

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第6993740号
(P6993740)

(45)発行日 令和4年1月14日(2022.1.14)

(24)登録日 令和3年12月14日(2021.12.14)

(51)国際特許分類

F I

D 0 2 G 3/10 (2006.01)

D 0 2 G 3/10

A 6 1 L 17/08 (2006.01)

A 6 1 L 17/08

D 0 1 F 4/00 (2006.01)

D 0 1 F 4/00

A

請求項の数 15 (全13頁)

(21)出願番号 特願2020-196240(P2020-196240)
 (22)出願日 令和2年11月26日(2020.11.26)
 (62)分割の表示 特願2019-90900(P2019-90900)の
 分割
 原出願日 令和1年5月13日(2019.5.13)
 (65)公開番号 特開2021-38502(P2021-38502A)
 (43)公開日 令和3年3月11日(2021.3.11)
 審査請求日 令和2年11月26日(2020.11.26)

(73)特許権者 501203344
 国立研究開発法人農業・食品産業技術総
 合研究機構
 茨城県つくば市観音台3-1-1
 (74)代理人 100161207
 弁理士 西澤 和純
 (74)代理人 100188558
 弁理士 飯田 雅人
 (74)代理人 100154852
 弁理士 酒井 太一
 (72)発明者 竹澤 俊明
 茨城県つくば市大わし1番2 国立研究
 開発法人農業・食品産業技術総合研究機
 構 生物機能利用研究部門内
 審査官 春日 淳一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 糸及びその製造方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

第一の板状ハイドロゲル乾燥体又は膜状ビトリゲル乾燥体を、第一の水溶液で湿らせながら撚りをかけて糸状にして、糸状ビトリゲルを得る工程を有する、糸の製造方法。

【請求項2】

糸状にせずに残した前記第一の板状ハイドロゲル乾燥体又は膜状ビトリゲル乾燥体の端部と第二の板状ハイドロゲル乾燥体又は膜状ビトリゲル乾燥体の端部とを重ね合わせて接合部を形成させ、前記接合部及び前記第二の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体を、前記第一の水溶液で湿らせながら撚りをかけて糸状にして、糸状ビトリゲルを得る工程を有する、請求項1に記載の糸の製造方法。

【請求項3】

前記糸状ビトリゲルを乾燥させ、糸状ビトリゲル乾燥体を得る工程を有する、請求項1又は2に記載の糸の製造方法。

【請求項4】

前記糸状ビトリゲル乾燥体を第二の水溶液で湿らせた後、乾燥させる工程を有する、請求項3に記載の糸の製造方法。

【請求項5】

前記糸状ビトリゲル乾燥体に紫外線を照射する工程を有する、請求項3又は4に記載の糸の製造方法。

【請求項6】

前記ハイドロゲルが、ネイティブコラーゲンゲルである、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の系の製造方法。

【請求項 7】

前記第一の水溶液が、水、ネイティブコラーゲンゾル又はアテロコラーゲンゾルである、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の系の製造方法。

【請求項 8】

前記端部は突起部である、請求項 2 ~ 6 のいずれか一項に記載の系の製造方法。

【請求項 9】

前記第二の水溶液が、ネイティブコラーゲンゾル又はアテロコラーゲンゾルである、請求項 4 ~ 8 のいずれか一項に記載の系の製造方法。

10

【請求項 10】

鋳型にゾルを注入し、ゾルをゲル化させた後、鋳型を外して板状ハイドロゲルを得る工程と、

前記板状ハイドロゲルを乾燥させガラス化し、板状ハイドロゲル乾燥体を得る工程と、を有する、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の系の製造方法。

【請求項 11】

前記板状ハイドロゲル乾燥体に紫外線を照射する工程を有する、請求項 10 に記載の系の製造方法。

【請求項 12】

前記板状ハイドロゲル乾燥体又は前記紫外線を照射した板状ハイドロゲル乾燥体を再水和して膜状ビトリゲルを得る工程と、前記膜状ビトリゲルを乾燥させ再ガラス化し、膜状ビトリゲル乾燥体を得る工程と、を有する、請求項 10 又は 11 に記載の系の製造方法。

20

【請求項 13】

前記膜状ビトリゲル乾燥体に紫外線を照射する工程を有する、請求項 12 に記載の系の製造方法。

【請求項 14】

ビトリゲル乾燥体からなり、らせん構造を有し、水和した際に弾力を有する系。

【請求項 15】

前記ビトリゲル乾燥体がネイティブコラーゲンビトリゲル乾燥体である、請求項 14 に記載の系。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、系及びその製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

再生医療の分野では、細胞の足場として機能する系状素材を編むことで、組織や器官の骨組みを形成する技術開発が切望されている。

【0003】

本発明者は、これまでに、円柱状ネイティブコラーゲンゲルを糸状に加工する技術を開発した後、再生医療分野で組織再生系（縫合糸、留置糸、細胞移植糸など）としての実用化を目指して、UVを照射した円柱状アテロコラーゲンゲルを糸状に加工する技術を開発してきた（例えば、特許文献 1 ~ 2 参照。）。

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【文献】特許第 4 6 7 7 5 5 9 号公報
国際公開第 2 0 1 8 / 2 1 1 8 7 7 号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

50

【 0 0 0 5 】

本発明者は、上記開発実績を踏まえ、更に実用性に優れた糸状アテロコラーゲンビトリゲルを開発することを目的とした。

【 0 0 0 6 】

本発明は、上記事情を鑑みてなされたものであり、無限長の糸状アテロコラーゲンビトリゲル及びその乾燥体の容易な製造技術を提供する。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 7 】

本発明は以下の態様を含む。

[1] 第一の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体を、第一の水溶液で湿らせながら撚りをかけて糸状にして、糸状ビトリゲルを得る工程を有する、糸の製造方法。

10

[2] 糸状にせずに残した前記第一の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体の端部と第二の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体の端部とを重ね合わせて接合部を形成させ、前記接合部及び前記第二の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体を、前記第一の水溶液で湿らせながら撚りをかけて糸状にして、糸状ビトリゲルを得る工程を有する、[1] に記載の糸の製造方法。

[3] 前記糸状ビトリゲルを乾燥させ、糸状ビトリゲル乾燥体を得る工程を有する、[1] 又は [2] に記載の糸の製造方法。

[4] 前記糸状ビトリゲル乾燥体を第二の水溶液で湿らせた後、乾燥させる工程を有する、[3] に記載の糸の製造方法。

20

[5] 前記糸状ビトリゲル乾燥体に紫外線を照射する工程を有する、[3] 又は [4] に記載の糸の製造方法。

[6] 前記ハイドロゲルが、アテロコラーゲンゲルである、[1] ~ [5] のいずれかに記載の糸の製造方法。

[7] 前記第一の水溶液が、水又はアテロコラーゲンゾルである、[1] ~ [6] のいずれかに記載の糸の製造方法。

[8] 前記端部は突起部である、[2] ~ [6] のいずれかに記載の糸の製造方法。

[9] 前記第二の水溶液が、アテロコラーゲンゾルである、[4] ~ [8] のいずれかに記載の糸の製造方法。

[1 0] 鋳型にゾルを注入し、ゾルをゲル化させた後、鋳型を外して板状ハイドロゲルを得る工程と、前記板状ハイドロゲルを乾燥させガラス化し、板状ハイドロゲル乾燥体を得る工程と、を有する、[1] ~ [9] のいずれかに記載の糸の製造方法。

30

[1 1] 前記板状ハイドロゲル乾燥体に紫外線を照射する工程を有する、[1 0] に記載の糸の製造方法。

[1 2] 前記板状ハイドロゲル乾燥体又は前記紫外線を照射した板状ハイドロゲル乾燥体を再水和して板状ビトリゲルを得る工程と、前記板状ビトリゲルを乾燥させ再ガラス化し、板状ビトリゲル乾燥体を得る工程と、を有する、[1 0] 又は [1 1] に記載の糸の製造方法。

[1 3] 前記板状ビトリゲル乾燥体に紫外線を照射する工程を有する、[1 2] に記載の糸の製造方法。

40

[1 4] ビトリゲル乾燥体からなり、水和した際に弾力を有する糸。

[1 5] らせん構造を有する、[1 4] に記載の糸。

[1 6] 前記ビトリゲル乾燥体がアテロコラーゲンビトリゲル乾燥体である、[1 4] 又は [1 5] に記載の糸。

【発明の効果】

【 0 0 0 8 】

本発明によれば、無限長の糸状アテロコラーゲンビトリゲル及びその乾燥体の容易な製造技術を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 0 9 】

50

- 【図 1】本実施形態に用いられる板状ビトリゲル乾燥体の一例である。
【図 2】本実施形態に用いられる板状ビトリゲル乾燥体の製造工程の一例である。
【図 3】本実施形態の糸の製造方法の一例である。
【図 4】本実施形態の糸の製造方法の一例である。
【図 5】製造例 1 で製造された糸の写真である。
【図 6】実施例 1 における試験結果である。
【図 7】実施例 1 における試験結果である。
【図 8】実施例 1 における試験結果である。
【図 9】実施例 1 における試験結果である。

【発明を実施するための形態】

10

【0010】

以下、場合により図面を参照しつつ、本発明の実施形態について詳細に説明する。なお、各図における寸法比は、説明のため誇張している部分があり、必ずしも実際の寸法比とは一致しない。

【0011】

糸の製造方法

1 実施形態において、本発明は、第一の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体を、第一の水溶液で湿らせながら撚りをかけて糸状にして、糸状ビトリゲルを得る工程 E を有する、糸の製造方法を提供する。

【0012】

20

まず、板状ハイドロゲル乾燥体の製造方法について、説明する。

板状ハイドロゲル乾燥体の製造方法は、鋳型にゾルを注入し、ゾルをゲル化させた後、鋳型を外して板状ハイドロゲルを得る工程 A と、前記板状ハイドロゲルを乾燥させガラス化し、板状ハイドロゲル乾燥体を得る工程 B と、を有する。

【0013】

図 1 に板状ハイドロゲル乾燥体の一例を示す。図 1 に示すように、板状ハイドロゲル乾燥体は、撚りやすさから端部が突起部であることが好ましい。また、図 1 では、板状ハイドロゲル乾燥体は、短冊状であり、幅は狭いが、これに限定されず、適宜調節することができる。板状ハイドロゲル乾燥体の幅を広くするほど、太い糸ができ、板状ハイドロゲル乾燥体の幅を狭くするほど、細い糸ができる。このように、板状ハイドロゲル乾燥体の幅を調節することにより、糸の太さを制御することができる。

30

また、板状ハイドロゲル乾燥体の幅は均一でなくともよく、ひょうたん型のように適宜幅の長さが異なってもよく、三角形型のように徐々に幅の長さが異なっていくものであってもよい。さらに、板状ハイドロゲル乾燥体は有孔の、例えば多孔質板状ハイドロゲル乾燥体であってもよい。

【0014】

[工程 A]

工程 A は、鋳型にゾルを注入し、ゾルをゲル化させた後、鋳型を外して板状ハイドロゲルを得る工程である（図 2（a）～（d）参照。）。

鋳型としては、所望の板状ハイドロゲルの形状がくりぬかれたものであれば、特に限定されず、例えば図 2（a）に示すような、複数の板状ハイドロゲルの形状がくりぬかれた PET フィルムが挙げられる。

40

本明細書において、「ゾル」とは、液体を分散媒とする分散質のコロイド粒子（サイズ：約 1 ～ 数百 nm 程度）が、特に高分子化合物で構成されるものを意味する。ゾルとしてより具体的には、天然物高分子化合物や合成高分子化合物の水溶液が挙げられる。これら高分子化合物が化学結合により、架橋が導入されて網目構造をとった場合は、その網目に多量の水を保有した半固形状態の物質である、「ハイドロゲル」に転移する。すなわち、「ハイドロゲル」とは、ゾルをゲル化させたものを意味する。

【0015】

板状ハイドロゲルの原料となるゾルとしては、生体適合性を有する材料であればよく、例

50

例えば、ゲル化する細胞外マトリックス由来成分、フィブリン、寒天、アガロース、セルロース等の天然高分子化合物、及びポリアクリルアミド、ポリビニルアルコール、ポリエチレンオキシド、poly (II-hydroxyethylmethacrylate) / polycaprolactone等の合成高分子化合物が挙げられる。

【0016】

ゲル化する細胞外マトリックス由来成分としては、例えば、コラーゲン（I型、II型、III型、V型、XI型等）、マウスEHS腫瘍抽出物（IV型コラーゲン、ラミニン、ヘパラン硫酸プロテオグリカン等を含む）より再構成された基底膜成分（商品名：マトリゲル）、グリコサミノグリカン、ヒアルロン酸、プロテオグリカン、ゼラチン等が挙げられ、これらに限定されない。それぞれのゲル化に至適な塩等の成分、その濃度、pH等を選択し所望の板状ハイドロゲルを製造することが可能である。また、原料を組み合わせることで、様々な生体内組織を模倣した板状ハイドロゲルを得ることができる。

10

【0017】

中でも、ゾルとしては、ゲル化する細胞外マトリックス由来成分が好ましく、コラーゲンがより好ましい。また、コラーゲンの中でもより好ましい原料としては、ネイティブコラーゲン又はアテロコラーゲンを例示でき、アテロコラーゲンがさらに好ましい。

【0018】

なお、「ビトリゲル」とは、従来のハイドロゲルをガラス化(vitrification)した後に再水和して得られる安定した状態にあるゲルのことを指し、本発明者によって、「ビトリゲル(vitrigel)（登録商標）」と命名されている。

20

また、本明細書においては、本実施形態の製造工程を詳細に説明するにあたり、当該ガラス化工程の直後であり再水和の工程を経ていないハイドロゲルの乾燥体に対しては、単に「ハイドロゲル乾燥体」とした。そして、当該ガラス化工程の後に再水和の工程を経て得られたゲルを「ビトリゲル」として区別して表し、そのビトリゲルをガラス化させて得られた乾燥体を「ビトリゲル乾燥体」とした。また、ビトリゲル乾燥体に紫外線照射する工程を施して得られるものを「紫外線を照射したビトリゲル乾燥体」とした。従って、「ビトリゲル」は水和体である。

また、本明細書において、用語「ビトリゲル」を用いる際には、用語「（登録商標）」を省略して用いる場合がある。

【0019】

30

工程Aにおいて、鑄型にゾルを注入する際、ゾルの量を多くすれば、厚い板状ハイドロゲルが得られ、結果として太い糸を得ることができる。また、ゾルの量を少なくすれば、薄い板状ハイドロゲルが得られ、結果として細い糸を得ることができる。このように、注入するゾルの量を調整することにより、糸の太さを制御することができる。

板状ハイドロゲルの厚さとしては、0.1mm～20mmが好ましく、0.5mm～4mmがより好ましく、1mm～2mmが更に好ましい。

【0020】

工程Aにおいて、ゲル化する際にゾルを保温する温度は、用いるゾルの種類に応じて適宜調整すればよい。例えば、ゾルがコラーゲンゾルである場合、ゲル化する際の保温は、用いるコラーゲンの動物種に依存したコラーゲンの変性温度より低い温度とすればよく、一般的には20℃以上37℃以下の温度で保温することで数分から数時間でゲル化を行うことができる。

40

【0021】

[工程B]

工程Bは、前記板状ハイドロゲルを乾燥させガラス化し、板状ハイドロゲル乾燥体を得る工程である（図2（e）参照。）。板状ハイドロゲルを乾燥させることにより、板状ハイドロゲル内の自由水を完全に除去し、さらに結合水の部分除去を進行させることができる。このガラス化工程（板状ハイドロゲル内の自由水を完全に除去した後に、結合水の部分除去を進行させる工程）の期間を長くするほど、再水和した際には透明度、強度に優れた板状ビトリゲルを得ることができる。なお、必要に応じて短期間のガラス化後に再水和して

50

得た板状ビトリゲルを P B S 等で洗浄し、再度ガラス化することもできる。

【 0 0 2 2 】

乾燥方法としては、例えば、風乾、密閉容器内で乾燥（容器内の空気を循環させ、常に乾燥空気を供給する）、シリカゲルを置いた環境下で乾燥する等、種々の方法を用いることができる。例えば、風乾の方法としては、10、40%湿度で無菌に保たれたインキュベーターで2日間乾燥させる、又は、無菌状態のクリーンベンチ内で一昼夜、室温で乾燥する等の方法を例示することができる。

また、板状ハイドロゲル乾燥体に紫外線を照射することで、再水和した際には透明度、強度に優れた板状ビトリゲルを得ることができる。

【 0 0 2 3 】

続いて、板状ビトリゲル乾燥体の製造方法について、説明する。

板状ハイドロゲル乾燥体の製造方法は、前記板状ハイドロゲル乾燥体あるいは紫外線を照射した板状ハイドロゲル乾燥体を再水和して板状ビトリゲルを得る工程 C と、板状ビトリゲルを乾燥させ再ガラス化し、板状ビトリゲル乾燥体を得る工程 D、を有する。

[工程 C]

工程 C は、ガラス化後に再水和する工程である（図 2（f）～（g）参照。）。工程 C により、板状ビトリゲルが得られる。

再水和に用いる水溶液としては、滅菌水、生理食塩水、P B S 等が挙げられる。

【 0 0 2 4 】

[工程 D]

工程 D は、板状ビトリゲルを乾燥させ再ガラス化し、板状ビトリゲル乾燥体を得る工程である。また、板状ビトリゲル乾燥体に紫外線を照射することで、板状ビトリゲル乾燥体の強度を上げることができる（図 2（h）参照。）。

上記した紫外線の照射エネルギーは、板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体の組成及び含有量に応じて適宜調整すればよい。紫外線の照射エネルギーは、例えば $0.1 \text{ mJ} / \text{cm}^2$ 以上 $6000 \text{ mJ} / \text{cm}^2$ 以下であればよく、例えば $10 \text{ mJ} / \text{cm}^2$ 以上 $4000 \text{ mJ} / \text{cm}^2$ 以下であればよく、例えば $20 \text{ mJ} / \text{cm}^2$ 以上 $500 \text{ mJ} / \text{cm}^2$ 以下であればよい。

【 0 0 2 5 】

このようにして製造された板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体を用いて、糸を製造する。この板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体を、円筒形の刃物等を用いてくり抜いて貫通孔を形成してもよい。係る貫通孔を有する板状ハイドロゲル乾燥体を用いて糸を製造する場合には、微細孔を有する糸を得ることができる。円筒形の刃物としては、例えば、トレパン等の医療器具が挙げられる。刃物の形状は貫通孔の断面形状に応じて適宜変更すればよく、円筒形には限られない。

【 0 0 2 6 】

[工程 E]

工程 E は、第一の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体を、第一の水溶液で湿らせながら撚りをかけて糸状にして、糸状ビトリゲルを得る工程である。

より具体的には、図 3 に示すように、得られた板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体を横半分に切断し、二分されたうちの一つを第一の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体として用いる（残りを工程 F において、第二の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体として用いる）。まず、第一の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体の突起部の無い方の端部をピペット等の支持体に固定する。次いで、固定された第一の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体を、第一の水溶液で湿らせながら同一方向に撚りをかけることで糸状にする（図 4（a）～（b）参照。）。

第一の水溶液としては、特に限定されず、滅菌水、生理食塩水、P B S、アテロコラーゲンゾル等が挙げられ、滅菌水、アテロコラーゲンゾルが好ましい。

【 0 0 2 7 】

10

20

30

40

50

糸状ビトリゲルを更に長くしたい場合には、本実施形態の製造方法は、工程 F を有することが好ましい。

【 0 0 2 8 】

[工程 F]

工程 F は、糸状にせずに残した前記第一の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体の端部と第二の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体の端部とを重ね合わせて接合部を形成させ、前記接合部及び前記第二の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体を、前記第一の水溶液で湿らせながら撚りをかけて糸状にして、糸状ビトリゲルを得る工程である。

より具体的には、図 3 に示すように、糸状にせずに残した第一の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体の突起部と、第二の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体の突起部とを重ね合わせて接合部を形成させる（図 4（c）～（d）参照。）。次いで、第一の水溶液で湿らせながら、接合部及び第二の板状ハイドロゲル乾燥体又は板状ビトリゲル乾燥体の下端まで湿らせながら同一方向に撚りをかけることで糸状にする（図 4（e）～（g）参照。）。

工程 F を繰り返すことで無限長の糸を製造することができる。更に、実施形態の製造方法は、以下の工程 G ～ I を有していてもよい。

【 0 0 2 9 】

[工程 G]

工程 G は、工程 F で得られた糸状ビトリゲルを乾燥させ、糸状ビトリゲル乾燥体を得る工程である（図 4（h）参照。）。

【 0 0 3 0 】

[工程 H]

工程 H は、工程 G で得られた糸状ビトリゲル乾燥体を第二の水溶液で湿らせた後、乾燥させる工程である。

第二の水溶液としては、特に限定されず、滅菌水、生理食塩水、PBS、アテロコラーゲンゾル等が挙げられ、アテロコラーゲンゾルが好ましい。糸状ビトリゲル乾燥体をアテロコラーゲンゾルでコートすることにより、糸の強度を高めることができる。

【 0 0 3 1 】

[工程 I]

工程 I は、工程 H 又は工程 G で得られた糸状ビトリゲル乾燥体に紫外線を照射する工程である。

紫外線の強度としては、工程 D に挙げたものと同様である。糸状ビトリゲル乾燥体に均一に紫外線照射するために、複数回対称方向に照射することが好ましい。

糸状ビトリゲル乾燥体を紫外線照射することにより、分子内に架橋構造を形成させ、糸の強度を高めることができる。

【 0 0 3 2 】

< 用途 >

本実施形態の製造方法により得られた糸は、例えば、組織再生糸、細胞移植用担体等として用いることができる。上述したとおり、本実施形態によれば、無限長の糸を製造できるため、糸を用いて臓器の形に編むことができ、細胞移植用担体として好適に用いることができる。

【 0 0 3 3 】

糸

1 実施形態において、本発明は、ビトリゲル乾燥体からなり、水和した際に弾力を有する糸を提供する。上述した製造方法において、撚りの工程を有することにより糸は弾性を有する。更に撚りの工程を有することにより、糸はらせん構造を有する。

ビトリゲル乾燥体の原料となるゾルとしては、上述の糸の製造方法において例示されたものと同様のものが挙げられる。中でも、本実施形態の糸を構成するビトリゲル乾燥体としては、生体適合性素材であることから、アテロコラーゲンビトリゲル乾燥体が好ましい。

10

20

30

40

50

【実施例】

【0034】

以下、実施例により本発明を説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

【0035】

[製造例1]系の製造

1. A4サイズのPETフィルム(厚さ75 μ m)に、10mm \times 200mm(両端の2.5mm \times 20mmを切る:図1参照)の短冊を8箇所切り抜いた鋳型を、テフロン(登録商標)板の上に置いた(図2(a)参照)。

2. 氷上で8mLの無血清培養液に8mLの1%アテロコラーゲン溶液を注ぎ、ピペティングを3回行い、均一なアテロコラーゲンゾルを作製した。 10

3. 各短冊状鋳型の内側に3.6mLのアテロコラーゲンゾルが全体に広がるように注いだ(4箇所)。

4. 上記2および3の操作を繰り返し、アテロコラーゲンゾルを計8箇所の鋳型に注ぎ入れた(図2(b)参照)。

5. 37 $^{\circ}$ Cの5%CO₂インキュベーター内に、アテロコラーゲンゾルを注入した鋳型を2時間放置してゲル化した(図2(c)参照)。

6. ゲル化後、PETフィルムを除去して(図2(d)参照)、湿度40%温度10 $^{\circ}$ Cの恒温恒湿機内でガラス化した(図2(e)参照)。

7. ガラス化後、滅菌水を添加し3回洗浄し、再水和した(図2(f)参照)。再水和後(図2(g)参照)、湿度40%温度10 $^{\circ}$ Cの恒温恒湿機内で再ガラス化した。 20

8. 再ガラス化後、アテロコラーゲンビトリゲル膜乾燥体に、50mJ/cm²のUV照射をした(図2(h)参照)。

【0036】

9. UV照射後、テフロン(登録商標)板から短冊状のアテロコラーゲンビトリゲル膜乾燥体を剥離して半分に切り、一端を用意しておいたピペットにスコッチメンディングテープで貼付けぶら下げた(図3、図4(a)参照)。

10. 短冊状のアテロコラーゲンビトリゲル膜乾燥体を滅菌水で湿らせながら同一方向に撚りをかけることで糸状にした。短冊の先端(5mm \times 20mm部)は糸状にせずに残した(図4(b)参照)。 30

11. 残した下端に別の短冊状のアテロコラーゲンビトリゲル膜乾燥体の先端(5mm \times 20mm部)を重ね合わせ(図3、図4(c)~(d)参照)、滅菌水で湿らせながら同一方向に撚りをかけた。続いて、下端まで滅菌水で湿らせながら同一方向に撚りをかけた(図4(e)~(h)参照)後、クリップを重石にして乾燥させた。

12. 上記9~11の操作を繰り返し、4本の糸状アテロコラーゲンビトリゲル乾燥体(撚りかけ法:滅菌水のみ)を作製した。

13. 作製した4本のうち2本は、さらにアテロコラーゲンゾルで湿らせながら同一方向に撚りをかけた後、クリップを重石にして乾燥させた(撚りかけ法:滅菌水+アテロコラーゲンゾルコート)。

14. 新たに滅菌水の代わりに、アテロコラーゲンゾルを用いて上記10および11を実施して、2本の糸状アテロコラーゲンビトリゲル乾燥体を作製した(撚りかけ法:アテロコラーゲンゾル)。 40

15. 上記12~14で作製した各1本に、400mJ/cm²UV照射を2回対称方向に照射した。

【0037】

[実施例1]糸状アテロコラーゲンビトリゲル乾燥体の強度確認試験

製造例1で製造された糸状アテロコラーゲンビトリゲル乾燥体の各サンプルを、滅菌水を入れた50mLコニカルチューブに入れて再水和した。再水和して一日後、各サンプルを取り出して糸の両端を引っ張ることで解れの程度を観察した(図6参照)。各サンプルは、以下の6種類である。(1)-1:糸(撚りかけ法:滅菌水)、(1)-2:糸(撚 50

りかけ法：滅菌水）のUV照射サンプル、（２）-１：系（撚りかけ法：滅菌水＋アテロコラーゲンゾルコート）、（２）-２：系（撚りかけ法：滅菌水＋アテロコラーゲンゾルコート）のUV照射サンプル、（３）-１：系（撚りかけ法：アテロコラーゲンゾル）、（３）-２：系（撚りかけ法：アテロコラーゲンゾル）のUV照射でサンプル（図５参照。）。

【００３８】

結果を図７～９に示す。

図７（ａ）に示すように、滅菌水で撚りをかけて作製した系では、大きな解れが見られ、両端を引っ張ると接合部で切れた。図７（ｂ）に示すように、滅菌水で撚りをかけた後にUV照射して作製した系では、中程度の解れが見られ、両端を引っ張ると接合部で切れたが、その強度はUV照射なしのものより強かった。

10

【００３９】

図８（ａ）に示すように、滅菌水で撚りをかけた後、アテロコラーゲンゾルコートして作製した系では、大きな解れが見られ、両端を引っ張ると接合部で切れたが、その強度は滅菌水で撚りをかけてのみ作製した系より強かった。図８（ｂ）に示すように、滅菌水で撚りをかけた後、アテロコラーゲンゾルコートして、UV照射して作製した系では、中程度の解れが見られ、両端を引っ張ると接合部で切れたが、その強度はUV照射なしのものより強かった。

【００４０】

図９（ａ）に示すように、アテロコラーゲンゾルで撚りをかけて作製した系では、僅かな解れが見られ、両端を引っ張ると接合部で切れたが、その強度は、滅菌水で撚りをかけて作製した系、滅菌水で撚りをかけた後にUV照射して作製した系、滅菌水で撚りをかけた後、アテロコラーゲンゾルコートして作製した系、及び滅菌水で撚りをかけた後、アテロコラーゲンゾルコートして、UV照射して作製した系より強かった。図９（ｂ）に示すように、アテロコラーゲンゾルで撚りをかけた後、UV照射して作製した系では、解れがなく、ゴムのように伸縮性があり、両端を引っ張ってもなかなか切れず、その強度はUV照射なしのものより強かった。

20

【産業上の利用可能性】

【００４１】

本発明によれば、用途に応じて強度を調整可能な無限長の糸状アテロコラーゲンビトリゲル及びその乾燥体の容易な製造技術を提供することができる。

30

40

50

【図面】

【図 1】

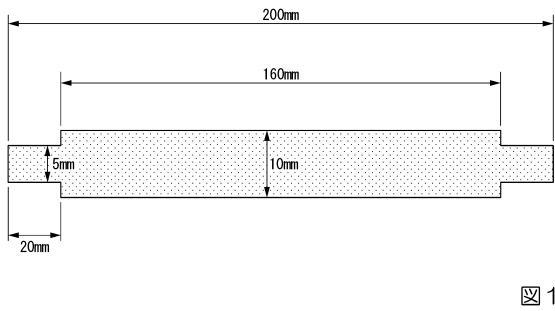


図 1

【図 2】

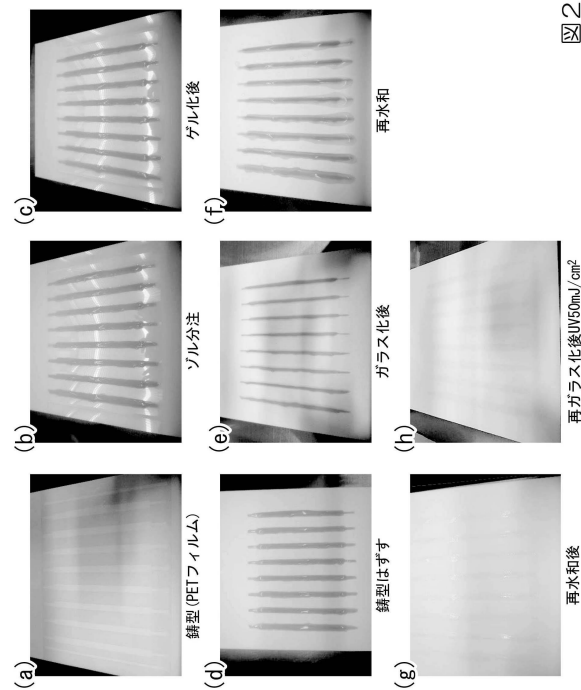


図 2

【図 3】

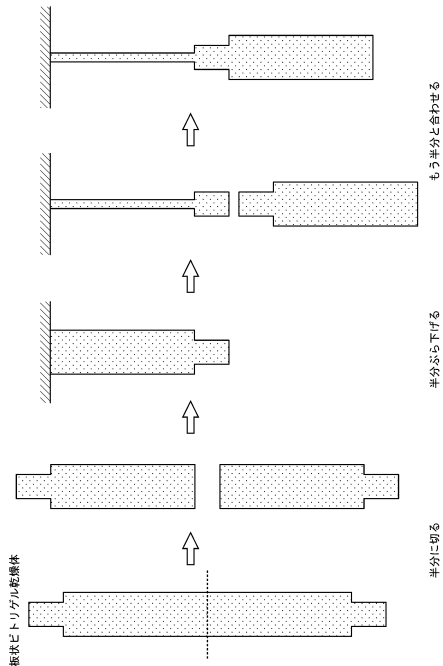


図 3

【図 4】

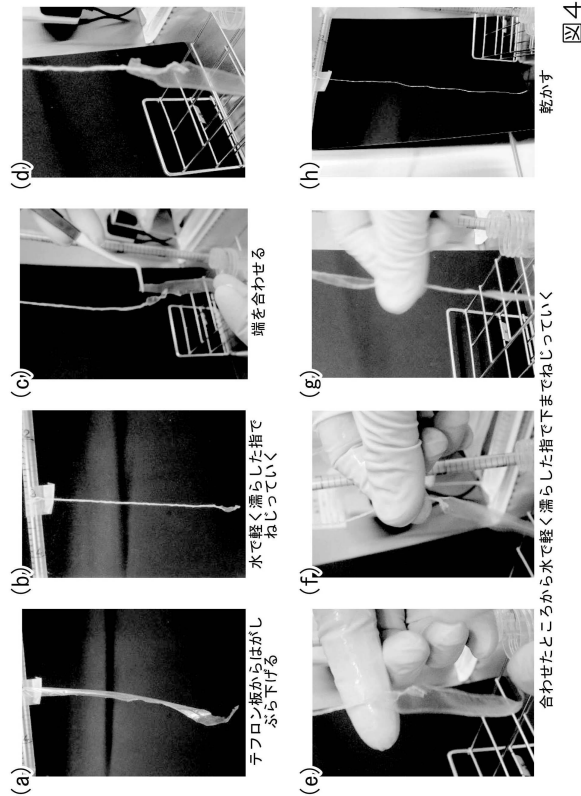
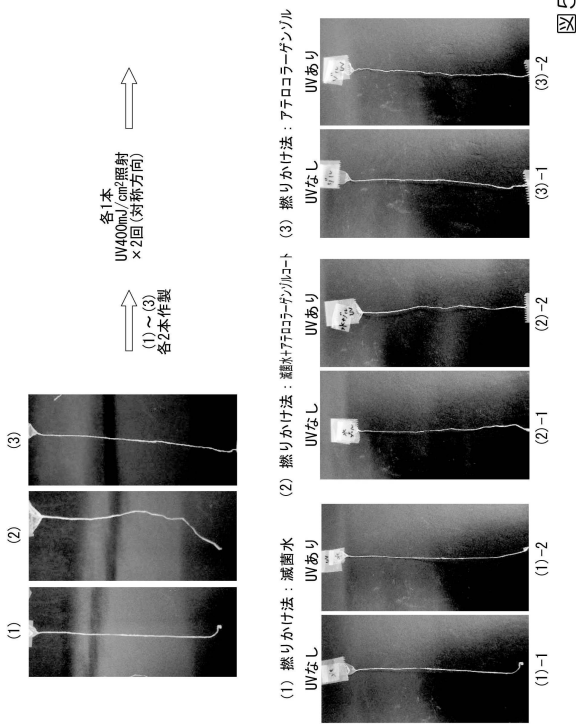
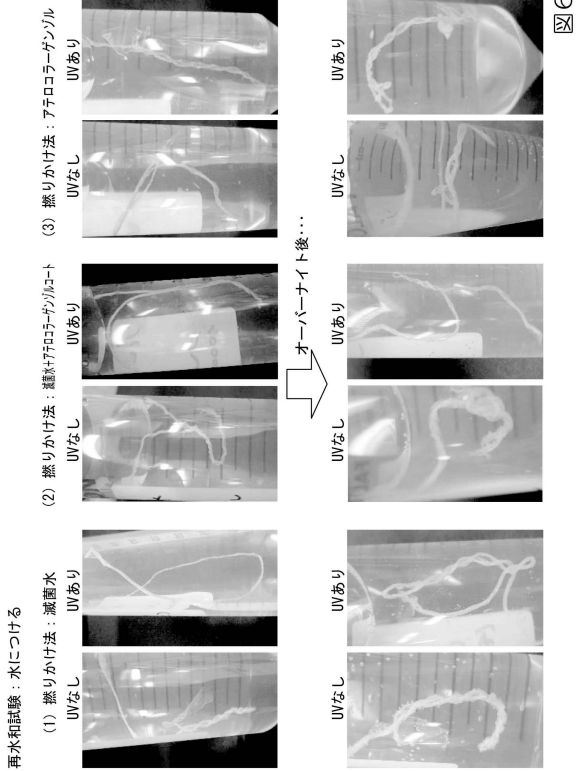


図 4

【図 5】

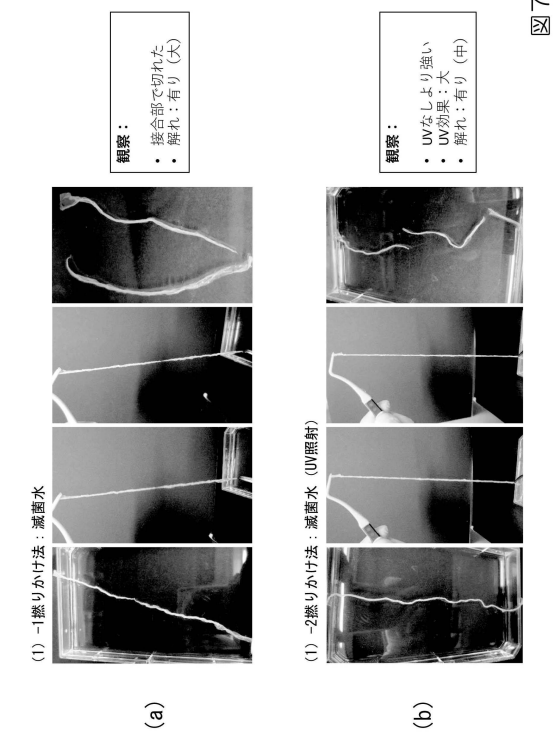


【図 6】

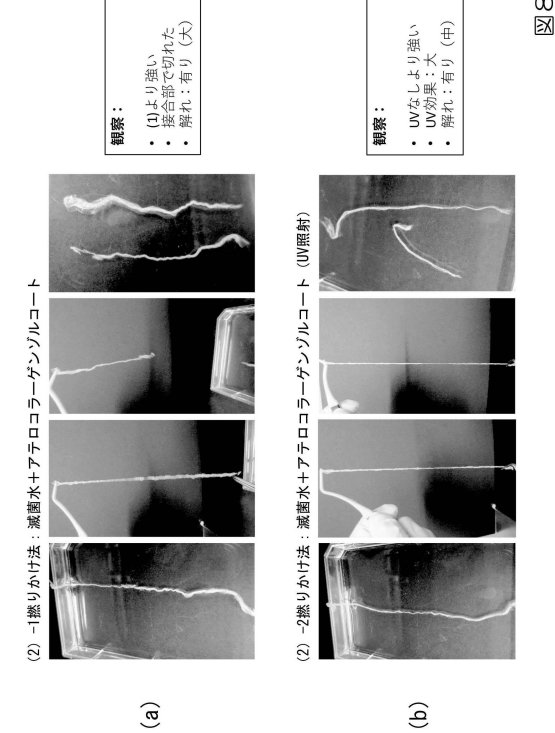


再水和試験：水につける

【図 7】



【図 8】



10

20

30

40

50

【図 9】

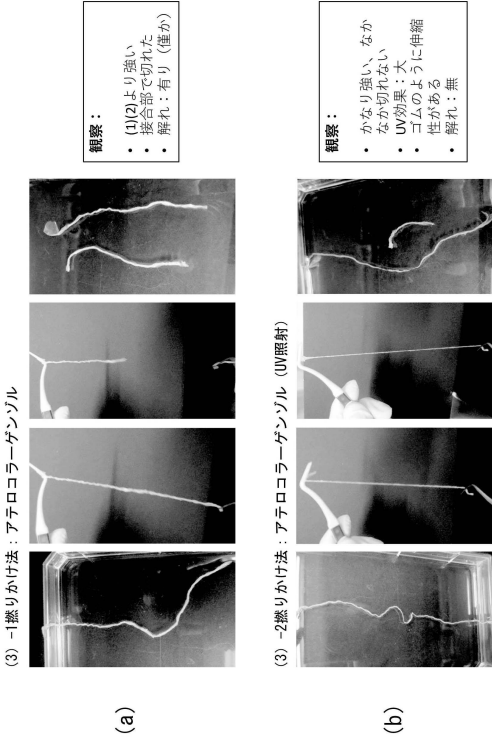


図9

10

20

30

40

50

フロントページの続き

- (56)参考文献 特開平 7 - 2 1 3 5 9 7 (J P , A)
 特公昭 4 9 - 9 4 0 3 (J P , B 1)
 特開平 1 - 1 7 4 3 3 8 (J P , A)
 特開 2 0 0 7 - 2 0 4 8 8 1 (J P , A)
 国際公開第 2 0 1 8 / 2 1 1 8 7 7 (W O , A 1)
- (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)
- D 0 2 G 1 / 0 0 - 3 / 4 8
 D 0 2 J 1 / 0 0 - 1 3 / 0 0
 D 0 1 F 1 / 0 0 - 9 / 0 4
 A 6 1 L 1 7 / 0 0 - 1 7 / 1 4