



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년05월06일
(11) 등록번호 10-2248576
(24) 등록일자 2021년04월29일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/36 (2006.01) A61F 2/28 (2006.01)
A61L 27/38 (2006.01) A61L 27/44 (2006.01)
A61L 27/52 (2006.01) A61L 27/54 (2006.01)
A61L 27/56 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61L 27/3637 (2013.01)
A61F 2/28 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7024742
- (22) 출원일자(국제) 2014년02월10일
심사청구일자 2019년01월21일
- (85) 번역문제출일자 2015년09월10일
- (65) 공개번호 10-2015-0135260
- (43) 공개일자 2015년12월02일
- (86) 국제출원번호 PCT/IL2014/050141
- (87) 국제공개번호 WO 2014/125478
국제공개일자 2014년08월21일

- (73) 특허권자
카티힐 (2009) 엘티디.
이스라엘 사바 크파르 44643, 아티르 예다 17, 4
층
- (72) 발명자
알트슐러 니르
이스라엘 45808 추르 위즈카크 나할 케인 8 아파
트먼트 24
- (74) 대리인
제일특허법인(유)

- (30) 우선권주장
61/763,981 2013년02월13일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌
W02010146575 A2*
(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 62 항

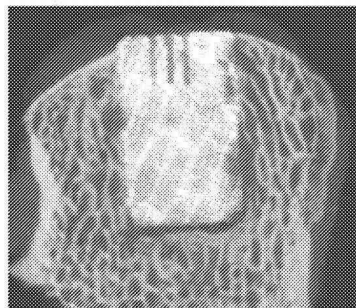
심사관 : 이수희

(54) 발명의 명칭 세포 및 조직 성장을 촉진하기 위한 고체 기질

(57) 요약

본 발명은 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다)을 특징으로 하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질에 관한 것이다. 본 발명은 또한, 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질에 관한 것이다. 본 발명은 또한, 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경으로 측정되는 실질적인 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질에 관한 것이다. 본 발명은 또한 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 산호-기반 고체 기질의 선택 방법 및 상기 고체 기질의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도3f



(52) CPC특허분류

A61L 27/365 (2013.01)
 A61L 27/3654 (2013.01)
 A61L 27/38 (2013.01)
 A61L 27/44 (2013.01)
 A61L 27/52 (2013.01)
 A61L 27/54 (2013.01)
 A61L 27/56 (2013.01)
 A61L 2430/02 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

D. Aronov et al., Process Biochemistry(2006),
 Vol 41, pp. 2367-2372*

E. damien et al., J. Appl. Biomater
 Biom(2004), Vol. 2, pp.65-73*

Yu-Chun Wu et al., J Mater. Sci.: Mater
 Med(2009), Vol. 20, pp1273-1280*

JP2006526485 A

W02012036286 A1

W02009066283 A2

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(30) 우선권주장

61/763,985 2013년02월13일 미국(US)

61/764,467 2013년02월13일 미국(US)

61/764,496 2013년02월13일 미국(US)

61/773,219 2013년03월06일 미국(US)

61/773,228 2013년03월06일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

산호 또는 산호계 유도체로 이루어진 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 단리하거나 제조하는 단계;
 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하되, 상기 고유 유체 흡수 용량 값이 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정되는 단계; 및
 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계를 포함하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하는 데 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 선택 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,
 상기 고체 기질이 아라고나이트, 방해석, 하이드록시아파타이트 또는 이들의 조합으로 이루어진 선택 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,
 상기 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하기 전에 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 하이드록시아파타이트로 전환시키는 단계를 추가로 포함하되, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 아라고나이트인 선택 방법.

청구항 4

제 3 항에 있어서,
 상기 고유 유체 흡수 용량 값을 설정한 다음에 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 하이드록시아파타이트로 전환시키는 단계를 추가로 포함하되, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 아라고나이트인 선택 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서,
 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이, 생체적합성 매트릭스에 현탁된, 산호로부터 유도된 분쇄 입자를 함유하는 선택 방법.

청구항 6

제 5 항에 있어서,
 상기 생체적합성 매트릭스가 하이드로겔인 선택 방법.

청구항 7

제 1 항에 있어서,
 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 골 충전제 또는 골 대체 물질로 사용될 수 있는 선택 방법.

청구항 8

제 1 항에 있어서,
 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 골 충전제 또는 골 대체 물질을 추가로 포함하는 선택 방법.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 0.1 내지 60 분 동안 접촉시켜, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 내에 상기 유체의 자발적 유체 흡수를 가능하게 하여 상기 자발적 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함하는 선택 방법.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 1 내지 24 시간 이하 동안 접촉시켜, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 내에 상기 유체의 자발적 유체 흡수를 가능하게 하여 상기 자발적 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함하는 선택 방법.

청구항 11

제 1 항에 있어서,

상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 접촉시키고, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 음압을 적용하여 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 내에 상기 유체의 최대 흡수를 촉진시켜 상기 총 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함하는 선택 방법.

청구항 12

제 1 항에 있어서,

상기 고유 유체 흡수 용량 값이 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에서의 중량 변화의 함수인 선택 방법.

청구항 13

제 1 항에 있어서,

상기 고유 유체 흡수 용량 값이 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 적용된 유체의 유체 부피 변화의 함수인 선택 방법.

청구항 14

제 1 항에 있어서,

상기 고체 기질을 세포 또는 조직과 접촉시키는 단계를 추가로 포함하는 선택 방법.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

상기 세포가 줄기 또는 전구 세포, 또는 이들의 조합을 포함하는 선택 방법.

청구항 16

삭제

청구항 17

제 1 항에 있어서,

상기 유체가 물, 식염수, 혈장 또는 혈액인 선택 방법.

청구항 18

제 1 항에 있어서,

상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 포라이즈 중, 고니오포라 중, 밀레포라 중 또는 아크로포라 중 으로부터 단리된 선택 방법.

청구항 19

제 1 항에 있어서,
상기 고체 기질이 따개비 또는 연체동물로부터 단리된 선택 방법.

청구항 20

제 19 항에 있어서,
상기 고체 기질이 진주층으로 이루어진 선택 방법.

청구항 21

제 1 항에 있어서,
상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 원통, 원추, 턱, 핀, 나사, 직사각형 막대, 평판, 원반, 피라 미드, 과립, 분말, 산호모래, 관절구, 뼈, 늑골, 척추, 골반, 연골 조직, 공 또는 정육면체의 형태에 가까운 선택 방법.

청구항 22

제 1 항에 있어서,
상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 목적하는 조직 성장 또는 복구 부위를 수용하는 형상에 가까운 선택 방법.

청구항 23

제 1 항에 있어서,
상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 산호질-기반 고체 물질의 데카르트 좌표 축을 따라 공동을 포 함하는 선택 방법.

청구항 24

제 1 항에 있어서,
상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이, 탄산칼슘으로 이루어지고 상에 데카르트 좌표 축을 따라 일련 의 공동을 추가로 포함하고 히알루론산을 추가로 포함하는 제 1 상; 및 필수적으로 탄산칼슘으로 이루어진 제 2 상을 포함하는 선택 방법.

청구항 25

제 1 항에 있어서,
상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 생체적합성 중합체를 포함하는 선택 방법.

청구항 26

제 25 항에 있어서,
상기 생체적합성 중합체가 상기 기질 내의 공극 또는 기공 내에 혼입되는 선택 방법.

청구항 27

제 25 항에 있어서,
상기 생체적합성 중합체가 상기 기질의 외면에 부착되는 선택 방법.

청구항 28

제 25 항에 있어서,

상기 생체적합성 중합체가, 글리코사미노글리칸, 콜라겐, 피브린, 엘라스틴, 실크, 키토산, 알기네이트 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 천연 중합체를 포함하는 선택 방법.

청구항 29

제 28 항에 있어서,

상기 알기네이트가 칼슘 알기네이트, 가교결합된 칼슘 알기네이트 또는 이들의 조합을 포함할 수 있는 선택 방법.

청구항 30

제 28 항에 있어서,

상기 키토산이 가교결합된 키토산을 포함할 수 있는 선택 방법.

청구항 31

제 28 항에 있어서,

상기 글리코사미노글리칸이 히알루론산, 히알루론산 나트륨, 가교결합된 히알루론산 또는 이들의 조합인 선택 방법.

청구항 32

제 1 항 또는 제 25 항에 있어서,

상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 사이토카인, 성장 인자, 치료 화합물, 골유도제, 생체활성 유리, 골 충전제, 골 시멘트, 약물 또는 이들의 임의의 조합을 추가로 포함하는 선택 방법.

청구항 33

제 32 항에 있어서,

상기 치료 화합물 또는 약물이 소염 화합물, 항-감염 화합물, 혈관신생촉진 인자 또는 이들의 조합을 포함하는 선택 방법.

청구항 34

제 1 항 또는 제 25 항에 있어서,

상기 고체 기질이 심장, 근육, 간, 피부, 신장, 결합 조직 또는 뉴런 조직 용도에서의 적용을 위한 배양시 세포, 조직 및 기관의 3차원 지지체 및 성장을 제공하는 선택 방법.

청구항 35

제 1 항에 있어서,

상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상에 거친 표면의 존재를 설정하되, 상기 거친 표면이 주사 전자 현미경, X-선 회절 또는 원자력 현미경으로 측정되는 단계; 및

상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상에 거친 표면의 존재의 측정을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계

를 추가로 포함하는 선택 방법.

청구항 36

제 35 항에 있어서,

상기 설정 단계에서 E-SEM에 의해 습윤을 평가하는 것을 추가로 포함하는 선택 방법.

청구항 37

제 1 항에 있어서,

X-선 회절 또는 파이글 염색 양성도를 사용하여, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 결정 조성 또는 구조를 설정하는 단계를 추가로 포함하는 선택 방법.

청구항 38

(a) 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 군에 대한 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하되, 상기 고유 유체 흡수 용량 값이 상기 군의 각각의 샘플에 대해 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정되는 단계;

(b) 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계;

(c) (b)의 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 양친매성 물질, 극성 용매, 양이온성 물질, 음이온성 물질 또는 이들의 조합과 접촉시키는 단계;

(d) (c)에서 수득된 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에서 (a)에서와 같이 고유 유체 흡수 용량을 측정하는 단계; 및

(e) 새로 설정된 증가된 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는, (d)에서 수득된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계로서, 상기 증가된 고유 유체 흡수 용량 값이 5% 이상 증가되고, 선택된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 75% 내지 100% 이하의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는, 단계

를 포함하는, 준최적 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질을 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질로 전환시키는 방법.

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

제 38 항에 있어서,

상기 증가된 고유 유체 흡수 용량 값이 15% 이상 증가되는 방법.

청구항 42

제 41 항에 있어서,

선택된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 45% 내지 70%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 방법.

청구항 43

제 38 항에 있어서,

상기 증가된 고유 유체 흡수 용량 값이 35% 이상 증가되는 방법.

청구항 44

제 43 항에 있어서,

선택된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 1% 내지 40%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 방법.

청구항 45

제 38 항에 있어서,
상기 고체 기질이 산호 또는 산호계 유도체로 이루어진 방법.

청구항 46

제 38 항에 있어서,
상기 고체 기질이 아라고나이트, 방해석, 하이드록시아파타이트 또는 이들의 조합으로 이루어진 방법.

청구항 47

제 38 항에 있어서,
상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 골 충전제, 골 페이스트 또는 골 대체 물질로 사용될 수 있는 방법.

청구항 48

제 38 항에 있어서,
상기 양친매성 물질, 극성 용매, 양이온성 물질 또는 음이온성 물질이 트윈, 플루로닉, 에탄올, 메틸렌 블루, 히알루론산, 콘드로이틴 설페이트 또는 이들의 조합인 방법.

청구항 49

제 38 항에 있어서,
상기 양친매성 물질, 극성 용매, 양이온성 물질, 음이온성 물질 또는 이들의 조합과 접촉 후에, (b)의 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 2차적인 세척 방법을 적용하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 50

제 49 항에 있어서,
상기 2차적인 세척 방법이 열, 음과처리, 양압, 음압 또는 이들의 조합을 적용하는 것을 포함하는 방법.

청구항 51

제 49 항에 있어서,
상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 골 충전제 또는 골 대체 물질을 추가로 포함하는 방법.

청구항 52

제 49 항에 있어서,
상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 0.1 내지 15 분 동안 접촉시켜, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 내에 상기 유체의 자발적 유체 흡수를 가능하게 하여 상기 자발적 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 53

제 49 항에 있어서,
상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 0.05 내지 24 시간 이하 동안 접촉시켜, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 내에 상기 유체의 자발적 유체 흡수를 가능하게 하여 상기 자발적 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 54

제 49 항에 있어서,
상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 접촉시키고, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체

물질에 음압을 적용하여 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 내에 상기 유체의 최대 흡수를 제공하여 상기 총 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 55

제 49 항에 있어서,

상기 고유 유체 흡수 용량 값이 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에서의 중량 변화의 함수인 방법.

청구항 56

제 49 항에 있어서,

상기 고유 유체 흡수 용량 값이 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 적용된 유체의 유체 부피 변화의 함수인 방법.

청구항 57

제 49 항에 있어서,

상기 유체가 단백질-함유, 염-함유 또는 탄수화물-함유 용액인 방법.

청구항 58

제 49 항에 있어서,

상기 유체가, 상기 고체 기질이 대상의 세포 또는 조직과 접촉될 때, 상기 대상의 세포 또는 조직에 대해 자가 유래성인 방법.

청구항 59

제 49 항에 있어서,

상기 유체가 물인 방법.

청구항 60

제 50 항에 있어서,

상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 포라이츠 중, 고니오포라 중, 밀레포라 중 또는 아크로포라 중 으로부터 단리된 방법.

청구항 61

제 49 항에 있어서,

상기 고체 기질이 따개비 또는 연체동물, 또는 뼈, 상아 또는 상아질로부터 단리된 방법.

청구항 62

제 61 항에 있어서,

상기 고체 기질이 진주층으로 이루어진 방법.

청구항 63

제 49 항에 있어서,

상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 원통, 원추, 턱, 핀, 나사, 직사각형 막대, 평판, 원반, 피라미드, 과립, 분말, 산호모래, 관절구, 늑골, 골반, 척추, 뼈, 연골 조직, 공 또는 정육면체의 형태에 가까운 방법.

청구항 64

제 49 항에 있어서,

상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 목적하는 조직 성장 또는 복구 부위를 수용하는 형상에 가까운 방법.

청구항 65

제 49 항에 있어서,

상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질이 산호질-기반 고체 물질의 데카르트 좌표 축을 따라 공동을 포함하는 방법.

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

- 청구항 79
삭제
- 청구항 80
삭제
- 청구항 81
삭제
- 청구항 82
삭제
- 청구항 83
삭제
- 청구항 84
삭제
- 청구항 85
삭제
- 청구항 86
삭제
- 청구항 87
삭제
- 청구항 88
삭제
- 청구항 89
삭제
- 청구항 90
삭제
- 청구항 91
삭제
- 청구항 92
삭제
- 청구항 93
삭제
- 청구항 94
삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본원은 미국 가출원 제 61/763,981 호, 미국 가출원 제 61/763,985 호, 미국 가출원 제 61/764,467 호 및 미국 가출원 제 61/764,496 호(모두 2013년 2월 13일자로 출원)를 우선권 주장할 뿐 아니라, 미국 가출원 제 61/773,219 호 및 미국 가출원 제 61/773,228 호(둘 다 2013년 3월 6일자로 출원)를 우선권 주장하며, 상기 출원들 모두 본원에 전체로 참고로 인용된다.

배경 기술

[0002] 조직 성장, 재생 및 복구는 종종, 예를 들면, 외상, 종양 형성, 비정상적 조직 성장, 노화 등에 대한 노출의 결과로서, 기능을 회복하고 조직의 형태를 복원하는데 필요하다.

[0003] 합성 물질들도 또한 생체외 조직 구성 및 복구를 촉진하고, 유사하게 상이한 조직들, 예를 들면, 뼈를 복원하고 재건하기 위한 기질로서 수년 동안 엇갈린 성공하에 사용되어 왔다. 또 다른 가능성은 자가유래 조직 이식술이지만, 자가유래 조직의 공급이 한정되고 그 수집은 감염, 출혈, 성형 불능, 신경 손상 및 기능 손실의 위험하여 고통스러울 수 있다. 또한, 유의적 이환율이 자가이식편 채취 부위와 연관된다. 상기 문제들은, 줄기세포, 예를 들면, 중간엽 줄기세포(MSC)의 부착, 이동, 증식 및 분화를 촉진하는 합성 또는 천연 생체물질로 제조된 고체 기질을 사용하여 조직을 조작함으로써 해결할 수 있다.

[0004] 그 치료법을 찾는 많은 질환 및 질병들은 부위-특이적 방식으로 세포 및 조직 성장을 촉진하여 손상되거나 질환이 있는 부위내 새로운 조직의 성장 및 혼입을 촉진하는 능력으로부터 이익을 얻을 것이다.

[0005] 골 및 연골 용도에서, 직접 접해있는 미세환경 및 3차원(3D) 구성이 일반적으로 분화에서 및 특히 연골원 및 골원성 분화에서 중요한 요인들이다.

[0006] 일부 뼈 조직 공학용 스펙폴드는 천연 중합체, 예를 들면, 콜라겐, 알기네이트, 히알루론산 및 키토산으로 이루

어진다. 천연 물질들은 특정 세포 상호작용, 그의 친수성 상호작용으로 인한 세포의 용이한 접촉, 낮은 독성 및 낮은 만성 염증 반응의 이점들을 제공한다. 그러나, 이들 스캐폴드는 종종 기계적으로 불안정하며, 이식을 위한 특정한 미리 정해진 형태를 갖는 조직 구조물의 생성에 쉽게 기여하지 못한다. 기계적 강도를 수득하기 위해, 화학적 변형이 필요하며, 이것은 독성을 유발할 수 있다.

[0007] 관절의 관절연골 표면의 결손 및 퇴행은 통증 및 경직을 야기한다. 관절을 보호하는 연골의 손상은 외상, 스포츠 또는 반복적인 긴장의 결과로서의 신체 손상(예를 들면, 골연골 골절, 십자 인대 손상으로 인한 2차 손상)으로부터, 또는 질환(예를 들면, 골관절염, 류마티스성 관절염, 무균성 괴사, 박리성 골연골염)으로부터 비롯될 수 있다.

[0008] 골관절염(OA)은 관절, 가장 특히는 둔부 및 무릎 관절의 일반적인 마모 및 파열로부터 비롯된다. 골관절염은 노인에서 흔하지만, 사실상 40세쯤에는 대부분의 개인들은 그들의 체중 지지 관절에 약간의 골관절성 변화를 갖는다. 골관절염의 유병률을 증가시키는 또 다른 최근에 나타난 경향은 비만의 증가이다. CDC는 미국 성인의 30%(또는 6천만명)이 비만한 것으로 추정한다. 비만 성인은 정상 체중의 성인보다 무릎 OA가 발생할 가능성이 4배 더 많다. 류마티스성 관절염은 연골 파괴를 야기하는 염증성 질병이다. 류마티스성 관절염은, 적어도 부분적으로, 상기 질환에 대한 유전적 소인을 갖는 환자에게서 자가면역 질환인 것으로 생각된다.

[0009] 손상된 관절의 정형외과적 예방 및 복구는 환자를 치료하기 위해 소모되는 비용 및 시간 둘다의 관점에서 의료업에 상당한 부담이다. 부분적으로, 이것은 연골이 자가-복구 능력을 갖지 않기 때문이다. 연골 결손의 복구를 위해 히알린 연골을 재생시키기 위한 시도는 성공하지 못한 채 남아 있다. 정형외과적 수술은 결손들을 복구하고 관절에서 심한 퇴행성 변화를 미연에 방지하기 위한 노력으로 관절 손상을 방지하기 위해 이용가능하다. 수술적 기술의 사용은 종종 손상되거나 병에 걸린 조직을 대체하기 위한 건강한 조직의 제거 및 제공을 필요로 한다. 자가이식편, 동종이식편 또는 이종이식편으로부터 제공된 조직을 사용하는 기술은 숙주 대상에 대한 면역 반응성 및 감염성 물질의 가능한 전달에 의해 제한된다. 연골 재생을 위한 인간 또는 동물 조직 이외의 다른 물질을 사용하기 위한 수술적 시도도 성공하지 못하였다.

[0010] 보다 광범위하게, 세포 및 조직 성장, 증대 및 모델링에서 다른 용도에 적절한 고체 기질도 또한 결여되어 있다.

[0011] 조직 기능을 회복하고 상기 조직의 형태 복원을 촉진하는 이상적인 물질은 아직까지 없다.

선행기술문헌

특허문헌

(특허문헌 0001) 국제공개공보 WO 2010/146575

(특허문헌 0002) 국제공개공보 WO 2009/066283

(특허문헌 0003) 국제공개공보 WO 2010/058400

비특허문헌

(비특허문헌 0001) Razi Vago, et al., Hard Tissue Remodeling Using Biofabricated Coralline Biomaterials, Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 50: 253-259 (2002)

(비특허문헌 0002) Ye Xu, et al., Hydrothermal Conversion of Coral into Hydroxyapatite, Materials Characterization, 47: 83-87 (2001)

(비특허문헌 0003) Ben-Nissan B., et al., Morphology of Sol-gel Derived Nano-coated Coralline Hydroxyapatite, Biomaterials, 25: 4971-4975 (2004)

발명의 내용

- [0012] 일부 태양에서, 본 발명은 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 고체 기질을 제공한다. 일부 태양에서, 본 발명은, 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 대한 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하고, 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 것을 포함하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 선택 방법을 제공한다.
- [0013] 일부 태양에서, 본 발명은, 최적화된 해양 유기체 골격 유도체를 포함하고 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하며(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다) 특정한 단리 후 정제 및/또는 처리 절차에 노출된, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질을 제공한다.
- [0014] 일부 태양에서, 본 발명에 따르면 본 발명의 방법에 의해 수득된 고체 기질은 80% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하고, 일부 태양에서, 본 발명에 따르면 본 발명의 방법에 의해 수득된 고체 기질은 85% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하고, 일부 태양에서, 본 발명에 따르면 본 발명의 방법에 의해 수득된 고체 기질은 90% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하고, 일부 태양에서, 본 발명에 따르면 본 발명의 방법에 의해 수득된 고체 기질은 95% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하고, 일부 태양에서, 본 발명에 따르면 본 발명의 방법에 의해 수득된 고체 기질은 97% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 한다. 일부 태양에서, 본 발명에 따르면 본 발명의 방법에 의해 수득된 고체 기질은 75 내지 100%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 한다.
- [0015] 일부 태양에서, 용어 "고유 유체 흡수 용량 값(specific fluid uptake capacity value)"은 또한 본원에서 "SFUC" 또는 "SWC"로도 지칭되며, 이들 모두는 상호교환가능한 것으로 이해해야 한다.
- [0016] 일부 태양에서, 본 발명의 고유 유체 흡수 용량 값은 자동화된 장치를 사용하여 측정된다. 일부 양태에서, 및 하기에서 예시되고 더 기술되는 바와 같이, 다양한 샘플의 고유 유체 흡수 용량 값의 평가는, 상업적 생산에 적절한 자동화된 규모확대 공정의 일부로서, 동시에 또는 순차적으로 평가될 수 있다. 일부 양태에서, 상기 장치들은 바람직한 특성을 갖는 샘플의 개별적 선택 및 수송을 추가로 제공할 수 있다.
- [0017] 일부 태양에서, 본 발명은, 유기체 골격 유도체를 포함하고 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질, 또는 이를 수득하기 위한 방법을 제공한다.
- [0018] 숙련된 전문가가 인지하듯이, 접촉각은 표준 방법 및 장비를 이용하여, 예를 들면, 각도측정에 의해 본원에 기술되고 예시된 바와 같이 측정할 수 있다. 일부 태양에서, 상기 방법들은 문헌 [P.A. Thomson, W.B. Brinckerhoff, M.O. Robbins, in: K.L. Mittal (Ed.), Contact Angle Wettability and Adhesion, VSP, Utrecht, 1993, pp. 139-158; E.L. Decker, S. Garof, Langmuir 13 (1997) 6321; and M.G. Orkoula et al.: Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 157 (1999) 333-340; Hiemenz, P. C.; Rajagopalan, R. Principles of Colloid and Surface Chemistry, 1997, 3rd Ed., Marcel Dekker, Inc; Applied Colloid and Surface Chemistry Chapter 2: Surface Tension and wetting, by Richard Pashley, Marilyn Karaman, 2004, John Wiley and sons]에 기술된 바와 같은 방법들을 이용할 수 있으며, 상기 문헌들은 모두 본원에 전체로 참고로 인용된다.
- [0019] 일부 태양에서, 본 발명은, 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경으로 측정되는 실질적인 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질, 또는 이를 수득하기 위한 방법을 제공한다.
- [0020] 일부 태양에서, 산호 또는 산호 유도체는 아라고나이트, 방해석, 그의 혼합물 또는 그의 다른 다형체들이다.
- [0021] 일부 태양에서, 산호 또는 산호 유도체의 구조 구성은 X-선 회절(XRD) 또는 파이글(Feigl) 용액 양성 염색에 의해 측정된다.
- [0022] 일부 태양에서, 고체 기질은 포라이츠(Porites) 종, 고니오포라(Goniopora) 종, 밀레포라(Millepora) 종 또는 아크로포라(Acropora) 종으로부터 단리된다.
- [0023] 일부 태양에서, 고체 기질은 따개비 또는 연체동물로부터 단리된다. 일부 태양에서, 고체 기질은 진주층으로 이루어진다.
- [0024] 일부 태양에서, 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 하나 이상의 고체 기질을 포함하는 키트를 제공한다. 일부

태양에서, 상기 키트는 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하고/하거나 본 발명의 방법에 의해 생성된 일련의 고체 기질을 포함할 것이며, 여기서 키트내 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 75 내지 99%의 고유 유체 흡수 용량 값을 가지며, 일부 태양에서, 상기 키트는 80 내지 99%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 일련의 고체 기질을 함유하고, 일부 태양에서, 상기 키트는 85 내지 99%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 일련의 고체 기질을 함유하고, 일부 태양에서, 상기 키트는 90 내지 99%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 일련의 고체 기질을 함유하고, 일부 태양에서, 상기 키트는 95 내지 99%, 또는 다른 태양에서, 95 내지 100%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 일련의 고체 기질을 함유한다.

- [0025] 또 다른 태양에서, 본 발명은 다음을 포함하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 선택 방법을 제공한다:
- [0026] 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 단리하는 단계;
- [0027] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하는 단계(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다); 및
- [0028] 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.
- [0029] 일부 태양에서, 상기 양태에 따라서, 상기 방법은 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 0.1 내지 15 분 동안 접촉시켜 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 내에 상기 유체의 자발적 유체 흡수를 촉진시켜 상기 자발적 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0030] 일부 태양에서, 상기 양태에 따라서, 상기 방법은 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 접촉시키고 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 음압을 적용하여 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질내에 상기 유체의 최대 흡수를 촉진시켜 상기 총 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0031] 일부 태양에서, 상기 양태에 따라서, 고유 유체 흡수 용량 값은 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 중량 변화의 함수이다.
- [0032] 일부 태양에서, 상기 양태에 따라서, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 중량 변화는 상기 고체 물질중의 간극내 상기 유체의 흡수에 기인하거나, 일부 태양에서, 상기 고체 물질중의 기공내 상기 유체의 흡수에 기인하거나, 일부 태양에서, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 중량 변화는 상기 고체 물질중의 간극내 상기 유체의 흡수 및 상기 고체 물질중의 기공내 상기 유체의 흡수에 기인하며, 이것은 일부 태양에서 개개 산호 결정 내에서 또는 일부 태양에서는 개개 산호 결정들 사이에서 일어난다.
- [0033] 일부 태양에서, 상기 양태에 따라서, 고유 유체 흡수 용량 값은 상기 산호질-기반 고체 물질에 적용된 유체의 유체 부피 변화의 함수이다.
- [0034] 일부 태양에서, 본 발명은, 유기체 골격 유도체를 포함하고 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질을 제공한다.
- [0035] 일부 태양에서, 본 발명은, 다음을 포함하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 선택 방법을 제공한다:
- [0036] 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 단리하거나 제조하는 단계;
- [0037] 상기 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 접촉시키고, 상기 유기체 골격 유도체에 대한 접촉각을 설정하는 단계; 및
- [0038] 60도 미만의 접촉각을 특징으로 하는 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.
- [0039] 일부 태양에서, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 선택을 용이하게 하는 본 발명의 방법은, 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질과 유체의 접촉 및 상기 유기체 골격 유도체에 대한 접촉각 설정 또는 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 고유 유체 흡수 용량 값의 설정(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다)이 해당 샘플에 바로 근접한 샘플들상에서, 및 일부 태양에서, 예를 들면, 나이트중에 산호 성장 영역의 관점에서 동등한 영역 내로부터 수행될 수 있는 단계를 포함할 수 있으며, 이때 상기 선택은 일부 태양

에서 근접 영역들의 성능 및 본원에 기술된 바와 같은 바람직한 선택 기준의 달성에 근거하여 구상된다.

- [0040] 일부 태양에서, 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 실질적으로 탄산칼슘으로 이루어진다.
- [0041] 일부 태양에서, 상기 방법은 다음의 단계를 추가로 포함한다:
- [0042] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상의 실질적으로 거친 표면의 존재를 설정하는 단계(상기 실질적으로 거친 표면은 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경에 의해 측정된다); 및
- [0043] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상의 실질적으로 거친 표면의 존재의 측정을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.
- [0044] 일부 태양에서, 본 발명은, 다음을 포함하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 선택 방법을 제공한다:
- [0045] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상의 실질적으로 거친 표면의 존재를 설정하는 단계(상기 실질적으로 거친 표면은 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경에 의해 측정된다); 및
- [0046] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상의 실질적으로 거친 표면의 존재의 측정을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.
- [0047] 일부 태양에서, 본 발명은, 본원에 기술된 바와 같은 상기 방법들에 대해 기술된 단계들의 조합을 포함하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 선택 방법을 제공한다.
- [0048] 일부 태양에서, 본 발명의 방법은 상기 고체 기질을 세포 또는 조직과 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다.
- [0049] 일부 태양에서, 상기 양태에 따라서, 상기 접촉은 상기 세포 또는 상기 조직내 세포의 부착, 증식 또는 분화, 또는 이들의 조합을 촉진한다.
- [0050] 일부 태양에서, 유체는 단백질-함유, 염-함유 또는 탄수화물-함유 용액이거나, 일부 태양에서, 상기 유체는 생물 유체이고, 일부 태양에서, 상기 생물 유체는 상기 고체 기질이 대상의 세포 또는 조직과 접촉될 때 상기 대상의 세포 또는 조직에 대해 자가유래이거나 동종이체이다. 일부 태양에서, 상기 유체는 물이다.
- [0051] 일부 태양에서, 고체 기질은 외상 또는 질환에 의해 손상된 조직내 세포 또는 조직 성장을 촉진한다.
- [0052] 일부 태양에서, 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 임의 양태에 따른 방법에 의해 생성된 고체 기질을 제공한다.
- [0053] 일부 태양에서, 본 발명은, 다음을 포함하는, 준최적(suboptimal) 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질을 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질로 전환시키는 방법을 제공한다:
- [0054] (a) 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 군에 대한 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하는 단계(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 상기 군의 각 샘플에 대해 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다);
- [0055] (b) 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계;
- [0056] (c) (b)의 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 양친매성 물질, 극성 용매, 양이온성 물질, 음이온성 물질 또는 이들의 조합과 접촉시키는 단계;
- [0057] (d) (c)에서 획득된 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에서 (a)에서와 같이 고유 유체 흡수 용량을 측정하는 단계; 및
- [0058] (e) 새로 설정된 증가된 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는, (d)에서 획득된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.
- [0059] 본 발명은 또한, 다음을 포함하는, 준최적 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질을 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질로 전환시키는 방법을 제공한다:
- [0060] (a) 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 군에 대한 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하는 단계(상기 고유

유체 흡수 용량 값은 상기 군의 각 샘플에 대해 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다);

- [0061] (b) 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계;
- [0062] (c) (b)의 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 저온 플라즈마 처리, 코로나 처리 또는 이들의 조합에 적용시키는 단계;
- [0063] (d) (c)에서 획득된 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에서 (a)에서와 같이 고유 유체 흡수 용량을 측정하는 단계; 및
- [0064] (e) 새로 설정된 증가된 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는, (d)에서 획득된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.
- [0065] 일부 태양에서, 고유 유체 흡수 용량 값은 5% 이상 증가된다. 일부 태양에서, 선택된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 75 내지 95%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 한다. 일부 태양에서, 증가된 고유 유체 흡수 용량 값은 15% 이상 증가된다. 일부 태양에서, 선택된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 45 내지 70%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 한다. 일부 태양에서, 증가된 고유 유체 흡수 용량 값은 35% 이상 증가된다. 일부 태양에서, 선택된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 1 내지 40%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 한다. 일부 태양에서, 상기 고체 기질은 실질적으로 산호 또는 산호계 유도체로 이루어진다. 일부 태양에서, 상기 고체 기질은 실질적으로 아라고나이트, 방해석, 하이드록시아파타이트 또는 이들의 조합으로 이루어진다. 일부 태양에서, 상기 방법은, (d)에서 상기 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하기 전에 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 하이드록시아파타이트로 완전히 또는 부분적으로 전환시키거나 코팅하는 단계를 추가로 포함하며, 이때 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 아라고나이트이다. 일부 태양에서, 상기 방법은, (d)에서 상기 고유 유체 흡수 용량 값을 설정한 다음에 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 하이드록시아파타이트로 완전히 또는 부분적으로 전환시키는 단계를 추가로 포함하며, 이때 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 주로 탄산칼슘이다. 일부 태양에서, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 골 충전제 또는 골 대체 물질로 사용될 수 있다. 일부 태양에서, 양친매성 물질, 극성 용매, 양이온성 물질 또는 음이온성 물질은 트윈, 플루로닉, 에탄올, 메틸렌 블루, 히알루론산, 콘드로이틴 설페이트 또는 이들의 조합이다.
- [0066] 일부 태양에서, 상기 방법은, 상기 양친매성 물질, 극성 용매, 양이온성 물질, 음이온성 물질 또는 이들의 조합과의 접촉 후에, (b)의 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 2차적인 세척 방법을 적용하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 태양에서, 상기 2차적인 세척 방법은 열, 음파처리, 양압, 음압 또는 이들의 조합을 적용하는 것을 포함한다. 일부 태양에서, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 또한 골 충전제, 골 시멘트, 생체유리 또는 골 대체 물질을 포함한다.
- [0067] 일부 태양에서, 상기 방법은, 상기 해양 유기체 골격 유도체 고체 물질을 유체와 0.1 내지 15 분 동안, 또는 일부 태양에서 1-2 초 내지 20 분 동안, 또는 일부 태양에서 0.5 내지 40 분 동안 접촉시켜, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질내에 상기 유체의 자발적 유체 흡수를 가능하게 하여 상기 자발적 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 태양에서, 상기 방법은, 상기 해양 유기체 골격 유도체 고체 물질을 유체와 12 내지 24 시간 이하 동안, 또는 일부 태양에서, 2 내지 15 시간 이하 동안, 또는 일부 태양에서, 1 내지 24 시간 이하 동안, 또는 일부 태양에서, 6 내지 24 시간 이하 동안, 또는 일부 태양에서, 18 내지 24 시간 이하 동안 접촉시켜, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질내에 상기 유체의 자발적 유체 흡수를 가능하게 하여 상기 자발적 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0068] 일부 태양에서, 상기 방법은, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 접촉시키고 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 음압을 적용하여 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질내에 상기 유체의 최대 흡수를 제공하여 상기 총 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 태양에서, 상기 고유 유체 흡수 용량 값은 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 중량 변화의 함수이다. 일부 태양에서, 상기 고유 유체 흡수 용량 값은 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 적용된 유체의 유체 부피 변화의 함수이다. 일부 태양에서, 상기 유체는 단백질-함유, 염-함유 또는 탄수화물-함유 용액이다. 일부 태양에서, 상기 생물 유체는 상기 고체 기질이 대상의 세포 또는 조직과 접촉될 때 상기 대상의 세포 또는 조직에 대해 자가유래성이다. 일부 태양에서, 상기 유체는 물이다. 일부 태양에서, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 포라이츠 중, 고니오포라 중, 밀레포라 중 또는 아크로포라 중으로부터 단리된다. 일부

태양에서, 고체 기질은 따개비 또는 연체동물, 또는 굴 또는 상아 또는 상아질로부터 단리된다. 일부 태양에서, 고체 기질은 진주층으로 이루어진다.

- [0069] 일부 태양에서, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 원통, 원추, 택(tac), 편, 나선, 직사각형 막대, 평판, 원반, 피라미드, 과일, 분말, 산호 모래, 공, 뼈, 관절구, 늑골, 척추 또는 정육면체의 형태에 가깝다. 일부 태양에서, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 목적하는 조직 성장 또는 복구 부위를 수용하는 형상에 가깝다. 일부 태양에서, 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 상기 산호질-기반 고체 물질의 데카르트 좌표(Cartesian coordinate) 축을 따라 공동을 포함한다.
- [0070] 일부 태양에서, 본 발명은, 다음을 포함하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 선택 방법을 제공한다:
- [0071] 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 단리하거나 제조하는 단계;
- [0072] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하는 단계(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다); 또는 접촉각 값을 설정하는 단계;
- [0073] 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하거나, 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계;
- [0074] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상의 실질적으로 거친 표면의 존재를 설정하는 단계(상기 실질적으로 거친 표면은 주사 전자 현미경, X-선 회절 또는 원자력 현미경에 의해 측정된다); 및
- [0075] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상의 실질적으로 거친 표면의 존재의 측정을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.
- [0076] 일부 태양에서, 본 발명은, 다음을 포함하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 선택 방법을 제공한다:
- [0077] 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 단리하거나 제조하는 단계;
- [0078] 상기 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하는 단계(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다); 또는 접촉각 값을 설정하는 단계;
- [0079] 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하거나, 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계; 및
- [0080] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 결정 조성 또는 구조를 X-선 회절 또는 파이글 착색제 양성 염색에 의해 설정한다.
- [0081] 본원에 언급된 모든 공개공보, 특허 및 특허 출원은, 각각의 개개 공개공보 또는 특허가 참고로 인용되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 지적된 바와 같이 본원에 전체로 참고로 인용된다. 명세서와 인용된 참조문헌 사이에 충돌되는 경우, 명세서에 따른다. 수치 범위가 본 문헌에 제공된 경우, 범위내에 종말점들이 포함된다. 또한, 달리 지적되거나 달리 문맥 또는 당해 분야에 통상의 기술을 가진 자의 이해로부터 명백하지 않는 한, 범위로 나타낸 값들은, 선택적으로 어느 한쪽 또는 양쪽 종말점을 포함하거나 제외시키고, 본 발명의 상이한 태양들에서, 문맥상 달리 명백히 지적하지 않는 한, 범위의 하한치의 단위의 열번째 자리까지, 언급된 범위내의 임의의 특정 값 또는 부분범위를 추정할 수 있음을 이해해야 한다. 본질적으로 정수인 단위를 갖는 값과 관련하여 백분율이 인용되는 경우, 임의의 수득된 분수는 가장 근접한 정수로 반올림될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0082] 도 1은 생물 유체, 이 경우 인간 전혈을 흡수하는 그의 능력에 대해 평가된 이식물들의 일련의 사진들을 나타낸 것이다. 도 1a 내지 1c는 소형 산호 고체 기질 샘플내 흡수 패턴의 3가지 유형, 즉 각각 표면 색 변화 관찰에 의해 측정시 적정하게 완전 흡수, 중간 흡수 및 최소 흡수를 나타낸다. 도 1d 내지 1f는 그로부터 더 작은 이식물이 단리된 산호 고체 기질의 더 큰 블록을 나타낸다.

도 2는 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 확인을 위한 예시된 스크리닝 프로토콜에 대한 흐름도를 나타낸 것이다.

도 3은 이식전 생물 유체 흡수와 시간 경과에 따른 부위 치료 사이의 상관관계를 나타낸 것이다. 상당한 물 및 혈액 흡수, 또는 이식전 이식물내 그의 최소 흡수를 특징으로 하는 이식물로 처리된 이식 부위를 4 주 후에 육안으로 평가하였다. 상당한 유체 흡수를 갖는 샘플에서는 연골 외관과 일치하는 조직이 실질적으로 이식물을 뒤덮은 반면, 최소/감소된 유체 흡수를 특징으로 한 샘플은 이식물 이식 위로 보다 섬유성 막을 나타내었다(각각 도 3a 대 3d). 최소/감소된 유체 흡수를 특징으로 하는 각각의 이식물들[도 3b 및 3c] 대 상당한 유체 흡수를 특징으로 하는 이식물들[도 3e 및 3f]의 X-선 및 마이크로-CT 분석은, 상당한 유체 흡수를 특징으로 하는 이식물이 이식 부위 내에서, 탁월한 골유착, 골전도 또는 골전달 하에 유의적인 부작용 없이 적절하게 융합되는 것으로 보이는 반면, 최소/감소된 유체 흡수를 특징으로 하는 이식물은 아마도 증대된 파골세포 활성으로 인해 골 흡수, 용해 및 기계적 완전성의 손실을 유도하는 것으로 보인다.

도 4는 유체에 노출시 그 접촉각에 대해 평가된 예시된 이식물들의 사진을 나타낸 것이다. 도 4a 및 4b는 그의 접촉각 특성화에 대해 평가된 샘플을 더 큰 블록으로부터 절단한 경우를 나타낸 것이고, 도 4c 및 4d는 나타낸 영역들에 대해 측정된 접촉각 값을 나타낸 것이다. 도 4a 및 4b에서 평가된 블록의 영역들 대부분은 주로 60도 미만의 접촉각을 제공하였다. 도 4c 및 4d에서의 특정 영역들은 60 내지 90도(도 4c) 및 90도 이상(도 4d)의 접촉각을 제공하였다.

도 5는 유체에 노출시 그 접촉각에 대해 평가된 예시된 이식물들의 사진이다. 도 5a는 그의 접촉각 특성화에 대해 평가된, 더 큰 블록으로부터 절단된 영역들을 나타낸다. 도 5b 및 5c에서 평가된 블록의 영역들 대부분은 주로 60도 미만의 접촉각을 제공하였다. 도 5b 및 5c에서의 특정 영역들은 60 내지 90도 및 90도 이상의 접촉각을 제공하였다(각각 청색 대 적색 영역).

도 6은 유사하게 유체에 노출시 그 접촉각에 대해 평가된 예시된 이식물들의 사진을 나타낸 것이다. 도 6a는 그의 접촉각 특성화에 대해 평가된, 더 큰 블록으로부터 절단된 영역들을 나타낸다. 도 6b에서 평가된 블록의 영역들 대부분은 주로 60도 미만의 접촉각을 제공하였다. 도 6b에서의 특정 영역들은 60 내지 90도 및 90도 이상의 접촉각을 제공하였다(각각 청색 대 적색 영역).

도 7은 비교 표면 습윤 특성을 보여주는 ESEM 분석의 결과를 나타낸 것이다. 도 7a에서 평가된 샘플은 영(zero)의 낙하각 값을 나타내었고 소적을 생성하지 않아 고친수성 구조를 시사하였다. 도 7b는 유체 적용 후 물이 적용되었을 때 "습윤"되지 못한 샘플을 나타낸다. 도 7c는 재건조 후에 수적이 표면상에서 뚜렷하여 불량 표면 습윤의 표현형과 일치함을 보여준다. 도 7d는 60도 미만의 접촉각과 일치하는 결과를 갖는 상이한 샘플에 대한 결과를 나타내고, 도 7e는 60도보다 높은 접촉각을 갖는 상이한 샘플에 대한 결과를 나타낸다.

도 8은 최소 생물 유체 흡수를 갖는 샘플들에서 다양한 배율에서 최소 생물 유체 흡수를 특징으로 하는 단리된 기질 대 실질적인 생물 유체 흡수를 특징으로 하는 기질의, ESEM에 의해 측정된 바와 같은 현미경 구조가 실질적인 흡수를 갖는 샘플에 비해 훨씬 더 매끄러운 외부 표면을 나타냄을 보여준다(도 8a 내지 8c 대 8d 내지 8f).

도 9는 최소 생물 유체 흡수를 갖는 샘플들에서 다양한 배율에서 최소 생물 유체 흡수를 특징으로 하는 단리된 기질 대 실질적인 생물 유체 흡수를 특징으로 하는 기질의, AFM에 의해 측정된 바와 같은 현미경 구조가 실질적인 흡수를 갖는 샘플에 비해 훨씬 더 매끄러운 외부 표면을 나타냄을 보여준다(도 9a 내지 9c 대 9d 내지 9f).

도 10은 상기 샘플들에 트윈(Tween) 80을 적용하기 전 및 후에 평가된 산호 샘플의 기능으로서 SFUC 값을 도표로 나타낸 것이다.

도 11은 상기 샘플들에 트윈 80 및 음과처리를 적용하기 전 및 후에 평가된 산호 샘플의 기능으로서 SFUC 값을 도표로 나타낸 것이다.

도 12는 상기 샘플들에 트윈 80의 존재 또는 부재하에서 플루로닉을 적용하기 전 및 후에 평가된 산호 샘플의 기능으로서 SFUC 값을 도표로 나타낸 것이다.

도 13은 상기 샘플들에 무수 에탄올을 적용하기 전 및 후에 평가된 산호 샘플의 기능으로서 SFUC 값을 도표로 나타낸 것이다.

도 14는 상기 샘플들에 메틸렌 블루를 적용하기 전 및 후에 평가된 산호 샘플의 기능으로서 SFUC 값을 도표로

나타낸 것이다.

도 15는 상기 샘플들에 히알루론산을 적용하기 전 및 후에 평가된 산호 샘플의 기능으로서 SFUC 값을 도표로 나타낸 것이다.

도 16은 상기 샘플들에 콘드로이틴 설페이트를 적용하기 전 및 후에 평가된 산호 샘플의 기능으로서 SFUC 값을 도표로 나타낸 것이다.

도 17은 연속적으로 정제 화학물질: 차아염소산염 및 과산화수소에 이어 무수 에탄올 추출에 노출된 2개의 샘플 (첫번째 평가(n=13) 및 두번째 평가(n=15) 산호)로부터의 이식물들의 SWC 값을 도표로 나타낸 것이다. *P<0.05; **P<0.01.

도 18 및 19는 유사하게 정제 단계에 노출되고 에탄올 추출 단계 후의 이식물에 대한 평균 SWC 값을 도표로 나타낸 것이다.

도 20a 및 20b는 본 발명의 예시된 자동화 장치를 측면도 및 상면도로 도식적으로 나타낸 것이다.

도 21a 내지 21c는 낮은 고유 유체 흡수 용량 값(도 21a 및 도 21b) 대 높은 고유 유체 흡수 용량 값(도 21c)을 갖는 산호 기질들에 대한 세포 부착의 주사 전자 현미경사진을 나타낸 것이다.

도 22a 및 22b는 낮은 고유 유체 흡수 용량 값 대 높은 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 샘플들에서 알라마블루(AlamarBlue, 등록상표) 분석으로 측정시 HEPM 세포 증식 및 생존력 값을 그래프로 나타낸 것이다.

도 23a 내지 23f는 문헌에 보고된 바와 같은 전통적인 파이글 염색(도 23a 및 23b), 및 추가의 에탄올 정제 단계 전(도 23c, 23d) 및 후(도 23e, 23f)에 본 발명의 예시된 방법에 의해 단리되고 처리된 산호 샘플에서의 혈액 흡수 대 파이글 염색을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0083] 본 발명은 특히 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 고체 기질을 선택하고 수득하기 위한 방법 및 그에 의해 수득된 물질을 제공한다.
- [0084] 일부 태양에서, 본 발명은, 산호를 포함하고 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다)을 특징으로 하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질을 제공한다.
- [0085] 일부 태양에서, 본 발명은, 유기체 골격 유도체를 포함하고 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질을 제공한다.
- [0086] 일부 태양에서, 본 발명은, 유기체 골격 유도체를 포함하고 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경으로 측정되는 실질적인 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질을 제공한다.
- [0087] 본 발명의 고체 기질은 해양 유기체 골격 유도체-기반 물질을 포함할 것이다.
- [0088] 일부 태양에서, 용어 "해양 유기체 골격 유도체-기반 물질"은 해양 유기체로부터, 및 유기체의 골격 성분, 예를 들면, 인간 또는 척추동물 대상에서 이식에 적합하도록 더 처리되고 하기에 기술된 바와 같이 이식에 최적화되도록 더 처리된 유기체의 외골격으로부터 유도된 고체 조각 또는 분쇄된 물질을 말한다.
- [0089] 일부 태양에서, 용어 "해양 유기체 골격 유도체-기반 물질"은 인간 또는 척추동물 대상에서 이식에 적합하도록 더 처리되고 하기에 기술된 바와 같이 이식에 최적화되도록 더 처리된 산호질-기반 물질을 말한다.
- [0090] 주로 CaCO₃로 이루어진 산호는 빠른 세포 침윤, 부착 및 증식을 지지하는 이점을 갖는 것으로 밝혀졌다. 산호는 중간엽 줄기세포의 부착, 증식 및 분화의 촉진, 및 연골 및/또는 골 조직 내로의 궁극적인 혼입에 효과적인 기질인 것으로 밝혀졌다. 산호는 또한 많은 다른 세포 유형들의 부착 및 증식을 촉진하기 위한 탁월한 기질로서 작용하여, 세포 및 조직 성장을 위한 탁월한 지지체로서 작용하는 것으로 밝혀졌다.
- [0091] 용어 "산호" 및 "탄산칼슘" 및 "아라고나이트" 및 "방해석"은 달리 구체적으로 언급되지 않는 한 본원에서 상호 교환적으로 사용될 수 있다.
- [0092] 일부 태양에서, 용어 "해양 유기체 골격 유도체-기반 물질"은 인간 또는 척추동물 대상에서 이식에 적합하도록

더 처리되고 하기에 기술된 바와 같이 이식에 최적화되도록 더 처리된 산호 또는 산호 유도체를 말한다. 일부 태양에서, 용어 "해양 유기체 골격 유도체-기반 물질"은 인간 또는 척추동물 대상에서 이식에 적합하도록 더 처리되고 하기에 기술된 바와 같이 이식에 최적화되도록 더 처리된 따개비 또는 연체동물-유래 골격 물질을 말하며, 일부 태양에서는, 인간 또는 척추동물 대상에서 이식에 적합하도록 더 처리되고 하기에 기술된 바와 같이 이식에 최적화되도록 더 처리된 진주층의 포함이 고려된다.

- [0093] 일부 태양에서, 용어 "해양 유기체 골격 유도체-기반 물질"은 인간 또는 척추동물 대상내 이식에 적합하기 위해 천연 해양 유기체로부터 단리되고 이어서 본원에 기술된 바와 같이 처리되는 산호 또는 산호 유도체를 말하며, 이때 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 물질은 특히, 준최적의 단리된 해양 유기체 골격 유도체-기반 물질을 세포 또는 조직 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 물질로 전환시키기 위해, 선행 세척 및 정제 단계를 포함하여 본원에 기술된 바와 같은 추가의 처리에 적용되었다.
- [0094] 일부 태양에서, 상기 최적화는 특히 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 양친매성 물질, 극성 용매, 양이온성 물질, 음이온성 물질 또는 이들의 조합과 접촉시키는 것을 포함한다.
- [0095] 일부 태양에서, 고체 기질은, 생체적합성 매트릭스에 현탁된, 산호로부터 수득된 분쇄 입자를 함유한다. 일부 태양에서, 생체적합성 매트릭스는 하이드로겔이다.
- [0096] 일부 태양에서, 본원에서 사용된 바와 같이 "이식물" 또는 "플러그" 또는 "고체 기질"에 대한 언급은, 고체 기질에 관해 본원에 기술된 바와 같고 본 발명의 기술된 양태에 포함되는 것으로 간주될 임의의 태양 또는 조합된 태양들을 말한다. 예를 들면, 본원에서 사용된 바와 같은 "고체 기질"에 대한 언급은 명시된 목적에 적용가능하거나 명시된 속성을 함유하는 등으로 본원에 기술된 바와 같은 고체 기질의 임의의 태양을 말하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0097] 한 태양에서, "고체 기질"은 세포 및/또는 조직 복구 및/또는 복원된 기능을 위해 사용되는 성형된 플랫폼을 말하며, 이때 상기 성형된 플랫폼은 상기 복구 및/또는 복원된 기능을 위한 부위를 제공한다. 한 태양에서, 고체 기질은 일시적 플랫폼이다. 한 태양에서, "일시적 플랫폼"은 상기 복구동안 시간 경과에 따라 일어나는 본 발명의 산호의 자연 분해를 말하며, 여기서 산호의 자연적인 완전 또는 부분적 분해는 시간 경과에 따른 고체 기질 형태의 변화 및/또는 시간 경과에 따른 고체 기질 크기의 변화를 가져올 수 있다.
- [0098] 산호의 상이한 종들은 그의 평균 기공 직경 및 기공 부피 면에서 달라지고, 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 고체 기질의 제조를 위한 출발 물질로서 임의의 상기 산호의 사용을 고려하는 것을 인지할 것이며, 이때 상기 고체 기질은 인간 또는 척추동물 대상에서 이식에 적합하도록 더 처리되고 하기에 기술된 바와 같이 이식에 최적화되도록 더 처리된, 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값에 의해 특징지어지는 것을 특징으로 한다.
- [0099] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "기공 부피"는 본 발명의 다공성 스캐폴드 내부의 부피 또는 개방 공간을 말한다. 기공 부피는 당해 분야에 공지되어 있는 임의의 방법에 의해 측정된다. 다공도는 표준 방법에 의해 산출될 수 있으며, 그 한 예가 하기에 추가로 제공된다(예를 들면, 본원에 전체로 참고로 인용된 문헌 [Karageorgiou V, Kaplan D. (2005) "Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis" *Biomaterials.*; 26(27):5474-91] 참조).
- [0100] 용어 "산호"는 그로부터 아라고나이트, 탄산칼슘, 방해석 또는 하이드록시아파타이트 등이 단리되고 인간 또는 척추동물 대상에서 이식에 적합하도록 더 처리되고 하기에 기술된 바와 같이 이식에 최적화되도록 더 처리될 수 있는 출발 물질을 말하는 것임을 인지할 것이다.
- [0101] 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질, 방법 및/또는 키트는 인간 또는 척추동물 대상에서 이식에 적합하도록 더 처리되고 하기에 기술된 바와 같이 이식에 최적화되도록 더 처리된 산호의 사용을 이용한다. 한 태양에서, 산호는 특히 포라이츠, 아크로포라, 고니오포라, 밀레포라 또는 이들의 조합을 포함하여 임의의 종을 포함한다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 고체 기질, 방법 및/또는 키트는 진주층, 연체동물 껍질 또는 골 파편의 사용을 이용한다.
- [0102] 한 태양에서, 산호는 포라이츠 종이다. 한 태양에서, 산호는 포라이츠 루테아(*Porites Lutea*)이다. 한 태양에서, 산호는 아크로포라 종이다. 한 태양에서, 산호는 아크로포라 그란디스(*Acropora grandis*)로서, 이것은 한 태양에서 매우 흔하고, 빠르게 성장하며, 배양으로 성장하기 용이하다. 따라서, 한 태양에서, 아크로포라 샘플은 산호초의 숨겨진 부분에서 용이하게 채집할 수 있으며, 산호초로부터의 채집은 배양된 산호 물질의 사용에 의해 배제될 수 있다.

- [0103] 또 다른 태양에서, 산호는 밀레포라 종이다. 한 태양에서, 산호는 밀레포라 디코토마(*Millepora dichotoma*)이다. 한 태양에서, 산호는 150 μm 의 기공 크기를 가지며 클로닝되고 배양되어 본 발명의 고체 기질, 방법 및/또는 키트에 골격구조로 유용한 밀레포라를 구성할 수 있다.
- [0104] 한 태양에서, 산호는 고니오포라 종이다. 일부 태양에서, 산호는 고니오포라 알비코누스(*Goniopora albiconus*), 고니오포라 부르고시(*Goniopora burgosi*), 고니오포라 셀룰로사(*Goniopora cellulosa*), 고니오포라 세일론(*Goniopora ceylon*), 고니오포라 실리아투스(*Goniopora ciliatus*), 고니오포라 콜룸나(*Goniopora columna*), 고니오포라 지보우티엔시스(*Goniopora djiboutiensis*), 고니오포라 에클립센시스(*Goniopora eclipsensis*), 고니오포라 프루티코사(*Goniopora fruticosa*), 고니오포라 그라실리스(*Goniopora gracilis*), 고니오포라 클룬징제리(*Goniopora klunzingeri*), 고니오포라 로바타(*Goniopora lobata*), 고니오포라 마우리티엔시스(*Goniopora mauritiensis*), 고니오포라 마이너(*Goniopora minor*), 고니오포라 노르폴켄시스(*Goniopora norfolkensis*), 고니오포라 팔멘시스(*Goniopora palmensis*), 고니오포라 판도라엔시스(*Goniopora pandoraensis*), 고니오포라 파비스텔라(*Goniopora parvistella*), 고니오포라 펄소니(*Goniopora pearsoni*), 고니오포라 펜둘루스(*Goniopora pendulus*), 고니오포라 플라놀라타(*Goniopora planulata*), 고니오포라 폴리포미스(*Goniopora polyformis*), 고니오포라 렵탄스(*Goniopora reptans*), 고니오포라 사비그니(*Goniopora savignyi*), 고니오포라 소말리엔시스(*Goniopora somaliensis*), 고니오포라 스토크스(*Goniopora stokes*), 고니오포라 스텐치버리(*Goniopora stutchburyi*), 고니오포라 술탄니(*Goniopora sultani*), 고니오포라 테넬라(*Goniopora tenella*), 고니오포라 테누이덴스(*Goniopora tenuidens*) 또는 고니오포라 비리디스(*Goniopora viridis*)이다.
- [0105] 또 다른 태양에서, 산호는 하기 종들중 임의의 하나 이상이다: 파비테스 할리코라(*Favites halicora*); 고니아스트레아 레티포미스(*Goniastrea retiformis*); 아칸타스트레아 에키나타(*Acanthastrea echinata*); 아칸타스트레아 험프리치(*Acanthastrea hemprichi*); 아칸타스트레아 이시가키엔시스(*Acanthastrea ishigakiensis*); 아크로포라 아스페라(*Acropora aspera*); 아크로포라 오스테라(*Acropora austera*); 아크로포라속 "브라운 디지털이트(*brown digitate*)"; 아크로포라 카두스(*Acropora carduus*); 아크로포라 세레알리스(*Acropora cerealis*); 아크로포라 체스터필덴시스(*Acropora chesterfieldensis*); 아크로포라 클라트라타(*Acropora clathrata*); 아크로포라 코포닥틸라(*Acropora cophodactyla*); 아크로포라속 "다나이-라이크(*danai-like*)"; 아크로포라 디바리카타(*Acropora divaricata*); 아크로포라 도네이(*Acropora donei*); 아크로포라 에키나타(*Acropora echinata*); 아크로포라 에플로레스센스(*Acropora efflorescens*); 아크로포라 겐니페라(*Acropora gemmifera*); 아크로포라 글로비셉스(*Acropora globiceps*); 아크로포라 그레놀로사(*Acropora granulosa*); 아크로포라 cf 험프리치(*Acropora cf hemprichi*); 아크로포라 코수리니(*Acropora kosurini*); 아크로포라 cf 로이세타(*Acropora cf loisetae*); 아크로포라 롱지시아투스(*Acropora longicyathus*); 아크로포라 로리페스(*Acropora loripes*); 아크로포라 cf 루트케니(*Acropora cf lutkeni*); 아크로포라 파니쿨라타(*Acropora paniculata*); 아크로포라 프록시말리스(*Acropora proximalis*); 아크로포라 루디스(*Acropora rudis*); 아크로포라 셀라고(*Acropora selago*); 아크로포라 솔리타르엔시스(*Acropora solitaryensis*); 베론(*Veron*)에 속한 아크로포라 cf 스피시페라(*Acropora cf spicifera*); 월라스(*Wallace*)에 속한 아크로포라 cf 스피시페라; 아크로포라 테누이스(*Acropora tenuis*); 아크로포라 발렌시에네시(*Acropora valenciennesi*); 아크로포라 바우가니(*Acropora vaughani*); 아크로포라 베르미쿨라타(*Acropora vermiculata*); 아스트레오포라 그라실리스(*Astreopora gracilis*); 아스트레오포라 미리오프탈마(*Astreopora myriophthalma*); 아스트레오포라 란달리(*Astreopora randalli*); 아스트레오포라 서제스타(*Astreopora suggesta*); 오스트랄로무사 로우레이엔시스(*Australomussa rowleyensis*); 코시나레아 콜룸나(*Coscinaraea columna*); 코시나레아 크라사(*Coscinaraea crassa*); 시나리나 라크리말리스(*Cynarina lacrymalis*); 디스티코포라 비올라세아(*Distichopora violacea*); 에키노필리아 에키나타(*Echinophyllia echinata*); 에키노필리아 cf 에키노포로이데스(*Echinophyllia cf echinoporoides*); 에키노포라 겐마세아(*Echinopora gemmacea*); 에키노포라 히르수티시마(*Echinopora hirsutissima*); 유필리아 안코라(*Euphyllia ancora*); 유필리아 디비사(*Euphyllia divisa*); 유필리아 예이아멘시스(*Euphyllia yaeyamensis*); 파비아 로툰다타(*Favia rotundata*); 파비아 트룬카투스(*Favia truncatus*); 파비테스 아쿠티콜리스(*Favites acuticollis*); 파비티에스 펜타고나(*Favities pentagona*); 폰지아 그레놀로사(*Fungia granulosa*); 폰지아 클룬징제리(*Fungia klunzingeri*); 폰지아 몰루센시스(*Fungia mollucensis*); 갈락세아 아크렐리아(*Galaxea acrihelia*); 고니아스트레아 에드워드시(*Goniastrea edwardsi*); 고니아스테아 미누타(*Goniastrea minuta*); 하이드노포라 필로사(*Hydnophora pilosa*); 렵토세리스 엑스플라나타(*Leptoseris explanata*); 렵토세리스 인크루스탄스(*Leptoseris incrustans*); 렵토세리스 마이세토세로이데스(*Leptoseris mycetoseroides*); 렵토세리스 스카브라(*Leptoseris scabra*); 렵토세리스 야베이(*Leptoseris yabei*); 리토피λλον 운둘라툼(*Lithophyllon undulatum*); 로보필리아 험프리치(*Lobophyllia*

hemprichii); 메룰리나 스카브리쿨라(*Merulina scabricula*); 밀레포라 디코토마(*Millepora dichotoma*); 밀레포라 엑사에사(*Millepora exaesa*); 밀레포라 인트리카타(*Millipora intricata*); 밀레포라 무라엔시스(*Millepora murrayensis*); 밀리포라 플라티필라(*Millipora platyphylla*); 모나스트레아 쿠르타(*Monastrea curta*); 모나스트레아 콜레마니(*Monastrea colemani*); 몬티포라 칼리쿨라타(*Montipora caliculata*); 몬티포라 카피타타(*Montipora capitata*); 몬티포라 포베오라타(*Montipora foveolata*); 몬티포라 멘드리나(*Montipora meandrina*); 몬티포라 투베르쿨로사(*Montipora tuberculosa*); 몬티포라 cf 비에트나멘시스(*Montipora cf vietnamensis*); 아울로필리아 레비스(*Oulophyllia laevis*); 옥시포라 크라시스피노사(*Oxypora crassispinosa*); 옥시포라 라세라(*Oxypora lacera*); 파보나 비파르티타(*Pavona bipartita*); 파보나 베노사(*Pavona venosa*); 펙티니아 알시코르니스(*Pectinia alvicornis*); 펙티니아 파에오네아(*Pectinia paeonea*); 플라티기라 아큐타(*Platygyra acuta*); 플라티기라 피니(*Platygyra pini*); 플라티기라속 "그린"(*Platygyra sp "green"*); 플라티기라 베르웨이(*Platygyra verweyi*); 포다바키아 cf 라나켄시스(*Podabacia cf lanakensis*); 포라이츠 안네(*Porites annae*); 포라이츠 실린드리카(*Porites cylindrica*); 포라이츠 에베르만니(*Porites evermanni*); 포라이츠 몬티쿨로사(*Porites monticulosa*); 프사모코라 디기타타(*Psammocora digitata*); 프사모코라 엑스플라눌라타(*Psammocora explanulata*); 프사모코라 하이메나(*Psammocora haimeana*); 프사모코라 슈퍼피시알리스(*Psammocora superficialis*); 산다롤리타 덴타타(*Sandalolitha dentata*); 세리아토페라 칼리엔드럼(*Seriatopora caliendrum*); 스틸로코에니엘라 아르마타(*Stylocoeniella armata*); 스틸로코에니엘라 구엔테리(*Stylocoeniella guentheri*); 스틸라스터(*Stylaster*) 속; 투비포라 뮤지카(*Tubipora musica*); 투르비나리아 스텔룰라타(*Turbinaria stellulata*); 또는 당해 분야에 공지된 임의의 산호 또는 이들의 조합.

[0106] 또 다른 태양에서, 본 발명의 고체 기질, 방법 및/또는 키트에 사용될 수 있는 해양 동물, 예를 들면, 산호, 해면, 연체동물 껍질 및 기타 관련 유기체들의 유도체는 마드레포라리아(*Madreporaria*), 코에노테칼리아(*Coenothecalia*) 목의 헬리오포리다(*Helioporida*), 스톨로니페라(*Stolonifera*) 목의 투비포라(*Tubipora*), 밀레포리나(*Milleporina*) 목의 밀레포라(*Millepora*), 또는 당해 분야에 공지된 다른 것들일 수 있다. 일부 태양에서, 본 발명의 기질, 방법 및/또는 키트에 사용하기 위한 산호는, 일부 태양에서 고니오포라 등을 포함하여 거품돌산호(*scleractinian coral*)를 포함할 수 있다. 일부 태양에서, 본 발명의 기질, 방법 및/또는 키트에 사용하기 위한 산호는 알베오포라(*Alveopora*)를 포함할 수 있다. 일부 태양에서, 본 발명의 기질, 방법 및/또는 키트에 사용하기 위한 산호는, 일부 태양에서, 이시디데(*Isididae*) 과, 케라토이시스(*Keratoisis*) 속, 이시델라(*Isidella*) 등으로부터의 산호를 포함하여, 해죽 산호(bamboo coral)를 포함할 수 있다.

[0107] 본 발명의 한 태양에서, 용어 "산호"는 단일 조각의 산호로부터 절단되고 인간 또는 척추동물 대상에서 이식에 적합하도록 더 처리되고 하기에 기술된 바와 같이 이식에 최적화되도록 더 처리된 산호를 말한다.

[0108] 일부 태양에서, 고체 기질은 임의의 바람직한 형태를 갖는다.

[0109] 한 태양에서, 산호는 다양한 형태로 가공될 수 있으며, 원통형 구조 및 나사형 구조와 같은 매우 복잡한 형상이 적절한 기계 또는 다른 처리, 예를 들면, 화학 처리에 의해 형성될 수 있다. 또 다른 태양에서, 산호는 고체 블록, 막대 또는 과일 형태를 형성하도록 성형될 수 있다. 한 태양에서, 산호질 물질은 목적하는 조직 구조의 형상에 순응하거나 잠재적인 이식 부위에 간극 및 윤곽 결손을 채우는 방식으로 성형된다. 한 태양에서, 산호는 인접-위치한 조직 구조물의 최대 표면적과 접촉시키는 방향으로 이식된다.

[0110] 일부 태양에서, 고체 기질은 원통, 원추, 텍, 핀, 나사, 직사각형 막대, 평판, 원반, 피라미드, 과일, 분말, 산호 모래, 공, 뼈, 관절구, 늑골, 척추 또는 정육면체의 형태에 가깝다. 일부 태양에서, 고체 기질은 목적하는 조직 성장 또는 복구 부위를 수용하는 형상에 가깝다.

[0111] 일부 태양에서, 고체 기질은 상기 고체 기질의 데카르트 좌표 축을 따라 공동을 포함한다.

[0112] 한 태양에서, 산호 고체 기질의 크기는, 목적에 따라 당해 분야에 기술을 가진 자에게 공지된 바와 같이 본 발명의 목적에 유용한 임의의 크기일 수 있다. 예를 들면, 한 태양에서, 고체 기질은 실질적으로 복구될 예정인 구조와 동일한 크기일 수 있는 반면, 또 다른 태양에서, 고체 기질 또는 그의 일부는, 별개의 위치에서 조직 형성/기능을 증대/대체하기 위해 그 안에 배치될 수 있도록 결손, 균열 또는 과일구의 크기일 수 있다. 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질에 사용하기 위한 산호는 세포 집중 및/또는 맥관구조 발달에 적절한 평균 공극 직경, 평균 기공 크기 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0113] 본 발명의 방법 및 물질은, 일부 태양에서, 사용하기 위한 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 단리 또는 제조에 의존한다. 일부 태양에서, 상기 단리 및 제조는 특히, 더 큰 산호 샘플에서 나이트의 목적하는 영역

으로부터 다수의 샘플을 선택하는 것을 포함하여 바람직한 샘플의 선택, 및/또는 일부 태양에서, 상기 샘플의 1 차 처리, 및/또는 일부 태양에서, 본원에 기술된 바와 같은 유체의 흡수를 위한 상기 샘플의 예비스크리닝, 및/또는 일부 태양에서, 본원에 기술된 바와 같은 상기 샘플의 추가 처리를 포함할 수 있다. 상기 양태에 따르면, 상기 단리 및 제조는, 본원에서 기술된 바와 같이 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 고유 유체 흡수 용량 값의 기술된 설정 이전에, 및 일부 태양에서, 본원에 기술된 바와 같은 75% 이상의 기술된 고유 유체 흡수 용량 값 또는 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값 또는 표면 거칠기 또는 파이글 염색 양성도를 특징으로 하는 바와 같은 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 선택 이전에 수행될 것이다.

[0114] 한 태양에서, 산호는 사용 전에 세척되고, 표백되고, 냉동되고, 건조되고, 전기력, 자기력 또는 초음파 또는 마이크로파 또는 전자기 방사선 또는 고압 또는 이들의 조합들에 노출된다. 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 산호는 하기에 기술하는 바와 같이 추가의 처리에 노출된다.

[0115] 일부 태양에서, 고체 기질은 숙련된 전문가가 인지하듯이 의도한 목적에 적절한 크기를 갖는다.

[0116] 예를 들면, 일부 태양에서, 골연골 치료 또는 복구에 사용하기 위한 고체 기질은 형태가 원통형 또는 타원형인 기질을 사용할 수 있으며, 일부 태양에서, 본 발명의 및/또는 기술된 바와 같은 키트 및 방법에 사용하기 위한 고체 기질은 약 5 내지 15 mm의 직경 및 약 5 내지 25 mm의 높이를 가질 수 있다. 일부 태양에서, 고체 기질은 약 1 내지 35 mm의 직경 및 약 1 내지 45 mm의 높이, 또는 약 5 내지 40 mm의 직경 및 약 5 내지 60 mm의 높이, 또는 약 5 내지 15 mm의 직경 및 약 5 내지 45 mm, 5 내지 30 mm, 15 내지 60 mm 또는 그 이상의 높이를 갖는다.

[0117] 예를 들면, 일부 태양에서, 본 발명의 및/또는 기술된 바와 같은 키트 및 방법에 사용하기 위한 고체 기질은 형태가 원통형 또는 타원형인 기질을 사용할 수 있으며, 일부 태양에서, 본 발명의 및/또는 기술된 바와 같은 키트 및 방법에 사용하기 위한 고체 기질은 mm 또는 μm 규모의 직경을 가질 수 있다. 일부 태양에서, 골연골 치료 또는 복구에 사용하기 위한 고체 기질은 형태가 원통형 또는 타원형인 기질을 사용할 수 있으며, 약 1 내지 100 mm의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 50 내지 1000 mm의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 10 내지 2000 mm의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 100 내지 4000 mm의 직경을 갖는다. 일부 태양에서, 골연골 치료 또는 복구에 사용하기 위한 고체 기질은 형태가 원통형 또는 타원형인 기질을 사용할 수 있으며, 약 1 내지 100 μm 의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 50 내지 1000 μm 의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 10 내지 2000 μm 의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 100 내지 4000 μm 의 직경을 갖는다.

[0118] 예를 들면, 일부 태양에서, 본 발명의 및/또는 기술된 바와 같은 키트 및 방법에 사용하기 위한 고체 기질은 형태가 원통형 또는 타원형인 기질을 사용할 수 있으며, 일부 태양에서, 본 발명의 및/또는 기술된 바와 같은 키트 및 방법에 사용하기 위한 고체 기질은 mm 또는 cm 규모의 직경을 가질 수 있다. 일부 태양에서, 골연골 치료 또는 복구에 사용하기 위한 고체 기질은 형태가 원통형 또는 타원형인 기질을 사용할 수 있으며, 약 1 내지 100 mm의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 50 내지 1000 mm의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 10 내지 2000 mm의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 100 내지 4000 mm의 직경을 갖는다. 일부 태양에서, 골연골 치료 또는 복구에 사용하기 위한 고체 기질은 형태가 원통형 또는 타원형인 기질을 사용할 수 있으며, 약 1 내지 100 cm의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 50 내지 1000 cm의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 10 내지 2000 cm의 직경, 또는 일부 태양에서, 약 100 내지 4000 cm의 직경을 갖는다.

[0119] 숙련된 전문가라면 기질의 크기는 특정 용도에 적합하도록 선택될 수 있으며, 예를 들어, 골 복구를 위한 스케폴드 물질로서 사용된다면 상기 크기는 대상에서 장골 치수에 근사할 수 있음을 인지할 것이다. 따라서, 본 발명은 고체 기질의 크기에 의해 제한받지 않는다.

[0120] 본 발명의 고체 기질의 상들 내의 공극의 평균 직경은 디지털 영상 분석을 포함하여 임의의 방법에 의해 측정될 수 있다.

[0121] 일부 태양에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 산호는 PCT 국제 출원 공개 제 WO 2009/066283 호, PCT 국제 출원 공개 제 WO 2010/058400 호, PCT 국제 출원 공개 제 WO 2010/146574 호 및 PCT 국제 출원 공개 제 WO 2010/146574 호에 기술된 바와 같이 제조될 수 있으며, 이들은 각각 본원에 전체로 참고로 인용된다.

[0122] 일부 태양에서, 산호는 공지된 방법에 의해서 및 본원에 기술된 바와 같이 천연 공급원으로부터 단리된다. 일부 태양에서, 더 큰 산호 샘플 내의 하나 이상의 나이트의 한 영역(상기 영역은 본원에 기술된 바와 같은 적절한 고유 유체 흡수 용량 값, 적절한 접촉각 값 및/또는 표면 거칠기를 갖는 것으로 밝혀졌으며, 일부 태양에서, 이어서 하기에 기술된 바와 같은 추가의 처리에 노출된다)으로부터 산호 조각을 단리하도록 주의한다.

- [0123] 본 발명의 방법은, 예를 들면 75% 이상의, 특정 용도에 바람직한 바와 같은 고유 유체 흡수 용량 값(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다)을 특징으로 하는, 본 발명의 고체 기질을 수득하는 것을 촉진한다.
- [0124] 본원에 기술되고 예시된 바와 같이, 예를 들면, 실시예 3 및 4에 기술된 바와 같이, 고유 유체 흡수 용량 값은 생물 유체의 자발적 흡수 대 주어진 샘플에 대한 총 흡수 용량을 평가하고 고유 유체 흡수 용량 수준에 도달시킴으로써 측정될 수 있으며, 상기 고체 기질은 세포 및 조직 성장 및/또는 복원된 기능을 촉진시키는 용도에 사용될 것이다.
- [0125] 일부 태양에서, 고체 기질의 선택 방법은 산호질-기반 고체 물질의 샘플을 단리하고 상기 물질의 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하고(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다), 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 물질을 선택하는 것을 포함한다.
- [0126] 일부 태양에서, 생물 유체는 혈액이고, 일부 태양에서, 생물 유체는 물이다. 일부 태양에서, 생물 유체는 친수성이다.
- [0127] 일부 태양에서, 생물 유체는, 상기 고체 기질이 대상의 세포 또는 조직과 접촉될 때 상기 대상의 세포 또는 조직에 대해 자가유래성이다.
- [0128] 생물 유체는 생체적합성이며 그 혼입이 고체 기질 내에서 목적하는 용도에 적절한 임의의 유체일 수 있음을 이해할 것이다.
- [0129] 일부 태양에서, 상기 방법은 상기 물질을 유체와 2 내지 15 분 동안 접촉시켜 상기 산호질-기반 고체 물질 내에 상기 유체의 자발적 유체 흡수를 촉진시켜 상기 자발적 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 태양에서, 상기 방법은, 상기 물질을 유체와 0.5 내지 15 분 동안, 또는 일부 태양에서 0.5 내지 5 분 동안, 또는 일부 태양에서, 10 내지 60 분 동안, 또는 일부 태양에서 60 내지 90 분 동안, 또는 일부 태양에서 다른 간격으로 접촉시켜 자발적 유체 흡수를 촉진시키는 것을 가능하게 할 수 있다. 숙련된 전문가라면 자발적 흡수를 측정하기 위해 유체가 적용되는 시간의 길이가 평가되는 샘플 기질의 치수 및 기하구조의 함수로서 연장되거나 단축될 수 있음을 인지할 것이다. 일부 태양에서, 더 큰 샘플이 평가될 때, 상기 방법은 상기 물질을 유체와 2 내지 24 시간 동안 접촉시켜 상기 산호질-기반 고체 물질내에 상기 유체의 자발적 유체 흡수를 촉진시켜 상기 자발적 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0130] 일부 태양에서, 상기 방법은, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 접촉시키고, 상기 산호질-기반 고체 물질에 음압, 또는 일부 태양에서, 기계적 압력을 적용하여 상기 산호질-기반 고체 물질내에 상기 유체의 최대 흡수를 촉진하여 상기 총 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 태양에서, 양압의 적용은 유체에 침지된 기질에 진공, 또는 일부 태양에서 기계적 압력의 적용에 의함으로써, 그 안에 유체의 유입을 촉진한다.
- [0131] 일부 태양에서, 상기 방법은, 상기 산호질-기반 고체 물질을 유체와 접촉시키고, 상기 산호질-기반 고체 물질에 양압을 적용하여 상기 산호질-기반 고체 물질내에 상기 유체의 최대 흡수를 촉진하여 상기 총 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함한다. 상기 양태에 따라서, 및 일부 태양에서, 압력의 적용이 고체 기질의 구조적 완전성을 어떻게든 손상시키지 않는 것을 보장하도록 주의해야 할 것이다.
- [0132] 일부 태양에서, 양압의 적용은, 숙련된 전문가에 의해 인지되는 바와 같이, 임의의 수동적 방법에 의해, 예를 들면, 임의의 적용장치, 주사기 등, 중력 압력 등을 이용하여 이루어진다. 일부 태양에서, 양압의 적용은 강제 삼투압, 원심분리 등에 의한다. 일부 태양에서, 기술된 방법 등의 조합이 구상된다.
- [0133] 일부 태양에서, 예비스크리닝 단계를 시도할 수 있다. 예를 들면, 일부 태양에서, 예를 들면, 산호 샘플 나이트에 수직일 수 있는 바람직한 두께의 산호 조각을 취한다. 상기 조각은, 예를 들면, 혈액과 같은 착색된 단백질성 유체의 흡수와 같은 생물 유체의 신속한 흡수에 대해 평가될 수 있다. 일부 태양에서, 임의 공급원으로부터, 예를 들면, 가축 또는 다른 공급원들로부터의 혈액을 사용할 수 있다.
- [0134] 기술된 예비스크리닝 절차의 일부로서 신속한 흡수를 제공하는 샘플은 그의 고유 유체 흡수 용량 값에 대해 더 평가될 수 있다.
- [0135] 예를 들어, 일부 태양에서, 더 작은 샘플 또는 특정 스케폴드는, 산호 조각이 예비스크리닝을 위해 취해지는 블록으로부터(생물 유체의 신속한 흡수를 제공하는 예비스크리닝에 의해 결정되는 영역으로부터) 단리될 수 있다.

- [0136] 일부 태양에서, 스캐폴드 및/또는 더 작은 샘플은 건조된 후 추가의 처리에 적용된다. 상기 추가의 처리는, 예를 들면, 이식물을 인간 또는 척추동물 대상에서 이식에 부적합하게 만드는 물질의 제거를 보장한다. 일부 태양에서, 상기 처리는 임의의 규제 기관 지시, 예를 들면, ASTM F 1185-03: 외과용 이식물용 하이드록시아파타이트 조성에 대한 표준 사양서(Standard Specification for Composition of Hydroxylapatite for Surgical Implants), 또는 ASTM F 1581-08: 외과용 이식물용 무기질 뼈 조성에 대한 표준 사양서(Standard Specification for Composition of Anorganic Bone for Surgical Implants)에 따라서, 이식에 적합한 생성물을 제공한다.
- [0137] 일부 태양에서, 상기 추가의 처리는 스캐폴드 및/또는 더 작은 샘플에서 유기 잔류물의 산화 및 사용된 산화제의 후속 제거를 포함한다. 일부 태양에서, 상기 산화제는 차아염소산 나트륨, 과산화수소(그의 용액) 또는 둘다의 사용을 포함할 수 있으며, 일부 태양에서, 극성 용매의 적용이 이어진다.
- [0138] 일부 태양에서, 상기 추가의 처리 단계는 고유 유체 흡수 용량 값의 설정 후에 시도될 수 있으며, 일부 태양에서, 상기 추가의 처리 단계는 샘플에 대한 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하기 전에 시도될 수 있다.
- [0139] 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 상기 스캐폴드 또는 더 작은 샘플은 완전히 건조되고, 이어서, 예를 들면, 하기 실시예 1에 기술된 바와 같이 그의 자발적 유체 흡수 값에 대해 평가될 수 있다. 예를 들면, 건조 샘플을 물에 침지시킬 수 있으며, 자발적 유체 흡수 값을 평가한 후 총 유체 흡수 값을 평가할 수 있다. 상기 양태에 따라서, 한 태양에서, 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 제공하는 샘플이 추가의 처리를 위해 선택된다. 일부 태양에서, 적어도 60 내지 95%의 고유 유체 흡수 용량 값을 제공하는 샘플도 추가의 처리를 위해 선택된다.
- [0140] 일부 태양에서, 상기 추가의 처리는 본원에 기술된 바와 같은 고유 유체 흡수 용량 값을 최적화하기 위한 공정을 포함하여, 주어진 스캐폴드 및/또는 샘플의 고유 유체 흡수 용량 값을 개선하거나 더 최적화하기 위한 공정을 포함한다. 일부 태양에서, 상기 추가의 처리는 스캐폴드 및/또는 샘플을 본원에 기술된 바와 같이 극성 용매 노출에 적용하는 것을 포함할 수 있다.
- [0141] 일부 태양에서, 본 발명은 또한, 다음을 포함하는, 준최적 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질을 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질로 전환시키는 방법을 제공한다:
- [0142] (a) 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 군에 대한 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하는 단계(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 상기 군의 각각의 샘플에 대해 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다);
- [0143] (b) 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계;
- [0144] (c) (b)의 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 저온 플라즈마 처리, 코로나 처리 또는 이들의 조합에 적용하는 단계;
- [0145] (d) (c)에서 획득된 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에서 (a)에서와 같이 고유 유체 흡수 용량을 측정하는 단계;
- [0146] (e) 새로 설정된 증가된 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는, (d)에서 획득된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.
- [0147] 일부 태양에서, 상기 추가의 처리는 특히 저온 플라즈마 처리, 코로나 처리 또는 이들의 조합을 고려한다. 일부 태양에서, 추가의 처리는, 예를 들면, 공지된 방법에 의해, 열수 반응을 통한 하이드록시아파타이트로의 표면 전환을 포함할 수 있다.
- [0148] 일부 태양에서, 본 발명의 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질은 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는 유기체 골격 유도체를 포함한다.
- [0149] 실시예 5는 60도 미만의 접촉각 값을 특징으로 하는 고체 기질이 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 샘플에 필적하므로 상기 샘플은 또한 본 발명의 일부를 구성하는 것으로 간주되어야 함을 입증하였다.
- [0150] 접촉각을 측정하는 방법은 공지되어 있으며, 임의의 적절한 방법을 사용할 수 있다. 상기 방법의 한 태양이 실시예 5와 관련하여서 및 전술한 바와 같이 본원에 제공되어 있다.

- [0151] 일부 태양에서, 산호 또는 산호 유도체의 구조 구성은 X-선 회절(XRD) 또는 파이글 용액 양성 염색에 의해 측정된다.
- [0152] 일부 태양에서, 용어 "파이글 용액 양성 염색" 또는 "파이글 염색 양성도"는, 아라고나이트 결정 구조를 나타내는, 당해 분야에 공지된 바와 같고 본원에 기술된 바와 같은 표준 파이글 염색 패턴(흑색)과 일치하는 염색 패턴을 말한다.
- [0153] 유사하게, 본 발명의 일부 태양에서, 다음을 포함하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 선택 방법이 제공된다:
- [0154] 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 단리하거나 제조하는 단계;
- [0155] 상기 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 접촉시키고, 상기 유기체 골격 유도체에 대한 접촉각을 설정하는 단계;
- [0156] 60도 미만의 접촉각을 특징으로 하는 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.
- [0157] 일부 태양에서, 본 발명의 산호-기반 고체 기질은 공지된 방법에 의해 부분적으로 또는 완전히 하이드록시아파타이트로 전환될 수 있다.
- [0158] 상기 양태에 따라서, 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다)을 특징으로 하는 고체 기질은 하이드록시아파타이트로 전환될 수 있으며, 언급된 활성은 전환된 기질에 존재한다.
- [0159] 또 다른 태양에서, 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는 고체 기질은 하이드록시아파타이트로 전환될 수 있으며, 언급된 활성은 전환된 기질에 존재한다.
- [0160] 또 다른 양태에서, 고체 기질은 하이드록시아파타이트로 전환되고, 상기 하이드록시아파타이트는 이어서 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다)의 존재에 대해 평가되고, 언급된 기준을 충족시키는 상기 기질이 특별히 선택되고 본원에 포함된다.
- [0161] 또 다른 양태에서, 고체 기질은 하이드록시아파타이트로 전환되고, 상기 하이드록시아파타이트는 이어서 그의 접촉각 및 상기 각이 60도 미만인지의 관점에서 평가되고, 언급된 기준을 충족시키는 상기 기질이 특별히 선택되고 본원에 포함된다.
- [0162] 상기 양태에 따라서, 한 태양에서, 예를 들면, 본원에 기술된 바와 같은 산호 샘플 또는 진주층 등과 같은 본원에 정의된 바와 같은 고체 기질은, 그로부터 추가의 샘플이 단리된 후 사용될 수 있는 블록내 영역의 특성들에 관한 정보를 제공하기 위해, 더 큰 블록으로부터의 그의 단리 영역이 확인될 수 있는, 본원에 기술된 바와 같은 방법에 사용하기 위한 작은 건조 샘플을 선택함으로써 평가된다.
- [0163] 일부 양태에서, 샘플은 진공하에 건조되고/되거나 가열되거나 가압되거나 증기 처리된다.
- [0164] 일부 태양에서, 고유 유체 흡수 용량 값에 관한 양태에 있어서, 상기 값은 상기 산호질-기반 고체 물질의 중량 변화의 함수이다.
- [0165] 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 각 샘플에 대한 건조 중량을 기록하고, 본원에 기술된 바와 같은 유체를 분석 용기에 첨가한다.
- [0166] 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 적어도 1:1 비의 샘플의 크기(mm) 대 첨가된 유체의 부피(ml)가 용기에 적용된다. 일부 태양에서, 적용되는 유체의 양은 샘플 크기에 비해 과량이다.
- [0167] 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 일단 초기 유체 흡수가 평가되면, 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 고체 기질 샘플은 이어서 유체와 접촉되고 고체 기질 샘플의 중량이 평가된다. 다른 태양에서, 비중은 구배 원심분리에 의해 또는 아르키메데스(Archimedean) 원리에 의해 평가된다.
- [0168] 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 자발적 유체 흡수가 평가되고 자발적 유체 흡수 값은 샘플의 중량 변화 기준으로서 설정된다.
- [0169] 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 고유 유체 흡수 용량 값은 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 적용된 유체의 유체 부피의 변화의 함수이다. 상기 양태에 따라서, 자발적 유체 흡수가 평가되고, 자발적

유체 흡수 값은 샘플에 적용된 부피의 완전한 흡수를 기준으로 설정된다.

- [0170] 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 상기 방법은 이어서 상당히 증가된 양의 유체를 샘플과 접촉시키고 그에 압력을 적용하여 최대 유체 흡수를 샘플의 총 유체 흡수 용량까지 촉진하는 것을 추가로 포함한다.
- [0171] 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 언급된 바와 같이, 상기 압력은 양압 또는 음압일 수 있으며, 적용 시간은 해양 유기체 골격 유도체 샘플내로 적용된 유체의 최대 흡수를 보장하기에 충분한 시간 동안이다.
- [0172] 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 상기 시간은 0.5 내지 60 분의 간격을 포함할 수 있거나, 일부 태양에서, 더 큰 샘플이 평가되는 경우, 상기 시간은 상기 자발적 유체 흡수 값에 도달하기 위해 2 내지 24 시간의 간격을 포함할 수 있다. 본원에 인용된 시간 간격은 본원에 기술된 바와 같은 그에 관한 임의의 태양에 적용가능함을 인지할 것이다. 숙련된 전문가라면 전체 용량 유체 흡수를 측정하기 위해 유체가 적용되는 시간의 길이가 평가되는 샘플 기질의 치수 및 기하구조의 함수로서 연장되거나 단축될 수 있음을 인지할 것이다.
- [0173] 상기 양태에 따라서, 총 유체 흡수 용량은 상기와 같이 평가되며 고유 유체 흡수 용량 값이 이어서 측정된다.
- [0174] 일부 태양에서, 본 발명은 특히, 세포 또는 조직 성장을 촉진하기 위한 고체 기질로서 최적화된 것으로 주목될 샘플에 대해, 75%의 컷오프 값을 초과하는 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 고체 기질을 고려한다. 본 발명은 인지가능한 위양성의 존재, 즉, 언급된 용도에 최적이지 아닌 고체 기질을 감소시키는 적절한 값을 촉진하기 위해 언급된 컷오프 값을 고려하는 것을 인지할 것이다.
- [0175] 일부 태양에서, 본 발명은 특히, 세포 또는 조직 성장을 촉진하기 위한 고체 기질로서 최적화된 것으로 주목될 샘플에 대해, 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는 고체 기질을 고려한다. 본 발명은 인지가능한 위양성의 존재, 즉, 언급된 용도에 최적이지 아닌 고체 기질을 감소시키는 적절한 값을 촉진하기 위해 언급된 컷오프 값을 고려하는 것을 인지할 것이다.
- [0176] 연골 및 뼈와 같은 조직 성장을 촉진하기 위한 산호질 기질에 대한 유용성은 이미 밝혀졌음을 유의해야 한다. 놀랍게도, 본 발명에 이르러, 단리된 많은 산호-기반 기질이 상기 복구에 사용될 수 있지만, 기질이 특히 생물 유체의 증대된 자발적 흡수때문에 선택된 경우 일관되고 우수한 기능이 확인되었음이 밝혀졌다. 놀랍게도, 산호 기반 물질은 세포 및 조직 성장 및/또는 복원된 기능을 촉진하기에 효과적인 물질일 수 있을 뿐 아니라, 상기 산호 기반 물질에 사용하기 위해 선택된 산호 샘플의 자발적 유체 흡수 특성은 이와 관련하여 훨씬 더 큰 활성을 제공하였음이 밝혀졌다.
- [0177] 이론에 얽매이지 않고, 본 발명의 기질, 방법 및 용도의 비-제한적 태양들을 대표하여, 75% 이상의 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택, 또는 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택은, 그 혈관신생이 증대되거나 일부 태양에서 림프에 대한 그의 접근이 증대되거나 일부 태양에서 그 흡수 용량이 세포의 기질-관련 물질에 대한 친화도를 알려주거나 일부 태양에서 그 흡수 용량이 근접 혈관으로부터의 혈관의 유출을 포함하여 세포 유인에 대한 친화도를 알려주는 샘플을 선택할 수 있다.
- [0178] 다른 태양에서, 본 발명의 기질, 방법 및 용도에서, 75% 이상의 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택, 또는 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 가지거나 기술된 표면 거칠기를 갖는 것을 특징으로 하는 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택은 항암 용도에서 특히 유용한 샘플을 선택할 수 있다.
- [0179] 다른 태양에서, 본 발명의 기질, 방법 및 용도에서, 75% 이상의 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택, 또는 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 가지거나 기술된 표면 거칠기를 갖는 것을 특징으로 하는 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택은, 골-유착, 골-전도, 골-전달, 연골 형성 또는 연골 재생을 촉진하는데 특히 유용한 샘플을 선택할 수 있다.
- [0180] 다른 태양에서, 본 발명의 기질, 방법 및 용도에서, 75% 이상의 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택, 또는 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 가지거나 기술된 표면 거칠기를 갖는 것을 특징으로 하는 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택은, 세포, 조직 또는 기관 성장을 위한 생체의 3차원 지지체 및 구조를 촉진하는데 특히 유용한 샘플을 선택할 수 있다. 일부 태양에서, 상기 세포, 조직 또는 기관 성장은 심장, 근육, 간, 피부, 신장, 혈관 및 뉴런 성장 및 발달에 대한 성장을 포함할 수 있다.
- [0181] 다른 태양에서, 본 발명의 기질, 방법 및 용도에서, 75% 이상의 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로

하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택, 또는 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 가지거나 기술된 표면 거칠기를 갖는 것을 특징으로 하는 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택은, 예를 들면, 심장, 근육, 간, 피부, 신장, 혈관 및 뉴런 성장 및 발달에서의 용도를 위해 샘플로부터 비롯되는 세포, 조직 또는 기관 성장을 위한 3차원 지지체 및 구조를 위한 샘플을 제공하는 것을 포함하여, 샘플의 용도를 위한 생체의 또는 생체내 줄기세포 성장, 증식 및/또는 분화를 촉진하는데 특히 유용한 샘플을 선택할 수 있다.

- [0182] 상기 메카니즘들중 임의의 메카니즘 등은 증대된 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능 현상을 설명할 수 있으며, 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 적용과 관련된 임의의 상기 메카니즘은 본 발명의 일부인 것으로 이해될 것임을 이해해야 한다.
- [0183] 일부 태양에서, 상기와 같이 처리되고 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값, 또는 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택을 특징으로 하는 것으로 밝혀진 샘플은, 이어서 상기 샘플이 채취된 구획의 근위에 위치한 영역들의 단리에 사용될 수 있으며, 상기 샘플은 이어서 신뢰할 수 있게 사용되고 본 발명의 방법에 따라 최적화된 것으로 간주될 수 있다. 일부 태양에서, 산호-기반 샘플과 관련하여, 상기 영역들은 그로부터 샘플이 수득되는 산호내 전체 연간 나이테 영역을 포함할 수 있다.
- [0184] 일부 태양에서, 상기와 같이 처리되고 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값, 또는 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하는 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택을 특징으로 하는 것으로 밝혀진 샘플은, 이어서 완전히 건조되고 대상내로의 이식을 위해 또는 후속 이식을 위한 세포, 조직 또는 기관 성장을 위한 생체의 기질로서 사용하기 위해 활용될 수 있다.
- [0185] 일부 태양에서, 본원 실시예 9에 예시된 바와 같이, 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질이 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값, 접촉각 값 또는 표면 거칠기를 특징으로 하는 본 발명의 기질, 방법 및 용도는 상기 기질에 개선된 세포 부착 및 생존력을 촉진한다. 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 세포 부착 및 생존력 분석은 유체 흡수에 대해 최적화된 것으로 간주되는 샘플이 시간 경과에 따라 더 큰 전체 세포 부착 및 생존력을 촉진함을 보여준다.
- [0186] 일부 태양에서, 샘플이 후속 용도에서 생체내에서 사용될 때, 일부 태양에서, 샘플은 먼저 상기 숙주내에 이식되기 전에 자가유래 생물 유체 또는 숙주로부터의 물질과 접촉하여, 본원에 기술된 바와 같이 관찰된 증대된 유체 흡수 표현형을 입증한다.
- [0187] 본 발명의 고체 기질은, 일부 태양에서, 대신에 또는 함께, 숙련된 전문가에 의해 인지되듯이, 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경, X-선 회절, 또는 양성 염색에 대한 파이글 용액 분석, 또는 표면 거칠기를 설정하기 위한 다른 공지된 방법에 의해 측정되는 실질적인 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 할 수 있다.
- [0188] 본원에 기술되고 예시된 바와 같이, 예를 들면, 실시예 6에 기술된 바와 같이, 단리된 산호의 특정 구획들은 더 큰 산호 조각의 또 다른 영역으로부터 수집된 샘플에 비해 상이한 표현형을 제공한다. 상기 표현형은 샘플의 흡수 용량, 표면 구조 거칠기 또는 둘 다에서 반영될 수 있으며, 이때 상기 언급된 차이는 세포 및 조직 성장 및/또는 복원된 기능을 촉진하는데 있어 특성화된 샘플을 제공한다.
- [0189] 일부 태양에서, 고체 기질의 선택 방법은, 산호질-기반 고체 물질의 샘플을 단리하고, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상의 실질적으로 거친 표면의 존재를 설정하고(상기 실질적으로 거친 표면은 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경, X-선 회절 또는 파이글 용액 양성 염색에 의해 측정된다), 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상의 실질적으로 거친 표면의 존재의 측정 또는 파이글 용액 염색에 의한 양성 염색(후색)을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 것을 포함한다.
- [0190] 일부 태양에서, 본 발명의 산호-기반 고체 기질은 공지된 방법에 의해 부분적으로 또는 완전히 하이드록시아파타이트로 전환될 수 있다.
- [0191] 또 다른 양태에서, 고체 기질은 하이드록시아파타이트로 전환되며, 상기 하이드록시아파타이트는 이어서 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경 또는 XRD 분석에 의해 측정되는 실질적인 표면 거칠기(Ra)의 존재에 대해 평가되고, 언급된 기준을 충족시키는 기질이 특별히 선택되고 본원에 포함된다.
- [0192] 이론에 얽매이지 않고, 본 발명의 기질, 방법 및 용도의 비-제한적 태양들을 대표하여, 본원에 기술된 바와 같

은 상기 특징들을 측정하기 위한 방법으로 측정되는 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값 또는 바람직한 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택은, 그 혈관신생이 증대되거나 일부 태양에서 림프에 대한 그의 접근이 증대되거나 일부 태양에서 그 흡수 용량이 세포외 기질-관련 물질에 대한 친화도를 알려주거나 일부 태양에서 그 흡수 용량이 근접 혈관으로부터의 혈관의 유출을 포함하여 세포 유인에 대한 친화도를 알려주는 샘플을 선택할 수 있다.

[0193] 일부 태양에서, 본원에 기술된 바와 같은 상기 특성들을 측정하기 위한 방법에 의해 측정되는 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값 또는 바람직한 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택은 항암 활성을 촉진하는데 유용하다. 일부 태양에서, 본원에 기술된 바와 같은 상기 특성들을 측정하기 위한 방법에 의해 측정되는 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값 또는 바람직한 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택은 골-유착, 골-전도, 골-전달, 연골 형성 또는 연골 재생, 또는 이들의 조합을 촉진하는데 유용하다. 일부 태양에서, 본원에 기술된 바와 같은 상기 특성들을 측정하기 위한 방법에 의해 측정되는 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값 또는 바람직한 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특정한 선택은, 일부 태양에서 심장, 근육, 간, 피부, 신장, 혈관 또는 뉴런에서의 용도에 특히 적합한, 세포, 조직 또는 기관 성장을 위한 생체의 3차원 구조적 지지체를 촉진하는데 유용하다.

[0194] 상기 메카니즘들중 임의의 메카니즘 등은 증대된 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능 현상을 설명할 수 있으며, 본원에 기술된 바와 같은 상기 특성들을 측정하기 위한 방법에 의해 측정되는 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값 또는 바람직한 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 적용과 관련된 임의의 상기 메카니즘은 본 발명의 일부인 것으로 이해될 것임을 이해해야 한다.

[0195] 일부 태양에서, 상기와 같이 처리되고 본원에 기술된 바와 같은 상기 특성들을 측정하기 위한 방법에 의해 측정되는 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값 또는 바람직한 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하는 것으로 밝혀진 샘플은, 이어서 상기 샘플이 채취된 구획의 근위에 위치한 영역들의 단리에 사용될 수 있으며, 상기 샘플은 이어서 신뢰할 수 있게 사용되고 본 발명의 방법에 따라 최적화된 것으로 간주될 수 있다. 일부 태양에서, 산호-기반 샘플과 관련하여, 상기 영역들은 그로부터 샘플이 수득되는 산호내 전체 연간 나이트 영역을 포함할 수 있다.

[0196] 일부 태양에서, 상기와 같이 처리되고 본원에 기술된 바와 같은 상기 특성들을 측정하기 위한 방법에 의해 측정되는 바람직한 고유 유체 흡수 용량 값 또는 바람직한 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하는 것으로 밝혀진 샘플은, 이어서 대상내로의 이식을 위해 또는 후속 이식을 위한 세포 또는 조직 성장을 위한 생체의 기질로서 사용하기 위해 활용될 수 있다.

[0197] 일부 태양에서, 본 발명의 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질은 골 충전제 또는 골 대체 물질을 생성하기 위해 처리/제조될 수 있다.

[0198] 일부 태양에서, 본 발명의 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질은, 숙련된 전문가가 인지하는 바와 같이, 정형외과용 나사, 인공기관 등으로서의 사용을 포함하여, 정형외과 용도에서 유용하다. 일부 태양에서, 본 발명의 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질은 간극 충전제와 같은 충전제를 필요로 하는 용도에서 유용하다.

[0199] 일부 태양에서, 상기 충전제는 숙련된 전문가에게 공지된 바와 같은 활성 유리를 포함할 수 있다. 다른 상업적 제품들이 본 발명의 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질과 혼합될 수 있다. 일부 태양에서, 하기의 미국 특허에 기술된 골 충전제들이 본 발명의 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질과 혼합될 수 있다: 제 5,939,039 호; 제 6,325,987 호; 제 6,383,519 호; 제 6,521,246 호; 제 6,969,501 호; 및 제 6,991,803 호(이들은 모두 본원에 전체로 참고로 인용된다).

[0200] 일부 태양에서, 본 발명의 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질은 보강 구조물을 사용하는 용도에, 예를 들면, 보강용 나사, 이식편 등으로 유용하다. 일부 태양에서, 본 발명의 방법 및 물질은 나사, 인공기관 및 상기 용도에 적합한 기타 구조물의 고정에 유용하다.

[0201] 일부 태양에서, 본 발명의 방법 및 물질은 상처 치료에 유용하다. 일부 태양에서, 본 발명의 물질은, 특히 mm 또는 cm 규모의 기질을 포함하여 본원에 기술된 바와 같은 임의의 태양에 따른 고체 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질을 포함하거나, 일부 태양에서, 분말화 또는 파립화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 사용이 구상된다.

[0202] 일부 태양에서, 상기 상처 치료는 숙련된 전문가가 인지하는 바와 같이, 화상, 괴사성 조직, 당뇨병 궤양, 외과

적 상처 및 임의의 상처의 치료를 포함할 수 있다.

- [0203] 일부 태양에서, 본 발명의 방법 및 물질은, 예를 들면, 그의 수술적 절제 후에, 무혈관성 괴사, 낭종 또는 골종양 치료에서의 적용에 유용하다.
- [0204] 일부 태양에서, 본 발명의 방법 및 물질은 두개-안면 골격 수술 및 골격 복원 용도에서의 적용에 유용하다.
- [0205] 다른 태양에서, 상기 기질은 여러 해양 유래 물질들의 혼합물 또는 뼈 및 산호 과립 또는 연골 및 산호 과립의 혼합물일 수 있다. 일부 태양에서, 고체 기질은 본원에 기술된 바와 같은 해양 유기체 골격 유도체의 여러 샘플들로 이루어진 복합 물질일 수 있다.
- [0206] 본 발명의 한 태양에서, 고체 기질은 단리된 해양 유기체 골격 유도체 물질 단독일 수 있거나, 일부 태양에서, 상기 기질은 또 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.
- [0207] 일부 태양에서, 상기 또 다른 물질은 중합체를 포함할 수 있다.
- [0208] 용어 "중합체"는, 일부 태양에서, 상기 고체 기질 물질의 적어도 일부분과 함께 중합체 물질의 층의 존재를 말한다. 일부 태양에서, 상기 중합체 층은 고체 기질 물질의 코팅이다.
- [0209] 일부 태양에서, 상기 코팅은 고체 기질의 전체 위에 존재할 수 있으며, 일부 태양에서, 상기 코팅은 고체 기질의 공극 및/또는 기공 및/또는 공동 내로 침투될 수 있다. 일부 태양에서, 상기 코팅은, 고체 기질상에 별개의 상을 형성하도록 고체 기질의 특정 영역에 선택적으로 적용될 수 있으며, 일부 태양에서, 상기 중합체는 상기과 같이 적용되어 두꺼운 중합체 층 또는 상이 고체 기질의 일부분과 결합됨으로써 본원에 기술된 바와 같은 고체 기질과 함께 별개의 중합체 상을 형성할 수 있다.
- [0210] 한 태양에서, 중합체 코팅은 본원에 기술된 바와 같은 고체 기질에 부가된 특징, 예를 들면, 부가된 인장강도, 부가된 유연성, 감소된 취성 및 기타 속성을 고체 기질에 제공하며, 일부 태양에서, 중합체 코팅은 본원에 기술된 바와 같은 고체 기질에 대해 더 큰 세포 유인 및 부착을 야기하고, 이것은 이어서 특히 복구의 양, 질 및 시기의 관점에서 향상된 복구를 제공한다. 일부 태양에서, 중합체 코팅은 바람직한 성숙한 조직으로의 세포 증식 및/또는 분화를 증대시키고, 상기 성숙한 조직은 이어서 특히 복구의 양, 질 및 시기의 관점에서 향상된 복구를 제공한다.
- [0211] 본 발명의 한 태양에서, 중합체 코팅은 투과성이다. 한 태양에서, 투과성 중합체 코팅은 특수한 다공성 막을 포함한다. 한 태양에서, 용어 "투과성"은 기공 및 개구부를 갖는 것을 말한다. 한 태양에서, 본 발명의 투과성 중합체 코팅은 영양소, 치료 화합물, 세포 집단, 킬레이트화제 또는 이들의 조합의 유입을 허용하는 기공 및 개구부를 갖는다. 한 태양에서, 본 발명의 투과성 중합체 코팅은 영양소, 치료 화합물, 세포 집단, 킬레이트화제 또는 이들의 조합의 유출/방출을 허용하는 기공 및 개구부를 갖는다.
- [0212] 한 태양에서, 본 발명의 중합체 코팅은 불연속적이다. 한 태양에서, 본 발명의 산호의 한 영역 또는 다수의 소영역들은 중합체 코팅의 부재를 포함하여 산호와 환경 사이의 직접 접촉을 허용한다.
- [0213] 일부 태양에서, 고체 기질은 임의의 물리적 또는 화학적 결합을 통해 아라고나이트 또는 방해석 성분과 결합되는 생체적합성 중합체를 그 안에 혼입시킨다. 일부 태양에서, 중합체는 본 발명의 고체 기질에 혼입되는 하이드로겔의 일부이다. 일부 태양에서, 상기 하이드로겔-함유 고체 기질은 그 후에 동결건조되거나 건조되고, 그 후에 복원될 수 있다.
- [0214] 본 발명의 고체 기질의 일부 태양에서, 중합체는 별개의 상을 형성하기 위해 고체 기질에 적용될 수 있거나, 일부 태양에서, 중합체는 고체 기질 위에 층으로 적용될 수 있거나, 일부 태양에서, 고체 기질은 같거나 다른 중합체 물질을 포함하는, 그에 결합된 별개의 상과 함께 내적 또는 외적으로 결합된 층으로서 중합체를 둘 다 포함할 수 있다.
- [0215] 상기 중합체-함유 고체 기질은 연골 복구, 재생 또는 그 생성의 증진에 특히 적합할 수 있다. 일부 태양에서, 상기 양태에 따라서, 예를 들면, 골연골 결손의 치료에서, 산호질-기반 고체 기질은 발병된 뼈 안의 혼입에 적합한 치수를 가지고, 중합체-함유 상을 추가로 포함하며, 상기 상은 발병된 결손 부위 내에 삽입될 때 발병된 연골에 근접한다. 또 다른 양태에서, 본 발명의 태양을 대표하여, 고체 기질은 고체 기질의 공극 및 기공 내에 투과된 중합체를 포함하며, 상기 고체 기질은 연골 복구 부위 내에 삽입되고 상기 중합체는 결손 부위의 연골 성장, 재생 또는 치유를 촉진한다.
- [0216] 상기 중합체-함유 고체 기질은 골 복구, 재생 또는 그 형성의 증진에 특히 적합할 수 있다. 일부 태양에서, 상

기 양태에 따라서, 예를 들면, 골 부종, 골절 또는 골편화, 질환 또는 결손의 치료에서, 산호질-기반 고체 기질은 발병된 뼈 안에 혼입되기에 적합한 치수를 가지고, 중합체를 추가로 포함하며, 상기 중합체는 고체 기질의 공극 및 기공 내로 투과되고, 상기 고체 기질은 뼈 안에 삽입되며 상기 중합체는 결손 부위의 골 성장, 재생 또는 치유를 촉진한다.

- [0217] 한 태양에서, 본 발명의 중합체 코팅은 콜라겐, 피브린, 엘라스틴, 실크, 히알루론산, 히알루론산 나트륨, 가교 결합된 히알루론산, 키토산, 가교결합된 키토산, 알기네이트, 칼슘 알기네이트, 가교결합된 칼슘 알기네이트 및 이들의 임의의 조합을 포함한 천연 중합체를 포함한다.
- [0218] 한 태양에서, 중합체는 합성적으로 개질된 천연 중합체를 포함하며, 알킬 셀룰로스, 하이드록시알킬 셀룰로스, 셀룰로스 에스터, 셀룰로스 에스터 및 니트로셀룰로스와 같은 셀룰로스 유도체를 포함할 수 있다. 적합한 셀룰로스 유도체의 예로는 메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸 셀룰로스, 하이드록시부틸 메틸 셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트, 셀룰로스 프로피오네이트, 셀룰로스 아세테이트 부티레이트, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 카복시메틸 셀룰로스, 셀룰로스 트리아아세테이트 및 셀룰로스 설페이트 나트륨 염이 포함된다.
- [0219] 본 발명의 한 태양에서, 중합체는 합성 생분해성 중합체를 포함한다. 본 발명의 한 태양에서, 합성 생분해성 중합체는 폴리락트산, 폴리글리콜산, 그의 거울상이성질체, 그의 공중합체, 폴리오쏘에스터 및 이들의 조합을 포함하여 알파-하이드록시산을 포함한다.
- [0220] 한 태양에서, 본 발명의 중합체는 폴리(시아노아크릴레이트), 폴리(알킬시아노아크릴레이트), 폴리(케탈), 폴리(카프로락톤), 폴리(아세탈), 폴리(α -하이드록시-에스터), 폴리(하이드록실-알카노에이트), 폴리(프로필렌-푸마레이트), 폴리(이미노-카보네이트), 폴리(에스터), 폴리(에터), 폴리(카보네이트), 폴리(아미드), 폴리(실록산), 폴리(실란), 폴리(설파이드), 폴리(이미드), 폴리(우레아), 폴리(아미드-엔아민), 폴리(유기산), 폴리(전해질), 폴리(p-다이옥사논), 폴리(올레핀), 폴록사머, 무기 또는 유기 금속 중합체, 탄성체, 또는 그의 임의의 유도체, 또는 이들의 조합에 의해 수득된 공중합체를 포함한다.
- [0221] 한 태양에서, 본 발명의 중합체는 폴리(D,L-락티드-코-글리콜라이드)(PLGA)를 포함한다. 또 다른 태양에서, 중합체는 폴리(D,L-락티드)(PLA)를 포함한다. 또 다른 태양에서, 중합체는 폴리(D,L-글리콜라이드)(PGA)를 포함한다. 한 태양에서, 중합체는 글리코사미노글리칸을 포함한다.
- [0222] 한 태양에서, 중합체는 합성 분해성 중합체를 포함하며, 상기 분해성 중합체는 폴리하이드록시산, 예를 들면, 폴리(락티드), 폴리(글리콜라이드) 및 그의 공중합체; 폴리(에틸렌 테레프탈레이트); 폴리(하이드록시부티르산); 폴리(하이드록시발레르산); 폴리[락티드-코-(ϵ -카프로락톤)]; 폴리[글리콜라이드-코(ϵ -카프로락톤)]; 폴리(카보네이트), 폴리(슈도 아미노산); 폴리(아미노산); 폴리(하이드록시알카노에이트); 폴리(무수물); 폴리(오쏘에스터); 및 그의 블렌드 및 공중합체를 포함할 수 있으나, 이로 한정되지는 않는다.
- [0223] 본 발명의 한 태양에서, 중합체는, 당해 분야에 숙련된 자에게 인지되는 바와 같이, 아연, 개질된 아연, 카세인, 젤라틴, 글루텐, 혈청 알부민, 콜라겐, 액틴, α -태아단백질, 글로불린, 거대글로불린, 코헤신, 라미닌, 피브로넥틴, 피브리노겐, 오스테오칼신, 오스테오폰틴, 오스테오프로테게린 등과 같은 단백질을 포함한다. 또 다른 태양에서, 중합체는 환상 당, 사이클로덱스트린, 사이클로덱스트린의 합성 유도체, 당지질, 글리코사미노글리칸, 올리고사카라이드, 폴리사카라이드, 예를 들면, 알기네이트, 카라기난(χ , λ , μ , κ), 키토산, 셀룰로스, 콘드로이틴 설페이트, 커들란, 텍스트란, 엘시난, 푸르셀란, 갈락토만난, 젤란, 글리코젠, 아라비아 고무, 헤미셀룰로스, 이눌린, 카라야 고무, 레반, 펙틴, 폴룰란, 폴룰레인, 프로피란, 슬레로글루칸, 전분, 트라가칸트 고무, 웰란, 잔탄, 자일란, 자일로글루칸, 히알루론산, 키틴 또는 폴리(3-하이드록시알카노에이트), 예를 들면, 폴리(β -하이드록시부티레이트), 폴리(3-하이드록시옥타노에이트) 또는 폴리(3-하이드록시지방산) 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.
- [0224] 한 태양에서, 중합체는 생체부식성 중합체, 예를 들면, 또한 사용될 수 있는 중합체 부식물의 평활한 표면으로서 외부 표면상에 노출된 카복실기를 갖는 폴리(락티드-코-글리콜라이드), 폴리(무수물) 및 폴리(오쏘에스터)를 포함한다. 한 태양에서, 중합체는 불안정한 결합, 예를 들면, 폴리무수물 및 폴리에스터를 함유한다.
- [0225] 한 태양에서, 중합체는 그의 화학적 유도체(화학기, 예를 들면, 알킬, 알킬렌의 치환, 부가 및 제거, 하이드록실화, 산화 및 당해 분야에 숙련된 자에 의해 통상적으로 수행되는 다른 변형), 예를 들면, 단독으로 또는 합성 중합체와 함께 단백질 또는 탄수화물의 블렌드를 포함할 수 있다.
- [0226] 본 발명의 한 태양에서, 중합체는 생분해성이다. 한 태양에서, 용어 "생분해성" 또는 그의 문자적 형태는 그것

이 발견되는 대상의 생물학적 환경에서 분해되는 본 발명의 물질을 말한다. 한 태양에서, 생분해성 물질은 분해되며, 그 동안 산성 생성물, 또는 또 다른 태양에서 염기성 생성물이 방출된다. 한 태양에서, 생분해는, 예를 들면, 생화학 과정에 의해, 소화를 통해 물질의 그 성분 소단위로의 물질의 분해를 수반한다. 한 태양에서, 생분해는, 예를 들면, 본 발명의 중합체 주쇄에서 결합(공유성이든 아니든)의 분열을 포함할 수 있다. 또 다른 태양에서, 생분해는 측쇄에 내부적인 결합(공유성이든 아니든), 또는 예를 들면, 중합체 주쇄에 측쇄를 연결시키는 결합의 분열을 포함할 수 있다.

- [0227] 한 태양에서, 본 발명의 산호는 가교결합제를 사용하여 중합체 코팅과 공유 결합된다. 한 태양에서, 어구 "가교결합제"는 2개의 원자 사이에 공유 결합의 형성을 촉진하는 약제를 말한다. 한 태양에서, 가교결합제는 무길이(zero-length) 가교결합제이다.
- [0228] 한 태양에서, 가교결합제는 (1-에틸 3-(3-다이메틸 아미노프로필)카보다이이미드(EDCA), N-설포하이드록시 숙신 이미드(설포 NHS), 5-요오도피리미딘, N-카브알콕시다이하이드로퀴놀린, 피롤로퀴놀린퀴논, 제니핀 또는 이들의 조합이다.
- [0229] 한 태양에서, 가교결합제는 호모이작용성 가교결합제, 예를 들면, N-하이드록시숙신이미드 에스터(예, 다이숙신 이미딜 수베레이트 또는 다이티오비스(숙신이미딜프로피오네이트), 호모이작용성 이미도에스터(예, 다이메틸아 디프이미데이트 또는 다이메틸 피멜이미데이트), 설프하이드릴-반응성 가교결합제(예, 1,4-다이-[3'-(2'-피리딜 다이티오)프로피온아미도]부탄), 다이플루오로벤젠 유도체(예, 1,5-다이플루오로-2,4-다이니트로벤젠), 알데하이드(예, 폼알데하이드, 글루타르알데하이드), 비스-에폭시드(예, 1,4-부탄디올 다이글리시딜 에터), 하이드라 지드(예, 아디프산 다이하이드라지드), 비스-다이아조늄 유도체(예, o-톨리딘), 비스-알킬할라이드 또는 이들의 조합이다.
- [0230] 한 태양에서, 가교결합제는 헤테로이작용성 가교결합제, 예를 들면, 아민-반응성 및 설프하이드릴-반응성 가교 결합제(예, N-숙신이미딜 3-(2-피리딜다이티오)프로피오네이트, 카보닐-반응성 및 설프하이드릴-반응성 가교결 합제(예, 4-(4-N-말레이미도페닐)부티르산 하이드라지드) 또는 이들의 조합이다.
- [0231] 일부 태양에서, 가교결합제는 삼작용성 가교결합제, 예를 들면, 4-아지도-2-니트로페닐비오시틴-4-니트로페닐 에스터, 설포숙신이미딜-2-[6-비오틴아미도]-2-(p-아지도벤즈아미도)헥사노아미도]에틸-1,3'-다이티오프로피오 네이트(설포-SBED) 또는 이들의 조합이다.
- [0232] 또 다른 태양에서, 가교결합제는 효소이다. 본 발명의 한 태양에서, 가교결합제는 트랜스글루타미나제, 피옥시 다제, 잔틴 옥시다제, 폴리머라제 또는 리가제, 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0233] 활성을 위해 사용되는 가교결합제의 농도의 선택은, 당해 분야에 숙련된 자가 인지하듯이, 주어진 용도에서, 선 택된 부피, 약제 및 중합체의 함수로서 달라질 것이다.
- [0234] 한 태양에서, 본 발명의 산호와 본 발명의 중합체 코팅의 결합은 물리적 및/또는 기계적 결합을 포함한다. 예 를 들면, 한 태양에서, 물리적 및/또는 기계적 결합은, 산호와 본원에 기술된 바와 같은 중합체 코팅 사이의 물 리적 결합을 촉진하기 위해, 임의의 방법 활용, 공기 건조, 가교결합제 사용, 열 적용, 진공 적용, 동결건조 방 법 적용, 냉동, 기계적 적용 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.
- [0235] 일부 태양에서, 중합체의 선택, 또는 본원에 기술된 바와 같은 고체 기질에 중합체의 적용은 유체 흡수를 증가 시키는 부가된 능력을 위해 상기와 같이 선택될 수 있다. 유사하게, 고체 기질의 표면도 또한 그 안에 유체 흡 수를 증가시키도록 처리될 수 있다. 일부 태양에서, 상기 표면 처리는 고체 기질에 플라즈마의 적용을 포함할 수 있다.
- [0236] 당해 분야에 숙련된 자에게, 본 발명의 고체 기질 및 그의 성분에 적용되는 중합체의 물리적 및/또는 화학적 성 질들은 연골 및/또는 골 복구를 유도하거나 증대시키기 위한 본 발명의 사용 방법 및 그 키트에 영향을 미칠 수 있음이 명백할 것이다.
- [0237] 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질에 적용되는 바와 같은 중합체는 2.0 내지 0.1 μm 의 두께를 갖는다. 한 태양 에서, 중합체 코팅은 약 1.0 μm 의 두께를 갖는다. 한 태양에서, 본 발명의 중합체 코팅은 10 내지 50 μm 의 두께를 갖는다. 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질에 적용되는 바와 같은 중합체 코팅은 약 10 내지 25 μm , 또는 약 15 내지 30 μm , 또는 약 25 내지 50 μm 의 두께를 갖는다. 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질에 적용되는 바 와 같은 중합체 코팅은 약 0.0001 내지 0.1 μm 의 두께를 갖는다. 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질에 적용되 는 바와 같은 중합체 코팅은 약 20 내지 200 μm 의 두께를 갖는다. 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질에 적용되

는 바와 같은 중합체 코팅은 약 100 내지 1500 μm 의 두께를 갖는다.

- [0238] 일부 태양에서, 본 발명의 고체 기질에 적용되는 바와 같은 중합체는, 본 발명의 고체 기질과 결합되고 상기에 나타낸 바와 같은 두께를 갖는 얇은 코팅이다.
- [0239] 일부 태양에서, 본 발명의 고체 기질에 적용되는 바와 같은 중합체는, 일부 태양에서, 본 발명의 고체 기질 내의 기공 및 공극이 본원에 기술된 바와 같은 중합체로 충전될 수 있도록 본 발명의 고체 기질 전체에 적용되며, 적용시 상기 중합체 층은 약 60 내지 900 μm 의 두께를 가질 수 있다.
- [0240] 일부 태양에서, 본 발명의 고체 기질에 적용되는 바와 같은 중합체는 본 발명의 고체 기질 상에 추가의 중합체 상을 형성하는 코팅의 말단에 또는 일부분에 적용된다. 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 적용시 상기 중합체 층은 약 0.01 내지 10 mm의 두께를 가질 것이다.
- [0241] 일부 태양에서, 중합체 첨가제를 포함하는 여러 고체 기질이 목적하는 이식 부위 내에 이식되며, 이때 첫번째 고체 기질에 적용되는 중합체 두께는 목적 부위에 이식된 두번째 고체 기질에 적용시 중합체 두께에 비해 달라질 수 있다. 상기 두께의 변화는 본원에 기술된 범위를 반영할 수 있다.
- [0242] 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질에 적용시 중합체의 두께는 본 발명의 고체 기질의 물리적 특성에 영향을 미친다. 예를 들면, 중합체 적용 두께는 본 발명의 고체 기질의 탄성, 인장강도, 접착성 또는 유지력 또는 이들의 임의의 조합에 영향을 미칠 수 있다. 한 태양에서, 중합체 적용은 본 발명의 고체 기질의 탄성을 증가시킨다. 한 태양에서, 중합체 적용은 본 발명의 고체 기질의 인장 강도를 증가시킨다. 한 태양에서, 중합체 적용의 접착성은 중간엽 줄기세포, 혈관, 연골 복구를 포함하여 목적하는 복구 부위에서의 조직, 연골 조직 또는 골 조직 또는 이들의 조합의 부착과 관련된다. 한 태양에서, 중합체 적용은 본 발명의 고체 기질의 접착성을 감소시킨다. 한 태양에서, 중합체 적용은 본 발명의 고체 기질의 접착성을 증가시킨다. 당해 분야에 숙련된 자라면 중합체 적용이 한 면에서는 접착성을 증가시킬 수 있는 반면 또 다른 면에서 접착성을 감소시킬 수 있음을 인지할 것이다. 예를 들면, 한 태양에서, 중합체 적용은 중간엽 줄기세포에 있어 접착성을 증가시키고 감염성 물질의 접착성은 감소시킨다. 한 태양에서, 중합체 적용의 유지력은 세포 집단의 유지와 관련된다. 한 태양에서, 중합체 코팅내에 보유된 세포 집단은 중간엽 줄기세포 집단, 연골세포 집단, 조골세포 집단 등이다. 한 태양에서, 중합체 적용의 유지력은 이펙터(effector) 화합물의 유지와 관련된다.
- [0243] 한 태양에서, 중합체 적용 두께는 본 발명의 고체 기질에 적용된 세포의 증식 및/또는 분화에 영향을 미치거나, 세포 또는 조직 성장/복원된 기능과 관련된 세포의 활성화 또는 본 발명의 기질로의 이동, 또는 이들의 조합에 영향을 미친다.
- [0244] 본 발명의 고체 기질 내에 히알루론산과 같은 생체적합성 중합체의 혼입은, 일부 태양에서, 예를 들면, 진공, 원심력 또는 기계적 압력 하에서의 적용을 통한 압력-구동 적용을 포함하여 임의의 방법에 의해 달성될 수 있다. 일부 태양에서, 중력은 이식물의 목적하는 깊이까지 히알루론산의 적절하고 비교적 균질한 침투를 가능하게 하기에 충분하다. 상기 양태에 따라서, 한 태양에서, 예를 들면, 패스트 그린(Fast Green)/사프란린 O(Safranin O)를 사용한 염색을 이용한 이식물의 외관 검사는 적용 시간 및 조건의 함수로서 목적하는 깊이까지 기질을 통한 히알루론산의 균일한 분포를 보여준다.
- [0245] 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질은 이펙터 화합물을 추가로 포함할 수 있으며, 상기 이펙터 화합물은 일부 태양에서 본 발명의 고체 기질과 직접 결합될 수 있거나, 일부 태양에서 중합체와 결합되고 그와 함께 적용될 수 있다.
- [0246] 한 태양에서, 상기 이펙터 화합물은 은 이온, 구리 이온 또는 기타 금속, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 또 다른 태양에서, 상기 화합물의 방출은 전하의 적용에 의해 촉진될 수 있다.
- [0247] 또 다른 태양에서, 첫번째 이식물은 은과 같은 금속으로 코팅될 수 있고, 두번째 이식물은 금과 같은 제 2의 금속으로 코팅될 수 있다. 전기장의 적용 또는 건전지에 의한 작동은 전하가 이식된 물질 사이로 흐르게 하고 은 이온의 방출로 인해 그 영역의 멸균을 유도할 수 있다. 상기 실험은, 예를 들면, 골수염의 치료에 유용할 수 있다.
- [0248] 한 태양에서, 이펙터 화합물은 본원에 기술된 바와 같은 본 발명의 고체 기질내로의 혼입에 사용하기 위한 본 발명의 키트의 한 성분을 포함한다.
- [0249] 본 발명의 한 태양에서, 이펙터 화합물은 사이토카인, 골형성 단백질(BMP), 성장 인자, 킬레이트화제, 세포 집

단, 치료 화합물 또는 항생물질, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

- [0250] 본 발명의 한 태양에서, 어구 "치료 화합물"은 펩티드, 단백질 또는 핵산, 또는 이들의 조합을 말한다. 또 다른 태양에서, 치료 화합물은 항균, 항바이러스, 항진균 또는 항기생충 화합물이다. 또 다른 태양에서, 치료 화합물은 세포독성 또는 항암 활성을 갖는다. 또 다른 태양에서, 치료 화합물은 효소, 수용체, 채널 단백질, 호르몬, 사이토카인 또는 성장 인자이다. 또 다른 태양에서, 치료 화합물은 면역-증진제이다. 또 다른 태양에서, 치료 화합물은 염증 또는 면역 반응을 억제한다. 한 태양에서, 치료 화합물은 혈관신생촉진 인자(pro-angiogenic factor)이다.
- [0251] 한 태양에서, 이펙터 화합물은 항-유충제, 항히스타민, 면역조절제, 항응고제, 계면활성제, 항체, 베타-아드레날린성 수용체 억제제, 칼슘 채널 차단제, ace 억제제, 성장 인자, 호르몬, DNA, siRNA 또는 벡터, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0252] 한 태양에서, 어구 "이펙터 화합물"은, 본 발명의 고체 기질, 키트 및/또는 방법에 적용될 때, 감염, 질환, 장애 또는 질병의 치료, 예방, 저해, 억제, 지연 또는 경감에 유용한 특정한 목적 또는 용도를 갖는 임의의 약제 또는 화합물을 말한다. 본 발명의 이펙터 화합물은, 한 태양에서, 화합물을 영상화하는 능력으로 국한되는 바람직한 효과를 제공할 것이다. 일부 태양에서, 이펙터 화합물은 화합물이 존재하는 부위를 영상화하는데 유용할 수 있으나, 상기 능력은 화합물의 사용 목적 또는 선택에 부차적이다.
- [0253] 본 발명의 한 태양에서, 용어 "이펙터 화합물"은 본원에서 언급될 때 용어 "약물" 및 "약제"도 포함하는 것으로 이해되며, 본 발명의 고체 기질 및/또는 키트내에 그의 혼입 또는 그의 사용이 바람직한 분자를 나타낸다. 한 태양에서, 약제는 본 발명의 고체 기질 및/또는 키트 내에 직접 혼입된다. 또 다른 태양에서, 약제는, 본 발명의 중합체 코팅, 산호 또는 산호 입자, 및/또는 본 발명의 키트와 물리적 상호작용에 의해, 또는 그에 결합됨에 의해, 본 발명의 고체 기질 및/또는 키트내에 혼입된다.
- [0254] 한 태양에서, "이펙터 화합물"은 치료 화합물이다.
- [0255] 한 태양에서, 어구 "치료 화합물"은 필요로 하는 대상에게 제공될 때 유리한 효과를 제공하는 분자를 말한다. 일부 경우에서, 상기 분자는 대상에서 상기 분자의 부재 또는 감소된 존재를 대체하는 작용을 하는 점에서 치료적이다. 한 태양에서, 상기 분자는, 외래 단백질의 발현에 의해 보상되는 내인성 삭제 돌연변이체의 경우에서와 같이, 부재하는 단백질의 발현을 암호화하는 핵산이다. 다른 태양에서, 상기 내인성 단백질은 돌연변이되고, 이중 기능성 단백질의 발현에 의해 보상되는 비-기능성 단백질을 생성한다. 다른 태양에서, 이중 단백질의 발현은 낮은 내인성 수준에 추가되어, 해당 단백질의 누적되는 증대된 발현을 야기한다. 다른 태양에서, 상기 분자는 세포 또는 숙주 기능에 중요한 요소의 발현 또는 분비 등을 제공하는 신호전달계를 자극한다.
- [0256] 또 다른 태양에서, 치료 화합물은 천연 또는 비천연 인슐린, 아밀라제, 프로테아제, 리파제, 키나제, 포스파타제, 글리코실 트랜스퍼라제, 트립시노젠, 키모트립시노젠, 카복시펩티다제, 호르몬, 리보뉴클레아제, 데옥시리보뉴클레아제, 트리아시글리세롤 리파제, 포스포리파제 A2, 엘라스타제, 아밀라제, 혈액 응고 인자, UDP 글루쿠로닐 트랜스퍼라제, 오르니틴 트랜스카바모일라제, 시토크롬 p450 효소, 아데노신 데아미나제, 혈청 흥선 인자, 흥선 체액 인자, 티모포이에틴, 성장 호르몬, 소마토메딘, 공자극 인자, 항체, 콜로니 자극 인자, 에리트로포이에틴, 상피 성장 인자, 간 적혈구생성 인자(헤파토포이에틴), 간-세포 성장 인자, 인터루킨, 인터페론, 음성 성장 인자, 섬유아세포 성장 인자, α 계열의 형질전환 성장 인자, β 계열의 형질전환 성장 인자, 가스트린, 세크레틴, 콜레시스토킨, 소마토스타틴, 세로토닌, 물질 P, 전사 인자 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [0257] 본원의 임의의 태양에서, 산호질 고체 기질, 및 본 발명의 방법에서 그의 사용은, 예를 들면, 산화방지제, 성장 인자, 사이토카인, 항생물질, 소염제, 면역억제제, 방부제, 통증약, 다른 치료제 및 부형제와 같은 다른 화합물을 추가로 포함하거나 그와 함께 이식될 수 있다. 한 태양에서, HMG-CoA 리덕타제 억제제 이외에 투여될 수 있는 성장 인자의 예로는 상피 성장 인자(EGF), 형질전환 성장 인자-알파(TGF- α), 형질전환 성장 인자-베타(TGF- β), 인간 내피 세포 성장 인자(ECGF), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 골형성 단백질(BMP), 신경 성장 인자(NGF), 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 섬유아세포 성장 인자(FGF), 인슐린-유사 성장 인자(IGF), 연골 유래 형성 단백질(CDMP), 혈소판 풍부 혈장(PRP), 혈소판 유래 성장 인자(PDGF) 또는 이들의 임의의 조합이 포함되나, 이로 한정되지는 않는다. 항생물질의 예로는 항미생물제 및 항균제가 포함된다.
- [0258] 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질 및/또는 키트 및/또는 본 발명의 방법에 사용하기 위한 이펙터 화합물은 특

히 항체 또는 항체 단편, 펩티드, 올리고뉴클레오티드, 생물 표적에 대한 리간드, 면역접합체, 화학모방 작용기, 당지질, 표지화제, 효소, 금속 이온 킬레이트, 효소 보조인자, 세포독성 화합물, 살균 화합물, 정균 화합물, 살진균 화합물, 정진균 화합물, 화학치료제, 성장 인자, 호르몬, 사이토카인, 독소, 전구약물, 항대사물질, 미세소관 억제제, 방사능 물질 또는 표적화 잔기, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

- [0259] 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질 및/또는 키트 및/또는 본 발명의 방법은 올리고뉴클레오티드, 핵산 또는 벡터를 포함하거나 사용한다. 일부 태양에서, 용어 "올리고뉴클레오티드"는 용어 "핵산"과 상호교환가능하고, 원핵세포 서열, 진핵세포 mRNA, 진핵세포 mRNA로부터의 cDNA, 진핵세포(예를 들면, 포유동물) DNA로부터의 게놈 DNA 서열 및 심지어 합성 DNA 서열을 포함할 수 있으나 이로 한정되지는 않는 분자를 말할 수 있다. 상기 용어는 또한 DNA 및 RNA의 임의의 알려진 염기 유사체를 포함하는 서열을 말한다.
- [0260] 본 발명의 고체 기질 및/또는 키트 및/또는 본 발명의 사용 방법은 한 태양에서 핵산을 포함할 수 있거나, 또 다른 태양에서 본 발명의 고체 기질 및/또는 키트 및/또는 본 발명의 사용 방법은 특정 벡터의 일부로서 상기 핵산의 전달을 포함할 수 있다. 한 태양에서, 해당 서열을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 절편은, 포유동물 세포를 형질도입/형질전환하기에 적합하고 형질도입 세포내에서 재조합 생성물의 발현을 유도하는데 적합한 상업적으로 시판하는 발현 벡터 시스템 내에 접합될 수 있다. 상기 상업적으로 시판하는 벡터 시스템은, 기존 프로모터 또는 인핸서 서열을 대체하거나 복사하거나 돌연변이시키고/시키거나, 예를 들면, 추가의 선택 마커를 암호화하는 서열 또는 리포터 폴리펩티드를 암호화하는 서열과 같은 임의의 추가의 폴리뉴클레오티드 서열을 도입하기 위해 상업적으로 사용되는 재조합 기술에 의해 용이하게 변형될 수 있다.
- [0261] 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질 및/또는 키트 및/또는 본 발명의 방법에 사용하기 위한 이펙터 화합물은 특히 사이토카인, 골형성 단백질(BMP), 성장 인자, 킬레이트화제, 세포 집단, 치료 화합물, 소염 화합물, 혈관신생촉진 화합물 또는 항생물질 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.
- [0262] 일부 태양에서, 본 발명의 키트 및/또는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질은 알려진 골유도 물질, 골 시멘트, 골 유리 또는 골 충전제 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0263] 일부 태양에서, 골 시멘트는 수화석(Brucite) 시멘트를 포함하여, β -인산 삼칼슘, 인산일칼슘 일수화물(MCPM)($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 및 그의 혼합물을 포함한 임의의 알려진 시멘트를 포함할 수 있다. 일부 태양에서, 시멘트는 무정형 인산칼슘(ACP), 인산이칼슘 이수화물(DCPD), 인산이칼슘 무수물(DCPA), α -인산 삼칼슘(α -TCP), 인산이칼슘(DCP), 인산사칼슘(TTCP), 인산일칼슘 일수화물(MCPM), 탄산칼슘(CC) 등, 및 그의 혼합물을 포함할 수 있다.
- [0264] 일부 태양에서, 본 발명의 키트 및/또는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질은, 예를 들면, 생체활성 유리, 골 시멘트 성분, 예를 들어, β -TCP, 폴리(메틸 메타크릴레이트)를 포함하여, 알려져 있고 일부 태양에서는 상업적으로 시판하는 골유도 물질을 포함한다.
- [0265] 일부 태양에서, 본 발명의 고체 기질은 세포, 세포 집단 또는 조직이 접종될 수 있다.
- [0266] 일부 태양에서, 세포 또는 조직은 줄기 또는 전구 세포 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0267] 본 발명의 한 태양에서, 본 발명의 기질, 사용 방법 또는 키트에 따라 사용될 때 세포 또는 조직은 목적 생성물을 발현하도록 조작된다.
- [0268] 한 태양에서, 어구 "세포 집단"은 형질감염된 세포 집단, 형질도입된 세포 집단, 형질전환된 세포 집단 또는 대상으로부터 단리된 세포 집단, 또는 이들의 조합을 말한다. 일부 태양에서, 형질감염되거나 형질도입되거나 형질전환된 세포는 고체 기질 상에 접종될 수 있거나, 일부 태양에서는 그에 적용된 중합체내에 혼입될 수 있거나, 이들의 조합일 수 있다.
- [0269] 한 태양에서, 본 발명의 세포 집단은 중간엽 줄기세포를 포함한다. 한 태양에서, 중간엽 줄기세포는 형질전환된다.
- [0270] 한 태양에서, 세포 집단은 본 발명의 고체 기질의 이식이 필요한 조직의 복구에 유리한 세포를 포함한다.
- [0271] 일부 태양에서, 세포는 연골 및/또는 골 형성 및/또는 복구에 유리하고/하거나 이를 촉진한다. 상기 세포는 조연골세포 또는 연골세포; 섬유연골세포; 골세포; 조골세포; 파골세포; 활막세포; 골수세포; 기질세포; 줄기세포; 배아 줄기세포; 지방 조직으로부터 유래된 전구체 세포; 말초혈 전구 세포; 성인 조직으로부터 단리된 줄기세포; 유전자 형질전환 세포; 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 또 다른 태양에서, 전구체 세포는

연골세포와 다른 세포의 조합; 골세포와 다른 세포의 조합; 활막 세포와 다른 세포의 조합; 골수 세포와 다른 세포의 조합; 중간엽 세포와 다른 세포의 조합; 기질 세포와 다른 세포의 조합; 줄기세포와 다른 세포의 조합; 배아 줄기세포와 다른 세포의 조합; 성인 조직으로부터 유래된 전구체 세포와 다른 세포의 조합; 말초혈 전구 세포와 다른 세포의 조합; 성인 조직으로부터 단리된 줄기세포와 다른 세포의 조합; 및 유전자 형질전환 세포와 다른 세포의 조합을 말할 수 있다. 본 발명의 방법에 사용하기 위한 전구체 세포는 수용체 포유동물(즉, 자가 유래) 또는 동계 포유동물의 기관 조직으로부터 제조된다. 또 다른 태양에서, 동종이계 및 이종 전구체 세포를 사용할 수 있다.

- [0272] 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질은 줄기 또는 전구 또는 전구체 세포를 혼입시킨다. 상기 세포는 포유동물 공여체, 예를 들면, 환자 자신의 세포로부터, 공여체로부터의 세포 배양물로부터, 또는 확립된 세포 배양 세포 주로부터 직접 수득될 수 있다. 일부 태양에서, 포유동물은 마우스, 래트, 토끼, 기니 피그, 햄스터, 소, 돼지, 말, 염소, 양, 개, 고양이, 원숭이, 유인원 또는 인간이다. 동일 종의 세포 및/또는 동일 면역 프로파일의 세포는 환자 또는 근족으로부터 생검에 의해 수득될 수 있다. 표준 세포 배양 기술 및 조건을 이용하여, 세포는 이어서 합류될 때까지 배양으로 성장하고 필요할 때 사용된다. 세포는 특정 용도를 위해 충분한 수의 세포가 수득되었을 때까지 배양될 수 있다.
- [0273] 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질은 조직 복구, 예를 들면, 연골 및/또는 골 생성 또는 복구에 관여할 수 있는 임의의 세포를 혼입시킨다. 일부 태양에서, 본 발명의 고체 기질 위에 세포를 접종하기 위해 세포가 생체외에서 배양되고 상기 접종된 고체 기질이 대상내에 이식된다는 점에서, 상기 세포는 자가이식편을 나타낸다.
- [0274] 일부 태양에서, 상기 세포는 본 발명의 고체 기질내에 혼입되고 복구 부위 내에 이식될 수 있는 동종이식편 또는 이종이식편을 나타낼 수 있다.
- [0275] 한 태양에서, 본 발명의 산호는 산호에서 세포를 접종하기에 충분한 시간 동안 산호의 시험관내 배양으로부터의 세포 집단을 포함한다. 한 태양에서, 세포 집단은 중간엽 줄기세포 집단, 연골세포; 섬유연골세포; 골세포; 조골세포; 과골세포; 활막세포; 골수 세포; 기질 세포; 줄기세포; 배아 줄기세포; 지방 조직으로부터 유래된 전구체 세포; 말초혈 전구 세포; 성인 조직으로부터 단리된 줄기세포; 유전자 형질전환 세포; 또는 이들의 조합이다. 한 태양에서, 시험관내에서 접종된 중간엽 줄기세포; 연골세포; 섬유연골세포; 골세포; 조골세포; 과골세포; 활막세포; 골수 세포; 기질 세포; 줄기세포; 배아 줄기세포; 지방 조직으로부터 유래된 전구체 세포; 말초혈 전구 세포; 성인 조직으로부터 단리된 줄기세포; 유전자 형질전환 세포; 또는 이들의 조합은 형질전환된 세포이다. 한 태양에서, 세포 집단은 연골 복구에 유리한 세포 집단을 포함한다. 한 태양에서, 배양물은 킬레이트화제를 포함한다. 본 발명의 한 태양에서, 배양물중 킬레이트화제는 칼슘 킬레이트화제를 포함한다.
- [0276] 일부 태양에서, 고체 기질은 또한 뼈 대체물 또는 뼈 공극 충전제로 작용할 수 있다. 일부 태양에서, 고체 기질은 또한 뼈-대체물 또는 뼈 공극 충전제를 포함할 수 있다. 일부 태양에서, 상기 뼈-함유 물질은 자가유래 또는 동계이식 뼈를 포함할 수 있다. 일부 태양에서, 뼈-함유 물질은 동물 뼈를 포함할 수 있다.
- [0277] 본원에 예시된 바와 같이, 기술된 바와 같은 혈액, 물 및 기타 친수성 유체가 산호 샘플에 적용되었으며, 산호 샘플내 유체의 흡수를 평가하였다.
- [0278] 도 1은 평가된 샘플에 따라, 유체의 흡수, 실질적인 흡수, 및 부분적, 최소 또는 무 흡수의 패턴을 각각 보여주는, 기술된 바와 같이 수행된 대표적인 흡수 연구의 결과를 나타낸 것이다. 흡수 패턴에서의 상기 가변성은 놀랍게도 이식후 세포 및 조직 성장 및/또는 복원된 기능에서 최적화된 효능을 갖는 고체 기질을 선택하는 수단을 제공하였다.
- [0279] 본원에 나타난 바와 같은 실시예 2는, 최소 생물 유체 흡수를 나타낸 산호 고체 기질과 비교하여, 놀랍게도 우수한 방식으로, 이식된 산호 고체 기질내 생물 유체의 실질적인 흡수와 이식 부위에서의 후속 치유 사이의 상관관계를 입증한다.
- [0280] 실시예 3에 제공된, 세포 또는 조직 성장을 촉진하기 위한 상기 최적화된 산호-기반 고체 기질을 선택하기 위해 수립된 스크리닝 프로토콜의 개발이 또한 예시된다.
- [0281] 실시예 5는 전술한 바와 같이 고유 유체 흡수 용량 값에 의해 제공된 바와 필적하는 선택 수단으로서, 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 특성화를 위한 뒷받침을 제공한다.
- [0282] 본 발명은 세포 및 조직 성장 및/또는 복원된 기능에 유용한 최적으로 선택된 산호 기반 고체 기질의 예상치 못

한 용도를 제공하며, 연골 및 골 복구 및 생성 증대를 위한 특정 용도가 본원에 예시된다.

- [0283] 특히, 본 발명은, 고체 기질이 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다)을 특징으로 하고 상기 기질이 골 복구 부위 내에 삽입될 때 골 재생(선택적으로 골-유착, 골-전도 및 골-전달), 복구 및 생성 증대가 최적인 되는 예상치 못한 용도를 제공한다.
- [0284] 특히, 본 발명은, 고체 기질이 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하고 상기 기질이 골 복구 부위 내에 삽입될 때 골 재생, 복구 및 생성 증대가 최적인 되는 예상치 못한 용도를 제공한다.
- [0285] 다른 태양에서, 본 발명은, 고체 기질이 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다)을 특징으로 하고 상기 기질이 연골 결손 부위 내에 삽입될 때, 더 큰 연골생성 측면에서 예상치 못한 이점을 제공한다.
- [0286] 다른 태양에서, 본 발명은, 고체 기질이 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 하고 상기 기질이 연골 결손 부위 내에 삽입될 때, 더 큰 연골생성 측면에서 예상치 못한 이점을 제공한다.
- [0287] 본 발명은, 일부 태양에서, 또한 세포 및 조직 성장 및/또는 복원된 기능에 유용한 최적으로 선택된 산호 기반 고체 기질의 예상치 못한 용도를 제공하며, 연골 및 골 복구 및 생성 증대를 위한 특정 용도가 본원에 예시된다.
- [0288] 특히, 본 발명은, 고체 기질이 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경 또는 XRD 분석에 의해 측정되는 실질적인 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하고 상기 기질이 골 복구 부위 내에 삽입될 때, 선택적으로 골유착, 골전도 및 골 전달과 함께 골 재생, 복구 및 생성 증대가 최적인 되는 예상치 못한 용도를 제공한다.
- [0289] 다른 태양에서, 본 발명은, 고체 기질이 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경 또는 XRD 분석에 의해 측정되는 실질적인 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 하고 상기 기질이 연골 결손 부위 내에 삽입될 때, 더 큰 연골생성 측면에서 예상치 못한 이점을 제공한다.
- [0290] 일부 태양에서, 본 발명의 고체 기질은 복구가 필요한 골 결손을 갖는 대상에서 사용하기 위해 적용될 수 있으며, 이때 골 결손에 대한 접근은 상부의 연골에 결손 생성을 야기하고, 본 발명의 고체 기질은 발병된 뼈, 또는 골 및 연골 조직의 치료를 가능하게 한다.
- [0291] 다른 태양에서, 상기 고체 기질은 복구가 필요한 연골 결손을 갖는 대상에게 투여될 수 있으며, 이때 연골 복구의 자극을 위한 고체 기질의 최적 삽입은, 예를 들면, 고체 기질의 삽입을 위한 하부의 뼈에 공극을 형성함으로써 하부 뼈에 스키펴드의 고정을 필요로 하며, 일단 삽입되면 고체 기질은 상부의 연골 및 하부의 뼈 둘 다의 복구를 촉진한다.
- [0292] 다른 태양에서, 상기 고체 기질은 골연골 결손을 갖는 대상에게 투여될 수 있으며, 이때 골 및 연골 조직은 둘 다 질환의 발병 과정의 일부로서 복구를 필요로 한다. 상기 양태에 따른 고체 기질은 일부 태양에서 상기 용도에 특히 적합하다.
- [0293] 숙련된 전문가라면, 특히 골 치료와 관련된 바와 같은 용도가, 예를 들면, 골 동종이식, 골 자가이식, 골 대체물, 공지된 뼈 공극 충전제, 치료 화합물 등을 포함하여 본원에 기술된 바와 같은 임의의 추가 요소를 혼입시키는 고체 기질의 용도를 포함할 수 있음을 인지할 것이다.
- [0294] 일부 태양에서, 본 발명의 고체 기질은, 예를 들면, 골 및/또는 연골 복구를 촉진함으로써, 세포 및/또는 조직 성장 및/또는 복원된 기능을 자극/증대시키기 위한 다른 공지되고/되거나 시판하는 물질과 함께 사용될 수 있다.
- [0295] 일부 태양에서, 본 발명의 고체 기질은, 예를 들면, 전체 관절 복구 또는 인대 복구, 또는 다른 결합 조직 복구에 사용하기 위한 또 다른 고체 기질을 고착시키기 위해 사용될 수 있다.
- [0296] 일부 태양에서, 본 발명의 고체 기질은, 골 복구 또는 재생 등을 위한 다른 스키펴드와 함께, 예를 들면, 핀으로 사용될 수 있다. 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능의 치료, 복구 또는 자극을 위해, 단독으로 또는 다른 적절한 물질과 함께 본 발명의 고체 기질의 임의의 사용은 본 발명의 일부로 간주되어야 함을 이해해야 한다.
- [0297] 본 발명의 고체 기질은 본 발명의 방법에 따른 그의 적용을 수용하기에 적합한 임의의 형상 또는 크기일 수 있

음을 인지할 것이다. 예를 들면, 일부 태양에서, 대상의 장골 내에 본 발명의 고체 기질의 적용을 위해, 고체 기질의 치수는 스캐폴드가 이식될 부위의 치수에 가깝도록 크기 조정될 것이며, 필요에 따라 mm로부터 cm까지 10배수로 크기 조정이 될 수 있다. 유사하게, 본 발명의 고체 기질의 형상은 그 안으로 본 발명의 고체 기질이 가공 또는 처리될 수 있는 임의의 형상일 수 있으며, 세포 및/또는 조직 성장 및 복원된 기능을 위한 바람직한 용도를 달성하기에 적절한 임의의 형태를 가질 수 있다.

- [0298] 한 태양에서, 산호는 성장될 조직의 형태로 성형된다. 예를 들면, 산호는 연골 조직의 조각으로, 예를 들면, 무릎 또는 팔꿈치; 척추골, 척추 용도, 두개골, 디스크, 관절; 뼈의 인공 표면, 흉곽, 둔부, 골반, 귀, 코, 인대, 기관지 및 추간판을 위한 반월상연골로 성형될 수 있다.
- [0299] 본 발명은, 일부 태양에서, 대상에서 신체적 외상과 관련된 연골 및/또는 골 조직 결손 및/또는 질환 또는 질병과 관련된 골 조직 결손을 복구하는데 사용하기 위한 산호질 고체 기질을 제공한다.
- [0300] 한 태양에서, 산호질 고체 기질은 연골 및/또는 골 복구 방법에 사용하기 전에 성형된다. 한 태양에서, 산호질 고체 기질은 연골 및/또는 골 복구 방법과 함께 성형된다. 예를 들면, 산호질 고체 기질은 복구 부위가 가장 잘 관찰될 수 있을 때 수술중에 성형되어, 사용되는 산호질 고체 기질의 형상을 최적화할 수 있다.
- [0301] 일부 태양에서, 각각의 산호질 고체 기질이 목적하는 이식 부위내 목적하는 영역 내로의 적절한 삽입을 수용하기 위해 상이한 각 및/또는 형상 및/또는 깊이 및/또는 다공도에서 삽입될 수 있도록, 여러개의 산호질 고체 기질이 결손 부위를 최대로 차지하도록 삽입된다. 각 또는 위치 지정에 대한 언급은 특정 이식 부위에 삽입된 하나 이상의 산호질 고체 기질에 대한 것일 수 있음을 이해해야 한다.
- [0302] 한 태양에서, 어구 "연골 복구"는 연골 결손을 보다 건강한 상태로 복원시키는 것을 말한다. 한 태양에서, 연골을 복원시키는 것은 연골 조직의 재생을 야기한다. 한 태양에서, 연골을 복원시키는 것은 전층 또는 부분층 관절 연골 결손의 재생을 야기한다. 한 태양에서, 연골을 복원하는 것은 연골 복구 부위에서 연골 조직의 완전한 또는 부분적인 재생을 야기한다. 한 태양에서, 연골 복구는 소실되거나 결손이 있는 골 조직의 복원/복구를 야기할 수 있으며, 이때 연골 결손의 복구는 연골 복구 부위에서 골 조직의 제거를 필요로 한다. 한 태양에서, 연골을 복원하는 것은 골연골 결손의 재생을 야기한다. 한 태양에서, 연골 복구는 관절(예를 들면, 무릎, 팔꿈치, 둔부, 어깨 관절), 귀, 코, 또는 기관의 연골 결손을 복원하는 것을 포함한다.
- [0303] 일부 태양에서, "연골 복구"는 골관절염 및 연골의 퇴행성 변화의 증상을 치료하거나, 예방하거나, 개선하거나 제거하는 것, 또는 골관절염 및 연골의 퇴행성 변화의 발병을 개선하거나 배제하는 것을 말한다.
- [0304] 한 태양에서, 어구 "골 복구"는 골 결손을 보다 건강한 상태로 복원하는 것을 말한다. 한 태양에서, 골을 복원하는 것은 골 조직의 재생을 야기한다. 한 태양에서, 골을 복원하는 것은 골 조직내 임의의 골절 또는 공극의 충전을 야기한다. 한 태양에서, 골을 복원하는 것은 골 복구 부위에서 골 조직의 완전한 또는 부분적인 재생을 야기한다. 한 태양에서, 골 복구는 소실되거나 결손이 있는 골 조직의 복원/복구를 야기할 수 있다. 한 태양에서, 골 복구는 임의의 뼈의 골 결손을 복원하는 것, 골 부종 및 기타 골 질환을 필요한 대로 치료하는 것을 포함한다.
- [0305] 일부 태양에서, 어구 "골 복구"는 골다공증, 파제트(Paget)병, 섬유이형성증, 골 부종 또는 골이영양증을 갖는 대상의 치료를 말한다. 또 다른 태양에서, 상기 대상은 골 및/또는 연골 질환을 갖는다. 또 다른 태양에서, 상기 대상은, 골연화증, 구루병, 류마티스성 관절염, 연골무형성증, 골연골염, 부갑상선기능항진증, 골형성 부진증, 선천성 저인산효소증, 섬유종성 병변, 다발성 골수종, 비정상적 골전환, 골용해성 골 질환, 치주 질환 또는 이들의 조합을 포함하여 다른 골 재형성 질환을 갖는다. 한 태양에서, 골 재형성 질환은 유기 기질, 골 광화, 골 재형성, 내분비, 영양, 및 골격 및 무기질 항상성을 조절하는 다른 인자들에서의 교란, 또는 이들의 조합을 특징으로 하는 대사성 골 질환을 포함한다. 상기 질환은 유전성 또는 후천성일 수 있으며, 한 태양에서 전신성이며 전체 골격계에 영향을 미친다.
- [0306] 일부 태양에서, 어구 "골 복구"는 골연골 결손, 골 낭종, 종양, 무혈관성 괴사 및 기타 관련 질환 및 질병의 증상을 치료하거나, 예방하거나, 개선하거나 제거하거나, 상기 질환들의 발병을 개선하거나 배제하는 것을 말한다.
- [0307] 본 발명의 고체 기질, 키트 및 방법은 또한 골 및/또는 연골 결핍이 골 재형성 질환 이외의 다른 요인들에 의해 야기되는 질병에서 골 및/또는 연골 형성을 증대시키기 위해 사용될 수 있다. 상기 골 결핍은 골절, 골 외상, 외상후 뼈 수술, 보철후 관절 수술, 성형후 뼈 수술, 골 화학치료, 치과치료후 수술 및 뼈 방사선치료와 관련된 상태를 포함한다. 골절은 모든 유형의 현미경적 및 육안에 보이는 골절을 포함한다. 한 태양에서, 골절의 일

부 예로는 견열 골절, 분쇄 골절, 횡골절, 사골절, 나선 골절, 분절 골절, 전위 골절, 감입 골절, 녹색줄기 골절, 용기 골절, 피로 골절, 관절내 골절(골단 골절), 폐쇄 골절(단순 골절), 개방 골절(복합 골절) 및 잠재성 골절을 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 방법을 이용하여 치료될 골절은 비접합 골절이다.

- [0308] 한 태양에서, 본 발명의 방법은 연골 및/또는 골 결손 또는 질병 또는 질환의 유도 또는 증대된 복구에 이용된다. 한 태양에서, 연골 결손은 외상, 인열, 스포츠 부상, 전측 관절 연골 결손, 관절 결손, 또는 반복성 긴장 손상(예를 들면, 골연골 골절, 십자 인대 손상으로 인한 2차 손상)으로부터 비롯된다. 한 태양에서, 연골 질병은 연골의 질환을 포함한다. 한 태양에서, 본 발명의 방법은, 골관절염, 류마티스성 관절염, 무균성 괴사, 박리성 골연골염, 관절 연골 손상, 슬개골연골연화증, 연골육종, 두경부 연골육종, 늑연골염, 내연골종, 무지 강직증, 둔부 관절순 파열, 박리성 골연골염, 반월상연골 파열, 재발성 다발연골염, 개의 관절염, 제 4 새궁 결손 또는 양배추모양 귀에서의 연골 복구를 유도하거나 증진시킨다. 한 태양에서, 본 발명의 방법은, 적어도 부분적으로, 근육, 점액낭(활막), 힘줄, 인대 및 섬유성 조직을 포함하여 관절 또는 관련 구조 뿐 아니라 성장판, 반월상연골계 및 추간판을 포함하여 신체 결합 조직의 퇴행 또는 대사 교란을 특징으로 하는 질환을 포함하는 퇴행성 연골성 질환에서 연골 복구를 유도하거나 증진시킨다.
- [0309] 한 태양에서, 본 발명의 고체 기질, 키트 및 방법은 또한, 장골 골절 복구를 증강시키고; 분절 결손에서 뼈를 생성하고; 골절에 골 이식편 대체 물질을 제공하고; 중앙 재건 또는 척추 융합을 촉진하고; 둔부, 척추골 또는 손목의 골다공증에서와 같이 약하거나 골다공성 뼈를 위한 국소 치료(주사에 의한)를 제공하거나, 이들의 조합을 위해 사용될 수 있다. 또 다른 태양에서, 본 발명의 고체 기질, 키트 및 방법은 또한, 골절된 장골의 복구를 촉진하고; 장골 골절의 지연된 접합 또는 비-접합 또는 척추 융합의 가관절증을 치료하고; 둔부 또는 무릎의 무혈관성 괴사에서 새로운 뼈 생성을 유도하거나, 이들의 조합을 위한 방법에 사용될 수 있다.
- [0310] 한 태양에서, 본 발명의 방법은 연골 및/또는 골 조직 복구 부위를 검사함으로써 평가되며, 이때 평가는 조직학, 조직화학, 촉진, 생검, 내시경, 관절경, 또는 X-선 사진, 컴퓨터 X-선 밀도측정, 컴퓨터 형광 밀도측정, CT, MRI 또는 당해 분야에 공지된 또 다른 방법을 포함한 영상 기술, 또는 이들의 임의의 조합에 의한다.
- [0311] 한 태양에서, 본 발명의 방법은 연골 및/또는 골 복구를 유도하고 증진시키는 것을 포함하며, 이때 연골 및/또는 골 복구 부위내에 본 발명의 고체 기질을 이식하는 것은 연골 및/또는 골 복구에 영향을 미치고 개선시킨다.
- [0312] 한 태양에서, 본 발명의 방법은 연골 및/또는 골 복구를 유도하거나 증진시키며, 이때 고체 기질은 세포 집단을 고체 기질로 유인시킴으로써 연골 및/또는 골 복구에 영향을 미치거나 개선시킨다.
- [0313] 당해 분야에 숙련된 임상가는 연골 및/또는 골 복구 부위 내에 산호질 고체 기질을 이식하는 것을 포함하는 본 발명의 방법이 연골 및/또는 골 복구 부위의 준비를 필요로 할 수 있음을 인지할 것이다. 상기 준비는 산호질 고체 기질의 이식 전에 또는 이식과 동시에 일어날 수 있다. 예를 들면, 연골 및/또는 골 조직 및/또는 연골 및/또는 골 복구 부위에 근접한 다른 조직은 초기에, 본 발명의 방법에 사용되는 산호질 고체 기질에 적절한 치수의 채널을 생성하기 위해 구멍이 뚫릴 수 있다. 이어서, 산호질 고체 기질은, 산호질 고체 기질의 한 영역이 구멍뚫린 연골 및/또는 골 조직을 관통하게 부위내에 이식된다. 또는, 산호질 고체 기질은 연골 및/또는 골 또는 다른 조직 또는 이들의 조합을 통과해 관통할 수 있는 도구에 부착될 수 있다. 이 경우, 상기 도구가 연골 및/또는 골 조직을 통과해 관통할 때, 부착된 산호질 고체 기질이 동시에 이식된다.
- [0314] 일부 태양에서, 복구 부위 내에 산호질 고체 기질 또는 복구 부위내 여러개의 산호질 고체 기질의 이식 후에, 산호질 고체 기질은 혼입 및 최적 연골 및/또는 골 복구를 최적화하도록 처리된다. 일부 태양에서, 상기 처리는 최적 복구를 위해 산호질 고체 기질 또는 산호질 고체 기질들의 표면을 절단하거나, 샌딩하거나 그렇지 않으면 평활화하는 것을 포함할 수 있다.
- [0315] 일부 태양에서, 본원에서 정의된 바와 같은 고체 기질은 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 할 것이며, 상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다.
- [0316] 일부 태양에서, 본원에서 정의된 바와 같은 고체 기질은 유체와 접촉될 때 60도 미만의 접촉각 값을 갖는 것을 특징으로 할 것이다.
- [0317] 일부 태양에서, 본원에서 정의된 바와 같은 고체 기질은, 주사 전자 현미경으로 평가될 때, 도 8d 내지 8f에서 명백한 바와 같은 구조를 특징으로 할 것이다. 일부 태양에서, 본원에서 정의된 바와 같은 고체 기질은, 원자

력 현미경으로 평가될 때, 도 9d 내지 9f에서 명백한 바와 같은 구조를 특징으로 할 것이다.

- [0318] 일부 태양에서, 고체 기질이
- [0319] 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 단리하는 단계;
- [0320] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하는 단계(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 용량을 총 유체 흡수 용량으로 나누어 설정함으로써 측정된다); 및
- [0321] 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계
- [0322] 를 포함하는 방법에 의해 제조될 때, 또는, 일부 태양에서, 고체 기질이 다음을 포함하는 방법에 의해 제조될 때, 또는, 일부 태양에서, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경으로 측정되는 실질적인 표면 거칠기(Ra)를 특징으로 할 것이다:
- [0323] 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 단리하거나 제조하는 단계;
- [0324] 상기 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 접촉시키고, 상기 유기체 골격 유도체에 대한 접촉각을 설정하는 단계; 및
- [0325] 60도 미만의 접촉각을 특징으로 하는 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.
- [0326] 일부 태양에서, 본 발명은 준-최적화 해양 유기체 골격 유도체를 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 제공하는 해양 유기체 골격 유도체로 전환시키는 방법을 제공한다. 일부 태양에서, 본 발명은 증대된 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 제공하는 해양 유기체 골격 유도체를 최적화하기 위한 방법을 제공한다. 일부 태양에서, 상기 양태에 따라서, 예를 들면, 인간 또는 척추동물 용도에서 포유동물 조직내로의 이식과 상용성인 형태이기 위한 상기 해양 유기체 골격 유도체의 초기 단리 및 처리는 고유 유체 흡수 용량 값을 감소시킬 수 있으며, 본 발명의 최적화 방법은 상기 값의 개선을 촉진한다.
- [0327] 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 해양 유기체 골격 유도체의 상기 단리 및 처리는 차아염소산 나트륨 및 과산화수소의 용액에 노출시키는 것을 포함한다. 상기 양태에 따라서, 1차 세척/처리 프로토콜의 일부로서 차아염소산 나트륨으로 산화/아라곤나이트 샘플을 처리하는 것이 표준 관행이다(예를 들면, 미국 특허 제 5,433,751 호 참조).
- [0328] 다양한 군이 인간 대상에서의 치료 용도에 산호-기반 물질의 사용을 제안하였지만, 지금까지 주어진 종의 모든 산호 샘플이 치료 효과를 제공하지는 않는다는 지적은 없었다.
- [0329] 놀랍게도, 본 발명에 이르러, 그 치료 용도에 영향을 미치는 산호의 물리적 특성에 가변성이 존재하며 또한 특정한 표준 처리 단계가 산호-기반 물질의 치료 잠재력에 불리하게 영향을 미치는 것으로 밝혀졌다.
- [0330] 훨씬 더 놀라운 것은, 본 발명에서 치료 활성이 특정 처리 단계의 적용에 의해, 예를 들면, 본 발명의 산호-기반 물질의 처리 단계의 일부로서 샘플에 에탄올의 선택적 적용에 의해 복원되고/되거나 개선될 수 있다는 발견이다.
- [0331] 일부 태양에서, 본 발명은, 다음을 포함하는, 준최적 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질을 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질로 전환시키는 방법을 제공한다:
- [0332] (a) 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질의 군에 대한 고유 유체 흡수 용량 값을 설정하는 단계(상기 고유 유체 흡수 용량 값은 상기 군의 각각의 샘플에 대해 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어 설정함으로써 측정된다);
- [0333] (b) 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계;
- [0334] (c) (b)의 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 양친매성 물질, 극성 용매, 비극성 용매, 양이온성 물질, 음이온성 물질 또는 이들의 조합과 접촉시키는 단계;
- [0335] (d) (c)에서 획득된 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에서 (a)에서와 같이 고유 유체 흡수 용량을 측정하는 단계; 및
- [0336] (e) 새로 설정된 증가된 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는, (d)에서 획득된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.

- [0337] 일부 태양에서, 증가된 고유 유체 흡수 용량 값은 3% 이상 증가된다. 일부 태양에서, 증가된 고유 유체 흡수 용량 값은 5% 이상 증가된다. 일부 태양에서, 증가된 고유 유체 흡수 용량 값은 4.5% 이상 증가된다. 일부 태양에서, 증가된 고유 유체 흡수 용량 값은 적어도 3 내지 15%까지 증가된다.
- [0338] 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 75 내지 95%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 한다.
- [0339] 일부 태양에서, 증가된 고유 유체 흡수 용량 값은 적어도 10 내지 15%까지 증가된다. 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 45 내지 70%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 한다.
- [0340] 일부 태양에서, 증가된 고유 유체 흡수 용량 값은 적어도 20 내지 35%까지 증가된다. 상기 양태에 따라서, 일부 태양에서, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질은 1 내지 40%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 한다.
- [0341] 일부 태양에서, 양친매성 물질은 세제 또는 계면활성제이다. 일부 태양에서, 양친매성 물질은 트윈, 또는 예를 들면 폴리옥시프로필렌의 2개의 친수성 쇠가 인접한, 예를 들면, 폴리옥시프로필렌(폴리(프로필렌 옥사이드))의 중심 소수성 쇠로 이루어진 비-이온성 공중합체이다.
- [0342] 일부 태양에서, 극성 용매는 알콜, 예를 들면, 에탄올, 메탄올, 아세톤, 이소프로판올 등이다.
- [0343] 일부 태양에서, 비극성 용매는 톨루엔, 헥산, 자일렌 등이다.
- [0344] 일부 태양에서, 상기 방법은 기질을 (c)에 열거된 물질과 접촉시킨 후 또는 전에, (b)의 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 2차 세척 방법을 적용하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0345] 일부 태양에서, 상기 2차 세척 방법은 압력, 열, 음파처리, 에탄올, 유기 용매, 염 완충액, 예를 들어, 포스페이트 완충액, 증기 처리 또는 이들의 조합을 적용하는 것을 포함한다.
- [0346] 일부 태양에서, 2차 세척 방법은 유기 용매를 사용한 처리를 포함한다. 일부 태양에서, 2차 세척 방법은 파파인, 트립신 또는 콘드로이티나제 ABC의 사용과 같으나 이로 한정되지는 않는 효소 처리를 포함한다. 일부 태양에서, 2차 세척 방법은 음파처리, 가열, 냉동 건조, 고압 적용, 고압하 침지 등을 포함한다.
- [0347] 또 다른 태양에서, 본 발명은, 다음을 포함하는, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 선택 방법을 제공한다:
- [0348] 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 단리하거나 제조하는 단계;
- [0349] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상의 실질적으로 거친 표면의 존재를 설정하는 단계(상기 실질적으로 거친 표면은 주사 전자 현미경 또는 원자력 현미경에 의해 측정된다);
- [0350] 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질 상의 실질적으로 거친 표면의 존재의 측정을 특징으로 하는 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 선택하는 단계.
- [0351] 일부 태양에서, 상기 양태에 따라서, 상기 방법은, 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질을 유체와 접촉시키고 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질에 음압을 적용시켜 상기 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 물질내에 상기 유체의 최대 흡수를 촉진시켜 상기 총 유체 흡수 값에 도달하게 하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0352] 일부 태양에서, 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 임의의 양태에 따른 방법에 의해 생성된 고체 기질을 제공한다.
- [0353] 당해 분야에 숙련된 자에게 다양한 수정 및 변화가 본 발명의 진의 및 범위로부터 벗어나지 않고 본 발명의 고체 기질, 키트, 공정 및 방법에 수행될 수 있음이 명백할 것이다.
- [0354] 한 태양에서, 본 발명은 조합된 준비를 제공한다. 한 태양에서, 용어 "조합된 준비"는 특히, 상기 정의된 바와 같은 조합 상대가 독립적으로 또는 상이한 조합으로, 즉, 동시에, 함께, 별개로 또는 순차적으로 사용될 수 있다는 의미에서 "부품들의 키트"를 규정한다.
- [0355] **실시예**

[0356] 실시예 1

[0357] 본 발명의 산호질-기반 고체 기질에서의 물리적 성질 가변성

[0358] 재료 및 방법

[0359] 다이아몬드 디스크 톱을 사용하여 외부 산호 층, 및 그로부터 목적하는 치수의 대표적인 더 작은 절편들이 산호 블록으로부터 절단된 큰 절편들을 제거하였다.

[0360] 100 내지 150 μm 의 평균 기공 크기를 갖는 하이드로산호 포라이츠 루테아(*Porites lutea*)로부터의 산호를 산호 내 다양한 영역들로부터 수집하였다. 산호를 그 외관, 밀도 및 다공도에 대해 육안으로 평가하였다. 이어서, 외부 유기 조직의 제거를 위해 산호를 선택적으로 5% 차아염소산 나트륨에 침지시켰다. 간략하게, 산호를 먼저, 실온 내지 50 $^{\circ}\text{C}$ 의 온도 범위 및 0.2 내지 0.00001 바 범위의 진공 압력을 사용한 대기압 이하 압력에서 5% 차아염소산 나트륨에 3회 교환하여 30 분 동안 노출시켰다. 이어서, 산호 절편들을 실온 내지 50 $^{\circ}\text{C}$ 의 온도 범위 및 0.2 내지 0.00001 바 범위의 진공 압력을 사용한 대기압 이하에서 과산화수소의 10% 용액에 15 분 동안 노출시켰다. 이어서, 세척된 절편들을 실온 내지 50 $^{\circ}\text{C}$ 의 온도 범위 및 0.3 내지 0.00001 바 범위의 진공 압력을 사용한 대기압 이하에서 증류수중에 3회 교환하여 30 분 동안 세척하였다.

[0361] 산호를 선택적으로 22.5 kGy 이상의 강도에서 감마 방사선에 노출시켜 멸균한 다음, 패키징재에 무균적으로 저장할 수 있으며, 특히 더 작은 샘플은 방사능처리를 한 반면, 평가된 더 큰 블록은 방사능처리를 하지 않았다.

[0362] 이어서, 각각의 절편을 플라스틱 페트리 접시에 넣고, 2 ml의 유체를 각각의 접시에 도포하였다. 유체의 흡수에 관한 관찰을 기록하였다. 사용된 유체는 동물 혈액, 혈장, 물 및 다양한 착색 용액을 포함하였다.

[0363] 결과

[0364] 다양한 영역들로부터의 샘플 제거가 그의 물리적 특성이 달라지는 물질을 제공하는지 및 상기 가변성이 샘플에 대안적 성질을 제공하는지를 측정하기 위해, 혈액 및 열거된 기타 유체들을 산호 샘플에 적용하고 산호 샘플내 유체의 흡수를 평가하였다.

[0365] 도 1은 기술된 바와 같이 수행된 대표적인 흡수 연구의 결과를 나타낸 것이다. 산호 샘플을 산호 블록의 상이한 영역들로부터 단리하고, 그에 적용된 혈액의 흡수 패턴 및 강도에 대해 평가하였다. 놀랍게도, 흡수 프로파일 면에서 균일성이 없는 것으로 보이며, 상기 흡수 프로파일은 "전부 아니면 아무것도 아닌" 현상이 아니다.

[0366] 도 1a는, 예를 들면, 구조 전체를 통해 상당히 실질적인 흡수를 보이는 반면, 도 1c는 전체를 통한 흡수가 불량하거나 없음을 보여주고, 도 1b는 일부 영역들은 실질적으로 유체를 흡수하고 일부 영역들은 유체를 최소로 흡수하거나 흡수하지 않는 점에서 구조내에서 중간적 현상을 제공한다. 도 1d 내지 1f는, 또한 거대구조 내에 상이한 흡수 패턴들을 제공하는, 그로부터 산호 플러그가 절단되고 제조되는 산호 조각을 통과하여 횡단면 조각들을 보여준다.

[0367] 다른 유체들을 도 1c의 샘플에 필적하는 병행 샘플 내에서의 그의 흡수 면에서 평가하였다. 착색제로 사용되기 위해, 염 용액 및 단백질 용액, 탄수화물 용액, 이온 용액을 제조하고 적용하였으며, 결과는 불량한 흡수 내지 무흡수가 도 1c의 샘플에서 일어난 점에서 적용된 혈액의 결과를 실질적으로 반영하였다. 그에 적용된 맹물은 실질적으로 동일한 결과를 제공하여, 도 1c의 산호 샘플 내에 불량한 흡수 내지 무흡수를 야기하였다.

[0368] 도 1d 내지 1f는 그로부터 도 1a 내지 1c의 샘플 각각을 취한 산호의 더 큰 블록들의 형상을 나타낸 것이다. 도 1d에서 볼 수 있듯이, 그로부터 1a의 샘플을 취한 영역은 적용된 유체, 이 경우에는 혈액의 양호한 흡수를 나타내는 반면, 그로부터 도 1c의 샘플을 취한 영역(즉, 도 1f의 블록)은 최소 흡수를 나타내고, 도 1e에 나타낸, 도 1b의 샘플을 취한 영역은 일부 영역이 양호한 흡수를 나타내는 반면 다른 영역들이 최소 흡수를 나타내는 점에서 중간 흡수를 나타낸다.

[0369] 본원에서 입증되듯이, 평가된 샘플의 크기는 제한되지 않으며, 따라서 사실상 다양한 크기 및 두께의 샘플이 평가될 수 있다. 또한, 표면 장력의 차이가 명백하다(도 1c와 도 1a 비교).

[0370] 실시예 2

[0371] 산호질-기반 고체 기질을 위한 스크리닝 프로토콜 수립

[0372] 실시예 1에서의 결과를 기반으로, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 최적화된 산호-기반 고체 기질을 선택하기 위한 스크리닝 프로토콜을 수립할 수 있다. 도 2는 구상된 스크리닝 프로토콜 과정의 흐름

름도를 나타낸 것이다. 산호 샘플을 확인하고, 단리하고, 목적하는 크기 및 형태로 가공하거나, 블록에서 평가한다. 이어서, 샘플을 세척하고 선택적으로 멸균한 다음, 건조시킨다. 평가되는 산호 샘플은 진공하에서 건조되고/되거나 이를 위해 가열될 수 있다.

- [0373] 이어서, 각 샘플의 건조 중량을 기록할 수 있다.
- [0374] 본원에 기술된 바와 같은 유체는 약 1:1 비로 또는 약간 더 많게 각각의 분석 용기에 첨가된다. 즉, ml로 나타내는 유체의 부피에 비해 mm로 나타내는 샘플의 크기와 같거나 약간 더 많게 용기에 첨가된다.
- [0375] 이어서, 샘플을 계량할 수 있으며 자발적 유체 흡수 값을 측정한다.
- [0376] 샘플들은 선택적으로, 샘플의 추가의 조작 전에 건조될 수 있다.
- [0377] 상당히 증가된 양의 유체를 샘플과 접촉시키고, 산호 샘플내에 적용된 유체의 최대 흡수가 보장되는 시간 동안 진공을 적용한다.
- [0378] 총 유체 흡수 용량을 평가하고, 고유 유체 흡수 용량 값은 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어서 결정된다.
- [0379] 상기 값이 75%의 컷오프 값을 초과하면, 샘플은 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질로서 그의 적합성에 대해 주목될 것이다. 샘플이 후속 용도에서 생체내에서 활용되면, 일부 양태에서, 상기 샘플은 숙주내에 이식되기 전에 먼저 자가 생물 유체 또는 숙주로부터의 물질과 접촉된다. 상기 값이 언급된 컷오프 값 미만이면, 샘플은 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 고체 기질로서 사용되지 않는다.

[0380] **실시예 3**

[0381] **본 발명의 산호질-기반 고체 기질내 특정 물리적 성질의 함수로서 개선된 고체 기질 혼입**

[0382] 실시예 1의 플러그에서 혈액 흡수에 있어 표현형 가변성의 결과를 평가하기 위해, 3회 차아염소산 세척, 과산화수소 처리 및 다중의 2차 증류수 세척을 포함하는 표준 생성 방법을 이용하여 산호 플러그를 제조하였다. 그의 자발적 유체 흡수 값 및 총 유체 흡수 값을 실시예 2에 기술된 바와 같이 측정하였으며, 이 경우 물이 평가된 샘플 유체였다. 75%보다 큰 자발적 유체 흡수 값을 나타내는 샘플 이식물은 또한 그의 자발적 혈액 흡수 능력에 대해서도 조사하였다.

[0383] 이식물을 적색, 백색 및 중간으로 분류하였으며, 이때 중간은 적색인 영역 및 백색으로 남아 있는 영역을 말한다. 각 염소가 75%보다 큰 자발적 유체 흡수 값을 특징으로 하는 이식물 및 50% 미만의 자발적 유체 흡수 값을 특징으로 한 이식물을 수용하도록 이식물을 각각의 염소 무릎에 주입하였다. 상기 동물들은 4 주동안 지켜본 후 희생시켰다.

[0384] 조기 연골 생성을 육안으로 및 조직학적으로 평가하였다. 골유착 및 조기 골 생성 또는 재흡수는 X-선, 마이크로-CT 및 조직학을 이용하여 평가하였다.

[0385] 도 3은 이식전 생물 유체 흡수와 시간경과에 따른 부위 치료 사이의 상관관계를 보여준다. 이식물내 상당한 물 및 혈액 흡수 또는 그의 최소 흡수를 특징으로 하는 이식물을 결손 부위 내에 이식하고, 이식 4 주 후에 육안으로 평가하였다. 상당한 유체 흡수를 나타낸 샘플에서는 허알된 연골 외관과 일치하는 조직이 이식물을 실질적으로 뒤덮은 반면, 최소/감소된 유체 흡수를 특징으로 한 샘플은 이식물 이식을 뒤덮고 있는 보다 섬유성인 캡슐을 나타내었다(각각 도 3a 대 3d). 최소/감소된 유체 흡수를 특징으로 하는 각각의 이식물들[도 3f 및 3c] 대 상당한 유체 흡수를 특징으로 하는 이식물들[도 3e 및 3f]의 X-선 및 마이크로-CT 분석은, 상당한 유체 흡수를 특징으로 하는 이식물이 이식 부위 내에서 유의적인 부작용 없이 적절하게 융합되는 것으로 보인다. 최소/감소된 유체 흡수를 특징으로 하는 이식물은 이식물의 골 재흡수, 용해 및 느슨해짐을 유도하는 것으로 보인다.

[0386] **실시예 4**

[0387] **이식을 위한 산호질-기반 고체 기질의 예비스크리닝**

[0388] 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하는 용도를 위해, 고체 기질을, 예를 들면, 물과 같은 유체를 흡수하는 그의 능력에 대해 평가하였다. 이어서, 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 제공하는 기질을 질환이 있는 조직 부위에 이식하였다. 예를 들면, 한 태양을 대표하여, 상기 고체 기질은 골연골 결손 또는 질환에서 복구 또는 재생에 적용하기 위해 연골 또는 인접 뼈 안에 이식될 수 있다.

- [0389] 고체 기질은, 숙련된 전문가가 인지하듯이, 본원에 기술된 바와 같은 임의의 태양에 따라 제조할 수 있다.
- [0390] 기질은 척추동물 용도에 뿐 아니라 인간 대상의 치료에 사용하기 위해 구상된다. 적절한 간격으로, 기질의 양호한 혼입 및 발병된 조직의 치료를 평가하기 위해 표준 방법이 사용된다. 예를 들면, X-선, CT 또는 MRI 영상화가 이식물의 위치를 확인하기 위해 수행될 수 있다.
- [0391] 이식은 임의의 적절한 위치에 이루어질 수 있고, 예를 들면, 무릎 관절 복구의 경우, 이식은 내측 대퇴과 (Medial Femoral Condyle, MFC), 외측 대퇴과(Lateral Femoral Condyle, LFC), 슬개골(Patella), 활차구 (Trochlear Groove, TG) 및 경골(Tibia) 내에 이루어질 수 있다.
- [0392] 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능의 촉진과 관련된 용도에서, 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 고체 기질은, 그 부위에서 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하거나, 이식 부위에서 치료를 촉진하거나, 복원된 조직 기능을 촉진하거나 이들의 조합을 위한 그의 능력 면에서, 40% 미만의 고유 유체 용량 값을 특징으로 하는 고체 기질을 능가할 것으로 주목된다.
- [0393] **실시예 5**
- [0394] **본 발명의 산호질-기반 고체 기질에서의 물리적 성질 가변성**
- [0395] 천연 표면은 그의 가변적인 물질 조성, 표면 거칠기 및 다공도로 인해 이질적이므로, 가변적인 발수/부착 특성을 나타낸다. 접촉각 측정은, 표면의 지형학 및 화학적 구조를 고려하여, 거친 표면의 습윤을 특성화할 수 있다.
- [0396] 접촉각 측정은 각도측정을 이용하였다. 접촉각은 고체 표면 상에서 육안으로 측정된 평형 접촉각이다. 상기 접촉각은 원자적으로 평활하고 화학적으로 균질한 표면상에서 측정된 영(Young) 접촉각과 구별되어야 한다.
- [0397] 영역들을 3개의 부류로 분류하고 그의 상대 표면적을 총 표면적으로부터의 백분율로서 근사치를 구하였다.
- [0398] 0 내지 60도의 접촉각을 특징으로 한 영역들은 제공된 도면들에서 백색 영역들로 나타난다. 60 내지 90도의 접촉각을 특징으로 한 영역들은 제공된 도면에서 청색으로 표시되어 있으며, 90도의 접촉각을 특징으로 한 영역들은 제공된 도면에서 적색으로 표시되어 있다.
- [0399] 1 내지 10 μ l 부피의 수적들을 정밀한 미량-투여 주사기로 세척 및 건조된 산호 샘플 위에 침적시켰다. 접촉각을 0.1도의 정확도 하에 레임-하트(Rame-Hart) 각도측정기(모델 500)로 측정하였다(Bormashenko, 2012). 측정치들을 양쪽 낙하 측면에 대해 평가하고 평균하였다. 사용된 시험 매질은 생리 식염수였다.
- [0400] R43, R34 및 R44로 명명된 3개의 3 x 3 mm 산호 샘플들을 평가하였다. 접촉각 평가 전에, 각 블록으로부터의 샘플들에 대해 고유 유체 흡수 용량 값을 평가하고, 결과를 표 1에 나타내었다.

표 1

[0401]

산호	시편 (명칭)	고유 유체 흡수 용량 값
43	1	0.62
	2	0.46
	3	0.60
	4	0.31
	por1	0.17
	por2	0.17
	por3	0.37
44	1	0.32
	2	0.82
	3	0.88
34	1	0.70
	2	0.39
	3	0.33

[0402] 도 4는 그 접촉각에 대해 평가된 산호 샘플 R43 시편들의 사진을 나타낸 것이다. 도 4a 및 4b는 그 접촉각 특성에 대해 평가된 더 큰 블록들로부터 절단된 영역들을 나타낸다. 도 4a 및 4b에서 평가된 블록의 영역들 대부분은 주로 60도 미만의 접촉각을 제공하였다. 도 4c 및 4d에서의 특정 영역들은 60 내지 90도(도 4c) 및 90도

이상(도 4d)의 접촉각을 제공하였다.

[0403] 도 5는 그 접촉각에 대해 평가된 산호 샘플 R34 시편의 사진을 나타낸 것이다. 도 5a는 그 접촉각 특성에 대해 평가된 더 큰 블록들로부터 절단된 영역들을 나타낸다. 도 5b 및 5에서 평가된 블록의 영역들 대부분은 주로 60도 미만의 접촉각을 제공하였다. 도 5b 및 4c에서의 특정 영역들은 60 내지 90도 및 90도 이상(각각 청색 대 적색 영역)의 접촉각을 제공하였다. 도 6은 유사하게 그 접촉각에 대해 평가된 산호 샘플 R44 시편의 사진을 나타낸 것이다. 도 6a는 그 접촉각 특성에 대해 평가된 더 큰 블록들로부터 절단된 영역들을 나타낸다. 도 6b에서 평가된 블록의 영역들 대부분은 주로 60도 미만의 접촉각을 제공하였다. 도 6b에서의 특정 영역들은 60 내지 90도 및 90도 이상(각각 청색 대 적색 영역)의 접촉각을 제공하였다.

[0404] 접촉각 측정치들은 각각의 산호 샘플에 대해 취득된 고유 유체 흡수 용량 값과 유사하다. 따라서, 본 발명의 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 촉진하기 위한 개선된 고체 기질은 접촉각 또는 고유 유체 흡수 용량 값의 측정에 의해 특성화될 수 있다.

[0405] 또한, 환경 주사 전자 현미경(ESEM) 연구에 의해 본원에 제공된 접촉각 연구의 결과를 확인하였다.

[0406] 표 2는 ESEM에 의해 평가된 산호 샘플에 대한 고유 유체 흡수 용량 값을 나타낸다.

표 2

[0407]

산호	시편 (명칭)	고유 유체 흡수 용량 값
R27	7	0.87
R30	40	0.04
R43	1	0.62

[0408] 도 7은 표 2에 기술된 샘플상에서 수행된 ESEM 분석 결과를 나타낸 것이다. R27-7 블록으로부터 평가된 샘플들은 영(zero)의 낙하각 값을 나타내었으며, 소적 형성이 보이지 않았다(도 7a). 도 7b 및 7c는 샘플 R30-40의 결과를 나타낸 것이다. 도 7b는 유체 적용 후에 취하였으며, 물을 적용했을 때 샘플이 "습윤"되지 못한 것이 주목되었다. 도 7c는 재-건조 후에 불량한 표면 습윤의 표현형과 일치하게, 표면에 수적들이 뚜렷함을 보여 준다.

[0409] 도 7e 및 7e는 샘플 R43-1에 대한 결과를 나타낸 것으로 상기 결과는 샘플 R30-40에 대해 나타난 바와 일치한다.

[0410] 총괄하여, 상기 결과들은 접촉각 데이터 뿐 아니라 각각의 산호 샘플에 대해 취득된 고유 유체 흡수 용량 값을 확증한다. 75%보다 큰, 각각의 산호 샘플에 대해 취득된 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 샘플은 "양호한 습윤" 표현형과 일치하게 표면 상에 소적 형성을 나타내지 않은(도 7a) 반면, 더 낮은 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 샘플들은 건조시 소적 형성을 나타내었다.

[0411] **실시예 6**

[0412] **본 발명의 개선된 산호질-기반 고체 기질의 물리적 특성**

[0413] 산호 샘플을 상기 실시예 1에 기술된 바와 같이 처리하였다. 이어서, 샘플을 표준 방법에 따라 환경 주사 전자 현미경 및 원자력 현미경에 적용하였다.

[0414] 도 8a 내지 8c는 실질적인 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 기질과 비교하여 최소 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 고체 기질의 표면 구조를 보여준다(도 8a 내지 8c 및 8d 내지 8f 비교). 더 낮은 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 기질은 더 높은 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 기질에 비해 더 매끄러운 외부 표면 구조를 갖지만, 후자의 샘플의 결정 구조가 용이하게 보였다.

[0415] 또한, 원자력 현미경은 더 낮은 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 기질이 더 매끄러운 외부 표면을 특징으로 함을 보여주었다(도 9a 내지 9c). 뚜렷하게 대조적으로, 더 높은 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 기질은 더 거친 표면을 나타내었다(도 9d 내지 9f).

[0416] 총괄하여, 상기 결과들은 표면 구조 특성화가 각각의 산호 샘플에 대해 취득된 고유 유체 흡수 용량 값과 상관된다는 사실을 확증한다. 75%보다 높은, 각각의 산호 샘플에 대해 취득된 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 샘플은 더 거친 표면을 나타낸 반면, 더 낮은 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 샘플은 더 매끄러운 표면을 나타내었

다.

- [0417] 실시예 7
- [0418] 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질의 준최적화 균을 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질로 전환시키는 방법의 개발
- [0419] 재료 및 방법
- [0420] 하이드로산호 포라이츠 루테아의 산호 샘플을 실시예 1에 기술된 바와 같이 단리하고 플러그를 제조하였다.
- [0421] 이어서, 플러그를 계량하여 샘플 당 건조 중량을 설정하였다. 플러그를 2 ml의 2차 증류수에 5 분 동안 노출시킨 후 계량하여 자발적 흡수 값을 측정하였다. 이어서, 플러그를 진공하에 과량의 2차 증류수에 30 분 동안 노출시킨 후 계량하여 각 플러그에 대한 총 유체 흡수 값을 측정하였다. 이어서, 자발적 유체 흡수 값을 총 유체 흡수 값으로 나누어서 고유 유체 흡수 용량 값을 측정하였다.
- [0422] 각 절편을 선택적으로 플라스틱 페트리 접시에 넣고 2 ml의 유체, 예를 들면, 혈액을 각 접시에 적용하고, 유체 흡수의 각 표현형을 특정한 고유 유체 흡수 용량 값을 제공한 샘플에서 보존시켰다.
- [0423] 이어서, 불량한 흡수를 야기하고 40% 미만의 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 것으로 나타난 샘플, 40 내지 74%의 중간 전체 고유 유체 흡수 용량 값을 제공한 것으로 나타난 샘플, 및 75 내지 99%의 고유 유체 흡수 용량 값을 제공한 것으로 나타난 샘플을 시험 물질과 접촉시켰다. 일부 양태에서, 시험 조건은 5 ml의 0.5% 트윈 80의 적용을 포함하였다.
- [0424] 일부 양태에서, 시험 조건은 15 분 동안 음과처리; 무수 에탄올의 적용; 선행 트윈 80 적용 또는 비적용하에 5 ml 플루로닉의 적용을 포함하였다. 일부 양태에서, 시험 조건은 0.03% 아세트산중 5 ml의 메틸렌 블루 또는 DDW 중 3M 0.05% 히알루로닉 용액의 적용을 포함하였다.
- [0425] 상기 처리 후에, 샘플을 이어서 전술한 바와 같은 유체, 예를 들면, 물과 다시 접촉시키고, 고유 유체 흡수 용량 값을 각 샘플에 대해 다시 평가하였다. 플러그내 유체의 흡수, 예를 들면, 혈액의 흡수도 육안으로 확인하였다.
- [0426] 50%보다 높은 고유 유체 흡수 용량 값을 제공한 샘플을 유사하게 평가하고 50% 미만의 값을 갖는 샘플과 비교하였다.
- [0427] 결과
- [0428] 실시예 2는, 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 고체 기질이 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 제공하며, 주어진 해양 유기체 골격 유도체의 단리된 블록에서, 목적하는 고유 유체 흡수 용량 값을 나타내는, 그로부터 단리될 수 있는 플러그의 수의 측면에서 가변성이 존재함을 입증하였다. 그러므로, 40% 미만, 또는 41 내지 74%, 또는 75 내지 99%의 고유 유체 흡수 용량 값을 특징으로 하는 샘플들이 증가되어, 세포 또는 조직 성장 또는 복원된 기능을 제공하는 각각의 기질의 능력을 개선시킬 수 있는지를 측정하는 것이 중요하다.
- [0429] 각각의 고유 유체 흡수 용량 값에 대한 언급된 범위를 특징으로 하는 상기 골격 유도체의 샘플들을 각각 단리하고 상기 샘플을 처리하여 고유 유체 흡수 용량 값을 이전에 측정된 값보다 더 높게 개선할 수 있는지를 측정하기 위해, 샘플의 여러 조작을 시도하였다.
- [0430] 트윈 80은 폴리에톡실화 솔비탄 및 올레산으로부터 유도된 비-이온성 계면활성제 및 유화제이다. 그러므로, 트윈 80을 시험한 산호 샘플의 고유 유체 흡수 용량 값을 변화시키는 그 능력에 대해 평가하였다. 도 10은 평가된 여러 샘플의 결과를 나타낸 것이다. 근본적으로 평가된 모든 샘플에서, 트윈 처리는 고유 유체 흡수 용량 (SFUC) 값을 증가시켰다. 더 낮은 SFUC 값을 나타내는 일부 샘플은 상당히 향상되었다. 샘플 31-10, 35 내지 5 등은 약 30% 미만의 초기 SFUC 값을 나타내었으며, 트윈 80 처리후 60% 이상 및 심지어 80% 이상의 높은 값까지 SFUC에 뚜렷한 증가를 나타내었다. 혈액을 샘플에 적용하였을 때, 이전의 불량한 흡수와 뚜렷하게 대조적으로 신속한 흡수가 일어났다(도 10). 플러그를 양친매성 화합물로 처리한 것이 평가된 모든 샘플에서 증가된 SFUC를 제공하였으므로, 다른 조작이 상기 현상을 개선시키는지를 측정하는 것이 중요하였다.
- [0431] 이를 위해, 트윈 80이 적용되는 샘플을 이어서 음과처리에도 적용하였다. 도 11은 상기 과정의 결과를 나타낸다. 도면에서 볼 수 있듯이, 대부분의 샘플에서, 트윈 80 처리 및 음과처리에 의해 측정된 SFUC는 이어지는

SFUC 값을 개선시켰다. 샘플 37-30, 37-14 등은 초기 값의 두배보다 더 큰 SFUC 증가를 나타내었다. 많은 샘플에서, 트윈 80 및 음과처리는 85%보다 높은 SFUC 값을 제공하였다.

[0432] 다른 양친매성 화합물이 SFUC 값을 증가시키는 면에서 트윈에서 보여진 바와 동일한 결과를 제공하는 지를 측정하기 위해, 플루로닉[폴리옥시프로필렌의 2개의 친수성 쇄가 인접한 폴리옥시프로필렌(폴리(프로필렌)옥사이드)의 중심 소수성 쇄로 이루어진 비-이온성 삼중블록]을 전술한 방법에 따라 트윈 대신에 샘플에 적용하였다. 도 12에서 볼 수 있듯이, 플루로닉을 사용한 처리는 근본적으로 시험한 모든 샘플에서 SFUC를 증가시켰다(도 12에서 연회색 막대를 더 진한 회색 막대와 비교). 대부분의 경우에서, 플루로닉 및 트윈 80을 둘 다 샘플에 적용하면 수득된 SFUC 값이 더 증가되었다.

[0433] 극성 용매가 SFUC 값을 증가시키는 면에서 트윈에서 보여진 바와 동일한 결과를 제공하는지를 측정하기 위해, 무수 에탄올을 샘플에 적용하였다. 도 13은, 트윈 및 플루로닉에서 보였던 바와 같이, 에탄올을 더 많은 평가된 샘플에 적용하였을 때 SFUC에서 증가를 나타내지만, 이 경우에 상기 증가는 70%보다 높은 초기 SFUC를 갖는 샘플을 평가하였을 때보다 실질적으로 낮았음을 보여준다.

[0434] 양이온 화합물이 SFUC 값을 증가시키는 면에서 트윈에서 보여진 바와 동일한 결과를 제공하는지를 측정하기 위해, 샘플을 상기 방법 부분에서 트윈 80에 대해 기술된 바와 유사하게 메틸렌 블루에 노출시켰다. 도 14에서 볼 수 있듯이, 실제로 샘플에 메틸렌 블루의 적용은, 30% 미만의 SFUC 값을 갖는 샘플에서 더 큰 증가가 확인되었다는 점에서, 에탄올을 사용하여 관찰된 현상과 다소 유사하였다.

[0435] 음이온 화합물이 SFUC 값을 증가시키는 면에서 트윈에서 보여진 바와 동일한 결과를 제공하는지를 측정하기 위해, 상기 방법 부분에서 트윈 80에 대해 기술된 바와 유사하게 샘플을 히알루론산에 노출시켰다. 도 15에서 볼 수 있듯이, 실제로 샘플에 히알루론산의 적용은 평가된 대부분의 샘플에서 SFUC 값을 증가시켰으나, 상기 증가는 트윈 80에 대해 평가된 것보다 더 소규모였다.

[0436] 유사하게, 도 16에서 볼 수 있듯이, 콘드로이틴 설페이트를 사용하였을 때, SFUC의 증가가 각 샘플에서 명백하였다.

[0437] 상기에 보고된 결과를 진전시키기 위해, 3개의 상이한 산호 슬래브(R-76, R-77, R-78)로부터 75% 이상의 고유 유체 흡수 용량 값을 나타내는 일련의 이식물들(n=42)을 다음과 같이 정제 과정에 적용하였다: 샘플을 0.03 바 이상의 적용된 음압하에 5% NaOCl(w/w) 용액에 1:20(플러그 부피:NaOCl)의 비로 30 분 동안 침지시킨 후에, 액체를 경사분리하고 샘플을 0.03 바 이상의 적용된 음압에 30 분 동안 추가로 노출시켰다. 이어서, 샘플을 0.03 바 이상의 적용된 음압하에 10%(w/w) H₂O₂ 용액에 1:20(플러그 부피:H₂O₂)의 비로 15 분 동안 침지시킨 후에, 액체를 경사분리하고 샘플을 0.03 바 이상의 적용된 음압에 30 분 동안 추가로 노출시켰다. 샘플을 물에 반복적으로 세척한 후, 멸균수에 1:20(플러그 부피:H₂O)의 비로 침지시킨 다음 0.03 바 이상의 적용된 음압에 30 분 동안 추가로 노출시켰다. 세척 단계를 3회 이상 반복하였다. 이어서, 샘플을 0.03 바의 진공 압력하에서 적어도 4 내지 6 시간 동안 건조시켰다. 이어서, 고유 유체 흡수 용량 값을 전형적인 샘플들에 대해 확인하였다.

[0438] 이어서, 샘플을 0.03 바 이상의 진공 조건하에서 무수 에탄올에 1:10(플러그 부피:에탄올)의 비로 30 분 동안 침지시킨 후, 용액을 경사분리하고 이전 단계에서 기술된 바와 같이 멸균수에 세척하였다. 이어서, 고유 유체 흡수 용량 값(SWC)을 전형적인 샘플들에 대해 확인하고, 언급된 샘플들의 평균 SWC 값을 나타내는 결과를 도 17에 나타내었다. 도면에서 명백하듯이, SWC 값은 기본 세척 프로토콜 후에 극성 용매, 이 경우에는 에탄올을 사용한 추출 단계가 이어졌을 때 통계적으로 유의적 방식으로 개선되었다.

[0439] 도 18 및 19는 기본 단리/처리 단계 후에 적용된 에탄올 추출 단계 전 및 후에, 많은 샘플들에 대해 수득된 평균 SWC 값을 나타낸 것이다. 평가된 많은 샘플들로부터 명백하듯이, 예상치 않게, 고유 흡수 용량 값은, 추출 단계가 극성 용매, 예를 들면, 에탄올을 사용하여 수행될 때, 기본 단리/처리 단계 후에 증가된다.

[0440] 실시예 8

[0441] 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질을 단리하고 제조하기 위한 자동화 방법 및 장치

[0442] 하이드로산호 포라이즈 루테아의 산호 샘플을 실시예 1에 기술된 바와 같이 단리하고 이식물을 제조하였다. 이식물 20-10을 고정 카세트 20-20에 놓고, 덮개 20-70을 장치위에 놓았다. 이식물이 완전히 건조할 때까지 진공 장치 20-30을 통해 미리 정해진 시간 동안 음압을 적용한 다음, 적용을 중단하였다. 이어서, 장치는 개별적으로 각각의 이식물을 계량하여 건조 중량을 설정하였다. 자동화 주기를 개시하여 충전을 촉진하고 목적하는 유체 수준이 과정 동안 유지되었다. 카세트 20-20을, 유체내 카세트 조작장치 20-40을 통해 첫번째 유체 수준으

로 개별적으로 상승 및 강하시켜 자발적 유체 흡수를 가능하게 하였으며, 이식물 조작장치 20-60은 개별적으로 중량 측정을 위해 개개 이식물들을 배향/이동시켜 자발적 유체 흡수 값을 측정한 후 선택적으로 각 이식물을 건조/블로팅 위치를 통과시켰다. 개개 이식물들을 모두 계량하고 카세트내 그의 위치로 복귀시켰다. 이어서, 카세트 20-20을 다시 과량의 유체내에서 카세트 조작장치 20-40을 통해 두번째 훨씬 더 높은 유체 수준으로 개별적으로 상승 및 강하시켜 이식물의 완전한 침지를 촉진하고, 진공장치 20-30을 통해 정해진 시간 동안 음압을 다시 적용하여 각 이식물내 최대 유체 흡수를 보장하였다. 이식물 조작장치 20-60은 다시 개별적으로 개개 이식물들을 두번째 중량 측정을 위해 배향/이동시켜 총 유체 흡수 값을 수득하였다. 장치의 데이터 처리 유닛은 고유 유체 흡수 값의 결과를 측정하고 제공하여, 선택적으로 어떤 샘플이 언급된 기준에 근거하여 선택될 것인지를 명확하게 확인하였다.

[0443] 카세트의 크기는 다양한 크기의 이식물을 수용하도록 구성될 것임을 이해할 것이다. 장치는 또한 더 크거나 적은 수의 카세트를 수용하기 위한 규모로 구성될 수 있으며, 물질들은 언급된 이식물들내에서의 그의 흡수에 대해 평가되는 다양한 유체에 적절할 것이다. 예를 들면, 고장의 경우 경고 시스템을 제공하기 위해 센서 및 적절한 계전기를 포함시키고, 장치는 측정된 자발적 유체 흡수 값 및 수득된 총 유체 흡수 값으로부터 고유 유체 흡수 용량 값을 산출하기 위해 데이터 처리 유닛을 추가로 포함할 수 있다. 통계학적 분석도 또한, 선택적으로 본 발명의 청구된 장치와 함께 제공된 데이터 처리 패키지의 일부로서 포함될 수 있다.

[0444] **실시예 9**

[0445] **최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질에 의한 개선된 세포 부착 및 생존력**

[0446] **재료 및 방법**

[0447] 인간 배아 구개 중간엽(HEPM) 세포를 적절한 성장 배지에서 성장시켰다.

[0448] 각 산호의 최적화(75%보다 높은 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는) 및 비최적화 산호(60% 미만의 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는)의 이식물에, 세포를 37 °C에서 15 분 동안 스캐폴드와 함께 배양하여 HEPM 세포를 1.65×10^4 및 0.8×10^4 세포/ $10 \mu\text{l}$ 의 밀도로 접종한 후, 더 많은 배지를 첨가하고 7 일 이하 동안 더 배양하였다. 성장 배지는 2 일마다 교체하였다.

[0449] 세포를 함유하는 스캐폴드를 4% 폼알데하이드에 고정시키고 세척하고 에탄올 구배 용액 및 HMDS 구배 용액에 의해 건조시킨 후 SEM으로 평가하였다.

[0450] 세포 부착 및 형태를, 고정 후에, 접종 후 제 1 일, 제 3 일 및 제 7 일에 SEM으로 관찰하였다.

[0451] 세포 생존력을 제조사의 프로토콜에 따라 알라마블루(등록상표) 대사 분석으로 평가하였다. 샘플을 접종 후 제 1 일 및 제 7 일에 취하였다. 마이크로플레이트 형광 판독기인 플루오레스칸 어센트(Fluoreskan ascent)(라보탈(Labotal)) 데이터를 삼중으로 사용하여 544 nm 및 590 nm(각각 여기 및 방출)에서 형광을 측정하였다.

[0452] 새로운 F 200 1 알라마블루(등록상표) 함유 배지(각각 1:10)를 각각의 스캐폴드에 첨가하고 18 시간 동안 더 배양하였다(총 24 시간).

[0453] **결과**

[0454] 평가된 모든 샘플에서 접종 후 1 일 정도로 초기에 세포 부착이 확인되었으며, 여기서 SEM 분석에 의해 평가할 때 최적화(opt)는, 즉 75%보다 높은 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 샘플이고, 비최적화(nonopt)는, 즉 60% 미만의 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 샘플이다.

[0455] 26%의 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 비-최적화 샘플은, 산호 표면 근위에 위치한 가시적인 세포 확장부(꼬투리) 하에, 세포가 산호에 부착되었음을 보여주었다(도 21a). 세포 확장부는 산호 기질과 접촉하지만, 세포체 대부분은 용이하게 접촉하는 것으로 보이지 않는다. 도 21b는 도 21a에서 "상자안" 영역의 더 높은 배율을 나타낸 것으로, 말단 세포 확장부와 산호의 접촉을 보여주지만, 세포는 납작해지거나 그 전체 세포체 위로 산호와 완전히 접촉하지 않는다.

[0456] 뚜렷하게 대조적으로, 95%의 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 최적화된 샘플은 세포가 산호위로 퍼진 전체 세포체를 포함하여 산호에 잘 부착되었음을 보여주었다(도 21c).

[0457] non-opt 및 opt 산호 샘플에 접종된 HEPM 세포를, 다양한 인간 및 동물 세포주의 증식을 정량화하는 알라마블루(등록상표) 분석에 의해 평가하였다. 접종 후 제 1 일에, 값을 폴리스티렌 웰 상에 단독으로 접종된 세포의 배

양물에 대해 수득된 값으로 표준화시켰다. 100%는 제 1 일에 폴리스티렌 웰 상에서의 세포 생존력 값에서 측정된다(도 22a). 도 22b는 접종 7 일 후 다양한 산호 상에서의 HEPM 세포 생존력을 나타낸다. 각 산호에서, 제 7 일의 값을 제 1 일의 값으로 나누어, 세포 생존력에서의 증가 배수를 밝혔다. 이미 인지하듯이, 최적화 샘플은 비-최적화 샘플에 비해 상당히 증가된 세포 생존력 값을 야기하였다. HEPM 세포 생존력은 제 1 일에 비해 제 7 일에 평균 42배 더 높게 증가된 반면, 저 SWC 산호 R29 및 대조군에서의 증가는 각각 13배 및 7배였다.

[0458] 총괄하여, 세포 부착 및 세포 생존력 분석은 유체 흡수에 대해 최적화된 것으로 간주되는 샘플이 더 큰 전체 세포 부착 및 시간 경과에 따른 생존력을 촉진함을 보여준다.

[0459] 실시예 10

[0460] 최적화된 해양 유기체 골격 유도체-기반 고체 기질을 수득하기 위한 이식물의 단리 및 처리와 결정 형태 연관성

[0461] 재료 및 방법

[0462] 산호 샘플을 실시예 1에 대해 기술된 방법에 따라 단리하고 제조하였다. 샘플을 문헌 [Chemical staining methods used in the identification of carbonate minerals, Tamer AYAN, Mineral Research and Exploration Institute of Turkey http://www.mta.gov.tr/v2.0/eng/dergi_pdf/65/11.pdf]에 기술된 바와 같은 프로토콜에 따라 염색시켰다. 간략하게, 파이글 용액을 표준 방법에 따라 제조한다. 이어서, 산호 샘플을 파이글 용액으로 염색시키고, 그의 고유 유체 흡수 용량 값에 대해 이전에 평가된 샘플을 상기 용액으로 염색시킨다. 이 경우에는, 실시예 9에서 평가된 바와 같은 2개의 샘플, 즉 95%의 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 샘플 R91 및 42%의 고유 유체 흡수 용량 값을 갖는 샘플 R48을 평가하였다.

[0463] 결과

[0464] 산호는 주로 탄산칼슘으로 이루어진다(약 98%). 탄산칼슘은 아라고나이트 및 방해석과 같은 상이한 결정 형태 일 수 있다. 산호 폴립은 발생 순서로 적층되는 기록저장을 나타내는 복잡한 외골격을 형성하는 그의 기저 외 배엽 아래에 아라고나이트 골격을 분비할 수 있다. 일부 영역에서는, 속성 작용으로 알려진 과정에 의해, 통상적으로 후기 단계에서, 아라고나이트 구조가 용해되고 방해석 및 마이크로라이트가 형성된다.

[0465] 근대 산호에 비해 고대 산호(중신세(Miocene epoch))에서 더 많은 방해석 침전물이 발견되는 것으로 밝혀졌다. 도 23a는 파이글 용액으로 염색된 중신세 산호를 나타내며, 여기서 흑색 영역은 아라고나이트 결정 구조를 나타낸다. 도 23b는 흑색이 관찰되지 않으므로 샘플에 아라고나이트가 존재하지 않을 때 파이글 염색에 의해 염색된 산호를 나타낸다(두 도면 모두 화석 거품돌산호에서 성장대의 속성 작용으로부터 취한다(본원에 전체로 참고로 인용된 문헌 [identification and modes of preservation, Reuter et al. Facies (2005), 51: 146-159])).

[0466] 파이글 용액은 아라고나이트를 흑색으로 염색시킨다. 산호 샘플을 주어진 샘플중 아라고나이트의 부재하에서 육안으로 검사할 때, 샘플은 색상이 백색 또는 회색으로 보일 것이다.

[0467] 그러므로, 결정 구조가 고유 유체 흡수 용량 값과 상관되는지 및 본원에서 최적화 방법이 파이글 염색 프로토콜 면에서 영향을 받았는지를 측정하는 것이 중요하였다. 이를 위해, 산호 샘플 R91 및 R48을, 염소 혈액의 흡수에 대한 첫번째 육안 평가를 포함하여 그의 고유 유체 흡수 용량 값에 대해 평가하고, 실시예 7에 기술된 바와 같은 에탄올 추출 단계를 포함하는 추가의 처리에 적용하였다.

[0468] 도 23은 추가 에탄올 정제 단계 전 및 후 둘 다에서, R91 및 R48로부터 취한 필수적으로 동일한 샘플의 분석 결과를 나타낸 것이다. 파이글 염색의 전체 패턴은 각각의 샘플에서 혈액의 흡수 패턴과 유사하였지만(도 23c 대 도 23d 및 도 23e 대 도 23f 비교), 염색 패턴은 동일하지 않다. 또한, 에탄올 처리 전과 후에 R48의 샘플을 비교할 때 더 용이하게 관찰되듯이, 증가된 혈액 흡수 및 파이글 양성 염색이 관찰되어, 기술된 추가의 처리 단계에 적용시 샘플의 더 큰 최적화를 시사하였다.

[0469] 총괄하여, 비-아라고나이트에 비해 아라고나이트가 풍부한 샘플이 더 높은 고유 유체 흡수 용량 값, 자발적 혈액 흡수 및 파이글 용액을 사용한 흑색 염색과 더 용이하게 연관되는 것으로 보이며, 이것은 본원에 기술된 바와 같이 특정한 추가의 처리 단계에 의해 더 개선될 수 있다.

[0470] 당해 분야에 숙련된 자라면 첨부된 특허청구범위에 나타난 바와 같은 본 발명의 진의 및 범위로부터 벗어나지 않고 형태 및 세부사항에 다양한 변화가 이루어질 수 있음을 이해할 것이다. 당해 분야에 숙련된 자라면 본원에 기술된 본 발명의 특정 태양들에 대한 많은 등가물을 인지할 것이거나 단지 통상적일 뿐인 실험을 이용하여

확인할 수 있다. 상기 등가물은 특허청구범위의 범주에 포함되는 것이다.

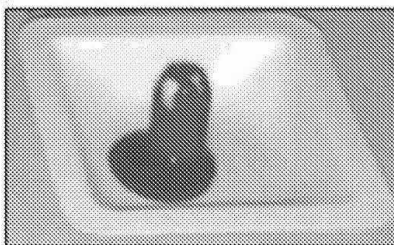
[0471] 일부 태양에서, 용어 "포함하다" 또는 그의 문법적 형태는 본 발명의 명시된 성분들의 포함뿐 아니라, 제약 산업에서 알려진 바와 같이 다른 활성 약제 및 약학적으로 허용되는 담체, 부형제, 연화제, 안정화제 등의 포함을 말한다.

[0472] 본 발명의 한 태양에서, "약"은 특정한 필요를 충족시키는 수단이 충족되는 특성을 말하고, 예를 들면, 크기는 주로 명시되어 있는 크기이지만 전부 그 크기는 아닐 수 있으나, 연골 복구 부위에서 연골 복구의 특정한 필요를 충족시킨다. 한 태양에서, "약"은 근접하게 또는 근사하지만 정확히는 아닌 것을 말한다. 작은 오차한계가 존재한다. 상기 오차한계는 동일한 정수 값 안팎을 초과하지 않는다. 예를 들면, 약 0.1 μm 는 0 이상 0.2 이하를 의미한다. 일부 태양에서, 참조 값과 관련하여 용어 "약"은 명시된 값 위 아래로 5% 이하, 10% 이하 또는 20% 이하만큼의 양으로부터의 편차를 포함한다. 한 태양에서, 용어 "약"은, 문맥에서 변화량이 100%를 초과하는 값을 야기하지 않아야 함을 명시한 경우를 제외하고, 명시된 값으로부터 1 내지 10%, 또는 또 다른 태양에서는 5 내지 15%, 또는 또 다른 태양에서는 10% 이하, 또는 또 다른 태양에서는 25% 이하의 변화량을 말한다.

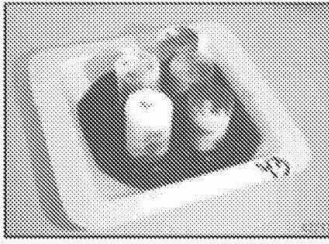
[0473] 특허청구범위에서, 단수형은, 달리 지적하거나 그렇지 않으면 문맥으로부터 명백하지 않는 한, 하나 또는 하나보다 많은 것을 의미한다. 한 군의 구성원들 간에 "또는" 또는 "및/또는"을 포함하는 청구항 또는 설명은, 달리 지적하거나 그렇지 않으면 문맥으로부터 명백하지 않는 한, 군 구성원 중 하나, 하나보다 많은, 또는 전체가 주어진 생성물 또는 방법에 존재하거나, 사용되거나, 그렇지 않으면 그와 관련되는 경우에 충족되는 것으로 간주된다. 본 발명은, 정확하게 군의 한 구성원이 주어진 생성물 또는 방법에 존재하거나, 사용되거나 그렇지 않으면 관련되는 태양을 포함한다. 본 발명은 또한 군의 하나보다 많거나 모든 구성원이 주어진 생성물 또는 방법에 존재하거나, 사용되거나 그렇지 않으면 관련되는 태양들을 포함한다. 또한, 본 발명은 다양한 태양에서, 달리 언급되지 않거나 모순 또는 불일치가 발생하는 당해 분야에 통상의 기술을 가진 자에게 명백하지 않는 한, 하나 이상의 열거된 청구항들로부터 하나 이상의 한계, 요소, 절, 기술적 용어 등이 동일한 기본 청구항에 종속되는 또 다른 청구항내에 도입되는 모든 변화, 조합 및 치환을 제공함을 이해해야 한다. 요소들이 목록으로서, 예를 들면, 마쿠쉬(Markush) 군 형식 등으로 나타낼 때, 요소들의 각 소군도 또한 개시되며 임의의 요소는 군에서 제거될 수 있음을 이해해야 한다. 일반적으로, 본 발명 또는 본 발명의 양태들이 특정 요소, 특징 등을 포함하는 것으로 언급되는 경우, 본 발명의 특정 태양 또는 본 발명의 양태들은 상기 요소, 특징 등으로 이루어지거나 필수적으로 이들로 이루어진 것을 이해해야 한다. 간단성을 위해, 상기 태양들은 본원에서 모든 경우에서 구체적으로 이런 말들로 나타내지는 않았다. 특정 청구항들은 편의상 종속 형태로 나타나 있지만, 출원인은 독립항 및 상기 청구항이 속하는 임의의 다른 청구항의 요소 또는 한계를 포함하기 위한 독립적인 형식으로 임의의 종속항을 다시 작성할 권리를 보유하며, 상기 다시 작성된 청구항은 독립 형식으로 다시 작성되기 전에 나와 있는 모든 형태(개정되었든 비개정되었든)의 종속항에 모두 관련하여 등가인 것으로 간주되어야 한다.

도면

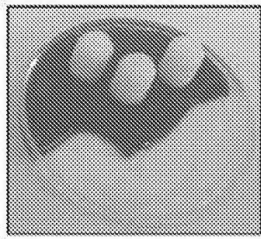
도면 1a



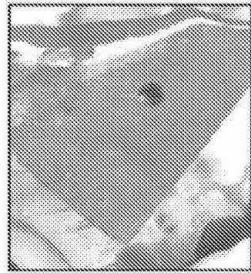
도면1b



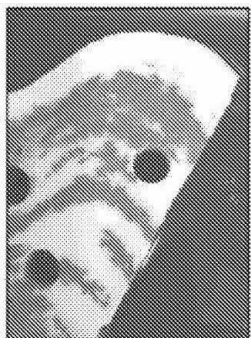
도면1c



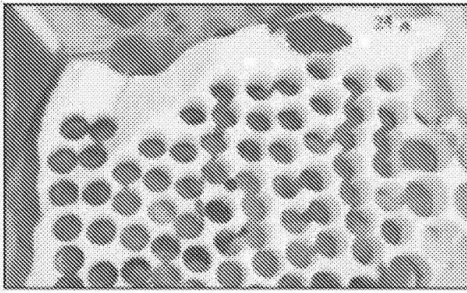
도면1d



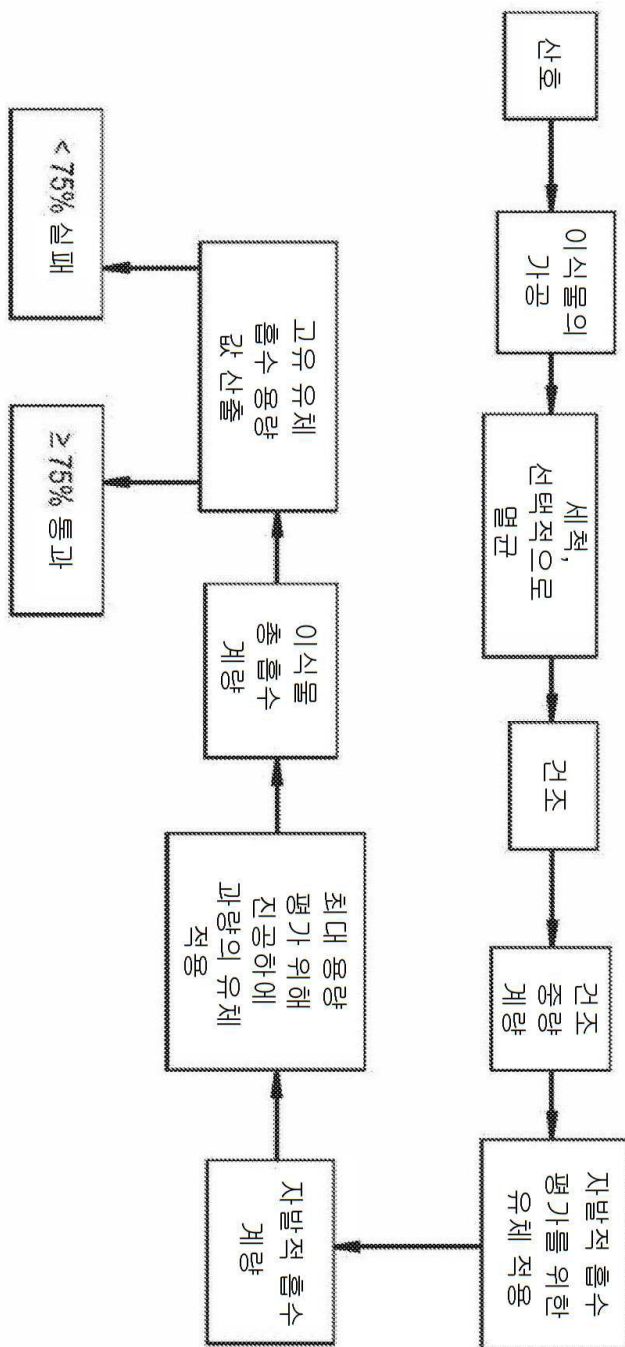
도면1e



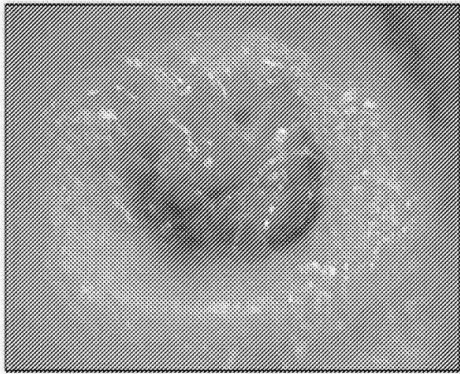
도면1f



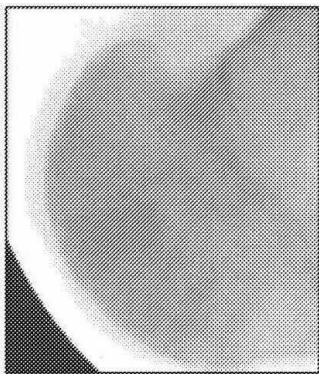
도면2



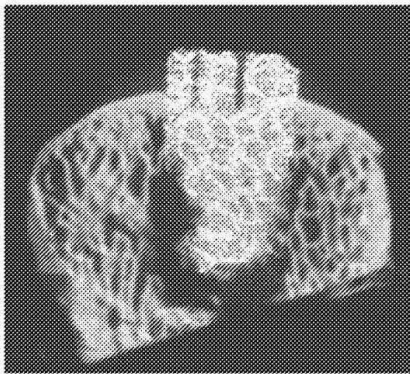
도면3a



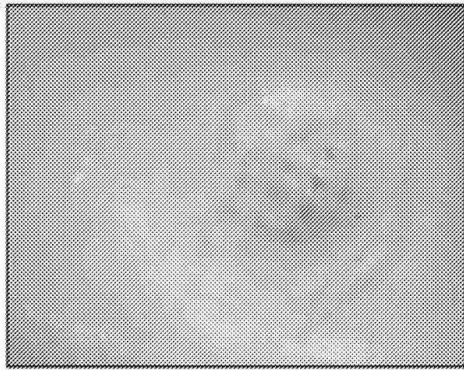
도면3b



도면3c



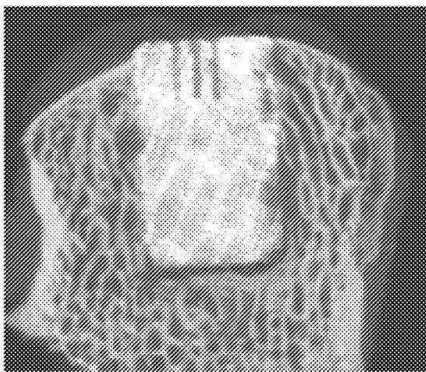
도면3d



도면3e



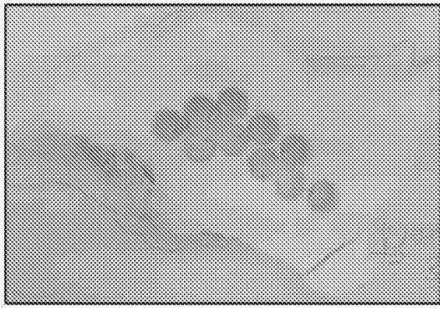
도면3f



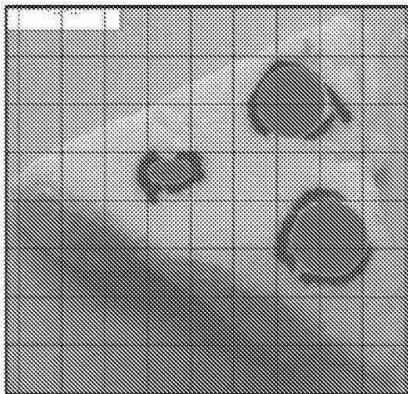
도면4a



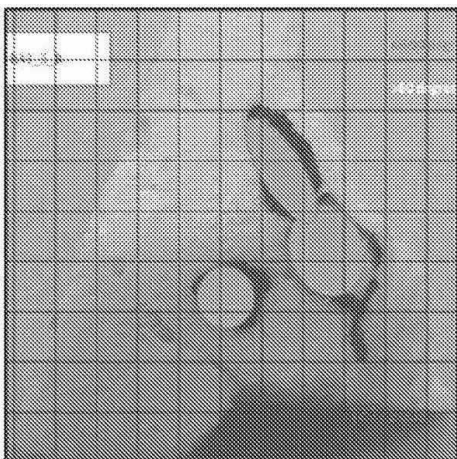
도면4b



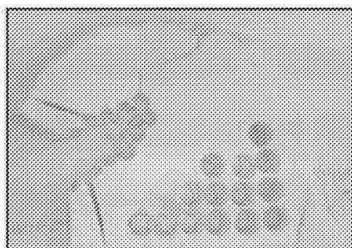
도면4c



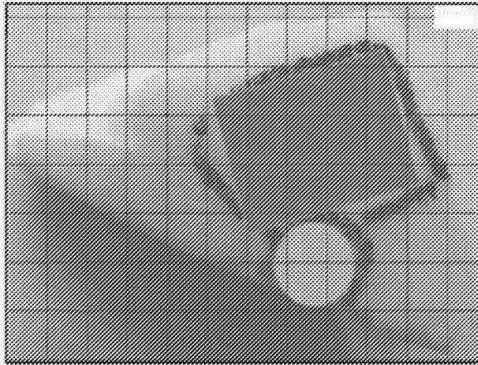
도면4d



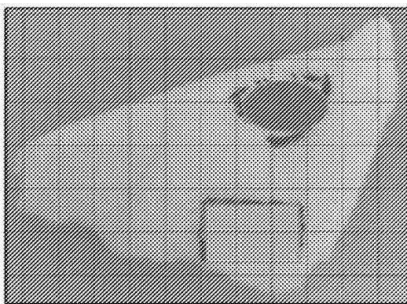
도면5a



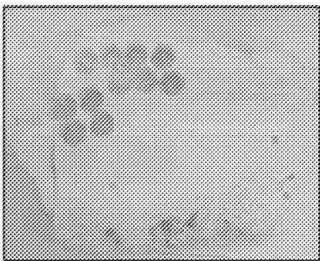
도면5b



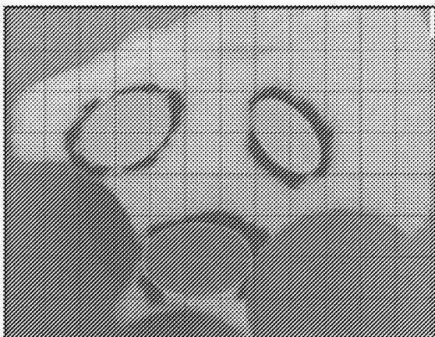
도면5c



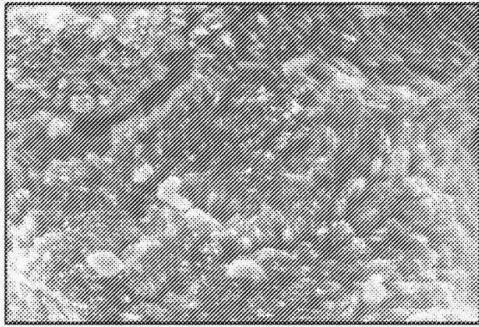
도면6a



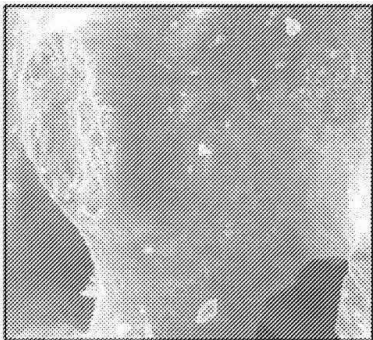
도면6b



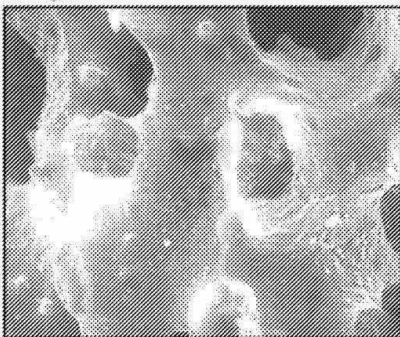
도면7a



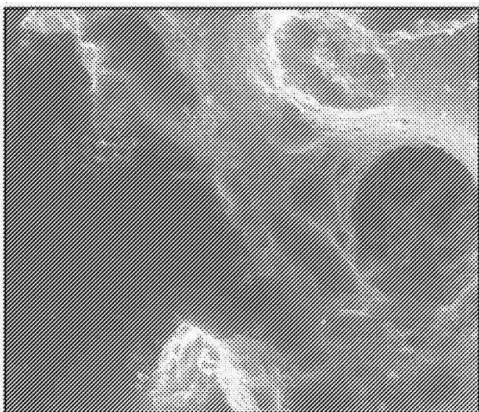
도면7b



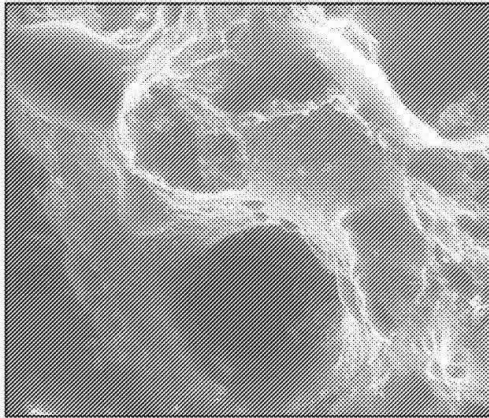
도면7c



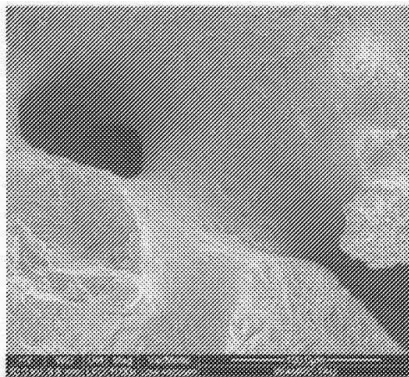
도면7d



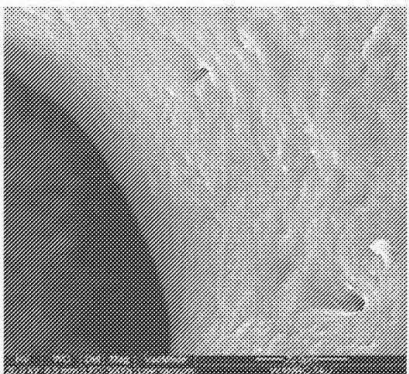
도면7e



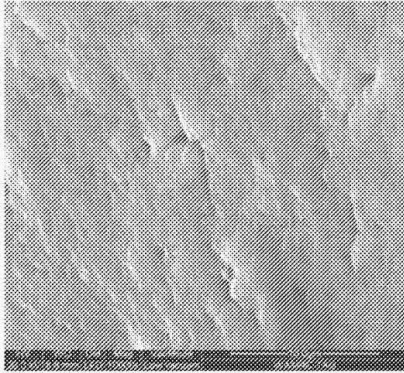
도면8a



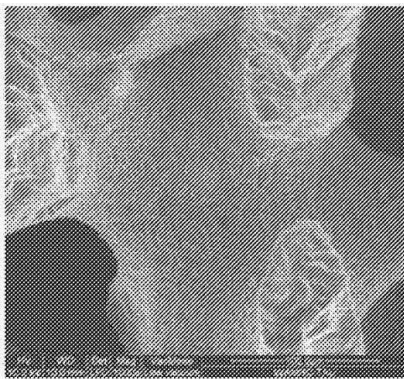
도면8b



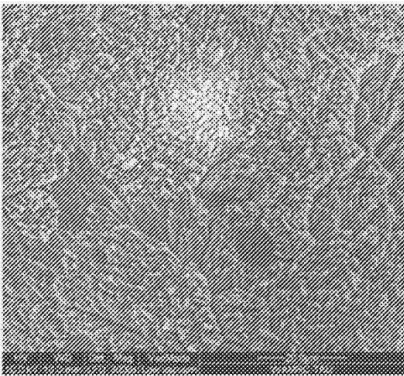
도면8c



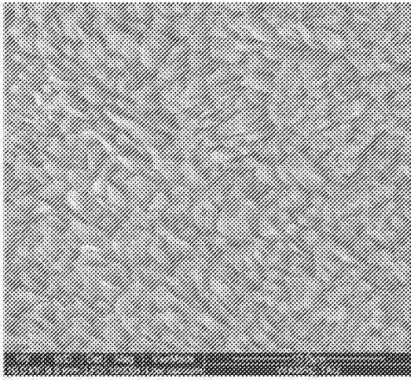
도면8d



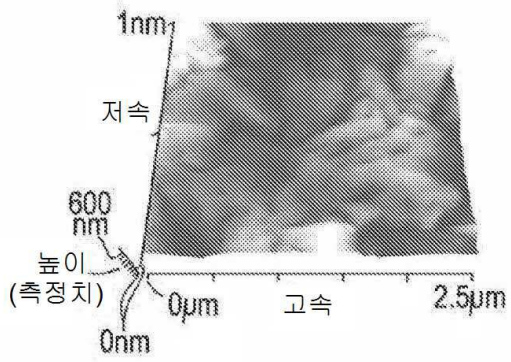
도면8e



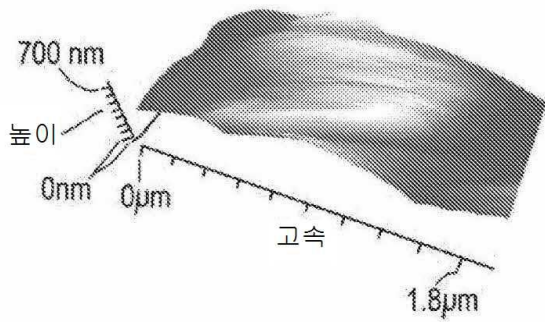
도면8f



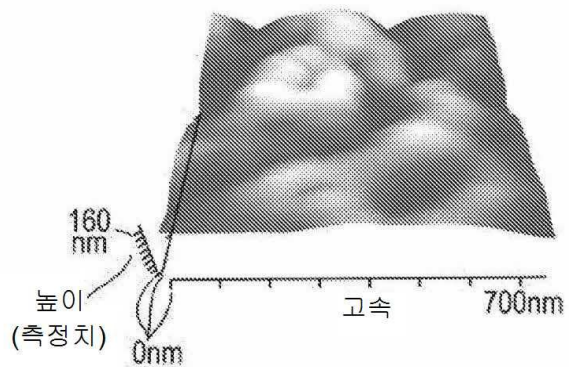
도면9a



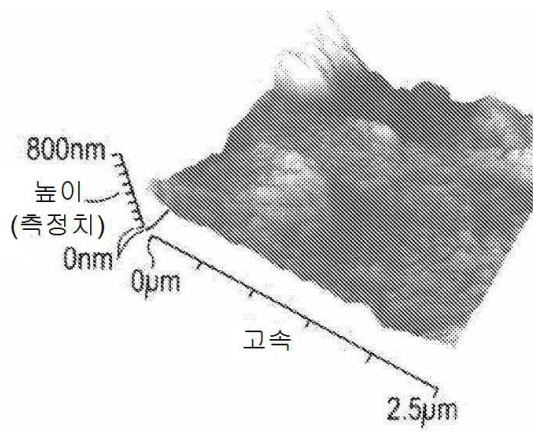
도면9b



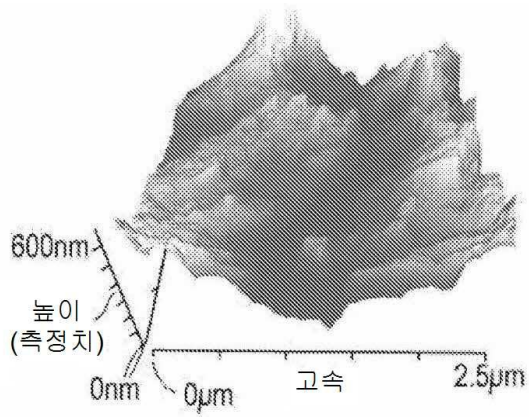
도면9c



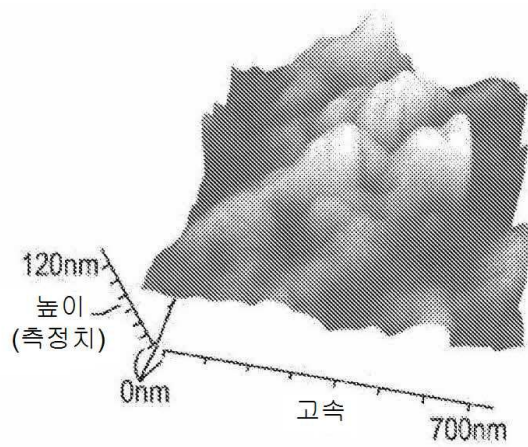
도면9d



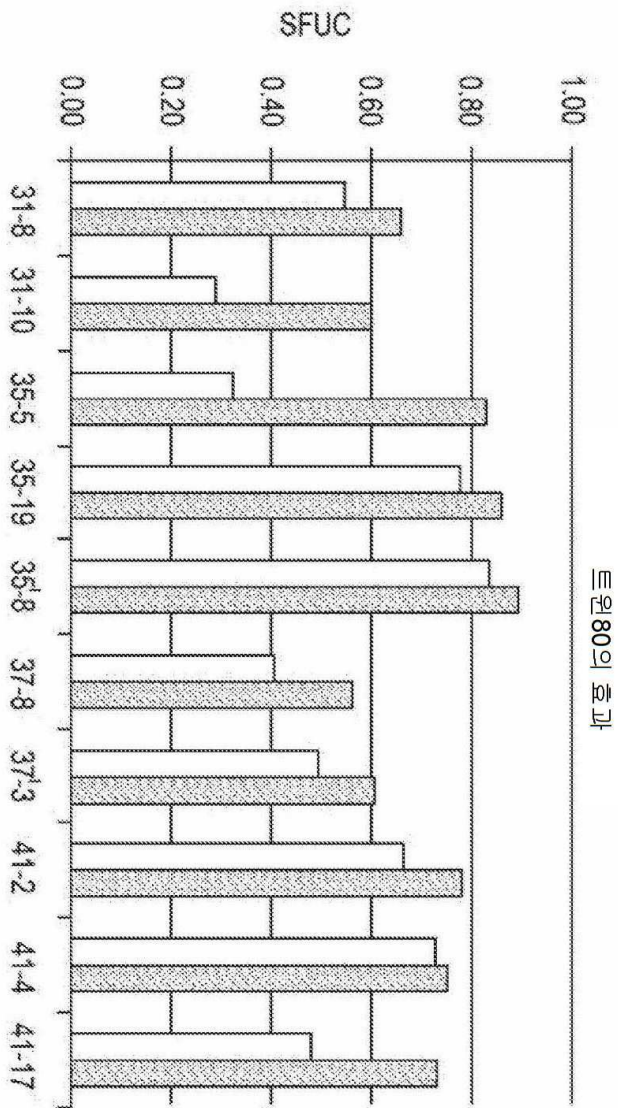
도면9e



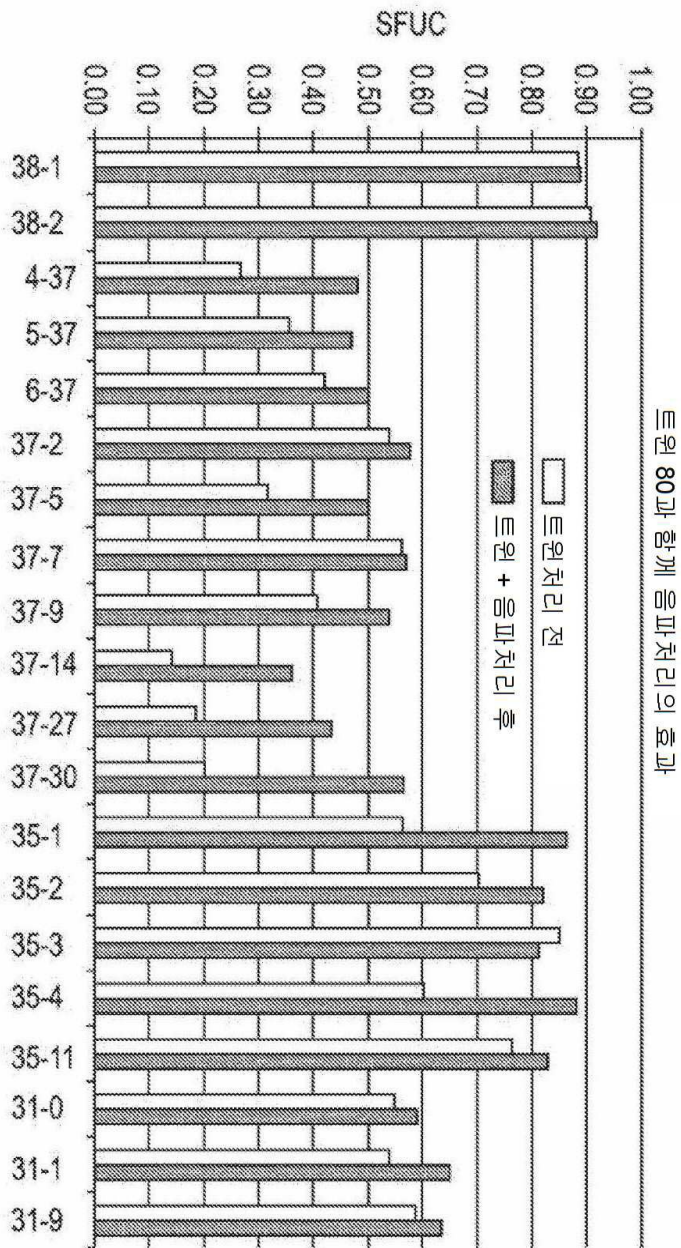
도면9f



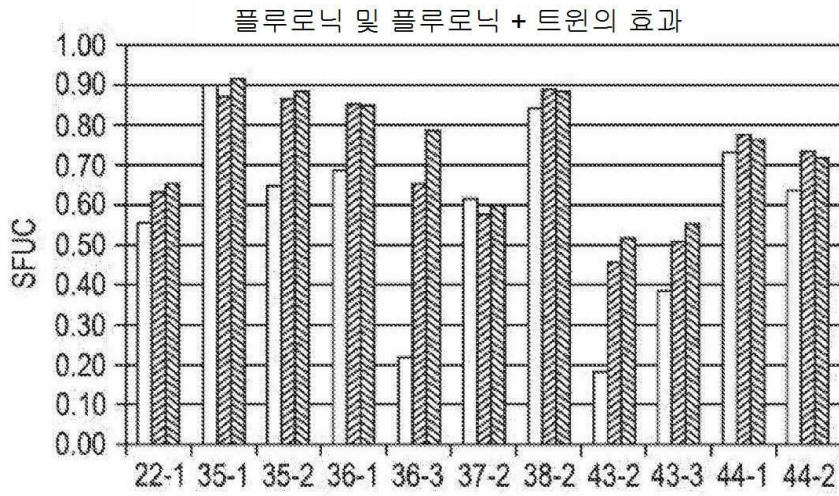
도면10



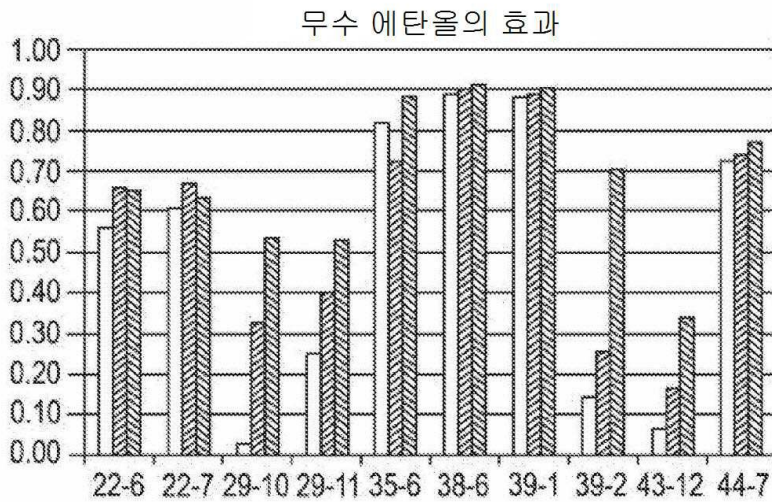
도면11



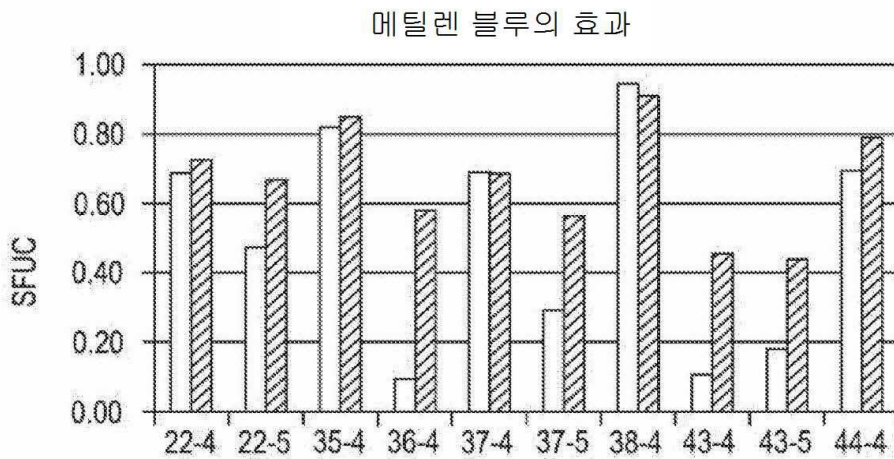
도면12



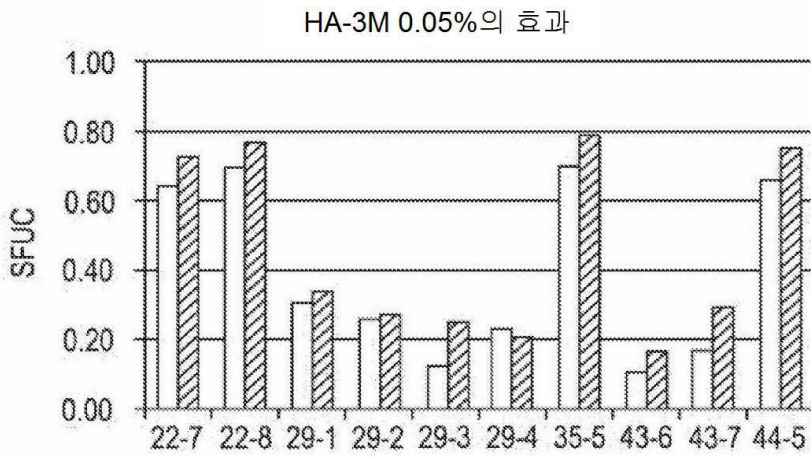
도면13



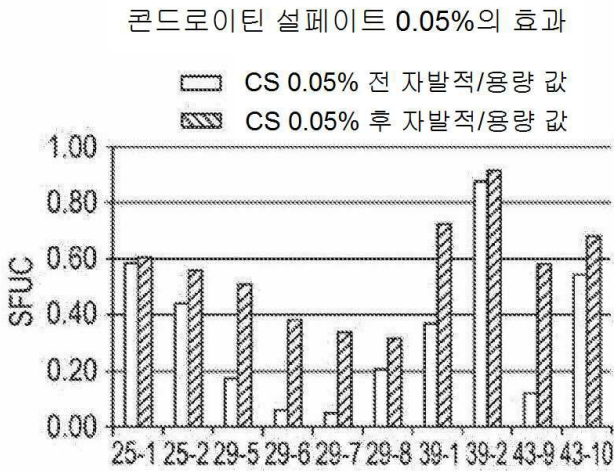
도면14



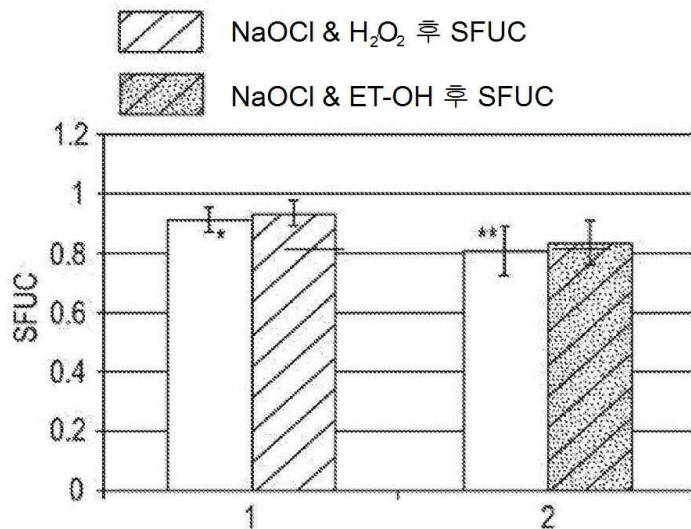
도면15



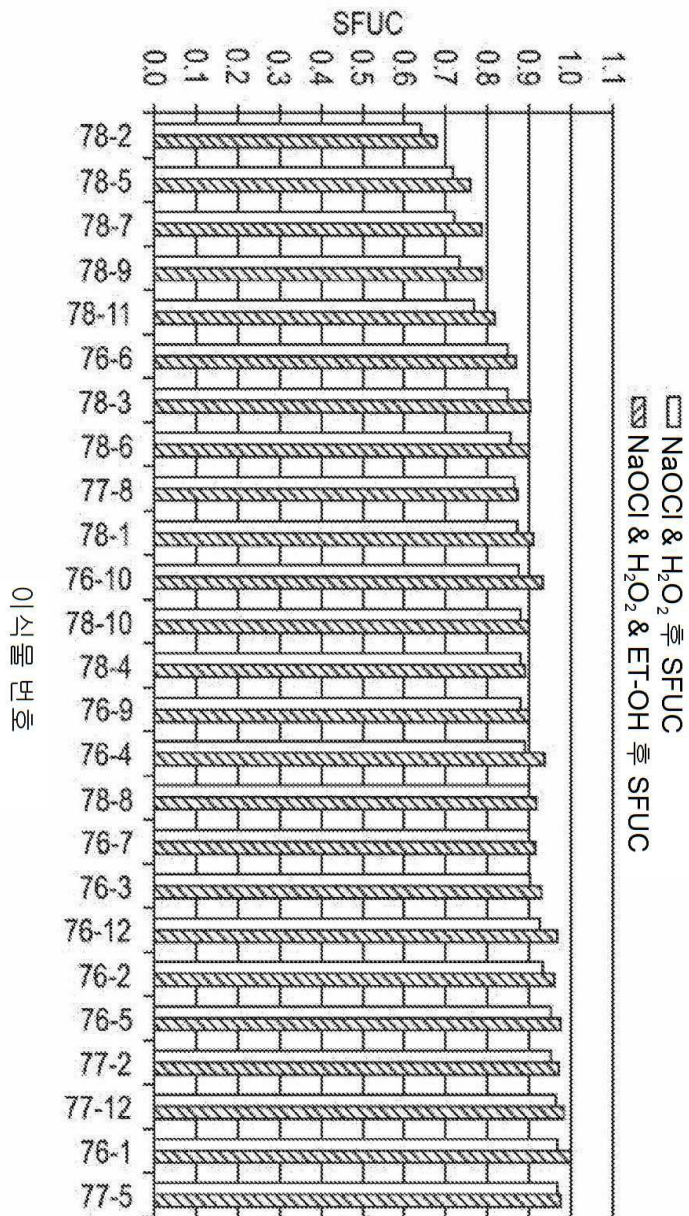
도면16



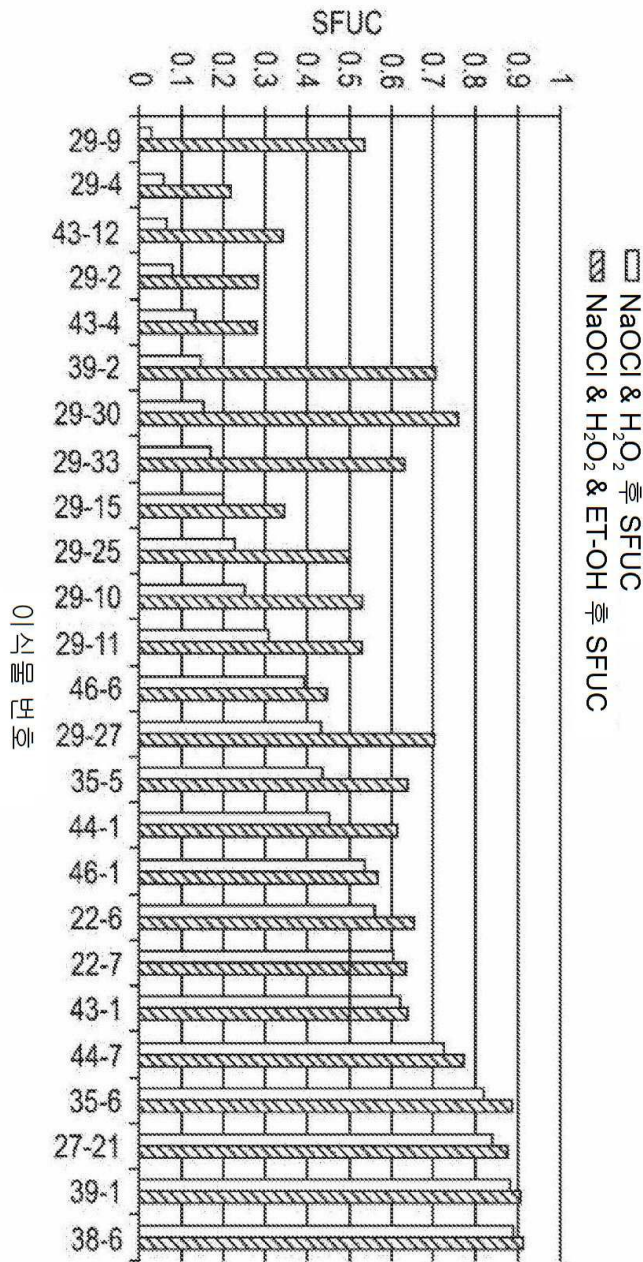
도면17



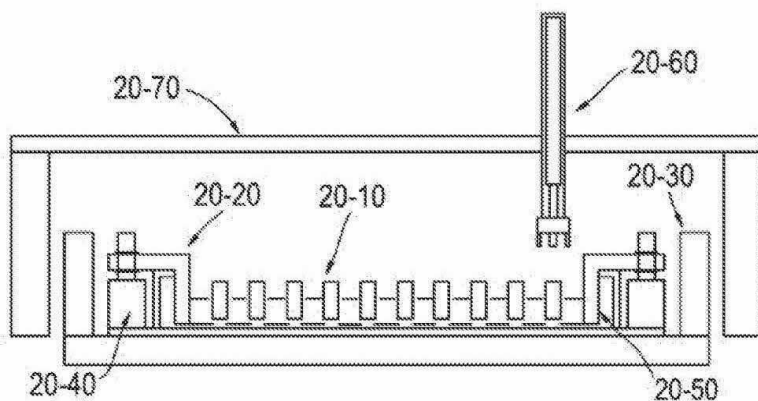
도면18



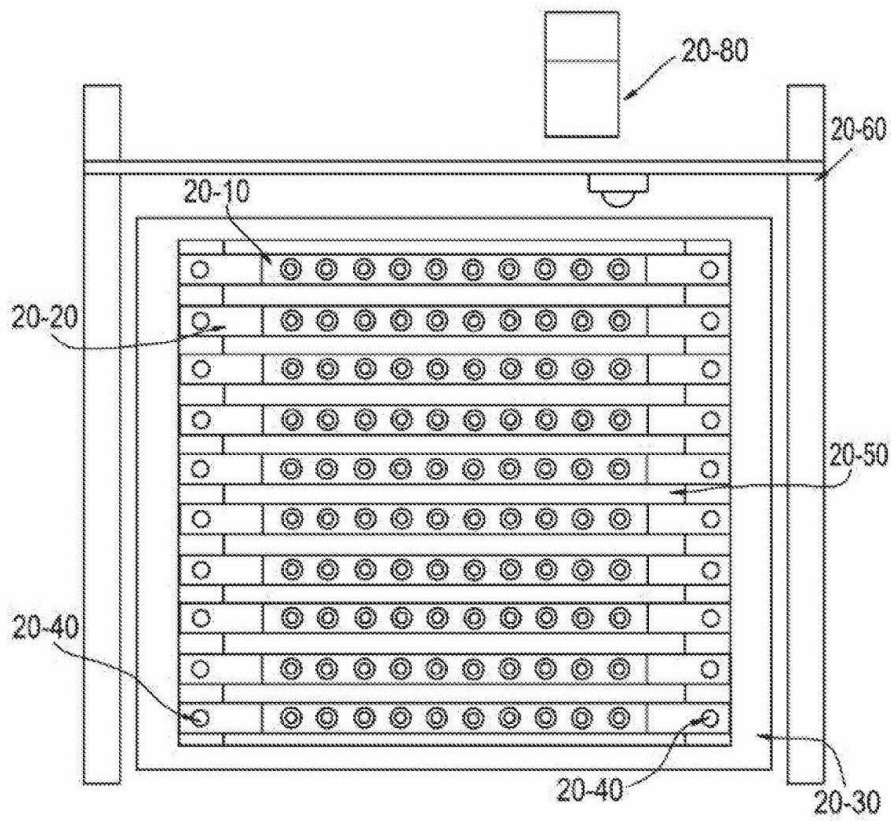
도면19



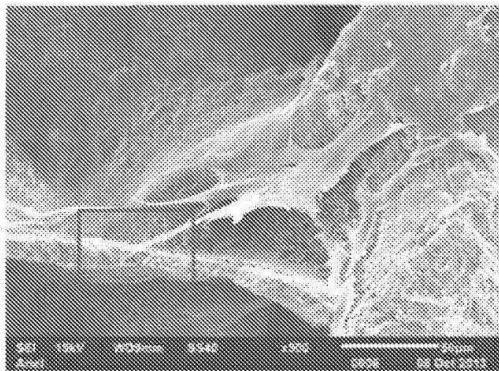
도면20a



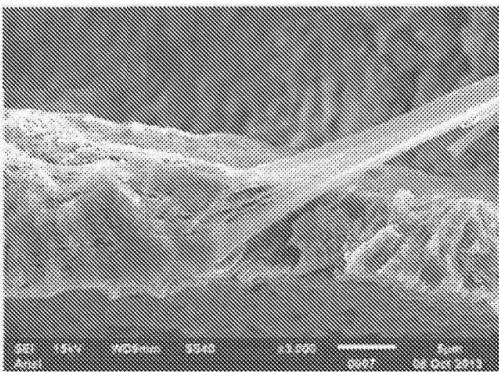
도면20b



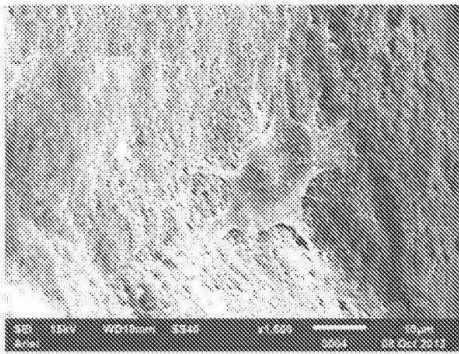
도면21a



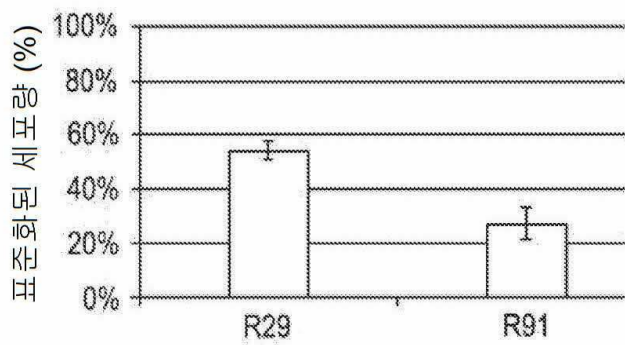
도면21b



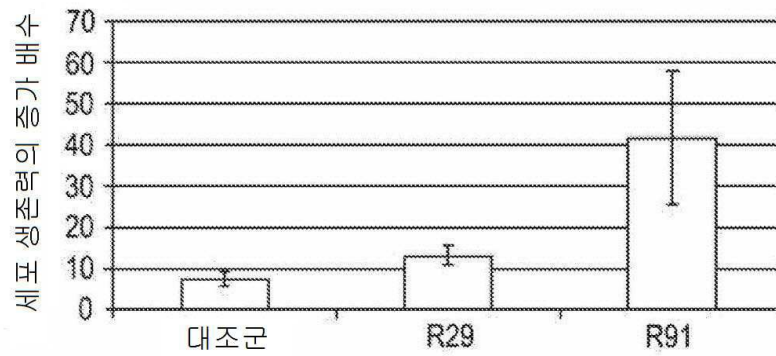
도면21c



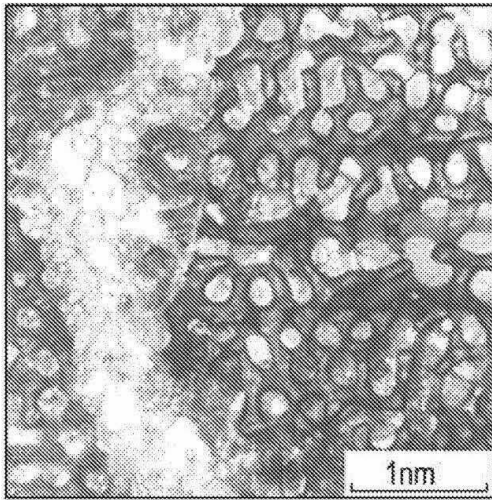
도면22a



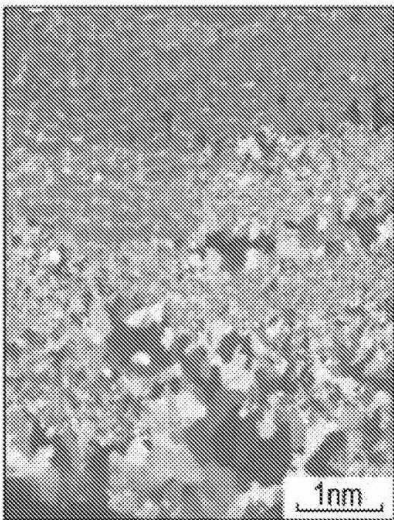
도면22b



도면23a



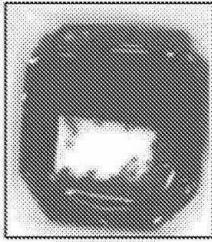
도면23b



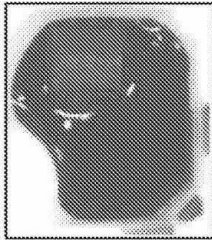
도면23c

정제 전

R48



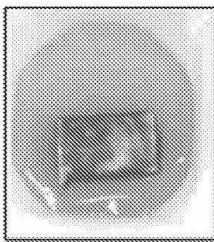
R91



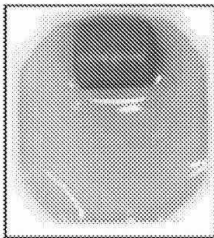
도면23d

정제 전

R48



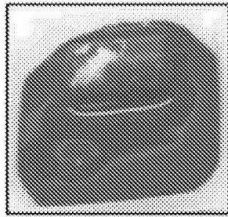
R91



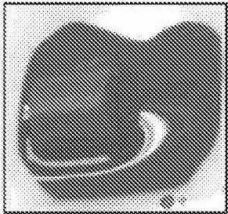
도면23e

정제 후
(에탄올 단계 후)

R48



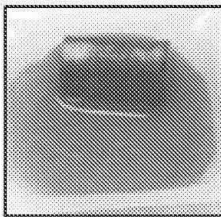
R91



도면23f

정제 후
(에탄올 단계 후)

R48



R91

