

우리가 기대하는 항균효과를 가질 수 있으리라 생각된다.

최근의 연구결과 인산사포닌 중 잎과 뿌리의 껍질부분에서 얻은 추출물간에 각기 다른 효과를 가진다는 보고가 있는바 이에 대한 구명이 필요하다. 또한 많은 생약제제가 전통 한방에서 항균제로 쓰이고 있는바 이에 대한 연구가 더 필요하다고 보면 새로운 항균제제로서 생약제제가 발견되면 기존의 chlorhexidine과 혼합하여 사용하던지 혹은 몇가지 생약제제를 혼합사용하면서 방출%조절성 방법을 이용한 치주낭내 치주병인균의 제거에 크게 이용될 수 있다고 생각된다¹⁸⁾.

● 치은제거술과 치은연하 소파술의 임상적 비교 연구

채중규 · 김종관 · 조규성 · 최성호
연세대학교 치과대학 치주과학교실

치석제거술과 치은연하 소파술후 3개월간의 치료에 대한 효과를 비교하기 위해 38명의 치주염으로 진단된 환자에서 초진시 치주낭 깊이, 부착상실, 치태지수를 측정한 뒤 치석제거술과 치은연하 소파술을 시행하였다. 초진 측정된 치주낭 깊이에 따라 치주낭 깊이가 1-3mm인 초기 치주염(I군), 치주낭 깊이가 4-6mm인 중등도 치주염(II군)으로 나누어 각군마다 치석제거술 4주후, 1개월, 3개월에 치주낭 깊이, 부착상실을 측정 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. I군에서 치주낭 깊이는 치석제거술에거 감소하였으나 유의성 있는 차이는 없었으며, 치은연하소파술에서 전치, 소구치, 구치에서 치석제거술 후, 1개월 3개월에 유의성 있는 감소를 보였다($P<0.01$).
2. I군에서 부착상실은 치석제거술에서는 유의성있는 차이가 없었으나 치은연하소파술에서 전치, 소구치, 구치에서 1개월, 3개월에 유의성 있는 차이를 보였다($P<0.01$).
3. I군에서 치주낭 깊이는 치석제거술에서 감소하였으며 전치에서만 유의성 있는 차이가 있었고 치은연하소파술에서는 전치, 소구치, 구치에서 치석제거술후, 1개월, 3개월에 유의성 있는 차이가 있었다($P<0.01$).
4. I군에서 부착상실은 치석제거술에서 유의성 있는 차이가 없었으나 치은연하소파술에서 전치, 소구치, 구치에서 치석제거술후, 1개월, 3개월에 유의성 있는 감소를 보였다($P<0.01$).
5. 전치, 소구치, 구치의 치아부위에 따른 치주낭 깊이와 부착상실은 유의성 있는 차이가 없었다.

● P. Gingivalis ATCC 53977의 sod유전자 절편을 이용한 P. gingivalis 381과 W50의 세균 유전자의 Southern blot hybridization

최점일 · 김성조 · Howard Kuramitsu
부산대학교 치과대학 치주과학교실

치주질환의 주요한 원인균으로 제시되는 P. gingivalis의 superoxide dismutase(sod) gene에 대한 nucleotide sequence와 E. coli에서의 발현이 보고되었다¹⁾. 이 sod enzyme은 혐기성 세균이 P. gingivalis가 산소에 어느 정도 저항할 수 있는 능력을 부여해 주는 것으로 알려져 있다. 본 연구의 목적은

분리된 sod gene 절편을 이용하여 혈청형이 서로 다른 세 가지의 P. gingivalis strain의 sod gene에 대한 균주 chromosomal DNA 상호간의 Southern hybridization을 시도해 보고저 함이다.

● P. gingivalis ATCC 53977의 sod gene으로 변형된 변이 E. coli에서의 superoxide dismutase 활성도

최점일 · Howard Kuramitsu

부산대학교 치과대학 치주과학교실

Sod gene의 직전 upstream의 nucleotide sequence는 E. coli의 ribosome-binding site consensus sequence와는 강한 유사성을 보이지 않았다. 그러나 101번 위치의 sequence인 AGA는 Bacteroides fragilis의 16S rRNA의 3' terminus와 유사하였고, -10번과 -35번 부위(76번과 53번 위치)는 E. coli의 consensus promoter sequence와 유사하였다. 그러나, transcription이 시작되는 부위가 결정되어 치후에 이 gene의 promoter 부위가 밝혀져야 할 것이다. sod gene의 downstream 부위에 강한 transcription 종료 부위를 시사할만한 어떤 sequence도 볼 수 없었다. sod gene G+C 비율은 48%로서 이미 밝혀진 P. gingivalis의 G+C 비율인 46-48% 범위내였다.

HindIII-PstI 절편을 plasmid인 pUC18에 subcloning한 경우에는 sod activity를 볼 수 없었으므로 미루어 보아(표1), pUC19에서의 sod transcription은 P. gingivalis DNA insert에 있을 가능성이 있는 promoter sequence에도 불구하고, lacZ promoter에 기시한다고 추정된다. 또한 sod 유도에 대한 중등도의 IPTG(isopropyl-beta-D-thiogalactopyranoside) 영향은 효율적인 translation이 sod gene의 E. coli에서의 발현을 제한하고 있다는 점을 시사하였다. 다른 연구에서도 P. gingivalis gene의 E. coli에서의 발현이 어렵다는 것을 보여주고 있다. 그러나, plasmid pS1내에서 sod gene의 transcription이 lambda Lvector promoter에서 유래하는지 또한 P. gingivalis insert에서 유래하는지 아직 알 수 없다.

E. coli HB101 strain에서 pS1에 의한 sod 활성 발현이 QC779 strain보다 높았다는 점은 host strain 요소도 sod gene 발현에 중요한 한 요소임을 말해주고 있다. 더군다나, E. coli QC779 strain의 경우 pS1보다 pCC19에서 sod 활성이 컸다는 점은 HindIII site에 의해 잘려나가는 부위는 sod 발현에 필수적이지는 않다는 점을 시사한다. 오히려 sod gene upstream 부위에 sod repressor gene이 있을 가능성이 있다. 이 점은 더 많은 연구를 필요로 한다.

P. gingivalis 381로부터 정제한 SOD는 Mn^{++} 나 또는 Fe^{++} 에 의해 증가되는 단일 효소임이 밝혀졌다.

이러한 점에서 본 연구의 결과는 0.2mM의 Fe^{++} 나 0.12mM의 Mn^{++} 에 의해 SOD효소의 활성이 각각 89.6%, 412.6% 증가되었음을 입증하고 있다. 향후 이 연구는 gene을 이용하여 산소내성이나, neutrophil의 세균 파괴에의 저항/민감도를 연구하려고 한다.

and there was statistically significant decrease after subgingival curettage.

5. There was not statistically significant difference in pocket depth and loss of attachment related to tooth type (anterior, bicuspids, molars).

Southern hybridization of bacterial DNA of porphyromonas gingivalis 381 and W50 with a sod gene fragment from porphyromonas gingivalis ATCC 53977

Jeom Il Choi, Sung Jo Kim, Howard Kuramitsu

Dept. of Periodontology, College of Dentistry, Pusan Nat'l University

Dept. of Pediatric Dentistry, University of Texas Health Science Center, USA

Southern hybridization of bacterial DNA of *P. gingivalis* 381 and W50 was done with a 0.45-kb Bgl II Ecor I fragment of *P. gingivalis* ATCC 53977. The 0.45-kb fragment was prepared from either sod gene or recombinant DNA subcloned into plasmid pUC19. Bacterial DNA of *P. gingivalis* 381 and W50 was prepared and digested with Pst. I. 1.0% agarose gel electrophoresis was done and the DNA was transferred into nitrocellulose membrane. The 0.45-kb DNA fragment was used as a DNA probe for southern hybridization. Random primer labelling and non-radioactive detection system were used to detect the hybridized DNA fragment.

(This investigation supported in part by grant DE08293 from the NIDR/NIH)

Superoxide dismutase activity in mutant *E. coli* transformed with sod gene from porphyromonas gingivalis ATCC 53977

Jeom Il Choi, Howard Kuramitsu

Dept. of Periodontology, College of Dentistry, Pusan Nat'l University

Dept. of Pediatric Dentistry, University of Texas Health Science Center, USA

The sod gene coding for Mn/Fe-dependent superoxide dismutase (sod) enzyme has been isolated on a 5.9-kb DNA fragment from *Porphyromonas gingivalis* ATCC 53977. Superoxide dismutase activity can be expressed from *P. gingivalis* DNA fragment and from subcloned fragment in *E. coli*. The expression of sod activity was evident when a Pst I-Hind III fragment was subcloned into plasmid vector pUC19 indicating that the expression was through the lac Z' promoter which is in the same orientation with the direction of the fragment encoding sod enzyme.

The sod activity was determined as an unit calculated by the reciprocal of the amount of protein/mg bacteria required for 50% inhibition of superoxide synthesis in xanthine/xanthine oxidase assay method. The activity was inhibited by the addition of 1mM H₂O₂ and significantly enhanced by the addition of 0.2mM Fe⁺⁺ and 0.12mM Mn⁺⁺ showing that the superoxide dismutase is Mn/Fe-dependent.

(This investigation was supported in part by grant DE08293 from the NIDR/NIH)