

STANDARD OPERATING PROCEDURE (SOP)

[In-vivo 실무] 실험동물 핸들링 및 비임상 실습 표준 가이드

문서번호: SOP-INVIVO-2026-01 | 최종 개정일: 2026년 7월 22일 | 대상: In-vivo 연구원 및 비임상 실무자

1. 동물 윤리 및 개체 관리 실무

1.1 동물 실험 윤리 및 인도적 종점 (Humane Endpoints)

- 3Rs 원칙의 현장 적용:**
 - Replacement (대체):** 가능 시 In-silico, In-vitro, Organoid 기법 우선 검토
 - Reduction (감소):** 통계적 유의성을 확보하는 최소한의 동물 수 산정 (G*Power 등 계산 툴 활용)
 - Refinement (개선):** 적절한 마취·진통제 사용, 환경 풍부화(Environmental Enrichment) 제공
- 인도적 종점 (Humane Endpoints) 판정 기준:**

실험 목적이 달성되기 전이라도 동물의 고통을 줄이기 위해 안락사를 시행해야 하는 지표 상태.

 - 체중 감소:** 짧은 기간 내 평소 체중의 20% 이상 급격한 감소
 - 체온 저하:** 정상 체온 대비 지속적인 체온 떨어짐
 - 행동 이상:** 자발적 운동성 상실, 외부 자극에 무반응, 지속적인 유연(침 흘림) 및 자해 행동
 - 외형 이상:** 거친 모발(Ruffled fur), 웅크린 자세(Hunched posture), 신체 표면의 거대한 궤양/종양 (1.5 cm 초과 또는 체중의 10% 초과)

1.2 개체 식별 및 상태 평가 실무 (Body Condition Scoring)

- 개체 식별법 (Identification Methods):**
 - Ear Punch / Notch:** 마우스/랫드 귀에 구멍을 뚫거나 홈을 내어 번호 부여 (조직 수집 병행 가능)
 - Microchip (RFID):** 체하/피하에 칩 이식. 장기 시험 및 개체 추적 시 정확도 최고
 - Tail Marking:** 유성 펜 또는 전용 마커로 꼬리에 표시 (단기 시험용, 2~3일 마다 재표시 필요)
 - Tattoo / Micro-pigment:** 발바닥 또는 꼬리에 색소 주입 (장기 시험용)

📌 신체 상태 지수 (Body Condition Score, BCS) 지표

- **BCS 1 (Emaciated, 심각한 기아):** 골반뼈와 척추가 매우 날카롭게 만져짐. 근육 손실 심각 (즉시 조치 또는 안락사 대상)
- **BCS 2 (Underconditioned, 체중 미달):** 척추와 골반이 쉽게 만져지나 가벼운 압력에 뼈 끝이 둥글게 느껴짐
- **BCS 3 (Well-conditioned, 정상):** 척추와 골반이 살짝 만져지며 적절한 근육/지방층 유지
- **BCS 4/5 (Overconditioned / Obese, 과체중/비만):** 뼈가 잘 만져지지 않으며 지방 적층

2. In-vivo 약물 투여 실무 (Dosing SOP)

2.1 약물 투여 시 공통 준수사항

1. **투여액 온도:** 냉장 보관 약물은 반드시 투여 전 상온(20~25°C) 또는 체온 수준으로 가온하여 투여 (냉간 투여 시 쇼크 위험)
2. **기포 제거 (De-gassing):** 주사기 내부 기포는 투여 오차 및 혈관 투여 시 공기 색전증(Air Embolism)을 유발하므로 완전히 제거
3. **용매(Vehicle) 안전성:** pH 5.0~9.0, 삼투압 280~310 mOsm/kg 범위 준수 권장

[경구 투여 (P.O.) 존데 삽입 가이드]

입 (구강) ---> 입천장(Hard Palate) 추적 ---> 식도 부드럽게 통과 ---> 위(Stomach)

* 주의: 머리를 뒤로 너무 젖히면 식도가 꺾이므로 척추와 식도가 일직선이 되도록 보전

2.2 주요 경로별 투여 테크닉 및 SOP

투여 경로	약어	마우스 최대 용량	랫드 최대 용량	실무 핵심 SOP 및 사고 예방 팁
경구 투여	P.O.	10 mL/kg	10 mL/kg	• 존데(Gavage Needle) 끝에 약물을 살짝 묻혀 부드럽게 삽입 • 입천장을 따라 자연스럽게 넘겨야 하며, 저항이 느껴지면 즉시 후퇴 (기도 천공 위험) • 투여 후 동물이 기침하거나 기포/액체를 뱉어내면 기도 투여 사고임
복강 투여	I.P.	10 mL/kg	5 mL/kg	• 머리를 아래로 향하게 경사지게 보전하여 장기가 위쪽으로 쏠리게 함 • 하복부 정중선 좌/우측 3~5 mm 지점에 30~45° 각도로 주입 • 주입 전 흡인(Aspiration)하여 혈액, 소변, 장 내용물이 나오지 않는지 확인
정맥 투여	I.V.	5 mL/kg	1~2 mL/kg	• 온열등 또는 40°C 온수로 꼬리를 가열하여 미정맥 확장 • 꼬리 원위부(끝쪽)부터 시도하며, 실패 시 근위부(몸통 쪽)로 올라가며 재시도 • 바늘 진입 후 약물 주입 시 저항이 없어야 하며, 피하가 부풀어 오르면 즉시 중단
피하 투여	S.C.	10 mL/kg	5 mL/kg	• 목 뒤 또는 등 부위 가죽을 들어 올려 '텐트(Tent)' 모양 형성 • 텐트 기저부에 바늘을 평행하게 삽입 (반대편 가죽 관통 주의)
근육 투여	I.M.	0.05 mL/site	0.1 mL/site	• 대퇴부 후근육(Thigh muscle)에 주입 • 대퇴골 후방을 지나가는 좌골신경(Sciatic nerve) 손상에 극구 주의

3. 마취, 채혈 및 부검 실무 (Anesthesia, Sampling & Necropsy)

3.1 마취 실무 (Anesthesia)

- **흡입 마취 (Isoflurane) - 가장 권장됨:**
 - **Induction (유도):** Isoflurane 3.0~5.0%, 산소 유량 1~1.5 L/min
 - **Maintenance (유지):** Isoflurane 1.5~2.5%, 산소 유량 0.8~1.0 L/min
 - **마취 깊이 확인:** 통각 반사(Toe pinch reflex - 발가락을 세게 집었을 때 회피 반응 유무) 및 지각 반사(Corneal reflex) 확인
- **주사 마취:** Ketamine (80~100 mg/kg) + Xylazine (10 mg/kg) I.P. 혼합 투여

3.2 채혈 실무 및 안전 한계량

- **순환 혈액량 산정:** 동물 체중의 약 6~7% (100 g 당 약 6~7 mL)
- **안전 생존 채혈량 (Survival Blood Collection):**
 - **1회 최대 채혈량:** 총 순환 혈액량의 10% 이하 (마우스 25 g 기준 약 0.15~0.17 mL)
 - **반복 채혈 시 회복 기간:** 10% 채혈 시 최소 1주일, 15% 채혈 시 최소 2주일 회복기 부여
- **채혈 경로별 특징:**
 - **미정맥 채혈 (Tail Vein):** PK/PD 단기 연속 소량 채혈 시 유용
 - **복사정맥 채혈 (Saphenous Vein):** 마취 없이 비경구 반복 소량 채혈 가능
 - **안와정맥총 채혈 (Retro-orbital):** Capillary tube 사용, 마취 필수 (안구 손상 주의)
 - **심장 채혈 (Cardiac Puncture):** 최종 안락사 단계 대량 채혈 (0.8~1.2 mL/마우스)
 - **복대아오르타 / IVC 채혈:** 복강 개복 후 대량 채혈 (혈액 응고 방지 위해 EDTA/Heparin 튜브 사전 준비)

3.3 안락사 및 부검/조직 적출 SOP

[조직 적출 표준 순서]

개복/개흉 ---> 혈액 완전 제거(전신 류혈) ---> 주요 장기 적출 (위/장관류는 나중에)
 ---> 칭량(체중 대비 장기 중량비 산출) ---> 10% NBF 고정

1. 안락사 (Euthanasia):

- **CO₂ 챔버법:** 챔버 부피의 시간당 30~70% 비율로 CO₂ 가스 분당 주입 (사전 충전 방식 금지). 동물의 호흡과 움직임 정지 후 최소 1분 이상 추가 노출.
- **2차 확인 (Assurance of Death):** 경추 탈골(Cervical Dislocation), 대량 채혈, 또는 심장 적출을 통해 개체의 확실한 사망을 확인.

2. 부검 및 장기 적출:

- **적출 순서:** 심장 → 폐 → 간 → 비장 → 신장 → 부신 → 생식계 → 소화관(위, 장관) 순서 권장 (소화관을 먼저 잘라내면 무균적 표본 오염 및 장 내용물 유출 발생).
- **장기 고정:** 적출된 장기는 PBS로 혈액을 씻어낸 후, 장기 두께의 10배 이상 용량의 10% Neutral Buffered Formalin (NBF)에 24~48시간 침지 고정.

4. 사육 환경 및 바이오안전성 실무 SOP

4.1 사육실 환경 점검표 (Daily Checklist)

- **온도:** 22 ± 2°C (허용 범위 20~26°C)
- **상대습도:** 50 ± 10% (허용 범위 40~60%)
- **차압 (Differential Pressure):**
 - SPF/Clean 사육실: +10 ~ +15 Pa (양압)
 - 감염성/위해성 연구실(ABSL-2/3): -10 ~ -15 Pa (음압)
- **환기 횟수:** 시간당 10~15회 (HEPA 필터 급기)
- **조도/명암:** 150~300 Lux, 12시간 자동 온/오프 (Light 07:00 ~ 19:00)

4.2 오염 관리 및 소독 실무

- **세척 및 소독제 적용:**
 - **70% Ethanol:** 일반 표면 소독 및 손 소독 (포자 제거 불가능)
 - **Peracetic Acid / Quaternary Ammonium:** 구역 소독 및 사육장 세척
 - **VHP (Vaporized Hydrogen Peroxide):** 공간 과산화수소 훈증 멸균 (SPF 구역 입실물 및 방 전체 멸균)
- **환경 미생물 모니터링:**
 - **낙하균 측정 (Settling Plate):** TSA 배지를 사육실 주요 거점에 1시간 노출 후 37°C 48시간 배양.
 - **표면 균 측정 (Swab Test / Contact Plate):** 작업대 및 사육장 표면 접촉 배양.

5. 현장 트러블슈팅 및 비상 대처 SOP

⚠ 5.1 투여/채혈 사고 대처

1. P.O. 경구 투여 중 식도 천공/기도 오투여:

- **증상:** 동물이 급격히 호흡 곤란을 일으키며 입/코로 기포나 액체 유출, 기침.
- **조치:** 즉시 투여 중단. 호흡이 돌아오지 않거나 고통이 지속되면 인도적 안락사 진행 후 부검하여 폐 오입 여부 확인.

2. I.V. 정맥 주사 중 혈관 외 유출 (Extravasation):

- **증상:** 꼬리가 하얗게 부풀어 오르고 주입 저항 발생.
- **조치:** 즉시 바늘 발거. 온습포로 마사지하고, 유출 부위보다 위쪽(몸통 쪽)에 재시도하거나 다른 꼬리 혈관 이용.

🚒 5.2 작업자 안전 사고 (Animal Bite / Biohazard)

1. 동물 교물(물림) 및 가위 사고:

- **즉시 조치:** 상처 부위를 압박하여 피를 뽑아내고, 비누와 흐르는 물로 최소 15분 이상 충분히 세척.
- **소독:** 70% 알코올 또는 포비돈 요오드로 소독 후 보건관리자 보고 및 의료기관 방문 (필요 시 파쇄품 예방접종).

2. 탈출 동물 발생 시:

- **조치:** Capture net 또는 전용 보전 장갑을 사용하여 포획. 외부로 오염물질이 나가지 않도록 해당 구역 문을 즉시 닫음. 포획 후 건강 상태 및 오염 가능성 평가.