

文章编号:1000-0615(2009)05-0847-09

蛋白磷酸酶 PP-1c 在不同倍性鱼 6 种组织中的分化表达模式

刘文彬¹, 刘姣¹, 马海立¹, 郑春兵¹, 付虎¹,
袁丹¹, 肖亚梅¹, 刘少军¹, 刘筠¹, 李万程^{1,2}

(1. 湖南师范大学生命科学学院, 蛋白质化学与鱼类发育生物学教育部重点实验室, 湖南长沙 410081;

2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Medicine,
University of Nebraska Medical Center, Omaha, Nebraska 68198-5870, USA)

摘要:以异源四倍体鲫鲤及其二倍体父/母本(湘江野鲤/红鲫)和子代三倍体湘云鲫等为实验材料,运用 Western-blotting 技术及荧光免疫组织化学技术等实验手段,分析了 PP-1 的催化亚基在上述不同倍性鱼体内的表达模式:蛋白水平检测发现 PP-1c 在不同倍性鱼的大脑、心脏、肌肉、肾脏、肝脏和性腺 6 种主要器官组织中均有表达,且不同的组织中显示了明显的差异表达模式,而 PP-1c 在这 4 种不同鱼的肌肉组织中的表达差异更显著,其中在异源四倍体鲫鲤中表达最低,在父/母本红鲫中的表达水平相对较高,子代三倍体湘云鲫中的表达最高,这种差异性可能从生化的角度说明了子代与父母本之间的变异性。免疫荧光组化实验结果显示,从整体水平来看,4 种不同鱼的同一组织中,PP-1c 的表达模式是非常相似的,这可能从蛋白和细胞的水平说明了异源四倍体鲫鲤与其二倍体父/母本及子代三倍体湘云鲫之间的遗传相似性。但对于同一组织的不同细胞的具体表达部位是有差异的,具有细胞特异性。

关键词:蛋白磷酸酶 PP-1c;免疫荧光组织化学;不同倍性鱼

中图分类号:S 917; Q 176

文献标识码:A

蛋白质的可逆磷酸化是细胞内普遍存在的、一种主要的共价修饰的生理调节反应,它几乎涉及所有的生理及病理过程,如代谢、细胞的生长发育、神经递质的合成与释放、甚至癌变等。长期以来,蛋白质的可逆磷酸化研究的重点都是针对蛋白激酶,现在越来越多的研究显示与蛋白激酶一样,蛋白磷酸酶在信号转导中也有着同样重要的作用。PP-1 是一个非常重要的丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶,它涉及了许多生命活动的调控,如新陈代谢、细胞周期、细胞信号、肌肉收缩及基因表达等的调控^[1-4]。但先前许多的研究主要以体外培养的细胞为材料,虽然它们为理解细胞如何应答外界的各种刺激提供了有价值的信息,但体外的

研究不能完全复制体内的生理条件或模拟体内复杂的环境,更难以模拟应答不同的氧水平、生长因子浓度及其它各种条件。故本文以较低等的脊椎动物鱼类为研究对象,来探讨其体内 PP-1 的表达模式及生理功能。

本实验室培育的遗传性状稳定,能代代相传的异源四倍体鲫鲤^[5-13]群体,目前已繁殖到 F₁₆,形成了一个染色体数目为 $4n=200$ 的新种。它与湘江野鲤和红鲫(二倍体父/母本)^[14-15]和三倍体湘云鲫(异源四倍体鲫鲤的子代)^[7,13]组成了一个特殊的多倍体鱼研究系统,为发育生物学和分子遗传学研究提供了难得的研究材料。本实验以此 4 种鱼为研究材料,运用 Western-blotting、免

收稿日期:2008-08-06 修回日期:2009-01-20

资助项目:教育厅优秀青年资助项目(08B048);教育部长江学者及创新团队计划基金资助项目(IRT0445);湖南省“芙蓉学者”特聘教授基金资助项目(24030604)

作者简介:刘文彬,刘姣为同等贡献作者

通讯作者:李万程,E-mail:dwli1688@hotmail.com

疫组织化学等技术检测了蛋白磷酸酶催化亚基 PP-1c 在 6 种不同组织中的表达模式和相应的组织细胞分布,为探讨蛋白磷酸酶 PP-1c 在水生动物中的生理功能,以及从信号传导的角度来探索异源四倍体鲫鲤及其二倍体父/母本和子代三倍体湘云鲫之间的遗传关系提供了十分有价值的信息。

1 材料与方法

1.1 材料

异源四倍体鲫鲤、湘江野鲤、红鲫及湘云鲫均取自于湖南师范大学国家四倍体鱼种质资源保护基地,其中异源四倍体鲫鲤为湘江野鲤和红鲫的杂交 F_{14} 。

1.2 方法

Western-blotting 技术定量检测 PP-1c 在不同倍性鱼 6 种组织中蛋白水平的表达模式。取异源四倍体鲫鲤、湘江野鲤、红鲫及湘云鲫各 3 尾,剪鳃放血 10 min,迅速解剖后取大脑、心脏、肌肉、肾脏、肝脏和性腺,提取其总蛋白,用于 Western-blotting 分析。具体操作方法同 Bradford^[16]、Liu 等^[15]及郑春兵等^[18]。

免疫荧光组织化学技术确定 PP-1c 不同倍性鱼 6 种组织中的定位分布。取异源四倍体鲫鲤、湘江野鲤、红鲫及湘云鲫各 3 尾,剪鳃放血 10 min,迅速解剖后取大脑、心脏、肌肉、肾脏、肝脏和性腺,剪适当大小的组织块固定于波恩氏液中,24 h 后更换成 70% 的酒精,用于免疫荧光组织化学染色,具体操作方法同 Liu 等^[17]。

2 结果分析

2.1 PP-1c 在不同倍性鱼 6 种组织中 Western-blotting 结果

Western-blotting 和半定量结果表明 PP-1c 在 4 种不同倍性鱼的大脑、心脏、肌肉 3 种组织中蛋白水平均有表达,其中肌肉组织中的表达水平相对最高,大脑与心脏组织中表达水平相对比较接近,且低于肌肉组织中的表达。并且在这 4 种鱼的同一组织中,PP-1c 的表达存在一定的差异:在大脑组织中 PP-1c 在异源四倍体鲫鲤及湘云鲫中的表达比较相近,并低于二倍体父/母本的表达。而 PP-1c 在这 4 种鱼的心脏组织中的表达水平非常相似,没有明显的差异。但 PP-1c 在这 4 种鱼

的肌肉组织中的表达差异相对更显著,PP-1c 在异源四倍体鲫鲤中表达最低,在其父本湘江野鲤中的表达相对高于异源四倍体鲫鲤,而母本红鲫中的表达水平又高于父本,子代三倍体湘云鲫中的表达最高(图 1,图 2)。

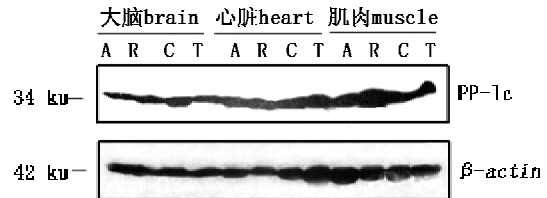


图 1 PP-1c 在 4 种不同倍性鱼大脑、心脏和肌肉组织中的表达

A: 异源四倍体鲫鲤; R: 红鲫; C: 湘江野鲤; T: 三倍体湘云鲫; β -actin 做对照

Fig. 1 Protein expression levels of PP-1c in brain, heart and muscle of 4 different ploidy fish

A: allotetraploid fish; R: red crucian carp; C: common carp; T: triploid crucian carp; β -actin as control

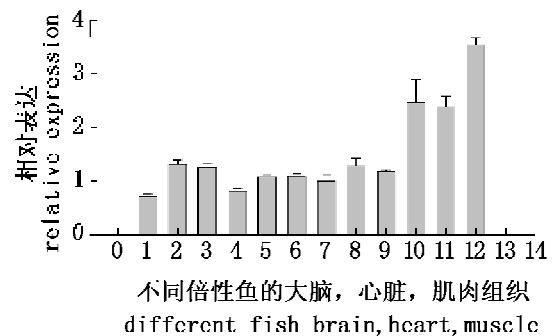


图 2 PP-1c 在 4 种不同倍性鱼大脑、心脏和肌肉组织中的半定量分析

1,5,9: 异源四倍体鲫鲤; 2,6,10: 红鲫; 3,7,11: 湘江野鲤; 4,8,12: 三倍体湘云鲫。1~4 代表大脑; 5~8 代表心脏; 9~12 代表肌肉

Fig. 2 Semi-quantitation of protein expression levels of PP-1c in brain, heart and muscle of 4 different ploidy fish

1,5,9: allotetraploid fish; 2,4,6: red crucian carp; 3,7,11: common carp; 4,8,12: triploid crucian carp
1-4: heart; 5-8: brain; 9-12: muscle

PP-1c 在 4 种不同倍性鱼的肾脏、肝脏及性腺 3 种组织中蛋白水平也均有表达,其中 PP-1c 在性腺组织中的表达水平相对高于肾脏与肝脏两组织。肾脏组织中 PP-1c 在异源四倍体鲫鲤中的表达水平最高,母本红鲫中的表达相对低于异源四倍体鲫鲤,父本与湘云鲫中的表达比较相近,且最低。在肝脏组织中 PP-1c 的表达水平整体都低

于肾脏与性腺两组织。PP-1c 在湘江野鲤肝脏组织中几乎没有表达,湘云鲫中的表达相对最高,异源四倍体鲫鲤与红鲫中的表达次之。PP-1c 在这 4 种鱼的性腺组织中的表达差异相对较大,PP-1c 在异源四倍体鲫鲤(精巢)中的表达最低,父本精巢中的表达最高,几乎是异源四倍体鲫鲤中的表达水平的 12 倍,母本(卵巢)与子代三倍体湘云鲫(卵巢型性腺)中的表达水平居于异源四倍体鲫鲤与父本之间(图 3,图 4)。

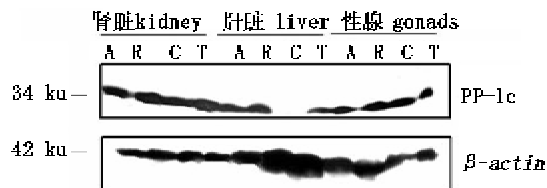


图 3 PP-1c 在 4 种不同倍性鱼肾脏、肝脏和性腺组织中的表达

A:异源四倍体鲫鲤;R:红鲫;C:湘江野鲤;T:三倍体湘云鲫;
β-actin 做对照

Fig.3 Protein expression levels of PP-1c in kidney, liver and gonads of 4 different ploidy fish

A: Allotetraploid fish; R: Red crucian carp; C: Common carp; T: Triploid crucian carp; *β-actin* as control

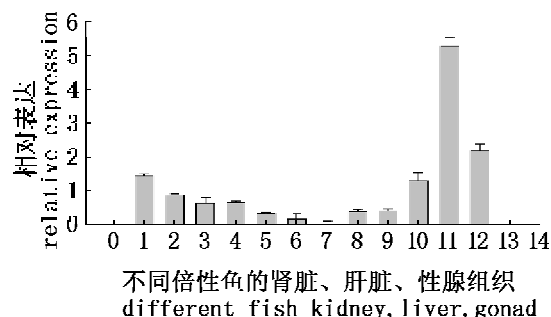


图 4 PP-1c 在 4 种不同倍性鱼肾脏、肝脏和性腺组织中的半定量分析

1,5,9:异源四倍体鲫鲤;2,6,10:红鲫;3,7,11:湘江野鲤;4,8,12:三倍体湘云鲫。1-4 代表肾脏;5-8 代表肝脏;9-12 代表性腺

Fig.4 Semi-quantiation of protein expression levels of PP-1c in kidney, liver and gonads of 4 different ploidy fish

1,5,9: Allotetraploid fish; 2,4,6: Red crucian carp; 3,7,11: common carp; 4,8,12: triploid crucian carp. 1-4: kidney; 5-8: liver; 9-12: gonads

2.2 PP-1c 在不同倍性鱼 6 种组织中免疫荧光组化结果

从免疫荧光组织化学结果看,荧光染色图片

(图版 I-5~8)显示:在 4 种鱼的脑组织中,神经细胞和神经胶质细胞胞质荧光染色较强,而 PP-1c 在这些细胞的细胞核中表达相对较低。对于心脏组织,PP-1c 主要在心肌纤维中表达,而心肌细胞核中的表达则比胞质中稍微强烈(图版 II-5~8)。在肌肉组织中,肌纤维荧光着色较强,因此 PP-1c 主要在肌纤维中表达(图版 III-5~8)。在肾脏组织中,PP-1c 主要分布在肾小管管壁立方状上皮细胞的胞质中,而在其核中的荧光染色则相对较暗,表达含量较弱(图版 IV-5~8)。在肝脏组织中,表达荧光信号的细胞排列成索状,这显示 PP-1c 主要在肝细胞质中,而肝细胞核中则表达较弱。此外,肝索之间的微细血管和微细胆管有较强的荧光信号(图版 V-5~8)。

H. E 染色图片(图版 VI-2)显示:母本红鲫的卵巢发育正常,卵巢中主要存在 II 时相和 III 时相的细胞。对于 II 和 III 时相细胞,PP-1c 主要在卵细胞膜及卵细胞核中表达。而在滤泡细胞中,PP-1c 则在细胞膜上表达(图版 VI-6)。而从 H. E 染色图片(图版 VI-4)中可以看出,本实验中鱼的子代三倍体湘云鲫性腺为卵巢型,但发育并不完全,在相同放大倍数的视野中,只有一个 II 时相的卵母细胞,PP-1c 的表达主要集中在卵细胞膜上(图版 VI-8)。实验鱼异源四倍体鲫鲤父本湘江野鲤的精巢发育良好,精细小管中有许多生精细胞和成熟的精子(图版 VI-1,3)。荧光染色图片显示在曲精小管之间的管壁、曲精小管之间的结缔组织、间质细胞和部分的精原细胞中荧光染色较强,但成熟的精子荧光染色则相对较暗(图版 VI-5,7)。

3 讨论

本实验以 4 种不同倍性的鱼为研究材料,运用 Western-blotting、免疫组化等技术检测了蛋白磷酸酶 PP-1 的表达模式。得到了如下结果:① Western-blotting 检测结果表明,PP-1c 在 4 种不同倍性鱼的 6 种不同组织中均有明显的表达。②其具体的表达水平呈现显著的种属特异性与组织特异性。③荧光免疫组化实验结果显示,PP-1c 在 4 种鱼的同一组织中的分布是比较一致的。④在同一组织中并不是所有细胞都有 PP-1c 的表达,只是在每个组织的特定细胞中发现了 PP-1c 的表达,具有明显的细胞特异性。

异源四倍体鲫鲤的原始母本为二倍体红鲫

($2n = 100$), 原始父本为二倍体湘江野鲤($2n = 100$)。其远缘杂交后代 F_1 、 F_2 为二倍体($2n = 100$)^[11-12]。通过实验观察, 发现部分雌、雄二倍体 F_2 能分别产生二倍体卵子和二倍体精子, 这两种二倍体配子受精可形成四倍体个体。在 F_3 中获得了两性可育的雌、雄四倍体个体($4n = 200$), 它们自交产生 F_4 四倍体鱼群体, 四倍体鱼能稳定地产生二倍体配子, 其两性可育性保证了四倍体性能代代相传, 目前已形成了一个染色体数目为 $4n = 200$ 的稳定的群体($F_3 \sim F_{16}$)。而四倍体鲫鲤与二倍体鱼的杂交后代为不育的三倍体湘云鲫鲤。Western-blotting 检测结果表明, PP-1c 在 4 种不同鱼的 6 种不同组织中蛋白水平有明显的表达。但在这 4 种不同鱼的同一组织中, PP-1c 具体的表达水平呈现显著的种属特异性与组织特异性。这种明显的差异性从生化的角度说明了子代与父母本之间的变异性。而且实验室先前对三倍体鲫(鲤)的肌肉生化成分和氨基酸组成分析进行了研究, 表明它们不但具有较高的营养价值, 而且呈味氨基酸的含量较高, 具有口感鲜美的特点^[14]。因此推测 PP-1c 在三倍体湘云鲫肌肉组织中的高表达可能与此特性有关, 当然还需进一步试验验证。

本实验用的三倍体湘云鲫是卵巢型的性腺, 从相同放大倍数的 H. E 染色图中可以看出, 母本红鲫卵巢发育良好, 卵母细胞非常正常, 数目又多, 而三倍体湘云鲫中只有一个卵母细胞, 说明具有卵黄的卵母细胞大幅度减少, 卵巢发育异常, 所以它是不育的, 这与以前的研究结果一致的^[7], 这又一次从细胞学的角度证明了三倍体湘云鲫的不育性。免疫荧光组化实验结果也同样显示, 父本精巢中的荧光着色明显比其他 3 种鱼中的强烈, 说明 PP-1c 在父本中的表达含量最高, 与 Western-blotting 结果是相符合的。而且 PP-1c 在 4 种不同鱼的同一组织中的定位分布是比较一致的, 在精巢中, PP-1c 主要在曲精小管管膜、精细小管之间的结缔组织、间质细胞和精原细胞中表达。在卵巢中, PP-1c 主要在滤泡细胞和卵细胞膜上表达。这些相似性, 从蛋白水平和细胞学角度说明了异源四倍体鲫鲤与其二倍体父/母本及子代三倍体湘云鲫之间的遗传相似性。

可逆的蛋白磷酸化作用被蛋白激酶和蛋白磷酸酶催化调控, 调节了细胞的功能。含量最丰富

的真核生物蛋白磷酸酶的其中一个就是 PP-1, 它可使丝氨酸/苏氨酸残基去磷酸化, 属于功能多样性的蛋白磷酸酶。PP-1 功能的多样性依靠于其催化亚基(PP-1c)与不同调节亚基的结合, 它们可把催化亚基带到特定的亚细胞位点, 而且调控底物的特异性。例如在哺乳动物中, 肝糖结合亚单位与 PP-1c 作用, 调节了肝糖原的新陈代谢; 肌球蛋白与 PP-1c 结合, 能调节肌纤维的收缩性; PP-1c 与脚手架蛋白的结合, 可调节离子通道的活性; 在神经突触中, nevrabins IT 和 II 与 PP-1c 作用可把 PP-1c 定位到细胞质膜的肌动蛋白细胞骨架上。PP-1c 还可与许多小的细胞质抑制蛋白结合(如 I-1、I-2), 在微小的浓度下可抑制 PP-1c 的活性。在果蝇中, I-2 蛋白广泛分布, 精巢特异性 I-2 样蛋白(I-t)也被鉴定了, 其余的 PP-1c 相关蛋白, 如 KLP38 β , 它是一个有丝分裂的动力素相关蛋白, 它对增殖细胞有丝分裂中染色体的浓缩起了重要的作用^[19]。我们先前的研究结果证实, 在人类晶体上皮细胞中对 Pax-6 进行去磷酸化, 从而调节 Pax-6 的转录功能, 进而调控动物眼睛和大脑的发育^[20]。另外, 我们最近分析了 PP-1 与 PP-2A 在老鼠眼睛中的分化表达情况, 充分地表明了 PP-1 与 PP-2A 对老鼠眼睛功能起着重要的调节作用^[17]。由此可见, 蛋白磷酸酶在动物的肝脏、肌肉、大脑、眼睛及精巢等主要组织器官中有着非常重要的作用。本实验的结果进一步有力地证明了 PP-1 是脊椎动物各种组织器官中非常重要的蛋白磷酸酶, 它们的特异表达和分布是与其生理功能相适应的。当然, 它如何调节其具体的功能, 无疑是一个非常有意义的后续工作。

参考文献:

- [1] 孙大业, 郭艳林, 马力耕, 等. 细胞信号转导[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 136-147.
- [2] Ceulemans H, Bollen M. Functional diversity of protein phosphatase-1, a cellular economizer and reset button[J]. *Physiol Rev*, 2004, 84(1): 1-39.
- [3] Egloff M P, Johnson D F, Moorhead G, *et al.* Structural basis for the recognition of regulatory subunits by the catalytic subunit of protein phosphatase-1[J]. *EMBO J*, 1997, 16: 1876-1887.
- [4] Thompson L J, Bollen M, Fields A P. Identifica-

- tion of protein phosphatase-1 as a mitotic lamin phosphatase[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272: 29693 - 29697.
- [5] 李建中,刘少军,张轩杰,等. 异源四倍体鲫鲤群体遗传多样性的 RAPD 分析[J]. *水生生物学报*, 2005, 29(1): 97 - 100.
- [6] 李建中,鲁双庆,刘少军,等. 异源四倍体鲫鲤及其原始亲本遗传变异的 RAPD 分析[J]. *水产学报*, 2003, 27(5): 403 - 408.
- [7] 刘少军,胡芳,周工建,等. 三倍体湘云鲫繁殖季节的性腺结构观察[J]. *水生生物学报*, 2000, 24(4): 301 - 306.
- [8] 孙远东,刘少军,张纯,等. 异源四倍体鲫鲤 F₉-F₁₁ 染色体和性腺观察[J]. *遗传学报*, 2003, 30(5): 414 - 418.
- [9] Guo X H, Liu S J, Liu Q, *et al.* New progresses on mitochondrial DNA in fish [J]. *J Genetics Genomics*, 2004, 31(9): 983 - 1000.
- [10] Long Y, Liu S J, Huang W R, *et al.* Comparative studies on histological and ultra-structure of the pituitary of different ploidy level fishes [J]. *Science in China Series C: Life Sciences*, 2006, 49(5): 446 - 453.
- [11] 刘筠,周工建. 红鲫(♀)×湘江野鲤(♂)杂交一代生殖腺的细胞学研究[J]. *水生生物学报*, 1986, 10(2): 101 - 107.
- [12] Liu S J, Liu Y, Zhou G J, *et al.* The formation of tetraploid stocks of red crucian carp × common carp hybrids as an effect of interspecific hybridization[J]. *Aquaculture*, 2001, 192: 171 - 186.
- [13] 刘飞,张轩杰. 湘云鲫肌肉生化成分和氨基酸组成分析[J]. *内陆水产*, 2000, 187(7): 8 - 9.
- [14] 李万程,刘筠. 岳鲤及其双亲(荷包红鲤♀×湘江野鲤♂)的血红蛋白和血清蛋白的研究[J]. *水生生物学报*, 1986, 10(4): 365 - 371.
- [15] 李万程. 岳鲤及其双亲(荷包红鲤♀、湘江野鲤♂)LDH同工酶的研究[J]. *遗传学报*, 1988, 15(1): 46 - 51.
- [16] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248 - 254.
- [17] Liu W B, Li Y, Zhang L, *et al.* Differential expression of the catalytic subunits for PP-1 and PP-2A and the regulatory subunits for PP-2A in mouse eye [J]. *Mol Vis*, 2008, 14: 762 - 773.
- [18] 郑春兵,马海立,付虎,等. 金鱼“PP2A-B”家族 Alpha 和 Gamma 调节基因的 cDNA 克隆及 RNA 表达 [J]. *自然科学进展*, 2009, 19(2): 36 - 42.
- [19] Helps N R, Cohen P T W, Bahri S M, *et al.* Interaction with protein phosphatase-1 is essential for bifocal function during the morphogenesis of the drosophila compound eye [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2001, 21: 2154 - 2164.
- [20] Yan Q, Liu W B, Qin J, *et al.* Protein phosphatase-1 dephosphorylates Pax-6, a transcription factor controlling brain and eye development [J]. *J Biol Chem*, 2007, 280(19): 13954 - 13965.

Analysis of the differential expression patterns of the protein phosphatase-1c in six tissues from the different ploidy level fish

LIU Wen-bin¹, LIU Jiao¹, MA Hai-li¹, ZHENG Chun-bing¹, FU Hu¹,
YUAN Dan¹, XIAO Ya-mei¹, LIU Shao-jun¹, LIU Yun¹, LI Wan-cheng^{1,2}

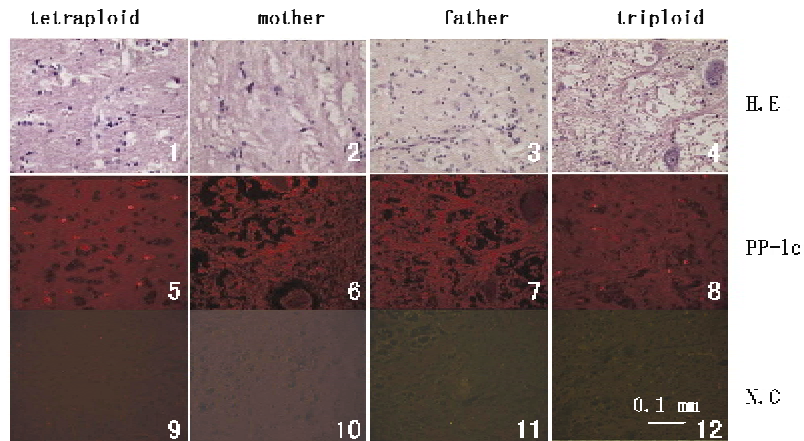
(1. *Key Laboratory of Protein Chemistry and Developmental Biology of National Education Ministry of China, College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, China;*

2. *Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Medicine, University of Nebraska Medical Center, Omaha, Nebraska 68198-5870, USA)*

Abstract: Protein phosphorylation and dephosphorylation are the most important regulatory mechanisms governing many aspects of biology. Phosphoproteome studies have revealed that phosphorylation and dephosphorylation modulate functions of more than one third of the total cellular proteins. In eukaryotes, dephosphorylation at serine/threonine residues are executed by four major protein phosphatases, Phosphatase-1 (PP-1), Phosphatase-2A (PP-2A), Phosphatase-2B (PP-2B), Phosphatase-2C (PP-2C), and several minor phosphatases including Phosphatase-4 (PP-4), Phosphatase-5 (PP-5), Phosphatase-6 (PP-6), and Phosphatase-7 (PP-7). Among these different phosphatases, Protein Phosphatase-1 (PP-1) is one of the most important protein serine/threonine and plays distinct roles in regulating gene expression, signal transduction, cell proliferation, differentiation, transmission, apoptosis, autophagy, morphogenesis, organogenesis and other cellular activities. Our previous studies have demonstrated that PP-1 is a major phosphatase that dephosphorylates Pax-6 to modulate its function in regulating brain and eye development. More recently, we have established the expression patterns of the catalytic subunits and the regulatory subunits for PP-1 in mouse eye. To explore the possible functions of PP-1 in various tissues of the lower vertebrates, here, we have analyzed the differential expression patterns and the cellular localizations of the catalytic subunit for PP-1 using western blot and immunohistochemistry on four different ploidy fish: the allotetraploid hybrids and their diploid parents, common carp (δ) and red crucian carp (♀) as well as the triploid crucian carp derived from crossover between the allotetraploids and common carp or between the allotetraploids and the red crucian carp. Our study demonstrated the following results: (1) PP-1c is expressed in the brain, heart, muscle, kidney, liver, and gonads with defined differential expression patterns. (2) The most striking feature is that a relatively higher level of PP-1c expression was found in the muscle of the above fish. (3) Compared among the muscle tissues from 4 types of fish, the lowest level of PP-1c expression was detected in the allotetraploid fish, an intermediate level of PP-1c detected in both parents and the highest level of PP-1c observed in the triploid crucian carp. Such a pattern illustrates its variability between filial generation and the corresponding parents. (4) The immunohistochemistry study revealed similar localization of PP-1c in certain groups of cells within the same tissue from the four different organisms. Together, these results lead to the following conclusions: (1) PP-1c is differentially expressed in various tissues of the four different ploidy level fishes; (2) PP-1c functions are highly regulated in different tissues; (3) Within the same tissue of the four types of fish, PP-1c is localized in the same types of cells; and (4) the presence of strong PP-1c immunofluorescence signal in certain nuclei of neurons in both allotetraploid and triploid brains but not in those of the diploid parents indicates that PP-1c may be used

as a biochemical marker to distinguish the different types of fish. In summary, our results represent the first report on the differential expression patterns of the protein phosphatase-1c in six tissues from the different ploidy level fish, and provide valuable information for the future study of the PP-1c functions in these organisms.

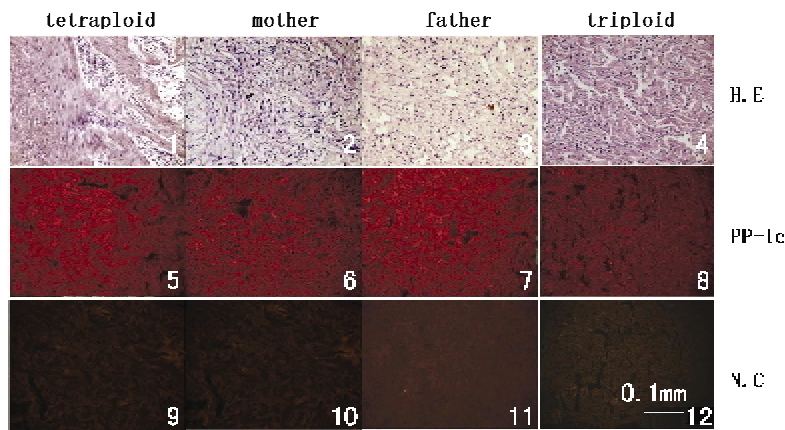
Key words: PP-1c; fluorescence immunohistochemistry; the different ploidy level fish



图版 I Plate I

1~4. 4 种不同倍性鱼大脑组织 H·E 横切片。5~8. PP-1c 在 4 种不同倍性鱼大脑组织中的定位。9~12. 4 种不同倍性鱼大脑组织阴性对照。放大倍数 bar=0.1mm。

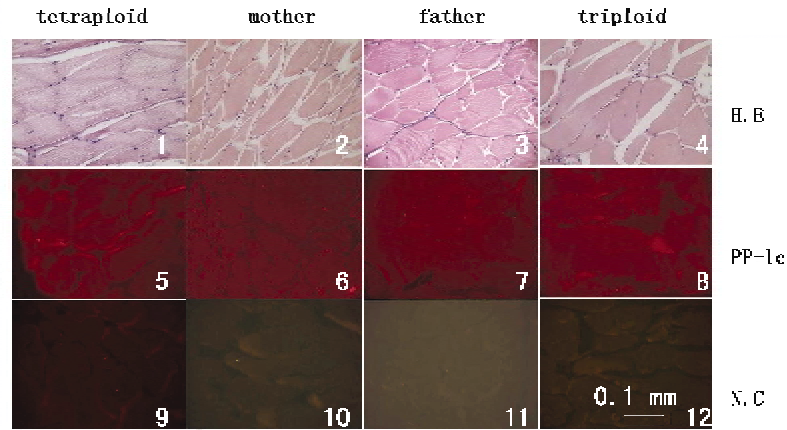
1-4. The cross section of brain in 4 different ploidy fish. 5-8. The localization of PP-1c in brain of 4 different ploidy fish. 9-12. The control in brain of 4 different ploidy level fish. bar=0.1mm.



图版 II Plate II

1~4. 4 种不同倍性鱼心脏组织 H·E 横切片。5~8. PP-1c 在 4 种不同倍性鱼心脏组织中的定位。9~12. 4 种不同倍性鱼心脏组织阴性对照。放大倍数 bar=0.1mm。

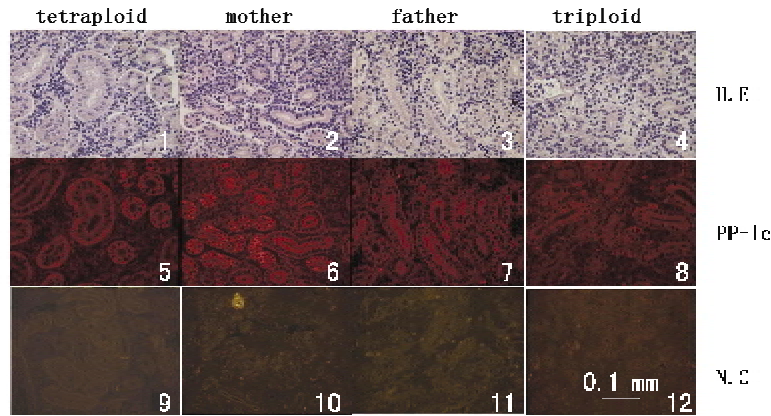
1-4. The cross section of heart in 4 different ploidy fish. 5-8. The localization of PP-1c in heart of 4 different ploidy fish. 9-12. The control in heart of 4 different ploidy fish. bar=0.1mm.



图版III Plate III

1~4. 4种不同倍性鱼肌肉组织H·E横切片。5~8. PP-1c在4种不同倍性鱼肌肉组织中的定位。9~12. 4种不同倍性鱼肌肉组织阴性对照。放大倍数 $\text{bar}=0.1\text{mm}$ 。

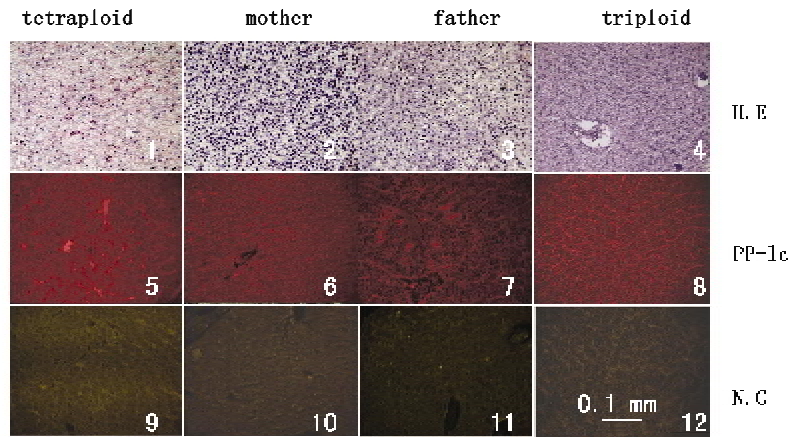
1-4. The cross section of muscle in 4 different ploidy fish. 5-8. The localization of PP-1c in muscle of 4 different ploidy fish. 9-12. The control in muscle of 4 different ploidy fish. $\text{bar}=0.1\text{mm}$.



图版IV Plate IV

1~4. 4种不同倍性鱼肾脏组织H·E横切片。5~8. PP-1c在4种不同倍性鱼肾脏组织中的定位。9~12. 4种不同倍性鱼肾脏组织阴性对照。放大倍数 $\text{bar}=0.1\text{mm}$ 。

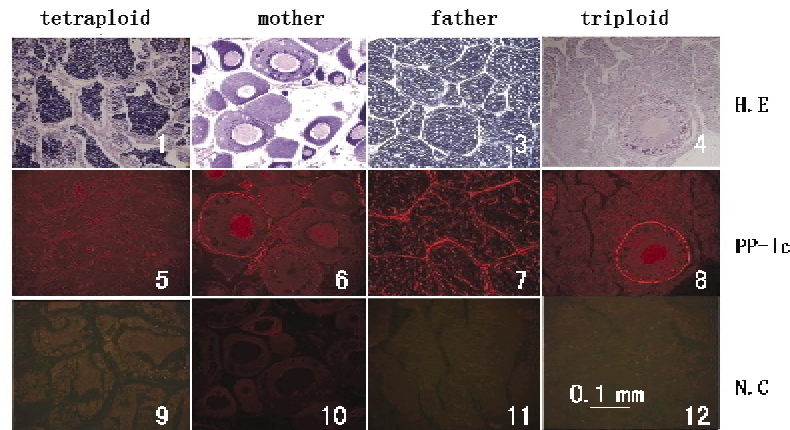
1-4. The cross section of kidney in 4 different ploidy fish. 5-8. The localization of PP-1c in kidney of 4 different ploidy level fish. 9-12. The control in kidney of 4 different ploidy fish. $\text{bar}=0.1\text{mm}$.



图版 V Plate V

1~4. 4 种不同倍性鱼肝脏组织 H·E 横切片。5~8. PP-1c 在 4 种不同倍性鱼肝脏组织中的定位。9~12. 4 种不同倍性鱼肝脏组织阴性对照。放大倍数 bar=0.1mm。

1-4. The cross section of liver in 4 different ploidy fish. 5-8. The localization of PP-1c in liver of 4 different ploidy fish. 9-12. The control in liver of 4 different ploidy fish. bar=0.1mm.



图版 VI Plate VI

1~4. 4 种不同倍性鱼性腺组织 H·E 横切片。5~8. PP-1c 在 4 种不同倍性鱼性腺组织中的定位。9~12. 4 种不同倍性鱼性腺组织阴性对照。放大倍数 bar=0.1mm。

1-4. The cross section of gonads in 4 different ploidy level fish. 5-8. The localization of PP-1c in gonads of 4 different ploidy fish. 9-12. The control in gonads of 4 different ploidy fish. bar=0.1mm.