

离体神经网络中的集体性回响活动

刘北明^{*}, 毕国强^{*}

中国科学技术大学生命科学学院, 合肥 230026

University of Pittsburgh School of Medicine, Department of Neurobiology, Pittsburgh, PA 15261, USA

^{*} 联系人, E-mail: gqbi@ustc.edu.cn

2008-12-12 收稿, 2009-01-08 接受

摘要 通常认为, 大脑进行认知活动时神经环路的集体性回响是“即时”记忆的存储形式. 然而, 由于大脑神经环路庞大的复杂性, 这种回响活动一直鲜有实验上的证据. 近期研究工作利用离体培养的神经网络中对回响的性质进行了探索, 揭示了其新的动力学特性和内在细胞机制. 结果表明, 离体培养的神经网络可以有效地用于对神经环路的活动进行机理性分析研究.

关键词
海伯假说
神经元
网络回响
异步实角传递

大脑通过神经元自然联系而形成的网络来实现很多认知和生理功能. 神经科学中至今悬而未决的一个重要问题就是, 突触之间的相互联系究竟是如何形成这样复杂而强大的功能环路的. 19世纪40年代, 海伯(Hebb)^[1]首先提出一种假设为, 环路得以形成的内在机制是活动依赖性的突触联系增强, 他认为, 信息能以网络回响的形式存储在一组称为“细胞集群”的神经元的活动中. 这种回响活动可以在外部刺激停止后继续维持一段时间, 相当于一种短时程的记忆痕迹. 海伯进一步假设, 网络回响可以诱导长时程的突触修饰, 导致细胞集群的发育形成和进一步强化. 他著名的“神经生理学假说”是这样的: 我们假设, 网络的持续反复回响活动会诱发持久的细胞学变化而使其稳定性增强. 这一点可以精确地表述如下: 若一个神经元A反复或者持续地激活临近的神经元B, 它们中的一个或两个神经元会发生一些生长或代谢的变化, 使得神经元A激活B的能力得到增强.

过去的几十年来, 海伯假说中的这条突触变化法则, 也就是现在俗称的“海伯学习法则”或“海伯突触”, 早已成为多种体系中研究的热点, 并且获得了广泛的实验证实^[2~5]. 特别是关于长时程增强(long-term potentiation, LTP)和长时程抑制(long-term depression,

LTD)的研究, 揭示了海伯实触可塑性的分子机制^[4,6~11]. 此外, 近几年发现的依赖于峰电位发放时间的突触可塑性(spike-timing-dependent plasticity, STDP), 更为海伯法则提供了一个定量的补充诠释^[12~21].

相较于分子和细胞水平对海伯突触所做的大量实验研究, 关于回响活动的一些细节则鲜为人知, 比如回响是否存在, 是怎样出现的, 以及它如何促使突触修饰增强. 在体实验表明, 工作记忆任务中, 前额叶皮层以及其他脑区的神经元在初始刺激结束后依然可以持续发放^[22~26]. 另一些研究指出, 在海马等若干脑区中观察到的协调时间波动可能是在内在认知处理过程中, 细胞集群被组织和激活的体现^[27].

众多理论分析和计算模拟表明^[25,26,28], 神经元反复的兴奋可能作为内在的驱动力维持网络处于一种特殊的“顶态(up-state)”, 此时, 网络不需外加的作用即可持续发放, 并因此形成对输入刺激的短时程记忆痕迹. 然而, 由于天然神经环路的复杂性, 要想通过实验直接证明回响存在于天然网络是很困难的; 甚至, 细胞集群的网络回响是否真的在体实验中观察到的持续活动的基础也依然不甚明了^[26].

另一方面, 由于各种电生理以及光学手段的发展, 离体系统为神经网络的实验研究提供了新的探

引用格式: 刘北明, 毕国强. 离体神经网络中的集体性回响活动. 科学通报, 2009, 54(8): 1028~1034

Lau P M, Bi G Q. Reverberatory activity in neuronal networks *in vitro*. Chinese Sci Bull, 2009, 54(11): 1828–1835, doi: 10.1007/s11434-009-0135-1

索途径。应用给这些实验体系十分简易和方便,使得群体活动的模式更容易被研究。在脑片中已经观察到了自发网络活动的固有时空模式^[29~32],类似的爆发性群体活动也在培养神经元和培养脑片中记录到^[33~38]。一般来说,大多数这样的网络兴奋持续时长不超过几十毫秒,因而有别于海伯假说中与工作记忆相关的回响活动,尽管这样,这些研究确实反映了固有网络结构的存在以及细胞集群自组织相互激励发放的能力。

最近,在离体培养的大鼠海马神经元网络中,我们观察到一种新的网络活动形式^[39]。在此,施加一个短暂的刺激可以诱发持续数秒之久的网络连续活动,这与海伯假设的细胞集群回响活动十分类似。这个简单的离体体系为阐明与神经网络回响活动相关的细胞分子机制提供了一个良好的操作平台^[25,26,28]。本文首先讨论培养神经网络中的回响现象及其内在细胞机理,然后介绍一种生物物理模型,它能重构观测到的网络回响的主要性质。

1 培养神经网络中的回响活动

培养的神经元保持了体内自然条件下的很多生物物理和细胞分子特性。经过多年的发展,它已经作为一个强大的实验手段而广泛应用于神经科学研究的不同领域,帮助人们探索各种重要问题^[40]。但是,需要意识到,由于离体神经元的培养条件与体内天然的生长环境迥异,所以它们形成的网络结构不会与天然环路完全一致,而这种差别在某些环路中恰好与网络功能的行使密切相关。不过,通过谨慎的操作,培养体系可以帮助我们洞悉基本网络功能(比如网络回响)的内在分子机制,以及神经元及其网络行为的生理学基础。

由于细胞类型相对简单^[40],培养的大鼠海马神经元是离体研究一个不错的选择。在很多研究中,让神经元生长在涂有黏附分子衬底的盖玻片上。我们用自制的印章将多聚左型赖氨酸预先在盖玻片上涂布出均匀分布的直径 1 mm 左右的圆圈。单层胶质细胞被限制在圆内,于是形成了一个孤立的“小岛”,每个岛上大约能容纳 20~100 个神经细胞,它们相互联系而形成独立的小网络(图 1)。

培养神经元的主要好处在于可以很方便地对它们进行高精度的操作和观察,包括全细胞膜片钳记录和光学成像。在小型(如 10 个神经元)或年轻(如离

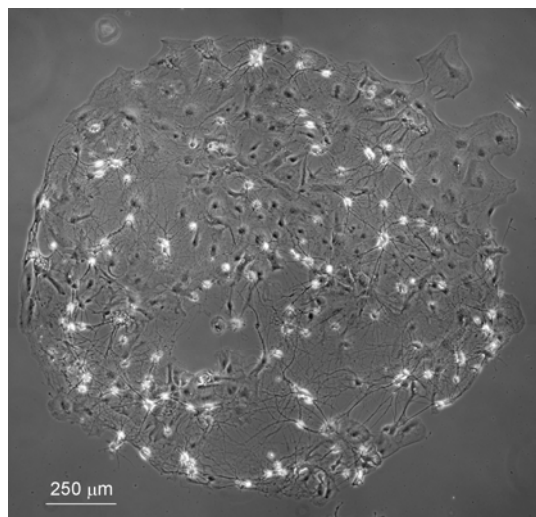


图 1 生长在多聚左型赖氨酸涂层的一个圆形“小岛”上的培养神经网络

体培养 10 d)的网络中,自发的回响活动很少,短暂的外部刺激常常能诱发相当大的网络应答。这种应答通常包括多突触的电压或电流成分,持续约 50 ms^[41],表明单个刺激可以引发多条通路中神经元的多级激活。在更大(如 100 个神经元)或更成熟(如离体培养 15 d)的网络中,同样的短脉冲刺激不但能诱发前述的短暂多突触应答,而且能够诱发反复发作并维持数秒的应答(图 2)。由于典型的突触延迟时间仅有十几毫秒,如果按前述的简单级联激活途径计算,持续数秒的反应必须有数千神经元参与。而这种网络中仅有约 100 个神经元,因此,同一神经元必须被反复激活才能维持长时间的反应,这与海伯细胞集群假设中的回响活动非常相似。

离体培养神经网络中的回响活动展现了一些有趣的动力学性质。首先,回响的诱发是“全或无”的。施加一个短暂的刺激后,网络中要么产生持续数秒的回响活动,要么仅有持续几十毫秒的多突触应答。其次,回响过程中,兴奋的神经元以约 10 Hz 的频率发放动作电位时,网络中的大部分神经元细胞膜维持在去极化的状态。这在某种程度上与在体实验观察到的持续活动以及其他实验中的“顶态(up-state)”十分类似。第三,在回响的全程中,网络活动的发生具有一定的节律性。如图 2 所示,神经元的发放大多集中在多突触电流簇(即回响单元)中。这些回响单元与同样长或稍长时间的相对静息期交替。最后,同一

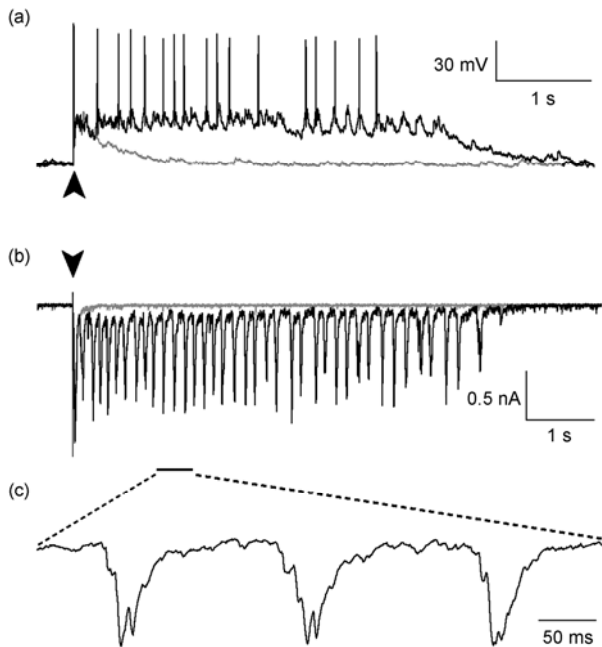


图2 培养神经网络的回响活动

(a) 电流钳模式下, 对单个记录神经元施加简短刺激(1 ms)诱发的短暂多突触电位(灰色)和持续回响活动(黑色); (b) 在电压钳模式下, 对同一网络中单个记录神经元施加简短刺激(1 ms)诱发的短暂多突触电流(灰色)和持续回响活动(黑色); (c) 对上述回响活动中 3 个回响单元(多突触电流簇)进行放大(摘自文献[39])

网络不同回响单元中神经元发放的时空模式存在一定的保守性, 这一点从多突触电流簇的相似性可以看出, 它反映了网络中参与回响的神经元的发放可能存在某些特定的次序。

2 持续回响活动的内在细胞机制

2.1 两种可能机制的比较

在没有持续的外部刺激的情况下, 网络回响需要合适的正反馈机制才能得以维持。有两种不同的生物物理机制可能实现这种效果: 一种是神经元固有的细胞膜兴奋性双稳态, 另一种是网络的反复激发。前者只需个别神经元的特殊性质, 它们一旦被激活便可以持续发放, “驱动”整个网络。第二种机制则与海伯细胞集群假说类似, 这也可能是在离体培养的神经网络上观测到的回响活动的真正机理。

在内嗅皮层V层的锥体细胞^[42]和小脑浦肯野细胞^[43]中发现, 一些细胞的膜具有双稳定性(或者多稳定性)。这些神经元被适宜的激活之后, 就可以自动持续发放动作电位。这种双稳定性与膜上的几种

离子通道有关, 包括钙敏阳离子通道和非失活性电压门控钠离子通道。可以想见, 如果一个网络含有一些双稳神经元, 它们的持续发放就可以源源不断地驱动整个网络持续发放, 从而携带一些短时程的记忆痕迹。

然而, 在培养的海马细胞中, 并未检测到这种双稳神经元的存在^[39]。而且, 回响活动对AMPA型谷氨酸受体拮抗剂CNQX非常敏感, 这反映了兴奋性突触连接的重要性。事实上, 只需部分抑制AMPA受体介导的突触电流就可以极大地减少或完全消除回响活动。这种现象与反复激活的机制相吻合, 而不支持少数双稳态驱动细胞持续发放的观点。不过, 神经元细胞膜固有的兴奋性(并不一定要求双稳性)可以在网络回响的鲁棒性与动力学特性方面起到非常重要的作用。

另据估计, 约 10%~20%的培养海马神经元为GABA能的中间神经元, 它们在网络实验中表现出抑制性^[39,40]。阻断GABA_A受体后, 网络回响被诱发产生的几率和持续时间都会增加^[39]。在一些更大的神经网络中, 阻断GABA能神经元的抑制会导致网络的高频发, 类似于其他系统中观测到的癫痫样活动^[44]。这也与前述的推测相吻合, 回响由神经元的反复兴奋所驱动, 而GABA_A受体介导对回响的抑制而起到一种平衡的作用。而且, 中间神经元在大规模兴奋网络中可能起到调节回响节律的作用。

2.2 异步突触传递

实验观测到培养海马神经元回响活动有一个有意思的现象: 在每一轮的网络发放(即回响单元)之间存在一段 50~100 ms的“平静”期(图 2(c)), 期间没有神经元的发放。问题是, 前一轮网络活动留下了哪些“信号”或者“记号”来触发下一轮的发放呢? AMPA型谷氨酸受体介导的兴奋性突触电流的主成分通常仅持续 10~20 ms, 显然不足以承担这个任务。另一种谷氨酸受体——NMDA受体的确有一种更缓慢的动力学特征满足要求, 并且被认为在维持前额叶皮层的持续网络活动中发挥着重要作用^[45]。然而, 在培养海马神经元中, NMDA电流只占总谷氨酸能兴奋突触电流的一小部分, 并且, 有些网络即使NMDA受体被全部阻断, 仍然具有产生回响的能力^[39]。因此, 一定有另一种因素在相邻的回响单元之间起着桥梁的作用。

将诱发回响的电压钳记录结果放大来看, 可以看出正常的由大量突触囊泡同时释放引发的突触后电流簇后面还有一种较慢的电流组分(图 3(a)). 而且, 在突触前施加的单脉冲刺激不足以诱发回响的网络中, 双脉冲联合刺激(PPS)可以增强这种慢电流成分并经常诱发出回响(图 3(a)). 我们知道, 在神经兴奋的传导过程中, 动作电位首先引起递质的同步释放, 而后残余钙离子仍会使突触囊泡融合概率增加, 从而导致所谓的异步突触递质释放, 而这种异步递质释放可能是慢电流组分的成因^[46~53].

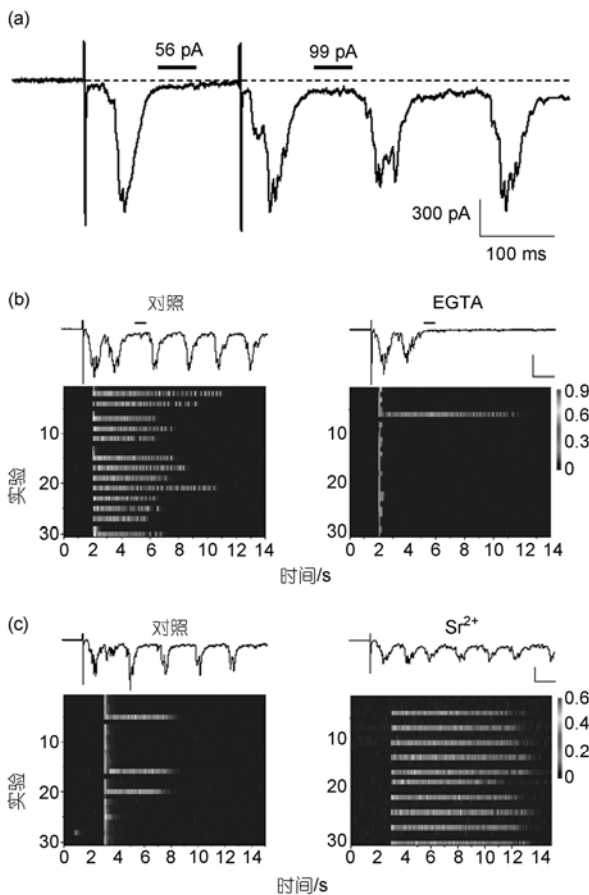


图3 连接回响事件的多突触电流异步相

(a) 在对单个脉冲刺激不响应的神经网络中, 双脉冲联合刺激可以引起异步突触电流增加并引发回响; (b) 在通常有回响的网络中, 用 EGTA-AM 缓冲胞内钙离子可以压制回响活动. 注意到存在 EGTA 的情况下, 异步突触传递被明显抑制; (c) 以胞外锶离子提高异步性可以显著增强网络回响

有两个实验证据可以确定网络回响中异步释放的关键作用. 首先, 慢性钙离子螯合剂EGTA-AM可以抑制乃至消除回响的发生(图 3(b)). EGTA-AM进入细胞后,

可以缓冲残余钙离子的浓度, 因而在允许正常同步传递的情况下抑制异步传递^[50,54]. 其次, 当胞外钙离子被锶离子(Sr^{2+})部分取代时, 回响的持续时间和发生几率都会显著增加(图 3(c)). 而锶离子可部分支持突触传递并在不同的神经末梢促进异步递质释放^[47,49,55].

相比突触传递“同步”相的迅速衰减, 异步释放通常有一个长达数百毫秒的时间常数. 这在很大程度上归因于钙离子缓慢的清除速率^[49,50,54]. 活动水平较低时, 异步递质释放对突触电流的贡献通常比“同步”释放要小得多. 而且由于其对输入刺激的缓慢反应, 它常常被认为是突触传递中的一种“噪音”. 然而, 突触传递中这种常被忽视的缓慢动力学特性使它恰好能联系相邻的回响单元. 并且, 突触前重复激活后, 由于残余钙离子的积累, 异步释放会相当显著^[50,54]. 因而, 在回响过程中, 异步突触传递经常被持续易化. 因此, 一旦回响被诱发, 就会有更多的异步释放发生, 从而更容易起始下一个回响单元. 这种易化提供了另一种水平的正反馈, 使回响稳定发生, 这也解释了网络回响活动的全或无的特性.

在功能水平上, 这种易化作用也可能使一个网络更灵敏地监测生理过程中的反复输入刺激. 几种吸引子模型预言, 兴奋性突触传递需要某种慢性成分才可以实现某些形式的网络活动稳定性, 例如非同步的持续发放活动和稳定的分级持续活动^[45,56,57]. 在这些模型中, 由于所需的兴奋性突触电流时间常数较大, 因而以往通常认为是NMDA受体介导的兴奋性突触电流起了这种作用. 现在看来, 异步递质释放有可能在这些形式的功能相关的持续活动中也起到类似作用, 这在像海马神经元这样兴奋性传递主要由AMPA电流介导的系统中可能尤为重要.

异步释放是突触传递的一个基本性质^[46~53], 它可能存在于脑内不同突触中. 观察它是否对在体的持续活动也起到类似作用将是一件引人入胜的工作. 而且, 异步释放可以被多种细胞机制所影响, 比如胞内钙库的摄取和释放^[58~60], 它涉及复杂的胞内和胞间的信号通路^[61]. 这些调节机制有可能参与如注意等系统机制, 从而调控与行为相关的持续活动. 同时, 调节机制中的缺陷可以导致系统机能失调, 如引发癫痫等. 理解这些基本机制对于正常大脑功能及相关疾病的研究有重要帮助.

2.3 短时程突触动力学

突触传递的另一个重要特征是短时程突触动力

特性,包括短时程增强和短时程抑制^[62],它们对网络整体动力学有重要的影响^[63,64].通过实验调控一些关键因子,如胞外钙离子浓度,可以检验这种影响^[62].这种调控对于网络回响带来的具体影响可能很复杂.例如,轻微减少胞外钙离子浓度可以降低短时程抑制,从而导致回响增强.而继续降低钙离子浓度却会产生相反的效果,因为这使得突触驱动力太弱而不足以引发回响(结果未显示).

在培养海马神经元中,短时程抑制是一种主要的突触动态性质^[54,65].通常认为它是由于突触囊泡库(例如可即时释放库)太小而且消耗后恢复较慢而引起^[62].基于对多种时间尺度上的突触抑制以及决定异步囊泡释放的突触前钙离子动力学的考虑,可以建立一种在生物物理学上易于处理的计算模型用于解释网络回响的突触机制.它能够成功地在50~100个神经元的模型网络中重现回响活动(图4).

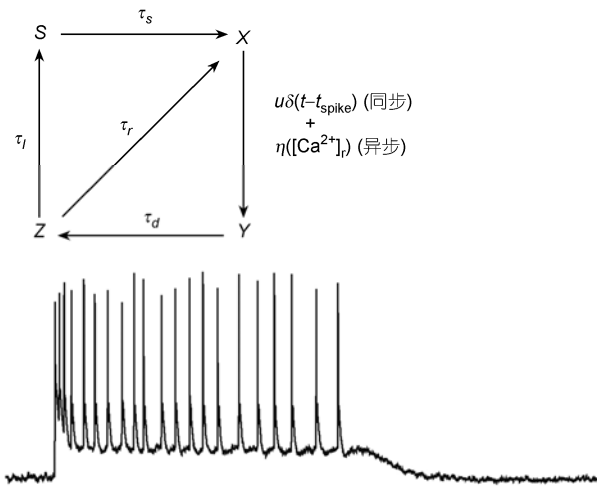


图4 小型神经网络中回响活动的计算模拟

(a) 描述了包括短时程突触抑制和异步释放在内的突触机制,它们是影响回响活动的关键因素;(b) 展示了模拟的回响活动(参照图3)(参考文献^[66,67])

这个模型的模拟结果证实了实验观测中的直觉推测:即异步递质释放在相邻的回响单元之间架起了一座桥梁.同时可以发现,每个回响单元是由同步突触传递中短时程抑制的一个快速成分所终止的.当这种快速抑制得到一定程度的恢复后,残留钙离子“驱动”的异步释放能够起始下一轮的网络活动.因而,正是同步与异步释放间的相互作用导致了回响中网络活动的振荡特性.最终,短时程抑制中一种

比残余钙离子或者异步释放更持久的迟发成分(图4中的“超失活态s”)使整个回响终止.

3 小结与展望

简便的培养体系使我们能够解答关于网络回响机制的几个关键问题:()持续性的网络回响可以存在于随机形成且无解剖学特异性的培养神经网络中.()虽然双稳神经元可能存在于其他体系中并确保回响的稳定性,但在离体网络中,回响不需要单个神经元的双稳性特殊要求而可被反复兴奋所驱动.()异步突触传递联结了两个相邻的回响单元,从而在回响中起到关键作用.因此,调控胞内钙存储而导致其异步释放的细胞机制可能是调节网络回响的一个新颖的功能节点.()多时间尺度的突触动力学决定了回响的动力学特性:短时程抑制的一个快速组分引起网络回响的振荡激活,而其慢速组分导致回响的终止.

与此同时,更多的问题依然存在.与海伯理论相关的一个关键性难题是:回响在网络的发育中是怎样诞生的?特别是神经元的活动以及活动依赖性的突触可塑性在回响环路的形成过程中起到怎样的作用?进一步,由于海伯可塑性在原则上是一个正反馈过程,那么,基于这一过程形成的回响网络可以维持稳定吗?而从信息编码的角度来看,回响过程中观察到的神经元激活的保守时空模式确实引人入胜,但问题是:各种不同的模式能否、又怎样在同一个网络中共存?一个网络可以通过训练使其存储特定的模式吗?

幸运的是,在简便的培养神经元体系中,应用当前的技术,特别是电生理和成像技术的结合,这些问题可以得到直接的研究.例如,我们最近的研究显示,峰电位时程依赖性的突触可塑性(STDP)^[14,16,19]等海伯突触可塑性,确实可能是活动诱导的网络回响出现的基础.因此,在某种程度上,我们可以把这种网络认为是海伯细胞集群的原型.与此同时,我们还发现,只要有稳态可塑性放大网络中兴奋性突触的全局强度,回响环路在活动缺失的情况下依然可以发育出来.但是,活动缺失时发育出的回响活动通常并不稳定,而且趋于演化成失控的自发活动,而正常发育的回响则通常保持稳定,这暗示着存在另一层稳态机制调控突触可塑性的表达.

回响活动在自然生理条件下存在吗?这依然是

一个难题。显然小网络的动力学性质并不会简单地放大, 因此, 最终还需要获得相关生理行为中在体回响网络动力学的直接证据, 而这可能需要应用革命性的方法学。不管怎样, 回响活动存在于神经元简单随机联系形成的网络中, 这可能反映了指导神经元自组织形成神经环路的最基本的原理和机制。因此, 根据海伯思想的精髓, 我们可以推测, 与回响类似的

网络群体活动可能是诸如即时记忆和理性决定等认知学习和感知过程的基本单位; 而这种活动的紊乱可能引起一些病理现象, 如癫痫、慢性疼痛, 以及精神分裂。尽管目前网络回响的生理学意义尚不明确, 然而, 对离体体系进行研究获得的基本原理和机制可能为在体环路操作提供一个新的视角, 并可能引导未来的在体研究。

致谢 本文中文稿由徐放、郝展宏、何沛同学协助翻译整理, 谨致谢意!

参考文献

- 1 Hebb D O. The Organization of Behavior. New York: Wiley, 1949
- 2 Stent G S. A physiological mechanism for Hebb's postulate of learning. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973, 70: 997—1001[doi]
- 3 Brown T H, Kairiss E W, Keenan C L. Hebbian synapses: Biophysical mechanisms and algorithms. *Annu Rev Neurosci*, 1990, 13: 475—511[doi]
- 4 Bliss T V, Collingridge G L. A synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 1993, 361: 31—39[doi]
- 5 Milner B, Squire L R, Kandel E R. Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron*, 1998, 20: 445—468[doi]
- 6 Artola A, Singer W. Long-term depression of excitatory synaptic transmission and its relationship to long-term potentiation. *Trends Neurosci*, 1993, 16: 480—487[doi]
- 7 Stevens C F. Strengths and weaknesses in memory. *Nature*, 1996, 381: 471—472[doi]
- 8 Malenka R C, Nicoll R A. Long-term potentiation—a decade of progress. *Science*, 1999, 285: 1870—1874[doi]
- 9 Lisman J, Lichtman J W, Sanes J R. LTP: Perils and progress. *Nat Rev Neurosci*, 2003, 4: 926—929[doi]
- 10 Malenka R C. The long-term potential of LTP. *Nat Rev Neurosci*, 2003, 4: 923—926[doi]
- 11 Derkach V A, Oh M C, Guire E S, et al. Regulatory mechanisms of AMPA receptors in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8: 101—113[doi]
- 12 Bell C C, Han V Z, Sugawara Y, et al. Synaptic plasticity in a cerebellum-like structure depends on temporal order. *Nature*, 1997, 387: 278—281[doi]
- 13 Magee J C, Johnston D. A synaptically controlled, associative signal for Hebbian plasticity in hippocampal neurons. *Science*, 1997, 275: 209—213[doi]
- 14 Markram H, Lubke J, Frotscher M, et al. Regulation of synaptic efficacy by coincidence of postsynaptic APs and EPSPs. *Science*, 1997, 275: 213—215[doi]
- 15 Mehta M R, Barnes C A, McNaughton B L. Experience-dependent, asymmetric expansion of hippocampal place fields. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 8918—8921[doi]
- 16 Bi G Q, Poo M M. Synaptic modifications in cultured hippocampal neurons: Dependence on spike timing, synaptic strength, and postsynaptic cell type. *J Neurosci*, 1998, 18: 10464—10472
- 17 Debanne D, Gähwiler B H, Thompson S M. Long-term synaptic plasticity between pairs of individual CA3 pyramidal cells in rat hippocampal slice cultures. *J Physiol (Lond)*, 1998, 507: 237—247[doi]
- 18 Zhang L I, Tao H W, Holt C E, et al. A critical window for cooperation and competition among developing retinotectal synapses. *Nature*, 1998, 395: 37—44[doi]
- 19 Abbott L F, Nelson S B. Synaptic plasticity: taming the beast. *Nat Neurosci*, 2000, 3(Suppl): 1178—1183[doi]
- 20 Bi G Q, Poo M M. Synaptic modification by correlated activity: Hebb's postulate revisited. *Annu Rev Neurosci*, 2001, 24: 139—166[doi]
- 21 Dan Y, Poo M M. Spike timing-dependent plasticity: From synapse to perception. *Physiol Rev*, 2006, 86: 1033—1048[doi]
- 22 Fuster J M, Alexander G E. Neuron activity related to short-term memory. *Science*, 1971, 173: 652—654[doi]
- 23 Kubota K, Niki H. Prefrontal cortical unit activity and delayed alternation performance in monkeys. *J Neurophysiol*, 1971, 34: 337—347
- 24 Funahashi S, Bruce C J, Goldman-Rakic P S. Mnemonic coding of visual space in the monkey's dorsolateral prefrontal cortex. *J Neurophysiol*, 1989, 61: 331—349
- 25 Durstewitz D, Seamans J K, Sejnowski T J. Neurocomputational models of working memory. *Nat Neurosci*, 2000, 3(Suppl): 1184—1191[doi]
- 26 Wang X J. Synaptic reverberation underlying mnemonic persistent activity. *Trends Neurosci*, 2001, 24: 455—463[doi]
- 27 Harris K D. Neural signatures of cell assembly organization. *Nat Rev Neurosci*, 2005, 6: 399—407[doi]

- 28 Seung H S. Half a century of Hebb. *Nat Neurosci*, 2000, 3(Suppl): 1166[[doi](#)]
- 29 Cossart R, Aronov D, Yuste R. Attractor dynamics of network UP states in the neocortex. *Nature*, 2003, 423: 283—288[[doi](#)]
- 30 Eytan D, Brenner N, Marom S. Selective adaptation in networks of cortical neurons. *J Neurosci*, 2003, 23: 9349—9356
- 31 Shu Y, Hasenstaub A, McCormick D A. Turning on and off recurrent balanced cortical activity. *Nature*, 2003, 423: 288—293[[doi](#)]
- 32 Ikegaya Y, Aaron G, Cossart R, et al. Synfire chains and cortical songs: Temporal modules of cortical activity. *Science*, 2004, 304: 559—564[[doi](#)]
- 33 Maeda E, Robinson H P, Kawana A. The mechanisms of generation and propagation of synchronized bursting in developing networks of cortical neurons. *J Neurosci*, 1995, 15: 6834—6845
- 34 Beggs J M, Plenz D. Neuronal avalanches in neocortical circuits. *J Neurosci*, 2003, 23: 11167—11177
- 35 Beggs J M, Plenz D. Neuronal avalanches are diverse and precise activity patterns that are stable for many hours in cortical slice cultures. *J Neurosci*, 2004, 24: 5216—5229[[doi](#)]
- 36 Segev R, Shapira Y, Benveniste M, et al. Observations and modeling of synchronized bursting in two-dimensional neural networks. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 2001, 64: 011920
- 37 Volman V, Baruchi I, Ben-Jacob E. Manifestation of function-follow-form in cultured neuronal networks. *Phys Biol*, 2005, 2: 98—110[[doi](#)]
- 38 Wagenaar D A, Pine J, Potter S M. An extremely rich repertoire of bursting patterns during the development of cortical cultures. *BMC Neuroscience*, 2006, 7: 11[[doi](#)]
- 39 Lau P M, Bi G Q. Synaptic mechanisms of persistent reverberatory activity in neuronal networks. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 10333—10338[[doi](#)]
- 40 Banker G, Goslin K eds. *Culturing Nerve Cells*. Cambridge, Massachusetts: The MIT Press, 1998
- 41 Bi G Q, Poo M M. Distributed synaptic modification in neural networks induced by patterned stimulation. *Nature*, 1999, 401: 792—796[[doi](#)]
- 42 Egorov A V, Hamam B N, Fransén E, et al. Graded persistent activity in entorhinal cortex neurons. *Nature*, 2002, 420: 173—178[[doi](#)]
- 43 Loewenstein Y, Mahon S, Chadderton P, et al. Bistability of cerebellar Purkinje cells modulated by sensory stimulation. *Nat Neurosci*, 2005, 8: 202—211[[doi](#)]
- 44 McCormick D A, Contreras D. On the cellular and network bases of epileptic seizures. *Annu Rev Physiol*, 2001, 63: 815—846[[doi](#)]
- 45 Wang X J. Synaptic basis of cortical persistent activity: The importance of NMDA receptors to working memory. *J Neurosci*, 1999, 19: 9587—9603
- 46 Del Castillo J, Katz B. Statistical factors involved in neuromuscular facilitation and depression. *J Physiol*, 1954, 124: 574—585
- 47 Miledi R. Strontium as a substitute for calcium in the process of transmitter release at the neuromuscular junction. *Nature*, 1966, 212: 1233—1234[[doi](#)]
- 48 Barrett E F, Stevens C F. The kinetics of transmitter release at the frog neuromuscular junction. *J Physiol*, 1972, 227: 691—708
- 49 Goda Y, Stevens C F. Two components of transmitter release at a central synapse. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 12942—12946[[doi](#)]
- 50 Cummings D D, Wilcox K S, Dichter M A. Calcium-dependent paired-pulse facilitation of miniature EPSC frequency accompanies depression of EPSCs at hippocampal synapses in culture. *J Neurosci*, 1996, 16: 5312—5323
- 51 Atluri P P, Regehr W G. Delayed release of neurotransmitter from cerebellar granule cells. *J Neurosci*, 1998, 18: 8214—8227
- 52 Lu T, Trussell L O. Inhibitory transmission mediated by asynchronous transmitter release. *Neuron*, 2000, 26: 683—694[[doi](#)]
- 53 Nelson S. Timing isn't everything. *Neuron*, 2000, 26: 545—546[[doi](#)]
- 54 Hagler D J Jr, Goda Y. Properties of synchronous and asynchronous release during pulse train depression in cultured hippocampal neurons. *J Neurophysiol*, 2001, 85: 2324—2334
- 55 Xu-Friedman M A, Regehr W G. Probing fundamental aspects of synaptic transmission with strontium. *J Neurosci*, 2000, 20: 4414—4422
- 56 Seung H S, Lee D D, Reis B Y, et al. Stability of the memory of eye position in a recurrent network of conductance-based model neurons. *Neuron*, 2000, 26: 259—271[[doi](#)]
- 57 Tegner J, Compte A, Wang X J. The dynamical stability of reverberatory neural circuits. *Biol Cybern*, 2002, 87: 471—481[[doi](#)]
- 58 Peng Y. Ryanodine-sensitive component of calcium transients evoked by nerve firing at presynaptic nerve terminals. *J Neurosci*, 1996, 16: 6703—6712
- 59 Llano I, González J, Caputo C, et al. Presynaptic calcium stores underlie large-amplitude miniature IPSCs and spontaneous calcium transients. *Nat Neurosci*, 2000, 3: 1256—1265[[doi](#)]
- 60 Simkus C R, Stricker C. The contribution of intracellular calcium stores to mEPSCs recorded in layer II neurones of rat barrel cortex. *J Physiol*, 2002, 545: 521—535[[doi](#)]
- 61 Verkhratsky A. The endoplasmic reticulum and neuronal calcium signalling. *Cell Calcium*, 2002, 32: 393—404[[doi](#)]
- 62 Zucker R S, Regehr W G. Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol*, 2002, 64: 355—405[[doi](#)]
- 63 Tsodyks M, Pawelzik K, Markram H. Neural networks with dynamic synapses. *Neural computation*, 1998, 10: 821—835[[doi](#)]
- 64 Tsodyks M, Uziel A, Markram H. Synchrony generation in recurrent networks with frequency-dependent synapses. *J Neurosci*, 2000, 20: RC50
- 65 Goda Y, Stevens C F. Long-term depression properties in a simple system. *Neuron*, 1996, 16: 103—111[[doi](#)]
- 66 Volman V, Gerkin R C, Lau P M, et al. Calcium and synaptic dynamics underlying reverberatory activity in neuronal networks. *Phys Biol*, 2007, 4: 91—103