

<별첨> 동물실험계획서 작성 관련 참고자료

1. 실험동물에 권장되는 안락사 방법 (동물실험계획서 6번 항목 관련)

실험계획서에 따라 다음과 같은 방법을 이용할 수 있습니다.

- ① 흡입마취제나 CO₂의 이용: 마취를 유지할 경우보다 높은 농도로 노출시켜 안락사를 하되 원치 않는 소생이 일어날 수 있으므로 경추탈구이나 횡격막 절개를 병용하여야 합니다. 유도하는 기간 동안 충분한 공기가 제공되지 못하면 저산소혈증을 유발하여 동물이 의식을 잃기 전에 고통스럽게 할 수 있습니다. 흡입마취제나 CO₂를 이용하는 경우는 설치류와 1kg미만의 토끼 등 정맥투여가 어려운 동물에 사용됩니다.
- ② 마취하 방혈: 깊은 마취 하에(주사 마취제의 경우 유지 용량의 3~4배 dose사용) 의식이 없는 동물의 죽음을 확실히 하기 위해 방혈을 합니다. Hypovolemia를 유발한 경우 고통이 따르기 때문에, 방혈이 안락사의 유일한 방법으로 사용되어서는 안 됩니다.
- ③ 주사용 제재의 사용: 정맥 확보가 쉬운 동물(토끼, 개, 고양이, 돼지 등)에게 사용할 수 있습니다. 흡입 마취나 주사 마취를 통해 깊은 마취를 유도한 후 KCl을 정맥을 통해 천천히 주입함으로써 안락사에 이르게 합니다. 다만 안전역이 좁은 barbiturate계열의 약물은 과량을 투여할 경우 KCl의 주입 없이도 안락사가 가능합니다.
- ④ 경추탈구 및 단두: 화학적으로 조직이 오염되면 안 되는 등 특수한 경우에 실시합니다. 특히 단두법의 경우 연구목적으로 손상되지 않은 뇌조직을 얻어야 할 경우 적용합니다. 잘 훈련된 사람이 실행할 경우 안락사가 될 수 있지만 이러한 방법을 정석화 할만한 과학적인 근거는 없습니다. 마취 하에 실시하는 것은 인도적이나 그렇지 못한 경우 이러한 방법을 꼭 사용해야 하는 사유에 대해 IACUC에서 승인을 받아야 합니다.

모든 경우 심장이 정지하였는지 확실히 확인하여야 합니다

2. 인도적인 실험종료의 기준 (동물실험계획서 6번 항목 관련)

실험과정 중 (예기치 않게) 동물에게 큰 고통을 주는 경우 실험 계획에 맞지 않더라도 인도적으로 일찍 종료해주는 것을 의미합니다. 표에서는 마우스와 개를 예를 들었지만 모든 동물종에 유사하게 적용됩니다. 하단의 표에서 인도적인 실험종료의 기준을 확인하세요. (출처; Humane Endpoints in Animal Experiments for Biomedical Research; The Royal Society of Medicine Press)

마우스 (mouse)	척도	약간 고려	중등도 고려	심각하게 고려
종양	종양의 무게가 체중의 10%정도로 클 때, 크기가 1cm ³ 이상일 때, 종양에 께양이나 괴사가 있을 때 안락사 고려			
체중	체중	7 일 동안 10%이상의 체중감소	7 일 동안 10-25%의 체중감소	7 일 동안 25% 이상의 체중감소
	사료/물 섭취량	3 일 동안 40-75%의 섭취	3 일 동안 40%이하의 섭취	3 일 동안의 식욕절폐, 7 일 동안 40%의 식이섭취만 하는 경우
외관	피모기립	부분적	심한 피모기립	심한피모기립 + 구부린자세
	자세	일시적 구부림	간헐적 구부림	연속적 구부림
임상증상	호흡	정상	간헐적 비정상적 호흡	노력성 호흡
	tremors	일시적	간헐적	연속적
	경련	없음	간헐적 (10 분이하)	연속적(10 분이상이면 안락사)
	탈진	없음	일시적(1 시간이하)	연속적(1 시간이상;2 시간이상시 안락사)

개 (Dog)	척도	약간 고려	중등도 고려	심각하게 고려
체중	체중	7 일 동안 10%이상의 체중감소	7 일 동안 10-25%의 체중감소	7 일 동안 25% 이상의 체중감소
	사료/물 섭취량	3 일 동안 40-75%의 섭취	3 일 동안 40%이하의 섭취	3 일 동안 식욕절폐, 7 일 동안 40%의 식이섭취만 하는 경우
외관	피모상태	정상	피모거침약함	피모거침심함
임상증상	호흡	정상	간헐적 비정상적 호흡	노력성 호흡
	tremors	일시적	간헐적	연속적
	경련	없음	간헐적 (10 분 이하 기간)	연속적(10 분 이상이면 안락사)

	탈진	없음	일시적(1 시간 이하)	연속적(1 시간이상; 2 시간이상 안락사)
--	----	----	--------------	----------------------------

3. 생물학적 위해 물질 관련 동물실험 (동물실험계획서 7번 항목 관련)

IBC심사가 선행되어 승인 후 동물실험윤리위원회에 제출 되어야 하는 경우는 다음과 같습니다. (본인의 연구가 IBC심사대상인지 몰라 IACUC에 먼저 계획서를 제출한 경우 IACUC에서 직접 IBC로 심사를 의뢰하기도 합니다.)

- ① 고위험병원체를 동물에게 적용시키는 경우: 2006년 개정된 전염병예방법에 의거하여 32종의 고위험성병원체를 이용하여 동물실험을 실시하는 경우는 IBC 심의를 거친 후 동물실험을 진행할 수 있습니다.
- ② 형질전환동물을 사용하는 경우: Transgenic 혹은 Knock-Out 동물 등 유전자 변형이 이루어진 동물을 작제, 사육, 실험하는 경우도 IBC심의를 거친 후 동물실험을 진행할 수 있습니다.
- ③ 유전자재조합물질을 동물에게 적용하는 경우: 재조합된 유전자 자체, 혹은 숙주-백터계 또는 DNA 공여체를 유전자 치료 등의 목적으로 동물에게 적용시킬 경우, 이 또한 동물실험 이전에 IBC의 심의를 받아야 합니다.
- ④ 위험 화학물을 사용하는 동물실험의 경우: 화학물 (Botox 등)에 대해서도 심사여부를 확인하게 됩니다. (심사까지는 필요없어도 IBC로부터 주의사항에 대한 comment를 받는 경우가 있으며 병원에서는 방사성 핵종등에 대해서도 심사를 현재 받고 있습니다.

4. 인체 유래 물질을 이용한 동물실험 (동물실험계획서 7번 항목 관련)

IRB 심사가 필요한 대상이 되는 물질은 다음과 같습니다.

- ① cell line을 이용하는 연구의 경우 세포의 종류에 따라 심사 대상이 결정됨
 - 동물실험에 사용되는 cell line이 윤리적인 문제의 소지가 있거나(배아, 태아 유래 조직 등), 살아있는 사람의 인체에서 동의를 획득하고 취득해야 하는 세포주의 경우 (예, embryonic stem cell, fetal originated cell line, mesenchymal stem cell line, cancer cell line 등)이며, 특히 상업적으로 구입이 가능하지 않은 세포주로서 수립된 세포주의 출처가 확실하지 않은 경우 심의를 받아야 합니다.
 - 어떠한 세포주, 혹은 인체조직이라도 환자의 의무기록이나 개인 정보가 동물실험에 함께 사용되는 경우는 예외 없이 IRB심의 대상이 됩니다.
 - 상업적으로 구입이 가능하며, 흔히 실험실에서 사용되는 인체유래 세포 (fibroblast)인 경우는 심의가 면제됩니다.

② human tissue를 이용하는 연구의 경우

- 익명시료(anonymous sample): 인체 조직에 처음부터 아무런 정보가 붙어 있지 않아 어느 누구도 신원을 확인할 수 없는 시료를 뜻하며, 이는 심의 면제 대상으로 IRB에 제출할 필요가 없습니다.
- 익명화된 시료(anonymized sample): 인체 조직을 연구자에게 주는 사람과 받는 사람이 인체 조직의 신원 확인이 불가능하도록 만들어 주는 경우를 뜻하며, 원칙적으로는 심의 면제대상입니다. 다만 Journal Publication을 위해서는 IRB에 제출하여 IRB exemption(심의면제) 확인서를 받는 것이 권장되며, Journal에 따라 IRB문제를 요구하는 경우도 있으므로 보다 확실하게 할 경우에는 신속 심의를 받는 것이 안전할 수 있습니다.
- 코드화된 시료(coded sample): IRB심의에 해당됩니다.
- 신원 정보가 있는 시료(identifiable sample): IRB 심의 필수

- ③ IRB심의를 받은 경우 동물실험계획서에 승인서와 동물실험부분이 언급된 부분을 표시하여 계획서에 추가해 주시고, 동물실험계획서 제출 당시 IRB심사가 진행중이라면 승인 후 서면으로 보완해주실 때까지 iacuc승인이 보류됩니다.

* 주의사항

- ① 처음 인체조직에 대한 동의를 받을 때부터 예상되는 동물실험에 대해 좀더 폭 넓게 받아야 동물실험내용이 추가/변경될 때 마다 중복 심의를 받지 않을 수 있습니다.
- ② IRB에서 기승인된 human cell이나 cell line을 실험에 필요한 기초 정보를 제외하고 완전히 익명화해서 사용하는 경우에는 IRB면제 대상입니다.
(IRB심사 대상여부가 불확실할 경우 IACUC에서 IRB로 직접 심사대상여부를 확인합니다.)
- ③ 식약청에 제출하는 전임상시험의 경우 엄격한 심의 및 확인 과정을 거칠 필요가 있으므로 이런 경우 IRB를 통해 문서 확인을 요청할 수 있습니다.
- ④ IRB승인은 국내 기관의 IRB승인을 모두 인정하되, IRB심사시 인체샘플을 동물 실험에 사용한다는 내용이 포함되어 있어야 합니다.

5. 각 실험동물별 동물실험 추천약물 정리 (동물실험계획서 6번 항목 관련)

[Mouse]

Treatment	Drug	Dosage / Route	duration	Trade name / Dosage		Comment
Anesthetics	Ketamine+Xylazine	80-100mg/kg + 10mg/kg, IP	20-30 min	케타라(50mg/ml)+ Rompun(23.32mg/ml)	0.02ml/10g + 0.004ml/10g, IP	
	(Tiletamine+ Zolazepam) + Xylazine	30mg/kg + 10mg/kg, IP	40 min	Zoletil 50 (50mg/ml) + Rompun(23.32mg/ml)	0.006ml/10g + 0.004ml/10g, IP	
	Isoflurane	2-5% induction, 0.25-4% maintenance				
Analgesics	Acetylsalicylic acid	100-150mg/kg, PO	4 hours	Aspirin		Nonsteroidal anti-inflammatory
	Acetaminophen	200mg/kg, PO		Tyrenol		Nonsteroidal anti-inflammatory
	Ketoprofen	5mg/kg, SC, IM	24 hours	Ketoprofen (100mg/2ml)	0.001ml/10g	Nonsteroidal anti-inflammatory
	Meloxicam	1-2mg/kg, PO, SC	24 hours	Metacam (5mg/ml)	0.004ml/10g	Nonsteroidal anti-inflammatory
Antibiotics	Gentamicin	4-20mg/kg, SC, IM	12 hours	Gentamicin sulfate (20mg/2ml)	0.02ml/10g	
	Cephalexin	30mg/kg, PO	12 hours	Methylocephalexin lysinate(500mg/cap)		

Reference: Exotic Animal Formulary Third edition (James W. Carpenter), Laboratory Animal Medicine 2nd edition (James G Fox, Lynn C. Anderson)

[Rat]

Treatment	Drug	Dosage / Route	duration	Trade name / Dosage		Comment
Anesthetics	Ketamine+Xylazine	90mg/kg + 10mg/kg, IP	20-30 min	케타라(50mg/ml)+ Rompun(23.32mg/ml)	0.18ml/100g + 0.04ml/100g, IP	
	(Tiletamine+ Zolazepam) + Xylazine	30mg/kg + 10mg/kg, IP	40 min	Zoletil 50 (50mg/ml) + Rompun(23.32mg/ml)	0.06ml/100g + 0.04ml/100g, IP	
	Isoflurane	2-5% induction, 0.25-4% maintenance				
Analgesics	Acetylsalicylic acid	100-150mg/kg, PO	4 hours	Aspirin		Nonsteroidal anti-inflammatory
	Acetaminophen	200mg/kg, PO		Tyrenol		Nonsteroidal anti-inflammatory
	Ketoprofen	5mg/kg, SC, IM	24 hours	Ketoprofen (100mg/2ml)	0.01ml/100g	Nonsteroidal anti-inflammatory
	Meloxicam	1-2mg/kg, PO, SC	24 hours	Metacam (5mg/ml)	0.04ml/100g	Nonsteroidal anti-inflammatory
Antibiotics	Gentamicin	20mg/kg, SC, IM	24 hours	Gentamicin sulfate (20mg/2ml)	0.2ml/100g	
	Cephalexin	30mg/kg, PO	12 hours	Methylocephalexin lysinate(500mg/cap)		

Reference: Exotic Animal Formulary Third edition (James W. Carpenter), Laboratory Animal Medicine 2nd edition (James G Fox, Lynn C. Anderson)

[Rabbit]

Treatment	Drug	Dosage / Route	duration	Trade name / Dosage		Comment
Anti-cholinergics	Atropine	0.5-1 mg/Kg IM, SC	15-20 min	황산아트로핀 (0.5mg/ml)	1-2ml/kg IM, SC	토끼는 50%가 atropinesterase를 가지고 있으므로 높은 투여량 권장
	Glycopyrrolate	0.01-0.02mg/kg SC	30-60 min	Glycopyrrolate Inj. 0.2mg (0.2mg/1ml)	0.05-0.1ml/kg, SC	토끼에게 효과있는 부교감신경제재, 0.1mg/kg IM 시 타액분비억제
Anesthetics	Ketamine+Xylazine	35mg/kg + 5mg/kg, IM	35-90 min	케타라(50mg/ml)+ Rompun(23.32mg/ml)	0.7ml/kg + 0.2ml/kg IM	
	(Tiletamine+ Zolazepam) + Xylazine	15mg/kg + 5mg/kg, IM	70 min	Zoletil 50 (50mg/ml) + Rompun(23.32mg/ml)	0.3ml/kg + 0.2ml/kg IM	Tiletamine은 토끼에서 35mg/kg 사용시 신독성을 나타내므로 주의
	Propofol	1.5mg/kg IV		Propofol(120mg/12ml)		0.2-0.6mg/kg/min by continues infusion
	Enflurane	3-5% induction, 1.5-3% maintenance	MAC = 2.9%			
	Isoflurane	3-5% induction, 1.5-3% maintenance	MAC = 2.05%			
Analgesics	Aspirin	100mg/kg, PO	8-24 hours	Aspirin		Nonsteroidal anti-inflammatory
	Acetaminophen	200-500mg/kg, PO		Tyrenol		Nonsteroidal anti-inflammatory
	Ketoprofen	3mg/kg, SC,IM	24 hours	Ketoprofen (100mg/2ml)	0.06ml/kg	Nonsteroidal anti-inflammatory
	Meloxicam	0.2mg/kg, SC 0.3mg/kg, PO	24 hours	Metacam (5mg/ml)	0.04ml/kg, SC 0.06ml/kg, PO	Nonsteroidal anti-inflammatory
Antibiotics	Gentamicin	5-8mg/kg, SC	24 hours	Gentamicin sulfate (80mg/2ml)	0.2ml/kg	
	Cephalexin	15-22mg/kg, PO	8 hours	Methylocephalexin lysinate(500mg/cap)		
Muscle relaxants	Vecuronium			Vecuronium Bromide (10mg/10ml)		0.003mg/kg/min by continues infusion

Reference: Exotic Animal Formulary Third edition (James W. Carpenter), The Laboratory Rabbit (Mark A. Suckcow, Fred A. Douglas), Laboratory Animal Medicine 2nd edition (James G Fox, Lynn C. Anderson)

[Dog]

Treatment	Drug	Dosage / Route	duration	Trade name / Dosage		Comment
Anti-cholinergics	Atropine	0.05mg/Kg, IM, SC, IV	30 min	황산아트로핀 (0.5mg/ml)	0.1ml/kg IM, SC	심장 미주신경 차단, 과도한 유연 억제
	Glycopyrrolate	0.02mg/kg ,SC, IM	2-4 hours	Glycopyrrolate Inj. 0.2mg(0.2mg/1ml)	0.1ml/kg	atropine보다 더 긴 작용시간, 심박수 증가는 IV 투여 시에만 나타남
Anesthetics	Ketamine+Xylazine	10mg/kg + 2.2mg/kg, IM	35-90 min	케타라(50mg/ml)+ Rompun(23.32mg/ml)	0.2ml/kg + 0.1ml/kg	
	(Tiletamine+Zolazepam) + Xylazine	5-7mg/kg + 0.2mg/kg, IM	70 min	Zoletil 50 (50mg/ml) + Rompun(23.32mg/ml)	0.1-0.14ml/kg + 0.01ml/kg	
	Tiletamine+Zolazepam	6-10mg/kg, IM, SC, IV		Zoletil 50 (50mg/ml)	0.12-0.2ml/kg	
	Propofol	5-7.5mg/kg IV		Propofol(120mg/12ml)	0.5-0.75ml/kg	0.2-0.4mg/kg/min by continues infusion
	Enflurane	3-5% induction, 1.5-3% maintenance				
	Isoflurane	3-5% induction, 1.5-3% maintenance	MAC = 1.3%			
Analgesics	Aspirin	10-20mg/kg, PO	12 hours	Aspirin 100mg/Tab		Nonsteroidal anti-inflammatory
	Ketorolac	15-30mg, IM, IV	12 hours	Ketorolac Tromethamine (30mg/ml)	0.5-1ml	Nonsteroidal anti-inflammatory
	Ketoprofen	2mg/kg, IV, SC	24 hours	Ketoprofen (100mg/2ml)	0.04ml/kg	Nonsteroidal anti-inflammatory
	Meloxicam	0.2mg/kg, IV, SC, PO	24 hours	Metacam (5mg/ml)	0.04ml/kg	Nonsteroidal anti-inflammatory
Antibiotics	Gentamicin	2-4mg/kg, SC, IM	12 hours	Gentamicin sulfate (80mg/2ml)	0.05-0.1ml/kg	
	Cefazolin	30mg/kg, IV, IM, SC	8 hours	Cefazolin Sodium (1000mg/8ml)	0.24ml/kg	
	Cephalexin	30-60mg/kg, PO	12 hours	Methylocephalexin lysinate(500mg/cap)		
	1ml 중 Tardomyocel 100,000 I.U, Procaine penicillin G 25,000 I.U, Dihydrostreptomycin sulphate 125,000 I.U combination		72 hours	Tardomyocel Comp. III (500ml/btl)	0.5ml/5kg, SC, IM	

Muscle relaxants	Vecuronium	0.1mg/kg, IV	30 min	Vecuronium Bromide (10mg/10ml)	0.1ml/kg	25분 간격으로 0.04mg/kg IV, Antagonist: Neostigmine 1-3mg, IV(mix with atropine)
-------------------------	------------	--------------	--------	--------------------------------	----------	---

Reference: The Laboratory Canine (Garrett Firdl Todd A. Jackson), Laboratory Animal Medicine 2nd edition (James G Fox, Lynn C. Anderson)

[Pig]

Treatment	Drug	Dosage / Route	duration	Trade name / Dosage		Comment
Anti-cholinergics	Atropine	0.05mg/Kg, IM, SC	30 min	황산아트로핀 (0.5mg/ml)	0.1ml/kg	심장 미주신경 차단, 과도한 유연 억제, 서맥방지
	Glycopyrrolate	0.01mg/kg, IM, SC		Glycopyrrolate Inj. 0.2mg (0.2mg/1ml)	0.05ml/kg.	atropine보다 더 긴 작용시간
Anesthetics	Ketamine+Xylazine	20mg/kg + 2mg/kg, IM	35-90 min	케타라(50mg/ml)+ Rompun(23.32mg/ml)	0.4ml/kg + 0.08ml/kg	
	(Tiletamine+Zolazepam_ + Xylazine	4-6mg/kg + 2.2- 4.4mg/kg, IM	70 min	Zoletil 50(50mg/ml) + Rompun(23.32mg/ml)	0.08-0.12ml/kg + 0.1-0.2ml/kg	다른 해리성 마취제 조합보다 심장 억압작용 강함
	Tiletamine+Zolazepam	4-6mg/kg, IM,	70 min	Zoletil 50(50mg/ml)	0.08-0.12ml/kg	
	Propofol	0.83-1.66mg/kg IV		Propofol(120mg/12ml)	0.083- 0.166ml/kg	12-20mg/kg/hr by continues infusion
	Enflurane	3-5% induction, 1.5- 3% maintenance	MAC = 1.66%			
	Isoflurane	3-5% induction, 1.5- 3% maintenance	MAC = 1.2- 2.04%			
Analgesics	Aspirin	10-20mg/kg, PO	4 hours	Aspirin 100mg/Tab		Nonsteroidal anti-inflammatory
	Ketorolac	1mg/kg, IM, IV	12 hours	Ketorolac Tromethamine (30mg/ml)	0.03ml/kg	Nonsteroidal anti-inflammatory
	Ketoprofen	1-3mg/kg, IM, SC, PO	12 hours	Ketoprofen (100mg/2ml)	0.02-0.06ml/kg	Nonsteroidal anti-inflammatory
	Meloxicam	0.4mg/kg, IV,SC	24 hours	Metacam (5mg/ml)	0.08ml/kg	Nonsteroidal anti-inflammatory
Antibiotics	1ml 중 Tardomyocel 100,000 I.U, Procaine penicillin G 25,000 I.U, Dihydrostreptomycin sulphate 125,000 I.U combination		72 hours	Tardomyocel Comp. III (500ml/btl)	3ml/50kg, SC, IM	

Reference: swine in the laboratory (M. Michael Swindle / CRC Press), Laboratory Animal Medicine 2nd edition (James G Fox, Lynn C. Anderson)