

## 인공세포 개발을 위한 상향식 합성생물학

조성민<sup>†</sup>

부산대학교 생명자원과학대학 바이오소재학과  
50463 경상남도 밀양시 삼랑진읍 삼랑진로 1268-50  
(2024년 6월 3일 접수, 2024년 7월 11일 수정본 접수, 2024년 7월 11일 채택)

## Bottom-up Synthetic Approach to Develop Artificial Cells

Seong-Min Jo<sup>†</sup>

Department of Biomaterial Science, Pusan National University,  
1268-50, Samrangjin-ro, Samrangjin-eup, Miryang-si, Gyeongnam, 50463, Korea  
(Received 3 June 2024; Received in revised from 11 July 2024; Accepted 11 July 2024)

### 요 약

세포는 40억년전에 처음 탄생하였으며, 오랜 기간동안 진화하며 발전해온 우수한 시스템이다. 상향식 합성생물학(bottom-up synthetic biology)은 40억년전으로 돌아가 세포를 기초부터 다시 설계하는 접근법으로 “인공세포(artificial cell)”를 개발하는 연구분야이다. 이렇게 개발된 인공세포는 비록 완벽한 세포는 아니지만 세포의 중요한 특징들을 보유한 인공적인 세포 유사(cell mimicry) 시스템이다. 인공세포를 설계함으로써 이 분야의 연구자들은 기존의 세포생물학과는 다른 접근법으로 세포의 체계와 근원을 탐구하고, 나아가서 살아있는 세포의 이용을 대체하고자 하는 목표를 가진다. 본 총설에서는 최근 활발히 연구되고 있는 캡슐 및 생물촉매 기반의 인공세포에 대한 개념 및 이 분야의 최신 연구들을 소개하고자 한다.

**Abstract** – Cells first emerged 4 billion years ago and have evolved over a long period into an excellent system. Bottom-up synthetic biology is a research field that aims to develop “artificial cells” by returning to 4 billion years ago and redesigning cells from scratch. Although these artificial cells are not perfect, they are artificial cell mimicry systems that possess important characteristics of living cells. By designing the artificial cells, researchers in this field aim to explore the organization and the origins of cells from a different approach than traditional cell biology and ultimately seek to replace the use of living cells. This review aims to introduce the concepts and recent research in capsule and biocatalyst-based artificial cells, which have been actively studied recently.

**Key words:** Artificial cells, Confinement, Biocatalysis, Metabolism, Synthetic biology

### 1. 서 론

세포는 생명체의 가장 기본적인 구성요소이다. 수 마이크로 크기의 세포공간에는 많은 생명현상들이 담겨 있으며, 이런 복잡한 생명현상들을 효율적으로 운영하기 위한 물리적 체계가 구축되어 있다. 지구상에 원시세포(proto cells)가 처음 등장한 시기는 지금으로부터 약 40-38억년전으로 추정되며[1], 수십 억년의 기간동안 진화하며 자신들의 시스템을 보완하고 발전시켜왔다. 이렇게 오랜 기간 진화해온 세포의 체계는 생화학적 측면에서 상당히 우수하기 때문에,

세포의 전체나 일부를 채용함으로써 학술 및 산업적인 측면으로 다양한 응용을 할 수 있다. 예를 들면, 세포배양을 통해 의약품을 생산하거나, 미생물 배양을 통해 유용한 물질을 대량으로 생산하는 기술은 산업적으로 매우 유용하다[2].

하지만 세포는 수 많은 생명현상을 가지고 있고 이를 유지하기 때문에, 특별한 목적으로 이용하기 위해서는 많은 비용과 노력이 필요로 한다. 세포는 외부자극이나 오염에 매우 취약한 존재여서, 온도나 pH 등이 바뀌거나, 다른 물질 또는 다른 종의 세포 유입에 의해 쉽게 생명현상을 잃거나 기능이 저하된다. 또한 세포의 생명을 유지하기 위해서는 비싼 영양분을 지속적으로 공급해주어야 하는데, 이런 방법은 경제적이지 않다. 뿐만 아니라, 세포의 짧은 수명은 오랜 기간 지속적인 세포의 이용을 어렵게 한다. 마지막으로, 세포는 수많은 생명현상을 동시에 활성화시키며 항상성을 유지하고 있기 때문에 원하는 특별한 현상만을 채용하기가 까다롭다. 따라서 좀

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed.

E-mail: seongmini@pusan.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

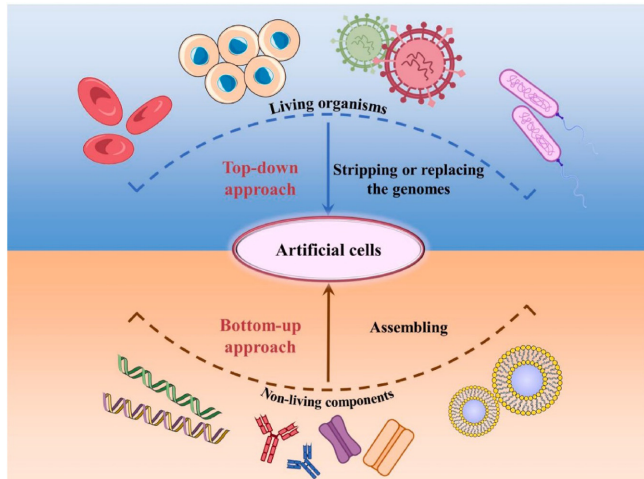


Fig. 1. Top-down synthetic biology and Bottom-up synthetic biology [2].

더 경제적이고 효율적으로 원하는 기능을 이용할 수 있는 “인공세포(artificial cells)”를 만들어낼 필요성이 있다. 특히 하향식 합성생물학(top-down synthetic biology)은 이를 위해 살아있는 세포를 개량하는 학문이지만, 위에서 언급한 살아있는 세포의 근본적인 문제를 해결할 수는 없다.

세포는 마이크로 수준의 작은 크기이고, 그 안에는 수많은 생체 분자들이 존재하지만, 각각으로 보자면 아주 낮은 농도로 존재하고 있으며, 이들의 활성은 매우 복잡하게 서로 얽혀 있다. 또한 이들 대부분은 외부 환경의 변화에 매우 민감하다. 이런 불리한 환경에도 불구하고, 세포는 매우 효율적으로 원하는 기능을 조절할 수 있으며, 외부 환경의 변화로부터 자신의 시스템 및 생명현상을 보호 하면서도, 필요한 대사산물을 수송해낸다. 이런 세포의 우수한 생명유지 시스템은 생명이 처음 기원하는 때부터 수십억 년 동안의 진화과정을 통해 현재의 세포 수준으로 발달되어 왔을 것이라 추정된다. 따라서 세포의 이런 시스템적 특징을 좀 더 깊게 이해하고, 나아가서 이를 모방하여 활용하는 세포 유사체(cell-mimics), 즉 인공세포를 레고(LEGO®) 조립처럼 근본부터 설계하는 “상향식 합성생물학(bottom-up synthetic biology)” 분야가 떠오르고 있다[3].

본 총설에서는 상향식 접근법으로 인공세포를 설계하는 연구에 대해 다루고자 한다(Fig. 1). 살아있는 세포가 가진 핵심적인 생명현상과 물리화학적 시스템을 첫 부분에 소개하고, 후에 이를 모방하는 인공세포 설계에 대한 최신 연구들을 소개하고자 한다. 인공세포 설계를 위해 가장 많이 사용되는 소재는 나노소재와 고분자, 생체촉매소재, 그리고 생체재료 등이 있으므로, 이들 소재를 이용하여 인공세포를 설계하는 연구들을 중점적으로 제시하고자 한다.

## 2. 본 론

### 2-1. 세포의 특징

살아있는 세포는 여러가지 독특한 특징들을 가지고 있다. 이러한 특징들은 세포가 생존을 하기 위한 필수적인 조건일수도 있고, 생물학적 효율성을 높이기 위한 조건일 수도 있다. 이 장에서는 상향식 합성생물학 분야에서 중요하게 다루는 세포의 대표적인 특징 6가지를 소개하고자 한다. 독립된 갇힌 공간, 구획화, 물질대사, 물질

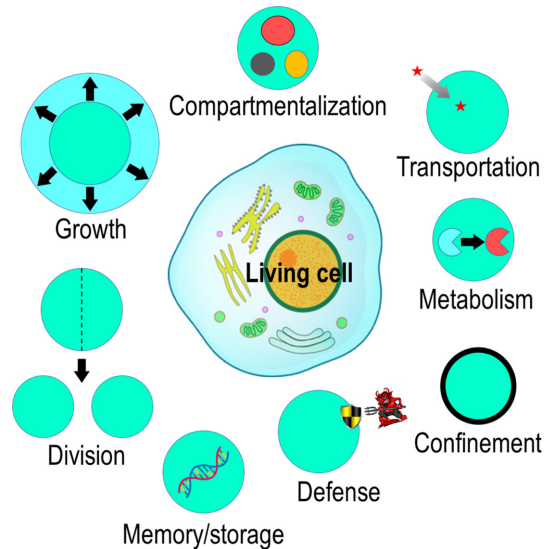


Fig. 2. Key features of the living cells.

수송, 분열과 성장, 그리고 방어체계는 세포의 중요한 특징이며, 이에 대해 인공세포 설계자들의 착안점을 설명하고자 한다(Fig. 2).

#### 2-1-1. 독립된 갇힌 공간(confinement)

살아있는 세포는 주변 환경과 구분되는 자신만의 독립적인 공간을 가졌다는 것이 가장 중요한 특징이다. 세포를 구성하는 여러 기관들과 물질들은 생명을 유지하기 위해 각자의 기능들을 가지고 있는데, 이런 구성물들을 외부환경으로부터 격리함으로써 기능 수행의 방해를 최소화하고, 나아가서 세포 자신이 기능을 조절 및 최적화하기 위해서는 독립된 갇힌 공간이 필수적인 것으로 여겨진다. 지구상에 처음 출현하였을 원시세포 역시 환경으로부터 독립된 공간을 처음 생성하면서 탄생 및 본격적인 진화를 해왔을 것으로 생각된다. 구 소련의 생화학자인 알렉산드로 오파린(Alexander Ivanovich Oparin)은 이런 독립된 공간의 기원으로 유기물의 미세집합체인 코아세르베이트(coacervates)를 제안하기도 했다[4]. 또한 독립된 공간은 생화학적 반응에 참여하는 생체촉매분자에게 극도로 제한된 작은 부피공간을 제공함으로써 농축효과(crowded effects) 일으켜 반응효율을 크게 향상시킬 수 있는 것으로 해석되고 있다[5].

#### 2-1-2. 구획화(compartmentalization)

세포의 내부공간은 단일 공간이 아니라 물리적으로 구분된 여러 개의 소기관(organelles)으로 나뉘어져 있다. 이런 체계를 구획화 혹은 다구획화(multi-compartmentalization)이라고 한다. 특히 이런 구획화는 고등한 세포인 진핵세포의 핵심적인 특징이다. 진핵세포의 소기관화는 단일 구획으로 구성된 원핵세포들이 한곳에 모여 공생(symbiosis)을 하던 것이 점점 진화하여 여러 소기관화가 되면서 하나의 진핵세포를 형성하였을 것으로 추정하고 있다[6]. 살아있는 세포는 매우 많은 생물학적 대사경로를 가지고 있는데, 이런 대사경로들을 물리적으로 분리함으로써 각 대사반응을 정교하게 조절하고 있다. 또한 이런 구획(소기관)들은 고립된 것이 아니라 서로 대사산물을 주고받는 연쇄반응망(cascade reaction networks)을 구성하여 서로 통신(communications)을 한다. 대표적인 세포 소기관의 연쇄반응은 중심원리(central dogma)이다. DNA가 전령 RNA

(mRNA)로 전사(transcription)하는 과정이 핵 내부에서 이루어지고, 전사체가 세포질 또는 조면소포체(rough endoplasmic reticulum; rough ER)의 리보솜(ribosomes)으로 이동하여 단백질로 번역(translation)되는 합성과정이 일어난다. 번역된 폴리펩티드는 골지체(golgi apparatus)로 이동하여 번역 후 수정(post-translational modification) 반응을 받게 된다.

### 2-1-3. 물질대사(metabolism)

세포의 가장 큰 특징 중 하나는 스스로 물질대사를 일으킨다는 것이며, 이는 “살아있음”과 “살아있지 않음”을 구분하는 중요한 기준이다. 살아있는 세포는 지속가능한 물질대사경로를 가지고 있으며, 이를 지속적으로 시행하고 스스로 조절한다. 세포의 독립된 공간 및 소기관에서는 어떤 분자를 다른 분자로 전환시키는 생화학적 반응이 일어나는데, 대표적으로 영양성분의 분해 및 산화 환원과정을 통해 에너지를 생성하거나, 세포 자신을 방어하는 물질을 생산하거나, 혹은 세포 자신의 골격을 합성 및 보수하는 반응들이 대표적이다. 해당과정(glycolysis)은 세포의 대표적인 물질대사 과정인데, 탄소가 6개인 포도당 분자를 시작물질로 산소를 이용하는 호기성 경로를 통해 에너지 분자인 아데노신 삼인산(ATP; adenosine triphosphate)을 생성하며, 조효소(coenzymes)인 니코틴산아미드 아데닌 다이뉴클레오티드(nicotinamide adenine dinucleotide; NAD)를 재순환한다. 이러한 세포의 물질대사 반응은 주로 효소(enzymes)라고 불리는 생체촉매분자에 의해 일어나며, 넓은 범위로는 세포 내외에서 분자가 결합(binding)하는 반응도 물질대사의 일종으로 분류할 수 있다.

### 2-1-4. 물질수송(transportation)

세포는 외부환경으로부터 격리된 공간으로 물질을 선택적으로 수송하는 특징을 가지고 있다. 단순확산처럼 물질의 수용성/지용성에 의한 세포막의 선택적 투과, 촉진확산이나 능동수송처럼 채널을 통해 선택적으로 분자를 통과시키는 기작이 대표적이다. 대체로 세포를 구성하는 성분들은 분자량이 크고, 세포가 이용하기 위해 수송하는 물질들은 분자량이 상대적으로 작다. 이런 물질의 매체 친화성, 분자량, 전하 차이 등의 성질을 이용하여 물질을 수송하는 것은 세포가 물질대사를 시행하기 위해 외부로부터 영양분을 공급받거나 대사산물을 배출하거나, 신호전달을 하는 등의 목적을 위한 중요한 수단이다.

### 2-1-5. 분열(replication and division)

모세포(a mother cell)는 분열하여 두 개의 딸세포(daughter cells)를 생성하는데, 이를 세포분열(cell division)이라고 한다. 분열이 일어나기 전에 염색체에 저장된 유전정보(genome)는 복제되고, 복제된 게놈은 세포 간에 서로 분리되는 과정을 거친다. 분열의 결과로 탄생한 딸세포는 모세포와 완전히 같은 형질을 갖는다. 일반적으로 저장된 정보매체(유전정보 등)의 자기복제(self-replication)는 생명의 출현 및 유지에 필요한 주요 원인 반응으로 여겨지며, 세포가 지속적으로 새로운 삶을 영위하는데 필수적인 특징으로 간주한다. 세포의 성장은 분열과 연관되어서 일어나는데, 주로 크기나 질량의 증가를 의미한다. 분열의 결과로 하나의 모세포가 두개의 딸세포로 나뉘면서 크기와 질량이 크게 감소된 상태가 되는데, 이런 작은 세포들은 성장을 통해 원래 모세포의 크기와 질량을 가지

는 특징이 있다. 세포의 크기 증가는 세포막의 구성성분인 인지질의 합성 및 막 조립을 통해 이루어진다. 세포 질량은 유전물질의 복제 및 각종 세포 소기관의 복제를 통해 증가한다.

### 2-1-6. 방어(defense)

세포는 주로 지질(약 13%)이나 단백질(약 15%)과 같은 생화학적 분자로 구성되어 있다. 이들 분자들은 활성산소(reactive oxygen species; ROS)과 같은 분자에 의한 산화반응에 매우 취약하다. 활성산소는 세포의 지질막을 산화시켜 세포막의 유동성을 크게 제한하거나, 단백질의 변성, 유전물질의 돌연변이 등을 일으켜 세포에 치명적인 손상을 유발한다. 또한 세포 자체는 바이러스나 박테리아와 같은 생체이물(xenobiotics)에도 크게 취약하다. 이 때문에 세포는 방어체계를 구축하여 자신을 항상성을 유지하려는 특징을 가지고 있다. 활성산소에 대한 대표적인 방어기작은 글루타치온(glutathione)이다. 글루타치온은 산화성 물질에 환원반응을 대신 수행하여 생체분자의 손상을 막아주는 역할을 한다. 생체이물에 대한 세포의 방어기작은 포식작용 및 리소좀(lysosomes)을 이용한 분해반응이 있다.

## 2-2. 인공세포의 기반 골격

살아있는 세포는 인지질과 보조분자로 구성된다. 탄소가 12개부터 18개 사이인 탄화수소를 가진 인지질은 지구상의 온도인 섭씨 -20~60도 부근에서 높은 유동성을 가지므로, 막단백질의 이동과 적절한 충격흡수를 통한 구조의 유지 측면, 그리고 자가조립(self-assembly) 원리를 이용한 손쉬운 형성 및 보수(repair)의 측면에서 세포막의 물질로 매우 적합하다[7]. 하지만 상향식 합성생물학에서 설계하고자 하는 인공세포는 반드시 실존하는 세포의 골격과 같을 필요가 없다. 인지질 막은 산화에 취약하고, 물리적으로 약하며, 계면활성제와 같은 다른 분자의 공격에 쉽게 불안정화 되고, 막을 통한 물질의 확산이 제한적이라는 단점이 있다. 따라서 인공세포의 골격은 인지질의 이러한 단점을 보완하여 다른 물질을 사용하는 것도 고려할 수 있으며, 대표적으로 고분자를 이용한 폴리머솜(polymersomes)과 실리카를 이용한 골격이 대안으로 많이 이용된다.

### 2-2-1. 인지질 소포체(lipid vesicles)

인지질 이중층은 살아있는 세포의 막과 동일한 성분과 구조를 가진다. 이 때문에 실존세포와 유사하게 설계하는 것이 목적인 인공세포 설계 연구에 가장 우선적으로 고려되는 골격이다. 하지만 살아있는 세포의 인지질 구성은 매우 복잡한데, 현재까지 밝혀진 바로는 약 117 이내의 인지질과 26개의 스펅고미엘린(sphingomyelin) 지질로 구성된다[8]. 예를들면 인간줄기세포의 주요 구성 인지질은 36 종의 phosphatidylcholine (PC), 30종의 phosphatidylethanolamine (PE), 12종의 phosphatidylglycerol (PG), 13 종의 phosphatidylinositol (PI), 그리고 13종의 phosphatidylserine (PS)이다. 이 많은 인지질을 모두 이용하여 인공세포의 골격을 구성하는 것은 매우 비효율적이기 때문에 인공세포에는 주로 phosphatidylcholine 1-2종, phosphatidylethanolamine 1-2종, 그리고 인지질 이중층의 구조를 안정화시켜주는 콜레스테롤을 조합하여 이용한다. 이러한 인지질의 조합은 양친매성 분자의 라멜라 구조(lamellar structure) 형성 공식인 팩킹파라미터(packing parameter)가 거의 1에 근접하도록 설계된다. 또한 탄화수소의 길이는 상온보다 조금 높은 상전이 온도를 가지는 탄소 수 16개(palmitoyl group; 16:0)와, 상온에서 이미 높은 유동성의 상을 형성하는 1개의

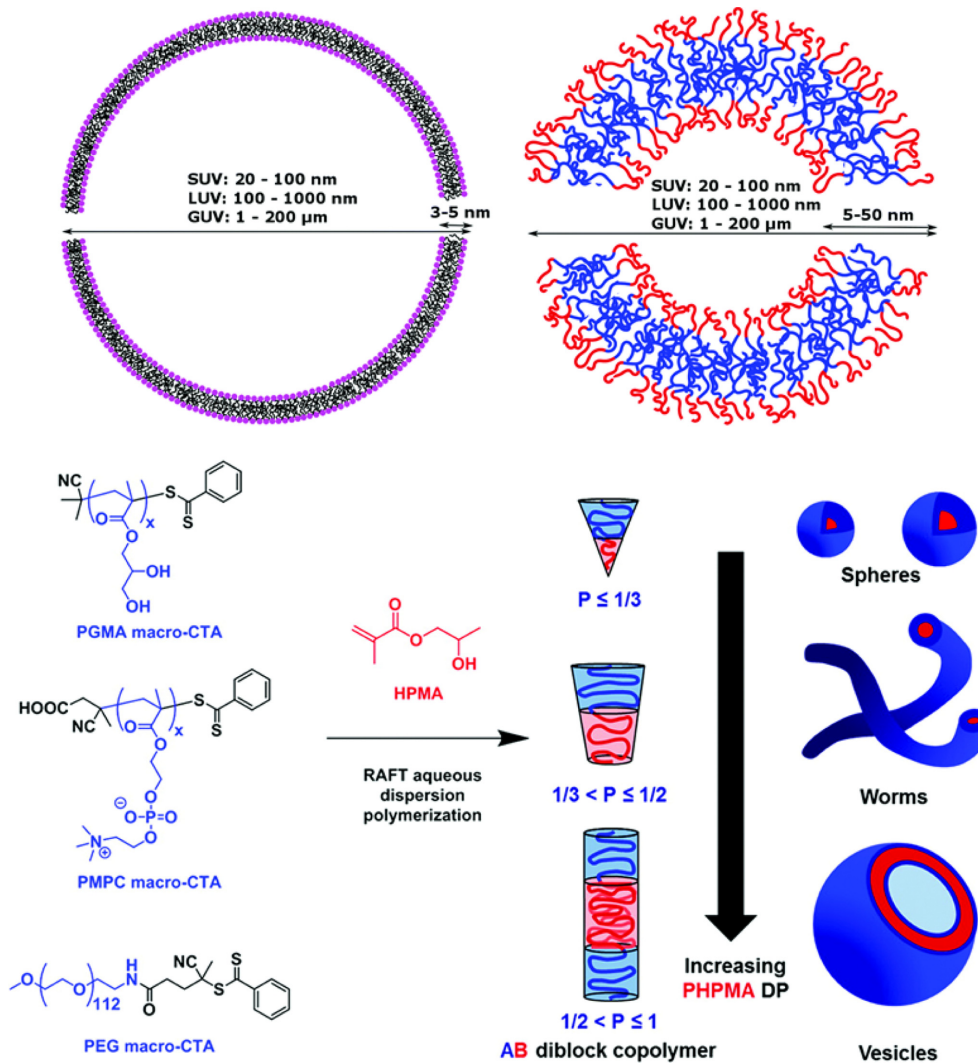


Fig. 3. Size and structure of vesicles including liposomes and polymersomes. SUV/LUV/GUV: small/large/giant unilamellar vesicles (top). Pack parameter and self-assembly of block copolymers (down)[9].

불포화 그룹을 가지는 탄소 수 18개(oleoyl group; 18:1)인 것을 주로 이용한다.

#### 2-2-2. 고분자 소포체(polymeric vesicles)

고분자 소포체는 폴리머솜(polymersomes)이라고도 부르며, 인지질 소포체를 구조적으로 모사한 것이다. 주로 친수성 고분자와 소수성 고분자의 도메인을 서로 연결한 블록공중합체(block copolymers)를 이용한다. 인지질 소포체와 마찬가지로 팩킹파라미터를 1/2와 1 사이에 있도록 블록공중합체를 설계하면, 이를 이용하여 폴리머솜을 제조할 수 있다(Fig. 3)[9]. 사용되는 분자량은 일반적으로 20,000 이하의 것을 이용하며, 친수성 부분은 폴리에틸렌글리콜(Polyethylene glycol; PEG), 소수성 부분은 폴리부타디엔(polybutadiene; PB)이나 폴리스티렌(polystyrene; PS), 폴리ε-카프로락톤(polycaprolactone; PCL), 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane; PDMS) 등 다양하게 사용한다. 일반적으로 폴리머솜은 인지질 소포체보다 구조적으로 더 안정하다고 알려져있으나, 실제로는 고분자 사슬 분자량의 다분산성(polydispersity)으로 인해 안정성이 일정하지 않고 다양한 차이를 보인다. 하지만 합성 고분자는 자연계에서 잘 분해되지 않고

화학적 내성이 인지질 보다 높기 때문에, 적절한 고분자의 조합과 추가적인 가교반응 등을 통해 인지질 보다 더욱 안정한 폴리머솜을 제조할 수는 있다. 또한 온도 감응성, pH 감응성과 같은 다양한 자극 감응성을 도입하여 기존의 인지질 소포체는 가지지 않은 지능형 시스템을 구현할 수도 있다. 폴리머솜은 주로 세포 또는 배아의 크기와 유사하게 설계하기 위해 1~500 μm 직경으로 제조하는데, 이를 거대 폴리머솜(giant polymersomes)라고 하며, 인공세포 분야에서 가장 많이 사용된다. 최근에는 단백질과 고분자를 단위체로하는 프로테이노솜(proteinosomes)도 개발되어 인공세포의 골격에 이용되고 있다.

#### 2-2-3. 다공성 입자(porous particles)

다공성 입자 시스템은 비록 양친매성 분자의 자가결집체가 아니더라도 인공세포의 골격물질로 사용할 수 있다(Fig. 4). 대표적인 다공성 입자인 실리카는 무수히 많이 뿜어 있는 기공구조를 통해 분자량에 따른 분자의 선택적 확산을 촉진할 수 있으므로 인공세포 시스템에 사용될 수 있다[10]. 메조다공성(mesoporous)으로 불리는 구조는 일반적으로 2~50 nm의 기공크기를 가지므로, 단백질과 같은



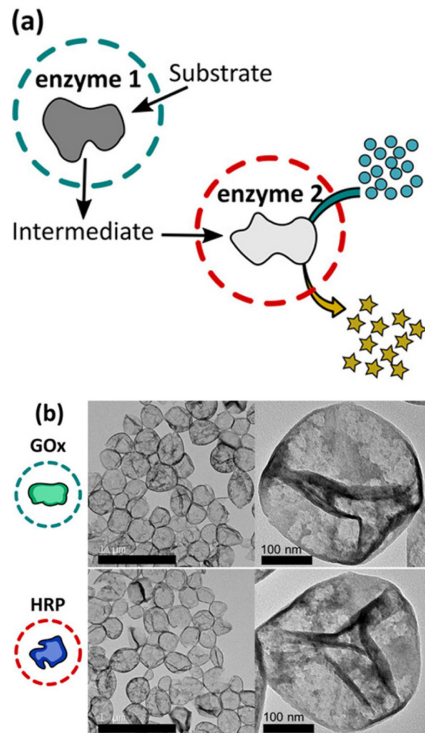


Fig. 4. Schematic illustration of silica capsules as artificial cell platforms [10].

거대분자들은 이동할 수 없고, 포도당이나 산소 등 분자량 1000 이하의 유기 및 무기 분자들은 손쉽게 확산할 수 있다. 이런 분자체효과 (molecular sieve effects)는 특히 효소(enzymes)나 광촉매(photocatalysts)와 같은 물질을 내부에 캡슐화(encapsulation) 하여 미니 반응기(miniature reactors)로 사용하고자 할 때 매우 유리하다. 또한 실리카의 구조는 위에서 언급한 지질 소포체나 폴리머솜에 비해 물리화학적으로 매우 안정하여, 높은 온도, 계면활성제, 물리적 충격, 가수분해반응 등에 매우 내성이 강하다는 장점이 있다. 하지만 다공성 입자 시스템은 세포막의 구조와는 다소 차이점이 있기 때문에, ‘인공세포’의 골격으로 인정받기 위한 합의가 필요하다.

### 2-3. 인공세포의 설계의 최신연구

상향식 합성생물학은 세포를 근본부터 다시 설계하려는 접근법을 채택하는데, 주로 세포의 중요한 특징 몇 가지를 채택하여 세포 유사체인 인공세포를 설계하는 분야이다. 이 접근 방법을 통해 개발을 추구하는 인공세포는 관념적으로 떠올리는 완벽한 세포와는 큰 차이가 있으며, 상대적으로 원시세포 수준의 매우 간단한 시스템을 가진다. 때문에 일부 연구자들은 상향식 접근법으로 합성한 인공세포를 “세포”라고 인정하지 않는 의견을 가지기도 한다. 하지만 우리가 존재하는 세상에는 이미 살아있는 세포라는 것이 존재하기 때문에, 그와 똑같은 인공세포를 설계하는 것보다는 비록 간단한 시스템이라 하더라도 실존하는 세포의 단점을 보완하거나, 특정한 현상만 전문적으로 구현한 세포 유사체를 개발하는 것이 오히려 합리

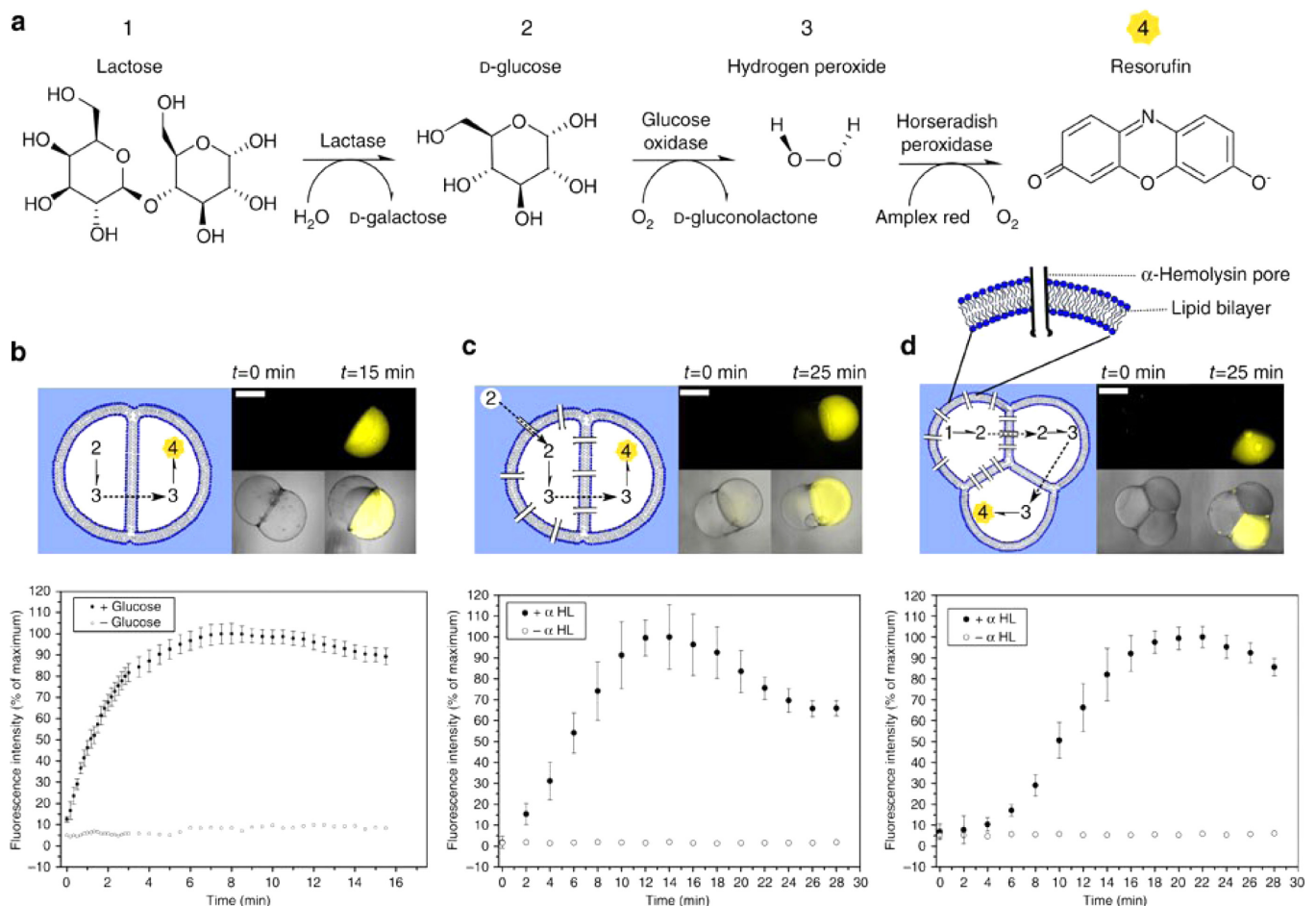


Fig. 5. Schematic illustration of lipid vesicle-based artificial cells as chemical microreactors with spatially segregated reaction pathways [11].

적이다. 이를 이용해 기존의 세포이용을 대체하거나, 세포가 사용될 수 없는 척박한 환경에서 사용하는 것이 인공세포 응용의 목적이다.

### 2-3-1. 연쇄반응 물질대사를 수행하는 모델 인공세포

영국 Imperial College London의 Oscar Ces 교수 연구팀은 공간

적으로 분리되어 있으면서도 통로로 서로 연결되어 있는 지질 소포체 기반의 인공세포를 발표하였다[11]. 일반적으로 리포솜이라 불리는 지질 소포체는 여러 개의 구획을 가지도록 하기 위해서 양파와 유사한 구조의 다중막 소포체(multilamellar liposomes)를 고안하게 되는데, 각 구획이 다른 반응을 매개하도록 설계하기는 어려웠다. 하지만 Oscar Ces 교수 연구팀은 단일막의 소포체(unilamellar

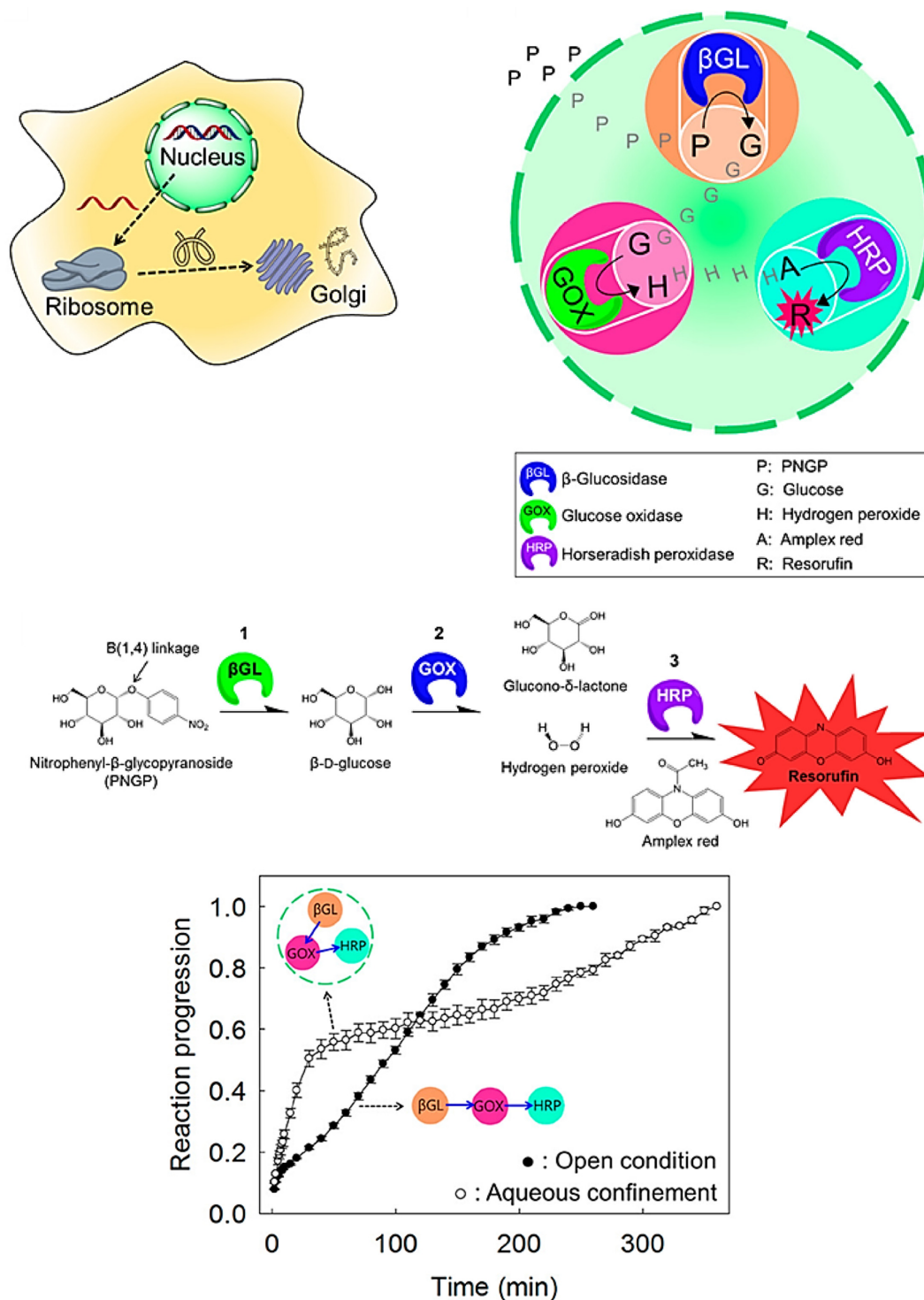


Fig. 6. Schematic illustration of model artificial cells inspired by living cells. Silica nanoreactors-carrying enzymes are sub-compartments as cellular organelles. The three subcompartments comprise the cascade reactions networks [12]. Reprinted with permission from [12] Copyright (2018) American Chemical Society.

liposomes)의 내부가 여러 개의 구획으로 나뉘어져 있는 소포체를 개발하였다(Fig. 5). 또한 각각의 구획들이 물질교환을 통한 연쇄반응을 일으키기 위해 막에는 지질막에 삽입되어 구멍을 형성하는 박테리아성 독소의 일종인 알파-헤모라이신(alpha-hemolysin)이라는 단백질을 이용하여 통로를 설계하였다. 연쇄반응은 3개의 효소를 이용하였는데, 유당 분해효소(lactase), 포도당 산화효소(glucose oxidase), 그리고 과산화효소(oxidase)로 구성하였다. 첫번째 효소인 유당분해효소는 유당(lactose)을 포도당과 갈락토스로, 두번째 효소인 포도당 산화효소는 포도당을 글루콘산과 과산화수소로, 세번째 효소인 과산화효소는 과산화수소를 물과 산소로 분해하면서 형광물질인 레소루핀(resorufin)을 생성한다. 각각의 효소는 독립적으로 하나의 구획에만 포집되어 있으며, 연쇄반응은 알파-헤모라이신을 통해 만들어지는 1.5 nm 직경의 구멍을 통한 분자의 확산을 통해 이루어진다.

독일 Max Planck Institute for Polymer Research의 Katharina Landfester 교수 연구팀은 실리카 나노입자를 소기관 구획으로 하고 고분자 계면활성제(polyglycerol polyricinoleate) 기반 W/O 에멀전을 독립된 큰 공간(0.5~15 마이크로미터의 직경; confinement)으로 가지는 모델 인공세포를 개발하였다[12]. 실리카 나노입자는 졸-겔(sol-gel) 반응을 통해 제조하였으며, 베타-글루코시데이즈( $\beta$ -glucosidase;  $\beta$ -GL), 포도당 산화효소(GOX), 그리고 과산화효소(HRP)를 각각 독립적으로 캡슐화하는 세가지의 나노 입자를 이용하였다(Fig. 6). 세가지 나노입자는 서로 연쇄반응망을 형성하는데, 첫번째 효소인 베타-글루코시데이즈가 당쇄의 베타-1,4-글리코시드 결합( $\beta$ -1,4 glycosidic bond)을 가수분해하여 포도당을 생성하고, 두번째 효소인 포도당 산화효소와 세번째 효소인 과산화효소에 의해 포도당과 과산화수소를 거쳐 레조루핀을 형성한다. 모델 인공세포의 직경인 0.5~15  $\mu\text{m}$  크기는 세포 한 개의 크기와 유사하고, 0.5

fL~0.4 pL의 부피를 가지는데, 이 confinement에서 이루어지는 효소의 연쇄반응은 큰 부피에서의 반응보다 더욱 빠르다는 것을 논증하였다. 이를 통해, 작은 부피의 갇힌 공간에서 다중 연쇄 반응의 높은 효율이 세포가 마이크로 크기의 공간에서 진화하게 된 원인이라는 가설을 제시하였다.

우리나라 포스텍의 이효민 교수 연구팀은 효소 연쇄반응을 원하는 방향으로 시행하는 인공세포 시스템을 개발하였다[13]. 연구팀에서 개발한 폴리머솜 기반의 인공세포는 poly(butadiene)-*b*-poly(ethylene oxide) (PB<sub>5.2k</sub>-PEO<sub>4.5k</sub>) 공중합체를 구성물질로 사용하거나, Pluronic L121 (poly(ethylene glycol)(PEG)<sub>0.2k</sub>-*b*-poly(propylene glycol)(PPG)<sub>3.9k</sub>-*b*-poly(ethylene glycol)(PEG)<sub>0.2k</sub>)를 구성물질로 사용하여 투과성을 서로 다르게 제조하였다. 또한 폴리머솜은 미세유체(microfluidics) 시스템을 통해 매우 균일한 크기로 제조하였으며, 직경은 약 100  $\mu\text{m}$  정도이다. 이 연구진은 각각 다른 효소를 캡슐화하는 여러가지의 모델인공세포와, 다중 효소를 하나의 공간에 캡슐화 하는 모델인공세포를 각각 개발하여 인공세포간의 통신과 인공세포 내에서의 통신을 통한 연쇄반응을 모사하였다. 이를 통해 인공세포가 가지는 생화학적 반응을 정교하게 조절하거나, 고등한 연쇄반응 시스템을 구성할 수 있음을 증명하였다(Fig. 7).

### 2-3-2. 단백질을 합성하는 모델 인공세포

영국 글라스고(Glasgow) 대학교의 Jonathan Cooper 교수 연구팀과, 미국 하버드(Harvard) 대학교의 David A. Weitz 교수 연구팀은 단백질을 합성하여 배출하는 폴리머솜 기반의 모델 인공세포를 개발하였다[14]. 이 폴리머솜은 친수성 고분자인 폴리에틸렌글리콜(Polyethylene glycol; PEG, 분자량 5000)과 소수성 고분자인 폴리락트산(Polylactic acid; PLA, 분자량 10000)의 블록공중합체인 PEG-*b*-PLA를 이용하여 제조하였다(Fig. 8). 이 연구진은 또한 미

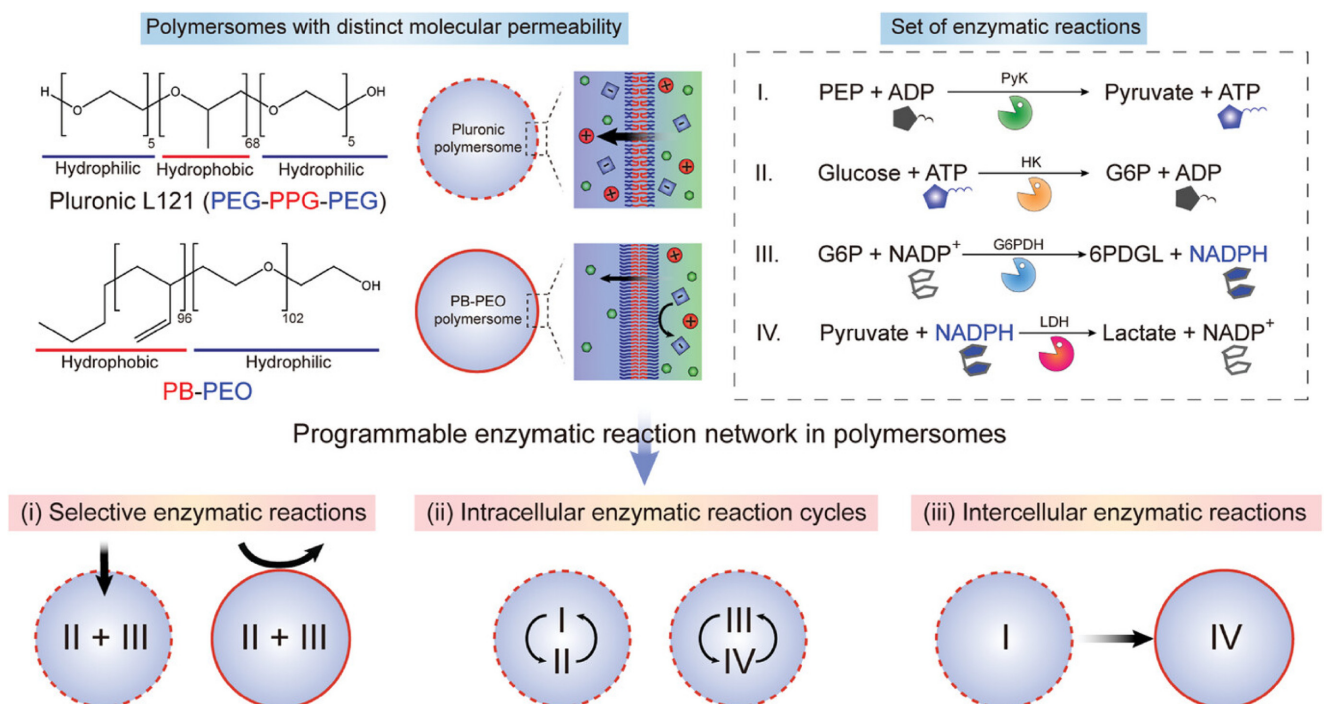


Fig. 7. Schematics illustrating the programmability of enzymatic reaction network in microfluidically synthesized polymersomes with distinct molecular permeability [13].



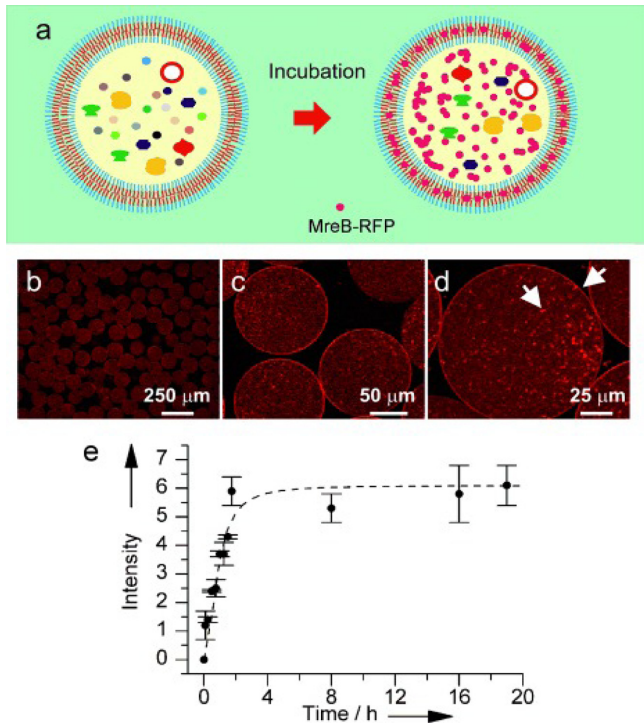


Fig. 8. Schematic illustration of PEG-*b*-PLA-based polymersomes expressing RFP using *E. coli*-extracted cell-free expression systems [14]. Reprinted with permission [14] from Copyright (2012) Wiley.

세유체기술을 도입하여 폴리머솜을 제조하였는데, 이 방법을 이용할 경우 폴리머솜 내부에 친수성 물질들을 매우 높은 효율로 담을 수 있고, 균일한 크기로 제조할 수 있으며, 또한 세포와 유사한 크기인 수십-수백 마이크로미터 크기로도 제조할 수 있다. 폴리머솜

내부에는 대장균(*E. coli*)의 리보솜에서 추출한 단백질 합성기구를 담았으며, 추가적으로 적색 형광단백질(red fluorescent protein; RFP)유전자를 코딩하는 DNA와 아미노산, 조효소, 그리고 효소들을 함께 담아주었다. 이 폴리머솜을 이용하여 연구자들은 적색 형광단백질을 성공적으로 합성하였으며, 합성 이후에는 삼투압 충격(osmotic shock)을 이용하여 폴리머솜을 일시적으로 불안정화 하여 내부의 합성된 단백질을 배출시킨 후 다시 자가 회복(self-sealing)시키는 방식으로 구조 유지를 가능하게 하였다. 하지만 이 방법은 폴리머솜 내부의 단백질 생산 기구도 일부 배출되어 나온다는 단점이 있다.

영국의 브리스톨(Bristol) 대학교 Stephen Mann 연구팀은 혈장 알부민 단백질(serum albumin)과 폴리이소프로필아크릴아미드(Poly-N-isopropylacrylamide; PNIPAAm) 접합체를 이용하여 인공 세포의 기반이 되는 프로테이노솜(proteinosomes)을 제조하였다(Fig. 9)[15]. 이 단백질-고분자 접합체는 온도에 따라 양친매성의 특성을 가지는데, 이를 이용하여 에멀전의 계면에서 N-ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDAC)의 생체 접합(bioconjugation) 반응을 이용하여 혈장 알부민 단백질들을 서로 가교시켜서, 속이 비어있는 50~150 μm 직경의 프로테이노솜을 합성할 수 있었다. 내부에는 대장균 유래의 단백질 생산기구를 담아 녹색 형광단백질(enhanced green fluorescent protein; eGFP)의 합성에 사용하였다. 합성된 단백질은 온도변화를 이용하여 방출을 유도하였는데, 32도를 기점으로 친수성과 소수성으로 상전이를 하는 PNIPAAm의 성질을 이용하였다. 32도 이상에서는 PNIPAAm이 소수성을 가지므로, PNIPAAm의 결집에 의해 프로테이노솜이 닫힌 상태를 유지하며 단백질의 합성 및 내부에서의 체류를 유도한다. 이 후 32도 미만으로 온도를 조정하면 PNIPAAm이 친수성으로 상전이를 하면서 프로테이노솜이 반투과성이 되고, 합성된 단백질을 외부로 배출한다. 또한 이 프로테이노솜의 가교제에 이황화결합

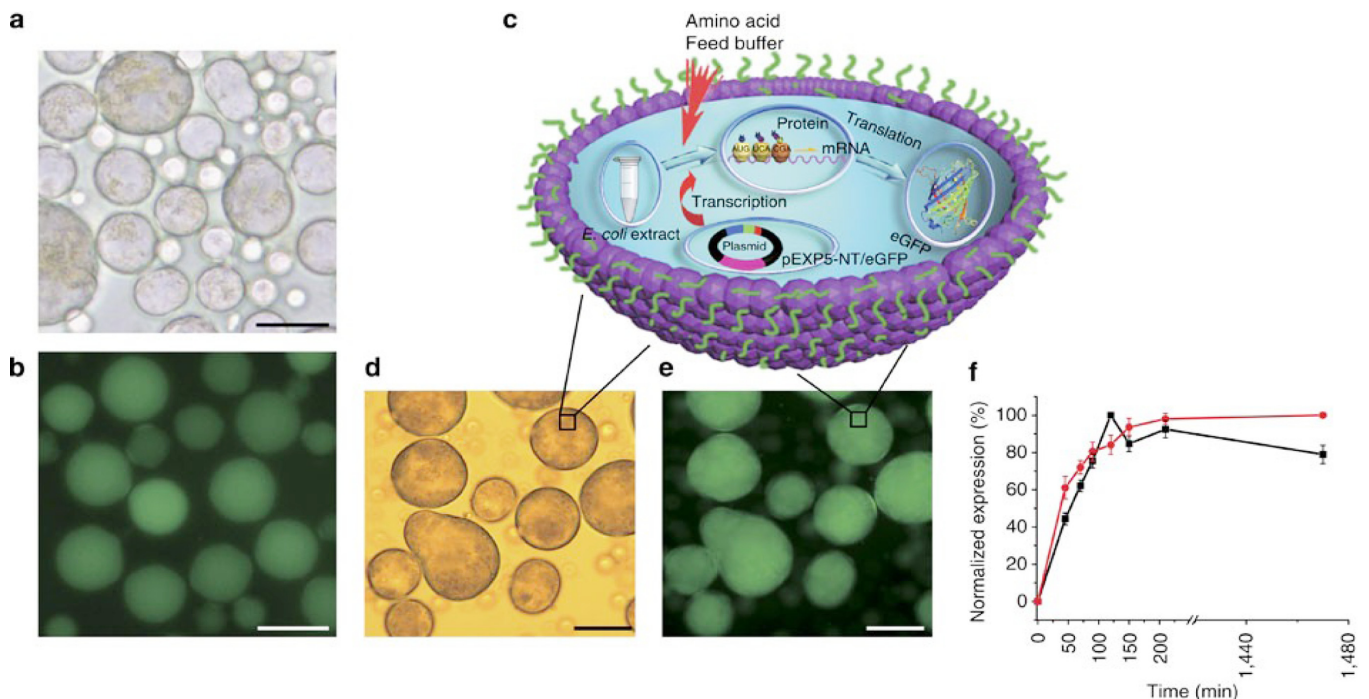


Fig. 9. Schematic illustration showing the procedure for cell-free gene expression of eGFP in proteinosomes that consist of protein-polymer conjugates (BSA-NH<sub>2</sub>/PNIPAAm) [15].



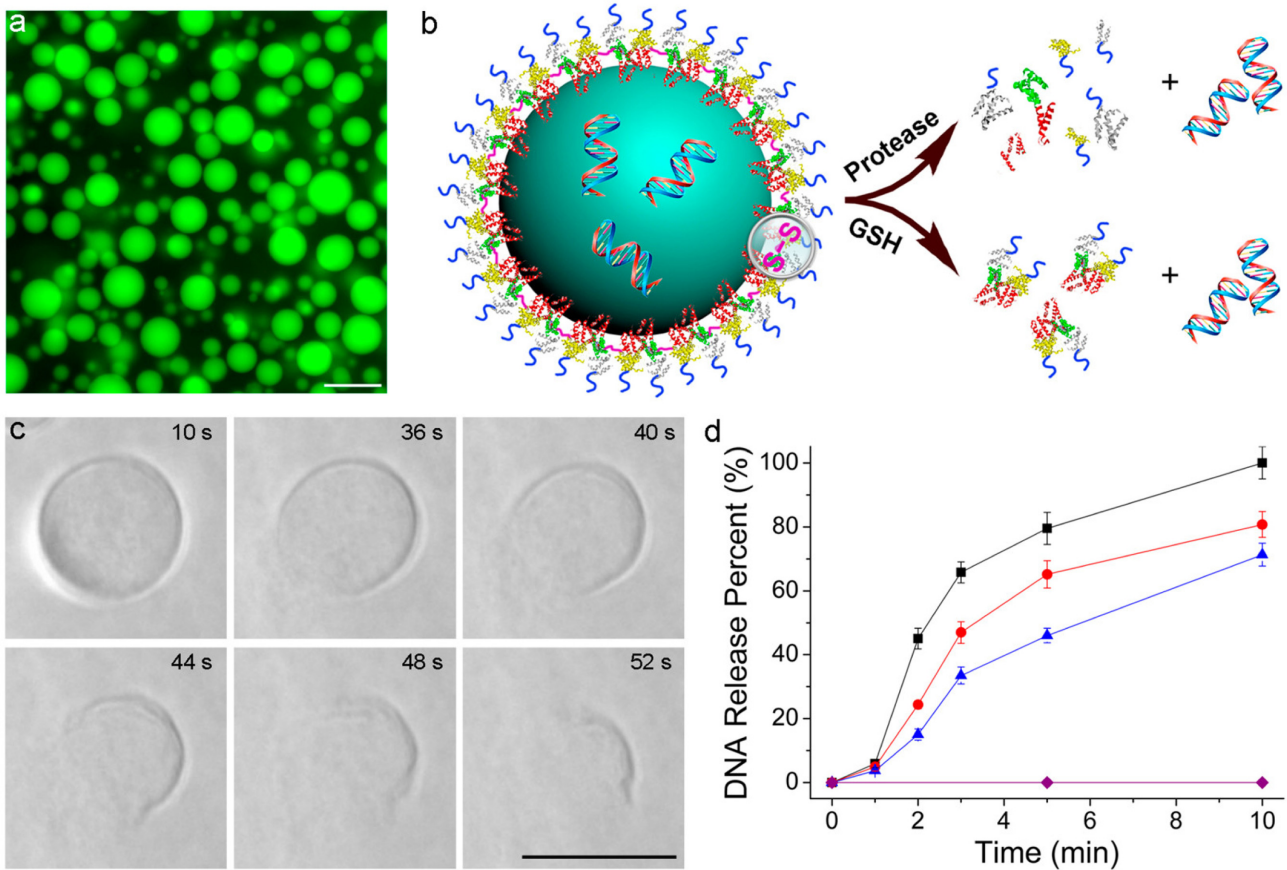


Fig. 10. BSA-NH<sub>2</sub>/PNIPAAm proteinosomes for DNA encapsulation and triggered release by reduction- or protease-stimuli[16]. Reprinted with permission from [16], Copyright (2014) American Chemical Society.

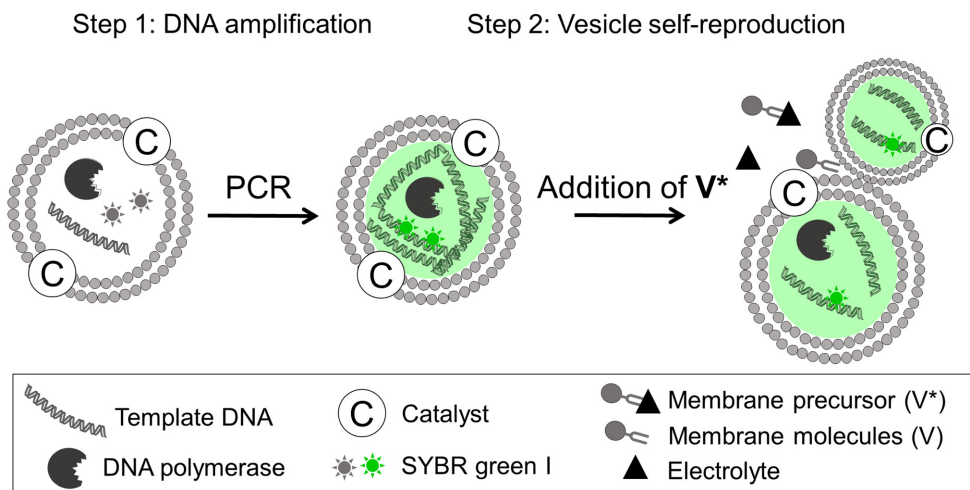


Fig. 11. Self-reproduction of supramolecular giant lipid vesicles combined with the DNA amplification [17].

(disulfide bonds)을 가진 물질을 도입하면, 글루타치온과 같은 환원성 물질에 의해 투과성이 증가하여 내용물을 방출하게 하는 기능을 추가로 부여할 수 있다(Fig. 10)[16].

### 2-3-3. 분열기능을 가진 모델 인공세포

일본의 동경대학교 Tadashi Sugawara 교수 연구팀은 촉매반응에 의해 분열하는 지질 기반의 모델 인공세포를 개발하였다[17]. 이 연

구에서의 인공세포는 양이온성 지질로 이루어진 지질 소포체(lipid vesicles)이며, 내부에서 DNA 증폭반응(polymerase chain reactions; PCR)이 일어나도록 설계하였다(Fig. 11). 지질 소포체는 두개의 중성 인지질과 하나의 양이온성 인지질로 구성하였는데, 1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (POPC), 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoglycerol (POPG) and 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-(lissamine rhodamine B sulfonyl) ammonium

salt (Rhod-DOPE)이다. 합성된 음이온성의 DNA와 소포체 막의 양이온성 지질이 서로 결합하면, 소포체의 크기가 점차 증가하면서 막이 불안정해지고, 일정수준이상 성장하면 특정 지점에서 막의 분리가 일어나면서 결과적으로 하나의 소포체가 두개로 나뉘게 된다. 비록 이 연구에서 제시하는 모델이 세포의 분열원리와 완전히 같지는 않지만, 촉매반응을 통해 자가생식을 하는 지질 소포체 모델은 인공적으로 분열기능을 수행하는 세포 시스템을 개발할 수 있었다는 점에서 모델 인공세포 개발에 있어 중요한 진보로 평가받는다.

독일 Max Planck Institute for Polymer Research의 Katharina Landfester 교수 연구팀은 온도 민감성 블럭공중합체를 이용하여 온도 조절에 의해 분열하는 폴리머솜 시스템을 개발하였다(Fig. 12)[18]. 이 폴리머솜은 두가지 종류의 블럭공중합체로 제조하였는데, 하나는 온도민감성 고분자인 poly(N,N-dimethylacrylamide)-block-poly(N-isopropylacrylamide) (PDMA-*b*-PNIPAM)이고, 다른 하나는 자극 감응성이 없는 poly(butadiene)-block-poly(ethylene oxide) (PBD-*b*-PEO)이다. 폴리머솜의 직경은 약 200~250  $\mu\text{m}$ 로, 세포의 크기와 유사하거나 약간 더 큰 거대 폴리머솜에 속한다. PNIPAM 공중합체가 섭씨 32도 보다 높은 온도의 환경에 노출되면 상승하면 PDMA-*b*-PNIPAM은 양친매성의 성질을 가지며 폴리머솜 막에 통합된 상태로 존재한다. 이 폴리머솜이 섭씨 32도 보다 낮은 온도에 노출되면 PDMA-*b*-PNIPAM는 친수성이 되며 폴리머솜으로부터 용매쪽으로 용해되어 나오면서 고분자막에 기계적 변동을 유발한다. 결과적으로 용해되어 나온 PDMA-*b*-PNIPAM는 독립적으로 폴리머솜을 형성하게 됨으로써 세포막의 분열과 유사한 양상을 보인다.

#### 2-3-4. 에너지 생산 물질대사를 시행하는 모델 인공세포

아데노신삼인산(adenosine triphosphate; ATP)은 세포의 에너지 저장 및 전달의 핵심 요소로서 미토콘드리아의 해당과정에서 생성되는 분자이다. 인산결합이 형성되는데 많은 에너지가 소요되는 것

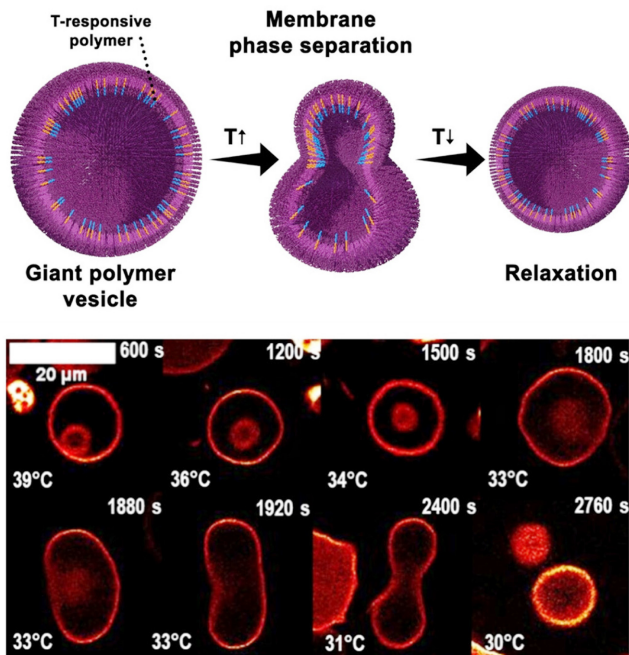


Fig. 12. Giant unilamellar polymersomes with a temperature-responsive polymer for temperature-triggered division [18].

때문에, ATP는 세포가 에너지를 저장하는 용도로 널리 쓰이는 분자이며, 오늘날 지구상에 생명체가 탄생하는데 필수적인 생화학적 기작일 것으로 여겨지고 있다. ATP는 에너지 공급, 세포 구조 유지, 신호 전달, 대사 조절 등 생명체의 거의 모든 측면에서 중요한 역할을 하고 있다. ATP를 합성하는데 핵심적인 효소는 ATP 합성효소(ATPase)인데, 크게 두 부분으로 구성된다(Fig. 13)[19]. 하나는 세포막에 박혀 있는 FO 부분이고, 다른 하나는 세포질에 위치한 F1 부분이다. FO 부분은 양성자( $\text{H}^+$ )가 막을 통과할 수 있게 해주고, F1 부분은 ADP와 무기 인산( $\text{P}_i$ )을 결합하여 ATP를 생성하는 역할을 한다. 전자 전달 과정에서, 전자는 막을 따라 이동하면서 양성자가 막의 한 쪽에서 다른 쪽으로 펌핑된다. 이로 인해 막의 한 쪽은 양성자의 농도가 높아지고 다른 쪽은 낮아지면서 양성자 농도 구배가 형성된다. 이 농도 구배로 인해 양성자는 높은 농도에서 낮은 농도로 이동하려는 힘, 즉 양성자 구동력(proton motive force)을 가지게 된다. 이 양성자 이동 과정에서 FO 부분의 C-서브유닛이 회전하고,  $\beta$ -서브유닛의 상태가 변화하면서 ADP와  $\text{P}_i$ 가 결합하여 ATP가 합성된다(Fig. 13).

독일 Max Planck Institute for Dynamics of Complex Technical Systems의 Tanja Vidakovic-Koch 박사와 Kai Sundmacher 교수 연

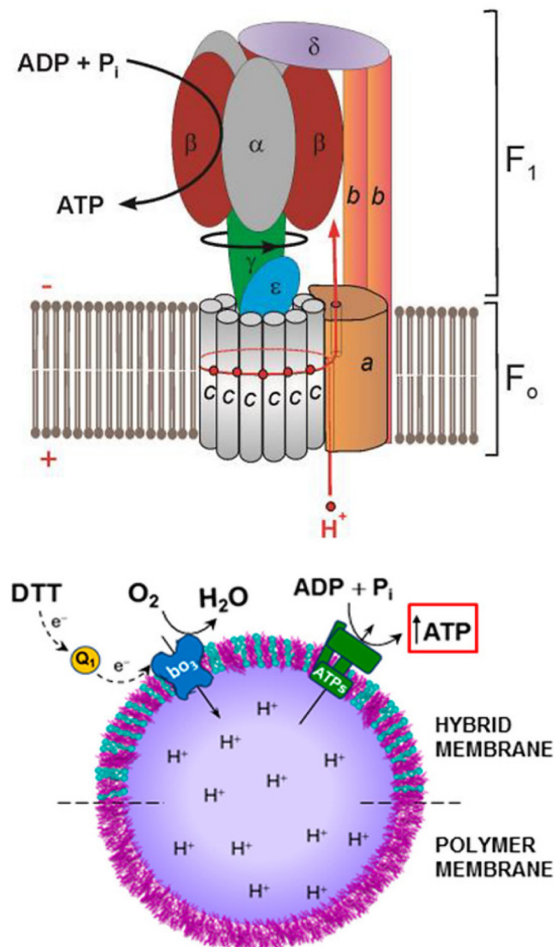


Fig. 13. Structure of ATPase (top) [19], and membrane-integrated ATPase for artificial mitochondria to produce ATP (down) [20]. Reprinted with permission from [20] Copyright (2017) American Chemical Society.

구팀은 ATPase와 폴리머를 이용하여 세포의 에너지 저장 분자인 아데노신삼인산(adenosine triphosphate; ATP)를 합성하는 모델 인공세포를 제시하였다[20]. ATPase는 막단백질이기에 때문에 삽입되어 있을 수 있는 매개체인 폴리머를 이용하였다. 이 연구에서의 폴리머는 그래프트 공중합체인 poly(dimethylsiloxane)-graft-poly(ethylene oxide) (PDMS-g-PEO)를 이용하여 합성하였으며, 약 5 nm의 막 두께를 가져 ATPase가 결합할 수 있는 세포막의 인지질과 유사한 두께(~3.4 nm)를 가졌고, 세포막과 유사한 유동성을 지니고 있어 모델 인공세포의 기반물질로 적합하다. 또한 이 시스템에서는 폴리머 내부의 양성자 농도를 높여 양성자 기울기가 더욱 높게 생성되도록  $\text{bo}_3$  산화효소를 함께 막에 결합하여 사용하였다. 결과적으로 폴리머 내부에 다량으로 생성된 양성자가 ATPase를 통해 외부로 이동하면서 발생하는 구동력으로 인해 ATP가 합성된다(Fig. 13). 이런 ATP 합성 시스템은 ATP의 추가적인 공급 없이도 지속적으로 ATP를 계속 재생산하여 무세포 단백질 합성법 등과 결합하면 유용하게 쓰일 수 있다.

NAD 재생 역시 인공세포 설계 분야에서 중요한 부분이다. 세포 내의 많은 산화환원(dehydrogenase 또는 reductase) 효소들이  $\text{NAD}^+$ 와 NADH를 조효소로 사용하고 있으며, 이들 분자들은 합성이나 지속적인 공급이 어렵기 때문에 세포내에서는 끊임없이 재생되어 사용되고 있다. NAD를 재생하는 방법은 크게 화학적 방법, 효소적 방법, 광촉매적 방법, 그리고 전기화학적 방법이 있다(Table 1). 인공세포 분야에서는 주로 효소적 방법과 광촉매적 방법이 이용된다[21]. 효소적 방법은 주로 피루브산을 젖산으로 전환하는 젖산 탈수소효소(lactate dehydrogenase)나 알코올을 알데히드로 전환하는 알코올 탈수소효소(alcohol dehydrogenase), 또는 포도당을 글루콘산으로 전환하는 포도당 탈수소효소(glucose dehydrogenase), 그리고 포름산을 이산화탄소로 전환하는 포름산 탈수소효소(formate dehydrogenases) 등을 이용한다. 광촉매적 방법으로는 주로 이산화티타늄( $\text{TiO}_2$ )이나 양자점(quantum dots), 또는 전도성을 띄는 공액 고분자(conjugated polymers)의 활성산소종 생성능을 이용한 산화환원반응을 이용한다. 이들 물질에 자외선이나 가시광선을 조사하면 수산화라디칼(hydroxyl radicals), 슈퍼옥사이드(superoxide), 싱글렛산소(singlet oxygen) 등의 활성산소종을 생성하여 NADH를 산화시키는 ( $\text{NAD}^+$ 로 전환) 반응을 촉매한다.

독일 Max Planck Institute for Polymer Research의 Katharina Landfester 교수 연구팀은 젖산 탈수소효소를 이용하여 NADH를  $\text{NAD}^+$ 로 전환하는 실리카 나노입자 시스템을 개발하였다(Fig. 14).

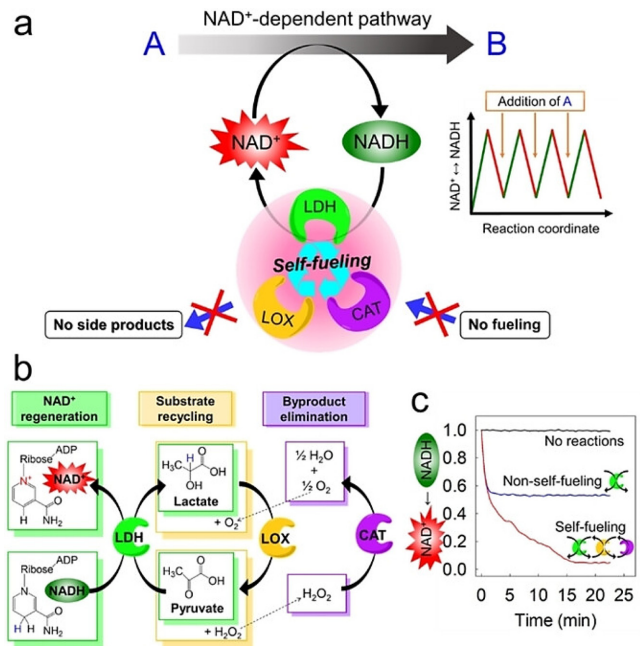


Fig. 14. Continuous  $\text{NAD}^+$ -production and regeneration by an artificial enzyme set. The combination of LDH (lactate dehydrogenase), LOX (lactate oxidase), and CAT (catalase) encapsulated in semipermeable silica nanoreactors [22].

이 실리카 나노입자에는 젖산 탈수소효소(LDH)와 젖산 산화효소(lactate oxidase; LOX), 그리고 카탈레이즈(catalase; CAT)를 동시에 탑재하였다. 효소를 이용하는 기존의 NAD 재생 시스템은 반응액에 계속적으로 기질을 공급해주어야 하는 것과, 반응 부산물을 제거해줘야 한다는 단점이 있었다. 그렇지 않으면 기질의 고갈 혹은 부산물에 의한 되먹임 저해(feedback inhibition)로 인해 지속적인 효소 반응이 어렵다. 이 연구팀에서 개발한 LDH/LOX/CAT 인공 대사경로는 젖산(부산물1)을 다시 피루브산(기질)으로 되돌리는 경로와, 그 과정에서 발생하는 과산화수소(부산물2)를 다시 물과 산소로 되돌리는 경로를 함께 가지고 있다. 이 방법을 이용하면 기존의 기질의 계속적인 공급과 부산물의 제거를 수행해야 하는 효소적 NAD 재생 시스템의 단점을 완벽히 보완할 수 있다[22].

또한 이런 효소기반 시스템과 활성산소를 생성하는 광촉매를 함께 사용하면 화학 신호와 빛 신호를 이용한  $\text{NAD}^+$ /NADH 상호전

Table 1. Advantages and disadvantages of the four strategies for coenzyme regeneration

Approach	Advantages	Disadvantages
Enzymatic	1) Environmentally friendly 2) High turnover number 3) High specificity	1) Instability of enzymes 2) High price
Chemical	1) Low price	1) Low specificity 2) Pollutants as byproducts 3) Low turnover number
Electrochemical	1) Renewable electrical energy 2) Broad applications	1) Low turnover number 2) Low specificity 3) Electrode fouling 4) Mediator dependency
Photocatalytic	1) Clean and sustainable light energy 2) Broad applications	1) Low efficiency in particular in visible light region 2) Photosensitizer dependency



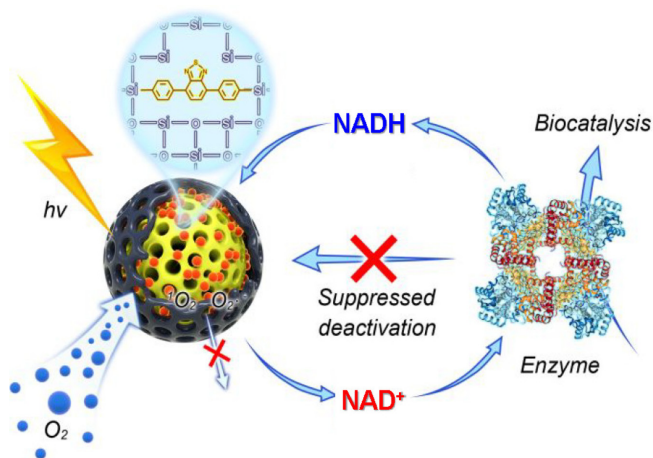


Fig. 15. Enzyme and photocatalyst combination system. The mesoporous core-shell nano-photoreactor completes the NADH/NAD<sup>+</sup> cycle together with the enzyme and promotes the enzyme to catalyze the bioreaction in cascade while preventing enzyme deactivations by active oxygen species [23].

환 시스템도 구현할 수 있다. 현재 주로 사용되는 광촉매인 티타늄 이산화 나노입자 또는 유기합성 공액고분자소재(conjugated polymer)는 자외선 또는 가시광선을 흡수하여 활성산소종인 싱글렛산소, 슈퍼옥사이드, 하이드록실라디칼 등을 생성하는데, 이를 이용하면 NADH를 NAD<sup>+</sup>로 산화시키는 반응을 촉매할 수 있다. 이때 광촉매의 반응에 의해 효소의 불활성화가 일어날 수 있으므로 효소를 보호할 수 있는 장치를 추가로 도입하여야 한다. 독일 Max Planck Institute for Polymer Research의 같은 그룹의 다른 연구자들은 효소를 보호할 수 있는 실리카 캡슐막 시스템을 도입하여 확산시간 증가를 통해 활성산소종이 효소와 접촉하는 것을 막음으로써 효소를 보호하거나(Fig. 15)[23], 캡슐막에 활성산소 소거 효소인 초과산화물 불균등화효소(superoxide dismutase)를 도입하여 활성산소로부터 NAD전환 효소를 보호하였다[24].

### 3. 결 론

본 총설에서는 상향식 합성생물학 분야에서 추구하는 인공세포의 개념, 이를 구현하기 위해 고려해야 하는 중요한 세포의 특징들, 그리고 이러한 특징을 모방하는 인공세포의 구조 및 최신 연구 동향에 대해 다루었다. 세포는 독립된 공간, 소기관화, 물질대사, 통신, 정보 저장, 분열, 성장이라는 독특한 특징을 가지고 있으며, 이는 오랜 진화 과정을 통해 발전해온 매우 우수한 시스템이다. 특히 독립된 공간에서 물질대사가 일어나는 특징은 인공세포 개발의 핵심적인 분야로 꼽힌다. 따라서 이러한 특징들을 모방하거나 채용하여 세포 유사체를 설계함으로써 인공세포를 개발하려는 전 세계의 최신 연구들을 소개하였다. 비록 현재의 인공세포는 완벽한 자연 세포와 비교할 때 걸음마 수준에 불과하지만, 더 고등한 인공세포를 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.

인공세포를 개발하면서 또는 개발된 인공세포를 통해 복잡했던 생명 현상을 단순화하고, 이를 이용해 생명의 기원이나 생명 현상에 대한 이해도를 높일 수 있을 것으로 기대된다. 특히 세포의 가장 큰 특징이라고 할 수 있는 “독립된 공간에서의 물질대사 현상”은

생물학적 반응의 효율을 높일 수 있는 장점이 있어 이를 모방한 효소의 미세캡슐화에 모티브가 되었다. 이렇게 세포의 특징을 모방하는 인공세포 개발 연구는 여러 분야에서 기존의 세포 이용을 대체하거나, 세포를 이용할 수 없는 척박한 조건에서도 활용될 수 있다. 예를 들어, 인공세포 내부에 고정화된 효소나 촉매의 종류에 따라, 바이오산업 분야에서 유용한 물질을 생산하는 생물반응기(bioreactors), 체내에서 약물을 생산하는 약물 생산 공장(drug factory), 바이오파커를 진단하는 바이오센서(biosensors), 생체의 대사과정을 모방한 바이오칩(biochips) 등 다양한 분야로 응용할 수 있을 것이다. 이런 살아있는 세포 이용 분야의 인공세포로의 대체는 비록 고등한 생명체는 아니지만 세포라는 생명을 끊임없이 대량으로 희생시키고 있는 오늘날의 생명공학 연구 및 산업분야의 윤리적 문제도 해결 할 것으로 기대한다.

### 감 사

이 논문은 2022학년도 2학기 부산대학교 기본연구지원사업(2년)의 연구비 지원을 받아 수행된 연구이며(연구기간: 22. 9. 1.~24. 8. 31.), 이에 감사드립니다.

### Reference

- Pearce, B. K. D., Tupper, A. S., Pudritz, R. E. and Higgs, P. G., “Constraining the Time Interval for the Origin of Life on Earth,” *Astrobiology* **18**(3), 343-364(2018).
- Xu, Q., Zhang, Z., Lui, P. P. Y., Lu, L., Li, X. and Zhang, X., “Preparation and Biomedical Applications of Artificial Cells,” *Mater. Today Bio*, **23**, 100877(2023).
- Salehi-Reyhani, A., Ces, O. and Elani, Y., “Artificial Cell Mimics as Simplified Models for the Study of Cell Biology,” *Exp. Biol. Med.*, **242**(13), 1309-1317(2017).
- Oparin, A. I., “The Origin of Life”, Translation by Ann Synge. In: Bernal, J. D. (Ed.), “The Origin of Life,” Weidenfeld & Nicolson, London, 199-249(1967).
- Küchler, A., Yoshimoto, M., Luginbühl, S., Mavelli, F. and Walde, P., “Enzymatic Reactions in Confined Environments,” *Nat. Nanotech.*, **11**, 409-420(2016).
- López-García, P., Erme, L. and Moreira, D., “Symbiosis in Eukaryotic Evolution,” *J. Theor. Biol.*, **434**, 20-33(2017).
- Lamparter, L. and Galic, M., “Cellular Membranes, a Versatile Adaptive Composite Material,” *Front. Cell Dev. Biol.*, **8**, 684 (2020).
- Burk, J., Melzer, M., Hagen, A., Lips, K. S., Trinkaus, K., Nimptsch, A. and Leopold, J., “Phospholipid Profiles for Phenotypic Characterization of Adipose-Derived Multipotent Mesenchymal Stromal Cells,” *Front. Cell Dev. Biol.*, **9**, 784405(2021).
- Rideau, E., Dimova, R., Schwille, P., Wurm, F. R. and Landfester, K., “Liposomes and Polymersomes: a Comparative Review Towards Cell Mimicking,” *Chem. Soc. Rev.*, **47**, 8572-8610(2018).
- Jiang, S., Caire da Silva, L., Ivanov, T., Mottola, M. and Landfester, K., “Synthetic Silica Nano-Organelles for Regulation of Cascade Reactions in Multi-Compartmentalized Systems,” *Angew. Chem. Int. Ed.*, **61**(6), e202113784(2022).
- Elani, Y., Law, R. V. and Ces, O., “Vesicle-based Artificial Cells as Chemical Microreactors with Spatially Segregated Reaction

- Pathways," *Nat. Comm.*, **5**, 5305(2014).
12. Jo, S.-M., Wurm, F. R. and Landfester, K., "Biomimetic Cascade Network Between Interactive Multicompartmental Systems Organized by Enzyme-Loaded Silica Nanoreactors," *ACS Appl. Mater. Interf.*, **10**(40), 34230-34237(2018).
  13. Seo, H. and Lee, H., "Programmable Enzymatic Reaction Network in Artificial Cell-Like Polymersomes," *Adv. Sci.* <https://doi.org/10.1002/advs.202305760> (2024) (online publication).
  14. Martino, C., Kim, S.-H., Horsfall, L., Abbaspourrad, A., Rosser, S. J., Cooper, J. and Weitz, D. A., "Protein Expression, Aggregation, and Triggered Release from Polymersomes as Artificial Cell-like Structures," *Angew. Chem. Int. Ed.*, **51**(26), 6416-6420 (2012).
  15. Huang, X., Li, M., Green, D. C., Williams, D. S., Patil A. J. and Mann, S., "Interfacial Assembly of Protein-polymer Nano-conjugates Into Stimulus-responsive Biomimetic Protocells," *Nat. Comm.*, **4**, 2239(2013).
  16. Huang, X., Patil, A. J., Li, M. and Mann, S., "Design and Construction of Higher-Order Structure and Function in Proteinosome-Based Protocells," *J. Am. Chem. Soc.*, **136**(25), 9225-9234 (2014).
  17. Kurihara, K., Tamura, M., Shohda, K.-I., Toyota, T., Suzuki, K. and Sugawara, T., "Self-reproduction of Supramolecular Giant Vesicles Combined with the Amplification of Encapsulated DNA," *Nat. Chem.*, **3**, 775-781(2011).
  18. Melchior, M. de S., Ivanov, T., Harley, I., Sayer, C., Araújo, P. H. H., Silva, L. C. da, Ferguson, C. T. J. and Landfester, K., "Membrane Manipulation of Giant Unilamellar Polymer Vesicles with a Temperature-Responsive Polymer," *Angew. Chem. Int. Ed.*, **61**(39), e202207998(2022).
  19. Zharova, T. V., Grivennikova, V. G. and Borisov, V. B., "F1-Fo ATP Synthase/ATPase: Contemporary View on Unidirectional Catalysis," *Int. J. Mol. Sci.*, **24**(6), 5417(2023).
  20. Otrin, L., Marušič, N., Bednarz, C., Vidaković-Koch, T., Lieberwirth, I., Landfester, K. and Sundmacher, K., "Toward Artificial Mitochondrion: Mimicking Oxidative Phosphorylation in Polymer and Hybrid Membranes," *Nano Lett.*, **17**(11), 6816-6821(2017).
  21. Wu, H., Tian, C., Song, X., Liu, C., Yang, D. and Jiang, Z., "Methods for the Regeneration of Nicotinamide Coenzymes," *Green Chem.*, **15**, 1773-1789(2013).
  22. Jo, S.-M., Wurm, F. R. and Landfester, K., "Enzyme-Loaded Nanoreactors Enable the Continuous Regeneration of Nicotinamide Adenine Dinucleotide in Artificial Metabolisms," *Angew. Chem. Int. Ed.*, **60**(14), 7728-7734(2021).
  23. Jo, S.-M., Zhang, K.A.I., Wurm, F. R. and Landfester, K., "A Mimic of the Cellular Antioxidant Defense System for a Sustainable Regeneration of Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD)," *ACS Appl. Mater. Interfaces* **12**(23), 25625-25632(2020).
  24. Wei, W., Mazzotta, F., Lieberwirth, I., Landfester, K., Ferguson, C. T. J. and Zhang, K. A. I., "Aerobic Photobiocatalysis Enabled by Combining Core-Shell Nanophotoreactors and Native Enzymes," *J. Am. Chem. Soc.*, **144**(16), 7320-7326(2022).

#### Authors

**Seong-Min Jo:** Assistant Professor, Department of Biomaterial Science, Pusan National University, 1268-50, Samrangjin-ro, Samrangjin-eup, Miryang-si, Gyeongnam 50463, Korea; seongmini@pusan.ac.kr