

## 구강으로부터 분리한 *Micromonospora aurantiaca*의 인공치태 형성에 미치는 영향

전남대학교 치과대학 소아치과학교실, 의과대학 미생물학교실\*

양규호 · 김선미 · 박진경 · 정 진\* · 오종석\*

Abstract

### EFFECT OF ISOLATED *MICROMONOSPORA AURANTIACA* ON THE FORMATION OF ARTIFICIAL PLAQUE

Kyu-Ho Yang, Seon-Mi Kim, Jin-Kyung Park, Jin Chung\*, Jong-Suk Oh\*

*Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, and Department of Microbiology,  
College of Medicine\*, Chonnam National University*

The critical etiologic factor in the development of dental caries is dental plaque. The main component of dental plaque is the mutan produced by *Streptococcus mutans*. The following results were obtained by using blue mutan to assess the factors affecting the mutan-digesting activity of *Micromonospora aurantiaca* isolated from oral cavity.

*Micromonospora aurantiaca* digested more blue mutan in the minimal essential broth at pH 7.0 than at pH 5.5 or 8.5, and at 37°C than at 32°C or 42°C. Blue mutan was similarly digested at the range of 1mM to 16mM of CaCl<sub>2</sub> and 0.1mM to 6.4 mM of MgCl<sub>2</sub>, while being significantly digested at the concentration of 2.5mM of KCl. When the concentration of glucose was decreased in the minimal essential broth, the digestion of blue mutan was increased. When the culture supernatant of *Micromonospora aurantiaca* in the RL broth with 1% glucose or 0.5% mutan was mixed with 2 × BHIYS broth containing 0.5% yeast extract and 10% sucrose, the formation of artificial plaque on the orthodontic wires by *Streptococcus mutans* was inhibited ( $p < 0.05$ ).

These results indicated that the production of mutanase was identified in the culture supernatant of *Micromonospora aurantiaca*, suppressing the formation of artificial plaque by

\*본 연구는 1996년도 전남대학교 학술연구비의 지원에 의하여 연구되었음

*Streptococcus mutans*.

Key words: *Micromonospora aurantiaca*, *Streptococcus mutans*, mutanase

I. 서 론

치의학의 발달에도 불구하고 소아에서는 치아우식증이 여전히 문제가 되고 있다. 이러한 치아우식증의 생성에 있어서 중요한 역할을 하는 치태는 세균과 비세포성 물질로 구성되어 있다<sup>1-3)</sup>. 구강내 *Streptococcus mutans*에 의해 자당 (sucrose)으로부터 세포의 다당류인 glucan과 fructan이 만들어진다. 이들 세포의 다당류 중 glucan은 수용성인 dextran과 비수용성인 mutan으로 구분할 수 있으며, 이들 중 mutan은 치태의 형성에 있어서 더 중요한 성분이다.

그동안 치아우식증의 발생을 예방하고자 하는 연구가 여러 학자들에 의해 시도되어 왔다. 특히 치태형성을 억제하기 위해 화학적 물질이나 효소를 이용하는 연구가 계속되었다<sup>4-6)</sup>. 1946년 Waksman에 의하여 *Streptomyces griseus*로부터 streptomycin이 추출된 이래<sup>9)</sup>, 방선균류 (*Actinomyces*)에 대한 연구가 계속되고 있다. 현재까지 방선균류로 부터 항생물질, 항암제, 효소저해제, 면역조절물질 등 생체활성물질이 계속 개발되고 있다. 치태를 분해하는 효소도 방선균류로 부터 얻으려는 시도가 있었다<sup>10)</sup>. 그러나 분리된 효소들은 dextran에 작용하는 dextranase로서<sup>10-13)</sup> 이것을 정제하여 치태형성 억제 효과를 보기 위하여 많은 동물실험이 시행되었다. 그러나 그 효과에 대해서는 많은 논란이 있으며, 인체를 대상으로 한 실험에서는 큰 효과를 보지 못하였다<sup>4)</sup>. 또한 치태의 기질을 형성하고 있는 mutan을 분해하는 치태형성 억제제에 대한 연구도 진행되었다<sup>4,15)</sup>.

본 연구는 광주지역에 소재한 유치원에 재학 중인 3-6세 아동을 대상으로 구강검사를 실시하여 이들 중 치아우식증이 전혀 없는 아동에서 타액을 채취하여 분리 동정한 *Micromonospora aurantiaca*로부터 생산된 mutanase의 mutan 분해능과 또한 그것에 영향을 미치는 인자들을 비교 연구하여 mutanase의 치태형성 억제 기능에 대해 다소의 지

견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

*Micromonospora aurantiaca*의 분리 및 배양: 광주지역에 소재한 유치원 아동의 타액으로부터 분리하여 16S ribosomal DNA sequencing을 실시하여 *Micromonospora aurantiaca*로 동정하였다. 이를 mutan이 함유된 배지에 배양한 결과 mutan 분해능이 있다는 것을 확인하였으며, 이 세균을 Brain Heart Infusion (BHI, Difco, Detroit, MI, USA) media에서 37°C, 1주일 배양하였다.

*Streptococcus mutans*의 배양: 본 연구에서는 mutan을 만들기 위하여 *Streptococcus mutans* B-13 (serotype d)을 BHI broth에 접종하여 37°C 탄산가스 배양기에서 16시간 배양하였다.

Mutan의 분리: Mutan을 분리하기 위하여 Takehara<sup>14)</sup>의 방법에 따라 *Streptococcus mutans*를 0.5% 효모추출물과 10% 자당을 첨가한 BHI broth (BHIYS)에 37°C, 3일간 탄산가스 배양기에서 배양하였다. 배양액을 4,000×g로 원심분리하여 3 M KOH 용액에서 100°C, 2시간 가열하여 녹인 후, 13,000×g로 30분간 원심분리하여 침전물을 제거하였다. KOH 용액으로 얻은 상청액은 빙초산으로 중화시키고 동량의 메탄올을 가하여 알칼리에 녹아 있는 비수용성 glucan을 침전시켰다. 50% 메탄올로 여러번 세척하여 침전물을 증류수에 부유시켜 냉동 건조시켰다.

Blue mutan 함유 배지의 제조: Cibacron Blue F3GA (Sigma, St. Louis, MO, USA) 0.4g을 12ml 증류수에 가하고, mutan 2g을 60°C의 증류수 70ml에 가하였다. 이들 두 용액을 30분간 섞고 9g의 NaCl을 가하여 1시간 섞었다. 혼합액을 실온으로 냉각시킨 후, 5°C에서 증류수로 세척하여 반응하지 않은 색소를 제거하였다. 그리고 에탄올과 증류수를 2 : 1로 혼합한 후, 세척하고 냉동 건조시켜 blue mutan을 만들었다. 평판 접시에 minimal

essential agar를 부어 굳힌 다음, 1% blue mutan이 함유된 0.6% agar를 덮어 blue mutan 함유 배지를 제조하였다.

Mutan 분해능에 미치는 pH와 온도의 영향: *Micromonospora aurantiaca*를 1% mutan이 함유된 minimal essential broth(0.5%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.05%  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.03% KOH, 0.02%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.001%  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.0001% glucose)에서 배양한 다음,  $2.3 \times 10^9$ /ml의 세균 배양액 1ml를 1.5ml minimal essential broth에 접종하고 최종 농도가 1%가 되도록 0.5ml의 blue mutan액을 가하여 배양하였다. 이때 배양액의 pH를 5.5, 7.0, 8.5로 조정하였고 배양 온도는 32°C, 37°C, 42°C로 조정하였다. 이때 대조군으로 *Micromonospora aurantiaca* 배양 상청액 대신에 minimal essential broth를 넣어 같은 조건으로 두었다. 1주와 2주 배양 후, blue mutan의 분해로 인한 상청액의 색깔 변화를 spectrophotometer (Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 610nm에서 측정하였으며, 이 수치에서 대조군 수치를 감하였다. 이러한 과정을 3회 반복하여 평균치를 구하였다.

Mutan 분해능에 미치는 Ca, K, Mg 이온 농도의 영향: *Micromonospora aurantiaca*를 1% mutan이 함유된 minimal essential broth에서 배양한 다음,  $2.3 \times 10^9$ /ml의 세균 배양액 1ml를 1.5ml minimal essential broth에 접종하고 최종 농도가 1%가 되도록 0.5ml의 blue mutan액을 가하여 배양하였다. 이 때 배지의  $\text{CaCl}_2$  농도를 1.0, 4.0, 16.0, 64mM로, KCl 농도를 2.5, 10, 40, 160mM로,  $\text{MgCl}_2$  농도를 0.1, 0.4, 1.6, 6.4mM로 변경하였다. 1주와 2주 배양 후 상기한 방법으로 3회 반복 측정하여 평균치를 구하였다.

Mutan 분해능에 미치는 포도당 농도의 영향: *Micromonospora aurantiaca*를 1% mutan이 함유된 minimal essential broth에서 배양한 다음,  $2.3 \times 10^9$ /ml의 세균 배양액 1ml를 1.5ml minimal essential broth에 접종하고 최종 농도가 1%가 되도록 0.5ml의 blue mutan액을 가하여 배양하였다. 이 때 배지의 포도당 농도를 0.016, 0.04, 0.1, 0.25%가 되도록 변경하였다. 1주와 2주 배양 후 상기한 방법으로 3회 반복 측정하여 평균치를 구하였다.

인공치태 형성 억제 검사: *Micromonospora aurantiaca*를 1% glucose를 첨가한 RL배지(0.05% Beef extract, 0.05% 효모추출물, 0.03% Peptone, 0.9% NaCl, 0.2% Ammonium citrate, 0.01%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.005%  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.03% 포도당)와 0.5% mutan이 함유된 RL배지에서 8일간 배양하고 13,000 rpm으로 30분간 원심분리하였다. 각각의 상청액을 0.45 $\mu\text{m}$  구멍 크기의 여과막에 여과시키고, 여과된 상청액과 동량의 2×BHIYS 배지를 비커에 담았다. 여기에 Hamada의 방법<sup>6)</sup>을 변형하여 약 49.4mg의 0.016 inch stainless steel 교정용 wire (ORMCO, Glendora, CA, USA)를 배양액에 잠기도록 비커에 매달았다. 배지 1ml당  $2.5 \times 10^6$ 개의 *Streptococcus mutans* (Ingbritt, serotype C)을 접종하고 stirring을 하면서 37°C 탄산가스 배양기에서 5시간 배양하여 *Streptococcus mutans*의 생균수를 측정 한 후, 무게를 측정하였다. 이와 같은 조작을 3회 반복하여 평균치를 구하였다. 이 때 대조군으로 BHIYS 배지에 *Streptococcus mutans*를 접종하여 동일한 과정을 시행하였다.

통계적 처리: 각군간의 차이는 Kruskal-Wallis test를 이용하여 비교하였으며 통계학적인 유의성은  $p < 0.05$ 에서 검정하였다.

### III. 성 적

Mutan 분해능에 미치는 pH와 온도의 영향: 배양 1주와 2주시 배양액의 pH가 7.0일 때 pH 5.5나 8.5일 때보다 분해 정도가 높았으며(Fig. 1), 배양 온도가 37°C일 때 32°C나 42°C일 때보다 분해 정도가 높았다(Fig. 2).

Mutan 분해능에 미치는 Ca, K, Mg 이온의 영향: 배양 2주에는 배지의  $\text{CaCl}_2$  농도가 1mM에서 64mM의 범위에서 blue mutan의 분해정도가 비슷하였으며(Fig. 3), KCl의 농도는 배양 1주와 2주시 2.5mM일 때 blue mutan의 분해 정도가 높았다(Fig. 4).  $\text{MgCl}_2$ 의 농도는 0.1mM에서 6.4mM의 범위에서 blue mutan 분해 정도가 비슷하였다(Fig. 5).

Mutan 분해능에 미치는 포도당 농도의 영향: 배양 1주에는 배지내 포도당의 농도에 따른 blue mutan 분해 정도의 차이가 없었으나, 배양 2주에는 배지의 포도당 농도가 증가할수록 blue mutan의 분

해 정도가 감소하였다(Fig. 6).

인공치태 형성 억제 검사: 포도당 1%나 mutan 0.5%가 함유된 RL배지에 *Micromonospora aurantiaca*를 배양한 상청액과 2×BHIYS broth를 합하여 *Streptococcus mutans*를 5시간 배양한 실험군에서는 대조군과 비교하여 *Streptococcus mutans*의 생균수는

비슷하였으나, 교정용 wire 상에 형성된 인공치태 무게는 대조군 113.7mg에 비교하여 1% glucose를 첨가한 RL 배지에 배양한 상청액에서는 26.2mg, 0.5% mutan이 함유된 RL배지에서 배양한 상청액에서는 15.1mg으로 유의성있게 인공치태 형성이 억제되었다( $p < 0.05$ ) (Fig. 7).

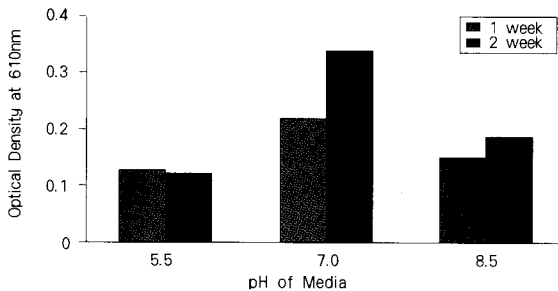


Fig. 1. Effect of pH on the activity of mutanase produced by *Micromonospora aurantiaca*. The pH of minimal essential broth containing 1% blue mutan was adjusted to 5.5, 7.0, or 8.5. The broth was inoculated with  $2.3 \times 10^9$ /ml *Micromonospora aurantiaca*, and incubated at 37°C for 1 and 2 weeks.

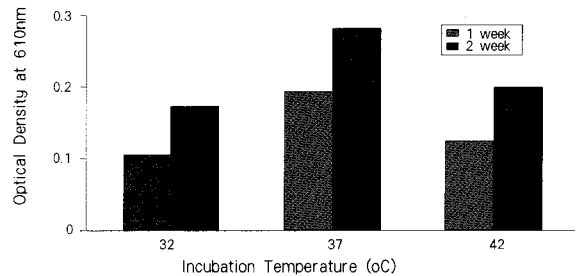


Fig. 2. Effect of temperature on the activity of mutanase produced by *Micromonospora aurantiaca*. The temperature of minimal essential broth containing blue mutan was adjusted to 32 °C, 37°C, or 42°C. The broth was inoculated with  $2.3 \times 10^9$ /ml *Micromonospora aurantiaca*, and incubated at 37°C for 1 and 2 weeks.

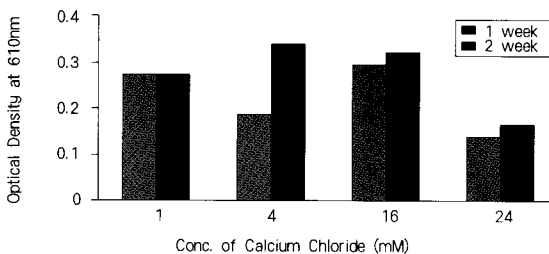


Fig. 3. Effect of CaCl<sub>2</sub> on the activity of mutanase produced by *Micromonospora aurantiaca*. The concentration of CaCl<sub>2</sub> in the minimal essential broth containing 1% blue mutan was adjusted to 1.0, 4.0, 16.0, or 64mM. The broth was inoculated with  $2.3 \times 10^9$ /ml *Micromonospora aurantiaca*, and incubated at 37 °C for 1 and 2 weeks.

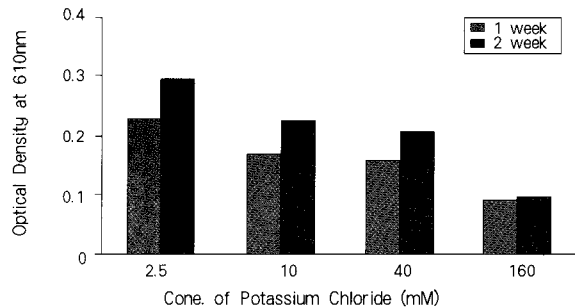


Fig. 4. Effect of KCl on the activity of mutanase produced by *Micromonospora aurantiaca*. The concentration of KCl in the minimal essential broth containing 1% blue mutan was adjusted to 2.5, 10, 40, or 160mM. The broth was inoculated with  $2.3 \times 10^9$ /ml *Micromonospora aurantiaca*, and incubated at 37 °C for 1 and 2 weeks.

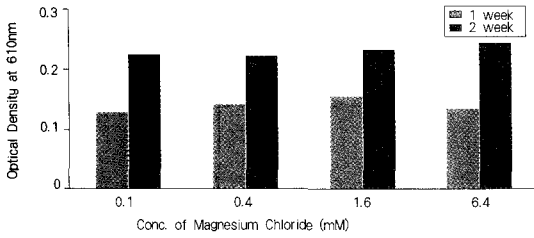


Fig. 5. Effect of MgCl<sub>2</sub> on the activity of mutanase produced by *Micromonospora aurantiaca*. The concentration of MgCl<sub>2</sub> in the minimal essential broth containing 1% blue mutan was adjusted to 0.1, 0.4, 1.6, or 6.4mM. The broth was inoculated with  $2.3 \times 10^9$ /ml *Micromonospora aurantiaca*, and incubated at 37 °C for 1 and 2 weeks.

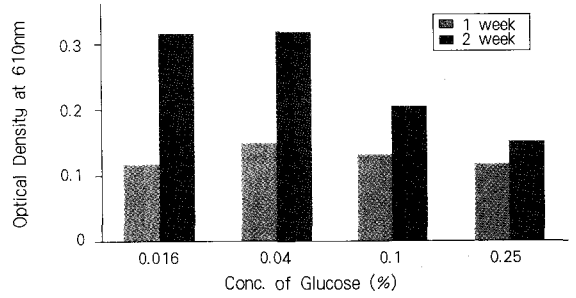


Fig. 6. Effect of glucose on the production of mutanase produced by *Micromonospora aurantiaca*. The concentration of glucose in the minimal essential broth containing 1% blue mutan was adjusted to 0.016, 0.04, 0.1, or 0.25%. The broth was inoculated with  $2.3 \times 10^9$ /ml *Micromonospora aurantiaca*, and incubated at 37 °C for 1 and 2 weeks.

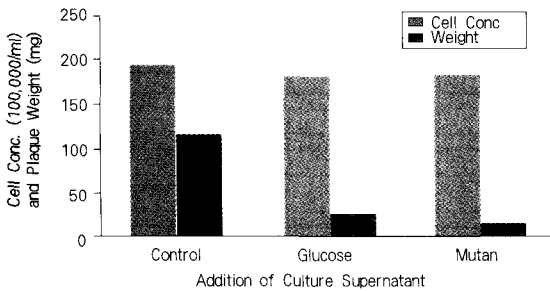


Fig. 7. Effect of the culture supernatant of *Micromonospora aurantiaca* on the replication of *Streptococcus mutans* and the formation of artificial plaque on the orthodontic wires. The culture supernatant of *Streptococcus mutans* in the RL broth containing 1% glucose (Glucose) or 0.5% mutan (Mutan) was mixed with  $2 \times$  BHIYS broth, inoculated with *Streptococcus mutans*, and incubated with 0.016 inch stainless steel wires. The media in the beaker was stirred at 37°C for 5 hrs. The viable cells of culture supernatant were counted and the formed plaque on the wire was measured. The result was the mean of triplicate cultures.

#### IV. 총괄 및 고찰

치아우식증은 치태에 세균이 증식함으로 발생하게 된다. 치태를 생성하는 주원인균은 *Streptococcus mutans*로서<sup>17)</sup> 8개의 혈청형(a-h)으로 나뉘고 이 중에서 혈청형 c가 전세계적으로 가장 많이 분리되고 있다<sup>16)</sup>. *Streptococcus mutans*는 자당에서 glucan을 합성하고, 이는 치면에 치태를 부착시키고 *Streptococcus mutans*를 응집시키는 역할을 한다<sup>17-19)</sup>. 특히 이들 중 비수용성 glucan인 mutan은 치아표면에 *Streptococcus mutans* 외에 다른 세균들의 증식을 촉진시키며, 수용성 glucan인 dextran과 fructan은 세균의 세포의 에너지 공급원이 되고 있다. 세포의 glucan은 *Streptococcus mutans* 외에도 다른 *Streptococcus species*, *Lactobacillus species*와 같은 구강세균에 의해 형성되는데, 이들 세균이 치아 표면에 부착하여 치태를 형성하는데 기여하고 있다<sup>20-23)</sup>.

이제까지 치아우식증의 발생을 억제하고자 하는 노력이 계속되어져 왔다. 치아의 내산성을 높이거나<sup>24)</sup> 자당의 섭취를 제한하는 등의 방법을 사용하면 치아우식증의 발생을 억제할 수 있으나 이는 쉽지 않은 문제이다. 치아우식증을 일으키는 세균의 수를 감소시켜 그 발생을 예방하기 위해 항균제를 이용하려는 노력도 계속 있어 왔다<sup>25)</sup>. 국민의 복지

와 건강에 대한 관심이 증대되면서 기존의 방법을 이용한 구강 질환 예방방법보다 간편하고 효과적인 생물공업제품을 이용하는 방법이 개발 중에 있는데, mutanase와 같은 생체활성 물질이 그것이다. 사람의 치태세균 중 *Streptococcus mutans*가 만드는 glucan을 가수분해하는 효소를 생산하는 세균이 보고되었다<sup>11)</sup>. Fitzgerald 등<sup>12)</sup>과 Guggenheim 등<sup>15)</sup>은 동물실험에서 이러한 glucan 분해효소를 이용하여 치아우식증의 발생을 감소시킬 수 있었다고 보고하였다. 최근 국내에서는 송<sup>26)</sup>이 토양에서 분리한 *Streptomyces exfoliatus*가 분비하는 mutanase에 관한 연구를 보고한 바 있다. 이러한 mutanase는 다음과 같은 작용기전을 갖는다. 첫째로 mutan을 분해하며, 둘째로 mutan의 형성을 막고, 셋째로 mutan을 만드는 glucosyltransferase(GTF)의 작용에 영향을 미치며, 넷째로 *Streptococcus mutans*의 응괴를 감소시키며, 다섯째로 *in vitro*에서 *Streptococci*의 치면부착을 억제하고 있다<sup>14-15)</sup>.

본 논문에서 연구된 *Micromonospora aurantiaca*는 blue mutan을 함유한 액체배지에서 pH 7, 37°C 배양온도에서 blue mutan을 더 분해하였는데, 이는 이 조건에서 *Micromonospora aurantiaca*가 증식이 잘 되기 때문으로 사료된다. Blue mutan의 분해에 대한 이온들의 영향을 본 결과, KCl 2.5mM일 때 blue mutan이 잘 분해되었다. 배지에 포도당의 농도가 낮을수록 blue mutan의 분해정도가 증가한 것으로 보아 포도당 농도가 낮고 mutan이 있는 배지에서는 mutanase의 생성이 더 되지만 포도당 농도가 높아지면 세균이 영양분으로 사용되어 mutan을 분해하는 mutanase 생성은 억제된다는 것을 알 수 있다. 송<sup>26)</sup>의 연구결과에 따르면, 토양에서 분리된 *Streptomyces exfoliatus*가 분비하는 mutanase는 pH 7, 37°C 배양온도에서 mutan을 가장 잘 분해하였으며, CaCl<sub>2</sub>의 농도가 증가할수록, KCl의 농도가 10mM일 때 mutan의 분해정도가 가장 높았다. 토양에서 분리된 *Streptomyces exfoliatus*와 구강내에서 분리된 *Micromonospora aurantiaca* 세균이나 생성된 mutanase간의 성질에 있어서 차이가 있음을 알 수 있다.

치태 형성에 미치는 영향을 교정용 wire상에 형성되는 인공치태 무게로 검사하였을 때, mutan 0.5%를 첨가한 RL배지에 *Micromonospora aurantiaca*

를 배양한 상청액과 2×BHIYS broth를 합하여 *Streptococcus mutans*를 5시간 배양한 실험군에서는 대조군과 비교하여 *Streptococcus mutans*의 생균수는 비슷하였으나, 교정용 wire 상에 형성된 인공치태 무게는 대조군 113.7mg에 비교하여 15.1mg으로 유의성있게 인공치태 형성이 억제되었다. 즉 mutanase가 생성되어 인공치태 형성을 억제한다는 것을 알 수 있었다. 그러나 1% glucose를 첨가한 RL 배지에 *Micromonospora aurantiaca*를 배양한 상청액과 2×BHIYS broth를 합하여 배양할 때도 교정용 wire 상에 형성된 인공치태 무게는 26.2mg로 감소되었는데, 이는 *Streptococcus mutans* 배양액에 0.5%의 포도당이 들어가게 되면 *Micromonospora aurantiaca*의 mutanase 생성이 억제되는 것보다 *Streptococcus mutans*의 glucosyltransferase가 억제되어 mutan의 합성이 더 억제되는 것으로 추측된다.

치태 형성 억제에 *Micromonospora aurantiaca*가 분비하는 mutanase를 사용하기 위해서는 mutanase 유전자에 대한 연구와 gene cloning이 이루어져야 될 것으로 사료된다.

## V. 결 론

치아우식증의 발생에 있어 주된 역할을 하는 것은 치아표면의 치태이다. 이러한 치태내 기질의 주 성분은 mutan이며, *Streptococcus mutans*에 의해 주로 합성된다. 본 연구에서는 구강에서 분리된 *Micromonospora aurantiaca*의 mutan 분해능에 영향을 미치는 인자에 대해 알아 보고자 blue mutan을 이용한 실험을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Minimal essential broth의 pH가 7.0일 때가 pH 5.5나 8.5일 때보다 blue mutan이 잘 분해되었으며, 배양 온도가 37°C 때에 32°C나 42°C 때보다 잘 분해되었다. Minimal essential broth에서의 blue mutan의 분해는 CaCl<sub>2</sub> 농도가 1mM에서 16mM의 범위에서 비슷하였고, KCl 농도가 2.5mM일 때 증가하였으나, MgCl<sub>2</sub> 농도는 0.1mM에서 6.4mM의 범위에서 blue mutan의 분해정도가 비슷하였다. 포도당 농도가 낮을수록 blue mutan의 분해는 증가하였다. 포도당 1%나 0.5% mutan을 첨가한 RL배지에서 배양한 *Micromonospora aurantiaca* 배양 상청액을 2×BHIYS broth에 가한 경우 교정용 wire상에

서의 *Streptococcus mutans*에 의한 인공치태 형성이 유의성있게 억제되었다( $p < 0.05$ ).

이상의 결과를 종합하면 *Micromonospora aurantiaca*에서 생성되는 배양 상청액내의 mutanase가 인공치태 형성에 억제 작용이 있다는 것을 확인할 수 있었다.

### 참 고 문 헌

1. McDougall WA : Studies on the dental plaque, I. The histology of the dental plaque and its attachment. Aust Dent J 8:261-273, 1963.
2. McDougall WA : Studies on the dental plaque, II. The histology of the developing interproximal plaque. Aust Dent J 8:398-407, 1963.
3. Listgarten MA : Structure of surface coatings on teeth. A Review. J Periodontol 47:139-147, 1976.
4. Staat RH, Langley SD, Swenson JI : In vivo relationships of the dextran-degrading oral microbiota to *Streptococcus mutans* and caries experience. Caries Res 16:18-25, 1982.
5. Hull PS : Chemical inhibition of plaque. J Clin Periodontol 7:431-442, 1980.
6. Jorgensen EB, Kelstrup J : Enzymes as denture cleansers. Scand J Dent Res 85:209-215, 1977.
7. Poulsen S, Pedersen PH, Kelstrup J : Comparison of different measurements of development of plaque and gingivitis in man. Scand J Dent Res 87:178-183, 1979.
8. Kaster AG, Brown LR : Extracellular dextranase activity produced by human oral strains of the genus *Bifidobacterium*. Infect Immun 42:716-720, 1983.
9. Waksman SA, Rully HC, Johnston DB : Isolation of streptomycin-producing strains of *Streptomyces griseus*. J Bacteriol 52:393-397, 1946.
10. Staat RH, Schachtele CF : Characterization of a dextranase produced by an oral strain of *Actinomyces israelii*. Infect Immun 12:556-563, 1975.
11. Staat RH, Gawronski TH, Schachtele CF : Detection and preliminary studies on dextranase-producing microorganisms from human dental plaque. Infect Immun 8:1009-1016, 1973.
12. Fitzgerald RJ, Keyes PH, Stoudt TH, et al : The effects of a dextranase preparation on plaque and caries in hamster, a preliminary report. JADA 76:301-304, 1968.
13. Barrett JF, Barrett TA, Curtiss III R : Purification and partial characterization of the multicomponent dextranase complex of *Streptococcus sobrinus* and cloning of the dextranase gene. Infect Immun 55:792-802, 1987.
14. Takehara T, Inoue M, Morioka T, et al : Purification and properties of endo-alpha-1,3-glucanase from a *Streptomyces chartresis* strain. J Bacteriol 145:729-735, 1981.
15. Guggenheim B, Reglati B, Muhlemann HR : Caries and plaque inhibition by mutanase in rats. Caries Res 6:289-297, 1972.
16. Hamada S, Slade HD : Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev 44:331-384, 1980.
17. Fitzgerald RJ, Keyes PH : Demonstration of the etiologic role of *Streptococci* in experimental caries in the hamster. JADA 61:9-19, 1960.
18. Newbrun E : Polysaccharide synthesis in plaque. In: Proceedings, Microbial Aspects of Dental Caries, edited by Stiles HM, Loesche WJ, O'Brien TC. Washington: Information Retrieval, Inc., pp. 649-664, 1976.
19. Guggenheim B : Extracellular polysaccharides and microbial plaque. Int Dent J 20:657-678, 1970.
20. Dewar MG, Walker GJ : Metabolism of the polysaccharides of human dental plaque. Caries Res 9:21-35, 1975.
21. Gibbons RJ, van Houte J : Bacterial adherence in oral microbial ecology. Ann Rev Microbiol 29:19-44, 1975.
22. Gibbons RJ, Banghart SB : Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and its

- presence in human dental plaque. *Archs Oral Biol* 12:11-24, 1967.
23. Hammond BF : Dextran production by a human oral strain of *Lactobacillus casei*. *Archs Oral Biol* 14:879-890, 1969.
24. Zachrisson BU : Fluoride application procedures in orthodontic practice. *Current Concepts Angle Ortho* 45:72-81, 1975.
25. Hogg SD : Chemical control of plaque. *Dental Update* 17:330-333, 1990.
26. 송도원, 양규호, 정진 등 : *Streptomyces exfoliatus*가 생성하는 mutanase에 의한 인공치태 억제 작용. *대한소아치과학회지* 24:449-459, 1997.