

흑색 진균에서 Random Amplified Polymorphic DNA를 이용한 유전자 다양성 분석

동국대학교 의과대학 피부과학교실, 파티마병원 피부과*,
경북대학교 의과대학 면역학교실**

서무규 · 서진천* · 김정철** · 이호중

=Abstract=

Genetic Diversity of Dematiaceous Fungi Using Random Amplified Polymorphic DNA

Moo Kyu Suh, Jin Chun Suh*, Jung Chul Kim** and Ho Chung Lee

*Department of Dermatology, College of Medicine, Dongguk University, Kyongju & Fatima Hospital,
Taegu, Korea. **Department of Immunology, Kyungpook National University,
School of Medicine, Taegu, Korea

Background: There are three kinds of diseases caused by dematiaceous fungi: chromoblastomycosis, phaeohyphomycosis, and eumycotic mycetoma. The dematiaceous fungi have been identified and classified by morphological, biochemical and physiological tests. Recently molecular analysis has been introduced to the field of medical mycology.

Objective: We investigated the genetic diversity of dematiaceous fungi using random amplified polymorphic DNA (RAPD).

Methods: The dematiaceous fungal strains studied were eight clinical isolates of chromoblastomycosis and phaeohyphomycosis agents (3 strains of *Fonsecaea pedrosoi*, 2 strains of *Exophiala dermatitidis*, 1 strain of *Exophiala jeanselmei*, 1 strain of *Phialophora verrucosa*, 1 strain of *Rhinocladiella aquaspersa*) and 4 standard strains (*F. pedrosoi* IFM 4889, *E. dermatitidis* IFM 4828, *P. verrucosa* IFM 4928, *R. aquaspersa* IFM 4930). Total twelve strains of dematiaceous fungi were cultured on Sabouraud's dextrose broth and their DNA were extracted by bead-beating method.

Results: The optimal condition for PCR was template DNA 0.025 µg and annealing temperature 39°C. The RAPD analysis using OPA 10 primer (5'-GTGATCGCAG-3') of Operon kit showed different patterns among dematiaceous fungi. But one clinical isolate of *F. pedrosoi* showed intra-specific variability.

Conclusion: The RAPD analysis is considered a rapid and reliable method for identification and classification of dematiaceous fungi if the procedure is carefully standardized with adequate primer.

[Kor J Med Mycol 2003; 8(1): 7-15]

Key Words: Dematiaceous fungi, Random amplified polymorphic DNA

†별책 요청 저자: 서무규, 780-350 경북 경주시 석장동 1090-1, 동국의대부속 경주병원 피부과
전화: (054) 770-8269, Fax: (054) 773-1581, e-mail: mksuhmd@hanmail.net

서 론

흑색 진균은 dematiaceous fungi, black fungi 또는 pigmented fungi라고 하며 세포막에 멜라닌 색소 (dihydroxynaphthalene melanin)를 가지고 있으며, 열대 지방과 아열대지방에 흔하고 온대지방에서도 발견된다. 그리고 흑색 진균에 의한 감염증은 색소분아진균증 (chromoblastomycosis), 흑색진균증 (phaeohyphomycosis), 그리고 진균종 (eumycotic mycetoma)이 있다¹⁻⁴.

색소분아진균증은 만성 육아종성 피부질환으로 1922년 Terra 등⁵이 처음 명명하였고 조직에 큰 구형의 두터운 벽을 가지고 분할을 보이는 소위 경화세포 (sclerotic cell)가 보이며, 그 원인균으로 *Fonsecaea* (*F.*) *pedrosoi*가 가장 흔하고 그 외 *Phialophora* (*P.*) *verrucosa*, *Cladosporium carrionii*, *F. compacta*, *Rhinoctadiella* (*R.*) *aquaspersa* 등이 있다^{1,2,6,7}. 국내에서 분리된 균종은 *F. pedrosoi*⁸⁻¹¹, *P. verrucosa*¹², *R. aquaspersa*¹³ 3종 뿐이다.

흑색진균증은 1974년 Ajello 등¹⁴이 처음 명명하였고 피하 및 전신감염을 일으키며 조직내에 갈색균사, 연쇄상의 포자를 보이거나 색소분아진균증에서와 같은 경화세포는 나타나지 않는다¹⁻⁴. 흑색진균증의 원인균으로는 57균속 104균종이 알려져 있으며, 이 중 피하감염의 원인균으로는 *Exophiala* (*E.*) *species* 및 *Phialophora species*가 흔하다고 하며², 이 중 *E. jeanselmei*가 가장 흔한 원인균이며^{1,2,4}, 그 외 *E. dermatitidis*, *P. verrucosa*, *F. pedrosoi*, *Cladophialophora* (*Xylohypha*) *bantiana* 등이 있다¹². 국내에서 분리된 균종은 *E. jeanselmei*^{15,16}, *E. dermatitidis*^{17,18}, *Drechslera dematioidea*¹⁹, *Phoma species*²⁰ 4종이다. 색소분아진균증과 흑색진균증의 차이는 임상 양상, 조직에서 균의 형태, 그리고 드물게 원인균의 분류에 의해 구별되지만²¹, *F. pedrosoi*나 *P. verrucosa*와 같은 균종은 2가지 질환 모두 일으키므로 균종만으로 감별이 어려운 경우도 있다⁴. 일반적으로 흑색 진균의 동정은 포자의 양상, 생화학 및 생리적 검사에 의해 이루어져 왔다¹⁻³.

최근에 분자생물학적 분석이 흑색 진균에도 적용되어 균주의 분류 및 동정에 이용되고 있다²²⁻³⁶. 흑

색 진균의 분류 및 동정에 대한 분자생물학적 연구로는 중합효소 연쇄반응 (polymerase chain reaction, PCR)-ribotyping법²²⁻²⁵, ribosomal DNA (rDNA) 염기서열 분석법 (sequencing)²⁶⁻²⁸, 미토콘드리아 DNA 제한효소 절편길이 다형성 (restriction fragment length polymorphism, RFLP)법²⁹⁻³¹, Random amplified polymorphic DNA (RAPD)법^{32,33}, chitin synthase 유전자의 염기서열 분석법³⁴⁻³⁶ 등이 있다.

이에 저자들은 RAPD법을 이용하여 국내 색소분아진균증 및 흑색진균증 환자에서 분리된 흑색 진균 균종 및 균주간의 다양성에 대해서 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

국내 색소분아진균증 및 흑색진균증으로 확진된 환자 8명에서 분리된 흑색 진균 5균종 8주 (*F. pedrosoi* 3주, *E. jeanselmei* 1주, *E. dermatitidis* 2주, *P. verrucosa* 1주, *R. aquaspersa* 1주)와 표준 균주로 일본 지바대학교 진균연구소에서 분양받은 흑색 진균 4균종 4주 (*F. pedrosoi* IFM 4889, *E. dermatitidis* IFM 4828, *P. verrucosa* IFM 4928, *R. aquaspersa* IFM 4930)를 포함하여 총 12주를 대상으로 하였다 (Table 1). 임상 분리균주의 동정은 진균의 육안적 형태, 현미경 소견, 당대사 실험 (sugar assimilation test) 및 온도 내성 검사 (heat tolerance test)로 하였다.

2. 방 법

1) 균 배양

흑색 진균은 삼각 플라스크에 250 ml의 Sabouraud 액체배지에 접종하여 25℃에서 2~4주간 진탕 배양하였다.

2) DNA 분리 (DNA extraction)

흑색 진균에서 DNA의 분리는 glass bead를 이용하여 추출하였다. 균사를 채취하여 1.5 ml 튜브에 옮겨 담은 후 corical grinder를 이용하여 grinding 하였다. 여기에 0.5 mm glass bead와 phenol : chloroform : isoamylalcohol (25 : 24 : 1)을 섞은 후 Mini-bead-beater (Bio-spec Products, Bartlesville, USA)로 5분간 beating을 하였다. 실온에서 10분간 원심분리 후 상층을 분리하여, 0.1배 용적의 3 M sodium acetate와 2.5배 용

Table 1. List of dematiaceous fungal strains studied

Strain No.	Species	Original code	Source	Locality
1	<i>F. pedrosoi</i>	IFM 4889	Human chromoblastomycosis	Japan
2	<i>F. pedrosoi</i>	-	Human chromoblastomycosis	Kyongju
3	<i>F. pedrosoi</i>	-	Human chromoblastomycosis	Chilgok
4	<i>F. pedrosoi</i>	-	Human chromoblastomycosis	Chinju
5	<i>E. jeanselmei</i>	-	Human phaeohyphomycosis	Taegu
6	<i>E. dermatitidis</i>	IFM 4828	Human	Japan
7	<i>E. dermatitidis</i>	-	Human phaeohyphomycosis	Taegu
8	<i>E (W). dermatitidis</i>	-	Human phaeohyphomycosis	Kwangju
9	<i>P. verrucosa</i>	IFM 4928	Human phaeohyphomycosis	Japan
10	<i>P. verrucosa</i>	-	Human chromoblastomycosis	Seoul
11	<i>R. aquaspersa</i>	IFM 4930	Human	Japan
12	<i>R. aquaspersa</i>	-	Human chromoblastomycosis	Taegu

F : *Fonsecaea*, *E* : *Exophiala*, *W* : *Wangiella*, *P* : *Phialophora*, *R* : *Rhinoctadiella*
 IFM : Research Center for Pathogenic Fungi and Microbiol Toxicoses, Chiba University, Japan

적의 무수알콜 (100% alcohol)을 가하고 -20℃에서 12시간 방치하였다. 30분 정도 4℃, 10000 rpm으로 원심분리 후 상층액을 버리고 침전된 pellet을 건조시켰다. 그리고나서 건조된 pellet에 적당한 양의 멸균된 3차 증류수를 가하여 50℃에서 15분간 용해시키고 이를 -20℃에 보관하였다. DNA 분리 후 spectrophotometer (Beckman DU®530, Beckman Instruments, Inc. Fullerton, CA, USA)를 이용하여 DNA의 농도와 순도를 측정하였다.

3) Random amplified polymorphic DNA (RAPD)

PCR 반응 조건으로 최적의 반응을 나타내는 주형 (Template) DNA의 농도를 찾기 위하여 7종류의 농도로 각각 희석하여 설정 (0.0015~0.1 µg/µl) 하였다. 10X reaction buffer (Promega) 5 µl, 25 mM MgCl₂ 3 µl, 10 mM dNTP 1 µl, Taq polymerase (Promega, 5 U/µl) 0.75 µl, primer 320 ng, 진균 DNA 용액 (주형 DNA) 0.0015~0.1 µg/µl 등을 포함한 반응 혼합물이 총 50 µl이 되도록 하여 PCR을 시행하였다. 적합한 random primer 선정을 위한 예비 실험에서 Caligiorne 등³³의 보고에 따라 Operon kit의 OPA 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 13, 16을 사용하여 PCR을 시행하였으며, 이중

OPA 10 (5'-GTGATCGCAG-3')을 사용할 때 모든 균주에서 명확한 band를 나타내어 primer로 선정하였다. 반응 조건은 1차로 94℃에서 3분간 denaturation을 한 후, 2차로 denaturation 94℃ 30초; annealing 35~50℃ 30초; extension 72℃ 30초의 반응 횟수를 35회 반복한 후 마지막에 72℃에서 10분간 extension을 시행하였다. 최적의 반응을 나타내는 annealing 온도를 찾기 위하여 8종류의 annealing 온도를 설정 (35℃; 37.5℃; 39℃; 41℃; 44℃; 46℃; 48℃; 50℃)하여 반응을 실행하였다. 전기영동은 1.5% agarose gel을 이용하였고 120 V에서 1시간 30분간 시행하였다.

Size marker로 ϕX174 DNA를 제한효소 *Hae* III로 절단한 것을 사용하였고 결과는 AlphaImager™ (Sony Electronics Inc Park Ridge, NJ, USA)를 이용하여 촬영하였고, AlphaImager software를 이용하여 band의 크기와 pattern을 비교하였다.

결 과

1. PCR 최적 조건 확립

분리한 주형 DNA의 농도를 0.1 µg, 0.05 µg, 0.025 µg, 0.0125 µg, 0.006 µg, 0.003 µg, 0.0015 µg으로 변화

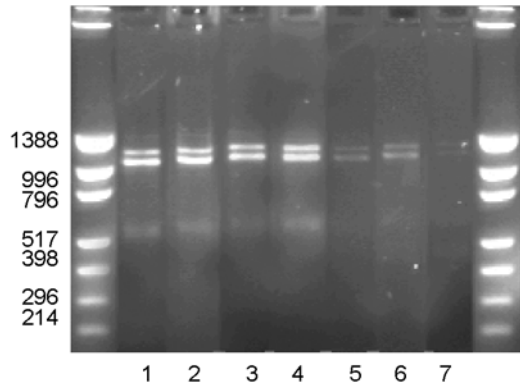


Fig. 1. Effect of the template DNA concentration of *F. pedrosoi* (strain No. 2) on RAPD using the primer OPA 10 at annealing temperature 39°C. Lanes: 1, 0.1 µg; 2, 0.05 µg; 3, 0.025 µg; 4, 0.0125 µg; 5, 0.006 µg; 6, 0.003 µg; 7, 0.0015 µg.

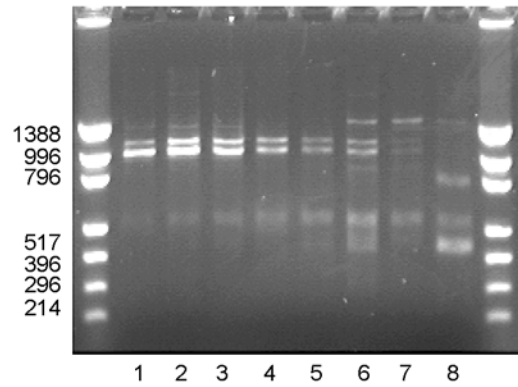


Fig. 2. Effect of the annealing temperature on RAPD using the primer OPA 10 on template DNA 0.025 µg concentration of *F. pedrosoi* (strain No. 2). Lanes: 1, 35°C; 2, 37.5°C; 3, 39°C; 4, 41°C; 5, 44°C; 6, 46°C; 7, 48°C; 8, 50°C.

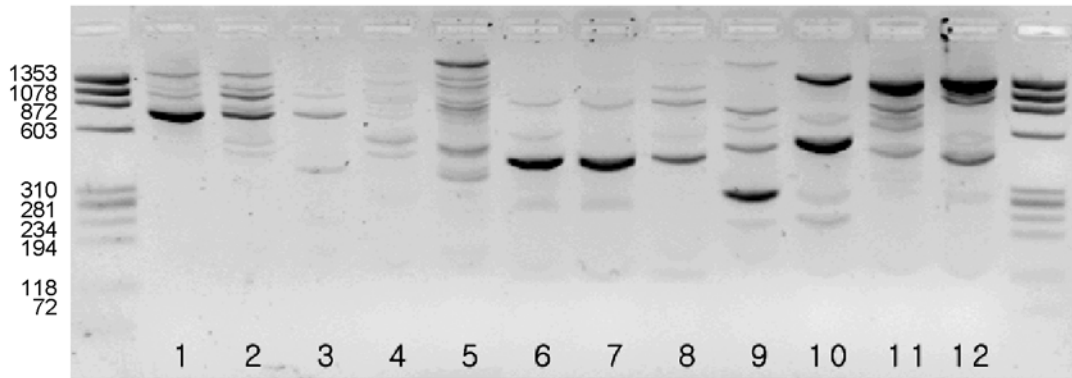


Fig. 3. Gel image showing RAPD products obtained by amplification of 25 ng of DNA using the primer OPA 10. Lanes: 1, *F. pedrosoi* IFM 4889; 2~4, clinical isolates of *F. pedrosoi*; 5, *E. jeanselmei*; 6, *E. dermatitidis* IFM 4828; 7, 8, clinical isolates of *E. dermatitidis*; 9, *P. verrucosa* IFM 4928; 10, clinical isolate of *P. verrucosa*; 11, *R. aquaspersa* IFM 4930; 12, clinical isolate of *R. aquaspersa*.

를 시켜 PCR을 시행한 결과 0.006 µg 이하에서의 주형 DNA 농도에서는 band가 희미하거나 반응산물이 나타나지 않았으나 0.0125 µg 이상의 농도에서는 선명하고 동일한 band 양상을 나타내어 주형 DNA의 농도를 0.025 µg으로 하였다 (Fig. 1).

Annealing 온도를 35°C, 37.5°C, 39°C, 41°C, 44°C, 46°C, 48°C, 50°C로 변화를 시켜 PCR을 시행한 결과 46°C 이상에서는 band의 수가 많고 희미하게 나타났으나 44°C 이하에서는 동일한 band 양상을 볼 수 있었으며 39°C에서 band가 선명하여 비교적 좋은 결과를 얻을 수 있어서 annealing 온도를 39°C로 하였

다 (Fig. 2).

2. 표준 균주 및 임상 분리주의 RAPD 분석

표준 균주와 임상 분리주를 포함한 흑색 진균 5균종 12주의 genomic DNA를 OPA 10 primer로 RAPD를 실시한 결과 각 균주간에 특이한 band 양상을 보여 각 균주간의 동정이 가능하였으나 *F. pedrosoi* 4균주 중 임상 분리주인 칠곡균주만 표준 균주와 다르게 6개의 band 중 3개만 나타내어 band 양상의 차이가 심하였고 *P. verrucosa* 및 *R. aquaspersa*의 표준 균주와 임상 분리주 사이에 band 양상에 각각 2

Table 2. DNA bands (bp) by RAPD analysis with primer OPA 10

Strains	Species	DNA bands with OPA 10 (5'-GTGATCGCAG-3')
1	<i>F. pedrosoi</i>	1430, 1200, 1060, 810, 580, 510
2	<i>F. pedrosoi</i>	1400, 1200, 1060, 830, 580, 510
3	<i>F. pedrosoi</i>	1040, 835, 580
4	<i>F. pedrosoi</i>	1460, 1250, 1060, 850, 590, 510
5	<i>E. jeanselmei</i>	1600, 1325, 1200, 1040, 540, 380
6	<i>E. dermatitidis</i>	1015, 640, 450, 280, 120
7	<i>E. dermatitidis</i>	965, 450, 280, 120
8	<i>E. dermatitidis</i>	1650, 1200, 990, 670, 490, 140, 110
9	<i>P. verrucosa</i>	1610, 880, 720, 550, 310, 230, 140
10	<i>P. verrucosa</i>	1260, 850, 550, 310, 230, 130
11	<i>R. aquaspersa</i>	1145, 910, 795, 540, 125
12	<i>R. aquaspersa</i>	1200, 965, 475, 315, 120

F : *Fonsecaea*, *E* : *Exophiala*, *P* : *Phialophora*, *R* : *Rhinoctadiella*

band만 조금 다르게 나타나서 약간의 차이를 보였다 (Table 2, Fig. 3).

고 찰

흑색 진균은 토양, 부패된 식물 또는 나무에 사는 부패균 (saprophyte)이며 보통 피부에 외상을 통해 체내에 침범한다¹⁻⁴. 흑색 진균에 의한 감염증 중 색소분자진균증은 조직에서 경화세포가 특징적이며 임상적으로 주로 피부병소로 사마귀양 결절로 나타나며 드물게 림프절, 뇌 기타 내부장기에도 전파되는 수가 있다¹². 그리고 흑색진균증은 흑색진균류에 의한 심재성 진균증 중 조직내 흑색균사를 형성하고 경화세포를 볼 수 없는 병형이며 색소분자진균증과 진균종을 제외한 나머지 것을 모두 말하며¹⁴, McGinnis⁴는 표재형, 피부 및 각막형, 피하형, 전신형으로 임상 병형을 나누어 광범위한 질환으로 간주되고 있다. 현재까지 국내 환자에서 분리된 흑색진균은 *F. pedrosoi* 4주⁸⁻¹¹, *E. jeanselmei* 2주^{15,16}, *E. dermatitidis* 2주^{17,18}, *P. verrucosa* 1주¹², *R. aquaspersa* 1주¹³, *Drechslera dematioidea* 1주¹⁹, *Phoma* species 1주²⁰로 7균종 12주 뿐이다.

흑색 진균의 분류 및 동정은 배양 균집락의 육안

적 관찰, 포자의 광학 및 전자현미경적 관찰, 당대사 실험, 온도 및 염분 (salt) 내성 검사, 효소분해 검사 등의 생화학 및 생리적 검사로 이루어져 왔으며¹⁻³, 최근 몇 가지 분자생물학적 접근이 흑색 진균에 보완적으로 시도되고 있다²²⁻³⁶. 첫째, 미토콘드리아 DNA RFLP법을 이용한 흑색 진균의 연구는 일본에서 주로 시도되고 있는데 1990년 Kawasaki 등²⁹이 *E. jeanselmei*와 *E. dermatitidis*의 균주간 동정과 다양성을 보고한 이후 1997년 Yamagishi 등³⁰은 *P. verrucosa*, 그리고 1999년 Kawasaki 등³¹은 *F. pedrosoi*에 대한 연구가 보고되었다. 둘째, 진균핵내의 rDNA 염기서열 분석법을 이용한 흑색 진균의 연구는 1995년 Spatafora 등²⁷이 small subunit (SSU) rDNA 부위, Masciaux 등²⁶은 *Cladosporium* 균종의 large subunit rDNA 부위를, 그리고 1998년 Uijthof 등²⁸은 *E. dermatitidis*에서 18 S 및 5.8 S rDNA 사이에 위치한 internal transcribed spacer (ITS) 1 부위를 염기서열 분석하였다. 셋째, 많은 진균의 세포벽을 구성하는 섬유성 cellulose-like 다당류 (polysaccharide)인 chitin에 대한 chitin synthase 유전자의 염기서열 분석법을 이용한 흑색 진균의 연구는 1995년 Peng 등³⁴은 *P. verrucosa*, 1996년 Karuppaiyl 등³⁵은 *F. pedrosoi*, 그리고 2000년 Wang 등³⁶은 *E. dermatitidis*에 대한 연구가 보고되

었다. 넷째, RAPD법을 이용한 흑색 진균의 연구는 1994년 Uijthof 등³²이 *E. dermatitidis*, 그리고 1999년 Caligiome 등³³이 흑색 진균에 대한 연구가 보고되었다. 다섯째, 진균핵내의 rDNA 부위를 PCR로 증폭하여 RFLP를 시행하는 PCR-ribotyping법을 이용한 흑색 진균의 연구는 1995년 Uijthof와 De Hoog²²는 *Exophiala* 균종, Yan 등²³은 *Phialophora* 균종, Attili 등²⁴은 *Fonsecaea* 균종, 그리고 Caligiome 등²⁵은 흑색 진균에 대한 연구가 보고되었다.

RAPD법은 Arbitrarily primed PCR이라고도 하며 사전에 염기서열 등의 유전정보를 알지 못하는 경우 특이하지 않은 random primer에 의해 신속하고 쉽게 유전적 동일성을 관찰할 수 있는 간편한 방법이나 반응 조건에 따라 결과가 달라지는 단점이 있다³⁷⁻³⁹. 본 실험에서는 PCR 최적 조건 확립을 위하여 분리된 주형 DNA 농도 및 annealing 온도를 변화시켜 PCR을 시행한 결과 주형 DNA 농도는 0.025 µg, annealing 온도는 39℃일 때 비교적 좋은 결과를 얻을 수 있었다. 1990년 Williams 등⁴⁰이 사람, 식물 및 세균의 DNA에 처음으로 RAPD법을 적용한 이후 진균에서도 많은 방법이 개발되었다^{32,33,41-45}. 국내에서도 백선균^{37,39,46}과 *Candida* 균종³⁸에 대한 보고가 있으나 흑색 진균에 대한 RAPD 분석의 보고는 아직 없다.

본 실험에서는 국내 색소분아진균증 및 흑색진균증 환자에서 분리된 흑색 진균의 genomic DNA를 OPA 10 primer로 RAPD법을 이용하여 균주간의 다양성을 조사한 결과 각 균주간에 특이한 band 양상을 보여 Caligiome 등³³과 거의 일치하였으나 *F. pedrosoi* 4균주 중 임상 분리주인 칠곡균주만 표준 균주와 다르게 band 양상의 차이가 심하였고, *P. verrucosa* 및 *R. aquaspersa*의 표준 균주와 임상 분리주 사이에 band 양상에 약간의 차이를 보였다. *F. pedrosoi* 칠곡균주는 반복적 실험에서도 표준 균주의 6개 band 중 3개만 나타내어 *F. pedrosoi*의 균주간의 다양성 (polymorphism)으로 생각되며 향후 더 많은 분자생물학적 기법을 이용한 분석이 필요할 것으로 생각된다. 그리고 *Exophiala dermatitidis*는 *Wangiella dermatitidis*라고도 불리어지는데^{17,32,36} 본 실험에서도 분자생물학적으로 동일한 band 양상을 보였다.

결 론

흑색 진균 (dematiaceous fungi)의 분류 및 동정은 포자의 양상, 생화학 및 생리적 검사에 의해 이루어져 왔으나 최근 분자생물학적 분석들이 보완적으로 사용되고 있다. 이에 저자는 국내 색소분아진균증 (chromoblastomycosis) 및 흑색진균증 (phaeohyphomycosis) 환자에서 분리된 흑색 진균 5균종 8주 (*F. pedrosoi* 3주, *E. jeanselmei* 1주, *E. dermatitidis* 2주, *P. verrucosa* 1주, *R. aquaspersa* 1주)와 표준 균주로 일본 지바대학교의 흑색 진균 4균종 4주 (*F. pedrosoi* 4889, *E. dermatitidis* IFM 4828, *P. verrucosa* IFM 4928, *R. aquaspersa* IFM 4930)를 포함하여 총 12주를 대상으로 하여 Sabouraud 액체배지에 25℃에서 2~4주간 진탕 배양한 후 glass bead법으로 진균 DNA를 분리하여 Operon kit의 OPA 10 primer (5'-GTGATCGCAG-3')를 사용하여 random amplified polymorphic DNA (RAPD)를 시행하여 흑색 진균 균종간의 다양성에 대해서 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. PCR 최적 조건 확립

분리된 주형 DNA의 농도 및 annealing 온도를 변화시켜 PCR을 시행한 결과 주형 DNA 농도는 0.025 µg, annealing 온도는 39℃일 때 비교적 좋은 결과를 얻을 수 있었다.

2. 표준 균주 및 임상 분리주의 RAPD 분석

표준 균주와 임상 분리주를 포함한 흑색 진균 5균종 12주의 genomic DNA를 OPA 10 primer로 RAPD를 실시한 결과 각 균주간에 특이한 band 양상을 보여 각 균주간의 동정이 가능하였으나 *F. pedrosoi* 4균주 중 임상 분리주인 칠곡균주만 표준 균주와 다르게 band 양상의 차이가 심하였고 *P. verrucosa* 및 *R. aquaspersa*의 표준 균주와 임상 분리주 사이에 band 양상에 약간의 차이를 보였다. 이상으로 흑색 진균에서 적절한 primer에 의한 RAPD 분석은 신속하고 간편하며 균주간의 동정에 유용하였다.

감사의 글

본 연구를 수행하는데 많은 균주를 제공해 주신

여러분께 감사의 뜻을 표합니다.

참 고 문 헌

1. Rippon JW. Medical mycology: The pathogenic fungi and pathogenic actinomycetes. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1988: 276-324
2. Kwon-Chung KJ, Bennet JE. Medical mycology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992: 337-355, 620-677
3. De Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi. 2nd ed. Utrecht and Reus: Centraalbureau voor Schimmelcultures, Universitat Rovirai Virgili, 2000: 652-657, 676-680, 878-879
4. McGinnis MR. Chromoblastomycosis and phaeohyphomycosis: new concepts, diagnosis, and mycology. J Am Acad Dermatol 1983; 8: 1-16
5. Terra F, Torres M, Fonseca O, Area Leao AE. Novo typo de dermatite verrucosae mycose por *Acrotheca* com associacao de leishmaniosa. Brasil-Med 1922; 2: 363-368
6. Bonifaz A, Carrasco-Gerard E, Saul A. Chromoblastomycosis: clinical and mycologic experience of 51 cases. Mycoses 2001; 44: 1-7
7. Minotto R, Bernardi CDV, Mallmann LF, Edelweiss MIA, Scroferneker ML. Chromoblastomycosis: A review of 100 cases in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. J Am Acad Dermatol 2001; 44: 585-592
8. 서무규, 성열오, 윤기성, 하경임, 김정란. *Fonsecaea pedrosoi*에 의한 색소분아진균증 1예. 대피지 1996; 34: 832-836
9. Kim HU, Son GY, Ihm CW. A case of chromoblastomycosis showing a good response to itraconazole. Ann Dermatol 1997; 9: 51-54
10. 김성화, 오수희, 최성관 등. Amphotericin B 크림 밀봉요법으로 치유된 색소분아진균증 1예. 의진균지 2000; 5: 144-149
11. 강남규, 서무규, 박성근, 송계용, 김태홍. 양측 손 등의 궤양성 병변을 보인 색소진균증 1예. 대피지 2002; 40: 174-177
12. 오상호, 서순봉, 이광훈, 정기양. *Phialophora verrucosa*에 의한 색소분아진균증 1예. 대한의진균학회 제8차 학술대회 초록집 2001: 32
13. 전재복, 김도원, 이석중, 장재원, 정상립. *Rhino-cladiella aquaspersa*에 의한 색소분아진균증 1예. 의진균지 제8차 학술대회 초록집 2001: 32
14. Ajello L, Georg LK, Steigbigel RT, Wang CJK. A case of phaeohyphomycosis caused by a new species of *Phialophora*. Mycologia 1974; 16: 490-498
15. Kim HU, Kang SH, Matsumoto T. Subcutaneous phaeohyphomycosis caused by *Exophiala jeanselmei* in a patient with advanced tuberculosis. Br J Dermatol 1998; 138: 351-353
16. 서무규, 서진천, 서선교 등. *Exophiala jeanselmei*에 의한 흑색진균증 1예. 대피지 1999; 37: 395-399
17. 이승철, 전인기, 김영표. *Wangiella dermatitidis*에 의한 phaeomyocytic subcutaneous abscess 1 증례. 대피지 1986; 24: 692-696
18. Kim DS, Yoon YM, Kim SW. Phaeohyphomycosis due to *Exophiala dermatitidis* successfully treated with itraconazole. 의진균지 1999; 4: 79-83
19. 오수희, 서순봉, 김성화 등. *Drechslera dematioides*에 의한 primary subcutaneous phaeohyphomycosis 1예. 대피지 1996; 34: 489-494
20. Jun JB, Suh SB. A case of phomamycosis. Proceedings of the third Korea-Japan joint meeting of dermatology. Kyongju, 1983: 163-166
21. Barba-Gomez JF, Mayorga J, McGinnis MR, Gonzalez-Mendoza A. Chromoblastomycosis caused by *Exophiala spinifera*. J Am Acad Dermatol 1992; 26: 367-370
22. Uijthof JMJ, De Hoog GS. PCR-ribotyping of type isolates of currently accepted *Exophiala* and *Phaeococcomyces* species. Antonie van Leeuwenhoek 1995; 68: 3-42
23. Yan ZH, Rogers SO, Wang CJK. Assessment of *Phialophora* species based on ribosomal DNA internal transcribed spacers and morphology. Mycologia 1995; 87: 72-83
24. Attili DS, De Hoog GS, Pizzirani-Kleiner AA. rDNA-RFLP and ITS1 sequencing of species of the

- genus *Fonsecaea*, agents of chromoblastomycosis. *Med Mycol* 1998; 36: 219-225
25. Caligiorme RB, Resende MA, Dias-Neto E, Oliveira SC, Azevedo V. Dematiaceous fungal pathogens: analysis of ribosomal DNA gene polymorphism by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Mycoses* 1999; 42: 609-614
 26. Masclaux F, Gueho E, De Hoog GS, Christen R. Phylogenetic relationships of human-pathogenic *Cladosporium* (*Xylohypha*) species inferred from partial LS rRNA sequences. *J Med Vet Mycol* 1995; 33: 327-338
 27. Spatafora JW, Mitchell TG, Vilgalys R. Analysis of gene coding for small-subunit rRNA sequences in studying phylogenetics of dematiaceous fungal pathogens. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1322-1326
 28. Uijthof JMJ, Belkum A, De Hoog GS, Hasse G. *Exophiala dermatitidis* and *Sarcinomyces phaeomuriformis*: ITS1-sequencing and nutritional physiology. *Med Mycol* 1998; 36: 143-151
 29. Kawasaki M, Ishizaki H, Nishimura K, Miyaji M. Mitochondrial DNA analysis of *Exophiala jeanselmei* and *Exophiala dermatitidis*. *Mycopathologia* 1990; 110: 107-112
 30. Yamagishi Y, Kawasaki K, Ishizaki H. Mitochondrial DNA analysis of *Phialophora verrucosa*. *Mycoses* 1997; 40: 329-334
 31. Kawasaki K, Aoki M, Ishizaki H, et al. Molecular epidemiology of *Fonsecaea pedrosoi* using mitochondrial DNA analysis. *Med Mycol* 1999; 37: 435-440
 32. Uijthof JMS, De Hoog GS, Cock AWAM, Takeo K, Nishimura K. Pathogenesis of strains of the black yeast *Exophiala* (*Wangiella*) *dermatitidis*: an evaluation based on polymerase chain reaction. *Mycoses* 1994; 37: 235-242
 33. Caligiorme RB, Resende MA, Paiva E, Azevedo V. Use of RAPD (random amplified polymorphic DNA) to analyse genetic diversity of dematiaceous fungal pathogens. *Can J Microbiol* 1999; 45: 408-412
 34. Peng M, Karuppaiyl SM, Mendoza L, Levins TA, Szaniszló PJ. Use of the polymerase chain reaction to identify coding sequences for chitin synthase isozymes in *Phialophora verrucosa*. *Curr Genet* 1995; 27: 517-523
 35. Karuppaiyl SM, Peng M, Mendoza L, Levins TA, Szaniszló PJ. Identification of the conserved coding sequences of three chitin synthase genes in *Fonsecaea pedrosoi*. *J Med Vet Mycol* 1996; 34: 117-125
 36. Wang Z, Szaniszló PJ. WdCHS3, a gene that encodes a class III chitin synthase in *Wangiella* (*Exophiala*) *dermatitidis*, is expressed differentially under stress conditions. *J Bacteriol* 2000; 182: 874-881
 37. 최종수, 황계영, 김기홍 등. Arbitrarily primed PCR을 이용한 피부사상균의 동정 및 분류. *대피연지* 1996; 3: 39-50
 38. 조해욱, 신동훈, 최종수. Random amplified polymorphic DNA를 이용한 *Candida* 속의 분류에서 최적화 조건의 검토와 그 이용. *대피지* 1997; 35: 71-81
 39. 이영선, 유재일, 최연화 등. RAPD PCR 분석에 의한 국내 피부 사상균속 분류 및 동정. *의진균지* 1998; 3: 107-114
 40. Williams JGK, Kubeik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res* 1990; 18: 6531-6535
 41. Aufavre-Brown A, Cohen J, Holden DW. Use of randomly amplified polymorphic DNA markers to distinguish isolates of *Aspergillus fumigatus*. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 2991-2993
 42. Lehmann PF, Lin D, Lasker BA. Genotypic identification of species and strains within the genus *Candida* by using random amplified polymorphic DNA. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 3249-3254
 43. Kersulyte D, Woods JP, Keath EJ, Goldman WE, Berg D. Diversity among clinical isolates of *Histoplasma capsulatum* detected by polymerase chain reaction with arbitrary primers. *J Bacteriol* 1992; 174: 7075-7079
 44. Spitzer ED, Spitzer SG. Use of dispersed repetitive DNA element to distinguish clinical isolates of *Cry-*

서무규 등: 흑색 진균에서 Random Amplified Polymorphic DNA를 이용한 유전자 다양성 분석

ptococcus neoformans. J Clin Microbiol 1992; 30: 1094-1097

45. Liu D, Coloe S, Baird PR. Use of arbitrarily primed polymerase chain reaction to differentiate *Trichophyton mentagrophytes*. FEMS Microbiol Lett 1996;

136: 147-150

46. 김정애, 문상은, 권태은 등. 진균학적 검사 및 random amplified polymorphic DNA analysis에 의한 피부사상균의 동정과 미동정 원인에 대한 분석. 대피지 2001; 39: 168-175