

산학연 연구실 소개(2)

서울과학기술대학교 생체재료 조직공학 연구실 (Biomaterials and Tissue Engineering Laboratory)

주소: 서울시 노원구 공릉로 232 서울과학기술대학교 청운관 219호 (우: 01811)

전화: 02-970-6603, E-mail: insup@seoultech.ac.kr



연구책임자 | 노인섭 교수

서울과학기술대학교
화공생명공학과

1. 연구실 소개

서울과학기술대학교 생체재료 조직공학 연구실(laboratory of biomaterials and tissue engineering)은 생체적합성 고분자 생체재료의 개발을 통해 주사형 하이드로젤, 3D 바이오프린팅 바이오잉크 및 조직공학과 재생의학 적용 연구를 진행하고 있다. 자가결합 메커니즘을 이용하여 제조되는 주사형 젤, 바이오잉크소재는 3D 바이오프린팅기술과 접목하는 연구를 진행하고 있다. 특히 세포가 함유된 바이오잉크는 첨단 의약품으로 분류되고 있어, 전세계적으로 진행되고 있는 고령화 사회의 핵심적인 산업인 제약 및 신약개발산업과 세포치료제산업의 중요한 핵심소재로 부각됨에 따라 사회적, 기술적, 산업적 측면에서 그 중요성이 점점 커지고 있다. 이러한 중요성을 인지하여 본 생체재료 조직공학 연구실 학생과 연구원들은 약물전달기술, 3D 바이오프린팅 및 조직공학재생의학과 연관된 새로운 생체적합성 젤과 바이오잉크 기반 3D 바이오프린팅 기술개발과 함께 연골, 골, 피부 등과 같은 조직재생 관련 연구를 진행하고 있다.

2. 주요 연구내용

생체재료 조직공학 연구실에서는 히알루론산, 젤라틴, 키토산, 알지네이트, 아가로오스 등과 같은 천연고분자와 생체적합성의 폴리(에틸렌 글라이콜), 폴리락타이드 유도체 등과 같은 생분해성 고분자들을 이용하여 자가결합 메커니즘 기반의 주사형 젤과 조직공학 구조체 소재로 적용하는 연구를 진행하고 있다. 또한 이러한 젤과 세포들의 복합에 의한 3D프린팅 바이오잉크 전환 기술과 함께, 바이오프린팅 시스템구축기술을 개발하여 인체의 특정 조직 재생에 적용할 수 있는 기술을 추진하고 있다.

2.1 자가 복원력과 미네랄 표면 젤

두 개의 비혼화성 단량체인 아크릴산(AA)과 메틸 메타크릴레이트(MMA)로부터 간단한 자유 라디칼 중합을 통해 양친매성 공중합(폴리(아크릴산)-폴리(메틸 메타크릴레이트)(PAA-PMMA)) 젤을 합성하여 다양한 표면에 부착이 가능하고, 미네랄의 성장을 유도할 수 있는 젤을 제조하였다. 수성 매체 MMA와 AA의 특정 몰 비로 합성된 젤은 PMMA의 메틸 그룹에서 발생하는 소수성 상호작용과 PMMA 사이의 약한 수소 결합을 통해, 특정한 하중이 작용하였을 때 희생적 비공유 가교결합의 파괴 및 재형성이 가능한 자가 복원 젤을 합성하였다.¹ PAA의 카르복실산기 및 PMMA의 메톡시기 사이의 결합력에 따라서 히스테리시스 테스트에서 에너지 소산 값은 젤의 우수한 자가 회복성을 나타낸다. 개발된 젤은 폴리스티렌, 유리, 목재, 금속, 석재, 도자기 등의 표면 이외에도, 돼지 가죽 및 인간의 피부 표면에 접착 거동을 보였으며, PAA-PMMA 젤의 물리적, 기계적 특성은 MMA/AA 비율과 pH의 변화를 통해 미세 조정되었다. 또한, PAA-PMMA 젤은 인산칼슘 광물화를 위한 템플릿 역할을 하여

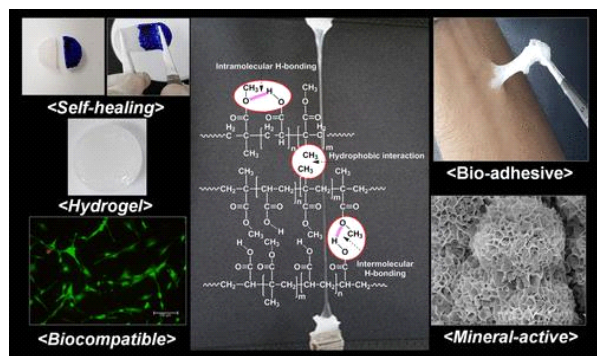


그림 1. 양친매성, 고도의 신축성, 생체접착성, 자가 복원성 PAA-PMMA 공중합 젤 및 미세할 활성 세포 거동의 개발에 대한 두 개의 비혼합성 단량체의 몰 비의 효과¹

MC3T3 세포 접착 및 증식을 개선한 젤 복합물을 생성할 수 있다. 전반적으로, 합성 매개변수 및 기타 시나리오에 따라 합성된 PAA-PMMA 젤이 다양한 생물 의학 및 산업 응용 분야에 잠재적으로 사용될 수 있는 가능성을 보여준 자가복원 젤 개발연구를 진행하였다.

2.2 약물전달 하이드로젤

고분자량의 소 알부민 혈청(BSA) 및 저분자량의 5-아미노 살리실산(5-ASA)의 전달을 위해 자유 라디칼 중합을 통해 알지네이트-폴리(에틸렌 글라이콜) 젤² 히알루론산-젤라틴 젤³을 합성하였다. 기존 젤의 기계적 특성을 개선하고 알지네이트의 표면 형태를 조절하기 위해 2-히드록시에틸 아크릴레이트(HEA)를 알지네이트에 그래프트한 다음에, 폴리(에틸렌 글라이콜)-디아크릴레이트(PEG-DA)를 사용하여 가교결합 했다. 평형 팽창 상태(ESS) 및 더 높은 탄성계수 값의 달성은 수성 매질에서 삼원 중합체 젤 형성을 확인하였고, PEG-DA 농도를 증가시킴으로써 더 낮은 농도의 PEGDA를 함유하는 젤과 비교하여 조골세포 생존력의 증가 및 더 높은 세포 증식속도를 유도하였다. 실험 연구결과는 합성된 삼원 중합체 semi-IPN 젤이 특히 단백질 운반체(BSA)

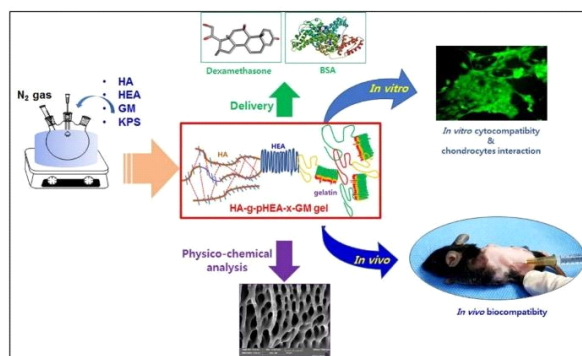


그림 2. 생체 재료로 조절 가능한 특성을 가진 히알루로네이트-하이드록시에틸 아크릴레이트-젤라틴 메타크릴로일의 삼원 중합체 젤.³

또는 5-ASA(크론병 및 궤양성 대장염과 같은 결장의 상태에 대한 치료 옵션) 치료로의 적용 가능성을 보였다. 또한, pH 7.4 및 37 °C에서 코르티코 스테로이드 약물-덱사메타손의 지속 방식 방출을 통해 HA-g-pHEA-x-GM 젤의 조절 가능한 기계적 특성, 미세 다공성 네트워크 및 세포적합성은 연골 조직공학 및 약물전달에서의 적용가능성을 보였다.

2.3 3D 바이오프린팅 나노셀룰로오스 젤

본 연구실에서는 콤부차에서 박테리아와 효모의 공생 배양을 통하여 박테리아 셀룰로오스 기반의 나노 셀룰로오스 입자를 합성하였다. 셀룰로오스의 조절된 산 가수분해는 프린팅 압출 및 구조체 형성능력을 향상시키고, 3D 바이오프린팅에 적합하도록 제조하였으며, 화학적분석을 통해 생성물을 확인하였다. 두 가지의 서로 다른 세포주(인간 진피 섬유아세포 및 마우스 조골세포)의 *in vitro* 세포적합성을 확인하고 있으며, 합성된 나노셀룰로오스 입자의 조절된 부분 가수분해가 기계적 강도와 세포적합성을 유지하면서 3D 바이오프린팅에 적합하게 만들 수 있음을 보여주었다. 이를 통해, 본 연구자 그룹은 합성된 지속가능한 미생물 바이오고분자의 3D 바이오프린팅을 위한 바이오잉크 적용에 대한 연구결과를 발표하였다.⁴

2.4 자가결합 3D 바이오프린팅

바이오잉크의 프린팅에서 보이는 포스트-프린팅 형상유지 문제를 해결하기 위해, 다중 가교 메커니즘(아실-히드라존, 히드라지드 상호작용 유도 및 갈슘 이온 농도 조절)을 통해 제조된 히알루론산-알지네이트 젤 기반 바이오잉크를 3D 바이오프린팅에 적용하는 기술을 개발하였다. 합성된 히알루론산-알지네이트 젤은 뛰어난 생체적합성과 조절 가능한 기계적 특성으로 인해 매우 역동적이고 전단박화 특성을 유도하여 프린팅이 가능하도록 하였고, 젤의 증가된 동적 특성은 주로 알지네이트의 아실-히드라지드의 아민 그룹과 HA의 모노알데히드 사이에 형성된 아실-히드라존 결합 화학적 특성에 기인한다는 젤 특성을 규명하였다.

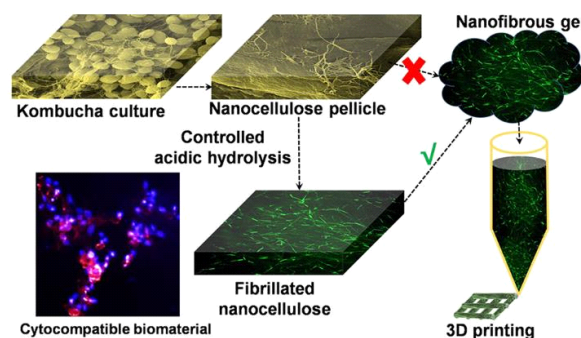


그림 3. 나노셀룰로오스 나노입자의 공생 배양: 3D 바이오프린팅을 위한 세포외기질.⁴

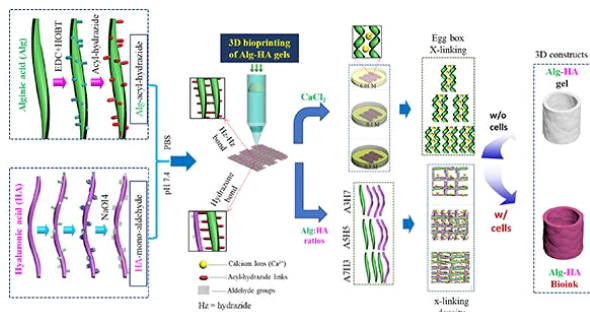


그림 4. 조직공학 적용을 위한 가교결합 메커니즘을 제어하여 자립형 다층 3D 바이오프린팅 된 알지네이트-히알루로네이트 구조물의 제조.⁵

기계적 특성은 다양한 칼슘 농도를 통한 2차 가교결합에 의해 물성이 조절되었다. 별, 마름모, 벌집, 격자 및 관형(~70층) 구조 등 다양하게 3D 바이오프린팅이 가능하였고, 구조체 내부의 형광 분석을 통해서 높은 세포 생존력을 *in vitro* 분석으로 입증하였으며, 젤의 세포적합성을 확인하였다. 특히, *in vivo* 연구에서 히알루론산-알지네이트 젤은 높은 생체적합성(>90%)과 신생 혈관 증가(3배) 및 대식세포 침윤 감소(2배 감소)를 보여줌으로써, 바이오잉크의 제조와 특성을 조절하여 다양한 형상을 3D 바이오프린팅을 할 수 있고, 이러한 구조체는 조직공학 및 재생의학 분야에서 적용 가능하다는 것을 보여주었다.⁵

자가결합 메커니즘기반의 N-아실-히드라존 결합을 통해 가교된 히알루론산(HA)-카르복시메틸셀룰로오스(CMC) 젤을 합성하고, 세포를 혼합시켜 3D 바이오프린팅 잉크 제조 연구를 수행했다. 젤의 전단박화 및 자가 복원 특성과 고분자 조성비율 조절을 통해 최대 50-100개 층의 다양한 3D 구조(격자, 입방체 및 튜브)를 희생 지지체 또는 후처리 없이 우수한 정밀도와 높은 포스트-프린팅 안정성을 가진 구조체를 제조할 수 있다. 기공의 상호연결을 확인하기 위해 3D 프린팅 구조의 다양한 영역에 대한 형태학적 분석을 수행했다. 모델 약물 케르세틴은 젤과 3D 구조에서 지속적으로 방출되었으며, *in vitro* 세포독성 연구를 통해서 젤의 우수한 세포적합성을

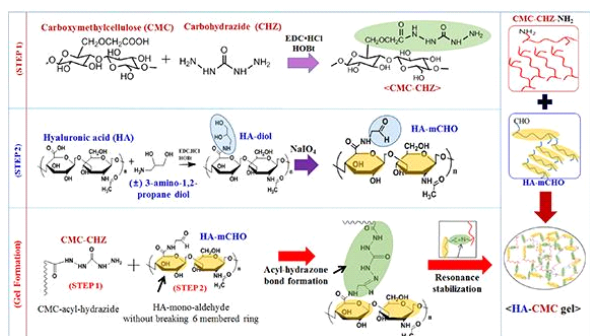


그림 5. 자가 가교 히알루론산-카르복시메틸셀룰로오스 젤: 연조직재생을 위한 다층 3D 프린팅 구조체 형태 및 기계적 안정성 향상.⁶

확인하였고, 마우스를 이용한 생체 내 연구에서 생체 적합성 젤이 혈관신생을 향상시켰다. 또한 주요 특성(예: 자가 가교 용량, 조성)을 제어하면 연조직 공학에 활용할 수 있는 3D 바이오프린팅 HA-CMC 젤에서 다층 구조를 제조할 수 있다.⁶

2.5 전기전도성 3D 바이오프린팅 젤

자체 지지하는 안정적인 인체 조직과 기관 구조의 3차원(3D) 바이오프린팅은 압출-기반 바이오프린팅 시스템, 특히 조직 공학 및 재생 의학 응용 분야에서 매우 중요하다. 그러나 원하는 가교 밀도, 생체적합성, 조절가능한 기계적 강도 및 자가 복원, 자가 젤화 약물 또는 단백질 통합과 같은 기타 특성을 가진 자립형 바이오잉크의 개발은 여전히 해결해야 하는 난제이다. 다당류(알긴산염)-탄닌산(TA)-단백질(소 혈청 알부민)이 포함된 새로운 생체 모방 중합체를 개발하여 다층, 전단박화, 탄성, 전기 전도성(탄소 나노튜브 포함)으로 3D 프린팅 가능한 프로테오글리칸 유사 젤을 제작했다. 다중 가교 메커니즘(TA, Ca^{2+} 이온 및 $NaIO_4$ 산화)을 통한 가교/분해 제어 및 세포적합성 젤 시스템과의 상호작용을 조절하였다. 세포 접착성 알부민은 세포적합성을 크게 향상시키는 반면, 젤의 탄소 나노튜브는 큰 중공 관 구조를 포함하여 다양한 4축-3D 프린팅 구조에서 전기 전도성을 제공하였다. 이러한 연구결과는 합성, 프린팅, 디자인 형상 충실도, 전기전도성, 제어된 프린팅 및 분해, 세포적합성, 치수를 유지하기 위한 다중 가교 능력과 같은 3D/4축 잉크 프린팅의 문제를 해결함으로써, 전기전도성 프로테오글리칸 유사 젤 잉크 의공학, 조직공학분야에 적용될 수 있음을 보여주었다.⁷

2.6 3D 바이오프린팅 생체활성 나노복합체

첨단 다성분 바이오잉크의 3D 바이오프린팅은 프린팅 된 조직공학 구조의 생물학적 및 구조적 특성을 제어하기 위해 바이오잉크 구성요소의 균질한 분포가 필요하다.

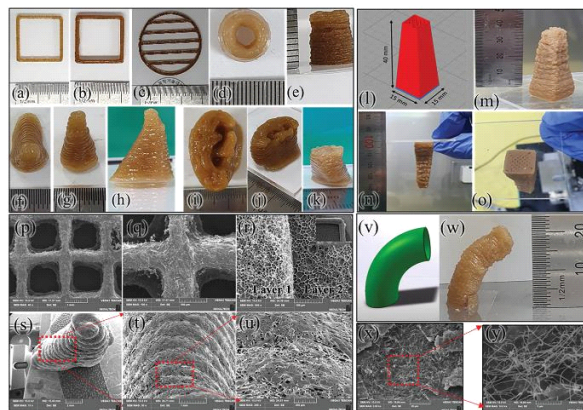


그림 6. 전기전도성이 있는 생체모방 알지네이트-알부민 젤 잉크의 3D 프린팅 및 지지체 없이 중공 다공성 관 구조의 3D/4축 프린팅으로의 확장.⁷

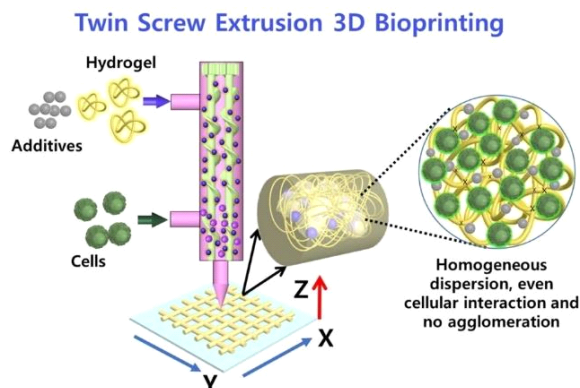


그림 7. 균일한 조직재생을 위하여 이축 압출 시스템의 3D 바이오프린팅 공정과정에서 다성분 마이크로/나노복합 바이오잉크 균질성 제어.⁸

바이오잉크에 마이크로/나노물질을 균질하게 혼합하고, 이후에 바이오프린팅을 보장하기 위해 현재는 바이오잉크를 기존 바이오프린팅 압출기 헤드에 공급하기 전에 여러 준비단계를 거쳐서 제조해야 하는 문제점을 가지고 있다. 이러한 한계를 극복하기 위해서 본 연구실에서는 반자동 이축 병렬 압출기 (TSE) 헤드를 개발하여 실시간 원스텝 프로세스를 확보하고 체계적인 혼합과 3D 바이오프린팅을 동시에 수행하는 기술을 개발하였다. 본 연구팀은 이온 젤(알긴산염), 알파-3인산칼슘 (α -TCP) 마이크로/나노 입자 및 조골세포가 있는 TSE 헤드를 사용하여 3D 바이오프린팅 하였다. 제조된 새로운 압출헤드는 최소의 세포손상으로 직접 혼합된 프린팅 가능한 바이오잉크 전반에 걸쳐 균일한 마이크로/나노 물질 및 세포 분포를 제어하였다. 또한 고효율 가변 나사 피치 설계로 인해 실시간 혼합 및 바이오 잉크 프린팅에서 배치(batch) 일관성을 향상시켰다. 자동화 증가와 처리시간 단축을 통해 기존의 바이오잉크 성분 혼합 및 후속 3D 바이오프린팅 방법 보다 더 높은 재현성을 확보하였다. 또한, 세포손상 없는 바이오 잉크 성분 혼합과 3D 바이오프린팅의 제어기술을 통해 조직공학 응용 분야로의 높은 적용성을 보여주었다.⁸

세포 캡슐화 주사 및 바이오프린팅 가능한 젤에 대한 요구 사항은 압출 능력, 세포를 지원하는 미세환경 및 표적부위의 세포 순응을 위한 합리적인 프린팅 후 안정성이다. 폭발형 나노다이아몬드(ND)는 이러한 젤의 기계적 및 생물학적 특성을 개선할 수 있다. 젤라틴 기반 젤의 성능 특성을 향상 시킴으로써, 약물전달, 조직공학 및 3D 바이오프린팅을 포함한 다양한 바이오메디컬 영역으로의 응용 가능성을 보여준다. 본 연구그룹에서는 압출형 및 3D 프린팅 가능한 젤라틴 젤의 팽창 및 분해를 최적화하기 위해 황산제일철 (FS)과 함께 천연 가교제 탄닌산(TA)을 사용하여 젤을 합성했다. TA 및 FS의 양은 3D 프린팅에서 젤의 압출 능력을 향상시키기 위해 제한하였고, 3D 프린팅 젤의 기계적 및 생물학적 특성에 미치는 영향을 연구하기 위해 이축 압출

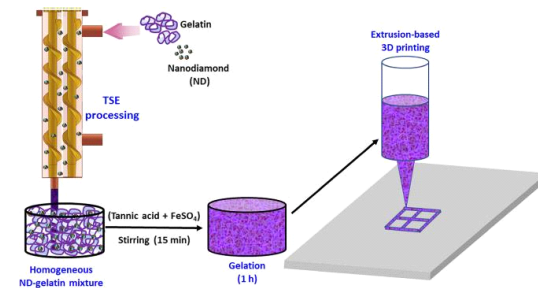


그림 8. 나노다이아몬드를 로딩을 통한 탄닌산과 황산제일철로 가교된 압출성 젤라틴 젤의 기계적 및 생물학적 특성 향상.⁹

기술을 사용하여 나노다이아몬드 입자(폭발형)를 분산시켰다. 나노입자의 향상된 분산은 40 mg ND(2% w/w 젤라틴)를 사용하여 압축 강도를 거의 10배, 동적 모듈러스를 3배 개선시켰으며, 폭발형 나노입자의 표면 작용기는 또한 젤 매트릭스와 더 높은 상호 작용으로 인해 기계적 특성과 함께 생물학적 물성 개선에 기여했고, 수중 젤의 안정성도 7일로 향상되었다. 나노다이아몬드 기반의 젤에서 세포 성장 및 증식의 4배 개선이 관찰되었다. 일정기간 동안 안정적이고 압출 가능한 나노다이아몬드가 분산된 젤라틴 젤의 세포부착 특성은 보다 우수한 기계적 특성을 가진 세포 캡슐화 주사 젤이 단기 조직재생소재로 적용될 수 있음을 보여주었다.⁹

3. 생체재료 조직공학 연구실 현황

본 연구팀은 노인섭교수와 2인의 연구교수, 3인의 박사 과정, 4인의 석사과정, 12인의 학부생으로 구성되어 있으며, 동물실험은 서울대병원과 함께 진행되었으며, 연구재단, 산업부, 중소벤처기업의 과제지원을 받아 연구를 수행하였다.

참고문헌

1. D. Das, E. Cha, S. Lee, H. Shin, and I. Noh, *Biomacromolecules*, **21**, 892 (2020).
2. D. Das, H. T. T. Pham, S. Lee, and I. Noh, *Mater. Sci. Eng. C*, **98**, 42 (2019).
3. D. Das, H. Cho, N. Kim, T. T. H. Pham, I. G. Kim, E.-J. Chung, and I. Noh, *Carbohydr. Polym.*, **207**, 628 (2019).
4. M. M. Pillai, H. N. Tran, G. Sathishkumar, K. Manimekalai, J. Yoon, D. Lim, I. Noh, and A. Bhattacharyya, "Symbiotic culture of nanocellulose pellicle: A potential matrix for 3D bioprinting." *Mater. Sci. Eng. C*, **119**, 111552 (2021).
5. G. Janarthanan, J. H. Kim, I. Kim, C. Lee, E.-J. Chung, and I. Noh, *Biofabrication*, **14**, 035013 (2022).
6. G. Janarthanan, H. S. Shin, I.-G. Kim, P. Ji, E.-J. Chung, C. Lee, and I. Noh, *Biofabrication*, **12**, 045026 (2020).
7. G. Janarthanan, S. Lee, and I. Noh, *Adv. Funct. Mater.*, **31**, 2104441 (2021).
8. A. Bhattacharyya, G. Janarthanan, H. N. Tran, H. J. Ham, J. Yoon, and I. Noh, *Chem. Eng. J.*, **415**, 128971 (2021).
9. A. Bhattacharyya, V. N. Priya, J.-h. Kim, M. R. Khatun, R. Nagarajan, and I. Noh, *Biomater. Res.*, **26**, 37 (2022).