



가교 결합제 및 이를 이용하여 제조된 하이드로젤

서울대학교 - 김병기 교수님

기술 분류	BT(LC0319. 바이오생체재료)
기술 분야	기능성 소재
적응증	조직접착 및 지혈용 소재, 조직재생 및 충전용 임플란트 소재, 생리활성 물질 또는 약물 전달체용 담체 등을 포함한 다양한 생의학적 용도로 사용 가능
기술 완성도 (TRL)	<input type="checkbox"/> 아이디어 단계 <input checked="" type="checkbox"/> 연구개발 진행단계 (추가실험 필요한 단계) <input type="checkbox"/> 연구개발 완료단계 (충분한 실험 데이터가 확보된 단계) <input type="checkbox"/> 전임상 단계 <input type="checkbox"/> 초기 임상(P1/2a) <input type="checkbox"/> 후기 임상(P2b/3)
관련특허	I. 버크홀데리아 유래 티로시나아제를 이용하여 제조된 접착력을 가지는 가교 결합 물질, 그의 제조 방법 및 그의 응용 (출원번호: 10-2019-0052248) - PCT 출원 (PCT/KR2019/005607)

01 기술 개요

기술 개요	버크홀데리아 유래 티로시나아제를 이용하여 제조된 접착력을 가지는 가교 결합 물질, 이의 제조 방법 및 이의 용도를 제공함
기술 특성	<p>본 기술은 페놀 유도체가 도입된 히알루론산 등의 고분자에 버크홀데리아 유래 티로시나아제를 측매로 이용하여 가교 결합시키는 단계를 포함하는 접착성 하이드로젤 조성물의 제조 방법 및 이의 의료용 생체재료 용도를 개시함</p> <p>본 기술은 히알루론산 등의 다양한 생체 고분자를 사용하면서 접착력을 가지는 효과적인 지지체가 될 수 있는 하이드로젤 조성물을 제공하고, 최소 침습에 용이할 정도의 접착력을 가지는 가교 결합 물질과 그 제조 방법 및 그 응용 발명을 제공하기 위한 것임</p>

	<ol style="list-style-type: none"> 1. 촉매로 이용되는 버크홀데리아 타일란덴시스 유래 티로시나아제 제조 2. 버크홀데리아 타일란덴시스 유래 티로시나아제에 의해 가교된 히알루론산 하이드로젤 3. 버크홀데리아 타일란덴시스 유래 티로시나아제에 의해 가교된 젤라틴 하이드로젤 4. 버크홀데리아 타일란덴시스 유래 티로시나아제에 의해 가교된 키토산 하이드로젤 5. 버크홀데리아 타일란덴시스 유래 티로시나아제에 의해 가교된 주입 가능한 하이드로젤 제조 <p>⇒ 원하는 모양의 하이드로젤 제조 가능성을 확인(물성 평가 우수)</p>
<p>기술 적용(활용) 가능분야</p>	<p>조직접착 및 지혈용 소재(예: 피부 상처 접착제, 위궤양 제거 후 수복/지혈제 등), 상처 치료 및 봉합사(suture) 대체기술, 조직재생 및 충전용 임플란트 소재, 생리활성 물질 또는 약물 전달체용 담체, 3D 프린팅용 등을 포함한 다양한 생의학적 용도로 사용 가능</p>

02 기존 기술의 문제점

- 히알루론산 (HA)은 비접착성에 의해 조직공학에 응용하는데 제한이 있는 바, 히알루론산 (HA)의 하이드로젤에 접착력을 부여하는 것은 큰 과제임
- 페놀 유도체는 약염기 환경에서 산화되어 도파/퀴논 형태로 변형되어 조직접착성을 나타내는데, 이 반응에서 티로시나아제가 촉매 역할을 함
- 종래의 티로시나아제는 중성 pH (6~8)에서 작동하기 때문에 페놀-고분자 용액의 pH 또한 중성이어야 하며, 이는 티로시나아제가 첨가되기 전에 이미 용액 내에서 산화반응이 일어나게 되는 문제가 있는바, 보관 안정성이나 기능적인 측면에서 불리하다는 단점이 있음
- 본 기술의 버크홀데리아 유래 티로시나아제를 이용하게 되면, 산성 pH 에서 페놀의 산화반응을 유도할 수 있기 때문에 페놀-고분자 용액이 자연산화되지 않도록 산성 조건에서 보관할 수 있고, 사용자가 원할 때 버크홀데리아 유래 티로시나아제와 혼합 시에 산화되어, 우수한 조직접착성을 나타내게 되는바, 종래 기술의 단점을 극복함

03 기존 기술 대비 우수성

◇ 본 기술은 페놀 유도체가 도입된 히알루론산 등의 고분자에 버크홀데리아 유래 티로시나아제를 촉매로 이용하여 가교 결합시키는 단계를 포함하는 접착성 하이드로젤 조성물의 제조 방법 및 이의 의료용 생체재료 용도를 개시함

◇ 버크홀데리아 유래 티로시나아제는 산성의 pH 에서도 활성을 가지고 있어, 이를 촉매로 이용할 경우 산성 pH 의 하이드로젤을 형성할 수 있고, 산성 pH 에서 하이드로젤이 형성되는 경우 하이드로젤의 가교와 함께 형성되는 도파 잔기의 자동적 산화반응을 막아 많은 도파 함량을 가질 수 있는바, 도파 잔기에 의한 접착력이 우수해지는 특성이 있음

◇ 따라서 본 기술은 히알루론산 등의 다양한 생체 고분자를 사용하면서 접착력을 가지는 효과적인 지지체가 될 수 있는 하이드로젤 조성물을 제공하고, 최소 침습에 용이할 정도의 접착력을 가지는 가교 결합 물질과 그 제조 방법 및 그 응용 효과를 실험으로서 입증하였음

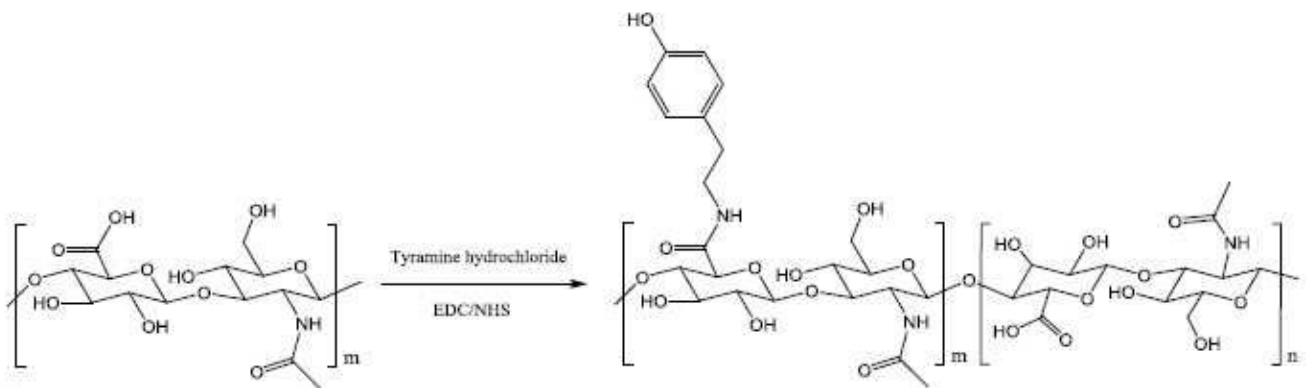
1. 촉매로 이용되는 버크홀데리아 타일란덴시스 유래 티로시나아제 제조

: 버크홀데리아 타일란덴시스 유래 티로시나아제(이하 "BT_ty") 유전자가 삽입된 pET28a 벡터를 E. coli BL21 에 형질전환하여 배양, 정제하여 수득함

2. 버크홀데리아 타일란덴시스 유래 티로시나아제에 의해 가교된 히알루론산 하이드로젤

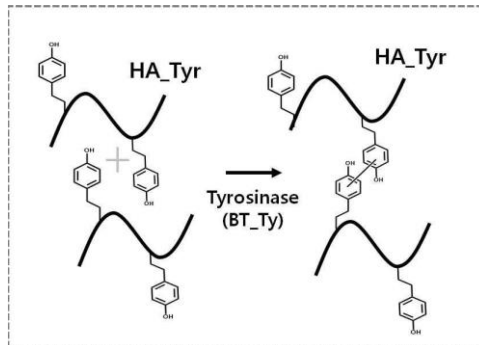
2-1. 히알루론산에 페놀 유도체가 도입된 고분자의 제조

히알루론산 하이드로젤을 제조하기 위해 먼저 히알루론산-티라민 결합체(HA-ty)를 제조함



2-2. BT_ty 에 의해 가교된 히알루론산 하이드로젤의 제조

히알루론산 하이드로젤을 만들기 위해서 HA-ty 결합체를 40°C에서 시트르산 완충액(pH 3 또는 4) 또는 트리스-염산 완충액(pH 8)에 녹인 다음, HA-ty 결합체의 가교 반응을 위한 촉매로 BT-ty 를 첨가한 뒤, 37°C에서 8 시간 반응 시켜 제조함



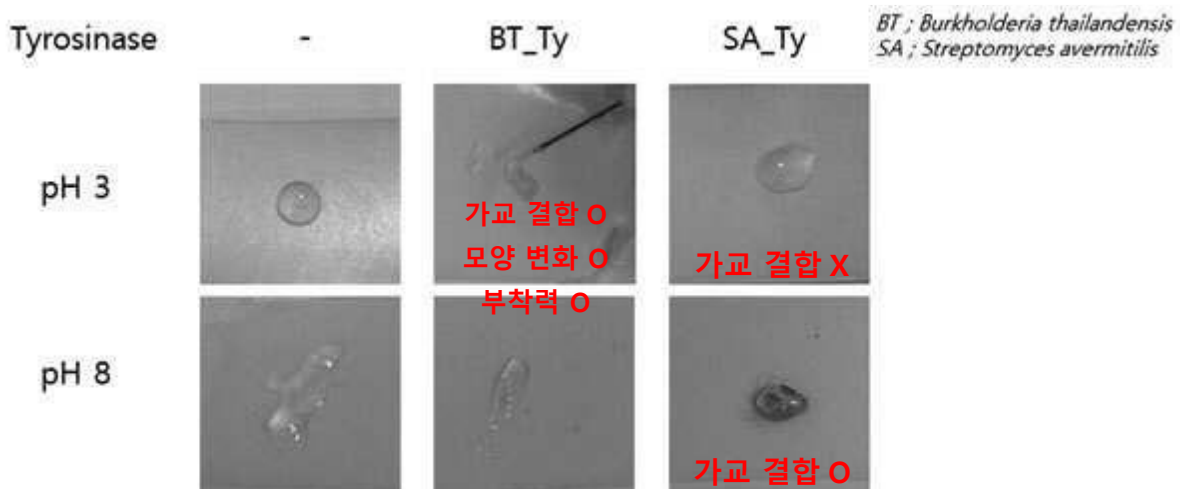
2-3. BT_ty 에 의해 가교된 히알루론산 하이드로젤의 물성 평가

본 기술의 버크홀데리아 유래 티로시나아제를 이용하여 제조된 하이드로젤과, 스트렙토미세스 아버미틸리스(*Streptomyces avermitilis*) 유래 티로시나아제를 이용하여 제조된 하이드로젤의 물성을 비교하였음

① 가교 결합 진행도 평가

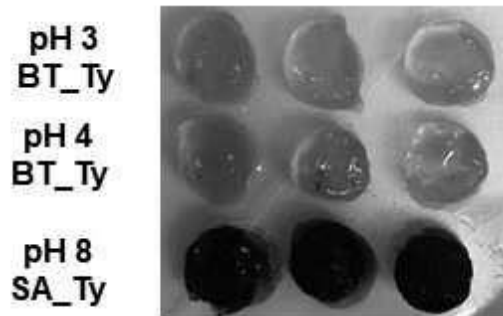
: 버크홀데리아 유래 티로시나아제 (BT_Ty) 를 촉매로서 이용한 경우에는 산성 조건 (pH 3.0) 에서 가교 결합이 잘 진행된 것을 확인할 수 있었다. 반면, 스트렙토미세스 아버미틸리스 유래 티로시나아제 (SA_Ty) 를 촉매로서 이용한 경우, 산성 조건 (pH 3.0) 에서는 가교 결합이 진행되지 않았으며, 중성 조건 (pH 8.0) 에서만 가교 결합이 진행된 것을 확인할 수 있었음

또한, BT_Ty 에 의해 산성 조건 (pH 3.0) 에서 가교된 히알루론산 하이드로젤의 경우, 티로시나아제가 첨가되지 않은 경우나, SA_Ty 에 의해 중성 조건 (pH 8.0) 에서 가교된 경우에 비하여 모양 변화가 자유롭고, 벽면에 더 잘 붙어있는 것을 확인할 수 있었음



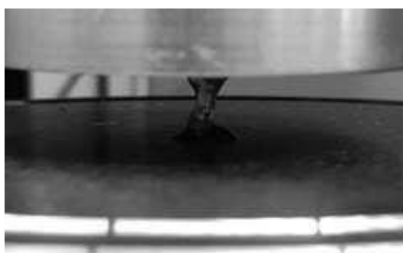
② 색상 평가

: BT_Ty 에 의해 산성 조건 (pH 3.0 또는 pH 4.0) 에서 가교된 히알루론산 하이드로젤과, SA_Ty 에 의해 중성 조건 (pH 8.0) 에서 가교된 히알루론산 하이드로젤의 색을 비교하여 보면, BT_Ty 에 의해 산성 조건 (pH 3.0 또는 pH 4.0) 에서 가교된 히알루론산 하이드로젤의 경우, 노란색을 나타내는 것을 확인하였음. SA_Ty 에 의해 중성 조건 (pH 8.0) 에서 가교된 히알루론산 하이드로젤의 경우에는 검은색을 나타냈음. 이러한 색의 차이는, BT_Ty 에 의해 산성 조건에서 가교시킬 경우, 하이드로젤의 가교와 함께 형성되는 도파 잔기의 자동적 산화반응이 방지되기 때문인 것으로 파악됨



③ 접착력 평가

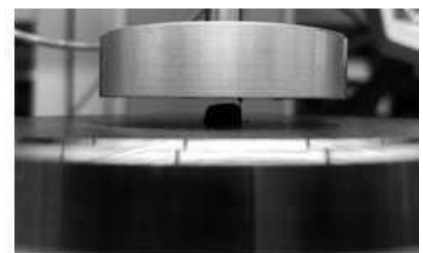
: 만능 재료 시험기 (universal testing machine, 시마즈 사, 일본) 로 약 0.1 mN 의 압력을 1 분 정도 가한 뒤, 하이드로젤을 들어 올리면서 강도 및 변형 정도를 관찰함
 그 결과, BT_Ty 에 의해 산성 조건에서 가교된 히알루론산 하이드로젤이, SA_Ty 에 의해 중성 조건에서 가교된 히알루론산 하이드로젤에 비하여 시료판에 더 잘 붙어있고, 더 잘 늘어나는 것을 확인함



pH 3
BT_Ty



pH 4
BT_Ty



pH 8
SA_Ty

3. 버크홀데리아 타일란덴시스 유래 티로시나아제에 의해 가교된 젤라틴 하이드로젤

티로시나아제가 첨가되지 않은 실험군의 경우 액체 상태로 존재한 반면, 티로시나아제를 첨가해준 실험군의 경우 가교 결합이 진행되어 하이드로젤이 형성된 것을 관찰할 수 있었고, 가교된 하이드로젤은 멜라닌에 의해 갈색을 나타냄

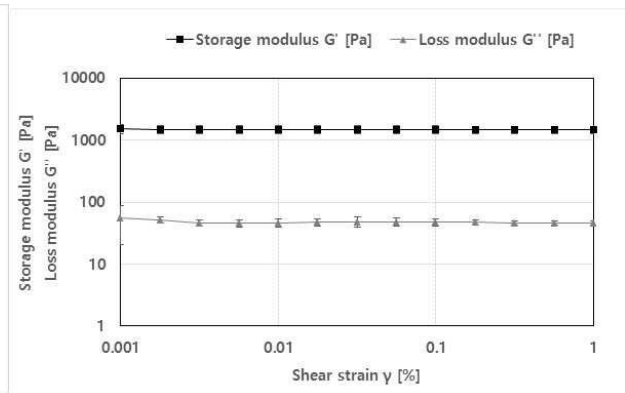
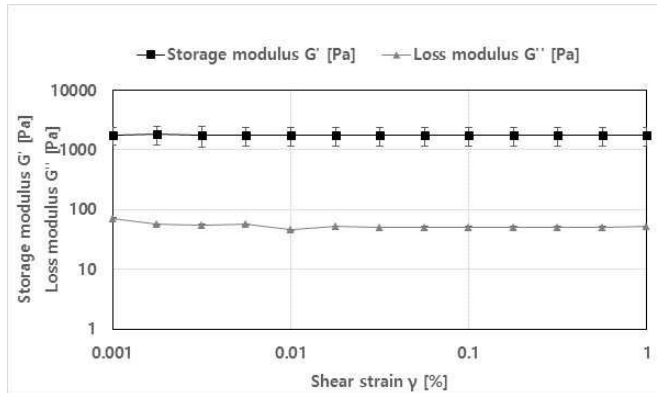


pH 4 citrate buffer
10w% gelatin
Excess amount of BT_Ty

BT_Ty - +

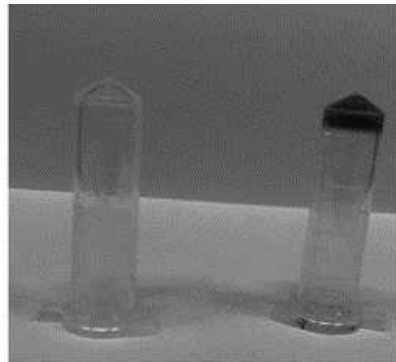
저장 탄성 계수 (storage modulus) 및 손실 탄성 계수 (loss modulus) 측정 결과, 고체의 물성인 저장 탄성률은 높게 나타난 반면, 액체의 물성인 손실 탄성률은 낮게 나타나는 것을 확인함

⇒ pH 3.0 및 pH 4.0 조건에서 모두 버크홀데리아 유래 티로시나아제에 의한 젤라틴의 가교 결합이 진행되어 젤라틴 하이드로젤이 형성된 것을 확인함



4. 버크홀데리아 타일란덴시스 유래 티로시나아제에 의해 가교된 키토산 하이드로젤

티로시나아제가 첨가되지 않은 실험군의 경우 액체 상태로 존재한 반면, 티로시나아제를 첨가해준 실험군의 경우 가교 결합이 진행되어 갈색의 하이드로젤이 형성된 것을 관찰함



pH 4 Citrate buffer
1w% Chitosan_Tyr
6 μ M BT_Ty

BT_Ty - +

5. 버크홀데리아 타일란덴시스 유래 티로시나아제에 의해 가교된 주입 가능한 하이드로젤 제조

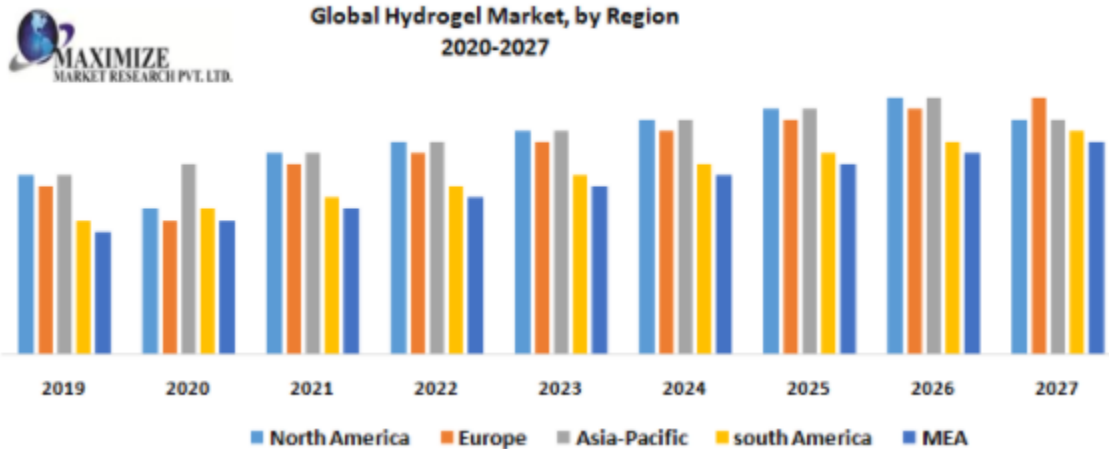
⇒ 원하는 모양의 하이드로젤 제조 가능함을 확인(물성 평가 우수)

10 중량% 젤라틴을 시트르산 완충액 (pH 4.0) 에 녹이고, 온도를 37 °C 로 맞춘 뒤, 6 μ M 의 티로시나아제를 첨가하여 혼합한 후, 혼합된 젤라틴 용액을 주사기를 통해 주입하여 원하는 모양을 만든 다음 가교 결합이 진행된 결과, 원하는 모양 (SNU) 을 나타내는 하이드로젤의 제조가 가능함을 확인함



04 시장 현황

◇ 하이드로젤 시장 전망



**출처: <https://www.maximizemarketresearch.com/market-report/global-hydrogel-market/30928/>, 2020.11

- 글로벌 하이드로젤 시장은 2019 년에 11.26 억 달러로 평가되었으며 예측 기간 동안 CAGR 6.21 %로 2027 년까지 1824 억 달러에 이를 것으로 전망됨
- 하이드로젤은 괴사 조직을 파쇄하고 상처를 정화하기위한 상처 관리 드레싱에 주로 사용되고, 부분적 또는 중증의 상처, 화상, 괴사 성 상처 및 자가 분해성 파편의 치료 및 치료에도 사용됨
- 다양한 응용 분야에 대해 하이드로젤 제품이 증가하고 있는 추세이며, 이러한 추세는 하이드로젤 시장에 대한 수요를 증가시키는 것임
- 하이드로젤 제품은 향상된 수분 보유 능력, 저장된 구성 요소의 보존 및 제어 방출과 같은 기능에 대한 개발 및 연구가 꾸준히 이루어지고 있으며, 이러한 측면은 기저귀, 소프트 콘택트 렌즈, 상해 관리 제품 및 약물 전달 패치와 같은 건강 및 위생 제품 제조에 이용되는 이상적인 재료임
- 이러한 제품군으로의 적용은 소비자가 광범위하게 사용하는 제품에 속하는 것들이며, 궁극적으로 향후 글로벌 하이드로젤 시장에 대한 수요를 증가시키는 요인이 될 것으로 전망됨

05 기술 문의처

구분	기관명	담당자	직급	연락처	e-mail
연구자	서울대학교	김병기	교수		
기술권리자	서울대학교 산학협력단	성의진	전문위원	02-880-2038	jin987@snu.ac.kr