ÖZET

YAPAY BİR BİYOMİMETİK SİNİR DOKU İSKELESİ VE ÜRETİM YÖNTEMİ

Bu buluş, dokuların kendini yenileyerek sağlıklı dokular oluşturmasını ve hasarlı vücut dokularının desteklenmesini sağlayan, biyobozunur ve biyouyumlu özellikte üç boyutlu yapay bir biyomimetik sinir doku iskelesi (1) ve bunun üretim yöntemi (100) ile ilgilidir.

İSTEMLER

1. Hasarlı dokuların kendi kendini yenilemesini sağlayan, biyobozunur ve biyouyumlu özellikte olan, bakteriyel selüloz biyopolimeri (BCs) ile polikaprolakton (PCL) sentetik polimeri kullanılarak elektroeğirme tekniği vasıtasıyla elde edilen nanofiberlerden oluşan ve nanofiberler arasında en azından biri içerisinde boşluk (2) içeren en az bir nano/mikro kapsül (3) içeren bir nanofiber yapı (4) ile karakterize edilen üç boyutlu yapay bir biyomimetik sinir doku iskelesi (1)

2. Çapı 100 nm ila 1.6 μm boyutunda olan nano/mikro kapsül (3) ile karakterize edilen İstem 1'deki gibi bir doku iskelesi (1).

3. Çapı 80 nm ila 1.5 μm boyutunda olan boşluk (2) ile karakterize edilen İstem 1 veya 2'deki gibi bir doku iskelesi (1).

4. Çapı 70 nm ila 121 nm boyutunda olan nanofiberlerden oluşan nanofiber yapı (4) ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir doku iskelesi (1).

5. En az birinin içerisinde yer alan boşluğa (2) en az bir biyokimyasal işaret eklenen nano/mikro kapsül (3) ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir doku iskelesi (1).

6. En az birinin içerisinde yer alan boşluğa (2) en az bir büyüme faktörü eklenen nano/mikro kapsül (3) ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir doku iskelesi (1).

7. Bakteriyel selüloz biyopolimerinin en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülerek belirli bir derişimde bakteriyel selüloz çözeltisinin hazırlanması (101),
- polikaprolakton sentetik polimerinin en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülerek belirli bir derişimde polikaprolakton çözeltisinin hazırlanması (102),
- bakteriyel selüloz çözeltisinin ve polikaprolakton çözeltisinin belirli bir oranda karıştırılması (103),
- bakteriyel selüloz çözeltisi ve polikaprolakton çözeltisi içeren karışımın en azından bir iğneye ve toplayıcı plakaya sahip olan en az bir elektroeğirme makinesindeki nanofiber çapı ve morfolojisine etki eden voltaj, iğne ile toplayıcı plaka arasındaki mesafe ve akış hızı değerleri ayarlanarak belirli bir süre elektroeğirme işlemine tabi tutulması (104),
- karışımın elektroeğirme işlemine tabi tutulması (104) esnasında statik elektrik alan ile birlikte ilerleyen polimerlerin nanofiber ve nano/mikro kapsül (3) oluşturacak şekilde toplayıcı plakada toplanarak arasında nano/mikro kapsül (3) içeren nanofiber yapının (4) elde edilmesi (105) ve
- elde edilen nanofiber yapının (4) kurutulmasıyla doku iskelesinin (1) elde edilmesi (106) adımları ile karakterize edilen yapay bir biyomimetik sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100),

8. Çözücü içerisinde ağırlıkça %5 oranında bakteriyel selüloz olacak bakteriyel selüloz çözeltisinin hazırlanması (101) adımı ile karakterize edilen İstem 7'deki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

9. Bakteriyel selüloz biyopolimerinin ağırlıkça 50:50 oranında dimetilformamid (DMF) ve tetrahidrofuran (THF) içeren çözücüye eklenerek bakteriyel selüloz çözeltisinin hazırlanması (101) adımı ile karakterize edilen İstem 7 veya 8'deki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

10. 15 gün süre boyunca ultrasonik su banyosuna tabi tutularak bakteriyel selüloz çözeltisi hazırlanması (101) adımı ile karakterize edilen İstem 7 ila 9'dan herhangi birindeki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

11. Çözücü içerisinde ağırlıkça %5 oranında polikaprolakton polimeri olacak şekilde polikaprolakton çözeltisinin hazırlanması (102) adımı ile karakterize edilen İstem 7 ila 10'dan herhangi birindeki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

12. Polikaprolakton polimerinin ağırlıkça 50:50 oranında karıştırılmış kloroform ve dimetilformamid (DMF) çözücüye eklenerek polikaprolakton çözeltisinin hazırlanması (102) adımı ile karakterize edilen İstem 7 ila 11'den herhangi birindeki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

13. 1.5 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılarak polikaprolakton çözeltisinin hazırlanması (102) adımı ile karakterize edilen İstem 7 ila 12'den herhangi birindeki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

14. Ağırlıkça 50:50 oranında bakteriyel selüloz çözeltisinin ve polikaprolakton çözeltisinin karıştırılması (103) adımı ile karakterize edilen İstem 7 ila 13'ten herhangi birindeki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

15. Bakteriyel selüloz çözeltisi ve polikaprolakton çözeltisi içeren karışımın şırıngaya alınarak ve elektroeğirme makinesinde polimerin ilerlemesini sağlayan pompa kısmına yüklenerek elektroeğirme işlemine tabi tutulması (104) adımı ile karakterize edilen İstem 7 ila 14'ten herhangi birindeki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

16. Bakteriyel selüloz çözeltisi ve polikaprolakton çözeltisi içeren karışımın akış hızı 1 ml/saat değerinde olacak şekilde elektroeğirme işlemine tabi tutulması (104) adımı ile karakterize edilen İstem 7 ila 15'ten herhangi birindeki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

17. Voltaj değeri 28 kV değerinde olacak şekilde bakteriyel selüloz çözeltisi ve polikaprolakton çözeltisi içeren karışımın elektroeğirme işlemine tabi tutulması (104) adımı ile karakterize edilen İstem 7 ila 16'dan herhangi birindeki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

18. İğne ile toplayıcı plaka arasındaki mesafe 13 cm değerinde olacak şekilde bakteriyel selüloz çözeltisi ve polikaprolakton çözeltisi içeren karışımın elektroeğirme işlemine tabi tutulması (104) adımı ile karakterize edilen İstem 7 ila 17'den herhangi birindeki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

19. Bakteriyel selüloz çözeltisi ve polikaprolakton çözeltisi içeren karışımın 5 saatlik süre boyunca elektroeğirme işlemine tabi tutulması (104) adımı ile karakterize edilen İstem 7 ila 18'den herhangi birindeki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

20. Nanofiber yapının (4) etüv içeresinde 1 gün bekletilerek kurutulmasıyla doku iskelesinin (1) elde edilmesi (106) adımı ile karakterize edilen İstem 7 ila 19'dan herhangi birindeki gibi bir sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100).

TARİFNAME

YAPAY BİR BİYOMİMETİK SİNİR DOKU İSKELESİ VE ÜRETİM YÖNTEMİ

Teknik Alan

Bu buluş, dokuların kendini yenileyerek sağlıklı dokular oluşturmasını ve hasarlı vücut dokularının desteklenmesini sağlayan, biyobozunur ve biyouyumlu özellikte üç boyutlu yapay bir biyomimetik sinir doku iskelesi ve bunun üretim yöntemi ile ilgilidir.

Önceki Teknik

Son yıllarda gelişen doku mühendisliği uygulamaları, hasarlı vücut dokularının sentetik ya da biyopolimerlerden elde edilen yapay doku iskeleleri kullanılarak desteklenmesi ile sağlıklı dokular oluşturulmasını amaçlamaktadır. Bu amaçla birlikte geliştirilen üretim tekniklerinden olan elektroeğirme yöntemi ile nano boyutta fiberler elde edilmekte ve bu fiberlerin üst üste biriktirilmesiyle yapay doku iskeleleri oluşturulmaktadır.

Günümüzde doku mühendisliği uygulamalarının üzerinde yoğunlaştığı sistemlerden biri de insan sinir sistemidir. Sinir sistemi hasarları sonucu oluşan sinir hücresi kayıplarını yeni büyüyen hücrelerle desteklemek için birçok çalışma yapılmaktadır. Ancak, bu çalışmalarda kullanılan polimerler ve üretim yöntemleri maliyetli ve uzun süreç gerektirmektedir.

Mobarakeh ve arkadaşları tarafından 2008 yılında yapılan bir çalışmada (L. Ghasemi-Mobarakeh, M. P. Prabhakaran, M. Morshed, M. H. Nasr-Esfahani, S. Ramakrishna Biomaterials 2008, 29, 9), polikaprolakton ve jelatin polimerleri

kullanılarak elektroeğirme tekniği vasıtasıyla elde edilen nanofiber yapısı doku iskelesi olarak kullanılmış ve hücre büyümesi gözlenmiştir.

Jha ve arkadaşları tarafından 2010 yılında yapılan çalışmada (B.S. Jha, R.J. Colello, J. R. Bowman, S.A. Sell, K.D. Lee, J.W. Bigbee, G.L. Bowlin, W.N. Chow, B.E. Mathern, D.G. Simpson, Acta Biomaterialia 2011, 7, 203–215) ise polikaprolakton polimeri kullanılarak hava boşluklu elektroeğirme yöntemi vasıtasıyla elde edilen ürünün doku yıpranmalarında sinirin yeniden yapılanması üzerine az da olsa etkili olduğu gözlemlenmiştir. Ancak hava boşluklu elektroeğirme yöntemi basit elektroeğirme yöntemine göre daha maliyetli ve zor bir yöntemdir.

Yu ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yapılan bir çalışmada (W. Yu, W. Zhao, C. Zhu, BMC Neurosci. 2011, 12, 1471), kolajen ve polikaprolakton polimerleri elektroeğirme yönteminde kullanılmış ve nano yapıda fiberler elde edilmiştir. Söz konusu çalışmada elde edilen doku iskelesi, periferal sinir sisteminde bulunan Schwann hücrelerinin büyümesinde etkili bir sonuç vermiştir. Ancak doku iskelesi üretiminde kullanılan kolajen oldukça pahalı bir malzemedir.

Zhu ve arkadaşları tarafından 2014 yılında yapılan bir çalışmada (W. Zhu, C. O'Brien, J. B. O'Brien, L. G. Zhang, Nanomedicine 2014, 9, 75) ise elektroeğirme tekniği ve üç boyutlu yazıcı yöntemleri birlikte kullanılarak yapay sinir doku iskelesi üretilmiştir ve içerisine biyokimyasal işaretleyiciler eklenerek sinir doku yenilenmesi araştırılmıştır. Ancak söz konusu çalışmada kullanılan yöntem, doku iskelesinin üretim maliyetini arttırmaktadır.

Tekniğin bilinen durumunda yer alan WO2006096791 sayılı uluslararası patent dokümanında doku yenilenmesini sağlayan en az bir sentetik polimerden yapılmış çok sayıda tek eksenli olarak yönlendirilmiş nanofiber yapıya sahip bir doku iskelesinden bahsedilmektedir. Söz konusu dokümanda açıklanan buluşun tercih edilen bir uygulamasında doku iskelesi, sinir ya da başka bir doku yenilenmesine

ihtiyaç duyan bir hastaya yerleştirilebilmektedir. Söz konusu dokümanda açıklanan buluşun tercih edilen bir uygulamasında söz konusu doku iskelesi tabakalardan oluşmaktadır ve iki veya daha fazla tek eksenli olarak yönlendirilmiş nanofiber elde etmek için elektroeğirme işlemi, 3 boyutlu bir doku iskelesi oluşturmak için nanofiber filmlerin istiflenmesi adımları takip edilerek elde edilmektedir. Söz konusu buluşta doku iskelesi elde etmek için biyobozunur özellikte sentetik polimerin olan ya da olmayan ya da bunların karışımı kullanılabilmektedir. Söz konusu dokümanda açıklanan buluşun bir uygulamasında doku iskelesi en az bir biyokimyasal ajan içermektedir. Bir uygulamada ise söz konusu biyokimyasal ajanın büyüme faktörü ya da farklılaşma faktörü olmasından bahsedilmektedir. Ayrıca biyokimyasal ajanının kontrollü salınımı için söz konusu doku iskelesinin sıvı mikrotubulüs ya da nanoparçacık içerebilmesinden bahsedilmiştir.

WO2008093341 sayılı uluslararası patent dokümanında elektroeğirilmiş polinanolifler içeren gözenekli bir yapıya sahip, çok sayıda parçacık içeren bir doku iskelesinden bahsedilmektedir. Söz konusu dokümanda ayrıca doku iskelesi üretim yöntemleri, doku üretme yöntemleri ve dokuların yeniden yapılanması için doku iskelesinin kullanım yöntemleri açıklanmaktadır. Söz konusu buluşta doku iskelesi elde etmek için elektroeğirme tekniği kullanılmaktadır ve söz konusu teknikle elde edilen polinanolifler doğal biyobozunur polimerlerden ve/veya sentetik biyobozunur polimerlerden oluşmaktadır. Söz konusu dokümanda açıklanan buluşta doku iskelesi üretimi için doğal biyobozunur polimerlerden ipek ve kolajenin; sentetik biyobozunur polimerlerden polikaprolaktonun kullanılabildiği ve ayrıca bakteriyel selüloz, büyüme faktörü gibi biyokimyasal maddelerin kullanılabildiği açıklanmaktadır.

Buluşun Kısa Açıklaması

Bu buluşun amacı, zarar görmüş ve yenilenememiş merkezi sinir sisteminin kendi kendini yenilemesi için biyobozunur ve biyouyumlu özellikte üç boyutlu yapay bir biyomimetik sinir doku iskelesi ve bunun üretim yöntemini gerçekleştirmektir.

Buluşun diğer bir amacı, sinir sisteminin sorunsuzca kabul ettiği ve mezenşimal sinir hücrelerinin yeni sinir hücreleri üreterek kendini yenilemesini sağlayan ve yeni hücreler üretildikten sonra vücut tarafından yok edilerek canlı dokuya zarar vermeyen yapay bir biyomimetik sinir doku iskelesi ve bunun üretim yöntemini gerçekleştirmektir.

Buluşun Ayrıntılı Açıklaması

Bu buluşun amacına ulaşmak için gerçekleştirilen "Yapay Bir Biyomimetik Sinir Doku İskelesi ve Üretim Yöntemi (100)" ekli şekillerde gösterilmiş olup, söz konusu şekillerden;

Şekil-1. Buluş konusu yöntemle elde edilen nanofiber yapı ve içi boş yapılı kapsül yapısından oluşan doku iskelesinin şematik gösterimidir:

Şekil-2. Buluş konusu sinir dokusu iskelesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleridir:

(a) 100X büyütmede buluş konusu doku iskelesinin görüntüsüdür;

(b) 1.00KX büyütmede nanofiber yapı ve nanofiber yapı içerisinde yer alan kapsülün görüntüsüdür;

(c) 1.00KX büyütmede bir adet kapsül yapısı ve çevresinde yer nanofiber dallanmalarının görüntüsüdür;

(d) 2.00KX büyütmede nanofiber yapıda yer alan kapsülün boşluklu iç yapısının görüntüsüdür.

Şekil-3. Buluşa ait in-vitro hücre kültürü testi sonucu saf PCL ve BCs/PCL doku iskelelerine ait elde edilen hücre yaşayabilirliği sonuç grafikleridir.
(*** P değeri < 0.05):
(a) 24 saat;
(b) 48 saat;
(c) 72 saat.

Şekil-4. Buluş konusu doku iskelesi üretim yönteminin akış diyagramıdır.

Şekillerde yer alan parçalar tek tek numaralandırılmış olup, bu numaraların karşılıkları aşağıda verilmiştir.

1. Doku iskelesi
2. Boşluk
3. Kapsül
4. Nanofiber yapı

Hasarlı dokuların kendi kendini yenilemesini sağlayan, biyobozunur ve biyouyumlu özellikte olan buluş konusu üç boyutlu yapay bir biyomimetik sinir doku iskelesi (1) en temel halinde,
-bakteriyel selüloz biyopolimeri (BCs) ile polikaprolakton (PCL) sentetik polimeri kullanılarak elektroeğirme tekniği vasıtasıyla elde edilen nanofiberlerden oluşan ve nanofiberler arasında en azından biri içerisinde boşluk (2) içeren en az bir nano/mikro kapsül (3) içeren bir nanofiber yapıya (4) sahiptir.

Buluş konusu doku iskelesinde (1) nanofiberler arasında yer alan nano/mikro kapsüllerin (3) çapı 100 nm ila 1.6 µm boyutundadır. Söz konusu nano/mikro kapsüllerin (3) içerisinde yer alan boşluğun (2) çapı ise 80 nm ila 1.5 µm boyutundadır. Buluş konusu sinir doku iskelesinde (1) nanofiber yapı (4) içerisinde yer alan nano/mikro kapsülün (3) çevresinde bulunan nanofiberlerin çapı 70 nm ila 121 nm arasında bir değerdedir

Buluşun tercih edilen bir uygulamasında buluş konusu doku iskelesini (1) oluşturan nanofiberlerin arasında bulunan nano/mikrokapsüllerden (3) en az birinin içerisinde yer alan boşluğa (2) en az bir biyokimyasal işaret eklenmektedir. Buluş konusu doku iskelesinde (1) boşluğa (2) eklenen biyokimyasal işaretler, dokularda meydana gelen hasarın biyomedikal cihazlar ve mikroskoplarla incelenmesinde kolaylık sağlamaktadır. Biyokimyasal işaret olarak; Miyelin Bazik Proteini (MBP), Nöron Spesifik Enolaz (NSE), Tau Protein, 14-3-3 Protein, S-100 Protein ve Glial Fibriler Asidik Protein kullanılabilmektedir.

Buluşun tercih edilen bir başka uygulamasında buluş konusu doku iskelesini (1) oluşturan nanofiberlerin arasında bulunan nano/mikrokapsüllerden (3) en az birinin içerisinde yer alan boşluğa (2) en az bir büyüme faktörü eklenmektedir. Buluş konusu doku iskelesinde (1) boşluğa (2) eklenen büyüme faktörleri (nörotrofinler) nöronların yaşamasını, büyümesini, çoğalmasını ve fonksiyonlarını etkileyen, sinapsların stabilizasyonunu sağlayan, sinaptik fonksiyonu ve sinaptik plastisiteyi kontrol eden, akson ve dendrit dallanmalarını düzenleyen dimerik polipeptid yapılı büyüme faktör ailesidir ve sinir büyüme faktörü (NGF), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), Nörotrofin-3 (NT-3), Nörotrofin-4/5 (NT-4/5), Nörotrofin-6 (NT-6) ve Nörotrofin-7 (NT-7) olmak üzere altı alt sınıfa ayrılmaktadır.

Buluş konusu yapay doku iskelesi (1), biyopolimer olan bakteriyel selüloz ile biyobozunur ve biyouyumlu sentetik bir polimer olan polikaprolakton içeren bir nanofiber yapıda (4) olduğu için sinir sistemi bu yapay doku iskelesini (1) sorunsuzca kabul etmektedir.

Elektroeğirme yöntemi kullanılarak bakteriyel selüloz biyopolimeri ile polikaprolakton sentetik polimerinin birleştirilmesiyle elde edilen nanofiber yapıda (4) olan buluş konusu yapay doku iskelesi (1) nano ve/veya mikro boyutta içerisinde boşluk (2) içeren kapsüller (3) içermektedir. Söz konusu buluşla elde edilen yapay doku iskelesinde (1) birbirine nanofibelerle bağlanmış nano ve mikro

boyutta kapsüllerden (3) en az birinin içerisindeki boşluğa (2) biyokimyasal işaretleyiciler ve/veya büyüme faktörleri eklenmektedir. Böylelikle nano ve mikro boyutta kapsüllere (3) eklenen biyokimyasal işaretleyicilerin ve/veya büyüme faktörünün taşınımı ve kontrollü salınımı sağlanmaktadır.

Buluş konusu sinir dokusu iskelesinin (1), nano/mikro kapsüllerin (3) ve nanofiber yapının (4) taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil-2'de yer almaktadır. Şekil-2d'de ise yüzeyi FEG-SEM cihazı ile kesilen buluş konusu sinir doku iskelesinde (1) yer alan bir kapsülün (3) SEM görüntüsü yer almaktadır.

Buluş konusu doku iskelesi (BCs/PCL) (1) ve saf polikaprolaktonda (PCL) L929 fare fibroblast hücrelerinin çoğalma ve hücre yaşayabilirlik testinin sonuç grafiği Şekil-3'te yer almaktadır. Söz konusu in-vitro hücre kültürü test sonucuna göre buluş konusu doku iskelesi (1) içerisinde hücre canlılığı; 24 saat sonunda %84, 48 saat sonunda %83 ve 72 saat sonunda %93 olarak ölçülmektedir.

Buluş konusu yapay bir biyomimetik sinir doku iskelesi üretim yöntemi (100),

- bakteriyel selüloz biyopolimerinin en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülerek belirli bir derişimde bakteriyel selüloz çözeltisinin hazırlanması (101),
- polikaprolakton sentetik polimerinin en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülerek belirli bir derişimde polikaprolakton çözeltisinin hazırlanması (102),
- bakteriyel selüloz çözeltisinin ve polikaprolakton çözeltisinin belirli bir oranda karıştırılması (103),
- bakteriyel selüloz çözeltisi ve polikaprolakton çözeltisi içeren karışımın en azından bir iğneye ve toplayıcı plakaya sahip olan en az bir elektroeğirme makinesindeki nanofiber çapı ve morfolojisine etki eden voltaj, iğne ile toplayıcı plaka arasındaki mesafe ve akış hızı değerleri ayarlanarak belirli bir süre elektroeğirme işlemine tabi tutulması (104),

- karışımın elektroeğirme işlemine tabi tutulması (104) esnasında statik elektrik alan ile birlikte ilerleyen polimerlerin nanofiber ve nano/mikro kapsül (3) oluşturacak şekilde toplayıcı plakada toplanarak arasında nano/mikro kapsül (3) içeren nanofiber yapının (4)elde edilmesi (105) ve
- elde edilen nanofiber yapının (4) kurutulmasıyla doku iskelesinin (1) elde edilmesi (106) adımlarını içermektedir.

Buluş konusu doku iskelesi üretim yönteminin (100) tercih edilen bir uygulamasında bakteriyel selüloz biyopolimeri, çözücü içerisinde ağırlıkça %5 oranında bakteriyel selüloz olacak şekilde organik çözücü içerisinde çözdürülmektedir. Bunun için bakteriyel selüloz biyopolimeri küçük parçalar halinde kesilerek tercihen ağırlıkça 50:50 oranında dimetilformamid (DMF) ve tetrahidrofuran (THF) içeren çözücüye eklenmektedir ve 15 gün süre boyunca ultrasonik su banyosuna tabi tutularak bakteriyel selüloz çözeltisi hazırlanmaktadır (101).

Buluş konusu doku iskelesi üretim yönteminin (100) tercih edilen bir uygulamasında polikaprolakton polimeri ağırlıkça %5 olacak şekilde tercihen ağırlıkça 50:50 oranında karıştırılmış kloroform ve dimetilformamid (DMF) çözücüye eklenmektedir. Ardından tercihen 1.5 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılarak polikaprolakton çözeltisi hazırlanmaktadır (102).

Buluş konusu yöntemde (100) bakteriyel selüloz çözeltisinin hazırlanmasının (101) ve polikaprolakton çözeltisinin hazırlanmasının (102) ardından her iki çözelti tercihen ağırlıkça 50:50 oranında karıştırılmaktadır (103).

Buluş konusu doku iskelesi üretim yönteminde (100) bakteriyel selüloz çözeltisinin ve polikaprolakton çözeltisinin karıştırılması (103) ile elde edilen karışım şırıngaya alınarak elektroeğirme makinesinde daha önceden belirlenen sürede yine daha önceden belirlenen miktarda polimerin ilerlemesini sağlayan pompa kısmına yüklenmektedir. Elektroeğirme makinesine yüklenen karışımın

akış hızı tercihen 1 ml/saat değerine sahiptir. Ardından arasında nano/mikro kapsül (3) içeren nanofiber üretimini sağlamak için uygulanan elektriğin voltaj değeri tercihen yaklaşık 28 kV ve iğne ile toplayıcı plaka arasındaki mesafe yaklaşık 13 cm değerindedir. Buluş konusu doku iskelesi üretim yönteminde (100) tercihen 5 saatlik elektroeğirme işleminin (104) ardından toplayıcı plakada arasında nano/mikro kapsül (3) içeren nanofiberler toplanmakta ve böylece arasında nano/mikro kapsül (3) içeren nanofiber yapı (4) elde edilmektedir (105).

Buluş konusu doku iskelesi üretim yönteminde (100) elde edilen arasında nano/mikro kapsül (3) içeren nanofiber yapı (4) tercihen etüv içeresinde 1 gün bekletilerek kurutulmakta ve böylece doku iskelesi (1) elde edilmektedir (106).

Buluş konusu sinir doku iskelesinde (1) kullanılan bakteriyel selüloz biyopolimeri dokular tarafından rahatlıkla kabul edilmektedir ve belirli bir süre sonunda vücut hücreleri tarafından yok edilebilmektedir. Buluş konusu sinir doku iskelesinde (1) kullanılan bakteriyel selülozun yapısı tekniğin bilinen durumunda doku iskelesi üretiminde kullanılan kolajenin yapısına benzemekle birlikte bakteriyel selülozun immünolojik reaktivite üzerine etkisi kolajenden daha iyidir.

Buluş konusu doku iskelesinde (1) kullanılan bakteriyel selüloz kısa sürede düşük maliyetlerle üretilebilmektedir. Böylelikle oldukça pahalı olan kolajen yerine bakteriyel selülozun kullanılması sinir doku iskelesinin (1) üretim maliyetini azaltmaktadır.

Ayrıca buluş konusu doku iskelesinde (1) kullanılan bakteriyel selüloz, hasarlı sinir dokusunun söz konusu buluşta yer alan yöntemle üretilen yapay doku iskelesini (1) kabul etmesini kolaylaştırmakta ve hücre büyümesi ile nöral yenilenmeyi büyük ölçüde arttırmaktadır.

Buluş konusu doku iskelesinde (1) kullanılan polikaprolakton, yenilenebilir kaynaklardan üretilen ve biyolojik olarak bozunabilen ve biyouyumlu bir

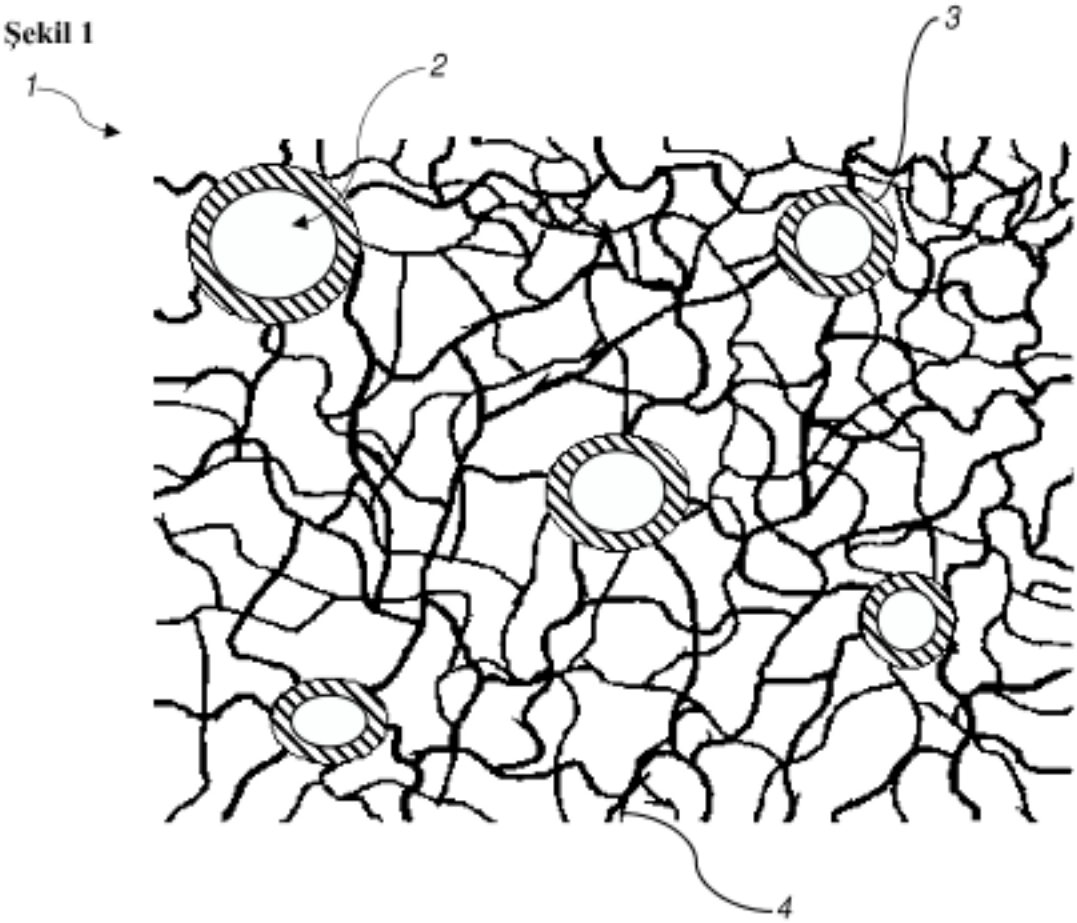
polimerdir. Böylelikle söz konusu buluşla elde edilen doku iskelesi (1) dokular tarafından rahatlıkla kabul edilmekte ve belirli bir süre sonunda vücut hücreleri tarafından kolaylıkla yok edilebilmektedir.

Buluş konusu sinir doku iskelesinin (1) üretimi için bakteriyel selüloz ve polikaprolakton kullanılarak elektroeğirme tekniği vasıtasıyla tek aşamada nanofiber yapı (4) elde edilmektedir. Bu da sinir doku iskelesinin (1) üretim maliyetini düşürmektedir.

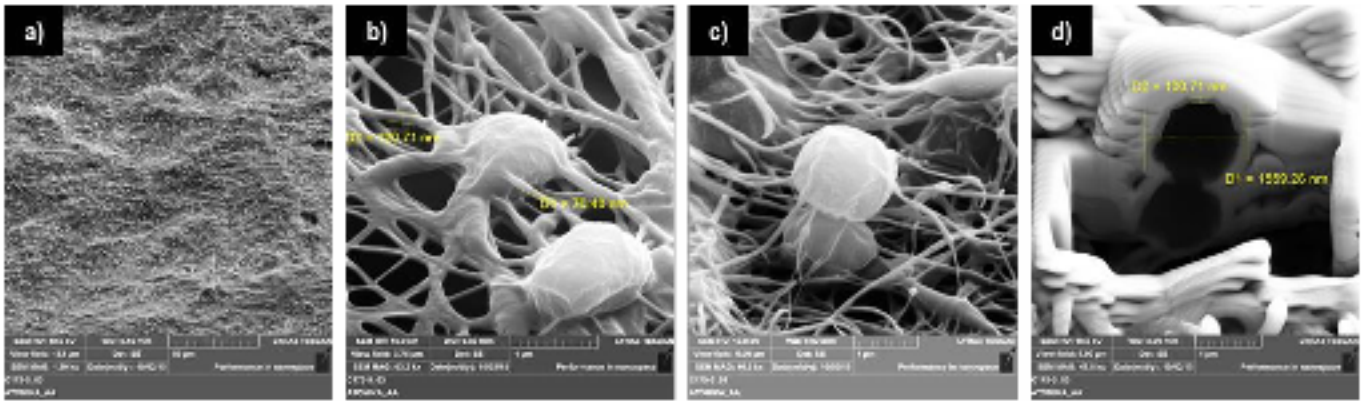
Buluş konusu sinir doku iskelesinde (1) nanofiber yapı (4) içerisinde yer alan nano/mikro kapsül (3) yapıları, büyüme faktörü ve/veya biyokimyasal işaretleyicilerin zarar görmüş sinir dokuya taşınımını kolaylaştırmaktadır. Ayrıca içerisinde boşluk (2) bulunan söz konusu nano/mikro kapsüller (3), daha çok büyüme faktörü ve biyokimyasal işaretleyici depolama kapasitesine sahip olması sayesinde daha fazla salınım yapabilmektedir. Bu da hücre büyümesini olumlu açıdan etkilemektedir.

Bu temel kavramlar etrafında, buluş konusu "Yapay Bir Biyomimetik Sinir Doku İskelesi ve Üretim Yöntemi (100)" için çok çeşitli uygulamalarının geliştirilmesi mümkün olup buluş burada açıklanan örneklerle sınırlandırılamaz, esas olarak istemlerde belirtildiği gibidir.

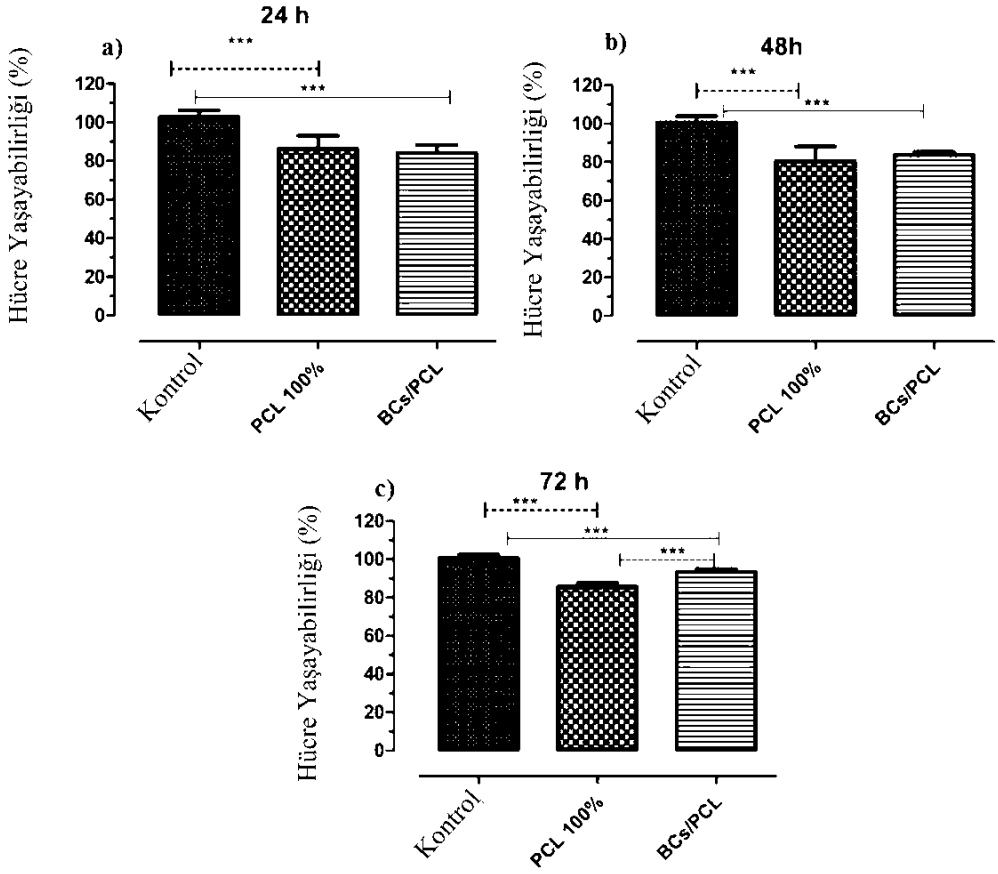
Şekil 1



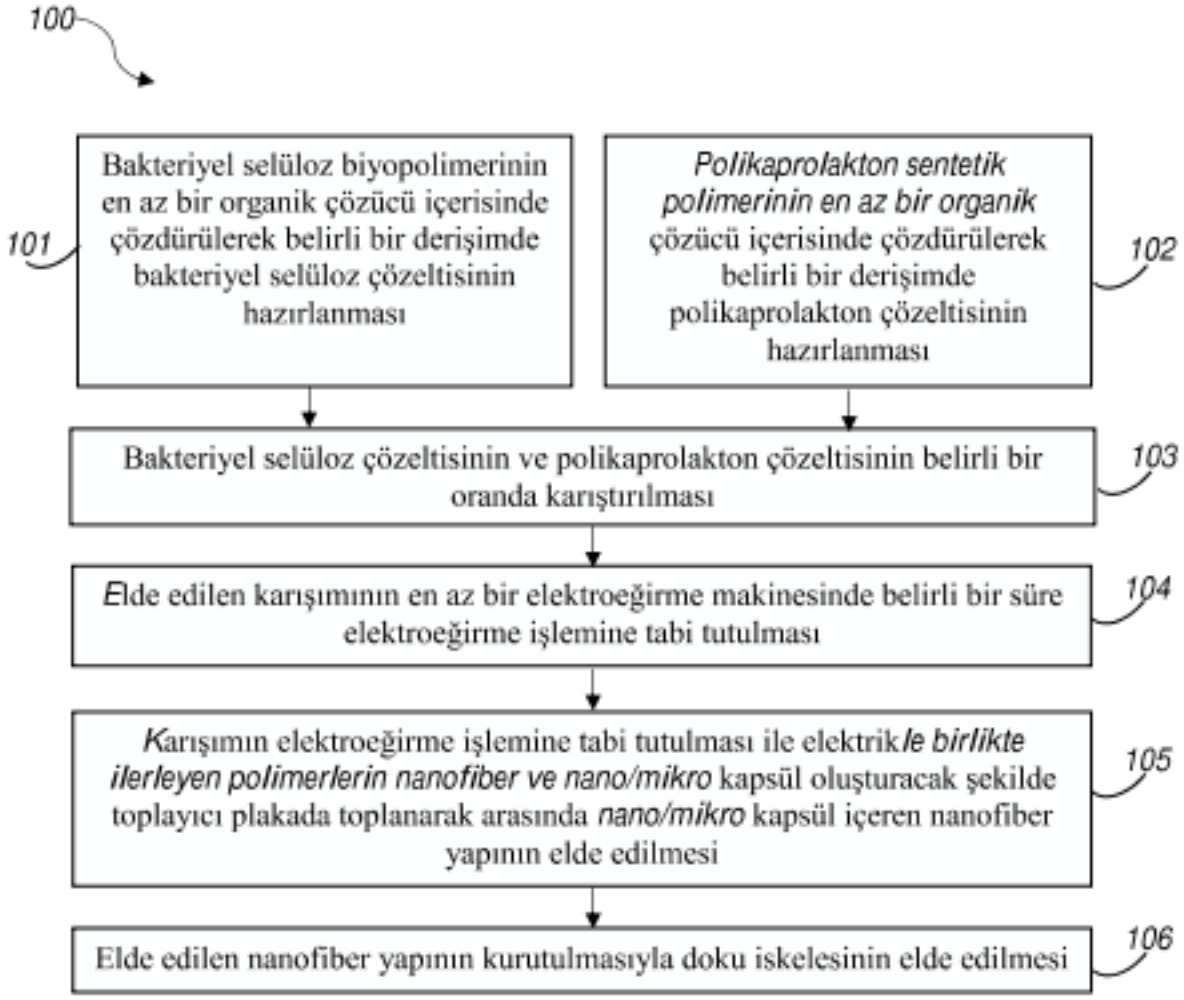
Şekil 2



Şekil 3


a)
24 h
Hücre Yaşayabilirliği (%)
120
100
80
60
40
20
0
***
***
Kontrol
PCL 100%
BCs/PCL
b)
48h
Hücre Yaşayabilirliği (%)
***
***
Kontrol
PCL 100%
BCs/PCL
c)
72 h
Hücre Yaşayabilirliği (%)
***
***
***
Kontrol
PCL 100%
BCs/PCL

Şekil 4


100
101
Bakteriyel selüloz biyopolimerinin en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülerek belirli bir derişimde bakteriyel selüloz çözeltisinin hazırlanması
102
Polikaprolakton sentetik polimerinin en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülerek belirli bir derişimde polikaprolakton çözeltisinin hazırlanması
103
Bakteriyel selüloz çözeltisinin ve polikaprolakton çözeltisinin belirli bir oranda karıştırılması
104
Elde edilen karışımının en az bir elektroeğirme makinesinde belirli bir süre elektroeğirme işlemine tabi tutulması
105
Karışımın elektroeğirme işlemine tabi tutulması ile elektrik le birlikte ilerleyen polimerlerin nanofiber ve nano/mikro kapsül oluşturacak şekilde toplayıcı plakada toplanarak arasında nano/mikro kapsül içeren nanofiber yapının elde edilmesi
106
Elde edilen nanofiber yapının kurutulmasıyla doku iskelesinin elde edilmesi