

동물실험계획 승인신청서

접수일자 : . . .

연구 과제명	(국문) 종양 치료를 위한 잠재적 초분자 나노 의학 개발			
	(영문) Development of potential supramolecular nanomedicine for tumor therapy			
연구 책임자	성 명	유자형	직 위	교수
	소 속	UNIST / 자연과학대학 화학과		
	연락처	2548	E-mail	jhryu@unst.ac.kr
	동물실험윤리교육 이수번호		BIC Study-202307-1718	

* 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.

2025 년 05 월 07 일

연구책임자

유 자 형

(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)
서민석	화학과	대학원생	010-9523-2915	BIC Study 202307-1678	수술, 조직채취, 안락사 (참여연구자)
양경석	화학과	박사 후 연구원	010-7165-8140	BIC Study 202307-1647	수술, 조직채취, 안락사 (참여연구자)
김도현	화학과	대학원생	010-4948-2717	BIC Study 202504-1112	수술, 조직채취, 안락사 (참여연구자)
김영준	화학과	대학원생	010-3036-5232	BIC Study 202504-1197	수술, 조직채취, 안락사 (참여연구자)

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

연구책임자가 직접 동물실험을 수행할 경우 아래와 같이 위 란에 **해당 정보를 기입**하여 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 ~ 2028 년 5 월 31 일 까지 / 총 (3)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)	V	발암 (Carcinogenesis)		기타 (Other)

3. 실험동물 (Laboratory Animals)

- * 생체효능검증실험으로 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)	mouse		mouse			
계통명(Strain)	Nude		BALB/c			
유전자형 (Genotype_)	Wild(V)	GEM()	Wild(TUT V)	GEM()	Wild()	GEM()
성별(Sex)	F		F			
일령, 주령(Age)	8wks		8wks			
체중(Weight)	17~19g		17~19g			
수량(Numbers)	80		80			
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	✓ SPF	germfree	✓ SPF		
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional		
공급처(시설명) Source(vender)	오리엔트바이오, 효창사이언스		오리엔트바이오, 효창사이언스			

- * 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. J. Li, K. Shi, Z. F. Sabet, W. Fu, H. Zhou, S. Xu, T. Liu, M. You, M. Cao, M. Xu, X. Cui, B. Hu, Y. Liu, C. Chen, New power of self-assembling carbonic anhydrase inhibitor: Short peptide-constructed nanofibers inspire hypoxic cancer therapy, Sci. Adv, 2019, 5, eaax0937.
2. M. T. Jeena, K. Jeong, E. M. Go, Y. Cho, S. Lee, S. Jin, S. -W. Hwang, J. H. Jang, C. Soo Kang, W. -Y. Bang, E. Lee, S. K. Kwak, S. Kim, J. -H. Ryu Heterochiral Assembly of Amphiphilic Peptides Inside the Mitochondria for Supramolecular Cancer Therapeutics, ACS Nano, 2019, 13, 11022-11033.
3. B. Jana, A. P. Thomas, S. Kim, I. S. Lee, H. Choi, S. Jin, S. A. Park, S. K. Min, C. Kim, J.-H. Ryu, Self-Assembly of Mitochondria-Targeted Photosensitizer to Increase Photostability and Photodynamic Therapeutic Efficacy in Hypoxia, Chem. Eur. J. 2020, 26, 10695-10701.

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

누드 마우스는 성격이 온순하고 인간 세포에 대한 거부반응이 없는 마우스이기 때문에 종양 치료에서 이종 이식 모델에 가장 보편적으로 사용됩니다. 실험에서 사용할 4T1 cell의 경우 mice cell line으로 동종이식입니다. 동종이식의 경우 종양 모델 형성이 75~100%로 높은 성공률을 보여지고 있습니다. 또한 자가 형광을 가지고 있기 때문에 생체내 광학 영상 연구에도 잘 알려진 모델입니다.

BALB/c마우스는 선천적 면역 반응이 강하고 Th2 면역반응(항체 중심)에 치우쳐 있어 백신, 알레르기, 자가면역 및 감염 질환 연구에 적합한 모델입니다. 특히 면역학적 연구에서 일관된 유전적 배경과 높은 번식률로 널리 사용됩니다. SaOS-2 cell을 사용하여 종양 모델 형성할 계획이며 5×10^6 개의 세포를 피하주입할 경우(n=5) 100%의 성공률을 기록한 연구 사례를 참고하여 실험할 예정입니다.

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

각 실험에 대해 n=7. 따라서 각 실험에 필요한 총 마우스 수 = 7 (목표값 no)/{0.9(평균값)*0.9(평균값 모델 형성률)}= 40

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, 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:	
주사기 및 수술도구	
특정사료 공급:	V
그 외 기타:	
4T1, Saos-2 cell line	

- * 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:	
영상분석실	
사용장비:	
생체내 광학 영상 시스템	
실험내용:	V

- * 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)	① Isoflurane 1.5~2% ② 흡입	서민석, 양경석, 김도현, 김영준	
진통(Analgesics)	① Rompun ② 5.6mg/kg ③ IM	서민석, 양경석, 김도현, 김영준	
기타방법(Others)			V

6-2. 안락사 방법 (Method of Euthanasia)	Operator
CO ₂	서민석, 양경석, 김도현, 김영준

- * 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)			V
진통제 투여 (Analgesics Therapy)			V
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): 4T1, Saos-2 cell line		
용량 및 횟수(Dose): 1회 0.1ml		
투여 방법(Route): 피하주사		
처리 방법(Disposal Method): 세포사멸 후 처리		
위해도 유무 및 정도(Infectious potential of Biohazards): 해당없음		
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 용어로 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)

초분자 나노 물질은 간단한 합성, 생체 적합성 및 생분해성 때문에 암 치료 분야에서 많은 주목을 받았습니다. 저희 연구실은 이미 종양 치료를 위한 세포소기관 표적 초분자 나노메디신을 개발했습니다. 저희가 진행할 연구의 목적은 미토콘드리아와 같은 세포소기관을 표적 기능이 있는 펩타이드로 구성된 초분자 나노메디신을 종양 치료에 적용해 보는 것입니다. 저희가 설계한 분자들은 기존의 화학요법의 한계를 극복할 수 있으며 보다 적은 부작용으로 보다 효과적인 치료법이 될 것이라고 기대하고 있습니다.

8-2. 동물실험 계획 및 방법 (구체적인 기술)

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

① 실험계획

총 실험 기간: 동물실험 윤리위원회 승인일부터 2028년 5월 31일까지

※ 승인일 6월 1일 기준으로 작성

이종이식 종양 모델:

2025년 6월~2025년 11월: 종양영상학

각 그룹에 대해 목표 마우스 수는 n=8입니다.

평균적인 종양 형성률(0.9) 및 종양 크기 도달률(0.9)을 고려할 때, 필요한 마우스 수는 다음과 같습니다:

$8 / (0.9 \times 0.9) \approx 10 \rightarrow$ 각 그룹당 10마리

총 4개 그룹 $\times$ 2종 세포주 (4T1 & Saos-2) = 8개 그룹이므로

종양영상학에 필요한 마우스 수 = $10 \times 8 = 80$ 마리

2026년 1월~3월: 종양 치료

각 그룹에 대해 n=8. 따라서 각 그룹에 필요한 총 마우스 수 = $8(\text{목표값 no}) / \{0.9(\text{평균값}) \times 0.9(\text{평균값 모델 형성률})\} \approx 10$

따라서 세포주 별로 이미징에 필요한 마우스의 총 수 = $4 \times 10 = 40$

2026년 4월~7월 : 데이터 분석 및 작성

② 방법

- 세포 배양

마우스 종양 모델에는 4T1 & Saos-2 암 세포주가 사용 예정입니다.

암세포는 37°C 및 5% CO₂ 분위기에서 10% FBS와 1% 페니실린-스트렙토마이신을 함유한 DMEM 에

서 배양됩니다.

- 종양 모형

Isoflurane(1.5~2%)을 사용하여 마우스 마취 후 4T1 & Saos-2 암세포를 나체 마우스의 오른쪽/왼쪽 측면에 주입합니다. Nude mice에는 4T1 cell line을 BALB/c mice에는 Saos-2 cell line을 주입할 예정입니다. 디지털 캘리퍼스를 사용하여 종양의 장경, 단경과 높이를 측정한 후 측정된 데이터로 부피를 계산합니다. (공식 : 장경*직경*높이* π /6)

-종양영상학

종양의 장경이 0.5~1cm에 도달하면 3가지 다른 종류의 분자와 식염수를 종양을 가진 쥐의 꼬리 정맥을 통해 10mg/kg 용량으로 주입합니다. In vivo Xtreme 시스템(독일, 브루커)을 사용하여 주사 후 시간 간격(0h, 2h, 4h, 6h, 8h, 24h)으로 2~15분 동안 전신의 형광 영상을 획득합니다

안락사 후 종양 조직이 채취하고 채취된 조직으로 이미지를 촬영합니다.

각 그룹에 대해 목표 마우스 수는 $n=7$ 이며, 평균적인 모델 형성률(0.9)과 종양 크기 도달률(0.9)을 고려하면, 최종적으로 필요한 마우스 수는 다음과 같습니다:

$8 / (0.9 \times 0.9) \approx 10 \rightarrow$ 반올림하여 각 그룹당 10마리.

각 cell line (4T1 & Saos-2) 별로 4개 그룹 총 8개의 그룹으로 실험이 진행될 예정으로 필요한 전체 마우스 수는 80마리($4 \times 10 \times 2$)입니다.

③종양 볼륨 감소 연구:

종양의 장경이 0.5~1cm에 도달하면, 종양을 가진 쥐들은 모두 다른 치료를 받게 됩니다. 3주 동안 3개의 서로 다른 분자가 번갈아 가며 약 2주간 매일 종양을 가진 쥐의 꼬리 정맥을 통해 주입될 것입니다. Isoflurane을 사용하여 마취 후 주입할 계획입니다. 대조군(식염수 처리)에서는 치료가 없습니다. 종양 감소와 체중 변화에 대한 주기적인 모니터링이 분석될 것입니다.

대조군, 미토콘드리아 타겟 분자, 리소좀 타겟 분자, 미토콘드리아와 리소좀 동시에 타겟하는 분자의 효능을 관찰 예정입니다.(총 4개의 그룹)

각 그룹에 대해 목표 마우스 수는 $n=7$ 이며, 평균적인 모델 형성률(0.9)과 종양 크기 도달률(0.9)을 고려하면, 최종적으로 필요한 마우스 수는 다음과 같습니다:

$7 / (0.9 \times 0.9) \approx 9 \rightarrow$ 반올림하여 각 그룹당 10마리.

각 cell line (4T1 & Saos-2) 별로 4개 그룹 총 8개의 그룹으로 실험이 진행될 예정으로 필요한 전체 마우스 수는 80마리($4 \times 10 \times 2$)입니다.