

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2013.00468

## 幼年斑马鱼的视觉系统与捕食行为

李小泉, 杜久林

中国科学院上海生命科学研究院神经科学研究所, 神经科学国家重点实验室, 上海 200031

**摘要:** 神经环路的研究是揭示动物行为神经机制的关键。斑马鱼作为一种低等脊椎动物, 在神经环路的研究中有着独特优势。文章描述了斑马鱼视觉系统及其下游的神经环路, 重点讨论了它们在捕食行为中的可能作用。斑马鱼捕食行为主要依赖于视觉功能, 该过程涉及到视觉-运动通路各个层次的神经环路, 包括下游的网状脊髓命令神经元、脊髓内部的运动控制环路以及一些亟待研究的功能单元。随着在体记录和操纵神经元活动技术的成熟, 以及行为学范式的完善, 对斑马鱼捕食行为相关神经环路的研究将在未来数年内迅速发展, 同时也将推动神经科学相关研究的进步。

**关键词:** 斑马鱼; 视觉系统; 捕食行为; 神经环路

## Visual system and prey capture behavior of larval zebrafish

LI Xiao-Quan, DU Jiu-Lin

*Institute of Neuroscience and State Key Laboratory of Neuroscience, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China*

**Abstract:** Studying neural circuits is a crucial step for understanding neural mechanisms underlying animal behaviors. Larval zebrafish is a low vertebrate animal model with incomparable advantages in neural circuit study. In this review, we describe the zebrafish visual system and its downstream targets, with special emphasis on their possible roles in prey capture behavior. Prey capture is executed mainly through the visual system and its downstream circuits, including reticulospinal commanding neurons, motor-controlling circuits within the spinal cord, and other un-identified functional units. With the development of approaches in monitoring and manipulating neuronal activity and behavioral assays, we will get deep insights about neural basis for prey capture in near future, which will shed light on elucidating neural circuit mechanisms of behavior.

**Keywords:** zebrafish; visual system; prey capture; neural circuit

作为支配机体活动的“指挥官”, 神经系统接受和处理外界信息, 产生并发出运动指令。神经系统主要由神经元和胶质细胞组成, 特定神经元通过

突触连接形成具有特定功能的神经环路, 参与或负责某种大脑功能。因此, 研究神经环路是揭示脑功能原理的一个必须环节。目前普遍使用的哺乳动物

收稿日期: 2012-12-11; 修回日期: 2013-01-27

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(编号: 2011CB940000), 中国科学院战略性先导科技专项(编号: XDB02040300)资助

作者简介: 李小泉, 博士, 助研, 研究方向: 感觉整合与行为; E-mail: lxq@ion.ac.cn

网络出版时间: 2013-2-22 14:02:48

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20130222.1402.002.html>

神经环路复杂且多位于深部脑区,使得人们很难在整体动物水平对其进行精细研究。斑马鱼(*Danio rerio*)的应用及其相关技术的建立为解决这些问题提供了历史契机。

斑马鱼是近年来兴起的一种脊椎动物模型,它被越来越广泛地运用于神经科学研究的各个方面。斑马鱼原产于南亚,在分类学上属于辐鳍鱼纲(Ac tinopterygii),鲤形目(Cypriniformes),鲤科(Cyprinidae),短担尼鱼属(*Danio*)。由于其体侧从头至尾布满暗蓝与银色相间条纹,酷似斑马而得名。斑马鱼最初由 Eugene 的 George Streisinger 带入实验室,之后 Charles Kimmel、Judith Eisen、John Postlethwait 的工作进一步在方法学上奠定了它作为一个模式生物的基础。与其它脊椎动物相比,斑马鱼个体小、繁殖力强、容易大规模饲养且发育早期通体透明,因此遗传筛选、行为学观察、电生理记录以及近些年快速发展的在体成像等实验手段可以很方便地运用于斑马鱼。特别是在遗传筛选方面,研究者通过转座子大规模筛选建立了许多 GAL4(Galactose 4)特异性表达的转基因品系,这使得人们可以通过 UAS(Upstream Activation Sequence)元件表达一些工具蛋白来观察特定神经元的活性(钙指示蛋白,如 G-CAMP, TNXXL),或者失活(如 TeNTlc 或 halorhodopsin)和激活(如 channelrhodopsin)特定神经元。这些工具为研究神经环路结构和功能提供了前所未有的机遇。在本文中,我们将主要介绍斑马鱼的视觉系统及其控制的捕食行为,试图综合可能参与的运动控制环路,并讨论它们在捕食行为中的作用。

## 1 视觉系统

### 1.1 视网膜和视神经投射

斑马鱼是一种白天活动具有较好视觉的脊椎动物,其视网膜与其他脊椎动物类似。从内到外,斑马鱼视网膜可分为神经节细胞层(Ganglion cell layer, GCL)、内网状层(Inner plexiform layer, IPL)、内核层(Inner nuclear layer, INL)、外网状层(Outer plexiform layer, OPL)和外核层(Outer nuclear layer, ONL);在细胞组成上,包括 Müller 胶质细胞和 6 类神经细胞,分别是神经节细胞(Retinal ganglion cell, RGC)、无长突细胞(Amacrine cell, AC)、水平细胞(Horizontal cell, HC)、双极细胞(Bipolar cell, BC)、以及视杆(Rod)

和视椎(Cone)两种光感受器细胞(Photoreceptor, PhR)。在结构上,光感受器细胞、双极细胞和水平细胞在外网状层形成突触联系,双极细胞、神经节细胞以及无长突细胞在内网状层形成突触联系。在纵向上,光感受器、双极细胞和视神经节细胞组成主要视觉通路:外界视觉信号由光感受器转变为电信号,经双极细胞传递至神经节细胞,再由神经节细胞传递出视网膜。在水平方向上,内核层的水平细胞和无长突细胞组成中间神经网络,调节视觉信息在时间和空间上的加工。胞体处于内网状层且数量稀少的网间细胞(Interplexiform cell)能释放多巴胺,其神经突起在内网状层和外网状层均有分布,可以调节水平细胞和双极细胞的对光反应。视网膜 Müller 细胞的胞体位于内核层,它在内网状层和外网状层中有丰富的突起,可以对视网膜细胞的突触传递和功能进行调制<sup>[1-5]</sup>;在结构上, Müller 细胞贯穿整个视网膜,在其内部可以发生横跨整个细胞的钙信号传递,从而为视觉信息在视网膜纵向通路上的双向传递提供了一个可能介质<sup>[3, 6-8]</sup>;在物理特性上, Müller 细胞能够使光线更加有效和便利地传入视网膜<sup>[9]</sup>。这些细胞有序的组成和功能分类,使视觉信息在视网膜就得到精细调控。

视觉信息由神经节细胞轴突组成的视神经传递到视觉中枢。斑马鱼视神经离开视网膜,在腹侧间脑中线交叉之后,分别投射到对侧相应的脑区。已经发现共有 10 个区域(Abarization field, AF)接受视神经的投射。这些区域包括视顶盖(Optic tectum, AF10)、顶盖前区(Pre-tectum, AF9)、视交叉上核(Suprachiasmatic nucleus, AF1)等<sup>[10, 11]</sup>。视顶盖是接受输入最多的一个区域;它被认为是非哺乳动物中最重要的视觉中枢,负责空间分辨,捕食以及逃跑等视觉行为。

### 1.2 视顶盖

视顶盖处于斑马鱼中脑表层,适合进行电生理记录<sup>[12, 13]</sup>、激光损毁<sup>[14, 15]</sup>、光学成像<sup>[16-19]</sup>和光控遗传学(Optogenetics)等操作<sup>[20]</sup>,因此有大量关于神经环路的研究以视神经-视顶盖为对象来开展。

#### 1.2.1 解剖学结构

视神经在视顶盖的投射遵循严格的拓扑规则。胞体位于视网膜鼻侧的神经节细胞将轴突投射到顶

盖后区, 位于颞侧的投射到顶盖前区; 位于背侧的投射到顶盖腹侧, 位于腹侧的投射到顶盖背侧<sup>[21]</sup>。在本身的结构上, 视顶盖可分为脑室旁层(Stratum periventriculare, SPV)和突触纤维层(Synaptic neuropil area)两个区域<sup>[18, 22]</sup>。绝大部分神经元胞体均位于脑室旁层, 突触纤维层则主要包含了顶盖神经元的突起以及视神经节细胞的轴突。从深层到浅表, 突触纤维层可进一步细分为 4 个亚层, 包括 stratum album centrale(SAC), stratum griseum centrale(SGC), stratum fibrosum et griseum superficiale(SFGS)和 stratum opticum(SO)。SFGS 和 SO 是视神经主要的投射区<sup>[11, 22-24]</sup>, 视神经在其他层次的投射相对较少。

### 1.2.2 视神经投射的发育机制

视神经投射是一种高度有序的结构, 其发育建立在精细调节的基础上。早期研究者通过随机突变获得了多种斑马鱼突变系; 在一些品系中, 视神经投射有明显的缺陷, 表明这些被突变的分子本身参与了投射的形成<sup>[25]</sup>。在 *bashful (bal)*、*chameleon (con)*、*syu* 突变系中, 部分神经节细胞的轴突不能投射出视网膜。在 *esrom (esr)* 和 *spc* 突变系中, 只有少量神经节细胞轴突能到达视顶盖。在 *belladonna (bel)*、*blowout (blw)*、*con*、*detour (dtr)*、*iguana (igu)*、*smu*、*spc*、*syu*、*umleitung (uml)*、*yot* 等突变系中, 视神经节细胞会向同侧的视顶盖发出投射。在 *ace*、*bal*、*grumpy (gup)*、*noi*、*sleepy (sly)*、*ast* 突变系中, 视神经节细胞轴突对目标区域的识别会产生缺陷, 表现为投射至同侧视顶盖、视顶盖之外的其他脑区甚至对侧视网膜。不同神经节细胞的轴突在离开视网膜时, 会成束为视神经; 依据细胞胞体在视网膜的位置, 对应轴突在视神经中的位置相对固定(此过程被称为 Optic tract sorting), 在 *boxer (box)*、*dackel (dak)*、*pinscher (pic)* 突变系中, 虽然视神经投射的拓扑结构正常, 但其 optic tract sorting 有缺陷; 此外, 在 *box* 与 *pic* 这两种突变系中, 神经节细胞的轴突会错误地投射到同侧视顶盖。在 *ace*、*nevermind (nev)*、*who-cares (woe)* 这 3 种突变系中, optic tract sorting 与视神经投射的拓扑结构均有缺陷。在 *mao*、*blumenkohl (blu)*、*gnarled (gna)* 突变系中, 神经节细胞轴突在视顶盖上的分支域大小会发生畸变。

### 1.2.3 细胞分类

以往关于视顶盖结构的研究多在进化上与斑马

鱼相近的金鱼(goldfish)开展: 通过高尔基染色人们发现, 金鱼视顶盖中有 14 种形态各异的细胞, 其胞体位置和突起(neurite)分布的范围各不相同<sup>[26, 27]</sup>。伴随近年来技术的发展, 人们对斑马鱼视顶盖的认识有了长足的进步。加州大学旧金山分校的 Herwig Baier 实验室通过大规模转座子筛选, 建立了一系列与视觉系统相关的转基因品系; 在这些品系中, 不同类型的视顶盖细胞可以特异性地表达荧光蛋白, 从而使精细的光学成像成为可能<sup>[28]</sup>。基于精细细胞形态, Baier 实验室对视顶盖细胞进行了以下分类。

第 1 类是放射状胶质样细胞(Radial glia)<sup>[18, 29, 30]</sup>。这类细胞在很多物种神经系统的发育过程中都可以观察到<sup>[1, 31-35]</sup>。其胞体位于脑室旁层, 主干分支纵贯整个视顶盖纤维层; 在主干分支上有许多细小但形态复杂的侧分支; 这些侧分支上有着异常强烈的自发钙活动(未发表数据), 这与在哺乳动物中对放射状胶质细胞的描述一致<sup>[36]</sup>, 提示此类细胞在视顶盖发育和功能调节中有重要作用。与哺乳动物稍有不同的是, 这类细胞在成年的斑马鱼中依然大量存在<sup>[37-40]</sup>, 暗示除了影响发育相关的一些功能活动外, 这类胶质细胞也参与成熟神经系统的功能调节。

第 2 类的胞体位于视顶盖表层 SO 区, 突起分布在 SO 和 SFGS 区<sup>[28]</sup>。这类细胞类似于之前在金鱼中通过高尔基染色(Golgi staining)发现的 Type III 细胞<sup>[26, 27]</sup>。Baier 实验室后续工作发现, 这类细胞是具有光反应的  $\gamma$ -氨基丁酸能抑制性神经元, 它们参与物体大小相关的视觉信息加工<sup>[41]</sup>。

第 3 类是胞体位于脑室旁的脑室旁神经元(Periventricular neuron, PVN)<sup>[28]</sup>。基于突起分布的特点, 它们可分成两个亚类。第一亚类神经元的树突伸至顶盖表层, 可能直接接受视神经的输入; 其轴突并不投射出视顶盖, 故被称为非长程投射神经元或脑室旁中间神经元(Periventricular interneuron, PVIN)。第二亚类神经元的树突不能伸至视顶盖表层, 但其轴突能投射到视顶盖之外的区域, 故称投射神经元, 它们可能介导了视觉信息的对外输出。这些结果与之前在金鱼中通过生物素单细胞标记得到的观察类似<sup>[26, 27]</sup>。

### 1.3 视顶盖下游投射

视顶盖在斑马鱼视觉运动(Visual-motor behavior)中起着重要作用, 是研究感觉-运动转换(Senso-

rimotor transformation)的理想模型<sup>[14,15]</sup>。有研究表明,视顶盖具有向运动控制系统的投射。Zotti等<sup>[42]</sup>发现,电刺激金鱼视顶盖可以在C形快速逃跑命令神经元Mauthner(M-)细胞上引发突触后电位变化;在形态上,视顶盖细胞也可以投射到M-细胞腹侧树突附近<sup>[42]</sup>。有报道称金鱼能够通过C型快速运动来捕获食物,且在这一过程中可以观察到M-细胞的激活<sup>[43]</sup>,提示该细胞可以介导这一类型的捕食行为。

通过瞬时组合Cre/loxP和Gal4/UAS系统可以将神经系统随机零星标记,从而实现对神经元投射类型的普查。运用这一工具,Okamoto实验室对视顶盖神经元在后脑各个菱脑节(Rhombomere 0-8, r0-r8)的投射进行了研究<sup>[44]</sup>。他们发现,视顶盖的各个区域均有轴突向后脑投射,且单个视顶盖亚区发出的投射并不局限在某一特定的菱脑节。这表明虽然不同属性(比如说空间位置)的视觉信息只在视顶盖特定亚区诱发反应,但分散的下游投射可以将这些信息都传出至后脑的运动控制单元,引发相应行为。总的来说,虽然在形态学上对这些下游投射有比较细致的观察,但其在捕食行为中的作用还有待进一步实验考究。

## 2 斑马鱼捕食行为

### 2.1 斑马鱼捕食行为简介

斑马鱼以储存在卵黄中的物质来支撑早期发育;受精后5~6d,它们以草履虫为食。幼年斑马鱼会主动追踪并吞食游动的草履虫;这个过程包含了斑马鱼在视觉指导下对自身位置和运动的连续调节。McElligott等<sup>[45]</sup>通过高速摄像发现,捕食主要包括两个阶段。第一阶段为追踪(Tracking)阶段,包括游动、转向等一系列连续运动成分。其中,追踪行为与通常情况下游动行为(Spontaneous swimming)的动力学特征基本相同;转向行为则是一个特殊的J形转向(J-turn)。通过这些动作,斑马鱼可以不断地调整自身身体,直至接近草履虫。第二阶段为吞食阶段,斑马鱼快速靠近草履虫并将其吞食。

值得注意的是,J-turn基本上只在捕食时发生,它和通常情况下的转向(Routine turn,常规转向)有几点不同:(1)身体发生弯曲的位置不同。与常规转向相比,J-turn发生时身体弯曲的位置更靠近尾端,产生弯曲的身体区段更短;(2)线速度不同。J-turn发

生时斑马鱼的线速度显著小于常规转向;(3)转向角度不同。单个J-turn后,斑马鱼朝向的变化比常规转向小;(4)光线依赖性不同。在黑暗条件下,常规转向基本不受影响,而J-turn则不发生。这些差异可能是为完善捕食而特异形成:虽然常规转向可以产生较大的线速度与朝向变化,但这种大动作会对水流产生更大扰动,暴露斑马鱼,使其捕食失败;而单个J-turn产生的速度和转向较小,但通过几个连续J-turn,在产生较大转向的同时,对水流的扰动却较小,从而减小暴露的可能性,提升捕食成功率。同时,在黑暗条件下J-turn与斑马鱼捕食都会严重下降,进一步提示它们之间的相关性:J-turn是精心设计被捕食行为采用的动作模式。

### 2.2 视觉输入在捕食行为中起主导作用

对大多数脊椎动物而言,视觉都是极重要的感觉输入;动物通常通过视觉定位和追踪猎物。在黑暗条件下斑马鱼的捕食能力严重下降<sup>[44]</sup>,这表明视觉输入在捕食行为中起着重要作用。与此相一致的是,视顶盖损毁后,斑马鱼的捕食能力也会严重下降<sup>[44]</sup>,这进一步证明视觉信息的必要性。此外,其它模态的感觉输入也会参与斑马鱼的捕食过程,如通过侧线系统的感觉输入(Hydrodynamic input)和通过嗅觉系统的化学输入(Chemosensory input)<sup>[46-48]</sup>。

## 3 捕食行为的视觉机制

### 3.1 视网膜ON/OFF通路在视觉追踪中的作用

根据对光反应类型的不同,视神经节细胞可以分为ON型、OFF型和ON-OFF型。ON型对光强增加产生反应,OFF型对光强降低产生反应,而ON-OFF型则对光强增加和降低均有反应<sup>[49,50]</sup>。趋光运动时(Photaxis),斑马鱼通过游向光源和调整自身与光源相对方向来保持行为的准确性;ON/OFF细胞介导的视觉通路在这一过程中起着不同作用。Burgess等<sup>[51]</sup>的工作表明,接近光源会使视网膜接收到的光线不断增强,诱发ON反应,继而激活五羟色胺(Serotonin)系统,使斑马鱼向前游动;同时,自身与光源方向的偏差会使视网膜接收到的光线变弱,诱发OFF反应,这种OFF反应可以启动下游的运动控制环路,使斑马鱼不偏离光源的方向。相较于趋光运动,猎物在视觉上呈现为暗信号;追逐猎物的

过程中, ON-OFF 通路可能也会有类似的分工<sup>[51, 52]</sup>。

### 3.2 视顶盖机制

基于视觉刺激特性的不同, 斑马鱼会做出不同的行为反应。Engert 实验室的工作表明, 当视觉刺激等于或小于猎物(草履虫或者小虾, 小于 5°视角)时, 斑马鱼发起捕食行为; 而当视觉刺激变大时, 斑马鱼则会发生逃避行为; 若将视觉刺激继续变大(>20°视角), 斑马鱼产生视动反应(Optomotor response, OMR)样的行为<sup>[53, 54]</sup>。这表明视觉刺激的大小是斑马鱼识别猎物的一项重要指标。这种基于视觉刺激大小决定行为的现象在青蛙中也被报道: 当猎物的尺寸小于 1.5 cm 时, 青蛙伸出舌头抓取猎物; 当猎物的尺寸大于 2 cm 时, 青蛙则以上下颚咬取食物<sup>[55, 56]</sup>。

视顶盖内部神经活动的传递方式与复杂的神经环路为这种大、小选择性提供了可能机制。Kinoshita 等<sup>[57]</sup>用成像技术研究了神经电活动在视顶盖的传递过程。他们发现, 在垂直方向上, 模拟视觉输入的电刺激可以在顶盖诱发缓慢的去极化, 这种去极化会从视顶盖纤维层表层传递至深层的 SGC 和 SAC, 这与视觉输入的解剖学特征比较一致<sup>[11, 24]</sup>, (见本文 1.2.1)。不同大小视觉刺激的选择性处理可能在这个传导过程中就已经发生。Smith 实验室在对视顶盖胞体层神经元钙成像的工作中发现, 脑室旁神经元对大视觉刺激的反应很弱, 而对小视觉刺激的反应却很强<sup>[58]</sup>。之后, Del Bene 等<sup>[41]</sup>在验证上述现象的基础上进一步发现, 大的和小的视觉刺激均能通过视神经传递到视顶盖纤维层; 但是只有小的视觉刺激可以在胞体层诱发神经活动。通过单细胞成像, 他们进一步发现较大的视觉刺激在脑室旁神经元的各个亚细胞区域均无法诱导出神经活动, 但较小的视觉刺激在这些神经元靠近顶盖表层和远离顶盖表层的树突节段均可诱发神经活动。该工作证明, 在由纤维层传递至脑室旁神经元之前, 神经活动已经经过了“过滤”, 使大视觉刺激诱发的神经电活动被选择性过滤掉, 无法传递到脑室旁神经元。从行为学的意义上说, 猎物样的小视觉刺激可以传递至脑室旁神经元, 并由脑室旁神经元向下游投射, 启动下游事件(包括捕食行为); 而捕食者样的大视觉刺激则不能通过这条通路启动捕食行为, 相反, 它可能会通过其它通路(如视顶盖前区或者顶盖下游的

非捕食环路), 启动视动反应或者逃避行为<sup>[15, 53]</sup>。通过遗传筛选, Baier 实验室得到一种视顶盖  $\gamma$ -氨基丁酸能抑制性神经元特异表达 Gal4 的转基因斑马鱼, 他们运用这一转基因工具, 对此类神经元进行了深入研究。这类抑制性神经元处于视顶盖表层。钙成像的实验表明, 它们特异性地被大视觉刺激激活, 进而抑制大视觉刺激所引起的兴奋性传递, 起到类似滤波的作用。用 Killer Red 杀死这种神经元后, 视顶盖对大视觉刺激的过滤就会消失, 大的视觉刺激亦能在视顶盖深部诱发大的神经活动。药理学的实验进一步表明, 在用 Bicuculline 阻断抑制性系统后, 视顶盖对大刺激过滤的现象也会消失。更有意思的是, 用强直毒素(Tetanus Toxin)损坏这种抑制性神经元的功能后, 斑马鱼的捕食能力也会被极大削弱<sup>[14, 41]</sup>。这些结果表明, 在视觉主导的捕食过程中, 此类抑制性神经元介导了顶盖基于视觉刺激大小的选择性信息加工; 这种选择性加工在捕食行为中起着重要作用。

## 4 捕食过程中游泳运动的调控

### 4.1 网状脊髓神经元的作用

高级中枢编码的运动信息通过网状脊髓神经元(Reticulospinal neuron, RS neuron)传递至脊髓。斑马鱼中大约有 300 个 RS 神经元, 它们的胞体以两侧对称的方式分布在中脑和后脑<sup>[14]</sup>。由于手段的局限, 对这些神经元的认识主要还停留在形态观察层面, 对其功能虽有报道但仍待深入研究。在这些 RS 神经元中, 功能研究相对较多的有后脑的 M-细胞以及同源的 Mid2 和 Mid3 细胞。激光损毁和活性记录的实验已经证明了这些神经元是斑马鱼 C 形逃跑行为(C-start)的命令神经元(Commanding neuron)<sup>[59, 60]</sup>, 但该行为及这些神经元在捕食中的作用仍不清楚<sup>[61]</sup>。对另外两种 RS 神经元 Melr(Rostral medial lateral)和 Melc(Caudal medial lateral)也有一些报道。Melr 和 Melc 位于中间纵向纤维束核团(Nucleus of the medial longitudinal fasciculus, nMLF), 其胞体位于中脑腹侧, 树突伸向同侧视顶盖<sup>[62]</sup>, 轴突沿同侧脊髓下行, 沿途发出分支, 调节斑马鱼的运动; 损毁这两对 RS 神经元后, 斑马鱼捕食能力显著下降<sup>[14]</sup>, 而动眼反应(Optokinetic response, OKR)<sup>[63]</sup>、视动反应和

自发游动却没有明显改变。这个实验一方面说明这两对神经元参与捕食行为却不参与动眼反应和视动反应, 另一方面说明控制捕食行为与控制动眼和视动反应的神经环路是不同的。钙成像的实验亦表明 Mel 神经元可以被视觉输入激活<sup>[64]</sup>, 此反应特性与损毁 Mel 神经元影响捕食行为的结果相一致。需要注意的是, 双侧损毁 Melr 和 Melc 后, 斑马鱼捕食能力的下降并不如双侧损毁视顶盖严重, 暗示除 Melr 和 Melc 之外, 视顶盖还通过其他 RS 神经元来介导捕食行为<sup>[14]</sup>(前文中涉及到的视顶盖下游投射环路可能介导了这些过程)。

之前提到, 与通常游动下出现的转向行为相比, 发生 J-turn 时斑马鱼躯体弯曲的部位更靠近尾部。有两个可能原因造成了这种差异: 第一个是控制 J-turn 的网状脊髓神经元可以将轴突投向非常靠近尾部的位<sup>[62]</sup>, 从而控制尾部的动作; 第二个是控制 J-turn 的网状脊髓神经元终止到另外一些脊髓神经元上, 这些脊髓神经元的轴突再投射到脊髓远端靠近尾端的部分(如 Cad 神经元<sup>[62]</sup>), 从而控制尾部的动作。

#### 4.2 脊髓内神经网络的作用

斑马鱼捕食时的游动行为与通常情况下的游泳行为基本一致<sup>[45]</sup>, 提示其执行环路也是一样的。已有报道表明, 游泳行为可以被脊髓 Kolmer-Agduhr 神经元控制, 这些神经元在与其相邻的几个体节内均有大量投射。通过随机插入得到的 Gal4 品系<sup>[65]</sup>, Baier 实验室发现阻断这类神经元的突触传递后, 自发游动行为被明显抑制; 而通过表达 LiGluR(Light gated ionotropic Glutamate receptor, 一种光激活的离子型谷氨酸受体)激活此类神经元则可以诱发游动样的行为。这说明 Kolmer-Agduhr 神经元是控制斑马鱼游动行为的一个关键元件。视顶盖可能调节了这些神经元的活性, 进而控制捕食过程中的游动<sup>[65]</sup>。将来可以通过检测此类神经元失活后斑马鱼捕食能力的改变来给出以上关系的直接证据。另外, 人们对斑马鱼游动速度的控制机制也有所了解。Fetcho 实验室的工作表明, 脊髓内的运动神经元、兴奋性中间神经元和抑制性中间神经元协调工作调控尾巴甩动的频率, 从而控制游动速度。对于运动神经元和兴奋性中间神经元而言, 靠近腹侧的在低频运动

时被激活, 靠近背侧的则在高频运动时被激活; 而对于抑制性中间神经元而言, 靠近背侧的在低频运动时被激活, 靠近腹侧的则在高频运动时被激活<sup>[66, 67]</sup>。在捕食过程中, 视觉信号可能通过调节不同神经元组合的活性来控制斑马鱼追踪(Tracking swimming)和最后捕食游动(Capture swimming)的速度。

## 5 结语与展望

近年来遗传学操作手段的进步促进了斑马鱼神经环路的相关研究。在基因失活方面, TALEN 技术的成熟和 CRISPR-Cas 系统的出现, 使人们有可能在斑马鱼中进行特异性的基因敲除<sup>[68, 69]</sup>, 从而观察敲除基因影响特定环路后斑马鱼神经系统结构、功能、以及整体行为的改变。To12 转座子介导转基因技术的普及使人们可以高效、大批量地制备转基因斑马鱼, 在斑马鱼中表达工具蛋白来研究特定神经环路的结构和功能<sup>[70]</sup>。基于这些进展, 人们可以用两种策略对斑马鱼的捕食环路开展进一步研究。第一种是将钙指示蛋白通过特异性启动子驱动的方法表达在感兴趣的神经环路中, 寻找在捕食过程中活性增强的神经元, 通过激光将它们损毁后, 观察捕食行为的改变<sup>[71-73]</sup>。第二种是筛选已有的 Gal4 转座子插入品系<sup>[29]</sup>, 在这些品系中表达工具蛋白, 如钙指示蛋白来观察被标记环路在捕食行为发生时的活性<sup>[41]</sup>, 或者表达强直毒素<sup>[41]</sup>或光通道蛋白<sup>[65]</sup>, 特异性失活或激活这些环路, 观察捕食行为的改变。这两种策略可以使我们从更细致的层次揭示捕食行为的环路机制。另外, 结合近年来在斑马鱼中出现的在体电生理记录<sup>[49, 50, 74]</sup>以及自由运动情况下的各种操作, 人们对斑马鱼捕食行为的研究将更加深入, 这也将有助于理解神经系统的工作原理。

#### 参考文献(References):

- [1] Nimmerjahn A, Mukamel EA, Schnitzer MJ. Motor behavior activates Bergmann glial networks. *Neuron*, 2009, 62(3): 400-412. DOI
- [2] Zahs KR, Newman EA. Asymmetric gap junctional coupling between glial cells in the rat retina. *Glia*, 1997, 20(1): 10-22. DOI
- [3] Newman EA. Calcium increases in retinal glial cells

- evoked by light-induced neuronal activity. *J Neurosci*, 2005, 25(23): 5502–5510. [DOI](#)
- [4] Newman EA. Glial modulation of synaptic transmission in the retina. *Glia*, 2004, 47(3): 268–274. [DOI](#)
- [5] Newman EA. Propagation of intercellular calcium waves in retinal astrocytes and Müller cells. *J Neurosci*, 2001, 21(7): 2215–2223. [DOI](#)
- [6] Rillich K, Gentsch J, Reichenbach A, Bringmann A, Weick M. Light stimulation evokes two different calcium responses in Müller glial cells of the guinea pig retina. *Eur J Neurosci*, 2009, 29(6): 1165–1176. [DOI](#)
- [7] Keirstead SA, Miller RF. Calcium waves in dissociated retinal glial (Müller) cells are evoked by release of calcium from intracellular stores. *Glia*, 1995, 14(1): 14–22. [DOI](#)
- [8] Li Y, Holtzclaw LA, Russell JT. Müller cell  $\text{Ca}^{2+}$  waves evoked by purinergic receptor agonists in slices of rat retina. *J Neurophysiol*, 2001, 85(2): 986–994. [DOI](#)
- [9] Franze K, Grosche J, Skatchkov SN, Schinkinger S, Foja C, Schild D, Uckermann O, Travis K, Reichenbach A, Guck J. Müller cells are living optical fibers in the vertebrate retina. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(20): 8287–8392. [DOI](#)
- [10] Burrill JD, Easter SS Jr. Development of the retinofugal projections in the embryonic and larval zebrafish (*Brachydanio rerio*). *J Comp Neurol*, 1994, 346(4): 583–600. [DOI](#)
- [11] Xiao T, Roeser T, Staub W, Baier H. A GFP-based genetic screen reveals mutations that disrupt the architecture of the zebrafish retinotectal projection. *Development*, 2005, 132(13): 2955–2967. [DOI](#)
- [12] Du JL, Wei HP, Wang ZR, Wong ST, Poo MM. Long-range retrograde spread of LTP and LTD from optic tectum to retina. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(45): 18890–18896. [DOI](#)
- [13] Sin WC, Haas K, Ruthazer ES, Cline HT. Dendrite growth increased by visual activity requires NMDA receptor and Rho GTPases. *Nature*, 2002, 419(6906): 475–480. [DOI](#)
- [14] Gahtan E, Tanger P, Baier H. Visual prey capture in larval zebrafish is controlled by identified reticulospinal neurons downstream of the tectum. *J Neurosci*, 2005, 25(40): 9294–9303. [DOI](#)
- [15] Roeser T, Baier H. Visuomotor behaviors in larval zebrafish after GFP-guided laser ablation of the optic tectum. *J Neurosci*, 2003, 23(9): 3726–3734. [DOI](#)
- [16] Bollmann JH, Engert F. Subcellular topography of visually driven dendritic activity in the vertebrate visual system. *Neuron*, 2009, 61(6): 895–905. [DOI](#)
- [17] Niell CM, Meyer MP, Smith SJ. *In vivo* imaging of synapse formation on a growing dendritic arbor. *Nat Neurosci*, 2004, 7(3): 254–260. [DOI](#)
- [18] Xiao T, Baier H. Lamina-specific axonal projections in the zebrafish tectum require the type IV collagen Dragnet. *Nat Neurosci*, 2007, 10(12): 1529–1537. [DOI](#)
- [19] Hua JY, Smear MC, Baier H, Smith SJ. Regulation of axon growth *in vivo* by activity-based competition. *Nature*, 2005, 434(7036): 1022–1026. [DOI](#)
- [20] Schoonheim PJ, Arrenberg AB, Del Bene F, Baier H. Optogenetic localization and genetic perturbation of saccade-generating neurons in zebrafish. *J Neurosci*, 2010, 30(20): 7111–7120. [DOI](#)
- [21] Gosse NJ, Nevin LM, Baier H. Retinotopic order in the absence of axon competition. *Nature*, 2008, 452(7189): 892–895. [DOI](#)
- [22] Vanegas H, Ito H. Morphological aspects of the teleostean visual system: a review. *Brain Res*, 1983, 287(2): 117–137. [DOI](#)
- [23] Vanegas H, Laufer M, Amat J. The optic tectum of a perciform teleost. I. General configuration and cytoarchitecture. *J Comp Neurol*, 1974, 154(1): 43–60. [DOI](#)
- [24] Nikolaou N, Lowe AS, Walker AS, Abbas F, Hunter PR, Thompson ID, Meyer MP. Parametric functional maps of visual inputs to the tectum. *Neuron*, 2012, 76(2): 317–324. [DOI](#)
- [25] Hutson LD, Chien CB. Wiring the zebrafish: axon guidance and synaptogenesis. *Curr Opin Neurobiol*, 2002, 12(1): 87–92. [DOI](#)
- [26] Meek J. A Golgi-electron microscopic study of goldfish optic tectum. II. Quantitative aspects of synaptic organization. *J Comp Neurol*, 1981, 199(2): 175–190. [DOI](#)
- [27] Meek J, Schellart NAM. A Golgi study of goldfish optic tectum. *J Comp Neurol*, 1978, 182(1): 89–122. [DOI](#)
- [28] Scott EK, Baier H. The cellular architecture of the larval zebrafish tectum, as revealed by gal4 enhancer trap lines. *Front Neural Circuits*, 2009, 3: 13. [DOI](#)
- [29] Scott EK, Mason L, Arrenberg AB, Ziv L, Gosse NJ, Xiao T, Chi NC, Asakawa K, Kawakami K, Baier H. Targeting neural circuitry in zebrafish using GAL4 enhancer trapping. *Nat Methods*, 2007, 4(4): 323–326. [DOI](#)
- [30] Grupp L, Wolburg H, Mack AF. Astroglial structures in the zebrafish brain. *J Comp Neurol*, 2010, 518(21): 4277–4287. [DOI](#)
- [31] Kriegstein A, Alvarez-Buylla A. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annu Rev Neurosci*, 2009, 32(1): 149–184. [DOI](#)
- [32] Sild M, Ruthazer ES. Radial glia: progenitor, pathway, and partner. *Neuroscientist*, 2011, 17(3): 288–302. [DOI](#)
- [33] Merkle FT, Alvarez-Buylla A. Neural stem cells in mammalian development. *Curr Opin Cell Biol*, 2006, 18(6):

- 704–709. [DOI](#)
- [34] Gregg CT, Chojnacki AK, Weiss S. Radial glial cells as neuronal precursors: the next generation? *J Neurosci Res*, 2002, 69(6): 708–713. [DOI](#)
- [35] Lordkipanidze T, Dunaevsky A. Purkinje cell dendrites grow in alignment with Bergmann glia. *Glia*, 2005, 51(3): 229–234. [DOI](#)
- [36] Weissman TA, Riquelme PA, Ivic L, Flint AC, Kriegstein AR. Calcium waves propagate through radial glial cells and modulate proliferation in the developing neocortex. *Neuron*, 2004, 43(5): 647–661. [DOI](#)
- [37] Lam CS, Marz M, Strahle U. *Gfap* and *nestin* reporter lines reveal characteristics of neural progenitors in the adult zebrafish brain. *Dev Dyn*, 2009, 238(2): 475–486. [DOI](#)
- [38] Zupanc GK, Clint SC. Potential role of radial glia in adult neurogenesis of teleost fish. *Glia*, 2003, 43(1): 77–86. [DOI](#)
- [39] Bernardos RL, Raymond PA. GFAP transgenic zebrafish. *Gene Expr Patterns*, 2006, 6(8): 1007–1013. [DOI](#)
- [40] Tomizawa K, Inoue Y, Nakayasu H. A monoclonal antibody stains radial glia in the adult zebrafish (*Danio rerio*) CNS. *J Neurocytol*, 2000, 29(2): 119–128. [DOI](#)
- [41] Del Bene F, Wyart C, Robles E, Tran A, Looger L, Scott EK, Isacoff EY, Baier H. Filtering of visual information in the tectum by an identified neural circuit. *Science*, 2010, 330(6004): 669–673. [DOI](#)
- [42] Zottoli SJ, Hordes AR, Faber DS. Localization of optic tectal input to the ventral dendrite of the goldfish Mauthner cell. *Brain Res*, 1987, 401(1): 113–121. [DOI](#)
- [43] Canfield JG, Rose GJ. Activation of Mauthner neurons during prey capture. *J Comp Physiol A*, 1993, 172(5): 611–618. [DOI](#)
- [44] Sato T, Hamaoka T, Aizawa H, Hosoya T, Okamoto H. Genetic single-cell mosaic analysis implicates ephrinB2 reverse signaling in projections from the posterior tectum to the hindbrain in zebrafish. *J Neurosci*, 2007, 27(20): 5271–5279. [DOI](#)
- [45] McElligott MB, O'Malley DM. Prey tracking by larval zebrafish: axial kinematics and visual control. *Brain Behav Evol*, 2005, 66(3): 177–196. [DOI](#)
- [46] Montgomery JC, Macdonald F, Baker CF, Carton AG. Hydrodynamic contributions to multimodal guidance of prey capture behavior in fish. *Brain Behav Evol*, 2002, 59(4): 190–198. [DOI](#)
- [47] New JG, Alborg Fewkes L, Khan AN. Strike feeding behavior in the muskellunge, *Esox masquinongy*: contributions of the lateral line and visual sensory systems. *J Exp Biol*, 2001, 204(Pt 6): 1207–1221. [DOI](#)
- [48] Friedrich RW, Habermann CJ, Laurent G. Multiplexing using synchrony in the zebrafish olfactory bulb. *Nat Neurosci*, 2004, 7(8): 862–871. [DOI](#)
- [49] Zhang RW, Wei HP, Xia YM, Du JL. Development of light response and GABAergic excitation-to-inhibition switch in zebrafish retinal ganglion cells. *J Physiol*, 2010, 588(Pt 14): 2557–2569. [DOI](#)
- [50] Wei HP, Yao YY, Zhang RW, Zhao XF, Du JL. Activity-induced long-term potentiation of excitatory synapses in developing zebrafish retina *in vivo*. *Neuron*, 2012, 75(3): 479–489. [DOI](#)
- [51] Burgess HA, Schoch H, Granato M. Distinct retinal pathways drive spatial orientation behaviors in zebrafish navigation. *Curr Biol*, 2010, 20(4): 381–386. [DOI](#)
- [52] Mueller KP, Neuhauss SC. Behavioral neurobiology: how larval fish orient towards the light. *Curr Biol*, 2010, 20(4): R159–161. [DOI](#)
- [53] Engert F. *Innate attraction and repulsion*. Available from: <http://www.mcb.harvard.edu/Engert/research.html>.
- [54] Bianco IH, Kampff AR, Engert F. Prey capture behavior evoked by simple visual stimuli in larval zebrafish. *Front Syst Neurosci*, 2011, 5: 101–113. [DOI](#)
- [55] Anderson CW, Nishikawa KC. The roles of visual and proprioceptive information during motor program choice in frogs. *J Comp Physiol A*, 1996, 179(6): 753–762. [DOI](#)
- [56] Valdez CM, Nishikawa KC. Sensory modulation and behavioral choice during feeding in the Australian frog, *Cyclorana novaehollandiae*. *J Comp Physiol A*, 1997, 180(3): 187–202. [DOI](#)
- [57] Kinoshita M, Ueda R, Kojima S, Sato K, Watanabe M, Urano A, Ito E. Multiple-site optical recording for characterization of functional synaptic organization of the optic tectum of rainbow trout. *Eur J Neurosci*, 2002, 16(5): 868–876. [DOI](#)
- [58] Niell CM, Smith SJ. Functional imaging reveals rapid development of visual response properties in the zebrafish tectum. *Neuron*, 2005, 45(6): 941–951. [DOI](#)
- [59] Korn H, Faber DS. The Mauthner cell half a century later: a neurobiological model for decision-making? *Neuron*, 2005, 47(1): 13–28. [DOI](#)
- [60] Kohashi T, Oda Y. Initiation of Mauthner- or non-Mauthner-mediated fast escape evoked by different modes of sensory input. *J Neurosci*, 2008, 28(42): 10641–10653. [DOI](#)
- [61] Borla MA, Palecek B, Budick S, O'Malley DM. Prey capture by larval zebrafish: evidence for fine axial motor control. *Brain Behav Evolut*, 2002, 60(4): 207–229. [DOI](#)
- [62] Gahtan E, O'Malley DM. Visually guided injection of



- identified reticulospinal neurons in zebrafish: a survey of spinal arborization patterns. *J Comp Neurol*, 2003, 459(2): 186–200. [DOI](#)
- [63] 黄玉斌, 邹苏琪, 殷梧, 王昆, 王晗, 胡兵. 成年斑马鱼 OKR 行为学分析. *遗传*, 2012, 34(9): 1193–1201. [DOI](#)
- [64] Sankrithi NS, O'Malley DM. Activation of a multisensory, multifunctional nucleus in the zebrafish midbrain during diverse locomotor behaviors. *Neuroscience*, 2010, 166(3): 970–993. [DOI](#)
- [65] Wyart C, Del Bene F, Warp E, Scott EK, Trauner D, Baier H, Isacoff EY. Optogenetic dissection of a behavioural module in the vertebrate spinal cord. *Nature*, 2009, 461(7262): 407–410. [DOI](#)
- [66] McLean DL, Fan JY, Higashijima S, Hale ME, Fetcho JR. A topographic map of recruitment in spinal cord. *Nature*, 2007, 446(7131): 71–75. [DOI](#)
- [67] McLean DL, Fetcho JR. Spinal interneurons differentiate sequentially from those driving the fastest swimming movements in larval zebrafish to those driving the slowest ones. *J Neurosci*, 2009, 29(43): 13566–13577. [DOI](#)
- [68] Huang P, Xiao A, Zhou MG, Zhu ZY, Lin S, Zhang B. Heritable gene targeting in zebrafish using customized TALENs. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(8): 699–700. [DOI](#)
- [69] Hwang WY, Fu YF, Reyon D, Maeder ML, Tsai SQ, Sander JD, Peterson RT, Yeh JRJ, Joung JK. Efficient genome editing in zebrafish using a CRISPR-Cas system. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(3): 227–229. [DOI](#)
- [70] Kawakami K. Transposon tools and methods in zebrafish. *Dev Dyn*, 2005, 234(2): 244–254. [DOI](#)
- [71] Orger MB, Kampff AR, Severi KE, Bollmann JH, Engert F. Control of visually guided behavior by distinct populations of spinal projection neurons. *Nat Neurosci*, 2008, 11(3): 327–333. [DOI](#)
- [72] Naumann EA, Kampff AR, Prober DA, Schier AF, Engert F. Monitoring neural activity with bioluminescence during natural behavior. *Nat Neurosci*, 2010, 13(4): 513–520. [DOI](#)
- [73] Ahrens MB, Li JM, Orger MB, Robson DN, Schier AF, Engert F, Portugues R. Brain-wide neuronal dynamics during motor adaptation in zebrafish. *Nature*, 2012, 485(7399): 471–477. [DOI](#)
- [74] Mu Y, Li XQ, Zhang B, Du JL. Visual input modulates audiomotor function via hypothalamic dopaminergic neurons through a cooperative mechanism. *Neuron*, 2012, 75(4): 688–699. [DOI](#)