



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117597427 A

(43) 申请公布日 2024. 02. 23

(21) 申请号 202280047097.4

(22) 申请日 2022.07.14

(30) 优先权数据

2021-120664 2021.07.21 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.12.29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2022/027665 2022.07.14

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/002905 JA 2023.01.26

(71) 申请人 东洋制罐集团控股株式会社

地址 日本东京都

(72) 发明人 小关修 田中乡史 户谷贵彦

西山乔晴

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任

公司 11021

专利代理师 任静文

(51) Int.Cl.

C12M 1/00 (2006.01)

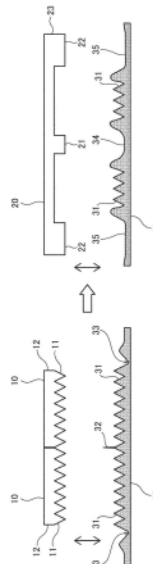
权利要求书1页 说明书13页 附图12页

(54) 发明名称

细胞培养容器的制造方法以及细胞培养容器

(57) 摘要

本发明提供一种不会在培养面具有突起部、薄壁部的细胞培养容器的制造方法。本发明是具有细胞的培养面的细胞培养容器的制造方法,其中,使用具备在容器器材(30)的表面形成凹凸图案结构(31)的凸部(11)的一次模具(10)、和具备用于将容器器材(30)的表面的一部分平坦化的凸部(21、22)的二次模具(20),向容器器材(30)按压一次模具(10),在容器器材(30)形成凹凸图案结构(31),向形成于容器器材(30)中的薄壁部(33)按压二次模具(20),将薄壁部(33)改变为平坦化部(35),以包含改变而得的平坦化部(35)的至少一部分和所形成的凹凸结构(31)的容器器材(30)的表面作为培养面,形成细胞培养容器。



1. 一种细胞培养容器的制造方法,其特征在于,是具有细胞的培养面的细胞培养容器的制造方法,

所述制造方法使用具备在容器器材的表面形成凹凸图案结构的凸部的一次模具、和具备用于将所述容器器材的表面的一部分平坦化的凸部的二次模具,

向所述容器器材按压所述一次模具,在所述容器器材形成所述凹凸图案结构,

向形成于所述容器器材中的薄壁部按压所述二次模具,将所述薄壁部改变为平坦化部,

以包含改变而得的所述平坦化部的至少一部分和所形成的所述凹凸图案结构的所述容器器材的表面作为所述培养面,形成所述细胞培养容器。

2. 根据权利要求1所述的细胞培养容器的制造方法,其特征在于,

将多个所述一次模具沿着交界线相邻地配置并向所述容器器材按压,在所述容器器材形成所述凹凸图案结构,

向所述容器器材中的形成于与多个所述一次模具的交界线对应的部位的突出部和所述薄壁部按压所述二次模具,将所述突出部和所述薄壁部改变为平坦化部。

3. 根据权利要求1所述的细胞培养容器的制造方法,其特征在于,

使用1个所述一次模具向所述容器器材按压多次,在所述容器器材形成所述凹凸图案结构,

向所述容器器材中的形成于与所述一次模具的周缘部对应的部位的所述薄壁部按压所述二次模具,将所述薄壁部改变为平坦化部。

4. 根据权利要求1~3中任一项所述的细胞培养容器的制造方法,其特征在于,

利用所述二次模具按压所述薄壁部及所述薄壁部的内侧的给定区域。

5. 根据权利要求1~4中任一项所述的细胞培养容器的制造方法,其特征在于,

将所述容器器材粘接于增强材料,向所述容器器材的与所述增强材料的粘接面相反的一面按压所述一次模具和所述二次模具。

6. 根据权利要求1~5中任一项所述的细胞培养容器的制造方法,其特征在于,

所述容器器材为热塑性树脂,按压所述一次模具及所述二次模具并利用热转印或熔融挤出成形在所述容器器材形成所述凹凸图案结构及平坦化部。

7. 根据权利要求1~6中任一项所述的细胞培养容器的制造方法,其特征在于,

作为所述凹凸图案结构,以山脉状并列地形成多个近似三角柱,或者形成具有或不具有微细孔的多个凹部。

8. 根据权利要求1~7中任一项所述的细胞培养容器的制造方法,其特征在于,

所述细胞培养容器为在内部具有细胞的培养面的袋状的容器。

9. 一种细胞培养容器,其特征在于,是在内部具有细胞的培养面的袋状的细胞培养容器,

在所述培养面具备形成有凹凸图案结构的多个区域,而且在形成有所述凹凸图案结构的多个区域之间具备平坦化部,并且在所述培养面的整个周缘具备平坦化部。

10. 根据权利要求9所述的细胞培养容器,其中,

所述凹凸图案结构中,多个近似三角柱以山脉状并列,或者是具有或不具有微细孔的多个凹部。

细胞培养容器的制造方法以及细胞培养容器

技术领域

[0001] 本发明涉及一种细胞培养技术,特别涉及一种在培养面具有微细的凹凸图案结构的细胞培养容器的制造方法。

背景技术

[0002] 近年来,在医药品的生产、基因治疗、再生医疗、免疫疗法等领域中,要求在人工环境下高效地大量培养细胞、组织等。

[0003] 在此种状况下,使用由热塑性树脂制成的袋状的细胞培养容器自动地大量培养细胞。另外,还提出过通过在细胞培养容器的培养面形成微细的凹凸图案结构来提高培养效率的方法。

[0004] 作为培养面处的微细的凹凸图案结构的形成方法,一般有在热塑性膜的表面压接用于形成凹凸图案结构的平板状或带状的模具并进行加热加压的热转印法、使熔融了的树脂材料接触用于形成凹凸图案结构的冷却辊表面而进行成型的方法等。

[0005] 这些方法在制造具有通常尺寸的培养面的细胞培养容器时可以利用,然而在制造具有大尺寸的培养面的细胞培养容器时,有无法容易地应用的问题。

[0006] 现有技术文献

[0007] 专利文献

[0008] 专利文献1:日本专利第6075103号公报

[0009] 专利文献2:日本专利第5102731号公报

发明内容

[0010] 发明所要解决的课题

[0011] 即,为了在大尺寸的培养面形成凹凸图案结构,需要大尺寸的模具,存在有模具的制造成本庞大的问题。另外,在使用大尺寸的模具的情况下,仅单纯地增大模具时无法在培养面恰当地形成凹凸图案结构,还存在有需要用于对大面积均匀地加压的大型的转印装置的问题。

[0012] 另一方面,可以考虑如下的方法,即,不使用大尺寸的一体物的模具,而是并列使用多个小的模具,由此分割地加工培养面;或分为多次地使用小的模具,由此分割地加工培养面。

[0013] 然而,若像这样分割地加工培养面,则会因软化了的树脂流入模具的交界处而产生大的突起,另外由于在模具的周缘部树脂流出,因此分为多次使用的模具之间、与模具的周缘部对应的部位的树脂变薄,导致容易产生裂纹的问题。

[0014] 此种产生裂纹的风险在细胞培养容器的制造中是重大的问题,另外若在培养面产生大的突起,则有妨碍培养液的送液的问题。此外,若在培养面有突起部,则在将培养基排出时无法使细胞培养容器内的培养基的液厚小于突起部的高度,因此还存在有培养基更换中的培养基的消耗量变多的问题。

[0015] 特别是,关于树脂变薄的问题,若容许一定程度的厚度,则可以通过加厚器材来防止裂纹的产生,因此不会成为问题,然而例如在袋状的细胞培养容器的情况下,由于需要提高容器壁面的透气性,因此有想要尽可能减薄器材的厚度的要求。所以,在细胞培养容器的制造中,产生裂纹的风险成为重大的问题。

[0016] 此处,专利文献1中,公开过能够在大尺寸的培养面形成凹凸图案结构的环形带状金属模具。然而,此种带状的模具制作价格高,另外在将形成有凹凸图案结构的膜从模具剥离时有树脂断开的风险。

[0017] 另外,专利文献2中,公开过并排配置多个模具、向模具的表面转印所形成的微细图案的技术。然而,该技术涉及用于制造大画面的液晶显示器的纳米级别的显示元件,另外并非热转印,而是在光固化性树脂上的图案形成。若将该模具应用于热转印,则会因树脂流入模具间的间隙而产生突起,因此并非能够消除上述的分割地加工培养面时的问题的技术。

[0018] 因而,本发明人等进行了深入研究,成功地通过使用具备在容器器材的表面形成凹凸图案结构的凸部的一次模具、和具备用于将容器器材的表面的一部分平坦化的凸部的二次模具而消除上述的问题,从而完成了本发明。

[0019] 本发明是鉴于上述情况而完成的发明,目的在于,提供不会在培养面具有突起部、薄壁部的细胞培养容器的制造方法以及细胞培养容器。

[0020] 用于解决课题的手段

[0021] 为了达成上述目的,本发明的细胞培养容器的制造方法采用如下的方法,即,是具有细胞的培养面的细胞培养容器的制造方法,该方法使用具备在容器器材的表面形成凹凸图案结构的凸部的一次模具、和具备用于将上述容器器材的表面的一部分平坦化的凸部的二次模具,向上述容器器材按压上述一次模具,在上述容器器材形成上述凹凸图案结构,向形成于上述容器器材中的薄壁部按压上述二次模具,将上述薄壁部改变为平坦化部,以包含改变而得的上述平坦化部的至少一部分和所形成的上述凹凸图案结构的上述容器器材的表面作为上述培养面,形成上述细胞培养容器。

[0022] 另外,本发明的细胞培养容器的制造方法优选采用如下的方法,即,将多个上述一次模具沿着交界线相邻地配置并向上述容器器材按压,在上述容器器材形成上述凹凸图案结构,向上述容器器材中的形成于与多个上述一次模具的交界线对应的部位的突出部和上述薄壁部按压上述二次模具,将上述突出部和上述薄壁部改变为平坦化部。

[0023] 另外,本发明的细胞培养容器的制造方法也优选采用如下的方法,即,使用1个上述一次模具向上述容器器材按压多次,在上述容器器材形成上述凹凸图案结构,向上述容器器材中的形成于与上述一次模具的周缘部对应的部位的上述薄壁部按压上述二次模具,将上述薄壁部改变为平坦化部。

[0024] 另外,本发明的细胞培养容器的制造方法也优选采用如下的方法,即,利用上述二次模具按压上述薄壁部及上述薄壁部的内侧的给定区域。

[0025] 另外,本发明的细胞培养容器的制造方法也优选采用如下的方法,即,将上述容器器材粘接于增强材料,向上述容器器材的与上述增强材料的粘接面相反的一面按压上述一次模具和上述二次模具。

[0026] 另外,本发明的细胞培养容器的制造方法也优选采用如下的方法,即,按压上述一

次模具及上述二次模具并利用热转印或熔融挤出成形在上述容器器材形成上述凹凸图案结构及平坦化部。

[0027] 另外,本发明的细胞培养容器的制造方法也优选采用如下的方法,即,作为上述凹凸图案结构,以山脉状并列地形成多个近似三角柱,或者形成具有或不具有微细孔的多个凹部。

[0028] 另外,本发明的细胞培养容器的制造方法也优选采用如下的方法,即,上述细胞培养容器为在内部具有细胞的培养面的袋状的容器。

[0029] 本发明的细胞培养容器采用如下的构成,即,是在内部具有细胞的培养面的袋状的细胞培养容器,在上述培养面具备形成有凹凸图案结构的多个区域,而且在形成有上述凹凸图案结构的多个区域之间具备平坦化部,并且在上述培养面的整个周缘具备平坦化部。

[0030] 另外,本发明的细胞培养容器优选采用如下的构成,即,上述凹凸图案结构中,多个近似三角柱以山脉状并列,或者是具有或不具有微细孔的多个凹部。

[0031] 发明效果

[0032] 根据本发明,可以提供不会在培养面具有突起部、薄壁部的细胞培养容器的制造方法以及细胞培养容器。

附图说明

[0033] 图1是表示本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的工序的示意图。

[0034] 图2是表示本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的第一工序的样子的示意图。

[0035] 图3是表示利用热转印进行本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的第一工序和第二工序的样子的示意图。

[0036] 图4是表示在本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的容器器材配置了一次模具的状态和二次模具的示意图。

[0037] 图5是表示本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的一次模具的配置和二次模具的变形例的示意图。

[0038] 图6是表示本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的一次模具及其参考例的示意图。

[0039] 图7是表示本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的二次模具的参考例的示意图。

[0040] 图8是表示针对本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的试验1的结果的图。

[0041] 图9是表示针对本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的试验2的结果的图。

[0042] 图10是表示利用针对本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的试验3中的比较例3得到的容器器材的突出部和薄壁部的照片的图。

[0043] 图11是表示利用针对本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的试验3中的实施例3得到的改变突出部而得的平坦化部和改变薄壁部而得的平坦化部的照片的图。

[0044] 图12是表示针对本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的试验3的结果的图。

具体实施方式

[0045] 以下,参照附图对本发明的细胞培养容器的制造方法以及细胞培养容器的实施方式进行详细说明。但是,本发明并不限于以下的实施方式及后述的实施例的具体内容。

[0046] 本实施方式的细胞培养容器的制造方法是具有细胞的培养面的细胞培养容器的制造方法,如图1所示,使用具备在容器器材30的表面形成凹凸图案结构31的凸部11的一次模具10、和具备用于将容器器材30的表面的一部分平坦化的凸部(21、22)的二次模具20。

[0047] 另外,本实施方式的细胞培养容器的制造方法具有向容器器材30按压一次模具10、在容器器材30形成凹凸图案结构31的第一工序。

[0048] 进而,本实施方式的细胞培养容器的制造方法具有向利用第一工序形成于容器器材30的薄壁部33按压二次模具20、将薄壁部33改变为平坦化部35的第二工序。

[0049] 此外,本实施方式的细胞培养容器的制造方法以包含改变而得的平坦化部35的至少一部分和所形成的凹凸图案结构31的容器器材30的表面作为培养面,形成细胞培养容器。

[0050] 需要说明的是,在本说明书及请求保护的范围内,平坦化部意指不具有凹凸图案结构的面,并不意味着完全平坦,包括有圆弧的情况。

[0051] 另外,一次模具10的凸部11只要能够在容器器材30形成凹凸图案结构即可,也可以如图1所示为多个三角柱以山脉状并列的模具(以下有时称作V图案)。需要说明的是,在相同附图中,一次模具10以从正面侧观察到的进深方向中央的剖视图的形式表示,凸部11被沿进深方向以三角柱状形成。

[0052] 本实施方式的细胞培养容器的制造方法优选在第一工序中,将多个一次模具10沿着交界线相邻地配置并向容器器材30按压,在容器器材30形成凹凸图案结构31。

[0053] 另外,本实施方式的细胞培养容器的制造方法优选向容器器材30中的形成于与多个一次模具10的交界线对应的部位的突出部32和薄壁部33按压二次模具20,将突出部32和薄壁部33改变为平坦化部(34、35)。

[0054] 此外,本实施方式的细胞培养容器的制造方法还优选在第一工序中,使用1个一次模具10向容器器材30按压多次,在容器器材30形成凹凸图案结构31。

[0055] 另外,本实施方式的细胞培养容器的制造方法还优选向容器器材30中的形成于与一次模具10的周缘部对应的部位的薄壁部(包括形成于与交界线对应的部位的薄壁部)按压上述二次模具20,将薄壁部改变为平坦化部(34、35)。

[0056] 一次模具10和二次模具20例如为由金属、硅制成的模具,在后述的实施例中,使用硅材制作一次模具10,使用铝材制作二次模具20。需要说明的是,本说明书及请求保护的范围内,对于由金属以外的材料制成的模具也总称为模具。

[0057] 容器器材30例如可以使用0.1mm的厚度的聚乙烯片等。

[0058] 具体而言,作为容器器材30的材料,可以合适地使用树脂膜等,可以使用聚乙烯、聚丙烯等聚烯烃系树脂等。例如,可以举出聚乙烯、乙烯与 α -烯烃的共聚物、乙烯与乙酸乙酯的共聚物、使用了乙烯与丙烯酸和/或甲基丙烯酸共聚物与金属离子的离聚物等。另

外,也可以使用聚烯烃、苯乙烯系弹性体、聚酯系热塑性弹性体等。此外,也可以使用软质氯乙烯树脂、聚丁二烯树脂、乙烯-乙酸乙烯酯共聚物、氯化聚乙烯树脂、聚氨酯系热塑性弹性体、聚酯系热塑性弹性体、硅酮系热塑性弹性体、苯乙烯系弹性体、例如SBS(苯乙烯-丁二烯-苯乙烯)、SIS(苯乙烯-异戊二烯-苯乙烯)、SEBS(苯乙烯-乙烯-丁烯-苯乙烯)、SEPS(苯乙烯-乙烯-丙烯-苯乙烯)、聚烯烃树脂、氟系树脂等。

[0059] 将第一工序中的一次模具10和容器器材30的配置的一例表示于图2中。

[0060] 图2中,2个一次模具10配置于容器器材30上,将一次模具10向容器器材30按压,由此在容器器材30的表面形成凹凸图案结构31。

[0061] 此时,容器器材30中的与2个一次模具10的交界线对应的部位中,树脂流入一次模具10间的微小的间隙,其结果是,形成突出部32的情况变多。另外,在除去交界线以外的一次模具10的周缘部,树脂向一次模具10的外侧流出,其结果是,形成容器器材30的厚度变薄的薄壁部33的情况变多。

[0062] 若使用此种形成有突出部32的容器器材30制造细胞培养容器,则有培养基的送液受到突出部32的阻碍的问题。另外,若存在突出部32,则将培养基排出时无法使细胞培养容器内的培养基的液厚小于突出部32的高度,有培养基更换时的培养基的消耗量变多的问题。

[0063] 另外,若使用形成有薄壁部33的容器器材30制造细胞培养容器,则易于在薄壁部33产生裂纹,有产生培养基的漏液的问题。

[0064] 根据本实施方式的细胞培养容器的制造方法,通过将上述突出部32和薄壁部33使用二次模具20改变为平坦化部(交界平坦化部34、周缘平坦化部35),可以制造没有突出部32和薄壁部33的细胞培养容器,从而能够消除这些问题。

[0065] 需要说明的是,根据本实施方式的细胞培养容器的制造方法,在细胞培养容器内形成平坦化部,凹凸图案结构31的一部分被压扁,然而这与本发明的课题相比是轻微的损失,在细胞培养中不会成为太大的问题。

[0066] 另外,本实施方式的细胞培养容器的制造方法中,优选将容器器材30粘接于增强材料来使用。即,优选将容器器材30粘接于增强材料,并向该容器器材30的与增强材料的粘接面相反的一面按压一次模具10和二次模具20。

[0067] 通过像这样将容器器材30粘接于增强材料而使用,可以将通过一次模具10形成于容器器材30的突出部32和薄壁部33利用二次模具20稳定地改变为平坦化部。

[0068] 另外,该增强材料优选具有粘合层,优选将容器器材30粘接于该粘合层而固定。

[0069] 此处,若仅是将容器器材30单纯地重叠于增强材料,则将形成于容器器材30的突出部32和薄壁部33利用二次模具20稳定地改变为平坦化部的效果小。另一方面,通过牢固地粘贴于具有粘合层的、比容器器材30(聚乙烯等)更硬的增强材料,可以充分地获得此种效果。

[0070] 即,通过在容器器材30粘贴增强材料,第一工序和第二工序的热转印中的容器器材30冷却时的热收缩得到抑制,可以抑制容器器材30的起伏等变形。另外,在热转印的结束后,在从增强材料剥离容器器材30时,也因存在粘合层而可以容易地剥离。

[0071] 作为增强材料的材料,没有特别限定,然而适合为聚酯系的材料,优选使用比聚乙烯硬、易于获取且廉价的聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)。另外,作为粘合层的材料,例如可以

合适地使用丙烯酸系粘合材料。

[0072] 另外,本实施方式中,作为容器器材30的材料优选使用如上所述的热塑性树脂,利用一次模具10的按压的容器器材30中的凹凸图案结构31的形成优选通过热转印或熔融挤出成形来进行。

[0073] 在通过热转印来进行容器器材30中的凹凸图案结构31的形成的情况下,例如可以使用如图3所示的热转印装置40。即,在底板41配设缓冲材料50(硅橡胶等),在该缓冲材料50上载放在下表面粘接有具有粘合层的增强材料60(聚对苯二甲酸乙二醇酯等)的容器器材30。此后,在容器器材30的上表面配置多个一次模具10,在使用加压缸42将加热板43向一次模具10按压的同时对一次模具10进行加热,由此可以进行第一工序。

[0074] 然后,从容器器材30的上表面取下一次模具10,在加热板43的下表面安装二次模具20。此时,以使二次模具20的交界凸部21位于形成于容器器材30的突出部32的上方、并且二次模具20的周缘凸部22位于形成于容器器材30的薄壁部33的上方的方式,配置二次模具20。

[0075] 此后,在使用加压缸42将配置于加热板43的二次模具20向容器器材30按压的同时,对容器器材30进行加热,由此可以进行第二工序。

[0076] 在本实施方式的细胞培养容器的制造方法中,形成于容器器材30的凹凸图案结构31的形状只要是凹凸图案,就没有特别限定,然而例如可以设为图1的示意图所示的凹凸图案结构31那样的多个三角柱以山脉状并列的形状(V图案)。需要说明的是,在相同附图中,容器器材30以从正面侧观察到的进深方向中央的剖视图的形式表示,凹凸图案结构31被沿进深方向以三角柱状形成。

[0077] 形成于容器器材30的凹凸图案结构31也可以制成上述的V图案以外的形状,例如也可以制成多个三角柱隔开间隔地以山脉状并列的形状。另外,也可以制成形成有多个凹部(坑(日文:ウエル))的图案,该凹部可以为半球状,也可以为圆锥、多边形锥状等,凹部的形状没有特别限定。此外,可以在凹部的底具有微细的孔,也可以不具有微细的孔。

[0078] 下面,参照图4,对本实施方式的细胞培养容器的制造方法中使用的一次模具10和二次模具20进一步详细说明。图4(a)表示在容器器材30配置有2个一次模具10的状态,图4(b)是表示该情况下使用的二次模具20的结构的示意图,上侧表示俯视图,下侧表示主视图。

[0079] 若如图4(a)所示将2个一次模具10配置于容器器材30上,将一次模具10向容器器材30按压,由此在容器器材30形成凹凸图案结构31,则在容器器材30的与一次模具10的交界线对应的部位形成突出部32。另外,在容器器材30的与除去一次模具10的交界线以外的周缘部对应的部位形成薄壁部33。

[0080] 因而,本实施方式中,如图4(b)所示地使用具备交界凸部21和周缘凸部22的二次模具20,按压形成有突出部32和薄壁部33的容器器材30,由此得到没有突出部32和薄壁部33的容器器材30。

[0081] 即,二次模具20具备用于按压突出部32而将其改变为交界平坦化部34的交界凸部21、用于按压薄壁部33而将其改变为周缘平坦化部35的周缘凸部22、以及支承它们的支承部23。交界凸部21和周缘凸部22的相对于支承部23的底面而言的高度相同。

[0082] 另外,图4(a)中,也可以不使用2个一次模具10,而是使用1个一次模具10反复地进

行按压,由此在容器器材30形成凹凸图案结构31。

[0083] 该情况下,在容器器材30的与反复使用的一次模具10的交界线对应的部位形成薄壁部33,另外在容器器材30的与除去一次模具10的交界线以外的周缘部对应的部位也形成薄壁部33。

[0084] 在像这样使用一次模具10按压容器器材30的情况下,也可以通过使用图4(b)所示的具备交界凸部21和周缘凸部22的二次模具20而将薄壁部33改变为平坦化部。

[0085] 即,可以利用交界凸部21将形成于与一次模具10的交界线对应的部位的薄壁部33改变为交界平坦化部34,并且利用周缘凸部22将形成于一次模具10的周缘部的薄壁部33改变为周缘平坦化部35。

[0086] 此外,本实施方式的细胞培养容器的制造方法中,优选以能够按压至薄壁部33的内侧的给定区域的方式宽幅地形成周缘凸部22,由此利用二次模具20按压薄壁部33和薄壁部33的内侧的给定区域。

[0087] 其理由是因为,在作为细胞培养容器形成在内部具有细胞的培养面的袋状的容器时,可以将培养面的周围热封(热熔合),使之不会漏液。

[0088] 即,在将容器器材30以袋状热封的情况下,例如在作为凹凸图案结构31形成V图案时,该V图案形成面需要成为袋的内表面。因此,V图案形成面相对于热封机位于容器器材30的相反一面,因而热不会高效地传递,难以完全地熔合。

[0089] 另外,若暂时将热封机的温度升高到V图案形成面完全地软化(熔合)为止,则虽然能够使V图案部完全地熔合(V图案消失),然而由于直接接触热封机的部分的温度过高而烤焦(碳化),因此不优选。

[0090] 因而,本实施方式的细胞培养容器的制造方法中,对于为了将容器器材30制成袋状而进行热封的给定区域,也利用二次模具20预先改变为平坦化部,由此能够合适地进行热封。

[0091] 下面,参照图5,对本实施方式的细胞培养容器的制造方法中的一次模具的配置和二次模具的变形例进行说明。图5(a)表示在容器器材30配置有4个一次模具10的状态,图5(b)是表示该情况下使用的二次模具20b的结构示意图,上侧表示俯视图,下侧表示主视图。

[0092] 若如图5(a)所示将4个一次模具10配置于容器器材30上,将一次模具10向容器器材30按压,由此在容器器材30形成凹凸图案结构31,则在容器器材30的与一次模具10的交界线对应的部位形成突出部32。另外,在容器器材30的与除去一次模具10的交界线以外的周缘部对应的部位形成薄壁部33。

[0093] 因而,本实施方式中,如图5(b)所示地使用具备交界凸部21b和周缘凸部22b的二次模具20b,按压形成有突出部32和薄壁部33的容器器材30,由此得到没有突出部32和薄壁部33的容器器材30。

[0094] 即,二次模具20b具备用于按压突出部32而将其改变为交界平坦化部34的交界凸部21b、用于按压薄壁部33而将其改变为周缘平坦化部35的周缘凸部22b和支承它们的支承部23b。交界凸部21b和周缘凸部22b的相对于支承部23b的底面而言的高度相同。

[0095] 另外,在图5(a)中,也可以不使用4个一次模具10,而是使用1个或2个一次模具10反复地进行按压,由此在容器器材30形成凹凸图案结构31。

[0096] 该情况下,在容器器材30的与反复使用的一次模具10的交界线对应的部位形成薄壁部33,另外在容器器材30的与除去一次模具10的交界线以外的周缘部对应的部位也形成薄壁部33。

[0097] 在像这样使用一次模具10按压容器器材30的情况下,也可以通过使用图5(b)所示的具备交界凸部21b和周缘凸部22b的二次模具20b而将薄壁部33改变为平坦化部。

[0098] 即,可以利用交界凸部21b将形成于与一次模具10的交界线对应的部位的薄壁部33改变为交界平坦化部34,并且利用周缘凸部22b将形成于一次模具10的周缘部的薄壁部33改变为周缘平坦化部35。

[0099] 在本实施方式的细胞培养容器的制造方法中,作为以包含此种平坦化部34、35和凹凸图案结构31的容器器材30的表面作为培养面形成细胞培养容器的方法,例如可以准备2片容器器材30,以使培养面成为内侧的方式将容器器材30重合,并将周围热封。

[0100] 另外,也可以准备1片容器器材30和1片没有形成培养面的树脂膜,以使培养面成为内侧的方式将它们重合,并将周围热封。

[0101] 除此以外,关于形成细胞培养容器的方法,只要能够以包含上述的平坦化部和凹凸图案结构31的容器器材30的表面作为培养面即可,对于具体的手段没有特别限定。

[0102] 此处,参照图6,对本实施方式的细胞培养容器的制造方法中的一次模具及其参考例进行说明。

[0103] 图6(a)表示出本实施方式的细胞培养容器的制造方法中使用的一次模具10、和通过将该一次模具10向容器器材30按压而在容器器材30的与一次模具10的周缘部对应的部位形成薄壁部33的样子。

[0104] 本发明人等在本发明的完成之前,如图6(b)所示,切断位于一次模具100的周缘部的凸部110,将该一次模具100向容器器材30按压,由此使容器器材30的与一次模具100的周缘部对应的部位的厚度变大,进行关于是否可以不形成薄壁部33的实验。

[0105] 然而发现,即使像这样使用切断了位于周缘部的凸部110的一次模具100,在向容器器材30按压时也会从一次模具100的周缘部流出树脂,其结果是,仍然形成了薄壁部33。

[0106] 因而,本发明人等在研究后,将一次模具10与二次模具20组合地使用,利用二次模具20将薄壁部33改变为平坦化部,由此消除了在与一次模具10的周缘部对应的部位形成薄壁部33的问题。

[0107] 需要说明的是,在使用此种一次模具100的情况下,也可以通过使用二次模具20来消除薄壁部,因此在本实施方式中可以使用一次模具100。

[0108] 下面,参照图7,对本实施方式的细胞培养容器的制造方法中的二次模具的参考例进行说明。

[0109] 图7是表示具备交界凸部210、不具备周缘凸部的二次模具200的构成的示意图,上侧表示俯视图,下侧表示主视图。

[0110] 在使用此种二次模具200的情况下,虽然能够将容器器材30的突出部32压扁,然而将突出部32恰当地改变为平坦化部略为困难。即,在使用了二次模具200的情况下,经常在容器器材30的整体中产生变形。

[0111] 另外,若使用此种二次模具200,则在培养面的周围不形成平坦化部,因此在将容器器材30以袋状热封的情况下,凹凸图案结构31的间隙无法充分地熔合,有产生漏液的情

况。

[0112] 因而,在本实施方式的细胞培养容器的制造方法中,通过使用在具备交界凸部21的同时还具备周缘凸部22的二次模具20,能够将突出部32稳定地改变为平坦化部。

[0113] 本实施方式的细胞培养容器的特征在于,利用上述的细胞培养容器的制造方法得到,是在内部具有细胞的培养面的袋状的细胞培养容器,在培养面具备形成有凹凸图案结构31的多个区域,而且在形成有凹凸图案结构31的多个区域之间具备平坦化部34,并且在培养面的整个周缘具备平坦化部35。

[0114] 另外,本实施方式的细胞培养容器中,凹凸图案结构31的形状只要是凹凸图案,就没有特别限定,例如可以设为图1的示意图所示的多个三角柱以山脉状并列的形状、多个三角柱隔开间隔地以山脉状并列的形状。另外,也可以设为形成有多个凹部(坑)的形状,可以在凹部的底具有微细的孔,也可以不具有微细的孔。

[0115] 使用本实施方式的细胞培养容器培养的细胞没有特别限定,可以是悬浮性细胞、贴壁性细胞、球(细胞块)、或使数种细胞凝聚而制成的类器官。

[0116] 如上说明所示,根据本实施方式的细胞培养容器的制造方法以及细胞培养容器,即使在使用多个一次模具的情况下、反复多次使用一次模具在容器器材形成凹凸图案结构的情况下,通过使用二次模具,也可以获得没有突出部、薄壁部的容器器材,使用该容器器材可以获得不易产生裂纹、易于进行培养基的送液、能够减少培养基使用量的细胞培养容器。

[0117] 实施例

[0118] 以下,对为了确认本发明的实施方式的细胞培养容器的制造方法的效果而进行的试验进行说明。

[0119] [试验1]

[0120] 本试验中,进行了同时使用2个一次模具在容器器材形成凹凸图案结构、然后使用二次模具将形成于容器器材的突出部和薄壁部改变为平坦化部的实验。

[0121] 首先,作为本试验中使用的一次模具和二次模具,制作出以下的模具。

[0122] 作为一次模具,使用120×90mm的硅(Si)材,利用与水平的角度为75度的刀片进行切割加工,制作出图1的示意图中的一次模具10那样的将多个三角柱沿相同硅材的长度方向以山脉状并列而形成的形状(以下有时称作V图案。)。需要说明的是,在相同附图中,一次模具10以从正面侧观察到的进深方向中央的剖视图的形式表示,一次模具10的多个凸部11在进深方向上以三角柱状形成。

[0123] 一次模具的多个凸部被相互没有间隙地连续形成,其间距(1个凸部部分的底边的宽度)为0.11mm。另外,同一凸部的高度(凸部部分的底边到顶点的高度)为0.2mm。

[0124] 作为二次模具,制作出能够将沿长度方向相邻2个地配置一次模具时形成的突出部和薄壁部改变为平坦化部的模具。具体而言,使用180×120的铝材,制作出图1的示意图中的二次模具20那样的在同一铝材的宽度方向具有长方体状的交界凸部21的模具。此时,利用切削加工制作出交界凸部21。需要说明的是,在相同附图中,二次模具20以从正面侧观察到的进深方向中央的剖视图的形式表示,二次模具20的交界凸部21在进深方向上以长方体状形成。

[0125] 另外,在二次模具20的周缘部形成周缘凸部22。周缘凸部22如图4所示,比交界凸

部21更宽地在二次模具20的全周形成。

[0126] 将二次模具的交界凸部的宽度设为2mm,将周缘凸部22的宽度设为6mm。另外,交界凸部和周缘凸部的高度都设为5mm。

[0127] 此处,本试验中将交界凸部的宽度设为2mm,然而其大小没有特别限定,从减少压扁凹凸图案结构31的区域的观点出发,期望更窄。另一方面,若使交界凸部的宽度过窄,则用于将突出部32改变为平坦化部的位置对准变得困难,因此本试验中考虑到安全性设为2mm。

[0128] 作为容器器材,使用了厚度为0.11mm且为200×140mm的直链状低密度聚乙烯膜(东洋制罐集团控股株式会社制)。另外,将该容器器材使用丙烯酸系粘合材料粘接于包含聚对苯二甲酸乙二醇酯的增强材料。此时,增强材料的厚度为0.06mm,粘合层的厚度为0.02mm。

[0129] 然后,向容器器材的与增强材料的粘接面相反的一面,如图4(a)所示,沿长度方向相邻地配置2个一次模具,使用热转印装置(东洋制罐集团控股株式会社制),在容器器材的表面加工出凹凸图案结构。此时,将一次模具的温度设为130℃,对2个一次模具以4000N进行20秒加压。

[0130] 此后,将以该容器器材的表面作为细胞培养容器的培养面、且仅使用了该一次模具的细胞培养容器的制造方法设为比较例1。

[0131] 在利用比较例1得到的培养面,在与相邻的一次模具的交界线对应的部位形成有突出部。另外,在除去一次模具的交界线以外的周缘部形成有薄壁部。对这些突出部和薄壁部从侧面使用显微镜进行照片拍摄,测定出相对于容器器材底面而言的突出部的高度和薄壁部处的容器器材的厚度。

[0132] 然后,在热转印装置安装二次模具,向加工出凹凸图案结构的容器器材的表面按压二次模具。此时,将二次模具的温度设为130℃,对二次模具以4000N进行20秒加压。

[0133] 利用该操作,向形成于与相邻的一次模具的交界线对应的部位的突出部和薄壁部按压二次模具,将突出部和薄壁部改变为平坦化部。

[0134] 将以该容器器材的表面作为细胞培养容器的培养面、且使用了一次模具和二次模具的细胞培养容器的制造方法设为实施例1。此后,从平坦化部的侧面使用显微镜进行照片拍摄,测定出改变突出部而得的平坦化部的相对于容器器材底面而言的高度、和改变薄壁部而得的平坦化部处的容器器材的厚度。

[0135] 将比较例1和实施例1的结果及其效果表示于图8中。

[0136] 如同图所示,比较例1的突出部的高度为0.3~0.8mm,突出部的最高部的高度为0.8mm。与之不同,实施例1的改变突出部而得的平坦化部的高度为0.02~0.05mm,平坦化部的最高部的高度为0.05mm。

[0137] 如此所示,可以明确,在比较例1中,由于在培养面存在突出部,因此在培养基的送液时有可能产生阻碍,另一方面,实施例1中,由于突出部被改变为平坦化部,因此能够防止在培养基的送液时产生阻碍的风险。

[0138] 另外,可以明确,从细胞培养容器排出培养基时的最小液厚在比较例1中为0.8mm,然而在实施例1中可以设为0.05mm,因此在培养基更换时能够减小细胞培养容器内的液厚,从而能够减小培养基的消耗量。

[0139] 另外,比较例1的薄壁部的厚度为0.01~0.015mm,薄壁部的最薄部的厚度为0.01mm。与之不同,实施例1的改变薄壁部而得的平坦化部的厚度为0.025~0.03mm,平坦化部的最薄部的厚度为0.025mm。

[0140] 即,在利用实施例1得到的容器器材中没有薄壁部,与利用比较例1得到的容器器材相比难以产生裂纹。

[0141] [试验2]

[0142] 本试验中,进行了反复使用2次1个一次模具在容器器材形成凹凸图案结构、然后使用二次模具将形成于容器器材的薄壁部改变为平坦化部的实验。

[0143] 一次模具使用与试验1相同的模具。

[0144] 作为二次模具,制作出能够将沿宽度方向相邻2个地配置一次模具时产生的突出部和薄壁部改变为平坦化部的模具。具体而言,使用240×90的铝材,利用与试验1同样的方法制作。

[0145] 将二次模具的交界凸部的宽度设为2mm,将周缘凸部22的宽度设为6mm。另外,交界凸部和周缘凸部的高度都设为5mm。

[0146] 作为容器器材,使用了厚度为0.11mm且为300×140mm的直链状低密度聚乙烯膜(东洋制罐集团控股株式会社制)。另外,将该容器器材使用丙烯酸系粘合材料粘接于包含聚对苯二甲酸乙二醇酯的增强材料。此时,增强材料的厚度为0.06mm,粘合层的厚度为0.02mm。

[0147] 然后,向容器器材的与增强材料的粘接面相反的一面,在能够沿宽度方向相邻地配置2个一次模具的一方的位置配置1个一次模具,使用热转印装置(东洋制罐集团控股株式会社制),在容器器材的表面加工出凹凸图案结构。

[0148] 此时,将一次模具的温度设为130℃,对1个一次模具以2000N进行20秒加压。

[0149] 然后,取下该一次模具,在能够沿宽度方向相邻地配置2个一次模具的另一方的位置配置1个一次模具,同样地对容器器材的表面进行第2次的凹凸图案结构的加工。

[0150] 此后,将以该容器器材的表面作为细胞培养容器的培养面、且仅使用了该一次模具的细胞培养容器的制造方法设为比较例2。

[0151] 在利用比较例2得到的培养面,在与反复使用的一次模具的交界线对应的部位形成有薄壁部。另外,在除去该交界线以外的一次模具的周缘部也形成有薄壁部。从这些薄壁部的侧面使用显微镜进行照片拍摄,测定出薄壁部处的容器器材的厚度。

[0152] 然后,在热转印装置安装二次模具,向加工出凹凸图案结构的容器器材的表面按压二次模具。此时,将二次模具的温度设为130℃,对二次模具以4000N进行20秒加压。

[0153] 利用该操作,向薄壁部按压二次模具,将薄壁部改变为平坦化部。

[0154] 将以该容器器材的表面作为细胞培养容器的培养面、且使用了一次模具和二次模具的细胞培养容器的制造方法设为实施例2。此后,从平坦化部的侧面使用显微镜进行照片拍摄,测定出改变薄壁部而得的平坦化部处的容器器材的厚度。

[0155] 另外,对利用比较例2和实施例2得到的形成有凹凸图案结构的容器器材,使用精密万能试验机(岛津制作所公司,型号AG-1S),测定出各自的拉伸强度。此时,沿与形成于容器器材的V图案平行的方向(一次模具的宽度方向)进行拉伸。

[0156] 将比较例2和实施例2的结果及其效果表示于图9中。

[0157] 如同图所示,比较例2的薄壁部的厚度为0.008~0.012mm,薄壁部的最薄部的厚度为0.008mm。与之不同,改变薄壁部而得的平坦化部的高度为0.022~0.028mm,平坦化部的最薄部的厚度为0.022mm。

[0158] 另外,利用比较例2得到的容器器材的拉伸强度为2N,然而利用实施例2得到的容器器材的拉伸强度为8N。

[0159] 因而,可以明确,利用实施例2得到的容器器材的薄壁部被改变为平坦化部,其结果是,与利用比较例2得到的容器器材相比,可以大幅度减小产生裂纹的风险。

[0160] [试验3]

[0161] 本试验中,进行了同时使用4个一次模具在容器器材形成凹凸图案结构、然后使用二次模具将形成于容器器材的突出部和薄壁部改变为平坦化部的实验。

[0162] 一次模具使用了与试验1相同的模具。

[0163] 作为二次模具,如图5所示,制作出能够将相邻4个地配置一次模具时产生的突出部和薄壁部改变为平坦化部的模具。具体而言,使用240×180的铝材,利用与试验1同样的方法制作。

[0164] 将二次模具的交界凸部的宽度设为2mm,将周缘凸部22的宽度设为6mm。另外,交界凸部和周缘凸部的高度都设为5mm。

[0165] 作为容器器材,使用了厚度为0.11mm且为300×240mm的直链状低密度聚乙烯膜(东洋制罐集团控股株式会社制)。另外,将该容器器材使用丙烯酸系粘合材料粘接于包含聚对苯二甲酸乙二醇酯的增强材料。此时,增强材料的厚度为0.06mm,粘合层的厚度为0.02mm。

[0166] 然后,向容器器材的与增强材料的粘接面相反的一面,如图5(a)所示,沿长度方向及宽度方向相邻地配置4个一次模具,使用热转印装置(东洋制罐集团控股株式会社制),在容器器材的表面加工出凹凸图案结构。此时,将一次模具的温度设为130℃,对4个一次模具以4000N进行2次20秒加压。

[0167] 此后,将以该容器器材的表面作为细胞培养容器的培养面、且仅使用了一次模具的细胞培养容器的制造方法设为比较例3。

[0168] 在利用比较例3得到的培养面,在与相邻的一次模具的交界线对应的部位形成有突出部。另外,在除去一次模具的交界线以外的周缘部形成有薄壁部。对这些突出部和薄壁部从侧面使用显微镜进行照片拍摄,测定出相对于容器器材底面而言的突出部的高度和薄壁部处的容器器材的厚度。将此时拍摄的突出部和薄壁部的照片表示于图10中。

[0169] 然后,在热转印装置安装二次模具,向加工出凹凸图案结构的容器器材的表面按压二次模具。此时,将二次模具的温度设为130℃,对4个一次模具以4000N进行2次20秒加压。

[0170] 利用该操作,向形成于与相邻的一次模具的交界线对应的部位的突出部和薄壁部按压二次模具,将突出部和薄壁部改变为平坦化部。

[0171] 将以该容器器材的表面作为细胞培养容器的培养面、且使用了一次模具和二次模具的细胞培养容器的制造方法设为实施例3。此后,从平坦化部的侧面使用显微镜进行照片拍摄,测定出改变突出部而得的平坦化部的相对于容器器材底面而言的高度、和改变薄壁部而得的平坦化部处的容器器材的厚度。将此时拍摄的改变突出部而得的平坦化部和改变

薄壁部而得的平坦化部的照片表示于图11中。

[0172] 将比较例3和实施例3的结果及其效果表示于图12中。

[0173] 如同图所示,比较例3的突出部的高度为0.3~0.7mm,突出部的最高部的高度为0.7mm。与之不同,改变突出部而得的平坦化部的高度为0.02~0.06mm,平坦化部的最高部的高度为0.06mm。

[0174] 如此所示,可以明确,比较例3中,由于在培养面存在突出部,因此在培养基的送液时有可能产生阻碍,另一方面,实施例3中,由于突出部被改变为平坦化部,因此能够防止在培养基的送液时产生阻碍的风险。

[0175] 另外,可以明确,从细胞培养容器排出培养基时的最小液厚在比较例3中为0.7mm,然而在实施例3中可以设为0.06mm,因此在培养基更换时能够减小细胞培养容器内的液厚,从而能够减小培养基的消耗量。

[0176] 另外,比较例3的薄壁部的厚度为0.009~0.013mm,薄壁部的最薄部的厚度为0.009mm。与之不同,改变薄壁部而得的平坦化部的高度为0.024~0.03mm,实施例3的平坦化部的最薄部的厚度为0.024mm。

[0177] 即,在利用实施例3得到的容器器材没有薄壁部,与利用比较例3得到的容器器材相比难以产生裂纹。

[0178] 本发明当然并不限定于以上的实施方式及实施例,可以在本发明的范围内实施各种变更。例如,可以如下述操作所示地进行恰当的变更,即,通过使1个培养面的形成中使用的一次模具的个数例如大于6个、8个等,而且反复多次地按压二次模具,而将利用一次模具形成的容器器材的突出部、薄壁部改变为平坦化部。

[0179] 产业上的可利用性

[0180] 本发明可以合适地用于制造具有大尺寸的培养面的细胞培养容器的情况。

[0181] 将该说明书中记载的文献及成为本申请的巴黎优先权的基础的日本申请说明书的内容全部引入到本文中。

[0182] 附图标记说明

[0183] 10一次模具,11凸部,12支承部,20、20b二次模具,21、21b交界凸部,22、22b周缘凸部,23、23b支承部,30容器器材,31凹凸图案结构,32突出部,33薄壁部,34交界平坦化部,35周缘平坦化部,60增强材料。

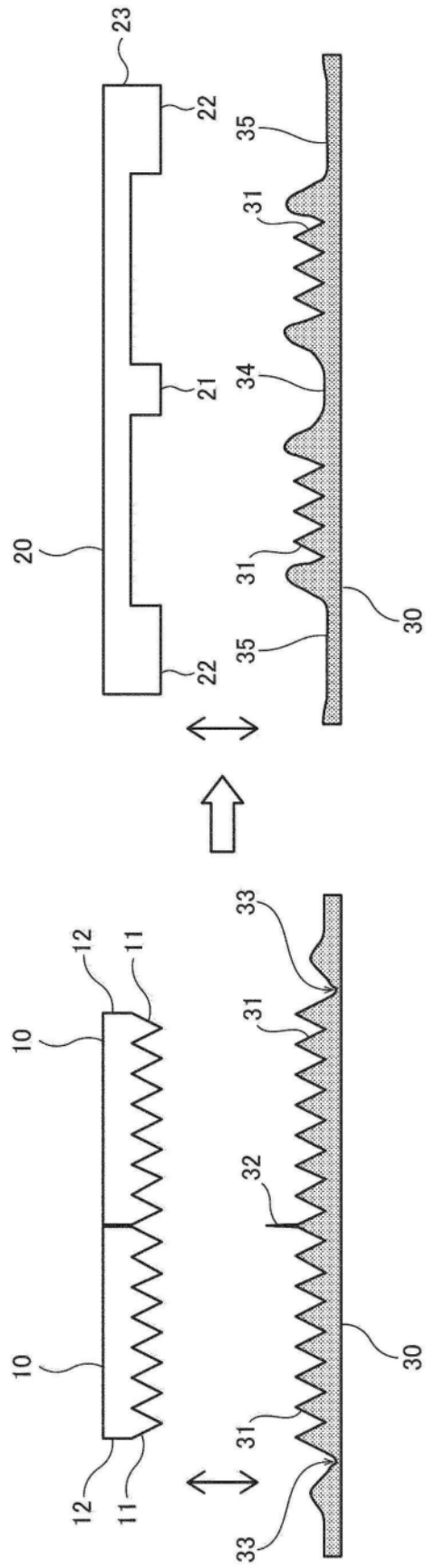


图1

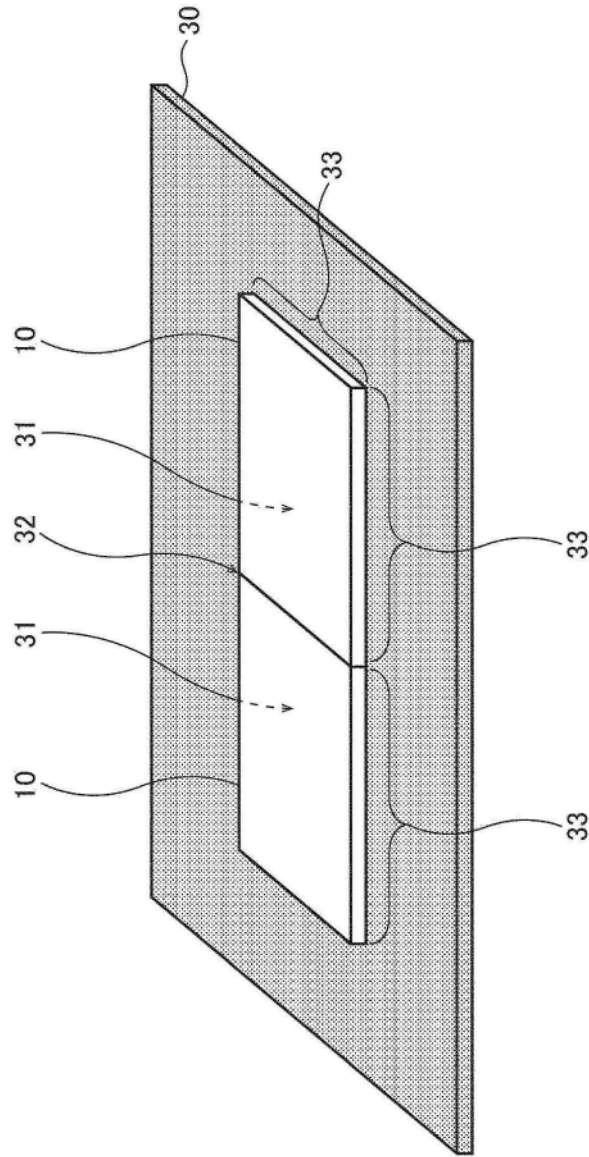


图2

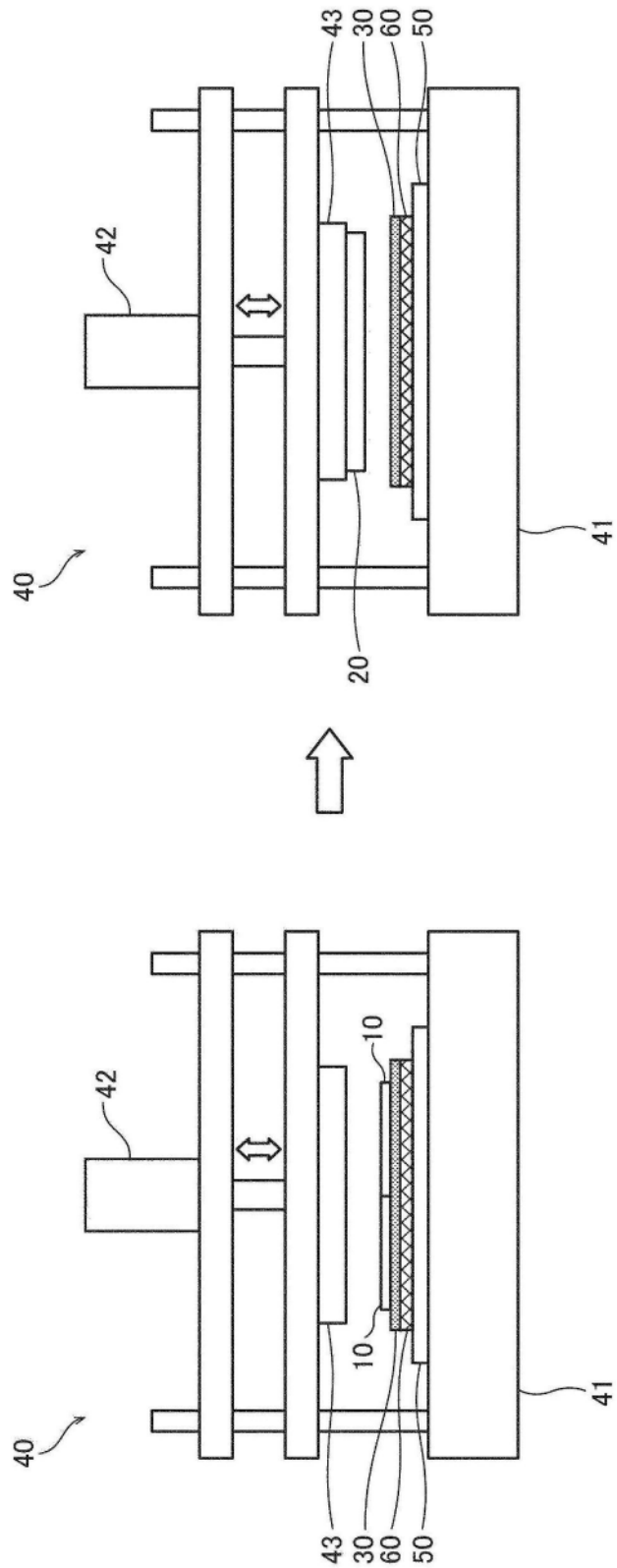


图3

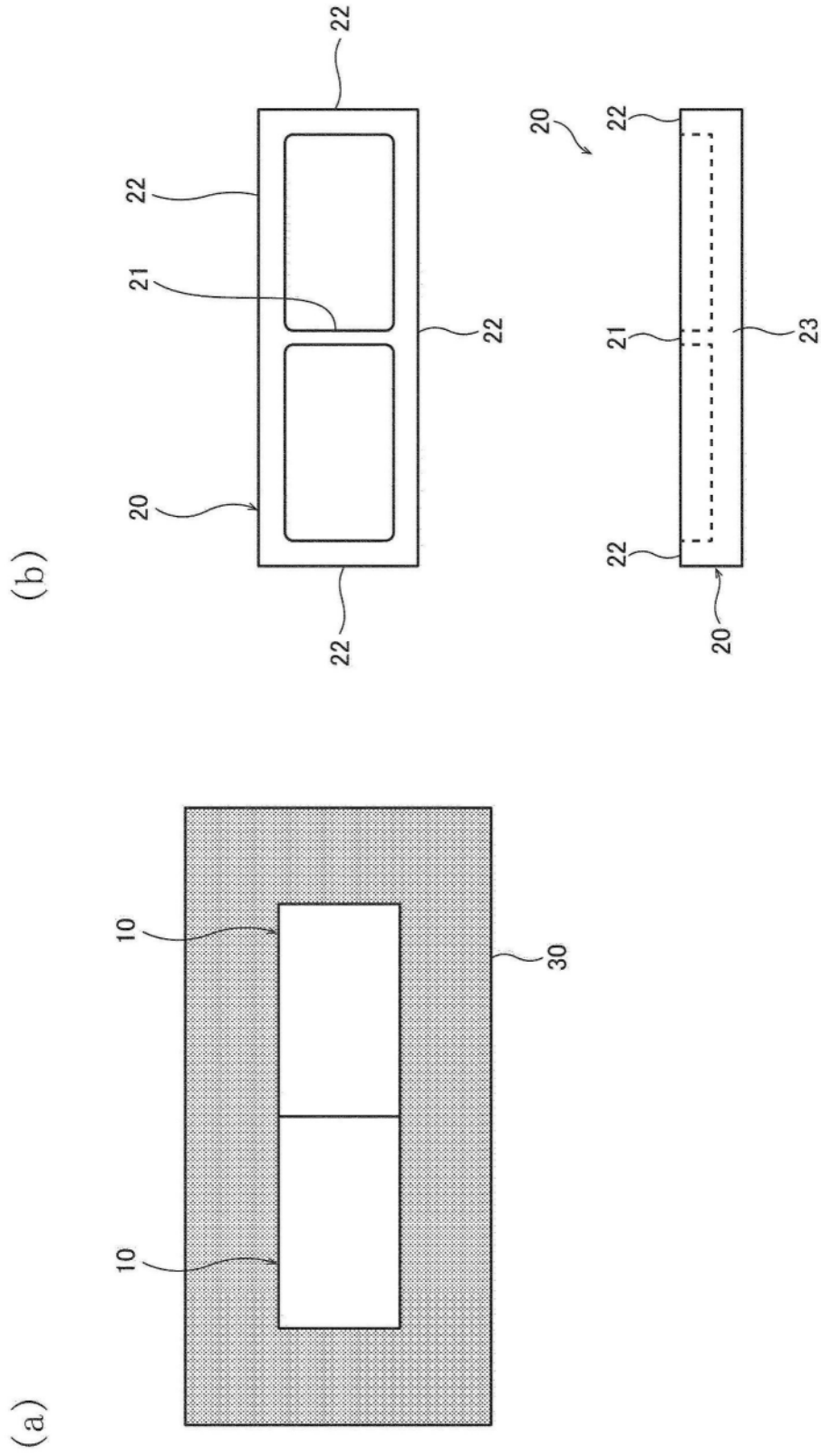


图4

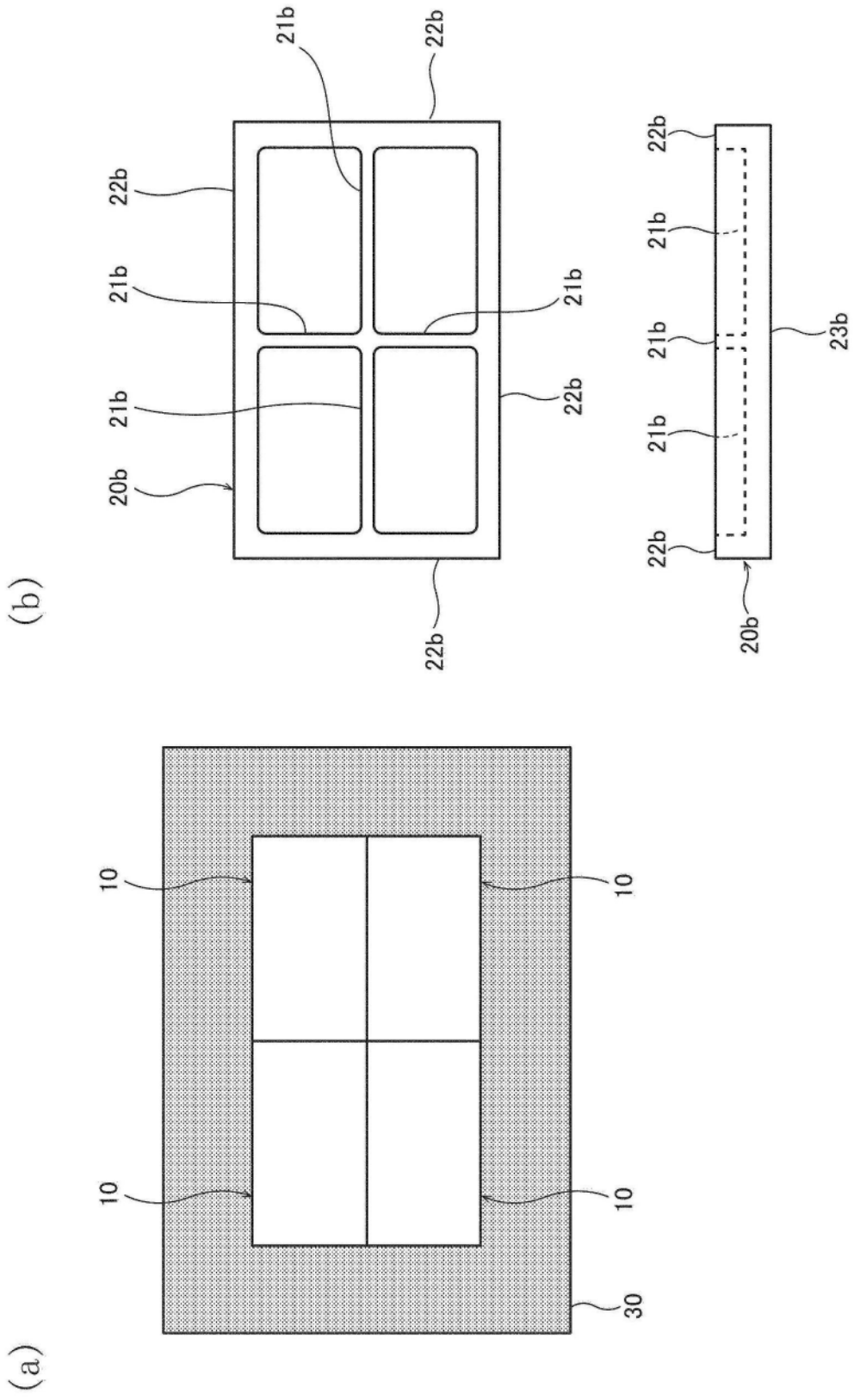


图5

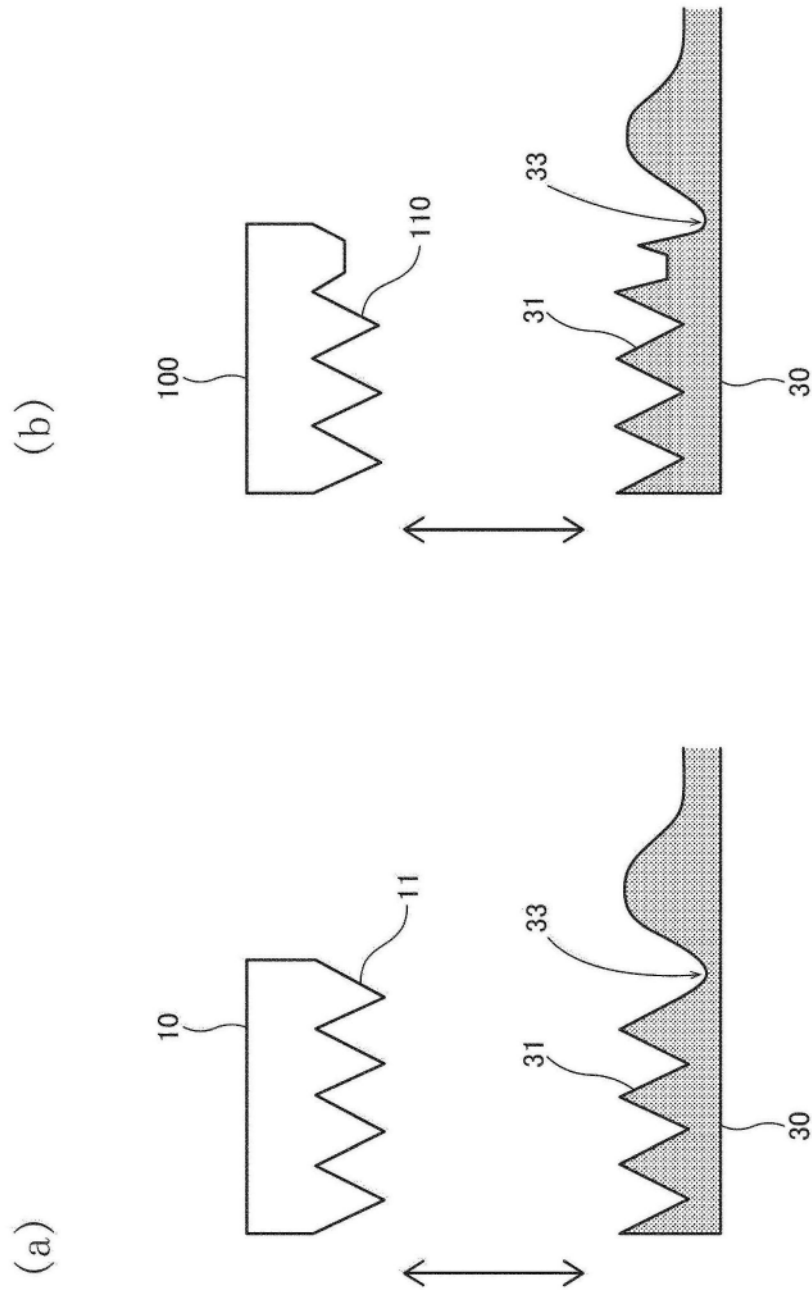


图6

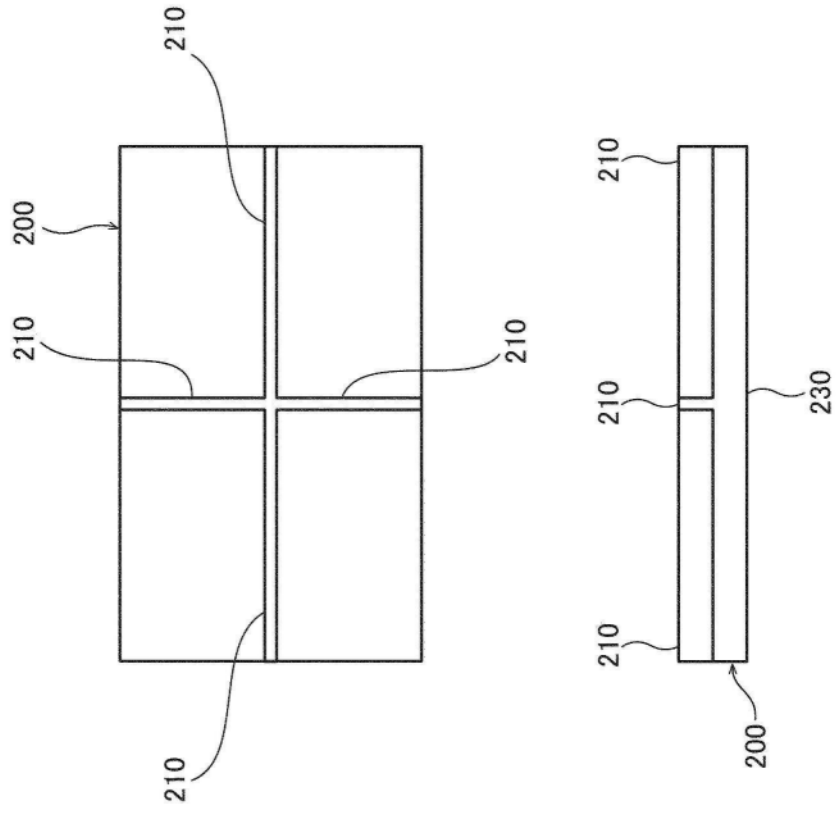


图7

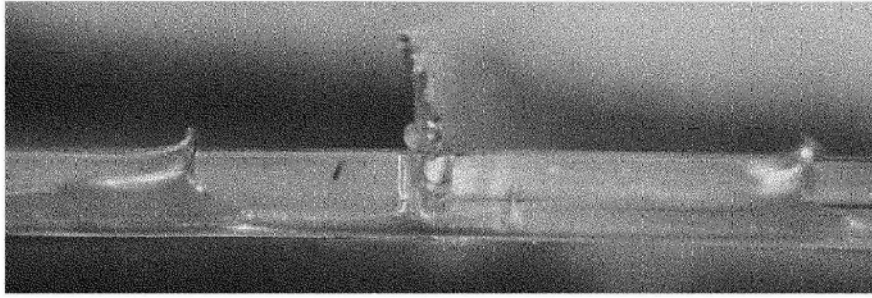
	比较例 1 (仅同时使用第一模具 2 个)	实施例 1 (使用第一模具 2 个和第二模具)
突出部的高度	0.3~0.8mm	0.02~0.05mm
培养基送液时的阻碍	×	○
培养基排出时的最小液厚	0.8mm	0.05mm
薄壁部的厚度	0.01~0.015mm	0.025~0.03mm

图8

	比较例2 (仅依次使用第一模具2个)	实施例2 (使用第一模具2个和第二模具)
薄壁部的厚度	0.008~0.012mm	0.022~0.028mm
拉伸强度	2 N	8 N

图9

<比较例3 突出部>



<比较例3 薄壁部>

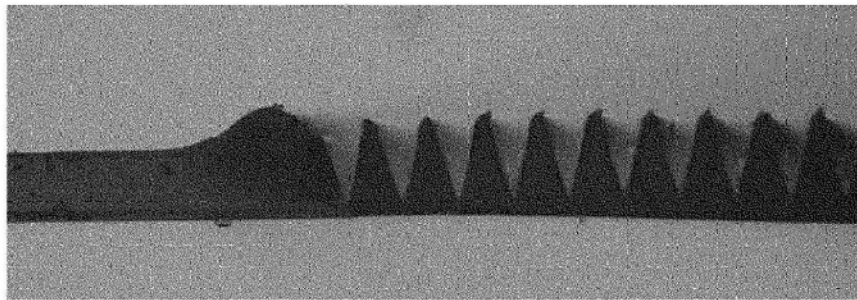
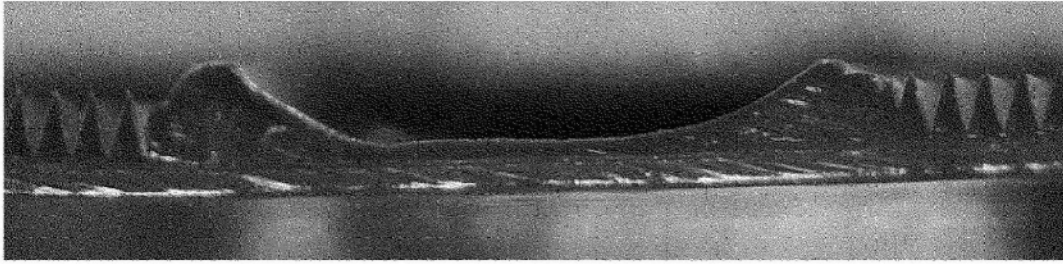


图10

< 实施例3 改变突出部而得的平坦化部 >



< 实施例3 改变薄壁部而得的平坦化部 >

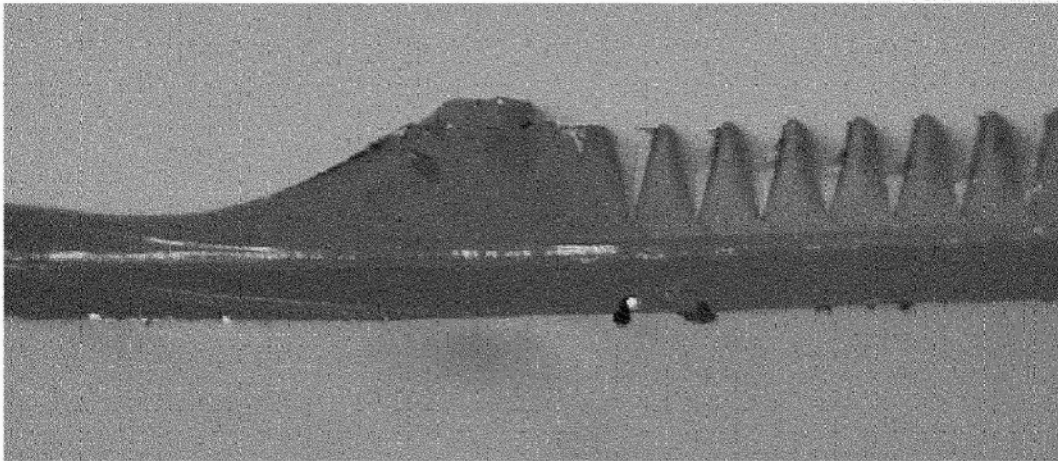


图11

	比较例3 (仅同时使用第一模具4个)	实施例3 (使用第一模具4个和第二模具)
突出部的高度	0.3~0.7mm	0.02~0.06mm
培养基送液时的阻碍	×	○
培养基排出时的最小液厚	0.7mm	0.06mm
薄壁部的厚度	0.009~0.013mm	0.024~0.03mm

图12