

# Streptococcus mutans의 자당 대사에 미치는 과당의 영향

전남대학교 치과대학 보철학교실, \*전남대학교 의과대학 미생물학교실,  
\*\*서울대학교 치과대학 보철학교실

심직현 · 방몽숙 · 양홍서 · 박상원 · 박하옥 · 오증석\* · 이재봉\*\*

## I. 서 론

구강내 만성 감염성 질환인 치아우식증 발생에는 3가지 요소, 즉 숙주, 미생물 그리고 음식이 영향을 미친다. 치아 우식증 생성에 있어서 치태가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 이는 치태에 존재하는 세균들이 여러 가지 해로운 대사산물을 만들기 때문이다.<sup>1)</sup> 1924년 Clarke<sup>2)</sup>가 최초로 치태로부터 Streptococcus를 분리하여 Streptococcus mutans라 명명한 이래, Streptococcus mutans는 치아우식증 발생에 있어서 가장 중요한 원인균으로 알려져 있다.<sup>3)</sup>

치태내의 세균에 의해 자당으로부터 세포의 다당류가 합성되는데, 세포의 다당류는 포도당의 중합체인 글루칸(glucan)과 과당의 중합체인 프럭탄(fructan)으로 구분된다. 글루칸은 다시 3종류로 구분되는데, α-1,6-glucose linkage만 있는 덱스트란(dextran), α-1,6-glucose linkage가 주된 결합인 수용성 글루칸, α-1,3-glucose linkage가 주된 결합인 비수용성 글루칸 즉 뮤탄(mutan)으로 구분된다. Streptococcus mutans는 뮤탄을 만드는 주된 세균으로 뮤탄은 점착성이 높은 비수용성이어서 치태의 주성분이 되어 여러 세균이 부착, 증식할 수 있는 토대가 된다.<sup>4,6)</sup> 치태내의 Streptococcus mutans는 탄수화물 대사과정에서 다량의 유산을 생성하여 치아 표면을 탈회시킴으로써 치아우식증을 유발한다.<sup>7)</sup> 구강에서의 Streptococcus mutans 생균수는 음식물의 종류, 불소 및 전신적 항생제의 사용여부, 가족내 구성원 구강의 Streptococcus mutans 숫자, 구강위생, 타

액작용 그리고 치태내의 다른 세균과의 상호작용 등에 의해 영향을 받을 수 있을 것이다. 이러한 영향 인자중 구강에서 Streptococcus mutans의 생균수, 치아에 형성되는 치태 및 그로 인한 치아 우식증 발생에 가장 영향을 미치는 것은 영양물질 특히 탄수화물일 것이다. 그러나 여러 종류의 영향 인자가 존재하는 구강에서 Streptococcus mutans가 증식하여 치태를 형성하고 있기 때문에 Streptococcus mutans의 증식과 치태 형성에 대한 탄수화물 병합시의 효과만을 보고자 할 때에 먼저 in vitro에서 탄수화물 병합 효과를 규명해야 할 필요성이 있는 것으로 생각한다. Streptococcus mutans의 증식 억제, 치태 형성 억제 및 치아우식증의 감소를 위하여 많은 실험과 연구가 진행되어오고 있지만 탄수화물의 병합 효과에 대한 연구는 미미한 실정이다.

본 연구는 Streptococcus mutans의 치태 형성에 사용되는 자당의 대사에 과일 등을 통해 많이 섭취되고 있는 과당의 영향을 보고자 시행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시세균 및 배양

Streptococcus mutans Ingbritt strain은 전남의대 미생물학교실에 보관중인 것을 공시하였으며, 공시세균의 배양은 동결 건조로 보관중인 것을 M17 액체배지(Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하여 37℃에서 18시간 배양하였다.

## 2. *Streptococcus mutans*의 인공치태 형성에 미치는 과당의 영향

Yeast extract(0.25%)를 첨가한 M17 액체배지에 MOPS buffer (3-(N-Morpholino)propanesulfonic acid, Sigma, St. Louis, MO, USA)를 가하여 0.1M 이 되도록 하였고 pH는 7이 되도록 조정하였다. 배지 40 ml에 3% 자당과 2%, 4%의 과당을 병합하여 첨가하였다. 여기에  $2 \times 10^7$  *Streptococcus mutans*를 접종하고 0.5 mm 스테인레스스틸 재질의 교정용 wire(Remomium, Dentarum, Germany)를 50 mg 내외가 되게 준비하여 3 개씩 비커에 매달아 배지에 잠기도록 하였다. 37°C 배양기에서 30 rpm 속도로 회전시키면서 8시간, 24시간 배양한 후, 3 개의 wire 상에 형성된 인공치태의 무게를 평균하였다.

## 3. *Streptococcus mutans*의 증식에 미치는 자당과 과당의 영향

Tryptone yeast extract 액체배지(1.7% tryptone, 0.3% yeast extract, 0.5% sodium chloride, 0.25% potassium phosphate, 0.2% glucose)에 여러 농도의 자당 또는 과당(1%, 2%, 4%, 8%)을 첨가하였다. 배지 10 ml에  $0.5 \times 10^7$  *Streptococcus mutans*를 접종하여 37°C 배양기에서 2, 4, 6, 8, 24시간 배양하였다. 배양액의 흡광도(optical density)를 분광광도계(spectrophotometer, Hitachi, Tokyo, Japan) 660 nm 파장에서 측정하였으며 3번 실험을 반복하여 평균을 구하였다. Yeast extract(0.25%)를 첨가한 M17 액체배지에 0.1M MOPS buffer를 가하고 pH는 7이 되도록 조정하였다. 배지 10 ml에 3% 자당과 2%, 4%의 과당을 병합하여 첨가하였다. 여기에  $0.5 \times 10^7$  *Streptococcus mutans*를 접종하여 37°C 배양기에서 24시간 배양한 다음, 세균배양액을 희석하여 M17 고체배지(Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하고 37°C 배양기에서 18시간 배양한 후 생균수를 산정하였다.

## 4. *Streptococcus mutans* 배양액의 thin layer chromatography

Yeast extract(0.25%)를 첨가한 M17 액체배지에

0.1M MOPS buffer를 가하고 pH는 7이 되도록 조정하였다. 배지 20 ml에 3% 자당과 2%, 4%의 과당을 병합하여 첨가하였다. 여기에  $1 \times 10^7$  *Streptococcus mutans*를 접종하여 37°C 배양기에서 24시간 배양한 후, 3,000 rpm으로 20분간 원심하여 상청액을 얻었다. 10배로 희석한 상청액을 0.4% 자당, 0.4% 포도당, 0.4% 과당과 함께 실리카젤에서 1.5  $\mu$ 씩 loading 하였다. 85% acetonitrile 용액에서 전개하고 0.03%  $\alpha$ -naphthol과 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>가 든 메탄올을 발색제로 사용하여 121°C 오븐에서 15분간 발색시켰다.

## 5. *Streptococcus mutans* 배양액의 성분 분석

Yeast extract(0.25%)를 첨가한 M17 액체배지에 0.1M MOPS buffer를 가하고 pH는 7이 되도록 조정하였다. 배지 20 ml에 3% 자당과 4% 과당을 단독 또는 병합하여 첨가하였다. 여기에  $1 \times 10^7$  *Streptococcus mutans*를 접종하여 37°C 배양기에서 24시간 배양한 후, 3,000 rpm으로 20분간 원심하여 비수용성인 침전물과 수용성인 상청액을 얻었다. 비수용성인 침전물을 67% 에탄올 용액으로 세척하고 원심하여 생긴 침전물을 80°C 오븐에서 4시간 건조하였다. 수용성인 상청액에 67% 에탄올 용액을 1:2로 섞고 3,000 rpm으로 20분간 원심한 다음, 침전물을 얻었다. 같은 조작을 2번 반복하고 원심하여 남은 침전물을 80°C 오븐에서 4시간 건조하였다. 비수용성인 침전물과 수용성인 침전물을 1 M HCl 용액을 가하여 121°C 오븐에서 20분간 방치한 1.5  $\mu$ 씩을 0.4% 포도당, 0.4% 과당과 함께 실리카젤에 loading하였다. 85% acetonitrile 용액에서 전개하고 0.03%  $\alpha$ -naphthol과 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>가 든 메탄올을 발색제로 사용하여 121°C 오븐에서 15분간 발색시켰다.

## 6. Glucosyltransferase를 가한 배양액의 thin layer chromatography

M17 액체배지에 0.4% 자당과 0.4% 과당을 단독 또는 병합하여 첨가하였다. 여기에 실험실에서 추출한 1% glucosyltransferase를 첨가하여 37°C 배양기에서 72시간 배양한 후, 3,000 rpm으로 20분간 원심하여 상청액을 얻었다. 상청액을 0.4% 자당,

0.4% 포도당, 0.4% 과당과 함께 실리카젤에서 1.5 ㎍씩 loading하였다. 85% acetonitrile 용액에서 전개하고 0.03%  $\alpha$ -naphthol과 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>가 든 메탄올을 발색제로 사용하여 121℃ 오븐에서 15분간 발색시켰다.

#### 7. Glucosyltransferase를 가한 배양액의 성분분석

M17 액체배지에 0.4% 자당과 0.4% 과당을 단독 또는 병합하여 첨가하였다. 여기에 실험실에서 추출한 1% glucosyltransferase를 첨가하여 37℃ 배양기에서 72시간 배양한 후, 사진을 찍고 3,000 rpm으로 20분간 원심하여 비수용성인 침전물과 수용성인 상청액을 얻었다. 비수용성인 침전물을 67% 에탄올 용액으로 세척하고 원심하여 생긴 침전물을 80℃ 오븐에서 4시간 건조하였다. 수용성인 상청액에 67% 에탄올 용액을 1:2로 섞고 3,000 rpm으로 20분간 원심한 다음, 침전물을 얻었다. 같은 조작을 2번 반복하고 원심하여 남은 침전물을 80℃ 오븐에서 4시간 건조하였다. 비수용성인 침전물과 수용성인 침전물을 1 M HCl 용액을 가하여 121℃ 오븐에서 20분간 방치한 1.5 ㎍씩을 0.4% 포도당, 0.4% 과당과 함께 실리카젤에 loading하였다. 85% acetonitrile 용액에서 전개하고 0.03%  $\alpha$ -naphthol과 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>가 든 메탄올을 발색제로 사용하여 121℃ 오븐에서 15분간 발색시켰다.

#### 8. Anthrone 반응에 의한 폴리머의 성분검사

Halhoul 등<sup>8)</sup>의 방법으로 시행하였다. 약술하면 비수용성 폴리머 침전물과 수용성 폴리머 침전물에 염산을 가한 시료 50 ㎍를 4℃에 넣어둔 시험관 8개에 분주하고 4℃에 보관중인 anthrone 시약(150 mg anthrone in 100 ml of 26.2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 1.5 ml를 첨가하여 섞었다. 대조군으로 1.11 mM 자당, 1.11 mM 포도당, 1.11 mM 과당, 1.11 mM 포도당과 1.11 mM 과당을 합친 것을 각각 시험관 8개에 50 ㎍씩 분주하고 1.5 ml anthrone 시약을 첨가하여 섞었다. 실온에 10-15분간 방치한 다음, 60℃ 수조에 옮겨 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20, 30분에 각각의 시험관을 얼음 속으로 옮겨 2분간 방치하여 반응을 중지시켰다. 실온에 15분간 방치한 후, 분광광도계 620

nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정시 blank는 1.5 ml anthrone 시약을 사용하였다.

#### 9. 통계적 처리

각군의 인공치태 무게 차이는 Mann-Whitney test를 이용하여 비교하였으며 통계학적인 유의성은 p value가 0.05 이하인 경우로 하였다.

### Ⅲ. 성 적

#### 1. *Streptococcus mutans*의 인공치태 형성에 미치는 과당의 영향

자당을 3% 첨가한 M17 액체배지에 *Streptococcus mutans*를 접종하여 8시간 배양하면 자당만 첨가했을 때보다 자당과 과당을 병합 첨가할 때 Fig. 1에서와 같이 와이어상에 형성된 인공치태가 적게 형성되었다. 자당만 첨가될 때에 형성된 인공치태 무게는 124.3±3.0 mg인데 반해, 2% 과당을 병합 첨가하면 113.8±8.8 mg, 4% 과당을 병합 첨가하면 20.7±10.2 mg으로 감소하였다.(p<0.05) 배지를 24시간 배양하면 자당만 첨가될 때에 형성된 인공치태 무게는 176.4±10.6 mg인데 반해, 2% 과당을 병합 첨가하면 83.8±17.3 mg, 4% 과당을 병합 첨가하면 17.9±1.41 mg으로 감소하였다.(p<0.05)(Fig. 2)

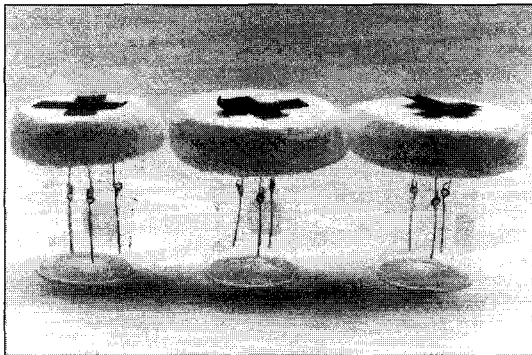
#### 2. *Streptococcus mutans*의 증식에 미치는 자당과 과당의 영향

포도당(0.2%)이 첨가된 액체배지에서 *Streptococcus mutans*를 24시간 배양할 때 대조군의 배양액 흡광도는 0.825이었고 1% 자당 병합 첨가시 0.778, 2% 자당 병합 첨가시 0.837, 4% 자당 병합 첨가시 0.776, 8% 자당 병합 첨가시 0.853으로 비슷하였다.(Fig. 3)

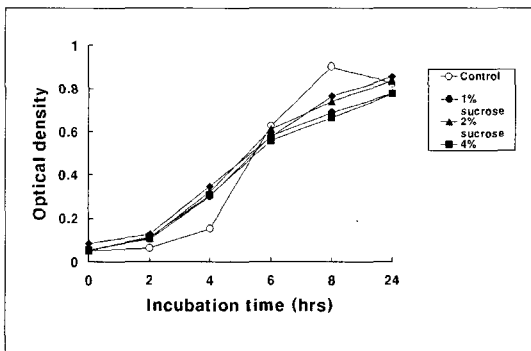
포도당 0.2%가 첨가된 액체배지에서 *Streptococcus mutans*를 24시간 배양할 때 대조군의 배양액 흡광도 0.825에 비교하여, 1% 과당 병합 첨가시 1.412, 2% 과당 병합 첨가시 1.357, 4% 과당 병합 첨가시 1.273, 8% 과당 병합 첨가시 1.282로 증가하

였다.(Fig. 4)

자당 3%을 첨가한 액체배지에 *Streptococcus mutans*를 접종하여 8시간 배양시 생균수가 ml당  $3.7 \pm 0.7 \times 10^7$ 인데 반해, 자당에 2% 과당을 병합 첨가할 때의 생균수는 ml당  $14.3 \pm 4.9 \times 10^7$ , 4% 과당을 병합 첨가할 때의 생균수는 ml당  $49.5 \pm 21.9 \times 10^7$ 으로 증가하였다. 자당 3%을 첨가한 액체배지에 *Streptococcus mutans*를 접종하여 24시간 배양시 생균수는 ml당  $0.7 \pm 0.1 \times 10^7$ 이었고 자당에



**Fig. 1.** Effect of fructose on the formation of artificial plaque by *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* was incubated in M17 broth containing 3% sucrose in the beaker (Left), added with 2% fructose (Middle) or 4% fructose (Right) for 8 hours.

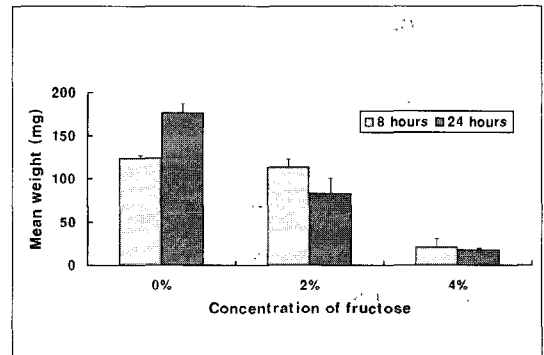


**Fig. 3.** Effect of sucrose on the replication of *Streptococcus mutans* in the tryptone yeast extract broth containing 0.2% glucose. The optical density was measured at 660 nm in the spectrophotometer.

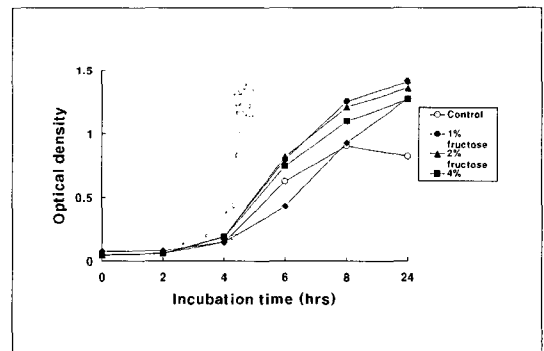
2% 과당을 병합 첨가할 때의 생균수는 ml당  $1.1 \pm 0.2 \times 10^7$ , 4% 과당을 병합 첨가할 때의 생균수는 ml당  $1.6 \pm 0.8 \times 10^7$ 으로 비슷하였다.(Fig. 5)

### 3. *Streptococcus mutans* 배양액의 thin layer chromatography

M17 액체배지에 *Streptococcus mutans*를 접종하여 24시간 배양할 때, 배지에 3% 자당을 첨가한 경



**Fig. 2.** Effect of fructose on the formation of artificial plaque by *Streptococcus mutans* in the media containing 3% sucrose.

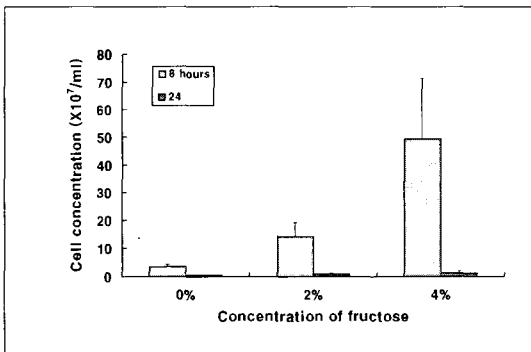


**Fig. 4.** Effect of fructose on the replication of *Streptococcus mutans* in the tryptone yeast extract broth containing 0.2% glucose. The optical density was measured at 660 nm in the spectrophotometer.

우(3S)에 비교하여 3% 자당과 2% 과당을 병합 첨가한 경우(3S2F)나 3% 자당과 4% 과당을 병합 첨가한 경우(3S4F) 대사되지 않은 자당양이 증가하였다.(Fig. 6)

#### 4. *Streptococcus mutans* 배양액의 성분분석

M17 액체배지에 *Streptococcus mutans*를 접종하여 24시간 배양한 침전물을 비교할 때, 배지에 3% 자당을 첨가한 경우(3S)에 비교하여 3% 자당과 4% 과당을 병합 첨가한 경우(3S4F) 비수용성 글루칸의 양은 감소하고, 4% 과당만 첨가한 경우(4F)는 비수용성 프럭탄만이 나왔다.(Fig. 7) M17 액체배지에 *Streptococcus mutans*를 접종하여 24시간 배양한 상청액을 비교할 때, 배지에 3% 자당을 첨가한 경우(3S)에 비교하여 3% 자당과 4% 과당을 병합 첨가한 경우(3S4F) 수용성 글루칸과 수용성 프럭탄의 양이 비슷하고, 4% 과당만 첨가한 경우(4F) 수용성 프럭탄만이 나왔다.(Fig. 8)



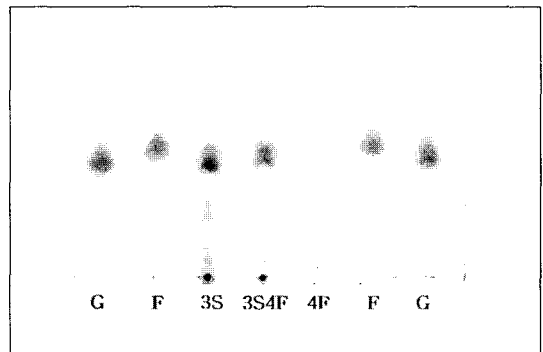
**Fig. 5.** Effect of fructose on the viable cell numbers of *Streptococcus mutans* in the media containing 3% sucrose. The number of viable cells was counted after incubating for 8 hours and 24 hours.

#### 5. Glucosyltransferase를 가한 배양액의 thin layer chromatography

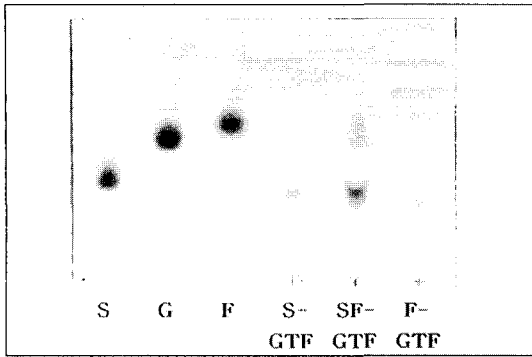
M17 액체배지에 glucosyltransferase를 가하여 72시간 배양할 때, 배지에 0.4% 자당을 함유한 경우(S-GTF)에 비교하여 0.4% 자당과 0.4% 과당을 병합 첨가한 경우(SF-GTF) 자당의 분해가 억제되어 남아있는 자당양이 증가하였다.(Fig. 9)

#### 6. Glucosyltransferase를 가한 배양액의 성분분석

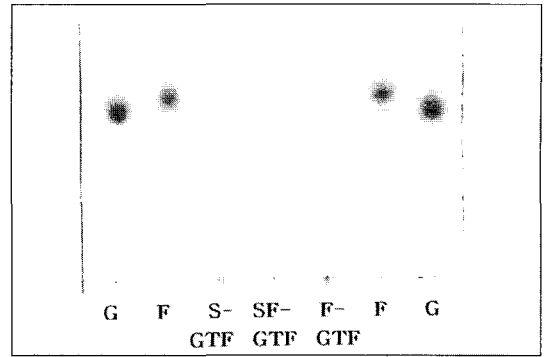
M17 액체배지에 0.4% 자당을 첨가하고 glucosyltransferase를 첨가하여 배양하면(Right tube) 0.4% 자당과 0.4% 과당을 병합 첨가한 경우(Left tube)와 비교하여 비수용성 폴리머가 생겨 혼탁하였다.(Fig. 10) 이것을 원심하면 배지에 0.4% 자당을 첨가한 경우의 침전물 무게는 20.4 mg이었으며, 0.4% 자당과 0.4% 과당을 병합 첨가한 경우는 16.3 mg이었다. M17 액체배지에 glucosyltransferase를 가하여 72시



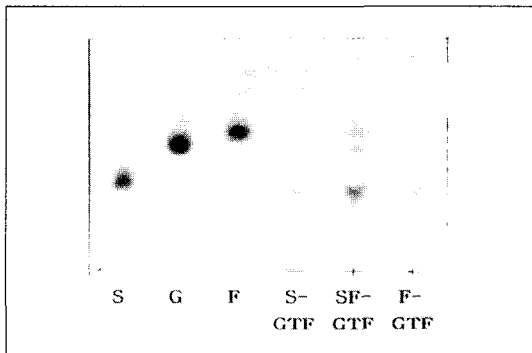
**Fig. 6.** Thin layer chromatography of culture supernatants formed by *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* was cultured in M17 broth with 3% sucrose(3S), 3% sucrose and 2% fructose(3S2F), or 3% sucrose and 4% fructose(3S4F) for 24 hours. Thin layer chromatography was conducted on silica gel plate using acetonitrile. S, G and F stand for sucrose, glucose and fructose, respectively.



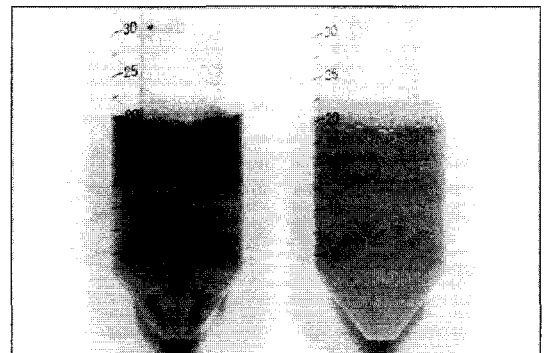
**Fig. 7.** Thin layer chromatography of insoluble polymer formed by *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* was cultured in M17 broth with 3% sucrose(3S), 3% sucrose and 4% fructose(3S4F), or 4% fructose(4F) for 24 hours. After centrifuging the culture solution, the precipitate was treated by 67% ethanol and 1 M HCl. Thin layer chromatography was conducted on silica gel plate using acetonitrile. G and F stand for glucose and fructose, respectively.



**Fig. 8.** Thin layer chromatography of soluble polymer formed by *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* was cultured in M17 broth with 3% sucrose(3S), 3% sucrose and 4% fructose(3S4F), or 4% fructose(4F) for 24 hours. After centrifuging the culture solution, the supernatant was treated by 67% ethanol and 1 M HCl. Thin layer chromatography was conducted on silica gel plate using acetonitrile. G and F stand for glucose and fructose, respectively.



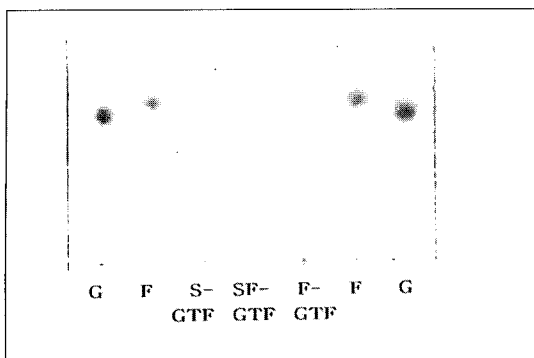
**Fig. 9.** Fructose affecting the action of glucosyltransferase on sucrose. Glucosyltransferase was incubated in M17 broth with 0.4% sucrose(S-GTF), 0.4% sucrose and 0.4% fructose(SF-GTF), or 0.4% fructose(F-GTF) for 72 hours. Thin layer chromatography was conducted on silica gel plate using acetonitrile. S, G and F stand for sucrose, glucose and fructose, respectively.



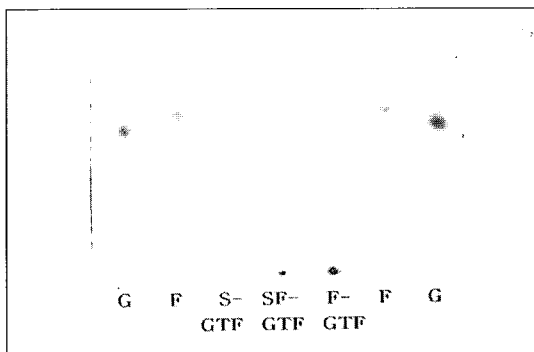
**Fig. 10.** Fructose affecting the action of glucosyltransferase on sucrose. Glucosyltransferase was incubated in M17 broth with 0.4% sucrose only(Right tube) or combined with 0.4% fructose(Left tube) for 72 hours. Insoluble polymers were more formed in right tube.

간 배양한 침전물을 비교할 때, 배지에 0.4% 자당을 첨가한 경우(S-GTF)에 비교하여 0.4% 자당과 0.4% 과당을 병합 첨가한 경우(SF-GTF) 비수용성

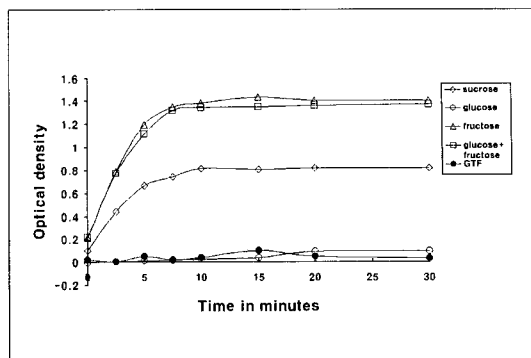
폴리머의 양은 감소하였다.(Fig. 11) Anthrone 시약을 사용한 비수용성 폴리머 성분시험 결과, 비수용성 폴리머의 구성 물질은 포도당으로(Fig. 12) 비수



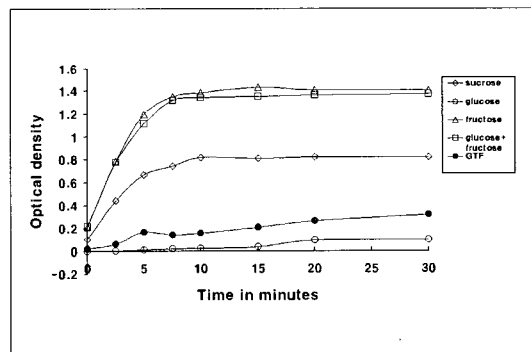
**Fig. 11.** Thin layer chromatography of insoluble polymer formed by glucosyltransferase. Glucosyltransferase was incubated in M17 broth with 0.4% sucrose(S-GTF), 0.4% sucrose and 0.4% fructose(SF-GTF), or 0.4% fructose(F-GTF) for 72 hours. After centrifuging the culture solution, the precipitate was treated by 67% ethanol and 1 M HCl. Thin layer chromatography was conducted on silica gel plate using acetonitrile. G and F stand for glucose and fructose, respectively.



**Fig. 13.** Thin layer chromatography of soluble polymer formed by glucosyltransferase. Glucosyltransferase was incubated in M17 broth with 0.4% sucrose(S-GTF), 0.4% sucrose and 0.4% fructose(SF-GTF), or 0.4% fructose(F-GTF) for 72 hours. After centrifuging the culture solution, the supernatant was treated by 67% ethanol and 1 M HCl. Thin layer chromatography was conducted on silica gel plate using acetonitrile. G and F stand for glucose and fructose, respectively.



**Fig. 12.** Anthrone reaction curve of lysed insoluble polymer formed by glucosyltransferase. Glucosyltransferase was incubated in M17 broth with 0.4% sucrose for 72 hours, and the precipitate was treated by 1 M HCl. Sucrose, glucose, fructose, glucose plus fructose, and lysed insoluble polymer were reacted with anthrone solution at 60°C.



**Fig. 14.** Anthrone reaction curve of lysed soluble polymer formed by glucosyltransferase. Glucosyltransferase was incubated in M17 broth with 0.4% sucrose for 72 hours, and the supernatant was treated by 67% ethanol and 1 M HCl. Sucrose, glucose, fructose, glucose plus fructose, and lysed soluble polymer were reacted with anthrone solution at 60°C.

용성 폴리머는 비수용성 글루칸이었다. M17 액체배지에 glucosyltransferase를 가하여 72시간 배양한 상청액을 비교할 때, 배지에 0.4% 자당을 첨가한 경우(S-GTF)에 비교하여 0.4% 자당과 0.4% 과당을 병합 첨가한 경우(SF-GTF) 수용성 폴리머 양은 증가하였다.(Fig. 13) Anthrone 시약을 사용한 수용성 폴리머 성분시험 결과, 수용성 폴리머의 구성 물질은 포도당으로(Fig. 14) 수용성 폴리머는 수용성 글루칸이었다.

#### IV. 고. 찰

치태는 치아와 치은 및 기타 구강구조물의 표면에 형성된 연한 침착물로 주성분이 세균과 세균간물질로 구성되어 있다.<sup>9)</sup> 치태의 형성과정은 치면에 세균의 집락이 형성되는 단계와 치태가 성장 및 성숙하는 단계로 구성된다. 치태의 형성초기에는 타액내 당단백질이 치면에 흡착되어 0.1-0.8  $\mu\text{m}$ 의 획득피막이 생기고 여기에 그람양성구균들이 세균 집락을 이루어 가역적단계와 비가역적단계를 거치면서 그 부착력이 강화되는데, 이 때 연쇄상구균이 생성한 세포의 다당류가 기여한다. 세포의 다당류는 치아와 치주 건강에 중요한 역할을 하는데, 첫째, 세포의 다당류는 끈끈한 특성을 가지고 접착성이 강하여 세균의 부착 및 응집을 조장하고, 둘째, 세균이 필요로 하는 에너지의 저장소가 될 수 있으며, 셋째, 세균이 만드는 독소와 염증을 일으키는 물질을 포함하고 있기 때문이다.<sup>10)</sup>

*Streptococcus mutans* 군은 항원성에 따라 8개의 혈청형(a-h)으로 나눌 수 있는데, 이중 혈청형 c가 전세계적으로 가장 많이 분리되고 있으며, 구강내 치태 형성의 주된 세균이다.<sup>3)</sup> *Streptococcus mutans*는 glucosyltransferase와 fructosyltransferase를 분비하여 세포의 다당류를 생성하는데 이것을 투과전자 현미경으로 관찰하면 구형의 프럭탄, 한가닥 섬유 구조의 텍스트란, 두가닥 섬유 구조의 뮤탄을 볼 수 있다.<sup>11)</sup> 뮤탄은 치아표면에 *Streptococcus mutans* 외에 다른 세균들의 증식을 촉진시키며, 텍스트란과 프럭탄은 세균의 세포외 에너지 공급원이 되고 있다. 세포의 글루칸은 *Streptococcus mutans* 외에도 다른 *Streptococcus*, *Lactobacillus*와 같은 구

강세균에 의해 형성되는데, 이들 세균이 치아 표면에 부착하여 치태를 형성하는데 기여하고 있다.<sup>12-15)</sup>

*Streptococcus mutans*는 세균 외부로 glucosyltransferase를 분비하여 자당으로부터  $\alpha$ -1,3-glucose linkage가 주된 결합인 비수용성 글루칸, 즉 뮤탄과  $\alpha$ -1,6-glucose linkage가 주된 결합인 수용성 글루칸을 생성한다.<sup>6)</sup> Glucosyltransferase는 세종류가 있는데, 그 중 GTF-S는 수용성 글루칸을 생성하고 GTF-I와 GTF-SI는 비수용성 글루칸을 생성한다.<sup>16-18)</sup> 이 효소들은 세개의 *gtf* 유전자에 의해 생성되는데, *gtfB* 유전자에 의해서 GTF-I, *gtfC* 유전자에 의해서 GTF-SI, *gtfD* 유전자에 의해서 GTF-S가 생성되며,<sup>16-18)</sup> 두 개의 기능적 domain 즉, glucan binding domain(GBD)과 sucrose binding domain을 갖고 있다. Glucosyltransferase가 어떤 종류의 글루칸을 생성하는가의 여부나 primer에 의존적인가의 여부는 카복시 말단에 있는 GBD와 관련성이 높다.<sup>19)</sup>

본 연구에서 자당을 가한 배지에서 *Streptococcus mutans*를 배양할 때 과당을 병합 첨가하면 *Streptococcus mutans* 배양액의 생균수는 과당을 첨가하지 않을 때와 비교하여 배양 8시간 후 많은 증가가 있었으나, 배양 24시간 후는 비슷하였다. 이는 과당이 쉽게 대사에 이용되기 때문에 세균이 빠르게 증가하여 배양 24시간이 되면 세균은 성장곡선중 사멸기(death phase)에 있게 되어 배양 8시간에 비하여 생균수도 적어진다. 그러나 와이어상에 형성된 인공치태 무게는 배양 8시간과 24시간 모두에서 배지에 과당을 병합 첨가하면 유의하게 감소하였다. 이는 *Streptococcus mutans* 배양시 인공치태 형성에 이용되는 자당의 사용이 과당에 의해 감소된 것으로 추정할 수 있다. 배지에 *Streptococcus mutans*를 접종하여 24시간 배양한 후 배양액을 thin layer chromatography로 검사하여 보면 배지에 자당만 가한 경우보다 자당과 과당을 병합 첨가한 경우 대사되지 않은 자당양이 증가한 것으로 보아 첨가된 과당에 의해서 자당의 이용이 억제된 것으로 보인다. 이때 배양 침전물과 상청액의 성분을 분석하여 보면 자당만 첨가할 때와 비교하여 자당과 과당을 병합 첨가할 때 침전물에 생성된 비수용성 글루칸의 양은 감소하고 배양 상청액에 생성된 수용성 글루칸 양은 비슷하였다. 이와 같은 결과는 자당이 첨가된 배지



에 *Streptococcus mutans*를 배양할 때 과당을 병합 첨가하면 자당의 대사에 영향을 미쳐 비수용성 글루칸의 생성을 억제하는 것으로 사료된다. 배지에 glucosyltransferase를 가하고 72시간 배양할 때 배지에 자당만 첨가한 경우에 비교하여 자당과 과당을 병합 첨가한 경우 thin layer chromatography 상 분해되지 않은 자당양은 증가하였다. 자당과 과당을 병합 첨가한 배지에서의 *Streptococcus mutans* 배양 침전물에 존재하는 비수용성 폴리머양은 자당만 첨가한 경우보다 감소하였으나, 배양 상청액에 존재하는 수용성 폴리머양은 증가하였다. Anthrone 반응 결과가 때 생성된 비수용성 폴리머나 수용성 폴리머가 모두 포도당으로 구성된 글루칸인 것으로 보아 자당에 작용하는 glucosyltransferase의 GBD에 과당이 영향을 미친 것으로 사료된다.

이상의 결과로 볼 때, *Streptococcus mutans*의 자당 대사시 과당을 병합 첨가하면 과당이 glucosyltransferase에 작용함으로써 비수용성 글루칸 생성이 억제되어 인공치태 형성이 감소됨을 보여 주었다. 구강내 치태 형성에 대한 영양물질의 병합 효과를 더 알기 위해서는 탄수화물과 기타 물질에 작용하는 효소에 대한 연구가 더 필요한 것으로 사료된다.

## V. 결 론

*Streptococcus mutans*는 자당을 대사하여 에너지를 생성하고 세포외 다당류를 만든다. 본 연구에서는 *Streptococcus mutans*의 자당 대사에 미치는 과당의 영향을 규명하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 자당(3%)이 첨가된 배지에서 *Streptococcus mutans*를 8시간 배양시 와이어상에 형성된 인공치태 무게는  $124.3 \pm 3.0$  mg인데 반해, 과당(4%)을 병합 첨가하면  $20.7 \pm 10.2$  mg으로 감소하였다. ( $p < 0.05$ )
2. 포도당이 든 대조군에 자당을 병합 첨가하여 *Streptococcus mutans*를 24시간 배양하면 배양액의 흡광도는 대조군에 비교하여 증가하지 않았으나, 과당 병합 첨가시는 증가하였다.
3. 자당과 과당이 병합 첨가된 배지에 *Streptococcus mutans*를 8시간 배양하면 자당만 첨가될 때보다 생균수가 증가하였다.

4. 자당과 과당이 병합 첨가된 배지에서의 *Streptococcus mutans* 배양액에는 자당만 첨가될 때보다 남아있는 자당양이 증가하였고 생성된 비수용성 글루칸양은 감소하였다.
  5. 자당과 과당이 병합 첨가된 배지에 glucosyltransferase를 가하면 자당만 첨가될 때보다 남아있는 자당과 생성된 수용성 글루칸양이 증가하였으나, 생성된 비수용성 글루칸양은 감소하였다.
- 이상의 결과는 *Streptococcus mutans*의 자당 대사시 과당을 병합 첨가하면 자당의 대사와 비수용성 글루칸의 생성이 억제됨을 보여 주었다.

## 참고문헌

1. Park KC. Tooth plaque(2). Dental research 1998;43:23-30.
2. Clarke JK. On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. Br J Exp Pathol 1924;5:141-147.
3. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev 1980;44:331-384.
4. Rolla G, Scheie AA, Ciardi JE. Role of sucrose in plaque formation. Scand. J Dent Res 1985;93:105-111.
5. Guggenheim B. Extracellular polysaccharides and microbial plaque. Int Dent J 1970;20:657-678.
6. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. Microbiol Rev 1986;50:353-380.
7. Tanzer JM. Microbiology of dental caries. In: Contemporary oral microbiology and immunology, edited by Slots J. and Taubman M. St. Louis: Mosby, pp. 1992 p.377-424.
8. Halhoul MN, Kleinberg I. Differential determination of glucose and fructose, and glucose- and fructose-yielding substances with anthrone. Ana Biochem 1972;50:337-343.
9. McDougall WA. Studies on the dental

- plaque. I. The histology of the dental plaque and its attachment. *Aust Dent J* 1963;8:261-273.
10. Newbrun E. Polysaccharide synthesis in plaque. *Microbiology Abstract Suppl. Microbial aspect of dental caries III*. 1979 p.659.
  11. Toda Y, Moro I, Koga T, Asakawa H, Hamada S. Ultrastructure of extracellular polysaccharides produced by serotype c *Streptococcus mutans*. *J Dent Res* 1987;66:1364-1369.
  12. Gibbons RJ, Banghart SS. Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human dental plaque. *Arch Oral Biol* 1967;12:11-24.
  13. Dewar MG, Walker GJ. Metabolism of the polysaccharides of human dental plaque. *Caries Res* 1975;9:21-35.
  14. Gibbons RJ, van Houte J. Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Ann Rev Microbiol* 1975;29:19-44.
  15. Hammond BF. Dextran production by a human oral strain of *Lactobacillus casei*. *Archs Oral Biol* 1969;14:879-890.
  16. Aoki H, Shiroza T, Hayakawa M, Sato S, Kuramitsu HK. Cloning of a *Streptococcus mutans* glucosyltransferase gene coding for insoluble glucan synthesis. *Infect Immun* 1986;53:587-594.
  17. Hanada N, Kuramitsu HK. Isolation and characterization of the *Streptococcus mutans gtfC* gene, coding for synthesis of both soluble and insoluble glucans. *Infect Immun* 1988;56:1999-2005.
  18. Hanada N, Kuramitsu HK. Isolation and characterization of the *Streptococcus mutans gtfD* gene, coding for primer-dependent soluble glucan synthesis. *Infect Immun* 1989;57:2079-2085.
  19. Nakano YJ, Kuramitsu HK. Mechanism of *Streptococcus mutans* glucosyltransferase: hybrid-enzyme analysis. *J Bacteriol* 1992;174:5639-5646.

---

**Reprint request to:**

**Jai-Bong Lee**, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Prosthodontics, Graduate School Seoul National University  
28-1, Yeongun-dong, Chongno-gu, Seoul, 110-749, Korea  
swallow@snu.ac.kr

ABSTRACT

## THE EFFECT OF FRUCTOSE ON THE METABOLISM OF SUCROSE BY *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Jig-Hyeon Shim, D.D.S., Mong-Sook Vang, D.D.S., Ph.D., Hong-So Yang, D.D.S., Ph.D.,  
Sang-Won Park, D.D.S., Ph.D., Ha-Ok Park, D.D.S., Ph.D.,  
Jong-Suk Oh, D.M.D., Ph.D.\*, Jai-Bong Lee, D.D.S., M.S.D., Ph.D.\*\*

*Department of Prosthodontics, College of Dentistry, Chonnam National University*

*\*Department of Microbiology, College of Medicine, Chonnam National University*

*\*\*Department of Prosthodontics, Graduate School, Seoul National University*

**Statement of problem:** *Streptococcus* produces energy and forms extracellular polysaccharides by metabolizing sucrose. Insoluble glucan, a kind of extracellular polysaccharide, is the important material of dental plaque. Fructose affects the metabolism of sucrose.

**Purpose:** The purpose of this study was to evaluate the effect of fructose on the metabolism of sucrose in *Streptococcus mutans*.

**Materials and methods:** To determine the effect of fructose on the formation of artificial plaque by *Streptococcus mutans* Ingbritt, *S. mutans* and fructose were placed in beakers containing M17 broth and sucrose. The wires were hung on frameworks inserted into cork stoppers, and then immersed in each of the beakers. After the incubation with gentle shaking, each wire was weighed. To analyze the effect of fructose on the sucrose metabolism by *S. mutans* or glucosyltransferase, *S. mutans* and fructose were placed in M17 broth containing sucrose. After the incubation, the remaining sucrose and polymers were analysed by thin layer chromatography.

**Results:** The following results were obtained:

1. When *Streptococcus mutans* was cultured in the media containing 3% sucrose for 8 hours, the mean weight of formed artificial plaque on the wires was  $124.3 \pm 3.0$  mg, whereas being reduced to  $20.7 \pm 10.2$  mg in the media added with 3% sucrose and 4% fructose ( $p < 0.05$ ).
2. When the control containing glucose was added with sucrose, the optical density of *Streptococcus mutans* solution cultured for 24 hours was not increased compared with the control, while being increased by adding with fructose.
3. When *Streptococcus mutans* was incubated in the media added with sucrose and fructose for 8 hours, the number of viable cells was increased compared with the media added with sucrose.
4. The amount of remained sucrose was increased in *Streptococcus mutans* culture supernatant of media added with sucrose and fructose than with sucrose only, but the amount of produced insoluble glucan was decreased.
5. The amounts of remained sucrose and produced soluble glucan were increased in the culture of glucosyltransferase-contained media added with sucrose and fructose than with sucrose only, but the amount of produced insoluble glucan was decreased.

**Conclusion:** These results indicated that the sucrose metabolism and the production of insoluble glucan were inhibited in *Streptococcus mutans* by adding fructose in the media containing sucrose.

---

**Key words :** *Streptococcus mutans*, Sucrose, Fructose, Glucan