

*P. intermedia*의 유전자 이종성과 가족내 전이에 관한 연구

1. 서울대학교 치과대학 치주과학교실
2. 서울대학교 치과대학 미생물학교실

이승민¹ · 김각균² · 정종평¹

I. 서 론

*P. intermedia*는 성인형 치주염, 급속 진행성 치주염, 난치성 치주염, 사춘기성 치주염, 임신성 치은염, 급성괴사성 치은염의 병인균으로¹⁻⁵⁾ 2개의 DNA homology group⁶⁻⁸⁾과 3개의 혈청형⁹⁻¹¹⁾이 보고되었으나, 균주간의 유전적 다양성에 관하여 밝혀진 것은 드물다. 최근까지 치주병인균에 대한 생태학적, 역학연구는 개개의 균주를 구별하는데 따른 어려움으로 인해 큰 제한을 받아왔다. Whole cell 또는 outer membrane gel electrophoresis pattern, 혈청형 분류(serotyping), 생물형분류(biotyping)로는 각 종의 개개의 균주를 구분하기 어렵다(Zambon et al. 1983).

그러나 제한효소(restriction endonuclease)를 이용하여 genomic DNA를 소화하여 얻게 되는 restriction profile은 유전적 이질성을 명확히 보여주며, 각기 고유한 restriction profile은 하나의 clonal type을 나타낸다고 여겨진다. 이 방법은 횡적(cross-sectional) 및 종적(longitudinal) 역학연구에 민감하고 유용한 수단으로, 각 환자에서의 clonal line의 분포양상, 전이 여부, 한 환자내 균주의 turnover 분석, 잠재적 독성을 가진 균주의 결정에 이용되고 있다¹²⁻¹⁶⁾.

Van Steenberg등¹⁷⁾ (1991)은 각 개인에서 분리된 *A. actinomycetemcemitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* 균종의 모든 균주는 각기 다른 DNA 소화 양상을 보임으로써 동일종에서도 유전자의 다양성이 존재함을 보고하였다. van steenberg등¹⁸⁾(1993)과 Menard & Mouton 등(1993)은 심한 치주질환을 앓는 부부들을 검사한 결과 *P. gingivalis*균주의 수평적 전이를 밝혔으며, Petit등¹⁹⁾(1993)은 *P. gingivalis*균주의 수직적 전이를 보고하였다. 한편 *P. intermedia*의 경우 van steenberg등(1991)은 한 학교의 10명의 학생을 검사한 결과, 한 사람에서 분리된 균주들은 동일한 DNA 소화 양상을 보였고 각 개인마다 상이한 DNA 소화 양상을 나타내었으므로 세균의 교차감염은 발견할 수 없다고 하였으나, Loos등²⁰⁾(1991, unpublished data)은 한 개인에서도 여러개의 다른 DNA 소화 양상을 발견하여 유전적 이질성을 보이는 균주들이 한번에 집락할 수 있음을 보고하였으나 가족내 전이는 발견할 수 없다고 하였다.

그러나 아직까지 *P. intermedia*의 유전적 이질성에 대한 유용한 기록은 없는 실정이다. 본 연구는 DNA 제한효소 분석을 이용하여 가족내 전이 여부, 한 개인에서 분리된 *P. intermedia* 균주간의 유전자 이종성 및 동일한 혈청내에의 유전자 이종성을 알아보고자 시행하였다.

* 본 논문은 1994년도 서울대학교병원 임상연구비(02-94-238)지원에 의한 결과임.

II. 실험재료 및 방법

1. 연구대상

전신질환이 없고 최근 1년간 치주치료경험이 없으며 최근 6개월동안 항생제 복용경험이 없는 5가족 10명을 대상으로, 각 개인의 4부위에서 치은연하치태를 채취하였다. *P. intermedia* 균주를 얻은 가족들의 구성은 표1과 같다. 조사대상 부모들의 평균 연령은 57.5세로 모두 심한 성인형 치주염 양상을 보였으며, 조사대상 자녀들의 평균연령은 23.7세로 F3 가족의 딸(24세)을 제외하면 모두 건강한 치은을 가지고 있었다.

2. 세균의 분리와 동정

검사부위를 cotton rolls로 분리하고 치은연상치태를 cotton pledgets으로 제거한 후 소독된 세계의 endodontic paper point (#25)를 약간의 저항감이 느껴질 때까지 치주낭내에 넣어 30초간 방치한 다음 꺼내어 2ml의 소독된 Möller's VMGAIII transport medium²¹⁾에 옮겼다. 교반기로 60초 섞어서 80% N₂, 10% H₂와 10% CO₂를 함유한 37°C 혐기성 배양기에서 VMGA III dispersion액을 이용하여 희석하였다. 천배와 만배로 희석된 시료를 100µg씩 취하여 blood agar plate에 옮겨 7일간 배양하였다. 균주모양, 색깔, 그람염색, 생화학검사 및 SK-

103검사로 *P. intermedia*를 순수분리동정한 후 균집락을 취하여 이를 5µg/ml Hemin 및 0.5µg/ml vit K₁이 포함된 BHI 액체배지에 접종하여 37°C 혐기성조건에서 48시간 배양하고 2ml를 취하여 사용시까지 -20°C에서 보관하였다.

3. 특이항체를 이용한 간접면역형광법에 의한 혈청형 분류

세 종류의 표준균주에 대한 항 혈청 a, b, c 에서 보다 순수한 개개의 특이항체를 얻기 위해 다음과 같은 방법을 실시하였다. 항 ATCC 25611 혈청 5ml에 500mg(wet weight)의 NCTC 9336 whole bacterial cell을 넣어 37°C 온수 shaker에 1시간 둔 후 꺼내어 4°C에서 12시간 둔 다음 16,000×g로 60분간 원심분리시켜 상층 혈청을 취한 후 다시 500mg(wet weight)의 G8-9K-3 whole bacterial cell을 동일한 방법으로 면역흡착시키고 16,000×g로 원심분리시켜 상층 혈청을 얻어냈다. 이와같은 방법으로 항 NCTC 9336 혈청에는 ATCC 25611, G8-9K-3 whole bacterial cell을, 항 G8-9K-3 혈청에는 ATCC 25611, NCTC 9336 whole bacterial cell을 흡착원심분리시켜 각기 상층 혈청을 얻어냈다. 이상과 같은 방법으로 얻어진 특이 항 ATCC 25611 혈청, 특이 항 NCTC 9336 혈청, 특이 항 G8-9K-3 혈청은 그 혈청에 해당하는 균주에 대한 특이 반응여부를 검사하고자 다음과 같이 간접면역형광법을 이용하여 분석하

표 1. 연구대상가족들의 구성

F. No.	No.	member	perio. state
F1	2	M & D	SP & H
F2	1	F	SP
F3	3	F & D & S	SP & SP & H
F4	2	F & M	SP & SP
F8	2	F & D	SP & H

F. No. : family number

M : mother F : father D : daughter S : son

SP : sever periodontitis H : healthy state

표 2. 본 연구에 사용된 *P. intermedia* 균주

F. No.	strain	serotype	PD(mm)	TP(#)
F1	1M-4-20	b	3	
	1D-1	b	3	
F2	2-1-1	a	4	25
	2-1-2	b		
	2-1-3	a		
	2-1-4	c		
	2-1-5	a		
	2-1-6	ND	5	25
	2-2-1	ND		
	2-2-2	ND	6	45
	2-5-2	ND		
	2-5-3	c		
2-5-4	c			
F3	3S-1-2	a	3	25
	3S-3-16	a	3	17
	3S-3-17	a		
	3D-6-8	a	6	16
	3D-6-14	b		
	3D-9-3	a	3-4	25
	3F-1-2	a	6	14
	3F-1-3	a		
	3F-3-13	c	9	
	3F-3-15	b		
	3F-3-16	a		
F4	4F-3-9	b	6	23
	4F-3-10	c		
	4F-4-8	c	3	24
	4M-7-7	c	4	28
	4M-8-5	c	5	
	4M-8-9	c		
	4M-8-12	b		
	4M-8-3	a		
	4M-8-7	a		
	4M-8-8	a		
	4M-8-11	c		
	4M-8-14	c		
4M-8-17	a			
F8	8F-2-5	ND	5	
	8F-3-4	a	5	
	8D-9-3	b	3	

였다. 표준균주 a, b, c 를 인산완충용액으로 세척한 다음, spectrophotometer(Bausch & Lomb Spectronic 21 U.V.D., Rochester N.Y., U.S.A)를 이용하여 표준화시켜 희석한 용액 20 μ l를 반응시켰다. 이들 glass에 conjugate된 goat antirabbit IgG 용액 20 μ l를 반응시켜 90% glycerol로 고정된 후 형광현미경하에서 특이항 a, b, c 혈청의 해당균주와의 반응여부를 확인하였다.

4. Whole genomic DNA의 추출

BHI액체배지에서 균주가 포화시까지 48~72 시간동안 배양한 후 4 $^{\circ}$ C에서 10분간 원심분리하여 cell pellet을 얻은 후 guanidine 용액을 넣어 pellet과 잘 섞은 후 37 $^{\circ}$ C 수욕조에서 1시간 이상 두어서 용액이 맑아지는 것을 확인하였다. 동량의 phenol/chloroform/isoamyl alcohol (25 : 24 : 1)을 넣어 두 용액을 잘 섞은 후 실온에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻고 동량의 chloroform/isoamyl alcohol (24 : 1)을 넣어 갈색이 될때까지 잘 섞은 다음 다시 실온에서 상층액을 따라내어 기존 부피의 0.6배의 isopropyl alcohol을 넣어 DNA를 추출하였다. 100% 와 70% ethanol로 차례로 염을 제거하고 건조시킨 후 4 $^{\circ}$ C TE buffer(pH 8.0)에 보관하였다.

5. 제한효소로 DNA의 소화

분리한 DNA를 각각 *EcoRI* 및 *PstI*으로 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 소화시켰다. 전기영동은 horizontal gel apparatus를 이용하여 0.7% agarose를 Tris-acetate완충액에 용해시켜 사용하였으며, size marker는 lambda DNA를 *Hind* III로 소화한 절편을 사용하였다. 전기영동 후 Tris-acetate 완충액에서 0.5 μ g/ml의 ethidium bromide에 15분간 염색후 증류수로 탈색시키고 UV transilluminator에서 polaroid film으로 촬영하였다.

III. 결 과

1. *P. intermedia*의 유전자 이종성

한 환자에서 분리한 균주간에도 다양한 DNA 소화 양상이 존재함을 발견할 수 있었다. 이는 다양한 clonal type의 *P. intermedia*균주들이 한 환자에서 한 번에 집락할 수 있음을 보여주었다.

2. 가족내의 전이

가족내의 수평적, 수직적 전이를 모두 관찰할 수 있었다. F1 가족의 모녀는 동일한 DNA 소화 양상을 보이는 1개의 균주(혈청형 b)를 공유하고 있었고(Fig. 1), F3 가족의 아버지와 아들은 혈청형 a의 동일한 DNA 소화 양상을 보이는 균주를 공유하고 있었으며 딸에서 발견된 혈청형 a의 균주는 아버지와 아들에서 발견된 혈청형 a 균주의 DNA 소화 양상과 4.3 kb부위에서 약간의 차이를 보이고 있었다(Fig. 2). F4 부부에서도 동일한 DNA 소화 양상을 보이는 균주(혈청형C)를 갖고 있었다(Fig.3), (Fig. 4).

3. 동일한 혈청형내의 유전자 이종성

한 환자에서 여러 종류의 혈청형의 균주가 존재함을 발견하였고, 동일환자의 같은 혈청형의 균주간에는 뚜렷한 유전자 이종성을 관찰할 수 없었으나, 다른 가족인 경우 같은 혈청형의 균주간에는 DNA 소화 양상의 차이를 발견할 수 있었다.

IV. 고 찰

현재 각 세균종들은 세계적으로 discrete clonal lines으로 구성되어 있으며, 각 clonal line내에서는 개개의 균주들이 유전적으로 동일함이 잘 알려져 있다(Selander등 1987, Selander와 Musser 1990). 그러므로 한 종내의 모든 구성원들은 반드시 유전적으로 동일하지는

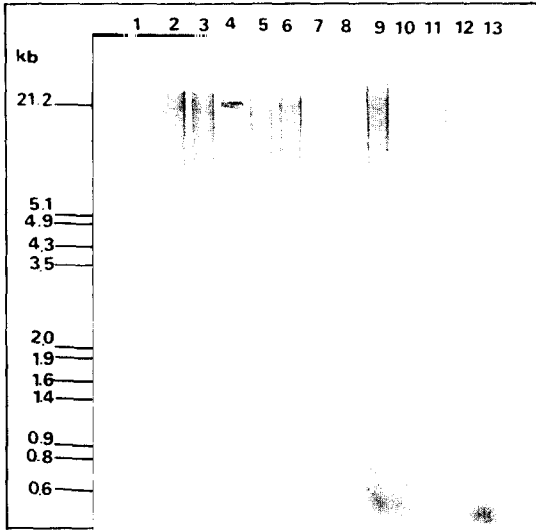


Fig. 1. *EcoRI* digestion of the DNA of *P. intermedia* isolates of F1 & F2 lanes : 1, size marker 2, 1M-4-20 3, 1D-1 4, size marker 5, 2-1-1 6, 2-1-2 7, 2-1-4 8, 2-1-5 9, 2-1-6 10, 2-2-1 11, 2-2-2 12, 2-5-3 13, 2-5-4

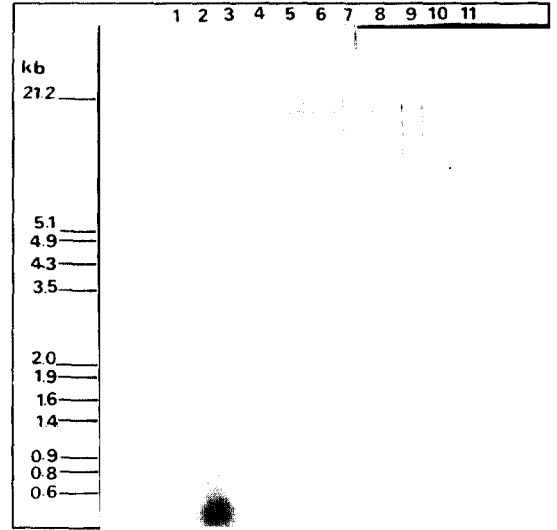


Fig. 2. *EcoRI* digestion of the DNA of *P. intermedia* isolates of F3 lanes : 1, size marker 2, 3S-1-2 3, 3S-3-16 4, 3S-3-17 5, 3D-6-8 6, 3D-6-14 7, 3F-1-2 8, 3F-1-3 9, 3F-3-13 10, 3F3-15 11, 3F-3-16

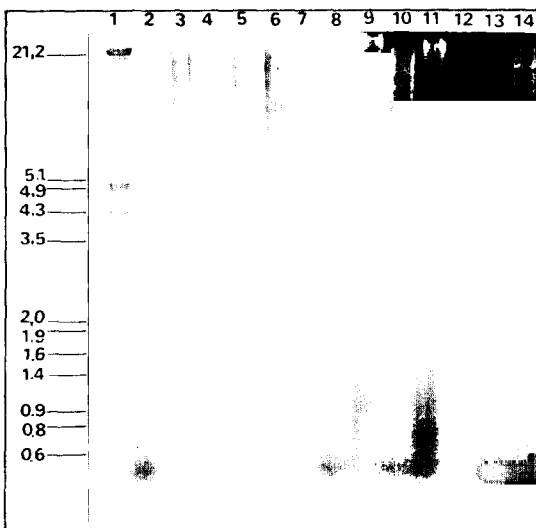


Fig. 3. *EcoRI* digestion of the DNA of *P. intermedia* isolates of F4 lanes : 1, size marker 2, 4F-3-9 3, 4F-3-10 4, 4F-4-8 5, 4M-7-7 6, 4M-8-5 7, 4M-8-9 8, 4M-8-12 9, 4M-8-3 10, 4M-8-7 11, 4M-8-8 12, 4M-8-11 13, 4M-8-14 14, 4M-8-17

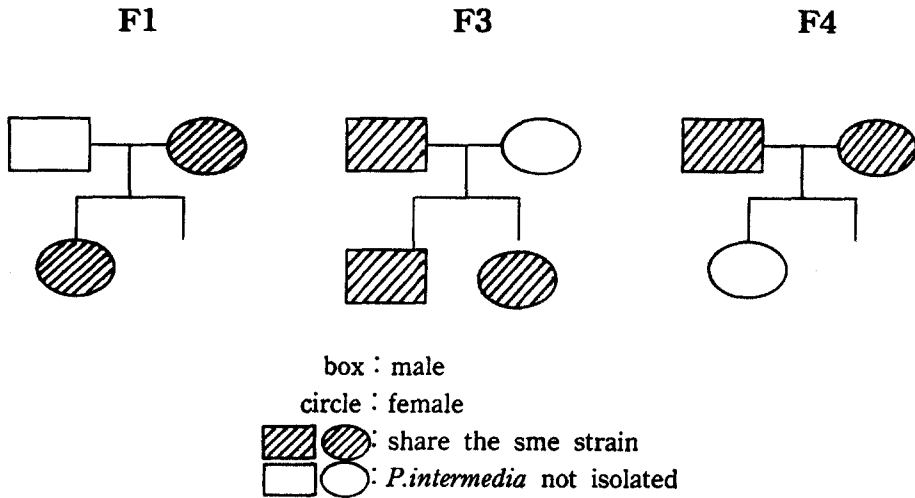


Figure 4. F1, 3, 4가족의 가계도

않으나 무한한 수의 유전적으로 다른 균주들로 구성된 것도 아니며 유전적 다양성의 정도는 각 종에 따라 다르다. 유전적 다양성은 아마도 염색체 DNA 염기서열 수준의 다양성을 반영한 것으로 추정되는데 이러한 특성은 역학연구에서 개개의 균주를 구별하는 방법으로 사용될 수 있다²⁰⁾.

Whole genomic DNA의 제한효소 분석은 개개의 균주를 구별하는 유용한 방법으로²²⁻²⁴⁾ 다른 염기서열을 인지하는 여러 개의 제한효소를 사용하거나 함께 사용하면 판독이 더욱 용이하다. 본 연구에서는 *Pst*I과 *Eco*RI를 사용하였는데, *Pst*I의 경우 몇개의 균주들만이 흐릿한 띠를 보였고 대다수는 소화되지 않았다. *Eco*RI의 경우 몇개의 균주들(2-1-3, 2-5-2, 3D-9-3), 4F-4-8을 제외하면 대체로 뚜렷한 DNA 소화 양상을 관찰할 수 있었다.

Loos(1991. unpublished data)는 한 가족(2명의 성인형 치주염 환자, 1명의 아동)을 대상으로 구강내의 다양한 부위에서 23개의 *P. intermedia*를 분리배양하여 제한효소 분석한 결과 1명의 어른에서 2개의 균주가 발견되었는데, 그 중 1균주가 우세하게 분포되어 있었고 다른 1명의 어른과 아동은 각기 상이한 DNA 소화

양상을 보이므로 가족내 전이는 일어나는 않았다고 결론내렸으나 이는 대상가족이 한 가족뿐이라는 한계를 가진다. van Steenberg등(1991)은 한 학교에 재학중인 10명의 학생들을 대상으로 제한효소 분석을 한 결과, 한 사람에서 분리된 균주들은 동일한 양상을 보이며 개개인에서 유래된 균주들은 모두 서로 다른 양상을 나타낸다고 보고하였다. 그러나 한 사람의 2부위에서만 채취하여 2명만 비교하여 내린 첫번째 결론은 조사대상의 수가 너무 적어 잘못된 해석을 가져올 수 있으며 이때 발견된 균주는 구강내의 비교적 우세한 균주일 수도 있다. 본 연구에서 각 개인에서는 Loos의 결과와 일치하는 다양한 clonal type의 *P. intermedia*가 집락할 수 있음을 관찰하였고 가족내 수직적, 수평적 전이도 볼 수 있었다. 또한 한 환자에서 분리된 *P. intermedia*균주들의 혈청형도 다양했다. 최(1990)²⁵⁾, O'Dell등²⁶⁾, Nakazawa등⁹⁾에 의하면 급속 진행형 치주염과 난치성 치주염의 경우 혈청형 c가 주로 나타났으며 세포독성이 강하고 유년형 치주염의 경우 혈청형 b가 발견된다고 보고하였는데, 본 연구대상 가족들은 부모들의 경우 심한 성인형 치주염 양상을 보이고 있었고(주로 혈청형 a, c), F3가족의 딸

(24세, 심한 전반적 치주염 양상)을 제외하면 나머지 가족들의 자녀들은 건강한 치은을 가지고 있어 위의 논문들과 거의 일치하였다.

Dzink등(1988)은 휴지기 상태의 부위와 활성기 상태의 부위를 비교하면 *P. gingivalis*, *P. intermedia* 등이 유의성있게 증가된다고 보고하였고, Loos등²⁷⁾(1993)은 *P. gingivalis* 균주 100개를 유전적으로 분석하였을때, 유전형과 질병의 형태, 침투능력, 혈청형 혹은 fimbrial RFLP 간에는 연관성이 없다고 보고하였다. 본 연구에서도 치주낭 깊이에 따른 균주간의 유전적 이종성을 발견할 수 없었는데 이는 균주들간에 병원성에 차이가 없으며 치주질환에 있어 이 세균의 역할이 대체로 기회 감염적이라고 생각할 수 있다.

DNA 제한 효소 분석은 검사자의 판독능력에 의존하지만 역학조사에 유용하게 이용할 수 있다. 더 나아가 DNA probe를 이용한 hybridization 방법은 구별하기 어려운 DNA fingerprint를 구분하는데 도움이 될 것이다²⁸⁻³¹⁾ 이러한 방법들을 이용하여 질환활성 및 휴지기 균에 대한 자료와 질환활성과 관련된 유전자추적과 이러한 유전자에 대한 탐식자의 개발이 가능하다. 또한 치주 병원성 세균에 대한 DNA 제한효소 분석은 세균의 숙주침입, 진행, 감염의 단계를 밝힐 수 있을 것이며, 이러한 지식은 치주질환을 예방하고 재발을 방지하는데 유용할 것이다.

V. 결 론

본 연구는 종내의 각 균주의 유전적 다양성을 밝히고, 가족내 전이 여부와 각 개인에서 발견되는 각 균주간의 유전자 이종성 및 동일혈청내의 유전자 이종성을 알아보고자, 가족들에서 분리된 *P. intermedia* 균주의 DNA를 제한효소로 소화시켜 분석하여 균주간의 유전자 이종성과 가족내 전이를 고찰하였다.

1. 한 개인에서 유전적으로 상이한 *P. intermedia* 균주들이 한번에 집락할 수 있음을 관찰하였다.

2. 가족내 수평적, 수직적 전이를 모두 관찰할 수 있었다.
3. 동일환자의 같은 혈청형인 경우 뚜렷한 유전자 이종성을 볼 수 없었으며, 다른 가족의 경우 동일 혈청형내에서도 DNA 소화 양상의 상이함을 관찰하였다.

참고문헌

1. Moore W. E. C : Microbiology of periodontal disease. J. Periodont. Res. 22 : 335-341, 1987.
2. Slot J. : Importance of black pigmented Bacteroides in human periodontal disease. In : Host-parasite interactions in periodontal disease. ed. Genco R. J., Mergenhagen S. E., pp.27-45. Washington D. C. : American Society for Microbiology 1982.
3. Tanner A. C. R., Haffe C., Bratthall G. T., Visconti R. A., Socransky S. S. : A Study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. J. Clin. Periodontol. 6 : 278-307, 1979.
4. Zambon J. J., Reynolds H. S., Slots J. : Black-Pigmented Bacteroides spp. in the human oral cavity. Infect. Immun. 32 : 198-203, 1981.
5. Kornman K. S., Leosche W. J. : The subgingival microbial flora during pregnancy. J. Periodont. Res. 15 : 111-122, 1980.
6. Johnson, J. L., Holdema L. V. : *Bacteroides intermedius* comb. nov. and description of *B. corporis* sp. nov. and *B. levii* sp. nov. Int. J. Syst. Bacterial. 33 : 15-25, 1983.
7. Moncla B. J., Strockbine L. : Use of whole cell DNA probes for the identification of *B. intermedius* isolates in a dot blot assay. J. Dent. Res. 10 : 1267-1270, 1988.
8. Strzempko M. N., Simon C. K. : A Cross-reactivity study of whole genomic DNA

- probes for *Haemophilus actinomycetemcomitans*, *B. intermedius*, and *B. gingivalis*, J. Dent. Res 66(10) : 1543–1546, 1987.
9. Nakazawa F., Zambon J. J., Reynolds H. S., Genco R. J. : Serological Studies of oral *B. intermedius*. Infect. Immun. 56 : 1647–1651, 1988.
 10. Choi N. J., Chung C. P., Son S. H. : The virulence and antigenic heterogeneity of *B. intermedius*. Kor. Acad. Periodontol. 19 : 60–74. 1989.
 11. Gmur R., Guggenheim B. : Antigenic heterogeneity of *B. intermedius* as recognized by monoclonal antibodies. Infect. Immun. 42 : 459–470, 1983.
 12. Caufield P. W., Walker T. M. : Genetic diversity within *S. mutans* evident from chromosomal DNA restriction fragment polymorphism. J. Clin. Microbiol. 27 : 274, 1989.
 13. Kulkarni G. V., Chan K. H., Sandham H. J. : An investigation into the use of restriction endonuclease analysis for the study of transmission of *S. mutans* J. Denk. Res. 68(7) : 1155, 1989.
 14. Bjorvatn B., Lund V., Kristiansen B. E., Korsnes L., Spanne O., Linguist B. : Application of restriction endonuclease fingerprinting of chromosomal DNA of *Neisseria meningitidis* J. Clin. Microbiol 19 : 763, 1984.
 15. Rudney J. D., Neuvar E. K., Soberay A. H. : Restriction endonuclease fragment polymorphisms of *Oral Viridans Streptococci*. Compared by conventional and field-inversion gel electrophoresis. J. Dent. Res. 71(5) : 1182.
 16. Wilson M. A., Rimler R. B., Hoffman L. J. : Comparison of DNA fingerprints and somatic serotypes of sero *B and E pasteurilla multocida* isolates J. Clin. Microbiol. 30 : 1518, 1992.
 17. van Steenberg T. J., van der velden U., Abbas F., de Graaff J. : Microflora and bacterial DNA restriction enzyme analysis in young adults with periodontitis. J. Periodontol. 62 : 235–241. 1991.
 18. van Steenberg T. J., Petit M. D., Scholte L. H., van der Velden J., de Graaff J. : Transmission of *P. gingivalis* between spouses. J. Clin. Periodontol. 10 : (5) : 340–345, 1993.
 19. Petit M. D. A., van Steenberg T. J. M., Scholte L. M. H., van der Velden J., de Graaff : Epidemiology and transmission of *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans*, among children and their family members : J. Clin. Periodontol 20 : 641–650, 1993.
 20. Genco R. J., Loos B. G. : The use of genomic DNA fingerprinting in studies of the epidemiology of bacteria in periodontitis. J. Clin. Periodontol. 18 : 396–405, 1991.
 21. Miller A. J. R. : Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Odont. Tidskr. 74 : 1–380, 1966.
 22. Loos B. G., Herweijer J. A., Shlossman M., Genco R. J., Dickinson D. P. : Epidemiology of black pigmented bacteroides using DNA restriction fragment pattern analysis. J. Dent. Res. 67 abst. 70, 2049, 1988.
 23. Loos B. G., Mayrand D., Genco R. J., Dickinson D. P. : Genetic heterogeneity of *P. gingivalis* by genomic DNA fingerprinting. J. Dent. Res. 69 : 1488–1493, 1990.
 24. Loos B. G., Bernstein J. M., Dryja D. M., Murphy T. F., Dickinson D. P. : Determination of the epidemiology and transmission of nontypable *H. influenzae* in children with otitis media by comparison of total genomic DNA restriction fingerprinting.

- nts. Infect. Immun. 57 : 2751-2757, 1989.
25. 최기영, 정종평, 손성희 : 치주질환에서 *B. intermedius*의 혈청형 특성에 관한 연구. 대한치주과학회지 20 : 490, 1990.
 26. O'Dell D. S., Delaney J. E. : Serological characterization of *B. intermedius* from localized prepubertal periodontitis. J. Dent. Res. Abst. No. 250, 1990.
 27. Loos B. G., Dyer D. W., Whittam T. S., Selander R. K. : Genetic Structure of populations of *P. gingivalis* associated with periodontitis and other oral infections. Infect. Immun. 61 : 204-212, 1993.
 28. 이진봉, 김각균 : *P. gingivalis* 균종의 제한 효소절편길이 다형화에 대한 연구. 서울대학교 치과대학 치의학석사학위논문, 1994.
 29. Loss B. G., Dyer D. W. : Restriction fragment length polymorphism analysis of the fimbrillin locus, firm A. of *P. gingivalis*. J. Dent. Res. 71 : 1173-1181, 1992.
 30. 이문영, 김각균 : 무작위로 클로닝한 *P. intermedia* 9336 genom DNA의 제한절편 hybridization법에 의한 세균동정. 서울대학교 치과대학 치의학석사학위논문, 1993.
 31. DiRienzo J. M. : Probe-specific DNA fingerprinting applied to the epidemiology of periodontal bacteria and disease activity of periodontitis. Periodontal disease : Pathogens & host immune responses, Quintessence publishing Co. 1991.

TRANSMISSION OF *PREVOTELLA INTERMEDIA* BY GENOMIC DNA FINGERPRINTING

Seoung-Min Lee¹, Kack-Kyun Kim², and Chong-Pyoung Chung¹

1. Department of Periodontology, College of Dentistry, S. N. U.

2. Department of Oral Microbiology, College of Dentistry, S. N. U.

P. intermedia are considered an important pathogen in adult periodontitis, rapidly progressing periodontitis, refractory periodontitis, pregnancy gingivitis, acute necrotizing ulcerative gingivitis, pubertal gingivitis. So far 2 DNA homology groups and 3 serotypes of *P. intermedia* have been reported but there is no data available as yet regarding genetic diversity for the species *P. intermedia*.

The purpose of this study is to investigate, using bacterial DNA restriction endonuclease analysis, genetic diversity between individual strains of *P. intermedia* which are indistinguishable by serotyping and biotyping, occurrence of an intrafamilial transmission and genetic heterogeneity between *P. intermedia* strains isolated within a patient and within the same serotypes.

The families who have had no systemic disease, no experience of periodontal treatment for the previous 1 year and no experience of antibiotics for the previous 6 months were selected and subgingival plaque was collected at 4 sites in each person and incubated in the anaerobic chamber. *P. intermedia* were identified by colony shape, gram stain, biochemical test, SK-103(Sunstar Inc.) test and IIF using monoclonal antibody was performed for the determination of serotypes. *P. intermedia* strains were grown in BHI broth and whole genomic DNA was extracted and digested by restriction endonuclease. The resulting DNA fragments were separated by agarose gel electrophoresis, stained and photographed under UV.

As the results of this study, intrafamilial vertical transmissions could be assessed in 2 families and horizontal transmissions in another 2 families. There were different DNA digest patterns within a patient, so *P. intermedia* showed that individuals could be colonized by multiple clonal types at any one time. And different serotypes could be found within a patient and in the same serotype within a patient, obvious genetic heterogeneity could not be assessed. But in the same serotype in different families, there were differences in the DNA digest patterns.

Key words : *P. intermedia*, restriction endonuclease, genetic heterogeneity, intrafamilial transmission, serotype