(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106510898 A
(43)申请公布日 2017.03.22

(21)申请号 201611190822.6

(22)申请日 2016.12.21

(71)申请人 中国人民大学
地址 100872 北京市海淀区中关村大街59号中国人民大学

(72)发明人 王亚培 廖声茏

(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245
代理人 徐宁 孙楠

(51)Int.Cl.
A61F 2/02(2006.01)
B33Y 30/00(2015.01)
B33Y 10/00(2015.01)

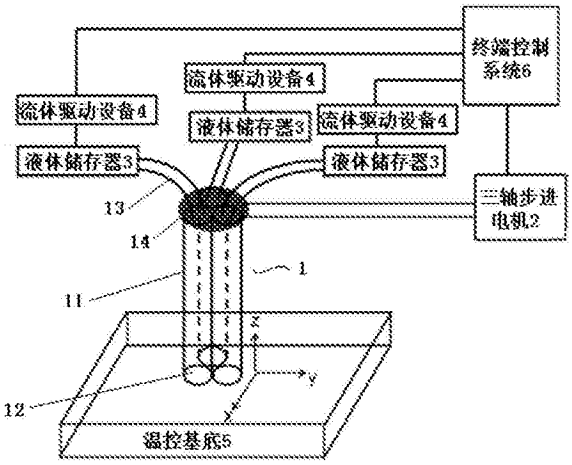
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置和方法

(57)摘要

本发明涉及一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置和方法，它包括多通道喷嘴，多通道喷嘴设置在三轴步进电机上，且多通道喷嘴由多个微管道并排设置而成，所有微管道的一端对齐构成喷嘴，另一端均通过特氟龙管与各液体储存器连接；各流体驱动设备与各液体储存器连接，对各液体储存器内的液体进行驱动；终端控制系统对三轴步进电机、各流体驱动设备以及温控装置进行控制，使得多通道喷嘴相应运动和出墨，实现在温控基底上的三维打印。本发明可以通过控制各个通道的进样速度，精确地调节不同墨水的比例，打印出的人工组织在结构与细胞组成上更加接近于真实组织或器官，使其在组织工程学中具有比现有技术更加广阔的应用前景。



CN 106510898 A

1.一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置，其特征在于：它包括多通道喷嘴、三轴步进电机、若干液体储存器、若干流体驱动设备、由打印基底和温控装置构成的温控基底以及终端控制系统；

所述多通道喷嘴设置在所述三轴步进电机上，且所述多通道喷嘴由多个微管道并排设置而成，所有所述微管道的一端对齐构成喷嘴，另一端分别通过特氟龙管与各所述液体储存器连接；各所述流体驱动设备与各所述液体储存器连接，对各所述液体储存器内的液体进行驱动；所述终端控制系统对所述三轴步进电机、各所述流体驱动设备以及所述温控装置进行控制，实现在所述温控基底上的三维打印。

2.如权利要求1所述的一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置，其特征在于：各所述微管道采用玻璃毛细管或不锈钢针管。

3.如权利要求1所述的一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置，其特征在于：所述多个微管道的具体数量为2～7个。

4.如权利要求1所述的一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置，其特征在于：各所述微管道的内径范围为1～5mm。

5.如权利要求1所述的一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置，其特征在于：各所述微管道与所述特氟龙管连接处采用石蜡进行密封。

6.如权利要求1所述的一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置，其特征在于：所述液体储存器包括注射器或储液池。

7.如权利要求1所述的一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置，其特征在于：所述流体驱动设备为可程序控制的流体驱动设备，包括注射泵、蠕动泵、气压驱动泵或压力驱动泵。

8.如权利要求1所述的一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置，其特征在于：所述打印基底包括玻璃平板、无纺布、玻璃或塑料培养皿。

9.一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印方法，特征在于其包括以下步骤：

1)设置一多通道喷嘴，该多通道喷嘴由多个微管道并列设置而成，各微管道末端出墨口对齐构成喷嘴；

2)分别将各微管道另一端通过特氟龙管与液体储存器连接，且各微管道与特氟龙管连接处采用石蜡进行密封；

3)在各液体储存器内注入相应的打印墨水，且注入的打印墨水中，需至少存在两种具有反应活性的打印墨水，以实现短时间内打印墨水由液态到凝胶的转变；

4)将多通道喷嘴固定设置在三轴步进电机上，调节三轴步进电机使得多通道喷嘴位于温控基底的上方，且间距小于1mm；

5)在终端控制系统中设置温控装置的温度，使得打印基底温度控制在-10℃～40℃范围内，便于凝胶成型和保存；

6)根据打印要求，在终端控制系统中设置打印速度和液体注射速度，通过三轴步进电机和各流体驱动设备的协同控制，使得多通道喷嘴相应运动与出墨；

7)各液体储存器中的液体流经各微管道后在喷嘴处汇聚，由喷嘴喷出的不同墨水通过物理或化学相互作用在温控基底上辅助成型，逐层堆叠实现三维打印。

一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置和方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种生物打印装置和方法，特别是关于一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置和方法。

背景技术

[0002] 自20世纪80年代起，组织工程学这一概念被提出之后，其相关发展极大地促进了现代生物医学的进步。其中，组织工程学的发展，很大程度上依赖于组织支架的构建；而传统的组织支架，受限于现有的材料成型技术，仅能获得一些简单的结构。随着三维打印技术的快速发展，诸多研究人员利用三维打印技术辅助组织工程，进一步应用于生物医学领域，取得了重大进展。将细胞在打印过程中原位地放置在组织支架中，待成型后，于一定的培养环境中培养，可获得预期的活性组织支架。利用这种可打印生物材料或细胞的三维打印机，研究人员可以将细胞定点定量地打印在组织支架中。

[0003] 目前，国内外学者已陆续研发出多种不同原理的生物三维打印机，如基于液体挤出-固化模式、喷墨模式和紫外光固化成型等。基于液体挤出-固化模式的三维打印大多是打印单种细胞，或者利用多个喷嘴装载并交替打印不同的细胞，很大程度上降低了打印速度。基于喷墨模式的三维打印，通常可以混合多种细胞，但对于溶液的粘度、表面张力等要求较高，应用严重受限。而基于紫外光固化成型的三维生物打印技术，由于紫外光对细胞具有一定的杀伤力，因此对于细胞的存活率有一定的限制。

发明内容

[0004] 针对上述问题，本发明的目的是提供一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置和方法，其具有简单灵活，可以精确控制各组分含量，打印出特定图案的三维凝胶，并能够在凝胶的特定位置定量地负载一种或多种细胞的特点。

[0005] 为实现上述目的，本发明采取以下技术方案：一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置，其特征在于：它包括多通道喷嘴、三轴步进电机、若干液体储存器、若干流体驱动设备、由打印基底和温控装置构成的温控基底以及终端控制系统；所述多通道喷嘴设置在所述三轴步进电机上，且所述多通道喷嘴由多个微管道并排设置而成，所有所述微管道的一端对齐构成喷嘴，另一端分别通过特氟龙管与各所述液体储存器连接；各所述流体驱动设备与各所述液体储存器连接，对各所述液体储存器内的液体进行驱动；所述终端控制系统对所述三轴步进电机、各所述流体驱动设备以及所述温控装置进行控制，实现在所述温控基底上的三维打印。

[0006] 各所述微管道采用玻璃毛细管或不锈钢针管。

[0007] 所述多个微管道的具体数量为2～7个。

[0008] 各所述微管道的内径范围为1～5mm。

[0009] 各所述微管道与所述特氟龙管连接处采用石蜡进行密封。

[0010] 所述液体储存器包括注射器或储液池。

[0011] 所述流体驱动设备为可程序控制的流体驱动设备，包括注射泵、蠕动泵、气压驱动泵或压力驱动泵。

[0012] 所述打印基底包括玻璃平板、无纺布、玻璃或塑料培养皿。

[0013] 一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印方法，特征在于其包括以下步骤：1)设置一多通道喷嘴，该多通道喷嘴由多个微管道并列设置而成，各微管道末端出墨口对齐构成喷嘴；2)分别将各微管道另一端通过特氟龙管与液体储存器连接，且各微管道与特氟龙管连接处采用石蜡进行密封；3)在各液体储存器内注入相应的打印墨水，且注入的打印墨水中，需至少存在两种具有反应活性的打印墨水，以实现短时间内打印墨水由液态到凝胶的转变；4)将多通道喷嘴固定设置在三轴步进电机上，调节三轴步进电机使得多通道喷嘴位于温控基底的上方，且间距小于1mm；5)在终端控制系统中设置温控装置的温度，使得打印基底温度控制在-10℃～40℃范围内，便于凝胶成型和保存；6)根据打印要求，在终端控制系统中设置打印速度和液体注射速度，通过三轴步进电机和各流体驱动设备的协同控制，使得多通道喷嘴相应运动与出墨；7)各液体储存器中的液体流经各微管道后在喷嘴处汇聚，由喷嘴喷出的不同墨水通过物理或化学相互作用在温控基底上辅助成型，逐层堆叠实现三维打印。

[0014] 本发明由于采取以上技术方案，其具有以下优点：1、本发明由于设置了多通道喷嘴，各种打印墨水或细胞培养液可通过多个微管道输入，保证了打印速度。2、本发明由于在多通道喷嘴中注入多种细胞或打印墨水，并通过三轴步进电机和液体驱动设备的协同控制，可以精确控制不同细胞的负载位点及负载量，使打印出的三维支架更加接近于真实组织或器官，使其在组织工程学中具有比现有技术更加广阔的应用前景。3、本发明由于采用了多种具备反应活性的打印墨水，配制方法简单，且各打印墨水在多通道喷嘴处汇聚并发生物理或化学反应，实现了短时间内液体到凝胶状态的转换。

附图说明

[0015] 图1为本发明基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置示意图；

[0016] 图2为本发明实施例1三维打印海藻酸钠-$CaCl_2$水凝胶装置示意图；

[0017] 图3为本发明实施例2三维打印蓝色海藻酸钠-$CaCl_2$凝胶装置示意图；

[0018] 图4为本发明实施例3三维打印装载细胞的海藻酸钠-$CaCl_2$凝胶装置示意图。

具体实施方式

[0019] 下面结合附图和实施例对本发明进行详细的描述。

[0020] 如图1所示，为本发明基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置，其包括多通道喷嘴1、三轴步进电机2、若干液体储存器3、若干流体驱动设备4、由打印基底和温控装置构成的温控基底5以及终端控制系统6。其中，多通道喷嘴1设置在三轴步进电机2上，其是由多个微管道11并排设置而成，各微管道11的一端对齐构成多通道喷嘴12，另一端各通过特氟龙管13与各注射器3连接。各流体驱动设备4与各注射器3连接，对各注射器3中储存的液体进行驱动。终端控制系统6对三轴步进电机2、各流体驱动设备4以及温控装置进行控制，使得多通道喷嘴12相应运动和出墨，实现在温控基底5上的三维打印。

[0021] 上述实施例中，微管道11采用玻璃毛细管或不锈钢针管，多个微管道11具体数量

为2～7个。

[0022] 上述各实施例中，微管道11的内径范围为1～5mm。

[0023] 上述各实施例中，各微管道与特氟龙管连接处采用石蜡14进行密封以防止漏液。

[0024] 上述各实施例中，液体储存器3包括注射器或储液池。

[0025] 上述各实施例中，各流体驱动设备4为可程序控制的流体驱动设备，包括注射泵、蠕动泵、气压驱动泵或压力驱动泵。

[0026] 上述各实施例中，打印基底包括玻璃平板、无纺布、玻璃或塑料培养皿；以及通过物理或化学方法进行表面处理的上述4种打印基底，比如采用plasma处理得到亲水表面；化学修饰指利用化学手段对打印基底进行亲疏水处理或改变表面黏附性能。

[0027] 基于上述基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印装置，本发明还提供一种基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印方法，包括以下步骤：

[0028] 1)设置一多通道喷嘴1，该多通道喷嘴由多个微管道11并列设置而成，且各微管道11末端出墨口对齐构成喷嘴12。

[0029] 2)分别将各微管道11另一端通过特氟龙管13与液体储存器3连接，且各微管道11与特氟龙管13连接处采用石蜡14进行密封，防止漏液。(本发明中仅以3个微管道为例进行介绍，但不限于此)

[0030] 3)在各液体储存器3内注入相应的打印墨水，且注入的打印墨水中，需至少存在两种具有反应活性的打印墨水，以实现短时间内打印墨水由液态到凝胶的转变。

[0031] 打印墨水包括黏土墨水、羟基磷灰石墨水、生物凝胶墨水、离子墨水以及细胞墨水。其中，黏土墨水、羟基磷灰石墨水、生物凝胶墨水、离子墨水之间可相互反应形成凝胶，且除生物凝胶墨水与离子墨水外，可以将其他类型墨水任意比例相互混合得到新的墨水。

[0032] 其中，黏土墨水指纳米黏土颗粒的水相分散液，其质量分数在0.1％～10％范围内。羟基磷灰石墨水指羟基磷灰石纳米颗粒的水相分散液，其质量分数在0.1％～10％范围内。生物凝胶墨水指一系列常用生物相容性材料的水溶液，其中包括琼脂糖、海藻酸钠、透明质酸、壳聚糖、胶原蛋白、纤维蛋白、明胶、右旋糖酐、聚丙烯酰胺、纤维素、聚乙二醇、聚肽及上述12种物质的衍生物，水溶液中溶质的质量分数在0.1％～40％范围内。离子墨水包括氯化钙($CaCl_2$)、氯化镁($MgCl_2$)的水溶液，其质量分数在0.5％～20％范围内。细胞墨水包括细胞和悬浮液，其细胞类型包括间充质干细胞、诱导多能干细胞、成纤维细胞、肾内皮细胞、肾系膜细胞，血管内皮细胞、血管外皮细胞等，悬浮液包含相应的细胞培养液，细胞培养液包括各种与细胞培养、分裂、分化相关的物质。

[0033] 4)将多通道喷嘴1固定设置在三轴步进电机2上，调节三轴步进电机2使得喷嘴12位于温控基底5的上方，且间距小于1mm。

[0034] 5)在终端控制系统6中设置温控装置的温度，使得打印基底温度控制在-10℃～40℃范围内，便于凝胶成型和保存。

[0035] 6)根据打印要求，在终端控制系统6中设置打印速度和液体注射速度，通过三轴步进电机2和各流体驱动设备4的协同控制，使得多通道喷嘴1相应运动与出墨。

[0036] 终端控制系统6中可以对三轴步进电机2和各液体驱动设备4进行设置，精确控制各液体储存器3中的打印墨水或细胞悬浮液的喷出，进而实现不同细胞的负载位点及负载量，使打印出的三维支架更加接近于真实组织或器官。

[0037] 7)各液体储存器3中的液体流经各微管道11后在喷嘴12处汇聚，由喷嘴12喷出的不同墨水通过物理或化学相互作用在温控基底5上辅助成型，逐层堆叠实现三维打印。

[0038] 为了进一步说明本发明，下面结合实施例对本发明基于多通道喷嘴的多组分三维生物打印方法进行具体地描述，但不能将它们理解为对本发明保护范围的限定。

[0039] 实施例1

[0040] 如图2所示，为本发明实施例1提供的三通道喷嘴的装置示意图。本实施例采用三根玻璃毛细管并排构成多通道喷嘴1，玻璃毛细管内径均为500μm。各玻璃毛细管顶端用特氟龙管13与液体储存器3(图2中未画出)相连接并用石蜡14密封。本实施例选择的1号墨水为质量分数为5％的海藻酸钠溶液；2号和3号墨水均为质量分数为5％的氯化钙($CaCl_2$)水溶液。

[0041] 分别将各液体通道连接好之后，将多通道喷嘴1固定在三轴步进电机2上，调节z轴高度，使多通道喷嘴1与打印基底间的间距小于1mm。开启打印程序，并设置打印速度为20mm/s，液体注射速度为0.2mL/min，即可以打印出一块网格间距为3mm的水凝胶，且利用海藻酸钠与氯化钙的体系，打印出的水凝胶分辨率小于500μm。

[0042] 实施例2

[0043] 如图3所示，将实施例1中的3号墨水改为普通蓝色墨水，其他参数不变进行打印，可以打印出一块蓝色的凝胶，类似地，可以在不同的位点混合多种不同的墨水，打印出彩色的凝胶。

[0044] 实施例3

[0045] 如图4所示，将实施例1中的3号墨水换成大鼠主动脉内皮细胞悬浮液，以同样的参数进行打印，可以得到均匀负载细胞的凝胶。

[0046] 实施例4～10

[0047] 将实施例1中的三种墨水换成不同的成分，其中3号墨水可以任意选取，1，2号墨水可以更换为下表1中的墨水，以与实施例1相同的参数进行打印，均可以顺利地打印凝胶并成型。

[0048] 表1：

[0049]

实施例	墨水1	墨水2
4	0.5～10％海藻酸钠	5～40％明胶
5	0.5～10％海藻酸钠	1～5％壳聚糖
6	0.5～10％海藻酸钠	0.5～20％$MgCl_2$
7	0.5～10％透明质酸钠	0.5～20％$CaCl_2$
8	0.5～10％透明质酸钠	0.5～20％$MgCl_2$
9	0.5～10％透明质酸钠	5～40％明胶
10	0.5～10％透明质酸钠	1～5％壳聚糖

[0050] 上述各实施例仅用于说明本发明，其中各部件的结构、连接方式和制作工艺等都是可以有所变化的，凡是在本发明技术方案的基础上进行的等同变换和改进，均不应排除在本发明的保护范围之外。

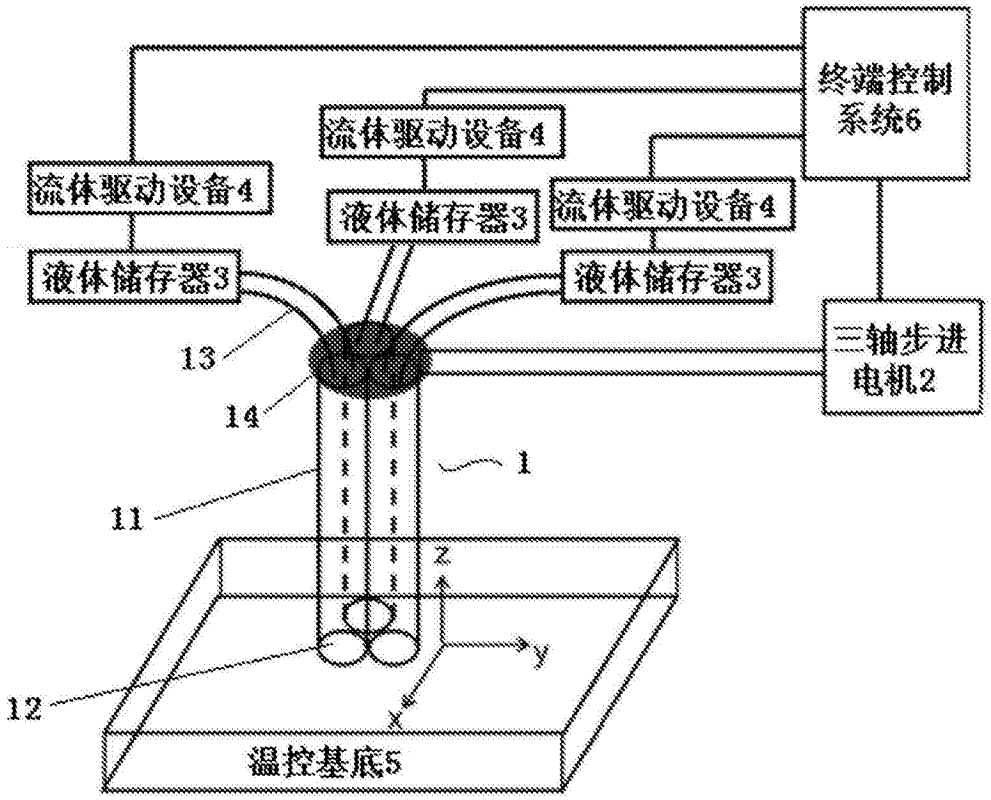

终端控制系统6
流体驱动设备4
流体驱动设备4
液体储存器3
流体驱动设备4
液体储存器3
液体储存器3
三轴步进电机2
13
14
1
11
z
y
x
12
温控基底5

图1

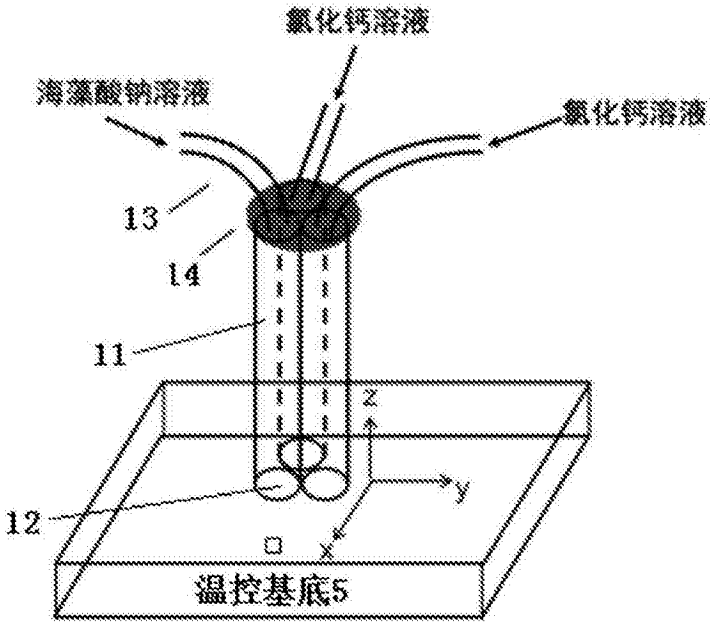

氯化钙溶液
海藻酸钠溶液
氯化钙溶液
13
14
11
z
y
x
12
温控基底5

图2

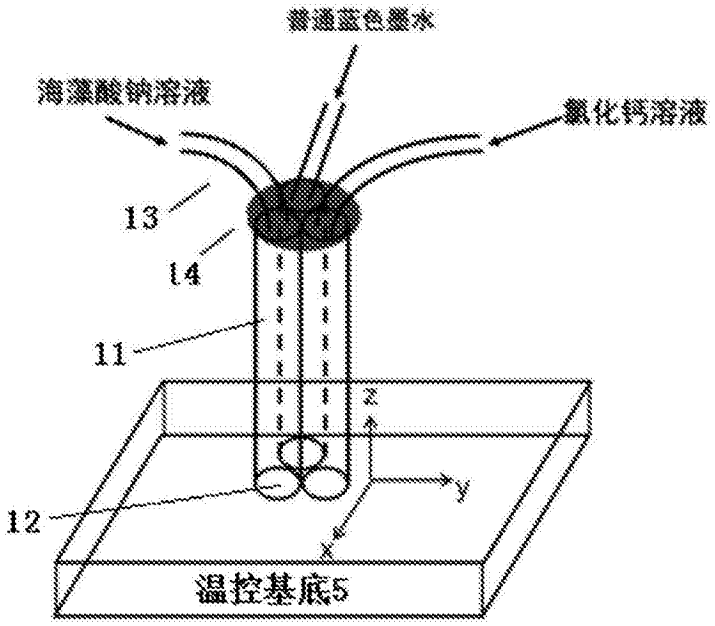

普通蓝色墨水
海藻酸钠溶液
氯化钙溶液
13
14
11
12
z
y
x
温控基底5

图3

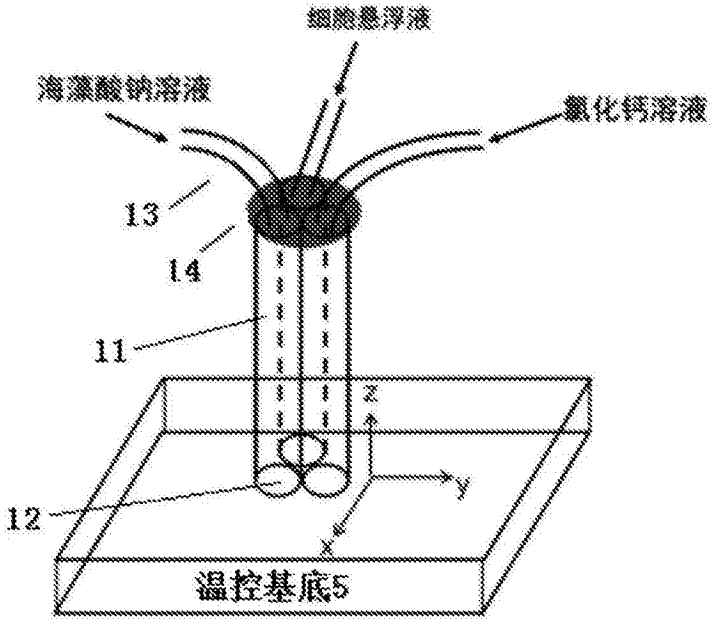

细胞悬浮液
海藻酸钠溶液
氯化钙溶液
13
14
11
12
z
y
x
温控基底5

图4