

316031

농생명산업기술개발사업 최종실적 보고서

발간등록번호

11-1543000-002618-01

농산물  
자원유래  
의료용  
3D  
프린팅  
기술  
및  
바이오  
잉크  
소재  
개발

농산물 자원유래 의료용 3D 프린팅  
기술 및 바이오 잉크 소재 개발  
최종보고서

2019. 03. 29.

(별색바탕 : C50, M20, Y59, K0)

주관연구기관 / 티앤알바이오팜(주)

협동연구기관 / 전남대학교 산학협력단

포항공과대학교 산학협력단

더비엔아이(주)

최종  
보고서

2019

농림식품기술기획평가원  
농림축산식품부

농림축산식품부  
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “농산물 자원 유래 의료용 3D 프린팅 기술 및 바이오 잉크 소재개발”(개발기간 : 2016.05.19. ~ 2018.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019 . 02 . 14 .

주관연구기관명 : (주)티엔알바이오랩 (대표자) 윤 원 수 (인)  
협동연구기관명 : (주)더비엔아이 (대표자) 김 윤 명 (인)  
참여기관명 : 전남대학교 산학협력단 (대표자) 김 재 국 (인)  
참여기관명 : 포항공과대학교 산학협력단 (대표자) 김 형 섭 (인)

주관연구책임자 : 심 진 형  
협동연구책임자 : 고 민 구  
참여기관책임자 : 강 성 수  
참여기관책임자 : 장 진 아

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의  
합니다.

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “농산물 자원 유래 의료용 3D 프린팅 기술 및 바이오 잉크 소재개발”(개발기간 : 2016.05.19. ~ 2018.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019 . 02 . 14 .

주관연구기관명 : (주)티엔알바이오팜 (대표자) 윤 원 수 (인)



주관연구책임자 : 심 진 형

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “농산물 자원 유래 의료용 3D 프린팅 기술 및 바이오 잉크 소재개발”(개발기간 : 2016.05.19. ~ 2018.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019 . 02 . 14 .

참여기관명 : 전남대학교 산학협력단 (대표자) 김 재 국 (인)



참여기관책임자 : 강 성 수

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “농산물 자원 유래 의료용 3D 프린팅 기술 및 바이오 잉크 소재개발”(개발기간 : 2016.05.19. ~ 2018.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019 . 02 . 14 .

협동연구기관명 : (주)더비엔아이 (대표자) 김 윤 명



협동연구책임자 : 고 민 구

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “농산물 자원 유래 의료용 3D 프린팅 기술 및 바이오 잉크 소재개발”(개발기간 : 2016.05.19. ~ 2018.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019 . 02 . 14 .

참여기관명 : 포항공과대학교 산학협력단 (대표자) 김 형 섭 (인)



참여기관책임자 : 장 진 아

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	316031-3	해 당 단 계 연 구 기 간	2016.05.19. -2018.12.31	단 계 구 분	(해당단계)/ (총 단 계 )
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	(해당 없음)			
연구과제명	대 과 제 명	농산물 자원 유래 의료용 3D 프린팅 기술 및 바이오 소재 개발			
	세부 과제명				
연구책임자	심 진 형	해당단계 참여연구원 수	총: 23명 내부: 09명 외부: 14명	해당단계 연구개발비	정부:800,000천원 민간:267,000천원 계:1,067,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 32명 내부: 12명 외부: 20명	총 연구개발비	정부:800,000천원 민간:267,000천원 계:1,067,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)티엔알바이오팜			참여기업명	(주)티엔알바이오팜
공 동 연 구	상대국명: 전남대학교 산학협력단			상대국 연구기관명: 김재국	
위 탁 연 구	연구기관명: 포항공과대학교 산학협력단 (주)더비엔아이			연구책임자: 김형섭 김운명	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	
-------------------------	--

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	6	2		19							

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호
티앤알 바이오팍	stirrer	10*10 inch	5		540	위너스바이오 010-3616-7725	본사 534호	
티앤알 바이오팍	freezing dry	6L	1	2016.02.23	23,000	한국피셔과학	본사 534호	
티앤알 바이오팍	freezer mill	24kg	1	2016.11.04	32,000	엘림글로벌	본사 534호	
티앤알 바이오팍	FT-IR	300*450	1					
티앤알 바이오팍	3D printer	300*600	1					
티앤알 바이오팍	Deep freezer	793L	1		16,660	위너스바이오 010-3616-7725	본사 534호	
전남대	Leica 현미경 사진 촬영기	CH/DFC290 HD, 디지털	1					
전남대	수술용현미경	Leica Instruments, SG/M220 F12	1					
전남대	Microtome, Tissue Processor, Tissue embedding machine	Sakura finetek, JP/TEC-5,	1					
전남대	초고속 원심분리기	US/Centra-8	1					
전남대	X-ray 촬영장치	SMS-RF tilting table	1					
포스텍	다축 적층 시스템 (MHDS)	-	1					
포스텍	Dispenser	Super $\Sigma$ X-V <sub>7</sub>	2					
포스텍	Thermo master	TB-10E-K	2					
포스텍	Optical table	1500x1800	1					
포스텍	3-Axis linear stage	ATS100	1					
포스텍	3-Axis linear stage	M-ISL50CC	1					
포스텍	Stage motion controller	ESP300	1					
포스텍	Stage Control Software	MMI500	1					



<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>○ DNA 함량 50ng/mg 미만급 3D 프린팅 기반 조직/장기 재생용 돼지유래 탈세포화된 바이오 잉크 개발 및 상용화</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 돼지 피부로부터 탈세포화 공정을 거쳐 자연적상태의 세포외기질을 모두 탑재한 바이오 잉크를 개발함</li> <li>• 안전성 시험 인증기관을 통한 바이오 잉크의 안전성을 확보함(무균시험, 바이러스 검사, 생물학적 안전성 검사)</li> <li>• 개발된 바이오 잉크의 프린팅 가능성을 확인하고, 조직/재생 유도능을 검증하여 바이오 잉크로서의 충족조건을 만족하는 성능 테스트를 수행함</li> <li>• 바이오 잉크를 이용한 조직/장기 재생을 시도함 (예: full thickness skin)</li> <li>• QC/QA 과정을 거쳐 바이오 잉크를 상용화 함.</li> </ul>				
<p>연구개발성과</p>	<p>□ 돼지피부 유래 탈세포화공정 확립 및 바이오 잉크 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 돼지 피부로부터 인체 이식시 면역반응을 일으키는 세포 및 DNA를 제거하는 탈세포화 공정을 통해 세포외기질을 분말형태로 추출</li> <li>○ 추출된 분말형태의 세포외기질의 DNA함유량 및 성분 분석을 수행</li> <li>○ Pepsin을 이용하여 단백질의 용해 공정을 통해 분말형태의 탈세포화된 세포외기질을 바이오 잉크로 제작</li> <li>○ 바이오 잉크의 유변학적 특성 분석 (점탄성 분석)</li> <li>○ 프린팅 후 기본적인 세포 생존율 분석</li> <li>○ DNA 함유량 50ng/mg 수준으로 탈세포화 공정 확립</li> </ul> <p>□ 돼지 유래 탈세포화된 바이오 잉크의 세포 독성 및 동물 실험을 통한 성능 분석</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 전남대 수의학과에서는 제작된 바이오 잉크의 생물학적 안전성 확보를 위한 세포 독성 및 조직 재생 유도능 검증을 위한 동물실험을 통해 효능을 검증함</li> <li>○ 장, 단기 세포 독성 시험 분석 (MTT assay, Live and dead cell assay)</li> <li>○ 피부 조직 재생에 미치는 영향력 분석</li> <li>○ 바이오 잉크의 Wound healing 효과 검증 (rabbit 모델 이용)</li> <li>○ 뼈 조직 재생에 미치는 영향력 분석</li> </ul> <p>□ 돼지 유래 탈세포화된 바이오 잉크의 프린팅 특성 분석</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 돼지유래 바이오 잉크를 활용한 프린팅 조건 확립</li> <li>○ 기 확보된 바이오 프린터에서 재료의 점도, pH, 노즐 크기, 공압세기, 이송속도 및 프린팅 형상에 따른 특성 분석 수행</li> <li>○ 프린팅 조건의 확립 후 주관기관으로 조건을 공유</li> </ul>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>□ 돼지유래 3D 바이오 프린팅용 잉크의 상용화</p> <p>□ 3D 바이오 프린팅을 이용한 조직/장기 재생 가능성 확인</p> <p>□ 바이오 잉크 관련 특허 출원 3건 및 등록 3건</p> <p>□ SCI급 국제 저널 총 6건, 및 해외 학회발표 4건</p> <p>□ 탈세포화된 돼지유래 바이오 잉크의 상용화를 통한 신산업 창출</p> <p>□ 3D 바이오 프린팅을 이용한 organoid 제작 및 이를 통한 organ-on-a-chip 가능</p> <p>□ 3D 바이오 프린팅 기반 조직/장기 재생 시대의 도래 가능</p>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>돼지</p>	<p>탈세포화 공정</p>	<p>3D 바이오 프린팅</p>	<p>바이오 잉크</p>	<p>조직/장기 재생</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Porcine</p>	<p>Decellularization process</p>	<p>3D Bioprinting</p>	<p>Bioink</p>	<p>Tissue/organ regeneration</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요 .....	11
2. 연구수행 내용 및 결과 .....	23
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....	95
4. 연구결과의 활용 계획 등 .....	116
붙임. 참고 문헌 .....	120

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

# 1. 연구개발과제의 개요

## 1-1. 연구개발 목적

코드번호	B-04-01
------	---------

### 가. 연구개발 개요

□ 3D 바이오 프린팅 기반 조직/장기 재생용 돼지유래 탈세포화된 바이오 잉크의 개발 및 이를 이용한 조직장기 재생 가능성 확인 후 최종적으로 바이오 잉크의 상용화 추진



[그림] 연구개발 개요

### 나. 핵심기술

- 돼지 조직 유래 탈세포화 공정을 통한 세포외기질을 이용한 바이오 잉크 개발
  - 조직 및 장기 재건을 위한 면역 접합성 돼지 유래 바이오 잉크의 개발
    - 세포를 프린팅하기 위해 필수적으로 필요한 바이오 잉크를 돼지의 피부와 같은 조직으로부터 세포를 화학적 방법을 통해 제거한 후 세포외기질을 추출하여 이를 바이오 잉크로 개발함
- 3D 바이오 프린팅 시스템 기술
  - 3D 조직/장기 재생을 위한 바이오 3D 프린팅 시스템 확립
    - 바이오 잉크 개발을 위해 필수적으로 바이오 3D 프린팅 시스템의 구축이 선행되어야 하며, 구축된 바이오 프린팅 시스템을 활용하여 바이오 잉크의 프린팅 가능성을 확인함
- 3D 바이오 프린팅 시스템을 이용한 조직/장기 재생 기술
  - 돼지유래 바이오 잉크 및 바이오 프린팅 시스템을 활용한 조직/장기 재생
    - 돼지유래 바이오 잉크의 프린팅 가능성 및 조직 재생 유도능을 검증하고, 이를 적용하여 조직/장기 재생 기술을 개발함

- 본 과제에서 개발하고자 하는 돼지유래 바이오 잉크 개발 연구는 위의 세가지 핵심 기술의 융합 연구로 IT와 BT가 조합된 첨단기술이자 고부가가치의 조직/장기 재생의 기반 기술이라 할 수 있음

다. 국내 기술 수준 및 시장 현황

□ 기술현황

- 포항공대 조동우 교수팀은 실제 조직과 같은 성분의 탈세포화 된 조직으로부터 3D 세포 프린팅용 바이오잉크를 개발 중이며, 2014년 세포 프린팅이 가능한 바이오잉크 개발과 관련된 논문을 Nature Communications에 발표함
- 포항공대 한세광 교수팀은 히알루론산 기반의 소재를 개발하여 바이오잉크로 사용하는 연구를 수행 중
- 단국대 양희석 교수팀은 뼈 조직 유래 탈세포화 된 세포외기질 기반의 바이오잉크를 개발 중
- 성균관대학교 김근형 교수팀은 천연 고분자인 콜라겐 및 알지네이트를 이용하여 3D 세포 프린팅 연구를 수행 중

□ 시장현황

- 생명공학연구센터의 발표(2014)에 따르면, 생체재료 시장은 연평균 14.9%의 성장률을 보이고 있으며, 2016년 추산 800억 달러에 이를 것으로 예상함
- 국내 3D 세포 프린팅용 바이오잉크 산업은 전무하지만, 콜라겐 관련 시장은 화장품 시장을 포함하는 국내 시장이 형성되어 가고 있음

□ 경쟁기관현황

- 포항공대와 단국대에서는 연구 단계에서만 바이오잉크 개발을 진행하고 있음
- 세원셀론텍은 주입형 하이드로젤 형태의 제 1형 콜라겐을 제품화에 성공하였음

□ 지식재산권현황

- 국내 3D 바이오 프린팅 관련 특허는 포항공대 조동우 교수팀, 성균관대학교 김근형 교수팀, 한국기계연구원 김완두 박사팀에서 주로 출원 및 등록 활동을 수행하고 있음

□ 표준화현황

- KS P 1600 (세포기반치료제의 안전성 일반시험 지침)이 있으나, 3D 바이오프린팅으로 제작된 바이오조직/장기에 대한 표준화는 미흡함

라. 해외 기술 수준 및 시장 현황

□ 기술현황

- 미국 워싱턴대 김덕호 교수팀은 포항공대 조동우 교수팀과 공동으로 3D 세포 프린팅용 바이오잉크 개발을 수행하고 있음
- 미국 Organovo 사는 세포가 포함된 바이오잉크로 피부, 혈관 및 간 조직을 프린

팅하는 기술을 개발하고 있음

- 스웨덴의 CELLINK 사는 피부 및 연골 조직 재생용 알지네이트 기반의 바이오잉크를 개발하였음.
- 오스트리아의 Arthro Kinetics 사는 CaReS® (제 1형 콜라겐)을 연골재생용 바이오잉크로 개발하였음
- 미국의 ESI BIO 사는 HyStem (히알루론산) 제품을 개발하였음
- 미국 프린스턴 대학에서는 세포를 포함하는 바이오잉크를 이용하여 인공 귀 모양을 프린팅하는 연구를 수행 중임

#### □ 시장현황

- Grand View Research 보고서에 따르면, 세계 3D 바이오프린팅 시장은 2014년에 약 4.9억 달러의 가치로 평가하였음
- 3D Bioprinting Market: Global Industry Analysis and Forecast 2015-2021 보고서에 따르면, 2019년까지 3D 바이오프린팅 기술은 약 1조 달러 가치의 시장성을 확보할 것으로 예측함

#### □ 경쟁기관현황

- CELLINK사에서 판매하는 CELLINK 바이오잉크는 3ml에 99달러, 10ml에 199달러에 판매하고 있음

#### □ 지식재산권현황

- 3D Bioprinting of human transplant organs - A patent landscape (2014)에 따르면, 바이오프린팅 용도기준 특허 등록선에서 세포/조직 바이오프린팅 및 인공지체에 관한 키워드가 높은 빈도를 보이고 있으며, 바이오잉크 분야의 분포 또한 높은 집중도를 보임
- 주요 출원인별 특허 동향을 살펴보면, 미국의 Organovo, Wake Forest Institutes of Regenerative Medicine (WFIRM), Thomas Boland 그리고 일본의 Cyfuse Biomedical 등이 상위 랭크

#### □ 표준화현황

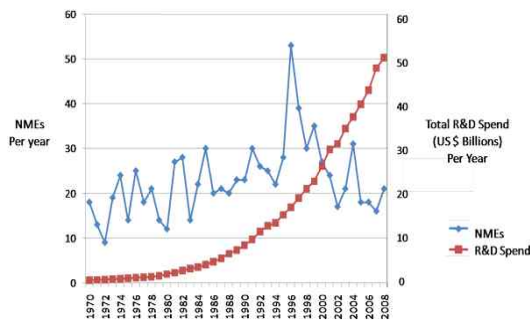
- 미국 식약청인 FDA에서는 2015년 유해성심사제도 수립을 위해 2014년 3D 바이오프린팅 기술에 대한 학회를 개최하는 등 표준화 설립을 위하여 발 빠르게 움직이고 있음

## 1-2. 연구개발의 필요성

	코드번호	B-04-03		
<p><b>[연구의 배경 및 기존연구의 문제점]</b></p> <p><b>□ 혁신적 제조 기술 3D 프린팅</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 3D 프린팅 기술은 '13년 세계 경제 포럼*이 선정한 10대 유망 기술에 포함되는 등 미래 신산업혁명을 주도할 유망 기술로 인식되고 있음 *세계경제포럼(WEF) 산하 미래기술 글로벌 어젠더 위원회 (GAC, Global Agenda Council)</li> <li>○ 미국·유럽·중국 등 주요선진국은 3D 프린팅기술이 국가 미래 신성장동력 산업으로 성장할 것을 예견하고 국가 차원에서 지원 및 육성을 하고 있으며, 3D 프린팅 시장 및 기술을 선점하기 위한 국가 차원 연구개발 프로그램을 통해 전폭적인 지원이 이루어지고 있음               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 미국: 오바마의 신성장 동력 역설, Natl. Additive Manufacturing Innovation Inst. 설립</li> <li>- 유럽: Amaze, 금속 3D 프린터로 우주선, 제트기, 핵융합 부품용 금속 가공</li> <li>- 일본: 경제산업성, 3D 프린팅 연구회 설치, 제도 및 법 정비 진행 중</li> <li>- 중국: 초대형 3D 프린터 개발</li> <li>- 한국: 박대통령 2014년 신년 연설, ROKIT, 캐리마, 인스텍 등 자체 개발 판매</li> </ul> </li> <li>○ 3D 프린팅 기술은 매년 20-30% 평균 성장률을 보이며, 2025년에는 300-550조원 규모의 전세계 시장을 형성할 것으로 기대되는 차세대 신시장 및 기존시장 대체형 기술 분야임. (Mckinsey report, 2013) 특히, 미국의 2대 기업(3D Systems, Stratasys)은 세계 시장의 75% 이상을 점유하며 국내 기술 종속을 막고 있는 상황임</li> </ul> <p><b>□ 조직공학 및 재생의학</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 조직공학 및 재생의학은 기능을 상실한 세포·조직·장기를 대체하거나 재생시켜서 원래의 기능을 할 수 있도록 하는 치료방법 미국 및 일본 등의 선진 각국은 국가적 차원에서 바이오 장기 산업을 세계를 이끌 첨단 유망 분야로 선정하였고, 우리나라에서도 한국과학기술정보연구원과 삼성경제연구소가 공동으로 2015년 이후 한국 경제를 이끌어 갈 차세대 유망기술로 화학 소재 BT사업 분야에서 인공장기와 생분해성 소재를 선정하였음</li> </ul> <p><b>□ 프린팅과 조직공학/재생의학의 융합</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 3D 프린팅 점유율이 보건산업 분야(의료/치과)의 경우 15.1%의 비율로 소비재, 자동차에 이어 세 번째로 높은 점유율을 기록하였음. (Wohlers Associates, Inc Report, 2012) 또한, 소비자들의 신체적 조건에 최적화된 개인 맞춤형 제품의 생산이 가능하여 틀니, 의족, 인체 조직 및 인공장기 생산으로 보건/의료/바이오 산업</li> </ul>				

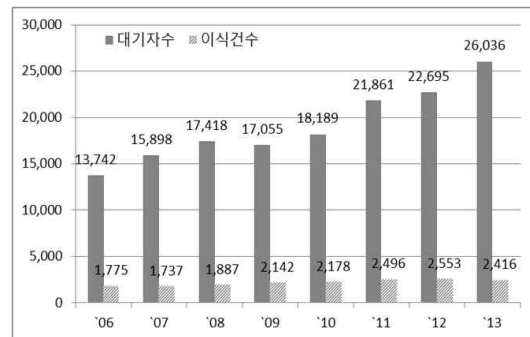
분야에 새로운 생태계를 도래 할 수 있음 (한국보건산업진흥원 보고서, 2014)

- 삼쌍둥이 분리 수술, 성형 수술 등 수술 전 사전 연습 및 환자 맞춤형 인공관절, 의족 등 의료 보조용 기기, 그리고 피부, 혈관, 방광과 같이 사람의 조직/장기를 직접 제작하여 사람에게 적용하는 등 개인 맞춤형 인공장기 제작에 3D 프린팅 기술이 적용되어 인간의 삶의 질을 향상시키는데 중추적 역할을 하고 있음 (삼성경제연구소, LG 경제연구소, 프로토타입 3D Printer 현황 보고서, 2013)
- 또한, Organ on a chip 기술에 적용이 가능하여 질병 발생 원인과 치료효과를 효율적으로 확인 할 수 있어, 신약 개발 시 동물 실험 대체를 통해 경제적 비용과 윤리적 문제를 해결할 수 있음 (한국연구재단 국책연구본부 보고서, 2013)
- 따라서, 3D 프린팅 기술이 가져올 보건/의료/바이오 산업 소비시장의 변화를 대처하기 위해 유연한 대응이 필요함



[그림] 미국 신약개발 비용현황

[출처] Discover Management Solutions



[그림] 국내 2006-2013년 장기이식대기자수

[출처] 질병관리본부 장기이식센터, 2014

### □ 경쟁국들의 활발한 3D 바이오 프린팅 관련 투자

- 다양한 국가들이 3D 프린팅 산업을 각국의 주요 산업으로 선정하고, 이를 진흥하기 위하여 의료용 3D 바이오 프린터를 포함한 다양한 정책 진행 중

[표 8] 글로벌 3D프린트 R&D 투자 정책

국가	정책방향
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5년간 총 150억원을 3D 프린팅 개발에 투자계획</li> <li>• 박근혜 대통령은 2014년 ‘과학기술-정보방송통신인 신년인사회’ 연설에서 창조 경제를 이끌 핵심 기술 중 하나로 3D 프린팅을 강조</li> <li>• <u>보건복지부는 2015년 BIO &amp; MEDICAL KOREA 컨퍼런스에서 줄기세포 및 재생의료 분야 중 3D 프린팅과 줄기세포 융합기술 지원을 보건사업 발전방향 중 하나로 발표</u></li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 버락 오바마 대통령 2013년 국정연설에서 3D프린팅 육성 사업을 강조</li> <li>• ‘제조업 혁신 국가 네트워크 법령’ 제정, ‘제조업 혁신을 위한 컨소시엄’설립, 향후 10년간 매년 10억 달러 투자 계획</li> <li>• 민·관 3D 프린터 R&amp;D 총괄부서 ‘America Makes’ 설립</li> <li>• <u>국방부 의료용 3D 바이오 프린트 기술개발을 위하여 Wake Forest Institute for Regenerative Medicine에 투자</u></li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5년간 총 30억엔을 3D프린터 소재부분 기술 개발에 투자계획</li> <li>• 산·관·학 연계 3D 프린팅 프로젝트 기구인 ‘차세대 3D 적층 조형 기술 종합 개발기구’를 발족</li> <li>• <u>2018년까지 의료용 3D 바이오 프린트 기술개발을 위하여 5개 연구그룹에 5년간 총 25억엔 지원예정</u></li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>국책 연구소 프라운호퍼를 중심으로 바이오랩 프로젝트를 2009년부터 시행, 2011년에 3D 인공혈관 프린팅 기술에 성공</u></li> <li>• <u>인공 피부제조를 위한 아티바스크 3D 프로젝트를 추진 중</u></li> <li>• 민·관·학 컨소시엄 ‘DMRC’를 통하여 산업영역관련 25개의 프로젝트를 진행 중이며 2016년에 1,100만 유로를 투자할 예정</li> </ul>

□ 3D 바이오 프린팅 관련 문제점 및 한계

- 3D 바이오 프린팅 기술에 활발한 투자가 이뤄지고 있으나 하이드로젤 기반 세포 프린팅 기술은 약한 기계적 성질, 크기의 제한성, 세포 적합성의 한계등으로 아직 까지 3D 바이오 프린팅을 이용하여 기능이 우수한 장기 재생에 이르지 못하고 있음
- 따라서, 프린팅 하는 세포의 기능성을 극대화 시킬 수 있는 바이오 잉크의 개발이 필수적임
- 3D 바이오 프린팅 기술은 인공 조직 및 장기 재생 연구에서 가장 진보된 기술 중의 하나임. 이 기술을 바탕으로 한 국가적 차원에서의 투자를 통하여 기반기술의 확보 및 임상 적용이 가능한 제품 개발에 대한 발 빠른 움직임이 매우 절실한 시점임. 이는 미래의 의료 분야에 새로운 비전을 제시하고 있는 조직 공학 및 재생 의학 분야에서 국가적 우위를 점하는데 큰 추진력을 제공하여 줄 것임

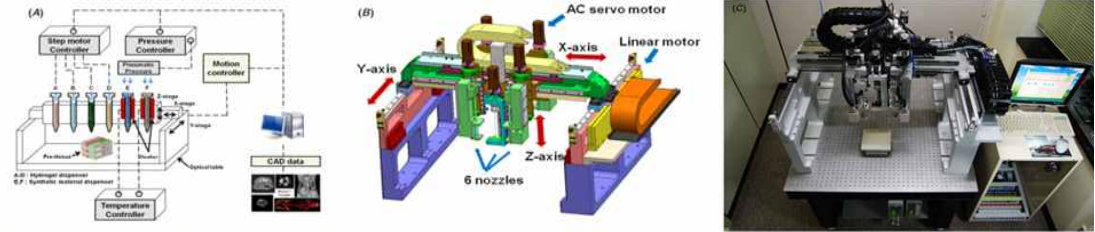
1-3. 연구개발 범위



[3차원 세포 프린팅 장비 구축/공정 개발 및 바이오조직/장기 및 유사체 제작 연구]

□ 3차원 세포 프린팅 장비 구축/공정 개발

○ (1세대(Multi-head Tissue/Organ Building System, MtoBs) 세포 프린터 개발) 열용융 방식을 이용하여 다양한 외곽 형상과 내부 공극 구조를 가지는 3차원 구조체 제작 기술을 개발함. 또한, 정밀 압축방식과 초정밀 위치제어 기술을 이용하여 다양한 세포를 적절한 위치에 분사하고, 세포 생존율을 높이기 위해 프린팅 된 하이드로젤이 동시에 가교 될 수 있도록 플레이트에도 펠티어 시스템을 적용하여 3차원 세포 프린팅 시스템을 개발함 (Journal of Micromechanics and Microengineering, 2012)



[그림] Multi-head Tissue/Organ Building System (MtoBS)

□ 의료용 3D 프린팅 기술

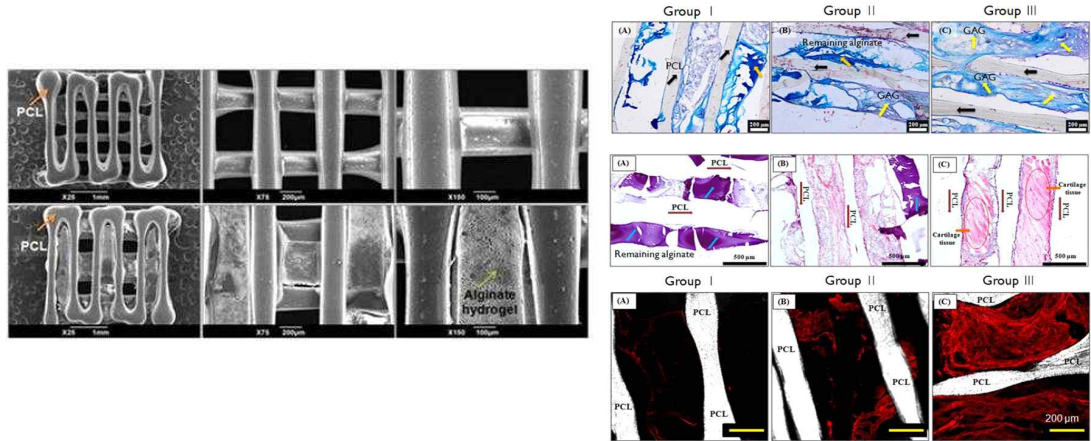
○ (3D 프린팅 기반 4등급 의료기기 생산 GMP 시설 확보 및 임상 적용 성공) 2014년 9월 국내 최초 3D 프린팅 기술을 이용한 안면골 재생을 위한 생분해성 인공지체의 환자 맞춤형 이식에 성공한 바 있음. 이를 위해 4등급 의료기기 생산을 위한 GMP 시설을 승인받아 보유하고 있으며, 국내 최초 3D 프린팅 기반 4등급 생분해성 재료를 이용한 환자맞춤형 인공뼈의 식약처 허가를 획득하여 임상에 적용, 성공적으로 안면골 재건을 수행한 바 있음. (서울성모병원, 2014)



[그림] 3D 프린팅 기반 4등급 의료기기 생산용 GMP 시설에서 제작된 환자맞춤형 인공지체 및 이의 임상적용 사례

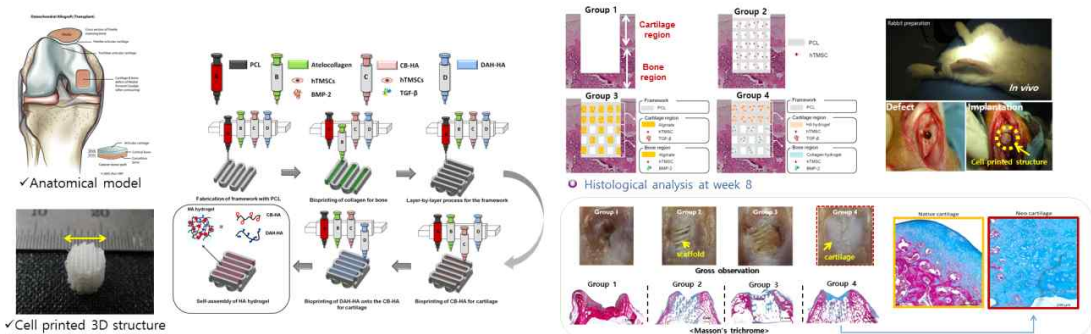
□ 바이오조직/장기 및 유사체 제작

○ (비중격 연골세포가 포함된 3차원 세포프린팅 구조체 제작공정 개발 및 조직재생 연구) 분사 방식의 3D 프린팅 기술을 이용한 3차원 지지체를 PCL과 4% Alginate gel을 사용해서 제작하고, 사람 비중격 연골세포(human septal chondrocytes, hSCs)와 TGF- $\beta$ 의 포함 유무에 따른 연골 조직의 생성 정도를 비교함 (Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 2015)



[그림] 3차원 비중격 연골세포 복합 지지체의 제작 (좌) 및 면역억제 동물(nude mouse)에 이식한 사람 비중격 연골세포 접종 PCL/4% alginate 지지체에 대해 비중격 연골세포와 TGF- $\beta$  유무에 따른 연골 조직 생성 비교

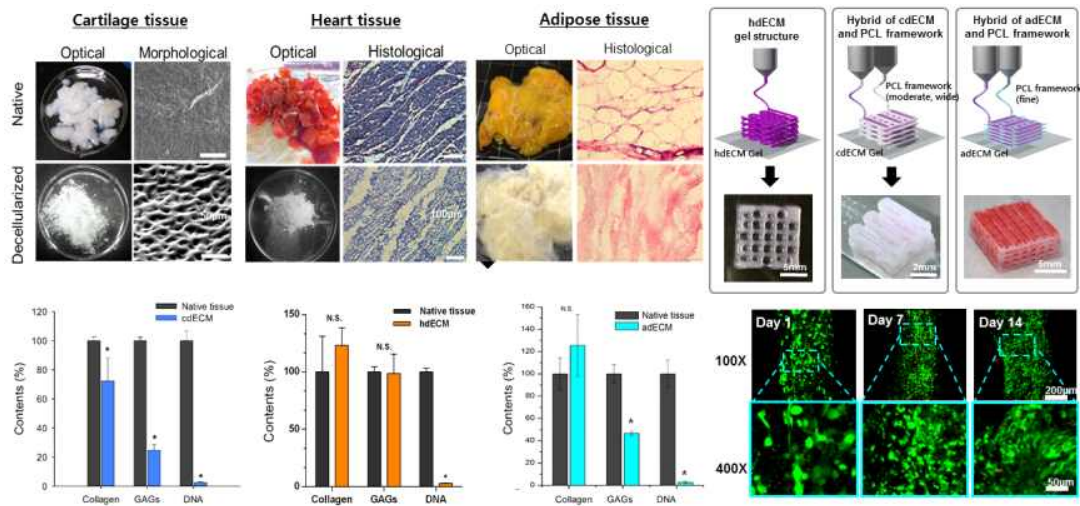
○ (골/연골의 구성요소를 모사한 3차원 세포 프린팅 구조체 제작공정 개발 및 조직 재생 연구) 연골 부분은 히알루론산, 중간엽 줄기세포 및 transforming growth factor  $\beta$ 를, 골 부분은 콜라겐(collagen), 중간엽 줄기세포 및 bone morphogenetic protein-2를 사용하여 실제 골/연골의 구성요소를 모사한 3차원 구조체를 제작함. In-vivo 실험을 통해 제작된 구조체의 연골 분화의 대표적 지표인 제 2형 콜라겐이 실제 연골 조직과 매우 유사한 수준으로 발현되었고, 알지네이트 바이오잉크를 사용한 그룹에 비해 신생 연골 재생능이 훨씬 뛰어남을 확인함 (Biofabrication, 2015)



[그림] 3차원 세포 프린팅을 통한 골/연골조직 제작방법과, in vivo 실험 결과

□ 3차원 바이오조직 프린팅을 위한 바이오 잉크 개발 연구

- (탈세포화 된 조직 유래 바이오잉크 개발 연구) 돼지의 연골 및 심장조직과 사람의 지방조직에서 세포성분을 제거한 세포외 기질 (dECM)을 이용하여 물리적·생화학적으로 안정성이 높은 3차원 세포 프린팅용 바이오잉크를 개발함. dECM 바이오잉크만을 이용한 구조체와, PCL과 함께 적층한 하이브리드 타입의 구조체를 3차원 프린팅을 통해 제작하였음. 또한 세포를 dECM 바이오잉크에 배합하여 프린팅함으로써 세포의 장기간 생존률과 높은 분화능을 확인함 (Nature Communications. 2014)



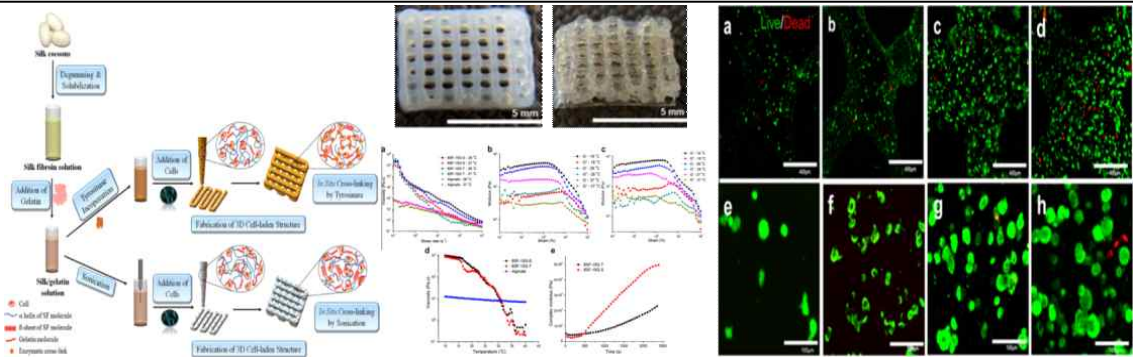
[그림] 탈세포화로 제작된 조직유래 dECM의 성분과 기계적 특성 및 dECM 바이오잉크를 통한 구조체 제작과 세포 생존능 평가

- (실크 피브로인/젤라틴 혼합 바이오잉크 개발) 실크피브로인(Silk fibroin)과 젤라틴(Gelatin)을 티로시나아제(tyrosinase)를 이용한 효소적인 가교와 초음파를 이용한 물리적인 가교방법을 통해 물리적, 생화학적으로 안정성이 높은 3차원 프린팅용 바이오잉크를 개발함. 두 가지 가교방법으로 만든 실크피브로인-젤라틴 바이오잉크를 이용하여 하이드로젤 타입의 구조체를 3차원 세포 프린팅으로 제작하였음. 또한 세포를 실크피브로인-젤라틴 하이드로젤에 봉입하여 프린팅함으로써 구조체의 기계적 강도, 세포의 생존률과 분화능을 향상시켰음. (Acta Biomaterialia 2015).

□ 돼지피부로부터 생체친화성 콜라겐 원소재 개발

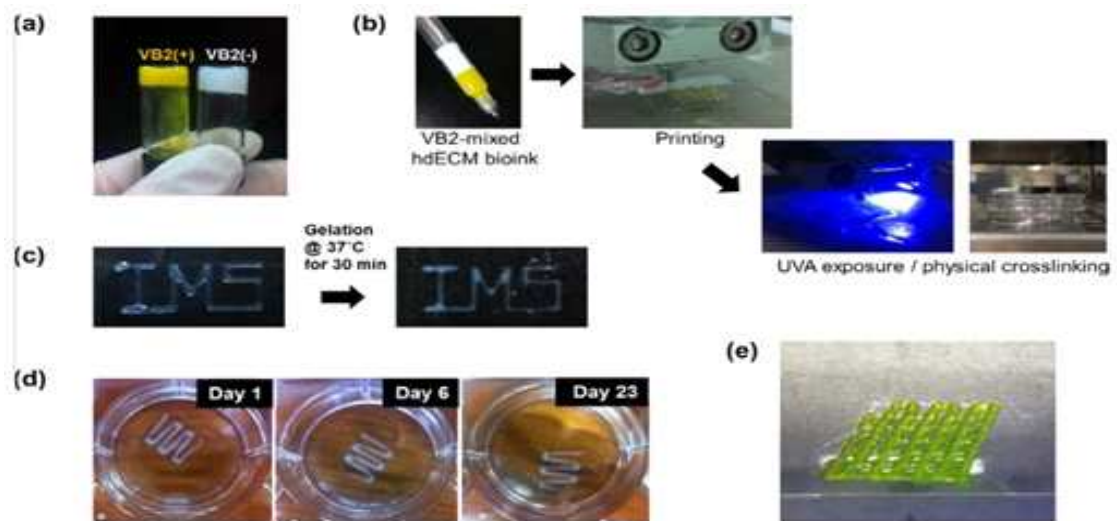
- (돼지피부로부터 콜라겐 추출법 및 분석법 최적화 및 표준화) 돼지 피부로부터 아텔로콜라겐(atelocollagen, PSC; pepsin soluble collagen) 추출(특허출원 2015년)



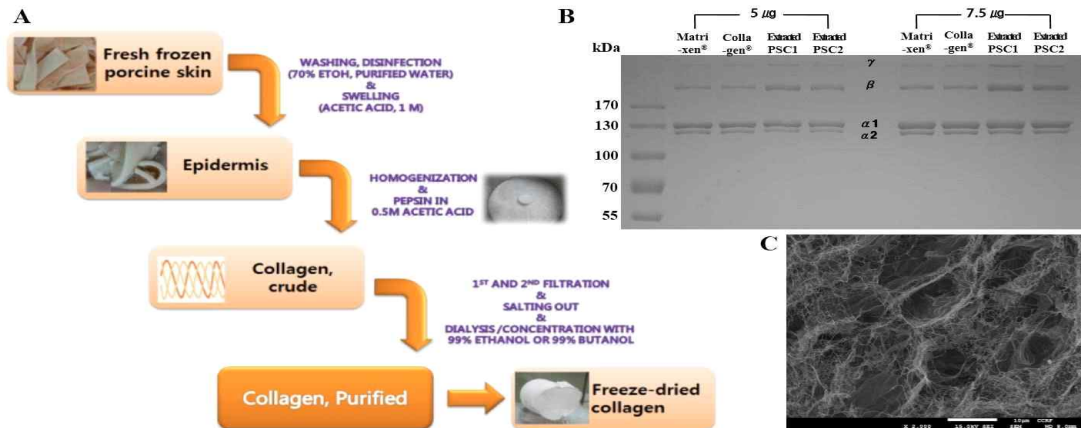


[그림] 효소적, 물리적 가교방법으로 제작된 실ilk피브로인-젤라틴의 성분과 기계적 특성 및 dECM 바이오잉크를 통한 구조체 제작과 세포 생존률 평가

○ (비타민B2와 장파장 자외선을 이용한 조직 유래 바이오잉크의 기계적 물성 제어 연구) 탈세포화 된 세포외기질(dECM) 바이오잉크로 프린팅한 구조체의 기계적 강도를 제어하기 위해 비타민B2(vitamin B2)와 장파장 자외선(UVA)을 이용하여 dECM을 가교시키는 공정을 개발함. 심근조직유래 dECM 바이오잉크를 비타민 B2와 장파장 자외선을 이용하여 1차적으로 가교시킨 후 2차적으로 열 가교(thermal crosslinking)를 일으키는 공정과 세포프린팅 기술을 접목하여 실제 심장과 비슷한 기계적 강도를 지니는 구조체를 제작함. 또한, 다음과 같은 방법으로 만들어진 구조체 안에서의 세포 생존률과 증식률이 높은 것을 확인함. (*Acta Biomaterialia*. 2016)



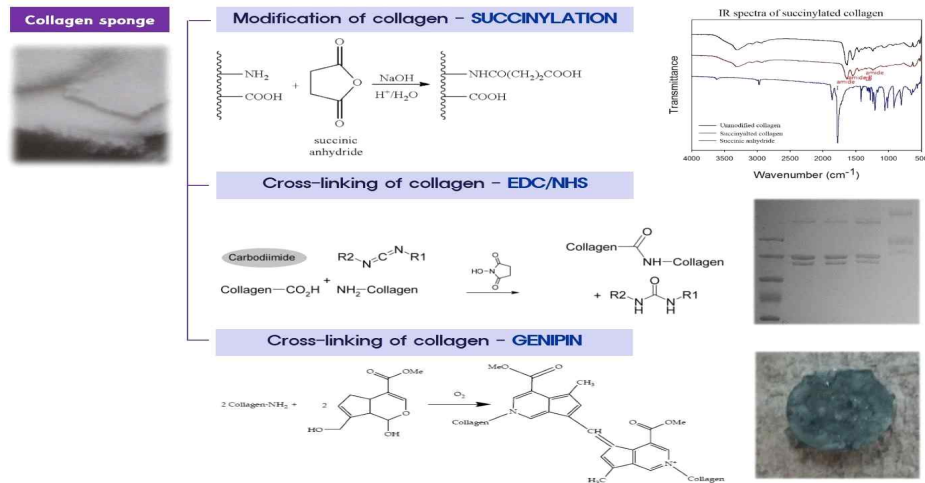
[그림] 탈세포화로 제작된 조직유래 dECM 바이오 잉크의 비타민B2-장파장 자외선 가교와 열가교 공정을 결합한 프린팅 프로세스 개발과 기계적 특성 및 세포 생존률 평가



- A: 돼지피부로부터 의료용 고순도 아텔로콜라겐의 추출과정
- B: SDS-PAGE를 통해 추출된 콜라겐의 순도 평가 결과 현재 의료용 콜라겐으로 국내 시판중인 Matrixen<sup>®</sup> (Bioland) 및 Collagen<sup>®</sup> (Tissen)과 비슷한 순도 및 농도를 보임,
- C: SEM을 이용하여 추출된 콜라겐의 표면을 관찰한 결과 다공성 스펀지 형태의 콜라겐 섬유 network를 확인할 수 있었음

[그림] 돼지피부로부터 콜라겐 추출 및 분석(원천소재)

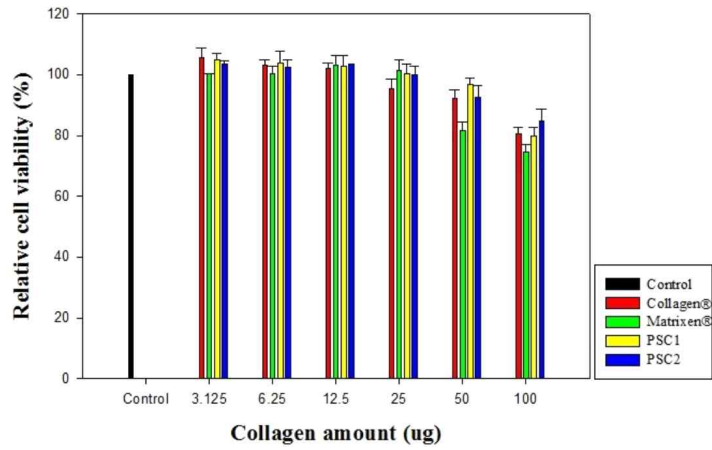
○ (돼지 콜라겐의 가교공정 최적화 및 표준화) 아텔로콜라겐의 succinylation, EDC/NHS 및 GENIPIN를 이용한 아텔로콜라겐의 cross-linking



[펄스처리하여 얻어진 아텔로콜라겐의 경우 물성이 약하고 흡수속도가 빨라 생체재료로 사용하기에 적합하지 않음. 따라서 물성 개선을 위해 콜라겐 분자간 가교가 필요한데, 가장 일반적인 방법이 EDC/NHS를 통한 가교법임. 또한 콜라겐은 산용해성이므로 생체 적용을 위해 중화과정이 필요하고, pH가 올라감에 따라 용해되었던 콜라겐이 다시 침전되는 단점이 있음. 콜라겐이 중성 용해도를 갖도록 modification하는 방법 중 하나인 succinylation은 콜라겐의 투명도, 물 용해도, 생체적합성, 열안정성 및 물리적 성질 개선에 효과적인 방법임. 이에 콜라겐을 석시닐화한 후 SDS-PAGE 및 FT-IR 분석을 통해 콜라겐 분자가 modification됨을 확인하였음. 비교적 세포독성이 낮은 천연물 유래 가교제인 genipin의 경우 가교반응이 일어남에 따라 반응 결과물이 청색을 띠게 됨]

[그림] 아텔로콜라겐의 modification & cross-linking (물성개선)

- (콜라겐 생체소재의 생물학적 안전성 시험) 추출된 콜라겐의 세포독성을 평가하기 위해 L929 세포주에 콜라겐 용액을 농도별로 처리 후, 37℃ 배양기에서 24시간 세포배양하였음. 그 후 CCK-8 kit (Dojindo, Japan)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였음



[그림] 추출된 콜라겐의 CCK-8을 이용한 세포독성 평가 결과(안전성 확인)

## 2. 연구수행 내용 및 결과

### 2-1. 연차별 개발목표 및 내용

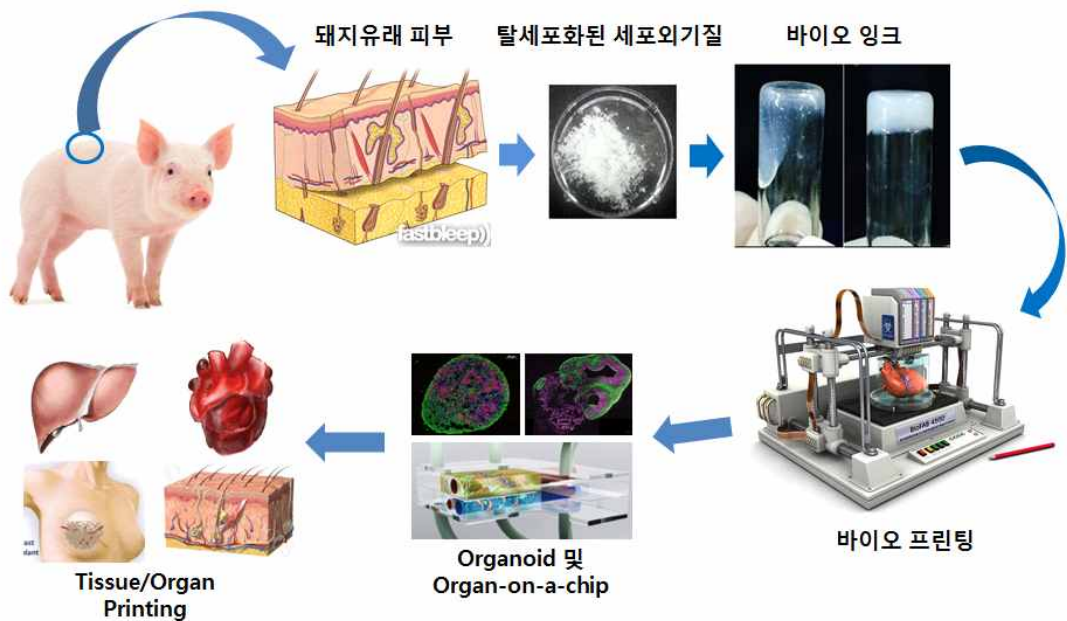
코드번호	B-05-02
------	---------

#### 가. 1차년도

##### □ 개발 목표

- 주관연구기관((주)티앤알바이오랩) : 돼지피부 유래 탈세포화된 바이오 잉크 추출 및 안전성 검증
- 협동연구기관(전남대 산학협력단) : 바이오 잉크의 세포 독성 및 조직 재생능 검증
- 참여기관 1 (포항공대 산학협력단) : 개발 단계의 바이오 잉크의 3D 프린팅 공정 조건 확립
- 참여기관 2 ((주)더비엔아이) : 바이오 잉크 상용화 전략 수립

##### □ 개발 내용 및 범위



[그림] 돼지유래 바이오 잉크 개발 및 이를 이용한 조직/장기 재생 응용 개념도

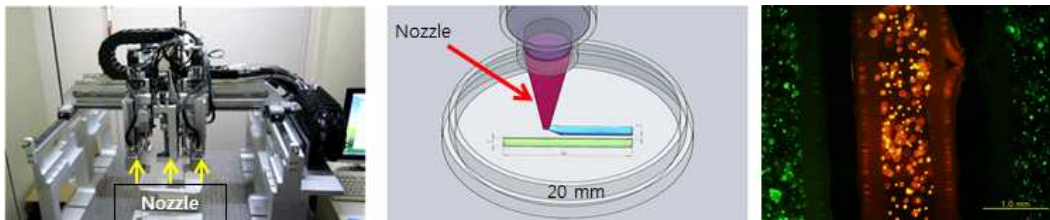
- 주관연구기관((주)티앤알바이오랩) : 돼지피부 유래 탈세포화 바이오 잉크 추출 및 안전성 검증
  - 돼지 피부로부터 인체 이식시 면역반응을 일으키는 세포 및 DNA를 제거하기 위해 enzyme과 non ionic detergent 처리 공정을 통해 세포외기질을 분말형태로 추출
  - 추출된 분말형태의 세포외기질의 DNA함유량 및 성분 분석을 수행
  - Pepsin을 이용하여 단백질의 용해 공정을 통해 분말형태의 탈세포화된 세포외기

질을 바이오 잉크로 제작

- 바이오 잉크의 유변학적 특성 분석 (점탄성 분석)
- 제작된 탈세포화 세포외기질의 멸균 조건 확립한 후, 안전성 검사 의뢰(무균시험, 바이러스 검사)
- 재료 표준화를 위해 돼지 도축 업체 혹은 사육 농가 등을 탐색

- 협동연구기관(전남대 산학협력단) : 개발 단계에서 바이오 잉크의 세포 독성 검증
  - 개발 단계에서 바이오 잉크의 생물학적 안전성 확보를 위해 세포 독성을 검증함
  - 개발 단계의 바이오 잉크에 피부 유래 세포를 탑재하여 장·단기 세포 독성 시험 분석 (CCK8 assay, Live and dead cell assay)

- 위탁연구기관 1 (포항공대 산학협력단) : 개발 단계에서 바이오 잉크의 프린팅 특성 분석
  - 기 확보된 바이오 프린터를 이용한 재료의 유속 및 이송속도 등 제작 조건에 따른 프린팅 형상 제어 조건 확립
  - 바이오 잉크의 점도 및 pH 등 재료의 조건에 따른 공급 제어 기술 확립
  - 바이오 프린터의 노즐 직경 및 형상 조절을 통한 프린팅 속도 최대화
  - 프린팅 조건의 수립 과정을 주관기관으로 공유



[그림] 개발된 프린팅 헤드 모듈을 이용한 프린팅 성능 분석

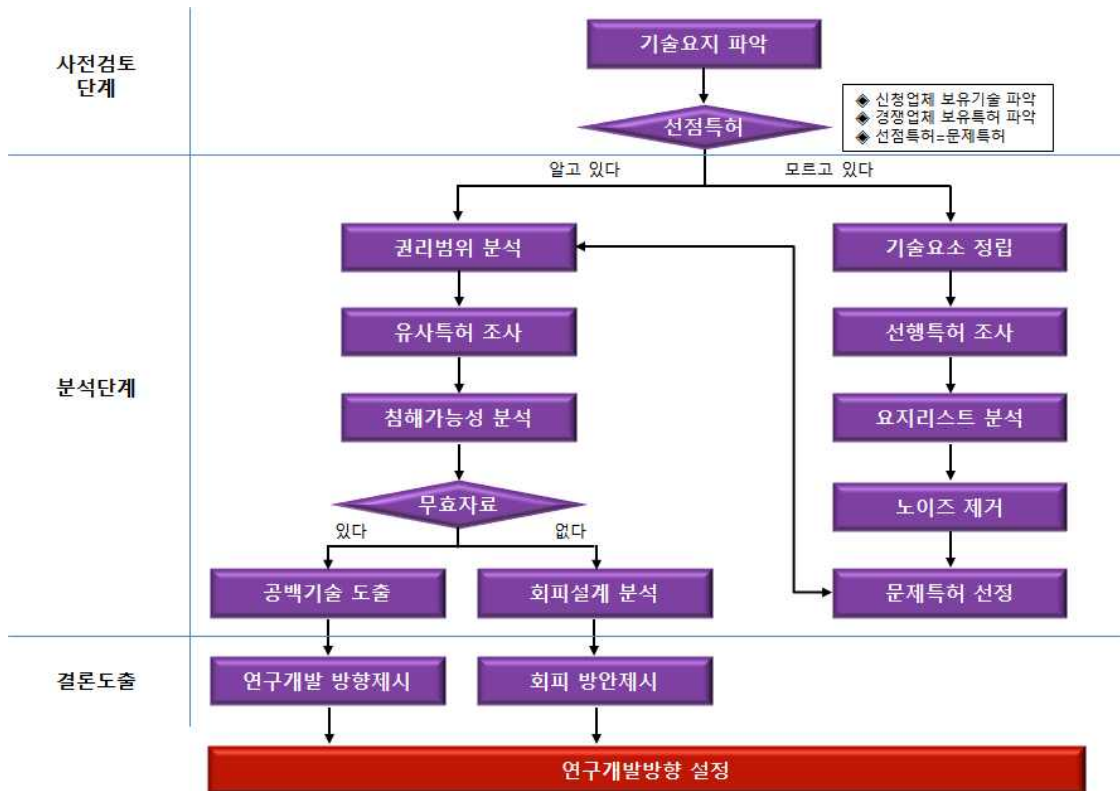
- 위탁연구기관 2 ((주)더비엔아이) : 바이오 잉크의 상용화를 위한 관련 법·제도 분석 및 선행특허 분석
  - (국내) 식품의약품안전처의 의약품등의 품목허가·신고·심사 규정, 생물학적제제 등의 품목허가·심사 규정 외 관련 고시 및 가이드라인의 조사·분석
  - (국외) 미국(FDA: 식품의약품청), 유럽(EMA: 유럽의약품청), 일본(MHLW: 후생노동성) 등의 주요 선진시장 관련 인허가 규정 조사·분석



[표 9] 국가별 관련 법제도 현황

구분	미국	유럽	일본	한국
승인 기관	식품의약품청 (FDA)	유럽 의약청 (EMA)	후생노동성 (MHLW)	식품의약품안전처 (MFDS)
제도명	21 CFR Part 1271	Regulation 1394/2007/EC	재생의료추진법	약사법
규제 내용	- HCT/Ps는 의약품으로 규율 - 생물의약품중 “인간세포, 조직, 세포 또는 조직을 기반으로한 제품”규제	- EMA를 통한 중앙 집중적 판매 허가 제도 - ATMP 유전자치료제, 세포치료제, 조직공학체제, 결합 ATMP로 분류	- 재생의료의 연구 개발에서 실용화까지 종합적인 사책의 추진 - 재생医료를 신속하고 안전하게 제공	- 신체에서 분리된 세포가 사람의 질병치료를 목적으로 세포단위로 사용되는 경우에는 의약품에 해당 - 약사법에서 규정
관련 규정	- 신속개발/신속승인/우선심사 제도	- HCT/Ps는 의약품으로 규율	- HCT/Ps는 의약품으로 규율	- 의약품등안정성시험기준 - 성상표기에 관한 가이드라인 - 의약품표시지침 등

- 바이오 잉크 관련 국내의 특허 출원 등록 현황 분석
- 주요 국가별 대표 출원인 현황 및 주요 유사 특허리스트의 유사성과 차이점 등의 분석을 통한 특허 회피전략 수립
- 주요 유사특허에 대한 유사도, 독창성, 차별성 등의 종합적인 분석을 통한 특허 획득 대처방안 수립



[그림] 특허회피 전략 수립 프로세스

나. 2차년도 계획

□ 개발 목표

- 주관연구기관((주)티앤알바이오랩) : DNA함량 50ng/mg 미만급 돼지 피부 유래 탈세포화 공정 확립 및 안전성 인증 시험
- 협동연구기관(전남대 산학협력단) : 바이오 잉크의 생체 안전성 및 기능성 검증을 위한 동물 모델 확립
- 위탁연구기관 1(포항공대 산학협력단) : 확립된 바이오 잉크로 세포 프린팅 조건 확립
- 위탁연구기관 2 ((주)더비엔아이) : 바이오 잉크 상용화 전략 수립을 위한 기반 환경분석

□ 개발 내용 및 범위

- 주관연구기관((주)티앤알바이오랩) : 돼지 피부 유래 탈세포화 공정 확립 및 안전성 인증 시험
  - DNA 함량 50ng/mg 수준으로 탈세포화 공정 확립
  - 확립된 바이오잉크의 성분 및 물성 분석 수행
  - pepsin digestion으로 프린팅 가능하며 세포 생존이 가능한 바이오 잉크의 점도 확립
  - 프린팅 후 기본적인 세포 생존을 분석
  - 확립된 바이오 잉크의 안전성 검증을 인증기관에 의뢰
  - 재료 표준화 방법 확정 및 바이오 잉크 공정 적용, 생산
  - 안전성 및 기능성 검증의 모델로 인공 피부 모델 중 진피층 제작

**탈세포화 된 돼지 피부유래 세포외기질 바이오 잉크 제작**



[그림] 바이오 잉크 제작 및 안전성 확보

- 협동연구기관(전남대 산학협력단) : 확보된 바이오 잉크의 생체 안전성 및 기능성 검증을 위한 동물모델 확립
  - 확보된 바이오 잉크의 세포 독성 시험으로 세포에서 안전성 검증
  - 바이오 잉크로 일시적으로 손상된 부위의 보호를 목적으로 하는 창상피복제(wound dressing) 생체효능 검증을 위한 동물 모델 확립 및 동물 모델에서 안전성 평가
- 위탁연구기관 1 (포항공대 산학협력단) : 확보된 바이오 잉크로 세포 프린팅 조건 확립 및 바이오 잉크 기반 인공 피부 모델 중 진피층 제작에 착수
  - 확보된 바이오 잉크의 농도별, 공압, 프린팅 속도에 따른 프린팅 조건 확립
  - 인공 피부 모델 중 진피층을 형성하는 세포의 증식에 적절한 프린팅 조건 확립
- 위탁연구기관 2 ((주)더비엔아이) : 바이오 잉크 상용화 전략 수립을 위한 기반 환경 분석
  - 해당 기술의 핵심가치(기술의 차별성, 독창성, 혁신성), 선행기술개발 동향 등의 기술성 분석
  - 바이오 잉크 관련 시장분석(시장규모 및 전망, 주요 경쟁사, 주요 수요처, 시장진입장벽 등)
  - 연구개발 성과의 상용화 전략 수립



<시장동향 분석>



<경쟁업체동향 분석>



<타깃시장 설정>

[그림] 상용화 전략 수립을 위한 환경분석

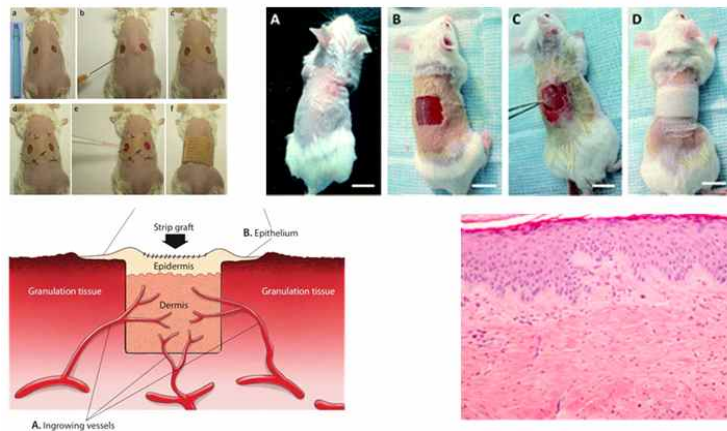
### 다. 3차년도 계획

#### □ 개발 목표

- 주관연구기관((주)티앤알바이오팜) : 안전성 인증받아 제품에 적합한 바이오 잉크 개발
- 협동연구기관(전남대 산학협력단) : 확립된 동물 모델에서 바이오 잉크의 안전성 및 성능 검증
- 참여기관 1 (포항공대 산학협력단) : 제품화에 요구되는 최적화된 프린팅 공정 확립 및 인공 피부 모델 제작 연구 수행
- 참여기관 2 ((주)더비엔아이) : 바이오 잉크의 비즈니스 모델(B/M) 수립

□ 개발 내용 및 범위

- 주관연구기관((주)티엔알바이오팜) : 안전성을 인증받아 제품으로 적합한 바이오 잉크 개발
  - 표준화된 재료로 바이오 잉크 대량 생산 공정 확립
  - 생산 공정의 규격화 및 QC/QA 조건 확립
  - 안정성 시험
  - 인공 피부 모델 적용으로 의료용 바이오 잉크로써의 가능성 타진
  
- 협동연구기관(전남대 산학협력단) : 확립된 동물 모델에서 바이오 잉크의 안전성 및 성능 검증
  - 확립된 동물 모델로 생체조직과의 동화, 표피와 진피의 결합력을 평가함
  - 동일 동물 모델에서 인공 피부 모델의 안전성 및 성능 평가함.



[그림] 바이오 잉크의 안전성 및 성능평가 방법

- 위탁연구기관 1 (포항공대 산학협력단) : 제품화에 요구되는 최적화된 프린팅 공정 확립 및 인공 피부 모델 제작 연구 수행
  - 주관 기관과 긴밀한 관계를 유지하며 제품에 요구되는 최적화된 프린팅 방법을 교정하는 연구 수행
  - 바이오 잉크 기반 인공 피부 모델 제작을 위해 표피층 프린팅 수행
  
- 위탁연구기관 2 ((주)더비엔아이) : 바이오 잉크의 비즈니스 모델(B/M) 수립
  - 바이오 잉크의 사업모델 수립(주요 제품군, 고객군, 이해관계자별 주요 Activity 등) 및 사업 프로세스 구축
  - 바이오 잉크 상용화를 위한 핵심기술의 가치, 파급시장 분석, 서플라이체인, 전후방 연관산업 등의 기반분석
  - 바이오 잉크 비즈니스모델 수립을 위한 핵심 파트너, 핵심활동, 핵심자원, 가치제안, 고객관계, 마케팅 채널, 고객세분화, 비용구조, 수익흐름 등의 분석

① 핵심 파트너	② 핵심활동	④ 가치제안	⑤ 고객관계	⑦ 고객세분화
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪비즈니스 모델을 작동 시켜 줄 수 있는 공급자와 파트너 간의 네트워크를 의미</li> <li>▪파트너는 규모의 경제, 리스크 저감, 자원/활동의 획득을 목적으로 구축</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪비즈니스 수행을 위한 개발, 생산, 공급망 관리, 품질 관리, 컨설팅, 영업</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪기업이 고객에게 제공하는 상품 또는 서비스이며 고객이 요구하는 가치 요소들을 제안</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪기업이 가치를 구매 한 고객 세그먼트와 어떠한 형태의 관계를 맺을 것인지에 대한 결정</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪고객세분화는 조직이 겨냥하는 사람들 혹은 조직(= 기업의 고객)</li> </ul>
	<b>③ 핵심자원</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪물적자산, 지적자산, 인적자원, 재무자원 등의 유형</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪첨단기술제품, 성능(SW/HW), 가격, 비용 절감, 리스크 절감, 접근성, 편리성, 유용성 등</li> </ul>	<b>⑥ 마케팅 채널</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪기업이 고객에게 가치를 제안하기 위해 커뮤니케이션하고 상품/서비스를 전달하는 방법</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪요구, 행동상특징, 그 외의 특징에 따라 고객을 분류하여 핵심타깃 결정</li> </ul>
<b>③ 비용구조</b>		<b>④ 수익흐름</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪비즈니스 모델 운영에 발생하는 모든 지출 비용</li> <li>▪비용 주도적인 것과 가치 주도적인 것으로 구분</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>▪기업이 고객 세그먼트로부터 창출하는 수익을 의미</li> <li>▪고객의 1회 지출로 유발되는 수익과 반복적으로 지출이 유발되는 수익으로 구분</li> </ul>		

**[그림] 바이오 잉크의 비즈니스 캔버스 구성**

## 2-2. 연구개발 성과 및 평가방법

	코드번호	B-05-03		
<p><b>[정량적 목표 항목의 평가방법]</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>□ 바이오 잉크 내 DNA 잔류량 <ul style="list-style-type: none"> <li>○ (평가방식) 바이오 잉크의 탈세포화 과정을 거친 후, 추출 된 세포외기질 재료내에 잔류하고 있는 DNA 함유량을 분석함</li> <li>○ (평가방법) DNA 함유량은 DNA kit를 이용하여 함량을 분석함 대표적인 탈세포화 세포외기질 연구자인 미국 피츠버그대학의 Badylak 그룹에서 탈세포시 면역 반응없이 안전한 DNA 수준으로 50ng/mg으로 명시함 (Biomaterials, 2011).</li> </ul> </li> <li>□ 바이오 잉크 성분분석 <ul style="list-style-type: none"> <li>○ (평가방식) 바이오 잉크의 탈세포화 과정을 거친 후, 추출 된 세포외기질 재료내에 잔존하는 성분들을 분석함</li> <li>○ (평가방법) 콜라겐, GAG, Elastin 함유량은 정량 측정 kit를 이용하여 함량을 분석함</li> </ul> </li> <li>□ 바이오 잉크 유변학적 특성 분석 <ul style="list-style-type: none"> <li>○ (평가방식) 바이오 잉크의 탈세포화 과정을 거친 후, 프린팅 가능 여부를 확인하기 위해 유변학적 특성을 분석함</li> <li>○ (평가방법) 점탄성 측정기를 이용하여 재료의 점탄성을 측정하여 재료의 프린팅 가능성 확인</li> </ul> </li> <li>□ 프린팅 세포 생존율 <ul style="list-style-type: none"> <li>○ (평가방식) 바이오 잉크에 세포를 봉입후 프린팅을 수행함</li> <li>○ (평가방법) 세포 프린팅 수행 후, Live and Dead Cell Assay kit를 사용하여 세포를 염색하고, live 세포와 dead 세포를 직접 육안 검사를 통해 분별 후 비율로 계산함</li> </ul> </li> </ul>				

- 바이오 잉크의 멸균 여부 확인
  - (평가방식) 돼지 유래 바이오 잉크에서의 병원균 및 바이러스의 생존이 없는 무균 상태임을 확인
  - (평가방법) 서울의과학연구소에 외주 의뢰를 맡김, PCR 분석법을 통한 바이러스 확인
- 바이오 잉크의 생체 기능성 평가
  - (평가방식) 확립된 동물 모델에서 생체적합성(biocompatibility), 조직 재생(tissue regeneration) 능력 평가
  - (평가방법) 확립된 동물 모델에 이식 후, 임상적 및 조직학적 검사를 통해서 생체 적합성과 조직 재생 능력을 확인함
- 바이오 잉크의 안전성 여부 확인
  - (평가방식) 돼지 유래 바이오 잉크에서의 안전성 확인
  - (평가방법) 개발 1차년도부터 멸균이 확인된 바이오 잉크를 전남대에 전달 후 동물 실험으로 안전성 여부 확인  
 최종적으로 최적화된 바이오 잉크의 안전성을 검증할 수 있는 인증기관에 의뢰하여 안전성을 증명함
- 표피 분화
  - (평가방식) 진피층 위에 표피층을 형성시킨 후 분석함.
  - (평가방법) 분화 후, 일정 기간마다 표본을 채취하여 각 단계별 표지자를 염색하고, 조직학적 분석을 통해 표피층 형성을 확인함.



(단위 : 건수, 백만원)

성과목표	사업화지표											연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화					기술 인장	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	상표 출원	상표 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문		학술 발표			정책 활용	홍보 전시	
													SCI	비SCI						
최종목표	3	3			1	30	1	20	20	15		5	1	6		2				
1차년도	목표	1								1				2						
	실적	1					1	16.8	16.8	7				2		1				
2차년도	목표	2	1							2		2	1	2		1				
	실적	4	1	1	1		1	54.209	20.952	11		2	0	4		1		2		
3차년도	목표		2			1	30	1	20	20	2			2		1				
	실적	1	1				7.35		35.634	0	2	1		4		4		1		
소계	목표	3	3			1	30	1	20	20	5			6		2				
	실적	6	2	1	1	1	7.35	2	106.643	37.752	20	1		6	0	10		3		
종료 1차년도									1050	800	3									
종료 2차년도									3500	2800	3									
종료 3차년도									6400	5000	4									
종료 4차년도																				
종료 5차년도																				
소계									10950	8600	10									
합계		5	2	1	1	1	7.35	2	11056.643	8637.752	30	1		6	0	10		3		

가. 국내외 논문 게재

No	논문명	학술지명	주저자명	호	코드번호		C-06-01		
					국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	Precise stacking of decellularized extracellular matrix based 3D cell-laden constructs by a 3D cell printing system equipped with heating modules	Scientific reports	안근선, 민경현	7	UK	Nature	SCI	2017.08.17	doi: 10.1038/s41598-017-09201-5

2	Recapitulation of microtissue models connected with real-time readout systems via 3D printing technology	Journal of thoracic disease	장진아	9	China	AME Publications	SCI(E)	2017년 2월	DOI: 10.21037/jtd.2017.02.33
3	A potential dermal substitute using decellularized dermis extracellular matrix derived bioink	Artificial Cells	원주윤				SCI	online publish	DOI: 10.1080/21691401.2019.1575842
4	3D cell printing of in vitro stabilized skin model and in vivo pre-vascularized skin patch using tissue-specific extracellular matrix bioink: A step towards advanced skin tissue engineering	Biomaterials	김병수, 권양우, 공정식	168	네덜란드	Elsevier	SCI	2018/6	0142-9612
5	Recent Strategies in Extrusion-based 3D Cell Printing towards Organ Biofabrication	ACS Biomaterials Science & Engineering	가오그, 김병수		미국	ACS Publications	SCI	online publish	DOI: 10.1021/acsbiomaterials.8b00691
6	Evaluation of Porcine Hybrid Bone Block for Bone Grafting in Dentistry	In Vivo	김세은, 이은석	32	그리스	IIAR	SCI	2018년 11월	doi:10.21873/in vivo.11394



나. 국내 및 국제학술회의 발표

			코드번호		C-06-02
No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	US-Korea Conference 2016	장진아	2016. 08. 11	Hyatt Regency DFW, (Dallas, TX)	미국
2	제7차 한국조직공학재생의학회 교육심포지엄	장진아	2016. 11. 25	분당차바이오 컴플렉스	대한민국
3	Society for Biomaterial	원주윤	2017.04.05	Minneapolis	USA
4	Society for Biomaterial	안근선	2017.04.05	Minneapolis	USA
5	KTERMS 2017	원주윤	2017.06.02	경북대학교	대한민국
6	FBPS'17	이은석	2017.07.12	KIST	대한민국
7	2018 KSME 바이오공학부문 춘계학술대회	김병수	2018/4/27	경북대학교 글로벌플라자 경하홀 (대구)	대한민국
8	The 5th International Conference on Additive Manufacturing and Bio-Manufacturing	김병수	2018/12/4	Xijiao Hotel (베이징)	중국
9	TERMIS-WC 2018	윤도국	2018. 09. 04-07	교토	일본
10	임상수의학회	장광식	2018. 05. 19-20	전남대학교	대한민국

다. 생명자원(생물자원)/화합물

		코드번호		C-06-03
No	생명자원(생물자원)/화합물명	등록/기탁번호	등록/기탁기관	발생년도

라. 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신품종, 프로그램)

			코드번호		C-06-04				
No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기여율
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1	세포 프린팅 조성물의 혼합 장치	대한민국	주식회사 티엔알바이오랩/한국산업기술대학교	2016.12.23	10-2016-0177709	주식회사 티엔알바이오랩/한국산업기술대학교	2017.11.16	10-1800249	100%
2	세포 프린팅 조성물의 혼합 장치	PCT	주식회사 티엔알바이오랩/한국산업기술대학교	2017.12.15	PCT/KR2017/014829				100%

3	분리형 구조로 높이조절이 가능한 배양구조체	대한민국	주식회사 티엔알바이오랩/한국산업기술대학교	2017.11.14	10-2017-0151753	주식회사 티엔알바이오랩/한국산업기술대학교	2018.09.13	10-19900466	100%
4	통합형 3차원 세포프린팅 기술을 이용한 세포 배양체	대한민국	주식회사 티엔알바이오랩/포항공과대학교	2017.08.01	10-2017-0097765	등록결정			100%
5	통합형 3차원 세포프린팅 기술을 이용한 세포 배양체	PCT	주식회사 티엔알바이오랩/포항공과대학교	2017.08.01	PCT/KR2017/008301				100%
6	deCelluid (상표)	대한민국	주식회사 티엔알바이오랩	2017.03.24	40-2017-0038110	주식회사 티엔알바이오랩	2017.11.23	40-1306481	100%
7	인공조직 배양용기 (디자인)	대한민국	주식회사 티엔알바이오랩	2018.10.30	30-2018-0049900				100%

마. 저작권(소프트웨어, 서적 등)

					코드번호	C-06-05	
No	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록번호	저작권자명	기여율

바. 전문연구 인력양성

					코드번호	C-06-06								
No 1	분류	기준년도	현황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1		2016		1			√						√	
2		2017		1			√						√	
3		2019	1				√				√			

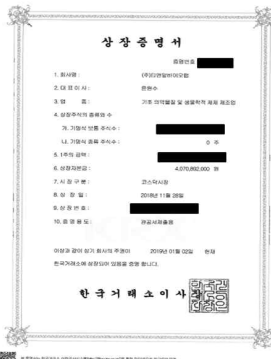
사. 산업기술 인력양성

					코드번호	C-06-07	
No	프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원	
1							
2							

아. 기술거래(이전) 등

					코드번호	C-06-08
8	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)	누적 징수현황
1	기술실시	돼지피부유래 바이오잉크 개발	티엔알바 이오팸	2018.12	7,350,000원	7,350,000원

자. 사업화 투자실적

				코드번호	C-06-09
No	추가 R&D 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자자금 성격
1	상장	0		1	4) 투자유치 업종(기초 의약품 및 생물학적 제제 제조업) 상장됨. 2018년11월28일 상장번호:2273

차. 사업화 현황

(단위 : 명, 년)

						코드번호	C-06-10			
No	사업화 방식	사업화 형태	지역	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생년도	기술 수명
							국내	국외		
1.	자기실시	상품화	국외	T&R Skin Bioink 상품화	당사에서 개발한 3D printing용 skin bioink를 프랑스 로레알에 연구 목적으로 수출함.	(주) 티엔알바 이오팸		16,801,593원	2016	
2	자기실시	상품화	국외	T&R Skin Bioink 상품화	당사에서 개발한 3D printing용 skin bioink를 프랑스 로레알에 연구 목적으로 수출함.	(주) 티엔알바 이오팸		20,952,350원	2017	
3	자기실시	상품화	국내	T&R Skin Bioink 상품화	당사에서 개발한 TnR bioink로 시제품을 만들고 deCelluid라는 제품명으로 출시.	(주) 티엔알바 이오팸	38,657,455원		2017	
4	자기실시	상품화	국내	T&R Skin Bioink 상품화	당사에서 개발한 TnR bioink로 시제품을 만들고 deCelluid라는 제품명으로 출시.	(주) 티엔알바 이오팸	35,634,000원		2018	

카. 표준화

					코드번호	C-06-11	
No	수행기관명	표준화 주제	표준화 기구	표준화 단계	관련번호	제출(채택)일 yyyy.mm.dd	국가

타. 기술요약정보

				코드번호	C-06-12
연도	기술명	요약내용	기술완성도	등록번호	

파. 보고서 원문

			코드번호	C-06-13
연도	보고서 구분	발간일	등록번호	

하. 기타

5. 구매금액이 3천만원 이상인 연구시설·장비 구축현황

				코드번호	C-07	
연구시설·장비명	구축금액 (천원)	구축일자	활용용도	설치장소	NTIS 시설장비 등록번호	

## 2-3. 연구 결과

### 연구수행 내용 및 결과

			코드번호	C-03-02
구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2016)	돼지피부 유래 탈세포화 바이오잉크 개발 및 물성 검증	돼지 피부 유래 탈세포화 공정을 통해 세포외기질을 분말형태로 추출	Enzyme과 Non ionic detergent 처리공정을 통하여 생산된 돼지유 래 탈세포화 세포외기 질을 동결건조와 freezer mill기기를 통 하여 분말형태로 제작	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 분말형태의 탈세포화 세포 외기질을 제작</li> </ul>
		추출된 분말 형태의 세포외기질의 DNA함유량 및 성분 분석 수행	DNA와 주요 세포외기 질 성분인 Collagen, GAG, Elastin을 해당 assay kit를 이용하여 함유량을 확인	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DNA 함량: 195.8ng/mg</li> <li>• Collagen함량:28.09<math>\mu</math>g/mg</li> <li>• GAG 함량: 0.006<math>\mu</math>g/mg</li> <li>• Elastin함량: 3.08<math>\mu</math>g/mg</li> </ul>
	바이오 잉크 제작 및 특성 분석	분말형태의 세포외기질을 바이오 잉크로 제작	Pepsin을 이용한 단백 질 용해공정 후 pH를 중화하여 바이오 잉크 를 제작함.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 점성을 갖는 용액형태의 바 이오 잉크 제작</li> </ul>
		바이오 잉크의 유변학적 특성 분석	점탄성 측정기기를 이 용하여 점탄성을 측정 하고, 온도에 따른 물 성변화를 확인함.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 50~73 Pa 사이의 점탄성을 가짐.</li> <li>• 온도에 따라 gelation되어 물성이 변함.</li> </ul>
	바이오 잉크의 안정성 검사 및 재료 표준화를 위한 탐색	제작된 탈세포화 세포외기질의 멸균 조건 확립 및 안전성 검사 의뢰	바이오 잉크의 변성을 유발하지 않는 적절한 멸균 방법과 세기를 확립한 후, 무균시험과 바이러스 검사, 생물학 적 안전성 검사를 공 인시험기관에 의뢰	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 무균 시험: 음성 판정</li> <li>• 바이러스 검사: 음성 판정</li> <li>• 용출물, 엔도톡신 시험 : 의 뢰 및 진행 중(12월 중 완 료 예정)</li> </ul>
		재료 표준화를 위한 돼지 도축 업체	원재료의 안전성과 안 정적 공급이 검증된 업체 선정	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 도축 증명서, 이력증명서, 자가 성분 검사 시험서, 잔 류 물질 시험 성적서 확인.</li> </ul>

	탐색		
바이오 잉크의 세포 독성 및 조직 재생능 검증	바이오 잉크의 세포 독성 검증	개발 단계의 바이오 잉크에 피부 유래 세포를 탑재하여 Live and dead cell assay를 통한 세포 독성 시험 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>7일째에 세포 증식정도 및 형태를 통해 바이오 잉크의 세포 독성 없음과 생체적합성을 확인</li> </ul>
	바이오 잉크의 조직 재생능 검증	토끼 피부 결손 모델을 이용한 조직 재생능 검증	<ul style="list-style-type: none"> <li>토끼 피부결손 모델에서 14일째 바이오 잉크 이식 시 콜라겐보다 뛰어난 조직 재생능을 나타냄.</li> </ul>
바이오 잉크를 이용한 바이오 프린팅 공정기술 개발	개발 단계의 바이오 잉크 프린팅 공정 확립	기 확보된 바이오 프린터를 이용한 재료의 유속 및 이송속도 등 제작 조건에 따른 프린팅 형상 제어 조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>제작조건에 따른 프린팅 최적조건을 확립</li> </ul>
		바이오 잉크의 점도 및 pH 등 재료의 조건에 따른 공극 제어 기술 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>바이오잉크 농도 및 pH에 따른 제작 형상을 기준으로 한 최적조건을 확립</li> </ul>
		바이오 프린터의 노즐 직경 및 형상 조절을 통한 프린팅 속도 최대화	<ul style="list-style-type: none"> <li>상기 조건을 기준으로 하여 최적의 노즐 직경 범위를 선정</li> </ul>
		프린팅 조건의 수립 과정을 주관기관으로 공유	<ul style="list-style-type: none"> <li>주관기관과의 긴밀한 논의를 통해 최종적으로 원하는 조건에 대한 탐색을 수행</li> </ul>
국내의 의료기기/의약품 등 인허가 제도 분석	바이오 잉크 관련 국내 법·제도 현황	바이오 잉크 관련 식품의약품안전처 (대한민국) 가이드라인 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>대한민국 식품의약품안전처는 2014년 ‘지지체를 포함하는 세포치료제 평가 가이드라인’을 발표 (가이드라인 관리번호 B1-2014-3-011)</li> <li>- 지지체를 포함하는 세포치료제의 정의: 사람 혹은 동물 유래의 살아있는 세포를 이용하여 지지체와 배양, 증식, 결합 등 상당한 공학적인 과정을 거쳐 조직의 형태로 제조되는 제품을 대상으로 함</li> </ul>

			<p>- 티엔알바이오웍에서 개발 중인 바이오 잉크는 탈세포화 공정을 통해 생산된 돼지피부 유래 세포외기질을 주요원료로 하기 때문에 이 범주에 속하는 것으로 판단됨</p> <p>- 또한, 개발된 바이오 잉크는 지지체 (예, 콜라겐을 포함하는 세포외기질)를 포함하는 세포치료제로 인식될 수 있기 때문에 생물의약품 또는 의료기기로 분류될 수 있음</p> <p>- 2016년 11월 식약처 보도자료에 따르면, 바이오 잉크를 사용하여 제작되는 인공피부에 대한 가이드라인이 11월 중에 마련될 예정임</p>
		<p>바이오 잉크 국내 인허가 관련사항 분석</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 식약처 관계자는 세포외기질을 사용하여 개발된 바이오 잉크의 경우 의료기기심사부와 바이오생약심사부와의 공동합의를 통한 인허가 과정 진행을 제안</li> <li>• 바이오 잉크의 제품평가를 위해서는 ‘지지체를 포함하는 세포치료제 평가 가이드라인’에서 제시하는 ‘3.4 품질 특성분석 고려사항 종합’에 명시된 항목들에 대한 재확인이 필요</li> <li>• 바이오 잉크의 국내 인허가는 식약처 약사법의 적용을 받을 것으로 예상됨 (식품의약품안전처 공고 제 2016-682호)</li> </ul>
		<p>바이오 잉크 국외 인허가 관련사항 분석</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 바이오 잉크 개발의 최종목표 중 하나인 인공재생 피부는 화장품 시장에서 원료물질의 체외독성 실험에 널리 이용되고 있음</li> <li>• 이 실험의 주요목적은 피부 부식성과 피부자극성에 대한 검사로 분류됨</li> <li>• 인공재생 피부의 개발은 생명공학 회사들뿐만 아니라 화장품 회사들에서도 활발하게 진행</li> </ul> <p>- 예를 들어, 세계적 화장품</p>

회사인 로레알은 Episkin™ SCT와 SkinEthic™ RHE SCT를 개발하여 직접 체외독성 실험에 이용

- Episkin과 SkinEthic의 경우, 미국 식품의약품청 (이하 FDA)에서는 인간유래 원료물질들에 대해 ‘나노재료 (nanomaterials)’로 명명하고 있으며 해당제품들은 인간세포, 조직, 세포 및 조직기반 제품 (HCT/Ps)에 속함
- 체외독성 실험에 이용되는 다양한 인공재생 피부 제품들은 미국, 유럽, 그리고 일본의 전문 연구기관을 통해 과학적 유효성이 보증되었으며 여러 규정들에 의해 관리 및 승인되었음
- 예를 들어, 피부 부식성 검사에 이용되는 Episkin™ SCT는 ESAC와 JaCVAM을 통해 과학적 유효성을 검증받았으며 OECD TG 431, OECD 요약본 190, 그리고 REACH 법안에 의해 관리 및 승인되었음

검사목표	실험방법및 사용제품	실험종류	과학적 유효성 보증		국제 승인현황	
			주기관	추가기관	국제 규정	국가 또는 지역 규정
피부부식성 (Skin corrosion)	실험방법: RHE 실험을 통한 체외 피부 부식성 검사 사용제품: Episkin™ SCT, Epiderm™ SCT, SkinEthic™ RHE SCT, epiICS® SCT (formerly EST-1000); Vitrolife-Skin™	체외 실험	ESAC (1998년, 2000년, 2006년, 2008년) JaCVAM (2008년)	ICCVAM (2002년)	OECD TG 431 (2004년, 2015년 개정본, 2016년 개정본) OECD Summary Document 190 (2013년)	REACH 법안
	실험방법: 체외 막 장벽 검사 사용제품: CORROSTEX™	체외	ICCVAM (1999년)	ESAC (2000년)	OECD TG 435 (2006, 2015 개정본)	REACH 법안
	실험방법: 허 피부를 이용한 전기저항 검사	체외	ESAC (1998년)	ICCVAM (2002년)	OECD TG 430 (2004; 2015 개정본)	REACH 법안
피부자극성 (Skin irritation)	실험방법: RHE 실험을 통한 피부 자극성 검사 사용제품: Episkin™ SIT, Epiderm™ SIT, SkinEthic™ RHE SIT, LabCyte EPI-MODEL24 SIT	체외 실험	ESAC (2007년, 2008년, 2009년) JaCVAM (2013년)	JaCVAM (2010년, 2012년)	OECD TG 439 (2010년, 2015년 개정본)	REACH 법안

출처: Methods, Approaches, Programs & Policies, 2016 ([www.AitTox.org](http://www.AitTox.org))

[표] 동물실험 대체방법에 대한 승인현황



	<p>상용화 전략수립을 위한 기반환경 분석</p>	<p>바이오 잉크 관련 시장규모 파악</p>	<p>화장품 시장 분석</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2014년 기준, 세계 화장품 시장규모는 4,600억 달러로 평가되었으며, 2020년까지 6,750억 달러 규모로 성장할 것으로 예측. 특히, 아시아-태평양 지역은 2014년에 세계 화장품 시장의 35%를 점유하며 주요 고객으로서 관심이 집중되고 있음</li> <li>• 2009년 3월에는 동물실험 화장품의 유럽연합 시장 내 판매금지가 발표됨. 이러한 조치는 세계적인 동물실험 반대를 위한 구체적 시발점으로 작용</li> <li>• 기존 사용되었던 동물을 이용한 화장품 원료의 안정성 실험은 인공조직을 이용하는 체외독성 실험의 형태로 대체. 이러한 시대적 변화는 화장품 회사들의 체외 독성실험 방법에 대한 투자와 관심을 고조시킴 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 예를 들어, 세계적인 화장품 회사인 로레알은 2006년에 생물조직공학 전문회사인 'SkinEthic'을 인수</li> </ul> </li> <li>• 2015년 기준으로 체외 독성 시장의 규모는 141.5억 달러로 평가되었으며, 2021년까지 273.6억 달러 규모로 성장할 것으로 예측됨</li> <li>• 2014년 11월에 발간된 'OECD Guidelines for the testing of chemicals'에 따르면 다음 4개 제품이 체외 독성실험 방법을 위해 상용화 되었음 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 이 제품들은 테스트 방법에 대해서는 회사별 특성이 관찰되지만, 인공 피부조직을 최종 산물로 제공하는 점에서는 동</li> </ul> </li> </ul>

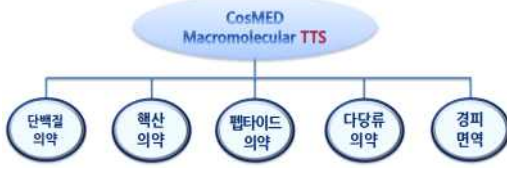


















			<p>일함</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. EpiSkin™ (프랑스)</li> <li>2. EpiDerm™ models (미국)</li> <li>3. SkinEthic™ RHE (프랑스)</li> <li>4. LabCyte EPI-MODEL 24 (일본)</li> </ol>
		3D 바이오프린팅 시장 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2014년 기준으로 세계 3D 바이오프린팅 시장의 규모는 4.9억 달러로 평가되었으며, 2025년까지 890억 달러 규모로 성장할 것으로 예측</li> <li>• 세계 3D 바이오프린팅 시장은 다양한 세부시장들로 구성되어 있으며, 특히 바이오 잉크는 상대적으로 높은 비율을 점유하고 있음. 북미지역의 경우, 2012년부터 2022년까지 3D 바이오프린팅 시장에서 바이오 잉크의 주도적인 시장점유율이 예측됨. 또한, 의학 및 치의학부문의 점유율은 바이오 잉크의 점유율과 동반 성장할 것으로 예상 (이러한 양상은 바이오 잉크와 다양한 의학부문 간의 밀접한 성장 연관성을 시사함)</li> </ul>
	주요 기업체 동향 분석	바이오 잉크 상용화 해외업체 현황 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CELLINK <ul style="list-style-type: none"> <li>- 세계최초의 바이오 잉크회사로 알려져 있으며 2015년 1월에 설립된 스웨덴의 생명공학 회사</li> <li>- 상용화된 바이오 잉크 <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 목표로 하는 최종산물의 종류에 따라 다양한 종류의 바이오 잉크 판매</li> <li>2) 2016년 현재 시판중인 바이오 잉크를 사용하여 연골, 피부, 그리고 뼈의 합성이 가능</li> <li>3) 예를 들어, 인공피부 합성을 위한 바이오 잉크는 'CELLINK'로 용량에 따라 99달러 (3mL) 또는 199달러 (10mL)의 가격으로 판매</li> </ol> </li> </ul> </li> <li>• Biobots</li> </ul>

			<p>- 데스크탑 3D 바이오프린터를 개발하면서 CNN을 비롯한 다양한 언론매체에서 호평을 받고 있는 2014년에 설립된 미국의 생명공학 회사</p> <p>- 상용화된 바이오 잉크</p> <p>1) 보조용, 희생용, 그리고 경화용으로 나뉨</p> <p>2) 3D 바이오프린팅 작업을 수행하기 위한 기본 구성품들을 모두 제공하는 'FRESH Starter Kit (205달러)'를 판매 중</p>																																																															
		인공 재생피부 상용화 현황	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 화장품 원료물질의 체외독성 실험을 위한 다양한 제품들이 상용화되었음</li> </ul>																																																															
			<table border="1"> <thead> <tr> <th>품명</th> <th>제조회사</th> <th>제조 국가</th> <th>지지물질</th> <th>세포유래</th> <th>실험방법</th> <th>OECD Guideline</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Episkin™</td> <td>L'Oreal</td> <td>프랑스</td> <td>콜라겐</td> <td>각질형성세포</td> <td>피부자극성 피부부식성</td> <td>추후결정 TG431</td> </tr> <tr> <td>Skinethic™ RHE</td> <td>L'Oreal</td> <td>프랑스</td> <td>폴리카보네이트 막</td> <td>각질형성세포</td> <td>피부자극성 피부부식성</td> <td>추후결정 TG431</td> </tr> <tr> <td>Epiderm™</td> <td>MatTek</td> <td>미국</td> <td>콜라겐이 코팅된 폴리카보네이트 막</td> <td>인간 각질형성세포</td> <td>피부자극성 피부부식성</td> <td>추후결정 TG431</td> </tr> <tr> <td>EpiDermFT™</td> <td>MatTek</td> <td>미국</td> <td>콜라겐</td> <td>인간 각질형성세포 인간 섬유아세포</td> <td>추후결정</td> <td>추후결정</td> </tr> <tr> <td>EST-1000</td> <td>CellSystems</td> <td>독일</td> <td>폴리카보네이트 막</td> <td>각질형성세포</td> <td>피부부식성</td> <td>TG431</td> </tr> <tr> <td>AST-2000</td> <td>CellSystems</td> <td>독일</td> <td>콜라겐</td> <td>인간 각질형성세포 인간 섬유아세포</td> <td>추후결정</td> <td>추후결정</td> </tr> <tr> <td>Phenion® FT Model</td> <td>Henkel</td> <td>독일</td> <td>동경건조 콜라겐</td> <td>1차 인간 각질형성세포</td> <td>추후결정</td> <td>추후결정</td> </tr> <tr> <td>StrataTest®</td> <td>Stratatech</td> <td>미국</td> <td>콜라겐 I</td> <td>인간 각질형성세포 피부섬유아세포</td> <td>추후결정</td> <td>추후결정</td> </tr> </tbody> </table> <p>출처: Advanced Drug Delivery Reviews 128, 2011</p> <p><b>[표] 상업적으로 이용 가능한 체외 표피 및 전층피부 대체품 현황</b></p>	품명	제조회사	제조 국가	지지물질	세포유래	실험방법	OECD Guideline	Episkin™	L'Oreal	프랑스	콜라겐	각질형성세포	피부자극성 피부부식성	추후결정 TG431	Skinethic™ RHE	L'Oreal	프랑스	폴리카보네이트 막	각질형성세포	피부자극성 피부부식성	추후결정 TG431	Epiderm™	MatTek	미국	콜라겐이 코팅된 폴리카보네이트 막	인간 각질형성세포	피부자극성 피부부식성	추후결정 TG431	EpiDermFT™	MatTek	미국	콜라겐	인간 각질형성세포 인간 섬유아세포	추후결정	추후결정	EST-1000	CellSystems	독일	폴리카보네이트 막	각질형성세포	피부부식성	TG431	AST-2000	CellSystems	독일	콜라겐	인간 각질형성세포 인간 섬유아세포	추후결정	추후결정	Phenion® FT Model	Henkel	독일	동경건조 콜라겐	1차 인간 각질형성세포	추후결정	추후결정	StrataTest®	Stratatech	미국	콜라겐 I	인간 각질형성세포 피부섬유아세포	추후결정	추후결정
품명	제조회사	제조 국가	지지물질	세포유래	실험방법	OECD Guideline																																																												
Episkin™	L'Oreal	프랑스	콜라겐	각질형성세포	피부자극성 피부부식성	추후결정 TG431																																																												
Skinethic™ RHE	L'Oreal	프랑스	폴리카보네이트 막	각질형성세포	피부자극성 피부부식성	추후결정 TG431																																																												
Epiderm™	MatTek	미국	콜라겐이 코팅된 폴리카보네이트 막	인간 각질형성세포	피부자극성 피부부식성	추후결정 TG431																																																												
EpiDermFT™	MatTek	미국	콜라겐	인간 각질형성세포 인간 섬유아세포	추후결정	추후결정																																																												
EST-1000	CellSystems	독일	폴리카보네이트 막	각질형성세포	피부부식성	TG431																																																												
AST-2000	CellSystems	독일	콜라겐	인간 각질형성세포 인간 섬유아세포	추후결정	추후결정																																																												
Phenion® FT Model	Henkel	독일	동경건조 콜라겐	1차 인간 각질형성세포	추후결정	추후결정																																																												
StrataTest®	Stratatech	미국	콜라겐 I	인간 각질형성세포 피부섬유아세포	추후결정	추후결정																																																												

			코드번호	C-03-02
구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
2차 년도 (2017)	돼지 피부 유래 탈세포화된 바이오 잉크 공정 확립	DNA 함량 50ng/mg 수준으로 탈세포화 공정 확립	돼지유래 탈세포화 바이오잉크 공정 확립을 위하여 여러 공정을 통해 바이오 잉크로 제작하여 잔류 DNA를 추출하여 측정함.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DNA 추출결과, #1 43.32±0.94 ng/mg #2 44.89±1.82 ng/mg 측정됨.</li> </ul>

	<p>확립된 바이오 잉크의 성분 및 물성 분석 수행</p>	<p>확보된 바이오 잉크에서 주요 세포외기질 성분(Collagen, GAG, Elastin)을 assay kit로 측정하고 Quantibody로 잉크 내 성장 인자 함유량 확인</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Collagen 함량: 35.15<math>\mu</math>g/mg</li> <li>• GAG 함량: 0.014<math>\mu</math>g/mg</li> <li>• Elastin 함량: 2.89<math>\mu</math>g/mg</li> <li>• 성장인자 50종의 함유량 분석</li> </ul>
	<p>Pepsin digestion으로 프린팅 가능하며 세포 생존이 가능한 바이오 잉크의 점도 확립</p>	<p>Pepsin을 이용한 단백질 용해공정 후 프린팅 가능한 바이오 잉크를 제작하고 그 점도를 일정 기간 확인</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 제작된 바이오 잉크가 겔화됨을 확인</li> <li>• 점도계를 통해 점탄성 측정 제작 후 4주 이상 유지됨을 확인</li> </ul>
	<p>프린팅 후 기본적인 세포 생존을 분석</p>	<p>확보된 바이오 잉크를 이용 프린팅하고 Live / Dead assay를 통해 세포 생존을 확인</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 농도별 바이오 잉크에 세포 혼합하여 프린팅 후, 세포 생존을 확인 결과 6% 바이오 잉크가 프린팅에 적합함을 확인</li> </ul>
<p>바이오 잉크의 안전성 시험 공인 기관 의뢰</p>	<p>확립된 바이오 잉크의 안전성 검증을 인증기관에 의뢰</p>	<p>엔도톡신, 용출물, 소핵 시험, 세포독성시험을 공인시험기관에 의뢰함.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 엔도톡신 시험: 음성 판정</li> <li>• 용출물 시험: 음성 판정</li> <li>• 유전독성시험(소핵시험) : 음성 판정</li> </ul>
	<p>재료 표준화 방법 확정 및 바이오 잉크 공정 적용, 생산</p>	<p>안정적 원재료 공급을 위한 업체 선정하고 그 원재료로 공정을 진행 확정하여 바이오 잉크 생산</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• (주)도드람과 수지식품에서 원재료를 공급받아 Bioink 제작, 성분 및 물성분석</li> <li>• 도드람 DNA 함량 1181.6ng/mg 반면 수지식품은 47.5<math>\pm</math>2.3ng/mg로 측정되어 원재료 공급은 수지식품으로 정함.</li> </ul>
<p>바이오 잉크의 안전성 시험</p>	<p>안전성 및 기능성 검증의 모델로 인공 피부 모델 중 진피층 제작</p>	<p>포항공대로부터 결과를 바탕으로 자사 인공 피부 모델 중 진피층 제작에 적합한 프린팅 방법 확인</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 진피층 표면이 일정하지 않은 것을 해결하기 위해 프린팅시 LED를 쬐어 겔화 유도한 결과, 표면이 고르고 세포 생존율에 영향 없음.</li> </ul>
<p>확립된 바이오 잉크의 세포독성 검사</p>	<p>피부세포 프린팅 시 바이오 잉크의 세포 안전성 검증</p>	<p>바이오 잉크를 이용한 사람 진피 섬유아세포 프린팅 후 배양하여 세포독성 평가</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 7일간 배양 시 약간의 지지체 수축이 관찰됨. Live/Dead assay 결과 프린팅이 세포 생존 및 증식에 큰 영향을 주지 않음을 확인.</li> </ul>
<p>확보된 바이오 잉크의 생체안전성</p>	<p>바이오 잉크의 급성 피부창상 치유효과 검증을</p>	<p>랫드 전층 피부창상 모델을 이용한 바이오 잉크의 조직 재생능 검증</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 14일째 콜라겐 처리군에 비해 바이오 잉크 처리군에서 뛰어난 피부부속기 재생능을 나타냄.</li> </ul>

<p>및 기능성 검증을 위한 동물모델 확립</p>	<p>위한 동물모델 확립</p>		
<p>확보된 바이오 잉크의 생체안전성 및 기능성 검증을 위한 동물모델 확립</p>	<p>만성 피부창상 치유효과 검증을 위한 동물모델 확립</p>	<p>토끼 귀 허혈 모델을 이용 한 바이오 잉크의 조직 재 생능 검증.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2.5%에 비해 4% 바이오 잉크 처리군에서 뛰어난 창상 치유 효 과를 나타냄.</li> </ul>
<p>확립된 바이오 잉크로 세포 프린팅 조건 확립</p>	<p>바이오 잉크 기반 인공 피부 모델 중 진피층 제작에 착수 및 분석</p>	<p>1차년도에 확립한 조건 범 위 (농도, 분사 속도 및 프린팅 속도)에 따른 확보 된 바이오 잉크의 프린팅 조건 확립 확보된 바이오잉크와 기존 의 콜라겐을 이용하여 프 린팅 한 진피층을 형성하 는 세포 (human dermal fibroblas)의 기능 평가</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 확보된 바이오잉크를 이용한 진 피층 제작 최적조건을 정립하여 주관 기관에 전달</li> <li>• 세포 생존률, 증식률 및 단백질 발현 분석을 통한 진피층의 기능 성 확인 및 상품화된 바이오잉크 와의 비교분석하고 주관 기관에 전달</li> </ul>
<p>바이오 잉크 관련 산업 동향 분석</p>	<p>인공피부 관련 시장 규모 파악</p>	<p>인공 피부실험 및 재생의료 분야 시장 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 벤처기업 열풍을 이루고 있는 바 이오산업 분야에서 단기간 시장 진입이 가능할 것으로 예상되는 분야 중 하나로 인공피부 분야 예측</li> <li>- 인공피부 관련 회사들은 세계적 수준으로 인정받고 있으며 대부분 회사가 국내, 국제 특허를 보유</li> <li>- 화장품 임상테스트용 피부 모 델로 개발되어 시장규모는 2002년 기준으로 150억 원 으로 추정되고 있으나, 안정적 시장을 형성한 상태는 아님</li> <li>• 인공 피부에 대한 기술은 2012년 12월 18일 기준으로 상처 치료를 위해 평가 시작</li> <li>- 상처치료를 위해서 피부를 대체 하기 위한 인공피부를 보건 의료 연구에서 품질을 관리</li> <li>• 생체 소재분야 및 재생 의료 분 야의 세계 시장 규모의 급성장으 로 향후 바이오 잉크의 시장규모 가 증가 할 것으로 전망</li> <li>- 글로벌 시장 예측기관인 Markets and Markets에 따르면</li> </ul>

			<p>세계 생체 소재 분야 시장은 7,090억 달러 ('16)에서 1,491억 7,000만 달러('21)로 연평균 16.0% 성장 전망</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 재생의료 시장은 134.1억 달러 ('16)에서 387억 달러 ('21)로 연평균 23.6%의 성장 전망</li> </ul>																								
	<p>주요 기업체 동향 분석 주요 기업체 동향 분석</p>	<p>체외 독성실험 기업 동향 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 일본 CosMED를 포함해 해외에서 체외독성실험을 위한 기관 및 회사들이 위탁 업무 수행</li> </ul>																								
		<p>체외 독성실험 기업 동향 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 일본 'CosMED'는 TTS (Transdermal Therapeutic System)를 기반으로 경피 흡수형 의약품, 화장품 및 점착성 소재 및 연구 장비 개발</li> <li>- 미국 'Institute for In Vitro Sciences'는 체외 독성에 관한 테스트 프로그램을 개발 하고, 최초의 제품을 만들기까지의 화장품, 가정용 제품, 특수 화학 제품, 의약품 등을 광범위한 체외 독성실험 진행</li> <li>- 영국 'Cyprotex'는 In Vitro 투과성, 피부흡수, 전달 물질, 용해도가 생체에 어떠한 영향을 끼치는지에 대한 전문 지식을 보유하고 전달하는 연구 진행</li> </ul>																								
			<div style="text-align: center;">  <p><b>[그림 1] CosMED TTS기술 적용분야</b></p> <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>1단계</th> <th>2단계</th> <th>3단계</th> <th>4단계</th> <th>5단계</th> <th>6단계</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>시험 재료의 자격</td> <td>분류</td> <td>3D판형</td> <td>양성 대조</td> <td>시험물질첨가</td> <td>시험기부 실험</td> </tr> <tr> <td>화학 물질 흡수 시스템 (CD)이 있는 케라틴에 첨가하여 시험 물질이 시험에 적합한지 측정</td> <td>적합하다고 결정이 되면 적절한 그룹을 나누어 분류 (2개 후의 사용)</td> <td>시험 물질이 Corrositex 분석을 위한 자격을 얻으면 Biobarrier membrane은적</td> <td>IVS 양성 대조 검사 재워터 범위와 비교 후 양성 대조의 검사 재워터 범위와 비교 분석</td> <td>CD5의 확립에 Biobarrier를 넣고 10분 동안 지속적인 양성 대조 검사 재워터 모니터링을 통해 관찰</td> <td>IVS 양성 대조 검사 재워터 범위와 비교 후 양성 대조 검사 재워터 범위와 비교분석</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p><b>[그림] IVS의 Corrositex® 분석법</b></p> </div>	1단계	2단계	3단계	4단계	5단계	6단계	시험 재료의 자격	분류	3D판형	양성 대조	시험물질첨가	시험기부 실험	화학 물질 흡수 시스템 (CD)이 있는 케라틴에 첨가하여 시험 물질이 시험에 적합한지 측정	적합하다고 결정이 되면 적절한 그룹을 나누어 분류 (2개 후의 사용)	시험 물질이 Corrositex 분석을 위한 자격을 얻으면 Biobarrier membrane은적	IVS 양성 대조 검사 재워터 범위와 비교 후 양성 대조의 검사 재워터 범위와 비교 분석	CD5의 확립에 Biobarrier를 넣고 10분 동안 지속적인 양성 대조 검사 재워터 모니터링을 통해 관찰	IVS 양성 대조 검사 재워터 범위와 비교 후 양성 대조 검사 재워터 범위와 비교분석						
1단계	2단계	3단계	4단계	5단계	6단계																						
시험 재료의 자격	분류	3D판형	양성 대조	시험물질첨가	시험기부 실험																						
화학 물질 흡수 시스템 (CD)이 있는 케라틴에 첨가하여 시험 물질이 시험에 적합한지 측정	적합하다고 결정이 되면 적절한 그룹을 나누어 분류 (2개 후의 사용)	시험 물질이 Corrositex 분석을 위한 자격을 얻으면 Biobarrier membrane은적	IVS 양성 대조 검사 재워터 범위와 비교 후 양성 대조의 검사 재워터 범위와 비교 분석	CD5의 확립에 Biobarrier를 넣고 10분 동안 지속적인 양성 대조 검사 재워터 모니터링을 통해 관찰	IVS 양성 대조 검사 재워터 범위와 비교 후 양성 대조 검사 재워터 범위와 비교분석																						
																											

**[표] Cyprotex의 SenCeeTox® 분석법**

구분	피부부식성 (Skin corrosion)	피부자극성 (Skin irritation)
사용된 피부 모델	MatTek EpiDerm TM 인간 피부 조직 모델 (다른 모델 가능)	MatTek EpiDerm TM 3D 인간 피부 조직 모델 (다른 모델 가능)
복제 수	3	1~3
노출 시간	1시간	1시간~48시간
양성 대조	8N 수산화칼륨	5 %의 도데 실 황산나트륨
부정적 제어	Ultrapure water	둘 배코 인산 완충 생리 식염수 (PBS)
종점	MTT Histology조직학	MTT IL- $\alpha$ 방출 또는 H&E 조직학 슬라이드
과학적 보증	ECVAM	ECVAM
국제 규정	OECD Test Guideline 431	OECD Test Guideline 439

바이오 잉크  
관련 산업  
동향 분석

주요 기업체  
동향 분석

Full thickness model  
기업체 동향 조사

- Full thickness model을 개발하고 있는 국내외 기업 동향 조사
  - (Episkin) L'Oreal의 자회사로 생물조직 공학 기업 SkinEthic의 인수를 통한 노하우 접목으로 동물 대체 실험방법을 개발하고 있으며, 최근 Organovo와 파트너십을 통해 3D 바이오 프린팅을 이용한 인공피부 제작 기술 개발 중
  - (Biomimiq) Biomimiq의 Human Skin Equivalents (HSEs)는 동물 모델을 사용 할 수 없고, 2차원 단층 세포배양 또는 임상실험 절차 없이 불가능한 Genomic, Proteomic, 의약개발 연구에 활용
  - (CELLSYSTEMS) CS는 2002년 'ISO9001 인증 (현재 ISO9001 : 2008)'을 획득하고, 2009년 ECVAM를 통해 EST 1000 방법을 피부 부식 시험을 위한 방법을 승인을 받으며, 프랑스의 ATERA SAS와 협력을 통해 Skin model 상용화
  - (Fraunhofer Life Sciences) 생명 과학과 관련된 연구를 수행하는 회사로, 연구 주제에 맞춰 생물공학, 생태학, 독성학, 세포 치료, 식품 및 포장 등 특화된 연구소를 운영하고 있으며, 'OECD-Guideline 432 and INVITTOX-Protocol 121'에 따라 in vitro skin model에 대한 광독성 test를 실시하여 'Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH (DAkKS)' 인증 ('14. 12)

<p>바이오 잉크 관련 산업 동향 분석</p>	<p>주요 기업체 동향 분석</p>	<p>Full thickness model 기업체 동향 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- (MatTek corp) MatTek corporation에서 제작한 피부, 안구 및 호흡기 모델은 규제 독성(OECD, EU 지침 등)에 사용되고 있으며, 개발 제품은 노화방지, 상처치유, 피부 수분 공급, 자외선 차단 등의 실험에서 활용</li> <li>- (Henkel) 동물 실험없이 원료와 제품의 안전성과 호환성을 평가하는 새로운 방법을 개발하기 위해 1980년대부터 연구를 수행하며, 세포 생물학, 물질과학, 화학, 독물학 및 조직 공학 분야를 결합한 연구팀 구성을 통해 전문성 확보하여 인공 피부 제품과 함께 유전 독성 테스트 방법인 3D-Skin COMET 분석 개발을 통해 독성 평가 솔루션 제공</li> <li>- (MCTT/바이오솔루션) 2000년 1월에 설립된 국내 기업으로 체세포 및 줄기세포 관련 기술로 세포기반 의약품 및 조직공학기술을 이용한 독성 및 효능 검증용 인체 조직 모델의 연구, 개발, 제조, 판매를 하고 있으며, OECD 테스트 가이드라인 국제 표준모델로 동물실험 대체법의 국제 표준모델 등재를 위한 검증연구 수행</li> <li>- (Tegoscience) 진피, 표피, 멜라닌세포의 조합으로 실험용 3D 피부 모델을 개발한 국내 기업으로 2002년 12월 '자기유래' 배양피부제인 홀러덤을 식품의약품안전처 (KFDA)로부터 품목허가를 받으며, 2004년 5월 네오덤 일본에 수출</li> </ul>
<p>바이오 잉크 관련 산업 동향 분석</p>	<p>주요 기업체 동향 분석</p>	<p>3D 바이오 잉크 기업체 동향 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3D 프린터용 바이오 잉크를 개발하고 있는 국내외 기업 동향 조사</li> <li>- (regenHU) 3D 바이오 테크놀로지 회사로 3D 바이오 프린팅 및 세포 기반 치료법의 잠재력을 이용하여 재생 의학 및 약물 발견을 위한 생체 의학 제품을 개발 하여 뼈, 근육,</li> </ul>



				<p>힘줄, 피부, 신장, 간 및 폐 등에 대한 플랫폼 및 생체 적합 물질을 제공하여 환자에 필요한 생물학적, 구조적 맞춤형 치료 방안 제시</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- (Cellink) 스웨덴의 세계 최초 바이오잉크 회사로 Cartilage, Skin, MSCs에 이용 가능한 바이오 잉크와 함께 바이오 프린터 개발</li> <li>- (Eastriver biosolutions) 줄기 세포 생물학, 종양학, 제약 약물 검사, 조직 공학 및 재생 의학 분야의 실험을 위한 세포 외 매트릭스 생체 재료 및 하이드로 겔, 스폰지, 발판, 세포 배양 배지 보충제 및 표면 코팅 솔루션의 형태로 품질 관리한 천연 매트릭스 제품 개발</li> <li>- (Medifab) 3D 프린팅 기반 개인 맞춤형 조직 및 장기재생이 가능한 바이오 잉크 및 치료제 개발을 위해 2016년 1월 창업한 국내 회사로 Cellrix 3D Cell Culture Strem, Cellrix Bio-Ink for 3D-Bio Print, 세포주 등을 개발</li> </ul>
	<p>바이오 잉크 관련 산업 동향 분석</p>	<p>기술 동향 분석</p>	<p>3D 프린팅 관련 R&amp;D 현황 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 바이오잉크와 관련하여 정부의 3D 프린팅과 관련된 연구개발 지원 현황 조사</li> <li>- 정부의 지원을 통해 수행된 R&amp;D 과제 중 '3D &amp; 프린터 &amp; 의료기기'를 핵심 키워드로 분석된 관련 과제는 총 42개이며 연구비 지원은 '12년 이후 지속적인 증가 추세로 향후 산업 시장이 커질 것으로 전망</li> <li>- 주요 연구수행 주체는 대학(38.1%), 중소기업(31.0%), 출연연구소(23.8%) 등으로 분석되며, 전 분야에서 기술 개발 중</li> </ul>

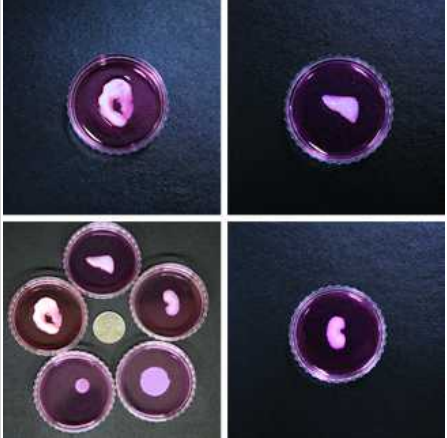

			<p>         &lt; 3D 프린팅 관련 R&amp;D 지원 현황 ('12~'16) &gt;      &lt; 정부부처 R&amp;D 사업 지원 비율 &gt;          &lt; 연구수행 주체 점유율 &gt;      &lt; 연구수행 지역 점유율 &gt;     </p> <p>출처 : '16년 기준 NTIS DB 분석결과를 기반으로 작성</p> <p><b>[그림] 3D 프린팅 관련 R&amp;D 지원 현황</b></p>
<p>선행특허 분석 및 특허회피전략 수립</p>	<p>기술 동향 분석</p>	<p>선행 특허 조사·분석</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>특히 회피 전략 마련을 위해 바이오 잉크 및 인공 피부 관련 선행 특허 조사</li> <li>관련 기술을 이용하여 특허 키워드를 구성해 2005년 1월부터 2017년 10월까지 미국, 일본, 유럽, 중국, 한국 등 주요 국가에 대한 특허 출원, 등록여부 조사</li> <li>특허 분석결과 총 45개 유사특허 중 노이즈를 제거하여 바이오 잉크 및 인공피부와 관련하여 13개 유사특허 조사</li> </ul>
<p>선행특허 분석 및 특허회피전략 수립</p>	<p>기술 동향 분석</p>		




			<p style="text-align: center;"><b>[표 3] 선행·유사특허 조사를 위한 키워드</b></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">데이터베이스</td> <td>Wisdomain (www.wisdomain.com )</td> </tr> <tr> <td>분석구간</td> <td>2005. 01 ~ 2017. 10</td> </tr> <tr> <td>검색범위</td> <td>Title or Abstract or 청구항으로 지정</td> </tr> <tr> <td>검색도메인</td> <td>한국, 미국, 유럽, 일본, 중국의 특허</td> </tr> <tr> <td>검색식</td> <td>((AD&gt;=20050101)) AND (TI=(""tissue ink*" OR ""Full thickness skin*" OR Bioink* OR ""Bioprintable ink*" OR ""Decellularized extracellular matrix bioink*" OR ""Cell-laden bioink*" OR ""human skin model*" OR ""바이오 잉크*" OR ""바이오프린터 잉크*")) OR AB=(""tissue ink*" OR ""Full thickness skin*" OR Bioink* OR ""Bioprintable ink*" OR ""Decellularized extracellular matrix bioink*" OR ""Cell-laden bioink*" OR ""human skin model*" OR ""바이오 잉크*" OR ""바이오프린터 잉크*"))</td> </tr> </table>	데이터베이스	Wisdomain (www.wisdomain.com )	분석구간	2005. 01 ~ 2017. 10	검색범위	Title or Abstract or 청구항으로 지정	검색도메인	한국, 미국, 유럽, 일본, 중국의 특허	검색식	((AD>=20050101)) AND (TI=(""tissue ink*" OR ""Full thickness skin*" OR Bioink* OR ""Bioprintable ink*" OR ""Decellularized extracellular matrix bioink*" OR ""Cell-laden bioink*" OR ""human skin model*" OR ""바이오 잉크*" OR ""바이오프린터 잉크*")) OR AB=(""tissue ink*" OR ""Full thickness skin*" OR Bioink* OR ""Bioprintable ink*" OR ""Decellularized extracellular matrix bioink*" OR ""Cell-laden bioink*" OR ""human skin model*" OR ""바이오 잉크*" OR ""바이오프린터 잉크*"))										
데이터베이스	Wisdomain (www.wisdomain.com )																						
분석구간	2005. 01 ~ 2017. 10																						
검색범위	Title or Abstract or 청구항으로 지정																						
검색도메인	한국, 미국, 유럽, 일본, 중국의 특허																						
검색식	((AD>=20050101)) AND (TI=(""tissue ink*" OR ""Full thickness skin*" OR Bioink* OR ""Bioprintable ink*" OR ""Decellularized extracellular matrix bioink*" OR ""Cell-laden bioink*" OR ""human skin model*" OR ""바이오 잉크*" OR ""바이오프린터 잉크*")) OR AB=(""tissue ink*" OR ""Full thickness skin*" OR Bioink* OR ""Bioprintable ink*" OR ""Decellularized extracellular matrix bioink*" OR ""Cell-laden bioink*" OR ""human skin model*" OR ""바이오 잉크*" OR ""바이오프린터 잉크*"))																						
			<p style="text-align: center;"><b>[표 4] 분석대상 핵심 특허</b></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>No</th> <th>특허(등록/공개) 번호</th> <th>(등록/공개) 일자</th> <th>출원인</th> <th>발명의 명칭</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>[US] 8278068B2</td> <td>2012.10.02</td> <td>Symrise AG</td> <td>Ex vivo human skin model</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>[CN] 200810030387</td> <td>2008.08.26</td> <td>Cheng Shujun</td> <td>Method for preparing full-thickness skin for toxicity test by stem cell raft type cultivation</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>[CN] 200680016395</td> <td>2006.05.12</td> <td>Netech Inc</td> <td>Medical composition for promotion of skin regeneration</td> </tr> </tbody> </table>	No	특허(등록/공개) 번호	(등록/공개) 일자	출원인	발명의 명칭	1	[US] 8278068B2	2012.10.02	Symrise AG	Ex vivo human skin model	2	[CN] 200810030387	2008.08.26	Cheng Shujun	Method for preparing full-thickness skin for toxicity test by stem cell raft type cultivation	3	[CN] 200680016395	2006.05.12	Netech Inc	Medical composition for promotion of skin regeneration
No	특허(등록/공개) 번호	(등록/공개) 일자	출원인	발명의 명칭																			
1	[US] 8278068B2	2012.10.02	Symrise AG	Ex vivo human skin model																			
2	[CN] 200810030387	2008.08.26	Cheng Shujun	Method for preparing full-thickness skin for toxicity test by stem cell raft type cultivation																			
3	[CN] 200680016395	2006.05.12	Netech Inc	Medical composition for promotion of skin regeneration																			

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용				
2차 년도 (2017)	선행특허 분석 및 특허회피전략 수립	기술 동향 분석	<b>[표 6] 분석대상 핵심 특허</b>				
			No	특허(등록/공개) 번호	(등록/공개) 일자	출원인	발명의 명칭
			4	[EP] 3215603 A1	2017.09.13	Organovo, Inc., L'Oréal	Engineered three-dimensio nal skin tissues, arrays thereof, and methods of making the same
			5	[US] 9392257	2017.03.14	MWV Cell, LLC	Complete human skin organ generated from culture-expande d cells
			6	[KR] 177083B1	2017.08.18	주식회사 바이오솔루션	저온배양을 이용한 3차원 인공피부모델 제조방법 및 이를 이용한 인체 독성물질의 평가방법
			7	[KR] 175797B1	2017.07.07	이주대학교 산학협력단	바이오 잉크의 제조방법 및 3D 프린터 적용
			8	[CN] 201510503781	2015.08.17	SHAANXI BIOCELL BIOTECHNOL OGY CO., LTD.	Full-thickness skin model for in-vitro alternative tests and preparation method of full-thickness skin model
			9	[CN] 201510183861	2015.04.17	SHAANXI BIOCELL BIO TECHNOLOGY CO., LTD.	Method for building full-thickness skin models
			10	[EP] 201583965	2015.09.07	ORGAN TECH NOLOGIES, INC.	METHOD OF PRODUCING FULL THICKNESS SKIN HAVING SKIN ACCESSORY ORGANS
			11	[WO] 2017011854 A1	2017.01.26	Inventia Life Science Pty Ltd	Process for printing 3d tissue culture models
			12	[KR] 2016009614A	2016.07.21	주식회사 바이오잉크 솔루션스	물리적 및 생물학적 특성이 개선된 바이오 잉크 조성물
			13	[KR] 1020130056856	2013.05.31	(주)아모레 퍼시픽	멜라닌형성세포 를 함유하는 인공피부 및 이의 제조방법








구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과																																	
2차 년도 (2017)	선행특허 분석 및 특허회피전략 수립	특허 회피전략 제시	특허 회피전략 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 최종적으로 조사된 12개 유사특허의 핵심요지를 분석하여 특허 회피 전략 제시</li> <li>- 각 특허별 핵심요지를 파악하여 특허의 주요 내용을 분석하고, 유사특허 회피 설계 방안 제시</li> <li>- 분석된 특허 중 바이오 잉크를 이용한 피부조직 모델 개발 특허 존재</li> <li>- 동 사업의 연구성과는 특허의 새로운 기술이라는 측면에서 기술의 신규성을 만족하며, 기존 바이오 잉크, 인공피부와 기술적 차별성을 확보할 수 있을 것으로 분석</li> </ul>																																	
			<b>[표] 특허별 핵심요지 분석</b>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th data-bbox="788 1081 831 1155">No</th> <th data-bbox="831 1081 983 1155">특허(등록/공개) 번호</th> <th data-bbox="983 1081 1390 1155">핵심요지</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="788 1155 831 1234">1</td> <td data-bbox="831 1155 983 1234">[US] 8278068B2</td> <td data-bbox="983 1155 1390 1234">- 기증자를 통해 사람의 피부 샘플을 취하여, 세척, 건조를 통해 피부의 특성 보호</td> </tr> <tr> <td data-bbox="788 1234 831 1312">2</td> <td data-bbox="831 1234 983 1312">[CN] 200810030387</td> <td data-bbox="983 1234 1390 1312">- 줄기 세포를 사용하여 전체 두께의 피부 조직을 구성</td> </tr> <tr> <td data-bbox="788 1312 831 1391">3</td> <td data-bbox="831 1312 983 1391">[CN] 200680016395</td> <td data-bbox="983 1312 1390 1391">- 하이드로 겔, 하이드로 콜로이드, 콜라겐, 젤라틴 제제로 피부 재생 촉진 약품 구성</td> </tr> <tr> <td data-bbox="788 1391 831 1491">4</td> <td data-bbox="831 1391 983 1491">[EP] 3215603 A1</td> <td data-bbox="983 1391 1390 1491">- 세포구성을 위한 피부 생체 바이오 잉크로 진피·표피층 구성을 위해 Fibroblast를 포함하여 피부 조직 형성</td> </tr> <tr> <td data-bbox="788 1491 831 1570">5</td> <td data-bbox="831 1491 983 1570">[US] 9592257</td> <td data-bbox="983 1491 1390 1570">- 조직배양 세포를 통해 상피·진피 세포의 공동 배양을 통해 인공 피부 개발</td> </tr> <tr> <td data-bbox="788 1570 831 1648">6</td> <td data-bbox="831 1570 983 1648">[KR] 1770983B1</td> <td data-bbox="983 1570 1390 1648">- 인체에서 분리된 피부각질세포를 3차원 배양하여 인공피부모델 제조</td> </tr> <tr> <td data-bbox="788 1648 831 1727">7</td> <td data-bbox="831 1648 983 1727">[KR] 1757977B1</td> <td data-bbox="983 1648 1390 1727">- 여러개 생체 고분자를 독립 또는 혼합하여 2액형 3D 프린터용 바이오 잉크 개발</td> </tr> <tr> <td data-bbox="788 1727 831 1805">8</td> <td data-bbox="831 1727 983 1805">[CN] 201510503781</td> <td data-bbox="983 1727 1390 1805">- 지방, 진피, 스킨 층 구성을 위해 각 층별 줄기 세포를 통해 피부구조 구성</td> </tr> <tr> <td data-bbox="788 1805 831 1906">9</td> <td data-bbox="831 1805 983 1906">[CN] 201510183861</td> <td data-bbox="983 1805 1390 1906">- 배양 된 섬유 아세포 및 상피 세포를 통해 피부모델을 구성하여 전층 피부의 두께는 약 100.0 μ m로 구성</td> </tr> <tr> <td data-bbox="788 1906 831 1984">10</td> <td data-bbox="831 1906 983 1984">[EP] 2015839965</td> <td data-bbox="983 1906 1390 1984">- Wnt pathway의 활성화를 통해 배아체를 자극하여 이를 통한 피부층 구성</td> </tr> <tr> <td data-bbox="788 1984 831 2031">11</td> <td data-bbox="831 1984 983 2031">[WO]</td> <td data-bbox="983 1984 1390 2031">- 세포가 포함된 하나 이상의 고분자 형태로</td> </tr> </tbody> </table>	No	특허(등록/공개) 번호	핵심요지	1	[US] 8278068B2	- 기증자를 통해 사람의 피부 샘플을 취하여, 세척, 건조를 통해 피부의 특성 보호	2	[CN] 200810030387	- 줄기 세포를 사용하여 전체 두께의 피부 조직을 구성	3	[CN] 200680016395	- 하이드로 겔, 하이드로 콜로이드, 콜라겐, 젤라틴 제제로 피부 재생 촉진 약품 구성	4	[EP] 3215603 A1	- 세포구성을 위한 피부 생체 바이오 잉크로 진피·표피층 구성을 위해 Fibroblast를 포함하여 피부 조직 형성	5	[US] 9592257	- 조직배양 세포를 통해 상피·진피 세포의 공동 배양을 통해 인공 피부 개발	6	[KR] 1770983B1	- 인체에서 분리된 피부각질세포를 3차원 배양하여 인공피부모델 제조	7	[KR] 1757977B1	- 여러개 생체 고분자를 독립 또는 혼합하여 2액형 3D 프린터용 바이오 잉크 개발	8	[CN] 201510503781	- 지방, 진피, 스킨 층 구성을 위해 각 층별 줄기 세포를 통해 피부구조 구성	9	[CN] 201510183861	- 배양 된 섬유 아세포 및 상피 세포를 통해 피부모델을 구성하여 전층 피부의 두께는 약 100.0 μ m로 구성	10	[EP] 2015839965	- Wnt pathway의 활성화를 통해 배아체를 자극하여 이를 통한 피부층 구성
No	특허(등록/공개) 번호	핵심요지																																			
1	[US] 8278068B2	- 기증자를 통해 사람의 피부 샘플을 취하여, 세척, 건조를 통해 피부의 특성 보호																																			
2	[CN] 200810030387	- 줄기 세포를 사용하여 전체 두께의 피부 조직을 구성																																			
3	[CN] 200680016395	- 하이드로 겔, 하이드로 콜로이드, 콜라겐, 젤라틴 제제로 피부 재생 촉진 약품 구성																																			
4	[EP] 3215603 A1	- 세포구성을 위한 피부 생체 바이오 잉크로 진피·표피층 구성을 위해 Fibroblast를 포함하여 피부 조직 형성																																			
5	[US] 9592257	- 조직배양 세포를 통해 상피·진피 세포의 공동 배양을 통해 인공 피부 개발																																			
6	[KR] 1770983B1	- 인체에서 분리된 피부각질세포를 3차원 배양하여 인공피부모델 제조																																			
7	[KR] 1757977B1	- 여러개 생체 고분자를 독립 또는 혼합하여 2액형 3D 프린터용 바이오 잉크 개발																																			
8	[CN] 201510503781	- 지방, 진피, 스킨 층 구성을 위해 각 층별 줄기 세포를 통해 피부구조 구성																																			
9	[CN] 201510183861	- 배양 된 섬유 아세포 및 상피 세포를 통해 피부모델을 구성하여 전층 피부의 두께는 약 100.0 μ m로 구성																																			
10	[EP] 2015839965	- Wnt pathway의 활성화를 통해 배아체를 자극하여 이를 통한 피부층 구성																																			
11	[WO]	- 세포가 포함된 하나 이상의 고분자 형태로																																			

			<table border="1"> <tr> <td></td> <td>2017011854A1</td> <td>하이드로 겔 구조를 생성하는 바이오잉크</td> </tr> <tr> <td>12</td> <td>[KR] 20160092614A</td> <td>- 탈세포화된 조직유래 성분을 바이오 잉크 조성물에 추가하여, 프린터링된 구조체 내에서 세포를 성장하고 분화</td> </tr> <tr> <td>13</td> <td>[KR] 1020130056956</td> <td>- 섬유아세포, 각질형성세포 및 멜라닌형성 세포를 함유하는 인공피부로 각질형성세포와 멜라닌형성세포를 동시에 혼합하여 배양하는 것을 특징으로 하는 인공피부</td> </tr> </table>		2017011854A1	하이드로 겔 구조를 생성하는 바이오잉크	12	[KR] 20160092614A	- 탈세포화된 조직유래 성분을 바이오 잉크 조성물에 추가하여, 프린터링된 구조체 내에서 세포를 성장하고 분화	13	[KR] 1020130056956	- 섬유아세포, 각질형성세포 및 멜라닌형성 세포를 함유하는 인공피부로 각질형성세포와 멜라닌형성세포를 동시에 혼합하여 배양하는 것을 특징으로 하는 인공피부
	2017011854A1	하이드로 겔 구조를 생성하는 바이오잉크										
12	[KR] 20160092614A	- 탈세포화된 조직유래 성분을 바이오 잉크 조성물에 추가하여, 프린터링된 구조체 내에서 세포를 성장하고 분화										
13	[KR] 1020130056956	- 섬유아세포, 각질형성세포 및 멜라닌형성 세포를 함유하는 인공피부로 각질형성세포와 멜라닌형성세포를 동시에 혼합하여 배양하는 것을 특징으로 하는 인공피부										
2차 년도 (2017)	선행특허 분석 및 특허회피전략 수립	특허 회피전략 제시	<p style="text-align: center;"><b>[표] 특허별 핵심요지 분석</b></p> <table border="1"> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;"> <b>검토의견 (종합유사도 및 대처방안)</b> </td> <td> <p>◎ 동 사업을 통해 최종적으로 개발하고자 하는 돼지유래 바이오 잉크의 선행특허를 조사한 결과, 연구 성과물과 관련있는 유사 선행특허가 존재하는 것으로 조사됨</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- (바이오잉크솔루션즈) ‘물리적 및 생물학적 특성이 개선된 바이오 잉크 조성물(KR 20160092614A)’는 바이오 잉크를 이용한 세포조직을 구성을 위해 돼지의 근육조직을 사용하고 있어 해당 청구항에 대한 회피 전략 마련 필요</li> <li>- (L’Oréal) Organovo와 공동으로 출원한 ‘Engineered three-dimensional skin tissues, arrays thereof, and methods of making the same (EP 3215603 A1)’은 에어로졸 스프레이 인쇄 방법으로 생체 피부 설계</li> <li>- 동 사업의 최종 목표는 분말형태의 세포 외기질을 바이오 잉크로 제작하는 것으로 선행특허와 일부 유사성은 있으나, 분말 형태의 세포외기질 추출과, Pepsin을 이용한 단백질의 용해 공정은 선행특허와 다른 새로운 바이오 잉크제작 기술이라는 측면에서 기술의 신규성을 만족할 것으로 분석</li> <li>- 인공피부 및 피부재생과 관련해서 선행 특허의 경우 세포 배양을 통한 Tissue형태의 피부 조직 model 개발로 돼지피부 유래 바이오 잉크는 기술적 차별성을 확보할 수 있는 것으로 분석 됨</li> </ul> </td> </tr> </table>	<b>검토의견 (종합유사도 및 대처방안)</b>	<p>◎ 동 사업을 통해 최종적으로 개발하고자 하는 돼지유래 바이오 잉크의 선행특허를 조사한 결과, 연구 성과물과 관련있는 유사 선행특허가 존재하는 것으로 조사됨</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- (바이오잉크솔루션즈) ‘물리적 및 생물학적 특성이 개선된 바이오 잉크 조성물(KR 20160092614A)’는 바이오 잉크를 이용한 세포조직을 구성을 위해 돼지의 근육조직을 사용하고 있어 해당 청구항에 대한 회피 전략 마련 필요</li> <li>- (L’Oréal) Organovo와 공동으로 출원한 ‘Engineered three-dimensional skin tissues, arrays thereof, and methods of making the same (EP 3215603 A1)’은 에어로졸 스프레이 인쇄 방법으로 생체 피부 설계</li> <li>- 동 사업의 최종 목표는 분말형태의 세포 외기질을 바이오 잉크로 제작하는 것으로 선행특허와 일부 유사성은 있으나, 분말 형태의 세포외기질 추출과, Pepsin을 이용한 단백질의 용해 공정은 선행특허와 다른 새로운 바이오 잉크제작 기술이라는 측면에서 기술의 신규성을 만족할 것으로 분석</li> <li>- 인공피부 및 피부재생과 관련해서 선행 특허의 경우 세포 배양을 통한 Tissue형태의 피부 조직 model 개발로 돼지피부 유래 바이오 잉크는 기술적 차별성을 확보할 수 있는 것으로 분석 됨</li> </ul>							
<b>검토의견 (종합유사도 및 대처방안)</b>	<p>◎ 동 사업을 통해 최종적으로 개발하고자 하는 돼지유래 바이오 잉크의 선행특허를 조사한 결과, 연구 성과물과 관련있는 유사 선행특허가 존재하는 것으로 조사됨</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- (바이오잉크솔루션즈) ‘물리적 및 생물학적 특성이 개선된 바이오 잉크 조성물(KR 20160092614A)’는 바이오 잉크를 이용한 세포조직을 구성을 위해 돼지의 근육조직을 사용하고 있어 해당 청구항에 대한 회피 전략 마련 필요</li> <li>- (L’Oréal) Organovo와 공동으로 출원한 ‘Engineered three-dimensional skin tissues, arrays thereof, and methods of making the same (EP 3215603 A1)’은 에어로졸 스프레이 인쇄 방법으로 생체 피부 설계</li> <li>- 동 사업의 최종 목표는 분말형태의 세포 외기질을 바이오 잉크로 제작하는 것으로 선행특허와 일부 유사성은 있으나, 분말 형태의 세포외기질 추출과, Pepsin을 이용한 단백질의 용해 공정은 선행특허와 다른 새로운 바이오 잉크제작 기술이라는 측면에서 기술의 신규성을 만족할 것으로 분석</li> <li>- 인공피부 및 피부재생과 관련해서 선행 특허의 경우 세포 배양을 통한 Tissue형태의 피부 조직 model 개발로 돼지피부 유래 바이오 잉크는 기술적 차별성을 확보할 수 있는 것으로 분석 됨</li> </ul>											

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
3차 년도 (2018)	안전성 인증 받아 제품에 적합한 바이오 잉크 개발(티앤알바 이오팩)	다양한 구조체를 프린팅 제작하여 구조체의 안정성 검토	귀, 간, 위 등과 같은 조직 형태를 구조체를 프린팅하여 구조 유지됨을 확인	 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 귀, 간, 위와 같은 복잡한 구조 조직형태를 프린팅으로 형태를 유지할수 있음을 확인함.</li> </ul>
		표준화된 재료로 바이오 잉크 대량 생산 공정을 확립	바이오 잉크의 프린팅 안 정성 검증	 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 바이오 잉크의 프린팅시 안전성 을 위한 무균시험을 그린피아 에 의뢰하여 진행하였고 모든 의뢰 한 샘플에서 음성이 확인되어 무 균확인 입증함.</li> </ul>
			수지식품으로부터 받은 원 재료를 이용하여 대량 생 산 공정을 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 수지 식품에서 받은 원재료 입고 및 분류 후, 기존 탈세포화 공정 에 원재료 양을 4배 이상 준비 함. 탈세포화 과정을 거쳐 동결건조 후, 분말 제작함.</li> </ul> <p>기존 탈세포화 공정에 원재료를 포</p>

				<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">방법</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>조건</td> <td>Stirrer 200rpm.</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>지방층 및 epidermis 제거 후 (into size of 1mm×1mm) chopping</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>Mixer</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>3' DW</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>0.5% trypsin-EDTA(1xPBS)</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>1X PBS washing</td> </tr> <tr> <td>6</td> <td>1% Triton X-100(1xPBS)</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>1X PBS</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td>0.1% Peracetic acid (in 4% EtOH)</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td>D.W 2h (+ 1% P/S)</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>Freezing and lyophilize</td> </tr> <tr> <td>11</td> <td>Freezer mill</td> </tr> </tbody> </table> <p>함한 시약과 준비물을 4배이상 준비하여 공정을 진행함.</p> <p>bioink 생산 후 4°C 보관 기간에 따른 제형 변형 확인함.  생산된 샘플의 배송시 제형의 형태가 유지될수 있는 최종 제형으로 생산함.  최종 생산된 제형을 배송에 따른 변화 있는지 GAG, Collagen, Viscosity 확인함.</p>   	방법		조건	Stirrer 200rpm.	1	지방층 및 epidermis 제거 후 (into size of 1mm×1mm) chopping	2	Mixer	3	3' DW	4	0.5% trypsin-EDTA(1xPBS)	5	1X PBS washing	6	1% Triton X-100(1xPBS)	7	1X PBS	8	0.1% Peracetic acid (in 4% EtOH)	9	D.W 2h (+ 1% P/S)	10	Freezing and lyophilize	11	Freezer mill
방법																														
조건	Stirrer 200rpm.																													
1	지방층 및 epidermis 제거 후 (into size of 1mm×1mm) chopping																													
2	Mixer																													
3	3' DW																													
4	0.5% trypsin-EDTA(1xPBS)																													
5	1X PBS washing																													
6	1% Triton X-100(1xPBS)																													
7	1X PBS																													
8	0.1% Peracetic acid (in 4% EtOH)																													
9	D.W 2h (+ 1% P/S)																													
10	Freezing and lyophilize																													
11	Freezer mill																													
<p>생산공정의 규격화 및 QC/QA 조건확립</p>	<p>대량생산 공정후 배송에 적합한 최종 제형 선정</p>																													



				<table border="1"> <tr> <td>GAG biocolor (ug/mg)</td> <td>Sponge</td> <td>Collagen SIGMA (ug/mg)</td> <td>Sponge</td> <td>Shear rate (s<sup>-1</sup>) 2%</td> <td>Sponge</td> </tr> <tr> <td>비송 전</td> <td>0.45±0.01</td> <td>비송 전</td> <td>780.75±37.71</td> <td>비송 전</td> <td>95.80±2.45</td> </tr> <tr> <td>비송 후</td> <td>0.44±0.01</td> <td>비송 후</td> <td>935.32±28.15</td> <td>비송 후</td> <td>111.53±2.02</td> </tr> </table> <table border="1"> <tr> <td></td> <td>Collagen (hydroxyproline ug/mg)</td> <td>GAGs (ug/mg)</td> <td>Viscosity (Pa·s)/U</td> <td>제수의 점도측정</td> </tr> <tr> <td>Skin</td> <td>Mean ± STD (n)</td> <td>0.68±0.02</td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th>항목</th> <th>세부항목</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>기기</td> <td>모기, 인젝터</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">Dewarcontainer</td> <td>LN2 (Pneumatic style, France, m8)</td> </tr> <tr> <td>일용(PLC-118)</td> </tr> <tr> <td>Probe</td> </tr> <tr> <td>LN2 (4L)</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">Pipette Dispenser (for neutralization)</td> <td>Titration (100)</td> </tr> <tr> <td>sample (hydroxyproline)</td> </tr> <tr> <td>Ultra Pure Water</td> </tr> <tr> <td>물감유</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">측정기기</td> <td>Factor</td> </tr> <tr> <td>REACTANT (methyl acid)</td> </tr> <tr> <td>pH meter</td> </tr> <tr> <td>Cell filter</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">공급</td> <td>Cell filter (100um)</td> </tr> <tr> <td>Alcohol pen (50)</td> </tr> <tr> <td>100mm pen (50)</td> </tr> <tr> <td>칼 (10cm)</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">측정용액</td> <td>100mm (100um)</td> </tr> <tr> <td>100mm (100um)</td> </tr> <tr> <td>100mm (100um)</td> </tr> <tr> <td>100mm (100um)</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">측정용액</td> <td>100mm (100um)</td> </tr> <tr> <td>100mm (100um)</td> </tr> <tr> <td>100mm (100um)</td> </tr> <tr> <td>100mm (100um)</td> </tr> </tbody> </table> <p>항목 (100mm 100um) - 100mm (100um) 범위 내 측정 가능</p> <p>skin sponge 1 (vial)(0.1mg) 생산사 해당 단위 24,102.64</p>	GAG biocolor (ug/mg)	Sponge	Collagen SIGMA (ug/mg)	Sponge	Shear rate (s <sup>-1</sup> ) 2%	Sponge	비송 전	0.45±0.01	비송 전	780.75±37.71	비송 전	95.80±2.45	비송 후	0.44±0.01	비송 후	935.32±28.15	비송 후	111.53±2.02		Collagen (hydroxyproline ug/mg)	GAGs (ug/mg)	Viscosity (Pa·s)/U	제수의 점도측정	Skin	Mean ± STD (n)	0.68±0.02			항목	세부항목	기기	모기, 인젝터	Dewarcontainer	LN2 (Pneumatic style, France, m8)	일용(PLC-118)	Probe	LN2 (4L)	Pipette Dispenser (for neutralization)	Titration (100)	sample (hydroxyproline)	Ultra Pure Water	물감유	측정기기	Factor	REACTANT (methyl acid)	pH meter	Cell filter	공급	Cell filter (100um)	Alcohol pen (50)	100mm pen (50)	칼 (10cm)	측정용액	100mm (100um)	100mm (100um)	100mm (100um)	100mm (100um)	측정용액	100mm (100um)	100mm (100um)	100mm (100um)	100mm (100um)
GAG biocolor (ug/mg)	Sponge	Collagen SIGMA (ug/mg)	Sponge	Shear rate (s <sup>-1</sup> ) 2%	Sponge																																																													
비송 전	0.45±0.01	비송 전	780.75±37.71	비송 전	95.80±2.45																																																													
비송 후	0.44±0.01	비송 후	935.32±28.15	비송 후	111.53±2.02																																																													
	Collagen (hydroxyproline ug/mg)	GAGs (ug/mg)	Viscosity (Pa·s)/U	제수의 점도측정																																																														
Skin	Mean ± STD (n)	0.68±0.02																																																																
항목	세부항목																																																																	
기기	모기, 인젝터																																																																	
Dewarcontainer	LN2 (Pneumatic style, France, m8)																																																																	
	일용(PLC-118)																																																																	
	Probe																																																																	
	LN2 (4L)																																																																	
Pipette Dispenser (for neutralization)	Titration (100)																																																																	
	sample (hydroxyproline)																																																																	
	Ultra Pure Water																																																																	
	물감유																																																																	
측정기기	Factor																																																																	
	REACTANT (methyl acid)																																																																	
	pH meter																																																																	
	Cell filter																																																																	
공급	Cell filter (100um)																																																																	
	Alcohol pen (50)																																																																	
	100mm pen (50)																																																																	
	칼 (10cm)																																																																	
측정용액	100mm (100um)																																																																	
	100mm (100um)																																																																	
	100mm (100um)																																																																	
	100mm (100um)																																																																	
측정용액	100mm (100um)																																																																	
	100mm (100um)																																																																	
	100mm (100um)																																																																	
	100mm (100um)																																																																	
		<p>유동기한, QC/QA 조건 확립</p> <p>모든 조건을 토대로 원가 산정</p> <p>안전성 시험</p> <p>생균수 시험 의뢰</p>																																																																
	<p>제품화에 요구되는 최적 프린팅 공정 확립 및 인공 피부 모델 제작 연구 수행 (포스텍)</p>	<p>잉크젯 프린팅 공정 확보 및 최종 인공피부 구조체 제작 및 검증</p>	<p>잉크젯 분사 방식을 이용한 표피층 (epidermis) 제작 공정 확립</p> <p>인공피부 구조체 제작을 위한 프린팅 플랫폼 개발</p>	<p>다양한 프린팅 변수 (pressure, frequency, voltage, nozzle diameters) 조절을 통한 각질세포 분사 프로토콜 정립함.</p> <p>프린팅 직후 90% 세포 생존율이 유지하는 것을 확인함.</p> <p>일주일 동안 세포 증식이 활발히 일어나는 것을 관찰함.</p> <p>프린팅 가능한 생체 합성 고분자 (polycaprolactone, PCL) 기반 기능</p>																																																														

			성 트랜스웰 (transwell)을 제작 제작된 트랜스웰 위에 섬유아세포 (fibroblasts) 각질세포 (keratinocytes)를 성공적으로 위치 시킴.
			진피층 내부의 발현된 collagen type I 단백질을 관찰함. 조직화된 인공피부 표피층에 구획된 K10와 Involucrin 가 발현하는 것을 관찰함.
확립된 동물 모 델에서 바이오 잉크의 안전성 및 성능 검증 (전남대)	확립된 동물 모델 에서 3D 프린팅 된 피부의 생체조 직과의 동화, 표피 와 진피의 결합력 을 평가	마우스 chimney 모델에서 인공피부의 창상치유효과 확인	3D 프린팅 된 피부의 생체 적용 시 표피 구조의 재생 및 콜라겐 생성 밀도가 높은 것을 확인
	확립된 동물 모델 에서 3D 프린팅 된 피부의 생체 조 직 내 안전성 및 성능 평가	마우스 chimney 모델에서 F4/80, Ki 67, Cytokeratin 14 발현 평가	3D 프린팅 된 피부의 생체 적용 시 염증 반응이 적으며 재생피화 속도 가 빠른 것을 확인

		코드번호	C-04
연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용	
DNA 함량 50ng/mg 수 준으로 탈세포화 공정 확립	미국 피츠버그대학의 Badylak 그룹에 서 발표한 논문의 탈세포화 공정을 기반으로 탈세포화 하여 DAPI, H&E 염색, 전기영동, DNA 잔류량 정량 실험 기법으로 확인함.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 논문에 기재된 enzyme과 non ionic detergent를 기반으로 처리 시간 및 농도를 조절하며 DNA 함량 50ng/mg 수준으로 탈세포화 공정을 확립.</li> <li>• DAPI, H&amp;E 염색하여 DNA의 존재 여부를 정성적으로 확인</li> <li>• DNA 정량 kit를 이용하여 DNA 추출하고 ELISA 기기를 통해 DNA 잔류량을 정량적 확인 및 전기 영동으로 경향 확인.</li> </ul>	
확립된 바이오 잉크의 성분 및 물성 분석 수행	DNA 잔류량이 50ng/mg 이하가 된 공정의 바이오잉크에서 세포외기질 성분 Collagen, GAG, Elastin을 각 assay kit를 사용하여 함유량 확인	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 해당 kit에서 제공된 protocol을 통해 피부에서 주로 존재하는 세포외기질을 정량</li> <li>• 반복 공정에서 일정한 수치가 측정됨을 확인함으로써 바이오 잉크공정이 확립되었음을 증명</li> </ul>	
Pepsin digestion으로	확립된 바이오 잉크가 프린팅이 가능	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 확립된 바이오 잉크를 제작하여</li> </ul>	

프린팅 가능하며 세포 생존이 가능한 바이오 잉크의 점도 확립	<p>하려면 일정 점탄성이 확보되어야함. 이를 확인하기 위해 잉크를 제작하고 일정기간 유지되는지 점탄성을 확인</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 37도에서 30분 이상 유지하며 겔화 여부를 확인</li> <li>• 일정 온도 내에서 0.1Hz~10Hz 세기를 가하면서 바이오 잉크의 점탄성이 유지되는지를 4주 이상 관찰함.</li> </ul>
프린팅 후 기본적인 세포 생존을 분석	<p>프린팅에 적합한 잉크 농도를 확인하기 위해 바이오 잉크를 농도별로 제작하고 각각 세포를 섞어 프린팅 후 Live/Dead assay를 통해 세포 생존율을 확인</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 농도별로 제작한 바이오 잉크에 세포를 섞어 프린팅하고 날짜별로 Live/Dead assay로 세포 생존율을 확인, 6% 바이오잉크가 프린팅에 적합함을 확인함.</li> </ul>
확립된 바이오 잉크의 안전성 시험 공인기관 의뢰	<p>공정 확립된 바이오 잉크의 안전성을 확인하기 위해 생물학적 안전에 관한 시험과 물리 화학적 특성을 공인 시험기관인 한국화학융합시험 연구원 (KTR) 에 의뢰함.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 생물학적 안전도 확인시험 (엔도독신, 소핵시험, 세포독성)과 물리화학적 특성 확인시험 (용출물시험)을 의뢰함.</li> </ul>
재료 표준화 방법 확정 및 바이오 잉크 공정 적용, 생산	<p>탈세포의 원재료인 돼지 피부를 안정적으로 구할 수 있는 업체인 (주)도드람과 수지식품으로부터 원재료를 확보하여 탈세포화 공정을 거치고 바이오 잉크 제작 후, 잔류 DNA 측정함으로써 탈세포화 정도를 확인함.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 동일 공정을 각 원재료에 적용시키고 동일 DNA 측정 방법으로 분석 비교하여 DNA 잔류량이 50ng/mg 이하인 원재료를 확정, 바이오 잉크 제작 공정에 사용</li> </ul>
공정이 확립된 바이오잉크로 인공 피부 모델 중 진피층 제작	<p>공정에 따라 제작된 바이오 잉크에 세포를 탑재하고 적합한 프린팅 방법을 통해 진피층을 제작 후, 세포 생존율을 분석</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 인공 피부 모델 프린팅을 위해 고분자로 격벽을 제작하고 프린팅 산물이 일정할 수 있는 프린팅법으로 진피층을 제작</li> </ul>
4% 바이오 잉크를 이용하여 사람 유 피부세포 프린팅 시 바이오 잉크의 세포 안전성 검증	<p>4% 바이오 잉크를 이용하여 사람 유 피부 섬유아세포 (human dermal fibroblasts; HDFs)를 약 6 mm 높이로 프린팅 후 배양하여 세포독성 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 7일간 배양 시 약간의 지지체 수축이 관찰됨. Live/Dead assay 결과 프린팅이 세포 생존 및 증식에 큰 영향을 주지 않음을 확인.</li> </ul>
바이오잉크의 급성 피부창상 치유효과 검증을 위한 동물모델 확립	<p>랫드에서 피부창상 스플린팅 모델을 이용하여 3, 7, 14일 후 안락사하여 조직검사를 통한 조직 유도/재생능 확인</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 랫드의 등 피부에 직경 6 mm의 원형 진창 피부창상을 유발한 후 창상수축 방지를 위해 스플린트를 고정하고 매일 바이오잉크를 국소 도포한 후 3, 7, 14일째에 안락사하여 조직 검사한 결과 14일째 콜라겐 처리군에 비해 바이오 잉크 처리군에서 뛰어난 피부부속기 재생능을 나타냄.</li> </ul>

<p>바이오잉크의 만성 피부창상 치유효과 검증을 위한 동물모델 확립</p>	<p>토끼 귀 허혈 유발을 통한 만성 피부창상모델을 이용하여 14일 후 안락사하여 조직검사를 통한 조직 유도/재생능 확인</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 토끼 한 쪽 귀의 동맥을 결찰, 절단하여 허혈을 유발하고 직경 6 mm의 원형 피부창상을 낸 후 격일로 바이오 잉크를 국소도포한 후 14일째에 안락사하여 조직 검사한 결과 허혈부의 창상 치유 속도가 정상군에 비해 느림을 확인. 그리고 저농도에 비해 고농도의 바이오 잉크 처리군에서 더 뛰어난 창상 치유 효과를 나타냄.</li> </ul>
<p>1차년도에 확립한 조건 범위 (농도, 분사 속도 및 프린팅 속도)에 따른 확보된 바이오 잉크의 프린팅 조건 확립</p>	<p>기 확보된 바이오잉크를 이용하여 진피층 제작 및 배양기간에 따른 진피층의 표면적 (surface area)을 측정</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1차년도에 확립된 바이오잉크 조건 기반 세포프린팅 기반의 human scale의 진피층 제작 가능 여부를 확인함 (가로: 1 cm, 세로: 1 cm, 높이: 2 mm)</li> <li>• 배양 기간에 따른 진피층의 표면적 (surface area) 측정을 통한 수축 (contraction) 정도를 분석함으로써 진피층의 안정성을 평가함</li> </ul>
<p>확보된 바이오잉크를 이용하여 프린팅 한 진피층을 형성하는 세포 (human dermal fibroblasts)의 기능 평가</p>	<p>제작된 진피층에 봉입된 세포 (human dermal fibroblasts) 의 기능을 세포생존율, 증식률 및 단백질 발현 정도로 평가</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 생체 외(in vitro) 배양을 통해 세포의 생존율 (viability) 및 증식률 (proliferation)을 확인함</li> <li>• 진피층에 봉입 된 세포의 기능을 평가하기 위해, 피부조직의 대표적인 ECM (extracellular matrix)인 collagen type I, fibronectin, decorin의 단백질 발현을 정도를 면역염색을 통해 비교 분석함</li> </ul>
<p>바이오 잉크 관련 산업 동향 분석</p>	<p>(시장 동향) 인공재생 피부 및 바이오 잉크에 대한 향후 시장 전망 분석</p> <p>(기업 동향) 인공재생 피부 및 바이오 잉크 관련 주요 기업 현황 분석</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국외 체외 독성실험 관련 시장 및 기업에 대한 추가 조사</li> <li>• 인공재생 피부에 대한 향후 시장 추이 분석</li> <li>• 체외 독성실험을 수행중인 위탁 기관 및 기업 조사</li> <li>• 인공재생 피부와 관련된 제품을 상용화 하고 있는 국내외 주요 업체 분석 (모델명, 제품 가격, 기술 수준, 회사 정보 등 기업별 주요 정보 조사)</li> </ul>
<p>선행특허 분석 및 특허회피전략 수립</p>	<p>(기술 동향) 선행 특허 및 기술투자 현황 조사·분석</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 인공 피부 관련 분야에 대한 정부 R&amp;D 지원 현황 조사</li> <li>• 바이오 잉크, 인공 피부의 시장 확장성 확보를 위한 선행·유사 특허</li> </ul>

		조사
	(회피 전략) 선행·유사 특허에 대한 분석 및 회피 전략 마련	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 선행·유사 특허의 분쟁이 예상되는 문제 특허 선정 및 권리 범위 분석</li> <li>• 특허 침해가능성 분석을 통한 회피전략 설계 및 방안 제시</li> </ul>
탈세포화 공정을 통한 바이오잉크 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 미국 피츠버그대학의 Badylak그룹에서 발표한 논문 및 기존의 탈세포화 관련 논문, 보고를 바탕으로 공정에 착수함.</li> <li>• 돼지 피부의 탈세포화 정도를 확인하기 위하여 H&amp;E 염색(조직의 전체 형태 분석하는 염색법), MT 염색(조직 내 Collagen 잔존 정도 염색법), DAPI 염색, DNA 정량(세포의 핵 염색 및 잔류량 측정법) 실험 기법으로 확인함.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 논문에 기재된 enzyme과 non ionic detergent를 기반으로 처리 시간 및 농도를 조절하며 적절한 탈세포화 공정을 확립</li> <li>• H&amp;E (Hematoxylin &amp; Eosin)와 MT (Masson's Thrichrome)염색을 통해 조직의 전체 형태 및 세포의 제거 정도, 세포외기질의 구조적 변화를 확인</li> <li>• DAPI 염색 후, confocal microscopy를 통해 세포 핵의 존재 여부를 확인</li> <li>• DNA 정량 kit를 이용하여 DNA 추출한 후, ELISA 기기를 통해 DNA 잔류량을 확인</li> </ul>
탈세포화 세포외기질 성분 분석	제작된 탈세포화 세포외기질의 성분 분석을 위해 Collagen, GAG, Elastin assay kit를 사용하여 함유량 확인	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 해당 kit에서 제공된 protocol을 통해서 피부의 대표적인 세포외기질인 Collagen, GAG, Elastin의 성분을 추출하고, ELISA 기기를 통해 각 성분들의 함유량을 확인.</li> </ul>
바이오 잉크의 유연학적 특성 분석	프린팅 가능 여부를 판단하기 위해 점탄성 측정기기를 이용하여 생산된 바이오 잉크의 점탄성을 측정	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 일정한 온도 내에서 0.1Hz~ 10Hz 세기를 가하면서 바이오 잉크의 점탄성 변화 확인</li> </ul>
	온도에 따른 물성 변화 실험을 통해 바이오 잉크의 형태 유지 기능을 확인	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 용액상태의 바이오 잉크를 37℃에서 30분 동안 유지하여 gel 상태로 변화하는지를 확인.</li> </ul>
탈세포화 세포외기질의 안전성 검사	평균 처리된 탈세포화 세포외기질의 안전성 검사를 위해 전문 인증 기관에 의뢰	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 무균 시험과 바이러스 검사를 통해 바이오 잉크가 멸균 처리되었으며 외부 위험 요인이 존재하지 않음을 확인</li> </ul>
돼지 도축업체 혹은 사육 농가 탐색	안정적인 돼지피부 공급과 안전성이 검증된 돼지피부 공급 업체 자료를 수집함.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 안전성을 확인할 수 있는 각종 증명서 검토</li> </ul>
바이오 잉크의 세포 독성 검증	개발 단계의 바이오 잉크에 사람 진피 섬유아세포를 탑재하여 배양 후 1, 4, 7일째에 살아있는 세포는 녹색으로	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 7일째 바이오 잉크 내의 세포들이 녹색으로 염색되어 세포 증식 및 방추상 모양으로 형태를 유지하는</li> </ul>

	로, 죽은 세포는 빨간색으로 표현되는 Live and dead cell assay를 통한 세포 독성 시험 분석	것으로 바이오 잉크의 세포 적합성 및 세포 독성이 거의 없음을 확인
바이오 잉크의 조직 재생능 검증	토끼에서 2 X 2 cm <sup>2</sup> 의 피부 결손 모델을 이용하여 14일 후 안락사하여 조직검사를 통한 조직 유도/재생능 확인	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 토끼에서 2 X 2 cm<sup>2</sup>의 피부결손 모델에서 바이오 잉크 도포 후, 14일까지 육안 관찰하고 안락사하여 조직검사한 결과, 콜라겐 도포군에서는 농과 가피 같은 염증이 보였으나 바이오 잉크 도포군에서는 재생된 표피와 모낭이 확인되었으며, 피부 부작용 없이 콜라겐보다 더 뛰어난 조직 유도/재생능을 보임.</li> </ul>
기 확보된 바이오 프린터를 이용한 재료의 유속 및 이송속도 등 제작 조건에 따른 프린팅 형상 제어 조건 확립	실험적 접근방법을 기반으로, 재료의 유속 및 이송속도 등 제작 조건 및 공정에 따른 line width 와 pore size 측정	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 재료의 분사 속도(mm/sec): 0.0013, 0.024</li> <li>• 바이오프린터 헤드의 이송속도 (mm/min): 50, 100</li> <li>• 상기 조건에 따른 printing test를 수행하여 각 조건에서의 line width 와 pore geometry를 확인함</li> </ul>
바이오 잉크의 점도 및 pH 등 재료의 조건에 따른 공극 제어 기술 확립	실험적 접근방법을 기반으로, 바이오 잉크의 농도와 pH 등 재료의 조건에 따른 line width 및 pore size 측정	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 바이오잉크의 농도(w/v %): 4, 6, 8</li> <li>• pH: 4, 7</li> <li>• 상기 조건에 따른 printing test를 수행하여 각 조건에서의 line width 와 pore geometry를 확인함</li> </ul>
바이오 프린터의 노즐 직경 및 형상 조절을 통한 프린팅 속도 최대화	실험적 접근방법을 기반으로, 바이오 프린터에 장착한 노즐 직경 조건에 따른 line width와 pore size 측정	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 노즐 직경 (μm): 200, 300</li> <li>• 상기 조건에 따른 printing test를 수행하여 각 조건에서의 line width 와 pore geometry를 확인함</li> </ul>
국내외 의료기기/의약품 등 인허가 제도	국내: 식약처 담당부서와 관련사항 논의	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 한국 식약처에서 제공하는 규정 및 보도자료 검색</li> <li>• 한국 식약처에서 제공하는 '지지체를 포함하는 세포치료제 평가 가이드라인' 분석</li> </ul>
	국외: 담당기관들이 제공하는 정보들을 분석하여 바이오 잉크와의 관련성 도출	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 미국, 유럽연합, 그리고 일본의 식품의약품 안전 기관들과 이메일을 통해 관련사항 논의</li> <li>• 해외 식품의약품 안전기관들이 공식적으로 제공하는 정보 분석</li> <li>• 체외독성 실험에 사용되는 인공재생 피부 제품들의 인허가 관련내용 분석</li> </ul>
상용화 전략수립을 위한 기반환경	바이오 잉크가 공급될 수 있는 다양한 시장에 대한 다각화된 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 바이오 잉크 관련 시장 규모 분석</li> <li>• 동물실험 반대에 대한 화장품 시장의 범세계적 추이 분석</li> <li>• 3D 바이오프린팅 시장 규모 분석</li> </ul>
	바이오 잉크 관련 주요 기업체 현황 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 바이오 잉크 및 관련제품들을 상용화하고 있는 주요 해외 업체들에 대한 정보수집 및 분석</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 체외독성 실험에 이용되는 다양한 인공재생 피부 제품들의 최신동향 분석</li> <li>• 주요 수요자로 예상되는 화장품 회사들의 체외독성 실험에 대한 입장과 노력사항 분석</li> <li>• 인공재생 피부 상용화 현황 분석</li> </ul>
--	--	--

가. 연구개발 성과

코드번호	C-05-01
------	---------

○ 돼지피부 유래 탈세포화 공정 확립을 통한 세포외기질 분말 추출

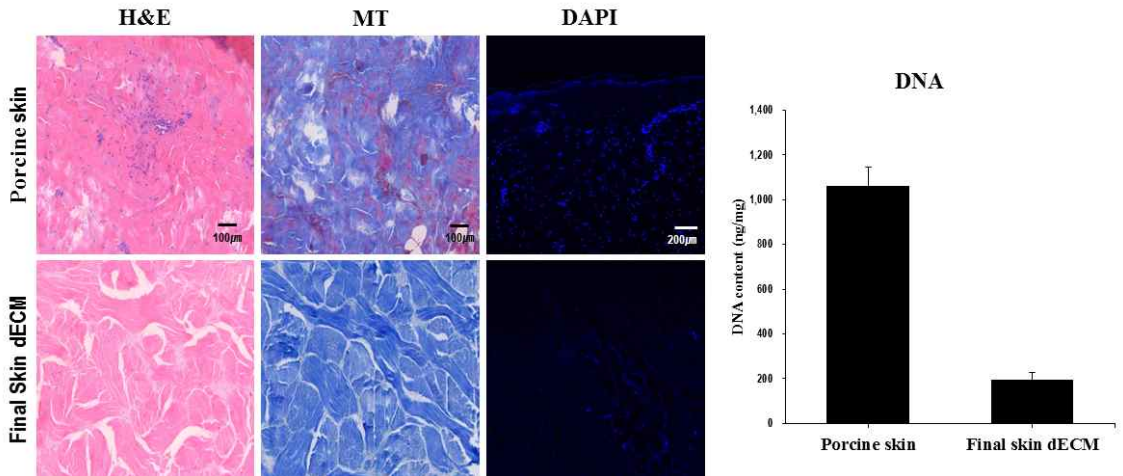
- 본 연구진은 생체 주요 성분을 보존하여 미세환경 구현이 가능한 바이오 잉크 재료 개발을 위하여 탈세포화 공정을 통해 세포 및 DNA가 제거된 세포외기질(dECM) 분말을 제작함. 탈세포화 공정은 대표적인 탈세포화 세포외기질 연구자인 미국 피츠버그대학의 Badylak 그룹에서 발표한 논문을 기반으로 함 (Biomaterials, 2012).



[그림] 탈세포화 공정을 통한 돼지피부 유래 탈세포화 세포외기질 분말 제작.

○ 탈세포화 세포외기질의 구조적 변화 및 DNA 함유량 분석

- Enzyme과 non ionic detergent를 이용하여 탈세포화 과정을 거친 후, 본 연구진의 목적과 같이 세포외기질은 보존되며 세포만이 제거되었음을 증명하기 위하여 추출된 세포외기질의 구조적 변화를 확인하는 H&E (Hematoxylin and eosin) 염색과 MT (Masson's trichrome) 염색, 잔류하고 있는 DNA 함유량은 DAPI 염색과 DNA 정량을 시행함.

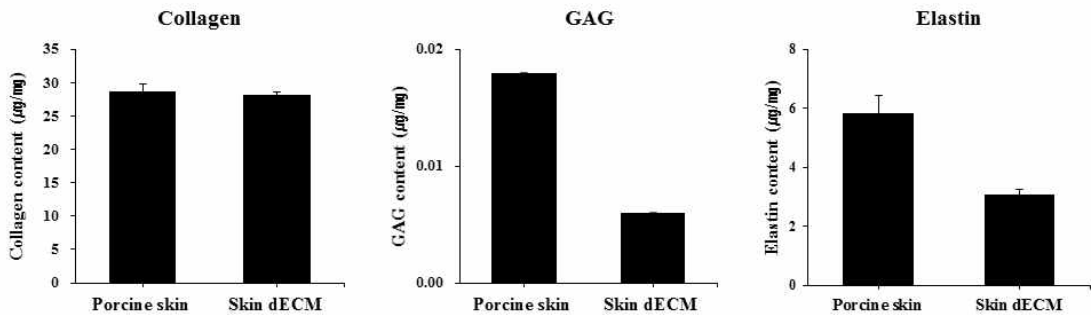


[그림] H&E, MT 염색법을 통한 탈세포화 세포외기질의 구조적 변화 및 DNA 함유량

- H&E 염색을 통해, 탈세포화 공정을 거쳐도 피부 구조의 손상 없이 세포의 핵이 제거되고 형태가 유지됨을 확인하였으며, MT 염색법을 통해서 collagen과 같은 connective tissue가 파괴되지 않고 존재하고 있음. DAPI 염색 결과로, 최종 탈세포화 세포외기질 내에는 세포의 핵이 거의 존재하지 않았으며, DNA를 정량한 결과 195.8ng/mg의 DNA 잔류함을 확인. 이와 같은 결과로, 탈세포화 공정을 거쳐도 피부의 구조적 형태는 손상되지 않고, 면역거부 반응을 유도할 수 있는 세포와 DNA가 제거되었음을 확인함.

○ 탈세포화 세포외기질의 성분 분석

- 탈세포화 과정을 거친 후, 추출된 세포외기질 재료 내에 잔존하는 성분들의 정량적 분석을 위하여 세포외기질의 대표적인 성분인 Collagen, GAG, Elastin을 해당 정량 kit를 사용하여 분석함.

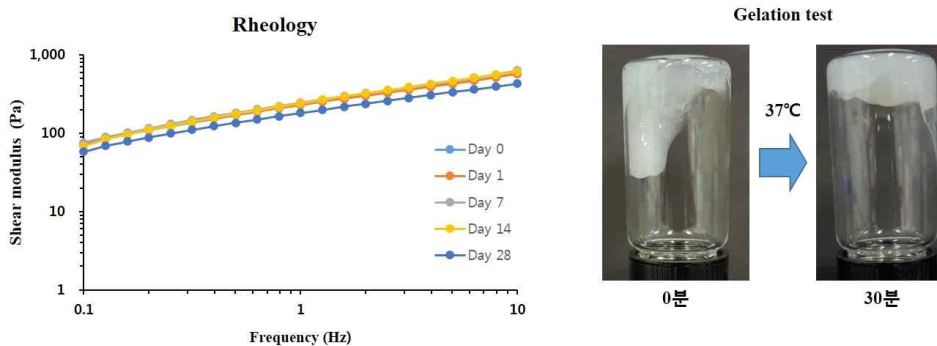


[그림] 탈세포화 세포외기질의 collagen, GAG, elastin 성분 분석

- 정량 측정 결과, 탈세포화 세포외기질 Collagen 함유량은 일반 돼지피부의 Collagen 함유량과 매우 유사한 수준이었으며, GAG와 Elastin은 탈세포화 과정 후에도 재료 내에 잔존하고 있음이 확인됨.

○ 바이오 잉크의 제작 및 유연학적 특성 분석

- 위의 과정에서 제작된 분말형태의 탈세포화 세포외기질을 프린팅이 가능한 바이오 잉크형태로 제작하기 위하여 pepsin을 처리함. 이 과정을 통해 분말형태의 탈세포화 세포외기질이 용액 상태의 바이오 잉크로 제작되었으며 프린팅 적용 여부 및 프린팅 후 형태 유지 가능 여부를 판단하기 위해 점탄성 측정기기를 통해서 제작된 바이오 잉크의 점탄성을 측정과 바이오 잉크의 물성 변화 실험을 진행함.



[그림] 시간에 따른 점탄성 측정 결과 (좌) 및 물성변화 (우)



- 점탄성 측정 결과로 제작된 바이오 잉크가 프린팅 가능한 점탄성을 갖으며 제작 후, 2주까지 큰 변화가 없으며, 4주차에는 1주차에 비해 약 20% 감소하지만 큰 변화없이 유지됨.
- 물성 변화는 온도 차에 따른 변화로 바이오 잉크의 프린팅 후 37°C 조건에서 gel 상태로의 변화를 확인하는 실험임. 위의 결과처럼 일반 상온에서는 점성을 갖는 용액 형태이지만, 온도와 시간에 따라서 gel 상태로 변한 것이 확인됨. 이로써 본 연구에서 제작된 바이오 잉크의 프린팅 적합성과 프린팅 후 형태를 유지함.

○ 바이오 잉크의 멸균 조건 확립 및 안전성 검사 (무균시험, 바이러스 검사)

- 바이오 잉크는 제작 후, 세포 탑재 및 생체 내 적용하기 때문에 생체 내에서 안전해야함. 또한 바이오 잉크의 특성과 성분을 파괴하지 않아야 하므로 적정 멸균 방법과 멸균 세기를 바이오 잉크 특성분석과 점탄성 분석 등 여러 실험을 통해 확립함. 적정 멸균 방법과 멸균 세기를 확립한 후, 무균시험과 바이러스 검사를 통해 바이오 잉크의 안전성 검사를 전문 시험 기관에 의뢰함.

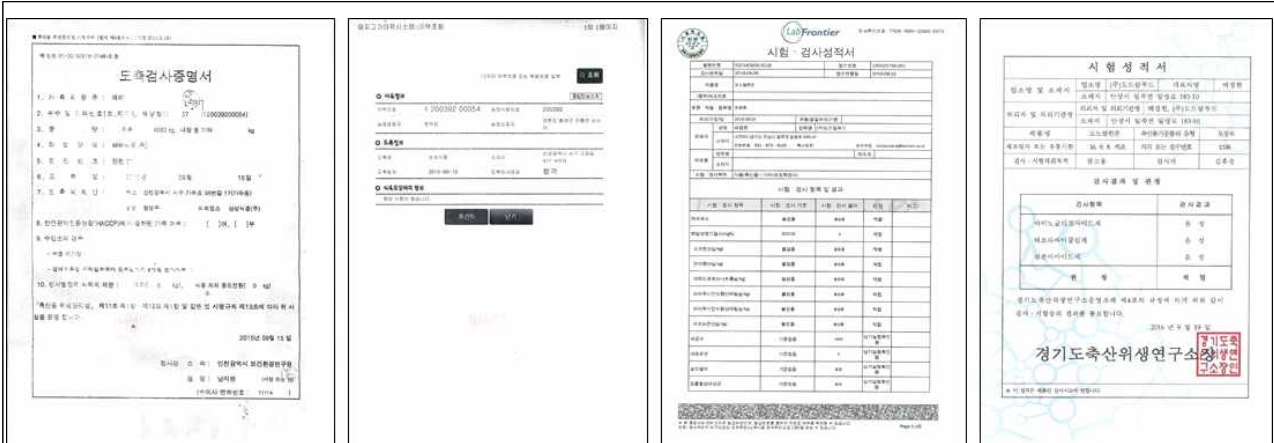


[그림] 무균시험 성적서 및 바이러스 검사 성적서

- 무균시험은 (주)그린피아에 의뢰하였으며, 해당 기관에서는 중앙연구소 내규에 따라 ISO11737-2를 근거로 무균시험을 진행한 결과, 음성 판정을 받음. 바이러스 검사는 전문 검사기관인 (재)서울의과학연구소에 의뢰하였으며, 무균 시험과 같이 바이러스 음성 판정을 받음. 해당 결과들을 통해서 바이오 잉크의 안전성이 확인됨.

○ 재료 표준화를 위한 돼지 도축 업체 혹은 사육 농가 탐색

- 안정적인 돼지피부 공급과 재료 표준화를 위하여 여러 도축 업체 혹은 사육 농가를 탐색함. 그 중 돼지 이력 조화가 가능하며 도축 증명서와 더불어 돼지 피부 원재료의 안전성을 확인할 수 있는 업체를 선정함.



[그림] 도축검사증명서, 도축이력조회, 자가 성분 검사성적서, 잔류물질 시험성적서

- 선정된 업체로부터 돼지피부의 안전성과 해당 돼지에 대한 정보를 제공 받음. 안전성이 검증된 원재료 공급으로 재료의 표준화를 확립할 수 있게 되었음.
- 이러한 바이오 잉크를 프랑스 로레알에 연구 목적으로 \$15,000/60ml로 수출함.

1차 수출 내역

2차 수출 내역

[Invoice]

[수출면장]

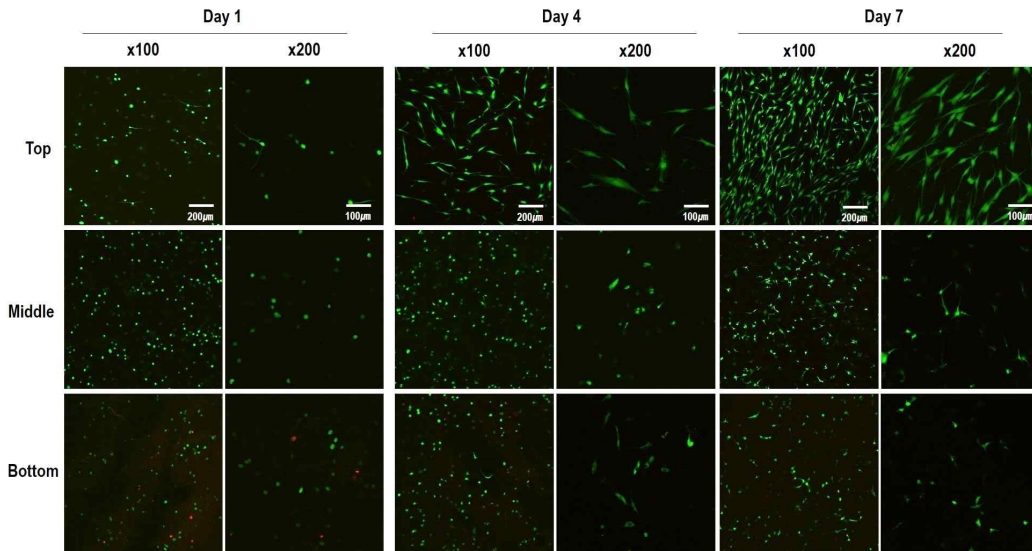
[Invoice]

[수출면장]

[그림] 프랑스 로레알에 두 차례에 걸쳐 송부한 invoice 및 수출면장

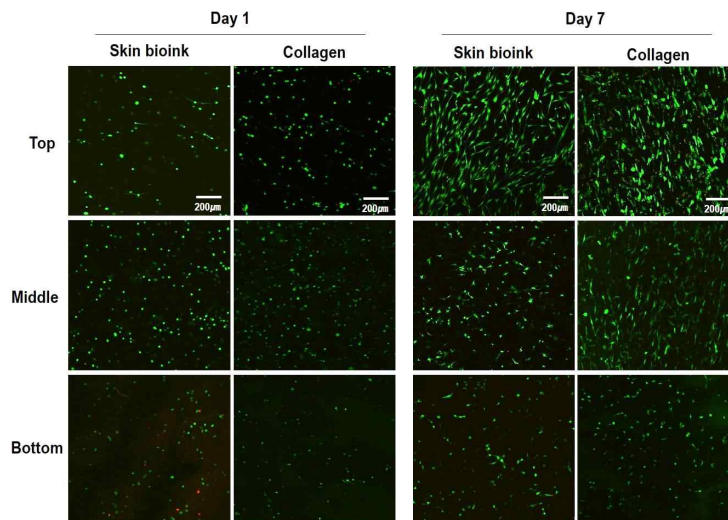
○ 바이오 잉크의 안전성 평가 - 세포 독성 검증

- 개발된 바이오 잉크의 세포 독성 평가를 위해 live/dead assay를 실시하여 세포 viability를 측정하였음. 바이오 잉크에 Human dermal fibroblasts (HDFs) 세포를 섞어 프린팅하고 5% CO2 incubator에서 배양 후 1, 4, 7일에 배양액을 제거하고 PBS로 2회 세척한 뒤 Live/Dead Cell Viability Assays (invitrogen)를 처리하여 생존한 세포와 죽은 세포를 확인함. 45분 동안 처리 후, 시약을 제거하고 PBS로 세척하여 형광현미경하에서 관찰함. 생존한 세포는 green, 죽은 세포는 red color로 나타남.



[그림] HDFs 세포를 이용한 바이오 잉크의 세포활성 측정

- 바이오 잉크에 HDFs 세포를 함입하여 세포 배양한 결과 Top에서 시간에 따라 녹색으로 염색된 세포의 양이 증가하였으며 그 형태도 HDFs 세포의 고유 형태인 spindle-like morphology를 유지하는 것이 확인됨. Middle에서는 대부분의 세포가 배양 기간 동안 생존하였으며 bottom에서 1일 째에 몇 몇의 붉은 색 점 형태의 죽은 세포가 관찰되었으나 3일째와 7일째로 배양이 진행되면서 죽은 세포의 수가 줄어드는 것을 확인하였음. 이를 통해 바이오 잉크에서 세포 고유의 형태를 유지하며 증식 가능하여 세포 독성이 거의 없음을 증명함.
- 바이오 잉크와 기존 제품과의 동등성을 비교하기 위하여 구매 가능하며 액체 형태의 collagen (acellular collagen, 세원셀론텍)을 사용함. 바이오 잉크와 collagen에 위와 동일하게 HDFs 세포를 함입하여 프린팅하고 live and dead assay를 진행함.



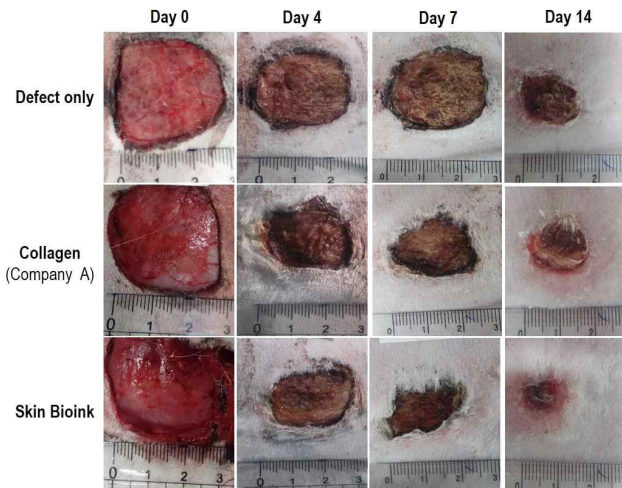
[그림] HDFs 세포를 이용한 바이오 잉크와 collagen의 세포활성 비교.

- 세포 배양 결과, 7일째 형광현미경 사진에서 대부분의 세포들이 바이오 잉크와 collagen에서 HDFs 세포의 고유 형태를 유지하며 성장하고 있음이 확인됨. 1일째 bottom에서 붉은 점으로 관찰되는 죽은 세포의 수도 7일째 감소함. 이를 통해 바이오 잉크가 collagen과 비해 세포 독성이 거의 없음을 확인하였음.



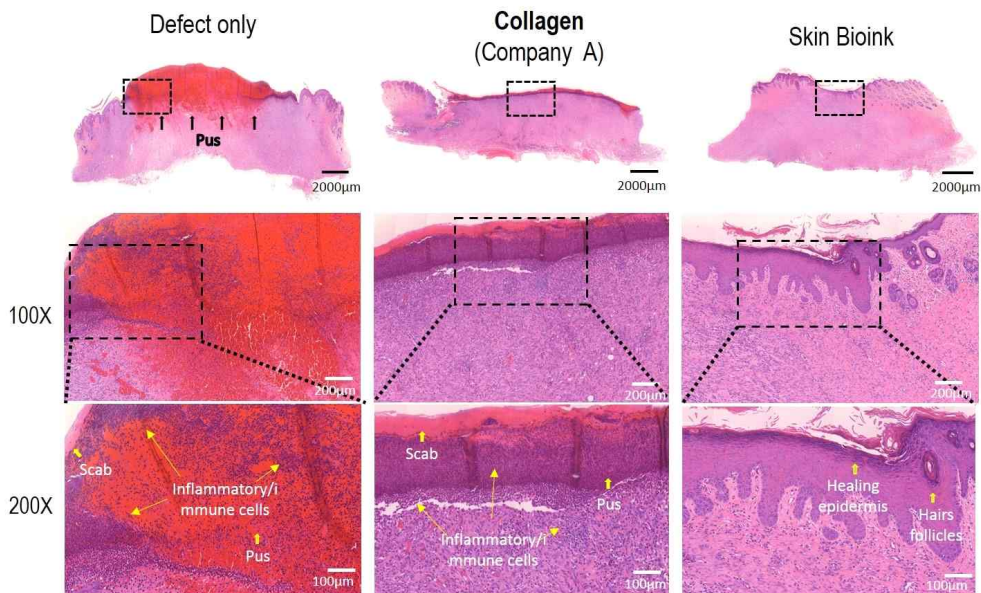
○ 바이오 잉크의 조직/재생 유도능 평가

- 바이오 잉크의 조직/재생 유도능을 검증하기 위해 토끼의 창상 모델에서 치유 촉진효과를 평가하였음. 토끼를 전신마취시킨 후 창상을 유발할 부위를 삭모하고 2×2 cm<sup>2</sup> 크기로 피부를 절제하였음. 창상 부위에 바이오 잉크와 collagen(acellular collagen, 세원셀론텍)을 적용하고 0, 4, 7 및 14일에 창상 크기를 측정하여 시간 경과에 따른 창상의 수축 정도를 조사하였음. 창상 유발 후 14일째에 창상 부분이 중심에 오도록 주위 정상 피부를 포함하여 피부 전층을 완전히 적출하여 10% buffered formalin에 고정시켜 조직학적 평가를 실시하였음.



[그림] 토끼 모델에서 바이오 잉크와 collagen을 적용한 창상 치유의 양상.

- 바이오 잉크의 조직/재생 유도 능을 평가한 결과, 창상에 바이오 잉크를 적용한 군에서 14일째 대조군과 collagen 처치군에 비해 창상 치유 정도가 월등하였음. 또한 바이오 잉크를 창상 부위에 처치한 토끼에서 그와 관련된 독성이나 연관된 피부 부작용이 나타나지 않았음. 이를 통해 바이오 잉크가 피부 독성이 없으며 뛰어난 조직/재생 유도능이 있음을 증명함.



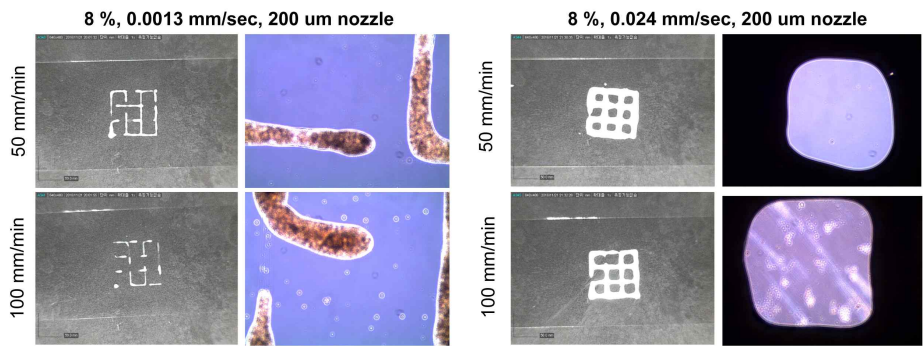
[그림] 토끼 모델에서 바이오 잉크를 적용한 창상의 조직 평가.

- 바이오 잉크의 조직/재생 유도능을 평가하기 위하여 창상에 바이오 잉크를 적용하고 14일째 조직학적으로 분석한 결과, 대조군과 Collagen 처치군에서 다수의 염증 세포 및 가피와 농이 확인된 반면, 바이오 잉크 적용군에서는 재생된 표피와 모낭이 확인되며 염증반응은 보이지 않았음. 이를 통

해 바이오 잉크의 뛰어난 조직/재생 유도능을 확인함.

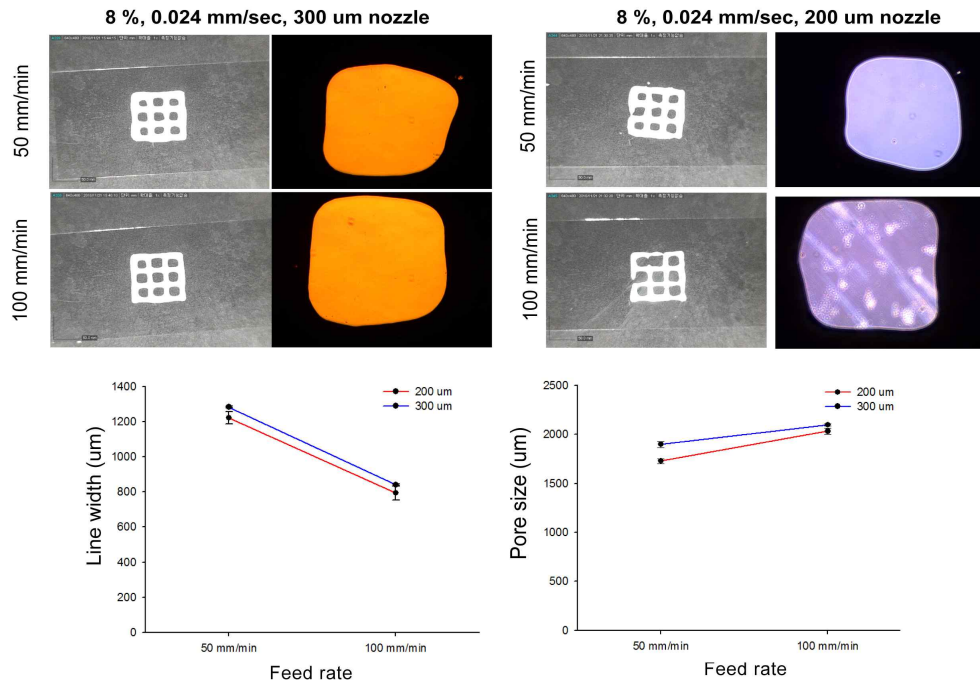
○ 바이오잉크 프린팅 특성 분석

- 기 확보된 바이오 프린터를 이용한 재료의 유속 및 이송속도 등 제작 조건에 따른 프린팅 형상 제어 조건 확립
- 기존의 연구 경험을 바탕으로 각 조건 별 적정 범위를 선정하였고, 다양한 프린팅 조건 하에서 프린팅된 바이오잉크의 조건 범위 및 치수간의 상관관계를 분석하였음
  - 바이오프린터 헤드의 이송속도 (mm/min): 50, 100
  - 재료의 분사 속도 (mm/sec): 0.0013, 0.024
  - 노즐 직경 ( $\mu\text{m}$ ): 200, 300
  - 바이오잉크의 농도 (w/v %): 4, 6, 8
  - pH: 4, 7
- 재료의 분사 속도 및 프린터 헤드의 이송속도에 따른 치수 분석 결과, 8 % 의 재료와 300  $\mu\text{m}$  직경의 노즐을 기준으로 하였을 때 0.0013 mm/sec 에 비해 0.024 mm/sec 일 때 바이오잉크가 안정적으로 분사되었음. 이보다 더 낮은 농도를 사용할 경우 분사는 수월할 것으로 판단되나 재료의 점도로 미루어보아 제작하고자 하는 형상의 공극을 구현할 만큼의 기계적 강도를 가지기 어려울 것으로 판단됨. 또한, 재료 분사 속도가 매우 낮은 경우에는 디자인 된 형상을 제작할 수 있는 충분한 양의 재료가 분사되지 못하여 프린터 이송속도가 낮을수록 분사된 바이오잉크의 형상 구현률이 향상됨을 확인하였음.



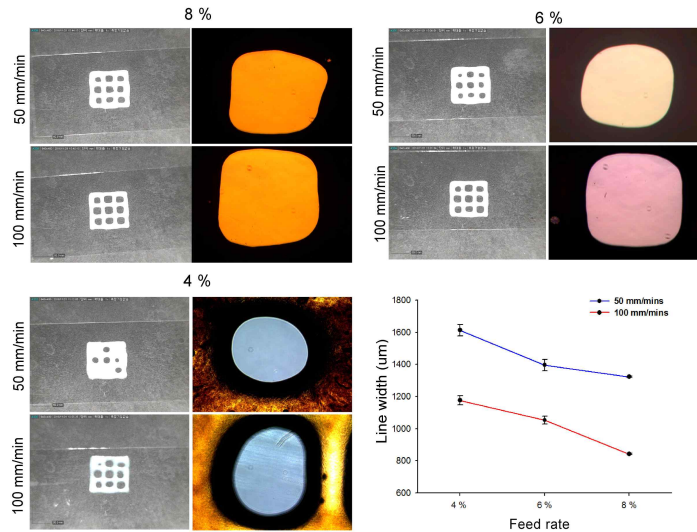
[그림] 재료의 분사 속도에 따른 치수 분석 데이터

- 노즐의 직경과 프린터 헤드의 이송속도에 따른 치수 분석: 8 % 의 재료와 0.024 mm/sec 분사속도를 기준으로 하였을 때, 노즐의 직경에 따른 line width 및 pore size는 유의한 차이를 보이지 않음.



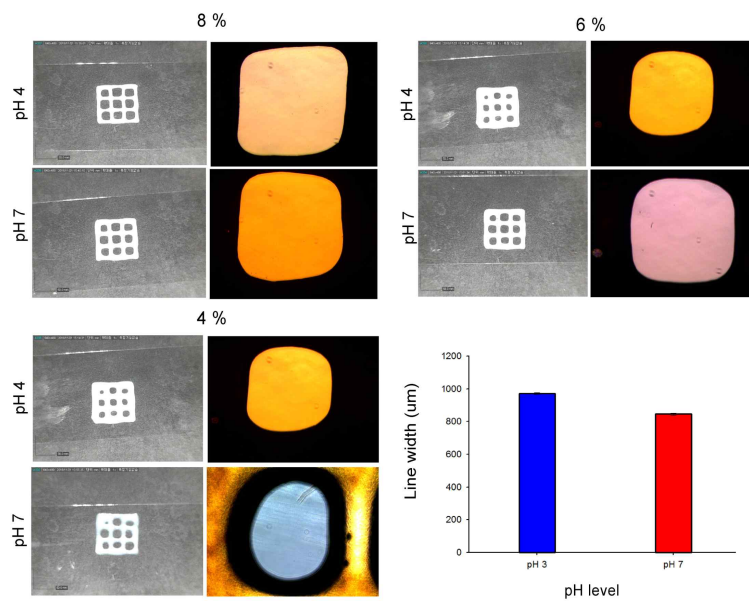
[그림] 노즐의 직경과 프린터 헤드의 이송속도에 따른 치수 분석

- 바이오잉크의 농도와 프린터 헤드의 이송속도에 따른 치수 분석결과, 300 μm 직경의 노즐과 0.024 mm/sec의 분사속도를 기준으로 하였을 때 프린터 헤드의 이송속도는 50 mm/min과 100 mm/min 두 가지로 테스트하였음. 바이오잉크의 농도가 높아질수록 향상된 정밀도의 pore geometry를 획득할 수 있음. 또한, 바이오잉크의 농도가 너무 낮은 경우 (4 %), 분사한 이후에 line 형상이 유지되지 않았고, 프린팅 된 재료가 공극 형상을 유지하지 못하고 서로 겹치는 현상이 발생함. 따라서 4 % 농도는 프린팅에 부적합한 농도로 판단됨. 반면에, 6, 8 % 농도의 바이오잉크는 비교적 공극 형상을 잘 유지하였으며 농도가 높을수록, 프린터 헤드의 이송속도가 빠를수록 line 두께가 얇아지는 경향을 보이며 이에 따라 공극의 크기는 유의하게 증가함을 확인하였음. 실험 결과로 유추하였을 때, 300 μm 직경의 노즐과 0.024 mm/sec의 분사속도 및 8 % 농도의 바이오잉크를 기준으로 프린터 헤드의 이송속도를 증가하여 프린팅하게 되면 구조체 제작속도를 증가시킬 수 있을 것으로 판단되며 약 200-300 mm/min의 이송속도를 사용할 것을 권장함.



[그림] 바이오잉크의 농도와 프린터 헤드의 이송속도에 따른 치수 분석

- 바이오잉크의 pH와 농도에 따른 치수 분석하기 위해 300 μm 직경의 노즐과 0.024 mm/sec의 분사 속도 및 100 mm/min의 이송속도를 기준으로 하여 테스트하였음. pH는 4 (산성)와 7 (중성)을 기준으로 하였고, 세포를 봉입하여 프린팅하기 위한 조건으로는 7을 사용하는 것이 정석이지만, pH에 따른 바이오잉크의 내 collagenous protein의 aggregation 등의 경향을 확인하기 위하여 실험군으로 선정하여 실험을 수행하였음. 실험 결과, 4, 6 % 농도 조건에서는 pH의 변화에 따른 line width 및 pore size의 차이가 유의하지 않았으나, 8 % 농도 조건에서는 유의한 차이를 보였음. 이를 통해, 콜라겐 기반의 세포외 기질 재료는 pH가 중성에 가까울수록 재료 내 정전기적 인력이 증가하여 점도가 증가한다는 일반적인 지식에 입각하여 분석했을 때, 4, 6 % 농도의 재료는 콜라겐 함유량이 매우 낮아서 프린팅 이후 gelation되는 시간이 매우 많이 소요 될 것으로 판단됨. 그러나 8 % 농도의 재료는 프린팅 공정 수행 시 노즐을 통과하는 동안 높은 shear rate (전단율)로 인해 세포 사멸을 유도할 가능성이 있을 것이라 유추됨. 따라서, 본 제작공정 조건 테스트를 바탕으로 재료의 점탄성 분석을 수행한 뒤 적정 농도 범위를 선정해야 할 것으로 유추됨.



[그림] 바이오잉크의 pH와 농도에 따른 치수 분석



- 결론: 다양한 조건에서의 제작공정 테스트를 수행한 결과, 8 % 농도의 재료를 300 μm 직경의 노즐과 0.024 mm/sec의 분사속도 및 2-300 mm/min의 이송속도로 피부 모델을 제작하였을 때 가장 적합한 조건일 것으로 판단됨 (이는 재료의 점탄성 특성 및 각 lot.별 차이 (variation)는 고려하지 않은 것임).

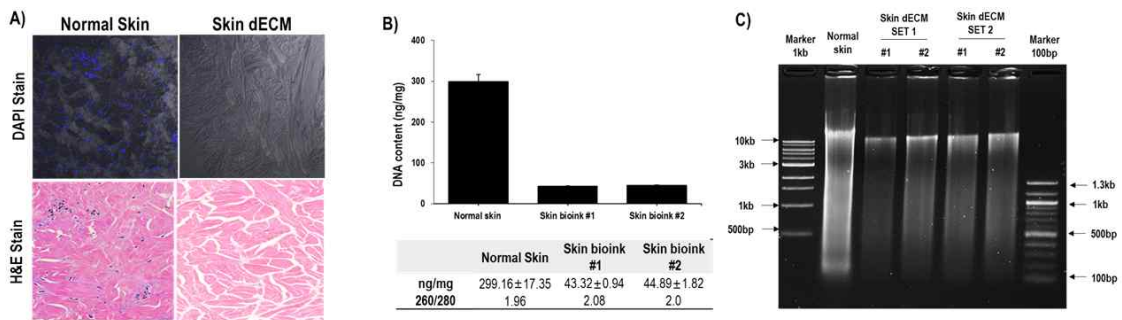
○ **국내외 의료기기/의약품 등 인허가 제도 분석**

- 바이오 잉크 관련 국내외 인허가 제도 현황 분석
  - 국내의 경우 식약처 담당자와 향후 바이오 잉크의 국내 인허가 추진 계획에 대해 논의
  - 국외의 경우 식품의약품 안전 담당기관들이 제공하는 정보를 분석하고 담당자와 이메일을 통해 관련사항 논의
- 체외독성 실험에 대한 현황 분석
  - 화장품 시장에서 체외독성 실험이 갖는 의미와 이용되는 제품들에 대한 현황 분석
  - 유럽시장 내 동물실험 화장품의 판매 금지 처분이 야기하는 화장품 시장 내 전반적인 경향 분석
  - 현재 상용화된 인공재생 피부 제품들의 현황 분석 (기술개발 추이, 특성, 및 가격)
- 바이오 잉크 관련 시장 규모 파악
  - 바이오 잉크의 상용화가 영향을 미칠 것으로 예상되는 다양한 시장의 규모 및 현황을 분석
  - 바이오 잉크 관련시장에 대해 크게 2가지 시장 (화장품 과 3D 바이오프린팅)에 대해 분석
  - 바이오 잉크 관련 기술들의 발전 현황 및 선도 회사들의 현황을 분석

코드번호                      C-05-01

○ **DNA 함량 50ng/mg 수준으로 탈세포화 공정 확립**

- 본 연구진은 DNA 함량 50ng/mg 수준의 탈세포화 공정을 확립하기 위하여, 돼지 피부 중 진피층을 분리하여 enzyme과 non ionic detergent를 처리하는 탈세포화 과정을 진행함. 분말 형태로 멸균을 거친 탈세포화 세포외기질로 bioink를 제작하고 DNA 잔류량을 DAPI, H&E 염색법으로 정성분석 및 DNA를 추출하여 전기영동과 측정법으로 정량함.



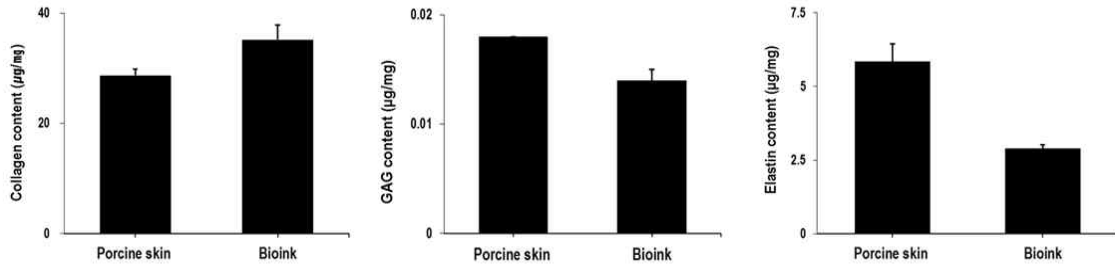
[그림] 탈세포화 공정 후 잔류 DNA의 정성, 정량 분석.

- DAPI, H&E 염색 결과, 최종 탈세포화 세포외기질 내에는 세포외기질의 변성없이 잔류 세포는 미미함을 확인함.
- 정량 분석 결과, 두 번의 공정에서 모두 50ng/mg 이하로 DNA 잔류량이 측정되고 전기영동 결과에서도 200bp이하 size의 DNA가 제거되어 탈세포화 공정으로 면역거부 반응을 유도할 수 있는 세포와 DNA가 제거되었음이 확인됨. 탈세포화 공정이 최종 확립 여부 확인을 위해 물성 분석을 진행함.



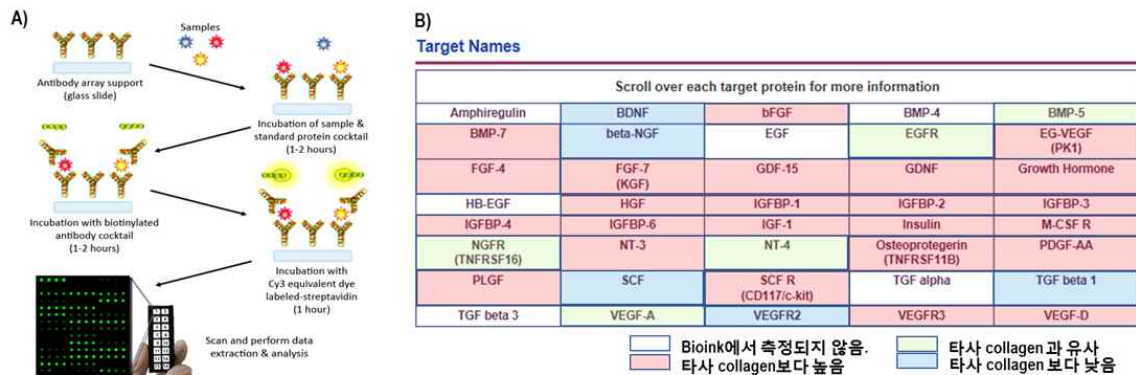
○ 확립된 바이오 잉크의 성분 및 물성 분석 수행

- DNA 잔류량이 기준치 이하로 떨어진 뒤 제작한 바이오 잉크에 존재하는 세포외기질 성분들과 성장 인자를 분석함. Collagen, GAG, elastin과 같은 세포외기질은 정상피부 조직의 주요 구성하는 성분들임. 해당 성분들은 정량 측정 kit를 사용하여 함량을 분석함.



[그림] 대표적 세포외기질 Collagen, GAG, Elastin 분석

- 정량 측정 결과 탈세포화 세포외기질의 Collagen 함유량은 일반 돼지피부의 Collagen 함유량과 매우 유사한 수준이었고, GAG와 Elastin 역시 탈세포화 과정과 바이오 잉크 제작에도 재료 내에 잔존하고 있음.
- 이 외에도 잔류하는 성장인자들을 확인하기 위하여 (주)이바이오젠에 Quantibody assay를 의뢰함. 본 연구는 주요 성장인자 50가지를 정량 분석할 수 있는 방법으로 바이오 잉크 내 존재하는 피부와 관련된 성장 인자를 기존 Collagen과 비교하고자 함.

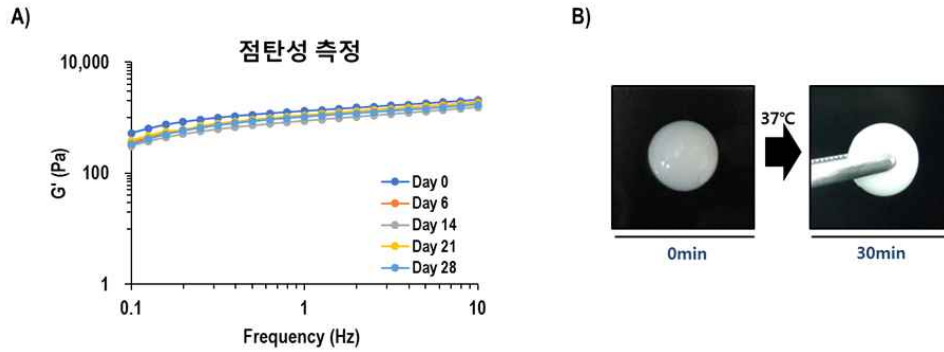


[그림] Quantibody 분석 A) Quantibody 분석 이론, B) 바이오 잉크와 타사 Collagen을 비교

- 분석 결과, 타사 Collagen보다 24개의 성장인자가 바이오잉크에 다량 함유되었고, 5개의 성장인자가 유사량을 갖음. 타사 collagen보다 낮은 것은 5가지로, 대부분이 바이오 잉크에서 높음.
- 탈세포화 과정을 통해 세포외기질은 유지하고 DNA는 기준치 이하로 잔류하여 탈세포화 공정 확립을 확인하였고, 제작된 바이오 잉크의 프린팅 가능성을 확인하고자 함.

○ Pepsin digestion으로 프린팅 가능하며 세포 생존이 가능한 바이오 잉크의 점도 확립

- 세포 프린팅을 위해 분말 상태인 탈세포화된 세포외기질에 pepsin을 처리하여 용액 상태의 바이오 잉크로 제작함. 1차년도 포항공대의 결과를 통해 프린팅에 더욱 적합할 것으로 예상되는 6%로 바이오 잉크를 제작하고, 자사 프린팅 공정에 적용하기 위해 필요한 일정 값의 점탄성과 프린팅 후 형태 유지를 위해 겔화 여부를 확인함.
- 점탄성 측정은 점도계를 통해 제작 후 4주간 측정하였으며, 바이오 잉크의 겔화 여부는 제작 후, 37°C에 30분간 유지시켜 겔로 물성 변화가 되는지 여부를 관찰함.

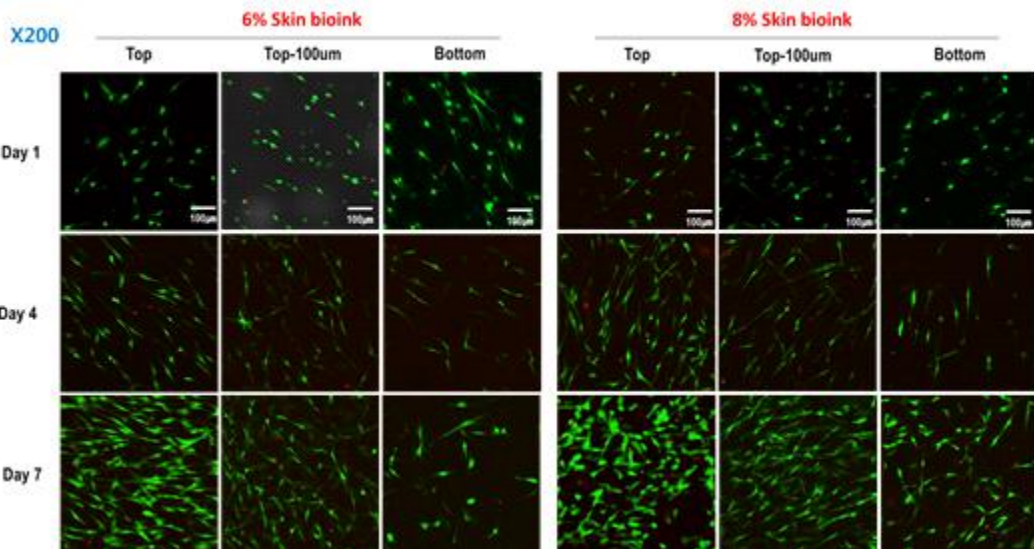


[그림] 바이오 잉크의 점도 측정 A)점탄성 측정 B)겔화 여부 확인

- 제작된 바이오 잉크의 시간에 따른 점탄성 변화 정도를 4주간 확인한 결과, 제작 직후의 수치는 6일차에 감소하여 4주가 유지되어 제작된 바이오 잉크는 최소 4주간 프린팅 가능함을 확인함.
- 본 바이오 잉크의 겔화 여부를 관찰한 결과, 제작된 바이오 잉크는 4°C, 냉장 상태에서 점성을 갖는 용액 상태지만, 37°C에서 30분간 유지시 고형화 상태로 되어 바이오 잉크의 프린팅 가능함을 확인함.
- 프린팅 가능한 바이오 잉크 제작이 확인되었으므로, 세포를 함께 프린팅하여 생존율을 확인하고 진피층 제작 가능한 바이오 잉크 %를 정하고자함.

○ 프린팅 후 기본적인 세포 생존율 분석

- 프린팅 가능한 점탄성과 겔화 여부가 확인된 바이오 잉크에 세포를 탑재하여 프린팅하고 기본적인 세포 생존율을 분석함. 6, 8% 바이오 잉크를 제작하고 세포를 탑재하여 프린팅 후, Live/Dead 분석법으로 세포 생존 정도를 관찰함.

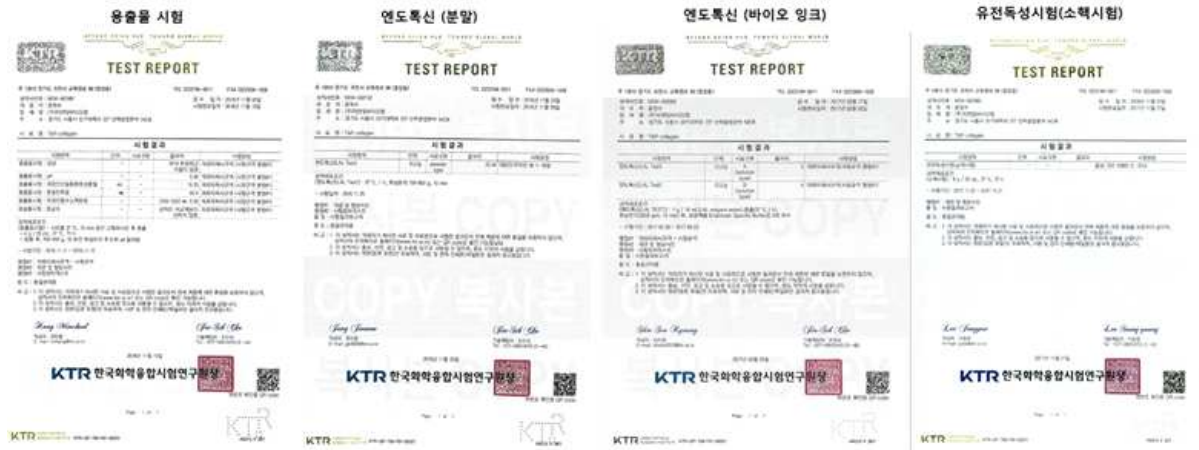


[그림] 프린팅된 상태에서 세포의 생존율 확인

- 프린팅된 높이에 따라 관찰하였을 때, 표면 부분의 세포 증식이 활발하였음. 이러한 결과는 6%와 8% 바이오 잉크 모두에서 유사하였으나, 6% 바이오 잉크에서 죽은 세포를 나타내는 빨간색의 발현이 적고 섬유아세포의 형태가 잘 보임. 이는 전남대의 결과에서도 관찰할 수 있어, 4% 바이오 잉크에서 섬유아세포는 형태를 갖추지 못함. 이와 같은 결과로, 6% 바이오 잉크로 피부 모델 중 진피층을 제작하고자 함.

○ 확립된 바이오 잉크의 안전성 검증을 인증기관에 의뢰

- 바이오 잉크의 성분을 파괴하지 않는 멸균법과 멸균 세기로 공정 확립 후 세포 독성이 없고 프리팅 가능한 바이오 잉크를 제작, 1차년도에 무균시험과 바이러스 검사를 진행함. 당해년도 추가적인 생물학적 안전시험과 물리 화학적 특성시험을 외부 공인 시험기관인 한국화학융합시험연구원 (KTR)에 의뢰함.

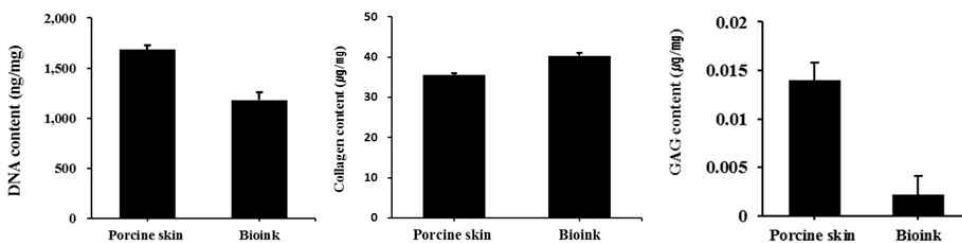


[그림] 용출물 시험 성적, 엔도톡신 시험(분말과 바이오 잉크), 유전독성(소핵시험) 결과

- 생물학적 안전에 관한 엔도톡신 시험은 대한민약전 제 11 개정에 근거하여 실험을 진행하였으며, 결과치는 분말 상태에서 23.44, 바이오 잉크 상태에서 5로 확인되어 안전성이 확인됨.
- 유전독성 시험은 ICR 마우스의 미정맥 및 복강 내 투여하고 24시간 후 골수 세포를 수집하여 소핵 유발과 세포독성을 평가하는 시험법이며, 바이오 잉크의 결과는 음성임.
- 물리화학적 특성 확인을 위한 용출물 시험 결과, 성상은 무색 투명하고 이물이 없고 중금속 비교액 보다 진하지 않음.
- 이와 같은 결과로, 바이오 잉크의 안전성을 인증 기관으로부터 검증하였으며, 다른 lot에서도 추가 확인 예정임.

○ 재료 표준화 방법 확정 및 바이오 잉크 공정 적용, 생산

- 안정적인 돼지피부 공급과 재료 표준화를 위하여 1차년도 여러 도축 업체 혹은 사육 농가를 탐색하여 원재료 증명서 발급 가능한 업체 (주)도드람과 수지 식품을 선정함. 수지 식품의 원재료로 탈세포화 공정을 확립하고 이를 (주)도드람의 원재료에 적용함.



[그림] 도드람 원재료 제작한 Bioink에서 DNA, Collagen, GAG 성분 분석

- (주)도드람의 원재료로 탈세포화 공정 및 Bioink 제작하여 DNA 함유량과 물성분석을 확인한 결과,

GAG와 Collagen은 수지식품과 차이가 없는 반면, DNA 잔류량이 1181.6ng/mg로 감소되지 않아 바이오 잉크 제작용 원재료 확보처를 수지식품으로 정함.

- 본 재료를 통해 1차년도에 이어 글로벌 화장품 회사와 2차 MTA를 체결하고 4번의 재료 전달을 계약하여 1, 2차 전달을 완료함. 또한 2017년 1월부터 시제품을 제작하고 4월 deCelluid라는 제품을 출시하여 당해연도 12월 14일까지 약 38.8백만원의 매출을 기록함.



[그림] 글로벌 화장품 회사에 송부한 invoice 및 수출명장

제품매출원장				
기간 : 2017년 01월 01일 ~ 2017년 12월 14일				
회사 : [1000] 주식회사 티앤알바이옴				
날짜	적요관	거래처명	대 변	
2017/01/31	Tnr-Bioink Collagen(30ml)	포스텍 산학협력단	2,545,455	
2017/02/28	Tnr-Bioink Collagen(6ea, 0652,000)	가천대학교 산학협력단	3,912,000	
2017/05/30	decelluid, 0600,000+15EA	경북대학교병원	9,000,000	
2017/06/14	deCelluid, 0600,000+7EA 매출건	경북대학교병원	4,200,000	
2017/06/15	deCelluid, 0600,000+7EA 매출건	경북대학교병원	4,200,000	
2017/07/04	deCelluid, 0600,000+5EA 매출건	경북대학교병원	3,000,000	
2017/07/12	deCelluid, 0600,000+4EA 매출건	경북대학교병원	2,400,000	
2017/09/11	decelluid, 0400,000+10EA 매출	한국과학기술원	4,000,000	
2017/10/19	decelluid(collagen)5ml 400,000+9EA	울산과학기술원	3,600,000	
2017/11/17	deCelluid 0600,000+3EA	주식회사 메스티엘	1,800,000	
총액			38,657,455	

[그림] 바이오 잉크 시제품 및 deCelluid 제품 매출원장

- 로레알과 공동연구를 진행함에 있어 1,2차 실험 모두 성공적으로 완료하였고, 2차의 경우 분석중에 있으며, 세포는 분화와 성장이 모두 유지가 잘되며 비교그룹에 비해 자사 모델이 더 견고하고 실제 스킨 모델과 유사함을 확인한 실험결과 공유함. 이러한 결과들을 바탕으로 필요한 분석을 진행하고 있으며 3차까지 완료 후 논문 논의중.

○ 안전성 및 기능성 검증의 모델로 인공 피부 모델 중 진피층 제작

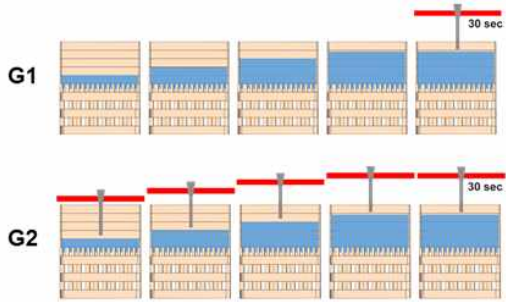
- 프린팅공정 조건을 확립하여 개발된 바이오 잉크를 이용한 프린팅에 적용함.
- 필요한 준비 시약(0.5M acetic acid, 10X Minimum Essential Medium (MEM), Sodium bicarbonate (NaHCO3), HEPES, Deionized or Distilled water, NaOH, Petri-dish, glass vials, Scraper, Printing syringe, and pH paper) 및 decelluid를 준비하여 0.5M acetic acid를 이용해 4°C에서 72시간 동안 녹여준 후 바이오 잉크와 10X MEM, RB을 8:1:1 비율로 잘 섞어 pH7.0~7.5으로 맞춰서 프린팅 시린지(카트리지)에 넣고, 5분간 2500rpm, 4°C으로 원심분리 후 프린트한 후, 37°C 인큐베이터에서 40~60분 동안 가교결합을 시킨다 이후, 프린트된 구조에 세포 배양 배지를 공급함.
- 바이오 잉크의 안전성 및 기능성 검증의 모델로 인공 피부 모델을 제작하고자 함. 피부층은 진피층과 표피층으로 구성되며 돼지 피부 중 진피층으로 제작한 바이오 잉크를 이용하여 진피층을 프린팅하고자 함. 포항공대 결과, 기존 Collagen보다 탈세포화 바이오 잉크로 제작한 진피층에서 세포



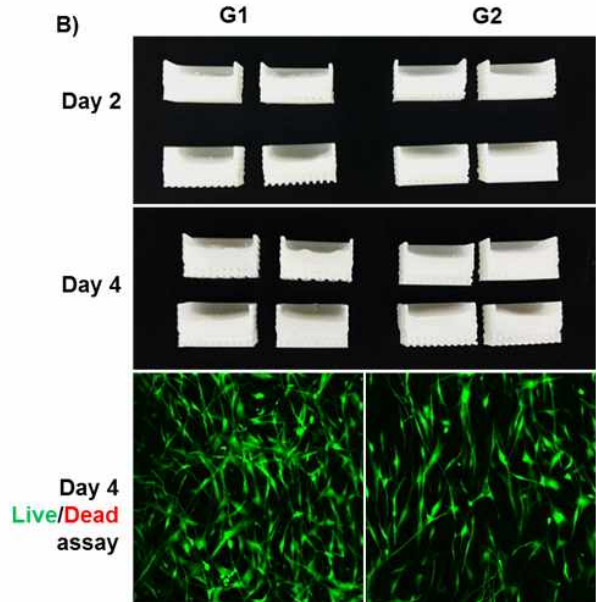
생존율과 단백질 발현이 높았음.

- 추후 표피세포를 프린팅하기 위해 고분자로 격벽을 제작하였고 격벽 내부에 세포가 탑재된 바이오 잉크를 프린팅함. 이 때, 표면을 고르게하고 추후 수축을 줄이기 위해 표면에 열을 가해 더 빠른 겔화를 유도하였으며, 열을 가하는 것에 따른 진피층 단면과 세포 생존율을 확인함.

**A) 프린팅 조건**



**B)**

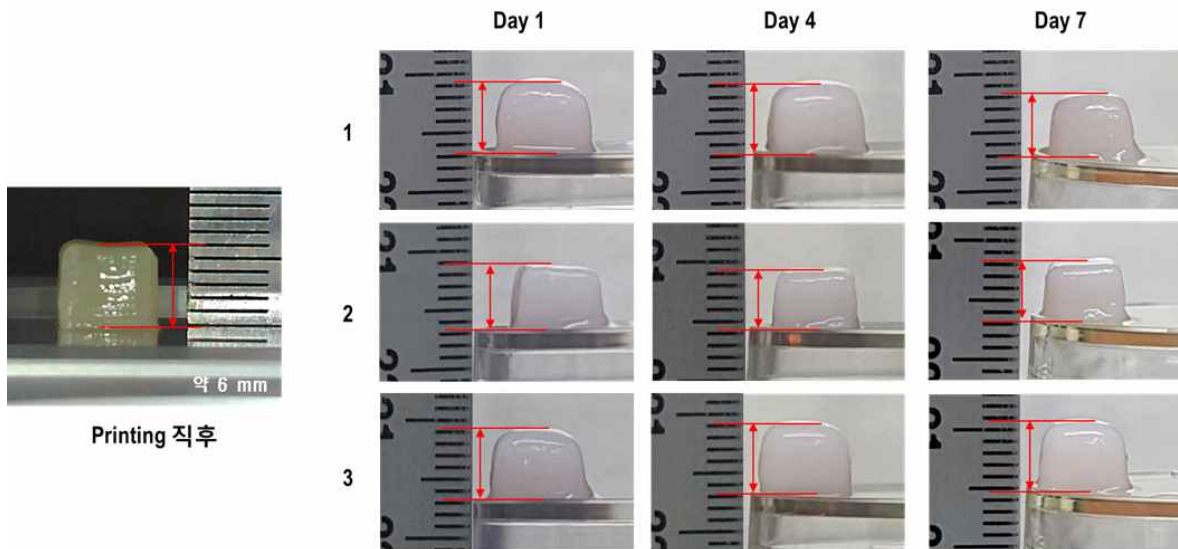


[그림] 피부 모델 중 진피층 제작 후 세포 생존율 확인

- 결과적으로, 각 층별로 표면에 열을 가해준 균의 단면이 고르게 겔화되었으며 세포 생존율이 좋아 추후 제작을 진행하고자 함.

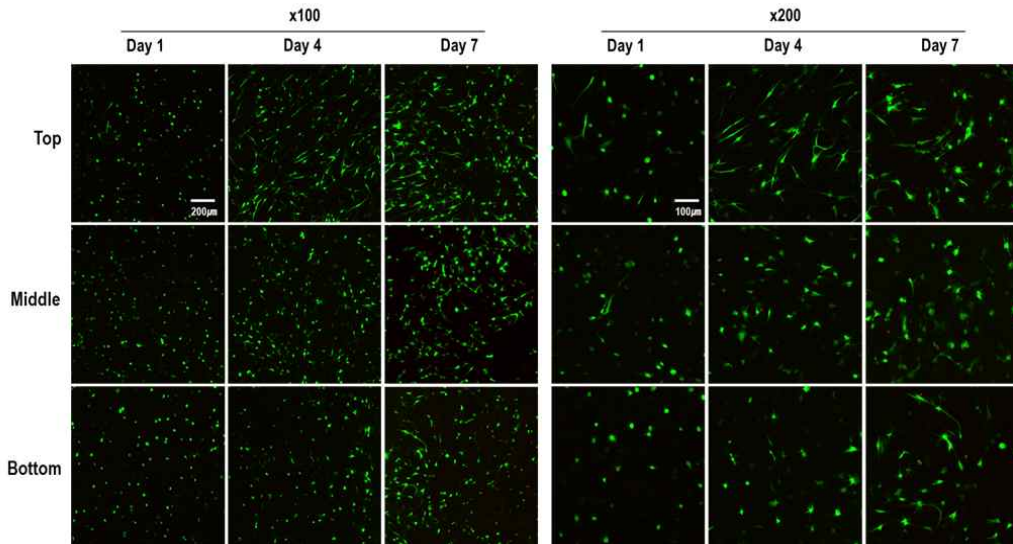
○ 피부세포 프린팅 시 바이오 잉크의 세포 안전성 검증

- 4% 바이오 잉크를 이용하여 사람 진피 섬유아세포(human dermal fibroblasts;HDFs)를 약 6 mm 높이로 프린팅 후 1, 4, 7일 배양하고 live-dead assay를 실시하여 프린팅이 세포 생존 및 증식에 미치는 영향을 평가하였음.



[그림] Skin bioink 프린팅 후 contraction test

- 7일간 배양 시 지지체의 높이가 약 15% 정도 감소함. 그러나 높이 감소 외에는 큰 수축이 발생하지 않음.

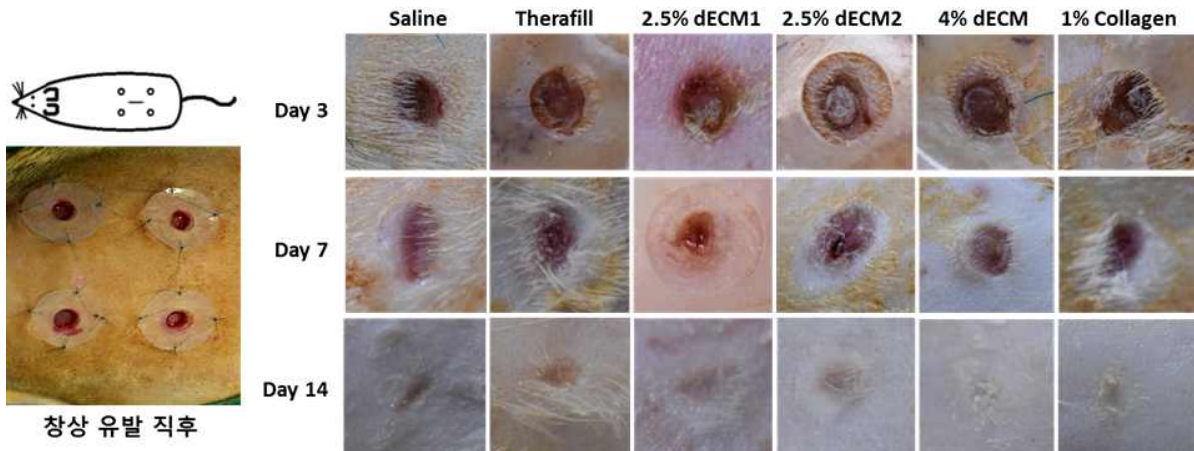


[그림] Skin bioink 프린팅 후 Live/Dead assay

- Live-Dead assay 결과, 약 6 mm의 두께에도 대부분의 세포들이 살아있어 프린팅이 세포 생존 및 증식에는 큰 영향을 주지 않음을 확인.

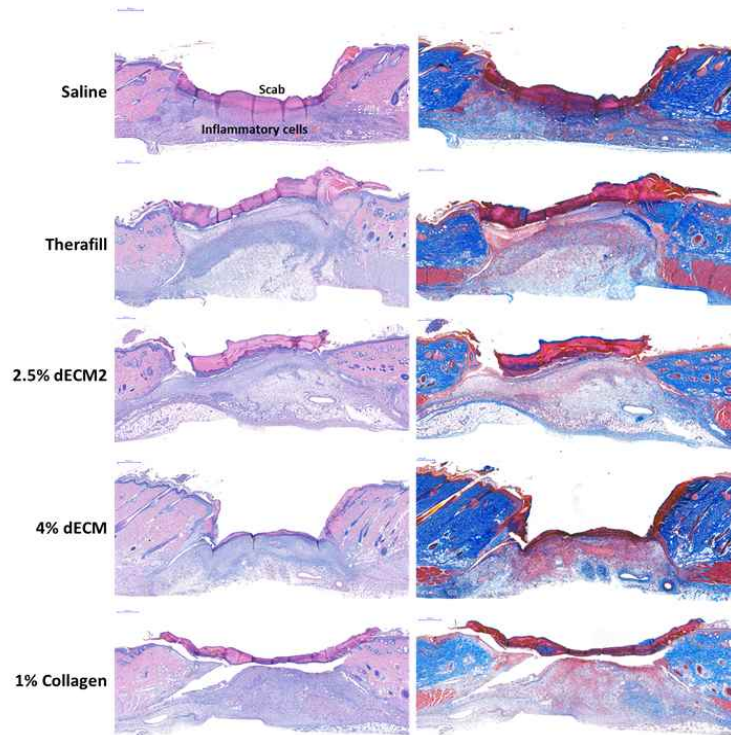
○ 바이오잉크의 급성 피부창상 치유효과 검증을 위한 동물모델 확립

- 바이오잉크의 급성 피부창상 치유효과를 검증하기 위해 랫드의 피부창상 스프린팅 모델에서 치유 촉진 효과를 평가하였음. 랫드를 전신마취시킨 후 등 피부를 전모하고 직경 6 mm의 원형 전층 피부창상을 유발 후 창상수축 방지를 위해 스프린트를 고정하였음. 창상부위에 매일 바이오잉크와 콜라겐(acellular collagen, 세원셀론텍)을 국소도포한 후 3, 7, 14일째에 안락사하여 조직을 채취한 후 10% 중성 포르말린에 고정시켜 조직학적 평가(H&E, MT 염색)를 실시하였음.
- TheraFill(임상용 collagen, 세원셀론텍), 2.5% dECM1(비멸균 바이오 잉크), 2.5% dECM(E-beam 멸균 바이오잉크), 4% dECM(E-beam 멸균 바이오잉크), 1% Collagen : atelocollagen(특허 10-1697324의 방법으로 추출)을 실험군으로 진행함.



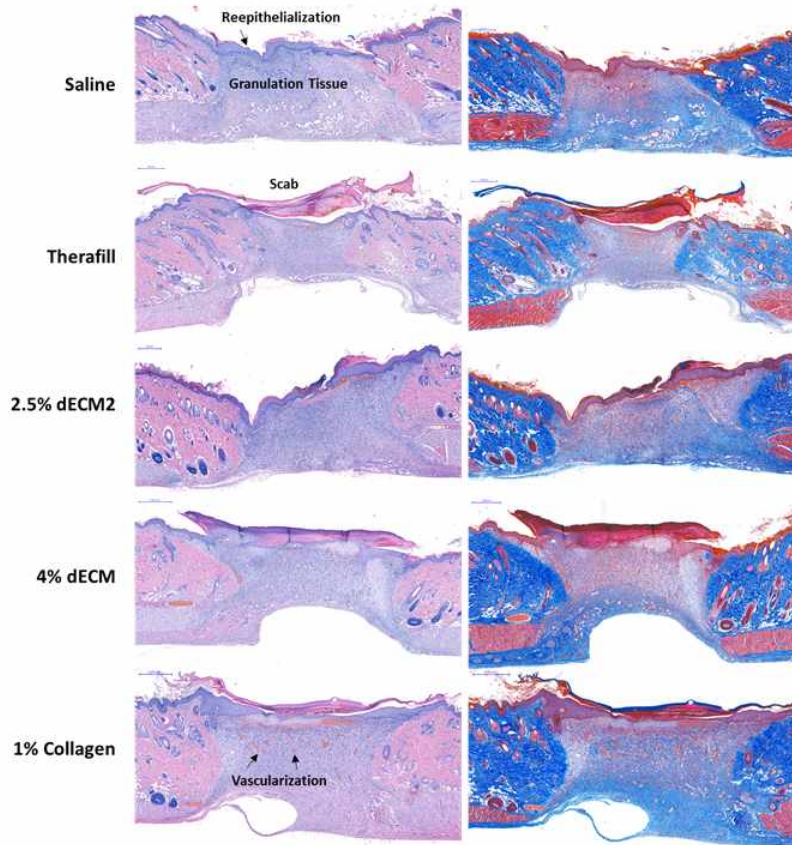
[그림] 랫드 급성 피부창상 모델에서 바이오 잉크와 콜라겐의 창상 치유 양상

- 창상유발 3, 7, 14일째 육안소견 상 각 군별로 큰 차이가 없음. 비멸균 dECM군도 염증소견 없이 다른 군과 비슷한 치유 양상을 나타냄.



[그림] 랫드 급성 피부창상 모델에서 창상 3일째 조직 평가

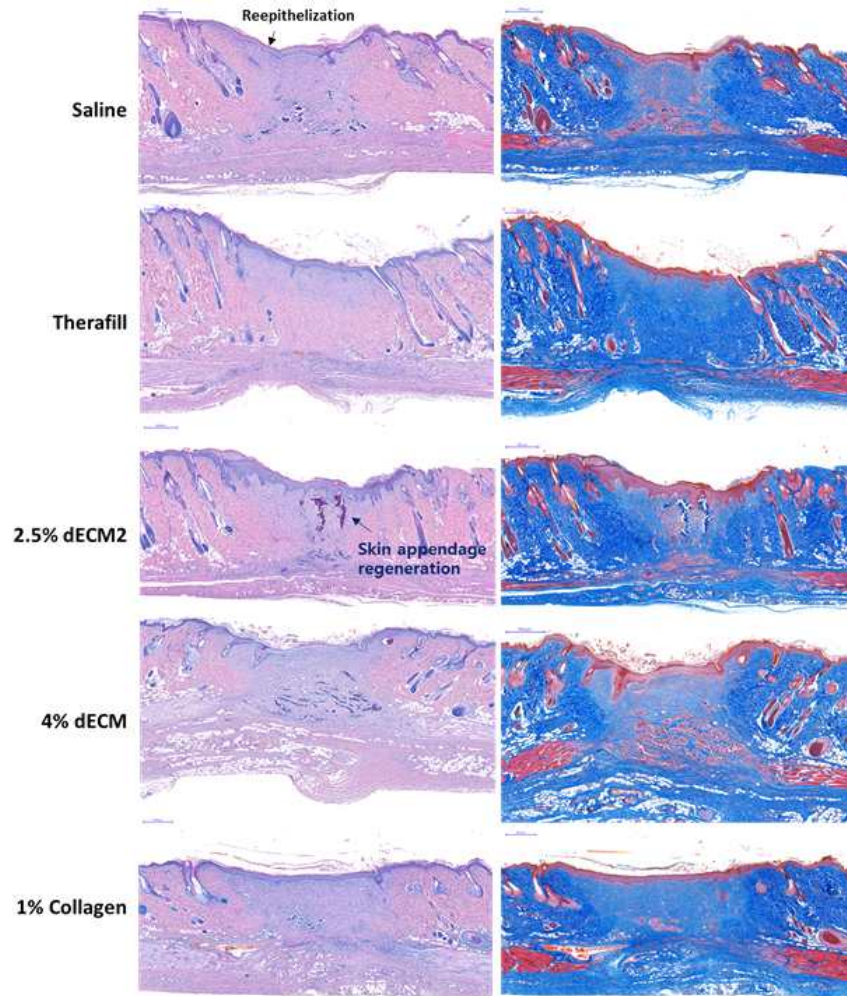
- 창상유발 후 3일째 조직소견 상 창상부위 가피 및 염증세포가 관찰되며 군별 차이는 뚜렷하지 않음.



[그림] 랫트 급성 피부창상 모델에서 창상 7일째 조직 평가

- 창상유발 후 7일째 조직소견으로 3일째에 비해 가피 및 염증세포의 감소와 재상피화 증가가 관찰됨. 재상피화가 완료된 개체수는 각 군별로 3/6, 6/6, 4/6, 0/6, 5/6로 TheraFill 군의 경우 모든 개체에서 재상피화가 완료된 반면 4% dECM 군의 경우 모든 개체에서 재상피화가 완료되지 않음.



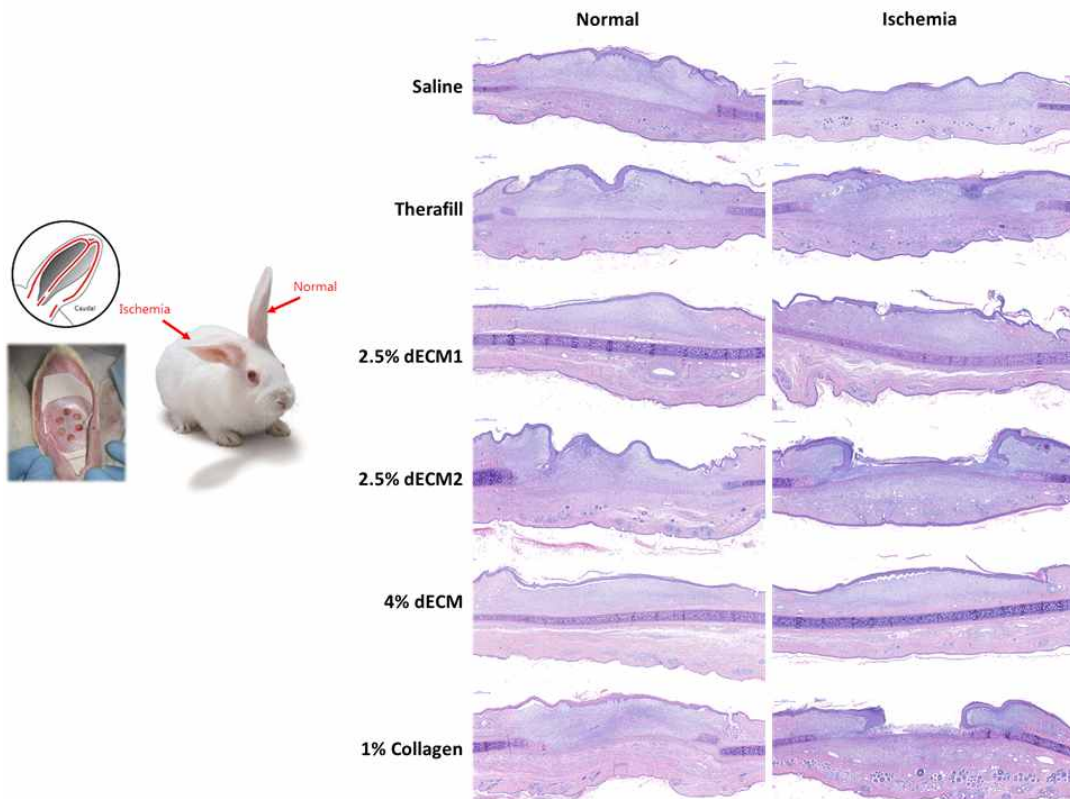


[그림] 랫드 급성 피부창상 모델에서 창상 14일째 조직 평가

- 창상유발 후 14일째 조직소견 상 모든 군에서 재상피화가 완료되었음. TheraFill 및 1% 콜라겐 처리군에 비해 바이오 잉크 처리군에서 뛰어난 피부부속기 재생능을 나타냄.

○ 바이오잉크의 만성 피부창상 치유효과 검증을 위한 동물모델 확립

- 바이오잉크의 만성 피부창상 치유효과를 검증하기 위해 토끼 귀 허혈모델에서 치유 촉진 효과를 평가하기 위해, 토끼를 전신마취시키고 한쪽 귀의 주요동맥을 결찰, 절단한 후 직경 6 mm의 원형 피부창상을 유발함. 다른쪽 귀는 정상 대조군으로 직경 6 mm의 원형 피부창상만 유발함.
- 각각의 창상에 격일로 바이오잉크와 collagen을 국소도포하고 14일째에 안락사하여 조직을 채취한 후 10% 중성 포르말린에 고정시켜 조직학적 평가를 실시하였음.

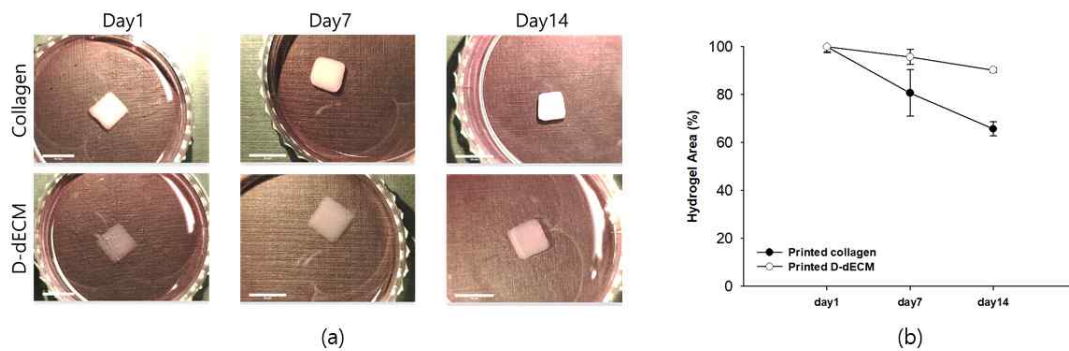


[그림] 토끼 귀 허혈 모델에서 바이오 잉크와 콜라겐의 피부창상 치유 조직 평가

- 창상유발 14일째 조직 검사 결과, 허혈을 유발하지 않은 정상 귀의 경우 모든 군에서 재생피화가 완료된 반면, 허혈부의 창상은 치유 속도가 정상군에 비해 느림. 특히 허혈에 의한 만성 창상의 경우, 저농도에 비해 고농도의 바이오 잉크 처리군에서 더 뛰어난 창상 치유 효과를 나타냄.

#### ○ 확보된 바이오 잉크로 세포 프린팅 조건 확립

- 1차년도에서 확립된 바이오잉크의 분사 속도 및 프린터 헤드의 이송속도를 기반으로 하여 human scale의 진피층을 제작하였고, 배양 기간에 따른 진피층의 수축 (contraction) 정도를 분석하여 안정성을 평가함.
- 특히, 본 실험에서는 인공피부를 제작함에 있어 가장 널리 사용되는 type I collagen 바이오 잉크와 비교분석 함으로써 제작 측면에서 탈세포화 된 바이오잉크의 기능성을 추가로 확인함.
- 노즐의 직경 300 um, 바이오프린터 헤드의 이송속도 100 mm/min, pH 7 조건에서 human scale 진피층 (가로 1 cm, 세로: 1 cm, 높이: 2 mm)이 성공적으로 제작됨 (그림 1 (a) 참고).
- 상품화된 type I collagen 바이오잉크를 사용하여 진피층을 제작한 경우, 일주일 후 초기 제작 된 구조물의 단면적이 약 20 % 정도 수축이 일어남. 반면에, 탈세포화 바이오잉크로 제작 된 진피층은 초기 제작 된 구조물의 면적 대비 5 % 수축이 일어남.
- 배양이 완료되는 2주 후에는 상품화된 type I collagen 으로 제작 된 진피층은 초기 면적의 35 % 가량 수축이 발생한 반면, 탈세포화 된 바이오잉크로 제작된 경우는 초기 면적의 약 10 %의 수축을 관찰됨 (그림 1 (b) 참고). 결론적으로, 탈세포화 된 바이오잉크로 제작 된 진피층이 더 안정적임을 확인함.
- 종합적으로, 확립된 탈세포화 바이오잉크를 이용하여 human scale의 진피층을 제작할 수 있음을 검증하였고, 추후 3차년도 표피층(epidermis)을 진피층 위에 위치시킬때 더 안정적인 인공피부를 개발할 수 있는 가능성을 확인함.

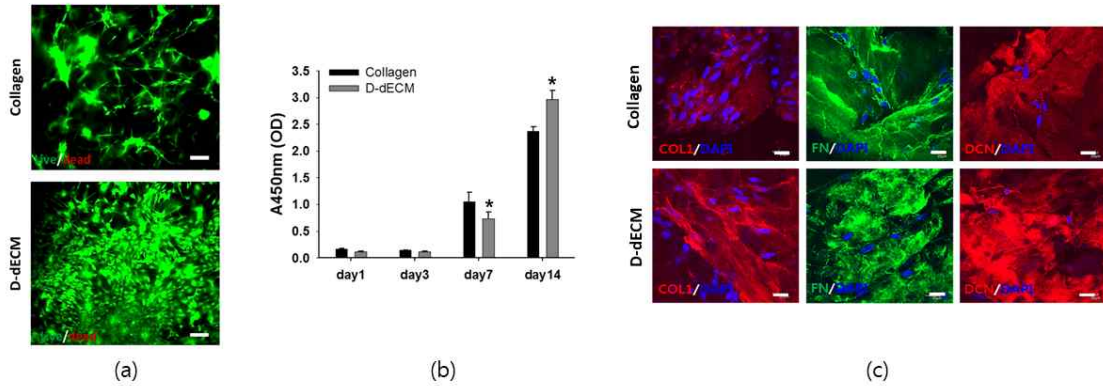


[그림] 확보된 바이오잉크를 이용한 진피층 제작 및 배양 기간에 따른 수축정도 비교 분석: (a) 상품화 된 collagen type I 과 탈세포화 된 바이오잉크를 이용한 진피층 제작, (b) 14일 동안 배양에 따른 수축 (contraction) 정도 비교 분석

○ 확보된 바이오잉크를 이용하여 프린팅 한 진피층을 형성하는 세포 (human dermal fibroblasts)의 증식 관찰

- 상품화 된 type I collagen 바이오잉크와 비교하여, 탈세포화된 바이오잉크에 세포 (human dermal fibroblasts)를 봉입하고 프린팅하여 생체 외(in vitro) 배양을 통해 생존율 (viability) 및 증식률 (proliferation)을 확인함.
- 진피층에 봉입 된 세포의 기능평가를 위해, 피부조직의 대표적인 ECM (extracellular matrix)인 collagen type I, fibronectin, decorin의 단백질 발현을 정도를 면역염색을 통해 비교분석함.
- 상품화된 type I collagen 바이오잉크와 확보된 바이오잉크로 제작 된 진피층의 세포 생존율을 7일간 확인한 결과, 두 그룹 모두 90 % 이상의 세포가 고유의 형태를 유지하며 생존하고 있음. 특히, 확보된 바이오잉크로 제작된 진피층 안의 세포는 상품화된 type I collagen 으로 제작된 진피층과 비교하여 더 높은 밀도로 분포하고 있음 (그림 2 (a) 참고).
- 상품화된 type I collagen 바이오잉크와 확보된 바이오잉크를 이용하여 제작 된 진피층에서 세포 증식률을 14일간 확인한 결과, 두 그룹 모두 시간이 지남에 따라 세포 증식이 서서히 진행됨. 특히, 14일 후, 확보된 바이오잉크로 제작 된 진피층의 세포증식률이 상당히 향상됨을 관찰함 (그림 2 (b) 참고).
- In-depth 분석을 위하여 면역염색을 통한 진피층 안에 봉입 된 세포가 분비하는 단백질 성분을 분석함. 피부의 대표적인 extracellular matrix (ECM)로 알려진 type I collagen, fibronectin, decorin을 분석한 결과, 상품화된 type I collagen 바이오잉크와 비교하여, 확보된 바이오잉크로 제작된 진피층에서 더 많은 ECM 성분이 분비되는 것을 확인함 (그림 3 (c) 참고).
- 본 결과는, 확보된 탈세포화 바이오잉크 안에 있는 사이토카인 (cytokine)과 성장인자 (growth factors)와 같은 고유 성분들이 세포 (human dermal fibroblasts)의 기능을 더 향상 시킬 수 있음을 의미함. 이러한 결과는, 추후 3차년도 표피층을 포함한 인공피부를 제작함에 있어서 구조적 (structural) 및 생리학적 (physiological) 측면에서 더 실제피부에 가까운 인공피부 제작 가능성을 제시함.





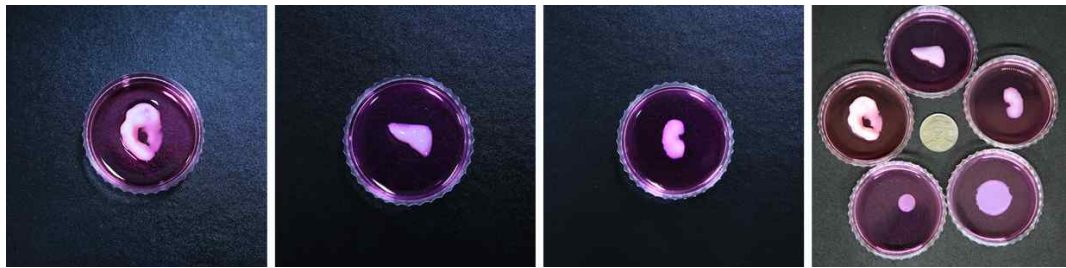
[그림] 상품화된 collagen type I 바이오잉크와 확보된 바이오잉크에 진피층을 형성하는 세포 (human dermal fibroblas)를 탑재 및 프린팅하여 기능 평가: (a) 세포 생존을 평가 (7일 차), (b) 세포 증식을 평가, (c) 면역 염색법을 통한 단백질 발현 평가 (7일 차)

코드번호

C-05-01

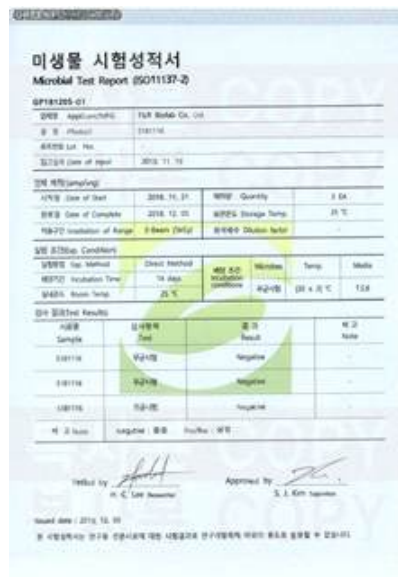
○ 다양한 구조체를 프린팅 제작하여 구조체의 안정성 검토

- 다양한 구조체가 프린팅 가능하며 프린팅 형태가 유지됨을 확인함.[그림1]
- 동전보다 작은 형태로 프린팅한 조직모형의 형태 변형없이 유지됨을 확인함.



[그림1]귀, 간, 신장과 같은 복잡한 구조체 프린팅으로 구현.

- 바이오 잉크의 프린팅 안전성 검증을 위해 검증된 타기관(그린피아)에 무균 실험(ISO 11737-2의거)을 의뢰하여 무균 입증을 완료함.



[그림] 타기관 무균실험을 의뢰하여 확인받은 시험 성적서.

○ 표준화된 재료로 바이오 잉크 대량생산 공정 확립

- 일정한 생산을 위해 지정된 공급처로부터 받은 원재료(수급:수지식품)로 기존의 생산량보다 4배 이상 준비하여 같은 생산 공정을 적용하여 대량생산의 공정을 확립하기 위한 실험을 진행함.
- 원재료 수급시 사용해야할 원재료와 폐기할 부분 분류 작업함.



[그림] 원재료 입고시 사용할 원재료 선별 기준

- 기존 공정에서 100g 원재료 사용시 30g 정도의 30% 수득을 확인하였기 때문에 분류된 조직에서 사용할 조직을 대비하여 준비함.
- 준비된 원재료의 양만큼 반응시약을 준비하여 실험 진행시 사용함.
- 대량으로 생산된 dECM으로 이전 실험조건인 dECM과 동일하게 생산되었는지 물성분석을 통하여 확인하였고 동일 조건으로 확인함.



1mm 칼 사용

Mixer



0.5% Trypsin-EDTA

1% Triton X-100

1x PBS (+1%P/S)

peracetic acid

[그림]대량생산 공정 과정.

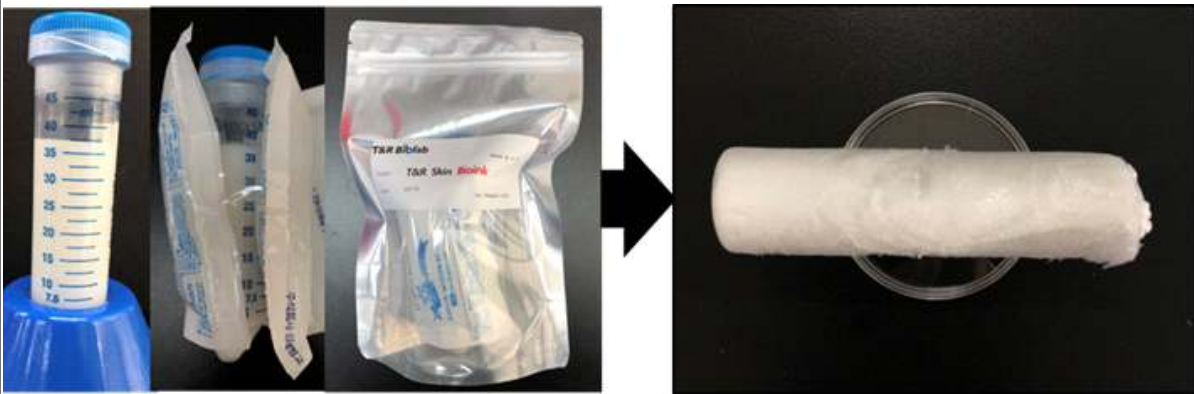
○ 생산 공정의 규격화 및 QC/QA 조건 확립

- pH7.5 맞추고 4°C 보관시 20일 이내 물성에 변화 확인되어 gelation 시 형태유지 되지 않기 때문에 오래 보관가능하고 실험자가 사용하기 편리한 제형으로 선정하는 것이 중요함.
- sponge 으로 보관시 가속노화실험을 통하여 예상되는 유통기간을 1년으로 확인함.



[그림] bioink 4°C 보관시 물성변화 확인

- 대량생산 공정 후 배송에 적합한 최종 제형선정

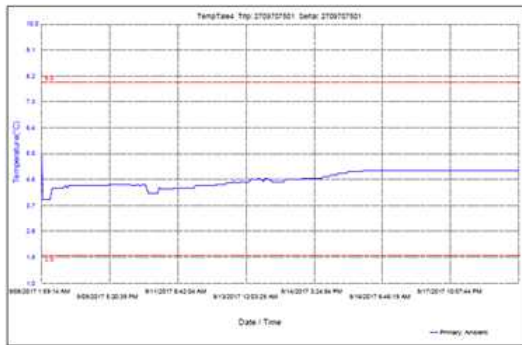


[그림]배송조건에 맞는 적합한 최종 제형



TempTale-4 USB Trip #: 2709707501 Serial #: 2709707501

<b>Alarm Status</b>		<b>Monitor Read</b>	
Low Alarm: <input checked="" type="checkbox"/>	High Alarm: <input checked="" type="checkbox"/>	On: 9/19/2017 1:54:02 PM	By: TempTale USB
		Note: All Times Shown Are in Greenwich Mean Time(GMT)	
<b>Monitor Configuration</b>		<b>Recorded Data</b>	
Low Alarm: Enabled	High Alarm: Enabled	First Point: 9/06/2017 1:39:14 AM	Stop Time: 9/19/2017 1:53:58 PM
Limit: 2.0 °C	Limit: 9.0 °C	Number of Points: 302	Trip Length: 11 Day(s) 12 Hour(s)
Type: Threshold Event	Type: Threshold Event		
Threshold: 0 min	Threshold: 0 min		
Status Delay: 30 min	Interval: 30 min		
<b>Alarms</b>			
Low Extreme: 3.3 °C	Low Alarm: Time Below: 0 sec	High Alarm: Time Above: 0 sec	
High Extreme: 8.4 °C	Longest Time Below: 0 sec	Longest Time Above: 0 sec	
Mean & Standard Deviation: 4.8 °C ± 0.3 °C	Degree Minutes Below: 0.0 °C min	Degree Minutes Above: 0.0 °C min	
Average Kinetic Temperature: 4.8 °C	Number Events Below: 0	Number Events Above: 0	
Activation Energy: 82.164 kJ/mol	Triggered:	Triggered:	
<b>Originator Notes</b>			



File Name: 2709707501\_2709707501\_0.pdf File Created: 9/19/2017 1:54:02 PM V4.02.000



[그림] 해외 배송시 bioink 4°C 보관 확인할 수 있는 기록

- bioink 해외 배송을 위해 4°C 온도 유지를 확인할 수 있는 기록계로 체크를 해야 하기 때문에 조건 배송에 따른 비용이 추가됨
- 안정적 배송 조건을 위해 바이오잉크의 형태가 유지되고 편리한 조건 유지 배송 실험을 통하여 타 기관에 실험적합성 실험을 진행하였고 sponge 형태의 바이오잉크가 배송에 좀더 적합한 것을 확인함.
- 유통기한, QC/QA 조건확립
- 생산된 bioink 최종 제형의 변화로 사용가능한 가속조건으로 유통기간 확인할 수 있는 가속노화실험을 통해 사용가능한 유통기간 확인함.
- 물성분석을 통해 최종 제형의 sponge 유통기간 1년으로 확인함.
- 모든 조건을 토대로 원가산정
- 최종 제형의 bioink를 생산시에 사용되는 실험시약 및 기자재를 생산량에 비례하여 산출함.

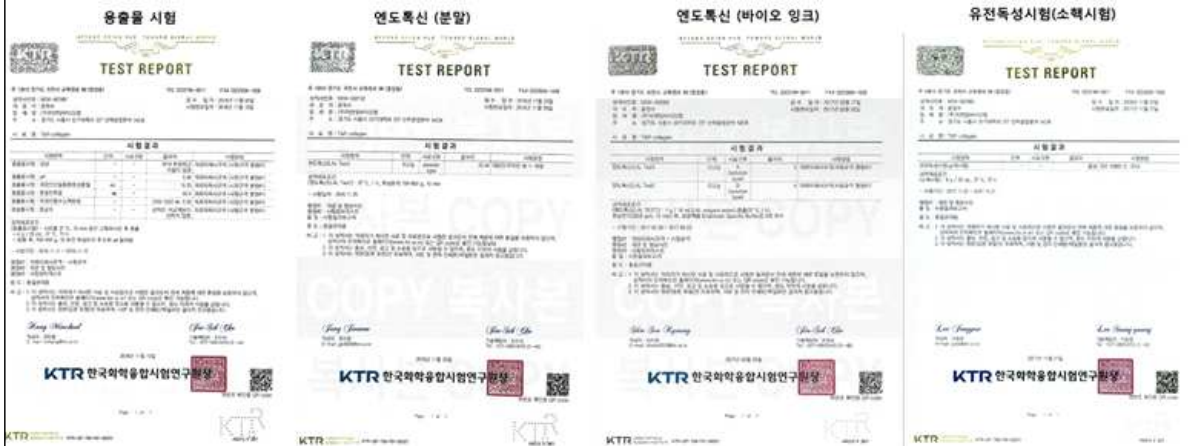


Skin dECM 생산 단가 산출 근거 - (dECM:30g = sponge:300vials 기준)						
항목	세부항목	구입비용 (원)	사용량	최종 생산단가 (원)	기타	비고
원재료	돼지 줄대기	13,500	0.1kg	900.00	배양비 포함가격, 입그분 무게 차이 있을수 있음.	(sponge 1vials 에 필요한 조직 단가237원)
Decellularization	LN2 (Freeze-thaw cycle, Freezer mill)	90,000	200L	90,000	900 decm 30g 생산에 필요한 조직 단가	
	칼날(메스10개)	20,000	10pk	2,000	사용후 날름량이 있을수 있음	
	Trypsin	35,000	600ml	210,000		
	EDTA	114,000	30g	3,423		
	10X PBS	64,000	15L	96,000		
	Triton X-100	17,500	50ml	875		
	penicillin streptomycin	31,000	5L	15,500		
	Ultra Pure Water.	23,000				
	멸균수				유지비용 소요 대략 추정	
	Peppin digestion & pH neutralization	Peppin [595092] Acetic acid	149,000	3g	4,294.29	
pH paper		75,000	6L	150,000		
Cell filter		60,000	1ea	60,000	사용후 날름량이 있을수 있음	
Cell Strainer (100um)		135,000	300 ea	405,000		
60mm petri dish		210,000	300 ea	630,000		
150mm petri dish		33,400	300 ea	100,200		
Vials 20ml		56,000	6L	93,400	dish 1장(467원) 30ml넣어 dry 200 장 필요	
고무마개 20mm		174	300 ea	52,200		
알루미늄캡(티어오프)		88	300 ea	26,400		
Syringe (한국복신)		88	300 ea	26,400		
특성분석	DNA 함량	500,000	1 Kit	500,000	G-spin, 전기영동	
	GAG 함량	668,000	1 Kit	668,000		
	Collagen 함량	778,000	1 Kit	778,000		
합계 (30g dECM 생산 -> 300vials sponge) 생산시 예상 단가				7,230,793	부과세 별도 금액	
skin sponge 1 vials(0.1mg) 생산시 예상 단가				24,102.64	부과세 별도 금액	

[그림] 단가 산출 내역

○ 안전성 시험

- 2차년도에 무균시험과 바이러스 검사를 진행함. 당해년도 추가적인 생물학적 안전시험과 물리 화학적 특성시험을 외부 공인 시험기관인 한국화학융합시험연구원(KTR)에 의뢰함.



[그림] 용출물 시험 성적, 엔도톡신 시험(분말과 바이오 잉크), 유전독성(소핵시험) 결과

- 생물학적 안전에 관한 엔도톡신 시험은 대한민국약전 제 11 개정에 근거하여 실험을 진행하였으며, 결과치는 분말 상태에서 23.44, 바이오 잉크 상태에서 5로 확인되어 안전성이 확인됨.
- 유전독성 시험은 ICR 마우스의 미정맥 및 복강 내 투여하고 24시간 후 골수 세포를 수집하여 소핵 유발과 세포독성을 평가하는 시험법이며, 바이오 잉크의 결과는 음성임.
- 물리화학적 특성 확인을 위한 용출물 시험 결과, 성상은 무색 투명하고 이물이 없고 중금속 비교액 보다 진하지 않음.



- 이와 같은 결과로, 바이오 잉크의 안전성을 인증기관으로 부터 검증하였으며, 추가로 최종재형으로 생균수 의뢰를 안전성 기관에 의뢰함.
- 3개 샘플에서 2개 미만의 콜로니 확인 되었고 이후 멸균을 진행하여 무균 시험의뢰 결과에서 음성 확인함.
- 본 연구과제의 상품화인 연구용 바이오잉크를 위한 안전성 실험이 진행되었으며 더 나아가 개발하고자 하는 의료용 바이오잉크 개발을 위한 안전성 부분이 검토가 필요하며, 이에 맞는 기준을 통과하기 위해 확인된 일부 성적서에서 확인 되었고, 지속적 확인과 의료기기 기준 확인되어야 함.

신원대 바이오인쇄연구소

**미생물 시험성적서**  
Microbial Test Report

GP18112-01

신청자 Applicant/AMS	TMR Biofab Co. Ltd.		
품 명 Product	S18116		
제조번호 Lot No.	-		
입고일자 Date of Input	2018. 11. 19		

공제 채취(Sampling)

시작일 Date of Start	2018. 11. 21	채취량 Quantity	3 EA
완료일 Date of Complete	2018. 11. 28	보관온도 Storage Temp.	25 °C
폭사기간 Irradiation of Range		희석배수 Dilution factor	-

실험 조건(Exp. Condition)

실험방법 Exp. Method	Direct Method	배양 조건 Incubation condition	Microbes	Temp.	Media
배양시간 Incubation Time	7 days	실온상온	[30.5 ± 2.5] °C	TSA	
실온온도 Room Temp.	25 °C	실온상온	[22.5 ± 2.5] °C	TSA	

검사 결과(Test Results)

시료명 Sample	검사 방법 Test	콜로니 수 Plate	결과 Result	비고 Note
S18116	말판배균	ND	0	CFU/EA
S18116	말판배균	ND	0	CFU/EA
S18116	말판배균	1	1	CFU/EA

비 고 Note: ND (Not Detected) : 검출되지 않음  
Result (No. of colonies x dilution factor)

Tested by: H. C. Lee Researcher      Approved by: S. J. Kim Supervisor

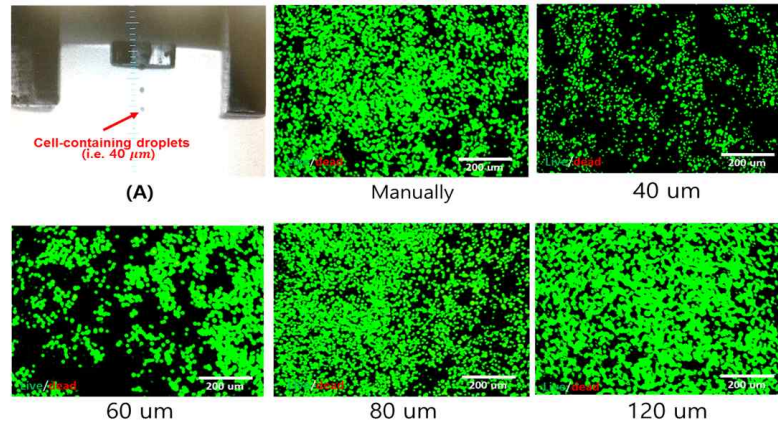
Issued date : 2018. 11. 28

본 시험성적서는 연구용 견본시험에 대한 시험결과로 연구개발목적 이외의 용도로 유효할 수 없습니다.

[그림]멸균 진행전 생균수 확인 시험성적서

○ 잉크젯 분사 방식을 이용한 표피층 (epidermis) 제작 공정 확립 - 1

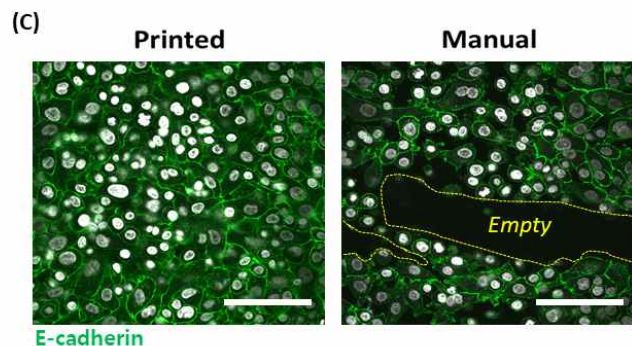
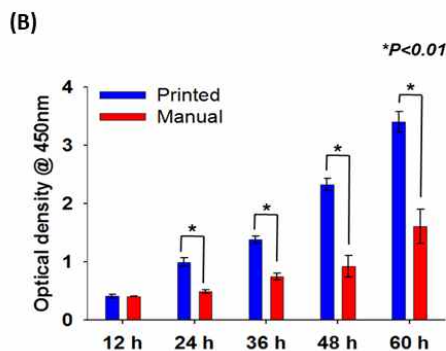
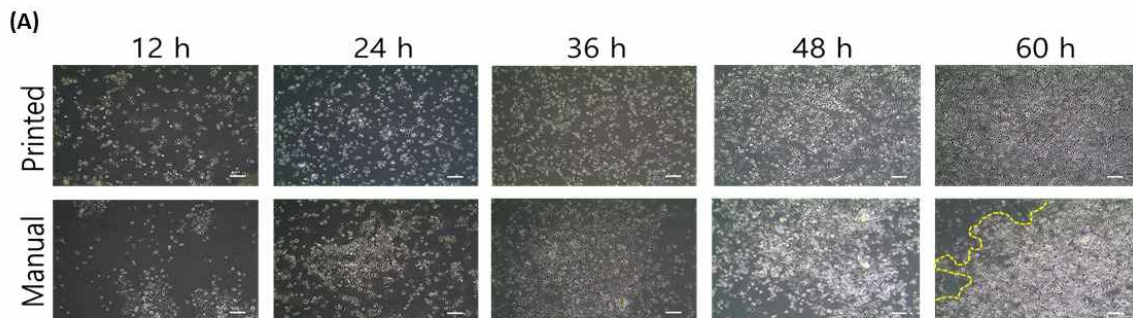
- ✓ 본 연구팀은 압전소자 방식을 이용한 정밀한 각질세포 (keratinocytes) 프린팅을 위해, 잉크젯 프린팅 모듈을 이용한 표피층 제작 공정을 확립함.
- ✓ 적절한 전압, 주파수, 공압의 조절을 통한 아주 작은 물방울 형태로 세포가 분사되는 것을 확인함. 특히, 전압 30 V와 주파수 200Hz, 공압 - 0.8Pa에서 안정적인 물방울 형태가 관찰됨 (Fig.1a)
- ✓ 또한, 잉크젯 프린팅 모듈 주입구에 다양한 노즐 직경의 변화를 통해서 분사되는 양 및 세포의 밀도 양을 변화 시켜 줄 수 있었고, 노즐의 직경이 클수록 특정 시간 동안 분사되는 세포의 양이 증가하였고, 노즐 직경 40 ~ 120 um 범위에서 90 % 이상의 세포 생존율이 확보됨 (Fig.1).
- ✓ 이러한 결과는, 본 연구를 통해 확립된 잉크젯 프린팅 조건은 추후 세포의 증식 및 분화에 악영향을 미치지 않을 것임을 미루어 짐작 할 수 있음.



[그림] 다양한 노즐 및 잉크젯 분사 방식을 이용한 각질세포 프린팅 및 세포 생존율 분석

○ 잉크젯 분사 방식을 이용한 표피층 (epidermis) 제작 공정 확립 - 2

- ✓ 본 연구팀은 잉크젯 분사 모듈에 80 μm 크기의 노즐을 결합 한 후, 세포 증식률 평가 및 특정 구역 위에 프린팅을 통한 위치 정확도를 분석함.
- ✓ 파이펫팅을 통한 각질세포 파종 방식 (manual)과 비교하여 프린팅 (printed) 된 그룹에서 콜라젠 표면 위에 더 균일하게 위치하고, 세포 증식 또한 더 균일하게 이루어지는 것을 관찰함 (Fig.2a).
- ✓ CCK-8를 이용한 세포 증식률을 비교해본 결과, 프린팅되어 균일하게 위치한 각질세포에서 더 세포 증식률이 급격하게 증가하는 것을 확인함 (Fig.2b).
- ✓ 면역염색을 수행한 결과, manual 방식과 비교를 했을 때 printed 된 그룹에서 더 균일하게 각질세포가 위치하고 있으며, 세포 junction marker인 E-cadherin 또한 더 균일한 발현량을 보여줌 (Fig.3b)
- ✓ 잉크젯 분사방식은 각질세포를 균일하고 정확하게 위치 시킬 수 있으며, 이는 추후 각질세포가 분화하여 균일한 표피층을 형성함에 있어서 핵심 프린팅 기술로 활용 될 수 있음.

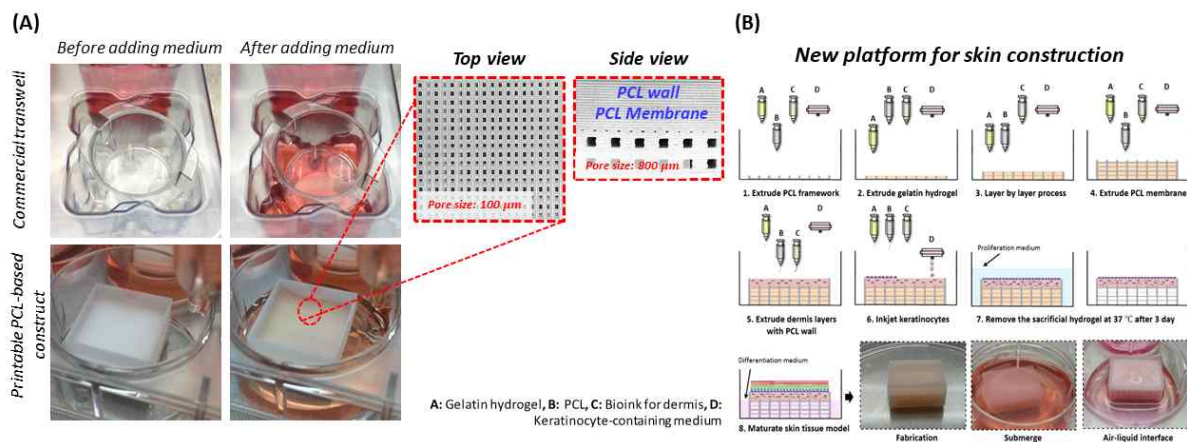


[그림] 잉크젯 방식을 이용한 각질세포 프린팅을 통한 세포 증식율 및 균일도 평가. (A) printed vs

manual을 통한 각질 세포를 현미경을 통해 관찰, (B) CCK-8를 이용한 세포 증식을 평가, (C) 면역형광염색을 통해 각질세포의 균일도 평가

○ 인공피부 구조체 제작을 위한 프린팅 플랫폼 개발

- ✓ 본 연구팀은 기존의 연구팀에서 인공피부 제작을 위해 사용해 왔던 규격화된 트랜스웰(transwell)를 프린팅 가능한 합성생체재료인 polycaprolactone (PCL) 로 대체함으로써 인공피부 제작함에 있어서 다재다능한 세포프린팅 기술을 극대화 함 (Fig. 3).
- ✓ 기술적인 우수성 뿐만 아니라, 기존의 상품화된 트랜스웰과 비교하여 50배 비용절감을 통해 훨씬 더 경제적인 인공피부 제작이 가능하게 함.

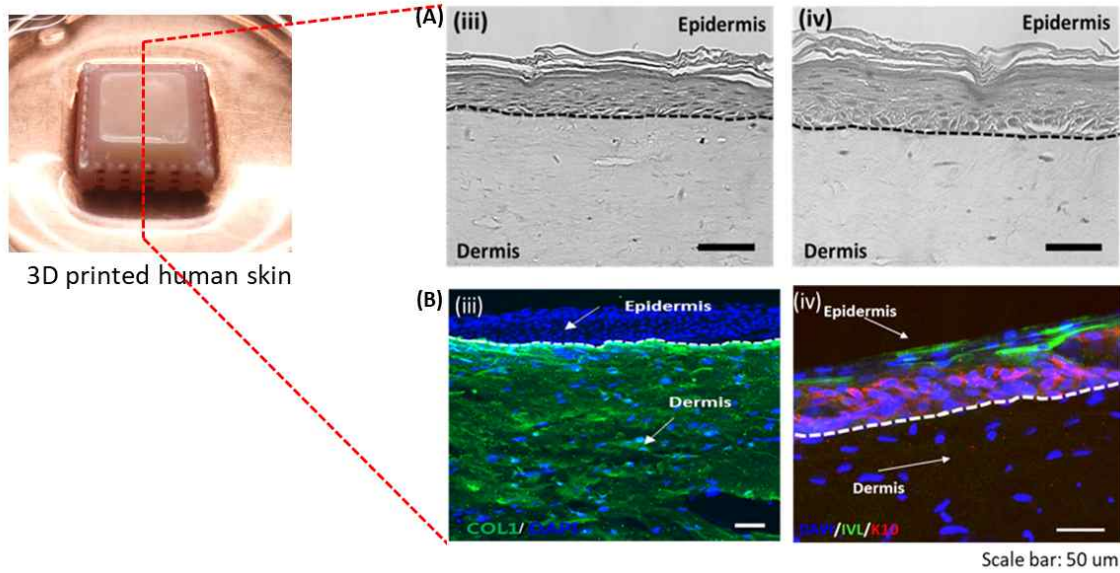


[그림] 인공피부 구조체 제작을 위한 프린팅 플랫폼 개발. (A) 기존이 상품화된 트랜스웰 비교 및 합성생체재료 (PCL)를 이용한 트랜스웰 유사체 제작 (B) 제시된 프린팅 플랫폼 기반 진피층 및 표피층을 포함한 인공피부 제작 공정

○ 생체 외 (*in vitro*) 배양을 통한 인공피부 조직화 수행 및 검증

- ✓ 앞서 개발된 플랫폼을 통해 프린팅 된 피부 구조체를 생체 외에서 배양하여 조직화를 수행함.
- ✓ 배양 된 인공피부를 단면으로 잘라 가장 대표적인 조직학적 분석 방법인 H&E 염색 및 성숙화된 표피층과 진피층의 대표적인 단백질 발현 마커를 이용한 면역염색을 통해 조직화 여부를 평가함.
- ✓ H&E 염색 결과, 각질세포가 분화하여 각질층을 가지는 표피층을 형성하는 것을 확인하고, 진피층 위에는 진피층을 형성하는 섬유아세포가 관찰됨 (Fig. 4a)
- ✓ 면역염색 수행 결과, 표피층의 분화를 대표하는 마커인 Keratin 10 (K10)와 Involucrin가 표피층에 층을 이루며 발현하는 것을 관찰함. 이는, 생체 외에서 배양된 인공피부 표면의 각질 세포가 잘 분화해서 성숙화 된 표피층을 형성하였음을 의미함 (Fig. 4b). 또한, 진피층을 대표하는 세포외 기질인 collagen type I 단백질 발현 마커를 통해 염색을 수행한 결과, 진피층에 봉입된 섬유아세포에 의해 분비된 collagen type I이 관찰됨.
- ✓ 이러한 조직학적 분석 결과는, 앞서 확립된 프린팅 플랫폼 기반 제작된 인공피부가 생체 외에서 피부 조직으로 조직화되었음을 의미함.

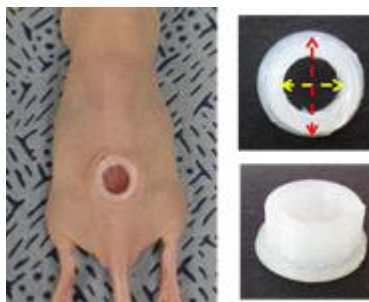




[그림] 확립된 프린팅 공정을 통해 개발된 인공피부의 생체 외 배양을 통한 피부 조직화 수행 및 검증

○ 마우스 창상 모델 제작 (전남대)

- Chimney 모델 동물을 제조하기 위해, Balb/C 누드 마우스(6주령)를 Xylazine(림폰®, 바이엘코리아, 한국) 40 mg/kg과 ketamine(케타민50주®, 유한양행, 한국) 10 mg/kg을 포함하는 40  $\mu$ l의 용액을 복강 내에 주입하는 방법으로 마취함
- 각 마우스를 알코올 면봉으로 소독한 후, 마우스의 피부에 biopsy punch를 이용해 8 mm의 절제 창상을 형성함
- 창상 테두리 안쪽에 3D프린팅 원통체(chimney)를 밀착되게 창상에 삽입한 후, 생체 적합한 의료용 본드인 Histoacryl L를 이용하여 이식한 원통체와 절개한 피부 사이를 접착하고 원통체의 개구부를 투명 필름으로 봉하여 창상 위를 덮음

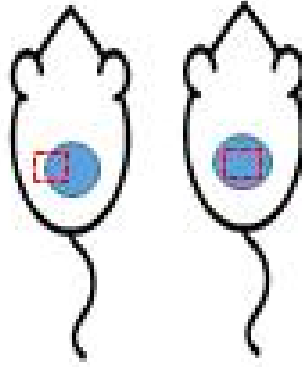


[그림] 실험 모델 사진 (Chimney wound model). 황색 화살표; 내경 6.4 mm, 적색 화살표; 외경 9 mm

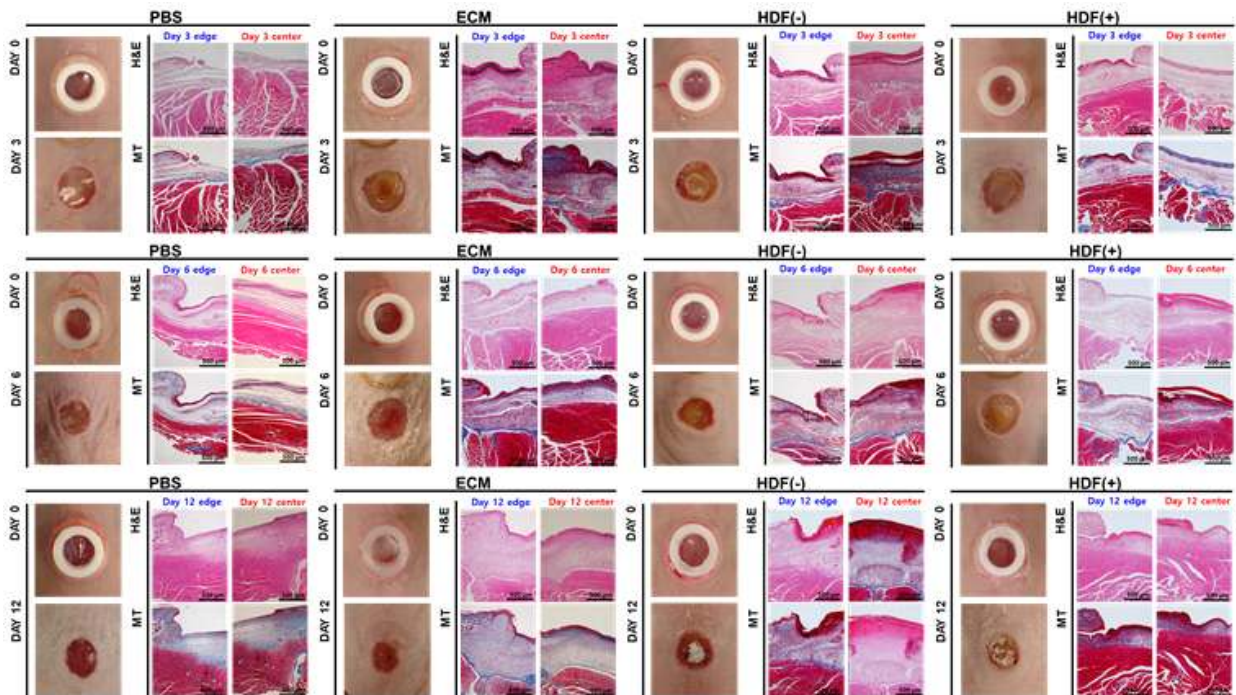
- 실험군 분류
  - PBS - 음성대조군,
  - ECM - 바이오잉크를 동결건조하여 시트타입으로 제작,
  - HDF(-) - 세포 없이 바이오잉크만 3D 프린팅,
  - HDF(+)- human dermal fibroblast가 포함된 바이오잉크를 3D 프린팅

○ 확립된 동물 모델에서 3D 프린팅 된 피부의 생체조직과의 동화, 표피와 진피의 결합력을 평가

- 마우스를 안락사 시켜 창상 질환 모델의 샘플을 획득하여 4% PFA로 고정한 뒤 PBS 1 h, 70% 알코올 1 h, 80% 알코올 1 h, 90% 알코올 1 h, 95% 알코올 1 h, 100% 알코올 1 h의 단계를 거쳐 Xylene에 하룻밤 침지 시켜 탈수 시킨 후 파라핀에 넣어 파라핀 블럭을 만들고 절편기를 통해 5 μm 두께의 조직 절편을 준비함.
- 조직 절편은 전체적인 조직의 상태와 재상피화 및 콜라겐 층의 두께를 측정하기 위해 슬라이드에 올려 hematoxylin and eosin (H&E) 및 Masson's trichrome으로 염색함.



[그림] H&E와 MT 염색 조직 슬라이드 분석 위치(Margin과 center)

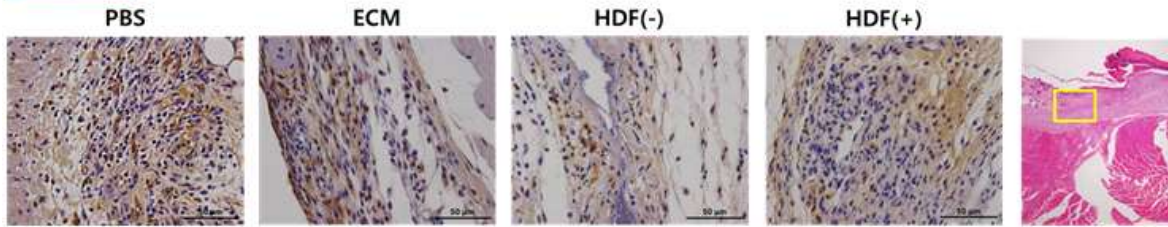


[그림] 마우스 chimney 모델에서 인공피부의 창상치유효과

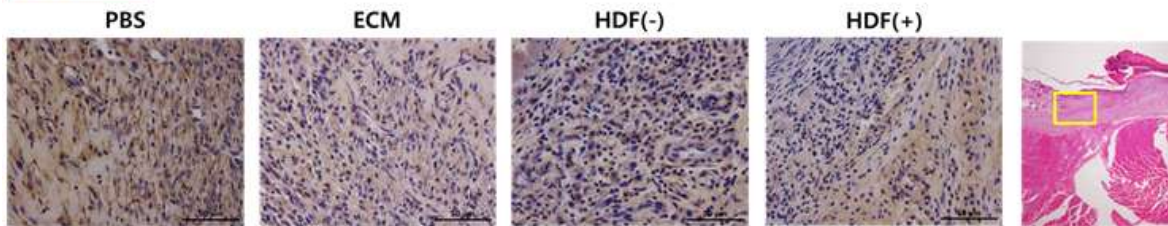
- 실험군이 대조군에 비해 epidermis 구조의 재생 및 콜라겐 생성 밀도가 높음
- 확립된 동물 모델에서 3D 프린팅 된 피부의 생체 조직 내 안전성 및 성능 평가
- 면역조직화학분석은 DAB 염색 기법을 이용하였으며 대비 염색제로는 hematoxylin이 이용됨. 재상피화는 cytokeratin 14에 대한 항체로 표지하여 관찰하였고 Ki67 발현 세포 관찰을 통해 창상 부위에 형성된 기저층 위로 keratinocyte의 이동 및 세포증식 여부를 분석하였으며 염증반응을 보기 위해 F4/80 항체를 표지하여 확인함.



### Day 6

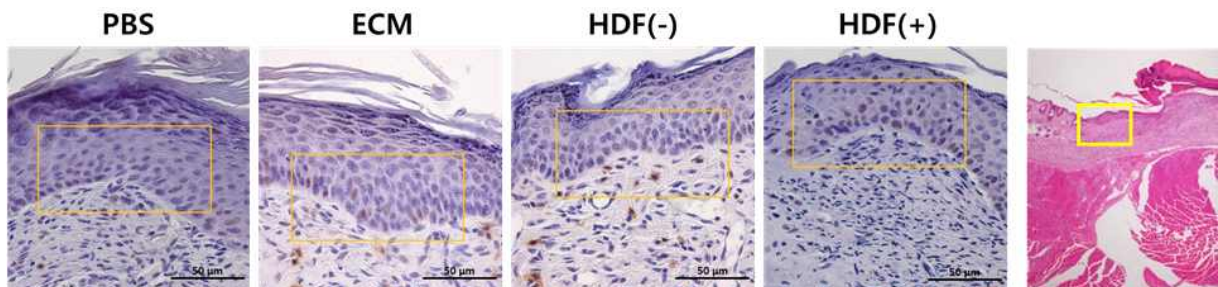


### Day 12



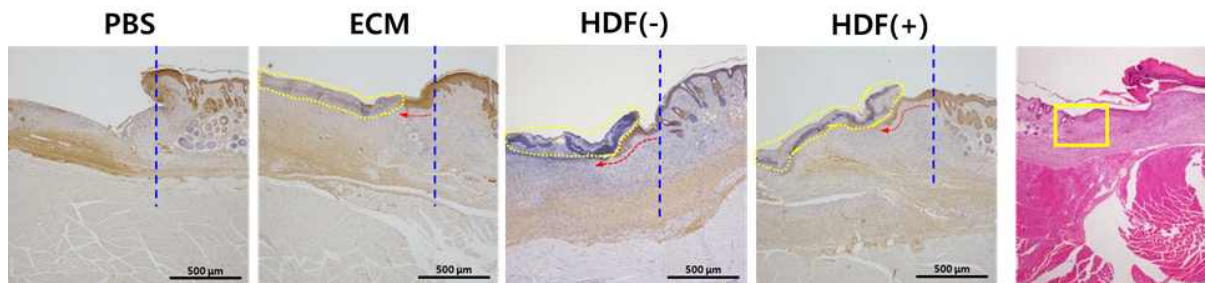
[그림] 창상부에서의 F4/80 발현 평가

- 실험군 및 대조군 모두에서 6일째(초기) 조직에서 염증반응이 확인되나 12일째에는 대조군에 비해 실험군에서 epidermis 내에서의 염증반응이 감소된 것이 확인됨



[그림] 창상부에서의 Ki67 발현 평가

- 조직 재생이 진행됨에 따라 대조군보다 실험군이 각질층(keratin layer)에서의 각질형성세포(keratinocyte)의 증식이 빠른 것이 확인됨



[그림] 창상부에서의 Cytokeratin 14 발현 평가

- HDF(+) 그룹에서 다른 그룹보다 창상 가장자리에서 각질층의 재생이 빠른 것으로 보아 재생피화 속도가 빠른 것을 확인 할 수 있음.

### 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 3-1. 목표

		코드번호	C-13-01
구분	내용		
최종목표	<p><b>DNA 함량 50ng/mg 미만급 3D 프린팅 기반 조직/장기 재생용 돼지유래 탈세포화된 바이오 잉크 개발 및 상용화</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>돼지 피부로부터 탈세포화 공정을 거쳐 자연적상태의 세포외기질을 모두 탑재한 바이오 잉크를 개발함</li> <li>안전성 시험 인증기관을 통한 바이오 잉크의 안전성을 확보함(무균시험, 바이러스 검사, 생물학적 안전성 검사 등)</li> <li>개발된 바이오 잉크의 프린팅 가능성을 확인하고, 조직/재생 유도능을 검증하여 바이오 잉크로서의 충족조건을 만족하는 성능 테스트를 수행함</li> <li>바이오 잉크를 이용한 조직/장기 재생을 시도함 (예: full thickness skin)</li> <li>QC/QA 과정을 거쳐 바이오 잉크를 상용화 함</li> </ul>		
	세부목표	<ul style="list-style-type: none"> <li><b>주요 기능(또는 규격)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>세포 프린팅 시 탑재된 세포의 생존을 보존 기능</li> <li>프린팅 세포의 조직 재생 유도 기능 (피부 및 연조직)</li> <li>프린팅이 가능한 점탄성 특성 보유</li> </ul> </li> <li><b>주요 성능치</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>DNA 잔유량: 50ng/mg 이하</li> <li>세포 생존율: 프린팅 세포의 1일차 생존율 90% 이상</li> <li>세포 생존 유지기간: 프린팅 세포의 생존 유지일 14일 이상</li> <li>온도 감응형 특성 : 37℃ 에서의 점탄성 특성 보유 (sol-gel transition)</li> <li>주요 ECM 함유 : 콜라겐, GAG, Elastin 함유</li> </ul> </li> </ul>	

#### 3-2. 추진 일정

		코드번호	C-14-03													
1차년도														연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	돼지 피부 유래 탈세포화된 바이오 잉크 개발														35,000	심진형 (티앤알바이오랩)
2	바이오 잉크 물성 검증														20,000	심진형(티앤알바이오랩)
3	바이오 잉크 제작 및 특성 분석														10,000	심진형(티앤알바이오랩)
4	안정성 검사 및 재료 표준화를 위한 탐색														10,000	심진형(티앤알바이오랩)
5	개발 단계의 바이오 잉크 세포 독성 검증														35,000	강성수 (전남대)

6	바이오 잉크의 wound healing 동물 모델 정립											40,000	강성수 (전남대)
7	개발 단계의 바이오 잉크 프린팅 공정 확립											25,000	장진아 (포스텍)
8	국내외 의료기기/의약품 등 인허가 제도 분석											10,000	고민구((주)더 비엔아이)
9	상용화 전략수립을 위한 기반환경 분석											15,000	고민구((주)더 비엔아이)
2차년도													
1	돼지 피부 유래 탈세포화된 바이오 잉크 공정 확립											50,000	심진형 (티앤알바이 오팸)
2	바이오 잉크의 안전성 시험 공인 기관 의뢰											50,000	심진형 (티앤알바이 오팸)
3	확립된 바이오 잉크의 세포 독성 검사											50,000	강성수 (전남대)
4	바이오 잉크의 효능 검증을 위한 동물 모델 확립											50,000	강성수 (전남대)
5	확보된 바이오 잉크의 프린팅 조건 확립											20,000	장진아 (포스텍)
6	확보된 바이오잉크를 이용하여 프린팅 한 진피층 형성 세포의 증식 관찰											15,000	장진아 (포스텍)
7	바이오 잉크 관련 산업 동향 분석											15,000	고민구((주)더 비엔아이)
8	선행특허 분석 및 특허 회피전략 수립											20,000	고민구((주)더 비엔아이)
3차년도													
1	안전성을 인정받아 제품에 적합한 바이오 잉크 개발											50,000	심진형 (티앤알바이 오팸)
2	바이오 잉크 기반 인공 피부 모델 적용											50,000	심진형 (티앤알바이 오팸)
3	바이오 잉크의 안전성 및 생체 효능 검증											50,000	강성수 (전남대)
4	인공 피부의 안전성 및 기능성 평가											50,000	강성수 (전남대)



5	잉크젯 분사 방식을 이용한 표피층(epidermis) 제작 공정 확립																	20,000	장진아 (포스텍)
6	바이오 프린팅 기술을 이용한 표피층 제작 기술 및 진피층(dermis)와 표피층(epidermis)를 포함한 최종 인공피부 모델 개발																	15,000	장진아 (포스텍)
7	바이오 잉크의 비즈니스 모델 수립																	35,000	고민구((주)더비엔아이)

3-3. 위탁연구/외부용역 현황

구 분	과 제 명	발주기관	수 행 자 (수행기관)	위탁 또는 용역 필요성	코드번호	연구기간	소요금액 (천원)
					C-14-04-01		
위탁연구	바이오 잉크를 이용한 바이오 프린팅 공정기술 개발	(주)티앤알바이오랩	포항공과대학교 산학협력단	바이오 프린터를 이용한 공정은 재료 개발과는 별개로 이뤄지는 것이 효과적임	돼지유래 바이오 잉크 특성을 고려한 프린팅 가능 공정(압력, 이송속도, 온도 등)을 확립함	2016.05.19.-2016.12.31	25,000
위탁연구	바이오 잉크 상용화 전략 수립	(주)티앤알바이오랩	(주)더비엔아이	상용화 과제로서 상용화에 필요한 전략을 전문적으로 수립	바이오 잉크의 상용화 전략	2016.05.19.-2016.12.31	25,000
위탁연구	바이오 잉크를 이용한 바이오 프린팅 공정기술 개발	(주)티앤알바이오랩	포항공과대학교 산학협력단	바이오 프린터를 이용한 공정은 재료 개발과는 별개로 이뤄지는 것이 효과적임	돼지유래 바이오 잉크 특성을 고려한 프린팅 가능 공정(압력, 이송속도, 온도 등)을 확립함	2017.01.01.-2017.12.31	35,000
위탁연구	바이오 잉크 상용화 전략 수립	(주)티앤알바이오랩	(주)더비엔아이	상용화 과제로서 상용화에 필요한 전략을 전문적으로 수립	바이오 잉크의 상용화 전략	2017.01.01.-2017.12.31	35,000
위탁연구	바이오 잉크를 이용한 바이오 프린팅	(주)티앤알바이오랩	포항공과대학교 산학협력단	바이오 프린터를 이용한 공정은	돼지유래 바이오 잉크 특성을	2018.01.01.-2018.12.31	35,000

	공정기술 개발		단	재료 개발과는 별개로 이뤄지는 것이 효과적임	고려한 프린팅 가능 공정(압력, 이송속도, 온도 등)을 확립함		
위탁연구	바이오 잉크 상용화 전략 수립	(주)티엔알바 이오랩	(주)더비엔 아이	상용화 과제로서 상용화에 필요한 전략을 전문적으로 수립	바이오 잉크의 상용화 전략	2018.01.01.-2 018.12.31	35,000

3-4. 참여연구원 연차별 현황  
1차년도

번호	소속기관명	직위	생년월일	전공 및 학위		연구담당 분야	신규채용 여부*	코드번호	B-08-03
				성명	과학 기술인등록 번호			성별	취득 년도
1	(주)티엔알 바이오랩	심진형			박사 (기계공학)	바이오잉크개 발	기존	0	0
2	(주)티엔알 바이오랩	원주윤			박사 (분자유전체 의학)	바이오잉크개 발	기존	24.23	3
3	(주)티엔알 바이오랩	김승진			박사 (식품영양)	바이오잉크개 발	기존	45.00	3
4	(주)티엔알 바이오랩	최다미			석사 (생명공학)	바이오잉크개 발	기존	55.00	2
5	(주)티엔알 바이오랩	안근선			석사 (기계공학)	프린팅 기술 개발	기존	40.00	3
6	(주)티엔알 바이오랩	이미희			석사 (생명공학)	바이오잉크개 발	기존	58.63	3
7	(주)티엔알 바이오랩	김민경			석사 (분자생명의 학)	바이오잉크개 발	기존	62.50	3
8	(주)티엔알 바이오랩	채용예정							
9	(주)티엔알 바이오랩	채용예정							
10	전남대학교	강성수			박사 (수의외과학)	소재개발 및 전임상평가	기존	55	5
11	전남대학교				박사	소재개발 및	신규	5	2

	심경미				(수의외과학)	전임상평가 17.01 - 17.12	40	45	
12	전남대학교				박사 (수의외과학)	소재개발 및 전임상평가	기존	40	5
	김세은					17.01 - 17.12	30	70	
13	전남대학교				석사 (수의외과학)	전임상평가	기존	35	4
	장광식					17.01 - 17.12	5	40	
14	전남대학교				학사 (수의학)	전임상평가	기존	20	2
	전석현					17.01 - 17.12	5	25	
15	전남대학교				학사 (수의학)	생체안전성 평가	기존	70	3
	강만호					17.01 - 17.12	5	75	
16	전남대학교				학사 (수의학)	생체안전성 평가	기존	61	3
	김세훈					17.01 - 17.12	5	66	
17	포스텍				박사 (바이오생산 공학)	바이오프린팅 공정기술 개발	기존	75	2
	장진아					16.05-18.12	10	85	
18	포스텍				학사 (기계공학)	바이오프린팅 공정기술 개발	기존	30	2
	김병수					16.05-18.12	10	40	
19	포스텍				학사 (생화학)	바이오프린팅 공정기술 개발	기존	10	1
	공정식					16.05-18.12	10	20	
20	(주)더비엔아 이				석사 (행정학)	상용화전략	기존	0	0
	고민구					16.05-18.12	12	12	
21	(주)더비엔아 이				박사 (생명공학)	상용화전략	신규	0	0
	박종화					16.05-18.12	12	12	
22	(주)더비엔아 이				학사 (환경공학)	상용화전략	기존	0	0
	이지혜					16.05-18.12	12	12	
23	(주)더비엔아 이				석사 (u-city공학)	상용화전략	기존	0	0
	박용기					16.05-18.12	12	12	

2차년도

							코드번호		B-08-03
번호	소속기관명	직위	생년월일	전공 및 학위		연구담당 분야	신규채용 여부*	국가연구개발사업 참여율 (%) [B]	국가연구개발사업 참여과제수 (건)
	성명	과학 기술인등록 번호	성별	취득 년도	학위 (전공)	과제참여 기간	본과제 참여율 (%) [A]	전체 참여율 [A+B, %]	
1	(주)티엔알 바이오랩				박사 (기계 공학)	바이오잉크개 발	기존	0	0
	심진형					16.05-18.12	30	30.00	
2	(주)티엔알 바이오랩				박사 (의학)	바이오잉크개 발	기존	34.26	1
	원주윤					16.05-18.12	30	64.26	

3	(주)티엔알 바이오팜				박사 (화학 공학)	바이오잉크개 발	기존	80.00	2
	곽소정					16.05-18.12	15	95.00	
4	(주)티엔알 바이오팜				석사 (생명 공학)	바이오잉크개 발	기존	50	1
	이미희					16.08-18.12	50	100	
5	(주)티엔알 바이오팜				석사 (분자 생명의학)	프린팅 기술 개발	기존	69.4	1
	김민경					16.05-18.12	29	98.4	
6	(주)티엔알 바이오팜				석사(생명유 전공학)	바이오잉크개 발	기존	60	2
	문서현					16.05-18.12	20	100	
7	(주)티엔알 바이오팜				석사 (분자 생명의학)	바이오잉크개 발	기존	68.77	3
	김미정					16.05-18.12	30	98.77	
8	(주)티엔알 바이오팜				석사 (면역학)	바이오잉크개 발	기존	40.84	2
	이송미					16.05-18.12	30	70.84	
9	전남대학교				박사 (수의외과학)	소재개발 및 전임상평가	기존	15	2
	강성수					16.05 - 18.12	20	35	
10	전남대학교				박사 (수의외과학)	소재개발 및 전임상평가	기존	24	2
	심경미					16.05 - 18.12	40	64	
11	전남대학교				박사 (수의외과학)	소재개발 및 전임상평가	기존	66	3
	김세은					16.05 - 18.12	30	96	
12	전남대학교				석사 (수의외과학)	전임상평가	기존	0	1
	장광식					16.05 - 18.12	5	5	
13	전남대학교				석사 (수의외과학)	전임상평가	기존	0	1
	전석현					16.05 - 18.12	5	5	
14	전남대학교				학사 (수의학)	생체안전성 평가	기존	0	1
	윤도국					16.05 - 18.12	5	5	
15	포스텍				박사 (바이오생산 공학)	바이오프린팅 공정기술 개발	기존	75	5
	장진아					16.05-18.12	5	80	
16	포스텍				학사 (기계공학)	바이오프린팅 공정기술 개발	기존	73	2
	김병수					16.05-18.12	10	83	
17	포스텍				학사 (생화학)	바이오프린팅 공정기술 개발	기존	65	2
	공정식					16.05-18.12	10	75	
18	(주)더비엔아 이				석사 (행정학)	상용화전략	기존	0	0
	고민구					16.05-18.12	12	12	
19	(주)더비엔아 이				학사 (환경공학)	상용화전략	기존	0	0
	이지혜					16.05-18.12	12	12	
20	(주)더비엔아 이				박사 (도시행정)	상용화전략	신규	0	0
	최재용					18.01-18.12	12	12	
21	(주)더비엔아				학사	상용화전략	기존	0	0

	이				(영어영문학)	18.01-18.12	12	12	
	최소원								

3차년도

							코드번호		B-08-03
번호	소속기관명	직위	생년월일	전공 및 학위		연구담당 분야	신규채용 여부*	국가연구개발사업 참여율 (%) [B]	국가연구개발사업 참여과제수 (건)
	성명	과학 기술인등록 번호	성별	취득년도	학위 (전공)	과제참여기간	본과제 참여율 (%) [A]	전체 참여율 [A+B, %]	
1	(주)티엔알 바이오랩				박사 (기계공학)	바이오잉크개발	기존	0	0
	심진형					16.05-18.12	30	30.00	
2	(주)티엔알 바이오랩				박사 (의학)	바이오잉크개발	기존	34.26	1
	원주윤					16.05-18.12	30	64.26	
3	(주)티엔알 바이오랩				박사 (화학공학)	바이오잉크개발	기존	80.00	2
	곽소정					16.05-18.07	15	95.00	
4	(주)티엔알 바이오랩				석사 (생명공학)	바이오잉크개발	기존	50	1
	이미희					16.08-18.12	50	100	
5	(주)티엔알 바이오랩				석사 (분자생명의학)	프린팅 기술개발	기존	69.4	1
	김민경					16.05-18.10	29	98.4	
6	(주)티엔알 바이오랩				석사(생명유전공학)	바이오잉크개발	기존	60	2
	문서현					16.05-18.09	20	100	
7	(주)티엔알 바이오랩				석사 (분자생명의학)	바이오잉크개발	기존	68.77	3
	김미정					16.05-18.12	30	98.77	
8	(주)티엔알 바이오랩				석사 (면역학)	바이오잉크개발	기존	40.84	2
	이송미					16.05-18.12	30	70.84	
9	(주)티엔알 바이오랩				박사 (생명공학)	바이오잉크개발	신규	20	2
	남소림					18.08-18.12	35.56	55.56	
10	전남대학교				박사 (수의외과학)	소재개발 및 전임상평가	기존	15	2
	강성수					16.05 - 18.12	20	35	
11	전남대학교				박사 (수의외과학)	소재개발 및 전임상평가	기존	24	2
	심경미					16.05 - 18.12	40	64	
12	전남대학교				박사 (수의외과학)	소재개발 및 전임상평가	기존	66	3
	김세은					16.05 - 18.12	30	96	
13	전남대학교				석사 (수의외과학)	전임상평가	기존	0	1
	장광식					16.05 - 18.12	5	5	
14	전남대학교				석사 (수의외과학)	전임상평가	기존	0	1
	전석현					16.05 - 18.12	5	5	
15	전남대학교				학사 (수의학)	생체안전성평가	기존	0	1
	윤도국					16.05 - 18.12	5	5	
16	포스텍				박사	바이오프린팅	기존	75	7

	장진아			(바이오생산공학)	공정기술 개발 16.05-18.12	5	80	
17	포스텍			학사 (기계공학)	바이오프린팅 공정기술 개발	기존	73	2
	김병수				16.05-18.12	10	83	
18	포스텍			학사 (생화학)	바이오프린팅 공정기술 개발	기존	65	2
	공정식				16.05-18.12	10	75	
19	(주)더비엔아이			석사 (행정학)	상용화전략	기존	0	0
	고민구				18.01~18.12	12	12	
20	(주)더비엔아이			박사 (도시행정)	상용화전략	신규	0	0
	최재용				18.01~18.07	12	12	
21	(주)더비엔아이			석사 (테크노경영학)	상용화전략	신규	0	0
	정진호				18.01~18.12	12	12	
22	(주)더비엔아이			석사 (Ucity공학)	상용화전략	신규	0	0
	류성찬				18.08~18.12	12	12	
23	(주)더비엔아이			학사 (환경에너지시스템공학)	상용화전략	신규	0	0
	이지혜				18.01~18.02	12	12	

### 3-5. 연구시설/연구장비 보유현황

보유기관	연구시설·장비명	규격	수량	코드번호	
				용도	C-16-04 활용용도 및 시기
티앤알 바이오팍	stirrer	10*10 inch	5	바이오잉크 제작	필수/2차년도
티앤알 바이오팍	freezing dry	6L	1	바이오잉크 제작	필수/2차년도
티앤알 바이오팍	freezer mill	24kg	1	바이오잉크 제작	필수/2차년도
티앤알 바이오팍	FT-IR	300*450	1	바이오잉크 분석	필수/2차년도
티앤알 바이오팍	3D printer	300*600	1	3D 프린팅	필수/2차년도
티앤알 바이오팍	Deep freezer	793L	1	샘플 보관	필수/전기간
전남대	Leica 현미경 사진 촬영기	CH/DFC290 HD, 디지털	1	면역염색 확인 및 병리조직학적 연구	전임상실험
전남대	수술용현미경	Leica Instruments, SG/M220 F12	1	In vivo 실험	전임상실험
전남대	Microtome, Tissue Processor, Tissue embedding machine	Sakura finetek, JP/TEC-5,	1	병리 조직학적 연구	전임상실험

전남대	초고속 원심분리기	US/Centra-8	1	단백질 등 정제	생체소재개발
전남대	X-ray 촬영장치	SMS-RF tilting table	1	In vivo 실험	전임상실험
포스텍	다축 적층 시스템 (MHDS)	-	1	기초실험	필수/ 2차년도
포스텍	Dispenser	SuperΣX-V7	2	기초실험	필수/ 2차년도
포스텍	Thermo master	TB-10E-K	2	기초실험	필수/ 2차년도
포스텍	Optical table	1500x1800	1	기초실험	필수/ 2차년도
포스텍	3-Axis linear stage	ATS100	1	기초실험	필수/ 2차년도
포스텍	3-Axis linear stage	M-ISL50CC	1	기초실험	필수/ 2차년도
포스텍	Stage motion controller	ESP300	1	기초실험	필수/ 2차년도
포스텍	Stage Control Software	MMI500	1	기초실험	필수/ 2차년도

### 3-6. 기관(기업) 현황(연차별)

#### 가. 1차년도

구분 \ 수행기관명		코드번호		C-16-05-01	
		(주)티앤알바이오팜	전남대 산학협력단	포항공대 산학협력단	(주)더비엔아이
①	사업자등록번호	140-81-73187	409-82-11942	506-82-07303	114-86-09487
②	법인등록번호	135511-0249041	206371-0001063	171771-0003550	110111-2251760
③	대표자 성명(국적/성별)	윤원수(한국/남)	송진규	정완균(한국/남)	김윤명(한국/남)
④	최대주주(국적)	윤원수(한국)			김주형(한국)
⑤	기업(기관) 유형 (중소기업, 중견기업 대기업) (대학, 출연연, 국공립연, 기타 등)	중소기업	대학	대학	중소기업
⑥	설립 연월일	2013.03.29	2004. 02. 05	2004.04.02	2001.06.01
⑦	주 생산품목	의료기기	서비스		서비스
⑧	상시 종업원 수	32 명	48명		53명
⑨	전년도 매출액(백만원)	70	130,165		3,175
⑩	매출액 대비 연구개발비 비율	88.3%	58.08%		-
⑪	부채 비율	2015년	6.981%	63.5%	150.65%
		2014년	19.478%	55.8%	153.46%
⑫	유동 비율	2015년	4.513%	200.4%	94.97%

			2014년	643.442%	201.9%		92.53%
⑬	자본 잠식 현황	자본 총계 (백만원)	2015년	5,988	94,571원		704
			2014년	2,691	91,281원		658
		자본금 (백만원)	2015년	370	94,571원		402
			2014년	326	91,281원		402
⑭	이자보상비율		2015년		없음		219.75%
			2014년		없음		347.37%
⑮	영업이익 (백만원)		2015년	-971			912
			2014년	-484			939
⑯	주소		( 429 -793 )경기도 시흥시 237 스마트허브 산학융합본부 540호 (500-757) 광주광역시 북구 용봉로 77(용봉동) (790 - 784) 경북 포항시 남구 청암로 77 (137 - 806) 서울특별시 서초구 사평대로 22길 6 삼영빌딩 6, 7층				
⑰	수행기관 별명 담당자	성명	원주윤	심경미	장진아	고민구	
		부서/직위	연구팀/차장	수의학과/연구교수	기계과/연구원	산업지원팀/팀장	
		사무실전화					
		휴대폰					
		팩스	031-8041-1783	062-530-2881	054-279-2813	02-3476-5590	
		이메일					
⑱	연구 지원 담당자	성명	오하나	이혜련	이태규	윤경하	
		부서/직위	연구팀/주임	연구지원팀/직원	연구지원팀/직원	사업지원팀/팀장	
		사무실전화	031-431-3344	062-530-5050	054-279-2579	02-6734-1218	
		휴대폰					
		팩스	031-8041-1783	062-530-1289	054-279-2813	02-3476-5590	
		이메일					

나. 2차년도

		코드번호		C-16-05-01	
구분	수행기관명	(주)티앤알바이오팜	전남대 산학협력단	포항공대 산학협력단	(주)더비엔아이
①	사업자등록번호	140-81-73187	409-82-11942	506-82-07303	114-86-09487
②	법인등록번호	135511-0249041	206371-0001063	171771-0003550	110111-2251760
③	대표자 성명(국적/성별)	윤원수(한국/남)	송진규	김형섭(한국/남)	김윤명(한국/남)
④	최대주주(국적)	윤원수(한국)			김주형(한국)
⑤	기업(기관) 유형 (중소기업, 중견기업 대기업) (대학, 출연연, 국공립연, 기타 등)	중소기업	대학	대학	중소기업
⑥	설립 연월일	2013.03.29	2004. 02. 05	2004.04.02	2001.06.01
⑦	주 생산품목	의료기기	서비스		서비스
⑧	상시 종업원 수	32 명	60명		53명
⑨	전년도 매출액(백만원)	274	136,290		3,175
⑩	매출액 대비 연구개발비 비율	140.3%	69.08%		-



⑪	부채 비율		2016년	52.423%	63.5%		150.65%
			2015년	19.478%	55.8%		153.46%
⑫	유동 비율		2016년	401.837%	200.4%		94.97%
			2015년	16.828%	201.9%		92.53%
⑬	자본 잠식 현황	자본 총계 (백만원)	2016년	5,449	94,571		704
			2015년	2,691	91,281		658
		자본금 (백만원)	2016년	3,575	57,845		402
			2015년	2,252	58,595		402
⑭	이자보상비율		2016년	-7.4	-		219.75%
			2015년	-61.3	-		347.37%
⑮	영업이익 (백만원)		2016년	-1,112	2,476		912
			2015년	-484	6,848		939
⑯	주소		( 429 -793 )경기도 시흥시 237 스마트허브 산학융합본부 540호	(500-757) 광주 광역시 북구 용 봉로 77	(790 - 784) 경북 포항시 남구 청암로 77	(137 - 806) 서울특별시 서초구 사평대로 22길 6 삼영빌딩 6, 7층	
⑰	수행기관별 담당자		성명	원주윤	심경미	류은주	고민구
			부서/직위	연구팀/차장	생체재료개발센터/ 연구교수	창의IT융합공학과	산업지원팀/팀장
			사무실전화	031-431-3344	062-530-2880	054-279-8887	02-6734-2316
			휴대폰				
			팩스	031-8041-1783	062-530-2881	054-279-2813	02-3476-5590
			이메일				
⑱	연기부 담당자		성명	박수진	박수현	이태규	윤경하
			부서/직위	연구지원팀/사원	연구지원팀/직원	연구지원팀/직원	사업지원팀/팀장
			사무실전화	031-431-3344	062-530-5050	054-279-2579	02-6734-1218
			휴대폰				
			팩스	031-8041-1783	062-530-1289	054-279-2580	02-3476-5590
			이메일				

다. 3차년도

		코드번호		C-16-05-01	
구분	수행기관명	(주)티앤알바이오팜	전남대 산학협력단	포항공대 산학협력단	(주)더비엔아이
①	사업자등록번호	140-81-73187	409-82-11942	506-82-07303	114-86-09487
②	법인등록번호	135511-0249041	206371-0001063	171771-000355 0	110111-2251760
③	대표자 성명(국적/성별)	윤원수(한국/남)	송진규	김형섭(한국/남)	김윤명(한국/남)
④	최대주주(국적)	윤원수(한국)			김주형(한국)
⑤	기업(기관) 유형 (중소기업, 중견기업, 대기업) (대학, 출연연, 국공립연, 기타 등)	중소기업	대학	대학	중소기업
⑥	설립 연월일	2013.03.29	2004. 02. 05	2004.04.02	2001.06.01

⑦	주 생산품목		의료기기	서비스		서비스	
⑧	상시 종업원 수		32 명	60명		53명	
⑨	전년도 매출액(백만원)		274	136,290		4,725	
⑩	매출액 대비 연구개발비 비율		140.3%	69.08%		-	
⑪	부채 비율	2016년	52.423%	63.5%		151.68%	
		2015년	19.478%	55.8%		171.10%	
⑫	유동 비율	2016년	401.837%	200.4%		88.20%	
		2015년	16.828%	201.9%		78.06%	
⑬	자본 잠식 현황	자본 총계 (백만원)	2016년	5,449	94,571		816
			2015년	2,691	91,281		755
		자본금 (백만원)	2016년	3,575	57,845		402
			2015년	2,252	58,595		402
⑭	이자보상비율		2016년	-7.4	-		314.74%
			2015년	-61.3	-		203.60%
⑮	영업이익 (백만원)		2016년	-1,112	2,476		137
			2015년	-484	6,848		81
⑯	주소		( 429 -793 )경기도 시흥시 237 스마트허브 산학융합본부 540호	(500-757) 광주 광역시 북구 용 봉로 77	(790 - 784) 경북 포항시 남구 청암로 77	(137 - 806) 서울특별시 서초구 사평대로 22길 6 삼영빌딩 6, 7층	
⑰	수 행 기관 별 실 질 담 당 자	성명	원주운	심경미	류은주	고민구	
		부서/직위	연구팀/차장	생체재료개발센터/ 연구교수	창의IT융합공학과	산업지원팀/팀장	
		사무실전화	031-431-3344	062-530-2880	054-279-8887	02-6734-2316	
		휴대폰					
		팩스	031-8041-1783	062-530-2881	054-279-2813	02-3476-5590	
		이메일					
⑱	연 구 부 담 당 자	성명	박수진	박수현	이태규	윤경하	
		부서/직위	연구지원팀/사원	연구지원팀/직원	연구지원팀/직원	사업지원팀/팀장	
		사무실전화	031-431-3344	062-530-5050	054-279-2579	02-6734-1218	
		휴대폰					
		팩스	031-8041-1783	062-530-1289	054-279-2580	02-3476-5590	
		이메일					

3-7. 연구개발비 집행실적 (연차별)

가. (주)티엔알바이오팜

(단위 : 천원)

				코드번호		C-08		
항목	비목			금액	계획금액	사용액	잔액	비고
직접비	인건비	내부 인건비	미지급		0	0	0	
			지급	현금	25,000	25,000	0	
				현물	60,000	60,000	0	
		외부 인건비	미지급		0	0	0	
			지급	현금	0	0	0	
				현물	0	0	0	
	학생인건비		현금		0	0	0	
	소 계				85,000	85,000	0	
	연구장비· 재료비		현금		50,870	50,870	0	
			현물		0	0	0	
	연구활동비				1,729	1,695	34	
	연구과제추진비				7,000	3,191	0	
	연구수당				0		0	
	위탁연구개발비				50,000	50,000	0	
소 계				106,000	105,966	34		
간접비	인력지원비							
	연구지원비							
	성과활용지원비				1,000	1,000	0	
	소계				1,000	1,000	0	
연구개발비 총액				192,000	191,966	34		

(단위 : 천원)

				코드번호		C-08		
항목	비목			금액	계획금액	사용액	잔액	비고
직접비	인건비	내부 인건비	미지급		0	0	0	
			지급	현금	30,000	30,000	0	
				현물	90,000	90,000	0	
		외부 인건비	미지급		0	0	0	
			지급	현금	0	0	0	
				현물	0	0	0	
	학생인건비		현금		0	0	0	
	소 계				120,000	120,000	0	
	연구장비· 재료비		현금		50,172	50,172	0	
			현물		0	0	0	
	연구활동비				50,700	50,223	476	
	연구과제추진비				6,200	6,199	0	
	연구수당				0	0	0	
	위탁연구개발비				70,000	70,000	0	
소 계				177,072	177,045	26		
간접비	인력지원비				0	0	0	
	연구지원비				0	0	0	
	성과활용지원비				3,000	300	0	
	소계				3,000	300	0	
연구개발비 총액				300,072	300,045	26		

(단위 : 천원)

				코드번호		C-08		
항목	비목		금액	계획금액	사용액	잔액	비고	
직접비	인건비	내부 인건비	미지급					
			지급	현금				
				현물	90,000	90,000	0	
		외부 인건비	미지급					
			지급	현금				
				현물				
	학생인건비	현금						
	소 계							
	연구장비· 재료비	현금	98,636	98,636	0			
		현물						
	연구활동비			21,163	21,140	22		
	연구과제추진비			12,200	12,199	7		
	연구수당			5,000	5,000	0		
위탁연구개발비			70,000	70,000	0			
소 계			297,000					
간접비	인력지원비							
	연구지원비							
	성과활용지원비			3,000	2,575	424		
	소계							
연구개발비 총액				300,000	299,552	447		

## 나. 전남대 산학협력단

(단위 : 천원)

				코드번호		C-08		
항목	비목		금액	계획금액	사용액	잔액	비고	
직접비	인건비	내부 인건비	미지급	16,100				
			지급	현금	15,540	15,540	0	
				현물				
		외부 인건비	미지급					
			지급	현금				
				현물				
	학생인건비	현금						
	소 계			15,540	15,540	0		
	연구장비· 재료비	현금	32,640	32,640	0			
		현물						
	연구활동비			4,920	4,920	0		
	연구과제추진비			1,900	1,900	0		
	연구수당			5,000	5,000	0		
위탁연구개발비								
소 계			44,460	44,460	0			
간접비	인력지원비			15,000	15,000	0		
	연구지원비							
	성과활용지원비							
	소계			15,000	15,000	0		
연구개발비 총액				75,000	75,000	0		

(단위 : 천원)

				코드번호		C-08	
항목	비목		금액	계획금액	사용액	잔액	비고
직접비	인건비	내부 인건비	미지급	15,600	0	0	
			지급	현금	0	0	0
		현물		0	0	0	
		외부 인건비	미지급	0	0	0	
	지급		현금	39,000	32,905.37	6,094.63	
		현물	0	0	0		
	학생인건비	현금	4,740	4,740	0		
	소 계			43,740	37,645.37	6,094.63	
	연구장비· 재료비	현금	20,000	18,575	1,425		
		현물	0	0	0		
	연구활동비			2,900	2,111	789	
	연구과제추진비			6,360	5,283.8	1,076.2	
	연구수당			7,000	0	7,000	
	위탁연구개발비			0	0	0	
소 계			36,260	25,969.8	10,209.2		
간접비	인력지원비		20,000	20,000	0		
	연구지원비		0	0	0		
	성과활용지원비		0	0	0		
	소계		20,000	20,000	0		
연구개발비 총액			100,000	83,615.17	16,384.83		

(단위 : 천원)

				코드번호		C-08	
항목	비목		금액	계획금액	사용액	잔액	비고
직접비	인건비	내부 인건비	미지급	15,600	15,600	0	
			지급	현금			
		현물					
		외부 인건비	미지급				
	지급		현금	43,581.467	43,581.467	0	
		현물					
	학생인건비	현금	6,240	6,240	0		
	소 계			49,821.467	49,821.467	0	
	연구장비· 재료비	현금	14,495	14,495	0		
		현물					
	연구활동비			3,400	3,150.55	249.450	
	연구과제추진비			5,283.533	4,302.5	981.033	
	연구수당			7,000	7,000		
	위탁연구개발비						
소 계			30,178.533	28,948.05	1,230.483		
간접비	인력지원비		20,000	20,000	0		
	연구지원비						
	성과활용지원비						
	소계		20,000	20,000	0		
연구개발비 총액			100,000	98,769.517	1,230.483		

다. 포항공대 산학협력단

(단위 : 천원)

				코드번호		C-08		
항목	비목		금액	계획금액	사용액	잔액	비고	
직접비	인건비	내부 인건비	미지급	0	0	0		
			지급	현금	0	0	0	
				현물	0	0	0	
		외부 인건비	미지급	0	0	0		
			지급	현금	0	0	0	
				현물	0	0	0	
	학생인건비	현금	0	0	0			
	소 계			0	0	0		
	연구장비· 재료비	현금	13,380	15,386	-2,006			
		현물	0	0	0			
	연구활동비			4,000	2,708	1,292		
	연구과제추진비			2,000	1,286	714		
	연구수당			0	0	0		
위탁연구개발비			0	0	0			
소 계			19,380	19,380	0			
간접비	인력지원비			0	0	0		
	연구지원비			5,620	5,620	0		
	성과활용지원비			0	0	0		
	소계			5,620	5,620	0		
연구개발비 총액				25,000	25,000	0		

(단위 : 천원)

				코드번호		C-08		
항목	비목		금액	계획금액	사용액	잔액	비고	
직접비	인건비	내부 인건비	미지급	0	0	0		
			지급	현금	0	0	0	
				현물	0	0	0	
		외부 인건비	미지급	0	0	0		
			지급	현금	0	0	0	
				현물	0	0	0	
	학생인건비	현금	0	0	0			
	소 계			0	0	0		
	연구장비· 재료비	현금	17,134	24,359	-7,225			
		현물	0	0	0			
	연구활동비			7,000	0	7,000		
	연구과제추진비			3,000	2,775	225		
	연구수당			0	0	0		
위탁연구개발비			0	0	0			
소 계			27,134	27,134	0			
간접비	인력지원비			0	0	0		
	연구지원비			0	0	0		
	성과활용지원비			0	0	0		
	소계			7,866	7,866	0		
연구개발비 총액				35,000	35,000	0		

(단위 : 천원)

				코드번호		C-08	
항목	비목		금액	계획금액	사용액	잔액	비고
직접비	인건비	내부 인건비	미지급	(3,675)	(3,675)	0	2018.12.21. 기준 (연구장비 재료비 32 원 잔액남 음)
			지급	현금			
		현물					
		외부 인건비	미지급				
	지급		현금				
	현물						
	학생인건비	현금	(6,000)	(6,000)	0		
	소 계			(9,675)	(9,675)	0	
	연구장비· 재료비	현금	16,923	23,410	0		
		현물					
	연구활동비			6,500	2,217	0	
	연구과제추진비			3,500	1,296	0	
연구수당							
위탁연구개발비							
소 계			26,923	26,923	0		
간접비	인력지원비			3,576	3,576	0	
	연구지원비			3,576	3,576	0	
	성과활용지원비			925	923	0	
	소계			8,077	8,077	0	
연구개발비 총액				35,000	35,000	0	

마. (주)더비엔아이

(단위 : 천원)

				코드번호		C-08	
항목	비목		금액	계획금액	사용액	잔액	비고
직접비	인건비	내부 인건비	미지급				
			지급	현금	16,212	16,212	0
		현물					
		외부 인건비	미지급				
	지급		현금				
	현물						
	학생인건비	현금					
	소 계			16,212	16,212	0	
	연구장비· 재료비	현금					
		현물					
	연구활동비			5,000	4,790	210	
	연구과제추진비			2,826	3,148	-322	
연구수당							
위탁연구개발비							
소 계			7,826	7,938	-112		
간접비	인력지원비						
	연구지원비						
	성과활용지원비						
	소계			962	850	112	
연구개발비 총액				25,000	25,000	0	



				코드번호		C-08		
항목	비목			금액	계획금액	사용액	잔액	비고
직접비	인건비	내부 인건비	미지급		0	0	0	2017.12. 18. 기준
			지급	현금	20,304	18,612	1,692	
		현물		0	0	0		
		외부 인건비	미지급		0	0	0	
			지급	현금	0	0	0	
		현물		0	0	0		
	학생인건비	현금		0	0	0		
	소 계				20,304	18,612	1,692	
	연구장비· 재료비	현금		0	0	0		
		현물		0	0	0		
	연구활동비				7,300	7,335	-35	
	연구과제추진비				6,329	6,391	-62	
	연구수당				0	0	0	
	위탁연구개발비				0	0	0	
소 계				13,629	13,726	-97		
간접비	인력지원비			0	0	0		
	연구지원비			1,067	0	1,067		
	성과활용지원비			0	0	0		
	소계			1,067	0	1,067		
연구개발비 총액				35,000	32,338	2,662		

(단위 : 천원)

				코드번호		C-08		
항목	비목			금액	계획금액	사용액	잔액	비고
직접비	인건비	내부 인건비	미지급		0	0	0	
			지급	현금	20,304	20,304	0	
		현물		0	0	0		
		외부 인건비	미지급		0	0	0	
			지급	현금	0	0	0	
		현물		0	0	0		
	학생인건비	현금		0	0	0		
	소 계				20,304	20,304	0	
	연구장비· 재료비	현금		0	0	0		
		현물		0	0	0		
	연구활동비				8,320	8,332	0	
	연구과제추진비				6,376	6,379	0	
	연구수당				0	0	0	
	위탁연구개발비				0	0	0	
소 계				14,696	14,711	0		
간접비	인력지원비			0	0	0		
	연구지원비			0	0	0		
	성과활용지원비			0	0	0		
	소계			0	0	0		
연구개발비 총액				35,000	35,000	0		

3-8. 연구개발비

가. 연구개발비 총괄표 (응용·개발 연구과제 유형)

1) 연차별 총괄

(천원)

구 분		1차년도 (2016)		2차년도 (2017)		3차년도 (2018)		4차년도 (20 )		5차년도 (20 )		합 계
		금 액	%	금 액	%	금 액	%	금 액	%	금 액	%	
정부출연금		200,000	75	300,000	75	300,000	75					
민 간 부 담 금	현 금	7,000	2.6	10,000	2.5	10,000	2.5					
	현 물	60,000	22.4	90,000	22.5	90,000	22.5					
	소 계	67,000	25	100,000	25	100,000	25					
합 계		267,000	100 %	400,000	100 %	400,000	100 %		100 %		100 %	100 %

2) 정부출연금 배분 및 민간부담금(현금, 현물) 배분 내역

(단위 : 천원)

구 분		(주)티엔알바이오팩		전남대학교		C-18-01-02		
		계		계		계		
1차년도	정부출연금		125,000		75,000		200,000	
	민 간 부 담 금	민간현금	7,000		0		7,000	
		민간현물	60,000		0		60,000	
		소계	67,000		0		67,000	
	합계		192,000		75,000		267,000	
2차년도	정부출연금		200,000		100,000		300,000	
	민 간 부 담 금	민간현금	10,000		0		10,000	
		민간현물	90,000		0		90,000	
		소계	100,000		0		100,000	
	합계		300,000		100,000		400,000	
3차년도	정부출연금		200,000		100,000		300,000	
	민 간 부 담 금	민간현금	10,000		0		10,000	
		민간현물	90,000		0		90,000	
		소계	100,000		0		100,000	
	합계		300,000		100,000		400,000	
총계	정부출연금		525,000		275,000		800,000	
	민 간 부 담 금	민간현금	27,000		0		27,000	
		민간현물	240,000		0		240,000	
		소계	267,000		0		267,000	
	합계		792,000		275,000		1,067,000	

3-9. 목표 달성여부

나. 성과목표에 대한 자체평가

		코드번호	C-05-03
성과목표	자 체 평 가		
탈세포화 세포외기질 공정 확립	✓ 세포외기질의 조직학적 형태 유지와 세포 및 DNA가 제거되는 공정을 확립함.		
탈세포화 세포외기질 성분분석	✓ 탈세포화 과정으로 세포는 제거되고 주요 세포외기질 성분들인 Collagen, GAG, Elastin은 잔존하고 있음.		
바이오 잉크의 제작 및 특성분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 점성을 갖는 바이오 잉크를 제작하여 물성변화를 통해서 바이오 잉크로의 형태 유지 기능을 확인</li> <li>✓ 위탁기관인 포항공대를 통해 프린팅 가능함과 참여기관인 전남대를 통해 세포 안전성을 검증</li> </ul>		
바이오 잉크의 안전성 확인	✓ 무균 시험과 바이러스 검사를 통해 바이오 잉크의 멸균 효과와 안전성이 검증		
돼지피부 공급 업체 선정	✓ 안정적인 원재료 공급과 안전성이 입증된 공급업체를 선정함.		
바이오잉크 프린팅 특성 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 다양한 프린팅 조건 하에서 프린팅 된 바이오잉크의 line width 및 pore size를 측정하여 재료의 분사 속도 (fine 15, 25), 바이오프린터 헤드의 이송속도 (50, 100 mm/min), 재료의 농도 (4, 6, 8 w/v%)와 pH (4, 7) 및 노즐 직경 (200, 300 μm) 에 따른 가공품의 치수를 확인</li> <li>✓ 반복 실험을 통한 프린팅 결과물 확인 및 검증을 통해 주관 기관에 해당 정보를 제공</li> </ul>		
국내외 의료기기/의약품 등 인허가 제도 분석	✓ 바이오 잉크 관련 제품들의 인허가 제도에 대한 최신정보가 국내외 담당기관들을 통해 적절히 조사되었음		
상용화 전략수립을 위한 기반환경 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 바이오 잉크 관련 시장들에 대한 최신현황이 적절히 조사되었음</li> <li>✓ 주요 경쟁사들이 판매중인 바이오 잉크 관련 제품들의 전반적 현황이 충분히 조사되었음</li> </ul>		
DNA 함량50ng/mg 수준으로 탈세포화 공정 확립	✓ 세포 및 DNA가 제거되는 공정을 확립함.		
확립된 바이오 잉크의 성분 및 물성분석 수행	✓ 탈세포화 공정을 거친 Bioink에서 세포외기질 성분들이 Collagen, GAG, Elastin을 확인함.		
Pepsin digestion으로 프린팅 가능하며 세포 생존이 가능한 바이오 잉크의 점도 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 점탄성을 확인하여 프린팅이 가능한 바이오 잉크 %를 확립함.</li> <li>✓ 위탁기관인 포항공대를 통해 진피층 제작 가능성과 참여기관인 전남대를 통해 세포 안전성을 검증</li> </ul>		
프린팅후 기본적인 세포생존을 분석	✓ 6%의 바이오 잉크로 프린팅하였을 때, 세포 생존을 및 고유 형태를 유지함을 확인함.		
돼지피부 공급 업체 선정	✓ 안정적인 원재료 공급 및 안전성이 입증된 업체를 선정하여 확립된 탈세포화 공정을 수행하고 적합 업체를 선정함.		
공정이 확립된 바이오잉크로 인공 피부 모델 중 진피층 제작	✓ 인공 피부 모델 제작에 적합한 격벽 제작과 프린팅 방법을 정립하여 프린팅 샘플의 진피층 단면이 고르고 세포 생존이 유지되는 조건 확립.		
확립된 바이오잉크의 세포독성 검사	✓ 바이오 잉크를 이용한 세포프린팅의 세포 안전성 검증		
잉크젯 분사 방식을 이용한 표피층(epidermis) 제작 공정 확립	✓ 다양한 크기를 가지는 노즐을 잉크젯 모듈에 결합하여 각질 세포 (keratinocytes) 프린팅을 수행하여, 프린팅 직후의 세포		

	생존율 평가를 통한 표피층 제작 공정을 확보함.
인공피부 구조체 제작을 위한 프린팅 플랫폼 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 기존의 상품화된 트랜스웰을 사용하는 대신에 프린팅 가능한 PCL구조체로 트랜스웰 기능을 대체 함으로써, 인공피부 구조체를 제작함에 있어서 flexibility를 향상시킴.</li> <li>✓ 이러한 제작 방식은 기존의 상품화된 트랜스웰과 비교했을 때 50배의 비용 절감이 가능함.</li> </ul>
생체 외 ( <i>in vitro</i> ) 배양을 통한 인공피부 조직화 수행 및 검증	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 조직화 검증을 위한 면역염색을 수행하였음.</li> <li>✓ 진피층과 표피층을 각각 대표하는 collagen type I와 keratin 10, involucrin 단백질 발현 마커를 통한 조직화 여부를 검증함.</li> </ul>
확립된 동물 모델에서 3D 프린팅 된 피부의 생체조직과의 동화, 표피와 진피의 결합력을 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 3D 프린팅 된 인공피부의 생체 적용 시 생체 적합성 및 창상 치유효과 확인</li> </ul>
확립된 동물 모델에서 3D 프린팅 된 피부의 생체 조직 내 안전성 및 성능 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 3D 프린팅 된 인공피부의 생체 적용 시 염증 반응이 적고 재생 속도가 빠른 것 확인</li> </ul>

### 3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

#### 4. 연구결과의 활용 계획 등 사업화 계획

##### 4-1. 생산 계획

		코드번호		C-21-01
구분		(2019년) 개발 종료 후 1년	(2020년) 개발 종료 후 2년	(2021년) 개발 종료 후 3년
국 내	시장점유율(%)	5%	15%	30%
	판매량(단위: 개 )	29	94	205
	판매단가(원)	1,800,000	1,800,000	1,800,000
	국내매출액(백만원)	51.8	169.4	368.9
해 외	시장점유율(%)	3%	9%	15%
	판매량(단위: 개 )	691	2,258	4,099
	판매단가(\$)	1,500	1,500	1,500
	해외매출액(백만\$)	1	3.4	6.1
당사 생산능력1) (개)		1,000	2,000	2,500

##### 4-2. 투자 계획

(단위 : 백만원)

		코드번호		C-21-02
항목		(2019년) 개발 종료 후 1년	(2020년) 개발 종료 후 2년	(2021년) 개발 종료 후 3년
매출원가1)		324	1058	1936
판매관리비2)		194	635	1162
자본적 지출	토지			
	건물/구축물			
	기계장치등	100	300	500
자본적지출 합계		100	300	500

##### 4-3. 사업화 전략

- 제품홍보, 판로확보, 판매전략 등의 사업화 추진전략

가. 참여기업1 (주관/참여기관 중 기업만 작성)

구분	구체적인 내용
형태/규모	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 상용화 형태 : 동물 실험 대체 물질의 원료 공급</li> <li>○ 수요처 : 화장품 및 제약 회사</li> <li>○ 예상 단가 : 발매시 경쟁품의 시장 가격의 변동에 따라 책정</li> <li>○ 개발 투입인력 및 기간 : 연 3명 이상의 full time 연구원 투입 예상, 개발 기간 3년</li> </ul>
상용화 능력 및 자원보유	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 티엔알바이오팜에서는 2014년 7월 생분해성 고분자를 이용한 3D 프린팅 기반 생분해성 조직공학용 인공지체체의 식약처 인허가 획득하여 판매중임</li> <li>○ 4등급 의료기기로 허가를 받아 3D 프린팅 기반 의료기기로서 가장 높은 등급의 제품을 식약처로부터 허가받음</li> <li>○ 4등급 의료기기를 생산할 수 있는 바이오 프린팅 시스템을 국내최초로 GMP 시설로 인가 받아 생산 및 판매중</li> <li>○ 국내 및 세계 최초 환자맞춤형 생분해성 의료기기를 이용한 안면골 재건에 성공한 바 있음.</li> <li>○ 2014년 12월 한국투자파트너스로부터 20억 투자를 받고, 2016년 3월 기준 80억의 추가 투자를 유치하여 4등급 의료기기 및 바이오 프린팅 관련 상용화를 위한 재원을 확보하여 인력 충원을 활발히 진행중이며 상용화 능력을 보유하고 있음</li> <li>○ 현재 박사급 4명, 석사급 8명 총 10명의 full time 연구원이 연구를 수행중임</li> </ul>
상용화 계획 및 일정	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ (1단계 : 지적재산권 확보 및 인허가 획득) / 2016년~2018년               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 연구개발 성과물에 대한 지적재산권 확보를 위해 분쟁 가능성이 높은 특허에 유사도 분석 및 특허회피·방어전략을 수립함</li> <li>- 국내 인허가 관련 법률 조사 및 분석</li> <li>- 생물학적 안전성에 대한 공인인증</li> </ul> </li> <li>○ (2단계 : 시제품 개발) / 2018년               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 동물유래 바이오 잉크에 대한 효능 검증을 통한 시제품 생산</li> </ul> </li> <li>○ (3단계 : 대량생산을 위한 인프라 구축) / 2019년~2021년               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 바이오 잉크 대량 생산을 위한 생산 장비 구축 및 인력 충원</li> <li>- 국내시장 점유율 확대 및 해외시장 진출을 통한 대규모 생산을 위한 인프라 설비 투자 확대(지방 공장 별도 설립 계획)</li> </ul> </li> <li>○ (4단계 : 제품생산/판매) / 2019년~               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 수요처 발굴을 통한 제품생산 및 판매</li> <li>- 글로벌 회사의 라이선스 계약 또는 제품 납품계약 체결을 통한 해외시장 진출 확대</li> </ul> </li> </ul> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;"> <pre> graph LR     A[응용/개발연구] --&gt; B[공인시험 검사]     B --&gt; C[제품 생산공정확보]     C --&gt; D[제품화]          A -.-&gt; E[지적재산권 획득 (2016~2018년)]     B -.-&gt; F[효능/안전성 공인인증 (2018년)]     C -.-&gt; G[생산 설비투자 (2018년~2021년)]          style E fill:#4a7ebb,color:#fff     style F fill:#4a7ebb,color:#fff     style G fill:#4a7ebb,color:#fff               </pre> </div> <p style="text-align: center;"><b>[그림] 바이오 잉크 상용화 계획 및 일정</b></p>

4.4. 사업화를 위한 비즈니스 모델

코드번호	C-21-04-01
------	------------

<p><b>가. BM 수립 배경</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 3D 바이오 프린팅용 바이오 잉크 시장은 시장 잠재력은 매우 크지만, 현재 시장이 형성되어 있는 상황이 아니고, 바이오 프린팅 시장 또한 이제 막 성장 단계로 비즈니스 모델 확립이 매우 중요함</li> <li>○ 현재는 바이오 프린팅을 이용한 주요 player들을 분석하여 그들로 하여금 바이오 잉크가 채택될 수 있도록 해야함</li> </ul> <p><b>나. BM 목표 및 핵심경쟁요인</b></p> <p><b>□ BM 목표</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 바이오 프린팅 시스템은 미래 확장 가능성 및 잠재력이 매우 크지만, 현재는 전세계적으로 몇 안되는 그룹들이 채택하여 주로 연구단계에서 적용중임.</li> <li>○ 따라서, 선도적인 연구를 수행중인 몇 개의 그룹으로부터 개발된 바이오 잉크를 채택될 수 있도록 하는 노력이 필수적임</li> <li>○ 논문 작성을 통해 개발된 바이오 잉크의 우수성을 알리고, 유 관련 학회에서 개발된 바이오 잉크가 그 공신력을 인정 받을 수 있도록 함이 매우 중요함.</li> </ul> <p><b>다. 목표 시장 구조</b></p> <p><b>□ 경쟁기업 현황</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 미국의 Organovo, 일본의 Cyfuse 정도만이 바이오 프린팅 기술을 이용하여 사업을 하고 있는 기업으로 파악되고 있음. 그 외의 기업들은 바이오 프린팅을 이용한 인공장기 재생과 관련한 사업을 수행중인 기업은 없는 것으로 파악됨.</li> <li>○ 미국의 Organovo, 일본의 Cyfuse 뿐만 아니라, Harvard 및 Wake forest University 등 바이오 프린팅 연구를 수행하는 그룹에서도 각기 서로 다른 바이오 잉크를 사용하여 저마다의 방식으로 프린팅을 수행하고 있는 것이 현실임.</li> <li>○ 아직까지 바이오 잉크만을 타겟으로 사업을 하고 있는 기업은 파악되지 않으며, 따라서 현재 시장에는 점유율 높은 major product가 없는 상황임</li> </ul> <p><b>□ 경쟁구조</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 앞서 언급했듯이 바이오 잉크 관련하여 눈에 띄는 기업은 아직까지 파악되지 않음. 즉, 초기단계에서부터 시장을 선점할 수 있는 매우 좋은 시기로 파악됨.</li> </ul> <p><b>□ 시장진입 장벽</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 시장을 선도하는 제품이 없기 때문에 시장진입 장벽은 낮은 편임. 또한 바이오 프린팅 산업 자체가 아직은 초기단계라 극복하기 어려운 수준의 시장 진입장벽이 존재하지는 않음</li> <li>○ 다만, 바이오 프린팅 기술은 기술적 노하우가 많이 필요한 매우 경험에 의존하는 경향이 많음. 따라서, 바이오 잉크의 개발이 바이오 프린팅을 직접 해본 사람만이 개발할 수 있다는 진입장벽이 존재함</li> </ul>
---



## 라. 수익 확보 전략

### □ 시장성 분류 및 개발전략

- 본 연구과제의 목표로 하는 바이오잉크는 3D 바이오프린팅 시 세포와 함께 사용하는 기질소재로서 본과제에서는 연구 목적으로 사용되는 바이오잉크로 정의하였고, 이에 대한 상품화 성공하였음.
- 더 나아가 바이오잉크를 임상에 적용하기 위한 목적으로 사용하기 위해서는 의료용바이오잉크로 소재가 개발되어야 하고. 이는 의료용 의료기기 기준의 안전성 및 유효성 검증을 수행해야함.
- 본과제에서 연구용 바이오잉크의 상용화는 성공하였고 더 나아가 의료용 바이오잉크로 활용하기 위한 가능성을 확인하였고, 의료기기에 기준하는 추가 연구가 수행되어야 함.

### □ 주요 고객군

- 바이오 잉크의 주요 고객군은 바이오 프린팅 관련 연구를 수행중인 연구자가 현재의 고객군이라 파악됨.
- 향후에는 바이오 프린팅 기술이 널리 전파되어 일반 의료현장에 확산된다면 많은 의사들이 주요 고객군이 될 수 있다고 파악됨
- -또한 인공장기 제작을 통한 신약개발 과정의 in-vitro 및 동물실험을 대체할 목적을 가진 주요 제약사들 또한 고객군이 될 수 있을 것으로 파악됨

### □ BM의 수익창출 방안

- 1차적으로 주요 연구진의 연구에 바이오 잉크가 적용될 수 있도록 방안을 수립하여야 함. 기본적으로 scientific data를 기반으로한 논문에 바이오 잉크의 성능을 계속해서 알리고, 유관련 학회의 key opinion leader를 선정하여 제품의 우수성을 알리고, 연구에 적용될 수 있도록 함
- 신약개발 단계에서 다양한 in-vitro 실험 및 동물실험이 필요한 제약회사의 대체품으로 적용함. 즉, 바이오 프린팅 된 인공 조직/장기를 판매할 수도 있고, 혹은 바이오 잉크를 판매하여 제약사가 직접 목표 장기를 프린팅하는데 적용 될 수 있음
- 궁극적으로 식약처 인허가를 획득하여 인체에 적용될 수 있도록 적용 범위를 확장하도록 함

## 붙임. 참고문헌

1. Biologic properties of surgical scaffold materials derived from dermal ECM. *Biomaterials* 2013  
Katherine M. Kuliga, Xiao Luo, Eric B. Finkelstein, Xiang-Hong Li, Scott M. Goldman, Cathryn A. Sundback, Joseph P. Vacantia, Craig M. Neville
2. Printing three-dimensional tissue analogues with decellularized extracellular matrix bioink. *Nature Communications* 2014  
Falguni Pati, Jinah Jang, Dong-Heon Ha, Sung Won Kim, Jong-Won Rhie, Jin-Hyung Shim, Deok-Ho Kim, Dong-Woo Cho

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 농산물 자원 의료용 3D 프린팅 기술 및 바이오 잉크 소재 개발			
	(영문)Development of animal resource derived 3D bioprinting technology and bioink for medical application			
주 관 연구 기관	(주)티엔알바이오팜		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 티엔알바이오팜(주)
참 여 기 업	전남대학교 산학협력단 포항공과대학교 산학협력단 (주)더비엔아이			(성명) 심진형
총 연구개발비  (1,067,000 천원)	계	1,067,000	총 연구 기간	2016.05.19.~2018.12.31
	정부출연 연구개발비	800,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인원 32
	기업부담금	267,000		내부인원 12
	연구기관부담금			외부인원 20
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <p>□ DNA 함량 50ng/mg 미만급 3D 프린팅 기반 조직/장기 재생용 돼지유래 탈세포화된 바이오 잉크 개발 및 상용화</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 돼지 피부로부터 탈세포화 공정을 거쳐 자연적상태의 세포외기질을 모두 탑재한 바이오 잉크를 개발함</li> <li>○ 개발된 바이오 잉크의 프린팅 가능성을 확인하고, 조직/재생 유도능을 검증하여 바이오 잉크로서의 충족조건을 만족하는 성능 테스트를 수행함</li> <li>○ 바이오 잉크를 이용한 조직/장기 재생을 시도함 (예: full thickness skin)</li> <li>○ QC/QA 과정을 거쳐 바이오 잉크를 상용화 함</li> </ul> <p>○ 연구내용 및 결과</p> <p>□ 돼지피부 유래 탈세포화공정 확립 및 바이오 잉크 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 돼지 피부로부터 인체 이식시 면역반응을 일으키는 세포 및 DNA를 제거하는 탈세포화 공정을 통해 세포외기질을 분말형태로 추출</li> <li>○ 추출된 분말형태의 세포외기질의 DNA함유량 및 성분 분석을 수행</li> <li>○ Pepsin을 이용하여 단백질의 용해 공정을 통해 분말형태의 탈세포화된 세포외기질을 바이오 잉크로 제작</li> <li>○ 바이오 잉크의 유변학적 특성 분석 (점탄성 분석)</li> <li>○ 프린팅 후 기본적인 세포 생존율 분석</li> <li>○ DNA 함유량 50ng/mg 수준으로 탈세포화 공정 확립</li> </ul> <p>□ 돼지 유래 탈세포화된 바이오 잉크의 세포 독성 및 동물 실험을 통한 성능 분석</p>				

- 전남대 수의학과에서는 제작된 바이오 잉크의 생물학적 안전성 확보를 위한 세포 독성 및 조직 재생 유도능 검증을 위한 동물실험을 통해 효능을 검증함
- 장, 단기 세포 독성 시험 분석 (MTT assay, Live and dead cell assay)
- 피부 조직 재생에 미치는 영향력 분석
- 바이오 잉크의 Wound healing 효과 검증 (rabbit 모델 이용)
- 뼈 조직 재생에 미치는 영향력 분석
- 돼지 유래 탈세포화된 바이오 잉크의 프린팅 특성 분석
  - 돼지유래 바이오 잉크를 활용한 프린팅 조건 확립
  - 기 확보된 바이오 프린터에서 재료의 점도, pH, 노즐 크기, 공압세기, 이송속도 및 프린팅 형상에 따른 특성 분석 수행
  - 프린팅 조건의 확립 후 주관기관으로 조건을 공유
- 연구성과 활용실적 및 계획
- 돼지유래 3D 바이오 프린팅용 잉크의 상용화
- 3D 바이오 프린팅을 이용한 조직/장기 재생 가능성 확인
- 바이오 잉크 관련 특허 출원 3건 및 등록 3건
- SCI급 국제 저널 총 6건, 및 해외 학회발표 4건
- 탈세포화된 돼지유래 바이오 잉크의 상용화를 통한 신산업 창출
- 3D 바이오 프린팅을 이용한 organoid 제작 및 이를 통한 organ-on-a-chip 가능
- 3D 바이오 프린팅 기반 조직/장기 재생 시대의 도래 가능

### 자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		316031-3	
사업구분	농생명산업기술개발사업				
연구분야	국가과학기술표준분류 LBY06, LCY06 농림식품과학기술분류 CA0105(기능성 소재)		과제구분	단위	
사업명	농생명산업기술개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	농산물 자원 유래 의료용 3D 프린팅 기술 및 바이오 잉크 소재 개발		과제유형	(용융)	
연구기관	(주)티엔알바이오랩		연구책임자	심진형	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2016.05.19-2016.12.31	200,000	67,000	267,000
	2차연도	2017.01.01-12.31	300,000	100,000	400,000
	3차연도	2018.01.01-12.31	300,000	100,000	400,000
	계	2016.05.19-2018.12.31	800,000	267,000	1,067,000
참여기업	중소기업(1)개, 중견기업( )개, 대기업( )개, 기타( )개				
상대국	상대국연구기관				

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2019.02.14

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)티엔알바이오랩	이사	심진형

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확인하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약 심진형.

## I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

### 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

단순히 버려지거나 식용으로 사용되던 돼지피부를 이용하여 탈세포화공정을 거쳐 세포외기질을 추출하고, 이렇게 추출된 세포외기질을 세포프린팅 바이오잉크로 활용한 창의성이 매우 우수하다고 판단되며, 전세계적으로도 돼지피부 유래 바이오잉크 개발은 유래를 찾아보기 어려움

### 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

돼지피부를 구성하고 있는 세포외기질 소재는 세포의 3차원 배양에 유리한 콜라겐, 글리코사미노글리칸, 히알루론산 등 다양한 생체소재를 함유하고 있어, 조직공학 및 재생의학 분야의 기본 소재로 적용이 가능하며, 특히나 3D 바이오프린팅 잉크 소재로 개발됨에 따라 인공장기 프린팅을 통한 인류의 생명연장의 꿈을 실현하는 기여를 하게 됨.

### 3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

돼지피부 유래 탈세포화된 세포외기질 바이오잉크를 활용하여 인공장기 프린팅 기술에 활용 가능함. 이를 통해 피부 뿐만 아니라 다양한 조직/장기의 기반 소재가 될 수 있음. 또한 단순 조직공학 및 재생의학 분야의 3차원 배양 기질소재로 활용이 가능하며, 특히 창상피복제 등의 원천소재로도 적용이 가능할 것으로 판단됨.

### 4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

돼지피부 유래 탈세포화된 세포외기질 추출 공정은 세계적으로도 시도한 바 많지 않아, 초기 실험 공정 확립에 많은 노력을 기울였으며, 더욱이 이 소재를 바이오프린팅 가능한 잉크 소재로 개발함에 따라 돼지피부 유래 바이오잉크 개발 및 상품화에 성공한 노력이 우수하다고 판단됨.

### 5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

3년간 SCI 논문 6편, 특허 출원 5건, 특허 등록 2개 등 목표치를 상회하는 연구개발 성과를 달성하였을 뿐만 아니라, Scientific Reports, Biomaterials 와 같은 관련 분야 상위권 저널에 논문을 발표하는 등 그 성과의 질적, 양적 수준이 매우 우수함.

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
DNA 잔류량 50ng/ml 이하	20	100	DNA 잔류량 44.89±1.82 ng/mg
프린팅 세포생존율 1일차 90% 이상	20	100	1일차 90% 이상 Live and dead kit를 통해 확인 결과 성공
프린팅 세포 생존 유지기간 14일 이상	20	100	14일 이상 생존 유지 live and dead kit을 통해 확인 결과 성공
37°C 에서의 점탄성 특성보유	20	100	0.1Hz~10Hz 조건에서 37도 온도에서 점탄성 특성 보유함을 확인
콜라겐, GAG, Elastin 함유	20	100	콜라겐, GAG, Elastin 함유량은 정량 측정 kit를 이용하여 함량을 분석함
합계	100점		

## III. 종합의견

### 1. 연구개발결과에 대한 종합의견

도축 돼지의 부산물로만 생각해오던 돼지피부에서 탈세포화된 세포외기질을 추출하여 이를 액상화 기술을 확립한 후, 3D 바이오프린팅용 바이오잉크로 개발에 성공한 기술로서 축산 자원의 고부가가치화 결과라고 판단되며, 이는 학술적 의의도 매우 크다고 할 수 있음. 특히, 기존 사용해 오던 바이오잉크 대비 조직특이적 생체소재 유래라고 하는 특징으로 인해 세포 생존 및 증식, 분화에 매우 유리한 장점을 가지는 소재로서 그 활용도 또한 매우 높다고 할 수 있음. 따라서, 본 연구는 매우 성공적으로 수행되었다고 평가됨.

### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

연구 결과로 인해, 발굴한 학술적 의미도 크지만 저부가가치의 돼지 부산물을 고부가가치의 생체소재로 개발하여 상품화에 성공하고, 더욱이 수출까지 연결한 결과에 대한 가치를 높게 평가해주시길 당부드립니다.

### 3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

본 연구결과는 돼지유래 세포외기질 추출 연구로서 조직공학 및 재생의학 분야에 활용도가 매우 높은 원천소재의 개발에 성공한 사례로서, 바이오/메디컬 분야 뿐만 아니라 화장품 개발 분야에도 활용도가 높을 것으로 판단되어 높게 평가됨.



#### IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

##### 1. 연구책임자의 의견

--

##### 2. 연구기관 자체의 검토결과

--

[별첨 3]

## 연구성과 활용계획서

### 1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	국가과학기술표준분류 LBY06, LCY06 농림식품과학기술분류 CA0105(기능성 소재)	
연구과제명	농산물 자원 유래 의료용 3D 프린팅 기술 및 바이오 잉크 소재개발			
주관연구기관	(주)티앤알바이오랩	주관연구책임자	심진형	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	800,000	267,000		1,067,000
연구개발기간	2016. 05. 19 - 2018. 12. 31			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타(            ) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:            )			

### 2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 돼지피부유래 탈세포화된 세포외기질 기반 바이오잉크 개발	체내 구성성분이 자연상태 그대로 보존된 안전성이 확보되고, 프린팅이 가능한 바이오잉크 개발 성공
② 바이오잉크의 조직재생능 검증 및 성능평가	피부유래 바이오잉크를 기반으로 인공피부 조직 재생 성공
③ 바이오잉크의 상용화	돼지피부 유래 바이오잉크의 연구목적 상품화 성공
·	
·	
·	

\* 결과에 대한 의견 첨부 가능

### 3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특 허 출원	특 허 등록	품 종 등록	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		논 문 평 균 IF	학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SCI	비 SCI							
단위	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치																				
최종목표	3	3		1	30	1	20	20	5		5	1		6	2					
연구기간내 달성실적	5	2	1	1	7.3 5	2	10 6.6 42	37. 75 2	20	22, 24 8	6	0		10	3		2			
달성율(%)	16 6	66	초 과 달 성	10 0	24. 5	20 0	53 3	18 8	13 3	초 과 달 성	12 0	0		16 6	15 0		초 과 달 성			

### 4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	돼지피부를 이용한 탈세포화 공정 확립을 통한 세포외기질 추출
②	세포외기질의 액상화 기술을 통한 바이오잉크 제조 기술
③	돼지유래 바이오잉크를 이용한 인공피부 프린팅 기술
·	
·	
·	

### 5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복 제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해 결	정책 자료	기타
①의 기술				v			v			
②의 기술		v					v			
③의 기술		v				v				
·										
·										

\* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	돼지피부 탈세포화 기반 세포외기질의 다양한 3차원 조직공학 및 재생의학 분야로의 적용이 가능하며, 더욱이 돼지피부 뿐만 아니라 다양한 뼈, 연골, 심장 조직등의 세포외기질 추출을 통한 조직특이적 세포외기질 추출로의 확대 적용이 가능함
②의 기술	돼지피부 유래 세포외기질을 이용한 바이오잉크 개발 기술을 통해 인공조직 장기의 프린팅 기술이 가능하게 하며, 이를 통해 인공피부 프린팅 재생 기술이 가능함
③의 기술	인공피부 프린팅 기술을 통해 동물실험 대체용 목적으로 인공피부의 적용이 가능함
:	

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치						25	25	25	25										
최종목표	3	3		1	30	1	20	20	5			5	1	6		2			
연구기간내 달성실적	5	2	1	1	7.35	2	106.643	37.752	20	22,248		6	0	10		3		2	
연구종료후 성과창출 계획																			

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)



<뒷면지>

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.