

## Streptococcus sobrinus의 비수용성 글루칸 합성에 영향을 미치는 인자

정진·김신\*

부산대학교 치과대학 구강미생물학교실, 소아치과학교실\*

### 국문초록

치태의 형성은 이온, 효소, 영양물질, 화학물질 등과 같은 구강내 존재하는 다양한 물질들과 이들의 변화에 영향을 받는다. 본 연구에서는 치태형성에 중요한 역할을 하는 구강내 연쇄상구균인 *Streptococcus sobrinus*를 공시균으로, 비수용성 글루칸의 합성과 세균 증식에 미치는 여러 인자들의 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *Streptococcus sobrinus* 배양 배지의 pH가 7.0일 때 비수용성 글루칸이 가장 많이 합성 되었고, pH 5.5와 pH 8.5에서는 그 합성이 감소하였다. 세균 증식도 pH 7.0에서 가장 활발하였다.
2. 효모 추출물은 2.5%일 때 비수용성 글루칸의 합성과 세균증식이 모두 활발하였다. 자당의 경우 농도가 증가할수록 비수용성 글루칸의 합성은 감소하여 1.25%보다 20%에서 합성이 10배 정도 감소하였으나, 세균의 증식은 20배 정도 증가하였다.
3. 배지의 calcium chloride 농도가 1.0mM, potassium chloride 농도가 40mM, magnesium chloride 농도가 0.1mM 이었을 때 비수용성 글루칸의 합성이 가장 활발했으나, 세균의 증식에는 큰 영향을 미치지 않았다.
4. Sodium bicarbonate 10mM에서 비수용성 글루칸 합성과 세균의 증식이 모두 활발하였으며 100mM 이상에서는 모두 억제되었다. Tris 10mM에서 비수용성 글루칸 합성과 세균의 증식이 모두 억제되었으며 100mM 이상에서는 모두 증가되었다.
5. Sodium phosphate와 potassium phosphate는 10mM 이상에서 비수용성 글루칸 합성과 세균증식이 모두 억제되었다.

**주요어** : 비수용성 글루칸, 세균증식, 인자

### I. 서론

치의학의 발달에도 불구하고 여전히 발생하고 있는 치아우식증은 특히 어린이에 있어서 치아 상실을 일으키는 주된 질환이다. 치아우식증의 유발에 있어서 중요한 인자는 구강내 세균이 생성하는 치아균태, 즉 치태(dental plaque)이다. 치태는 세균과 비세포성 물질로 이루어져 있다<sup>1-3)</sup>. 비세포성 물질중에서 비수용성 글루칸은 구강내 세균이 분비하는 glucosyltransferase에 의해 자당으로부터 합성되는 포도당 다량체로 그 끈적끈적한 성질 때문에 *Streptococci* 뿐 아니라 부착능력이 없는 다른 세균의 부착이나 응괴를 도와 치태형성에 기여한다<sup>4-7)</sup>. 또한, 비수용성이므로 치태의 기본골격을 이루며 세균의 영양물질로도 작용한다<sup>8-11)</sup>.

Mutans streptococci 중 일부의 종은 무치악 상태에서는 불

수가 없고 치아가 맹출한 후에야 비로소 구강내 출현한다<sup>12)</sup>. 유아에 감염되는 mutans streptococci의 주요한 근원은 유아의 모친으로 생각되며 어머니의 구강내에 있는 *Streptococcus mutans*의 숫자를 감소시키면 유아의 구강내 *S. mutans*의 출현속도와 그 숫자를 감소시킬 수 있음이 보고된 바 있다<sup>13)</sup>. *S. mutans*는 산생성능과 치면 부착성이 높아 치아우식증 유발에 있어서 가장 중요한 균으로 널리 알려져 있으며<sup>10)</sup> 그의 치아우식증에 중요한 *Streptococci*로는 *Streptococcus sobrinus*가 있다<sup>14,15)</sup>. *S. sobrinus*는 다른 mutans streptococci보다 산생성능력이 뛰어나고 내산성이 *S. mutans*보다 우수하다고 보고되었다<sup>16,17)</sup>. 또, *S. sobrinus*는 실험동물에서 매우 높은 우식발생률을 나타냈음이 보고되었다<sup>18,19)</sup>. Lundgren<sup>15)</sup>은 치면에 *S. mutans*가 단독으로 존재할 때보다 *S. sobrinus*가 함께 존재할 때 우식 발생이 증가한다고 보고 하였으며, Gibbon 등<sup>20)</sup>은 *S. mutans*는 치면에 부착

\* 본 연구는 부산대학교 학술연구 조성비를 지원받아 수행되었음.

할 때 글루칸보다 타액성분이 더 중요한 역할을 하며, *Streptococcus sobrinus*는 타액보다 글루칸에 의존하여 치면에 부착한다고 보고하였다. 자당 소비량이 점점 증가하는 현대사회에 있어서 다양한 숙주의 치면에 글루칸이 존재하므로 *S. mutans*보다 *S. sobrinus*가 자연상태에서 더 넓은 범위의 숙주에 서식하여, 치아우식증 발생에 중요한 역할을 한다고 생각할 수 있다.

국민의 보건 의식이 향상됨에 따라 구강위생에 대한 관심도 점점 증가하고 있다. 이와 함께 다양한 구강청정제, 치태억제 치약 등 약품 뿐 아니라 구강내 유해세균의 숫자를 감소시키고, 치태형성을 억제하는 식품에 대해서도 연구가 이루어지고 있다<sup>21-25)</sup>. 일상적으로 섭취하는 음식과 구강위생을 위해 사용하는 약품에 들어있는 성분들은 구강내 환경과 어우러져 세균의 성장을 증가 또는 억제시키고 우식활성에 영향을 미치게 된다. 따라서, 구강이나 식품 또는 약품에 존재하는 이온이나 완충액이 비수용성 글루칸 합성에 미치는 영향을 관찰하는 것이 치태형성과 우식증 발생을 이해하는 데 필요하다고 생각되었다.

본 연구에서는 치아우식증 유발에 중요한 *Streptococcus sobrinus*를 공시균으로 하여 교정용 wire 상의 비수용성 글루칸 형성에 영향을 미치는 인자들에 대해 살펴 보았다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 공시세균 및 배양

본 연구에서는 *Streptococcus sobrinus* B13을 공시하였으며, 배양은 동결건조로 보관중인 세균을 Brain heart infusion (BHI, Difco, Detroit, MI, U.S.A.) broth에 접종하여 37°C, 5% 탄산가스 배양기에서 18시간 배양하였다.

### 2. pH가 비수용성 글루칸 합성에 미치는 영향

0.5% 효모추출물과 5% 자당을 첨가한 BHI broth를 각각 pH 5.5, 7, 8.5로 조절하여 비커에 40ml씩 준비한 후  $2 \times 10^8$  CFU의 공시균을 접종하고 0.016 inch stainless steel 재질의 교정용 wire (ORMCO, Glendora, CA, U.S.A.)를 3개씩 비커에 매달아 배지를 흔들면서 24시간 배양하여 wire상에 형성된 비수용성 글루칸의 무게를 평균하였다. 세균증식에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 각 pH의 배지 5ml에 공시균을 접종하여 동일 조건으로 배양한 후 세균 배양액을 얻었다. 이 배양액을 희석하여 BHI agar상에 도말하여 37°C 탄산가스 배양기에서 48시간 배양한 후 생균수를 산정하였다.

### 3. 효모 추출물과 자당이 비수용성 글루칸 합성에 미치는 영향

BHI broth에 효모 추출물을 0.1%, 0.5%, 2.5%가 되도록 조절하고, 자당은 1.25%, 5%, 10%, 20%가 되도록 조절하여 비커에 40ml씩 준비한 후 상기와 같은 방법으로 비수용성 글루칸의 무게와 생균수를 측정하였다.

### 4. Ca, K, Mg 이온 농도가 비수용성 글루칸 합성에 미치는 영향

0.5% 효모 추출물과 5% 자당을 첨가한 BHI broth에 calcium chloride 농도를 각각 0.25, 1.0, 4.0, 16.0mM, potassium chloride 농도를 각각 2.5, 10, 40, 160mM, magnesium chloride 농도를 각각 0.1, 0.4, 1.6, 6.4mM로 조절하여 상기와 같은 방법으로 비수용성 글루칸의 무게와 생균수를 측정하였다.

### 5. Sodium bicarbonate, Tris, sodium phosphate, potassium phosphate 완충액이 비수용성 글루칸 합성에 미치는 영향

0.5% 효모 추출물과 5% 자당을 첨가한 BHI broth가 1mM, 10mM, 100mM, 1M 완충액 (pH 7.4)이 되도록 sodium bicarbonate, sodium phosphate, potassium phosphate (Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.)를 첨가하고 0.1mM, 1mM, 10mM, 100mM Tris 완충액 (pH 7.4, Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.)이 되도록 Tris를 첨가하였다. 완충액을 첨가하지 않은 대조군과 함께,  $2 \times 10^8$ 개의 공시균을 접종하고 상기와 같은 방법으로 비수용성 글루칸의 무게와 생균수를 측정하였다.

## III. 연구 성적

### 1. pH가 비수용성 글루칸 합성에 미치는 영향

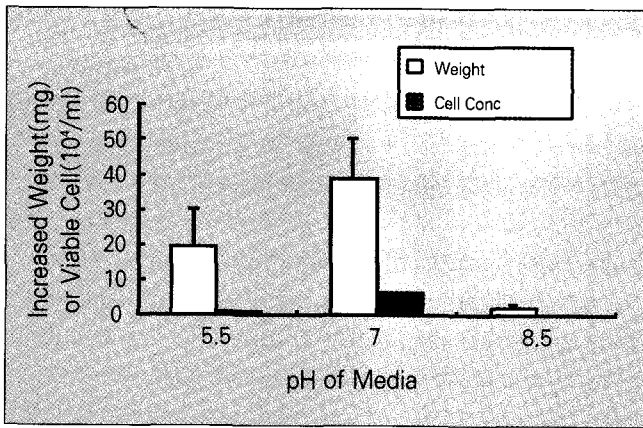
*Streptococcus sobrinus*를 pH 7.0으로 조절된 배지에 접종한 군에서 pH 5.5나 pH 8.5보다 많은 양의 비수용성 글루칸이 합성되었고 세균 증식도 활발한 반면, pH 8.5에서는 비수용성 글루칸이 거의 합성되지 않았으며 세균 증식도 크게 억제되었다 (Fig. 1).

### 2. 효모 추출물과 자당이 비수용성 글루칸 합성에 미치는 영향

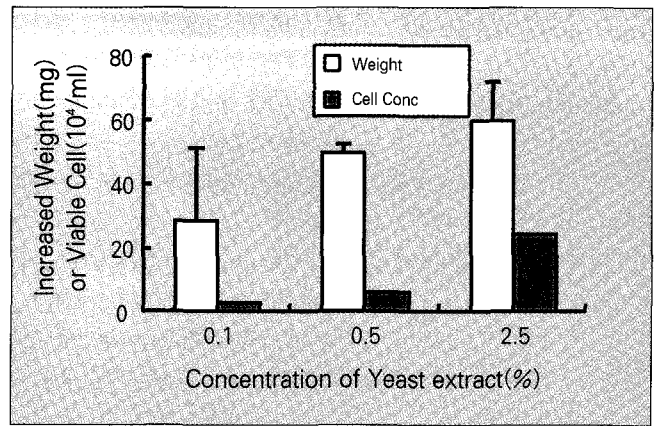
0.1%, 0.5%, 2.5% 중 2.5% 효모 추출물을 첨가한 배지에서 *S. sobrinus*에 의한 비수용성 글루칸의 합성이 가장 많았으며 세균 증식도 가장 활발하였다 (Fig. 2). 자당의 경우 농도가 증가할수록 비수용성 글루칸의 합성이 감소되어 20%에서는 거의 합성이 되지 않은 반면 세균 증식은 자당의 농도가 증가할수록 활발하여 20%에서 가장 많은 생균수를 보였다 (Fig. 3).

### 3. Ca, K, Mg 이온 농도가 비수용성 글루칸 합성에 미치는 영향

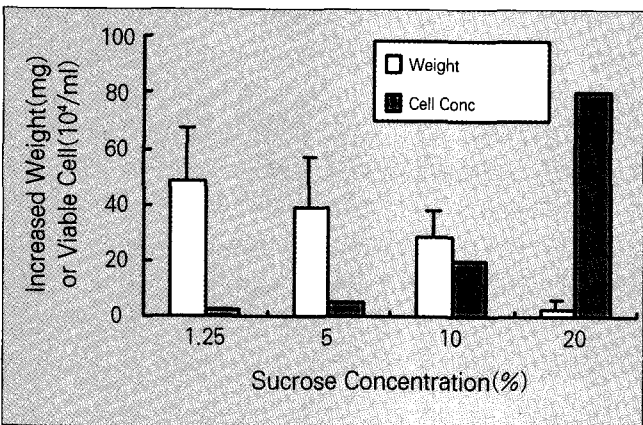
배지의 calcium chloride 농도가 1.0mM (Fig. 4), potassium chloride 농도가 40mM (Fig. 5), magnesium chloride 농도가 0.1mM (Fig. 6)이었을 때 비수용성 글루칸 합성이 가장 활발하였으며, 세균 증식에 있어서 calcium chloride와



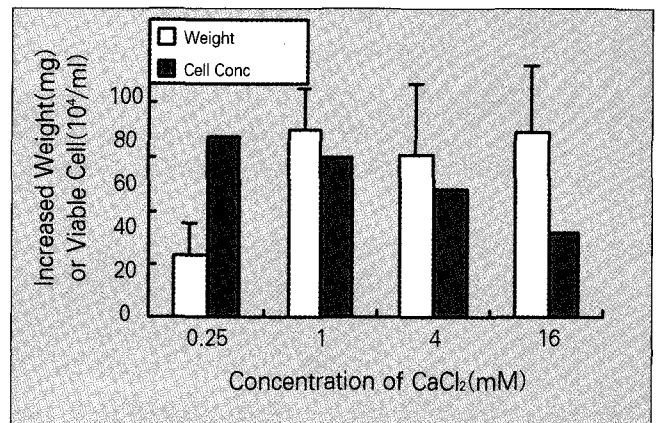
**Fig. 1.** The effect of pH on the formation of insoluble glucan and the cell concentration of *S. sobrinus*. The production of insoluble glucan and the viable cells were maximum in the media initially adjusted at pH 7.0.



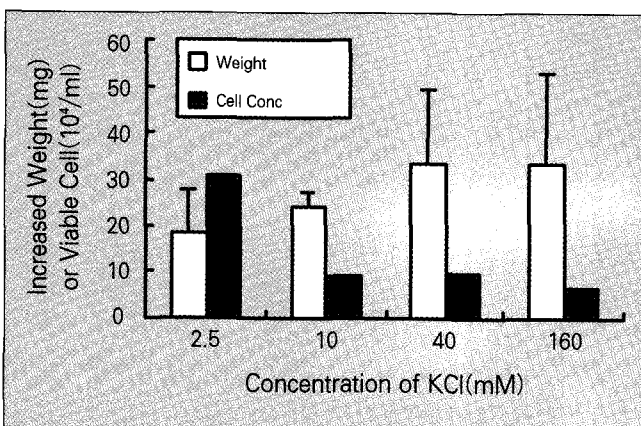
**Fig. 2.** The effect of yeast extract on the formation of insoluble glucan and the cell concentration of *S. sobrinus*. The production of insoluble glucan and the viable cells were maximum at 2.5% of yeast extract in the media.



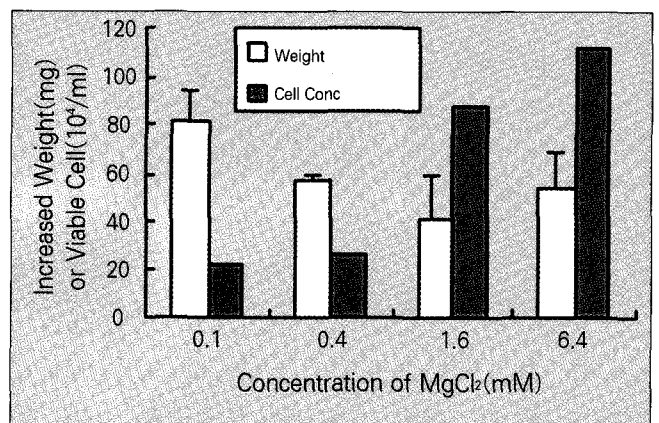
**Fig. 3.** The effect of sucrose on the formation of insoluble glucan and the cell concentration of *S. sobrinus*. The production of insoluble glucan was reduced while the viable cells were increased at 20% of sucrose in the media.



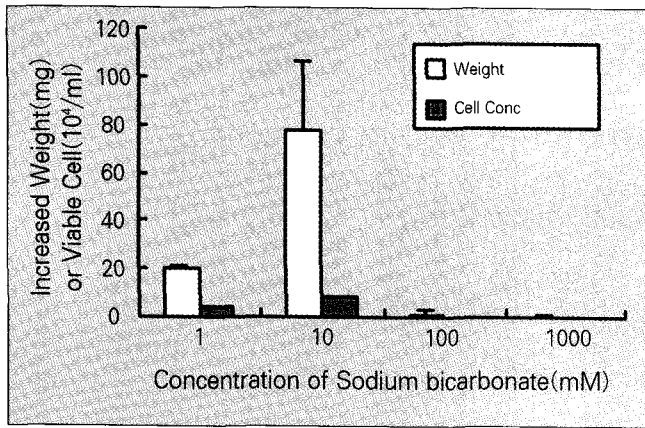
**Fig. 4.** The effect of calcium chloride concentration on the formation of insoluble glucan and the cell concentration of *S. sobrinus*. The production of insoluble glucan was high at 1.0mM of calcium chloride in the media. The viability of *S. sobrinus* was not influenced according to the concentration of calcium chloride.



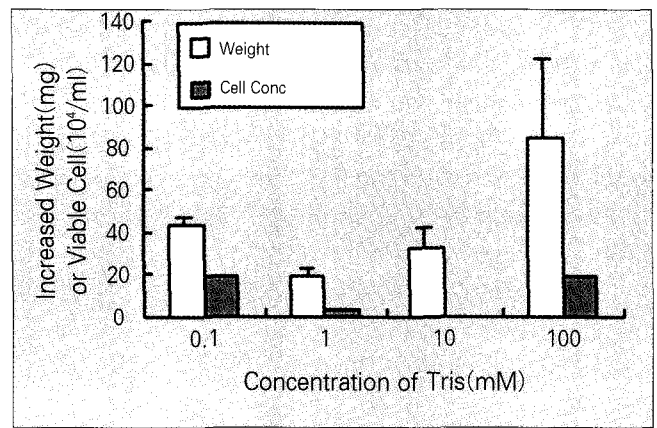
**Fig. 5.** The effect of potassium chloride concentration on the formation of insoluble glucan and the cell concentration of *S. sobrinus*. The production of insoluble glucan was high at 40mM of potassium chloride in the media. The viability of *S. sobrinus* was not influenced according to the concentration of potassium chloride.



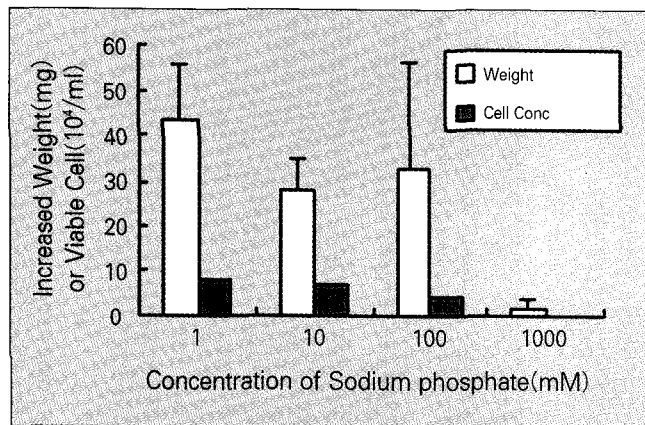
**Fig. 6.** The effect of magnesium chloride concentration on the formation of insoluble glucan and the cell concentration of *S. sobrinus*. The production of insoluble glucan was high at 0.1 mM of magnesium chloride but the viability of *S. sobrinus* was high at 6.4 mM of magnesium chloride in the media.



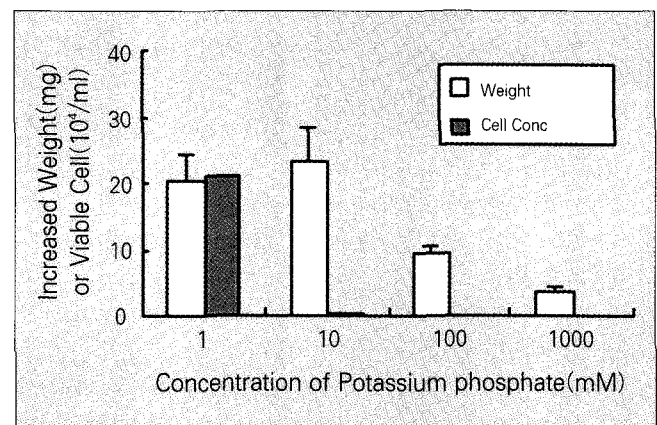
**Fig. 7.** The effect of sodium bicarbonate buffer on the formation of insoluble glucan and the cell concentration of *S. sobrinus*. The production of insoluble glucan and the viability of *S. sobrinus* were high at 10mM, but both are markedly reduced above 100mM in the media.



**Fig. 8.** The effect of Tris buffer on the formation of insoluble glucan and the cell concentration of *S. sobrinus*. The production of insoluble glucan and the viability of *S. sobrinus* were high at 100 mM in the media.



**Fig. 9.** The effect of sodium phosphate buffer on the formation of insoluble glucan and the cell concentration of *S. sobrinus*. The production of insoluble glucan was high at 1mM in the media. The viability of *S. sobrinus* was decreased according to increase of Tris concentration in the media.



**Fig. 10.** The effect of potassium phosphate buffer on the formation of insoluble glucan and the cell concentration of *S. sobrinus*. The production of insoluble glucan was high at 10mM in the media. The viability of was decreased according to the increase of potassium phosphate concentration in the media.

potassium chloride은 농도 변화에 따라 거의 영향을 미치지 않았다. magnesium chloride의 경우 농도가 증가할수록 세균 증식이 활발하여 6.4mM에서 가장 많은 생균수를 보였다.

**4. Sodium bicarbonate 완충액과 Tris 완충액이 비수용성 글루칸 합성에 미치는 영향**

배지의 sodium bicarbonate 농도가 100mM 이상에서는 *S. sobrinus*의 증식이 완전히 억제되었으며, 비수용성 글루칸도 거의 합성되지 않았다(Fig. 7). 배지의 Tris 농도가 100mM이었을 때 비수용성 글루칸의 합성과 세균 증식이 가장 활발하였다(Fig. 8).

**5. Sodium phosphate 완충액과 potassium phosphate 완충액이 비수용성 글루칸 합성에 미치는 영향**

배지의 sodium phosphate 농도가 1mM(Fig. 9), potassium phosphate 농도가 10mM(Fig. 10)이었을 때 비수용성 글루칸의 합성이 가장 많았으며 sodium phosphate와 potassium phosphate 농도가 증가할수록 세균 증식은 억제되었으며 100mM 이상에서는 현저히 억제되었다.

**IV. 총괄 및 고안**

*Streptococcus mutans*군에는 8개의 혈청형이 알려져 있다<sup>26)</sup>. 사람을 일차숙주로 하여 혈청형 c, e, f를 가진 경우 *S. mutans*로 분류되고, 혈청형 d, g를 가진 경우 *S. sobrinus*로 분류된다<sup>27,28)</sup>. 치아우식증과 관련하여 가장 잘 알려진 *Streptococci*는 *S.*

*mutans*와 *S. sobrinus*이다. Hamada 등은 *S. sobrinus*와 *S. mutans*를 백서에 감염시켰을 경우 *S. sobrinus* 감염군에서 더 높은 우식지수를 나타냈음을 보고 하였다<sup>29,30</sup>. Lundgren 등<sup>15,31</sup>은 *S. mutans*가 치면에 단독으로 존재할 때보다 *S. sobrinus*가 *S. mutans*와 동시에 존재할 때 치근면 우식지수가 증가함을 보고하였다. Westergren 등<sup>32</sup>은 in vitro에서 계대배양하였을 경우 *S. mutans*는 부착성을 잃은 반면 *S. sobrinus*는 오랫동안 계대배양 하여도 부착성을 유지하여 높은 독성을 나타냈다고 보고하였다. Gibbon 등<sup>33</sup>은 *S. mutans*는 타액성분과 결합하는 adhesin을 갖는 반면, *S. sobrinus*는 glucan과 결합하는 adhesin을 갖는다는 것을 실험을 통해 제안하였다. 이는 자당과 자당을 함유한 식품을 소비하는 숙주의 치면에는 글루칸이 존재하므로 *S. sobrinus*가 *S. mutans*보다 더 다양하고 넓은 범위의 숙주에 부착하여 서식한다는 것과 자당 소비량이 증가하는 현대사회에서 글루칸과 결합하는 부착능력을 가진 *S. sobrinus*가 치태 형성과 치아우식증에 중요한 역할을 할 것이라는 것을 암시한다.

치태는 치아우식증 뿐 아니라 치주 질환의 주요 원인인자이다<sup>4,6,34,35</sup>. 치태는 세균과 비세포성물질로 구성되어 있다<sup>1-3</sup>. 비세포성 물질중 글루칸은 우식원성 연쇄상구균의 에너지 원일 뿐 아니라 세균의 치면부착과 응괴를 도와주어 세균의 성장 및 증식에 유리한 환경을 제공한다<sup>8-11</sup>. Toda 등<sup>36</sup>은 글루칸이 한 가닥의 fibril로 구성된 수용성 글루칸과 두가닥의 fibril로 구성된 비수용성 글루칸으로 이루어졌음을 전자현미경으로 관찰하였다. 구강내 세균에 의해 생산되는 glucosyltransferase는 포도당을 연결하여 거대한 다량체인 글루칸을 합성하는데 비수용성 글루칸은 포도당이  $\alpha$ -1,3으로 결합되어 비수용성을 가진다<sup>4,6</sup>. 비수용성 글루칸은 물에 녹지 않는 성질 때문에 치태의 골격으로 작용함으로써 치태형성에 기여하는 중요한 인자로 작용하게 된다. 따라서 glucosyltransferase를 생산하는 세균의 수를 감소시키거나 이 효소의 활성을 억제시킨다면 치태형성이 억제되므로 *S. sobrinus*의 비수용성 글루칸 합성에 영향을 미치는 인자들을 세균증식과 관련하여 관찰하였다.

본 연구에서는 pH가 비수용성 글루칸 합성에 미치는 영향을 관찰하였는데, pH 5.5와 pH 8.5에서는 합성이 잘 되지 않았다. 초기 pH가 5.5인 경우는 산성 환경에서 세균의 성장이 억제되고 성장하면서 내는 각종 부산물에 의해 배지내 환경이 더욱 산성이 되어서 GTF의 활성이 저하되어 비수용성 글루칸의 합성이 억제되는 것으로 생각된다. pH 8.5에서는 pH 5.5에 비해 비수용성 글루칸 합성과 세균 증식이 크게 억제되었는데, 이는 산을 좋아하는 *S. sobrinus*의 성장이 알칼리성 환경에 의해 억제되며 GTF 활성도 크게 저하되었기 때문으로 사료된다. pH 7.0에서는 *S. sobrinus*의 성장이 비교적 원활하게 이루어지며 세균이 증식하면서 생산하는 유기산 등의 대사산물에 의해 pH가 산성으로 바뀌면서 GTF의 활성 pH에 도달하기 때문에 비수용성 글루칸이 잘 합성된 것으로 생각된다. 효모 추출물의 영향은 농도가 증가할수록 비수용성 글루칸의 합성과 세균의 증식이 증가하여 2.5% 농도에서 가장 높은 값을 나타내었다. 자당은 가장 낮은 농도인 1.25%에서 가장 많은 양의 비수용성

글루칸의 합성을 보였으나 20%에서는 비수용성 글루칸이 거의 합성되지 않았는데, 이는 고농도의 자당은 오히려 glucosyltransferase를 억제하는 것으로 생각된다. 반면, 세균의 증식은 자당의 농도가 증가할수록 활발하여 20%에서 가장 높은 세균 수를 보였다. 이는 세균의 증식과 비수용성 글루칸의 합성이 반드시 비례하지 않음을 나타낸다. 이온의 영향을 살펴본 결과, Calcium 이온이 1.0mM 이상일 때 0.25mM 보다 비수용성 글루칸의 합성이 3배 정도 증가하였는데, 이는  $Ca^{2+}$ 이 glucosyltransferase의 활성을 올린다는 Miller<sup>37</sup>의 보고와 일치하였다. Magnesium 이온은 0.1mM에서 가장 많은 양의 비수용성 글루칸 합성을 보였고 농도 증가시 오히려 비수용성 글루칸의 합성이 감소하였다. 이는 적은 농도의  $Mg^{2+}$ 이 glucosyltransferase의 활성을 증가시키는 것으로 사료되며,  $Mg^{2+}$ 이 *S. mutans*의 glucosyltransferase의 활성은 증가시키나 *S. sobrinus*의 glucosyltransferase에는 영향을 주지 않는다는 보고와는 대조적이었다<sup>38</sup>.

최근에는 구강위생에 대한 관심이 높아지면서 건강한 치아와 청결한 구강을 갖기 위해 여러가지 물질들이 개발되고 있는데, 이들 물질을 식품 및 약품으로 제조하는 과정에서 완충물질을 첨가하게 된다. 구강에서 가장 중요한 완충액은 bicarbonate 완충액이다<sup>39</sup>. 약하선에서 분비되는 타액의 bicarbonate 이온 ( $HCO_3^-$ )의 농도는 자극이 되지 않은 상태에서 2.2mM이고 자극이 되면 35.3mM이 된다. 본 실험에서 sodium bicarbonate 완충액의 농도가 10mM 일 때 가장 많은 비수용성 글루칸의 합성을 보였고 100mM 이상에서는 세균의 증식과 비수용성 글루칸의 합성이 모두 억제되었다. 이는 타액내의 bicarbonate 완충액의 농도가 *S. sobrinus*의 증식과 비수용성 글루칸의 합성에 대해 비교적 좋은 조건이라는 것을 의미한다. Tris 완충액의 경우 40mM의 농도에서 maltase 와 glucoamylase의 활성을 완전히 억제하며<sup>40</sup>, glucosyltransferase의 활성도 억제한다고 보고되었다<sup>37</sup>. 본 실험의 결과 1mM에서 가장 낮은 양의 비수용성 글루칸 합성을 보여 glucosyltransferase의 활성을 억제하는 것으로 나타났으나, 10mM, 100mM에서는 비수용성 글루칸의 합성이 각각 2배, 4배로 증가하였다. Sodium phosphate와 potassium phosphate의 경우 1mM 이상에서 비수용성 글루칸과 세균의 증식이 모두 억제되었다. 이는 약품에 완충물질을 첨가할 경우 phosphate 완충액을 사용하면 *S. sobrinus*의 증식과 비수용성 글루칸의 합성을 억제하는데 효과적임을 시사한다.

## V. 결 론

*Streptococcus sobrinus*를 공시균으로 하여 비수용성 글루칸의 합성과 세균 증식에 미치는 여러 인자들의 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *Streptococcus sobrinus* 배양 배지의 pH가 7.0일 때 비수용성 글루칸이 가장 많이 합성되었고, pH 5.5와 pH 8.5에

- 서는 그 합성이 감소하였다. 세균 증식도 pH 7.0에서 가장 활발하였다.
2. 효모 추출물은 2.5%일 때 비수용성 글루칸의 합성과 세균 증식이 모두 활발하였다. 자당의 경우 농도가 증가할수록 비수용성 글루칸의 합성은 감소하여 1.25%보다 20%에서 합성이 10배 정도 감소하였으나, 세균의 증식은 20배 정도 증가하였다.
  3. 배지의 calcium chloride 농도가 1.0mM, potassium chloride 농도가 40mM, magnesium chloride 농도가 0.1mM 이었을 때 비수용성 글루칸의 합성이 가장 활발하였으나, 세균의 증식에는 큰 영향을 미치지 않았다.
  4. Sodium bicarbonate 10mM에서 비수용성 글루칸 합성과 세균의 증식이 모두 활발하였으며 100mM 이상에서는 모두 억제되었다. Tris 10mM에서 비수용성 글루칸 합성과 세균의 증식이 모두 억제되었으며 100mM 이상에서는 모두 증가되었다.
  5. Sodium phosphate와 potassium phosphate는 10mM 이상에서 비수용성 글루칸 합성과 세균증식이 모두 억제되었다.

#### 참고문헌

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. Wenham DG, Davies RM, Cole JA : Insoluble glucan synthesis by mutansucrase as a determinant of the cariogenicity of *Streptococcus mutans*. J Gen Microbiol 127(Pt 2):407-415, 1981.
5. Inoue M, Koga T, Sato S, Hamada S : Synthesis of adherent insoluble glucan by the concerted action of the two glucosyltransferase components of *Streptococcus mutans*. FEBS Lett 143(1):101-104, 1982.
6. Shimamura A, Tsumori H, Mukasa H : Three kinds of extracellular glucosyltransferase from *Streptococcus mutans* 6715 (serotype g). FEBS Lett 157(1):79-84, 1983.
7. Rolla G, Scheie AA, Ciardi JE : Role of sucrose in plaque formation. Scand. J Dent Res 93:105-111, 1985.
8. Fitzgerald RJ, Jordan HV : Polysaccharide-producing bacteria and caries. pp. 79-86, 1968. In H.R. Harris (ed.), Art and science of dental caries research. Academic Press Inc., New York.
9. Guggenheim B : Extracellular polysaccharides and microbial plaque. Int Dent J 20:657-678, 1970.
10. Hamad S, Slade HD : Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev 44:331-384, 1980.
11. Tsumori H, Mukasa H, Zinnak Y : Synthesis of glucan on the cell surface of *Streptococcus mutans* : Chemical and scanning electron microscopic studies. Microbiol Immunol 26(8):677-688, 1982.
12. Berkowitz RJ, Jordan HV, White G : The early establishment of *Streptococcus mutans* in the mouths of infants. Arch Oral Biol 20(3):171-174, 1975.
13. Kohle B, Bratthal D, Krass B : Preventive measures in mothers influence the establishment of the bacterium *Streptococcus mutans* in their infants. Arch Oral Biol 28:225-231, 1983.
14. Kohle B, Krasse B : Human strains of mutans streptococci show different cariogenic potential in the hamster model. Oral Microbiol Immunol 5(4): 177-180, 1990.
15. Lundgren M, Emilson CG, Osterberg T : Root caries and some related factors in 88-year-old carriers and non-carriers of *Streptococcus sobrinus* in saliva. Caries Res 32(2): 93-99, 1998.
16. De Soet JJ, Toors FA, de Graaff J : Acidogenesis by oral streptococci at different pH values. Caries Res 23:14-17, 1989.
17. Kohler B, Birkhed d, Olsson S : Acid production by human strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. Caries Res 29:402-406, 1995.
18. Ooshima T, Sobue S, Hamada S, Kotani S : susceptibility of rats, hamsters, and mice to carious infection by *Streptococcus mutans* serotype c and d organisms. J Dent Res 60:855-859, 1981.
19. De Soet JJ, van Loveren C, Lamments AJ, et al : Differences in cariogenicity between fresh isolates of *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus mutans*. Caries Res 25:116-122, 1991.
20. Gibbon RJ, Cohen L, Hay DI : Strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* attach to different pellicle receptors. Infect Immun 52(2):555-561, 1986.
21. Namba T, Tsunozuka M, Hattori H : Dental caries prevention by traditional Chinese medicines. Planta

- Med 44:100-106, 1982.
22. Rosen S, Elvin-Lewis M, Beck FM, Beck EX : Anticariogenic effects of tea in rats. J Dent Res 63:658-660, 1984.
  23. Wolinsky LE, Sote OE : Isolation of natural plaque-inhibiting substances from 'Nigerian Chewing Sticks'. Caries Res 18(3):216-225, 1984.
  24. Kohda H, Kozai K, Nagasaka NY, et al. : Prevention of dental caries by oriental folk medicines: Active principles of *Zizyphi fructus* for inhibition of insoluble glucan formation by cariogenic bacterium *Streptococcus mutans*. Planta Med 2:119-120, 1986.
  25. Lobene RR, Soparkar PM, Newman MB : The effects of a sanguinaria dentifrice on plaque and gingivitis. Compend Cont Educ Dent 7(suppl):185-189, 1986.
  26. Slots J, Taubman MA: Characteristics of oral gram-positive species. : In contemporary oral microbiology and immunology. Mosby Year Book pp. 366-369, 1992.
  27. Coykendall AL, Bratthall D, O' Connor-K, Dvarskas RA : Serological and genetic examination of some nontypical *Streptococcus mutans* strains. Infect Immun 14(3):667-670, 1976.
  28. Coykendall AL : Proposal to elevate the subspecies of *Streptococcus mutans* to species status, based of their molecular composition. Int J Syst Bacteriol 27:26-30, 1977.
  29. Hamada S, Ooshima T, Torii M, et al. : Dental caries induction in experimental animals by clinical strains of *Streptococcus mutans* isolated from Japanese children. Microbiol Immunol 22:301-304, 1978.
  30. Michalek S, McGhee J, Navia J : Virulence of *Streptococcus mutans*: a sensitive method for evaluating cariogenicity in young gnotobiotic rats. Infect Immun 12:69-75, 1975.
  31. Hirose H, Hirose K, Isogai E, Ueda I: Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth surface caries increment. Caries Res 27:292-297, 1993.
  32. Westergren G, Olsson J : Hydrophobicity and adherence of oral streptococci after repeated subculture in vitro. Infect Immun 40:432-435, 1983.
  33. Gibbons RJ, Cohen L, Hay I : Strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* attach to different pellicle receptors. 52(2):555-561, 1986.
  34. Theilade E, Theilade J : Role of plaque in the etiology of periodontal disease and caries. Oral Sci Rev 9:23-63, 1976.
  35. Ratka -Krugger P, Schcher B, Raetzke P : Relation among oral hygiene, caries and gingivitis in 4- and 5-year old children in frankfurt/Main area. Oralprophylaxe 11(2):58-64, 1989.
  36. Toda Y, Moro I, Koga T, Asakawa H, Hamada S : Ultrastructure of extracellular polysaccharides produced by serotype c *Streptococcus mutans*. J Dent Res 66:1364-1369, 1987.
  37. Miller AW, Robyt JF : Inhibition of dextransucrase by  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ , and Tris(hydroxymethyl) aminomethane (Tris). Arch Biochem Biophys 248:579-586, 1986.
  38. Takada K, Fukushima K : Effects of certain salts on glucosyltransferase synthesis by *Streptococcus mutans* strain PS-14. J Dent Res 65(3):452-455, 1986.
  39. Birkhed D, Heintze U : Salivary secretion rate, buffer capacity, and pH. In: Tenovuo J, editor. Human saliva: clinical chemistry and microbiology. Vol I Boca Raton (FL): CRC Press, 25-73, 1989.
  40. Hollenbeck CB, Coulston AM, Quan R, et al. : Effects of a commercial starch blocker preparation on carbohydrate digestion and absorption: *in vivo* and *in vitro* studies. Am J Clin Nut 38:498-503, 1983.

Abstract

FACTORS INFLUENCING THE FORMATION OF INSOLUBLE  
GLUCAN BY STREPTOCOCCUS SOBRINUS

Jin Chung, Shin Kim\*

*Department of Oral Microbiology, Department of Pediatric Dentistry\*,  
College of Dentistry, Pusan National University*

There are various kinds of factors associated with the formation of dental plaque in oral cavity such as nutrient molecules and chemical agents. The factors influencing the formation of insoluble glucan by *Streptococcus sobrinus* and its replication were examined on orthodontic wires. The results were as follows:

1. Insoluble glucan was well produced in the media initially adjusted at pH 7.0 than pH 5.5 or pH 8.5 like bacterial replication.
2. The synthesis of insoluble glucan and bacterial replication were significantly increased in the media containing 2.5% yeast extract. The formation of insoluble glucan was inhibited by 10 folds in the media containing 20% of sucrose than 1.25%, but the replication of bacteria was increased by 20 folds.
3. Insoluble glucan was significantly formed at a concentration of 1.0mM of calcium chloride, 40mM of potassium chloride, 0.1mM of magnesium chloride, while the replication of bacteria was little influenced by them regardless their concentration.
4. The formation of insoluble glucan and bacterial replication were significant in the media containing 10mM of sodium bicarbonate, but both were completely inhibited at 100mM or above. The production of insoluble glucan and the bacterial replication were largely decreased at 10mM of Tris while insoluble glucan was formed in abundance at 100mM of Tris.
5. The synthesis of insoluble glucan and the bacterial replication were inhibited at 10mM or above of sodium phosphate and potassium phosphate.

**Key words** : *Streptococcus sobrinus*, Insoluble glucan, Bacterial replication, Factors