



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0066314
(43) 공개일자 2020년06월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/24 (2006.01) A61L 27/02 (2006.01)
A61L 27/52 (2006.01) A61L 27/60 (2006.01)
C07K 14/78 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61L 27/24 (2013.01)
A61L 27/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7010563
(22) 출원일자(국제) 2018년07월09일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년04월10일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2018/025846
(87) 국제공개번호 WO 2019/064807
국제공개일자 2019년04월04일
(30) 우선권주장
JP-P-2017-189789 2017년09월29일 일본(JP)

(71) 출원인
코쿠리츠켄큐카이하츠호진 노교쇼쿠한산교기주츠
소고켄큐키코
일본국 이바라키켄 츠쿠바시 칸논다이 3쵸메 1반
치 1
(72) 발명자
니시무라 아야코
일본국 사가켄 카시마시 오아자노도미분 2596반치
1 유토쿠야쿠한코교 가부시키키가이샤 내
미야우치 쇼헤이
일본국 사가켄 카시마시 오아자노도미분 2596반치
1 유토쿠야쿠한코교 가부시키키가이샤 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인아주

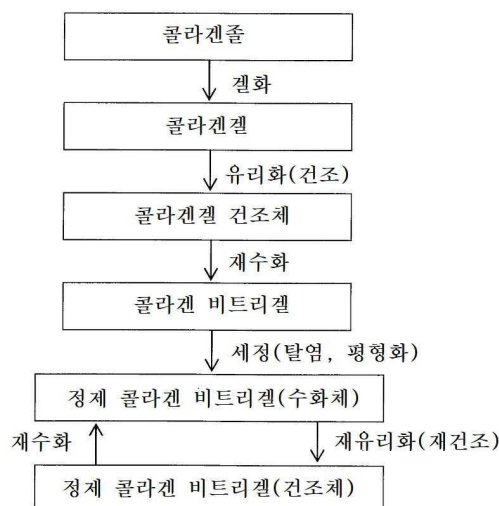
전체 청구항 수 : 총 26 항

(54) 발명의 명칭 콜라겐 비트리젤 및 이의 정제물의 제조 방법, 그리고 해당 방법에 의해 얻어진 콜라겐 비트리젤 및 이의 정제물

(57) 요약

콜라겐으로부터, 가공 처리를 하지 않더라도 막 강도가 높고, 공업적, 기계적으로 제조, 가공이 용이하고, 또한 취급하기 쉽고 안정성이 높은 콜라겐 비트리젤 및 이의 정제물을 제조하는 것을 목적으로 한다. 이 목적 달성을 위한, 콜라겐을, 무기 탄산염류와, 무기 염화물 및 무기 인산염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 함유하는 겔화제로 겔화시키고, 이어서 얻어진 콜라겐겔을 유리화시키고, 더욱 이것을 수화 처리에 부여하는 것을 특징으로 하는 콜라겐 비트리젤의 제조 방법 및 이 콜라겐 비트리젤을, 탈염, 평형화시키고, 더욱 건조시키는 것을 특징으로 하는 정제 콜라겐 비트리젤의 제조 방법, 그리고 이들 방법에 의해 얻어진 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61L 27/52 (2013.01)

A61L 27/60 (2013.01)

C07K 14/78 (2013.01)

(72) 발명자

타케자와 토시아키

일본국 이바라키켄 츠쿠바시 칸논다이 2쵸메 1반치
2 코쿠리츠켄큐카이하츠호진 노교쇼쿠힌산교기주츠
소고켄큐키코 세이부츠기노리요켄큐부몬 내

미야자키 아유미

일본국 이바라키켄 츠쿠바시 칸논다이 2쵸메 1반치
2 코쿠리츠켄큐카이하츠호진 노교쇼쿠힌산교기주츠
소고켄큐키코 세이부츠기노리요켄큐부몬 내

명세서

청구범위

청구항 1

콜라겐 비트리겔(collagen vitrigel)의 제조 방법으로서,

콜라겐을, 무기 탄산염류와, 무기 염화물 및 무기 인산염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 함유하는 겔화제로 겔화시키고, 이어서 얻어진 콜라겐겔을 유리화시키고, 유리화시킨 콜라겐겔을 더욱 수화 처리하는 것을 특징으로 하는 콜라겐 비트리겔의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 콜라겐이 돼지 피부 유래 아텔로콜라겐(atelocollagen)인, 콜라겐 비트리겔의 제조 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 콜라겐과 겔화제의 혼합물의 25℃에 있어서의 pH가 6.2 내지 9.8인, 콜라겐 비트리겔의 제조 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 콜라겐과 겔화제의 혼합물 중에 함유되는 화합물의 이온 강도가 0.07 내지 0.22인, 콜라겐 비트리겔의 제조 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 무기 탄산염류가 무기 탄산염 또는 무기 탄산수소염인, 콜라겐 비트리겔의 제조 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 무기 탄산염이 탄산나트륨 또는 탄산칼륨인, 콜라겐 비트리겔의 제조 방법.

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서, 상기 무기 탄산수소염이 탄산수소나트륨 또는 탄산수소칼륨인, 콜라겐 비트리겔의 제조 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 무기 염화물이 염화나트륨, 염화칼륨, 염화마그네슘 및 염화칼슘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인, 콜라겐 비트리겔의 제조 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 무기 인산염이 인산 나트륨, 인산칼륨, 인산수소이나트륨, 인산수소이칼륨, 인산이수소나트륨, 인산이수소칼륨 및 인산이수소칼슘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인, 콜라겐 비트리겔의 제조 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 겔화제가 배지 성분 및 유기 완충제 성분 유래의 유기 성분을 함유하지 않는 것인, 콜라겐 비트리겔의 제조 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 기재된 제조 방법에 의해 조제한 콜라겐 비트리겔을 탈염시키고 평형화시키

는 것을 특징으로 하는, 정제 콜라겐 비트리겔 수화체의 제조 방법.

청구항 12

제11항의 제조 방법에 의해 조제한 정제 콜라겐 비트리겔 수화체를 추가로 건조시켜 재유리화시키는 것을 특징으로 하는, 정제 콜라겐 비트리겔 건조체의 제조 방법.

청구항 13

제12항의 제조 방법에 의해 조제한 정제 콜라겐 비트리겔 건조체를 추가로 재수화시키는 것을 특징으로 하는 정제 콜라겐 비트리겔 수화체의 제조 방법.

청구항 14

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 기재된 방법에 의해 얻어지는, 콜라겐 비트리겔.

청구항 15

적어도 제14항에 기재된 콜라겐 비트리겔을 포함하는, 생체 이식 재료.

청구항 16

제15항에 있어서, 사용 전에 세포를 담지하지 않는 것인, 생체 이식 재료.

청구항 17

적어도 제14항에 기재된 콜라겐 비트리겔을 포함하는, 의료용 인공피부.

청구항 18

제11항 또는 제13항에 기재된 방법에 의해 얻어지는, 정제 콜라겐 비트리겔 수화체.

청구항 19

적어도 제18항에 기재된 정제 콜라겐 비트리겔 수화체를 포함하는, 생체 이식 재료.

청구항 20

제19항에 있어서, 사용 전에 세포를 담지하지 않는 것인, 생체 이식 재료.

청구항 21

적어도 제18항에 기재된 정제 콜라겐 비트리겔 수화체를 포함하는, 의료용 인공피부.

청구항 22

제12항에 기재된 방법에 의해 얻어지는, 정제 콜라겐 비트리겔 건조체.

청구항 23

적어도 제22항에 기재된 정제 콜라겐 비트리겔 건조체를 포함하는, 생체 이식 재료.

청구항 24

제23항에 있어서, 사용 전에 세포를 담지하지 않는 것인, 생체 이식 재료.

청구항 25

적어도 제22항에 기재된 정제 콜라겐 비트리겔 건조체를 포함하는, 의료용 인공피부.

청구항 26

콜라겐겔 건조체로서,

콜라겐을, 무기 탄산염류와, 무기 염화물 및 무기 인산염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 함유하는

겔화제로 겔화하고, 이어서 얻어진 콜라겐겔을 유리화시키는 것에 의해 얻어지는, 콜라겐겔 건조체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, 콜라겐 비트리겔(collagen vitrigel) 및 그 정제물의 제조 방법에 관한 것이다. 더욱 상세하게 말하면, 콜라겐을 섬유화하는, 의료용 등에 이용 가능한 콜라겐 비트리겔, 정제 콜라겐 비트리겔 및 이들의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 콜라겐은 생체내에 존재하는 단백질의 하나이다. 인간에 있어서는 전신의 단백질의 약 30%를 차지하고, 특히 피부, 뼈, 연골, 힘줄 및 혈관벽에 많이 존재한다. 콜라겐의 분자량은 약 30만이며, 분자량 약 10만의 폴리펩타이드 사슬 3개로 이루어진 삼중 나선 구조를 형성하고 있다. 이 콜라겐은 그 유래가 되는 동물 및 그 조직에 의해서 아미노산 서열 순서 및 아미노산 조성비가 다른 다수의 분자종이 존재한다.

[0003] 콜라겐은 생체내에서 세포의 매트릭스로서 세포의 발판으로서의 역할을 함과 동시에, 증식, 분화 및 형태 형성에 영향을 주는 것이 알려져 있고, 예전부터 세포 배양 담체로서 이용되고, 최근에는 생체 이식 재료로서도 이용되고 있다.

[0004] 이 중, 세포 배양 담체로서는 콜라겐 코팅이 시행된 각종 배양 샤알레나 플라스크가 시판되고 있고, 또 콜라겐 겔 중에 세포를 분산시켜서 배양하는 포매배양법이 알려져 있다. 한편, 생체 이식 재료로서는 세포를 담지한 콜라겐겔 재료, 용액상태로 이식해서 생체내에서 겔화시키는 주사 가능 겔, 콜라겐겔을 건조시켜 막 형태 혹은 스펀지 형태로 가공한 재료 등이 존재한다.

[0005] 또한, 콜라겐으로 이루어진 생체 이식 재료로서, 비특허문헌 1에는 연골이식용 재료, 특허문헌 1에는 생체내 주입용 겔화 재료, 특허문헌 2에는 인공피부재료 등이 개시되어 있다. 이와 같이 콜라겐으로 이루어진 생체 이식 재료의 형상은 여러 가지이지만, 콜라겐겔을 응용해서 가공, 성형된 재료가 많다.

[0006] 이러한 콜라겐겔은, 콜라겐 용액을 생리적인 염농도, 수소 이온 농도 및 온도조건하에 덩으로써 얻어지는 것이 알려져 있고, 그 때문에 겔화제로서는, 일반적으로 각종 세포 배양액, 생리식염수, 중성영역에 완충 능력을 갖는 완충액이 이용된다.

[0007] 그런데, 생체 이식 재료로서의 응용이 기대되는 신규한 콜라겐 재료로서, "콜라겐 비트리겔"이 있다. "비트리겔(Vitrigel)(일본 등록 제5602094호 상표)"이란 타케자와(竹澤) 등에 의해 명명된 새로운 학술용어로, 종래의 세포와 매트릭스 등의 하이드로겔을 유리화(vitrification)시킨 후에 재수화시켜 얻어지는 안정적인 상태에 있는 겔로 정의되어 있다(비특허문헌 2). 세포와 매트릭스의 하나인 콜라겐으로부터 형성되는 콜라겐 비트리겔은, 고밀도의 콜라겐 섬유로 이루어진 것이다.

[0008] 이 콜라겐 비트리겔을 이용한 박막은, 종래의 판 형태의 콜라겐겔 재료에 비해서 얇고, 강도가 높은 특징을 지니, 생체 이식 재료로서의 응용이 기대되고 있으며, 예를 들어, 비특허문헌 3에는, 돼지 피부 유래 아텔로콜라겐(atelocollagen)을 원료로 한 콜라겐 비트리겔 박막으로 이루어진 연골이식용 재료가 개시되어 있다. 또한, 소 피부 유래 네이티브 콜라겐을 원료로 한 콜라겐 비트리겔 건조체 박막은 이미 세포 배양용 기재로서 제품화되어 있다(칸토카가쿠(關東化學)(주) #ad-MED vitrigel(상표명)).

[0009] 이 콜라겐 비트리겔의 제조에는, 우선, 콜라겐겔의 조제가 필요하다. 종래, 콜라겐겔의 조제에는, 위에서 기재된 바와 같이 일반의 세포 배양액, 예를 들면, 돌베코 개변 이글 배양액(DMEM)이 겔화제로서 이용되고 있다. 또한, 비특허문헌 4에는, HEPES(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid)을 가한 DMEM을 겔화제로 하고, 돼지 피부 유래 아텔로콜라겐으로부터 콜라겐 비트리겔을 조제하는 방법이 개시되어 있다.

[0010] 그러나, DMEM을 겔화제로 해서 콜라겐겔을 얻는 방법은 시험관내(*in vitro*) 시험의 포매배양법에 있어서 종래 이용되고 있던 조제 방법이지만, 생체 이식 재료의 조제 방법으로는 바람직하지 못하다. 왜냐하면, DMEM에는 30종을 초과하는 화합물이 함유되어 있지만, 이 중 콜라겐의 겔화에 관여하고 있는 화합물은 극히 일부이며, 생체 이식 재료로서의 콜라겐 비트리겔의 조제에 DMEM을 이용하기 위해서는, 30종을 초과하는 화합물의 안전성의 확인 및 잔류 허용 한도값의 설정이 필요하고, 제조자에게 있어서 엄청난 부담이 되기 때문이다.

[0011] 상기 문제의 해결 방법의 일례로서, 상기 비특허문헌 4에서는, HEPES를 첨가한 인산완충액(PBS)을 겔화제에 사

용해서 얻어지는 콜라겐 비트리겔이 개시되어 있다. 그러나, 이 용액을 겔화제로서 조제한 콜라겐 비트리겔은 강도가 낮고, 생체 이식 재료에는 적합하지 않다는 문제가 있는 동시에, HEPES 자체에도 안전성의 염려가 있는 것이 지적되어 있다.

[0012] 또한, 상기 방법에 의해 얻어진 것으로 한정되지 않고, 콜라겐 비트리겔의 낮은 강도를 보충하는 방법으로서, 가교제의 첨가에 의한 화학가교, 자외선이나 감마선의 조사에 의한 물리가교에 의해 막 강도를 향상시키는 방법이 알려져 있다. 그러나, 생체 이식 재료로서 이용하는 것을 상정했을 경우, 화합물에 의한 가교는 그 첨가한 화합물의 생체독성이 염려되고, 또 자외선이나 감마선의 조사는 콜라겐의 변성이 염려되므로, 이들 가교 처리는 행하지 않는 것이 바람직하다.

[0013] 이상과 같은 점으로부터, 겔화제의 성분으로서 안정성이 높은 화합물을 선정하고, 그리고 조성은 가능한 한 간소하게 하면서, 최종적으로 충분한 강도가 있는 콜라겐 비트리겔을 조제할 수 있는 방법의 개발이 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0014] (특허문헌 0001) JP 6071468 B
(특허문헌 0002) JP 4674211 B

비특허문헌

[0015] (비특허문헌 0001) Katsura Sugawara, "Recent Advancement in the Treatment of Cartilage Defects by Cultured Cartilage", Journal of Artificial Organs, The Official Journal of the Japanese Society for Artificial Organs, 2013, Vol. 42, No. 3, pp. 198-200
(비특허문헌 0002) Toshiaki Takezawa, "Collagen Vitrigel: A Novel Scaffold That Can Facilitate a Three-Dimensional Culture for Reconstructing Organoids", Cell Transplantation, (2004), Vol.13, p.463-473
(비특허문헌 0003) Hideaki Maruki, "Effects of a cell-free method using collagen vitrigel incorporating TGF- β 1 on articular cartilage repair in a rabbit osteochondral defect model", Journal of Biomedical Materials Research B, (2016)
(비특허문헌 0004) "Research for agri-health translational research project, Research Findings, vol. 561", Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat, 2016, pp. 315-322

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 본 발명의 과제는, 상기 상황을 고려해서, 생체에서의 안전성이 높은 화합물만으로 이루어진 간소한 조성의 겔화제를 개발하여, 콜라겐으로부터, 가교 처리를 하지 않더라도 막 강도가 높고, 공업적, 기계적으로 제조, 가공이 용이하고, 취급하기 쉬운 콜라겐 비트리겔 및 이의 정제물을 제조하는 것이다.

[0017] 즉, 본 발명의 목적은, 생체에서의 안전성이 높은 화합물만으로 이루어진 간소한 조성의 겔화제를 이용하고, 콜라겐을 섬유화해서 이루어진 콜라겐 비트리겔, 이의 정제물 및 이들의 제조 방법으로서, 막 강도가 높고, 공업적, 기계적으로 제조, 가공이 용이하고, 취급하기 쉽고, 생체적으로 안정성이 높으며, 의료용으로서도 사용 가능한 콜라겐 비트리겔 및 이의 정제물과 이들의 저비용의 제조 방법을 제공하는 것에 있다.

과제의 해결 수단

[0018] 본 발명자들은, 콜라겐겔의 제조에 이용하는 겔화제에 관하여, 예의 연구를 거듭한 결과, 무기 탄산염, 무기 탄

산수소염 등의 무기 탄산염류 중 적어도 1종의 화합물과, 무기 염화물, 무기 인산염 중 적어도 1종의 화합물을 함유하는 용액을 겔화제로서 이용함으로써, 종래의 배지 성분이나 유기계 완충 성분을 사용하지 않아도 콜라겐 겔을 제조할 수 있고, 게다가 얻어진 콜라겐겔은, 상기 무기 성분 이외의 성분을 함유하지 않으므로, 안전성이 높은 것을 알았다. 게다가, 이 콜라겐겔로부터 유도되는 콜라겐 비트리겔이나, 이의 정제물은 막 강도가 높고, 제조, 가공이 용이하고, 취급하기 쉬운 것을 찾아내어, 본 발명을 완성하였다.

[0019] 즉, 본 발명은, 콜라겐을, 무기 탄산염류와, 무기 염화물 및 무기 인산염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 함유하는 겔화제로 겔화시키고, 이어서 얻어진 콜라겐겔을 건조시킴으로써 유리화하고, 또한 이것을 수화 처리에 부여하는 것을 특징으로 하는 콜라겐 비트리겔의 제조 방법이다.

[0020] 또, 본 발명은, 상기 제조 방법에 의해 조제한 콜라겐 비트리겔을, 탈염, 평형화시키는 것을 특징으로 하는 정제 콜라겐 비트리겔(수화체) 및 이것을 더욱 건조시켜 재유리화시키는 것을 특징으로 하는 정제 콜라겐 비트리겔(건조체)의 제조 방법이다.

[0021] 또한, 본 발명은, 상기 방법에 의해 얻어지는 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔이다.

발명의 효과

[0022] 본 발명의 방법에서는, 콜라겐의 겔화제 중에 배지 성분이나 유기계 완충 성분 등의 유기 화합물을 배합하지 않고, 무기 염류만을 사용하므로, 생성한 겔 중에서의 잔존 성분이 적고, 게다가 그 조성이 명확하고, 협잡물에 기인하는 문제가 생기기 어려운 콜라겐겔이 얻어진다.

[0023] 따라서, 이 콜라겐겔로부터 제조되는 콜라겐 비트리겔이나, 또한 이것으로부터 유도되는 정제 콜라겐 비트리겔은 생체에 대한 안전성이 높은 것이며, 예를 들어, 생체 이식을 포함하는 의료용 용도에 유리하게 사용할 수 있는 것이다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도 1은 본 발명의 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔에 대해서, 그 제법, 관계 등을 간단히 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 본 명세서에 있어서, 콜라겐 비트리겔이란, 도 1에 나타낸 바와 같이, 콜라겐겔을 건조시킴으로써 유리화시킨 콜라겐겔 건조체(콜라겐 제로겔(xerogel))을 재수화한 것을 의미한다. 또한, 정제 콜라겐 비트리겔이란, 이 콜라겐 비트리겔을 탈염 처리 후 평형화시킨 것, 이것을 더욱 건조시켜 재유리화시킨 것 및 그 재수화물을 의미한다.

[0026] 본 발명의 콜라겐 비트리겔은, 콜라겐을, 무기 탄산염류와, 무기 염화물 및 무기 인산염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물(무기염)을 함유하는 수용액과 혼합해서 콜라겐겔을 조제하고, 이어서 이것을 건조시킴으로써 유리화시켜 얻어지는 콜라겐겔 건조체를, 더욱 수화시킴으로써 얻어진다.

[0027] 보다 자세하게는, 콜라겐 비트리겔은, 다음과 같이 해서 제조된다. 즉, 우선 콜라겐 용액과, 상기 무기 탄산염류와, 무기 염화물 및 무기 인산염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물을 함유하는 수용액(이하, "겔화제"라 약칭할 경우가 있음)을 혼합함으로써 콜라겐졸로 하고, 그 콜라겐졸을 가온시켜 섬유화시켜서 콜라겐겔로 한다. 다음에 이것을 건조, 유리화시킴으로써 얻어지는 콜라겐겔 건조체를 수화 처리함으로써 콜라겐 비트리겔이 얻어진다.

[0028] 또, 정제 콜라겐 비트리겔은, 전술한 바와 같이 해서 얻어진 콜라겐 비트리겔을, 더욱 탈염(세정), 평형화시킴으로써 얻어지고, 더욱 이것을 건조, 재유리화시켜, 필요에 따라서 재수화시킴으로써 얻어진다.

[0029] 본 발명의 방법에 의해, 콜라겐 비트리겔을 조제하기 위해서는, 우선, 콜라겐을, 겔화제와 혼합해서 콜라겐겔을 조제하는 것이 필요하다.

[0030] 본 발명에 이용되는 콜라겐은, 그 유래가 되는 동물종에 대해서 특별히 한정되는 것은 아니고, 여러 가지의 것을 사용할 수 있다. 예를 들면, 그 유래로서는, 포유류 유래 콜라겐(예를 들어, 소 유래 콜라겐, 돼지 유래 콜라겐, 염소 유래 콜라겐, 양 유래 콜라겐 또는 원숭이 유래 콜라겐), 조류 유래 콜라겐(예를 들어, 닭 유래 콜라겐, 거위 유래 콜라겐, 집오리 유래 콜라겐 또는 타조 유래 콜라겐), 어류 유래 콜라겐(예를 들어, 연어 유래

콜라겐, 도미 유래 콜라겐, 다랑어 유래 콜라겐, 틸라피아(tilapia) 유래 콜라겐 또는 상어 유래 콜라겐), 파충류 유래 콜라겐(예를 들어, 악어 유래 콜라겐), 양서류 유래 콜라겐(예를 들어, 개구리 유래 콜라겐), 무척추동물 유래 콜라겐(예를 들어, 해파리 유래 콜라겐)을 이용할 수 있다. 또 상기 콜라겐의 유래가 되는 부위에 대해서도 특별히 한정되는 것은 아니고, 예를 들어, 피부, 뼈, 연골, 근육 또는 비늘을 들 수 있다.

[0031] 본 발명에 있어서, 바람직하게 이용되는 콜라겐은, 인간의 생체온도인 37℃ 이하에서 변성되지 않고 안정적인 콜라겐이다. 콜라겐의 변성온도는 그 유래가 되는 생물의 생식 영역에 관계되고, 어류 등 수생생물의 콜라겐은 인간의 그것과 비교해서 저온영역에 변성온도가 있다. 따라서, 콜라겐의 변성온도가 인간에 가까운 육생 생물 유래 콜라겐이 바람직하며, 공업적인 안정 공급의 면으로부터 축산동물로부터 콜라겐을 얻는 것이 바람직하다. 축산동물로서는, 소나 돼지를 들 수 있지만, 소는 BSE(소해면장뇌증) 등의 병원체를 보유할 위험성이 있으므로 바람직하지 못하고, 돼지가 바람직하다.

[0032] 또한 본 발명에 이용되는 콜라겐은, 섬유성 콜라겐이면 그 분자구조에 대해서도 한정되는 것은 아니고, 분자중(형)으로서는, 예를 들어, I형 콜라겐, II형 콜라겐, III형 콜라겐 또는 V형 콜라겐을 들 수 있다. 특히 I형 콜라겐 혹은 III형 콜라겐을 주성분으로 해서 구성되는 콜라겐은 공업적으로 수득량이 많고, 비교적 저렴해서 안정적으로 공급 가능한 점에서 바람직하다. 또한, 콜라겐 분자의 말단에 존재하는 비나선 구조 영역(테로펩타이드(telopeptide))은 항원성을 지니므로, 이 테로펩타이드를 효소처리에 의해 제거(아텔로화)한 아텔로콜라겐(atelocollagen)을 이용하는 것이 보다 바람직하다.

[0033] 이 콜라겐은, 겔화 시에는 물 등의 용매에 용해시킨 용액의 상태로 사용하는 것이 바람직하고, pH 2.0 내지 6.0의 산가용화 콜라겐 용액인 것이 보다 바람직하다. pH가 2.0보다도 낮을 경우, 콜라겐 분자의 가수분해의 가능성이 있고, pH가 6.0보다도 높을 경우에는 콜라겐이 충분히 가용화되지 않을 가능성이 있어, 모두 바람직하지 못하다.

[0034] 또한, 겔화 시에 콜라겐 용액의 콜라겐 농도에 대해서는, 콜라겐의 용해성, 콜라겐 용액의 점성이 콜라겐겔의 제조에 지장이 없고, 얻어지는 콜라겐 비트리겔의 물성이 그 용도에 있어서 충분하면, 한정되는 것은 아니지만, 겔화제와 혼합 후의 최종 농도가 0.05w/v% 내지 5.0w/v%의 범위인 것이 바람직하며, 보다 바람직하게는 0.2w/v% 내지 2.0w/v%의 범위이다.

[0035] 한편, 콜라겐의 겔화 시 사용되는 겔화제는, 상기한 바와 같이, 무기 탄산염류(무기 탄산염, 무기 탄산수소염)와, 무기 염화물 및 무기 인산염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물(이하, "무기 염류"라 약칭할 경우가 있음)을 함유하는 수용액이다.

[0036] 본 발명에 있어서, 겔화제의 성분으로서 이용되는 무기 탄산염류는, 물에 대해서 용이하게 가용성인 것이면 그 분자구조에 대해서 한정되는 것은 아니고, 예를 들어, 탄산나트륨, 탄산칼륨 등의 무기 탄산염이나, 탄산수소나트륨, 탄산수소칼륨 등의 무기 탄산수소염을 이용할 수 있다.

[0037] 또한, 겔화제의 다른 성분으로서 이용되는 무기 염류는, 무기 염화물이나 무기 인산염에 속하고, 물에 대해서 용이하게 가용성인 것이면 그 분자구조에 대해서 한정되는 것은 아니고, 예를 들어, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화마그네슘, 염화칼슘 등의 무기 염화물이나, 인산 나트륨, 인산칼륨, 인산수소이나트륨, 인산수소이칼륨, 인산이수소나트륨, 인산이수소칼륨, 인산이수소칼슘 등의 무기 인산류를 이용할 수 있다.

[0038] 이 겔화제에 있어서의, 무기 탄산염류 및 무기 염류(무기 염화물 또는 무기 인산염)의 종류나 그 조합은, 콜라겐 용액을 혼합했을 때에 콜라겐의 섬유화(자기조직화)를 야기할 수 있는 것이면 특별히 한정되는 것은 아니지만, 무기 탄산염류 중 적어도 1개와, 무기 염화물, 무기 인산염의 적어도 1종의 화합물을 함유하는 것이 필요하다.

[0039] 또, 겔화제와 콜라겐 용액을 혼합 후의 용액(콜라겐졸)은, 25℃에 있어서의 pH가 6.2 내지 9.8의 범위에 있는 것이 바람직하며, 6.8 내지 9.0인 것이 보다 바람직하다. 또한, 겔화제 중에서의 무기 탄산염류 및 무기 염류의 농도로서는, 콜라겐졸 중에서의 이온 강도가 0.07 내지 0.22의 범위에 있는 것이 바람직하며, 0.07 내지 0.18의 범위에 있는 것이 보다 바람직하다.

[0040] 본 발명에 있어서, 겔화제와 콜라겐 용액을 혼합해서 조제한 콜라겐졸을 가온시켜서 콜라겐을 섬유화시켜, 콜라겐겔로 하는 것이지만, 그 때의 온도는, 사용하는 콜라겐의 변성온도를 기준으로 해서 결정하는 것이 바람직하다. 콜라겐의 섬유화는 콜라겐의 변성온도 부근에서 야기되어, 변성온도를 크게 밀도는 온도에서는 섬유화가 야기되지 않는다. 즉, 변성온도에 대해서 -20℃ 이상이며, 변성온도 이하의 범위인 것이 바람직하다. 예를

들면, 돼지 유래 콜라겐의 변성온도는 41℃이기 때문에, 21℃ 내지 41℃의 범위가 바람직하다.

- [0041] 전술한 바와 같이 해서 얻어진 콜라겐겔은, 이어서 건조에 부여되어, 유리화되어서 콜라겐겔 건조체(콜라겐 제로겔)로 된다. 이 "유리화(vitrification)"란, 예를 들어, 계란의 단백질(흰자위) 등의 열변성 단백질의 하이드로겔을 건조시키고, 수분을 충분히 제거함으로써, 경질이고 투명도가 높은 유리 유사 물질로 변환되는 현상을 의미한다(Takushi Eisei, "Edible eyeballs from fish", Nature, 1990년, Vol. 345, p. 298-299).
- [0042] 본 발명의 방법에 있어서, 콜라겐겔을 유리화시키기 위한 건조 방법으로서, 바람 건조를 이용하는 것이 바람직하며, 또한, 그 온도로서는 콜라겐의 변성온도 이하인 것이 바람직하다.
- [0043] 보다 구체적으로는, 바람직하게는, 바람 건조에 항온 항습기를 이용하고, 예를 들어, 온습도조건 10℃, 40% rh 정도의 조건하에 콜라겐겔을 2일간 정치시켜서, 콜라겐겔 유리화를 행하는 것이 바람직하다.
- [0044] 이와 같이 해서 얻어진 콜라겐겔 건조체는, 이어서 재수화됨으로써 콜라겐 비트리겔로 하는 것이 가능하다. 콜라겐겔 건조체의 재수화에 이용하는 용액은, 본 발명의 겔화제에 함유되어 있는 성분을 함유하는, 예를 들어, 생리식염수, 인산완충액, 정제수 등의 pH가 중성 영역(예를 들어, pH 6.0 내지 8.0 정도)에 있는 수용액을 들 수 있다. 이 재수화에 이용하는 용액은 콜라겐겔 제조 시의 겔화제와 그 조성, 농도가 동일할 필요는 없고, 이것으로 한정되는 것은 아니다.
- [0045] 상기 재수화 시에는, 콜라겐겔 건조체 10mg당 1ml 이상의 D-PBS(-)에 30분 이상 침지시켜 수화시키는 것이 바람직하다. 수화에 이용하는 수용액의 온도는, 사용하는 콜라겐의 변성온도를 크게 밑도는 온도인 것이 바람직하고, 변성온도에 대해서 -20℃ 이하가 바람직하다.
- [0046] 이상과 같이 해서, 수화물로서 콜라겐 비트리겔이 조제된다. 이 콜라겐 비트리겔은, 그 자체의 강도가 높고, 공업적, 기계적으로 제조, 가공이 용이하고, 취급하기 쉬운 것이다. 그리고, 이 콜라겐 비트리겔은, 그 제조 공정에서 사용하는 겔화제, 재수화제의 성분으로서 무기 탄산염류, 무기 염화물, 무기 인산염 등의 무기화합물밖에 사용하지 않고, 종래 사용되고 있던 배지 성분이나 유기물은 사용하지 않으므로, 예를 들어, 생체적으로 안정성이 높은 의료용 콜라겐 비트리겔로서 이용 가능하다.
- [0047] 또, 상기 콜라겐 비트리겔은, 더욱 탈염 처리, 평형화 처리를 실시하고, 그 후 건조시킴으로써 정제 콜라겐 비트리겔(건조체)로 할 수 있다.
- [0048] 상기한 콜라겐겔 건조체(콜라겐 제로겔)는 콜라겐겔을 건조시켜 얻어지므로, 자칫하면 사용하는 겔화제에 함유되는 무기화합물이 건조에 의해 농축되어 결정으로서 석출되는 일이 있다. 결정은 콜라겐 비트리겔 건조체의 표면에 불균일하게 석출되므로, 외견을 손상시키는 동시에, 제품의 균일성에 문제를 일으킬 우려가 있다.
- [0049] 이것에 대해서, 콜라겐 비트리겔을 탈염 처리, 평형화 처리를 행하는 것에 의해, 균일성이 높고 외견이 양호한 정제 콜라겐 비트리겔(수화체)을 얻을 수 있다. 여기에서 행해지는 탈염 처리는, 콜라겐 비트리겔을, pH가 중성 영역(예를 들어, pH 6.0 내지 8.0 정도)에 있는 수용액에 침지시키는 것에 의해 행해지지만, D-PBS(-)에 침지시켜 행하는 것이 바람직하다. 구체적으로는, 예를 들어, 콜라겐겔 건조체를, 10mg당 1ml 이상의 D-PBS(-)에 침지시켜서 수화시켜 콜라겐 비트리겔로 한 후에, 콜라겐 비트리겔 주위의 D-PBS(-)를 제거하고, 더욱 2회 이상 D-PBS(-)에 침지시킴으로써 콜라겐 비트리겔의 탈염, D-PBS(-)에 의한 평형화를 행할 수 있다.
- [0050] 이 조작에 있어서의 수용액의 온도는, 사용하는 콜라겐의 변성온도를 크게 밑도는 온도인 것이 바람직하며, 변성온도에 대해서 -20℃ 이하가 바람직하다.
- [0051] 또한, 정제 콜라겐 비트리겔(수화체)의 재유리화를 위한 건조는, 바람 건조를 이용하는 것이 바람직하며, 또한, 그 온도로서는 콜라겐의 변성온도 이하인 것이 바람직하다. 보다 구체적으로는, 바람 건조에는 항온 항습기를 이용하는 것이 바람직하며, 예를 들어, 온습도조건 10℃, 40% rh의 항온 항습기 내에 정제 콜라겐 비트리겔(수화체)을 1일간 정치시켜서, 건조를 행하는 것이 바람직하다.
- [0052] 이상 설명한 방법에 의해 조제되는 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔은, 위에서 기재된 바와 같이 그 자체가 충분한 강도가 있고, 안전성이 높은 것이기 때문에, 특히 의료용의, 재생 의료용 세포 담체, 창상 피복재, 인공피부, 유착 방지재 등의 디바이스로서, 이용 가능하다. 또한, 그 형상도, 그 용도에 따라서 임의의 형상, 예를 들어, 판 형태, 막 형태, 봉 형태, 실 형태, 통 형태, 관 형태, 자루 형태 등으로 가공할 수 있다.
- [0053] **[실시예]**
- [0054] 이하, 실시예를 나타내어, 본 발명을 더욱 구체적으로 설명하지만, 본 발명은 이들 실시예로 한정되는 것은 아

니고, 본 발명의 기술적 사상을 일탈하지 않는 범위에서의 각종 변경이 가능하다.

- [0055] [실시예 1]
- [0056] (콜라겐 용액의 조제)
- [0057] 돼지 피부 유래 아텔로콜라겐(니혼햄(주) #NMP콜라겐PS) 2g을 멸균수 200ml에 용해시키고, 1w/v% 콜라겐 용액을 조제하였다.
- [0058] (겔화제의 조제)
- [0059] 인산완충 생리식염수(D-PBS(-); 와코준야쿠코교(주) #045-29795) 500ml에 탄산수소나트륨(와코준야쿠코교(주) #191-01305) 1.85g을 가해서 용해시켜 겔화제로 하였다.
- [0060] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0061] 50ml 용량의 코니컬 튜브(conical tube)(코닝 #352070)에, 겔화제와 1w/v% 콜라겐 용액을 각각 20ml 취하고, 균일하게 혼합시켜, 이것을 콜라겐졸로 하였다. 콜라겐졸의 조제는 빙랭하에 행하였다. 다음에, 폴리스타이렌 사각형 샤알레(애즈윈(AS ONE)(주) #D210-16)에 아크릴 원통 주형((주)코스모드 비드(Cosmos Vid), 외경 38.8 mm×내경 34.8mm×높이 30.0mm)을 배치하고, 이 주형 내에 콜라겐졸 10ml를 충전하였다. 37℃의 항온기 내에 2 시간 정치시켜 콜라겐을 섬유화시켜, 콜라겐겔을 얻었다.
- [0062] 이 콜라겐겔을 항온 항습기(온습도조건 10℃, 40% rh)에서 2일간 건조시키고, 유리화시켜서 콜라겐겔 건조체를 얻었다. 또한 이 콜라겐겔 건조체를, 10mg당 1ml의 D-PBS(-)에 침지시켜서 수화시켜, 콜라겐 비트리젤을 얻었다.
- [0063] 상기 콜라겐 비트리젤을 D-PBS(-)로 2회 세정함으로써 과잉의 염을 제거하고, 콜라겐 비트리젤 내를 D-PBS(-)로 평형화시킨 후, 재차 항온 항습기(온습도조건 10℃, 40% rh)에서 2일간 건조시켜, 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 얻었다.
- [0064] [실시예 2]
- [0065] (겔화제의 조제)
- [0066] 염화나트륨(와코준야쿠코교(주) #191-01665) 3.21g, 인산이수소칼륨(와코준야쿠코교(주) #169-04245) 3.40g, 탄산수소나트륨 1.85g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0067] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0068] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0069] [실시예 3]
- [0070] (겔화제의 조제)
- [0071] 염화나트륨 3.21g, 탄산수소나트륨 1.85g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0072] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0073] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0074] [실시예 4]
- [0075] (겔화제의 조제)
- [0076] 인산완충 생리식염수 500ml에 탄산수소나트륨 0.42g을 가해서 용해시켜 겔화제로 하였다.
- [0077] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0078] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0079] [실시예 5]

- [0080] (겔화제의 조제)
- [0081] 인산완충 생리식염수 500mℓ에 탄산수소나트륨 0.84g을 가해서 용해시켜 겔화제로 하였다.
- [0082] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0083] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0084] [실시예 6]
- [0085] (겔화제의 조제)
- [0086] 인산완충 생리식염수 500mℓ에 탄산수소나트륨 2.27g을 가해서 용해시켜 겔화제로 하였다.
- [0087] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0088] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0089] [실시예 7]
- [0090] (겔화제의 조제)
- [0091] 인산완충 생리식염수 500mℓ에 탄산수소나트륨 0.42g과 탄산나트륨(와코순야쿠코교(주) #196-01595) 0.53g을 가해서 용해시켜 겔화제로 하였다.
- [0092] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0093] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0094] [실시예 8]
- [0095] (겔화제의 조제)
- [0096] 인산완충 생리식염수 500mℓ에 탄산수소나트륨 1.85g과 탄산나트륨 0.53g을 가해서 용해시켜 겔화제로 하였다.
- [0097] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0098] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0099] [실시예 9]
- [0100] (겔화제의 조제)
- [0101] 인산완충 생리식염수 500mℓ에 탄산수소나트륨 2.94g을 가해서 용해시켜 겔화제로 하였다.
- [0102] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0103] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0104] [실시예 10]
- [0105] (겔화제의 조제)
- [0106] 염화나트륨 3.21g, 탄산수소나트륨 0.46g을 취하여, 멸균수 500mℓ에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0107] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0108] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0109] [실시예 11]
- [0110] (겔화제의 조제)

- [0111] 염화나트륨 3.21g, 탄산수소나트륨 0.84g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0112] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0113] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0114] [실시예 12]
- [0115] (겔화제의 조제)
- [0116] 염화나트륨 3.21g, 탄산수소나트륨 2.52g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0117] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0118] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0119] [실시예 13]
- [0120] (겔화제의 조제)
- [0121] 염화나트륨 3.21g, 탄산수소나트륨 2.94g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0122] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0123] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0124] [실시예 14]
- [0125] (겔화제의 조제)
- [0126] 염화나트륨 3.21g, 탄산수소나트륨 3.36g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0127] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0128] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0129] [실시예 15]
- [0130] (겔화제의 조제)
- [0131] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨(와코순야쿠코교(주) #163-03545) 0.10g, 염화칼슘(와코순야쿠코교(주) #039-00475) 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물(Millipore#10049-21-5) 0.07g, 탄산수소나트륨 0.42g, 탄산나트륨 0.53g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0132] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0133] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0134] [실시예 16]
- [0135] (겔화제의 조제)
- [0136] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산수소나트륨 1.85g, 탄산나트륨 1.59g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0137] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0138] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0139] [실시예 17]

- [0140] (겔화제의 조제)
- [0141] 염화나트륨 1.17g, 탄산수소나트륨 4.62g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0142] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0143] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0144] [실시예 18]
- [0145] (겔화제의 조제)
- [0146] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산수소나트륨 0.42g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0147] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0148] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0149] [실시예 19]
- [0150] (겔화제의 조제)
- [0151] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산수소나트륨 0.84g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0152] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0153] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0154] [실시예 20]
- [0155] (겔화제의 조제)
- [0156] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산수소나트륨 1.68g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0157] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0158] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0159] [실시예 21]
- [0160] (겔화제의 조제)
- [0161] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산수소나트륨 2.52g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0162] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0163] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0164] [실시예 22]
- [0165] (겔화제의 조제)
- [0166] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산수소나트륨 3.36g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0167] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0168] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트

리겔(건조제)을 조제하였다.

- [0169] [실시예 23]
- [0170] (겔화제의 조제)
- [0171] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산수소나트륨 4.20g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0172] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0173] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0174] [실시예 24]
- [0175] (겔화제의 조제)
- [0176] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산나트륨 0.53g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0177] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0178] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0179] [실시예 25]
- [0180] (겔화제의 조제)
- [0181] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산나트륨 1.06g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0182] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0183] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0184] [실시예 26]
- [0185] (겔화제의 조제)
- [0186] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산수소나트륨 0.84g, 탄산나트륨 0.27g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0187] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0188] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0189] [실시예 27]
- [0190] (겔화제의 조제)
- [0191] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산수소나트륨 0.84g, 탄산나트륨 0.53g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0192] (콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔의 조제)
- [0193] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리겔 및 정제 콜라겐 비트리겔(건조제)을 조제하였다.
- [0194] [실시예 28]
- [0195] (겔화제의 조제)
- [0196] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산수소나트륨 0.84g,

탄산나트륨 1.06g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.

- [0197] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0198] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0199] [실시예 29]
- [0200] (겔화제의 조제)
- [0201] 인산완충 생리식염수 500ml에 탄산수소나트륨 0.21g을 가해서 용해시켜 겔화제로 하였다.
- [0202] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0203] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0204] [실시예 30]
- [0205] (겔화제의 조제)
- [0206] 헝크스 완충 염류용액(Hanks buffered salt solution)(HBSS(-); 와코순야쿠코교(주) #085-09355) 500ml에 탄산나트륨 0.85g을 가해서 용해시켜 겔화제로 하였다.
- [0207] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0208] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0209] [실시예 31]
- [0210] (겔화제의 조제)
- [0211] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산나트륨 0.27g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0212] (콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0213] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1과 마찬가지로 방법으로 콜라겐 비트리젤 및 정제 콜라겐 비트리젤(건조체)을 조제하였다.
- [0214] [비교예 1]
- [0215] (겔화제의 조제)
- [0216] 둘베코 개변 이글배지(DMEM) 490ml에 1mol/ℓ HEPES(4-(2-하이드록시에틸)-1-피페라진에탄설폰산); Thermo Fisher Scientific#15630-080) 10ml를 가하여, 균일하게 혼화하고, 이것을 겔화제로 하였다.
- [0217] (콜라겐 비트리젤 및 콜라겐 비트리젤 건조체의 조제)
- [0218] 50ml 용량의 코니컬 튜브에 상기 겔화제와 실시예 1의 1w/v% 콜라겐 용액을 각각 20ml 취하여, 균일하게 혼화시키고, 이것을 콜라겐졸로 하였다. 콜라겐졸의 조제는 병랭하에서 행하였다. 다음에 폴리스타이렌 사각형 샤알레에 아크릴 원통 주형을 배치하고, 이 주형 내에 콜라겐졸 10ml를 충전하였다. 37℃의 탄산 가스 인큐베이터(CO₂ 5%) 속에 2시간 정치시켜 콜라겐을 섬유화시켜서, 콜라겐젤을 얻었다.
- [0219] 이 콜라겐젤을 향온 항습기로 건조시키고, 유리화시켜, 콜라겐젤 건조체를 얻었다. 또한 이 콜라겐젤 건조체를, 10mg당 1ml의 D-PBS(-)에 침지시켜서 수화시켜, 콜라겐 비트리젤을 얻었다. 콜라겐 비트리젤을 D-PBS(-)로 2회 세정함으로써 과잉의 염이나 다른 성분을 제거하고, 콜라겐 비트리젤 내를 D-PBS(-)로 평형화시킨 후, 다시 건조시켜, 콜라겐 비트리젤의 대응 건조체를 얻었다.
- [0220] [비교예 2]
- [0221] (콜라겐 비트리젤의 조제)
- [0222] 겔화제를 D-PBS(-)로 변경한 이외에는, 실시예 1의 방법에 의해 콜라겐 비트리젤의 조제를 시도하였다. 그러나,

한번은 겔화한 콜라겐겔이 그 후의 공정에 있어서 용해, 졸화되었기 때문에 콜라겐겔 건조체로서 회수할 수 없어, 콜라겐 비트리겔을 얻을 수 없었다.

[0223] [비교예 3]

[0224] (겔화제의 조제)

[0225] 염화나트륨 8.77g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.

[0226] (콜라겐 비트리겔의 조제)

[0227] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1의 방법에 의해 콜라겐 비트리겔의 조제를 시도하였다. 그러나, 한번은 겔화한 콜라겐겔이 그 후의 공정에 있어서 용해, 졸화되었기 때문에 콜라겐겔 건조체로서 회수할 수 없어, 콜라겐 비트리겔을 얻을 수 없었다.

[0228] [비교예 4]

[0229] (겔화제의 조제)

[0230] 염화나트륨 1.75g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.14g, 인산수소이소나트륨(와코순야쿠코교(주) #197-02865) 1.35g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.

[0231] (콜라겐 비트리겔의 조제)

[0232] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1의 방법에 의해 콜라겐 비트리겔의 조제를 시도하였다. 그러나, 한번은 겔화한 콜라겐겔이 그 후의 공정에 있어서 용해, 졸화되었기 때문에 콜라겐겔 건조체로서 회수할 수 없어, 콜라겐 비트리겔을 얻을 수 없었다.

[0233] [비교예 5]

[0234] (콜라겐 비트리겔의 조제)

[0235] 겔화제를 HBSS(-)로 변경한 이외에는, 실시예 1의 방법에 의해 콜라겐 비트리겔의 조제를 시도하였다. 그러나, 콜라겐이 겔화되지 않았기 때문에 콜라겐겔을 얻을 수 없어, 콜라겐 비트리겔을 얻을 수 없었다.

[0236] [비교예 6]

[0237] (겔화제의 조제)

[0238] HBSS(-) 500ml에 탄산나트륨 2.12g을 가해서 용해시켜 겔화제로 하였다.

[0239] (콜라겐 비트리겔의 조제)

[0240] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1의 방법에 의해 콜라겐 비트리겔의 조제를 시도하였다. 그러나, 콜라겐이 겔화되지 않았기 때문에 콜라겐겔을 얻을 수 없어, 콜라겐 비트리겔을 얻을 수 없었다.

[0241] [비교예 7]

[0242] (겔화제의 조제)

[0243] HBSS(-) 500ml에 탄산나트륨 4.24g을 가해서 용해시켜 겔화제로 하였다.

[0244] (콜라겐 비트리겔의 조제)

[0245] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1의 방법에 의해 콜라겐 비트리겔의 조제를 시도하였다. 그러나, 콜라겐이 겔화되지 않았기 때문에 콜라겐겔을 얻을 수 없어, 콜라겐 비트리겔을 얻을 수 없었다.

[0246] [비교예 8]

[0247] (겔화제의 조제)

[0248] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.

[0249] (콜라겐 비트리겔의 조제)

[0250] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1의 방법에 의해 콜라겐 비트리겔의 조제를 시도하였다. 그러

나, 콜라겐이 겔화되지 않았기 때문에 콜라겐겔을 얻을 수 없어, 콜라겐 비트리겔을 얻을 수 없었다.

[0251] [비교예 9]

[0252] (겔화제의 조제)

[0253] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산수소나트륨 0.21g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.

[0254] (콜라겐 비트리겔의 조제)

[0255] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1의 방법에 의해 콜라겐 비트리겔의 조제를 시도하였다. 그러나, 콜라겐이 겔화되지 않았기 때문에 콜라겐겔을 얻을 수 없어, 콜라겐 비트리겔을 얻을 수 없었다.

[0256] [비교예 10]

[0257] (겔화제의 조제)

[0258] 염화나트륨 3.21g, 염화칼륨 0.10g, 염화칼슘 0.10g, 인산이수소나트륨 1수화물 0.07g, 탄산나트륨 2.12g을 취하여, 멸균수 500ml에 용해시키고, 이것을 겔화제로 하였다.

[0259] (콜라겐 비트리겔의 조제)

[0260] 겔화제를 상기 겔화제로 변경한 이외에는, 실시예 1의 방법에 의해 콜라겐 비트리겔의 조제를 시도하였다. 그러나, 콜라겐이 겔화되지 않았기 때문에 콜라겐겔을 얻을 수 없어, 콜라겐 비트리겔을 얻을 수 없었다.

[0261] [시험예 1]

[0262] 물성 측정:

[0263] 실시예 1 내지 31 및 비교예 1 내지 10의 콜라겐졸에 함유되는 무기화합물의 농도와 그 이온 강도 및 pH, 실시예 1 내지 3, 실시예 8, 실시예 10, 실시예 12, 실시예 18, 실시예 23 내지 25, 실시예 27, 실시예 29 내지 31 및 비교예 1의 정제 콜라겐 비트리겔(수화체)의 막 강도 측정을 하기 방법에 의해 행하였다. 이 결과를 표 1 내지 표 7에 나타낸다.

[0264] (pH 측정)

[0265] pH는, 실시예 1 내지 29 및 비교예 1 내지 10의, 겔화 전의 콜라겐졸에 대해서 측정하였다. pH 측정은, 각 콜라겐졸 0.5ml를 pH미터((주)호리바세이사쿠쇼(HORIBA, Ltd.) #LAQUAtwin AS-712)의 측정 전극 접시에 넣고, 그 pH를 측정함으로써 행하였다.

[0266] (이온 강도 산출)

[0267] 콜라겐졸에 함유되는 화합물(콜라겐을 제외함)의 이온종 A, B, C, ... 각각의 몰농도(mol/l)를 m_A , m_B , m_C , ... 각각의 전하수를 Z_A , Z_B , Z_C , ...라 할 때, 그 콜라겐졸의 이온 강도 I는 하기 식으로 정의된다.

$$I = \frac{1}{2} \sum_i m_i Z_i^2 \quad (i = A, B, C, \dots)$$

[0269] (막 강도 측정)

[0270] 실시예 1 내지 3, 실시예 8, 실시예 10, 실시예 12, 실시예 18, 실시예 23 내지 25, 실시예 27, 실시예 29 내지 31 및 비교예 1의 정제 콜라겐 비트리겔(수화체)의 막 강도를 측정하였다. 정제 콜라겐 비트리겔(수화체)의 막 강도는 이하의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 직경 34.8mm의 정제 콜라겐 비트리겔(건조체)을 8ml의 D-PBS(-)에 침지시켜서 1시간 재수화하였다. 수화에 의해 얻어진 정제 콜라겐 비트리겔(수화체)을 중앙에 직경 5mm의 구멍이 뚫린 직경 50mm의 아크릴판 2매 사이에 끼워 고정하였다. 이 직경 5mm의 구멍으로부터 보이는 고정된 막에 대해서, 직경 1.0mm의 스테인리스제 바늘을 수직으로, 3.0mm/min의 속도로 찌르고, 바늘이 정제 콜라겐 비트리겔(수화체)을 관통할 때까지의 최대응력(N)을 소형 탁상 시험기((주)시마즈세이사쿠쇼 #EZ-SX, 로드 셀 최대하중 5N)를 이용해서 측정하였다. 정제 콜라겐 비트리겔(수화체) 1개에 대해서 3군데에 대해서 측정을 행하고, 그 평균치를 최대응력(N)으로 하였다. 이 조작을 3개의 정제 콜라겐 비트리겔(수화체)에 대해서 행하여, 3개의 최대응력의 평균치를 막 강도(N)로 하였다.

표 1

		실시예 1	실시예 2	실시예 3	실시예 4	실시예 5	실시예 6
농도 (M mol/ l)	NaCl	68	55	55	68	68	68
	KCl	1.4	—	—	1.4	1.4	1.4
	CaCl ₂	—	—	—	—	—	—
	MgSO ₄	—	—	—	—	—	—
	NaH ₂ PO ₄	—	—	—	—	—	—
	KH ₂ PO ₄	0.8	5	—	0.8	0.8	0.8
	Na ₂ HPO ₄	4	—	—	4	4	4
	NaHCO ₃	22	22	22	5	10	27
	Na ₂ CO ₃	—	—	—	—	—	—
무기염 이외의 성분		없음	없음	없음	없음	없음	없음
이온강도		0.165	0.151	0.121	0.113	0.128	0.179
pH		7.5	7.3	7.4	7.2	7.2	7.4
막강도(N) (평균치±표준편차)		0.021± 0.002	0.025± 0.002	0.028± 0.003	데이터 없음	데이터 없음	데이터 없음
비고							

[0271]

표 2

		실시예 7	실시예 8	실시예 9	실시예 10	실시예 11	실시예 12
농도 (M mol/ l)	NaCl	68	68	68	55	55	55
	KCl	1.4	1.4	1.4	—	—	—
	CaCl ₂	—	—	—	—	—	—
	MgSO ₄	—	—	—	—	—	—
	NaH ₂ PO ₄	—	—	—	—	—	—
	KH ₂ PO ₄	0.8	0.8	0.8	—	—	—
	Na ₂ HPO ₄	4	4	4	—	—	—
	NaHCO ₃	5	22	35	5.5	10	30
	Na ₂ CO ₃	5	5	—	—	—	—
무기염 이외의 성분		없음	없음	없음	없음	없음	없음
이온강도		0.128	0.179	0.203	0.072	0.085	0.145
pH		9.0	8.6	7.7	7.0	7.0	7.4
막강도(N) (평균치±표준편차)		데이터 없음	0.067± 0.013	데이터 없음	0.024± 0.003	데이터 없음	0.025± 0.004
비고							

[0272]

표 3

		실시예 13	실시예 14	실시예 15	실시예 16	실시예 17	실시예 18
농도 (M mol/ l)	NaCl	55	55	55	55	20	55
	KCl	—	—	2.6	2.6	—	2.6
	CaCl ₂	—	—	0.9	0.9	—	0.9
	MgSO ₄	—	—	—	—	—	—
	NaH ₂ PO ₄	—	—	0.5	0.5	—	0.5
	KH ₂ PO ₄	—	—	—	—	—	—
	Na ₂ HPO ₄	—	—	—	—	—	—
	NaHCO ₃	35	40	5	22	55	5
	Na ₂ CO ₃	—	—	5	15	—	—
무기염 이외의 성분		없음	없음	없음	없음	없음	없음
이온강도		0.160	0.175	0.093	0.174	0.185	0.078
pH		7.5	7.7	9.0	9.4	7.9	6.3
막강도(N) (평균치±표준편차)		데이터 없음	데이터 없음	데이터 없음	데이터 없음	데이터 없음	0.019± 0.002
비고							

[0273]

표 4

		실시예 19	실시예 20	실시예 21	실시예 22	실시예 23	실시예 24
농도 (M mol/ ℓ)	NaCl	55	55	55	55	55	55
	KCl	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6
	CaCl ₂	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
	MgSO ₄	—	—	—	—	—	—
	NaH ₂ PO ₄	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	KH ₂ PO ₄	—	—	—	—	—	—
	Na ₂ HPO ₄	—	—	—	—	—	—
	NaHCO ₃	10	20	30	40	50	—
	Na ₂ CO ₃	—	—	—	—	—	5
무기염 이외의 성분		없음	없음	없음	없음	없음	없음
이온강도		0.093	0.123	0.153	0.183	0.213	0.078
pH		6.7	7.1	7.2	7.8	8.5	9.3
막강도(N) (평균치±표준편차)		데이터 없음	데이터 없음	데이터 없음	데이터 없음	0.033± 0.005	0.042± 0.005
비고							

[0274]

표 5

		실시예 25	실시예 26	실시예 27	실시예 28	실시예 29	실시예 30
농도 (M mol/ ℓ)	NaCl	55	55	55	55	68	68.5
	KCl	2.6	2.6	2.6	2.6	1.4	2.7
	CaCl ₂	0.9	0.9	0.9	0.9	—	—
	MgSO ₄	—	—	—	—	—	—
	NaH ₂ PO ₄	0.5	0.5	0.5	0.5	—	—
	KH ₂ PO ₄	—	—	—	—	0.8	0.2
	Na ₂ HPO ₄	—	—	—	—	4	0.2
	NaHCO ₃	—	10	10	10	2.5	2.1
	Na ₂ CO ₃	10	2.5	5	10	—	8.0
무기염 이외의 성분		없음	없음	없음	없음	없음	없음
이온강도		0.093	0.101	0.108	0.123	0.106	0.104
pH		9.8	8.1	8.6	9.3	6.6	9.6
막강도(N) (평균치±표준편차)		0.053± 0.008	데이터 없음	0.053± 0.005	데이터 없음	0.011± 0.002	0.054± 0.005
비고							

[0275]

표 6

		실시예 31	비교예 1	비교예 2	비교예 3	비교예 4	비교예 5
농도 (M mol/ℓ)	NaCl	55	55	68	150	30	68.5
	KCl	2.6	2.6	1.4	—	—	2.7
	CaCl ₂	0.9	0.9	—	—	—	—
	MgSO ₄	—	0.4	—	—	—	—
	NaH ₂ PO ₄	0.5	0.5	—	—	1	—
	KH ₂ PO ₄	—	—	0.8	—	—	0.2
	Na ₂ HPO ₄	—	—	4	—	19	0.2
	NaHCO ₃	—	22	—	—	—	2.1
	Na ₂ CO ₃	2.5	—	—	—	—	—
무기염 이외의 성분		없음	있음 (아미노산, 비타민, 당, HEPES 등, 합계 27 성분)	없음	없음	없음	없음
이온강도		0.071	0.131	0.098	0.150	0.150	0.080
pH		6.7	7.0	5.1	3.1	7.4	4.3
막강도(N) (평균치±표준편차)		0.024± 0.002	0.022± 0.001	—	—	—	—
비고				제조불가	제조불가	제조불가	제조불가

[0276]

표 7

		비교예 6	비교예 7	비교예 8	비교예 9	비교예 10
농도 (M mol/ℓ)	NaCl	68.5	68.5	55	55	55
	KCl	2.7	2.7	2.6	2.6	2.6
	CaCl ₂	—	—	0.9	0.9	0.9
	MgSO ₄	—	—	—	—	—
	NaH ₂ PO ₄	—	—	0.5	0.5	0.5
	KH ₂ PO ₄	0.2	0.2	—	—	—
	Na ₂ HPO ₄	0.2	0.2	—	—	—
	NaHCO ₃	2.1	2.1	—	2.5	—
	Na ₂ CO ₃	20	40	—	—	20
무기염 이외의 성분		없음	없음	없음	없음	없음
이온강도		0.140	0.200	0.063	0.071	0.123
pH		10.0	10.5	3.2	4.4	10.2
막강도(N) (평균치±표준편차)		—	—	—	—	—
비고		제조불가	제조불가	제조불가	제조불가	제조불가

[0277]

[0278]

표 1 내지 표 6으로부터 명확한 바와 같이, 본 발명의 방법에 의해 얻어진 정제 콜라겐 비트리겔은, 충분한 막 강도를 지니고, 그리고 무기염 이외의 잔류 성분을 실질적으로 함유하지 않고, 생체적인 안전성이 높으며, 실용적인 것이었다.

산업상 이용가능성

[0279]

이상과 같이, 본 발명의 제조 방법에 따르면, 간단히, 저비용으로, 생체적으로 안전성이 높은 콜라겐 비트리겔 및 이의 정제물이 얻어진다.

[0280]

게다가, 얻어진 콜라겐 비트리겔이나 정제 콜라겐 비트리겔은, 충분한 막 강도를 지니고, 공업적, 기계적으로 제조, 가공이 용이하고, 취급하기 쉽고, 안전성이 높은 것이기 때문에, 각종 생체 이식 재료, 예를 들어, 재생 의료용 세포 담체, 창상 피복재, 인공피부, 유착 방지재 등으로서 유용한 것이다.

도면

도면1

