

Nghiên cứu chế tạo mực in sinh học trên nền gelatin hướng ứng dụng trong kỹ nghệ mô

Nguyễn Thị Hồng Thắm^{1,3,4}, Nguyễn Thị Ngọc Mỹ^{2,3,4,*}, Phan Thị Hiếu Nghĩa^{2,3,4}, Lê Thị Vĩ Tuyết^{2,3,4}, Trần Lê Bảo Hà^{1,2,3,4}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

In 3 chiều (3D) sinh học đã và đang trở thành công cụ hữu hiệu trong kỹ nghệ mô, ứng dụng trong y học tái tạo và thử nghiệm thuốc. Một trong những ứng dụng phổ biến của phương pháp in 3D sinh học là khung nâng đỡ tế bào, có vai trò định hướng cho sự tăng sinh của tế bào và mô mới. Phương pháp này có ưu điểm về rút ngắn thời gian chế tạo và kiểm soát thông số. Trong phương pháp in 3D sinh học, mực in sinh học ảnh hưởng trực tiếp đến tính chất sản phẩm tạo thành. Bài báo trình bày, gelatin được kết hợp với nhóm chất hydrocolloid trong việc chế tạo mực in để đạt được đặc tính cơ học và đặc tính sinh học giúp cải thiện khả năng in. Nồng độ tối ưu của gelatin và hydrocolloid trong mực in được xác định thông qua khảo sát khả năng in và độc tính tế bào *in vitro*. Kết quả cho thấy mực in thể hiện độ nhớt phù hợp cho quá trình in ép đùn 3D, có thể tạo được mô hình khung nâng đỡ đơn lớp và đa lớp. Trong môi trường *in vitro*, mực in đạt độ trương nước tối đa sau 2 giờ và cấu trúc in có thể duy trì hình dạng sau 7 ngày. Mực in không gây độc cho tế bào sau đánh giá độc tính tiếp xúc trực tiếp và độc tính gián tiếp. Các kết quả này chỉ ra mực in từ gelatin phối trộn hydrocolloid gồm gellan gum, guar gum và xanthan gum thể hiện các đặc tính phù hợp cho quá trình in 3D sinh học, đây là tiền đề cho nghiên cứu tiếp theo nhằm ứng dụng trong kỹ nghệ mô.

Từ khóa: Độc tính tế bào *in vitro*, gelatin, hydrocolloid, in ba chiều (3D), khả năng in, mực in sinh học

¹Phòng Thí nghiệm Kỹ nghệ mô và Vật liệu Y sinh

²Bộ môn Sinh lý học và CNSH Động vật, Khoa Sinh học – Công nghệ Sinh học

³Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Liên hệ

Nguyễn Thị Ngọc Mỹ, Bộ môn Sinh lý học và CNSH Động vật, Khoa Sinh học – Công nghệ Sinh học

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: ntnmy@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 01-4-2025
- Ngày sửa đổi: 27-5-2025
- Ngày chấp nhận: 4-11-2025
- Ngày đăng: 31-12-2025

DOI:

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v9i4.1442>



MỞ ĐẦU

Kỹ nghệ mô là một ngành khoa học đang được chú ý hàng đầu hiện nay bởi tính ứng dụng cao trong việc mô phỏng cấu trúc mô, cơ quan của cơ thể. Trong nghiên cứu chế tạo mô *in vitro*, khung nâng đỡ có vai trò định hướng cho sự bám dính, tăng sinh của tế bào và phát triển mô mới^{1,2}. Hiện nay, in 3D sinh học là kỹ thuật hỗ trợ tạo hình khung nâng đỡ quan trọng trong kỹ nghệ mô, cho phép mô phỏng hình dạng cấu trúc mô tự nhiên mong muốn. Nguồn nguyên liệu cho in 3D sinh học được gọi là mực in sinh học (bioink), ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng khung nâng đỡ tạo thành. Một loại mực in sinh học lý tưởng cần đảm bảo về khả năng in và đặc tính tương thích tế bào. Gelatin là vật liệu chế tạo mực in sinh học phổ biến hiện nay do các đặc tính như khả năng phân hủy sinh học, khả năng hỗ trợ sự bám dính và tăng sinh của tế bào. Tuy nhiên, gelatin thể hiện độ bền cơ tính hạn chế³, do cấu trúc của gelatin thiếu các liên kết mạnh khi biến tính từ collagen thủy phân⁴. Ở khoảng trên 30°C, gelatin tồn tại ở dạng dung dịch, các liên kết trong phân tử gelatin và nước lỏng lẻo, không có khả năng duy trì hình dạng của khung nâng đỡ⁴. Để

cải thiện khả năng in, gelatin cần kết hợp với các hợp chất tạo gel và định hình trong quá trình chế tạo mực in.

Hydrocolloid là nhóm polymer tự nhiên, có khả năng tạo ra hỗn hợp có độ nhớt cao hoặc tạo gel định hình ở nồng độ thấp khi hòa tan trong nước. Ngoài ra, các chất trong nhóm hydrocolloid có tính tương thích sinh học, khả năng phân hủy sinh học, đa dạng về nguồn gốc và không gây độc cho tế bào⁵. Trong đó, gellan gum, guar gum và xanthan gum có khả năng định hình tốt⁶⁻⁸, nhờ vào việc hình thành liên kết hydro với nước để tạo thành mạng lưới gel và có độ nhớt phù hợp cho in ép đùn 3D. Xanthan gum có độ nhớt tốt, tuy nhiên cấu trúc của nó trở nên lỏng lẻo khi nhiệt độ tăng⁹. Guar gum có độ nhớt thấp hơn xanthan gum nhưng có đặc tính lưu biến (thixotropy), do đó có thể điều chỉnh độ nhớt mong muốn cho hỗn hợp trước khi in¹⁰. Gellan gum có nhiệt độ chuyển pha cao trong khoảng 60–80°C, giúp cải thiện hình dạng khung in ở nhiệt độ sinh lý¹¹. Gelatin đã được nghiên cứu kết hợp với gellan gum, guar gum và xanthan gum để chế tạo mực in sinh học, tuy nhiên còn giới hạn ở riêng rẽ từng chất và đi kèm với áp dụng các hóa chất tạo liên kết chéo, như

Trích dẫn bài báo này: Hồng Thắm N T, Ngọc Mỹ N T, Hiếu Nghĩa P T, Vĩ Tuyết L T, Bảo Hà T L. **Nghiên cứu chế tạo mực in sinh học trên nền gelatin hướng ứng dụng trong kỹ nghệ mô.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.* 2025; 9(4):3484-3493.

Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



borax (gelatin–guar gum)¹², glutaraldehyde (gelatin–xanthan gum)⁶, CaCl_2 (gelatin–gellan gum)¹³. Dựa vào các đặc tính ưu thế của từng hợp chất, việc phối trộn gelatin trên nền hỗn hợp xanthan gum, guar gum, gellan gum dự kiến có thể khắc phục hạn chế của mỗi chất riêng biệt. Xanthan gum và guar gum giúp gia tăng độ nhớt để tạo được dạng gel phù hợp cho quá trình thực hiện in 3D sinh học. Xanthan gum và gellan gum đều là các hợp chất có nhiệt độ chuyển pha (dạng gel–sol) cao, do đó có khả năng định hình, duy trì hình dạng cho khung nâng đỡ. Guar gum với đặc tính thixotropic nổi bật sẽ giúp cho mực in có thể điều chỉnh độ nhớt phù hợp cho quá trình in thông qua việc tác động ngoại lực. Trong phối trộn mực in, gelatin và các hợp chất trong nhóm hydrocolloid đều chứa gốc hydroxyl trong cấu trúc phân tử, do đó chúng có thể tạo liên kết hydrogen khi tiếp xúc với nhau và với nước để hình thành dạng gel^{6,13,14}. Tuy nhiên, các nghiên cứu kết hợp gelatin với nhóm hydrocolloid để tạo khung nâng đỡ cho tế bào vẫn còn hạn chế và chưa có công bố về nồng độ phù hợp để tạo mực in sinh học. Vì vậy, bài báo trình bày mục tiêu của thực nghiệm là tạo được mực in kết hợp từ gelatin và hydrocolloid có thể giúp cải thiện khả năng in và độ định hình của mực in, đồng thời đảm bảo an toàn với tế bào.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Gelatin (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ), Xanthan gum (Xnt) (Now Real Food, Hoa Kỳ), Guar gum (GG) (Now Real Food, Hoa Kỳ), Gellan gum (GL) (BOSE, Trung Quốc), dung dịch muối đệm phosphate (PBS) (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) được sử dụng trong chế tạo mực in. Tế bào nguyên bào sợi chuột L929 (ATCC, Hoa Kỳ) được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy đầy đủ bao gồm môi trường cơ bản DMEM-F12 (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) có bổ sung huyết thanh bào thai bò 10% (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) và kháng sinh penicillin 100 UI/mL, streptomycin 100 $\mu\text{g/mL}$ (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) để đánh giá độc tính tế bào.

Phương pháp chuẩn bị hỗn hợp hydrocolloids

Ba hợp chất của nhóm hydrocolloid bao gồm gellan gum (GL), guar gum (GG) và xanthan gum (Xnt) được phối trộn với nhau để tạo ra hỗn hợp có khả năng in. Các hợp chất được thêm lần lượt vào dung dịch PBS 1X, hỗn hợp được khuấy đến khi tan hoàn toàn. Sau đó, hỗn hợp được hấp khử trùng ở 121°C. Hai nhóm nghiệm thức được khảo sát gồm: GL1–GG1–Xnt1 (gellan gum 1%–guar gum 1%–xanthan

gum 1%) và GL0,5–GG0,5–Xnt0,5 (gellan gum 0,5%–guar gum 0,5%–xanthan gum 0,5%). Các nhóm phối trộn được đánh giá độc tính đối với tế bào *in vitro* và đánh giá về khả năng in ở nhiệt độ phòng thông qua trạng thái đường mực để tìm ra nồng độ tối ưu của hỗn hợp.

Phương pháp kết hợp gelatin và hỗn hợp hydrocolloids

Sau khi có kết quả đánh giá độc tính và khả năng in, hỗn hợp hydrocolloid có nồng độ tối ưu được lựa chọn để kết hợp với gelatin 3% tạo mực in sinh học⁶. Từng hợp chất được thêm lần lượt vào dung dịch PBS 1X và khuấy tan hoàn toàn theo thứ tự gellan gum, guar gum, xanthan gum và gelatin để tạo mực in. Sau đó mực in được hấp khử trùng ở 121°C. Mực in được đánh giá về khả năng in khung nâng đỡ đơn lớp và đa lớp ở nhiệt độ phòng.

Phương pháp đánh giá khả năng in bằng kỹ thuật ép đùn

Mực in được in thành các cấu trúc khung nâng đỡ bằng máy in 3D BioX (Cellink, Thụy Điển) với các thông số của máy in: lưu lượng dòng chảy: 0,3 $\mu\text{L/s}$; vận tốc đầu in: 15 mm/s. Mô hình khung in được thiết kế với các thông số: chiều cao 2 mm; chiều dài 18,25 mm; chiều rộng 18,25 mm; kích thước sợi mực 0,25 mm và diện tích lỗ rỗng 4 mm². Hình thái khung nâng đỡ tạo thành được so sánh với mô hình lý thuyết để đánh giá trạng thái đường mực và khả năng in cấu trúc lỗ (chỉ số Pore Printability, Pr)¹⁵, đồng thời so sánh với các thông số thiết kế của mô hình như chiều cao, chiều dài cạnh, kích thước sợi mực và diện tích lỗ rỗng.

Phương pháp đánh giá độc tính tế bào *in vitro*

Đánh giá độc tính tiếp xúc trực tiếp

Các mẫu thí nghiệm được đánh giá độc tính tiếp xúc trực tiếp với tế bào L929 theo tiêu chuẩn ISO 10993-5¹⁶. Tế bào L929 được chuẩn bị với mật độ 5×10^4 tế bào/giếng của đĩa 6 giếng. Các mẫu được đúc khối và cắt thành các khối nhỏ theo kích thước 1'1'0,5 (cm). Khi tế bào phủ $\geq 80\%$ bề mặt giếng nuôi, các khối gel được đặt vào giếng và nuôi tế bào trong điều kiện 37°C, 5% CO₂. Với nhóm chứng dương là cao su latex và chứng âm là môi trường nuôi cấy. Tế bào được nhuộm crystal violet 0,5% và quan sát bằng kính hiển vi đảo ngược sau 24 giờ đặt mẫu.

Đánh giá độc tính gián tiếp

Thử nghiệm MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] được thực hiện nhằm xác định độc tính của dịch chiết từ mẫu thí nghiệm đối với tế bào L929 dựa trên tiêu chuẩn ISO 10993-5, trong đĩa nuôi 96 giếng. Mẫu được đúc khối và ngâm theo tỷ lệ 1,5 cm²/mL môi trường nuôi cấy tế bào. Sau khi tế bào phủ 80% bề mặt giếng nuôi, dịch chiết được bổ sung vào giếng, với đối chứng âm là môi trường nuôi cấy và đối chứng dương là môi trường nuôi cấy bổ sung DMSO 20%. Sau 24 giờ, ủ tế bào với MTT 0,05 mg/mL trong 4 giờ ở điều kiện 37°C. Các tế bào sống tạo thành tinh thể formazan và được hòa tan bằng dung dịch ethanol/DMSO sau khi loại bỏ hoàn toàn MTT. Dung dịch thử nghiệm được đo độ hấp thụ quang học (OD) ở bước sóng 570 nm. Tốc độ tăng trưởng tương đối (RGR) được tính theo công thức: $\%RGR = (OD \text{ mẫu thí nghiệm}) / (OD \text{ mẫu chứng âm}) \times 100\%$. Theo ISO 10993-5, mẫu thử nghiệm được cho là không gây độc cho tế bào khi giá trị % RGR từ 70% trở lên¹⁷.

Phương pháp đo độ nhớt

Mẫu mực in được gia nhiệt để đạt trạng thái gel đồng nhất và duy trì ở nhiệt độ phòng khoảng 10 phút trước khi khảo sát. Mẫu mực in được đo độ nhớt bằng máy đo Brookfield DV-III (Mỹ) ở nhiệt độ phòng. Khoảng thời gian đo trong 0,1 giây và tốc độ quay 0,1 vòng/phút.

Phương pháp khảo sát đặc tính cơ lý của mực in

Độ trương nước

Mực in được đúc khối và cắt thành các khối gel nhỏ theo kích thước 1'0,5'0,5 (cm) và ngâm trong dung dịch PBS 1X ở 37°C (tỷ lệ 1,5 cm²/mL). Các khối gel được cân và ghi nhận kết quả ở các thời điểm: 0 giờ, 0,5 giờ, 2 giờ, 24 giờ. Độ trương nước của mực in được đánh giá dựa trên sự thay đổi khối lượng các khối gel. Thời điểm trước khi ngâm được coi là mốc 100%.

Khả năng duy trì hình dạng

Mực được in bằng máy in 3D BioX để tạo thành dạng khung theo thiết kế. Khung in được duy trì ở nhiệt độ phòng trong 10 phút để định hình. Sau đó, khung in được ngâm trong dung dịch PBS 1X và duy trì ở điều kiện 37°C. Dung dịch PBS 1X được thay mới sau mỗi 2 ngày. Sự thay đổi về hình dạng của khung in được ghi nhận ở các thời điểm: ngày 0, ngày 1, ngày 3, ngày 7.

Phương pháp phân tích dữ liệu

Các hình ảnh thu thập được xử lý bằng phần mềm ImageJ để ghi nhận số liệu và xử lý thống kê bằng phần mềm GraphPad Prism 9.5.0. Số liệu được thực hiện so sánh thống kê theo kiểm định Anova one-way và t-test với p-value < 0,05 thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

KẾT QUẢ

Kết quả khảo sát độ an toàn của hỗn hợp hydrocolloid

Các nhóm phổi trộn GL1–GG1–Xnt1 và GL0,5–GG0,5–Xnt0,5 được khảo sát độ an toàn thông qua thử nghiệm đánh giá độc tính trực tiếp, đánh giá được thực hiện với dòng tế bào L929 (Hình 1). Ở nhóm chứng dương sử dụng cao su latex, tế bào bong tróc ở vùng rìa và bên ngoài mẫu (Hình 1D). Nhóm GL1–GG1–Xnt1 cũng ghi nhận hình thái tế bào co tròn, bong khỏi bề mặt đĩa nuôi (Hình 1B). Nhóm GL0,5–GG0,5–Xnt0,5 cho thấy tế bào có hình dạng thuôn dài, sống và bám trải trên bề mặt đĩa nuôi (Hình 1C), hình thái tế bào ở nhóm này tương tự như ở nhóm sử dụng môi trường nuôi cấy (Hình 1A).

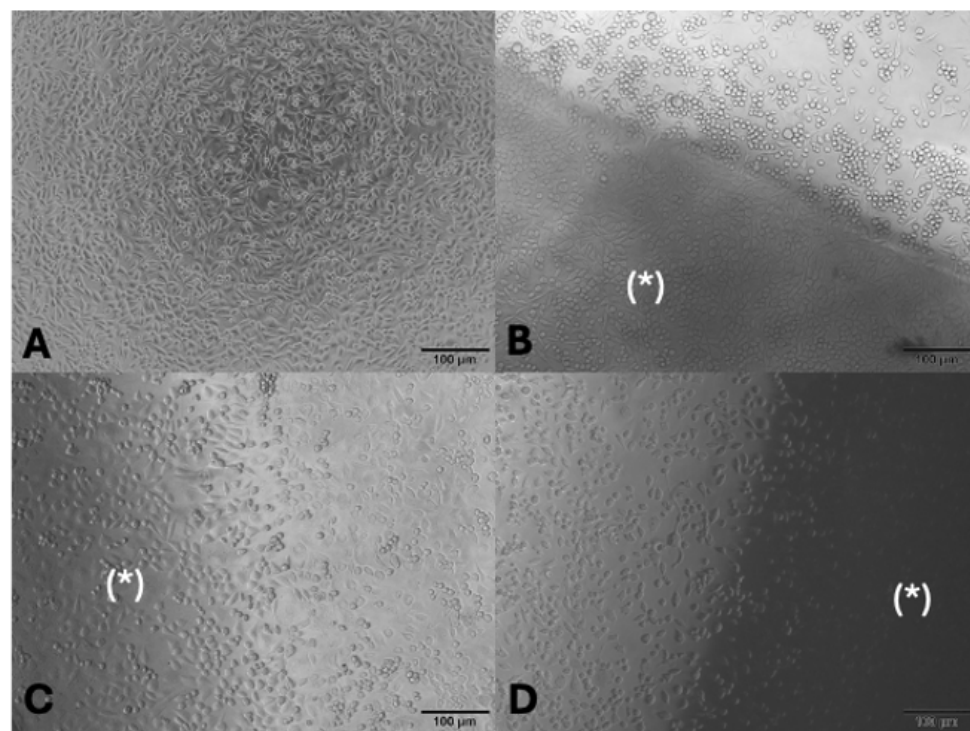
Kết quả khảo sát khả năng in của hỗn hợp hydrocolloid

Cả hai nhóm khảo sát đều có thể được chiết xuất qua vòi in và tạo sợi dưới vòi bằng cách in ép đùn. Thành phần và nồng độ kết hợp khác biệt có xu hướng ảnh hưởng đến mức độ đồng đều và hình thái đường mực in (Hình 2). Trong đó, nhóm GL1–GG1–Xnt1 cho thấy khả năng tạo sợi kém hơn, sợi mực không liên tục, đầu vòi ứ giọt do trạng thái gel hoá thấp, đường mực in gồ ghề (Hình 2A, B). Nhóm GL0,5–GG0,5–Xnt0,5 có khả năng in tốt hơn, tạo được sợi thẳng dài trên không và trạng thái đường mực ổn định, đồng đều khi in trên bề mặt (Hình 2C, D). Dựa vào kết quả độc tính tế bào *in vitro* và khả năng in của hỗn hợp, nhóm GL0,5–GG0,5–Xnt0,5 được lựa chọn kết hợp với gelatin 3% để chế tạo mực in và đánh giá các đặc tính của mực.

Kết quả đánh giá tính an toàn *in vitro* của mực in sinh học từ gelatin kết hợp hỗn hợp hydrocolloid

Độc tính tiếp xúc trực tiếp

Trong thử nghiệm độc tính tiếp xúc trực tiếp, ở giếng mực in, tế bào có hình dạng thuôn dài và bám trải đều trên bề mặt giếng ở cả 3 vị trí: bên dưới mẫu, bên ngoài mẫu và vị trí rìa mẫu tương tự như giếng chứng âm (Hình 3A, C). Trong khi đó, ở giếng chứng dương,



Hình 1: Kết quả đánh giá độc tính tiếp xúc trực tiếp của các hỗn hợp phối trộn. A: Chứng âm (môi trường nuôi cấy); B: GL1–Xnt1–GG1; C: GL0,5–Xnt0,5–GG0,5; D: Chứng dương (cao su latex; *: vùng đặt mẫu đánh giá).

các tế bào có dạng co tròn và bong tróc ra khỏi bề mặt giếng (Hình 3B).

Đánh giá độc tính gián tiếp

Tỷ lệ tế bào sống ở nhóm phối trộn là $98,5 \pm 5,4\%$. cho thấy mực in không gây độc cho tế bào (Hình 4).

Kết quả thử nghiệm khả năng in của mực in sinh học từ gelatin kết hợp hỗn hợp hydrocolloid

Mực in từ gelatin 3% và hỗn hợp GL0,5–GG0,5–Xnt0,5 cho thấy khả năng định hình tốt (Hình 5A) và tạo sợi dài (Hình 5B) đồng thời có thể in mô hình đơn lớp hoàn thiện các cấu trúc lỗ không bị hoà lẫn hoàn toàn (Hình 5C). Sau đó, mực in được sử dụng để in khung nâng đỡ đa lớp theo mô hình ô vuông với đường kính lỗ 2 mm. Ở mô hình này mực in có biểu hiện hòa lẫn vào nhau làm mất một phần cấu trúc lỗ (Hình 5D).

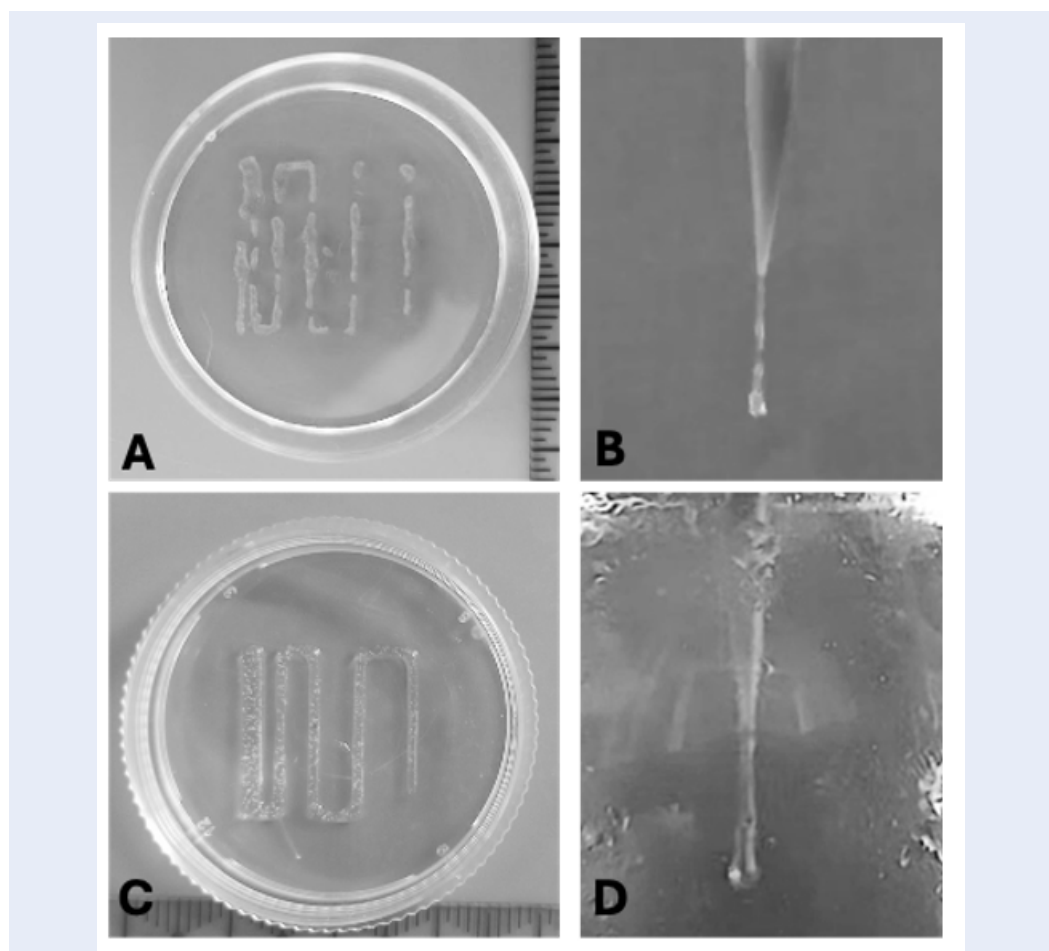
Chiều cao của khung in là $2,036 \pm 0,085$ mm; chiều dài x chiều rộng: $18,45 \pm 0,13$ mm $\times$ $18,81 \pm 0,35$ mm; kích thước sợi mực: $1,068 \pm 0,28$ mm và diện tích lỗ rỗng: $0,88 \pm 0,16$ mm². Chỉ số Pr trung bình của mô hình là $0,93 \pm 0,04$ và duy trì qua các lần in.

Kết quả khảo sát độ trương nước và độ nhớt

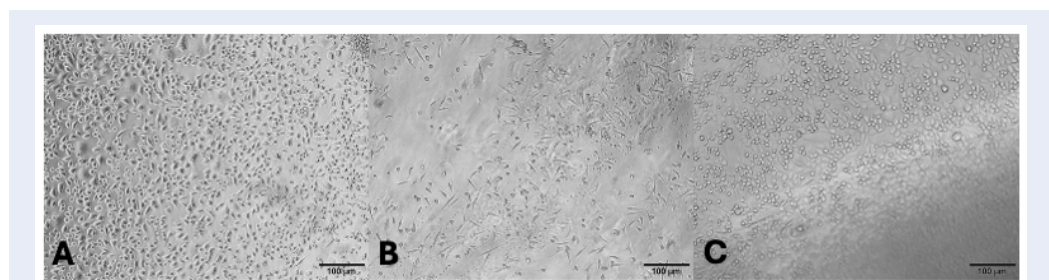
Sau 0,5 giờ, khối mực không có sự thay đổi về tỉ lệ trương nước có ý nghĩa thống kê ($121,8 \pm 4,35\%$) khi so với mốc 0 giờ ($119,4\% \pm 1,9\%$). Sự thay đổi xảy ra ở mốc 2 giờ ($143 \pm 14,7\%$), sau đó tỉ lệ trương nước không có sự khác biệt về mặt thống kê cho đến mốc 24 giờ ($152,9 \pm 3,6\%$) (Hình 6). Kết quả đo độ nhớt của mực in qua các lần đo lần lượt là $10966,6 \pm 938,8$ cP ($n=5$), kết quả phân tích số liệu cho thấy giữa các lần đo kết quả độ nhớt không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (Hình 7).

Khả năng duy trì hình dạng

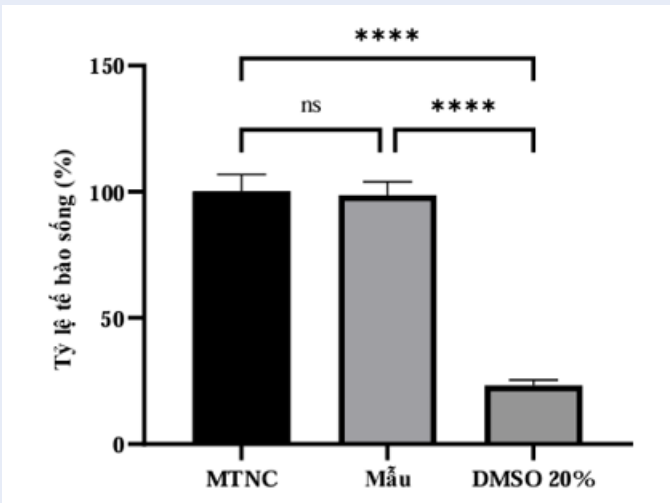
Mực in được in dạng khung để đánh giá khả năng duy trì hình dạng. Nhìn chung, hình dạng khung in không thay đổi sau 7 ngày quan sát (Hình 8). Kích thước cạnh của khung in cũng không cho thấy sự khác biệt thống kê theo từng mốc thời gian (đơn vị: ngày): $18,45 \pm 0,11$ mm; $19,06 \pm 0,58$ mm; $18,81 \pm 0,47$ mm; $18,79 \pm 0,21$ mm (Hình 9).



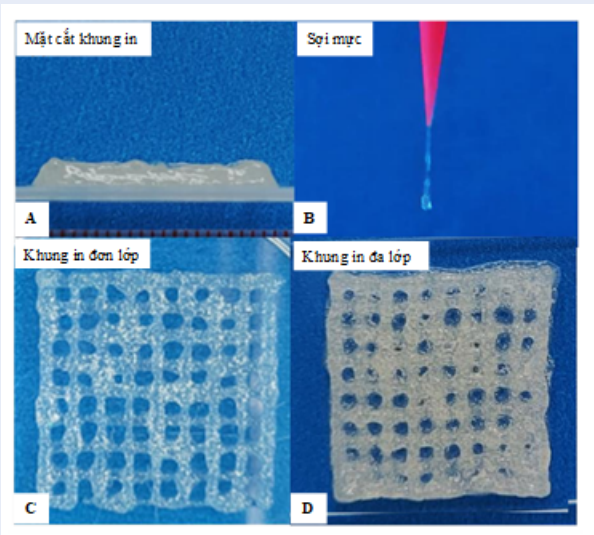
Hình 2: Kết quả đánh giá trạng thái đường mực của các hỗn hợp phối trộn. A, B: GL1–GG1–Xnt1; C, D: GL0,5–GG0,5–Xnt0,5.



Hình 3: Kết quả đánh giá độc tính tiếp xúc trực tiếp của mực in. A: Chứng âm (môi trường nuôi cấy); B: Chứng dương (cao su latex); C: Mực in.



Hình 4: Tỷ lệ tế bào sống trong đánh giá độc tính gián tiếp của mực in. MTNC: môi trường nuôi cấy; Mẫu: Nhóm phối trộn; *: có sự khác biệt về mặt thống kê ($p < 0,05$); ns: không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$).



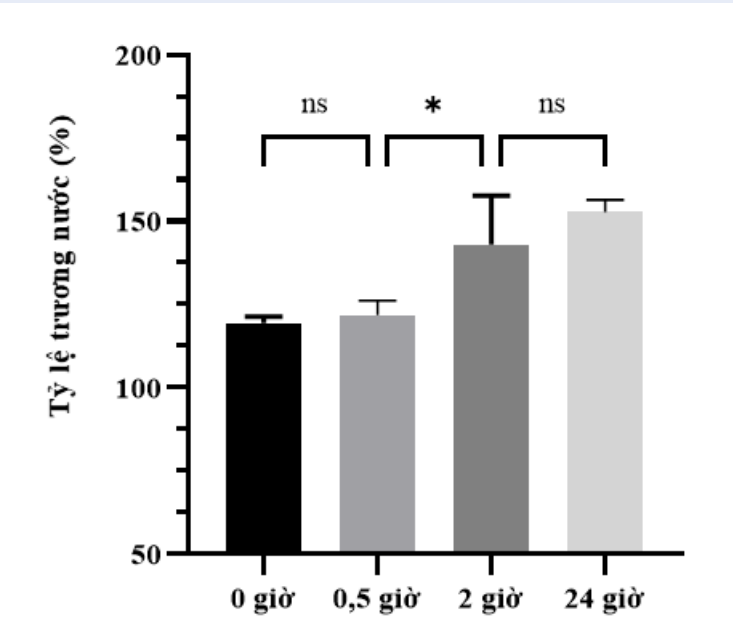
Hình 5: Kết quả in 3D của mẫu mực in. A: Bề dày khối mực; B: Chiều dài sợi mực tạo thành; C: Khung mực sau 1 lớp in; D: Khung mực sau 4 lớp in.

BÀN LUẬN

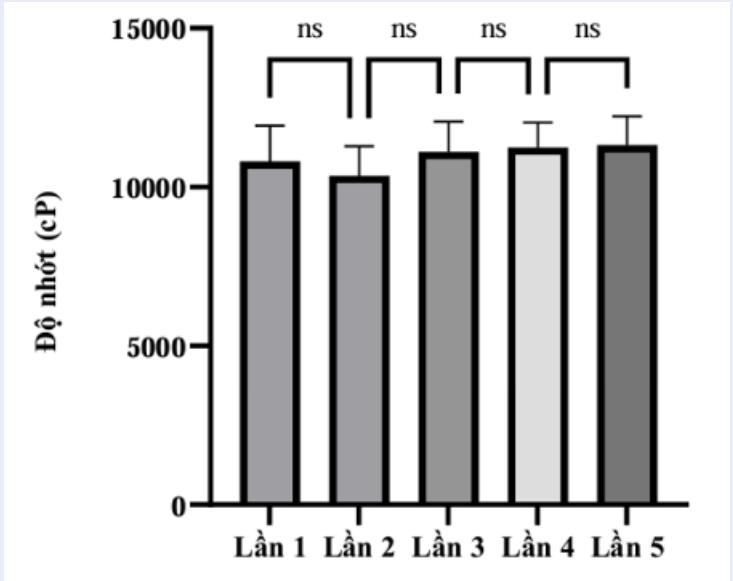
Tính tương hợp đối với tế bào là điều kiện tiên quyết trong việc đánh giá một vật liệu sinh học phục vụ các thí nghiệm trên tế bào hay định hướng ứng dụng lâm sàng. Các hợp chất hydrocolloid được khảo sát để tìm ra nồng độ phù hợp không gây độc cho tế bào khi kết hợp với nhau. Kết quả đánh giá độc tính trực tiếp cho thấy trong hai nhóm nghiệm thức, nhóm gellan gum 0,5%-guar gum 0,5%-xanthan gum 0,5% (GL0,5-GG0,5-Xnt0,5) không gây độc cho tế bào, trong khi

nhóm gellan gum 1%-guar gum 1%-xanthan gum 1% (GL1-GG1-Xnt1) gây độc làm tế bào co lại và bong tróc một phần khỏi bề mặt đĩa nuôi.

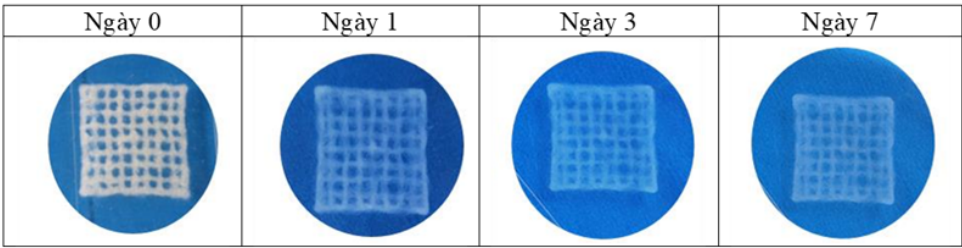
Khả năng in là đặc tính thiết yếu của mực in sinh học để tạo thành sản phẩm cuối cùng. Gelatin là vật liệu được sử dụng phổ biến để chế tạo mực in, tuy nhiên độ nhớt thấp của nó ảnh hưởng đến khả năng định hình cấu trúc khung in tạo thành. Vì vậy hỗn hợp để kết hợp với gelatin phải có khả năng in và định hình tốt. Trong kết quả đánh giá khả năng in của hai nhóm



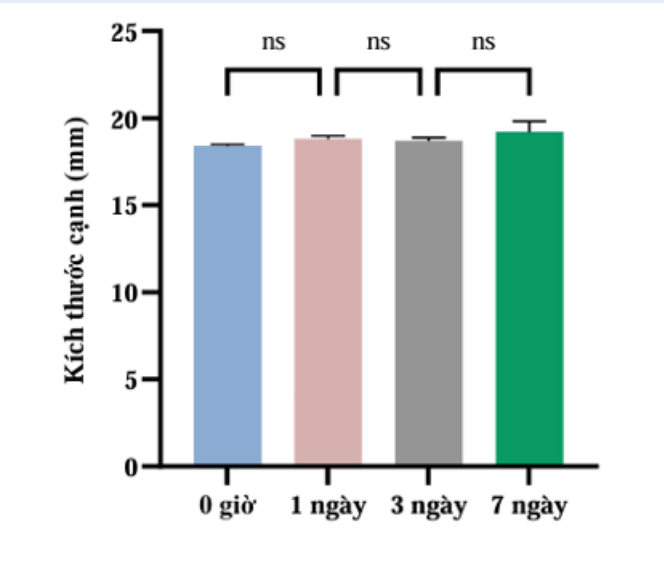
Hình 6: Kết quả tỷ lệ trương nước của mực in. *: có sự khác biệt về mặt thống kê ($p < 0,05$); ns: không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$).



Hình 7: Kết quả đo độ nhớt của mực in. ns: không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$).



Hình 8: Kết quả đánh giá sự duy trì hình dạng của phổi trộn dạng khung in.



Hình 9: Kích thước các cạnh khung in qua các mốc thời gian quan sát. ns: không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$).

hỗn hợp phổi trộn hydrocolloids, nhóm phổi trộn GL0,5-GG0,5-Xnt0,5 cho thấy khả năng tạo sợi mực tốt hơn so với nhóm GL1-GG1-Xnt1 với trạng thái đường mực liên lạc, ổn định. Vậy nên, GL0,5-GG0,5-Xnt0,5 được xem là tỉ lệ tối ưu để kết hợp cùng gelatin. Mực in kết hợp từ phổi trộn gellan gum 0,5%-guar gum 0,5%-xanthan gum 0,5% và gelatin 3% (GL0,5-GG0,5-Xnt0,5 -Gel3) được sử dụng để in mô hình dạng khung. Độ nhớt là thước đo khả năng chống dòng chảy của mực in, ảnh hưởng đến hình dạng, cấu trúc của khung in và khả năng sống sót của tế bào. Độ nhớt của mực in nằm trong khoảng phù hợp cho mực in 3D sinh học là 300-30.000 cP¹⁸, như vậy mực in có khả năng in tốt.

Khả năng duy trì hình dạng của sản phẩm in là điều cần thiết, khi tiến hành cấy tế bào vào khung in, tế bào có thể tiếp xúc với môi trường và dinh dưỡng để sống và tăng sinh³. Khung nâng đỡ từ mực in có khả năng

duy trì hình dạng trong vòng 7 ngày. Khả năng duy trì hình dạng của khung in từ mực GL0,5-GG0,5-Xnt0,5-Gel3 tương quan với khung in từ mực gelatin và xanthan gum duy trì được 1 tuần trong nghiên cứu của Piola và cộng sự⁶. Đồng thời, mực in GL0,5-GG0,5-Xnt0,5-Gel3 không gây độc tế bào *in vitro* ở cả thử nghiệm độc tính tiếp xúc trực tiếp và gián tiếp, chứng minh mực in có tính an toàn *in vitro*. Với các đặc tính của mực in trong nghiên cứu này, mực có đủ tiềm năng để hướng tới các ứng dụng trong kỹ nghệ mô như tạo giá thể nuôi cấy tế bào 3D hay in mô phỏng cấu trúc mô.

KẾT LUẬN

Gelatin 3% phổi trộn với hỗn hợp hydrocolloid gồm gellan gum 0,5%-guar gum 0,5%-xanthan gum 0,5% tạo thành mực in có đặc tính tốt với đường mực liên lạc và có các đặc tính cơ lý phù hợp với mực in sinh

học. Đồng thời, mực in này có khả năng tương hợp tế bào, có tiềm năng sử dụng như giá thể cho tế bào nhằm ứng dụng trong kỹ nghệ mô.

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

Xnt: Xanthan gum
GG: Guar gum
GL: Gellan gum
Gel: Gelatin
PBS: Dung dịch muối đệm phosphate
DMSO: Dimethyl sulfoxide
Pr: Chỉ số thể hiện khả năng in
OD: Mật độ quang học
FBS: Fetal Bovine Serum
MTNC: Môi trường nuôi cấy
3D Bioprinting: In sinh học 3 chiều
3D Printing: In 3 chiều

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) trong khuôn khổ Đề tài mã số B2023-18-09.

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả đồng ý không có bất kỳ xung đột lợi ích nào liên quan đến các kết quả đã công bố.

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Nguyễn Thị Hồng Thắm thực hiện các thí nghiệm và đóng góp viết bản thảo. Nguyễn Thị Ngọc Mỹ định hướng nghiên cứu, thu thập và xử lý dữ liệu và đóng góp viết bản thảo. Phan Thị Hiếu Nghĩa và Lê Thị Vĩ Tuyết đóng góp viết bản thảo, khảo sát và hoàn thiện bản thảo. Trần Lê Bảo Hà định hướng nghiên cứu và góp ý bản thảo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hà TLB. Công nghệ vật liệu sinh học. NXB Giáo dục Việt Nam;
- Halder S, Lahiri D, Roy P. 3D print technology for cell culturing. 3D Printing Technology in Nanomedicine. The Netherlands: Elsevier Amsterdam; 2019. p. 83–114. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815890-6.00005-0>.
- Sonaye SY, Ertugral EG, Kothapalli CR, Sikder P. Extrusion 3D (bio) printing of alginate-gelatin-based composite scaffolds for skeletal muscle tissue engineering. Materials (Basel). 2022;15(22):7945. Available from: <https://doi.org/10.3390/ma15227945>.
- Parker N, Povey M. Ultrasonic study of the gelation of gelatin: phase diagram, hysteresis and kinetics. Food Hydrocolloids. 2012;26(1):99–107. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.04.016>.
- Hongu T, Takigami M, Phillips GO. New millennium fibers. Elsevier; 2005.
- Piola B, Sabbatini M, Gino S, Invernizzi M, Renò F. 3D bioprinting of gelatin composite hydrogels for growth of human skin cells. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(1):539. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms23010539>.
- Muthukumar T, Song JE, Khang G. Biological role of gellan gum in improving scaffold drug delivery, cell adhesion properties for tissue engineering applications. Molecules (Basel, Switzerland). 2019;24(24):4514. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules24244514>.
- Mudgil D, Barak S, Khatkar BS. Guar gum: processing, properties and food applications-A Review. Journal of Food Science and Technology. 2014;51(3):409–18. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0522-x>.
- Rwei SP, Nguyen TA. Phase formation and transition in a xanthan gum/H₂O/H₃ PO₄ tertiary system. Cellulose (London, England). 2014;21(3):1277–88. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0193-7>.
- Tahmouzi S, Meftahizadeh H, Eyshi S, Mahmoudzadeh A, Alizadeh B, Mollakhalili-Meybodi N, et al. Application of guar (Cyamopsis tetragonoloba L.) gum in food technologies: A review of properties and mechanisms of action. Food Science & Nutrition. 2023;11(9):4869–97. Available from: <https://doi.org/10.1002/fsn3.3383>.
- García MC, Alfaro MC, Calero N, Muñoz J. Influence of gellan gum concentration on the dynamic viscoelasticity and transient flow of fluid gels. Biochemical Engineering Journal. 2011;55(2):73–81. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2011.02.017>.
- Indurkar A, Bangde P, Gore M, Reddy P, Jain R, Dandekar P. Optimization of guar gum-gelatin bioink for 3D printing of mammalian cells. Bioprinting (Amsterdam, Netherlands). 2020;20. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2020.e00101>.
- Chen Y, Li L, Chen L, Shao W, Chen X, Fan X, et al. Gellan gum-gelatin scaffolds with Ca²⁺ crosslinking for constructing a structured cell cultured meat model. Biomaterials. 2023;299. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2023.122176>.
- Zhang N, Li X, Ye J, Yang Y, Huang Y, Zhang X, et al. Effect of gellan gum and xanthan gum synergistic interactions and plasticizers on physical properties of plant-based enteric polymer films. Polymers. 2020;12(1):121. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym12010121>.
- Ahn G, Min KH, Kim C, Lee JS, Kang D, Won JY, et al. Precise stacking of decellularized extracellular matrix based 3D cell-laden constructs by a 3D cell printing system equipped with heating modules. Scientific Reports. 2017;7(1):8624. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09201-5>.
- Wallin RF. A Practical Guide to ISO 10993-12: Sample Preparation and Reference Materials. Los Angeles, CA, USA: MDDI; 1998.
- Wallin RF, Arscott E. A practical guide to ISO 10993-5: cytotoxicity. Medical Device and Diagnostic Industry. 1998;20:96–8.
- He Y, Yang F, Zhao H, Gao Q, Xia B, Fu J. Research on the printability of hydrogels in 3D bioprinting. Scientific Reports. 2016;6(1):29977. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep29977>.

Research on the fabrication of a bio-ink based on gelatin for applications in tissue engineering

Nguyen Thi Hong Tham^{1,3,4}, Nguyen Thi Ngoc My^{2,3,4*}, Phan Thi Hieu Nghia^{2,3,4}, Le Thi Vi Tuyet^{2,3,4}, Tran Le Bao Ha^{1,2,3,4}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

¹Laboratory of Tissue Engineering and Biomedical Materials

²Department of Physiology and Animal Biotechnology, Faculty of Biology – Biotechnology

³University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

Correspondence

Nguyen Thi Ngoc My, Department of Physiology and Animal Biotechnology, Faculty of Biology – Biotechnology

University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: ntnmy@hcmus.edu.vn

History

- Received: 01-4-2025
- Revised: 27-5-2025
- Accepted: 04-11-2025
- Published Online: 31-12-2025

DOI :

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v9i4.1442>



Copyright

© VNUHCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



ABSTRACT

Three-dimensional (3D) bioprinting has become an effective tool in tissue engineering to fabricate functional tissues for applications in regenerative medicine and drug testing. One of the prominent applications of 3D bioprinting technology is the fabrication of cellular scaffolds, which function as structural guides for cell proliferation and the regeneration of new tissues. This technique offers significant advantages, including reduced fabrication time and enhanced control over design parameters. In 3D bioprinting, the properties of the bioink play a critical role in determining the characteristics of the final construct. This paper presents a gelatin combined with hydrocolloid compounds to formulate a bioink that improves mechanical and biological properties to enhance printability. The optimal concentration of the gelatin and hydrocolloid composite was determined through *in vitro* printability and cytotoxicity observations. The obtained results showed that the bioink exhibited a suitable viscosity for extrusion-based 3D printing and could form monolayer and multilayer scaffold models. The bioink had maximum water swelling at 2 hours, and the printed structures could maintain their shape for up to 7 days. Furthermore, *in vitro* cytotoxicity evaluations confirmed that the bioink was non-toxic to cells in the direct and indirect contact tests. The results showed that the gelatin-hydrocolloid composite would be a bioink for the following research in 3D bioprinting and tissue engineering applications.

Key words: Bio-ink, 3D printing, cytotoxicity, gelatin, hydrocolloids, printability

Cite this article : Hong Tham N T, Ngoc My N T, Hieu Nghia P T, Vi Tuyet L T, Bao Ha T L. **Research on the fabrication of a bio-ink based on gelatin for applications in tissue engineering.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.* 2025; 9(4):3484-3493.