

УДК 577.3;612.821.73

ОПТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ НЕЙРОНА ПОВЫШАЕТ В НЕМ УРОВЕНЬ АНТИАПОПТОЗНОГО БЕЛКА Bcl-xL

© 2017 Д.А. Ланшаков¹, У.С. Дрозд², Н.Н. Дыгало^{1,2*}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН,
630090 Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет, 630090 Новосибирск,
Россия; электронная почта: dygalo@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 09.09.16

Антиапоптотный белок Bcl-xL вовлечен в ряд нейропластических процессов, таких как формирование синапсов, регуляция спонтанных и вызванных синаптических ответов, высвобождение нейротрансмиттеров. Для многих белков, участвующих в регуляции нейропластичности, характерна зависимость их экспрессии от активности нейрона. Анализ неясного до последнего времени наличия такого свойства у белка Bcl-xL проводили путем оптогенетической стимуляции *in vivo* глутаматергических нейронов гиппокампа, экспрессирующих каналородопсин ChR2H134 под контролем САМКIIа промотора в составе аденоассоциированного вирусного вектора, с последующим иммуногистохимическим определением в этих нейронах и окружающих их клетках уровня белка Bcl-xL. Об активации этих нейронов гиппокампа синим светом свидетельствовало повышение в них уровня белка раннего ответа c-Fos. Оптогенетическая активация гиппокампа приводила к значительному увеличению уровня антиапоптотного белка Bcl-xL в фоточувствительных нейронах, а также в окружающих их клетках. Обнаруженная впервые зависимость уровня экспрессии белка Bcl-xL от активности нейрона свидетельствует о наличии у этого белка еще одного важного свойства, необходимого участнику процессов нейропластичности в мозге.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: белок Bcl-xL, белок c-Fos, вектор AAV, оптогенетика, гиппокамп, глутаматергический нейрон, зависимость от активности нейрона экспрессия гена.

Нейроны и их ансамбли способны изменять свои морфологические и функциональные параметры в ответ на приходящие к ним стимулы, что необходимо для нервной регуляции приспособительных реакций организма на меняющиеся условия внутренней и внешней среды. Это важнейшее свойство, нейропластичность, реализуется в зависимости от активности клеток мозга и заключается в формировании новых отростков и шипиков нейронов, а также синаптических контактов. Кроме того, уровень активности нейронов влияет на эффективность межнейронной передачи сигналов через перераспределение рецепторных белков в синаптических мембранах и изменение рециклирования везикул, высвобождающих нейротрансмиттеры в синаптическую щель. Обнаружено, что в некоторые из этих про-

цессов вовлечен антиапоптотный белок Bcl-xL. Оказалось, что, помимо своей основной функции – защиты клеток всех типов от программируемой гибели при действии апоптогенных факторов – он способен увеличивать число, размер и активность синапсов, повышать высвобождение нейротрансмиттеров, рециклирование синаптических везикул, а также усиливать спонтанные и вызванные синаптические ответы [1–4]. Эти функции Bcl-xL характерны для белков нейропластичности, участвующих в изменении свойств нейронов в зависимости от их разрядной активности. Однако в отличие от многих таких белков, наиболее изученными из которых являются белки раннего ответа [5–7], взаимосвязь уровня синтеза белка Bcl-xL с активностью нейрона оставалась не исследованной. Выяснение этой взаимосвязи затруднено регуляцией экспрессии этого белка многими другими стимулами, связанными, например, с защитой клеток от гибели [8] или с обеспечением их энергоресурсами в условиях функционального напряжения [9, 10]. Возможным подходом к решению этой проблемы может быть прямая стимуляция активности нейрона и определение в нем

Принятые сокращения: AAV – аденоассоциированные вирусы; ChR2 или ChR2H134 – краткое и полное обозначение каналородопсина-2 соответственно; YGF и EGFP – желтый и зеленый флуоресцентные белки соответственно; PBS – натрий-фосфатный буфер; PBST – PBS, содержащий 0,1% Triton X-100.

* Адресат для корреспонденции.

экспрессии белка Vcl-xL. Избирательная активация лишь маркированных нейронов и селективная оценка уровня в них анализируемого белка может быть достигнута совместным применением методов оптогенетики и иммуногистохимии. Поэтому в данной работе исследовали влияние оптогенетической активации глутаматергических нейронов гиппокампа на уровень в них иммуногистохимически выявляемого белка Vcl-xL.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Вирусные векторы были собраны на основе плазмид, созданных группой К. Дейссерот и полученных от фирмы «Addgen» (США). Аденоассоциированные вирусы (AAV) смешанного 1–2-го серотипов получали путем трансфекции клеток НЕК29 смесью плазмид для сборки вируса (pDP1 и pDP2), а также плазмиды pAAV-САМКIIа-ChR2H134-YFP, несущей последовательность каналородопсина ChR2H134 и желтого флуоресцентного белка (YFP) с помощью полиэтиленimina [11]. В качестве контроля использовали вектор AAV-САМКIIа-EGFP, содержащий, как и опто-вектор, флуоресцентный белок под регуляцией того же промотора, но не кодирующий фотоканал. Вирусные частицы очищали на гепарин-сефарозных колонках и концентрировали при помощи центрифужных концентраторов Millipore до титра 10^{11} . Экспрессия трансгена в этих векторах контролируется промотором САМКIIа, активным только в глутаматергических нейронах. Вирусные векторы pAAV-САМКIIа-ChR2H134-YFP и AAV-САМКIIа-EGFP вводили по 5 μ л в боковые желудочки головного мозга 3-дневных крысят опытной и контрольной групп соответственно под холодным наркозом в модифицированном стереотаксическом приборе, как описано ранее [12, 13].

Влияние фотостимуляции на экспрессию белка раннего ответа c-Fos и белка Vcl-xL в гиппокампе анализировали через три недели после введения векторов в мозг животных. Для этого животных обеих групп, получавших инъекции векторов с фото-каналом (ChR2) (опытная группа) или только с зеленым флуоресцентным белком (EGFP) (контрольная группа), наркотизировали уретаном и помещали в стереотаксический прибор. Через небольшое отверстие, расположенное над гиппокампом, в его CA1-область вводили оптовод (A1 \times 16–5mm–100–177–OA16LP, «NeuroNexus Technologies», США) позволяющий осуществлять фотостимуляцию ткани (480 нм, 1,2 мВ/мм², 20 имп./с, 5 мин, источник синего света – фотодиод, «Thorlabs», США) в области расположения окончания оптоволокон.

Через 30 мин после завершения оптической стимуляции исследовали иммунореактивность белков c-Fos и Vcl-xL в гиппокампе. Для этого животных наркотизировали авертином и транскардиально перфузировали PBS, содержащим 4% параформальдегид. Мозг постфиксировали в течение 4 ч в 4%-ном параформальдегиде и делали срезы толщиной 300 мкм на вибраторе («Microm», Германия).

Иммуногистохимическое выявление белков проводили согласно общепринятым методикам [7]. Срезы промывали дважды по 15 мин PBS, содержащим 0,1% Triton X-100 (PBST). Неспецифическое связывание блокировали инкубацией срезов в 1,5% бычьего сывороточного альбумина в PBST в течение 2 ч. После этого срезы инкубировали с первичными антителами («Cell Signaling», США) в разведении 1 : 500 в течение ночи при 4° С. Затем срезы промывали трижды по 15 мин в PBST и инкубировали 4 ч со вторичными антителами, конъюгированными с Alexa Fluor 568 («Jackson Immunoresearch», США) в разведении 1 : 500. Далее срезы промывали, монтировали на стекла и заключали в среду с ядерным красителем DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole). Препараты фотографировали при помощи конфокального микроскопа LSM510META («Carl Zeiss», Германия), оснащенного лазерами с длинами волн 405, 488 и 533 нм. Для анализа изображений использовали программу ZEN («Carl Zeiss», Германия). На 8–10 образцах каждой экспериментальной группы животных (опытной и контрольной) определяли нормированное на 1 мм² количество всех иммунопозитивных клеток по целевым белкам (c-Fos или Vcl-xL) как при наличии в клетке флуоресцентного маркера, так и без него. Кроме того, отдельно подсчитывали количество клеток совместно экспрессирующих один из целевых белков и флуоресцентно маркированный трансген ChR2 или EGFP. Количественные данные представлены в виде среднего значения (M) \pm стандартное отклонение от среднего. Различия между опытной и контрольной группами по общему количеству клеток, позитивных по целевому белку, а также по количеству клеток, экспрессирующих этот белок совместно с флуоресцентным маркером экспрессии AAV-вектора, оценивали по *t*-критерию Стьюдента и считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Введение в мозг неонатальных крысят AAV-векторов, несущих последовательности, кодирующие флуоресцентные белки, через 3 недели приводило к появлению в среднем по 35–40 флуоресцентно-меченных клеток на 1 мм² области

гиппокампа, которую освещали синим светом. Иммуногистохимическое окрашивание белка раннего ответа c-Fos обнаружило его присутствие как в фоточувствительных клетках, так и в небольшом числе клеток, не содержащих флуоресцентную метку фоточувствительного канала ChR2 (рис. 1). При освещении синим светом на препаратах опытной группы животные, которым вводили вектор, кодирующий канал ChR2, как общее число c-Fos-положительных клеток ($p < 0,03$), так и особенно клеток, совместно экспрессирующих c-Fos и флуоресцентный маркер вектора ($p < 0,0001$), были существенно выше по сравнению с аналогичными препаратами контрольной группы животных, получавших лишь флуоресцентный белок EGFP. Результаты эксперимента, представленные на рис. 1, позволяют заключить, что увеличение числа c-Fos-положительных клеток в опытной группе достигалось за счет клеток, экспрессирующих этот канал.

Иммуногистохимическое окрашивание белка Vcl-xL также обнаружило его присутствие, как в фоточувствительных клетках, так и в клетках, не содержащих флуоресцентную метку. Выявляемое путем иммуногистохимического анализа количество белка Vcl-xL в препаратах, некоторые клетки которых экспрессируют вектор с каналом ChR2, присутствовало также во многих клетках, не маркированных фоточувствительным вектором (рис. 2). На освещенных синим светом препаратах опытной группы как число клеток, совместно экспрессирующих ан-

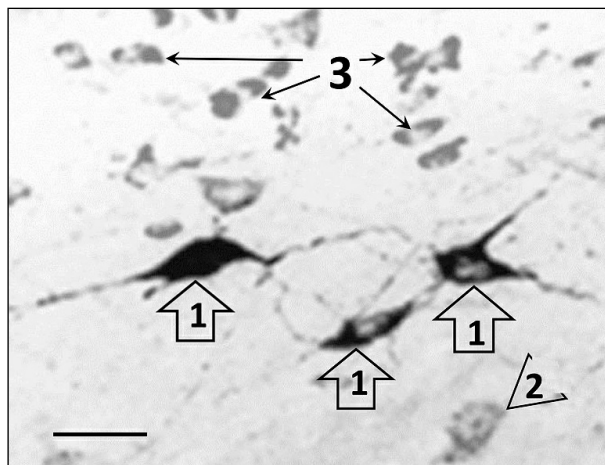


Рис. 2. Репрезентативная микрофотография Vcl-xL-иммуноположительных клеток на препарате, обработанном AAV-вектором, кодирующим фоточувствительный ионный канал (ChR2-AAV), после освещения синим светом. 1 – клетки, экспрессирующие ChR2-AAV и белок Vcl-xL; 2 – клетка, синтезирующая только ChR2-AAV; 3 – клетки, продуцирующие только белок Vcl-xL. Масштабная линейка – 20 мкм

тиапоптозный белок и флуоресцентный маркер вектора ($p < 0,001$), так и особенно общее количество Vcl-xL-положительных клеток ($p < 0,001$), были существенно выше, чем на аналогичных препаратах контрольной группы (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Повышение экспрессии белка раннего ответа c-Fos после стимуляции синим светом глутаматергических нейронов гиппокампа, в которых промотор САМКIIa обеспечивает экспрессию фотоканала ChR2, ясно свидетельствует об оптогенетической активации этих нейронов. Белок c-Fos является фактором транскрипции, экспрессия которого в нейронах даже без внешней стимуляции коррелирует с их спонтанной разрядной активностью [5, 6]. Как было показано во многих исследованиях, оптогенетическая стимуляция клеток мозга, экспрессирующих каналородопсин, совместно с повышением разрядной активности нейронов увеличивает в них и уровень синтеза этого белка раннего ответа [14, 15].

В данной работе впервые обнаружено, что оптогенетическая стимуляция активности глутаматергических нейронов гиппокампа приводит к значительному увеличению уровня продукции антиапоптозного белка Vcl-xL в фоточувствительных нейронах, а также в окружающих их клетках. Это повышение наблюдалось менее чем через час после начала стимуляции нейронов и, следовательно, укладывалось во времен-

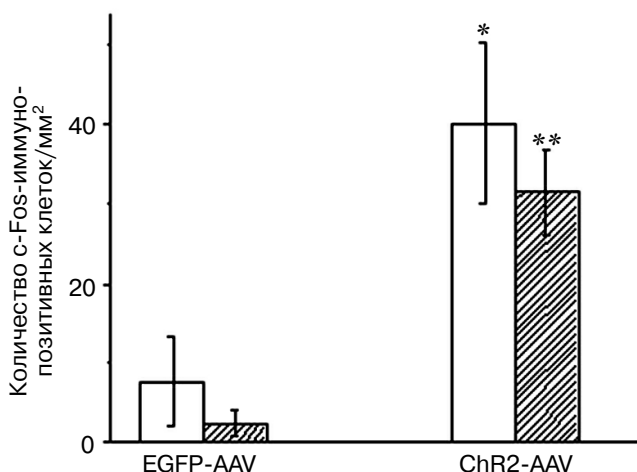


Рис. 1. Количество c-Fos-иммуноположительных клеток на препаратах, обработанных AAV-векторами, кодирующими флуоресцентный белок (EGFP-AAV) или фоточувствительный ионный канал (ChR2-AAV), после освещения их синим светом. Белые столбцы – общее число c-Fos-положительных клеток, заштрихованные столбцы – число c-Fos-положительных клеток, экспрессирующих AAV-вектор. * $p < 0,03$; ** $p < 0,0001$ по сравнению с соответствующими показателями группы EGFP-AAV

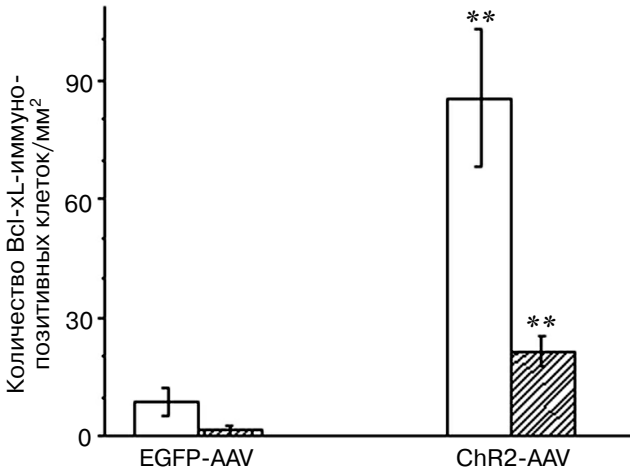


Рис. 3. Количество Vcl-xL-иммунопозитивных клеток на препаратах, обработанных AAV-векторами, кодирующими флуоресцентный белок (EGFP-AAV) или фоточувствительный ионный канал (ChR2-AAV), после освещения их синим светом. Белые столбцы – общее число Vcl-xL позитивных клеток, заштрихованные столбцы – число Vcl-xL-позитивных клеток, экспрессирующих AAV-вектор. ** $p < 0,001$ по сравнению с соответствующими показателями группы EGFP-AAV

ной режим индукции белков раннего ответа, таких как, например, исследованного во многих, в том числе и в наших экспериментах, белка c-Fos. Быстрое увеличение уровня белка Vcl-xL при стимуляции активности нейронов наряду с уже отмеченной его способностью повышать число, размер и активность синапсов, высвобождение нейротрансмиттеров, рециклирование синаптических везикул, а также спонтанные и вызванные синаптические ответы [1–4] дополняет спектр его свойств, характерных для белков, участвующих в процессах нейропластичности, изменяющих структуру и свойства нейронов при их активации. Вышеперечисленные свойства могут лежать в основе отмеченной ранее ассоциации повышенной экспрессии этого белка с психоэмоциональной и нейрохимической устойчивостью в условиях кратковременного стресса, а также при действии антидепрессантов [16–19].

Путь от деполяризации клеточной мембраны, вызываемой поступлением в цитоплазму положительно заряженных ионов при активации синим светом каналородопсина ChR2 [20], до изменения экспрессии генов нейрона является активно изучаемым, но еще не полностью ясным комплексом внутриклеточных событий. Основными этапами этих событий считаются приток ионов кальция вследствие разрядной активности нейронов, запуск каскадов Ca-зависимых киназ и далее стимуляция киназами факторов транскрипции [21]. Так, например, транскрипционный фактор CREB принимает участие

в регуляции экспрессии белка c-Fos, зависимой от активности нейрона [22]. Другим участником быстрой регуляции экспрессии генов при повышении частоты разрядов нейронов является также транскрипционный фактор NF-κB [23], который наряду с c-Fos регулирует синтез белка Vcl-xL [24, 25]. Однако следует отметить, что участие этих транскрипционных факторов в изменении уровня продукции белка Vcl-xL при повышении активности нейрона, обнаруженного впервые в данной работе, лишь предполагается и нуждается в экспериментальной проверке.

Интересным фактом явилось вызванное светом повышение содержания белка Vcl-xL в нечувствительных к нему клетках на препаратах, в которых присутствовали нейроны, экспрессирующие фоточувствительный канал. Этот неожиданный, на первый взгляд, результат, очевидно, может найти свое объяснение в восприятии клетками, окружающими фоточувствительный нейрон, повышения его активности, индуцированного светом. Например, астроциты чувствительны к активности расположенных рядом с ними нейронов. Стимуляция нейронов вызывает изменение электрофизиологических характеристик астроцитов, а также концентрации ионов Ca^{2+} в них при культивировании этих клеток и срезов мозга *in vitro* [26]. Астроциты гиппокампа и, в частности его CA1-поля, отвечают на вызванное стимуляцией изменение концентрации ионов Ca^{2+} в межклеточном пространстве генерацией так называемой «кальциевой волны», которая быстро распространяется и вовлекает в сферу действия первоначального активирующего стимула дополнительные клетки, которые непосредственно с ним не соприкасались [27]. Учитывая, что первой стадией индукции экспрессии генов, зависимой от активности клетки, является повышение в цитоплазме концентрации ионов Ca^{2+} [21], «кальциевая волна» представляется вполне возможной причиной увеличения уровня белка Vcl-xL в клетках, лишенных фотоканала.

В целом результаты работы свидетельствуют, что экспрессия белка Vcl-xL быстро, менее чем за 1 ч, увеличивается более чем на порядок в фоточувствительных глутаматергических нейронах гиппокампа при их оптогенетической стимуляции. Впервые обнаруженная зависимость уровня экспрессии белка Vcl-xL от активности нейрона дополняет его свойства в качестве участника процессов нейропластичности в мозге.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 14-15-00115).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Jonas, E. (2006) Bcl-xL regulates synaptic plasticity, *Mol. Interv.*, **6**, 208–222.
- Gal, A., Pentelenyi, K., Remenyi, V., Wappler, E.A., Safrany, G., Skopal, J., and Nagy, Z. (2009) Bcl-2 or Bcl-xL gene therapy increases neural plasticity proteins nestin and c-fos expression in PC12 cells, *Neurochem. Int.*, **55**, 349–353.
- Li, H., Chen, Y., Jones, A.F., Sanger, R.H., Collis, L.P., Flannery, R., McNay, E.C., Yu, T., Schwarzenbacher, R., Bossy, B., Bossy-Wetzell, E., Bennett, M.V., Pypaert, M., Hickman, J.A., Smith, P.J., Hardwick, J.M., and Jonas, E.A. (2008) Bcl-xL induces Drp1-dependent synapse formation in cultured hippocampal neurons, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 2169–2174.
- Li, H., Alavian, K.N., Lazrove, E., Mehta, N., Jones, A., Zhang, P., Licznarski, P., Graham, M., Uo, T., Guo, J., Rahner, C., Duman, R.S., Morrison, R.S., and Jonas, E.A. (2013) A Bcl-xL-Drp1 complex regulates synaptic vesicle membrane dynamics during endocytosis, *Nat. Cell. Biol.*, **15**, 773–785.
- Yassin, L., Benedetti, B.L., Jouhanneau, J.S., Wen, J.A., Poulet, J.F., and Barth, A.L. (2010) An embedded subnetwork of highly active neurons in the neocortex, *Neuron*, **68**, 1043–1050.
- Peter, M., Bathellier, B., Fontinha, B., Pliota, P., Haubensak, W., and Rumpel, S. (2013) Transgenic mouse models enabling photolabeling of individual neurons *in vivo*, *PLoS One*, **8**, e62132.
- Lanshakov, D.A., Sukhareva, E.V., Kalinina, T.S., and Dygalo, N.N. (2016) Dexamethasone-induced acute excitotoxic cell death in the developing brain, *Neurobiol. Dis.*, **91**, 1–9.
- Formentini, L., Pereira, M.P., Sanchez-Cenizo, L., Santacatterina, F., Lucas, J.J., Navarro, C., Martinez-Serrano, A., and Cuezva, J.M. (2014) In vivo inhibition of the mitochondrial H⁺-ATP synthase in neurons promotes metabolic preconditioning, *EMBO J.*, **33**, 762–778.
- Du, J., McEwen, B., and Manji, H.K. (2009) Glucocorticoid receptors modulate mitochondrial function: a novel mechanism for neuroprotection, *Commun. Integr. Biol.*, **2**, 350–352.
- Du, J., Wang, Y., Hunter, R., Wei, Y., Blumenthal, R., Falke, C., Khairova, R., Zhou, R., Yuan, P., Machado-Vieira, R., McEwen, B.S., and Manji, H.K. (2009) Dynamic regulation of mitochondrial function by glucocorticoids, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 3543–3548.
- McClure, C., Cole, K.L., Wulff, P., Klugmann, M., and Murray, A.J. (2011) Production and titration of recombinant adeno-associated viral vectors, *J. Vis. Exp.*, **27**, e3348.
- Shishkina, G.T., Kalinina, T.S., and Dygalo, N.N. (2004) Attenuation of alpha2A-adrenergic receptor expression in neonatal rat brain by RNA interference or antisense oligonucleotide reduced anxiety in adulthood, *Neuroscience*, **129**, 521–528.
- Dygalo, N.N., Kalinina, T.S., and Shishkina, G.T. (2008) Neonatal programming of rat behavior by downregulation of alpha2A-adrenoreceptor gene expression in the brain, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1148**, 409–414.
- Ramirez, S., Liu, X., MacDonald, C.J., Moffa, A., Zhou, J., Redondo, R.L., and Tonegawa, S. (2015) Activating positive memory engrams suppresses depression-like behavior, *Nature*, **522**, 335–339.
- Lanshakov, D.A., Drozd, U.S., Zapara, T.A., and Dygalo, N.N. (2016) Transfer of optogenetic vectors into the brain of neonatal animals to study neuron functions during subsequent periods of development, *Vavilov J. Genet. Breed.*, **20**, 255–261.
- Shishkina, G.T., Kalinina, T.S., Berezova, I.V., Bulygina, V.V., and Dygalo, N.N. (2010) Resistance to the development of stress-induced behavioral despair in the forced swim test associated with elevated hippocampal Bcl-xL expression, *Behav. Brain Res.*, **213**, 218–224.
- Dygalo, N.N., Kalinina, T.S., Bulygina, V.V., and Shishkina, G.T. (2012) Increased expression of the anti-apoptotic protein Bcl-xL in the brain is associated with resilience to stress-induced depression-like behavior, *Cell. Mol. Neurobiol.*, **32**, 767–776.
- Shishkina, G.T., Kalinina, T.S., Berezova, I.V., and Dygalo, N.N. (2012) Stress-induced activation of the brainstem Bcl-xL gene expression in rats treated with fluoxetine: correlations with serotonin metabolism and depressive-like behavior, *Neuropharmacology*, **62**, 177–183.
- Shishkina, G.T., Kalinina, T.S., Bulygina, V.V., Lanshakov, D.A., Babluk, E.V., and Dygalo, N.N. (2015) Anti-apoptotic protein Bcl-xL expression in the midbrain raphe region is sensitive to stress and glucocorticoids, *PLoS One*, **10**, e0143978.
- Tye, K.M., and Deisseroth, K. (2012) Optogenetic investigation of neural circuits underlying brain disease in animal models, *Nat. Rev. Neurosci.*, **13**, 251–266.
- Kawashima, T., Okuno, H., and Bito, H. (2014) A new era for functional labeling of neurons: activity-dependent promoters have come of age, *Front. Neural. Circuits*, **23**, doi: 10.3389/fncir.2014.00037.
- Cohen, S., and Greenberg, M.E. (2008) Communication between the synapse and the nucleus in neuronal development, plasticity, and disease, *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, **24**, 183–209.
- de la Fuente, V., Federman, N., Zalzman, G., Salles, A., Freudenthal, R., and Romano, A. (2015) NF- κ B transcription factor role in consolidation and reconsolidation of persistent memories, *Front. Mol. Neurosci.*, **9**, doi: 10.3389/fnmol.2015.00050.
- Grillot, D.A., Gonzalez-Garcia, M., Ekhterae, D., Duan, L., Inohara, N., Ohta, S., Seldin, M.F., and Nunez, G. (1997) Genomic organization, promoter region analysis, and chromosome localization of the mouse bcl-x gene. *J. Immunol.*, **158**, 4750–4757.
- Grad, J.M., Zeng, X.R., and Boise, L.H. (2000) Regulation of Bcl-xL: a little bit of this and a little bit of STAT, *Curr. Opin. Oncol.*, **12**, 543–549.
- Schipke, C.G., and Kettenmann, H. (2004) Astrocyte responses to neuronal activity, *Glia*, **47**, 226–232.
- Croft, W., Dobson, K.L., and Bellamy, T.C. (2015) Plasticity of neuron-glia transmission: equipping glia for long-term integration of network activity, *Neural Plast.*, doi: 10.1155/2015/765792.

OPTOGENETIC STIMULATION INCREASES ANTIAPOPTOTIC PROTEIN Bcl-xL LEVEL IN NEURONS

D. A. Lanshakov¹, U. S. Drozd², and N. N. Dygalo^{1,2*}

¹ *Institute of Cytology and Genetics, Russian Academy of Science,
Siberian Branch, 630090 Novosibirsk, Russia*

² *Novosibirsk State University, 630090 Novosibirsk,
Russia; E-mail: dygalo@bionet.nsc.ru*

Received September 9, 2016

In the brain, the antiapoptotic protein Bcl-xL is involved in many processes, such as synaptogenesis, regulation of spontaneous and evoked synaptic responses, and release of neurotransmitters that contribute to neuroplasticity. Many neuroplasticity proteins are characterized by dependence of their expression on neuronal activity. Whether the Bcl-xL protein also has such property was analyzed by *in vivo* optogenetic stimulation of hippocampal glutamatergic neurons expressing channelrhodopsin ChR2H134 under CAMKII α promoter in the adeno-associated viral vector, and immunohistochemical determination of the Bcl-xL protein level in these neurons and surrounding cells. An increase in the levels of the early response protein c-Fos in the photosensitive hippocampal neurons confirmed their activation by blue light. Optogenetic stimulation of the hippocampus also resulted in a significant increase in the levels of the antiapoptotic protein Bcl-xL in the photosensitive neurons, as well as in the surrounding cells. The activity-dependent expression of antiapoptotic protein Bcl-xL in neurons, found in the present work, support its role as a neuroplasticity protein in the brain.

Keywords: protein Bcl-xL, protein c-Fos, AAV vector, optogenetics, hippocampal glutamatergic neuron, activity-dependent protein expression