

## 홍조식물 붉은석묵(*Campylaephora crassa*)과 근연종의 Phycoerythrin에 의한 면역학적 유연관계

朴亨信·白相基·夫性民  
(충남대학교 자연과학대학 생물학과)

### Immunological Relationship Based on Phycoerythrin in *Campylaephora crassa*, Rhodophyta and Its Related Species

Park, Hyung Shin, Sang Gi Paik and Sung Min Boo  
(Department of Biology, Chungnam National University, Daejeon 305-764)

#### ABSTRACT

Phycoerythrins from the ceramiaceous red algae *Campylaephora crassa* (Okamura) Nakamura and related species, *C. hypnaeoides* J. Agardh and *Ceramium kondoi* Yendo, were investigated for absorption spectra, protein bands by gel electrophoresis and antigenic reactivity to anti-phycoerythrin using Ouchterlony double diffusion and immunoblot. Similarities in absorption spectra, showing peaks at ca. 566 nm>534 nm>495 nm, were found between *C. crassa* and *Cm. kondoi*, while *C. hypnaeoides* differed slightly. There were no differences in fluorescence emission spectra and protein bands between *C. crassa* and related species tested. Since Ouchterlony double diffusion, however, showed that phycoerythrins from *C. crassa* and *Cm. kondoi* were similar in antigenic reactions, and differed from that of *C. hypnaeoides*, the taxonomic position of *C. crassa* should be reinvestigated using other experimental approaches.

#### 서론

Phycoerythrin(PE)은 홍조식물에서 가장 풍부한 광합성의 보조색소로서 진화적 유연관계를 반영하는 성분분류학적 표지의 하나로 이용되고 있다(Glazer, 1977; Glazer *et al.*, 1982). 이를테면, 김파래과의 *Porphyridium*속에서는 PE의 구조와 항원반응(antigenic reactivity)에 대한 이종간의 특이성이 연구되었고(Gantt and Lipschultz, 1974; Rennis, 1991), 비단풀과의 *Callithamnion*속에서도 PE에서 얻은 항혈청으로 종간의 면역학적 유연관계가 검토된 바 있다(Spencer *et al.*, 1981; Yu *et al.*, 1981). 이와 같은 생화학적 접근 방법은 최근 홍조식물에서 형태적으로 야기된 여러가지 분류학적 문제점들을 해결하는 데 많은 도움이 되고 있다(Rennis, 1991; Rennis and Ford, 1992).

붉은석묵[*Campylaephora crassa*(Okamura) Nakamura]은 원반형의 가근, 두꺼운 피층 및 포자의 직경이 크다는 점에서 홍조식물 비단풀과의 *Campylaephora*속에 속하고, 체장이 크고 갈고리형 가지가 없다는 점에서 다른 종과 구별되며(Nakamura, 1965; Boo and Yoshida, 1991), 한국의 인근 연안과 미국의 California 해안에서 생육한다(Boo, 1992). 그러나, 형태적 변이가 매우 다양하여 5개의 품종으로 세분하고 있으며, 종의 한계에 대하여 분류학적 문제점들이 노출되고 있다. 이를테면, 형태적 특징에 근거한 종 하위 분류군들은 지역이나 발생과정의 변이로 해석될 수 있으므로, 이에 대한 다양한 실험분류학적 접근의 필요성이 요구되고 있다(Boo *et al.*, 1991). 동일속의 석묵(*C. hypnaeoides* J. Agardh)에서는 PE 흡광도가 홍조식물의 상위 분류계급의 성분분류학적 유연관계에 대한 연구의 일환으로 분석되었으나(Hirose and Kumano, 1966), 붉은석묵에서는 아직까지 어떠한 형태의 성분분류학적 연구도 시도된 바 없다. 한편, 비단풀과를 비롯한 다른 분류군에서

이 연구는 '92년도 한국과학재단의 연구비 지원(921-0400-020-2)에 의한 결과임.

Table 1. Materials used in this study for the purification of phycoerythrin and interpretation of immunological relationship

Taxon	Location and Habitat	Date
<i>Campylaeophora crassa</i>	on <i>Grateloupia cornea</i> in Sinnam,	Apr. 1992.
	East coast	
	on <i>G. cornea</i> in Hupo,	Apr. 1992.
	East coast	
	on <i>Sargassum yezoense</i> in Ganggu,	Apr. 1992.
	East coast	
	on <i>S. yezoense</i> in Guryongpo,	Jan. 1992.
	East coast	
<i>Campylaeophora hypnaeoides</i>	on <i>Sargassum</i> spp. in Guryongpo,	Jan. 1992.
	East coast	
<i>Ceramium kondoi</i>	on rock in Gaeuido,	Jul. 1992.
	West coast	

광합성 보조색소의 종류와 흡광스펙트럼은 Hirose(1975)와 Honsell 등(1984)에 의하여 정리되고 토의되었다.

본 연구에서는 굵은석목(*Campylaeophora crassa*)의 성분 분류학적 유연관계를 파악하기 위하여, 4개의 지역 개체군과 근연종인 석목(*C. hypnaeoides*) 및 비단풀(*Ceramium kondoi* Yendo)의 야외에서 채집된 재료에서 PE를 정제하여 흡광도와 전기영동의 단백질 band를 비교하였다. 또한, 토끼에서 얻은 PE-항혈청을 이용한 Ouchterlony test와 immunoblot 방법으로 지역 개체군과 근연종간의 면역학적 유연관계를 검토하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료.** 굵은석목(*Campylaeophora crassa*)은 동해안 구룡포의 조간대에서 채집하고 생체로 실험실로 이송하여 해수로 깨끗이 씻어  $-80^{\circ}\text{C}$  deep freezer에 두고, PE의 정제와 항체 생성 실험에 사용하였다. 3개의 다른 지역 식물체들도 채집하여 개체군간 비교를 하였으며, 근연종은 석목(*C. hypnaeoides*)과 비단풀(*Ceramium kondoi*)로 선택하였다(Table 1). 항혈청은 오산 삼육농장에서 구입한 토끼(New Zealand White)에서 얻었다.

**Phycoerythrin의 정제.** PE는 1 mM 2-mercaptoethanol과 1 mM sodium azide를 완충용액에 넣어  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 Yu 등(1981)의 방법으로 정제하였다. 생체량으로 25 g의 재료를 50 mM potassium phosphate buffer(PPB, pH 7.0)로 깨끗이 씻어내어 10 mM PPB(pH 7.0)를 넣고, pyrex glass homogenizer로 마쇄하였다. 추출물은 27,000 g에서 30분간 원심분리하고 상정액은 ammonium sulfate(최종농도 35%)로 1시간 침전시켰다. 침전물은 다시 원심분리하여 동량의

1 mM PPB(pH 7.0)를 넣고 24시간 투석하였다. 투석된 시료는 hydroxylapatite column(Bio-Rad,  $3 \times 20$  cm)에서 1~50 mM potassium phosphate gradient 용액 200 mL를 넣어 용리하였다. 용리된 PE 분획들은 모아서 hydroxylapatite chromatography를 반복하고, 65% ammonium sulfate로 침전하여 24시간 투석하였다. 투석된 PE는 DEAE-Sephadex G-200 column(Pharmacia,  $1.8 \times 100$  cm)에서 20 mM PPB(pH 7.0)로 용리하였다. 각 분획은 100~200 mesh로 시간당 8 mL씩 수집하고, Amicon Diaflo membrane (YM-10)으로 농축하여 PE를 정제하였다.

**단백질의 정량.** 단백질 정량은 Bradford(1976) 방법을 이용하였다. BioRad에서 구입한 Bradford 염색약을 단백질과 반응시키고 A 595 nm에서 UV/VIS spectrophotometer(Beckman, DU-65)로 측정하였다. 표준 단백질로는 bovine serum albumin(BSA)을 사용하였다.

**Phycoerythrin의 흡광 및 형광 방사스펙트럼.** PE의 흡광도는 Van der Velde(1973a, b)의 방법에 따라 UV/VIS spectrophotometer로 측정하였다. 형광 방사 스펙트럼(fluorescence emission spectra)은  $2 \mu\text{g/mL}$ 의 PE을 530 nm에서 여기시켜 spectrofluorometer(Jasco, FP-70)로 측정하였다.

**전기영동.** 단백질은 15%의 gel과 discontinuous buffer system(pH 6.8~8.8)에서 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)로 확인하였다. 표준 단백질은 Sigma회사 제품의 분자량 marker를 이용하였다. 염색은 0.125% coomassie brilliant blue R-250로 하였고, 탈색은 35% methanol과 10% acetic acid 혼합 수용액으로 하였다.

**항체생성.** 굵은석목의 구룡포 개체군에서 정제한 PE를 토끼에 주사하여, Eun 등(1981)의 방법으로 항체를 얻었다. PE( $400 \mu\text{g/mL}$ )를 동량의 complete Freund's adjuvant(CFA)와 잘 섞어 근육주사를 하고, 3주 후에 2차 주사하였고, 다시 2주 후에 incomplete Freund's adjuvant와 섞은 PE를 주사하고 항체 생성을 확인하기 위한 면역반응을 실시하였다. 1주일 후에 4차 주사하고, 3일 후에 채혈하여 항혈청을 얻었다.

**Ouchterlony test와 immunoblot.** Phosphate buffered saline(PBS, pH 7.2)에 녹인 1% agarose를 유리판( $8 \times 8 \times 0.15$  cm)에 부어서 1.5 mm 두께의 gel을 만들고, 직경 4.0 mm 구멍을 뚫어 PE-항혈청을  $10 \mu\text{L}$ 씩 넣고  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 14~18시간 반응시켰다. 염색과 탈색은 Ouchterlony와 Nilsson(1986)를 따랐다.

Immunoblot은 Harlow와 Lanen(1988)의 방법을 변형하여 사용하였다. PE는 SDS-PAGE로 처리하고, nitrocellulose paper(NC paper)와 여과지(Whatman 3MM) 및 gel을 transfer buffer에 적서 동결화시키고, Semiphore transfer

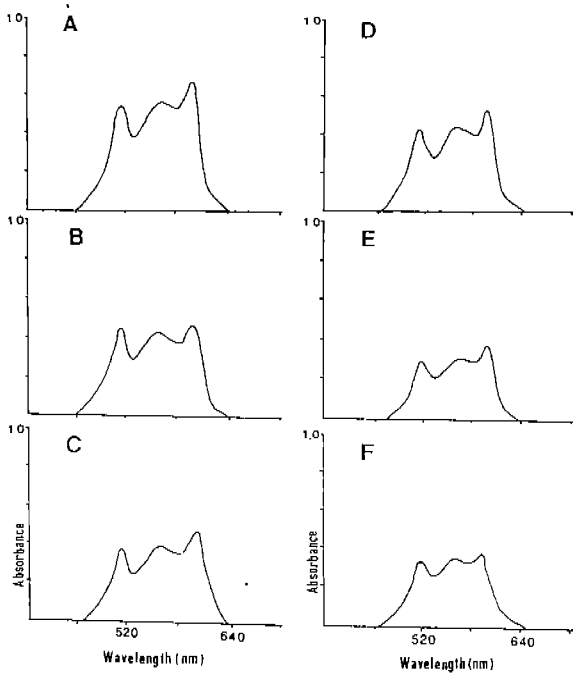


Fig. 1. Spectral characteristics of phycoerythrins in (A) *Campylocephora crassa* from Guryongpo, (B) from Hupo, (C) from Ganggu, (D) from Sinnam, (E) *C. hypnaeoides* from Guryongpo and (F) *Ceramium kondoi* from Gaeuido.

unit(Hoeffer, TE-70)에서 100 mA, 40 V로 1시간 전이시켰다. 전이된 NC paper는 3% BSA/PBS로 상온에서 2시간 blotting하고, PE-항혈청을 1:100으로 희석하여 반응시켰다. 다시 PBS로 2회 세척하여 horseradish peroxidase로 표지된 anti-rabbit IgG(Cap-pel)를 1:2,000으로 희석하여 반응시킨 후, 4회 세척하여 chloronaphthol 용액과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 넣어 30분 발색하고 PBS로 세척하여 반응을 정지시켰다.

### 결과 및 고찰

**Phycoerythrin의 정제와 흡광스펙트럼.** PE의 흡광도는 비단풀과에서 565~570 nm, 535~540 nm, 495~500 nm에서 peak를 보이며, 홍조식물에서 흔히 상위 분류군의 식별형질로 이용되고 있다(Hirose, 1975; Hirose and Kuman, 1966; Glazer et al., 1982). 그러나, PE의 양은 식물체가 빛에 대한 적응의 결과로 나타날 수 있으며, 흡광도가 동일속의 이종간에도 달라질 수 있다는 사실이 *Gracilaria*속(Rennis, 1991)과 *Callithamnion*속에서 알려져 있으므로, PE의 흡광도는 다른 형질과 연관시켜서 속 또는 종 수준에서 분류학적으로 유용한 식별 형질로 이용되고 있다(Spencer et al., 1981).

굵은석묵의 구룡포 개체군에서 추출한 phycobilin은 phycoerythrin(PE)과 phycocyanin(PC)으로 분리되었다. PE는 흡광 스펙트럼이 566 nm>534 nm>495 nm에서 peak를 보이며, PC는 540 nm, 620 nm에서 peak를 보였다. PE와 PC를 혼합한 단백질의 스펙트럼은 3개의 peak로 보이며, 수종의 홍조식물에서 얻은 결과(Beer and Eshel, 1985)와 유사하였다.

PE는 A<sub>497</sub>/A<sub>280</sub>에서 흡광도로 분석하면, 흡광도가 높은 PE I과 흡광도가 낮은 PE II로 용리된다. PE I의 흡광 스펙트럼은 495 nm, 534 nm, 566 nm에서 peak를 보였다(Fig. 1A). PE II도 PE I과 유사하여 495 nm, 534 nm, 562 nm의 peak가 나타났다. 굵은석묵의 후포와 강구 및 신남 개체군의 PE도 흡광도의 peak나 흡광의 경향성에서 구룡포 개체군과 뚜렷한 차이는 없었다(Fig. 1B-D). 신남과 후포 개체군은 *C. crassa* f. *borealis*와 유사하고, 강구와 구룡포 개체군은 *C. crassa* f. *crassa*로 동정되어 지역 개체군들간에 형태적 차이가 있으나(Boo et al., 1991), 본 연구가 각 조사 지소에서 같은 시기에 채집된 식물체에서 수행되었으므로, PE의 흡광도는 굵은석묵에서 종 하위 분류군의 형태적 변이를 반영할 만큼 다양하지는 않다고 생각된다.

석묵에서 흡광 peak는 561 nm>534 nm>497 nm로 나타난다(Fig. 1E). 이는 565 nm>495 nm>540 nm의 peak를 보이는 일본산 식물(Hirose et al., 1969)과는 흡광 peak의 순서와 파장에서 다르다. 석묵의 한국산 식물과 일본산 식물은 형태적으로 매우 유사하므로(Nakamura, 1965), PE의 흡광 스펙트럼의 차이는 분석된 재료의 채집시기의 차에 기인하거나, 분석상의 오차일 수도 있다. 한편, 석묵은 최대 흡광 peak가 561 nm에서 나타나고 있는 반면, 굵은석묵과 비단풀에서는 565~566 nm에서 최대 흡광 peak가 나타났다.

비단풀에서 흡광 스펙트럼은 566 nm>540 nm>496 nm에서 peak가 보이며(Fig. 1F), *C. crassa*의 본 연구 결과나 *Ceramium*속의 선행된 연구들(Hirose, 1975; Honsell et al., 1984)과 유사하다. 굵은석묵은 원래 *Ceramium*속의 한 분류군이었음을 감안할 때(Nakamura, 1965), 두 종간에서 흡광도의 유사성은 성분분류학적으로 주목된다.

한편, 분석된 모든 시료의 형광 방사 스펙트럼은 576~578 nm인 것으로 보아 굵은석묵의 지역 개체군들이나 근연종간에서 PE의 형광 속성에는 큰 차이가 없었다.

**전기영동에 의한 phycoerythrin 분석.** 굵은석묵의 구룡포 개체군에서 정제 단계에 따라 분리된 색소 단백질을 PE와 PC로 분획하여 SDS-PAGE하면, PE에서는 3개의 band가 나타나는 데 반하여 PC는 2개의 band만이 나타난다(Fig. 2). PE에서만 나타나는 단백질 band는  $\gamma$  sub-unit로서 두 색소 단백질은 본 정제상에서 분리되었음을 알 수 있다. Fig. 2의 PE 분획은 SDS-PAGE로 재 분석하면,

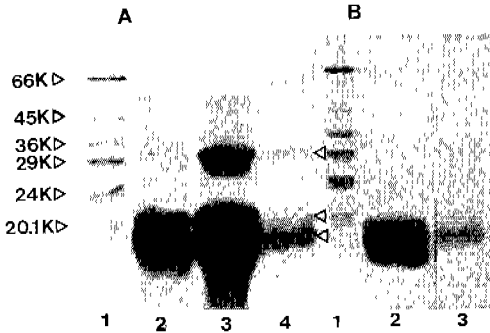


Fig. 2. Gel electrophoresis (SDS) of partially purified phycobiliproteins in *Campylaeophora crassa*. A; 1, protein marker, 2, crude extract, 3, 35% ammonium sulfate precipitate, and 4 rechromatography fraction. B; 1, protein marker, 2, phycocyanin fractions and 3, phycoerythrin fraction.

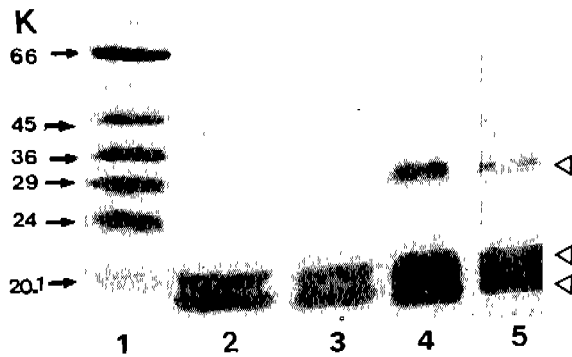


Fig. 3. Gel electrophoresis (SDS) of partially purified phycoerythrins in *Campylaeophora crassa*. 1, protein marker, 2-3, phycoerythrin II, and 4-5, phycoerythrin I.

PE I과 PE II로 뚜렷이 구분된다(Fig. 3). PE I의 구성 단위는  $\alpha$  subunit가 17 kD,  $\beta$  subunit가 20 kD,  $\gamma$  subunit가 30 kD으로 나타나는데, 이는 PE I이  $(\alpha\beta)_6 \gamma$  형태로 안정되어 있기 때문이라고 추정된다. 반면에 PE II에서는  $\alpha$  subunit와  $\beta$  subunit는 PE I과 유사하나,  $\gamma$  subunit가 나타나지 않아서,  $(\alpha\beta)_n$ 의 형태로 존재한다는 선행된 연구(Van der Velde, 1973a, b)와 일치한다.

정제된 PE I은 native-PAGE 상에서 하나의 단백질로서, 분자량은 약 250 kD으로 추정된다. 이는 대부분의 홍조식물에서 PE I은 분자량이 250 kD이고, PE II는 분자량이 40 kD인 것으로 밝힌 Van der Velde(1973a, b)의 결과와 일치한다. 본 연구에서 나타난 것처럼 PE의  $\alpha$  subunit와  $\beta$  subunit가 분자량이 서로 다른 경우는 *Gracilaria*속에서도

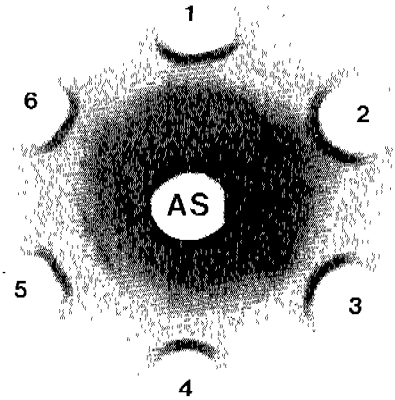


Fig. 4. Ouchterlony double diffusion patterns of phycoerythrins and anti-phycoerythrin I from *Campylaeophora crassa* Guryongpo plants. The center well contains 10  $\mu$ l undiluted antiserum (AS) and the outside wells contain partially purified phycoerythrins. 1, *C. crassa* from Guryongpo, 2, from Hupo, 3, from Ganggu, 4, from Sinnam, 5, *Ceramium kondoii* from Gaeuido and 6, *C. hypnaeoides* from Guryongpo.

보고되었다(Rennis, 1991). 이와 같은 점은 PE I에서 subunit들의 분자량은 분류군에 따라 유전물질의 전사나 전이 과정에서 다양성을 나타내어 종이나 속 수준에서 고유한 생화학적 특징이 될 수 있음을 시사한다. 반면에, *Callithamnion*속에서는  $\alpha$ 와  $\beta$  subunit의 분자량은 동일하다고 알려져 있다(Spencer *et al.*, 1981; Yu *et al.*, 1981).

전기영동으로 정제된 굵은식물의 구룡포 개체군의 PE I은 신남, 후포 및 강구 개체군이나 식물과 비단풀에서 분리한 PE I과 단백질의 band가 서로 유사하였다(자료 미제시). PE의 흡광스펙트럼과 달리, 광합성 색소 단백질의 band는 동종의 지역 개체군이나 근연 분류군간에서 뚜렷한 차이가 없었다.

**면역학적 유연관계.** 굵은식물의 구룡포 개체군에서 정제한 PE I의 항혈청은 Ouchterlony test에서 PE I과는 항원 항체 반응이 뚜렷히 나타난다(Fig. 4). 그러나, 같은 농도를 사용한 PC에서는 반응이 전혀 일어나지 않는 것으로 보아서 PE I-항혈청은 PE에만 선택적으로 면역 반응이 있는 것을 확인하였다. PE I-항혈청은 굵은식물의 신남, 강구, 후포 지역의 개체군들과 항원 항체 반응이 뚜렷이 나타나서, 지역 개체군들간에 PE의 면역는 동질성을 보여주었으며, 아울러 비단풀에서도 항원 항체 반응은 매우 뚜렷이 나타났다. 반면에 식물에서는 항원 항체 반응은 매우 미약하였다. 식물의 면역성은 ELISA 반응에서 양성으로 나타났으나, 반응 농도가 굵은식물의 농도보다도 10배 이상 높아서 정량적으로 구분되었다. 이 결과는 굵

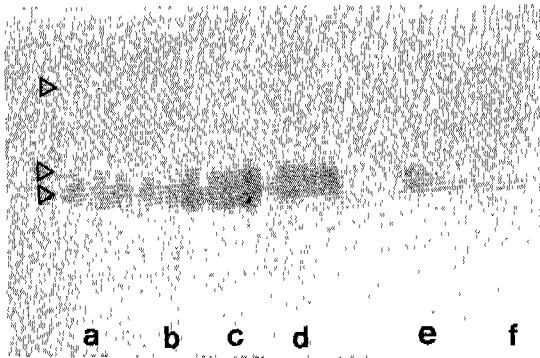


Fig. 5. Immunoblots showing specificity of anti-phycoerythrin against partially purified phycoerythrin I from (a) *Campylaeophora crassa* from Guryongpo, (b) from Hupo, (c) from Ganggu, (d) from Sinnam, (e) *C. hypnaeoides* from Guryongpo and *Ceramium kondoi* from Gaeuido.

은석목은 비단풀과 면역적 동질성이 있는 반면, 석목과는 면역적 이질성이 있음을 시사한다.

석목은 가지에 갈고리형 구조와 내피층세포에 2차 벽공 연결이 있어서 굵은석목 및 비단풀과 뚜렷이 다른 반면 (Itano, 1977; Boo, 1985), 오히려 굵은석목은 *Ceramium* 속에 속하는 비단풀과 유사하여서 *Campylaeophora*속과 *Ceramium*속의 구분을 모호하게 한다(Boo and Yoshida, 1991). 이와 같이 혼돈된 분류군간에 나타나는 면역적 특성과 형태적 특징의 일치는 비단풀과의 *Griffithsia*속과 *Bornetia*속에서도 알려져 있으므로, 면역반응의 이질성은 속이나 종 수준에서 생물학적 속성의 차이를 반영할 수 있을 것이다. 더욱이, 굵은석목과 비단풀 및 석목에서 나타나는 항원 항체 반응은 Fig. 1에서 보이는 PE의 흡광도의 경우와 유사하다는 사실은 항원 항체 반응은 PE의 흡광도와 함께 분류학적으로 유용한 식별형질이 될 수 있음을 보여준다.

석목의 경우를 제외하고는 굵은석목의 지역 개체군이나 근연종간에 항원 항체 반응의 차이를 찾을 수 없었다. 이것은 굵은석목의 PE를 근거로 얻은 항혈청에는 다양한 특성이 있는 항체가 있으므로 면역 반응은 서로 동일하게 일어난다고 유추할 수 있다.

이와 같은 결과로 볼 때, 굵은석목은 *Campylaeophora*속 보다는 *Ceramium*속의 분류군과 성분분류학적으로 근연임을 보여주고 있어서, 굵은석목의 분류학적 위치는 형태적 관찰은 물론 다양한 실험분류학적 방법으로 충분히 재검토되어야 할 것이다. 그러나, 빨간검둥이과의 *Polysiphonia*속에서 이종간에도 면역적 동질성이 있으므로(Rennis and Ford, 1992), 흡광스펙트럼과 면역반응 등 생화학적 속성의 분류학적 적용은 신중하여야 할 것이다.

한편, PE I에서 얻은 anti-rabbit IgG로 반응시킨 immunoblot(Fig. 5)은, PE의 흡광도나 Ouchterlony test의 결과와는 달리, 굵은석목의 지역 개체군과 석목 및 비단풀 간에서 뚜렷한 차이가 없었다. 이는 복합 클론 항체(polyclonal antibody)를 사용하였기 때문이라고 생각되는데, PE I에만 특이하게 반응하는 단일 클론 항체를 사용한다면 더 나은 결과를 얻을 수 있을 것이다(Rennis, 1991).

### 적 요

종조 비단풀과 식물 굵은석목(*Campylaeophora crassa*)의 성분분류학적 유연관계를 파악하기 위하여, 4개의 지역 개체군과 근연종인 석목(*C. hypnaeoides*) 및 비단풀(*Ceramium kondoi*)의 야외에서 채집된 재료를 대상으로 phycoerythrin(PE)을 정제하여 흡광도와 전기영동에 의한 색소단백질의 동질성을 검토하고, PE I-항혈청을 얻어 Ouchterlony test와 immunoblot을 수행하였다. 굵은석목의 지역 개체군들과 비단풀에서 정제한 PE는 흡광의 peak가 약 566 nm > 534 nm > 495 nm로서 매우 유사하였으나, 석목의 peak는 다르다. 형광 방사스펙트럼과 PE band는 지역 개체군들은 물론 근연종간에 유의할 만한 차이를 보여주지 않았다. 굵은석목은 지역 개체군들이나 비단풀과는 항원 항체 반응이 뚜렷한 반면, 석목과는 반응이 매우 미약하였다. Immunoblot는 흡광도나 Ouchterlony test의 결과와 다소 다르나, 굵은석목은 동일속의 석목보다는 비단풀과 성분분류학적으로 근연이어서, 굵은석목의 분류학적 위치는 다양한 실험분류학적 방법으로 충분히 검토되어야 할 것이다.

### 참 고 문 헌

Beer, S. and A. Eshel. 1985. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.* **36**: 785-792.

Boo, S.M. 1985. A systematic study on six tribes of Ceramiales (Rhodophyta, Ceramiales) in Korea. Ph. D. thesis, Seoul National University, Seoul, 449 p.

Boo, S.M. 1992. A taxonomic appraisal on *Campylaeophora crassa* (Ceramiales, Rhodophyta). *Korean J. Phycol.* **7**: 7-12.

Boo, S.M. and T. Yoshida. 1991. Typification of three names in *Campylaeophora* (Rhodophyceae: Ceramiales). *Taxon* **40**: 95-99.

Boo, S.M., S. Fredriksen, J. Ruess and I.K. Lee. 1991. Field and culture studies on the life history of *Campylaeophora crassa* (Okamura) Nakamura (Ceramiales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* **34**: 437-445.

Braford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the

- detection of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.
- Eun, C.K., S.G. Paik, P. Goldwasser, S. Shin and H.P. Klinger. 1981. Immunochemical identification of the chick HPRT gene transferred from chick erythrocytes to mammalian somatic cells. *Cytogenet. Cell Genet.* **29**: 116-121.
- Gantt, F. and C.A. Lipschultz. 1974. Phycobilisomes of *Porphyridium cruentum*: Pigment analysis. *Biochemistry* **13**: 2960-2966.
- Glazer, A.N. 1977. Structure and molecular organization of the photosynthetic accessory pigments of Cyanobacteria and red algae. *Mol. Cell. Biochem.* **18**: 125-140.
- Glazer, A.N., J.A. West and C. Chan. 1982. Phycoerythrins as chemotaxonomic markers in red algae. *Biochem. Syst. Ecol.* **10**: 203-215.
- Harlow, E. and D. Lanen. 1988. Antibodies: a Laboratory Manual. pp. 471-510 Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- Hirose, H. 1975. Photoreactive pigments of algae and algal phylogeny. pp. 52-65. In, Tokida, J. and H. Hirose (eds.). Advance of Phycology in Japan. Veg Gustav Fischer Verlag Jena.
- Hirose, H. and S. Kumano. 1966. Spectroscopic studies on the phycoerythrins from Rhodophycean algae with special reference to their phylogenetical relations. *Bot. Mag. Tokyo* **79**: 105-113.
- Hirose, H., S. Kumano and K. Madono. 1969. Spectroscopic studies on phycoerythrins from Cyanophycean and Rhodophycean algae with special reference to their phylogenetical relations. *Bot. Mag. Tokyo* **82**: 197-203.
- Honsell, E., V. Kosovel and L. Talarico. 1984. Phycobiliprotein distribution in Rhodophyta: studies and interpretations on the basis of their absorption spectra. *Bot. Mar.* **27**: 1-16.
- Itono, S. 1977. Studies on the ceramiaceous algae (Rhodophyta) from the southern parts of Japan, *Biblioth. Phycol.* **35**: 1-499.
- Nakamura, Y. 1965. Species of the genera *Ceramium* and *Campylaeophora* especially those of northern Japan. *Sci. Pap. Inst. Algal. Res., Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ.* **14**: 52-71.
- Ouchterlony, O. and L.Å. Nilsson. 1986. Immunodiffusion and immunoelectrophoresis. In Weir, D.M., L.A. Herzenberg, C. Blackwell and L.A. Herzenberg (eds.). Handbook of Experimental Immunology, 4th ed. 32.1-32.50. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Rennis, D.S. 1991. Differences in antigenic reactivity of six types of phycoerythrin to monoclonal anti-R-Phycoerythrin. *Phycologia* **30**: 329-338.
- Rennis, D.S. and T.W. Ford. 1992. A survey of antigenic differences between phycoerythrins of various red algal (Rhodophyta) species. *Phycologia* **31**: 192-204.
- Spencer, K.G., M.H. Yu, J.A. West and A.N. Glazer. 1981. Phycoerythrin and interfertility patterns in *Callithamnion* (Rhodophyta) isolates. *Br. Phycol. J.* **16**: 331-343.
- Van der Velde, H.H. 1973a. The use of phycoerythrin absorption spectra in the classification of red algae. *Acta Bot. Neerl.* **22**: 92-99.
- Van der Velde, H.H. 1973b. The natural occurrence in red algae of two phycoerythrins with different molecular weights and spectral properties. *Biochim. Biophys. Acta* **303**: 246-257.
- Yu, M.H., A.N. Glazer, K.G. Spencer and J.A. West. 1981. Phycoerythrins of the red alga *Callithamnion*. Variation in phycoerythrobilin and phycourobilin content. *Plant Physiol.* **68**: 482-488.

(1993. 2. 4 接受)