

## 동물실험계획 승인신청서

접수일자 : . . .

연구 과제명	(국문) In-vivo 마우스 뇌 및 망막 이미징			
	(영문) In-vivo mouse brain and retina imaging			
연구 책임자	성 명	박정훈	직 위	부교수
	소 속	UNIST / 바이오메디컬공학과		
	연락처	052-217-2556	E-mail	jh.park@unist.ac.kr
	동물실험윤리교육 이수번호		BIC Study-202112-2232	

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

### [ 윤리적 동물실험 방법의 준수 ]

1. 본인은 UNIST 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee) 규정 및 동물실험 관련 법규를 준수할 것을 약속합니다.
2. 본인은 제출한 계획서의 실험 방법을 준수할 것이며 방법 또는 실험동물 마리 수 등 계획을 변경할 경우 변경신청서를 통해 동물실험윤리위원회에 이를 알리고 동의를 얻을 것입니다.
3. 본인은 동물이 참을 수 없는 고통을 호소하거나 질병에 이환되었을 때 안락사를 포함한 수의사의 응급조치가 이루어지는 것에 동의합니다(응급조치 전에 수의사의 지시가 있을 것입니다).
4. 생체효능검증실 시설을 이용하여 동물실험에 참여하는 경우, 해당 하는 모든 연구자는 생체효능검증실 이용자 교육과 동물실험윤리 교육을 이수하였습니다.
5. 본 계획서와 연관이 있는 논문 발표 후 해당 논문에 대한 정보를 위원회에 제공할 것입니다.
6. 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 7 월 14 일

연구책임자

박정훈

(서명 또는 인)



## 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)
박정훈	바이오메디컬공학	부교수	010-9240-3942	BIC Study -202112-2232	수술 <b>(연구책임자)</b>
이승훈	바이오메디컬공학	연구원	010-2553-4428	BIC Study-202106-123 2	수술,조직채취,안락사 <b>(관리담당연구자)</b>
남기범	바이오메디컬공학	대학원생	010-7724-1724	BIC Study-2019-523	수술,조직채취,안락사 <b>(참여연구자)</b>
김정모	생명과학	연구원	010-9327-6306	BIC Study -202206-1340	수술,조직채취,안락사 <b>(참여연구자)</b>

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

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

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

### 1-2. 실험수행 기간

동물실험윤리위원회 승인일 ~ 2024 년 9 월 11 일 까지 / 총 ( 1 )년 중 ( 1 )년째

\* **1회 과제 승인 기간은 최대 1년**이며, 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)

V	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)
	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.  
(대한바이오텍, 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)	마우스 Mus musculus	마우스 Mus musculus	마우스 Mus musculus
계통명(Strain)	C57BL/6J	B6D2-Tg	Tg(Thy1-jRGECO1a)GP8.31Dki m/J
유전자형 (Genotype_)	Wild( V ) GEM( )	Wild(TUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY 3 0 ) GEM( V )	Wild( ) GEM( V )
성별(Sex)	M, F	M, F	M, F
일령, 주령(Age)	8wks - 12wks	8wks - 12wks	8wks - 12wks
체중(Weight)	20~25g	20~25g	20~25g
수량(Numbers)	32 (M16/F16)	32 (M16/F16)	32 (M16/F16)
미생물 성상 (Microbiological status)			
	SPF	SPF	SPF
공급처(시설명) Source(vender)	Hyochang Science (Daehan Biolink)	자체생산(origin: 일본 RIKEN, SaeronBio 수입 대행)	자체생산(origin: 오리엔트바이오(주) 수입대행 Jackson Laborat ory)
		Numbers of breeding Cage	Numbers of breeding Cage
		1	1



		Males	1	Males	1
		Females	2	Females	2

구분	4		
품종(Species)	마우스 Mus musculus		
계통명(Strain)	B6.129P2(Cg)-Cx3cr1tm1Litt/J		
유전자형 (Genotype_)	Wild( ) GEM( V )		
성별(Sex)	M, F		
일령, 주령(Age)	8wks - 12wks		
체중(Weight)	20~25g		
수량(Numbers)	32 (M16/F16)		
미생물 성상 (Microbiological status)	SPF		
공급처(시설명) Source(vender)	자체생산(origin: Jackson Laboratory) Numbers of breeding Cage: 1 Males: 1 Females: 2		

#### 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):

Light: Science & Applications 7.2 (2018): 17153.  
[https://knowledge.brc.riken.jp/resource/animal/card?brc\\_no=RBRC03743&\\_lang\\_=en;](https://knowledge.brc.riken.jp/resource/animal/card?brc_no=RBRC03743&_lang_=en;)  
<https://www.jax.org/strain/030526>  
<https://www.jax.org/strain/005582>

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

C57BL/6J 마우스는 성격이 온순하며, in-vivo 영상을 위해 가장 일반적으로 사용하고 있음. 2018년 HUST(Huazhong University of Science and Technology)의 Dan Zhu 그룹에서는 C57BL/6J 마우스를 이용하여 뇌혈관을 촬영함.  
B6D2-Tg마우스는 세포 내 mitochondria에서 DsRed 형광을 발현하므로, DsRed형광을 이용하여 뇌세포와

망막세포를 고 대비(high-contrast) 영상화 하기에 용이함  
 Tg(Thy1-jRGECO1a)GP8.31Dkim/J는 신경세포 내의 칼슘에서 형광을 발현하므로, 뇌세포와 시신경 활성화를 영상화하기에 용이함  
 B6.129P2(Cg)-Cx3cr1tm1Litt/J는 면역세포에서 형광을 발현하므로, optical clearing 및 감염에 대한 영향을 관찰하기 용이함

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

In-vivo 마우스 뇌 및 망막 이미징을 위하여 각 영상 시스템들을 이용하여 in-vivo 마우스 뇌와 망막 내의 혈관들과 세포들을 촬영. 각 영상 시스템들의 in-vivo 마우스 뇌 및 망막 영상 품질 분석을 위해서는 각 총 160개체의 마우스가 필요.

- 1) Multiphoton microscopy (Control) : 기존 영상시스템인 multiphoton microscopy를 통해 마우스 뇌 영상 품질 관찰 (36개체)  
 - n=36 :  $36 \times 0.9(\text{Multiphoton microscopy imaging 성공율}) = 32\text{마리}(\text{촬영 성공 예상})$
  - 2) Adaptive optics multiphoton microscopy : 새로운 영상시스템인 adaptive optics multiphoton microscopy를 통해 마우스 뇌 영상 품질 관찰 (36개체)  
 - n=36 :  $36 \times 0.9(\text{Adaptive optics multiphoton microscopy imaging 성공율}) = 32\text{마리}(\text{촬영 성공 예상})$
  - 3) Multiphoton microscopy (Control) : 기존 영상시스템인 multiphoton microscopy를 통해 마우스 뇌 영상 품질 관찰 (36개체)  
 - n=44 :  $36 \times 0.9(\text{open-skull window surgery 성공율}) \times 0.9(\text{optical clearing 성공율}) \times 0.9(\text{Multiphoton microscopy imaging 성공율}) = 32\text{마리}(\text{촬영 성공 예상})$
  - 4) Adaptive optics multiphoton microscopy : 새로운 영상시스템인 adaptive optics multiphoton microscopy를 통해 마우스 뇌 영상 품질 관찰 (36개체)  
 - n=44 :  $36 \times 0.9(\text{open-skull window surgery 성공율}) \times 0.9(\text{optical clearing 성공율}) \times 0.9(\text{Multiphoton microscopy imaging 성공율}) = 32\text{마리}(\text{촬영 성공 예상})$
- => 총 160개체의 마우스가 필요

## 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)

Small animals zone	V	Return animal zone
BSL-2 zone		Others ( _____ )

\* 생체효능검증실 이외 시설에서의 사육 또는 실험 시 해당 건물명, 층호수, 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 7층 708호 Bio-optics 연구실	
이동 후 24시간 이내에 실험동물 정리	
사용장비:	
실험내용:	

\* 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	√
방 법	√
1회 처치 시간	√
반복 횟수	√
제한 사유	√

5-5. 실험 기간 중 운동제한 (실험과정 중 실험동물의 운동을 강제적으로 제한할 경우) (Require of Mechanical Restraint)	No search remarks (v)
실험기간	√
방 법	√
1회 처치 시간	√
반복 횟수	√
제한 사유	√

## 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)	실시자	No search remarks (v)
--	-----	-----------------------





Pain Control (description of agent name, dose and route)		(Operator)	
진정/마취제 (Tranquilization/Anesthesia)	① 1% lidocaine:epinephrine (1:100000) / 400mg/kg/ topical drop / 1회 ② bupivacaine/ 1mg/kg / 두피 내 투여 / 1회	이승훈	
진통(Analgesics)	① Ketorolac / 1mg/kg / IM / 1회	이승훈	
기타방법(Others)	① Isoflurane / 2% / 흡입마취	이승훈	

6-2. 안락사 방법 (Method of Euthanasia)	Operator
CO2 (대부분의 경우에 최우선으로 적용), 경추탈골 (수술/이미징을 위해 마취된 생쥐에서, 내부기관이 노출되어있어 오염이 우려되는 경우에만 한정적으로 적용)	이승훈

\* 일반적으로 물리적 방법(경추탈골, 단두)보다 화학적 방법(흡입약제, 주사제, CO2)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)	① Metronidazole(로맥스겔)/ 200mg/kg / topical drop/ 1일 1회	이승훈
진통제 투여 (Analgesics Therapy)	① Ketorolac/ 1mg/kg / 근육 내 투여 / 2일 1회 ② Buprenorphine / 1mg/kg / 복강 투여, 1회 /수술 1시간 전 ③ Dexamethasone/ 0.2mg/Kg, 피하 투여 , 1회 ④ Ketoprofen/ 5mg/Kg / 피하 투여/ 1회	이승훈
기타 (Others)	① 소독제 : 포비돈 pr 요오드 ② 눈 보호용 연고: 리포직, Paralube, Genteal ③ 지혈스펀지 : 큐탄플라스트(Cutanplast)	이승훈

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 생체효능검증설로 문의해 주십시오. (이용 가능 물질 : 유전자재조합자침 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):					
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)

생체 조직 심부(ex : 뇌, 망막)를 영상화하기 위해서는 생체조직에 의한 빛의 산란과 왜곡을 극복해야 함.  
본 연구를 통해 살아있는 생체 조직 내부를 고해상도로 관찰할 수 있는 새로운 영상 기법을 개발하여 향후 비침습적 뇌-망막 연구 및 병리생리학에 응용 가능할 것으로 예상함.

### 8-2. 동물실험 계획 및 방법 (구체적인 기술)

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

**총 실험기간 : 2023년 9월 12일-2024년 9월 11일**

**실험 1.** Multiphoton microscopy를 이용한 in-vivo 마우스 망막 영상 품질 관찰 (Control)

기간 : 2023년 9월 - 2024년 2월

필요 개체수 : 40 마리 (C57BL/6J 10마리, B6D2-Tg 10마리, Tg(Thy1-jRGECO1a)GP8.31Dkim/J 10마리, B6.129P2(Cg)-Cx3cr1tm1Litt/J 10마리)

1) 마우스를 isoflurane을 이용하여 마취 실시

- isoflurane : 마우스 구강을 통해 0.5L/min 용량으로 흡입마취 됨. 이 때 Isoflurane:



- Oxygen = 1:49 비율로 구성된 혼합기체의 형태로 주입됨
- 2) 마우스 눈 동공 확장을 위하여 산동제(미드린피 50 $\mu$ l 또는 tropicamide/phenylephrine hydrochloride 용액 50 $\mu$ l)를 마우스 눈에 투여한 후, 동공에 확장될 때까지 약 20분간 기다림
    - tropicamide 농도 : 5mg/ml
    - phenylephrine hydrochloride 농도 : 5mg/ml
  - 3) 마우스의 눈에 gentael gel을 점안한 후, 마우스 전용 contact lens를 씌워줌
  - 4) 마우스의 머리와 눈을 마우스 눈 in-vivo 전용 stereotaxic holder에 고정
  - 5) 마우스 뇌혈관 염색을 위하여 FITC-dextran 또는 indocyanine green을 마우스 꼬리 정맥 또는 안구 뒤두통을 통하여 주입
  - 6) Multiphoton microscopy를 이용하여 in-vivo 마우스 망막 영상 품질 관찰

**실험 2. Adaptive optics multiphoton microscopy를 이용한 in-vivo 마우스 망막 영상 품질 관찰**

기간 : 2024년 3월 - 2024년 7월

필요 개체수 : 40 마리 (C57BL/6J 10마리, B6D2-Tg 10마리, Tg(Thy1-jRGECO1a)GP8.31Dkim/J 10마리, B6.129P2(Cg)-Cx3cr1tm1Litt/J 10마리)

- 1) 마우스를 isoflurane을 이용하여 마취 실시
  - isoflurane : 마우스 구강을 통해 0.5L/min 용량으로 흡입마취 됨. 이 때 Isoflurane: Oxygen = 1:49 비율로 구성된 혼합기체의 형태로 주입됨
- 2) 마우스 눈 동공 확장을 위하여 산동제(미드린피 50 $\mu$ l 또는 tropicamide/phenylephrine hydrochloride 용액 50 $\mu$ l)를 마우스 눈에 투여한 후, 동공에 확장될 때까지 약 20분간 기다림
  - tropicamide 농도 : 5mg/ml
  - phenylephrine hydrochloride 농도 : 5mg/ml
- 3) 마우스의 눈에 gentael gel을 점안한 후, 마우스 전용 contact lens를 씌워줌
- 4) 마우스의 머리와 눈을 마우스 눈 in-vivo 전용 stereotaxic holder에 고정
- 5) 마우스 뇌혈관 염색을 위하여 FITC-dextran 또는 indocyanine green을 마우스 꼬리 정맥 또는 안구 뒤두통을 통하여 주입
- 6) Multiphoton microscopy를 이용하여 in-vivo 마우스 망막 영상 품질 관찰

**실험 3. Multiphoton microscopy를 이용한 in-vivo 마우스 뇌 영상 품질 관찰 (Control)**

기간 : 2023년 9월 - 2024년 2월

필요 개체수 : 40 마리 (C57BL/6J 10마리, B6D2-Tg 10마리, Tg(Thy1-jRGECO1a)GP8.31Dkim/J 10마리, B6.129P2(Cg)-Cx3cr1tm1Litt/J 10마리)

- 1) 마우스를 isoflurane을 이용하여 마취 실시
  - isoflurane : 마우스 구강을 통해 0.5L/min 용량으로 흡입마취 됨.
  - 이 때 Isoflurane: Oxygen = 1:49 비율로 구성된 혼합기체의 형태로 주입됨
  - isoflurane 마취 후 Dexamethasone (0.2 mg/Kg) 와 Carprofen (5 mg/Kg) 또는 Ketoprofen (5mg/Kg) 피하투여
- 2) 마우스 두피 제거
  - a. 면도칼을 이용하여 마우스 털 제거
  - b. 요오드로 두피 소독
  - c. 국소 마취를 위하여 bupivacaine (1mg/kg) 두피 내 투여
- 3) 마우스의 두개골 제거를 위한 open skull window surgery
  - a. 두개골에 지름 3mm 영역의 두개골을 micro drill을 이용하여 표시
  - b. 국소마취를 위하여 1% lidocaine:epinephrine (1:100000) 400mg/kg topical drop
  - c. 표시된 지름 3mm 영역의 두개골을 micro drill을 이용하여 제거
  - d. 발생하는 출혈은 지혈스펀지를 이용하여 지혈
- 4) Rapi-clear를 이용한 마우스 뇌의 optical clearing 처리 (1시간)
- 5) 마우스 뇌혈관 염색을 위하여 FITC-dextran 또는 Upconverting Nanoparticle (NaYF<sub>4</sub>:Yb,Tm@NaYF<sub>4</sub>) 또는 indocyanine green을 마우스 꼬리 정맥 또는 안구 뒤두통을 통하여 주입
- 6) Multiphoton microscopy를 이용하여 in-vivo 마우스 뇌 영상 품질 관찰

**실험 4. Multiphoton microscopy를 이용한 in-vivo 마우스 뇌 영상 품질 관찰**

기간 : 2024년 3월 - 2024년 7월

필요 개체수 : 40 마리 (C57BL/6J 10마리, B6D2-Tg 10마리, Tg(Thy1-jRGECO1a)GP8.31Dkim/J 10마리, B6.129P2(Cg)-Cx3cr1tm1Litt/J 10마리)

- 1) 마우스를 isoflurane을 이용하여 마취 실시
  - isoflurane : 마우스 구강을 통해 0.5L/min 용량으로 흡입마취 됨.
  - 이 때 Isoflurane: Oxygen = 1:49 비율로 구성된 혼합기체의 형태로 주입됨
  - isoflurane 마취 후 Dexamethasone (0.2 mg/Kg) 와 Carprofen (5 mg/Kg) 또는 Ketoprofen (5mg/Kg) 피하투여
- 2) 마우스 두피 제거
  - a. 면도칼을 이용하여 마우스 털 제거
  - b. 요오드로 두피 소독
  - c. 국소 마취를 위하여 bupivacaine (1mg/kg) 두피 내 투여
- 3) 마우스의 두개골 제거를 위한 open skull window surgery



- a. 두개골에 지름 3mm 영역의 두개골을 micro drill을 이용하여 표시
- b. 국소마취를 위하여 1% lidocaine:epinephrine (1:100000) 400mg/kg topical drop
- c. 표시된 지름 3mm 영역의 두개골을 micro drill을 이용하여 제거
- d. 발생하는 출혈은 지혈스펀지를 이용하여 지혈
- 4) Rapi-clear를 이용한 마우스 뇌의 optical clearing 처리 (1시간)
- 5) 마우스 뇌혈관 염색을 위하여 FITC-dextran 또는 Upconverting Nanoparticle (NaYF<sub>4</sub>:Yb,Tm@NaYF<sub>4</sub>) 또는 indocyanine green을 마우스 꼬리 정맥 또는 안구 뒤두통을 통하여 주입
- 6) Adaptive optics multiphoton microscopy를 이용하여 in-vivo 마우스 뇌 영상 품질 관찰

2024년 8월 – 2024년 9월 : 데이터 분석 및 논문 작성

