



동물실험계획 승인신청서

접수일자 : . . .

연구 과제명	(국문) 4T1 유방암 모델에서 멀티모달 광학이미징 지표와 분자 병리학적 특징의 상관관계 분석 및 AI 기반 진단 연구			
	(영문) Correlation Analysis between Label-free Optical Indices and Molecular Pathological Features in 4T1 Breast Cancer Model for AI-based Diagnosis			
연구 책임자	성명	정웅규	직위	교수
	소속	UNIST / 바이오메디컬공학과		
	연락처	C.P)052-217-2542 TEL)010-8464-0110	E-mail	wgjung@unist.ac.kr
	동물실험윤리교육 이수번호		BIC Study 202405-1248	

* 동물실험계획 심의 후 승인 된 것에 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.

2024 년 03 월 09 일

연구책임자

정웅규

(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)
정용규	바이오메디컬공학과	교수	010-8464-0110	BIC Study-202405-1248	수술 (연구책임자)
이은지	바이오메디컬공학과	대학원생	010-3958-4420	BIC Study-202601-049	수술,조직채취,안락사 (관리담당연구자)
김명주	바이오메디컬공학과	대학원생	010-9380-8427		수술,조직채취,안락사 (참여연구자)
김예림	바이오메디컬공학과	대학원생	010-2836-5786	BIC Study 202601-05	수술,조직채취,안락사 (참여연구자)
권민석	바이오메디컬공학과	대학원생	010-7294-2793	BIC Study 202601-057	수술,조직채취,안락사 (참여연구자)
이나경	바이오메디컬공학과	대학원생	010-6899-9313	BIC Study 202601-075	수술,조직채취,안락사 (참여연구자)
이상진	바이오메디컬공학과	대학원생	010-5523-4401		수술,조직채취,안락사 (참여연구자)

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

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 ~ 2027 년 5월 10일 까지 / 총 (3)년 중 (1)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)

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)

- * 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)	Mouse					
계통명(Strain)	BALB/c					
유전자형 (Genotype_)	Wild(V)	GEM()	Wild(V)	GEM()	Wild()	GEM()
성별(Sex)	F		F			
일령, 주령(Age)	8wks					
체중(Weight)	18~20g					
수량(Numbers)	180					
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. Mouse 4T1 breast tumor model. Curr Protoc Immunol (2001)
2. PARP Inhibitor Efficacy Depends on CD8+ T-cell Recruitment via Intratumoral STING Pathway Activation in BRCA-Deficient Models of Triple-Negative Breast Cancer Available(2019)
3. CD8+ T cells inhibit metastasis and CXCL4 regulates its function(2021)
4. Neutrophils resist ferroptosis and promote breast cancer metastasis through aconitate decarboxylase(2023)
5. Serial optical coherence microscopy for label-free volumetric histopathology(2020)
6. Digital Staining of Optical Coherence Microscopy for Histological Slide(2024)

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

- BALB/c 마우스에 주입된 4T1 유방암 세포는 공격적인 종양 특성, 자발적 전이, 면역 침윤 등을 나타내어 인간 유방암의 병리생물학적 특징을 잘 반영한다. 이 모델에서는 특히 관찰하고자 하는 **Ki-67 (종양 세포 증식), Cleaved Caspase-3 (종양 세포 사멸), CD8 T세포 (종양 미세환경의 면역침윤)**는 가 명확하게 발현되고 공간적으로 이질성(heterogeneity)이 잘 나타난다.

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

* 4T1 Breast Cancer Model

BALB/c 마우스의 제4 유선(Mammary fat pad)에 4T1 유방암 세포주(1×10^6 cells)를 주입하여 정위(Orthotopic) 종양 모델을 제작한다. 본연구는 광학 장비(MRI, Micro-CT, OCT, QPI)를 이용한 생체 내/외 영상 데이터와 조직학적 분석(H&E, MT, PAS, IHC, IF), 그리고 분자 수준의 PCR 데이터 간의 다각적 상관관계 분석을 목적으로 한다.

QPI의 정량적 굴절률 측정에 최적화된 동결 절편(Cryostat)과 전통적 병리 판독 및 IHC 분석에 최적화된 파라핀 절편(FFPE)의 무결성을 동시에 확보하기 위해, 각 가공법에 최적화된 고품질 조직 슬라이드를 제작하여 분석한다.

동물 수 산출 근거 (Rationale for Sample Size) 성공률 및 생존율 설정

- 생존율: Optical Coherence tomography (OCT) 반복 촬영 및 종양 성장에 따른 건강 상태 변화를 고려하여 약 **95%**로 설정함.

- 종양 형성 성공률(Take rate): 동계 계통 이식 시의 종양 형성 확률을 고려하여 약 **90%**로 설정함.

- 실험 적격률(Experimental Success Rate): QPI 및 OCM 촬영을 위해 조직 평면이 일정하고 형태가 완벽히 보존된 슬라이드를 확보할 확률을 약 **80%**로 설정함.

통계적 유의성 확보: 조직 병리 및 생화학적 실험의 통계치 추산을 위해 각 세부 군당 목표 n수를 10으로 설정함.

계산 수식:

$$: N = 10(\text{목표 } n\text{수}) / \{0.95(\text{생존율}) \times 0.9(\text{중양 형성률}) \times 0.8(\text{실험 적격률})\} = 14.6 \text{ 마리 (약 15마리)}$$

번호	분석 항목	
1	Surgical OCT	수술 과정 중의 종양확인
2	Optical coherence tomography(OCT)	종양의 3차원 이미징 확인
3	Serial OCT/OCM	종양의 3차원 이미징 확인
4	Optical coherence microscopy(OCM)	종양 2&3차원 이미징 확인
5	MRI/ Micro-CT	종양 위치, 부피 및 전이 분석
6	QPI, (형광 포함 QPI)	정량 위상 및 형광 대조, 2차원 슬라이드 분석
7	H&E staining	기본 형태학적 분석
8	Masson's Trichrome(MT) staining	섬유화 정량 분석
9	Periodic acid-Schiff (PAS) staining	기저막 및 당단백질 분석
10	Immunohistochemical staining(IHC)	세종류의 마커 발현 분석
11	Immunofluorescence(IF)	다중 형광 분자 분석
12	PCR	유전자 발현 정량 검증

최종 산출 내역:

실험군 (Cancer): 3개 시점(1, 2, 4주) × 2가지 가공법(FPE, Cryo) × 15마리 = 90마리

대조군 (Control): 3개 시점(1, 2, 4주) × 2가지 가공법(FPE, Cryo) × 15마리 = 90마리

총 합계: 180마리

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		Return animal zone
	BSL-2 zone	V	Others (유니스트 110동 709 의과학 연구실)

* 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:	V
사용장비:	V
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)	Isoflurane/ 2%/ 흡입식	이은지	
진통(Analgesics)			
기타방법(Others)			

6-2. 안락사 방법 (Method of Euthanasia)	Operator
CO ₂	이은지

* 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	V

- * 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):		
동물 → 사람 전염 가능성 (Animal to person)	동물 → 동물 전염 가능성 (Animal to Animal)	배출 경로(Excretion route) :
생물 유해 물질이 동물에서 배출될 가능성 (Excretion)		

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)

기존 유방암 절제술은 수술실에서 암을 절제하여 임상병리실로 조직을 보낸 후 Frozen(Cryostat) section 하여 빠른 진단 결과가 나오는 동안 환자는 수술 중에 개복 상태로 대기 해야한다. 이는 15-30분이 걸리는 과정으로 개복 상태의 환자에게는 부담이 될 수 있다. 또는 세밀한 진단을 위해서는, Mircrotome(FFPE) section 하여 H&E 염색 또는 IF를 과정을 거쳐 구체적인 세부 암종과 병기에 대해 진단한다. 이 과정은 약 일주일의 소요될 뿐만 아니라 슬라이드는 종양의 일부분만을 2차원으로 확인하기 때문에 다른 부분에서의 재발 가능성이 있다. 본 동물 실험에서는 이러한 한계를 극복하기 위해 다양한 광학이미징 장비가 사용될 예정이다. 첫째로 OCT(광학 이미징 기기)를 수술용 현미경에 결합한 연구실 내에서 개발한 Surgical OCT를 이용, 실제 마우스 수술에 이 현미경을 사용하여 조직 표면 뿐만 아니라 내부 구조까지 관찰이 용이하여 최소한의 마진을 남겨 수술 후 재발율을 크게 낮춰줄 것이다. 뿐만 아니라 종양의 3차원 구조를 확인하기 위해 Micro CT ,MRI, OCT를 사용하고 채취한 종양을 고해상도 Serial OCM 또는 OCM을 통해 3차원 구조의 정량화를 진행하고자 한다. 둘째로는 기존 정성적으로 행해지는 병리(H&E ,MT,PAS 염색, IHC, IF) 진단 과정 소요 시간 및 노동력을 줄이기 위해 무표지자적 광학 이미징 장치인 QPI와 기존 병리 이미지 간의 관계성을 딥러닝 및 AI를 이용하여 검증할 예정이다. 종합하여 본 동물 실험을 통해 정확한 수술을 가능하게 하고, 수술 도중 종양의 3차원 이미지를 획득하여 추가 수술을 진행하거나 진단을 내리는 등 유방암 제거술의 발전에 도움이 될 것이다. 또한 무표지자적 슬라이드 광학 이미징(QPI)을 통해 진단 과정의 소요 시간을 감소, 단백질 발현 예측을 통해 유방암 진단의 과정 축소 및 유방암 세부 암종의 특성

의 이해에 도움이 될 것이다.

8-2. 동물실험 계획 및 방법 (구체적인 기술)

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

- 유방암 동물모델 제작

4T1 breast cancer model: BALB/c 마우스에 주입된 4T1 유방암 세포는 공격적인 종양 특성, 자발적 전이, 면역 침윤 등을 나타내어 인간 유방암의 병리 생물학적 특징을 잘 반영한다.

8주령 Female BALB/c mouse를 chamber 안에 넣고 2% isoflurane으로 마취 시킨 후 수술을 위해 마스크를 씌워 호흡 마취를 진행한다. 주사할 부위를 75% 에탄올로 소독한 후, 4T1 cell suspension 50-100 μ L (1×10^6 cells/50~100 μ L) 27G 바늘 주사기로 mammary fat pad에 피하 주사한다. 주사 시 피부를 안정화 시킨 후 바늘을 삽입하여, 주입한다. 주입이 끝나면 바늘을 살짝 회전 시킨 뒤에 주사기를 천천히 빼 역류를 방지한다. 세포액을 주입 한 후 몇 초간 멈춘 뒤, 바늘을 수직으로 조심스럽게 제거한다. 주사 후 유두 주변이 볼록하고 투명하기 올라오는 것을 확인하여 성공 여부를 짐작 할 수 있다.

본 연구에서는 Ki-67, Cleaved Caspase3, CD8 세 종류의 marker를 모두 확인 해야하기 때문에 암의 성장 단계별(1,2,4주) 변화를 추적할 예정이다.

Surgical OCT 또는 OCT을 이용하여 종양의 부피 변화 및 내부 구조 및 타장기로의 전이 여부를 주기적으로 비침습적 모니터링을 진행한다. OCT는 초음파와 원리가 유사한 광학 이미징 장비이다.

성장 단계별 모두 장기를 적출하는 단계를 진행한다.

좌심실에 21G 주사기를 삽입하고 우심방을 절개하여 PBS 30mL로 혈액을 충분히 관류시킨 후, 10% NBF (또는 4% PFA)를 관류하여 전신 조직을 고정한다. 주 종양(Primary tumor)과 전이가 예상되는 주요 장기(심장, 폐, 간, 신장, 비장 등)를 적출하여 분석에 활용한다.

OCT와 MRI, Micro-CT를 이용하여 종양의 3차원 구조 및 위치 부피 및 전이를 분석한다.

채취한 조직을 5% Agarose gel에 임베딩 한다. 임베딩 한 샘플을 vibratome을 이용하여 조직을 적정 두께로 잘라낸 후 Serial OCT를 이용하여 이미징 후 Sectioning과 이미징 과정을 반복하여 전체 종양의 3차원 이미지를 획득한다. 획득한 이미지에서 종양 크기를 정량화를 진행할 예정이다. 잘라낸 조직을 이용하여 H&E, MT, PAS 염색을 진행하여 정확한 병기 및 형태학적 정보를 확인한다.

좀 더 세밀한 구조 관찰을 위해 조직을 Microtome 또는 Cryostat으로 얇게 sectioning 한 슬라이드를 QPI를 이용 무표지자 이미징을 진행한다. QPI는 빛 특성을 이용한 장비로 샘플의 광 위상차 분석을 통해 보다 정량적인 분석이 가능하며, 염색 없이 암의 특성을 분석한다.

이를 검증 하기 위하여 3가지 단백질(Ki-67, Cleaved Caspase3, CD8)에 대한 IHC, IF를 진행하여 QPI 이미지와 비교를 진행한다. PCR 또한 진행하여 유전자 발현을 정량 검증하도록 한다.

번호	분석 항목	
1	Surgical OCT	수술 과정 중의 종양확인
2	Optical coherence tomography(OCT)	종양의 3차원 이미징 확인
3	Serial OCT/OCM	종양의 3차원 이미징 확인
4	Optical coherence microscopy(OCM)	종양 2&3차원 이미징 확인
5	MRI/ Micro-CT	종양 위치, 부피 및 전이 분석
6	QPI, (형광 포함 QPI)	정량 위상 및 형광 대조, 2차원 슬라이드 분석
7	H&E staining	기본 형태학적 분석
8	Masson's Trichrome(MT) staining	섬유화 정량 분석
9	Periodic acid-Schiff (PAS) staining	기저막 및 당단백질 분석
10	Immunohistochemical staining(IHC)	세종류의 마커 발현 분석
11	Immunofluorescence(IF)	다중 형광 분자 분석
12	PCR	유전자 발현 정량 검증

대조군(Control)과 실험군(Cancer) 샘플의 비교를 위해 위의 10가지 분석법을 대조군과 실험군에 각각 적용하여 90마리*2(대조군, 실험군) =180 마리를 이용하여 실험을 진행한다.

2026년 5월 – 2026년 9월 : 1차 실험 진행

2026년 10월 – 2027년 2월 : 2차 실험 진행

2027년 3월 – 2027년 5월 : 위의 결과로 데이터 분석

2027년 6월 – 2027년 10월 : 논문 Figure 필요시 추가 실험 진행

2027년 10월 – 2028년 2월: 논문 작성

