

단백질계 고분자의 합성 및 응용

-실크와 엘라스틴-

정리라, 박원일, 나경아*, 현진호*, 진형준

인하대학교 나노시스템공학부 고분자신소재공학전공, *서울대학교 바이오시스템소재학부

1. 서론

단백질은 자연에서 매우 핵심적인 역할을 한다. 거의 모든 자연의 화학반응에는 단백질인 효소가 관여하며, 동물의 생존수단인 면역반응도 결국에는 단백질인 항원-항체 반응에 의하여 이루어진다. 현재 단백질은 식품, 의약 및 생물공학에서 매우 중요한 소재이다. 그러나 이미 접착제, 유화제 및 섬유 등에서 이용이 되고 있음에도 불구하고 단백질을 고분자 재료로 이용하는 것에 대해서는 많은 사람들이 생소하게 생각한다.

하지만 단백질은 합성고분자가 갖지 못하는 장점들을 갖고 있다. 비록 단백질은 20가지의 제한된 모노머(아미노산)로 합성되지만 이들의 조합으로 자가 조립 현상에 의해 거의 무한한 구조를 가질 수 있으며, 그 구조에 따라 다양한 기능을 갖는다. 또한 유전자에 의하여 정확히 제어되어 합성되므로 합성고분자처럼 분자량의 다분산성에 기인한 불확실성도 적다. 이러한 성질은 기존의 합성고분자로 재현하기 어려운 것들이다.

이러한 단백질을 현재의 고분자 적용분야에 적용하려는 시도는 많이 이루어져 왔으며, 특히 의료용 분야에서 활발하다. 이는 단백질이 생체내의 물질로 생체적합성과 생분해성에서 다른 합성고분자에 비해 우수할 것으로 기대되기 때문이다.

본 총설에서는 의료용 소재로 많은 연구가 진행되고 있는 실크와 엘라스틴을 중심으로 단백질을

고분자 재료로 이용할 수 있는 가능성에 대해 살펴보고자 한다. 실크는 Kevlar를 능가하는 강신도를 갖는데 그 방사과정이 물을 용매로 하며 상온에 방사된다는 특징을 갖고 있어 모방의 대상이 되어왔다. 엘라스틴은 단백질 전체 구조 중 특정 부분만 모방하여 유사펩티드를 합성하는 대표적인 사례로 단백질 고분자를 보다 효율적으로 활용하는 방안을 제시할 수 있을 것으로 기대된다.

2. 실크

과거 소수의 연구자들만이 연구하던 거미와 누에의 실크는 최근 실크재료에 대한 관심이 커지면서 여러 연구자들에 활발한 연구대상이 되고 있다. 특히 실크재료는 오래 전부터 수술용 봉합사에 이용되는 등 안전하고 생체적합성이 우수한 재료인데 점차 조직공학과 같은 의료분야에 알맞은 생체재료로서 부각되고 있다. 최근에는 인대 및 연골재생을 위한 줄기세포의 지지체로서 면역성, 세포의 부착, 증식, 분화, 성장 등이 우수한 것으로 보고된 바 있다. 현재 콜라겐과 같은 천연고분자의 경우 생체적합성은 우수하나 생산 공정이 복잡하여 고가이며 저온보관 및 오염의 용이성 등으로 다루기가 까다롭고 기계적 강도가 매우 약한 단점이 있다. 합성재료 중 생체적합성을 충분히 만족시킬 만한 생체재료가 부족한 상황에서 실크는 더욱 큰 관심을 끌고 있다[1].

거미실크(*Nephila clavipes' dragline*)는 같은 두께의 철사보다 강한 강도와 합성섬유에 비교될 만한 우수한 탄성을 가진 물질로서 오랜 기간동안 미육군 연구소를 중심으로 연구대상이 되어 왔으며, 최근에는 바이오산업의 발전으로 인공적 생산의 가능성도 *Science*지에 보고되었다[2]. 하지만 인공적 제조과정이 복잡하고, 거미를 사육하는 경우 서로를 해치는 습성으로 인하여 대량생산에는 한계가 있다. 반면에 누에실크(*Bombyx mori*)는 전 세계적으로 연간 7만 톤 정도 생산되며 방사 조건(속도)에 따라 거미실크와 견줄 만한 기계적 물성을 가질 수 있다는 것이 보고되었다[3]. 제사, 견방 및 견직 생산 공정에서 나오는 각종 폐 실크를 유용하게 이용하기 위하여 재생 실크 제조 연구를 수행한 것이 실크 이용의 시작이지만, 현재에는 그 당시 공업적 제법이 개발된 피브로인 수용액을 이용함으로써 화장품, 약품분야에서의 상품 개발 외에도 효소와 항체 등을 고정화한 피브로인막을 이용하는 biosensor 개발도 시도되고 있다. 또한, 실크 수용액으로부터 나노섬유, 필름, 3D-scaffold 등을 쉽게 제조할 수 있으며, 액정현상을 이용하여 나노에서 마이크론 크기 등의 일정한 표면 패턴을 가지는 재료의 제조가 가능할 뿐만 아니라 하이드로겔의 형성에 의한 약물전달체로의 가능성도 보여 주고 있다[4-8]. 하지만 생체재료로서의 실크 연구는 일부분이며, 특유의 베타쉬트구조를 형성하는 고강도·고탄성 단백질재료로서의 기초 및 응용 연구가 실크연구의 주를 이루고 있다. 본고에서는 실크의 특성과 구조, 생체재료 및 기타재료로서 실크를 응용하기 위한 실크수용액의 제조과정, 자연에서 곤충이 실크 피브로인으로부터 실크섬유를 방사하는 공정에 대한 사항을 소개하고자 한다.

2.1. 실크의 구조

2.1.1. 1차 구조

누에실크 피브로인은 큰 분자량을 갖는 폴리펩티드로 이루어져 있으며 산성 결사슬기는 염기성 결사슬기 보다 2.3배 많이 나타난다. 세리신은 고치

무게의 약 30%를 차지하고 있으며 피브로인과는 아미노산의 조성비에서 많은 차이점을 보인다. 세리신의 아미노산 조성비는 세린, 아스파틱산, 글리신, 트레오닌이 65% 정도로서 높은 비율을 차지하고 있다. 또한, 산성 결사슬기는 염기성 결사슬기보다 2.6배 많이 나타난다. 세리신은 비교적 친수성이기 때문에 끓는 물 속에서 비교적 쉽게 실크 피브로인으로부터 분리 및 정제되어 질 수 있다. 또한, 집누에고치에는 미량의 지방, 색소 및 탄수화물들이 함유되어 있다.

누에실크 피브로인은 2개의 1차 폴리펩티드로 구성되어 있으며 무거운 사슬(heavy chain)은 분자량이 약 325,000 Da이며 가벼운 사슬(light chain)은 약 25,000 Da이다. 누에실크는 두 가지 결정화영역(비교적 작은 결사슬기를 가진 아미노산으로 이루어진 폴리펩티드영역)과 비결정화영역(비교적 큰 (bulky) 결사슬기를 폴리펩티드영역)이 교대로 이루어져 있는 공중합체(copolymer)형태로 되어 있다. 가벼운 사슬과 무거운 사슬을 합해서 피브로인의 약 70%는 'Ser-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly'의 아미노산 서열로 이루어져 있다. 키모트립신에 의한 가수분해 후 침전된 결정부분에 대해서는 더 확장된 서열이 보고되었는데, Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser-Gly-Ala-Ala-Gly-[Ser-Gly-(Ala-Gly)_n]-Tyr으로서 n값은 보통 2이다. 피브로인의 55%는 이 아미노산 서열로 이루어져 있다고 볼 수 있다. 이 외의 다른 영역에서의 피브로인 1차 구조는 Gly-Gly과 같은 서열은 없고 Gly-Tyr-Gly와 Gly-Val-Gly와 같은 서열로 이루어져 있다. 그러므로 누에피브로인은 거미실크 피브로인과 마찬가지로 글리신의 공중합체로서 여겨지고 있다[9,10].

2.1.2. 2차 구조

실크는 β -sheet, cross β -sheet, α -helix, 랜덤코일 등의 다양한 단백질 2차 구조를 나타낸다. 누에고치의 실크에서는 두 개의 단백질 사슬이 역평행으로 만나면서 상호간에 수소결합을 형성하는 β -sheet 2차 구조가 특징적으로 나타난다(Figure 1). 그리고

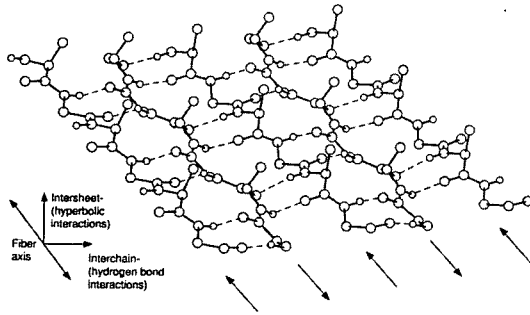


Figure 1. 역평행 실크베타시트 구조(실선: 공유결합, 실선: 수소결합).

주시슬은 실크의 섬유 축 방향으로 평행을 이루며 만난다. 2차 구조에서 겹쳐진 시트들은 구조를 더욱 안정시키기 위해서 소수성 인력에 의한 결합을 형성하게 된다. 겹쳐진 시트들이 조밀하게 채워진 구조를 이루는 것은 짧은 결사슬을 갖는 아미노산의 비율이 높기 때문이다. 이 구조에서 아미노산의 85%는 글리신, 알라닌, 세린으로 약 3:2:1의 비를 갖는다.

실크의 두 가지 중요한 결정 구조는 silk I과 silk II 구조로 구분된다. silk I 구조는 수화된 실크피브로인의 구조로서 후부실샘에서 처음 합성될 때 나타난다. silk II는 실크 피브로인이 실샘에서 공기 중으로 방사되어 고형화된 섬유에서 나타나는 구조이다. 천연 실크의 두 결정 구조에 대한 전형적인 X-ray 회절 패턴을 Figure 2에 나타내었다. Bragg 식을 이용하여 계산된 면간 거리를 Table 1에 요약하였다. 또한 silk I의 입체 구조는 글리신과 알라닌이 반복되는 구조의 입체장애 에너지를 계산함으로써 예측할 수 있다. 실크가 방사될 때 silk I 구조에서 silk II 구조로 전이하며 단위입체구조에서 일어나는 변화 중에서도 각 평면 간(intersheet plane)에서의 변화가 가장 크다. 이 때 겹쳐진 세 평면들 사이

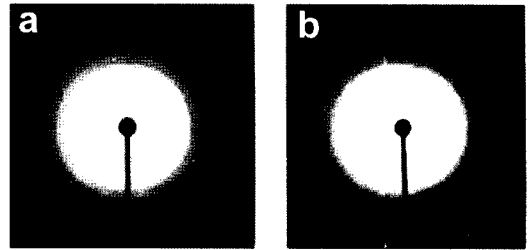


Figure 2. 실크피브로인(*B. mori*)의 X-ray 회절패턴: (a) silk I; (b) silk II.

의 거리는 18.2% 감소하며 이 과정에서 물이 빠져나오면서 용해도가 감소한다. 에너지 측면에서 보면 silk I이 silk II로 변할 때 에너지 장벽이 비교적 낮기는 하지만 silk II가 더욱 안정적이고, 이 전이 과정은 보통 비가역적이다. 이러한 전이현상은 누에의 실샘에서 실크가 방사될 때 전단(shear)이 가해지면서 일어난다. 인공적으로는 기계적으로 전단을 가하는 방법, 연신, 가열, 메탄올과 아세톤과 같은 극성 용매의 사용, 전기장을 가하는 방법 등을 통해서 같은 현상을 유도할 수 있다[11-16].

Figure 3은 실크 피브로인의 적외선스펙트럼(FT-IR)을 나타낸 것이다. silk II 구조에서 특징적으로 흡수되는 진동수는 1697 cm^{-1} , 1627 cm^{-1} (amide I), 1528 cm^{-1} (amide II), 1265 cm^{-1} (amide III)이며 silk I 구조와 랜덤코일 혹은 α -나선구조 등의 경우 1658 cm^{-1} (amide I), 1652 cm^{-1} (amide I), 1538 cm^{-1} (amide II)에서 흡수되는 진동수가 얻어진다. Silk I과 random coil 구조와의 구별은 적외선 스펙트럼으로서는 한계가 있다[17].

2.2. 실크의 특성

누에실크는 물, 약산 및 약알칼리, 그리고 대부분의 유기 용매에 대하여 불용성을 보이며 대부분의

Table 1. Spacing(Å) and Intensities of the X-ray Diffraction Patterns of *B. mori* Silk Fibroin^a

	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R8
silk I	7.29 ms	5.61 w	4.50 s	4.02 w	3.62 m	3.15 m	2.73 w	2.44 mw	2.24 vw
silk II	9.73 ms	4.69 vs	4.28 vs	3.65 ms	2.66 w	2.25 w	2.04 w		

^aIntensities: vs, very strong; s, strong; ms, medium strong; m, medium; mw, medium weak; w, weak; vw, very weak.

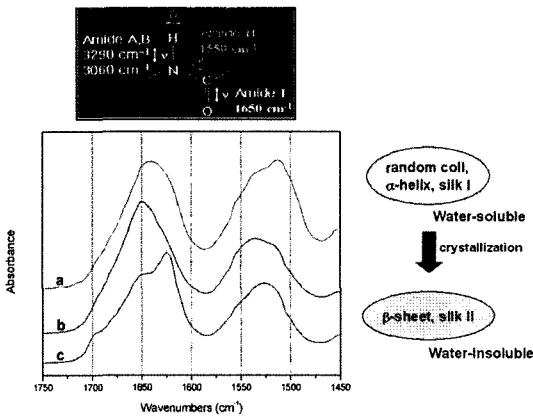


Figure 3. 실크피브로인의 적외선스펙트럼. (a) Random coil, (b) silk I and (c) silk II.

단백질 분해효소에 대해서도 저항성을 갖는다. 실크섬유는 습기를 잘 흡수하여 약 10~15%의 수분을 함유할 수 있다. 물리적 특성의 경우 반투명하고 높은 광택도를 가진다. 또한, 높은 내마모성 및 단백질 분해 효소에 대한 저항성으로 인하여 자연적으로 잘 분해되지 않는다.

실크 섬유는 강하고 질긴 성질을 가지고 있다. 예를 들면, 누에실크는 높은 강도를 갖는 인조섬유에 가까운 인장강도를 가지면서 35%에 이르는 인장률을 나타낸다. 누에실크의 인장강도는 약 $6 \times 10^8 \text{ N/m}^2$ 이고 인장 탄성계수는 약 $5 \times 10^9 \text{ N/m}^2$ 이며, 파괴에너지(energy to break)는 약 $7 \times 10^4 \text{ N/kg}$ 이다. 이 값은 특히 실크에 연신을 가하여 분자의 배향성을 향상시킬 때 더욱 높은 값을 보여준다. 대부분의 섬유와는 달리 실크섬유를 일정한 속도로 연신을 시키면 인장률 뿐만 아니라 강도와 탄성계수가 모두 증가하는 경향을 보여준다. 즉, 실크의 기계적 물성은 피브로인내에 짧은 결 사슬의 아미노산에 대한 긴 결사슬의 아미노산의 비와 인장율과 부분적으로 관련성을 갖는다.

2.3. 실크의 공정

2.3.1. 수용액

실크를 생체재료 및 기타재료로 이용하기 위해서

는 먼저 실크를 수용액화 하는 것이 중요하다[18-20]. 분비샘에서 직접 용액을 얻는 것도 가능하며 농도의 경우 후부실샘에서는 12~15%이고 중부실샘에서는 20~30%이다. 또한 실크 수용액은 가공되지 않은 실크나 누에고치로부터 만들 수도 있다. 누에고치의 세리신을 제거하는 정련은 일반적으로는 끓는 비눗물이나 저농도의 탄산나트륨용액(sodium carbonate solution) (0.3 wt%)을 이용한다(Figure 4)[21]. 실크 피브로인의 보호를 위하여 최대한 빠른 시간 안에 세리신을 추출해야 하며 시간에 따른 피브로인의 분자량을 전기영동(gel electrophoresis)을 통하여 확인한다. 정련 후의 피브로인은 고농도 브롬화리튬용액(lithium bromide solution) (9.3 M)을 이용하여 65 °C에서 가열 용해시킨다. 이 외에도 티오시안화리튬(LiSCN) 또는 염화칼슘(CaCl₂) 등의 염을 이용할 수 있다. 이 피브로인용액은 투석막을 이용하여 탈염한 후 순수한 피브로인수용액이 된다. 이 상태의 용액은 준안정 상태이나 약 7 °C 냉장 보관을 할 경우 3주 간 안정한 용액상태를 유지하며, 상온에서 보관시 약 5일에서 7일 사이에 비가역적 하이드로겔(hydrogel)형태로 변화한다[22]. 또한, poly(ethylene glycol) (PEG) 수용액을 이용하여 최대 20 wt% fibroin 수용액을 만들 수 있으나 이 경우 고농도로 인하여 누에고치 몸 안의 실샘 (후부실샘에서 약 25 wt%)에서처럼 겔(gel)화되어 더 이

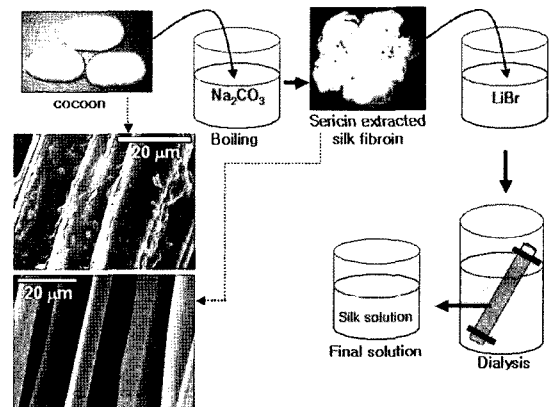


Figure 4. 누에고치로부터 실크피브로인 수용액 제조 공정.

상 수용액으로서의 역할을 하지 못한다. 이러한 고농도의 실크 수용액은 교반 등의 기계적 마찰응력이나, 친수성이 큰 알코올류와의 접촉으로 인하여 역시 실크섬유 고유의 베타쉬트구조를 가지게 되며 XRD 또는 FT-IR을 이용하여 쉽게 구조 변화를 관찰할 수 있다. 저농도의 실크 수용액에서는 피브로인이 랜덤 코일 구조로 존재한다. 그러나 실온에서 서서히 농축시키면 피브로인 주사슬의 요동이 감소하면서 피브로인 분자들이 응집되어 silk I의 구조가 형성된다. 중부실샘에 저장된 실크 피브로인 중 silk I구조는 약 40%를 차지한다.

생체재료로서의 응용을 위하여 인체에 알레르기 반응성을 나타내는 세리신은 반드시 제거되어야 한다. 완벽하게 제거되지 못한 세리신으로 인하여 거미 실크와는 달리 누에고치 실크는 생체적합성이 떨어지는 재료로서 인식되어 왔다. 세리신이 완전히 제거된 실크 피브로인의 경우 생체적합성이 합성 생체고분자인 poly(L-lactic acid) (PLLA) 또는 이의 공중합체들 못지않으며 기계적 물성이 우수하여 사람의 인대 또는 뼈의 재생을 위한 scaffold로서의 우수성도 최근 보고되었다. 하지만 세리신의 제거 과정 중 일어날 수 있는 피브로인의 분자량 감소에 대한 연구 보고가 있으며 이는 재생 과정을 통해 얻게 되는 재생 실크 필름과 같은 성형품의 기계적 물성을 저하시키는 원인이 된다.

2.3.2. 실크필름

누에실크 피브로인 필름은 제조된 수용액을 폴리스티렌 (polystyrene), 폴리염화비닐리덴 (poly(vinylidene chloride))이나 아크릴수지(acrylic resin)판 위에 부은 후 공기 중에서 건조시켜 얻

는다. 이때 형성된 실크필름의 구조는 silk I과 랜덤 코일로 이루어져 있으며 필름은 물에 녹을 수 있다 [23,24]. 필름을 상대습도가 100%인 폐쇄된 용기에 24시간 동안 방치하면 수화되어 silk I구조를 안정시키므로 필름이 물에 잘 녹지 않게 된다(Figure 5)[25]. 또한 수용성 필름(as-cast)을 메탄올이나 아세톤 같은 친수성 극성용매에 담가두면 필름 표면에서 silk II로 구조적 변화가 일어나면서 비수용성 필름이 얻어진다. 그러나 필름 안쪽의 피브로인 분자들은 여전히 랜덤 코일로 존재하여 주 사슬이 자유롭게 움직이는 상태로 불균일한 구조를 갖게 된다. 또한, 수용성 필름(as-cast)을 연신하여 비수용성 필름을 얻을 수 있다. 고흥화 후 silk I 구조를 가지는 필름과 silk II 구조를 가지는 필름 간에는 몇 가지 큰 물리적 차이를 보인다. 먼저 silk I 구조를 가지는 필름은 silk II 구조를 가지는 필름에 비해 인장에 의한 탄성계수는 작지만 인장강도와 연신율이

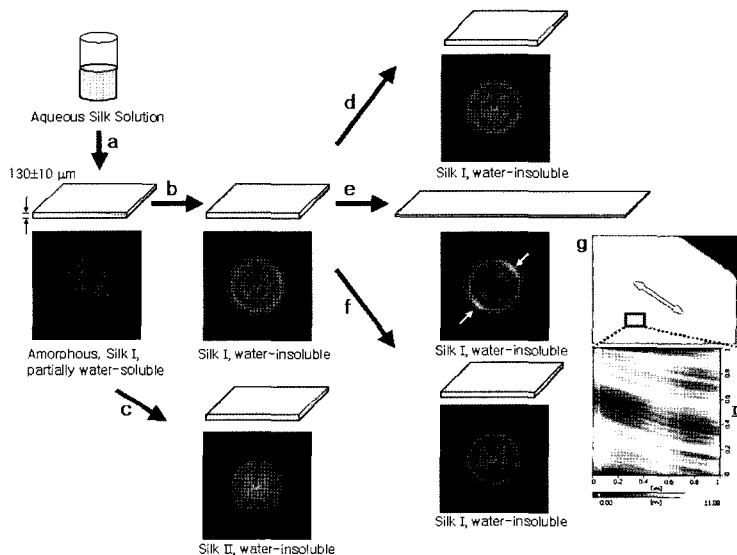


Figure 5. 실크 피브로인수용액으로부터 제조된 실크 피브로인 필름과 X-ray 회절패턴: (a) as-cast film, (b) annealed in water for 24 h, (c) annealed in methanol (50%) for 24 h, (d) annealed in methanol(50%) for 24 h, (e) stretched (300%) in water, and (f) treated in ethanol (70%) for 24 h. (g) Enhanced birefringence of stretched film by optical polarizing microscope and AFM image of stretched film surface (1 μm × 1 μm) by tapping mode. d-spacing values of silk I (Å) 7.5, 5.7, 4.5, 3.7, 3.2, 2.8 and silk II (Å) 9.8, 4.3, 3.7.

Table 2. 실크 피브로인 필름의 접촉각과 기계적 물성

Silk film	Contact angle (degree)	Tensile Modulus (GPa)	Tensile Strength (MPa)	Elongation at Break (%)
As cast	51.4±2.6	3.9±0.7	47.2±6.4	1.9±0.7
Silk I film	62.6±1.8	1.9±0.5	67.7±11.7	5.5±1.7
Silk II film	71.4±1.5	3.5±0.9	58.8±16.7	2.1±0.4

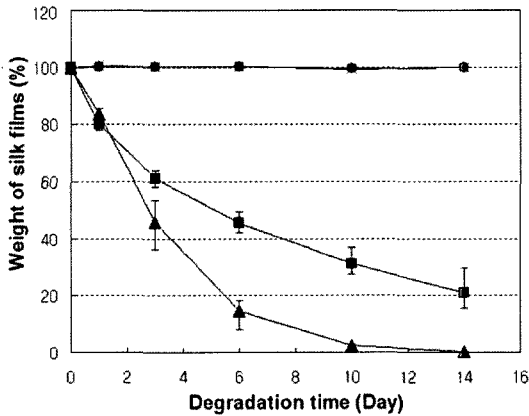


Figure 6. Enzymatic degradation of silk films. (silk I film (▲) and silk II film (■) in enzyme solution; silk I film (×) and silk II film (●) in PBS).

우수하며(Table 2) 단백질 분해 효소에 의한 분해속도가 빠르므로 생분해성재료로서의 응용에 있어 분해속도조절이 가능하다(Figure 6). 투명도에 있어서도 확연한 차이를 보이는데 silk I 필름은 불투명하며 silk II 필름은 투명하다 (Figure 7). 또한, 필름 위의 물방울 접촉각 비교 실험에서 알 수 있듯이 (Table 2) silk I 필름의 친수성이 더 크게 나타나므로 조직공학용 재료로서의 응용에 있어 세포부착성에 대한 차이를 나타낸다.

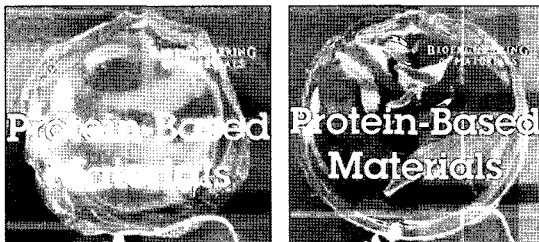


Figure 7. Images of silk I film (left) and silk II film (right).

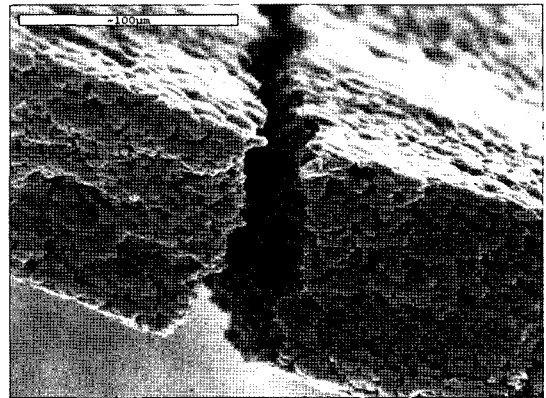


Figure 8. 실크 피브로인 수용액과 poly(ethylene oxide) (PEO, MW 900,000)을 이용한 다공성 필름의 제조(Scale bar: 100 μm).

실크 피브로인 수용액에 폴리에틸렌글리콜 (polyethylene glycol)을 첨가하여 다공성 필름을 제조할 수 있는데 이 과정에서 silk II로 구조 변화가 일어나며 건조시키면 비수용성 필름이 얻어진다. 이 필름을 다시 물 속에 담가두면 폴리에틸렌글리콜이 빠져 나가면서 순수한 다공성 피브로인 필름을 얻을 수 있다(Figure 8)[26].

2.4 실크섬유방사

수용성 실크에 대한 유변학적 연구를 통해 실크 섬유 결정화도는 방사시 전단속도와 연신속도와 관련되어 있다는 사실을 알아내었다. silk II로의 구조적 변화를 유도하고 복굴절 현상을 나타내기 위해서는 1 cm/sec 이하의 임계 방사 속도가 필요하다. 누에의 방사 과정에서는 후부실샘의 실크 피브로인은 수용성이며 광학적 성질이 없고 랜덤 코일의 2차 구조를 보인다. 실크분비선에서 이 영역의 지름은 1 mm 이하이며 전단 속도가 낮다. 중부전

Table 3. States of Liquid Silk in Silk Gland

Silk Gland	Posterior Division	Middle Division			Anterior Division
		Posterior	Middle	Anterior	
Concentration (%)	12	25	26	26	30
Conformation	Random-coil		Random-coil		b-form
pH	6.9	5.6	5.2	5.0	4.8
Viscosity	Middle	High	High	High	Low
State	Gel	Gel	Gel	Gel-sol	Liquid Crystal
K ⁺ (10 ⁻³ %)	-	30.2	29.5	33.3	-
Ca ²⁺ (10 ⁻³ %)	-	17.7	46.0	59.7	-
Water Content (%)	88	75	74	74	70
Freezing Water (%)	81.3	63.2	57.2	56.9	-
Non-freezing Water (%)	6.9	11.8	16.8	17.1	-

사샘이나 저장 영역에서는 지름이 1.2~2.5 mm 이며 전단 속도는 더욱 줄어든다. 분비선의 끝부분은 매우 협소해서 지름이 0.05~0.3 mm이므로 전단 속도가 매우 크다. 이 부분에서는 분비선 밖으로 활발한 물 수송이 일어나고 pH가 감소하며 칼륨, 칼슘, 인산염 등의 이온 교환이 일어난다. 이 단계에서는 실크의 β -sheet 2차 구조가 나타난다. 실크섬유의 지름은 방사 속도에 따라 변화하며 섬유의 총 길이는 단백질을 합성하는 속도와 시간을 통해서 대략적으로 알아낼 수 있다.

실샘 끝부분에서는 리오토로픽(lyotropic) 액정상이 형성되어 실크 단백질의 점도가 감소한다. 이상(phase)은 무기물의 흐름을 돕고 이 과정에 필요한 에너지를 감소시켜 방사기관이 미리 막히지 않도록 돕는다. 또한, 방사 과정에 의해서 분자의 배향과 배열을 높일 수 있다. 이러한 배향은 연신(drawing) 처리로도 얻을 수 있으며 기계적 물성을 향상시킨다. 네마틱 액정상은 실크분비선에서 얻어진 단백질 용액을 서서히 건조시키는 동안 광학현미경으로 관찰할 수 있다. 세리신은 실크가 방사될 때 두 피브로인섬유를 고정시키는 매트릭스 역할 외에도 실크 단백질이 방사돌기를 잘 통과할 수 있도록 돕는다. 또한, 2가 양이온의 저장고로서 피브로인에서 나오는 수분을 흡수하는 수용체로서의 역할을 한다. 실크실샘은 두 개의 관으로 이루어져 있으며 이들은 방적돌기에서 합쳐진다. 실샘은 크게 3부분으로

서 전부실샘, 중부실샘, 후부실샘으로 나누어진다. 각 실샘에서의 실크피브로인의 농도 및 기타성분, 그리고 물성을 Table 3에 정리하여 나타내었다.

2.5. 실크 피브로인의 형태학적 관찰

실크는 거미나 누에의 체내의 실샘에 실크수용액을 저장하였다가 실젯(spinneret)을 통해 방사하여 형성된다. 하지만 주로 알라닌과 글리신으로 이루어진 실크 피브로인이 어떻게 하여 높은 농도(~30%)의 수용액상태로 실샘에 저장되어 있다가 방사 후 물에 불용성이며 우수한 기계적 물성을 가진 섬유 형태의 실크를 생산하는지에 대한 정확한 메커니즘은 밝혀지지 않았다. 실크 피브로인은 누에실크의 경우 분자량이 약 34만(Dalton)정도이며 단백질분자내에 커다란 소수성 영역과 그 사이 작은 친수성 영역이 반복적으로 형성되어 있다. 이러한 실크 피브로인의 구조는 최근에 보고된 실크단백질의 전체 염기서열을 각 아미노산의 소수성 플롯에 의해 해석되었다. 이중 소수성 사이의 친수성 부분이 실크 단백질 분자가 물속에 안정하게, 그리고 높은 농도로 녹아있을 수 있는 역할을 담당하고 있으며 수용액내의 농도가 증가됨에 따라 소수성부분은 수용액 안에서 실크단백질 분자들이 자가조립에 의해 약 100에서 200 nm 크기의 마이셀 형태를 형성하도록 하는 역할을 담당하고 있다(Figure 9)[27]. 즉, 이러한 실크 단백질의 1차 구조적 특성에 의해 높은 농

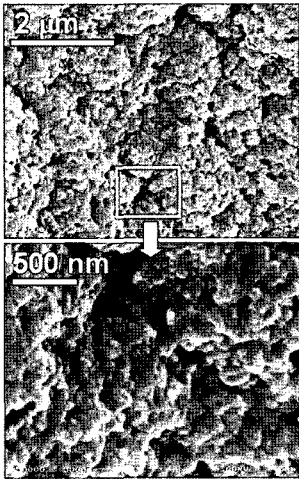


Figure 9. SEM images of silk solution collected from the posterior region of the *B. mori* gland, illustrating micellar-like morphology (gland contents were separated in water and treated in methanol).

도의 실크수용액은 리오토로픽액정상 (lyotropic liquid crystal phase)을 나타내며 [28,29], 마이셀은 수용액의 농도가 더욱 증가됨에 따라 서로 뭉치게 되어 약 1 마이크로 미터 이상의 지름을 갖는 구형체 (sphere)를 형성한다 (Figure 10)[30,31].

이러한 마이셀로 이루어진 구형체는 실크단백질 분자의 친수성 영역의 덕분으로 수용액안에서 유연한 하이드로겔 (hydrogel)을 형성하며 방사과정에서 받는 높은 전단력과 연신에 의해 실크단백질 주위의 물분자들을 외부로 방출하여 실크섬유를 형성할 수 있게 해준다. 일단 한번 물분자들이 실크단백질 분자로부터 제거되어 실크단백질 내의 커다란 소수성 영역의 수소결합에 의해 형성된 실크병풍구조는 매우 안정하여 다시 물에 녹지 않으며 우수한 기계적 물성을 갖는 원동력이 되기도 한다. 농축된 실크수용액내에 존재하는 구형체 형태의 하이드로겔이 전단력과 신장에 의해 실크섬유의 내부의 미세구조를 이루고 있는 기존의 마이크로 피브릴(fibril)이라고 알려진 구조를 형성하게 된다[32,33]. 이러한 실크섬유의 미세구조는 전자현미경(SEM)을 통해 확인할 수 있다 (Figure 11)[34-36].

2.6. 거미 실크

지금까지 약 35,000종의 거미들이 확인되었으며 그 종류와 양에 있어 자연계에서 가장 풍부한 생명체 중에 하나이다. 그 중에서 거미집(orb-web)을 짓

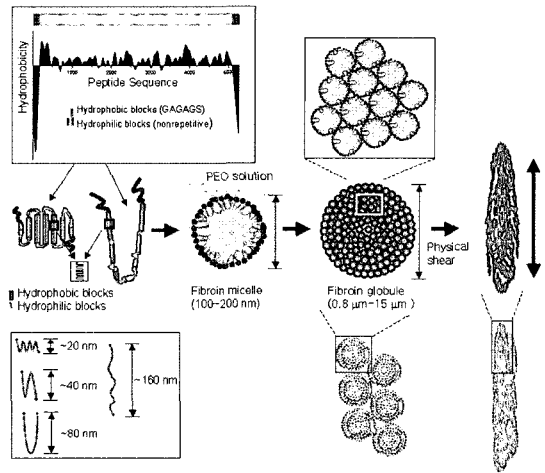


Figure 10. Model of chain folding, micelle formation and curing, and shear processing of silk proteins.

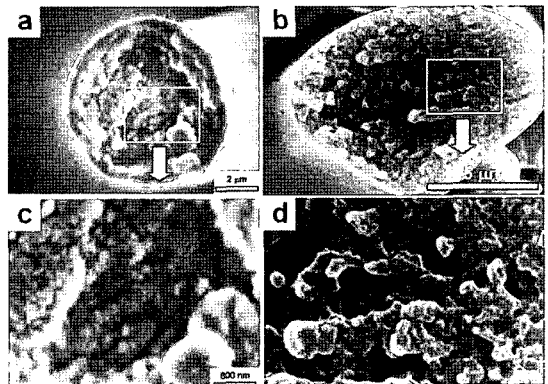


Figure 11. SEM images of fracture surfaces of (a) *Argiope trifasciata* spider and (b) *B. mori* silkworm silk fiber, low magnification view showing the skin-core microstructure; (c) and (d) detail of the core fracture surface at higher magnification showing the globular structure.

는 거미들은 먹이를 잡기 위해서 실크를 만들어내지만 짐누에와는 달리 실크생산을 위한 사육을 할 수 없다. 거미들은 전 일생을 통해 실크를 생산하며 다양한 종류의 실크를 만들어 낸다. 많은 거미 중 특히 golden orb weaver(다른 거미실크와는 달리 거미줄의 색이 황금색임)라고 하는 무당거미 (*Nephila clavipes*)의 실크가 집중적으로 연구대상

이 되어왔다(Figure 12). 주로 암컷이 거미그물을 만들며 한번 방사하는 동안 약 200 g의 실크를 생산할 수 있다. 거미는 먹이를 감지하고 사냥하기 위한 목적 이외에도 몸을 부착시키거나 새끼 거미들을 바람에 날려 보내는 등 다양한 용도의 거미실크를 생산한다. 거미그물의 모양은 일반적으로 원형이며 *stabilimenta*라고 하는 지그재그 패턴을 갖는 것이 특징인 거미그물이 있다. 이는 거미줄을 안정화시키고 자신의 몸을 위장하거나 거미줄에 손상을 입힐 수 있는 새들을 위협하며 수분을 흡수하는 등의 역할을 한다. 오직 한 종류의 실크를 생산하는 거미가 있는 한편 서로 다른 다양한 기능을 가진 열 가지 이상의 실크를 만들어 내는 거미가 있다. 이 실크들은 거미의 복부에 위치한 다양한 실크 분비샘에서 방사되어 생산된다. 이처럼 다른 기능과 역할을 하는 실크들의 아미노산 조성비는 서로 다르며 아미노산의 서열도 다르다. 일반적으로 거미줄의 직경은 누에 실크보다 작으며 대략 1~5 μm 정도이다. 드래그라인(dragline) 실크는 거미 실크 가운데서도 가장 강한 것으로 누에실크와는 달리 아

교 역할을 하는 세리신이 없다. 거미실크의 기계적 특성은 날아가는 곤충들이 거미그물에 부딪힐 때의 충격을 흡수하기 위한 기능과 관련이 있으며 원형을 이루는 거미그물은 강도와 신장성을 적절히 조절하여 충격에너지를 넓게 분산시킬 수 있다. 즉, 충격에너지를 대부분은 거미그물의 탄성에 의해 회복되며 곤충들이 다시 튕겨져 나가는 것을 막아준다. 드래그라인을 이루는 실크 피브로인의 분자량은 약 300,000 Da을 넘는 것으로 보고되어 있다. 무당거미(*N. clavipes*)의 드래그라인 실크는 짧은 곁사슬을 가진 아미노산(글리신, 알라닌, 세린)의 비율이 63%로서 85%인 누에실크에 비해 낮아 상대적으로 낮은 결정화도를 보인다.

2.7. 결 론

곤충의 실샘에서 방사 과정을 통해 얻어지는 실크 중 거미 실크와 누에고치 실크는 그들의 기계적 물성과 같은 독특한 특성들로 인하여 오랜 기간 동안 연구대상이 되어왔다. 거미실크의 경우 합성섬유보다도 가볍고 강한 기계적 물성으로 인하여 미국방과학연구소에서 군수물자로서의 개발을 위하여 많은 투자를 해왔으나 아직도 생산비용 대비 효과적인 생산 방법에 더 많은 연구를 요구하고 있다. 한편, 누에고치 실크의 경우, 최근 들어 생체재료로서의 응용을 위하여 많은 연구 결과가 보고되기 시작하고 있으며, 특히, 기존에 잘못 알려졌던 이들의 생체적합성과 생분해성에 대한 새로운 보고가 계속되어지고 있다. 하지만 재생 실크를 이용한 새로운 생체재료의 보고는 아직 미비한 편이며, 특히, 재생 후 성형된 필름은 물에 대한 용해도를 줄이기 위하여 알코올 처리에 의해 실크 고유의 베타시트 구조를 가질 경우 천연실크와는 달리 깨지기 쉬운 취약한 물성을 보여준다. 이러한 문제점은 재생 과정 중 발생하는 실크단백질의 분자량감소에 의한 것으로 판단되어진다. 이러한 취약한 물성은 천연실크 피브로인의 고유분자량을 유지하면서 재생과정을 통하여 실크수용액을 얻을 경우 해결될 수 있다. 실

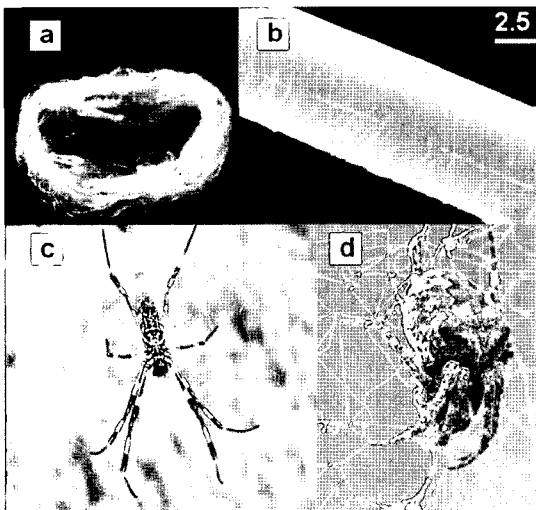


Figure 12. (a) Images of golden dragline silk fibers of *N. clavipes* spider, (b) SEM image of dragline silk fibers of *N. clavipes* spider, and image of (c) *N. clavipes* and (d) *A. ventricosus* spiders.

크 피브로인 수용액으로부터 필름 또는 전기방사법을 이용하여 나노섬유부직포의 제조 또한 가능하다. 이러한 필름과 나노섬유 부직포들은 인공 피부, 인공 혈관 등의 생체재료로서 응용될 수 있다. 또한, 실크 피브로인은 천연 친수성/소수성 멀티 블록 공중합체로서 또는 액정고분자 및 액정탄성체 (liquid crystalline elastomer)로서의 연구도 최근 들어 선진 연구자들에 의해 활발히 진행되고 있다. 이러한 새로운 재료개발 및 특성 연구를 통해 실크의 새로운 응용분야를 찾는데 일조를 할 수 있을 것이라 판단된다.

3. 엘라스틴

단백질계 고분자 연구에서는 천연 고분자 자체를 이용하기도 하지만 일반적으로 화학적 또는 생물학적 방법으로 물질을 합성하여 사용한다. 단백질계 고분자는 아미노산으로 이루어져 있기 때문에 화학적 합성법을 이용할 경우에는 고분자의 길이를 일정하게 제어하기 힘들다. 따라서 유전자 조작방법을 이용하여 다양한 아미노산 서열과 정확한 분자량을 가진 고분자를 얻을 수 있다. 또한 단백질계 고분자의 아미노산 배합을 변화시키거나 기능을 부여해 줌으로서 천연 고분자가 갖는 특성을 더욱 강화시킬 뿐만 아니라 단점을 보완할 수 있다. 실크와 엘라스틴의 서열을 기본으로 하는 SLP(silk like polymer), ELP(Elastin like polypeptide), SELP(silk elastin like polymer)가 대표적인 예라 할 수 있다. 이들 고분자는 생체적합성이 뛰어나 면역반응을 보이지 않으므로 의료용 소재로 연구 개발되고 있다. 본 총설에서는 유전자 조작을 통한 ELP의 합성법과 소수성 폴딩에 의한 가역적 열변환 현상과 열변환 온도(Transition temperature, T_t) 제어 방법, 그리고 이와 관련한 ELP 응용에 대해 살펴보고자 한다.

3.1. Elastin like polypeptide (ELP)

단백질계 고분자 중 포유동물 단백질인 엘라스틴

은 Val1 Pro2 Gly3 Val4 Gly5의 특정 반복 서열을 가지고 있으며 일반적인 개념에서 poly(GVGVP)라 할 수 있다. 엘라스틴은 이름에서 알 수 있듯이 높은 탄성을 가지며, 25 °C 이하에서 수용성을 띠고 37 °C 이상의 온도에서는 소수성 폴딩에 의해 불용성을 보이는 특성이 있다. 일반적인 열 변환(thermal transition)의 경우, 온도가 올라가면 무질서도가 증가하는데 반해 ELP의 경우에는 온도가 올라감에 따라 소수성 결합이 오히려 증가하고 무질서도가 감소하게 되는 역 온도 변환(inverse temperature transition) 현상이 나타난다.

ELP는 엘라스틴의 서열을 토대로 구성된 단백질이며 Val1 Pro2 Gly3 Xaa4 Gly5의 기본 서열을 가지고 있다. 1번에 위치하는 아미노산의 경우는 제한적으로 치환이 가능하며 2,3,5번에 위치하는 아미노산을 치환할 경우에는 β turn의 분자구조가 변하게 된다. 4번에 위치하는 아미노산의 경우에만 치환으로 인한 구조적 변화가 없으며 Pro를 제외한 모든 아미노산으로 치환이 가능하다. Urry et al. 은 poly(GVGVP)를 모델 단백질로 이용하여 ELP의 분자 구조를 이해하고자 하였고, 단백질의 폴딩과 기능에 관한 이론 연구를 실시하였다. poly(VPGVG)의 일차구조로부터 분자구조를 펼친 β turn으로 변환하는 과정이 Figure 13A에 나타나 있으며 좀더 구체적으로 Cyclo(GVGVP)₃의 결정구조로부터 얻어진 β turn구조가 Figure 13B에 나타나 있다. 온도를 높여주었을 때 분자 내 소수성 결합(hydrophobic contact)에 의해서 β turn 구조는 나선형구조(helical structure)를 가지게 된다. (Figure 13C, D) Figure 13E는 β spiral 구조로서 소수성 폴딩 구조(hydrophobically folded structure)를 보여주고 있으며, 분자들끼리의 소수성 결합으로 인한 꼬임구조 형성을 Figure 13F에 나타내었다. Poly(VPGVG)는 25 °C 이하에서는 수용성이며 30 °C 근처에서는 역 온도 변환이 일어난다. 이런 상 변환 기작은 고분자 사슬에 존재하는 소수성 잔기들의 가역적 수화에 의한 것으로 여겨진다. 온도가 낮은 경우 소수

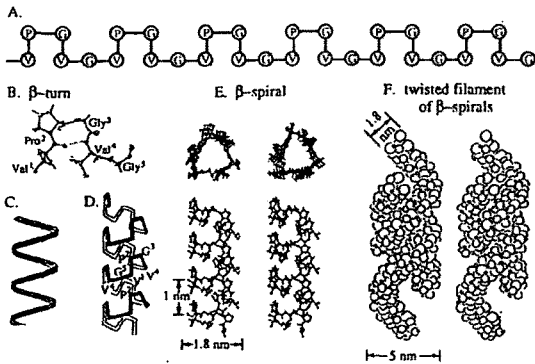


Figure 13. Molecular structure of the elastic protein based polymer, poly(VPGVG) [37]

성 잔기들은 물과의 인력으로 인해 수화되지만 온도가 올라가게 되면 물 분자의 무질서도가 증가하게 되고 이로 인해서 분자간의 소수성 인력이 형성되어 응집되게 된다. 이 때, β spiral은 분자 내 또는 분자 간의 소수성 결합으로 인해 동적인 구조를 갖는다. ELP는 기존의 포유동물 단백질인 엘라스틴의 특성과 더불어 서열상 4번째 자리의 아미노산 배합을 다양하게 함으로써 넓은 범위의 Tt를 갖게 된다.

3.2. ELP 합성 및 정제

용액 및 고체상 화학 합성법에 의한 단백질계 고분자의 제조는 다수 보고된 바 있다. 그러나 화학적 합성은 단백질계 고분자에서 필수적으로 요구되는 생성물의 순도, 초기 합성 비용, 시간, 그리고 주어진 고분자 조성의 이차적 합성 비용면에서 상업화가 불가능할 것으로 생각된다. 유전 공학의 발전은 화학적 합성의 한계를 극복할 수 있는 계기를 제시해 주었으며 최근에는 단백질계 고분자합성에 있어서 화학적 합성보다는 단백질 재조합 방법이 선호되고 있다. 단백질계 고분자 합성 시 재조합 기술을 이용하면 100 kDa의 고분자량 또는 그 이상 분자량을 갖는 사슬길이가 정확하게 제어될 수 있고, 원하는 특성을 가지는 구조의 고분자를 아미노산의 정확한 서열제어에 의해 얻을 수 있는 장점이 있다. 또한 높은 특이성, 셀 부착 또는 새로운 기능을 갖

는 효소의 특별한 서열을 포함함으로써 고분자에 기능을 부여할 수 있다.

재조합에 의한 ELP생산 방법은 하나의 반복되는 DNA 올리고머를 순차적으로 합성하는 방법 (Iterative)과 무작위로 합성하는 방법(Random), 반복단위를 배수로 늘려가며 합성하는 방법(Recursive)으로 크게 3가지로 분류 할 수 있다(Figure 14).

McPherson et al.에 의해 처음으로 Random방법에 의해 5개의 펩타이드 반복서열을 이용하여 19개의 반복서열을 갖는 ELP가 생산되었다[39]. 1996년에는 이 방법을 응용하여 41, 121, 141 그리고 251개 반복서열의 고분자량을 가진 ELP를 합성하게 되었다[40]. Kostal et al.은 Iterative 방법을 이용하여 ELP를 합성하였으며, 5개의 펩타이드 반복서열을 이용하여 10개에서 78개의 반복서열을 가진 ELP를 합성하였다[41]. Random방법은 Iterative방법에 비해 한번의 라이게이션(ligation)에 의해 다양한 길이의 ELP를 얻을 수 있는 장점이 있다. 그러나 Random방법은 합성 방법은 간단하고 빠르나 정확한 길이의 사슬을 얻기 위해서는 보다 많은 시간과 노력이 요구된다. 최근에는 RDL(Recursive directional ligation) 방법을 이용하여 보다 빠르고 정확하게 원하는 길이의 사슬을 가진 ELP를 합성하고 있다[42]. RDL 방법은 Figure 15에 나타난 바와 같이 우선 반복되는 최소 서열을 갖는 올리고머 카세트를 제작한다. 이를 클로닝 벡터와 라이게이션을 하게 되면 가장 작은 단위체인 ELP 라이브러

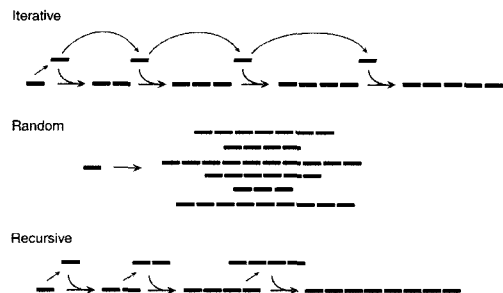


Figure 14. Schematic of three approaches to DNA oligomerization[38].

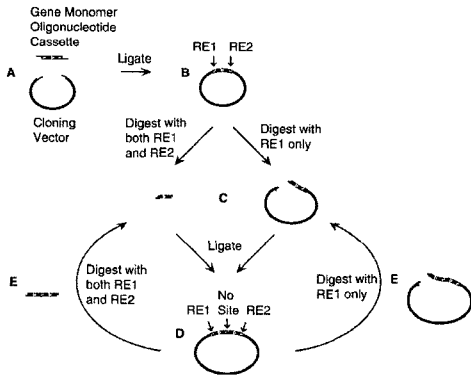


Figure 15. The molecular biology steps of RDL [42].

리를 얻게 된다. ELP 라이브러리는 RE1과 RE2의 제한효소 절단 부위를 포함하고 있고 이들 제한 효소에 의해 잘려진 RE1과 RE2의 부분은 서로 특이성을 가지게 되어 라이게이션 된다. 즉, 하나의 벡터를 RE1의 제한 효소로만 절단을 하고 다른 하나의 벡터는 2개의 제한 효소로 절단을 하면 (Figure 15C) 라이게이션에 의해 Figure 15D와 같은 형태의 ELP 라이브러리를 얻을 수 있게 되며 이러한 반복과정에 의하여 원하는 길이의 ELP 라이브러리를 얻게 된다. 특정 ELP 라이브러리를 발현 벡터에 삽입하고 *E. Coli* 단백질 발현 시스템을 이용하면 재조합 ELP를 얻을 수 있다.

미생물에 의해 얻어진 ELP는 고분자 특유의 성질인 역 변환 온도(T_t)가 존재하게 되며, 이 특성을 이용하면 기존의 단백질 정제 방법에 비해 비교적 저렴하고 효율적으로 ELP를 얻을 수 있다. ELP 정제는 inverse cycling 방법을 이용하는데, 우선 미생물의 용해물에서 전체 단백질 중 ELP만을 효과적으로 분리하기 위해 용해물에 NaCl과 같은 염 또는 열을 가함으로써 ELP의 소수성 폴딩에 의한 ELP 응집을 유도한다. 이를 원심분리기 또는 필터를 이용하면 단백질 혼합물로부터 쉽게 ELP를 분리 정제할 수 있다[40].

3.3. ELP의 역온도변환

ELP와 같은 고분자는 비극성과 극성부분이 조화

를 이루고 있으며 충분히 낮은 온도에서는 물에 녹을 수 있으나 온도가 올라가면 고분자는 소수성 폴딩을 하고 고밀도의 잘 정렬된 상태가 된다. 대표적인 예로 cyclododecapeptide, cyclo(GVGVAP)₂는 농도에 따라 다르지만 충분히 낮은 온도에서는 물에 녹지만 특정 이상의 온도로 올라가면 고형화된다[37]. 즉, 물에 불규칙하게 녹아있는 분자가 온도가 올라가면서 잘 정렬된 결정화 상태로 자기 조립된다고 할 수 있다. 온도상승에 따른 무질서도의 감소에 의해 역 온도 변환이 야기되며, 그때의 온도를 역 변환 온도라 한다. 고분자 사슬 길이, 고분자 농도, 고분자의 아미노산 배합, 용액의 염 농도, 용액내의 유기 용질 또는 용매, 잔기의 이온화 정도, 인산화 반응과 같은 잔기의 화학적 변형, 큰 민감성을 제공하는 방향족 사슬의 압력, 인위적으로 붙인 그룹의 전기 화학적 환원 등 단백질의 구조적 기능적 상태를 제어하는 모든 방법은 T_t 값을 제어할 수 있는 요인이 된다.

ELP는 온도가 올라감에 따라 소수성에 의한 상호작용이 나타나게 되어 혼탁도의 변화를 야기한다. T_t 이하의 온도에서 고분자는 수용성으로 맑은 용액이 되나 온도가 올라가면 고분자가 뭉치게 되고 용액은 혼탁해지게 되는데 일반적으로 UV spectrophotometer를 이용하여 350 nm에서 탁도를 측정함으로써 T_t 값을 얻을 수 있다. Figure 16에 제시한 ELP[V5A2G3 150]의 경우, T_t 는 약 42 °C

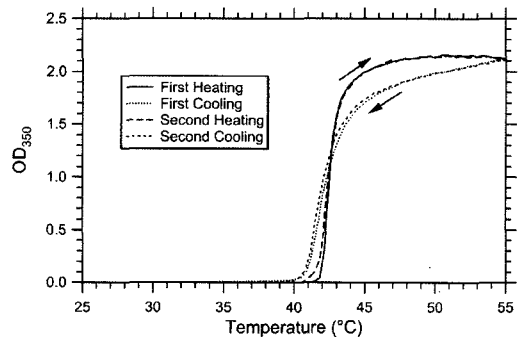


Figure 16. Typical, temperature dependent turbidity profiles for ELP[V5A2G3 150] [42].

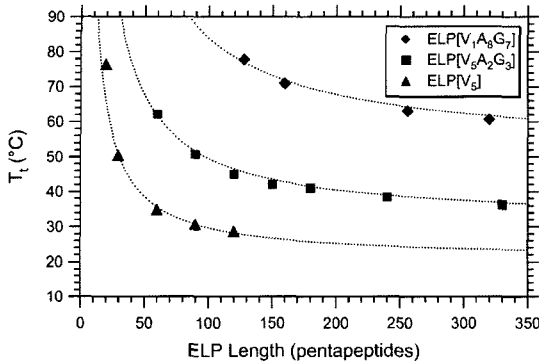


Figure 17. ELP Tt as a function of sequence and chain length [42].

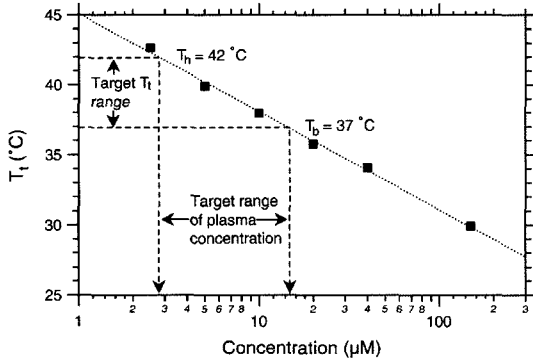


Figure 18. Tt as a function of ELP concentration [43].

이며 역 온도 변환은 2 °C 범위 내에서 급격하게 일어나는 것을 볼 수 있다. Tt 이하의 온도에서는 물에 녹은 상태이므로 탁도가 0에 가까우며, Tt 이상의 온도에서는 탁도가 급격히 증가하며 응집되는 것을 볼 수 있다. 이런 상변환은 또한 가역적으로 일어난다. ELP 사슬길이 그리고 아미노산 배합과 Tt와의 관계는 Figure 17에 나타내었다. ELP 길이가 증가할수록 Tt는 감소하는 경향을 보이며 배합된 아미노산이 소수성인 경우 Tt가 낮아지게 된다. 또한 농도가 증가함에 따라 Tt가 감소하게 되는데 이는 농도가 높아지게 되면 ELP 분자간의 소수성 결합의 영향이 물과의 상호작용보다 더 크게 작용하기 때문으로 여겨진다(Figure 18). 이 외에도 이온에 의한 영향을 살펴보면 용매의 이온 농도에 의해 Tt가 변화되는 것을 살펴볼 수 있다[44]. 용액 내

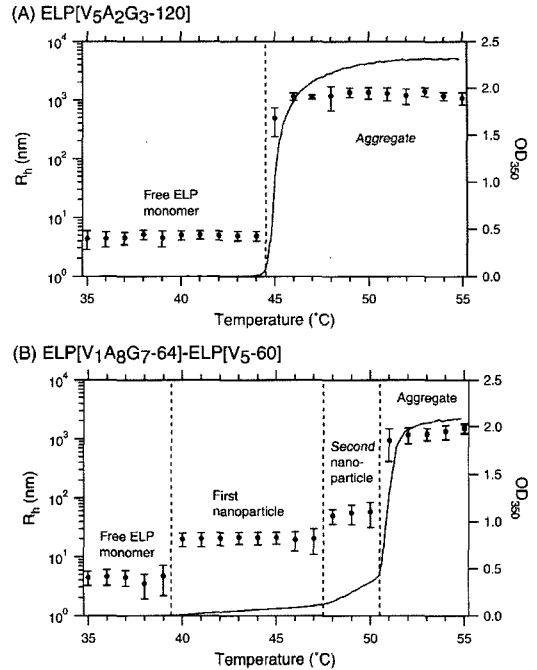


Figure 19. Solution turbidity and particle size as a function of temperature for the (A) ELP homopolymer, and (B) ELP block copolymer [42].

의 이온세기가 강해지면 ELP의 소수성 폴딩은 더욱 촉진되어 ELP는 보다 낮은 온도에서 응집하게 된다.

A. Chilkoti et al.은 RDL방법에 의해 공중합 고분자를 제작하여 열변환 특성을 살펴보았다. DSC(dynamic light scattering)를 이용하여 온도 변화에 따른 ELP의 크기 변화를 측정함으로써 공중합 ELP 고분자가 낮은 온도에서는 단일 사슬로 존재하다가 온도가 올라감에 따라 나노사이즈의 마이셀을 형성하고 최종적으로 마이크론 사이즈로 응집하게 된다는 사실을 확인하였다(Figure 19). ELP homopolymer의 경우에는 1개의 Tt가 존재하지만, 2개의 서로 다른 Tt를 가지는 ELP block copolymer에서는 2번의 상변환이 나타나는 것을 관찰할 수 있었다[42].

ELP를 다른 단백질과 fusion시켜 발현할 경우 일반적인 ELP 고분자와는 다른 역온도변환을 관찰할

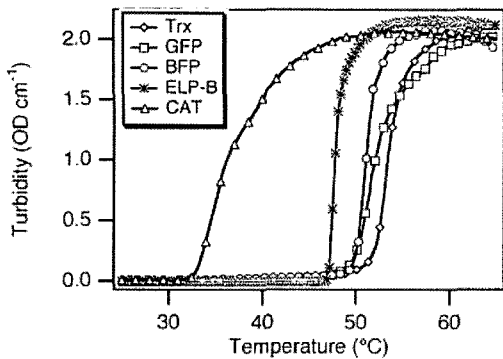


Figure 20. Solution turbidity as a function of increasing temperature of binary ELP fusion proteins and the free ELP B [45].

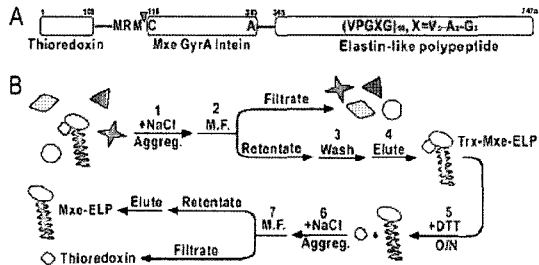


Figure 21. Scheme of tripartite self cleaving environmentally responsive purification tag. (A) Triple fusion structure, (B) Purification scheme [45].

수 있다. K. Trabbic Carlson et al.의 연구 결과에 따르면 fusion된 ELP는 온도변화에 의한 역온도변환은 가역적이며, fusion된 protein(e.g. thioredoxin, GFP, tendamistat, CAT, BFP)은 열에 의한 변성이 일어나지 않는다[45]. 또한 fusion된 protein의 소수성 정도는 Tt에 영향을 주게 된다. Figure 20에 의하면 CAT의 경우 소수성 표면을 가진 단백질이므로 ELP와 fusion하면 Tt가 낮아지는 것을 관찰할 수 있었다. 반면에 BFP, GFP와 Trx의 경우는 상대적으로 친수성 표면을 가진 단백질로 ELP의 Tt를 높게 된다.

3.4. 결론

ELP는 재조합 단백질로 RDL 방법에 의해 분자량을 정확히 제어하여 생합성 된다. 합성된 ELP는

아미노산 구성에 따라 다양한 역변환온도를 갖게 되며, 이를 응용한 단백질 분리 등의 다양한 연구들이 보고되고 있다(Figure 21)[44]. 특히 생체적합성을 보임으로써 표적지향성 약물전달, 조직공학 등의 의료용 고분자로 연구되고 있다[43,46,47,49]. 현재 ELP에 대한 연구는 기초연구를 토대로 응용방안을 모색하는 단계에 있다고 할 수 있으며, ELP의 상용화를 위해서는 대량생산을 위한 연구가 선행되어야 할 것이다.

참고문헌

1. F. Vollrath and D. P. Knight, *Nature*, **410**, 541(2001).
2. A. Lazaris, S. Arcidiacono, Y. Huang, J. F. Zhou, F. Duguay, N. Chretien, E. A. Welsh, J. W. Soares, and C. N. Karatzas, *Science*, **295**, 472(2002).
3. Z. Shao and F. Vollrath, *Nature*, **418**, 741(2002).
4. S. Sofia, M. B. McCarthy, G. Gronowicz, and D. L. Kaplan, *J. of Biomedical Materials Research*, **54**, 139(2001).
5. G. H. Altman, R. L. Horan, H. H. Lu, J. Moreau, I. Martin, J. Richmond, and D.L. Kaplan, *Biomaterials*, **23**, 4131(2002).
6. G. H. Altman, F. Diaz, C. Jakuba, T. Calabro, R. L. Horan, J. S. Chen, H. Lu, J. Richmond, and D. L. Kaplan, *Biomaterials*, **24**, 401(2003).
7. H. J. Jin, J. S. Chen, V. Karageorgiou, G. H. Altman, and D. L. Kaplan, *Biomaterials*, **25**, 1039(2004).
8. J. S. Chen, G. H. Altman, V. Karageorgiou, R. Horan, A. Collette, V. Volloch, T. Colabro, and D. L. Kaplan, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **67 A**, 559(2003).
9. D. L. Kaplan, et. al. "in Protein Based Materials", K. McGrath, and D. L. Kaplan, Eds., Birkhauser, Boston, p.103, 1997.
10. D. L. Kaplan, W. W. Adams, B. Farmer, and C. Viney, "Polymers Materials Science and Biotechnology", D. L. Kaplan, W. W. Adams, B. Farmer and C. Viney, Eds., 2 16 ACS Symposium Series 544 ; American Chemical Society, Washington DC, 1994.
11. J. Magoshi, M. Mizuide, and Y. Magoshi, *J. Polymer Science: Polymer Physics Edition*, **17**, 515(1979).
12. M. Ishida, T. Asakura, M. Yoko, and H. Saito, *Macromolecules*, **23**, 88(1990).
13. A. Seidel, O. Liivak, S. Calve, J. Adaska, G. Ji, Z. Yang, D. Grubb, D. B. Zax, and L. W. Jelinski, *Macromolecules*, **33**, 775(2000).

14. R. Valluzzi, S. Szela, P. Avtges, D. Kirschner, and D. L. Kaplan, *J. Phys. Chem. B*, **103**, 11382(1999).
15. D. Wilson, R. Valluzzi, and D. Kaplan, *Biophysical Journal* **78**, 2690(2001).
16. T. Asakura, A. Kuzuhara, R. Tabeta, and H. Saitô, *Macromolecules*, **18**, 1841(1985).
17. X. Chen, A. Shao, N. S. Marinkovic, L. M. Miller, P. Zhou, and M. R. Chance, *Biophysical Chemistry*, **89**, 25(2001).
18. T. Asakura, M. Demura, Y. Watanabe, and K. Sato, *Journal of Polymer Science Part B Polymer Physics*, **30**, 693(1992).
19. J. M. Yao, H. Masuda, C. H. Zhao, and T. Asakura, *Macromolecules*, **35**, 6(2002).
20. R. Nazarov, H.-J. Jin, and D. L. Kaplan, *Biomacromolecules*, **5**, 718(2004).
21. H. Yamada, H. Nakao, Y. Takasu, and K. Tsubouchi, *Material Science and Engineering C*, **14**, 41(2001).
22. A. Ochi, K. S. Hossain, J. Magoshi, and N. Nemoto, *Biomacromolecules*, **3**, 1187(2002).
23. J. Magoshi, M. Mizuide, and Y. Magoshi, *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition* **17**, 515(1979).
24. M. Ishida, T. Asakura, M. Yoko, and H. Saito, *Macromolecules*, **23**, 88(1990).
25. H. J. Jin, J. Park, V. Karageorgiou, U. J. Kim, R. Valluzzi, P. Cebe, and D. L. Kaplan, *Advanced Functional Materials*, **15**, 1241(2005).
26. H. J. Jin, J. Park, R. Valluzzi, P. Cebe, and D. L. Kaplan, *Biomacromolecules*, **5**, 711(2004).
27. H. J. Jin and D. L. Kaplan, *Nature*, **424**, 1057(2003).
28. D. P. Knight and F. Vollrath, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, **357**, 155(2002).
29. D. P. Knight and F. Vollrath, *Proceedings Royal Soc. London Series B, Biol. Sci.*, **266**, 519(1999).
30. Leïe, A. K., Y. M. Joshi, and R. A. Mashelkar, *Chemical Eng. Sci.*, **56**, 5793(2001).
31. Tanaka, T., T. Tanigami, and K. Yamaura, *Polymer Internatl.*, **45**, 175(1998).
32. S. Putthanarat, N. Stribeck, S. A. Fossey, R. K. Eby, and W. W. Adams, *Polymer*, **41**, 7735(2000).
33. J. D. van Beek, S. Hess, F. Vollrath, and B. H. Meier, *National Academy of Sciences*, **99**, 10266(2002).
34. J. Perez Rigueiro, C. Viney, J. Llorca, and M. Elices, *J. Appl. Polym. Sci.*, **70**, 2439(1998).
35. P. Poza, J. Pérez Rigueiro, M. Elices, and J. Llorca, *Engineering Fracture Mechanics*, **69**, 1035(2002).
36. X. Auvray, T. Perche, C. Petipas, R. Anthore, M. J. Marti, I. Rico, and A. Lattes, *Langmuir*, **8**, 2671(1992).
37. K. McGrath and D. Kaplan, "Protein based materials", Birkhauser, Boston, 1997.
38. A. Chilkoti, M. R. Dreher and D. E. Meyer, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54**, 1093(2002).
39. D. T. McPherson, C. Morrow, D. S. Minehan, J. Wu, E. Hunter, D. W. Urry, *Biotechnol. Prog.*, **8**, 347(1992).
40. D. T. McPherson, J. Xu, D. W. Urry, *Protein Expr. Purif.*, **7**, 51(1996).
41. J. Kostal and A. Mulchandani, W. Chen, *Macromolecules*, **34**, 2257(2001).
42. D. E. Meyer, A. Chilkoti, *Biomacromolecules*, **3**, 357(2002).
43. D. E. Meyer, G. A. Kong, M. W. Dewhirst, M. R. Zalutsky, and A. Chilkoti, *Cancer Res.*, **61**, 1548(2001).
44. Dan E. Meyer, A. Chilkoti, *Nat. Biotechnol.*, **17**, 1112(1999).
45. K. Trabbic Carlson, D. E. Mayer, L. Liu, R. Piervincenzi, N. Nath, T. LaBean and A. Chilkoti, *Protein Eng. Des. Sel.*, **17**, 57(2004).
46. D. E. Meyer, B. C. Shin, G. A. Kong, M. W. Dewhirst and A. Chilkoti, *J. Control. Release*, **74**, 213(2001).
47. I. Massodi, G. L. Bidwell III, D. Raucher, *J. Control. Release*, **108**, 396(2005).
48. X. Ge, D. S. C. Yang, K. Trabbic Carlson, B. Kim and A. Chilkoti, C. D. M. Filipe, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 11228(2005).
49. H. betre, L. A. Setton, D. E. Meyer and A. Chilkoti, *Biomacromolecules*, **3**, 910(2002).

저자 프로필



정 리 라

2006. 인하대학교 화공생명공학부 고분자
공학전공 졸업
2006-현재. 인하대학교 나노시스템공학부
고분자신소재공학전공



박 원 일

2006. 인하대학교 화공생명공학부 졸업
2006-현재. 인하대학교 나노시스템공학부
고분자신소재공학전공



나 경 아

2002. 서강대학교 화학공학과 졸업
2004. 한국과학기술원 화학공학과(석사)
2006-현재. 서울대학교 바이오시스템소재
학부



현 진 호

1988-1993. 서울대학교 천연섬유학 졸업
1995-1995. 서울대학교 천연섬유학(석사)
1996-1999. North Carolina State University
재료공학(박사)
1999-2004. Duke University, 의용공학,
연구교수
2004-현재. 서울대학교 바이오시스템소재
학부 조교수



진 형 준

1994. 인하대학교 고분자공학과 졸업
1996. 인하대학교 고분자공학과(석사)
2000. 인하대학교 고분자공학과(박사)
2001-2003. Tufts University(박사후 연구원)
2003-현재. 인하대학교 나노시스템공학부
고분자신소재공학전공 조교수
(402-751)인천 남구 용현동 253
전화: 032-860-7483, Fax: 032-865-5178
e-mail: hjjin@inha.ac.kr