

**Белки теплового шока в механизмах стресс-адаптации  
у байкальских амфипод  
и палеарктического *Gammarus lacustris* Sars:  
I. Семейство БТШ70**

Ж. М. ШАТИЛИНА<sup>1,2</sup>, Т. П. ПОБЕЖИМОВА<sup>3</sup>, О. И. ГРАБЕЛЬНЫХ<sup>3</sup>, Д. С. БЕДУЛИНА<sup>2</sup>,  
М. В. ПРОТОПОПОВА<sup>2</sup>, В. В. ПАВЛИЧЕНКО<sup>2</sup>, М. А. ТИМОФЕЕВ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Байкальский исследовательский центр  
664003, Иркутск, ул. К. Маркса, 5–10

<sup>2</sup> Иркутский государственный университет  
664003, Иркутск, ул. К. Маркса, 2

<sup>3</sup> Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН  
664033, Иркутск, ул. Лермонтова, 132

**АННОТАЦИЯ**

Изучали участие белков семейства БТШ70 в механизмах стресс-адаптации при воздействии температурного и токсического стрессов у байкальских эндемичных и палеарктических организмов. Четыре эндемичных вида оз. Байкал – *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.), *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb.), *E. vittatus* (Dyb.), *Ommatogammarus flavus* (Dyb.) сравнивали с представителем палеарктической фауны *Gammarus lacustris* Sars. Определяли характер синтеза белков теплового шока семейства БТШ70 при воздействии температурного (экспозиция при температуре 20, 25, 30 °С) и токсического (экспозиция в растворах CdCl<sub>2</sub> концентрации: 50, 10, 5, 0,5 и 0,05 мг/л) стрессов. Показана общая для всех исследованных видов тенденция к увеличению содержания БТШ70, при этом отмечены некоторые видоспецифичные особенности характера синтеза исследуемого белка. Сделан вывод об участии БТШ70 в механизмах термо- и токсикорезистентности у исследованных видов амфипод.

**Ключевые слова:** стресс-резистентность, белки теплового шока (БТШ), амфиподы, Байкал, эндемики.

Белки теплового шока (БТШ) – одни из базовых элементов системы стрессовой защиты организмов, позволяющие им выжить при изменении условий окружающей среды. Впервые БТШ обнаружены Ф. Ритоззой в 1962 г.

на полигенных хромосомах слюнных желез личинок дрозофилы [1]. Синтез этих белков индуцируется широким кругом стрессоров и абиотической, и биотической природы. Так, индукция синтеза БТШ происходит при температурном, окислительном и токсическом воздействиях, засолении, заражении паразитами и т. д. [2–7].

Известно, что БТШ синтезируются и у организмов, не подверженных негативному воздействию (конститутивный синтез), выполняя функцию шаперонов [8, 9]. Благода-

Шатилина Жанна Михайловна  
Побежимова Тамара Павловна  
Грабельных Ольга Ивановна  
Бедулина Дарья Сергеевна  
Протопопова Марина Владимировна  
Павличенко Василий Валерьевич  
Тимофеев Максим Анатольевич

ря шапероновой активности происходит: 1) поддержание клеточных белков в свернутом или несвернутом состоянии; 2) локализация белков в органеллах, их импорт и/или экспорт; 3) снижение агрегации ненативных белков; 4) направление ненативных или агрегированных белков на деградацию и удаление из клетки [7].

БТШ по молекулярной массе и выполняемым функциям разделены на несколько семейств: БТШ90 (с молекулярной массой 90 кДа), БТШ70 (70 кДа), БТШ60 (60 кДа), низкомолекулярные БТШ (43–12 кДа) [3, 10].

Из всех групп стрессовых белков семейство БТШ70, или шапероны, – самая многочисленная. Представители семейства БТШ70 высококонсервативны и наиболее изучены у живых организмов разных типов. Их основной функцией является связывание клеточных белков, регулировка их укладки, транспорта и восстановления [2, 11]. В клетках эукариот шапероны выполняют также важную роль в транспорте белков через мембраны митохондрий, хлоропластов и эндоплазматического ретикулума [12–14].

При влиянии неблагоприятных условий окружающей среды синтез белков семейства БТШ70 возрастает [3, 15]. Цитоплазматические БТШ70 мигрируют в ядро, где связываются с прерибосомами и другими белковыми комплексами, чтобы защитить их от денатурации [2, 16]. Они предотвращают формирование нерастворимых комплексов, которые оказывают негативное влияние на клетки [17, 18], могут разрушать их и позволяют поврежденным белкам достигать первоначальной биологической активности [19, 20]. Кроме того, направляют поврежденные белки в лизосомы, где белки разрушаются [21].

Уровень индукции БТШ зависит от способности организмов переносить воздействие стрессовых факторов [3, 7, 22, 23]. Индукция синтеза БТШ слабыми стрессовыми воздействиями позволяет организмам приобрести устойчивость к более сильному воздействию [3, 24]. Уровень стрессового воздействия, необходимый для индукции БТШ, видоспецифичен и зависит от условий обитания организмов [7].

Несмотря на то, что БТШ70 наиболее изучены у организмов разных типов, их

функционирование у байкальских организмов исследовано недостаточно.

Цель данной работы – изучение участия белков семейства БТШ70 в механизмах стресс-адаптации при температурном и токсическом воздействии у байкальских эндемичных и палеарктических организмов.

#### ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовали амфиподы (Crustacea, Amphipoda), широко распространенные в водоемах различных типов. В Байкале это одна из самых многочисленных групп организмов – более 350 видов [25], населяющих все типы грунтов и глубины озера. Каждой зоне глубин и каждому виду грунта соответствует свой уникальный комплекс видов. В большинстве своем байкальские амфиподы стенобионты, узко приспособленные к условиям зон обитания и негативно переносящие отклонения от них [26]. У ряда видов отмечены крайне слабые резистентные способности, хотя отмечены виды по адаптационным способностям близкие к космополитам, а в некоторых случаях и превосходящие их [26].

В исследовании использовали четыре эндемичных вида амфипод оз. Байкал – *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.), *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb.), *E. vittatus* (Dyb.), *Ommatogammarus flavus* (Dyb.), которые сравнивали с представителем палеарктической фауны *Gammarus lacustris* Sars.

Палеарктический *G. lacustris* – типичный обитатель мелководных континентальных водоемов и, согласно экспериментальным данным, наиболее устойчив к воздействию стрессовых факторов [26]. Байкальский *G. fasciatus* – обитатель зоны литорали, относится к немногочисленной в Байкале группе эврибионтов. Вид интродуцирован в водоемы европейской и азиатской частей России, где широко распространился и даже расселился за пределы водоемов первоначальной интродукции [27]. *E. cyaneus*, как и предыдущий вид, обитает в литорали, распространяется за пределы Байкала по р. Ангаре на расстояние до 600 км [28, 29]. Эти два байкальских вида обладают широкой экологической пластичностью и устойчивы к воздействию неблагоприятных факторов [30]. *O. flavus* – эври-

батный вид с глубиной обитания 2,5–1313 м, преобладает в зоне 100–600 м на илистом грунте [31, 32]. Высокочувствителен к воздействию абиотических факторов [33]. *E. vittatus* – литоральный вид, основная зона обитания его сообществ расположена ниже уреза воды на глубине 2–3 м. Распространен по всему Байкалу, а также в р. Ангаре. По резистентным способностям занимает промежуточное положение между *E. cyaneus* и *O. flavus* [26, 29]. Таким образом, выбранные виды амфипод различаются по своим экологическим и резистентным характеристикам [26].

Байкальских амфипод отлавливали в прибрежной зоне в районе поселков Листвянка (Южный Байкал) и Большие Коты, *G. lacustris* – в районе пос. Большие Коты (Южный Байкал). Сбор амфипод проводили с использованием гидробиологического сачка, глубоководный вид отлавливали с помощью глубоководных ловушек. Перед экспериментами проводили преакклимацию амфипод в лабораторных условиях: отдельно по видам, в аэрируемых аквариумах, при температуре 6–7 °С не менее 1–2 сут. При данных условиях у рачков наблюдали равномерный рост и высокую двигательную активность. Во всех экспериментах использовали здоровых и активно плавающих особей.

Оценку температурного воздействия проводили экспонированием амфипод в термостатируемых камерах при температурах в диапазоне 20–30 °С (в зависимости от отношения того или иного вида к повышенной температуре). Влияние токсического стресса оценивали экспонированием амфипод в растворах хлорида кадмия с концентрациями 50, 10, 5, 0,5 и 0,05 мг/л при температуре 6–7 °С. Для сравнения параллельно с экспериментальными группами проводили экспозицию рачков в нормальных (не стрессовых) условиях с постоянной аэрацией при температуре 6–7 °С. Длительность экспериментов составляла от 30 мин до 3 сут. После экспериментов рачков замораживали в жидком азоте и анализировали уже недифференцируемые ткани.

Суммарный белок выделяли в 0,1 М Трис-НСI буфере (рН 7,6). Гомогенат центрифугировали 15 мин при 7000 g, осадок растворяли в буфере для образца (рН 6,8), содержа-

щем 1 mM ЭДТА, 1% ДДС-На, 20 % глицерин, 5 % β-меркаптоэтанол, 0,001 % бромфеноловый синий. Полученные белковые пробы хранили при температуре –20 °С. Количество белка в пробах определяли по методу Лоури [34] при длине волны 750 нм.

Характер синтеза БТШ70 определяли стандартным методом денатурирующего электрофореза с ДДС-На в 12,5 % полиакриламидном геле [35] с последующим Вестерн-блоттингом [36] с антителами к БТШ70 (monoclonal anti-heat shock protein 70 clone BRM-22, Sigma Chemical Co). Полуколичественный анализ содержания белка на мембранах проводили с помощью программы Gel Explorer. Относительное количество белка выражено в условных единицах (усл. ед.).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Влияние повышенной температуры на содержание БТШ70.** У амфипод *G. lacustris* отмечали конститутивный синтез белка семейства БТШ70 с молекулярной массой 66,2 кДа (рис. 1). Экспозиция рачков при 30 °С уже после 30 мин вызывала увеличение содержания БТШ70. Через 1 ч экспозиции происходило многократное увеличение БТШ70, через 3 ч рост уровня БТШ70 продолжался.

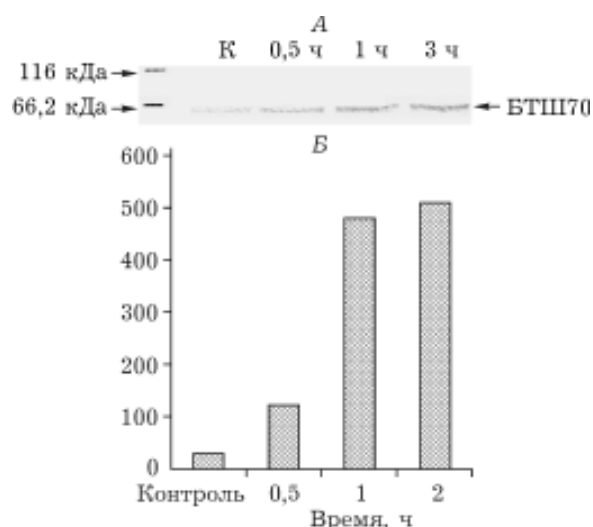


Рис. 1. Вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *G. lacustris* (А), экспонированных при температуре 30 °С. Слева приведены маркеры молекулярных масс; изменение количества БТШ70 у амфипод вида *G. lacustris* (Б), экспонированных при температуре 30 °С (усл. ед.)

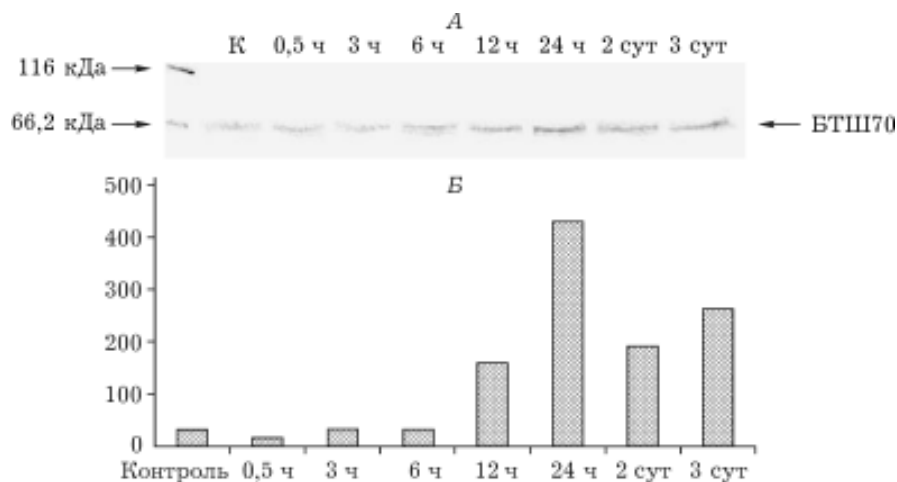


Рис. 2. Вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *G. fasciatus* (А), экспонированных при температуре 25 °С. Слева приведены маркеры молекулярных масс; изменение количества БТШ70 у амфипод вида *G. fasciatus* (Б), экспонированных при температуре 25 °С (усл. ед.)

У амфипод *G. fasciatus* также присутствует конститутивный синтез БТШ70. Увеличение содержания происходило через 12 ч экспозиции, а его максимум наблюдали у амфипод, экспонированных в течение 24 ч. При дальнейшей экспозиции происходило незначительное снижение содержания БТШ70, которое, тем не менее, оставалось выше конститутивного (рис. 2).

У амфипод *E. suaneus* наблюдали конститутивный синтез БТШ70 (рис. 3). Экспозиция

при температуре 25 °С вызывала постепенное равномерное увеличение содержания БТШ70 с молекулярной массой 66,2 кДа, максимальное его содержание наблюдали к окончанию эксперимента (24 ч).

Для амфипод *E. vittatus* также характерен конститутивный синтез белка семейства БТШ70 с молекулярной массой 66,2 кДа (рис. 4). Через 6 ч экспозиции при 25 °С происходило увеличение содержания исследуемого белка.

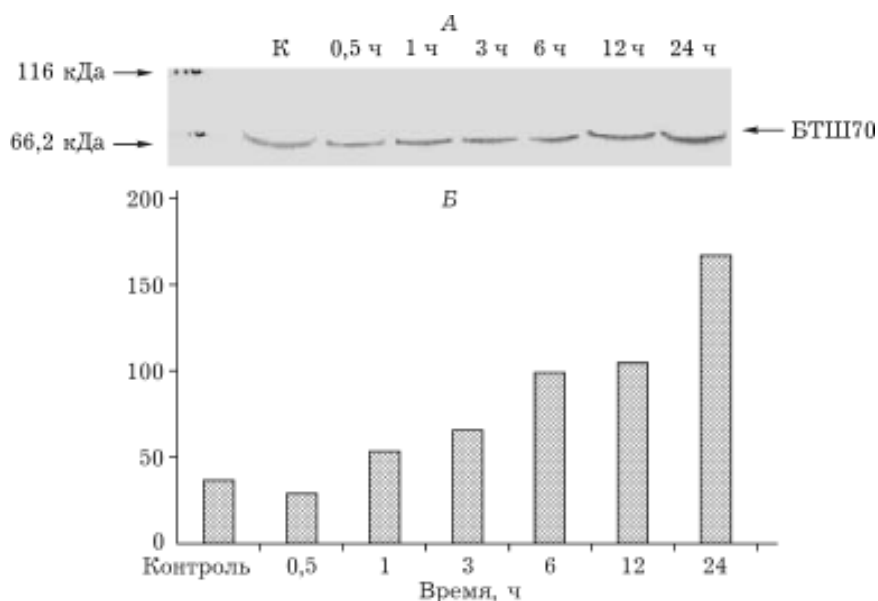


Рис. 3. Вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *E. suaneus* (А), экспонированных при температуре 25 °С. Слева приведены маркеры молекулярных масс; изменение количества БТШ70 у амфипод вида *E. suaneus* (Б), экспонированных при температуре 25 °С (усл. ед.)

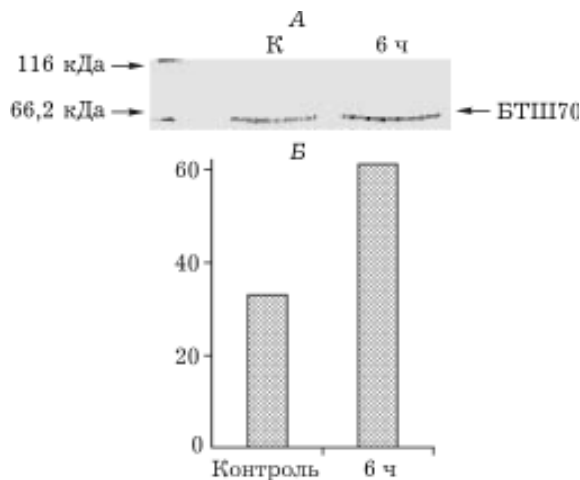


Рис. 4. Вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *E. vittatus* (А), экспонированных при температуре 25 °С. Слева приведены маркеры молекулярных масс; изменение количества БТШ70 у амфипод вида *E. vittatus* (Б), экспонированных при температуре 25 °С (усл. ед.)

У амфипод *O. flavus* конститутивный синтез БТШ70 отсутствует (рис. 5). В детектируемых количествах белок отмечали через 3 ч экспозиции при 20 °С, после 9 ч содержание белка многократно увеличивалось, после 12 ч – немного снижалось.

**Влияние токсического стресса на содержание БТШ70.** У амфипод *G. lacustris* экспозиция в растворах хлористого кадмия с концентрацией 0,5 мг/л вызывала небольшое увеличение содержания БТШ70 через 1 ч

(рис. 6), его максимум отмечали к окончанию эксперимента (12 ч).

У амфипод *G. fasciatus*, экспонированных при тех же условиях, через 6 ч содержание исследуемого белка незначительно увеличилось и к 24 ч экспозиции достигло своего максимального значения (рис. 7).

Амфиподы *E. cyaneus* экспонировали в растворах хлористого кадмия четырех концентраций: 50, 10, 5 и 0,5 мг/л. Растворы с концентрацией 0,5 мг/л вызывали незначительное увеличение содержания БТШ70 через 6 ч экспозиции (рис. 8, А). Растворы с концентрацией 5 мг/л вызывали увеличение содержания БТШ70 уже через 30 мин, а максимум – через 12 ч экспозиции (рис. 8, Б). У амфипод, экспонированных в растворах с концентрацией 10 мг/л, происходило резкое и многократное увеличение содержания БТШ70 уже через 30 мин экспозиции, через 24 ч отмечали его максимальное содержание (рис. 8, В). В растворах с концентрацией 50 мг/л наблюдалось незначительное увеличение содержания БТШ70 через 30 мин экспозиции, максимальное – через 3 ч (рис. 8, Г).

У амфипод *E. vittatus* через 1 ч экспозиции изменения содержания БТШ70 не происходило, тогда как через 24 ч оно увеличилось многократно (рис. 9).

Вид *O. flavus* в течение 1 ч увеличения содержания БТШ70 не показал, через 24 ч экспозиции в данных условиях произош-

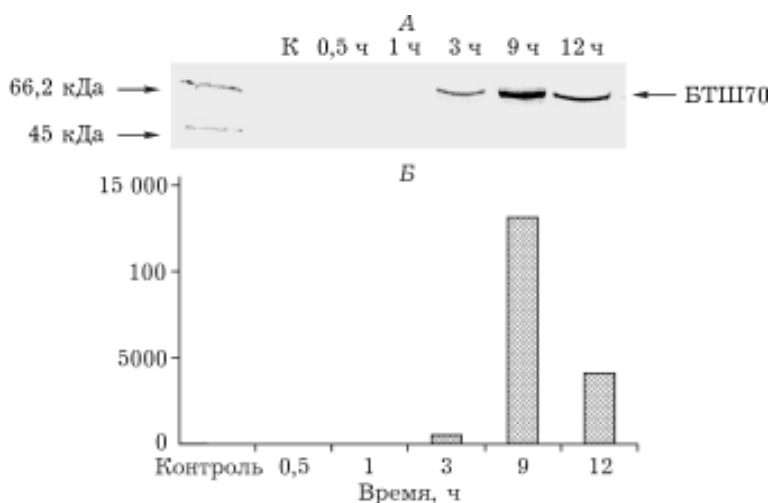


Рис. 5. Вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *O. flavus* (А), экспонированных при температуре 20 °С. Слева приведены маркеры молекулярных масс; изменение количества БТШ70 у амфипод вида *O. flavus* (Б), экспонированных при температуре 20 °С (усл. ед.)

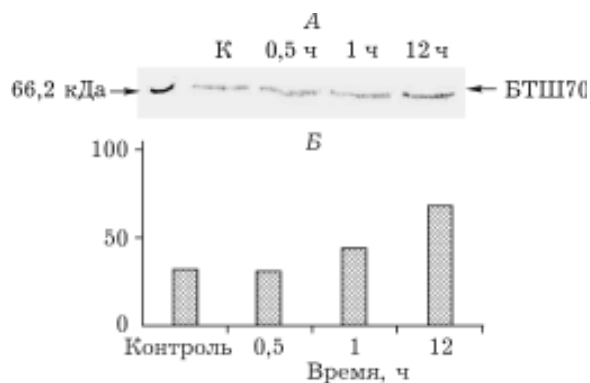


Рис. 6. Вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *G. lacustris* (А), экспонированных в растворах хлористого кадмия с концентрацией 0,5 мг/л. Слева приведены маркеры молекулярных масс; именование количества БТШ70 у амфипод вида *G. lacustris* (Б), экспонированных в растворах хлористого кадмия с концентрацией 0,5 мг/л.

ла индукция синтеза исследуемого белка (рис. 10). Через 1 ч экспозиции амфипод в растворах с концентрацией 5 мг/л (рис. 11) БТШ70 в детектируемом количестве не отмечали, через 3 ч происходило многократное увеличение содержания данного белка. Через 9 ч экспозиции происходило снижение содержания БТШ70, а через 12 ч – вновь повышение. При экспозиции этого вида амфипод в растворах с концентрацией 0,05 мг/л (см. рис. 10) наблюдали следующую картину: через 1 ч экспозиции происходила индукция синтеза БТШ70, а через 24 ч – многократное увеличение содержания данного белка.

Результаты исследования показали, что воздействие исследуемых стрессовых факторов (повышенная температура, токсическое воздействие кадмия) вызывает увеличение содержания БТШ70 у всех исследованных видов амфипод.

Температура, как один из важнейших абиотических факторов среды, оказывает влияние на жизнедеятельность организмов и протекание метаболических реакций. При воздействии повышенных температур происходит денатурация клеточных белков, что приводит к нарушению их структуры и функций. Одним из базовых механизмов резистентности, активирующимся при температурном воздействии, является индукция синтеза БТШ, в частности БТШ70 [37].

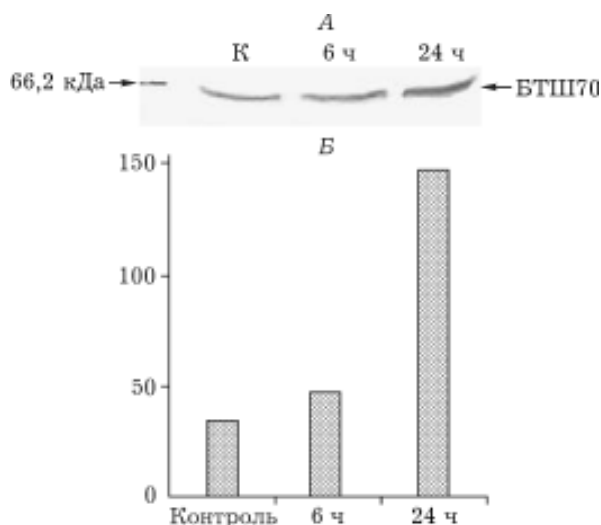


Рис. 7. Вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *G. fasciatus* (А), экспонированных в растворах хлористого кадмия с концентрацией 0,5 мг/л. Слева приведены маркеры молекулярных масс; изменение количества БТШ70 у амфипод вида *G. fasciatus* (Б), экспонированных в растворах хлористого кадмия с концентрацией 0,5 мг/л (усл. ед.)

В силу того что белки семейства БТШ70 являются одними из самых широко распространенных и консервативных среди подобных, увеличение их содержания используют в качестве биомаркеров в мониторинговых исследованиях [38, 39].

В нашем исследовании воздействие повышенных температур приводит к увеличению содержания БТШ70 у всех исследованных видов, однако отмечены различия в скорости и степени его синтеза. Так, у всех исследованных видов, кроме *O. flavus*, отмечен его конститутивный синтез. Отсутствие конститутивного синтеза БТШ70 у *O. flavus*, вероятно, связано с тем, что вид является представителем глубоководной фауны оз. Байкал, условия существования которого характеризуются постоянной низкой температурой – около 4–5 °С с незначительными колебаниями. Воздействие острого температурного стресса (30 °С) на самый устойчивый из исследованных вид *G. lacustris* вызвало быстрое увеличение содержания БТШ70. У байкальского *G. fasciatus* при воздействии температуры 25 °С происходило многократное увеличение БТШ70, хотя и не такое быстрое, как у предыдущего вида (через 12 ч

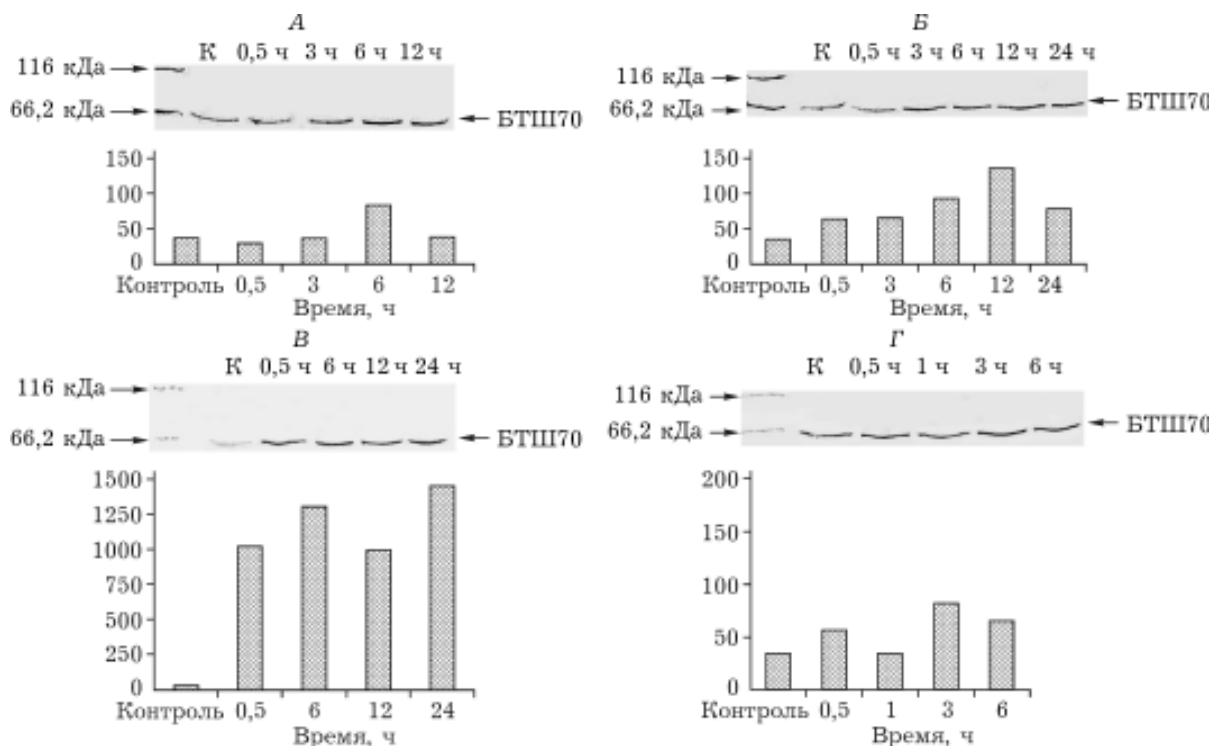


Рис. 8. Вестерн-блоттинг (слева приведены маркеры молекулярных масс) и изменение содержания (усл. ед.) БТШ70 у амфипод вида *E. cyaneus*, экспонированных в растворах  $\text{CdCl}_2$  с концентрацией 0,5 мг/л (А); то же с концентрацией 5 мг/л (Б); то же с концентрацией 10 мг/л (В); то же с концентрацией 50 мг/л (Г)

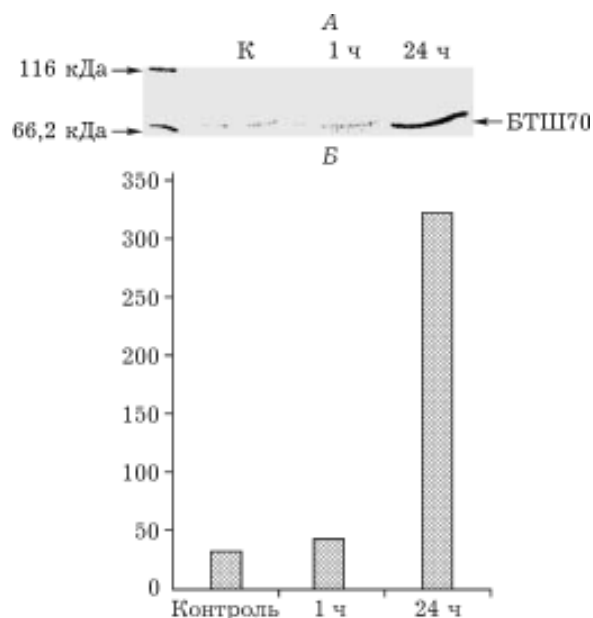


Рис. 9. Вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *E. vittatus*, экспонированных в растворах хлористого кадмия с концентрацией 10 мг/л (А). Слева приведены маркеры молекулярных масс; изменение количества БТШ70 у амфипод вида *E. vittatus*, экспонированных в растворах хлористого кадмия с концентрацией 10 мг/л (усл. ед.) (Б)

воздействия). Менее выраженный ответ на воздействие повышенной температуры отмечали у байкальских *E. cyaneus* и *E. vittatus*, у которых происходило постепенное увеличение содержания БТШ70. У байкальского *O. flavus* БТШ70 детектировался лишь через 3 ч воздействия и в незначительных количествах, многократное увеличение его содержания происходило через 9 ч экспозиции, после чего снижалось.

Для объяснения этих различий необходимо рассмотреть отношение исследуемых видов к температурному фактору. Экспериментально установлено, что палеарктический *G. lacustris* устойчив к повышенным температурам. Так, при воздействии температуры  $25^\circ\text{C}$  он проявлял высокую устойчивость, гибель 50 % особей наблюдали только к 48 ч экспозиции [26]. *G. fasciatus* также устойчив к воздействию высоких температур. При экспонировании при  $30^\circ\text{C}$  полную гибель рачков фиксировали через 6,5 ч, в то время как при  $25^\circ\text{C}$  даже после 48 ч гибели 50 % особей не происходило [33]. При экспозиции *E. cyaneus* при  $25^\circ\text{C}$  смертность рачков в те-

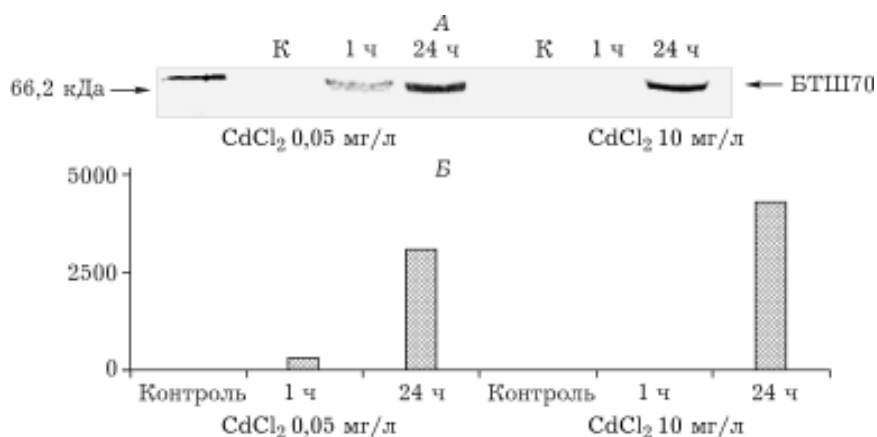


Рис. 10. Вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *O. flavus*, экспонированных в растворах хлористого кадмия двух концентраций (А). Слева приведены маркеры молекулярных масс; изменение количества БТШ70 у амфипод вида *O. flavus*, экспонированных в растворах хлористого кадмия разных концентраций (усл. ед.) (Б)

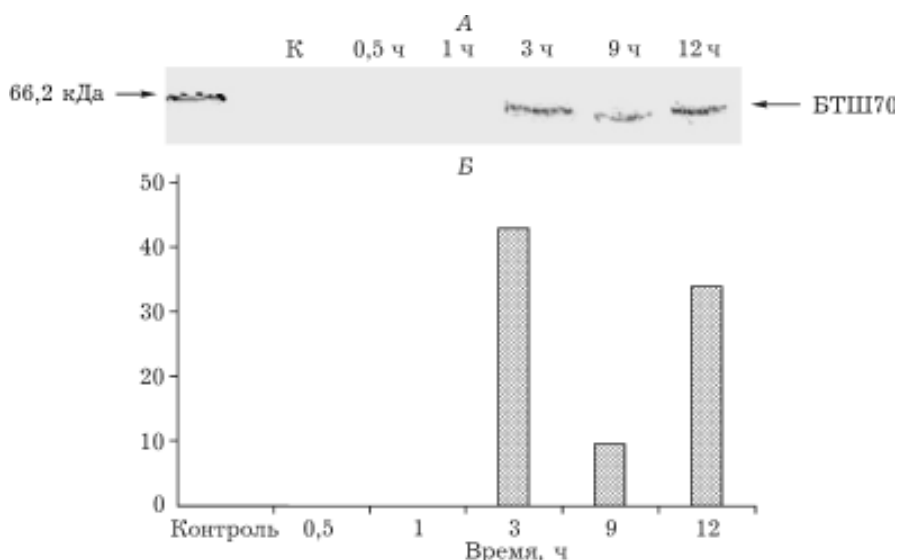


Рис. 11. Вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *O. flavus*, экспонированных в растворах хлористого кадмия с концентрацией 5 мг/л (А). Слева приведены маркеры молекулярных масс; изменение количества БТШ70 у амфипод вида *O. flavus*, экспонированных в растворах хлористого кадмия с концентрацией 5 мг/л (усл. ед.) (Б)

чение первых 10 ч экспозиции не превышала 10 %. При дальнейшей экспозиции наблюдали заметное повышение числа погибших особей, и на период 24- и 48-часовой экспозиции количество погибших особей возросло почти в 3 раза [33]. В экспериментах по определению терморезистентности *E. vittatus* гибель 50 % рачков при экспозиции при 25 °С наступала через 6,5 ч [25]. При экспозиции *O. flavus* при 25 °С гибель всех рачков отмечали через 30 мин экспозиции, а во многих

случаях – уже и через 10 мин [33]. Таким образом, описанные варианты характера синтеза БТШ70 в ответ на воздействие повышенной температуры коррелируют с их отношением к температурному фактору.

Рассматривая результаты токсикологических экспериментов, следует отметить, что кадмий относится к числу высокотоксичных металлов и обладает способностью накапливаться в организме даже при минимальном



его содержании в среде. При достижении критической концентрации кадмий индуцирует токсический процесс, проявляющийся поражением дыхательной системы, иммуносупрессией, канцерогенезом и т. д. [40–43]. Одним из активирующихся клеточных механизмов при воздействии кадмия является синтез БТШ70 [44–49]. У разных видов амфипод характер индукции синтеза БТШ70 в ответ на воздействие кадмия имеет видоспецифичную зависимость [47, 49].

У всех исследованных нами видов отмечали индукцию синтеза БТШ70 в ответ на токсическое воздействие хлорида кадмия. У палеарктического *G. lacustris*, экспонированного в растворах хлористого кадмия, наблюдали незначительное увеличение содержания БТШ70. У байкальского *G. fasciatus*, экспонированного в растворах хлористого кадмия с концентрацией 0,5 мг/л, через 6 ч экспозиции происходило незначительное увеличение содержания исследуемого белка, а к 24 ч экспозиции содержание БТШ70 достигало максимума. У байкальского *E. cyaneus* индукцию синтеза БТШ70 вызывали все четыре использованные концентрации, при этом максимальное содержание белка наблюдали у амфипод, экспонированных в растворах с концентрацией 10 мг/л, а минимальное – с концентрациями 50 и 0,5 мг/л. У байкальского *E. vittatus*, экспонированного в растворах с концентрацией 10 мг/л, происходило многократное увеличение содержания БТШ70, однако лишь через 24 ч экспозиции. У *O. flavus*, экспонированного в растворах с концентрацией 10 мг/л, БТШ70 в детектируемых количествах отмечали лишь через 1 сут экспонирования. При экспонировании амфипод данного вида в растворах с концентрацией 0,05 мг/л белок отмечали уже через 1 ч экспонирования, а с концентрацией 5 мг/л – через 3 ч экспонирования.

Исходя из известных функций БТШ70, можем предположить, что при воздействии температурного и токсического стрессов происходит нарушение структуры клеточных белков и увеличение количества БТШ70, необходимого для их восстановления.

Таким образом, БТШ70 несомненно участвуют в механизмах термо- и токсикорезистентности у исследованных видов амфи-

под, хотя отмечена специфика, вероятно, зависящая от экологических характеристик видов.

Работа поддержана грантами РФФИ № 06–04–48099–а, 08–04–00928–а, 08–04–10065–к.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ritossa F. A new puffing pattern induced by heat shock and DNP in *Drosophila* // *Experientia*. 1962. Vol. 18. P. 571–582.
2. Gething M. J., Sambrook J. Protein folding in the cell // *Nature*. 1992. Vol. 355. P. 33–46.
3. Sanders B. M. Stress proteins in aquatic organisms: an environmental perspective // *Crit. Rev. Toxicol.* 1993. Vol. 23(1). P. 49–75.
4. Feder M. E., Parsell D. A., Lindquist S. L. The stress response and stress proteins // *Cell Biology of Trauma*. Boca Raton, FL: CRC, 1995. P. 177–191.
5. Hartl F. U. Molecular chaperones in cellular protein folding // *Nature*. 1996. Vol. 381. P. 571–579.
6. Mitochondria are selective targets for the protective effects of heat shock against oxidative injury // B. S. Polla [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996. Vol. 93 (13). P. 6458–6463.
7. Feder M. E., Hofmann G. E. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology // *Annu. Rev. Physiol.* 1999. Vol. 61. P. 243–282.
8. Hendrick J. P., Hartl F.-U. Molecular chaperone functions of heat-shock proteins // *FASEB J.* 1995. Vol. 9. P. 1559–1569.
9. Fink A. L. Chaperone-Mediated Protein Folding // *Physiol. Rev.* 1999. Vol. 79. P. 425–449.
10. Schlessinger M. J., Ashburner M., Tissieres A. Heat shock: from Bacteria to Man. N.Y.: Cold Spring Harbor, 1982.
11. Beckmann R. B., Mizzen L. A., Welch W. J. Interactions of hsp70 with newly synthesized proteins: implications for protein folding and assembly // *Science*. 1990. Vol. 248. P. 850–862.
12. Identification of heat shock protein hsp70 homologues in chloroplasts / Marshall J. S. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1990. Vol. 87. P. 374–378.
13. Nover L. The Heat Shock Response. CRC Press, Boca Raton, FL, 1991.
14. Phillips G. J., Silhavy T. J. Heat-shock proteins DnaK and GroEL facilitate export of Lac Z hybrid proteins in *E. coli* // *Nature*. 1990. Vol. 344. P. 882–889.
15. Hayes R. L., King C. M. Induction of 70-kD heat shock protein in scleractinian corals by elevated temperature: significance for coral bleaching // *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 1995. Vol. 4. P. 36–42.
16. Lindquist S. The heat shock response // *Annu. Rev. Biochem.* 1986. Vol. 55. P. 1151–1170.
17. Ellis R. J. The molecular chaperon concept // *Semin. Cell Biol.* 1990. Vol. 1. P. 1–15.
18. Pelham H. R. B. Stress Proteins in Biology and Medicine. N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1990.

19. Renaturation of denatured  $\lambda$  repressor requires heat shock proteins / Gaitanaris G. A. [et al.] // Cell. 1990. Vol. 61. P. 1013–1020.
20. Skowyra D., Georgopoulos C., Zylicz W. The *E. coli* dnaK gene product, the hsp70 homolog, can reactivate heat-inactivated RNA polymerase in an ATP hydrolysis-dependent manner // Ibid. 1990. Vol. 62. P. 939–947.
21. A role for a 70-kilodalton heat shock protein in lysosomal proteolysis of intracellular proteins / Chiang H. L. [et al.] // Science. 1989. Vol. 246. P. 382–391.
22. Effect of engineering Hsp70 copy number on Hsp70 expression and tolerance of ecologically relevant heat shock in larvae and pupae of *Drosophila melanogaster* / Feder M. E. [et al.] // Exp. Biol. 1996. Vol. 199. P. 1837–1844.
23. Induced thermotolerance and associated expression of the heat-shock protein HSP70 in adult *Drosophila melanogaster* / Dahlggaard J. [et al.] // Function. Ecol. 1998. Vol. 12. P. 786–793.
24. Roberts D. A., Hofmann G. E., Somero G. N. Heat-shock protein expression in *Mytilus californianus*: acclimatization (seasonal and tidal-height comparisons) and acclimation effects // Biol. Bull. 1997. Vol. 192. P. 309–320.
25. Аннотированный список озера Байкал и его водосборного бассейна: в 2 т. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 2001. Т. 1.
26. Тимофеев М. А. Сравнительная оценка отношения байкальских гаммарид и голарктического *Gammarus lacustris* к абиотическим факторам: Дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2000.
27. Матафонов Д. В., Итигилова М. Ц., Камалтынов Р. М. Особенности экспансии *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) водоемов Восточного Забайкалья (на примере озера Арахлей) // Сибирский экологический журнал. 2006. № 5. С. 595–601.
28. Базикалова А. Я. Об амфиподах реки Ангары // Труды Байкальской лимнологической станции. 1957. Т. XV. С. 377–387.
29. Бекман М. Ю., Деньгина Р. С. Биологическая продуктивность водоемов Сибири. М., 1969. С. 42–47.
30. Timofeyev M. A. On the role of adaptive abilities in the distribution of endemic amphipods from Lake Baikal // Verhandlungen Internationale Vereinigung Limnologie. 2002. Vol. 28. P. 1613–1615.
31. Базикалова А. Я. Амфиподы оз. Байкал / Тр. Байкальской лимнологической станции АН СССР. 1945. Т. 11.
32. Базикалова А. Я. Материалы по изучению размножения байкальских амфипод // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1941. № 3. С. 407–425.
33. Тимофеев М. А., Кириченко К. А. Экспериментальная оценка роли абиотических факторов в ограничении распространения эндемиков за пределы озера Байкал на примере амфипод // Сибирский экологический журнал. 2004. № 1. С. 41–50.
34. Protein measurement with the Folin reagent / Lowry O.H. [et al.] // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. P. 265–275.
35. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assemble of the head bacteriophage T4 // Nature. 1970. Vol. 227(5259). P. 680–685.
36. Bers G., Garfin D. Protein and nucleic acid blotting and immunobiochemical detection // Bio Techniques. 1985. Vol. 3. P. 276–288.
37. Parsell D. A., Lindquist S. The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of damaged proteins // Annu. Rev. Genet. 1993. Vol. 27. P. 437–496.
38. The 70 kDa heat shock protein (hsp70) in soil invertebrates: a possible tool for monitoring environmental toxicants / Kohler H. R. [et al.] // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1992. Vol. 22. P. 334–338.
39. Downs C. A., Fauth J. E., Woodley C. M. Assessing the health of grass shrimp (*Palaeomonetes pugio*) exposed to natural and anthropogenic stressors: a molecular biomarker system // Mar. Biotechnol. 2001. Vol. 3. P. 380–397.
40. Sheweita S. Heavy metal-induced changes in the glutathione levels and glutathione reductase/glutathione S-transferase activities in the liver of male mice Intern. // J. Toxicol. 1998. Vol. 17(4). P. 383–392.
41. Karmakar R., Bhattacharya R., Chatterjee M. Biochemical, haematological and histopathological study in relation to time-related cadmium-induced hepatotoxicity in mice // Biometals. 2000. Vol. 13(3). P. 231–239.
42. Reddy P., Fingerman M. Effects of cadmium and mercury on ovarian maturation in the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* // Comp. Biochem. Physiol. 1994. Vol. 109(3). P. 309–314.
43. Comparative studies on the toxicity of mercury, cadmium, and copper toward the isolated perfused rat liver / Strubelt O. [et al.] // J. Toxicol. and Environ. Health. 1996. Vol. 47(3). P. 267–283.
44. Guven K., Duce J. A., de Pomerai D. I. Evaluation of a stress-inducible transgenic nematode strain for rapid aquatic toxicity testing // Aquat. Toxicol. 1994. Vol. 29. P. 119–137.
45. Eckwert H., Köhler H.-R. The indicative value of the hsp70 stress response as a marker for metal effects in *Oniscus asellus* (Isopoda) field populations: variability between populations from metal-polluted and uncontaminated sites // Appl. Soil Ecol. 1997. Vol. 6. P. 275–282.
46. Eckwert H., Alberti G., Köhler H.-R. The induction of stress proteins (hsp) in *Oniscus asellus* (Isopoda) as a molecular marker of multiple heavy metal exposure: I. Principles and toxicological assessment // Ecotoxicology. 1997. Vol. 6. P. 249–262.
47. Werner I., Nagel R. Stress proteins HSP60 and HSP70 in three species of amphipods exposed to cadmium, diazinon, dieldrin and fluoranthene // Envir. Toxicol. and Chem. 1997. Vol. 16(11). P. 2393–2403.
48. The hepatic stress protein (hsp70) response to interacting abiotic parameters in fish exposed to various levels of pollution / Köhler H.-R. [et al.] // J. Aquat. Ecosyst. Stress Recov. 2001. Vol. 8. P. 241–260.
49. Schill R. O., Görlitz H., Köhler H.-R. Laboratory simulation of a mining accident: acute toxicity, hsc/hsp70 response, and recovery from stress in *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda) exposed to a pulse of cadmium // BioMetals. 2003. Vol. 16. P. 391–401.

# Heat Shock Proteins in the Mechanisms of Stress Adaptation in Baikalian Amphipoda and Palaeartic *Gammarus lacustris* Sars: I. HSP70 family

Zh. M. SHATILINA<sup>1,2</sup>, T. P. POBEZHIMOVA<sup>3</sup>, O. I. GRABEL'NYKH<sup>3</sup>, D. S. BEDULINA<sup>2</sup>,  
M. V. PROTOPOPOVA<sup>2</sup>, V. V. PAVLICHENKO<sup>2</sup>, M. A. TIMOFEEV<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Baikal Research Center  
664003, Irkutsk, K. Marks str., 5–10

<sup>2</sup> Irkutsk State University  
664003, Irkutsk, K. Marks str., 2

<sup>3</sup> Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS  
664033, Irkutsk, Lermontov str., 132

Participation of the proteins of HSP70 family in the mechanisms of stress adaptation under the action of thermal and toxic stress in Baikalian endemic and palaeartic organisms was investigated. Four endemic species of Lake Baikal *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.), *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb.), *E. vittatus* (Dyb.), *Ommatogammarus flavus* (Dyb.) were compared with the representative of palaeartic fauna *Gammarus lacustris* Sars. The character of synthesis of the heat shock proteins of the HSP70 family under the action of thermal (exposure at a temperature of 20, 25, 30 °C) and toxic (exposure in CdCl<sub>2</sub> solutions with the concentrations 50, 10, 5, 0,5 and 0,05 mg/l) stress was determined. It was shown that all the species under investigation exhibit a common trend to increase the HSP70 proteins; some species-specific features of the character of synthesis of the protein under investigation were observed. It was concluded that HSP70 participate in the mechanisms of thermal and toxic resistivity in the investigated amphipoda species.

**Key words:** Stress resistivity, heat shock proteins (HSP), amphipoda, Baikal, endemics.