

韓國產 *Aspergilli*의 血清學的 分類方法

文 希 柱 · *李 培 咸

(서울保健專門學校 臨床病理科 · *建國大學校 應用微生物研究所)

Studies on the Serological Classification for Korean *Aspergilli*

MOON, Hi Joo, and *Bae Ham LEE

(Clinical Pathology, Seoul Health Junior College,

*Inst. of Appl. Microbiology, Kon-Kuk Univ.)

ABSTRACT

Of the *Asp.* spp. isolated by the Institute of Applied Microbiology, Kon-Kuk University, 7 strains were selected for the study of the immunological differences among them using gel precipitation test.

The strains were the following types: 1 type of *flavus* and 2 types of *oryzae* were isolated from Meju; 1 type of *flavus* from Nuruk; and each one type of *flavus*, *parasiticus* and *oryzae* from Kokja. *Asp. flavus* ATCC, *Asp. parasiticus* and *Asp. niger* NRRL strains were also used in the study as a standard.

From this study, several points can be raised;

- 1) There was no common antigenic property between *Asp. niger* and *Asp. flavus*, because of no formation of reaction line. Therefore, all strains could be easily distinguished.
- 2) There was common antigenic property, that is, the formation of reaction line between *Asp. flavus* and *Asp. parasiticus*. Accordingly two strains could not be easily distinguished by the gel precipitation test.
- 3) Each type of *oryzae*, *parasiticus* and *flavus* of *Asp. flavus* group had common antigen one another as well as specific antigens only in the difference of the reaction lines, so they could be easily identified in the gel precipitation test.
- 4) Each isolated strain showed a little difference of antigenicity among them. Nevertheless, strains from Meju and Nuruk appeared to be identical.
- 5) It was shown that the gel precipitation test of serological methods was very useful for the classification of *Asp.* spp.

緒 論

*Aspergillus*屬의 菌種들은 全世界의으로 널리 分布되어 있고 그들이 利用할 수 있는 基質이 自然狀態에 풍부하고 環境要因에 對한 適應範圍가 넓어 우리나라에서도 많은 菌種들이 分布되어 있는 것으로 생각된다.

이들 *Aspergillus* spp.는 人間生活과도 密接한 關係를 맺고 있어 酒精醱酵工業, 酵素劑生産, 有機酸生産, 脂肪生産, 飼料生産 그리고 醱酵食品 등 우리 生活에 利益을 주는 反面, 人體 및 家畜疾患을 일으키고, 各種 mycotoxin을 生産하는 등 直接, 間接으로

해를 주는 것도 많다.

이와 같이 우리 생활과 밀접한 관계가 많은 것을 생각할 때 이들에 대해 調査, 研究하는 것은 대단히 重要하며 正確한 分類學的 研究가 이루어져야 되리라고 생각된다.

Aspergillus spp. 의 分類學的 研究는 Thom과 Raper(1945)의 分類方法이 提出되었고 그 후 Raper와 Fennell(1965)이 이를 補充分類하여 지금까지 代表的인 分類法으로 널리 利用되고 있다.

우리 나라에서도 金(1971) 金등(1965) 李등(1964) 李등(1968) 韓(1969)등이 이에 대한 研究를 하였다.

本 實驗에서는 細菌學(Chen, Park(1956) Chun(1965) Keogh(1948) 金 등(1972) Westphal(1952) Abe(1970) Lind(1960) Parlette(1956) 李(1966) 등)이나 바이라스學分野에서 많이 利用되고 있는 血清學的인 分類方法을 應用하여 다음의 몇 가지 價値 있는 成績을 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 實驗材料

建國大學校 應用微生物 研究所에서 分讓 받은 *Asp. flavus* 4株 *Asp. parasiticus* 2株 *Asp. oryzae* 3株 *Asp. niger* 1株를 本實驗菌株로 使用하였다.

Table 1. Tested strains and their sources

No.	Name of strain	origin	Remarks
1.	<i>Asp. flavus</i> .	Meju.	A9.
2.	<i>Asp. flavus</i> .	Nuruk.	A107.
3.	<i>Asp. parasiticus</i> .	NRRL-465.	A120.
4.	<i>Asp. flavus</i> .	ATCC-15517	A124.
5.	<i>Asp. niger</i> .	NRRL-3112.	A79.
7.	<i>Asp. oryzae</i> .	Meju.	A7.
31.	<i>Asp. flavus</i> .	Kokja.	A31.
34.	<i>Asp. parasiticus</i> .	Kokja.	A34.
113.	<i>Asp. oryzae</i> .	Kokja.	A113.
12.	<i>Asp. oryzae</i> .	Meju	A12.

2. 實驗方法

(1) 菌培養

使用培養基는 Sabouraud medium을 使用

하였고 250ml 삼각 flask에 100ml 정도의 위 液體培地를 넣고 完全히 滅菌한 다음 菌의 spore를 接種하여 $30^{\circ}\text{C} \pm 1$ 에서 培養한 結果 strains 1, 2, 4, 34, 31, 은 60時間, strains 12, 7, 113은 54時間, strain 5는 48時間만에, spore의 形成을 볼 수 있었으며 모든 strains은 spore가 形成되기 前에 供試하고자 接種後 40時間만에 菌絲體를 採取하여 生理的 食鹽水에 3回 反復하여 水洗하였다.

(2) 抗原製造

a) Whole antigen.

水洗된 菌絲體의 덩어리를 $30^{\circ}\text{C} \pm 1$ 에서 24時間 乾燥한 다음 phosphate buffer solution(pH 7.2, P.B.S)에 20%(w/v)되게 混合한 後 French cell pressure에 넣어 1100 PSIG에서 20分間씩 3回 反復하여 細胞를 破壞한 後 P.B.S로 4:1 稀釋하여 試料로 使用하였다.

b) Lipopolysaccharide antigen.

Westphal(1952) 方法에 準하여 製造하였다. Whole antigen 1 part와 90% phenol 1 part를 混合하여 3000r.p.m에서 20分間 遠心하고 上層의 液體層을 取하여 蒸溜水 및 P.B.S에 各各 24時間 透析한 後 dialysing tube에 分注하여 Carbowax(polyethyleneglycol)에 넣어 $\frac{1}{5}$ 로 濃縮하여 試料로 使用하였다.

(3) 免疫方法

體重 1.8~2.0kg의 健康한 白色토끼를 選定하여 whole antigen에 同量의 Freund complete adjuvant(F.C.A) 溶液과 混合한 後 토끼의 大腿부 筋肉內에 2週間隔으로 每回 1.5cc씩 2回 注射 하였다.

最終日 9日 後부터 部分採血을 하여 agar gel precipitation test(G.P.T)에서 充分한 抗體의 形成을 認定한 後 全體採血 하여 血清을 分離한 다음 -20°C 에 保存하면서 使用하였다.

(4) 寒天內 沈降反應

a) Agar precipitation.

Difco agar(Ion agar No. 2 Oxoid)를 蒸

溜수에 3%가 되게 녹인 후 平板用器에 담어 완전히 식혀서 1cm³ 정도로 잘라서 蒸溜수에 2日間 透析한 후 다시 녹여서 적당량씩 분注하여 4°C에 保管하면서 使用하였다.

試驗直前に 3% agar와 同量の veronal buffer solution(V.B.S)에 溶解시켜 깨끗한 slide에 水平이 되게 펴서 固定한 後 各 實驗의 design에 따라 홈을 만들고 diffusion test를 하였다.

b) 染色 및 脫色

室温에서 48時間 정도 diffusion test를 한 후 充分한 沈降帶가 形成되면 生理食鹽水와 蒸溜水の 순서대로 各 各 24時間 동안 透析하고 37°C에서 完全히 乾燥한 後 Amido-black 染色을 1時間 동안 實施하고 脫色은 2% acetic acid 液으로 調節하였다.

結 果

各 實驗菌株들의 抗原抗體反應의 差異點을 觀察하기 위해서 寒天內沈降反應法으로 얻은 결과는 Fig. 1-7과 같다.

1, Whole antigen과 lipopolysaccharide antigen의 antibody에 對한 反應

Fig. 1에서 보는 바와 같이 antibody를 中央에, 그 윗쪽에 whole antigen을, 아래쪽에 lipopolysaccharide antigen을 넣어 反應한 結果 lipopolysaccharide antigen을 넣은 곳에서는 whole antigen을 넣은 곳보다 沈降帶 形成이 뚜렷하지 못했으므로 이 後부터는 whole antigen만을 使用하였다.

2, *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus*와 *Asp. niger*의 antigen이 그들의 antibody에 對한 反應

Fig. 2에서는 中央에 antigen(1, 2, 4는 *Asp. flavus*, 3은 *Asp. parasiticus*, 5는 *Asp. niger*)을 넣고 그 주위에 antibody(1, 2, 4는 *Asp. flavus*, 3은 *Asp. parasiticus*)를 넣어 反應했으며 Fig. 3에서는 中央에 antibody를, 그 아래와 위에 antigen을 넣어 反應한 結果 *Asp. flavus*와 *Asp. parasiticus* 사이에서는 뚜렷한 沈降帶가 形成되었고 또 *Asp. flavus* species 內 系統間에

있어서 沈降反應을 하였으며 또 沈降帶 數나 모양이 비슷하므로 抗原性의 差異는 볼 수 없었다. 그러나 *Asp. niger*의 antigen과 *Asp. flavus*의 3系統과 *Asp. parasiticus*의 antibody와 反應한 곳에서는 아무런 沈降帶 形成이 없었으므로 沈降反應을 하지 않았으며 따라서 *Asp. niger*는 *Asp. flavus*나 *Asp. parasiticus*와 全然 다른 抗原性을 가지고 있다고 볼 수 있다.

3, 서로 origin이 다른 *Asp. flavus*와 *Asp. parasiticus* 그리고 *Asp. oryzae*의 antigen-antibody 反應

Fig. 4에서 보는 바와 같이 中央에 antigen(31은 *Asp. flavus*, 34는 *Asp. parasiticus*, 7, 12, 113은 *Asp. oryzae*, 5는 *Asp. niger*) 그 윗쪽과 아래 쪽에 antibody를 넣어 反應한 것과 中央에 *Asp. flavus*(1 및 2)의 antibody를 넣어 反應한 結果, *Asp. flavus*와 *Asp. niger*와의 反應을 除外하고는 모두 뚜렷한 沈降帶가 形成되어 이들 사이에는 모두 共通 抗原性이 存在한다고 볼 수 있으나 沈降帶의 크기나 數에는 差異가 있어서 *Asp. flavus*나 *Asp. parasiticus*는 *Asp. oryzae*와 完全한 差異를 볼 수 있었고 같은 *Asp. oryzae*이면서도 메주에서 分離된 113과 약간의 差異를 볼 수 있었다. 그러나 같은 origin에서 分離된 *Asp. flavus*(31)와 *Asp. parasiticus*(34)의 사이에는 全然 差異點을 발견할 수가 없었다. 그러나 *Asp. niger*와 *Asp. flavus* 사이에서는 沈降帶가 形成되지 않아 全然 다른 抗原性을 가지고 있다고 볼 수 있었다.

4, *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus*, *Asp. oryzae* 그리고 *Asp. niger*의 antigen-antibody 反應의 綜合的 比較

Fig. 5에서 보는 바와 같이 中央에 antibody를, 그 위와 아래에 antigen을 넣어 反應한 結果 *Asp. flavus*인 1, 2, 4, 31과 *Asp. parasiticus*인 3, 34의 沈降帶는 모두 비슷하나 세밀히 관찰하면 strain이 蒐集된 origin에 따라서 약간의 差異가 있는 것도 있다. 즉 메주나 누룩에서 分離된 *Asp. flavus*

(1, 2)는 똑같은 沈降帶가 形成되었으나 곡자에서 分離된 *Asp. flavus*(31)나 *Asp. parasiticus*(34)와는 약간의 差異가 있었다.

또 NRRL에서 分讓받은 *Asp. parasiticus*(3)와 ATCC에서 分讓받은 *Asp. flavus*(4)와는 전연 差異가 없었으나 메주, 누룩, 곡자에서 分離한 *Asp. flavus*(1, 2, 3, 31,)와 *Asp. parasiticus*(34)와는 약간의 差異가 있었다.

같은 origin에서 分離된 *Asp. flavus*(31)와 *Asp. parasiticus*(34) 사이에는 전연 差異를 볼 수 없었다.

*Asp. oryzae*인 7과 12, 그리고 113이 反應한 곳에서도 모두 비슷한 沈降帶가 形成되었으나 여기에서도 strain이 分離된 origin에 따라 差異가 있어서 메주에서 分離된 7과 12는 同一했으나 곡자에서 分離된 113과는 약간의 差異가 있었다. 여기에서도 *Asp. niger*는 어느 것보다도 沈降帶가 전연 形成되지 않았으므로 앞의 實驗을 뒷받침할 수가 있었다.

6. 各 strain의 antigen이 *Asp. flavus* antibody에 對한 反應

Fig. 6, 7에서는 위와 아래에는 *Asp. flavus* antibody를 넣고 좌와 우에는 antigen을 넣어 反應한 후 沈降帶를 比較한 結果 *Asp. flavus* 31, *Asp. parasiticus* 34과 同一한 沈降帶가 形成되어 同一한 抗原性을 가지고 있다고 볼 수 있으나 *Asp. oryzae*인 7, 12, 113과는 同一한 抗原性도 存在하나 또 다른 抗原性도 存在한다고 볼 수 있다.

또 *Asp. parasiticus* 34도 *Asp. oryzae* 7, 12, 113과는 同一한 抗原性도 存在하나 서로 다른 抗原性도 存在한다. *Asp. oryzae*인 7과 12는 同一하나 같은 *Asp. oryzae*인 113과는 약간 差異가 있었으며 사진으로 잘 나타나지 않았지만 *Asp. flavus*인 1은 2와 同一했고 *Asp. parasiticus*인 3이나 *Asp. flavus*인 4와는 약간의 差異點을 찾아 볼 수 있었다. *Asp. flavus* 2는 *Asp. parasiticus* 3과 *Asp. flavus* 4와는 약간의 差異點을 發見할 수 있었다. 그러나 *Asp. parasi-*

ticus 3과 *Asp. flavus* 4는 전연 差異點을 찾아 볼 수 없었다.

考 察

*Aspergillus*屬의 分類法은 Thom과 Raper (1845)가 77種 8變種 4突然變異株로 分類하였고 그 후 Raper와 Fennell(1965)이 이를 補完 修訂하여 132種 18變種으로 分類 하였다.

이들이 利用한 分類의 key를 살펴 보면 sterigmata의 배열 및 크기 conidia의 크기 및 빛깔 colony 前面의 색깔 및 發育狀態 그리고 conidial head의 形態 및 색깔 등으로 分類하였고 이것을 다시 conidiophore의 길이 vesicle의 크기 그리고 培地狀에서 菌絲體 색깔 등으로 補完 修訂하였다.

坂口와 山田(1944)은 *Asp. niger* group의 分類에서 亞窒酸鹽의 同化能力을 利用했고 北原 및 久留(1950)은 α - 및 β -amylase와 maltase의 活性을 比較하는 分類方法을 利

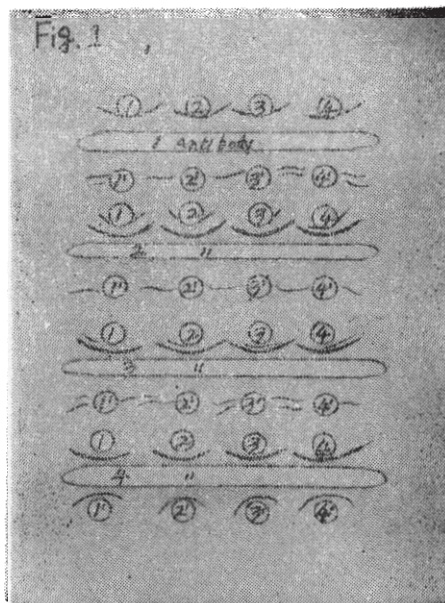


Fig. 1. The comparison of reaction between whole antigen and lipopolysaccharide antigen towards to antibody.
center: antibody, 1, 2, and 4...*Asp. flavus*, *Asp. parasiticus*
peripheral: upper part-whole antigen, lower part-lipopolysaccharide antigen

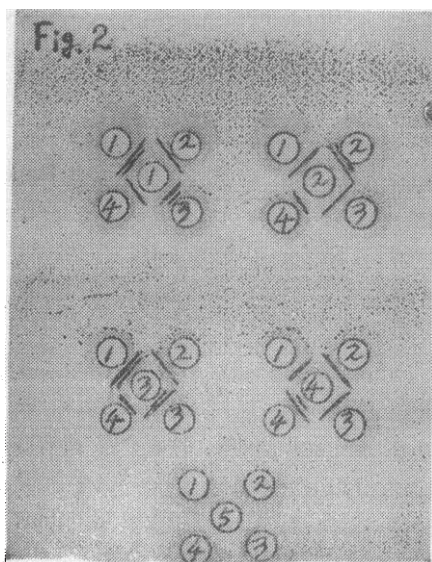


Fig. 2. The comparison of antigenic reaction between *Asp. niger* and *Asp. flavus*
center: antigen, *Asp. flavus* 1,2,4 *Asp. parasiticus* 3. *Asp. niger* 5
peripheral: antibody *Asp. flavus* 1,2,4, *Asp. parasiticus* 3

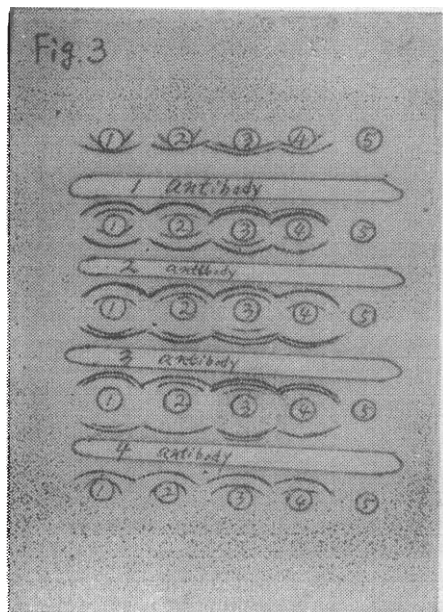


Fig. 3. Reaction of antigen between *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus* and *Asp. niger* towards to antibody.
center: antibody. *Asp. flavus* 1,2,4 *Asp. parasiticus* 3
peripheral: antigen, *Asp. flavus* 1,2,4 *Asp. parasiticus* 3 *Asp. niger* 5

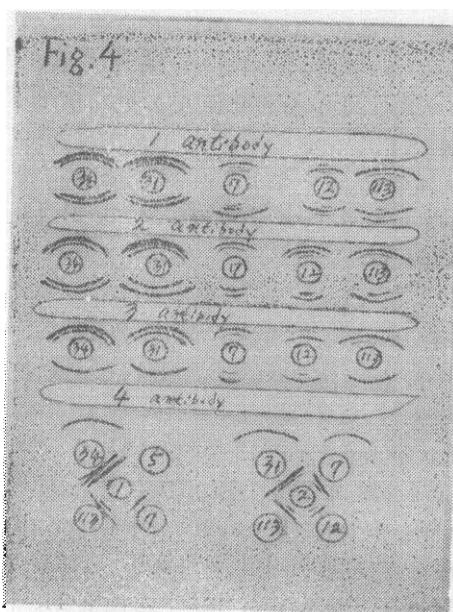


Fig. 4. Reaction of antigen between *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus* and *Asp. oryzae* towards to antibody
center: antibody, *Asp. flavus* 1,2,4 *Asp. parasiticus* 3.
peripheral: antigen *Asp. parasiticus* 34
Asp. niger 5 *Asp. flavus* 31 *Asp. oryzae* 7, 12, 113

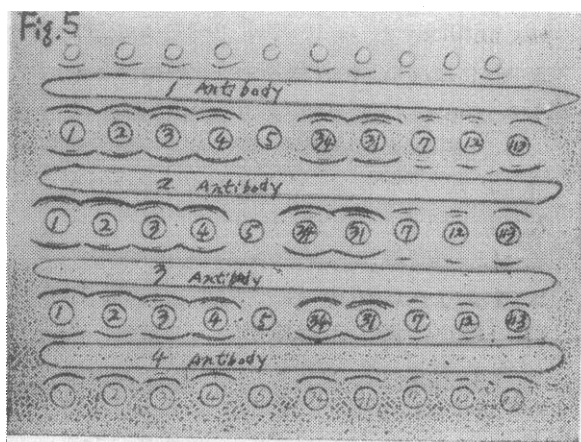


Fig. 5. Reaction of antigen between *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus* and *Asp. oryzae* towards to antibody.
center: antibody, *Asp. flavus* 1, 2, 4 *Asp. parasiticus* 3
peripheral: antigen, *Asp. flavus* 1, 2, 4, 31 *Asp. oryzae* 7, 12, 113 *Asp. parasiticus* 3, 34 *Asp. niger* 5

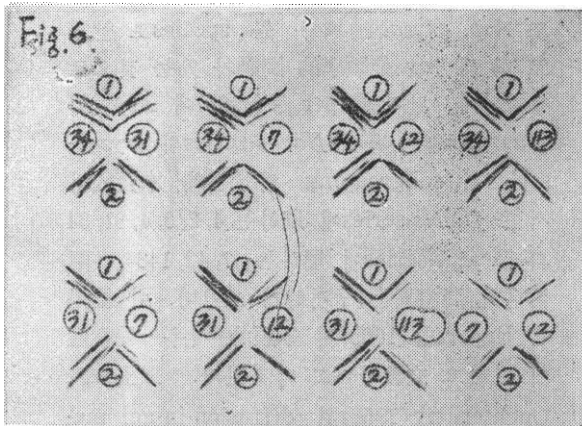


Fig. 6. Reaction of antigen between *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus* and *Asp. oryzae* towards to antibody
center: antibody, *Asp. flavus* 31 *Asp. parasiticus* 34 *Asp. oryzae* 7, 12, 113
peripheral: antigen, *Asp. flavus* 1, 2

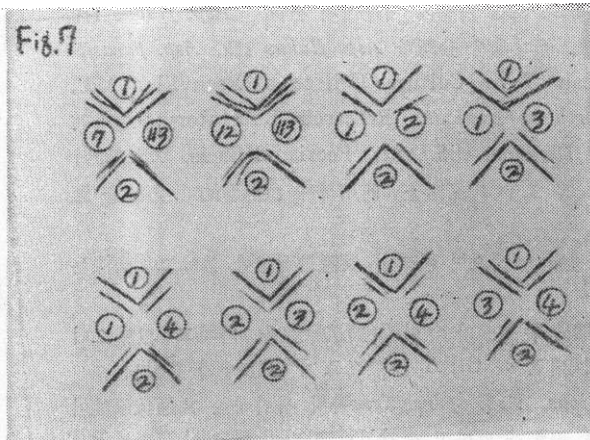


Fig. 7. The comparison of antigenic reaction to antibody for each strains.
center: antibody *Asp. flavus* 1, 2
peripheral: antigen, *Asp. flavus* 1, 2, 4
Asp. oryzae 7, 12, 113 *Asp. parasiticus* 3

用했으며 그외에도 Sakaguchi(1940) Lizuka (1955, 1965)는 많은 分類에 關한 報告가 있으나 모두 形態學的 性狀과 生理學的 特性을 利用한 것이 大部分이었다.

이 實驗에서 使用한 菌株들도 위 研究者들의 分類方法에 依해 *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus*, *Asp. oryzae*, 및 *Asp. niger*로

分類된 것이다.

이 중에서 *Asp. flavus* group과 *Asp. niger* group 사이에는 여러 가지 形態的 性狀과 生理的 特性이 뚜렷한 差異가 있으나 *Asp. flavus-oryzae* group에 屬해 있는 *Asp. flavus*, *Asp. oryzae*, *Asp. parasiticus*는 Thom과 Raper(1945)가 sterigmata의 배열 conidiophore의 길이와 着生狀態 conidial head의 形態와 색깔 그리고 conidia의 크기 및 形態 등으로 *Asp. flavus* group으로 改稱하였으며 이들 사이에는 몇 가지 形態的인 性狀을 제외하고는 큰 差異가 없다.

本 實驗에서는 Ouchterlony(1958)의 寒天內 沈降 反應法을 應用하였는데, *Asp. niger* group에 屬하는 *Asp. niger*(5)는 *Asp. flavus* group에 屬하는 9 strains(1, 2, 3, 4, 7, 12, 31, 34 및 113)와의 사이에서 沈降反應을 볼 수 없었으며 따라서 *Asp. niger*(5)와 *Asp. flavus* group에 屬하는 9 strains와는 確實히 差異가 있는 菌株로서 區別할 수 있었다. 그런데 *Asp. flavus* group에 屬하는 *Asp. flavus*(1, 2, 4, 31) 4 strains, *Asp. parasiticus*(3, 34) 2 strains와 *Asp. oryzae*(7, 12, 13) 3 strains들은 서로 抗原抗體反應에서 沈降帶를 形成하였으며 이들 사이에는 抗原性的 共通性을 볼 수 있었다. 따라서 이들 3 species 9 strains들을 同一한 group에 分類한 것은 매우 妥當性이 있다고 本實驗에서도 主張할 수 있다. 한편 本實驗에서 *Asp. flavus*에 屬하는 4 strains와 *Asp. parasiticus*에 屬하는 2 strains들은 같은 species內에 있어서나 兩 species間에 있어서도 沈降反應의 差異를 볼 수 없었다. 이 結果는 species內의 菌株가 서로 沈降反應의 差異가 없었다고 하는 것은 妥當하다고 할 수 있으나 *Asp. flavus*와 *Asp. parasiticus*의 兩 species間에 있어서 差異가 없다고 하는 것은 생각하기 困難하다. 따라서 本實驗의 結果에 依하면 本實驗에 供與된 *Asp. flavus* 4 strains와 *Asp. parasiticus* 2 strains는 매우 類似한 菌株들이며 區分하기 困難한 것 들이다. 實際 英國

에서 aflatoxin 生産菌株로 分離된 *Asp. flavus* ATCC 15517은 分離된 當初 *Asp. flavus*로 同定되었는데 村上은 이 菌株가 *Asp. flavus*가 아니고 *Asp. parasiticus*라고 主張하고 있다. 아마도 *Asp. flavus*와 *Asp. parasiticus*는 서로 生物學的 特性에 있어서 類似하며 區分하기 困難한 것으로 생각되며 本實驗의 結果도 이런 關係를 暗示한다고 보인다. 또 *Asp. oryzae*에 屬하는 3 strains(7, 12, 113)은 大體로 同一한 反應을 보였는데 메주에서 分離된 7과 12는 서로 完全히 一致되는데 麴子에서 分離된 113은 위 2 菌株와 多少 抗原性에 差異가 있어 보인다. 이 結果는 *Asp. oryzae*에 屬하는 菌株들은 均一한 것 같지 않으며 origin의

生態的 條件에 따라 差異가 있는 것 같다. 또 *Asp. oryzae*는 매우 큰 species로 앞으로 더 細分할 分類學的 問題가 있는 것으로 생각된다. 한편 Raper 등(1965)이 *Asp. flavus* group을 다시 *flavus*-series와 *oryzae*-series로 subgrouping 하였는데 本實驗에서도 *flavus*-series에 屬하는 4, 2, 3, 4, 31, 34와 *oryzae*-series에 屬하는 7, 42, 143의 兩群은 群間差異는 뚜렷하게 보인다. 이 結果는 Raper 등(1965)의 分類가 매우 妥當性이 있다고 立證한다고 생각된다. 以上으로 Ouchterlony(1958)의 diffusion-in-gel method는 *Aspergilli*의 分類에 있어서 매우 有効한 方法으로 思料된다.

摘 要

建國大學校 應用微生物研究所에서 蒐集한 *Aspergillus* spp. 가운데 메주에서 分離한 *Asp. flavus* 1株, *Asp. oryzae* 2株, 누룩에서 分離한 *Asp. flavus* 1株, 곡자에서 分離한 *Asp. flavus* 1株, *Asp. parasiticus* 1株, *Asp. oryzae* 1株 그리고 ATCC(American Type Culture Collection Rockville, Md., U.S.A.)에서 分讓받은 *Asp. flavus* 1株 NRRL(Northern Regional Research Laboratory: 현재는 Northern Utilization Research and Development Division, U.S.D.A., Peoria, Illinois, U.S.A.)에서 分讓받은 *Asp. parasiticus* 1株, *Asp. niger* 1株 등 모두 10菌株를 使用하여 血清學的인 方法을 應用하여 分類를 試圖한 結果는 다음과 같다.

1) *Asp. niger*와 *Asp. flavus* 사이에는 共通抗原性이 없었으며 따라서 反應帶形成이 없었고 菌株는 쉽게 구별할 수가 있었다.

2) *Asp. flavus*와 *Asp. parasiticus* 사이에는 抗原性的 差異가 없이 共通抗原性을 가지고 있었으며 反應帶形成을 볼 수 있었고 따라서 이 양 species 間에는 이 G.P.T 反應으로 구별할 수가 없었다.

3) *Asp. flavus* group *Asp. oryzae*와 *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus*와의 사이에는 共通抗原性이 存在하나 서로 다른 抗原性도 存在하므로 抗原性的 差異가 있다고 생각되며 따라서 이 사이에는 G.P.T 反應으로 구별할 수 있었다.

4) 各 菌體가 蒐集된 origin(메주, 누룩, 곡자, ATCC, NRRL)에 따라 약간의 差異가 있는 것도 있어 origin의 生態的 差異가 있는 메주나 누룩에서 分離된 菌株와 麴子에서 分離된 菌株 사이에는 약간의 差異가 있었고 ATCC나 NRRL에서 分讓받은 菌株와도 약간의 差異가 있었으나 메주에서 分離된 菌株와 누룩에서 分離된 菌株 사이에는 全然 差異가 없었고 ATCC에서 分讓받은 *Asp. parasiticus*와 NRRL에서 分讓 받은 *Asp. flavus*사이에도 全然 差異점이 없었으나 origin에 따라 약간의 差異가 있는 것도 있었다.

5) 血清學的인 方法으로 寒天內 沈降反應法은 곰팡이 *Aspergillus* spp.의 分類에 매우 有効하다는 것이 立證되었다.

引 用 文 獻

1. Abe, M., 1970. Studies on the antigenic specificity of *Mycobacterium leprae* I. Demonstration of soluble antigens in leprosy nodules by immunodiffusion. *Internat. J. Leprosy* 38, 113.
2. Chen, T.H., and K.F. Meyer, 1954. Studies on immunization against plague VII. A hemagglutination test with the protein fraction of *Pasteurella pestis*. *J. Immunol.* 72, 282-298.
3. Chun, D., and E. Park, 1956. Demonstration of *Shigella flexneri* antigens by means of hemagglutination test. *J. Inf. Dis.* 98, 82-87.
4. 韓季容 1969. 韓國產 *Aspergilli*의 누에에 대한 병原性에 관한 研究. 7: 69.
5. Lizuka, H., 1955. The electron microscopic investigation on classification of conidia of the genus *Aspergillus*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 1, 10.
6. Lizuka, H., and J. Sugiyama, 1965. On three New *Aspergilli* isolated from Furo-Koji of Ryuku islands and Kagoshima. *Japan. Jap. Bot.* 40, 230.
7. Keogh, E.V., E.A. North, and M.F. Warburton, 1948. Adsorption of Nature 191: 687-688.
8. 北原覺雄, 久留島通俊 1950. 絲狀菌類のデアスターゼ 組成に関する研究, 醸工學誌 28: 101.
9. 金尙材 1971. 韓國產 *Aspergilli*에 관한 分類學的 研究, 韓國微生物學會誌 9, 1.
10. 金鍾協, 張建型, 崔春彥 1965. 韓國에서의 皮革防微에 관한 研究(第一報) 皮革菌 *Asp. oryzae* *Asp. niger*의 分離 및 固定 韓國微生物學會誌, 3, 15.
11. 金周德, 柳駿 1972. 免疫 확산法에 의한 인라균 및 서라菌의 抗原分析에 관한 研究, 연세醫大 論文集 5: 1
12. 李啓瑚, 張原型 1964. 醬類用 強力 麴菌에 관한 研究(第二報), *Aspergillus* spp.의 同律과 發育條件에 關하여 韓國微生物學會誌, 2: 17.
13. 李賢澤 1966. Bacteriophage와 抗 phage 血清과의 作用에 의한 血球凝集反應에 관한 研究, 溫度 및 赤血球感度의 影響, 5. 5: 221-228.
14. Lind, A., 1960. Serological studies of *Mycobacteria* by means of diffusion-in-gel techniques. II. Investigations of the precipitins formed after infection with *M. tuberculosis* and their relation to the antibodies demonstrated by the Middlebrook Dubos hemoagglutination test. *Mt. Arch. Allergy* 16, 36.
15. Ouchterlony, O. 1958. Diffusion-in-gel methods for immunological analysis. *Progr. Allergy* 5, 1
16. Parlett, R.C., and G.P., Youmans, 1965. Antigenic relationships between *Mycobacteria* as determined by agar diffusion precipitation techniques. *Amer. Rev. Tuberc. & Pulmon. Dis.* 73, 637.
17. Raper, K.B., and D.I. Fennell, 1965. The genus *Aspergillus*. The Williams and Wilkins CO. Baltimore.
18. Sakaguchi, K., H. Lizuka, and Yamaki, 1940. *Jour. Appl. Microbiol.* (Japan) 3(4), 97.
19. Thom, C., and K.B. Raper, 1945. *Amannal of Aspergilli*. The Williams and Wilkins CO. Baltimore.
20. Westphal O., und Bister F. 1952. Extraktion von Bacterium mit phenol/wasser Z. *Naturforsch.* 76, 148,