



NC2017/0007381 Respuesta Requerimiento

Capítulo reivindicatorio

1. Un método para el aislamiento y purificación de colágeno II a partir de tejido cartilaginoso que comprende:

- a. Remover del cartílago el tejido adyacente no cartilaginoso con una herramienta cortopunzante
- b. Cortar el cartílago en trozos de 0.5 a 1 cm³
- c. Lavar el cartílago con una mezcla de un solvente polar en agua durante 15 a 25 horas en serie ascendente de concentración desde una concentración inicial de 50% hasta una de 100%, donde el solvente polar se selecciona de etanol, propanol, isopropanol, dimetil éter, éter etílico y acetona.
- d. Lavar con agua por 5 a 10 horas tres veces.
- e. Tratar el cartílago lavado con una solución de una proteasa entre 0.01 a 1% en pH 3 a 8, por 20 a 30 horas, donde la proteasa se selecciona de tripsina, papaína, pancreatina, quimotripsina A, quimotripsina B, pancreatopeptidasa B, ficina, catepsina y quimopapaina.
- f. Homogenizar la suspensión de cartílago/enzima, con un mezclador de espas a 5000 rpm por 30 min.
- g. Centrifugar la mezcla
- h. Lavar el pellet con agua por 1 a 5 horas
- i. Agitar la mezcla a 4 a 35°C por 20 a 35 horas
- j. Centrifugar la mezcla de 3000 a 5000 rpm por 15 a 45 min
- k. Tratar el pellet con una solución de pepsina 0.01 a 1% p/v en pH 2 a 3 usando ácido acético o ácido clorhídrico, por 20 a 30 horas.
- l. Centrifugar la mezcla de 3000 a 5000 rpm por 15 a 45 min
- m. Lavar con agua por 5 a 10 horas tres veces.
- n. Resuspender en ácido acético 0.25 a 0.75M en agitación por 20 a 40 horas.
- o. Centrifugar la mezcla de 3000 a 5000 rpm por 15 a 45 min y desechar el pellet.
- p. Adicionar al sobrenadante NaCl hasta alcanzar una concentración entre 0.5 a 1M agitando por 20 a 30 horas.
- q. Lavar el precipitado obtenido con agua por 5 a 10 horas.
- r. Adicionar una base fuerte hasta alcanzar un pH 4 a 6, la base fuerte se selecciona de NaOH, KOH y NH₃.
- s. Lavar con agua por 5 a 10 horas tres veces.
- t. Resuspender el pellet en una solución ácida de 0.1 a 1 M, el ácido se selecciona entre ácido acético o ácido clorhídrico.

2. Soporte biocompatible elaborado con colágeno tipo II y entrecruzados con genipina, caracterizados porque tiene una porosidad entre 93 - 98%, resistencia a la tensión 0,05 - 0.15 MPa y capacidad de absorción de agua entre 500 y 1200%.