(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0052543
(43) 공개일자 2025년04월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B29C 64/307 (2017.01) *B29C 48/50* (2019.01)
B29C 64/106 (2017.01) *B29C 64/209* (2017.01)
B29C 64/227 (2017.01) *B29C 64/245* (2017.01)
B29C 64/259 (2017.01) *B29C 64/386* (2017.01)
B33Y 10/00 (2015.01) *B33Y 30/00* (2015.01)
G06F 30/00 (2020.01)
(52) CPC특허분류
B29C 64/307 (2017.08)
B29C 48/50 (2019.02)
(21) 출원번호 10-2023-0135323
(22) 출원일자 2023년10월11일
심사청구일자 2023년10월11일

(71) 출원인
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
(72) 발명자
신관우
서울특별시 강남구 언주로30길 26 G-1208
장동윤
서울특별시 강남구 개포로 409 2동 101호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인에스알비

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **OPR (On-Printing Refueling) 3D 바이오 프린팅을 이용하여 단계 기울기를 가진 스캐폴드의 제조 방법 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅을 이용하여 단계 기울기를 가진 스캐폴드의 제조 방법 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명의 따른 OPR (On-Printing Refueling) 3D 바이오 프린팅 기술에 따라 제조된 스캐폴드는 기존의 3D 프린팅 기술이 재현하지 못하는 실제 인체 조직과 유사한 단계 기울기 및 급격한 변화를 정확하고 정밀하게 재현할 수 있으며, 이를 효과적으로 대체 또는 재생용 생체 조직으로 활용할 수 있다.

대 표 도 - 도1a



(52) CPC특허분류
B29C 64/106 (2021.08)
B29C 64/209 (2017.08)
B29C 64/227 (2021.08)
B29C 64/245 (2021.08)
B29C 64/259 (2017.08)
B29C 64/386 (2021.08)
B33Y 10/00 (2013.01)
B33Y 30/00 (2013.01)
G06F 30/00 (2020.01)

(72) 발명자
김창호
서울특별시 도봉구 삼양로162가길 42-12, 226동 401호

유수련
서울특별시 마포구 숭문길 98, 104동 2103호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711187812
과제번호 2019R1A2C2084638
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 중견연구자지원사업
연구과제명 바이오 분자 소재의 다차원 계층 구조 연구
기 여 율 25/100
과제수행기관명 서강대학교
연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345364271
과제번호 2018R1A6A1A03024940
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 중점연구소지원사업
연구과제명 분자 자가 조립 기반 기능성 인공세포 구현
기 여 율 25/100
과제수행기관명 서강대학교 산학협력단
연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345358490
과제번호 2020R1A6C101A192
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국기초과학지원연구원
연구사업명 이공학학술연구기반구축
연구과제명 핵심연구지원센터 조성 지원 과제(첨단 바이오계면 핵심연구지원센터)
기 여 율 25/100
과제수행기관명 서강대학교 산학협력단
연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711184951
과제번호 2021K1A4A8A02079222
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 해외우수기관협력허브구축
연구과제명 서강-하버드-SDU BioHybrid 공동 연구센터
기 여 율 25/100
과제수행기관명 서강대학교
연구기간 2023.01.01 ~ 2023.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

스테퍼 모터를 포함하는 모터 플랫폼;

복수의 시린지 플런저, 복수의 인쇄재료 투입구, 및 상기 스테퍼 모터에 축결합된 마이크로 패턴 임펠러를 포함하는 혼합 모듈;

리필 카트리지, 단일의 인쇄재료 압출구, 및 3방향 밸브를 포함하는 압출 모듈; 및

상기 혼합 모듈과 상기 압출 모듈을 연결하는 연결선;을 포함하는, 단계 기울기를 가진 스캐폴드를 제조할 수 있는 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 혼합 모듈은 복수의 시린지 플런저가 인쇄재료의 역류를 방지하기 위해 마이크로 패턴 임펠러를 관통하여 상하에 결합되고, 복수의 인쇄재료를 투입구를 통해 제공하기 위한 복수의 시린지 펌프를 추가로 포함하는 것인, OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 복수의 시린지 펌프는 인쇄재료의 투입 속도를 조절하여 혼합된 인쇄재료의 조성을 결정하는 것인, OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 압출 모듈은 온도 조절 가능한 프린트 헤드에 결합된 것인, OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 상기 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈을 포함하는, 3D 바이오 프린터.

청구항 6

출력 대상이 되는 스캐폴드의 3D 디자인을 모델링하는 제 1단계;

단계 기울기를 형성하기 위해 서로 다른 조성의 인쇄재료를 준비하는 제2 단계; 및

제5항에 따른 3D 바이오 프린터를 사용하여 단계 기울기를 가진 스캐폴드를 인쇄하는 제3 단계;를 포함하는, 대체 또는 재생용 스캐폴드의 제조 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 제1 단계는 컴퓨터 지원 설계 (CAD) 소프트웨어를 사용하여 모델링하는 것인, 대체 또는 재생용 스캐폴드의 제조 방법.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 제2 단계에서 인쇄재료는 GelMA (젤라틴 메타크릴레이트, gelatin methacrylate), 알긴산 나트륨 (sodium alginate), PEGDA (poly(ethylene glycol) diacrylate), PF127 (pluronic F-127), 히알루론산 (hyaluronic acid), 콜라겐 (collagen) 및 키토산 (chitosan)으로 이루어진 그룹에서 선택되는 1종 이상인 것인, 대체 또는 재생용 스캐폴드의 제조 방법.

청구항 9

제6항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 제조 방법에 의해 제조된, 대체 또는 재생용 스캐폴드.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 OPR (On-Printing Refueling) 3D 바이오 프린팅을 이용하여 단계 기울기 (step-gradient)를 가진 스캐폴드의 제조 방법 및 이의 용도에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 리필 카트리지 (refill cartridge)를 포함하는 OPR (On-Printing Refueling) 3D 바이오 프린팅을 이용하여 실제 인체 조직과 유사한 단계 기울기 (step-gradient)를 가진 스캐폴드를 제조할 수 있고, 이를 효과적으로 조직 공학 분야에 활용할 수 있는 기술에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 적층 제조 (additive manufacturing)라고도 불리는 3D 프린팅 기술은 재료를 순차적으로 증착하여 복잡한 구조를 가진 물체를 합성할 수 있는 기술이다. 이 과정에서 컴퓨터 단층 촬영 (CT) 또는 컴퓨터 지원 설계 (CAD) 소프트웨어를 사용하여 3D 모델링을 설계할 수 있다. 3D 프린팅은 금형이나 중간 단계 없이도 유연한 디자인을 직접 제작할 수 있기 때문에 건설 분야, 식품 공학 분야, 항공 우주 분야 및 조직 공학 분야 등 다양한 분야에서 큰 관심을 받고 있다.

[0003] 특히, 조직 공학 분야에서는 결함이 있는 인체 조직을 대체하거나 재생에 사용하기 위한 스캐폴드 (scaffold)를 제작하기 위해 3D 프린팅 기술이 적용될 수 있다. 그러나, 실제 인체 조직은 다양한 유형의 세포와 세포외 기질 (Extarcellular matrix, ECM)과 같은 구성이 배열되어 복잡한 구조를 갖고 있으며, 조직의 결함이 서로 다른 특성이나 구조를 가진 여러 조직의 손상을 수반하는 경우가 많은 점을 고려하면, 스캐폴드는 단계적 (step) 또는 연속적 (continuous) 기울기 (gradient) 구조를 가져야 한다. 따라서, 구조 전체에 걸쳐서 다양한 특성을 가진 기능적 등급 재료 (functionally graded materials, FGMs)를 제조하기 위하여 다중 재료 3D 프린팅 기술이 대두되고 있다.

[0004] 한편, 광-활성화 (light-activated) 및 재료 압출 바이오 프린팅 기술을 포함하여, 바이오-기능적 등급 재료 (bio-FGMs)를 제조하기 위하여 다양한 다중-재료 (multi-materials) 3D 프린팅 기술이 개발되었다. 다만, 광-활성화 바이오 프린팅 기술은 높은 해상도를 제공하지만, 인쇄가 가능한 재료 및 상 변환에 대하여 몇 가지 한계점이 존재한다고 알려져 있다.

[0005] 또한, 여러 연구들을 통해 다양한 재료를 사용하여 기능적으로 등급 (graded)을 가진 조직 구조를 제조하기 위하여 다중-노즐 3D 프린팅 기술이 도입된 바 있다. 그러나, 다중-노즐 3D 프린팅 기술은 압출 기반의 인쇄 방법이 가진 노즐 정렬 불량이 빈번하게 발생한다는 문제점이 존재한다.

[0006] 이에 반해, 단일-노즐 3D 프린팅 기술은 노즐 정렬 불량의 문제는 발생하지 않으나, 재료를 전환할 때 연속 (continuous) 기울기 영역이 형성되기 때문에 단계 (step) 기울기를 인쇄할 수 없는 문제점이 존재한다.

[0007] 이러한 배경 하게, 본 발명자들은 단계 기울기를 가진 스캐폴드를 정확하게 제조하기 위하여 OPR (On-Printing Refueling) 프린팅 기술을 도입하였다. 능동-혼합 압출 기술을 기반으로, 리필 카트리지를 포함하는 프린트 헤드를 사용하면, 인쇄 과정에서 정확하고 정밀한 단계 기울기 및 급격한 변화를 가진 미세 구조를 제조할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은 3D 프린팅 기술을 이용하여 정확하고 정밀한 단계 기울기를 가진 스캐폴드를 제조하기 위하여 연구 노력한 결과, 기존의 능동-혼합 압출 기술을 기반으로, 리필 카트리지를 포함하는 프린트 헤드를 사용하는 OPR (On-Printing Refueling) 프린팅 기술을 발명하였으며, 상기 OPR (On-Printing Refueling) 프린팅 기술에 따라 제조된 스캐폴드는 기존의 3D 프린팅 기술이 재현하지 못하는 실제 인체 조직과 유사한 단계 기울기 및 급격한 변화를 정확하고 정밀하게 재현할 수 있음을 확인하였다.

[0010] 이에, 본 발명의 목적은, 모터 플랫폼, 혼합 모듈, 압출 모듈 및 연결선을 포함하는 OPR (On-Printing

Refueling) 3D 프린팅 모듈을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은, 상기 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈을 포함하는 3D 바이오 프린터를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은, 상기 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈을 포함하는 3D 바이오 프린터를 이용하여 단계 기울기를 가진 스캐폴드의 제조 방법을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은, 상기 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈을 포함하는 3D 바이오 프린터를 이용하여 제조된 스캐폴드의 대체 또는 재생용 조직에 대한 용도를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 발명은 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅을 이용하여 단계 기울기를 가진 스캐폴드의 제조 방법 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명에 따른 OPR (On-Printing Refueling) 3D 바이오 프린팅 기술에 따라 제조된 스캐폴드는 기존의 3D 프린팅 기술이 재현하지 못하는 실제 인체 조직과 유사한 단계 기울기 및 급격한 변화를 정확하고 정밀하게 재현할 수 있으며, 이를 효과적으로 대체 또는 재생용 생체 조직으로 활용할 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0016] 이하, 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

[0018] 본 발명의 일 양태는, 스테퍼 모터 (110)를 포함하는 모터 플랫폼 (100);

[0019] 복수의 시린지 플런저 (220), 복수의 인쇄재료 투입구 (230), 및 상기 스테퍼 모터 (110)에 축결합된 마이크로 패턴 임펠러 (210)를 포함하는 혼합 모듈 (200);

[0020] 리필 카트리지 (310), 단일의 인쇄재료 압출구 (320) 및 3방향 밸브 (330)를 포함하는 압출 모듈 (300); 및

[0021] 상기 혼합 모듈 (200)과 상기 압출 모듈 (300)을 연결하는 연결선 (400);을 포함하는, 단계 기울기를 가진 스캐폴드를 제조할 수 있는 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈이다.

[0022] 본 명세서 상의 용어 "기울기 (gradient)"는 "구배" 또는 "등급 (graded)과 상호교환적으로 사용될 수 있으며, 이는 실제 생물의 조직이나 기관에서 부위별로 조성, 구조 및 특성 등이 변화하는 성질을 의미하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0023] 본 명세서 상의 용어 "단계 기울기 (step-gradient)"는 "계단 기울기"와 상호교환적으로 사용될 수 있으며, "연속 기울기 (continuous-gradient)"와는 구별되는 것으로, 스캐폴드 내에서 조성이나 특성이 연속적으로 변화하는 것이 아닌 급격하게 변화하는 것을 의미하는 것일 수 있다.

[0024] 본 명세서 상의 용어 "스캐폴드 (scaffold)"는 조직 세포의 체외 배양과 체내 이식이 가능하도록 만들어진 물리적 지지체 및 점착 기질을 의미하는 것으로, "구조" 또는 "지지체"와 상호교환적으로 사용될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0025] 본 명세서 상의 용어 "인쇄 (print)"는 3D 프린터를 사용하여 목적 대상물을 구현하는 것을 의미하며, "출력", "제작", 또는 "제조"와 상호교환적으로 사용될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0026] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 모터 플랫폼 (100)은 공압식 프린트 헤드에 적합하도록 AutoCAD 소프트웨어로 설계하고 3D 프린터를 사용하여 인쇄하였으며, 상기 스테퍼 모터 (110)는 Arduino에 의해 회전 속도가 제어될 수 있도록 설정한 것일 수 있다.

[0027] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 마이크로 패턴 임펠러 (210)는 AutoCAD 소프트웨어로 설계하고 3D 프린터를 사용하여 인쇄하였으며, 직경은 700 ㎛이고 패턴의 깊이는 220 ㎛가 되도록 제작한 것일 수 있다.

[0028] 본 발명에서, 상기 마이크로 패턴 임펠러 (210)의 직경과 패턴의 깊이는, 사용되는 혼합 모듈 (200)의 크기에 따라 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 기술자가 적절하게 변경하여 설계할 수 있다.

[0029] 본 명세서 상의 용어 "인쇄재료"는 3D 프린터가 인쇄할 때 재료가 되는 조성물을 의미하는 것으로, "레진" 또는 "잉크"와 상호교환적으로 사용될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0030] 상기 기울기 (gradient)를 가진 스캐폴드를 인쇄하기 위한 기술은 크게 3가지를 들 수 있다. 하나는 다중-프린트헤드 압출 (multi-printhead extrusion) 기술이고, 다른 하나는 수동 혼합 압출 (passive mixing extrusion) 기술이며, 또 다른 하나는 능동 혼합 압출 (active mixing extrusion) 기술이다.

[0031] 상기 다중-프린트헤드 압출 (multi-printhead extrusion) 기술은 복수의 프린트헤드에 각각 다른 종류의 인쇄재료를 투입하여 인쇄하기 때문에 단계 기울기를 가진 스캐폴드를 인쇄할 수는 있으나, 프린트헤드의 수와 인쇄재료의 수가 일치해야 한다는 것과 프린트헤드의 수 (노즐의 수)가 늘어날수록 노즐 정렬의 오류가 발생할 확률이 크다는 것이 한계점으로 존재한다.

[0032] 상기 수동 혼합 압출 (passive mixing extrusion) 기술은 상기 다중-프린트헤드의 노즐 정렬의 오류를 보완하여, 한 개의 노즐로 인쇄하는 방식이다. 투입된 인쇄재료들을 passive mixer를 통해 혼합하여 연속 기울기 (continuous-gradient)를 가진 스캐폴드를 인쇄할 수 있는 장점이 있으나, 유체의 라미나 플로우 (laminar flow) 특성으로 인쇄재료를 혼합하기 위하여 긴 채널의 길이가 요구되며, 인쇄재료를 변환하는 과정에서 혼합되어 단계 기울기 (step-gradient)를 가진 스캐폴드를 인쇄할 수 없다는 단점이 존재한다.

[0033] 상기 능동 혼합 압출 (active mixing extrusion) 기술은 임펠러의 회전을 통하여 인쇄재료를 혼합하는 방식으로, 긴 채널의 길이가 요구되지 않으나, 수동 혼합 압출 (passive mixing extrusion) 기술과 마찬가지로 단계 기울기 (step-gradient)를 가진 스캐폴드를 인쇄할 수 없다는 단점이 존재한다.

[0034] 본 발명에서, 마이크로 패턴 임펠러 (210)는 스테퍼 모터 (110)에 축결합되어 회전 속도가 제어되며, 혼합 모듈 (200) 내에서 복수의 투입구 (230)를 통해 투입된 조성이 서로 다른 인쇄재료를 마이크로 패턴 임펠러 (210)가 회전을 하면서 혼합하고, 혼합된 인쇄재료를 압출 모듈 (300)에 전달하여 단계 기울기를 가진 스캐폴드를 인쇄할 수 있다.

[0035] 본 발명에서, 혼합 모듈 (200)에서 마이크로 패턴 임펠러 (210)의 회전으로 혼합된 인쇄재료가 연결선 (400)을 통하여 리필 카트리지 (refill cartridge) (310)에 채워지고, 리필 카트리지 (310) 내의 혼합된 인쇄재료를 압출구 (320)를 통하여 직접적으로 출력할 수 있다. 혼합 모듈 (200) 이외에, 리필 카트리지 (310)를 포함하는 압출 모듈 (300)이 추가로 구성된 OPR 모듈의 경우, 인쇄 시 잔여 인쇄재료(레진)가 남아 있더라도 유체의 라미나 플로우 (laminar flow) 특성으로 인하여 리필 카트리지 (310) 위쪽으로 올라가므로, 잔여 인쇄재료(레진)가 인쇄되는 것을 방지할 수 있고, 이로 인하여 정확하고 정밀한 단계-기울기를 가진 스캐폴드를 인쇄할 수 있다.

[0036] 본 발명에서, 3방향 밸브 (330)는, 임펠러 (210)의 회전 시 겹침을 방지하기 위하여 3방향 스톱콕 (3-way stopcock)의 밸브를 절단하여 압출 모듈 (300)에 연결하는 것일 수 있다.

[0037] 본 발명에 있어서, 상기 혼합 모듈 (200)은 복수의 시린지 플런저 (220)가 인쇄재료의 역류를 방지하기 위해 마이크로 패턴 임펠러 (210)를 관통하여 상하에 결합되고, 복수의 인쇄재료를 투입구 (230)를 통해 제공하기 위한 복수의 시린지 펌프를 추가로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0038] 본 발명에서, 시린지 플런저 (220)가 마이크로 패턴 임펠러 (210)를 관통하여 상하에 결합되어, 혼합 모듈 (200) 내에서 복수의 투입구 (230)를 통해 투입된 조성이 서로 다른 인쇄재료를 마이크로 패턴 임펠러 (210)가 회전을 하면서 혼합할 때, 인쇄재료가 역류하는 것을 방지하는 것일 수 있다.

[0039] 본 발명에서, 조성이 서로 다른 인쇄재료를 혼합 모듈 (200)에 투입하기 위해, 복수의 인쇄재료 투입구 (230)에 복수의 시린지 펌프가 연결되는 것일 수 있다.

[0040] 본 발명의 일 구현예에서, 2개의 인쇄재료 투입구(inlet) (230)에 3방향 확장선 (3-way extension line)을 통하여 2개의 시린지 펌프를 연결하였으며, 이에 따라 조성이 서로 다른 인쇄재료를 혼합 모듈 (200)에 투입할 수 있다.

[0041] 본 발명에 있어서, 상기 복수의 시린지 펌프는 인쇄재료의 투입 속도를 조절하여, 혼합된 인쇄재료의 조성을 결정하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0042] 본 발명에 있어서, 상기 압출 모듈 (300)은 온도 조절 가능한 프린트 헤드 (340)에 결합된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0043] 본 발명에서, 3D 바이오 프린팅을 이용하여 하이드로겔을 원활하게 출력하기 위해서는 인쇄재료에 따라 적절한 온도가 설정되어야 하므로, 상기 압출 모듈 (300)은 온도 조절 가능한 프린트 헤드 (340)에 결합된 것일 수 있다.

[0045] 본 발명의 다른 일 양태는, 모터 플랫폼 (100), 혼합 모듈 (200), 압출 모듈 (300) 및 연결선 (400)을 포함하는 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈을 포함하는 3D 바이오 프린터이다.

[0046] 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명의 OPR (On-Printing Refueling) 기술에 따른 3D 바이오 프린터로 인쇄한 구조를, 기존의 다중-노즐 (multi-nozzle) 프린팅 기술로 인쇄한 구조와 비교하면, 단일 노즐에 해당하여 노즐 정렬의 오류가 발생하지 않으면서도 정확하고 정밀한 단계 기울기 (step-gradient)를 가진 구조를 제조할 수 있음을 확인하였다.

[0047] 그리고, 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명의 OPR (On-Printing Refueling) 기술에 따른 3D 바이오 프린터로 인쇄한 구조를, 기존의 능동 혼합 압출 (active mixing extrusion) 기술로 인쇄한 구조와 비교하면, 혼합된 영역 (continuous region)이 전혀 없이 뚜렷한 단계 기울기 (step-gradient)를 가진 구조를 제조할 수 있음을 확인하였다.

[0048] 또한, 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명의 OPR (On-Printing Refueling) 기술에 따른 3D 바이오 프린터로 인간의 귀 연골을 인쇄하여, 실제 인체 조직과 유사하게, 하나의 구조 내에서 상이한 특성을 가지는 부분들로 구획될 수 있는 기능적 등급 재료 (FGMs)를 정확하고 정밀하게 재현할 수 있음을 확인하였다.

[0050] 본 발명의 다른 일 양태는, 출력 대상이 되는 스캐폴드의 3D 디자인을 모델링하는 제1 단계;

[0051] 단계 기울기를 형성하기 위해 서로 다른 조성의 인쇄재료를 준비하는 제2 단계; 및

[0052] 상기 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈을 포함하는 3D 바이오 프린터를 사용하여 단계 기울기를 가진 스캐폴드를 인쇄하는 제3 단계;를 포함하는 대체 또는 재생용 스캐폴드의 제조 방법이다.

[0053] 본 발명에 있어서, 상기 제1 단계는 컴퓨터 지원 설계 (CAD) 소프트웨어를 사용하여 모델링하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0054] 본 발명의 일 구현예에서, 인간의 귀 연골을 3D 모델링하기 위해 AutoCAD 소프트웨어를 사용하였으며, DNA 스튜디오로 더욱 정교하게 디자인하였고 G-code 변환을 통하여 프린팅 시스템에 최적화한 것일 수 있다.

[0055] 본 발명에 있어서, 상기 제2 단계에서 인쇄재료는 GelMA (젤라틴 메타크릴레이트, gelatin methacrylate), 알긴산나트륨 (sodium alginate), PEGDA (poly(ethylene glycol) diacrylate), PF127 (pluronic F-127), 히알루론산 (hyaluronic acid), 콜라겐 (collagen) 및 키토산 (chitosan)으로 이루어진 그룹에서 선택되는 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0056] 본 발명의 일 구현예에서, 인간의 귀 연골의 인쇄하기 위하여, 10 % w/v GelMA, 2 % w/v 알긴산나트륨 및 0.5 % LAP으로 구성된 레진과 10 % w/v GelMA, 2 % w/v 알긴산나트륨, 0.5 % LAP 및 10 % w/v PEGDA로 구성된 레진을 인쇄재료로 준비하였으며, 본 발명에 따른 OPR (On-Printing Refueling) 3D 바이오 프린팅 기술로 상기 인쇄재료를 출력하여 정확하고 정밀한 단계 기울기 (step-gradient)를 가진 귀 연골을 제조할 수 있음을 확인하였다.

[0058] 본 발명의 다른 일 양태는, 상기 제조 방법에 의해 제조된 대체 또는 재생용 스캐폴드이다.

[0059] 상기 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈을 포함하는 3D 바이오 프린터로 인쇄된 스캐폴드는, 실제 인체의 조직 또는 기관과 유사한 단계 기울기 및 특성을 정확하고 정밀하게 재현할 수 있으므로 이를 효과적으로 조직 공학에 적용하여, 대체 또는 재생용 조직, 기관 등으로 유용하게 활용할 수 있다.

발명의 효과

[0060] 본 발명은 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅을 이용하여 단계 기울기를 가진 스캐폴드의 제조 방법 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명의 따른 OPR (On-Printing Refueling) 3D 바이오 프린팅 기술에 따라 제조된 스캐폴드는 기존의 3D 프린팅 기술이 재현하지 못하는 실제 인체 조직과 유사한 단계 기울기 및 급격한 변화를 정확하고 정밀하게 재현할 수 있으며, 이를 효과적으로 대체 또는 재생용 생체 조직으로 활용할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0061] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에 따라, 제작된 마이크로 패턴 임펠러 (210) 및 모터 플랫폼 (100)을 나타낸 것이다.

도 1b는 본 발명의 일 실시예에 따라, 제작된 혼합 모듈 (mixing module) (200) 및 압출 모듈 (extrusion module) (300)의 모식도를 나타낸 것이다.

도 1c는 본 발명의 일 실시예에 따라, 혼합 모듈 (200)과 압출 모듈 (300)을 포함하는 OPR 모듈의 사진을 나타낸 것이다.

도 2a는 본 발명의 일 실시예에 따라, 다중-노즐 (multi-nozzle) 프린팅 기술을 이용하여 인쇄된 귀 연골을 나타낸 것이다.

도 2b는 본 발명의 일 실시예에 따라, OPR 프린팅 기술을 이용하여 인쇄된 귀 연골을 나타낸 것이다.

도 3a는 본 발명의 일 실시예에 따라, 능동 혼합 압출 (active mixing extrusion) 프린팅 기술을 이용하여 파란색과 빨간색 레진의 비율을 조절하면서 인쇄한 것을 나타낸 것이다.

도 3b는 본 발명의 일 실시예에 따라, OPR 프린팅 기술을 이용하여 단계별로 서로 다른 색상의 레진으로 인쇄한 것을 나타낸 것이다.

도 4a는 본 발명의 일 실시예에 따라, 다양한 농도의 PEGDA를 포함하는 레진 조성물로 OPR 프린팅 기술을 이용하여 하이드로겔을 인쇄하고, PEGDA 농도 구획에 따라 절단하여 응력값 및 변형률을 측정하는 것을 나타낸 것이다.

도 4b는 본 발명의 일 실시예에 따라, 인쇄된 하이드로겔의 PEGDA 농도에 따라 응력값 (stress, kPa)-변형률 (strain, %) 그래프를 나타낸 것이다.

도 5a는 본 발명의 일 실시예에 따라, OPR 프린팅 기술을 이용하여 GAP 레진으로 인쇄된 하이드로겔에 UV를 노출시켜 가교 결합시키고, $CaCl_2$를 첨가하여 상호 교차 결합시켜, 하이드로겔 디스크의 제작 과정을 나타낸 것이다.

도 5b는 본 발명의 일 실시예에 따라, GA 하이드로겔 및 GAP 하이드로겔의 열중량 분석 (TGA) 그래프를 통한 열특성을 나타낸 것이다.

도 6a는 본 발명의 일 실시예에 따라, 설계된 귀 연골의 3D 모델링 및 OPR 프린팅 기술을 이용하여 인쇄된 귀 연골을 나타낸 것이다.

도 6b는 본 발명의 일 실시예에 따라, OPR 프린팅 기술을 이용하여 인쇄된 귀 연골과 하이드로겔의 PEGDA 농도-압축 계수 그래프를 나타낸 것이다.

도 6c는 본 발명의 일 실시예에 따라, OPR 프린팅 기술을 이용하여 인쇄된 귀 연골의 PEGDA 농도에 따른 최대 강도의 변화 그래프를 나타낸 것이다.

도 7a는 본 발명의 일 실시예에 따라, OPR 프린팅 기술을 이용하여 인쇄된 귀 연골의 PEGDA 농도에 따른 다공성의 변화 그래프를 나타낸 것이다.

도 7b는 본 발명의 일 실시예에 따라, OPR 프린팅 기술을 이용하여 인쇄된 귀 연골의 다공성-압축 계수 그래프를 나타낸 것이다.

도 7c는 본 발명의 일 실시예에 따라, OPR 프린팅 기술을 이용하여 인쇄된 귀 연골의 계면 분석을 위해 주사전자현미경으로 촬영한 것을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0062] 이하, 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본 발명의 실시예에 대하여 도면을 참고하여 구체적으로 설명한다. 본 명세서에서 사용되는 용어는 따로 정의하지 않는 한, 해당 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 일반적으로 이해하는 내용으로 해석되어야 할 것이다.

[0063] 본 명세서의 도면 및 실시예는 통상의 기술자가 본 발명을 쉽게 이해하고 실시하기 위한 것으로 도면 및 실시예

에서 발명의 요지를 흐릴 수 있는 내용은 생략될 수 있으며, 본 발명이 도면 및 실시예로 한정되는 것은 아니다.

[0064] 또한, 몇몇의 경우, 본 발명의 개념이 모호해지는 것을 피하기 위하여 공지의 구조는 생략될 수 있고, 본 명세서 전체에서 동일한 구성요소에 대해서는 동일한 도면 부호를 사용하여 설명한다.

[0065] 본 명세서 전체에 걸쳐, 특정 물질의 농도를 나타내기 위하여 사용되는 "%"는 별도의 언급이 없는 경우, 고체/고체는 (중량/중량)%, 고체/액체는 (중량/부피)%, 그리고 액체/액체는 (부피/부피)%이다.

[0066] 본 명세서 전체에 걸쳐, 용어 "또는"은 배타적 "또는"이 아니라 내포적 "또는"을 의미하는 것으로 의도된다. 즉, 구성 간의 결합 또는 이용이 달리 특정되지 않거나 문맥상 명확하지 않은 경우에, 즉, X가 A를 포함하거나; X가 B를 포함하거나; 또는 X가 A 및 B 모두를 포함하는 경우, "X는 A 또는 B를 포함한다"가 이들 경우들 어느 것으로도 적용될 수 있다.

[0067] 그리고, 본 명세서 전체에 걸쳐, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미하며, 어떤 구성이 다른 구성과 "연결"되어 있다고 할 때, 이는 "직접적으로 연결"되어 있는 경우뿐 아니라, "그 중간에 다른 구성을 사이에 두고 연결"되어 있는 경우도 포함한다.

[0069] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에 따라, 제작된 마이크로 패턴 임펠러 및 모터 플랫폼을 나타낸 것이다.

[0070] 도 1a를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로 패턴 임펠러 (210) 및 모터 플랫폼 (100)을 확인할 수 있다.

[0071] 도 1b는 본 발명의 일 실시예에 따라, 제작된 혼합 모듈 (mixing module) (200) 및 압출 모듈 (extrusion module) (300)의 모식도를 나타낸 것이고,

[0072] 도 1c는 본 발명의 일 실시예에 따라, 혼합 모듈 (200)과 압출 모듈 (300)을 포함하는 OPR 모듈의 사진을 나타낸 것이다.

[0073] 도 1b 및 도 1c를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 OPR (On-Printing Refueling) 3D 프린팅 모듈은 모터 플랫폼 (100), 혼합 모듈 (200), 압출 모듈 (300), 및 연결선 (400)을 포함할 수 있다.

[0074] 모터 플랫폼 (100)은 내부에 스테퍼 모터 (110)를 포함할 수 있다.

[0075] 마이크로 패턴 임펠러 (210)는 스테퍼 모터 (110)에 축방향으로 결합되고, 복수의 시린지 플런저 (220)가 인쇄재료의 역류를 방지하기 위해 마이크로 패턴 임펠러 (210)를 관통하여 상하에 결합되며, 복수의 인쇄재료 투입구 (230)에는 복수의 시린지 펌프가 결합된 것일 수 있으며, 이에 따라 혼합 모듈 (200)은 마이크로 패턴 임펠러 (210), 복수의 시린지 플런저 (220), 복수의 인쇄재료 투입구 (230), 복수의 시린지 펌프, 및 혼합 카트리지 (250)를 포함할 수 있다.

[0076] 압출 모듈 (300)은, 연결선 (400)을 통하여 혼합 모듈 (200)과 연결될 수 있으며, 리필 카트리지 (310), 단일의 인쇄재료 압출구 (320), 3방향 밸브 (330), 및 온도 조절 가능한 프린트 헤드 (340)를 포함할 수 있다.

[0077] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0079] **실시예 1: OPR (On-Printing Refueling) 프린팅 모듈 제작**

[0080] **1-1. 마이크로 패턴 임펠러 및 모터 플랫폼 제작**

[0081] 마이크로 패턴 임펠러 및 모터 플랫폼은 AutoCAD 소프트웨어를 사용하여 설계하였으며, SAL 3D 프린터 (Form 3+, Formalbs)로 제작하였다.

[0082] 구체적으로, 마이크로 패턴 임펠러의 직경은 700 ㎛이고, 패턴의 깊이는 220 ㎛로 제작하였으며, 모터 플랫폼은 공압식 프린트헤드 (CELLINK)에 결합되도록 특별히 설계하였다. 또한, 인쇄 해상도는 25 ㎛로 하여, 마이크로 패턴 임펠러는 회색 레진을 사용하였고, 모터 플랫폼은 투명 레진을 사용하여 각각 인쇄하였다. 인쇄 후에 인쇄된 구조물에 남아 있는 레진은 이소프로필 알코올 (isopropyl alcohol, IPA)로 세척하였다.

[0083] 그리고, 인쇄된 마이크로 패턴 임펠러는 Arduino에 의해 회전 속도가 제외되는 스테퍼 모터에 축방향으로 직접 연결하였고, 잉크의 역류를 방지하기 위해 구멍이 있는 두 개의 주사기 플런저를, 마이크로 임펠러를 관통하여 각각 상하에 부착하였으며, 이를 도 1a 내지 1b에 나타내었다.

[0085] **1-2. OPR 모듈의 제작**

[0086] 조성이 서로 다른 레진을 혼합하는 혼합 모듈은 두 개의 14G 바늘팁 (CELLINK)을 플라스틱 메일 루어 잠금캡 (plastic male Luer lock cap)에 연결하여 제작하였다. 이후에 혼합 모듈의 캡을 압출 모듈에 연결하기 위하여 다른 캡을 가진 연장선에 연결하였으며, 마이크로 패턴 임펠러, 스테퍼 모터를 포함하는 모터 플랫폼, 및 시린지 카트리지 (혼합 모듈)를 공압식 프린트헤드 (CELLINK)에 연결하였다.

[0087] 그리고, 조성이 서로 다른 레진을 압출하기 위해 두 개의 시린지 펌프를 3방향 확장선 (3-way extension line)을 통하여 혼합 모듈의 투입구에 연결하였으며, 통합형 루어 잠금캡은 시린지 어댑터를 이용하여 시린지에 연결하였다.

[0088] 다음으로, 회전 시 겹치는 것을 방지하기 위해 3방향 스톱콕 (3-way stopcock)의 밸브를 절단하여 압출 모듈을 제작하였고, 잠금콕을 온도가 조절 가능한 프린트헤트 (CELLINK)에 연결된 리필 카트리지 (압출 모듈)에 연결하였으며, 혼합 모듈과 압출 모듈을 연결선으로 연결하여 OPR 모듈을 제작하였고, 이를 도 1b 내지 도 1c에 나타내었다.

[0089] 이렇게 제작된 OPR 모듈은 인쇄 시 잔여 레진이 남아있더라도, 유체의 라미나 플로우 (laminar flow) 특성으로 인하여 잔유물이 리필 카트리지의 위쪽으로 올라가기 때문에 잔여 레진이 인쇄되는 것을 방지하여, 정확하고 정밀한 단계 기울기를 가진 스캐폴드를 제조할 수 있다.

[0091] **실시예 2: 3D 모델링 및 프린팅 설정**

[0092] 본 발명의 실시예에서 프린팅은 Bio X6 3D 프린터 (CELLINK) 및 Bio X 3D 프린터 (CELLINK)를 사용하여 수행하였으며, 3D 모델링은 AutoCAD 소프트웨어를 사용하여 디자인한 후 DNA 스튜디오 소프트웨어를 사용하여 추가로 편집하였다.

[0093] 그리고, 인쇄 영역의 외부에 위치하는 압출 모듈의 나머지 레진을 압출하기 위하여 맞춤 코드를 개발하여 설정하였고, 리필 카트리지는 혼합 모듈을 통하여 다양한 조성을 가진 레진으로 리필되도록 설정하였다. 혼합 모듈에 연결된 각 투입구 (inlet)에는 시린지 펌프가 연결되어 있으며, 시린지 펌프로부터 레진이 투입되는 유속을 변경하여 인쇄될 레진의 조성을 조절할 수 있도록 하였다.

[0094] 또한, 레진이 리필되는 양은 인쇄 속도와 압출 속도를 기준으로 계산하여 설정하였으며, 인쇄 시 두 레진 사이의 유량비 (flow ratio)에 따라 인쇄될 레진의 조성을 조절하였다. 마지막으로 프린트베드 (printbed)의 온도, 프린트헤드 (printhead)의 온도, 인쇄 속도 및 압출 압력은 사용된 특정 레진에 기반하여 최적화하였다.

[0096] **실시예 3: 기존의 프린팅 기술과 OPR 프린팅 기술 비교**

[0097] **3-1. GelMA의 합성**

[0098] 젤라틴 메타크릴레이트 (gelatin methacrylate, GelMA)는 다음과 같이 합성하였다.

[0099] 메타크릴산 (methacrylic acid, MAA)을 dPBS 내의 10% w/v 젤라틴 용액에 빠르게 교반하면서 0.5 mℓ/min의 속도로 첨가하였으며, 반응은 50 ℃에서 4 시간 동안 진행하였다. 반응 이후, 얻은 용액을 증류수에 38 ℃에서 7일 동안 투석하여 메타크릴산을 제거하였으며, 투석 후 용액을 동결건조하여 사용 시까지 -20 ℃에서 보관하였다.

[0101] **3-2. 노즐 정렬 비교**

[0102] 다중-노즐 (multi-nozzle) 프린팅 기술과 본 발명의 OPR 프린팅 기술의 노즐 정렬을 직접 비교하기 위하여 단계

기울기를 가진 하이드로겔 귀 연골을 제작하였다.

[0103] 구체적으로, 귀 연골의 디자인은 AutoCAD 소프트웨어를 사용하였으며, DNA 스튜디오 소프트웨어로 더욱 정교하게 디자인하였다. 인쇄를 위한 레진 조성물은 다양한 색소를 포함하여 10 % w/v GelMA, 및 2 % 알긴산나트륨(sodium alginate)으로 준비하였다. 다중-노즐 프린팅 기술 및 OPR 프린팅 기술에 대한 노즐 정렬 비교는 Bio X6 3D 프린터 (CELLINK)를 사용하여 수행하였고, 각 기술에 따라 인쇄된 구조를 광학 분석을 거쳐 비교 평가하였으며, 이를 도 2a 내지 도 2b에 나타내었다.

[0104] 실험 결과, 도 2a 내지 도 2b에 제시된 바와 같이, 다중-노즐 프린팅 기술에서는 노즐의 정렬이 어긋나는 문제점으로 인하여 레진의 막힘 및 겹침이 발생하는 것을 확인하였다. 반면에, OPR 프린팅 기술은 단일-노즐 기반이므로 끊김 현상 없이 원활한 인쇄가 가능한 것을 확인하였다.

[0105] 또한, 다중-노즐 프린팅 기술은 추가적으로 보정이 필요하고, 프린터의 노즐 수에 따라 형성 가능한 기울기(gradient)의 수도 제한된다는 점을 고려하면, OPR 프린팅 기술은 노즐 정렬의 문제점이 없을 뿐만 아니라, 단일-노즐 기반임에도 불구하고 다양한 단계 기울기를 가진 구조를 인쇄할 수 있음을 확인하였다.

[0107] **3-3. 단계 기울기 프린팅 비교**

[0108] 능동 혼합 (active mixing) 압출 프린팅 기술과 본 발명의 OPR 프린팅 기술의 단계 기울기를 가진 구조의 인쇄 능력을 직접 비교하기 위하여 다음과 같이 실험을 수행하였다.

[0109] 구체적으로, 먼저 23 % w/v PF127 (Pluronic F-127) 용액을 증류수에 용해시킨 뒤 4 ℃에서 밤새 보관하여 제조한 다음, 파란색과 빨간색 안료를 용액에 첨가하였다. 능동 혼합 압출 기술의 경우, 기존의 압출 모듈이 아닌 OPR 노즐의 혼합 모듈에 연결된 통합 루어 잠금캡에 바늘을 부착하였다. 또한, 파란색과 빨간색 레진의 비율은 1:0에서 0:1로 조절하면서, 연속적인 지그재그 선이 인쇄되도록 설정하였고, 이후 노즐의 이동 길이를 측정하여 압출 비율을 설정하였다.

[0110] OPR 기술의 경우, 단계별로 서로 다른 색상을 사용하여 단계 기울기를 가진 선을 인쇄하였으며, 이를 도 3a 내지 3b에 나타내었다.

[0111] 실험 결과, 도 3a 내지 3b에 제시된 바와 같이, 단일-노즐로 레진을 전환할 때 혼합된 영역 (continuous region)이 자주 관찰되는 것으로 알려진 것처럼, 능동 혼합 압출 프린팅 기술은 단계 기울기를 가진 구조의 인쇄를 의도하였으나, 기울기가 혼합된 영역 (continuous region)이 인쇄되었으며, 혼합된 영역은 약 1,200 ㎜인 것을 확인하였다.

[0112] 반면에, OPR 프린팅 기술은 연한 보라색에서 짙은 보라색으로 색이 혼합된 영역 없이 뚜렷하게 전환되는 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 OPR 프린팅 기술은 능동 혼합 압출 프린팅 기술 대비, 정밀하게 단계 기울기를 가진 구조를 제조할 수 있음을 확인하였다.

[0114] **실시예 4: 기능적 단계 등급 (functional step-graded)을 가진 하이드로겔 제조**

[0115] 하나의 구조 내에서 서로 다른 기능적 기울기를 가진 구조의 제조 가능 여부를 확인하기 위하여, 레진 구성 성분의 배합에 따라 실제 장기와 동일한 기능적 단계 등급 (functional step-graded)을 가질 수 있는 하이드로겔을 다음과 같이 제조하였다.

[0116] 먼저, PF127 (Pluronic F-127) 및 LAP (Lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinate)을 증류수에 용해시켜 0.5 % w/v LAP을 함유하는 23 % w/v PF127 용액을 제조하였고, 이어서 23 % w/v PF127, 20% v/v PEGDA 및 0.5 % w/v LAP을 혼합하여 레진 혼합물을 제조하였다.

[0117] 압출된 레진의 PEGDA 농도는 다양한 조성, 구체적으로 4 %, 8 %, 12 %, 16 % 및 20 %로 단계 기울기를 인쇄할 수 있도록 시린지 펌프를 사용하여 제어하였고, 각 구조 내의 특정 영역이 서로 다른 농도의 PEGDA를 가지도록 직육면체 모양의 샘플을 인쇄하였다.

[0118] PEGDA는 하이드로겔의 기계적 특성, 즉 탄성을 향상시키는 것으로 알려져 있다. 따라서, 다양한 PEGDA 농도를 가진 레진으로 인쇄된 하이드로겔은 상이한 탄성을 가질 것으로 예상하였다.

[0119] 각 구조 내의 특정 영역이 서로 다른 농도의 PEGDA를 가지도록 직육면체 모양의 샘플을 인쇄한 후, 인쇄된 하이

드로겔을 UV에 노출시켜 가교 결합시켰다. 이후 PEGDA 농도별로 인쇄된 각 부분으로 하이드로겔을 절단하여 응력값 (sterss, kPa) 및 변형률 (strain, %)을 OPTECH DS2-500N 압축 시험기를 사용하여 측정하였다. 구체적으로 응력값은 적용된 힘을 하이드로겔의 접촉 면적으로 나누어 계산하였고, 변형률은 압축된 길이를 직육면체의 원래 높이로 나누어 계산하였으며, 이를 도 4a 내지 도 4b에 나타내었다.

[0120] 측정 결과, 도 4a 내지 도 4b 에 제시된 바와 같이, PEGDA의 농도가 증가할수록 기계적 특성 (응력값 및 변형률)이 급격히 변화하는 것을 확인하였다. 즉, 본 발명의 OPR 프린팅 기술에 따라 인쇄된 하나의 구조 내에서 서로 다른 기능적 기울기를 가진 구조를 제조할 수 있는 것을 확인하였다.

[0122] **실시예 5: 탄성-변형 가능한 (elasticity-modifiable) 하이드로겔 레진의 준비**

[0123] 인간의 귀 연골 조직을 실제로 인쇄하여 부위별로 서로 다른 탄성을 가지는지 확인하기 위하여 탄성-변형 가능한 (elasticity-modifiable) 하이드로겔 레진을 준비하였다.

[0124] 레진의 구성은, 생체적합성이 높다고 알려진 GelMA를 베이스로 사용하였다. 하지만, GelMA는 점도가 낮으므로, 알긴산나트륨을 사용하여 점도를 강화하였다. 또한, 알긴산나트륨은 이온 결합 성질이 있으므로, 가교 결합할 수 있는 GelMA, PEGDA와 서로 교차하는 중합 가교 시스템 (interpenetrating polymer network)을 형성할 수 있다는 장점이 있다. 그리고 하이드로겔의 탄성을 조절하기 위하여 PEGDA의 농도를 달리하여 준비하였다.

[0125] 구체적으로, 두 가지 하이드로겔 레진을 다음과 같이 준비하였다:

[0126] 10 % w/v GelMA 및 2 % w/v 알긴산나트륨으로 구성된 GA 레진; 및

[0127] 10 % w/v GelMA, 2 % w/v 알긴산나트륨 및 10 % v/v PEGDA으로 구성된 GAP 레진.

[0128] 두 레진을 프리폴리머 상태에서 인쇄한 후 둥근 접시에 붓고 UV에 노출시켜 GelMA와 PEGDA를 가교 결합시킨 뒤, $CaCl_2$ 용액을 첨가하여 알긴산나트륨을 교차 결합시켜 하이드로겔 디스크를 만들었다.

[0129] 이후, 레진 특성에 대한 PEGDA 농도의 영향을 평가하기 위해 TGA Q50 기기 (Ta Instruments)를 사용하여 동결건조된 하이드로겔 샘플에 대하여 열중량 분석 (TGA)을 수행하였다. TGA 분석은 60 % 및 70 % 중량 손실에 해당하는 온도를 결정하여 레진의 열 특성에 대한 정보를 제공할 수 있다. 그리고, 각 레진 조성물에 대한 응력값-변형률 곡선의 첫번째 선형 영역 기울기를 측정하여 압축 계수를 계산하였으며 이를 도 5a 내지 도 5b에 나타내었다.

[0130] 측정 결과, 도 5a 내지 도 5b에 제시된 바와 같이, 인쇄된 하이드로겔 각각의 무게가 70 %, 60 % 되는 지점의 온도를 분석하면, PEGDA의 농도가 높아질수록 열에 대한 내성이 다소 감소하는 것을 확인하였다.

[0132] **실시예 6 : 단계 기울기를 가진 하이드로겔 귀 연골 제조**

[0133] **6-1. 인쇄된 귀 연골의 기계적 특성 분석**

[0134] 귀 연골의 디자인은 AutoCAD 소프트웨어를 사용하였으며, DNA 스튜디오 소프트웨어를 사용하여 더욱 정교하게 디자인하였고, G-code 변환을 통하여 프린팅 시스템에 최적화하였다. 인간의 귀 연골 모델은 각각 상이한 탄력성을 가지는 5개의 부분으로 구성되어 있다고 알려져 있다.

[0135] 단계 기울기를 가진 구조의 인쇄를 위하여 두 가지 레진을 다음과 같이 준비하였다:

[0136] 10 % w/v GelMA, 2 % w/v 알긴산나트륨 및 0.5 % LAP으로 구성된 레진; 및

[0137] 10 % w/v GelMA, 2 % w/v 알긴산나트륨, 0.5 % LAP 및 10 % w/v PEGDA로 구성된 레진.

[0138] 본 발명의 OPR 프린팅 기술을 사용하여, 각 구획에 0 %, 5 %, 6 %, 7 %, 및 10 % w/v 농도의 PEGDA가 포함되어 있는 귀 연골을 인쇄하였다. 인쇄된 귀 연골의 기계적 특성을 평가하기 위하여 압축 계수 (Compressive modulus, kPa)를 측정하였다. 이 때, 3D 프린팅의 특성상 인쇄물의 내부를 전부 채울 수 없기 때문에, 내부가 전부 채워진 하이드로겔 디스크와 내부 밀도 (infill density)가 35 %인 인쇄물의 압축 계수를 비교하였으며, 하이드로겔이 파열되는 지점에서 3D 프린팅 구조의 최대 강도 (ultimate strength, kPa)를 분석하였고, 이를 도 6a 내지 도 6c에 나타내었다.

[0139] 비교 결과, 도 6a 내지 도 6c에 제시된 바와 같이, 인쇄된 귀 연골의 경우 내부가 일부 비어있기 때문에 하이드로겔 디스크 보다는 압축 계수가 다소 낮은 값을 나타내었고, PEGDA의 농도가 높아질수록 선형적으로 (linear) 압축 계수가 증가하여, 하이드로겔의 강직도가 증가하는 것을 확인하였다.

[0140] 또한, PEGDA의 농도가 높아질수록 하이드로겔이 압력을 버틸 수 있는 최대 강도가 감소하는 것을 확인하였다.

[0142] **6-2. 인쇄된 귀 연골의 미세 구조적 특성 분석**

[0143] 인쇄된 귀 연골의 미세 구조를 분석하기 위하여 X선 미세 컴퓨터 단층 촬영(micro-CT) 분석 (Wradia 620 Versa, Zeiss)을 사용하였다. 구체적으로, 내부 빈 공간 (cavity)으로 인한 오류를 방지하기 위하여 인쇄된 귀 연골의 여러 작은 부분의 다공성 (porosity, %)을 PEGDA의 농도에 따라 분석하였으며, 또한, 다공성과 상기 실시예 6-1.에서 측정한 압축 계수 간의 상관 관계를 분석하였고, 이를 도 7a 내지 도 7b에 나타내었다.

[0144] 분석 결과, 도 7a 내지 도 7b에 제시된 바와 같이, PEGDA의 농도가 높아질수록 다공성이 감소하는 것을 확인하였다. 또한, 내부 밀도 (infill density)가 35 %로 내부에 빈 공간이 존재함에도 불구하고, 다공성과 압축 계수는 서로 선형 (linear)의 상관 관계가 나타나는 것을 확인하였다.

[0146] 그리고, OPR 프린팅 기술로 인쇄된 단계 기울기 구조의 정밀도를 확인하기 위하여 주사전자현미경 (SEM)(JSM-7100F, JEOL)을 이용하여 GA (PEGDA 0 %) 하이드로겔과 GAP (PEGDA 10 % w/v) 하이드로겔 사이의 단계 등급 구조 (step-graded structure)의 계면을 분석하였다. 즉, 상기 6-1.에서 인쇄된 귀 연골 구조에서 PEGDA의 농도가 0 %인 부분과 10 %인 부분의 계면을 분석하였으며, 이를 도 7c에 나타내었다.

[0147] 분석 결과, 도 7c에 제시된 바와 같이, GA 하이드로겔에서 pore의 크기가 GAP 하이드로겔에서 보다 확연히 큰 것을 확인하였다. 구체적으로, GA 하이드로겔의 경우 5.0 내지 8.5 ㎛, GAP 하이드로겔의 경우 3.5 내지 4.5 ㎛로 큰 차이가 있음을 확인하였다.

[0148] 따라서, 한 구조 내에서도 확연한 계면의 차이를 확인할 수 있으므로, 본 발명의 따른 OPR (On-Printing Refueling) 3D 바이오 프린팅 기술에 따라 제작된 스캐폴드는 기존의 3D 프린팅 기술이 재현하지 못하는 실제 인체 조직과 유사한 단계 기울기 및 급격한 변화를 정확하고 정밀하게 재현할 수 있으며, 이를 효과적으로 대체 또는 재생용 생체 조직으로 활용할 수 있음을 확인하였다.

부호의 설명

[0149] 100: 모터 플랫폼

110: 스테퍼 모터

200: 혼합 모듈

210: 마이크로 패턴 임펠러

220: 시린지 플런저

230: 인쇄재료 투입구

240: 3D 바이오 프린트 헤드

250: 혼합 카트리지

300: 압출 모듈

310: 리필 카트리지

320: 단일의 인쇄재료 압출구

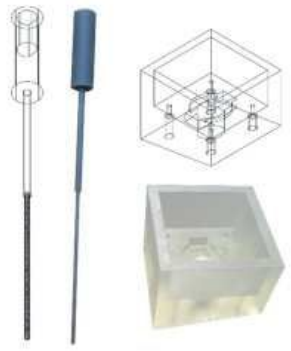
330: 3방향 밸브

340: 온도 조절 가능한 프린트 헤드

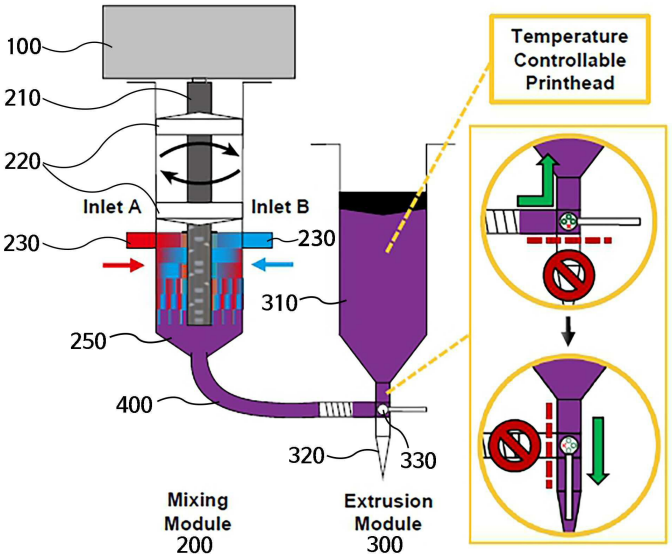
400: 연결선

도면

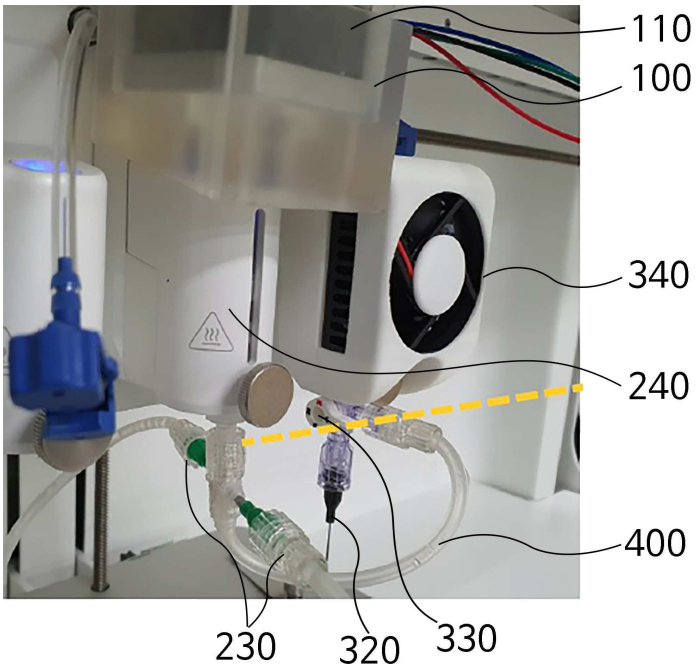
도면1a



도면1b


100
210
220
Inlet A
Inlet B
230
230
310
250
400
320
330
Mixing Module 200
Extrusion Module 300
Temperature Controllable Printhead

도면1c



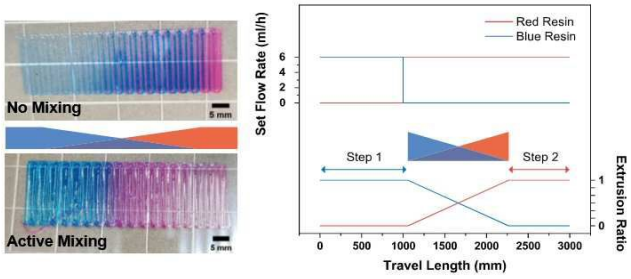
도면2a



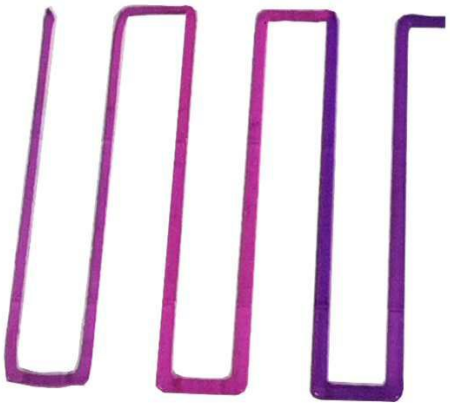
도면2b



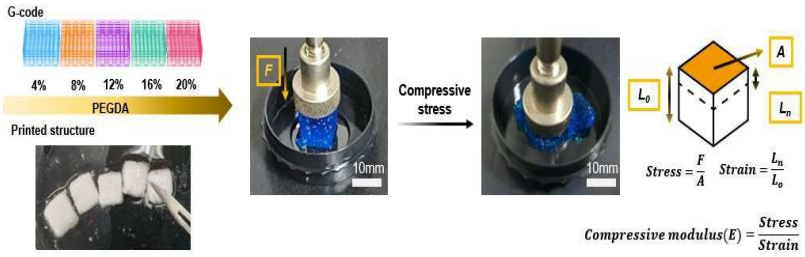
도면3a



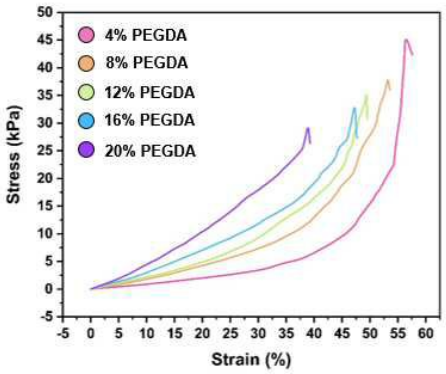
도면3b



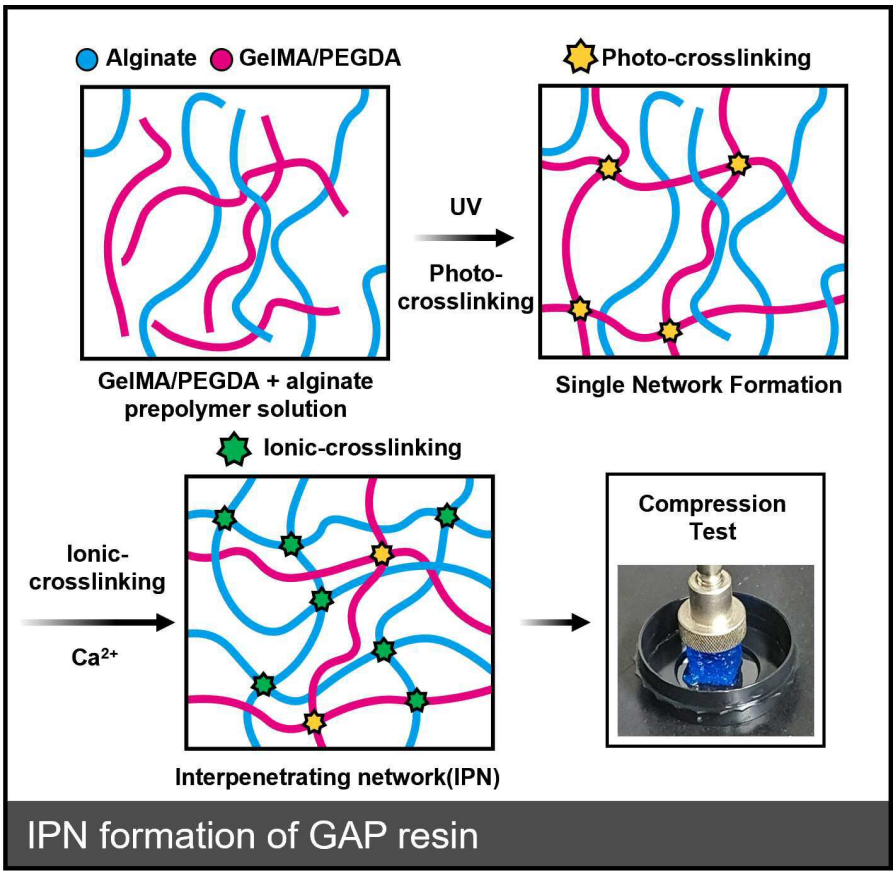
도면4a



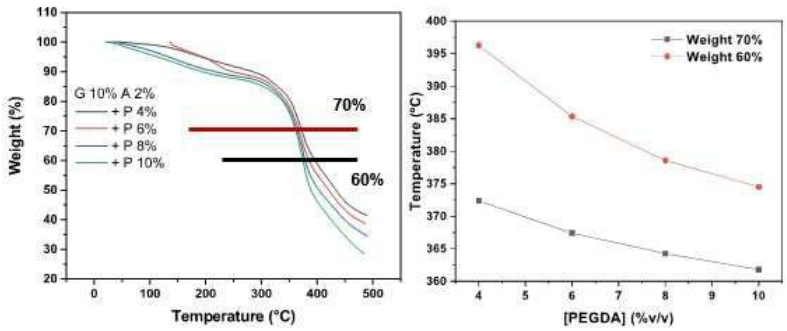
도면4b



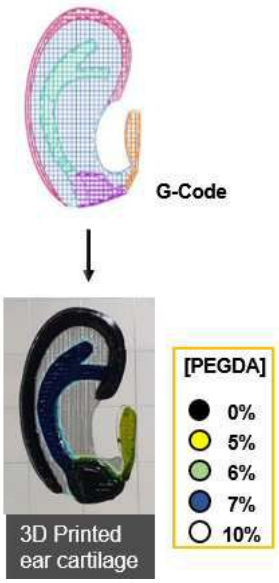
도면5a



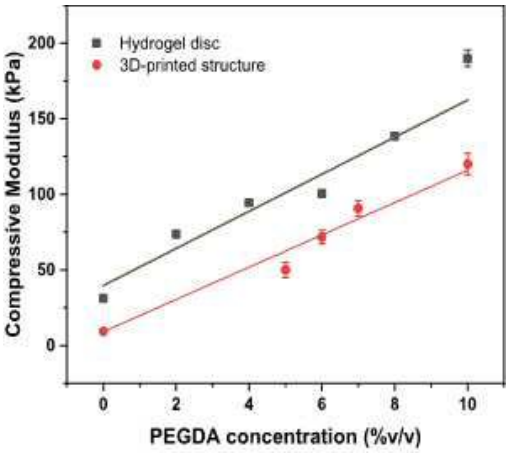
도면5b



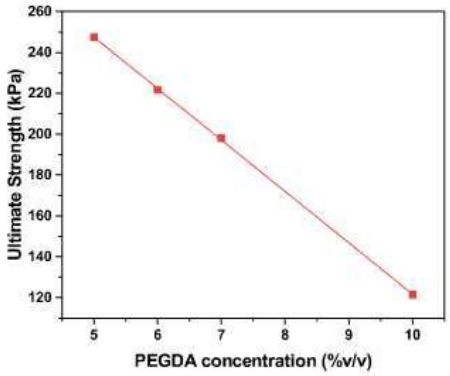
도면6a



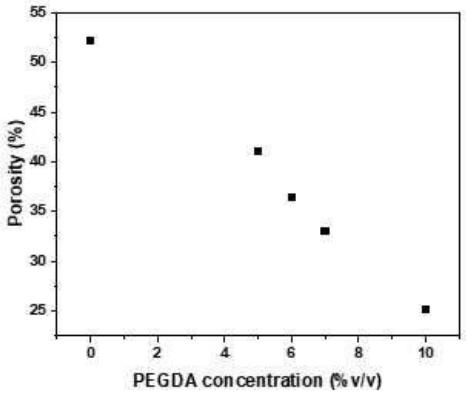
도면6b



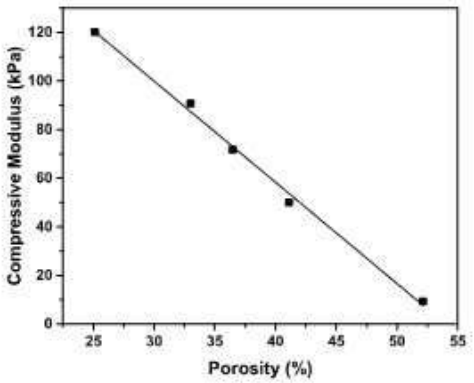
도면6c



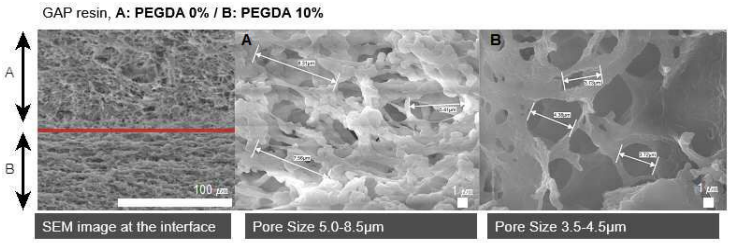
도면7a



도면7b



도면7c


GAP resin, A: PEGDA 0% / B: PEGDA 10%
A
B
A
B
100 μm
1 μm
1 μm
SEM image at the interface
Pore Size 5.0-8.5μm
Pore Size 3.5-4.5μm