

유전자변형 없는(Non-GMO) 미생물로 저당 감미료 '알룰로스' 생산 기반 마련

- 국립낙동강생물자원관, 고온에서도 안정적인 비유전자변형 미생물로 감미료 생산 효소 확보

환경부 산하 국립낙동강생물자원관(관장 용석원)은 최근 유전자변형 없이 과당*을 저당 감미료인 알룰로스로 전환할 수 있는 미생물 균주 발굴에 성공했다고 밝혔다.

* 과당: 단당류의 일종으로, 과일이나 옥수수 시럽 등에 많이 함유되어 있으며, 설탕보다 단맛이 강함. 과당의 과도한 섭취는 건강에 부정적인 영향을 미칠 수 있음

알룰로스는 설탕과 유사한 단맛을 지니면서도 칼로리가 거의 없고 혈당을 올리지 않는 저당 감미료로, 항산화 및 항비만 효과도 있는 것으로 보고되고 있다. 최근 세계 대체당 시장이 연평균 5.7% 이상 급성장하면서 알룰로스는 식품업계의 주요 전략 소재로 주목받고 있다.

대부분의 미생물은 자연 상태에서는 알룰로스를 효율적으로 생산하지 못하기 때문에, 현재 식품 산업에서는 알룰로스 생산 능력을 향상시킨 유전자변형(GMO) 균주를 활용한 생산 기술이 많이 사용되고 있다. 그러나 '유전자변형(GMO) 완전표시제' 도입 논의가 본격화되면서 국내 식품업계의 비유전자변형(Non-GMO) 균주 수요가 크게 증가하고 있다.

이번 연구에서 국립낙동강생물자원관은 보유하고 있는 미생물 자원을 활용해 알룰로스 생산 능력을 가진 균주 5종을 선별하고, 이들로부터 유래한 알룰로스 합성 효소의 정제 및 기능 분석을 진행했다.

해당 연구결과를 바탕으로 마이크로박테리움 아라비노갈락타놀리티쿰 (*Microbacterium arabinogalactanolyticum*) 종의 미생물에 대한 특허가 8월 중에 출원되고, 추가로 마이크로박테리움 파라옥시단스(*M. paraoxydans*) 종의 미생물에 대한 특허 또한 9월 초에 추가로 출원될 예정이다.

* 특허명: 마이크로박테리움 아라비노갈락타놀리티쿰 유래의 신규 사이코스 에피머화 효소 및 이를 이용한 사이코스 생산방법(8월 중 출원예정). 마이크로박테리움 파라옥시단스 유래의 신규 사이코스 에피머화 효소 및 이를 이용한 사이코스 생산 방법(9월 초 출원예정).

연구진은 이들 균주에서 유래한 효소가 기존에 알려진 효소에 비해 섭씨 70도 이상의 고온에서도 활성률이 높고, 알룰로스 전환율 또한 우수함을 확인했다.

이번 연구는 유전자변형 없는 천연 미생물을 활용해 소비자 신뢰도가 높은 알룰로스 생산 기술 개발의 기반을 마련한 것으로, 향후 식품 및 바이오 산업에서 국내 대체당 소재의 세계 시장 경쟁력 강화에 기여할 것으로 기대된다.

김의진 국립낙동강생물자원관 생물자원연구실장은 “소비자 우려를 최소화하면서도 고기능성 감미료를 생산할 수 있다는 점에서 관련 산업에 미치는 파급력이 클 것”이라며, “향후 생산 공정 최적화 등 관련 연구를 통해 미생물 기반 대체당 원료의 자체 기술 확보 및 산업화에 더욱 노력할 계획”이라고 밝혔다.

- 붙임 1. 주요 연구결과
2. 전문용어 설명.
3. 관련 사진. 1부. 끝.

담당 부서 <총괄>	국립낙동강생물자원관 원핵생물연구부	책임자	부장	고재덕 (054-530-0840)
		담당자	전임연구원	조자영 (054-530-0843)
	국립낙동강생물자원관 생물소재연구부	책임자	부장	오영택 (054-530-0890)
		담당자	전임연구원	황예지 (054-530-0878)

□ 미생물(세균) 322종 대상 알룰로스 대사 능력 보유 균주 선별

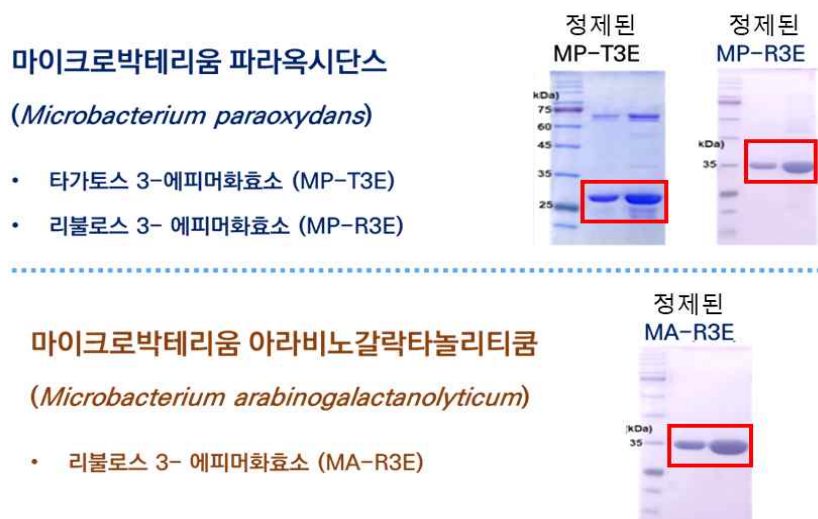
- 세균 322종을 2% 알룰로스 최소배지에서 각각 배양 후 성장 및 과당 생성 여부를 분석하여 알룰로스를 탄소원으로 대사 가능한 균주를 선별함

□ 알룰로스 대사 균주의 전환 능력 평가

- 선별된 5종 균주를 대상으로 알룰로스를 처리한 최소배지에서 배양 후, 프럭토오스 감소율을 측정하여 알룰로스 전환 능력을 정량적으로 평가함
- 특히 마이크로박테리움 속 균주들이 상대적으로 높은 전환 효율을 보임

□ 후보 균주의 유전체 분석 및 핵심 효소 발굴

- 선별된 균주 중 마이크로박테리움 파라옥시단스(*M. paraoxydans*)와 마이크로박테리움 아라비노갈락타놀리티쿰(*M. arabinogalactanolyticum*)에 대한 유전체 분석을 통해 알룰로스 합성에 관여하는 핵심 효소 유전자 3종 발굴
- 알룰로스 합성 효소 유전자를 클로닝하여 재조합 효소로 생산하고 정제함



[그림 1] 알룰로스 합성 재조합 효소 정제

※ 에피머화 효소(Epimerase): 당의 특정 위치에서 수산기(-OH)의 배치를 바꾸어 이성질체를 만드는 효소. 알룰로스 생산에서는 과당을 알룰로스로 전환하는 핵심 효소임

□ 재조합 효소* 특성 분석

- HPLC 분석법을 활용하여 프럭토오스로부터 알룰로스를 실제로 합성할 수 있는 활성을 확인하였으며, 다양한 온도와 pH 조건에서의 반응 특성과 금속 보조인자 의존성, 기질 특이성 및 효소 반응 속도를 측정함

* 재조합 효소: 특정 유전자를 대장균 등의 숙주에 도입하여 대량 생산한 효소. 산업적 활용을 위해 필요한 기술임

□ 고온 안정성과 전환 효율 확인

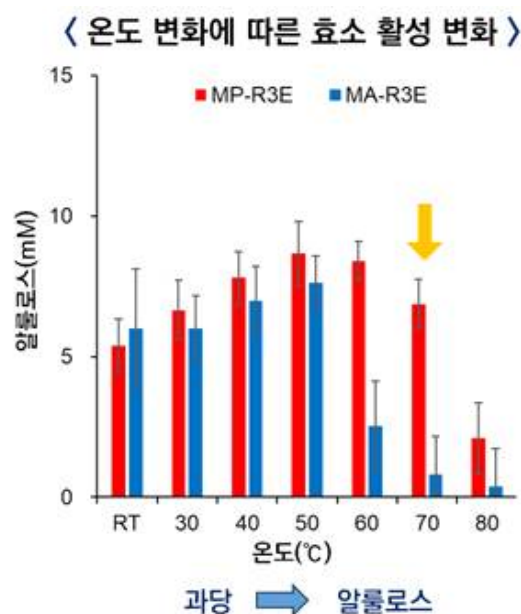
- 마이크로박테리움 속 유래 효소는 산업적 생산 조건에서도 적용가능한 수준의 분당 알룰로스 전환 효율*을 보임

[표 1] 마이크로박테리움 속 유래 효소의 알룰로스 전환 효율

균주명	알룰로스 분당 전환효율 (k _{cat} /min)
마이크로박테리움 파라옥시단스	38,017
마이크로박테리움 아라비노갈락타놀리티쿰	63,363

* 효소 단백질 1mg당 1분간 전환할 수 있는 기질의 양을 나타내는 효소 활성의 지표

- 특히, 마이크로박테리움 파라옥시단스 종의 유래 효소(MP-R3E)는 70°C 이상의 고온에서도 활성을 나타냄



[그림 2] 온도에 따른 재조합 효소의 활성 변화

□ 알룰로스(Allulose)

- 과당의 이성질체로, 설탕과 유사한 단맛을 내지만 칼로리가 설탕의 1/10 수준인 차세대 저칼로리 감미료. 혈당 상승을 억제하고 체중 감량에 도움을 주는 것으로 알려져 있음

□ 비유전자변형(Non-GMO) 미생물

- 유전자 변형(GMO, Genetically Modified Organism) 기술을 사용하지 않은 천연 상태의 미생물 균주. 안전성과 소비자 수용성 측면에서 장점을 가짐

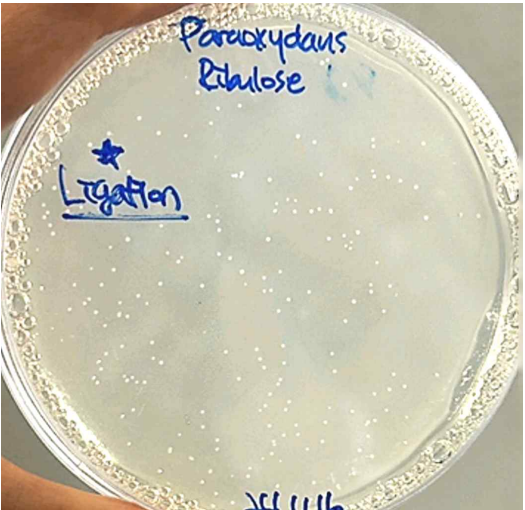
□ 마이크로박테리움(*Microbacterium*)

- 그람양성 세균에 속하는 막대 모양의 미생물로, 일반적으로 흙, 물, 공기 등 일상 환경에 자연적으로 존재함. 최근에는 과당을 건강 기능성 단당류인 알룰로스로 전환하는 효소를 생산하는 균주도 국내에서 분리되어, 식품 또는 바이오 산업에서 주목받고 있음

□ 알룰로스 합성 재조합 효소 발현

- 마이크로박테리움 아라비노갈락타놀리티쿰(*Microbacterium arabinogalactanolyticum*) 및 마이크로박테리움 파라옥시단스(*M. paraoxydans*)로부터 확보한 알룰로스 합성 효소 유전자를 (리블로스 3-에피머화효소) 클로닝하여 재조합 형태로 생산하고, 특성 분석에 활용

※ 생산 공정에는 원균주를 사용가능하며, 재조합 효소는 효소 특성 확인 및 비교 분석을 위한 용도로 활용함

	
<i>Microbacterium arabinogalactanolyticum</i> (마이크로박테리움 아라비노갈락타놀리티쿰)	<i>Microbacterium paraoxydans</i> (마이크로박테리움 파라옥시단스)