



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 115926568 B

(45) 授权公告日 2025. 05. 09

(21) 申请号 202211113076.6
 (22) 申请日 2020.05.15
 (65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 115926568 A
 (43) 申请公布日 2023.04.07
 (30) 优先权数据
 2019-092083 2019.05.15 JP
 2019-119079 2019.06.26 JP
 (62) 分案原申请数据
 202080006412.X 2020.05.15
 (73) 专利权人 积水化学工业株式会社
 地址 日本大阪府
 (72) 发明人 井口博贵 新井悠平 乾延彦
 汤川麻由美 小林大悟 中村雄太
 高仓健太 羽根田聪 石井亮马
 (74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
 11105
 专利代理师 张涛

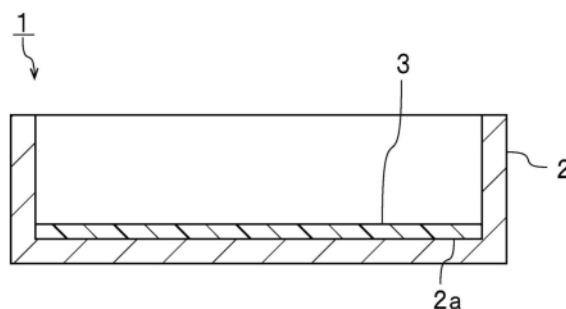
(51) Int.Cl.
 C09D 151/00 (2006.01)
 C08F 261/04 (2006.01)
 C08F 8/30 (2006.01)
 C12M 1/00 (2006.01)
 C12M 1/12 (2006.01)
 C12N 5/00 (2006.01)

(56) 对比文件
 CN 111511897 A, 2020.08.07
 CN 111511896 A, 2020.08.07
 CN 113383066 A, 2021.09.10
 CN 113242905 A, 2021.08.10
 CN 113366100 A, 2021.09.07
 US 2012322145 A1, 2012.12.20
 US 4504547 A, 1985.03.12
 平口侑香里等. 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, 第37卷(第5期), 第207-212页.
 审查员 詹红彬

权利要求书2页 说明书22页
 序列表6页 附图3页

(54) 发明名称
 由细胞培养用支架材料形成的树脂膜、细胞培养用载体和细胞培养用容器

(57) 摘要
 本发明提供: 细胞接种后的固定性优异, 并且能够提高细胞的增殖率的由细胞培养用支架材料形成的树脂膜。本发明提供一种树脂膜, 其为由细胞培养用支架材料形成的树脂膜, 细胞培养用支架材料包含合成树脂, 树脂膜具有至少包含第1相和第2相的相分离结构, 第1相和第2相中一者的表面积相对于表面整体的比为0.01以上, 0.95以下。



1. 一种树脂膜,其为由细胞培养用支架材料形成的树脂膜,其中,所述细胞培养用支架材料包含具有聚乙烯醇缩醛骨架的合成树脂,所述合成树脂为具有聚乙烯醇缩醛树脂部、接头部以及肽部的含肽聚乙烯醇缩醛树脂,

所述接头部的接头为(甲基)丙烯酸,

在所述合成树脂中,所述肽部的含有率为0.1摩尔%以上且15.0摩尔%以下,所述肽部的含有率是所述肽部的物质量相对于构成具有肽部的合成树脂的各结构单元的物质量的总和的比,

所述树脂膜具有至少包含第1相和第2相的相分离结构,所述相分离结构为海岛结构,

所述第2相的表面积相对于表面整体的比为0.01以上,0.95以下,所述第2相的表面积相对于表面整体的比通过在 $30\mu\text{m} \times 30\mu\text{m}$ 的观察区域内将第2相所占的表面积除以观察区域的面积而求出。

2. 根据权利要求1所述的树脂膜,其中,

所述第2相的周长相对于面积的比即周长/面积为0.001以上,0.40以下,所述周长/面积的比的单位是 $1/\text{nm}$ 。

3. 根据权利要求1或2所述的树脂膜,其中,

所述第1相为海部,所述第2相为岛部。

4. 根据权利要求3所述的树脂膜,其中,

作为所述岛部的所述第2相的个数为 $1/\mu\text{m}^2$ 以上, $5000/\mu\text{m}^2$ 以下,所述第2相的个数通过将 $30\mu\text{m} \times 30\mu\text{m}$ 的观察区域内的第2相的个数除以观察区域的面积而求出。

5. 根据权利要求1或2所述的树脂膜,其中,

所述相分离结构由所述合成树脂的分子内的相分离结构构成。

6. 根据权利要求1或2所述的树脂膜,其中,

所述第2相具有所述肽部。

7. 根据权利要求1或2所述的树脂膜,其中,

所述肽部具有细胞粘接性的氨基酸序列,

所述细胞粘接性的氨基酸序列至少具有RGD序列、YIGSR序列、PDS GR序列、HAV序列、ADT序列、QAV序列、LDV序列、IDS序列、RED V序列、IDAPS序列、KQAGDV序列或者TDE序列。

8. 根据权利要求1或2所述的树脂膜,其水溶胀倍率为50%以下。

9. 根据权利要求1或2所述的树脂膜,其中,

所述树脂膜在 100°C 下的储能弹性模量为 $1.0 \times 10^4\text{Pa}$ 以上, $1.0 \times 10^8\text{Pa}$ 以下,

所述树脂膜在 25°C 下的储能弹性模量与 100°C 下的储能弹性模量的比即 25°C 下的储能弹性模量/ 100°C 下的储能弹性模量为 1.0×10^1 以上, 1.0×10^5 以下。

10. 根据权利要求1或2所述的树脂膜,其中,

所述细胞培养用支架材料实际上不包含动物来源的原料。

11. 一种细胞培养用载体,其具备:

载体、和

权利要求1~10中任一项所述的树脂膜,

所述树脂膜配置在所述载体的表面上。

12. 一种细胞培养用容器,其具备:
容器主体、和
权利要求1~10中任一项所述的树脂膜,
所述树脂膜配置在所述容器主体的表面上。

由细胞培养用支架材料形成的树脂膜、细胞培养用载体和细胞培养用容器

[0001] 本申请是中国申请号为202080006412.X、发明名称为“由细胞培养用支架材料形成的树脂膜、细胞培养用载体和细胞培养用容器”且申请日为2020年5月15日的专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及由细胞培养用支架材料形成的树脂膜。此外,本发明涉及具备所述树脂膜的细胞培养用载体和细胞培养用容器。

背景技术

[0003] 近年,使用了细胞药物、干细胞的下一代医疗正得到关注。尤其是,期待再生医疗人胚胎干细胞(hESC)、人工多能性干细胞(hiPSC)等的人多能性干细胞(hPSC)或从它们诱导的分化细胞在制药、再生医疗中的应用。为了实现这样的应用,需要安全并且再现性良好地培养、增殖多能性干细胞、分化细胞。

[0004] 特别是,在再生医疗的产业利用中,需要处理大量干细胞,因此,需要使用天然高分子材料、合成高分子材料或饲养细胞来支撑多能性干细胞的增殖。因此,对于使用了天然高分子材料、合成高分子材料等的支架材料的培养方法进行了各种探讨。

[0005] 例如,下述的专利文献1公开了:含有包含聚乙烯醇缩醛化合物的成形物或包含该聚乙烯醇缩醛化合物和水溶性多糖类的成形物,并且该聚乙烯醇缩醛化合物的缩醛化度为20~60摩尔%的细胞培养用载体。

[0006] 下述的专利文献2公开了一种组合物,其为包含第1纤维聚合物支架材料的组合物,其中,排列有第1纤维聚合物支架材料的纤维。记载有,构成所述第1纤维聚合物支架材料的纤维由聚二醇酸、聚乳酸等的脂肪族聚酯构成。

[0007] 此外,下述的专利文献3公开了一种方法,其为用于保持多能性干细胞的未分化性的细胞培养方法,其具有在具有用聚轮烷嵌段共聚物进行了包覆的表面的培养器上培养该多能性干细胞的工序。

[0008] 现有技术文献

[0009] 专利文献

[0010] 专利文献1:日本特开2006-314285号公报

[0011] 专利文献2:日本特表2009-524507号公报

[0012] 专利文献3:日本特开2017-23008号公报

发明内容

[0013] 发明所解决的技术问题

[0014] 然而,在使用了天然高分子材料作为支架材料的情况下,能够提高接种后细胞的固定性。特别是,已知在使用层粘连蛋白、玻连蛋白等的粘接蛋白质、小鼠肉瘤来源的基质

胶作为天然高分子材料时,接种后细胞的固定性非常高。另一方面,天然高分子材料价格较高,由于是天然来源物质故批次间的不均较大,或由于是动物来源的成分而在安全上存在风险。

[0015] 与之相对,使用了合成树脂的支架材料的情况下,相比于使用了天然高分子材料的支架材料,操作性良好,价格较低,批次间的不均较小,并且安全性优异。然而,专利文献1~3的使用了合成树脂的支架材料的情况下,由于使用了亲水性较高的合成树脂,因此合成树脂发生过度溶胀。此外,合成树脂,相比于天然高分子材料,与细胞的亲和性较低,因此在培养中细胞块有时发生剥离。这样的使用了合成树脂的支架材料,细胞接种后固定性较低,细胞有时无法充分增殖。

[0016] 本发明的目的在于,提供细胞接种后的固定性优异,并且能够提高细胞的增殖率的由细胞培养用支架材料形成的树脂膜、细胞培养用载体和细胞培养用容器。

[0017] 解决问题的技术手段

[0018] 本发明的由细胞培养用支架材料形成的树脂膜中,所述细胞培养用支架材料包含合成树脂,所述树脂膜具有至少包含第1相和第2相的相分离结构,所述第1相和第2相中一者的表面积相对于表面整体的比为0.01以上,0.95以下。

[0019] 本发明的树脂膜的一个特定方案中,所述第2相的周长相对于面积的比(周长/面积)为0.001(1/nm)以上,0.40(1/nm)以下。

[0020] 本发明的树脂膜的其他特定方案中,所述相分离结构为海岛结构,所述第1相为海部,所述第2相为岛部。

[0021] 本发明的树脂膜的另一特定方案中,作为所述岛部的所述第2相的个数为1个/ μm^2 以上,5000个/ μm^2 以下。

[0022] 本发明的树脂膜的另一特定方案中,所述相分离结构由所述合成树脂的分子内的相分离结构构成。

[0023] 本发明的树脂膜的另一特定方案中,表面自由能的色散项成分为25.0mJ/m²以上,50.0mJ/m²以下,并且极性项成分为1.0mJ/m²以上,20.0mJ/m²以下。

[0024] 本发明的树脂膜的另一特定方案中,所述合成树脂具有阳离子性官能团,所述合成树脂的结构单元中包含的所述阳离子性官能团的含量为0.2摩尔%以上,50摩尔%以下。

[0025] 本发明的树脂膜的另一特定方案中,所述第2相具有肽部。

[0026] 本发明的树脂膜的另一特定方案中,所述肽部具有细胞粘接性的氨基酸序列。

[0027] 本发明的树脂膜的另一特定方案中,水溶胀倍率为50%以下。

[0028] 本发明的树脂膜的另一特定方案中,100℃下的储能弹性模量为 1.0×10^4 Pa以上, 1.0×10^8 Pa以下,25℃下的储能弹性模量与100℃下的储能弹性模量的比((25℃下的储能弹性模量)/(100℃下的储能弹性模量))为 1.0×10^1 以上, 1.0×10^5 以下。

[0029] 本发明的树脂膜的另一特定方案中,所述细胞培养用支架材料实际上不包含动物来源的原料。

[0030] 本发明的树脂膜的另一特定方案中,所述合成树脂包含乙烯基聚合物。

[0031] 本发明的树脂膜的另一特定方案中,所述合成树脂至少包含聚乙烯醇衍生物或聚(甲基)丙烯酸酯。

[0032] 本发明的细胞培养用载体具备载体和根据本发明而构成的树脂膜,所述树脂膜配

置在所述载体的表面上。

[0033] 本发明的细胞培养用容器具备容器主体和根据本发明而构成的树脂膜,所述树脂膜配置在所述容器主体的表面上。

[0034] 发明的效果

[0035] 根据本发明,可提供细胞接种后的固定性优异,并且能够提高细胞的增殖率的由细胞培养用支架材料形成的树脂膜、细胞培养用载体和细胞培养用容器。

附图说明

[0036] [图1]是表示本发明的一实施方式的细胞培养用容器的示意性正视截面图。

[0037] [图2]是实施例3中得到的树脂膜的原子力显微镜照片。

[0038] [图3]是实施例14中得到的树脂膜的原子力显微镜照片。

[0039] 本发明的具体实施方式

[0040] 以下,在参照附图的同时,对于本发明的具体的实施方式进行说明,来阐明本发明。

[0041] 本发明涉及由细胞培养用支架材料形成的树脂膜。所述细胞培养用支架材料包含合成树脂。本发明的树脂膜具有至少包含第1相和第2相的相分离结构。本发明的树脂膜中,第1相和第2相中一者的表面积相对于表面整体的比为0.01以上,0.95以下。

[0042] 本发明的树脂膜具备所述的构成,从而使得细胞接种后的固定性优异,能够提高细胞的增殖率。

[0043] 使用了以往天然高分子材料的细胞培养用支架材料,能够提高接种后细胞的固定性,但是价格较高,由于是天然来源物质故批次间的不均较大,或由于是动物来源的成分而在安全上存在风险。另一方面,在使用了合成树脂的以往的支架材料的情况下,合成树脂发生过度溶胀,或与细胞的亲和性降低,因此在培养中细胞块有时发生剥离。因此,使用了合成树脂的以往的支架材料的情况下,细胞接种后的固定性较低,细胞有时无法充分增殖。

[0044] 本发明人着眼于由细胞培养用支架材料形成的树脂膜的相分离结构,发现了:通过采用将第1相和第2相中一者的表面积相对于表面整体的比设为所述特定的范围的相分离结构,能够提高与细胞的亲和性,由此提高接种后的粘接性,进而提高细胞的增殖率。其原因尚不明确,但是可认为,在具有这样的相分离结构的情况下,能够平滑地进行能量分配,调整亲和性、强度不同的第1相和第2相的存在位置、存在比例,因此无视细胞的种类而提高亲和性,实现细胞或者细胞表面蛋白的聚集和吸附效果。

[0045] 因此,通过本发明的树脂膜,能够提高接种后与细胞的粘接性,能够提高细胞的增殖率。

[0046] 此外,本发明中,如上所述可使用合成树脂,因此,相比于使用了天然高分子材料的支架材料,操作性良好,价格较低,批次间的不均较小,并且安全性优异。

[0047] 需要说明的是,本发明中,作为所述合成树脂,可使用具有肽部的合成树脂。对于具有肽部的合成树脂的详细内容,如下所述。

[0048] 本发明中,第1相和第2相中一者的表面积相对于表面整体的比(表面积分数)为0.01以上,优选为0.10以上,并且为0.95以下,更优选为0.90以下。表面积分数为所述范围内的情况下,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0049] 本发明中,作为所述相分离结构,例如,可举出:海岛结构、圆柱结构、陀螺结构和层状结构等的微相分离结构。海岛结构中,例如,可将第1相设为海部,第2相设为岛部。圆柱结构、陀螺结构或层状结构中,例如,可将表面积最大的相设为第1相,表面积第二大的相设为第2相。这些中,作为相分离结构,优选海岛结构。由此,通过具有连续相和不连续相,从而提高与细胞的亲和性,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,由此能够进一步提高细胞的增殖率。

[0050] 在所述相分离结构为海岛结构的情况下,第2相的相对于表面整体的表面积分数为0.01以上,优选为0.1以上,更优选为0.2以上,此外,为0.95以下,优选为0.9以下,更优选为0.8以下。表面积分数为所述范围内的情况下,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0051] 第2相的周长相对于面积的比(周长/面积)优选为0.001(1/nm)以上,更优选为0.0015(1/nm)以上,进一步优选为0.008(1/nm)以上。第2相的周长相对于面积的比(周长/面积)优选为0.40(1/nm)以下,更优选为0.20(1/nm)以下,进一步优选为0.08(1/nm)以下,特别优选为0.013(1/nm)以下。比(周长/面积)为所述范围内的情况下,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0052] 合成树脂不具有肽部的情况下,第2相的周长相对于面积的比(周长/面积)优选为0.001(1/nm)以上,更优选为0.0015(1/nm)以上,优选为0.08(1/nm)以下,更优选为0.013(1/nm)以下。比(周长/面积)为所述范围内的情况下,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0053] 合成树脂具有肽部的情况下,第2相的周长相对于面积的比(周长/面积)优选为0.008(1/nm)以上,更优选为0.013(1/nm)以上,优选为0.40(1/nm)以下,更优选为0.20(1/nm)以下,进一步优选为0.10(1/nm)以下。比(周长/面积)为所述范围内的情况下,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0054] 作为岛部的第2相的个数优选为1个/ μm^2 以上,更优选为2个/ μm^2 以上,进一步优选为10个/ μm^2 以上,优选为5000个/ μm^2 以下,更优选为1000个/ μm^2 以下,进一步优选为500个以下/ μm^2 ,特别优选为300个/ μm^2 以下。该情况下,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0055] 作为岛部的第2相的平均直径优选为20nm以上,更优选为30nm以上,进一步优选为50nm以上,特别优选为80nm以上,优选为3.5 μm 以下,更优选为3.0 μm 以下,进一步优选为1.5 μm 以下。第2相的平均直径为所述范围内的情况下,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0056] 合成树脂不具有肽部的情况下,作为岛部的第2相的平均直径优选为50nm以上,更优选为100nm以上,进一步优选为120nm以上,特别优选为200nm以上,优选为1 μm 以下,更优选为300nm以下,进一步优选为250nm以下。第2相的平均直径为所述范围内的情况下,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0057] 合成树脂具有肽部的情况下,作为岛部的第2相的平均直径优选为10nm以上,更优选为20nm以上,进一步优选为40nm以上,优选为1 μm 以下,更优选为300nm以下,进一步优选为100nm以下。第2相的平均直径为所述范围内的情况下,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0058] 需要说明的是,相分离结构的有无、和表示所述的相分离结构的参数,例如,可通过原子力显微镜(AFM)、透射型电子显微镜(TEM)、扫描型电子显微镜(SEM)等进行确认。

[0059] 具体而言,第1相和第2相中一者的表面积相对于表面整体的比(表面积分数)、第2相的周长与面积的比(周长/面积)、作为岛部的第2相的个数和其平均直径尺寸,可根据所述的显微镜观察图像并使用例如ImageJ等的图像解析软件而求得。

[0060] 第1相和第2相中一者的表面积相对于表面整体的比(表面积分数)可通过下述方式求得:在观察区域($30\mu\text{m} \times 30\mu\text{m}$)内,将第1相和第2相中一者所占的表面积除以观察区域的面积。

[0061] 第2相的周长相对于面积的比(周长/面积)可通过下述方式求得:在观察区域($30\mu\text{m} \times 30\mu\text{m}$)内,将第2相的周长的合计除以第2相的面积合计。

[0062] 相分离结构为海岛结构的情况下,作为岛部的第2相的个数可通过下述方式求得:将观察区域($30\mu\text{m} \times 30\mu\text{m}$)内的第2相的个数除以观察区域的面积。此外,作为岛部的第2相的平均直径作为同面积的圆的平均直径而求得。

[0063] 此外,所述相分离结构,例如可通过下述方式而得到:将至少2种不同的聚合物进行混合、共聚或接枝共聚,或者使用具有肽部的合成树脂,在合成树脂的分子间或分子内形成相分离结构。尤其是,从能够进一步提高细胞的粘接性的观点出发,优选所述相分离结构由分子内的相分离结构形成。即,所述合成树脂,优选为至少2种不同的聚合物的共聚物或具有肽部的合成树脂,更优选为接枝共聚物或具有肽部的合成树脂。

[0064] 上述相分离结构优选通过下述方式而得到:将溶解度参数(SP值)为0.1以上,优选为0.5以上,更优选为1以上的2种以上不同的聚合物(单体)进行共聚。该情况下,能够进一步容易地形成海岛结构。

[0065] SP值是表示作用于溶剂-溶质间的分子力的量度,并且是物质间的亲和性的量度。SP值可基于Hildebrand的正则溶液的理论而求得。此外,SP值可根据文献信息而得到,并且可通过Hansen、Hoy的计算方法、Fedors的推算法等而得到。本说明书中,是指通过Fedors的式 $\delta^2 = \Sigma E / \Sigma V$ (δ 表示SP值,E表示蒸发能量,V表示摩尔体积)计算得到的计算值。需要说明的是,SP值的单元是 $(\text{cal}/\text{cm}^3)^{0.5}$ 。Fedors的方法,记载于日本粘接协会志,1986年22卷566页。

[0066] 需要说明的是,表面积分数等表示相分离结构的相分离参数,例如,可通过控制2种聚合物的混合比例、聚合物的结构,或控制肽部的含有率来进行调整。

[0067] 需要说明的是,本发明中,可以存在不同于第1相和第2相的其他相。其他相可以作为一个相或多个相。这样的相,例如,可通过将SP值不同的另一聚合物(单体)进行接枝等共聚而得到。该情况下,将占树脂膜的表面的面积较大的两个相设为所述第1相和所述第2相。

[0068] 合成树脂不具有肽部的情况下,由细胞培养用支架材料形成的树脂膜中的表面自由能的色散项成分优选为 $25.0\text{mJ}/\text{m}^2$ 以上, $50.0\text{mJ}/\text{m}^2$ 以下。该情况下,可以适宜地调整细胞培养用支架材料的亲水性,通过与相分离结构的相乘效果,能够进一步提高接种后与细胞的界面粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。所述色散项成分,更优选为 $30.0\text{mJ}/\text{m}^2$ 以上,进一步优选为 $35.0\text{mJ}/\text{m}^2$ 以上,更优选为 $47.0\text{mJ}/\text{m}^2$ 以下,进一步优选为 $45.5\text{mJ}/\text{m}^2$ 以下。

[0069] 合成树脂不具有肽部的情况下,由细胞培养用支架材料形成的树脂膜中的表面自由能的极性项成分优选为 $1.0\text{mJ}/\text{m}^2$ 以上, $20.0\text{mJ}/\text{m}^2$ 以下。该情况下,进一步提高接种后与细

胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。所述极性项成分更优选为 $2.0\text{mJ}/\text{m}^2$ 以上,进一步优选为 $3.0\text{mJ}/\text{m}^2$ 以上,更优选为 $10.0\text{mJ}/\text{m}^2$ 以下,进一步优选为 $5.0\text{mJ}/\text{m}^2$ 以下。

[0070] 需要说明的是,表面自由能的色散项成分 γ^d 和作为极性项成分的偶极成分 γ^p ,使用Kaelble-Uy的理论式进行计算。Kaelble-Uy的理论式,如下述式(1)表示,是基于总表面自由能 γ 为色散项成分 γ^d 和偶极成分 γ^p 之和的假定的理论式。

[0071] [数学式1]

$$[0072] \quad \gamma = \gamma^d + \gamma^p \quad (1)$$

[0073] 此外,Kaelble-Uy的理论式中,将液体的表面自由能设为 γ_l (mJ/m^2),固体的表面自由能设为 γ_s (mJ/m^2),接触角设为 θ ($^\circ$)时,下述式(2)成立。

[0074] [数学式2]

$$[0075] \quad \gamma_l (1 + \cos \theta) = 2\sqrt{\gamma_s^d \gamma_l^d} + 2\sqrt{\gamma_s^p \gamma_l^p} \quad (2)$$

[0076] 因此,可使用液体的表面自由能 γ_l 已知的2种液体,测定各自对于由细胞培养用支架材料形成的树脂膜的接触角 θ ,解出 γ_s^d 和 γ_s^p 的联立方程式,求得由细胞培养用支架材料形成的树脂膜的表面自由能的色散项成分 γ^d 和偶极成分 γ^p 。

[0077] 需要说明的是,本说明书中,作为所述表面自由能 γ_l 已知的2种所述液体,使用了纯水和二碘甲烷。

[0078] 接触角 θ ,使用接触角计(例如,协和界面化学公司制“DMo-701”),通过下述方式进行测定。

[0079] 向由细胞培养用支架材料形成的树脂膜的表面滴加 $1\mu\text{L}$ 纯水或二碘甲烷。将滴加起30秒后纯水与树脂膜所成的角设为对于纯水的接触角 θ 。此外,同样地,将滴加起30秒后二碘甲烷与树脂膜所成的角设为对于二碘甲烷的接触角 θ 。

[0080] 通过提高合成树脂中的疏水性官能团的含有率,提高具有环状结构的官能团的含有率,或降低丁基的含有率,从而能够降低所述表面自由能的色散项成分 γ^d 。此外,通过提高合成树脂中的亲水性官能团的含有率,或提高丁基的含有率,从而能够降低所述表面自由能的偶极成分 γ^p 。

[0081] 本发明的由细胞培养用支架材料形成的树脂膜中, 100°C 下的储能弹性模量为优选为 $0.6 \times 10^4\text{Pa}$ 以上,更优选为 $0.8 \times 10^4\text{Pa}$ 以上,进一步优选为 $1.0 \times 10^4\text{Pa}$ 以上,优选为 $1.0 \times 10^8\text{Pa}$ 以下,更优选为 $0.8 \times 10^8\text{Pa}$ 以下,进一步优选为 $1.0 \times 10^7\text{Pa}$ 以下。

[0082] 特别是,本发明的由细胞培养用支架材料形成的树脂膜在 25°C 下的储能弹性模量与 100°C 下的储能弹性模量的比((25°C 下的储能弹性模量)/(100°C 下的储能弹性模量))优选为 1.0×10^1 以上,更优选为 5.0×10^1 以上,进一步优选为 8.0×10^2 以上,并且优选为 1.0×10^5 以下,更优选为 0.75×10^5 以下,进一步优选为 0.5×10^5 以下。通过将储能弹性模量设为所述范围内,能够进一步提高接种后细胞的固定性。

[0083] 需要说明的是, 25°C 和 100°C 的储能弹性模量,例如,可通过动态粘弹性测定装置(IT计测控制公司制,DVA-200)在拉伸条件下,以频率 10Hz ,以升温速度 $5^\circ\text{C}/\text{分钟}$ 在 $-150^\circ\text{C} \sim 150^\circ\text{C}$ 的温度范围进行测定。根据得到的拉伸储能弹性模量的图表,求得 25°C 和 100°C 下的储能弹性模量,计算 25°C 储能弹性模量/ 100°C 储能弹性模量。使用长度 50mm 、宽度 $5 \sim 20\text{mm}$ 、厚度 $0.1 \sim 1.0\text{mm}$ 的测定样品,在 10Hz ,应变 0.1% ,温度 $-150^\circ\text{C} \sim 150^\circ\text{C}$ 和升温速度 5

°C/min的条件下进行。

[0084] 所述25°C和100°C的储能弹性模量,例如,可通过提高所述合成树脂中的交联度,拉伸所述合成树脂等来提高。此外,所述25°C和100°C的储能弹性模量,可通过降低所述合成树脂中数均分子量,降低玻璃化转变温度等来降低。

[0085] 本发明的由细胞培养用支架材料形成的树脂膜,水溶胀倍率优选为50%以下,更优选为40%以下。该情况下,能够进一步提高接种后细胞的固定性。需要说明的是,水溶胀倍率的下限值没有特别限定,例如,可设为0.5%。水溶胀倍率,可以下述方式测定。例如,将长度50mm、宽度10mm、厚度0.05mm~0.15mm的由细胞培养用支架材料形成的树脂膜(测定样品)浸渍于25°C的水中24小时。测定浸渍前后样品的重量,计算水溶胀倍率=(浸渍后的样品重量-浸渍前的样品重量)/(浸渍前的样品重量)×100(%)。

[0086] 所述水溶胀倍率,例如,可通过增加所述合成树脂的疏水性官能团,降低数均分子量等来降低。

[0087] (合成树脂)

[0088] 细胞培养用支架材料包含合成树脂(以下,有时记载为合成树脂X)。合成树脂X的主链优选为碳链。需要说明的是,本说明书中,“结构单元”是指,构成合成树脂的单体的重复单元。需要说明的是,在合成树脂具有接枝链的情况下,包含构成该接枝链的单体的重复单元。

[0089] 合成树脂X不具有肽部的情况下,合成树脂X优选具有阳离子性官能团。在合成树脂X具有肽部的情况下,具有肽部的合成树脂X,在该肽部以外的结构部分中,可具有或不具有阳离子性官能团。作为阳离子性官能团,可举出:具有氨基、亚氨基、酰胺基等的结构的取代基。例如,没有特别限定,可举出:羟氨基、脲基、胍、双缩胍等的共轭胺类官能团、哌嗪、哌啶、四氢吡咯、1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷、六亚甲基四胺、吗啉、吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪、吡咯、氮杂环庚三烯、吡啶酮、咪唑、苯并咪唑、苯并三唑、吡唑、噁唑、咪唑啉、三唑、噻唑、噻嗪、四唑、吡啶、异吡啶、嘌呤、喹啉、异喹啉、喹唑啉、喹喔啉、噌啉、蝶啶、咪唑、吡啶、腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶、三聚氰胺等的杂环氨基类官能团、卟啉、二氢卟吩、胆碱等的环状吡咯类官能团和它们的衍生物等。这些阳离子性官能团,可以单独使用1种,或组合使用多种。

[0090] 本发明中,合成树脂X的结构单元中包含的阳离子性官能团的含量优选为0.2摩尔%以上,优选为2摩尔%以上,更优选为3摩尔%以上,并且为50摩尔%以下,优选为10摩尔%以下,更优选为7摩尔%以下。通过在这样的范围内使用含有阳离子性官能团的合成树脂X,能够进一步提高接种后细胞的固定性,能够进一步提高细胞的增殖率。需要说明的是,阳离子性官能团的含量,例如,可通过¹H-NMR(核磁共振谱)进行测定。

[0091] (乙烯基聚合物)

[0092] 合成树脂X优选包含乙烯基聚合物,更优选为乙烯基聚合物。需要说明的是,乙烯基聚合物是指,具有乙烯基或亚乙烯基的化合物的聚合物。在所述合成树脂X为乙烯基聚合物的情况下,能够进一步抑制水中的细胞培养用支架材料的溶胀。作为乙烯基聚合物,例如,可举出:聚乙烯醇衍生物、聚(甲基)丙烯酸酯、聚乙烯基吡咯烷酮、聚苯乙烯、乙烯·乙酸乙烯酯共聚物等。此外,作为乙烯基聚合物,从易于提高与细胞的粘接性的观点出发,优选为聚乙烯醇衍生物或聚(甲基)丙烯酸酯。

[0093] (具有聚乙烯醇缩醛骨架的合成树脂X)

[0094] 细胞培养用支架材料,优选包含具有聚乙烯醇缩醛骨架的合成树脂X。本发明中,具有聚乙烯醇缩醛骨架的合成树脂X,优选为聚乙烯醇缩醛树脂的结构单元与乙烯基化合物和/或亚乙烯基化合物的共聚物。乙烯基化合物是具有乙烯基($H_2C=CH-$)的化合物。亚乙烯基化合物是具有亚乙烯基($H_2C=CR-$)的化合物。乙烯基化合物或亚乙烯基化合物可以为作为其聚合物的乙烯基聚合物。需要说明的是,以下的说明中,有时将与聚乙烯醇缩醛树脂共聚的乙烯基化合物、亚乙烯基化合物和乙烯基聚合物总称为“乙烯基化合物A”。

[0095] 本发明中,所述共聚物可以为聚乙烯醇缩醛树脂与乙烯基化合物A的嵌段共聚物,或乙烯基化合物A接枝至聚乙烯醇缩醛树脂而得到的接枝共聚物。所述共聚物优选为接枝共聚物。该情况下,能够进一步容易地形成相分离结构。

[0096] 作为所述乙烯基化合物和亚乙烯基化合物,可举出:乙烯、烯丙胺、乙烯基吡咯烷酮、马来酸酐、马来酰亚胺、衣康酸、(甲基)丙烯酸、乙烯胺和(甲基)丙烯酸酯等。这些乙烯基化合物,可以仅使用一种,或组合使用2种以上。因此,可以为这些乙烯基化合物共聚得到的乙烯基聚合物。

[0097] 所述共聚物中,聚乙烯醇缩醛树脂与乙烯基化合物A的SP值的差优选为0.5以上。该情况下,能够进一步容易地形成相分离结构。聚乙烯醇缩醛树脂与乙烯基化合物A的SP值的差,更优选为1.0以上。需要说明的是,SP值的差的上限值,没有特别限定,例如,可设为10.0。

[0098] 所述共聚物中,第1相优选为聚乙烯醇缩醛树脂,第2相优选为乙烯基化合物A。优选通过所述共聚物的聚乙烯醇缩醛树脂部分形成第1相,通过乙烯基化合物A部分形成第2相。该情况下,优选聚乙烯醇缩醛树脂的第1相为海部,乙烯基化合物A的第2相为岛部。但是,可以是乙烯基化合物A的第1相为海部,聚乙烯醇缩醛树脂的第2相为岛部。

[0099] 共聚物中的乙烯基化合物A的含有分数(摩尔/摩尔)优选为0.015以上,更优选为0.3以上,优选为0.95以下,更优选为0.90以下,进一步优选为0.70以下。所述含有分数为所述下限以上的情况下,能够进一步容易地形成相分离结构。所述含有分数为所述上限以下的情况下,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0100] <聚乙烯醇缩醛树脂>

[0101] 以下,对于聚乙烯醇缩醛树脂(共聚物的聚乙烯醇缩醛树脂部分)更详细地进行说明。

[0102] 聚乙烯醇缩醛树脂在侧链具有缩醛基、乙酰基、羟基。

[0103] 聚乙烯醇缩醛树脂的合成方法至少具备:通过醛使聚乙烯醇进行缩醛化的工序。

[0104] 用于得到聚乙烯醇缩醛树脂的聚乙烯醇的缩醛化中使用的醛,没有特别限定。作为醛,例如,可举出碳原子数为1~10的醛。醛可具有链状脂肪族基团、环状脂肪族基团或芳香族基团。醛可以为链状醛或环状醛。

[0105] 作为所述醛,可举出: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、肉桂醛、紫苏醛、甲酰基吡啶、甲酰基咪唑、甲酰基吡咯、甲酰基哌啶、甲酰基三唑、甲酰基四唑、甲酰基吡啶、甲酰基异吡啶、甲酰基嘌呤、甲酰基苯并咪唑、甲酰基苯并三唑、甲酰基喹啉、甲酰基异喹啉、甲酰基喹啉、甲酰基肉桂啉、甲酰基喋啶、甲酰基咪喃、甲酰基氧杂环戊烷、甲酰基噁烷、甲酰基噻吩、甲酰基四氢噻吩、甲酰基硫化环戊烷、甲

酰基腺嘌呤、甲酰基鸟嘌呤、甲酰基胞嘧啶、甲酰基胸腺嘧啶或甲酰基尿嘧啶等。所述醛可以仅使用一种,也可以组合使用两种以上。

[0106] 醛优选为甲醛、乙醛、丙醛、丁醛或戊醛,更优选为丁醛。因此,聚乙烯醇缩醛骨架优选为聚乙烯醇缩丁醛骨架。聚乙烯醇缩醛树脂优选为聚乙烯醇缩丁醛树脂。

[0107] 从进一步提高细胞的粘接性的观点出发,聚乙烯醇缩醛树脂优选具有布朗斯特碱性基团或布朗斯特酸性基团,更优选具有布朗斯特碱性基团。即,优选聚乙烯醇缩醛树脂的一部分通过布朗斯特碱性基团或布朗斯特酸性基团而改性,更优选聚乙烯醇缩醛树脂的一部分通过布朗斯特碱性基团而改性。

[0108] 布朗斯特碱性基团是可从其他物质接受氢离子 H^+ 的官能团的总称。作为布朗斯特碱性基团,可举出:具有亚胺结构的取代基、具有酰亚胺结构的取代基、具有胺结构的取代基或具有酰胺结构的取代基等的胺类碱性基团。布朗斯特碱性基团,没有特别限定,例如,可举出:羟氨基、脲基、胍、双缩脲等的共轭胺类官能团、哌嗪、哌啶、四氢吡咯、1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷、六亚甲基四胺、吗啉、吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪、吡咯、氮杂环庚三烯、吡啶酮、咪唑、苯并咪唑、苯并三唑、吡唑、噁唑、咪唑啉、三唑、噻唑、噻吩、四唑、吡啶、异吡啶、嘌呤、喹啉、异喹啉、喹唑啉、喹喔啉、噌啉、蝶啶、咪唑、吡啶、腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶、三聚氰胺等的杂环氨基类官能团、卟啉、二氢卟吩、胆碱等的环状吡咯类官能团、或它们的衍生物等。

[0109] 作为布朗斯特酸性基团,可举出:羧基、磺酸基、马来酸基、亚磺酸基、次磺酸基、磷酸基、膦酸基或这些的盐等。布朗斯特酸性基团优选为羧基。

[0110] 聚乙烯醇缩醛树脂优选含有:具有亚胺结构的结构单元、具有酰亚胺结构的结构单元、具有胺结构的结构单元或具有酰胺结构的结构单元。该情况下,可以仅具有这些结构单元中的1种,也可以具有2种以上。

[0111] 聚乙烯醇缩醛树脂可含有具有亚胺结构的结构单元。亚胺结构是指,具有 $C=N$ 键的结构。特别是,聚乙烯醇缩醛树脂优选在侧链具有亚胺结构。

[0112] 聚乙烯醇缩醛树脂,可含有具有酰亚胺结构的结构单元。具有酰亚胺结构的结构单元,优选为具有亚氨基($=NH$)的结构单元。

[0113] 聚乙烯醇缩醛树脂优选在侧链具有亚氨基。该情况下,亚氨基可以与聚乙烯醇缩醛树脂的构成主链的碳原子直接键合,也可以介由亚烷基等的连接基团与主链键合。

[0114] 聚乙烯醇缩醛树脂,可含有具有胺结构的结构单元。所述胺结构中的胺基,可以为伯胺基、仲胺基、叔胺基、季胺基。

[0115] 具有胺结构的结构单元,可以为具有酰胺结构的结构单元。所述酰胺结构是指,具有 $-C(=O)-NH-$ 的结构。

[0116] 聚乙烯醇缩醛树脂,优选在侧链具有胺结构或酰胺结构。该情况下,胺结构或酰胺结构,可以与构成聚乙烯醇缩醛树脂的主链的碳原子直接键合,也可以介由亚烷基等的连接基团与主链键合。

[0117] 需要说明的是,具有亚胺结构的结构单元的含有率、具有酰亚胺结构的结构单元的含有率、具有胺结构的结构单元的含有率、具有酰胺结构的结构单元的含有率,可通过 ^1H-NMR (核磁共振谱)测定。

[0118] <乙烯基化合物A>

[0119] 以下,对于乙烯基化合物A更详细地进行说明。

[0120] 乙烯基化合物A优选为(甲基)丙烯酸酯或聚(甲基)丙烯酸酯树脂。特别是,合成树脂X优选为(甲基)丙烯酸酯或作为其聚合物的聚(甲基)丙烯酸酯树脂接枝共聚到聚乙烯醇缩醛树脂而得到的共聚物。

[0121] 聚(甲基)丙烯酸酯树脂可通过(甲基)丙烯酸酯的聚合、或(甲基)丙烯酸酯与所述其他单体的聚合而得到。

[0122] 作为(甲基)丙烯酸酯,可举出:(甲基)丙烯酸烷基酯、(甲基)丙烯酸环状烷基酯、(甲基)丙烯酸芳基酯、(甲基)丙烯酰胺类、(甲基)丙烯酸聚乙二醇类、(甲基)丙烯酸磷酸胆碱等。

[0123] 作为(甲基)丙烯酸烷基酯,可举出:(甲基)丙烯酸甲酯、(甲基)丙烯酸乙酯、(甲基)丙烯酸正丙酯、(甲基)丙烯酸异丙酯、(甲基)丙烯酸正丁酯、(甲基)丙烯酸异丁酯、(甲基)丙烯酸叔丁酯、(甲基)丙烯酸正辛酯、(甲基)丙烯酸异辛酯、(甲基)丙烯酸2-乙基己酯、(甲基)丙烯酸壬酯、(甲基)丙烯酸异壬酯、(甲基)丙烯酸癸酯、(甲基)丙烯酸异癸酯、(甲基)丙烯酸月桂酯、(甲基)丙烯酸硬脂酯、(甲基)丙烯酸异十四烷基酯等。

[0124] 需要说明的是,(甲基)丙烯酸烷基酯可取代有碳原子数1~3的烷氧基、四氢糠基等各种取代基。作为这样的(甲基)丙烯酸烷基酯的例子,可举出:丙烯酸甲氧基乙酯、丙烯酸四氢糠酯等。

[0125] 作为(甲基)丙烯酸环烷基酯,可举出:(甲基)丙烯酸环己酯、(甲基)丙烯酸异冰片酯等。

[0126] 作为(甲基)丙烯酸芳基酯,可举出:(甲基)丙烯酸苯酯、(甲基)丙烯酸苄酯等。

[0127] 作为(甲基)丙烯酰胺类,可举出:(甲基)丙烯酰胺、N-异丙基(甲基)丙烯酰胺、N-叔丁基(甲基)丙烯酰胺、N,N'-二甲基(甲基)丙烯酰胺、(3-(甲基)丙烯酰胺丙基)三甲基氯化铵、4-(甲基)丙烯酰基吗啉、3-(甲基)丙烯酰基-2-噁唑烷酮、N-[3-(二甲基氨基)丙基](甲基)丙烯酰胺、N-(2-羟基乙基)(甲基)丙烯酰胺、N-羟甲基(甲基)丙烯酰胺、6-(甲基)丙烯酰胺己酸等。

[0128] 作为聚乙二醇(甲基)丙烯酸酯类,例如可举出: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、羟基-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、羟基-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、羟基-三乙二醇(甲基)丙烯酸酯等。

[0129] 作为(甲基)丙烯酸磷酸胆碱,可举出2-(甲基)丙烯酰氧基乙基磷酸胆碱等。

[0130] 作为与(甲基)丙烯酸酯共聚的其他单体,适宜使用乙烯基化合物。作为乙烯基化合物,可举出:乙烯、烯丙胺、乙烯基吡咯烷酮、乙烯基咪唑、马来酸酐、马来酰亚胺、衣康酸、(甲基)丙烯酸、乙烯胺或(甲基)丙烯酸酯等。乙烯基化合物,可以仅使用一种,或组合使用2种以上。

[0131] 需要说明的是,本说明书中,“(甲基)丙烯酸”是指“丙烯酸”或“甲基丙烯酸”,“(甲基)丙烯酸酯”是指“丙烯酸酯”或“甲基丙烯酸酯”。

[0132] 需要说明的是,本发明中,只要能够形成本发明的相分离结构,合成树脂X就可以为具有聚(甲基)丙烯酸酯骨架的树脂与其他乙烯基化合物的共聚物。

[0133] 该情况下的其他乙烯基化合物,可使用:乙烯、烯丙胺、乙烯基吡咯烷酮、马来酸酐、马来酰亚胺、衣康酸、(甲基)丙烯酸、乙烯胺或SP值不同的其他(甲基)丙烯酸酯等。

[0134] (具有肽部的合成树脂X)

[0135] 细胞培养用支架材料优选包含具有肽部的合成树脂X。具有肽部的合成树脂X可通过使合成树脂X、接头、肽反应而得到。具有肽部的合成树脂X,优选为具有聚乙烯醇缩醛树脂部、接头部、肽部的含肽聚乙烯醇缩醛树脂,更优选为具有聚乙烯醇缩丁醛树脂部、接头部、肽部的含肽聚乙烯醇缩丁醛树脂。具有肽部的合成树脂X,可以仅使用一种,或组合使用2种以上。

[0136] 所述肽部,优选由3个以上的氨基酸构成,更优选由4个以上的氨基酸构成,进一步优选由5个以上的氨基酸构成,并且优选由10个以下的氨基酸构成,更优选由6个以下的氨基酸构成。构成所述肽部的氨基酸的个数为所述下限以上和所述上限以下时,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0137] 所述肽部优选具有细胞粘接性的氨基酸序列。需要说明的是,细胞粘接性的氨基酸序列是指,通过噬菌体展示法、琼脂糖珠法或平板涂布法确认了细胞粘接活性的氨基酸序列。作为所述噬菌体展示法,例如,可使用“The Journal of Cell Biology, Volume 130, Number 5, September 1995 1189-1196”所述的方法。作为所述琼脂糖珠法,例如可使用“蛋白质核酸酶Vol. 45No. 15 (2000) 2477”所述的方法。作为所述平板涂布法,例如可使用“蛋白质核酸酶Vol. 45No. 15 (2000) 2477”所述的方法。

[0138] 作为所述细胞粘接性的氨基酸序列,例如,可举出: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)、和TDE序列(Thr-Asp-Glu)等。此外,作为所述细胞粘接性的氨基酸序列,可举出:“病态生理,第9卷第7号,527~535页,1990年”和“大阪府立母子医疗中心杂志,第8卷第1号,58~66页,1992年”中记载的序列等。所述肽部可以仅具有1种所述细胞粘接性的氨基酸序列,也可以具有两种以上。

[0139] 所述细胞粘接性的氨基酸序列优选具有上述细胞粘接性的氨基酸序列中的至少一者,更优选至少具有RGD序列、YIGSR序列或PDSGR序列,进一步优选至少具有下述式(1)表示的RGD序列。在这种情况下,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。

[0140] Arg-Gly-Asp-X... 式(1)

[0141] 所述式(1)中,X表示Gly、Ala、Val、Ser、Thr、Phe、Met、Pro或Asn。

[0142] 所述肽部可以为直链状,也可以具有环状肽骨架。所述环状肽骨架是指,由多个氨基酸构成的环状骨架。从进一步有效地发挥本发明的效果的观点出发,所述环状肽骨架优选由4个以上的氨基酸构成,优选由5个以上的氨基酸构成,优选由10个以下的氨基酸构成。

[0143] 具有肽部的合成树脂X中,所述肽部的含有率优选为0.1摩尔%以上,更优选为1摩尔%以上,进一步优选为5摩尔%以上,特别优选为10摩尔%以上。具有肽部的合成树脂X中,所述肽部的含有率优选为60摩尔%以下,更优选为50摩尔%以下,进一步优选为35摩尔%以下,特别优选为25摩尔%以下。所述肽部的含有率为所述下限以上时,能够进一步容

易地形成相分离结构。所述肽部的含有率为所述下限以上时,能够进一步提高接种后与细胞的粘接性,能够进一步提高细胞的增殖率。此外,所述肽部的含有率为所述上限以下时,能够抑制制造成本。需要说明的是,所述肽部的含有率(摩尔%)是所述肽部的物质量相对于构成具有肽部的合成树脂X的各结构单元的物质量的总和的比。

[0144] 所述肽部的含有率可通过FT-IR或LC-MS测定。

[0145] 从进一步提高接种后与细胞的粘接性观点和进一步提高细胞的增殖率观点出发,具有肽部的合成树脂X中,优选第2相具有肽部,更优选该肽部具有所述细胞粘接性的氨基酸序列。优选由具有肽部的合成树脂X的肽部部分形成第2相。该情况下,具有肽部的第2相优选为岛部。但是,第1相可以具有肽部,具有肽部的第2相可以为海部。

[0146] 具有肽部的合成树脂X中,合成树脂X部分和肽部优选经由接头而键合。即,具有肽部的合成树脂X优选为具有肽部和接头部的合成树脂X。所述接头,可以仅使用一种,或组合使用2种以上。

[0147] 所述接头优选为具有可与所述肽的羧基或氨基缩合的官能团的化合物。作为可与所述肽的羧基或氨基缩合的官能团,可举出羧基、硫醇基和氨基等。从良好地与肽反应的观点出发,所述接头优选为具有羧基的化合物。作为所述接头,可使用所述乙烯基化合物A。

[0148] 作为所述具有羧基的接头,可举出(甲基)丙烯酸和含羧基丙烯酰胺等。通过使用具有聚合性不饱和基团的羧酸(羧酸单体)作为所述具有羧基的接头,能够在接头与合成树脂X反应时通过接枝聚合使该羧酸单体聚合,因此能够提高可与肽反应的羧基的数量。

[0149] [细胞培养用支架材料]

[0150] 细胞培养用支架材料包含所述合成树脂X。从有效地发挥本发明的效果的观点和提高生产性的观点出发,所述细胞培养用支架材料100重量%中,所述合成树脂X的含量优选为90重量%以上,更优选为95重量%以上,进一步优选为97.5重量%以上,特别优选为99重量%以上,最优选为100重量%(总量)。因此,所述细胞培养用支架材料最优选为所述合成树脂X。所述合成树脂X的含量为所述下限以上时,能够进一步有效地发挥本发明的效果。

[0151] 所述细胞培养用支架材料,可包含所述合成树脂X以外的成分。作为所述合成树脂X以外的成分,可举出:聚烯烃树脂、聚醚树脂、聚乙烯醇树脂、聚酯、环氧树脂、聚酰胺树脂、聚酰亚胺树脂、聚氨酯树脂、聚碳酸酯树脂、多糖类、纤维素、多肽、合成肽等。

[0152] 从有效地发挥本发明的效果的观点出发,所述合成树脂X以外的成分的含量越少越好。所述细胞培养用支架材料100重量%中,该成分的含量优选为10重量%以下,更优选为5重量%以下,进一步优选为2.5重量%以下,特别优选为1重量%以下,最优选为0重量%(不含有)。因此,细胞培养用支架材料最优选不包含合成树脂X以外的成分。

[0153] 所述细胞培养用支架材料优选实际上不包含动物来源的原料。由于不包含动物来源的原料,因此能够提供安全性较高并且制造时品质的不均较少的细胞培养用支架材料。需要说明的是,“实际上不包含动物来源的原料”是指,细胞培养用支架材料中的动物来源的原料为3重量%以下。所述细胞培养用支架材料中,细胞培养用支架材料中的动物来源的原料优选为1重量%以下,更优选为0重量%。即,所述细胞培养用支架材料,更优选完全不包含动物来源的原料。

[0154] (使用了细胞培养用支架材料的细胞培养)

[0155] 所述细胞培养用支架材料用于培养细胞。所述细胞培养用支架材料,用作培养细

胞时该细胞的支架。因此,本发明的由细胞培养用支架材料形成的树脂膜用于培养细胞,并且用作培养细胞时该细胞的支架。

[0156] 作为所述细胞,可举出:人、小鼠、大鼠、猪、牛和猴等的动物细胞。此外,作为所述细胞,可举出体细胞等,例如可举出干细胞、祖细胞和成熟细胞等。所述体细胞可以为癌细胞。

[0157] 作为所述成熟细胞,可举出神经细胞、心肌细胞、视网膜细胞和肝细胞等。

[0158] 作为所述干细胞,可举出:间充质干细胞(MSC)、iPS细胞、ES细胞、Muse细胞、胚胎癌症细胞、胚胎生殖干细胞和mGS细胞等。

[0159] (细胞培养用支架材料的形状)

[0160] 本发明的树脂膜由细胞培养用支架材料而形成。所述树脂膜使用细胞培养用支架材料而形成。所述树脂膜优选为膜状的细胞培养用支架材料。所述树脂膜优选为细胞培养用支架材料的膜状物。

[0161] 本说明书中,提供包含所述细胞培养用支架材料的粒子、纤维、多孔体或膜。该情况下,所述细胞培养用支架材料的形状没有特别限定,可以为粒子、纤维、多孔体、膜。需要说明的是,所述粒子、纤维、多孔体或膜可包含所述细胞培养用支架材料以外的构成要素。

[0162] 包含所述细胞培养用支架材料的膜,优选用于平面培养(二维培养)细胞。此外,包含所述细胞培养用支架材料的粒子、纤维或多孔体,优选用于三维培养细胞。

[0163] (细胞培养用载体)

[0164] 本发明涉及,所述树脂膜配置在载体的表面上的细胞培养用载体。本发明的细胞培养用载体,例如,可通过将所述树脂膜通过涂布等配置在载体的表面上而得到。所述载体的形状可以为粒子、纤维、多孔体或膜。即,本发明的细胞培养用载体可具有粒子、纤维、多孔体或膜的形状。需要说明的是,本发明的细胞培养用载体可包含所述载体和所述树脂膜以外的构成要素。

[0165] (细胞培养用容器)

[0166] 本发明涉及,在细胞的培养区域的至少一部分具备所述树脂膜的细胞培养用容器。图1是示意性地表示本发明的一实施方式的细胞培养用容器的截面图。

[0167] 细胞培养用容器1具备:容器主体2、由细胞培养用支架材料形成的树脂膜3。树脂膜3配置在容器主体2的表面2a上。树脂膜3配置在容器主体2的底面上。向细胞培养用容器1添加液体培养基,并且将细胞接种至树脂膜3的表面,而能够平面培养细胞。

[0168] 需要说明的是,容器主体可以具备:第1容器主体、该第1容器主体的底面上的盖玻片等第2容器主体。第1容器主体与第2容器主体可以为可分离的。该情况下,可以在第2容器主体的表面上配置由该细胞培养用支架材料形成的树脂膜。

[0169] 作为所述容器主体,可使用以往公知的容器主体(容器)。所述容器主体的形状和尺寸没有特别限定。

[0170] 作为所述容器主体,可举出具备1个或多个孔穴(穴)的细胞培养用板和细胞培养用烧瓶等。所述板的孔穴数没有特别限定。作为该孔穴数,没有特别限定,例如,可举出:2、4、6、12、24、48、96、384等。作为所述孔穴的形状,没有特别限定,可举出:正圆、椭圆、三角形、正方形、长方形、五方形等。作为所述孔穴底面的形状,没有特别限定,可举出:平底、圆底、凹凸等。

[0171] 所述容器主体的材质没有特别限定,可举出树脂、金属和无机材料。作为所述树脂,可举出:聚苯乙烯、聚乙烯、聚丙烯、聚碳酸酯、聚酯、聚异戊二烯、环烯烃聚合物、聚酰亚胺、聚酰胺、聚酰胺酰亚胺、(甲基)丙烯酸类树脂、环氧树脂、聚硅氧烷等。作为所述金属,可举出:不锈钢、铜、铁、镍、铝、钛、金、银、铂等。作为所述无机材料,可举出:氧化硅(玻璃)、氧化铝、氧化钛、氧化锆、氧化铁、氮化硅等。

实施例

[0172] 接下来,举出本发明的具体的实施例和比较例来阐明本发明。需要说明的是,本发明不限于以下的实施例。

[0173] 作为细胞培养用支架材料的原料,合成以下的合成树脂。

[0174] (实施例1)

[0175] 向具备搅拌装置的反应机中投入离子交换水2700mL、平均聚合度1700、皂化度98摩尔%的聚乙烯醇300重量份,在搅拌的同时加热溶解,得到溶液。向得到的溶液中,作为催化剂,以使得盐酸浓度为0.2重量%的方式添加35重量%盐酸。接着,将温度调整为15℃,在搅拌的同时添加正丁醛22重量份。接着,添加正丁醛148重量份,析出白色粒子状的聚乙烯醇缩丁醛树脂。析出15分钟后,以使得盐酸浓度为1.8重量%的方式添加35重量%盐酸后,加热至50℃,在50℃下保持2小时。接着,冷却溶液,中和后,水洗,干燥,而得到作为聚乙烯醇缩醛树脂的聚乙烯醇缩丁醛树脂(PVB,SP值:9.9)。将得到的聚乙烯醇缩丁醛树脂90重量份以成为1重量%的溶液的方式溶解在四氢呋喃中,添加作为引发剂的Irgacure184 5重量份、N-乙烯基吡咯烷酮(SP值:11.7)2重量份和甲基丙烯酸正月桂酯(SP值:8.2)8重量份,进行接枝聚合,而得到合成树脂。得到的合成树脂具有:缩醛化度(缩丁醛化度)69摩尔%,羟基量27.5摩尔%,乙酰化度2.0摩尔%,乙烯基吡咯烷酮基的含有率0.3摩尔%,甲基丙烯酸正月桂酯部的含有率1.2摩尔%。

[0176] (实施例2~11和比较例1)

[0177] 变更聚乙烯醇缩丁醛树脂、N-乙烯基吡咯烷酮和甲基丙烯酸正月桂酯的重量比例,除此之外,以与实施例1同样的方式得到合成树脂。实施例2~11和比较例1中得到的合成树脂的缩醛化度(缩丁醛化度)、羟基量、乙酰化度、乙烯基吡咯烷酮基的含有率、甲基丙烯酸正月桂酯部的含有率如表1、表2和表4表示。

[0178] (实施例12)

[0179] 向具备搅拌装置的反应机中投入离子交换水2700mL、平均聚合度1700、皂化度99摩尔%的聚乙烯醇300重量份,在搅拌的同时加热溶解,得到溶液。向得到的溶液中,作为催化剂,以使得盐酸浓度为0.2重量%的方式添加35重量%盐酸。接着,将温度调整为15℃,在搅拌的同时添加正丁醛22重量份。接着,添加正丁醛148重量份,析出白色粒子状的聚乙烯醇缩醛树脂(聚乙烯醇缩丁醛树脂)。析出15分钟后,以使得盐酸浓度为1.8重量%的方式添加35重量%盐酸后,加热至50℃,在50℃下保持2小时。接着,冷却溶液,中和后,将聚乙烯醇缩丁醛树脂水洗,干燥,得到聚乙烯醇缩醛树脂(聚乙烯醇缩丁醛树脂,平均聚合度1700,缩醛化度(缩丁醛化度)70摩尔%,羟基量27摩尔%,乙酰化度3摩尔%)。

[0180] 接头的导入:

[0181] 将得到的聚乙烯醇缩醛树脂99重量份、丙烯酸(接头)1重量份溶解在TH F300重量

份中,在光自由基聚合引发剂的存在下、紫外线照射下反应20分钟,使聚乙烯醇缩醛树脂和丙烯酸进行接枝共聚,从而导入接头。将导入有接头的聚乙烯醇缩醛树脂1重量份溶解在丁醇19重量份中。将得到的溶液150 μ L投至用除尘器进行了除尘的 ϕ 22mm的盖玻片(松浪公司制“22丸No.1”)的表面上,使用旋涂机以2000rpm旋转20秒后,在60 $^{\circ}$ C下加热60分钟,得到表面平滑的树脂膜。

[0182] 肽部的形成:

[0183] 准备具有Gly-Arg-Gly-Asp-Ser的氨基酸序列的直链状的肽(氨基酸残基数5个,表中记载为GRGDS)。将该肽10重量份、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(缩合剂)1重量份以使得该肽的终浓度为1mM的方式添加至不包含钙和镁这两者的磷酸缓冲生理盐水中,制备含肽液。将该含肽液1重量份添加至旋涂得到的树脂膜(形成有接头的聚乙烯醇缩醛树脂),进行反应,使接头的羧基和肽的Gly的氨基发生脱水缩合。由此,制备具有聚乙烯醇缩醛树脂部、接头部、肽部的含肽聚乙烯醇缩醛树脂。

[0184] 得到的含肽聚乙烯醇缩醛树脂具有:缩醛化度(缩丁醛化度)69摩尔%,羟基量27摩尔%,乙酰化度3摩尔%,羧基的含有率0.1摩尔%,肽部的含有率1.0摩尔%。

[0185] (实施例13)

[0186] 接头的导入中,使用了85重量份的聚乙烯醇缩醛树脂和15重量份的丙烯酸(接头),肽的形成中,将肽的添加量变更为15重量份,除此之外,以与实施例12同样的方式,制备含肽聚乙烯醇缩醛树脂。

[0187] (实施例14)

[0188] 接头的导入中,使用了70重量份的聚乙烯醇缩醛树脂和30重量份的丙烯酸(接头),肽的形成中,将肽的添加量变更为30重量份,除此之外,以与实施例12同样的方式,制备含肽聚乙烯醇缩醛树脂。

[0189] (实施例15)

[0190] 接头的导入中,使用了67重量份的聚乙烯醇缩醛树脂和33重量份的丙烯酸(接头),肽的形成中,将肽的添加量变更为33重量份,除此之外,以与实施例12同样的方式,制备含肽聚乙烯醇缩醛树脂。

[0191] (实施例16)

[0192] 接头的导入中,使用了63重量份的聚乙烯醇缩醛树脂和37重量份的丙烯酸(接头),肽的形成中,将肽的添加量变更为37重量份,除此之外,以与实施例12同样的方式,制备含肽聚乙烯醇缩醛树脂。

[0193] (实施例17)

[0194] 接头的导入中,使用了30重量份的聚乙烯醇缩醛树脂和70重量份的丙烯酸(接头),肽的形成中,将肽的添加量变更为70重量份,除此之外,以与实施例12同样的方式,制备含肽聚乙烯醇缩醛树脂。

[0195] (比较例2)

[0196] 作为合成树脂,原样使用聚苯乙烯树脂。

[0197] (比较例3)

[0198] 向具备搅拌装置的反应机中投入离子交换水2700mL、平均聚合度1700、皂化度98摩尔%的聚乙烯醇300重量份,在搅拌的同时加热溶解,得到溶液。向得到的溶液中,作为催

化剂,以使得盐酸浓度为0.2重量%的方式添加35重量%盐酸。接着,将温度调整为15℃,在搅拌的同时添加正丁醛22重量份。接着,添加正丁醛148重量份,析出白色粒子状的聚乙烯醇缩丁醛树脂。析出15分钟后,以使得盐酸浓度为1.8重量%的方式添加35重量%盐酸后,加热至50℃,在50℃下保持2小时。接着,冷却溶液,中和后,水洗,干燥,从而得到聚乙烯醇缩丁醛树脂(SP值:9.9)。即,得到未共聚乙烯基化合物的聚乙烯醇缩丁醛树脂(合成树脂)。

[0199] (比较例4)

[0200] 将N-乙烯基吡咯烷酮17重量份和甲基丙烯酸正月桂酯83重量份混合,得到(甲基)丙烯酸单体溶液。在得到的(甲基)丙烯酸单体溶液中溶解Irgacure184(BASF公司制)1重量份,涂布在PET膜上。将涂布物在25℃下使用EYE GRAPHICS公司制,UV输送机装置“ECS301G1”,以累积光量2000mJ/cm²照射365nm的波长的光而得到聚(甲基)丙烯酸酯树脂溶液。将得到的聚(甲基)丙烯酸酯树脂溶液在80℃真空干燥3小时而得到作为聚(甲基)丙烯酸酯树脂的合成树脂。

[0201] (参考例A)

[0202] 天然物质来源的支架材料的制备:

[0203] 将在磷酸缓冲液(PBS)中调整为5μg/ml的Vitronectin(康宁公司制)溶液1ml添加至φ35mm皿中。向其中浸渍φ22mm的盖玻片(松浪公司制“22丸No.1”),在37℃下养护1小时而得到Vitronectin平滑地吸附在表面上的天然物质来源的支架材料(表中记载为VTN)。

[0204] 细胞培养用容器的制备:

[0205] 将Vitronectin与盖玻片的叠层体配置在φ22mm的聚苯乙烯皿而得到细胞培养用容器。需要说明的是,Vitronectin在干燥时会发生改性,使得粘接性能大幅降低,因此在细胞培养用容器的制备后立即浸渍在PBS溶液中。

[0206] [评价]

[0207] (缩醛化度和阳离子性基团改性度)

[0208] 实施例和比较例中得到的合成树脂的缩醛化度和阳离子性基团改性度,可通过将合成树脂溶解在DMSO-d₆(二甲亚砜)后,利用¹H-NMR(核磁共振谱)测定。

[0209] (储能弹性模量)

[0210] 各支架材料的25℃和100℃的储能弹性模量,通过动态粘弹性测定装置(IT计测控公司制,DVA-200)在拉伸条件下,以频率10Hz,在-150℃~150℃的温度范围以升温速度5℃/分钟进行测定。根据得到的拉伸储能弹性模量的图表,求得25℃和100℃下的储能弹性模量,并计算25℃储能弹性模量/100℃储能弹性模量。使用长度50mm、宽度5~20mm、厚度0.1~1.0mm的测定样品,在10Hz,应变0.1%,温度-150℃~150℃和升温速度5℃/min的条件进行。

[0211] (水溶胀倍率)

[0212] 将包含长度50mm、宽度10mm、厚度0.05mm~0.15mm的各支架材料的树脂膜(测定样品)在25℃的水中浸渍24小时。测定浸渍前后的样品的重量,计算水溶胀倍率=(浸渍后的样品重量-浸渍前的样品重量)/(浸渍前的样品重量)×100(%)。

[0213] (细胞培养用容器的制备)

[0214] 实施例1~11和比较例1~4的情况下,将得到的合成树脂1g溶解在丁醇19g,而得到树脂溶液。将得到的树脂溶液150μL排出至φ22mm的盖玻片(松浪公司制,22丸No.1用除

尘器除尘而使用)上,使用旋涂机以2000rpm旋转20秒而得到平滑的树脂膜。将得到的所述树脂膜与盖26玻片配置在 ϕ 22mm的聚苯乙烯皿而得到细胞培养用容器。实施例12~17的情况下,将得到的含肽聚乙烯醇缩醛树脂和盖玻片的叠层体配置在 ϕ 22mm的聚苯乙烯皿而得到细胞培养用容器。

[0215] (表面自由能)

[0216] 对于细胞培养用容器的制备一栏中得到的树脂膜的表面自由能,使用接触角计(协和界面化学公司制,DMo-701)测定。在树脂膜上滴加纯水1 μ L,拍摄30秒后的液滴图像而得到纯水的接触角。此外,在所述树脂膜上滴加二碘甲烷1 μ L,拍摄30秒后的液滴图像而得到二碘甲烷的接触角。根据得到的接触角,使用Kaelble-Uy的理论式来计算表面自由能的色散项成分 γ^d (dSFE)和作为极性项成分的偶极成分 γ^p (pSFE)。

[0217] (相分离参数)

[0218] 通过原子力显微镜(AFM,BRUKER公司制,商品编号“Dimension XR”)观察细胞培养用容器的制备的栏中得到的树脂膜。悬臂使用SCAN ASYST AIR。其结果,如图2表示的,在实施例3的树脂膜的情况下,观察到:作为第1相的聚乙烯醇缩丁醛树脂部形成海部,作为第2相的具有(甲基)丙烯酸酯和乙烯基化合物的树脂部(N-乙烯基吡咯烷酮和甲基丙烯酸正月桂酯的共聚物部)形成岛部的海岛结构。同样地,在实施例1~2、4~11的情况下,也观察到:作为第1相的聚乙烯醇缩丁醛树脂部形成海部,作为第2相的具有(甲基)丙烯酸酯和乙烯基化合物的树脂部(N-乙烯基吡咯烷酮和甲基丙烯酸正月桂酯的共聚物部)形成岛部的海岛结构。此外,在实施例12~17的情况下,也观察到:作为第1相的聚乙烯醇缩丁醛树脂部形成海部,作为第2相的肽部形成岛部的海岛结构。另一方面,在比较例1~4的情况下,未观察到相分离结构。

[0219] 此外,根据通过原子力显微镜而得到的图像,使用图像解析软件(ImageJ),通过所述方法而求得第2相相对于表面整体的表面积之比(相分离结构的表面积分数)、第2相的周长与面积之比(周长/面积)、作为岛部的第2相的个数(岛个数)和岛部的平均直径(平均岛尺寸)。

[0220] (细胞增殖率)

[0221] 在得到的细胞培养用容器中添加磷酸缓冲生理盐水1mL并在37 $^{\circ}$ C的孵化器内静置1小时后,除去培养容器内的磷酸缓冲生理盐水。在35mm皿中添加成为汇合状态的h-iPS细胞253G1的集落,接下来添加1mL的0.5mM乙二醇/磷酸缓冲溶液,在室温下静置2分钟。然后,除去乙二醇/磷酸缓冲溶液,利用1mL的TeSRE8培养基将通过移液而破碎为50~200 μ m的细胞块(0.5×10^5 cells)接种至培养容器。在培养基TeSR E8(STEMCELL公司制)1.7mL和ROCK-Inhibitor(Y27632)10 μ M的存在下,在37 $^{\circ}$ C和CO₂浓度5%的孵化器内进行培养。每24小时除去培养基1mL,添加新的TeSR E8 1mL,来进行培养基的交换。5日后,使用TryPLE Express剥离液1.0mL剥离固定细胞块,使用单元计数器(Nucleocounter NC-3000,Chemometec公司制)计算细胞数。

[0222] 使用下述式求得相对于参考例A的细胞增殖率。

[0223] 相对于参考例A的细胞增殖率(%) = (实施例·比较例中的细胞数) / (参考例A中的细胞数) \times 100

[0224] 对于细胞增殖率,基于以下的基准进行评价。

- [0225] [评价基准]
- [0226] AAA…相对于参考例A的细胞增殖率为70%以上
- [0227] AA…相对于参考例A的细胞增殖率为60%以上并且不足70%
- [0228] A…相对于参考例A的细胞增殖率为50%以上并且不足60%
- [0229] B…相对于参考例A的细胞增殖率为40%以上并且不足50%
- [0230] C…相对于参考例A的细胞增殖率为30%以上并且不足40%
- [0231] D…相对于参考例A的细胞增殖率不足30%
- [0232] 结果如下述的表1~4表示。
- [0233] [表1]

[0234]

		实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5	实施例 6
合成树脂	缩醛化度(mol%)	69.0	63.0	49.0	39.9	35.0	28.0
	羟基量(mol%)	27.5	25.2	19.6	16.0	14.0	11.2
	乙酐基量(mol%)	2.1	1.8	1.4	1.1	1.0	0.8
物理性质	N-乙烯基吡咯烷酮(mol%)	0.3	2.0	5.0	7.0	8.3	10.0
	甲基丙烯酸正月桂酯(mol%)	1.2	8.0	25.0	36.0	41.7	50.0
	25℃储能弹性模量(Pa)	2.2×10^9	1.8×10^9	1.9×10^9	1.3×10^9	9.6×10^8	9.0×10^8
相分离参数	100℃储能弹性模量(Pa)	2.7×10^6	2.7×10^6	3.0×10^6	4.7×10^6	4.6×10^6	4.2×10^6
	25℃储能弹性模量/100℃储能弹性模量	8.2×10^2	6.6×10^2	6.3×10^2	2.7×10^2	2.1×10^2	2.1×10^2
	水溶胀倍率(%)	15	16	18	15	10	11
培养评价	表面自由能	35.8	36	36.8	43.5	44.2	44.5
	极性项成分(pSFE)(mJ/m ²)	2.3	2	2.7	2.5	1.6	2
	非极性项成分(-)	0.015	0.1	0.3	0.43	0.5	0.6
细胞培养性能	相分离结构的表面积分数(-)	0.0800	0.0133	0.0160	0.0286	0.0333	0.0267
	周长/面积(1/mm)	2	2	4	10	70	60
	岛个数(个/μm ²)	50	300	250	140	120	150
评价	平均岛尺寸(nm)	30	33	51	69	65	55
	相对于参考例A的细胞增殖率(%)	C	C	A	AA	AA	A
		细胞培养性能					

[0235] [表2]

[0236]

	实施例 7	实施例 8	实施例 9	实施例 10	实施例 11
合成树脂	缩醛化度(mol%)	23.1	18.5	14.0	7.0
	羟基量(mol%)	10.0	6.0	5.5	2.7
	乙酰基量(mol%)	0.7	0.5	0.5	0.3
	N-乙烯基吡咯烷酮(mol%)	11.0	12.5	13.0	15.0
物理性质	甲基丙烯酸正月桂酯(mol%)	55.0	62.5	67.0	75.0
	25℃储能弹性模量(Pa)	9.2×10^8	8.0×10^8	6.0×10^8	4.8×10^8
	100℃储能弹性模量(Pa)	3.8×10^6	3.8×10^6	2.6×10^6	2.4×10^6
	25℃储能弹性模量/100℃储能弹性模量	2.4×10^2	2.1×10^2	2.3×10^2	2.0×10^2
相分离参数	水溶胀倍率(%)	12	10	9	10
	表面自由能	43.6	44.0	44.7	45.0
	色散项成分(dSFE)(mJ/m ²)	2.2	2.0	2.3	1.7
	极性项成分(pSFE)(mJ/m ²)	0.66	0.75	0.8	0.9
培养评价	相分离结构的表面积分数(-)	0.0160	0.0027	0.0016	0.0013
	周长/面积(1/mm)	20	2	4	2
	岛个数(个/ μm^2)	250	1500	2500	3000
培养评价	平均岛尺寸(nm)	61	41	48	35
	相对于参考例A的细胞增殖率(%)	AA	B	B	C
					C

[0237]

[表3]

[0238]

	实施例 12	实施例 13	实施例 14	实施例 15	实施例 16	实施例 17
合成树脂	缩醛化度(mol%)	69.3	64.3	64.0	57.5	54.0
	聚乙醇缩醛树脂	26.7	25.0	22.0	23.0	21.0
	羟基量(mol%)	2.9	3.0	3.0	3.0	3.0
	乙酐基量(mol%)	-	-	-	-	-
	N-乙烯基吡咯烷酮(mol%)	-	-	-	-	-
乙烯基化合物A (丙烯酸·乙烯基)	甲基丙烯酸正月桂酯(mol%)	-	-	-	-	-
	丙烯酸(mol%)	0.1	0.7	1.0	1.5	2.0
	含有率(mol%)	1.0	7.0	10.0	15.0	20.0
肽部	GRGDS	2.5 × 10 ⁹	2.0 × 10 ⁹	1.9 × 10 ⁹	2.2 × 10 ⁹	2.0 × 10 ⁹
	储能弹性模量	3.0 × 10 ⁶	4.0 × 10 ⁶	3.5 × 10 ⁶	3.4 × 10 ⁶	1.0 × 10 ⁶
	25℃储能弹性模量(Pa)	8.3 × 10 ²	5.0 × 10 ²	5.4 × 10 ²	6.5 × 10 ²	2.0 × 10 ³
	100℃储能弹性模量(Pa)	4	6	7	10	15
物理性质	25℃储能弹性模量/100℃储能弹性模量	-	-	-	-	-
	水溶胀倍率(%)	-	-	-	-	-
	表面自由能	-	-	-	-	-
相分离参数	色散项成分(dSFE)(mJ/m ²)	0.079	0.100	0.353	0.495	0.589
	极性项成分(pSFE)(mJ/m ²)	0.2000	0.1000	0.0400	0.0133	0.0080
	相分离结构的表面积分数(-)	250	80	45	7	3
	周长/面积(1/mm)	20	40	100	300	500
	岛个数(个/μm ²)	69	95	98	64	59
培养评价	平均岛尺寸(nm)	AA	AAA	AAA	AA	A
	相对于参考例A的细胞增殖率(%)					
	细胞培养性能					

[0239]

[表4]

[0240]

		比较例 1	比较例 2	比较例 3	比较例 4	参考例 A	
合成树脂	缩醛化度(mol%)	1.4	—	70.0	—	VTN	
	羟基量(mol%)	0.56	—	28.0	—		
	乙酰基量(mol%)	0.04	—	2.0	—		
	N-乙烯基吡咯烷酮(mol%)	16.0	—	—	17.0		
	甲基丙烯酸正月桂酯(mol%)	82.0	—	—	83.0		
物理性质	25℃储能弹性模量(Pa)	1.6×10^8	2.3×10^9	2.2×10^9	1.2×10^6	—	
	100℃储能弹性模量(Pa)	6.0×10^5	2.1×10^8	2.7×10^6	9.0×10^3	—	
	25℃储能弹性模量/100℃储能弹性模量	2.6×10^2	1.1×10^1	8.2×10^2	1.3×10^2	—	
	水溶胀倍率(%)	26	0	16	55	—	
	表面自由能	色散项成分(dSFE)(mJ/m ²)	48	29.4	32.8	50	—
		极性项成分(pSFE)(mJ/m ²)	1	20.6	3.6	0.5	—
	相分离参数	相分离结构的表面积分数(-)	0.98	0	0	0	—
		周长/面积(1/mm)	0.0011	—	—	—	—
		岛个数(个/μm ²)	0	0	0	0	—
		平均岛尺寸(nm)	3500	0	0	0	—
培养评价	相对于参考例A的细胞增殖率(%)	18	0	20	0	—	
	细胞培养性能	D	D	D	D	—	

[0241] 符号说明

[0242] 1…细胞培养用容器

- [0243] 2...容器主体
- [0244] 2a...表面
- [0245] 3...树脂膜

项目名称: P21H58194D1

状态: 警告

创建日期: 2022-09-13

基本信息

当前申请

申请号: before

知识产权局:

申请号:

申请日:

申请人档案名: SEKISUI CHEMICAL CO., LTD.

最早优先权申请

知识产权局: JP

申请号: JP 2019-092083

申请日: 2019-05-15

优先权标识

[0001]

知识产权局	申请号	申请日
JP	JP 2019-092083	2019-05-15
JP	JP 2019-119079	2019-06-26

发明名称

语言	发明人姓名
zh	由细胞培养用支架材料形成的树脂膜、细胞培养用载体和细胞培养用容器

申请人和发明人:

申请人姓名或名称: 积水化学工业株式会社

语言: zh

拉丁名称: SEKISUI CHEMICAL CO., LTD.

居住地址:

通信地址:

序列

序列 1: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_1"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
4	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..4	note = Cell adhesion peptide
source	1..4	mol_type = protein organism = synthetic construct

残基

RGDG

4

序列 2: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_2"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
4	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..4	note = Cell adhesion peptide
source	1..4	mol_type = protein organism = synthetic construct

[0002]

残基

RGDA

4

序列 3: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_3"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
4	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..4	note = Cell adhesion peptide
source	1..4	mol_type = protein organism = synthetic construct

残基

RGDV

4

序列 4: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_4"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
4	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..4	note = Cell adhesion peptide
source	1..4	mol_type = protein organism = synthetic construct

残基

RGDS

4

序列 5: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_5"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
4	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..4	note = Cell adhesion peptide
source	1..4	mol_type = protein organism = synthetic construct

[0003]

残基

RGDT

4

序列 6: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_6"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
4	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..4	note = Cell adhesion peptide
source	1..4	mol_type = protein organism = synthetic construct

残基

RGDF

4

序列 7: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_7"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
4	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..4	note = Cell adhesion peptide
source	1..4	mol_type = protein organism = synthetic construct

残基

RGDM

4

序列 8: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_8"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
4	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..4	note = Cell adhesion peptide
source	1..4	mol_type = protein organism = synthetic construct

[0004]

残基

RGDP

4

序列 9: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_9"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
4	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..4	note = Cell adhesion peptide
source	1..4	mol_type = protein organism = synthetic construct

残基

RGDN

4

序列 10: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_10"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
5	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..5	note = Cell adhesion peptide
source	1..5	mol_type = protein organism = synthetic construct

残基

YIGSR

5

序列 11: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_11"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
5	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..5	note = Cell adhesion peptide
source	1..5	mol_type = protein organism = synthetic construct

[0005]

残基

PDSGR

5

序列 12: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_12"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
4	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..4	note = Cell adhesion peptide
source	1..4	mol_type = protein organism = synthetic construct

残基

REDV

4

序列 13: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_13"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
5	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..5	note = Cell adhesion peptide
source	1..5	mol_type = protein organism = synthetic construct

残基

IDAPS

5

序列 14: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_14"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
6	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..6	note = Cell adhesion peptide
source	1..6	mol_type = protein organism = synthetic construct

[0006]

残基

KQAGDV

6

序列 15: "P21H58194D1-序列表-原文_seq_15"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片段	跳过的序列
5	AA	synthetic construct	否	否

特征

特征键	特征位置	限定符
REGION	1..5	note = Cell adhesion peptide
source	1..5	mol_type = protein organism = synthetic construct

残基

GRGDS

5

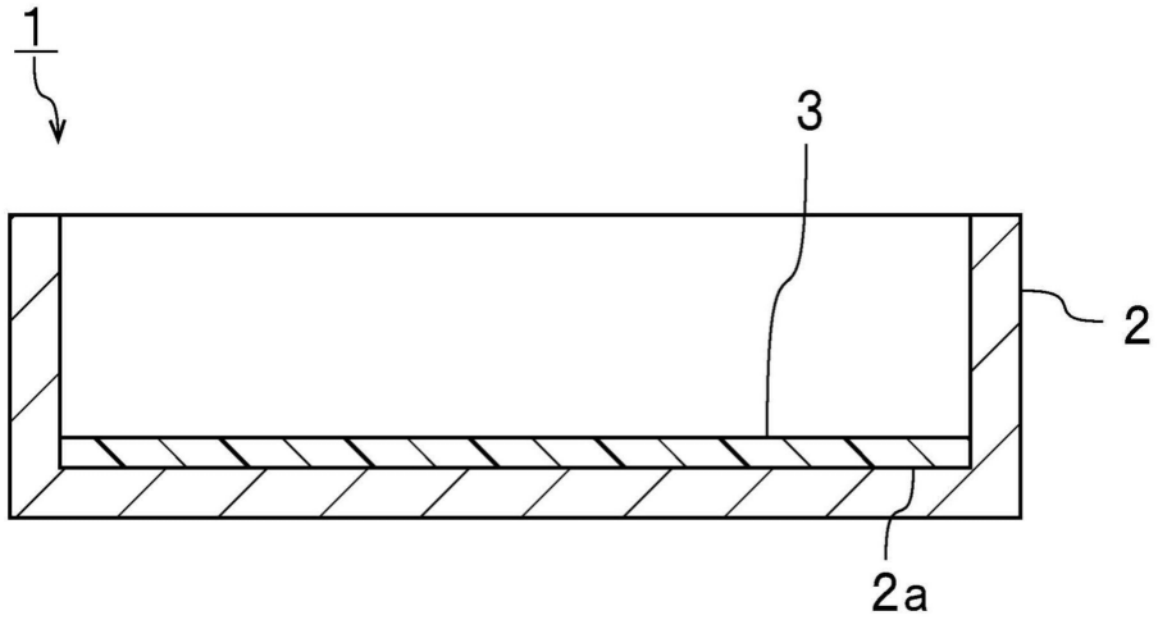


图1

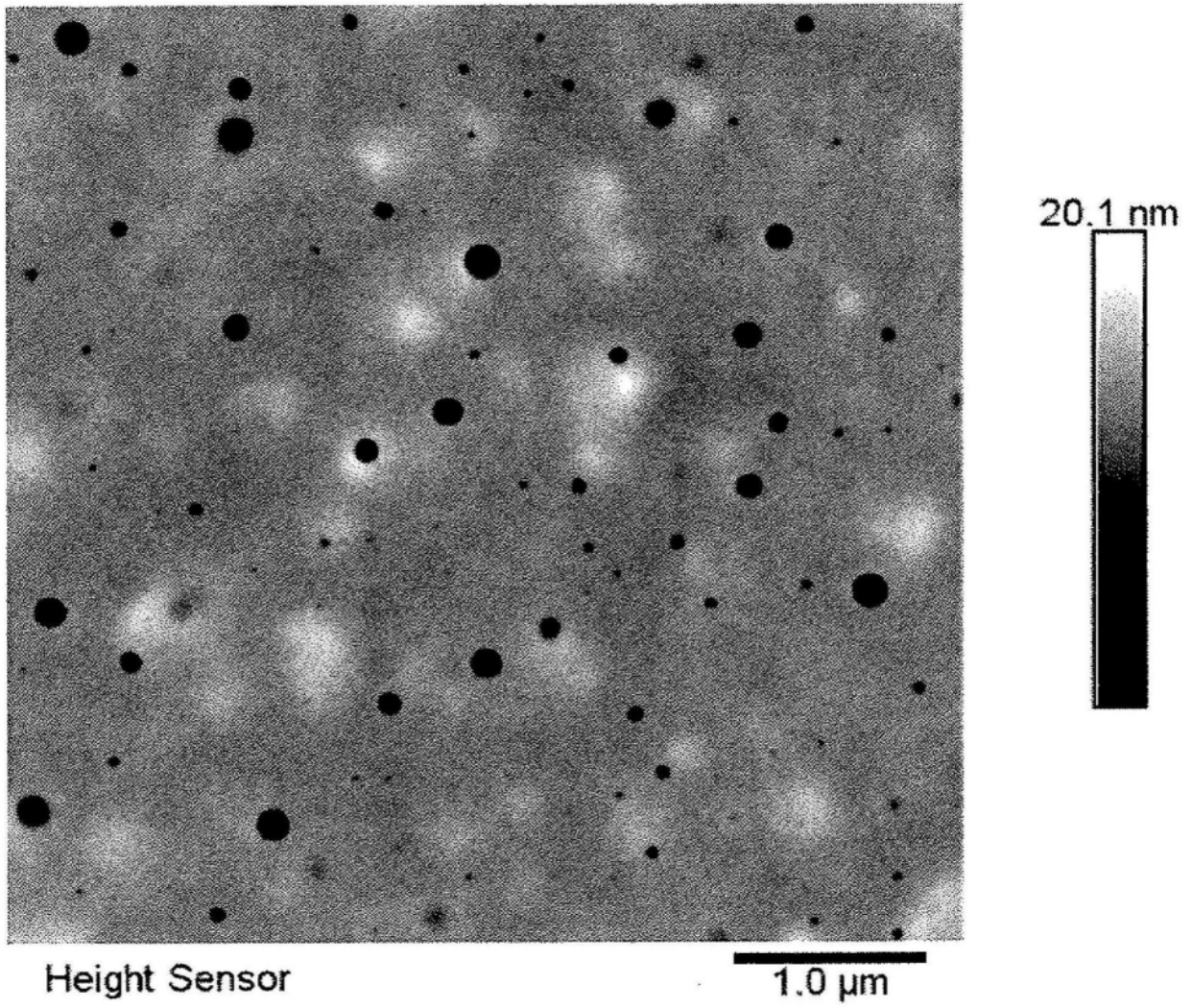


图2

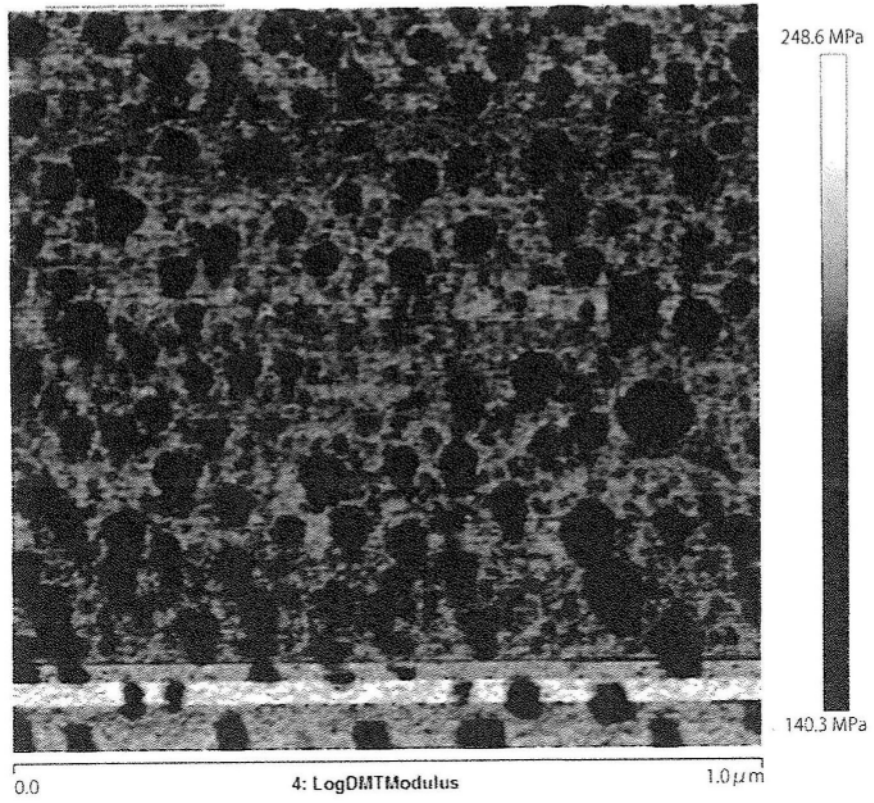


图3