

인공세포 개발을 위한 바이오 거대분자 소포 엔지니어링

Engineering Biomacromolecule-based Vesicles towards Synthetic Cell Development

장영선 | Yeongseon Jang

Department of Chemical Engineering, University of Florida,
1006 Center Drive, Gainesville, FL 32611, USA
E-mail: y.jang@ufl.edu

1. 서론

합성 소포 플랫폼(synthetic vesicle platforms)을 활용하여 살아있는 세포의 기능 및 구조를 모방하는 인공 세포를 개발하려는 요구는 지난 수십년 동안 지속적으로 증가하고 있다. 특히, 세포의 기본 구성 물질인 핵산, 단백질, 다당류를 포함한 이종의 바이오 고분자로 이루어진 합성 소포는 비대칭 구조 및 다기능 모듈을 필요로 하는 인공세포 응용 분야에서 주목받고 있다. 전통적으로 합성 소포는 양친성 단분자로 이루어진 리포솜(liposome), 또는 블록공중합체로 만들어진 폴리머솜(polymersome)으로 만들어져 왔다. 하지만 최근에는 아미노산을 기반으로 한 폴리펩티드(polypeptide) 및 기능성 구형 단백질 등으로 만들어진 합성 소포가 그 특정한 기능으로 인해 각광받고 있다. 우리는 하나 이상의 구형 단백질을 합성 소포에 원하는 양 및 위치에 접합시킬 수 있다면, 인공세포 플랫폼으로서 단백질에 의해 매개되는 더 많은 세포 유사 기능이 구현될 것이라 기대한다. 따라서 본 기고에서는 단백질을 포함하고 있는 전통적인 폴리머솜에서 유전자 재조합 단백질로 구성된 새로운 형태의 소포에 이르기까지 다양한 최근 연구를 소개하고자 한다. 특히, 두 개 이상의 바이오 고분자의 자가조립 지식을 활용하여 궁극적으로 인공세포 플랫폼을 상향식(bottom-up approach)으로 구성하기 위한 기본적인 실용적인 통찰력을 제공하는 것을 목표로 한다.

2. 본론

2.1 세포 구조 및 기능을 모방하는 블록공중합체 고분자 소포

1999년, “폴리머솜”이라는 용어는 Disher 및 Hammer 그룹에 의해 처음 창시되었다.¹ 이는 양친성 합성 블록 공중합체의 자가조립에 의해 형성된 소포구조를 의미한다. 폴리머솜은 친수성기가 막의 양쪽 표면에 노출되어 있고 소수성기는 내부에 덮여 있는 이중막 구조로 되어 있으며, 빌딩 블록 고분자의 분자량은 최대 100 kDa 수준에 이를 수 있다. 따라서 고분자로 이루어진 소포는 상대적으로 단분자로 이루어진 리포솜보다 더 단단하고 안정하지만, 낮은 투과성과 유동성을 갖게 된다.² 폴리머솜을 구성하는 블록 공중합체의 화학적 안정성과 높은 조정성은 살아있는 세포의 구조와 기능을 보다 합리적으로 제어할 수 있도록 한다. 예를 들어, 세포 소기관과 같은 계층구조 및 구획화를 모방하려는 노력의 일환으로 폴리머솜-인-폴리머솜이 개발되고 있다.³

Author



장영선

2008 서울대학교 화학생물공학부 (학사)
2013 서울대학교 화학생물공학부 (박사)
2014-2015 University of Pennsylvania (Post-Doc.)
2015-2018 Georgia Institute of Technology (Post-Doc.)
2018-현재 University of Florida 조교수

또한 외부 자극에 따라 블록공중합체의 팽창/수축성을 제어하면 소포의 막 투과성을 조절할 수 있기에, 제어된 효소 반응을 입증할 수 있다. 온도 및 pH 반응성 고분자로 구성된 폴리머솜에 효소(enzyme)를 캡슐화하여 반응의 on/off를 제어하는 것이 대표적인 시안이라 할 수 있다.^{4,5}

생물학적 과정의 에너지원으로서 ATP합성은 살아있는 세포의 필수 기능 중 하나이다. Montemagno 그룹은 광 구동 양성자 펌프 단백질 박테리오텍신(bacteriorhodopsin, BR)의 활성을 ATP 합성 효소와 결합하여 ATP를 생성할 수 있는 생체모방 폴리머솜을 구축하기도 했다. 이 일에서 폴리머솜 막에 삽입된 BR은 ATP 생산을 유도하는데 결정적인 역할을 한다.⁶

ABC 형태의 삼중 블록공중합체의 자가조립을 이용하면 비대칭 소포 막 구조의 상향식 구성을 보다 용이하게 할 수 있다.⁷ 생체적합성, 생분해성 고분자인(poly(ethylene oxide)-polycaprolactone-poly(2-methyl-2-oxazoline), PEO-*b*-PCL-*b*-PMOXA) 삼중 블록공중합체는 비대칭 소포로 자가조립 된다.⁸ 여기에서 PEO 외부 표면과 PMOXA의 내부 표면은 비대칭 폴리머솜을 구성하고, 서로 다른 작용기를 접합함으로써, 원하는 분자에 대한 특이적 표적화를 내 외부 표면에 각각 가능하게 한다. 또한 삼중 블록공중합체로 이루어진 소포 막구조의 비대칭성을 활용하여 기능성 막형 단백질인 광 활성화 양성자 펌프 프로테오로돕신(the light-activated proton pump proteorhodopsin, PR)이 통합되기도 하였다(그림 1).⁹

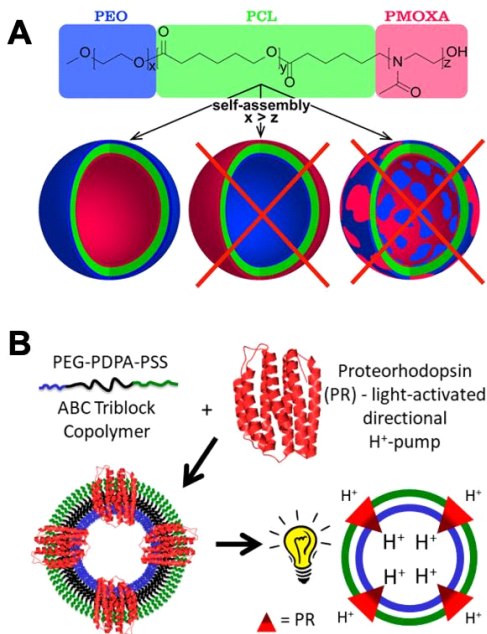


그림 1. (A) 삼중 블록공중합체의 자가조립을 이용한 비대칭 소포 막 구조.⁸ (B) 광 활성화 양성자 펌프 프로테오로돕신이 통합된 삼중 블록공중합체의 비대칭 소포 구조체.⁹

이처럼 합성 소포에 기능성 단백질을 통합하는 것은 인공 세포 플랫폼에서 단백질 동력, 특이적 결합 및 생화학적 유도 반응을 구현하기 위해 필수적이라 할 수 있다. 지금까지의 많은 연구를 통해 지질로 이루어진 리포솜에서 막을 투과하는 단백질의 삽입은 기계적, 화학적, 물리적인 방법으로 진행되어 왔다.¹⁰⁻¹² 또한, 앞서 살펴본 바와 같이, 폴리머솜에서는 캡슐화 및 비대칭 소포를 활용한 자가조립을 이용하여 단백질의 융합을 이루어 왔다. 최근에는, 단백질과 합성 고분자의 화학적 가교를 통해 단백질-고분자의 하이브리드 형태로 만들어진 프로티노솜(proteinosome)이라는 개념도 만들어져 개발되고 있다.¹³

그럼에도 불구하고, 이러한 단백질 삽입 과정에서 일어나는 막 파열 및 단백질 활성의 감소, 합성 소포 엔지니어링 측면에서 삽입되는 단백질 방향 및 비율을 제어하는데 있어서의 어려움은 앞으로 해결해야 할 여전히 중요한 과제로 남아 있다.¹⁴⁻¹⁷ 특히, 합성 고분자 기반의 막구조는 높은 강성과 낮은 유동성으로 인해 때때로 제한적인 생물학적 기능성을 나타낼 수 있다는 한계점을 지니고 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 최근 연구자들은 지질과의 하이브리드 막 융합 또는 지질보다는 안정하면서 합성 고분자보다는 더 유동적인 폴리펩티드를 활용한 소포들이 개발되고 있다. 이는 다음 본문에서 다루기로 한다.

2.2 인공세포 플랫폼을 향한 폴리펩티드 기반의 소포

최근 여러 연구 결과, 재조합 단백질인 올레오신(oleosin),¹⁸ 엘라스틴 유사 폴리펩티드(ELP)^{19,20} 및 콜라겐 유사 폴리펩티드(CLP)²¹와 같이 합리적으로 설계된 양친성의 재조합 단백질로부터 합성 소포 자가조립을 유도할 수 있음이 입증되고 있다. 재조합 단백질 기술은 특정 활성을 부여하기 위해 아미노산의 길이와 서열을 정밀하게 설계 제어하여 무한한 기능성의 단백질 분자를 만들 수 있는 강력한 도구이다. ELP는 다섯개의 VPGXG 아미노산이 규칙적으로 반복되는 구조로 구성되며, 여기서 X는 프롤린(P)을 제외한 모든 아미노산이 될 수 있고, 그 삽입되는 아미노산의 친수성 또는 전하에 따라 양친성을 설계할 수 있다.^{22,23} 또한 이는 낮은 임계 용액 온도(lower critical solution temperature) 거동으로 인해 가용성에서 불용성으로의 온도 반응성 역상 전이 현상을 보인다. 따라서 다양한 응용분야를 위한 온도 반응성 물질의 설계가 가능하다.²⁴⁻²⁷ 예를 들어 Vogele 그룹에서는 ELP를 활용한 펩티도솜(peptidosome)을 개발했다. 양친성 재조합 ELP를 활용하여 폴리펩티드 기반 거대 소포의 형성을 보여주었으며,²⁰ 이러한 펩티도솜 내부에 핵산 및 리보솜을 캡슐화 함으로써 무세포 유전자 전사 및 단백질 생성의 기능성을 보여주기도 하였다.²⁸

재조합 단백질을 소포 구성의 빌딩블록으로 활용할 때

가질 수 있는 장점은 단백질의 기능성뿐만 아니라, 정교한 분자량의 제어가 가능하다는 것이다. 예를 들어 친수성-소수성-친수성의 삼중 블록공중합체와 유사한 구조를 갖는 올레오신 단백질을 활용하면, 자가조립된 폴리펩티드의 막 두께가 재조합 단백질의 친수성-소수성 블록 길이의 비율 및 전체 분자량에 의해 보다 정교하게 조절될 수 있다. 이러한 소포 재조합 단백질로 만든 예시들은 인공 세포를 만들기 위한 재조합 단백질 기술의 높은 가능성을 시사한다.

앞서 살펴본 본질적으로 무질서한 폴리펩티드(intrinsically disordered polypeptide) 외에도, 고유의 3차원 구조로 접힌 구형 단백질은 촉매 작용,²⁹ 감지,³⁰ 또는 치료³⁰를 포함한 보다 고차원의 특정 생물학적 기능을 수행하는 데 중요한 역할을 한다. 따라서, 소포를 구성하는 데 있어 재조합 기술로 융합된 구형 단백질의 개발은 인공 세포 플랫폼에 센서, 촉매 등의 기능을 가능하게 할 것이다. 최근 들어 몇 개의 구형 단백질과 직접 결합된 ELP 라이브러리를 구축하거나,³¹ click chemistry를 통해 만들어진 지질/ELP 하이브리드 물질을 활용하여 합성 소포를 만들려는 노력이 활발해지고 있다.³² 하지만, 구형 융합 단백질(globular fusion proteins)로부터 고도로 조정 가능한 소포로의 자가조립을 유도하는 과정은 복잡한 단백질-단백질, 단백질-환경요인 사이의 상호작용으로 인해 아직 초기단계에 머물고 있다. 다음 장에서 보다 자세히 구형 단백질을 포함하거나 막구성으로 이루어진 인공세포 플랫폼 개발에 대한 현황을 살펴해보도록 하자.

2.3 합성 소포의 생물학적 기능을 구현시킬 수 있는 잠재적 소재로서의 구형 단백질의 역할

앞서 언급한 바와 같이, 단백질의 고유한 기능은 다른 합성 고분자 또는 지질과 같은 짧은 생물학적 분자를 사용하여 모방하기 어렵다. 단백질은 일반적으로 잠재적인 바이오 거대분자로 생각되지만, 물질로써 활용할 때 국소 농도 및 회수율이 낮고 단기 반감기가 짧은 순환 역학의 측면에서 어려움을 가진다.³³ 따라서 합성 소포의 내부에 기능성 구형 단백질을 캡슐화 하는 많은 연구가 수행되었고, 지금까지 나노의학, 생명공학 및 재료공학 분야에서 새로운 약물 전달 매개체로써 역할을 수행해 왔다.³³ 이제 우리는 세포 통신, 효소 및 대사 작용, 생성물 흡수 및 방출과 같은 살아있는 세포의 중요한 기능을 세포 표면 감지 수용체 단백질 및 이온 채널, 효소와 같은 단백질을 통해 합성 소포에서 구현하고자 한다.

소포 막에 구형 단백질을 포함하는 인공세포의 개발 노력은 2013년 Mann 그룹에 의해 처음 제안되었다. 아민기가 치환된 소 혈청 단백질(BSA-NH₂)과 PNIPAAm을 이용하여 단백질-고분자 결합물질을 만들고 Pickering 에멀전을 이용하여 형성된 막을 가교한 후 오일을 제거하면, BSA가 삽입된

proteinosome이 형성되는 것이다. 이 단백질, 고분자의 이중 거대분자로 만들어진 소포의 형태는 PNIPAAm의 온도 반응성을 이용하여, 게스트 분자의 캡슐화, 선택적 막 투과성 및 프로그래밍이 가능한 재생을 위한 다양한 인공세포 모델로서 최근 활발히 제안되고 있다.³⁴⁻³⁷ 비슷한 방법으로 BSA가 생분해성 고분자인 PCL에 결합된 형태로 이루어진 인공 세포를 개발하려는 노력도 진행되고 있다.³⁸

그럼에도 불구하고, BSA를 다른 합성고분자 단위에 화학적으로 결합하면, 소포막에서 구형 단백질의 고유한 생물학적 기능을 방해할 수 있다. 이는 부분적으로 BSA와 고분자의 화학적 가교반응을 유도하는 동안 유기 용매를 사용하거나, 두 거대분자를 결합하는 데 있어 큰 분자량과 관련하는 입체 장애(steric hindrance) 등이 단백질의 원활한 구조적 배열을 방해하기 때문이다.³⁹ 또한 이중 바이오 거대 분자의 자가조립에 있어서 복잡한 열역학 및 동역학을 이해 하는 것도 해결해야 하는 과제로 꼽힌다.⁴⁰ 그러므로 보다 다양한 구형 단백질을 효율적으로 삽입, 제어할 수 있는 형태의 인공세포의 개발이 필요하다.

앞서 우리는 재조합 융합 단백질을 이용한 폴리펩티드로 구성된 인공세포의 설계 및 생성에 관한 최근의 노력들을 살펴왔다. 이러한 연구들은 기능적인 3차원의 구조를 가진 단백질을 포함하는 인공세포를 구현하기 위한 새로운 유전자 재조합 단백질의 개발을 촉진시켰다.

Champion 그룹은 류신 지퍼(leucine zipper) 단백질을 기반으로 한 다목적의 재조합 단백질 빌딩 블록을 설계했다(그림 2A).⁴¹ 류신 지퍼 쌍의 높은 결합 친화도를 기반으로 하여, 글루탐산이 풍부한 한쪽 지퍼에는 구형 단백질을 융합 하고, 상대적으로 아르기닌이 풍부한 다른 지퍼에는 ELP를 융합하면, 구형 단백질-류신지퍼-ELP가 통합된 삼중 블록 공중합체 형태의 단백질 구조가 만들어진다. 이는 양친성 단백질의 다용도 모듈식 설계를 용이하게 할 수 있는 것이다.⁴²⁻⁴⁴

우리는 이러한 새로운 단백질 빌딩블록을 기반으로, ELP의 온도 반응성에 의한 수용액 상에서 소포 구조로 조립하는 과정에 관한 메커니즘을 규명한 바가 있다(그림 2B). ELP의 임계점 온도보다 낮은 온도에서 형성된 수용액에서 녹을 수 있는 구형 단백질-지퍼-ELP의 단백질 콤플렉스는 온도를 높임에 따라, ELP의 역상 전이 형상으로 인해 양친성을 띠게 되고, metastable한 코아세르베이트를 거쳐 안정한 소포로의 자가조립이 이루어진다.⁴³

이러한 재조합 융합 단백질의 자가조립에 관한 이해는 분자 패킹 매개변수(molecular packing parameter)를 조정 하여 최종적으로 만들어지는 소포의 크기 및 막구조를 제어 하는 기본적인 정보를 제공하였다. 또한 이 재조합 단백질의 코아세르베이트에서 소포로의 전이에 대한 깊은 이해는

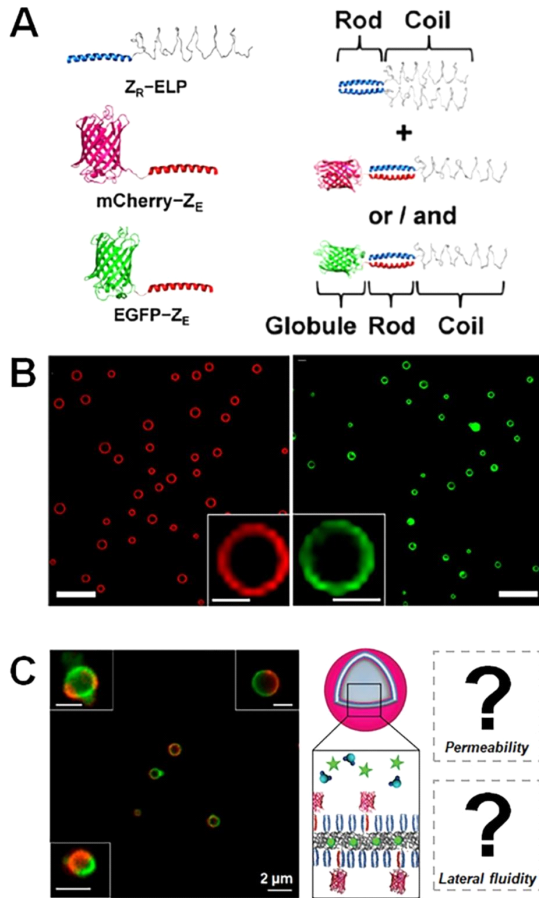


그림 2. (A) 수용액에서 소포구조로 자가조립 할 수 있는 globule-ZE 및 ZR-ELP 융합단백질의 모식도, (B) mCherry 혹은 eGFP로 만들어진 소포 형광현미경 사진, (C) 이중단백질로 구성된 소포 및 투과성 및 유동성에 관한 이해도에 대한 고찰.⁴⁵

서로 다른 위치에 서로 다른 구형 단백질을 나타나게 하는 이중 단백질 소포를 만들 수 있는 엔지니어링 전략의 개발을 가능하게 했다(그림 2C).⁴⁴

이 작업은 반응성, 투과성, 측면 유동성과 같은 막특성을 원하는 위치에 원하는 단백질을 제어된 비율로 삽입함으로써 얻을 수 있다는 이중 단백질을 포함한 비대칭 인공세포를 개발하려는 향후 연구에 영감을 줄 수 있다.⁴⁵

궁극적으로, 보다 다양한 구형 단백질을 류신 지퍼에 재조합 기술을 통해 융합하고 ELP와의 양친성 설계를 통해 소포 구조로의 자가조립을 피함으로써 여러가지 단백질의 기능을 소포막에 통합하려는 노력을 진행하고 있다. 이는 이러한 플랫폼이 추후 단백질의 기능성을 심분 활용할 수 있는 새로운 인공세포로서 매력적인 후보가 될 수 있음을 시사한다.

3. 결론

본 기고에서는 살아있는 세포의 구조, 구성 및 필수 생물학적 기능을 모방할 수 있는 인공 세포 개발을 위한 합성 소포

엔지니어링에 대한 최근 연구들을 요약했다. 특히, 기존의 전통적인 합성 소포를 통해 실현하기 어려운 다양한 기능 구성요소의 개별 속성을 결합하여 달성한 이중 소포에 대해서도 논의하였다. 두 개 이상의 바이오 고분자로 이루어진 이중 소포의 고도로 제어 가능한 구조 및 기능은 인공세포 뿐만 아니라, 스마트 약물 전달 시스템, 바이오 센싱, 생체 내 이미징 등과 같은 다양한 응용을 가능하게 할 것이라 생각한다.

참고문헌

1. B. M. Discher, Y.-Y. Won, D. S. Ege, J. C. Lee, F. S. Bates, D. E. Discher, and D. A. Hammer, *Science*, **284**, 1143 (1999).
2. R. P. Brinkhuis, F. P. Rutjes, and J. C. van Hest, *Polym. Chem.*, **2**, 1449 (2011).
3. R. J. Peters, M. Marguet, S. Marais, M. W. Fraaije, J. C. van Hest, and S. Lecommandoux, *Angew. Chem.*, **126**, 150 (2014).
4. H. Lomas, I. Canton, S. MacNeil, J. Du, S. P. Armes, A. J. Ryan, A. L. Lewis, and G. Battaglia, *Adv. Mater.*, **19**, 4238 (2007).
5. W. Chen, F. Meng, R. Cheng, and Z. Zhong, *J. Control. Release*, **142**, 40 (2010).
6. H.-J. Choi and C. D. Montemagno, *Nano Lett.*, **5**, 2538 (2005).
7. E. Konishcheva, D. Daubian, J. Gaitzsch, and W. Meier, *Helv. Chim. Acta*, **101**, e1700287 (2018).
8. E. V. Konishcheva, U. E. Zhumaev, and W. P. Meier, *Macromolecules*, **50**, 1512 (2017).
9. J. Gaitzsch, S. Hirschi, S. Freimann, D. Fotiadis, and W. Meier, *Nano Lett.*, **19**, 2503 (2019).
10. J. S. Hansen, J. R. Thompson, C. Hélix-Nielsen, and N. Malmstadt, *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 17294 (2013).
11. J.-L. Rigaud and D. Lévy, *Methods Enzymol.*, **372**, 65 (2003).
12. M. Dezi, A. Di Cicco, P. Bassereau, and D. Lévy, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **110**, 7276 (2013).
13. X. Huang, M. Li, D. C. Green, D. S. Williams, A. J. Patil, and S. Mann, *Nat. Commun.*, **4**, 1 (2013).
14. S. Jeong, H. T. Nguyen, C. H. Kim, M. N. Ly, and K. Shin, *Adv. Funct. Mater.*, **30**, 1907182 (2020).
15. H.-H. Shen, T. Lithgow, and L. Martin, *Int. J. Mol. Sci.*, **14**, 1589 (2013).
16. S. Khan, M. Li, S. P. Muench, L. J. Jeuken, and P. A. Beales, *Chem. Commun.*, **52**, 11020 (2016).
17. C. Schmitt, A. H. Lippert, N. Bonakdar, V. Sandoghdar, and L. M. Voll, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **4**, 19 (2016).
18. K. B. Vargo, R. Parthasarathy, and D. A. Hammer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **109**, 11657 (2012).
19. B. Sharma, Y. Ma, A. Ferguson, and A. Liu, *Chem. Commun.*, **57**, 13202 (2021).
20. K. Voegelé, T. Frank, L. Gasser, M. A. Goetzfried, M. W. Hackl, S. A. Sieber, F. C. Simmel, and T. Pirzer, *Nat. Commun.*, **9**, 1 (2018).

- 1 (2018).
21. L. C. Dunshee, M. O. Sullivan, and K. L. Kiick, *Bioeng. Transl. Med.*, **5**, e10145 (2020).
22. W. Hassouneh, T. Christensen, and A. Chilkoti, *Curr. Protoc. Protein Sci.*, **61**, 6.11.1 (2010).
23. D. W. Urry, D. C. Gowda, T. M. Parker, C.-H. Luan, M. C. Reid, C. M. Harris, A. Pattanaik, and R. D. Harris, *Biopolymers*, **32**, 1243 (1992).
24. D. E. Meyer and A. Chilkoti, *Nat. Biotechnol.*, **17**, 1112 (1999).
25. M. R. Dreher, A. J. Simnick, K. Fischer, R. J. Smith, A. Patel, M. Schmidt, and A. Chilkoti, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 687 (2008).
26. T. Kowalczyk, K. Hnatuszko-Konka, A. Gerszberg, and A. K. Kononowicz, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **30**, 2141 (2014).
27. E. Georgilis, M. Abdelghani, J. Pille, E. Aydinlioglu, J. C. van Hest, S. Lecommandoux, and E. Garanger, *Int. J. Pharm.*, **586**, 119537 (2020).
28. T. Frank, D. Kilian Vogele, A. Dupin, F. C. Simmel, and T. Pirzer, *Chem.-Eur. J.*, **26**, 17356 (2020).
29. A. A. Caparco, B. R. Bommarius, A. S. Bommarius, and J. A. Champion, *Biotechnol. Bioeng.*, **117**, 1979 (2020).
30. K. A. Selz, T. I. Samoylova, A. M. Samoylov, V. J. Vodyanoy, and A. J. Mandell, *Biopolymers*, **85**, 38 (2007).
31. A. Schreiber, M. C. Huber, and S. M. Schiller, *Langmuir*, **35**, 9593 (2019).
32. V. Ibrahimova, H. Zhao, E. Ibarboure, E. Garanger, and S. Lecommandoux, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **133**, 15163 (2021).
33. D. A. Christian, S. Cai, D. M. Bowen, Y. Kim, J. D. Pajerowski, and D. E. Discher, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **71**, 463 (2009).
34. L. Wang, P. Wen, X. Liu, Y. Zhou, M. Li, Y. Huang, L. Geng, S. Mann, and X. Huang, *Chem. Commun.*, **53**, 8537 (2017).
35. X. Huang, A. J. Patil, M. Li, and S. Mann, *J. Am. Chem. Soc.*, **136**, 9225 (2014).
36. X. Huang, M. Li, and S. Mann, *Chem. Commun.*, **50**, 6278 (2014).
37. C. Zhao, M. Zhu, Y. Fang, X. Liu, L. Wang, D. Chen, and X. Huang, *Mater. Horiz.*, **7**, 157 (2020).
38. Z. Liu, C. Dong, X. Wang, H. Wang, W. Li, J. Tan, and J. Chang, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **6**, 2393 (2014).
39. J. Morgenstern, G. Gil Alvaradejo, N. Bluthardt, A. Beloqui, G. Delaittre, and J. r. Hubbuch, *Biomacromolecules*, **19**, 4250 (2018).
40. C. E. Mills, Z. Michaud, and B. D. Olsen, *Biomacromolecules*, **19**, 2517 (2018).
41. W. M. Park and J. A. Champion, *J. Am. Chem. Soc.*, **136**, 17906 (2014).
42. Y. Jang and J. A. Champion, *Acc. Chem. Res.*, **49**, 2188 (2016).
43. Y. Jang, W. T. Choi, W. T. Heller, Z. Ke, E. R. Wright, and J. A. Champion, *Small*, **13**, 1700399 (2017).
44. Y. Jang, M.-C. Hsieh, D. Dautel, S. Guo, M. A. Grover, and J. A. Champion, *Biomacromolecules*, **20**, 3494 (2019).
45. J. Shin, B. D. Cole, T. Shan, and Y. Jang, *Biomacromolecules*, **23**, 1505 (2022).