

國立臺南大學 110 年度實驗動物照護及管理小組會議紀錄

時間：110 年 12 月 14 日(星期二)中午 12 時

地點：誠正大樓 309 會議室

主持人：總務處環安組丁組長慧如

出席者：行政管理學系吳宗憲老師、生態暨環境資源學系張原謀老師、生物科技學系張德生老師、生物科技學系曾登裕老師、小毛屋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)、總務處環安組李芳儀校聘管理師(執行秘書)

列席者：

壹、主席致詞

感謝各位委員與會，謝謝委員們協助申請案審查，那我們先進行工作報告後再進行提案討論，謝謝。

貳、工作報告

一、本(110)年度計畫執行後之監督查核(PAM)及實驗動物飼養環境巡檢作業已於 110.3.23、110.09.28、110.12.07 執行，共計 3 次。

二、110 年度申請本校實驗動物照護及管理小組計畫為 2 件，資料如下：

1.計畫編號：IACUC-A110001 (P.3-P.12)

申請人：生態暨環境資源學系 張原謀老師

計畫名稱：不同海拔莫氏樹蛙蝌蚪與盤古蟾蜍蝌蚪在不同溫度下的生長發育及存活率之比較。

2.計畫編號：IACUC-A110002 (P.15-P.24)

申請人：生物科技學系 曾登裕老師

計畫名稱：探討皮質醇透過皮質類固醇受體及分化因子 P63 調控廣鹽性吳郭魚在離子細胞的分化之機制。

上述2件計畫，已全數審查完畢。

參、提案討論

國立臺南大學110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-A110001、IACUC-A110002動物實驗申請案，是否同意進行，提請討論？	總務處環安組	2

二	擬訂定本校「國立臺南大學實驗動物飼養環境危機處理及緊急應變程序」，並收錄於本校「國立臺南大學實驗動物照護及使用小組作業規範」，如說明，提請討論。	總務處環安組	2
---	--	--------	---

提案一

案由：有關計畫編號 IACUC-A110001、IACUC-A110002 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-A110001、IACUC-A110002，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.13~P.14、P.25~P.26)。
- 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：照案通過。

提案二

案由：擬訂定本校「國立臺南大學實驗動物飼養環境危機處理及緊急應變程序」，如附件 (P.27-P.28)，並收錄於本校「國立臺南大學實驗動物照護及使用小組作業規範」，如說明，提請討論。

說明：

- 一、依據行政院農委會「實驗動物照護及使用指引」訂定「國立臺南大學實驗動物飼養環境危機處理及緊急應變程序」如附件 (P.27-P.28)，以確保當不可預期或意外事故與潛在緊急情況發生時，能迅速採取適當的應變措施。
- 二、訂定之「國立臺南大學實驗動物飼養環境危機處理及緊急應變程序」收錄於本校「國立臺南大學實驗動物照護及使用小組作業規範」，作為日後實驗動物作業準則。

決議：照案通過。

肆、臨時動議：無

伍、散會(12:25)結束

動物實驗申請表

申請編號：IACUC-A 110001

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。」

申請案已於「非動物替代方法資訊網(<http://nehrc.nhri.org.tw/taat/index.php>)」查詢，

有非動物替代方法，請依非動物替代方法進行相關研究，不進行動物實驗申請。

有非動物替代方法，但其他因素無法依非動物替代方法進行相關研究，仍需進行動物實驗申請，請於附錄二詳加說明。

無非動物替代方法，請相關規定進行動物實驗申請。

一、計畫主持人： 職稱：教授 聯絡電話：

二、單位：生態暨環境資源學系 實驗地點：

三、計畫/課程/試驗名稱：不同海拔莫氏樹蛙蝌蚪與盤古蟾蜍蝌蚪在不同溫度下的生長發育及存活率之比較

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：科計部

五、執行期限：2022 年 8 月 至 2025 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	<input type="text"/>	教授	2022/8-2025/7	動物實驗操作/10 年
2	<input type="text"/>	研究生	2022/8-2025/7	動物實驗操作/2 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	莫氏樹蛙蝌蚪	150 隻 /3 年	台南烏山厚德紫竹寺(低海拔)	恆溫生長箱	不需要
2	莫氏樹蛙蝌蚪	150 隻 /3 年	嘉義縣奮起湖(中海拔)	恆溫生長箱	不需要
3	莫氏樹蛙蝌蚪	150 隻 /3 年	嘉義縣自中(高海拔)	恆溫生長箱	不需要
4	盤古蟾蜍蝌蚪	150 隻 /3 年	屏東青山海神宮(低海拔)	恆溫生長箱	不需要
5	盤古蟾蜍蝌蚪	150 隻 /3 年	嘉義阿里山森林遊樂區(高海拔)	恆溫生長箱	不需要

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：

由 老師先教授兩棲類環境生理的基礎概念，並多次與操作人員討論本實驗的目的和原理。為了設計合適的實驗方法，也實際到野外實際觀察兩棲類的動物行為、特徵和棲地環境，對本實驗的目標物種更為了解，溫度實驗的設置也參照實際的野外環境溫度為基準。飼養與量測過程 也將親自指導。本實驗室也長年以蝌蚪為研究對象，飼養經驗累積豐富。

九、請簡述本研究之目的：

本研究目的是為了解不同海拔的環境溫度差異，是否造成不同海拔族群間的蝌蚪在生長、發育和存活率表現。以台灣在海拔上的廣布物種莫氏樹蛙和盤古蟾蜍為實驗對象。為具有統計意義，每個溫度需要飼養 30 隻個體。因蝌蚪飼養在 17°C、20°C、23°C、26°C、29°C 等五個溫度下，每個物種每個族群需飼養 150 隻蝌蚪，莫氏樹蛙蝌蚪來自 3 個海拔族群，因此共需 450 隻蝌蚪；而盤古蟾蜍蝌蚪來自 2 個海拔族群，因此共需 300 隻蝌蚪。本實驗結束後的個體將放回原棲地。

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：

本研究以臺灣在海拔分布上的廣布種莫氏樹蛙與盤古蟾蜍蝌蚪做為研究對象，可以了解不同族群在生態與生理上的分化狀況，可以對臺灣的生物在環境適應上的特性更進一步了解。

(二) 法源依據：

無相關法源依據

(三) 參考文獻：

Berven, K. A. (1982). The genetic basis of altitudinal variation in the wood frog *Rana sylvatica* II. An experimental analysis of larval development. *Oecologia*, 52, 360-369.

Berven, K. A. (1982). The genetic basis of altitudinal variation in the wood frog *Rana sylvatica*. I. An experimental analysis of life history traits. *Evolution*, 36, 962-983.

Berven, K. A., & Gill, D. E. (1983). Interpreting geographic variation in life-history traits. *Amer. Zool.*, 23, 85-97.

Chang, Y. M., Tseng, W. H., Chen, C. C., Huang, C. H., Chen, Y. F., & Hatch, K. A. (2014). Winter breeding and high tadpole densities may benefit the growth and development of tadpoles in a subtropical lowland treefrog. *J. Zool.*, 294, 154-160.

Lai, S. J., Kam, Y. C., & Lin, Y. S. (2003). Elevational variation in reproductive and life history traits of Sauter's frog *Rana sauteri* Boulenger, 1909 in Taiwan. *Zool. Stud.*, 42, 193-202.

(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)：

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：

蝌蚪採集和飼養：

分別將低海拔、中海拔、高海拔採集的莫氏樹蛙卵塊以及低海拔、高海拔採集的盤古蟾蜍卵串置於 14×22×10.5cm³ 的飼養盒中孵化，溫度保持 20°C (台南大學 ZE306 實驗室)。孵化後的蝌蚪，均先飼養在 20°C 的恆溫生長箱中，待蝌蚪發育至 24 期的時候，每個溫度挑選 30 隻個體，分別馴養在 17°C、20°C、23°C、26°C 及 29°C 的恆溫生長箱中，共 150 隻個體。每隻個體單獨飼養在 12.5×10×7cm³ 的飼養盒(內置 500 ml 曝氣水)。實驗期間每兩天餵食足夠飼料(藻類飼料)，並觀察其、生長、發育與存活率，待蝌蚪發育至 42 期(Gosner stage)，測量體重與經歷天數。

(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：

每周的型質測量：

本研究實驗期間每周都會測量蝌蚪的體長作為生長的依據，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。

變態體重測量：

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)：

N/A

(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，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。另一方面，幼蛙野放的目的是希望盡量降低研究對於當地蛙類族群量的影響。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：

N/A

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：

N/A

3、實驗廢棄物與屍體之處理方式：

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。

(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	環境安全衛生委員會委員

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 2021/11/25

單位主管簽名

 系主任 王一匡

日期

2021.11.25

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：

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：	使用於實驗的子代數量
品種/品系：	
種原數量：	子代數量：
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：

四、請說明種原動物與子代的淘汰策略：

五、未使用於實驗的動物之處置方法：

- 種原：
- 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。

(非動物性替代方法(請於非動物性替代方法資訊網

<http://nehrc.nhri.org.tw/taat/index.php>)

進行查詢

■無

有

無法使用非動物替代性原因：

■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) 野外捕捉

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 2 級
- 召集人職稱 總務處環安組丁慧如組長
- 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：109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
實驗動物照護及使用小組審查同意書
Affidavit of Approval of Animal Use Protocol
National University of Tainan

同意書編號：

計畫主持人(PI)： 職 稱：
 單 位：生態暨環境資源學系 飼養/應用地點：ZE306
 計畫名稱：不同海拔莫氏樹蛙蝌蚪與盤古蟾蜍蝌蚪在不同溫度下
 的生長發育及存活率之比較
 動物實驗申請表編號：

本計畫之「動物實驗申請表」業經實驗動物照護及使用小組審查通過。

本計畫預定飼養應用之動物如下：

	動物別	品系 ^a	使用量/年	計畫執行期間 ^c
1	莫氏樹蛙蝌蚪	台南烏山厚德 紫竹寺(低海 拔)	150 隻 /3 年	2022 年 8 月至 2025 年 7 月
2	莫氏樹蛙蝌蚪	嘉義縣奮起湖 (中海拔)	150 隻 /3 年	2022 年 8 月至 2025 年 7 月
3	莫氏樹蛙蝌蚪	嘉義縣自中 (高海拔)	150 隻 /3 年	2022 年 8 月至 2025 年 7 月
4	盤古蟾蜍蝌蚪	屏東青山海神 宮(低海拔)	150 隻 /3 年	2022 年 8 月至 2025 年 7 月
5	盤古蟾蜍蝌蚪	嘉義阿里山森 林遊樂區(高 海拔)	150 隻 /3 年	2022 年 8 月至 2025 年 7 月

The animal use protocol listed below has been reviewed and approved by the
Institutional Animal Care and Use Group (IACUG)

Protocol Title : Differential thermal performance in larval growth and development
of *Rhacophorus moltrechti* and *Bufo benkorensis* indifferent altitudinal populations

IACUG ApprovalNo :

Period of Protocol : Valid From:Aug/01/2022To:Jul/31/2025 (mm/dd/yyyy)

Principal Investigator (PI) :


實驗動物照護及使用小組召集人

日期

IACUG Chairman

Date

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-A110001	單位	生態暨環境資源學系
研究計畫 名稱	不同海拔莫氏樹蛙蝌蚪與盤古蟾蜍蝌蚪在不同溫度下的生長發育及存活率之比較		
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) 本實驗設計能符合三 R 原則，實驗完畢亦能將蛙類放回至原棲地，實驗過程中也少有物理介入的需要，本實驗設計符合動物實驗相關規範。		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	2021/12/1
實驗動物照護 及使用委員會 (小組)召集 人簽章		簽核日期	2021/12/19

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-A110001	單位	生態暨環境資源學系
研究計畫名稱	不同海拔莫氏樹蛙蝌蚪與盤古蟾蜍蝌蚪在不同溫度下的生長發育及存活率之比較		
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	<p style="color: red;">(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)</p> <p style="font-size: 1.2em;">均遵照實驗動物管理辦法。</p>		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	2021.12.7.
實驗動物照護及使用委員會(小組)召集人簽章		簽核日期	2021.12.9

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-A/110002

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。」

申請案已於「非動物替代方法資訊網(<http://nehrc.nhri.org.tw/taat/index.php>)」查詢，

有非動物替代方法，請依非動物替代方法進行相關研究，不進行動物實驗申請。

有非動物替代方法，但其他因素無法依非動物替代方法進行相關研究，仍需進行動物實驗申請，請於附錄二詳加說明。

無非動物替代方法，請相關規定進行動物實驗申請。

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：

三、計畫/課程/試驗名稱：探討皮質醇透過皮質類固醇受體及分化因子 P63 調控廣鹽性吳郭魚在離子細胞的分化之機制

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：111 年 8 月 114 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	<input type="text"/>	<input type="text"/>	114 年 7 月	魚類飼養繁殖與解剖 25 年
2	<input type="text"/>	研究生	114 年 7 月	魚類飼養繁殖與解剖 11 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	36 隻 / 3 年	中央研究院	<input type="text"/>	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(25 年魚類飼養繁殖經驗)，帶領博士班研究生 (15 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，大約需至少每年 4-12 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，為研究皮質醇影響吳郭魚之生理機制，需使用吳郭魚進行實驗。

(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)：

1. 吳郭魚成魚飼養：吳郭魚成魚飼養魚養殖系統中，使用 L61*W42*H32(CM)橘色塑膠大水槽，以上部過濾系統維持水質，期間水溫控制在 $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，並於每週應將水槽換水 30%，每兩日清理過濾器，吳郭魚屬於食量大排泄量也大的魚，當水色出現異常時則應立即進行換水處理，以維持飼養系統內種魚的健康。每日投餵人工配合飼料 2 次，直到飽食為止。吳郭魚以一組四隻直接混養在橘色塑膠大桶之中，如有一隻雄魚已出現婚姻色則將另一雄魚移出至另外的魚缸，避免兩隻雄魚因領域性打架造成種魚損傷，一般來說配對之吳郭魚會採取一公二母，以增加配對成功的機率。
2. 吳郭魚繁殖：實驗初期以僅以一組四隻飼養在大水槽之中，後期如有比較大量的實驗安排需求則最高增加至總共三組共十二隻吳郭魚種魚，種魚不進行實驗，僅做為繁殖用途。吳郭魚的配對產卵並無法以人為方式控制，只能勤加觀察，當雄雌魚成功配對開始繁殖，則在三至四天不適於清理魚缸或是清洗過濾器以避免雌魚受到刺激而放棄口孵將魚卵全數吐出，將造成過濾器堵塞以及水質快速劣化，為避免此狀況，平時以清理過濾器以及勤觀察水體的方式維持整體繁養殖環水體清潔。
3. 胚胎收集：吳郭魚種魚於每日餵食時觀察是否有口孵現象。當發現有口孵現象後 72 小時，將魚卵取出，放入位於水溫 $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 水槽中的一公升塑膠燒杯中，充分打氣以進行人工孵化。魚卵開始人工孵化工作後取出後每小時觀察孵化狀況，除去死卵以及過早孵化的仔魚，取同一小時孵化的仔魚來進行實驗，每次約需 300 顆卵。
4. 仔魚飼育：孵化後之仔魚一部份用於實驗，一部份繼續飼養至幼魚。仔魚於一公升塑膠燒杯中飼養至卵黃能完全消失後開始餵食豐年蝦，並將該批仔魚移至 1 尺玻璃缸(30x16x23CM)中，以水妖精循環系統維持水質，期間水溫控制在 $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，每日餵食人工孵化豐年蝦一次，直至仔魚個體成長至 3.5cm-4cm 左右的幼魚階段，開始做實驗，每次實驗約需 100 個個體。
5. 浸泡實驗：將培養箱設置為 $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。由於皮質醇會受到光照而分解，外圍利用黑色塑膠袋覆蓋。將同一批剛孵化的仔魚或是飼育後幼魚進行實驗，每次使用 300(仔魚)/100(幼魚)個個體，平均分成四組實驗組，一組飼養於普通曝氣水中；三組飼養於皮質醇濃度 20 mg/L 的曝氣水中，其中兩組皮質醇組分別額外加入 10 $\mu\text{g/ml}$ 的 RU-486 以及 Spironolactone。每天更換兩次水。在浸泡經過 24 小時以 72 小時時，分別蒐集仔魚或是幼魚實驗組進行相關實驗，每次實驗進行前以 0.03% 麻醉劑(MS222)進行安樂死，整隻仔魚進行免疫螢光染色以偵測離子細胞數量，每次實驗進行萃取蛋白質以進行蛋白質活性分析或蛋白質表現量分析以及基因表現量分析。幼魚實驗組則進行藥物實驗後安樂死，並取其全鰓組織進行實驗。

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 天內之仔魚，利用 MS222 進行水浴麻醉後犧牲。
2. 幼魚取其魚鰓部分進行實驗，利用 MS222 水浴麻醉後以頸椎切斷法犧牲。

(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. 實驗結束後仍存活之種魚在繁殖力上已經降低，安排進行安樂死。
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 110.12.03

單位主管簽名



日期 110.12.03

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，分藥物處理實驗組三組與控制組，分為兩個時間點，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 $2 \times 4 \times 10 \times 3 = 240$ 隻，並預留藥物處理造成死亡的容錯空間共 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。

幼魚實驗分組同樣分藥物處理實驗組三組與控制組，分為兩個時間點，每個採樣點需要 10 個體 (n=10)，所以 $2 \times 4 \times 10 = 80$ 隻，並預留藥物處理造成死亡的容錯空間共 100 隻，每個月進行 1 項實驗，進行 12 個月，所以需要 1,200 隻，所以為了減少藥物使用量、空間、水量，減少大型成魚使用量，故魚鰓組織實驗以 3.5cm~4cm 之幼魚進行。

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：12	子代數量：仔魚 3,600 隻	仔魚 3,600 隻
品種/品系：吳郭魚/莫三比克		
種原數量：12	子代數量：幼魚 1,200 隻	幼魚 1,200 隻
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)
8. 參加行政院農委會辦理之「110 年度 IACUC 進階課程」課程，領有證書(實動字第 1100629005 號)

四、請說明種原動物與子代的淘汰策略：

實驗用種魚依健康程度篩選，如有超過一年無法繁殖子代則淘汰待其自然死亡或計畫結束後安樂死。選用於實驗的子代胚胎起則開始觀察其生長狀況，凡出現生長遲緩或者發育畸形之子代恐影響實驗效果，經人工挑選後排除並安樂死。

五、未使用於實驗的動物之處置方法：

- 種原：實驗結束後仍存活之種魚在繁殖力上已經降低，安排進行安樂死。
- 子代：實驗剩餘少量子代進行培養，並觀察有無發育畸形，成長優良之子代依實驗需求培育為繁殖種魚備選。

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。

(非動物性替代方法(請於非動物性替代方法資訊網

<http://nehrc.nhri.org.tw/taat/index.php>)

進行查詢

無

有

無法使用非動物替代性原因：研究目標為魚體之生理機制，無法使用非動物實驗替代

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__2級__
- 召集人職稱__總務處環安組丁慧如組長__
- 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：109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
實驗動物照護及使用小組審查同意書
Affidavit of Approval of Animal Use Protocol
National University of Tainan

同意書編號：

計畫主持人(PI)： 職 稱：
 單 位： 生物科技學系 飼養/應用地點：
 計畫名稱： 探討皮質醇透過皮質類固醇受體及分化因子 P63 調控廣鹽性吳郭魚在離子細胞的分化之機制
 動物實驗申請表編號：

本計畫之「動物實驗申請表」業經實驗動物照護及使用小組審查通過。

本計畫預定飼養應用之動物如下：

	動物別	品系 ^a	使用量/年	計畫執行期間 ^c
1	吳郭魚	莫三比克	36 隻/3 年	111 年 8 月 ~ 114 年 7 月
2				
3				

The animal use protocol listed below has been reviewed and approved by the
Institutional Animal Care and Use Group (IACUG)

Protocol Title : The study of cortisol mediated epidermal ionocyte differentiation via
corticosteroid receptors and differentiation factor P63 in euryhaline tilapia.

IACUG ApprovalNo :

Period of Protocol : Valid From: 08 / 01 / 2022 To: 07 / 31 / 2025 (mm/dd/yyyy)

Principal Investigator (PI) :

實驗動物照護及使用小組召集人

日期

IACUG Chairman

Date

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-A110002	單位	生物科技學系
研究計畫名稱	探討皮質醇透過皮質類固醇受體及分化因子 P63 調控廣鹽性吳郭魚在離子細胞的分化之機制		
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) 無		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	2021/12/6
實驗動物照護及使用委員會(小組)召集人簽章		簽核日期	2021.12.9

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-A110002	單位	生物科技學系
研究計畫名稱	探討皮質醇透過皮質類固醇受體及分化因子 P63 調控廣鹽性吳郭魚在離子細胞的分化之機制		
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	<p style="text-align: center;">(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)</p> <p style="text-align: center; font-size: 1.2em;">請依照所提動物實驗申請表內容施行。</p>		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	110.12.6
實驗動物照護及使用委員會(小組)召集人簽章		簽核日期	2021.12.9

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飼養環境危機處理及緊急應變程序

一、危機緊急應變計畫目的：

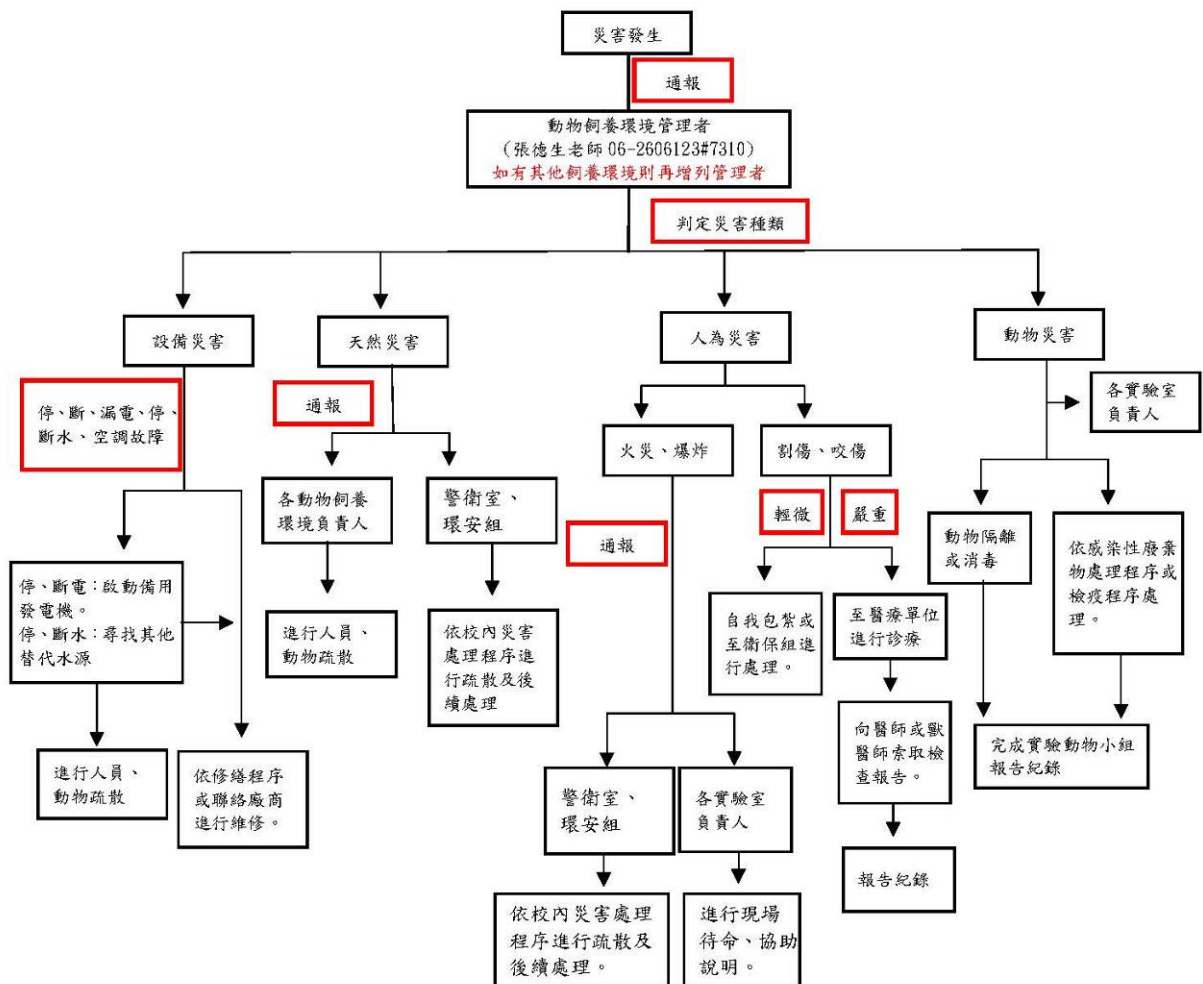
確保當不可預期或意外事故與潛在的緊急情況發生時，能迅速採取適當的應變措施，以避免或減輕事件對人員、動物傷害及設備損失等。

二、實驗動物設施可能發生的危機事件

1. 設備災害：儀器設備因停電、斷電、漏電、停水、斷水或空調故障導致災害發生。
2. 天然災害：水災、颱風與地震。
3. 人為災害：動物實驗人員因操作不慎造成人員災害發生，如：火災、爆炸、咬傷、割傷。
4. 動物災害：因上述 3 項災害及其他動物疾病所造成的動物災害。

* 實驗人員於實驗動物飼養空間遇緊急事件，應立刻與該空間負責人聯絡，並迅速向有關單位通報求援。

三、危機處理及緊急應變程序流程



國立臺南大學實驗動物飼養環境危機處理及緊急應變程序

四、相關緊急聯絡電話：

實驗動物飼養環境空間負責單位：生科系系辦(06-2606123#7722)

實驗動物飼養環境管理者：生科系張德生老師(06-2606123#7310)

(如有其他飼養環境則再增列管理者)

實驗動物小組(IACUC)執行秘書：李芳儀(06-2133111#237)

五、意外災害處理及注意事項：

1. 動物咬傷

(1)立即向實驗室負責人報告並接受適當治療，嚴重者應盡速送往醫院，並索取醫師與獸醫師檢測報告。

(2)書寫報告記錄，避免類似事件發生。

2. 意外斷電

(1)依緊急逃生照明設備及路線進行逃生。

(2)立即通報生科系、營繕組請相關人員進行維修。

3. 斷水

尋找其他水源，並立即通知營繕組協助進行維修。

4. 漏電

(1)用電設備需具接地裝置，潮濕用電場所需裝設漏電斷路器。

(2)實驗人員應注意自身及場所之安全，不慎觸電，搶救者應先關掉漏電電源再行搶救。

(3)人員應養成用電常識，並且應避免碰觸或自行操作電力危害自身安全。

5. 火災

火災發生，應立即關閉電源開關，隔離易燃化學物品，並以火源周圍適合之滅火設備加以撲滅，若火勢順利撲滅應立即通報環安組進行虛驚事故報告，若無法控制火勢，應立即通知管理者、警衛保全、環安組以進行後續通報處理。

6. 空調故障

實驗動物飼養環境空調應視其飼養物種評估是否為全天候供應，其產生通風不良原因可能為空調系統當機或運轉異常所造成。因此空氣濾網應定期清洗更換；如發現通風不良現象，應通報管理者並委請營繕組進行修繕。

7. 天然災害危機處理

(1)強烈地震：關閉電源開關，依疏散路線之最近逃生門(禁止搭乘電梯)進行疏散。

(2)颱風：應確切注意是否會有斷水、停電之突發狀況，定期維護緊急發電裝置、照明燈及純水系統，以確保其正常使用。

8. 門禁管制處理

為避免不必要之人為侵入或竊盜，動物中心預注意門禁的管制，人員出入登記應確實填報。

9. 其他

平日人員工作時應保持警覺注意並避免因疏忽而造成意外發生。