

# 펩타이드/단백질-고분자 하이브리드 소재의 합성과 응용

## Synthesis and Application of Peptide/Protein-Synthetic Polymer Hybrid Materials

이정윤 · 이기훈 | Jeong Yun Lee · Ki Hoon Lee

Department of Biosystems & Biomaterials Science and Engineering, Seoul National University  
1 Gwanak-ro, Gwanak-gu, Seoul 151-921, Korea  
E-mail: prolee@snu.ac.kr

### 1. 서론

펩타이드/단백질-고분자 하이브리드 소재란 하나 이상의 펩타이드 서열 또는 단백질을 합성고분자와 공유결합으로 연결시킨 물질이다. 이는 각각의 물질 즉 펩타이드/단백질이 갖고 있는 장점과 합성고분자가 갖는 장점을 극대화하기 위함이다. 단백질은 자연의 물질로 우리 인체에서 매우 중요한 역할을 한다. 이들은 효소와 같이 특정 반응을 촉진시키기도 하며, 항체와 같이 특정 항원을 인식하여 면역체계를 완성하기도 한다. 이러한 특성은 단백질이 갖는 고유의 정교한 3차원 구조 때문에 가능하지만 경우에 따라서는 단백질 중 특정 아미노산 서열로 이루어진 짧은 펩타이드 서열에 기인하기도 한다. 일례로 파이버넥틴은 세포 부착에 중요한 역할을 하지만 실제로 이를 유도하는 것은 파이버넥틴의 아미노산 서열 중 알기닌(R)-글리신(G)-아스파틱산(D)으로 이루어진 RGD 펩타이드 서열이다. 그러나 이러한 펩타이드 또는 단백질은 그 자체로 상용화하기에는 몇 가지 문제점을 지니고 있다. 대표적으로 단백질은 인체의 각종 분해효소로부터 취약하며 최악의 경우에는 오히려 면역반응 등의 부작용이 나타날 수도 있다. 이러한 문제점이 해결되어도 단백질 자체가 많은 경우 고가인 점은 상용화의 최대 걸림돌이다. 이러한 단점을 극복하기 위한 방법으로 합성고분자와의 하이브리드를 시도하게 되었다. 합성고분자는 상대적으로 저렴하고 효소에 의하여 분해되지 않으며 PEG의 경우에는 우리 인체의 면역반응을 피하게 해 줄 수도 있다. 따라서 펩타이드 또는 단백질과의 하이브리드를 형성함으로써 앞서 언급한 펩타이드 또는 단백질의 단점을 극복할 수 있는 가능성을 제시한다. 다른 한편으로는 펩타이드 또는 단백질과의 하이브리드를 형성함으로써 기존의 합성고분자가 갖지 못하는 나노 수준에서의 정교한 구조체 또는 생체 내 물질과의 상호작용을 가능하게 하여 보다 높은 수준에서 합성고분자의 활용이 가능하게 된다. 이 글에서는 이러한 펩타이드/단백질-고분자 하이브리드의 합성 방법과 그 응용사례를 소개하고자 한다.

### 2. 펩타이드/단백질-고분자 하이브리드의 합성

일반적으로 단백질의 고유기능은 정교한 3차원 구조에 의하여 나타나나 이러한 3차원 구조가 결합력이

Author



이정윤

2010 서울대학교 바이오시스템·소재학부(학사)  
2010-현재 서울대학교 바이오시스템·소재학부(석·박사 통합과정)



이기훈

1998 서울대학교 천연섬유학과(학사)  
2000 서울대학교 천연섬유학과(석사)  
2003 서울대학교 천연섬유학과(박사)  
2003-2004 서울대학교 농업생명과학연구원 객원연구원  
2004-2005 성균관대학교 고분자기술연구소 선임연구원  
2005-현재 서울대학교 바이오시스템·소재학부 부교수

약한 2차 화학적 결합으로 이루어져 주위 환경변화에 의하여 쉽게 구조변화가 발생하고 그 결과 기능을 잃는 변성이 일어난다. 또한 복잡한 3차원 구조와 동일 작용기 여러 개를 동시에 갖기 때문에 정확한 위치에 고분자를 결합시킬 수 없다. 따라서 경우에 따라 분자량이 작은 펩타이드를 이용하는 것이 더 바람직하다. 이 절에서는 우선 몇 개의 아미노산으로 이루어진 펩타이드와 고분자의 하이브리드 합성방법에 대하여 소개하기로 한다.

## 2.1 NCA 개환 중합

가장 손쉽게 펩타이드-고분자 하이브리드를 합성하는 방법은 *N*-carboxyanhydride(NCA)를 이용하는 것이다. NCA는 아미노산의 무수화합물 형태로 고리모양을 하고 있다. 주로 단일 아미노산으로 이루어진 펩타이드를 합성하는데 가장 효율적인 방법으로 알려져 있다(그림 1). 비록 정확한 분자량 제어나 복잡한 아미노산 서열을 제조하는 데는 제한이 있으나 최근에는 리빙 NCA 중합법이 개발되면서 이러한 단점을 극복하고 있다. 전통적인 NCA 중합법은 친핵성 물질(1차 아민) 또는 염기성 개시제를 이용한다. 리빙 NCA 중합법에서는 개시제로 전이금속 개시제, 예를 들어 Ni(COD),  $(PMe_3)_4Co$  또는  $(dppe)Pt(MBS-H)$  등을 이용한다.<sup>1-3</sup>

NCA 중합법을 이용한 펩타이드-고분자 하이브리드는 대부분 AB 또는 ABA 형태의 하이브리드 고분자이다. 일반적으로 두 단계로 이루어지는데 우선 1차 아민을 말단에 갖

는 합성고분자를 합성하는 단계와 이 고분자를 NCA 중합법의 개시제로 이용하여 펩타이드를 합성하는 단계이다.<sup>4</sup> 두 단계 방식이 아닌 one-pot 방식도 개발되었는데 이 때 이용되는 개시제는 NCA 중합을 개시할 뿐만 아니라 비닐계 모노머의 NMP 또는 ATRP 중합도 개시한다.<sup>5-7</sup> 이상의 방법은 합성된 고분자에 연속적으로 펩타이드를 합성하는 방법이지만 또 다른 방법으로는 합성고분자와 펩타이드를 각각 중합한 이후에 결합시키는 방식을 적용하기도 한다. 이 경우 가장 효율적인 방법은 “click chemistry”를 이용하는 것이다. 이 방식은 poly( $\gamma$ -benzyl-*L*-glutamate)-*b*-poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate)(PBLG-*b*-PDMAEMA) diblock copolymer를 합성하는데 처음 도입되었다(그림 2).<sup>8</sup>

## 2.2 고상펩타이드 중합법

고상펩타이드 중합법(solid phase peptide synthesis)는 현재 50개 정도의 아미노산으로 이루어진 펩타이드를 합성하는데 널리 쓰이는 중합법이다. NCA법에 비하여 단 분자량의 정확한 아미노산 서열을 갖는 펩타이드를 얻을 수 있다는 점에서 이점이 있다. 고상지지체에 합성고분자를 사전에 고정화 후 펩타이드를 합성하거나 펩타이드를 먼저 합성한 후 합성고분자를 결합시키는 방법 모두 가능하다. 일반적으로 펩타이드의 고상중합법은 펩타이드의 C 말단부터 합성하므로 고상지지체에 합성고분자를 먼저 고정하는 경우에는 합성고분자의 다른 말단은 아민기를 갖고 있어야 한다. 이때 최종 합성된 펩타이드-고분자 하이

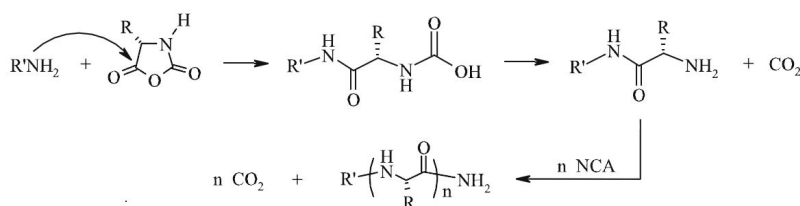


그림 1. NCA 중합법.<sup>4</sup>

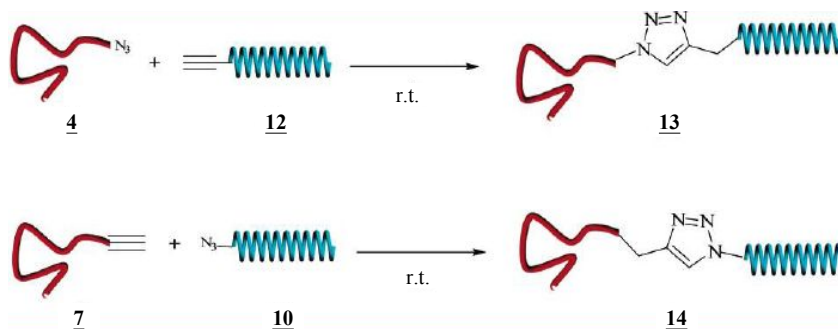


그림 2. PBLG-*b*-PDMAEMA diblock copolymer의 합성.<sup>8</sup>

브리드는 펩타이드의 C말단에 합성고분자가 존재하게 된다. 이에 반하여 펩타이드 합성 후 고분자를 결합시키는 경우에는 카르복실기를 갖는 고분자를 사용하며 이 경우에는 펩타이드의 N말단에 합성고분자가 결합되어 있다 (그림 3). 고상법의 장점은 액상법에 비하여 분리정제가 용이하다는 점이나 각 아미노산의 합성 단계마다 반응수율이 100%가 되지 못하므로 아미노산의 개수가 증가할수록 반응수율이 떨어지는 단점이 있다.

### 3. 단백질-고분자 하이브리드의 합성

앞 절에서의 펩타이드-고분자 하이브리드의 경우와 달리 이 절에서는 단백질 전체를 이용하여 고분자와 하이브리드를 형성하는 방법을 소개하고자 한다. 일반적으로 단백질은 20개의 아미노산으로부터 100개 이상의 아미노산을 정해진 서열에 의하여 생합성하여 만들어진 물질이다.

따라서 1-2개의 아미노산으로만 합성하는 NCA 중합법이나 50개 미만의 아미노산 서열만 합성 가능한 고상법은 그 한계를 갖는다. 또한 펩타이드/단백질-고분자 하이브리드의 장점은 단백질이 갖는 기능을 활용하는 것인데 아직까지 어떠한 기능을 갖는 펩타이드 서열에 관한 데이터베이스가 충분하지 않으므로 수많은 단백질이 갖는 각각의 고유 기능을 활용하기에는 한계가 있다. 따라서 앞 절에서 언급한 단백질을 이용하는 경우의 단점에도 불구하고 여전히 단백질 자체를 활용한다.

일반적으로 단백질은 생합성에 의하여 만들어지거나 직접 추출하는 방식으로 얻을 수 있다. 최근 생명공학의 발달로 거의 모든 단백질의 생합성이 가능하며 또한 특정 위치에 특정 아미노산을 삽입하는 것도 가능하다. 단백질은 20개의 아미노산으로 구성되는데 이 중 반응성이 있는 것은 그림 4에 있는 9개의 아미노산과 단백질의 양 말단뿐이다. 단백질에 화학적 반응을 시도할 경우, 유의할 점은

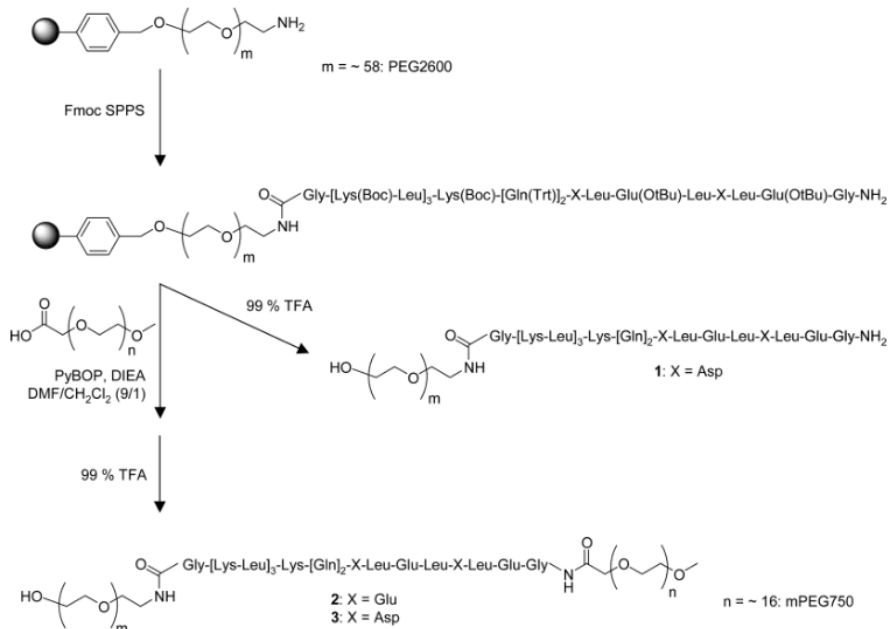


그림 3. 고상법을 이용한 펩타이드-고분자 하이브리드 합성.<sup>9</sup>

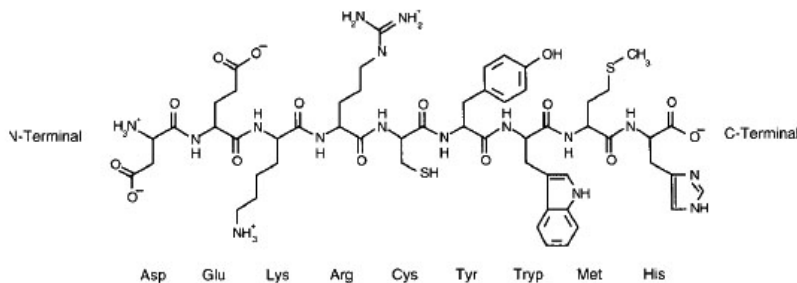


그림 4. 화학반응이 가능한 아미노산의 종류.

이들 아미노산이 단백질의 3차원 구조에서 어디에 위치하는가이다. 시스틴의 경우 매우 반응성이 좋은 -SH기를 갖고 있지만 안타깝게도 시스틴은 단백질의 내부에 흔히 존재한다. 이 경우 시스틴은 반응에 참여하기 어려우며 반응을 유도하기 위해서는 단백질의 3차원 구조를 완전히 해제해야만 가능하다. 따라서 단백질의 3차원 구조를 고려하여 화학반응을 설계해야 한다. 통상적으로 단백질과 반응을 시킬 경우 리신의 아민기를 대상으로 하는데 그 이유는 리신이 단백질의 표면에 나타날 수 있는 확률이 다른 아미노산에 비하여 높기 때문이다. 또 한가지 단백질과의 반응에서 매우 중요한 것은 반응 pH의 선정이다. 일반적으로 같은 작용기라고 하더라도 반응 pH의 조건에 따라 다른 아미노산과 반응한다. 예를 들어 에폭사이드의 경우 pH 7.5-8.5인 경우에는 -SH, pH 11-12인 경우에는 -OH, 그리고 pH 9.0 부근에서는 -NH<sub>2</sub>와 결합한다. 따라서 pH의 선택과 반응 중 pH의 변화에 주의할 필요가 있다.

단백질-고분자 하이브리드 중 가장 널리 알려진 것은 단백질과 PEG를 결합시키는 PEGylation이다. 단백질-PEG 하이브리드는 단백질의 안정성과 용해도를 증대시키고 생체 내에서 체류시간 증대 및 면역반응 억제 등의 이점을 갖는다. 단백질과의 하이브리드 형성을 위해 많은 종류의

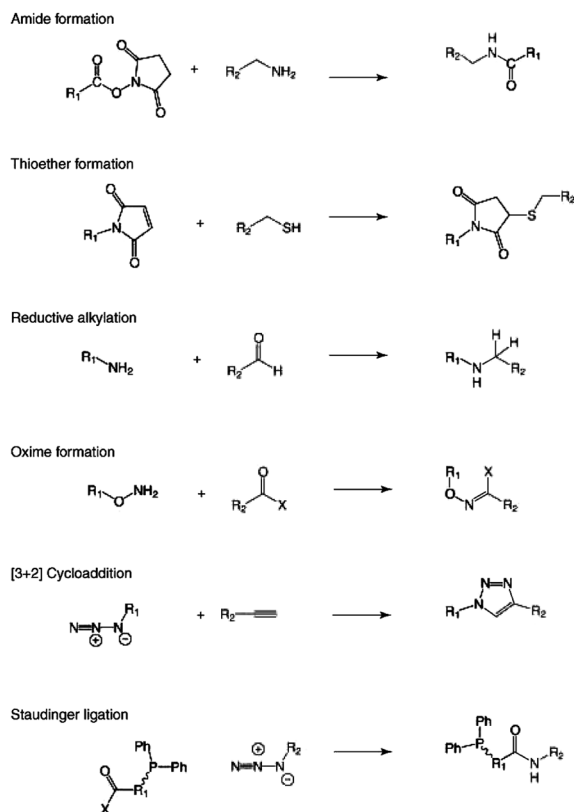


그림 5. 펩타이드/단백질-고분자 하이브리드에서 응용되는 화학결합.

PEG가 현재 상용화 되어 있으며 그 중에는 특정 작용기와 반응할 수 있는 PEG도 존재한다. 그림 5는 단백질-고분자 하이브리드에서 많이 사용하는 화학결합을 나타낸 것이다.

적절한 작용기만 도입된다면 PEG 이외에도 많은 고분자를 단백질과 결합시킬 수 있으며 최근에는 ATRP 또는 RAFT 중합법을 이용하여 단백질-고분자 하이브리드를 합성한 예도 있다(그림 6).<sup>10</sup>

#### 4. 펩타이드-고분자 하이브리드의 응용

펩타이드-고분자 하이브리드의 장점은 펩타이드의 존재로 인하여 자기조립이 가능하며 이에 따라 bottom-up 방식의 나노구조체의 형성이 가능하다는 점이다. 이때 합성 고분자의 역할은 펩타이드보다 친수성이거나 소수성 성질을 나타내어 펩타이드의 자기조립을 돕는 역할을 하게 된다. 여기서는 구체적인 자기조립에 관한 메커니즘 대신 이러한 펩타이드-고분자 하이브리드의 응용에 대하여 살펴보고자 한다.

##### 4.1 약물 및 유전자 전달체계

이 분야에 사용되는 펩타이드-고분자 하이브리드에서

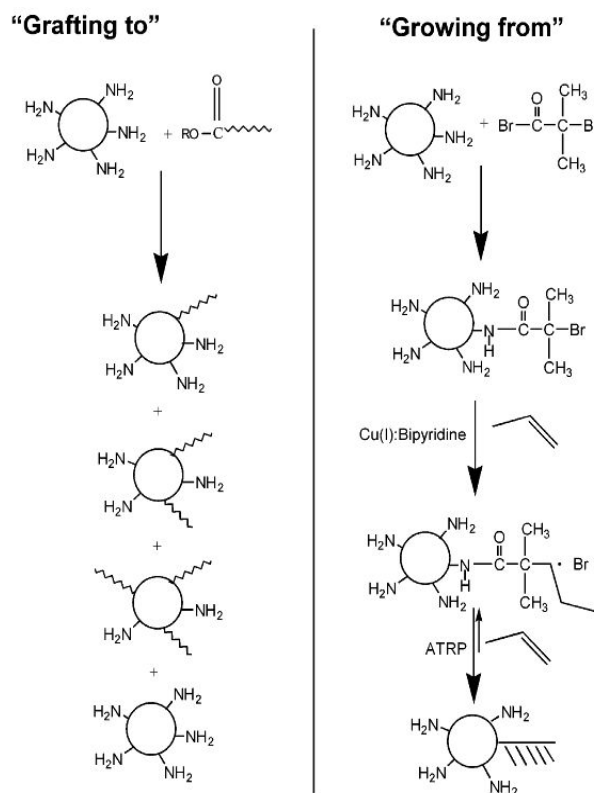


그림 6. 기존 합성방식과 ATRP 법을 이용한 단백질-고분자 하이브리드의 비교.

펩타이드는 약물 또는 유전자와 결합하여 단순 운반체의 역할을 하거나 약물 또는 유전자의 방출 과정에서 표적지향성 또는 방출유도 기능을 갖게 한다. 약물전달체로 활용된 예는 PEG-*b*-PAsp의 경우로 doxorubicin과 결합하여 안정한 마이셀을 형성하였으며 추가적인 doxorubicin을 마이셀내에 안정하게 탑재할 수 있었다(그림 7).<sup>11</sup>

펩타이드의 표적지향성을 활용한 경우에는 poly(*N*-(2-hydroxypropyl)-methacrylamide)(PHPMA)에  $\alpha_v\beta_3$  integrin를 표적으로 하는 RGD 서열을 결합시켜 암조직에 특이적으로 전달되도록 한 것이 보고된 바 있다(그림 8).<sup>12</sup> 또한 세포 내의 침투를 용이하게 위하여 cell penetrating peptide(CPP)를 이용한 사례도 대표적이라고 할 수 있다.<sup>13</sup>

### 4.2 하이드로젤

하이드로젤은 약물전달과 조직공학 분야에서 많이 사용되는 형태로 펩타이드-고분자 하이브리드를 이용해서도 제조가 가능하다. 이때 펩타이드는 하이드로젤의 형성에 물리적 가교역할을 위하여 사용된다. 많이 이용하는 것은 코일-코일 구조(coil-coil structure) 형성이 가능한 펩타이드 서열이다. 코일-코일 구조는 단일 헬릭스 구조가 모여서 멀티 헬릭스 구조를 갖는 것이다. 펩타이드 서열은 단일 헬릭스 구조와 코일-코일 구조로 온도, pH 및 이온변화에 따라 전이가 가능한데 코일-코일 구조가 형성되면 수축하고 단일 헬릭스 구조로 전이되면 팽창하는 특성을 갖게 된다(그림 9).<sup>14,15</sup>

펩타이드의 코일-코일 구조 형성 메커니즘 이외에도 베타-시트 구조와  $\pi$ - $\pi$  상호작용을 하는 펩타이드 서열도 이용이 된다. 이들의 특징은 베타-시트 구조와  $\pi$ - $\pi$  상호작용이 직접적으로 하이드로젤을 형성하는 것이 아니라 이러한 특성으로 나노섬유 다발이 만들어지고 그 결과 이들 나노섬유 다발이 네트워크 구조를 가져 형성된다(그림 10).<sup>16,17</sup>

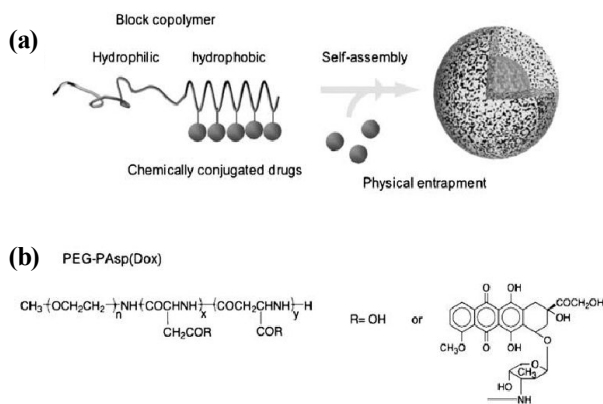


그림 7. PEG-*b*-PAsp의 약물담체로의 활용.

펩타이드가 하이드로젤을 형성하는데 직접적인 요인이 되기도 하지만 펩타이드가 갖는 생리활성의 특성을 이용하여 하이드로젤을 제조한 경우도 있다. 이 경우 펩타이드는 특정 효소에 의하여 분해가 되는데 대표적인 예가 MMP와 BMP-2에 의하여 특이적으로 분해가 되는 펩타이드 서열을 포함하는 하이드로젤이다(그림 11). 이 하이드로젤은 골이 재생되는 과정에서 골세포가 분비하는 MMP와 BMP-2에 의해 분해가 되어 골재생을 돕는 역할을 한다.<sup>18,19</sup>

### 4.3 생체미네랄화 과정

자연계에는 다양한 유무기 복합체가 있는데 대표적인 것이 뼈와 조개 껍질 등이다. 특히 조개껍질에 관한 연구가

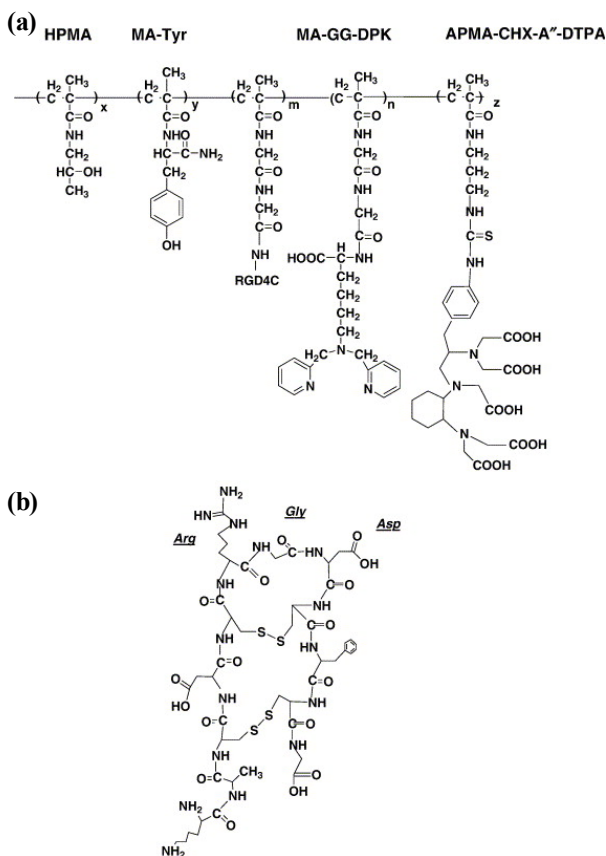


그림 8. 암조직 표적지향성 PHPMA(a)와 이용된 펩타이드 서열(b).<sup>12</sup>

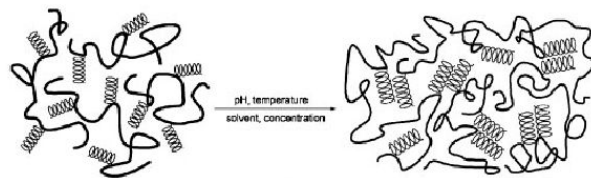


그림 9. 코일-코일구조 하이드로젤의 자극감응성 자가조립.<sup>15</sup>

활발한데 무기물이 형성되는 과정에서 단백질의 중요도가 강조되고 있다. 현재까지 알려진 바에 의하면 단백질은 무기물의 형성을 촉진하거나 독특한 모양으로 유도를 하는 것을 알려져 있다. 이를 모방하기 위한 연구도 많은데 이때 펩타이드-고분자 하이브리드를 이용한 사례도 있다 (그림 12).<sup>20</sup> 펩타이드의 구조가 어떤 역할을 할 것이라 기대하고 있으나 아직까지 펩타이드의 구조와 형성되는 미네랄의 형상과의 상관관계는 불분명한 상태이다.

## 5. 단백질-고분자 하이브리드의 응용

### 5.1 효소와의 하이브리드

효소는 여러 화학반응을 특이적으로 촉진한다는 점에서 유기합성에 이용하려는 시도가 많이 이루어졌다. 그러나 효소의 높은 가격과 안정성 결여 등으로 그 사용이 제한적이나 효소 고정화는 이를 해결할 수 있는 대안 중 하나이다. 대부분 효소 고정화는 불용성 지지체에 하는 것이 일반적이나 효소-고분자 하이브리드를 이용한 사례도 있다. 효소-고분자의 하이브리드는 주로 PNIPAAm을 이용하여 많이 이루어졌다. 이는 PNIPAAm의 열감응 성질을 이용한 것으로 효소를 결합시키고 온도를 증가시켜 효소-PNIPAAm를 침전시켜 효소를 회수하게 된다. 이 때 다시 온도를 내리면 효소-PNIPAAm은 재용해가 되어 촉매의 역할을 수행하게 된다.<sup>21</sup> 효소-고분자 하이브리드의 또 다른 용도로는 효소의 활성을 제어할 수 있는 시스템으로 효소의 활성부위 근처에 PNIPAAm를 결합시키면 온

도에 따라 PNIPAAm이 응집과 용해를 반복하여 효소의 활성부위를 막거나 열어 효소의 활성을 제어하게 된다.<sup>22</sup> 효소-고분자 하이브리드에서 주의할 점은 단백질의 3차원 구조에서 어디에 고분자가 결합하느냐 하는 것이다. 만약 효소의 고정화가 목적이라면 활성부위 근처에 결합되는 것을 피해야 하며, 효소의 활성제어가 목적이라면 효소의 활성부위 주변에 결합되도록 해야 한다.

### 5.2 단백질 약물과의 하이브리드

흔히 PEGylation으로 알려진 방법으로 단백질에 PEG를 공유결합시켜 단백질 약물의 지속성을 증대시키기 위한 목적으로 수행한다. 과거에는 랜덤하게 PEG를 결합시켜 오히려 단백질의 약물 효능이 감소하는 경우도 있었으나 최근에는 특정 아미노산에만 결합을 유도하거나 유전자 조작을 통하여 특이적 아미노산을 도입함으로써 원하는 위치에 PEG를 결합시킨다. 이 때 주로 이용하는 아미노산은 시스테인으로 시스테인 측쇄의 -SH에 대한 특이적 화학반

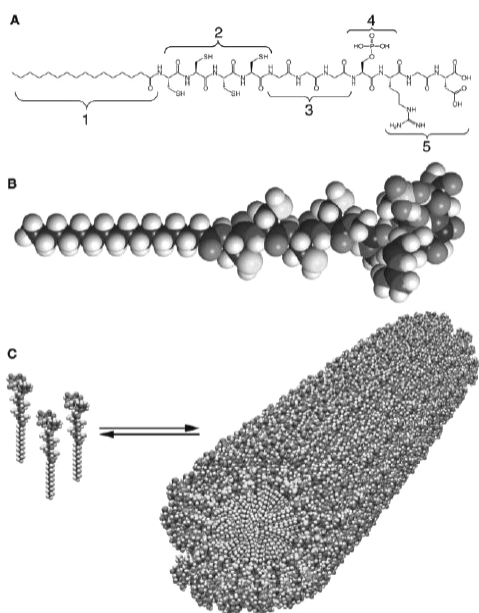


그림 10. 베타-시트 구조로 나노섬유 다발 형성.<sup>17</sup>

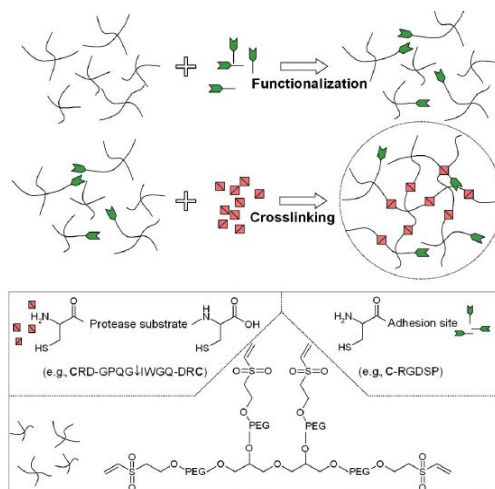


그림 11. 특정 효소에 의해 분해 되는 펩타이드를 포함한 하이드로젤 제조.<sup>19</sup>

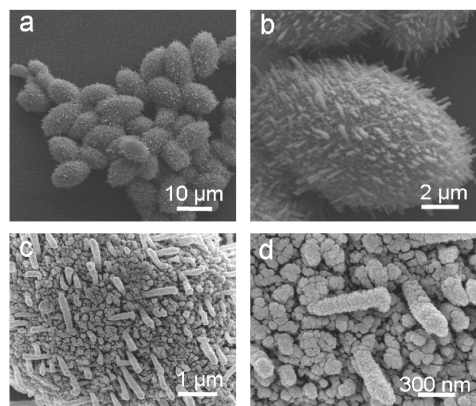


그림 12. PEG-*b*-pGlu를 이용한 CaCO<sub>3</sub>의 미네랄화.<sup>20</sup>

응을 주로 사용한다. 대표적으로 -SH기와 특이적으로 반응하는 작용기는 maleimide, vinyl sulphone, iodo-acetate, orthopyridyl disulfide 등이 있다. 그러나 시스틴은 단백질에서의 출현빈도가 낮을 뿐만 아니라 대부분 단백질의 내부에 존재하므로 이를 해결하기 위하여 유전자 조작을 통하여 인위적으로 시스틴을 도입하거나 단백질 표면에 도출되도록 한다. 인위적으로 시스틴을 도입하는 경우에는 주로 세린 아미노산 위치에 도입하는데 이는 세린과 시스틴의 화학구조가 유사하기 때문이다. 그러나 이러한 방법은 비용이 많이 드는데 최근에는 가역적 PEGylation이 시도되고 있다.<sup>23</sup> 이 방법은 단백질과 PEG 간의 linker로 생체 내에서 분해가 가능한 것을 이용하는 것이다(그림 13). 이러한 가역적 PEGylation은 비선택적 반응을 이용할 수 있으며, PEG와의 결합으로 단백질의 활성이 감소하는 것도 방지할 수 있는 장점이 있다.

## 6. 결론

펩타이드/단백질-고분자 하이브리드는 소위 자연계와 합성계의 장점을 모두 가진 하이브리드 소재라고 할 수 있다. 펩타이드/단백질이 갖는 반응특이성은 특정 반응을 유도하는데 응용이 가능하며, 정교한 3차원 구조는 나노수준에서의 구조제어에 응용이 가능하다. 또한 항원-항체와 같은 특이적 인식능력을 바이오센서로의 활용가치가 매우 높다. 그러나 이러한 장점을 십분 활용하기 위해서는 펩타이드/단백질과 고분자간의 linker의 선택이 매우 중요하며 특히 특정 아미노산과만 반응할 수 있는 화학결합을 사용하는 것이 바람직하다. 최근 이러한 linker들이 많이 소개되고 있어 향후 보다 정교한 결합을 갖는 펩타이드/단백질-고분자 하이브리드 소재가 개발될 수 있을 것으로 기대된다.

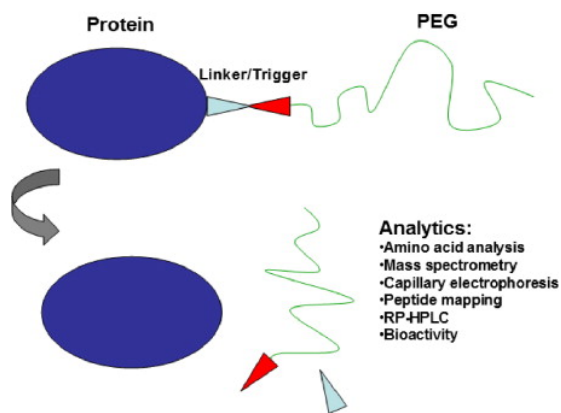


그림 13. 가역적 PEGylation.<sup>23</sup>

## 참고문헌

1. T. J. Deming, *Nature*, **390**, 386 (1997).
2. T. J. Deming, *Macromolecules*, **32**, 4500 (1999).
3. Y.-L. Peng, S.-L. Lai, and C.-C. Lin, *Macromolecules*, **41**, 3455 (2008).
4. T. J. Deming, *Adv. Polym. Sci.*, **202**, 1 (2006).
5. S. Steig, F. Cornelius, P. Witte, B. B. P. Staal, C. E. Koning, A. Heise, and H. Menzel, *Chem. Commun.*, 5420 (2005).
6. S. Steig, F. Cornelius, A. Heise, R. J. L. Knoop, G. J. M. Habraken, C. E. Koning, and H. Menzel, *Macromol. Symp.*, **248**, 199 (2007).
7. R. J. I. Knoop, G. J. M. Habraken, N. Gogibus, S. Steig, H. Menzel, C. E. Koning, and A. J. Heise, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **46**, 3068 (2008).
8. W. Agut, D. Taton, and S. Lecommandoux, *Macromolecules*, **40**, 5653 (2007).
9. A. Rösler, H.-A. Klok, I. W. Hamley, V. Castelletto, and O. O. Mykhaylyk, *Biomacromolecules*, **4**, 859 (2003).
10. B. S. Lele, H. Murata, K. Matyjaszewski, and A. J. Russell, *Biomacromolecules*, **6**, 3380 (2005).
11. K. Osada and K. Kataoka, *Adv. Polym. Sci.*, **202**, 113 (2006).
12. M. Breunig, S. Bauer, and A. Goepferich, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **68**, 112 (2008).
13. K. M. Stewart, K. L. Horton, and S. O. Kelley, *Org. Biomol. Chem.*, **6**, 2242 (2008).
14. C. Wang, R. J. Stewart, and J. Kopecek, *Nature*, **397**, 417 (1999).
15. J. Yang, C. Xu, P. Kopeckova, and J. Kopecek, *Macromol. Biosci.*, **6**, 201 (2006).
16. N. Tzokova, C. M. Fernyhough, P. D. Topham, N. Sandon, D. J. Adams, M. F. Butler, S. P. Armes, and A. J. Ryan, *Langmuir*, **25**, 2479 (2009).
17. J. D. Hartgerink, E. Beniash, and S. I. Stupp, *Science*, **294**, 1684 (2001).
18. M. P. Lutolf, G. P. Raeber, A. Zisch, N. Tirelli, and J. A. Hubbell, *Adv. Mater.*, **15**, 888 (2003).
19. M. P. Lutolf, F. E. Weber, H. G. Schmoekel, J. C. Schense, T. Kohler, R. M€uller, and J. A. Hubbell, *Nat. Biotechnol.*, **21**, 513 (2003).
20. X.-H. Guo, A.-W. Xu, and S.-H. Yu, *Cryst. Growth Des.*, **8**, 1233 (2008).
21. G. Chen and A. S. Hoffman, *Bioconjug. Chem.*, **4**, 509 (1993).
22. S. S. Pennadam, M. D. Lavigne, C. F. Dutta, K. Firman, D. Mernagh, D. C. Gorecki, and C. Alexander, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 13208 (2004).
23. D. Filpula and H. Zhao, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **60**, 1, 29 (2008).