

巩臣,张炎杰,张檬,等. 一种开源的多功能动物行为学实验系统 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(4): 92-98.

Gong C, Zhang YJ, Zhang M, et al. An open-source multifunctional animal behavior experimental system [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(4): 92-98.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.04.014

一种开源的多功能动物行为学实验系统

巩臣^{1,2},张炎杰^{1,2},张檬^{1,2},石峙岳³,刘湘^{1,2},柳攀^{1,2},廖晓玲^{1,2},周艺³,刘雪^{1,2*}

(1.重庆科技学院 纳微复合材料与器件重庆市重点实验室,重庆 401331;

2.重庆科技学院 纳微生物医学检测技术重庆市工程实验室,重庆 401331;

3.中国人民解放军陆军军医大学 神经生物学教研室,重庆 400038)

【摘要】 目的 提供一种基于开源共享协议的多功能动物行为学实验系统,可用于条件恐惧,主动回避等多种行为学观察、训练及测试。**方法** 本系统由实验箱体、摄像头、刺激电路及控制软件构成,可实现无人值守条件下多种实验动物行为学的记录及定量分析。**结果** 本系统在两所高校分别搭建后,测试了包括条件恐惧,主动回避等常用动物行为学实验并对实验结果进行了统计分析。实验数据显示,基于 Sprague Dawley 大鼠的条件恐惧行为、主动回避行为均能在该系统中稳定训练完成。**结论** 成功研发了一套开源的多功能动物行为学实验系统。由于该系统整体设计从硬件到软件完全开源,并具有易使用、可扩展等特点,有利于本系统的广泛推广,降低实验准入门槛,惠利于所有动物实验工作者。

【关键词】 多功能;开源;行为学;条件恐惧;主动回避

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 04-0092-07

An open-source multifunctional animal behavior experimental system

GONG Chen^{1,2}, ZHANG Yanjie^{1,2}, ZHANG Meng^{1,2}, SHI Zhiyue³, LIU Xiang^{1,2}, LIU Pan^{1,2},
LIAO Xiaoling^{1,2}, ZHOU Yi³, LIU Xue^{1,2*}

(1. Chongqing Key Laboratory of Nano/Micro Composite Materials and Devices, Chongqing University of Science and Technology, Chongqing 401331, China. 2. Chongqing Engineering Laboratory of Nano/Micro Biomedical Detection Technology, Chongqing University of Science and Technology, Chongqing 401331. 3. Department of Neurobiology, Army Medical University, Chongqing 400038)

【Abstract】 Objective To provide a multifunctional animal behavior experimental system based on open-source sharing protocol, which can be used to observe, train, and test the behavior of conditioned fear and active avoidance. **Methods** The system was composed of a box, a camera, a stimulus circuit, and control software, which can be used to record and quantitatively analyze the behavior of various experimental animals under unattended conditions. **Results** After the system was set up separately in two universities, typical animal behavior experiments, including conditioned fear and active avoidance, were tested using Sprague-Dawley rats. The data were statistically analyzed, and result demonstrated that both conditioned fear behavior and active avoidance behavior could be stably analyzed. **Conclusions** An open-source multifunctional animal behavior experimental system was successfully developed. The overall design of the system is open,

【基金项目】国家自然科学基金(31600848,3197070508);重庆市科委自然科学基金(CSTC2015JCYJA10031);重庆高校创新团队建设计划资助项目(CXTDX201601032);重庆科技学院重点项目培育基金(CK2016Z02);重庆科技学院大学生创新训练计划项目(2018017)。

【作者简介】巩臣(1997—)男,本科生,研究方向:神经信息处理机制。E-mail:1067888240@qq.com

【通信作者】刘雪(1981—)女,博士研究生,研究方向:神经诱导机制与神经信息处理机制,讲师。E-mail:liuxue@cqust.edu.cn

from hardware to software, and is therefore feasible and scalable. This system should be extensively promoted to lower the threshold of experimental access, as well as to benefit all animal laboratory staff.

【Keywords】 multimodal; open source; behavioral; fear-conditioned; active avoidance response

动物行为学实验是生物医学研究的重要手段之一,在脑科学研究特别是高水平研究工作中得到越来越广泛的应用^[1]。但由于动物行为学实验是基于动物活体的行为观察,与传统的生理、分子、细胞等研究手段差别较大,且专用行为学平台价格不菲,这些因素从不同程度上阻碍了动物行为学研究的推广^[2]。开源系统,是 20 世纪 80 年代提出的概念,现在被广泛应用于软件的开发等计算机学科中,其全称为开放源代码,最大的特点是开放,即任何人都可得到软件的源代码,可以加以修改,甚至在版权允许范围之内重新发放——因此,开源系统特别适用于有意开展动物行为学研究但缺乏具体研究经验的院校及课题组使用。

根据研究内容不同,动物行为学实验有多种类型。神经科学中常见的动物行为学范式包括穿梭箱避暗实验、水迷宫、Y 迷宫、条件性位置偏好实验等。目前市面上大部分实验系统,运用一种训练装置只能进行一种实验项目^[3-5],且受到设计专利和软件著作权的影响,在源代码未知的情况下,使得购买的装置无法自主调整或扩展进行同类实验研究,无法满足日益增长的个性化实验需求,因此迫切需要一种开源的实验系统来满足灵活的训练需求。

穿梭箱作为行为学实验基础设备应用广泛,具有潜在的多样化实验需求,因而我们基于开源共享协议,以传统穿梭箱装置为基础^[6-7]设计研发了一套多功能大鼠穿梭箱训练系统,在进一步加强穿梭箱训练装置的灵活性和协同性的同时,降低动物学习行为研究的门槛并提高实验效率,深入研究大鼠学习记忆功能。该装置具有高度灵活性,实验者可根据自己的需求更改配置,实现多种条件刺激联合训练的功能。

本实验系统完全开源,其下载地址为: <https://github.com/Barzarrhey/Labview>。实验者可以自行更改程序代码,适配于不同种动物行为探究实验,如切断电刺激,设定人工照明,即可作为旷场实验研究装置;将箱体两侧用隔板隔开,即可作场景恐惧研究实验装置;更改箱体材料透明度,可用作明暗箱实验。构建开源平台可以让用户根据自身需求修改设置,具有更广阔的使用空间。程序开源使得

实验者更好的掌握程序运行原理,可以更好的选择与之相配套的装置进行升级改造工作。在数据处理、实验步骤等方面逐渐建立一套标准化实验模型,有利于他人在使用时能快速熟悉实验。本实验系统可以训练大鼠在复杂环境下认知学习,训练环境更贴近现实,使得实验数据的分析更加简便、客观、真实,有利于神经科学的研究^[8-9]。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 8 周龄 SD 雄性大鼠 38 只,体重 240 ~ 260 g,购自陆军军医大学动物中心[SCXK(渝)2017-0002],于陆军军医大学动物房饲养并取材[SYXK(渝)2017-0002],相对湿度 70%,环境温度(24 ± 2)℃,光照 12 h/12 h 明暗交替,并按照 3R 原则(replacement, reduction, refinement)给以人道关怀。动物适应性喂养 3 d 后,随机为传统单音频训练组混合音频训练组每组分配 4 只实验动物,为传统训练组和穿梭箱混合训练组每组分配 5 只实验动物。为正常动物与习得场景恐惧模型动物对比实验组分配 10 只动物。

1.2 实验系统组成

本实验由穿梭箱体、控制电路、检测电路、刺激电路、单片机、上位机和开源系统组成。

1.2.1 实验装置主体

实验装置主体按照传统穿梭箱体设计,箱体材质为黑色哑光亚克力有机玻璃,规格为 140 cm × 60 cm × 70 cm,分为箱体和盖板两部分,盖板中间安置有红外高清摄像头。箱体内部中间位置设垂直隔板,将箱体分为 A、B 两室,隔板中间有通道使得两室相通。两室下方为间隔 0.5 cm 的不锈钢材质的钢栅。在施加非条件刺激时,外接直流电源连通,电击实验动物足底,引起痛觉从而达到刺激的效果。钢栅底部有可活动的抽屉,用于承接动物排泄物,便于清理。两室顶部有灯泡(光刺激)和扬声器(声刺激),用来产生条件刺激。结构图见图 1。

1.2.2 检测电路

箱体顶部安装有红外高清摄像头,通过 USB 接口与上位机连接,配合计算机图像识别算法,可以实时检测动物所在位置,供计算机处理分析。

1.2.3 刺激电路

刺激电路由单片机、继电器、上位机组成。在仅使用单个箱体实验时,采用双路继电器,两个常闭口分别接箱体底部偶数钢栅,奇数钢栅接地。为提高实验效率,同时对多只实验动物进行训练,本实验系统亦最多兼容四路穿梭箱同时运行,此时可采用八路继电器。在需要产生非条件刺激时,上位

机通过 USB 串口与单片机通讯,单片机产生 TTL 电平信号控制继电器的开合。继电器接有直流恒流电源,电流强度可调(建议 0.5 ~ 1 mA),见图 2 所示。

1.2.4 软件设计

本实验依托 Labview 软件设计了实验平台,系统程序界面截图如图 3 所示。

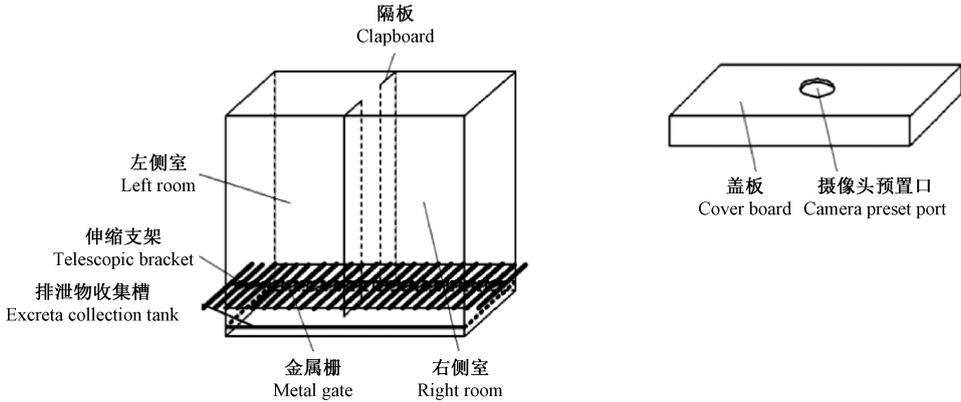


图 1 实验装置结构示意图

Figure 1 Schematic diagram of experimental device

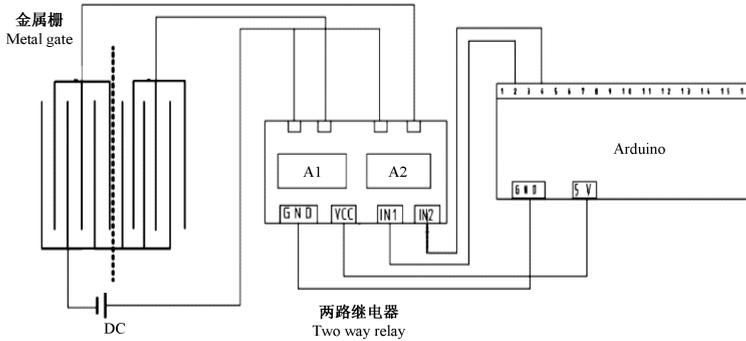


图 2 刺激电路图

Figure 2 Stimulation circuit diagram

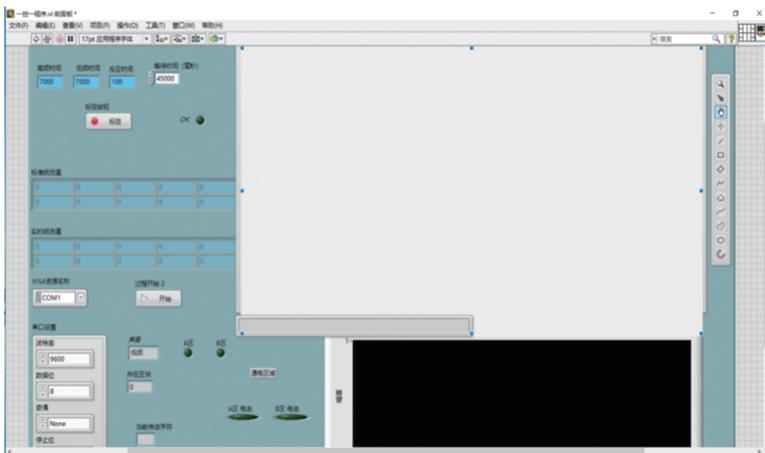


图 3 软件界面

Figure 3 The software interface

软件系统设计采用框架结构,软件界面下可对各项参数进行设置,每项参数都有默认值,可根据实验需要在实验前或是实验适应期间对实验参数进行调试,本次实验需要设定的参数如下:(1)训练通道(可最多选择四路同时进行);(2)训练间隔时间;(3)条件刺激时长;(4)非条件刺激时长;(5)条件刺激(音频)频率;(6)条件刺激时间间隔;(7)非条件刺激电流强度;(8)训练次数。

系统软件提供了动物穿梭状况的波形图窗口。通过这个窗口可以得到动物每次穿梭的时间点,波峰表示大鼠在 A 室,波谷表示动物在 B 室,波形发生翻转,则表示大鼠发生了穿梭行为,系统通过分析可自动计算大鼠行为成功率。大鼠每次穿梭都在波形图中有相应的时间点对应,可分析动物反应时间,实验数据也更加全面细致。

箱体顶部配以高清摄像头,采集到的图像单个像素流明值范围为 0 ~ 255,采样范围为 A、B 箱室,采样速率为每秒 5 张。实验开始时设定参数,标定样张,放入实验大鼠后,以每秒 5 张速率采样,将采样图片与样张对比,采样图片中的大鼠会改变图片中其所在位置的流明值,两者比较,计算出采样图片与样张相比流明值变化最大的地方,即为采样图片中大鼠的位置。把图片分为 A、B 两区域,将图片中大鼠位置与之照应,即可确定大鼠在采样图片时所处的位置。播放音频时,记录大鼠位置,播放完毕后,记录大鼠位置,通过前后位置对比,结合音频种类,可自行判断大鼠行为正确与否,如果行为错误,上位机发送特定字符串给单片机,单片机读码后控制继电器闭合,使得大鼠当前所在区域刺激电路接通,大鼠遭受电击惩罚,大鼠为躲避电刺激穿梭到对侧区域,此过程称为被动回避反应(passive avoidance response, PAR)或逃避反应(escape response, ER)。条件刺激过后,单片机控制继电器断开,结束通电刺激。如果在音频播放停止之前发生穿梭行为,即发生了主动回避反应(active avoidance response, AAR)^[10-11]。

1.2.5 场景恐惧(fear-condition)实验

啮齿类动物在恐惧时会表现出特有的凝滞状态(freezing),包括暂时抑制除呼吸运动外的所有的身体运动^[12]。本装置可进行场景恐惧实验,通过对程序的更改和设备调试,测试了环境更换对大鼠场景恐惧实验反射模式的影响。本装置可以用隔板将左右箱室隔开,仅用一个箱室配合足底电刺激金

属栅杆、顶部摄像头、实验程序便可以完成场景恐惧实验。实验程序需要更改的部分包括:(1)改变双音频训练逻辑,将危险音频信号播放概率调为 100%;(2)将调整训练间隔时间、条件刺激时长、非条件刺激时长、训练次数,使之与场景恐惧实验训练要求相匹配。训练开始后,观察主界面中穿梭箱内实时画面,统计实验动物在条件刺激响起过程中、条件刺激间隔过程中的凝滞时间,计算凝滞时长占总实验时间的比率。

1.2.6 明暗箱实验

本实验装置可将一侧的箱室换为透明亚克力板,并加装白炽灯,实验时保持常亮状态。撤除一切条件刺激、非条件刺激,实验进行时通过主界面监控箱体内老鼠状态,统计实验动物在设定时间内穿梭次数以及分别在明箱的滞留时间。

1.3 实验方法

1.3.1 穿梭箱单音频训练

实验主要参数如下:(1)训练通道 1(可最多选择四路同时进行);(2)训练间隔时间为 24 h;(3)条件刺激时长 7 s;(4)非条件刺激时长 15 s;(5)条件刺激(音频)频率 8 kHz;(6)条件刺激间隔 25 s;(7)非条件刺激电流强度 5 mA;(8)训练次数 50 次。点击标定按钮,将穿梭箱内流明值存入系统,实验装置即设定完成。

将动物放入穿梭箱内,按照程序设定适应时间让其适应环境,期间不施加任何刺激。适应完成后,播放音频,播放完毕 0.1 s 内系统判断动物所在位置,如果与初始位置相同,通电刺激;如果与初始位置不相同,则不通电。每天连续重复过程 50 次,持续 7 d。

1.3.2 穿梭箱双音频训练

按照传统单音频训练方法训练 4 d 后,改为低音频训练。将条件刺激频率改为 2 kHz,改变程序逻辑,低频音播放完毕,判定大鼠是否穿梭,如果大鼠穿梭到对侧区域,则通电刺激,如果大鼠滞留于当前区域,则不通电,其余参数不变,持续 2 d。

后改用双音频训练,高低音频出现概率各 50%,条件刺激(音频)频率为 8 kHz 高频音,2 kHz 低频音;其余参数不变,训练持续 4 d。

1.3.3 场景恐惧实验

取实验动物 5 只,训练第 1 天,将大鼠放入改装后的装置内适应 5 min。适应时间结束后给声音刺激 20 s,声音结束后给电刺激 8 s,电流大小 5 mA,

电刺激结束后等待 200 s, 这样为一个训练周期, 总共训练 6 个周期。观察整个训练过程中小鼠的状态, 记录 200 s 间隔时间内凝滞时间、声音刺激 20 s 内凝滞时间, 电刺激后的 20 s 内的凝滞时间。第 2 天将小鼠放入长方形箱子中 (80 cm × 60 cm × 40 cm), 不施加电刺激, 训练开始后给 20 s 声音刺激, 后观察 200 s, 继续给声音刺激, 观察 200 s, 总共循环训练 3 次, 记录 200 s 间隔得小鼠的凝滞时间和 20 s 声音刺激中的凝滞时间。第 3 天, 将大鼠放回原装置内, 不施加任何刺激, 8 min 后取出, 记录 8 min 内大鼠凝滞时间。

1.3.4 正常动物与习得场景恐惧模型动物对比实验

将动物随机分为两组, 每组 5 只。用隔板将装置从中间隔开, 改变程序训练逻辑, 使得装置底部每间隔 50 s 通电 10 s, 通电电流 5 mA, 将一组训练动物依次置于装置一侧 20 min, 使该组大鼠总共受到 20 次不可回避电刺激, 从而建立一组习得场景恐惧记忆的动物模型^[1]。另一组动物置于装置内但不通电, 20 min 后取出。

更改程序训练逻辑, 训练间隔设为 12 h, 非条件刺激时长 7 s, 其余参数与传统单音频穿梭箱训练方法一致, 两组动物总共训练 12 次, 统计训练成功率。

训练 12 次完成后, 将训练装置用隔板隔开, 将两组动物分别置于装置一侧进行场景恐惧实验, 测试时间 5 min, 统计两组大鼠僵直时间。

2 实验结果

2.1 穿梭箱单音频训练结果

学习成功率 = 动物成功躲避电击次数 / 总实验次数, 系统软件可以直接计算出高音频训练、低音频训练、高低音频混合训练的成功率。成功率统计图表如图 4 ($n=4$)。

大鼠实验成功率直接体现了大鼠的学习效率, 是实验结果的重要参数。设定成功率稳定在 70% 以上即认为实验达到预期成功率^[13-14]。通过实验数据可以看到, 采用该种训练系统后大鼠的学习成功率整体呈上升趋势, 第 1 天与第 2 天训练成功率存在显著的统计学差异 ($P=0.0166$), 第 3 天训练结果与第 1 天存在极显著的统计学差异 ($P=0.0032$), 之后每一天成功率均上升且与第一天存在显著的统计学差异。在实验第 6 天大鼠平均成功率均值达到 70% 以上, 并在之后的实验中保持在 80% 以上, 即系统设计达到要求。训练成功的实验动物可进一步做神经、药理等科研项目。

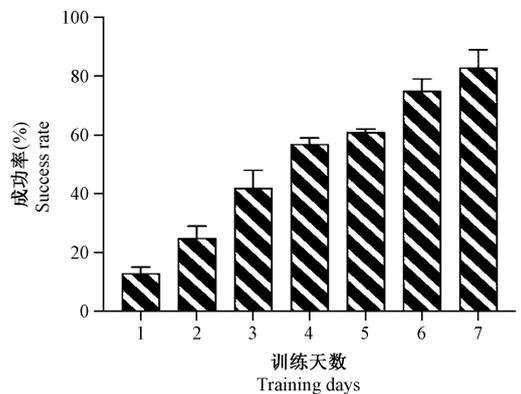


图 4 传统单音频训练成功率统计图

Figure 4 Traditional single audio training success rate statistics chart

2.2 穿梭箱双音频混合训练结果

在 10 d 的训练周期中, 前 4 d 进行高频音训练, 第 5、6 天进行低频音训练, 最后 4 d 进行高低频音混合训练。由 4 只老鼠成功率均值统计结果可以看到, 前 4 d 高频音训练, 大鼠训练成功率在逐渐增长。第 5 天开始切换为低频音训练, 大鼠成功率明显提升。在第 7~10 天混合音频训练中, 训练成功率稍有回落, 但在第 9 天成功率能够超过 70%, 并且之后能够维持在 80%, 该系统符合实验设计要求^[15-17], 见表 1。

2.3 场景恐惧实验结果

第 1 天的训练使大鼠逐步建立起场景恐惧记忆。第 2 天仅给声音刺激信号, 大鼠能够在受到声音刺激的 20 s 内、200 s 的间隔时间中表现出凝滞状态, 说明大鼠已经习得声音的恐惧记忆, 在第 3 天放入原实验装置后, 在 8 min 的测试时间里大鼠平均凝滞时间能达到 150 s, 说明大鼠已经建立起场景恐惧记忆, 系统符合场景恐惧实验要求, 3 d 的场景恐惧实验结果如图 5 所示 ($n=5$)。

2.4 正常动物与习得场景恐惧模型动物对比实验结果

由实验结果可知, 正常大鼠训练成功率随训练次数增加而逐渐增长, 而经不可回避电刺激的大鼠训练成功率未呈现线性变化, 成功率一直在 20% 以下。模型动物和正常动物在第 3、5、6 次训练成功率出现显著的统计学差异 (P 值分别为 0.0488、0.0103、0.0114), 正常动物自第 7 次训练开始成功率皆与模型组动物呈现极显著统计学差异, 说明不可回避电刺激严重影响了动物主动回避学习行为, 正常动物与模型组动物 12 次穿梭箱训练结果如图 6 所示 ($n=10$)。

表 1 双音频混合训练成功率 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

Table 1 Dual audio mixing training results

组别 Groups	Day1 成功率 Success rate	Day2 成功率 Success rate	Day3 成功率 Success rate	Day4 成功率 Success rate	Day5 成功率 Success rate	Day6 成功率 Success rate	Day7 成功率 Success rate	Day8 成功率 Success rate	Day9 成功率 Success rate	Day10 成功率 Success rate
高频音 High frequency audio training	(13±2)%	(25±4)%	(42±6)%	(57±2)%	-	-	-	-	-	-
低频音 Low frequency audio training	-	-	-	-	(80±3)%	(90±5)%	-	-	-	-
混合组 Mixing training	-	-	-	-	-	-	(54±9)%	(59±4)%	(74±7)%	(81±4)%

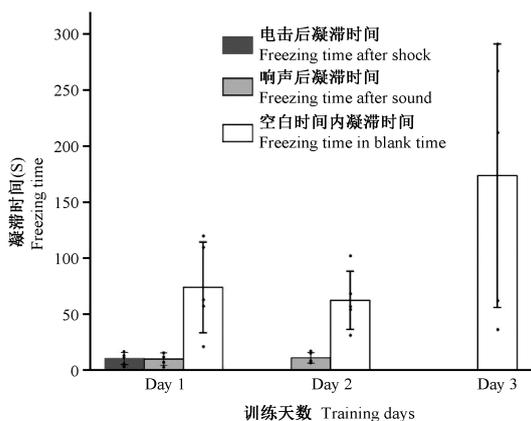
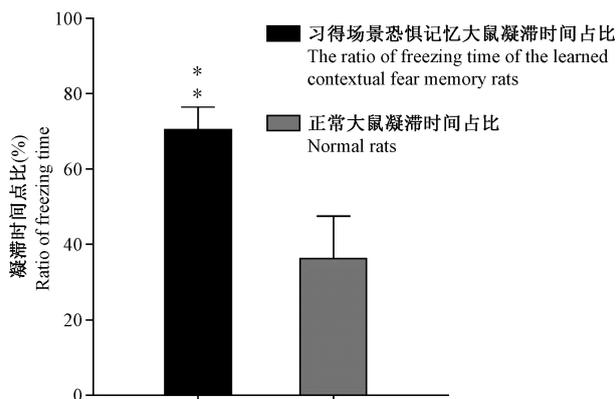


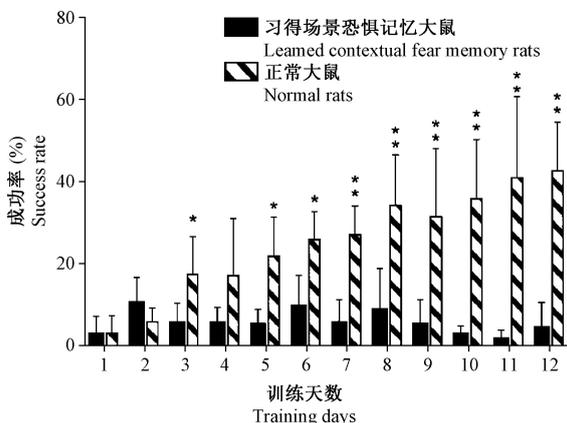
图 5 凝滞时间统计结果
Figure 5 Freezing time statistics



注:图中两列数据代表场景恐惧实验大鼠的凝滞时间。与正常大鼠对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

图 7 正常大鼠与习得场景恐惧记忆大鼠场景恐惧实验结果
Note. The bars in the figure show the freezing time of fear-condition test in rats. Compared with normal rat group, ** $P < 0.01$.

Figure 7 Results of fear-condition test in normal rats and learned contextual fear memory rats



注:图中 12 组数据依次代表大鼠 12 次穿梭箱训练结果。与正常大鼠对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 6 正常大鼠与习得场景恐惧记忆大鼠对比实验结果
Note. The twelve groups of bars in the figure show the results of 12 shuttle box training sessions in rats. Compared with normal rat groups, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 6 Comparison of experimental results between normal rats and learned contextual fear memory rats

图 7 为两组动物场景恐惧实验结果对比,由训练结果可知,经 12 次穿梭箱训练后,模型组动物的凝滞时间与正常动物相比存在极显著的统计学差异 ($P = 0.00056$),综合图 6 所示的模型组动物训练成功率显著降低,说明动物已经建立场景恐惧记忆,模型组动物和正常动物经本装置训练能够在穿梭箱实验和场景恐惧实验中体现出显著性差异,说明本装置和开源系统的设计符合动物行为学实验要求。

3 讨论

单音频训练结果符合预期^[18],训练结果从第 2 天开始出现统计学差异,第 3 天训练结果出现显著的统计学差异,证明本装置可以进行传统的穿梭箱实验。双音频训练结果在切换训练方式时有明显

的波动。双音频混合训练第 5、6 天的训练成功率有明显的提升,主要原因是大鼠在危险环境中有一定的恐惧感,在没有非条件刺激时,更倾向于选择保持现状,低频音响起后,滞留于当前区域为正确行为,一定程度上契合了动物习性,成功率也相对较高。第 7 天的训练成功率稍有回落,是由于高低音频混合训练使得训练难度加大,大鼠需要适应,在第 9 天成功率能够上升至 74%,说明大鼠能够成功分辨两种声音,该系统符合穿梭箱试验设计的基本实验要求。从正常动物与习得场景恐惧记忆动物对比实验中可知,施加不可回避电刺激的大鼠在穿梭箱实验和场景恐惧实验结果中均与正常大鼠有显著性差异。施加不可回避电刺激、穿梭箱训练、场景恐惧训练均可在同一装置同一系统内完成,体现出开源系统良好的适配性。且相同的实验装置在重庆科技学院和陆军军医大学使用时所作出的实验数据类似,表明该实验系统作为一种标准的实验系统可以全面推广。

动物行为学实验的各种产品之间制造标准不统一,在材质、刺激标准、数据收集、处理以及实验方法等方面都有一定的差异,不同实验之间难以实现交叉。而开源实验系统可以极大程度地兼容各类软件硬件,使得不同项目之间可以依托本程序平台为基础,灵活运用不同硬件实现兼容运行,所以开源实验系统能在统一实验标准方面做出极大的贡献^[19-20]。

借助开源系统适配性广的优势,本系统能够提供多种模态的刺激,系统可满足多种大鼠神经科学实验需求,提供多模态刺激(声、光、电等),可测试不同的感官刺激对大鼠神经系统和行为决策的影响,并且每种模态可提供不同强度的刺激信号(如高低音刺激源,强弱光刺激源等),可测试大鼠对不同程度刺激的反应以及学习能力。系统底层代码完全开源,可根据实验需求自行调整,整个实验流程由计算机自动控制实验进程,收集实验数据,实现全控化实验,系统设计合理,性能稳定,减少了大量重复性劳动,方便研究人员使用,有利于系统的广泛推广,加快系统升级。我们致力于将简单的动物实验系统开源化、规范化,也希望更多的科研工作者能够加入我们,打破技术垄断,真正惠利于所有科研工作者。

参考文献:

- [1] 孙欣. 习得性无助大鼠脚底电刺激后海马中 c-Fos 的表达 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2006.
- [2] 宋国萍, 皇甫恩, 苗丹民, 等. 学习后不同时间睡眠剥夺对

- 大鼠记忆能力的影响 [J]. 中国行为医学科学, 2000, 9(1): 8-10.
- [3] Valentine G, Dow A, Banasr M, et al. Differential effects of chronic antidepressant treatment on shuttle box escape deficits induced by uncontrollable stress [J]. *Psychopharmacology*, 2008, 200(4): 585-596.
- [4] 卓豫, 吴宝明, 王景周, 等. 一种全程控的大鼠穿梭箱主动回避反应实验系统及其应用 [J]. *重庆医学*, 2006, 35(10): 926-927.
- [5] 刘彦, 何庆华, 廖维宏, 等. 微机控制的穿梭箱双向主动回避反应实验系统 [J]. *中国应用生理学杂志*, 1999, 15(4): 79-81.
- [6] 隋南, 鞠平, 杨彤. 一种具有电击功能的实验穿梭箱: CN200620018965.4 [P]. 2007-07-04.
- [7] 赵邦云. 用于动物主动回避反应的训练装置: CN200520010065.0 [P]. 2006-11-08.
- [8] 万兴旺, 黄矛, 李万亥, 等. 一种用于评价药物精神依赖性的实验模型 [J]. *第二军医大学学报*, 1998, 19(4): 88-89.
- [9] Aldavert-Vera L, Costa-Miserachs D, Massanés-Rotger E, et al. Facilitation of a distributed shuttle-box conditioning with posttraining intracranial self-stimulation in old rats [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 1997, 67(3): 254-258.
- [10] 王玮瑶, 张岩, 赵可, 等. 海马齿状回区多巴胺 D1 受体在大鼠主动回避学习中的作用及其机制 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2018, 44(6): 1138-1143.
- [11] Happel MF, Deliano M, Ohl FW. Combined shuttle-box training with electrophysiological cortex recording and stimulation as a tool to study perception and learning [J]. *J Vis Exp*, 2015(105): e53002.
- [12] Greenwood BN, Strong PV, Fleshner M. Lesions of the basolateral amygdala reverse the long-lasting interference with shuttle box escape produced by uncontrollable stress [J]. *Behav Brain Res*. 2010, 211(1): 71-76.
- [13] 赵邦云, 黎海蒂, 高恩泉, 等. 微机控制的大鼠四路穿梭箱主动回避反应实验系统 [J]. *中国临床康复*, 2004, 8(4): 632-633.
- [14] 任燕华, 刘忠华, 张开镐. 微机全自动程序控制的条件性位置偏爱实验系统 [J]. *中国药物依赖性通报*, 1997, 6(1): 26-29, 36.
- [15] Rech RH, Briggs SL, Mokler DJ. Fentanyl and spiradoline interactions in a place-conditioning black-white shuttle-box [J]. *Pharmaceuticals*, 2010, 4(1): 101-116.
- [16] 王福佛, 赵法仪, 郭俊生. 锌缺乏对小鼠脑发育及功能影响的实验研究 [J]. *第二军医大学学报*, 2000, 21(1): 38-41.
- [17] 任榕娜, 陈新民, 孔祥英, 等. 锌缺乏、过量对大鼠学习记忆能力的影响 [J]. *中国行为医学科学*, 1996, 5(4): 15-17.
- [18] 于剑锋. 一种条件性位置回避装置: CN201220364781.9 [P]. 2013-02-06.
- [19] 中国科学院心理研究所. 程控条件性逃避反射训练及检测系统和检测方法: CN200610065946.1 [P]. 2007-10-03.
- [20] 中国医学科学院药用植物研究所. 动物穿梭箱计算机自动分析处理系统: CN200710004992.5 [P]. 2007-08-08.