

Research Article

치아우식을 유발하는 *Streptococcus mutans*에 대한 억제효과를 가진 김치 유래 유산균 *Latilactobacillus sakei* subsp. *sakei* THYJ-15

정제용¹ · 유두나¹ · 권예지² · 이은지³ · Nguyen Thi Minh Trang¹ · 국무창⁴ · 이태후^{1*}

¹경희대학교 일반대학원 생명공학원, ²경희대학교 생명과학대학 한방생명공학과
³경기대학교 대학원 대체의학과, ⁴배화여자대학교 식품영양학과

Anticariogenic Effects of *Latilactobacillus sakei* subsp. *sakei* THYJ-15 Isolated from Kimchi against *Streptococcus mutans*

Je-Yong Jung¹, Du-Na Yu¹, Ye-Ji Kwon², Eun-Ji Yi³,
 Nguyen Thi Minh Trang¹, Moochang Kook⁴ and Tae-Hoo Yi^{1*}

¹Department of Biotechnology, Kyunghee University, Gyeonggi 17104, Republic of Korea

²Department of Oriental Medicinal Biotechnology, Kyunghee University, Gyeonggi 17104, Republic of Korea

³Department of Alternative Medicine, Kyonggi University, Seoul 03746, Republic of Korea

⁴Department of Food & Nutrition, Baewha Women's University, Seoul 03039, Republic of Korea

Received: May 30, 2023

Revised: Jun. 17, 2023

Accepted: Jun. 23, 2023

*Corresponding author :

Tae-Hoo Yi

Department of Biotechnology,
 Kyunghee University, Gyeonggi
 17104, Republic of Korea.

Tel: +82-31-201-2609,

E-mail: drhoo@khu.ac.kr

ORCID

Je-Yong Jung

<https://orcid.org/0000-0003-1358-9718>

Du-Na Yu

<https://orcid.org/0000-0001-9107-9137>

Ye-Ji Kwon

<https://orcid.org/0009-0000-0394-1445>

Eun-Ji Yi

<https://orcid.org/0000-0002-1346-415x>

Trang Thi Minh Nguyen

<https://orcid.org/0000-0001-5288-8994>

Tae-Hoo Yi

<https://orcid.org/0000-0001-9369-6542>

Moochang Kook

<https://orcid.org/0000-0003-4098-8298>

Abstract

Dental caries is an infectious disease that is caused by the interaction between the host, the diet, and a diverse microbial community. This study illustrated the anticariogenic effects of THYJ-15 against *Streptococcus mutans*, a major agent of dental caries. THYJ-15 was identified as *Latilactobacillus sakei* subsp. *sakei* through 16S rRNA sequencing, with a similarity of 99.72% to *L. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157^T. The cell-free supernatant of *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15 observed MIC values of 10 mg/mL and MBC values of 20 mg/mL against *S. mutans* KACC 16833^T. The cell-free supernatant of *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15 showed significant inhibitory effects on biofilm formation, acid production and glucosyltransferases(GTFs) production against *S. mutans*. As a results, it was confirmed that *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15 is a lactic acid bacterium possessing notable anticariogenic effects. Accordingly, *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15 is expected to have great potential to be used as a basic substance for dental caries treatment caused by *S. mutans*.

Keywords

Latilactobacillus sakei subsp. *sakei* THYJ-15, anticariogenic, antibiofilm, Kimchi, *Streptococcus mutans*.

서론

유산균은 그람 양성, 통성 혐기성의 간균 혹은 구균 형태의 세균으로 에너지원으로 당을 이용하며, 발효과정을 통해 젖산을 생성하는 것으로 보고되어 있다(Pot *et al.*, 2014). 또한 생육과정에서 유기산, 과산화수소 및 박테리옌 등의 항균물질을 생산하는 것으로 알려져 있으며, 프로바이옌스(probiotics)의 형태로 활용할 경우, 장내 세균총을 조절하여 숙주의 면역력을 증진시키고, 장 건강을 개선하는 효과가 있어 건강기능성 식품 산업에서 널리 활용되어 왔다(Shokryazdan *et al.*, 2014).

치아우식증은 구강 감염성 질병의 일종으로 일반적으로 *Streptococcus mutans*가 생산하는 생물막이 주요 원인이 되어 유발된다(Forssten *et al.*, 2010). *S. mutans*는 식품에 포함되어 있는 포도당 및 자당을 이용하여 세포 외 다당류(exopolysaccharide)를 생산하며, 세포 외 다당류를 포함한 *S. mutans*의 대사산물은 치아 표면의 생물막(biofilm) 형성 초기단계에 관여하여 결과적으로 치태를 형성하게 된다(Zisu *et al.*, 2003). 생물막의 일종인 치태는 항생제나 항균제가 치태 내부로 침투하지 못하게 차단할 뿐만 아니라, 유기산을 생산하는 다양한 스트렙토코커스(*Streptococcus*)속 구강 박테리아의 생장에 도움을 주어 치태 내 산도를 낮춰서 치아우식을 가속화하는 역할을 한다(Marsh *et al.*, 2015). 이러한 과정에 따라 치태 내에 축적된 *S. mutans*를 포함한 병원성 세균들은 치아우식을 유발할 뿐 아니라, 구강 내 상치를 통해 체내로 유입될 경우, 심내막염 및 심혈관 질환 등 전신감염의 원인이 된다(Nakano *et al.*, 2006). 이에 따라, 구강환경을 개선하여 *S. mutans*에 의한 치아우식증 및 관련질환을 극복하기 위한 치료와 연구가 진행되고 있으며(Zhang *et al.*, 2020), 특히 유산균 및 유산균 대사산물이 구강 건강 개선 효과가 우수하다는 연구결과를 바탕으로 이를 활용한 구강 기능성 제품들이 개발되고 있는 추세이다(Mann *et al.*, 2021).

본 연구에서는 전통 발효식품인 김치로부터 유산균을 분리하여, 유산균의 대사물질이 *S. mutans*의 생육 및 생물막 형성을 억제하는지 평가하였으며, 본 연구에서 분리한 유산균 THYJ-15의 *S. mutans*에 의한 치아우식증 예방 및 구강 건강을 개선 효과를 가진 기능성 제품 소재로서 개발 가능성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

사용 균주

연구에 사용한 지시균주 *Streptococcus mutans* KACC 16833^T는 국립농업과학원 농업미생물은행(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)에서 분양 받아 사용하였다.

김치 유래 유산균의 분리 및 동정

실험에 사용한 김치시료는 멸균 생리식염수에 희석한 후, 유산균 감별 배지인 Bromo Cresol Purple(BCP) plate count agar(E-MB31, EIKEN chemical, Japan)에 희석도말하여 30℃에서 48시간 배양하였다. 이후 젖산(lactic acid)을 생산하여 colony 주위에 노란 환을 생성한 균을 유산균으로 잠정 판단하고 선발하였다(Yuki *et al.*, 1999). 분리한 균주의 생화학적 특성을 확인하기 위해 API 50 CHL kit(50300, BioMérieux, France) 및 API 20 ZYM kit(25200, BioMérieux, France)를 이용하여 당 이용성 및 효소의 활성을 확인하였으며, 이후 16S rRNA 염기 서열을 분석(BIOFACT, Korea)하여 최종 동정하였다. 분석한 염기서열은 EZBioCloud(www.ezbiocloud.net)의 16S database tool을 기반으로 표준 균주의 염기서열과 비교하여 동정하였으며, MEGA-X 프로그램의 neighbor-joining 및 maximum-parsimony 방법을 사용하여 근연관계 및 계통수(phylogenetic tree)를 확인하였다(Ventura *et al.*, 2003).

항균 활성 확인

실험은 Wiegand 등(2008)의 액체배지 희석법(broth dilution method)을 참고하여 진행하였다. MRS broth에 종균 배양한 THYJ-15균주를 MRS broth에 1%(v/v) 접종하여 30℃에서 48시간 배양 후, 4,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 취해 0.2 µm membrane filter(SN25P020SS, Hyundai micro, South Korea)로 여과하였다. 이후 여과액을 감압 농축한 것을 항균실험의 시료로 사용하였다. *S. mutans* KACC 16833^T는 0.3% yeast extract를 첨가한 tryptic soy broth(211825, Difco, USA)에 1%(v/v)로 접종하여 37℃에서 24시간 배양한 후, 10⁶ CFU/mL로 희석하여 실험에 사용하였다. 이후 96-well microplate(30096, SPL life sciences, South Korea)에 *S. mutans* KACC 16833^T 배양액과 시료를 동량 분주하여 37℃에서 24시간 배양하였다. 이후 균주의 농도 별 생육정도를 확인하기 위하여 ELISA microplate reader(Filter Max F5, Molecular Devices, USA)를 사용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 음성대조군으로는 시료와 같은 농도로 감압 농축한 MRS broth를 사용하였다. MIC 및 MBC 값의 확인을 위하여 액체배지 희석법에 따라 항균실험을 실시한 균주 배양액을 0.3% yeast extract를 첨가한 TSB agar plate에 희석도말하여 37℃에서 24시간 배양하여 colony의 생성 여부를 확인하였으며, colony 형성 양상에 따라 최소저해농도(MIC)와 최소살균농도(MBC)를 설정하였다.

생물막 형성 억제 효과

생물막 억제 효과의 확인은 Kouki 등 (2020)의 방법을 참고하여 진행하였다. 먼저 시료를 96-well microplate에 2배수 연속 희석법으로 희석하여 각 well에 100 μ L씩 분주한 후, 0.3% yeast extract와 1% sucrose를 첨가한 TSB broth 배지에 2×10^6 CFU/mL의 농도로 희석한 *S. mutans*를 동량 첨가하였다. 이후 37°C에서 24시간 동안 배양하였으며, 배양 후 각 well을 멸균된 PBS로 2회 세척하여 건조하고, 0.01% 크리스탈바이올렛(crystal violet solution)을 각 well에 첨가하여 15분간 염색하였다. 염색 후 멸균된 PBS로 2회 세척하여 비특이적 염색을 제거한 후 건조하였다. 건조된 well에 각각 33% 아세트산(acetic acid)을 첨가하여 염색된 생물막을 용해시켰으며, ELISA microplate reader를 사용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험의 음성대조군으로는 시료와 같은 농도로 감압농축한 MRS broth를 사용하였다.

유기산 억제 효과

유기산 억제실험을 통해 THYJ-15 균주가 *S. mutans*의 산 생성을 억제하는지에 대하여 확인하였다. 0.3% yeast extract와 1% sucrose를 첨가한 TSB broth에 시료를 첨가한 후 2배 연속 희석법을 진행하였다. 이후 배지에 *S. mutans* 16833^T 균액을 분주하여 균수를 10^6 CFU/mL로 조정된 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 이후 pH meter(Seven Compact Duo S213, Mettler Toledo, Switzerland)를 이용하여 *S. mutans*가 배양된 배지의 pH를 측정하였으며, 동시에 UV-Vis Spectrophotometer (OPTIZEN POP, Mecasys, South Korea)를 사용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Glucosyltransferase(GTFs) 생성 억제 효과

*S. mutans*의 세포 외 다당류를 생성하는 효소인 GTFs의 억제를 확인하기 위해 GTFs의 생성 억제 평가를 실시하였으며, 실험 방법은 Russell 등 (1987)의 방법을 참고하였다. 37°C에서 24시간 배양한 *S. mutans* KACC 16833^T를 4,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하고, 상등액의 pH를 7.0으로 보정하였다. 보정 후 0.02% sodium azide를 첨가하여 GTFs coenzyme solution을 준비하였다. 이후 GTFs coenzyme solution과 시료의 혼합액에 2.0% sucrose를 첨가하여 37°C에서 24시간 반응시킨 후 UV-Vis Spectrophotometer를 사용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

통계학적 분석은 Graphpad prism 5(GraphPad Software

version 5.01, USA)를 사용하여 평균(mean) 및 표준편차(standard deviation, SD)로 표기하였으며, 분산분석(ANOVA)을 실시하였다. Tukey의 다중비교 방법을 사용하여 사후 검증을 진행하였으며, $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판단하였다.

결과 및 고찰

김치 유래 유산균 THYJ-15의 분리 및 동정

본 실험에서 분리한 균주의 16S rRNA 유전자 염기서열 분석 결과, THYJ-15는 표준균주 중 *L. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157^T와 가장 높은 유사도(99.72%)를 가진 것으로 확인되어 *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15로 명명하였다 (Fig. 1). API 20 ZYM kit를 이용한 THYJ-15의 효소 이용 여부 확인 결과, THYJ-15는 Leucine arylamidase를 포함한 7종의 효소의 이용을 확인할 수 있었으며 (Table 1), API 50 CHL kit를 이용한 THYJ-15의 당 이용성 검정 결과, THYJ-15는 L-arabinose를 포함한 15종의 당을 이용할 수 있음을 확인할 수 있었다 (Table 2).

THYJ-15 배양액의 *Streptococcus mutans*에 대한 항균 효과

L. sakei subsp. *sakei* THYJ-15의 *S. mutans* KACC 16833^T에 대한 항균활성 확인 결과, MRS와 THYJ-15를 0.63, 1.25, 2.5, 5, 10 및 20 mg/mL의 농도로 처리하였을 때, MRS 처리군 대비

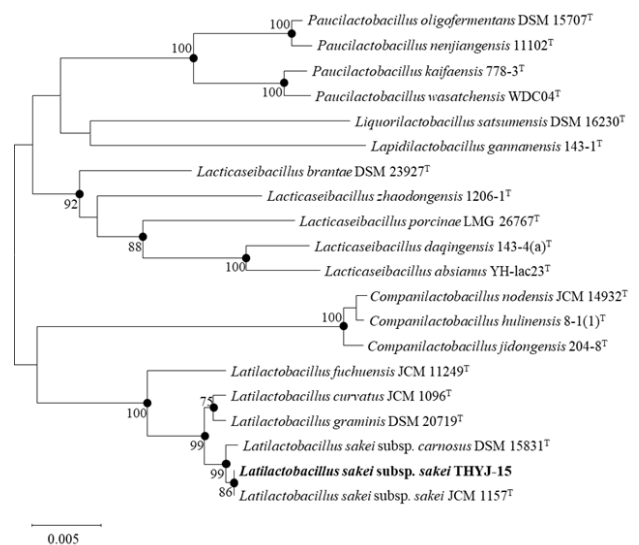


Fig. 1. Phylogenetic tree of *Latilactobacillus sakei* subsp. *sakei* THYJ-15. Bootstrap values(expressed as a percentage of 1,000 replications) > 75% are shown at the branch points. Bar, 0.005 substitutions per nucleotide position.

Table 1. Enzyme profile of *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15 using API ZYM kit

Enzyme profile	THYJ-15	Enzyme profile	THYJ-15
Alkaline phosphatase	–	Acid phosphatase	+ ¹⁾
Esterase (C4)	– ²⁾	Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	+
Esterase lipase (C8)	–	α -Galactosidase	+
Lipase (C14)	–	β -Glucuronidase	+
Leucine arylamidase	+	β -Glucosidase	–
Valine arylamidase	+	α -Glucosidase	–
Crystine arylamidase	–	N-Acetyl- β -glucosaminidase	+
Trypsin	–	α -Mannosidase	–
α -Chymotrypsin	–	α -Fucosidase	–

¹⁾ +, positive; ²⁾ –, negative.

Table 2. Biochemical reactions of *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15 using API 50 CHL kit

Substrate	THYJ-15	Substrate	THYJ-15
Glycerol	–	Salicin	–
Erythritol	–	Cellobiose	+ ¹⁾
D-Arabinose	–	Maltose	– ²⁾
L-Arabinose	+	Lactose	–
D-Ribose	+	Melibiose	+
D-Xylose	–	Sucrose	+
L-Xylose	–	Trehalose	+
D-Adonitol	–	Inulin	–
Methyl- β -xylopyranoside	–	Melezitose	–
D-Galactose	+	Raffinose	–
D-Glucose	+	Starch	–
D-Fructose	+	Glycogen	–
D-Manose	+	Xylitol	–
L-Sorbose	–	Gentiobiose	+
Rhamnose	+	D-Turanose	–
Ducitol	–	D-Lyxose	–
Inositol	–	D-Tagatose	–
Manitol	–	D-Fucose	–
Sorbitol	–	L-Fucose	–
α -Methyl-D-mannoside	–	D-Arabitol	–
α -Methyl-D-glucoside	–	L-Arabitol	–
N-Acethyl-glucosamine	+	Gluconate	+
Amygdalin	–	2-Keto-gluconate	–
Arbutin	–	5-Keto-gluconate	–
Esculin	+		

¹⁾ +, positive; ²⁾ –, negative.

THYJ-15에서 *S. mutans*의 생육이 각각 6.53, 15.16, 27.70, 37.62, 77.76 및 82.88% 억제되는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2). 희석 도말법을 이용하여 THYJ-15의 *S. mutans*에 대한 최소 저해농도(MIC)와 최소살균농도(MBC)를 확인한 결과, 최소저해농도는 10 mg/mL이며, 최소살균농도는 20 mg/mL인 것으로 확인되었다. 항균실험결과, THYJ-15 배양액이 농도의존적으로 *S. mutans*의 생육을 억제시키는 것으로 확인되었으므로 THYJ-15가 생산하는 대사산물에는 *S. mutans*의 성장을 억제하는 물질이 포함되어 있어 치아우식증 치료의 기반 물질로서 연구될 잠재력이 있을 것으로 판단된다.

THYJ-15 배양액의 생물막 형성 억제 효과

L. sakei subsp. *sakei* THYJ-15의 *S. mutans*에 대한 생물막 형성 억제 효과를 확인 결과, THYJ-15 배양액은 농도 의존적으로 *S. mutans*의 생물막 형성을 억제하는 것으로 확인되었다. 특히 음성대조군인 MRS broth와 비교하였을 때 10 mg/mL 및 20 mg/mL에서 생물막 형성을 54.17% 및 94.15% 더 억제하는 등, 1.25, 2.5, 5, 10 및 20 mg/mL 대부분의 농도에서 유의적으로 생물막 형성을 억제하는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3). Shemesh 등(2007)의 연구에 따르면 포도당 및 당류는 *S. mutans*의 생물막 형성을 증가시킨다고 보고되고 있다. 시료 내 포함되어 있는 MRS broth 또한 많은 양의 당류가 포함되어 있으므로 시료의 농도가 높아지면 생물막 형성이 촉진되는 현상이 나타날 수 있다. 그러나 THYJ-15의 경우, 시료의 농도가 증가함에 동시에 시료 내 MRS broth의 농도 또한 증가함에도 불구하고, *S. mutans*

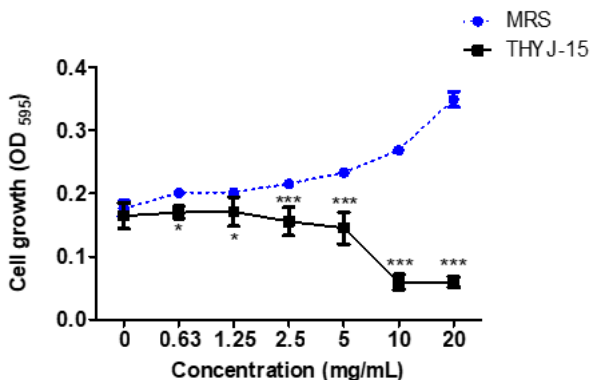


Fig. 2. Inhibition of cell growth at *S. mutans* KACC 16833^T on *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15. After treatment at the indicated concentration for each samples, incubated for 24 h, the cell growth was measured using a microplate reader. Values are mean \pm SD. * $p < 0.05$, and *** $p < 0.001$ vs. MRS-treated group.

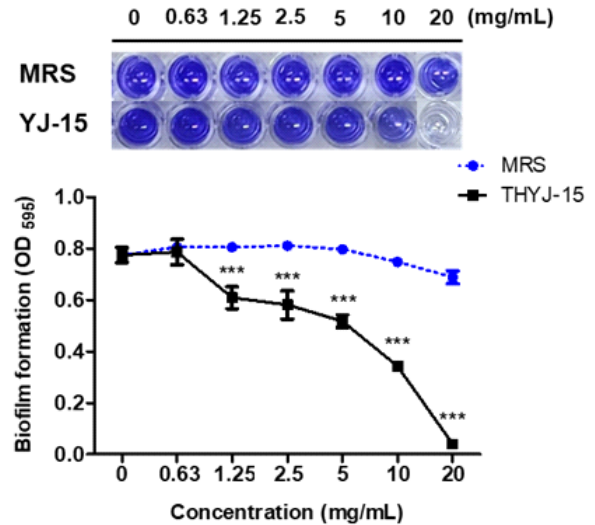


Fig. 3. Inhibition of biofilm formation at *S. mutans* KACC 16833^T on *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15. Using 1% sucrose as a substrate, the biofilm formation inhibitory effect of *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15 on the biofilm produced by *S. mutans* was observed. After treatment at the indicated concentration for each samples, incubated for 24 h, the biofilm formation was measured using a microplate reader. Values are mean \pm SD. *** $p < 0.001$ vs. MRS-treated group.

의 생물막 형성을 효과적으로 억제하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 THYJ-15의 대사산물이 *S. mutans*가 생산하는 생물막의 형성을 강력히 억제시키는 효과가 있는 것으로 판단된다.

THYJ-15 배양액의 유기산 생성 억제 효과

L. sakei subsp. *sakei* THYJ-15의 *S. mutans*에 대한 유기산 생성 억제 효과 확인 결과, THYJ-15 배양액은 0.63, 1.25, 2.5, 5, 10 및 20 mg/mL의 모든 농도에서 샘플 무처리군에 비해 유의하게 *S. mutans*의 생육 및 유기산 생성을 억제하는 것으로 확인되었다 (Fig. 4). *S. mutans*는 자당 대사과정에서 많은 양의 유기산을 생성하여 치아우식증을 유발하는 것으로 잘 알려져 있다. Gu 등 (2023)의 연구에 따르면 *Lactobacillus pentosus* MJM60383 배양액이 *S. mutans*의 자당 대사를 억제하여 치아우식증을 예방하는 것으로 보고되어 있다. 본 연구에서의 THYJ-15 배양액 또한 *S. mutans*의 자당 대사과정을 저해하여 *S. mutans*의 생육과 유기산 생성을 억제하는 것으로 판단된다.

THYJ-15 배양액의 Glucosyltransferase(GTFs) 억제 효과

L. sakei subsp. *sakei* THYJ-15의 *S. mutans*에 대한 glucosy-

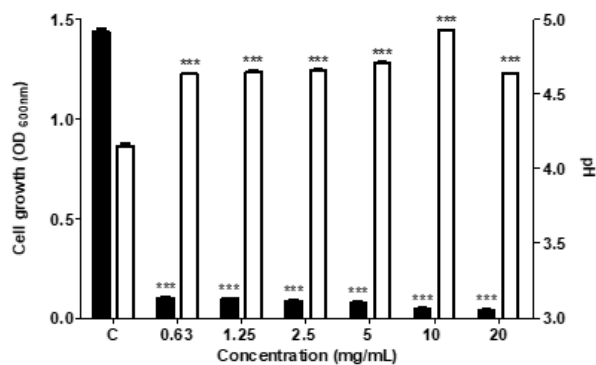


Fig. 4. Inhibition of acid production at *S. mutans* KACC 16833^T on *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15. After treating *S. mutans* with the indicated concentration of *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15 for 24 h, the amount of acid production was measured using a pH(right Y axis, □) meter and bacterial growth(left Y axis, ■) was measured using a UV spectrophotometer. Values are mean \pm SD. *** $p < 0.001$ vs. control group.

ltransferase(GTFs) 억제 효과 확인 결과, THYJ-15 배양액은 시작 농도인 0.63 mg/mL에서부터 유의한 GTFs의 억제를 확인할 수 있었으며, 0.63, 1.25, 2.5, 5, 10 및 20 mg/mL에서 각각 57.80, 57.79, 64.56, 69.09, 74.41 및 81.17%의 억제율을 확인할 수 있었다(Fig. 5). Lim 등(2020)의 연구에 따르면 *Lactobacillus plantarum* 200661의 배양액은 *S. mutans*의 GTFs를 $47.03 \pm 2.57\%$ 저해하여 세포 외 다당류의 주요 구성성분인 수불용성 글루

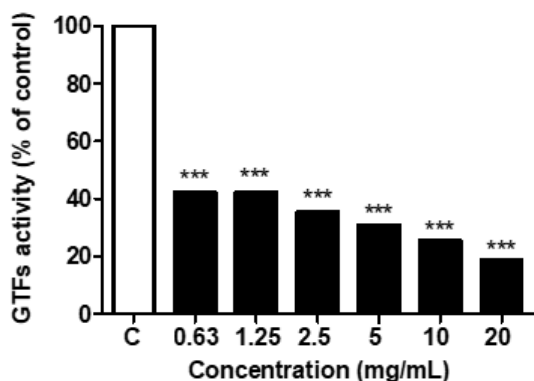


Fig. 5. Inhibition of acid GTFs activity of *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15. GTFs inhibitory activity was measured using a UV spectrophotometer of water-insoluble glucan produced by *S. mutans* using sucrose as a substrate. Glucosyltransferase was pretreated with the indicated concentrations of each sample for 24 h. *** $p < 0.001$ vs. control group.

칸의 형성을 억제한다고 보고되어 있다. 상기 선행 연구결과와 비교하였을 때 THYJ-15 배양액은 20 mg/mL에서 GTFs를 최대 81.17% 억제하여 *Lactobacillus plantarum* 200661의 배양액보다 높은 GTFs의 억제를 확인할 수 있었다. 이에 따라 THYJ-15의 배양액은 단순히 *S. mutans*의 생육을 억제하는 작용과 더불어 생물막의 근본적인 원인인 GTFs를 저해하여, *S. mutans*의 생물막 형성을 효과적으로 억제하는 것으로 판단된다.

요약

본 연구에서는 김치에서 분리한 유산균인 THYJ-15를 16S rRNA 염기서열 분석법을 사용하여 *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15로 동정하였으며, 균주의 생화학적 특성 및 항치아우식 효과를 확인하였다. 또한 THYJ-15의 항치아우식 효과를 확인하기 위해 치아우식증 유발균 *S. mutans* KACC 16833^T에 대한 항균효과, 생물막 형성 억제 효과, 유기산 생성 억제 효과 및 GTFs 생성 억제 효과를 확인하였다. THYJ-15 배양액은 *S. mutans*에 대하여 1.25 mg/mL의 농도에서부터 유의한 항균효과를 가지며, 20 mg/mL의 농도에서는 음성대조군 MRS broth에 비하여 82.88% 이상의 생육 억제를 보이는 것을 확인할 수 있었다. *S. mutans*에 대한 THYJ-15의 MIC 및 MBC 값을 측정 결과, MIC 및 MBC 값은 각각 10 mg/mL 와 20 mg/mL로 확인되었다. THYJ-15 배양액은 *S. mutans*에 대해 1.25 mg/mL의 농도에서부터 유의한 생물막 형성 억제 효과를 가지며, 10 mg/mL의 THYJ-15 배양액은 MRS broth와 비교하여 54.17% 이상의 생물막 형성 억제를 보이는 것을 확인할 수 있었다. THYJ-15의 *S. mutans*에 대한 유기산 형성 억제능은 실험 결과 0.63 mg/mL부터 20 mg/mL까지 모든 농도에서 유의한 억제 효과를 확인할 수 있었으며, 가장 높은 유기산 형성 억제능은 10 mg/mL에서 확인할 수 있었다. THYJ-15의 GTFs 억제능 또한 0.63 mg/mL부터 20 mg/mL까지 모든 농도에서 유의한 효과를 확인할 수 있었으며, 배양액의 최고 농도인 20 mg/mL에서는 81.17%의 억제율을 확인할 수 있었다. 결론적으로 김치에서 분리한 유산균 *L. sakei* subsp. *sakei* THYJ-15는 치아우식증 유발 균주 *S. mutans*에 대한 강한 항균효과와 GTFs의 활성 억제 효과를 기반으로 생물막의 형성을 억제하고, 부가적으로 유기산 생성 억제 효과를 가져 치아우식증에 대한 치료제 및 기능성소재로 개발가능성을 지니고 있음이 증명되었다. 향후 구강건강 개선 핵심 기반소재로서 개발하기 위해 THYJ-15가 생산하는 대사산물을 분석하고, *S. mutans*를 포함한 다른 구강병원균들에 대한 항균 효과 및 생물막 형성 억제 효과 평가 등의 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.



References

1. Forssten SD, Björklund M and Ouwehand AC (2010) *Streptococcus mutans*, caries and simulation models. *Nutrients*. **2**(3), 290–298.
2. Gu M, Cho JH, Suh JW and Cheng J (2023) Potential oral probiotic *Lactobacillus pentosus* MJM60383 inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation by inhibiting sucrose decomposition. *Journal of Oral Microbiology*. **15**(1), 2161179.
3. Hoshino T, Fujiwara T and Kawabata S (2012) Evolution of cariogenic character in *Streptococcus mutans*: horizontal transmission of glycosyl hydrolase family 70 genes. *Scientific Reports*. **2**(1), 1–7.
4. Jang HJ, Kim JH, Lee NK and Paik HD (2021) Inhibitory effects of *Lactobacillus brevis* KU15153 against *Streptococcus mutans* KCTC 5316 causing dental caries. *Microbial Pathogenesis*. **157**, 104938.
5. Kumar A, Alam A, Rani M, Ehtesham NZ and Hasnain SE (2017) Biofilms: Survival and defense strategy for pathogens. *Int J Med Microbiol*. **307**, 481–489.
6. Lim SM, Lee NK and Paik HD (2020) Antibacterial and anticavity activity of probiotic *Lactobacillus plantarum* 200661 isolated from fermented foods against *Streptococcus mutans*. *Lwt*. **118**, 108840.
7. Lin Y, Chen J, Zhou X and Li Y (2021) Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides. *Crit. Rev. Microbiol*. **47**(5), 667–677.
8. Marsh PD, Head DA and Devine DA (2015) Dental plaque as a biofilm and a microbial community—Implications for treatment. *Journal of Oral Biosciences*. **57**(4), 185–191.
9. Mann S, Park MS, Johnston TV, Ji GE, Hwang KT and Ku S (2021) Isolation, characterization and biosafety evaluation of *Lactobacillus fermentum* OK with potential oral probiotic properties. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. **13**, 1363–1386.
10. Nakano K, Inaba H, Nomura R, Nemoto H, Takeda M, Yoshioka H, Matsue H, Takahashi T, Taniguchi K, Amano A and Ooshima T (2006) Detection of cariogenic *Streptococcus mutans* in extirpated heart valve and atheromatous plaque specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. **44**(9), 3313–3317.
11. Pot B, Felis GE, Bruyne KD, Tsakalidou E, Papadimitriou K, Leisner J and Vandamme P (2014) The genus *Lactobacillus*. *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*. 249–353.
12. Russell RRB, Gilpin ML, Mukasa H and Dougan G (1987) Characterization of glucosyltransferase expressed from a *Streptococcus sobrinus* gene cloned in *Escherichia coli*. *Microbiology*, **133**(4), 935–944.
13. Shemesh M, Tam A and Steinberg D (2007) Expression of biofilm-associated genes of *Streptococcus mutans* in response to glucose and sucrose. *Journal of Medical Microbiology*. **56**(11), 1528–1535.
14. Shokryazdan P, Sieo CC, Kalavathy R, Liang JB, Alitheen NB, Faseleh Jahromi M and Ho YW (2014) Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with antimicrobial activity against some human pathogenic strains. *BioMed. Research International*.
15. Takahashi N and Nyvad B (2011) The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J. Dent. Res*. **90**, 294–303.
16. Ventura M, Canchaya C, Meylan V, Klaenhammer TR and Zink R (2003) Analysis, characterization, and loci of the tuf genes in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species and their direct application for species identification. *Applied and Environmental Microbiology*. **69**(11), 6908–6922.
17. Wiegand I, Hilpert K and Hancock RE (2008) Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*. **3**(2), 163–175.
18. Yuki N, Watanabe K, Mike A, Tagami Y, Tanaka R, Ohwaki M and Morotomi M (1999) Survival of a probiotic, *Lactobacillus casei* strain Shirota, in the gastrointestinal tract: Selective isolation from faeces and identification using monoclonal antibodies. *International Journal of Food Microbiology*. **48**(1), 51–57.
19. Zhang Q, Qin S, Xu X, Zhao J, Zhang H, Liu Z and



Chen W (2020) Inhibitory effect of *Lactobacillus plantarum* CCFM8724 towards *Streptococcus mutans*-and *Candida albicans*-induced caries in rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.

20. Zisu B and Shah NP (2003) Effects of pH, temperature,

supplementation with whey protein concentrate, and adjunct cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. *Journal of Dairy Science*. **86**(11), 3405-3415.