

【小鼠大学问】都是近交系，C57比129Sv更聪明？

为什么可以用水迷宫实验来评价小鼠聪不聪明？

水迷宫（morris water maze, MWM）实验是分析啮齿类动物空间学习和记忆行为的有效工具，被广泛的应用于学习记忆、老年痴呆、药理学、毒理学、神经生物学等多个学科研究中。

老鼠天生是游泳健将，但它们却又不喜欢呆在水里，所以它们会本能地寻找水中的休息场所。此个行为看似简单，其实涉及到一个复杂的学习记忆过程——它们收集周围的环境中与空间定位有关的信息，并对这些信息进行处理、记忆、巩固和读取，最终才能成功导航并找到水中的休息场所，从而摆脱讨厌的水中环境。

——这也就是水迷宫的原理。

水迷宫到底是个怎么样的迷宫呢？

- 通常小鼠水迷宫的实验装置是一个1.2~1.5 m直径的圆形水池。
- 垂直十字均分为 E/S/W/N 四个象限，每一象限的池壁上用不同形状的贴纸标记以示区别。
- 水池周围设置围帘阻隔实验小鼠视线，以免实验者和周围物体对测试结果产生干扰。
- 向水池内注水，水深约20~25cm，水温约 $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 。
- 直径为9cm的逃生平台放置于E象限中央水面下0.8cm处。
- 水迷宫装置顶部会装有照明及摄像装置，连接电脑，有配套软件进行数据分析。
- 做水迷宫实验还需要准备：毛巾和电吹风或红外取暖灯（用于小鼠出水池后及时擦干小鼠，以及小鼠烘干，防止低体温造成的应激）、染料（用于不同毛色小鼠背部染色）。

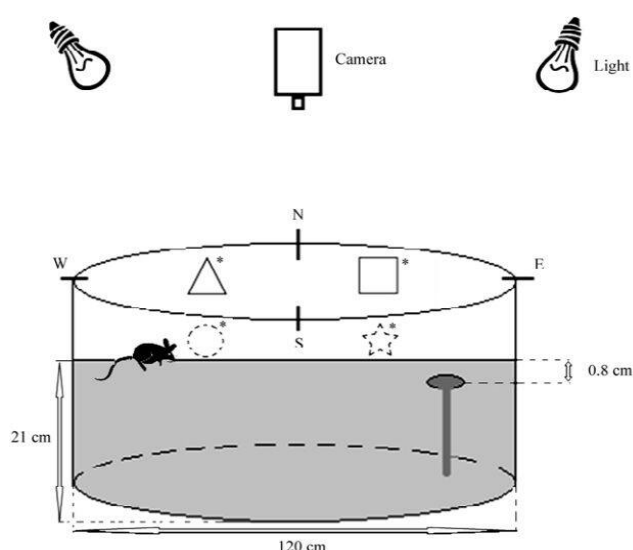


图1.水迷宫装置示意图

水迷宫这个实验怎么玩？

最基本的MWM实验分为空间记忆采集实验和空间搜索实验两部分。

- 空间记忆采集实验（Acquisition trial）

俗称适应训练阶段，短则2-3天，长则5-6天。

第1天，水池中不设有逃生平台。实验人员将小鼠沿池壁轻轻放入后迅速离开，任小鼠自由游泳2min。通过摄像设备观察小鼠活动，保证小鼠具有正常游泳能力，也让小鼠适应这个水池环境。

随后的几天开始训练，又称定位导航（Navigation Test）。将逃生平台放置到位。每天每只测试小鼠分别从4个象限进入水池训练4次，并且每天入水象限的顺序均不同。例如：

表1 Morris水迷宫空间记忆采集(隐藏平台寻找实验)实验起始象限

Table 1 Morris water maze spatial (hidden platform) start positions

实验日 Day	空间记忆采集实验(Spatial acquisition)			
	第1次实验 Trial 1	第2次实验 Trial 2	第3次实验 Trial 3	第4次实验 Trial 4
1	E	S	W	N
2	S	W	N	E
3	W	N	E	S
4	N	E	S	W
5	E	S	W	N
6	S	W	N	E

N (north), E (east), S (south), W (west).

所有个体均在同一象限全部训练完成之后再换下一象限训练，注意保证两次训练之间让小鼠有足够的休息时间。

若小鼠入水后在60 sec之内找到平台，则记录从入水至上台所用时间，这是潜伏期（Latency）；若小鼠在60 sec内未能找到平台，则由实验人员将其引导上台，潜伏期记为60 sec。

小鼠登上平台后，使其在平台上停留30 sec以便小鼠根据池边的提示来记忆平台位置，并减少小鼠紧张。

数据统计：

潜伏期、游泳距离、平均游泳速度等。

- 空间探索实验（Probe trial）

俗称测试期。这一天水池中撤除逃生平台。

测试小鼠从距离平台点最远的象限被放置入水，自由活动60 sec。

数据统计：

游泳距离、目标象限活动比例、平均游泳速度等。

C57比129Sv聪明吗？



让C57和129Sv这两种近交系小鼠在水迷宫实验里较量一下，就知道结果啦~

经过6天的训练，这两种品系的小鼠寻找平台的潜伏期明显缩短，从训练的第2天起C57潜伏期显著低于129Sv小鼠(图2A)。游泳总路程越来越短(图2B)。而两者平均游泳速度也呈降低趋势(图2C)。小鼠在目标象限滞留时间占总时间百分比随实验时间增长而增加(图2D)。

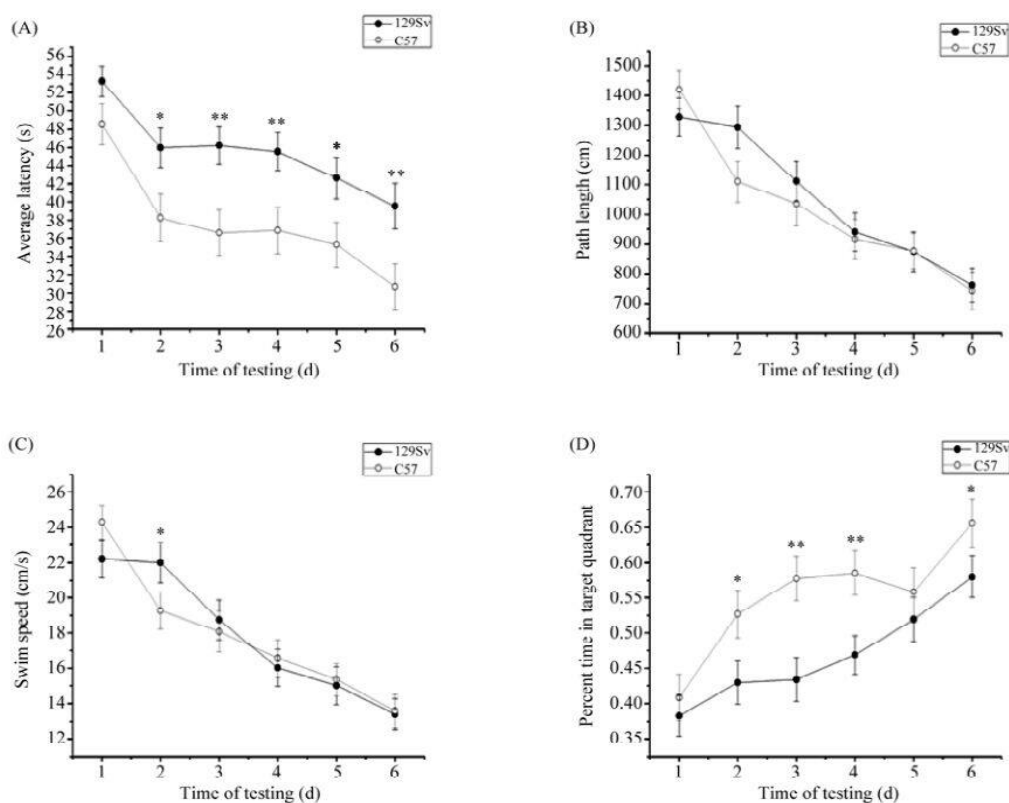


图2.空间记忆采集实验训练6天结果A: 潜伏期 (s); B: 总路程 (cm); C: 平均泳速 (cm/s); D: 目标象限滞留百分比(%). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

分析两种小鼠的游泳轨迹，可以发现129Sv小鼠以重复环绕式搜索为主，也就是说小鼠倾向于不停地以环状轨迹沿着水池边游泳的模式来搜索平台；而C57小鼠则多以直接游向平台、最多用一圈路程便游向平台或者直接游向目标象限的模式搜索平台，目的性比较明确。



图3.游泳轨迹左：129Sv小鼠典型游泳轨迹；右：C57小鼠典型游泳轨迹

平台穿越次数（图4A）是一个 MWM 常用的评分指标，C57和129Sv小鼠间没有明显差异。目标象限时间占总搜索时间百分比（图4B），129Sv小鼠显著高于C57小鼠。而C57小鼠总游泳路程及平均游泳速度显著高于129Sv 小鼠（图4C、图4D， $P<0.01$ ）。

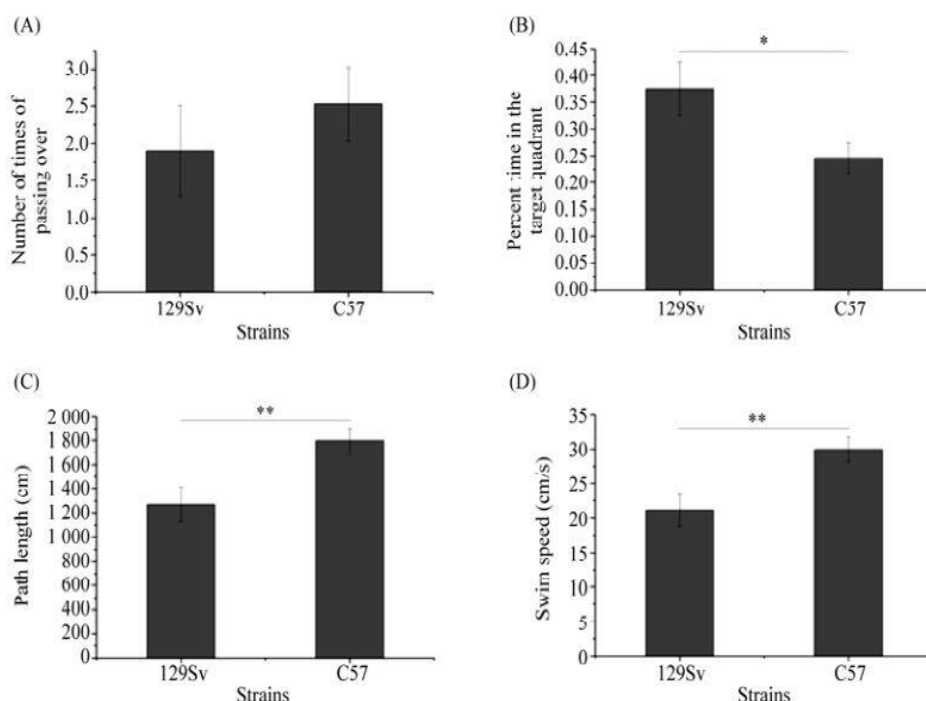


图4.空间探索实验结果A: 平台穿越次数; B: 目标象限滞留时间百分比 (%); C: 总路程 (cm); D: 平均泳速 (cm/s)。* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

C57和129Sv两种小鼠在MWM实验中的潜伏期、总路程和平均游泳速度随训练时间的增加呈降低趋势，而目标象限滞留时间百分比随时间逐渐增加。说明C57和129Sv小鼠均可以在训练期间有效进行空间学习定位，完成寻找隐藏平台的任务。而C57的潜伏期、目标象限滞留时间百分比表现优于129Sv小鼠，说明C57在空间学习功能上占优势。

不过虽然C57游泳速度及总路程显著高于129Sv小鼠；但从目标象限滞留时间来看，129Sv要显著高于C57小鼠。说明在水迷宫实验中，小鼠品系背景的差异对实验结果有很大的影响哦！像BALB/c小鼠就不太适合MWM实验呢！

Table 2

Number of corrected entries in the target area and path length as a measure of swim speed during probe trial in C57Bl/6, BALB/c, and 129/SvEvBrd mice in the three maze settings

		C57Bl/6	BALB/c	129/SvEvBrd
MWM150	Corrected number of entries target	6 ± 1	1 ± 0.8**	2 ± 0.9*.b
	Path length (cm)	2153 ± 128	1047 ± 105***	1606 ± 153*.*
MWM120	Corrected number of entries target	6 ± 0.8	2 ± 0.5**	4 ± 0.9 ^{BS,a}
	Path length (cm)	2019 ± 53	1128 ± 119***	1817 ± 120 ⁺⁺
MWM75	Corrected number of entries target	6 ± 0.6	3 ± 1	8 ± 1.1 ⁺⁺
	Path length (cm)	1957 ± 83	1184 ± 227**	1683 ± 108

表2.在不同直径的水迷宫中BALB/c小鼠都不能准确地进入目标区域。

南模生物可提供单项或成套的小鼠行为学分析服务

参考文献

- 1、Morris水迷宫实验在小鼠表型分析中的应用. Chinese Journal of Cell Biology 2011, 33(1): 8-14
- 2、Effect of morris water maze diameter on visual-spatial learning in difference mouse strains.Neurobiology of Learning & Memory 2006 , 85 (2) :164-172
- 3、Strain and gender differences in the behavior of mouse lines commonly used in transgenic studies. Physiology & Behavior 2001 , 72 (1-2) :271