



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114432502 B

(45) 授权公告日 2023.02.03

(21) 申请号 202111681541.1

(22) 申请日 2021.12.31

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114432502 A

(43) 申请公布日 2022.05.06

(73) 专利权人 中山大学附属第八医院(深圳福田)

地址 518000 广东省深圳市福田区福田街道深南中路3025号

(72) 发明人 唐硕 彭磊 马树强 罗鹏 杨大志

(74) 专利代理机构 广州三环专利商标代理有限公司 44202
专利代理师 颜希文 郝传鑫

(51) Int. Cl.

- A61L 27/52 (2006.01)
- A61L 27/50 (2006.01)
- A61L 27/54 (2006.01)
- A61L 27/22 (2006.01)

(56) 对比文件

EP 1462126 A1, 2004.09.29

CA 2288902 A1, 1998.11.19

CA 3150452 A1, 2021.03.11

US 7485617 B1, 2009.02.03

WO 2008044824 A1, 2008.04.17

CN 105263964 A, 2016.01.20

CN 110121335 A, 2019.08.13

CN 107569488 A, 2018.01.12

CN 112807427 A, 2021.05.18

CN 105497988 A, 2016.04.20

CN 101678082 A, 2010.03.24

US 2017157030 A1, 2017.06.08

WO 2009154873 A2, 2009.12.23

JP 2016169171 A, 2016.09.23

Qihua Shen et al. Inhibiting expression of Cxcl9 promotes angiogenesis in MSCs-HUVECs coculture.《Archives of Biochemistry and Biophysics》.2019, 第108108页. (续)

审查员 魏如男

权利要求书1页 说明书6页 附图3页

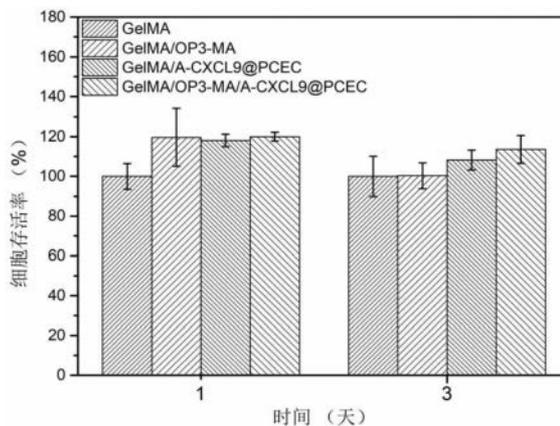
(54) 发明名称

一种负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶及其制备方法与应用

(57) 摘要

本发明属于水凝胶制备领域,具体涉及一种负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶及其制备方法与应用。本发明所述水凝胶中含有改性OP3-4多肽和负载抗CXCL9抗体的纳米复合物,本发明首次将OP3-4多肽与抗CXCL9抗体联合用于骨修复,OP3-4多肽促进成骨细胞分化并抑制骨吸收,抗CXCL9抗体通过抑制CXCL9因子的作用,促进骨中血管生成和成骨,两者联合起到促进成骨的功能,改善骨修复效果;通过将OP3-4多肽、抗CXCL9抗体改性或修饰处理后联合制备得到水凝胶,使得OP3-4多肽和抗CXCL9抗体能够随着水凝胶的

降解缓慢而长效释放,避免其短期突释导致失活的问题。



CN 114432502 B

[接上页]

(56) 对比文件

Congshan Li et al. The polypeptide OP3-4 induced osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells via protein kinase B/glycogen synthase kinase 3 β / β -catenin pathway and promoted

mandibular defect bone regeneration.

《Archives of Oral Biology》.2021,

杨大志.三嵌段高分子骨组织工程支架材料的表面多肽修饰与细胞粘附性研究.《生物骨科材料与临床研究》.2008,第4-10页.

1. 一种负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶,其特征在于,所述水凝胶中含有改性OP3-4多肽和负载抗CXCL9抗体的纳米复合物。

2. 根据权利要求1所述水凝胶,其特征在于,所述改性OP3-4多肽为甲基丙烯酰胺改性的OP3-4多肽。

3. 根据权利要求1所述水凝胶,其特征在于,所述负载抗CXCL9抗体的纳米复合物为由PCEC共聚物负载抗CXCL9抗体形成的纳米复合物。

4. 根据权利要求1所述水凝胶,其特征在于,所述水凝胶中还包括凝胶材料和光引发剂。

5. 根据权利要求4所述水凝胶,其特征在于,以凝胶材料的重量百分比计,所述水凝胶中改性OP3-4多肽的含量为1wt%;负载抗CXCL9抗体的纳米复合物的含量为0.1wt%。

6. 一种负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

将凝胶材料配制为凝胶溶液,向凝胶溶液中加入改性OP3-4多肽、负载抗CXCL9抗体的纳米复合物及光引发剂,混匀形成凝胶混合液,凝胶混合液经蓝光照射形成负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶。

7. 根据权利要求6所述制备方法,其特征在于,以凝胶材料的重量百分比计,凝胶溶液中改性OP3-4多肽的加入量为1wt%;负载抗CXCL9抗体的纳米复合物的加入量为0.1wt%;光引发剂的加入量为1wt%。

8. 根据权利要求6所述制备方法,其特征在于,所述改性OP3-4多肽的制备方法如下:

向溶解有甲基丙烯酸的PBS溶液中加入EDC、HNS搅拌均匀后,再加入OP3-4反应,经纯化、冻干制得改性OP3-4多肽。

9. 根据权利要求6所述制备方法,其特征在于,所述负载抗CXCL9抗体的纳米复合物的制备方法如下:

将PCEC共聚物分散于十二烷基磺酸钠溶液中,制得阴离子PCEC纳米乳液,向其中加入抗CXCL9抗体,经搅拌分散、离心收集沉淀,制得负载抗CXCL9抗体的纳米复合物。

10. 权利要求1~5任一项所述负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶在制备骨损伤修复材料中的应用。

一种负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明属于水凝胶制备领域,具体涉及一种负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 骨折是最严重的公共卫生问题之一,通常由创伤性骨损伤、肿瘤切除和骨炎引起。由于自体 and 同种异体骨移植的缺点,骨组织工程作为一种很有前途的治疗技术已被广泛研究和应用于修复骨缺损和重建骨组织。骨组织工程支架需要成骨特性来促进干细胞介导的成骨以及良好的物理和力学微环境。为此,支架通常用骨诱导生长因子或其他生物分子进行修饰。

[0003] 重组人骨形态发生蛋白2 (BMP-2) 是众所周知的成骨刺激因子,但是高剂量的BMP-2会导致炎症和致癌等副作用。为了减少用于诱导骨形成的BMP-2的量,可能有必要其他增骨药物。一些研究已经提出成纤维细胞生长因子FGF-2、FGF-4、转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 和多肽类药物作为增强BMP-2诱导成骨的候选材料。在这些药物中,多肽药物具有许多优点,因为它们的特性包括生产成本低,抗原抗体反应发生率低,并且结构可以很容易地改变以适应药物靶点,寻找新的多肽药物相关因子对于改善骨修复效果具有重要意义。

[0004] 骨修复支架通常会负载生长因子以刺激成骨细胞前分化增殖,激活成骨细胞功能,促进成骨细胞活性,诱导骨质再生。但是生长因子在体内的半衰期较短,这一特点限制了其在临床的应用。

发明内容

[0005] 针对现有技术存在的问题,本发明旨在提供一种负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶及其制备方法与应用。本发明首次将OP3-4多肽与抗CXCL9抗体联合用于骨修复,通过将OP3-4多肽、抗CXCL9抗体改性处理后制备得到的水凝胶,使得OP3-4多肽和抗CXCL9抗体可随着水凝胶的降解缓慢而持续释放,避免其短期突释导致失活的问题。

[0006] 基于上述目的,本发明采用的技术方案如下:

[0007] 第一方面,本发明提供一种负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体 (A-CXCL9) 的水凝胶,所述水凝胶中含有改性OP3-4多肽和负载抗CXCL9抗体的纳米复合物。

[0008] OP3-4 (YCEIEFCYLIR) 是一种NF- κ B配体受体 (RANKL) 激活剂,不仅可以抑制骨吸收,而且可以促进成骨相关蛋白的表达,实现体外和体内诱导骨形成。OP3-4与成骨细胞上的RANKL结合,增强BMP-2信号和成骨基因表达,导致成骨细胞分化。

[0009] 研究发现,在成骨细胞中mTORC1的结构性激活的小鼠表现出VEGF分泌增加,但其受体 (VEGFR2) 的磷酸化和内皮细胞的下游信号却出人意料地降低,并显著减少了骨中血管的形成。而CXC-趋化因子,趋化因子 (C-X-C基序) 配体9 (CXCL9) 是成骨细胞组成性产生的抑制骨中血管生成和成骨的VEGF信号的直接反调节分子。机制上,mTORC1通过转录上调STAT1

和增加成骨细胞中STAT1与CXCL9启动子的结合来激活CXCL9的表达。CXCL9是一种由成骨细胞分泌的血管抑制因子,可作为刺激骨中血管生成和成骨的新靶点。

[0010] 本发明水凝胶同时多肽类药物OP3-4及趋化因子CXCL9抗体,利用OP3-4多肽促进成骨细胞分化并抑制骨吸收,抗CXCL9抗体促进骨中血管生成和成骨,两者联合起到促进成骨的功能,为确保两者在体内发挥长效作用,本发明通过对OP3-4多肽和抗CXCL9抗体进行修饰,使得OP3-4多肽和抗CXCL9抗体能够随水凝胶的降解缓慢长效释放,避免了其短期内突释导致失活的现象。

[0011] 进一步地,改性OP3-4多肽为甲基丙烯酰胺改性的OP3-4多肽(OP3-MA)。

[0012] 进一步地,负载抗CXCL9抗体的纳米复合物为由PCEC共聚物负载抗CXCL9抗体形成的纳米复合物。

[0013] 进一步地,水凝胶中还包括凝胶材料和光引发剂。

[0014] 进一步地,以凝胶材料的重量百分比计,所述水凝胶中改性OP3-4多肽的含量为1wt%;负载抗CXCL9抗体的纳米复合物的含量为0.1wt%。

[0015] 第二方面,本发明提供一种负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶的制备方法,包括如下步骤:

[0016] 将凝胶材料配制为凝胶溶液,向凝胶溶液中加入改性OP3-4多肽、负载抗CXCL9抗体的纳米复合物及光引发剂,混匀形成凝胶混合液,凝胶混合液经蓝光照射形成负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶。

[0017] 进一步地,以凝胶材料的重量百分比计,凝胶溶液中改性OP3-4多肽的加入量为1wt%;负载抗CXCL9抗体的纳米复合物的加入量为0.1wt%;光引发剂的加入量为1wt%。

[0018] 进一步地,改性OP3-4多肽的制备方法如下:

[0019] 向溶解有甲基丙烯酸的PBS溶液中加入EDC、NHS搅拌均匀后,再加入OP3-4反应,经纯化、冻干制得改性OP3-4多肽。

[0020] 进一步地,负载抗CXCL9抗体的纳米复合物的制备方法如下:

[0021] 将PCEC共聚物分散于十二烷基磺酸钠溶液中,制得阴离子PCEC纳米乳液,向其中加入抗CXCL9抗体,经搅拌分散、离心收集沉淀,制得负载抗CXCL9抗体的纳米复合物。

[0022] 第三方面,本发明提供上述负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶在骨损伤修复中的应用。

[0023] 与现有技术相比,本发明的有益效果如下:

[0024] 本发明首次将OP3-4多肽与抗CXCL9抗体联合用于骨修复,OP3-4多肽促进成骨细胞分化并抑制骨吸收,抗CXCL9抗体刺激骨中血管生成和成骨,两者联合起到促进成骨的功能,改善骨修复效果;通过将OP3-4多肽、抗CXCL9抗体改性或修饰处理后联合制备得到水凝胶,使得OP3-4多肽和抗CXCL9抗体能够随着水凝胶的降解缓慢而长效释放,避免其短期突释导致失活的问题。

附图说明

[0025] 图1为OP3-MA核磁氢谱图;

[0026] 图2为PCEC、A-CXCL9@PCEC的电子透射电镜图;

[0027] 图3为PCEC、A-CXCL9@PCEC的Zeta电位;

- [0028] 图4为负载OP3-4、OP3-MA的水凝胶的累积释放曲线；
[0029] 图5为负载CXCL9、A-CXCL9@PCEC的水凝胶的累积释放曲线；
[0030] 图6为rBMSCs在不同水凝胶中的细胞毒性测试结果。

具体实施方式

[0031] 为更好地说明本发明的目的、技术方案和优点，下面将结合具体实施例对本发明作进一步说明。本领域技术人员应当理解，此处所描述的具体实施例仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

[0032] 实施例中所用的试验方法如无特殊说明，均为常规方法；所用的材料、试剂等，如无特殊说明，均可从商业途径得到。

[0033] 实施例1

[0034] 本实施例提供一种负载OP3-4多肽、抗CXCL9抗体的水凝胶，其制备方法包括如下步骤：

[0035] 1、制备甲基丙烯酰胺改性OP3-4多肽(OP3-MA)

[0036] 取500mg OP3-4 ($M_w=1449, 0.0345\text{mmol}$)，将其溶于10mL $\text{pH}=7.4$ 的PBS溶液中，吸取29.1 μL 甲基丙烯酸 ($M_w=86, \sim 0.0345\text{mmol}$)，将其溶于10mL $\text{pH}=7.4$ 的PBS溶液中，加入13.25mg EDC ($M_w=192, \sim 0.069\text{mmol}$)，搅拌15min后，加入7.94mg NHS ($M_w=115, \sim 0.069\text{mmol}$)，继续搅拌15min，将其缓慢滴加到上述OP3-4溶液中，反应6h，然后用截留分子量1000的透析袋于纯水中透析12h，冻干，得到甲基丙烯酰胺改性的OP3-4多肽，记为OP3-MA。

[0037] 核磁氢谱测试：

[0038] 称取3~5mg OP3-MA，将其溶于氘代水中，待溶液完全溶解至澄清后，装入干净的核磁管中，利用核磁共振光谱仪在室温条件下进行核磁结构测定，并采用MestReNova软件进行图谱分析。OP3-MA的核磁氢谱图如图1所示，从图中看到，在化学位移 $\text{ppm}=6.10$ 及 $\text{ppm}=5.68$ 处有两吸收峰，归属于甲基丙烯酰胺键中双键上的氢，证明OP3-4改性成功。

[0039] 2、制备负载抗CXCL9抗体的纳米复合物(A-CXCL9@PCEC)

[0040] 在氮气保护下将1g PEG和6g ϵ -己内酯引入干燥的三颈玻璃烧瓶中。除去PEG和 ϵ -己内酯的残留水分后，添加20 μL 异辛酸锡(II)，将混合物保持在130 $^{\circ}\text{C}$ 并搅拌6小时。然后将系统在真空条件下加热至180 $^{\circ}\text{C}$ ，并再保持30分钟。在此时在氮气保护下将系统冷却至室温的同时，将液体溶解在二氯甲烷中，并使用过量的冷石油醚从滤液中再沉淀出来，制得聚己内酯-聚乙二醇-聚己内酯共聚物(简称：PCEC共聚物)，再将PCEC共聚物过滤并真空干燥至恒重，得到纯化的PCEC共聚物。

[0041] 将30mg PCEC共聚物溶于5mL丙酮-乙酸乙酯溶剂中，并将5mg十二烷基磺酸钠溶于10mL水中。首先，用转子-定子装置在搅拌下以10000rpm的速度乳化十二烷基磺酸钠溶液，16分钟后，形成了O/W乳液，并立即在37 $^{\circ}\text{C}$ ，100rpm和-0.08MPa的条件下通过旋转蒸发仪将其蒸发，得到浓缩浆液。最后，将浓缩浆液透析以除去游离的十二烷基磺酸钠，得到含有阴离子PCEC纳米颗粒的乳液，将乳液于4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。

[0042] 取上述PCEC乳液5mL (0.2mg/mL)，加入10 μg 抗CXCL9抗体，将其加入到PCEC溶液中，混合搅拌6h，然后14000rpm离心30min，去除上清液，将沉淀重新分散于 $\text{pH}=7.4$ 的PBS溶液

中,即得到A-CXCL9@PCEC纳米复合物,将其于4℃条件下保存。

[0043] 性能测试:

[0044] 1) 电子透射电镜 (TEM) 测试

[0045] 分别称取1mL浓度为1mg/mL的PCEC及A-CXCL9@PCEC溶液,用0.45 μ m滤膜过滤,滤液滴在铜网的碳支持膜上,空气中自然干燥后,置于高分辨透射电镜中观察纳米粒子的总体形貌,两者的电子透射电镜图如图2所示,从图中看到,PCEC粒子为类似介孔的结构,这些介孔结构为其吸附生长因子提供了有利空间,吸附了A-CXCL9后,A-CXCL9@PCEC的电镜图中介孔结构几乎消失,可初步判断A-CXCL9负载成功。

[0046] 2) Zeta电位检测

[0047] 分别取1mL浓度为1mg/mL的PCEC和A-CXCL9@PCEC,用马尔文激光粒度仪测试其Zeta电位。测试结果如图3所示,PCEC的Zeta电位为 -32.7 ± 0.608 mV,而A-CXCL9@PCEC的Zeta电位为 -7.02 ± 0.057 mV,两者电位相差较大,进一步表明A-CXCL9@PCEC中A-CXCL9成功负载于PCEC。

[0048] 3、制备GelMA/OP3-MA/A-CXCL9@PCEC水凝胶

[0049] 称取10g的明胶溶解在100mL的蒸馏水中,60℃溶解后,加入6mL的甲基丙烯酸酐,常温下反应8h,蒸馏水透析3~5日(截留分子量:3500),于12000rpm下离心5min,中性滤纸过滤,将滤液冻干,即得甲基丙烯酰胺化明胶(GelMA)。

[0050] 称取0.1g GelMA,将其溶于1mL PBS中,配制成浓度为0.1g/mL的GelMA溶液,向GelMA溶液加入1mg OP3-MA及100 μ g A-CXCL9@PCEC,称取1mg苯基-2,4,6-三甲基苯甲酰磷酸锂(LAP)作为光引发剂,加入到上述溶液中,吸取500 μ L溶液至48孔板中,用456nm蓝光照射1min后即可形成稳定的凝胶,即得GelMA/OP3-MA/A-CXCL9@PCEC水凝胶。

[0051] 实施例2

[0052] 本实施例拟探究负载OP3-4多肽改性以及负载A-CXCL9的处理对其体外释放影响。具体试验方法如下:

[0053] 1、试样制备

[0054] 试样1(GelMA/OP3-4)

[0055] 试样1为一种负载OP3-4多肽的水凝胶(GelMA/OP3-4),其中,OP3-4多肽未经过改性处理,本试样水凝胶的制备方法如下:

[0056] 称取0.1g GelMA,将其溶于1mL PBS溶液中,配制成浓度为0.1g/mL的GelMA溶液,向其中加入1mg OP3-4多肽,称取1mg苯基-2,4,6-三甲基苯甲酰磷酸锂(LAP)作为光引发剂,加入到上述溶液中,吸取500 μ L溶液至48孔板中,用456nm蓝光照射1min后即可形成稳定的凝胶,记为GelMA/OP3-4。

[0057] 试样2(GelMA/OP3-MA)

[0058] 试样2为一种负载OP3-4改性多肽的水凝胶(GelMA/OP3-MA),其中,OP3-4多肽经过甲基丙烯酰胺改性处理,改性OP3-4多肽参照实施例1中所述方法制得,本试样水凝胶的制备方法如下:

[0059] 称取0.1g GelMA,将其溶于1mL PBS溶液中,配制成浓度为0.1g/mL的GelMA溶液,加入1mg OP3-MA,称取1mg苯基-2,4,6-三甲基苯甲酰磷酸锂(LAP)作为光引发剂,加入到上述溶液中,吸取500 μ L溶液至48孔板中,用456nm蓝光照射1min后即可形成稳定的凝胶,记为

Ge1MA/OP3-MA。

[0060] 试样3 (Ge1MA/A-CXCL9)

[0061] 试样3为一种负载抗CXCL9抗体的水凝胶 (Ge1MA/A-CXCL9), 其中, A-CXCL9未负载于PCEC共聚物, 本试样水凝胶的制备方法如下:

[0062] 称取0.1g Ge1MA, 将其溶于1mL PBS溶液中, 配制成浓度为0.1g/mL的Ge1MA溶液, 加入1 μ g A-CXCL9, 称取1mg苯基-2,4,6-三甲基苯甲酰磷酸锂 (LAP) 作为光引发剂, 加入到上述溶液中, 吸取500 μ L溶液至48孔板中, 用456nm蓝光照射1min后即可形成稳定的凝胶, 记为Ge1MA/A-CXCL9。

[0063] 试样4 (Ge1MA/A-CXCL9@PCEC)

[0064] 试样4为一种负载抗CXCL9抗体的水凝胶 (Ge1MA/A-CXCL9@PCEC), 其中, A-CXCL9负载于PCEC共聚物, 其制备方法参考实施例1, 本试样水凝胶的制备方法如下:

[0065] 称取0.1g Ge1MA, 将其溶于1mL PBS溶液中, 配制成浓度为0.1g/mL的Ge1MA溶液, 加入100 μ g A-CXCL9@PCEC, 称取1mg苯基-2,4,6-三甲基苯甲酰磷酸锂 (LAP) 作为光引发剂, 加入到上述溶液中, 吸取500 μ L溶液至48孔板中, 用456nm蓝光照射1min后即可形成稳定的凝胶, 记为Ge1MA/A-CXCL9@PCEC。

[0066] 2、体外释放测试

[0067] 为了评价OP3-4及A-CXCL9的体外释药行为, 分别将OP3-4、OP3-MA、A-CXCL9和A-CXCL9@PCEC包裹在水凝胶中, 分别如试样1、试样2、试样3和试样4所示水凝胶。

[0068] 将上述四种水凝胶浸入10mL pH=7.4的PBS溶液中, 密封后置于37 $^{\circ}$ C、100rpm的恒温摇床中模拟体外释放。在指定的时间点 (0.5d, 1d, 2d, 3d, 5d, 7d和8d) 取1mL释放液, 同时补加1mL新鲜的PBS溶液。测定释放液中OP3-4或A-CXCL9的浓度, 其中, OP3-4用紫外分光光度计测试其浓度, A-CXCL9用ELISA测试其浓度, 计算OP3-4和A-CXCL9的累积释放量。

[0069] 结果如图4和图5所示, 图4为负载OP3-4、OP3-MA的水凝胶的累积释放曲线; 图5为负载A-CXCL9、A-CXCL9@PCEC的水凝胶的累积释放曲线。从图4和图5中均可看到, 未经修饰的OP3-4和A-CXCL9均存在突释的现象, 而经过修饰的OP3-MA和A-CXCL9@PCEC则能够在8天的时间内缓慢持续长效释放。

[0070] 实施例3

[0071] 本实施例通过细胞试验探究各个水凝胶试样的细胞毒性, 具体试验方法如下:

[0072] 将培养的大鼠骨髓间充质干细胞 (rBMSCs) 用0.25%胰酶消化悬浮后, 以每孔密度为 2×10^4 个/mL的细胞悬液接种在48孔板上。培养12h后取出原培养液, 在各水凝胶试样上接种含 10^5 /mL的细胞悬液100 μ L。每组至少设5孔。每隔24h换液一次, 实验设置1d、3d两个时间点。其中各水凝胶试样分别为参照实施例1、2中所述方法制得的Ge1MA、Ge1MA/OP3-MA、Ge1MA/A-CXCL9@PCEC和Ge1MA/OP3-MA/A-CXCL9@PCEC。

[0073] 具体操作方法如下: 采用CCK8定量分析细胞的存活率, 在指定的时间间隔取出相应的孔板, 每孔加100 μ L CCK-8工作液, 在37 $^{\circ}$ C恒温二氧化碳培养箱 (含5%的CO₂) 中孵育1~2h后, 用酶标仪在450nm波长处测定吸光度 (OD), 按照公式计算细胞存活率:

[0074] 细胞存活率 (%) = $(OD_{\text{实验组}} - OD_{\text{空白组}}) / (OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{空白组}}) \times 100\%$

[0075] rBMSCs在不同水凝胶中的细胞毒性测试结果如图6所示, 从图中可看出, 相较于纯Ge1MA水凝胶, 添加了生长因子的水凝胶对细胞增殖具有促进作用, 在试验的第一天,

Ge1MA/OP3-MA、Ge1MA/A-CXCL9@PCEC和Ge1MA/OP3-MA/A-CXCL9@PCEC组水凝胶相对于Ge1MA水凝胶具有120%的存活率,在试验的第三天,Ge1MA/OP3-MA/A-CXCL9@PCEC组水凝胶相较于Ge1MA/OP3-MA和Ge1MA/A-CXCL9@PCEC具有更高的存活率,这表明随着时间增长,两种生长因子联用具有更优的促进细胞增殖的效果。

[0076] 最后所应当说明的是,以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非对本发明保护范围的限制,尽管参照较佳实施例对本发明作了详细说明,本领域的普通技术人员应当理解,可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换,而不脱离本发明技术方案的实质和范围。

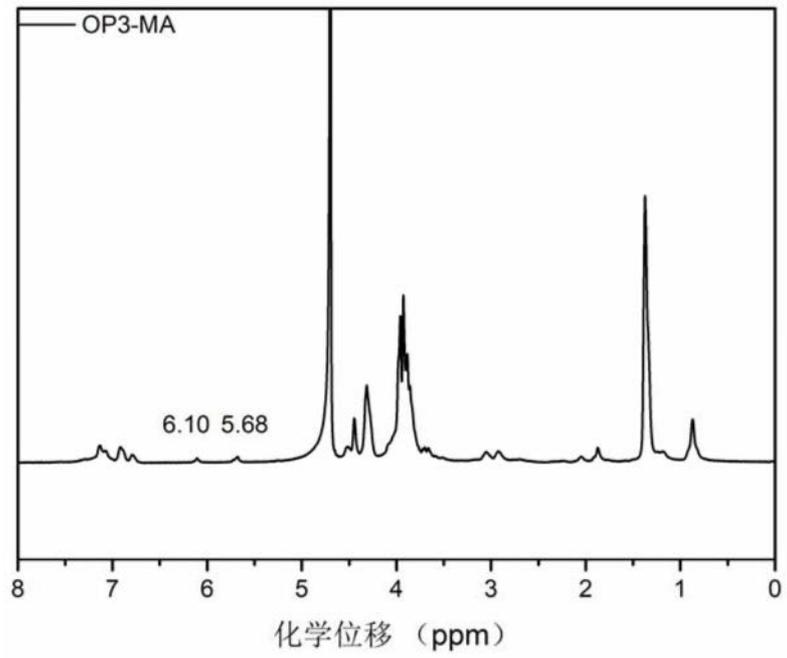


图1

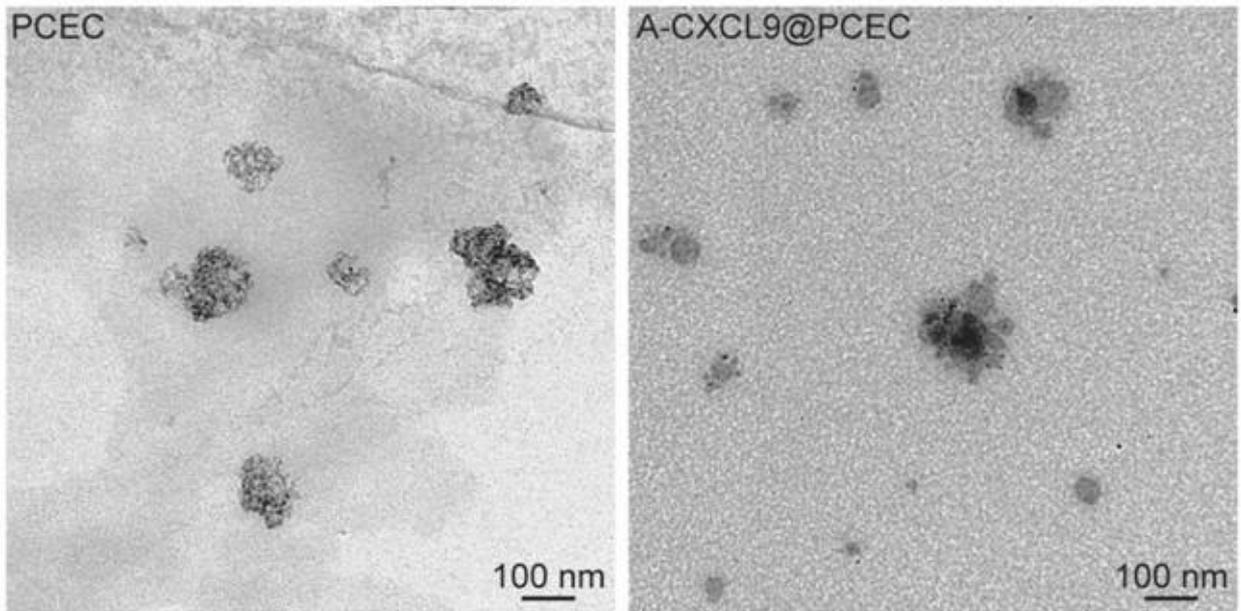


图2

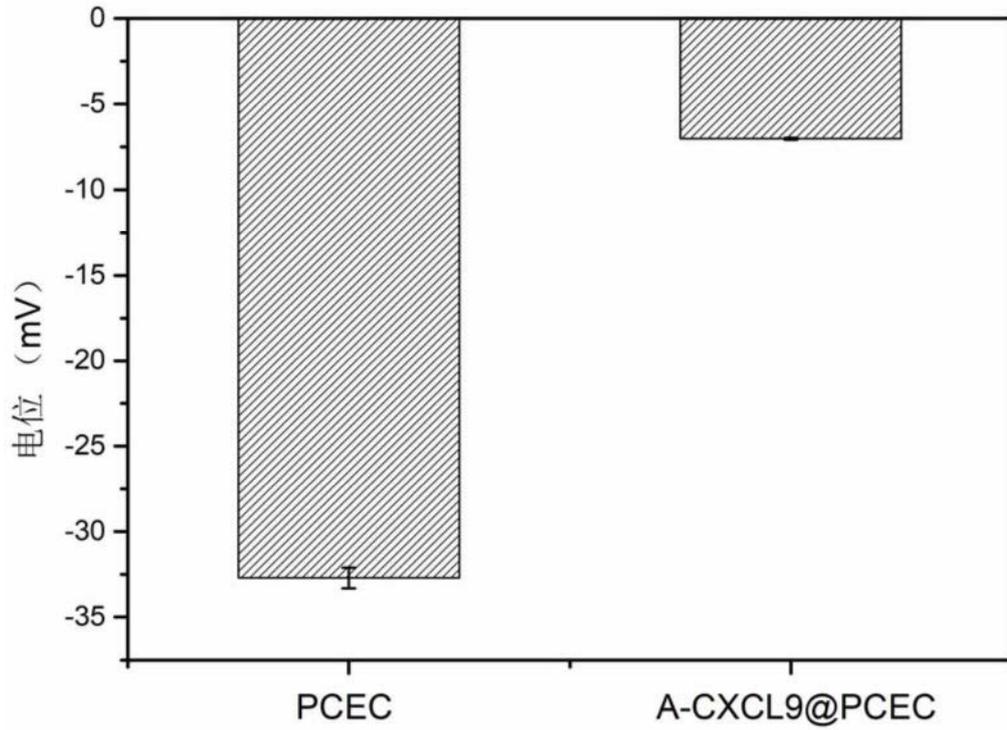


图3

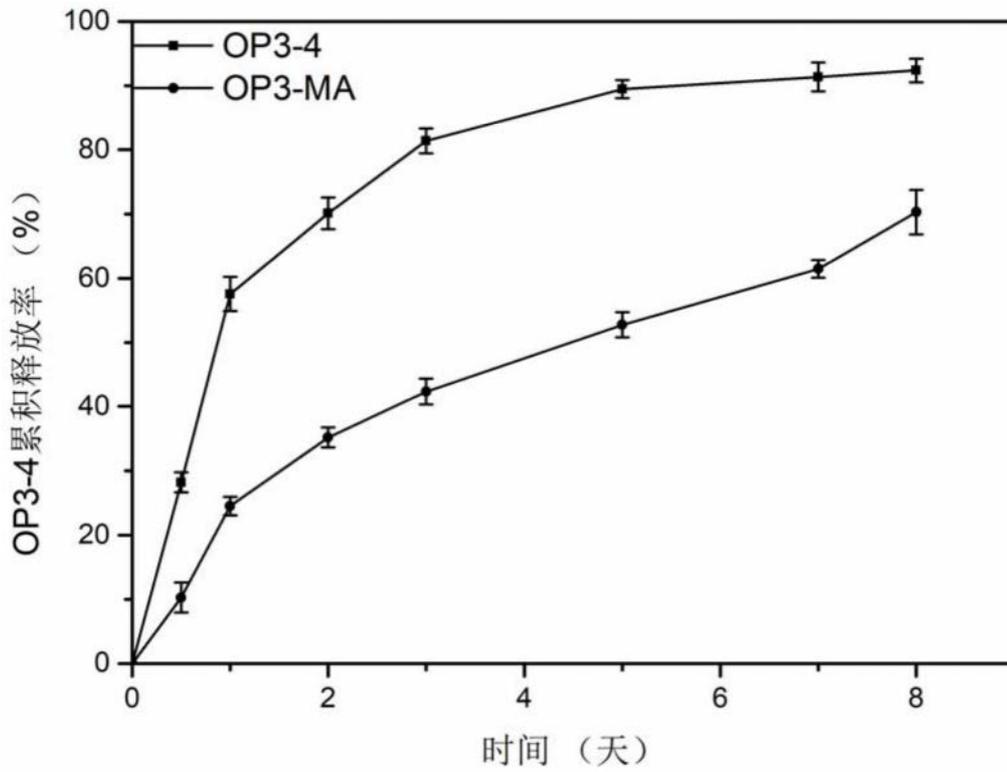


图4

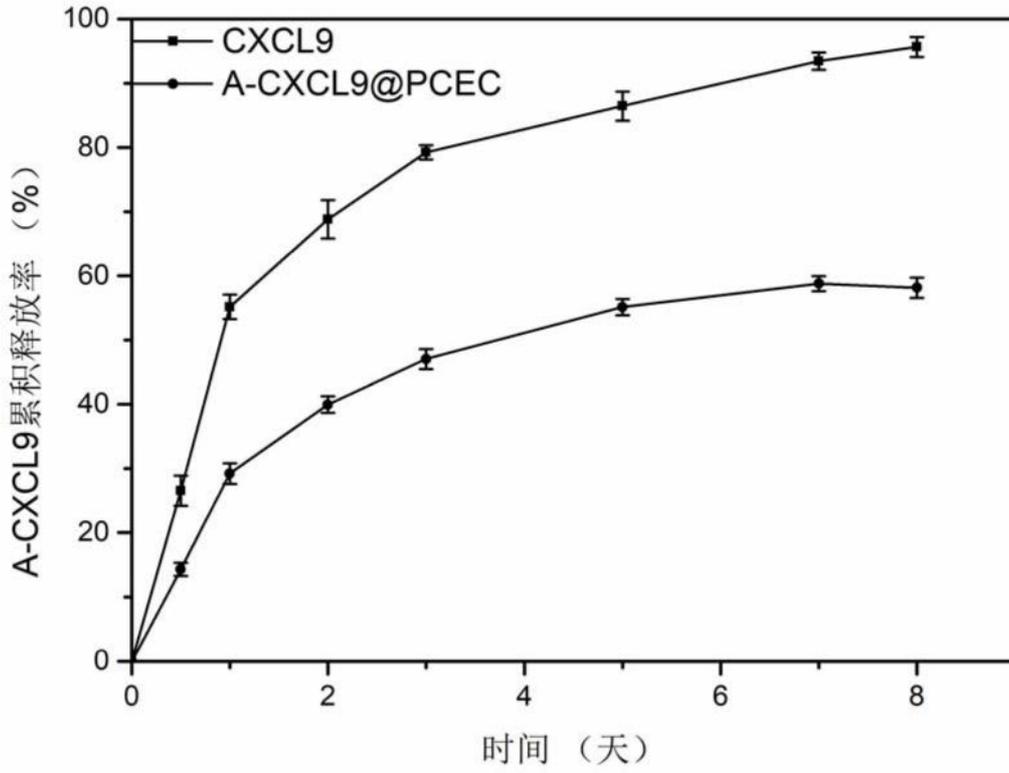


图5

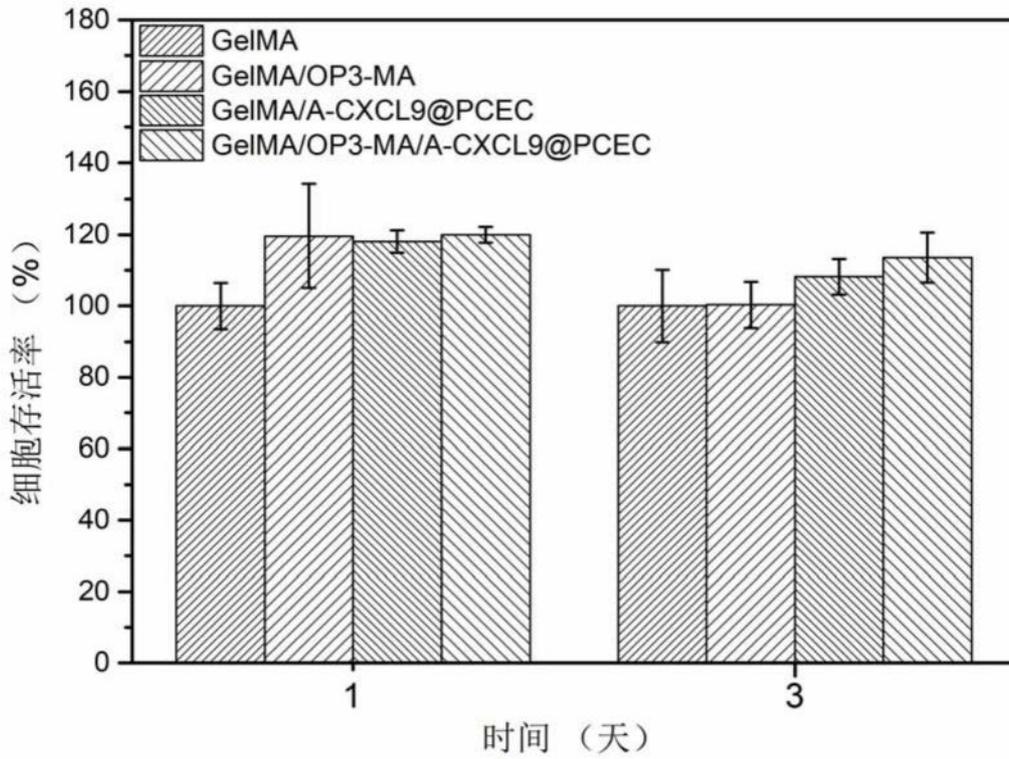


图6