

한국형 *Streptococcus mutans*의 분리 및 동정

현성희 · 장성렬 · 최영길

한양대학교 자연대 생물학과

Isolation and Identification of Korean type *Streptococcus mutans*

Hyun, Sung-Hee, Sung-Yeoul Chang and Yong-Keel Choi

Dept. of Biology, College of Natural Sciences, Hanyang Univ.

ABSTRACT : *S. mutans* known as a causative agent of dental caries was isolated from a carious lesion of Korean in the present study.

The physiological, biochemical characteristics and polysaccharide patterns of these isolates were compared with those of four laboratory strains ; AHT(a), FA-1F(b), LM7(e), and OMZ65(g).

One hundred strains of oral streptococci were isolated from dental caries sites of Korean (one male and one female). Among these, 3 strains were identified as *S. mutans*. These strains were able to grow on selective media MS, MST, MSP, MSPT, MSB, MSBT and were stained dark pink when sprayed with solutions of mannitol and TTC. So, these strains were called strain108, 110, and 120, respectively.

Strain108, 110, and 120 were bacitracin resistant. As these strains contained particularly hippurate hydrolysis enzyme, they were distinguished from laboratory strains. Apart from laboratory strains, the strain108 was not capable of fermenting lactose, the strain110 was not able to ferment sorbitol, inulin, melibiose, raffinose and the strain120 was incapable of fermenting inulin, raffinose.

All fractions of extracellular and cell bound polysaccharide of the strain108, 110, and 120 were consisted of more glucan than fructan.

Aside from laboratory strains, the isolated strains were composed of more water-insoluble glucans related adherence on solid surface than water-soluble.

According to these results, the strain108, 110, and 120 had native characteristics of *S. mutans*, but they were different from laboratory strains in some characteristics.

Therefore, each of them was given a name to *S. mutans* KHC108, KHC110, and KHC120, respectively.

KEY WORDS □ *S. mutans*, dental caries, insoluble glucan.

구강의 미생물감염에 의한 질병은 치아우식증(dental caries)과 치주질환(periodontal disease)이 대표적으로 알려져 있으며, 특히 구강내에 돌출되어 있는 crown부위에서 나타나는 치아우식증은 많은 연구자들에 의해 *S. mutans*가 주된 원인균임이 밝혀졌다(Gibbons *et al.*, 1974; Loesche *et al.*, 1975; Hardie *et al.*, 1977; Hamada and Slade, 1980; Loesche, 1986).

이러한 치아우식증은 *S. mutans*의 치아부착에 의해 시작되며 이를 부착균들은 치아표면에 군체를 형성(Gibbons and van Houte, 1973, 1975)하게 된다. 이때 형성된 군체는 타액의 작용에 의해 외

부환경과 차단된 상태에 이르게 되며 대사에 의한 산성산물에 의해 군체내의 산도는 더욱 높아지고 이를 산성산물에 의해 치아표면을 이루고 있는 법랑질이 탈회(Keyse, 1968; Tyler, 1972; Featherstone and Rodgers, 1981)되어 치아우식증이 시작된다고 알려져 있다.

또한 Coykendall(1976)은 *S. mutans*가 사람이 섭취하는 채소류와 곡류로부터 자당을 얻을 수 있다고 보고하였으며 Hamada와 Slade(1980)는 *S. mutans* 가 glucosyltransferase(GTase)나 fructosyltransferase(FTase)를 이용하여 자당으로부터 glucano이나 fructan같은 세포외분비 다당류를 합성한다고

보고하였다. 특히 *S. mutans*는 세포외분비 다당류 중 불용성 glucan을 주로 합성(Schachtele *et al.*, 1972; Chassy *et al.*, 1976)하여 이들의 고체표면 부착능력을 촉진시킨다고 알려져 있다.

따라서 본 연구에서는 채소류와 곡류를 주식으로 섭취하는 한국사람으로부터 *S. mutans*를 분리, 동정하여 유통률을 주식으로 섭취하는 서구 사람들로부터 분리, 동정된 기존의 실험실균주와의 생리 및 생화학적 특성과 다당류 구성당의 차이점을 조사하여 한국형 *S. mutans*의 특성을 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지

본 실험에서는 대조균주로 *S. mutans* AHT(serotype a), FA-1F(serotype b), LM7(serotype e) 및 OMZ65(serotype g)를 사용하였으며 이중 FA-1F는 Canada Montreal대학의 정영섭 교수로부터, 그 이외는 서울대학교 치과대학 최선진 교수로부터 분주받았고 한국형 균주는 본 실험실에서 직접 분리, 동정하여 사용하였다.

Oral streptococci 분리배지로는 Mitis Salivarius agar에 1% Chapman tellurite 용액을 첨가한 MS 고체배지를 사용하였고(Krasse, 1966; Jordan, 1968), *S. mutans* 선택배지로는 MS에 100units/ml polymyxin B sulfate(Sigma)를 첨가한 MSP고체배지(Fitzerald and Adams, 1975), MS에 bacitracin을 0.2units/ml되게 첨가하고 sucrose 농도를 20%로 증가시킨 MSB고체배지(Emilson *et al.*, 1974; Staat, 1976; Gold *et al.*, 1973) 및 상가배지에 Chapman tellurite 용액을 첨가하지 않은 MST, MSPT 및 MSBT 고체배지를 사용하였다.

실험에 사용한 균주들은 MS사면배지와 Todd Hewitt(TH)사면배지에 37°C에서 48시간 동안 혼기적 배양후 4°C에 보관하였으며 모든 혼기적 배양은 candle jar를 이용하였다.

*S. mutans*의 분리

멸균 치과용 솜을 사용하여 치아우식증이 진행되고 있는 성인 남녀 각 1명으로부터 치아우식부위와 주변부위에서 표본을 채취하여 멸균 생리식염수 10ml에 옮긴 다음 20초간 sonication하여 혼탁한 후 serial dilution하여 oral streptococci 분리배지인 MS와 MST고체배지에 도말하였으며 이를 48시간 혼기적 배양 후 다시 48시간 호기적으로 배양하였다. 배양된 plate중 50-100개의 균체가 형성된 plate에서 임의로 각 50균주씩을 선택하였고, *S.*

*mutans*를 분리하기 위하여 이들을 oral streptococci 분리용 배지인 MS와 MST고체배지 및 *S. mutans* 선택배지인 MSP, MSB, MSPT 그리고 MSBT고체배지에 평판복제하여 상기의 방법으로 배양하였다. 이들중 상기의 모든 배지에서 생장하고, MS 고체배지에서 생장한 oral streptococci균주에 10% mannitol+4% 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloried (TTC)용액을 분무하여 진한 분홍색을 나타내는 균주만을 *S. mutans*로 분리, 동정(Gold *et al.*, 1974)하였다.

분리한 *S. mutans*의 생리 및 생화학적 검사

분리된 균주들의 생화학적 특성 중 melibiose 발효반응은 Shklair와 Keene(1974)의 방법을 변형하여 사용하였고 그 이외의 생화학적 특성은 API 20 Strep(API International S. A.) kit를 이용하였다. 그리고 bacitracin에 대한 내성 검사는 Gold 등 (1973)의 방법에 따라 행하였으며 API 20 Strep의 검사 내용은 Table 1에 표시한 바와 같다.

세포외 분비 다당류와 세포부착 다당류의 분리

분리균주와 실험실균주의 세포외 분비 다당류와 세포부착 다당류는 Hamada등(1975)의 방법에 따라 다음과 같이 분리하였다. 2% sucrose를 첨가한 TH 액체배지 200ml에 37°C에서 48시간동안 혼체배양한 배양액을 10,000x g로 30분간 원심분리

Table 1. Test contents of API 20 Strep.

Test name	Abbreviation
Voges-Proskauer	VP
Hippurate	HIP
Aesculin	ESC
Pyrrolidone arylamidase	PYRA
α -Galactosidase	α GAL
β -Glucuronidase	β GUR
β -Galactosidase	β GAL
Alkaline phosphatase	PAL
Leucine arylamidase	LAP
Arginine	ADH
Ribose	RIB
Arabinose	ARA
Mannitol	MAN
Sorbitol	SOR
Lactose	LAC
Trehalose	TRE
Inulin	INU
Raffinose	RAF
Starch	AMD
Glycogen	GLYG

하여 상등액은 세포외 분비 다당류 분리에, 침전물은 세포부착 다당류 분리에 사용하였다(Fig 1).

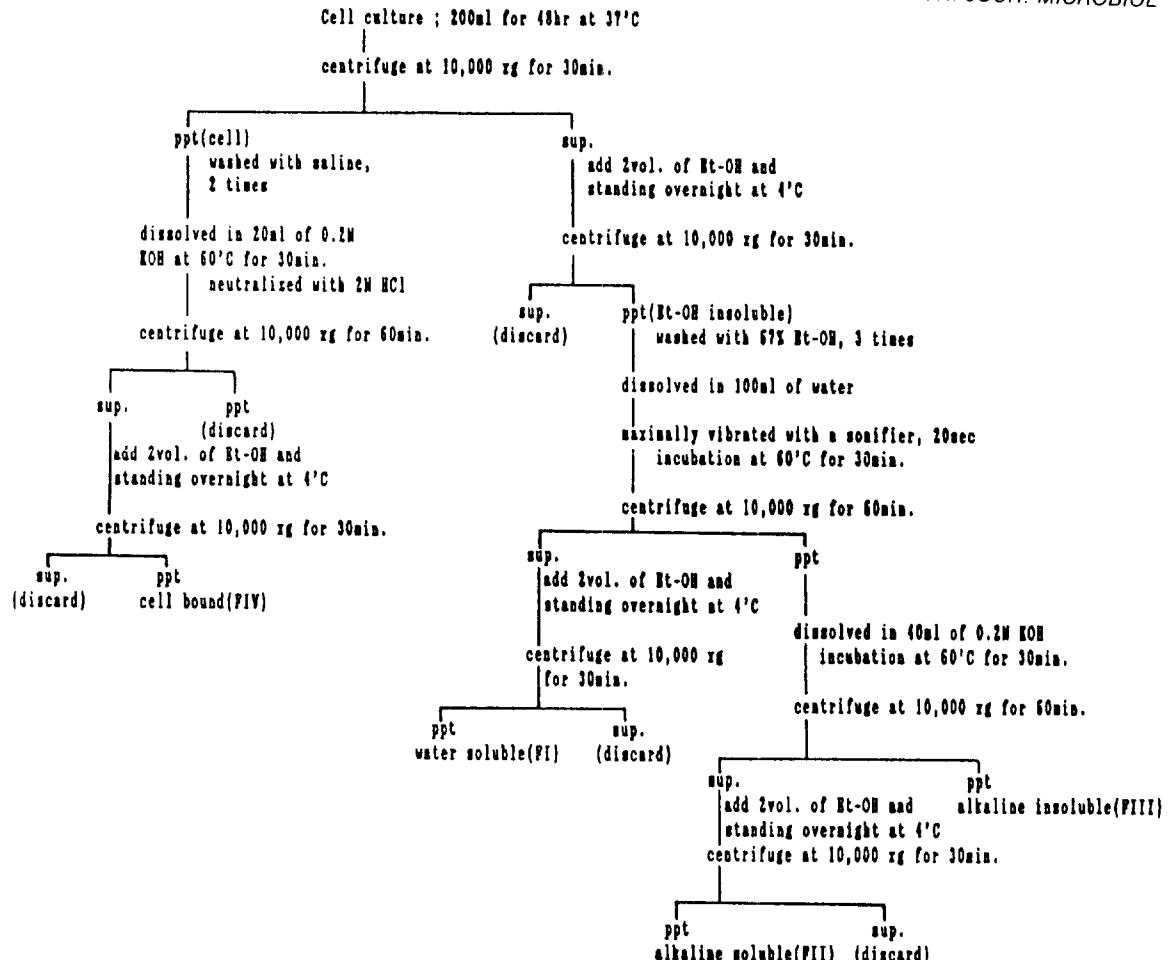


Fig. 1. Flow chart for fractionation of *S. mutans* polysaccharides.

Thin layer chromatography(TLC)를 통한 다당류 구성당의 분석

분리한 다당류의 구성당을 확인하기 위하여 Hamada 등(1975)의 방법을 변형하여 다음과 같은 방법을 사용하였다.

분리한 다당류의 각 분획을 50°C에서 공기 건조 시킨 후 2N HCl을 적당량(0.5ml-1.0ml)가하여 100°C에서 5시간 가수분해시켜 TLC로 확인하였다. 이 때 Plate는 silica gel plate(Sigma T-6270, 20×20cm)를 사용하였으며, 전개용매로는 Ethylacetate : Isopropanol : Pyridine : Water=22 : 14 : 0.3 : 3(V/V/V/V)을 사용하였고, 전개가 끝난 plate는 실온에서 건조시킨 후 1.23% Anisidine-1.66% phthalic acid 용액을 분무하고, 100°C에서 10분간 반응시켰다. 반응이 끝난 TLC plate는 High Speed TLC Scanner

를 사용하여 395nm에서 scan하였으며, 이들에 대한 분석은 균질한 무게를 갖는 종이에 그려진 scanning profile를 잘라내어 그 무게를 peak의 크기로 환산하는 cut and weigh method(Baumann, 1971)를 사용하였다.

결과 및 고찰

*S. mutans*의 분리 및 동정

치아우식증이 진행중인 남녀로부터 얻은 각 50 군주의 oral streptococci에서 *S. mutans*를 분리하기 위하여 분리배지인 MS, MST와 선택배지인 MSP, MSPT, MSB 및 MSBT 고체배지에서 상기의 각 50군주를 생장시킨 결과 남자에서는 Table 2에서 보는바와 같이 군주 5, 8, 28, 31, 32, 33의

6균주와 여자에서는 Table 3에서와 같이 균주 3, 7, 10, 13, 20, 27, 33, 36, 37의 9균주가 모든 배지에서 생장하였다.

*S. mutans*가 mannitol dehydrogenase를 갖고 있어 MS 고체배지상에서 10% mannitol+4% TTC 용액을 분무하면 진한 분홍색을 나타내는 특징(Gold et al., 1974)을 이용하여 MS배지상에 자란 oral streptococci 각 50균주에 mannitol-TTC 용액을 반응시킨 결과 Table 2의 균주8과 Table 3의 균주 10, 20이 진한 분홍색으로 나타났다. 따라서 모든 배지에서 생장하고 TTC용액에 진한 분홍색을 나타낸 이들 3균주를 *S. mutans*로 분리, 동정하였고 이들에게 각각 108(8), 110, 120(10, 20)이라는 번호를 부여하였다.

생리 및 생화학적 특성

본 실험에서 분리한 균주 108, 110, 120의 생리 및 생화학적 특성을 조사한 결과는 Table 4에, 분리균주와 실험실 균주간의 특성 비교는 Table 5에 나타난 바와 같다.

Table 4에서 보는바와 같이 균주108은 균주110, 120과는 달리 INU, RAF 발효능력을 갖고 있었으나 ESC 가수분해 효소는 갖고 있지 않은 것으로 나타났고, 균주 108과 110은 α GAL을 갖고 있는 반면 균주120은 이 효소를 갖고 있지 않았다. 또한 균주108과 120은 균주110에는 없는 SOR 발효능력을 보여주었고, LAC 발효능력은 균주120만이 가지고 있었다. 이상의 결과에서 나타난 바와 같이 균주108, 110, 120은 각각 서로 다른 생화학적 특성을 나타내어 이들 3균주는 서로 상이한 균주들로 판단되었다.

또한 이들 3균주와 기존의 실험실균주간의 차이점은 Table 5에서 보는 바와 같이 분리균주 모두 HIP 분해능력을 갖는 점에서 대조균주로 선택한 실험실 균주들과 상이한 결과를 나타내는 특징을 보였으며, 균주108은 ESC 가수분해와 LAC 발효에서, 균주110은 SOR, LAC, INU, RAF 그리고 MEL 발효에서, 균주120은 INU와 RAF 발효에서 반응하지 못하여 실험실균주들과는 각기 다른 생

Table 2. Growth profile of *streptococcus* strains isolated from dental caries site of male patient

Strain No.	MS	MST	MSP	MSPT	MSB	MSBT	TTC	Strain No.	MS	MST	MSP	MSPT	MSB	MSBT	TTC
1	+	+	+	+	-	-	-	26	+	+	-	-	-	-	-
2	+	+	-	+	-	-	-	27	+	+	+	+	-	+	-
3	+	+	+	+	-	-	-	28	+	+	+	+	+	+	-
4	+	+	+	+	-	-	-	29	+	+	-	-	-	-	-
5	+	+	+	+	+	+	-	30	+	+	-	-	-	-	-
6	+	+	+	+	-	-	-	31	+	+	+	+	+	+	-
7	+	+	+	+	-	-	-	32	+	+	+	+	+	+	-
8*	+	+	+	+	+	+	+	33	+	+	-	+	+	+	-
9	+	+	+	+	-	-	-	34	+	+	-	-	-	-	-
10	+	+	+	+	-	-	-	35	+	+	+	+	-	-	-
11	+	+	+	+	-	-	-	36	+	+	+	+	-	-	-
12	-	-	+	+	-	-	-	37	+	+	+	-	-	-	-
13	+	+	+	+	-	-	-	38	+	+	+	-	-	-	-
14	+	+	+	+	-	-	-	39	+	+	+	+	-	-	-
15	+	+	-	-	-	-	-	40	+	+	-	-	-	-	-
16	+	+	-	-	-	-	-	41	+	+	+	+	-	-	-
17	+	+	+	+	-	-	-	42	+	+	+	+	-	-	-
18	+	+	+	+	-	-	-	43	+	+	+	+	-	-	-
19	+	+	-	-	-	-	-	44	+	+	-	-	-	-	-
20	+	+	+	+	-	-	-	35	+	+	-	-	-	-	-
21	+	+	+	+	-	-	-	46	+	+	+	-	-	-	-
22	+	+	+	+	-	-	-	47	+	+	+	+	-	-	-
23	+	+	+	+	-	-	-	48	-	-	-	-	-	-	-
24	+	+	+	+	-	-	-	49	-	-	-	-	-	-	-
25	+	+	+	+	-	-	-	50	-	-	-	-	-	-	-

TTC ; 10% mannitol+4% TTC

+ ; Growth, - ; No Growth

* ; isolated *S. mutans* strain

MS ; Mitis salivarius agar

MSB ; MS plus bacitracin and sucrose

MST ; MS minus tellurite solution

MSPT ; MSP minus tellurite solution

MSBT ; MSB minus tellurite solution

Table 3. Growth profile of streptococcus strains isolated from dental caries site of female patient

Strain No.	MS	MST	MSP	MSPT	MSB	MSBT	TTC	Strain No.	MS	MST	MSP	MSPT	MSB	MSBT	TTC
1	+	+	+	+	-	-	-	26	+	+	-	-	-	-	-
2	+	+	-	-	-	-	-	27	+	+	+	+	+	+	-
3	+	+	+	+	+	+	-	28	+	+	-	-	-	-	-
4	+	+	+	+	-	-	-	29	+	+	+	+	-	-	-
5	+	+	+	+	-	-	-	30	+	+	+	+	-	-	-
6	+	+	-	-	-	-	-	31	+	+	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	+	+	-	32	-	+	-	-	-	-	-
8	+	+	-	-	-	-	-	33	+	+	+	+	+	+	-
9	+	+	+	+	-	-	-	34	+	+	+	+	-	-	-
10*	+	+	+	+	+	+	+	35	+	+	+	+	-	-	-
11	+	+	-	-	-	-	-	36	+	+	+	+	+	+	-
12	+	+	-	-	-	-	-	37	+	+	+	+	+	+	-
13	+	+	+	+	-	+	-	38	+	+	-	-	-	-	-
14	+	+	+	+	-	-	-	39	+	+	-	-	-	-	-
15	+	+	+	+	-	-	-	40	+	+	-	-	-	-	-
16	+	+	-	-	-	-	-	41	+	+	-	-	-	-	-
17	+	+	+	+	-	-	-	42	+	+	+	+	-	-	-
18	+	+	+	+	-	-	-	43	+	+	+	+	-	-	-
19	+	+	+	+	-	-	-	44	+	+	-	-	-	-	-
20*	+	+	+	+	+	+	+	35	+	+	-	-	-	-	-
21	+	+	-	-	-	-	-	46	+	+	+	+	-	-	-
22	+	+	-	-	-	-	-	47	+	+	+	+	-	-	-
23	-	+	+	+	-	-	-	48	+	+	-	-	-	-	-
24	+	+	+	+	-	-	-	49	+	+	-	+	-	-	-
25	+	+	+	+	-	-	-	50	+	+	-	-	-	-	-

TTC ; 10% mannitol+4% TTC

+ ; Growth, - ; No Growth

* ; isolated *S. mutans* strain

Abbreviations are the same as the previous Table

Table 4. Biochemical characteristics of 3 *S. mutans* isolates from dental caries sites of Korean Patient

Strain No.	VP	HIP	ESC	ADH	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMDPYRA	α GAL	β GUR	β GAL	PAL	LAP	RIB	ARA	GLYG	Reis
108	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	
110	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	
120	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	

* Resi. ; Resistant to bacitracin (0.2units/ml)

* + ; positive, - ; negative

* Abbreviations are the same as Table 1.

리 및 생화학적 특성을 나타내었다.

세포외 분비 다당류와 세포부착 다당류의 분석

*S. mutans*는 자당으로부터 glucan이나 fructan과 같은 다당류를 합성하며 glucan이나 fructan에 비해 많이 합성되는 것으로 알려졌고(Schachtele *et al.*, 1972 ; Chassy *et al.*, 1976), Trautner 등(1981)은 세포외 분비 다당류들이 대부분 glucan으로 이루어

져 있다고 보고하였으며 *S. mutans*의 고체표면 부착에 기여하는 것의 하나로 판단되는 탄수화물은, 세포외 분비 다당류중에서 특히 불용성 glucan이 관심의 초점이 되고 있다.

이러한 보고들을 토대로 하여 실험실균주들과는 생화학적 특성이 다른 분리균주들이 다당류분획에 있어서 어떤 특이성을 나타낼 것인지를 알아

Table 5. Comparison of characteristics between 4 strains of *S. mutans* group and 3 isolates from dental caries sites of Korean patient

	108	110	120	LM7	FA-1F	AHT	OMZ65
VP	+	+	+	+	+	+	+
HIP	+	+	+	-	-	-	-
ESC	-	+	+	+	+	d	d
ADH	-	-	-	-	+	-	-
MAN	+	+	+	+	+	+	+
SOR	+	-	+	+	+	+	d
LAC	-	-	+	+	+	+	+
TRE	+	+	+	+	+	+	d
INU	+	-	-	+	+	d	d
RAF	+	-	-	+	+	+	d
AMD	-	-	-	d	d	d	d
*MEL	+	-	+	+	+	d	d
Resi	+	+	+	+	+	-	+
Source	human	human	human	human	rat	human	human

~ ; Collected data from Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

*MEL ; Melibiose

d ; 11-89% of strains are positive

NT ; not tested

Resi ; Resistant to bacitracin(0.2units/ml)

Abbreviations are the same as Table 1.

Table 6. Determination of glucose and fructose moiety of extracellular water soluble polysaccharide(FI) obtained from laboratory strains and Korean types of *S. mutans*

<i>S.mutans</i>	Glucose Weight(g)	%	Fructose Weight(g)	%	Total polysaccharide Weight(g)	%
AHT	0.0792	55.70	0.0026	1.83	0.1422	100
FA-1F	0.0714	63.92	0.0036	3.22	0.1117	100
LM7	0.1776	76.95	0.0035	1.52	0.2308	100
OMZ65	0.1840	56.27	0.0071	2.17	0.3270	100
108	0.1260	67.74	0.0045	2.42	0.1860	100
110	0.1670	75.33	0.0047	2.12	0.2217	100
120	0.0769	47.41	0.0033	2.03	0.1622	100

Table 7. Determination of glucose and fructose moiety of extracellular alkaline soluble polysaccharide(F II) obtained from laboratory strains and Korean types of *S. mutans*

<i>S.mutans</i>	Glucose Weight(g)	%	Fructose Weight(g)	%	Total polysaccharide Weight(g)	%
AHT	0.0211	33.23	0.0013	2.05	0.0635	100
FA-1F	0.0199	53.78	0.0038	10.27	0.0370	100
LM7	0.2399	64.49	0.0098	2.63	0.3720	100
OMZ65	0.1435	72.44	0.0046	2.32	0.1981	100
108	0.0632	86.58	0.0020	2.74	0.0730	100
110	0.2046	72.25	0.0022	0.78	0.2832	100
120	0.1772	51.07	0.0068	1.96	0.3470	100

보기 위해 분리균주들과 실험실균주들이 합성하는 다당류의 구성당을 비교한 결과는 다음과 같다.

Table 6에서 보는 바와같이 세포의 분비 수용성 다당류분획(F I)에서 분리균주들은 약 47-75%를,

실험실균주들은 약 56-77%의 glucose moiety를 보여 이들은 거의 유사한 glucose moiety를 갖는 것으로 나타났다.

세포의 분비 alkaline 수용성 다당류분획(F II)

에서는 분리균주들이 약 51-87%로 실험실균주들의 약 23-72%에 비해 비교적 높은 glucose moiety를 나타냈다. 특히 분리균주 108과 110의 glucose moiety는 실험실균주들에 비해 비교적 높게 나타났으며 120균주는 유사한 수준을 보였다(Table 7).

세포의 분비 alkaline 불용성 다당류분획(F III)

에 있어서도 분리균주들이 약 53-80%로 실험실균주들의 약 33-75%에 비해 높은 glucose moiety를 나타냈으며 분리균주 108과 110이 실험실균주들에 비해 역시 높은 glucose moiety를 나타내었고 120균주는 유사한 수준을 보였다(Table 8).

세포부착 다당류분획(F IV)에서도 분리균주들

Table 8. Determination of glucose and fructose moiety of extracellular alkaline insoluble polysaccharide (F III) obtained from laboratory strains and Korean types of *S. mutans*

<i>S. mutans</i>	Glucose		Fructose		Total polysaccharide	
	Weight(g)	%	Weight(g)	%	Weight(g)	%
AHT	0.0080	47.06	0.0007	4.12	0.0170	100
FA-1F	0.0071	33.33	0.0034	15.96	0.0213	100
LM7	0.1254	65.45	0.0068	3.55	0.1916	100
OMZ65	0.0870	74.61	0.0025	2.14	0.1166	100
108	0.0435	80.26	0.0020	3.69	0.0542	100
110	0.0261	73.31	0.0020	5.62	0.0356	100
120	0.1351	53.48	0.0061	2.41	0.2526	100

과 실험실균주들간의 glucose moiety는 다르게 나타났으며 분리균주 108과 110이 OMZ65를 제외한 실험실균주들에 비해 비교적 높게 나타났고 120균주는 비교적 유사한 수준을 보였다(Table 9).

또한 상기의 각 분획들에서 모든 균주의 glucose moiety가 fructose moiety에 비해 약 2-92배 높게 나타나 Schachtele 등(1972)과 Chassy 등(1976) 및 Trautner 등(1981)의 보고와 일치하였으며 이로써 본 연구에서 분리, 동정한 균주들이 *S. mutans*임을 다시 한번 확인 할 수 있었다.

상기의 결과에서 나타난 바와 같이 다당류의 각 분획에서 분리균주들과 실험실균주들의 glucose moiety는 다른 양상을 보였으며 이들중 분리균주 108과 110이 실험실균주들에 비해 비교적 높은 glucose moiety를 보였는데 이는 *S. mutans*가 사람이 섭취하는 채소류와 곡류로부터 자당을 얻는다는 Cokyendall(1976)의 보고로 미루어 육류를 많이 섭취하는 서구인으로부터 분리한 실험실균주들에 비해 곡류와 채소류등 많은 탄수화물을 섭취하는 한국인의 식생에 기인하는 것으로 판단되었다. 또

Table 9. Determination of glucose and fructose moiety of cell bound polysaccharide(F IV) obtained from laboratory strains and Korean types of *S. mutans*

<i>S. mutans</i>	Glucose		Fructose		Total polysaccharide	
	Weight(g)	%	Weight(g)	%	Weight(g)	%
AHT	0.0264	44.00	0.0020	3.33	0.0600	100
FA-1F	0.0144	27.32	0.0050	9.49	0.0527	100
LM7	0.0458	42.60	0.0018	1.67	0.1075	100
OMZ65	0.1768	71.99	0.0065	2.65	0.2456	100
108	0.0818	68.91	0.0043	3.62	0.1187	100
110	0.0734	63.88	0.0030	2.61	0.1149	100
120	0.1025	48.05	0.0041	1.92	0.2133	100

한 분리균주 120이 실험실균주들과 유사한 glucose moiety를 나타낸 것은 생화학적 조사결과 실험실균주들과 유사한 특성을 보였던 것과 일치하는 결과로 판단되었다.

이상의 여러 결과에서 나타난 바와 같이 본 실

험실에서 분리, 동정한 108, 110, 120균주는 기존의 실험실균주들과는 다른 생리, 생화학적 특성 및 다당류양상을 보여 이들을 새로운 학국형 *S. mutans* strain들로 판단하였으며 따라서 이들을 각각 *S. mutans* KHC108, KHC110, KHC120이라고

명명하였다.

차후에 한국형균주들의 DNA base ratio, 혈청 형 항원등에 관한 연구를 수행하여 이들의 분류학적 위치를 확립하여야 하며 한국인의 구강내에서

치아우식증을 유발하는 *S. mutans*의 부착에 관한 연구는 한국인으로부터 분리한 균주를 대상으로 연구되어야 할 것으로 사료된다.

적  요

한국 사람으로부터 치아우식증의 원인균으로 알려진 *S. mutans*를 분리, 동정하였고 이들과 기존의 실험실균주간의 생리 및 생화학적 특성과 이들이 합성하는 다당류의 구성당을 비교하였다.

분리배지인 MS, MST와 선택배지인 MSP, MSPT, MSB 그리고 MSBT에서 모두 생장하고, mannitol dehydrogenase 를 분비하는 균주108, 110 및 120이 *S. mutans*로 분리, 동정되었다.

분리균주와 기존의 실험실균주간의 생리 및 생화학적 특성을 비교한 결과, 본 연구에서 분리한 3균주 모두 기존의 실험실균주와는 달리 hippurate 가수분해효소를 가지고 있었다. 또한 균주108은 lactose 발효 능력이, 균주110은 sorbitol, lactose, inulin, melibiose, raffinose 발효능력이, 균주120은 inulin, raffinose 발효능력이 없는 것으로 나타나 기존의 실험실균주와는 물론 이들 각각도 다른 생리 및 생화학적 특성을 나타내었다.

상기의 결과와 같이 분리균주108, 110 그리고 120은 생리, 생화학적 특성 및 자당으로부터 합성되는 glucan의 양에 있어서도 기존의 실험실균주와 다르게 나타나 이들을 각각 한국형 *S. mutans* KHC108, KHC110, KHC120이라 명명하였다.

REFERENCES

1. Baumann, F., 1971. Cut and weigh method. In : Basic Liquid Chromatography (Hadden, N., F. Baumann, F. MacDonald, M. Munk, R. Stevenson, D. Gere, F. Zamaroni, and R. Majors, eds.), *Varian Aerograph*, USA, pp. 8-7.
2. Chassy, B.M., J.R. Beall, R.M. Bielawisk, E.V. Porter, and J.A. Donkersloot, 1976. Occurrence and distribution of sucrose-metabolizing enzymes in oral streptococci. *Infec. Immun.*, **14** : 408-415.
3. Coykendal, A.L., 1976. On the evolution of *S. mutans* and dental caries. In : *Microbial Aspects of Dental Caries* (Stiles, H.M., W.J. Loesche, and T.C. O'Brien, eds.), Washington, D.C., Vol. 3 : 703-712.
4. Emilson, C.G., B. Kohler, and D. Bratthall, 1974. Immunofluorescent determination of the relative proportions of *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.*, **19** : 1079-1081.
5. Featherstone, J.D.B. and B.E. Rodgers, 1981. Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial caries lesions. *Caries Res.*, **15** : 377-385.
6. Fitzgerald, R.J. and B.O. Adams, 1975. Increased selectivity of mitis-salivarius agar containing polymyxin. *J. Clin. Microbiol.*, **1** : 239-240.
7. Gibbons, R.J. and J. van Houte, 1973. On the formation of dental plaque. *J. Periodont.*, **44** : 347-360.
8. Gibbons, R.J. and J. van Houte, 1975. Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Annu. Rev. Microbiol.*, **29** : 19-44.
9. Gibbons, R.J., R.P. de Paola, D.M. Spinell, and Z. Skobe, 1974. Interdental localization of *Streptococcus mutans* as related to dental caries experience. *Infec. Immun.*, **9** : 481-488.
10. Gold, O.G., H.V. Jordan and J. van Houte, 1973. A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.*, **18** : 1357-1364.
11. Gold, O.G., H.V. Jordan, and J. van Houte, 1974. Identification of *Streptococcus mutans* colonies by mannitol-dependent tetrazolium reduction. *Arch. Oral Biol.*, **19** : 271-272.
12. Hamada, S. and H.D. Slade, 1980. Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbial. Rev.*, **44** : 331-384.
13. Hamada, S., J. Mizuno, Y. Murayama, T. Ooshima, N. Masuda, and S. Sobue, 1975. Effect of dextranase on the extracellular polysaccharide synthesis of *Streptococcus mutans* : Chemical and scanning electron microscopy studies. *Infec. Immun.*, **12** : 1415-1425.
14. Hardie, J.M., P.L. Thomson, R.J. South, P.D. Marsh, G.H. Bowden, A.S. McKee, E.D. Fillery, and G.L. Slack, 1977. A longitudinal epidemiological study on dental plaque and the development of dental caries-interim results after two years. *J. Dent. Res.*, **56** : 90C-98C.
15. Jordan, H. V., B. Krasse, and A. Miller, 1968. A method of sampling human dental plaque for certain "caries-inducing" Streptococci. *Arch. Oral Biol.*, **13** : 919-927.
16. Keyes, P.H., 1968. Research in dental caries. *J. Am. Dent. Assoc.*, **76** : 1356-1373.
17. Krasse, B., H.V. Jordan, S. Edwardsson, I. Svensson, and L. Trell, 1968. The occurrence of certain "caries-inducing" streptococci in human dental plaque material. *Arch. Oral Biol.*, **14** : 911-918.
18. Loesche, W.J., 1986. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbial. Rev.*, **50** : 353-380.
19. Loesche, W.J., J. Rowan, L.H. Straffon, and P.J. Loos, 1975. Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. *Infec. Immun.*, **11** : 1252-1260.
20. Schachtele, C.F., A.E. Loken, and M.K. Schmitt, 1972.

- Use of specifically labeled sucrose for comparison of extracellular glucan and fructan metabolism by oral streptococci. *Infect. Immun.*, **5**: 263-266.
21. Shklair, I.L. and H.J. Keene, 1974. A biochemical scheme for the separation of the five varieties of *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.*, **19**: 1079-1081.
22. Staat, R.H., 1976. Inhibition of *Streptococcus mutans* strains by different mitis salivarius agar preparations. *J. Clin. Microbiol.*, **3**: 378-380.
23. Trautner, K., B. Felgenhauer, and H. Rieder, 1981. Extracellular polysaccharide synthesized by the oral bacterium *Streptococcus mutans* of serotype a to e in vitro. *Archs. Oral Biol.*, **26**: 1005-1013.
24. Tyler, J.E., 1972. Quantitative determination of organic residues in carious human enamel. *Caries Res.*, **6**: 275.
25. van Houte, J., 1980. Bacterial specificity in the etiology of dental caries. *Int. Dent. J.*, **30**: 305-326.

(Received Jul. 25. 1989)