

台北榮民總醫院動物實驗申請表

91.10.15 訂定
98.7.10 修正

核准編號：
IACUC
2014-027

一、計畫主持人及研究計畫相關資料：

主持人：洪成志	單位：精神部	職稱：主治醫師
電話：7027ext304	行動電話：0919996260	實驗室電話：7027ext304
電子郵件：cjhong007@gmail.com		
協同主持人：劉英杰 (若無則免填)	單位：台北榮民總醫院精神部	職稱：主治醫師
電話：02-28757027	行動電話：0921068084	實驗室電話： 02-28757027-269
電子郵件：yjliou@mail2000.com.tw		
計畫名稱(中文)：Valproic acid 對小鼠腦部組蛋白乙酰化、基因調控與情緒行為的影響		
類別： <input checked="" type="checkbox"/> 醫學研究類 <input type="checkbox"/> 藥物及疫苗類 <input type="checkbox"/> 教學訓練類 <input type="checkbox"/> 健康食品類 <input type="checkbox"/> 其他 _____		
經費來源： <input checked="" type="checkbox"/> 國科會 <input type="checkbox"/> 國衛院 <input type="checkbox"/> 衛生署 <input type="checkbox"/> 中研院 <input type="checkbox"/> 本院 <input type="checkbox"/> 其他 _____		
執行期限：103 年 1 月 1 日 至 103 年 12 月 31 日 (請填西元年)		

二、執行動物實驗人員之相關資料：

姓名	職稱/電話	動物實驗經驗	教育與訓練經歷
1. 洪成志	主治醫師、 副教授	<input checked="" type="checkbox"/> 有， <u>11</u> 年	<input checked="" type="checkbox"/> 有：教研部臨床生化研究室三年、陽明遺傳所二年
2. 林姍妮	碩士班一年級 /28757027 轉 268	<input checked="" type="checkbox"/> 有， <u>半</u> 年 <input type="checkbox"/> 無，由 <u>洪成志</u> 指導	<input checked="" type="checkbox"/> 有：精神部行為與基因實驗室

三、動物來源及使用量相關資料：

動物別	品系	每年使用數量	動物來源
Mice	C57BL/6J	200	國動中心

四、動物飼養(複選)： 由動物室專人負責 由實驗室人員負責。請說明動物飼養背景與訓練：

由託養場所負責。請說明其設備與飼養管理措施，與其核准之證明文件：

五、動物實驗性質、目的、方法與步驟：

1. 實驗性質 (複選)： 試藥投予 獲取材料 遺傳繁殖 外科實驗 行為觀察
 危險性實驗 (請加填第九項) 其他 _____

2. 請簡述本研究之目的：

- (1) 小鼠血中 valproic acid(VPA)的濃度是否與海馬迴 histone acetylation 的程度有關？
(2) 小鼠海馬迴 histone acetylation 的程度是否影響其情緒行為？
(3) 小鼠血球 histone acetylation 的程度是否與海馬迴 histone acetylation 的程度相關？

3. 簡述實驗地點、內容、方法、劑量與步驟 (含動物分組、數量、重複次數、保定、投藥、注射、麻醉、手術及術後照顧)，並簡述本實驗使用動物最少需求數量之必要性。

(甲) 長時間保定 (超過四小時)？ 無 有 (請說明所用之器械與方法)

(乙) 對動物投予藥物？ 無 有 (valproic acid 400 mg/kg/day, IP)

(丙) 實驗含外科程序？ 無 有 (請簡述麻醉方法、劑量、投藥方式與手術後照顧)

(1) 8-10週的C57BL/6J小鼠，40隻給予VPA (400 mg/kg)，40隻給相對應的vehicle，單次給藥之後就予以犧牲，將取得小鼠的血液與大腦組織來進行蛋白質定量，一部分大腦做切片，進行免疫螢光染色，觀察神經新生，犧牲時會於麻醉狀態下給予頸椎脫臼，所受到的痛苦很短暫。

(2) 8-10週的C57BL/6J小鼠，80隻將給予Inescapable stress，40隻維持在一般飼養環境沒有接受足部電擊

Inescapable stress: 老鼠在無法逃脫的環境下每4分鐘會受到4秒的微弱電擊(0.6mA, 100V)每日90次，約需6小時，然後回到鼠籠正常進食與活動，連續3或6天(40隻接受3天足部電擊, 40隻接受6天足部電擊)。此過程會造成老鼠心理壓力，甚至產生無助的行為，但是不會有身體的傷害。

壓力後隔天開始改予下述的行為測量以及神經新生的評估

行為測量部分(assessments for emotions and memories)

- (a) Open field test: 評估老鼠的活動力與空曠焦慮的程度。老鼠不會受到心理或生理的刺激或壓力，不會有身體的傷害或疼痛。
(b) Elevated plus maze: 評估老鼠焦慮的程度。老鼠不會受到心理或生理的刺激或壓力，不會有身體的傷害或疼痛。
(c) Forced swim test: 評估老鼠是否容易絕望的程度。老鼠會在水中游泳掙扎6分鐘，會有心理的壓力，不會疼痛也不會有身體的傷害。
(d) Escape test: 評估老鼠無助的程度，共20次測驗，每次測驗前會有警笛聲提醒，如果老鼠逃脫就不會受到電擊，如果沒有逃脫就會受到二秒的電擊。
(e) Sociability test: 評估老鼠喜不喜歡與其他老鼠互動的測驗。老鼠不會受到心理或生理的刺激或壓力，不會有身體的傷害或疼痛。
(f) Freezing test (emotional memory): 評估老鼠對於害怕的反應與記憶。老鼠會受到瞬間的電極(0.6mA, 2秒，三次)，會使老鼠因為害怕而有短暫將住不動(freezing)的行為，不會有實質的身體傷害。

(g) Triple T-maze test (spacial memory): 評估老鼠的空間記憶，可以幫助鑑別freezing test的結果是情緒因素還是記憶因素。試驗前二天會將老鼠的食物減少20-30%，使老鼠在試驗時有輕度飢餓的感覺，老鼠不會受到心理的壓力，不會有實質的身體傷害或疼痛。

神經新生觀察部分

行為測量完畢，予以犧牲，將取得小鼠的血液與大腦組織來進行蛋白質定量，或者將大腦組織做切片，進行免疫螢光染色，觀察神經新生情形，犧牲時會於麻醉狀態下給予頸椎脫臼，所受到的痛苦很短暫。

六、請說明擬使用活體動物 (而非其他非活體實驗模擬) 模式之必要性 (可複選):

無替代實驗方法 替代實驗方法耗時費力 替代實驗方法的準確度不夠

其他 _____

七、實驗方法是否會造成動物持久之痛苦? 是 否

如是，請說明疼痛處理、照顧辦法及使動物痛苦降至最低的方法 (可複選):

輸液療法 保溫 流質食物 處方飼料 傷口治療 鎮痛劑 抗生素

其他 _____

八、請說明實驗結束後動物之處置方式 (可複選): 1. 復原處置 : _____

2. 安樂死的方法: 過量注射巴比妥鹽類 二氧化碳 麻醉狀態下頸椎脫臼

麻醉狀態下斷頭 麻醉狀態下靜脈注射氯化鉀 麻醉狀態下採(放)血致死

如因實驗需要無法使用以上方法安樂死時，請註明原因及方法:

3. 動物屍體處理方式: 委託動物中心處理 其他 _____

九、是否含危險性實驗，如生物危險 (含感染性物質、致癌藥物)、放射線及化學危險 (含毒物) 實驗?

無 有，請填下列資料:

1. 實驗之危險性屬於 生物危險性 放射線危險性 毒性化學危險性

2. 請簡要陳述生物危險實驗:

(甲) 進行危險物品實驗施用之方法、途徑及場所。

(乙) 針對實驗人員、實驗動物以及周邊人畜環境所採行之保護措施。

(丙) 實驗廢棄物與屍體之處理方式。

3. 如屬放射線或毒性化學危險實驗，請說明本案向主管機關之申請狀況:

尚未申請 已申請，審核中 通過認可

本院生物實驗安全委員會建議：

本院生物實驗安全委員簽名：_____ 日期：_____

本院輻射防護委員會建議：

本院輻射防護人員簽名：_____ 日期：_____

使用危險物質之認可證件名稱與證號_____

使用危險物質人員之認可證件名稱與證號_____

十、申請人保證以上所填資料完全屬實，並確認此申請案之執行與運作符合「動物保護法」及相關法規之規定。

主持人簽章：  _____ 日期： 2013/12/26

單位主管簽章：  _____ 日期： 103.2.11

台北榮民總醫院實驗動物中心使用人員切結書

一、材料或儀器進出：

1. 實驗用的針筒、冰桶、離心管、器械等物品，攜入動物中心內前，儀器或材料等相關器材須先由使用單位自行消毒處理，能高溫高壓滅菌之物品需先高溫高壓滅菌後才可攜入動物中心，無法經由高溫高壓滅菌之物品也需先經由紫外燈照射或其他消毒方式後，才可攜入動物中心。
2. 個人物品如背包及電腦等物品一律不可攜入 SPF 飼養區內。
3. 如物品過大(中大型儀器或麻醉機等)攜入動物中心前，需事先告知動物中心負責人，其儀器設備需先包覆或酒精擦拭後才能攜入動物中心。

二、人員進出：

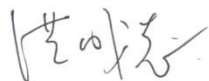
1. 所有進入動物中心人員均須經由動物中心人員進行教育訓練，合格者才可進入動物中心進行動物實驗，嚴禁使用人員私自攜帶未經動物中心教育訓練認證人員進入動物中心。
2. 經由動物中心教育訓練合格者，須確實遵守動物中心操作之 SOP 相關步驟，不得私自省略必要之步驟。

三、動物進出：

1. SPF 區動物來源均須附上該批動物之健康監測報告，嚴禁動物攜出後，再攜入動物中心；可進可出區之動物攜出後，嚴禁調包(非原攜出)之動物進入動物中心。
2. 所有進入動物中心代養之動物，須與代養申請單數量、品系及種類相符。

若計畫主持人或使用人員未遵守動物中心相關 SOP 標準操作程序或動物中心以上相關規定，造成動物中心飼養之動物受到微生物污染，其相關損失須由計畫主持人及使用人連帶負責相關責任。

立切結書人：



(計畫主持人簽章)

實驗動物照護及使用委員會初審查覈欄

初審結果

照案通過

應改善後複審

不通過

審查意見：

評審人簽章 _____ 日期 _____

初審結果

照案通過

應改善後複審

不通過

審查意見：



獸醫師簽章 _____ 日期 2014-03-05

醫學研究部
助理研究員 謝蕙蓮

執行秘書簽章 _____ 日期 03-11-2014

醫學研究部
研究員 戚謹文