

다층 하이드로젤 자가접힘에 따른 생체로봇 설계 및 특성 분석

조성우[#] · 신성규[#] · 김희진 · 한사라 · 정재현[†]

숭실대학교 화학공학과

(2016년 12월 19일 접수, 2016년 12월 30일 수정, 2016년 12월 31일 채택)

Self-folding of Multi-layered Hydrogel Designed for Biological Machine

Sung Woo Cho[#], Sung Gyu Shin[#], Hee-Jin Kim, Sa Ra Han, and Jae Hyun Jeong[†]

Department of Chemical Engineering, Soongsil University, 369 Sangdo-ro, Dongjak-gu, Seoul 06978, Korea

(Received December 19, 2016; Revised December 30, 2016; Accepted December 31, 2016)

초록: 다층 하이드로젤을 사용하여 자가변환이 가능한 생체로봇을 설계하였다. 온도에 따른 팽윤비 차이를 이용하여 37 °C에서 자가접힘에 의해 5.3 mm의 곡률반경을 갖는 생체로봇의 다리 부분을 제조하였다. 미세접촉프린팅(μ CP) 방법으로 세 가지 다른 형태로 파이브로넥틴이 패턴된 하이드로젤을 제조하여 근관세포의 분화 및 정렬에 미치는 영향을 확인하였다. 생체로봇은 3D printer를 이용하여 다리부분은 두 층으로 몸통부분은 단층으로 구성된 3차원 구조로 제조하였다. 다리부분에 원형 패턴으로 분화된 근관세포의 수축력은 $0.31 \pm 0.32 \mu\text{N}$ 값을 보인 반면, 100 μm 두께의 선형 패턴으로 분화된 근관세포의 수축력은 $1.12 \pm 0.30 \mu\text{N}$ 값을 보여 약 3.6배 강한 것을 확인할 수 있었다. 다층 하이드로젤 기반의 자가변환 생체로봇은 약물전달, 조직공학, 환경공학 및 생체모방공학 분야에 다양하게 활용될 수 있다.

Abstract: The biological machine was designed to self-transform using a multi-layered hydrogel. The biological machine legs consisting of two layers with different swelling ratios were fabricated to have 5.3 mm of radius of curvature by self-folding assembly at 37 °C. The hydrogels patterned with three different geometries by the micro-contact printing could influence the differentiation process and alignment of C2C12 skeletal myoblasts. The cells on the linear patterns resulted in the 3.6-fold increase of the contractile force with $1.12 \pm 0.30 \mu\text{N}$, as compared to the cells on the circle patterns with $0.31 \pm 0.32 \mu\text{N}$ of contractile force. Overall, this new strategy to prepare the biological machine with the multi-layered hydrogel would be actively used in drug delivery, tissue engineering, environmental engineering, and biomimetic engineering, etc.

Keywords: hydrogel, biological machine, self-folding, contractile force.

서 론

살아있는 세포와 같은 생체물질을 유연하면서도 충분한 강도를 가지는 연성 물질(soft materials)에 결합하여 다양한 생명체의 메커니즘을 구현하고자 하는 생체로봇(biological machine)에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.¹⁻⁷ 최근, 고분자 탄성 중합체(polydimethylsiloxane, PDMS)로 구성된 몸체에 심근세포(cardiomyocyte)를 배양하여 만든 가오리 형태의 생체로봇 연구가 Science 지에 소개되었다.⁸ 심근세포에 광감성 이온 채널 단백질(ChR2)이 발현하도록 유전자 조작을 가하여, 광 자극이 가오리의 날개에 주어지면 방향 전환도가

능도록 설계하였다. 또한 골격근(skeletal muscle) 세포를 사용한 연구도 활발히 진행되고 있으며 생체물질복합체와 3차원 프린팅 방식으로 다양한 형태의 생체로봇이 개발되었다.⁹ 이러한 세포 기반의 생체로봇은 내부 동력기관 없이 구동이 가능하기 때문에 소형화가 필수인 다양한 응용분야에서 주목받고 있다.

생체로봇 개발에 있어서 가장 중요한 요소 중 하나는 세포와 로봇 몸체로 사용된 연성물질간의 결합력을 최적화하여 로봇의 작동 효율을 높이는 것이다. 때문에 생체 내 세포외 기질(extracellular matrix, ECM)의 물성을 모사할 수 있는 하이드로젤(hydrogel)이 생체로봇 몸체의 연성물질로 대두되고 있다.¹⁰ 하이드로젤은 일반적으로 친수성 고분자가 3차원 망상구조(3D network structure)를 이루어 내부에 다량의 수분을 함유할 수 있도록 고안된 물질이다. 그 구조 및 물성이 생체 내 세포외기질과 유사하기 때문에 조직공학, 약물전달 및

[#]Equally contributing authors to this work

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: nfejhh@ssu.ac.kr

©2017 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

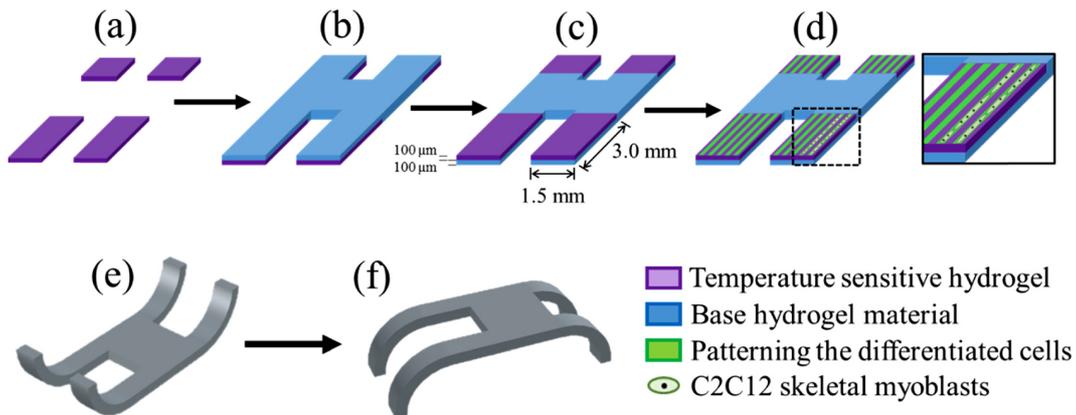


Figure 1. Schematic description of preparing the biological machine by self-folding assembly. Process flow diagram depicting an array of fabricated biological machine with multi-layered hydrogel and differentiation of C2C12 myoblasts (a-f).

식품 산업 등 다양한 분야에 폭 넓게 응용되고 있다. 고분자의 종류, 농도, 가교도(degree of cross-linking)를 조절하면 적용 세포 또는 생체로봇 설계에 맞는 강도(stiffness) 및 팽윤비(swelling ratio)를 갖도록 하이드로젤의 기계적 물성을 제어할 수 있다.¹¹

본 연구에서는 다층(multi-layered) 하이드로젤을 사용하여 자가변환(self-transformation)이 가능한 생체로봇을 설계하였다. Figure 1에서 보는 것처럼 생체로봇의 다리 부분은 단층으로 구성된 몸체 부분과 달리, 온도 민감성 하이드로젤을 포함하는 다층 하이드로젤로 제조하였다. 온도에 따른 팽윤비 차이를 이용하여 다리 부분은 작동 온도에서 자가접힘(self-folding)이 일어나게 설계하였다. 온도 민감성 분자의 도입 정도를 조절하여 자가접힘에 의한 다리 부분 곡률(curvature)을 제어하였고 근아세포(myoblasts)를 접목하여 구동 가능한 생체로봇을 제조할 수 있었다. 생체로봇에 도입된 근아세포는 증식하게 되면 전기자극에 의해 일정한 박동으로 수축하고 이완하는 근관세포(myotube)로 분화(differentiation)한다. 이를 토대로, 본 연구에서는 위의 내용뿐 아니라 근관세포의 정렬(alignment) 정도를 제어하여 다층 하이드로젤의 구동 능력 또한 최적화할 수 있었다. 본 연구에서 제조한 다층 하이드로젤 기반의 자가변환 생체로봇은 약물전달, 조직공학, 환경공학 및 생체모방공학 분야에 다양하게 활용될 수 있다.

실 험

다층 하이드로젤 제조. 단량체로 아크릴아마이드(acrylamide, AAm, Sigma)와 가교제로 메틸렌비스아크릴아마이드(*N,N'*-methylenebisacrylamide, MBA, Sigma)를 사용하여 생체로봇의 몸체인 다층 하이드로젤을 제조하였다. 온도 민감성 하이드로젤을 제조하기 위해 이소프로필아크릴아마이드(*N*-isopropylacrylamide, NIPAM, Sigma)를 접목하였다.^{12,13}

NIPAM을 포함한 하이드로젤은 AAm과 NIPAM의 총 농도를 10%(w/v)로 고정하고 NIPAM의 농도를 0~10%(w/v)로 조절하여 제조하였고 용매로는 증류수를 사용했다. 개시제는 Irgacure2959(Sigma)를 사용하여 dimethyl sulfoxide(DMSO, Sigma)에 10% 용액을 만들어 젤 용액(pre-polymer solution)에 최종 농도가 0.2%가 되도록 첨가했다. 이후 DLP 3D printer(SPACE D, 3D Factory)를 이용하여 광중합으로 다층 하이드로젤을 제조하였다.

다층 하이드로젤 분석. 제조한 하이드로젤은 증류수에 최소 12시간 이상 담가 충분히 팽윤시킨 후 하이드로젤의 무게(W_s)를 측정하였고 이것을 다시 60 °C에서 최소 6시간 이상 건조시킨 후 무게(W_d)를 측정하여 팽윤비(Q_m)를 계산하였다.

$$Q_m = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

다층 하이드로젤의 자가접힘(self-folding) 정도를 예측하기 위해 열에 의한 바이메탈 스트립(bimetallic strip) 곡률 식 (2)를 적용하여 곡률반경(r)을 계산하였다.¹⁴

$$r = \frac{E_1^2 t_1^4 + 4E_1 E_2 t_1^3 t_2 + 6E_1 E_2 t_1^2 t_2^2 + 4E_1 E_2 t_1 t_2^3 + E_2^2 t_2^4}{6E_1 E_2 (t_1 + t_2) t_1 t_2 \Delta \epsilon} \quad (2)$$

여기서, E_1 , E_2 는 각 하이드로젤 층의 압축 강도(elastic moduli)를, t_1 , t_2 는 각 층의 두께를, $\Delta \epsilon$ 는 두 하이드로젤 층의 확장비(expansion ratio, S) 차이를 나타낸다.¹⁵

$$S = \left(\frac{Q_f}{Q_i} \right)^{\frac{1}{3}} - 1 \quad (3)$$

여기서, Q_i , Q_f 는 하이드로젤을 수용액에 담기 전과 후의 팽윤비를 나타낸다. 하이드로젤의 기계적 특성은 만능재료시험

기(universal testing machine, UTM, DrTech) 장치를 이용하여 수행하였다.¹⁶ 압축 강도 측정을 위한 하이드로젤은 지름 8 mm, 높이 1 mm로 규격화하였으며 각각 총 5개의 샘플을 제작하여 측정하였다. 만능재료시험기의 설정 값은 측정거리 시험비율 10%, 시험 속도 0.5 mm/min, 하중 범위 1.0 kg로 동일하게 적용하였다.

근관세포의 정렬. 근관세포의 정렬 정도에 따른 다층 하이드로젤의 구동 능력을 확인하기 위해 생물분자로 패턴(pattern) 처리된 하이드로젤을 제조하였다. 직경 500 μm 의 원형 패턴과 두께 500, 100 μm 의 선형 패턴을 소프트 식각(soft-lithography) 기술을 이용하여 PDMS(DOW CORNING) stamp로 제조하였다.¹⁷ 하이드로젤에 근아세포를 붙이기 위해 접착단백질인 파이브로넥틴(fibronectin, Fn, from human plasma, Sigma) 0.2 mg/mL에 PEG linker(acryl-polyethylene glycol-acryl, 5000 g/mol, Laysan Bio, Inc.) 5.0 mg/mL로 첨가하여 Fn-linker를 합성하였다. 제조한 Fn-linker 용액을 PDMS stamp 위에 올리고 2시간 이후 남은 용액을 제거한 후에 커버글라스(cover glass, 18 \times 18 mm, Marienfeld)에 PDMS stamp를 올려 패턴을 커버글라스로 옮겼다. 패턴이 옮겨진 커버글라스 위에 젤 용액을 올리고 전처리된 커버글라스로 덮었다. 이때 사용된 전처리 커버글라스는 패턴을 하이드로젤 표면에 위치하기 위해 사용한다. 커버글라스 표면을 0.4% 3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate(Sigma)를 아세트산(acetic acid)에 첨가한 용액으로 전처리한다. 근아세포(myoblast, C2C12, ATCC)는 75 cm² flask에서 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM, Biowest)에 10% fetal bovine serum(FBS, Biowest)와 1% penicillin-streptomycin(P/S, 100X, Biowest)을 첨가한 배양액을 사용하여 37°C, 5% CO₂ 환경에서 배양했다. 배양한 근아세포를 40 μL 당 5×10^4 농도로 패턴이 된 하이드로젤 표면에 분주하고 7일 동안 배양했다. 배양 6일차에 근관세포로의 분화를 유도하기 위해 배양액을 DMEM에 10% horse serum(HS, Biowest)과 1% P/S를 첨가한 배양액으로 교체했다. 배양액은 2일 주기로 교체했으며, 광학 현미경(optical microscopy, Nikon Eclipse TS100)으로 세포들의 거동을 관찰했다.

면역염색(Immunostaining). 다층 하이드로젤에 근아세포를 분주하고 10일 후, PBS 버퍼로 두 번 세척 해 주고 상온에서 10분간 4%(v/v) 포르말데하이드 용액으로 고정(fixation)하였다. 0.2%(v/v) Triton-X 100(Sigma) 용액으로 10분간 처리하여 세포 투과성을 높여주었다. 세포는 1%(w/v) BSA(bovine serum albumin, Sigma) 용액으로 30분간 억제(blocking)시킨 후 PBS로 다시 세척해 주었다. 이후 세포는 4°C에서 MF-20(anti-myosin heavy chain)을 12시간 동안 처리해 주고 이후 37°C에서 anti-mouse IgG(invitrogen)과 FITC가 태그된 phalloidin(Sigma), DAPI(4,6-diamidino-2-phenylindole, Sigma)를 12시간 동안 처리하여 염색하였다. 염

색한 세포는 형광 현미경(fluorescent microscope, Nikon Eclipse T_i)을 사용하여 관찰하였고 이미지는 ImageJ로 분석하였다.

생체로봇의 제조 및 구동. 생체로봇은 DLP 3D printer를 이용하여 다리부분은 두 층으로 몸통부분은 단층으로 구성된 3차원 구조로 제조하였다. Figure 1(a)와 같이 두께 100 μm , 길이 3 mm, 폭 1.5 mm 크기의 두 다리 부분을 온도 민감성 하이드로젤을 패턴 처리된 커버글라스 위에서 제조하였다. 이후 Figure 1(b)와 같이 다리 부분은 두께 100 μm , 몸통 부분은 두께 200 μm 로 AAm 단독으로 두 번째 하이드로젤 층을 제조하였다. 상온에서 다층 하이드로젤 위에 근아세포를 파종(seeding)한 후, 37°C에서 다층 하이드로젤의 자가접힘을 유도하였다(Figure 1(f)). 전극을 설치한 6 well plate에서 전기기장장치(AGF3011C, Tektronics)를 사용하여 1 Hz, 20 V로 전기 자극을 주었다. 전기자극에 의한 다층 하이드로젤의 수축 및 이완 과정을 실체 현미경(stereoscope, Olympus SZ61)을 통해 관찰했다.

결과 및 토론

다층 하이드로젤 제조. 다층 하이드로젤을 사용하여 자가변환이 가능한 생체로봇을 설계하였다. Figure 1(a-d)에서 보는 것처럼 세포를 균일하게 파종하고 안착시키기 위해 곡률이 없는 형태로 있다가, 작동 온도가 되면(Figure 1(f)) 다리 부분이 접혀 자가변환이 되도록 하였다(Figure 1(e)). 이후, 구동이 가능하도록 뒤집어주었다(Figure 1(f)). Figure 2는 팽윤비가 다른 두 층으로 구성된 하이드로젤의 자가접힘 현상을 설명하고 있다. 식 (1)과 같이 팽윤비는 하이드로젤이 물을 함유하여 팽윤하는 정도를 나타낸다. 상온에서는 팽윤비 차이가 없다가 37°C에서 팽윤비 차이가 발생하면 다층 하이드로젤은 자가접힘에 의해 곡률을 갖게 된다.

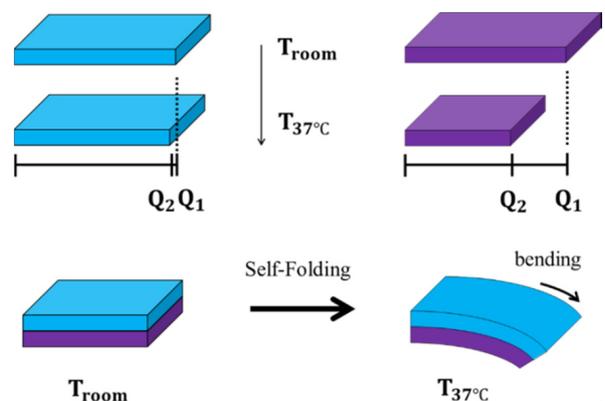


Figure 2. Schematic depicting self-folding assembly of a hydrogel consisting of two layers with different capacities to uptake water depending on the temperature.

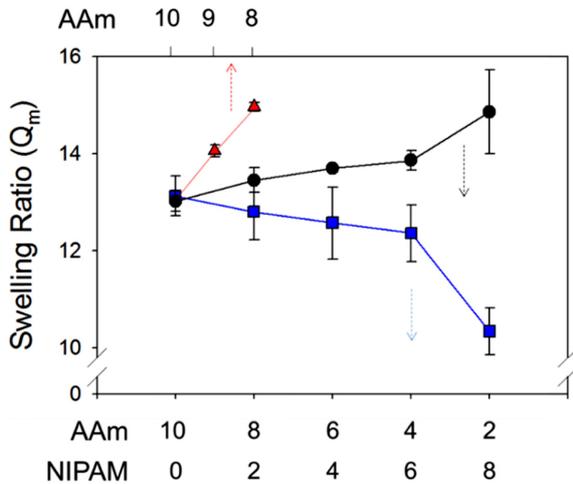


Figure 3. Swelling ratios ($\times 10^2$) with varying of acrylamide and NIPAM at 25 °C (●) and 37 °C (■). (▲) represents the swell ratios depending on the concentration of acrylamide only.

Figure 3은 AAm 단량체와 온도 민감성 NIPAM 분자의 총 농도를 10%(w/v)로 고정하고 NIPAM의 함량을 변화시키면서 제조한 하이드로젤의 팽윤비 결과를 보여준다. NIPAM의 함량이 증가할수록 하이드로젤의 온도 민감성도 증가하는 것을 알 수 있다. 이는 중합된 NIPAM의 임계하한온도(LCST, low critical solution temperature)가 32°C이기 때문에 LCST 이상의 37°C에서는 하이드로젤이 수축하기 때문이다. 첫 번째 층은 NIPAM을 혼합하여 온도 민감성을 갖게 하고, 두 번째 층은 AAm 단독으로 가고 중합하여 다층 하이드로젤을 제조하였다. 이때, 자가접힘에 의한 다층 하이드로젤의 최적 곡률(desired curvature)을 얻기 위해 각 층의 조성비 선정이 중요하다. 예를 들어, 첫 번째 층을 AAm과 NIPAM의 함량비를 4:6으로 선정할 경우, 두 번째 층을 AAm 단독으로 10%(w/v)로 하면, 37°C에서 자가접힘을 할 수 있는 충분한 팽윤비 차이 169(=1405-1236)를 얻을 수 있다. 하지만, 이 경우 상온(25°C)에서도 팽윤비 차이 74(=1386-1312)가 발생해서, 상온에서도 평평한 다층 하이드로젤이 아닌 곡률을 갖게 되는 문제점이 발생하게 된다. 때문에, 두 번째 층으로 적합한 팽윤비를 갖는 하이드로젤을 설계하기 위해, AAm 농도를 변화시키면서 팽윤비를 측정하였다. Figure 3에서 보는 것처럼 AAm의 농도를 감소시키면 팽윤비는 증가한다. AAm 농도가 9.0%(w/v)인 경우, 팽윤비가 약 1390 정도를 갖기 때문에 두 번째 층으로 선정하기에 적합하다.

식 (2)를 사용하면 다층 하이드로젤의 곡률반경(r)을 계산할 수 있다. 첫 번째 층을 AAm과 NIPAM의 함량비 4:6(총 10%(w/v))으로 선정하고 두 번째 층을 AAm 단독으로 9.0%(w/v)로 하면 상온에서 곡률반경이 47.0 mm 정도로 아주 작은 곡률($k=1/r=0.021 \text{ mm}^{-1}$)을 갖게 된다. 그런데 37°C에서는

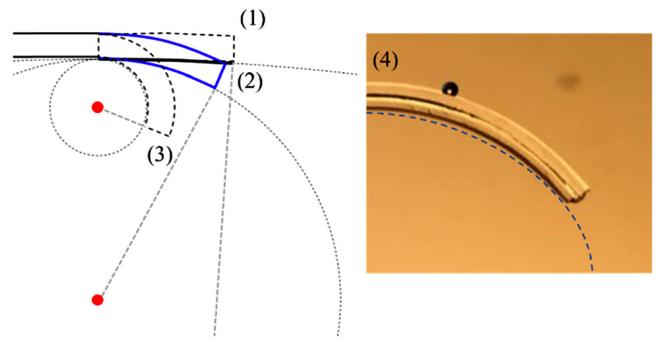


Figure 4. Curvatures of the multi-layered hydrogels estimated by a mathematical model developed for the curvature of a heat-induced bimetallic strip (1-3). A self-folded hydrogel consisting of two layers (4).

각 층의 압축 강도가 각각 35 kPa(E_1), 60 kPa(E_2), 확장비가 각각 0.159(S_1), 0.210(S_2)이기 때문에, 곡률반경이 5.3 mm가 되어 생체로봇의 다리 부분으로 적합한 곡률을 갖게 된다. 실험 측정 곡률 값은 Figure 4(4)에서 보는 것처럼 약 6.3 mm를 갖는다. AAm과 NIPAM의 함량비를 2:8로 하면 온도 민감성은 더 커지지만 37°C에서 곡률반경이 0.5 mm(critical curvature: 3 mm 길이를 갖는 하이드로젤이 완전히 구형이 되는 곡률반경)보다 작아져 다층 하이드로젤이 말리는 형태가 되어 다리 부분으로 적합하지 않게 된다(Figure 4). 이와 같이 각 층 또는 국소적으로 하이드로젤의 조성을 조절하면 다양한 자가변환 소자를 설계할 수 있다.

근관세포의 정렬. 근관세포의 정렬 정도에 따른 다층 하이드로젤의 구동 능력을 확인하기 위해 생물분자로 패턴(pattern) 처리된 하이드로젤을 제조하였다. Figure 5(a)에서 보는 것처럼 미세접촉프린팅(μ CP, micro-contact printing) 기법을 사용하여 파이브로넥틴($4.6 \times 10^{-9} \text{ g}/\mu\text{m}^2$)을 직경 500 μm 의 원형 패턴과 두께 500, 100 μm 의 선형 패턴으로 각각 커버글라스 위에 옮겨주었다. 그 위에 하이드로젤 용액을 올리고 광중합으로 두께 100 μm 를 갖는 하이드로젤을 제조하였다. C2C12 세포를 패턴된 하이드로젤에서 배양하면 Figure 5(b)와 같이, 패턴과 동일한 형태로 세포 군집을 이루는 것을 확인할 수 있다. 배양 6일째가 되면 Figure 5(c)와 같이, 각 패턴에 세포가 증식하여 딱 차게 되고, 이때부터 분화배양액 하에서 근관세포가 근관세포로 분화하게 된다. 일반적으로 신경, 심근, 골격근, 각막, 혈관 조직 등 인체 내 세포 및 조직의 정렬 정도(degree of alignment)가 그 기능에 큰 영향을 준다고 알려져 있다.¹⁸ 특히, 골격근에서 세포의 정렬 정도는 조직의 수축력(contractile force)을 최대화하는데 필수적이다. 때문에 본 연구에서는 패턴에 따른 근관세포의 정렬 정도를 확인하였다. Figure 5(c)의 형광 이미지에서 보는 것처럼 구형 패턴에서는 각도 편차(angle of deviation)가 20° 이하가 되는 근관세포가 전체 대비 31%에 불과하였다. 두께 500 μm 선형 패턴에서

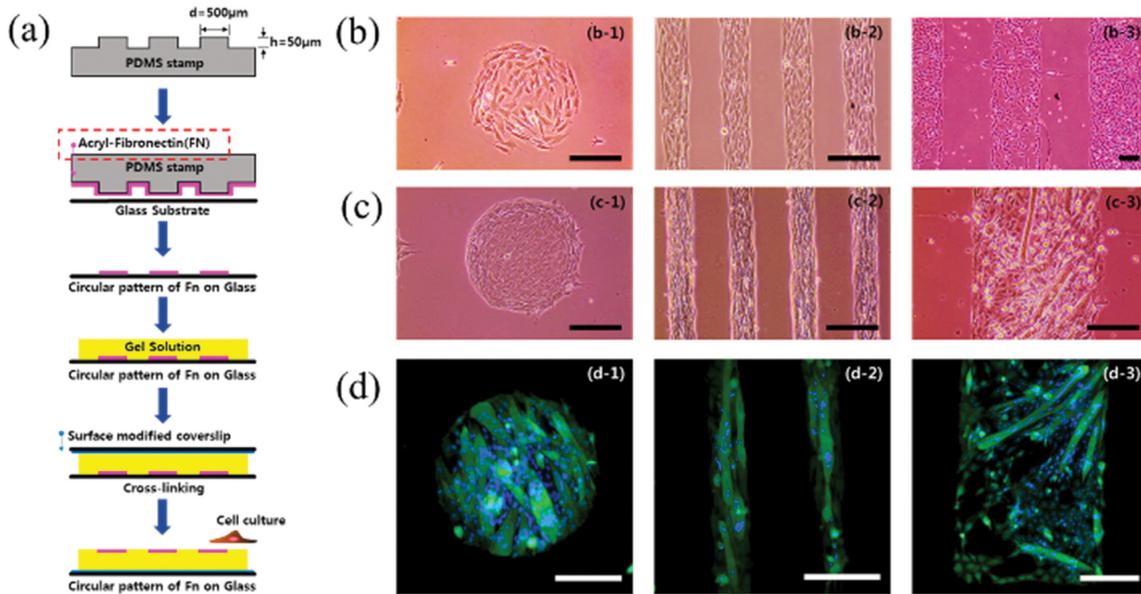


Figure 5. (a) Schematic showing the preparation of the micropatterned hydrogels; (b-c) optical images of the C2C12 cells on the different patterns (500 μm circle, 100 μm line, and 500 μm line); (d) fluorescent images of the differentiation of cells on each pattern (scale bar = 200 μm).

분화한 근관세포는 그 값이 47% 정도로 소폭 상승하였다. 그러나 두께 100 μm 선형 패턴에서 분화한 근관세포는 각도 편차가 20° 이하가 되는 근관세포가 전체 대비 91%에 이를 정도로 정렬 정도가 향상되었다. 비등방성(anisotropy)을 보이는 패턴된 세포외기질이 세포골격의 구조 및 분화에 영향을 준다는 이전 결과와 상응하는 결과이다.¹⁸ 이후, 이러한 근관 세포 정렬 정도가 실제 수축력에 미치는 영향을 알아보는 실험을 진행하였다.

생체로봇의 제조 및 구동. 생체로봇은 3D printer를 이용하여 다리부분은 두 층으로, 몸통부분은 단층으로 구성된 3 차원 구조로 제조하였다. 파이브로넥틴으로 패턴된 커버글라스 위에 CAD로 설계한 이미지 파일에 따라 다층 하이드로젤을 각 100 μm 두께로 중합하였다. 이때 기존의 top-down 방식이 아닌 bottom-up 방식으로 중합하였다.¹⁹ 즉 한 층을 중합한 후 새로운 하이드로젤 용액으로 바꾸어 다음 층을 중합하는 방식을 사용하였다. C2C12 세포를 배양 후 37°C에서 다층 하이드로젤 부분이 자가접합에 의해 Figure 6(a)와 같이 일어서는 형태를 갖게 된다. 다리 부분은 Figure 6(b)와 같이 패턴 형태에 따라 정렬된 근관세포가 도입되었다.

전극을 설치한 6 well plate에서 전기인가장치를 사용하여 전기 자극을 주었다. 근관세포의 수축 활동은 전기 자극에 동기화(synchronized)하여 반복된다. 20 V에서 1, 2, 5 Hz로 전기 자극을 주면 근관세포는 1초당 평균적으로 1.01, 2.03, 4.97 번 수축한다. 근관세포가 도입된 다층 하이드로젤을 20 V에서 1 Hz로 전기 자극을 주어, Figure 6(d)와 같이 수축력(contractile force)을 측정하였다. 식 (4)에서 F 는 근관세포의

수축력, k_h 는 다층 하이드로젤의 강도(stiffness), δ 는 이완상태(relaxation state)로부터 수축상태(contraction state)가 되었을 때 하이드로젤 정점의 거리 차이를, 각각 의미한다.²⁰ 다층 하이드로젤의 강도는 식 (5)와 같이 첫 번째 층과 두 번째 층의 압축강도(E_1 및 E_2)와 두께(t_1 , t_2) 그리고 하이드로젤의 길이(L)와 너비(w)를 통해 구할 수 있다.

$$F = k_h \delta \tag{4}$$

$$k_h = \left[\frac{w}{4(E_1 t_1 + E_2 t_2)L^3} \right] \tag{5}$$

$$[E_1^2 t_1^4 + 4E_2 t_2 E_1 t_1^3 + 6E_2^2 t_2^2 E_1 t_1^2 + 4E_2^3 t_2^3 E_1 t_1 + E_2^4 t_2^4]$$

Figure 6(e)에서 보는 것처럼 첫 번째 층은 37°C에서 $35 \times 10^3 \text{Nm}^{-2}$, 상온에서 $63 \times 10^3 \text{Nm}^{-2}$, 두 번째 층은 $60 \times 10^3 \text{Nm}^{-2}$ 의 압축 강도를 갖는다. 다층 하이드로젤의 k_h 값을 식 (4)로 구하면 상온에서 0.0068Nm^{-1} , 37°C에서 0.0050Nm^{-1} 값을 각각 갖는다. 패턴 형태에 따라 전기 자극에 의해 수축한 정도를 측정하여 식 (4)에 의해 수축력을 계산하여 Figure 6(f)에 나타내었다. 원형 패턴으로 분화된 근관세포의 수축력은 $0.31 \pm 0.32 \mu\text{N}$ 값을 보인 반면, 100 μm 두께의 선형 패턴으로 분화된 근관세포의 수축력은 $1.12 \pm 0.30 \mu\text{N}$ 값을 보여 약 3.6 배 강한 것을 확인할 수 있었다. 패턴에 따라 도입된 단위면적당 세포 숫자로 정규화(normalized)하면 약 5.67배 강한 수축력을 보이는 것을 알 수 있다. 이와 같이, 하이드로젤에 도입된 근관세포에 의해 발생한 기계적 힘을 측정된 결과는 생

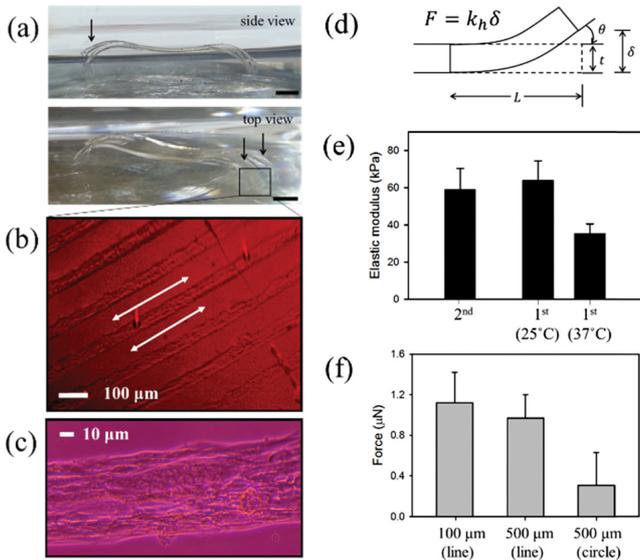


Figure 6. (a) Representative cross-sectional images of biological machine; (b) stereoscopic image of the C2C12 cells on the patterned leg; (c) contractile myotubes by the electrical stimulation; (d) schematic depicting the contractile force measurement; (e) elastic modulus of each hydrogel layer depending on the temperature; (f) the contractile forces for the different patterns.

체로봇 구동 연구뿐 아니라 실제 골격근 모사 연구에도 활용될 수 있다. 본 연구에서 적용한 다층 하이드로젤의 자가접힘 현상 및 근관세포 수축에 의한 생체로봇 움직임에 활용하면 다양한 형태의 구동(actuating)소자 및 바이오멤스(bioMEMS, bio-microelectromechanical systems)에 응용할 수 있으리라 기대된다.

결론

다층 하이드로젤을 사용하여 자가변환이 가능한 생체로봇을 설계하였다. 온도에 따른 팽윤비 차이를 이용하여 자가접힘에 의해 최적의 곡률반경을 갖는 생체로봇을 제조하였다. 미세접촉프린팅(μCP) 방법으로 세 가지 다른 형태로 파이버로젝틴이 패턴된 하이드로젤을 제조하여 근관세포의 분화 및 정렬에 미치는 영향을 확인하였다. 다리부분에 선형 패턴으로 분화된 근관세포의 수축력은 $1.12 \pm 0.30 \mu\text{N}$ 값을 보여 다른 패턴에서 분화된 세포의 수축력보다 우수하였다. 근관세포의 2D 정렬뿐 아니라 3D 정렬 기술이 도입되면 좀 더 우수한 구동 능력을 갖는 생체로봇 제조가 가능하리라 기대된다.

감사의 글: 본 연구는 2013년도 숭실대학교 교내연구비 지원을 받아 수행된 연구입니다.

참고 문헌

1. M. Carmel, *Soft Robotics*, **1**, 5 (2013).
2. R. F. Shepherd, F. Ilievski, W. Choi, S. A. Morin, A. A. Stokes, A. D. Mazzeo, X. Chen, M. Wang, and G. M. Whitesides, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 20400 (2011).
3. A. J. Ijspeert, A. Crespi, D. Ryczko, and J. Cabelguen, *Science*, **315**, 1416 (2007).
4. V. Chan, J. H. Jeong, P. Bajaj, M. Collens, T. Saif, H. Kong, and R. Bashir, *Lap Chip*, **12**, 88 (2012).
5. V. Chan, H. H. Asada, and R. Bashir, *Lab Chip*, **14**, 653 (2014).
6. V. Chan, K. Park, M. B. Collens, H. Kong, T. A. Saif, and R. Bashir, *Sci. Rep.*, **2**, 857 (2012).
7. D. Rus and M. T. Tolley, *Nature*, **521**, 467 (2015).
8. S. Park, M. Gazzola, K. S. Park, S. Park, V. D. Santo, E. L. Blevins, J. U. Lind, P. H. Campbell, S. Dauth, A. K. Capulli, F. S. Pasqualini, S. Ahn, A. Cho, H. Yuan, B. M. Maoz, R. Vijaykumar, J. Choi, K. Deisseroth, G. V. Lauder, L. Mahadevan, and K. K. Parker, *Science*, **353**, 158 (2016).
9. C. Cvetkovic, R. Raman, V. Chan, B. J. Williams, M. Tolish, P. Bajaj, M. S. Sakar, H. H. Asada, M. T. A. Saif, and R. Bashir, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 10125 (2014).
10. V. Chan, P. Zorlutuna, J. H. Jeong, H. Kong, and R. Bashir, *Lab Chip*, **10**, 2062 (2010).
11. C. Cha, E. Antoniadou, M. Lee, J. H. Jeong, W. W. Ahmed, T. A. Saif, S. A. Boppart, and H. Kong, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **125**, 7087 (2013).
12. H. Yoon and J. Lee, *Polym. Korea*, **36**, 455 (2012).
13. N. Bassik, B. T. Abebe, K. E. Laflin, and D. H. Gracias, *Polymer*, **51**, 6093 (2010).
14. T. W. Clyne, *Key Eng. Mat.*, **116-117**, 307 (1996).
15. K. Baek, J. H. Jeong, A. Shkumatov, R. Bashir, and H. Kong, *Adv. Mater.*, **25**, 5568 (2013).
16. H. J. Kim, Y. N. Cho, S. W. Cho, Y. Kim, H. W. Ryu, and J. H. Jeong, *Polym. Korea*, **40**, 321 (2016).
17. J. J. Schmidt, J. H. Jeong, V. Chan, C. Cha, K. Baek, M.-H. Lai, R. Bashir, and H. J. Kong, *Biomacromolecules*, **14**, 1361 (2013).
18. P. Bajaj, B. Reddy, L. Millet, C. Wei, P. Zorlutuna, G. Bao, and R. Bashir, *Integrative Biology*, **3**, 897 (2011).
19. V. Chan, P. Zorlutuna, J. H. Jeong, H. J. Kong, and R. Bashir, *Lab Chip*, **10**, 2062 (2010).
20. W. Y. Shih, X. Li, H. Gu, W. Shih, and I. A. Aksay, *J. Appl. Phys.*, **89**, 1497 (2001).