

· 成果简介 ·

应用于三维生物打印的 DNA 超分子水凝胶

李 闯 Alan Faulkner-Jones Alison R. Dun 金 娟 陈 平
邢永政 杨忠强 李志波 舒文森 刘冬生* Rory R. Duncan

(清华大学化学系, 有机光电子与分子工程教育部重点实验室, 北京 100084)

[关键词] DNA; 聚多肽; 超分子水凝胶; 可降解性; 三维打印

DOI: 10.16262/j.cnki.1000-8217.2015.03.013

水凝胶因其高含水量和类似于细胞外基质的特点, 是三维组织打印和人工器官制备的首选基材, 也因此成为化学、材料学和生命医学领域研究的热点^[1]。截止目前, 用于生物打印的水凝胶主要包括海藻酸钠、壳聚糖、胶原蛋白、琼脂糖等天然水凝胶及其衍生物, 以及人工合成的聚乙二醇、聚多肽等化学类水凝胶^[2]。无论是天然的物理类水凝胶还是人工合成的化学类水凝胶, 都很难同时满足三维生物打印的诸多要求, 例如: 生理条件下快速成胶、细胞相容性、力学强度、通透性、生物降解性等^[3]。因此, 发展新型的水凝胶用于三维生物打印仍然是该领域中的挑战性问题。本研究设计并制备了一种基于 DNA 自组装的聚多肽-DNA 超分子水凝胶, 在满足以上所述生物打印条件的同时还具有自愈合的特性, 通过多层打印可以实现厘米级自支撑结构的构建, 并且成功地实现了活细胞的三维打印^[4]。

1 两组分混合法快速制备 DNA 超分子水凝胶

如图 1 所示, 此超分子水凝胶由两种组分形成, 一种是接枝有 DNA 单链的聚多肽高分子, 另一种是带有两个相同序列单链末端的双链 DNA 组装体。通过设计, 两组分中的 DNA 序列可以实现特定强度的互补配对。由于 DNA 双链可以在生理条件下迅速形成并长期稳定存在, 所以将两种组分按合适比例在生理条件下混合, 即可实现聚多肽-DNA 超分子水凝胶的制备; 此过程可以在秒级完成。形成的 DNA 超分子水凝胶(以 5 wt% 为例)具有较好的力学性能, 储能模量可以达到 5000 Pa, 机械强度足以自支撑。

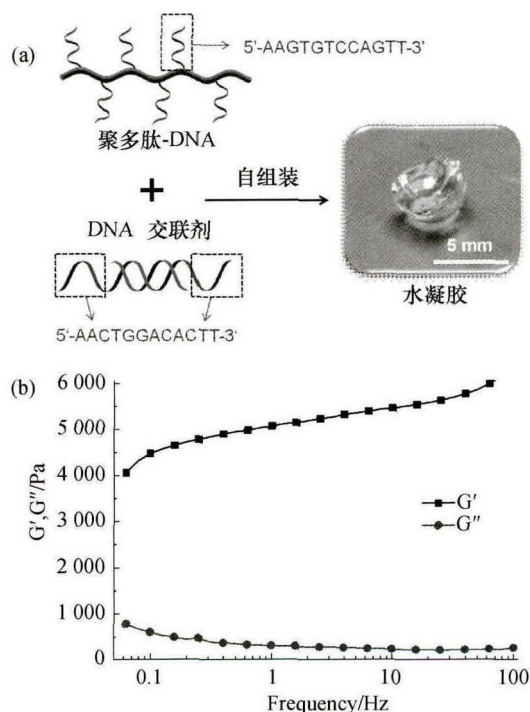


图 1 两组分混合法快速制备 DNA 超分子水凝胶 (a) 和力学强度表征 (b)

2 DNA 超分子水凝胶在三维生物打印中的应用

由于此水凝胶由两组分混合后快速形成, 且成胶之前两组分均为稀溶液, 粘度较低, 所以非常适用于双喷头三维打印机^[5]。如图 2 所示, 将两组分通过层层交替打印的方法沉积到指定的位置上, 可以得到不同形状和尺寸的三维打印体。得益于超分子水凝胶所具有的自愈合性质, 先后打印的组分可以

收稿日期: 2015-04-29; 修回日期: 2015-05-04

* 通信作者, Email: liudongsheng@tsinghua.edu.cn

快速愈合,从而得到整体均一的结构。同时,此水凝胶较高的力学强度和不可溶胀、不可收缩的特点^[6],可以使打印产品很好的保持设计的形貌,包括一维点阵、二维字母和三维形状等。利用现有设备,我们可以实现百微米级精度的打印以及厘米级宏观自支撑结构的制备。

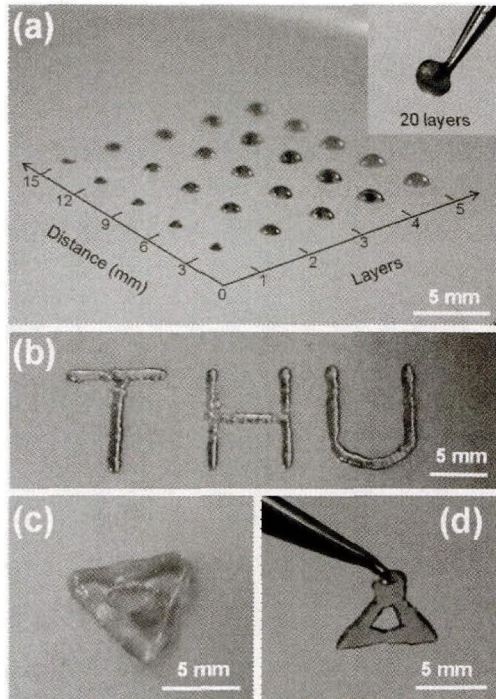


图2 DNA水凝胶用于三维打印
(a) 一维点阵 (b) 二维字母 (c,d) 三维形状

由于两组分溶液粘度都很低,打印中施加的压力及产生的剪切力都较小,因此可以掺杂活细胞在其中一种或者两种组分里进行共打印,实现三维含有活细胞结构的打印^[7]。如图3a所示,以AtT-20细胞(小鼠垂体瘤细胞)为例,打印后细胞具有很高的细胞存活率($98.8 \pm 1.4\%$,图3b),证明打印过程基本上对细胞无伤害。进一步的细胞功能测试,包括质子泵活性,代谢周转,膜运输等(图3c-3e),也表明打印后的细胞可以行使正常的细胞功能。由于DNA刚性骨架结构的存在,该DNA超分子水凝胶具有良好的通透性,可以让营养物质自由进出,满足细胞生长所需的营养供给,使得所制备的打印体中细胞可以进行数天的培养与观察。此外,此超分子水凝胶可以通过特异的酶响应性实现培养后凝胶材料的快速解离。

3 小结与展望

利用DNA的序列可设计以及特异性互补配对等特性,我们设计并制备了一种新型的聚多肽-DNA超分子水凝胶材料。该水凝胶具有通过两组份简单混合、在生理条件下快速原位成胶的特点,较好地满足了三维生物打印的需求,如生物相容性、通透性、较高的力学强度、不可溶胀不可收缩、生物降解性等。在此基础上实现了活细胞的三维、大尺寸打印以及打印结构中细胞的较长期培养。我们预期此DNA超

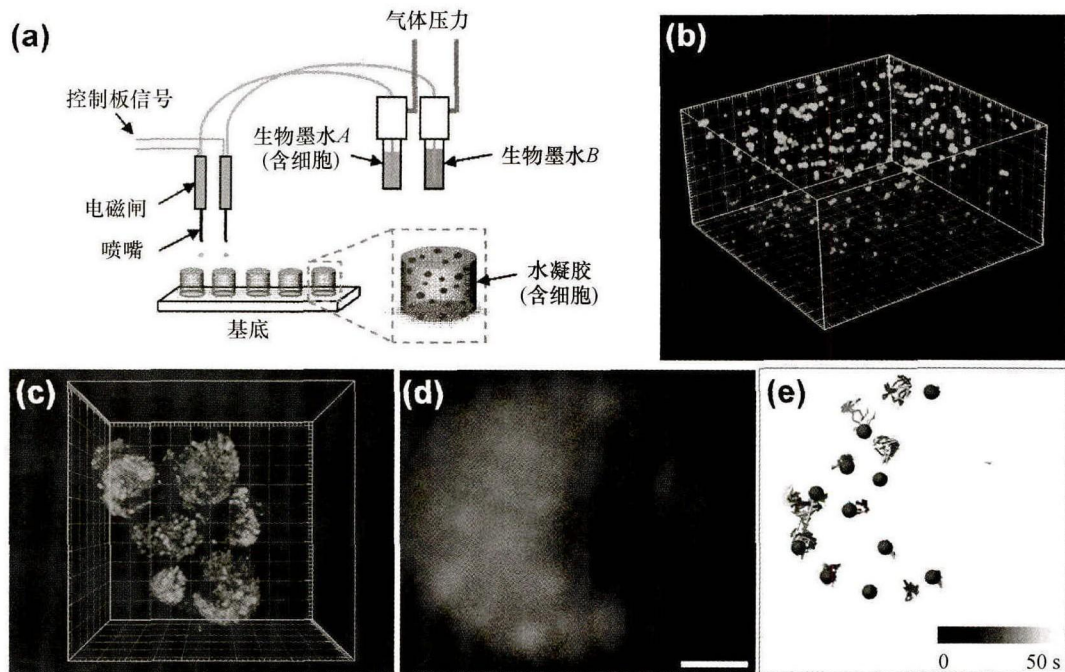


图3 DNA水凝胶用于三维细胞打印效果
(a) DNA水凝胶用于三维细胞打印示意图;(b)打印后AtT-20细胞存活率;(c-e)打印后AtT-20细胞功能测试。

分子水凝胶材料和打印方法将会在干细胞、组织以至于人工器官的三维打印中有着重要应用。

致谢 本研究工作得到了国家自然科学基金重大研究计划—重点项目(91427302, 21421064),中英博士生教育及科研合作伙伴关系项目和北京市科委的资助。

参 考 文 献

- [1] Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(8): 773—785.
- [2] Murphy SV, Skardal A, Atala A. Evaluation of hydrogels for bio-printing applications. *J. Biomed. Mater Res A*. 2013, 101A (1): 272—284.
- [3] Nakamura M, Iwanaga S, Henmi C, Arai K, Nishiyama Y. Biomaterials and biomaterials for future developments of bio-printing and biofabrication. *Biofabrication*, 2010, 2(1): 014110.
- [4] Li C, Faulkner-Jones A, Dun A R, Jin J, Chen P, Xing YZ, Yang ZQ, Li ZB, Shu WM, Liu DS, Duncan RR, Rapid Formation of a Supramolecular polypeptide-DNA hydrogel for in situ three-dimensional multilayer bioprinting. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54 (13): 3957—3961.
- [5] Faulkner-Jones A, Greenhough S, King JA, Gardner J, Courtney A, Shu WM. Development of a valve-based cell printer for the formation of human embryonic stem cell spheroid aggregates. *Biofabrication*, 2013, 5 (1): 015013.
- [6] Li C, Chen P, Shao Y, Zhou X, Wu YZ, Yang ZQ, Li ZB, Weil T, Liu DS. A writable polypeptide-DNA hydrogel with rationally designed multi-modification sites. *Small*, 2015, 11 (9—10): 1138—1143.
- [7] Calvert P. Printing cells. *Science*, 2007, 318 (5848): 208—209

Rapid formation of a supramolecular polypeptide-DNA hydrogel for in situ three-dimensional multilayer bioprinting

Li Chuang Alan Faulkner-Jones Alison R. Dun Jin Juan Chen Ping Xing Yongzheng
Yang Zhongqiang Li Zhibo Shu Wenmiao Liu Dongsheng Rory R. Duncan

(Key Laboratory of Organic Optoelectronics & Molecular Engineering of the Ministry of Education, Department of Chemistry Tsinghua University, Beijing 100084)

Key words DNA; polypeptide; supramolecular hydrogel; biodegradability; three-dimensional bioprinting

· 资料信息 ·

《中国科学基金》征稿简则

《中国科学基金》(双月刊)创刊于1987年,由国家自然科学基金委员会主管、主办,旨在成为国家自然科学基金委员会联系广大科学基金项目申请者、承担者、评审者和管理者的桥梁与纽带。

本刊已被CSCI、CSSCI等国内各主要检索系统及日本《科学技术文献速报》等国外部分重要检索系统收录。

欢迎学术思想新颖、观点明确、有学术水平和对科学基金工作者有指导意义的论文和评述文章,尤其是欢迎有关基金资助项目的研究进展及关于科学基金资助管理的研讨性论文。

本刊常设栏目简介:

学科进展:刊登有关学科的具有战略性、全局性、前瞻性的综述性和评论性文章,以促进学科间的了解、交叉与融合。

科学论坛:围绕科技界普遍关注的热点与焦点问题,如研究评价、同行评议、学术道德等,各抒己

见,展开讨论。

成果简介:报道和选登重要的、有影响的、具有代表性的科学基金资助项目的研究进展以及优秀人才和优秀群体介绍。

基金纵横:报道国家自然科学基金委员会制定的各种重要的政策、规定和文件通告等;探讨和交流基金申请、评审、管理等方面的经验或体会。

资料信息:及时公布重大研究计划、重大、重点科学基金项目批准情况和重要的信息以及科学基金工作的海内外动态。

编辑部地址:北京市海淀区双清路83号(邮政编码:100085)

期刊网址:<http://pub.nsf.gov.cn/sficc/ch/currentissue.aspx>

投稿邮箱:weikan@nsf.gov.cn.

联系电话:010-62326893