

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4163617号  
(P4163617)

(45) 発行日 平成20年10月8日 (2008. 10. 8)

(24) 登録日 平成20年8月1日 (2008. 8. 1)

(51) Int. Cl.

F I

C 0 8 J 7/00 (2006. 01)

C 0 8 J 7/00 3 0 6

C 1 2 M 3/00 (2006. 01)

C 0 8 J 7/00 C E T

C 1 2 M 3/00 A

請求項の数 13 (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2003-525576 (P2003-525576)  
 (86) (22) 出願日 平成14年7月18日 (2002. 7. 18)  
 (65) 公表番号 特表2005-504855 (P2005-504855A)  
 (43) 公表日 平成17年2月17日 (2005. 2. 17)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2002/022926  
 (87) 国際公開番号 W02003/020872  
 (87) 国際公開日 平成15年3月13日 (2003. 3. 13)  
 審査請求日 平成17年6月15日 (2005. 6. 15)  
 (31) 優先権主張番号 09/947, 035  
 (32) 優先日 平成13年9月4日 (2001. 9. 4)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 397068274  
 コーニング インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 4 8  
 3 1 コーニング リヴァーフロント プ  
 ラザ 1  
 (74) 代理人 100073184  
 弁理士 柳田 征史  
 (74) 代理人 100090468  
 弁理士 佐久間 剛  
 (72) 発明者 ブライハン, マリー ディー  
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 1 4 8  
 5 8 リンリー ブラウンタウン ロード  
 4 3 8

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 高分子材基板上に細胞成長表面を形成するための方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

高分子材基板表面を処理するための装置において、

a) ガス流入口及びマイクロ波エネルギー源のいずれともガスが流通するプラズマ混合チャンバ、

b) 処理チャンバ内室が処理チャンバ外室内に収められており、前記処理チャンバ内室が前記外室へのガス流通開口を除いて該外室から完全に囲い込まれ封じ込まれる二重室処理領域、

c) 前記プラズマ混合チャンバと前記処理チャンバ外室の間のガスの流通を可能にするアパーチャ、及び

d) 前記外室にとり付けられた真空排気配管、  
を備え、e) 前記処理内室の前記開口が前記アパーチャと位置合せされ、前記開口はあらかじめ定められた距離だけ前記アパーチャから離されている、  
ことを特徴とする装置。

【請求項 2】

前記あらかじめ定められた距離が 1 ~ 6 インチ (約 2.5 ~ 15 cm) であることを特徴とする請求項 1 に記載の装置。

【請求項 3】

前記処理チャンバ外室に大気ベントが取り付けられていることを特徴とする請求項 1 に

記載の装置。

【請求項 4】

前記内室内に高分子材成形品をさらに備えることを特徴とする請求項 1 に記載の装置。

【請求項 5】

前記内室が処理されるべき高分子材成形品であることを特徴とする請求項 1 に記載の装置。

【請求項 6】

前記処理チャンバ内室が、側壁、底及び、前記開口を画定するテーパ付ネック部を有することを特徴とする請求項 1 に記載の装置。

【請求項 7】

前記処理チャンバ外室の基台部の取り外しのための空気圧昇降システムをさらに備えることを特徴とする請求項 1 に記載の装置。

【請求項 8】

前記プラズマ混合チャンバ及び前記処理チャンバ外室を前記アパーチャを介して接続するコンジットをさらに備えることを特徴とする請求項 1 に記載の装置。

【請求項 9】

高分子材基板の方面を処理する方法において、

a) 請求項 1 に記載の装置を提供し、前記処理領域内に前記高分子材基板を配置する工程、

b) 前記プラズマ混合チャンバで低温プラズマを生成する工程、及び

c) 前記プラズマを前記二重室処理チャンバに導き入れる工程、  
を有してなることを特徴とする方法。

【請求項 10】

前記プラズマを前記装置から排気する工程をさらに含むことを特徴とする請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記プラズマ生成工程に先立ち、前記処理チャンバ内室に高分子材成形品を入れる工程をさらに含むことを特徴とする請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

前記内室が処理されるべき高分子材成形品であることを特徴とする請求項 9 に記載の方法。

【請求項 13】

前記高分子材がポリスチレンであることを特徴とする請求項 9 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は全般的には細胞成長実験器具の分野に関し、さらに詳しくは、細胞成長を容易にする製品を作成するための高分子材表面の処理方法に関する。表面処理を行うための装置も本発明により提供される。

【背景技術】

【0002】

活細胞の培養は、とりわけ、薬物発見過程における重要な要素である。回転ボトル、フラスコ、皿、ウエルプレート、細胞収穫ユニット等を含む、多くの細胞培養用器具が販売されている。一般に、これらの実験器具類は細胞の付着及び成長に必要な基板表面をつくるに十分な機械的安定性及び強度を有する高分子材からモールド成形される。

【0003】

一般に、細胞成長容器または基板は、表面を親水性にするため及び実効細胞付着確度を高めるため、モールド成形後に「表面処理」を行う必要がある。表面処理は表面コーティングの態様をとり得るが、一般には、高分子材表面に化学基を発生させる目的をもつ基板表面において指向性エネルギーを使用することを意味する。これらの化学基は、水に対す

10

20

30

40

50

る汎親和性を有するか、さもなければ、逆極性の基への安定な吸着を可能にするに十分な極性を示すであろう。これらの官能基により、細胞成長を強める特性が認められる親水性及び/または表面酸素の増加が生じる。そのような化学基には、アミノ基、アミド基、カルボニル基、カルボキシ基、エステル基、ヒドロキシ基、スルフヒドリル基等がある。指向性エネルギーの例には、常圧コロナ放電、高周波（RF）真空プラズマ処理及びDCグロー放電がある。これらの高分子材表面処理法で得られた効果の度合いは様々であり、効果は時間とともに減退する傾向がある。

#### 【0004】

プラズマ処理の場合、イオン化をおこさせ、続いて、自由電子、光子、自由ラジカル及びイオン種を発生させるに十分な量のエネルギーがガス原子及び/またはガス分子に加えられたときにプラズマがつくられる。低温プラズマを形成するためにガスに与えられる励起エネルギーは、放電、直流、低周波、高周波、マイクロ波（MW）またはその他の形態の電磁波から発生させることができる。プラズマ処理は微細エレクトロニクス及び半導体工業において表面変性のために普通に行われている。既述したように、常圧コロナプラズマ処理及びRFプラズマ処理は細胞成長基板及び医用インプラントのいずれについても高分子材表面活性化のために普通に用いられている。

#### 【0005】

細胞培養において成長している付着細胞に関する現在の標準的な実施態様は、10体積%までのウシまたはその他の動物の血清が加えられた特定の化学培養基の使用を含む。加えられた血清は補助栄養素及び/または成長因子を提供する。さらに、血清タンパクは、処理されたプラスチック表面を細胞がより良好に付着し得る生体層基質で覆うことにより細胞付着を促進する。血清の添加は一般に、大半の細胞系統の正常な成長を支援するために必要とされる。血清は、細胞成長に有益であるが、感染源の侵入または血清にさらされた不要な遺伝子の発現の異常誘発による悪影響を有し得る。

#### 【発明の開示】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0006】

血清添加の悪影響を軽減できる、細胞成長に有利な表面を形成するための方法及び装置を提供する。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0007】

本発明にしたがえば、プラズマ流はマイクロ波源を用いて発生させた活性ガス種からなる。このプラズマ流は、未処理の高分子材またはその他の既知の方法で処理された高分子材の表面よりはるかに優れた細胞付着のための属性特性を表面に付与するように、制御された態様で高分子材基板の表面に導かれる。処理装置はマイクロ波発生器及びプラズマ混合チャンバへのガス供給配管を備える。プラズマ混合チャンバは内室及び外室からなる二重室処理チャンバに接続される。外室はプラズマ混合チャンバに直接に連結され、プラズマ流をつくるための真空配管引出口を有する。内室は外室内部に収められ、処理されるべき高分子材表面上にプラズマ流を真直に向けるバツフルを備える。指向性プラズマ流にさらされた成形品には、血清減量条件下においても驚くほど高いレベルの細胞付着を実現する一様な表面特性が付与される。この表面がタンパク結合検定にも有用であり得ることが当業者には明らかであろう。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

#### 【0008】

図1を参照すれば、本発明の方法を実施するためのマイクロ波プラズマ流装置の基本構成が提供される。2.45GHzマイクロ波発生器（MKSAstex, 米国マサチューセッツ州ウilmington）10が本装置のエネルギー源としてはたらく。マイクロ波発生器10は、発生器、サーキュレータ、ダミー負荷、同調器及びアプリケーションを備えることが好ましい。ガス配管12がガス源に接続され、十分にエネルギーが加えられると、活性化されているかまたはイオン化したガスの連続流をつくるプロセスガスを

配送する。適するプラズマガスには、アルゴン、窒素、酸素、亜酸化窒素、アンモニア、二酸化炭素、ヘリウム、水素、空気及び容易に活性化されるかまたはイオン化することが当業者に知られているその他のガスがある。プラズマチャンバ 14 は、ガスとマイクロ波エネルギーの間の反応のためのマニホールドとしてはたらく、バルブ 13 を介してガス配管 12 と、またマイクロ波発生器 10 とともに、ガスが通じている。コンジット 16 がアパーチャ 20 を介してプラズマチャンバを処理チャンバ 18 に連結する。第 1 処理チャンバすなわち外室 18 の内部に、第 2 処理チャンバすなわち内室 22 が配置される。内室は、プラズマ流を入れ、その基台におかれた成形品上にプラズマ流を導くようにはたらく、円錐台形のパツフル区画を有する。本実施形態において、内室は同じ基台 25 を外室と共有する。さらに、処理チャンバ内室は、アパーチャ 20 と断面の形状がほぼ合同の上ネック部を有することが好ましい。しかし、処理チャンバ内室のネックはアパーチャに直には連結されていないことが好ましい。アパーチャと第 2 処理チャンバのネックの間のほぼ 1 ~ 6 インチ (約 2.5 ~ 15 cm) の間隙により、バルブ付真空配管 24 を介する処理チャンバ外室からのプラズマの流出が可能になる。処理された成形品の取り出しと新しい成形品の内室への配置を自動式に行うために、空気圧昇降システム 29 を使って基台部 25 を処理チャンバから離すこともできる。プラズマ混合チャンバ 14 は、石英でつくられていることが好ましい。コンジット 16 及び処理チャンバ外室は導電性または非導電性材料、特に、石英、アルミニウムまたはステンレス鋼でつくることができる。処理チャンバ内室は、非導電性材料でつくられることが好ましく、石英でつくられることが最も好ましい。

【0009】

動作中、図 1 の装置は以下のようにはたらく。処理されるべき高分子材モールド成形品が内室 22 の中に配置される。説明のため、多ウエルプレート 26 が基台 25 の上におかれているが、内室及び外室は様々な高分子材成形品のいずれかを収容するような形状、寸法及び構成とすることができ、基台 25 と外室の側壁 27 の間が真空封止される。ガスを連続的に流しておけるように、プロセスを通して真空ポンプ排気が維持される。バルブ 13, 23 が開かれ、プロセスガスがアパーチャ 20 を通ってプラズマチャンバ 14 に流入し、続いて二重室処理領域に流入することができる。ガス流圧力は、100 ~ 2,000 mTorr (13.3 ~ 267 Pa) であることが好ましく、200 ~ 300 mTorr (26.7 ~ 40 Pa) であることがさらに好ましい。ガス流量は、100 ~ 5,000 cm<sup>3</sup>/分に設定されることが好ましく、400 ~ 600 cm<sup>3</sup>/分に設定されることがさらに好ましい。本プロセスは任意の温度範囲で実行することができるが、40 ~ 150 °F (約 4.4 ~ 65.6 °C) で行われることが好ましく、室温すなわち約 72 °F (約 22 °C) で行われることがさらに好ましい。マイクロ波発生器は、300 ~ 10,000 W, 好ましくは 300 ~ 3,000 W の出力を発生するようにはたらく。プラズマチャンバ 14 に入るマイクロ波エネルギーがプラズマチャンバに入るガスと相互作用してガスを活性化し、この結果、プラズマがえられる。本集成装置の定常流特性により、プラズマは、コンジット 16 を通り、アパーチャ 20 を通って、処理チャンバ内に導かれる。コンジット及びアパーチャを通るプラズマ流でえられるジェット流は処理チャンバ外室 18 内に導かれ、続いて処理チャンバ内室 22 内に導かれて、チャンバの基台 25 におかれた高分子材成形品 26 上に導かれる。内室 22 及び外室 18 のそれぞれからの流出は、二重室型処理領域を排気するようにはたらく、真空配管 24 により確保される。処理チャンバ内室 22 により、プラズマ流が流出口バルブ 23 に直行せずに成形品上に導かれ、よって成形品 26 がプラズマ流と最適な接触を行うことが可能になることに注意すべきである。処理チャンバ内室 22 は、ネックにおける開口を除き、完全に囲い込まれ、外室 18 から封じ込められるべきである。内室の立体図が図 1 A に示される。ネック部 4 及び漏斗部 6 が円錐台形の上部を形成する。本実施形態において、基台 8 はウエルプレートを受け入れるため、長方形になっている。

【0010】

プラズマは 1 秒 ~ 5 分間、さらに好ましくは 5 ~ 20 秒間、励起される。処理が完了すると、マイクロ波エネルギーが止められ、バルブが閉じられて、システムに窒素または乾

10

20

30

40

50

燥空気を導入し、全てのチャンバを大気圧に戻すために、大気ベントバルブ 32 が開かれる。圧力正常化後、空気圧昇降システム 29 を作動させることにより成形品が取り出される。必要に応じて、上に略述した工程をコンピュータ制御システムが自動化態様で実施する。取り出し後、ガンマ線で照射することによる標準の殺菌処理を成形品に与えることが好ましい。

#### 【0011】

図 2 は本発明の別の実施形態の略図である。本実施形態では、処理されるべき成形品が処理チャンバ内室としてはたらく。前述した実施形態と同様に、装置はガス流入口 12 及びガスがプラズマチャンバ 14 と通じるマイクロ波発生器 10 を有する。プラズマ流は真空ポンプに取り付けられた配管 24 からの気流によりつくられる。プラズマ流は、コンジット 16 及びアパーチャ 20 を通って処理チャンバ外室 18 に流れ込むプラズマによりつくられる。しかし、この場合には、処理されるべき成形品である回転ボトル 30 が '内室' としてはたらく。ボトル 30 はプラズマ流がボトルに導き入れられるであろうように、アパーチャ近くに、ほぼ 1 ~ 6 インチ (約 2.5 ~ 15 cm) 離しておかれる。プラズマ流はボトルのネックを通して導かれ、底及び側壁を含むボトル内面の全てに接する。この場合も、処理チャンバ外室と連結されている大気ベント 32 が成形品の取出しにおける圧力等化に用いられる。前述した実施形態と同様に、成形品の取出しにも、成形品 30 のネック部を処理チャンバ外室 18 の上部でアパーチャ 20 に近接させるためにも、空気圧昇降システム 33 を用いることができる。

#### 【0012】

図 3 は本発明のまた別の実施形態の略図である。図 2 の実施形態と同様に、成形品自体が処理チャンバ内室としてはたらく。本実施形態で示される成形品はフラスコである。本装置は、ガス流入口 12 及びガスがプラズマチャンバ 14 と通じるマイクロ波発生器 10 を有する。真空ポンプに取り付けられた配管 24 からの気流によりプラズマ流がつけられる。プラズマ流はコンジット及びアパーチャ 20 を通って処理チャンバ外室 18 に流れ込むプラズマによりつくられる。図 2 の実施形態と同様に、処理されるべき成形品であるフラスコが '内室' としてはたらく。フラスコ 40 は、プラズマ流がフラスコに導き入れられるであろうように、アパーチャ近くに、好ましくは 1 ~ 3 インチ (約 2.5 ~ 7.5 cm) 離しておかれる。プラズマ流はフラスコのネックを通して導かれ、底及び側壁を含むフラスコ内面の全てに接する。圧力等化及びこれに続く成形品取出しのために、処理チャンバ外室に接続されている大気ベント 32 が用いられる。図 1 及び 2 の実施形態と同様に、成形品 40 の取出しにも、成形品を処理チャンバ外室の上部で開口 20 に近接させるためにも、空気圧アクチュエータ 42 を用いることができる。本実施形態において、コンジット 16 及びアパーチャ 20 は成形品 40 の斜めに曲げられたネックに合せるために傾けられている。成形品へのプラズマ流導入が保証されるので、傾けることが好ましい。

#### 【0013】

処理されるべき高分子材基板の表面はどのような形状であってもよく、例えば、平面、曲面または円筒面とすることができる。高分子材基板表面は平坦面であることが好ましい。本発明の目的のためには、高分子材基板は生分解性または非生分解性のいずれであってもさしつかえない。生体内及び生体外用途のいずれにおいても有用であるように、本発明の高分子材基板は、非毒性であり、生体適合性であり、加工に適し、顕微鏡解析のために透明であり、機械的に安定であることが好ましい。

#### 【0014】

本発明の製品における基板として、極めて多様な高分子材を用いることができる。本発明に有用な高分子材の例として、ポリアクリル酸エステル、ポリアクリル酸メチル、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリスルホン、ポリヒドロキシ酸、重合無水物、ポリオルソエステル、ポリホスファゼン、ポリリン酸塩、ポリエステル、ナイロンまたはこれらの混合物がある。

#### 【0015】

本明細書に開示される方法で処理することができる基板の例として、限定的ではないが

10

20

30

40

50

、フラスコ、皿、平プレート、ウエルプレート、ボトル、コンテナ、ピペット、チューブ、医療用具、濾過用具、メンブラン、スライド及び医用インプラントがある。これらの品目は一般に、射出成形、エンドキャップ付押出、吹込成形、射出吹込成形等のような、普通に行われている技法により形成される。

#### 【0016】

本発明は細胞の粘着、付着及び成長を目標としているが、得られる高分子材基板表面は、ペプチド、タンパク、炭水化物、核酸、脂質、多糖類、またはこれらの組合せ、ホルモン、細胞外基質分子、細胞接着分子、天然高分子、酵素、抗体、抗原、ポリヌクレオチド、成長因子、合成高分子、ポリリシン、薬剤及びその他の分子を含むが、これらには限定されない、多くの生体活性分子の吸着を促進する。

10

#### 【0017】

当業者には既知のタイプの細胞であれば、どのような細胞であっても本発明の処理済基板上に付着させ、成長させることができる。用い得るタイプの細胞の例として、神経細胞、上皮細胞、間葉幹細胞、線維芽細胞及びその他のタイプの細胞がある。

#### 【0018】

本発明の方法にしたがって処理された基板への、高められた細胞付着に関する機構は完全には分かっていないが、3つの一般的特性：表面形態、化学官能価及び表面エネルギーに基づくと考えられる。

#### 【実施例】

#### 【0019】

20

##### 実施例1 - 表面形態

図4及び5は、本発明にしたがって作成されたプラズマ処理表面の表面形態を示すAFM（原子間力顕微鏡）写真である。図4及び5に示される試料を作成するため、上述した装置及び方法を用いた。プロセスガスとして酸素を、圧力270mTorr（約36Pa）、流量500cm<sup>3</sup>/分で用いた。マイクロ波発生器からの出力は1500Wであり、成形品をプラズマ流に20秒間さらした。

#### 【0020】

図4は水中にある処理済表面を示し、図5は空気中にある処理済表面を示す。比較のため、図6に、水中で現れる従来のRFプラズマ法で処理した（プロセスガスとして酸素を圧力270mTorr、流量500cm<sup>3</sup>/分で用い、RF出力を600Wとして、3分間処理した）表面を示す。マイクロ波プラズマ処理基板の表面は水にさらされると著しく変化することが認められる。粗化された高表面領域をもつ表面形態が発現している。マイクロ波プラズマ処理表面のRMS（二乗平均平方根）で測定した液中の表面粗さは、空気中の表面粗さと比較すると（図4と図5を比較すると）、ほぼ5倍の大きさになった。RF処理表面は水にさらしても有意な変化を全く受けない。この粗化表面が、付着に対する、より大きな定着面積を細胞に露呈していると考えられる。

30

#### 【0021】

##### 実施例2 - 接触角

図7は、処理済の、3つの吹込成形ポリスチレン回転ボトルの表面に関して、2年間にわたって実施した接触角測定のグラフ表示である。回転ボトルは、標準のRFプラズマ処理、上述した条件と同じ条件下のマイクロ波酸素プラズマ及び同じく上述した条件と同じ条件下のマイクロ波亜酸化窒素プラズマで処理した。本実験に用いられた回転ボトルは全て、製造ロットが同じであり、同時に表面処理を施し、続いて、同じ線量で同時にガンマ線殺菌した。図7の表で確かめられるように、3つの処理法の全てで、時間の経過に伴って接触角の増大が見られた。しかし、マイクロ波プラズマ処理回転ボトルでは初期接触角がかなり小さい。この結果、2年経過後であっても、本発明のマイクロ波プラズマ処理の作用を受けたボトルで測定した接触角は、RFプラズマ処理基板の初期接触角より小さいかまたはそれと等価である。

40

#### 【0022】

##### 実施例3 - 酸素含有量（MWプラズマ対RFプラズマ）

50

表 1 は、R F プラズマ、マイクロ波酸素プラズマ及びマイクロ波亜酸化窒素プラズマで処理された吹込成形ポリスチレン回転ボトル並びに未処理対照の表面の化学的性質を比較するものである。マイクロ波プラズマ処理はいずれも、ガス圧 270 mTorr, 流量 500 cm<sup>3</sup>/分, マイクロ波出力 1500 W, 暴露時間 20 秒で行った。R F プラズマ処理は上記実施例 1 で説明した条件と同じ条件の下で行った。処理後、ボトルの表面を ESCA (化学分析のための電子分光法) を用いて分析した。本試験では、表面上の酸素、炭素及び窒素種の百分比についてポリスチレンが分析される。結果から容易に見てとれるように、未処理ポリスチレンの表面上では、炭素種がほぼ 100 % である。R F プラズマ処理では表面酸素含有量がかなり増加し (17.8 %)、若干量 (0.2 %) の窒素が発生する。本発明の方法のマイクロ波処理では、R F プラズマでの表面酸素含有量をかなり上回る表面酸素含有量 (MW-酸素では 31 % 大きく、MW-N<sub>2</sub>O では 37 % 大きい) が与えられ、表面窒素含有量も僅かに増えている。

【表 1】

表 1

試料	炭素 (%)	酸素 (%)	窒素 (%)
未処理	100	0	0
RF プラズマ	82.0	17.8	0.2
MW プラズマ : 酸素	76.4	23.3	0.3
MW プラズマ : N <sub>2</sub> O	75.2	24.3	0.5

## 【0023】

実施例 4 - 酸素含有量 (MW プラズマ対コロナ放電)

表 2 は、標準のコロナ放電法、マイクロ波酸素プラズマ及びマイクロ波亜酸化窒素プラズマで処理した射出成形ポリスチレンフラスコ並びに未処理対照の表面の化学的性質を比較している。マイクロ波プラズマ処理のパラメータは上記実施例 3 で開示したパラメータと同じである。処理後、フラスコの表面を ESCA を用いて分析した。表 2 に示されるように、コロナ放電処理表面と比較すると、それぞれのマイクロ波プラズマ処理表面上では、かなりの酸素含有量の増大 (MW-酸素では 32 %, MW-N<sub>2</sub>O では 42 %) 及び窒素含有量の増大が観測された。

【表 2】

表 2

試料	炭素 (%)	酸素 (%)	窒素 (%)
未処理	100	0	0
コロナ	78.5	21.0	0.3
MW プラズマ : 酸素	72.0	27.8	0.3
MW プラズマ : N <sub>2</sub> O	69.3	29.8	1.0

## 【0024】

実施例 5 - 細胞成長

図 8 は、標本に選んだ製造業者の射出成形ポリスチレンフラスコで実施された、それらのフラスコに施された相異なる様々な処理方法と本発明のマイクロ波プラズマ法を比較する、細胞成長比較実験結果のグラフ表示である。細胞成長状態は、10 % 血清、1 % 血清及び無血清の成長条件下で測定した。用いた細胞系統は Hek-293 である。いずれの表面にも、同じ条件の下で、同時に、同じ初期数の、細胞を接種した。いずれかのフラスコが最初に細胞の融合単層で完全に一杯になったと目視検査で決定すると、全ての試料を細胞数について分析した。測定値はカウルトーカウンタ (商標) (ベックマン・カウルタ

ー社 (Beckman Coulter, Inc.) , 米国カリフォルニア州フルートン (Fullerton) ) を用いて得た。試験した試料基板は、図 8 のグラフの左から右に : コーニング (Corning) コロナ組織培養処理フラスコ (コーニング社カタログ番号 4 3 0 6 4 1) ; 本開示の方法によるマイクロ波亜酸化窒素プラズマ処理 ; F A L C O N (商標) 組織培養フラスコ (F a l c o n , カタログ番号 3 5 3 1 1 1) ; P R I M A R I A (商標) 組織培養フラスコ (P r i m a r i a , カタログ番号 3 5 3 8 0 1) ; 及び N U N C (商標) 組織培養フラスコ (N u n c , カタログ番号 1 7 8 8 9 1) である。図 8 のグラフに示されるように、本発明のマイクロ波プラズマ処理基板は、3 つの血清レベルの全てにおいて、試験した全ての市販の細胞培養基板よりも高性能であった。

【 0 0 2 5 】

10

様々な好ましい実施形態の上記説明から、本発明が様々な形態をとり得ること及び本発明は添付される特許請求の範囲によってのみ限定されるべきであることは当然である。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 2 6 】

【図 1】本発明のマイクロ波プラズマ処理装置の略図である

【図 1 A】本発明の一実施形態の内室の立体図である

【図 2】本発明のマイクロ波プラズマ処理装置の一実施形態の略図である

【図 3】本発明のマイクロ波プラズマ処理装置の一実施形態の略図である

【図 4】本発明にしたがって処理された表面の、水にさらされた後の A F M (原子間力顕微鏡) 写真である

20

【図 5】本発明にしたがって処理された、空気にしかさらされていない表面の A F M 写真である

【図 6】従来技術の高周波プラズマ法により処理された表面の A F M 写真である

【図 7】本発明にしたがって処理された基板表面と従来技術の高周波プラズマ法により処理された基板表面の接触角を比較して表すグラフである

【図 8】標本に選んだ製造業者からの射出成形ポリスチレンフラスコで実施された、それらのフラスコに施された相異なる様々な処理方法と本発明のマイクロ波プラズマ法を比較する、細胞成長比較実験結果を表すグラフである

【符号の説明】

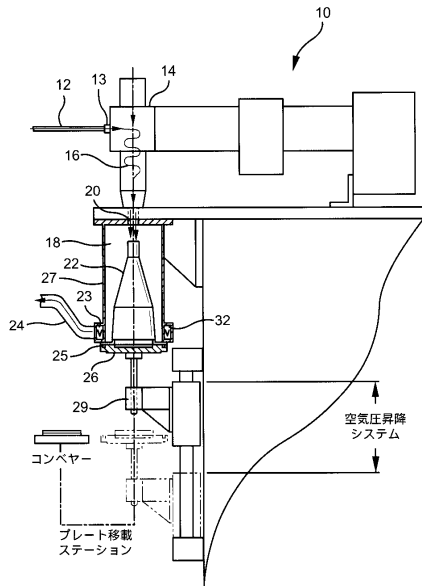
【 0 0 2 7 】

30

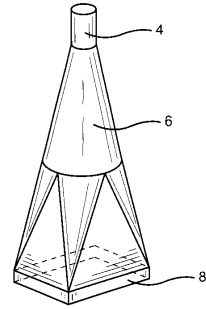
- 1 0      マイクロ波源
- 1 4      プラズマ混合チャンバ
- 1 6      コンジット
- 1 8      処理チャンバ外室
- 2 2      処理チャンバ内室
- 2 6      高分子材基板
- 2 9      空気圧昇降システム
- 3 2      大気ベント



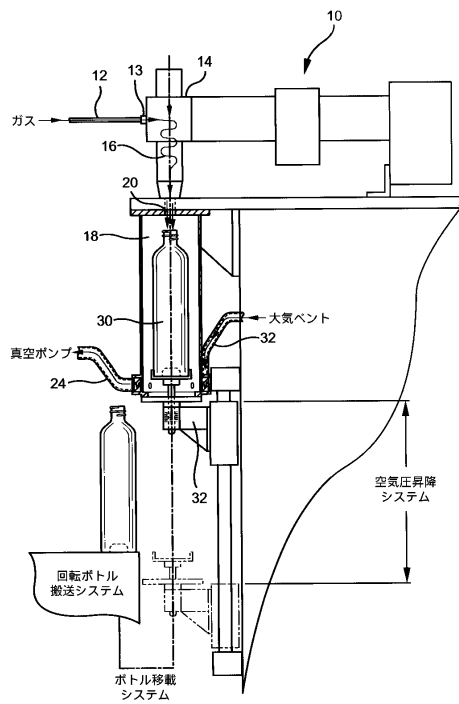
【図 1】



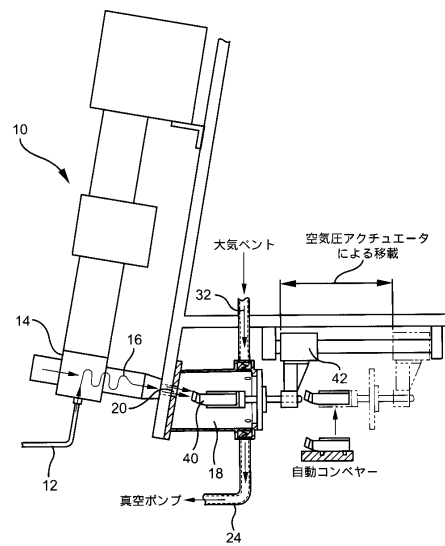
【図 1 A】



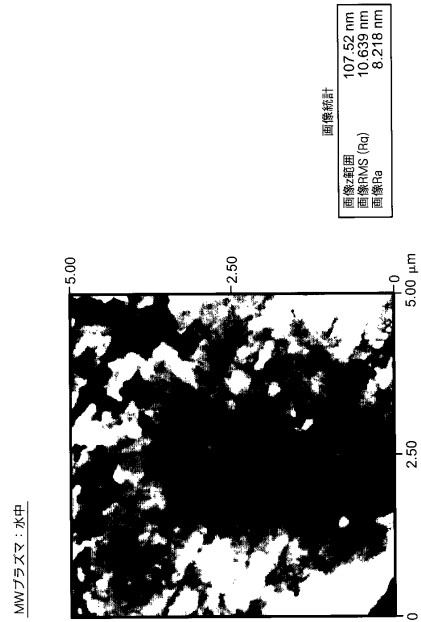
【図 2】



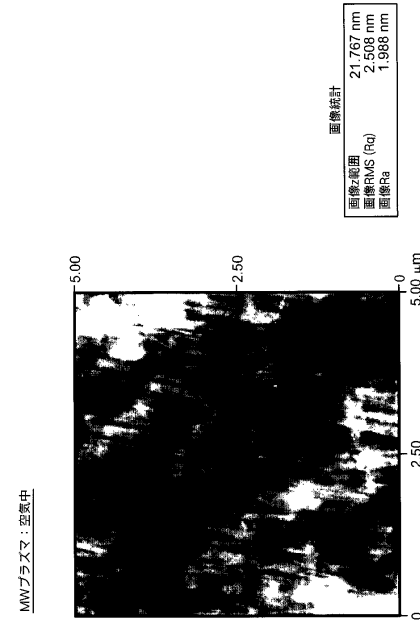
【図 3】



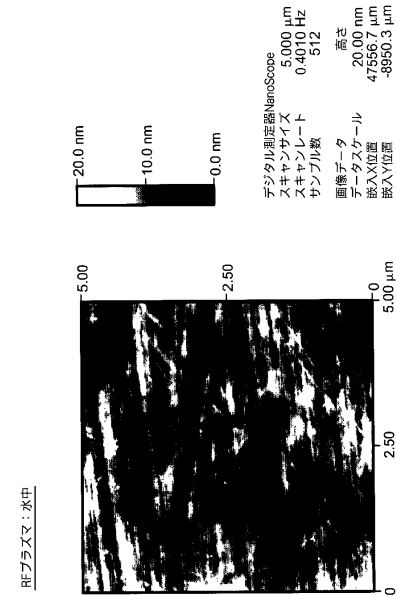
【図 4】



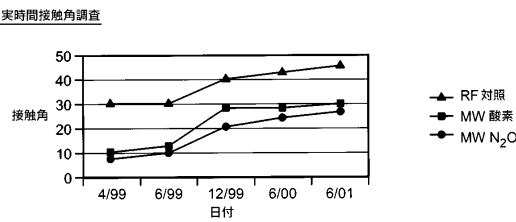
【図 5】



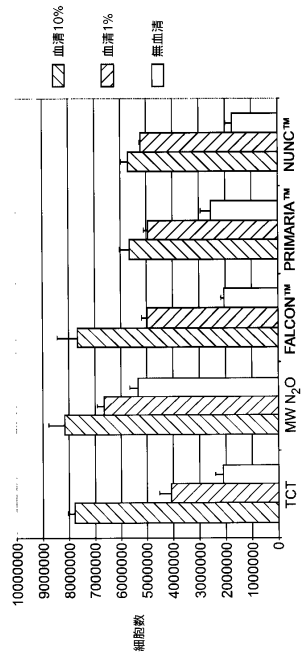
【図 6】



【図 7】



【図 8】



## フロントページの続き

- (72)発明者 ガグノン, ピーター イー  
アメリカ合衆国 ニューハンプシャー州 03851 ミルトン パーク プレイス 173
- (72)発明者 レイチャンス, オリーヴァ ヴィー  
アメリカ合衆国 ニューハンプシャー州 03820 ドーヴァー ニュー ロチェスター ロード 26
- (72)発明者 シェン, ツォン - ヘ  
アメリカ合衆国 メイン州 04043 ケネバンク グリニッチ ウェイ 20
- (72)発明者 ワン, ホンミン  
アメリカ合衆国 ニューハンプシャー州 03824 リー ランジェリー ドライヴ 12

審査官 芦原 ゆりか

- (56)参考文献 実開昭63-098728(JP, U)  
実開昭61-206650(JP, U)  
特開平09-059777(JP, A)  
特開昭62-089737(JP, A)  
特表平07-504228(JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
C08J 7/00-02, 12-18