

모유올리고당의 산업적 생산 및 전망

Industrial Production and Prospect of Breast Milk Oligosaccharide

진영욱 (Young-Wook Chin)

한국식품연구원 전통식품연구단

Traditional Food Research Group, Korea Food Research Institute

1. 서론

세계보건기구(World Health Organization, WHO)는 산모들에게 생후 6개월 동안 물을 포함한 모든 식품을 배제하고 오로지 모유로만 아이를 키우는, 이른바 독점적 모유수유(exclusive breastfeeding)를 강하게 권장하고 있다. 이는 모유수유를 받는 아기가 분유를 먹는 아기에게 비해서 가질 수 있는 건강상의 이점이 많기 때문이다(그림 1).

모유와 우유의 주요 영양성분의 함량을 비교해 보면 단백질, 지방, 유당의 함량은 크게 차이가 나지 않지만, 올리고당의 함량은 모유에서 약 100~300배 높다(표 1). 이러한 올리고당은 독특한 구조를 가진데다가 수많은 포유류의 젖들 중에서 유독 인간의 모유에만 다량 함유되어 있어서 모유올리고당(Human milk oligosaccharides)이라고 칭한다. 최근의 연구에서 모유올리고당은 인체 내의 다양한 생물학적 활성에 관여하는 것으로 밝혀져 유아용 이유식, 노인용 건강기능식품 및 의약품 소재로의 이용가능성으로 주목 받고 있다.

이러한 관심을 반영하듯, 현재 미국의 빌 앤 멜린다 게이츠 재단을 비롯한 세계 유수의 그룹에서도 모유올리고당에 관한 연구를 지원하고 있다. 또한, 전세계 유가공 업계에서는 모유를 모사한 유아용 이유식을 생산하기 위해 모유올리고당을 첨가하려는 시도를 하고 있으나, 산업적인 대량생산이 어렵기 때문에 이를 대신해서 프락토올리

그림 1. 독점적 모유수유의 10가지 좋은 점들



(출처: WHO)

*Corresponding author: Young-Wook Chin
 Traditional Food Research Group, Korea Food Research Institute
 245, Nongsaengmyeong-ro, Iseo-myeon, Wanju-Gun, Jeollabuk-do, 55365, Republic of Korea
 Tel: +82-63-219-9317
 Fax: +82-63-219-9876
 Email: ywchin@kfri.re.kr

표 1. 모유와 우유의 주요 영양소의 함량 비교 (g/L)

	Human milk	Bovine milk
Protein	8	32
Fat	41	37
Lactose	70	48
Oligosaccharides	5~15	0.05
% fucosylated	50~80%	~1%
% sialylated	10~20%	~70%

(출처: Bode 등, 2012)

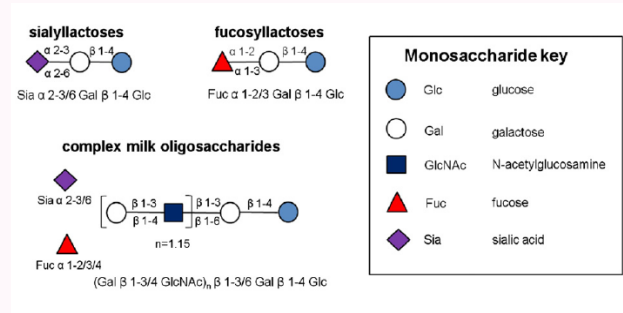
고당(fructooligosaccharide) 또는 갈락토올리고당(galactooligosaccharide)을 첨가하고 있는 실정이다. 이에 본 제언에서는 모유올리고당의 생산에 관한 선행 연구내용과 산업현황 및 전망에 대해 소개하고자 한다.

II. 본론

1. 모유올리고당의 종류 및 구조

지금까지 약 200여 종류의 모유올리고당이 밝혀져 있는데, 이들은 기본적으로 D-glucose (Glc), D-galactose (Gal), N-acetylglucosamine (GlcNAc), L-fucose (Fuc), sialic acid [Sia; N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac)]의 다섯 가지 단당류(mono-saccharides)로 구성되어 있다. 이러한 단당류들은 다양한 글리코실 결합(glycosidic bond)과 중합도(DP 3-20)로 연결되어 복잡한 사슬구조를 이루고 있다. 구조적 복잡성에도 불구하고, 모든 모유올리고당은 공통적으로 환원말단부위에 lactose (Gal β 1-4Glc)를 가지고 있는데, lacto-N-biose 또는 N-acetylglucosamine이 추가로 연장되면서 사슬구조를 가질 수 있고, 대부분 사슬의 말단이나 중간이 푸코실화(fucosylation) 또는 시알릴화(sialylation)되어 있는 것이 특징이다(그림 2). 가장 짧은 모유올리고당은 3탄당으로, lactose의 Gal 부위에 fucose가 α -(1,2)- 또는 α -(1,3)-으로 결합된 2-푸코실락

그림 2. 모유올리고당의 기본구조



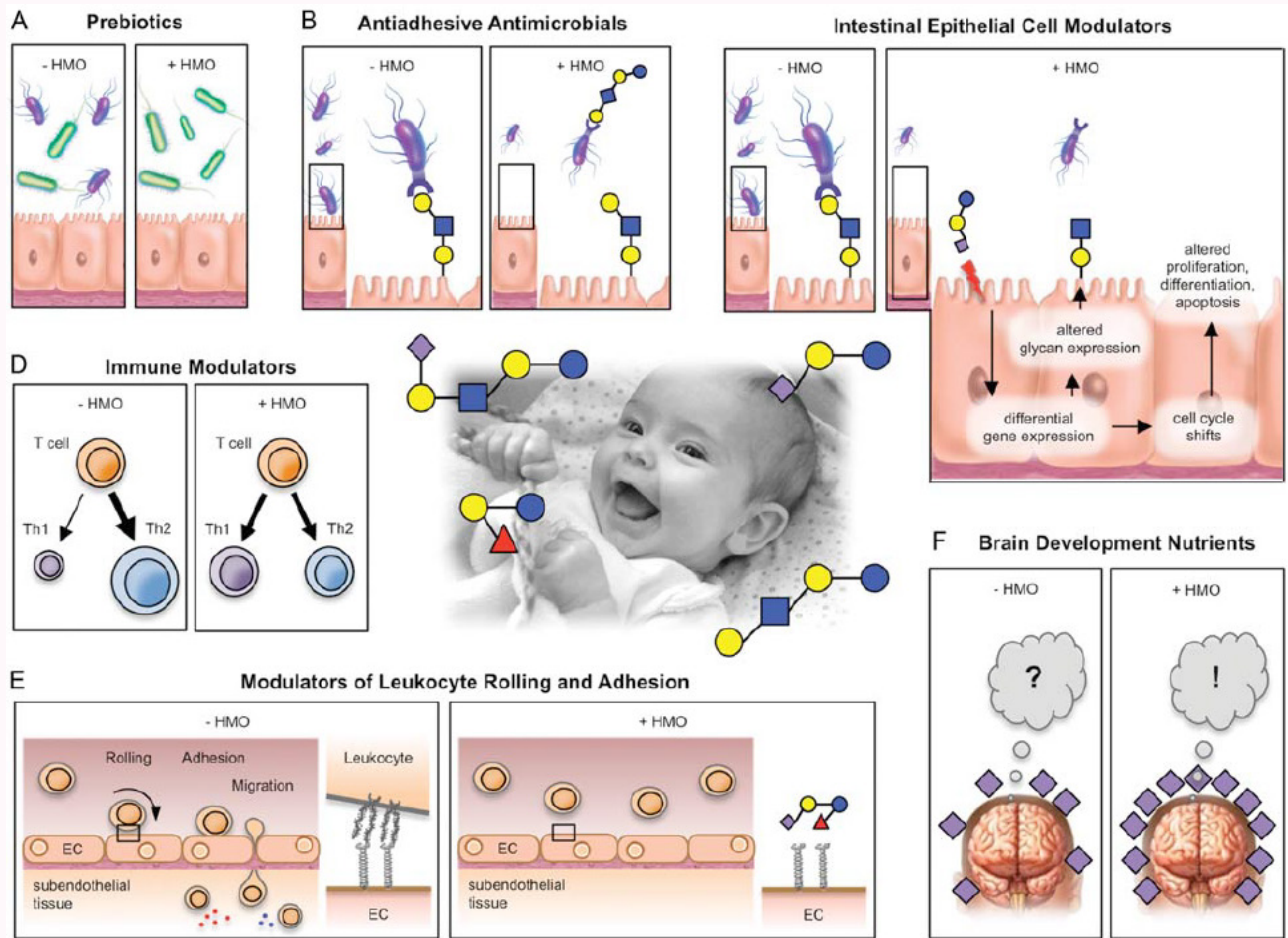
(출처: Han 등, 2015)

토오스(2'-fucosyllactose, 2-FL)와 3-푸코실락토오스(3'-fucosyllactose, 3-FL)가 있고, sialic acid가 α -(2,3)-과 α -(2,6)-으로 결합된 3-시알릴락토오스(3'-sialyllactose, 3-SL)와 6-시알릴락토오스(6'-sialyllactose, 6-SL)가 있다(그림 2). 약 200여 종류의 모유올리고당 중에서 약 50~80%는 푸코실화 되어 있고, 약 10~20%는 시알릴화 되어 있는 것으로 알려져 있다(표 1). 산모의 인종, 환경, 영양상태, 수유시기 등의 조건에 따라 모유올리고당의 종류 및 함량은 크게 다르지만, 보편적으로 2-FL과 3-FL이 약 1~2 g/L로 함량이 가장 높고, 3-SL, 6-SL, lactodifucotetraose, lacto-N-fucopentaose, lacto-N-neotetraose, lacto-N-tetraose, lacto-N-difucohexaose 등이 각각 0.01~1.0 g/L 정도로 함유되어 있다(Smilowitz 등, 2013).

2. 모유올리고당의 기능성

모유올리고당의 주요 기능으로는 장내 유익균의 생육을 돕는 프리바이오틱(prebiotic) 효과, 각종 병원체(박테리아, 바이러스, 독소, 기생충 등)에 의한 감염 방지, 면역시스템 증진, 염증완화 및 두뇌기능(인지력) 향상 등이 밝혀져 있다(그림 3). 영유아의 체내로 섭취된 모유올리고당은 인체 내의 소화 효소로는 분해가 되지 않고, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* 같은 유익균에 의해 단당류로 분해되어 그들의 생장을 위한 먹

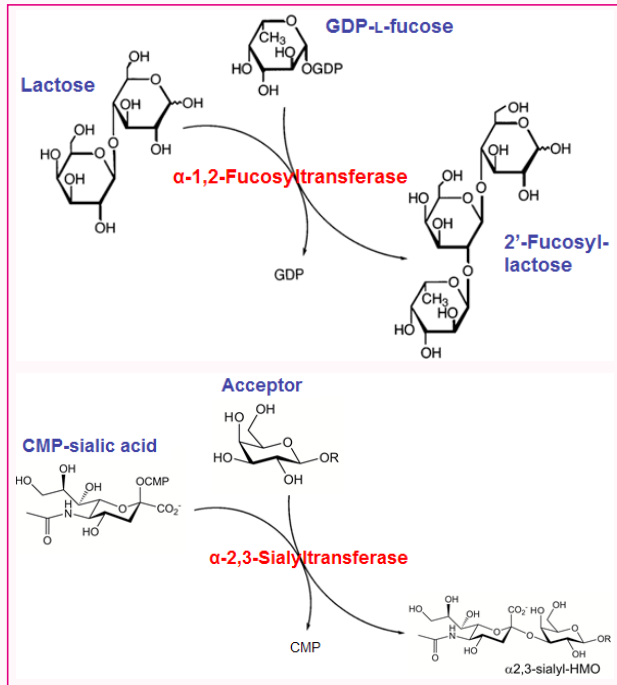
그림 3. 모유올리고당의 주요 기능성(Bode 등, 2012)



이로 이용된다(Sela 등, 2010). 반면, 유해균들은 모유 올리고당을 이용하지 못하여 증식이 억제되므로 프리바이오틱 효과가 나타난다(Bode, 2015, 그림 3A). 또한, 병원체는 인체의 장내 상피세포의 표면에 있는 당사슬을 인식하여 부착함으로써 감염이 시작되는데, 이때 모유올리고당이 당사슬의 구조적인 유사체이므로 병원체가 장 상피세포 대신 모유올리고당에 부착되어 체외로 배출됨으로써 감염을 방지하는 효과가 나타난다(그림 3B). 대표적인 예로 식중독균인 *Campylobacter jejuni* (Ruiz-Palacios 등, 2003), 이질을 유발하는 기생충인 *Entamoeba histolytica* (Jantscher-Krenn 등, 2012), 로타바이러스 및 노로바이러스(Donovan 등,

2017; Newburg 등, 2007), enterotoxin(Crane 등, 1994) 등의 부착을 감소시키는 효과가 보고되어 있다. 면역 관련 기능에 대해서는 아직 연구결과가 부족하지만, 인체의 면역단백질인 Th1/Th2-cytokine의 생산에 관여하는 T-cell의 반응을 조절한다는 것을 확인함으로써 알레르기 등의 면역관련 질환에 대한 적용 가능성을 확인한 바 있다(Eiwegger 등, 2004; Eiwegger 등, 2010, 그림 5D). 이 밖에 모유수유를 받은 아이가 지능지수가 높다는 보고(Lucas 등, 1992)와 관련해서는 뇌의 구성분 중 시알산의 비율이 높는데, 모유올리고당이 시알산의 주요 공급원으로 작용했기 때문이라고 추측되고 있다(그림 5F).

그림 4. 모유올리고당의 효소적 합성방법 예시

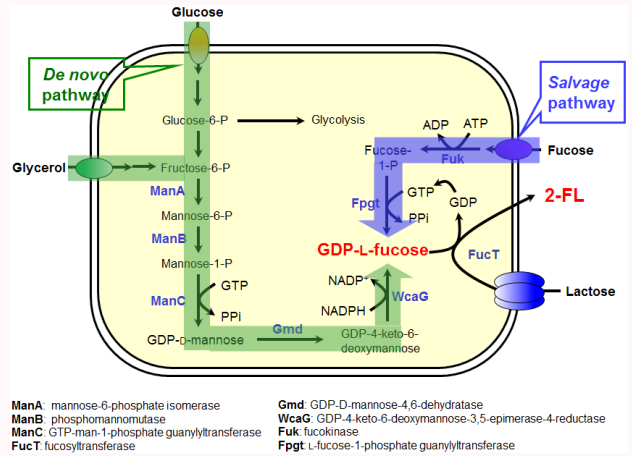


3. 모유올리고당의 생산방법 및 기술현황

모유올리고당을 생산하는 방법으로는 모유로부터 직접 추출하는 방법과 화학적 또는 효소적으로 합성하는 방법들이 있다. 그러나 모유로부터의 추출은 원료수급의 한계와 낮은 생산성이 문제이고, 화학적 합성법은 고가의 기질, 낮은 이성체 선택성(stereo-selectivity)과 생산수율의 문제가 있었다. 한편, 당전이효소(glycosyltransferase)를 이용하는 효소적 합성법(그림 4)에는 시알산(sialic acid) 또는 푸코스(fucose)의 활성화형 핵산당(activated nucleotide sugar) 형태인 GDP-L-fucose 또는 CMP-sialic acid가 기질로 공급되어야 하는데, 이 물질들이 매우 고가인데다가 당전이효소의 정제비용도 들기 때문에 경제성이 낮은 문제점이 있다. 이에 반해 미생물을 이용한 생산방법은 저렴한 기질로부터 모유올리고당을 높은 농도로 대량생산할 수 있기 때문에 산업적인 측면에서 각광을 받고 있다.

모유올리고당을 천연적으로 생산할 수 있는 미생물은 아직까지 밝혀진 예가 없기 때문에 대사공학(metabolic

그림 5. 미생물 내의 2'-fucosyllactose (2-FL)과 GDP-L-fucose의 생합성 경로



engineering)기법을 이용하여 제작한 재조합 미생물을 이용하는데, 수많은 미생물들 중에서도 특히 재조합 대장균(*Escherichia coli*)이 많이 이용되고 있다. 이는 대장균이 다른 미생물 유래의 유전자를 발현하기 용이할 뿐 아니라, 진핵 미생물에 비해 대사경로가 단순하여 조절하기가 용이하기 때문이다(Nidetzky 등, 2016). 실제로 효모와 동물에서 생산이 시도된 사례들이 있으나, 생산농도가 낮았다(Mattila 등, 2000; Prieto 등, 1995; Prieto, 2012).

한편, 재조합 대장균을 이용하여 몇몇 종류의 모유올리고당을 생산하는 연구가 시도되어 왔는데, 현재 기술적인 측면에서 산업화에 가장 근접한 모유올리고당은 3탄당인 fucosyllactose (FL)와 sialyllactose (SL)이다. 대장균에서 FL과 SL을 생산하는 데는 여러 가지 요인들이 관여하지만, 대부분의 선행연구들에서 SL과 FL의 생산농도 및 수율을 향상시키고자 세가지 요소에 초점을 맞추어 연구가 진행되어 왔다. 첫 번째는 fucose(sialic acid)의 공여체(donor)인 GDP-L-fucose(CMP-sialic acid)의 생성이고, 두 번째는 수용체(acceptor)인 lactose의 공급이며, 세 번째는 외부에서 도입한 fucosyltransferase (sialyltransferase)의 활성도이다.

SL을 생산하기 위해 Kyowa Hakko사에서서는 bacterial coupling 방법을 이용하였다. *Corynebacterium*

표 2. 미생물을 이용한 모유올리고당 생산에 관한 주요 선행연구결과들

Products	Titer ^a (g/L)	Substrate	Host	Reference
2-FL	15/nd ^b	Glycerol, lactose	<i>E. coli</i> BL21star(DE3)	Chin 등, 2017
2-FL	23/nd	Fucose, glycerol, lactose	<i>E. coli</i> BL21star(DE3)	Chin 등, 2016
2-FL	10/10	Glycerol, lactose	<i>E. coli</i> JM109	Baumgärtner 등, 2013
2-FL	11/3	Glucose, lactose	<i>E. coli</i> JM107	Drouillard 등, 2006
3-SL	15/10	Glycerol, lactose	<i>E. coli</i> JM107	Fierfort 등, 2008
3-SL	33	Fructose, sialic acid, lactose, orotic acid	<i>E. coli</i> NM522 <i>C. ammoniagenes</i>	Endo 등, 2000
GDP-L-fucose	18	GMP, mannose	<i>E. coli</i> NM522 <i>C. ammoniagenes</i>	Koizumi 등, 2000
CMP-NeuAc (CMP-sialic acid)	17	Sialic acid, fructose, orotic acid	<i>E. coli</i> NM522 <i>C. ammoniagenes</i>	Endo 등, 2000

^a intracellular/extracellular

^b nd, not determined

*ammoniagenes*를 이용하여 orotic acid를 UTP로 전환시킨 후, 이를 *E. coli*에 공급하여 NeuAc를 CMP-NeuAc로 전환시키는 반응을 통해 27시간동안 17 g/L의 CMP-NeuAc를 생산하였다. 뒤이어 *Neisseria gonorrhoeae* 유래의 α -2,3-sialyltransferase를 발현시킨 *E. coli*를 통해 lactose와 CMP-NeuAc로부터 33 g/L의 3-SL을 생산하였다(Endo 등, 2000). Bacterial coupling 방식은 GDP-L-fucose를 생산하는데도 이용되었는데, *C. ammoniagenes*를 이용하여 GMP를 GTP로 전환시켜 mannose와 함께 *E. coli*에 공급하여 두 단계의 반응을 거쳐 22시간동안 18 g/L의 GDP-L-fucose를 생산한 바 있다(Koizumi 등, 2000). Bacterial coupling 방식은 고농도의 product를 얻을 수 있었지만, 4~5종의 서로 다른 재조합 미생물을 이용해야 하는 복잡성과 고가의 전구체를 기질로 공급해야 한다는 점 때문에 이후에는 단일 미생물을 이용하는 방법이 개발되었다. Fierfort 등은 *E. coli*에 *C. jejuni* 유래의 *neuABC*를 도입하여 CMP-sialic acid를 생성할 수 있게 하고, *Neisseria meningitidis* 유래의 α -2,3-sialyltransferase를 도입하여 lactose와 glycerol로부터 25 g/L의 3-SL을 생산한 바 있다(Fierfort 등, 2008).

한편, FL 생산에 있어서 GDP-L-fucose는 신생경로(*de novo* pathway)와 재생경로(*salvage* pathway)를 통해서 생성될 수 있다(그림 5). 재생경로를 이용할 경우, 신생경로에 비해 경로가 짧고 by-path가 적어서 GDP-L-fucose의 생성에는 유리하지만 기질인 fucose의 가격이 고가이기 때문에 산업적인 대량생산에는 신생경로를 이용하는 것이 유리하다.

몇몇 선행연구들에서는 공통적으로 GDP-L-fucose의 생성을 향상시키고자 *E. coli*가 원래 가지고 있는 신생경로의 ManB, ManC, Gmd, WcaG 단백질들을 과발현(*overexpression*)시키고, lactose의 분해를 막기 위해 *lacZ*를 파쇄(*deletion*)하였으며, *Helicobacter pylori* 또는 *Bacteroides fragilis* 유래의 α -1,2-fucosyltransferase를 도입한 *E. coli*를 이용하여 glycerol과 lactose로부터 10~20 g/L의 2-FL을 생산하였다(Baumgärtner 등, 2013; Chin 등, 2017; Drouillard 등, 2006). 이 밖에, 신생경로를 이용한 연구는 Fuk와 Fpgt 효소의 두 가지 활성을 모두 갖는 *B. fragilis* 유래의 *fkp* 유전자를 도입하여 fucose, lactose, glycerol로부터 23 g/L의 2-FL을 생산한 예가 있다(Chin 등, 2016). 산업적인 생산수준에 근접한 선행연구의 결과들을 표 2에 정리하였다.

그림 6. Fucosyllactose를 첨가한 세계 최초의 분유제품, Similac PRO-ADVANCE



4. 모유올리고당의 산업화 현황

모유올리고당의 생산기술을 가진 기업으로는 독일의 Jennewein, 덴마크의 Glycom, 벨기에의 Inbiose, 영국의 Carbosynth와 Dextra, 일본의 Kyowa Hakko, 프랑스의 Elicityl, 미국의 Zuchem, Prozyme, Glycosynth, 그리고 한국의 APtech과 Genechem 등이 있다. 이들은 주로 효소와 미생물을 이용한 생산방법을 이용하는데, 아직까지 산업적인 수준으로 대량생산이 가능한 기업은 많지 않다. 이는 식품 산업군의 특성상 제품에 대한 소비자들의 심리적 마지노선 가격이 다른 산업군에 비해 상당히 낮아서 현재의 기술로는 생산단가를 맞추기가 어렵기 때문이다. 이에 따라 기업들은 생산단가를 낮추기 위한 기술개발을 진행 중이고, 아마도 일부 기업들은 문서상으로 보고된 모유올리고당의 최대생산농도(표 2)를 뛰어넘는 수준의 기술을 이미 개발하였을 것으로 판단된다.

기술적으로는 SL의 생산기술이 FL보다 먼저 개발되어 생산 가능한 농도가 더 높기 때문에 산업화에 가깝다고 할 수 있지만, 최근에는 기능성 측면에서 FL이 더

부각되고 있는데다가, SL은 다른 포유류의 젖에서도 함량이 비교적 높기 때문에 기업들은 FL의 생산기술개발에 집중하고 있다.

2017년 말 기준으로 세계 모유올리고당 시장에서 FL은 약 48%(9백만\$)를 점유하고 있고, 뒤이어 SL이 28%(5백만\$)를 점유하고 있다(Future Market Insights, 2017). SL은 이미 수년 전부터 여러 종류의 외국 및 국내제품에도 첨가되어 판매되고 있지만, FL은 최근 출시된 Similac의 제품이 유일하다(그림 6). 하지만, 생산단가 문제로 실제 모유에 들어있는 농도의 약 10% 수준으로 첨가가 되어 있다.

5. 모유올리고당의 산업전망

UN은 향후 10년 동안 세계 총인구수가 10억명 이상 증가할 것이고, 2060년에는 100억명을 넘어설 것으로 예상하고 있다(UN population division, 2015). 그에 따라 이유식 시장 또한 크게 팽창할 것으로 예상되는데, 특히 인구증가가 많은 중국과 인도에서의 수요가 크게 증가할 것으로 사료된다. Future Market Insights의 2017년 보고서에서는 모유올리고당의 세계시장규모가 2017~2027년 사이에 연평균 성장률(CAGR)이 14.6%에 달하여 총 7,600억\$ 수준을 넘어설 것으로 전망하고 있다. 그에 따라 생명공학, 식품, 농축산 관련 거대 기업들이 이 시장에 뛰어들어 기술개발이 가속화될 것이고, 가까운 미래에 모유와 성분이 상당히 유사한 수준의 이유식을 만들 수 있을 것으로 예상된다. 또한, 이유식에 한정되지 않고, 의약품과 화장품에도 적용되어 새로운 시장이 개척될 것으로 기대된다.

III. 결론

미래에 산업적인 대량생산이 가능해진다면, 모유올리고당은 식품, 의약품시장에서 새로운 트렌드를 창출할 수 있을 것으로 판단된다. 아울러 아직까지 완벽하게 밝혀지지 않은 모유의 기능성을 연구하는 데에도 큰

도움이 될 것이다. 아직까지 각국 정부의 허가 및 소비자들의 인식개선 등의 문제들이 남아있지만, 가까운 미래에는 모유올리고당이 첨가된 다양한 제품들을 만나볼 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Baumgärtner F, Seitz L, Sprenger GA, Albermann C. 2013. Construction of *Escherichia coli* strains with chromosomally integrated expression cassettes for the synthesis of 2'-fucosyllactose. *Microbial Cell Factories* 12(1): 40.
2. Bode L. 2012. Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 22(9): 1147-1162.
3. Bode L. 2015. The functional biology of human milk oligosaccharides. *Early Human Development* 91(11): 619-622.
4. Chin YW, Seo NR, Kim JH, Seo JH. 2016. Metabolic engineering of *Escherichia coli* to produce 2'-fucosyllactose via salvage pathway of guanosine 5'-diphosphate (GDP)-L-fucose. *Biotechnology and Bioengineering*.
5. Chin YW, Kim JY, Kim JH, Jung SM, Seo JH. 2017. Improved production of 2'-fucosyllactose in engineered *Escherichia coli* by expressing putative α -1,2-fucosyltransferase, WcfB from *Bacteroides fragilis*. *Journal of Biotechnology* 257: 192-198.
6. Crane J, Crane JK, Azar SS, Stam A, Newburg DS. 1994. Oligosaccharides from human milk block binding and activity of the *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin (StA) in T84 intestinal cells. *Journal of Nutrition* 124(12): 2358.
7. Donovan SM. 2017. Human milk oligosaccharides: Potent weapons in the battle against Rotavirus infection. *The Journal of Nutrition* 147(9): 1605-1606.
8. Drouillard S, Driguez H, Samain E. 2006. Large-scale synthesis of H-antigen oligosaccharides by expressing *Helicobacter pylori* α -1,2-fucosyltransferase in metabolically engineered *Escherichia coli* cells. *Angewandte Chemie* 118(11): 1810-1812.
9. Eiwegger T, Stahl B, Schmitt J, Boehm G, Gerstmayr M, Pichler J, Dehlink E, Loibichler C, Urbanek R, Szépfalusi Z. 2004. Human milk-derived oligosaccharides and plant-derived oligosaccharides stimulate cytokine production of cord blood T-cells *in vitro*. *Pediatric Research* 56(4): 536.
10. Eiwegger T, Stahl B, Haidl P, Schmitt J, Boehm G, Dehlink E, Urbanek R, Szépfalusi Z. 2010. Prebiotic oligosaccharides: *In vitro* evidence for gastrointestinal epithelial transfer and immunomodulatory properties. *Pediatric Allergy and Immunology* 21(8): 1179-1188.
11. Endo T, Koizumi S, Tabata K, Ozaki A. 2000. Large-scale production of CMP-NeuAc and sialylated oligosaccharides through bacterial coupling. *Applied Microbiology and Biotechnology* 53(3): 257-261.
12. Fierfort N, Samain E. 2008. Genetic engineering of *Escherichia coli* for the economical production of sialylated oligosaccharides. *Journal of Biotechnology* 134(3-4): 261-265.
13. Han NS, Kim TJ, Park YC, Kim JH, Seo JH. 2012. Biotechnological production of human milk oligosaccharides.

- Biotechnology Advances 30(6): 1268-1278.
14. Jantscher-Krenn E, Lauwaet T, Bliss LA, Reed SL, Gillin FD, Bode L. 2012. Human milk oligosaccharides reduce *Entamoeba histolytica* attachment and cytotoxicity *in vitro*. *British Journal of Nutrition* 108(10): 1839-1846.
 15. Koizumi S, Endo T, Tabata K, Nagano H, Ohnishi J, Ozaki A. 2000. Large-scale production of GDP-fucose and Lewis X by bacterial coupling. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 25(4): 213-217.
 16. Lucas A, Morley R, Cole TJ, Lister G, Leeson-Payne C. 1992. Breast milk and subsequent intelligence quotient in children born preterm. *Lancet* 339:261-264.
 17. Mattila P, Rabina J, Hortling S, Helin J, Renkonen R. 2000. Functional expression of *Escherichia coli* enzymes synthesizing GDP-L-fucose from inherent GDP-D-mannose in *Saccharomyces cerevisiae*. *Glycobiology* 10, 1041.
 18. Newburg DS, Walker WA. 2007. Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk. *Pediatric Research* 61(1): 2.
 19. Petschacher B, Nidetzky B. 2016. Biotechnological production of fucosylated human milk oligosaccharides: Prokaryotic fucosyltransferases and their use in biocatalytic cascades or whole cell conversion systems. *Journal of Biotechnology* 235: 61-83.
 20. Prieto PA, Mukerji P, Kelder B, Erney R, Gonzalez D, Yun JS, Smith DF, Moremen KW, Nardelli C, Pierce M. 1995. Remodeling of mouse milk glycoconjugates by transgenic expression of a human glycosyltransferase. *Journal of Biological Chemistry* 270, 29515-29519.
 21. Prieto PA. 2012. Profiles of human milk oligosaccharides and production of some human milk oligosaccharides in transgenic animals. *Advances in Nutrition* 3, 456S-464S.
 22. Sela D, Mills D. 2010. Nursing our microbiota: molecular linkages between bifidobacteria and milk oligosaccharides. *Trends in Microbiology*.
 23. Smilowitz JT, O'Sullivan A, Barile D, German JB, Lönnerdal B, Slupsky CM. 2013. The human milk metabolome reveals diverse oligosaccharide profiles. *The Journal of Nutrition* 143(11): 1709-1718.
 24. <https://www.futuremarketinsights.com/reports/human-milk-oligosaccharides-market>.
 25. <https://ourworldindata.org/world-population-growth>.