

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

Масштабируемая технология фенотипирования мелких лабораторных
животных

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 4082 группы
направления 12.03.04 «Биотехнические системы и технологии»

Институт физики

Туктарова Дмитрия Викторовича

фамилия, имя, отчество

Научный руководитель:
доцент, кандидат ф. – м.н.

И. В. Федосов



подпись, дата

Зав. кафедрой оптики и
биофотоники, д. ф. – м.н.,
профессор



подпись, дата

В. В. Тучин

Саратов 2025

ВВЕДЕНИЕ

Оперантное обусловливание представляет собой комплексную оценку поведенческих характеристик лабораторных животных. [1] Методы оперантного обусловливания применяются для выявления дисфункций центральной нервной системы, которые имеют отношение к таким человеческим нейро психиатрическим расстройствам как:

- Посттравматическое стрессовое расстройство, депрессия, шизофрения, аутизм [2].

- Синдромы дефицита внимания и гиперактивности.

- Зависимость, умственная отсталость

- Моторные, сенсорные или когнитивные нарушения, связанные с нейродегенеративными заболеваниями, такими как болезнь Паркинсона [3], болезнь Альцгеймера [4], болезнь Хантингтона [5], инсульт или прионные заболевания [6].

Кроме того, методы оперантного обусловливания применяются при тестировании различных лекарственных средств на лабораторных животных и оценке их безопасности [7]. Разделение на моторные, сенсорные, эмоциональные, социальные и «интеллектуальные» компоненты является условным, но необходимо для их дифференциации. В реальности эти поведенческие паттерны пересекаются, и каждый из них включает элементы других. В экспериментах предварительное тестирование моторных и сенсорных функций помогает избежать ложных положительных и отрицательных результатов при выполнении более сложных поведенческих задач, таких как обучение, которое включает сенсорные стимулы и моторные реакции. Все эти тесты имеют общую цель – всестороннюю проверку работы нервной системы. Разные лаборатории могут использовать разнообразные наборы поведенческих тестов.

Первое устройство для изучения когнитивных способностей и поведения лабораторных животных было разработано и описано

американским бихевиористом Берресом Скиннером в 1938 году [8]. Это устройство представляло собой камеру с лампочками и динамиками, установленными на стенах, для обеспечения визуальных и слуховых стимулов; дозатором пищи, подключенным к магазину или бункеру, который может выдавать пищевые гранулы; и металлическим полом–решеткой, который может подавать слабые электрические разряды.

В экспериментах по обусловливанию, где каждое нажатие рычага выдавало пищевую гранулу, было показано, что сила рефлекса могла достигать максимального значения уже после одного подкрепления [8, 9]. Однако частота нажатия рычага также отражала эффект продолженного подкрепления.

В дальнейшем устройства, описанные Скиннером, применялись для изучения поведения различных животных: свиней, птиц и собак [10, 11].

Несмотря на то, что изначально “ящик Скиннера” был разработан для поведенческого обусловливания, модифицированные устройства начали применяться для оценки когнитивных способностей лабораторных животных [12]. Развитие технологий позволило масштабировать как процесс производства устройств для лабораторий, так и масштабы самих исследований.

Целью работы является: разработка масштабируемой технологии фенотипирования мелких лабораторных животных, позволяющей оценить когнитивные способности лабораторных животных.

Поставленная цель определила следующие задачи:

1. Изучение литературы и документации устройств, основанных на «ящике Скиннера»;
2. Разработка устройства в системе автоматического проектирования FreeCAD;
3. Разработка программного обеспечения для компьютера и микроконтроллера ATmega

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

В настоящее время камера оперантного обусловливания является повсеместной в лабораториях по всему миру и стала основой для изучения поведения в дисциплинах, таких как ассоциативное обучение, нейронауки, сравнительная психология и поведенческая фармакология [13].

Несмотря на многочисленные модификации и развитие электронного оборудования управления, основные элементы камер оперантного обусловливания остались практически неизменными: операндум, который позволяет записывать реакцию (например, металлическая пластина на опоре для записи нажатия рычага крысами), дозатор небольших кусочков пищи или капель воды, используемых в качестве подкрепления, и небольшие лампочки или динамики для представления визуальных или звуковых стимулов [14].

Хотя камеры оперантного обусловливания являются сравнительно простыми устройствами, стандартные коммерческие камеры, которые достигают необходимой точности для проведения исследований оперантного поведения, могут стоить более 6000 долларов США [13, 15], не учитывая программное обеспечение управления или дополнительные устройства. Высокие затраты на коммерческие камеры затрудняют, а в некоторых случаях даже делают невозможным приобретение этого оборудования для многих исследовательских лабораторий без крупных грантов, особенно в тех, которые созданы с целью обучения студентов [16].

С конца 1960-х годов стали использоваться устройства, работающие под управлением компьютера.[17] Конструкции этих устройств сильно различались, и каждое из них было приспособлено для проведения определенного набора экспериментов. Они включали механические или электронные механизмы для взаимодействия с животным.[18] Для управления большинством этих устройств требовался центральный

управляющий компьютер, в то время как только некоторые из них были рассчитаны на независимую работу. [20, 21, 22,23]

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

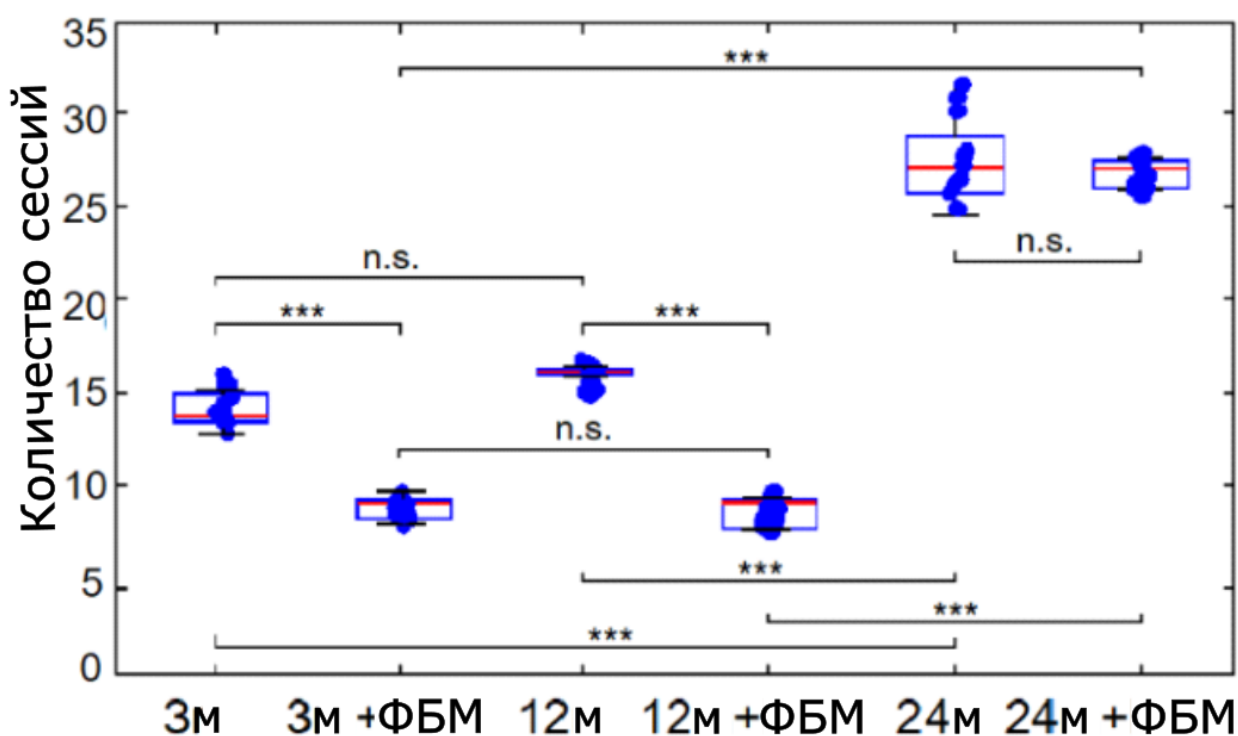


Рисунок 1. Количественный анализ влияния 10-дневного курса ФБМ на обучаемость в тестируемых группах. $n=10$ в каждой группе, ANOVA-тест с post hoc-тестом Дункана, * - $p<0,05$; *** $p<0,001$ между группами, ns означает незначимый.

Результаты, представленные на рис. 10, наглядно демонстрируют, что формирование рефлекса не отличалось у 6-месячных и 12-месячных мышей, в то время как 24-месячные животные проводили этот тест гораздо дольше.

Важно отметить, что ФБМ значительно увеличивал скорость образования рефлекса у 3- и 12-месячных мышей, но не у 24-месячных животных.

Было разработано специализированное устройство для проведения оперантного обусловливания, созданное с применением системы автоматизированного проектирования FreeCAD. Проектировочный процесс включал детальную проработку 3D-моделей и технических чертежей, что гарантировало высокую точность изготовления и функциональную надежность конечного изделия.

Для управления экспериментальной установкой было создано специализированное программное обеспечение. Разработка включала два компонента: компьютерную программу, созданную в среде Visual Studio Code, и прошивку для микроконтроллера ATmega 328p, написанную в Arduino IDE. Комплексное тестирование программного обеспечения подтвердило его стабильность и точность управления экспериментальными процедурами.

В ходе исследования была реализована система состоящая из четырёх ведомых устройств и одного мастера.



Рисунок 2. Экспериментальная установка

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполнения поставленных задач была разработана и протестирована масштабируемая технология фенотипирования мелких лабораторных животных. Проведенные эксперименты и анализ данных подтвердили, что созданная система позволяет эффективно оценивать когнитивные способности.

Результаты были представлены на XXVIII Международном симпозиуме по оптике и биофотонике – 2024. А также результаты, полученные при помощи установки были использованы в статье в журнале Biomedical Optics Express, а также в Frontiers of Optoelectronics.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fuchs H. et al. Mouse phenotyping //Methods. – 2011. – Т. 53. – №. 2. – С. 120-135.
2. Silverman J. L. et al. Behavioural phenotyping assays for mouse models of autism //Nature Reviews Neuroscience. – 2010. – Т. 11. – №. 7. – С. 490-502.
3. Taylor T. N., Greene J. G., Miller G. W. Behavioral phenotyping of mouse models of Parkinson's disease //Behavioural brain research. – 2010. – Т. 211. – №. 1. – С. 1-10.
4. Winslow W. et al. IntelliCage automated behavioral phenotyping reveals behavior deficits in the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease associated with brain weight //Frontiers in Aging Neuroscience. – 2021. – Т. 13. – С. 720214.
5. Alexandrov V. et al. Large-scale phenome analysis defines a behavioral signature for Huntington's disease genotype in mice //Nature biotechnology. – 2016. – Т. 34. – №. 8. – С. 838-844.
6. Lorenz H., Windl O., Kretzschmar H. A. Cellular phenotyping of secretory and nuclear prion proteins associated with inherited prion diseases //Journal of Biological Chemistry. – 2002. – Т. 277. – №. 10. – С. 8508-8516.
7. Alexandrov V. et al. High-throughput analysis of behavior for drug discovery //European journal of pharmacology. – 2015. – Т. 750. – С. 82-89.
8. Skinner B. F. The behavior of organisms: An experimental analysis. – BF Skinner Foundation, 2019.
9. Skinner B. F. Operant behavior //American psychologist. – 1963. – Т. 18. – №. 8. – С. 503.
10. Breland K., Breland M. The misbehavior of organisms //American psychologist. – 1961. – Т. 16. – №. 11. – С. 681.
11. James W. T. Operant conditioning apparatus for dogs. – 1950.
12. Ishii H. et al. Proposal of Novel Experimental Methodology for Studies on Alzheimer's Disease using Rat and Small Mobile Robot.
13. Gurley K. Two open source designs for a low-cost operant chamber using raspberry pi™ //Journal of the Experimental Analysis of Behavior. – 2019. – Т. 111. – №. 3. – С. 508-518.
14. Escobar R. From relays to microcontrollers: The adoption of technology in operant research //Revista Mexicana de Análisis de la Conducta. – 2014. – Т. 40. – №. 2. – С. 127-153.
15. D'Ausilio A. Arduino: A low-cost multipurpose lab equipment //Behavior research methods. – 2012. – Т. 44. – С. 305-313.

16. Escobar R., Gutiérrez B., Benavides R. 3D-printed operant chambers for rats: Design, assembly, and innovations //Behavioural Processes. – 2022. – T. 199. – C. 104647.
17. Moise S. L., Jarrard L. E. A computer-controlled system for training and testing primates //Behavior Research Methods & Instrumentation. – 1968. – T. 1. – C. 234-236.
18. Logan F. A., Logan F. A. A simple, all-mechanical operant apparatus //Behavior Research Methods & Instrumentation. – 1970. – T. 2. – №. 1. – C. 24-24.
19. Leber W. A microprocessor control and recording system for instrumental behavior research //Behavior Research Methods & Instrumentation. – 1978. – T. 10. – №. 4. – C. 557-562.
20. Hoeksma J. B. et al. The electronic mood device: Design, construction, and application //Behavior Research Methods, Instruments, & Computers. – 2000. – T. 32. – C. 322-326.
21. Pamment P. R., Stephens J. B. A multichannel, multiobserver portable event recorder //Behavior Research Methods & Instrumentation. – 1981. – T. 13. – №. 6. – C. 732-734.
22. Redmond D. P., Hegge F. W. Observations on the design and specification of a wrist-worn human activity monitoring system //Behavior Research Methods, Instruments, & Computers. – 1985. – T. 17. – №. 6. – C. 659-669.
23. Semyachkina-Glushkovskaya O. et al. Technology of the photobiostimulation of the brain's drainage system during sleep for improvement of learning and memory in male mice //Biomedical Optics Express. – 2024. – T. 15. – №. 1. – C. 44-58.

