

引文格式:

李笑溪, 韩亚宁, 黄康, 等. 三种近交系小鼠自发行为图谱的构建与比较 [J]. 集成技术, 2022, 11(3): 70-79.

Li XX, Han YN, Huang K, et al. Construction and comparison of the spontaneous behavior atlas in three inbred mice [J]. Journal of Integration Technology, 2022, 11(3): 70-79.

三种近交系小鼠自发行为图谱的构建与比较

李笑溪^{1,2} 韩亚宁^{1,2} 黄康^{1,2} 任真¹ 王立平^{1*} 朱英杰^{1*}

¹(中国科学院深圳先进技术研究院 深圳 518055)

²(中国科学院大学 北京 100049)

摘要 小鼠被广泛应用于各类生理、病理和行为学实验。不同基因型小鼠的自发行为差异对实验设计和结果的影响尚未明确。该文选择目前常用的 3 种近交品系小鼠 C57BL/6J、C57BL/6N、BALB/c(简称 6J、6N、BC), 利用基于层次化三维动物行为特征的无监督学习框架, 对其自发行为进行了客观评估。实验结果表明, 基因型显著影响小鼠的自发行为, 影响因素造成的差异强度为: 远基因型 > 近基因型 > 雌雄对照。具体表现为, BC 与 6J 和 6N 的体态明显不同, 且在“抬头”“梳理”“跑”3 种运动模式上, BC 行为明显异于 6J 和 6N。6J 和 6N 的行为谱虽较为类似, 但 6N 的嗅探行为明显多于 6J。该研究结果可作为小鼠模型实验设计、品系选择和样本量确定的参考。

关键词 小鼠; 自发行为; 3D 运动捕获; 行为表型

中图分类号 Q 189 文献标志码 A doi: 10.12146/j.issn.2095-3135.20211104001

Construction and Comparison of the Spontaneous Behavior Atlas in Three Inbred Mice

LI Xiaoxi^{1,2} HAN Yaning^{1,2} HUANG Kang^{1,2} REN Zhen¹ WANG Liping^{1*} ZHU Yingjie^{1*}

¹(Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China)

²(University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

*Corresponding Authors: lp.wang@siat.ac.cn; yj.zhu1@siat.ac.cn

Abstract Mice are widely used in various physiological, pathological and behavioral experiments. However, it is yet unclear whether or how much spontaneous behavior varies between mice with different genotypes, which may affect experiment design and outcome. In this study, three inbred mice C57BL/6J,

收稿日期: 2021-11-04 修回日期: 2021-11-10

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31800886); 国家自然科学基金重点项目(31930047); 广东省重点领域研发计划项目(2018B030331001)

作者简介: 李笑溪, 硕士研究生, 研究方向为动物行为学; 韩亚宁, 博士研究生, 研究方向为神经信息处理与计算行为学; 黄康, 博士研究生, 研究方向为神经信息处理与计算行为学; 任真, 博士, 助理研究员, 研究方向为本能行为的神经环路机制; 王立平(通讯作者), 博士, 研究员, 博士研究生导师, 研究方向为本能行为神经环路机制, E-mail: lp.wang@siat.ac.cn; 朱英杰(通讯作者), 博士, 研究员, 博士研究生导师, 研究方向为成瘾行为的神经机制和调控机理, E-mail: yj.zhu1@siat.ac.cn.

C57BL/6N, BALB/c (6J, 6N, BC) were selected, and objectively evaluated for their spontaneous behavior with a hierarchical unsupervised learning framework for 3D animal behavioral characteristics. The results showed that genotype is the most significant factors influencing mice, with the whole list presented as distant genotype > near genotype > gender difference. Behavior atlas varies greatly between BC and 6J/6N groups due to obvious differences in body posture, and BC have significantly lower movement speed than 6J and 6N. Although 6J and 6N behavior atlas were relatively similar, 6N sniffed significantly than 6J, and the anxiety levels at 6N were relatively high. The results of this study can be used as a reference for experiment design, strain selection, and determination of N value in future research using mouse model.

Keywords mice; spontaneous behavior; 3D motion capture; behavioral phenotype

Funding This work is supported by National Natural Science Foundation of China Youth Foundation Project (31800886), National Natural Science Foundation of China (31930047), and Key-Area Research and Development Program of Guangdong Province (2018B030331001)

Ethical Statement The study was approved by the Scientific Research Ethics Committee of the Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences (ID number: SIAT-IACUC-20210425-NS-NTPZX-RZ-01-01)

1 引言

小鼠是实验中应用最广泛的动物, 其易于繁殖和饲养, 具有与人类同源的解剖结构、胚胎发育过程和代谢途径, 其大部分脑结构、功能性分区均与人类相对应, 可以用于各类生理、病理和涉及共同功能的行为学实验^[1-3]。99% 的人类编码基因都可以在小鼠基因组中找到对应的同源基因, 可以仿照人类的致病突变/基因多态性对小鼠基因组进行直接的编辑、敲除, 以构建各类研究模型^[4-6]。利用这些模型进行实验, 有助于揭示人类精神疾病的生理及病理机制, 研发可能的诊断、治疗工具。目前, 小鼠模型已经越来越多地应用于神经科学, 尤其是神经精神类疾病的研究中, 因此, 对其行为的客观解读尤为重要。传统的行为学分析方法由于技术原因, 比较简单化, 且参数单一, 可能会造成对小鼠行为生物学意义片面甚至错误的解读^[7-9]。目前, 研究中应用的小鼠模型基因背景复杂多样, 而不同基因背景的动物, 其自发行为表现的差异性, 都很难用原有

的动物行为学分析方法进行有效的研究和量化分析, 这有可能会对实验设计和实验结果产生影响。

近年来, 随着数学、工程学、计算机科学与动物行为学的深度交叉融合, 计算行为学 (Computational Ethology) 作为一门利用人工智能方法对各种条件下的动物行为进行测量、描述和分析的学科得以快速发展和完善, 并逐渐得到学界的重视。计算行为学主要基于能够模仿人类认知功能的软硬件综合体^[10], 对动物行为进行自动化的定量分析, 并挖掘研究对象未知的行为特征^[11-13]。Huang 等^[14-15]提出了一个层次化三维运动学习框架 (Behavior Atlas, BeA) 来对小鼠的行为进行精细的量化分析——利用高效的多视角三维动物运动捕获系统采集小鼠的行为视频, 并设计了一个并行、多阶段运动分解策略对层次结构行为动力学进行分析; 然后应用动态时间对齐核方法对小鼠行为运动动力学进行精细化的分析, 形成一套度量运动序列之间相似性的客观参数, 建立了一个低维的行为表型。结果表明, 该框架能仅通过分析评估转基因小鼠的自发行为,

自动预测其疾病模型的特征。

C57BL/6J、C57BL/6N、BALB/c (简称 6J、6N、BC) 为 3 种被广泛使用的近交系小鼠品系^[1-2,6]。本研究利用本课题组建立的 BeA 法对 3 种近交系小鼠的自发行为进行了精细的量化评估, 构建和比较了 3 种近交系小鼠的行为谱。实验结果表明, 自发行为影响因素的差异程度为: 远基因型 (6J/BC、6N/BC) > 近基因型 (6J/6N) > 雌雄差异 (6JM/6JF、6NM/6NF、BCM/BCF)。

2 材料和方法

2.1 实验动物

实验所用小鼠为 6J、6N 和 BC 3 种近交系小鼠, 雌雄各 10 只, 年龄为 5~6 周的青年成鼠。小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 每个笼子 4~6 只, 让小鼠在无特定病原体实验室内适应环境 1 周左右, 期间给予小鼠充足的饲料和饮水, 照明周期为 12 h 光照/12 h 黑暗。

2.2 旷场试验

将小鼠放置于一个自制的旷场试验装置中, 用视频记录其自发行为^[14]。小鼠在直径为 50 cm、高为 50 cm 的圆柱形空间内自由活动, 该圆柱是由圆形透明亚克力壁和磨砂材质的白色亚克力底面组成, 为了避免光反射, 在其塑料底面放置一层黑色暗质抛光橡胶垫。4 个数码相机 (Intel RealSense Camera D435) 用支架正交放置, 一台 56 英寸的电视机面朝下水平放置, 为实验装置提供均匀稳定的白色背景光, 图像采集平台的其他硬件包括: PCI-E 多路 USB 扩展卡 (可同时通过 USB-3.0 采集 4 个摄像机的视频), 高性能计算机 (Intel 酷睿 i7-9700K、16 G RAM 配备 1 T SSD 和 12 T 硬盘)。

小鼠的行为学实验均在独立安静的行为实验室内进行。实验开始前, 先将小鼠放入实验环境适应 30 min。每个小鼠测试完成后, 取走小

鼠, 并清理仪器装置中小鼠留下的尿液和粪便, 用 75% 乙醇溶液擦拭, 并用吸水纸擦去残余乙醇, 待挥发完全后再放入另一只小鼠进行测试, 确保小鼠之间不会因气味相互影响。根据小鼠生物节律, 旷场试验均在上午 8 时到 12 时之间进行, 允许小鼠先在装置中自由活动 10 min, 然后再对小鼠的自发行为记录 15 min, 并对其自发行为数据进行分析。

2.3 行为学分析

基于 DeepLabCut 动物姿态估计工具包^[16], 采用 K-Means 算法从视频中抽取约 2 000 张图, 其中, 6J 和 6N 各占 1/4, BC 占 1/2。人工标记图中小鼠的 16 个部位: 鼻尖、左耳、右耳、脖子、左前肢、右前肢、左后肢、右后肢、左前爪、右前爪、左后爪、右后爪、背部、尾根、尾中部、尾尖, 作为整体或分别训练集。对模型训练后识别每帧视频中上述 16 个部位的坐标, 建立 2D 骨架数据, 融合多视角的 2D 骨架姿态重构, 得到 3D 骨架数据, 然后分解、聚类得到每个样本 40 种运动模式的层次化结构行为数据, 称为行为谱^[14]。

用 3D 骨架数据计算小鼠体态参数和经典行为学参数。体态参数: 用从鼻尖、脖子、背部到尾根的连线长度作为体长消除个体间差异, 计算小鼠躯干、头部、四爪和两耳相关的体态参数表征其伸展程度; 平均速度: 以小鼠背部 (x, y) 坐标轨迹计算小鼠旷场试验期间的速度平均值; 位移速度: 位移速度高于 3 倍平均速度运动的平均值; 平均焦虑指数: 小鼠背部位于 1/2 旷场半径中心区域的权重。

3 结 果

3.1 小鼠体态与训练集

小鼠 BeA 多视角图像采集和数据处理流程如图 1 所示。

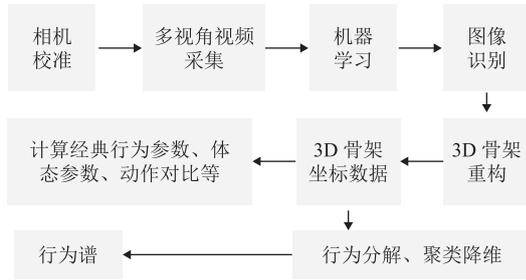


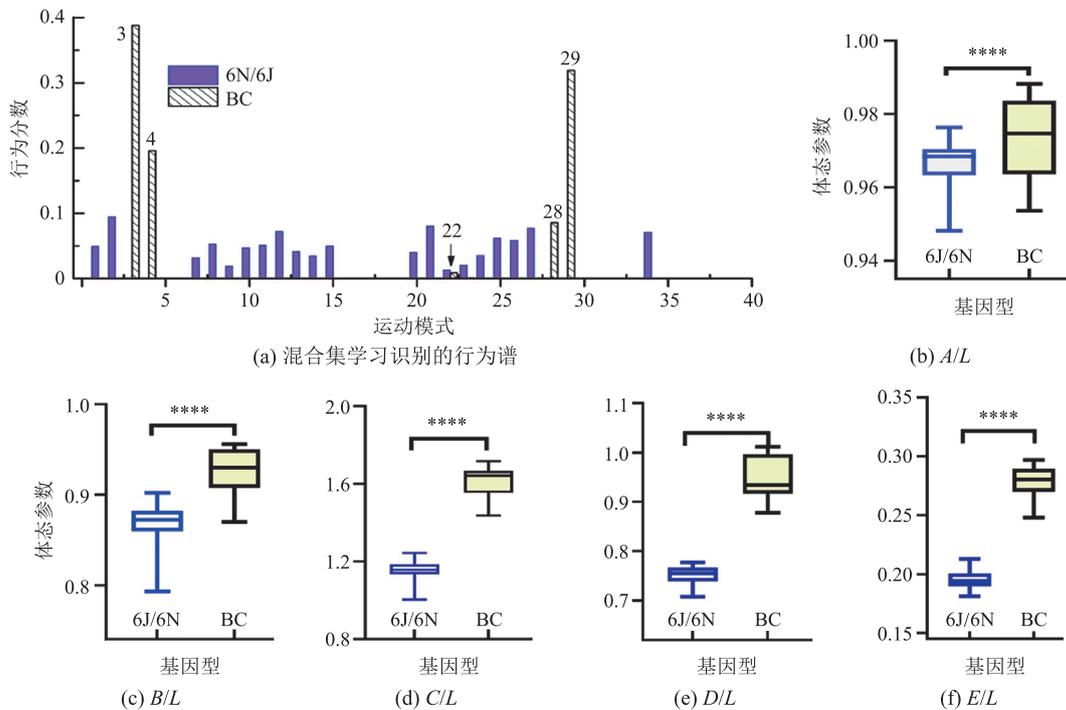
图 1 BeA 多视角图像采集和数据处理流程

Fig. 1 Multi-perspective image acquisition and data processing in BeA

将旷场试验中用多视角摄像机拍摄的所有小鼠的自发行数据自动识别，根据动作变化和衔接关系进行分解、聚类^[14]后共得到 40 种运动模式。因此，每个样本的行为记录可以转换成离散的 40 种运动模式序列编号(简称行为谱)。3 种小鼠标记图整体作为训练集的处理结果如图 2 (a) 所示，在 40 种运动模式中，BC 只表现

出其中 5 种，而 6J 和 6N 表现出另外 19 种行为，只有一个小概率运动模式(编号 22)重叠，即 6J/6N 与 BC 几乎不存在被识别为同类别的行为。

将视频慢放后反复观察，发现 6J/6N 和 BC 两类小鼠体态有很大差异——BC 较为伸展。为验证这一差异，将 6J/6N 与 BC 分别作为训练集，识别处理得到 3D 骨架数据，计算出小鼠脖子、背部、双耳和四爪相关的 5 种体态参数，表征小鼠躯干、头部、四爪和两耳相关的体态伸展程度。其中，*A/L* 体现躯干(背部)伸展程度，*B/L* 体现整个身体(脖子和背部)伸展程度，*C/L* 体现四爪伸展程度，*D/L* 和 *E/L* 体现鼻尖、两耳间的特征。结果如图 2 (b)~(f) 所示，6J/6N 与 BC 之间的 5 种体态参数都表现出显著性差异，BC 明显较为伸展。这种体态差异很可能是导致 6J/6N



注：体长 *L* 为鼻尖、脖子、背部到尾根连线长度，用于消除个体间差异；*A* 为鼻尖、脖子到尾根连线长度；*B* 为鼻尖到尾根距离；*C* 为四爪间连线长度；*D* 为鼻尖与两耳间连线长度；*E* 为两耳间距离 (* $P < 0.05$, **** $P < 0.0001$, 非参数 *t* 检验的秩和检验)

图 2 6J/6N 与 BC 小鼠行为谱与体态参数差异

Fig. 2 Differences in both behavior atlas and body state parameters of 6J/6N and BC

与 BC 组内差距的区分度较差、行为谱结果异常的主要原因。因此,本实验采用 6J/6N 和 BC 组分别作为训练集进行数据分析处理。

3.2 基因型与雌雄差异

BC 与 6J/6N 基因型的小鼠自发行为谱是通过无监督聚类独立构建的,从而导致其运动模式编号无法与小鼠自发行为直接匹配,一些行为标签的具体特征也无法直接对应,故 6J/6N 与 BC 组之间只能根据经典行为标签进行统计分析,而对同一训练集处理的 6N 和 6J 的行为差异分析可

以更深入。首先,对 6J 和 6N 的行为谱进行频率统计(如图 3(a))和双因素方差分析。由分析结果可知,6J 和 6N 自发行为的 40 种运动模式均无显著性差异。进一步对同一种基因型的小鼠研究雌雄因素对自发行为的影响。分别比较 6J、6N 和 BC 中雌雄小鼠的自发行为谱差异,对比结果如图 3(b)~(d)所示。由图可知,在 6J 和 BC 基因型小鼠中,雌雄对照组也无显著性差异,而在 6N 中,40 号行为模式表现出显著的性别差异,雌性小鼠表现出更多的 40 号行为模式。总体来

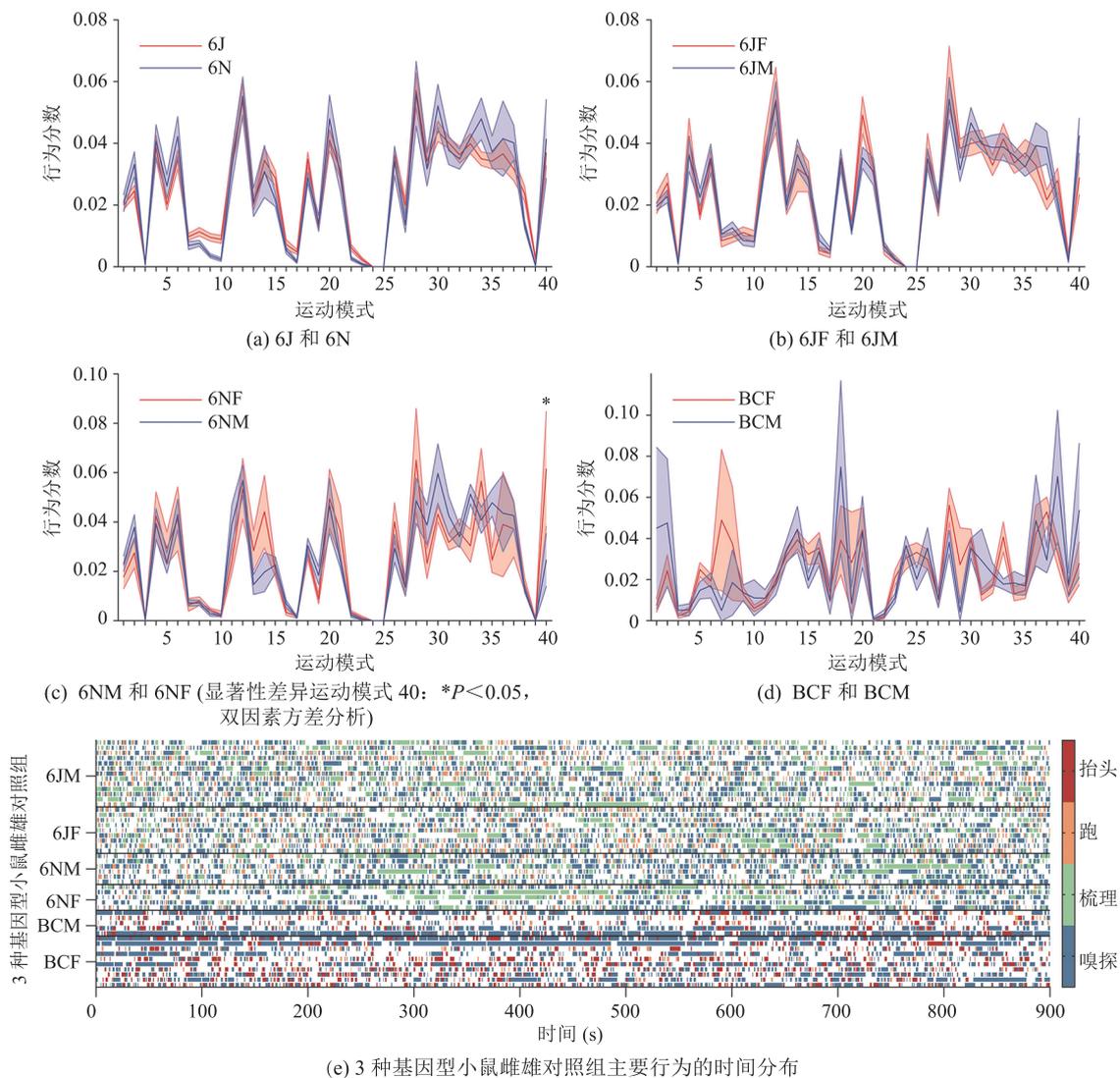


图 3 近交系小鼠品系和雌雄对照组自发行为谱对比

Fig. 3 Spontaneous behavior atlas were compared between inbred mice lines and female/male groups

看, 6J 和 6N 小鼠的自发行为谱较为相似(见图 2(a)), 对比图 2(a)和图 2(d)可知, BC 与 6J 和 6N 在 28~38 号运动模式区域差异明显, 3 种基因型小鼠的自发行为均表现出一定程度的个体差异。

通过视频慢放, 参照文献定义的行为标签^[14,17], 标识自动识别的行为模式^[18], 将 6 类主要行为的运动模式汇总于表 1。6J/6N 组的 40 种行为模式中, 有“嗅探”类 9 种、“梳理”类 5 种、“跑”类 5 种、“隆起”类 3 种、“行走”类 4

种, 同一大类行为中的不同子类行为模式在节奏、持续时间、方向变化、衔接过渡动作等方面有所区别, 说明机器自动识别划分的行为模式是客观、合理的。BC 组有“嗅探”类 11 种、“跑”类 5 种、“隆起”类 3 种、“行走”类 6 种, 没有明显的“梳理”类行为, “梳理”作为鼠类的标志性动作, BC 只是在 17 号行为模式中伴随有少量的梳理动作。

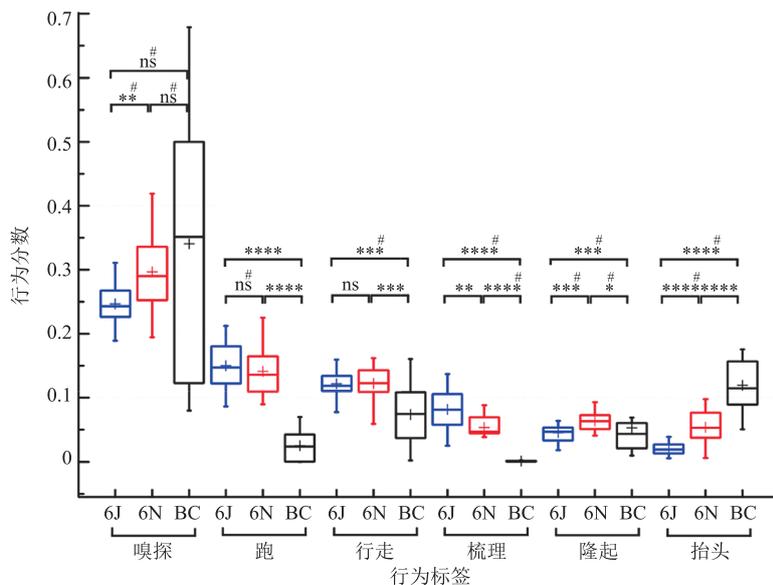
将以上 6 类行为按基因型(如图 4)和雌雄对照组合并统计分析。由图 4 可知, 6 类行为的总

表 1 6J/6N 和 BC 组 6 类主要行为标签汇总

Table 1 Summary of 6 major behavioral labels in the 6J/6N and BC groups

行为标签	6J/6N 行为模式	BC 行为模式	定义描述
嗅探	1、2、3、4、5、6、20、29、37	1、2、7、8、11、16、20、26、29、6、38	小鼠用鼻子在空中探查或密切接触环境, 伴随移动或不移动, 鼻部多向探查
跑	9、10、18、38、39	3、4、21、22、39	小鼠的运动速度相对较高
行走	17、30、33、35	9、10、12、31、33、35	小鼠的运动速度相对较低
隆起	16、23、32	17、19、32	小鼠靠后腿站立, 而背部呈弯曲状
抬头	13	5、14、15、25	小鼠前爪站立不离地, 头部反复抬起上下动
梳理	7、8、28、36、40	无	小鼠用鼻部、前爪或肢体舔或刮擦其皮毛

注: 同类行为的不同行为模式在节奏、持续时间、方向变化、衔接过渡动作等方面有所区别



注: P 值总结 * 号右上角标 # 号为非参数 t 检验的秩和检验, 其余为未配对样本 t 检验

图 4 基因型对照组主要行为标签数量分数对比

Fig. 4 Comparison of fractions of the 6 major movement modules

分数均超过 0.6, 基因型相近的对照组为 6J/6N, 该对照组有“抬头”“嗅探”“梳理”和“隆起”4 类行为表现出显著性差异; 基因型差异较大的对照组为 6J 和 BC、6N 和 BC, 该对照组有“抬头”“梳理”“跑”“隆起”和“行走”5 类行为表现出显著性差异。6N 的“嗅探”行为显著多于 6J, 且数量分数高于 0.25, 相对差异为 19.0%。综合行为谱分析表明, 基因型差异对小鼠行为的影响大于雌雄因素, 基因型差异程度也很明显。通过 BeA 法得到的行为分类, 能在更多维度上评估基因型和雌雄对照组之间的行为差异, 进一步统计分析不同行为标签的类行为模式数据, 可在更宏观的层面评估对照组的的行为。

3.3 经典行为学参数

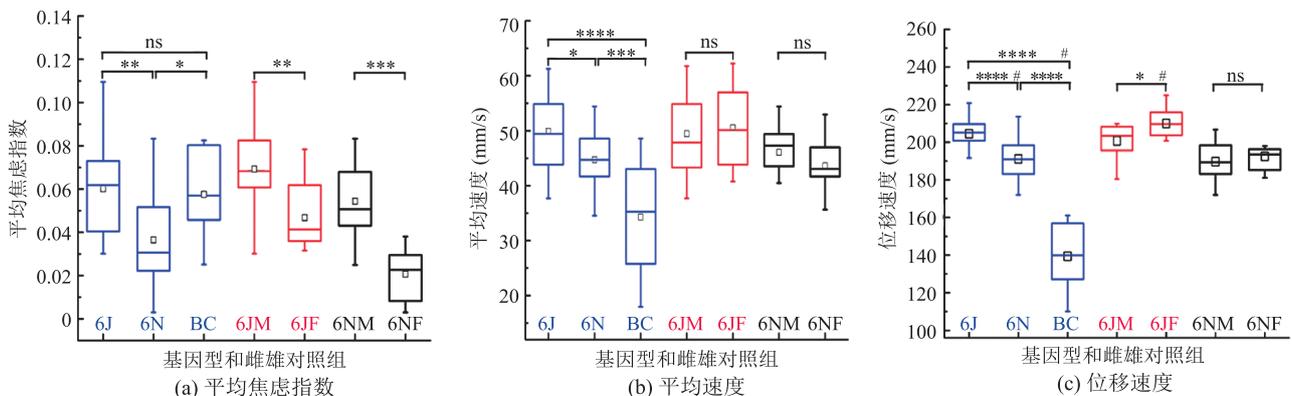
根据样本 3D 骨架数据计算经典行为参数——平均焦虑指数、平均速度和位移速度, 计算结果如图 5 所示。由图 5 可知, 在 3 个基因型对照组中, 6N 的平均焦虑指数显著低于 6J 和 BC (焦虑指数高者焦虑程度低^[19]), BC 的平均速度和位移速度显著小于 6J 和 6N, 而 6J 的平均速度和位移速度小幅低于 6N, 也表现为显著性差异。在两个雌雄对照组中, 平均焦虑指数, 以及 6JM 和 6JF 的位移速度表现出显著性差异。这些宏观行为参数总体表现出基因型差异大于雌雄

差异, 与第 3.2 节中行为谱的结论一致。BeA 法可以同时得到精细的行为谱和宏观的经典行为参数, 对小鼠行为的评估更为全面和客观^[20]。

4 讨论与分析

关于小鼠行为分析方法, 由于哺乳动物的行为具有复杂性、高维性、时间动态和层次性^[21], 除位移运动外, 非位移运动表现为动物肢体和器官具有高维(如梳理、转弯)和较大的空间变化。BeA 法利用多视角三维动物运动捕捉系统收集行为视频, 避免了单一摄像机俯视角记录导致的动物身体部位遮挡和视角偏差; 在机器学习中, 本实验采用了一种并行的、多阶段的运动分解策略来进行层次行为动力学学习, 改进了姿态估计效果; 运动分解和降维处理应用动态时间对齐核方法来描述运动动力学, 能够客观地度量运动序列之间的相似性, 并建立一个行为的低维表示, 以便进行动物行为的参数化描述。BeA 法能同时客观地得到经典行为学参数和行为谱, 进一步统计分析不同行为标签数据, 对小鼠行为的评估更为全面^[20]。

本研究表明, BeA 法作为一种客观、精细化的行为学分析方法, 对组内差异较大的样本无法



注: P 值总结 * 号右角标 # 号为非参数 t 检验的秩和检验, 其余为未配对样本 t 检验

图 5 基因型和雌雄对照组典型行为参数对比

Fig. 5 Comparing between genotype and female/male groups

兼容, 因此, 要注意训练集的确定和选择, 或采用部分基因型的集合训练集。此外, BeA 法巨量又准确的 3D 骨架数据可能具有潜在价值, 本文虽然未将 BC 小鼠与 6J/6N 组行为谱进行对比, 但通过计算小鼠的 5 种体态参数, 量化分析了整体训练集不能识别处理数据的原因: 小鼠两耳距离、鼻尖-脖子-尾根连线长度、鼻尖到尾根距离和四爪连线长度与体长(鼻尖-脖子-背-尾根连线长度)的比值, BC 组均显著大于 6J/6N 组(所有小鼠年龄均控制在 5~6 周), 说明 BC 小鼠的躯干和四肢呈更为伸展的体态, 且 BC 的运动速度显著小于 6N 和 6J。同一行为标签的差异, 在以往文献中有被描述过^[22], 但过去的分析方法很难对这些细微的差异进行定量评估, 故其具体含义尚未被明确定义。使用 BeA 法标签对公认有代表性的疾病模型行为学分析进行后续研究, 将使这些数据发挥出新的价值。

与 6J 小鼠相比, 6N 小鼠的嗅探行为更多, 更具谨慎探索特征, 传统行为学分析认为, 这可能是更焦虑的一种表现^[23], 该行为与焦虑指数提示的差异相同, 故本研究认为 6N 小鼠焦虑程度确实更高。6N 品系被公认为比 6J 好斗, 鉴于 6J 和 6N 两个品系显著的基因型差异^[24], 这种攻击性差异可能是原发性的, 但本研究结果提示了另外一种可能性, 即 6N 较高的攻击性可能是由于其过于胆小、焦虑程度更高而做出的代偿性行为。早年, 神经科学、精神疾病研究水平不足时, 临床上曾经使用“对症”的治疗方法对多动症等疾病进行干预^[25], 但若异常行为的病因为代偿性的, “对症”治疗反而会加重病情。以 6N 为模型对这一问题进行深入研究, 或许可以为人类暴力行为的干预提供新的思路。

目前, 由于雌鼠具有生理周期, 大多数神经科学的行为学研究只使用雄鼠进行研究, 以避免过多的激素影响研究结果。本研究的结果表明, 青年成鼠的自发行为在雌雄之间的差异并不是很

大, 雌雄差异明显要小于品系间差异。未来的行为学实验可以考虑既使用雄鼠也使用雌鼠, 雌雄鼠的 N 值不一定要相同, 方差大的性别可增加动物数量, 当只使用方差大的性别且样本过少或显著性不足时, 试验结果更容易受偶然因素的影响。

5 结 论

本文采用基于层次化三维动物行为特征的无监督学习框架(BeA), 对 3 种近交品系 6J、6N 和 BC 青年成鼠的自发行为进行评估。与已有研究方法相比, BeA 可以自动完成数据采集、机器学习、2D 行为数据识别、多视角姿态融合重构获得 3D 骨架数据、行为分解、聚类降维得到运动模式行为谱数据等一系列环节, 更具客观性, 从而避免主观因素带来的实验偏差。根据 3D 骨架数据可以进一步计算经典行为学参数, 行为谱还可以进一步标识、统计分析不同行为标签, 总体上更为客观、全面。对自发行为谱、行为标签统计和经典行为参数结果进行综合分析可知, 自发行为影响因素差异程度为远基因型(6J/BC、6N/BC) > 近基因型(6J/6N) > 雌雄差别(6JM/6JF、6NM/6NF、BCM/BCF), 野生型小鼠的自发行为表现出一定程度的个体差异。合并同类行为和经典行为参数均表现出基因型差异大于雌雄差异, 6N 的嗅探行为显著多于 6J, BC 的体态较为伸展, 运动速度明显小于 6J 和 6N。BeA 法能够获得多方面的行为学数据, 需要注意训练集的运用。本实验结果可作为小鼠模型实验设计、选择品系、样本量确定的参考。

参 考 文 献

- [1] Leffa DT, Panzenhagen AC, Salvi AA, et al. Systematic review and meta-analysis of the behavioral effects of methylphenidate in the spontaneously hypertensive rat model of attention

- deficit/hyperactivity disorder [J]. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2019, 100: 166-179.
- [2] Fernández-Teruel A, Tobeña A. Revisiting the role of anxiety in the initial acquisition of two-way active avoidance: pharmacological, behavioural and neuroanatomical convergence [J]. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2020, 118: 739-758.
- [3] 魏梦霞, 纪树钦, 李子杰, 等. 脑干蓝斑到前庭神经核的神经环路投射及在压力应激下的激活研究 [J]. *集成技术*, 2021, 10(5): 12-22.
Wei MX, Ji SQ, Li ZJ, et al. The activation of locus coeruleus under stress and its norepinephrine projection to vestibular nuclei [J]. *Journal of Integration Technology*, 2021, 10(5): 12-22.
- [4] Montardy Q, Wei M, Ti T, et al. Selective optogenetic stimulation of glutamatergic, but not GABAergic, vestibular nuclei neurons induces immediate and reversible postural imbalance in mice [J]. *Progress in Neurobiology*, 2021, 204: 102085.
- [5] Amini N, Eghbali BB, Ramezani S, et al. Animal Kernicterus models: progress and challenges [J]. *Brain Research*, 2021, 1770: 147624.
- [6] 戎晓媛, 张玉楼, 黄康, 等. 基于视觉恐惧反应的行为分析 [J]. *集成技术*, 2020, 9(4): 36-46.
Rong XY, Zhang YL, Huang K, et al. Behavior analysis of fear emotion [J]. *Journal of Integration Technology*, 2020, 9(4): 36-46.
- [7] Hsu AI, Yttri EA. B-SOiD: an open source unsupervised algorithm for discovery of spontaneous behaviors [J]. *BioRxiv*, 2019, 12: 1-13.
- [8] Bruni G, Rennekamp AJ, Velenich A, et al. Zebrafish behavioral profiling identifies multitarget antipsychotic-like compounds [J]. *Nature Chemical Biology*, 2016, 12(7): 559-566.
- [9] Ravbar P, Branson K, Simpson JH. An automatic behavior recognition system classifies animal behaviors using movements and their temporal context [J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2019, 326: 108352.
- [10] 任炜, 余山, 张永清. 计算行为学研究进展 [J]. *科学通报*, 2021, 66(30): 1-12.
Ren W, Yu S, Zhang YQ. Progress on computational ethology [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2021, 66(30): 1-12.
- [11] Pereira TD, Shaevitz JW, Murthy M. Quantifying behavior to understand the brain [J]. *Nature Neuroscience*, 2020(23): 1537-1549.
- [12] Kabra M, Robie AA, Rivera-Alba M, et al. JAABA: interactive machine learning for automatic annotation of animal behavior [J]. *Nature Methods*, 2013(10): 64-67.
- [13] Mathis MW, Mathis A. Deep learning tools for the measurement of animal behavior in neuroscience [J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 2020, 60: 1-11.
- [14] Huang K, Han YN, Chen K, et al. A hierarchical 3D-motion learning framework for animal spontaneous behavior mapping [J]. *Nature Communications*, 2021(12): 2784.
[15] 陈可, 黄康, 韩亚宁, 等. 一种动物行为学记录三维捕捉装置、方法、系统及应用: 中国, CN112101146A [P]. 2021-11-21[2020-12-28]. <http://epub.cnipa.gov.cn/Sw/SwDetail>.
Chen K, Huang K, Han YN, et al. A 3D animal ethology capture device, method, system and application: China, CN112101146A [P]. 2021-11-21[2020-12-28]. <http://epub.cnipa.gov.cn/Sw/SwDetail>.
- [16] Mathis A, Mamidanna P, Cury KM, et al. DeepLabCut: markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning [J]. *Nature Neuroscience*, 2018, 21(9): 1281-1289.
- [17] Rousseau JBI, Van Lochem PBA, Gispen WH, et al. Classification of rat behavior with an image-processing method and a neural network

- [J]. *Behavior Research Methods Instruments & Computers*, 2000, 32(1): 63-71.
- [18] 李笑溪. 三种近交系小鼠的行为图谱构建与比较 [D]. 深圳: 中国科学院大学深圳先进技术研究院, 2021.
- Li XX. Construction and comparison of the spontaneous behavior atlas of/in three inbred mice [D]. Shenzhen: Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Science, 2021.
- [19] Gould TD, Dao DT, Kovacsics CE. The open field test [M]. New York: Humana Press, 2009: 1-20.
- [20] Liu N, Han YN, Ding H, et al. Objective and comprehensive re-evaluation of anxiety-like behaviors in mice using the Behavior Atlas [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2021, 559: 1-7.
- [21] Datta SR, Anderson DJ, Branson K, et al. Computational neuroethology: a call to action [J]. *Neuron*, 2019, 104(1): 11-24.
- [22] Mcelvain LE, Friedman B, Karten HJ, et al. Circuits in the rodent brainstem that control whisking in concert with other orofacial motor actions [J]. *Neuroscience*, 2018, 368: 152-170.
- [23] Deschênes M, Moore J, Kleinfeld D. Sniffing and whisking in rodents [J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 2012, 22(2): 243-250.
- [24] Mekada K, Abe K, Murakami A, et al. Genetic differences among C57BL/6 substrains [J]. *Experimental Animals*, 2009, 58(2): 141-149.
- [25] Marshall T, Ramchandani P. Emotional disorders in children and adolescents [J]. *Medicine*, 2008, 36(9): 478-481.