

## НАЛИЧИЕ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА Hsp70 В ТУЧНЫХ КЛЕТКАХ КРЫСЫ

© С. В. Шабельников, О. А. Быстрова, М. Г. Мартынова

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;  
электронный адрес: heartdev@mail.cytspb.rssi.ru*

Белки теплового шока (БТШ) являются внутриклеточными шаперонами, а также исполнителями ряда сигнальных и иммуномодуляторных функций вне клетки, обеспечивая постстрессорное восстановление как на клеточном, так и на организменном уровне. Активное участие тучных клеток (ТК) в адаптации организма к стрессу может быть сопряжено, в частности, с наличием в их секреторных гранулах БТШ. Методом электронно-микроскопической иммуноцитохимии была показана локализация белка теплового шока Hsp70 в гранулах ТК перикарда и перитонеальной полости крысы. Результаты иммуноблоттинга подтвердили наличие Hsp70 в ТК, выделенных из суспензии перитонеальных клеток методом разделения в градиенте Перколла. Обсуждаются предполагаемая роль ТК в качестве источника внеклеточного Hsp70, а также возможное участие Hsp70 во внутриклеточных процессах в ТК.

Ключевые слова: тучная клетка, секреторные гранулы, белок теплового шока 70.

Принятые сокращения: БТШ — белки теплового шока, ТК — тучная клетка, Hsp70 — heat shock protein 70.

Белок теплового шока 70 (Hsp70) входит в семейство молекулярных шаперонов. Внутриклеточный Hsp70 участвует в фолдинге и транспорте белков через внутриклеточные мембраны, а также в ренатурации белков после стрессорных воздействий (Young, 2010).

В небольшой концентрации внеклеточный Hsp70 присутствует в сыворотке крови человека при нормальных физиологических условиях (Rockley et al., 1998). Его концентрация значительно повышается при многих патологических процессах, благодаря чему белки теплового шока служат биологическими маркерами неблагоприятного состояния организма. Так, ишемический миокард выделяет Hsp70, который участвует в постишемической воспалительной реакции (Dybdahl et al., 2005; Zou et al., 2008). Повышение уровня Hsp72 в плазме крови человека зарегистрировано при остром коронарном синдроме (Zhang et al., 2010), при послеоперационной инфекции и дисфункции печени после ее резекции (Kimura et al., 2004), при легочной патологии (Ganter et al., 2006) и инфекционных заболеваниях (Njemini et al., 2007).

К настоящему времени установлено несколько функций внеклеточного Hsp70 (см. обзор: Евдонин, Медведева, 2009). Являясь медиатором межклеточного общения и транспорта, циркулирующий Hsp70 включен в общую реакцию организма на стресс. Он связывается с рецепторами соседних клеток, такими как TLR-2, TLR-4, LOX-1, CD36, CD40, CD91 и SR-A (Binder et al., 2004), инициируя каскад сигнальных процессов, а также участвует в транспорте белковых молекул, в том числе белковых антигенов. Взаимодействие Hsp70 с антигенпрезентирующими клетками приводит к их активации и секреции воспали-

тельных цитокинов, что повышает как врожденный, так и приобретенный иммунитет, в частности, усиливает противоопухолевые реакции организма (Calderwood et al., 2005, 2007). Внеклеточный Hsp70 укрепляет иммунный статус организма также в результате положительного влияния на фагоцитарную активность макрофагов (Wang et al., 2006).

В плазму крови Hsp70 может попадать в результате гибели и распада клеток, подчас довольно интенсивных при ряде патологий. Однако уровень этого белка в крови может повышаться и благодаря его активной секреции некоторыми живыми клетками в ответ на воздействие цитокинов, остро физиологического стресса и физических нагрузок (Asea, 2003). Показано, что *in vitro* Hsp70 секретируют глиальные клетки (Guzhova et al., 2001), клетки плазмцитомы (Altieri et al., 2004), мононуклеарные клетки периферической крови (Hunter-Lavin et al., 2004) и клетки карциномы человека A431 (Evdonin et al., 2006).

Тучные клетки (ТК) принимают активное участие в иммунных и постстрессовых реакциях организма. К настоящему времени выявлено более 50 биологически активных веществ, которые ТК запасают в своих гранулах и выделяют во внеклеточную среду. Секретция ТК происходит как в физиологических условиях, так и более активно после стимулирующих физических, биохимических, иммунных и других воздействий.

В настоящей работе мы исследовали наличие и локализацию Hsp70 в крысиных ТК, относящихся к двум субпопуляциям: перитонеальным ТК (субпопуляция серозных ТК) и перикардиальным ТК (субпопуляция соединительнотканых ТК).

## Материал и методика

Выделение тучных клеток. Чистая фракция тучных клеток (ТК) была получена из суспензии перитонеальных клеток крысы путем разделения клеточных фракций в ступенчатом градиенте плотности Перколла (Percoll, GE Healthcare) (Enerback, Svensson, 1988). Использовали 10 крыс Вистар массой 250—330 г. После усыпления крыс внутримышечной инъекцией нембутала их декапитировали, инъецировали внутрибрюшинно 10 мл теплого (37 °С) фосфатно-солевого буфера, легко массировали брюшко, вскрывали брюшную полость по средней линии и пастеровской пипеткой собирали смыв клеток перитонеальной полости. Смывы от 10 крыс объединяли, центрифугировали в течение 10 мин при 200 g и ресуспендировали клеточный осадок в 1 мл фосфатно-солевого буфера.

Далее 0.75 мл клеточной суспензии смешивали с 3.5 мл изотонического раствора Перколла, сверху аккуратно наслаивали 0.5 мл физиологического раствора (NaCl 137 мМ, KCl 5 мМ, БСА 0.1 %, Нерес 10 мМ, рН 7.4) и центрифугировали 15 мин при 125 g. Изотонический раствор Перколла получали смешивая 9 мл Перколла с 1 мл 10-кратного физиологического раствора. После центрифугирования фракцию ТК собирали в нижней части пробирки и дважды промывали фосфатно-солевым буфером. Образцы клеточной суспензии для электронно-микроскопического исследования брали до и после разделения в Перколле. Выделенные ТК анализировали методом иммуноблотинга.

Долю (в %) ТК в образцах суспензии, взятых до и после очистки фракции ТК, подсчитывали при помощи светового микроскопа на полутонких срезах, окрашенных метиленовым синим. Для каждого образца анализировали по 300 клеток.

Электрофорез и иммуноблотинг. Электрофорез проводили в 10% -ном полиакриламидном геле с ДСН согласно общепринятой методике (Laemmli, 1970). После электрофореза белки переносили на нитроцеллюлозную мембрану методом полусухого переноса (Towbin et al., 1979). Иммунодетекцию проводили при помощи поликлональных антител R 2.3 против Hsp70 быка (Новоселов и др., 2004) в разведении 1 10 000 и метода усиленной хемилюминесценции. В качестве маркерного белка использовали очищенный препарат Hsp70 быка.

Электронно-микроскопическая иммуноцитохимия. Клетки, выделенные из популяции перитонеальных клеток, а также образцы перикарда фиксировали 2.5%-ным глутаральдегидом на 0.1 М какодилатном буфере с добавлением 0.15 М сахарозы, рН 7.4, в течение 1 ч, постфиксировали в 1%-ном OsO<sub>4</sub>, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в смесь Эпона и Аралдита по стандартным протоколам. Ультратонкие срезы изготавливали с помощью алмазного ножа и помещали на никелевые сеточки. Перед проведением иммунной реакции срезы обрабатывали H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> для разрыхления эпоксидной смолы. В качестве первых антител использовали моноклональные (Lasunskai et al., 1997) или поликлональные (Новоселов и др., 2004) антитела против Hsp70. Срезы инкубировали с первыми антителами в течение 1 сут при 4 °С. Вторыми антителами служили крысиные антитела против мышиного IgG и козы антитела против кроличьего IgG (соответственно первым антителам), конъюгированные с коллоидным золотом (10 нм). Со вторыми антителами срезы инкубировали в течение

Hsp70      ТК



Рис. 1. Вестерн-блот-анализ перитонеальных тучных клеток крысы.

TK — тучные клетки перитонеальной полости крысы, Hsp70 — белок теплового шока 70, выделенный из мышцы быка.

1 ч при комнатной температуре. Затем срезы контрастировали растворами уранил-ацетата и цитрата свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM 7A при 80 кВ. Контролем служили срезы, проведенные по всей процедуре, но минуя обработку первыми антителами.

## Результаты

Популяция клеток перитонеальной полости крысы содержит лимфоциты, эозинофилы, нейтрофилы и тучные клетки (ТК). ТК составляют около 5 % всей клеточной популяции. После разделения в градиенте плотности Перколла в выделенной фракции доля ТК достигает 98 %.

Анализ методом иммуноблотинга показал наличие Hsp70 в ТК перитонеальной полости крысы. На рис. 1 видно, что антитела к Hsp70 специфически связываются с белком, по электрофоретической подвижности соответствующим Hsp70 быка.

Перикард крысы состоит из слоя соединительной ткани, обе поверхности которой покрыты мезотелиальным плоским эпителием. Толщина перикарда варьирует от 13 до 65 мкм. ТК расположены в толще соединительной ткани около кровеносных сосудов и нервных окончаний.

ТК перитонеальной полости и перикарда крысы имеют сходную ультраструктуру (рис. 2). Одноядерная клетка заполнена гранулами. На поверхности клетки имеются многочисленные тонкие выросты, образование которых связано с процессом выхода гранул в ходе спонтанной дегрануляции. Гранулы можно подразделить на два типа: гранулы, заполненные гомогенным содержимым средней электронной плотности, и гранулы, имеющие тонковолокнистую структуру. Гранулы второго типа часто видны в стадии выхода из клетки и в околоклеточном пространстве.

Иммуноцитохимическое окрашивание выявило локализацию Hsp70-иммунореактивного белка в гранулах ТК (рис. 2). Гранулы с гомогенным содержимым метяся значительно интенсивнее, чем тонковолокнистые гранулы внутри и вне клетки.

## Обсуждение

Имеющиеся в литературе сведения о наличии Hsp70 в ТК ограничены двумя фактами. Показано, что в клетках культуры RBL (клетки Rat Basophilic Leukemia, гомологичные мукозным ТК крысы) уровень Hsp70 увеличивается в ответ на повреждающие воздействия, такие как теп-

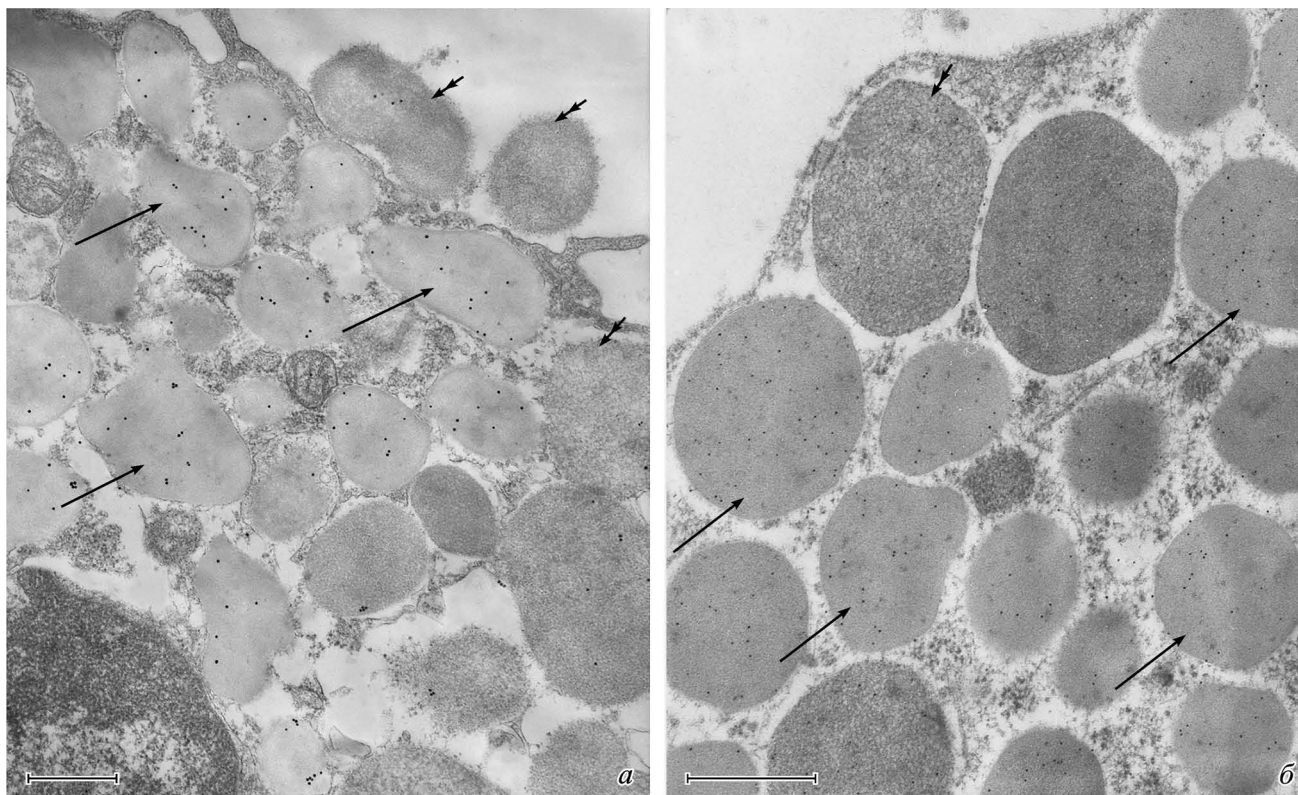


Рис. 2. Иммуноцитохимическое выявление Hsp70-иммунореактивного материала в гранулах тучных клеток перитонеальной полости (а) и перикарда (б) крысы.

Стрелками отмечены запасующие гранулы с гомогенным содержанием, демонстрирующие высокую иммунореактивность; двойные стрелки указывают на готовые к выбросу и вышедшие из клетки гранулы с тонковолокнистой структурой, демонстрирующие очень слабую иммунореактивность или ее отсутствие. я — ядро. Масштабные отрезки — 0,5 мкм.

ловой шок или окислительный стресс (Bachelet et al., 2002), и что в происходящих из костного мозга ТК мышья экспрессия и секреция Hsp70 *in vitro* индуцируются тепловым шоком и другими стрессорными воздействиями (Mortaz et al., 2006). В представленной работе установлено присутствие Hsp70-иммунореактивного материала *in situ* в гранулах серозных и соединительнотканых ТК крыс, не подвергавшихся действию стресс-агентов. Происходит ли секреция этого Hsp70 при нормальных физиологических условиях, неясно. По нашим наблюдениям, спонтанно вышедшие из ТК гранулы содержат Hsp70-иммунореактивный материал в небольших количествах или вовсе его не содержат.

Механизмы секреции ТК не вполне выяснены. Предлагается несколько путей выхода запасаемых в гранулах медиаторов из ТК, реализуемых в разных условиях. Различают регулируемую и конститутивную секрецию ТК. Регулируемая секреция осуществляется под влиянием агентов, активирующих ТК. При сильных воздействиях ТК подвергаются тотальной дегрануляции, в ходе которой гранулы целиком выходят из клетки. Этот тип секреции называют анафилактическим (Dvorak et al., 1991), или «kiss-and-merge» (Deng et al., 2009). Второе название отражает факт слияния мембраны гранулы с плазматической мембраной в ходе дегрануляции. В более мягких условиях происходит дозированная и дифференцированная секреция медиаторов из ТК при помощи везикулярного транспорта от гранулы к поверхности клетки. Этот вариант секреции обозначают как «piecemeal mechanism» (Dvorak, Kissel, 1991).

Еще один предложенный механизм выделения медиаторов ТК, называемый «kiss-and-run» (Deng et al., 2009), включает в себя образование кратковременных нанопор между перигранулярной и плазматической мембранами. По-видимому, это осуществляется через поросомы — структуры плазматической мембраны секреторных клеток, недавно открытые с помощью атомной силовой микроскопии (Jeremic, 2008). Поросомы формируются в месте контакта мембраны секреторных пузырьков с плазматической мембраной; диаметр их проходного канала составляет около 100—150 нм. Эти структуры постулируют как универсальный секреторный механизм. При секреции через поросомы целостность секреторных гранул не нарушается. Так, показано, что выделение Hsp70 из клеток RBL не сопровождается их дегрануляцией (Bachelet et al., 2002).

Как происходит конститутивная секреция ТК — неизвестно. Исходя из наших наблюдений можно предположить, что она осуществляется через поросомы и после выхода некоторых медиаторов (в том числе Hsp70) гранулы сохраняются, но меняется их ультраструктура: запасующие гранулы с гомогенным электронно-светлым содержанием трансформируются в гранулы с рыхлой тонкофибрилярной структурой, которые выходят из клетки как «отработанный материал». Конститутивная секреция небольших доз Hsp70 не вызывает какого-нибудь существенного повышения уровня внеклеточного Hsp70.

Массовый выброс Hsp70 из ТК, можно предположить, происходит только в стрессовых ситуациях, при которых ТК полностью дегранулируют. Нет прямых дан-

ных, указывающих на участие ТК в повышении уровня Hsp70 в плазме крови при наступлении неблагоприятных условий. Однако прослеживается некоторый параллелизм во влиянии различных агентов на уровень Hsp70 и на активность ТК. Например, гипертермия (Nishio, Suzuki, 2005), салицилаты (Togo et al., 2009), никотин (Thomas et al., 1992) и алкоголь (Ruiz, Gomes, 2000) вызывают повышение, а флавоноиды (Park et al., 2008) и ретиноевая кислота (Alexandrakis et al., 2003) — понижение активности ТК. Уровень Hsp70 этими веществами регулируется в том же направлении (Tytell, Hooper, 2001). Вытекающее из этих данных предположение о существовании прямой причинно-следственной связи между секреторной активностью ТК и уровнем Hsp70 нуждается в экспериментальном подтверждении.

Как уже было отмечено, мы показали наличие Hsp70 в гранулах ТК здоровых крыс, не подвергавшихся стрессорным воздействиям. Следовательно, Hsp70 является белком, существующим в гранулах ТК в нормальных физиологических условиях, а не белком, синтезируемым в ответ на какие-либо стресс-факторы, активирующие ТК. Это наблюдение позволяет предположить исполнение Hsp70 каких-то внутриклеточных функций. Известно, что Hsp70 в качестве шаперона вызывает значительные конформационные изменения в полипептидном субстрате и организует трехмерную конфигурацию белков (Walter, Buchner, 2002; Young, 2010). Благодаря своей шаперонной активности локализованный в гранулах ТК Hsp70 может участвовать в пространственной организации разных белков, во множестве накапливающихся в гранулах. Он может также принимать участие в процессах дифференцированной и дозированной секреции белков, вырабатываемых ТК. Показано, что после стрессорного воздействия Hsp70 встраивается в клеточную мембрану (Vega et al., 2008) и участвует в индукции мембранных пор (Alder et al., 1990). Эти данные позволяют предположить вовлеченность Hsp70 в активные мембранные процессы, связанные со слиянием гранул и их выходом в ходе секреции.

Авторы выражают признательность д. б. н. Б. А. Маргулису и д. б. н. И. В. Гужовой за предоставленные антитела. Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 08-04-00528).

### Список литературы

Евдонин А. Л., Медведева Н. Д. 2009. Внеклеточный белок теплового шока 70 и его функции. Цитология 51 (2) : 130—137.  
 Новоселов С. С., Вербова М. В., Васильева Е. В., Воробьева Н. К., Маргулис Б. А., Гужова И. В. 2004. Экспрессия шаперонных белков Hsp70 и Hdj1 в опухолевых клетках человека. Вопр. онкол. 50 : 174—178.  
 Alder G. M., Austen B. M., Bashford C. L., Mehlert A., Pasternak C. A. 1990. Heat shock proteins induce pores in membranes. Biosci. Rep. 10 : 509—518.  
 Alexandrakis M. G., Kyriakou D. S., Seretakis D., Boucher W., Letourneau R., Kempuraj D., Theoharides T. S. 2003. Inhibitory effect of retinoic acid on proliferation, maturation and tryptase level in human leukemic mast cells (HMC-1). Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 16 : 43—47.  
 Altieri S. L., Khan A. N., Tomasi T. B. 2004. Exosomes from plasmacytoma cells as a tumor vaccine. J. Immunother. 27 : 282—288.  
 Asea A. 2003. Chaperone-induced signal transduction pathways. Exerc. Immunol. Rev. 9 : 26—33.

Bachelet M., Marchand F., Souil E., Francois D., Marie-thoz E., Weyer A., Polla B. S. 2002. Expression and localization of heat shock proteins in rat basophilic leukemia cells; differential modulation by degranulation, thermal or oxidative stress. Allergy. 57 : 791—797.  
 Binder R. J., Vatner R., Srivastava P. 2004. The heat-shock protein receptors : some answers and more questions. Tissue Antigens. 64 : 442—451.  
 Calderwood S. K., Mambula S. S., Gray P. J., Jr. 2007. Extracellular heat shock proteins in cell signaling and immunity. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1113 : 28—39.  
 Calderwood S. K., Theriault J. R., Gong J. 2005. Message in a bottle : role of the 70-kDa heat shock protein family in anti-tumor immunity. Eur. J. Immunol. 35 : 2518—2527.  
 Deng Z., Zink T., Chen H. Y., Walters D., Liu F. T., Liu G. Y. 2009. Impact of actin rearrangement and degranulation on the membrane structure of primary mast cells: a combined atomic force and laser scanning confocal microscopy investigation. Biophys. J. 96 : 1619—1639.  
 Dvorak A. M., Kissel S. 1991. Granule changes of human skin mast cells characteristic of piecemeal degranulation and associated with recovery during wound healing in skin. J. Leukoc. Biol. 49 : 197—210.  
 Dvorak A. M., Massey W., Warner J., Kissel S., Kagey-Sobotka A., Lichtenstein L. M. 1991. IgE-mediated anaphylactic degranulation of isolated human skin mast cells. Blood. 77 : 569—578.  
 Dybdahl B., Slørdahl S., Waage A., Kierulf P., Espevik T., Sundan A. 2005. Myocardial ischemia and the inflammatory response: release of heat shock protein 70 after myocardial infarction. Heart. 91 : 299—304.  
 Enerback L., Svensson I. 1988. Isolation of rat peritoneal mast cells by centrifugation on density gradients of Percoll. J. Allergy Clin. Immunol. 82 : 78—86.  
 Evdonin A. L., Martynova M. G., Bystrova O. A., Guzhova I. V., Margulis B. A., Medvedeva N. D. 2006. The release of Hsp70 from A431 carcinoma cells is mediated by secretory-like granules. Eur. J. Cell Biol. 85 : 443—455.  
 Ganter M. T., Ware L. B., Howard M., Roux J., Gartland B., Matthay M. A., Fleshner M., Pittet J. F. 2006. Extracellular heat shock protein 72 is a marker of the stress protein response in acute lung injury. Amer. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 291 : L354—361.  
 Guzhova I., Kislyakova K., Moskaliyova O., Fridlanskaya I., Tytell M., Cheetham M., Margulis B. 2001. In vitro studies show that Hsp70 can be released by glia and that exogenous Hsp70 can enhance neuronal stress tolerance. Brain Res. 914 : 66—73.  
 Hunter-Lavin C., Davies E. L., Bacelar M. M., Marshall M. J., Andrew S. M., Williams J. H. 2004. Hsp70 release from peripheral blood mononuclear cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 324 : 511—517.  
 Jeremic A. 2008. Cell secretion : an update. J. Cell. Mol. Med. 12 : 1151—1154.  
 Kimura F., Itoh H., Ambiru S., Shimizu H., Togawa A., Yoshidome H., Ohtsuka M., Shimamura F., Kato A., Nukui Y., Miyazaki M. 2004. Circulating heat-shock protein 70 is associated with postoperative infection and organ dysfunction after liver resection. Amer. J. Surg. 187 : 777—784.  
 Laemmli U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227 : 680—685.  
 Lasunskaja E. B., Fridlanskaja I. I., Guzhova I. V., Bozhkin V. M., Margulis B. A. 1997. Accumulation of major stress protein 70 kDa protects myeloid and lymphoid cells from death by apoptosis. Apoptosis. 2 : 156—163.  
 Mortaz E., Redegeld F. A., Nijkamp F. P., Wong H. R., Engels F. 2006. Acetylsalicylic acid-induced release of Hsp70 from mast cells in cell activation through TLR pathway. Exp. Hematol. 34 : 8—18.  
 Nishio H., Suzuki K. 2005. Three cases of suspected hyperthermia with remarkable elevation of serum mast cell tryptase. Forensic Sci. Int. 149 : 51—55.

- Njemini R., Lambert M., Demanet C., Kooijman R., Mets T. 2007. Basal and infection-induced levels of heat shock proteins in human aging. *Biogerontology*. 8 : 353—364.
- Park H. H., Lee S., Son H. Y., Park S. B., Kim M. S., Choi E. J., Singh T. S., Ha J. H., Lee M. G., Kim J. E., Hyun M. C., Kwon T. K., Kim Y. H., Kim S. H. 2008. Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Arch. Pharm. Res.* 31 : 1303—1311.
- Pockley A. G., Shepherd J., Corton J. M. 1998. Detection of heat shock protein 70 (Hsp70) and anti-Hsp70 antibodies in the serum of normal individuals. *Immunol. Invest.* 27 : 367—377.
- Ruiz C. M., Gomes J. C. 2000. Effects of ethanol, acetaldehyde, and acetic acid on histamine secretion in guinea pig lung mast cells. *Alcohol*. 20 : 133—138.
- Thomas P. S., Schreck R. E., Lazarus S. C. 1992. Tobacco smoke releases performed mediators from canine mast cells and modulates prostaglandin production. *Amer. J. Physiol.* 263 : L67—L72.
- Togo K., Suzuki Y., Yoshimaru T., Inoue T., Terui T., Ochiai T., Ra C. 2009. Aspirin and salicylates modulate IgE-mediated leukotriene secretion in mast cells through a dihydropyridine receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> influx. *Clin. Immunol.* 131 : 145—156.
- Towbin H., Staehelin T., Gordon J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some application. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 76 : 4350—4354.
- Tytell M., Hooper P. L. 2001. Heat shock proteins: new keys to the development of cytoprotective therapies. *Expert. Opin. Ther. Targets.* 5 : 267—287.
- Vega V. L., Rodriguez-Silva M., Frey T., Gehrmann M., Diaz J. C., Steinem C., Multhoff G., Arispe N., De Maio A. 2008. Hsp70 translocates into the plasma membrane after stress and is released into the extracellular environment in a membrane-associated form that activates macrophages. *J. Immunol.* 180 : 4299—4307.
- Walter S., Buchner J. 2002. Molecular chaperones — cellular machines for protein folding. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 41 : 1098—1113.
- Wang R., Kovalchin J. T., Muhlenkamp P., Chandawarkar R. Y. 2006. Exogenous heat shock protein 70 binds macrophage lipid raft microdomain and stimulates phagocytosis, processing, and MHC-II presentation of antigens. *Blood.* 107 : 1636—1642.
- Young J. C. 2010. Mechanisms of the Hsp70 chaperone system. *Biochem. Cell. Biol.* 88 : 291—300.
- Zhang X., Xu Z., Zhou L., Chen Y., He M., Cheng L., Hu F. B., Tanguay R. M., Wu T. 2010. Plasma levels of Hsp70 and anti-Hsp70 antibody predict risk of acute coronary syndrome. *Cell Stress Chaperones.* 15 : 675—686.
- Zou N., Ao L., Cleveland J. C., Jr., Yang X., Su X., Cai G. Y., Banerjee A., Fullerton D. A., Meng X. 2008. Critical role of extracellular heat shock cognate protein 70 in the myocardial inflammatory response and cardiac dysfunction after global ischemia-reperfusion. *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 294 : H2805—H2813.

Поступила 15 IX 2011

#### THE PRESENCE AND LOCALIZATION OF HEAT SHOCK PROTEIN 70 IN RAT MAST CELLS

S. V. Shabelnikov, O. A. Bystrova, M. G. Martynova

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg;  
e-mail: heartdev@mail.cytspb.rssi.ru

Heat shock protein 70 (Hsp70) is considered not only as a cytosolic stress protein, but also as an extracellular molecule with immunomodulatory and signaling functions that play a role in adaptation to stress on cellular and systemic levels. The active involvement of mast cells in adaptation to stress may be associated with the presence of Hsp70 in secretory granules. Using immunoelectron microscopy, we showed that Hsp70 localized in secretory granules of rat pericardial and peritoneal mast cells. Localization of Hsp70 in rat peritoneal mast cells isolated by centrifugation on Percoll was confirmed by immunoblotting. The proposed involvement of mast cells in production of extracellular Hsp70 and possible functions of Hsp70 inside the mast cells granules are discussed.

Key words: mast cell, secretory granules, heat shock protein 70.