

口腔微生物의 Amylase 生産能에 관한 研究

서울대학교 齒科大學 口腔病理學敎室

鄭 泰 英 · 金 東 順

延世대학교 醫科大學 微生物學敎室

高 春 明

.....> Abstract <.....

STUDIES ON THE AMYLASE ACTIVITY OF THE ORAL MICROBIAL FLORA

Tai Young, Chung · Dong Soon, Kim

Department of Oral Pathology, College of Dentistry, Seoul National University

Choon Myung, Koh

Department of Microbiology, College of Medicine, Yonsei University

This report was concerned with the isolation and indentification of the oral microbial flora and the amylase activity of the isolated species. The amylase activity was determined by a modification of the method of Bernfeld for a assay of amylase with dinitrosalicylic acid reagent, performing the enzymatic digestions at 37°C instead 20°C.

The results were as follows ;

- 1) The microbial flora, isolated from the oral cavity, were identified as Nesseria sica, Neisseria catarrhalis, Diptheroid, Streptococcus salivarius, Streptococcus viridans, Staphylococcus albus, candida albicans, and Gram-positive bacillus.
- 2) Among the isolated species, the amylase of Streptococcus salivarius was exhibited the highest activity, while that of Neisseria catarrhalis was exhibited the lowest activity.

緒 論

炭水化物代謝에 重要한 役割을 하는 amylase 는 澱粉을 分解하는 酵素로서, 微生物에 있어서 糸狀菌, 好氣性 및 嫌氣性 細菌과 放射線菌 등이 生産하는 酵素에 관한 研究가 廣範圍하게 報告되어 있다.

특히 Meyer¹⁾와 Coleman과 Elliot²⁾는 Bacillus su-

btilis에서, Tilden³⁾은 Bacillus macerans에서 α-amylase를 分離結晶化시키었으며, 鄭⁴⁾은 Bacillus Natto에서 amylase와 protease 生産菌株를 分離報告한 바 있다.

또한 鄭⁵⁾은 土壤에서 分離한 amylase 生産菌에 관한 研究에서 Bacillus subtilis와 Bacillus mesentericus로 amylase 生産條件과 適應酵素를 實驗적으로

觀察報告한 바 있다.

著자들은 口腔에서 分離한 菌株을 Bergy's manual⁶⁾에 의하여 同定하고, 이를 starch를 加한 brain heart infusion broth에 培養한 후 이의 上澄液을 Bernfeld 氏法⁷⁾으로 amylase 力價를 測定한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1) 菌株分離方法: 口腔內的 唾液을 滅菌된 容器에 받아들여 nutrient agar plate에 接種하고 37°C에서 48時間 培養한 후에 各 菌株을 分離培養하기 위하여 選擇된 培地에 培養하여 菌學의 性質을 Bergy's manual⁶⁾에 의하여 同定하였다.

2) Amylase의 生産: 各 分離한 菌株을 starch 0.3%가 含有한 brain heart infusion broth, pH 7.0 5 ml에 接種하고 37°C에서 24時間 培養하여 이 培養液을 2,000 rpm으로 10分間 遠心分離하여 上澄液을 酵素液으로 使用하였다.

3) Amylase activity 測定方法: Bernfeld 氏法⁷⁾에 [依하여 1.0% starch 溶液 1 ml와 phosphate buffer pH 7.0, 2 ml에 酵素液 1.0 ml를 加하여 攪混合하여 37°C에서 3分間 incubation시킨 후 dinitrosalicylic acid 溶液 2.0 ml를 加하고 5分間 boiling water bath 上에서 加熱하여 酵素反應을 終止시킨다. 그후 running tap water로 冷却시킨 후 蒸流水 20 ml를 加하고 Spectronic 20, B. & L의 colormeter로 540 m μ 에서 波長을 읽는다.

標準溶液으로는 maltose 2 mg/0.2 ml를 使用하여 上記와 같은 方法으로 읽는다.

4) Amylase 力價: 1 unit는 酵素液 1.0 ml가 1分間에 遊離하는 maltose의 1 millimicro mole로서 表示하였다.

實驗成績

1) 口腔細菌의 分離: 口腔內的 唾液을 採取하여 nutrient agar plate에 接種하고 37°C에서 48時間 培養한 후에 各 菌株을 分離培養하기 위하여 選擇된 培地에 培養하여 菌學의 性質을 Bergy's manual⁶⁾에 의하여 同定한 結果는 Neisseria sica, Neisseria catarrhalis, Diphtheroid, Streptococcus salivarius, Streptococcus viridans, Staphylococcus albus, Candida albicans와 완전히 同定치 못한 Gram-positive bacillus 등 8種을 分離同定하였다.

2) Amylase 生産: starch 1.0%를 含有한 brain heart infusion broth 5 ml에 各 菌株을 接種하여

Table 1. Amylase activity of culture medium of isolated oral microbial flora.

Strain	Amylase activity*
Neisseria sica	320
Neisseria catarrhalis	300
Diphtheroid	400
Streptococcus salivarius	870
Streptococcus viridans	450
Staphylococcus albus	320
Gram-positive bacillus	500
Candida albicans	450

* One unit of Amylase activity was defined as a millimicromole of maltose liberated per minute.

37°C에서 24時間 靜置 培養한 다음 遠心沈澱시켜 上澄液을 酵素液으로 하여 amylase 力價를 測定한 結果는 Table 1와 같다.

分離된 菌株中에서 Streptococcus salivarius가 amylase 生産을 가장 많이 하여 870 unit를 나타내고 다음으로 Gram positive bacillus가 500 unit이고, Streptococcus viridans, Candida albicans, Diphtheroid, Staphylococcus albus, 와 Neisseria sica의 순서로 나타났으며, Neisseria catarrhalis가 가장 낮아 320 unit를 나타내었다.

考 察

口腔微生物이 이용할 수 있는 대부분의 炭水化合物은 飲食物의 精製된 糖類, 즉 sugar와 glucose, 또한 唾液에 依해 分解되어 生産되는 maltose이다. 唾液 amylase는 강력하고 급격히 作用하는 酵素이며 唾液의 溶媒作用과 淸淨作用으로 인하여 飲食物이 齒牙 사이에 미량 貯류되는 외에는 口腔微生物의 榮養源으로서 starch를 分解하여 利用할 수가 없게 된다.

그럼으로 口腔微生物은 唾液에 比하여 거의 amylase를 生産치 못하는 것 같다.

Chauncey⁸⁾는 唾內的 酵素를 研究하는데 있어 炭水化合物分解酵素劑로서 唾液腺에서 分泌하는 amylase를 觀察하였는데 口腔微生物에서는 그 力價가 아주 미약하여 唾液 amylase에 比하여 무시할 정도라 하였다. 그의 口腔微生物에서 Maltase, Invertase, β -glucuronidase, β -o-galactosidase, β -o-glucosidase, Hyaluronidase, mucinase 등을 分離하였다.

鄭⁵⁾이 分離한 土壤微生物 Bacillus subtilis와 比較하여 口腔에서 分離한 細菌들의 amylase 生産은 현저히 약하여, Bacillus subtilis에서 約 15,000 unit에 比하여 Streptococcus salivarius는 870 unit로서 比

較도 많될만큼 미약하다. 著者들이 分離한 口腔微生物에서 Amylase 力價는 Streptococcus 屬이 가장 높고 Neisseria 屬이 가장 낮은 値를 나타내고 있다.

結 論

著者들은 本研究에서 口腔微生物을 分離하여 同定하고 여기에 分離된 微生物의 amylase 生産能力을 測定한 結果는 다음과 같다.

1) 口腔에서 分離한 微生物은 Bergy's manual 에 依하여 同定한 結果는 8種의 菌株를 얻었다.

2) Amylase 力價는 Streptococcus salivarius 가 가장 강하고 Neisseria Catarhalis 가 가장 약하다.

參 考 文 獻

- 1) Meyer, K.H. : Angew. Chem., 63 : 153 1951.
- 2) Coleman, C. & Elliott, W.H. : Biochem. J., 83 : 256, 1962.
- 3) Tilden, E.B. & Hudson, C.S. : J. Bact., 43 : 527, 1942.
- 4) 鄭泰錫 : 科研彙報 第一卷 24, 1956.
- 5) 鄭泰英 : 現代醫學 7 : 819, 1967.
- 6) Bergy Manual of Det. Bact., 6th, Ed. 1956.
- 7) Bernfeld, P. : in sp. Colowick & N.O. Kalan ; Method in Enzymology vol 1 p. 149 Academic Press 1955.
- 8) Chauncy, H.H. : J. Am. Dent. Asso. 63 : 360, 1961.

齒 協 會 誌 寄 稿 案 內

既히 通報한 바 있습니다만은 本 大韓齒科 醫師協會誌는 每月 月刊으로서 發刊되며, 아래 要領에 依據 投稿해 주시면 感謝하겠습니다.

投 稿 要 領

- ① 原稿曆期日字 : 每月 10 日
- ② 보 낼 곳 : 本 協會誌 編輯室
(서울中區 苧洞 2 街 4 現代醫學社內 26—4785)
- ③ 掲載料 內容
表 英文不問 頁當 1,200원
圖 案 一枚 200원

銅 版 坪當 40원(普通 寫眞 1枚가 9坪임)
別 冊 部當 30원
印 刷 台當 2,000원

其他 特殊印刷 및 特殊組版을 要할 時は 그 實費를 寄稿者가 負擔함.

- ④ 掲載順序 및 月號는 學術委員會에서 決定함.
- ⑤ 寄稿時는 아래 事項을 明示바람.
(가) 別冊 所要 日字
(나) 別冊 部 數
(다) 組版 및 印刷上 特別히 注意를 要하는 事項.