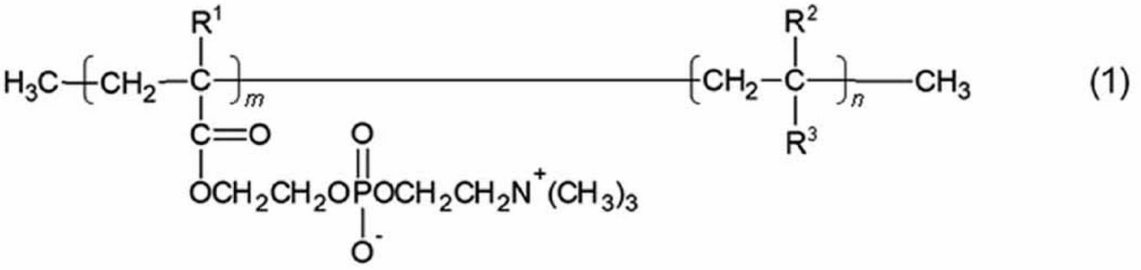
【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】令和5年11月30日(2023.11.30)

【国際公開番号】WO2022/230734
【出願番号】特願2023-517468(P2023-517468)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｍ　3/00(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　5/0735(2010.01)
Ｃ１２Ｎ　5/071(2010.01)
Ｃ１２Ｎ 15/09(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｍ　3/00　　ＡＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ　5/0735
Ｃ１２Ｎ　5/071
Ｃ１２Ｎ 15/09　　Ｚ

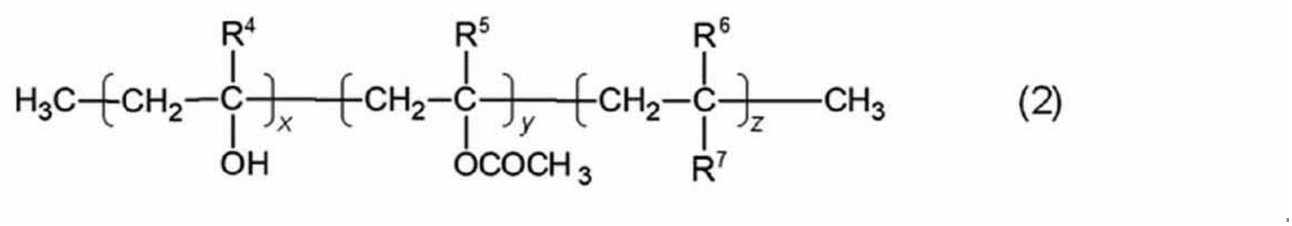
【手続補正書】
【提出日】令和5年9月4日(2023.9.4)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
基材と、前記基材の表面の少なくとも一部を被覆する層厚５～２０００ｎｍの親水性高分子を含有する層と、を備え、
前記親水性高分子は、ホスホリルコリン基又は水酸基を含み、
下記（Ａ）領域及び下記（Ｂ）領域を有し、
前記（Ａ）領域と前記（Ｂ）領域の境界における凹凸高さは１～５００ｎｍである、細胞培養基材。
（Ａ）細胞接着性及び細胞増殖性を有する面積０．００１～５ｍｍ^{2}の島状の領域
（Ｂ）前記（Ａ）領域に隣接し、細胞接着性又は細胞増殖性を有しない領域
【請求項２】
前記親水性高分子が、下記一般式（１）で表される化合物、下記一般式（２）で表される化合物、又は下記一般式（３）で表される化合物を含む、請求項１に記載の細胞培養基材。
【化１】



(1)

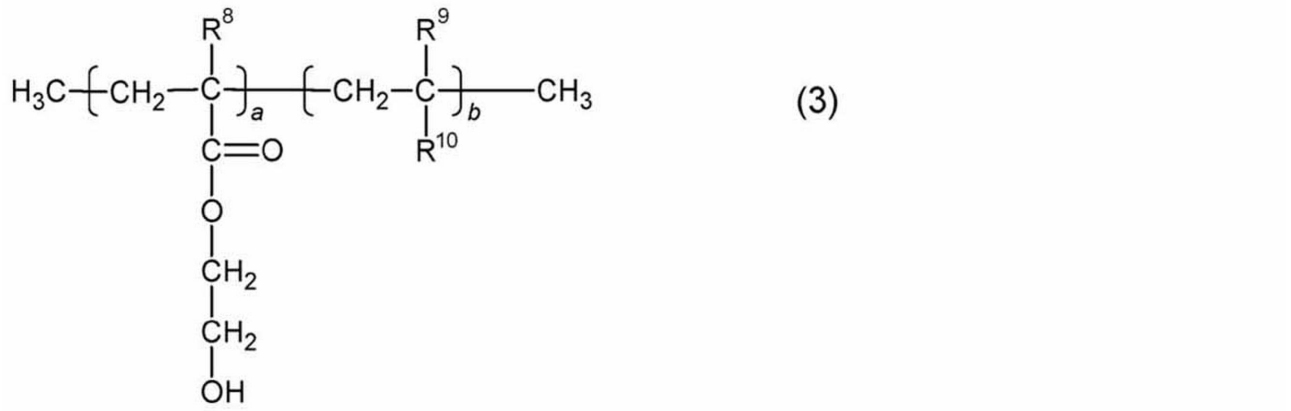
[一般式（１）中、Ｒ^{1}及びＲ^{2}はそれぞれ独立に水素原子又はメチル基を示し、Ｒ^{3}は水素原子又は任意の有機基を示し、ｍ及びｎはそれぞれ独立に正の整数を示す。]

【化２】



[一般式（２）中、R^4、R^5及びR^6はそれぞれ独立に水素原子又はメチル基を示し、R^7は水素原子又は任意の有機基を示し、ｘ、ｙ及びｚはそれぞれ独立に正の整数を示す。]

【化３】



[一般式（３）中、R^8及びR^9はそれぞれ独立に水素原子又はメチル基を示し、R^{10}は水素原子又は任意の有機基を示し、ａ及びｂはそれぞれ独立に正の整数を示す。]

【請求項３】

前記親水性高分子が、ＵＶ反応性の官能基又はＵＶ反応後の残基を有する単量体単位を含む、請求項１又は２に記載の細胞培養基材。

【請求項４】

前記（Ａ）領域についてのＸＰＳ測定のＣ１ｓスペクトルにおける２８７ｅＶのピーク強度／２８５ｅＶのピーク強度の比が、前記（Ｂ）領域についてのＸＰＳ測定のＣ１ｓスペクトルにおける２８７ｅＶのピーク強度／２８５ｅＶのピーク強度の比よりも０．０５以上大きい、請求項１又は２に記載の細胞培養基材。

【請求項５】

前記親水性高分子を含有する層の表面に、層厚１～１００ｎｍの温度応答性高分子を含有する層を更に備え、

前記温度応答性高分子は、水不溶性ブロックセグメント及び温度応答性ブロックセグメントを含むブロック共重合体である、請求項１又は２に記載の細胞培養基材。

【請求項６】

前記水不溶性ブロックセグメント及び前記温度応答性ブロックセグメントの総重量に対する前記温度応答性ブロックセグメントの重量の割合が９０重量％超である、請求項５に記載の細胞培養基材。

【請求項７】

前記基材の屈折率が１．４～１．６であり、且つ、前記基材の厚みが０．０１～０．５ｍｍである、請求項１又は２に記載の細胞培養基材。

【請求項８】

励起波長３５０ｎｍ、４８８ｎｍ、及び６４７ｎｍでそれぞれ励起された前記基材の蛍光強度が、同じ励起波長で励起された、厚み１．２ｍｍのポリスチレン板の蛍光強度よりも小さい、請求項１又は２に記載の細胞培養基材。

【請求項９】
前記（Ａ）領域の面積が、０．００５～０．２ｍｍ^{2}であり、
前記（Ａ）領域の数が、前記（Ａ）領域及び前記（Ｂ）領域の合計面積を基準として、２００～１０００個／ｃｍ^{2}である、請求項１又は２に記載の細胞培養基材。
【請求項１０】
前記（Ａ）領域の面積が、０．２～２ｍｍ^{2}であり、
前記（Ａ）領域の数が、前記（Ａ）領域及び前記（Ｂ）領域の合計面積を基準として、３～１５個／ｃｍ^{2}である、請求項１又は２に記載の細胞培養基材。
【請求項１１】
前記（Ａ）領域同士の最小距離が、５００～１００００μｍである、請求項１又は２に記載の細胞培養基材。
【請求項１２】
多能性幹細胞から三胚葉細胞への分化誘導用である、請求項１又は２に記載の細胞培養基材。
【請求項１３】
前記基材がポリカーボネート又はシクロオレフィンポリマーから形成される、請求項１又は２に記載の細胞培養基材。
【請求項１４】
（１）基材の表面の少なくとも一部をＵＶ反応性の親水性高分子を含有する組成物で被覆し、前記親水性高分子を含有する層を形成する工程、
（２）前記親水性高分子を含有する層にＵＶ照射を行い、前記親水性高分子を含有する層を前記基材の表面に固定化する工程、及び
（３）固定化した前記親水性高分子を含有する層の表面の一部にプラズマ処理を行い、プラズマ処理を行った部分に前記（Ａ）領域を形成する工程
を備える、請求項１に記載の細胞培養基材の製造方法。
【請求項１５】
（１’）繰り返し単位に脂環式炭化水素基又は芳香族炭化水素基を含む高分子から形成される基材を用い、前記基材の表面にプラズマ処理を行い、プラズマ処理を行った部分に前記（Ａ）領域を形成する工程、
（２’）前記基材の表面の少なくとも一部をＵＶ反応性の親水性高分子を含有する組成物で被覆し、前記親水性高分子を含有する層を形成する工程、
（３’）前記親水性高分子を含有する層の一部にＵＶ照射を行い、前記親水性高分子を含有する層の一部を前記基材の表面に固定化する工程、及び
（４’）前記親水性高分子を溶媒で洗浄し、表面に固定化されていない親水性高分子を溶解させて前記基材の表面から除去する工程
を備える、請求項１に記載の細胞培養基材の製造方法。
【請求項１６】
前記工程（４’）で使用する溶媒が、水及びアルコールを含有する、請求項１５に記載の細胞培養基材の製造方法。
【請求項１７】
（４）前記工程（３）又は（４’）の後に、面内方向の断面積が０．０５～１００ｃｍ^{2}の貫通孔を有する板を、前記基材の前記親水性高分子を含有する層で被覆した面側で前記基材と貼り合わせる工程を更に備える、請求項１４又は１５に記載の製造方法。
【請求項１８】
（５）前記工程（３）又は（４’）の後に、プラズマ処理を行った前記親水性高分子を含有する層の表面を、温度応答性高分子を含有する組成物で被覆し、前記温度応答性高分子を含有する層を形成する工程を更に備える、請求項１４又は１５に記載の製造方法。
【請求項１９】
（ｉ）請求項１又は２に記載の細胞培養基材に多能性幹細胞を播種する工程、
（ｉｉ）前記多能性幹細胞を培養し、高さ／直径の比が０．２～０．８の半球状の細胞

凝集塊を形成する工程、及び
（ｉｉｉ）前記細胞凝集塊を分化誘導し、三胚葉細胞の細胞凝集塊を形成する工程
を含む、多能性幹細胞の分化誘導方法。
【請求項２０】
下記（ｉｖ）に示される工程を更に備える、請求項１９に記載の多能性幹細胞の分化誘導方法。
（ｉｖ）Ｗｎｔタンパク質、Ｂｏｎｅ ｍｏｒｐｈｏｇｅｎｅｔｉｃ ｐｒｏｔｅｉｎ、インスリン様成長因子及びアクチビンからなる群より選択される少なくとも一種の分化誘導因子を含む培地中で細胞凝集塊を培養し、腸上皮細胞が有するマーカーを発現させる工程
【請求項２１】
請求項１又は２に記載の細胞培養基材と、水不溶性ブロックセグメント及び温度応答性ブロックセグメントを含むブロック共重合体若しくは前記ブロック共重合体を含有するコーティング剤とを含む、細胞培養キット。