



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I839518 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 04 月 21 日

(21)申請案號：109116303

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 05 月 15 日

(51)Int. Cl. : C08F261/12 (2006.01)

C12M1/22 (2006.01)

C12M3/00 (2006.01)

C12N5/07 (2010.01)

(30)優先權：2019/05/15 日本

2019-092083

2019/06/26 日本

2019-119079

(71)申請人：日商積水化學工業股份有限公司(日本) SEKISUI CHEMICAL CO., LTD. (JP)  
日本(72)發明人：井口博貴 IGUCHI, HIROKI (JP)；新井悠平 ARAI, YUUHEI (JP)；乾延彦 INUI,  
NOBUHIKO (JP)；湯川麻由美 YUKAWA, MAYUMI (JP)；小林大悟  
KOBAYASHI, DAIGO (JP)；中村雄太 NAKAMURA, YUUTA (JP)；高倉健太  
TAKAKURA, KENTA (JP)；羽根田聡 HANEDA, SATOSHI (JP)；石井亮馬 ISHII,  
RYOMA (JP)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

期刊 平口侑香里、久代京一郎、高井まどか 両親媒性ブロックコポリマーによるナノ相  
分離構造表面上でのタンパク質吸着と細胞接着挙動解析 表面科学 2016 特集「ナノデ  
ザイン表面に基づく生体機能の再構成」 Vol. 37, No. 5 日本表面科学会  
2016/02/01 p. 207~212

審查人員：吳倫宸

申請專利範圍項數：15 項 圖式數：3 共 58 頁

(54)名稱

藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜、細胞培養用載體、及細胞培養用容器

(57)摘要

本發明提供一種細胞播種後之定殖性優異，可提高細胞之增殖率的藉由細胞培養用支架材料所  
形成之樹脂膜。

本發明之樹脂膜係藉由細胞培養用支架材料所形成者，且細胞培養用支架材料包含合成樹脂，樹脂  
膜具有至少包含第 1 相及第 2 相之相分離結構，第 1 相及第 2 相中之一相之表面積相對於表面整體  
之比為 0.01 以上 0.95 以下。



I839518

## 【發明摘要】

## 【中文發明名稱】

藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜、細胞培養用載體、及細胞培養用容器

## 【中文】

本發明提供一種細胞播種後之定殖性優異，可提高細胞之增殖率的藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜。

本發明之樹脂膜係藉由細胞培養用支架材料所形成者，且細胞培養用支架材料包含合成樹脂，樹脂膜具有至少包含第1相及第2相之相分離結構，第1相及第2相中之一相之表面積相對於表面整體之比為0.01以上0.95以下。

## 【指定代表圖】

無

## 【代表圖之符號簡單說明】

無

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜、細胞培養用載體、及細胞培養用容器

### 【技術領域】

#### 【0001】

本發明係關於一種藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜。又，本發明亦關於一種具備上述樹脂膜之細胞培養用載體及細胞培養用容器。

### 【先前技術】

#### 【0002】

近年來，細胞醫藥或使用幹細胞之下一代醫療備受注目。其中，期待將再生醫學人類胚胎幹細胞(hESC)或人類人工多能幹細胞(hiPSC)等人類多能幹細胞(hPSC)、或自該等衍生之分化細胞應用於藥物開發或再生醫學。為了實現此種應用，必須安全且再現性較佳地培養多能幹細胞或分化細胞並使之增殖。

#### 【0003】

尤其於再生醫學之產業利用上，必須大量處理幹細胞，故而必須使用天然高分子材料或合成高分子材料或者飼養細胞來支持多能幹細胞之增殖。因此，對使用天然高分子材料或合成高分子材料等支架材料之培養方法進行各種研究。

#### 【0004】

例如於下述專利文獻1中揭示有一種細胞培養用載體，其含有：包含聚乙烯醇縮醛化合物之成形物、或包含該聚乙烯醇縮醛化合物及水溶性多

糖類之成形物，且該聚乙烯醇縮醛化合物之縮醛化度為20～60莫耳%。

### 【0005】

於下述專利文獻2中揭示有一種組合物，其係包含第1纖維聚合物支架材者，且第1纖維聚合物支架材之纖維經排列。記載有構成上述第1纖維聚合物支架材料之纖維包含聚乙醇酸或聚乳酸等脂肪族聚酯。

### 【0006】

又，於下述專利文獻3中揭示有一種細胞培養方法：其係用於維持多能幹細胞之未分化性者，且包括於具有經聚輪烷嵌段共聚物被覆之表面之培養器上培養該多能幹細胞之步驟。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

### 【0007】

[專利文獻1]日本專利特開2006-314285號公報

[專利文獻2]日本專利特表2009-524507號公報

[專利文獻3]日本專利特開2017-23008號公報

### 【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

### 【0008】

另外，於使用天然高分子材料作為支架材料之情形時，可提高播種後之細胞之定殖性。已知尤其若使用層黏連蛋白、玻連蛋白等黏著蛋白質或源自小鼠肉瘤之基質膠作為天然高分子材料，則播種後之細胞之定殖性非常高。另一方面，天然高分子材料昂貴，或由於為源自天然之物質故而批次間之偏差較大，或有由源自動物之成分所引起之安全上之顧慮。

**【0009】**

相對於此，使用合成樹脂之支架材料與使用天然高分子材料之支架材料相比，操作性較佳，廉價，批次間之偏差較小，且安全性優異。然而，於如專利文獻1~3之使用合成樹脂之支架材料中，使用親水性較高之合成樹脂，故而合成樹脂過度膨潤。又，合成樹脂與天然高分子材料相比，與細胞之親和性較低，故而有於培養中細胞塊剝離之情況。如此，使用合成樹脂之支架材料有細胞播種後之定殖性較低，細胞未充分增殖之情況。

**【0010】**

本發明之目的在於提供一種細胞播種後之定殖性優異，可提高細胞之增殖率的藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜、細胞培養用載體、及細胞培養用容器。

[解決問題之技術手段]

**【0011】**

關於本發明之藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜，上述細胞培養用支架材料包含合成樹脂，上述樹脂膜具有至少包含第1相及第2相之相分離結構，上述第1相及第2相中之一相之表面積相對於表面整體之比為0.01以上0.95以下。

**【0012】**

於本發明之樹脂膜之某一特定之態樣中，上述第2相之周長相對於面積之比(周長/面積)為0.001(1/nm)以上0.40(1/nm)以下。

**【0013】**

於本發明之樹脂膜之另一特定之態樣中，上述相分離結構為海島結

構，上述第1相為海部，上述第2相為島部。

**【0014】**

於本發明之樹脂膜之再一特定之態樣中，作為上述島部之上述第2相之個數為1個/ $\mu\text{m}^2$ 以上5000個/ $\mu\text{m}^2$ 以下。

**【0015】**

於本發明之樹脂膜之再一特定之態樣中，上述相分離結構包含上述合成樹脂之分子內之相分離結構。

**【0016】**

於本發明之樹脂膜之再一特定之態樣中，表面自由能之分散項分量為25.0 mJ/m<sup>2</sup>以上50.0 mJ/m<sup>2</sup>以下，且極性項分量為1.0 mJ/m<sup>2</sup>以上20.0 mJ/m<sup>2</sup>以下。

**【0017】**

於本發明之樹脂膜之再一特定之態樣中，上述合成樹脂具有陽離子性官能基，上述合成樹脂之結構單元中所包含之上述陽離子性官能基之含量為0.2莫耳%以上50莫耳%以下。

**【0018】**

於本發明之樹脂膜之再一特定之態樣中，上述第2相具有肽部。

**【0019】**

於本發明之樹脂膜之再一特定之態樣中，上述肽部具有細胞黏著性胺基酸序列。

**【0020】**

於本發明之樹脂膜之再一特定之態樣中，水膨潤倍率為50%以下。

**【0021】**

於本發明之樹脂膜之再一特定之態樣中，100°C下之儲存彈性模數為 $1.0 \times 10^4$  Pa以上 $1.0 \times 10^8$  Pa以下，25°C下之儲存彈性模數與100°C下之儲存彈性模數之比((25°C下之儲存彈性模數)/(100°C下之儲存彈性模數))為 $1.0 \times 10^1$ 以上 $1.0 \times 10^5$ 以下。

**【0022】**

於本發明之樹脂膜之再一特定之態樣中，上述細胞培養用支架材料實質上不包含源自動物之原料。

**【0023】**

於本發明之樹脂膜之再一特定之態樣中，上述合成樹脂包含乙烯基聚合物。

**【0024】**

於本發明之樹脂膜之再一特定之態樣中，上述合成樹脂至少包含聚乙烯醇衍生物或聚(甲基)丙烯酸酯。

**【0025】**

本發明之細胞培養用載體具備載體、及依據本發明所構成之樹脂膜，且上述樹脂膜配置於上述載體之表面上。

**【0026】**

本發明之細胞培養用容器具備容器本體、及依據本發明所構成之樹脂膜，且上述樹脂膜配置於上述容器本體之表面上。

[發明之效果]

**【0027】**

根據本發明，可提供一種細胞播種後之定殖性優異，可提高細胞之增殖率的藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜、細胞培養用載體、及

細胞培養用容器。

**【圖式簡單說明】**

**【0028】**

圖1係表示本發明之一實施方式之細胞培養用容器之模式性前視剖視圖。

圖2係實施例3中所獲得之樹脂膜之原子力顯微鏡照片。

圖3係實施例14中所獲得之樹脂膜之原子力顯微鏡照片。

**【實施方式】**

**【0029】**

以下，一面參照圖式，一面說明本發明之具體實施方式，藉此使本發明獲得深一層之了解。

**【0030】**

本發明係關於一種藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜。上述細胞培養用支架材料包含合成樹脂。本發明之樹脂膜具有至少包含第1相及第2相之相分離結構。於本發明之樹脂膜中，第1相及第2相中之一相之表面積相對於表面整體之比為0.01以上0.95以下。

**【0031】**

本發明之樹脂膜由於具備上述構成，故而細胞播種後之定殖性優異，可提高細胞之增殖率。

**【0032】**

先前之使用天然高分子材料之細胞培養用支架材料雖可提高播種後之細胞之定殖性，但較昂貴，或由於為源自天然之物質故而批次間之偏差較大，或有由源自動物之成分所引起之安全上之顧慮。另一方面，於使用

合成樹脂之先前之支架材料中，有合成樹脂過度膨潤，或與細胞之親和性較低，故而於培養中細胞塊剝離之情況。因此，使用合成樹脂之先前之支架材料有細胞播種後之定殖性較低，細胞未充分增殖之情況。

### 【0033】

本發明人等著眼於藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜之相分離結構，發現：藉由採用如第1相及第2相中之一相之表面積相對於表面整體之比成為上述特定之範圍的相分離結構，可提高與細胞之親和性，藉此提高播種後之黏著性，甚至可提高細胞之增殖率。關於其原因，雖不明確，但認為於具有此種相分離結構之情形時，順利進行能量分配，或者可調整親和性或強度不同之第1相及第2相之存在位置或存在比率，故而不論細胞之種類如何，均可提高親和性，實現細胞或細胞表面蛋白質之集聚及吸附效果。

### 【0034】

因此，根據本發明之樹脂膜，可提高與播種後之細胞之黏著性，可提高細胞之增殖率。

### 【0035】

又，於本發明中，如上所述可使用合成樹脂，故而與使用天然高分子材料之支架材料相比，操作性較佳，廉價，批次間之偏差較小，且安全性優異。

### 【0036】

再者，於本發明中，可使用具有肽部之合成樹脂作為上述合成樹脂。關於具有肽部之合成樹脂之詳細內容，於下文敘述。

### 【0037】

於本發明中，第1相及第2相中之一相之表面積相對於表面整體之比(表面積分率)為0.01以上，較佳為0.10以上，且為0.95以下，更佳為0.90以下。於表面積分率處於上述範圍內之情形時，可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0038】

於本發明中，作為相分離結構，例如可例舉：海島結構、柱狀(cylinder)結構、螺旋(gyroid)結構或層狀(lamellar)結構等微相分離結構。於海島結構中，例如可將第1相設為海部，將第2相設為島部。於柱狀結構、螺旋結構或層狀結構中，例如可將表面積最大之相設為第1相，將表面積第二大之相設為第2相。於該等中，作為相分離結構，較佳為海島結構。如此，藉由具有連續相及不連續相，可提高與細胞之親和性，進一步提高與播種後之細胞之黏著性，藉此可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0039】

於上述相分離結構為海島結構之情形時，第2相之相對於表面整體之表面積分率為0.01以上，較佳為0.1以上，更佳為0.2以上，又，為0.95以下，較佳為0.9以下，更佳為0.8以下。於表面積分率處於上述範圍內之情形時，可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0040】

第2相之周長相對於面積之比(周長/面積)較佳為0.001(1/nm)以上，更佳為0.0015(1/nm)以上，進而較佳為0.008(1/nm)以上。第2相之周長相對於面積之比(周長/面積)較佳為0.40(1/nm)以下，更佳為0.20(1/nm)以下，進而較佳為0.08(1/nm)以下，尤佳為0.013(1/nm)以下。於比(周長/面

積)處於上述範圍內之情形時，可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0041】

於合成樹脂不具有肽部之情形時，第2相之周長相對於面積之比(周長/面積)較佳為0.001(1/nm)以上，更佳為0.0015(1/nm)以上，且較佳為0.08(1/nm)以下，更佳為0.013(1/nm)以下。於比(周長/面積)處於上述範圍內之情形時，可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0042】

於合成樹脂具有肽部之情形時，第2相之周長相對於面積之比(周長/面積)較佳為0.008(1/nm)以上，更佳為0.013(1/nm)以上，且較佳為0.40(1/nm)以下，更佳為0.20(1/nm)以下，進而較佳為0.10(1/nm)以下。於比(周長/面積)處於上述範圍內之情形時，可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0043】

作為島部之第2相之個數較佳為1個/ $\mu\text{m}^2$ 以上，更佳為2個/ $\mu\text{m}^2$ 以上，進而較佳為10個/ $\mu\text{m}^2$ 以上，且較佳為5000個/ $\mu\text{m}^2$ 以下，更佳為1000個/ $\mu\text{m}^2$ 以下，進而較佳為500個以下/ $\mu\text{m}^2$ ，尤佳為300個/ $\mu\text{m}^2$ 以下。於該情形時，可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0044】

作為島部之第2相之直徑之平均值較佳為20 nm以上，更佳為30 nm以上，進而較佳為50 nm以上，尤佳為80 nm以上，且較佳為3.5  $\mu\text{m}$ 以

下，更佳為3.0  $\mu\text{m}$ 以下，進而較佳為1.5  $\mu\text{m}$ 以下。於第2相之直徑之平均值處於上述範圍內之情形時，可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0045】

於合成樹脂不具有肽部之情形時，作為島部之第2相之直徑之平均值較佳為50 nm以上，更佳為100 nm以上，進而較佳為120 nm以上，尤佳為200 nm以上，且較佳為1  $\mu\text{m}$ 以下，更佳為300 nm以下，進而較佳為250 nm以下。於第2相之直徑之平均值處於上述範圍內之情形時，可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0046】

於合成樹脂具有肽部之情形時，作為島部之第2相之直徑之平均值較佳為10 nm以上，更佳為20 nm以上，進而較佳為40 nm以上，且較佳為1  $\mu\text{m}$ 以下，更佳為300 nm以下，進而較佳為100 nm以下。於第2相之直徑之平均值處於上述範圍內之情形時，可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0047】

再者，相分離結構之有無、或如上所述之表示相分離結構之參數例如可藉由原子力顯微鏡(AFM)或穿透式電子顯微鏡(TEM)、掃描式電子顯微鏡(SEM)等來確認。

#### 【0048】

具體而言，第1相及第2相中之一相之表面積相對於表面整體之比(表面積分率)、第2相之周長與面積之比(周長/面積)、作為島部之第2相之個數及其平均直徑尺寸可根據上述顯微鏡觀察圖像，例如使用ImageJ等圖像

解析軟體來求出。

**【0049】**

第1相及第2相中之一相之表面積相對於表面整體之比(表面積分率)係藉由將第1相及第2相中之一相於觀察區域( $30\ \mu\text{m}\times 30\ \mu\text{m}$ )內所占之表面積除以觀察區域之面積而求出。

**【0050】**

第2相之周長相對於面積之比(周長/面積)係藉由將觀察區域( $30\ \mu\text{m}\times 30\ \mu\text{m}$ )內第2相之周長之合計除以第2相之面積之合計而求出。

**【0051】**

於相分離結構為海島結構之情形時，作為島部之第2相之個數係藉由將觀察區域( $30\ \mu\text{m}\times 30\ \mu\text{m}$ )內之第2相之個數除以觀察區域之面積而求出。又，作為島部之第2相之平均直徑係以相同面積之圓之平均直徑求出。

**【0052】**

又，如上所述之相分離結構例如可藉由混合不同之至少2種聚合物，或使之共聚，或使之接枝共聚，或使用具有肽部之合成樹脂，而於合成樹脂之分子間或分子內形成相分離結構而獲得。其中，就可進一步提高細胞之黏著性之觀點而言，較佳為上述相分離結構藉由分子內之相分離結構來形成。即，上述合成樹脂較佳為不同之至少2種聚合物之共聚物或具有肽部之合成樹脂，更佳為接枝共聚物或具有肽部之合成樹脂。

**【0053】**

如上所述之相分離結構較佳為藉由使溶解度參數(SP值)為0.1以上、較佳為0.5以上、更佳為1以上且不同之2種以上之聚合物(單體)共聚而獲

得。於該情形時，可更容易形成海島結構。

#### 【0054】

SP值係表示作用於溶劑-溶質間之分子間力之標準，為物質間之親和性之標準。SP值可基於Hildebrand之正則溶液理論來求出。又，SP值可自文獻資訊獲得，此外，亦可藉由Hansen或Hoy之計算方法、Fedors之推算法等來獲得。於本說明書中，意指藉由Fedors式 $\delta^2 = \Sigma E / \Sigma V$ ( $\delta$ 意指SP值，E意指蒸發能量，V意指莫耳體積)所算出之計算值。再者，SP值之單位為 $(\text{cal}/\text{cm}^3)^{0.5}$ 。關於Fedors之方法，記載於日本接著協會志、1986年22卷566頁。

#### 【0055】

再者，表面積分率等表示相分離結構之相分離參數例如可藉由控制2種聚合物之調配比率或聚合物之結構，或者控制肽部之含有率而調整。

#### 【0056】

再者，於本發明中，可存在與第1相及第2相不同之其他相。其他相可為1個相，亦可為複數個相。此種相例如可藉由使SP值不同之其他聚合物(單體)進行接枝等共聚而獲得。於該情形時，將占樹脂膜之表面之面積較大之2個相設為上述第1相及上述第2相。

#### 【0057】

於合成樹脂不具有肽部之情形時，藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜之表面自由能之分散項分量較佳為25.0 mJ/m<sup>2</sup>以上50.0 mJ/m<sup>2</sup>以下。於該情形時，可適度調整細胞培養用支架材料之親水性，藉由與相分離結構之協同效應，可進一步提高與播種後之細胞之界面黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。上述分散項分量更佳為30.0 mJ/m<sup>2</sup>以上，進而較佳

為35.0 mJ/m<sup>2</sup>以上，且更佳為47.0 mJ/m<sup>2</sup>以下，進而較佳為45.5 mJ/m<sup>2</sup>以下。

#### 【0058】

於合成樹脂不具有肽部之情形時，藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜之表面自由能之極性項分量較佳為1.0 mJ/m<sup>2</sup>以上20.0 mJ/m<sup>2</sup>以下。於該情形時，可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，進一步提高細胞之增殖率。上述極性項分量更佳為2.0 mJ/m<sup>2</sup>以上，進而較佳為3.0 mJ/m<sup>2</sup>以上，且更佳為10.0 mJ/m<sup>2</sup>以下，進而較佳為5.0 mJ/m<sup>2</sup>以下。

#### 【0059】

再者，表面自由能之分散項分量 $\gamma^d$ 及作為極性項分量之偶極成分 $\gamma^p$ 係使用Kaelble-Uy理論式算出。Kaelble-Uy理論式係如下述式(1)所示，基於假定總表面自由能 $\gamma$ 為分散項分量 $\gamma^d$ 與偶極成分 $\gamma^p$ 之和之理論式。

#### 【0060】

[數1]

$$\gamma = \gamma^d + \gamma^p \quad (1)$$

#### 【0061】

又，於Kaelble-Uy理論式中，若將液體之表面自由能設為 $\gamma_l$ (mJ/m<sup>2</sup>)，將固體之表面自由能設為 $\gamma_s$ (mJ/m<sup>2</sup>)，將接觸角設為 $\theta$ (°)，則下述式(2)成立。

#### 【0062】

[數2]

$$\gamma_l (1 + \cos \theta) = 2\sqrt{\gamma_s^d \gamma_l^d} + 2\sqrt{\gamma_s^p \gamma_l^p} \quad (2)$$

#### 【0063】

因此，可使用2種液體之表面自由能 $\gamma_1$ 已知之液體，測定各者對藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜之接觸角 $\theta$ ，解 $\gamma_s^d$ 及 $\gamma_s^p$ 之聯立方程，藉此求出藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜之表面自由能之分散項分量 $\gamma^d$ 及偶極成分 $\gamma^p$ 。

**【0064】**

再者，於本說明書中，作為上述表面自由能 $\gamma_1$ 已知之2種上述液體，使用純水及二碘甲烷。

**【0065】**

接觸角 $\theta$ 係使用接觸角計(例如協和界面化學公司製造之「DMo-701」)，以如下方式進行測定。

**【0066】**

於藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜之表面滴加純水或二碘甲烷1  $\mu\text{L}$ 。將滴加後30秒後之純水與樹脂膜所形成之角度設為對純水之接觸角 $\theta$ 。又，同樣地，將滴加後30秒後之二碘甲烷與樹脂膜所形成之角度設為對二碘甲烷之接觸角 $\theta$ 。

**【0067】**

可藉由提高合成樹脂中之疏水性官能基之含有率，或提高具有環狀結構之官能基之含有率，或減少丁基之含有率，而縮小上述表面自由能之分散項分量 $\gamma^d$ 。又，可藉由提高合成樹脂中之親水性官能基之含有率，或提高丁基之含有率，而縮小上述表面自由能之偶極成分 $\gamma^p$ 。

**【0068】**

於本發明之藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜中，100°C下之儲存彈性模數較佳為 $0.6 \times 10^4$  Pa以上，更佳為 $0.8 \times 10^4$  Pa以上，進而較佳

為 $1.0 \times 10^4$  Pa以上，且較佳為 $1.0 \times 10^8$  Pa以下，更佳為 $0.8 \times 10^8$  Pa以下，進而較佳為 $1.0 \times 10^7$  Pa以下。

#### 【0069】

尤其是本發明之藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜於 $25^\circ\text{C}$ 下之儲存彈性模數與 $100^\circ\text{C}$ 下之儲存彈性模數之比(( $25^\circ\text{C}$ 下之儲存彈性模數)/( $100^\circ\text{C}$ 下之儲存彈性模數))較佳為 $1.0 \times 10^1$ 以上，更佳為 $5.0 \times 10^1$ 以上，進而較佳為 $8.0 \times 10^2$ 以上，且較佳為 $1.0 \times 10^5$ 以下，更佳為 $0.75 \times 10^5$ 以下，進而較佳為 $0.5 \times 10^5$ 以下。藉由將儲存彈性模數設為上述範圍內，可進一步提高播種後之細胞之定殖性。

#### 【0070】

再者， $25^\circ\text{C}$ 及 $100^\circ\text{C}$ 之儲存彈性模數例如藉由動態黏彈性測定裝置(IT Meter and Control公司製造，DVA-200)，於拉伸條件下，以頻率10 Hz，於 $-150^\circ\text{C}$ 至 $150^\circ\text{C}$ 之溫度範圍內以升溫速度 $5^\circ\text{C}/\text{分鐘}$ 進行測定。根據所獲得之拉伸儲存彈性模數之圖求出 $25^\circ\text{C}$ 及 $100^\circ\text{C}$ 下之儲存彈性模數，算出 $25^\circ\text{C}$ 儲存彈性模數/ $100^\circ\text{C}$ 儲存彈性模數。使用長度50 mm、寬度5~20 mm、厚度0.1~1.0 mm之測定樣本，於10 Hz、應變0.1%、溫度 $-150^\circ\text{C}$ ~ $150^\circ\text{C}$ 及升溫速度 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 之條件下進行。

#### 【0071】

上述 $25^\circ\text{C}$ 及 $100^\circ\text{C}$ 之儲存彈性模數例如可藉由提高上述合成樹脂之交聯度，拉伸上述合成樹脂等來提高。又，上述 $25^\circ\text{C}$ 及 $100^\circ\text{C}$ 之儲存彈性模數可藉由於上述合成樹脂中降低數量平均分子量，降低玻璃轉移溫度等來降低。

#### 【0072】

本發明之藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜之水膨潤倍率較佳為50%以下，更佳為40%以下。於該情形時，可進一步提高播種後之細胞之定殖性。再者，水膨潤倍率之下限值並無特別限定，例如可設為0.5%。水膨潤倍率可以如下方式進行測定。例如將長度50 mm、寬度10 mm、厚度0.05 mm~0.15 mm之藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜(測定樣本)浸漬於25°C之水中24小時。測定浸漬前後之樣本之重量，算出水膨潤倍率=(浸漬後之樣本重量-浸漬前之樣本重量)/(浸漬前之樣本重量)×100(%)。

### 【0073】

上述水膨潤倍率例如可藉由增加上述合成樹脂之疏水性官能基，降低數量平均分子量等來縮小。

### 【0074】

(合成樹脂)

細胞培養用支架材料包含合成樹脂(以下，有時記載為合成樹脂X)。合成樹脂X之主鏈較佳為碳鏈。再者，於本說明書中，「結構單元」係指構成合成樹脂之單體之重複單元。再者，於合成樹脂具有接枝鏈之情形時，包含構成該接枝鏈之單體之重複單元。

### 【0075】

於合成樹脂X不具有肽部之情形時，合成樹脂X較佳為具有陽離子性官能基。於合成樹脂X具有肽部之情形時，具有肽部之合成樹脂X可於該肽部以外之結構部分具有陽離子性官能基，亦可不具有。作為陽離子性官能基，可例舉具有胺基、亞胺基、醯胺基等結構之取代基。例如可例舉：經基胺基、脲基、胍、雙胍等共軛胺系官能基；哌啶、哌啶、吡咯啶、



**【0078】**

(具有聚乙烯醇縮醛骨架之合成樹脂X)

細胞培養用支架材料較佳為包含具有聚乙烯醇縮醛骨架之合成樹脂X。於本發明中，具有聚乙烯醇縮醛骨架之合成樹脂X較佳為聚乙烯醇縮醛樹脂之結構單元與乙烯基化合物及/或亞乙烯基化合物之共聚物。乙烯基化合物係具有乙烯基( $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-$ )之化合物。亞乙烯基化合物係具有亞乙烯基( $\text{H}_2\text{C}=\text{CR}-$ )之化合物。乙烯基化合物或亞乙烯基化合物亦可為其聚合物即乙烯基聚合物。再者，於以下之說明中，有時將與聚乙烯醇縮醛樹脂共聚之乙烯基化合物、亞乙烯基化合物及乙烯基聚合物統稱為「乙烯基化合物A」。

**【0079】**

於本發明中，上述共聚物可為聚乙烯醇縮醛樹脂與乙烯基化合物A之嵌段共聚物，亦可為乙烯基化合物A與聚乙烯醇縮醛樹脂接枝而成之接枝共聚物。上述共聚物較佳為接枝共聚物。於該情形時，可更容易形成相分離結構。

**【0080】**

作為上述乙烯基化合物及亞乙烯基化合物，可例舉：乙烯、烯丙胺、乙烯吡咯啉酮、順丁烯二酸酐、順丁烯二醯亞胺、伊康酸、(甲基)丙烯酸、乙烯胺及(甲基)丙烯酸酯等。該等乙烯基化合物可僅使用1種，亦可併用2種以上。因此，亦可為該等乙烯基化合物進行共聚而成之乙烯基聚合物。

**【0081】**

於上述共聚物中，聚乙烯醇縮醛樹脂與乙烯基化合物A之SP值之差

較佳為0.5以上。於該情形時，可更容易形成相分離結構。聚乙烯醇縮醛樹脂與乙烯基化合物A之SP值之差更佳為1.0以上。再者，SP值之差之上限值並無特別限定，例如可設為10.0。

#### 【0082】

上述共聚物較佳為第1相為聚乙烯醇縮醛樹脂，第2相為乙烯基化合物A。較佳為藉由上述共聚物之聚乙烯醇縮醛樹脂部分來形成第1相，藉由乙烯基化合物A部分來形成第2相。於該情形時，較佳為聚乙烯醇縮醛樹脂之第1相為海部，乙烯基化合物A之第2相為島部。但是，亦可乙烯基化合物A之第1相為海部，聚乙烯醇縮醛樹脂之第2相為島部。

#### 【0083】

共聚物中之乙烯基化合物A之含有分率(莫耳/莫耳)較佳為0.015以上，更佳為0.3以上，且較佳為0.95以下，更佳為0.90以下，進而較佳為0.70以下。於上述含有分率處於上述下限以上之情形時，可更容易形成相分離結構。於上述含有分率處於上述上限以下之情形時，可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0084】

< 聚乙烯醇縮醛樹脂 >

以下，對聚乙烯醇縮醛樹脂(共聚物之聚乙烯醇縮醛樹脂部分)更詳細地進行說明。

#### 【0085】

聚乙烯醇縮醛樹脂係於側鏈具有縮醛基、乙醯基及羥基。

#### 【0086】

聚乙烯醇縮醛樹脂之合成方法至少包括藉由醛將聚乙烯醇縮醛化之

步驟。

### 【0087】

用於獲得聚乙烯醇縮醛樹脂之聚乙烯醇之縮醛化所使用之醛並無特別限定。作為醛，例如可例舉碳數為1~10之醛。醛可具有鏈狀脂肪族基、環狀脂肪族基或芳香族基。醛可為鏈狀醛，亦可為環狀醛。

### 【0088】

作為上述醛，可例舉：甲醛、乙醛、丙醛、丁醛、戊醛、己醛、庚醛、辛醛、壬醛、癸醛、丙烯醛、苯甲醛、桂皮醛、紫蘇醛、甲醯基吡啶、甲醯基咪唑、甲醯基吡咯、甲醯基哌啶、甲醯基三唑、甲醯基四唑、甲醯基吡啶、甲醯基異吡啶、甲醯基嘌呤、甲醯基苯并咪唑、甲醯基苯并三唑、甲醯基喹啉、甲醯基異喹啉、甲醯基喹啶、甲醯基吡啶、甲醯基喋啶、甲醯基呋喃、甲醯基氧雜環戊烷、甲醯基吡啶、甲醯基噻吩、甲醯基硫雜環戊烷、甲醯基噻烷、甲醯基腺嘌呤、甲醯基鳥嘌呤、甲醯基胞嘧啶、甲醯基胸腺嘧啶或甲醯基尿嘧啶等。該等醛可僅使用1種，亦可併用2種以上。

### 【0089】

醛較佳為甲醛、乙醛、丙醛、丁醛或戊醛，更佳為丁醛。因此，聚乙烯醇縮醛骨架較佳為聚乙烯醇縮丁醛骨架。聚乙烯醇縮醛樹脂較佳為聚乙烯醇縮丁醛樹脂。

### 【0090】

就進一步提高細胞之黏著性之觀點而言，聚乙烯醇縮醛樹脂較佳為具有布忍斯特鹼性基或布忍斯特酸性基，更佳為具有布忍斯特鹼性基。即，較佳為一部分聚乙烯醇縮醛樹脂經布忍斯特鹼性基或布忍斯特酸性基



具有C=N鍵之結構。聚乙烯醇縮醛樹脂尤佳為於側鏈具有亞胺結構。

**【0095】**

聚乙烯醇縮醛樹脂可包含具有醯亞胺結構之結構單元。具有醯亞胺結構之結構單元較佳為具有亞胺基(=NH)之結構單元。

**【0096】**

聚乙烯醇縮醛樹脂較佳為於側鏈具有亞胺基。於該情形時，亞胺基可直接鍵結於構成聚乙烯醇縮醛樹脂之主鏈之碳原子，亦可經由伸烷基等連結基鍵結於主鏈。

**【0097】**

聚乙烯醇縮醛樹脂可包含具有胺結構之結構單元。上述胺結構中之胺基可為一級胺基，可為二級胺基，可為三級胺基，亦可為四級胺基。

**【0098】**

具有胺結構之結構單元可為具有醯胺結構之結構單元。上述醯胺結構係指具有-C(=O)-NH-之結構。

**【0099】**

聚乙烯醇縮醛樹脂較佳為於側鏈具有胺結構或醯胺結構。於該情形時，胺結構或醯胺結構可直接鍵結於構成聚乙烯醇縮醛樹脂之主鏈之碳原子，亦可經由伸烷基等連結基鍵結於主鏈。

**【0100】**

再者，具有亞胺結構之結構單元之含有率、具有醯亞胺結構之結構單元之含有率、具有胺結構之結構單元之含有率、具有醯胺結構之結構單元之含有率可藉由<sup>1</sup>H-NMR(核磁共振光譜)進行測定。

**【0101】**

< 乙烯基化合物A >

以下，對乙烯基化合物A更詳細地進行說明。

**【0102】**

乙烯基化合物A較佳為(甲基)丙烯酸酯或聚(甲基)丙烯酸酯樹脂。合成樹脂X尤佳為(甲基)丙烯酸酯或其聚合物即聚(甲基)丙烯酸酯樹脂與聚乙稀醇縮醛樹脂接枝共聚而成之共聚物。

**【0103】**

聚(甲基)丙烯酸酯樹脂係藉由(甲基)丙烯酸酯之聚合，或者藉由(甲基)丙烯酸酯與上述其他單體之聚合而獲得。

**【0104】**

作為(甲基)丙烯酸酯，可例舉：(甲基)丙烯酸烷基酯、(甲基)丙烯酸環狀烷基酯、(甲基)丙烯酸芳酯、(甲基)丙烯酸醯胺類、聚乙二醇(甲基)丙烯酸酯類、(甲基)丙烯酸磷酸膽鹼酯等。

**【0105】**

作為(甲基)丙烯酸烷基酯，可例舉：(甲基)丙烯酸甲酯、(甲基)丙烯酸乙酯、(甲基)丙烯酸正丙酯、(甲基)丙烯酸異丙酯、(甲基)丙烯酸正丁酯、(甲基)丙烯酸異丁酯、(甲基)丙烯酸第三丁酯、(甲基)丙烯酸正辛酯、(甲基)丙烯酸異辛酯、(甲基)丙烯酸2-乙基己酯、(甲基)丙烯酸壬酯、(甲基)丙烯酸異壬酯、(甲基)丙烯酸癸酯、(甲基)丙烯酸異癸酯、(甲基)丙烯酸月桂酯、或(甲基)丙烯酸硬脂酯、(甲基)丙烯酸異十四烷基酯等。

**【0106】**

再者，(甲基)丙烯酸烷基酯可經碳數1~3之烷氧基及四氫糠基等取代

基取代。作為此種(甲基)丙烯酸烷基酯之例，可例舉：丙烯酸甲氧基乙酯、丙烯酸四氫糠酯等。

#### 【0107】

作為(甲基)丙烯酸環狀烷基酯，可例舉(甲基)丙烯酸環己酯或(甲基)丙烯酸異苧基酯等。

#### 【0108】

作為(甲基)丙烯酸芳酯，可例舉(甲基)丙烯酸苯酯或(甲基)丙烯酸苄酯等。

#### 【0109】

作為(甲基)丙烯酸醯胺類，可例舉：(甲基)丙烯酸醯胺、N-異丙基(甲基)丙烯酸醯胺、N-第三丁基(甲基)丙烯酸醯胺、N,N'-二甲基(甲基)丙烯酸醯胺、(3-(甲基)丙烯酸醯胺丙基)三甲基氯化銨、4-(甲基)丙烯酸醯味啉、3-(甲基)丙烯酸醯基-2-嘔啶酮、N-[3-(二甲基胺基)丙基](甲基)丙烯酸醯胺、N-(2-羥基乙基)(甲基)丙烯酸醯胺、N-羥甲基(甲基)丙烯酸醯胺或6-(甲基)丙烯酸醯胺己酸等。

#### 【0110】

作為聚乙二醇(甲基)丙烯酸酯類，例如可例舉：甲氧基-聚乙二醇(甲基)丙烯酸酯、乙氧基-聚乙二醇(甲基)丙烯酸酯、羥基-聚乙二醇(甲基)丙烯酸酯、甲氧基-二乙二醇(甲基)丙烯酸酯、乙氧基-二乙二醇(甲基)丙烯酸酯、羥基-二乙二醇(甲基)丙烯酸酯、甲氧基-三乙二醇(甲基)丙烯酸酯、乙氧基-三乙二醇(甲基)丙烯酸酯或羥基-三乙二醇(甲基)丙烯酸酯等。

#### 【0111】

作為(甲基)丙烯酸磷酸膽鹼酯，可例舉2-(甲基)丙烯酸醯氧基乙基磷酸膽鹼等。

#### 【0112】

作為與(甲基)丙烯酸酯共聚之其他單體，可良好地使用乙烯基化合物。作為乙烯基化合物，可例舉：乙烯、烯丙胺、乙烯吡咯啉酮、乙烯基咪唑、順丁烯二酸酐、順丁烯二醯亞胺、伊康酸、(甲基)丙烯酸、乙烯胺或(甲基)丙烯酸酯等。乙烯基化合物可僅使用1種，亦可併用2種以上。

#### 【0113】

再者，於本說明書中，「(甲基)丙烯酸」意指「丙烯酸」或「甲基丙烯酸」，「(甲基)丙烯酸酯」意指「丙烯酸酯」或「甲基丙烯酸酯」。

#### 【0114】

再者，於本發明中，合成樹脂X只要可形成本發明之相分離結構，則亦可為具有聚(甲基)丙烯酸酯骨架之樹脂與其他乙烯基化合物之共聚物。

#### 【0115】

該情形時之其他乙烯基化合物可使用乙烯、烯丙胺、乙烯吡咯啉酮、順丁烯二酸酐、順丁烯二醯亞胺、伊康酸、(甲基)丙烯酸、乙烯胺、或SP值不同之其他(甲基)丙烯酸酯等。

#### 【0116】

(具有肽部之合成樹脂X)

細胞培養用支架材料較佳為包含具有肽部之合成樹脂X。具有肽部之合成樹脂X可使合成樹脂X、連結子及肽進行反應而獲得。具有肽部之合成樹脂X較佳為具有聚乙烯醇縮醛樹脂部、連結子部及肽部之含肽聚乙烯醇縮醛樹脂，更佳為具有聚乙烯醇縮丁醛樹脂部、連結子部及肽部之含肽

聚乙烯醇縮丁醛樹脂。具有肽部之合成樹脂X可僅使用1種，亦可併用2種以上。

#### 【0117】

上述肽部較佳為包含3個以上之胺基酸，更佳為包含4個以上之胺基酸，進而較佳為包含5個以上之胺基酸，且較佳為包含10個以下之胺基酸，更佳為包含6個以下之胺基酸。若構成上述肽部之胺基酸之個數為上述下限以上及上述上限以下，則可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0118】

上述肽部較佳為具有細胞黏著性胺基酸序列。再者，細胞黏著性胺基酸序列係指藉由噬菌體顯示法、瓊脂糖珠法或層板塗佈法確認到細胞黏著活性之胺基酸序列。作為上述噬菌體顯示法，例如可使用「The Journal of Cell Biology, Volume 130, Number 5, September 1995 1189-1196」所記載之方法。作為上述瓊脂糖珠法，例如可使用「蛋白質 核酸 酵素 Vol. 45 No.15 (2000) 2477」所記載之方法。作為上述層板塗佈法，例如可使用「蛋白質 核酸 酵素 Vol. 45 No.15 (2000) 2477」所記載之方法。

#### 【0119】

作為上述細胞黏著性胺基酸序列，例如可例舉：RGD序列(Arg-Gly-Asp)、YIGSR序列(Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg)、PDSGR序列(Pro-Asp-Ser-Gly-Arg)、HAV序列(His-Ala-Val)、ADT序列(Ala-Asp-Thr)、QAV序列(Gln-Ala-Val)、LDV序列(Leu-Asp-Val)、IDS序列(Ile-Asp-Ser)、REDV序列(Arg-Glu-Asp-Val)、IDAPS序列(Ile-Asp-Ala-Pro-Ser)、KQAGDV

序列(Lys-Gln-Ala-Gly-Asp-Val)及TDE序列(Thr-Asp-Glu)等。又，作為上述細胞黏著性胺基酸序列，亦可例舉「病態生理，第9卷 第7號，527～535頁，1990年」及「大阪府立母子醫療中心雜誌，第8卷 第1號，58～66頁，1992年」所記載之序列等。上述肽部可僅具有1種上述細胞黏著性胺基酸序列，亦可具有2種以上。

#### 【0120】

上述細胞黏著性胺基酸序列較佳為具有上述細胞黏著性胺基酸序列中之至少任一者，更佳為至少具有RGD序列、YIGSR序列或PDSGR序列，進而較佳為至少具有下述式(1)所表示之RGD序列。於該情形時，可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，進一步提高細胞之增殖率。

#### 【0121】

Arg-Gly-Asp-X …式(1)

#### 【0122】

上述式(1)中，X表示Gly、Ala、Val、Ser、Thr、Phe、Met、Pro或Asn。

#### 【0123】

上述肽部可為直鏈狀，亦可具有環狀肽骨架。上述環狀肽骨架係包含複數個胺基酸之環狀骨架。就更有效地發揮本發明之效果之觀點而言，上述環狀肽骨架較佳為包含4個以上之胺基酸，較佳為包含5個以上之胺基酸，且較佳為包含10個以下之胺基酸。

#### 【0124】

於具有肽部之合成樹脂X中，上述肽部之含有率較佳為0.1莫耳%以上，更佳為1莫耳%以上，進而較佳為5莫耳%以上，尤佳為10莫耳%以

上。於具有肽部之合成樹脂X中，上述肽部之含有率較佳為60莫耳%以下，更佳為50莫耳%以下，進而較佳為35莫耳%以下，尤佳為25莫耳%以下。若上述肽部之含有率為上述下限以上，則可更容易形成相分離結構。若上述肽部之含有率為上述下限以上，則可進一步提高與播種後之細胞之黏著性，可進一步提高細胞之增殖率。又，若上述肽部之含有率為上述上限以下，則可抑制製造成本。再者，上述肽部之含有率(莫耳%)係相對於構成具有肽部之合成樹脂X之各結構單元之物質之總和的上述肽部之物質。

#### 【0125】

上述肽部之含有率可藉由FT-IR(fourier transform infrared radiation，傅立葉轉換紅外線光譜)或LC-MS(liquid chromatography-mass spectrometry，液相層析-質譜法)進行測定。

#### 【0126】

就進一步提高與播種後之細胞之黏著性之觀點及進一步提高細胞之增殖率之觀點而言，於具有肽部之合成樹脂X中，較佳為第2相具有肽部，更佳為該肽部具有上述細胞黏著性胺基酸序列。較佳為藉由具有肽部之合成樹脂X之肽部部分來形成第2相。於該情形時，較佳為具有肽部之第2相為島部。但是，第1相亦可具有肽部，具有肽部之第2相亦可為海部。

#### 【0127】

於具有肽部之合成樹脂X中，合成樹脂X部分與肽部較佳為經由連結子結合。即，具有肽部之合成樹脂X較佳為具有肽部及連結子部之合成樹脂X。上述連結子可僅使用1種，亦可併用2種以上。

**【0128】**

上述連結子較佳為具有可與上述肽之羧基或胺基縮合之官能基之化合物。作為可與上述肽之羧基或胺基縮合之官能基，可例舉：羧基、硫醇基及胺基等。就與肽良好地反應之觀點而言，上述連結子較佳為具有羧基之化合物。作為上述連結子，亦可使用上述乙烯基化合物A。

**【0129】**

作為上述具有羧基之連結子，可例舉(甲基)丙烯酸及含羧基丙烯醯胺等。藉由使用具有聚合性不飽和基之羧酸(羧酸單體)作為上述具有羧基之連結子，於使連結子與合成樹脂X進行反應時可藉由接枝聚合而使該羧酸單體聚合，故而可增加可與肽反應之羧基之個數。

**【0130】****[細胞培養用支架材料]**

細胞培養用支架材料包含上述合成樹脂X。就有效地發揮本發明之效果之觀點及提高生產性之觀點而言，於上述細胞培養用支架材料100重量%中，上述合成樹脂X之含量較佳為90重量%以上，更佳為95重量%以上，進而較佳為97.5重量%以上，尤佳為99重量%以上，最佳為100重量%(全量)。因此，上述細胞培養用支架材料最佳為上述合成樹脂X。若上述合成樹脂X之含量為上述下限以上，則可更有效地發揮本發明之效果。

**【0131】**

上述細胞培養用支架材料亦可包含上述合成樹脂X以外之成分。作為上述合成樹脂X以外之成分，可例舉：聚烯烴樹脂、聚醚樹脂、聚乙烯醇樹脂、聚酯、環氧樹脂、聚醯胺樹脂、聚醯亞胺樹脂、聚胺基甲酸酯樹脂、聚碳酸酯樹脂、多糖類、纖維素、多肽、合成肽等。

**【0132】**

就有效地發揮本發明之效果之觀點而言，上述合成樹脂X以外之成分之含量越少則越佳。於上述細胞培養用支架材料100重量%中，該成分之含量較佳為10重量%以下，更佳為5重量%以下，進而較佳為2.5重量%以下，尤佳為1重量%以下，最佳為0重量%(不含有)。因此，細胞培養用支架材料最佳為不包含合成樹脂X以外之成分。

**【0133】**

上述細胞培養用支架材料較佳為實質上不包含源自動物之原料。藉由不包含源自動物之原料，可提供一種安全性較高，且製造時品質之偏差較小之細胞培養用支架材料。再者，「實質上不包含源自動物之原料」意指細胞培養用支架材料中之源自動物之原料為3重量%以下。關於上述細胞培養用支架材料，細胞培養用支架材料中之源自動物之原料較佳為1重量%以下，更佳為0重量%。即，上述細胞培養用支架材料更佳為完全不包含源自動物之原料。

**【0134】**

(使用細胞培養用支架材料之細胞培養)

上述細胞培養用支架材料係用於培養細胞。上述細胞培養用支架材料係用作培養細胞時之該細胞之支架。因此，本發明之藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜係用於培養細胞，又，用作培養細胞時之該細胞之支架。

**【0135】**

作為上述細胞，可例舉：人類、小鼠、大鼠、豬、牛及猴等動物細胞。又，作為上述細胞，可例舉體細胞等，例如可例舉：幹細胞、前驅細

胞及成熟細胞等。上述體細胞亦可為癌細胞。

**【0136】**

作為上述成熟細胞，可例舉：神經細胞、心肌細胞、視網膜細胞及肝細胞等。

**【0137】**

作為上述幹細胞，可例舉：間葉系幹細胞(MSC)、iPS細胞(induced Pluripotent Stem Cell，誘導性多能幹細胞)、ES細胞(embryonic stem cell，胚胎幹細胞)、Muse細胞(Multi-lineage differentiating stress enduring cell，多系分化持續應激細胞)、胚胎癌細胞、胚胎生殖幹細胞及mGS細胞(multipotent Germline Stem Cell，多能生殖幹細胞)等。

**【0138】**

(細胞培養用支架材料之形狀)

本發明之樹脂膜係藉由細胞培養用支架材料而形成。上述樹脂膜係使用細胞培養用支架材料來形成。上述樹脂膜較佳為膜狀細胞培養用支架材料。上述樹脂膜較佳為細胞培養用支架材料之膜狀物。

**【0139】**

於本說明書中，亦提供包含上述細胞培養用支架材料之粒子、纖維、多孔體或膜。於該情形時，上述細胞培養用支架材料之形狀並無特別限定，可為粒子，可為纖維，可為多孔體，亦可為膜。再者，上述粒子、纖維、多孔體或膜亦可包含上述細胞培養用支架材料以外之構成要素。

**【0140】**

包含上述細胞培養用支架材料之膜較佳為用於平面培養(二維培養)細胞。又，包含上述細胞培養用支架材料之粒子、纖維或多孔體較佳為用於

三維培養細胞。

**【0141】**

(細胞培養用載體)

本發明亦關於一種細胞培養用載體，其係上述樹脂膜配置於載體之表面上。本發明之細胞培養用載體例如可藉由利用塗佈等將上述樹脂膜配置於載體之表面上而獲得。上述載體之形狀可為粒子、纖維、多孔體或膜。即，本發明之細胞培養用載體可為粒子、纖維、多孔體或膜之形狀。再者，本發明之細胞培養用載體亦可包含上述載體及上述樹脂膜以外之構成要素。

**【0142】**

(細胞培養用容器)

本發明亦關於一種細胞培養用容器，其係於細胞之培養區域之至少一部分具備上述樹脂膜。圖1係模式性地表示本發明之一實施方式之細胞培養用容器之剖視圖。

**【0143】**

細胞培養用容器1具備容器本體2、及藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜3。於容器本體2之表面2a上配置有樹脂膜3。於容器本體2之底面上配置有樹脂膜3。可將液體培養基添加於細胞培養用容器1中，又，將細胞播種於樹脂膜3之表面，藉此將細胞進行平面培養。

**【0144】**

再者，容器本體可具備第1容器本體、及於該第1容器本體之底面上具備覆蓋玻璃等之第2容器本體。第1容器本體與第2容器本體可分離。於該情形時，可於第2容器本體之表面上配置有該藉由細胞培養用支架材料

所形成之樹脂膜。

**【0145】**

作為上述容器本體，可使用先前公知之容器本體(容器)。上述容器本體之形狀及大小並無特別限定。

**【0146】**

作為上述容器本體，可例舉具備一個或複數個孔(well)之細胞培養用盤及細胞培養用瓶等。上述培養盤之孔數並無特別限定。作為該孔數，例如可例舉：2、4、6、12、24、48、96、384等，但並無特別限定。作為上述孔之形狀，可例舉：真圓、橢圓、三角形、正方形、長方形、五邊形等，但並無特別限定。作為上述孔底面之形狀，可例舉：平底、圓底、凹凸等，但並無特別限定。

**【0147】**

上述容器本體之材質並無特別限定，可例舉樹脂、金屬及無機材料。作為上述樹脂，可例舉：聚苯乙烯、聚乙烯、聚丙烯、聚碳酸酯、聚酯、聚異戊二烯、環烯烴聚合物、聚醯亞胺、聚醯胺、聚醯胺醯亞胺、(甲基)丙烯酸系樹脂、環氧樹脂、聚矽氧等。作為上述金屬，可例舉：不鏽鋼、銅、鐵、鎳、鋁、鈦、金、銀、鉑等。作為上述無機材料，可例舉：氧化矽(玻璃)、氧化鋁、氧化鈦、氧化鋯、氧化鐵、氮化矽等。

[實施例]

**【0148】**

其次，藉由例舉本發明之具體實施例及比較例而使本發明獲得深一層之了解。再者，本發明並不限定於以下之實施例。

**【0149】**

作為細胞培養用支架材料之原料，合成以下之合成樹脂。

### 【0150】

(實施例1)

於具備攪拌裝置之反應機中投入離子交換水2700 mL、平均聚合度1700且皂化度98莫耳%之聚乙烯醇300重量份，一面進行攪拌一面加熱溶解，獲得溶液。於所獲得之溶液中，以鹽酸濃度成為0.2重量%之方式添加35重量%鹽酸作為觸媒。繼而，將溫度調整為15℃，一面進行攪拌一面添加正丁醛22重量份。繼而，添加正丁醛148重量份，析出白色粒子狀聚乙烯醇縮丁醛樹脂。於析出後15分鐘後，以鹽酸濃度成為1.8重量%之方式添加35重量%鹽酸後，加熱至50℃，於50℃下保持2小時。繼而，將溶液冷卻，進行中和後水洗，使之乾燥，藉此獲得作為聚乙烯醇縮醛樹脂之聚乙烯醇縮丁醛樹脂(PVB，SP值：9.9)。以成為1重量%之溶液之方式使所獲得之聚乙烯醇縮丁醛樹脂90重量份溶解於四氫呋喃中，添加作為起始劑之Irgacure 184 5重量份、N-乙炔吡咯啉酮(SP值：11.7)2重量份及甲基丙烯酸正月桂酯(SP值：8.2)8重量份，進行接枝聚合，藉此獲得合成樹脂。所獲得之合成樹脂係縮醛化度(丁醛化度)69莫耳%、羥基量27.5莫耳%、乙醯化度2.0莫耳%、乙炔吡咯啉酮基之含有率0.3莫耳%、甲基丙烯酸正月桂酯部之含有率1.2莫耳%。

### 【0151】

(實施例2～11及比較例1)

變更聚乙烯醇縮丁醛樹脂、N-乙炔吡咯啉酮及甲基丙烯酸正月桂酯之重量比率，除此以外，以與實施例1相同之方式獲得合成樹脂。將實施例2～11及比較例1中所獲得之合成樹脂之縮醛化度(丁醛化度)、羥基量、

乙醯化度、乙烯吡咯啉酮基之含有率、甲基丙烯酸正月桂酯部之含有率示於表1、表2及表4。

### 【0152】

(實施例12)

於具備攪拌裝置之反應機中投入離子交換水2700 mL、平均聚合度1700且皂化度99莫耳%之聚乙烯醇300重量份，一面進行攪拌一面加熱溶解，獲得溶液。於所獲得之溶液中，以鹽酸濃度成為0.2重量%之方式添加35重量%鹽酸作為觸媒。繼而，將溫度調整為15°C，一面進行攪拌一面添加正丁醛22重量份。繼而，添加正丁醛148重量份，析出白色粒子狀聚乙烯醇縮醛樹脂(聚乙烯醇縮丁醛樹脂)。於析出後15分鐘後，以鹽酸濃度成為1.8重量%之方式添加35重量%鹽酸後，加熱至50°C，於50°C下保持2小時。繼而，將溶液冷卻，進行中和後，將聚乙烯醇縮丁醛樹脂水洗，使之乾燥，獲得聚乙烯醇縮醛樹脂(聚乙烯醇縮丁醛樹脂，平均聚合度1700、縮醛化度(丁醛化度)70莫耳%、羥基量27莫耳%、乙醯化度3莫耳%)。

### 【0153】

連結子之導入：

將所獲得之聚乙烯醇縮醛樹脂99重量份及丙烯酸(連結子)1重量份溶解於THF 300重量份，於光自由基聚合起始劑之存在下，於紫外線照射下反應20分鐘，使聚乙烯醇縮醛樹脂與丙烯酸接枝共聚，藉此導入連結子。使導入有連結子之聚乙烯醇縮醛樹脂1重量份溶解於丁醇19重量份。將所獲得之溶液150  $\mu$ L噴出至經除塵器除塵之 $\phi$ 22 mm之覆蓋玻璃(松浪公司製造之「22丸No.1」)之表面上，使用旋轉塗佈機，以2000 rpm旋轉20秒

後，於60°C下加熱60分鐘，而獲得表面平滑之樹脂膜。

#### 【0154】

肽部之形成：

準備具有Gly-Arg-Gly-Asp-Ser之胺基酸序列之直鏈狀肽(胺基酸殘基數5個，於表中記載為GRGDS)。將該肽10重量份及1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳二醯亞胺鹽酸鹽(縮合劑)1重量份以該肽之最終濃度成為1 mM之方式添加於不包含鈣及鎂兩者之磷酸緩衝生理鹽水中，製作含肽液體。將該含肽液體1重量份添加於經旋轉塗佈之樹脂膜(形成有連結子之聚乙烯醇縮醛樹脂)，進行反應，將連結子之羧基與肽之Gly之胺基脫水縮合。如此，製作具有聚乙烯醇縮醛樹脂部、連結子部及肽部之含肽聚乙烯醇縮醛樹脂。

#### 【0155】

所獲得之含肽聚乙烯醇縮醛樹脂係縮醛化度(丁醛化度)69莫耳%、羥基量27莫耳%、乙醯化度3莫耳%、羧基之含有率0.1莫耳%、肽部之含有率1.0莫耳%。

#### 【0156】

(實施例13)

於連結子之導入中，使用85重量份之聚乙烯醇縮醛樹脂及15重量份之丙烯酸(連結子)，且於肽之形成中，將肽之添加量變更為15重量份，除該等以外，以與實施例12相同之方式製作含肽聚乙烯醇縮醛樹脂。

#### 【0157】

(實施例14)

於連結子之導入中，使用70重量份之聚乙烯醇縮醛樹脂及30重量份

之丙烯酸(連結子)，且於肽之形成中，將肽之添加量變更為30重量份，除該等以外，以與實施例12相同之方式製作含肽聚乙烯醇縮醛樹脂。

**【0158】**

(實施例15)

於連結子之導入中，使用67重量份之聚乙烯醇縮醛樹脂及33重量份之丙烯酸(連結子)，且於肽之形成中，將肽之添加量變更為33重量份，除該等以外，以與實施例12相同之方式製作含肽聚乙烯醇縮醛樹脂。

**【0159】**

(實施例16)

於連結子之導入中，使用63重量份之聚乙烯醇縮醛樹脂及37重量份之丙烯酸(連結子)，且於肽之形成中，將肽之添加量變更為37重量份，除該等以外，以與實施例12相同之方式製作含肽聚乙烯醇縮醛樹脂。

**【0160】**

(實施例17)

於連結子之導入中，使用30重量份之聚乙烯醇縮醛樹脂及70重量份之丙烯酸(連結子)，且於肽之形成中，將肽之添加量變更為70重量份，除該等以外，以與實施例12相同之方式製作含肽聚乙烯醇縮醛樹脂。

**【0161】**

(比較例2)

作為合成樹脂，直接使用聚苯乙烯樹脂。

**【0162】**

(比較例3)

於具備攪拌裝置之反應機中投入離子交換水2700 mL、平均聚合度

1700且皂化度98莫耳%之聚乙烯醇300重量份，一面進行攪拌一面加熱溶解，獲得溶液。於所獲得之溶液中，以鹽酸濃度成為0.2重量%之方式添加35重量%鹽酸作為觸媒。繼而，將溫度調整為15°C，一面進行攪拌一面添加正丁醛22重量份。繼而，添加正丁醛148重量份，析出白色粒子狀聚乙烯醇縮丁醛樹脂。於析出後15分鐘後，以鹽酸濃度成為1.8重量%之方式添加35重量%鹽酸後，加熱至50°C，於50°C下保持2小時。繼而，將溶液冷卻，進行中和後水洗，使之乾燥，藉此獲得聚乙烯醇縮丁醛樹脂(SP值：9.9)。即，獲得乙烯基化合物未共聚之聚乙烯醇縮丁醛樹脂(合成樹脂)。

#### 【0163】

(比較例4)

將N-乙炔吡咯啉酮17重量份及甲基丙烯酸正月桂酯83重量份加以混合，獲得(甲基)丙烯酸系單體溶液。使Irgacure 184(BASF公司製造)1重量份溶解於所獲得之(甲基)丙烯酸系單體溶液中，塗佈於PET膜上。於25°C下，使用EYE GRAPHICS公司製造之UV輸送裝置「ECS301G1」，以累計光量2000 mJ/cm<sup>2</sup>對塗佈物照射365 nm之波長之光，藉此獲得聚(甲基)丙烯酸酯樹脂溶液。藉由將所獲得之聚(甲基)丙烯酸酯樹脂溶液於80°C下真空乾燥3小時，而獲得作為聚(甲基)丙烯酸酯樹脂之合成樹脂。

#### 【0164】

(參考例A)

源自天然物之支架材料之製作：

將於磷酸緩衝液(PBS)中調整為5 µg/ml之玻連蛋白(康寧公司製造)溶液1 ml添加於φ35 mm培養皿。使φ22 mm之覆蓋玻璃(松浪公司製造之

「22丸No.1」)浸漬於其中，於37°C下固化1小時，藉此獲得玻連蛋白平滑地吸附於表面之源自天然物之支架材(於表中記載為VTN)。

### 【0165】

細胞培養用容器之製作：

藉由將玻連蛋白與覆蓋玻璃之積層體配置於 $\phi 22$  mm之聚苯乙烯培養皿而獲得細胞培養用容器。再者，玻連蛋白若乾燥則變性，黏著性能大幅降低，故而製作細胞培養用容器後立即浸漬於PBS溶液中。

### 【0166】

[評估]

(縮醛化度及陽離子性基改性度)

實施例及比較例中所獲得之合成樹脂之縮醛化度及陽離子性基改性度係將合成樹脂溶解於DMSO-d6(二甲基亞砷)中後，藉由<sup>1</sup>H-NMR(核磁共振光譜)進行測定。

### 【0167】

(儲存彈性模數)

各支架材料於25°C及100°C之儲存彈性模數係藉由動態黏彈性測定裝置(IT Meter and Control公司製造，DVA-200)，於拉伸條件下，以頻率10 Hz，於-150°C至150°C之溫度範圍內以升溫速度5°C/分鐘進行測定。根據所獲得之拉伸儲存彈性模數之圖求出25°C及100°C下之儲存彈性模數，算出25°C儲存彈性模數/100°C儲存彈性模數。使用長度50 mm、寬度5~20 mm、厚度0.1~1.0 mm之測定樣本，於10 Hz、應變0.1%、溫度-150°C~150°C及升溫速度5°C/min之條件下進行。

### 【0168】

(水膨潤倍率)

將長度50 mm、寬度10 mm、厚度0.05 mm~0.15 mm之包含各支架材料之樹脂膜(測定樣本)浸漬於25°C之水中24小時。測定浸漬前後之樣本之重量，算出水膨潤倍率 = (浸漬後之樣本重量 - 浸漬前之樣本重量) / (浸漬前之樣本重量) × 100(%)。

### 【0169】

(細胞培養用容器之製作)

於實施例1~11及比較例1~4中，使所獲得之合成樹脂1 g溶解於丁醇19 g，藉此獲得樹脂溶液。將所獲得之樹脂溶液150 μL噴出至φ22 mm之覆蓋玻璃(藉由除塵器將松浪公司製造之22丸No.1除塵而使用)上，使用旋轉塗佈機，以2000 rpm旋轉20秒而獲得平滑之樹脂膜。將所獲得之上述樹脂膜連同覆蓋26玻璃一起配置於φ22 mm之聚苯乙烯培養皿，藉此獲得細胞培養用容器。於實施例12~17中，將所獲得之含肽聚乙炔醇縮醛樹脂與覆蓋玻璃之積層體配置於φ22 mm之聚苯乙烯培養皿，藉此獲得細胞培養用容器。

### 【0170】

(表面自由能)

針對細胞培養用容器之製備之欄所獲得之樹脂膜之表面自由能，使用接觸角計(協和界面化學公司製造，DMo-701)進行測定。於樹脂膜上滴加純水1 μL，拍攝30秒後之液滴圖像，藉此獲得純水之接觸角。又，於上述樹脂膜上滴加二碘甲烷1 μL，拍攝30秒後之液滴圖像，藉此獲得二碘甲烷之接觸角。根據所獲得之接觸角，使用Kaelble-Uy理論式算出表面自由能之分散項分量 $\gamma^d$ (dSFE)及作為極性項分量之偶極成分 $\gamma^p$ (pSFE)。

### 【0171】

(相分離參數)

藉由原子力顯微鏡(AFM, Bruker公司製造, 型號「Dimension XR」)觀察細胞培養用容器之製備之欄所獲得之樹脂膜。懸臂係使用SCAN ASYST AIR。其結果如圖2所示, 於實施例3之樹脂膜中, 觀察到作為第1相之聚乙烯醇縮丁醛樹脂部形成海部, 作為第2相之具有(甲基)丙烯酸酯及乙烯基化合物之樹脂部(N-乙炔吡咯啉酮及甲基丙烯酸正月桂酯之共聚物部)形成島部的海島結構。同樣地, 於實施例1~2、4~11中, 亦觀察到作為第1相之聚乙烯醇縮丁醛樹脂部形成海部, 作為第2相之具有(甲基)丙烯酸酯及乙烯基化合物之樹脂部(N-乙炔吡咯啉酮及甲基丙烯酸正月桂酯之共聚物部)形成島部的海島結構。又, 於實施例12~17中, 亦觀察到作為第1相之聚乙烯醇縮丁醛樹脂部形成海部, 作為第2相之肽部形成島部的海島結構。另一方面, 於比較例1~4中, 未觀察到相分離結構。

#### 【0172】

又, 根據藉由原子力顯微鏡所獲得之圖像, 使用圖像解析軟體(ImageJ), 藉由上述方法求出第2相之表面積相對於表面整體之比(相分離結構之表面積分率)、第2相之周長與面積之比(周長/面積)、作為島部之第2相之個數(島個數)、及島部之直徑之平均值(平均島尺寸)。

#### 【0173】

(細胞增殖率)

於所獲得之細胞培養用容器中加入磷酸緩衝生理鹽水1 mL, 於37°C之保溫箱內靜置1小時後, 去除培養容器內之磷酸緩衝生理鹽水。加入於35 mm培養皿中成為融合狀態之h-iPS細胞253G1之菌落, 其次加入1 mL之0.5 mM乙二胺/磷酸緩衝溶液, 於室溫下靜置2分鐘。其後, 去除乙二胺/磷酸緩衝溶液, 以1 mL之TeSRE8培養基藉由吸液將粉碎為50~200

$\mu\text{m}$ 之細胞塊( $0.5 \times 10^5$  cells)播種於培養容器。於培養基TeSR E8(STEM CELL公司製造)1.7 mL及ROCK抑制劑(Y27632)10  $\mu\text{M}$ 之存在下，於37°C及CO<sub>2</sub>濃度5%之保溫箱內進行培養。每24小時去除培養基1 mL，加入新TeSR E8 1 mL，藉此進行培養基更換。使用TryPLE Express剝離液1.0 mL將5天後之定殖細胞塊剝離，使用細胞計數器(Nucleocounter NC-3000，Chemometec公司製造)對細胞數進行計數。

**【0174】**

使用下述式求出相對於參考例A之細胞增殖率。

**【0175】**

相對於參考例A之細胞增殖率(%) = (實施例、比較例中之細胞數) / (參考例A中之細胞數)  $\times 100$

**【0176】**

按照以下之基準對細胞增殖率進行評估。

**【0177】**

[評估基準]

AAA…相對於參考例A之細胞增殖率為70%以上

AA…相對於參考例A之細胞增殖率為60%以上且未達70%

A…相對於參考例A之細胞增殖率為50%以上且未達60%

B…相對於參考例A之細胞增殖率為40%以上且未達50%

C…相對於參考例A之細胞增殖率為30%以上且未達40%

D…相對於參考例A之細胞增殖率未達30%

**【0178】**

將結果示於下述表1~4。

## 【0179】

[表1]

		實施例1	實施例2	實施例3	實施例4	實施例5	實施例6
合成樹脂	縮醛化度(mol%)	69.0	63.0	49.0	39.9	35.0	28.0
	羥基量(mol%)	27.5	25.2	19.6	16.0	14.0	11.2
	乙醯基量(mol%)	2.1	1.8	1.4	1.1	1.0	0.8
	N-乙炔吡咯啉酮(mol%)	0.3	2.0	5.0	7.0	8.3	10.0
物性	(丙烯酸-乙炔基)	1.2	8.0	25.0	36.0	41.7	50.0
	儲存彈性模數	2.2×10 <sup>9</sup>	1.8×10 <sup>9</sup>	1.9×10 <sup>9</sup>	1.3×10 <sup>9</sup>	9.6×10 <sup>8</sup>	9.0×10 <sup>8</sup>
	25°C 儲存彈性模數(Pa)	2.7×10 <sup>6</sup>	2.7×10 <sup>6</sup>	3.0×10 <sup>6</sup>	4.7×10 <sup>6</sup>	4.6×10 <sup>6</sup>	4.2×10 <sup>6</sup>
	100°C 儲存彈性模數(Pa)	8.2×10 <sup>2</sup>	6.6×10 <sup>2</sup>	6.3×10 <sup>2</sup>	2.7×10 <sup>2</sup>	2.1×10 <sup>2</sup>	2.1×10 <sup>2</sup>
	25°C 儲存彈性模數/100°C 儲存彈性模數	15	16	18	15	10	11
	水膨潤倍率(%)	35.8	36	36.8	43.5	44.2	44.5
	表面自由能	2.3	2	2.7	2.5	1.6	2
相分離參數	相分離結構之表面積分率(-)	0.015	0.1	0.3	0.43	0.5	0.6
	周長/面積(1/nm)	0.0800	0.0133	0.0160	0.0286	0.0333	0.0267
	島個數(個/μm <sup>2</sup> )	2	2	4	10	70	60
	平均島尺寸(nm)	50	300	250	140	120	150
培養評估	相對於參考例A之細胞增殖率(%)	30	33	51	69	65	55
	細胞培養性能	C	C	A	AA	AA	A

## 【0180】

[表2]

	實施例7	實施例8	實施例9	實施例10	實施例11	
合成樹脂	縮醛化度(mol%)	23.1	18.5	14.0	7.0	
	聚乙炔醇縮醛樹脂 經基量(mol%)	10.0	6.0	5.5	2.7	
	乙醯基量(mol%)	0.7	0.5	0.5	0.3	
	N-乙炔吡咯啉酮(mol%)	11.0	12.5	13.0	15.0	
物性	乙烯基化合物A (丙烯酸-乙炔基)	55.0	62.5	67.0	75.0	
	儲存彈性模數	甲基丙烯酸正月桂酯(mol%)	$9.2 \times 10^8$	$8.0 \times 10^8$	$6.0 \times 10^8$	$3.0 \times 10^8$
		25°C 儲存彈性模數(Pa)	$3.8 \times 10^6$	$3.8 \times 10^6$	$2.6 \times 10^6$	$2.4 \times 10^6$
		100°C 儲存彈性模數(Pa)	$2.4 \times 10^2$	$2.1 \times 10^2$	$2.3 \times 10^2$	$2.0 \times 10^2$
	水膨潤倍率(%)	25°C 儲存彈性模數/100°C 儲存彈性模數	12	10	9	10
		表面自由能	43.6	44.0	44.7	45.0
相分離參數	分散項分量(dSFE)( $\text{mJ}/\text{m}^2$ )	2.2	2.0	2.3	1.7	
	極性項分量(pSFE)( $\text{mJ}/\text{m}^2$ )	0.66	0.75	0.8	0.9	
	相分離結構之表面積分率(-)	0.0160	0.0027	0.0016	0.0013	
	周長/面積(1/nm)	20	2	4	2	
	島個數(個/ $\mu\text{m}^2$ )	250	1500	2500	3000	
培養評估	平均島尺寸(nm)	61	41	48	35	
	相對於參考例A之細胞增殖率(%)	AA	B	B	C	
	細胞培養性能					

## 【0181】

[表3]

	實施例12	實施例13	實施例14	實施例15	實施例16	實施例17
合成樹脂	縮醛化度(mol%)	64.3	64.0	57.5	54.0	24.0
	羥基量(mol%)	26.7	25.0	22.0	23.0	9.0
	乙醯基量(mol%)	2.9	3.0	3.0	3.0	3.0
肽部	N-乙炔吡咯啉酮(mol%)	-	-	-	-	-
	甲基丙烯酸正月桂酯(mol%)	-	-	-	-	-
	丙烯酸(mol%)	0.1	0.7	1.0	1.5	2.0
物性	含有率(mol%)	1.0	7.0	10.0	15.0	60.0
	25°C 儲存彈性模數(Pa)	$2.5 \times 10^9$	$2.0 \times 10^9$	$1.9 \times 10^9$	$2.2 \times 10^9$	$2.0 \times 10^9$
	100°C 儲存彈性模數(Pa)	$3.0 \times 10^6$	$4.0 \times 10^6$	$3.5 \times 10^6$	$3.4 \times 10^6$	$1.0 \times 10^6$
相分離參數	25°C 儲存彈性模數/100°C 儲存彈性模數	$8.3 \times 10^2$	$5.0 \times 10^2$	$5.4 \times 10^2$	$6.5 \times 10^2$	$1.3 \times 10^2$
	水膨潤倍率(%)	4	6	7	10	15
	表面自由能	-	-	-	-	-
培養評估	分散項分量(dSFE)(mJ/m <sup>2</sup> )	-	-	-	-	-
	極性項分量(pSFE)(mJ/m <sup>2</sup> )	-	-	-	-	-
	相分離結構之表面積分率(-)	0.079	0.100	0.353	0.495	0.589
培養評估	周長/面積(1/nm)	0.2000	0.1000	0.0400	0.0133	0.0080
	島個數(個/ $\mu\text{m}^2$ )	250	80	45	7	3
	平均島尺寸(nm)	20	40	100	300	500
培養評估	相對於參考例A之細胞增殖率(%)	69	95	98	64	59
	細胞培養性能	AA	AAA	AAA	AA	A

## 【0182】

[表4]

	比較例1	比較例2	比較例3	比較例4	參考例A	
合成樹脂	縮醛化度(mol%)	-	70.0	-	VTN	
	聚乙炔醇縮醛樹脂	0.56	28.0	-		
	乙醯基量(mol%)	0.04	2.0	-		
	N-乙炔吡咯啉酮(mol%)	16.0	-	17.0		
	甲基丙烯酸正月桂酯(mol%)	82.0	-	83.0		
	25°C 儲存彈性模數(Pa)	$1.6 \times 10^8$	$2.3 \times 10^9$	$2.2 \times 10^9$		$1.2 \times 10^6$
物性	100°C 儲存彈性模數(Pa)	$6.0 \times 10^5$	$2.1 \times 10^8$	$2.7 \times 10^6$	$9.0 \times 10^3$	
	25°C 儲存彈性模數/100°C 儲存彈性模數	$2.6 \times 10^2$	$1.1 \times 10^1$	$8.2 \times 10^2$	$1.3 \times 10^2$	
	水膨潤倍率(%)	26	0	16	55	-
	表面自由能	48	29.4	32.8	50	-
	相分離結構之表面積分率(-)	1	20.6	3.6	0.5	-
	相分離參數	周長/面積(1/mm)	0.98	0	0	0
島個數(個/ $\mu\text{m}^2$ )		0.0011	-	-	-	-
平均島尺寸(nm)		0	0	0	0	-
相對於參考例A之細胞增殖率(%)		3500	0	0	0	-
培養評估	細胞培養性能	18	0	20	0	-
		D	D	D	D	D

【符號說明】

【0183】

1:細胞培養用容器

2:容器本體

2a:表面

3:樹脂膜

## 【序列表】

<110> 日商積水化學工業股份有限公司(SEKISUI CHEMICAL CO., LTD.)

<120> 藉由細胞培養用支架材料所形成之樹脂膜、細胞培養用載體、及細胞培養用容器

<130> F2893TW

<150> JP 2019-092083

<151> 2019-05-15

<150> JP 2019-119079

<151> 2019-06-26

<160> 15

<170> PatentIn第3.5版

<210> 1

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 1

Arg Gly Asp Gly

1

<210> 2

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 2

Arg Gly Asp Ala

1

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

# I839518

<213> 人工序列

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 3

Arg Gly Asp Val

1

<210> 4

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 4

Arg Gly Asp Ser

1

<210> 5

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 5

Arg Gly Asp Thr

1

<210> 6

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 6

Arg Gly Asp Phe

1

<210> 7  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 細胞黏著性肽

<400> 7

Arg Gly Asp Met

1

<210> 8  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 細胞黏著性肽

<400> 8

Arg Gly Asp Pro

1

<210> 9  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 細胞黏著性肽

<400> 9

Arg Gly Asp Asn

1

<210> 10  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列

# I839518

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 10

Tyr Ile Gly Ser Arg

1 5

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 11

Pro Asp Ser Gly Arg

1 5

<210> 12

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 12

Arg Glu Asp Val

1

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 13

Ile Asp Ala Pro Ser

1 5

# I839518

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 14

Lys Gln Ala Gly Asp Val

1 5

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 細胞黏著性肽

<400> 15

Gly Arg Gly Asp Ser

1 5

## 【發明申請專利範圍】

### 【請求項1】

一種樹脂膜，其係藉由細胞培養用支架材料所形成者，且  
上述細胞培養用支架材料包含合成樹脂，  
上述樹脂膜具有至少包含第1相及第2相之相分離結構，  
上述第1相及第2相中之一相之表面積相對於表面整體之比為0.01以上0.95以下，且  
該樹脂膜之水膨潤倍率為50%以下。

### 【請求項2】

一種樹脂膜，其係藉由細胞培養用支架材料所形成者，且  
上述細胞培養用支架材料包含合成樹脂，  
上述樹脂膜具有至少包含第1相及第2相之相分離結構，  
上述第1相及第2相中之一相之表面積相對於表面整體之比為0.01以上0.95以下，  
該樹脂膜於100°C下之儲存彈性模數為 $1.0 \times 10^4$  Pa以上 $1.0 \times 10^8$  Pa以下，且  
25°C下之儲存彈性模數與100°C下之儲存彈性模數之比((25°C下之儲存彈性模數)/(100°C下之儲存彈性模數))為 $1.0 \times 10^1$ 以上 $1.0 \times 10^5$ 以下。

### 【請求項3】

一種樹脂膜，其係藉由細胞培養用支架材料所形成者，且  
上述細胞培養用支架材料包含合成樹脂，  
上述樹脂膜具有至少包含第1相及第2相之相分離結構，  
上述第1相及第2相中之一相之表面積相對於表面整體之比為0.01以

上0.95以下，且

表面自由能之分散項分量為25.0 mJ/m<sup>2</sup>以上50.0 mJ/m<sup>2</sup>以下，且極性項分量為1.0 mJ/m<sup>2</sup>以上20.0 mJ/m<sup>2</sup>以下。

**【請求項4】**

如請求項1至3中任一項之樹脂膜，其中上述第2相之周長相對於面積之比(周長/面積)為0.001(1/nm)以上0.40(1/nm)以下。

**【請求項5】**

如請求項1至3中任一項之樹脂膜，其中上述相分離結構為海島結構，

上述第1相為海部，上述第2相為島部。

**【請求項6】**

如請求項5之樹脂膜，其中作為上述島部之上述第2相之個數為1個/μm<sup>2</sup>以上5000個/μm<sup>2</sup>以下。

**【請求項7】**

如請求項1至3中任一項之樹脂膜，其中上述相分離結構包含上述合成樹脂之分子內之相分離結構。

**【請求項8】**

如請求項1至3中任一項之樹脂膜，其中上述合成樹脂具有陽離子性官能基，

上述合成樹脂之結構單元中所包含之上述陽離子性官能基之含量為0.2莫耳%以上50莫耳%以下。

**【請求項9】**

如請求項1或2之樹脂膜，其中上述第2相具有肽部。

**【請求項10】**

如請求項9之樹脂膜，其中上述肽部具有細胞黏著性胺基酸序列。

**【請求項11】**

如請求項1至3中任一項之樹脂膜，其中上述細胞培養用支架材料實質上不包含源自動物之原料。

**【請求項12】**

如請求項1至3中任一項之樹脂膜，其中上述合成樹脂包含乙烯基聚合物。

**【請求項13】**

如請求項1至3中任一項之樹脂膜，其中上述合成樹脂至少包含聚乙烯醇衍生物或聚(甲基)丙烯酸酯。

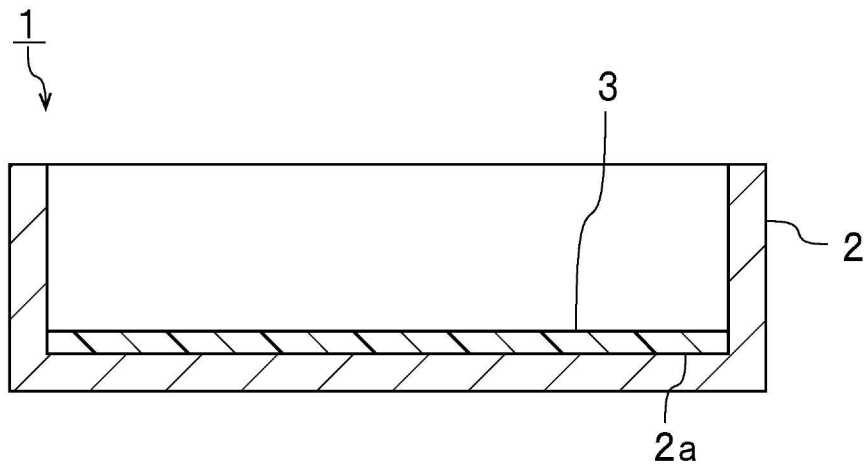
**【請求項14】**

一種細胞培養用載體，其具備載體、及  
如請求項1至13中任一項之樹脂膜，且  
上述樹脂膜配置於上述載體之表面上。

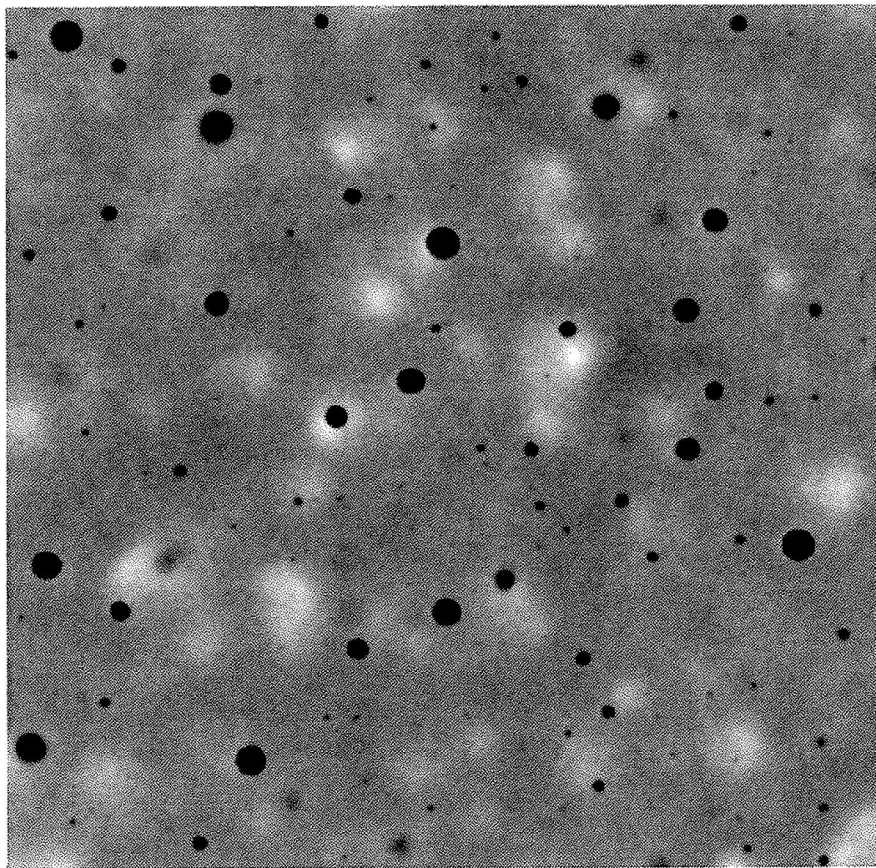
**【請求項15】**

一種細胞培養用容器，其具備容器本體、及  
如請求項1至13中任一項之樹脂膜，且  
上述樹脂膜配置於上述容器本體之表面上。

【發明圖式】



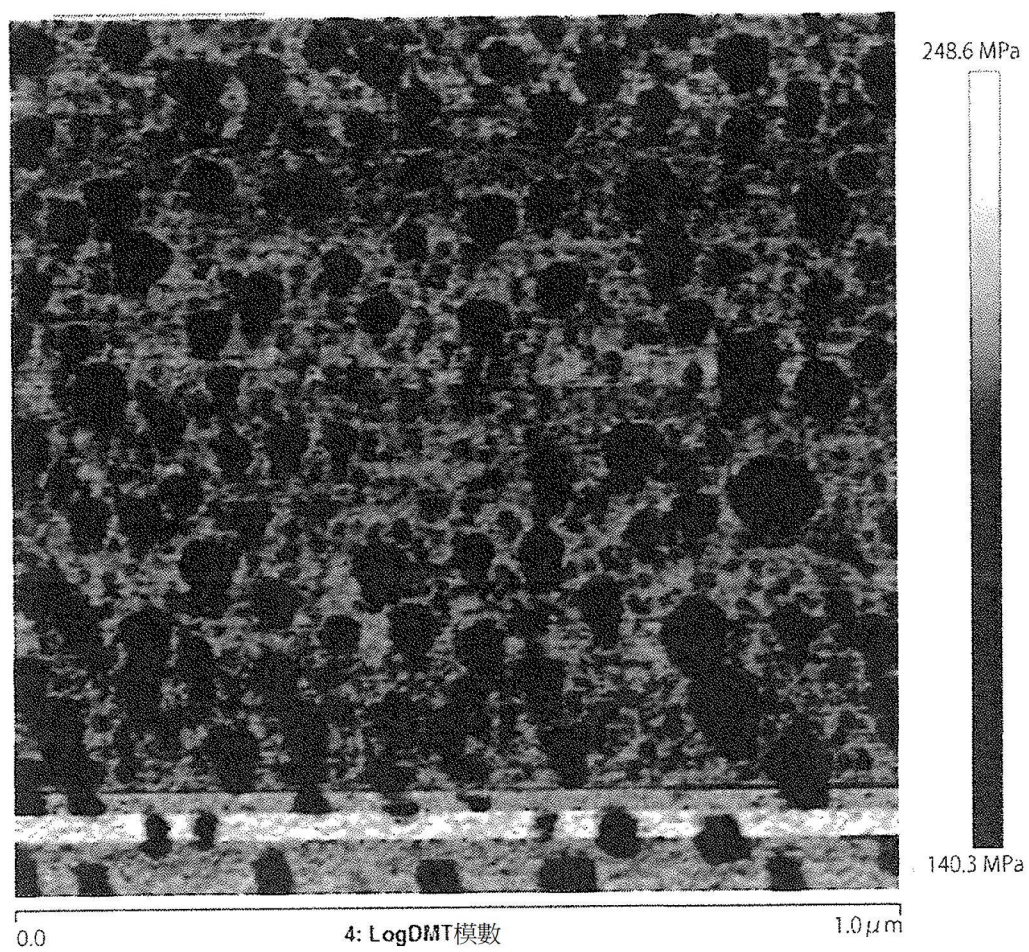
【圖1】



高度感測器

1.0 μm

【圖2】



【圖3】