

## 황해산 두족류의 가용성 단백질에 대한 연구(II)

허회권 · 황규린\*

*Structure, Fonction et Evolution du Genome Eukaryote, Institut de Biologie, CNRS E.R.S. 155  
34060 Montpellier Cedex, FRANCE*

\*인하대학교 이과대학 해양학과

## Soluble Proteins Analysis of Class Cephalopoda in the Yellow Sea(II)

Hoi-Kwon Hue and Gyu-Lin Hwang\*

*Structure, Fonction et Evolution du Genome Eukaryote, Institut de Biologie, CNRS E.R.S. 155  
34060 Montpellier Cedex, FRANCE*

\*Department of Oceanography, College of Natural Sciences, Inha University

The isolated soluble eye proteins from six species (*Sepia esculenta*, *Sepiella japonica*, *Loligo chinensis*, *Todarodes pacificus*, *Loligo beka* and *Octopus minor*) of class Cephalopoda were compared by crossed immunoelectrophoresis methods using antibodies directed against total soluble eye proteins antigens. It showed a distinct antigen-antibody reaction between the species of order Sepioidea and various antiserum of class Cephalopoda. Our results suggested that the common precipitation lines of *Sepia* and *Loligo* species which were different from that of *Octopus minor*. By which obtained from elution of gel filtration chromatography and 12.5% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis, the molecular weight of *Todarodes pacificus* eye protein (crystallin) was determined in about 20-35 KDa.

Key words : Cephalopoda, Eye protein, Crossed immunoelectrophoresis, Antigen-antibody reaction

### 서 론

무척추동물계(kingdom invertebrate)에서 두 번째로 큰 범주에 속하는 軟體動物門(phylum Mollusca)의 두족류(class Cephalopoda)는 척추동물(kingdom vertebrate)과 많은 유사성(similarity)을 가지고 진화한 무리로서, 이들의 안구(eye)는 어류의 안구단백질(eye protein)과 같이  $\alpha$ ,  $\beta$  및  $\gamma$ -crystallin으로 구성되어 있으며 진화적으로 또한 기능적으로 매우 발달된 구조로 되어 있다(Bon et al., 1967 ; Packard, 1972 ; Chiou, 1984). Young (1977)은 생리학적 방법을 이용하여 두족류 안구를 분석하여 種間 비교에 응용하였으며, Brahma and Lancieri (1979)와 Chiou (1984)는 면역학 또는 생리화학적 방법을 통해

두족류 안구단백질과 척추동물 안구단백질을 비교하여 이들의 특징을 비교하였으며 우리나라에서는 許(1997)가 황해산 두족류의 가용성 단백질에 관한 연구결과를 발표한 이후 두족류 種사이의 연관성을 연구 보고한 결과는 별로 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 황해산 두족류 3目 6種의 안구단백질을 재료로 하여 면역학 및 생화학적 방법을 통해 이들 種사이의 유연관계(relationship) 및 계군(population stock)분석을 시도하였다. 이를 위하여 쇠갑오징어(*Sepiella japonica*), 살오징어(*Todarodes pacificus*)와 낙지(*Octopus minor*)의 안구단백질로 항혈청(antiserum)을 제작하였으며 갑오징어目, 살오징어目 및 낙지目に 속하는 6種의 안구단백질을 항원(antigen)으로 실험에 이용하였다. Crossed immu-

noelectrophoresis는 agarose gel 내에서 전기영동(electrophoresis)에 의해 이동 분리된 단백질질을 항혈청(antiserum)에 의해 찾는 전기영동방법으로서, 본 실험에서는 classic-, rocket- 또는 crossed immunoelectrophoresis 방법 중에서 crossed immunoelectrophoresis 방법을 선택하였다. 또한 살오징어 안구단백질의 crystallin 분자량(molecular weight)을 추정하기 위하여 gel filtration chromatography와 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis를 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

본 연구에 사용된 연구 시료는 황해에서 채집한 갑오징어목(order Sepioidea)의 참갑오징어(*Sepia esculenta*) 및 쇠갑오징어(*Sepiella japonica*), 살오징어목(order Teuthoidea)의 한치꼴뚜기(*Loligo chinensis*), 살오징어(*Todarodes pacificus*) 및 참꼴뚜기(*Loligo beka*) 그리고 문어목(order Octopoda)의 낙지(*Octopus minor*) 등 6종의 두족류를 선택하였다. 시료의 채집은 인천 및 목포 연근해에서 種당 10-20마리씩 오징어 채낚기 방법으로 직접 채집하였으며, 채집일시 및 장소는 許(1997)와 동일하게 수행하였다.

### 2. 방법

채집된 시료는 선상에서 dry-ice로 급속냉동하여 실험실로 운반한 뒤 초저온냉동고(deep-freezer)에 보관하여 매 실험시 해동하여 시료로 사용하였다. 한편 각 시료는 Okutani (1967), Roper et al. (1984) 및 제종길(1990)에 의한 두족류 분류방법으로 정확한 형태분류를 하였다.

#### 1) 교차 면역 전기영동(crossed immunoelectrophoresis) 또는 2차원 교차 면역 전기영동(2 dimensional crossed immunoelectrophoresis)

황해산 두족류 3목 6種에서 적출한 신선한 안구(eye)를 잘게 분쇄한 뒤 적량의 증류수를 넣어

polytron으로 마쇄 시킨 후 원심분리하여 그 상등액을 분석용 시료 즉 항원(antigen)으로 사용하였다. 위와 같은 방법으로 얻은 각각의 가용성 안구단백질(soluble eye protein)인 항원 분획에 non-ionic detergent인 triton-X 100 및 NP-40를 각각 0.5% 씩 넣어 최종 농도가 1% 되도록 한 뒤 37°C incubator 안에서 3시간 방치하여 교차면역 전기영동용 시료로 사용하였다.

1차원 교차면역 전기영동 방법은 항원으로 사용되는 각 시료의 가용성 안구단백질의 분리로 시작되는데, 1% agarose 용액을 110×90 mm 유리판에 두께 0.15 mm가 되도록 도포한 다음 10 V/cm, 15°C의 조건으로 barbital lactate buffer (75 mM, pH 8.6) 내에서 3시간 가량 전기영동을 실시하였다. 그 후 이 유리판을 template 위에 올려놓고 agarose gel strip (폭 2 cm×길이 10 cm)을 만들어 그것을 2차원 교차면역 전기영동용 유리판(100 mm×100 mm)의 아래쪽에 붙인 다음 나머지 유리판에 항체(antiserum)가 포함된 1% agarose 용액 12 ml를 넣은 다음 1차원과 2차원용 agarose를 연결시켜 1차원과 같은 buffer 내에서 전기영동을 실시하였다. 전기영동 조건은 2 V/cm, 15°C로 조절하여 약 18시간 전기영동을 실시한 다음 압착(pressing), 세척(washing), 염색(staining) 및 탈색(destaining) 과정을 거쳐 항원-항체반응의 결과로 얻은 반응 침강선(precipitation line)을 관찰하였다(Weeke, 1973; Yoo et al., 1988).

#### 2) 항체의 제조 및 정제

갑오징어목에 속하는 쇠갑오징어(*S. japonica*), 살오징어목의 살오징어(*T. pacificus*) 및 문어목의 낙지(*O. minor*)의 가용성 안구단백질을 항원(antigen)으로 하여 실험용 토끼에 면역시켜 각각의 안구단백질에 대한 항체(antibody)를 만들었다.

항체의 정제(purification)는 채혈된 항혈청(antiserum)을 멸균 생리식염수로 2배 희석시킨 후 여기에 동량의 ammonium persulfate (pH 7.0)을 넣어 최종 농도 50%가 되도록 처리하였다. 그 후 일정시간 방치한 뒤 원심분리(15,000×g,

20분)하여 그 침전물을 생리식염수로 부유시키고, 다시 여기에 1/2 volume의 ammonium persulfate를 넣어 최종 농도 33.3%가 되도록 조절하였다. 이렇게 처리시킨 각각의 항혈청을 다시 원심분리하여 가정제된 침전물인 immunoglobulin G를 얻어 적량의 생리식염수로 부유시켜 -70°C에 보관하여 사용하였다.

3) Chromatography에 의한 안구단백질의 분획  
살오징어(*T. pacificus*)로 부터 안구를 적출하여 안구의 막(capsule)을 완전히 제거한 다음 gel filtration chromatography를 실시하였다.

그 후 안구를 20 mM EDTA가 포함된 50 mM Tris-Na bisulfate buffer (pH 7.5)로 균일하게 마쇄한 뒤 다시 30분간 원심분리(27,000 ×g)하였다. 원심분리후 얻은 상등액을 일정량씩 냉동분주하여 실험에 사용하였으며, 약 10 ml의 상등액을 TSK HW 55S gel (Toyopearl, 2.3×80 cm)에 주입한 후 280 nm에서 monitoring하면서 분취하였으며 분획량은 약 4 ml씩 하였다 (Chiou et al., 1988). SDS-polyacrylamide

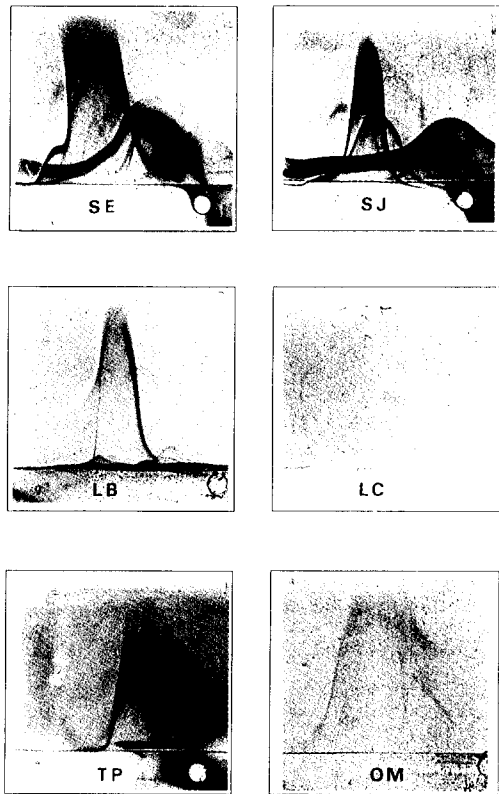


Fig. 1-A. Crossed immunoelectrophoresis of class Cephalopoda eye protein antigen precipitated with the antibody against *Sepiella japonica* eye protein. SE : *Sepia esculenta*, SJ : *Sepiella japonica*, TP : *Todarodes pacificus*, LC : *Loligo chinensis*, LB : *Loligo beka*, OM : *Octopus minor*.

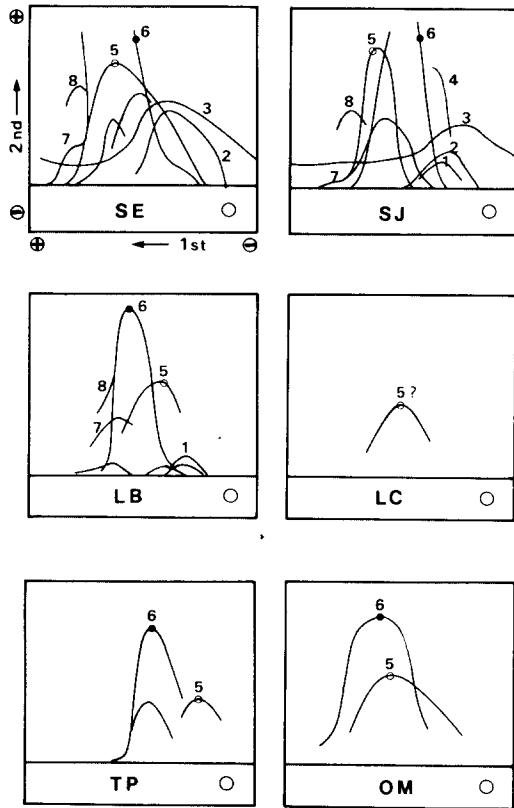


Fig. 1-B. Schematic representation of immunoprecipitation lines on Fig. 1-A. Each distinguishable precipitation lines were numbered (① to ⑧) in the case of *Sepiella japonica* as a standard. The same numbers in this plate were the common precipitation lines compared with *Sepiella japonica*. SE : *Sepia esculenta*, SJ : *Sepiella japonica*, TP : *Todarodes pacificus*, LC : *Loligo chinensis*, LB : *Loligo beka*, OM : *Octopus minor*.

gel electrophoresis는 Laemmli (1970)의 방법을 따랐으며 이를 통해 정제된 안구단백질의 분자량을 추정하였다.

### 결과 및 고찰

갑오징어目に 속하는 쇠갑오징어(*S. japonica*)의 안구단백질을 면역반응시켜 얻은 항체를 같은 눈에 속하는 참갑오징어(*S. esculenta*)의 안구단백질과 교차면역 전기영동(crossed immunoe-

lectrophoresis)시킨 결과 9개 정도의 항원-항체 면역 침강선(antigen-antibody immunoprecipitation line)을 관찰할 수 있었다(Fig. 1-A, B).

Fig. 1에서 뚜렷하게 볼 수 있는 살오징어참꼴뚜기(*L. beka*)의 침강선 ⑥번은 쇠갑오징어와 동일한 공통 항원이라 생각되며, 전기영동상에서는 매우 희미하지만 침강선 ⑤번과 ①번은 두 종사이에서 약간의 공통적 특징을 내포하고 있는 항원이라고 생각된다. 특히 침강선 ②, ③,

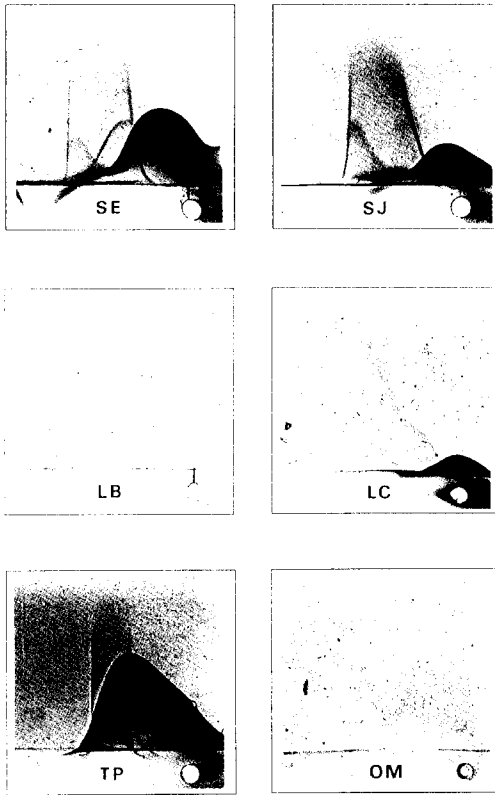


Fig. 2-A. Crossed immunoelectrophoresis of class Cephalopoda eye protein antigen precipitated with the antibody against *Todarodes pacificus* eye protein. SE : *Sepia esculenta*, SJ : *Sepiella japonica*, TP : *Todarodes pacificus*, LC : *Loligo chinensis*, LB : *Loligo beka*, OM : *Octopus minor*.

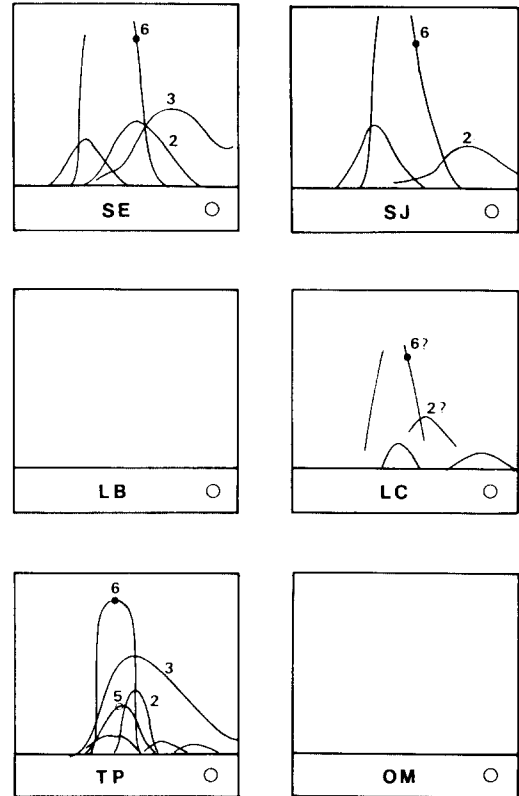


Fig. 2-B. Schematic representation of immunoprecipitation lines on Fig. 2-A. Each distinguishable precipitation lines were numbered (① to ⑧) in the case of *Sepiella japonica* as a standard. The same numbers in this plate were the common precipitation lines compared with *Sepiella japonica* in Fig. 1-B. SE : *Sepia esculenta*, SJ : *Sepiella japonica*, TP : *Todarodes pacificus*, LC : *Loligo chinensis*, LB : *Loligo beka*, OM : *Octopus minor*.

⑤, ⑥, ⑦ 및 ⑧번은 참갑오징어와 쇠갑오징어의 공통 항원으로, chromatography 분획에 의한 항원-항체실험 결과(Fig. 4, 6)에서 볼 수 있듯이 안구단백질 crystallin의 특이성(specificity)을 갖는 침강선이라 생각되었다. 한편 쇠갑오징어와 형태 분류학적으로 많은 차이점이 있는 낙지(*O. minor*)의 경우 교차 면역 전기영동 결과 전반적으로 공통적인 침강선을 찾을 수 없었다.

살오징어(*T. pacificus*)의 안구단백질을 항체로 하여 쇠갑오징어 등 6종의 안구단백질을 항원으로 하여 실시한 교차면역 반응의 2차원 전기영동 pattern은 Fig. 2와 같다. 살오징어 안구단백질을

항원으로 하여 실시한 homo system과의 반응은 7개 정도의 침강선을 얻을 수 있었다. 반면 같은 눈에 속하는 참꽃뚜기 및 한치꽃뚜기의 경우 반응 양상이 매우 특이하여, 참꽃뚜기 안구단백질을 항원으로 하여 수차례 실험하였으나 전혀 반응이 일어나지 않았으며 한치꽃뚜기의 경우 2개의 면역 침강선을 볼 수 있었다(Fig. 2-A, B). 한편 갑오징어目に 속하는 참갑오징어 및 쇠갑오징어의 안구단백질을 항원으로 하여 실시한 실험 결과 각각 3~4개의 침강선을 볼 수 있으며 특히 참갑오징어의 경우 ⑥번, ③번 및 ②번 침강선이, 쇠갑오징어 역시 ⑥번 및 ②번 침강선이 형성

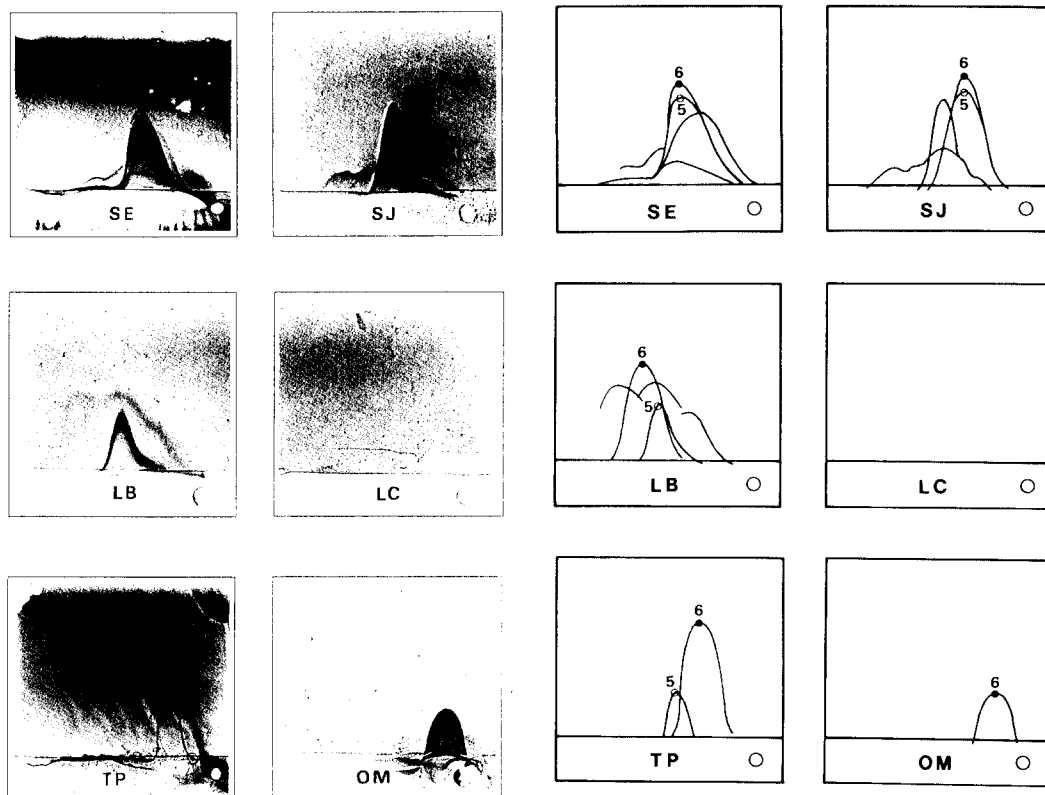


Fig. 3-A. Crossed immunoelectrophoresis of class Cephalopoda eye protein antigen precipitated with the antibody against *Octopus minor* eye protein. SE : *Sepia esculenta*, SJ : *Sepiella japonica*, TP : *Todarodes pacificus*, LC : *Loligo chinensis*, LB : *Loligo beka*, OM : *Octopus minor*.

Fig. 3-B. Schematic representation of immunoprecipitation lines on Fig. 3-A. Each distinguishable precipitation lines were numbered (① to ⑧) in the case of *Sepiella japonica* as a standard. The same numbers in this plate were the common precipitation lines compared with *Sepiella japonica* in Fig. 1-B. SE : *Sepia esculenta*, SJ : *Sepiella japonica*, TP : *Todarodes pacificus*, LC : *Loligo chinensis*, LB : *Loligo beka*, OM : *Octopus minor*.

되는 것으로 미루어 이들이 살오징어목과 갑오징어목의 공통항원이라 생각되었다(Fig. 2-A, B).

낙지(*O. minor*)의 안구단백질을 항체로 하여 분석한 갑오징어목 및 살오징어목에 대한 면역 반응은 전혀 다른 양상을 나타내었다. 한치꼴뚜기와의 반응은 전혀 일어나지 않았으며 특히 낙지의 안구단백질에 대한 새로운 항체를 2회에 걸쳐 제작하여 항원과 여러번 교차면역시켰으나 침강선은 매우 미약하였다. 오히려 낙지의 homo system 보다 他 항원 즉 형태 분류학적으로 전혀 다른 목에 속하는 갑오징어목에서 미약하지만 훨씬 다양하고 뚜렷한 침강선을 발견할 수 있었다(Fig. 3-A, B).

살오징어와 쇠갑오징어의 안구단백질을 항체로 하여 실시한 두족류 6種에 대한 교차면역 반응에서 전반적으로 항원-항체를 중심으로 homo system 또는 hetero system을 막론하고 갑오징어목에 속하는 쇠갑오징어(*S. japonica*) 및 참갑오징어(*S. esculenta*)에서 항원-항체 반응 양상이 매우 뚜렷하였으며 특히 ⑤번과 ⑥번 침강선은 種間 비교에 기준이 되며 또한 유의성을 갖는 침강선임을 알 수 있었다. 이를 뒷받침하기 위하여 쇠갑오징어, 살오징어 및 낙지의 안구단백질을 항체로 하여 실험 種에 공통적으로 나타나는 항원-항체 면역 침강선(antigen-antibody immunoprecipitation line)의 출현 빈도를 조

사해 보면 ⑤번과 ⑥번 침강선이 3개목에서 공통으로 나타나는 빈도가 약 55% 였으며 ⑤번 그리고 ⑥번 침강선은 3개목에서 각각 61%와 83% 정도 나타내었다(Table 1). 따라서 ⑤번 및 ⑥번 침강선은 본 연구에서 실험한 황해산 두족류 각 種 또는 지역별로 대별되는 계군(population stock)을 결정짓는 기준(criteria)으로 설정할 수 있을 것 같다.

실험種의 단백질 분석을 좀 더 세밀히 하기 위하여 살오징어(*T. pacificus*)의 안구단백질을 gel filtration chromatography에 의해 분획한 결과 P1, P2, P3 및 P4 와 같은 주분획과 저분자량 단백질 분획(P5, P6 및 P7)을 얻을 수 있었다(Fig. 4).

각각의 분획은 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis 방법에 의해 분자량을 추정할 수 있는데, P1, P2, P3 및 P4는 20-35 KDa 사이에서 주로 분포하고 있으며 특히 분획 P3는 나머지와 달리 매우 뚜렷하고 넓은 범위에 걸쳐 분포하고 있었다. 정확한 실험 결과를 얻기 위하여 재실시한 P3'의 전기영동상 또한 P3와 일치하였고 이는 Fig. 4의 chromatography elution profile과 정확하게 일치하였다(Fig. 5).

일반적으로 두족류의 안구단백질은 어류에서 처럼  $\alpha$ ,  $\beta$  및  $\gamma$ -crystallin으로 나뉘어 지며(Bon et al., 1967), 이외에도 분자량에 따라 몇 가지로

Table 1. Recognizable common antigen-antibody precipitation line (PPT) number among the class Cephalopoda in this study. Immunoprecipitation lines were numbered ① to ⑧ in *Sepiella japonica* as a standard and the same number in the other species represents the common antigenic immunoprecipitation lines.

ANTIGEN	ANTIBODY		
	<i>Sepiella japonica</i>	<i>Todarodes pacificus</i>	<i>Octopus minor</i>
<i>Sepia esculenta</i>	①②③④⑤⑥⑦⑧	②③⑥	⑤⑥
<i>Sepiella japonica</i>	②③④⑤⑥⑦⑧	②⑥	⑤⑥
<i>Loligo beka</i>	①⑤⑥⑦⑧		⑤⑥
<i>Loligo chinensis</i>	⑤	②⑥	
<i>Todarodes pacificus</i>	⑤⑥	②③⑤⑥	⑤⑥
<i>Octopus minor</i>	⑤⑥		⑥
Frequency of common PPT line	⑤ 100% ⑥ 85%	17% 67%	80% 83%

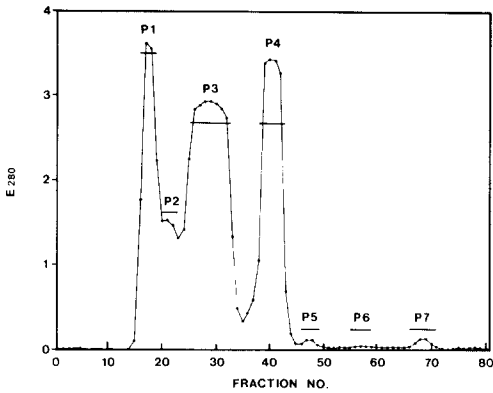


Fig. 4. Chromatographic elution profile of total soluble eye protein *Todarodes pacificus* on Toyopearl HW-55S (2.3×60 cm) column. The elute (5 ml/tube) were monitored for optical density at 280 nm. The peaks P1, P3 and P4 are correspond to  $\alpha$ -crystallin,  $\beta$ -crystallin and  $\gamma$ -crystallin, respectively.

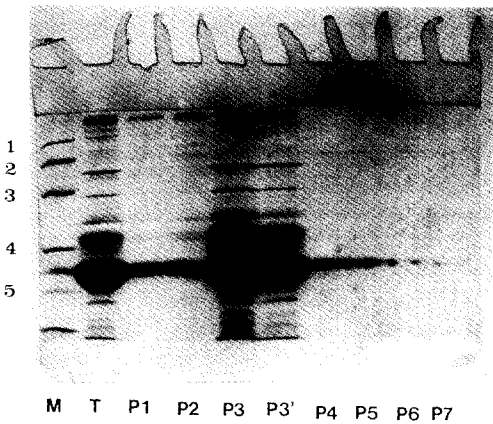


Fig. 5. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of the fractionated soluble eye proteins from *Todarodes pacificus* with standard molecular weight marker protein.

P1 to P7 : fractionated peaks from gel filtration chromatography ; T : total soluble eye protein from *Todarodes pacificus* ; M : marker protein.

- ①phospholylase b (94 KDa)
- ②albumin (67 KDa)
- ③ovalbumin (43 KDa)
- ④carbonic anhydrase (30 KDa)
- ⑤soybean trypsin inhibitor (20.1 KDa)

세분화할 수 있는데 본 실험 결과 P1의 분자량은 약 25 KDa로서, 이는 Chiou (1984)의 결과와 마찬가지로  $\alpha$ -crystallin에 해당되며, P3는  $\beta$ -crystallin 그리고 P4는  $\gamma$ -crystallin에 속한다고 생각된다.

Chromatography elution profile과 뚜렷하게 일치하고 있는 P3 분획에 대한 P1, P2 및 P3를 항원으로 하여 교차면역 전기영동을 실시한 결과 homo system인 P3 분획에서 가장 많은 침강선을 볼수 있었으며 그중 ⑥번 침강선이 확연히 구분되는 것으로 미루어 두족류의 안구단백질 중에는

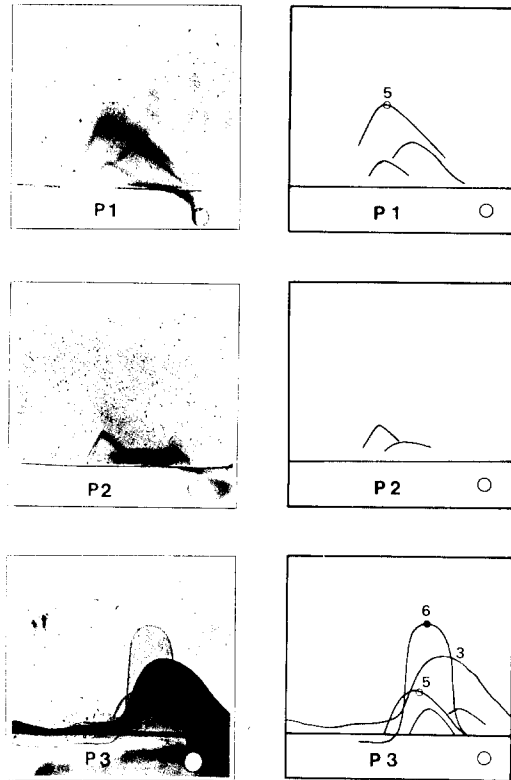


Fig. 6. Crossed immunoelectrophoresis and schematic representation of fractionated eye protein (P1, P2 & P3) from *Todarodes pacificus* reacted the antibody against *Todarodes pacificus* soluble eye protein. The same numbers in this plate were the common precipitation lines compared with *Sepiella japonica* in Fig. 1-B.

P3 분획 즉  $\beta$ -crystallin 분획에 공통 항원이 다량 존재함을 알 수 있다(Fig. 6).

種 사이의 유연관계(relationship)를 찾기 위해 일반적으로 전기영동 방법 및 면역학적 방법과 같은 분자 생화학적 비교를 많이 하게 되는데 특히 항혈청(antiserum) 및 다양한 항원에 의한 면역학적 교차반응(immunological cross-reaction)을 통해 유연관계를 규명하는 것을 'blood relationship'이라 한다(Boyden, 1940). 본 실험에서 살오징어목과 갑오징어목의 안구단백질은 매우 긴밀한 유연관계를 나타냈으며 면역학적 차원에서 분석해 보면 살오징어와 쇠갑오징어는 낙지류와 많은 차이를 나타내었다. 이것은 문어목이 쇠갑오징어목 및 살오징어목과 서로 다른 계군(population stock)에서 기원한 것이라고 주장한 Donovan(1977)의 견해와 일치하였지만 계군을 결정짓는 특이 단백질을 찾기 위해서는 chromatography에 의해 추출된 P1, P2 및 P4 분획에 대한 좀 더 깊은 연구가 필요하다고 생각한다.

## 요 약

황해산 두족류 6種(참갑오징어, *Sepia esculenta*; 쇠갑오징어, *Sepiella japonica*; 한치꽃뚜기, *Loligo chinensis*; 살오징어, *Todarodes pacificus*; 참꽃뚜기, *Loligo beka*; 낙지, *Octopus minor*)의 안구단백질을 추출하여 항원-항체 교차반응을 실시하였다. 쇠갑오징어, 살오징어와 낙지의 안구단백질로 항혈청(antiserum)을 제작하였으며 갑오징어목, 살오징어목 및 낙지목에 속하는 두족류 6種의 안구단백질을 항원(antigen)으로 사용하였다. 갑오징어목 속하는 쇠갑오징어 및 참갑오징어에서 항원-항체 반응 양상이 매우 뚜렷하였으며 種間 비교에 기준이 될 수 있고 또한 유의성있는 침강선을 볼 수 있었다. 또한 gel filtration chromatography 방법으로 살오징어의 안구단백질을 분획하여 crystallin을 분리하였으며, 主 분획을 SDS-PAGE 전기영동

방법으로 분자량을 추정해 본 결과 약 20-35 KDa였다.

## 사 사

본 연구는 한국 과학기술재단 지원 기초연구과제의 일부이며 또한 본 연구 수행에 조언과 도움을 아끼지 않은 인하대학교 의과대학 생화학교실 장정순 교수께 심심한 감사를 드립니다.

## 참 고 문 헌

- Bon, W. F., A. Dohrn and H. Batnik, 1967. Lens protein of a marine invertebrate *Octopus vulgaris*. Biochem. Biophys. Acta, 140 : 312-318.
- Boyden, 1940. Serology and animal relationship. Trans. N. Y., Acad. Sci. Ser., 11(2) : 195-204.
- Brahma, S. K. and M. Lancieri, 1979. Isoelectrofocusing and immunological investigation on cephalopoda lens protein. Exp. Eye Res., 29 : 671-678.
- Chiou, S. H., 1984. Physicochemical characterization of a crystallin from the squids lens and its comparison with vertebrate lens crystallins. J. Biochem., 95(1) : 75-82.
- Chiou, S. H., W. P. Chang, L. M. Ting, T. A. Lai and H. K. Lin, 1988. Biochemical characterization of lens crystallins from the mammals species. Current eye Research, 7(10) : 1017-1022.
- Donovan, O. T., 1977. Evolution of the dibranchiate Cephalopoda. In Symp. Zool. Soc. London, 38 : 15-48.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, Nature. 227 : 680-685.
- Okutani, T., 1967. Preliminary catalogue of Decapodan mollusca from Japanese Waters. Bull. Tokai Res. Fish. Res. Lab., 50 : 1-16.
- Packard, A., 1972. Cephalopods and fish. The limits of convergence. Biol. Res., 47 : 241-304.
- Roper, C. F. E., M. J. Sweeney and C. E.



- Nauen., 1984. FAO species catalogue. vol.3. Cephalopoda of the world. An annotated and illustrated catalogue of species interest of fisheries. FAO Fish. Synop., 125(3) : 277 pp.
- Weeke, B., 1973. A manual of quantitative immunoelectrophoresis : Methods and application (des. Axelsen, N.H., J.Kroll & B. Weeke). Scand. J. Immun., 2(1) : 46-56.
- Yoo, B. S., S. B. Kim, J. H. Lee and K. H. Yang, 1988. The subunit composition of *Portunus trituberculatus* hemocyanin polymer. Biochem. Biophys. Res. Comm., 153 (2) : 748-752.
- Young, J. Z., 1977. Brain, behaviour and evolution of cephalopods. In Symp. Zool. Soc. Lond., 38 : 377-434.
- 제종길, 1990. 한국산 두족류에 관한 연구(I). 해연보, 146 pp.
- 허회권, 1997. 황해산 두족류의 가용성 단백질에 대한 연구(1). 양식학회지 10(3) : 301-310.