

## 타액 및 단백 도말한 Hydroxyapatite 비드에 구강 Streptococci의 부착에 관한 연구

최선진

서울대학교 치과대학 미생물학교실

### A Study on the Adherence of Oral Streptococci to Saliva- or Protein-Coated Hydroxyapatite Beads

Choe, Son Jin

Department of Microbiology, Dental College, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea.

**ABSTRACT :** The adherence of  $^3\text{H}$ -labeled oral streptococcal cells to protein-coated hydroxyapatite (HA) beads was studied by a standard adherence assay. The adherence equilibrium for *S. mutans* 10449 occurred in about 2 hrs. The cell numbers adhering to SHA was 50% less than those on bare HA. Saliva from different subjects had varying effect on bacterial adherence. The use of saliva adsorbed with homologous bacteria decreased *S. mutans* adherence by 38% ; this indicates the presence of salivary agglutinin in acquired pellicle formed on HA. Animal sera and BSA decreased *S. sanguis* adherence. BSA concentration as high as 10mg/ml caused up to 87% adherence inhibition. The desorption experiment of adhered bacteria confirmed the previous reports that the adhesive sites on HA beads for *S. mutans* were different from those for *S. sanguis* and that *S. mutans* could enhance the adherence of *S. sanguis* but not vice versa.

**KEY WORDS** □ Bacterial adherence, hydroxyapatite beads, oral streptococci.

구강 streptococci 중에서 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sanguis*는 중요한 두 세균이므로 이 세균들의 치아표면 부착에 대한 연구는 많이 수행되고 있다. 치아를 도말하는 피막은 구강용액 성분이 법랑질의 hydroxyapatite(HA) mineral에 선택적으로 흡착하여 형성된다. 타액 성분, 치은열구 유액, 그리고 세균이 피막성분이 된다. 치아표면에 세균이 부착할 때에는 여러종류의 상호반응이 관여하는데 그중에서 세균이 체표성분과 피막을 구성하는 타액의 거분자 성분간의 작용은 특히 주된 역할을 하는 것으로 인식된다(Ellen, 1985). 세균의 치아부착과 관련하여 치아를 도말하는 타액에 많은 관심을 보였다. 구강세균의 부착에서 타액은 특정세균의 부착을 증진시키고 또는 영향을 주지않거나 감소시키는데 타액의 이런 영향은 세균의 종에 따라 특이할 뿐아니라 균주에 따라서도 특이하다고 보고되었다(kilian들, 1981).

*S. sanguis* 또는 *S. mutans*를 옹기시키는 타액 성분은 HA에 강하게 흡착하고, 흡착한 이 성분이 피막에서, 세균의 체표에 있는 부착소와 상호반응

함으로써 피막에 세균이 부착한다고 생각한다(Gibbons 들, 1985). 한편 치아의 변연면과 치주낭 속에서는 치은열구 유액이 법랑질과 백아질을 도말하기 때문에, 구강세균이 HA에 부착할 때 이 유액의 영향도 검토할 필요가 있다. 그런데 이 유액은 얻을 수 있는 양에 제한이 있기 때문에 이 유액의 직접적 사용은 어렵지만 이것의 원천인 혈청과 또 이것의 주성분인 알부민(Bickel들, 1985)을 사용하여 세균부착에 미치는 열구유액의 역할을 검토할 필요가 있으며, 미량분석법으로 열구유액 자체가 몇몇 구강세균의 비드부착에 대한 영향을 관찰한 보고가 있다(Cimasoni들, 1987).

부착실험 뿐아니라 부착한 세균의 탈락을 분석함으로써도 부착기전의 일면을 관찰할 수 있는데 (Start와 Peyton, 1984) 부착한 세균이 일정한 조건 하에서 탈락하는 정도는 이 세균이 소유한 부착면에서의 친화력을 반영할 수 있기 때문이다.

이 연구에서는 *S. mutans*가 HA에 부착할 때 HA 비드 도말에 사용하는 타액이 이 세균의 부착에 미치는 영향을 조사하고, 타액의 세균응집소와 당

단백 수용기와 의 관계 그리고 세균부착에서 혈청과 BSA의 영향을 검토하였다. 그리고 saliva-coated HA(SHA)에 부착한 *S. mutans*와 *S. sanguis*의 탈락 실험으로써 초기부착기전에서 이 두 세균간에 어떤 차이가 있는가를 구명하려 하였다.

## 재료 및 방법

### 세균과 배양

연구에 사용한 *S. sanguis* 균주 20은 사람의 치아 균태에서 분리하고 동정한 것이고(송요한과 최선진, 1986) *S. mutans* 10449는 본 실험실의 보관균주이다. 이 세균들은 통상 냉동건조하여 보존하고 working stock은 냉동(-70°C)하여 보관하였다. 세균의 배양에 냉동된 균주를 녹여 Todd-Hewitt(0.2% 포도당 함유) 액체배지에 1-2차 계대한 후 같은 배지에 식균하여 CO<sub>2</sub> 배양기 또는 candle jar에서 보통 12시간 생육시켜 시행하였다.

### 부착에 사용한 세균의 방사능표지와 준비

방사능 표지된 세균을 얻기 위해서는 상기한 배양배지(통상 50ml) 1 ml당 2μCi의 [methyl-<sup>3</sup>H] thymidine (specific activity, 20 Ci/mmol: NEN Research Products)을 넣었다. 세균의 수집은 4°C에서 10,000 x g로 10분간 원심하고 30 ml의 5 mM KCl과 1 mM CaCl<sub>2</sub>를 함유하는 pH 6.0의 2 mM potassium phosphate buffer (Rosan과 Golub, 1984) (이하 K-완충액으로 약칭함)에 현탁하고 소량(1ml)씩 나누어 냉동기(-70°C)에 보관하면서 필요시 사용하였다. 사용시에는 세균의 연쇄를 끊기 가급적 단일균으로 분산시키기 위하여 3 ml 용량의 현탁액을 sonic dismembrator(Fisher, model 300)로, 0.4의 상대출력에서 처리하였다. [<sup>3</sup>H]thymidine으로 세균을 표지할 때 *S. sanguis*의 표지능률(세균 수/count per minute)은 12,615-26,316(4회의 실험)이었고 *S. mutans*의 것은 6,887-17,792(2회의 실험)이었다. 이렇게 준비한 현탁액은 냉장고에 보관하면서 일주일까지 사용하였다. 세균수의 계산은 혈구 측정기와 세균의 흡광도로 시행하였다.

### 타액의 준비

타액은 20대의 남자 5인에서 파라핀으로 자극하여 분비된 것을 냉각된 용기에 채취하여 혼합하였다. 분해 효소를 불활성화하기 위하여 60°C에서 30분간 가열하고 원심분리(12,000 x g, 15분)하여 상청액을 취하였다. 이것을 일정량씩 나누어 -20°C에 보관하여 사용하였다. 세균으로 흡착시킨 타액의 준비는 세균을 타액에 10<sup>10</sup> cells/ml되게 현탁하여 37°C에서 20분간 반응시키고 원심하여 상청액을 취하여 실시하였다. 부착에 대한 상이한 사람

타액의 영향을 조사한 경우에는 상기한 열처리는 생략하고 사용하였다.

### 부착실험

HA비드의 준비와 세균부착 측정에 사용한 방법은 이미 기술되었다(최선진들, 1988). 본 실험에서는 HA비드를 타액 이외의 혈청과 알부민으로도 말하여 사용하였다. 그리고 세균의 부착반응은 *S. sanguis*로는 1시간 동안 진행되도록 하였다(최선진들, 1988).

### 부착한 세균의 SHA에서 탈락

세균부착의 표준 assay에서와 같이 방사능 표지된 *S. mutans*와 *S. sanguis*를 SHA에 부착시켰다. 부착치 않은 세균을 제거한 다음 비드를 K-완충액으로 3번 세정하고 탈락에 사용할 1 ml의 용액 또는 세균 현탁액을 비드가 들어있는 튜브에 넣고 튜브를 부착 assay에서처럼 회전시켰다. 부착한 세균의 탈락에 미치는 방사능 표지되지 않은(cold) 세균의 영향을 관찰기 위해서는 위에 사용한 탈락 용액 대신에 세균 현탁액 1 ml를 튜브에 넣었다. Cold한 세균은 방사능 표지된 세균에 비하여 25배 만큼 많은 세균을 사용하였다. 일정한 시간의 탈락 후 비드가 침강케 하고 상층액을 제거하고 K-완충액으로 3번 비드를 세정하였다. 그리고 이 비드를 여과지에 수집하여 상기한 절차에 의하여 방사능을 측정하였다. 탈락한 세균의 산정은, 비드에 부착한 시초의 세균수에서 탈락실험 후 비드에 남아있는 세균수를 감하므로 행하였다.

### Scintillation fluid

이미 다른 곳(최선진들, 1988)에 기술한 대로 준비하였다.

## 결과

### HA와 SHA에 대한 *S. mutans*의 부착 kinetics

사용한 세균 현탁액 1 ml 당 1×10<sup>10</sup>의 세포 농도에서 HA와 SHA에 부착하는 *S. mutans*의 수는 그림 1에서 보듯이 시간의 경과와 더불어 2시간 경까지 증가하고 그후 평형에 이르렀다. 이 관찰에 근거하여 이후의 *S. mutans* 부착실험에서는 반응을 통상 2.5시간 시행하였다. 그리고 이 세균의 부착에서는 HA에 비하여 SHA에 50% 정도 적게 부착하였다.

### 상이한 타액과 세균부착

상이한 타액을 HA도말에 사용할 때 세균부착이 여하한지를 검토하였다. 타액은 열처리하지 않고 사용하였다. 표 1에서 보듯이 사용한 타액에 따

**Table 1.** Effect of different salivas on adherence of *S. mutans* 10449

Saliva	Adhered cells/ 40 mg of HA	Relative adherence (%)
1	$1.77 \times 10^7$	100
2	$1.93 \times 10^7$	109
3	$3.70 \times 10^7$	209

라 세균부착에 큰 차이가 있었다.

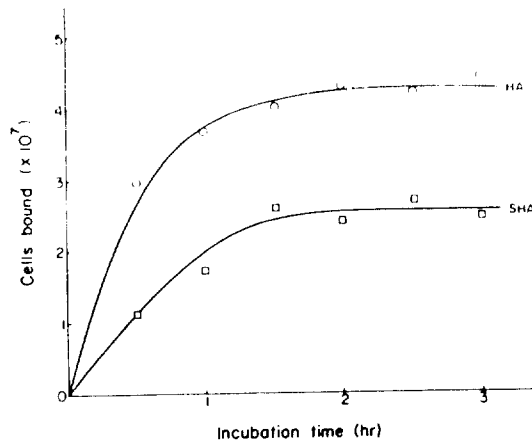
**흡착된 타액의 부착에의 영향**

구강의 연쇄상 세균에 대해 응괴력을 지닌 타액 성분이 HA에 강하게 부착하고 이 타액성분이 피막에서 세균체표의 부착소와 상호반응함으로써 피막에 세균이 부착된다고 생각하고 있다(Ostravik, 1978; Gibbons 등, 1985). 이것을 조사하기 위하여 homologous한 세균으로 흡착시킨 타액이 *S. mutans*의 부착에 미치는 영향을 검토하였다. 표 2에서 보듯이 흡착시킨 타액을 HA도말에 사용했을 때는 세균의 부착이 대조군에 비하여 38% 정도 감소하였다.

**부착에 대한 혈청과 BSA의 영향**

표 3은 HA비드를 몇가지 혈청과 BSA로 도말하여 부착표면으로 사용할 때와 *S. sanguis* 부착을 SHA에의 부착과 비교한 것이다. 사람의 혈청과 동물의 혈청으로 처리한 비드에서는 기준군인 SHA에 비하여 부착이 감소하였다. 그리고 BSA(5mg/ml 용액)로 도말처리한 비드에서는 부착이 더 크게 저하하였다.

비드를 BSA로 도말할 때 얻어지는 부착의 감소를 더 자세히 조사하기 위하여 BSA의 여러 농도



**Fig. 1.** Effect of time on adherence of *S. mutans* 10449 to HA and SHA. Input cells were  $1 \times 10^8$  cells/40 mg of HA.

**Table 2.** Adherence of *S. mutans* 10449 to pellicles prepared from saliva adsorbed with the same bacteria

Saliva for pellicle	Adhered cells/ 40 mg of HA	Relative adherence (%)
Clarified whole saliva	$3.01 \times 10^7$	100
Adsorbed saliva <sup>a</sup>	$1.88 \times 10^7$	62

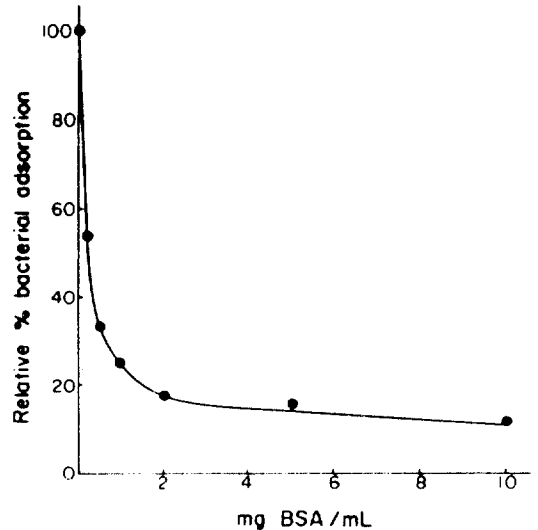
<sup>a</sup> Saliva was adsorbed with  $10^{10}$  cells of *S. mutans*/ml for 20 min at 37°C.

**Table 3.** Effect of human and animal sera and serum protein (BSA) on the adherence of *S. sanguis* to SHA

Serum and serum proteins	% of <i>S. sanguis</i> adhering to SHA
Control	100
Human serum	53
Rabbit serum	83
Calf serum	79
Bovine serum albumin <sup>a</sup>	15

<sup>a</sup> 5 mg/ml in K-buffer.

가 부착에 미치는 영향을 실험하여 그림 2와 같은 성적을 얻었다. 그림에서와 같이 도말하는 BSA의 양이 증가함에 따라 부착은 급격히 감소하고 HA 비드의 포화는 2-5mg/ml의 BSA농도에서 나타났다.



**Fig. 2.** Adherence of *S. sanguis* to HA beads pretreated with various concentrations of bovine serum albumin. The number of streptococci which adhered to albumin-treated HA is expressed as a percentage of that of buffer-treated HA.

**Table 4.** Desorption of *S. mutans* and *S. sanguis* adhered to 40 mg of beads with K-buffer, phosphate buffer, or cold heterologous cells of either *S. sanguis* or *S. mutans*. On 40 mg of beads, there were  $5.85 \times 10^7$  cells of *S. mutans* and  $1.4 \times 10^8$  cells of *S. sanguis* after the completion of adherence assay

Desorbing agent	Desorbing time(min)	<i>S. mutans</i>		<i>S. sanguis</i>	
		cells desorbed from 40 mg HA	% Desorp.	cells desorbed from 40 mg HA	% Desorp.
K-buffer	60	$1.84 \times 10^7$	31.4	$0.31 \times 10^8$	22.1
	120	$2.78 \times 10^7$	47.5	$0.34 \times 10^8$	24.2
Phosphate buffer (500 mM)	10	$5.36 \times 10^7$	91.7	$1.05 \times 10^8$	75.0
	20	$5.42 \times 10^7$	92.6	$1.22 \times 10^8$	87.1
Heterologous cells	60	$0.68 \times 10^7$	11.6	$0.3 \times 10^8$	21.4
	120	$0.55 \times 10^7$	9.4	$0.33 \times 10^8$	23.5

### 부착면에서 세균의 탈락

탈락 assay는 세균의 부착반응을 반영한다는 제안(Staat와 Peyton, 1984)에 따라 초기(initial) 부착에서 *S. mutans*와 *S. sanguis* 사이에 어떤 차이가 있는가를 비드에 부착한 두 세균의 탈락실험으로써 관찰하고자 하였다. 표 4에서 보듯이 탈락에 K-완충액과 500mM 인산완충액을 사용했을 때는 *S. mutans*의 탈락이 *S. sanguis*에 비하여 2배 가량 높았다. 한편 heterologous한 세균 현탁액을 탈락에 사용하면 *S. sanguis*가 *S. mutans*에 비하여 2배 정도 높은 탈락을 보였는데 *S. sanguis*의 탈락율은 K-완충액의 사용에서와 동일하였다. 반면 *S. mutans*의 탈락율은 K-완충액의 사용 때에 비하여 최소한 1/3 정도로 감소하였다.

### 고 찰

본 연구에서 *S. mutans* 10449가 40mg의 HA 또는 SHA에 부착하기 시작하여 포화에 이르는 데는 약 2시간이나 소용되었다. 다른 연구자(Clark들, 1978)들은 *S. mutans*의 부착포화가 30분에 이르고 보고하였는데 이처럼 포화에 도달하는 시간에 차이가 나는 것은 사용한 세균 균주의 차이에 기인하고 때로는 세균을 배양한 배지의 차이에도 어느 정도 좌우된다고 생각된다. HA에 비하여 SHA에 *S. mutans*가 적게 부착한 관찰은 Clark들(1978)의 성적과 일치하고 있다.

본 연구에서는, 한 균주의 세균을 이용하여 세균부착에 미치는, 상이한 타액의 영향을 조사하였다. 한편 동일한 타액시료를 부착실험에 사용할 때는 사용한 균주가 상이하더라도 이 균주들의 부착 정도는 서로 유사함이 보고되었다(Nesbitt들, 1982). 이 보고에 따르면, 세균 균주들 간의 차이가 SHA에의 부착에 크게 영향을 준다고 보다는(Kilian들, 1981) 개개 타액의 구성이 세균부착에

더 중요한 역할을 한다고 하였다. 그리고 하나의 타액에 있어서도 어떤 타액 성분은 HA비드에 흡착하여 세균부착을 저해할 수도 있고 다른 성분은 선택적으로 부착을 증진시킬 수도 있다고 하였다. 저자가 얻은 성적은 타액이 부착에 영향을 준다는 다른 연구자의 주장을 지지하는 것이다.

응집소를 제거하기 위하여 구강 streptococci로 흡착시킨 타액으로 만든 피막에는 동일한 세균이 매우 적게 부착됨이 관찰되었다(Gibbons들, 1983). 더욱, Ostravik(1978)은 타액으로 응괴된 streptococci에서 용출(elute)한 성분으로 형성된 피막에는 streptococci의 부착이 크게 증가함을 보고하였다. 흡착시킨 타액을 사용할 때 얻은 본 실험에서의 세균부착 감소는 상기한 일련의 보고와 일치하며 이것은 응괴소가 피막에서 세균의 수용기로 작용함을 보이는 것이다.

초기 치은염이 존재하는 부위에서 나오는 열구 유액에는 알부민량이 17mg/ml 정도이고 염증이 심한 치은염에서 수집한 유액에는 37mg/ml의 농도로 알부민이 증가하는데 이것은 혈청의 것과 유사한 양이다(Bickel들, 1985). Kilian들(1981) 그리고 Nesbitt들(1982)은 human serum albumin과 BSA로 HA비드를 각각 도말할 때 SHA에 비하여 *S. sanguis* 부착이 많이 감소함을 관찰하였는데 본 저자가 얻은 성적은 이들의 것과 일치하고 있다. 그리고 저자의 성적에서 사람과 다른 동물의 혈청이 부착에 미치는 영향은 BSA에 비하여 훨씬 적은데 실제로 혈청 속에는 BSA만을 사용할 때의 알부민 농도 5mg/ml보다 훨씬 많은 양의 알부민이 함유되어 있을 것이다. 그럼에도 혈청의 영향이 적은 것은 그 속에 세균부착을 항진시키는 성분이 함유되어 있기 때문인 것으로 해석된다. 이 부착 항진 물질이 무엇인지는 알려지지 아니하였다. 최근에 Cimansoni들(1987)은 열구유액 자체의 세균부착에 대한 영향을 연구하여 이 유액이 *S. sanguis*의 HA

비드 부착을 100% 저해함을 관찰하였다. 그리고 이들은 유액에 의한 부착 저해는 유액에 들어있는 알부민과 효소들에 기인한다고 제안하였다. 그리고 Cimasoni와 McBride(1987)는 사람의 열구유액이 *Treponema*의 HA비드에의 부착에 미치는 영향을 검토하였는데 혈청은 이 spirochete의 부착에 영향이 없었으며 열구유액 역시 영향을 미치지 아니하였다.

Gibbons와 Etherden(1985)은 *S. sanguis* 실험실 보관균주의 HA비드에의 부착을 BSA가 저해함을 관찰하였는데 이 부착저해는 본 실험에서 보였듯이 근래의 분리균주에서도 같은 정도로 관찰되었다. BSA의 이런 작용은 이 물질이 탄수화물을 지니고 있지 않으므로(Peters, 1975) 구강세균에 대한 당질의 수용기가 없기 때문일 것이다.

부착한 세균이 탈락하는 부위는 가역적 부위로 낮은 친화력을 소유하고, 세균 탈락이 일어나지 않는 비가역적 부위는 높은 친화력의 부위로 가정할 수 있다(Liljemark들, 1985). *S. mutans*와 *S. sanguis*의 SHA부착에서, 실제로 친화력이 높고 낮은 2개의 틀린 부착부위가 피막에 존재함이 밝혀졌다(Peros와 Gibbons, 1986). 이 관점에서 본 실험성적을 보면 *S. sanguis*가 *S. mutans*에 비하여 높은 친화력 부위를 더 많이 소유하는데 이 성적은 Staat와 Peyton(1984)의 관찰과 일치하고 있다. Hetero-

logous 한 세포 현탁액 속에서 세균 탈락이 일어날 때는 *S. sanguis*의 경우 그 탈락율이 K-완충액의 것과 동일하였는데 이것은 탈락이 진행중인 동안에 cold한 *S. mutans*의 영향이 전혀 없음을 보이는 것으로, 환언하면 *S. sanguis*와 *S. mutans*의 부착부위가 동일하지 않음을 가리키는 것이다. 그리고 *S. mutans* 탈락의 경우에는 cold한 *S. sanguis*의 존재에서 탈락이 감소하였는데 이것은 이 세균이 *S. mutans*의 부착부위 또는 부착 자체에 어떤 영향을 미침을 보이는 것이다. Appelbaum들(1979)은 부착경쟁 실험의 결과에 기초하여 *S. mutans*와 *S. sanguis*의 부착부위는 서로 상이하고 *S. mutans*는 세균간의 상호작용으로써 *S. sanguis*의 부착을 증진시킬 수 있으나 *S. sanguis*는 *S. mutans*의 부착을 한 탈락의 방해가 초래될 것이다. SHA에 있는 부착 부위의 수에 있어서는, 타인의 논문에 보고된 부착정도에 의거하여, 대략 계산하면 *S. mutans*의 것은 *S. sanguis*에 비하여 약 1/5 정도로 존재한다(Appelbaum들, 1979; Ostravik, 1978).

도울 수 없다고 제안하였다. 이 제안에 근거하여 본 연구의 탈락실험 성적을 해석하면 *S. mutans*탈락의 경우에는 *S. sanguis*가 높은 밀도로 존재하는 부착부위에 부착하고 또 세포간 상호작용에 의하여 *S. mutans*에 부착하여 steric hindrance에 기인

## 적 요

*S. mutans* 10449의 HA비드에의 부착에서 부착평형은 2시간경에 도달하였고 부착하는 세균의 수는 SHA에의 HA에 비하여 50% 정도였다. HA비드 도말에 사용하는 타액이 세균부착에 영향을 주었으며 사용한 세균을 응괴시키는 타액의 응집소가 피막성분의 일부가 된다는 것을 간접적으로 관찰하였다. 치은열구 유액의 원천인 혈청과 이것의 주된 성분인 알부민으로 HA비드를 도말할 때 이 단백질에 의한 *S. sanguis*의 부착저해를 관찰하였다. SHA에 부착한 세균의 탈락실험은 *S. mutans*와 *S. sanguis*의 부착부위가 상이하고 *S. mutans*는 *S. sanguis*의 부착을 증진시키지만 *S. sanguis*는 *S. mutans*부착에 영향을 주지 못한다는 설을 지지하는 결과를 보였다.

## REFERENCES

1. Appelbaum, B., E. Golub, S.C. Holt and B. Rosan, 1979. In vitro studies of dental plaque formation: adsorption of oral streptococci to hydroxyapatite. *Infect. Immun.* **25**, 717-728.
2. 최선진, 이시영, 송요한, 1989. *Streptococcus sanguis*의 구형 Hydroxyapatite 비드에의 부착 Assay 방법의 개량과 부착에 관한 연구. 미생물학회지. **27**, 48-55.
3. Cimasoni, G., M. Song and B.C. McBride. 1987. Effect of crevicular fluid and lysosomal enzymes on the adherence of streptococci and bacteroides to hydroxyapatite. *Infect. Immun.* **55**, 1484-1489.
4. Clark, W.B., L.L. Bammann and R.J. Gibbons, 1978. Comparative estimates of bacterial affinities and adsorption sites on hydroxyapatite surfaces. *Infect. Immun.* **19**, 846-853.
5. Ellen, R.P., 1985. Specificity of attachment as a tissue-tropic influence on oral bacteria. In; Margenhagen S. and B. Rosan. eds. Molecular basis of oral microbial adhesion. Washington D.C.: ASM, 33-39.
6. Gibbons, R.J., E.C. Moreno and I. Etherden, 1983. Concentration-dependent multiple binding sites on saliva treated hydroxyapatite for *Streptococcus sanguis*. *Infect. Immun.* **39**, 280-289.
7. Gibbons, R.J. and I. Etherden, 1985. Albumin as a blocking agent in studies of streptococcal adsorption to experimental salivary pellicles. *Infect. Immun.* **50**, 592-594.
8. Gibbons, R., I. Etherden and W. Peros, 1985. Aspects

- of the attachment of oral streptococci to experimental pellicles. In: Mergenhagen S. and B. Rosan. eds. Molecular basis of oral microbial adhesion. Washington D.C.: ASM, 77-84.
9. Kilian, M., K. Roland and J. Mestecky, 1981. Interference of secretory immunoglobulin A with sorption of oral bacteria to hydroxyapatite. *Infect. Immun.* **31**, 942-951.
  10. Liljemark, W., C. Bloomquist and L. Fenner, 1985. Characteristics of the adherence of oral *Haemophilus* species to an experimental salivary pellicle and to the oral bacteria. In: Mergenhagen S. and B. Rosan. eds. Molecular basis of oral microbial adhesion. Washington D.C.: ASM, 94-102.
  11. Nesbitt, W.E., R.J. Doyle, K.G. Taylor, R.H. Statt and R.R. Arnold, 1982. Positive cooperativity in the binding of *Streptococcus sanguis* to hydroxylapatite. *Infect. Immun.* **35**, 157-165.
  12. Nesbitt, W.E., R.J. Doyle and K.G. Tayler, 1982. Hydrophobic interactions and the adherence of *Streptococcus sanguis* to hydroxylapatite. *Infect. Immun.* **38**, 637-644.
  13. Ostravik, D., 1978. The in vitro attachment of an oral *Streptococcus sp.* to the acquired tooth enamel pellicle. *Arch. Oral Biol.* **23**, 167-173.
  14. Peros, W.J. and R.J. Gibbons, 1986. Evidence suggesting multiple binding sites in experimental pellicles for *Streptococcus mutans* JBP. *J. Dent. Res.* **65**, 1332-1334.
  15. Peters, T., 1975. Serum albumin. In: Putnam F.W. eds. The plasma proteins. New York: Academic Press, 133-181.
  16. Rosan, E.B., and E. Golub, 1984. Optimization of an hydroxyapatite adhesion assay for *Streptococcus sanguis*. *Infect. Immun.* **44**, 287-291.
  17. 송요한, 최선진, 1986. 구강 streptococci의 적혈구와 타액 유도 응집 및 하이드록시아파타이트에의 부착에 관한 연구. 대한구강생물학회지. **10**, 107-115.
  18. Staat, R.H. and J.C. Peyton, 1984. Adherence of oral streptococci: evidence for nonspecific adsorption to saliva-coated hydroxylapatite surfaces. *Infect. Immun.* **44**, 653-659.

(Received Jun. 26, 1989)