

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)公開番号
特開2023-16393
(P2023-16393A)

(43)公開日 令和5年2月2日(2023.2.2)

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 M 1/00 (2006.01) C 1 2 M 1/00 C 4 B 0 2 9

C 1 2 M 3/00 (2006.01) C 1 2 M 3/00 A

審査請求		未請求	請求項の数	10	O L	(全20頁)
(21)出願番号	特願2021-120664(P2021-120664)		(71)出願人	000003768		
(22)出願日	令和3年7月21日(2021.7.21)			東洋製罐グループホールディングス株式会社		
				東京都品川区東五反田 2 丁目 1 8 番 1 号		
			(74)代理人	100154184		
				弁理士 生富 成一		
			(74)代理人	100105795		
				弁理士 名塚 聡		
			(72)発明者	小関 修		
				神奈川県横浜市保土ヶ谷区岡沢町 2 2 - 4 東洋製罐グループホールディングス株式会社 総合研究所内		
			(72)発明者	田中 郷史		
				神奈川県横浜市保土ヶ谷区岡沢町 2 2 - 4 東洋製罐グループホールディングス		
				最終頁に続く		

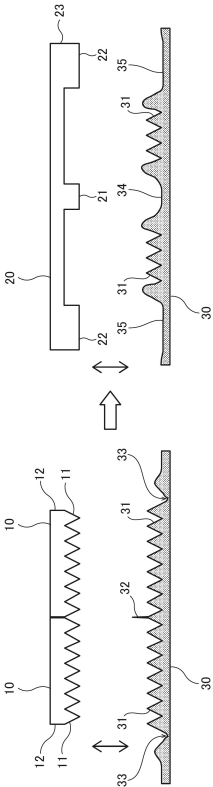
(54)【発明の名称】 細胞培養容器の製造方法、及び細胞培養容器

(57)【要約】

【課題】 培養面に突起部や薄肉部を有することのない細胞培養容器の製造方法を提供する。

【解決手段】 細胞の培養面を有する細胞培養容器の製造方法であって、容器器材 3 0 の表面に凹凸パターン構造 3 1 を形成する凸部 1 1 を備えた一次金型 1 0 と、容器器材 3 0 の表面の一部を平坦化するための凸部 2 1 , 2 2 を備えた二次金型 2 0 を使用し、容器器材 3 0 に対して一次金型 1 0 を押圧して、容器器材 3 0 に凹凸パターン構造 3 1 を形成し、容器器材 3 0 において形成された薄肉部 3 3 に対して二次金型 2 0 を押圧して、薄肉部 3 3 を平坦化部 3 5 に改変し、改変された平坦化部 3 5 の少なくとも一部と形成された凹凸パターン構造 3 1 を含む容器器材 3 0 の表面を培養面として、細胞培養容器を形成する。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

細胞の培養面を有する細胞培養容器の製造方法であって、
容器器材の表面に凹凸パターン構造を形成する凸部を備えた一次金型と、前記容器器材の表面の一部を平坦化するための凸部を備えた二次金型を使用し、
前記容器器材に対して前記一次金型を押圧して、前記容器器材に前記凹凸パターン構造を形成し、
前記容器器材において形成された薄肉部に対して前記二次金型を押圧して、前記薄肉部を平坦化部に改変し、
改変された前記平坦化部の少なくとも一部と形成された前記凹凸パターン構造を含む前記容器器材の表面を前記培養面として、前記細胞培養容器を形成することを特徴とする細胞培養容器の製造方法。

10

【請求項 2】

複数の前記一次金型を境界線に沿って隣接して配置し前記容器器材に対して押圧し、前記容器器材に前記凹凸パターン構造を形成し、
前記容器器材における複数の前記一次金型の境界線に対応する部位に形成された突出部と前記薄肉部に対して前記二次金型を押圧して、前記突出部と前記薄肉部を平坦化部に改変することを特徴とする請求項 1 記載の細胞培養容器の製造方法。

20

【請求項 3】

1 個の前記一次金型を用いて前記容器器材に対して複数回押圧し、前記容器器材に前記凹凸パターン構造を形成し、
前記容器器材における前記一次金型の周縁部に対応する部位に形成された前記薄肉部に対して前記二次金型を押圧して、前記薄肉部を平坦化部に改変することを特徴とする請求項 1 記載の細胞培養容器の製造方法。

30

【請求項 4】

前記薄肉部及び前記薄肉部の内側の所定領域を前記二次金型によって押圧することを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の細胞培養容器の製造方法。

【請求項 5】

前記容器器材を補強材に接着し、前記容器器材における前記補強材の接着面の反対面に対して、前記一次金型と前記二次金型を押圧することを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の細胞培養容器の製造方法。

40

【請求項 6】

前記容器器材が熱可塑性樹脂であり、前記一次金型及び前記二次金型を押圧して熱転写または溶融押出し成形によって前記容器器材に前記凹凸パターン構造及び平坦化部を形成することを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の細胞培養容器の製造方法。

【請求項 7】

前記凹凸パターン構造として、複数の略三角柱を山脈状に並列して形成し、又は、微細穴を有し若しくは有さない複数の凹部を形成することを特徴とする請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の細胞培養容器の製造方法。

50

【請求項 8】

前記細胞培養容器が、内部に細胞の培養面を有する袋状の容器であることを特徴とする請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の細胞培養容器の製造方法。

【請求項 9】

内部に細胞の培養面を有する袋状の細胞培養容器であって、
前記培養面に凹凸パターン構造が形成された複数の領域が備えられると共に、前記凹凸パターン構造が形成された複数の領域の間に平坦化部が備えられ、かつ、前記培養面の全周縁に平坦化部が備えられたことを特徴とする細胞培養容器。

【請求項 10】

50

前記凹凸パターン構造が、複数の略三角柱が山脈状に並列し、又は、微細穴を有し若しくは有さない複数の凹部であることを特徴とする請求項 9 記載の細胞培養容器。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞培養技術に関し、特に培養面に微細な凹凸パターン構造を有する細胞培養容器の製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

近年、医薬品の生産や、遺伝子治療、再生医療、免疫療法等の分野において、細胞や組織などを人工的な環境下で効率良く大量に培養することが求められている。 10

このような状況において、熱可塑性樹脂からなる袋状の細胞培養容器を用いて細胞を自動的に大量培養することが行われている。また、細胞培養容器の培養面に微細な凹凸パターン構造を形成することによって、培養効率を向上させることも提案されている。

【0003】

培養面における微細な凹凸パターン構造の形成方法としては、一般的に熱可塑性フィルムの表面に凹凸パターン構造を形成させるための平板状又はベルト状の金型を押し当てて加熱加圧する熱転写法や、溶融させた樹脂材料を凹凸パターン構造を形成させるための冷却ロール表面に接触させて成型する方法などがある。

これらの方法は、通常サイズの培養面を有する細胞培養容器を製造する場合には利用可能であるものの、大判サイズの培養面を有する細胞培養容器を製造する場合には、容易に適用できないという問題があった。 20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献 1】特許第 6075103 号公報

【特許文献 2】特許第 5102731 号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

すなわち、大判サイズの培養面に凹凸パターン構造を形成するためには、大判サイズの金型が必要となり、金型の製造コストが膨大になるという問題があった。また、大判サイズの金型を用いる場合、単に金型を大きくするのみでは培養面に凹凸パターン構造を適切に形成することができず、大面積を均一に加圧するための大掛かりな転写装置が必要になるという問題もあった。 30

【0006】

一方、大判サイズの一体物の金型を使用せずに、複数の小さい金型を並べて使用することにより分割して培養面を加工する方法や、小さい金型を複数回に分けて使用することにより分割して培養面を加工する方法が考えられる。

しかしながら、このように分割して培養面を加工すると、金型の境目に軟化した樹脂が流れ込むことによって大きな突起が発生し、また金型の周縁部において樹脂が流れ出すため複数回に分けて使用した金型の間や金型の周縁部に対応する部位の樹脂が薄くなり、亀裂が発生し易くなるという問題が生じていた。 40

【0007】

このような亀裂の生じるリスクは、細胞培養容器の製造においては重大な問題であり、また培養面に大きな突起が生じると、培養液の送液が妨げられるという問題があった。さらに、培養面に突起部があると培地を排出する際に細胞培養容器内の培地の液厚を突起部の高さよりも小さくすることができないため、培地交換における培地の消費量が多くなってしまいうという問題もあった。

【0008】

特に、樹脂が薄くなるという問題は、ある程度の厚みが許容されるものであれば器材を厚くすることによって亀裂の発生を防止できるために問題とはならないが、例えば袋状の細胞培養容器の場合は容器壁面のガス透過性を高める必要があるため、器材の厚みをできるだけ薄くしたいという要請がある。このため、細胞培養容器の製造においては、亀裂の生じるリスクが重大な問題となっていた。

【 0 0 0 9 】

ここで、特許文献 1 には、大判サイズの培養面に凹凸パターン構造を形成することが可能なエンドレスベルト状金属金型が開示されている。しかしながら、このようなベルト状の金型製作は高額であり、また凹凸パターン構造が形成されたフィルムを金型から剥がすときに樹脂が切れるリスクがあった。

10

【 0 0 1 0 】

また、特許文献 2 には、複数の金型を並べて配置し、金型の表面に形成された微細パターンを転写する技術が開示されている。しかしながら、この技術は大画面の液晶ディスプレイを製造するためのナノオーダーの表示素子に関するものであり、また熱転写ではなく光硬化性樹脂へのパターン形成である。この金型を熱転写に適用すると、金型間の隙間に樹脂が流れ込んで突起が生じるため、上述した分割して培養面を加工する場合の問題を解消可能なものではなかった。

【 0 0 1 1 】

そこで、本発明者らは鋭意研究して、容器器材の表面に凹凸パターン構造を形成する凸部を備えた一次金型と、容器器材の表面の一部を平坦化するための凸部を備えた二次金型

20

を使用することによって、上記の問題を解消することに成功して本発明を完成させた。

本発明は、上記事情に鑑みてなされたものであり、培養面に突起部や薄肉部を有することのない細胞培養容器の製造方法、及び細胞培養容器の提供を目的とする。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 2 】

上記目的を達成するため、本発明の細胞培養容器の製造方法は、細胞の培養面を有する細胞培養容器の製造方法であって、容器器材の表面に凹凸パターン構造を形成する凸部を備えた一次金型と、前記容器器材の表面の一部を平坦化するための凸部を備えた二次金型を使用し、前記容器器材に対して前記一次金型を押圧して、前記容器器材に前記凹凸パターン構造を形成し、前記容器器材において形成された薄肉部に対して前記二次金型を押圧

30

して、前記薄肉部を平坦化部に改変し、改変された前記平坦化部の少なくとも一部と形成された前記凹凸パターン構造を含む前記容器器材の表面を前記培養面として、前記細胞培養容器を形成する方法としてある。

【 0 0 1 3 】

また、本発明の細胞培養容器の製造方法は、複数の前記一次金型を境界線に沿って隣接して配置し前記容器器材に対して押圧し、前記容器器材に前記凹凸パターン構造を形成し、前記容器器材における複数の前記一次金型の境界線に対応する部位に形成された突出部と前記薄肉部に対して前記二次金型を押圧して、前記突出部と前記薄肉部を平坦化部に改変する方法とすることが好ましい。

【 0 0 1 4 】

40

また、本発明の細胞培養容器の製造方法は、1 個の前記一次金型を用いて前記容器器材に対して複数回押圧し、前記容器器材に前記凹凸パターン構造を形成し、前記容器器材における前記一次金型の周縁部に対応する部位に形成された前記薄肉部に対して前記二次金型を押圧して、前記薄肉部を平坦化部に改変する方法とすることも好ましい。

【 0 0 1 5 】

また、本発明の細胞培養容器の製造方法は、前記薄肉部及び前記薄肉部の内側の所定領域を前記二次金型によって押圧する方法とすることも好ましい。

また、本発明の細胞培養容器の製造方法は、前記容器器材を補強材に接着し、前記容器器材における前記補強材の接着面の反対面に対して、前記一次金型と前記二次金型を押圧する方法とすることも好ましい。

50

【 0 0 1 6 】

また、本発明の細胞培養容器の製造方法は、前記一次金型及び前記二次金型を押圧して熱転写または溶融押出し成形によって前記容器器材に前記凹凸パターン構造及び平坦化部を形成する方法とすることも好ましい。

また、本発明の細胞培養容器の製造方法は、前記凹凸パターン構造として、複数の略三角柱を山脈状に並列して形成し、又は、微細穴を有し若しくは有さない複数の凹部を形成する方法とすることも好ましい。

また、本発明の細胞培養容器の製造方法は、前記細胞培養容器が、内部に細胞の培養面を有する袋状の容器である方法とすることも好ましい。

【 0 0 1 7 】

本発明の細胞培養容器は、内部に細胞の培養面を有する袋状の細胞培養容器であって、前記培養面に凹凸パターン構造が形成された複数の領域が備えられると共に、前記凹凸パターン構造が形成された複数の領域の間に平坦化部が備えられ、かつ、前記培養面の全周縁に平坦化部が備えられた構成としてある。

また、本発明の細胞培養容器は、前記凹凸パターン構造が、複数の略三角柱が山脈状に並列し、又は、微細穴を有し若しくは有さない複数の凹部である構成とすることが好ましい。

【 発明の効果 】

【 0 0 1 8 】

本発明によれば、培養面に突起部や薄肉部を有することのない細胞培養容器の製造方法、及び細胞培養容器の提供が可能となる。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 9 】

【 図 1 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法の工程を示す模式図である。

【 図 2 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法における第一工程の様子を示す模式図である。

【 図 3 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法の第一工程と第二工程を熱転写により行う様子を示す模式図である。

【 図 4 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法における容器器材に一次金型を配置した状態と二次金型を示す模式図である。

【 図 5 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法における一次金型の配置と二次金型の変形例を示す模式図である。

【 図 6 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法における一次金型とその参考例を示す模式図である。

【 図 7 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法における二次金型の参考例を示す模式図である。

【 図 8 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法についての試験 1 の結果を示す図である。

【 図 9 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法についての試験 2 の結果を示す図である。

【 図 1 0 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法についての試験 3 における比較例 3 によって得られた容器器材の突出部と薄肉部の写真を示す図である。

【 図 1 1 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法についての試験 3 における実施例 3 によって得られた突出部が改変された平坦化部と薄肉部が改変された平坦化部の写真を示す図である。

【 図 1 2 】 本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法についての試験 3 の結果を示す図である。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 0 】

以下、本発明の細胞培養容器の製造方法、及び細胞培養容器の実施形態について図面を

10

20

30

40

50

参照して詳細に説明する。ただし、本発明は、以下の実施形態及び後述する実施例の具体的な内容に限定されるものではない。

【0021】

本実施形態の細胞培養容器の製造方法は、細胞の培養面を有する細胞培養容器の製造方法であり、図1に示すように、容器器材30の表面に凹凸パターン構造31を形成する凸部11を備えた一次金型10と、容器器材30の表面の一部を平坦化するための凸部(21, 22)を備えた二次金型20を使用する。

また、本実施形態の細胞培養容器の製造方法は、容器器材30に対して一次金型10を押圧して、容器器材30に凹凸パターン構造31を形成する第一工程を有している。

【0022】

さらに、本実施形態の細胞培養容器の製造方法は、第一工程によって容器器材30に形成された薄肉部33に対して二次金型20を押圧して、薄肉部33を平坦化部35に改変する第二工程を有している。

そして、本実施形態の細胞培養容器の製造方法は、改変された平坦化部35の少なくとも一部と形成された凹凸パターン構造31を含む容器器材30の表面を培養面として、細胞培養容器を形成する。

【0023】

なお、本明細書及び特許請求の範囲において、平坦化部は、凹凸パターン構造を有さない面を意味し、完全にフラットであることを意味せず、アールがある場合を含んでいる。

また、一次金型10の凸部11は、容器器材30に凹凸パターン構造を形成できるものであればよく、図1に示すように複数の三角柱が山脈状に並列したもの(以下、Vパターンと称する場合がある。)であってもよい。なお、同図において、一次金型10は正面側から見た奥行き方向中央の断面図として表されており、凸部11は、奥行き方向に三角柱状に形成されている。

【0024】

本実施形態の細胞培養容器の製造方法は、第一工程において、複数の一次金型10を境界線に沿って隣接して配置し容器器材30に対して押圧し、容器器材30に凹凸パターン構造31を形成することが好ましい。

また、本実施形態の細胞培養容器の製造方法は、容器器材30における複数の一次金型10の境界線に対応する部位に形成された突出部32と薄肉部33に対して二次金型20を押圧して、突出部32と薄肉部33を平坦化部(34, 35)に改変することが好ましい。

【0025】

さらに、本実施形態の細胞培養容器の製造方法は、第一工程において、1個の一次金型10を用いて容器器材30に対して複数回押圧し、容器器材30に凹凸パターン構造31を形成することも好ましい。

また、本実施形態の細胞培養容器の製造方法は、容器器材30における一次金型10の周縁部に対応する部位に形成された薄肉部(境界線に対応する部位に形成された薄肉部を含む)に対して前記二次金型20を押圧して、薄肉部を平坦化部(34, 35)に改変することも好ましい。

【0026】

一次金型10と二次金型20は、例えば金属やシリコンからなる型であり、後述する実施例では、一次金型10をシリコン材を用いて作製し、二次金型20をアルミニウム材を用いて作製した。なお、本明細書及び特許請求の範囲において、金属以外の素材からなる型についても金型と総称している。

【0027】

容器器材30は、例えば0.1mmの厚みのポリエチレンシートなどを用いることができる。

具体的には、容器器材30の材料としては、樹脂フィルムなどを好適に用いることができ、ポリエチレンやポリプロピレンなどのポリオレフィン系樹脂等を用いることができる

10

20

30

40

50

。例えば、ポリエチレン、エチレンと - オレフィンの共重合体、エチレンと酢酸ビニルの共重合体、エチレンとアクリル酸やメタクリル酸共重合体と金属イオンを用いたアイオノマー等を挙げることができる。また、ポリオレフィン、スチレン系エラストマー、ポリエステル系熱可塑性エラストマー等を用いることもできる。さらに、軟質塩化ビニル樹脂、ポリブタジエン樹脂、エチレン - 酢酸ビニル共重合体、塩素化ポリエチレン樹脂、ポリウレタン系熱可塑性エラストマー、ポリエステル系熱可塑性エラストマー、シリコン系熱可塑性エラストマー、スチレン系エラストマー、例えば、SBS（スチレン・ブタジエン・スチレン）、SIS（スチレン・イソブレン・スチレン）、SEBS（スチレン・エチレン・ブチレン・スチレン）、SEPS（スチレン・エチレン・プロピレン・スチレン）、ポリオレフィン樹脂、フッ素系樹脂等を用いてもよい。

10

【0028】

第一工程における一次金型10と容器器材30の配置の一例を図2に示す。

図2において、2個の一次金型10が容器器材30上に配置されており、一次金型10を容器器材30に対して押圧することによって、容器器材30の表面に凹凸パターン構造31が形成されるようになっている。

このとき、容器器材30における2個の一次金型10の境界線に対応する部位は、一次金型10間の僅かな隙間に樹脂が流れ込む結果、突出部32が形成されることが多くある。また、境界線を除く一次金型10の周縁部においては、樹脂が一次金型10の外側に流れ出る結果、容器器材30の厚みが薄くなる薄肉部33が形成されることが多くある。

【0029】

20

このような突出部32が形成された容器器材30を用いて細胞培養容器を製造すると、培地の送液が突出部32によって阻害されるという問題がある。また、突出部32が存在すると、培地を排出する際に細胞培養容器内の培地の液厚を突出部32の高さよりも小さくすることができず、培地交換における培地の消費量が多くなってしまいう問題がある。

また、薄肉部33が形成された容器器材30を用いて細胞培養容器を製造すると、薄肉部33において亀裂が生じやすく、培地の液漏れが発生するという問題がある。

【0030】

本実施形態の細胞培養容器の製造方法によれば、これらの突出部32と薄肉部33を二次金型20を用いて平坦化部（境界平坦化部34，周縁平坦化部35）に改変することで、突出部32と薄肉部33のない細胞培養容器を製造することができ、これらの問題を解消することが可能になっている。

30

【0031】

なお、本実施形態の細胞培養容器の製造方法によれば、細胞培養容器内に平坦化部が形成され、凹凸パターン構造31の一部が押し潰されるが、これは本発明の課題に比べると軽微なロスであり、細胞培養において特に問題とはならない。

【0032】

また、本実施形態の細胞培養容器の製造方法では、容器器材30を補強材に接着して使用することが好ましい。すなわち、容器器材30を補強材に接着し、この容器器材30における補強材の接着面の反対面に対して、一次金型10と二次金型20を押圧することが好ましい。

40

このように容器器材30を補強材に接着して使用することによって、一次金型10によって容器器材30に形成された突出部32と薄肉部33を、二次金型20によって安定して平坦化部に改変することが可能になっている。

【0033】

また、この補強材は、粘着層を有するものであることが好ましく、容器器材30をこの粘着層に接着して固定することが好ましい。

ここで、容器器材30を単純に補強材に重ねるだけでは、容器器材30に形成された突出部32と薄肉部33を二次金型20によって安定して平坦化部に改変する効果は小さい。一方、粘着層を有する、容器器材30（ポリエチレンなど）よりも硬い補強材にしか

50

り貼り付けることによって、このような効果を十分に得ることができる。

【 0 0 3 4 】

すなわち、容器器材 3 0 に補強材を貼り付けることによって、第一工程と第二工程の熱転写における容器器材 3 0 が冷却する際の熱収縮が抑制され、容器器材 3 0 のうねりなどの変形を抑えることができる。また、熱転写の終了後に、補強材から容器器材 3 0 を剥がす際にも、粘着層があることによって容易に剥がすことが可能となる。

補強材の材料としては、特に限定されないが、ポリエステル系の材料が適しており、ポリエチレンよりも硬く、入手し易く低廉なポリエチレンテレフタレート (P E T) を用いることが好ましい。また、粘着層の材料としては、例えばアクリル系粘着材を好適に用いることができる。

10

【 0 0 3 5 】

また、本実施形態では、容器器材 3 0 の材料として上述したような熱可塑性樹脂を用いることが好ましく、一次金型 1 0 の押圧による容器器材 3 0 における凹凸パターン構造 3 1 の形成は、熱転写または溶融押出し成形によって行うことが好ましい。

【 0 0 3 6 】

容器器材 3 0 における凹凸パターン構造 3 1 の形成を熱転写によって行う場合は、例えば図 3 に示すような熱転写装置 4 0 を用いることができる。すなわち、ベースプレート 4 1 に緩衝材 5 0 (シリコンゴムなど) を配設して、この緩衝材 5 0 上に粘着層を有する補強材 6 0 (ポリエチレンテレフタレートなど) を下面に接着した容器器材 3 0 を載置する。そして、容器器材 3 0 の上面に複数の一次金型 1 0 を配置し、加圧シリンダー 4 2 を用いて加熱プレート 4 3 を一次金型 1 0 に対して押圧しつつ一次金型 1 0 を加熱することにより、第一工程を行うことができる。

20

【 0 0 3 7 】

次に、容器器材 3 0 の上面から一次金型 1 0 を取り外して、加熱プレート 4 3 の下面に二次金型 2 0 を取り付け。このとき、二次金型 2 0 における境界凸部 2 1 が、容器器材 3 0 に形成された突出部 3 2 の上方に位置し、かつ、二次金型 2 0 における周縁凸部 2 2 が、容器器材 3 0 に形成された薄肉部 3 3 の上方に位置するように、二次金型 2 0 を配置する。

そして、加圧シリンダー 4 2 を用いて加熱プレート 4 3 に配置された二次金型 2 0 を容器器材 3 0 に対して押圧しつつ容器器材 3 0 を加熱することにより、第二工程を行うことができる。

30

【 0 0 3 8 】

本実施形態の細胞培養容器の製造方法において、容器器材 3 0 に形成させる凹凸パターン構造 3 1 の形状は、凹凸パターンであれば特に限定されないが、例えば図 1 の模式図に示される凹凸パターン構造 3 1 のような複数の三角柱が山脈状に並列したもの (V パターン) とすることができる。なお、同図において、容器器材 3 0 は正面側から見た奥行き方向中央の断面図として表されており、凹凸パターン構造 3 1 は、奥行き方向に三角柱状に形成されている。

【 0 0 3 9 】

容器器材 3 0 に形成させる凹凸パターン構造 3 1 は、上記の V パターン以外の形状にしてもよく、例えば複数の三角柱が間隔を空けて山脈状に並列したものとしてもよい。また、複数の凹部 (ウェル) が形成されたものとしてもよく、その凹部は半球状であっても円錐や多角錐状などであってもよく、凹部の形状は特に限定されない。さらに、凹部の底に微細な穴を有するものであっても有さないものであってもよい。

40

【 0 0 4 0 】

次に、図 4 を参照して、本実施形態の細胞培養容器の製造方法において使用される一次金型 1 0 と二次金型 2 0 についてさらに詳細に説明する。図 4 (a) は、容器器材 3 0 に 2 個の一次金型 1 0 を配置した状態を示し、図 4 (b) は、この場合に用いる二次金型 2 0 の構造を示す模式図であり、上側が平面図を、下側が正面図を示している。

【 0 0 4 1 】

50

図 4 (a) のように 2 個の一次金型 1 0 を容器器材 3 0 上に配置して、一次金型 1 0 を容器器材 3 0 に対して押圧することで、容器器材 3 0 に凹凸パターン構造 3 1 を形成させると、容器器材 3 0 における一次金型 1 0 の境界線に対応する部位には、突出部 3 2 が形成される。また、容器器材 3 0 における一次金型 1 0 の境界線を除く周縁部に対応する部位には、薄肉部 3 3 が形成される。

【 0 0 4 2 】

そこで、本実施形態では、図 4 (b) のように境界凸部 2 1 と周縁凸部 2 2 を備えた二次金型 2 0 を用いて、突出部 3 2 と薄肉部 3 3 の形成された容器器材 3 0 を押圧することによって、突出部 3 2 と薄肉部 3 3 の無い容器器材 3 0 が得られるようになっている。

すなわち、二次金型 2 0 は、突出部 3 2 を押圧して境界平坦化部 3 4 に改変するための境界凸部 2 1 と、薄肉部 3 3 を押圧して周縁平坦化部 3 5 に改変するための周縁凸部 2 2 と、これらを支持する支持部 2 3 を備えている。境界凸部 2 1 と周縁凸部 2 2 の支持部 2 3 の底面からの高さは同一である。

【 0 0 4 3 】

また、図 4 (a) において、2 個の一次金型 1 0 を用いることなく、1 個の一次金型 1 0 を用いて繰り返し押圧を行うことによって、容器器材 3 0 に凹凸パターン構造 3 1 を形成させることもできる。

この場合、容器器材 3 0 における繰り返し用いた一次金型 1 0 の境界線に対応する部位には、薄肉部 3 3 が形成され、また容器器材 3 0 における一次金型 1 0 の境界線を除く周縁部に対応する部位にも、薄肉部 3 3 が形成される。

【 0 0 4 4 】

一次金型 1 0 をこのように用いて容器器材 3 0 を押圧した場合でも、図 4 (b) に示す境界凸部 2 1 と周縁凸部 2 2 を備えた二次金型 2 0 を用いることによって、薄肉部 3 3 を平坦化部に改変することができる。

すなわち、境界凸部 2 1 によって一次金型 1 0 の境界線に対応する部位に形成された薄肉部 3 3 を境界平坦化部 3 4 に改変すると共に、周縁凸部 2 2 によって、一次金型 1 0 の周縁部に形成された薄肉部 3 3 を周縁平坦化部 3 5 に改変することが可能である。

【 0 0 4 5 】

さらに、本実施形態の細胞培養容器の製造方法において、周縁凸部 2 2 を、薄肉部 3 3 の内側の所定領域まで押圧可能なように幅広に形成し、これによって、二次金型 2 0 によって薄肉部 3 3 と薄肉部 3 3 の内側の所定領域を押圧することが好ましい。

その理由は、細胞培養容器として内部に細胞の培養面を有する袋状の容器を形成する場合に、培養面の周囲を液漏れがないようにヒートシール（熱溶着）できるためである。

【 0 0 4 6 】

すなわち、容器器材 3 0 を袋状にヒートシールする場合において、例えば凹凸パターン構造 3 1 として V パターンが形成されているときは、その V パターン形成面が袋の内面となる必要がある。このため、V パターン形成面は、ヒートシーラーに対して容器器材 3 0 の反対面に位置することから、熱が効率よく伝わらず完全に溶着させることが困難である。

また、仮に、V パターン形成面が完全に軟化（溶着）するまでヒートシーラーの温度を上げると、V パターン部を完全に溶着させる（V パターンは消滅する）ことは可能であるが、ヒートシーラーに直接接触している部分は温度が高すぎて焦げて（炭化）してしまうため、好ましくない。

そこで、本実施形態の細胞培養容器の製造方法では、容器器材 3 0 を袋状にするためにヒートシールを行う所定領域についても二次金型 2 0 によって予め平坦化部に改変しておくことによって、ヒートシールを好適に行うことを可能としている。

【 0 0 4 7 】

次に、図 5 を参照して、本実施形態の細胞培養容器の製造方法における一次金型の配置と二次金型の変形例について説明する。図 5 (a) は、容器器材 3 0 に 4 個の一次金型 1 0 を配置した状態を示し、図 5 (b) は、この場合に用いる二次金型 2 0 b の構造を示す

10

20

30

40

50

模式図であり、上側が平面図を、下側が正面図を示している。

【 0 0 4 8 】

図 5 (a) のように 4 個の一次金型 1 0 を容器器材 3 0 上に配置して、一次金型 1 0 を容器器材 3 0 に対して押圧することで、容器器材 3 0 に凹凸パターン構造 3 1 を形成させると、容器器材 3 0 における一次金型 1 0 の境界線に対応する部位には、突出部 3 2 が形成される。また、容器器材 3 0 における一次金型 1 0 の境界線を除く周縁部に対応する部位には、薄肉部 3 3 が形成される。

【 0 0 4 9 】

そこで、本実施形態では、図 5 (b) のように境界凸部 2 1 b と周縁凸部 2 2 b を備えた二次金型 2 0 b を用いて、突出部 3 2 と薄肉部 3 3 の形成された容器器材 3 0 を押圧することによって、突出部 3 2 と薄肉部 3 3 の無い容器器材 3 0 が得られるようになっている。

10

すなわち、二次金型 2 0 b は、突出部 3 2 を押圧して境界平坦化部 3 4 に改変するための境界凸部 2 1 b と、薄肉部 3 3 を押圧して周縁平坦化部 3 5 に改変するための周縁凸部 2 2 b と、これらを支持する支持部 2 3 b を備えている。境界凸部 2 1 b と周縁凸部 2 2 b の支持部 2 3 b の底面からの高さは同一である。

【 0 0 5 0 】

また、図 5 (a) において、4 個の一次金型 1 0 を用いることなく、1 個又は 2 個の一次金型 1 0 を用いて繰り返し押圧を行うことによって、容器器材 3 0 に凹凸パターン構造 3 1 を形成させることもできる。

20

この場合、容器器材 3 0 における繰り返し用いた一次金型 1 0 の境界線に対応する部位には、薄肉部 3 3 が形成され、また容器器材 3 0 における一次金型 1 0 の境界線を除く周縁部に対応する部位にも、薄肉部 3 3 が形成される。

【 0 0 5 1 】

一次金型 1 0 をこのように用いて容器器材 3 0 を押圧した場合でも、図 5 (b) に示す境界凸部 2 1 b と周縁凸部 2 2 b を備えた二次金型 2 0 b を用いることによって、薄肉部 3 3 を平坦化部に改変することができる。

すなわち、境界凸部 2 1 b によって一次金型 1 0 の境界線に対応する部位に形成された薄肉部 3 3 を境界平坦化部 3 4 に改変すると共に、周縁凸部 2 2 b によって、一次金型 1 0 の周縁部に形成された薄肉部 3 3 を周縁平坦化部 3 5 に改変することが可能である。

30

【 0 0 5 2 】

本実施形態の細胞培養容器の製造方法において、このような平坦化部 3 4 , 3 5 と凹凸パターン構造 3 1 を含む容器器材 3 0 の表面を培養面として細胞培養容器を形成する方法としては、例えば容器器材 3 0 を 2 枚準備し、培養面が内側になるように容器器材 3 0 を重ね合わせて、周囲をヒートシールすることができる。

また、容器器材 3 0 を 1 枚と培養面が形成されていない樹脂フィルムを 1 枚準備して、培養面が内側になるようにこれらを重ね合わせて、周囲をヒートシールすることもできる。

その他、細胞培養容器を形成する方法については、上述した平坦化部と凹凸パターン構造 3 1 を含む容器器材 3 0 の表面を培養面とすることができればよく、具体的な手段については特に限定されない。

40

【 0 0 5 3 】

ここで、図 6 を参照して、本実施形態の細胞培養容器の製造方法における一次金型とその参考例について説明する。

図 6 (a) は、本実施形態の細胞培養容器の製造方法において用いられる一次金型 1 0 と、この一次金型 1 0 を容器器材 3 0 に押圧することによって、容器器材 3 0 における一次金型 1 0 の周縁部に対応する部位に薄肉部 3 3 が形成される様子を示している。

【 0 0 5 4 】

本発明者らは、本発明の完成に先だって、図 6 (b) に示すように、一次金型 1 0 0 の周縁部にある凸部 1 1 0 を切断し、この一次金型 1 0 0 を容器器材 3 0 に押圧することに

50

よって、容器器材 30 における一次金型 10 の周縁部に対応する部位の厚みが大きくなり、薄肉部 33 が形成されないようにできるかについての実験を行った。

【0055】

しかしながら、このように周縁部にある凸部 110 を切断した一次金型 100 を用いても、容器器材 30 に押圧する際に一次金型 10 の周縁部から樹脂が流れ出す結果、やはり薄肉部 33 が形成されてしまうことが分かった。

そこで、本発明者らは研究の末、一次金型 10 と二次金型 20 を組み合わせて使用し、二次金型 20 によって薄肉部 33 を平坦化部に改変することによって、一次金型 10 の周縁部に対応する部位に薄肉部 33 が形成される問題を解消するに至った。

なお、このような一次金型 100 を使用した場合にも、二次金型 20 を用いることによって、薄肉部を無くすることができるため、本実施形態において一次金型 100 を使用することは可能である。 10

【0056】

次に、図 7 を参照して、本実施形態の細胞培養容器の製造方法における二次金型の参考例について説明する。

図 7 は、境界凸部 210 を備え、周縁凸部を備えていない二次金型 200 の構成を示す模式図であり、上側が平面図を、下側が正面図を示している。

【0057】

このような二次金型 200 を用いた場合、容器器材 30 における突出部 32 を潰すことはできるものの、突出部 32 を適切に平坦化部に改変することがやや困難であった。すなわち、二次金型 200 を用いた場合には、容器器材 30 の全体に変形が生じることが多かった。 20

【0058】

また、このような二次金型 200 を用いると、培養面の周囲に平坦化部が形成されないため、容器器材 30 を袋状にヒートシールした場合に、凹凸パターン構造 31 の隙間が十分に溶着できずに液漏れが生じる場合があった。

そこで、本実施形態の細胞培養容器の製造方法においては、境界凸部 21 と共に周縁凸部 22 を備えた二次金型 20 を用いることによって、突出部 32 を安定的に平坦化部に改変することを可能としている。

【0059】

本実施形態の細胞培養容器は、上述した細胞培養容器の製造方法によって得られるものであり、内部に細胞の培養面を有する袋状の細胞培養容器であって、培養面に凹凸パターン構造 31 が形成された複数の領域が備えられると共に、凹凸パターン構造 31 が形成された複数の領域の間に平坦化部 34 が備えられ、かつ、培養面の全周縁に平坦化部 35 が備えられたことを特徴とする。 30

【0060】

また、本実施形態の細胞培養容器において、凹凸パターン構造 31 の形状は、凹凸パターンであれば特に限定されないが、例えば図 1 の模式図に示される複数の三角柱が山脈状に並列したものや、複数の三角柱が間隔を空けて山脈状に並列したものとしてもよい。また、複数の凹部（ウェル）が形成されたものとしてもよく、凹部の底に微細な穴を有するものであっても有さないものであってもよい。 40

【0061】

本実施形態の細胞培養容器を用いて培養する細胞は特に限定されず、浮遊性細胞、接着性細胞、スフェア（細胞塊）、又は数種類の細胞を凝集させて作成されるオルガノイドであってもよい。

【0062】

以上説明したように、本実施形態の細胞培養容器の製造方法、及び細胞培養容器によれば、複数の一次金型を用いた場合や一次金型を複数回繰り返し用いて、容器器材に凹凸パターン構造を形成した場合であっても、二次金型を用いることによって、突出部や薄肉部のない容器器材を得ることができ、これを用いて亀裂が生じ難く、培地の送液が行い易く 50

、培地使用量を低減可能な細胞培養容器を得ることが可能である。

【実施例】

【0063】

以下、本発明の実施形態に係る細胞培養容器の製造方法の効果を確認するために行った試験について説明する。

〔試験1〕

本試験では、2個の一次金型を同時に用いて容器器材に凹凸パターン構造を形成し、次いで二次金型を用いて容器器材に形成された突出部と薄肉部を平坦化部に改変する実験を行った。

【0064】

まず、本試験において使用する一次金型と二次金型として、以下ものを作製した。

一次金型としては、120×90mmのシリコン(Si)材を使用して、水平との角度が75度のブレードによりダイシング加工を行い、図1の模式図における一次金型10のような複数の三角柱を同シリコン材の長手方向に山脈状に並列して形成したもの(以下、Vパターンと称する場合がある。)を作製した。なお、同図において、一次金型10は正面側から見た奥行き方向中央の断面図として表されており、一次金型10の複数の凸部11は、奥行き方向に三角柱状に形成されている。

一次金型における複数の凸部は、互いに隙間無く連続して形成されており、そのピッチ(1個の凸部部分の底辺の幅)は、0.11mmであった。また、同凸部の高さ(凸部部分の底辺から頂点までの高さ)は、0.2mmであった。

【0065】

二次金型としては、一次金型を長手方向に2個隣接して配置した場合に形成される突出部と薄肉部を平坦化部に改変可能なものを作製した。具体的には、180×120のアルミニウム材を使用して、図1の模式図における二次金型20のような直方体状の境界凸部21を同アルミニウム材の短手方向に有するものを作製した。このとき、境界凸部21は切削加工によって作製した。なお、同図においては、二次金型20は正面側から見た奥行き方向中央の断面図として表されており、二次金型20の境界凸部21は、奥行き方向に直方体状に形成されている。

【0066】

また、二次金型20の周縁部に周縁凸部22を形成した。周縁凸部22は、図4に示すように、境界凸部21よりも幅広に二次金型20の全周に形成した。

二次金型における境界凸部の幅を2mmとし、周縁凸部22の幅を6mmとした。また、境界凸部と周縁凸部の高さは、共に5mmとした。

【0067】

ここで、本試験では境界凸部の幅を2mmとしたが、その大きさは特に限定されず、凹凸パターン構造31を押し潰す領域を低減させる観点からは、より狭いことが望ましい。一方、境界凸部の幅を狭くしすぎると、突出部32を平坦化部に改変するための位置合わせが困難になるため、本試験では安全性を考慮して2mmとした。

【0068】

容器器材としては、厚みが0.11mmで200×140mmの直鎖状低密度ポリエチレンフィルム(東洋製罐グループホールディングス株式会社製)を使用した。また、この容器器材をポリエチレンテレフタレートからなる補強材にアクリル系粘着材を用いて接着した。このとき、補強材の厚みは0.06mm、粘着層の厚みは0.02mmであった。

【0069】

次に、容器器材における補強材の接着面の反対面に対して、図4(a)に示すように、2個の一次金型を長手方向に隣接して配置し、熱転写装置(東洋製罐グループホールディングス株式会社製)を用いて、容器器材の表面に凹凸パターン構造を加工した。このとき、一次金型の温度を130とし、2個の一次金型に対して4000Nで20秒間加圧を行った。

そして、この容器器材の表面を細胞培養容器における培養面とし、この一次金型のみを

10

20

30

40

50

使用した細胞培養容器の製造方法を比較例 1 とした。

【 0 0 7 0 】

比較例 1 によって得られた培養面には、隣り合う一次金型の境界線に対応する部位に突出部が形成されていた。また、一次金型の境界線を除く周縁部には薄肉部が形成されていた。これらの突出部と薄肉部を側面から顕微鏡を用いて写真撮影して、容器器材底面からの突出部の高さや薄肉部における容器器材の厚みを測定した。

【 0 0 7 1 】

次に、熱転写装置に二次金型を取り付けて、凹凸パターン構造が加工された容器器材の表面に対して、二次金型を押圧した。このとき、二次金型の温度を 130 とし、二次金型に対して 4000 N で 20 秒間加圧を行った。

10

これによって、隣り合う一次金型の境界線に対応する部位に形成された突出部と薄肉部に対して二次金型を押圧して、突出部と薄肉部を平坦化部に改変した。

【 0 0 7 2 】

この容器器材の表面を細胞培養容器における培養面とし、一次金型と二次金型を使用した細胞培養容器の製造方法を実施例 1 とした。そして、平坦化部の側面から顕微鏡を用いて写真撮影して、突出部が改変された平坦化部の容器器材底面からの高さや、薄肉部が改変された平坦化部における容器器材の厚みを測定した。

【 0 0 7 3 】

比較例 1 と実施例 1 の結果及びその効果を図 8 に示す。

同図に示されるように、比較例 1 の突出部の高さは、0.3 ~ 0.8 mm であり、突出部の最高部の高さは、0.8 mm であった。これに対して、実施例 1 における突出部が改変された平坦化部の高さは、0.02 ~ 0.05 mm であり、平坦化部の最高部の高さは、0.05 mm であった。

20

【 0 0 7 4 】

このように、比較例 1 では、培養面に突出部が存在するため、培地の送液時に障害が生じる可能性がある一方、実施例 1 では、突出部が平坦化部に改変されているため、培地の送液時に障害が発生するリスクを防止できることが明らかになった。

また、細胞培養容器から培地を排出する時の最小液厚は、比較例 1 では 0.8 mm となるが、実施例 1 では 0.05 mm とすることができ、培地交換時に細胞培養容器内の液厚を小さくすることができ、培地の消費量を低減可能であることが明らかになった。

30

【 0 0 7 5 】

また、比較例 1 の薄肉部の厚みは、0.01 ~ 0.015 mm であり、薄肉部の最薄部の厚みは、0.01 mm であった。これに対して、実施例 1 における薄肉部が改変された平坦化部の厚みは、0.025 ~ 0.03 mm であり、平坦化部の最薄部の厚みは、0.025 mm であった。

すなわち、実施例 1 によって得られた容器器材には薄肉部がなく、比較例 1 によって得られたものよりも亀裂が生じ難いものであった。

【 0 0 7 6 】

[試験 2]

本試験では、1 個の一次金型を 2 回繰り返し用いて容器器材に凹凸パターン構造を形成し、次いで二次金型を用いて容器器材に形成された薄肉部を平坦化部に改変する実験を行った。

40

【 0 0 7 7 】

一次金型は、試験 1 と同じものを使用した。

二次金型としては、一次金型を短手方向に 2 個隣接して配置した場合に発生する突出部と薄肉部を平坦化部に改変可能なものを作製した。具体的には、240 x 90 のアルミニウム材を使用して、試験 1 と同様の方法で作製した。

二次金型における境界凸部の幅を 2 mm とし、周縁凸部 22 の幅を 6 mm とした。また、境界凸部と周縁凸部の高さは、共に 5 mm とした。

【 0 0 7 8 】

50

容器器材としては、厚みが 0.11 mm で 300 × 140 mm の直鎖状低密度ポリエチレンフィルム（東洋製罐グループホールディングス株式会社製）を使用した。また、この容器器材をポリエチレンテレフタレートからなる補強材にアクリル系粘着材を用いて接着した。このとき、補強材の厚みは 0.06 mm、粘着層の厚みは 0.02 mm であった。

【0079】

次に、容器器材における補強材の接着面の反対面に対して、2 個の一次金型を短手方向に隣接して配置可能な一方の位置に 1 個の一次金型を配置して、熱転写装置（東洋製罐グループホールディングス株式会社製）を用いて、容器器材の表面に凹凸パターン構造を加工した。

このとき、一次金型の温度を 130 とし、1 個の一次金型に対して 2000 N で 20 秒間加圧を行った。

【0080】

次に、この一次金型を取り外して、2 個の一次金型を短手方向に隣接して配置可能な他方の位置に 1 個の一次金型を配置して、同様に容器器材の表面に対して 2 回目の凹凸パターン構造の加工を行った。

そして、この容器器材の表面を細胞培養容器における培養面とし、この一次金型のみを使用した細胞培養容器の製造方法を比較例 2 とした。

【0081】

比較例 2 によって得られた培養面には、繰り返して用いられた一次金型の境界線に対応する部位に薄肉部が形成されていた。また、その境界線を除く一次金型の周縁部にも薄肉部が形成されていた。これらの薄肉部の側面から顕微鏡を用いて写真撮影して、薄肉部における容器器材の厚みを測定した。

【0082】

次に、熱転写装置に二次金型を取り付けて、凹凸パターン構造が加工された容器器材の表面に対して、二次金型を押圧した。このとき、二次金型の温度を 130 とし、二次金型に対して 4000 N で 20 秒間加圧を行った。

これによって、薄肉部に対して二次金型を押圧して、薄肉部を平坦化部に改変した。

【0083】

この容器器材の表面を細胞培養容器における培養面とし、一次金型と二次金型を使用した細胞培養容器の製造方法を実施例 2 とした。そして、平坦化部の側面から顕微鏡を用いて写真撮影して、薄肉部が改変された平坦化部における容器器材の厚みを測定した。

また、比較例 2 と実施例 2 によって得られた凹凸パターン構造の形成された容器器材に対して、精密万能試験機（島津製作所社、品番 AG-1S）を使用して、それぞれの引っ張り強度を測定した。このとき、容器器材に形成された V パターンに並行な方向（一次金型の短手方向）に引っ張りを行った。

【0084】

比較例 2 と実施例 2 の結果及びその効果を図 9 に示す。

同図に示されるように、比較例 2 の薄肉部の厚みは、0.008 ~ 0.012 mm であり、薄肉部の最薄部の厚みは、0.008 mm であった。これに対して、薄肉部が改変された平坦化部の高さは、0.022 ~ 0.028 mm であり、平坦化部の最薄部の厚みは、0.022 mm であった。

また、比較例 2 によって得られた容器器材の引っ張り強度は 2 N であったのに対して、実施例 2 によって得られた容器器材の引っ張り強度は 8 N であった

【0085】

したがって、実施例 2 によって得られた容器器材は、薄肉部が平坦化部に改変された結果、比較例 2 によって得られた容器器材に比べて、亀裂が発生するリスクが大きく低減されていることが明らかとなった。

【0086】

[試験 3]

本試験では、4 個の一次金型を同時に用いて容器器材に凹凸パターン構造を形成し、次

いで二次金型を用いて容器器材に形成された突出部と薄肉部を平坦化部に改変する実験を行った。

【0087】

一次金型は、試験1と同じものを使用した。

二次金型としては、図5に示すように、一次金型を4個隣接して配置した場合に発生する突出部と薄肉部を平坦化部に改変可能なものを作製した。具体的には、 240×180 のアルミニウム材を使用して、試験1と同様の方法で作製した。

二次金型における境界凸部の幅を2mmとし、周縁凸部22の幅を6mmとした。また、境界凸部と周縁凸部の高さは、共に5mmとした。

【0088】

容器器材としては、厚みが0.11mmで 300×240 mmの直鎖状低密度ポリエチレンフィルム（東洋製罐グループホールディングス株式会社製）を使用した。また、この容器器材をポリエチレンテレフタレートからなる補強材にアクリル系粘着材を用いて接着した。このとき、補強材の厚みは0.06mm、粘着層の厚みは0.02mmであった。

【0089】

次に、容器器材における補強材の接着面の反対面に対して、図5(a)に示すように、4個の一次金型を長手方向及び短手方向に隣接して配置し、熱転写装置（東洋製罐グループホールディングス株式会社製）を用いて、容器器材の表面に凹凸パターン構造を加工した。このとき、一次金型の温度を130とし、4個の一次金型に対して4000Nで20秒間加圧を2回行った。

そして、この容器器材の表面を細胞培養容器における培養面とし、この一次金型のみを使用した細胞培養容器の製造方法を比較例3とした。

【0090】

比較例3によって得られた培養面には、隣り合う一次金型の境界線に対応する部位に突出部が形成されていた。また、一次金型の境界線を除く周縁部には薄肉部が形成されていた。これらの突出部と薄肉部を側面から顕微鏡を用いて写真撮影して、容器器材底面からの突出部の高さや薄肉部における容器器材の厚みを測定した。このときに撮影した突出部と薄肉部の写真を図10に示す。

【0091】

次に、熱転写装置に二次金型を取り付けて、凹凸パターン構造が加工された容器器材の表面に対して、二次金型を押圧した。このとき、二次金型の温度を130とし、4個の一次金型に対して4000Nで20秒間加圧を2回行った。

これによって、隣り合う一次金型の境界線に対応する部位に形成された突出部と薄肉部に対して二次金型を押圧して、突出部と薄肉部を平坦化部に改変した。

【0092】

この容器器材の表面を細胞培養容器における培養面とし、一次金型と二次金型を使用した細胞培養容器の製造方法を実施例3とした。そして、平坦化部の側面から顕微鏡を用いて写真撮影して、突出部が改変された平坦化部の容器器材底面からの高さや、薄肉部が改変された平坦化部における容器器材の厚みを測定した。このときに撮影した突出部が改変された平坦化部と薄肉部が改変された平坦化部の写真を図11に示す。

【0093】

比較例3と実施例3の結果及びその効果を図12に示す。

同図に示されるように、比較例3の突出部の高さは、0.3～0.7mmであり、突出部の最高部の高さは、0.7mmであった。これに対して、突出部が改変された平坦化部の高さは、0.02～0.06mmであり、平坦化部の最高部の高さは、0.06mmであった。

【0094】

このように、比較例3では、培養面に突出部が存在するため、培地の送液時に障害が生じる可能性がある一方、実施例3では、突出部が平坦化部に改変されているため、培地の送液時に障害が発生するリスクを防止できることが明らかになった。

10

20

30

40

50

また、細胞培養容器から培地を排出する時の最小液厚は、比較例 3 は 0 . 7 m m となるが、実施例 3 では 0 . 0 6 m m とすることができるため、培地交換時に細胞培養容器内の液厚を小さくすることができ、培地の消費量を低減可能であることが明らかになった。

【 0 0 9 5 】

また、比較例 3 の薄肉部の厚みは、0 . 0 0 9 ~ 0 . 0 1 3 m m であり、薄肉部の最薄部の厚みは、0 . 0 0 9 m m であった。これに対して、薄肉部が改変された平坦化部の高さは、0 . 0 2 4 ~ 0 . 0 3 m m であり、実施例 3 の平坦化部の最薄部の厚みは、0 . 0 2 4 m m であった。

すなわち、実施例 3 によって得られた容器器材には薄肉部がなく、比較例 3 によって得られたものよりも亀裂が生じ難いものであった。

10

【 0 0 9 6 】

本発明は、以上の実施形態及び実施例に限定されるものではなく、本発明の範囲内において、種々の変更実施が可能であることは言うまでもない。例えば、1 つの培養面の形成に使用する一次金型の個数を例えば 6 個や 8 個などより多くすると共に、二次金型を複数回繰り返し押しつぶすことにより、一次金型によって形成された容器器材における突出部や薄肉部を平坦化部に改変するなど適宜変更することが可能である。

【産業上の利用可能性】

【 0 0 9 7 】

本発明は、大判サイズの培養面を有する細胞培養容器を製造する場合に好適に利用することが可能である。

20

【符号の説明】

【 0 0 9 8 】

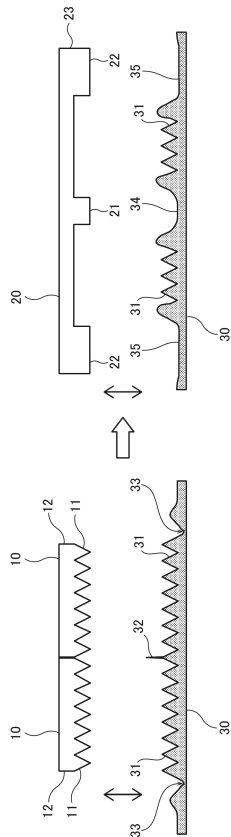
- 1 0 一次金型
- 1 1 凸部
- 1 2 支持部
- 2 0 , 2 0 b 二次金型
- 2 1 , 2 1 b 境界凸部
- 2 2 , 2 2 b 周縁凸部
- 2 3 , 2 3 b 支持部
- 3 0 容器器材
- 3 1 凹凸パターン構造
- 3 2 突出部
- 3 3 薄肉部
- 3 4 境界平坦化部
- 3 5 周縁平坦化部
- 6 0 補強材

30

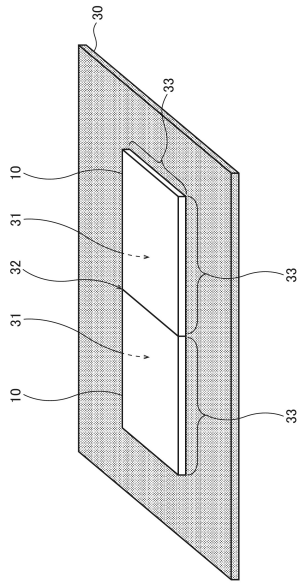
40

50

【図面】
【図 1】



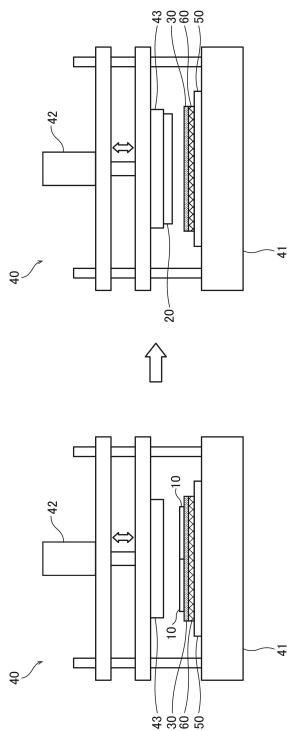
【図 2】



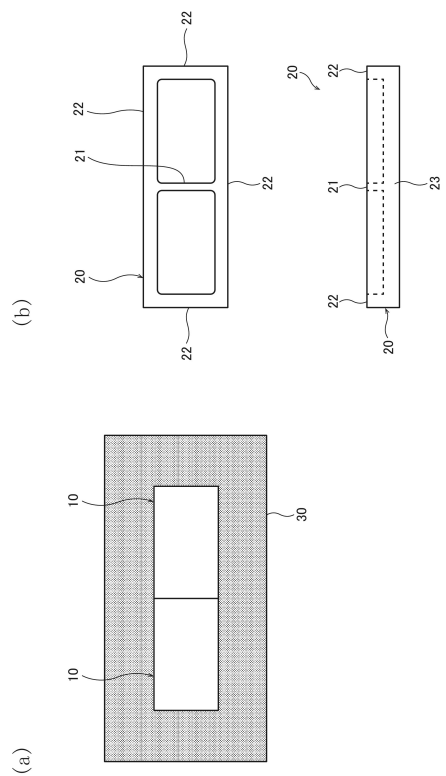
10

20

【図 3】



【図 4】

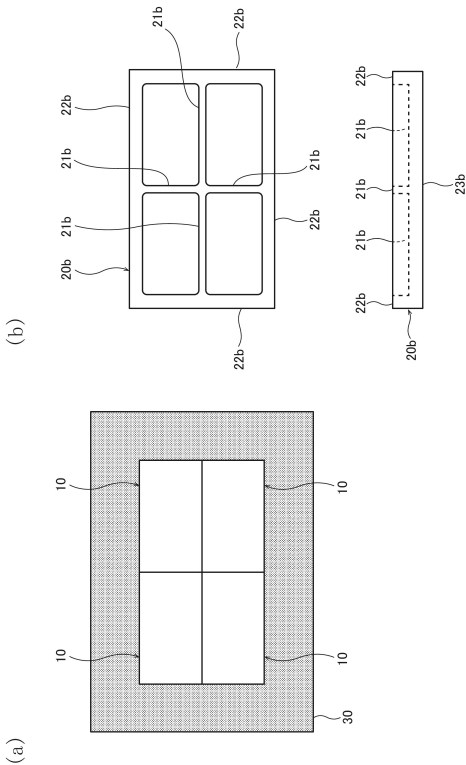


30

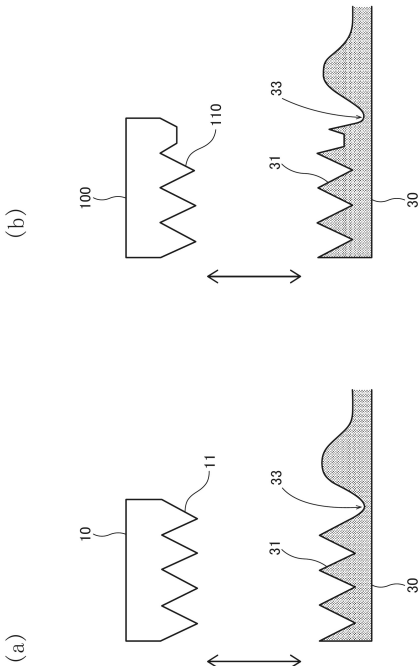
40

50

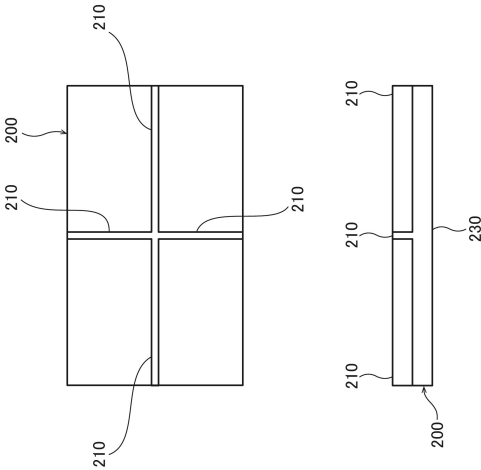
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】

	比較例 1 (第一の型 2 個のみを同時に使用)	実施例 1 (第一の型 2 個と第二の型を使用)
突出部の高さ	0.3~0.8mm	0.02~0.05mm
培地送液時の障害	×	○
培地排出時の最小液厚	0.8mm	0.05mm
薄肉部の厚み	0.01~0.015mm	0.025~0.03mm

10

20

30

40

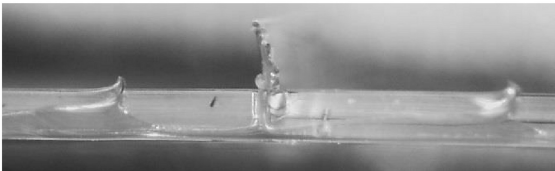
50

【図 9】

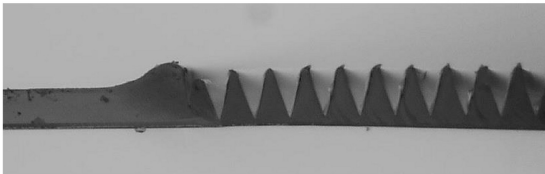
	比較例 2 (第一の型 2 個のみを順番に使用)	実施例 2 (第一の型 2 個と第二の型を使用)
薄肉部の厚み	0.008~0.012mm	0.022~0.028mm
引っ張り強度	2 N	8 N

【図 1 0】

＜比較例3 突出部＞



＜比較例3 薄肉部＞

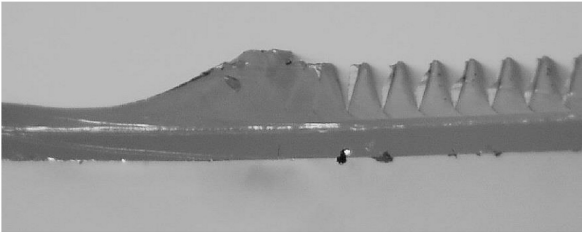


【図 1 1】

＜実施例3 突出部が改変された平坦化部＞



＜実施例3 薄肉部が改変された平坦化部＞



【図 1 2】

	比較例 3 (第一の型 4 個のみを同時に使用)	実施例 3 (第一の型 4 個と第二の型を使用)
突出部の高さ	0.3~0.7mm	0.02~0.06mm
培地送液時の膜厚	×	○
培地排出時の最小液厚	0.7mm	0.06mm
薄肉部の厚み	0.009~0.013mm	0.024~0.03mm

10

20

30

40

50

フロントページの続き

株式会社 総合研究所内
(72)発明者 戸谷 貴彦
神奈川県横浜市保土ヶ谷区岡沢町 2 2 - 4 東洋製罐グループホールディングス株式会社 総合研究
所内
(72)発明者 西山 喬晴
神奈川県横浜市保土ヶ谷区岡沢町 2 2 - 4 東洋製罐グループホールディングス株式会社 総合研究
所内
F ターム (参考) 4B029 AA08 BB11 CC02 DG10 GA01 GB09 GB10