

'공공' 언 세포, 건강하게 복원하는 나노입자 형태의 새로운 동결보존제 개발

- 얼음과 물 계면 제어로 얼린 세포를 건강하게 복원하는 나노입자 발굴
- 신소재공학부 이은지 교수팀, 화학 분야 국제 저명학술지 JACS Au 표지논문 선정



▲ (왼쪽부터) 전나영 석사과정생, 이은지 교수, 최일형 석박통합과정생

국내 연구진이 극저온으로 세포를 동결 보관했을 때 기존 화학보존제 보다 우수한 복원능력을 보이고 고농도 사용 시에도 독성을 보이지 않는, 대량생산이 가능한 나노입자 형태의 동결보존제를 개발했다.

기존의 화학적 동결보존제인 다이메틸설폭사이드(DMSO) 대비 매우 적은 양 (1/2200)을 사용했을 때 그에 상응하는 세포회수율(평균 70%)과 세포 증식 효능(48 시간 안에 4배)을 보였고, 우수한 생체적합성으로 **희귀 세포 보관, 장기 이식 등 다양한 분야에 활용될 수 있을 것으로 기대된다.**

* **세포 회수율:** 얼린 세포 전체 개수 대비 해동 시 살아 있는 세포 수의 비율

* **세포 증식 효능:** 해동한 세포들 가운데 살아있는 세포가 가진 번식 능력의 정도

세포 동결 시 얼음 결정에 의한 세포의 손상을 최소화하기 위해 보존액을 사용하여 보관하는데, 최근 개인 맞춤형 의료기술에 대한 관심이 높아지면서 줄기세포, 제대혈, 생식세포, 세포치료제는 물론 세포의 집합체인 장기 등 고부가가치 생체시료 동결 보존 기술에 대한 관심이 커지고 있다.

다이메틸설폭사이드, 인산나트륨, 글리세롤 등 기존의 동결보존제는 높은 농도에서 세포 독성이 있어 세포를 파괴하거나, 냉동-해동을 반복할 경우 세포 복원 시 세포 막을 손상시키고 유전자 변형을 일으키는 등 치명적인 단점이 있다.

지스트(광주과학기술원, 총장 김기선) 신소재공학부 이은지 교수 연구팀은 세포를 냉동-해동할 때 발생하는 결빙 현상을 효과적으로 제어할 수 있는 결빙방지 단백질 유래 펩타이드가 결합된 나노 크기의 금속유기골격체 입자를 개발해, 기존 동결보존제보다 우수한 세포 복원력을 가진 보존제 합성 원천 기술을 확보했다.

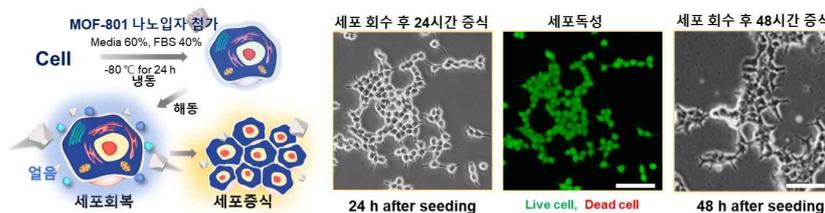
* **결빙:** 물의 온도가 충분히 낮아 액체 상태의 물이 고체 상태로 상이 변하는 과정

* **금속유기골격체(metal-organic framework, MOF):** 금속이온이나 금속을 포함한 뭉치가 유기 리간드(ligand)로 연결된 다공성 물질로 배위고분자의 일종

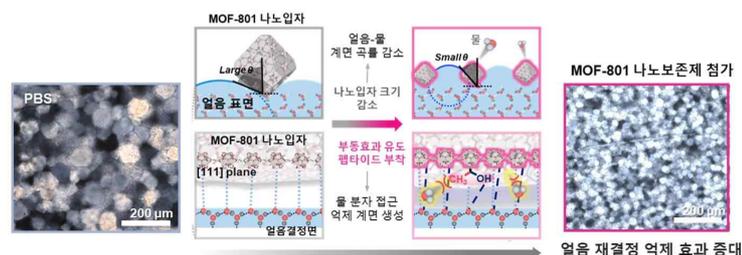
연구팀은 얼음-물 계면의 불안정성 원리와 얼음 표면의 화학결합 자리에 주목했다. 얼음 결정 격자와 같은 골격체 격자 크기를 가지고 있으며 우수한 생체적합성을 가지는 지르코늄 금속유기골격체 나노입자를 합성하고, 결빙방지 단백질 유래 펩타이드를 나노입자 표면에 화학반응을 통해 결합시켜 세 종류(10/30/250nm)의 나노입자를 제조했다.

연구팀이 개발한 나노입자를 물에 첨가 후 냉동-해동 시 얼음의 재결정현상을 관찰한 결과, 나노입자 표면에 규칙적으로 배열된 결빙방지 단백질 유래 펩타이드는 얼음 표면과의 견고한 화학결합을 유도하여 물의 진입을 효과적으로 막고, 작은 크기의 나노입자는 얼음-물 계면의 미세곡률을 증대시켜 어는 점을 낮추고 얼음의 성장을 매우 효과적으로 억제함을 확인했다.

냉동에 의해 형성된 작은 얼음 결정이 해동 시 더 큰 얼음 결정으로 성장하는 것을 얼음재결정화라고 하는데, 연구팀이 개발한 나노입자는 얼음 표면에 효과적으로 결합하여 우수한 결빙제어 효과를 보임으로써 동결 시 세포를 효과적으로 보존하고 해동 시 건강하게 복원했다.



얼음-물 계면 제어 금속-유기골격체(MOF) 나노입자의 세포동결보존



▲ 높은 생체적합성, 세포회복률을 가지며 대량생산 가능한 나노크기의 금속유기골격체 동결 보존제가 구동 원리 및 적용 분야. 결빙방지 단백질을 모방한 펩타이드로 개질화한 나노입자 동결 보존제는 상용 화학보존제에 상응하는 높은 세포회복률을 보임.

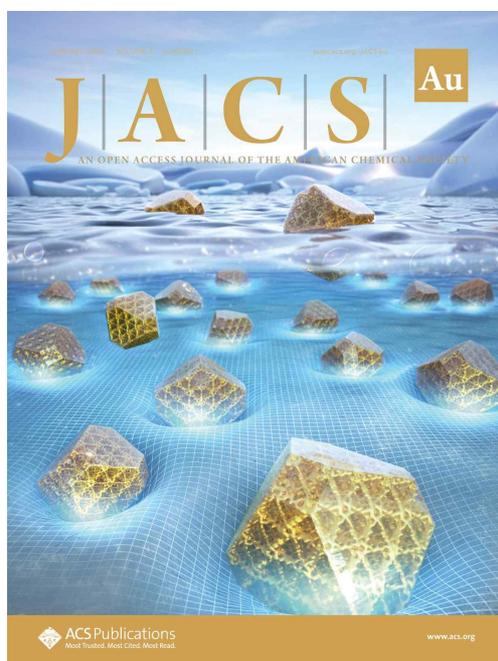
이 나노입자는 기존 동결보존제와 비교 시 높은 농도에서도 우수한 생체적합성을 보였으며, 극미량(50 ug/mL)을 사용했음에도 불구하고 신장세포, 암세포, 줄기세포 등 다양한 세포주에 적용했을 때 기존동결보존제와 상응하거나 높은 세포 회수율, 회수된 세포의 증식 효능을 확인할 수 있었다.

이은지 교수는 “이번 연구는 우수한 생체적합성을 담보로 대량생산이 가능해 경제적인 동결 나노보존제의 개발 가능성을 제시했다는 점에서 의의가 크다”면서, “특히 기존 화학보존제의 치명적인 단점을 극복하고 높은 농도에서도 독성이 거의 없으며 극소량을 사용해도 기존 보존제에 상응하는 결과를 기대할 수 있어 희귀 세포 보관, 장기 이식 등 관련 생물의학 분야에 큰 파급효과를 가져올 것으로 기대한다”고 말했다.

연구를 주도하고 잇따라 논문 및 특허 성과를 도출한 전나영 석사과정생은 “얼음의 화학적 물리적 성질에 대한 이해를 바탕으로 구체적인 실험을 설계했다”며 “공동연구팀과의 적극적인 교류를 통해 융합연구의 중요성을 깨닫게 되었으며, 고부가가치를 가진 동결보존제 개발과 상용화를 위해 보다 심도 있는 연구에 매진하고 싶다”고 밝혔다.

지스트 이은지 교수, 한국재료연구원 이희정 박사, 울산대학교 의과대학 이창환 교수 공동연구팀이 수행한 이번 연구는 한국연구재단의 개인기초연구사업(중견), 미래소재디스커버리사업, 지스트 실용화사업의 지원을 받아 수행되었으며, 연구 성과는 미국 화학회(ACS)가 발행하는 국제학술지 '미국화학회 골드지(JACS Au)' 표지논문으로 2023년 1월 23일(화) 온라인 게재됐다.

또한, 결빙방지 단백질 유래 나노보존제의 결빙제어능 평가 플랫폼을 개발해 2022년 10월 4일 미국화학회가 발행하는 국제학술지 ACS Applied Nano Materials에 발표하였고, 2022년 미국 및 일본에 특허 등록되었다.



논문의 주요 내용

1. 논문명, 저자정보

[논문1]

- 저널명 : JACS Au
- 논문명 : Microcurvature Controllable Metal–Organic Framework Nanoagents Capable of Ice-Lattice Matching for Cellular Cryopreservation
- 저자 정보 : 전나영 석사과정(제1저자, 지스트), 정인호 연구원(공저자, 울산대학교), 조은영 연구원(공저자, 한국재료연구원), 최일형 통합과정(공저자, 지스트), 이지연 연구원(공저자, 지스트), 한은희(공저자, 한국기초과학지원연구원), 이희정(공동교신저자, 한국재료연구원), 이창환(공동교신저자, 울산대학교), 이은지(교신저자, 지스트)

[논문2]

- 저널명 : ACS Applied Nano Materials (IF: 5.64 2022 기준)
- 논문명 : Gold Nanoparticle-Tethered Peptide Nanofibrils for Monitoring Ice Recrystallization Inhibition: Implications for Cryopreservation
- 저자 정보 : 전나영 석사과정(제1저자, 지스트), 최일형(공동제1저자, 지스트), 이창환(공저자, 울산대학교), 이은지(교신저자, 지스트)