

세포특이성 고분자재료의 설계 및 응용

조 종 수 · 赤 池 敏 宏

1. 서 언

최근 각종 인공장기를 중심으로 의용재료의 고기능화에 대한 요구가 점점 더 부각되고 있다. 합성고분자를 비롯하여 각종 인공재료에서의 생체적합성(항혈전성, 조직 적합성)과 생체기능성(물질투과성, 물질흡착성)을 발휘할 수 있는 재료를 그림 1에서 나타내는 바와 같이 설계해야 되리라 생각한다.

생체조직은 각종의 생체분자와 세포 등이 계층적으로 분포되어있어 기능이 고도로 되어 있으므로 단순한 생체모방 기술로는 재현하기가 어렵지만 세포 등의 생체분자와 인공 재료를 복합화함으로써 인공피부, 인공췌장, 인공혈관, 인공간장 등의 인공장기를 개발하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 세포에 대하여 인식, 접착, 개질, 분리, 분화유도, 증식 등의 특별한 성능을 갖는 고분자재료를 특히 세포특

이성고분자재료라고 부르는데, 이 세포특이성재료의 설계에 있어서 목적에 따른 재료와 세포와의 상호작용을 조절하는 것이 매우 중요하다.

2. 고분자표면과 세포와의 상호작용

세포와 고분자재료표면간의 상호작용에는 그림 2에 나타

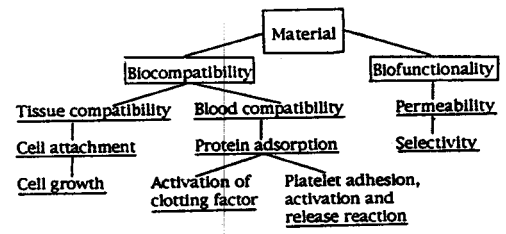
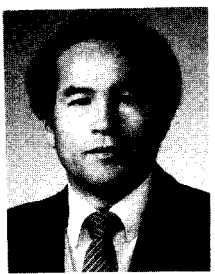


그림 1. Requirements of the biocompatible polymers.



조종수
 1970 서울대학교 농과대학 잠사학과(농학사)
 1976 동경농공대학 공학부 고분자공학과(공학석사)
 1979 동경공업대학 이공학부 고분자공학과(공학박사)
 1982~1983 University of Washington(박사연구원)
 1983~1984 University of Utah(박사연구원)
 1985~1990 전남대학교 부교수
 1990~1991 동경공업대학 교환교수
 1991~1992 University of Utah(박사연구원)
 1990~현재 전남대학교 교수



赤池敏宏
 1970 동경대학 공학부 합성화학과(공학사)
 1972 동경대학 공학부 합성화학과(공학석사)
 1975 동경대학 공학부 합성화학과(공학박사)
 1975~1979 동경여자외과대학 외과 조교
 1980~1990 동경농공대학 공학부 조교수
 1990~현재 동경공업대학 생물공학과 생체분자공학과 교수 및 가나가와 연구소(KAST) 연구실장

Design and Application of Cell-Specific Polymer

전남대학교 고분자공학과, 동경공업대학 생체분자공학과(Chong-Su Cho and Toshihiro Akaike, Dept. of Polymer Eng., Chonnam National University, 300 Yongbong-dong Buk-gu, Kwangju 500-757, Korea, Dept. of Biomolecular Eng., Tokyo Institute of Technology, 4259 Nagatsuta-cho, Midori-ku, Yokohama 227, Japan)

내는 바와 같이 비특이적인 상호작용과 특이적인 상호작용으로 구분된다. 비특이적인 상호작용은 세포와 고분자재료 표면간의 수소결합, 이온결합, 소수결합 등을 이루고 있고, 이러한 비특이적인 상호작용을 하는데 영향을 주는 고분자측면의 인자로서는 그림 3에 나타내는 바와 같이 고분자가 갖는 전하, 친수성기, 소수성기, 고분자의 형태와 고분자의 동적인 구조(dynamic structure)가 세포와 재료표면간의 계면현상에 영향을 주고 있다. 반면에 세포막 표면에는 그림 2에 나타내는 바와 같이 glycoprotein, 콜라겐, fibronectin, 상피계세포증식인자, 인슐린, 저밀도리포단백질 등의 리셉타가 존재하여 이들이 당쇄나 oligopeptide 쇠를 갖는 합성고분자들에 대하여 간싯질세포, 임파구, 혈소판, 혈관내피세포 등이 어떻게 인식하고 응답하는가를 다루는 것으로 고분자배위자의 밀도,¹ 분포,² 또는 배향도^{3,4}에 영향을 받고 있고 이렇게 세포와 고분자간의 특이적 상호작용을 해명함으로써 생체인식재료, 생체적합성재료, 인공장기용재료 등의 생명공학재료를 설계함에 있어서 도움이 되리라 믿는다. 여기에서는 고분자표면과 세포사이의 특이적 상호작용에 주안점을 두고 이것이 세포 및 장기공학에 어떻게 응용되고 있는가를 소개하고자 한다. In vitro에서는 고분자표면과 세포와의 상호작용을 설명하는데 표 1에서 열거한 바와 같은 방법이 주로 사용되고 있다.

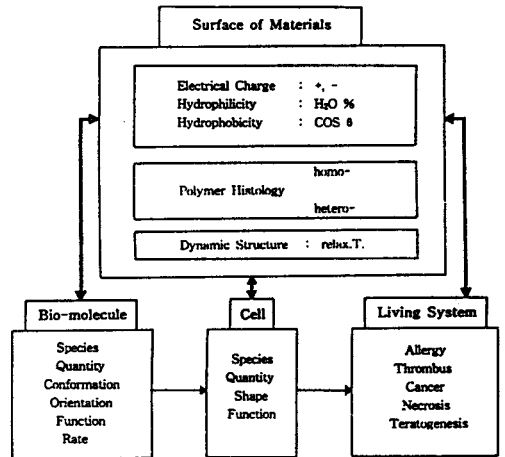


그림 3. Factors affecting interfacial phenomena.

표 1. In vitro testing methods for examining the interactions between biomaterials and cells

Methods	Cell adhesion	Cell culture
Microspheres	Cell count	Cell growth
Microcarriers	Morphology	Morphology
Culture-dish	Biochemical reactions	Function
Hollow fibers		

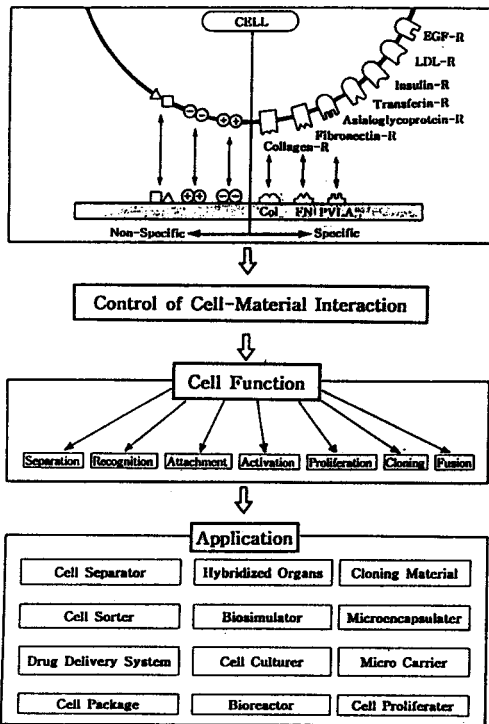


그림 2. Design of cell-specific materials.

3. 응용

3.1 세포배양용 재료

간세포표면에는 많은 종류의 리셉타가 존재하여 외부와의 communication, 정착, 증식 등에 관여하고 있다. 간세포를 배양하기 위해서 기질재료로서는 일반적으로 생체고분자인 콜라겐이나 피브로넥틴 등의 세포접착성 단백질이 이용되었는데 이것이 가장 생리적인 배양재료라고 생각되어져 왔다. 최근에는 Akaike 등^{5,6}의 그룹에 의하여 간세포의 당단백질촉매에 있는 특성의 당(galactose형 올리고당)을 인식하는 기능에 착안하여 그의 모델 물질로서 주쇄를 단백질부터 합성고분자인 polystyrene으로, 측쇄를 올리고당에서 유당(lactose)으로 아주 단순화한 고분자재료인 poly(N-p-vinylbenzyl D-lactonamido)(PVLA)를 설계하였다. 이 PVLA를 사래위에 casting한 후의 간세포배양에서는 돌담의 진전형태는 보이지 않고 채취할때의 형태에 가까운 구상형태를 유지한 상태로 효율성이 좋게 정착·생존하고 있고, 단백질흡성분비능력이나 담즙산형성능력 등의 간특이기능성에 있어서도 종래의 배양방법보다도 양호하게 유지된다고 보고하였다. 또는 PVLA를 사래에 casting할 때의 온도변화에 의해 배양간세포를 증식하는 능력과 단백질을 생산하는 기능을 자유롭게 조절할 수 있었다. 그 PVLA의 합성방법을 그림 4에 나타냈다.

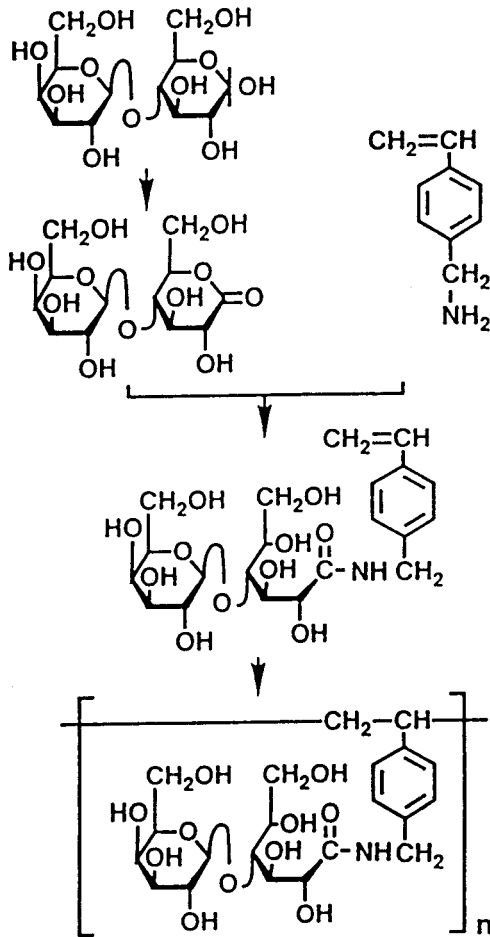


그림 4. Synthetic route to lactose-carrying polystyrene(PVLA).

3.2 약물 방출용 재료

암을 위시한 중대한 질병에 있어서 효과적인 치료방법은 사용되는 의약이 표적이 되는 질병이 발생하는 위치나 세포쪽으로 효율적으로 운반하는데 있다. 이러한 과제를 풀기 위하여 약물이나 그의 carrier의 표적지향성(targeting)의 부여와 약물의 방출조절(control release)⁷ 등의 문제가 제기되고 이것을 해결하려고 고분자약제나 리포솜(lyposome)약제 등에 표적지향성의 향상을 위하여 당쇄, 항체 또는 펩타이드 등의 세포인식성분자를 결합하는 방법이 검토되고 있다. 특히 이러한 방법론은 1970년 후반에 Ringsdorf⁸가 제시한 prodrug나 고분자약제의 새로운 개념을 중심으로 하여 전개되었다. 그들이 제시한 방법론은 주쇄결격의 생체분해성의 유무, 약물의 결합시에 spacer의 유무, carrier의 친·소수성의 배분, 분자량, 용해성과 세포에의 표적지향성 등의 여러가지 사항을 고려하여 재료를 설계해야 한다고 보고하였다. 이러한 생각들은 특히 Kopecek 등

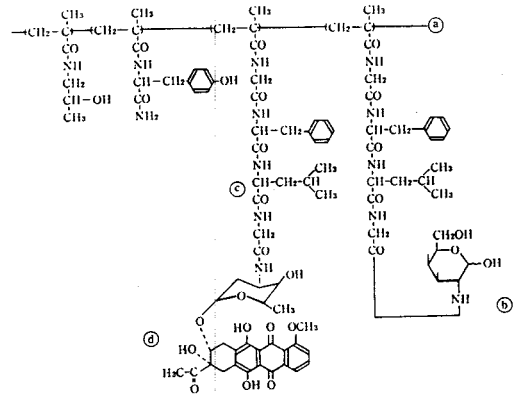


그림 5. Polymeric prodrug synthesized by Kopecek et al. for targeting. (a) main polymer, (b) targeting device, (c) biodegradable site, (d) adriamycin.

의 그룹에 의하여 정력적으로 행하여졌는데 그들은 N-2-hydroxypropyl methacrylamide의 중합체의 측쇄에 monoclonal 항체나 간세포 특이적인 당쇄 등의 인식부위와 lysosome 효소에 의하여 특이적으로 절단되는 펩타이드쇄를 갖는 약물을 도입하여 이것을 약물방출계에 이용하였는데(그림 5) 이러한 기능성고분자는 양호하게 종양쪽으로 모이고 뛰어난 약리효과를 나타낸다고 보고하였다.^{9,10} Maeda 등에 의하면 종양조직이 형성될 때 암세포부근의 새로운 미세혈관의 성장이 급격히 빨라져 물질혈관투과성이 향상되고 있는 것을 이용한 고분자약의 전달계를 제안하고 있다.^{11,12} Lee 등에 의하여 여러가지의 당쇄를 고분자나 단백질에 도입함으로써 이들의 당쇄를 특이적으로 인식하는 세포나 조직에의 표적지향이 가능하다는 것을 지적하였다.^{13,14} Goto 등¹⁵에 의하면 homing기능과 약물의 비공유결합에 의한 포집능을 합친 고분자 micelle형 drug carrier의 연구를 행하였는데 사용한 고분자는 PVLA로서 이것이 간세포배양재료라는 것을 착안하여 in vitro와 in vivo에서의 결과에 의하면 간세포에 의한 PVLA의 뛰어난 선택적인 인식과 포집능을 나타냈다.

3.3 Glucose 전달용 재료

모든 동물세포는 glucose를 에너지원으로 하여 밖으로부터 포집이용하는 대사계를 기본적으로 갖고 있다. 세포막에는 이를 위하여 운반단백질로서 glucose 전달체가 존재하고 있다. 주로 세포종에 따라서 구조와 기능이 다르나 새로운 신호나 자극을 세포에 전하는 역할을 한다. Kobayashi 등은 glucose 전달체의 당쇄식별력에 착안하여 여러가지 구조를 갖는 oligo당쇄를 갖는 polystyrene(PS)을 합성하여, I형의 전달체를 갖는 적혈구에 대한 집착성을 검토하였다. 이 결과 당질고분자 중에서 첫번째의 수산기(환원말단)가 free하게 되어있는 glucose가 PS에 결합한 polystyrene glucose(PVG)가 높은 적혈구 세포집착을 나타내는

것으로 이것은 PVG상에서의 적혈구접착이 glucose 전달체 역할을 띤 때문이라고 보고하였다.¹⁶ 이때 접착된 세포형태도 보통의 세포형태와는 다른 눈물모양으로 접착부위를 한쪽으로 쏠린 듯한 모양으로 되어 있는데 이것은 첫번째에 수산기를 갖는 PVG와 같은 합성당질고분자는 glucose 전달체에 의한 특이적 인식을 받기 때문이라고 해석하였다.

3.4 세포분리용재료

세포분리는 응용면에서 깨끗하고 살아있는 세포량을 대량으로 필요로 하기 때문에 의용재료분야에서 중요성을 더해가고 있고 이러한 요구에 따라서 새로운 세포분리방법이 표 2에 제시되고 있다.¹⁷ 그중에서 혈액세포분리방법이 표 3에 있다.¹⁷ 세포분리는 1920년대부터 Wright¹⁸에 의해서 섬유상 물질을 컬럼에 충전하여 혈액에서 백혈구를 분리해낸 것이 최초의 연구이고 그후에도 Garvin¹⁹에 의하여 접착컬럼을 이용하여 임파구를 분리해냈으나 이들은 재료표면과 세포사이에 있는 비특이적인 상호작용에 의한 방법이나, 세포표면의 리셉터와 특이적인 상호작용을 하는 리간드를 재료표면에 처리한 방법을 이용하면 세포분리에 특수한 장치가 필요로 하지 않는 장점을 가지고 있으나 수율과 세포의 생존율에 아직도 문제점이 남아있는 실정이다. 컬럼방법에 의하여 임파구에서 granulocyte(과립구)를 분리할 때에는 단백질의 일종인 fibronectin이,²⁰ 면역관계세포인 monocytes(단구)과 macrophage(마크로파지)는 succinylated collagen이나 methylated collagen²¹을 처리했을 때 세포접착을 용이하게 하기 때문에 세포분리에 영향을 주고 있다고 보고되었다. Miyamoto²² 등은 혈액에서 나이론직물컬럼을 통하여 granulocytes(과립구)를 분리할 때에 세포의 기능을 손상시키지 않기 위해 나이론직물에 알부민과 수식된 제라틴으로 처리하였다. 친화성 크로마토그래피를 이용하여 세포를 분리할 때에 사용한 고상물질로서는 poly(methyl methacrylate) beads²³나 polyurethane foams²⁴에 항체를 컬럼에 코팅하여 면역세포를 분리했고, 이때 세포와 컬럼과의 비특이적인 상호작용을 억제하기 위하여 agarose나 polyacrylamide의 비드모양의 하이드로젤이 이용되기도 한다. 리간드로서는 항체, 항원, lectin, 또는 단백질 A와 같은 물질이 주로 이용되어, 이러한 물질들을 물리적으로 코팅하거나 화학적으로 공유결합시킨다. 하이드로젤을 이용하여 비특이적인 상호작용을 억제하는데는 아직도 충분치 못함으로 표면에 리간드와 같이 알부민을 고정화하는 방법도 시도되었다.²⁵ 리간드를 매트릭스표면에 공유결합시킬 때 이 결합이 화학적²⁶이나 효소²⁷에 의하여 절단되는 리간드를 선정할 때에는 접착된 세포에 손상을 주지 않고 세포가 회수되었다. 또한 원만한 세포회수를 위하여 온도에 따라 sol-gel전이가 일어나는 gelatin을 이용하기도 하였다.²⁸ 최근에는 세포특이적인 리간드를 갖는 고분자마립자를 이용한 세포분리방법이 증가추세에 있다.²⁹ 그외에도 Ishihara 등³⁰에 의하면 아조벤젠을 갖는

표 2. Methods of cell separation

Methods based on differential volume and/or density

- Velocity sedimentation
- Isopycnic centrifugation
- Counterflow centrifugation
- Field flow fractionation
- Gel filtration

Methods based on differential mobility in an electric field

- Cell electrophoresis

Methods utilizing a magnetic field

- Magnetic chromatography

Flow cytometry

Methods based on a differential partition in aqueous two-phase systems

- Aqueous two-phase partition
- Partition chromatography

Methods based on a differential adsorption on a solid-phase matrix

- Adsorption chromatography
- (Biospecific) affinity chromatography
- (Biospecific) affinity panning

표 3. Application of blood cell separation

Blood transfusion

Apheresis

Leukapheresis, lymphocytapheresis, thrombocytophoresis, Erythrocytapheresis

Diagnosis

Assay on cellular immunity

HLA typing(donor-recipient matching)

Production of bioactive compounds

Lymphokines, monokines, monoclonal antibodies

흡착제를 컬럼에 충전시켜 빛의 조사에 의하여 친수성을 조절하여 erythrocytes(적혈구)의 흡착과 탈착을 시도하였다. Kataoka 등³¹에 의하면 polystyrene 또는 PHEMA와 polyamine으로 구성된 그라프트공합체의 마이크로상 분리구조를 갖는 흡착제를 사용하여 임파구에서 B와 T세포를 고분자의 물리화학적 성질의 차이를 이용하여 빠르고 효과적으로 분리하는데 성공하였다.

3.5 세포의 matrix로의 응용

세포의 matrix는 세포와 세포를 연결시키거나, 세포를 세포의 matrix에 접착시키기 위하여 필수적이며 최근에 많은 연구가 행해지고 있고 더욱이 이것이 생리활성까지도 띄게되어 세포의 밖에서 세포의 이동, 분화, 형태, 증식, 대사 등의 활동에 참가하여 세포기능을 조절하는 역할을 한다고 보고되고 있다.³² 세포의 matrix는 콜라겐, 피브로넥틴, 라미닌, 비트로넥틴, 토론보즈본진, 본빌더브란드인자, 프로테오글리칸 등으로 약 100종류를 넘는 분자에 의해 구성되고 이들의 일부는 혈장중에도 존재하고, 접착·응집반응인 응고, 창상치료 등의 과정에서 중요한 역할을 한다. 혈관벽 내피의 바로 아래에 세포의 matrix인 기저막이 존재한다. 기저막중의 중요성분인 라미닌, IV형

콜라겐은 기저막에만 존재하나 프로테오글리칸의 일종인 헤파란유산은 세포표면과 기저막에도 존재하여 여러가지의 세포기능을 조절한다. 세포의 matrix는 분자중의 세포인식 부위인 Arg-Gly-Asp(RGD)펩타이드나 galactose와 여기에 대응하는 세포막 리셉타의 리간드·리셉타의 상호작용 및 밀도에 의하여 접착강도 및 형태변화가 지배된다고 알려져 있다. 세포·기질상호작용은 세포의 종류 및 기질(흡착단백질과 다당의 종류)의 조합에 의하여 크게 의존되고 일반적으로 흡착단백질이 접착성 세포의 matrix성분인 경우는 상호작용은 강하고, 당쇄에 의한 리간드·리셉타상호작용인 경우는 약하다. 인공기저막은 내피세포의 접착, 증식용으로 중요하다. 인공기저막의 성질로서는 높은 세포접착성 및 증식성, 혈류하에서의 전단응력에 감항하는 접착력, 내피세포가 유체역학적 전단력 등으로 떨어질 것에 대비한 높은 항혈전성 등의 요구가 만족되어야 한다. 일반적으로 재료에 접착하여 증식하는 접착의존성세포는 콜라겐이나 피브로넥틴을 코팅한 재료위에서 접착, 증식이 촉진된다. 콜라겐은 생리적인도에서 섬유형성 및 matrix구조를 나타내기 때문에 그대로 사용하면 항혈전성이 문제가 되기 때문에 Matsuda³³에 의하여 산성무코다당과 콜라겐의 복합 gel이 콜라겐 단독보다 높은 접착, 증식성을 주고, 또한 혈소판 접착, 활성화를 현저하게 떨어뜨린다고 보고하였다. 합성화학적 접근방법으로서 접착성단백질의 접착성활성부위에 공동인 아미노산 배열인 Arg-Gly-Asp(RGD)를 혈관벽세포가 분자인식한다면 RGD를 갖는 합성펩타이드를 재료표면에 화학고정한다면 세포접착리셉타를 분자인식하는 생물학적 특이성 상호작용을 조합한 인공matrix가 형성될 수 있으리라 안다. 고정화하는데 사용하는 재료로서는 Matsuda 등³⁴은 poly(vinyl alcohol)(PVA)을, Hubbell 등³⁵은 poly(ethylene glycol)/poly(acrylic acid) interpenetrating polymer networks을, Barrera 등³⁶은 poly(lactic acid-co-lysine)을 이용하였다. PVA는 친수성표면으로서 세포는 접착하지 않으나 그의 표면수산기를 펩타이드를 고정화한 결과 인공리간드의 표면밀도의 증가와 더불어 혈관내피세포의 접착 및 증식성은 촉진되었으나 미처리의 PVA는 혈관내피세포는 전혀 접착이나 증식이 일어나지 않고 세포끼리 응집하여 부유하는 성질을 나타냈다. 피브로넥틴을 표면고정화한 표면보다도 세포접착·증식이 뛰어난 것은 RGD접착리간드밀도가 접착성단백질보다 높고, 이것은 인공적으로 설계된 인공matrix가 천연에 있는 것을 능가한다고 Matsuda³⁴는 보고하였다.

4. 결 언

세포와 고분자간의 특이한 상호작용을 이용한 여러가지의 세포공학과 조직공학적인 응용면을 간단히 소개하였다.

당질고분자물질이나 펩타이드고분자물질에는 인식의 key-point가 되는 당질이나 펩타이드물질이 세포측에서 쉽게 인식되게 설계되어야 되리라 믿는다. 세포측의 리셉타나 수송체의 구조, 기능의 메카니즘을 분명히 한다면 이들을 적극적으로 활용하여 분자설계를 하는 길이 열릴 것이다. 또한 당이나 펩타이드종류, 결합양식, 밀도, spacer, 배향도 등을 변화시킨 리간드물질을 합성하는 것에 의하여 고분자화학의 측면에서 리셉타나 세포의 기능을 추리할 수 있는 것도 기대된다. 보다 간단하면서 보다 고도한 기능을 갖게끔 고분자화학의 측면에서 접근된다면 품질관리면, 안전성, 대량생산성 등의 유리한 점이 있기 때문에 생화학, 또는 분자생물학적인 접근방법과 더불어 점점 이분야는 중요한 분야가 되리라고 생각된다.

감사의 글 : 본 총설의 원고를 정리하는데 도움을 준 정영일군에게 고마움을 표합니다.

참 고 문 헌

1. Y. C. Lee. "Carbohydrate recognition in cellular function". Wiley, Chichester(Ciba Found Symp 145). 980 (1989).
2. T. Kugumiya, K. Kobayashi, T. Akaike. *J. Bioact. Com. Polym.*, 7, 338 (1992).
3. C. S. Cho, T. Takayama, M. Kunou, and T. Akaike. *J. Biomed. Mat. Res.*, 24, 1369 (1990).
4. C. S. Cho, T. Kotaka, and T. Akaike. *J. Biomed. Mat. Res.*, 27, 199 (1993).
5. A. Kobayashi, T. Akaike, K. Kobayashi, and H. Sumitomo. *Makromol. Chem. Rapid Commun.*, 7, 645 (1986).
6. K. Kobayashi, H. Sumitomo, A. Kobayashi, and T. Akaike. *J. Macromol. Sci. Chem.*, A25, 655 (1988).
7. 橋田充 : Drug Delivery System, 7, 5 (1992).
8. H. Ringsdorf. *J. Poly. Sci.*, 51, 155 (1977).
9. P. A. Flanagan, R. Kopečekova, and J. Kopeček. *Biochim. Biophys. Acta*, 83, 993 (1989).
10. L. W. Seymour, K. Ulbrich, J. Strohal, and J. Kopeck. *Biochem. Pharm.*, 39, 1125 (1990).
11. Y. Matsumura and H. Maeda. *Cancer Res.*, 46, 6387 (1986).
12. 前田浩, 今野俊光, 岩井顯. 癌と化学療法, 11, 814 (1984).
13. 川口吉太郎, 供田洋, Y. C. Lee. *Bioscience and Bioindustry*, 48, 745 (1990).
14. 川口吉太郎, Y. C. Lee. 蛋白質, 核酸, 酵素, 25, 707 (1980).
15. M. Goto, T. Akaike, and K. Kobayashi. *Chem. Lett.*, 123 (1992).
16. 赤池敏宏, 小林明, 後藤光昭, 由良洋文, 小林一清, 人工臓器, 286 (1993).
17. K. Kataoka. *Critical reviews in biocompatibility*, 4, 342 (1988).
18. A. E. Wright. *Lancet*, 1, 4 (1926).
19. J. E. Garvin. *J. Exp. Med.*, 114, 51 (1961).
20. F. Grinnell. *Int. Rev. Cytol.*, 53, 67 (1978).
21. S. Kasai, T. Akaike, T. Miyata, T. Kunimoto, and K. Nitta. *J. Biomed. Mater. Res.*, 18, 243 (1984).
22. M. Miyamoto, K. Honda, and S. Sasagawa. *J. Jpn. Soc. Blood Transfusion*, 28, 398 (1982).

23. H. Wigzell and B. Anderson, *J. Exp. Med.*, **129**, 23 (1969).
24. W. H. Evans, M. G. Mage, and E. A. Peterson, *J. Immunol.*, **102**, 899 (1969).
25. P. S. Duffey, D. L. Drouillard, and C. O. Barbe, *J. Immunol. Methods*, **45**, 137 (1981).
26. J. C. Bannafous, J. Dornand, J. Favero, M. Sizes, E. Boschetti, and J. C. Mani, *J. Immunol. Methods*, **58**, 93 (1983).
27. S. F. Schlossman and L. Hudson, *J. Immunol.*, **110**, 313 (1973).
28. G. J. V. Nossal and B. L. Pike, *J. Immunol.*, **120**, 145 (1978).
29. R. S. Molday, Cell labeling and separation using immunospecific microspheres, in *Cell Separation, Methods and Selected Applications*, Vol. 3, Pretlow, T. G., II and Pretlow, T. P., Eds., Academic Press, Orlando, Fla., 1984, Chap 11.
30. K. Ishihara, M. Kim, I. Shinohara, T. Okano, K. Kataoka, and Y. Sakurai, *J. Appl. Polym. Sci.*, **28**, 1321 (1983).
31. K. Kataoka, T. Okano, Y. Sakurai, T. Nishimura, S. Inoue, T. Watanabe, S. Maruyama, and T. Tsuruta, *Eur. Polym. J.*, **19**, 979 (1983).
32. M. Nishinaga and K. Shimada, *Molecular Medicine(Japanese)*, **30**, 374 (1993).
33. T. Matsuda, *細胞工學*, **8**, 227 (1989).
34. T. Matsuda, et al., *Tras. Am. Soc. Int. Organs*, **34**, 640 (1988).
35. P. D. Drumheller and J. A. Hubbell, *Anal. Biochem.*, In Press (1994).
36. D. A. Barrera, E. Zylstra, P. T. Lansbury, Jr, and R. Langer, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 11010 (1993).