

Streptococcus mutans의 gtfD 유전자 발현에 대한 이온 및 완충액의 영향

김보영 · 김 신* · 정 진

부산대학교 치과대학 미생물학교실 및 구강생물공학 연구소, 소아치과학교실*

국문초록

글루칸 형성은 이온, 완충액 및 영양물질 등과 같은 구강 내 존재하는 물질과 이들의 변화에 영향을 받는다. 본 연구에서는 치아 우식증의 중요한 원인균인 *Streptococcus mutans*를 실험균으로 하여 수용성 글루칸 합성 효소인 GTFD 유전자의 발현에 대한 이온 및 완충액의 영향을 Fluorescent *in situ* hybridization 방법으로 관찰하여 다음의 결과를 얻었다.

1. CaCl₂ 농도가 1.0mM, KCl 농도가 2.5mM, MgCl₂의 농도가 0.4mM일 때 생균수가 가장 많았다.
2. 완충액의 경우 sodium bicarbonate 10mM, sodium phosphate 1mM, potassium phosphate 0.1mM에서 생균수가 가장 많았고, 3가지 완충액 모두 100mM 농도에서 생균수가 가장 적었다.
3. 자당이 함유되지 않은 BHI 배지에 비해 1% 자당을 첨가한 경우 *gtfD* 유전자의 mRNA 발현에 따른 녹색형광이 관찰되었다.
4. CaCl₂ 0.25mM 일 때 *gtfD* 유전자의 mRNA 발현에 따른 녹색형광이 대조군보다 강하였고, KCl의 경우 10mM 일 때 대조군과 유사한 녹색형광을 나타냈으나, 다른 농도에서는 거의 관찰되지 않았다. MgCl₂의 경우 각 농도에서 대조군보다 녹색형광이 약하게 나타났다.
5. Sodium bicarbonate, sodium phosphate 완충액의 경우 mRNA 발현에 따른 녹색형광이 각 농도에서 대조군과 유사하게 나타났으며, potassium phosphate 완충액의 경우 100mM에서 녹색형광을 거의 관찰할 수 없었다

주요어 : *Streptococcus mutans*, 글루칸, 이온, 완충액

1. 서 론

치아 우식증은 구강 내 연쇄상 구균에 의해 생성되는 산에 의해 치아 법랑질이 탈회되어 유발되는 것으로 치아 상실을 일으키는 주요 질환이다. 법랑질의 탈회가 일어나려면 구강 내 연쇄상 구균이 치아표면에 지속적으로 부착되어야 한다. 글루칸은 끈적끈적한 점성 때문에 치면의 세균 부착을 용이하게 할 뿐 아니라 세균의 에너지원으로도 작용하므로 더 많은 세균이 응집하여 증식함으로써 결국 치면세균막이라는 거대한 세균 집락이 형성된다. 글루칸은 수용성 글루칸과 비수용성 글루칸으로 나

누어지는데 구강 내 연쇄상 구균이 생산하는 glucosyltransferase(GTF)란 효소에 의해 자당으로부터 합성되는 포도당 다량체이다^{1,2)}. 수용성 글루칸은 치면세균막내로 쉽게 확산되어 치면세균막을 이루고 있는 세균의 에너지원으로 이용되는 반면 비수용성 글루칸은 물에 녹지 않는 성질 때문에 치면세균막의 골격으로 작용한다. 치아 우식증과 가장 밀접한 관련이 있는 *Streptococcus mutans*(이하 *S. mutans*)는 3종류의 GTF를 생산하는데 GTFB, GTFC 및 GTFD 이다. GTFB와 GTFC는 비수용성 글루칸을 합성하는 효소로 *gtfB* 및 *gtfC* 유전자의 산물이며, GTFD는 수용성 글루칸을 합성하는 효소로 *gtfD* 유전자 발현에 의해 만들어진다³⁻⁷⁾.

국민의 보건 의식이 올라감에 따라 구강위생에 대한 관심도 점점 증가하고 있다. 최근에는 치면세균막의 형성을 억제하는 물질이 함유된 치약은 물론 구강 내 유해세균의 숫자 감소 및 치면세균막 형성을 억제하는 껌이나 사탕 같은 식품에 대한 연구도 활발하게 이루어지고 있다⁸⁻¹⁰⁾. 우리가 섭취하는 음식과 구

교신저자 : 정 진

부산시 서구 아미동 1-10
부산대학교 치과대학 구강미생물학교실
Tel : 051-240-7815
E-mail : chung@pusan.ac.kr

강위생을 위해 사용하는 약품에 들어있는 성분들은 구강 내 환경에 영향을 미치고 그 결과 세균의 증식 및 우식 활성이 변하게 된다. 따라서, 본 실험에서는 치아 우식증의 원인균으로 알려진 *S. mutans*를 실험균으로 하여 이온과 완충액의 종류 및 각 농도가 수용성 글루칸 합성에 관여하는 유전자 발현에 미치는 영향을 Fluorescent *in situ* hybridization(FISH) 방법으로 관찰하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 세균 및 용액

S. mutans Ingbritt(serotype c)를 실험세균으로 사용하였고, calcium chloride(CaCl₂), potassium chloride(KCl), magnesium chloride(MgCl₂), sodium bicarbonate, sodium phosphate, potassium phosphate는 sigma사에서 구입하여 적정 농도로 제조한 후 0.45 μ m 구멍 크기의 여과지를 사용하여 멸균한 후 사용하였다.

2. 실험방법

1) 세균 배양

S. mutans Ingbritt(serotype c)를 brain heart infusion(BHI, Difco, Detroit, MI, USA) broth에 접종하여 37 $^{\circ}$ C 탄산가스 배양기에서 하룻밤 배양한 후 증식한 *S. mutans* Ingbritt를 동일 배지에 2회 연속 배양하여 활성화시킨 후 사용하였다.

2) 생균수 측정

최종농도가 CaCl₂ 0.25, 1, 4, 16mM, KCl 2.5, 10, 40, 160mM, MgCl₂ 0.1, 0.4, 1.6, 6.4mM이 되도록 각각을 BHI broth에 혼합하였고, 완충액의 경우 최종농도가 각각 0.1, 1, 10, 100mM 농도가 되도록 BHI broth에 혼합하였다. *S. mutans* Ingbritt를 접종하여 9시간 배양한 후 생리식염수를 이용하여 희석한 후 BHI 한천 배지에 도말하였다. 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 48시간 배양한 후 증식한 집락의 수를 산정하였다.

3) Oligonucleotide probe 제조

gtfD 유전자의 mRNA에 대한 oligonucleotide probe는 Fujiwara 등¹⁰⁾의 보고를 참고하여 제조하였다. 바이오니아(Bioneer co. Korea)에 합성을 의뢰하여 *gtfD*(GeneBank Acc. No.D88653) 유전자의 catalytic domain의 5' 말단부위의 염기서열에 상보적인 RT-D1164(5'-ataggctgtctatcgtctgttgcta-3')를 제조한 후 probe의 5' 말단에 fluorescein isothiocyanate(FITC)를 부착하였다. 제조된 형광 probe

는 적정농도로 멸균수에 희석하여 사용하기까지 -70 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

4) 세균 고정 및 전처리

1% 자당이 포함된 BHI broth(BHIS)에 *S. mutans* Ingbritt를 접종한 것을 대조군으로 하고, 각 농도의 이온과 완충액이 포함된 BHIS broth에 *S. mutans* Ingbritt를 접종한 것을 실험군으로 하였다. 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 9시간 배양한 후 3배 volume의 차가운 4% paraformaldehyde 용액을 첨가하여 4 $^{\circ}$ C에서 16시간 방치하여 고정시켰다. PBS로 3000rpm에서 10분간 세척한 후 얻은 침전물에 PBS와 에탄올이 동량으로 혼합된 용액 100 μ l를 첨가한 후 -20 $^{\circ}$ C에서 1시간 이상 방치하였다. 슬라이드 글래스 위에 20 μ l씩 점액하여 37 $^{\circ}$ C에서 2시간이 지난 후 50%, 80%, 100% 에탄올에 3분간 담구어 탈수시켰다.

5) Fluorescent In Situ Hybridization(FISH) 및 분석

슬라이드에 고정된 세포에 μ 당 10ng의 형광 probe가 함유된 hybridization 용액(0.9M sodium chloride, 0.01% sodium dodecyl sulfate(SDS), 5mM EDTA, 20mM Tris-HCl(pH7.2), 35% formamide)을 첨가하여 46 $^{\circ}$ C에서 2시간 반응시킨 후 세척액(180mM sodium chloride, 0.01% SDS, 5mM EDTA, 20mM Tris-HCl, pH7.2)으로 씻고 48 $^{\circ}$ C로 가온한 세척액에 20분간 담구고 멸균수로 씻은 후 건조하여 3시간 내에 공초점레이저 현미경(confocal laser scanning microscopy, Leica, Heidelberg, Germany)을 이용하여 형광강도를 분석하였다.

III. 연구 성적

1. Ca, K, Mg 이온 농도 및 완충액이 세균 증식에 미치는 영향

CaCl₂ 농도가 1.0mM, KCl 농도가 2.5mM, MgCl₂의 농도가 0.4mM일 때 생균수가 가장 많았다(Table 1). 완충액의 경우 sodium bicarbonate 10mM, sodium phosphate 1mM, potassium phosphate 0.1mM에서 생균수가 가장 많았고, 3가지 완충액 모두 100mM 농도에서 생균수가 가장 적었다(Table 2).

2. *gtfD* 유전자의 mRNA 발현에 따른 형광강도 변화

자당이 함유되지 않은 BHI 배지에서 증식한 *S. mutans* Ingbritt는 녹색형광을 나타내지 않았으나, 1% 자당이 함유된 BHI 배지에서 증식한 *S. mutans* Ingbritt에서는 녹색형광이 관찰되었다(Fig. 1). 이는 *S. mutans* Ingbritt의 *gtfD* 유전자의 mRNA가 1%의 자당이 함유된 배지에서 발현되고 있음을 나타낸다.

3. *gtfD* 유전자의 mRNA 발현에 따른 형광강도에 미치는 Ca, K, Mg 이온의 영향

gtfD 유전자의 mRNA의 발현을 FISH로 관찰한 결과 CaCl₂ 농도가 0.25mM 일 때 mRNA 발현에 따른 녹색형광이 강하게 나타났다(Fig. 2). KCl의 경우 10mM 일 때 대조군과 유사한 녹색형광을 나타냈으나, 다른 농도에서는 거의 관찰되지 않았다(Fig. 3). MgCl₂의 경우 각 농도에서 대조군보다 녹색형광이 약하게 나타났다(Fig. 4).

4. *gtfD* 유전자의 mRNA 발현에 따른 형광강도에 미치는 완충액의 영향

Sodium bicarbonate, Sodium phosphate 완충액의 경우 각 농도에서의 형광 강도가 대조군과 유사하게 나타났다(Fig. 5, 6). Potassium phosphate 완충액의 경우 100mM에서는 녹색형광을 거의 관찰할 수 없었다(Fig. 7).

Table 1. The effects of each solution on the multiplication of *S. mutans* Ingbritt

CaCl ₂ 농도	0.25mM	1mM	4mM	16mM
Viable cells (log ₁₀ cfu/ml)	7.35	7.88	7.37	6.81
KCl농도	2.5mM	10mM	40mM	160mM
Viable cells (log ₁₀ cfu/ml)	7.31	6.82	6.91	6.73
MgCl ₂ 농도	0.1mM	0.4mM	1.6mM	6.4mM
Viable cells (log ₁₀ cfu/ml)	6.98	7.29	6.51	6.98

Table 2. The effects of buffer solutions on the multiplication of *S. mutans* Ingbritt

완충액농도	Viable cells (log ₁₀ cfu/ml)		
	Sodium bicarbonate	Sodium phosphate	Potassium phosphate
0.1mM	6.93	6.94	7.50
1mM	6.92	7.26	7.23
10mM	7.14	6.97	7.04
100mM	4.90	5.83	6.86

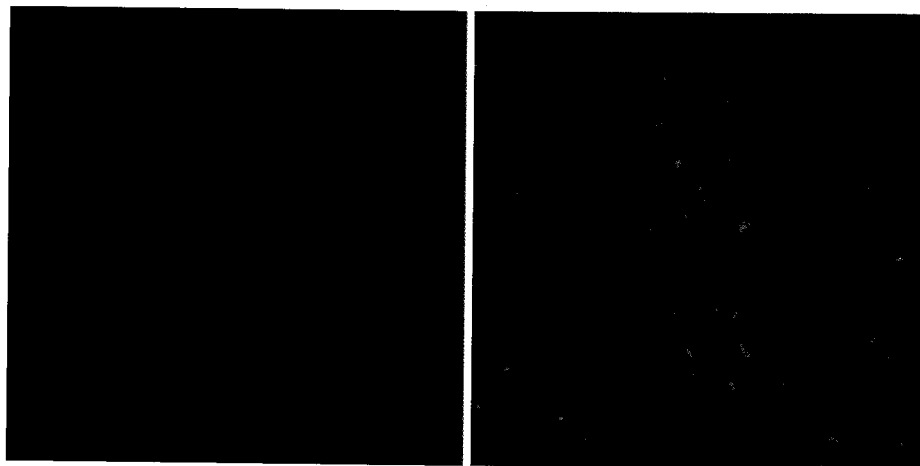


Fig. 1. Epifluorescence micrographs of *S. mutans* Ingbritt cultured in BHI (left) and BHIS (right) after *in situ* hybridization with FITC-labeled probe D1164 specific to mRNA of *gtfD* gene.

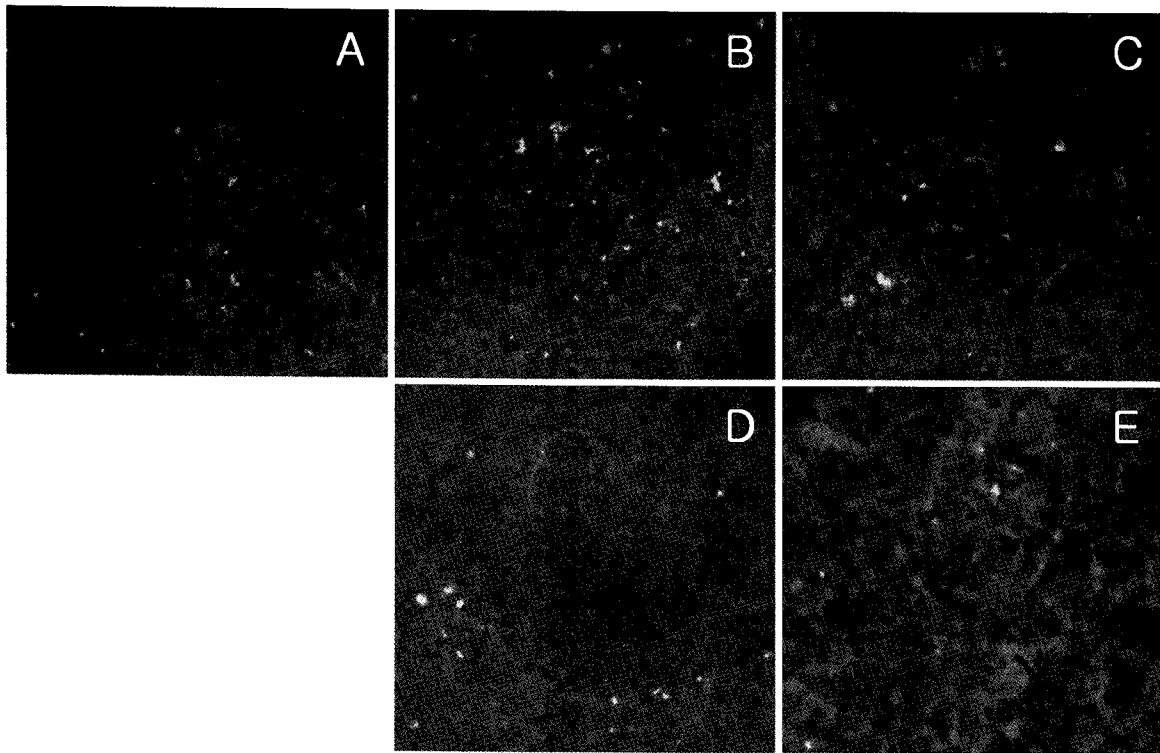


Fig. 2. Epifluorescence micrographs of *S. mutans* Ingbritt cultured in BHIS containing each concentration of CaCl_2 after *in situ* hybridization with FITC-labeled probe D1164 specific to mRNA of *gtfD* gene. A, 0mM; B, 0.25mM; C, 1mM; D, 4mM; E, 16mM.

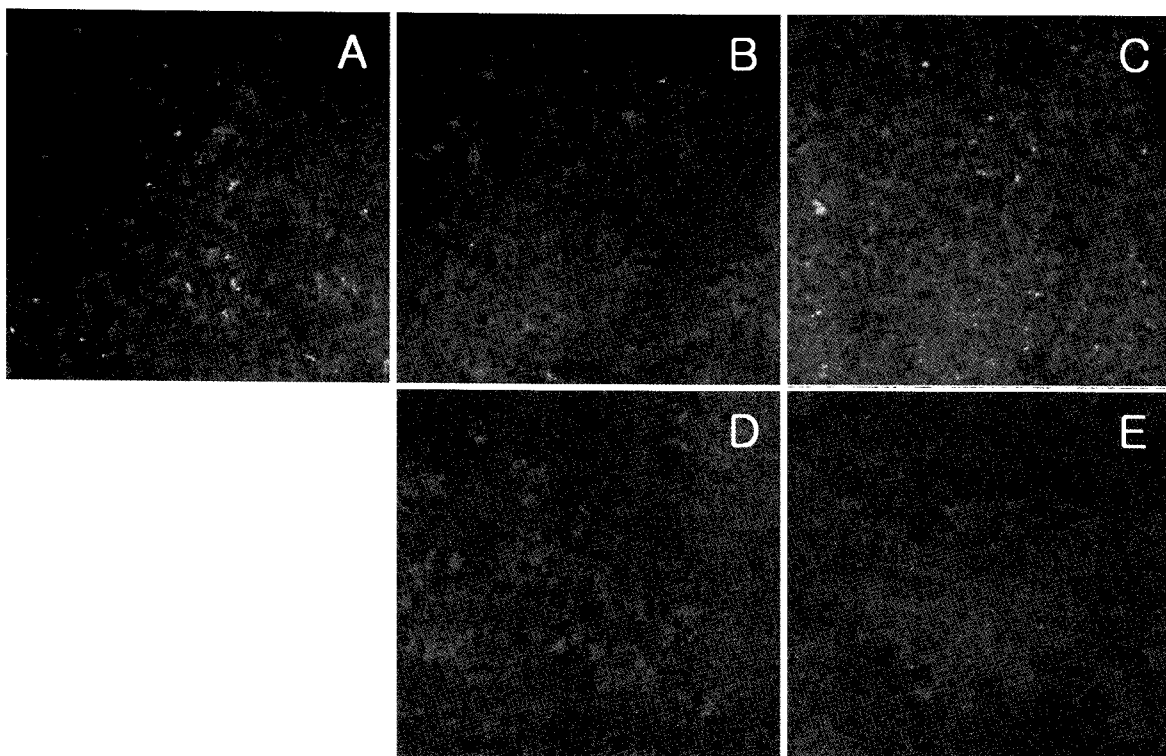


Fig. 3. Epifluorescence micrographs of *S. mutans* Ingbritt cultured in BHIS containing each concentration of KCl after *in situ* hybridization with FITC-labeled probe D1164 specific to mRNA of *gtfD* gene. A, 0mM; B, 2.5mM; C, 10mM; D, 40mM; E, 160mM.

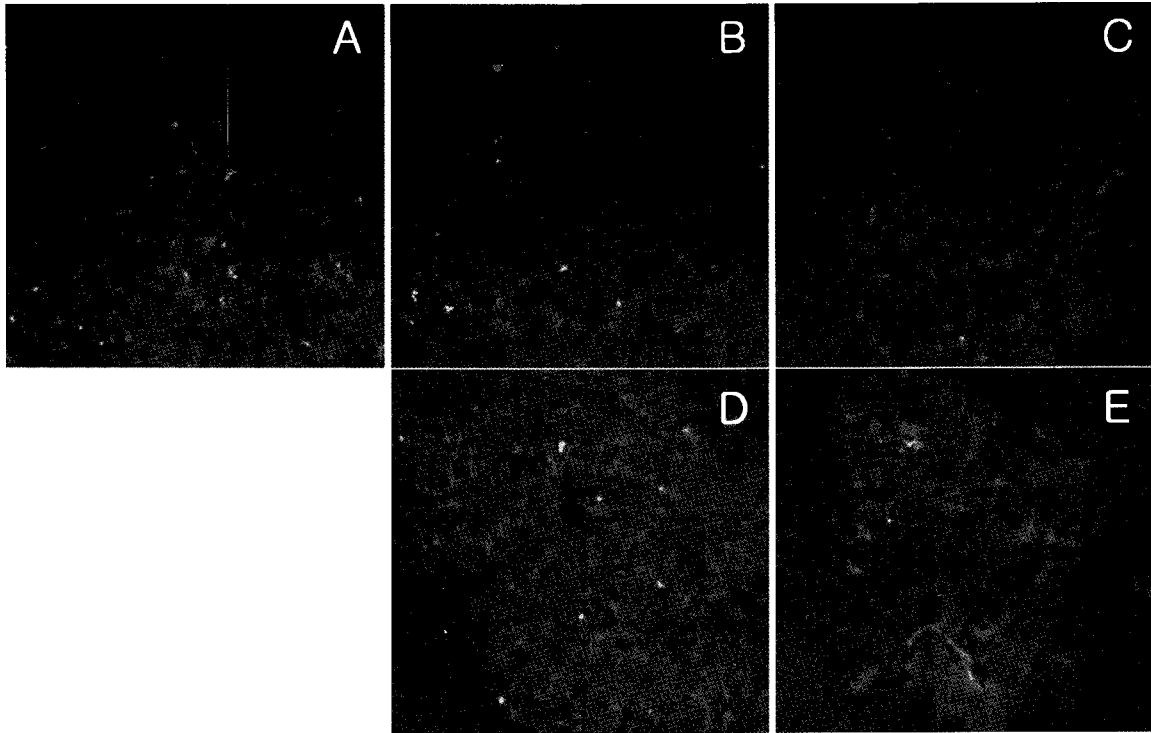


Fig. 4. Epifluorescence micrographs of *S. mutans* Ingbrit cultured in BHIS containing each concentration of MgCl₂ after *in situ* hybridization with FITC-labeled probe D1164 specific to mRNA of *gtfD* gene. A, 0mM; B, 0.1mM; C, 0.4mM; D, 1.6mM; E, 6.4mM.

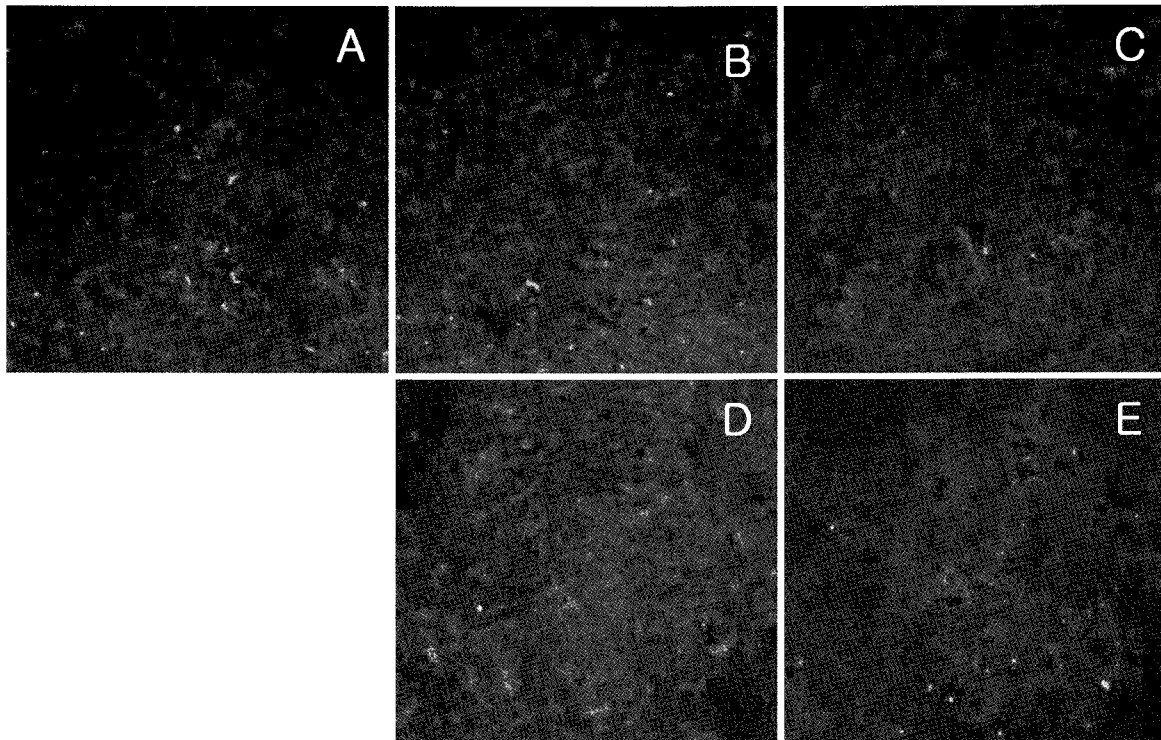


Fig. 5. Epifluorescence micrographs of *S. mutans* Ingbrit cultured in BHIS containing each concentration of sodium bicarbonate after *in situ* hybridization with FITC-labeled probe D1164 specific to mRNA of *gtfD* gene. A, 0mM; B, 0.1mM; C, 1mM; D, 10mM; E, 100mM.

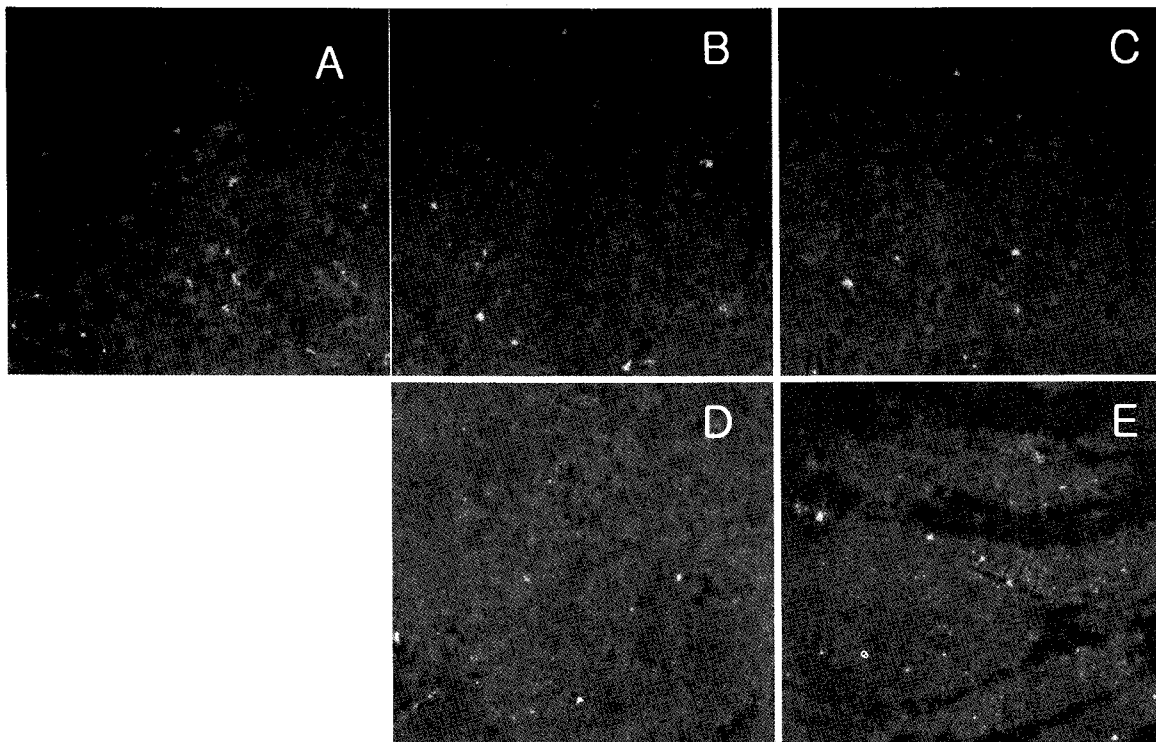


Fig. 6. Epifluorescence micrographs of *S. mutans* Ingbritt cultured in BHS containing each concentration of sodium phosphate after *in situ* hybridization with FITC-labeled probe D1164 specific to mRNA of *gtD* gene. A, 0mM; B, 0.1mM; C, 1mM; D, 10mM; E, 100mM.

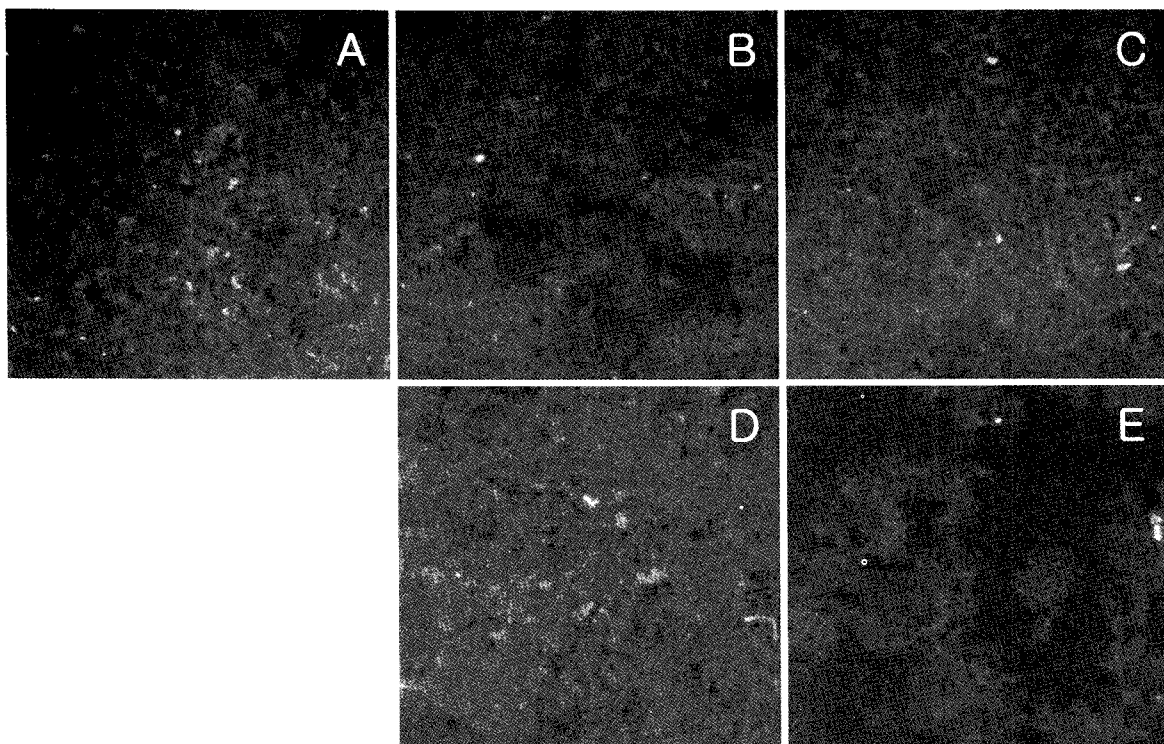


Fig. 7. Epifluorescence micrographs of *S. mutans* Ingbritt cultured in BHS containing each concentration of potassium phosphate after *in situ* hybridization with FITC-labeled probe D1164 specific to mRNA of *gtD* gene. A, 0mM; B, 0.1mM; C, 1mM; D, 10mM; E, 100mM.

IV. 총괄 및 고안

치면세균막은 치아 우식증과 치주질환의 주요 원인인자이다¹²⁾. 치면세균막은 세균과 비세포성 물질로 구성되어 있는데¹³⁻¹⁵⁾, 비세포성 물질 중 글루칸은 우식원성 연쇄상 구균의 에너지원일 뿐 아니라 세균의 치면부착과 응집을 도와서 세균의 증식에 유리한 환경을 제공한다^{2,16,17)}. Toda 등¹⁸⁾은 글루칸이 한가닥의 fibril로 구성된 수용성 글루칸과 두가닥의 fibril로 구성된 비수용성 글루칸으로 이루어졌음을 전자 현미경으로 관찰하였다. 구강 내 연쇄상 구균에 의해 합성되는 수용성 글루칸은 세균의 에너지원 역할을 하므로, 탄수화물 공급이 중단되었을 때에도 치면세균막을 구성하는 세균의 우식원성에 기여하는 중요한 인자이다. 따라서, 본 실험에서는 수용성 글루칸을 합성하는 효소인 GTFD의 mRNA 발현에 대한 이온 및 완충액의 영향을 관찰하였다.

1%의 설탕을 BHI 배지에 첨가한 경우 *S. mutans* Ingbritt에서 *gtfD* 유전자가 발현되는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 설탕첨가에 의해 *gtfD* 유전자 발현이 유도됨을 나타내며, 이 결과는 RT-PCR을 이용한 Fujiwara 등¹¹⁾의 보고와 유사하다. Calcium 이온을 첨가한 경우, 첨가하지 않은 대조군에 비해 0.25mM 일 때 *gtfD*의 mRNA 발현에 의한 형광강도가 증가하였으며 그 이상의 농도에서는 대조군과 비슷하였다. 이는 *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F가 생산하는 dextransucrase의 활성이 1mM 미만의 calcium 이온 농도에 의해 증가되지만, 1mM 이상이 되면 calcium 이온이 dextransucrase의 활성을 오히려 억제한다는 이전의 보고와 유사하였다¹⁹⁾. Potassium 이온의 경우 10mM 농도에서 대조군보다 형광강도가 강하였고, 그 외의 농도에서는 형광강도가 약하게 관찰되었다. 이 결과는 184mM 보다 1~50mM 농도의 potassium 첨가배지에서 *S. salivarius*의 GTF 활성이 증가한다는 것과 유사한 결과라고 할 수 있다²⁰⁾. Magnesium 이온의 경우 각 농도에서 mRNA 발현에 거의 영향을 미치지 않았는데, 이는 *S. sobrinus*의 GTF 및 *Leuconostoc mesenteroides*의 dextransucrase의 활성이 magnesium 이온에 의해 거의 영향을 받지 않는다는 이전의 보고와 비슷한 결과라고 할 수 있다^{21,22)}. 각 농도의 이온첨가에 따른 *gtfD* 발현과 *S. mutans* Ingbritt의 증식과는 다른 양상을 보였는데 이는 *gtfD* mRNA의 발현이 *S. mutans* Ingbritt 증식과는 크게 연관되지 않음을 나타내고 있다.

구강위생에 대한 관심이 증대되면서 많은 구강위생 관련 제품들이 개발되고 있는데 이들 물질을 식품 및 약품으로 제조하는 과정에서 완충물질을 첨가하게 된다. 구강에서 가장 중요한 완충액은 bicarbonate 완충액으로²³⁾, 약하선에서 분비되는 타액의 bicarbonate 이온 (HCO_3^-)의 농도는 자극이 되지 않은 상태에서 2.2mM이고 자극이 되면 35.3mM이 된다. 본 실험에서는 sodium bicarbonate 완충액의 농도가 *gtfD* 유전자 발현에 별 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다. 한편, 세균증

식은 100mM에서 크게 억제되었으나, *gtfD* 유전자발현은 대조군과 비슷했다. Sodium phosphate 완충액의 경우 100mM에서 세균증식이 크게 억제되었으나, *gtfD* 유전자 발현은 억제되지 않았으며, 이와 대조적으로 100mM의 potassium phosphate 완충액을 첨가한 경우 세균 증식억제에 비해 *gtfD* 유전자 발현이 크게 억제되었다. 이는 이온첨가와 마찬가지로 완충액의 첨가에 의한 세균증식억제와 *gtfD* 유전자 발현 억제가 서로 독립적으로 일어남을 의미하며, 약품에 완충물질을 첨가할 경우 phosphate 완충액을 사용하면 *gtfD* 유전자의 발현을 억제함으로써 수용성 글루칸 합성을 감소시키는 데 효과적임을 나타낸다.

V. 결 론

본 연구에서는 치아 우식증의 중요한 원인균인 *S. mutans*를 실험균으로 하여 수용성 글루칸 합성 효소인 GTFD 유전자의 발현에 대한 이온 및 완충액의 영향을 FISH 방법으로 관찰하여 다음의 결과를 얻었다.

1. CaCl_2 농도가 1.0mM, KCl 농도가 2.5mM, MgCl_2 의 농도가 0.4mM일 때 생균수가 가장 많았다.
2. 완충액의 경우 sodium bicarbonate 10mM, sodium phosphate 1mM, potassium phosphate 0.1mM에서 생균수가 가장 많았고, 3가지 완충액 모두 100mM 농도에서 생균수가 가장 적었다.
3. 자당이 함유되지 않은 BHI 배지에 비해 1% 자당을 첨가한 경우 *gtfD* 유전자의 mRNA가 발현에 따른 녹색형광이 관찰되었다.
4. CaCl_2 0.25mM 일 때 *gtfD* 유전자의 mRNA 발현에 따른 녹색형광이 대조군보다 강하였고, KCl의 경우 10mM 일 때 대조군과 유사한 녹색형광을 나타냈으나, 다른 농도에서는 거의 관찰되지 않았다. MgCl_2 의 경우 각 농도에서 대조군보다 녹색형광이 약하게 나타났다.
5. Sodium bicarbonate, sodium phosphate 완충액의 경우 mRNA 발현에 따른 녹색형광이 각 농도에서의 대조군과 유사하게 나타났으며, potassium phosphate 완충액의 경우 100mM에서 녹색형광을 거의 관찰할 수 없었다.

참고문헌

1. Tsumori H, Mukasa H, Zinnaka Y : Synthesis of glucan on the cell surface of *Streptococcus mutans* : chemical and scanning electron microscopic studies. Microbiol Immunol, 26:677-688, 1982.
2. Hamad S, Slade HD : Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev, 44:331-384, 1980.

3. Honda O, Kato C, Kuramitsu HK : Nucleotide sequence of the *Streptococcus mutans* *gtfD* gene encoding the glucosyltransferase S-enzyme. *J Gen Microbiol*, 136:2099-2105, 1990.
4. Shiroza T, Ueda S, Kuramitsu HK : Sequence analysis of the *gtfB* gene from *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol*, 169:4263-4270, 1987.
5. Ueda S, Shiroza T, Kuramitsu HK : Sequence analysis of the *gtfC* gene from *Streptococcus mutans* GS-5. *Gene*, 69:101-109, 1988.
6. Hanada N, Kuramitsu HK : Isolation and characterization of the *Streptococcus mutans* *gtfD* gene coding for primer-dependent soluble glucan synthesis. *Infect Immun*, 57:2079-2085, 1989.
7. Aoki H, Shiroza T, Hayakawa M, et al. : Cloning of a *Streptococcus mutans* Glucosyltransferase gene coding for insoluble glucan synthesis. *Infect Immun*, 53:587-594, 1986.
8. Rosen S, Elvin-Lewis M, Beck FM, et al. : Anticariogenic effects of tea in rats. *J Dent Res*, 63:658-660, 1984.
9. Gopinath VK, Tandon S, Shirwaikar A : The effect of chewing gums on acidogenicity of plaque after a sucrose challenge. *J Clin Pediatr Dent*, 22:77-81, 1997.
10. Jagtap AG, Karkera SG. : Potential of the aqueous extract of *Terminalia chebula* as an anticaries agent. *J Ethnopharmacol*, 68:299-306, 1999.
11. Fujiwara T, Hoshino T, Ooshima T, et al. : S. Differential and quantitative analyses of mRNA expression of glucosyltransferases from *Streptococcus mutans* MT8148. *J Dent Res*, 81:109-113, 2002.
12. Theilade E, Theilade J : Role of plaque in the etiology of periodontal disease and caries. *Oral Sci Rev*, 9:23-63, 1976.
13. McDougall WA : Studies on the dental plaque. I. The histology of the dental plaque and its attachment. *Aust Dent J*, 8:261-273, 1963.
14. McDougall WA : Studies on the dental plaque. II. The histology of the developing interproximal plaque. *Aust Dent J*, 8:398-407, 1963.
15. Listgarten MA : Structure of surface coatings on teeth. A review. *J Periodontol*, 47:139-147, 1976.
16. Guggenheim B : Extracellular polysaccharides and microbial plaque. *Int Dent J*, 20:657-678, 1970.
17. Tsumor 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.
18. Toda Y, Moro I, Koga T, et al. : Ultrastructure of extracellular polysaccharides produced by serotype c *Streptococcus mutans*. *J Dent Res*, 66:1364-1369, 1987.
19. Miller AW, Robyt JF : Activation and inhibition of dextranucrase by calcium. *Biochim Biophys Acta*, 880:32-39, 1986.
20. Markevics LJ, Jacques NA : Enhanced secretion of glucosyltransferase by changes in potassium ion concentrations is accompanied by an altered pattern of membrane fatty acids in *Streptococcus salivarius*. *J Bacteriol*, 161:989-94, 1985.
21. Yamashita Y, Takehara T : Effect of magnesium ions on secretion of glucosyltransferase from *Streptococcus sobrinus*. *Microbios*, 60:177-82, 1989.
22. Goyal A, Katiyar SS : Effect of certain nutrients on the production of dextranucrase from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F. *J Basic Microbiol*, 37:197-204, 1997.
23. Birkhed D, Heintze U : Salivary secretion rate, buffer capacity, and pH. In: Tenovou J, editor. *Human saliva: clinical chemistry and microbiology*. Vol I Boca Raton (FL): CRC Press, 25-73, 1989.

Abstract

THE EFFECTS OF IONS AND BUFFER SOLUTIONS ON THE MRNA EXPRESSION
OF *gtfD* GENE OF *Streptococcus mutans*

Bo-Young Kim, Shin Kim*, Jin Chung

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

The production of a glucan was affected by the concentration of ions and buffer solutions, and nutrients in an oral cavity. In this study, the effects of ions and buffer solutions on the mRNA expression of *gtfD* gene in *Streptococcus mutans*, an important causative agent of dental caries, were investigated by Fluorescent *in situ* hybridization(FISH). At first, ions and buffer solutions had little effect on the multiplication of *Streptococcus mutans*. The green fluorescence according to the mRNA expression of *gtfD* gene was detected in the BHI broth containing 1% sucrose. The intensities of the green fluorescence were strong at 0.25mM of CaCl₂. Little fluorescence was detected by the addition of KCl, except for 10mM KCl at which fluorescence intensities were similar to those of the control. Fluorescence intensities were weak at each concentration of MgCl₂ when compared to the control. As for buffer solutions, fluorescence intensities were similar to those of the control at each concentration of buffer solutions, except that they were little detected at 100mM of potassium phosphate.

Keywords : *Streptococcus mutans*, Glucan, Ion, Buffer