



(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 I718392 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 02 月 11 日

(21)申請案號：107124616

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 07 月 17 日

(51)Int. Cl. : C12M3/02 (2006.01)

B32B27/32 (2006.01)

(30)優先權：2017/07/22 日本

2017-142318

2017/10/17 日本

2017-201441

(71)申請人：日商東洋製罐集團控股股份有限公司(日本) TOYO SEIKAN GROUP HOLDINGS, LTD. (JP)

日本

(72)發明人：戶谷貴彦 TOTANI, TAKAHIKO (JP)；田中鄉史 TANAKA, SATOSHI (JP)；松岡洋佑 MATSUOKA, YOUSUKE (JP)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

TW 201702370A

JP 3-160984A

JP 6-98756A

WO 2012/036011A1

審查人員：許嘉展

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：14 共 67 頁

(54)名稱

培養容器、培養容器之製造方法、積層構造體、以及積層構造體之製造方法

(57)摘要

本發明之課題為於由用於球體培養的軟包材所構成之培養容器的製造中，可防止因培養容器之內面接觸，塗佈於一方之內面的細胞接著抑制劑剝離而轉印至另一方之內面。其解決手段為一種培養容器，其係由軟包材所構成之培養容器，其具備面對面的第一側面部與第二側面部，將接觸角滯後定義為水滑落時之前進接觸角-後退接觸角時，係以第一側面部之內面側之表面的接觸角滯後，大於第二側面部之內面側之表面的接觸角滯後的方式，至少對第一側面部之內面側實施表面處理，且於第一側面部之內面側形成有由細胞接著抑制劑所構成之膜。



I718392

【發明摘要】

【中文發明名稱】

培養容器、培養容器之製造方法、積層構造體、以及
積層構造體之製造方法

【中文】

本發明之課題為於由用於球體培養的軟包材所構成之培養容器的製造中，可防止因培養容器之內面接觸，塗佈於一方之內面的細胞接著抑制劑剝離而轉印至另一方之內面。

其解決手段為一種培養容器，其係由軟包材所構成之培養容器，其具備面對面的第一側面部與第二側面部，將接觸角滯後定義為水滑落時之前進接觸角-後退接觸角時，係以第一側面部之內面側之表面的接觸角滯後，大於第二側面部之內面側之表面的接觸角滯後的方式，至少對第一側面部之內面側實施表面處理，且於第一側面部之內面側形成有由細胞接著抑制劑所構成之膜。

【指定代表圖】無
【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

培養容器、培養容器之製造方法、積層構造體、以及
積層構造體之製造方法

【技術領域】

【0001】本發明係關於細胞培養技術，特別係關於使用於球體培養之培養容器。

又，本發明係關於為了製造細胞培養容器等，而可適合地使用之積層構造體，及其製造方法。

【先前技術】

【0002】近年來，於醫藥品之生產，或基因治療、再生醫療、免疫療法等之領域中，將細胞或組織、微生物等在人工的環境下效率良好地大量培養係受到需求。

於如此狀況下，係進行於培養容器中填充細胞與培養液，於閉鎖系統自動地大量培養細胞。

【0003】又，最近，係使用使iPS細胞等之接著細胞不接著於培養容器，即於培養容器內使細胞懸浮而培養，藉由形成球體(凝集塊)，提高細胞之培養效率的方法。此時，通常必需於培養容器內之底面，預先塗佈(被覆)細胞接著抑制劑，使細胞不接著。

【0004】此處，關於形成球體的培養方法，專利文獻1中，提出有於內面塗佈有細胞接著抑制劑的具有凹部之

培養基材。該培養基材為剛性(rigid)者，可認為藉由將細胞接著抑制劑塗佈於內面，可適切地形成球體。

【0005】又，細胞培養容器之製造所使用的薄膜或薄片(以下有僅稱為薄膜者)，必需於其表面塗佈細胞接著抑制劑後，保管至細胞培養容器之製造時為止。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0006】

[專利文獻1]：國際公開第2012/036011號小冊

[專利文獻2]：日本特開2013-70636號公報

【發明內容】

[發明所欲解決之課題]

【0007】將細胞有效率地大量培養時，較佳為使用由可較容易製造容積大的培養容器之軟包材所構成的培養容器，於閉鎖系統將細胞自動地培養。

但是，由如此的軟包材所構成的培養容器，一般而言為袋形狀，因此若於培養容器內之底面塗佈細胞接著抑制劑時，由於培養容器內之底面與上側面接觸，如圖8所示般，塗佈於底面之細胞接著抑制劑的膜會轉印於上側面，而有自底面剝離之問題。

【0008】亦即，如此地當細胞接著抑制劑的膜自底面剝離時，細胞會接著於經剝離該細胞接著抑制劑之底面部分，因此細胞變得無法適切地形成球體，而有球體培養受

到阻礙的問題。

【0009】因而，本發明者等人深入研究，藉由將培養容器內之底面與上側面之基材以特定條件加工，成功製造細胞接著抑制劑的膜不會由底面轉印至上側面之培養容器，而完成本發明。

亦即，藉由以培養容器中之塗佈細胞接著抑制劑之表面的接觸角滯後(contact angle hysteresis)，大於與其面對面之表面的接觸角滯後的方式，至少對塗佈細胞接著抑制劑之表面側實施表面處理，且於該表面形成細胞接著抑制劑的膜，可防止細胞接著抑制劑的膜剝離而轉印至對面側。

【0010】而塗佈有細胞接著抑制劑之薄膜，可能有捲繞為輓狀而保管的情況，但於使用時將薄膜展開為平面狀時，係有細胞接著抑制劑自薄膜剝離的問題。

具體而言，如圖13及圖14所示，將薄膜捲繞為輓狀時，將細胞接著抑制劑塗佈於培養基材100所形成的被覆層200，係密合於培養基材100中與被覆層200相反側之表面。

然後，使薄膜回到平面狀時，係有被覆層200自培養基材100之表面剝離，轉印於培養基材100之相反側之表面的問題。

【0011】因而，本發明者等人深入研究，藉由將具有可撓性之薄膜或薄片狀之培養基材的第一面之親水性，處理為較其相反側之第二面的親水性更高，並於第一面形成

被覆層，將培養基材捲繞為輥狀而形成積層構造體，成功製造不產生被覆層之轉印的積層構造體，而完成本發明。

【0012】此處，專利文獻2之實施例1中，係記載對培養基材之表面進行電漿處理，來進行細胞低接著化處理。

但是，該培養基材不具有可撓性，又，考慮到培養基材兩面之親水性，並無法形成不產生被覆層之轉印的積層構造體。

【0013】本發明係有鑑於上述實情而為者，其目的為提供於由用於球體培養之軟包材所構成的培養容器之製造中，可防止因培養容器之內面接觸，塗佈於一方之內面的細胞接著抑制劑剝離而轉印至另一方之內面的培養容器，及培養容器之製造方法。

【0014】又，本發明係有鑑於上述實情而為者，其目的為提供於將培養基材捲繞為輥狀所形成之積層構造體中，形成於培養基材之表面上的被覆層不會轉印的積層構造體，及其製造方法。

[用以解決課題之手段]

【0015】為了達成上述目的，本發明之培養容器，係由軟包材所構成之培養容器，其係採取具備面對面的第一側面部與第二側面部，將接觸角滯後定義為水滑落時之前進接觸角-後退接觸角時，係以前述第一側面部之內面側之表面的接觸角滯後，大於前述第二側面部之內面側之表面的接觸角滯後的方式，至少對前述第一側面部之內面側

實施表面處理，且於前述第一側面部之內面側，形成有由細胞接著抑制劑所構成之膜的構成。

【0016】又，本發明之培養容器之製造方法，係用於球體培養之培養容器之製造方法，其係對由聚烯烴所構成之薄膜或薄片的一部分實施親水化處理，形成具備於內面側具備前述薄膜或薄片之經實施親水化處理的面之第一側面部，及與前述第一側面部面對面的第二側面部，且將接觸角滯後定義為水滑落時之前進接觸角-後退接觸角時，前述第一側面部之內面側之表面的接觸角滯後，大於前述第二側面部之內面側之表面的接觸角滯後之前述培養容器，且於前述第一側面部之內面側塗佈細胞接著抑制劑之方法。

【0017】又，本發明之培養容器之製造方法，係用於球體培養之培養容器之製造方法，其係對由聚烯烴所構成之薄膜或薄片的一部分實施第一親水化處理，並且對前述薄膜或薄片之另外一部分實施親水化力較前述第一親水化處理小的第二親水化處理，形成具備於內面側具備前述薄膜或薄片之經實施前述第一親水化處理的面之第一側面部，及與前述第一側面部面對面的於內面側具備經實施前述第二親水化處理的面之第二側面部，且將接觸角滯後定義為水滑落時之前進接觸角-後退接觸角時，前述第一側面部之內面側之表面的接觸角滯後，大於前述第二側面部之內面側之表面的接觸角滯後之前述培養容器，且於前述第一側面部之內面側塗佈細胞接著抑制劑之方法。

【0018】又，為了達成上述目的，本發明之積層構造體，為疊合具有可撓性之培養基材而得的積層構造體，其係採取前述培養基材為薄膜或薄片狀，捲繞為輥狀而形成前述積層構造體，前述培養基材具有形成有被覆層之第一表面，與其相反側之第二表面，且前述第一表面之親水性高於前述第二表面之親水性的構成。

【0019】又，本發明之積層構造體之製造方法，為疊合具有可撓性之培養基材而得的積層構造體之製造方法，其係以由薄膜或薄片所構成之前述培養基材的第一表面之親水性，大於前述第一表面之相反側的第二表面之親水性的方式，至少對前述第一表面實施親水化處理，於前述第一表面上塗佈被覆劑而形成被覆層，將前述培養基材捲繞為輥狀的方法。

[發明之效果]

【0020】依照本發明，於由用於球體培養之軟包材所構成之培養容器之製造中，可防止因培養容器之內面接觸，塗佈於一方之內面的細胞接著抑制劑剝離，轉印於另一方之內面。

又，依照本發明，可提供於將培養基材捲繞為輥狀所形成之積層構造體中，形成於培養基材之表面上的被覆層不會轉印之積層構造體，及其製造方法。

【圖式簡單說明】

【 0021 】

[圖 1A]靜態水接觸角之說明圖。

[圖 1B]接觸角滯後之說明圖。

[圖 2]顯示將實施例 1(實施例 11)(培養容器之基材(培養基材)：PE，下側面(第一表面)：電暈處理 1 次、上側面(第二表面)：無處理，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合物)、實施例 2(實施例 12)(培養容器之基材：PE，下側面：電暈處理 3 次、上側面：無處理，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合物)、比較例 1(比較例 11)(培養容器之基材：PE，下側面：無處理、上側面：無處理，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合物)中之細胞接著抑制劑的轉印狀況予以攝影的照片之圖。

[圖 3]顯示將比較例 2(比較例 12)(培養容器之基材(培養基材)：PE，下側面(第一表面)：無處理、上側面(第二表面)：電暈處理 1 次，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合物)、比較例 3(比較例 13)(培養容器之基材：PE，下側面：電暈處理 1 次、上側面：電暈處理 3 次，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合物)、比較例 4(比較例 14)(培養容器之基材：PE，下側面：電暈處理 3 次、上側面：電暈處理 3 次，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合物)中之細胞接著抑制劑的轉印狀況予以攝影的照片之圖。

[圖 4]顯示將實施例 3(實施例 13)(培養容器之基材(培養基材)：COC，下側面(第一表面)：電暈處理 3 次、上側面(第二表面)：無處理，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合

物)、比較例 5(比較例 15)(培養容器之基材：COC，下側面：無處理、上側面：無處理，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合物)中之細胞接著抑制劑的轉印狀況予以攝影的照片之圖。

[圖 5]顯示將實施例 4(實施例 14)(培養容器之基材(培養基材)：PE，下側面(第一表面)：電暈處理 3 次、上側面(第二表面)：無處理，細胞接著抑制劑：聚乙烯醇)、比較例 6(比較例 16)(培養容器之基材：PE，下側面：無處理、上側面：無處理，細胞接著抑制劑：聚乙烯醇)中之細胞接著抑制劑的轉印狀況予以攝影的照片之圖。

[圖 6]顯示將實施例 5(實施例 15)(培養容器之基材(培養基材)：PE，下側面(第一表面)：電暈處理 1 次、上側面(第二表面)：無處理，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合物，50℃ 7 日經過後)、實施例 6(實施例 16)(培養容器之基材：PE，下側面：電暈處理 3 次、上側面：無處理，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合物，50℃ 7 日經過後)、比較例 7(比較例 17)(培養容器之基材：PE，下側面：無處理、上側面：無處理，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合物，50℃ 7 日經過後)中之細胞接著抑制劑的轉印狀況予以攝影的照片之圖。

[圖 7]顯示將實施例 7(實施例 17)(培養容器之基材(培養基材)：PE，下側面(第一表面)：準分子處理 1 次、上側面(第二表面)：無處理，細胞接著抑制劑：磷脂質聚合物)中之細胞接著抑制劑的轉印狀況予以攝影的照片之圖。

[圖 8]顯示以往之培養容器的製造步驟中細胞接著抑制劑之轉印的示意圖。

[圖 9]顯示本發明之實施形態之積層構造體的構成之示意圖。

[圖 10]顯示本發明之實施形態之其他積層構造體的構成之示意圖。

[圖 11]顯示本發明之實施形態之積層構造體之製造方法(第一製造方法)之示意圖。

[圖 12]顯示本發明之實施形態之積層構造體之製造方法(第二製造方法)之示意圖。

[圖 13]顯示形成積層構造體的樣子之示意圖。

[圖 14]顯示以往之積層構造體中被覆層之轉印的示意圖。

【實施方式】

【0022】以下，詳細說明本發明之培養容器，及培養容器之製造方法的實施形態。惟，本發明不限定於以下實施形態之具體的內容。

本實施形態之培養容器，係由軟包材所構成之培養容器，其特徵為，具備面對面的第一側面部與第二側面部，將接觸角滯後定義為水滑落時之前進接觸角-後退接觸角時，係以第一側面部之內面側之表面的接觸角滯後，大於第二側面部之內面側之表面的接觸角滯後的方式，至少對第一側面部之內面側實施表面處理，且於第一側面部之內

面側，形成由細胞接著抑制劑所構成之膜。

【0023】首先，參照圖1A及圖1B說明靜態水接觸角與接觸角滯後。

靜態水接觸角，意指靜止的液體之表面與固體壁之表面接觸處液面與固體面所夾的角度(圖1A之 θ_s)。係有靜態水接觸角大時，固體壁之表面的疏水性相對地強，靜態水接觸角小時，固體壁之表面的親水性相對地強的關係。

【0024】接觸角滯後，意指水滴滑落固體壁之表面時的前進接觸角(θ_a)，與後退接觸角(θ_r)之差(滑落時滯後($\theta_a - \theta_r$))。

亦即，於呈水平支持的固體壁之表面滴下水滴，將固體壁慢慢傾斜，基於液滴開始掉落時之前進接觸角與後退接觸角來算出。該接觸角滯後，係使用作為顯示固體壁之表面的動態親水性(濕潤性)之指標。係有接觸角滯後大時，固體壁之表面的親水性相對地強，接觸角滯後小時，固體壁之表面的疏水性相對地強的關係。

【0025】作為構成本實施形態之培養容器的軟包材，較佳為使用聚烯烴，更佳為使用聚乙烯(PE)、環狀烯烴共聚物(COC)等。特佳為使用聚烯烴來構成至少培養容器之第一側面部之內面側與第二側面部之內面側。

【0026】第一側面部之內面側，及第二側面部之內面側，構成培養容器內之表面，於細胞培養時，通常係假定以第一側面部之內面側為底面的方式配置培養容器來使用。

亦即，一般而言細胞培養所使用的培養液之比重係小於細胞之比重，因此靜置培養容器時，細胞係向下方沈降。因此，通常係以第一側面部之內面側為底面的方式配置培養容器。

另一方面，假設培養液之比重大於細胞之比重時，可認為靜置培養容器時細胞會集中於上方，因此係以第一側面部之內面側為上側面的方式配置培養容器。

【0027】本實施形態之培養容器，一般而言為袋形狀，具備面對面的二個側面部。而係以此等側面部之內面側之表面的接觸角滯後顯示相異值的方式，對至少一方之側面部之內面側實施表面處理。

此時，培養容器中，係以形成細胞接著抑制劑的膜之表面側(一般而言係底面側)的接觸角滯後，大於與其面對面的未形成細胞接著抑制劑的膜之表面側(一般而言係上側面側)的接觸角滯後的方式，對培養容器之內面實施表面處理。

作為表面處理，較佳為進行親水化處理。親水化處理之方法可列舉電暈處理或準分子處理等，但不限定於此等。

【0028】具體而言，例如可為以下之(A)~(F)般進行，但不限定於此等。再者，以下，將形成細胞接著抑制劑的膜之表面稱為第一側面、未形成細胞接著抑制劑的膜之表面稱為第二側面。

【0029】(A)對第一側面進行電暈處理1次、對第二側

面不進行表面處理。

(B)對第一側面進行電暈處理3次、對第二側面不進行表面處理。

(C)對第一側面進行電暈處理3次、對第二側面進行電暈處理1次。

(D)對第一側面進行準分子處理1次、對第二側面不進行表面處理。

(E)對第一側面進行準分子處理3次、對第二側面不進行表面處理。

(F)對第一側面進行準分子處理3次、對第二側面進行準分子處理1次。

【0030】又，本實施形態之培養容器中，不進行如以下之(a)~(k)的表面處理方法。其理由為若依照此等之表面處理方法，形成細胞接著抑制劑的膜之表面側的接觸角滯後，會小於與其面對面的未形成細胞接著抑制劑的膜之表面側的接觸角滯後，或成為相同之故。

【0031】(a)對第一側面不進行表面處理、對第二側面亦不進行表面處理。

(b)對第一側面不進行表面處理、對第二側面進行電暈處理1次。

(c)對第一側面不進行表面處理、對第二側面進行電暈處理3次。

(d)對第一側面進行電暈處理1次、對第二側面亦進行電暈處理1次。

(e)對第一側面進行電暈處理1次、對第二側面進行電暈處理3次。

(f)對第一側面進行電暈處理3次、對第二側面亦進行電暈處理3次。

(g)對第一側面不進行表面處理、對第二側面進行準分子處理1次。

(h)對第一側面不進行表面處理、對第二側面進行準分子處理3次。

(i)對第一側面進行準分子處理1次、對第二側面亦進行準分子處理1次。

(j)對第一側面進行準分子處理1次、對第二側面進行準分子處理3次。

(k)對第一側面進行準分子處理3次、對第二側面亦進行準分子處理3次。

【0032】本實施形態中，作為細胞接著抑制劑，可使用磷脂質聚合物、聚乙烯醇衍生物、磷脂質·高分子複合體、聚甲基丙烯酸羥基乙酯、聚乙烯醇、瓊脂糖、幾丁聚糖、聚乙二醇、白蛋白等。又，亦可組合此等來使用。

【0033】本實施形態之培養容器，亦佳為於形成細胞接著抑制劑的膜之側面部之內面側，形成有複數個孔(well)者。本實施形態之培養容器中，藉由形成如此的孔，可將細胞集中於各孔內，因此例如可提高於球體培養之初期階段的細胞密度，可提高球體的形成效率。

【0034】又，本實施形態之培養容器之製造方法，為

用於球體培養之培養容器之製造方法，其特徵為，對由聚烯烴所構成之薄膜或薄片的一部分實施親水化處理，形成具備於內面側具備薄膜或薄片之經實施親水化處理的面之第一側面部，及與第一側面部面對面的第二側面部，且將接觸角滯後定義為水滑落時之前進接觸角-後退接觸角時，第一側面部之內面側之表面的接觸角滯後，大於第二側面部之內面側之表面的接觸角滯後之培養容器，於第一側面部之內面側塗佈細胞接著抑制劑。

【0035】又，本實施形態之培養容器之製造方法，亦佳為用於球體培養之培養容器之製造方法，其係對由聚烯烴所構成之薄膜或薄片的一部分實施第一親水化處理，並且對薄膜或薄片之另外一部分實施親水化力較第一親水化處理小的第二親水化處理，形成具備於內面側具備薄膜或薄片之經實施第一親水化處理的面之第一側面部，及與第一側面部面對面的於內面側具備經實施第二親水化處理的面之第二側面部，且將接觸角滯後定義為水滑落時之前進接觸角-後退接觸角時，第一側面部之內面側之表面的接觸角滯後，大於第二側面部之內面側之表面的接觸角滯後之培養容器，於第一側面部之內面側塗佈細胞接著抑制劑的方法。

【0036】亦即，本實施形態之培養容器之製造方法中，係對由聚烯烴所構成之薄膜或薄片的一部分實施親水化處理，並且使用該薄膜或薄片來將培養容器製袋，藉以形成具備接觸角滯後之值相異之側面部的培養容器。

具體而言，係形成：形成細胞接著抑制劑的膜之表面側(第一側面部之內面側，一般而言係底面側)的接觸角滯後，大於與其面對面的未形成細胞接著抑制劑的膜之表面側(第二側面部之內面側，一般而言係上側面側)的接觸角滯後之培養容器。

【0037】然後，藉由於如此培養容器的第一側面部之內面側塗佈細胞接著抑制劑，可製造細胞接著抑制劑的膜不容易剝離之培養容器。

因此，依照本實施形態之培養容器之製造方法，可製造可適合地形成球體的培養容器。

【0038】如以上說明，依照本實施形態之培養容器，及培養容器之製造方法，可得到培養容器內，形成細胞接著抑制劑的膜之表面的接觸角滯後，大於與其面對面的未形成細胞接著抑制劑的膜之表面的接觸角滯後之培養容器。

塗佈於如此之培養容器的細胞接著抑制劑，不會自經塗佈之表面剝離而轉印至對面側，因此可適切地進行球體培養。

【0039】接著，詳細說明本發明之積層構造體，及積層構造體之製造方法的實施形態。惟，本發明不限定於以下實施形態之具體的內容。

本實施形態之積層構造體，為疊合具有可撓性之培養基材而得的積層構造體，其特徵為培養基材為薄膜或薄片狀，捲繞為輥狀而形成積層構造體，培養基材具有形成有

被覆層之第一表面，與其相反側之第二表面，且第一表面之親水性高於第二表面之親水性。

亦即，將接觸角滯後定義為前進接觸角-後退接觸角時，第一表面之滯後大於第二表面之滯後。

又，第二表面與被覆層，係未接著地密合的狀態。

本實施形態之積層構造體，可為由多層薄膜所構成者，可適合地使用作為用以形成培養容器等之包材。

【0040】本實施形態之積層構造體，如圖9所示，係表面形成有被覆層2之培養基材1積層所形成。再者，圖9僅顯示本實施形態之積層構造體的一部分。又，同圖之積層構造體，具有4層培養基材1，但不限定於此，可具有2層或3層亦可具有5層以上。

如此之積層構造體，可藉由將表面形成有被覆層2之培養基材1捲繞為輥狀而形成。同圖中最上層以外之被覆層2，係接著於其下之培養基材1之表面12，但係未接著於其上之培養基材1之下側面地進行密合。

【0041】於培養基材1之表面11(第一表面)，係實施有親水化處理，藉此，相較於未實施親水化處理的情況而言，係成為靜態水接觸角相對地減少，接觸角滯後相對地增加的狀態。親水化處理例如可藉由電暈處理或準分子處理等來進行，但不限定於此等。

然後，於如此地經親水化處理的培養基材1之表面11上塗佈被覆劑，形成被覆層2。

【0042】本實施形態之積層構造體，係如上述，藉由

對培養基材1之表面11實施親水化處理，而成為培養基材1之表面11的接觸角滯後，相對地大於培養基材1之表面12(培養基材1中，與形成有被覆層2之表面相反側之表面)(第二表面)的接觸角滯後的狀態。

【0043】如此地，本實施形態之積層構造體，由於培養基材1之表面11的接觸角滯後，大於培養基材1之表面12的接觸角滯後，因此使用時將培養基材1展開為平面狀時，可防止形成於培養基材1之表面11上的被覆層2，轉印至培養基材1之表面12。

因此，依照本實施形態之積層構造體，可防止形成於培養基材1之表面11上的被覆層2，接著於培養基材1之表面12而自表面11剝離。

【0044】作為構成培養基材1之材料，較佳為使用聚烯烴，更佳為使用聚乙烯(PE)、環狀烯烴共聚物(COC)等。特佳為使用聚烯烴來構成至少培養基材1之表面11側。

【0045】作為形成被覆層2之被覆劑，並無特殊限定，例如可為細胞接著抑制劑。作為該細胞接著抑制劑，可使用磷脂質聚合物、聚乙烯醇衍生物、磷脂質·高分子複合體、聚甲基丙烯酸羥基乙酯、聚乙烯醇、瓊脂糖、幾丁聚糖、聚乙二醇、白蛋白等。又，亦可組合此等來使用。

【0046】又，培養基材亦可為由相同或相異的複數之基材之層所構成者。具體而言，如圖10所示，作為培養基

材，可為將培養基材1與培養基材1a接著所形成者。又，亦可將更多數之培養基材接著來形成。此時，培養基材1之表面11的接觸角滯後，係大於培養基材1a之表面12a(或最下側之培養基材的底面)(第二表面)的接觸角滯後。

作為構成培養基材1a及其他培養基材之材料，亦以使用聚烯烴為佳，更佳為使用聚乙烯(PE)、環狀烯烴共聚物(COC)等。

培養基材如此地為由複數之基材之層所構成者時，亦可防止被覆層2接著於培養基材之第二表面而剝離。

【0047】本實施形態之積層構造體之製造方法，為疊合具有可撓性之培養基材而得的積層構造體之製造方法，其特徵為以由薄膜或薄片所構成之培養基材之第一表面的親水性，大於第一表面之相反側之第二表面的親水性的方式，至少對第一表面實施親水化處理，於第一表面上塗佈被覆劑而形成被覆層，將培養基材捲繞為輥狀。

【0048】具體而言，如圖11所示，對培養基材1之表面11實施親水化處理，使成為培養基材1之表面11的接觸角滯後大於培養基材1之表面12的接觸角滯後之狀態。同圖之例子中，對培養基材1之表面12並未實施親水化處理。接著，於培養基材1之表面11上形成被覆層2。再者，培養基材亦可為由複數之基材之層所構成者。於以下亦相同。

然後，藉由將如此方式所得的培養基材1捲繞為輥狀，可得到本實施形態之積層構造體。

【0049】又，如圖12所示，亦可對培養基材1之表面12實施親水化處理。此時，對培養基材1之表面12，係實施親水化力小於對培養基材1之表面11的親水化處理A之親水化處理B。亦即，係以相較於培養基材1之表面11的親水性而言，培養基材1之表面12的親水性較小的方式，對培養基材1之表面12實施親水化處理。

其結果，可得到培養基材1之表面11的親水性，較培養基材1之表面12的親水性更高的狀態之積層構造體。

藉此，培養基材1之表面11，相較於培養基材1之表面12而言，與被覆層2之密合性更強，可防止被覆層2接著於表面12，而自表面11剝離。

【0050】亦即，圖11及圖12所示方法的情況，均於本實施形態之積層構造體之製造方法中，以培養基材1之表面11的接觸角滯後大於培養基材1之表面12的接觸角滯後的方式，對培養基材1之表面11實施親水化處理。具體而言，例如可為如以下之(I)~(VI)般進行，但不限定於此等。

【0051】(I) 對表面11進行電暈處理1次、對表面12不進行親水化處理。

(II) 對表面11進行電暈處理3次、對表面12不進行親水化處理。

(III) 對表面11進行電暈處理3次、對表面12進行電暈處理1次。

(IV) 對表面11進行準分子處理1次、對表面12不進行

親水化處理。

(V) 對表面 11 進行準分子處理 3 次、對表面 12 不進行親水化處理。

(VI) 對表面 11 進行準分子處理 3 次、對表面 12 進行準分子處理 1 次。

【0052】又，本實施形態之積層構造體之製造方法中，不進行如以下之(i)~(ix)之親水化處理。其理由係因表面 11 的接觸角滯後，會小於表面 12 的接觸角滯後，或成為相同之故。

【0053】(i) 對表面 11 不進行親水化處理，對表面 12 亦不進行親水化處理。

(ii) 對表面 11 不進行親水化處理，對表面 12 進行電暈處理 1 次。

(iii) 對表面 11 進行電暈處理 1 次、對表面 12 亦進行電暈處理 1 次。

(iv) 對表面 11 進行電暈處理 1 次、對表面 12 進行電暈處理 3 次。

(v) 對表面 11 進行電暈處理 3 次、對表面 12 亦進行電暈處理 3 次。

(vi) 對表面 11 不進行親水化處理，對表面 12 進行準分子處理 1 次。

(vii) 對表面 11 進行準分子處理 1 次、對表面 12 亦進行準分子處理 1 次。

(viii) 對表面 11 進行準分子處理 1 次、對表面 12 進行準

分子處理3次。

(ix) 對表面11進行準分子處理3次、對表面12亦進行準分子處理3次。

【0054】此處，本實施形態中，藉由接觸角滯後來判斷親水性。其理由，係由於靜態水接觸角，跟與空氣接觸時之最表層的親水性官能基之量有相關，故隨時間經過當官能基潛入樹脂時，可認為其數值會變化為疏水性側之故。

另一方面，接觸角滯後，係跟最表層與稍內側之親水性官能基之量有相關，故隨時間經過即使官能基潛入樹脂，可認為其數值亦幾乎無變化之故。

【0055】本實施形態之積層構造體之製造方法中，作為由複數之層所構成的培養基材之形成方法，可使用多層擠出成形或疊合法。

多層擠出成形中，例如，係將複數種類之樹脂分別注入獨立的擠出機，由此等擠出機對多層T字模擠出複數種類之樹脂。然後，藉由多層T字模使熔融之樹脂流動，藉由將其捲繞可得到由複數之層所構成的培養基材。

又，疊合法中，係藉由將另外成形的薄膜彼此一邊加熱一邊壓接，可得到由複數之層所構成的培養基材。再者，此時，例如使PE與耐綸，或PE與PET般種類完全不同的樹脂積層時，係使用接著劑，但PE與親水化處理PE等彼此為相同性質的樹脂，因此不需接著劑。

【0056】如以上所說明，依照本實施形態之積層構造

體，及積層構造體之製造方法，於培養基材捲繞為輥狀所形成之積層構造體中，可防止形成於培養基材之表面上的被覆層剝離而轉印。

進一步地，藉由自上述積層構造體送出薄膜，將三方或四方熱封，可成為貼合有二枚薄膜的袋狀容器形態。

又，被覆層可被覆於表面11之整面，亦可僅選擇性地被覆於未熱封區域。積層構造體適合使用作為包裝材。

[實施例]

【0057】以下，詳細說明實驗，該實驗係為了確認本發明之實施形態之培養容器中，形成有細胞接著抑制劑的膜之表面的接觸角滯後，若大於與其面對面的未形成細胞接著抑制劑的膜之表面的接觸角滯後，則細胞接著抑制劑不會自塗佈的表面剝離而轉印至對面側所進行。

【0058】

(實施例1)

準備由聚烯烴所構成之長方形薄膜，如圖2所示，將其左半側之正方形部分假定為培養容器中之底面，將其右半側之正方形部分假定為培養容器中之上側面。然後，於底面塗佈細胞接著抑制劑後，將上側面疊合於底面，施加荷重，之後，將上側面自底面剝離，以目視判定細胞接著抑制劑是否轉印至上側面。具體而言，係如以下般進行。

【0059】首先，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後使用批式電暈處理裝置(春日電機股份有限公司製，以下

相同)對底面實施電暈處理1次，作為表面處理。又，對上側面不進行表面處理。

此時，底面之靜態水接觸角為 71.9° ，接觸角滯後為 43.6° 。又，上側面之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

【0060】靜態水接觸角及滯後之測定，係使用固液界面解析系統 DropMaster 700(協和界面科學股份有限公司製)。

具體而言，靜態水接觸角(θ_s)，係於薄膜上滴下純水 $3\mu\text{l}$ 來測定。又，接觸角滯後($\theta_a-\theta_r$)，係於薄膜上滴下純水 $30\mu\text{l}$ ，每1秒傾斜測定台 1° ，藉由切線法算出滑落時之前進接觸角(θ_a)與後退接觸角(θ_r)而得到。

【0061】接著，對底面以棒塗佈器塗佈作為細胞接著抑制劑之調製為0.5%的磷脂質聚合物(LIPIDURE(註冊商標)，日油股份有限公司)乙醇溶液以形成膜後，將該細胞接著抑制劑的膜以考馬斯藍(coomassie blue)染色後乾燥。

然後，對該底面貼附上側面，施加 $10\text{g}/\text{cm}^2$ 之荷重，靜置1分鐘後，將上側面自底面剝離。

【0062】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，未轉印至上側面。本實驗中可認為藉由使底面親水化，底面之基材與細胞接著抑制劑之密合性提高，另一方面上側面維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自底面轉印至上側面，並未剝離。

【0063】

(實施例 2)

表面處理之條件係與實施例 1 不同，其他條件係與實施例 1 同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。此外，作為表面處理，對底面使用批式電暈處理裝置實施電暈處理 3 次。又，對上側面不進行表面處理。

此時，底面之靜態水接觸角為 54.2° ，接觸角滯後為 50.3° 。又，上側面之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

【0064】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜並未轉印。本實驗中可認為藉由使底面更強力地親水化，更加提高底面之基材與細胞接著抑制劑的密合性，另一方面，上側面維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自底面轉印至上側面，並未剝離。

【0065】

(比較例 1)

表面處理之條件係與實施例 1 不同，其他條件係與實施例 1 同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。此外，對底面及上側面並未進行表面處理。

此時，底面及上側面之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

【0066】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，大幅轉印至上側面。本實驗中可認為由於底面與上側

面均維持疏水性，因此底面之基材與細胞接著抑制劑未充分接著，轉印至上側面，而自底面剝離。

【 0067 】

(比較例 2)

表面處理之條件係與實施例 1 不同，其他條件係與實施例 1 同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。此外，對底面並未進行表面處理。另一方面，對上側面，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理 3 次。

此時，底面之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。又，上側面之靜態水接觸角為 54.2° ，接觸角滯後為 50.3° 。

【 0068 】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，大幅轉印至上側面。本實驗中可認為底面係維持疏水性，另一方面，上側面經強力地親水化，因此形成於底面之細胞接著抑制劑的膜轉印至上側面，而自底面剝離。

【 0069 】

(比較例 3)

表面處理之條件係與實施例 1 不同，其他條件係與實施例 1 同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，對底面，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理 1 次，對上側面，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理 3 次。

此時，底面之靜態水接觸角為 71.9° ，接觸角滯後為 43.6° 。又，上側面之靜態水接觸角為 54.2° ，接觸角滯後為 50.3° 。

【0070】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，大幅轉印至上側面。本實驗中可認為相較於底面而言，上側面更強力地被親水化，因此形成於底面之細胞接著抑制劑的膜轉印至上側面，而自底面剝離。

【0071】

(比較例4)

表面處理之條件係與實施例1不同，其他條件係與實施例1同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，對底面及上側面，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理3次。

此時，底面及上側面之靜態水接觸角為 54.2° ，接觸角滯後為 50.3° 。

【0072】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，大幅轉印至上側面。本實驗中可認為底面與上側面均同樣地強力被親水化，因此形成於底面之細胞接著抑制劑的膜轉印至上側面，而自底面剝離。

如此地，由比較例2~4之結果，可知若上側面被強力地親水化，則細胞接著抑制劑容易自底面剝離。

【0073】

(實施例3)

薄膜之材料與表面處理之條件係與實施例1不同，其他條件係與實施例1同樣地進行實驗。

具體而言，使用環狀烯烴共聚物(COC)薄膜作為薄膜。然後，對底面，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理3次。又，對上側面不進行表面處理。

此時，底面之靜態水接觸角為 55.2° ，接觸角滯後為 48.8° 。又，上側面之靜態水接觸角為 97.0° ，接觸角滯後為 22.6° 。

【0074】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，未轉印至上側面。本實驗中可認為藉由使底面親水化，提高底面之基材與細胞接著抑制劑之密合性，另一方面上側面維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自底面轉印至上側面，並未剝離。

【0075】

(比較例5)

表面處理之條件係與實施例3不同，其他條件係與實施例3同樣地進行實驗。

具體而言，使用環狀烯烴共聚物(COC)薄膜作為薄膜。此外，對底面及上側面並未進行表面處理。

此時，底面及上側面之靜態水接觸角為 97.0° ，接觸角滯後為 22.6° 。

【0076】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，些微地轉印至上側面。本實驗中可認為由於底面與上側面均維持疏水性，因此底面之基材與細胞接著抑制劑未

充分接著，轉印至上側面，而自底面剝離。

【0077】

(實施例4)

細胞接著抑制劑之種類與其被覆方法，及表面處理之條件係與實施例1不同，其他條件係與實施例1同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。又，對底面，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理3次。又，對上側面不進行表面處理。

此時，底面之靜態水接觸角為 54.2° ，接觸角滯後為 50.3° 。又，上側面之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

又，作為細胞接著抑制劑，係使用側鏈具有疊氮基的聚乙烯醇(BIOSURFINE(註冊商標)-AWP，東洋合成工業股份有限公司)。

將該細胞接著抑制劑調製為1%之水溶液，以棒塗佈器塗佈於底面後，以累積光量 $0.7\text{J}/\text{cm}^2$ 照射波長 254nm 之UV使其硬化。

【0078】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，未轉印至上側面。本實驗中可認為藉由使底面親水化，提高底面之基材與細胞接著抑制劑之密合性，另一方面上側面維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自底面轉印至上側面，並未剝離。

亦即，即使細胞接著抑制劑之種類相異，藉由對底面

實施親水化處理，亦可防止細胞接著抑制劑自底面轉印至上側面。

【0079】

(比較例6)

表面處理之條件係與實施例4不同，其他條件係與實施例4同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。又，對底面及上側面，不進行表面處理。

此時，底面及上側面之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

又，作為細胞接著抑制劑，係使用側鏈具有疊氮基的聚乙烯醇(BIOSURFINE(註冊商標)-AWP，東洋合成工業股份有限公司)。將該細胞接著抑制劑調製為1%之水溶液，以棒塗佈器塗佈於底面後，以累積光量 $0.7\text{J}/\text{cm}^2$ 照射波長 254nm 之UV使其硬化。

【0080】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，些微地轉印至上側面。本實驗中可認為由於底面與上側面均維持疏水性，因此底面之基材與細胞接著抑制劑未充分接著，轉印至上側面，而自底面剝離。

【0081】

(實施例5)

以與實施例1相同之條件對薄膜進行表面處理後，於 50°C 經過7日後，測定底面及上側面之靜態水接觸角與接觸角滯後。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，對底面，作為表面處理，係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理1次。又，對上側面不進行表面處理。

【0082】於50℃經過7日後，進行過1次電暈處理的底面之靜態水接觸角為87.8°，接觸角滯後為43.9°。又，未進行表面處理的上側面之靜態水接觸角為96.7°，接觸角滯後為18.0°。

亦即，將對底面實施過表面處理的薄膜於50℃保管7日的結果，可知底面之靜態水接觸角，回到接近未進行表面處理之數值的顯示疏水性之數值。相對於此，底面的接觸角滯後，相較於實施例1而言，未見到大的變化。

【0083】接著，與實施例1同樣地，對底面塗佈細胞接著抑制劑而形成膜後，將該細胞接著抑制劑的膜以考馬斯藍染色後乾燥。

然後，對該底面貼附上側面，施加10g/cm²之荷重，靜置1分鐘後，將上側面自底面剝離。

【0084】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，未轉印至上側面。

亦即，可認為底面之靜態水接觸角雖回到顯示疏水性之數值，但底面的接觸角滯後係顯示親水化的數值，提高底面之基材與細胞接著抑制劑之密合性，另一方面上側面維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自底面轉印至上側面，並未剝離。

【0085】此處，靜態水接觸角，為跟與空氣接觸時之

最表層的親水性官能基之量有相關者，因此可認為隨時間經過，官能基潛入樹脂的結果，其數值變化為顯示疏水性之值。

相對於此，接觸角滯後，為跟最表層與稍內側的親水性官能基之量有相關者，因此可認為即使隨時間經過，官能基潛入樹脂，其數值亦幾乎未變化。

然後，如上述明顯可知，底面之靜態水接觸角雖如此地顯示疏水性之數值，但底面的接觸角滯後顯示親水化之數值的情況時，可說是底面經親水化。

【0086】

(實施例6)

表面處理之條件係與實施例5不同，其他條件係與實施例5同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，對底面，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理3次。又，對上側面不進行表面處理。然後，於50℃經過7日後，測定底面及上側面之靜態水接觸角與接觸角滯後。

【0087】此時，進行過3次電暈處理的底面之靜態水接觸角為85.3°，接觸角滯後為44.5°。又，未進行表面處理的上側面之靜態水接觸角為96.7°，接觸角滯後為18.0°。

亦即，將對底面實施過表面處理的薄膜於50℃保管7日的結果，可知底面之靜態水接觸角，回到接近未進行表面處理之數值的顯示疏水性之數值。相對於此，底面的接

觸角滯後，未見到大的變化。

【0088】接著，與實施例1同樣地，對底面塗佈細胞接著抑制劑而形成膜後，將該細胞接著抑制劑的膜以考馬斯藍染色後乾燥。

然後，對該底面貼附上側面，施加 $10\text{g}/\text{cm}^2$ 之荷重，靜置1分鐘後，將上側面自底面剝離。

【0089】其結果，與實施例5同樣地，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，未轉印至上側面。

亦即，可認為底面之靜態水接觸角雖回到顯示疏水性之數值，但底面的接觸角滯後係顯示親水化的數值，提高底面之基材與細胞接著抑制劑之密合性，另一方面上側面維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自底面轉印至上側面，並未剝離。

【0090】

(比較例7)

表面處理之條件係與實施例5不同，其他條件係與實施例5同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。此外，對底面及上側面並未進行表面處理。然後，於 50°C 經過7日後，測定底面及上側面之靜態水接觸角與接觸角滯後。

此時，底面及上側面之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

【0091】接著，與實施例1同樣地，對底面塗佈細胞接著抑制劑而形成膜後，將該細胞接著抑制劑的膜以考馬

斯藍染色後乾燥。

然後，對該底面貼附上側面，施加 $10\text{g}/\text{cm}^2$ 之荷重，靜置 1 分鐘後，將上側面自底面剝離。

【0092】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，係轉印至上側面。本實驗中可認為由於底面與上側面均維持疏水性，因此底面之基材與細胞接著抑制劑未充分接著，轉印至上側面，而自底面剝離。

【0093】

(實施例 7)

表面處理之條件係與實施例 1 不同，其他條件係與實施例 1 同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，作為表面處理，係對底面使用準分子照射裝置(M.D.COM 股份有限公司製)實施準分子處理 1 次。此時，準分子處理之條件為 12V、照射距離 4mm、機台移動速度 5mm/sec。又，對上側面不進行表面處理。

此時，底面之靜態水接觸角為 76.2° ，接觸角滯後為 41.8° 。又，上側面之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

【0094】其結果，形成於底面之細胞接著抑制劑的膜，未轉印至上側面。本實驗中可認為藉由使底面親水化，提高底面之基材與細胞接著抑制劑之密合性，另一方面上側面維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自底面轉印至上側面，並未剝離。

亦即，即使親水化處理之方法為異於電暈處理者，藉由對底面實施親水化處理，亦可防止細胞接著抑制劑自底面轉印至上側面。

【0095】如以上所述，明顯可知藉由僅使培養容器內之底面親水化，或使底面較上側面更強力地親水化，可將底面之基材與細胞接著抑制劑之密合性相對地較上側面之基材與細胞接著抑制劑之密合性更加提高，細胞接著抑制劑不會自底面轉印至上側面，可防止剝離。另一方面，明顯可知將培養容器內之上側面強力地親水化時，細胞接著抑制劑容易自底面剝離。

又，可知即使細胞接著抑制劑之種類相異，藉由僅使培養容器內之底面親水化，或使底面較上側面更強力地親水化，亦可防止細胞接著抑制劑自底面轉印至上側面。

【0096】接著，詳細說明實驗，該實驗係為了確認於本發明之本實施形態之積層構造體中，若培養基材1之形成被覆層的表面的接觸角滯後，大於其表面之相反側之未形成被覆層的表面的接觸角滯後，則不會自形成有被覆層的表面剝離而轉印至相反側之表面所進行。

再者，以下所示之實施例11~17，及比較例11~17，分別與上述實施例1~7，及比較例1~7為相同的實驗，但各自所對應之實施形態中所使用的用語不同，因此重新說明。

【0097】

(實施例11)

準備由聚烯烴所構成之長方形之薄膜，如圖2所示，

將其左半側之正方形部分假定為培養基材 1 之表面 11，其右半側之正方形部分假定為培養基材 1 之表面 12。然後，於表面 11 塗佈細胞接著抑制劑後，將表面 12 疊合於表面 11，施加荷重，之後，將表面 12 自表面 11 剝離，以目視判定細胞接著抑制劑是否轉印至表面 12。具體而言，係如以下般進行。

【0098】首先，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，作為表面處理，對表面 11 使用批式電暈處理裝置(春日電機股份有限公司製，以下相同)實施電暈處理 1 次。又，對表面 12 未進行表面處理。

此時，表面 11 之靜態水接觸角為 71.9° ，接觸角滯後為 43.6° 。又，表面 12 之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

【0099】靜態水接觸角及滯後之測定，係使用固液界面解析系統 DropMaster 700(協和界面科學股份有限公司製)。

具體而言，靜態水接觸角(θ_s)，係於薄膜上滴下純水 $3\mu\text{l}$ 來測定。又，接觸角滯後($\theta_a - \theta_r$)，係於薄膜上滴下純水 $30\mu\text{l}$ ，每 1 秒傾斜測定台 1° ，藉由切線法算出滑落時之前進接觸角(θ_a)與後退接觸角(θ_r)而得到。

【0100】接著，對表面 11，以棒塗佈器塗佈作為細胞接著抑制劑之調製為 0.5% 的磷脂質聚合物(LIPIDURE(註冊商標)，日油股份有限公司)乙醇溶液，以形成膜後，將該細胞接著抑制劑的膜以考馬斯藍染色後乾燥。

然後，對該表面 11 貼附表面 12，施加 $10\text{g}/\text{cm}^2$ 之荷重，靜置 1 分鐘後，將表面 12 自表面 11 剝離。

【0101】其結果，形成於表面 11 之細胞接著抑制劑的膜(被覆層)，未轉印至表面 12。本實驗中可認為藉由使表面 11 親水化，表面 11 之基材與細胞接著抑制劑之密合性提高，另一方面表面 12 維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自表面 11 轉印至表面 12，並未剝離。

【0102】

(實施例 12)

表面處理之條件係與實施例 11 不同，其他條件係與實施例 11 同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，作為表面處理，對表面 11 使用批式電暈處理裝置實施電暈處理 3 次。又，對表面 12 未進行表面處理。

此時，表面 11 之靜態水接觸角為 54.2° ，接觸角滯後為 50.3° 。又，表面 12 之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

【0103】其結果，形成於表面 11 之細胞接著抑制劑的膜並未轉印。本實驗中可認為藉由使表面 11 更強力地親水化，表面 11 之基材與細胞接著抑制劑的密合性更加提高，另一方面表面 12 維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自表面 11 轉印至表面 12，並未剝離。

【0104】

(比較例 11)

表面處理之條件係與實施例 11 不同，其他條件係與實施例 11 同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯 (PE) 薄膜作為薄膜。然後，對表面 11 及表面 12，未進行表面處理。

此時，表面 11 及表面 12 之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

【0105】其結果，形成於表面 11 之細胞接著抑制劑的膜，大幅轉印至表面 12。本實驗中可認為表面 11 與表面 12 均維持疏水性，因此表面 11 之基材與細胞接著抑制劑未充分接著，轉印至表面 12，而自表面 11 剝離。

【0106】

(比較例 12)

表面處理之條件係與實施例 11 不同，其他條件係與實施例 11 同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯 (PE) 薄膜作為薄膜。然後，對表面 11，未進行表面處理。另一方面，對表面 12，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理 3 次。

此時，表面 11 之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。又，表面 12 之靜態水接觸角為 54.2° ，接觸角滯後為 50.3° 。

【0107】其結果，形成於表面 11 之細胞接著抑制劑的膜，大幅轉印至表面 12。本實驗中可認為表面 11 係維持疏水性，另一方面，表面 12 經強力地親水化，因此形成於表面 11 之細胞接著抑制劑的膜轉印至表面 12，而自表面 11 剝

離。

【 0108】

(比較例 13)

表面處理之條件係與實施例 11 不同，其他條件係與實施例 11 同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，對表面 11，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理 1 次，對表面 12，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理 3 次。

此時，表面 11 之靜態水接觸角為 71.9° ，接觸角滯後為 43.6° 。又，表面 12 之靜態水接觸角為 54.2° ，接觸角滯後為 50.3° 。

【 0109】 其結果，形成於表面 11 之細胞接著抑制劑的膜，大幅轉印至表面 12。本實驗中可認為表面 12 較表面 11 更強力地被親水化，因此形成於表面 11 之細胞接著抑制劑的膜轉印至表面 12，而自表面 11 剝離。

【 0110】

(比較例 14)

表面處理之條件係與實施例 11 不同，其他條件係與實施例 11 同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，對表面 11 及表面 12，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理 3 次。

此時，表面 11 及表面 12 之靜態水接觸角為 54.2° ，接觸

角滯後為 50.3° 。

【0111】其結果，形成於表面11之細胞接著抑制劑的膜，大幅轉印至表面12。本實驗中可認為表面11與表面12均同樣地強力被親水化，因此形成於表面11之細胞接著抑制劑的膜轉印至表面12，而自表面11剝離。

如此地，由比較例12~14之結果，可知若表面12強力地被親水化時，細胞接著抑制劑容易自表面11剝離。

【0112】

(實施例13)

薄膜之材料與表面處理之條件係與實施例11不同，其他條件係與實施例11同樣地進行實驗。

具體而言，使用環狀烯烴共聚物(COC)薄膜作為薄膜。然後，對表面11，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理3次。又，對表面12未進行表面處理。

此時，表面11之靜態水接觸角為 55.2° ，接觸角滯後為 48.8° 。又，表面12之靜態水接觸角為 97.0° ，接觸角滯後為 22.6° 。

【0113】其結果，形成於表面11之細胞接著抑制劑的膜，未轉印至表面12。本實驗中可認為藉由使表面11親水化，表面11之基材與細胞接著抑制劑之密合性提高，另一方面表面12維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自表面11轉印至表面12，並未剝離。

【0114】

(比較例15)

表面處理之條件係與實施例 13 不同，其他條件係與實施例 13 同樣地進行實驗。

具體而言，使用環狀烯烴共聚物 (COC) 薄膜作為薄膜。然後，對表面 11 及表面 12，未進行表面處理。

此時，表面 11 及表面 12 之靜態水接觸角為 97.0° ，接觸角滯後為 22.6° 。

【0115】其結果，形成於表面 11 之細胞接著抑制劑的膜，些微地轉印至表面 12。本實驗中可認為表面 11 與表面 12 均維持疏水性，因此表面 11 之基材與細胞接著抑制劑未充分接著，轉印至表面 12，而自表面 11 剝離。

【0116】

(實施例 14)

細胞接著抑制劑之種類與其被覆方法，及表面處理之條件係與實施例 11 不同，其他條件係與實施例 11 同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯 (PE) 薄膜作為薄膜。又，對表面 11，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理 3 次。又，對表面 12 未進行表面處理。

此時，表面 11 之靜態水接觸角為 54.2° ，接觸角滯後為 50.3° 。又，表面 12 之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

又，作為細胞接著抑制劑，係使用側鏈具有疊氮基的聚乙烯醇 (BIOSURFINE(註冊商標)-AWP，東洋合成工業股份有限公司)。將該細胞接著抑制劑調製為 1% 之水溶

液，以棒塗佈器塗佈於表面11後，以累積光量 $0.7\text{J}/\text{cm}^2$ 照射波長 254nm 之UV，使其硬化。

【0117】其結果，形成於表面11之細胞接著抑制劑的膜，未轉印至表面12。本實驗中可認為藉由使表面11親水化，表面11之基材與細胞接著抑制劑之密合性提高，另一方面表面12維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自表面11轉印至表面12，並未剝離。

亦即，即使細胞接著抑制劑之種類相異，藉由對表面11實施親水化處理，亦可防止細胞接著抑制劑自表面11轉印至表面12。

【0118】

(比較例16)

表面處理之條件係與實施例14不同，其他條件係與實施例14同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。又，對表面11及表面12，未進行表面處理。

此時，表面11及表面12之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

又，作為細胞接著抑制劑，係使用側鏈具有疊氮基的聚乙烯醇(BIOSURFINE(註冊商標)-AWP，東洋合成工業股份有限公司)。將該細胞接著抑制劑調製為1%之水溶液，以棒塗佈器塗佈於表面11後，以累積光量 $0.7\text{J}/\text{cm}^2$ 照射波長 254nm 之UV，使其硬化。

【0119】其結果，形成於表面11之細胞接著抑制劑的

膜，些微地轉印至表面12。本實驗中可認為表面11與表面12均維持疏水性，因此表面11之基材與細胞接著抑制劑未充分接著，轉印至表面12，而自表面11剝離。

【0120】

(實施例15)

以與實施例11相同之條件對薄膜進行表面處理後，於50℃經過7日後，測定表面11及表面12之靜態水接觸角與接觸角滯後。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，對表面11，作為表面處理，係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理1次。又，對表面12未進行表面處理。

【0121】於50℃經過7日後，進行過1次電暈處理的表面11之靜態水接觸角為87.8°，接觸角滯後為43.9°。又，未進行表面處理的表面12之靜態水接觸角為96.7°，接觸角滯後為18.0°。

亦即，將對表面11實施過表面處理之薄膜於50℃保管7日的結果，可知表面11之靜態水接觸角，回到接近未進行表面處理之數值的顯示疏水性之數值。相對於此，表面11的接觸角滯後，相較於實施例1而言，未見到大的變化。

【0122】接著，與實施例11同樣地，對表面11，塗佈細胞接著抑制劑以形成膜後，將該細胞接著抑制劑的膜以考馬斯藍染色後乾燥。

然後，對該表面11貼附表面12，施加10g/cm²之荷

重，靜置1分鐘後，將表面12自表面11剝離。

【0123】其結果，形成於表面11之細胞接著抑制劑的膜，未轉印至表面12。

亦即，可認為雖表面11之靜態水接觸角回到顯示疏水性的數值，但表面11的接觸角滯後係顯示親水化之數值，表面11之基材與細胞接著抑制劑之密合性提高，另一方面表面12維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自表面11轉印至表面12，並未剝離。

【0124】如上述明顯可知，表面11之靜態水接觸角雖如此地顯示疏水性之數值，但表面11的接觸角滯後顯示親水化之數值的情況時，可說是表面11經親水化。

【0125】

(實施例16)

表面處理之條件係與實施例15不同，其他條件係與實施例15同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，對表面11，作為表面處理係使用批式電暈處理裝置實施電暈處理3次。又，對表面12未進行表面處理。然後，於50℃經過7日後，測定表面11及表面12之靜態水接觸角與接觸角滯後。

【0126】此時，進行過3次電暈處理的表面11之靜態水接觸角為85.3°，接觸角滯後為44.5°。又，未進行表面處理的表面12之靜態水接觸角為96.7°，接觸角滯後為18.0°。

亦即，將對表面11實施過表面處理之薄膜於50℃保管

7日的結果，可知表面11之靜態水接觸角，回到接近未進行表面處理之數值的顯示疏水性之數值。相對於此，表面11的接觸角滯後，未見到大的變化。

【0127】接著，與實施例11同樣地，對表面11，塗佈細胞接著抑制劑以形成膜後，將該細胞接著抑制劑的膜以考馬斯藍染色後乾燥。

然後，對該表面11貼附表面12，施加 $10\text{g}/\text{cm}^2$ 之荷重，靜置1分鐘後，將表面12自表面11剝離。

【0128】其結果，與實施例15同樣地，形成於表面11之細胞接著抑制劑的膜，未轉印至表面12。

亦即，可認為雖表面11之靜態水接觸角回到顯示疏水性的數值，但表面11的接觸角滯後係顯示親水化之數值，表面11之基材與細胞接著抑制劑之密合性提高，另一方面表面12維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自表面11轉印至表面12，並未剝離。

【0129】

(比較例17)

表面處理之條件係與實施例5不同，其他條件係與實施例5同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，對表面11及表面12，未進行表面處理。然後，於 50°C 經過7日後，測定表面11及表面12之靜態水接觸角與接觸角滯後。

此時，表面11及表面12之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸

角滯後為 18.0° 。

【0130】接著，與實施例11同樣地，對表面11，塗佈細胞接著抑制劑以形成膜後，將該細胞接著抑制劑的膜以考馬斯藍染色後乾燥。

然後，對該表面11貼附表面12，施加 $10\text{g}/\text{cm}^2$ 之荷重，靜置1分鐘後，將表面12自表面11剝離。

【0131】其結果，形成於表面11之細胞接著抑制劑的膜，轉印至表面12。本實驗中可認為表面11與表面12均維持疏水性，因此表面11之基材與細胞接著抑制劑未充分接著，轉印至表面12，而自表面11剝離。

【0132】

(實施例17)

表面處理之條件係與實施例11不同，其他條件係與實施例11同樣地進行實驗。

具體而言，使用聚乙烯(PE)薄膜作為薄膜。然後，作為表面處理，對表面11使用準分子照射裝置(M.D.COM股份有限公司製)實施準分子處理1次。此時，準分子處理之條件為12V、照射距離4mm、機台移動速度 $5\text{mm}/\text{sec}$ 。又，對表面12未進行表面處理。

此時，表面11之靜態水接觸角為 76.2° ，接觸角滯後為 41.8° 。又，表面12之靜態水接觸角為 96.7° ，接觸角滯後為 18.0° 。

【0133】其結果，形成於表面11之細胞接著抑制劑的膜，未轉印至表面12。本實驗中可認為藉由使表面11親水

化，表面 11 之基材與細胞接著抑制劑之密合性提高，另一方面表面 12 維持疏水性，因此細胞接著抑制劑未自表面 11 轉印至表面 12，並未剝離。

亦即，即使親水化處理之方法為異於電暈處理者，藉由對表面 11 實施親水化處理，亦可防止細胞接著抑制劑自表面 11 轉印至表面 12。

【0134】如以上所述，明顯可知藉由僅使培養容器內之表面 11 親水化，或使表面 11 較表面 12 更強力地親水化，可將表面 11 之基材與被覆層之密合性相對地較表面 12 之基材與被覆層之密合性更加提高，被覆層不會自表面 11 轉印至表面 12，可防止剝離。另一方面，明顯可知將培養容器內之表面 12 強力地親水化時，被覆層容易自表面 11 剝離。

又，可知即使被覆層之種類相異，藉由僅使培養容器內之表面 11 親水化，或使表面 11 較表面 12 更強力地親水化，亦可防止被覆層自表面 11 轉印至表面 12。

【0135】本發明不限定於以上實施形態，當然可於本發明之範圍內實施各種變更。

例如，上述實施例中，係使用聚乙烯與環狀烯烴共聚物作為培養容器之基材，但只要係聚烯烴，則亦可使用其他之基材。又，作為表面處理，只要係基於接觸角滯後之值，而顯示親水化者，則不限定於電暈處理或準分子處理，亦可使用其他處理。進一步地，可於培養容器內之上側面及下側面形成細胞接著抑制劑的膜等，適當進行變更。

[產業上之可利用性]

【0136】本發明可適合地利用於將iPS細胞等進行球體培養的情況。

又，本發明可適合地利用於用以製造細胞培養容器的包材等。

【0137】本說明書記載之文獻及作為本案之巴黎優先權基礎的日本申請案說明書之內容全部援用於此。

【符號說明】

【0138】

1、1a：培養基材

11：第一表面

12、12a：第二表面

2：被覆層

【發明申請專利範圍】

【第 1 項】

一種培養容器，其係由軟包材所構成之培養容器，其特徵為

具備面對面的第一側面部與第二側面部，

將接觸角滯後(contact angle hysteresis)定義為水滑落時之前進接觸角-後退接觸角時，係以前述第一側面部之內面側之表面的接觸角滯後，大於前述第二側面部之內面側之表面的接觸角滯後的方式，至少對前述第一側面部之內面側實施表面處理，且

於前述第一側面部之內面側，形成有由細胞接著抑制劑所構成之膜。

【第 2 項】

如請求項 1 之培養容器，其中前述第一側面部之內面側之基材及前述第二側面部之內面側之基材係由聚烯烴所構成。

【第 3 項】

如請求項 1 或 2 之培養容器，其中至少對前述第一側面部之內面側實施親水化處理。

【第 4 項】

如請求項 1 或 2 之培養容器，其中前述細胞接著抑制劑，至少為磷脂質聚合物或聚乙烯醇衍生物之任一者。

【第 5 項】

如請求項 1 或 2 之培養容器，其中於前述第一側面部之

內面側形成有複數之孔(well)。

【第6項】

一種培養容器之製造方法，其係用於球體培養之培養容器之製造方法，其特徵為

對由聚烯烴所構成之薄膜或薄片的一部分實施親水化處理，

形成具備於內面側具備前述薄膜或薄片之經實施親水化處理的面之第一側面部，及與前述第一側面部面對面的第二側面部，且將接觸角滯後定義為水滑落時之前進接觸角-後退接觸角時，前述第一側面部之內面側之表面的接觸角滯後，大於前述第二側面部之內面側之表面的接觸角滯後之前述培養容器，

於前述第一側面部之內面側塗佈細胞接著抑制劑。

【第7項】

一種培養容器之製造方法，其係用於球體培養之培養容器之製造方法，其特徵為

對由聚烯烴所構成之薄膜或薄片的一部分實施第一親水化處理，並且對前述薄膜或薄片之另外一部分實施親水化力較前述第一親水化處理小的第二親水化處理，

形成具備於內面側具備前述薄膜或薄片之經實施前述第一親水化處理的面之第一側面部，及與前述第一側面部面對面的於內面側具備經實施前述第二親水化處理的面之第二側面部，且將接觸角滯後定義為水滑落時之前進接觸角-後退接觸角時，前述第一側面部之內面側之表面的接

觸角滯後，大於前述第二側面部之內面側之表面的接觸角滯後之前述培養容器，

於前述第一側面部之內面側塗佈細胞接著抑制劑。

【第8項】

一種積層構造體，其係疊合具有可撓性之培養基材而得的積層構造體，其特徵為

前述培養基材為薄膜或薄片狀，捲繞為輥狀而形成前述積層構造體，

前述培養基材具有形成有被覆層之第一表面，與其相反側之第二表面，且前述第一表面之親水性高於前述第二表面之親水性。

【第9項】

如請求項8之積層構造體，其中前述第二表面與前述被覆層係未接著地密合。

【第10項】

如請求項8或9之積層構造體，其中將接觸角滯後定義為前進接觸角-後退接觸角時，前述第一表面之滯後大於前述第二表面之滯後。

【第11項】

如請求項8或9之積層構造體，其中前述被覆層係將細胞接著抑制劑塗佈於前述第一表面所形成。

【第12項】

如請求項11之積層構造體，其中前述細胞接著抑制劑為磷脂質聚合物或聚乙烯醇衍生物。

【第 13 項】

如請求項 8 或 9 之積層構造體，其中前述培養基材係由聚烯烴所構成。

【第 14 項】

如請求項 8 或 9 之積層構造體，其中對前述第一表面實施親水化處理。

【第 15 項】

如請求項 8 或 9 之積層構造體，其中對前述第二表面未實施親水化處理。

【第 16 項】

如請求項 8 或 9 之積層構造體，其中係以前述第二表面之親水性小於前述第一表面之親水性的方式，對前述第二表面實施親水化處理。

【第 17 項】

如請求項 8 或 9 之積層構造體，其中前述培養基材係由相同或相異的複數之基材之層所構成。

【第 18 項】

一種積層構造體之製造方法，其係疊合具有可撓性之培養基材而得的積層構造體之製造方法，其特徵為

以由薄膜或薄片所構成之前述培養基材的第一表面之親水性，大於前述第一表面之相反側的第二表面之親水性的方式，至少對前述第一表面實施親水化處理，

於前述第一表面上塗佈被覆劑而形成被覆層，

將前述培養基材捲繞為輥狀。

【第 19 項】

如請求項 18 之積層構造體之製造方法，其中係以前述第二表面之親水性小於前述第一表面之親水性的方式，對前述第二表面實施親水化處理。

【發明圖式】

圖 1A

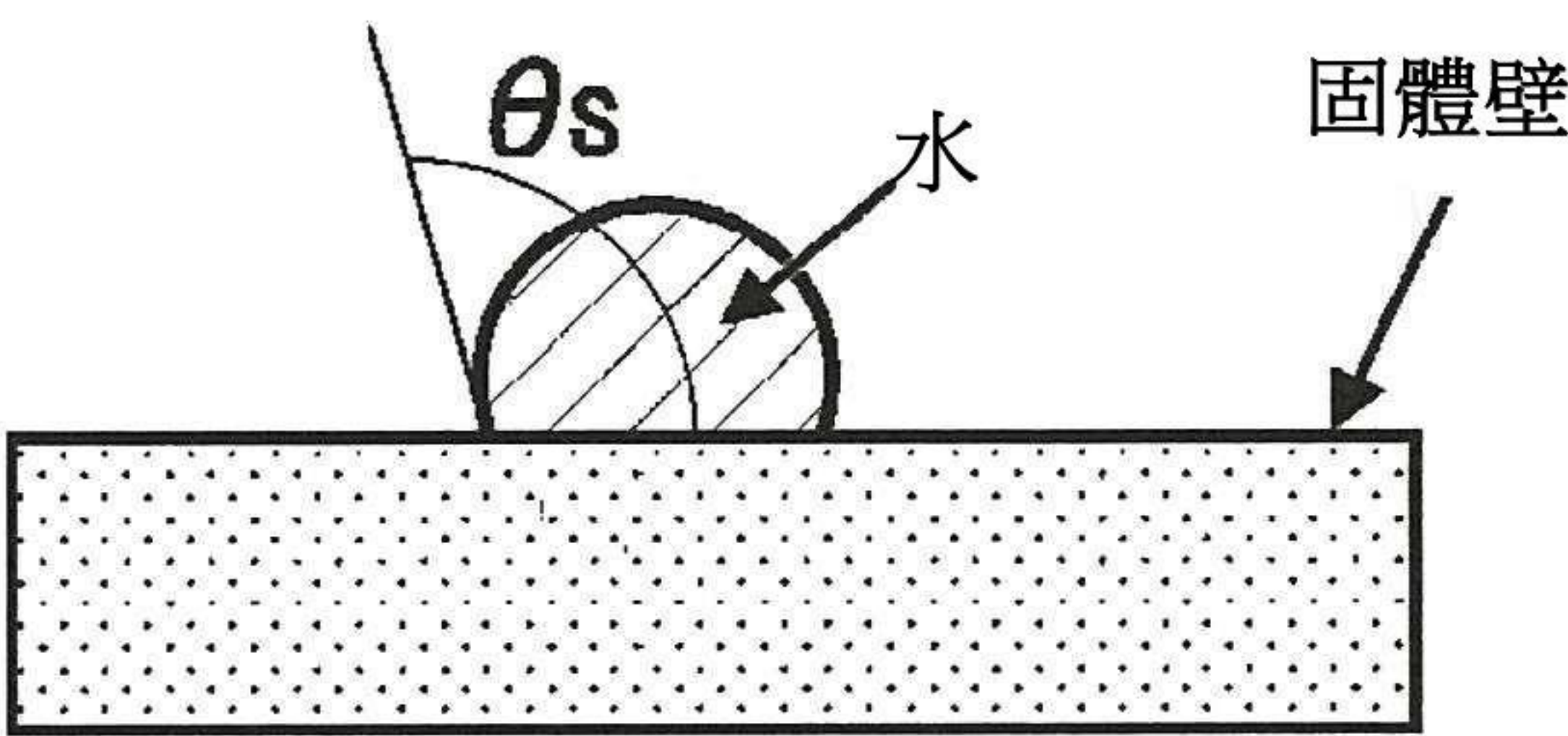


圖 1B

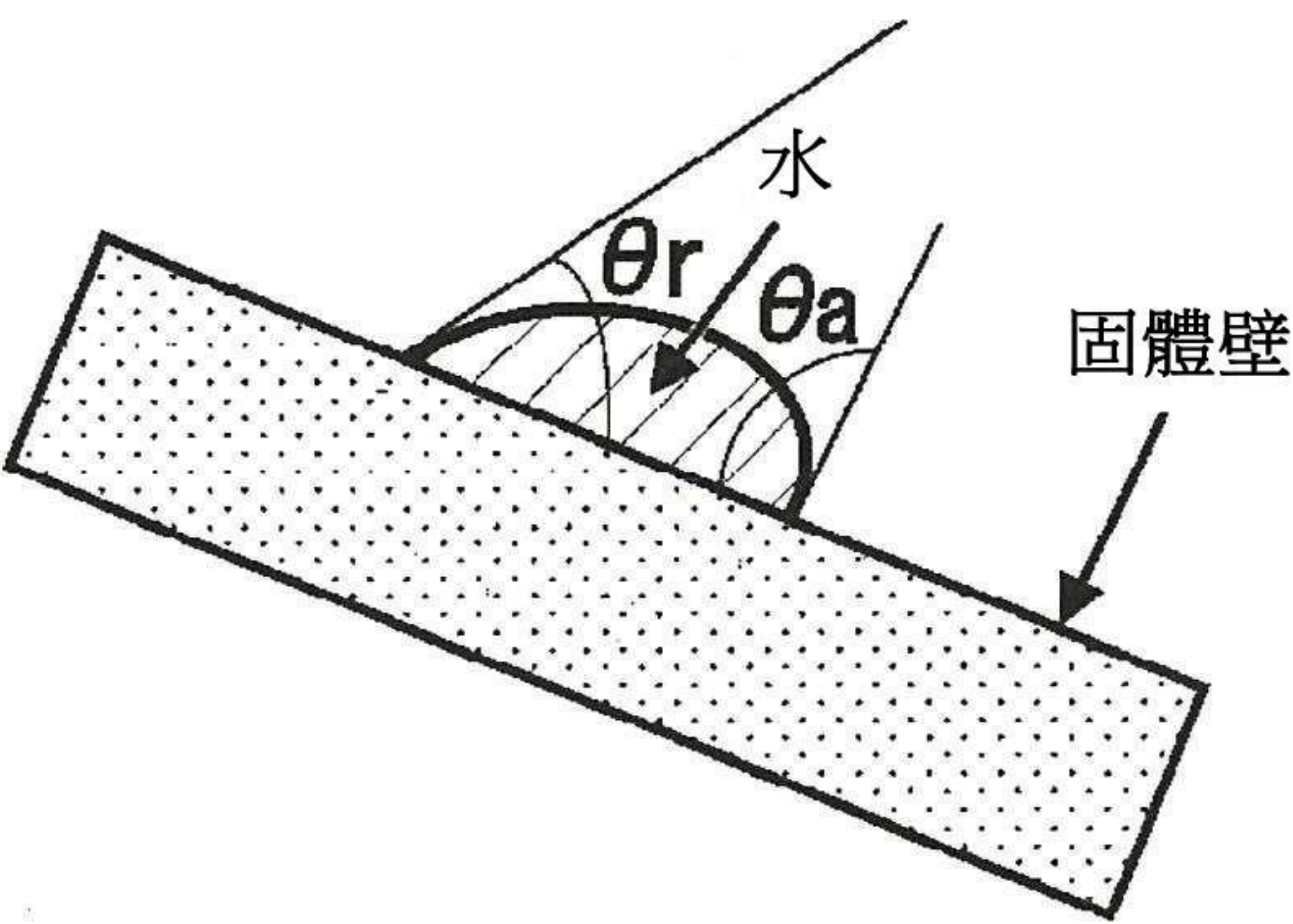
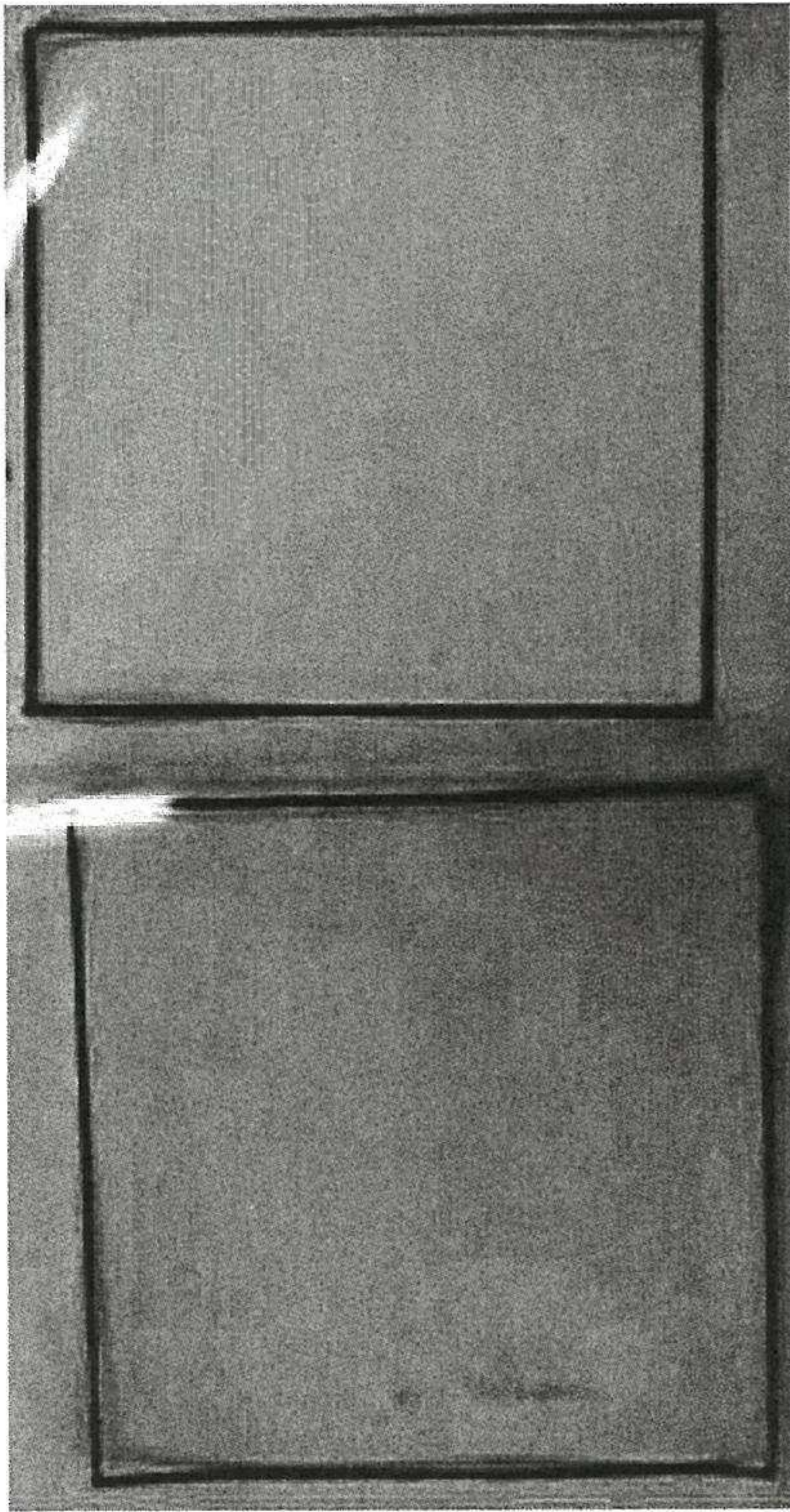


圖 2

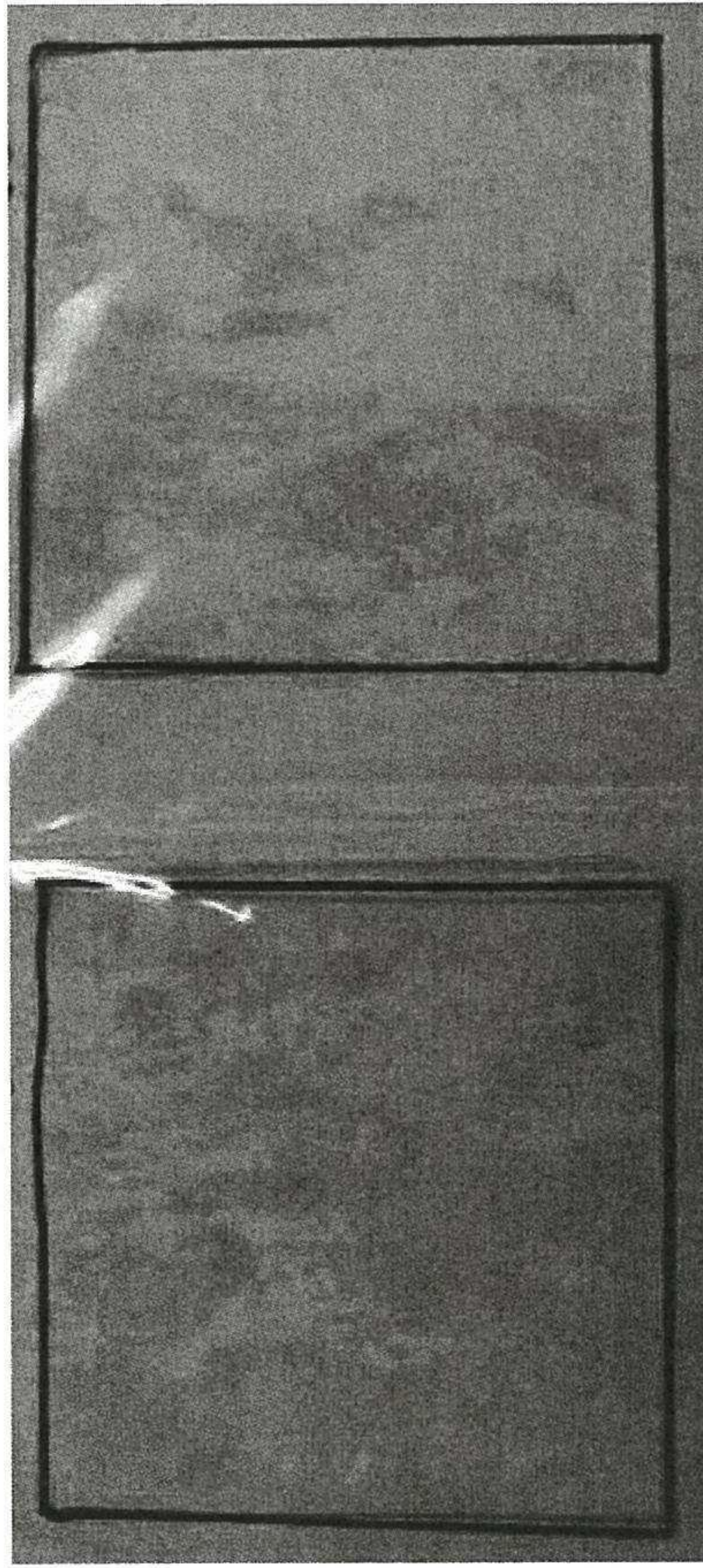
實施例1 (實施例11)



無轉印



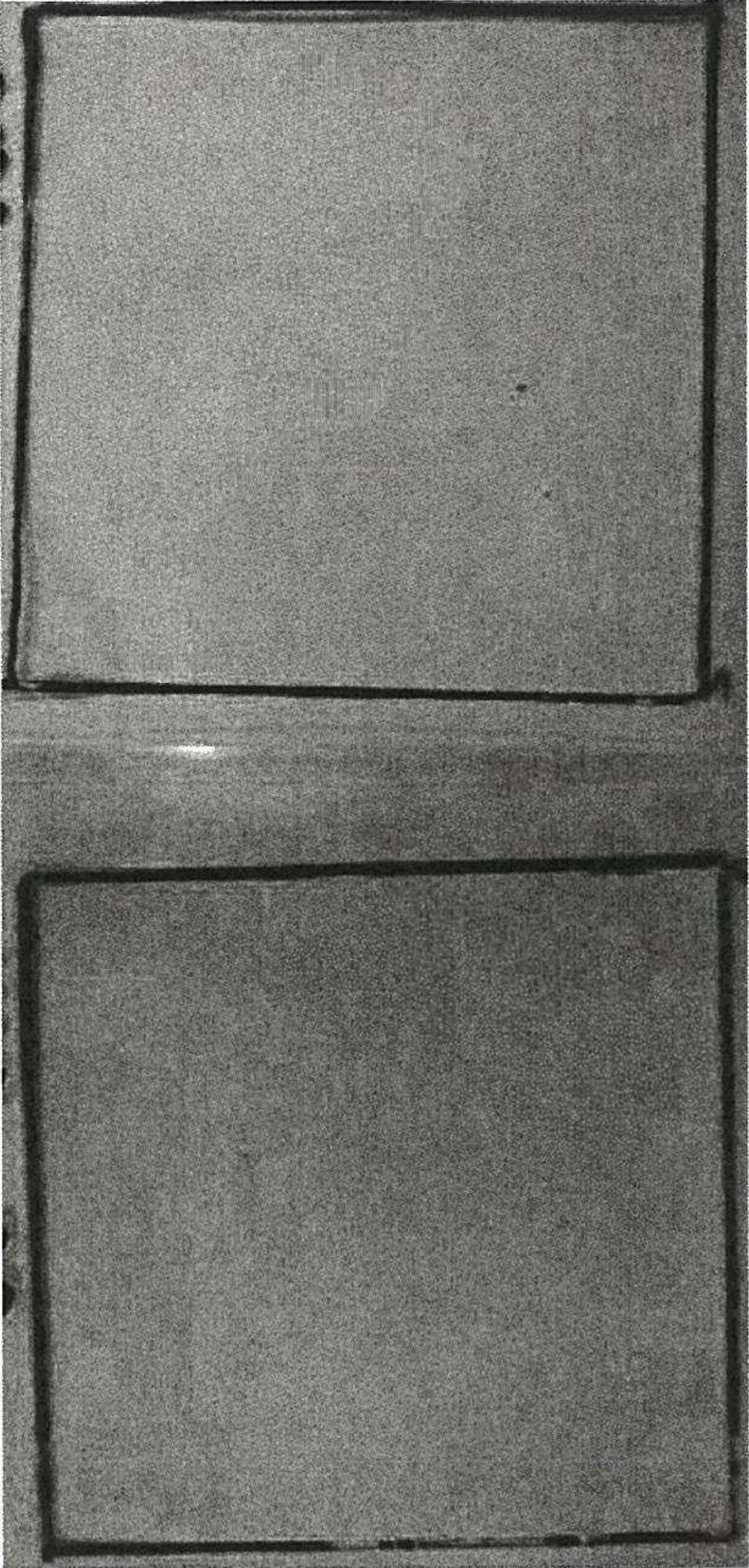
比較例1 (比較例11)



有轉印



實施例2 (實施例12)

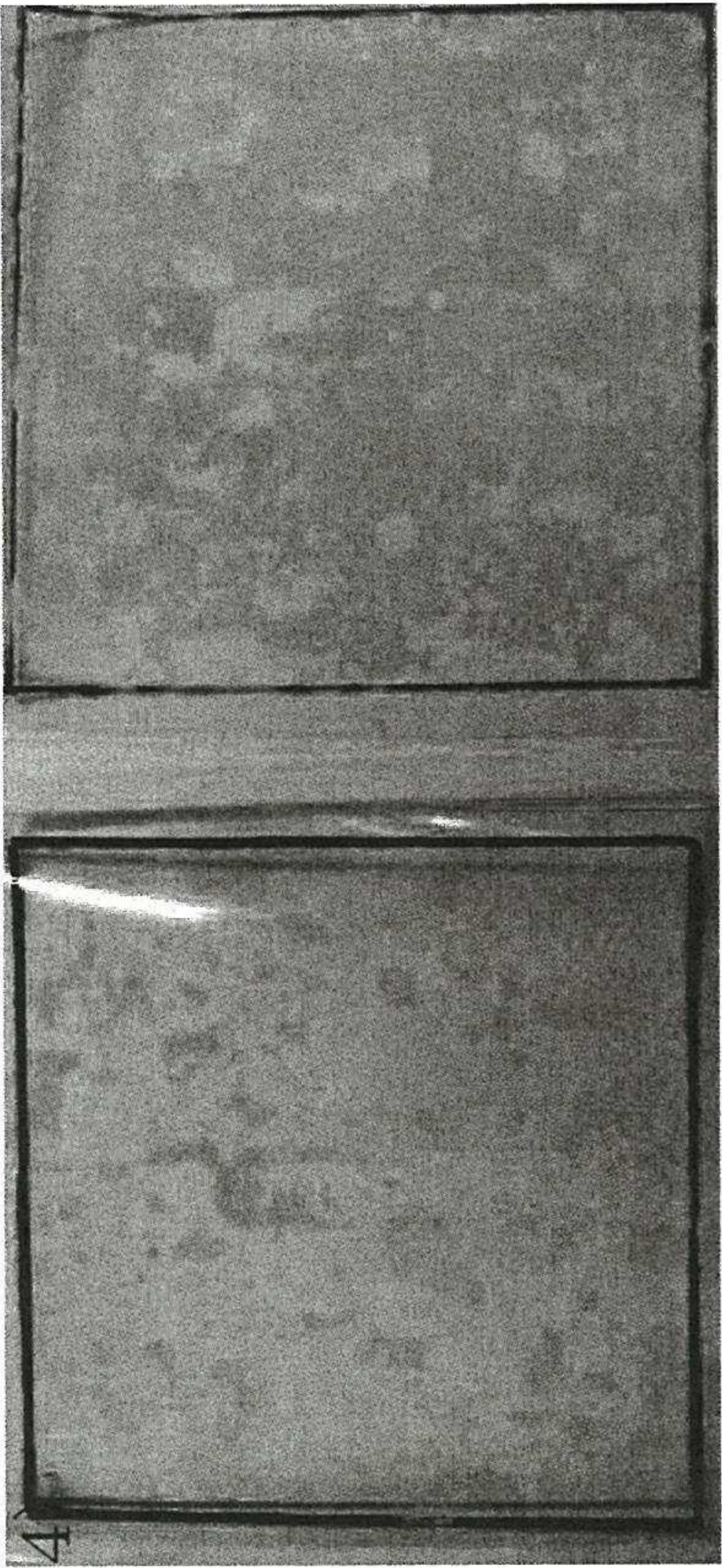


無轉印



圖 3

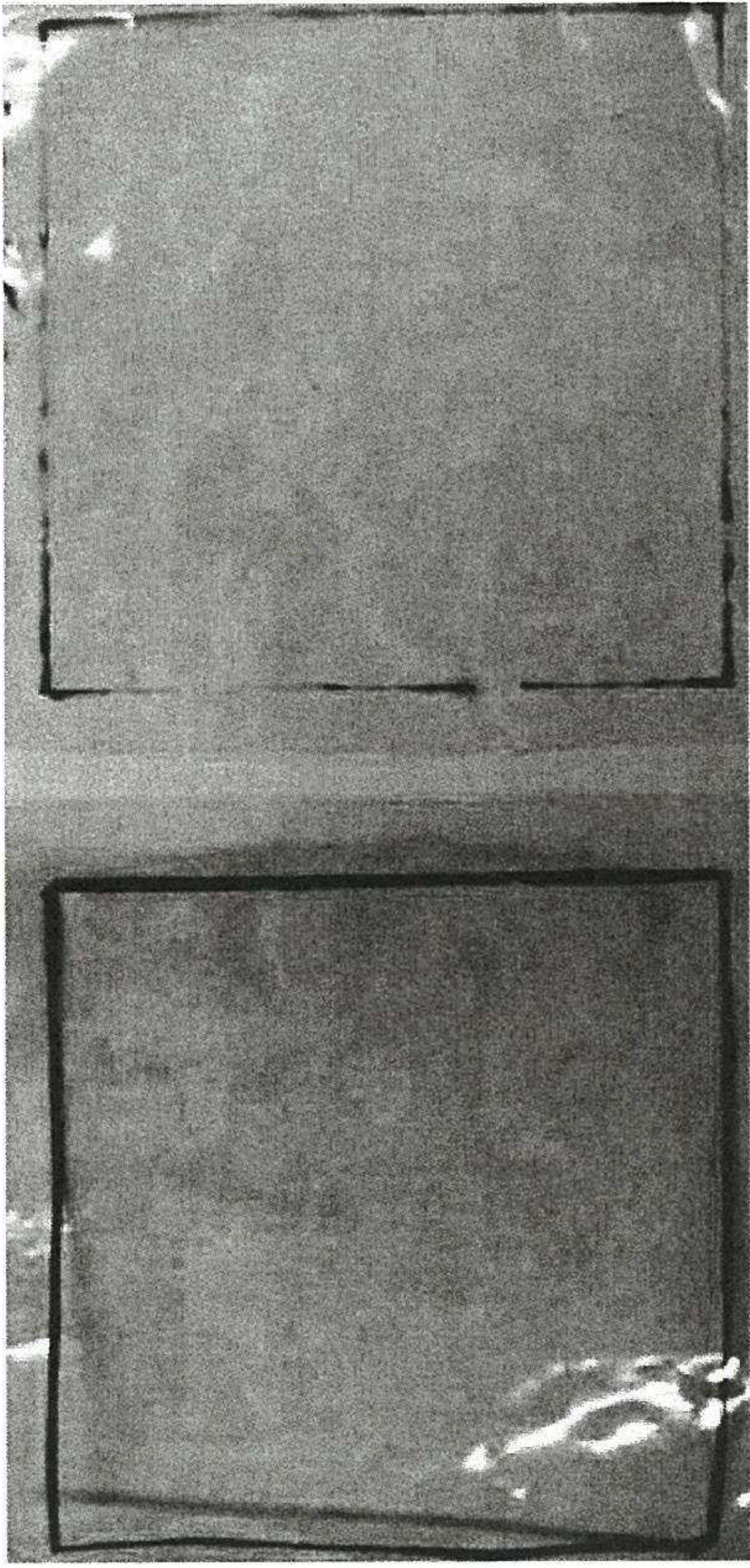
比較例2 (比較例12)



有轉印



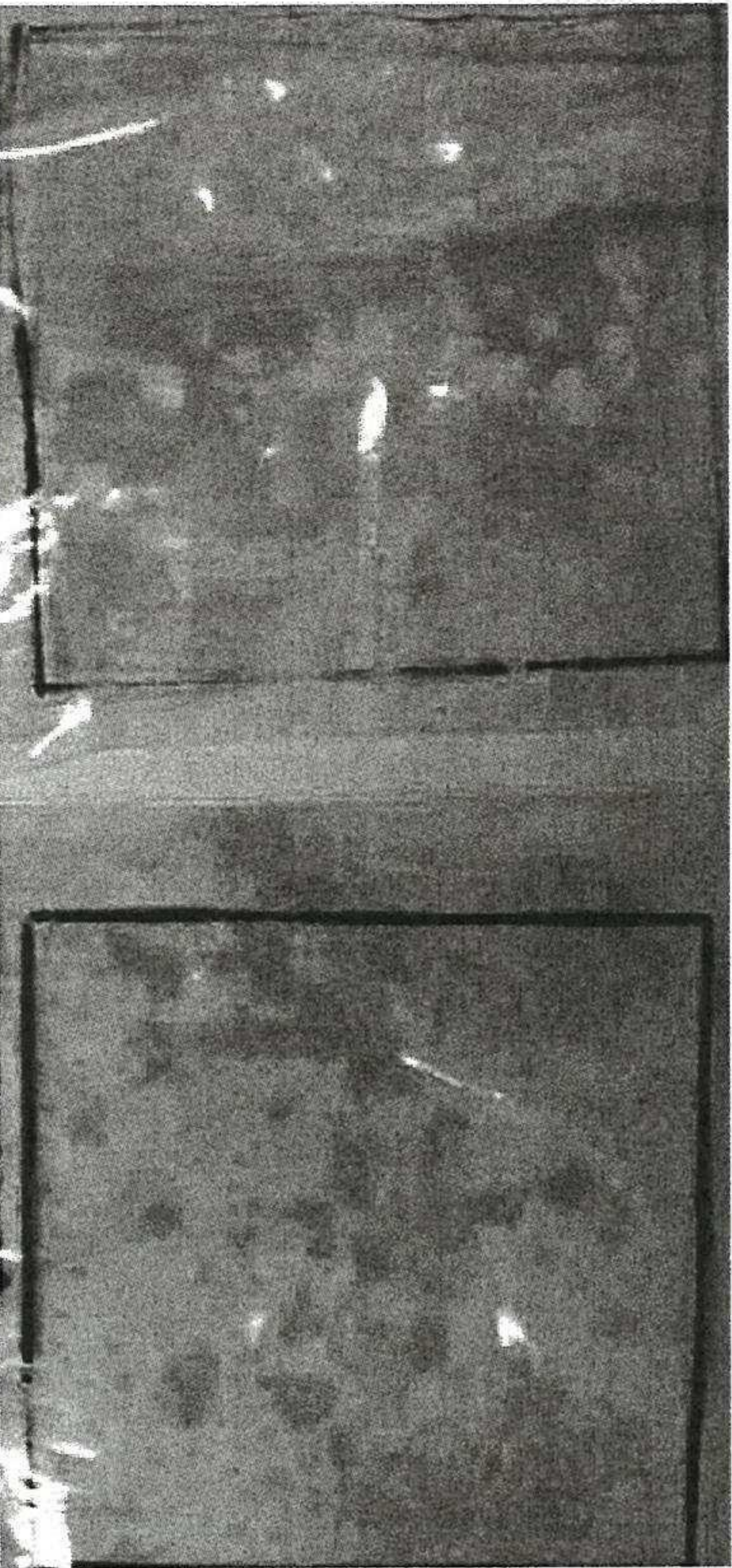
比較例4 (比較例14)



有轉印



比較例3 (比較例13)

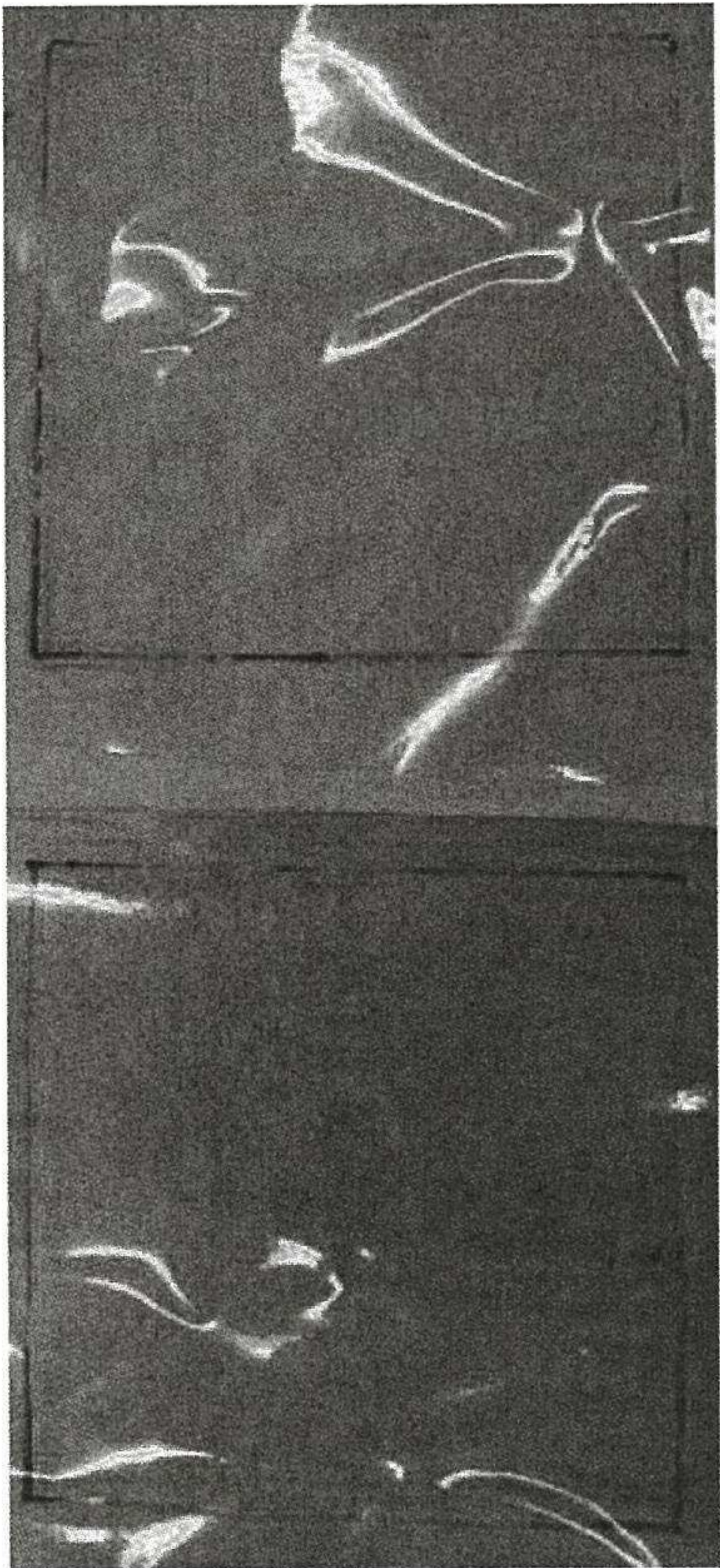


有轉印



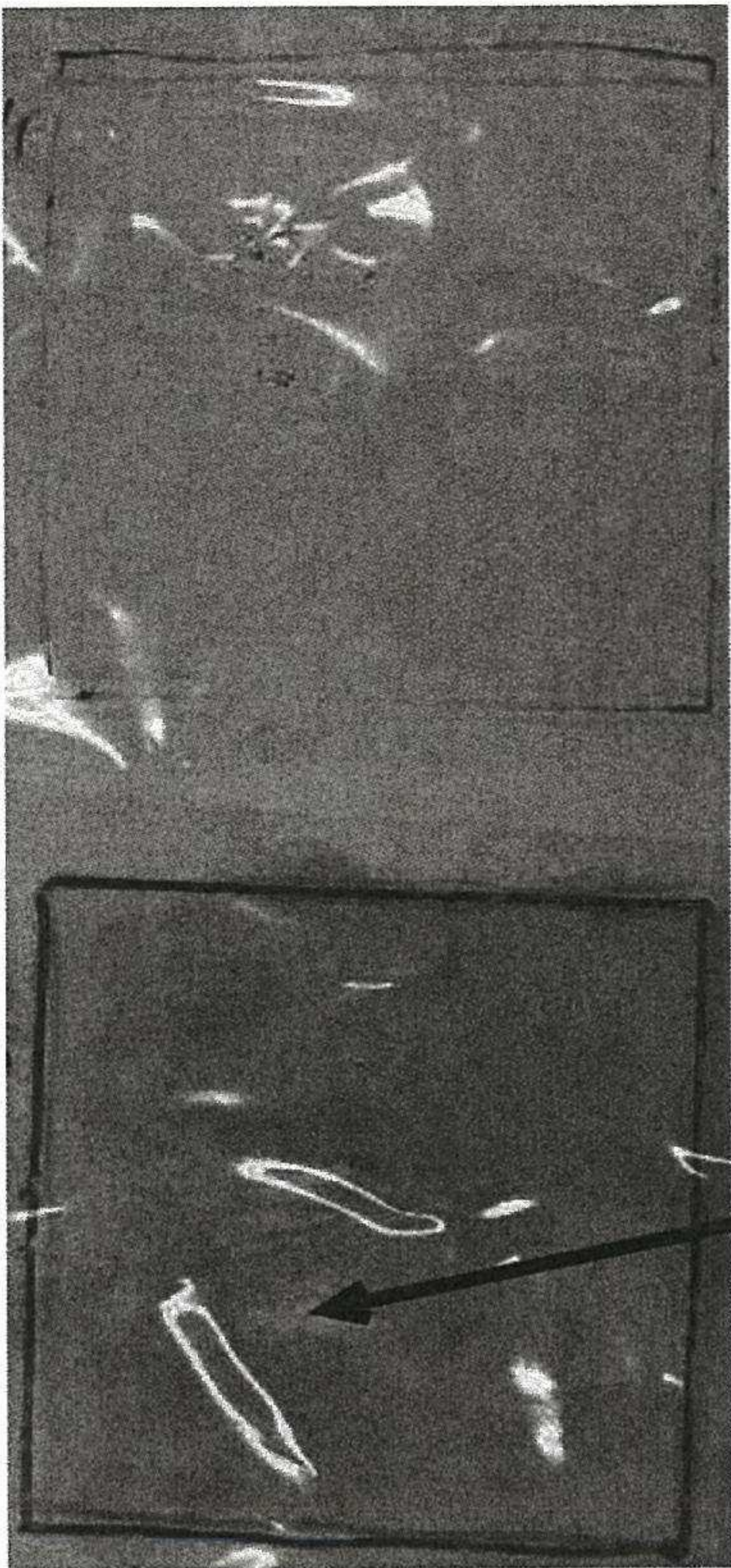
圖 4

實施例3 (實施例13)



無轉印

比較例5 (比較例15)

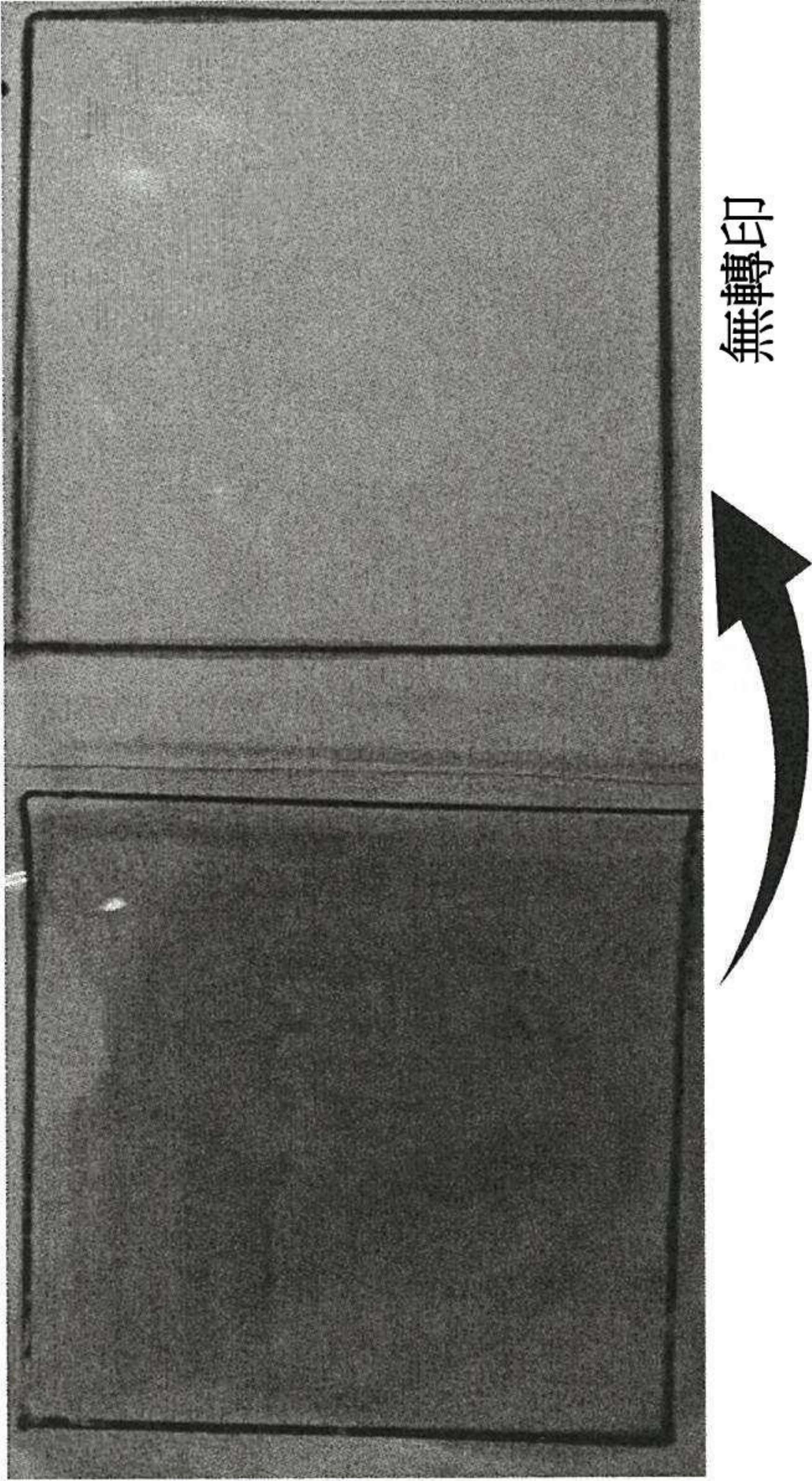


有轉印

此附近有剝離

圖 5

實施例4 (實施例14)



比較例6 (比較例16)

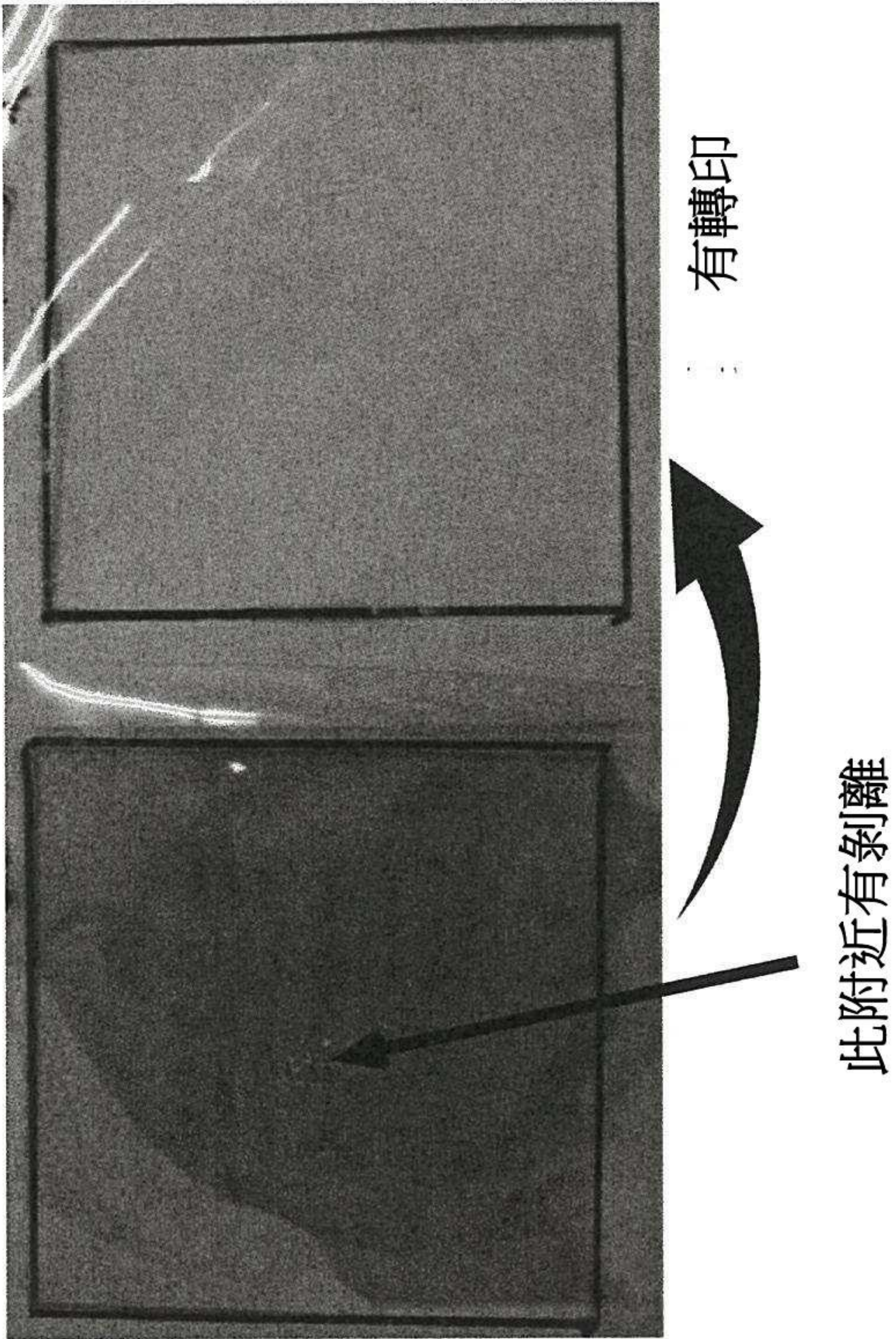
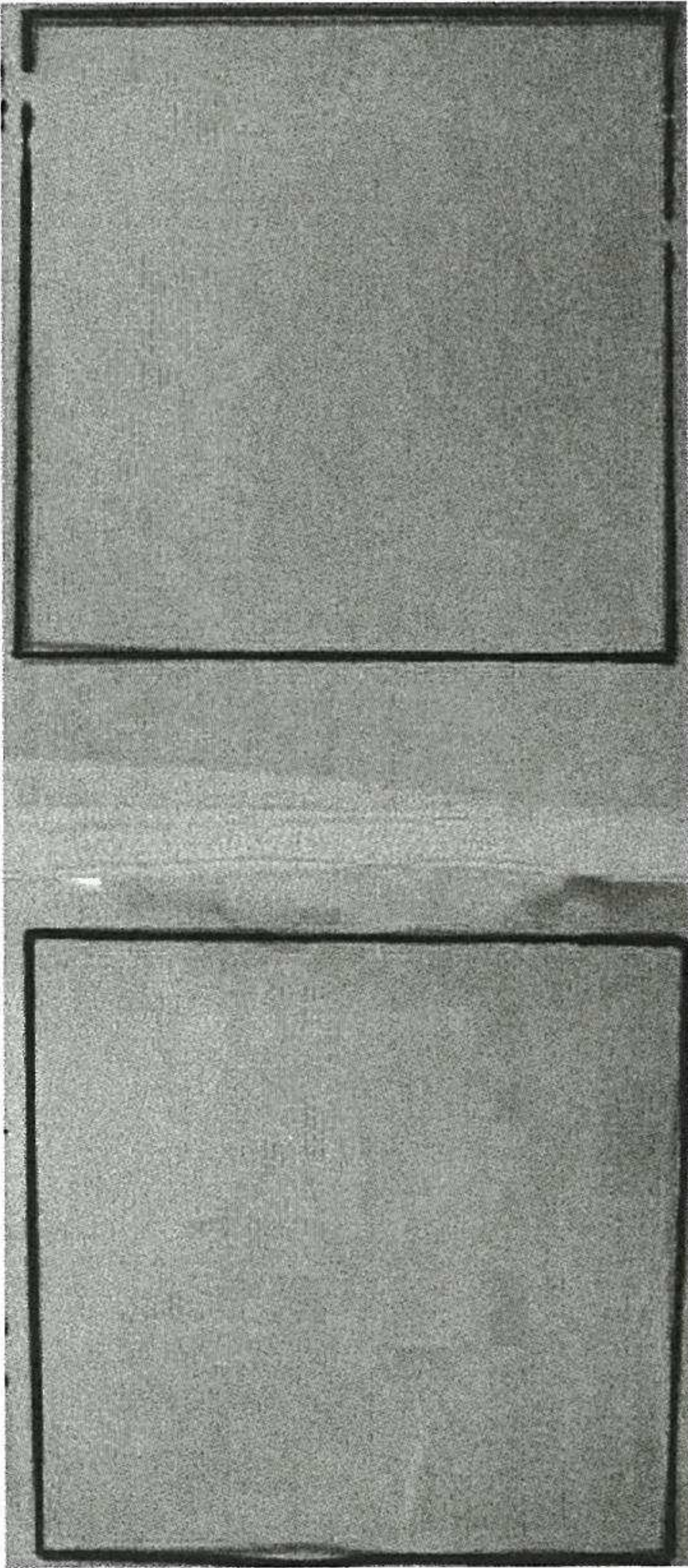


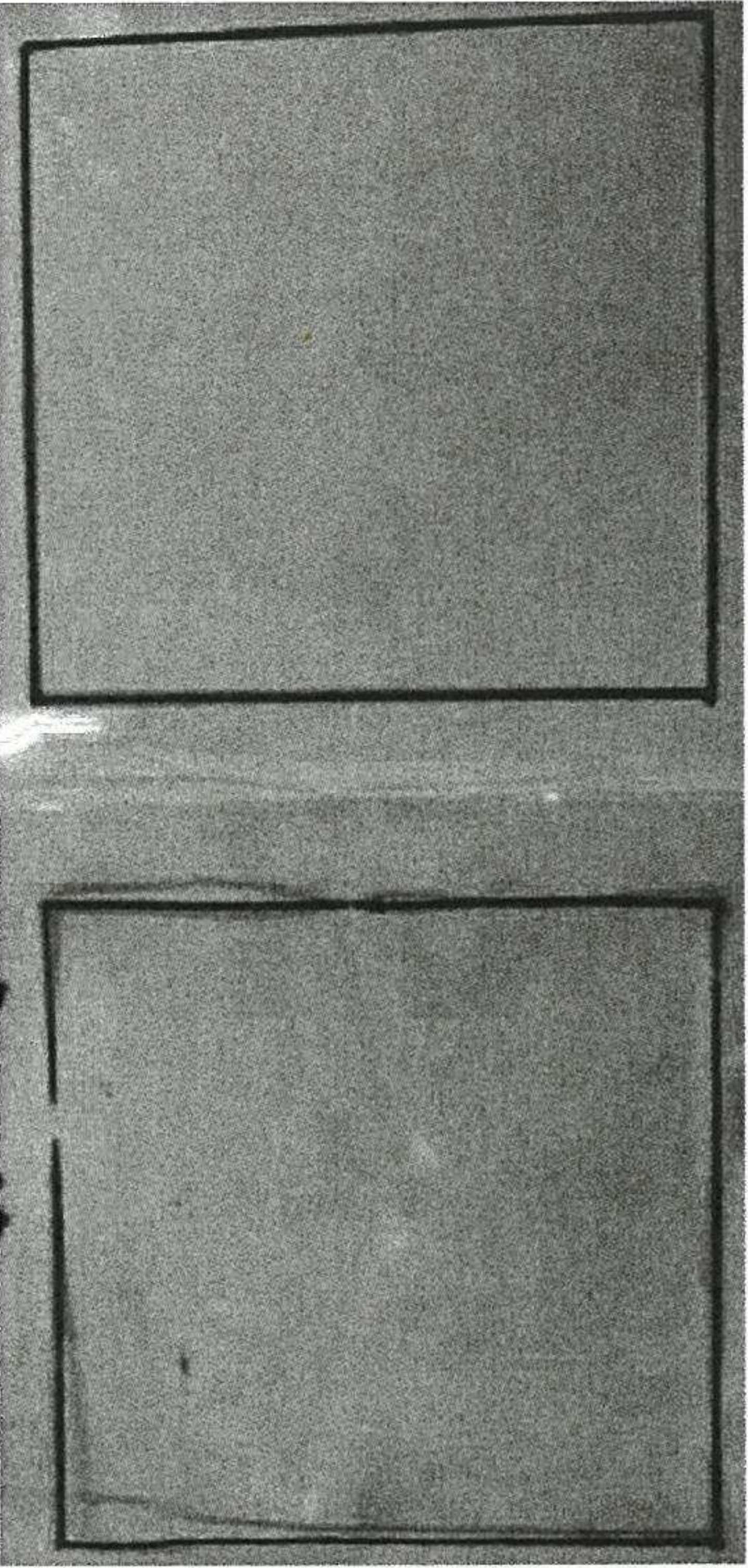
圖 6

實施例5 (實施例15)



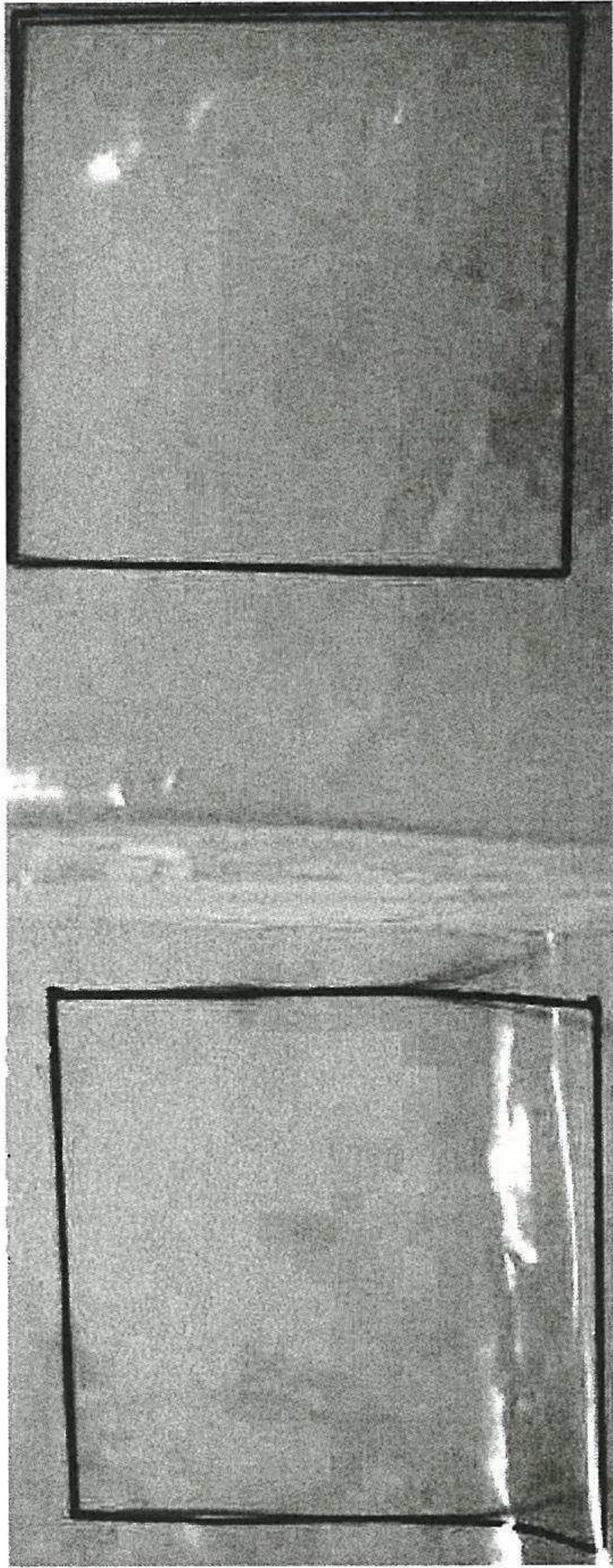
無轉印

實施例6 (實施例16)



無轉印

比較例7 (比較例17)



有轉印

圖 7

實施例7 (實施例17)

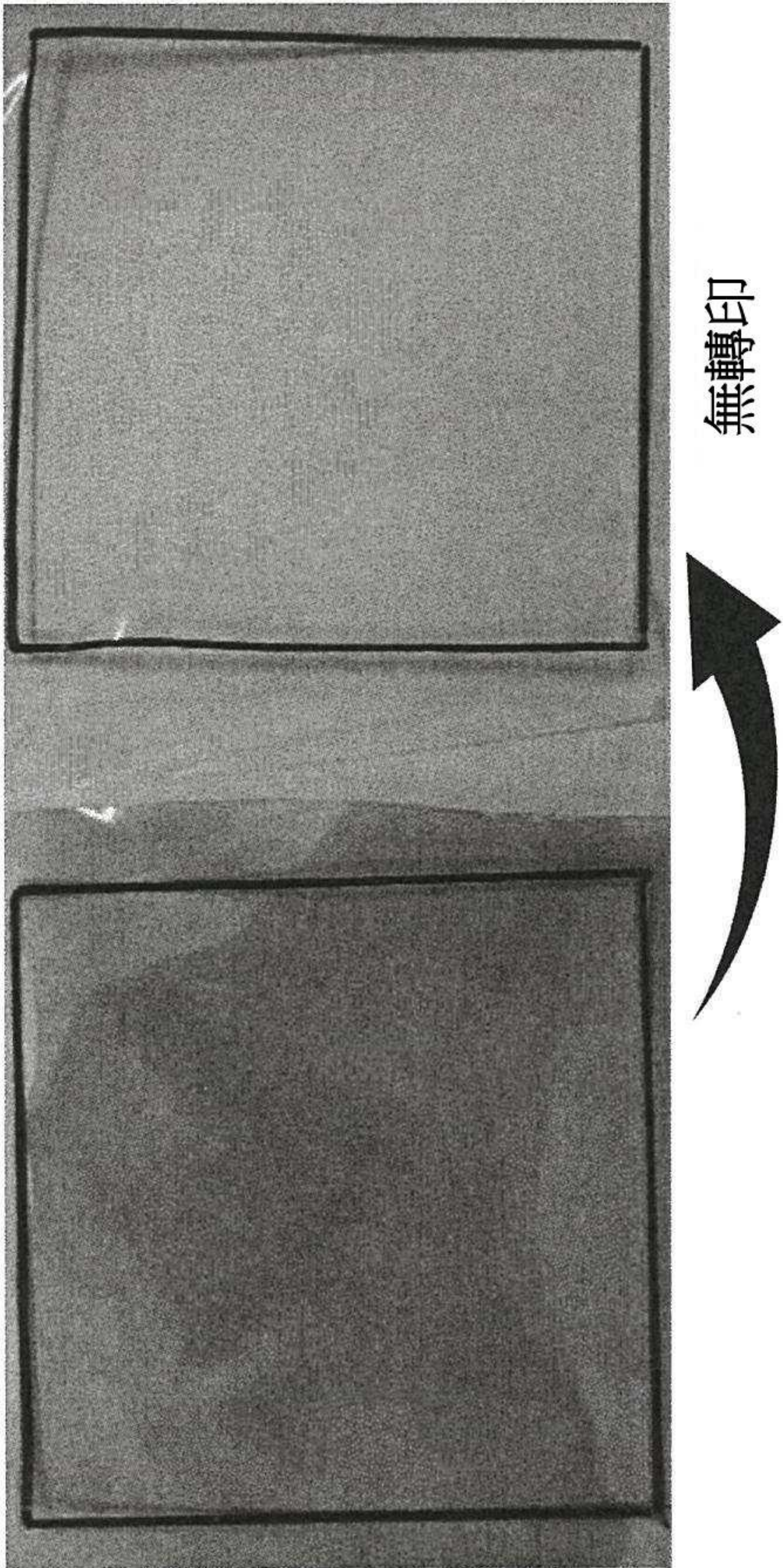


圖 8

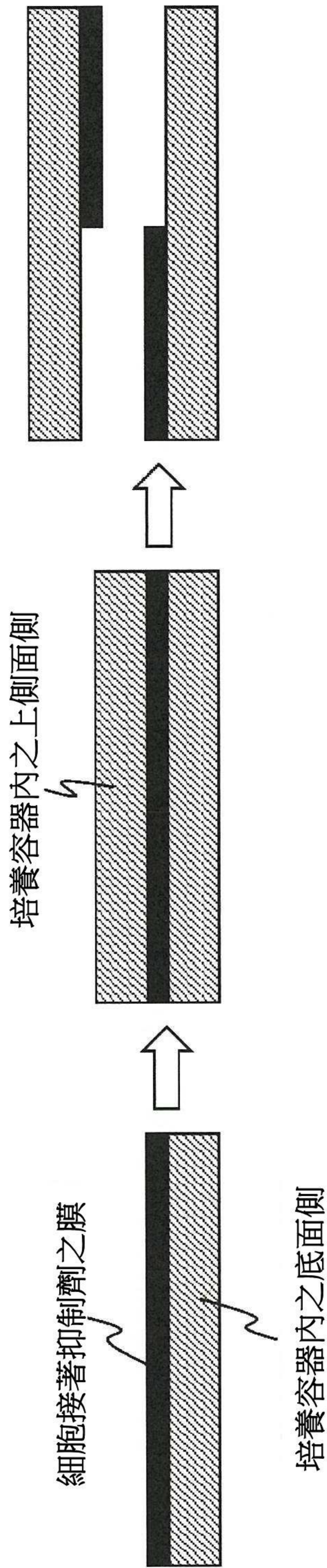


圖 9

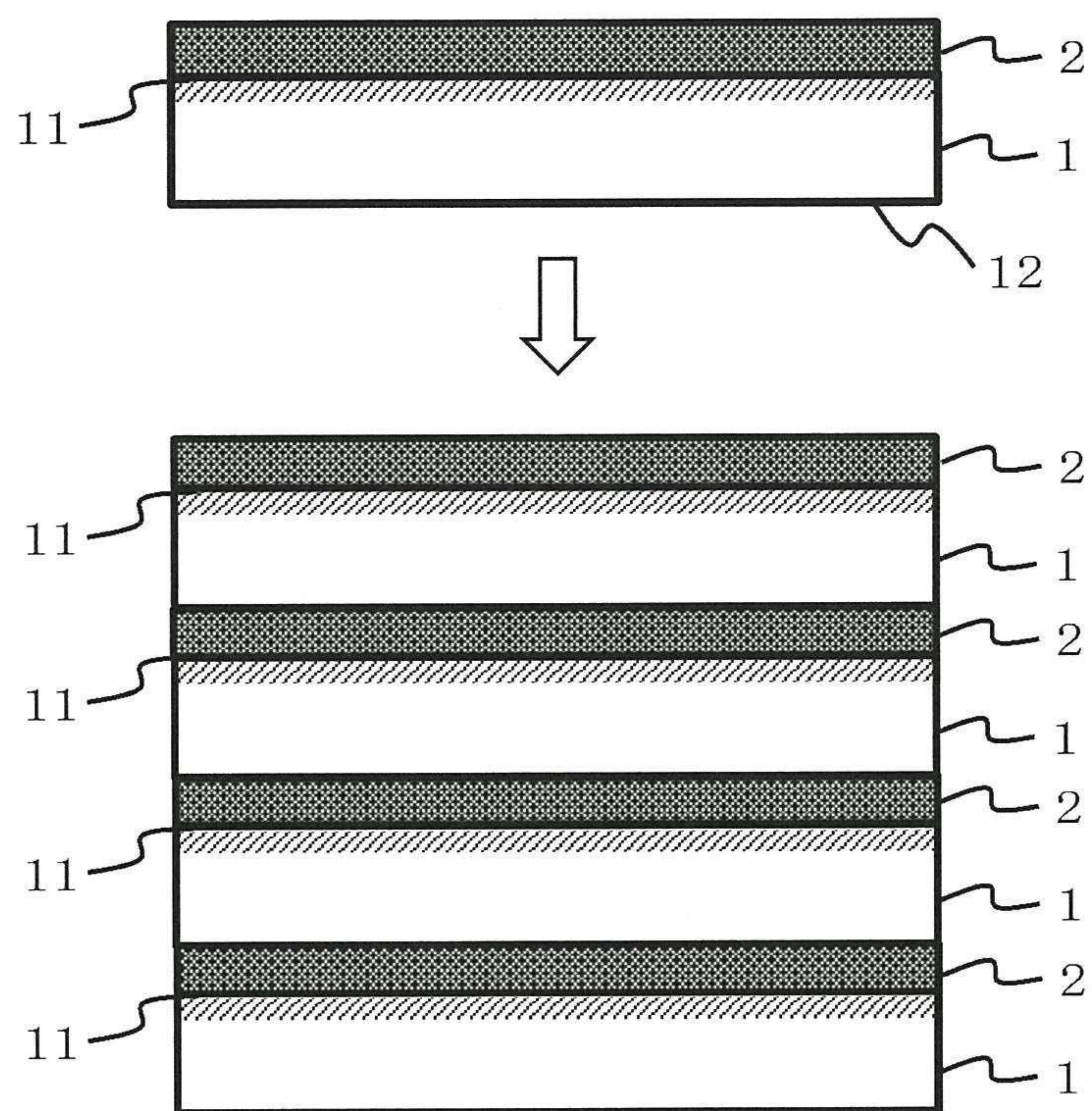


圖 10

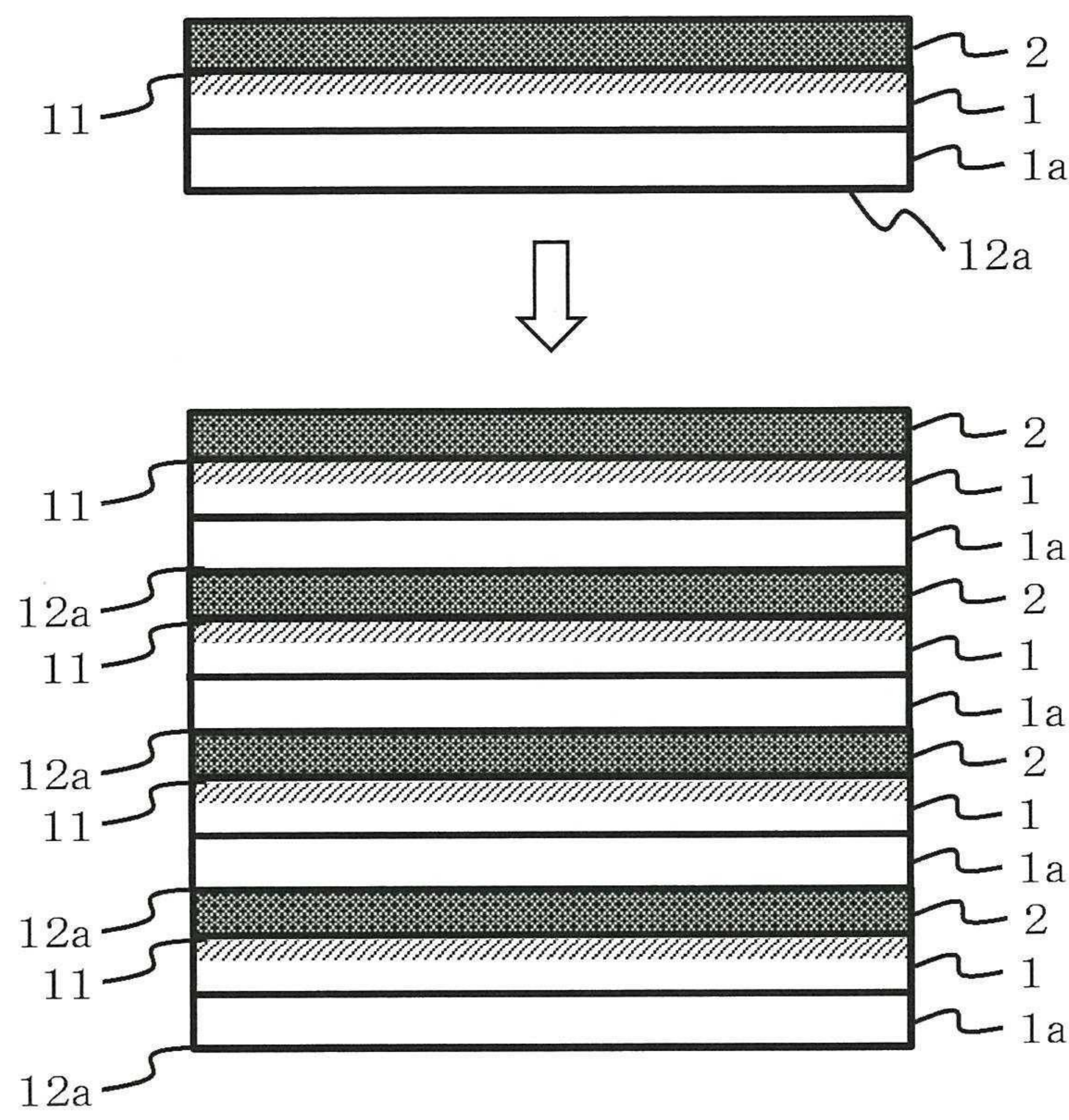


圖 11

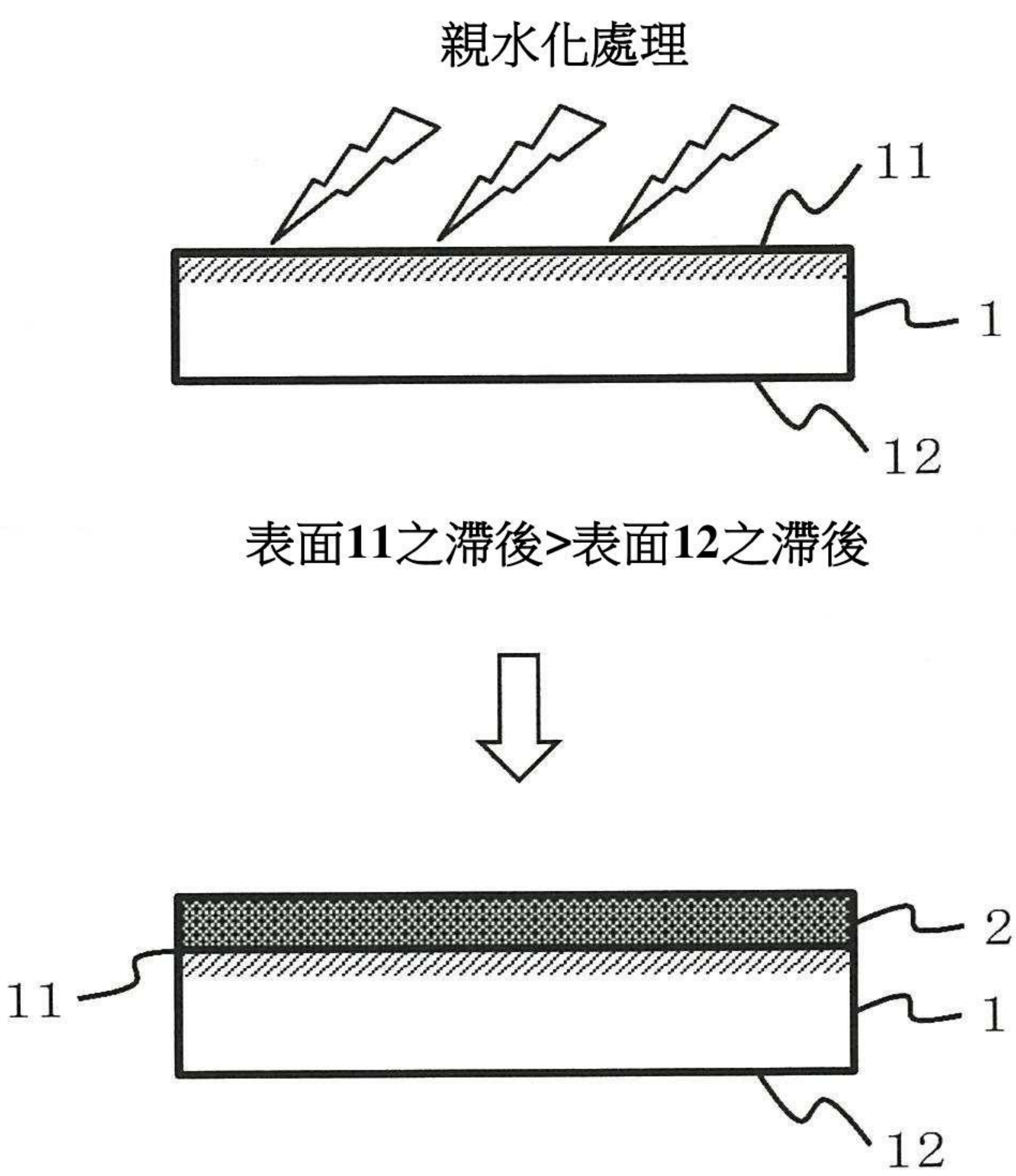


圖 12

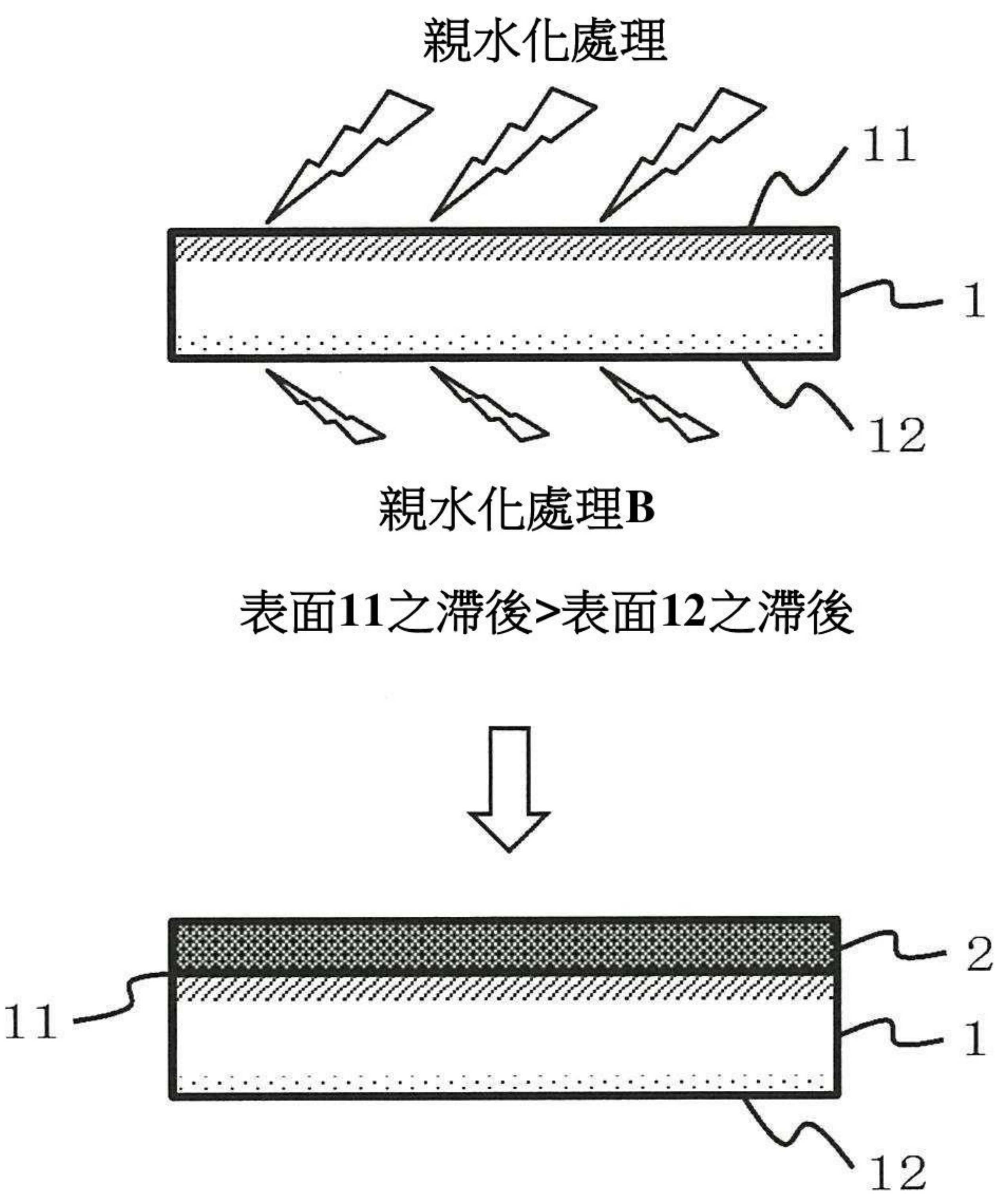


圖 13

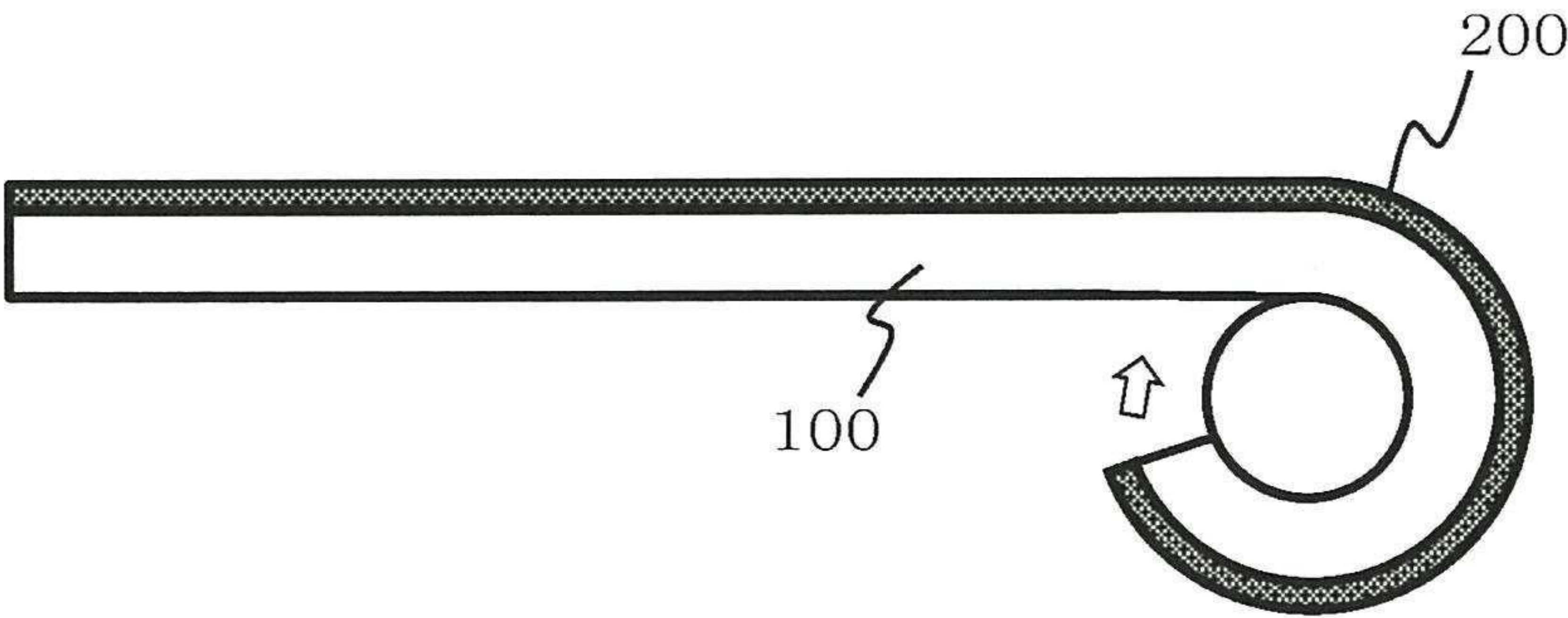


圖 14

