

유산구균 1370의 수용성 글루칸 형성에 영향을 미치는 인자

오인근 · 양규호 · 정진* · 오종석*

전남대학교 치과대학 소아치과학교실, 의과대학 미생물학교실*

국문초록

*Streptococcus mutans*가 치태를 형성할 때, 유산구균 1370 (*Lactococcus lactis* 1370)이 생산하는 수용성 글루칸이 영향을 미친다. 본 연구에서는 여러 인자에 의한 수용성 글루칸 형성 정도를 유산구균 1370 배양 상청액의 흡광도로 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 5% 자당이 첨가된 M17 broth에서 유산구균 1370 배양 상청액의 흡광도는 높고 *Streptococcus mutans* 배양 상청액의 흡광도는 낮았으나, 통계학적인 유의성은 없었다.
2. M17 broth에 10% 자당을 첨가하여 유산구균 1370을 배양할시 배양 상청액의 흡광도는 첨가하지 않을 때보다 높았다 ($p<0.05$). 배지 pH가 5에서보다 7에서 배양 상청액의 흡광도가 더 높았다 ($p<0.05$).
3. 32°C, 37°C, 42°C중 37°C에서 배양시 배양 상청액의 흡광도가 가장 높았으나 통계학적인 유의성이 없었고, 호기성 배양시보다 혐기성 배양시 배양 상청액의 흡광도가 더 높았다 ($p<0.05$).
4. 배지의 CaCl₂ 농도가 1.0mM에서 ($p<0.05$), KCl 농도가 2.5mM에서 ($p<0.05$) 배양 상청액의 흡광도가 높았다.
5. M17 broth에 5% 자당을 첨가한 배지에 유산구균 1370을 접종하여 배양한 배양 상청액과 배지를 1:3으로 가한 비커 와이어 검사에서 *Streptococcus mutans*에 의하여 형성된 인공치태 무게는 5.6mg으로 5% 자당을 첨가하지 않을 때의 103.0mg에 비교하여 현저히 감소하였다 ($p<0.05$).

이상의 결과를 요약하면 유산구균 1370에 의한 수용성 글루칸의 형성은 자당이 함유된 배지나 세균 증식이 잘 되는 조건에서 증가하였으며, 수용성 글루칸이 *Streptococcus mutans*에 의한 인공치태 형성을 억제하였다.

I. 서론

치의학의 발달에도 불구하고 소아에서는 치아우식증이 여전히 문제가 되고 있다. 이러한 치아우식증의 생성에 있어서 가장 중요한 역할을 하는 치태는 세균과 비세포성 물질로 구성되어 있다¹⁻³. 치태에 존재하는 세균에 의하여 자당(sucrose)으로부터 합성되는 글루칸(glucan)이 치태 형성에 있어서 기본 물질이 되고 있다.

*Streptococcus mutans*는 자당으로부터 세포외 다당류인 글루칸과 프럭탄(fructan)을 합성한다^{4,5}. 이 때 글루칸을 만드는 효소는 glucosyltransferase(GTF)로 *Streptococcus mutans*에 의하여 만들어져 *Streptococcus mutans*의 표면에 부착하거나 세균으로부터 떨어져 pellicle에 부착되어 있으면서 글루칸을 합성하는 것이다⁶. 다른 세균들도 글루칸을 형성할 수 있지만 *Streptococcus mutans*에 의한 글루칸 합성이 가장 중요하여 치아우식증 발생의 중요한 원인균으로 꼽고 있다⁷.

*Streptococcus mutans*가 만드는 GTF는 자당으로부터 α -1,3-

glucose linkage를 주로 포함하는 비수용성인 글루칸과 α -1,6-glucose linkage를 주로 포함하는 수용성인 글루칸을 합성한다⁸. 이 GTF에는 세 종류가 있는데, 이중 GTF-S는 수용성인 글루칸을 합성하고 primer에 의존적이나, GTF-I와 GTF-SI는 비수용성인 글루칸을 합성하고 primer에 비의존적이다⁹⁻¹¹. 이 효소들은 세 개의 *gtf* 유전자 즉 *gtfB* 유전자에 의해서 GTF-I, *gtfC* 유전자에 의해서 GTF-SI, *gtfD* 유전자에 의해서 GTF-S가 합성되며⁹⁻¹¹, 두 개의 기능적 domain 즉, glucan binding domain (GBD)과 sucrose binding domain (SBD)을 갖고 있다. GTF가 어떤 종류의 글루칸을 합성하는가의 여부나 primer에 의존적인가의 여부는 carboxyl terminal에 있는 GBD와 관련성이 높다¹². *Streptococcus mutans*가 글루칸을 합성할 때, exogenous soluble glucan이 존재하면 GTF-S에 primer로 작용하여 수용성 글루칸이 주로 합성이 되어 치태 형성이 감소하게 된다.

유산구균 (*Lactococcus*)은 유산균의 일종으로 그람 양성균의 연쇄상 모양 구균이다. 본 연구에 사용된 유산구균 1370

(*Lactococcus lactis* 1370)은 특이하게 수용성 글루칸을 합성하는 세균이다. 유산구균 1370이 합성하는 수용성 글루칸은 *Streptococcus mutans*의 증식을 억제하지 않으면서 비수용성 글루칸 즉 치태 형성을 억제하고 있다. 유산구균 1370의 수용성 글루칸 합성에 있어서 배지 성분이나 전해질 등 배양조건의 영향이 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서는 *Streptococcus mutans*의 치태 형성을 억제하는 유산구균 1370의 배양 상청액내 수용성 글루칸의 인공치태 형성 억제 정도와 그 형성에 대한 여러 인자들의 영향을 보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시세균 및 배양

본 연구에서는 전남의대 미생물학교실에서 보관중인 유산구균 1370과 *Streptococcus mutans* (Ingbritt strain)를 공시하였으며, 배양은 동결 건조로 보관중인 세균을 M17 (Difco, Detroit, MI, U.S.A.) broth에 접종하여 37°C에서 배양하였다.

2. 배지 성분과 pH가 수용성 글루칸 형성에 미치는 영향

M17 broth에 자당을 여러 농도 (0%, 5%, 10%)로 첨가하거나 0.1M MOPS (3-(N-Morpholino)propanesulfonic acid, Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.)을 첨가하였다. 배지의 pH를 5, 6, 7, 8로 조절하였다. 그 3ml에 50μl의 유산구균 1370 배양액이나 *Streptococcus mutans* 배양액을 접종하였다. 이것을 37°C에서 24시간 배양한 후, 3,000×rpm에서 20분간 원심한 다음 상청액을 취하여 분광광도계 550nm 파장에서 흡광도 (optical density)를 측정하였다.

3. 배양 조건에 따른 수용성 글루칸 형성에 미치는 영향

5% 자당과 0.1M MOPS를 첨가한 M17 broth (pH 7) 3ml에 50μl의 유산구균 1370 배양액을 접종하였다. 이것을 배양할 때, 온도를 32°C, 37°C, 42°C로 조절하거나 배양 환경을 호기성 배양기, 5% CO₂ 배양기, 또는 혐기성 배양기에서 24시간 배양하였다.

4. 배지의 전해질이 수용성 글루칸 형성에 미치는 영향

5% 자당과 0.1M MOPS를 첨가한 M17 broth (pH 7)의 CaCl₂ 농도 (0.25mM, 1.0mM, 4.0mM, 16.0mM), KCl 농도 (2.5mM, 10mM, 40mM, 160mM), MgCl₂ 농도 (0.1mM, 0.4mM, 1.6mM, 6.4mM)를 조절하였다. 그 3ml에 50μl의 유산구균 1370 배양액을 접종하여 37°C, 호기성 배양기에서 24시간 배양하였다.

5. 시일에 따른 수용성 글루칸 형성

5% 자당과 0.1 M MOPS를 첨가한 M17 broth (pH 7)에 유산구균 1370 배양액을 접종하여 37°C에서 호기성 배양기에서 1일, 2일, 3일간 배양하였다.

6. 유산구균 1370 배양 상청액이 *Streptococcus mutans*의 인공 치태 형성과 생균수에 미치는 영향

0.1M MOPS를 첨가한 M17 broth (pH 7) 또는 여기에 5% 자당을 첨가한 배지에 유산구균 1370을 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후, 3,000×rpm에서 20분간 원심한 다음 상청액을 취하여 끓은물에서 3분간 방치하였다. 이 상청액과 0.1M MOPS와 5% 자당을 첨가한 M17 broth (pH 7)를 1 : 7 또는 1 : 3으로 비커에 준비하였다. 여기에 *Streptococcus mutans*를 2×10⁸씩 접종하고 0.016 inch 스테인레스스틸 재질의 교정용 wire (Ormco, Glendora, CA, U.S.A.)를 50mg 내외가 되게 준비하여 3개씩 비커에 매달아 배지에 잠기도록 하였다. 호기성 배양기에서 회전시키면서 15시간 배양한 후, 3개의 wire 상에 형성된 인공 치태의 무게를 평균하였다. 동시에 세균 배양액을 회석하여 M17 agar상에 접종하여 18시간 배양한 후 생균수를 산정하였다.

7. 통계적 처리

각군간의 무게 차이는 Mann-Whitney test와 Kruskal-Wallis test를 이용하여 비교하였으며 통계학적인 유의성은 p value가 0.05 이하인 경우로 하였다.

III. 성 적

1. 세균 종류에 따른 수용성 글루칸 형성

5% 자당을 첨가하지 않은 M17 broth에서는 유산구균 1370 이나 *Streptococcus mutans* 배양 상청액에서는 흡광도가 낮았다. 5% 자당이 첨가된 M17 broth에서는 0.1 M MOPS 여부에 관계없이 유산구균 1370 배양 상청액에서는 흡광도가 0.299 내지 0.326으로 높았고 *Streptococcus mutans* 배양 상청액에서는 흡광도가 0.002 또는 0.001으로 낮았으나, 통계학적인 유의성은 없었다 (Table 1).

2. 배지의 자당 농도와 pH에 따른 수용성 글루칸 형성

M17 broth에 자당을 첨가하지 않을 때는 흡광도가 0.014이 었으나, 자당 농도가 5%에서는 0.318, 10%에서는 0.983으로 증가하였다 (p<0.05) (Table 2). 배지 pH 5에서는 0.029, pH 6에서는 0.223, pH 7에서는 0.318, pH 8에서는 0.129로

pH 7에서 가장 높았다 (p<0.05) (Table 3).

3. 배양 조건에 따른 수용성 글루칸 형성

5% 자당과 0.1M MOPS를 첨가한 M17 broth에 유산구균 1370 배양액을 접종하여 32°C에서 배양시 흡광도는 0.291, 37°C에서 배양시는 0.318, 42°C에서는 0.127이었다 (Table 4). 유산구균 1370 배양액을 접종한 배지를 호기성 배양기에서 배양시 흡광도는 0.318, 5% CO₂ 배양기에서는 0.398, 혐기성 배양기에서는 0.523이었다 (p<0.05) (Table 5).

Table 1. Effect of media on the production of water-soluble glucan by *Streptococcus mutans* and *Lactococcus lactis* 1370

Used media	Inoculated bacteria	Optical density at 550nm
M17 broth	<i>S. mutans</i>	0.000
	<i>L. lactis</i> 1370	0.015
M17S broth*	<i>S. mutans</i>	0.002
	<i>L. lactis</i> 1370	0.299
M17S broth+ 0.1M MOPS	<i>S. mutans</i>	0.001
	<i>L. lactis</i> 1370	0.326

M17S broth* : M17 broth containing 5% sucrose

Table 3. Effect of pH on the production of water-soluble glucan by *Lactococcus lactis* 1370

pH	Optical density at 550nm
5	0.029*
6	0.223
7	0.318*
8	0.129

* : p<0.05

Table 5. Effect of incubator air on the production of water-soluble glucan by *Lactococcus lactis* 1370

Incubator air	Optical density at 550nm
Aerobic	0.318*
5% CO ₂	0.398
Anaerobic	0.523*

* : p<0.05

Table 7. Effect of KCl on the production of water-soluble glucan by *Lactococcus lactis* 1370

Concentration of KCl(mM)	Optical density at 550nm
2.5	0.759*
10	0.455
40	0.357*
160	0.522

* : p<0.05

4. 배지의 전해질이 수용성 글루칸 형성에 미치는 영향

M17 broth의 CaCl₂ 0.25mM에서 배양시 흡광도는 0.635, 1.0mM에서는 0.684, 4.0mM에서는 0.479, 16.0mM에서는 0.212이었다 (p<0.05) (Table 6). 배지 KCl 2.5mM에서 배양시 흡광도는 0.759, 10mM에서는 0.455, 40mM에서는 0.357, 160mM에서는 0.522이었다 (p<0.05) (Table 7). 배지 MgCl₂ 0.1mM에서 배양시 흡광도는 0.152, 0.4mM에서는 0.213, 1.6mM에서는 0.215, 6.4mM에서는 0.174이었다 (Table 8).

Table 2. Effect of sucrose on the production of water-soluble glucan by *Lactococcus lactis* 1370

Sucrose concentration	Optical density at 550nm
0%	0.014*
5%	0.318
10%	0.983*

* : p<0.05

Table 4. Effect of temperature on the production of water-soluble glucan by *Lactococcus lactis* 1370

Temperature	Optical density at 550nm
32°C	0.291
37°C	0.318
42°C	0.127

Table 6. Effect of CaCl₂ on the production of water-soluble glucan by *Lactococcus lactis* 1370

Concentration of CaCl ₂ (mM)	Optical density at 550nm
0.25	0.635
1.0	0.684*
4.0	0.479
16.0	0.212*

* : p<0.05

Table 8. Effect of MgCl₂ on the production of water-soluble glucan by *Lactococcus lactis* 1370

Concentration of MgCl ₂ (mM)	Optical density at 550nm
0.1	0.152
0.4	0.213
1.6	0.215
6.4	0.174

Table 9. Effect of duration on the production of water-soluble glucan by *Lactococcus lactis* 1370

Duration	Optical density at 550nm
1 day	0.318
2 days	0.349
3 days	0.306

Table 10. Supernatant of *Lactococcus lactis* 1370 affecting on the formation of artificial plaque on the orthodontic wires and the replication of *Streptococcus mutans*

Supernatant of <i>L. lactis</i> 1370	Plaque weight(mg)	Viable cells of <i>S. mutans</i> (/ml)
Supernatant:M17S broth=1:7		
Cultured in M17 broth	180.7	1.8×10^7
Cultured in M17S broth*	24.6	1.6×10^6
Supernatant:M17S broth=1:3		
Cultured in M17 broth	103.0**	1.3×10^6
Cultured in M17S broth	5.6**	1.6×10^6

M17S broth* : M17 broth containing 5% sucrose

** : p<0.05

5. 시일에 따른 수용성 글루칸 형성

5% 자당과 0.1 M MOPS를 첨가한 M17 broth에 유산구균 1370 배양액을 접종하여 1일, 2일, 3일 배양시 흡광도는 0.318, 0.349, 0.306이었다 (Table 9).

6. 유산구균 1370 배양 상청액이 *Streptococcus mutans* 의 인공 치태 형성과 생균수에 미치는 영향

M17 broth 또는 여기에 5% 자당을 첨가한 배지에 유산구균 1370을 접종하여 37°C에서 24 시간 배양한 배양 상청액과 M17S broth를 1 : 7로 가한 비커 와이어 검사에서 *Streptococcus mutans*에 의하여 형성된 인공치태 무게는 각각 180.7mg, 24.6mg이었으며, 1 : 3으로 가한 비커 와이어 검사에서 (Fig. 1) 인공치태 무게는 각각 103.0mg, 5.6mg이었다 (p<0.05) (Table 10).

동시에 생균수 검사를 한 결과, M17 broth 또는 여기에 5% 자당을 첨가한 배지에서 배양한 유산구균 1370 배양 상청액과 M17S broth를 1 : 7로 가한 배지에서 증식한 *Streptococcus mutans*는 ml당 1.8×10^7 , 1.6×10^6 이었고, 1 : 3으로 가한 배지에서 증식한 *Streptococcus mutans*는 ml당 1.3×10^6 , 1.6×10^6 이었다 (Table 10).

IV. 고 찰

*Streptococcus mutans*는 항원성에 따라 8개의 혈청형 (a-h)으



Fig. 1. Culture supernatant of *Lactococcus lactis* 1370 affecting on the formation of artificial plaque by *Streptococcus mutans*. The volume ratio of culture supernatant to M17 broth containing 5% sucrose was 1 : 3 in the beaker. *Lactococcus lactis* 1370 was cultured in M17 broth (Left) or M17 broth containing 5% sucrose (Right). The stainless steel wires weighing about 50 mg were incubated in the media for 15 hours. The formation of artificial plaque was significantly reduced on the wires in the media added with culture supernatant of M17 broth containing 5% sucrose compared with them in the media added with culture supernatant of M17 broth.

로 나눌 수 있는데, 이중 혈청형 c가 전세계적으로 가장 많이 분리되고 있다¹³⁾. Toda 등은 투과전자 현미경을 이용하여 *Streptococcus mutans* type c가 합성한 세포의 다당류의 초미세 구조를 관찰하여 다당류가 세가지 구성 성분, 즉 globular 구조의 프럭탄 (fructan), single-stranded filamentous 구조의 덱스트란 (dextran), double-stranded fibrillar 구조를 갖는 뮤텐으로 구성되어 있다고 보고하였다. 또한 주사전자 현미경으로는 두 종류의 구조, 즉 globular body와 amorphous substance를 관찰하였다. 뮤텐은 치아표면에 *Streptococcus mutans* 외에 다른 세균들의 증식을 촉진시키며, 덱스트란과 프럭탄은 세균의 세포의 에너지 공급원이 되고 있다¹⁴⁾. 세포의 글루칸은 *Streptococcus mutans* 외에도 다른 *Streptococcus species*, *Lactobacillus species*와 같은 구강세균에 의해 형성되는데, 이들 세균이 치아 표면에 부착하여 치태를 형성하는데 기여하고 있다¹⁵⁻¹⁸⁾. 이렇게 하여 치아 표면에 형성되는 치태는 세균의 치아 우식증 발생에 영향을 미친다.

*Streptococcus mutans*에 의한 치아우식증을 예방하기 위하여 chlorhexidine이나 iodine과 같은 소독제의 치면 도포, chlorhexidine 양치, 경구용 penicillin요법, vancomycin과 kanamycin의 국소도포, 불소함유제의 도포 및 양치 등이 연구되어 왔다¹⁹⁻²⁹⁾. 그러나 장기적인 효과를 기대할 수 없어 정상적으로 존재하는 구강내 상주균을 이용하여 치아우식증을 예방하고자 하는 대치요법에 대한 연구를 하고 있다³⁰⁻³⁵⁾. 이러한 연구의 시작은 효과적인 대치 세균을 분리하는데 있다. *Streptococcus mutans*의 돌연변이종으로 세포내 탄수화물 대사에 결함이 있거나³²⁾, lactate dehydrogenase 활성이 부족하여

³⁰⁾ 유산을 생성하지 못하는 세균은 치아우식 활성이 낮다는 것이 입증되었고, *Streptococcus mutans*처럼 치면에 집락을 이루고 치태를 형성하나 치아우식증을 일으키지 않은 *Streptococcus salivarius* TOVE-R도 분리되었다^{33,34)}. 또한 구강내 *Enterococcus faecalis*는 항균제 기능을 나타내는 bacteriocin을 생성함으로써 연쇄상구균의 증식을 억제하기 때문에 대치 세균으로의 가능성이 있는 것으로 보고되고 있다³⁶⁾.

유산구균 (*Lactococcus*)은 유산균 중에서 사람들이 먹을 수 있는 가장 안전하면서도 단맛을 내는 정상적으로 존재하는 유익한 유산균이다. 유산구균 1370이 합성하는 수용성 글루칸은 *Streptococcus mutans*를 위시한 다른 세균의 증식을 억제하지 않으면서 비수용성 글루칸 즉 치태형성을 억제한다. 이러한 유산구균 1370이 수용성 글루칸을 합성할 때 영향을 미칠 수 있는 요소들은 여러가지로 생각할 수 있을 것이다. 가장 중요한 요소로 자당을 생각할 수 있다. 자당은 구강내 치태 즉 비수용성 글루칸 형성에서 중요한 것 처럼 수용성 글루칸의 형성에 있어서도 중요하다. 수용성 글루칸을 만드는 GTF-S의 SBD에 자당이 결합되어야만 합성이 되기 때문에 본 연구에서 처럼 자당의 농도가 10%가 됨에 따라 유의성있게 수용성 글루칸의 합성도 증가하였다. 배양 조건이 37°C에서나 혐기성 상태, 또는 배지의 pH가 7일 때 수용성 글루칸의 합성이 증가하는 것은 유산구균 1370의 증식이 잘되기 때문으로 사료된다. *Streptococcus mutans*의 비수용성 글루칸 형성에 있어 1가 양이온이나 2가 양이온의 영향을 받는다. 2가의 양이온중 Ca²⁺은 GTF의 활성을 올리나, Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺은 억제하였다³⁷⁾. 유산구균 1370에 의한 수용성 글루칸 형성에 있어서는 CaCl₂ 농도가 1.0mM에서, KCl 농도가 2.5mM에서 유의성있게 흡광도가 높은 것으로 보아 이들 전해질의 영향이 비수용성 글루칸 형성에 있어서와는 다르게 나타나는 것으로 사료된다. M17 broth에 5% 자당을 첨가한 배지에 유산구균 1370을 접종하여 배양한 배양 상청액과 배지의 양을 1 : 3으로 가한 비커 와이어 검사에서 *Streptococcus mutans*에 의하여 형성된 인공치태 무게는 5.6mg으로 5% 자당을 첨가하지 않을 때의 103.0mg에 비교하여 현저히 감소한 것은 유산구균 1370이 생산하는 수용성 글루칸이 *Streptococcus mutans*의 GTF-S에 primer로 작용하여 효소 활성을 증가하면서 GTF-I와 GTF-SI의 활성은 상대적으로 감소되어 비수용성 글루칸 즉 치태의 형성이 억제되는 것으로 생각된다.

V. 요약

여러 인자에 의한 수용성 글루칸 형성 정도를 유산구균 1370 배양 상청액의 흡광도로 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 5% 자당이 첨가된 M17 broth에서 유산구균 1370 배양 상청액의 흡광도는 높고 *Streptococcus mutans* 배양 상청액의 흡광도는 낮았으나, 통계학적인 유의성은 없었다.
2. M17 broth에 10% 자당을 첨가하여 유산구균 1370을 배양할 때 배양 상청액의 흡광도는 첨가하지 않을 때보다 높았다 (p<0.05). 배지 pH가 5에서 보다 7에서 배양 상청액의 흡

광도가 더 높았다 (p<0.05).

3. 32°C, 37°C, 42°C중 37°C에서 배양시 배양 상청액의 흡광도가 가장 높았으나 통계학적인 유의성이 없었고, 호기성 배양시보다 혐기성 배양시 배양 상청액의 흡광도가 더 높았다 (p<0.05).
4. 배지의 CaCl₂ 농도가 1.0mM에서 (p<0.05), KCl 농도가 2.5mM에서 (p<0.05) 배양 상청액의 흡광도가 높았다.
5. M17 broth에 5% 자당을 첨가한 배지에 유산구균 1370을 접종하여 배양한 배양 상청액과 배지를 1:3으로 가한 비커 와이어 검사에서 *Streptococcus mutans*에 의하여 형성된 인공치태 무게는 5.6mg으로 5% 자당을 첨가하지 않을 때의 103.0mg에 비교하여 현저히 감소하였다 (p<0.05). 이상의 결과를 요약하면 유산구균 1370에 의한 수용성 글루칸의 형성은 자당이 함유된 배지나 세균이 증식이 잘되는 조건에서 증가하였으며, 수용성 글루칸에 의하여 *Streptococcus mutans*에 의한 인공치태 형성이 억제되었다.

참고 문헌

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. Newbrun E : Proceedings, Microbial Aspects of Dental Caries. Polysaccharide synthesis in plaque. Information Retrieval Inc. p. 649-664, 1976.
5. Guggenheim B : Extracellular polysaccharides and microbial plaque. Int Dent J 20:657-678, 1970.
6. Rolla G, Scheie AA, Ciardi JE.: Role of sucrose in plaque formation. Scand J Dent Res. 93:105-111, 1985.
7. Rolla G: Why is sucrose so cariogenic? The role of glucosyltransferase and polysaccharides. Scand J Dent Res. 97:115-119, 1989.
8. Loesche WJ: Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. Microbiol Rev. 50:353-380, 1986.
9. 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.
10. Hanada N, Kuramitsu HK : Isolation and characterization of the *Streptococcus mutans* *gtfC* gene, coding for synthesis of both soluble and insoluble glucans. Infect Immun. 56:1999-2005, 1988.
11. Hanada N, Kuramitsu HK : Isolation and character-

- ization of the *Streptococcus mutans* *gtfD* gene, coding for primer-dependent soluble glucan synthesis. Infect Immun. 57:2079-2085, 1989.
12. Nakano Y, Kuramitsu HK : Mechanism of *Streptococcus mutans* glucosyltransferase: hybrid-enzyme analysis. J Bacteriol. 174:5639-5646, 1992.
 13. Hamada S, Slade HD : Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev. 44:331-384, 1980.
 14. 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.
 15. Dewar MG, Walker GJ : Metabolism of the polysaccharides of human dental plaque. Caries Res. 9:21-35, 1975.
 16. 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.
 17. Gibbons RJ, van Houte J : Bacterial adherence in oral microbial ecology. Ann Rev Microbiol. 29:19-44, 1975.
 18. Hammond BF : Dextran production by a human oral strain of *Lactobacillus casei*. Archs. Oral Biol. 14:879-890, 1969.
 19. Emilson CG : Effect of chlorhexidine gel treatment on *Streptococcus mutans* population in human saliva and dental plaque. Scand J Dent Res. 89:239-246, 1981.
 20. Caufield PW, Gibbons RJ : Suppression of *Streptococcus mutans* in the mouths of humans by a dental prophylaxis and topically-applied iodine. J Dent Res. 58:1317-1326, 1979.
 21. Schaeken MJM, de Haan P : Effects of sustained-release chlorhexidine acetate on the human dental plaque flora. J Dent Res. 68:119-123, 1989.
 22. Mikkelsen L, Jensen SB, Schi tt CR, et al : Classification and prevalences of plaque streptococci after two years oral use of chlorhexidine. J Periodont Res. 16:645-658, 1981.
 23. Maltz M, Zickert I : Effect of penicillin on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and lactobacilli in hamsters and in man. Scand J Dent Res. 90:193-199, 1982.
 24. DePaola PF, Jordan HV, Berg J : Temporary suppression of *Streptococcus mutans* in humans through topical application of vancomycin. J Dent Res. 53:108-114, 1974.
 25. Jordan HV, Depaola PF : Effect of a topically applied 3% vancomycin gel on *Streptococcus mutans* on different tooth surfaces. J Dent Res. 53:115-120, 1974.
 26. Jordan HV, Depaola PF : Effect of a prolonged application of vancomycin on human oral *Streptococcus mutans* populations. Arch Oral Biol. 22:193-197, 1977.
 27. Depaola PF, Jordan HV, Soparkar PM : Inhibition of dental caries in school children by topically applied vancomycin. Arch Oral Biol. 22:187-191, 1977.
 28. Loesche WJ, Bradbury DR, Woolfolk MP : Reduction of dental decay in rampant caries individuals following short-term kanamycin treatment. J Dent Res 56:254-265, 1977.
 29. Woods R : The short-term effect of topical fluoride applications on the concentration of *Streptococcus mutans* in dental plaque. Aust Dent J. 16:152-155, 1971.
 30. Hillman JD : Lactate dehydrogenase mutants of *Streptococcus mutans*: Isolation and preliminary characterization. Infect Immun. 21:206-212, 1978.
 31. Mao M, Rosen S : Cariogenicity of a "low-acid" mutant of *Streptococcus mutans*. IADR. Progr & Abstr 57:No. 787, 1978.
 32. Tanzer JM, and Freedman ML : Genetic alterations of *Streptococcus mutans*' virulence. Adv Exp Med Biol. 107:661-672, 1978.
 33. Tanzer JM, Kurasz AB, Clive J : Competitive displacement of mutans streptococci and inhibition of tooth decay by *Streptococcus salivarius* TOVE-R. Infect Immun. 48:44-50, 1985.
 34. Tanzer JM, Kurasz AB, Clive J : Inhibition of ecological emergence of mutans streptococci and inhibition of tooth decay by *Streptococcus salivarius* TOVE-R infection. Infect Immun. 49:76-83, 1985.
 35. Abhyankar S, Sandham HJ, Chan KH : Serotype C *Streptococcus mutans* mutable to lactate dehydrogenase deficiency. J Dent Res. 64:1267-1271, 1985.
 36. Jett BD, Gilmore MS : The growth-inhibitory effect of the *Enterococcus faecalis* bacteriocin encoded by pAD1 extends to the oral streptococci. J Dent Res. 69:1640-1645, 1990.
 37. Miller AW, Robyt JF : Inhibition of dextransucrase by Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, and Tris (hydroxymethyl) aminomethane (Tris). Arch Biochem Biophys. 248:579-586, 1986.

Abstract

FACTORS AFFECTING THE FORMATION OF SOLUBLE GLUCAN
BY *LACTOCOCCUS LACTIS* 1370

In-Gyun Oh, Kyu-ho Yang, Jong-suk Oh*, Jin Chung*

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

The water-soluble glucan produced by *Lactococcus lactis* 1370 affects the formation of dental plaque by *Streptococcus mutans*. In this study the factors affecting the formation of water-soluble glucan were assessed as the optical density of culture supernatant of *Lactococcus lactis* 1370 in the spectrophotometer.

1. The optical density of culture supernatant was high when *Lactococcus lactis* 1370 was cultured in M17 broth with 5% sucrose, while being low in culture supernatant of *Streptococcus mutans*.
2. The optical density of culture supernatant was higher when *Lactococcus lactis* 1370 was cultured in M17 broth with 10% sucrose than when being cultured without sucrose ($p < 0.05$), and was higher at pH 7 than pH 5 ($p < 0.05$).
3. The optical density of culture supernatant was the highest at 37°C among 32°C, 37°C and 42°C, and was higher in the anaerobic incubator than in the aerobic incubator ($p < 0.05$).
4. The optical density of culture supernatant was the highest in the media containing 1.0mM CaCl₂ ($p < 0.05$), 2.5mM KCl ($p < 0.05$), and 1.6mM MgCl₂.
5. When *Streptococcus mutans* was cultured in the media containing a quarter culture supernatant of *Lactococcus lactis* 1370 grown in M17 broth, the mean weight of produced artificial plaque was 103.0mg on the wire, whereas being significantly reduced to 5.6mg in the media containing a quarter culture supernatant of *Lactococcus lactis* 1370 grown in M17 broth containing 5% sucrose ($p < 0.05$).

These results indicate that the water-soluble glucan is more formed by *Lactococcus lactis* 1370 in the media containing sucrose or under the adequate conditions for the growth of bacteria, and inhibits the formation of artificial plaque by *Streptococcus mutans*.