

세포내 지방산 조성 분석에 따른 *Candida*속의 분류

신기선 · 홍순덕¹ · 배경숙*

한국과학기술연구원 생명공학연구소 유전자원센터, ¹경북대학교 미생물학과

*Candida*속 효모 27종의 표준 균주를 대상으로 세포내 지방산 조성을 기체 크로마토그래피로 분석하여, 함유 지방산의 종류와 함량비를 근거로 27종의 균주를 3개의 분류군으로 나누었다. 이들 지방산 분석에 의한 분류군을 *Candida*속의 다른 분류학적 결과들인 coenzyme Q 분자종의 종류, DNA 염기함량 분석, ITS 부위의 제한효소 절단 다형질의 양상, 리보솜 소단위 RNA 유전자의 염기배열 보고와 비교 분석하였다. 그 결과 같은 분류군에 위치하는 균주들 사이의 연관 관계가 거의 일치하였다. 따라서 세포내 지방산 분석은 *Candida*속 균주들을 유전적 동질성을 갖는 균주들로 분류하는 수단으로 사용될 수 있으며, 유전적으로 매우 다양한 균주들의 집단으로 알려진 *Candida*속에 관한 분류적 고찰에 일차적으로 사용될 수 있는 유용한 수단을 알 수 있었다.

KEY WORDS □ *Candida*, cellular fatty acid analysis, taxonomic relationship

*Candida*속은 유성 생식이 밝혀지지 않은 효모들의 군집으로 의학적으로 중요한 병원균들을 포함하고 있으며, 그 속을 정의하는 분류학적 규정의 포괄성으로 인하여 유전적 기원이 매우 다른 다수의 균주들로 구성되어 있다(14). *Candida*속에서 조사된 coenzyme Q 분자종의 다양성과 넓은 범위의 DNA 염기 함량값(DNA mol% G+C)은 *Candida*속에 포함되어 있는 균주들 사이에 존재하는 유전적 이질성을 잘 나타내 주고 있다(2, 3, 14). *Candida*속이 나타내는 이러한 유전적 이질성은 이 속에 대한 분류학적 규정이 자연적 분류(natural classification)를 반영하지 못함을 나타내며, 보다 합리적인 자연적 분류에 접근하기 위하여 이들 중 사이에 존재하는 유전적 이질성을 해결하려는 다양한 시도가 이루어져 왔다. 이와 같은 노력의 예로 Weijman 등(23)이 *Candida*속을 포함하여 이와 연관된 *Cryptococcus*속과 *Rhodotorula*속에 관한 분류학적 규정을 재정의하였으며, 그 외 여러 연구자들이 *Candida*속을 대상으로 화학적, 분자생물학적 방법을 사용하여 다양한 분류학 관련 연구(4, 12, 16, 20, 21)를 수행하였다. 그러나 이와 같은 노력에도 불구하고 *Candida*속에 포함되어 있는 균주들의 유전적 이질성은 완전히 해결되지 않고 있다.

한편 1976년 McElhane(13)에 의해 미생물들이 종특이적인 군체 지방산을 갖는다는 사실이 알려지자, 미생물 분류에 관련된 새로운 화학적 지표물질(chemotaxonomic marker)로 군체 지방산을 이용하려는 연구들이 시작되었다. Lechevalier 등(11)은 군체 지방산 조성이 균주의 배양 조건(배양 온도, 배양 시간 등)에 따라 변한다는 연구 결과를 보고하였으나, 일정한 조건하에서 비교할 미생물들을 배양하고, 이들로부터 군체 지방산을 분리하여 지방산 종류를 동정하고 그 함량을 분석할 경우, 군체 지방산 분석이 미생물을 동정하고 grouping하는데 매우 유용한 수단임이 여러 연구자들

에 의해 증명되었다(7, 10, 19). 특히 Viljoen 등(21)은 군체 지방산 분석 결과를 이용하여 다양한 효모종들 사이에 존재하는 분류학적 연관 관계를 살펴보고, 또한 유성 세대가 알려지지 않은 균주들(imperfect fungi)과 완전 세대(perfect state) 효모들의 지방산 분석 결과를 비교하여 지방산 분석 결과가 유사한 균주들을 묶어 무성 세대와 유성 세대 관계를 추정하였다(22).

본 연구는 세포내 지방산 조성 분석 결과를 토대로 *Candida*속에 포함되어 있는 종들을 유전적 동질성을 갖는 균주들로 분류하고, 이러한 결과를 다른 분류학적 결과들과 비교 분석하여 이 균주들 사이에 존재하는 연관 관계를 규명해 봄으로써 *Candida*속에 관한 분류학적 이해를 도모하고, 세포내 지방산 분석 결과가 *Candida*속에 포함되어 있는 균주들을 유전적으로 유사한 균주들로 구별하는데 유용한 수단인지 조사해 보고자 하였다.

재료 및 방법

실험균주

군체 지방산 조성 분석에 사용한 *Candida*속 실험 균주들은 모두 27종의 표준 균주로 Table 1에 나타내었다.

배지 및 배양조건

군체 지방산의 추출은 Sabouraud Dextrose Agar(BBL 11584) 배지에 균주를 접종하여 28°C에서 24시간 배양한 후 사용하였다.

군체 지방산의 추출

군체 지방산 조성을 조사하기 위한 분석용 시료는 Miller (15)가 사용한 방법에 준하여 세포로부터 지방산을 지방산 메틸 에스터(fatty acid methyl ester)의 형태로 추출하여 사용하였다. 고체 배지에서 24시간 배양한 군체 약 40 mg을

*To whom correspondence should be addressed

Table 1. List of *Candida* species used in this study

Species name	Strain number	Source
<i>C. aaseri</i>	KCTC 7618 ^a	CBS 1913 ^b
<i>C. albicans</i>	KCTC 7270	IFO 1385 ^c
<i>C. bimbundalis</i> var. <i>americana</i>	KCTC 7641	Y-2156 ^d
<i>C. bimbundalis</i> var. <i>bimbundalis</i>	KCTC 7601	IFO 1366
<i>C. blankii</i>	KCTC 7606	IFO 10230
<i>C. colliculosa</i>	KCTC 7680	IFO 1083
<i>C. diddensiae</i>	KCTC 7644	Y-7589
<i>C. ergastensis</i>	KCTC 7624	CBS 6248
<i>C. famata</i>	KCTC 7645	Y-7426
<i>C. friedrichii</i>	KCTC 7625	CBS 4114
<i>C. glabrata</i>	KCTC 7946	CBS 138
<i>C. glabiosa</i>	KCTC 7613	IFO 1353
<i>C. hydrocarbofumarica</i>	KCTC 7668	CBS 6734
<i>C. inositolophila</i>	KCTC 7604	IFO 1575
<i>C. insectorum</i>	KCTC 7648	Y-7787
<i>C. krusei</i>	KCTC 7213	CBS 573
<i>C. lambica</i>	KCTC 7630	CBS 1876
<i>C. melibiosica</i>	KCTC 7631	CBS 5814
<i>C. parapsilosis</i>	KCTC 7653	Y-12969
<i>C. santamariae</i>	KCTC 7683	CBS 4515
<i>C. sorbosa</i>	KCTC 7657	Y-7767
<i>C. steatolytica</i>	KCTC 7658	Y-7136
<i>C. stellatoidea</i>	KCTC 7678	IFO 1397
<i>C. terebra</i>	KCTC 7673	CBS 5815
<i>C. variabilis</i>	KCTC 7661	Y-1933
<i>C. vartiivaraai</i>	KCTC 7672	CBS 4289
<i>C. xestobii</i>	KCTC 7684	CBS 5975

^aKorean Collection for Type Cultures, Taejeon, Korea; ^bCentraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherlands; ^cInstitute for Fermentation, Osaka, Japan; ^dARS Culture Collection, Northern Regional Research Center, Peoria, Ill., USA.

Teflon-lined screw cap tube에 옮겨 1 ml의 reagent 1(NaOH 45 g, methanol 150 ml, distilled water 150 ml)을 첨가하여 5-10초간 vortex하고 100°C에서 5분간 가열하였다. 그런 다음 끓는 물에서 꺼내 다시 5-10초간 강하게 vortex하여 100°C에서 25분간 가열하였다. Sodium salts 형태로 추출된 지방산을 메틸 에스터 형태로 전환하기 위하여, 반응이 끝난 tube를 꺼내 흐르는 물로 식히고 reagent 2(6 N HCl 325 ml, methanol 275 ml)를 첨가하여 5-10초간 vortex하여 80°C water bath에서 10분간 처리하고 신속하게 얼음물로 옮겨 식힌 후, reagent 3(hexane 200 ml, 2-methoxy-2-methyl-propane 200 ml)을 1.25 ml 첨가하고 실온에서 10분간 진탕한 후 침지하였다. 두 층으로 분리된 시료에서 하층액을 제거하고 지방산 메틸 에스터가 함유된 상층액을 취하였다. 여기에 3 ml의 reagent 4(NaOH 10.8 g, distilled water 900 ml)를 첨가한 후 5분간 진탕하여 실온에서 방치하였다. 시료가 두 층으로 분리되면 상층액을 기체 크로마토그래피 분석용 vial로 옮겨 지방산 분석을 위한 최종 시료로 사용하였다.

기체 크로마토그래피

준비된 시료의 지방산 조성 분석에는 5% phenyl methyl silicone fused silica capillary column(25 m×0.2 mm)이 장착

된 기체 크로마토그래피(Hewlett-Packard, model 5890 series II)를 사용하였고 분석 조건으로 분석시 칼럼의 온도는 170°C에서 시작하여 300°C까지 분당 5°C씩 높였으며, injector와 detector의 온도는 각각 250°C와 300°C였다. 운반 기체는 H₂를 사용하였고 유속은 30 ml/min이었으며 시료의 주입량은 2.0 µl였다.

또한 각 peak에 해당하는 지방산 메틸 에스터 분자의 동정을 위하여 다양한 탄소수(9개부터 20개까지)를 가지는 straight chain saturated fatty acids와 5가지 hydroxy acids가 함유된 혼합물을 표준 시료로 사용하였다.

지방산 조성의 분석

각 시료를 분석하여 얻어진 기체 크로마토그램의 결과를 토대로 균주들이 함유하고 있는 세포내 지방산의 종류와 함량비를 조사하였다. 이와 같이 조사한 지방산 분석결과를 수리적 분류 방법을 기초로 multivariate Gaussian model을 사용하여 data를 비교하는 MIDI software program package (Microbial ID, Inc., Newark, Del.)에 적용하여 각 균주들 사이에 존재하는 분류학적 연관관계를 dendrogram과 2-dimensional plot으로 나타내어 cluster 분석을 하였다.

결과 및 고찰

*Candida*속 효모 27종의 표준 균주를 대상으로 각 균주의 세포를 구성하고 있는 지방산의 종류와 함량비를 조사하였다. 조사한 균주들의 균체 지방산 종류와 함량비는 Table 2에 나타내었다. Table 2의 결과는 각 균주의 지방산 종류와 함량을 분석하여 모든 균주에서 함량이 1% 이하로 나타난 지방산들을 제외한 것이며, 지방산 분석 결과 서로 다른 지방산 양상을 보이는 각 균별로 나타내었다. 분석 결과 각 균주들이 함유하고 있는 지방산 종류는 유사하였으나, 각 지방산 종류들의 함량비는 균주에 따라 다양하였다. 조사한 모든 균주는 세포를 구성하는 지방산으로 C16:1 *cis* 9, C16:0, C18:2 *cis* 9, 12와 C18:1 *cis* 9 및 C18:1의 혼합물을 많은 비율로 함유하였다(Table 2). 각 균주들의 지방산

Table 2. Fatty acid composition profiles for the genus *Candida* FAME groups. Fatty acids are designated as numbers of carbon atoms versus numbers of double bonds

Fatty acids	Group I			Group II (n=5)	Group III (n=2)
	Subgroup A	Subgroup B	Subgroup C		
	(n=13) ^a	(n=3)	(n=4)		
C14:0	tr. ^b	1.09 ^c	tr.	tr.	1.22
C16:1 <i>cis</i> 9	6.22	17.15	3.05	8.13	42.73
C16:0	19.02	13.08	13.40	13.91	12.09
C17:1 <i>cis</i> 9	1.53	tr.	tr.	1.55	tr.
C18:2 <i>cis</i> 9, 12	28.99	19.26	46.47	17.18	9.05
C18:0	2.61	1.07	2.03	2.15	3.09
Mixture of C18:1 <i>cis</i> 9 & C18:1	37.78	34.18	30.98	53.66	28.11

^aNumber of species contained. ^bTrace amounts, less than 1%.

^cMean fatty acid compositions(%) of species in each group.

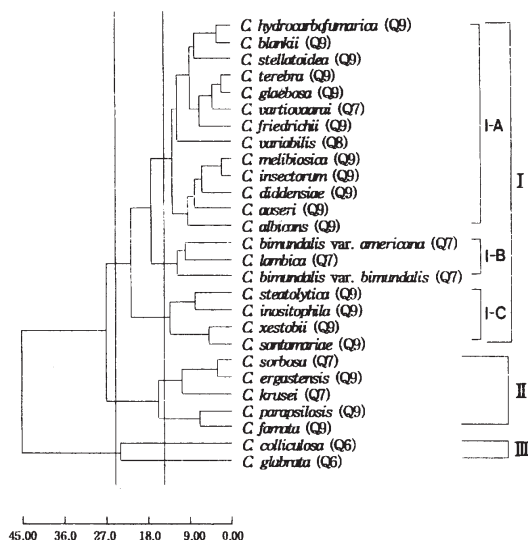


Fig. 1. Dendrogram of the *Candida* species based on the cellular fatty acid profile analysis. The X-axis represents Euclidian distances.

조성과 함량비를 토대로 MIDI software program package를 이용하여 dendrogram(Fig. 1)을 작성하여 분류학적 연관관계를 조사해 보았고, 이 결과를 분석하여 균주들 사이에 존재하는 유전적 유사도를 수치화하여 나타내 주는 Euclidian distance 값을 토대로 Euclidian distance 25를 기준으로 27종의 *Candida* 균주를 3개의 군(I, II와 III)으로 나눌 수 있었다. 가장 많은 균주들을 포함하고 있는 I군은 Euclidian distance 15를 기준으로 다시 3개의 아군(I-A, B와 C)들로 세분할 수 있었다. 또한 지방산 분석을 통해 조사된 각 균들이 포함하는 균주들의 분류학적 연관성을 조사하기 위하여 미생물 분류에 있어 중요한 화학적 지표인 coenzyme Q 분자종을 Shin 등(17)의 결과로부터 인용하여 비교하였으며, 인용한 coenzyme Q 분자종은 Fig. 1의 dendrogram과 함께 나타내었다.

I군은 20개의 군주를 포함하였으며 3개의 아군(I-A, B와 C)들로 나누어졌다. 각 아군들은 거의 동일한 종류의 지방산을 함유하고 있었으나, 각 지방산의 함량비는 각 아군별로 다소 달랐다. I군을 구성하고 있는 다수의 군주들은 Odds 등(16)이 조사한 수리 분류 분석 결과에서도 동일한 cluster를 구성하는 것으로 보고되었으나, 이 cluster를 구성하는 군주들의 생리적 시험 결과에서 보여주는 유사도는 약 70% 정도로 나타나 유전적으로 다소 다양한 군주들의 집단임을 알 수 있었다. 지방산 분석 결과로 분류학적 연관관계를 조사한 본 연구 결과에서, I군을 구성하는 군주들의 Euclidean distance 값이 20로 비교적 낮은 값을 나타내 I군이 유전적으로 다양한 군주들의 집단임을 알 수 있었으며 이 결과는 Odds 등(16)의 보고와 유사하였다.

아군 I-A는 13균주를 포함하였으며 세포를 구성하는 지방산으로 C18:1 *cis* 9와 C18:1의 혼합물을 가장 많이 함유하고 있었다. 미생물 분류에 있어 중요한 화학적 지표물질

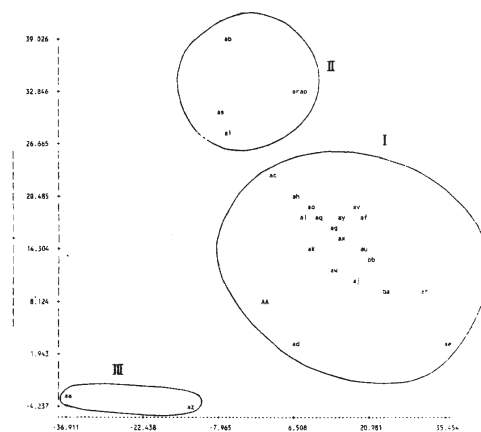


Fig. 2. A 2-D plot of cellular fatty acid profile. The X-axis represents the principal component 1, and the Y-axis represents the principal component 2. AA, *C. bimundalis* var. *americana*; aa, *C. glabrata*; ab, *C. krusei*; ac, *C. albicans*; ad, *C. bimundalis* var. *bimundalis*; ae, *C. inositophila*; af, *C. blankii*; ag, *C. glabebosa*; ah, *C. aaseri*; ai, *C. ergastensis*; aj, *C. friedrichii*; ak, *C. lambica*; al, *C. melibiosica*; ao, *C. diddensiae*; ap, *C. famata*; aq, *C. insectorum*; ar, *C. parapsilosis*; as, *C. sorbosa*; at, *C. steatolytica*; au, *C. variabilis*; av, *C. hydrocarbofumarica*; aw, *C. vartiovaarai*; ax, *C. terebra*; ay, *C. stellaioidea*; az, *C. colliculosa*; ba, *C. santamariae*; bb, *C. xestobii*.

인 coenzyme Q 분자종은 *C. vartiovaarai*(Q-7)와 *C. variabilis*(Q-8)를 제외한 모든 균주가 coenzyme Q-9를 보유하고 있었다(17). 아군 I-A에서 발견되는 *C. albicans*는 의학적으로 중요한 병원균 중 하나이나, II군을 구성하고 있는 그 외의 병원균들과 달리 I군에 포함되어 있었다. 그러나, MIDI software program package를 이용하여 각 균주들의 지방산 조성과 함량비를 토대로 균주들 사이에 존재하는 분류학적 연관관계를 2차원적 배치로 보여주는 2-D plot(Fig. 2)에서 *C. albicans*가 II군과 가깝게 위치해 있음을 보여주어 이들 사이에 존재하는 유전적 밀접성을 나타내 주고 있다. 또한 *C. albicans*의 synonym으로 알려져 있는 *C. stellatoidea*는 *C. albicans*와 함께 아군 I-A에 포함되어 있었으나, 2-D plot 상에서는 *C. albicans*와 다소 먼 거리에 위치해 있었다. 이와 같은 결과는 서로 밀접하게 연관되어 있어 synonym관계(3)를 잘 반영해 주는 두 균주 *C. blankii*와 *C. hydrocarbofumarica*의 결과와는 상이하였다. 한편 Kwon-Chung 등(9)은 의학적으로 중요한 병원균이며 *C. albicans*의 synonym으로 알려져 있던 *C. stellatoidea* 7균주들을 대상으로 다양한 연구를 수행하여 이 균주들을 두 type(I와 II)으로 나누었다. 또한 이 균주들과 *C. albicans* 사이의 분류학적 관계를 도출하였는데, 그 결과 *C. stellatoidea* type II는 *C. albicans*의 simple mutant(sucrose-negative *C. albicans*)이나 *C. stellatoidea* type I은 *C. albicans*의 simple mutant로 볼 수 없고, 따라서 *C. stellatoidea* type I을 *C. albicans*의 variety로 재고할 필요가 있음을 제안하였다(9). 본 실험의 지방산 분석 결과에서 나타난 *C. albicans*와 *C. stellatoidea* type I

의 거리는 Kwon-Chung 등(9)의 결과를 뒷받침하며 이들의 제안에 관한 깊이 있는 분류학적 고찰이 요구된다.

아군 I-B는 세포를 구성하는 주된 지방산으로 C18:1 cis 9와 C18:1의 혼합물을 함유하고 있는 점은 아군 I-A와 동일하나 minor 지방산의 함량비는 서로 달랐다. 아군 I-B의 모든 균주는 coenzyme Q 분자종으로 Q-7을 가지며(17) 동일한 속의 완전세대(genus *Pichia*)를 가져 유전적으로 유사한 균주들의 모임임을 알 수 있었다.

아군 I-C에 포함된 4균주는 C18:2 cis 9, 12를 주된 지방산으로 가지며 모두 coenzyme Q 분자종으로 Q-9(17)을 보유하고 있다. *C. steatolytica*와 *C. inositolophila*는 Smith(18)에 의해 완전 세대를 구성하는 서로의 mating type임이 보고된 바 있어 이들 사이에 존재하는 유전적 연관성을 알 수 있었다.

II군은 *C. sorbosa*, *C. ergastensis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*와 *C. famata*의 5균주로 구성되어 있었다. 이 군은 의학적으로 중요한 병원균들(1,5)을 포함하며 세포를 구성하고 있는 지방산으로 C18:1 cis 9 및 C18:1의 혼합물을 가장 많이 함유하고 있었고, 각 균주들의 coenzyme Q 분자종은 Q-7과 Q-9이었다(17). Odds 등(16)에 의해 행해진 *Candida*속과 *Torulopsis*속에 포함되어 있는 다수의 균주들을 대상으로 조사한 수리 분류 분석 결과는 의학적으로 중요한 *Candida*속 균주들이 비병원성인 그 외 균주들과 다른 cluster를 형성함을 보여주었고, 이런 결과는 지방산 분석 결과에 의한 본 연구 결과와 일치하였다. *C. sorbosa*와 *C. krusei* 사이에 존재하는 분류학적 유사성은 두 균주가 동일한 분자종인 coenzyme Q-7을 보유하고(17), 같은 속의 완전 세대(genus *Issachenkia*)를 갖는다는 것으로 설명된다(3). 또한 2-D plot에 의한 분석 결과는 의학적으로 중요한 병원균들이 한 군으로 묶여진 II군에서 *C. krusei*가 다른 균주들과 비교적 떨어진 곳에 위치하고 있음을 보여주며, 이와 같은 결과는 리보솜 소단위 RNA 유전자의 염기서열을 분석하여 조사한 진화적 연관관계(4,8)에서도 동일하게 관찰되었다.

III군에는 *C. colliculosa*와 *C. glabrata* 두 균주만이 포함되어 있는데, 두 균주 모두 C16:1 cis 7, C18:1 cis 9 및 C18:1의 혼합물, C16:0과 C18:2 cis 9, 12의 순서로 많이 함유하고 있었다. III군에 속하는 두 균주에서 보고된 coenzyme Q 분자종은 Q-6(17)로 동일하였으나, DNA 염기 함량은 *C. colliculosa*의 경우는 42.2-44.6%이었고, *C. glabrata*가 38.5-40.2%로 다소 차이가 있었다(3). 이와 같은 DNA 염기 함량의 차이는 2-D plot에서 *C. colliculosa*와 *C. glabrata*가 한 군을 형성하였으나 서로 떨어져 있음을 설명해 준다. 한편 *Candida*속 균주들에 존재하는 유전적 연관관계를 nuclear internal transcribed spacer(ITS) 부위의 제한효소 절단 다형질(restriction fragment length polymorphisms; RFLPs)의 양상으로 분석한 보고(17)에서 이들 두 균주는 동일군에 속하고, 리보솜 소단위 RNA 유전자의 전체 염기서열 분석을 토대로 조사한 계통수(8)에서도 *C. glabrata*가 의학적 중요성 있는 *Candida*속 균주들과 다른 군을 형성하며 *C. colliculosa*와 같은 군내에 위치하여 이들 두 균주의 분류학적인 연관성을 보여주었다.

결론적으로, *Candida*속 27종을 세포내 지방산 분석 결과를 토대로 분류해 본 결과 각 균주가 함유하고 있는 지방산

의 종류와 함량비에 따라 3개의 군으로 나눌 수 있었다. 이것은 *Candida*속의 유전적 다양성을 반영하는 결과로 이 속이 유전적으로 다른 기원을 갖는 균주들의 모임임을 보여주었다. 또한 지방산 분석 결과에 따라 각 군내에 묶여진 균주들 사이에 존재하는 분류학적 연관성은 *Candida*속에 대한 다른 연구 결과들과 일치하였으며, 따라서 지방산 분석 방법이 유전적으로 매우 다양한 균주들의 집단인 *Candida*속에 관한 분류적 고찰에 있어 좋은 수단임을 알 수 있었다.

감사의 글

연구를 수행함에 있어 기술적인 지원과 도움을 주신 본 실험실의 이문수님과 김영진님께 감사드리며, 본 연구는 과기처 특정연구과제(BSGG061S)의 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

참고문헌

1. Ahearn, D.G. 1978. Medically important yeasts. *Annu. Rev. Microbiol.* **32**, 59-68.
2. Barnett, J.A., R.W. Payne and D. Yarrow. 1983. In *Yeasts: Characteristics and Identification*. p. 1-811. 1st ed. Cambridge University Press, Cambridge and New York.
3. Barnett, J.A., R.W. Payne and D. Yarrow. 1990. In *Yeasts: Characteristics and Identification*. p. 1-1002. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge and New York.
4. Barns, S.M., D.J. Lane, M.L. Sogin, C. Bibeau and W. G. Weisburg. 1991. Evolutionary relationships among pathogenic *Candida* species and relatives. *J. Bacteriol.* **173**, 2250-2255.
5. Blinkhorn, R.J., D. Adelstein and P.G. Spagnuolo. 1989. Emergence of a new pathogen, *Candida lusitanae*. *J. Clin. Microbiol.* **27**, 236-240.
6. Cronan, J.E. JR. 1978. Molecular biology of bacterial membrane lipids. *Annu. Rev. Biochem.* **47**, 163-189.
7. Ghanem, F.M., A.C. Ridpath, W.E.C. Moore and L.V.H. Moore. 1991. Identification of *Clostridium botulinum*, *Clostridium argentinense*, and related organisms by cellular fatty acid analysis. *J. Clin. Microbiol.* **29**, 1114-1124.
8. Hendriks, L., A. Goris, Y.V. de Peer, J-M. Neefs, M. Vancanneyt, K. Kersters, G.L. Hennebert and R.D. Wachter. 1991. Phylogenetic analysis of five medically important *Candida* species as deduced on the basis of small ribosomal subunit RNA sequences. *J. Gen. Microbiol.* **137**, 1223-1230.
9. Kwon-Chung, K.J. and J.E. Bennett. 1992. Candidiasis. p. 280-336. In *Medical Mycology*. Lea & Febiger, Malvern, Pennsylvania.
10. Langley, D.E., J.B. Clark, P.A. Hall and S.T. Kellogg. 1987. An evaluation of a whole-cell fatty acid profiles as a means of identifying aquatic microorganisms. *bst. 87th annu. Mtg. Amer. Soc. Microbiol.* p. 260.
11. Lechevalier, H. and M.P. Lechevalier. 1989. In *Microbial Lipids*. p. 869-902. London, Academic Press.
12. Lott, T.J., R.J. Kuykendall and E. Reiss. 1993. Nucleotide sequence analysis of the 5.8S rDNA and adjacent ITS2 region of *Candida albicans* and related species. *Yeast*

- 9, 1199-1206.
13. **McElhane, R.N.** 1976. The biological significance of alterations in the fatty acid composition of microbial membrane lipids in response to changes in environmental temperature. In *Extreme Environments-Mechanisms of Microbial Adaptation*. New York. Academic Press.
 14. **Meyer, S.A., D.G. Ahearn and D. Yarrow.** 1984. *Candida* Berkhout. In *The yeasts, a taxonomic study*. p. 585-844. Elsevier Sci. Publ., Amsterdam.
 15. **Miller, L.T.** 1982. Single derivatization method for routine analysis of bacterial whole-cell fatty acid methyl esters, including hydroxy acids. *J. Clin. Microbiol.* **16**, 548-586.
 16. **Odts, F.C., M.J. Sackin and D. Jones.** 1990. Numerical taxonomic analysis of imperfect yeast species in *Candida* and *Torulopsis* show no basis for generic separation. *J. Gen. Microbiol.* **136**, 761-765.
 17. **Shin, K-S., S-D. Hong and K.S. Bae.** 1996. The significance of ITS-RFLPs and Coenzyme Q system in determining taxonomic relationships among *Candida* species. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **42**, 481-491.
 18. **Smith, M.T.** 1986. *Zygoascus hellenicus* gen. nov., sp. nov., the telomorph of *Candida hellenica* (= *C. inositophila* = *C. steatolytica*). *Antonie van Leeuwenhoek* **52**, 25-37.
 19. **Stead, D.E.** 1992. Grouping of plant-pathogenic and some other *Pseudomonas* spp. by using cellular fatty acid profiles. 1992. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **42**, 281-295.
 20. **Verona, O. and G. Florenzano.** 1980. Some taxonomical considerations on *Candida* and allied genera. *Mycotaxon.* **11**, 365-368.
 21. **Viljoen, B.C. and J.L.F. Kock.** 1989. A taxonomic study of the yeast genus *Candida* Berkhout. *System. Appl. Microbiol.* **12**, 91-102.
 22. **Viljoen, B.C., J.L.F. Kock and T.J. Britz.** 1988. The significance of long-chain fatty acid composition and other phenotypic characteristics in determining relationships among some *Pichia* and *Candida* species. *J. Gen. Microbiol.* **134**, 1893-1899.
 23. **Weijman, A.C.M., L.R. de Miranda and J.P. van der Walt.** 1988. Redefinition of *Candida* Berkhout and the consequent emendation of *Cryptococcus* Kützing and *Rhodotorula* Harrison. *Antonie van Leeuwenhoek* **54**, 545-553.

(Received April 30, 1997/Accepted June 15, 1997)

ABSTRACT: Taxonomic Study of the Genus *Candida* by Cellular Fatty Acid Analysis

Kee-Sun Shin, Soon-Duck Hong¹ and Kyung Sook Bae* (Genetic Resources Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST, Yusong, Taejeon 305-600, Korea; ¹Department of Microbiology, College of Natural Science, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea)

The cellular long-chain fatty acid compositions of 27 *Candida* species were determined. According to the fatty acid methyl ester (FAME) profiles, the *Candida* species studied could be differentiated into three FAME related groups I, II and III, and the group I was subdivided into three subgroups I-A, B, and C. Medically important *Candida* species clustered together, except *C. glabrata*. The composition data of cellular long-chain fatty acids were compared with other taxonomic data; coenzyme Q types, DNA base compositions, restriction patterns of nuclear internal transcribed spacers, and small subunit rRNA sequences. The cellular long-chain fatty acid composition proved to be valuable criteria in the differentiation of taxonomic relatedness of the genus *Candida*.