

*Rhodotorula rubra*의 항원특성에 관한 연구

권혁구[†] · 이장훈* · 엄 곤**

호서대학교 벤처 전문대학원, *호서대학교 환경안전 공학부, **단국대학교 미생물학과

A Study on the Antigen Characteristics of *Rhodotorula rubra*

Hyuk Ku Kwon[†] · Jang Hoon Lee* · Kon Ryeom**

Graduate School of Venture, Hoseo University

*College of environment & safety engineering, Hoseo University

**Department of Microbiology Dankook University

(Received September 19, 2002; Accepted November 13, 2002)

ABSTRACT

Antigenicity of *Rhodotorula rubra* isolated from pulmonary tissue of pulmonary tuberculosis patients was studied by means of agglutination reaction with *R. rubra* whole cell antiserum. And the serological reactivity of crude polysaccharide from *R. rubra*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, and *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 26603 with antiserum to *R. rubra* whole cell was studied by means of immunodiffusion test. *R. rubra* showed stationary phase after 48h when it was cultured in GYEP broth. While agglutinin titer was 1:64 at lag phase, agglutinin titer was 1:256 after 20h. After growth of *R. rubra* on different 11 media, nutritional environment showed similar agglutination reactivity. The agglutinin titer of *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, which were isolated from patient's expectoration, to *R. rubra* antiserum by means of agglutination reaction were 1:16, respectively. But, *Sacch. cerevisiae* ATCC26603 was negative. Those results were lower than that of *R. rubra* agglutinin titer 1:256. As a result of immunodiffusion test with crude polysaccharide extracted from cell wall of *R. rubra*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *Sacch. cerevisiae* ATCC26603, precipitin line was found only with *R. rubra*, of which antibody titer was 8.

Keywords : *Rhodotorula rubra*, *Candida albicans*, Agglutination, Immunodiffusion test

I. 서 론

효모의 분류는 1952년 Lodder와 Kreger-Van Ri에 의해 분류법이 정립되기 시작하여 형태의 특징에 따라 속(genus)을 결정하고, 종류가 다른 당의 분해능과 유기 및 무기 질소의 이용능력, 적황색의 탄수화물과 같은 색소나 전분의 생성능 등을 조사하는 생화학적 시험에 의하여 종(species)을 결정하였다.¹⁾ 또한 세포 내외의 다당 구조와 혈청학적 성질에 따라 효모를 분류, 동정할 수 있다고 보고되었다.²⁾ 그 후 많은 연구에 의해 효모 항원의 고유성은 세포벽에서 추출한 mannose를 함유한 다당인 mannans에 기인한다는 것이 밝혀져

서 이를 이용한 혈청학적 관계가 분석되었으며 높은 병원성을 지닌 효모의 분리, 동정 및 진단에도 많은 연구가 이루어졌다.^{3,4)} Rosenthal과 Furnari는 피부에서 분리한 *Candida albicans*의 동정에 슬라이드 응집반응을 통하여 98%의 정확성을 얻었지만, germ tube 형성능과 chlamydospore 형성 유무를 관찰함으로써 더욱 정확하게 진단할 수 있다고 보고하였다.⁵⁾ Hasenclever와 Mitchell은 *Candida glabrata*와 *Candida* spp.간에 시험관 응집반응을 통하여 항원성 관계를 비교한 결과 *C. glabrata*는 실험에 이용된 모든 *Candida* spp.와 공통 항원을 가지고 있는 것으로 보고하였다.⁶⁾ Fukazawa 등은 흡착에 의해 만든 인자혈청을 이용한 슬라이드 응집반응을 고안하여 *C. albicans* 혈청형 A와 B를 모두 함유하고 임상적으로 중요한 *C. albicans*를 빠르고 정확하게 진단하였다.⁷⁾ Sweet와 Kaufman은 *Candida* spp.의 crude antisera를 이용하여 응집반응을 시험한 결

[†]Corresponding author : Graduate School of Venture, Hoseo University
Tel: 041-540-5387, Fax: 041-540-5748
E-mail: maple@office.hoseo.ac.kr

과 서로 다른 종의 효모양 진균뿐만 아니라 일반 효모와도 강한 교차반응을 일으키는 것을 관찰하였다. 또한 이들은 흡착을 이용하여 만든 인자 혈청을 이용하여 응집반응을 한 결과 *Candida* spp.를 빠르고 정확하게 진단할 수 있었으며 germ tube 형성과 chlamyospore의 유무를 이용하여 *C. albicans* 혈청형 A 그룹과 *Candida tropicalis*를 구별할 수 있다고 보고하였다.⁸⁾ 그리고 Summer 등은 *Candida* spp. 혈청형과 다른 효모로부터 얻은 mannose를 함유한 다당과의 교차반응을 정량적 침강소 반응과 이중면역 확산법을 통하여 세포벽의 다당이 혈청학적으로 중요한 작용을 한다고 보고하였다.⁹⁾ Hasenclever와 Mitchell도 세포벽의 다당을 이용하여 이중면역 확산시험을 한 결과 *C. albicans* 혈청형 B 그룹과 *Candida stelloidea*의 세포벽 다당이 항원적으로 비슷하거나 동일하다고 보고하였다.¹⁰⁾ Shibata 등은 세포벽 phosphate group에 있는 β -1,2-linked oligomannosyl이 *C. albicans* serotype A와 B군주에 공통항원 결정기로 중요하며 β -1,2와 α -1,2 결합을 포함하는 oligosaccharide가 *C. albicans* serotype A 항원인자 6에 특이 항원 결정인자로 작용한다고 보고하였으며,¹¹⁾ 또한 β -1,2-linked mannanose unit를 갖는 *Candida saitoana*와 이를 함유하지 않은 *Candida fumata*의 mannans와 antigenic factor 9 serum과의 반응에서 mannans의 구조에 따라 응집반응에 대한 저해능이 차이가 난다고 보고한 바 있다.¹²⁾ Hans와 Cutler는 *Candida mannan*의 β -1,2-linked mannose에 대한 항체를 사용하여 칸디다증의 제어를 하는데 도움이 된다고 하였다.¹³⁾

본 연구에서 폐결핵 환자의 폐 조직으로부터 병원성 효모를 분리하여 형태 및 생화학적 시험에 의해 동정된 *Rhodotorula rubra*(과: Cryptococcaceae, 아과: Rhodotoruloideae)는 공기전염으로 피부, 폐 등에 감염을 일으키고, 도뇨관이나 투석장치에 오염되어 복막투석이 필요한 환자에게 진균성 복막염을 일으키며 또한 화학요법을 받는 암환자에게 fungemia, 심장내막염, 수막염 등 기회성 진균감염증을 일으키는 병원성 효모이다.¹⁴⁾ 그러므로 분리된 *R. rubra*를 균체항원으로 사용하여 토기로부터 항혈청을 얻고, 응집반응을 통하여 *R. rubra*의 항원성 특징을 조사하고자 하였다. 또한 일반 환자의 객담으로부터 분리, 동정한 *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* 및 표준 균주인 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 26603과의 응집반응을 비교하고자 하였다. 그리고 각각의 효모 세포벽으로부터 다당류를 추출하여 이중 면역확산시험을 통해 세포벽 다당간의 항원성 관계를 조사하고자 하였다.

II. 연구방법

1. 효모의 분리 및 동정

결핵 환자의 폐 조직을 streptomycin(10,000 μ g/ml)이 첨가된 생리식염수로 3회 세척하여 잘게 자른 조직을 Sabouraud dextrose agar에 직접 도말하여 37°C에서 배양하였다. 생성된 집락의 형태, 색 및 균의 모양과 생화학적 동정시험에 의해 분류하였다.¹⁵⁾

2. 균체항원의 준비

*R. rubra*를 균체항원으로 이용하고, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*와 표준 균주인 *Sacch. cerevisiae* ATCC 26603을 항원성 비교에 사용하였다. 균을 GYEP(2% glucose, 0.3% yeast extract, 1% peptone) 액체배지에 접종하여 37°C에서 160 rpm으로 48시간 증식시킨 다음 원심분리(3000 rpm, 22-24°C, 15 min)하여 균체를 모았다. 생리 식염수로 3회 세척한 균체를 70°C에서 20분간 열처리 사멸시켜 항원으로 사용하였다.¹⁶⁾

3. 면역

R. rubra 균체항원을 생리 식염수에 희석하여 0.2 ml (10⁸/ml)을 토끼의 정맥을 통해 1주에 3회 연속 4주간 면역시킨 후 마지막 면역 1주 후 심장으로 부터 혈액을 채취하여 혈청을 분리하였다. 혈청은 -70°C로 보관하면서 필요시 일정량을 56°C에서 30분간 비동화시킨 후 사용하였다.

4. 세포벽 다당류 추출

실험에 이용된 모든 효모의 균체를 각각 0.02 M citrate buffer(pH7.0)에 부유시켜 100°C에서 2시간 열처리한 후 원심분리(7000 rpm, 4°C, 20 min)하여 상정액을 취하였다. 침전물은 동일한 조건으로 재처리하여 2개의 상정액을 섞은 후 100% 에탄올을 상정액의 2배만큼 넣은 다음 4°C에서 24시간 방치하여 탄수화물을 침전시켰다. 침전된 탄수화물을 3차 증류수에 완전히 용해시킨 뒤 동일한 양의 2N-아세트산과 혼합 후 방치시켜 단백질을 침전시켰다. 그 후 상정액을 24시간동안 증류수에 투석시켜 아세트산을 제거하여 얻은 세포벽 다당을 면역 확산시험에 사용하였다.¹⁷⁾

5. 응집반응 시험

1) 슬라이드 응집반응

항혈청을 2단계 희석법에 의해 희석한 후 25 μ l을 ring slide에 떨구고 생리 식염수 1 m²당 1~5 \times 10⁷세포수로 희석시킨 균체항원 25 μ l와 혼합하여 100 rpm으로

10분간 흔들어진 다음 현미경하에서 응집반응을 관찰하였다.¹⁸⁾

2) Microtray system 응집반응

항혈청을 microtray에서 2단계 희석한 다음 각각의 well에 슬라이드 응집반응에서와 동일하게 준비된 항원을 각각의 well에 들어있는 항혈청(25 μ l)과 동일한 양을 넣었다. 37°C, 항온기(humid chamber)에서 2시간동안 항원항체 반응을 시켰으며, -4°C에서 22시간 방치 후 실온에서 1시간이상 지난 다음 크고 불규칙한 모양의 응집을 양성으로 판정하였다.³⁾

6. 증식곡선에 따른 응집가 측정

GYEP배지에서 24시간 배양(160 rpm, 37°C)된 균을 동일한 배지 200 ml에 $7 \times 10^6 \sim 5 \times 10^7$ 의 균을 접종하여 동일한 조건으로 배양하면서 시간별로 균 액(5×10^8 cells/1 ml 이상)을 취해 혈구계(hemocytometer)로 균수를 세어 균의 증식속도를 관찰하면서 균 증식시간에 따른 응집가를 측정하였다.³⁾

7. 증식배지에 따른 응집가 측정

GYEP배지에서 배양된(160 rpm, 37°C, 24 hs) 균을 생리 식염수로 3회 세척하여 배지(brain heart infusion broth, sabouraud dextrose broth, malt extract broth, GYEP broth, mycological agar, GYEP agar, sabouraud dextrose agar, potato dextrose agar, malt extract agar, mycophil agar, corn meal agar)에 접종시킨 뒤 동일조건에서 액체배지는 48시간, 고체배지는 72시간 배양 후에 균체를 생리 식염수로 3회 세척한 다음 응집시험에 사용하였다.³⁾

8. 면역 확산시험

2% bacto-agar(0.02 g/ml saline)를 동량의 Mclvaine's citric acid phosphate buffer(PH7.0)에 녹여 약 3.5 mm 두께로 plate를 만들어서 24시간이상 실온에 방치하여 습기를 제거한 다음 지름 10 mm되게 중앙에 well을 만들었다. 각 well에 2단계 희석한 항혈청과 세포벽 다당을 혼합(vol/vol)하여 25°C humid chamber에서 침전대 형성 유무를 7일간 관찰하였다. sodium azide가 0.05% 포함된 생리 식염수를 매일 갈아주면서 5일간 침전시킨 다음, 0.5% coomassie brilliant blue R250 염색액(solvent : ethanol : glacial acetic acid : distilled water = 45:10:45)으로 10~15분 염색하였다. 용제로 2회 이상 세척하여 침전대 형성을 관찰하고 항체가 및 세포벽 다당류간의 항원성을 비교하였다.¹⁹⁾

III. 결과 및 고찰

1. 균의 분리 및 동정

약 3% 염도의 해수 및 식물의 엽맥에서도 서식하며 정맥 주사에 의해 인체 내 혈관으로 감염되어 드물게 폐혈병, 뇌막염을 일으킬 수 있고 병원의 플라스틱 용기를 통하여 급성 피부 감염증 등을 유발할 수 있는 *R. rubra*를 폐결핵 환자의 폐 조직에서 1주 분리하였다. 그리고 일반 환자의 객담에서는 *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*를 각각 1주씩 분리하였다. 분리된 모든 효모는 37°C에서 빠른 증식을 하였고 *C.*

Table 1. Cultural and biochemical characteristics of yeast isolated from expectoration* and pulmonary tissue**

Characteristics	<i>C. albicans</i> *	<i>C. tropicalis</i> *	<i>C. glabrata</i> *	<i>R. rubra</i> *
Growth at 37°C	+	+	+	+
Pellicle in broth	-	+	-	-
Pseudo/true hyphae	+	+	-	-
Clamydospore	+	-	-	-
Germ tube	+	-	-	-
Capsule	-	-	-	-
Glucose	+	+	+	+
Maltose	+	+	-	+
Sucrose	+	+	-	+
Lactose	-	-	-	-
Galactose	+	+	-	+
Melibiose	-	-	-	-
Cellobiose	-	+	-	+
Inositol	-	-	-	-
Xylose	+	+	-	+
Raffinose	-	-	-	+
Dulcitol	-	-	-	-
Trehalose	+	+	+	+
Glucose	F	F	F	-
Maltose	F	F	-	-
Sucrose	-	F	-	-
Lactose	-	-	-	-
Galactose	F	F	-	-
Trehalose	F	F	F	-
Cellobiose	-	-	-	-
Urease	-	-	-	+
KNO ₃ utilization	-	-	-	-
Phenol oxidase	-	-	-	-
Ascospore	-	-	-	-

F : the sugar is fermented (i.e. gas is produced).

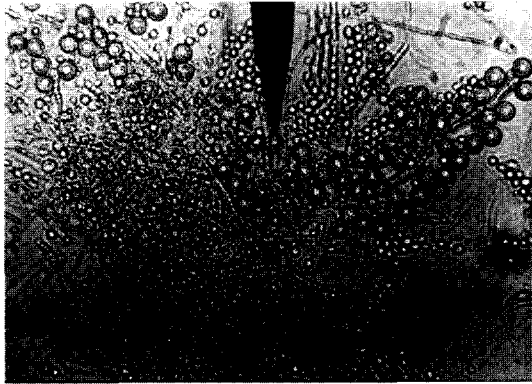
+ : growth or positive reaction, - : no growth or negative reaction.

*albicans*의 집락은 매끄러운 반면 *C. tropicalis*의 집락은 거칠거칠 하였으며 *C. glabrata*와 *R. rubra*는 작고 매끄러운 집락을 보였다. *R. rubra*의 집락은 적황색의 탄수화물 색소가 분비되어 옅은 주황색을 띠었다. 생화학적 성장 결과 *C. albicans*와 *C. tropicalis*는 유사한 성질을 보였으나 *C. albicans*는 germ tube형성능이 있었고 *C. tropicalis*는 cellobiose에 대해 동화능과 sucrose에 대한 발효능이 있었다. *C. glabrata*는 glucose와 trehalose에 대해서만 동화능 및 발효능이 있었으며 *R. rubra*는 cellobiose와 inositol에 대한 동화능 시험 결과는 음성 이었다(Table 1). 분리된 *C. albicans*는 구형으로 blastoconidia와 chlamydoconidia를 형성하는 것을 관찰할 수 있었으나 *C. tropicalis*는 pseudohyphae는 형성하였으나 chlamydoconidia는 형성하지 않았다(Fig. 1). 그리고 pseudohyphae를 형성하지 않는 *C. glabrata*와 *R. rubra*는 단지 blastoconidia만을 형성하

였다(Fig. 2).

2. 증식 곡선에 따른 응집가 비교

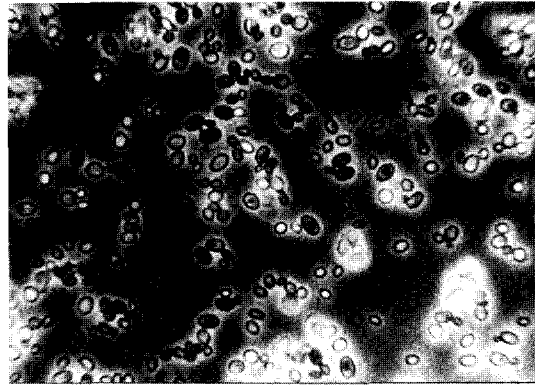
Chaffin 등은 *Candida albicans*는 세포가 증식하는



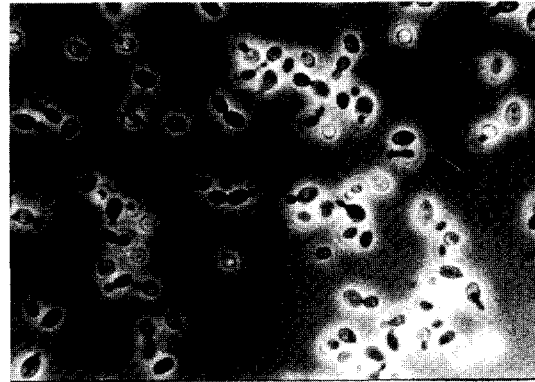
C. albicans



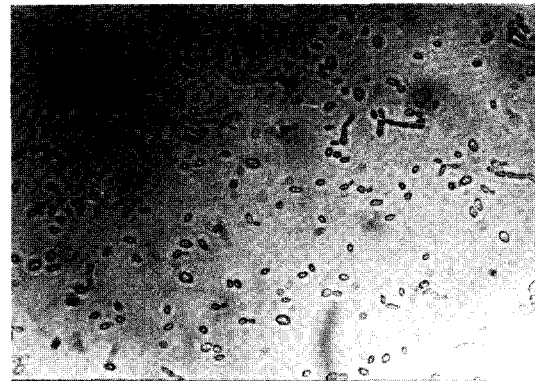
C. tropicalis



C. glabrata



R. rubra



Sacch. cerevisiae

Fig. 1. Phase-contrast microscopic photographs of isolated yeast cells. Yeast cells grown on Sabouraud's dextrose agar at 30°C for 48 hours. Magnification is 400 times.

Fig. 2. Phase-contrast microscopic photographs of isolated yeast cells. Yeast cells grown on Sabouraud's dextrose agar at 30°C for 48 hours. Magnification is 400 times.

동안 항원 결정기의 발현이 다양하게 발현된다고 보고 한 바가 있으며,²⁰⁾ Okawa 등은 *C. albicans*를 배양온도 조건을 달리하여 배양한 후 얻은 cell wall mannans로 응집반응에 의해 항원성을 비교하여 균의 증식 조건에 따른 항원결정기의 발현을 조사한 결과 상당한 차이가 있음을 보고한 바 있다.²¹⁾ 본 실험에는 *R. rubra*의 균체항원을 토끼에 면역시켜 얻은 항혈청을 사용하여 *R. rubra*의 증식시간에 따른 응집가를 비교하여 보았다. *R. rubra*의 증식양상은 유도기가 매우 짧게 나타났으며, 46시간 후에 정지기에 도달했다. 응집가는 처음 4시간까지 1:64로 낮았으나 20시간이 지난 후부터 최고의 응집가 1:256을 갖는 것으로 조사되어 증식시간에 따라 약간의 차이를 보였다(Fig. 3).

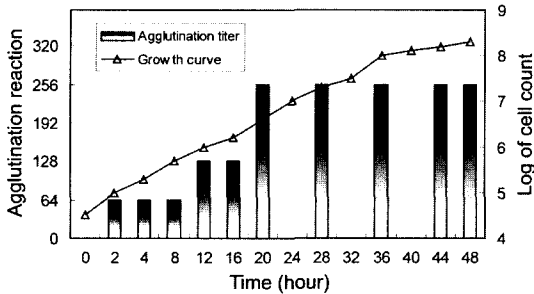


Fig. 3. Effect of growth time on binding of *R. rubra* antiserum to *R. rubra* whole cell antigen by agglutination reaction. *R. rubra* grown at 37°C for 48 hours, 160 rpm in GYEP broth.

Table 2. Effect of *R. rubra* nutritional environment on subsequent agglutination reactivity

	Growth medium	Agglutination reactivity
Broth	Brain heart infusion	+++
	Sabouraud dextrose	++
	Malt extract	++
	Glucose yeast extract pepton	+++
Agar	Mycological	+++
	Glucose yeast extract pepton	+++
	Sabouraud's dextrose	++
	Potato dextrose	+
	Malt extract	++
	Mycophil	++
	Cornmeal	++

Yeast were grown in broth or solid media at 37°C for 48 h (160 rpm), harvested, counted, washed & tested by slide agglutination reactivity (agglutination titer 256). Agglutination was scored from high(+++) to low(+).

3. 증식배지에 따른 응집가 비교

*R. rubra*를 다양한 배지에서 각각 증식시켜 얻은 균체를 항혈청과 응집시험을 하였다. 그 결과 증식된 배지와는 관계없이 높은 응집가를 나타내어 증식환경에 따른 영향을 거의 받지 않는 것으로 나타났다. 응집가는 brain heart infusion, GYEP broth, mycological agar, GYEP agar에서 증식한 균체가 비교적 좋은 응집 반응을 나타내었고, potato dextrose agar에서 증식시켰을 때 가장 저조하였다(Table 2).

4. 균 종류에 따른 응집가 비교

효모의 어떤 strain은 높은 병원성을 나타내기 때문에 병원성과 비병원성 간의 혈청학적 관계와 이의 동정을 빠르고 정확하게 할 수 있는 방법 및 항원구조를 밝히는데 많은 연구가 되었다. Benham은 병원성인 *C. glabrata*와 *C. albicans*가 공통항원을 갖고 있다고 하였으며²⁾ Hasenclever와 Mitchell은 *C. albicans* group B와 *C. stellatoidea*가 항원적으로 유사하거나 동일함을 혈청학적 시험으로 규명하였다.¹⁰⁾ 그리고 Seeliger은 슬라이드 응집반응, Agar-gel 면역 확산시험, 침강반응 등을 체계화하여 *Schizosaccharomyces*, *Endomyces*, *Glotrichum*, *Nadsonia*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*가 공통항원을 갖고 있다고 보고 하였다.²²⁾ 그후, Tsuchiya 등은 *C. albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula minuta*, *Cryptococcus neoformans*, *Schizosaccharomyces pombe* 간에 교차반응이 일어나지 않았으며 *Sacch. cerevisiae*와 *Sacch. carlsbergensis*는 혈청학적으로 동일치 않음을 보고 한 바 있다.²³⁾ 따라서 본 실험에서는 *R. rubra*의 항혈청과 분리된 효모의 균체항원과 응집반응을 하여 분리된 병원성 균들의 항원성을 조사하여 보았다. 그 결과 *R. rubra* 균체항원에 대한 항체가는 1:256으로 높게 나타난 반면 *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*의 항체가는 1:16으로 낮았지만 이들 간에는 약간의 공통 항원이 존재하는 것으로 조사되었다. 그러나 비병원성인 표준균주 *Sacch. cerevisiae* ATCC26603

Table 3. Agglutination reaction with various yeasts

Organisms*	Agglutination titer**
<i>R. rubra</i>	1 : 256
<i>C. albicans</i>	1 : 16
<i>C. tropicalis</i>	1 : 16
<i>C. glabrata</i>	1 : 16
<i>Sacch. cerevisiae</i>	-

*Yeasts were grown in GYEP broth at 37°C for 48 h.

***R. rubra* antiserum (twofold dilution).

- : negative reaction.

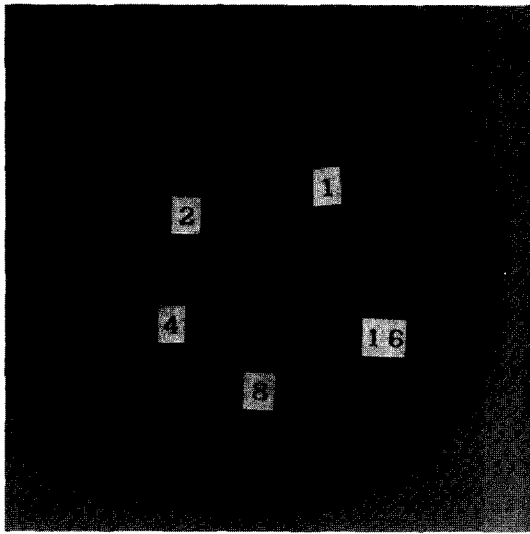


Plate A

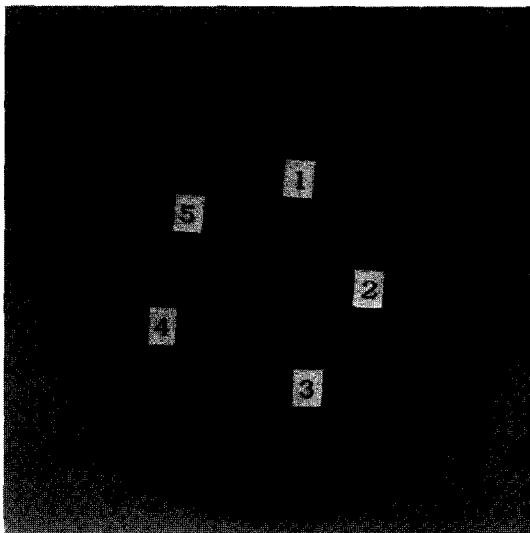


Plate B

Fig. 4. Precipitin reaction by immunodiffusion test. Plate A : center ; *R. rubra* crude polysaccharide extract from cell wall. peripheral ; *R. rubra* antiserum. 1, 2, 4, 8, 16 ; antibody titer. Plate B : center ; *R. rubra* antiserum (undiluted). peripheral ; crude polysaccharide extract from cell wall. 1. ; *R. rubra*, 2 ; *C. albicans*, 3 ; *C. tropicalis*, 4 ; *C. glabrata*, 5. *Sacch. cerevisiae* ATCC 26603.

과의 응집반응은 음성으로 나타났다(Table 3).

5. 면역 확산시험에 따른 항체가 비교

효모의 균체 항원을 응집반응으로 비교한 결과 *C.*

albicans, *C. tropicalis*, *C. glabrata*가 *R. rubra*의 항혈청과 응집을 보여 항원의 유사성을 나타내었다. 그러나 면역확산 시험에 의한 항체가를 비교 하였을 때 *R. rubra*의 세포벽에서 추출한 다당류 항원에 대한 항체가는 8배를 나타내었으나 *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* 및 *Sacch. cerevisiae* ATCC26603의 세포벽에서 추출한 다당류와는 항원항체 반응이 일어나지 않았다(Fig. 4). 그러므로 세포벽에서 추출한 다당류를 이용한 면역확산 시험법에서는 항원항체 반응이 일어나지 않고 *R. rubra*의 세포벽 다당만이 낮은 항원가를 나타냈다. 이러한 결과는 *R. glutinis*와 *R. minuta*는 *C. albicans*, *Sacch. cerevisiae* 등과는 달리 mannan(1→3)과 (1→4)로 결합된 β-D-mannopyranose unit를 갖는다고 보고²⁴⁾된 바와 같이 항원 결정기로서 큰 역할을 하는 세포벽 mannan 구조의 차이와 mannan 이외의 물질 즉, protein, phosphate 등이 응집반응에 관여하여 나타난 결과일 가능성도 있다.

IV. 결 론

R. rubra, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* 및 *Sacch. cerevisiae* ATCC26603간의 세포벽 항원특성을 알아보려자 결핵환자의 폐 조직에서 분리한 *R. rubra* 균체 항원을 토끼에 면역시켜 준비한 항혈청과의 시험관 응집반응과 면역확산시험을 한 결과는 다음과 같다.

1) *R. rubra*는 GYEP(2%glucose, 0.3% yeast extract, 1% peptone) 액체배지에서 배양시켰을 때 48시간 후 정지기 상태의 성장을 보였으며 증식곡선에 따른 응집가는 대체로 비슷하였으나 대수기의 세포에서 높은 응집가를 나타내었다.

2) *R. rubra*의 증식 환경에 따른 응집능을 알아보고자 11종류의 배지에서 각각 증식시킨 균체를 항원으로 사용하여 응집가를 비교한 결과 비슷한 응집가를 보여 배지환경에 따라 항원성에는 큰 영향이 없는 것으로 조사되었다.

3) 응집반응을 통해 관찰한 *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*의 응집가는 각각 1:16으로 *R. rubra*의 응집가 1:256에 비하여 낮은 응집반응을 나타냈으며 *Sacch. cerevisiae* ATCC26603는 음성이었다.

4) *R. rubra*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* 및 *Sacch. cerevisiae* ATCC26603의 세포벽 다당류를 추출하여 *R. rubra* 항혈청과 면역확산법으로 항원성을 비교한 결과 *R. rubra*의 항체가는 8이었으나 그 밖의 균들은 침전대를 형성하지 않았다.

참고문헌

1. Lodder, J. and Kreger-Van Rij, N. J. W. : The Yeast, A Taxonomic study. Wiley, New York, 1955.
2. Benaham, R. W. : Certain monilias parasitic on man. *Journal of Infection*, **49**, 183-215, 1931.
3. Brawner, D. L. and Cutler, J. E. : Variability in expression of cell surface determinant on *Candida albicans* as evidenced by an agglutinating monoclonal antibody. *Infection and Immunity*, **43**, 966-972, 1984.
4. Kocourek, J. and Ballou, C. E. : Method for fingerprinting yeast cell wall mannans. *Journal of Bacteriology*, **100**, 1175-1181, 1969.
5. Rosenthal, S. A. and Furnari, D. : Slide agglutination as a presumptive test in the laboratory diagnosis of *Candida albicans*. *Journal of Invested Dermatology*, **31**, 251-253, 1958.
6. Hasenclever, H. F. and Mitchell, W. O. : Antigenic relationships of *Torulopsis glabrata* and seven species of the genus *Candida*. *Journal of Bacteriology*, **79**, 677-681, 1960.
7. Fukazawa, Y., Shinoda, T. and Tsuchiya, T. : Response and Specificity of antibodies for *Candida albicans*. *Journal of Bacteriology*, **95**, 754-763, 1968.
8. Sweet, C. E. and Kaufman, L. : Application of agglutinins for the rapid and accurate identification of medically important *Candida* species. *Applied Microbiology*, **19**, 830-836, 1970.
9. Summers, D. F., Grollman, A. P. and Hasenclever, H. F. : Polysaccharide Antigens of *Candida* Cell wall. *Journal of Immunology*, **92**, 49-499, 1964.
10. Hasenclever, H. F. and Mitchell, W. O. : Immunochemical studies on polysaccharides of yeasts. *Journal of Immunology*, **93**, 763-771, 1964.
11. Shibata, N., Arai, M., Haga, E., Kikuchi, T., Najima, M., Satoh, T., Kobayashi, H. and Suzuki, S. : Structural identification of an epitope of antigenic factor 5 in mannans of *Candida albicans* NIH B-792 (serotype B) and J-1017 (serotype A) as 1,2-linked oligomannosyl residue. *Infection and Immunity*, **60**, 4100-4110, 1992.
12. Shibata, N., Onozawa, M., Tadano, N., Hinomura, Y., Suzuki, A., Ikuta, K., Kobayashi, H., Suzuki, S. and Ogawa, Y. : Structure and antigenicity of the mannans of *Candida famata* and *Candida saitoana*. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, **336**(1), 49-58, 1996.
13. Hans, Y. and Cutler, J. E. : Antibody response that protects against disseminated candidiasis. *Infection and Immunity*, **63**, 2174-2719, 1995.
14. Rippon, J. W. : Medical mycology. 3rd Ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, USA., 1988.
15. Koneman, E. W., Roberts, G. D. and Wright, S. F. : Practical Laboratory Mycology. 2nd Ed., Baltimore, M.D., 103, 1978.
16. Cutler, J. E., Friedman, L. and Milner, K. C. : Biological and chemical characterization of toxic substances from *Candida albicans*. *Infection and Immunity*, **6**, 616-627, 1972.
17. Okubo, Y., Ichikawa, T. and Suzuki, S. : Relationship between phosphate content and immunochemical properties of subfractions of baker's yeast mannan. *Journal of Bacteriology*, **136**, 63-68, 1978.
18. Fukazawa, Y., Nakase, T., Shinoda, T., Nishikawa, A., Kagaya, K. and Tsuchiya, T. : Significance of cell wall structures on yeast Classification -Proton Magnetic Resonance and Serological and Deoxyribonucleic acid characterization of *Candida sake* and Related species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **25**, 304-314, 1975.
19. Longbottom, J. L. : Applications of immunological methods in mycology. Handbook of Experimental immunology by weir, D.M. Volume 4. 4th Ed., Oxford, 121, 1986.
20. Chaffin, W. L., Skudlarek, J. and Morrow, K. J. : Variable expression of a surface determinant during proliferation of *Candida albicans*. *Infection and Immunity*, **56**, 302-309, 1988.
21. Okawa, K., Goto, K., Nemoto, S., Akashi, M., Sugawara, C., Hanzawa, M., Kawamata M., Takahata, T., Shibata, N., Kobayashi, H. and Suzuki, N. : Antigenicity of cell wall mannans of *Candida albicans* NIH B-792 (serotype B) strain cells cultured at high temperature in yeast extract-containing Sabouraud liquid medium. *Immunology*, **3**(3), 331-336, 1996.
22. Suzuki, S. : Antigenic Determinants. Yeast cell Envelopes -Biochemistry, Biophysics, and Ultrastructure by Arnold, W. N., Volume I. 1st Ed. Florida, B. R., 25, 1981.
23. Fukazawa, Y., Shinoda, T., Nishikawa, A. and Nakase, T. : Synonymy of *Saccharomyces cerevisiae* Hansen 1883 and *Saccharomyces uvarum* Beijerinck 1898 - Significance of cell wall antigens in yeast classification. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **30**, 196-205, 1980.
24. Gorin, P. A. J., Spencer, J. F. T. and Bhattacharjee, S. S. : Structures of yeast mannans containing both α - and β -linked D-mannopyranose units. *Canadian Journal of Chemistry*, **47**, 1499-1505, 1969.