

온도 반응형 수상 2상계를 이용한 이중 구획화 시스템

김규한 | 서울과학기술대학교 화공생명공학과 (E-mail: kyuhankim@seoultech.ac.kr)

본 연구는 폴리(N-아이소프로필아크릴아마이드)(PNIPAM)와 덱스트란(dextran)으로 구성된 열응답형 수상 2상계(Thermoresponsive Aqueous Two-Phase System, TR-ATPS)를 이용해 온도 변화만으로 구획 구조를 제어하는 새로운 방식을 제시한다. 이러한 시스템은 단백질, RNA, 효소 등의 선택적 분배와 반응 효율 향상을 가능하게 하여, 외부 자극 없이 작동하는 수계 기반 생체모사 구획화 플랫폼으로 기능한다.

최 근 수용성 고분자 혼합물에서 형성되는 수상 2상계(aqueous two-phase system, ATPS)가 세포 내 액-액 상분리(liquid-liquid phase separation, LLPS) 현상을 모사할 수 있는 인공 모델로 주목받고 있다. ATPS는 서로 다른 친수성과 점도를 가진 고분자들이 수용액 내에서 상분리를 일으켜 두 개의 수상 상을 형성하는 체계로, 오랫동안 단백질과 효소의 분리·정제에 활용되어 왔다. 그러나 최근에는 이러한 상분리 원리를 활용하여 세포 내 반응 환경을 인공적으로 구현하거나, 분자 수준에서의 구획화(compartmentalization)와 반응 제어를 가능하게 하는 플랫폼으로 그 개념이 확장되고 있다. 일반적으로 ATPS는 폴리에틸렌글리콜(PEG)과 덱스트란(dextran) 같은 친수성 고분자 쌍으로 구성되며, 이들은 각기 다른 사슬 유연성·친수성·점도를 지닌다. 이러한 물리화학적 차이로 인해 자발적인 상분리 계면이 형성되고, 계면을 기준으로 단백질, 효소, 나노입자 등이 선택적으로 분배되는 selective partitioning 현상이 일어난다. 그 결과 각 상의 고분자 네트워크와 상호작용하는 분자들이 특정 영역으로 농축되거나 배제되어, 미세한 수준의 분자 패턴과 구조적 구획이 자연스럽게 형성된다.

본 연구에서는 이러한 ATPS의 원리를 한 단계 발전시켜, 온도 자극만으로 구획 구조를 형성하고 해제할 수 있는 열응답형 ATPS(thermoresponsive ATPS, TR-ATPS)를 개발하였다. 연구진은 PNIPAM(폴리(N-아이소프로필아크릴아마이드))과 덱스트란의 혼합계를 이용하여, 온도 변화에 따라 자발적으로 1차와 2차 구획이 연속적으로 형성되는 새로운 수계 시스템을 제시하였다. 상온(약 25 °C)에서는 PNIPAM이 물과 친화적으로 작용하여 DEX상으로부터 분리된 미세한 액적(1차 구획)을 형성하지만, 온도가 LCST(lower critical solution temperature, 약 35 °C) 이상으로 상승하면 PNIPAM 사슬이 소수성 globule 상태로 전이되면서 계면에서 나노~마이크로미터 크기의 2차 구획이 다층적으로 생성된다. 이러한 구조 변화는 외부 에너지나 용매 없이 완전히 가역적으로 일어나며, 단지 온도만으로 구획의 생성과 제거를 조절할 수 있다. 특히 PNIPAM-DEX 간의 수소결합 재배열이 이 구획화의 주요 메커니즘으로 밝혀졌으며, 이를 통해 단백질, RNA, 나노입자 등의 선택적 분배를 정밀하게 조절할 수 있고, 효소 반응의 효율 또한 구획 내에서 크게 향상된다. 결과적으로 PNIPAM/DEX 기반 TR-ATPS는 기존의 정적 ATPS를 능동적으로 제어 가능한 가역형 수계 구획 플랫폼으로 확장한 사례다. 더 나아가 생체 내 상분리와 유사한 구획화 현상을 단순하고 친환경적인 방법으로 구현한 것이 매우 큰 장점이라 할 수 있다. 이러한 접근은 세포 내 반응 구획화 연구뿐 아니라 효소 반응 제어, 생체재료 설계, 인공 세포 시스템 구축 등 다양한 응용 가능성을 보여준다.

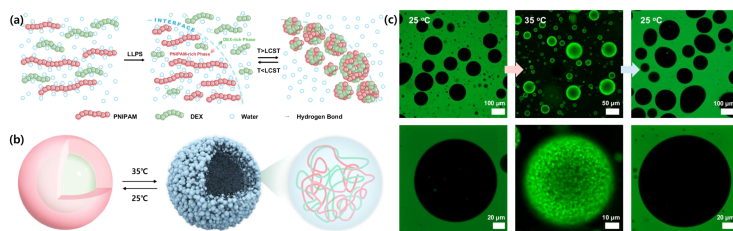


그림 1. (a) PNIPAM/DEX 기반 열응답형 수상 2상계(TR-ATPS)의 상분리 개념도. 25 °C에서는 PNIPAM상이 DEX 상 내 액적으로 존재하며, 35 °C 이상에서는 PNIPAM의 소수성 전이에 따라 액적이 수축하고 계면에 미세한 2차 구획이 형성됨. (b) 오일상 내 PNIPAM/DEX 이중 에멀전의 온도에 따른 구조 변화. (c) 25 °C 및 35 °C에서 형광 표지 RNA의 현미경 관찰을 통해 RNA 저장·방출의 가역성 확인.

본 연구결과는 *Nature Communications*에 "Thermo-responsive aqueous two-phase system for two-level compartmentalization"의 제목으로 2024년 8월에 게재되었다 (DOI: 10.1038/s41467-024-51043-z).