

第十一章 T/CALAS 74—2019《实验动物 小鼠和大鼠学习记忆行为实验规范》实施指南

第一节 工作简况

《实验动物 小鼠和大鼠学习记忆行为实验规范》于2016年10月，经中国实验动物学会标准化委员会讨论通过，由中国实验动物科技创新产业联盟、中国实验动物学会动物模型鉴定与评价工作委员会负责组织，由中国医学科学院药用植物研究所、中国航天员中心、西南医科大学、湖南中医药大学、中国医学科学院医学实验动物研究所、湖南省实验动物中心、北京大学药学院和北大未名生物工程集团有限公司具体承担。编制小组依托各研究机构多年来在大鼠、小鼠情绪行为实验方面积累的经验和工作基础，结合国内外公开发表的情绪相关实验文献进行编制。先后三次在北京、泸州和长沙召开来自全国各地从事神经精神药效评价、动物行为实验和基础医学研究专家参加的研讨会，编制小组成员利用网络电话、邮件和微信等现代通信媒体定期进行沟通，参与编制人员40多人次，历时三年完成了《实验动物 小鼠和大鼠学习记忆行为实验规范》的编制工作，并于2019年7月经中国实验动物学会批准发布实施。

第二节 工作过程

2015年1月，在北京召开的中国实验动物科技创新产业联盟第二次年会上，联盟秘书处向各联盟成员单位介绍了拟开展制定“实验动物 大鼠小鼠情绪行为实验规范”等联盟标准的建议并获得各成员单位的赞同。随后依托设立在北大未名生物工程集团的实验动物产业联盟办公室，由来自中国医学科学院药用植物研究所、军事医学科学院毒物药物研究所、中国航天员中心、中国医学科学院实验动物研究所、西南医科大学等专门从事大鼠和小鼠情绪行为实验研究的专家组成了“实验动物 大鼠小鼠学习记忆行为实验规范”编制小组，讨论形成了编制工作计划、编制原则和指导思想。

2016年3月，在安徽巢湖未名集团召开的中国实验动物科技创新产业联盟第三次年会上，标准主要起草人介绍了包括“实验动物 大鼠小鼠情绪行为实验规范”在内的10项联盟标准建议草稿，并与中国实验动物学会标准化委员会进行沟通。在中国实验动物学会标准化委员会的指导下，标准主要起草人和联盟秘书处决定以10项标准建议草稿为基础，整合为“实验动物 大鼠小鼠学习记忆行为实验规范”等7项团体标准。2016年10月11日，

在广西南宁召开的中国实验动物学会标准化委员会专家论证会上,中国实验动物科技创新产业联盟提出的7项团体标准获得立项批准。

2016年11月到2017年7月,标准主要起草人采取召开网络电话会议,以及在泸州、长沙、北京等地实地调研等多种形式,编制过程中,邀请中国药理学会理事长杜冠华教授、中国药理学会神经专业委员会主任委员李锦教授和秘书长梁建辉教授、中国医学科学院神经科学研究中心执行主任许琪教授,以及解放军第四军医大学、中国中医科学院医学实验中心、北京中医药大学中药学院等从事动物情绪行为实验研究的专家参与。利用专家们多年来在大鼠和小鼠情绪行为实验方面积累的工作基础,以Pubmed和CNKI两种中英文文献库为重点进行查阅,分析整理以综述为重点的文献,总结各实验室有关大鼠和小鼠情绪行为的实验技术和方法。2017年7月2日,中国实验动物产业联盟和中国实验动物学会动物资源鉴定与评价委员会在北京联合召开了“实验动物模型技术规范研讨会”,来自北京、湖南、四川、河北、山东、云南等地的30位从事动物行为实验的专家听取了标准起草人就“实验动物 大鼠和小鼠学习记忆行为实验规范(草稿)”的介绍,专家们进行了热烈讨论并提出了许多中肯意见。编制小组对草稿进行修改后,于2018年1月28日提交中国实验动物标准化委员会进行讨论。编制小组组织专家进行了完善,形成了征求意见稿和编制说明两份草稿。2018年3~5月,根据中国实验动物标准化委员会的意见,编制小组完善了动物行为评价方法的描述,并进行了标准化语言修改。2018年6月12日,实验动物标准化研讨会召开,标委会组织专家对“实验动物 大鼠和小鼠学习记忆行为实验规范”进行审查。2018年12月~2019年4月,根据审查意见,编制小组进一步从语言及架构方面进行了修改,并提交给2019年5月21日召开的中国实验动物标准化委员会全体会议进行了最后审查,根据此次全体委员会的审查意见进行了修改完善,形成了征求意见稿和编制说明两份报批稿。

第三节 编写背景

现代科技发展使得人类的生存环境和生活模式发生了重大转变,老年性痴呆等学习记忆障碍性疾病正逐渐成为危害人类身心健康的重要隐患;人类正向极地、高原、深海和太空拓展的全新生活环境也对人类认知产生重大影响。另外,现代战争正呈现海、陆、空、天、电一体化联合作战态势,军事人员认知能力已成为决定战争胜负的关键要素,而研究这些挑战人类生存发展的难题,寻找其有效的防治措施,都需要开展学习记忆相关的研究。

学习记忆的产生涉及大脑最复杂的高级思维活动,与注意力、兴趣等其他因素密切相关,这其中有胆碱能、兴奋性氨基酸、神经肽等众多神经递质参与的复杂的生理生化反应。从分子、细胞、组织和器官水平研究学习记忆无法反映数以百亿计的神经元及神经突触组成的神经系统在外界刺激后经过复杂的生理、生化加工过程产生的综合性整体效应。而直接以人体为对象暴露于特殊极端环境下的研究,存在极大风险并受到伦理学制约。鉴于动物与人类在进化上的高度保守性,利用实验动物在不同层次的行为响应特征与人类相比所具有的相似性,建立模型进行推演,实现动物与人之间生物效应的等效性分析,揭示人体

学习记忆发生发展的基本规律,寻找有效防护措施,已经成为包括现代生命科学、药学、基础医学和军事医学等基础与应用研究的主要有效途径。而大鼠和小鼠等啮齿类动物是学习记忆研究领域常用的实验动物。

我们查阅了中国实验动物学会信息库、中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会制定的标准,以及国家军用标准全文数据库系统、国家科技部和中国人民解放军总后勤部卫生部发布的与实验动物相关的技术标准。到目前为止,我国已经建立实验动物遗传、微生物、寄生虫、营养和环境设施等5个方面国家标准,包括12项强制性标准、71项推荐性标准和10项SPF级微生物检测标准,如GB 14922.1—2001《寄生虫学等级及监测》、GB 14922.2—2001《微生物等级及监测》、GB 14923—2001《哺乳类实验动物的遗传质量控制》、GB 14924.1—2001《配合饲料通用质量标准》、GB 14924.2—2001《配合饲料卫生标准》、GB 14925—2010《环境及设施》,以及正在制定的实验动物-福利伦理审查指南、小鼠和大鼠引种技术规程。以上均是关于实验动物生产和质量控制方面的技术标准,并没有包括学习记忆行为实验在内的动物行为实验相关的技术规范和标准。

第四节 编制原则

一、贴近实践操作,可操作可量化

利用编制小组专家在多年实践工作中建立的评价技术和方法,结合国内外大量参考文献,提出具体可量化的评价指标,使得制定的技术规范可操作、可评判,一方面,避免由于过于宏观而在实践中无法执行,流于形式;另一方面,又要注意不能纠结于细节,沦为某一动物模型制备或实验设备的具体操作规范而无法在实际工作中进行推广应用,进而失去技术规范的意义。

二、评价技术为重点

由于学习记忆的发生机制复杂,现有的动物模型多为通过生物、化学、物理和复合等多种手段进行模拟来建模,然而即使是同一原理构建动物模型,实际上每个实验室和每个操作者的具体方法也可能不一样,使用的仪器设备的具体性能也有差异。针对这种情况,本项目主要集在学习记忆行为评价实验方法方面,包括行为实验评价方法、测试时间、评价指标及所需的仪器设备,不涉及仪器设备本身的技术参数、性能及动物模型的建立。

三、先进性和适用性相结合

随着现代科技的发展,新的与动物学习记忆行为实验相结合的实验技术和实验方法不断出现,动物行为信息提取分析手段也不断智能化和精细化。本项目开展过程中,除了追踪最新的实验方法,同时也要兼顾我国现在从事大鼠和小鼠学习记忆行为研究方法的实际情况。对近年来最新推出的仪器设备、新建立的评价指标给予了介绍,但重点集中在实践中常用的仪器设备、实验方法和评价指标体系方面,便于推广应用。

第五节 内容解读

本项目主要内容包括：制定大鼠和小鼠学习记忆行为实验相关术语；常用行为实验方法分类；常用检测设备种类；各类学习记忆行为检测方法和测试时间；指标评价体系。

本标准由范围、规范性引用文件、术语和定义、常用的学习记忆行为实验方法和行为评价实验设计原则共5部分构成。现将主要技术内容说明如下。

一、范围

本标准适用于以小鼠、大鼠为实验动物，开展学习记忆及相关疾病发生发展机制、航天航海等特因环境认知损伤及防护措施研究，进行抗老年性痴呆药物、改善学习记忆新药和保健食品研发，以及军事认知功能评价。

二、规范性引用文件

本标准引用的文件为现行有效的国家标准及行业标准。

三、术语和定义

1.

动物行为实验 animal behavioral test

以实验动物为对象，在自然界或实验室内，以观察和实验方式对动物的行为信息进行采集、分析和处理，开展动物行为信息的生理和病理意义及产生机制的科学研究。

2.

学习记忆 learning and memory

学习是神经系统接受外界环境变化获得新行为和经验的过程，分为非联合型学习（non-associative learning）和联合型学习（associative learning）两种。记忆是指对学习获得的经验或行为的保持，包括获得、巩固、再现及再巩固四个环节，分为程序性记忆（procedural memory）和陈述性记忆（declarative memory）。学习和记忆二者是互相联系的神经活动过程，学习过程中必然包含记忆，而记忆总是需要以学习为先决条件。

3.

学习记忆行为实验 learning and memory behavioral test

以整体动物为对象，采集和分析动物行为信息，开展学习记忆的发生发展过程的科学研究。基本实验检测原理包括奖励性、惩罚性和自发活动三类。主要实验方法有操作性条件反射、跳台、避暗、穿梭、水迷宫、T迷宫、放射状迷宫、物体认知等。

四、常用的学习记忆行为实验方法操作规范

本标准在总结各实验室多年来学习记忆行为实验方法积累的工作经验基础上，结合国内外文献，对小鼠和大鼠学习记忆行为检测方法常用设备（操作性条件反射、跳台、避暗、穿梭、迷宫和物体识别）的主要部件、实验模式、测试时间和指标评价体系进行了分析总结，给出可以操作的实验规范，但不涉及实验设备本身的技术参数和性能。

(一) 操作性条件反射

1. 实验原理

操作性条件反射一般以能引起奖赏效应的物质(食物、糖水等中性强化物质)作为非条件刺激信号,灯光或声音作为条件刺激信号。在奖励性操作性条件反射过程中,动物通过自由活动,在探索中偶然发现了奖赏物,在训练过程中学习记忆刺激信号与奖赏物之间的联系;同样,动物通过对踏板的偶然触碰,发现了踏板操作能获得奖赏物质。最后,动物能够根据刺激信号的规律进行操作,以获得奖赏强化,形成刺激信号(stimuli)——操作行为反应(response)——结果(outcome)之间的操作条件反射。通过设计条件反射训练、固定比率操作训练、信号辨识和信号消退等组合实验模式,能很好地反映动物执行复杂操作任务时的判断、决策和学习记忆能力。

2. 实验材料

主要为操作性条件反射实验基本装置,包括测试箱、非条件刺激信号和条件刺激信号发生部件、操作部件、控制单元。现在多采用计算机、摄像或传感装置,以及软件系统组成的自动化和智能化装置。

3. 实验方法

条件刺激信号发生部件宜包括灯光(白炽光、红光、蓝光、黄光,推荐蓝光和红光)或者声音(蜂鸣声、脉冲声音、白噪声,频率1kHz~31kHz,推荐10kHz,宜在75分贝~90分贝)。奖励性操作性条件反射中非条件刺激信号应采用奖赏物质,奖赏物质宜用固体或液体。

4. 数据分析

采用SPSS统计软件对所有数据进行统计分析,实验结果用均值 $\pm$ 标准误(mean $\pm$ SEM)表示。各组间数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA),不满足正态分布的数据采用非参数检验,当多组间有差异时,两两比较采用Fisher's LSD post hoc多重比较方法进行分析。 $P<0.05$ 时被认为具有统计学显著性差异。

(二) 穿梭

1. 实验原理

穿梭(shuttle box)实验是指如果动物在规定时间内对某一特定信号(如灯光、声音)不发生反应,则给予惩罚性刺激(常用电刺激),使动物穿梭至对侧安全区(被动条件反射),在一定时间内反复训练后则可形成将特定信号与惩罚性刺激结合起来的条件反射-主动逃避反应(主动条件反射)。主动条件反射形成后,可进行信号消退测试。穿梭测试是一种高级、复杂的联想式程序性记忆的获得与巩固过程。

2. 实验材料

主要为穿梭实验的基本装置,包括测试箱、条件刺激和非条件刺激信号发生部件、控制单元。测试箱一般为矩形或方形,分A、B两室,两室面积等大。A、B两室间有一椭圆形小门。现在多采用计算机、摄像或传感装置,以及软件系统组成的自动化和智能化装置。对于非条件刺激,推荐电刺激频率应为5Hz~15Hz,刺激强度电流宜为大鼠2.5mA~3.0mA、小鼠0.8mA~1.0mA,电压宜为大鼠65V~70V、小鼠30V~36V。

3. 实验方法

实验开始前, 动物宜置于测试箱 (A 或 B 室) 适应 3min ~ 5min。动物适应完成后, 应开始穿梭条件反射获得实验。穿梭次数应设定为 30 次 ~ 60 次。穿梭条件反射的获得: 每天给予获得训练。周期依次为: 条件刺激 (灯或声音) 3s ~ 5s 后, 非条件刺激 (电刺激) 15s ~ 30s, 非条件刺激结束后应有 5s ~ 10s 的间隔期 (不给予任何刺激), 达到设定的穿梭次数, 实验结束。

4. 数据分析

采用 SPSS 统计软件对所有数据进行统计分析, 实验结果用均值 $\pm$ 标准误 (mean $\pm$ SEM) 表示。各组间数据进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 不满足正态分布的数据采用非参数检验, 当多组间有差异时, 两两比较采用 Fisher's LSD post hoc 多重比较方法进行分析。P < 0.05 时被认为具有统计学显著性差异。

(三) 跳台

1. 实验原理

跳台是一种检测动物被动性条件反射能力的方法, 主要用来测试动物对空间位置辨知的学习记忆能力。通过给予一定程度的电刺激, 动物为避免伤害而寻找安全区 (绝缘跳台), 经几次反复后, 最终记住安全区域。跳台实验可反映动物学习记忆的获得、巩固、再现等过程, 由于操作简单, 是小鼠和大鼠学习记忆实验常用的行为学测试方法之一。

2. 实验材料

主要为跳台实验基本装置, 包括测试箱、跳台、电路控制系统。现在多采用计算机、摄像或传感装置, 以及软件系统组成的自动化和智能化装置。

3. 实验方法

实验开始前动物应放入测试箱内适应 5min。获得能力测试: 将动物置于测试箱底部区域, 底部电网通电, 开始实验, 实验时间为 5min。巩固能力测试: 24h 后将动物置于跳台上, 底部电网通电, 开始实验, 实验时间为 5min。

4. 数据分析

采用 SPSS 统计软件对所有数据进行统计分析, 实验结果用均值 $\pm$ 标准误 (mean $\pm$ SEM) 表示。各组间数据进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 不满足正态分布的数据采用非参数检验, 当多组间有差异时, 两两比较采用 Fisher's LSD post hoc 多重比较方法进行分析。P < 0.05 时被认为具有统计学显著性差异。

(四) 避暗

1. 实验原理

利用鼠类的嗜暗习性设计, 主要测试动物对明暗辨别觉的学习记忆能力。动物由于嗜暗习性而偏好进入和停留在暗室, 进入暗室或停留暗室时则受到电击, 动物为避免伤害而寻找安全区 (明室), 经几次反复后, 最终记住安全区域。

2. 实验材料

主要为避暗实验基本装置, 包括测试箱和电路控制系统。测试箱应为矩形或方形, 分明室和暗室。现在多采用计算机、摄像或传感装置, 以及软件系统组成的自动化和智能化装置。

3. 实验方法

实验开始前动物应放入测试箱内适应 5min。获得能力测试：暗室底部通电，明室底部无电。动物置于测试箱暗室，开始实验，实验时间为 5min。巩固能力测试：暗室底部通电，明室底部无电。24h 后将动物置于明室，开始实验，实验时间应为 5min。

4. 数据分析

采用 SPSS 统计软件对所有数据进行统计分析，实验结果用均值 $\pm$ 标准误 (mean $\pm$ SEM) 表示。各组间数据进行单因素方差分析 (one-way ANOVA)，不满足正态分布的数据采用非参数检验，当多组间有差异时，两两比较采用 Fisher's LSD post hoc 多重比较方法进行分析。 $P < 0.05$ 时被认为具有统计学显著性差异。

(五) 迷宫

迷宫 (maze test) 实验是大鼠和小鼠经过多次训练，学会在各种类型的迷宫中寻找固定位置的隐蔽平台/出口/食物，从而形成稳定的空间位置认知能力。迷宫实验中的空间认知是通过加工空间信息 (外部线索) 形成的。隐蔽平台/出口/食物的位置与动物自身所处的位置和状态无关，是一种以异我为参照点的参考认知，所形成的记忆是一种空间参考记忆，这种空间参考记忆进入意识系统，其储存的机制主要涉及边缘系统 (如海马) 及大脑皮层有关脑区，属于陈述性记忆 (declarative memory)，为空间记忆的常用实验方法。迷宫应用较多的为 Morris 水迷宫、T 型迷宫和放射 (八臂) 迷宫等。

1. Morris 水迷宫 (Morris water maze)

水迷宫作为一种动物学习记忆的经典测试方法，可分为 Morris 水迷宫 (圆形) 和通道式水迷宫 (方形) 两种。最常用的为 Morris 水迷宫，是由英国心理学家 Morris 于 1981 年最先设计并应用于学习记忆机制研究而命名的。

(1) 实验材料

主要为 Morris 水迷宫基本装置，其包括圆形测试水池、平台和空间参考物。现在多采用计算机、摄像，以及软件系统组成的自动化和智能化装置。对于水迷宫检测背景，建议白色毛发动物应采用黑色染料或黑色塑料泡沫，黑色毛发动物则在水中应放入白色牛奶或白色塑料泡沫直至平台不可见。

(2) 实验方法

实验时应将水迷宫按东、南、西、北四个方向划分为 4 个象限。放置于任意一个象限内的中央。水池中注水高度应以平台顶部低于水面 1cm ~ 2cm 为宜。水温应维持在 22℃ ~ 25℃。测试箱水面颜色背景应尽可能与动物毛发颜色形成反差，保证平台不可见。

(3) 数据分析

采用 SPSS 统计软件对所有数据进行统计分析，实验结果用均值 $\pm$ 标准误 (mean $\pm$ SEM) 表示。实验中，训练天数与分组对动物学习记忆功能的影响采用重复测量的进行分析，其中训练天数作为重复测量因子，其他数据进行单因素方差分析 (one-way ANOVA)，不满足正态分布的数据采用非参数检验，组间差异进行 LSD 分析比较。 $P < 0.05$ 被认为有显著性差异。

2. T 型迷宫 (T maze)

T 型迷宫是一种评价空间工作记忆能力 (spatial working memory) 的行为实验方法。工

作记忆能力下降,患者可出现空间定位困难、新知识学习能力下降、不能完成两种以上的任务等症状。T型迷宫中,动物对目标臂的选择基于动物记住上次探索过的目标臂,即空间工作记忆。完整的工作记忆能力才能保证动物对目标臂的正确交替选择。

实验材料主要为T型迷宫实验测试箱、挡板、食物。测试箱分为主干臂、左右两个目标臂。左右目标臂与中心的连接处应各有一组可插入挡板的闸门。现在多采用计算机、摄像,以及软件系统组成的自动化和智能化检测装置。

(1) 自发连续交替选择实验

动物放入T型迷宫的主干臂起始箱,应关闭闸门,动物限制在主干臂内10s。打开闸门,此时动物离开主干臂进入一个目标臂。动物四肢进入目标臂内后,迅速将动物放回主干臂起始箱。此时应关闭闸门,限制在臂内5s~10s。d)应重复a)、b)、c)步骤5~9次,每次时间应不超过2min。

(2) 奖赏交替选择实验

适应训练:动物限食,即食物调整至10g/天/只~15g/天/只(标准食物2粒左右/天/只)。以动物体重降至实验前的85%~90%为准。开启T型迷宫所有门,放置食物。将多只动物放入迷宫3min,必要时补充食物。每天至少做4次,每次与前一次间隔至少10min。适应2天。

强迫选择训练,即将动物放入主干臂的起始箱,打开闸门,让动物进入迷宫的主干臂。随机、交替选择左右两臂之一放入4粒食丸,同时关闭另一侧臂,使动物被迫选择食物强化臂并完成摄食;每天6次,连续4天。保持关闭左侧门的次数与关闭右侧门的次数相等。

正式试验:强迫训练,即关闭一侧目标臂,强迫动物进入另一侧开放臂以获得2粒食丸奖赏。立即(最短延迟,少于5s)将动物放回主干臂,在主干臂中限制10s,然后同时开放两个目标臂。动物四肢均进入一个目标臂时完成“一次选择”。动物返回到强迫选择训练时进入过的臂则没有食物奖赏,并且将其限制在该臂内(限制时间与动物吃掉奖赏物的时间应相同,如10s),记录一次错误选择;若动物进入另一个臂,则获得食物奖赏(4粒食丸),记录一次正确选择。重复上述过程6次。

采用SPSS统计软件对所有数据进行统计分析,实验结果用均值±标准误(mean±SEM)表示。实验中,训练天数与分组对动物学习记忆功能的影响采用重复测量方法进行分析,其中训练天数作为重复测量因子,其他数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA),不满足正态分布的数据采用非参数检验,组间差异进行LSD分析比较。 $P<0.05$ 被认为有显著性差异。

3. 放射(八臂)迷宫(radial arm maze)

(1) 实验原理

放射迷宫根据实验目的不同,选择的放射臂数目不同,包括8、16、24、32、40和48臂迷宫。八臂放射状迷宫应用较多。利用限食提高动物对食物的渴望,驱使动物对有食物的迷宫各臂进行探究,经过一定时间的训练,动物可记住食物在迷宫中的空间位置。该方法可同时测定动物的工作记忆和参考记忆。

(2) 实验材料

主要为放射状(八臂)迷宫基本装置,包括测试箱、挡板和食物。测试箱由中央区和8个相同形状、相同尺寸的迷宫组成。中央区通往各臂的入口处有一活动挡板。现在多采用计算机、摄像,以及软件系统组成的自动化和智能化检测装置。

(3) 实验方法

动物购入适应后,应对动物进行限食。体重控制在正常动物体重的85%~90%为宜。第一次实验应在禁食24h后开始。实验开始时,迷宫各臂及中央区应平均分撒食物颗粒,每臂应放4粒,食物直径宜为3mm。食物分撒完毕后,应同时将4只动物置于迷宫中央,此时应打开通往各臂的门。实验时间宜为10min。重复c),d)操作,应连续检测3天。第4天起动物应单只进行训练。在每个臂靠近外端食盒处各放一颗食粒,动物自由摄食,应在食粒吃完或实验10min后将动物取出。一天2次,连续检测2天。第6天开始,应随机选4个臂设定为工作臂,另外4个臂为参考臂。每个工作臂应放一颗食粒,关闭各臂门。将动物放在迷宫中央30s后,打开各臂门,动物应在迷宫中自由活动并摄取食粒,动物吃完4个臂的所有食粒或者10min后,应终止实验。每天应训练两次,间隔期应不少于1h。

(4) 数据分析

采用SPSS统计软件对所有数据进行统计分析,实验结果用均值±标准误(mean±SEM)表示。各组间数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA),不满足正态分布的数据采用非参数检验,当多组间有差异时,两两比较采用Fisher's LSD post hoc多重比较方法进行分析。 $P<0.05$ 时被认为具有统计学显著性差异。

4. 物体认知

(1) 实验原理

物体认知实验是利用啮齿类动物天生喜欢接近和探索新奇物体的本能来检测动物学习记忆能力的一种认知行为实验方法。

(2) 实验材料

主要为物体认知实验基本装置,其包括测试箱,物体。现在多采用计算机,摄像,以及软件系统等组成的自动化和智能化设备。

(3) 实验方法

实验有四种模式:新物体识别实验,物体位置识别实验,时序记忆实验,情景记忆实验。每种实验模式均应包括适应期、熟悉期、测试期三个阶段,详见表1。每种实验模式均应符合配对平衡原则。

(4) 数据分析

采用SPSS统计软件对所有数据进行统计分析,实验结果用均值±标准误(mean±SEM)表示。各组间数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA),不满足正态分布的数据采用非参数检验,当多组间有差异时,两两比较采用Fisher's LSD post hoc多重比较方法进行分析。 $P<0.05$ 时被认为具有统计学显著性差异。



表 1 物体认知实验四种实验模式

	适应期	熟悉期	测试期
新物体识别实验	10min/d, 连续 3 天	适应完成后开始, 时间宜为 5min	熟悉期结束后间隔一定时间 (推荐 30min), 应更换其中一个物体为新物体, 时间宜为 5min
物体位置识别实验		适应完成后开始, 时间宜为 5min	宜在熟悉期结束后间隔一定时间 (推荐 30min) 开始, 应更换其中一个物体的位置, 时间宜为 5min
时序记忆实验		两个熟悉期实验。两个熟悉期间隔 20min, 每次实验时间宜为 5min	宜在第二次熟悉期结束后间隔一定时间 (推荐 30min) 开始, 时间宜为 5min
情景记忆实验		两个熟悉期实验。两个熟悉期间隔 20min, 第二次熟悉期应更换背景, 每次实验时间宜为 5min	宜在第二次熟悉期结束后间隔一定时间 (推荐 30min) 开始, 时间宜为 5min

第六节 分析报告

本技术规范的参数、实验模式和测试时间的量化指标, 由来自于多年从事小鼠和大鼠学习记忆行为实验研究的专家团队, 在调研分析近 20 年国内外有关小鼠和大鼠学习记忆研究的文献 2000 多篇、100 多家实验室采用的实验方法的基础上, 依据自己长期的实践经验, 总结提炼编制形成的。具有很强的可操作性。

据不完全统计, 我国建立了专门的脑与认知国家重点实验室 3 家, 从事学习记忆相关研究的国家级重点实验室 10 多家, 包括香港、澳门在内的全国 34 个省份均至少设立了一家省级重点实验室 (研究中心)。超过 200 家省级以上的高校、研发机构正从事学习记忆发生发展机制, 以及损伤防护措施的研究。而大、小鼠等啮齿类动物是生命科学、药学和军事医学研究领域常用的实验动物, 建立小鼠和大鼠学习记忆行为实验技术规范, 将会为我国脑科学研究、老年性痴呆等学习记忆障碍性疾病发病机制研究、防护药物筛选、特因环境等军事非致命性生物效应评价提供可信度高、共享性强的技术标准支撑, 具有巨大的经济、社会和科研价值。

第七节 国内外同类标准分析

目前国内外尚无学习记忆行为实验的行业团体标准, 只有对于具体某个模型或者检测方法的标准化操作规程 (SOP), 只在起草实验室内部进行使用, 不能推广使用。

该技术规范为国内外第一次制订。全部数据来自于参编专家查阅大量国内外公开发表的文献资料, 并结合自己多年工作实践中积累的经验制订而成, 具有很强的实践操作性, 达国际领先水平。

第八节 与法律法规、标准的关系

可作为我国改善学习记忆新药、保健食品、医疗器械、航天航空航海等特因环境认知损伤防护产品研发时，相关功效和安全性评价中涉及的法律法规的技术文件支撑。

第九节 重大分歧意见的处理经过和依据

聘请我国从事小鼠和大鼠学习记忆行为研究，涵盖药理、实验动物、基础医学和军事医学领域的权威专家进行研讨，提出修改意见，以中国实验动物产业联盟成员为基础，在全国选择 5~8 家实验室进行验证，形成共识。

第十节 作为推荐性标准的建议

作为推荐性行业标准进行实施。

第十一节 标准实施要求和措施

过渡阶段首先在联盟成员内部进行推广应用，请联盟成员通过实验验证，提出修改意见后，报编制小组进行补充完善；依托中国实验动物学会、中国药理学会，逐步在我国科研机构推广应用。达成共识后，推动国家相关政府部门，作为我国医药健康相关产品研发的技术规范进行推荐。

第十二节 本标准常见知识问答

一、行为学实验前，如何减少动物的应激反应？

答：动物购入实验室后适应 3 天。适应期间，实验者应对动物进行抚触，使动物熟悉、适应实验者。动物在实验前，应适应检测环境 60min。检测环境需要保持安静。光源为非直射光源，照度一般为 10 lux ~ 30 lux。实验环境保持安静，室内噪声低于 60 分贝。

二、多项行为学实验顺序的安排原则是什么？

答：行为学实验顺序的安排原则是一般先安排对动物应激较小的实验，再安排应激较大的实验。

三、用于空间工作记忆的行为学方法主要包括哪些？

答：放射状（八臂）迷宫、T型迷宫、水迷宫。

第十三节 其他说明事项

无。