

세포 반발성 표면을 위한 미세구조 컨포말 코팅

반발성 코팅은 비특이적 단백질 또는 세포의 부착을 방지하여 바이오센서, 임플란트, 세포 배양 장치 등의 다양한 바이오메디컬 디바이스 개발에 있어 중요한 요소이다. 비특이적 세포 부착은 임플란트에서의 염증 반응, 바이오센서에서의 감지 신호 손상, 그리고 세포 배양장치에서의 무작위적이고 조절 불가능한 세포 부착이라는 문제를 야기할 수 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해서 다양한 합성 또는 천연 고분자를 이용한 코팅 방법들이 개발되어 왔다.

본 연구에서는 인산염(phosphate)과 아민(amine) 유닛을 가지고 있는 양쪽성 고분자 전해질(polyampholyte)로 분류되는 프리벨렉스(prevelex)를 합성하고, 미세 디바이스에 정밀하게 코팅하였다(그림 1a). 소수성 표면에 프리벨렉스를 딥코팅(dip-coating) 함으로써 표면의 성질이 전기적 중성을 띄는 높은 친수성으로 변하게 되었다. 딥코팅 후에 표면처리하는 섭씨 50-150도에서 이루어졌는데, 해당 온도는 일반적으로 세포배양에 사용되는 물질들인 폴리스티렌(polystyrene) 또는 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane)을 처리하기에 적합한 온도이다. 주사전자현미경을 통해 마이크로 또는 나노 구조

위에 매우 얇고 컨포말한 코팅이 형성되었음을 확인할 수 있었다(그림 1b). 마이크로웰 어레이 디바이스를 코팅할 때, 프리벨렉스가 폴리(2-히드록시에틸 메타크릴레이트)(poly(2-hydroxyethyl methacrylate))이나 폴리(2-메타크릴로일옥시에틸 포스포릴콜린)(poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine))보다 뛰어난 성능을 보여주는 것을 확인할 수 있었다. 따라서, 프리벨렉스로 코팅된 마이크로웰을 이용하여 다양한 세포로부터 균일한 크기의 스페로이드(spheroids)를 형성할 수 있었다(그림 1c). 나아가 쥐 배아 상피 및 중간엽 세포를 프리벨렉스가 코팅된 마이크로웰에 배양하였을 때, 모낭 세균 유사 응집체를 형성하는 것을 확인할 수 있었다. 이후, 해당 응집체를 털이 없는 쥐에 이식하여 새로운 모낭을 형성할 수 있었다. 본 연구에서 사용된 코팅 물질은 비오염성 표면을 준비하는데 있어 견고하고 미세한 코팅을 제공하는 방법을 제시하여, 조직공학이나 바이오메디컬 응용분야에서 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

본 연구결과는 “Cell-repellent polyampholyte for conformal coating on microstructures”의 제목으로 2022년 *Scientific Reports*에 게재되었다.

〈K. Suzuki et al, *Sci. Rep.*, **12**, 10815 (2022), DOI: 10.1038/s41598-022-15177-8〉

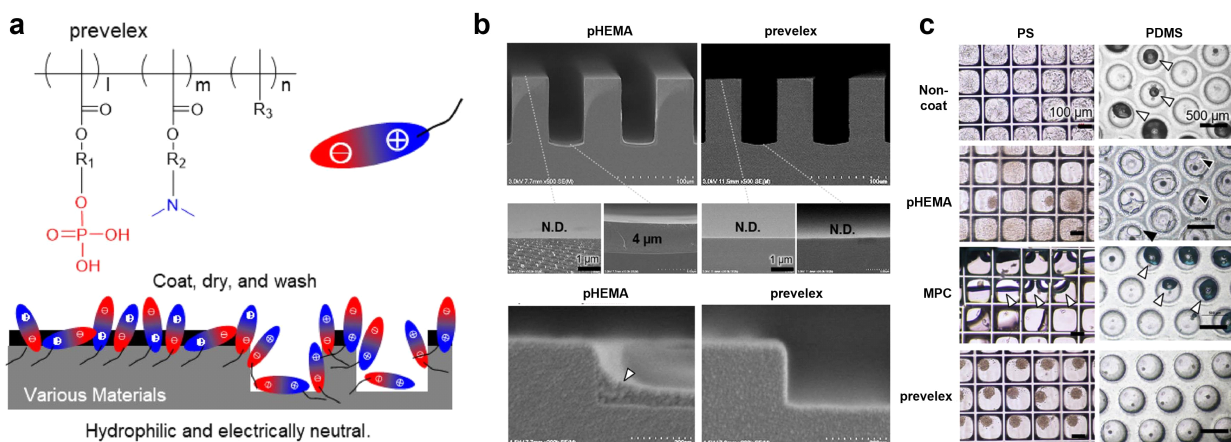


그림 1. 프리벨렉스 기반 세포 반발성 코팅; (a) 프리벨렉스 구조와 표면코팅 모식도, (b) 미세구조에서의 코팅 비교, (c) 코팅된 마이크로웰 플레이트에서의 세포 스페로이드 형성 비교.

단백질 기반 코어-셸 마이크로젤 기반 다공성, 기능성 생체재료 바이오프린팅

생체재료는 살아있는 세포를 포함하고 있는 무생물성 재료를 의미한다. 이 생체재료는 다양한 기능을 부여할 수 있어서 재료공학이나 생물공학에 폭넓게 쓰이고 있다. 바이오프린팅은 연성물질 안의 세포를 원하는대로 배치해 줌으로써, 복잡한 시스템을 구축하는데 정밀한 제어를 가능하게 한다.

본 연구에서는 코어-셸 형태의 마이크로젤 잉크를 사용하여 세포의 미세환경과 추가처리가 가능한 쉘 구조를 제공하였다.

광경화가 가능한 젤라틴 메타아크릴로일(gelatin methacryloyl)과 젤라틴, 광중합제를 섞어 쉘을 구성하였으며, 코어는 카르복실-메틸셀룰로오스(carboxymethylcellulose)와 트랜스글루타미나제(transglutaminases)로 구성하였다. 캐리어 오일은 Novec7500에 0.1% Pico-surf 계면활성제가 활용되었다.

세포는 미세유체공정을 통해 높은 점도를 지니는 코어 유체에 포함된다. 코어-셸 입자를 프린팅 후 쉘 부분이 공유결합으로 연결됨으로써 미세 다공성이 조절된 단백질 기반 어닐링된(annealed) 마이크로젤 스캐폴드(scaffold)를 형성하게 된다(그림 2a,b). 생성된 마이크로젤은 미생물 개체군이나 세포 스페이로이드 형성에 활용될 수 있다(그림 2c).

본 연구의 접근법은 코어-셸 전략이 세포배양에 선호되는 환경을 제공함과 동시에 세포의 누수를 완화시키는 결과를 보여주었다. 나아가 다양한 미생물 컨소시엄이 스캐폴드에 프린팅될 수 있음을 확인하였다. 미생물 컨소시엄을 각 마이크로젤로 구획화 함으로써, 스캐폴드의 집단적 바이오

프로세싱이 향상됨을 확인할 수 있었다(그림 2d). 본 연구 결과는 생체재료의 미생물 바이오 프로세싱, 바이오 가공기술 등에서의 활용전략을 크게 향상시키는데 기여할 것이다.

본 연구결과는 “Bioprinting microporous functional living materials from protein-based core-shell microgel”의 제목으로 2023년 *Nature Communications*에 게재되었다.

⟨Y. Ou et al., *Nat. Commun.*, **14**, 322 (2023), DOI: 10.1038/s41467-022-35140-5⟩

3차원 연성 미세유체를 통한 대규모 혈관화된 조직 형성

조직공학을 통해 생성한 조직이나 오가노이드에 혈관을 제공하는 것은 재생 의학에서 주요한 도전으로 남아있다. 커다란 조직을 형성할 경우, 복잡한 기능을 모사할 수 있고, 생체 내의 특성을 보다 잘 반영할 수 있기 때문에 오랜 기간동안 추구되었던 동물 모델의 대체제가 될 수 있다. 생체 내 조직은 혈관 네트워크를 가지고 있어 산소, 영양분, 노폐물의 원활한 교환을 가능하게 한다. 여러가지 접근법이 시도되었지만, 아직까지 큰 조직에 충분한 밀도를 가지는 작은 스케일의 혈관을 제공하는 것은 달성하기에 여러 난점이 있다.

본 연구에서는 모세관 크기의 3D 합성 혈관 네트워크를 생성하여 수 mm 크기의 조직에 관류를 제공하는 결과를 선보였다. 3D 프린팅이 가능하며 이광자(two-photon) 중합되는 하이드로젤 제형을 이용하여 살아있는 조직의 확산 제한보다 작은 스케일의 미세 혈관을 생성하였다는 점이 소개하는 접근법의 강점이다.

초기에는 젤라틴과 폴리에틸렌글리콜 디아크릴레이트(polyethylene glycol diacrylate, PEGDA)를 사용하였으나,

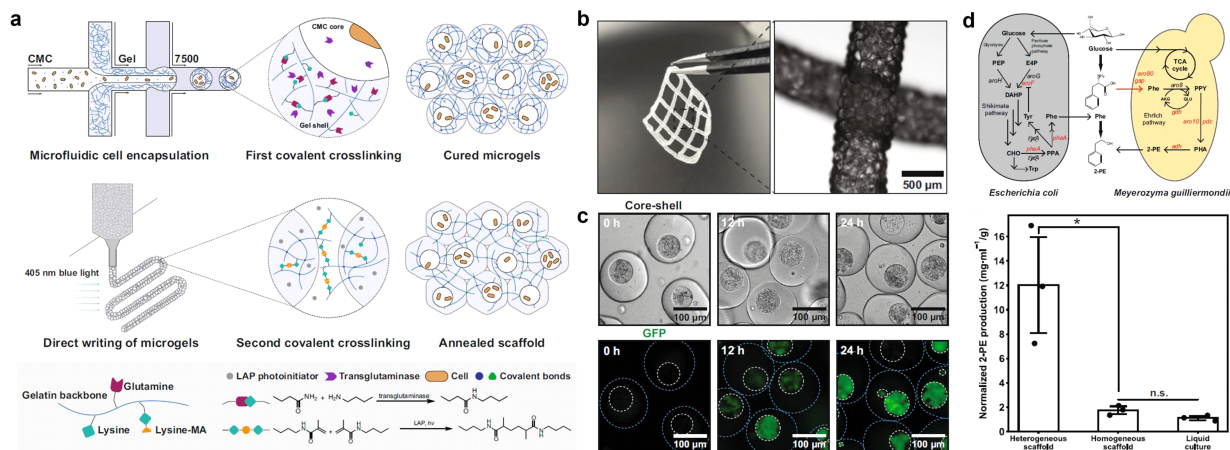


그림 2. 코어-셸 마이크로젤 기반 바이오프린팅: (a) 코어-셸 입자 생성 및 바이오프린팅 모식도, (b) 프린팅된 마이크로젤 스캐폴드, (c) 코어-셸 마이크로젤을 이용한 세포 스페이로이드 형성, (d) 스캐폴드를 이용한 집단적 바이오프로세싱 향상.

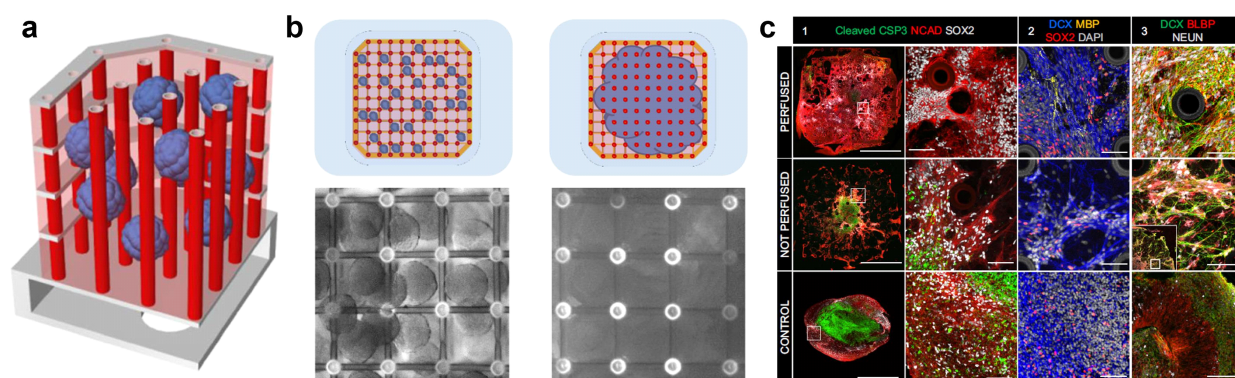


그림 3. 합성 3차원 혈관이 생성된 큰 조직 형성; (a) 미세유체 모세 그리드, (b) 조직 생성 과정, (c) 장기간 배양한 피질 오가노이드의 면역형광 이미징.

상당한 팽윤 작용에 의해서 왜곡이 발생하는 문제가 있었다. 프린트 후의 왜곡을 극복하기 위해서 친수성 하이드로젤 예비중합체를 광고분자인 PEGDA와 충분한 양의 광개시제인 펜타에리트리톨 트리아크릴레이트(pentaerythritol triacrylate), 불활성 필러 성분으로 사용되는 트리톤-X 100(Triton-X 100)을 기반으로 준비하였다. 여기에 광개시제인 Irgacure 369와 프로필렌 글리콜 메틸 에테르 아세테이트(propylene glycol methyl ether acetate)가 추가되었다. 이를 통해 제작된 하이드로젤은 팽윤에 의한 왜곡문제를 일으키지 않으면서 충분한 공극을 가져 빠른 확산을 가능하게 하였다. 하이드로젤 기반 혈관 그리드는 이광자 레이저 스캐닝 광중합을 통해 제작되었다(그림 3a). 인간 다능성 줄기세포(human pluripotent stem cell)를 응집시켜 수백개의 200 μm 이하의 오가노이드를 생성하고, 이를 그리드에 채워 8일간 배양하고 분화시킨 결과, 전 공간이 채워진 채로 융합된 조직을 생성할 수 있었다(그림 3b).

본 연구에서 생성된 수 mm의 조직은 장기간의 체외 (*in vitro*) 배양기간동안 생존 가능하고, 증식하며, 복잡한

형태 형성을 나타내었다. 또한, 배양기간 동안 저산소증이나 괴사를 방지할 수 있었다. 혈관 생성 조건 하에서 단일세포 RNA 서열분석(single cell RNA sequencing)과 면역조직 화학법을 통해 신경세포의 분화가 상당히 가속됨을 확인할 수 있었다. 나아가, 신경조직 또는 간조직을 장기간 배양함으로써 본 기술의 다양성을 선보였다(그림 3c). 본 연구에서 선보인 완전한 합성 혈관 생성 플랫폼은 전례 없는 크기와 복잡성을 가진 사람 조직 모델을 개발하는데 중요한 역할을 할 것으로 전망된다.

본 연구결과는 “Large-scale perfused tissues via synthetic 3D soft microfluidics”의 제목으로 2023년 *Nature Communications*에 게재되었다.

<S. Grebunuk *et al.*, *Nat. Commun.*, **14**, 193 (2023), DOI: 10.1038/s41467-022-35619-1>

<김재정, email: jaejungk@hongik.ac.kr>