물)
- \* 지정되지 않은 동물생산회사 및 연구협력기관(국내외)으로부터의 동물 반입을 원하실 경우 health report(최근 18개월 분량), SPF certification을 사전에 제출하셔야 합니다.

구분	1	2	3
품종(Species)	mouse	mouse	Rat
계통명(Strain)	C57BL/6	C57BL/6	SD
유전자형 (Genotype_)	Wild( V ) GEM( )	Wild( V ) GEM( )	Wild( V ) GEM( )
성별(Sex)	M	M	M



일령, 주령(Age)	15wks		8wks		6wks	
체중(Weight)	20~23g		18~20g		200g	
수량(Numbers)	70		49		21	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	Hyochang Science (Daehan Biolink)		Orient Yeungnam branch (Orient)			

\* 필요한 경우 동물정보 입력 칸은 추가하여 입력가능 하며, 추가하실 경우 위 표를 [복사]해서 이 줄에 [붙여넣기]하시면 됩니다.

#### 4. 동물실험 대체법과 불필요한 동물실험의 금지 (Alternatives and Rationale for Animal use)

\* 가능하면 동물실험을 줄이기 위한 노력을 확인하고자 합니다.

4-1. 동물실험의 타당성을 확인하기 위한 것입니다. 다음 사항을 기술하여 주십시오.

(To verify the validity of animal experiments. Please describe the followings.)

정보 확인처 또는 데이터 베이스(Data References):

1. A spinal cord Window Chamber Model for In Vivo Longitudinal Multimodal Optical and Acoustic Imaging in a Murine Model(2013)
2. Implanting Glass Spinal Cord Windows in Adult Mice with Experimental Autoimmune Encephalomyelitis(2013)
3. Long-term imaging of dorsal root ganglia in awake behaving mice(2019)
4. Laminectomy and Spinal Cord Window Implantation in the Mouse(2019)
5. A Novel Cervical Spinal Window Preparation Allows for two-photon Imaging of t-Cell Interactions with the Cervical Spinal Cord Microvasculature during experimental Autoimmune encephalomyelitis(2017)
6. Chronic in vivo imaging in the mouse spinal cord using an implanted chamber(2011)
7. Serial optical coherence microscopy for label-free volumetric histopathology(2020)

동물 종 선택의 적절성(Appropriateness of the selected species):

C57BL/6 성격이 온순하며 척수 및 브레인 실험에서 가장 일반적으로 사용하고 있음.

사용동물 수에 대한 적절성(Appropriateness of the number of animals):

\* ischemia model (MCAO)

: Middle cerebral artery 를 occlusion 할 때 동일한 혈류량을 떨어뜨려 모델을 만드는데 이때 성공율이 약 80 % 정도되며, mortality도 약 10% 된다. 따라서 수식은 목표수/0.9(생존율)\*0.8(모델형성율) 이다.

$$N=5(\text{목표수}) / \{0.9(\text{생존율}) \times 0.8(\text{모델형성율})\} = 6.94\text{마리}(\text{약 } 7\text{마리}), 12\text{주령}$$

N 수로 5마리를 잡은 이유는, Window 삽입시 생존율이 높지 않으며, 생존 시간에 따른 결과 관찰이 필요하기 때문에 최소한 5개의 샘플이 필요하다.

다양한 모양, 재질, 실험 방법을 시도하여 최적화된 척수 Window를 개발하고자함.

1. L2-L3 부위 관찰하는 Window, ABS-polycarbonate 사용
2. T12-L2 부위, Suture를 사용하지 않는 윈도우
3. L4 국소 부위 관찰
4. T11-13, PLA 필라멘트 사용
5. Cervical 부위 관찰, glass 사용이 없음
6. T11-T12, 나사 삽입식 윈도우
7. 자체 개발 윈도우(Thoracic 부분 관찰하고자함)
8. 자체 개발 윈도우(Lumbar 부분 관찰하고자함)
9. 국소부위 맞춤형 윈도우
10. 손상모델

총 9가지의 실험 조건을 수행  $9 \times 7 = 63$ 마리 + 한가지의 실험 조건 추가 7마리 = 70마리

\* ischemia model (MCAO)

: Middle cerebral artery 를 occlusion 할 때 동일한 혈류량을 떨어뜨려 모델을 만드는데 이때 성공율이 약 80 % 정도되며, mortality도 약 10% 된다. 따라서 수식은  $\text{목표}n\text{수} / (0.9(\text{생존율}) \times 0.8(\text{모델형성율}))$  이다.

$N = 5(\text{목표수}) / \{0.9(\text{생존율}) \times 0.8(\text{모델형성율})\} = 6.94$ 마리(약 7마리), 8주령

N 수를 5마리로 잡은 이유는 OCM, OCT 촬영시 100-200um씩 잘라서 촬영하는 그 과정에서 샘플의 손실이 크고 이에 한 장의 누락이 있을 때 다시 새로운 샘플로 다시 잘라서 촬영하기 때문에 최소한 5개의 샘플이 필요하다. 그리고 조직병리, 생화학적 실험 등에서는 통계를 추산하기 위해 N수가 5이상 필요하다.

800nm OCM	7
800nm Serial OCM	7
1300nm ss-OCT	7
Circular scanning OCT	7
H&E staining	7
Luxol Fast Blue staining	7
Biochemical assay	7


$7 \times 7 = 49$

총 49마리

## 5. 실험동물의 사육관리 (Husbandry Management)

- \* 생체효능검증실 이용자 교육을 이수하지 않은 연구자는 생체효능검증실에 출입할 수 없습니다.
- \* 생체효능검증실에서 사육되는 실험동물은 수의사와 실험동물 기술사에 의해 사육관리가 수행됩니다.
- \* 생체효능검증실에서는 정기적으로 미생물 모니터링과 환경모니터링을 실시합니다.

### 5-1. 실험동물 사육장소 (V) (Housing Zone)

 <b>울산과학기술원 동물실험윤리위원회</b> Ulsan National Institute of Science and Technology Institutional Animal Care and Use Committee		심의서식 1 (version 2.1, 2015.12)	
V	Small animals zone		Return animal zone
	BSL-2 zone	V	Others ( <u>유니스트 110동 709 의광학 연구실</u> )

\* 생체효능검증실 이외 시설에서의 사육 또는 실험 시 해당 건물명, 층·호수, 연구실 명 등을 기재하여 주시기 바랍니다.

5-2. 실험에 필요한 특수한 반입 물품 (Special Materials)	No search remarks (v)
생체효능검증센터에 반입이 필요한 장비 및 도구:	V
특정사료 공급:	V
그 외 기타:	V

\* 생체효능검증실에서 제공하는 물품 이외의 장비 및 도구를 연구자가 실험실 내로 직접 반입하고자 하는 경우, 사전에 담당자와 협의 후 멸균하여 반입

5-3. 실험동물 사육구역 이외의 장소로 실험동물 이동(Relocation)	No search remarks (v)
장소:	
110동 709	
사용장비:	
OCT, OCM	
실험내용:	
채취한 Spinal Cord를 OCT, OCM 이미지 촬영 In vivo 상태에서 window를 삽입 후 행동 경과를 관찰	

- \* 생체효능검증실 SPF 구역 내의 mouse, rat은 외부 반출 후 SPF zone으로의 재반입이 불가능합니다.
- \* 동물이 반출되는 모든 경우, 반출되기 최소 2일전에 허가를 받아야 합니다. (반출신청서 작성하여 제출)
- \* 실험동물 사육구역(4zone) 내에서 해당 구역 이외의 장소로 동물을 이동시켜 실험할 경우 장소, 이용 장비 및 연구 내용을 기재하여 주십시오. (생체효능검증실 지하층 영상분석실은 사육구역에 포함되지 않습니다.)

5-4. 사료 및 음수 제한 (실험과정 중 실험동물의 사료 및 음수 섭취를 강제적으로 제한 할 경우) (Restriction of Feed and Water)	No search remarks (v)
실험기간	V
방 법	V
1회 처치 시간	V
반복 횟수	V
제한 사유	V

5-5. 실험 기간 중 운동제한 (실험과정 중 실험동물의 운동을 강제적으로 제한할 경우) (Require of Mechanical Restraint)	No search remarks (v)
실험기간	V



방 법		V
1회 처치 시간		V
반복 횟수		V
제한 사유		V

## 6. 실험동물의 수의학적 관리 (Veterinary care)

- \* 실험과정 중 또는 종료 시에 실험동물의 고통을 줄이기 위해서 적절한 조치를 취해야 합니다.
- \* 해당 약제에 표시하여 주십시오. 기타 약제일 경우 기타 난에 기입하여 주십시오.
- \* 약품 구입시 처방전이 필요할 경우 생체효능검증실에서 발행해 드립니다.

(문의 : 생체효능검증실 수의사 이윤진, T.5214, leeyj0926@unist.ac.kr)

6-1. 실험 중 실험동물의 고통 관리(마취제/ 용량/투여방법/횟수) Pain Control (description of agent name, dose and route)		실시자 (Operator)	No search remarks (v)
진정/마취제 (Tranquilization/Anesthesia)	Isoflurane/ 2%/ 흡입식	이은지	
진통(Analgesics)			
기타방법(Others)			

6-2. 안락사 방법 (Method of Euthanasia)	Operator
CO <sub>2</sub>	이은지

- \* 일반적으로 물리적 방법(경추탈골, 단두)보다 화학적 방법(흡입약제, 주사제, CO<sub>2</sub>)을 권장합니다.
- \* 안락사에 대한 2007년 미국 수의사회 가이드라인(AVMA Guideline on Euthanasia : Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia, 2007) : <http://www.avma.org/resources/euthanasia.pdf>참고

6-3. 수술 후 관리(*생존성 수술인 경우, 약제종류/용량/투여방법/횟수 등) (Postoperative Care (Describe agent name, dose and route in the survival surgery))		실시자 (Operator)	No search remarks (v)
항생제 투여 (Antibiotics Therapy)	Ketoprophen, 1ul/g 피하주사	이은지	
진통제 투여 (Analgesics Therapy)	염산부피바카인 0.5% / 3-5ul/g	이은지	
기타 (Others)			V

6-4. 인도적인 실험 종료의 기준 (*만약 인도적인 안락사 기준이 필요 없을 시라도 그 사유에 대하여 기술해 주십시오.) (Criteria of Endpoint in Animal study (*If don't need criteria, describe what the reason))	No search remarks (v)
실험 중 임상증상의 발현 등이 관찰되거나 감염 등으로 인해 비슷한 주령의 정상동물의 체중과 비교하여 20%이상의 체중감소가 있을 시 실험을 중단하고 안락사 예정	

- \* 동물에 극도의 통증 또는 스트레스를 가하는 결과가 예상되는 경우, 적절한 중재, 인도적인 실험종료(humane

endpoint) 또는 안락사를 취하기 위한 기준을 제시하여 주십시오. (예: 통증으로 인한 사료섭취량의 감소나 정상 체중의 20% 이상 체중감소 시, 정상 체중의 10%를 초과하는 종양의 형성, 발암 실험의 경우 암 병소의 지름이 20mm이상 발생 시 등)

## 7. 생물학적 위해 물질 실험 (Animal Study using Biohazards)

- \* 안전성 관련 서류를 계획서에 첨부해 주십시오. (예: RI 동위원소의 경우 "방사성동위원소 사용허가증" 첨부, 생물학적 안전도에 대한 근거자료 및 LMO신고서류 등)
- \* Infectious agent의 경우 미국 CDC의 Biological level을 참조하시기 바랍니다. 판매처에 근거자료를 요청하시면 편리합니다.
- \* 생체효능검증실은 BSL 1~2 등급의 생물학적 위해물질을 이용한 동물실험이 가능한 시설입니다. 그 외 병원균을 이용한 실험은 생체효능검증실로 문의해 주십시오. (이용 가능 물질 : 유전자재조합지침 별표2 참고)

7-1. 실험과정 중 방사선 핵종, 생물학적 물질, 위험 화학물, 재조합 DNA 등을 투여하는 경우 (Injection of Radionuclides, Biological agents, hazardous chemicals, recombinant DNA and Others)					No search remarks (v)			
투여 물질(Agent):					V			
용량 및 횟수(Dose):								
투여 방법(Route):								
처리 방법(Disposal Method):								
위해도 유무 및 정도(Infectious potential of Biohazards):								
<table border="1"> <tr> <td>동물 → 사람 전염 가능성 (Animal to person)</td> <td>동물 → 동물 전염 가능성 (Animal to Animal)</td> </tr> <tr> <td>생물 유해 물질이 동물에서 배출될 가능성 (Excretion)</td> <td>배출 경로(Excretion route) :</td> </tr> </table>						동물 → 사람 전염 가능성 (Animal to person)	동물 → 동물 전염 가능성 (Animal to Animal)	생물 유해 물질이 동물에서 배출될 가능성 (Excretion)
동물 → 사람 전염 가능성 (Animal to person)	동물 → 동물 전염 가능성 (Animal to Animal)							
생물 유해 물질이 동물에서 배출될 가능성 (Excretion)	배출 경로(Excretion route) :							
7-2. 생물학적 안전도 (생물학적 물질을 투여하는 경우)(v) (Bio-safety Level)					No search remarks (v)			
Grade	BS- I	BS-II	BS-III	BS-IV	V			

## 8. 동물실험의 내용 (Outline of Animal Study)

- \* 실험동물에 행해지는 동물실험의 내용에 관하여 상세히 기술해 주십시오.  
특히 실험동물을 각 군으로 나눌 경우 이에 관하여 상세히 기술하십시오.
- \* **비전문가도 이해할 수 있는 용어**로 써주시고, 인간과 동물복지, 학문 및 사회발전에 미치는 영향에 대해 설명하여 주십시오.
- \* 필요한 만큼 칸을 확장하여 기술해 주십시오.
- \* 필요한 경우, 관련 서류를 첨부해 주십시오.



## 8-1. 동물실험의 목적과 예상되는 성과 (Objective and Expected Results of Animal Study)

기존 척수 연구에서는 척수 손상 이후 척수에서 일어나는 다양한 생물학적 변화에 대해서 조직학(histology) 등 전통적 실험 기법들을 사용하여 손상된 조직을 회복시키는 방향으로의 연구가 주를 이루고 있다. 하지만 현재의 기술 및 접근 방식으로는 여전히 척수 손상의 기전 및 회복 과정을 이해하는데 한계가 있으며 이로 인해 효과적인 치료방법도 매우 제한적인 실정이다. 이러한 한계를 극복하기 위해 In vivo 조건에서 척수 미세구조와 기능적 변화를 실시간 및 장기간 관찰을 위하여 바이오 영상과 3D 프린팅 기법을 활용하여 in vivo 실험용 척수 윈도우를 개발하고자 한다. 또한 OCM 및 OCT와 조직 투명화 기법을 접목하여 척수의 목표지 3차원 조직영상을 획득하여 척수 손상 및 회복 과정의 정량화를 하고자한다. 이는 척수 손상 기전 및 회복 과정의 이해를 도와 척수 관련 질병 치료의 가능성을 제시할 것이다.

## 8-2. 동물실험 계획 및 방법 (구체적인 기술)

(Schedule and Methods of Animal Study (Describe detail))

### 실험1(Window 삽입 술)

**총 실험기간 : 2022년 5월~2023년 5월1**

ischemia model (control): In vivo 상태의 척수 관찰을 위한 최적화 된 Window를 개발하고자함  
각각 n=5일 경우: 5(목표수)/{0.9(생존율)\*0.8(모델형성율)}=7마리

12주령 mouse를 3%의 isoflurane에 chamber 안에서 마취 시킨 후 마스크를 씌워 2%의 isoflurane 으로 호흡 마취를 하여 척수를 절개(절개 부위는 Thoracic, Lumbar,cervical 실험 목표에따라 변함) 후 척추 뼈를 제거, Window를 삽입( window 삽입 방법은 window 별로 상이하다.)

1. L2-L3 부위 관찰하는 Window, ABS-polycarbonate 사용
2. T12-L2 부위, Suture를 사용하지 않는 윈도우
- 3.L4 국소 부위 관찰
- 4.T11-13, PLA 필라멘트 사용
- 5.Cervical 부위 관찰, glass 사용이 없음
- 6.T11-T12, 나사 삽입식 윈도우
- 7.자체 개발 윈도우(Thoracic 부분 관찰하고자함)
- 8.자체 개발 윈도우(Lumbar 부분 관찰하고자함)
- 9.국소부위 맞춤형 윈도우
10. 손상모델

총 9가지의 모두 다른 window를 삽입 후 1.5%의 isoflurane 흡입 마취를 하며 OCT(Optical Coherence Tomography) 장비를 이용하여 염증 생성 여부 등을 관찰하며 생존 시간을 관찰. 장비 촬영 이후에는 개인 케이지 안에 넣어 관찰할 예정. 삽입 직후, 24h 경과후, 48h 경과 후 24h 마다 OCT 이미지를 찍을 예정. 9가지의 window 수술을

통해 Cervical, Thoracic, Lumbar 부위 별 최적화 된 모델을 개발하고자한다. 실험 조건 1~6에 사용되는 3D 프린팅 window는 ABS와 PLA 두가지 필라멘트로 제작할 예정. 총

mouse=9(실험조건) \*7(동물수) =63마리

오랜 생존 시간의 핵심인 실험으로 8개월 정도 생존한다 가정하에

2022 5월~2022 1월: 실험진행

2022 2월~3월: 데이터 분석 및 논문 작성

연구 과제의 명은 척수 부분손상과 회복기전 연구이지만 이 연구는 다른 연구실과의 협업 연구로 본 연구실에서는 척추의 직접적인 손상을 가하지 않을 예정이다. 각각 목적에 맞는 window를 개발

하여 타연구실에서 진행한 손상 모델에 본 연구실에 개발한 window를 삽입하여 경과를 지켜볼 것이다. 즉 추후에 손상 모델을 위하여 사용 될 예정이다.

본래 본 연구실에서는 손상을 가하지 않을 예정이었으나, 매번 타 연구실과 협업하기엔 시간과 장비 설치 공간의 제한으로 인하여 효율적인 실험을 위해 손상을 주는 것이 필요하다 판단하였다. 마스크를 통한 isoflurane 흡입 마취를 하며 Hatteras instruments회사 PCI 3000 precision cortical impactor 장치를 이용하여 척수 부분에 국소적인 손상을 줄 예정이다. window 개발이 성공적으로 이뤄졌다고 가정하 하에 그 외 실험 방법은 동일하며 , 7번 thoracic 윈도우 삽입 전 impactor를 이용하여 손상을 준 후 손상의 회복과정을 oct로 촬영하고자 한다. 즉 손상모델을 위하여

조건 10. 손상모델 추가, 기존 63마리에서 70마리의 동물 수가 필요할 것이다.

손상 후에는 기존 실험 방법과 마찬가지로 24h 경과 후, 48h 경과 후 24h 마다 OCT 이미지를 찍을 예정이다.

추가로

mouse에 맞추어 window를 개발 한 후, 이 자체 개발한 window가 Rat도 적용 될수 있음을 보여주기 위해 Rat을 추가하였음. mouse와 실험 내용은 동일하나 척추 손상은 가하지않을것이며 본 실험실에서 개발한 window만 적용 할 것 이기에 7,8,9 총 3 종류의 window만 Rat에 삽입할 예정. 총 3가지 실험 조건을 수행  $3 \times 7 = 21$ 마리

window 수술 시 발생하는 출혈을 최소화 하기 위해 cutanplast 지혈솜을 이용하여 출혈을 최소화한다.

## 실험2

총 실험기간 : 2022년 11월~2023년 5월  
2022년 10월~ 2023년 3월: 4 9 마리( 주마다 2마리씩 24주동안)

Ischemia model(control): OCT, OCM 영상 및 조직 변화(H&E 및 LFB stain)을 알아봄

각각  $n=5$ 일 경우:  $5(\text{목표수}) / \{0.9(\text{생존율}) \times 0.8(\text{모델형성율})\} = 7\text{마리}(8\text{주령})$

800nm OCM	7
800nm Serial OCM	7
1300nm ss-OCT	7
Circular scanning OCT	7
H&E staining	7
Luxol Fast Blue staining	7
Biochemical assay	7

척수를 mouse에서 채취 후 vibratome을 이용하여 100~300um로 sectioning 위의 장치들을 이용하여 Lumbar, Thoracic, Cervial 부위 별 이미징 후 결과 값을 비교

800nm serial OCM은 척수 전체를 200um로 연속해서 sectioning 하며 이미징. Circular scanning OCT의 결과값과 합쳐 척수의 3차원 조직 영상을 획득하고 인공 지능 모델을 이용하여 척수의 Gray,white Matter 부분의 부피변화를 정량화 할 예정

mouse=9(실험조건) \*7(동물수) =63마리

2023년 4-5월: 데이터 분석 및 논문 작성

