

동물실험계획 승인신청서

접수일자 : 2026 . 7 . 15 .

연구 과제명	(국문) 설치류 말라리에 감염에 대한 선천성 면역 센서 동정 및 조절 기전 연구 (실험)			
	(영문) Identification and Regulatory Mechanisms of Innate Immune Sensor against rodent Malaria infection (experiment)			
연구 책임자	성 명	이상준	직 위	조교수
	소 속	UNIST / 생명과학과		
	연락처	052-217-2696	E-mail	sangjoon.lee@unist.ac.kr
	동물실험윤리교육 이수번호		BIC Study-202410-2627	

* 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.

2025 년 7 월 15 일

연구책임자 _____ 이상준 _____ Sang Joon Lee

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)
이상준	생명과학과	조교수	010-9566-8785	BIC Study-202410-2627	감염, 조직채취, 안락사 (연구책임자)
이지혜	생명과학과	연구원	010-6891-0316	BIC Study-202508-2151	소동물 관리 (참여연구자)
오수현	생명과학과	대학원생	010-6626-5008	BIC Study-202508-2147	감염 (참여연구자)
오주은	생명과학과	대학원생	010-7125-1736	BIC Study 202508-2155	감염 (참여연구자)
유경주	생명과학과	대학원생	010-6275-2690	BIC Study-202508-2152	소동물 관리 (참여연구자)
박재우	생명과학과	대학원생	010-2987-7107	BIC Study-202508-2142	감염 (참여연구자)
김하연	생명과학과	대학원생	010-9828-0191	BIC Study-202401-058	감염 (참여연구자)
신세윤	생명과학과	대학원생	010-3646-1891	BIC Study-202401-095	소동물 관리 (참여연구자)
김수현	생명과학과	대학원생	010-3891-8360	BIC Study-202401-092	소동물 관리 (참여연구자)
길진우	생명과학과	대학원생	010-4920-3772	BIC study-202503-728	소동물 관리 (참여연구자)
김성범	생명과학과	대학생	010-4127-6727	BIC study-202503-791	소동물 관리 (참여연구자)
김윤정	생명과학과	연구조교 수	010-7224-8785	BIC Study-202508-2156	감염 (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.

* **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 ~ 2029 년 7 월 15 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: 작은 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)
	외과적 처치 (Surgical procedure)		방사선 조사 (Irradiation)	V	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.
(대한바이오링크, 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		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_)	Wild() GEM(K18-ACE2 TG)		Wild() GEM(K-ras TG)		Wild() GEM(AIM2 KO)	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male / Female	
일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명)	Hyochang Science		Orient Yeungnam branch		Jackson lab	



Source(vender)	(Daehan Biolink)	(Orient)		
구분	4	5	6	
품종(Species)	mouse	mouse	mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J	C57BL/6J	C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_	Wild() GEM(Caspase1 KO)	Wild() GEM(ASC-ROSA TG)	Wild() GEM(IFnar1 KO)	
성별(Sex)	Male / Female	Male / Female	Male / Female	
일령, 주령(Age)	8wks	8wks	8wks	
체중(Weight)	18~20g	18~20g	18~20g	
수량(Numbers)	50	50	50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	Jackson lab	Jackson lab	Jackson lab	

구분	10	11	12
품종(Species)	mouse	mouse	mouse

계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_)	Wild(mouse) GEM(ZBP1 KO)		Wild(mouse) GEM(IFN γ 1 KO)		Wild(mouse) GEM(IFN γ 1 KO)	
성별(Sex)	C57BL/6J Male / Female		C57BL/6J Male / Female		C57BL/6J Male / Female	
일령, 주령(Age)	Wild(8wks) GEM(Nlrp3 KO)		Wild(8wks) GEM(Nlrp12 KO)		Wild(8wks) GEM(Mefv KO)	
체중(Weight)	18~20g Male / Female		18~20g Male / Female		18~20g Male / Female	
수량(Numbers)	50 8wks		50 8wks		50 8wks	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	18~20g		18~20g		18~20g	
공급처(시설명) Source(vender)	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
	50		50		50	
공급처(시설명) Source(vender)	Cyagen	SPF	Cyagen	SPF	Cyagen	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	Cyagen		Cyagen		Cyagen	

구분	16		17		18	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_)	Wild() GEM(IL-10 KO)		Wild() GEM(Drak1 Tg)		Wild() GEM(NLRP10 KO)	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male / Female	
일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명)	Jackson lab		Jackson lab		서울대 ragendra karki's lab	



Source(vender)	13		14		15	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		NSG		NSG	
유전자형 (Genotype_)	Wild() GEM(Nlrc4 KO)		Wild() GEM(NOD1)		Wild() GEM(NOD2)	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male / Female	
일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	Cyagen		일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab		일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab	

구분	22		23		24	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_)	Wild() GEM(NLRP4a KO)		Wild() GEM(NLRP5 KO)		Wild() GEM(NLRP6 KO)	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male / Female	
일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명)	일본 츠쿠바 대학교		일본 츠쿠바 대학교		일본 츠쿠바 대학교	



Source(vender)	Kawaguchi's 1b		Kawaguchi's 2b		Kawaguchi's 2b	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_)	Wild() GEM(NLR3 KO)		Wild() GEM(NLRP1a/b/c KO)		Wild() GEM(NLRP2 KO)	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male / Female	
일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	서울대 ragendra karki's lab		일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab		일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab	
구분	25		26		27	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_)	Wild() GEM(NLRP9b KO)		Wild() GEM(NLRP14 KO)		Wild() GEM(NLR5 KO)	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male / Female	
일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab		일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab		일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab	



구분	28		29		30	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_)	Wild() GEM(NLRX1 KO)		Wild() GEM(cGAS KO)		Wild() GEM(MDA5 KO)	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male / Female	
일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab		일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab		일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab	
구분	31		32		33	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_)	Wild() GEM(RIG-I KO)		Wild() GEM(NLRP7 Tg)		Wild() GEM(NLRP8 Tg)	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male / Female	
일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab		일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab		일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab	
구분	34		35		36	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_)	Wild() GEM(NLRP11 Tg)		Wild() GEM(NLRP13 Tg)		Wild(wild type) GEM()	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male / Female	



일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab		일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab		효창 사이언스	
구분	37		38		39	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_)	Wild() GEM(NLRP4 KO)		Wild() GEM(Za2 mutant ZBP1)		Wild() GEM(LysM Cre)	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male	
일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	일본 츠쿠바 대학교 Kawaguchi's lab		서울대 ragendra karki's lab		UNIST 고명곤 교수님 lab	
구분	40		41		42	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	Inbred		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_)	Wild() GEM(CAST/EiJ)		Wild() GEM(Porcine CD163 Tg)		Wild() GEM(JunD KO)	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male	
일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성상 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional



공급처(시설명) Source(vender)	Jackson Lab		Cyagen		Cyagen	
구분	43		44		45	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_	Wild() GEM(DPP4 Tg)		Wild() GEM(IL-10*K-18 ACE2 dKO)		Wild() GEM(Nlrp12*K-18 ACE2 dKO)	
성별(Sex)	Male		Male / Female		Male / Female	
일령, 주령(Age)	sperm		8wks		8wks	
체중(Weight)	-		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성장 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	국립보건원		UNIST 이상준 교수님 lab		UNIST 이상준 교수님 lab	

구분	46		47		48	
품종(Species)	mouse		mouse		mouse	
계통명(Strain)	C57BL/6J		C57BL/6J		C57BL/6J	
유전자형 (Genotype_	Wild() GEM(ZBP1*K-18 ACE2 dKO)		Wild() GEM(Nlrp3*Nlrp12 dKO)		Wild() GEM(Nlrp3*K-18 ACE2 dKO)	
성별(Sex)	Male / Female		Male / Female		Male / Female	
일령, 주령(Age)	8wks		8wks		8wks	
체중(Weight)	18~20g		18~20g		18~20g	
수량(Numbers)	50		50		50	
미생물 성장 (Microbiological status)	germfree	SPF	germfree	SPF	germfree	SPF
	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional	gnotobiotic	conventional
공급처(시설명) Source(vender)	UNIST 이상준 교수님 lab		UNIST 이상준 교수님 lab		UNIST 이상준 교수님 lab	

* 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):

de Oca, Marcela Montes, Christian Engwerda, and Ashrafal Haque. "Plasmodium berghei ANKA (PbA) infection of C57BL/6J mice: a model of severe malaria." Mouse Models of Innate Immunity: Methods and Protocols. Totowa, NJ: Humana Press, 2013. 203-213.

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

P. berghei ANKA를 사용할 경우, C57BL/6J 마우스 감염은 중증 말라리아 및 실험적 뇌말라리아의 면역병리 기전을 연구하는 데 널리 사용되는 모델이다. C57BL/6J 마우스를 이용한 P. berghei ANKA 감염 방법도 표준화되어 있어 실험 재현성과 선행연구와의 비교 가능성이 높다.

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

총 26종의 선천면역센서 결손 마우스를 대상으로 말라리아 감염 후 생존과 조직면역반응을 분석한다. 각 KO 계통은 다음과 같이 구성한다.

생존 및 임상 경과 관찰: 계통당 10마리

조직병리 및 면역학적 분석: 계통당 10마리

계통당 총 20마리

따라서 26종 KO 마우스의 사용 수는 26계통 × 20마리로 총 520마리이다. 야생형 B6J 대조군은 생존 분석 10마리와 조직분석 10마리로 총 20마리를 사용하므로, 전체 최소 사용동물 수는 총 540마리이다.

생존분석용 동물과 조직 채취용 동물을 분리함으로써 조직 채취가 생존 결과에 미치는 영향을 방지한다. 또한 각 동물에서 혈액과 여러 장기를 함께 확보하여 원충혈증, 사이토카인, 면역세포 및 조직병리를 통합 분석함으로써 추가 동물 사용을 최소화한다. 본 연구는 26종 KO 계통을 대상으로 한 초기 선별연구이며, 군당 10마리를 이용해 개체 간 변이를 고려하면서 후보 센서를 선별한다. 이후 유의한 차이를 나타낸 후보 계통만 반복실험과 검정력 분석을 통해 추가 검증한다.

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)

V	Small animals zone	V	Return animal zone
V	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)

생체효능검증센터에 반입이 필요한 장비 및 도구:	No search remarks (v)



수술도구	
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 기타란에 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		
진통(Analgesics)			V
기타방법(Others)			V

6-2. 안락사 방법 (Method of Euthanasia)	Operator
CO ₂	이상준 이지혜 오수현 오주은 유경주 박재우 김하연 신세윤 김수현 길진우 김성범 김윤정

* 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

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): 설치류 말라리아(P. berghei)				
용량 및 횟수(Dose): 300ul(1회)				
투여 방법(Route): IP injection				
처리 방법(Disposal Method): Autoclave				
위해도 유무 및 정도(Infectious potential of Biohazards): .				
V	동물 → 사람 전염 가능성 (Animal to person)	V	동물 → 동물 전염 가능성 (Animal to Animal)	
V	생물 유해 물질이 동물에서 배출될 가능성 (Excretion)	배출 경로(Excretion route) : 혈액		
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)

말라리아는 Plasmodium 원충 감염에 의해 발생하며, 감염 초기의 선천면역반응은 원충의 증식을 억제하고 이후의 적응면역반응을 유도하는 데 중요한 역할을 한다. 그러나 말라리아 원충 또는 원충 감염으로 인해 생성되는 핵산, 단백질, 색소 및 손상 관련 분자 패턴이 어떠한 선천면역센서에 의해 인지되는지와, 해당 센서가 감염의 진행 및 숙주 방어에 미치는 영향은 아직 명확하게 규명되지 않았다.

본 연구의 목적은 마우스 말라리아 감염 모델을 이용하여 말라리아 원충 감염을 인지하는 선천면역센서를 확인하고, 해당 센서에 의해 유도되는 면역반응이 원충 증식, 염증반응 및 질병 진행에 미치는 영향을 규명하는 것이다. 이를 위해 야생형 마우스와 후보 선천면역센서 결손 마우스에 마우스 말라리아 원충을 감염시킨 후, 말초혈액 내 원충혈증, 체중 및 임상 증상, 생존율, 혈청 사이토카인 농도, 면역세포의 활성화 및 조직 내 염증반응을 비교 분석하고자 한다.

본 연구를 통해 말라리아 원충 감염에 대한 숙주의 초기 인지 과정에 관여하는 주요 선천면역센서를 규명할 수 있을 것으로 기대한다. 후보 센서 결손 마우스에서 야생형 마우스와 비교하여 원충혈증, 생존율, 염증성 사이토카인 생성 또는 면역세포 활성화에 차이가 나타날 경우, 해당 센서가 말라리아 감염의 방어 또는 면역병리에 관여한다는 근거를 확보할 수 있다.

또한 동물실험을 통해 선별된 후보 센서에 대해서는 세포 및 분자 수준의 후속 실험을 수행하여 말라리아 원충 유래 성분과의 직접적 또는 간접적인 상호작용 및 하위 신호전달 경로를 확인할 예정이다. 본 연구 결과는 말라리아 감염에 대한 선천면역 인지 기전을 이해하고, 향후 과도한 염증반응을 조절하거나 숙주 방어면역을 증진하는 새로운 치료 표적을 제시하는 기초자료로 활용될 수 있다.

본 연구는 원충의 체내 증식, 적혈구 감염, 비장과 간을 포함한 여러 장기의 면역반응 및 전신적인 염증반응이 복합적으로 나타나는 말라리아 감염의 특성상 세포배양 실험만으로는 질병의 전체적인 진행 과정을 재현하기 어렵다. 특히 원충혈증, 숙주의 생존, 장기별 면역반응 및 면역센서 결손에 따른 전신적 영향을 평가하기 위해서는 생체 내 감염 모델이 필수적이므로 본 동물실험은 과학적 타당성이 있다.

8-2. 동물실험 계획 및 방법 (구체적인 기술)

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

본 연구에서는 동일한 유전적 배경을 가진 야생형 마우스와 후보 선천면역센서 결손 마우스를 사용한다. 실험동물은 [6-10주령]의 [수컷 또는 암컷] 마우스를 사용하며, 입수 또는 이동 후 최소 [7일] 동안 순화한 다음 실험에 사용한다. 각 실험군은 무작위로 배정하고, 가능한 경우 시료 분석자는 실험군 정보를 알 수 없도록 하여 분석 편향을 최소화한다.

마우스 말라리아 감염에는 [Plasmodium berghei ANKA / Plasmodium yoelii / 기타 사용 균주]에 감염된 적혈구를 사용한다. 공여 마우스의 말초혈액에서 원충 감염률을 확인한 후 감염 적혈구의 농도를 동일하게 조정하고, 실험 마우스에 마우스당 [감염 적혈구 수]를 [복강 또는 정맥] 경로로 투여한다. 비감염 대조군에는 동일한 부피의 PBS 또는 비감염 마우스 유래 적혈구를 투여한다.

실험군은 기본적으로 다음과 같이 구성한다.

야생형 비감염 대조군

후보 선천면역센서 결손 비감염 대조군

야생형 말라리아 감염군

후보 선천면역센서 결손 말라리아 감염군

필요한 경우 서로 다른 후보 센서 결손 마우스를 독립적으로 비교하여 선천면역센서별 기능을 평가한다. 실험동물 수는 사전 예비실험 또는 선행연구에서 확인된 원충혈증, 사이토카인 농도 및 생존율의 변동성을 기반으로 통계적 검정력을 산출하여 결정하며, 통계적으로 유의한 결과를 얻을 수 있는 최소한의 동물 수를 사용한다.

감염 후 마우스의 일반 상태, 활동성, 자세, 털 상태, 섭식 및 음수 상태, 체중, 체온 및 신경학적 증상을 정기적으로 관찰한다. 감염 초기에는 최소 1일 1회 관찰하고, 임상 증상이 악화되거나 원충혈증이 증가하는 시기에는 관찰 빈도를 증가시킨다. 말초혈액은 최소한의 양으로 채취하며, Giemsa 염색 혈액도말 또는 유세포분석법을 이용하여 전체 적혈구 중 감염 적혈구의 비율인 원충혈증을 측정한다.

선천면역반응을 분석하기 위해 감염 후 [1일, 3일, 5일 및 7일] 또는 예비실험에서 설정한 시점에 마우스를 희생하여 혈액, 비장, 간, 골수 및 기타 필요한 조직을 수집한다. 혈청 또는 혈장에서는 IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- β , IFN- γ 및 기타 염증성 사이토카인의 농도를 ELISA 또는 다중 사이토카인 분석법으로 측정한다.

비장, 간 및 골수에서 단일세포를 분리한 후 유세포분석을 수행하여 단핵구, 대식세포, 호중구, 수지상세포, NK 세포 및 T세포 등 주요 면역세포 집단의 비율과 활성화 상태를 분석한다. 또한 후보 선천면역센서와 관련된 어댑터 단백질, 전사인자, 인터페론 신호 및 inflammasome 활성화 여부를 qRT-PCR, Western blot, ELISA 또는 면역조직화학염색을 통해 확인한다. 필요한 경우 비장과 간 등의 조직을 고정하여 염증세포 침윤, 조직 손상 및 병리학적 변화를 평가한다.

야생형 마우스와 후보 센서 결손 마우스 사이에서 원충혈증, 체중 변화, 생존율, 사이토카인 생성, 면역세포 활성화 및 조직 손상 정도를 비교하여 해당 선천면역센서가 말라리아 감염에 대한 숙주 방어 또는 면역병리에 미치는 영향을 평가한다. 후보 센서 결손군에서 특정 면역반응이 감소하거나 감염 감수성이 변화하는 경우, 분리된 면역세포를 이용한 ex vivo 감염 및 자극 실험을 수행하여 결과를 재확인한다. 이후 원충 유래 핵산, 단백질 또는 기타 후보 분자와 센서 사이의 상호작용은 면역침강, pull-down assay, reporter assay 또는 유전자 발현 복원 실험 등 비동물실험 방법을 우선하여 검증한다.

모든 동물은 기관에서 승인된 마취 및 안락사 방법에 따라 처리한다. 감염 후 체중이 실험 전과 비교하여 [20% 이상] 감소하거나, 스스로 사료 또는 물을 섭취할 수 없는 경우, 정상적인 이동이 불가능한 심한 무기력 상태, 지속적인 저체온, 호흡곤란, 심한 빈혈, 신경학적 이상 또는 기관에서 정한 중증 임상점수에 도달한 경우에는 예정된 실험 종료 시점 이전이라도 인도적 종료기준을 적용하여 즉시 안락사한다.

동물 수를 줄이기 위해 한 개체에서 혈액, 혈청 및 여러 조직을 함께 수집하여 가능한 분석을 통합하고, 세포배양 및 ex vivo 실험을 통해 확인할 수 있는 내용에는 추가 동물사용을 최소화한다. 감염량, 관찰 시점 및 분석 방법은 예비실험과 선행자료를 바탕으로 표준화하여 불필요한 반복실험을 방지한다.

10월: 마우스 말라리아 감염 조건 확립 및 예비실험 수행

감염 원충량, 감염 경로, 원충혈증 측정법 및 임상 증상 관찰 기준을 설정한다.

11월: 야생형 마우스를 이용한 감염 경과 분석

감염 후 원충혈증, 체중 변화, 생존율 및 혈중 염증성 사이토카인의 변화를 확인하고 주요 분석 시점을 결정한다.

12월-1월: 야생형 및 후보 선천면역센서 결손 마우스 비교 실험

각 마우스에 말라리아 원충을 감염한 후 원충혈증, 체중, 생존율 및 임상 증상을 비교한다.

2월: 면역반응 및 조직 분석

혈액, 비장, 간 등의 조직을 수집하여 사이토카인 생성, 면역세포 활성화 및 조직병리학적 변화를 분석한다.

3월: 반복실험 및 결과 검증

주요 결과에 대한 반복실험을 수행하고, 후보 선천면역센서가 말라리아 감염의 방어 또는 면역병리에 미치는 영향을 종합적으로 평가한다.