

國立臺南大學 108 年度實驗動物照護及管理小組會議記錄

時間：108 年 12 月 16 日(星期一)上午 10 時

地點：誠正大樓 309 會議室

主持人：總務處環安組張組長碩文

出席者：生態暨環境資源學系張原謀老師、生態暨環境資源學系黃文伯老師、
生物科技學系曾登裕老師、生物科技學系曹哲嘉老師、生物科技學系
吳慧珍老師、行政管理學系吳宗憲老師、慈愛動物醫院陳柏甫獸醫師、
宏昱化學原料儀器行呂隆全先生(外部委員)

列席者：

壹、主席致詞

感謝大家撥空參加委員會，我是今年剛上任的環安組組長張碩文，請多多指教，今後可能還有許多會議會與大家一同討論；有關動物實驗的規範越來越嚴格，雖然本校尚無小鼠、兔子等動物研究，但針對實驗動物 3R 規範-替代、減量以及精緻化必須於實驗前進行考量，然而面對動物實驗規範越來越嚴格的趨勢，希望未來能有效達到相關規範；那我們先進行工作報告後再進行提案討論。

貳、工作報告

一、108 年度申請本校實驗動物照護及管理小組計畫為件，資料如下：

1.計畫編號：IACUC-A108001 (P.3-P.15)

申請人：生態暨環境資源學系 張原謀老師

計畫名稱：半淡鹹水蝌蚪的急速鹽度變化適應機制

此申請案已於 108 年 07 月 11 日申請通過

2.計畫編號：IACUC-A108002(P.16-P.24)

申請人：生物科技學系 張德生老師

計畫名稱：以獨特酵素轉化合併化學合成技術生產雷公藤紅素皂苷衍生物與其生物活性研究

3.計畫編號：IACUC-A108003(P.25-P.35)

申請人：生物科技學系 曾登裕老師

計畫名稱：探討廣鹽性吳郭魚兩種皮質類固醇受體在離子細胞的分化與生理功能之機制

上述3件計畫，已全數審查完畢。

叁、提案討論

國立臺南大學108年度第1次「實驗動物照護及管理小組會議」案表

項次	提案事項	提案單位	頁數
一	有關計畫編號IACUC-A108002、IACUC-A108003動物實驗申請案，是否同意進行，提請討論？	總務處環安組	2

提案一

案由：有關計畫編號 IACUC-A108002、IACUC-A108003 動物實驗申請案，是否同意進行，提請討論？

說明：

- 一、上述計畫編號 IACUC-A108002、IACUC-A108003，已經 2 名審查委員審查，審查意見均為同意進行，詳細審核意見表如附件(P.16~P.35)。
- 二、上述申請案如經本委員會確定同意進行後，則於申請計畫「動物實驗申請表」加蓋本校實驗動物照護及管理小組查覈章。

決議：

- 一、IACUC-A108002 申請案照案通過。
- 二、IACUC-A108003 申請案，補充後照案通過，補充資料(如附件一)。

肆、臨時動議：無

伍、散會(10:10)結束

動物實驗申請表

申請編號：IACUC-A/08001

核准編號：IACUC

「本表請留存於貴機構實驗動物照護及使用委員會(或小組)備查，毋須報送本會；惟如使用猿猴、犬、貓進行科學應用時，應提供審核通過之申請表影本列為年度監督報告之附件。」

一、計畫主持人：_____ 職稱： 副教授 聯絡電話： 06-260 6123#

二、單位： 生態暨環境資源學系 實驗地點： ZE306

三、計畫/課程/試驗名稱： 半淡鹹水蝌蚪的急速鹽度變化適應機制

類別：醫學研究類 藥物及疫苗類 健康食品類 農業研究類 教學訓練類

其他類別 生態科學研究類

四、經費來源：

五、執行期限： 2019 年 03 月 15 日 至 2022 年 12 月 30 日 (請填寫起訖年月)

六、負責進行動物實驗之相關人員資料：

姓名	職稱	參與實驗期限	具有動物實驗相關技術與經驗年數
1	副教授	2019/03/15- 2022/12/30	動物實驗操作(技術指導蝌蚪飼養、型質測量)
2	學生	2019/03/15- 2022/12/30	動物實驗操作(蝌蚪飼養、型質測量)
3	學生	2019/03/15- 2022/12/30	動物實驗操作(蝌蚪飼養、型質測量)

七、實驗所需之動物：

動物別/品系 ^a	使用量/年	動物來源 ^b	動物飼養場所 ^c	是否需要繁殖 ^d
1	小雨蛙卵團 250 隻 /2022/12/30	台江國家公園 城西防風林	恆溫生長箱	否
2	小雨蛙卵團 250 隻 /2022/12/30	台南市關廟 區、龍崎區	恆溫生長箱	否
3	亞洲錦蛙卵團 250 隻 /2022/12/30	台江國家公園 城西防風林	恆溫生長箱	否
4	亞洲錦蛙卵團 250 隻 /2022/12/30	台南市關廟 區、龍崎區	恆溫生長箱	否

5	黑眶蟾蜍	250 隻 /2022/12/30	台江國家公園 城西防風林	恆溫生長箱	否
6	黑眶蟾蜍	250 隻 /2022/12/30	台南市關廟 區、龍崎區	恆溫生長箱	否
7	澤蛙	250 隻 /2022/12/30	台江國家公園 城西防風林	恆溫生長箱	否
8	澤蛙	250 隻 /2022/12/30	台南市關廟 區、龍崎區	恆溫生長箱	否
9	虎皮蛙	250 隻 /2022/12/30	台江國家公園 城西防風林	恆溫生長箱	否
10	虎皮蛙	250 隻 /2022/12/30	台南市關廟 區、龍崎區	恆溫生長箱	否
11	貢德氏赤蛙	250 隻 /2022/12/30	台江國家公園 城西防風林	恆溫生長箱	否
12	貢德氏赤蛙	250 隻 /2022/12/30	台南市關廟 區、龍崎區	恆溫生長箱	否

註 a：保育類野生動物請加註，並另依野生動物保育法相關規定辦理。

註 b：1. 動物來源可能為國內外合法繁殖場(例如國家實驗動物中心，樂斯科生物科技有限公司，美國 JAX 實驗室…等)、其他國內外研究機構之轉讓與贈與(例如美國或歐洲的大學，EMMA…等)、小型私人繁殖場及野外捕捉等，請說明動物來源，再由照護委員會(小組)評估適當性與合法性。

2. 自野外捕捉之動物請加註，並另說明來源地區、隔離檢疫方式及隔離期間；取自民間市場者，必要時須比照辦理。

註 c：如動物飼養於非本機構之其他場所，須提供該場所所屬機構名稱、地址及該場所核准營運之證明文件(租借場地進行)或審核通過之動物實驗申請表(委託或合作)。

註 d：如需繁殖「實驗動物(指供作科學應用目的使用者)」，請填寫附錄一。

八、動物飼養： 由動物中心專人負責

由託養場所負責

由實驗室人員負責，請說明其對動物飼養之背景與訓練：

蝌蚪採集和飼養：

本次實驗方法參考 Mary E. Brown 等人的實驗設計 (Mary E. Brown & Susan C. Walls. 2013, Variation in Salinity Tolerance among Larval Anurans: Implications for Community Composition and the Spread of an Invasive, Non-native Species. , BioOne , 3: 543-551)

紀錄數值後將蝌蚪分別放入塑膠容器(長×寬×高=17×11.5×8公分)，每盒倒入300ml的曝氣水，每盒只放入一隻蝌蚪，依照0.3；3；6；9；12ppt的鹽度進行調配，每個鹽度處理一種物種分別有30個重複，總計150*2共300個容器，控制溫度為25°C，光照週期12小時，不進行餵食。該階段將進行72小時，第一天訂為早上8點進行，前9小時每30分鐘查看所有個體是否存活，9小時後每日查看5次，分別為8:00；12:00；16:00；20:00；24:00。實驗結束後立即紀錄所有蝌蚪之頭尾長及Gosner期數。實驗期間記錄所有個體之生存時間。

九、請簡述本研究之目的：

本研究目的是為了解生存在半淡鹹水環境下的兩棲類蝌蚪，在遭遇環境鹽度急速變化的情況時生存率與生長狀況。以生活在城西防風林的小雨蛙、黑眶蟾蜍、澤蛙、虎皮蛙、貢德氏赤蛙、亞洲錦蛙為實驗對象，能了解面對鹽度急速時的生存狀況與受影響的程度。並且，小雨蛙及亞洲錦蛙在城西防風林出現共域的現象，先分別建立起兩個物種對海岸半淡鹹水的環境的生存方式後亦能深入研究兩物種的競爭關係。

十、請以動物實驗應用3Rs之替代及減量原則，說明動物實驗試驗設計、實驗動物需求、動物種別及數量之必要性：

(一) 活體動物試驗之必要性，以及選擇此動物種別的原因：

兩棲類生活環境可從淡水跨至半淡鹹水或海水，全球現存8000多種兩棲類中 (AmphibiaWeb, 2019)，僅144種(2%)兩棲類能棲息於半淡鹹水 (Hopkins & Brodie Jr 2015)。過去在城西防風林中已有記錄到包含小雨蛙 (*Microhyla fissipes*) 及亞洲錦蛙 (*Kaloula pulchra*)等至少6種兩棲類無尾目物種在該環境建立族群，該生活區域屬於半淡鹹水環境(brackish water：鹽度0.5-30ppt的水域)，梅雨及颱風季節期間，大量的降雨下會使城西防風林出現暫時性的積水池，其水中鹽度遠高於一般兩棲類生存的淡水環境。

(二) 法源依據：

N/A

(三) 參考文獻：

Gareth R. Hopkins & Edmund D. Brodie, JR. 2015. Occurrence of amphibians in saline habitats : A review and evolutionary perspective.

Mary E. Brown & Susan C. Walls. 2013, Variation in Salinity Tolerance among Larval Anurans: Implications for Community Composition and the Spread of an Invasive, Non-

(四) 說明動物實驗試驗設計(動物分組方法、每組使用動物數量等)：

本次實驗方法將以 Mary E. Brown 等人的實驗設計調整後進行(Mary E. Brown & Susan C. Walls. 2013)

將蝌蚪飼養在鹽度千分之 0.3、3、6、9、12 等五個鹽度下，每個物種每個族群需飼養 250 隻蝌蚪，且皆須取自內陸地點及城西防風林各一個採集地點，因此共需要 500 蝌蚪。

在採集地點將 Gosner25~42 期的所有蝌蚪分別混和在塑膠容器中，且於恆溫生長箱中飼養 5 日，並控制溫度為 25°C，光照週期 12 小時並給予足量餵食，以消除採集環境的影響因子。在經過 5 日過後立即篩選健康無畸形之各物種蝌蚪各 150 隻，測量頭尾長及 Gosner 期數。飼料將以煮熟且打成泥莧菜餵食，採足量餵食，2 天餵食一次，確認所有個體隨時有食物，在五天結束時每個物種篩選出所需要之數量的蝌蚪測量頭尾長、重量及 Gosner 期數。

紀錄數值後將蝌蚪分別放入塑膠容器(長×寬×高= 17×11.5×8 公分)，每盒倒入 300ml 的曝氣水，每盒只放入一隻蝌蚪，依照 0.3；3；6；9；12ppt 的鹽度進行調配，每個鹽度處理一種物種分別有 50 個重複，總計 250*2 共 500 個容器，控制溫度為 25°C，光照週期 12 小時，不進行餵食。該階段將進行 72 小時，第一天訂為早上 8 點進行，前 9 小時每 30 分鐘查看所有個體是否存活，9 小時後每日查看 5 次，分別為 8:00；12:00；16:00；20:00；24:00。實驗結束後立即紀錄所有蝌蚪之頭尾長、重量及 Gosner 期數。實驗期間記錄所有個體之生存時間。

記錄頭尾長的方法為將蝌蚪放置於透明玻璃培養皿中央，下方放置間格為 1cm 的方格紙作為比例尺，以相機搭配腳架固定從正上方進行拍攝記錄，之後以電腦軟體「imageJ」依比例尺計算每個個體之頭尾長。

十一、請以實驗動物應用 3Rs 之精緻化原則，說明實驗中所進行之動物實驗內容(請參攷行政院農委會 實驗動物照護及使用指引-附件二)：

(一) 實驗物質之投予、採樣方法及其頻率：

在採集地點將 Gosner25~42 期的所有蝌蚪分別混和在塑膠容器中，且於恆溫生長箱中飼養 5 日，並控制溫度為 25°C，光照週期 12 小時並給予足量餵食，以消除採集環境的影響因子。在經過 5 日過後立即篩選健康無畸形之各物種蝌蚪各 150 隻，測量頭尾長及 Gosner 期數。飼料將以煮熟且打成泥莧菜餵食，採足量餵食，2 天餵食一次，確認所有個體隨時有食物。

在進行鹽度處理的 72 小時期間不進行餵食，直到結束實驗後再給予餵食。

(二) 動物之保定、禁食、禁水、限制行動(如代謝籠、跑步機、行為實驗)的方法及時間：

體長測量僅需將個體移置到培養皿中，從水盆上方拍攝即可，接著使用 ImageJ 軟體來獲得個體的體長，整個測量的過程個體都在水中，來減少測量對個體的緊迫壓力；變態體型的測量會稍微擦乾個體的表皮水分，但測量過程短暫(小於 1 分鐘)，測

量結束後馬上會給予水分保持表皮濕潤。

(三) 麻醉(鎮靜)方法、劑量、投藥、手術方式與麻醉(手術)後的照護：

N/A

(四) 如何使動物之緊迫或疼痛降至最低(例如：使用鎮靜劑或止痛劑、添加環境豐富化物件等，並依疼痛標準級別與實驗目的，描述動物疼痛處理方式)：

體長測量僅需將個體移置到培養皿中，從培養皿上方拍攝即可，在拍攝之培養皿下放置一張間格為1公分的方格紙。接著使用ImageJ軟體來獲得個體的體長，整個測量的過程個體都在水中，來減少測量對個體的緊迫壓力；變態體型的測量會稍微擦乾個體的表皮水分，但測量過程短暫(小於1分鐘)，測量結束後馬上會給予水分保持表皮濕潤。

(五) 實驗預期結束之時機，以及動物出現何種異常與痛苦症狀時提前人道終止實驗：

N/A

十二、請說明實驗結束後動物之處置方式(如復原處置、安樂死、屍體處理方法、轉讓...等；若為轉讓，請提供計畫實驗申請書)：

個體進行完實驗後，除外來種的亞洲錦蛙外，所有個體皆野放回原生棲地。過去的研究發現蛙類主要的汰擇壓力在變態後的幼蛙時期，那些野放後無法適應野外環境的個體將於幼蛙時期被自然汰擇掉，沒有進一步機會可以生長繁殖下一代。兩棲類一對個體交配繁殖即可產下數百至數千顆卵，本實驗中在第一階段放置5天後的篩選結束時，會先將未被選中的個體放回原採集地，由於在實驗室控制環境時間不長，對於放回野外後的影響極小。用於實驗的存活個體在實驗結束後放回原採集地，而會受到野外環境的汰擇作用去除競爭力較差的個體。若飼養過程中有死亡之動物個體會依生物醫療廢棄物規範統一處理。

十三、有無進行危險性實驗，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

如有，請填寫以下項目，並先送環安組審核：

(一) 實驗之危險性屬於 生物危險 放射線 毒性化學危險

1、進行危險物品實驗施用之方法、途徑及場所：

2、針對實驗人員、實驗動物以及飼養環境所採行之保護措施：

3、實驗廢棄物與屍體之處理方式：

(二) 如屬生物危險實驗，請陳述：

是否有生物安全委員會之核准資料： 無 有

(三) 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：

(放射線物質實驗須經行政院原子能委員會認可；毒性化學實驗須經行政院環境保護署認可。)

- 尚未申請。
 已申請，審核中。
 通過認可。

生物實驗安全委員	毒化物委員	環境安全衛生委會委員

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。

(若有申請補助計畫需檢附「申請動物實驗倫理 3R 說明」時，請填寫附錄二)

申請人簽名 _____ 日期 2019/3/14

單位主管簽名 王一元 日期 108.3.20

國立臺南大學實驗動物照護及管理小組初審意見表
(委員 1)

案件申請編號	IACUC-A108001	單位	生態暨環境資源學系
研究計畫 名稱	半淡鹹水蝌蚪的急速鹽度變化適應機制		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議 <input type="checkbox"/> 不同意進行		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	108.6.6
實驗動物照護 及使用委員會 (小組)召集人 簽章	陳憲揚	簽核日期	108.6.11

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學實驗動物照護及管理小組初審意見表

(委員 2)

案件申請編號	IACUC-A108001	單位	生態暨環境資源學系
研究計畫 名稱	半淡鹹水蝌蚪的急速鹽度變化適應機制		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議 <input type="checkbox"/> 不同意進行		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	符合實驗動物相關規範。 故同意進行		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	108.6.11
實驗動物照護 及使用委員會 (小組)召集人 簽章	陳憲揚	簽核日期	108.6.11

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀

聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663

E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學實驗動物照護及管理小組複審意見表

案件申請編號	IACUC-A108001	單位	生態暨環境資源學系
研究計畫名稱	半淡鹹水蝌蚪的急速鹽度變化適應機制		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，補件審查		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議) 建議同意。詳細意見如下： <ol style="list-style-type: none"> 1. 本研究以取自野外實驗地之兩棲類物種為對象，在實驗室之人工環境中研究不同鹽度對蝌蚪生長與存活之影響。選定之實驗鹽度範圍與原採集地淡鹹水混雜之範圍相對應，並非極端或非必要刻意危害動物之處理。 2. 實驗動物使用之數量，考量研究與取樣之統計意義需求，非屬不合理數量。 		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	2019/6/12
實驗動物照護及使用委員會(小組)召集人簽章	陳憲揚	簽核日期	2019/7/10

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學實驗動物照護及管理小組複審意見表

案件申請編號	IACUC-A108001	單位	生態暨環境資源學系
研究計畫名稱	半淡鹹水蝌蚪的急速鹽度變化適應機制		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，補件審查		
審查意見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	108.6.25.
實驗動物照護及使用委員會(小組)召集人簽章	陳憲揚	簽核日期	2019.07.10

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學實驗動物照護及管理小組複審意見表

案件申請編號	IACUC-A108001	單位	生態暨環境資源學系
研究計畫 名稱	半淡鹹水蝌蚪的急速鹽度變化適應機制		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，補件審查		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	108.6.13
實驗動物照護 及使用委員會 (小組)召集人 簽章	陳憲揚	簽核日期	108.09.10

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀

聯絡電話： (06) 2133111 分機 237-663

E-mail: bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學實驗動物照護及管理小組複審意見表

案件申請編號	IACUC-A108001	單位	生態暨環境資源學系
研究計畫名稱	半淡鹹水蝌蚪的急速鹽度變化適應機制		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，補件審查		
審 查 意 見	<p>(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)</p> <p>實驗結束後動物之處置方式，野放後的個體，無法適應野外環境故無機會生長繁殖下一代。</p> <p>本實驗描述在第一階段放置 5 天後的篩選結束時，會先將未被選中的個體放回原採集地：</p> <p>放置天數是相關實驗數據嗎？是否野放後影響較小？若有數據可參考或提供。</p>		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	2019/06/13
實驗動物照護及使用委員會(小組)召集人簽章	陳憲揚	簽核日期	2019/07/10

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學實驗動物照護及管理小組複審意見表

案件申請編號	IACUC-A108001	單位	生態暨環境資源學系
研究計畫名稱	半淡鹹水蝌蚪的急速鹽度變化適應機制		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，補件審查		
審查意見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	108. 7. 5
實驗動物照護及使用委員會(小組)召集人簽章	陳憲揚	簽核日期	2019.07.10.

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237-663
 E-mail: bluebear@mail.nutn.edu.tw

動物實驗申請表

申請編號：IACUC-A108002

核准編號：IACUC

「本表請留存於貴機構實驗動物照護及使用委員會(或小組)備查，毋須報送本會；惟如使用猿猴、犬、貓進行科學應用時，應提供審核通過之申請表影本列為年度監督報告之附件。」

一、計畫主持人：_____ 職稱：_____ 聯絡電話：_____

二、單位：生科系 實驗地點：榮譽校區 ZE105 室

三、計畫/課程/試驗名稱：以獨特酵素轉化合併化學合成技術生產雷公藤紅素皂苷衍生物與其生物活性研究

類別：醫學研究類 藥物及疫苗類 健康食品類 農業研究類 教學訓練類
其他類別 化學工程

四、經費來源：科技部

五、執行期限：109 年 6 月 至 111 年 5 月 (請填寫起訖年月)

六、負責進行動物實驗之相關人員資料：

	姓名	職稱	參與實驗期限	具有動物實驗相關技術與經驗年數
1		教授	2 年	11 年
2		研究生	2 年	1 年

七、實驗所需之動物：

	動物別/品系 ^a	使用量/年	動物來源 ^b	動物飼養場所 ^c	是否需要繁殖 ^d
1	斑馬魚	100 隻/年	水族館	榮譽校區 ZE105 室	是

八、動物飼養：由動物中心專人負責

由託養場所負責

由實驗室人員負責，請說明其對動物飼養之背景與訓練：

飼養場設有十二個個水族箱，利用其中四箱，每箱飼養 25 隻斑馬魚，每個水族箱配有照明設備及打氣設備，由研究生每天以飼料餵食，並且隔天進行換水，以保持水族箱水質乾淨。研究生過去執行科技部與產學計畫業已完成相關斑馬魚活體皮膚黑色素生成活性抑制實驗所需技術，包括斑馬魚之飼養。研究生畢業時進行新進研究生訓練與交接，以確保斑馬魚飼養與相關實驗技術進行確實。

九、請簡述本研究之目的：

本實驗以斑馬魚為動物模式進行雷公藤紅素皂苷衍生物皮膚美白原料對其幼魚皮膚黑色

素生成影響。希望藉此印證所開發藥物之動物活體皮膚美白療效。

十、請以動物實驗應用 3Rs 之替代及減量原則，說明動物實驗試驗設計、實驗動物需求、動物種別及數量之必要性：

(一) 活體動物試驗之必要性，以及選擇此動物種別的原因：

活體動物皮膚美白試驗，一般以老鼠模式進行，但由於本校無相關設備，因此經由文獻開發出新的以斑馬魚模式進行活體動物皮膚美白試驗。由於斑馬魚在飼養及操作上比老鼠更容易，因此本實驗室選用。

(二) 法源依據：

本計畫動物操作全部符合本國動物保護法相關規定辦理。

(三) 參考文獻：

Choi TY, Kim JH, Ko DH, Kim CH, Hwang JS, Ahn S, Kim SY, Kim CD, Lee JH, Yoon TJ. Zebrafish as a new model for phenotype-based screening of melanogenic regulatory compounds. *Pigment Cell Res* 2007; 20: 120-127.

(四) 說明動物實驗試驗設計(動物分組方法、每組使用動物數量等)：

本計畫施予雷公藤紅素皂苷衍生物，濃度最高 100ug/ml，直接配置於胚胎發育溶液中，於胚胎發育 9-120 小時進行藥物處理。實驗完成後以顯微鏡觀察並記錄幼魚皮膚黑色素含量。實驗共分 6 組，包含：控制組、正控制組(熊果素 50ug/ml)、實驗組以 100ug/ml, 50ug/ml, 25ug/ml, 12.5ug/ml 之雷公藤紅素皂苷衍生物處理。每組 15 顆卵，三重複，共 270 顆。實驗方法詳述如下：斑馬魚是一種體型小的熱帶魚種，並在科學研究上具有重要角色。由於其體型小、容易飼養、生理活性接近哺乳類生物等優勢，最近在生物科學領域中，有越來越多的研究，以斑馬魚作為生物模式進行相關研究。2007 年 Kim 等人成功開發出利用斑馬魚作為活體模式，進行抑制皮膚黑色素(美白)效能分析[Choi TY, Kim JH, Ko DH, Kim CH, Hwang JS, Ahn S, Kim SY, Kim CD, Lee JH, Yoon TJ. Zebrafish as a new model for phenotype-based screening of melanogenic regulatory compounds. *Pigment Cell Res* 2007; 20: 120-127.]。由於斑馬魚在胚胎發育早期(口部發育成熟前)，對培養基中的小分子(如養分等物質)吸收方式乃是直接透過皮膚吸收，因此，早期的斑馬魚胚胎十分適合做為進行分子對皮膚吸收效能分析的研究。此外，斑馬魚的皮膚亦同樣具有黑色素形成，這點使得斑馬魚胚胎能夠成功被開發作為皮膚美白效能分析的活體模式。其步驟簡述如下：將購買自水族館的斑馬魚成魚於水族箱中進行飼養。飼養條件固定如下：溫度：28.5°C，日照：14/10 小時日夜循環。以購自水族館的飼料進行餵養，每日固定餵食二次。胚胎收取自斑馬魚之自然排卵。將收取之受經卵在 24 孔培養皿中以胚胎培養基進行培養。在胚

胎發育至第 9 小時時，於不同測試條件中，將溶於 DMSO 的測試藥品加入胚胎培養基中 (DMSO 最終濃度為 0.1%)，控制組則加入 DMSO，繼續培養至第 72 小時。每 24 小時重新置換新的培養基。收取樣品時，利用可照相之解剖顯微鏡進行觀察記錄胚胎存活率以及黑色素含量。每次實驗自取卵後進行 1 週，本計畫針對計畫所產生之雷公藤紅素皂苷衍生物每一個分子預計進行斑馬魚黑色素生成抑制實驗 3 次重複，開始進行本案之斑馬魚黑色素生成抑制實驗時期，必須視計畫所產生之雷公藤紅素皂苷衍生物之生產與分離純化出來時間而定，一旦新穎性雷公藤紅素皂苷衍生物生產、分離純化出來後立刻開始進行，整個計畫自雷公藤紅素皂苷衍生物生產、分離純化與黑色素生成抑制分析共為期 2 年。

十一、請以實驗動物應用 3Rs 之精緻化原則，說明實驗中所進行之動物實驗內容(請參考行政院農委會 實驗動物照護及使用指引-附件二)：

- (一) 實驗物質之投予、採樣方法及其頻率：本計畫施予雷公藤紅素皂苷衍生物，濃度最高 100ug/ml，直接配置於胚胎發育溶液中，於胚胎發育 9-120 小時進行藥物處理。
- (二) 動物之保定、禁食、禁水、限制行動(如代謝籠、跑步機、行為實驗)的方法及時間：本計畫動物不需保定。
- (三) 麻醉(鎮靜)方法、劑量、投藥、手術方式與麻醉(手術)後的照護：本計畫動物無外科手術。
- (四) 如何使動物之緊迫或疼痛降至最低(例如：使用鎮靜劑或止痛劑、添加環境豐富化物件等，並依疼痛標準級別與實驗目的，描述動物疼痛處理方式)：本計畫動物無外科手術，處理藥物在胚胎時期，應無痛苦。
- (五) 實驗預期結束之時機，以及動物出現何種異常與痛苦症狀時提前人道終止實驗：本計畫動物無外科手術，處理藥物在胚胎時期，應無痛苦。

十二、請說明實驗結束後動物之處置方式(如復原處置、安樂死、屍體處理方法、轉讓...等；若為轉讓，請提供計畫實驗申請書)：

實驗結束後使用之斑馬魚繼續飼養，直到其自然死亡為止，並將死亡之屍體低溫儲存，整個 2 年計畫結束後屍體委由總務處環安組交由合格廠商處理。

十三、有無進行危險性實驗，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

如有，請填寫以下項目，並先送環安組審核：

(一) 實驗之危險性屬於 生物危險 放射線 毒性化學危險

1、進行危險物品實驗施用之方法、途徑及場所：

2、針對實驗人員、實驗動物以及飼養環境所採行之保護措施：

3、實驗廢棄物與屍體之處理方式：

(二) 如屬生物危險實驗，請陳述：

是否有生物安全委員會之核准資料： 無 有

(三) 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：

(放射線物質實驗須經行政院原子能委員會認可；毒性化學實驗須經行政院環境保護署認可。)

尚未申請。

已申請，審核中。

通過認可。

生物實驗安全委員	毒化物委員	環境安全衛生委會委員

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。

(若有申請補助計畫需檢附「申請動物實驗倫理 3R 說明」時，請填寫附錄二)

生物實驗安全委員	毒化物委員	環境安全衛生委會委員

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。

(若有申請補助計畫需檢附「申請動物實驗倫理 3R 說明」時，請填寫附錄二)

申請人簽名

日期 2019. 10. 25.

單位主管簽名

生物科學系 系主任 程台生

日期 2019. 10. 25

附錄一(如有繁殖實驗動物時，請填寫本表。)

實驗動物繁殖表

一、請說明本研究計畫須繁殖動物的理由：本計畫施予雷公藤紅素皂苷衍生物，濃度最高100ug/ml，直接配置於胚胎發育溶液中，於胚胎發育9-120小時進行藥物處理，之後以顯微鏡觀察幼魚皮膚黑色素生成情況，並記錄。因此必須繁殖斑馬魚。

二、列舉所有需繁殖的動物品種與品系、數量等：

繁殖動物總量：500		使用於實驗的子代數量
品種/品系：AB		
種原數量：100	子代數量：500	270

三、動物繁殖之負責單位：

由動物中心專人負責。

由實驗室人員負責，請說明其對動物飼養之背景與訓練：本實驗由 老師負責帶領研究生飼養斑馬魚， 老師於實驗前已有多年進行斑馬魚活體皮膚美白實驗之經驗。

四、請說明種原動物與子代的淘汰策略：本計畫無淘汰。實驗結束後使用之斑馬魚繼續飼養，直到其自然死亡為止，並將屍體低溫儲存，整個2年計畫結束後屍體委由總務處環安組交由合格廠商處理。

五、未使用於實驗的動物之處置方法：

種原：

子代：

實驗結束後使用之斑馬魚不論種原或子代均繼續飼養，直到其自然死亡為止，並將屍體低溫儲存，整個2年計畫結束後屍體委由總務處環安組交由合格廠商處理。

六、是否為基因改造動物？

否

是：請填寫下列問題：

(一)請說明動物是否有任何特殊表現型或先天性異常？

否

是：請說明： _____

(二)是否需特殊照養？

否

是：請說明： _____

(三)請說明篩選基因用採樣方法與採樣時間：

附錄二(若有申請補助計畫需檢附 3R 說明時，請填寫本說明。)

動物實驗人道管理替代、減量及精緻化(3R)說明 (範例)

本研究計畫涉及動物實驗，已考量「替代(Replace)」、「減量(Reduce)」及「精緻化(Refine)」之 3R 精神，將實驗設計最佳化，並說明如下：

一、3R 原則：

- 本實驗計畫已經本人及機構內「實驗動物照護及使用委員會(或小組)」詳實審查，無其他替代方案。
- 本實驗計畫已經本人及機構內「實驗動物照護及使用委員會(或小組)」詳實審查，已使用最少數量動物。
- 本實驗計畫已經本人及機構內「實驗動物照護及使用委員會(或小組)」詳實審查，已做到精緻化，或動物福利最佳化。包含：
 - 已考慮並要求執行動物疼痛評估
 - 已考慮並要求執行適當減輕動物痛苦方式(如：麻醉劑、止痛劑、設定人道安樂死時機)
- 其他(請說明)：__本研究完全不操作動物手術或任何其他導致動物疼痛之實驗

二、教育訓練：

為促進 3R 精神之落實，本研究實際負責進行動物實驗之相關人員之教育與訓練經歷：

實驗動物人道管理(例如：動物福利、3R 原則)

■實驗專業技術訓練

其他(請說明)：_____

三、使用動物來源：

為確保本研究計畫實驗品質與效益，本實驗之動物來源為：

AAALAC 認證繁殖機構_____

其他繁殖機構_____ (請註明名稱及地址等)

■其他(請說明) __一般水族館_____

四、監督機制：

為確保實驗品質與效益，本研究計畫相關動物實驗之監督機制為：

■「實驗動物照護及使用委員會(或小組)」，隸屬機構層級_國立臺南大學__

■召集人職稱_張碩文教授__

已設置專責專職獸醫師，並參與計畫審查及動物照護與管理

計畫審查已包括外部委員

五、行政院農業委員會最近一次實地查核本機構「動物科學應用」之評比紀錄：

優、良、尚可、較差，查核年度：_____年（請附相關公文書）

六、若行政院農業委員會最近一次實地查核本機構「動物科學應用」之評比為「較差」，建議改善事項之改善情形說明如下：

_____（請附佐證資料）

國立臺南大學實驗動物照護及管理小組初審意見表
(委員 1)

案件申請編號	IACUC-A108002	單位	生物科技學系
研究計畫名稱	以獨特酵素轉化合併化學合成技術生產雷公藤紅素皂苷衍生物與其生物活性研究		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議 <input type="checkbox"/> 不同意進行		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議) <p style="font-size: 1.2em; text-align: center;">皆符合實驗規範</p>		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	108.10.30
實驗動物照護及使用委員會(小組)召集人簽章	張碩文	簽核日期	108.11.6

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學實驗動物照護及管理小組初審意見表

(委員 2)

案件申請編號	IACUC-A108002	單位	生物科技學系
研究計畫名稱	以獨特酵素轉化合併化學合成技術生產雷公藤紅素皂苷衍生物與其生物活性研究		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議 <input type="checkbox"/> 不同意進行		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	請確實依照申請程序進行。		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	108.11.04
實驗動物照護及使用委員會(小組)召集人簽章	張 碩 文	簽核日期	108.11.6

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀

聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、863

E-mail: bluebear@mail.nutn.edu.tw

動物實驗申請表

申請編號：IACUC-A/108003

核准編號：IACUC

「本表請留存於貴機構實驗動物照護及使用委員會(或小組)備查，毋須報送本會；惟如使用猿猴、犬、貓進行科學應用時，應提供審核通過之申請表影本列為年度監督報告之附件。」

一、計畫主持人：_____ 職稱：_____ 聯絡電話：_____

二、單位： 生物科技學系 實驗地點： ZE105 生技醫藥實驗室

三、計畫/課程/試驗名稱： 探討廣鹽性吳郭魚兩種皮質類固醇受體在離子細胞的分化與生理功能之機制

類別：醫學研究類 藥物及疫苗類 健康食品類 農業研究類 教學訓練類
其他類別 _____

四、經費來源：科技部

五、執行期限：109 年 8 月 112 年 7 月 (請填寫起訖年月)

六、負責進行動物實驗之相關人員資料：

	姓名	職稱	參與實驗期限	具有動物實驗相關技術與經驗年數
1		助理教授	112 年 7 月	魚類飼養繁殖與解剖 23 年
2		研究生	112 年 7 月	魚類飼養繁殖與解剖 9 年
3				

七、實驗所需之動物：

	動物別/品系 ^a	使用量/年	動物來源 ^b	動物飼養場所 ^c	是否需要繁殖 ^d
1	吳郭魚/莫三比克	12 隻 / 3 年	中央研究院	ZE105 生技醫藥實驗室	是
2					
3					

註 a： 保育類野生動物請加註，並另依野生動物保育法相關規定辦理。

註 b： 1. 動物來源可能為國內外合法繁殖場(例如國家實驗動物中心，樂斯科生物科技有限公司，美國 JAX 實驗室…等)、其他國內外研究機構之轉讓與贈與(例如美國或歐洲的大學，EMMA…等)、小型私人繁殖場及野外捕捉等，請說明動物來源，再由照護委員會(小組)評估適當性與合法性。

2. 自野外捕捉之動物請加註，並另說明來源地區、隔離檢疫方式及隔離期間；取自民間市場者，必要時須比照辦理。

註 c： 如動物飼養於非本機構之其他場所，須提供該場所所屬機構名稱、地址及該場所核准營運之證明文件(租借場地進行)或審核通過之動物實驗申請表(委託或合作)。

註 d： 如需繁殖「實驗動物(指供作科學應用目的使用者)」，請填寫附錄一。

八、動物飼養： 由動物中心專人負責

由託養場所負責

由實驗室人員負責，請說明其對動物飼養之背景與訓練：

主要由實驗室負責人 老師(23年魚類飼養繁殖經驗)，帶領博士班
研究生 (9年魚類飼養繁殖經驗)，共同飼養管理。

九、請簡述本研究之目的：

透過仔魚體表皮膚與成魚魚鰓，研究皮質醇如何調控吳郭魚離子吸收調節

十、請以動物實驗應用 3Rs 之替代及減量原則，說明動物實驗試驗設計、實驗動物需求、動物種別及數量之必要性：

(一) 活體動物試驗之必要性，以及選擇此動物種別的原因：

必要性：吳郭魚成魚主要當作種魚，待其自然產卵，口孵，使用孵化後之胚胎與仔魚進行生理實驗，需有穩定之胚胎與仔魚，依吳郭魚的生殖模式，大約需每年 4 隻左右，才能穩定提供實驗材料。

原因：莫三比克吳郭魚為廣鹽性魚類，一種很常用來研究滲透壓生理的魚種

(二) 法源依據：

Hartung, T. (2010). Comparative analysis of the revised Directive 2010/6106/EU for the protection of laboratory animals with its predecessor 86/609/EEEC—a t4 report. *ALTEX-Alternatives to animal experimentation*, 27(4), 285-303.

Strähle, U. et al. (2012). Zebrafish embryos as an alternative to animal experiments—a commentary on the definition of the onset of protected life stages in animal welfare regulations. *Reproductive Toxicology*, 33(2), 128-132.

(三) 參考文獻：

Cruz, S.A., Lin, C.H., Chao, P.L. and Hwang, P.P. (2013b). Glucocorticoid receptor, but not mineralocorticoid receptor, mediates cortisol regulation of epidermal ionocytes development and ion transport in zebrafish (*Danio rerio*). *PLoS ONE* 8(10): e77997.

Lin, C. H., Kuan, W. C., Liao, B. K., Deng, A. N., Tseng, D. Y.*, & Hwang, P. P.* (2016b). Environmental and cortisol-mediated control of Ca²⁺ uptake in tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of Comparative Physiology B*, 186(3), 323-332.

(四) 說明動物實驗試驗設計(動物分組方法、每組使用動物數量等)：

吳郭魚成魚主要當作種魚，待其自然產卵，口孵，使用孵化後之胚胎與仔魚進行生理實驗，每次約需 300 顆卵

十一、請以實驗動物應用 3Rs 之精緻化原則，說明實驗中所進行之動物實驗內容(請參考行政院農委會 實驗動物照護及使用指引-附件二)：

(一) 實驗物質之投予、採樣方法及其頻率：

1. 大部分胚胎與 10 天之仔魚，利用 MS222 進行水浴麻醉後犧牲。
2. 需要時，少部分成魚，取其魚鰓部分進行實驗，利用 MS222 水浴麻醉，頭椎切斷法犧牲。

(二) 動物之保定、禁食、禁水、限制行動(如代謝籠、跑步機、行為實驗)的方法及時間：

本實驗用之魚種，無需此步驟

(三) 麻醉(鎮靜)方法、劑量、投藥、手術方式與麻醉(手術)後的照護：

本實驗用之魚種，無需此步驟

(四) 如何使動物之緊迫或疼痛降至最低(例如：使用鎮靜劑或止痛劑、添加環境豐富化物件等，並依疼痛標準級別與實驗目的，描述動物疼痛處理方式)：

本實驗用之魚種，無需此步驟

(五) 實驗預期結束之時機，以及動物出現何種異常與痛苦症狀時提前人道終止實驗：

本實驗用之魚種，無需此步驟

十二、請說明實驗結束後動物之處置方式(如復原處置、安樂死、屍體處理方法、轉讓...等；若為轉讓，請提供計畫實驗申請書)：

1. 實驗結束後剩餘活魚，當作下一次實驗所需
2. 實驗後動物屍體，交予學校專屬存放地點冷凍保存，累積一定數量，由學校簽約合法廠商後續處理。

十三、有無進行危險性實驗，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

如有，請填寫以下項目，並先送環安組審核：

(一) 實驗之危險性屬於 生物危險 放射線 毒性化學危險

- 1、進行危險物品實驗施用之方法、途徑及場所：
- 2、針對實驗人員、實驗動物以及飼養環境所採行之保護措施：
- 3、實驗廢棄物與屍體之處理方式：

(二) 如屬生物危險實驗，請陳述：

是否有生物安全委員會之核准資料： 無 有

(三) 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：

(放射線物質實驗須經行政院原子能委員會認可；毒性化學實驗須經行政院環境保護署認可。)

- 尚未申請。
- 已申請，審核中。
- 通過認可。

生物實驗安全委員	毒化物委員	環境安全衛生委會委員

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。

(若有申請補助計畫需檢附「申請動物實驗倫理 3R 說明」時，請填寫附錄二)

申請人簽名

日期 108.11.29

單位主管簽名

林心怡

日期 2019.11.29

附錄一(如有繁殖實驗動物時，請填寫本表。)

實驗動物繁殖表

一、請說明本研究計畫須繁殖動物的理由：

魚類生理學實驗，分藥物處理實驗組與控制組，每組要採 5 個連續時間的採樣點，每個採樣點需要 10 小組 (n=10)，每小組需要 3 隻為 1 小組，所以 $2 \times 5 \times 10 \times 3 = 300$ 隻，每個月進行 1 項實驗，進行 12 個月，所以需要 3,600 隻，所以為了減少藥物使用量，減少養殖空間需求量，減少成魚使用量，故改用胚胎仔魚進行實驗。

二、列舉所有需繁殖的動物品種與品系、數量等：

繁殖動物總量：仔魚 3,600 隻		使用於實驗的子代數量
品種/品系：吳郭魚/莫三比克		
種原數量：4 隻	子代數量：仔魚 3,600 隻	仔魚 3,600 隻
品種/品系：		
種原數量：	子代數量：	
品種/品系：		
種原數量：	子代數量：	

三、動物繁殖之負責單位：

由動物中心專人負責。

由實驗室人員負責，請說明其對動物飼養之背景與訓練：

1. 大學就讀 東海大學 生物學系，具有專業之生物學知識
2. 碩士就讀 台灣大學 漁業科學研究所，研究海水魚類黑鯛之生殖生理學
3. 博士就讀 台灣大學 動物學研究所，研究淡水長臂大蝦之生殖生理學
4. 中央研究院 細胞與個體生物學研究所 博士後研究 2 年，研究斑馬魚與稻田魚之滲透壓生理
5. 主持 100, 101, 102 年度「科技部」研究計畫 3 年，研究「皮質醇調控廣鹽性吳郭魚鈣離子調節之機制」
6. 主持 107 年度「科技部」研究計畫 1 年，研究「皮質醇影響廣鹽性吳郭魚表皮離子細胞之分化與生理功能」
7. 參加行政院農委會辦理之「101 年度動物保護專業教育訓練計畫(實驗動物人道管理訓練)」課程，領有證書(101 動科推訓第 420 號)

四、請說明種原動物與子代的淘汰策略：

實驗結束後剩餘活魚種原，當作下一次實驗所需，直到魚隻自然死亡

五、未使用於實驗的動物之處置方法：

種原：實驗結束後剩餘活魚種原，當作下一次實驗所需

子代：無未使用之子代

六、是否為基因改造動物？

否

是：請填寫下列問題：

(一)請說明動物是否有任何特殊表現型或先天性異常？

否

是：請說明： _____

(二)是否需特殊照養？

否

是：請說明： _____

(三)請說明篩選基因用採樣方法與採樣時間：

附錄二(若有申請補助計畫需檢附 3R 說明時，請填寫本說明。)

動物實驗人道管理替代、減量及精緻化(3R)說明 (範例)

本研究計畫涉及動物實驗，已考量「替代 (Replace)」、「減量 (Reduce)」及「精緻化 (Refine)」之 3R 精神，將實驗設計最佳化，並說明如下：

一、3R 原則：

- 本實驗計畫已經本人及機構內「實驗動物照護及使用委員會 (或小組)」詳實審查，無其他替代方案。
- 本實驗計畫已經本人及機構內「實驗動物照護及使用委員會 (或小組)」詳實審查，已使用最少數量動物。
- 本實驗計畫已經本人及機構內「實驗動物照護及使用委員會 (或小組)」詳實審查，已做到精緻化，或動物福利最佳化。包含：
 - 已考慮並要求執行動物疼痛評估
 - 已考慮並要求執行適當減輕動物痛苦方式 (如： 麻醉劑、 止痛劑、 設定人道安樂死時機)
 - 其他(請說明)：_____

二、教育訓練：

為促進 3R 精神之落實，本研究實際負責進行動物實驗之相關人員之教育與訓練經歷：

- 實驗動物人道管理(例如：動物福利、3R 原則)
- 實驗專業技術訓練
- 其他(請說明)：_____

三、使用動物來源：

為確保本研究計畫實驗品質與效益，本實驗之動物來源為：

- AAALAC 認證繁殖機構_____
- 其他繁殖機構_____ (請註明名稱及地址等)
- 其他 (請說明) 中央研究院

四、監督機制：

為確保實驗品質與效益，本研究計畫相關動物實驗之監督機制為：

- 「實驗動物照護及使用委員會(或小組)」，隸屬機構層級 二級
- 召集人職稱 環安組 組長
- 已設置專責專職獸醫師，並參與計畫審查及動物照護與管理

■計畫審查已包括外部委員

五、行政院農業委員會最近一次實地查核本機構「動物科學應用」之評比紀錄：

優、良、尚可、較差，查核年度：106年（請附相關公文書）

六、若行政院農業委員會最近一次實地查核本機構「動物科學應用」之評比為「較差」，建議改善事項之改善情形說明如下：

（請附佐證資料）

國立臺南大學實驗動物照護及管理小組初審意見表
(委員 1)

案件申請編號	IACUC-A108003	單位	生物科技學系
研究計畫名稱	探討廣鹽性吳郭魚兩種皮質類固醇受體在離子細胞的分化與生理功能之機制		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議 <input type="checkbox"/> 不同意進行		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議) 未說明成體吳郭魚飼養之環境，譬如水族箱大小、幾隻養在一起等資料。請補充		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	2019/12/08
實驗動物照護及使用委員會(小組)召集人簽章		簽核日期	108.12.10

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學實驗動物照護及管理小組初審意見表
(委員 2)

案件申請編號	IACUC-A108003	單位	生物科技學系
研究計畫名稱	探討廣鹽性吳郭魚兩種皮質類固醇受體在離子細胞的分化與生理功能之機制		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議 <input type="checkbox"/> 不同意進行		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議) 符合實驗動物規範。		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	108.12.4.
實驗動物照護及使用委員會(小組)召集人簽章	張碩文	簽核日期	108.12.10

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

吳郭魚繁殖操作：

吳郭魚成魚一缸僅飼養兩隻，採一公一母配對，密切注意母魚在交配期公魚追尾行為下導致受傷，如受傷則須隔離另行配對。每天餵食須注意兩隻魚的攝食量，並且在餵食後半小時清除缸中剩餘的飼料避免水質惡化，在交配期吳郭魚公魚的體色會變鮮豔，此時須密切注意母魚是否出現口孵情形，吳郭魚母魚口孵時會停止進食，且母魚因口中含著卵而下顎膨大，自觀察到口孵行為後過三天，將母魚小心自缸中撈出，並且掏出口中的卵。成魚一次產卵口孵的數量約 300~400 顆左右，但並不一定每次都會是受精卵，受精卵取出後置於大燒杯中並持續打氣，如果非受精卵則直接廢棄處理。

胚胎實驗操作：

受精卵約在口孵行為後 90~110 小時孵化，在孵化後 24~72 小時的這段時期為前期仔魚(Early larva)時期，此時並不具備游泳能力，亦不需要進食，實驗操作時須使用打氣幫浦提供充足的氧氣。實驗操作時依需求浸泡在不同濃度的皮質醇藥劑以及皮質醇拮抗劑中，並且避光處理。依照實驗設計在不同時間點取出仔魚已 MS-222 麻醉藥劑處理犧牲後，用來萃取 RNA 或者以 4% 多聚甲醛磷酸鹽溶液固定保存。

申請者簽章

108.12.11