



交叉学科研究生高水平课程系列教材

■ 解孝林 赵 峰/丛书主编

学习记忆与机器学习 实验原理

施 静 王天江 田 波/主编

XUEXI JIYI YU JIQI XUEXI SHIYAN YUANLI



华中科技大学出版社
<http://www.hustp.com>



交叉学科研究生高水平课程系列教材

学习记忆与机器学习 实验原理

XUEXI JIYI YU JIQI XUEXI SHIYAN YUANLI

主 编 / 施 静 王天江 田 波

副主编 / 李 熲 韩芸耘 孟宪芳
裴 磊 孙 宁 张 培

编 委 / (以姓氏笔画为序)

王天江 (华中科技大学计算机科学与技术学院)
田 波 (华中科技大学同济医学院基础医学院)
祁广见 (华中科技大学同济医学院基础医学院)
孙 宁 (华中科技大学同济医学院基础医学院)
李 星 (华中科技大学同济医学院基础医学院)
李 熲 (华中科技大学同济医学院基础医学院)
余丹芳 (华中科技大学同济医学院基础医学院)
张 培 (华中科技大学同济医学院基础医学院)
罗逸豪 (华中科技大学计算机科学与技术学院)
岳志诚 (华中科技大学计算机科学与技术学院)
孟宪芳 (华中科技大学同济医学院基础医学院)
施 静 (华中科技大学同济医学院基础医学院)
徐 敏 (华中科技大学计算机科学与技术学院)
徐 焱 (华中科技大学计算机科学与技术学院)
韩芸耘 (华中科技大学同济医学院基础医学院)
裴 磊 (华中科技大学同济医学院基础医学院)



华中科技大学出版社
<http://www.hustp.com>

中国·武汉

内 容 简 介

本教材是交叉学科研究生高水平课程系列教材。

本教材共分 13 章,内容分为学习记忆障碍模型建立、15 个记忆类行为学实验以及学习记忆和机器学习的相关基础知识。重点对学习记忆类动物行为学和机器学习相关实验的实际操作和分析流程作了详细表述。可帮助学生在掌握学习记忆过程中的神经元逻辑联系和信息处理机制的同时能够在科研实践活动中运用本课程所学的知识正确合理选择人工智能方法模拟人类学习记忆,旨在提高学生在课程教学中的实践能力和自主创新能力。

本教材可供医学、计算机等专业研究生、本科生使用。

图书在版编目(CIP)数据

学习记忆与机器学习实验原理/施静,王天江,田波主编. —武汉:华中科技大学出版社,2019.7
交叉学科研究生高水平课程系统教材
ISBN 978-7-5680-5268-9

I. ①学… II. ①施… ②王… ③田… III. ①机器学习-实验-研究生-教材 IV. ①TP181-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2019)第 141881 号

学习记忆与机器学习实验原理

施 静 王天江 田 波 主编

Xuexi Ji yi yu Ji qi Xuexi Shiyan Yuanli

策划编辑:周 琳

责任编辑:汪婷美

封面设计:杨玉凡

责任校对:曾 婷

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

电话:(027)81321913

武汉市东湖新技术开发区华工科技园

邮编:430223

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:武汉市籍缘印刷厂

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:9.75

字 数:237 千字

版 次:2019 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

定 价:32.00 元



华中出版

本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换

全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务

版权所有 侵权必究

交叉学科研究生高水平课程系列教材

编委会



总主编 解孝林 赵 峰

编 委 (按姓氏拼音排序)

陈吉红 陈建国 金人超 刘宏芳 刘劲松
潘林强 施 静 史岸冰 王从义 王连弟
解 德 闫春泽 杨家宽 张胜民 张勇慧

秘 书 郑金焱 周 琳 张少奇

总序

Zongxu

2015 年 10 月国务院印发《统筹推进世界一流大学和一流学科建设总体方案》，2017 年 1 月教育部、财政部、国家发展改革委印发《统筹推进世界一流大学和一流学科建设实施办法（暂行）》，此后，坚持中国特色、世界一流，以立德树人为根本，建设世界一流大学和一流学科成为大学发展的重要途径。

当代科技的发展呈现出多学科相互交叉、相互渗透、高度综合以及系统化、整体化的趋势，构建多学科交叉的培养环境，培养复合创新型人才已经成为研究生教育发展的共识和趋势，也是研究生培养模式改革的重要课题。华中科技大学“交叉学科研究生高水平课程”建设项目是华中科技大学“双一流”建设项目“拔尖创新人才培养计划”中的子项目，用于支持跨院（系）、跨一级学科的研究生高水平课程建设，这些课程作为选修课对学术型硕士生和博士生开放。与之配套，华中科技大学与华中科技大学出版社组织撰写了本套交叉学科研究生高水平课程系列教材。

研究生掌握知识从教材的感知开始，感知越丰富，观念越清晰，优秀教材使学生在获得的知识更加系统化、规范化。本套丛书是华中科技大学交叉学科研究生高水平课程建设的重要探索。不同学科交叉融合有不同特点，教学规律不尽相同，因此每本教材各有侧重，如：《学习记忆与机器学习实验原理》旨在提高学生在课程教学中的实践能力和自主创新能力；《代谢与疾病基础研究实验技术》旨在将基础研究与临床应用紧密结合，使研究生的培养模式更符合未来转化医学的模式；《高分子材料 3D 打印成形原理与实验》旨在将实验与成形原理呼应形成有机整体，实现基础原理和实际应用的具体结合，有助于提升教学质量。本套丛书凝聚着编者的心血，熠熠生辉，此处不一一列举。

本套丛书的编撰得到了各方的支持和帮助，我校 100 余位师生参与其中，涉及基础医学院、机械科学与工程学院、环境科学与工程学院、化学与化工学院、药学院、生命科学与技术学院、同济医院、人工智能与自动化学院、计算机科学与技术学院、光学与电子信息学院、船舶与海洋工程学院以及材

料科学与工程学院 12 个单位的 24 个一级学科,华中科技大学出版社承担了编校出版任务,在此一并向所有辛勤付出的老师和同学表示感谢!衷心期望本套丛书能为提高我校交叉学科研究生的培养质量发挥重要作用,诚恳期待兄弟高校师生的关注和指正。

解孝林

2019 年 3 月于喻园

前言

Qianyan

《学习记忆与机器学习实验原理》是在华中科技大学“双一流”建设项目“交叉学科研究生高水平课程”的领导与资助下进行的,本书旨在通过整合神经科学中的学习记忆与计算机科学中的机器学习两部分内容,促进学科交叉融合,组建交叉学科群,以适应当前高等教育模式和新时代发展的需要。

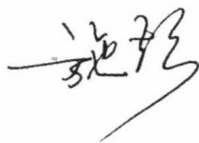
经典学科之间的交叉融合与新兴学科的发展壮大是世界高等教育发展的必然规律,如何在现有的科教背景下培养交叉学科人才,已经成为一流大学教育的重要课题。人工智能是计算机科学、认知神经科学、逻辑学交叉融合形成的一门科学,从学科的角度看,人工智能是研究模拟、延伸和扩展人类智能的理论、技术、方法及应用系统的新科学。机器学习是研究计算机模拟或学习人类行为,以获取新的知识和技能,从而不断完善计算机自身性能的一门学科,因此它是人工智能的核心,是使计算机具有智能性质的根本途径。学习记忆又是智能行为的一个极其重要的特征,因此要想掌握人工智能技术必须具备学习记忆和机器学习的相关知识。

通过向医学专业学生讲授人工智能的知识课程,有助于学生理清人工智能的知识结构,掌握其基本概念和基本方法,加深对脑和神经网络的认识;同时,通过向计算机专业学生讲授人脑学习记忆的认知神经科学基础,有助于学生掌握学习记忆过程中的神经元逻辑联系和信息处理机制,并能够在科研实践活动中,运用本课程所学的知识正确合理选择人工智能方法模拟人类学习记忆,旨在提高学生在课程教学中的实践能力和自主创新能力。

此外,我们在教材的编写过程中,重点对学习记忆类动物行为学和机器学习相关实验的实际操作和分析流程均作了详细说明,并提供了多幅数据插图与模式图,增加了本教材的可读性与实践可操作性,可作为学生自学与教师参考用书。

由于编者的水平有限,书中不足之处在所难免,衷心期望同行专家、广大师生和其他读者提出批评与建议,预致最诚挚的谢意!

本书附程序数据文件可于封底扫码下载练习。



目录

Mulu

第一章 学习记忆概述	/1
第二章 学习记忆障碍模型建立	/3
第一节 东莨菪碱诱导的记忆获得障碍模型	/3
第二节 亚硝酸钠诱导的记忆巩固障碍模型	/4
第三节 乙醇诱导的记忆再现障碍模型	/5
第四节 D-半乳糖诱导的记忆再现障碍模型	/6
第五节 $A\beta$ 沉积诱导的记忆障碍模型	/7
第六节 缺血缺氧手术模型	/9
第七节 脑区损毁实验	/13
第八节 血管性痴呆大鼠模型制作	/16
第三章 空间记忆类行为学实验	/21
第一节 Morris 水迷宫实验	/21
第二节 水迷路实验	/25
第三节 环境条件恐惧实验	/28
第四节 洞板实验	/33
第四章 工作记忆类行为学实验	/37
第一节 T 迷宫	/37
第二节 Y 迷宫	/39
第三节 放射状迷宫(八臂迷宫)	/40
第四节 新物体识别实验	/42
第五节 锥体空间定向实验	/44
第六节 圆形开场区域实验	/46
第五章 非陈述性记忆类行为学实验	/49
第一节 穿梭箱实验	/49
第二节 避暗(明暗箱)实验	/51
第三节 跳台实验	/53
第四节 旷场实验	/55
第五节 社交实验	/58



第六章 学习记忆与机器学习前沿技术	/63
第一节 光遗传学	/63
第二节 学习记忆其他前沿技术及进展	/71
第七章 机器学习概述	/75
第一节 机器学习发展简史	/75
第二节 机器学习的概念	/77
第三节 应用	/78
第三节 未来展望	/81
第八章 实验环境搭建	/83
第一节 vs2013 安装教程	/83
第二节 opencv2.4.10+vs2013 环境搭建	/83
第三节 python 环境配置教程	/86
第四节 在 Windows 上安装 tensorflow	/90
第五节 Unity 安装教程	/92
第九章 搜索算法十五数码问题实验	/94
第十章 小鼠记忆仿真实验	/103
第十一章 遗传算法 TSP 问题实验	/109
第十二章 卷积神经网络实现手写数字识别实验	/121
第十三章 机器学习人脸识别实验	/133

第一章

学习记忆概述

学习与记忆是人类大脑最重要的功能之一。一般而言,学习是指个体通过与外界环境接触获得经验或知识而产生行为变化的过程,记忆则是对这类经验或知识进行编码、巩固、存储及再现的复杂过程。在以往的学习记忆领域研究中,人们对于学习记忆的认识在分子、突触、细胞和系统水平上均取得了重大突破,其中最引人关注的就是提出突触可塑性是学习记忆的神经解剖学基础这一理论,从而为研究学习记忆奠定了物质基础,这也正是现代神经科学研究学习记忆的核心问题。

神经元是神经系统的基本结构和功能单元,主要由细胞体、树突、轴突构成,其中细胞体是神经元代谢的活动中心,树突是神经元信号传入的主要部位,轴突是神经元信号传出的主要部位。神经元之间或神经元与效应器之间信息传递的部位称为突触,它由突触前成分、突触间隙与突触后成分组成;依据结构与电生理特征,可分为化学突触、电突触和混合突触。突触传递是神经系统中最常见,也是最重要的信息传递方式,单个神经元的细胞体、树突、轴突可与众多神经元的细胞体、树突、轴突分别形成错综复杂的突触连接。此外,神经系统内还存在除神经元以外的另外一类细胞,即神经胶质细胞,其分布于神经元和神经纤维之间,数目是神经元的10~50倍,研究发现神经胶质细胞在神经元突触信息传递的过程中也具备调节的功能。以上所述均体现了人类大脑的精密性。

突触可塑性是指神经细胞(神经元)间的连接(即突触)对神经活动所做出的结构和功能变化的应答反应,是神经系统最重要的特征之一,根据突触可塑性改变的时间长短可分为短期突触可塑性与长期突触可塑性。短期突触可塑性包括易化、短时程抑制、短时程增强,长期突触可塑性则包含长时程抑制和长时程增强。同时,突触可塑性按照结构位置可分为突触前可塑性与突触后可塑性,其中突触前可塑性表现为传递信息的神经递质释放的增多或减少,而突触后可塑性主要表现为突触后神经元对神经递质反应的增强与减弱,即神经递质所对应受体的蛋白修饰与调节。突触可塑性是学习记忆的重要分子基础,因此突触仿生和突触可塑性模拟被认为是实现高效类脑人工神经网络的第一步。突触可塑性的上述特点与优越性为数学模型或计算机模型中的变量和结构带来了新的思维方式和启发,现已在图像识别、人工神经网络与神经形态类脑计算等领域广泛应用。

记忆通常按照保持时间划分为感觉记忆(少于1 s)、短时记忆(少于1 min)和长时记忆(以天、周或年计算)。此外,根据大脑特定区域受损的遗忘症患者所表现的选择性记忆缺失,记忆的分类可分为陈述性记忆与程序性记忆两大类。前者也被称为外显记忆,可再分为情景记忆与语义记忆,是指对事件、事实、地点和人的记忆,主要依赖于颞叶系统,当要求记



忆再现时需要有清晰的回忆,此类记忆的形成和遗忘均较容易;后者也称非陈述性记忆或内隐记忆,包含感知觉、运动技巧、程序与规则的学习等,但不依赖于颞叶系统的整合。

随着科学技术的进步,神经科学中的学习记忆过程被广泛应用于计算机科学中的机器学习,这极大地推动了人工智能交叉学科领域的发展,因此要想掌握人工智能技术必须具备学习记忆和机器学习的相关知识。关于学习记忆的基础理论和实验教学,将通过下列五个部分在动物行为学水平上进行重点阐述:①学习记忆障碍模型建立;②空间记忆类行为学实验;③工作记忆类行为学实验;④非陈述性记忆类行为学实验;⑤学习记忆与机器学习前沿技术。

本章参考文献

- [1] 韩济生. 神经科学[M]. 3 版. 北京:北京大学医学出版社,2009.
- [2] 张晨曦,陈艳,仪明东. 基于忆阻器模拟的突触可塑性的研究进展[J]. 中国科学:信息科学,2018(2).
- [3] Gluck M A, Eduardo M, Catherine E M. Learning and memory[M]. New York: Worth Publishers,2008.

(施 静)

第二章

学习记忆障碍模型建立

第一节 东莨菪碱诱导的记忆获得障碍模型

一、实验目的

- (1) 观察东莨菪碱对空间学习的影响。
- (2) 掌握腹腔注射东莨菪碱诱导的记忆获得障碍模型的制备方法。

二、实验原理

乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)是中枢神经系统中第一个被测定的神经递质,脑内细胞外液中 ACh 的变化与中枢神经系统功能的改变有着密切的关系。同时基底前脑向皮层和海马的胆碱能纤维投射是脑内最主要的胆碱能通路。中枢胆碱能通路是构成学习、记忆功能的主要通路。ACh 是海马的主要神经递质,海马主要与工作记忆有关,尤其在空间工作记忆(spatial working memory)的获得、储存和提取中发挥重要作用。ACh 主要通过毒蕈碱型受体(M 受体)和烟碱型受体(N 受体)发挥作用。M 受体参与大脑的唤醒、选择性注意、情绪和运动协调等功能的调节,特别在学习、记忆和认知等方面被认为是关键的环节之一。东莨菪碱是作用于 M 胆碱受体的阻断剂,因此可以减弱乙酰胆碱的作用,从而导致动物的学习记忆行为发生障碍。

三、实验用品

- (1) 实验动物:7~8 周龄成年 SD 大鼠 6 只,其中生理盐水组和东莨菪碱组各 3 只。
- (2) 实验器材:Morris 水迷宫(直径为 98 cm,高度为 60 cm,水下 1.5 cm 处有一平台,平台直径为 6 cm,水温控制在 22~25 ℃)、秒表、注射器等。
- (3) 实验药品:东莨菪碱(生理盐水配制的东莨菪碱,浓度为 0.15 g/100 mL)、生理盐水。

四、实验步骤

- (1) 分别称取 SD 大鼠的重量并记录。
- (2) 按照 3 mg/(mL · kg)的比例给 SD 大鼠腹腔注射东莨菪碱溶液或生理盐水。

(3) 注射药物后 30 min, 进行 Morris 水迷宫测试。将 Morris 水迷宫人为分为 4 个象限, 把 SD 大鼠面向其中一个象限的池壁放入水中, 记录其找到并爬上平台(在平台上停留 3 s)的逃生潜伏期, 完成之后将 SD 大鼠放回饲养笼中休息; 若在 180 s 内 SD 大鼠没有找到平台, 则人为将其放在平台上 30 s, 完成之后将 SD 大鼠放回饲养笼中休息, 逃生潜伏期记录为 180 s。每只 SD 大鼠测试 3 次。

五、观察与结果分析

观察并分析两组 SD 大鼠找到平台的逃生潜伏期。

六、注意事项

- (1) 应在注射东莨菪碱后 40 min 之内进行 Morris 水迷宫测试。
- (2) 应尽量保持水温恒定。
- (3) 测试时应保持实验环境安静。

第二节 亚硝酸钠诱导的记忆巩固障碍模型

一、实验目的

- (1) 观察亚硝酸钠对学习记忆的影响。
- (2) 掌握腹腔注射亚硝酸钠诱导的记忆巩固障碍模型的制备方法。

二、实验原理

学习记忆的“痕迹论”表明, 记忆获得、巩固、再现组成了记忆的全过程。神经元缺氧是引起学习记忆障碍的重要因素。亚硝酸钠(sodium nitrite)是一种致缺氧剂, 其进入机体后可引起高铁血红蛋白血症。高铁血红蛋白与羟基牢固结合, 不能与氧结合, 造成脑和全身性缺氧, 抑制 ATP 的生成。而神经系统对 ATP 具有极强的依赖性, 因此亚硝酸钠能够引起学习记忆障碍, 而亚硝酸钠所致的小鼠记忆巩固障碍模型是公认的阿尔茨海默病病理模型。

三、实验用品

- (1) 实验动物: 8~12 周龄健康雄性 C57 小鼠 10 只, 其中生理盐水组和亚硝酸钠组各 5 只。
- (2) 实验器材: 穿梭箱(左右两个同等大小(20.3 cm×15.9 cm×21.3 cm)的隔室。两隔室之间由一个拱形门(8.9 cm×11.4 cm)相连, 拱形门可由实验者根据实验需要关上或打开。隔室地板为不锈钢栅栏(直径: 3.175 mm))、秒表、注射器等。
- (3) 实验药品: 亚硝酸钠溶液(每 100 mL 生理盐水溶解 1.8 g 亚硝酸钠)、生理盐水。

四、实验步骤

- (1) 分别称取 C57 小鼠的重量并记录。

(2) 给 C57 小鼠腹腔注射亚硝酸钠溶液或生理盐水,注射比例为 10 mL/kg,每天 1 次,持续 30 天。

(3) 进行穿梭箱实验:首次训练前,将 C57 小鼠放入穿梭箱内活动 3 min 以适应环境。开始训练时,将 C57 小鼠放在箱内的任何一侧,背朝向洞口,给予声音刺激 5 s,刺激停止后 3 s 给予电刺激(100 V,50 Hz,交流电)10 s,C57 小鼠每天训练 10 次,每次训练后休息 15 s,连续训练 5 天。记录 C57 小鼠被动回避跑去对侧箱内的时间。

五、观察与结果分析

观察并分析两组 C57 小鼠被动回避跑去对侧箱内的时间。

六、注意事项

- (1) 测试前 30 min 将 C57 小鼠带到行为学实验室熟悉环境。
- (2) 实验前进行预实验以找到合适的电刺激强度。
- (3) 测试时应保持实验环境安静。

第三节 乙醇诱导的记忆再现障碍模型

一、实验目的

- (1) 观察乙醇对记忆再现的影响。
- (2) 掌握乙醇灌胃诱导的记忆再现障碍模型的制备方法。

二、实验原理

内侧颞叶是记忆的重要结构,而海马是其重要的组成部分。长期暴露于乙醇环境会损害海马突触可塑性,导致学习和记忆障碍。在青春期长期暴露于乙醇环境可导致显著的记忆障碍,并伴随着海马神经元、星形胶质细胞和小胶质细胞的减少。海马神经元和神经胶质细胞的凋亡被认为是空间记忆障碍的重要原因。研究表明乙醇能够通过蛋白激酶 A(PKA)途径在小鼠 SH-SY5Y 细胞中诱导 caspase-3 蛋白酶激活导致细胞凋亡。乙醇可使细胞膜上的 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)、内质网上的 1,4,5-三磷酸肌醇受体(IP3R)和肌质/内质网钙腺苷三磷酸酶(SERCA)表达上调,从而影响细胞内第二信使 Ca^{2+} 浓度,引起细胞内多条信号通路的异常,最后导致细胞死亡。因此,长期接触乙醇可导致记忆再现障碍。

三、实验用品

(1) 实验动物:用八臂迷宫训练成功的 6~8 周的健康 C57 雄性小鼠 6 只,其中生理盐水组和乙醇组各 3 只。

(2) 实验器材:八臂迷宫(每个臂长 41.9 cm,宽 11.4 cm,高 10.1 cm,其上有一透明顶盖,两侧各有两个相对的光电管。迷宫中央八角形区的直径为 27.4 cm,上有一透明顶盖。中央区通往各臂的入口处有一活动门,用来对动物的出、入臂进行控制)、秒表、注射器等。



(3) 实验药品:40%乙醇、生理盐水。

四、实验步骤

(1) 分别称取 C57 小鼠的重量并记录。

(2) 训练 C57 小鼠:训练前 C57 小鼠禁食 1 天,使其体重为自由摄食时的 85%左右,训练期间限食。C57 小鼠先在八臂迷宫中预适应 2 天,每天 1 次,任其自由摄取药饵 10 min,然后每天训练 2 次。训练时,在固定四臂放置药饵(1,2,4,7 臂),C57 小鼠放在迷宫中央八角形区的一个小盒子内,15 s 后将活动门打开,C57 小鼠可以选择进入任一臂。C57 小鼠进入有药饵的臂且摄食为一次正确选择,否则为错误选择,称为参照记忆错误(reference memory error,RME),重新进入放药饵臂为正确选择,否则为错误选择,称为工作记忆错误(working memory error,WME),总记忆错误(total memory error,TE)记为 RME 和 WME 的总和,共训练 10~15 次,连续 5 次训练 TE 不超过 1 且 WME 为 0,认为训练成功。

(3) 用 40%乙醇或生理盐水给 C57 小鼠灌胃,灌胃比例为 10 mL/kg,持续 15 天。

(4) 进行八臂迷宫实验:方法同步骤(2)。记录 RME 和 WME。

五、观察与结果分析

观察并分析两组 C57 小鼠 RME 和 WME 与总入臂次数的比例。

六、注意事项

- (1) 限制饮食期间应注意避免 C57 小鼠营养不良而患病。
- (2) 正式实验前训练 C57 小鼠筛选出合适的 C57 小鼠。
- (3) 测试时应保持实验环境安静。

第四节 D-半乳糖诱导的记忆再现障碍模型

一、实验目的

- (1) 观察 D-半乳糖对记忆再现的影响。
- (2) 掌握皮下注射 D-半乳糖诱导的记忆再现障碍模型的制备方法。

二、实验原理

D-半乳糖(D-Galactose,D-Gal)是葡萄糖异构体,其诱导的动物老化模型被广泛应用于实验。当大量注射 D-半乳糖时,其代谢产生的半乳糖醇因无法被进一步代谢而堆积,导致代谢紊乱等。同时,过量 D-半乳糖也会导致氧自由基的增加,从而损伤 DNA、蛋白质等。另外,在机体异常代谢时,D-半乳糖通过酮-烯互变成为含有羰基的醛酮,并进一步和蛋白质交联,生成不饱和醛酮,最终导致蛋白质性质及功能的改变。最后,在中枢神经系统中,神经生长因子通过启动 PI3K 信号转导途径维持神经元的活力与功能,D-半乳糖可使 PI3K 信号转导途径的多种蛋白质低水平表达,影响神经元的活力。D-半乳糖的这一系列作用导致神经

细胞的受损与凋亡,最终导致动物出现免疫能力下降、记忆相关障碍等表现。

三、实验器材

(1) 实验动物:4个月龄成年SD大鼠12只,其中生理盐水组和D-半乳糖组各6只。

(2) 实验器材:SD大鼠避暗实验箱(分为明箱及暗箱,每箱300 mm×300 mm×200 mm,两箱由直径约为12 cm的圆洞连接,暗箱可通电,电压范围为30~120 V)、秒表、注射器等。

(3) 实验药品:2% D-半乳糖(生理盐水配制)、生理盐水。

四、实验步骤

(1) 分别称取SD大鼠重量并记录。

(2) 按照200 mg/kg的比例于SD大鼠颈背部皮下注射D-半乳糖或生理盐水,连续注射8周。

(3) 8周后,进行避暗实验:适应阶段,将SD大鼠头面向室壁放入明箱,自由活动3 min。在之后的训练阶段,由于啮齿类动物具有趋暗特性,SD大鼠倾向于停留在暗箱,此时用插板阻隔明、暗箱之间的连接处,并给予40 V电压电击3 s,24 h后,进入正式测试阶段。将SD大鼠头面向室壁放入明箱,SD大鼠可在明、暗箱之间自由活动,记录SD大鼠第一次进入暗箱的潜伏期及300 s内进入暗箱的错误次数。

五、观察与结果分析

观察并分析两组SD大鼠在正式测试时进入暗箱的潜伏期及300 s内进入暗箱的错误次数。

六、注意事项

(1) SD大鼠头部每次所朝室壁应保持一致。

(2) 训练阶段超过100 s不进入暗箱的大鼠应淘汰。

(3) 测试时应保持实验环境安静。

第五节 A β 沉积诱导的记忆障碍模型

一、实验目的

(1) 观察 β -淀粉样蛋白(A β)沉积对记忆的影响。

(2) 掌握脑立体定位注射聚集A β 诱导的记忆障碍模型的制备方法。

二、实验原理

β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)是阿尔茨海默病(alzheimer disease, AD)特征性的病理改变老年斑的主要成分。当机体内发生 β -淀粉样蛋白沉积,可以引起神经元内钙离

子浓度及活性氧自由基的升高,导致神经元变性死亡。更重要的是,其具有神经毒性,主要在皮质及海马中导致胆碱能和多巴胺能神经递质的渐进式减少,从而导致记忆及认知障碍。

三、实验器材

- (1) 实验动物:8 周龄成年 SD 大鼠 24 只,其中 A β 组、生理盐水组、假手术组及对照组各 6 只。
- (2) 实验器材:SD 大鼠脑立体定位仪、恒速微量注射泵、牙科钻、手术刀、缝合针、缝合线、Morris 水迷宫(直径为 98 cm,高度为 60 cm,水下 1.5 cm 处有一平台,平台直径为 6 cm,水温控制在 22~25 $^{\circ}\text{C}$)、秒表、注射器等。
- (3) 实验药品:聚集状 A β (1~40)(将无菌生理盐水配制的 A β (1~40),浓度为 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 周后,使其成为聚集状备用)、生理盐水、10% 水合氯醛。

四、实验步骤

- (1) 分别称取 SD 大鼠的重量并记录。
- (2) 使用 10% 水合氯醛(350 mg/kg)对 SD 大鼠进行腹腔麻醉。
- (3) 待 SD 大鼠完全麻醉后,将 SD 大鼠固定在脑立体定位仪上,经备皮消毒后,切开皮肤,于前囟后 3.0 mm,中线右侧 2.2 mm 处钻开颅骨,缓慢垂直进针 2.8 mm(注射速度约为 0.1 $\mu\text{L}/\text{min}$)。A β 组将 1 μL 聚集状 A β (1~40)注入,生理盐水组注入等量生理盐水,留针 5 min 后缓慢撤针,缝合切口。假手术组仅给予切开及缝合操作,不予注射。对照组不予处理,连续两周。
- (4) 两周后,进行 Morris 水迷宫测试:Morris 迷宫按顺时针分为 I、II、III、IV 4 个象限,平台所在象限为第 III 象限。将 SD 大鼠面向池壁放入第 I 象限水中,记录其找到并爬上平台(SD 大鼠需在平台上停留 3 s)的逃生潜伏期,若 SD 大鼠在 180 s 内没有找到平台,则人为将其放在平台上 30 s,完成之后将 SD 大鼠放回饲养笼中休息,逃生潜伏期记录为 180 s。按此方式再分别记录第 II、III、IV 3 个象限中 SD 大鼠的表现。

五、观察与结果分析

观察并分析比较 4 组 SD 大鼠的游泳路程、速度和找到平台的潜伏期(详见 Morris 水迷宫实验)。

六、注意事项

- (1) 将 SD 大鼠进行脑立体定位注射后,注意给予 SD 大鼠消炎处理,并观察 SD 大鼠状态。
- (2) 将 SD 大鼠放入水中时,注意每次放入的位置应相同。
- (3) 一个象限内所有 SD 大鼠测试完毕后,再进行另一个象限的测试。
- (4) 应尽量保持水温恒定。
- (5) 测试时应保持实验环境安静。