



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0006349
(43) 공개일자 2009년01월15일

(51) Int. Cl.

A61L 27/52 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0069598

(22) 출원일자 2007년07월11일

심사청구일자 2007년07월11일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

박용두

서울시 성북구 정릉4동 대우아파트 107-202

정기석

대구 북구 산격동 1497-21번지

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이문섭, 윤여강

전체 청구항 수 : 총 10 항

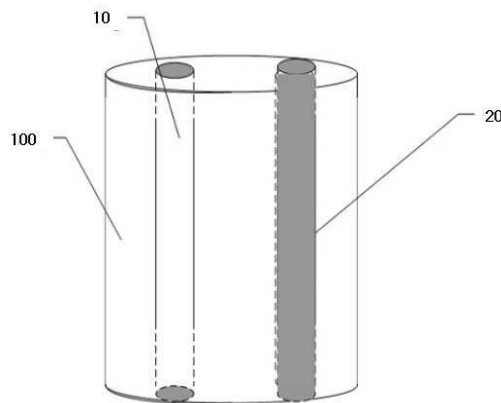
(54) 3차원 패터닝을 이용한 조직재생용 하이드로젤 제조방법

(57) 요약

본 발명은 하이드로젤(100)을 고체화 시킨 후 내부에 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝 하는 제 1단계, 및 상기 패터닝된 구조(10)에 세포 및 성장인자가 포함된 복합체(20)를 주입하는 제 2단계를 포함하는 조직재생용 하이드로젤의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 공간이 패터닝된 하이드로젤을 제조하고 상기 패터닝된 공간에 세포 및 성장인자를 채움으로서 조직에 이식이 용이한 형태로 세포 또는 조직을 형성시킬 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

박중혁

서울 관악구 신림4동 463-83

선경

서울시 노원구 월계동 그랑빌아파트 116-302

특허청구의 범위

청구항 1

하이드로젤(100)을 고체화 시킨 후 내부에 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝(patterning)하는 제 1단계, 및 상기 패터닝된 구조(10)에 세포 및 성장인자가 포함된 복합체(20)를 주입하는 제 2단계를 포함하는 조직재생용 하이드로젤의 제조방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 2단계에서 복합체(20)는 상기 패터닝된 공간(10) 외부의 하이드로젤(100)보다 낮은 젤 농도의 하이드로젤을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 하이드로젤이 포함된 복합체(20)는 고체화시킨 후 상기 패터닝된 공간(10)에 삽입하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 1단계에서 고체화된 하이드로젤(100) 내부에 펀치 또는 드릴(30)을 사용하여 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 1단계에서 고체화된 하이드로젤(100) 내부에 발열코일(electric wire)(40)을 사용하여 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 1단계에서 고체화된 하이드로젤(100) 내부에 레이저 빔(50)을 사용하여 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제 1항에 있어서, 주사기 및 주사기 바늘(60)을 사용하여 상기 1단계와 2단계를 동시에 수행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제 1항에 있어서, 상기 2단계에서 주사기 및 주사기 바늘을(60) 사용하여 세포 및 성장인자가 포함된 복합체(20)를 패터닝된 구조에 주입하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제 1항에 있어서, 상기 2단계에서 음압(70)을 이용하여 세포 및 성장인자가 포함된 복합체(20)를 패터닝된 공간(10)에 채우는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 가진 음각 구조틀(80)에 하이드로젤(100)을 주입하여 고체화시키는 제 1단계, 및 상기 음각 구조틀(80)을 제거하여 패터닝된 공간(10)에 세포 및 성장인자가 포함된 복합체(20)를 주입하는 제 2단계를 포함하는 조직재생용 하이드로젤의 제조방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 본 발명은 조직재생용 하이드로젤 제조방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 하이드로젤을 고체화 시킨 후 내부에 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간을 패터닝하는 제 1단계, 및 상기 패터닝된 구조에 세포 및 성장인자가 포함된 복합체를 주입하는 제 2단계를 포함하는 조직재생용 하이드로젤의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 본 발명은 생체 재료 및 조직공학 재생의학 분야에 적용 가능하다. 조직재생용 지지체의 개발, 특히 하이드로젤을 이용한 조직재생 및 구조물의 재건의 응용분야이다. 지지체 개발, 특히 하이드로젤을 이용한 조직재생에의 적용 기술은 현재 3차원 패터닝에 대한 개념이 태동하고 있는 상태이며, 지지체의 3차원 패터닝 혹은 구조물 제작은 아직까지 활발하게 연구되고 있지 않다. 현재 가장 발달된 시스템인 주사형 지지체는 생체 내에 주입시에 수용액 상태에서 젤 상태로 굳어지는 물질을 사용하며, 여기에 줄기세포 및 성장인자를 첨가하여 조직의 재생을 촉진시킨다. 1 종의 세포 혹은 1-2종의 성장인자가 지지체 내에 골고루 퍼지도록 하는 것은 가능하지만, 3차원의 규칙적인 배열을 구현하는 것이 쉽지 않았으며, 새로운 개념이 요구된다. 일례로 신경세포의 경우 신경이 자라고 있는 안쪽의 신경다발과 그 바깥을 싸고 있는 세포들로 패터닝된 상태로 구성되어 있는데, 하이드로젤만 주입할 경우 구조물을 가지고 있는 조직을 구현하는데 어려움이 있을 수 있다. 현재까지 알려진 기술로는 이런 문제를 해결할 수 없으므로 새로운 개념의 지지체(하이드로젤)의 개발이 필요한 실정이다.

- <3> 이에, 본 발명자들은 상기 종래기술들의 문제점들을 극복하기 위하여 예의 연구노력한 결과, 조직재생용 하이드로젤을 고체화하고 펀치 또는 드릴과 같은 도구를 이용하여 조직 또는 세포가 성장하는 데 적합한 구조를 패터닝하는 경우, 조직 이식에 용이한 형태로 조직 또는 세포를 성장시킬 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- <4> 따라서, 본 발명의 주된 목적은 재생의학에 사용 가능한 하이드로젤 내부에 3차원 공간을 형성시킨 후, 형성된 구조에 세포 및 조직이 인체내부와 유사한 3차원 공간으로 성장할 수 있게 하는 조직재생용 하이드로젤 제조방법을 제공하는 데 있다.

과제 해결수단

- <5> 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 하이드로젤(100)을 고체화 시킨 후 내부에 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝하는 제 1단계, 및 상기 패터닝(patterning)된 구조(10)에 세포 및 성장인자가 포함된 복합체(20)를 주입하는 제 2단계를 포함하는 조직재생용 하이드로젤의 제조방법을 제공한다.
- <6> 본 발명의 상기 3차원 공간(10)은 이식하려는 인체의 조직이나 세포에 따라 그 형태 및 크기 등이 달라질 수 있으며, 예컨대 신경세포의 경우 인체 내에서 신경다발을 형성할 수 있도록 복수의 연속적인 라인 형태의 공간을 가질 수 있다.
- <7> 본 발명에서, 하이드로젤이란 약물전달체계, 생체 조직적 합성재료 등 의료용 재료로 사용 가능한 수팽윤성 고분자를 의미하는데, 이러한 수팽윤성 고분자는 물을 흡수하나 물에 용해되지 않는 고분자를 말하며, 본 발명에서 사용한 하이드로젤은 히알루론산 기반의 하이드로젤이다. 히알루론산에 아크릴기를 붙였으며, cross-linker로 사용한 PEG의 thiol기와 생체내 환경 (pH 7.4, 37도)에서 Michael type addition 반응에 의해 10분 이내에 젤이 만들어지므로 주사형 지지체로 만들 수 있다. 또한, 젤 반응이 20분 이내에 완료되는 alginate, fibrin 등의 생체 물질 기반의 하이드로젤 및 poly(ethylene) glycol (PEG)등의 합성고분자 기반의 하이드로젤이 본 발명에 사용 가능하다.
- <8> 본 발명에 있어서, 히알루론산 기반의 하이드로젤이 본 발명의 조직재생용으로 사용되기 위해서는 당업계에서 통상적으로 사용되는 젤 농도, 구체적으로는 5-10 중량%의 젤 농도가 적합하며, 바람직하게는 6-8 중량%의 젤 농도로 제조되는 것이 적당하다.
- <9> 본 발명에서, 하이드로젤의 고체화란 하이드로젤이 졸(Sol)에서 젤(Gel)로 변화된 상태로, 이 때 젤 상태는 하이드로젤 내부에 공간에 본 발명의 실시예에서 사용되는 방법들로 패터닝할 수 있을 정도의 경도를 가지는 것을 의미한다.
- <10> 본 발명의 제조방법에서, 상기 2단계에서 복합체(20)는 상기 패터닝된 공간(10) 외부의 하이드로젤(100)보다 낮

은 젤 농도의 하이드로젤을 포함하는 것이 바람직하다. 구체적으로, 고체화된 하이드로젤 내부의 3차원 공간(10)에 복합체로서 세포 및 성장인자와 함께 저농도의 하이드로젤을 포함함으로써, 덜 경화된 하이드로젤의 주입형태에 따라 세포 또는 조직이 원하는 형태(크기)로 성장할 수 있으며 외부의 더 경화된 하이드로젤로 인하여 이식부위에서 외부의 스카세포들 (scar cells)이 침투되지 않는 효과를 얻을 수 있다.

<11> 본 발명에 있어서, 바람직하게는 상기 하이드로젤이 포함된 복합체(20)는 고체화시킨 후 상기 패터닝된 공간(10)에 삽입하는 것을 특징으로 한다. 대개의 경우 상기 패터닝된 공간(10)에 세포, 성장인자 및 하이드로젤을 액체상태에서 혼합한 복합체(20)를 주입하여 조직재생용으로 사용될 것이나, 어떠한 경우 상기 패터닝된 공간에 세포, 성장인자 및 하이드로젤을 먼저 고체화시킨 복합체(20)를 삽입하는 형태로도 사용될 수 있다 (도 8 참조).

<12> 도 1은 본 발명의 조직재생용 하이드로젤의 제조방법을 개략적으로 나타낸 개념도이다. 조직 또는 세포를 성장시키기 위한 지지체로서 사용되는 하이드로젤(100) 내부에 사용목적에 따라 세포의 성장 형태를 유도할 수 있는 3차원 공간을 형성시키고 여기에 세포 및 성장인자가 포함된 복합체를 채움으로써 본 발명의 조직재생용 하이드로젤을 완성시킬 수 있다.

<13> 본 발명의 제조방법에서, 상기 1단계에서 고체화된 하이드로젤(100) 내부에 펀치 또는 드릴(30)을 사용하여 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝하는 것을 특징으로 한다. 상기 고체화된 하이드로젤(100) 내부에 복수의 연속적인 라인형태로 패터닝(일련의 구조; 세포 또는 조직을 원하는 형태로 성장시킬 수 있는 3차원 공간)하기 위하여 직선의 구멍형태로 뚫을 수 있는 어떠한 도구도 사용할 수 있으며, 바람직하게는 의료기구 제작용 펀치 또는 드릴을 사용하여 제작하는 것이 적당하다. 또한 하이드로젤의 경화도에 따라 금속, 합성수지 및 종이 등으로 제작된 펀치 또는 드릴을 사용할 수 있으며, 경화도가 낮은 하이드로젤의 경우 일반적으로 많이 사용되는 빨대 등으로 손쉽게 제작할 수도 있다. 도 2에서는 펀치 또는 드릴을 이용하여 하이드로젤 내부에 패터닝하는 개략적인 방법을 예시하고 있다.

<14> 본 발명의 제조방법에서, 상기 1단계에서 고체화된 하이드로젤(100) 내부에 발열코일(Electric wire)(40)을 사용하여 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝하는 것을 특징으로 한다. 상기 고체화된 하이드로젤(100) 내부에 코일(40)을 삽입하여 패터닝한 후, 코일에 전류를 통과시켜 발생하는 열에 의해 젤이 녹게 되어 삽입된 코일의 직경 보다 큰 일련의 구조를 형성시킬 수 있다. 상기 공급되는 전류의 크기와 시간에 따라 형성되는 구조의 크기와 형태를 다르게 할 수 있다. 도 3에서는 발열코일을 사용하여 하이드로젤 내부에 패터닝하는 개략적인 방법을 예시하고 있다.

<15> 본 발명의 제조방법에서, 상기 1단계에서 고체화된 하이드로젤(100) 내부에 레이저빔(Laser beam)(50)을 사용하여 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝하는 것을 특징으로 한다. 상기 고체화된 하이드로젤(100) 내부에 레이저빔(50)을 사용하여 단시간에 복수개의 라인형태의 3차원 공간을 형성시킬 수 있다. 도 4는 레이저빔을 사용하여 하이드로젤 내부에 패터닝하는 개략적인 방법을 예시하고 있다.

<16> 본 발명의 제조방법에서, 주사기 및 주사기 바늘(60)을 사용하여 상기 1단계와 2단계를 동시에 수행하는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 고체화된 하이드로젤 내부에는 패터닝하여 얻은 3차원 공간(젤 내부의 공간)(10)에 세포 및 성장인자가 포함된 복합체(20)를 주입하게 되는데, 상기 패터닝을 주사기 및 주사기 바늘을 이용하는 경우는 하이드로젤 내부에 주사기 바늘이 삽입되고 제거될 때, 주사기 내부에 있던 상기 복합체를 주사기 바늘을 제거하면서 동시에 주입할 수 있다. 실제로 소규모의 조직재생용 하이드로젤 제조공정에서는 이러한 주사기 및 주사기 바늘과 같은 형태를 사용하여 패터닝과 복합체의 주입을 동시에 수행하는 방법이 가장 효율적일 수 있다.

<17> 본 발명의 제조방법에서, 상기 2단계에서 주사기 및 주사기 바늘(60)을 사용하여 세포 및 성장인자가 포함된 복합체(20)를 패터닝된 공간(10)에 주입하는 것이 바람직하다. 조직재생에는 단일 또는 2종 이상의 세포와 다양한 조성의 세포의 기질로 이루어진 복합체를 필요로 하고, 사용용도가 우선적으로 의학적 용도이므로 위생적인 측면 (멸균, 보관 등) 및 취급상의 용이성 (입수용이, 기타 의료용 기구와 결합 등)을 고려할 때 의료분야에서 많이 사용되는 주사기를 사용하는 것이 적당하다.

<18> 본 발명의 제조방법에서, 상기 2단계에서 음압(70)을 이용하여 세포 및 성장인자가 포함된 복합체(20)를 패터닝된 공간(10)에 채우는 것을 특징으로 한다. 본 발명에서, 음압 (negative pressure)이란 속이 빈 공간에 액체 또는 젤 상태의 물질을 빨아들임으로서 공간을 채우는 방법을 말한다. (도 8 참조). 상기과 같이 주사기를 사용하여 세포 및 성장인자를 패터닝된 구조에 주입할 수도 있으나, 어떠한 경우, 복수개의 3차원 공간 또는 직선형

태가 아닌 복잡한 공간에 일정한 양의 복합체를 주입하거나, 다량의 복합체를 단시간에 주입하거나, 기타 도구에 의한 오염이 염려되는 경우 각각의 목적에 부합하도록 제작된 음압장치를 사용하여 세포 및 성장인자를 패터닝된 구조에 채울 수 있다. 하이드로젤은 그 물리적인 특성상 다른 구조물과 밀착시키는 것이 용이하기 때문에 패터닝된 구조에 세포 및 성장인자를 주입하는 방법으로 더욱 선호될 수 있다.

<19> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 가진 음각 구조틀(80)에 하이드로젤(100)을 주입하여 교체화시키는 제 1단계, 및 상기 음각 구조틀(80)을 제거하여 패터닝된 공간(10)에 세포 및 성장인자가 포함된 복합체(20)를 주입하는 제 2단계를 포함하는 조직재생용 하이드로젤의 제조방법을 제공한다.

<20> 본 발명에서, 상기 음각 구조틀은 도 5에서와 같이, 액체상태의 하이드로젤을 주입하여 상기 3차원 공간을 가진 하이드로젤을 성형하기 위한 틀을 말한다. 음각 구조틀을 사용하여 하이드로젤을 성형하는 경우는 하이드로젤을 교체화시킨 후 도구를 사용하여 원하는 구조만큼의 하이드로젤을 제거할 필요가 없으며, 하이드로젤 외형 또한 일정하게 성형할 수 있는 장점이 있다.

<21> 이하, 첨부된 도면을 참조한 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

효 과

<22> 이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따르면 재생의학에 사용 가능한 하이드로젤 내부에 3차원 공간을 패터닝하고 패터닝된 공간에 세포 및 조직이 성장시킴으로써 인체내부와 유사한 구조의 조직을 얻을 수 있다. 이러한 새로운 개념의 조직재생은 개개인 또는 손상 받은 조직에 맞추어진 재생의학 분야의 발전에 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<23> 실시예 1. 교체화된 하이드로젤의 제조방법

<24> 히알루론산 (Lifecore Biomedical, Chaska, MN, USA) 0.1g (90.25 mmole)을 40ml의 3차 증류수에 용해시켜 0.25%의 용액을 제조한 후 EDC (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide) 0.24g (1.25 mmole)과 HOBt (1-hydroxybenzotriazole hydrate) 0.17g (12.5 mmole)을 첨가하고, pH 6.8로 조절하여 8시간 동안 반응시킨다. 반응 용액을 100 mM NaCl에서 60시간 투석시킨 후, 증류수에서 다시 24시간 투석시킨다. 투석시킨 결과물에 formamide 40ml에 녹인 NAN 0.5g (3 mmole)을 첨가하여 12시간 동안 반응시킨다. 그 이후에 다시 100 mM NaCl에 60시간 투석하고, 증류수에서 24시간 동안 투석한다. 최종 결과물을 동결건조하여 acrylated 히알루론산 파우더를 얻어낸다.

<25> 아크릴기가 결합된 히알루론산을 0.3몰의 triethanolamin buffer에 녹인 용액과 PEG-SH4를 0.3몰의 triethanolamin buffer에 녹인 용액을 섞은 후 37℃에서 10 분간 젤 반응시켜 원하는 하이드로젤을 제작한다.

<26> 실시예 2. 펀치 또는 드릴을 사용하여 패터닝된 하이드로젤을 제조하는 방법

<27> 도 2에서와 같이, 교체화된 하이드로젤(100) 내부에 펀치 또는 드릴(30)을 사용하여 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝하였다. 여기서 사용되는 펀치 또는 드릴은 의료용의 어떠한 제품도 사용이 가능하며, 펀치의 경우 하이드로젤이 소프트하기 때문에 일반적으로 음식물 섭취를 위한 빨대 (straw)를 사용할 수도 있다. 그 다음, 세포 및 성장인자를 포함하는 복합체를 교체화된 하이드로젤보다 낮은 농도의 하이드로젤과 함께 주사기에 넣고 주사기 바늘을 통하여 패터닝된 공간(10)을 채웠다.

<28> 실시예 3. 발열코일(Electric Wire)을 사용하여 패터닝된 하이드로젤을 제조하는 방법

<29> 도 3에서와 같이, 교체화된 하이드로젤(100) 내부에 저항을 갖는 코일(Electric wire)(30)을 삽입하고 전원(41)을 공급시켜 발열시킴으로서 코일주변의 젤을 녹여 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝하였다. 여기서 저항코일에 전원을 공급하는 시간과 전압을 조절하면 공간의 크기를 조절할 수 있다. 그 다음, 세포 및 성장인자를 포함하는 복합체를 교체화된 하이드로젤보다 낮은 농도의 하이드로젤과 함께 주사기에 넣고 주사기 바늘을 통하여 패터닝된 공간(10)을 채웠다.

<30> 실시예 4. 레이저빔(Laser Beam)을 사용하여 패터닝된 하이드로젤을 제조하는 방법

<31> 도 4에서와 같이, 교체화된 하이드로젤(100) 내부에 레이저빔(Laser Beam)(30)을 조사하여 복수개의 라인형태로

조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝하였다. 여기서 조사되는 레이저빔의 굵기 및 세기를 조절하여 패터닝되는 공간의 크기를 조절할 수 있다. 그 다음, 세포 및 성장인자를 포함하는 복합체를 고체화된 하이드로젤보다 낮은 농도의 하이드로젤과 함께 주사기에 넣고 주사기 바늘을 통하여 패터닝된 공간(10)을 채웠다.

<32> 실시예 5. 구조틀을 사용하여 패터닝된 하이드로젤을 제조하는 방법

<33> 도 5에서와 같이, 사전에 형성된 구조틀(또는 원통형의 외형을 가진 음각구조틀)(80)을 고정시키고, 고정된 구조틀(80)에 액체상태의 하이드로젤을 붓고 굳혔다. 하이드로젤이 굳어진 후, 구조틀(80)을 제거하여 패터닝된 공간(10)을 가진 하이드로젤(100)을 완성하였다. 그 다음, 세포 및 성장인자를 포함하는 복합체를 고체화된 하이드로젤보다 낮은 농도의 하이드로젤과 함께 주사기에 넣고 주사기 바늘을 통하여 패터닝된 공간(10)을 채웠다.

<34> 실시예 6. 주사기 및 주사기 바늘을 사용하여 패터닝된 하이드로젤을 제조하는 방법

<35> 도 6a에서와 같이, 우선 주사기 내부에 세포 및 성장인자를 포함하는 복합체를 고체화된 하이드로젤보다 낮은 농도의 하이드로젤과 함께 충전하였다. 복합체가 충전된 주사기에 주사기 바늘을 장착하고 고체화된 하이드로젤(100) 내부에 주사기바늘(60)을 사용하여 복수개의 라인형태로 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간(10)을 패터닝한 후, 주사기바늘(60)을 제거하면서 주사기 내부에 충전되어 있는 복합체(20)를 패터닝된 공간에 채웠다.

<36> 도 6b는 주사기 및 주사기 바늘(60)을 사용하여 복합체(20)를 주입하는 방법을 구체적으로 보여주고 있다. 도 6b와 같이, 복합체(20)가 충전된 주사기의 바늘(60)을 하이드로젤(100)에 삽입하고, 삽입된 방향과 반대방향으로 나오면서 하이드로젤에 복합체를 주입하게 된다. 이 때, 주사기의 제거속도와 피스톤의 속도는 적절하게 유지되어야 복합체가 하이드로젤 내부에 위치하게 된다. 즉, 하이드로젤에 복합체가 주입되는 양과 주사기에서 배출되는 양은 일치해야 하므로 $V_p = (d^2/D^2) \times V_s$ 정도의 속도로 되어야 한다. 이보다 큰 차이가 발생하면 복합체 형에 대한 제어가 불가능하게 된다.

<37> 실시예 7. 주사기를 사용하여 세포 및 성장인자를 채우는 방법

<38> 도 7은 패터닝된 하이드로젤(100)을 제조한 후 내부에 세포가 성장할 수 있는 복합체(20)를 주사기(60)를 이용하여 주입하는 방법을 보여주고 있다. 도 6b에서와 마찬가지로, 복합체가 충전된 주사기(또는 주사기 바늘이 결합된 주사기)(60)를 삽입하고 제거할 때는 주사기의 제거속도와 피스톤의 속도를 적절하게 유지하면서 복합체를 채웠다. 실시예 2, 3, 4 및 5의 방법에서 패터닝된 하이드로젤은 모두 주사기를 사용하여 복합체를 채울 수 있다.

<39> 실시예 8. 패터닝된 공간을 가진 하이드로젤에 음압을 이용하여 세포 및 성장인자를 채우는 방법

<40> 실시예 2, 3, 4 및 5에서 패터닝한 후, 주사기를 사용하지 않고 세포 및 성장인자를 채워넣을 수 있다. 도 8에서와 같이, 사전에 패터닝된 공간을 가진 하이드로젤을 세포 및 성장인자와 함께 저농도의 하이드로젤을 포함하는 복합체(20)가 담긴 용기에 놓고 상기 하이드로젤(100)의 상부에 음압장치를 접촉시키고 음압(70)을 가함으로써 복합체 용기내의 복합체(20)가 패터닝된 공간(10) 내부로 빨려오도록 하였다.

<41> 실시예 9. 패터닝된 공간을 가진 하이드로젤에 세포 및 성장인자를 포함하는 고체화된 하이드로젤을 삽입하는 방법

<42> 실시예 2 내지 8에서와 같이, 세포 및 성장인자를 액체상태의 하이드로젤에 포함시킨 복합체(20)를 패터닝된 공간에 주입하는 방법 이외에도, 세포 및 성장인자가 포함된 하이드로젤을 고체화시켜 지지체 하이드로젤에 삽입할 수 있다. 먼저, 세포, 성장인자 및 액체상태의 저농도 하이드로젤을 포함한 복합체(20)를 고체화시켰다. 그 후, 실시예 2, 3, 4 및 5에서와 같이, 패터닝된 공간(10)을 가진 하이드로젤(100)을 만들고, 패터닝된 공간(10)에 상기 세포 및 성장인자를 포함하는 고체화된 하이드로젤을 삽입하여 조직재생용 하이드로젤(100)을 완성하였다(도 9).

<43> 실시예 10. 신경다발 재생을 위하여 패터닝된 조직재생용 하이드로젤

<44> 신경재생에 있어서, 신경재생 시 손상을 받을 경우 외부로부터 자라 들어오는 섬유상조직(fibrous tissue)의 생성이 문제가 된다. 도 10에서 보는 바와 같이, 하이드로젤 A는 히알루론산의 특성에 의해 섬유상조직의 생성을 억제하는 역할을 하고 있으며, 내부에 튜브형태로 패터닝된 하이드로젤 B는 세포 및 성장인자를 포함하고

있다. 여기서 하이드로젤 B는 하이드로젤 A보다 낮은 젤 농도로 제작되었다. 하이드로젤 B를 하이드로젤 A의 패터닝된 공간에 삽입하고 세포를 배양시킨 후 신경세포의 분화 및 증식을 확인하였다. 그 결과 도 10에서처럼, 신경세포의 성장 및 신경다발의 재생이 촉진되었다.

<45> 실시예 11. 골형성 촉진을 위하여 패터닝된 조직재생용 하이드로젤

<46> 도 11에서와 같이, 하이드로젤 A에는 골형성 촉진 단백질 및 줄기 세포를 포함시켰으며, 내부에 패터닝된 하이드로젤 B에는 혈관형성 촉진인자 및 줄기 세포를 포함시켰다. 상기 하이드로젤 B를 하이드로젤 A에 삽입함으로써 골 조직 재건의 촉진이 가능하고 특히 작은 크기가 아닌 큰 크기의 조직도 혈관생성으로 인해 내부조직이 괴사하지 않고 재생이 가능하였다.

도면의 간단한 설명

<47> 도 1은 본 발명에 따른 조직재생용 하이드로젤 제조방법을 나타내는 개념도이다.

<48> 도 2는 펀치 또는 드릴을 사용하여 본 발명의 하이드로젤에 패터닝하는 방법을 나타낸 개념도이다.

<49> 도 3은 발열코일을 사용하여 본 발명의 하이드로젤에 패터닝하는 방법을 나타낸 개념도이다.

<50> 도 4는 레이저빔을 사용하여 본 발명의 하이드로젤에 패터닝하는 방법을 나타낸 개념도이다.

<51> 도 5는 구조틀을 사용하여 본 발명의 하이드로젤에 패터닝하는 방법을 나타낸 개념도이다.

<52> 도 6a와 6b는 주사기 및 주사기 바늘을 사용하여 본 발명의 하이드로젤을 제조하는 방법을 나타낸 개념도이다.

<53> 도 7은 주사기 및 주사기를 사용하여 본 발명의 하이드로젤에 복합체를 주입하는 방법을 나타낸 개념도이다.

<54> 도 8은 음압을 이용하여 본 발명의 하이드로젤에 복합체를 주입하는 방법을 나타낸 개념도이다.

<55> 도 9는 고체화된 복합체를 본 발명의 하이드로젤에 삽입하는 방법을 나타낸 개념도이다.

<56> 도 10은 본 발명에 따른 조직재생용 하이드로젤에 신경세포를 증식시키는 방법을 나타낸 개념도이다.

<57> 도 11은 본 발명에 따른 조직재생용 하이드로젤에 혈관형성 세포를 증식시키는 방법을 나타낸 개념도이다.

<58> * 도면의 주요부분에 대한 부호설명

<59> 100: 하이드로젤

<60> 10: 조직 또는 세포가 성장할 수 있는 3차원 공간 또는 패터닝된 공간

<61> 20: 세포 및 성장인자가 포함된 복합체

<62> 30: 펀치 또는 드릴

<63> 40: 발열코일(Electric Wire or Resistance coil)

<64> 41: 전원공급장치(Power Supply)

<65> 50: 레이저빔(Laser Beam)

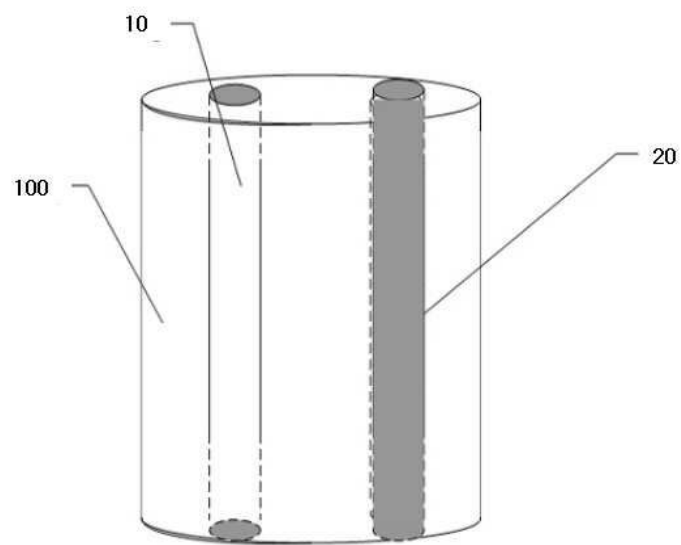
<66> 60: 주사기 및 주사기 바늘 (Syringe and Syringe Needle)

<67> 70: 음압(Negative Pressure)

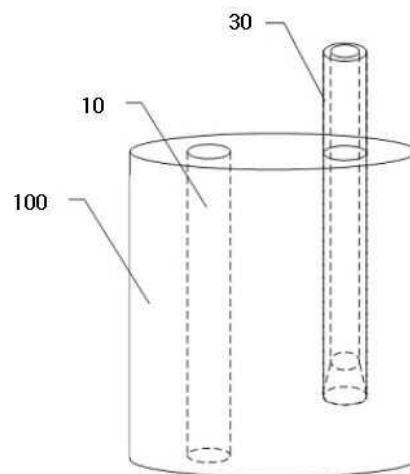
<68> 80: 사전-형성된 구조틀

도면

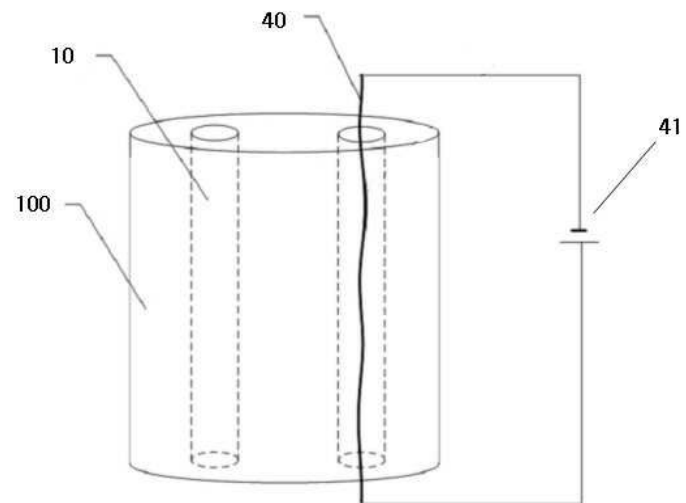
도면1



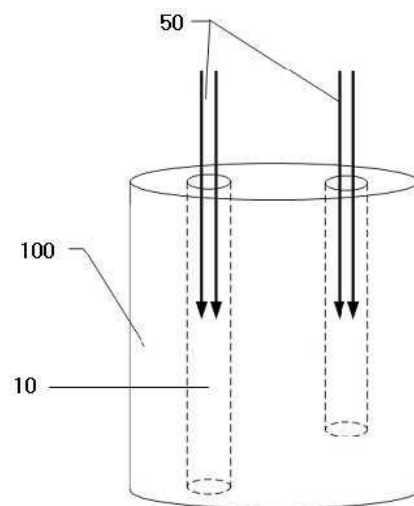
도면2



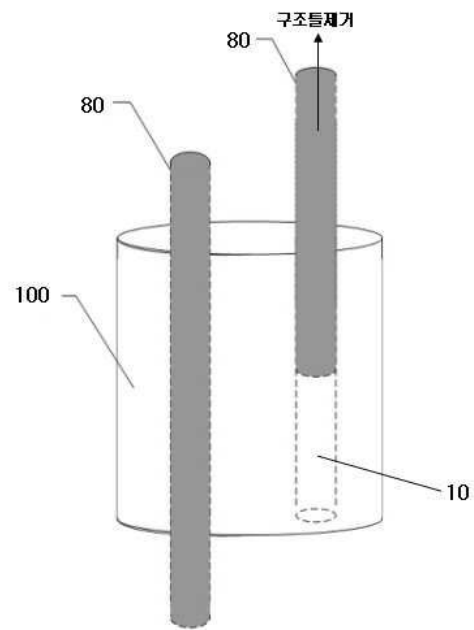
도면3



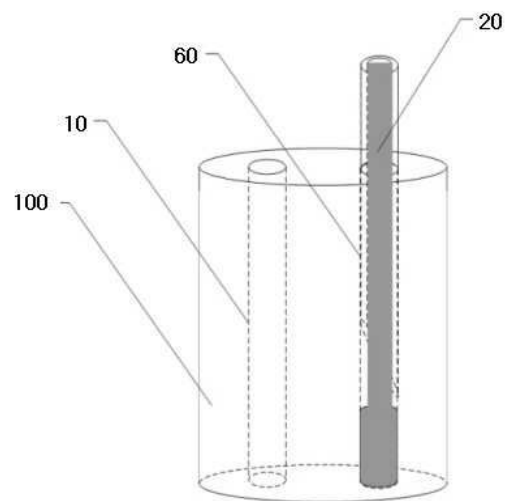
도면4



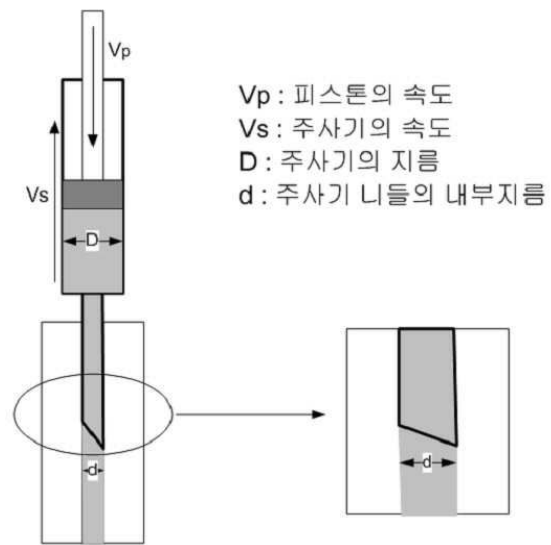
도면5



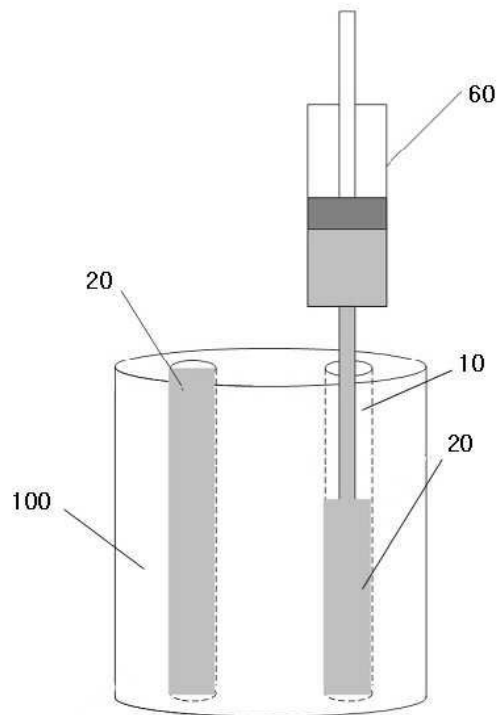
도면6a



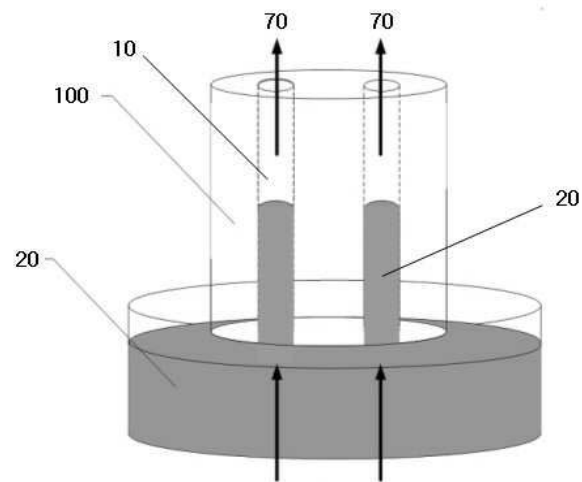
도면6b



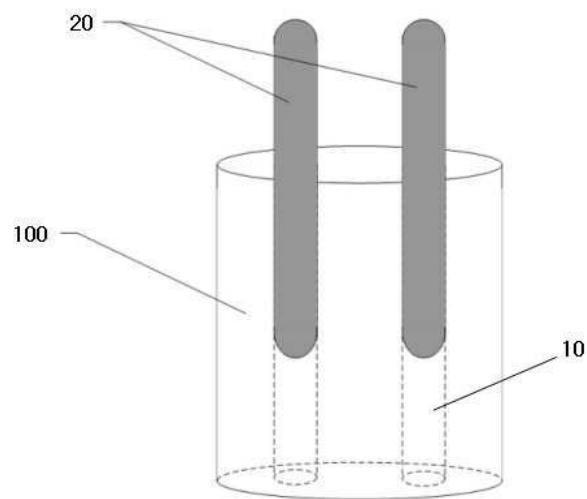
도면7



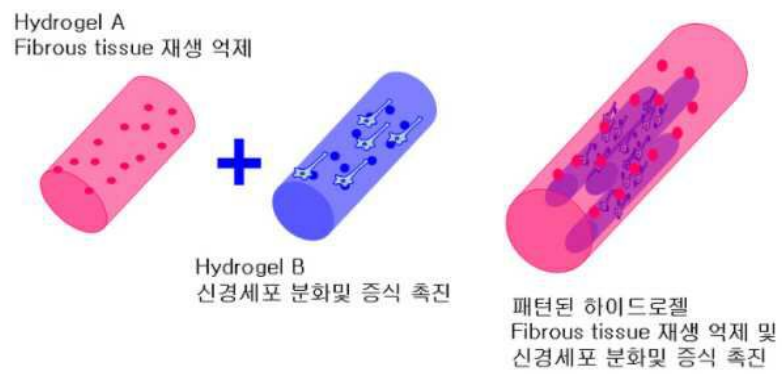
도면8



도면9



도면10



도면11

