

# 홍합 추출 접착액을 이용한 바이오 티슈의 접합능력 향상에 관한 연구

조병관 Richard Stroshine

## Improvement of Bonding Performance for Biotissue using Marine Mussel Extract Adhesive

B. Cho R. Stroshine

### Abstract

The adhesive performance of marine mussel extract was compared with that of the commercial medical adhesives for fastening biotissue (SIS) bandages. Joints bonded with mussel extract showed stronger strength than those bonded with other commercial adhesives. The bonding strength was much improved when the moisture in the joint was reduced using superporous hydrogel regardless of curing time under humid condition (37°C and 91% relative humidity). Water inflow into the SIS joint seemed to degrade the performance of mussel extracts adhesive especially for the joints of short period of curing time. The strength of SIS joints coated with surgical sealant was well maintained after being exposed to water inflow.

**Keywords :** Marine mussel extract adhesive, Biomaterial, Bonding strength, Superporous hydrogel

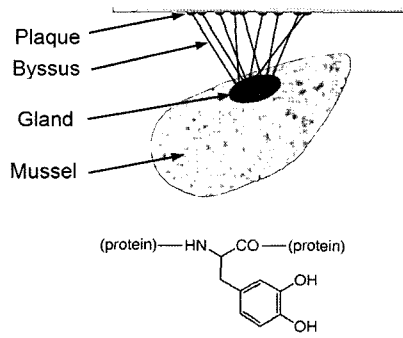
### 1. 서론

손상된 생체조직을 접합치료하기 위한 방법 중, 수술용 접착제의 이용은 신경조직 등과 같이 바늘과 실을 이용한 물리적인 봉합기술 사용이 적합하지 못한 생체조직 치료에 바람직하다. 생체조직 치료에 이상적인 접착제의 조건으로는 빠른 접착 능력과 강한 접합강도, 인체 무 독성 및 무 면역반응, 그리고 사용의 용이성 등을 들 수 있다(Spotnitz, 1996). 특히, 생체조직 치료용으로 사용되는 접착제는 수분이 많은 인체 내에서도 강한 접착력을 가져야 한다. 다양한 생체 조직체에 대한 접착제의 사용에 관한 연구가 진행되고 있지만, 위의 조건을 모두 충족시키는 이상적인 접착제는 현재까지 개발되지 않고 있다. 현재 보편화된 의료용 접착제 중 시아노아크릴레이트(cyanoacrylate)계 접착제는 접착속도가 빠르고 접합강도가 대체로 강하지만, 인체에 유독할 수 있다고 보고 되었고(Papatheofanis, 1989) 수술용 접착제로 상용되고 있는 피브린(fibrin) 접착제는 인체

혈청으로 만들어져 독성과 면역반응은 없지만, 접합강도가 약하며 원료 조달이 현혈 기부량에 영향을 받는 단점이 있다 (Strausberg와 Link, 1990; Sekine 등, 2001).

현재 이상적인 생체조직 치료용 접착제로 연구가 진행되고 있는 대상이 홍합 단백질 추출액이다. 특히 홍합은 물속에서도 접착력이 매우 강한 특징을 지니고 있기 때문에 생체조직 접착제 원료로 중요한 연구대상이 되고 있다(Waite와 Tanzer, 1981; Waite, 1987, 1995; Deming, 1999). Waite(1981, 1987)는 홍합의 접착패드에 있는 아미노산의 일종인 DOPA(3,4-dihydroxyphenylalanine)를 함유한 단백질이 접착력의 원인이라는 것을 발견하였다. 아직까지 홍합 단백질이 어떻게 강화 생체 접착제로 변하는가에 대한 정확한 기작은 밝혀지지 않았지만, DOPA의 가교결합(cross-linking)이 단백질로 합성되는 과정에서 강한 접착력을 갖게 되는 것으로 추측되고 있다 (Fig. 1). 홍합 추출 단백질은 접착력이 강하고 독성과 인체에 면역반응이 없는 장점 때문에 이를 이용한 의료용 접착제 거

The article was submitted for publication in December 2006, reviewed and approved for publication by the editorial board of KSAM in March 2007. The authors are Byoung-Kwan Cho, Full-Time Instructor, KSAM member, Dept. of Bioindustrial Machinery Engineering, Chungnam National University, Daejeon, Korea, and Richard Stroshine, Professor, Dept. of Agricultural and Biological Engineering, Purdue University, West Lafayette, IN, USA. Corresponding author: B. Cho, Full-Time Instructor, Department of Bioindustrial Machinery Engineering, Chungnam National University, Daejeon, 305-764, Korea; Fax: +82-42-823-6246; E-mail: <chobk@cnu.ac.kr>.



**Fig. 1** Schematic of a marine mussel adhering to an anchoring surface (up), and structure of the protein-bound 3,4-dihydroxyphenylalanine (down).

발에 관한 연구는 앞으로도 계속 활성화될 것으로 판단된다 (Fulkerson 등, 1990; Kossovsky 등, 1995; Pitman 등, 1989).

최근 손상된 생체조직의 수술치료에 많이 사용되는 바이오 티슈 중 돼지의 소장 점막 하 조직과 근육조직에서 추출된 콜라겐(collagen)을 원료로 개발된 SIS(Small Intestinal Submucosa)는 포유류 생체조직에 접합시켜 시간이 경과하면 포유류의 생체조직으로 동화되는 특징을 가지고 있다(Badylak, 1993). 또한 우수한 인장강도를 지니고 있어 생체조직의 상처나 절단된 부분의 접합지지대 기능을 효과적으로 수행할 수가 있다. 손상된 생체조직을 접합 치료할 때 SIS 소재는 인접한 두 생체조직의 접합 매개체와 또한 지지대로서 역할을 수행하게 한다. 특히 척추나 신경조직 등과 같이 실린더 모양의 생체조직을 접합할 때에는 생체조직과 SIS간, 또한 SIS간에도 강한 접합이 유지되어야 하며 습도가 높고, 접합한 부분으로 수분이 유입될 수 있는 인체 내 환경에서도 접합된 부분이 분리되지 않아야 한다.

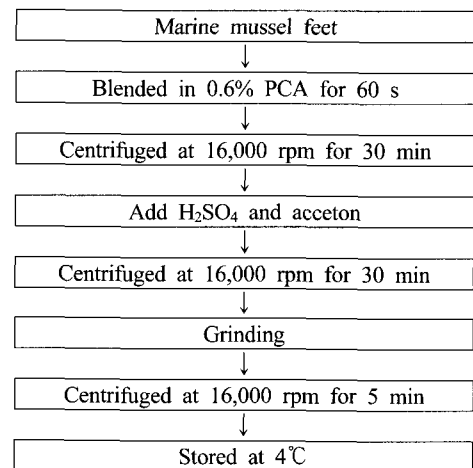
본 연구는 홍합 추출 단백질 접착액을 이용하여 인체 내 환경에서 SIS 자체의 접착력을 향상시킬 수 있는 방법을 제시하기 위해 수행되었다. 세부적인 연구목적은 1) 상용되고 있는 의료용 접착제와 홍합 추출 단백질 접착액을 SIS 접합에 적용하여 접착능력을 비교 검증하고 2) SPHG(Superporous Hydrogel)를 이용하여 접합부분의 신속한 수분제거를 통해 SIS의 접합력을 향상하는 방법과 3) 수분 재흡습 환경에서도 접착력을 유지할 수 있는 방법을 고찰하는 것이다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 홍합 단백질 추출액 제조

-20°C에서 냉동 보관되고 있는 홍합(*Mytilus edulis*)의 다 리부분을 분쇄하고 홍합 중량의 10배에 해당하는 0.7% PCA

(perchloric acid)를 홍합과 함께 믹서기(Mixer)에 넣고 난 다음 1분 동안 브랜딩(blending)시킨다. 브랜딩 후 시료를 4°C에서 30분간 16,000 rpm으로 원심분리시킨 다음 침전물은 버리고 부유액만 따로 모은다. 부유액 부피의 1.68%에 해당하는 황산용액(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)을 첨가하고 부유액 부피의 200%에 해당하는 아세톤 용액을 1초에 약 2-3방울 속도로 교반기를 사용하여 혼합시킨다. 혼합이 완료된 시료를 4°C에서 30분간 16,000 rpm으로 원심분리를 시킨 후, 부유액은 버리고 침전물을 추출한다. 추출물을 연마기에 넣고 탈이온 증류수(Deionized Distilled Water)를 조금씩 첨가하며 연마한다. 연마가 끝나면 시료를 마이크로 원심분리기에 넣고 4°C에서 5분간 11,200 rpm으로 원심분리를 시킨다. 튜브의 윗부분에 잔존하는 부유액을 모아 교반기로 잘 섞은 다음 접착액으로 사용될 때까지 4°C에서 보관한다. 전반적인 홍합 단백질 접착액(Mussel Adhesive Protein Solution, MAPS) 추출과정은 문헌(Waite, 1995)에 제시된 방법을 따랐고 전체 제조과정을 요약하면 그림 2와 같다.



**Fig. 2** Flowchart of preparation of the mussel extract.

### 나. 접착제를 이용한 SIS 접합 인장강도 실험

SIS 시트(Surgisis®, Cook Biotech Inc., West Lafayette, IN, USA)에서 접합부분이 10 mm×5 mm가 되도록 그림 3과 같은 모양으로 SIS 샘플을 준비하였다. 인장강도 실험 동안 접합부분이 아닌 SIS 자체에서의 파괴를 최소화하기 위하여 접합부분에서 양 끝부분으로 갈수록 SIS의 면적을 넓게 구성하였다. SIS 샘플을 탈이온 증류수에 담갔다가 꺼낸 후 2-3초간 거름종이 위에 올려놓고 표면에 존재하는 물기를 제거한다. 샘플의 가운데 부분을 절단한 후 접착제를 첨가하여 SIS를 겹쳐서 접합시킨다. 일단 접합이 완성되면 접합된 SIS의 양쪽 끝부분에 강력접착제(Krazy Glue®, Elmer's Products

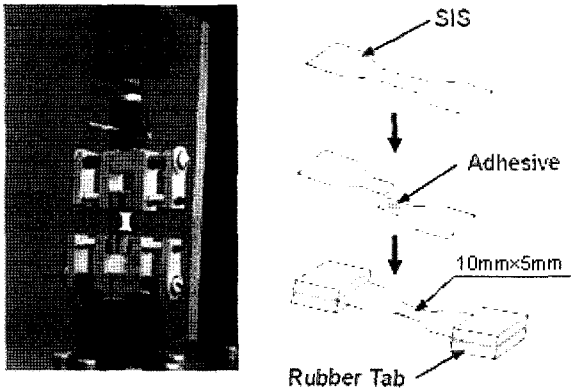


Fig. 3 Photograph and procedures of a SIS joint tensile test.

Inc., Columbus, OH, USA)를 이용하여 실리콘 고무조각(10 mm×10 mm)을 붙이고 Sintech 전단력 테스트 장치(MTS Corp., Eden Prairie, MN, USA)에 장착한다. 10 mm/min의 인장 속도로 접합부분의 파괴 인장 스트레스를 측정하였다. 접합부분이 파괴될 때의 인장력에 접합부분의 면적을 나누어 접합부분의 파괴 인장 스트레스(kPa)를 계산하였다. 접합부분에 작용하는 인장 스트레스가 약 100 kPa 이상일 때에도 접합부분에서 파괴가 일어나지 않으면 접합부분이 아닌 SIS 자체에서 파괴가 발생하였다. 따라서 접합부분이 100 kPa 이상의 인장 스트레스를 견디는 것은 접합부분의 접착력이 SIS 자체의 인장강도 보다 높다는 것을 의미한다. 각 실험은 4회 반복 실시하였고 평균값과 표준편차를 구하였다.

1) MAPS

일관성있는 인장 스트레스 실험을 위해서는 MAPS의 접착력을 결정하는 DOPA 농도의 정확한 측정과 제어가 필요하다. DOPA의 농도를 측정하기 위해서 표준 DOPA 용액과 MAPS에 포함되어있는 DOPA 농도를 UV-Vis 스펙트로스코피(Carry 100, Varian Inc., Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 측정하였다(Arnow, 1937). 일반적으로 추출과정을 거친 MAPS 내의 DOPA 농도는 0.5 mM 보다 높게 나타난다. 따라서, 탈이온 증류수를 이용하여 MAPS의 DOPA 농도가 0.5 mM이 되도록 조절하였다. 준비된 MAPS를 마이크로 피펫으로 SIS 한쪽 면에 10 μL의 양을 첨가하고 다른 SIS 조각을 겹치게 한 다음 핀셋으로 약 1분간 가볍게 눌러 접합시킨다. SIS 양쪽 끝에 강력접착제를 바르고 실리콘 고무를 접합시킨 후 인장실험 장치에 장착시킨다. MAPS를 첨가한 시점에서 장착시간을 포함하여 정확히 5분 후 인장 스트레스 측정을 시작하였다.

2) 피브린 접착제

의료용 접착제로 상용되고 있는 피브린 접착제(Tisseel®)를

Baxter사(Westlake Village, CA, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 이 접착제는 피브리노겐(Fibrinogen)과 억제제인 aprotinin 액의 혼합액과 트롬빈과 염화칼슘액의 혼합액으로 구성되어 있다. 듀플렉스 주사기를 통해 각각의 두 혼합액이 주사기의 끝부분에서 혼합되도록 한 다음 원하는 접합부분에 유입시킨다. 혼합액은 접합부분에서 가교결합(cross-linking)을 일으키며 피브린으로 변한다. 두 혼합액이 상온에서 혼합되면 쉽게 중합(polymerization)되는 성질이 있다. 따라서 접착제가 만들어지는 듀플렉스 주사기의 끝부분의 중합을 막기 위하여 듀플렉스 주사기를 사용하지 않을 시에는 37°C의 온수에 담가 두어야 한다. 피브린 접착제는 수동으로 주사기를 조작하여 접착액의 양을 조절해야 하는 어려움이 있다. 본 실험에서 SIS 접합부분에 사용된 피브린 접착제량은 약 150 mg 미만이었다. 나머지 인장 스트레스 측정 방법은 MAPS를 사용한 측정방법과 동일하다.

3) Octyl 시아노아크릴레이트 접착액

Octyl 시아노아크릴레이트(2-octyl cyanoacrylate, OCA) 접착제(Nexaband®, Closure Medical Corp., Raleigh, NC, USA)를 SIS 접합을 위해 사용하였다. OCA는 피하조직의 수술 후 접합 등에 사용되는 의료용 접착제이다. 10 μL의 OCA를 마이크로 피펫을 이용하여 SIS접합부분에 적용하였다. 나머지 인장 스트레스 측정 방법은 MAPS를 사용한 측정방법과 동일하다.

다. SPHG을 이용한 접합부분의 수분제거

손상 생체의 치료 및 회복에 가장 중요한 조건 중 하나는 손상부분을 빠른 시간에 생리적인 활동에 영향을 주지 않는 범위 내에서 강하게 접합시키는 것이다. 접착액에는 많은 수분이 함유되어 있으므로 접착 시 수분의 빠른 제거는 접합속도 향상과 관계가 있다. 본 실험에서는 그림 4와 같이 SIS의 접합 후 접합표면에 SPHG을 놓고 2분간 핀셋으로 가볍게 누르며 확산을 통해 수분이 제거되도록 하였다. Hydrogel은 수분흡수에 매우 뛰어난 친수성 폴리머가 공유결합으로 구성된 3차원의 망상조직체로 크기에 관계없이 단일분자 물질이다. SPHG는 일반 Hydrogel의 흡습성능을 더욱 향상시킨 것으로 고분자 비닐기 모노머(vinyl monomer) 용액이 가교결합(cross-linking)으로 중합될 때 중탄산나트륨(sodium bicarbonate)을 첨가하여 반경 약 100 μm의 기공을 다량 함유하게 만든 소재이다. SPHG의 기공은 흡습 시 모세관현상을 유발하여 수분 흡수속도를 더욱 높이는 역할을 한다(Omidian 등, 2005). 본 실험에서는 Purdue University(West Lafayette, IN, USA), Department of Biomedical Engineering에서 제조된 SPHG를 사용하였다.

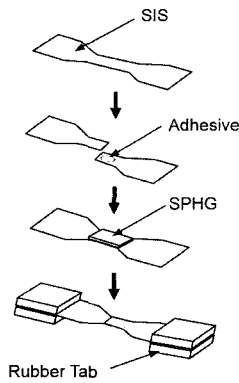


Fig. 4 Procedures of making a SIS joint using SPHG.

라. SIS의 수분 재흡수 실험

인체 내 환경은 약 37°C의 온도와 높은 습도로 유지되고 있으며 또한 생리작용이 활발하여 손상된 조직의 접합치료 시 접합부분으로 수분의 유입 가능성이 매우 높다. 따라서, 본 연구에서는 인체 내의 습한 환경이 접합된 SIS의 접합력에 미치는 영향을 관찰하기 위해 준비된 SIS 시료를 항온항습기(37°C, 상대습도 91%)에 일정시간 보관한 후 파괴 인장 스트레스를 측정을 하였다. 또한 접합된 조직으로 수분 유입이 일어날 때의 인장 스트레스 변화를 측정하기 위해 SIS 접합부분을 충분히 덮을 수 있도록 탈이온 증류수 10 μL를 유입시킨 다음 인장강도 실험을 추가로 실시하였다.

마. 의약품 방수제를 이용한 재흡수 방지 실험

고습 환경에서 MAPS와 SPHG를 이용한 SIS의 접합부분에 수분이 유입되면 접합되지 기능이 약화될 가능성이 있다. 수분 유입으로부터 SIS 접합부분을 보호하기 위해서 수술용 방수제(CoSeal®, Baxter Corp., Fremont, CA, USA)로 접합부분을 코팅하는 방법을 사용하였다. SIS의 접합 후 SPHG를 이용하여 수분을 제거한 다음 약 20 μL의 방수제를 이용하여 접합부분을 코팅하였다. 코팅 후 수분 10 μL를 접합부분에 유입시킨 후 인장강도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 접착제 별 SIS 접착력 비교

여러 종류의 접착제를 사용하여 SIS를 접합한 후 인장 테스트기에 장착하는 시간을 포함하여 5분이 경과한 후 실시한 파괴 인장 스트레스 측정결과는 그림 5와 같았다. 실험이 진행된 실내공기의 온도는 약 23°C였고 상대습도는 약 30%였다. 접착제를 사용하지 않은 경우와 접착제를 사용한 경우의

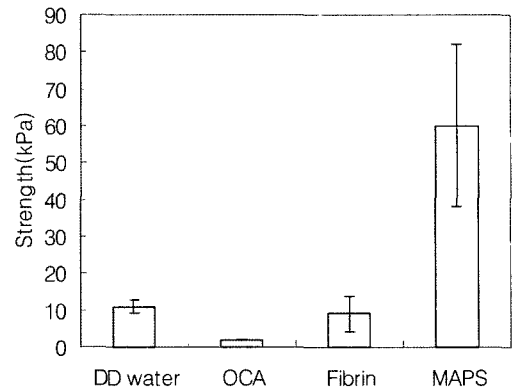


Fig. 5 Comparison of strengths of SIS bonds using various adhesives.

접착력을 비교하기 위해 탈이온 증류수를 접착제 대신 사용한 SIS 접합부의 접합강도를 측정하였다. 피브린 접착제의 경우는 접착제 대신 탈이온 증류수를 사용한 것과 비슷한 파괴 인장 스트레스 값(< 20 kPa)을 보였고, OCA 접착제의 경우는 접합이 거의 이루어지지 않아 SIS간의 마찰력 수준의 매우 낮은 인장 스트레스 값(< 5 kPa)을 보였다. MAPS의 경우는 다른 접착제보다 접착력이 3배 이상 되는 매우 우수한 결과를 보였다.

나. 고습도 환경에서의 시간 별 접합력 비교

인체 내 환경처럼 고습한 환경에서의 접합강도를 관찰하기 위해 SIS를 MAPS로 접합한 후 즉시 항온항습기(37°C, 상대습도 91%)에 넣고 20분, 40분, 그리고 60분간 보관한 다음 인장 스트레스를 측정하였다(Fig. 6). 고습 환경에서는 접합강도가 약 40분 정도까지는 일반 실내 환경에서 5분의 시간이 경과한 후 실시한 접합강도보다 약하다가 60분이 경과한 다음에는 접합강도가 약 80 kPa 정도로 증가하였다. 고습 환경에서 약 40분 정도까지 SIS의 접합강도가 낮은 것은 접착액의 흡수율이 주위의 고습환경으로 인해 거의 감소하지 않아

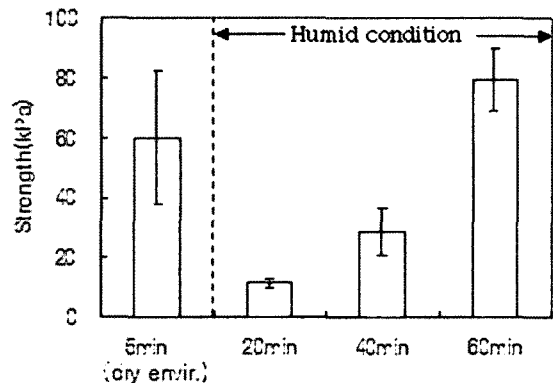
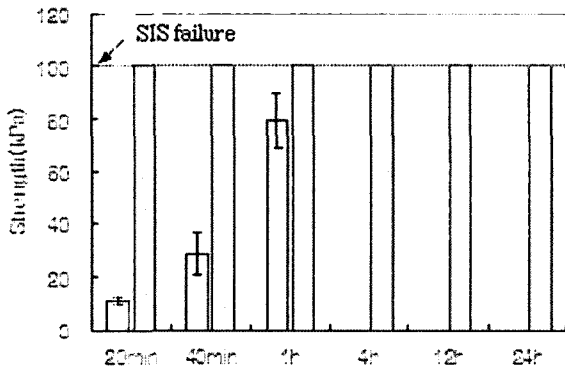


Fig. 6 Comparison of strengths of MAPS bonds of SIS samples at different curing time under "humid" condition.

접착성분의 가교결합 형성이 늦어졌기 때문인 것으로 판단된다. 이 결과는 접합부분 내의 수분감소율이 접합강도와 밀접하게 관련됨을 보여주는 것이다. 또한 MAPS를 이용하여 SIS를 접합할 시에는 인체 내 환경에서 최소 60분 이상의 큐어링 시간이 필요하다는 것을 의미한다.

**다. SPHG을 이용한 접합력 향상**

위의 실험결과에서도 알 수 있듯이 접합부분 내에서의 수분함량은 접합강도와 밀접함을 알 수 있었다. 짧은 시간에 접합강도를 높이기 위해서는 접합부분의 수분을 빠른 시간에 제거하는 것이 가장 효과적인 방법이라 할 수 있다. 본 실험에서는 SPHG를 이용하여 SIS 접합부분의 수분을 확산을 통해 제거하였다. 그림 7은 MAPS를 이용하여 SIS를 접합하고 SPHG를 접합부분 위에 2분간 올려놓은 후 고습 환경(37°C, 상대습도 91%)에 일정시간 보관한 다음 인장 스트레스를 측정 한 결과이다. 결과에서 볼 수 있듯이 일단 접합부분 내의 수분이 제거되면 SIS의 접합강도는 고습 환경에 보관된 시간에 관계없이 모두 SIS 자체 파괴 인장강도 값에 도달하였다. SIS 접합부분의 수분이 확산을 통해 제거되면서 접합된 두 SIS 층의 밀착이 강해지고 또한 MAPS내의 DOPA 농도가 빠른 시간 내에 높아지므로 접합력이 극대화되는 것으로 판단된다.

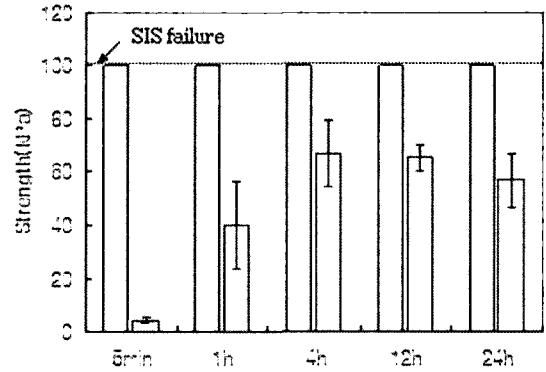


**Fig. 7** Comparison of strengths of MAPS bonds of SPHG treated (■) and not treated (□) SIS samples at different curing time under "humid" condition.

**라. 수분유입 시 접합력 비교**

손상된 생체의 치료를 위해 사용된 SIS의 접합이 성공적으로 이루어졌다고 하더라도 생체 내에서는 접합부분이 언제든 수분 유입에 노출될 수 있다. SPHG를 이용하여 SIS를 접합하고 고습 환경(37°C, 상대습도 91%)에서 일정 시간(5분, 1시간, 4시간, 12시간, 24시간)을 경과시킨 후 접합부분에 탈이온 증류수 10 μL를 유입시킨 다음 인장강도 실험을 실시하였다. 그림 8의 각 시간 별 두 막대 중 첫 번째는 수분이 유입되

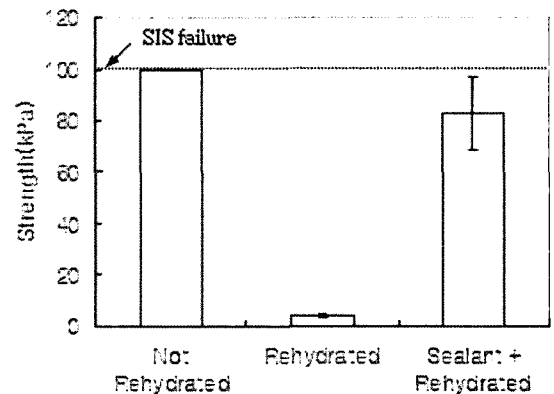
지 않았을 때의 인장 스트레스 값을 나타내며 두 번째는 수분이 유입되었을 때의 값을 나타낸다. 전체적으로 수분이 유입되었을 때의 SIS 접합강도는 수분이 유입되지 않았을 때의 접합강도 보다 낮게 나타났다. 또한 수분이 유입되었을 때의 접합강도는 시간이 흐를수록 높아졌지만 4시간이 지난 후의 접합강도 값의 차이는 통계적으로 유의성이 없었다(P=0.35).



**Fig. 8** Comparison of strengths of MAPS bonds of SIS samples exposed (■) and not exposed (□) to water incursion at different curing time under "humid" condition.

**마. 의료용 방수제를 이용한 재흡습 방지**

고습 환경에서 MAPS와 SPHG을 이용한 SIS의 접합은 수분이 유입되지 않은 경우 매우 안정적인 접합을 유지하였다. 그러나, 수분이 유입되면 접합강도가 약해져 대상 생체의 접합지지 기능이 약화될 가능성이 있다. 수분 유입으로부터 SIS 접합부분을 보호하기 위해서 수술용 방수제로 접합부분을 코팅하였다. 그림 9는 MAPS로 SIS를 접합한 후 SPHG를 이용하여 수분을 제거한 후 인장 스트레스를 측정 한 값과 이 SIS 접합부분에 10 μL의 수분을 유입시켰을 때, 그리고 SIS 접합부분을 방수처리하고 수분을 유입했을 때의 인장 스트레스



**Fig. 9** Comparison of strengths of MAPS bonds of SPHG treated SIS samples before and after rehydration, and rehydrated after coated with sealant.

값을 보여주고 있다. 방수제로 접합부분을 밀봉했을 때는 접합부분으로 수분유입이 최소화되어 SPHG를 접합에 이용하여 형성된 강한 접합력이 보다 잘 유지되는 것을 볼 수 있었다. 방수제를 사용한 접합부분의 접합력이 수분유입 후 약 80 kPa으로 다소 약화된 것은 완전한 방수막 형성을 위한 큐어링 시간이 다소 부족했기 때문이라 판단된다.

#### 4. 요약 및 결론

손상된 생체조직의 접합치료에 사용되는 바이오 티슈인 SIS의 접합을 위해 MAPS와 상용되고 있는 의료용 접착제를 사용하여 접합능력을 비교하였다. 실험에 사용된 접착제 중 MAPS가 SIS 접합에 가장 강한 접합력을 보였다. 인체와 같은 고습 환경에서 MAPS를 이용하여 SIS를 접합할 때는 최소 1시간 이상의 큐어링 시간이 필요함을 알 수 있었으며 SIS 접합부분의 수분감소율이 접합강도와 매우 밀접하게 관련되어 있음을 확인할 수 있었다. SIS 접합 시 SPHG를 이용하여 접합부분 내의 수분을 제거했을 때 SIS의 접합강도가 매우 향상되었다. 그러나 SIS의 접합부분에 수분이 유입되면 접합강도가 감소되었으며 이러한 수분유입을 차단하고 접합강도를 유지하기 위해서는 의료용 방수제를 사용하여 접합부분을 코팅하는 것이 효과적이었다. 결과적으로 MAPS는 인체 내 환경에서 SIS 접합에 효과적인 접착제로 활용될 수 있으리라 판단되며 수분유입 시에도 MAPS를 사용하여 강한 결합을 유지할 수 있는 방법에 관해서는 의료용 방수제 사용 외에도 MAP에 금속이온을 첨가하여 접합을 강화시키는 방법(Monahan과 Wilker, 2004) 등의 다양한 추가 연구가 필요하다고 판단된다.

#### 참 고 문 헌

1. Arnow, L. E. 1937. Colorimetric determination of the components of 3,4-Dihydroxyphenylalanine-Tyrosine Mixtures. *Journal of Biological Chemistry* 118(2):531-537.
2. Badylak, S. F. 1993. Small intestinal submucosa (SIS): a biomaterial conducive to smart tissue remodeling. In: Bell, E. *Tissue engineering: current perspectives*. Burkhauser Publishers. pp.179-189.
3. Deming, T. J. 1999. Mussel byssus and biomolecular materials. *Current Opinion Chemical Biology* 3(1):100-105.
4. Fulkerson, J. P., L. A. Norton, G. Gronowicz, P. Picciano, J. M. Massicotte and C. W. Nissen. 1990. Attachment of epiphyseal cartilage cells and 17/28 rat osteosarcoma osteoblasts using mussel adhesive protein. *Journal of Orthopaedic Research* 8(6):793-798.
5. Kossovsky, N., A. Gelman, H. J. Hnatyszyn, S. Rajguru, R. L. Garrell, S. Torbati, S. F. Freitas and G. Chow. 1995. Surface-modified diamond nanoparticles as antigen delivery vehicles. *Bioconjugate Chemistry* 6(5):507-511.
6. Monahan, J. and J. J. Wilker. 2004. Cross-linking the protein precursor of marine mussel adhesives: bulk measurements and reagents for curing. *Langmuir* 20(9):3724-3729.
7. Omidian, H., J. Rocca and K. Park. 2005. Advances in superporous hydrogels. *Journal of Controlled Release* 102(1):3-12.
8. Papatheofanis, F. J. 1989. Cytotoxicity of alkyl-2-cyanoacrylate adhesives. *Journal of Biomedical Materials Research* 23(6): 661-668.
9. Pitman, M. I., D. Menche, E. Song, A. Ben-Yishay, D. Gilbert and D. Grande. 1989. The use of adhesives in chondrocyte transplantation surgery: in-vivo studies. *Bulletin of the Hospital for Joint Diseases Orthopedic Institute* 49(2):213-220.
10. Sekine, T., T. Nakamura, Y. Shimizu, H. Ueda, K. Matsumoto, Y. Takimoto and T. Kiyotani. 2001. A new type of surgical adhesive made from porcine collagen and polyglutamic acid. *Journal of Biomedical Materials Research* 54(2):305-310.
11. Spotnitz, W. D. 1996. History of tissue adhesive. In: Sierra D. H., Saltz R. (Ed). *Surgical adhesive and sealants - current technology and applications*. Technomic Publishing. pp.3-12.
12. Strausberg, R. L. and R. P. Link. 1990. Protein-based medical adhesives. *Trends in Biotechnology* 8:53-57.
13. Waite, J. H. 1987. Nature's underwater adhesive specialist. *International Journal of Adhesion and Adhesives* 7(1):9-14.
14. Waite, J. H. 1995. Precursors of quinine tanning: DOPA-containing proteins. *Methods in Enzymology* 258:1-20.
15. Waite, J. H. and M. L. Tanzer. 1981. Polyphenolic substance of *Mytilus edulis*: novel adhesive containing L-Dopa and hydroxyproline. *Science* 212:1038-1040.