

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА СЕМЕЙСТВА 70 КДА В КЛЕТКАХ ЖАБЕРНОГО ЭПИТЕЛИЯ МОЛЛЮСКОВ *MYTILUS EDULIS* L. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОЛЕННОСТИ СРЕДЫ

© Ю. И. Подлипаева,¹ В. Я. Бергер²

¹ ФГБУН Институт цитологии РАН и ² ФГБУН Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург;
электронный адрес: podlipaeva@gmail.com

Методом иммуноблотинга исследованы состав и содержание белков стресса в жабрах моллюсков *Mytilus edulis* L. из Белого моря, подвергавшихся действию воды различной солёности. У моллюсков, содержащихся в воде контрольной солёности (26 ‰), выявлены конститутивный белок теплового шока Hsp70, а также белок мол. массой около 40 кДа. После длительной — в течение 11—14 сут — акклимации моллюсков к среде солёностью 14 и 35 ‰ уровень Hsp70 в клетках жаберного эпителия мидий повышался по сравнению с контролем. Индукция Hsp70 зарегистрирована также в клетках изолированных жабр мидий при кратковременном (3 и 24 ч) воздействии на них пониженной (14 ‰) солёности.

Ключевые слова: белки стресса, Hsp70, солёность, мидии.

Исследование адаптации тех или иных организмов к различным абиотическим факторам среды (изменениям температуры, солёности, pH и др.) является одним из важнейших направлений биологии. В последние десятилетия особенно большое внимание в подобных работах уделяется изучению роли белков теплового шока (белков стресса) или, как принято в англоязычных публикациях, — heat shock proteins (Hsp). Многочисленными исследованиями, количество которых измеряется десятками тысяч, выполненными на различных объектах (от микроорганизмов и простейших до человека), обнаружена индукция белков стресса, прежде всего белка с мол. массой 70 кДа (Hsp70), при адаптации к изменениям температуры и других факторов внешней среды (см. обзоры: Feder, Hofmann, 1999; Маргулис, Гужова, 2000, 2009; Hochachka, Somero, 2002; Ермилова, 2007).

При этом, однако, остается до сих пор не решенным вопрос о том, какова роль белков семейства 70 кДа в солёностных адаптациях. Исследования этого направления единичны. Hsp выявлены при засолении среды у растений, архей и некоторых бактерий (Hochachka, Somero, 2002). Обнаружена индукция стрессовых белков в клетках культур различных тканей птиц и млекопитающих при изменении концентрации солей и осмолярности питательной среды (Cohen et al., 1991; Petronini, 1993). В экспериментах на амёбах и инфузориях различных видов обнаружены как случаи индукции Hsp, так и случаи ее отсутствия при изменениях солёности среды обитания (Podlipaeva, 2001; Плеханов и др., 2006; Смуров и др., 2007; Подлипаева и др., 2008). В работе на сцифистомах медуз *Aurelia aurita* белки теплового шока были обнаружены при гипертермическом стрессе, но не выявлялись при изменениях солёности морской воды (Black, Bloom, 1984). Мидии *Mytilus edulis* из Северного моря, обитавшие при солёности 29 ‰, имели более высокое содержа-

ние Hsp70 в тканях, чем моллюски того же вида из Балтики, существующие при солёности 6 ‰ (Brown et al., 1995). В экспериментах на изолированных жабрах мидий *M. edulis* из Белого моря, помещавшихся в воду пониженной солёности, была зарегистрирована индукция Hsp70 (Харазова, 1999). В противоположность этому, изменений содержания белков семейства Hsp70 в ответ на изменения солёности не было зарегистрировано у мидий *Mytilus galloprovincialis* с побережья Средиземного моря (Li et al., 2009). В работах, выполненных на другом эвригаллином двустворчатом моллюске, *Potamocorbula amurensis* из зал. Сан-Франциско, показано, что уровень стрессовых белков был значительно ниже при 0.3 ‰, чем при 27 ‰ (Werner, Hinton, 2000), а снижение солёности среды угнетало индукцию Hsp70, вызванную повышением температуры (Werner, 2004).

Даже это простое перечисление имеющейся информации свидетельствует о том, что для выяснения роли стрессовых белков в адаптации различных организмов к изменениям солёности среды не хватает данных. Очевидно, что необходимы дополнительные исследования на различных объектах. В связи с этим мы поставили перед собой задачу проанализировать, как изменяется содержание стрессовых белков в клетках одного из наиболее эвригаллиных осмоконформеров — двустворчатого моллюска *M. edulis* L. — в результате солёностных адаптаций.

Материал и методика

Работа выполнена в июле—сентябре 2010 и 2011 гг. на Беломорской биологической станции Зоологического института РАН, расположенной в губе Чупа Кандалакшского зал. Белого моря. Объектом исследования служили двустворчатые моллюски *M. edulis* L., собранные с глуби-

ны 1—2 м. Температура воды варьировала от 7 до 15 °C, а соленость — от 24 до 26 ‰, что не выходило за пределы обычных сезонных изменений этих факторов в районе исследований (Бабков, 1998). После сбора моллюски были помещены в аквариумы с морской водой соленостью 24—26 ‰, находившиеся в изотермических камерах при температуре 10 ± 1 °C. Часть животных (контроль) и (или) их отпрепарированные жабры находились при этих условиях, а подопытные моллюски и (или) их жаберные препараты акклиматизировались в течение различного времени (от нескольких часов до 14 сут) к воде различной солености при указанной выше температуре. Воду в аквариумах меняли 1 раз в 2 сут, мидий не кормили.

О толерантности мидий к изменениям солености морской воды судили по количеству моллюсков, герметизирующих мантийную полость при неблагоприятной солености. Для этого подопытных животных помещали в кристаллизаторы с морской водой, имевшей соленость от 0 до 50 ‰. Через 1 ч после этого подсчитывали долю мидий (в % от общего числа подопытных моллюсков) с приоткрытыми раковинами и сифонами.

Для выявления Hsp использовали гомогенаты отпрепарированных жабр 3—5 моллюсков на каждую точку. Материал гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе тефлоновым пестиком в экстракционном буфере (20 mM Tris HCl, pH 7.5, 20 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 0.5 mM дитиотриетол и 0.2 mM фенилметансульфонил-флюорида для ингибирования активности протеаз). В зависимости от схемы эксперимента гомогенаты либо немедленно центрифугировали 20 мин при 12 000 об/мин, либо замораживали при температуре -20 °C, чтобы собрать все необходимые пробы и впоследствии центрифугировать их одновременно после размораживания. В дальнейшей работе использовали супернатанты.

Анализ белкового состава проб проводили с помощью SDS-электрофореза в 10%-ном ПААГ в трис-глициновой системе Лэммли. Для приготовления электрофорезной пробы 3 части супернатанта смешивали с 1 частью 4-кратного буфера Лэммли (1 % SDS, 5 % β -меркаптоэтанола и 10 % глицерина). Пробу перемешивали, инкубировали на водяной бане при 100 °C в течение 3—4 мин. Электрофорез проводили в пластине геля размером 120×90×0.8 мм сначала при силе тока 10—12 мА (1—1.5 ч), а потом — при силе тока 20—25 мА (2—2.5 ч).

После электрофореза гели фиксировали в смеси формальдегида, спирта и уксусной кислоты, окрашивали 0.25%-ным раствором красителя Кумасси бриллиантового синего (Coomassie Brilliant blue R 250) в течение 1 ч и дифференцировали 7%-ной уксусной кислотой.

Для выявления белков теплового шока сразу после проведения электрофореза белки переносили на нитроцеллюлозу с использованием техники электроблоттинга (Towbin et al., 1979). Затем нитроцеллюлозу обрабатывали моноклональными антителами SPA 822 (Stressgen technologies, Enzo Life Sciences), выработанными против Hsp70 курицы и обладающими перекрестной реакцией с широким спектром видов одно- и многоклеточных организмов. Зоны связывания белков с антителами к Hsp70 окрашивались на нитроцеллюлозе при помощи вторичных антител, конъюгированных со щелочной фосфатазой (Sigma, США), в результате проведения ферментативной реакции.

Для определения молекулярной массы выявляемых полипептидов использовали маркеры High Range Rainbow Molecular Weight Markers (Amersham Biosciences, Be-

ликобритания) и маркеры молекулярной массы Prestained Protein Ladder (10—170 кДа) (Fermentas, Литва).

Визуализированные окрашиванием Кумасси белковые полосы, соответствующие полипептиду с мол. массой около 70 кДа, были вырезаны из геля и подготовлены для масс-спектрометрического анализа (Shevchenko et al., 1996), который проводили на масс-спектрометре MALDI TOF Bruker reflex IV в режиме положительных ионов с использованием рефлектрона. Полученные пептидные спектры обрабатывали с использованием поисковой базы Swiss PROT (<http://prospector.ucsf.edu>).

Для выравнивания количества белка, наносимого на стартовый гель, при изготовлении пробы в одном эксперименте использовали равное количество жаберного материала. Кроме того, перед электроблоттингом проводили калибровочные электрофорезы, а также контрольное окрашивание геля после переноса с него белков на нитроцеллюлозу.

Результаты

Экспериментальная часть работы была начата с определения границ диапазона соленостной толерантности мидий. Согласно полученным данным (рис. 1), моллюски имели открытые сифоны и приоткрытые створки раковины в достаточно широком диапазоне солености — примерно от 14 до 35 ‰. За пределами этого соленостного диапазона число активных моллюсков резко сокращалось. При солености ниже 8 и выше 42 ‰ все подопытные животные герметизировали мантийную полость, захлопывая створки раковины и перекрывая ток воды через сифоны. Исходя из этих данных, совпадающих с результатами выполненных ранее аналогичных наблюдений (Бергер, Луканин, 1985), были подобраны условия проведения дальнейших экспериментов по акклимации мидий к изменениям солености среды обитания. Во всех случаях испытывали действие солености не выше 35 и не ниже 14 ‰, т. е. изменения не превышали пределов диапазона толерантности, в котором были активны 100 % подопытных животных.

Методом иммуноблоттинга с помощью антител к белку Hsp70 в клетках жаберного эпителия контрольных мидий выявили конститутивные стрессовые белки с мол. массой около 70 и 40 кДа (рис. 2, дорожка 1). Электрофоретическая подвижность одного из этих двух белков соответствует подвижности маркерного белка семейства Hsp с мол. массой 72 кДа (рис. 3). Кроме положения на электрофореграммах принадлежность этого белка мидий

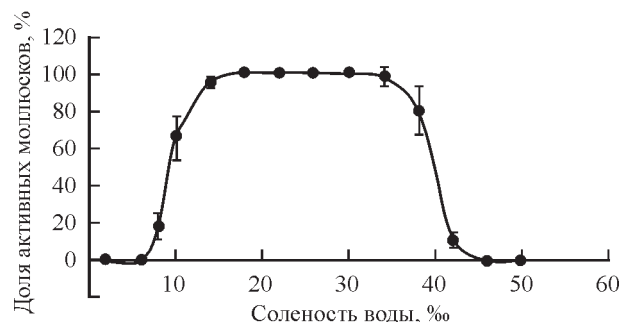


Рис. 1. Изменение числа активных моллюсков в воде различной солености.

Вертикальные отрезки — доверительные интервалы при $\alpha = 0.95$.

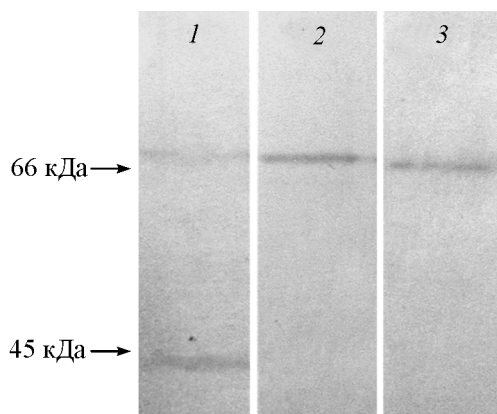


Рис. 2. Белки теплового шока в клетках жаберного эпителия мидий *Mytilus edulis* у контрольных моллюсков и у моллюсков после длительной акклимации.

Дорожки: 1 — контрольные моллюски, содержавшиеся при солености 26 ‰; 2, 3 — 14 сут акклимации к воде соленостью 14 и 35 ‰ соответственно. Вестерн-блот после обработки антителами к Hsp70.

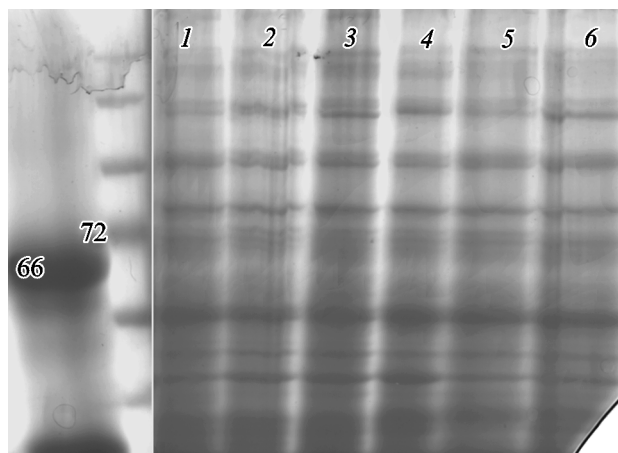


Рис. 3. Спектр общих белков жаберного эпителия мидий *Mytilus edulis* в контроле и после разных сроков акклимации их изолированных жабр.

Электрофорез в 10%-ном ПААГ, окраска Кумасси. Дорожки: 66 — маркер мол. массы 66 кДа, 72 — маркер мол. массы 72 кДа; 1 — 12 ч в контрольной солености 26 ‰, 2 — 13 сут в контрольной солености 26 ‰, 3 — 12 ч в солености 14 ‰, 4 — 13 сут в солености 14 ‰, 5 — 12 ч в солености 35 ‰, 6 — 13 сут в солености 35 ‰.

к семейству Hsp70 подтверждается результатами масс-спектрометрического анализа. Полученные MALDI-TOF масс-спектры образцов показали наличие в них белков, идентифицируемых по базе Swiss PROT как HS71L мыши, крысы и свиньи, HSP72 хомяка, быка, мыши, крысы, козы и человека и HS71A и HS71B мыши. Поскольку все вышеперечисленные белки принадлежат семейству Hsp70, то, учитывая их высокую консервативность и межвидовую гомологию (Feder, Hofmann, 1999; Маргулис, Гужова, 2000; Hochachka, Somero, 2002), есть все основания считать белок мидий, массой около 70 кДа принадлежащим к этому же семейству.

В экспериментах 2010 г. было установлено, что после проведения длительной (11 сут) акклимации моллюсков к солености 14 и 35 ‰ уровень Hsp70 в клетках жаберного эпителия мидий повышался по сравнению с контролем

как у моллюсков, акклимированных к 14 ‰ (рис. 4, дорожки 1, 2), так и у особей, акклимированных к воде соленостью 35 ‰ (рис. 4, дорожки 1, 3). Повтор аналогичного опыта в 2011 г., при котором моллюски акклимировались к солености 14 и 35 ‰ в течение 14 сут, дал сходные результаты: при обеих указанных соленостях происходило повышение содержания Hsp70 по сравнению с контролем (рис. 2, дорожки 2, 3).

Если отпрепарированные жабры моллюсков, акклимированных в течение 11 сут к солености 14 и 35 ‰, помещали на 1 ч в воду с перекрестно измененной соленостью (соответственно 35 и 14 ‰), то в обоих случаях наблюдали увеличение содержания Hsp70 (рис. 4, дорожки 2 и 4, 3 и 5).

В других экспериментах в 2010 г. в воду различной солености — 14, 24 (контроль) и 35 ‰ — помещали на 1, 3 и 24 ч не моллюсков, а их изолированные жабры. При этом наблюдали повышение уровня Hsp70 после пребывания жаберных препаратов в воде соленостью 14 ‰ в течение 3 и 24 ч (рис. 5, а, дорожки 1, 3, 4). При меньшем сроке (1 ч) воздействия воды той же солености эффекта не было (рис. 5, а, дорожки 1, 2). При солености 35 ‰ в жаберных клетках увеличения содержания Hsp70 не было. Отмечено даже некоторое понижение уровня Hsp70 по сравнению с контролем, особенно заметное после 3-часового соленостного шока (рис. 5, а, дорожки 1, 6). Аналогичные результаты были получены при повторении этого же опыта в 2011 г. (рис. 5, б, в).

Обсуждение

Полученные данные свидетельствуют прежде всего о наличии в клетках жаберного эпителия исследованных моллюсков белков с мол. массой около 70 и 40 кДа, присутствующих конститутивно. Результаты SDS-электрофореза, иммуноблотинга с применением антител к Hsp70 и масс-спектрометрии позволяют идентифицировать выявленный у мидий белок с мол. массой 70 кДа как белок, принадлежащий к семейству Hsp70. Что касается другого белка с мол. массой около 40 кДа, выявляемого теми же антителами и только после содержания в контрольной солености интактных моллюсков, а не их изолированных жабр, то относительно него имеются лишь предварительные данные. Для окончательной идентификации этого белка необходимы дополнительные исследования.

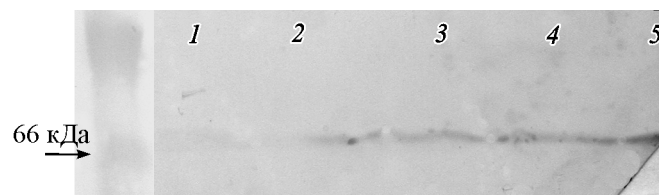


Рис. 4. Белки теплового шока в клетках жаберного эпителия мидий *Mytilus edulis* у контрольных моллюсков и у моллюсков после длительной (11 сут) акклимации, а также в изолированных жабрах моллюсков после реципрокных соленостных шоков.

Дорожки: 1 — контрольные моллюски, содержавшиеся при солености 26 ‰; 2 — после акклимации к воде соленостью 14 ‰; 3 — после акклимации к воде соленостью 35 ‰; 4 — изолированные жабры, акклимированные к солености 14 ‰, после проведения соленостного шока (35 ‰, 1 ч); 5 — жабры, акклимированные к солености 35 ‰, после проведения соленостного шока (14 ‰, 1 ч). Вестерн-блот после обработки антителами к Hsp70.

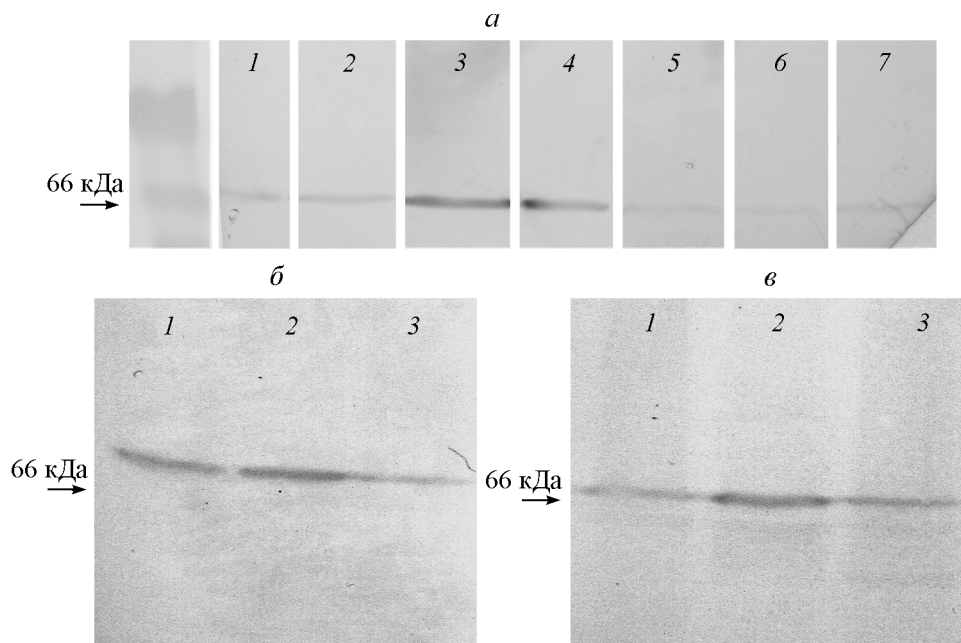


Рис. 5. Белки теплового шока в клетках жаберного эпителия мидий *Mytilus edulis* после пребывания жабр в контрольной солёности и после разных сроков пребывания в стрессовых солёностях. Эксперименты 2010 (а) и 2011 (б, в) гг.

а — дорожки: 1 — изолированные жабры мидий после пребывания в течение 24 ч в воде контрольной солёности 26 ‰; 2—4 — изолированные жабры мидий после пребывания в воде солёностью 14 ‰ в течение 1, 3 или 24 ч соответственно; 5—7 — изолированные жабры мидий после пребывания в воде солёностью 35 ‰ в течение 1, 3 и 24 ч соответственно; б — 3 ч в воде контрольной солёности 26 ‰ (дорожка 1), в воде солёностью 14 ‰ (дорожка 2) и в воде солёностью 35 ‰ (дорожка 3); в — 24 ч в воде контрольной солёности 26 ‰ (дорожка 1), в воде солёностью 14 ‰ (дорожка 2) и в воде солёностью 35 ‰ (дорожка 3).

При длительной (11—14 сут) акклимации мидий как к пониженной, так и к повышенной солёности, не выходящей за пределы диапазона их солёностной толерантности, обнаружено повышение содержания Hsp70 в клетках жаберного эпителия. Результаты этих опытов свидетельствуют об участии стрессовых белков Hsp70 в солёностных адаптациях осмоконформеров, к каким принадлежит мидия.

Результаты экспериментов, выполненных на изолированных жаберных препаратах, подвергавшихся действию различной солёности, позволяют сделать по крайней мере два вывода. Во-первых, о том, что шаперонная система жабр исследованных моллюсков не только реагирует на изменения солёности среды, но и обладает автономностью и способна функционировать, не находясь под контролем организма. Этим лишний раз подтверждается автономность адаптаций клеток моллюсков и других осмоконформеров к изменениям солёности среды, присутствующая следующим их системам: регуляции содержания неорганических ионов, волюморегуляции, адаптивных преобразований синтеза РНК и белка, перестройки изотимического спектра различных ферментов и др. (Бергер, 1986; Berger, Kharazova, 1997).

Во-вторых, полученные данные свидетельствуют о том, что адаптивные изменения содержания стрессовых белков в клетках мидии в зависимости от градиента солёности происходят за разное время. На них требовалось не менее 3 ч при солёности 14 ‰. При повышенной солёности 35 ‰ эффекта не было и при больших экспозициях (24 ч), хотя содержание Hsp70 увеличивалось при длительной акклимации (11—14 сут) моллюсков к такой солёности. Этот вывод соответствует и результатам экспериментов Харазовой (1999) на изолированных жабрах мидии, в которых была обнаружена индукция Hsp70 при акклимации к изменениям солёности среды.

Более подробно вопрос о времени запуска механизмов солёностной адаптации обсужден в специальной работе (Бергер, 2005). Его дальнейшее рассмотрение выходит за рамки нашей работы. Отметим только, что влияние дозы фактора на время, необходимое для индукции Hsp70, может служить одним из возможных объяснений того, почему в ряде случаев не было обнаружено участие стрессовых белков в солёностных адаптациях различных гидробионтов (Black, Bloom, 1984; Li et al., 2009, и др.). Очевидно, что для проверки этого предположения необходимы дополнительные данные. Однако уже сейчас можно утверждать, что изучение реакции шаперонной системы клетки на изменения солёности среды требует проведения не только острых опытов, но и анализа долговременных адаптивных преобразований. Преимущества такого подхода были продемонстрированы, в частности, при изучении содержания стрессовых белков в клетках моллюсков рода *Tegula*, подвергавшихся длительной акклимации к изменениям температуры среды обитания (Tomanek, Somero, 2000).

Список литературы

- Бабков А. И. 1998. Гидрология Белого моря. СПб.: ЗИН РАН. 96 с.
- Бергер В. Я. 1986. Адаптации морских моллюсков к изменениям солёности среды. СПб.: Наука. 218 с.
- Бергер В. Я. 2005. О минимальных сроках запуска процессов фенотипической адаптации. Докл. 400 : 567—570.
- Бергер В. Я., Луканин В. В. 1985. Адаптивные реакции мидии Белого моря на изменения солёности среды. В кн.: Биологические ресурсы Белого моря и их рациональное использование. Исследование мидии Белого моря. Л.: ЗИН АН СССР. 4—21.
- Ермилова Е. В. 2007. Молекулярные аспекты адаптации прокариот. СПб.: Изд-во СПбГУ. 299 с.

- Маргулис Б. А., Гужова И. В. 2000. Белки стресса в эукариотической клетке. Цитология. 42 (4) : 323—342.
- Маргулис Б. А., Гужова И. В. 2009. Двойная роль шаперонов в ответе клетки и всего организма на стресс. Цитология. 51 (3) : 219—228.
- Плеханов А. Ю., Смуров С. О., Подлипаева Ю. И., Иванова Л. О., Гудков А. В. 2006. Белок теплового шока пресноводных простейших и его участие в адаптации к изменениям солености среды обитания. Цитология. 48 (6) : 530—534.
- Подлипаева Ю. И., Смуров А. О., Гудков А. В. 2008. Изменения уровня содержания белка теплового шока семейства 70 кДа у инфузорий *Tetrahymena pyriformis* в процессе адаптации к изменениям солености среды. Цитология. 50 (7) : 619—622.
- Смуров А. О., Подлипаева Ю. И., Гудков А. В. 2007. Белок теплового шока семейства Hsp70 у эвригалинной инфузории *Paramecium nephridiatum* и его участие в адаптации к изменениям солености среды обитания. Цитология. 49 (4) : 292—295.
- Харазова А. Д. 1999. Цитологические основы адаптации морских моллюсков к изменениям солености: Автореф. докт. дис. СПб: Изд-во СПбГУ. 33 с.
- Berger V. Ja., Kharazova A. D. 1997. Mechanisms of salinity adaptations in marine molluscs. Hydrobiologia. 7 : 1—12.
- Black R. E., Bloom L. 1984. Heat shock proteins in *Aurelia* (Cnidaria, Scyphozoa). J. Exp. Zool. 230 : 303—307.
- Brown D. C., Bradley B. P., Tedengren M. 1995. Genetic and environmental of HSP70 expression. Mar. Environ. Res. 39 : 181—184.
- Cohen D. A., Wasserman J., Gullans S. 1991. Immediate early gene and HSP70 expression in hyperosmotic stress in MDCK cells. Amer. J. Physiol. 261 : 594—601.
- Feder M. E., Hofmann G. E. 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. Annu. Rev. Physiol. 61 : 243—282.
- Hochachka P. V., Somero G. N. 2002. Biochemical adaptation. Mechanism and process in physiological evolution. Oxford: Univ. Press. 466 p.
- Li H., Toubiana M., Monford P., Roch P. 2009. Influence of temperature, salinity and *E. coli* tissue content of immune gene expression in mussel: results from a 2005—2008 survey. Develop. Comp. Immunol. 33 : 974—979.
- Petronini P., De Angelis W., Borghetti A., Wheeler K. 1993. Effect of betaine on HSP70 expression and cell survival during adaptation to osmotic stress. Biochem. J. 293 : 553—558.
- Podlipaeva Y. I. 2001. Heat shock protein of 70 kDa in *Amoeba proteus*. Protistology. 2 : 123—129.
- Shevchenko A., Wilm M., Vokm O., Mann M. 1996. Mass spectrometric sequencing of proteins silver-stained polyacrylamide gels. Anal. Chem. 68 : 850—858.
- Tomanek L., Somero G. N. 2000. Time course and magnitude of synthesis of heat-shock proteins in congeneric marine snails (genus *Tegula*) from different tidal heights. Physiol. Biochem. Zool. 73 : 249—256.
- Towbin H., Staehelin T., Gordon J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 76 : 4350—4354.
- Werner I. 2004. The influence of salinity on heat shock protein response of *Potamocorbula amurensis* (Bivalvia). Mar. Environ. Res. 58 : 803—807.
- Werner I., Hinton D. E. 2000. Spatial profiles of hsp70 proteins in Asian Clam *Potamocorbula amurensis* in Northern San Francisco Bay may be linked to natural rather than anthropogenic stressors. Mar. Environ. Res. 50 : 379—384.

Поступила 27 II 2012

CHANGES OF HEAT SHOCK PROTEINS CONTENT IN THE GILL EPITHELIUM CELLS OF MUSSEL *MYTILUS EDULIS* L. DEPENDING UPON THE SALINITY OF MEDIUM

Yu. I. Podlipaeva,¹ V. Ya. Berger²

¹ Institute of Cytology RAS and ² Zoological Institute RAS, St. Petersburg;
e-mail: podlipaeva@gmail.com

The composition and the level of heat shock (stress) proteins content were studied by the method of immunoblotting in the gill epithelium cells of mussels *Mytilus edulis* L. from the White sea, treated by water of different salinities. Stress proteins of about 70 and 40 kDa were revealed at Western blots. After long-term (11—14 days) acclimation to 14 and 35 ‰ the level of Hsp70 in gill epithelium cells increased to compare with that in control mussels. Hsp70 induction was observed in the cells of isolated gills after salinity shock at 14 ‰ during 3 and 24 hours.

Key words: stress proteins, Hsp70, salinity, mussels.