

상피세포에 대한 *Weissella cibaria* 유산균의 부착력에 영향을 미치는 인자

전남대학교 의과대학 미생물학교실

강미선 · MeiShan Piao · 신부안 · 이현철 · 오종석*

Adhesion of *Weissella cibaria* to the Epithelial Cells and Factors Affecting its Adhesion

Mi-Sun Kang, MeiShan Piao, Boo-Ahn Shin, Hyun-Chul Lee and Jong-Suk Oh*

Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Chonnam National University,
Gwangju 501-746, Korea

Received : June 13, 2006

Accepted : July 25, 2006

We evaluated the ability of lactic acid bacteria, *Weissella cibaria*, isolated from the oral cavity to adhere to epithelial cells. *W. cibaria* efficiently adhered to KB cells and HeLa cells. In addition, *W. cibaria* efficiently adhered to *Fusobacterium nucleatum*. But the adhesiveness of *W. cibaria* disappeared upon exposure to LiCl or pronase, suggesting that the S-layer proteins of *W. cibaria* mediated the adhesiveness. The molecular mass of the S-layer proteins extracted from *W. cibaria* was approximately 50 kDa. When *W. cibaria* strains were washed with 0.45% saline, the bacteria were efficiently adhered to the epithelial cells. In conclusion, *W. cibaria* has the ability to adhere to epithelial cells through the S-layer proteins.

Key Words: Adhesion, *Weissella cibaria*, KB cell, HeLa cell, *Fusobacterium nucleatum*

서 론

유산균은 인간의 입, 장내, 여성의 질내 등에서 정상세균총을 이루고 있으며 (2,21), 대부분의 유산균은 유익한 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 특히, 장내에 정착한 유산균은 병원성 세균이 소화관 상피에 부착하는 것을 방해하여 질병 발생을 막아주고, 유산균에 의해 생성된 항생물질이 설사를 일으키는 병원성 미생물이나 장내유해균을 죽이거나 증식을 억제하며, *Lactobacillus acidophilus*는 직접 콜레스테롤을 분해한다고 보고된 바 있다 (10,11). 따라서, 최근에는 이와 같은 프로바이오틱 유산균에 대해 활발히 연구가 진행되고 있다 (8,9).

*Weissella*는 최근 DNA 기술의 발달에 따라 *Lactobacillus*

속에서 새로 분리된 유산균으로서 (26), *Weissella cibaria*는 그람양성, 비포자 형성, 비운동성, hetero 유산발효, 카탈라아제 음성 간균이고, 자당으로부터 텍스트란을 생성할 수 있으며, 발효식품과 사람과 동물의 임상시료에서 정상적으로 분리되는 세균이다 (3). 강산을 만드는 *Lactobacillus*와 같은 유산균이 구강에서 충치의 진행을 도우나, 최근 Kang 등 (12,13)은 구강에서 분리한 *W. cibaria* 분리균주가 강산을 만들지 않고 구취 및 충치를 억제하여 구강에 이로운 역할을 한다고 보고하였다.

구강에는 수백 여종의 세균이 서로 상호작용하며 살고 있으며, 이들 균들이 구강에 상주하기 위해서는 상피표면에 부착할 수 있어야 한다. 구취유발 원인균 중의 하나인 *Fusobacterium nucleatum*은 구강에 다수 존재할 뿐만 아니라, 부착과 상호결합에 의해서 다른 균들이 쉽게 구강에 정착할 수 있게 하는 bridge-organism으로서 역할을 하고 있다 (16). 이렇게 상피표면에 부착할 수 있는 능력을 가진 세균들은 부착능력이 없는 세균에 비해 타액에 의해 쉽게 제거되지

*교신저자: 오종석. 501-746, 광주광역시 동구 학동 5번지,
전남대학교 의과대학 미생물학교실
Phone: 062-220-4134, Fax: 062-228-7294,
e-mail: joh@chonnam.ac.kr

않으므로 구강에 생존하기가 훨씬 유리하다.

*Lactobacillus*가 상피세포에 부착을 잘하고, *Lactobacillus*에 의해 생성된 억제물질이 병원성균의 상피세포에 부착하는 것을 방해하여 *Lactobacillus*가 장벽역할을 한다고 보고되었다 (4,22). 최근에는 *W. cibaria*가 구취원인균 중의 하나인 *F. nucleatum*과 상호결합하고, 상피세포에 부착능력이 있음이 보고된 바 있다 (12). Schneitz 등 (25)은 *Lactobacillus*의 surface layer (S-layer) 단백질이 부착에 관여한다고 제안하였으며, 이들 단백질은 세포벽의 펩티도글리칸층에 결합되어 있다고 보고되었다 (20). 단백질 단량체로 구성된 S-layer는 *Lactobacillus* 세포벽에 결정 구조로 배열되어 있으며, 수소 결합을 파괴하는 물질인 urea, guanidine hydrochloride, 세제인 SDS, 양이온 치환물질인 Lithium chloride (LiCl)에 의해서 추출할 수 있다고 보고되었다 (20).

따라서 본 연구에서는 *W. cibaria*가 상피세포 및 *F. nucleatum*에 대한 부착력이 있음을 현미경을 이용하여 확인하고, 그 부착력에 영향을 미치는 인자들을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시세균 및 배양

구강이 건강한 4~5세의 유아의 타액에서 분리한 *W. cibaria* CMU, CMS2, CMS3 균주와 *F. nucleatum* ATCC 10953을 실험에 이용하였다. *W. cibaria* 분리균주는 De Man, Rogosa, Sharpe broth (MRS broth, Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하여 37°C 호기조건에서 16시간 배양하였다. *F. nucleatum*은 0.5% yeast extract (Difco), 5 µg/ml haemin (Sigma, St Louis, MO, USA), 1 µg/ml menadione (Sigma)이 포함된 brain heart infusion broth (BHI broth, Difco)에 접종하여 37°C 혐기조건 (85% N₂, 10% H₂, 5% CO₂)에서 1일간 배양하였다. 실험에 사용하기 전에 본 배지에서 2회 계대배양한 후 실험에 이용하였다.

2. 상피세포에 대한 부착실험

실험에 이용한 세포주는 인간의 구강상피세포인 KB 세포 (KCLB 10017)와 자궁경부암세포인 HeLa 세포 (ATCC CCL-2)로서, 2 mM L-glutamine과 10% fetal bovine serum (FBS)이 첨가된 minimal essential medium with Earle's salts (MEM, Hyclone, Logan, Utah, USA)를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다.

*W. cibaria*의 부착실험은 Scaletsky 등 (24)의 방법에 따라 수행하였다. 4-well Lab-Tek II chamber slide system (Nalge Nunc International, Naperville, USA)에 well당 10⁵ 세포를 18 시간 배양한 후, PBS를 이용하여 세포를 2회 세척하고 5 M LiCl를 처리한 것과 처리하지 않은 *W. cibaria* CMS2 (10⁹

bacteria/ml)를 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 30분간 배양하였다. PBS로 세포를 3회 세척한 후 methanol로 고정하고, 30분간 Giemsa 염색하고 PBS로 다시 세척한 후, 공기 중에 건조시켜서 각각의 세포에 대한 부착력을 광학현미경 (BX51, Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰하였으며, 100개의 상피세포에 부착한 세균의 평균 개수를 측정하였다. 통계적 처리는 SPSS 통계분석 프로그램 (SPSS version 12.0)을 사용하였으며, Mann-Whitney test로 분석하였다.

3. SDS-PAGE를 이용한 S-layer 단백질 분석

5 M LiCl 추출방법은 일반적으로 *Lactobacillus*의 S-layer 단백질을 선택적으로 분리하기 위한 방법으로 이용되어져 왔으며 (19), *W. cibaria*의 S-layer 단백질을 조사하기 위해서 이 방법을 이용하였다. *W. cibaria*를 회수한 후 5 M LiCl로 현탁시켜 얼음에 15분 동안 방치하였다. 원심분리 (14000 × g, 15 min, 4°C)하여 얻은 상청액을 Laemmli buffer와 혼합한 후, 10% polyacrylamide gel과 Coomassie blue를 이용하여 SDS-PAGE로 분석하였다 (17).

4. *W. cibaria*와 *F. nucleatum*간의 부착력

*W. cibaria*와 *F. nucleatum*간의 부착력은 광학현미경과 transmission electron microscope (TEM, H-7600, Hitachi, Nissei, Japan)를 이용하여 관찰하였다. 광학현미경은 Gram 염색하여 관찰하였으며, TEM은 다음과 같은 방법을 수행하여 관찰하였다. 세균의 부착력이 표면 단백질을 확인하기 위하여 표면 단백질을 제거하는 pronase를 처리한 것과 처리하지 않은 *W. cibaria* CMS2와 *F. nucleatum*를 각각 혼합시켜 0.1 M sodium cacodylate buffer (pH 7.2)에 녹인 2.5% glutaraldehyde로 4°C에서 6시간 고정시킨 다음, 본 buffer로 3회 세척하였다. Sodium cacodylate buffer (0.1 M, pH 7.2)에 녹인 2% (w/v) osmium tetroxide에 4°C에서 16시간 침지시킨 후, ethanol 용액으로 탈수시키고 Epon에 박은 다음, ultramicrotome MT-7000 (RMC-EM, Tucson, AZ, USA)으로 절단하였다. Uranyl acetate와 lead citrate로 염색하여 80 kV에서 TEM으로 관찰하였다.

5. *W. cibaria*의 부착력에 영향을 미치는 인자

세균의 배양온도와 세균을 세척하는 식염수 농도와 같은 인자들이 *W. cibaria* CMS2의 세포에 대한 부착력에 미치는 영향을 알아 보았다. 4-well Lab-Tek II chamber slide system에 well당 10⁵ KB 세포와 HeLa 세포를 각각 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 18시간 배양하였다. 세포를 2회 세척하고 30°C와 37°C에서 각각 배양한 *W. cibaria* CMS2 (10⁹ bacteria/ml)를 0.9% 식염수, 0.45% 식염수, 멸균수로 각각 세척하여 접종

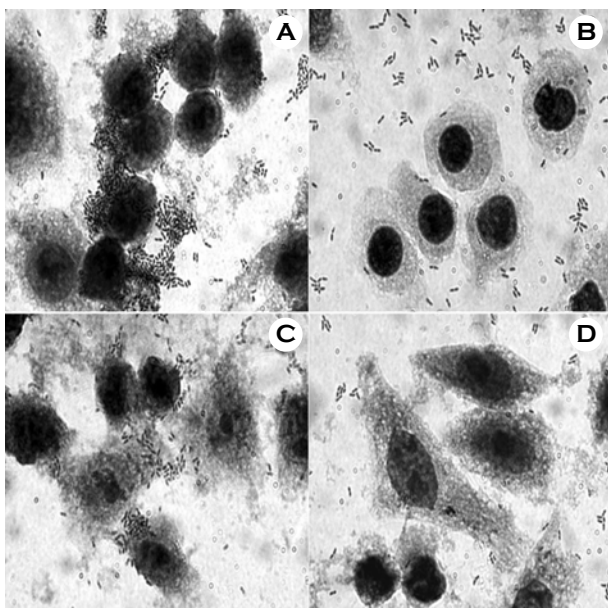


Figure 1. Effect of 5 M LiCl treatment on the adherence of *W. cibaria* CMS2 to epithelial cells. **A**, untreated *W. cibaria* CMS2 vs. KB cells; **B**, treated *W. cibaria* CMS2 vs. KB cells; **C**, untreated *W. cibaria* CMS2 vs. HeLa cells; **D**, treated *W. cibaria* CMS2 vs. HeLa cells. Magnification, $\times 1000$. Shown in the figures are the representative data of three separate experiments.

한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 10분 동안 배양한 다음, 세포를 고정, 염색한 후, 광학현미경을 이용하여 세포에 대한 부착력을 관찰하였으며, 100개의 상피세포에 부착한 세균의 평균 개수를 측정 비교하였다. 통계적 처리는 SPSS 통계분석 프로그램의 ANOVA로 분석하였으며 사후검정은 Duncan을 사용하였다.

결 과

1. *W. cibaria*의 표면 단백질이 상피세포에 대한 부착력에 미치는 영향

*W. cibaria*의 상피세포에 대한 부착실험한 결과, LiCl을 처리하지 않은 정상균주 *W. cibaria* CMS2는 KB 세포와 HeLa 세포에 많이 부착하였으나, LiCl을 처리한 *W. cibaria*는 세포에 부착하지 못하였다 (Fig. 1). 1개의 KB 세포에 대한 *W. cibaria*의 평균 부착수는 LiCl을 처리하지 않은 것이 약 101.7 ± 12.6 개인데 반하여 LiCl을 처리한 균의 부착수는 약 4.8 ± 1.3 개였으며, HeLa 세포에 대해서는 LiCl을 처리하지 않은 *W. cibaria*의 부착수는 약 74.0 ± 10.1 개 인데 반하여 LiCl을 처리한 균의 부착수는 8.2 ± 1.8 개였다 (Fig. 2). 이와 같은 결과는 부착과정에 *W. cibaria*의 표면 단백질이 연관이 있음을 시사하여 주었다. 또한, LiCl를 이용하여 *W. cibaria* CMU,

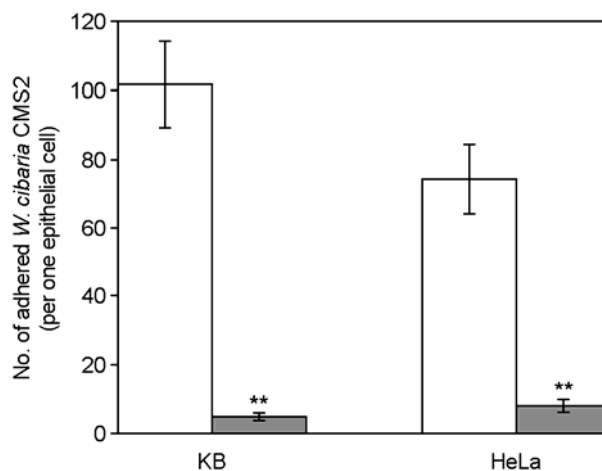


Figure 2. Numbers of adhered *W. cibaria* CMS2 to epithelial cells. Treatment of *W. cibaria* CMS2 was as follows: □, control; ■, 5 M LiCl. Values are expressed as means \pm SD. **Significances of differences were defined as $p < 0.05$.

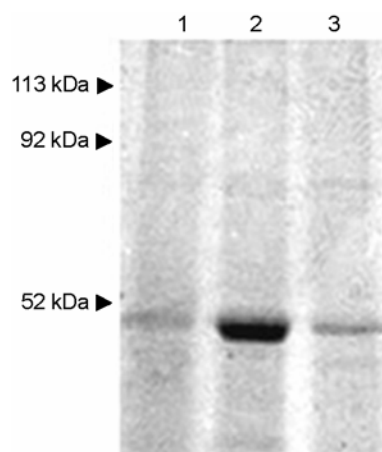


Figure 3. SDS-PAGE of S-layer proteins of *W. cibaria* strains extracted by LiCl (5 mol l⁻¹) treatment. Lane 1, *W. cibaria* CMU; lane 2, *W. cibaria* CMS2; lane 3, *W. cibaria* CMS3. Shown in the figures are the representative data of three separate experiments.

CMS2, CMS3의 S-layer 단백질을 각각 SDS-PAGE로 분석한 결과, 단백질의 분자량이 약 50 kDa 이었다 (Fig. 3).

2. *W. cibaria*의 표면 단백질이 *F. nucleatum*에 대한 부착력에 미치는 영향

W. cibaria CMS2와 *F. nucleatum*간의 부착력을 광학현미경 및 TEM으로 검정한 결과, *W. cibaria*는 *F. nucleatum*과 결합되어 있는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 4A). 또한, TEM을 이용하여 *W. cibaria*의 구조 및 *F. nucleatum*간의 부착을 관찰한 결과, pronase를 처리하지 않은 *W. cibaria*는 바깥층에 3층 구조를 이루고 있는 것을 볼 수 있었다 (Fig. 4B). Pronase

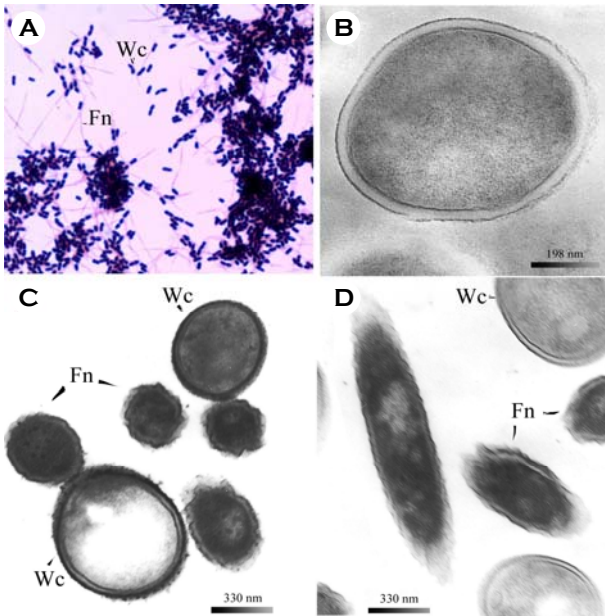


Figure 4. Microscopic observations of adhesion between *W. cibaria* strain and *F. nucleatum* ATCC 10953. **A**, bright-field micrographs of *W. cibaria* CMS2 vs. *F. nucleatum*; Magnification, $\times 1000$; **B**, TEM micrographs of untreated *W. cibaria* CMS2 whole cell only; **C**, and **D**, TEM micrographs of adhesion between *W. cibaria* CMS2 and *F. nucleatum* before and after pronase treatment, respectively. Wc represents *W. cibaria*; Fn represents *F. nucleatum*. Shown in the figures are the representative data of three separate experiments.

를 처리하지 않은 *W. cibaria*는 *F. nucleatum*과 결합하는 것을 볼 수 있는 반면 (Fig. 4C), pronase를 처리한 *W. cibaria*는 부착능력이 없어짐을 확인할 수 있었다 (Fig. 4D).

3. 상피세포에 대한 *W. cibaria*의 부착력에 영향을 미치는 인자

세균의 배양온도와 세균을 세척하는 식염수 농도가 KB 세포 및 HeLa 세포에 대한 부착력에 미치는 영향을 알아 본 결과, KB 세포에 대해서는 *W. cibaria* CMS2를 37°C에서 배양한 후, 0.45% 식염수로 세척하였을 때 가장 부착력이 좋았다 (Fig. 5). 1개의 KB 세포당 부착된 *W. cibaria* 평균 개수는 *W. cibaria*를 30°C에서 배양한 후, 0.9% 식염수, 0.45% 식염수, 멸균수로 세척하였을 때 각각 16.4 ± 5.1 , 10.3 ± 2.5 , 7.7 ± 1.5 개였으며, 37°C에서 배양한 후, 0.9% 식염수, 0.45% 식염수, 멸균수로 세척하였을 때 각각 20.6 ± 2.2 , 125.3 ± 9.0 , 8.5 ± 3.1 개로서, 37°C에서 배양한 후 0.45% 식염수로 세척하였을 때 *W. cibaria*의 부착수가 가장 많았다 (Fig. 7). 또한, HeLa 세포에 대해서는 *W. cibaria* CMS2를 30°C에서 배양한 후, 0.45% 식염수로 세척하였을 때 가장 부착력이 좋았으며 (Fig. 6), 1개의 HeLa 세포당 부착된 *W. cibaria* 평균 개수는 *W.*

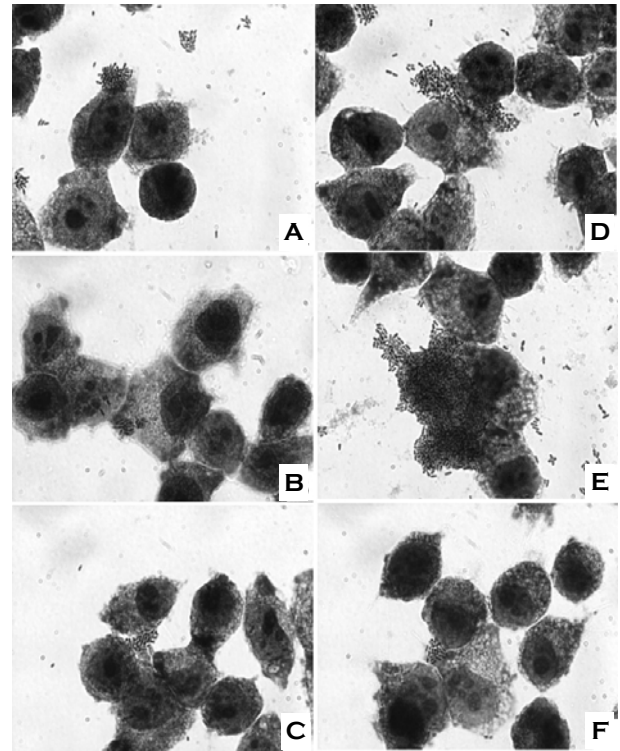


Figure 5. Effect of incubation temperature and saline solution on the adherence of *W. cibaria* CMS2 to KB cells. **A**, bacterial cells were incubated at 30°C and washed with 0.9% saline; **B**, bacterial cells were incubated at 30°C and washed with 0.45% saline; **C**, bacterial cells were incubated at 30°C and washed with distilled water; **D**, bacterial cells were incubated at 37°C and washed with 0.9% saline; **E**, bacterial cells were incubated at 37°C and washed with 0.45% saline; **F**, bacterial cells were incubated at 37°C and washed with distilled water. Magnification, $\times 1000$. Shown in the figures are the representative data of three separate experiments.

*cibaria*를 30°C에서 배양한 후, 0.9% 식염수, 0.45% 식염수, 멸균수로 세척하였을 때 각각 24.3 ± 6.0 , 95.7 ± 6.0 , 12.3 ± 3.1 개였으며, 37°C에서 배양한 후, 0.9% 식염수, 0.45% 식염수, 멸균수로 세척하였을 때 각각 34.3 ± 6.0 , 8.0 ± 2.6 , 6.4 ± 1.5 개로서, 30°C에서 배양한 후 0.45% 식염수로 세척하였을 때 *W. cibaria*의 부착수가 가장 많았다 (Fig. 7). 따라서, 두 상피세포 모두에 대해 0.45% 식염수로 세척한 *W. cibaria*가 부착력이 가장 좋았으며, 배양온도에 대해서는 각각 차이를 보임을 알 수 있었다.

고 찰

*W. cibaria*는 Bjorkroth 등 (3)에 의해 최근에 새로 명명되었으며, 그리스 살라미, 스페인 소시지, 한국 김치와 같은 발효식품에서부터 동물과 인간의 분변까지 다양하게 분리되

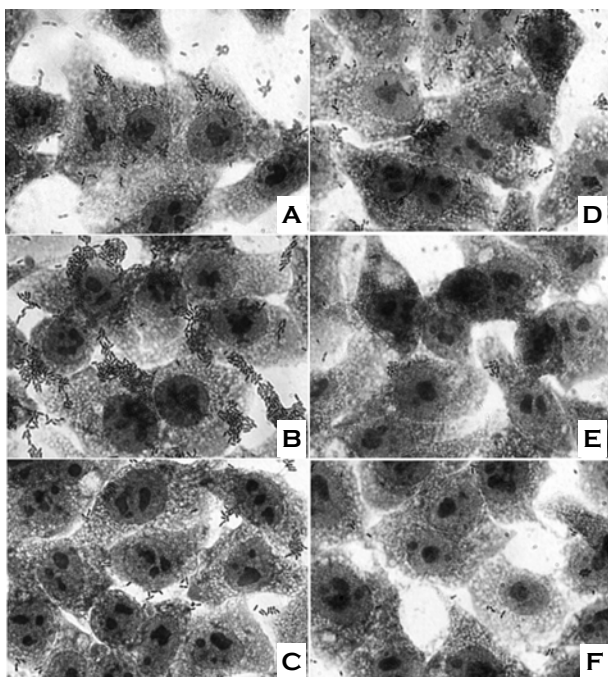


Figure 6. Effect of incubation temperature and saline solution on the adherence of *W. cibaria* CMS2 to HeLa cells. **A**, bacterial cells were incubated at 30°C and washed with 0.9% saline; **B**, bacterial cells were incubated at 30°C and washed with 0.45% saline; **C**, bacterial cells were incubated at 30°C and washed with distilled water; **D**, bacterial cells were incubated at 37°C and washed with 0.9% saline; **E**, bacterial cells were incubated at 37°C and washed with 0.45% saline; **F**, bacterial cells were incubated at 37°C and washed with distilled water. Magnification, $\times 1000$. Shown in the figures are the representative data of three separate experiments.

있고 (3,5,6,23), 충치 유발균인 *Streptococcus mutans*의 치태 형성을 억제하는 *W. cibaria*가 사람의 타액에서 분리되었다 (12). *W. cibaria*가 생성하는 수용성 중합체는 *S. mutans*의 glucosyltransferase (GTF) 작용을 전환시켜 비수용성 글루칸 대신 수용성 글루칸을 합성하도록 하여 *S. mutans*의 치태 형성을 억제하는 것으로 보고되었다 (12).

그동안 다양한 항생제를 비롯하여 chlorhexidine, triclosan, sanguinarine, fluoride와 같은 약제를 사용하여 구강의 치태 형성을 억제하기 위한 많은 노력들이 있어 왔다. 그러나 이들 약제들은 일시적인 효과일 뿐, 오랜 기간 사용하면 오히려 부작용을 일으킬 수 있었다. 그러므로, 프로바이오틱 (9)은 구강의 충치뿐만 아니라, 치태로 유발되는 질병에 대한 방어책으로서 약제에 대한 매력적인 대체품으로 여겨져 왔다. Ahola 등 (1)은 짧은 기간 동안 프로바이오틱이 포함된 치 이즈를 섭취하게 하여 충치 위험 인자를 관찰하였을 때, 치 이즈를 섭취하는 동안과 그 후에도 대체로 충치 위험 인자가 감소되었음을 보고하였다.

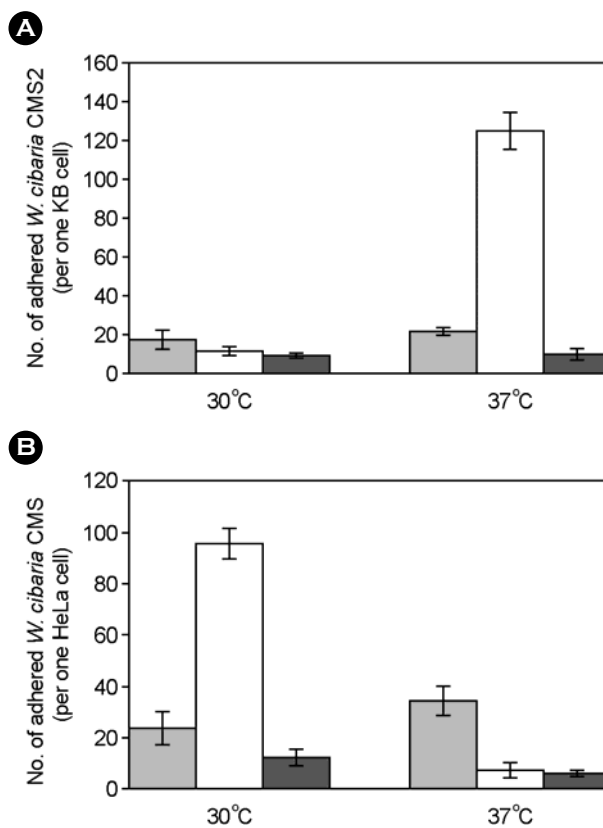


Figure 7. Numbers of adhered *W. cibaria* CMS2 to epithelial cells at various conditions. **A**, adherence of *W. cibaria* CMS2 to KB cell; **B**, adherence of *W. cibaria* CMS2 to HeLa cell. *W. cibaria* CMS2 were incubated at 30°C or 37°C and washed with saline solutions as follows: \blacksquare , 0.9% saline; \square , 0.45% saline; \blacksquare , distilled water. Means \pm SD followed by distinct letters differ statistically ($p < 0.05$).

*Weissella*속은 아직까지 구강 건강에 대한 프로바이오틱으로서 개발되지 않았으며, 또한, *Weissella*의 그 어떤 종도 아직까지 병원성을 가지고 있다고 보고되어진 바 없다. 본 실험실에서는 구강에서 분리한 *W. cibaria* 분리균주가 *Lactobacillus*보다는 더 적은 양의 유산을 생성하므로 프로바이오틱으로서 구강에 적용가능할 것이라 제안하였다 (12,13). 구강에서 프로바이오틱으로 정착하기 위해서는 구강상피세포에 부착할 수 있는 능력이 있어야 한다 (18). 많은 연구자들은 결합능력이 세포 부착능력과 상호 연관이 있다고 보고하였다 (7,14,22). 또한 *Lactobacillus*의 S-layer 단백질이 세포에 대한 부착력과 관련이 있다고 알려져 있으며 (25), 많은 *Lactobacillus*에서 S-layer가 발견되어졌다 (27). 대체로, 이들 균의 S-layer 단백질은 당이 결합되지 않은 단백질로 이루어져 있으며, 분자량은 약 40~50 kDa이다. 이 단백질들은 세포벽의 펩티도글리칸층에 결합되어 있으며 LiCl를 처리하여 선택적으로 얻을 수 있다 (20). 본 연구에서는 *W. cibaria*의

S-layer 단백질이 세포에 대한 부착력과 관련이 있는지 알아보기 위하여 LiCl을 처리하여 S-layer 단백질을 제거하였다. 실험 결과, LiCl을 처리한 *W. cibaria*는 세포에 대한 부착력을 상실하였으며, S-layer 단백질이 상피세포에 대한 부착력에 중요한 역할을 하고 있음을 알게 되었다.

상호결합은 단백질과 탄수화물들을 가지고 있는 adhesin과 complementary receptor로서 작용을 하는 세포표면물질간의 상호작용과 관련된 고도로 특이성을 갖는 과정이다 (15). Kang 등 (14)은 구강에서 분리한 *W. cibaria*가 *F. nucleatum*과 적절하게 상호결합하며 상피세포에 잘 부착한다고 보고하였다. 본 연구에서는 *W. cibaria*와 *F. nucleatum*간의 부착력을 광학현미경과 TEM을 이용하여 좀 더 명확히 관찰하였으며, 세균의 배양온도와 식염수 농도가 세포에 대한 부착력에 영향을 미치는지에 대해 알아 보고자 하였다. 프로바이오틱으로서 *W. cibaria*를 구강에 적용할 때 인체에 거의 영향을 미치지 않는 생리 식염수 농도 내에서 NaCl의 농도 변화를 주었을 때 세정액이 세균의 부착력에 미치는 영향을 알아보 고자 실험하였으며, 실험 결과, KB 세포와 HeLa 세포에 대한 적절한 부착온도는 *W. cibaria*를 각각 37℃와 30℃에서 배양하였을 때였으며, 0.45% 식염수를 사용하여 *W. cibaria*를 세척하여 부착실험을 하였을 때 두 상피세포 모두에서 가장 효과적으로 부착력을 보였다.

이상의 결과를 요약하면 *W. cibaria* 분리균주는 상피세포 및 *F. nucleatum*에 대해 부착을 잘 하였으며, 부착력은 S-layer 단백질과 같은 세균표면의 다양한 단백질들에 의해 매개 되어진다고 생각된다. 따라서, 이와 같은 *W. cibaria* 분리균주의 특성은 구강에 적용할 수 있는 프로바이오틱으로서 개발 가능성이 있음을 시사하여 주었다.

Acknowledgements

이 논문은 전남대학교병원 학술연구비 (CNUHRICM-U-2006-22)에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

- 1) Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlström A, Meurman JH, Korpela R: Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. *Arch Oral Biol* **47**: 799-804, 2002.
- 2) Ahrne S, Nobaek S, Jeppsson B, Adlerberth I, Wold AE, Molin G: The normal *Lactobacillus flora* of healthy human rectal and oral mucosa. *J Appl Microbiol* **85**: 88-94, 1998.
- 3) Björkroth KJ, Schillinger U, Geisen R, Weiss N, Hoste B, Holzapfel WH, Korkeala HJ, Vandamme P: Taxonomic study of *Weissella confusa* and description of *Weissella cibaria* sp. nov., detected in food and clinical samples. *Int J Syst Evol Microbiol* **52**: 141-148, 2002.
- 4) Boris S, Suárez JE, Barbés C: Characterization of the aggregation promoting factor from *Lactobacillus gasseri*, a vaginal isolate. *J Appl Microbiol* **83**: 413-420, 1997.
- 5) Choi HJ, Cheigh CI, Kim SB, Lee JC, Lee DW, Choi SW, Park JM, Pyun YR: *Weissella kimchii* sp. nov., a novel lactic acid bacterium from kimchi. *Int J Syst Evol Microbiol* **52**: 507-511, 2002.
- 6) De Vuyst L, Schrijvers V, Paramithiotis S, Hoste B, Vancanneyt M, Swings J, Kalantzopoulos G, Tsakalidou E, Messens W: The biodiversity of lactic acid bacteria in Greek traditional wheat sourdoughs is reflected in both composition and metabolite formation. *Appl Environ Microbiol* **68**: 6059-6069, 2002.
- 7) Del Re B, Sgorbati B, Miglioli M, Palenzona D: Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Lett Appl Microbiol* **31**: 438-442, 2000.
- 8) Drago L, Gismondo MR, Lombardi A, de Haen C, Gozzini L: Inhibition of in vitro growth of enteropathogens by new *Lactobacillus* isolates of human intestinal origin. *FEMS Microbiol Lett* **153**: 455-463, 1997.
- 9) Fuller R: Probiotics in human medicine. *Gut* **32**: 439-442, 1991.
- 10) Gill HS, Shu Q, Lin H, Rutherford KJ, Cross ML: Protection against translocating *Salmonella typhimurium* infection in mice by feeding the immuno-enhancing probiotic *Lactobacillus rhamnosus* strain HN001. *Med Microbiol Immunol* **190**: 97-104, 2001.
- 11) Gilliland SE, Nelson CR, Maxwell C: Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol* **49**: 377-381, 1985.
- 12) Kang MS, Chung J, Kim SM, Yang KH, Oh JS: Effect of *Weissella cibaria* isolates on the formation of *Streptococcus mutans* biofilm. *Caries Res* 2006 (In press).
- 13) Kang MS, Kim BG, Chung J, Lee HC, Oh JS: Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulfur compounds. *J Clin Periodont* **33**: 226-232, 2006.
- 14) Kang MS, Na HS, Oh JS: Coaggregation ability of *Weissella cibaria* isolates with *Fusobacterium nucleatum* and their adhesiveness to epithelial cells. *FEMS Microbiol Lett* **253**: 323-329, 2005.
- 15) Kinder SA, Holt SC: Coaggregation between bacterial species.

- Methods Enzymol* **236**: 254-270, 1994.
- 16) **Kolenbrander PE**: Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol* **54**: 413-437, 2000.
 - 17) **Laemmli UK**: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 680-685, 1970.
 - 18) **Lamont RJ, Jenkinson HF**: Adhesion as an ecological determinant in the oral cavity. pp131-168, *In* Oral bacterial ecology: the molecular basis, Kuramitsu HK and Ellen RP (Ed), Horizon Scientific Press, Wymondham. 2000.
 - 19) **Lortal S, van Heijenoort J, Gruber K, Sleytr UB**: S-layer of *Lactobacillus helveticus* ATCC 12046: isolation, chemical characterization and reformation after extraction with lithium chloride. *J Gen Microbiol* **138**: 611-618, 1992.
 - 20) **Messner P, Allmaier G, Schäffer C, Wugeditsch T, Lortal S, König H, Niemetz R, Dörner M**: Biochemistry of S-layers. *FEMS Microbiol Rev* **20**: 25-46, 1997.
 - 21) **Redondo-López V, Cook RL, Sobel JD**: Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Rev Infect Dis* **12**: 856-872, 1990.
 - 22) **Reid G, McGroarty JA, Angotti R, Cook RL**: *Lactobacillus* inhibitor production against *Escherichia coli* and coaggregation ability with uropathogens. *Can J Microbiol* **34**: 344-351, 1988.
 - 23) **Santos EM, Jaime I, Rovira J, Lyhs U, Korkeala H, Björkroth J**: Characterization and identification of lactic acid bacteria in "morcilla de Burgos". *Int J Food Microbiol* **97**: 285-296, 2005.
 - 24) **Scaletsky IC, Silva ML, Trabulsi LR**: Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *Infect Immun* **45**: 534-536, 1984.
 - 25) **Schneitz C, Nuotio L, Lounatma K**: Adhesion of *Lactobacillus acidophilus* to avian intestinal epithelial cells mediated by the crystalline bacterial cell surface layer (S-layer). *J Appl Bacteriol* **74**: 290-294, 1993.
 - 26) **Stiles ME, Holzapfel WH**: Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int J Food Microbiol* **36**: 1-29, 1997.
 - 27) **Yasui T, Yoda K, Kamiya T**: Analysis of S-layer proteins of *Lactobacillus brevis*. *FEMS Microbiol Lett* **133**: 181-186, 1995.
-