

# 二光子重合を利用したインプロセス解像度調整可能 (iPRT)

## 光造形システムの設計と開発

東京工業大学 工学院 機械系  
教授 古川 克子

(2020 年度 一般研究開発助成 AF-2020230-B3)

キーワード：再生医療，二光子重合，フェムト秒レーザー，ラピッドプロトタイピング，積層造形

### 1. 研究の目的と背景

積層造形は設計から製造までの期間が短く、今後の発展が期待されている。焼結（選択的レーザー焼結法）やバインダーによる積層造形（バインダージェット法）などの造形法は、粉末材料が入手できれば 3D 造形が可能のために広くモノづくりの世界で使用されている。しかしながら、造形物の解像度が粉末の直径に依存して変化するために、3D 造形としての表面精度が粗いことや、粉末間の結合力の強さに限界があることから生じる構造の機械的性質が問題となっていた。解像度や強度を向上させるために、プラスチックを融点以上の温度で溶かしてノズルの先端から噴射する技術が報告されていますが、任意の形状を 3 次元的に正確に造形するには限界があった。

一方、光反応性ポリマーを用いた光造形法では、ポリマーが瞬時に重合するため、3 次元形状を自由に構築することができる。光造形法は、材料特性や加工精度など技術進歩が著しく、現在、最も有望な造形技術の一つといえる。光造形法は、加工解像度の点で他の方法よりも優れており、高性能な 3 次元構造物の加工に適しているともいえる。

光造形法の分野では、フェムト秒赤外線レーザーの開発により、2 光子効果を利用した光造形技術が報告されている。この方法では、2 つの光子の衝突による 2 光子効果が狭い 3 次元空間で発生し、その結果、100 ナノメートルオーダーの精度で 3 次元光造形が可能となる。しかし、この 2 光子 3 次元造形は単位時間あたりの加工体積が小さいため、構造物の外部形状として小さいものに限定される特徴があった。そのため、2 光子レーザーを用いた 3 次元光造形技術では、高速光造形技術の開発が重要な課題となっていた。

本研究では、高解像度かつ大きな外部形状を有する構造の造形を実現できる新しいインプロセス解像度調整可能 (iPRT) 光造形システムを提案する。これは、加工中に凝固解像度を変えることでより効率的な加工を実現し、造形時間を大幅に短縮できる手法である。この手法は 2 光子レーザーによる 3 次元造形において成果を示しているが、iPRT は表面オフセットにより微細構造が消失することを利用し、微細加工が必要な領域を分割する最適化手法である。そのため、加工中に加工精度を調整できれば 2 光子レーザー以外の積層造形にも広く応用できる技術であり、今後の発展が期待されるインパクトの高い要素技術であると考えられる。

### 2. 実験方法

#### 2.1 最適化の原理

構造を最適化するために製造途中で解像度を調整する機能は、本研究で開発した iPRT システム独自のものである。具体的には、内部サポートを高速方式で製造し、その後、精密方式で表面トポグラフィーを製造する (図 1 (A))。この技術により、精密方式のみで製造する場合と比較して製造時間を短縮できる。オメトリ データは CAD で設計され、STL に変換される。そして、独自のソフトウェアでスライスされ、ボクセル データに変換される。次に、表面

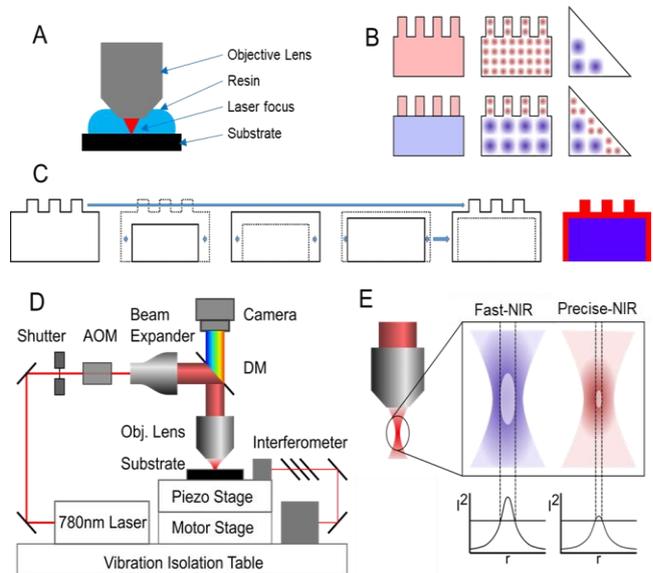


図 1 製造システム セットアップ

(A) 対物レンズと樹脂のセットアップ。(B) ハイブリッド描画方式。高解像度描画では処理時間が長くなり、低解像度では表面が粗くなる。(C) 表面オフセット効果 (SOE)。オフセットを実装すると、小さな構造が消える。逆オフセットでは、小さな構造領域が得られる。オフセット前後の形状を比較すると、小さな構造領域が得られる。(D) プロセス解像度調整可能ステレオリソグラフィ (iPRT-ステレオリソグラフィ) の概略図。フェムト秒レーザーはシャッターと音響光学モジュール (AOM) によって制御され、ビーム エキスパンダーで拡大され、高 N.A. 対物レンズで焦点が合う。モーターとピエゾステージが干渉計により統合されて動く。(E) NIR 2 光子製造解像度の調整可能性。

オフセット効果 (SOE) を使用して、これを微細加工領域と高速加工領域に分割した。表面オフセット距離が微細構造の直径よりも大きい場合、表面オフセット プロセスによって構造が消える。元のデータとオフセット後のデータを比較すると、図 1 (B) に示すように、微細構造のデータ領域を取得できる。スキャン パラメータ自体は手動で選択されるが、選択すると、スキャン パスの寸法が自動的に計算され、データがエクスポートされて、レーザーが適切な距離で各領域をスキャンできるようになった。

## 2.2 実験セットアップ

我々の開発したステレオリソグラフィシステムでは、調整されたインターフェース高さシステムを利用している。対物レンズを感光性樹脂に直接浸す DIP-IN システムと比較して、調整されたインターフェース高さシステムはより大きな構造を製造できる。自由表面法も大きな構造を製造できるが、表面の高さが安定していないため TPP には適用できない。調整されたインターフェース高さシステムは、製造基板シリコンウェーハ、感光性樹脂、樹脂の高さを制御するカバーガラス、浸漬油、対物レンズの順序で組み立てられた (図 1 (C))。シリコンウェーハは、基板上の固化した樹脂の接着を促進するために Ormoprime (Microresist Technologies) でコーティングされた。カバーガラスは、固化した樹脂の剥離力を減らすために SURECO AF (AGC) でコーティングされた。モーションステージは、長いストロークと精度を実現するために、精密ピエゾステージと長距離リニアモーターステージと組み合わせられている。それらの絶対位置は外部干渉計によって測定され、レーザーは位置情報によって切り替えられる。それらの軸も、独自のソフトウェアで調整される。

## 2.3 レーザーと光学系

近赤外 (NIR) 100 mW および 10 フェムト秒クラスのレーザー (Femtolasers Integral Pro100) が、我々の iPRT システムの TPP 用超短パルスレーザーとして使用された。概略図を図 1 (D) に示した。TPP は、従来の SPP と比較して、樹脂をより高い精度で重ねできる (図 1 (E))。レーザーは AOM (ISOMET) で変調された。ビーム径は、ビーム エクスパンダー (Edmund Optics) を使用して対物レンズに合わせて最適化された。NIR 反射および可視光透過ダイクロミック ミラー (Sigma Koki) が対物レンズの前に配置され、可視光をカメラに誘導して焦点を合わせた。100 倍 NA1.45 レンズ (Carl Zeiss) は、NA 値が高く、高解像度が得られるため、対物レンズとして選択した。

## 2.4 樹脂

感光性樹脂 (Ormocomp, MicroResist Technologies) は、生体適合性 [7] [8] とソフトリソグラフィによる PDMS スキャフォールド製造用鋳型としての適合性から、3D 細胞培養スキャフォールドの微細加工に使用された。樹脂はシリコンウェーハ上で所望の構造に硬化され、OrmODEV (MicroResist Technologies) でリンスされた後、UV 光下で 2 分間硬化された。

## 3. 結果

### 3.1 レーザー固化分解能

レーザー光造形法では、レーザーでスキャンごとに固化領域をある程度重ね合わせることで一体構造が得られる。通常は硬化範囲を 50% 程度重ね合わせて造形するが、スキャン間隔の絶対値を知るためには、iPRT を実現するためのレーザーの固化幅を知る必要がある。まず、最小固化幅が最高分解能となるように、近傍焦点へのレーザー出力分布をシミュレーションした。レーザー強度分布は、理想的な TEM00 モードを想定し、直径は双曲面であると仮定して計算した。図 2 (A, B) に示す計算結果から、大対物レンズの開口数 (N. A.) が正確な光造形には理想的であり、N. A. に合わせてレーザー直径を調整すればよいことがわかった。次の実験では、図 2 (C) のような帯状の柱に直角に交差する線を図 2 (D) のように造形し、実用的な加工分解能を計測した。図 2 (E) に示すように、本研究で構築したシステムでは、TPP の解像度の限界と言われる領域に近い 92 nm の解像度を確認した。スポットに照射するレーザーエネルギーの総量が減少するにつれて凝固幅は減少し、これはレーザー走査速度とレーザー出力の逆数に比例した (図 2 (F))。また、あるエネルギー閾値以下では硬化が起こらないため、最小凝固幅が制限されることも確認された。この結果、適切な走査間隔を設定することで、硬化物が飛散することなく一体化したモデルを得ることができた。

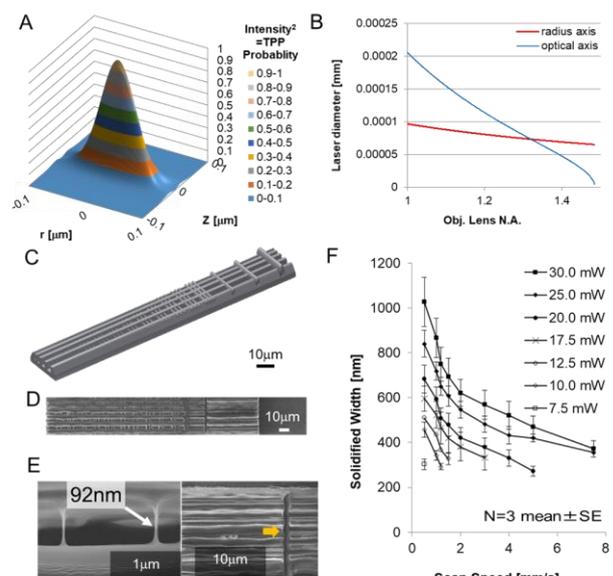


図 2 製造解像度

(A, B) 計算された正規化されたレーザー出力分布。Z 軸は光軸、r 軸は水平半径軸です。(B) 計算されたレーザー直径と対物レンズ N. A. の関係。(C) 解像度測定実験用のオブジェクトの CAD 設計。(D) さまざまな線幅で製造されたオブジェクト。(E) 製造された最小および最大解像度の線オブジェクト。(F) スキャン速度、レーザー出力、および固化幅の関係。

### 3.2 加工時間

次に、加工時間を計算する。

この加工時間の計算は、iPRT 技術を活用することで、どれだけ高速加工が可能かを示すために行った。加工対象物の表面形状の直径と加工解像度の組み合わせを制御して評価した。

体積は同じだが表面積が異なる 3 種類の形状 (図 3 (A)) を新しいアルゴリズムで加工し、最適なレーザー経路を求めた。表面オフセットによる微細構造の消失効果による領域分割を用いた最適経路の計算方法は以下の通りである。まず、表面から高速造形解像度に相当する距離だけ内側にオフセットした形状を計算した。そこから、再び高速造形解像度に相当する距離だけ逆にオフセットした形状を計算した。その後、微細造形解像度に相当する距離だけ内側にオフセットする。この計算結果と元の形状との差の領域が微細加工が必要な領域である。各領域を各解像度間隔でスライスし、スキャンして塗りつぶし、全長から造形時間を計算した。

同一体積の対象形状の断面図を、単純な長方形と、幅スケールが  $100\mu\text{m}$  と  $10\mu\text{m}$  の 2 つの長方形表面パターンを持つ形状の 3 種類用意し、それぞれ A1、A2、A3 と名付けた。幅と間隔は同じスケールサイズ、高さは幅スケールの 2 倍のサイズになるように用意した。その結果、体積は同じで表面積の異なる形状が加工されることになる。

造形条件は、R0 と呼ばれる  $100\text{nm}$  の微細造形解像度と、R1~R5 と呼ばれる高速造形解像度の組み合わせとした。条件を表 1 に示す。iPRT 法で組み合わせた高速造形解像度は、それぞれ R1、R2、R3、R4、R5 と呼ばれる  $250$ 、 $500$ 、 $1000$ 、 $2000$ 、 $5000\text{nm}$  から選択した。図 3 (B) と表 1 に造形時間の計算結果を示し、図 3 (C) と表 2 に改善率の計算結果を示す。R0 は微細造形解像度である  $100\text{nm}$ 、R1 :  $250\text{nm}$ 、R2 :  $500\text{nm}$ 、R3 :  $1000\text{nm}$ 、R4 :  $2000\text{nm}$ 、R5 :  $5000\text{nm}$  がそれ

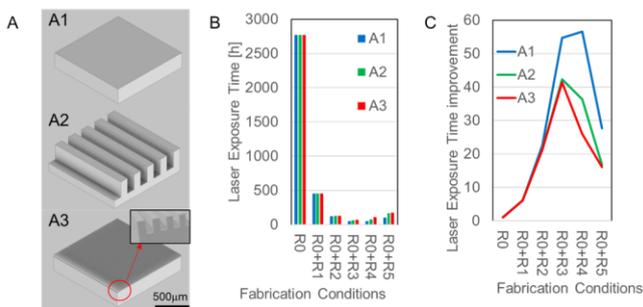


図 3 表面構造に依存する製造時間

(A) 製造サンプルの CAD 設計。A1: フラット、A2: 幅、距離、高さの半分が  $100\mu\text{m}$  の大きなパターン、A3: 幅、距離、高さの半分が  $10\mu\text{m}$  のマイクロパターン。R0: 基本解像度  $100\text{nm}$ 、R1:  $250\text{nm}$ 、R2:  $500\text{nm}$ 、R3:  $1000\text{nm}$ 、R4:  $2000\text{nm}$ 、R5: 高速解像度  $5000\text{nm}$ 。(B) 計算された製造時間。(C) R0 の製造時間と比較した製造時間率の改善。

ぞれ高速造形解像度である。iPRT を利用することで、R0 + R3 および R0 + R4 の高速加工が、従来の単一解像度方式よりも 50 倍高速であることが確認された。このように、基本的には、組み合わせる解像度が大きいほど、加工時間が短くなった (R0 + R1-3) が、組み合わせる解像度が大きすぎると、加工時間が長くなることもわかった (R0 + R4、5)。最適な組み合わせ解像度は、表面構造の寸法に関連していた。表面積が大きく、構造が複雑であるほど、改善率は遅くなった。最適な加工のためには、加工条件を表面構造の直径に合わせる必要があった。そうしないと、加工時間が長くなることもわかった。

### 3.3 3D フリー加工

最後に、iPRT システムの有効性を実証するために、3 次元構造を加工した。図 4 (A) は、iPRT が n の場合のレーザー走査経路の断面図である。

図 4 (B) は、使用時 (従来の造形法) と iPRT 使用時を模式的に示したもので、白点はスキャンする座標を示している。組み合わせた加工条件は  $100\text{nm}$  と  $1000\text{nm}$  である。上記のように表面形状をオフセットすることで、高精度に必要な表面ボリュームを抽出した。図 4 (A) の左側は凝固径が小

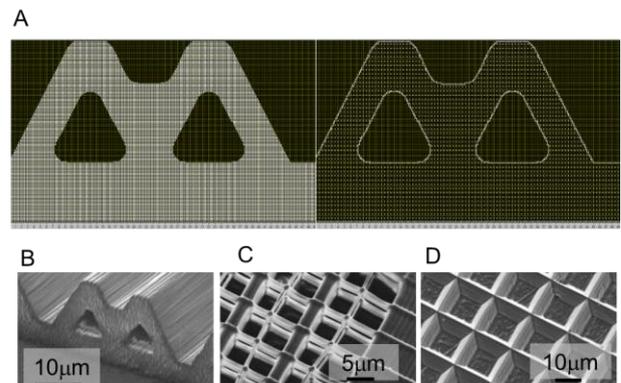


図 4 作製した 3D 構造

(A) オーバーハングのある 3D 構造のレーザー経路断面の最適化。左: 精密法のみ、白いメッシュのように密な白い点が見える。右: iPRT 法では、表面のみが密で白い線のように見えるが、内部はまばらな白い点のため灰色に見える。

(B) iPRT に基づいて作製したオーバーハングのある 3D 構造。(C) 細胞培養スキャフォールドのような中空構造を作製。太い線は  $1\mu\text{m}$  で作製、細い線は  $100\text{nm}$  で作製。外枠と太い縦格子は太い線を並べて作製し、中程度の厚さの横格子は太い線 1 本で作製。細い縦線は細い線 1 本で作製。このような構造を積み重ねてこの 3 次元格子を作製した。

(D) 作製した三角形のマイクロパターン。太線は  $1\mu\text{m}$ 、細線は  $100\text{nm}$  で作製。断面が三角形の構造を設計し、中心に太線、表面に細線を描き、これを周期的に配列して X 方向と Y 方向の両方向に走査することで、三角形と格子状の微細パターンを作製した。

さいためパスが密で、右側は内部スキャンが疎で表面処理のみが密であることを示す。図4(B)は加工物を示す。レーザーパスと解像度を最適化することで、滑らかで中空の構造を高速に作製できた。また、図4(C)のように、中空で細胞が侵入して栄養分を供給する経路を持ち、再生医療で用いられる細胞培養の足場として利用できる構造や、図4(D)のような細胞分化用の微細パターンを作製した。このように iPRT は、マイクロ・ナノスケールの物体を高速かつ高精度に作製することができることがわかった。

#### 4. まとめ

本研究では、ナノスケールの精度と高速製造を可能にする iPRT 光造形装置を開発した。従来の方法と比較して、最大 50 倍の製造速度を達成できることがわかった。オブジェクトは CAD で自由に設計でき、生体適合性材料への適用性が実証された。iPRT 高速製造により、移植可能な寸法のスキャフォールドを製造できることも実証した。このシステムとアルゴリズムは、他の 3D プリンティング技術にも応用できると考えられ、その幅広い分野への適用が期待される。

#### 謝 辞

本研究は天田財団の研究助成によって行われた。ここに感謝する。

#### 参考文献

1. Shirazi, S.F.S., Gharekhani, S., Mehrali, M., Yarmand, H., Metselaar, H.S.C.M., Kadri, N.A.K., and Osman, N.A.A. (2015) A Review on Powder-based Additive Manufacturing for Tissue Engineering: Selective Laser Sintering and Inkjet 3D Printing. *Sci Technol Adv Mater* **16**(3), 033502.
2. DiNoro, J.N., Paxton, N.C., Skewes, J., Yue, Z., and Lewis, P.M., (2022) Thompson RG, Beirne S, Woodruff MA, Wallace GG. Laser Sintering Approaches for Bone Tissue Engineering. *Polymers (Basel)* **9**:14(12):2336.
3. Tikhomirov, E., Åhlén, M., Gallo, N.D., Strømme, M., Kipping, T., Quodbach, J., and Lindh, J. (2023) Selective laser sintering additive manufacturing of dosage forms: Effect of powder formulation and process parameters on the physical properties of printed tablets. *Int J Pharm* **25**:635:122780, 1-11.
4. Oropeza, D. and Hart, A.J. (2021) A laboratory-scale binder jet additive manufacturing testbed for process exploration and material development. *Int J Adv Manuf Technol*. **114**: 3459- 3473.
5. Cramer, C.L., Nandwana, P., Evans, J.Y.S.F., Elliott, A.M., Chinnasamy, C., and Paranthaman, M.P. (2019) Binder jet additive manufacturing method to fabricate near net shape crack-free highly dense Fe-6.5 wt.% Si soft magnets. *Helvion* **5**(11): e02804.
6. Sen, K., Manchanda, A., Mehta, T, Ma, AWK, and Chaudhuri, B. (2020) Formulation design for inkjet-based 3D printed tablets. *Int J Pharm* **30**:584, 119430.
7. Mostafaei, A., Behnamian, Y., Krimer, Y.L., Stevens, E.L., Luo, J.L., and Chmielus, M. (2016) Brief data overview of differently heat treated binder jet printed samples made from argon atomized alloy 625 powder. *Data in Brief* **9**:556-562.
8. Peng, K., Liu, X., Zhao, H., Lu, H., Lv, F., Liu, L., Huang, Y., Wang, S., and Gu, Q. (2021) 3D Bioprinting of Reinforced Vessels by Dual-Cross-linked Biocompatible Hydrogels, *ACS Appl Bio Mater* **17**:4(5), 4549-4556.
9. Petrochenko, P.E., Torgersen, J., Gruber, P., Hicks, L.A., Zheng, J., Kumar, G., Narayan, R.J., Goering, P.L., Liska, R., Stampfl, J., and Ovsianikov, A. (2015) Laser 3D printing with sub-microscale resolution of porous elastomeric scaffolds for supporting human bone stem cells. *Adv Healthc Mater* **2**:4(5):739-47.
10. Pereira, R.F., and Bartolo, P.J. (2015) 3D Photo-Fabrication for Tissue Engineering and Drug Delivery. *Engineering* **1**(1): 90-112.
11. Kadry, H., Wadnap, S., Xu, C., and Ahsan, F. (2019) Digital light processing (DLP) 3D-printing technology and photoreactive polymers in fabrication of modified-release tablets. *Eur J Pharm Sci* **1**:135:60-67.
12. Rossegger, E.R., Strasser, J., Höller, R., Fleisch, M., Berer, M., and Schlögl, S. (2023) Wavelength Selective Multi-Material 3D Printing of Soft Active Devices Using Orthogonal Photoreactions. *Macromol Rapid Commun* **44**(2):e2200586
13. Kasko, A.M., and Wong, D.Y. (2010) Two-photon lithography in the future of cell-based therapeutics and regenerative medicine: a review of techniques for hydrogel patterning and controlled release. *Future Med Chem* **2**(11):1669-80.
14. Ovsianikov, A., Schlie, S., Ngezahayo, A., Haverich, A., and Chichkov, B.N. (2007) Two-photon polymerization technique for microfabrication of CAD-designed 3D scaffolds from commercially available photosensitive materials. *J Tissue Eng Regen Med* **1**(6):443-9.

15. Kawata, S., Sun, H.B., Tanaka, T., and Takada, K. (2001) Finer features for functional microdevices. *Nature* **412**: 697-698.
16. Wu, D., Chen, Q.D., Niu, L.G., Wang, J.N., Wang, J., Wang, R., Xia, H., and Sun, H.B. (2009) Femtosecond laser rapid prototyping of nanoshells and suspending components towards microfluidic devices. *Lab Chip* **9**: 2391-2934.
17. Weiß, T., Hildebrand, G., Schade, R., and Liefeith, K. (2009) Two-photon polymerization for microfabrication of three-dimensional scaffolds for tissue engineering application, *Eng. Life Sci*, **9**(5), 384- 390.
18. LaFratta, C.N., Fourkas, J.T., Baldacchini, T. and Farrer, R.A. (2007) Multiphoton fabrication. *Angew. Chem. Int. Ed* **46**: 6238 - 6258
19. Takahashi, H., Hasegawa, S., Takita, A., and Hayasaki, Y. (2008) Sparse-exposure technique in holographic two-photon polymerization, *Opt. Express* **16**(21): 16592-16599.
20. Kim, W.R., Jang, M.J., Joo, S., Sun, W., and Nam, Y. (2014) Surface-printed microdot array chips for the quantification of axonal collateral branching of a single neuron in vitro. *Lab Chip* **14**(4), 799- 805.
21. Seo, C.H., Furukawa, K.S., Montagne, K., Jeong, H., and Ushida, T. (2011) The effect of substrate microtopography on focal adhesion maturation and actin organization via the RhoA/ROCK pathway. *Biomaterials*, **32**(36): 9568- 9575.
22. Zhao, C., Wang, X., Gao, L., Jing, L., Zhou, Q., and Chang, J. (2018) The role of the micro-pattern and nano-topography of hydroxyapatite bioceramics on stimulating osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Acta Biomater* **73**: 509- 521.
23. Kidwell, D.A., Lee, W.K., Perkins, K., Gilpin, K.M., O' Shaughnessy, T.J., Robinson, J.T., Sheehan, P.E., and Mulvaney, S.P. (2019) Chemistries for Making Additive Nanolithography in OrmoComp Permissive for Cell Adhesion and Growth. *ACS Appl Mater Interfaces*, **11** (22): 19793- 19798.
24. Obata, K., Koch, J., Hinze, U., Chichkov, B.N., and Zentrum, L. (2010) Technique Based on Individually Controlled Phase Modulation. *Opt Express*, **18** (16) : 17193- 17200. -
25. Zhang, A.P., Qu, X., Soman, P., Hribar, K.C., Lee, J.W., Chen, S., and He, S., (2012) Rapid fabrication of complex 3D extracellular microenvironments by dynamic optical projection stereolithography. *Adv. Mater* **24**(31), 4266- 4270.
26. Seo, C.H., Furukawa, K.S., Suzuki, Y., Kasagi, N., Ichiki, T., and Ushida, T. (2011) A Topographically Optimized Substrate with Well-Ordered Lattice Micropatterns for Enhancing the Osteogenic Differentiation of Murine Mesenchymal Stem Cells. *Macromolecular Bioscience* **11**(7): 938-945.
27. Seo, C.H., Jeong, H., Furukawa, K.S., Suzuki, Y., and Ushida, T. (2013) The switching of focal adhesion maturation sites and actin filament activation for MSCs by topography of well-defined micropatterned surfaces. *Biomaterials*, **34**(7): 1764-1771.
28. Seo, C.H., Jeong, H., Feng, Y., Montagne, K., Ushida, T., Suzuki, Y., Furukawa, K.S. (2014) Micropit surfaces designed for accelerating osteogenic differentiation of murine mesenchymal stem cells via enhancing focal adhesion and actin polymerization. *Biomaterials*, **35**(7): 2245-2252.
29. Jeong, H., Yang, X., Pei, Z., Ushida, T. and Furukawa, K.S. (2020) Osteogenic differentiation of murine mesenchymal stem cells by combination of surface topography and uniaxial stress. *Journal of Biomechanical Science Engineering*. **15** (3) : 20-00009.
30. Yang, L., El-Tamer, A., Hinze, U., Li, J., Hu, Y., Huang, W., Chu, J., and Chichkov, B.N. (2015) Parallel direct laser writing of micro-optical and photonic structures using spatial light modulator. *Opt Lasers Eng*, **70**: 26- 32.
31. Mao, W.D., Liang, G.Q., Pu, Y.Y., Wang, H.Z., and Zeng, Z. (2007) Complicated three-dimensional photonic crystals fabricated by holographic lithography. *Appl Phys Lett* **91** (26): 261101.
32. Kim, Y., Maxwell, A.D., Hall, T.L., Xu, Z., Lin, K.W., and Cain, C.A. (2014) Rapid prototyping fabrication of focused ultrasound transducers. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* **61** (9): 1559- 1574.
33. Geng, Q., Wang, D., Chen, P., and Chen, S.C. (2019) Ultrafast multi-focus 3-D nano-fabrication based on two-photon polymerization. *Nat Commun*, **10** (1): 1- 7.
34. Mott, E.J., Busso, M., Luo, X., Dolder, C., Wang, M.O., Fisher, J.P., and Dean, D. (2016) Digital micromirror device (DMD)-based 3D printing of poly(propylene fumarate) scaffolds. *Materials Science and Engineering C*, **61**: 301- 311.
35. Madrid-Sánchez, A., Duerr, F., Duerr, F., Nie, Y., Nie, Y., Thienpont, H., Thienpont, H., Ottevaere, H., and Ottevaere, H. (2022) Fabrication of

- large-scale scaffolds with microscale features using light sheet stereolithography. *Int J Bioprint*, **9** (2): 650.
36. Saha, S.K., Wang, D., Nguyen, V.H., Chang, Y., Oakdale, J.S., and Chen, S.C. (2019) Scalable submicrometer additive manufacturing. *Science* (1979), **366** (6461): 105- 109.
37. Cho, K.-C., Lien, C.-H., Lin, C.-Y., Chang, C.-Y., Huang, L.L.H., Campagnola, P.J., Dong, C.Y., and Chen, S.-J. (2011) Enhanced two-photon excited fluorescence in three-dimensionally crosslinked bovine serum albumin microstructures. *Opt Express*, **19** (12), 11732-11739.