

明 細 書

発明の名称：

細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜、細胞培養用担体及び細胞培養用容器

技術分野

[0001] 本発明は、細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜に関する。また、本発明は、上記樹脂膜を備える細胞培養用担体及び細胞培養用容器にも関する。

背景技術

[0002] 近年、細胞医薬や幹細胞を用いた次世代医療が注目を集めている。なかでも、再生医療ヒト胚性幹細胞（hESC）や、ヒト人工多能性幹細胞（hiPSC）などのヒト多能性幹細胞（hPSC）、あるいはそれらから誘導される分化細胞は、創薬や再生医療への応用が期待されている。このような応用を果たすには、多能性幹細胞や、分化細胞を安全に、かつ再現性よく培養し、増殖させることが必要となる。

[0003] 特に、再生医療の産業利用上においては、幹細胞を多量に扱う必要があることから、天然高分子材料や合成高分子材料、あるいはフィーダー細胞を用いて多能性幹細胞の増殖を支持することが必要となる。そのため、天然高分子材料や合成高分子材料等の足場材料を用いた培養方法について種々検討されている。

[0004] 例えば、下記の特許文献1には、ポリビニルアセタール化合物からなる成形物又は該ポリビニルアセタール化合物と水溶性多糖類とからなる成形物からなり、該ポリビニルアセタール化合物のアセタール化度が20～60モル％である細胞培養用担体が開示されている。

[0005] 下記の特許文献2には、第1の繊維ポリマー足場材を含む組成物であって、第1の繊維ポリマー足場材の繊維が整列されている、組成物が開示されている。上記第1の繊維ポリマー足場材を構成する繊維は、ポリグリコール酸

やポリ乳酸などの脂肪族ポリエステルにより構成されることが記載されている。

[0006] また、下記の特許文献3には、多能性幹細胞の未分化性を維持するための細胞培養方法であって、ポリロタキサンプロック共重合体で被覆された表面を有する培養器上で該多能性幹細胞を培養する工程を含む方法が開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：特開2006-314285号公報

特許文献2：特表2009-524507号公報

特許文献3：特開2017-23008号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] ところで、足場材料として天然高分子材料を用いた場合、播種後の細胞の定着性を高めることができる。特に、天然高分子材料としてラミニン、ヴィトロネクチンなどの接着タンパク質やマウス肉腫由来のマトリゲルを使用すると、播種後の細胞の定着性が非常に高いことが知られている。一方、天然高分子材料は、高価であったり、天然由来物質であるためロット間のばらつきが大きかったり、動物由来の成分による安全上の懸念があったりする。

[0009] これに対して、合成樹脂を用いた足場材料は、天然高分子材料を用いた足場材料と比べて、操作性がよく、安価であり、ロット間のばらつきが小さく、かつ安全性に優れている。しかしながら、特許文献1～3のような合成樹脂を用いた足場材料では、親水性が高い合成樹脂が用いられているために合成樹脂が過度に膨潤したりする。また、合成樹脂は、天然高分子材料に比べて、細胞との親和性が低いことから、培養中に細胞塊が剥離してしまうことがある。このように合成樹脂を用いた足場材料は、細胞の播種後の定着性が低く、細胞が十分に増殖しないことがある。

[0010] 本発明の目的は、細胞の播種後の定着性に優れ、細胞の増殖率を高めることができる、細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜、細胞培養用担体及び細胞培養用容器を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明に係る細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜は、前記細胞培養用足場材料が合成樹脂を含み、前記樹脂膜が、少なくとも第1の相及び第2の相を含む、相分離構造を有し、前記第1の相及び第2の相のうち一方の相の表面全体に対する表面積の比が、0.01以上、0.95以下である。

[0012] 本発明に係る樹脂膜のある特定の局面では、前記第2の相の面積に対する周囲長の比（周囲長／面積）が、0.001（1／nm）以上、0.40（1／nm）以下である。

[0013] 本発明に係る樹脂膜の他の特定の局面では、前記相分離構造が、海島構造であり、前記第1の相が海部であり、前記第2の相が島部である。

[0014] 本発明に係る樹脂膜のさらに他の特定の局面では、前記島部である前記第2の相の個数が、1個／ μm^2 以上、5000個／ μm^2 以下である。

[0015] 本発明に係る樹脂膜のさらに他の特定の局面では、前記相分離構造が、前記合成樹脂の分子内における相分離構造により構成されている。

[0016] 本発明に係る樹脂膜のさらに他の特定の局面では、表面自由エネルギーの分散項成分が25.0mJ／ m^2 以上、50.0mJ／ m^2 以下、かつ、極性項成分が1.0mJ／ m^2 以上、20.0mJ／ m^2 以下である。

[0017] 本発明に係る樹脂膜のさらに他の特定の局面では、前記合成樹脂が、カチオン性官能基を有し、前記合成樹脂の構造単位中に含まれる前記カチオン性官能基の含有量が、0.2モル％以上、50モル％以下である。

[0018] 本発明に係る樹脂膜のさらに他の特定の局面では、前記第2の相が、ペプチド部を有する。

[0019] 本発明に係る樹脂膜のさらに他の特定の局面では、前記ペプチド部が、細胞接着性のアミノ酸配列を有する。

[0020] 本発明に係る樹脂膜のさらに他の特定の局面では、水膨潤倍率が50％以

下である。

[0021] 本発明に係る樹脂膜のさらに他の特定の局面では、 100°C における貯蔵弾性率が、 $1.0 \times 10^4 \text{ Pa}$ 以上、 $1.0 \times 10^8 \text{ Pa}$ 以下であり、 25°C における貯蔵弾性率と 100°C における貯蔵弾性率との比（（ 25°C における貯蔵弾性率）／（ 100°C における貯蔵弾性率））が、 1.0×10^{-1} 以上、 1.0×10^{-5} 以下である。

[0022] 本発明に係る樹脂膜のさらに他の特定の局面では、前記細胞培養用足場材料は、動物由来の原料を実質的に含まない。

[0023] 本発明に係る樹脂膜のさらに他の特定の局面では、前記合成樹脂がビニル重合体を含む。

[0024] 本発明に係る樹脂膜のさらに他の特定の局面では、前記合成樹脂が、少なくともポリビニルアルコール誘導体又はポリ（メタ）アクリル酸エステルを含む。

[0025] 本発明に係る細胞培養用担体は、担体と、本発明に従って構成される樹脂膜と、を備え、前記担体の表面上に、前記樹脂膜が配置されている。

[0026] 本発明に係る細胞培養用容器は、容器本体と、本発明に従って構成される樹脂膜とを備え、前記容器本体の表面上に、前記樹脂膜が配置されている。

発明の効果

[0027] 本発明によれば、細胞の播種後の定着性に優れ、細胞の増殖率を高めることができる、細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜、細胞培養用担体及び細胞培養用容器を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0028] [図1]本発明の一実施形態に係る細胞培養用容器を示す模式的正面断面図である。

[図2]実施例3で得られた樹脂膜の原子間力顕微鏡写真である。

[図3]実施例14で得られた樹脂膜の原子間力顕微鏡写真である。

発明を実施するための形態

[0029] 以下、図面を参照しつつ、本発明の具体的な実施形態を説明することによ

り、本発明を明らかにする。

[0030] 本発明は、細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜に関する。上記細胞培養用足場材料は、合成樹脂を含む。本発明の樹脂膜は、少なくとも第1の相及び第2の相を含む、相分離構造を有する。本発明の樹脂膜では、第1の相及び第2の相のうち一方の相の表面全体に対する表面積の比が、0.01以上、0.95以下である。

[0031] 本発明の樹脂膜は、上記の構成を備えるので、細胞の播種後の定着性に優れ、細胞の増殖率を高めることができる。

[0032] 従来の天然高分子材料を用いた細胞培養用足場材料は、播種後の細胞の定着性を高めることができるものの、高価であったり、天然由来物質であるためロット間のばらつきが大きかったり、動物由来の成分による安全上の懸念があったりする。一方で、合成樹脂を用いた従来の足場材料では、合成樹脂が過度に膨潤したり、細胞との親和性が低かったりするので、培養中に細胞塊が剥離してしまうことがある。従って、合成樹脂を用いた従来の足場材料は、細胞の播種後の定着性が低く、細胞が十分に増殖しないことがある。

[0033] 本発明者らは、細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜の相分離構造に着目し、第1の相及び第2の相のうち一方の相の表面全体に対する表面積の比が上記特定の範囲となるような相分離構造とすることにより、細胞との親和性を高め、それによって播種後の接着性を高めることができ、ひいては細胞の増殖率を高め得ることを見出した。この理由については定かではないが、このような相分離構造を有する場合、エネルギー分配が円滑に進むことや、親和性や強度の異なる第1の相及び第2の相の存在位置や存在比率を調整できるため、細胞の種類に関わらず親和性を高め、細胞もしくは細胞表面たんぱく質の集積及び吸着効果が実現できるものと考えられる。

[0034] 従って、本発明の樹脂膜によれば、播種後の細胞との接着性を高めることができ、細胞の増殖率を高めることができる。

[0035] また、本発明においては、上記のように合成樹脂を用いることができるので、天然高分子材料を用いた足場材料と比べて、操作性がよく、安価であり

、ロット間のばらつきが小さく、かつ安全性に優れている。

[0036] なお、本発明においては、上記合成樹脂として、ペプチド部を有する合成樹脂を用いてもよい。ペプチド部を有する合成樹脂の詳細については、後述する。

[0037] 本発明において、第1の相及び第2の相のうち一方の相の表面全体に対する表面積の比（表面積分率）は、0.01以上、好ましくは0.10以上、0.95以下、より好ましくは0.90以下である。表面積分率が上記範囲内にある場合、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0038] 本発明において、相分離構造としては、例えば、海島構造、シリンドラー構造、ジャイロイド構造、又はラメラ構造等のミクロ相分離構造が挙げられる。海島構造では、例えば、第1の相を海部とし、第2の相を島部とすることができる。シリンドラー構造、ジャイロイド構造、又はラメラ構造では、例えば、表面積が最も大きい相を第1の相とし、表面積が2番目に大きい相を第2の相とすることができる。これらの中でも、相分離構造としては海島構造が好ましい。このように、連続相と、不連続相とを有することで、細胞との親和性を高め、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、それによって細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0039] 上記相分離構造が海島構造である場合、第2の相の表面全体に対する表面積分率は、0.01以上、好ましくは0.1以上、より好ましくは0.2以上であり、また、0.95以下、好ましくは0.9以下、より好ましくは0.8以下である。表面積分率が上記範囲内にある場合、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0040] 第2の相の面積に対する周囲長の比（周囲長／面積）は、好ましくは0.001（1／nm）以上、より好ましくは0.0015（1／nm）以上、さらに好ましくは0.008（1／nm）以上である。第2の相の面積に対する周囲長の比（周囲長／面積）は、好ましくは0.40（1／nm）以下

、より好ましくは0.20 (1/nm) 以下、さらに好ましくは0.08 (1/nm) 以下、特に好ましくは0.013 (1/nm) 以下である。比 (周囲長/面積) が上記範囲内にある場合、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0041] 合成樹脂がペプチド部を有さない場合に、第2の相の面積に対する周囲長の比 (周囲長/面積) は、好ましくは0.001 (1/nm) 以上、より好ましくは0.0015 (1/nm) 以上、好ましくは0.08 (1/nm) 以下、より好ましくは0.013 (1/nm) 以下である。比 (周囲長/面積) が上記範囲内にある場合、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0042] 合成樹脂がペプチド部を有する場合に、第2の相の面積に対する周囲長の比 (周囲長/面積) は、好ましくは0.008 (1/nm) 以上、より好ましくは0.013 (1/nm) 以上、好ましくは0.40 (1/nm) 以下、より好ましくは0.20 (1/nm) 以下、さらに好ましくは0.10 (1/nm) 以下である。比 (周囲長/面積) が上記範囲内にある場合、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0043] 島部である第2の相の個数は、好ましくは1個/ μm^2 以上、より好ましくは2個/ μm^2 以上、さらに好ましくは10個/ μm^2 以上、好ましくは5000個/ μm^2 以下、より好ましくは1000個/ μm^2 以下、さらに好ましくは500個以下/ μm^2 、特に好ましくは300個/ μm^2 以下である。この場合、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0044] 島部である第2の相の径の平均は、好ましくは20nm以上、より好ましくは30nm以上、さらに好ましくは50nm以上、特に好ましくは80nm以上、好ましくは3.5 μm 以下、より好ましくは3.0 μm 以下、さらに好ましくは1.5 μm 以下である。第2の相の径の平均が上記範囲内にある場合、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖

率をより一層高めることができる。

[0045] 合成樹脂がペプチド部を有さない場合に、島部である第2の相の径の平均は、好ましくは50 nm以上、より好ましくは100 nm以上、さらに好ましくは120 nm以上、特に好ましくは200 nm以上、好ましくは1 μ m以下、より好ましくは300 nm以下、さらに好ましくは250 nm以下である。第2の相の径の平均が上記範囲内にある場合、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0046] 合成樹脂がペプチド部を有する場合に、島部である第2の相の径の平均は、好ましくは10 nm以上、より好ましくは20 nm以上、さらに好ましくは40 nm以上、好ましくは1 μ m以下、より好ましくは300 nm以下、さらに好ましくは100 nm以下である。第2の相の径の平均が上記範囲内にある場合、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0047] なお、相分離構造の有無や、上記のような相分離構造を示すパラメータは、例えば、原子間力顕微鏡（AFM）や、透過型電子顕微鏡（TEM）、走査型電子顕微鏡（SEM）等により確認することができる。

[0048] 具体的に、第1の相及び第2の相のうち一方の相の表面全体に対する表面積の比（表面積分率）、第2の相の周囲長と面積との比（周囲長／面積）、島部である第2の相の個数、及びその平均径サイズは、前述の顕微鏡観察画像から例えばImageJなどの画像解析ソフトを用いて求めることができる。

[0049] 第1の相及び第2の相のうち一方の相の表面全体に対する表面積の比（表面積分率）は、観察領域（30 μ m×30 μ m）内において、第1の相及び第2の相のうち一方の相が占める表面積を、観察領域の面積で除することにより求められる。

[0050] 第2の相の面積に対する周囲長の比（周囲長／面積）は、観察領域（30 μ m×30 μ m）内において、第2の相の周囲長の合計を、第2の相の面積

の合計で除することにより求められる。

[0051] 相分離構造が海島構造である場合、島部である第2の相の個数は、観察領域 ($30\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$) 内における第2の相の個数を、観察領域の面積で除することにより求められる。また、島部である第2の相の平均径は、同面積の円の平均直径として求められる。

[0052] また、上記のような相分離構造は、例えば、異なる少なくとも2種類のポリマーをブレンドしたり、共重合したり、グラフト共重合したり、ペプチド部を有する合成樹脂を用いたりすることにより、合成樹脂の分子間又は分子内に相分離構造を形成することによって得ることができる。なかでも、細胞の接着性をより一層高めることができる観点から、上記相分離構造が分子内の相分離構造により形成されていることが好ましい。すなわち、上記合成樹脂は、異なる少なくとも2種類のポリマーの共重合体であるか又はペプチド部を有する合成樹脂であることが好ましく、グラフト共重合体であるか又はペプチド部を有する合成樹脂であることがより好ましい。

[0053] 上記のような相分離構造は、溶解度パラメータ (S P 値) が0.1以上、好ましくは0.5以上、より好ましくは1以上で異なる2種類以上のポリマー (モノマー) を共重合することにより得ることが好ましい。この場合、海島構造をより一層容易に形成することができる。

[0054] S P 値は、溶媒-溶質間に作用する分子間力を表す尺度であり、物質間の親和性の尺度である。S P 値は、H i d e b r a n d の正則溶液の理論に基づき求めることができる。また、S P 値は、文献情報から得ることができるほか、H a n s e n や H o y の計算方法、F e d o r s の推算法等により得ることができる。本明細書では、F e d o r s の式 $\delta^2 = \Sigma E / \Sigma V$ (δ は S P 値、E は蒸発エネルギー、V はモル体積を意味する。) により算出される計算値を意味する。なお、S P 値の単位は $(\text{cal} / \text{cm}^3)^{0.5}$ である。F e d o r s の方法については、日本接着協会誌、1986年22巻566ページに記載されている。

[0055] なお、表面積分率などの相分離構造を示す相分離パラメータは、例えば、

2種類のポリマーの配合比率やポリマーの構造を制御したり、ペプチド部の含有率を制御したりすることにより調整することができる。

[0056] なお、本発明においては、第1の相及び第2の相とは異なる他の相が存在していてもよい。他の相は、1つの相であってもよく、複数の相であってもよい。このような相は、例えば、SP値の異なるさらに他のポリマー（モノマー）をグラフトなどの共重合をすることにより得ることができる。この場合は、樹脂膜の表面を占める面積が大きい2つの相を上記第1の相及び上記第2の相とする。

[0057] 合成樹脂がペプチド部を有さない場合に、細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜における表面自由エネルギーの分散項成分は、好ましくは25.0 mJ/m²以上、50.0 mJ/m²以下である。この場合、細胞培養用足場材料の親水性を適度に調整することができ、相分離構造との相乗効果により、播種後の細胞との界面接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。上記分散項成分は、より好ましくは30.0 mJ/m²以上、さらに好ましくは35.0 mJ/m²以上、より好ましくは47.0 mJ/m²以下、さらに好ましくは45.5 mJ/m²以下である。

[0058] 合成樹脂がペプチド部を有さない場合に、細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜における表面自由エネルギーの極性項成分は、好ましくは1.0 mJ/m²以上、20.0 mJ/m²以下である。この場合、播種後の細胞との接着性をより一層高め、細胞の増殖率をより一層高めることができる。上記極性項成分は、より好ましくは2.0 mJ/m²以上、さらに好ましくは3.0 mJ/m²以上、より好ましくは10.0 mJ/m²以下、さらに好ましくは5.0 mJ/m²以下である。

[0059] なお、表面自由エネルギーの分散項成分 γ^d 及び極性項成分である双極子成分 γ^p は、Kaelble-Uyの理論式を用いて算出される。Kaelble-Uyの理論式は、下記式(1)で示されるように、トータル表面自由エネルギー γ が、分散項成分 γ^d と双極子成分 γ^p との和になるとの仮定に基づ

く理論式である。

[0060] [数1]

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

[0061] また、K a e l b l e - U y の理論式では、液体の表面自由エネルギーを γ_l (m J / m²) とし、固体の表面自由エネルギーを γ_s (m J / m²) とし、接触角を θ (°) とすると、下記式 (2) が成立する。

[0062] [数2]

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

[0063] 従って、液体の表面自由エネルギー γ_l が既知である液体を 2 種類用いて、細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜に対するそれぞれの接触角 θ を測定し、 γ_s^d 及び γ_s^p の連立方程式を解くことにより、細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜の表面自由エネルギーの分散項成分 γ^d 及び双極子成分 γ^p を求めることができる。

[0064] なお、本明細書においては、上記表面自由エネルギー γ_l が既知である 2 種類の上記液体として、純水及びジヨードメタンが用いられている。

[0065] 接触角 θ は、接触角計 (例えば、協和界面化学社製「DMo-701」) を用いて、以下のようにして測定される。

[0066] 細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜の表面に、純水又はジヨードメタンを 1 μ L 滴下する。滴下してから 30 秒後の純水と、樹脂膜とのなす角度を、純水に対する接触角 θ とする。また、同様に、滴下してから 30 秒後のジヨードメタンと、樹脂膜とのなす角度を、ジヨードメタンに対する接触角 θ とする。

[0067] 合成樹脂における疎水性官能基の含有率を高くしたり、環状構造を有する官能基の含有率を高くしたり、ブチル基の含有率を少なくしたりすることにより、上記表面自由エネルギーの分散項成分 γ^d を小さくすることができる。

また、合成樹脂における親水性官能基の含有率を高くしたり、ブチル基の含有率を高くしたりすることにより、上記表面自由エネルギーの双極子成分 γ^D を小さくすることができる。

[0068] 本発明の細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜においては、 100°C における貯蔵弾性率が、好ましくは $0.6 \times 10^4 \text{ Pa}$ 以上、より好ましくは $0.8 \times 10^4 \text{ Pa}$ 以上、さらに好ましくは $1.0 \times 10^4 \text{ Pa}$ 以上、好ましくは $1.0 \times 10^8 \text{ Pa}$ 以下、より好ましくは $0.8 \times 10^8 \text{ Pa}$ 以下、さらに好ましくは $1.0 \times 10^7 \text{ Pa}$ 以下である。

[0069] 特に、本発明の細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜は、 25°C における貯蔵弾性率と 100°C における貯蔵弾性率との比（（ 25°C における貯蔵弾性率）／（ 100°C における貯蔵弾性率））が、好ましくは 1.0×10^1 以上、より好ましくは 5.0×10^1 以上、さらに好ましくは 8.0×10^2 以上、好ましくは 1.0×10^5 以下、より好ましくは 0.75×10^5 以下、さらに好ましくは 0.5×10^5 以下である。貯蔵弾性率を上記範囲内とすることにより、播種後の細胞の定着性をより一層高めることができる。

[0070] なお、 25°C 及び 100°C の貯蔵弾性率は、例えば、動的粘弾性測定装置（アイティー計測制御社製、DVA-200）により引張条件下、周波数 10 Hz 、 -150°C から 150°C の温度範囲を昇温速度 $5^{\circ}\text{C}/\text{分}$ にて測定する。得られた引張貯蔵弾性率のグラフから 25°C 及び 100°C における貯蔵弾性率を求め、 25°C 貯蔵弾性率／ 100°C 貯蔵弾性率を算出する。長さ 50 mm 、幅 $5 \sim 20 \text{ mm}$ 、厚み $0.1 \sim 1.0 \text{ mm}$ の測定サンプルを用いて、 10 Hz 、ひずみ 0.1% 、温度 $-150^{\circ}\text{C} \sim 150^{\circ}\text{C}$ 、及び昇温速度 $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ の条件で行う。

[0071] 上記 25°C 及び 100°C の貯蔵弾性率は、例えば、上記合成樹脂における架橋度を高めること、上記合成樹脂を延伸すること等により、高めることができる。また、上記 25°C 及び 100°C の貯蔵弾性率は、上記合成樹脂において数平均分子量を下げる、ガラス転移温度を下げる等により、低くすることができる。

[0072] 本発明の細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜は、水膨潤倍率が、好ましくは50%以下、より好ましくは40%以下である。この場合、播種後の細胞の定着性をより一層高めることができる。なお、水膨潤倍率の下限値は特に限定されないが、例えば、0.5%とすることができる。水膨潤倍率は、以下のようにして測定することができる。例えば、長さ50mm、幅10mm、厚み0.05mm～0.15mmの細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜（測定サンプル）を、25℃の水に24時間浸漬する。浸漬前と後のサンプルの重さを測定し、水膨潤倍率＝（浸漬後のサンプル重量－浸漬前のサンプル重量）／（浸漬前のサンプル重量）×100（%）を算出する。

[0073] 上記水膨潤倍率は、例えば、上記合成樹脂の疎水性官能基を増やすこと、数平均分子量を下げること等により、小さくすることができる。

[0074] （合成樹脂）

細胞培養用足場材料は、合成樹脂（以下、合成樹脂Xと記載することがある）を含む。合成樹脂Xの主鎖は、炭素鎖であることが好ましい。なお、本明細書において、「構造単位」とは、合成樹脂を構成するモノマーの繰り返し単位をいう。なお、合成樹脂がグラフト鎖を有する場合は、そのグラフト鎖を構成するモノマーの繰り返し単位を含む。

[0075] 合成樹脂Xがペプチド部を有さない場合に、合成樹脂Xは、カチオン性官能基を有することが好ましい。合成樹脂Xがペプチド部を有する場合に、ペプチド部を有する合成樹脂Xは、該ペプチド部以外の構造部分において、カチオン性官能基を有していてもよく、有していなくてもよい。カチオン性官能基としては、アミノ基、イミノ基、アミド基などの構造を有する置換基が挙げられる。例えば、特に限定されないが、ヒドロキシアミノ基、ウレア基、グアニジン、ビグアニド等の共役アミン系官能基、ピペラジン、ピペリジン、ピロリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、ヘキサメチレンテトラアミン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、プリミジン、ピラジン、ピロール、アザトロピリデン、ピリドン、イミダゾール、ベンゾ

イミダゾール、ベンゾトリアゾール、ピラゾール、オキサゾール、イミダゾリン、トリアゾール、チアゾール、チアジン、テトラゾール、インドール、イソインドール、プリン、キノリン、イソキノリン、キナゾリン、キノキサリン、シンノリン、プテリジン、カルバゾール、アクリジン、アデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、メラミン等のヘテロ環アミノ系官能基、ポルフィリン、クロリン、コリン等の環状ピロール系官能基およびそれらの誘導体等が挙げられる。これらのカチオン性官能基は、1種を単独で用いてもよく、複数種を併用してもよい。

[0076] 本発明において、合成樹脂Xの構造単位中に含まれるカチオン性官能基の含有量は、好ましくは0.2モル%以上、好ましくは2モル%以上、より好ましくは3モル%以上、50モル%以下、好ましくは10モル%以下、より好ましくは7モル%以下である。このような範囲内でカチオン性官能基を含有する合成樹脂Xを用いることにより、播種後の細胞の定着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。なお、カチオン性官能基の含有量は、例えば、 $^1\text{H-NMR}$ （核磁気共鳴スペクトル）により測定することができる。

[0077] （ビニル重合体）

合成樹脂Xは、ビニル重合体を含むことが好ましく、ビニル重合体であることがより好ましい。なお、ビニル重合体とは、ビニル基又はビニリデン基を有する化合物の重合体である。上記合成樹脂Xがビニル重合体である場合、水中における細胞培養用足場材料の膨潤をより抑制しやすくすることができる。ビニル重合体としては、例えば、ポリビニルアルコール誘導体、ポリ（メタ）アクリル酸エステル、ポリビニルピロリドン、ポリスチレン、エチレン・酢酸ビニル共重合体等が挙げられる。さらに、ビニル重合体としては、細胞との接着性をより高めやすい観点から、ポリビニルアルコール誘導体又はポリ（メタ）アクリル酸エステルであることが好ましい。

[0078] （ポリビニルアセタール骨格を有する合成樹脂X）

細胞培養用足場材料は、ポリビニルアセタール骨格を有する合成樹脂Xを

含むことが好ましい。本発明において、ポリビニルアセタール骨格を有する合成樹脂Xは、ポリビニルアセタール樹脂の構造単位とビニル化合物及び／又はビニリデン化合物との共重合体であることが好ましい。ビニル化合物は、ビニル基 ($\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-$) を有する化合物である。ビニリデン化合物は、ビニリデン基 ($\text{H}_2\text{C}=\text{CR}-$) を有する化合物である。ビニル化合物又はビニリデン化合物は、その重合体であるビニル重合体であってもよい。なお、以下の説明では、ポリビニルアセタール樹脂に共重合されるビニル化合物、ビニリデン化合物、及びビニル重合体を総称して「ビニル化合物A」とすることがある。

[0079] 本発明において、上記共重合体は、ポリビニルアセタール樹脂とビニル化合物Aとのブロック共重合体であってもよく、ポリビニルアセタール樹脂にビニル化合物Aがグラフトしたグラフト共重合体であってもよい。上記共重合体は、グラフト共重合体であることが好ましい。この場合、相分離構造をより一層容易に形成することができる。

[0080] 上記ビニル化合物及びビニリデン化合物としては、エチレン、アリルアミン、ビニルピロリドン、無水マレイン酸、マレイミド、イタコン酸、(メタ)アクリル酸、ビニルアミン、及び(メタ)アクリル酸エステル等が挙げられる。これらのビニル化合物は、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。従って、これらのビニル化合物が共重合したビニル重合体であってもよい。

[0081] 上記共重合体においては、ポリビニルアセタール樹脂と、ビニル化合物AとのS P値の差が0.5以上であることが好ましい。この場合、相分離構造をより一層容易に形成することができる。ポリビニルアセタール樹脂と、ビニル化合物AとのS P値の差は、より好ましくは1.0以上である。なお、S P値の差の上限値は、特に限定されないが、例えば、10.0とすることができる。

[0082] 上記共重合体は、第1の相がポリビニルアセタール樹脂であり、第2の相がビニル化合物Aであることが好ましい。上記共重合体のポリビニルアセタ

ール樹脂部分により第1の相が形成されており、ビニル化合物A部分により第2の相が形成されていることが好ましい。この場合、ポリビニルアセタール樹脂の第1の相が海部であり、ビニル化合物Aの第2の相が島部であることが好ましい。もっとも、ビニル化合物Aの第1の相が海部であり、ポリビニルアセタール樹脂の第2の相が島部であってもよい。

[0083] 共重合体中における、ビニル化合物Aの含有分率（モル／モル）は、好ましくは0.015以上、より好ましくは0.3以上、好ましくは0.95以下、より好ましくは0.90以下、さらに好ましくは0.70以下である。上記含有分率が上記下限以上にある場合、相分離構造をより一層容易に形成することができる。上記含有分率が上記上限以下にある場合、細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0084] <ポリビニルアセタール樹脂>

以下、ポリビニルアセタール樹脂（共重合体のポリビニルアセタール樹脂部分）についてより詳細に説明する。

[0085] ポリビニルアセタール樹脂は、側鎖にアセタール基と、アセチル基と、水酸基とを有する。

[0086] ポリビニルアセタール樹脂の合成方法は、ポリビニルアルコールをアルデヒドによりアセタール化する工程を少なくとも備える。

[0087] ポリビニルアセタール樹脂を得るためのポリビニルアルコールのアセタール化に用いられるアルデヒドは、特に限定されない。アルデヒドとしては、例えば、炭素数が1～10のアルデヒドが挙げられる。アルデヒドは、鎖状脂肪族基、環状脂肪族基又は芳香族基を有していてもよい。アルデヒドは、鎖状アルデヒドであってもよく、環状アルデヒドであってもよい。

[0088] 上記アルデヒドとしては、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、プロピオンアルデヒド、ブチルアルデヒド、ペンタナール、ヘキサナール、ヘプタナール、オクタナール、ノナナール、デカナール、アクロレイン、ベンズアルデヒド、シンナムアルデヒド、ペリルアルデヒド、ホルミルピリジン、ホルミルイミダゾール、ホルミルピロール、ホルミルピペリジン、ホルミルト

リアゾール、ホルミルテトラゾール、ホルミルインドール、ホルミルイソインドール、ホルミルプリン、ホルミルベンゾイミダゾール、ホルミルベンゾトリアゾール、ホルミルキノリン、ホルミルイソキノリン、ホルミルキノキサリン、ホルミルシンノリン、ホルミルプテリジン、ホルミルフラン、ホルミルオキサラン、ホルミルオキサソール、ホルミルチオフェン、ホルミルチオラン、ホルミルチアン、ホルミルアデニン、ホルミルグアニン、ホルミルシトシン、ホルミルチミン、又はホルミルウラシル等が挙げられる。これらのアルデヒドは、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0089] アルデヒドは、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、プロピオンアルデヒド、ブチルアルデヒド、又はペンタナールであることが好ましく、ブチルアルデヒドであることがより好ましい。したがって、ポリビニルアセタール骨格は、ポリビニルブチラール骨格であることが好ましい。ポリビニルアセタール樹脂は、ポリビニルブチラール樹脂であることが好ましい。

[0090] 細胞の接着性をより一層高める観点からは、ポリビニルアセタール樹脂は、ブレンステッド塩基性基又はブレンステッド酸性基を有することが好ましく、ブレンステッド塩基性基を有することがより好ましい。すなわち、ポリビニルアセタール樹脂の一部がブレンステッド塩基性基又はブレンステッド酸性基により変性されていることが好ましく、ポリビニルアセタール樹脂の一部がブレンステッド塩基性基で変性されていることがより好ましい。

[0091] ブレンステッド塩基性基は、水素イオン H^+ を他の物質から受け取ることができる官能基の総称である。ブレンステッド塩基性基としては、イミン構造を有する置換基、イミド構造を有する置換基、アミン構造を有する置換基、又はアミド構造を有する置換基等のアミン系塩基性基が挙げられる。ブレンステッド塩基性基は、特に限定されないが、例えば、ヒドロキシアミノ基、ウレア基、グアニジン、ビグアニド等の共役アミン系官能基、ピペラジン、ピペリジン、ピロリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、ヘキサメチレンテトラアミン、モルホリン、ピリジン、ピリダジン、ピリミジン、ピラジン、ピロール、アザトロピリデン、ピリドン、イミダゾール

、ベンゾイミダゾール、ベンゾトリアゾール、ピラゾール、オキサゾール、イミダゾリン、トリアゾール、チアゾール、チアジン、テトラゾール、インドール、イソインドール、プリン、キノリン、イソキノリン、キナゾリン、キノキサリン、シンノリン、プテリジン、カルバゾール、アクリジン、アデニン、グアニン、シトシン、チミン、ウラシル、メラミン等のヘテロ環アミノ系官能基、ポルフィリン、クロリン、コリン等の環状ピロール系官能基、又はそれらの誘導体等が挙げられる。

- [0092] ブレンステッド酸性基としては、カルボキシル基、スルホン酸基、マレイン酸基、スルフィン酸基、スルフェン酸基、リン酸基、ホスホン酸基、又はこれらの塩等が挙げられる。ブレンステッド酸性基は、カルボキシル基であることが好ましい。
- [0093] ポリビニルアセタール樹脂は、イミン構造を有する構造単位、イミド構造を有する構造単位、アミン構造を有する構造単位、又はアミド構造を有する構造単位を有することが好ましい。この場合、これらの構造単位のうちの1種のみを有していてもよく、2種以上を有していてもよい。
- [0094] ポリビニルアセタール樹脂は、イミン構造を有する構造単位を有していてもよい。イミン構造とは、 $C=N$ 結合を有する構造をいう。特に、ポリビニルアセタール樹脂は、イミン構造を側鎖に有することが好ましい。
- [0095] ポリビニルアセタール樹脂は、イミド構造を有する構造単位を有していてもよい。イミド構造を有する構造単位は、イミノ基($=NH$)を有する構造単位であることが好ましい。
- [0096] ポリビニルアセタール樹脂は、イミノ基を側鎖に有することが好ましい。この場合、イミノ基は、ポリビニルアセタール樹脂の主鎖を構成する炭素原子に直接結合していてもよく、アルキレン基等の連結基を介して主鎖に結合していてもよい。
- [0097] ポリビニルアセタール樹脂は、アミン構造を有する構造単位を有していてもよい。上記アミン構造におけるアミン基は、第一級アミン基であってもよく、第二級アミン基であってもよく、第三級アミン基であってもよく、第四

級アミン基であってもよい。

[0098] アミン構造を有する構造単位は、アミド構造を有する構造単位であってもよい。上記アミド構造とは、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ を有する構造をいう。

[0099] ポリビニルアセタール樹脂は、アミン構造又はアミド構造を側鎖に有することが好ましい。この場合、アミン構造又はアミド構造は、ポリビニルアセタール樹脂の主鎖を構成する炭素原子に直接結合していてもよく、アルキレン基等の連結基を介して主鎖に結合していてもよい。

[0100] なお、イミン構造を有する構造単位の含有率、イミド構造を有する構造単位の含有率、アミン構造を有する構造単位の含有率、アミド構造を有する構造単位の含有率は、 $^1\text{H-NMR}$ （核磁気共鳴スペクトル）により測定することができる。

[0101] <ビニル化合物A>

以下、ビニル化合物Aについてより詳細に説明する。

[0102] ビニル化合物Aは、（メタ）アクリル酸エステル又はポリ（メタ）アクリル酸エステル樹脂であることが好ましい。特に、合成樹脂Xが、ポリビニルアセタール樹脂に、（メタ）アクリル酸エステル又はその重合体であるポリ（メタ）アクリル酸エステル樹脂がグラフト共重合した共重合体であることが好ましい。

[0103] ポリ（メタ）アクリル酸エステル樹脂は、（メタ）アクリル酸エステルの重合により、あるいは（メタ）アクリル酸エステルと、上記他のモノマーとの重合により得られる。

[0104] （メタ）アクリル酸エステルとしては、（メタ）アクリル酸アルキルエステル、（メタ）アクリル酸環状アルキルエステル、（メタ）アクリル酸アリールエステル、（メタ）アクリルアミド類、（メタ）アクリル酸ポリエチレングリコール類、（メタ）アクリル酸ホスホリルコリン等が挙げられる。

[0105] （メタ）アクリル酸アルキルエステルとしては、メチル（メタ）アクリレート、エチル（メタ）アクリレート、*n*-プロピル（メタ）アクリレート、イソプロピル（メタ）アクリレート、*n*-ブチル（メタ）アクリレート、イ

ソブチル（メタ）アクリレート、t-ブチル（メタ）アクリレート、n-オクチル（メタ）アクリレート、イソオクチル（メタ）アクリレート、2-エチルヘキシル（メタ）アクリレート、ノニル（メタ）アクリレート、イソノニル（メタ）アクリレート、デシル（メタ）アクリレート、イソデシル（メタ）アクリレート、ラウリル（メタ）アクリレート、又はステアリル（メタ）アクリレート、イソテトラデシル（メタ）アクリレート等が挙げられる。

[0106] なお、（メタ）アクリル酸アルキルエステルは、炭素数1～3のアルコキシ基及びテトラヒドロフルフリル基等の置換基で置換されていてもよい。このような（メタ）アクリル酸アルキルエステルの例としては、メトキシエチルアクリレート、テトラヒドロフルフリルアクリレート等が挙げられる。

[0107] （メタ）アクリル酸環状アルキルエステルとしては、シクロヘキシル（メタ）アクリレート、又はイソボルニル（メタ）アクリレート等が挙げられる。

[0108] （メタ）アクリル酸アリールエステルとしては、フェニル（メタ）アクリレート、又はベンジル（メタ）アクリレート等が挙げられる。

[0109] （メタ）アクリルアミド類としては、（メタ）アクリルアミド、N-イソプロピル（メタ）アクリルアミド、N-tert-ブチル（メタ）アクリルアミド、N, N'-ジメチル（メタ）アクリルアミド、（3-（メタ）アクリルアミドプロピル）トリメチルアンモニウムクロリド、4-（メタ）アクリロイルモルホリン、3-（メタ）アクリロイル-2-オキサゾリジノン、N-[3-（ジメチルアミノ）プロピル]（メタ）アクリルアミド、N-（2-ヒドロキシエチル）（メタ）アクリルアミド、N-メチロール（メタ）アクリルアミド、又は6-（メタ）アクリルアミドヘキサン酸等が挙げられる。

[0110] （メタ）アクリル酸ポリエチレングリコール類としては、例えば、メトキシポリエチレングリコール（メタ）アクリレート、エトキシポリエチレングリコール（メタ）アクリレート、ヒドロキシポリエチレングリコール（メタ）アクリレート、メトキシジエチレングリコール（メタ）アクリレ

ート、エトキシージエチレングリコール（メタ）アクリレート、ヒドロキシージエチレングリコール（メタ）アクリレート、メトキシートリエチレングリコール（メタ）アクリレート、エトキシートリエチレングリコール（メタ）アクリレート、又はヒドロキシートリエチレングリコール（メタ）アクリレート等が挙げられる。

[0111] （メタ）アクリル酸ホスホリルコリンとしては、2-（メタ）アクリロイルオキシエチルホスホリルコリン等が挙げられる。

[0112] （メタ）アクリル酸エステルと共重合される他のモノマーとしては、ビニル化合物が好適に用いられる。ビニル化合物としては、エチレン、アリルアミン、ビニルピロリドン、ビニルイミダゾール、無水マレイン酸、マレイミド、イタコン酸、（メタ）アクリル酸、ビニルアミン、又は（メタ）アクリル酸エステル等が挙げられる。ビニル化合物は、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0113] なお、本明細書において、「（メタ）アクリル」とは、「アクリル」又は「メタクリル」を意味し、「（メタ）アクリレート」とは、「アクリレート」又は「メタクリレート」を意味する。

[0114] なお、本発明において、合成樹脂Xは、本発明の相分離構造を形成できる限りにおいて、ポリ（メタ）アクリル酸エステル骨格を有する樹脂と他のビニル化合物との共重合体であってもよい。

[0115] この場合の他のビニル化合物は、エチレン、アリルアミン、ビニルピロリドン、無水マレイン酸、マレイミド、イタコン酸、（メタ）アクリル酸、ビニルアミン、又はSP値の異なる他の（メタ）アクリル酸エステル等を用いることができる。

[0116] （ペプチド部を有する合成樹脂X）

細胞培養用足場材料は、ペプチド部を有する合成樹脂Xを含むことが好ましい。ペプチド部を有する合成樹脂Xは、合成樹脂Xと、リンカーと、ペプチドとを反応させて得ることができる。ペプチド部を有する合成樹脂Xは、ポリビニルアセタール樹脂部と、リンカー部と、ペプチド部とを有するペプ

チド含有ポリビニルアセタール樹脂であることが好ましく、ポリビニルブチラール樹脂部と、リンカー部と、ペプチド部とを有するペプチド含有ポリビニルブチラール樹脂であることがより好ましい。ペプチド部を有する合成樹脂Xは、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0117] 上記ペプチド部は、3個以上のアミノ酸により構成されることが好ましく、4個以上のアミノ酸により構成されることがより好ましく、5個以上のアミノ酸により構成されることが更に好ましく、10個以下のアミノ酸により構成されることが好ましく、6個以下のアミノ酸により構成されることがより好ましい。上記ペプチド部を構成するアミノ酸の個数が上記下限以上及び上記上限以下であると、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0118] 上記ペプチド部は、細胞接着性のアミノ酸配列を有することが好ましい。なお、細胞接着性のアミノ酸配列とは、ファージディスプレイ法、セファロースビーズ法、又はプレートコート法によって細胞接着活性が確認されているアミノ酸配列をいう。上記ファージディスプレイ法としては、例えば、「The Journal of Cell Biology, Volume 130, Number 5, September 1995 1189-1196」に記載の方法を用いることができる。上記セファロースビーズ法としては、例えば「蛋白質 核酸 酵素 Vol. 45 No. 15 (2000) 2477」に記載の方法を用いることができる。上記プレートコート法としては、例えば「蛋白質 核酸 酵素 Vol. 45 No. 15 (2000) 2477」に記載の方法を用いることができる。

[0119] 上記細胞接着性のアミノ酸配列としては、例えば、RGD配列 (A r g - G l y - A s p)、YIGSR配列 (T y r - I l e - G l y - S e r - A r g)、PDSGR配列 (P r o - A s p - S e r - G l y - A r g)、HAV配列 (H i s - A l a - V a l)、ADT配列 (A l a - A s p - T h r)、QAV配列 (G l n - A l a - V a l)、LDV配列 (L e u - A s p - V a l)、IDS配列 (I l e - A s p - S e r)、REDV配列 (A r g - G l u - A s p - V a l)、IDAPS配列 (I l e - A s p - A l

a-Pro-Ser)、KQAGDV配列(Lys-Gln-Ala-Gly-Asp-Val)、及びTDE配列(Thr-Asp-Glu)等が挙げられる。また、上記細胞接着性のアミノ酸配列としては、「病態生理、第9巻 第7号、527～535頁、1990年」、及び「大阪府立母子医療センター雑誌、第8巻 第1号、58～66頁、1992年」に記載されている配列等も挙げられる。上記ペプチド部は、上記細胞接着性のアミノ酸配列を1種のみ有していてもよく、2種以上を有してもよい。

[0120] 上記細胞接着性のアミノ酸配列は、上述した細胞接着性のアミノ酸配列の内の少なくともいずれかを有することが好ましく、RGD配列、YIGSR配列、又はPDSGR配列を少なくとも有することがより好ましく、下記式(1)で表されるRGD配列を少なくとも有することが更に好ましい。この場合には、播種後の細胞との接着性をより一層高め、細胞の増殖率をより一層高めることができる。

[0121] Arg-Gly-Asp-X . . . 式(1)

[0122] 上記式(1)中、Xは、Gly、Ala、Val、Ser、Thr、Phe、Met、Pro、又はAsnを表す。

[0123] 上記ペプチド部は、直鎖状であってもよく、環状ペプチド骨格を有していてもよい。上記環状ペプチド骨格とは、複数個のアミノ酸より構成された環状骨格である。本発明の効果を一層効果的に発揮させる観点からは、上記環状ペプチド骨格は、4個以上のアミノ酸により構成されることが好ましく、5個以上のアミノ酸により構成されることが好ましく、10個以下のアミノ酸により構成されることが好ましい。

[0124] ペプチド部を有する合成樹脂Xにおいて、上記ペプチド部の含有率は、好ましくは0.1モル%以上、より好ましくは1モル%以上、さらに好ましくは5モル%以上、特に好ましくは10モル%以上である。ペプチド部を有する合成樹脂Xにおいて、上記ペプチド部の含有率は、好ましくは60モル%以下、より好ましくは50モル%以下、さらに好ましくは35モル%以下、特に好ましくは25モル%以下である。上記ペプチド部の含有率が上記下限

以上であると、相分離構造をより一層容易に形成することができる。上記ペプチド部の含有率が上記下限以上であると、播種後の細胞との接着性をより一層高めることができ、細胞の増殖率をより一層高めることができる。また、上記ペプチド部の含有率が上記上限以下であると、製造コストを抑えることができる。なお、上記ペプチド部の含有率（モル％）は、ペプチド部を有する合成樹脂Xを構成する各構造単位の物質量の総和に対する上記ペプチド部の物質量である。

[0125] 上記ペプチド部の含有率は、FTIR又はLC-MSにより測定することができる。

[0126] 播種後の細胞との接着性をより一層高める観点及び細胞の増殖率をより一層高める観点から、ペプチド部を有する合成樹脂Xでは、第2の相がペプチド部を有することが好ましく、該ペプチド部が上記細胞接着性のアミノ酸配列を有することがより好ましい。ペプチド部を有する合成樹脂Xのペプチド部部分により第2の相が形成されていることが好ましい。この場合、ペプチド部を有する第2の相が島部であることが好ましい。もっとも、第1の相がペプチド部を有していてもよく、ペプチド部を有する第2の相が海部であってもよい。

[0127] ペプチド部を有する合成樹脂Xにおいて、合成樹脂X部分とペプチド部とは、リンカーを介して結合していることが好ましい。すなわち、ペプチド部を有する合成樹脂Xは、ペプチド部とリンカー部とを有する合成樹脂Xであることが好ましい。上記リンカーは、1種のみが用いられてもよく、2種以上が併用されてもよい。

[0128] 上記リンカーは、上記ペプチドのカルボキシル基又はアミノ基と縮合可能な官能基を有する化合物であることが好ましい。上記ペプチドのカルボキシル基又はアミノ基と縮合可能な官能基としては、カルボキシル基、チオール基及びアミノ基等が挙げられる。ペプチドと良好に反応させる観点からは、上記リンカーは、カルボキシル基を有する化合物であることが好ましい。上記リンカーとして、上述したビニル化合物Aを用いることもできる。

[0129] 上記カルボキシル基を有するリンカーとしては、(メタ)アクリル酸及びカルボキシル基含有アクリルアミド等が挙げられる。上記カルボキシル基を有するリンカーとして重合性不飽和基を有するカルボン酸(カルボン酸モノマー)を用いることにより、リンカーと合成樹脂Xとを反応させる際に、グラフト重合により該カルボン酸モノマーを重合させることができるため、ペプチドと反応させることができるカルボキシル基の個数を増やすことができる。

[0130] [細胞培養用足場材料]

細胞培養用足場材料は、上記合成樹脂Xを含む。本発明の効果を効果的に発揮させる観点及び生産性を高める観点からは、上記細胞培養用足場材料100重量%中、上記合成樹脂Xの含有量は、好ましくは90重量%以上、より好ましくは95重量%以上、更に好ましくは97.5重量%以上、特に好ましくは99重量%以上、最も好ましくは100重量%(全量)である。したがって、上記細胞培養用足場材料は、上記合成樹脂Xであることが最も好ましい。上記合成樹脂Xの含有量が上記下限以上であると、本発明の効果をより一層効果的に発揮させることができる。

[0131] 上記細胞培養用足場材料は、上記合成樹脂X以外の成分を含んでいてもよい。上記合成樹脂X以外の成分としては、ポリオレフィン樹脂、ポリエーテル樹脂、ポリビニルアルコール樹脂、ポリエステル、エポキシ樹脂、ポリアミド樹脂、ポリイミド樹脂、ポリウレタン樹脂、ポリカーボネート樹脂、多糖類、セルロース、ポリペプチド、合成ペプチド等が挙げられる。

[0132] 本発明の効果を効果的に発揮させる観点から、上記合成樹脂X以外の成分の含有量は少ないほどよい。上記細胞培養用足場材料100重量%中、該成分の含有量は、好ましくは10重量%以下、より好ましくは5重量%以下、更に好ましくは2.5重量%以下、特に好ましくは1重量%以下、最も好ましくは0重量%(未含有)である。したがって、細胞培養用足場材料は、合成樹脂X以外の成分を含まないことが最も好ましい。

[0133] 上記細胞培養用足場材料は、動物由来の原料を実質的に含まないことが好

ましい。動物由来の原料を含まないことにより、安全性が高く、かつ、製造時に品質のばらつきが少ない細胞培養用足場材料を提供することができる。

なお、「動物由来の原料を実質的に含まない」とは、細胞培養用足場材料中における動物由来の原料が、3重量%以下であることを意味する。上記細胞培養用足場材料は、細胞培養用足場材料中における動物由来の原料が、1重量%以下であることが好ましく、0重量%であることがより好ましい。すなわち、上記細胞培養用足場材料は、動物由来の原料を全く含まないことがより好ましい。

[0134] (細胞培養用足場材料を用いた細胞培養)

上記細胞培養用足場材料は、細胞を培養するために用いられる。上記細胞培養用足場材料は、細胞を培養する際の該細胞の足場として用いられる。したがって、本発明の細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜は、細胞を培養するために用いられ、また、細胞を培養する際の該細胞の足場として用いられる。

[0135] 上記細胞としては、ヒト、マウス、ラット、ブタ、ウシ及びサル等の動物細胞が挙げられる。また、上記細胞としては、体細胞等が挙げられ、例えば、幹細胞、前駆細胞及び成熟細胞等が挙げられる。上記体細胞は、癌細胞であってもよい。

[0136] 上記成熟細胞としては、神経細胞、心筋細胞、網膜細胞及び肝細胞等が挙げられる。

[0137] 上記幹細胞としては、間葉系幹細胞(MSC)、iPS細胞、ES細胞、Muse細胞、胚性がん細胞、胚性生殖幹細胞、及びmGS細胞等が挙げられる。

[0138] (細胞培養用足場材料の形状)

本発明の樹脂膜は、細胞培養用足場材料により形成される。上記樹脂膜は、細胞培養用足場材料を用いて形成される。上記樹脂膜は、膜状の細胞培養用足場材料であることが好ましい。上記樹脂膜は、細胞培養用足場材料の膜状物であることが好ましい。

[0139] 本明細書では、上記細胞培養用足場材料を含む、粒子、繊維、多孔体、又はフィルムも提供する。この場合、上記細胞培養用足場材料の形状は特に限定されず、粒子であっても、繊維であっても、多孔体であっても、フィルムであってもよい。なお、上記粒子、繊維、多孔体、又はフィルムは、上記細胞培養用足場材料以外の構成要素を含んでいてもよい。

[0140] 上記細胞培養用足場材料を含むフィルムは、細胞を平面培養（二次元培養）するために用いられることが好ましい。また、上記細胞培養用足場材料を含む、粒子、繊維、又は多孔体は、細胞を三次元培養するために用いられることが好ましい。

[0141] （細胞培養用担体）

本発明は、担体の表面上に上記樹脂膜が配置されている、細胞培養用担体にも関する。本発明の細胞培養用担体は、例えば、担体の表面上に上記樹脂膜をコーティング等によって配置することによって得ることができる。上記担体の形状は、粒子、繊維、多孔体、又はフィルムであってもよい。すなわち、本発明の細胞培養用担体は、粒子、繊維、多孔体、又はフィルムの形状であってもよい。なお、本発明の細胞培養用担体は、上記担体及び上記樹脂膜以外の構成要素を含んでいてもよい。

[0142] （細胞培養用容器）

本発明は、細胞の培養領域の少なくとも一部に上記樹脂膜を備える、細胞培養用容器にも関する。図1は、本発明の一実施形態に係る細胞培養用容器を模式的に示す断面図である。

[0143] 細胞培養用容器1は、容器本体2と、細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜3とを備える。容器本体2の表面2a上に樹脂膜3が配置されている。容器本体2の底面上に樹脂膜3が配置されている。細胞培養用容器1に液体培地を添加し、また、細胞を樹脂膜3の表面に播種することで、細胞を平面培養することができる。

[0144] なお、容器本体は、第1の容器本体と、該第1の容器本体の底面上にカバーガラス等の第2の容器本体とを備えていてもよい。第1の容器本体と第2

の容器本体とは分離可能であってもよい。この場合、第2の容器本体の表面上に、該細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜が配置されていてもよい。

[0145] 上記容器本体として、従来公知の容器本体（容器）を用いることができる。上記容器本体の形状および大きさは特に限定されない。

[0146] 上記容器本体としては、1個又は複数個のウェル（穴）を備える細胞培養用プレート、及び細胞培養用フラスコ等が挙げられる。上記プレートのウェル数は特に限定されない。該ウェル数としては、特に限定されないが、例えば、2、4、6、12、24、48、96、384等が挙げられる。上記ウェルの形状としては、特に限定されないが、真円、楕円、三角形、正方形、長方形、五角形等が挙げられる。上記ウェル底面の形状としては、特に限定されないが、平底、丸底、凹凸等が挙げられる。

[0147] 上記容器本体の材質は特に限定されないが、樹脂、金属及び無機材料が挙げられる。上記樹脂としては、ポリスチレン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリカーボネート、ポリエステル、ポリイソプレン、シクロオレフィンポリマー、ポリイミド、ポリアミド、ポリアミドイミド、（メタ）アクリル樹脂、エポキシ樹脂、シリコーン等が挙げられる。上記金属としては、ステンレス、銅、鉄、ニッケル、アルミ、チタン、金、銀、白金等が挙げられる。上記無機材料としては、酸化ケイ素（ガラス）、酸化アルミ、酸化チタン、酸化ジルコニウム、酸化鉄、窒化ケイ素等が挙げられる。

実施例

[0148] 次に、本発明の具体的な実施例及び比較例を挙げることにより本発明を明らかにする。なお、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

[0149] 細胞培養用足場材料の原料として、以下の合成樹脂を合成した。

[0150] （実施例1）

攪拌装置を備えた反応機に、イオン交換水2700mL、平均重合度1700、鹼化度98モル%のポリビニルアルコールを300重量部投入し、攪拌しながら加熱溶解し、溶液を得た。得られた溶液に、触媒として、塩酸濃

度が0.2重量%となるように3.5重量%塩酸を添加した。次いで、温度を15℃に調整し、攪拌しながらn-ブチルアルデヒド2.2重量部を添加した。次いで、n-ブチルアルデヒド1.48重量部を添加し、白色粒子状のポリビニルブチラル樹脂を析出させた。析出してから15分後に、塩酸濃度が1.8重量%となるように3.5重量%塩酸を添加した後、50℃に加熱し、50℃で2時間保持した。次いで、溶液を冷却し、中和した後、水洗し、乾燥させることにより、ポリビニルアセタール樹脂としてのポリビニルブチラル樹脂(PVB、SP値:9.9)を得た。得られたポリビニルブチラル樹脂90重量部を、1重量%の溶液となるようにテトラヒドロフランに溶解させ、開始剤としてIrgacure 184を5重量部、N-ビニルピロリドン(SP値:11.7)2重量部及びn-ラウリルメタクリレート(SP値:8.2)8重量部を添加し、グラフト重合を行うことで、合成樹脂を得た。得られた合成樹脂は、アセタール化度(ブチラル化度)6.9モル%、水酸基量27.5モル%、アセチル化度2.0モル%、ビニルピロリドン基の含有率0.3モル%、n-ラウリルメタクリレート部の含有率1.2モル%であった。

[0151] (実施例2～11及び比較例1)

ポリビニルブチラル樹脂、N-ビニルピロリドン、及びn-ラウリルメタクリレートの重量比率を変更したこと以外は、実施例1と同様にして合成樹脂を得た。実施例2～11及び比較例1で得られた合成樹脂のアセタール化度(ブチラル化度)、水酸基量、アセチル化度、ビニルピロリドン基の含有率、n-ラウリルメタクリレート部の含有率を表1、表2、及び表4に示す。

[0152] (実施例12)

攪拌装置を備えた反応機に、イオン交換水2700mL、平均重合度1700、鹼化度9.9モル%のポリビニルアルコールを300重量部投入し、攪拌しながら加熱溶解し、溶液を得た。得られた溶液に、触媒として、塩酸濃度が0.2重量%となるように3.5重量%塩酸を添加した。次いで、温度を

15℃に調整し、攪拌しながらn-ブチルアルデヒド22重量部を添加した。次いで、n-ブチルアルデヒド148重量部を添加し、白色粒子状のポリビニルアセタール樹脂（ポリビニルブチラール樹脂）を析出させた。析出してから15分後に、塩酸濃度が1.8重量%になるように35重量%塩酸を添加した後、50℃に加熱し、50℃で2時間保持した。次いで、溶液を冷却し、中和した後、ポリビニルブチラール樹脂を水洗し、乾燥させて、ポリビニルアセタール樹脂（ポリビニルブチラール樹脂、平均重合度1700、アセタール化度（ブチラール化度）70モル%、水酸基量27モル%、アセチル化度3モル%）を得た。

[0153] リンカーの導入：

得られたポリビニルアセタール樹脂99重量部と、アクリル酸（リンカー）1重量部とをTHF300重量部に溶解し、光ラジカル重合開始剤の存在下で、紫外線照射下で20分間反応させ、ポリビニルアセタール樹脂とアクリル酸とをグラフト共重合させることにより、リンカーを導入した。リンカーを導入したポリビニルアセタール樹脂1重量部をブタノール19重量部に溶解させた。得られた溶液150μLを、エアダスターで除塵したφ22mmのカバーガラス（松浪社製「22丸No. 1」）の表面上に吐出し、スピナーを用いて2000rpm、20秒回転させた後、60℃で60分間加熱して、表面が平滑な樹脂膜を得た。

[0154] ペプチド部の形成：

Gly-Arg-Gly-Asp-Serのアミノ酸配列を有する直鎖状のペプチド（アミノ酸残基数5個、表ではGRGDSと記載）を用意した。このペプチド10重量部と、1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩（縮合剤）1重量部とを、カルシウム及びマグネシウムの双方を含まないリン酸緩衝生理食塩水に該ペプチドの終濃度が1mMとなるよう添加し、ペプチド含有液を作製した。このペプチド含有液1重量部を、スピナーコートした樹脂膜（リンカーを形成したポリビニルアセタール樹脂）に添加し、反応させて、リンカーのカルボキシル基と、ペプチドの

Glyのアミノ基とを脱水縮合した。このようにして、ポリビニルアセタール樹脂部と、リンカー部と、ペプチド部とを有するペプチド含有ポリビニルアセタール樹脂を作製した。

[0155] 得られたペプチド含有ポリビニルアセタール樹脂は、アセタール化度（ブチラール化度）69モル%、水酸基量27モル%、アセチル化度3モル%、カルボキシル基の含有率0.1モル%、ペプチド部の含有率1.0モル%であった。

[0156] （実施例13）

リンカーの導入において、85重量部のポリビニルアセタール樹脂と15重量部のアクリル酸（リンカー）とを用いたこと、ペプチドの形成において、ペプチドの添加量を15重量部に変更したこと以外は、実施例12と同様にして、ペプチド含有ポリビニルアセタール樹脂を作製した。

[0157] （実施例14）

リンカーの導入において、70重量部のポリビニルアセタール樹脂と30重量部のアクリル酸（リンカー）とを用いたこと、ペプチドの形成において、ペプチドの添加量を30重量部に変更したこと以外は、実施例12と同様にして、ペプチド含有ポリビニルアセタール樹脂を作製した。

[0158] （実施例15）

リンカーの導入において、67重量部のポリビニルアセタール樹脂と33重量部のアクリル酸（リンカー）とを用いたこと、ペプチドの形成において、ペプチドの添加量を33重量部に変更したこと以外は、実施例12と同様にして、ペプチド含有ポリビニルアセタール樹脂を作製した。

[0159] （実施例16）

リンカーの導入において、63重量部のポリビニルアセタール樹脂と37重量部のアクリル酸（リンカー）とを用いたこと、ペプチドの形成において、ペプチドの添加量を37重量部に変更したこと以外は、実施例12と同様にして、ペプチド含有ポリビニルアセタール樹脂を作製した。

[0160] （実施例17）

リンカーの導入において、30重量部のポリビニルアセタール樹脂と70重量部のアクリル酸（リンカー）とを用いたこと、ペプチドの形成において、ペプチドの添加量を70重量部に変更したこと以外は、実施例12と同様にして、ペプチド含有ポリビニルアセタール樹脂を作製した。

[0161] （比較例2）

合成樹脂として、ポリスチレン樹脂をそのまま用いた。

[0162] （比較例3）

攪拌装置を備えた反応機に、イオン交換水2700mL、平均重合度1700、鹼化度98モル%のポリビニルアルコールを300重量部投入し、攪拌しながら加熱溶解し、溶液を得た。得られた溶液に、触媒として、塩酸濃度が0.2重量%となるように35重量%塩酸を添加した。次いで、温度を15℃に調整し、攪拌しながらn-ブチルアルデヒド22重量部を添加した。次いで、n-ブチルアルデヒド148重量部を添加し、白色粒子状のポリビニルブチラール樹脂を析出させた。析出してから15分後に、塩酸濃度が1.8重量%となるように35重量%塩酸を添加した後、50℃に加熱し、50℃で2時間保持した。次いで、溶液を冷却し、中和した後、水洗し、乾燥させることによりポリビニルブチラール樹脂（SP値：9.9）を得た。すなわち、ビニル化合物が共重合していないポリビニルブチラール樹脂（合成樹脂）を得た。

[0163] （比較例4）

N-ビニルピロリドン17重量部及びn-ラウリルメタクリレート83重量部を混合し、（メタ）アクリルモノマー溶液を得た。得られた（メタ）アクリルモノマー溶液にIrgacure184（BASF社製）1重量部を溶解させ、PETフィルム上に塗布した。塗布物を25℃にてアイグラフィックス社製、UVコンベア装置「ECS301G1」を用い、365nmの波長の光を積算光量2000mJ/cm²で照射することでポリ（メタ）アクリル酸エステル樹脂溶液を得た。得られたポリ（メタ）アクリル酸エステル樹脂溶液を80℃、3時間真空乾燥させることでポリ（メタ）アクリル酸エ

ステル樹脂としての合成樹脂を得た。

[0164] (参考例A)

天然物由来の足場材の作製：

リン酸バッファー (PBS) 中に $5\mu\text{g}/\text{ml}$ に調整した Vitrone ct in (コーニング社製) 溶液を $\phi 35\text{mm}$ ディッシュに 1ml 添加した。そこに $\phi 22\text{mm}$ のカバーガラス (松浪社製「22丸No. 1」) を浸漬させ、 37°C で1時間養生することで Vitrone ct in が表面に平滑に吸着した天然物由来の足場材 (表中ではVTNと記載) を得た。

[0165] 細胞培養用容器の作製：

Vitrone ct in とカバーガラスとの積層体を、 $\phi 22\text{mm}$ のポリスチレンディッシュに配置することにより細胞培養用容器を得た。なお、Vitrone ct in は乾燥すると変性し、接着性能が大きく低下してしまうため、細胞培養用容器の作製後すぐにPBS溶液で浸漬した。

[0166] [評価]

(アセタール化度及びカチオン性基変性度)

実施例及び比較例で得られた合成樹脂のアセタール化度及びカチオン性基変性度は、合成樹脂をDMSO-d6 (ジメチルスルホキサイド) に溶解した後、 $^1\text{H-NMR}$ (核磁気共鳴スペクトル) により測定した。

[0167] (貯蔵弾性率)

各足場材料の 25°C 及び 100°C の貯蔵弾性率は、動的粘弾性測定装置 (アイティー計測制御社製、DVA-200) により引張条件下、周波数 10Hz 、 -150°C から 150°C の温度範囲を昇温速度 $5^\circ\text{C}/\text{分}$ にて測定した。得られた引張貯蔵弾性率のグラフから 25°C 及び 100°C における貯蔵弾性率を求め、 25°C 貯蔵弾性率/ 100°C 貯蔵弾性率を算出した。長さ 50mm 、幅 $5\sim 20\text{mm}$ 、厚み $0.1\sim 1.0\text{mm}$ の測定サンプルを用いて、 10Hz 、ひずみ 0.1% 、温度 $-150^\circ\text{C}\sim 150^\circ\text{C}$ 、および昇温速度 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ の条件で行った。

[0168] (水膨潤倍率)

長さ50mm、幅10mm、厚み0.05mm～0.15mmの各足場材料からなる樹脂膜（測定サンプル）を、25℃の水に24時間浸漬した。浸漬前と後のサンプルの重さを測定し、水膨潤倍率＝（浸漬後のサンプル重量－浸漬前のサンプル重量）／（浸漬前のサンプル重量）×100（％）を算出した。

[0169] （細胞培養用容器の作製）

実施例1～11及び比較例1～4では、得られた合成樹脂1gをブタノール19gに溶解させることで、樹脂溶液を得た。得られた樹脂溶液150μLをφ22mmのカバーガラス（松浪社製、22丸No. 1をエアダスターで除塵して使用）上に吐出し、スピncerを用いて2000rpm、20秒回転させて平滑な樹脂膜を得た。得られた上記樹脂膜をカバー26ガラスごとφ22mmのポリスチレンディッシュに配置することにより細胞培養用容器を得た。実施例12～17では、得られたペプチド含有ポリビニルアセタール樹脂とカバーガラスとの積層体を、φ22mmのポリスチレンディッシュに配置することにより細胞培養用容器を得た。

[0170] （表面自由エネルギー）

細胞培養用容器の調製の欄で得られた樹脂膜の表面自由エネルギーについて接触角計（協和界面化学社製、DMo-701）を用いて測定した。樹脂膜上に純水1μLを滴下し、30秒後の液滴像を撮影することで純水の接触角を得た。また、上記樹脂膜上にジヨードメタン1μLを滴下し、30秒後の液滴像を撮影することでジヨードメタンの接触角を得た。得られた接触角から、Kaelbleyの理論式を用いて表面自由エネルギーの分散項成分 γ^d （dSFE）及び極性項成分である双極子成分 γ^p （pSFE）を算出した。

[0171] （相分離パラメータ）

細胞培養用容器の調製の欄で得られた樹脂膜を原子間力顕微鏡（AFM、ブルカー社製、品番「Dimension XR」）により観察した。カンチレバーはSCANASYSTAIRを使用した。その結果、図2に示

すように、実施例3の樹脂膜では、第1の相としてのポリビニルブチラール樹脂部が海部を形成し、第2の相としての(メタ)アクリル酸エステル及びビニル化合物を有する樹脂部(N-ビニルピロリドン及びn-ラウリルメタクリレート)の共重合体部が島部を形成する海島構造が観察された。同様に、実施例1~2, 4~11においても、第1の相としてのポリビニルブチラール樹脂部が海部を形成し、第2の相としての(メタ)アクリル酸エステル及びビニル化合物を有する樹脂部(N-ビニルピロリドン及びn-ラウリルメタクリレート)の共重合体部が島部を形成する海島構造が観察された。また、実施例12~17においても、第1の相としてのポリビニルブチラール樹脂部が海部を形成し、第2の相としてのペプチド部が島部を形成する海島構造が観察された。他方、比較例1~4では、相分離構造が観察されなかった。

[0172] また、原子間力顕微鏡により得られた画像から画像解析ソフト(ImageJ)を用いて、上述した方法により第2の相の表面全体に対する表面積の比(相分離構造の表面積分率)、第2の相の周囲長と面積との比(周囲長/面積)、島部である第2の相の個数(島個数)、及び島部の径の平均(平均島サイズ)を求めた。

[0173] (細胞増殖率)

得られた細胞培養用容器にリン酸緩衝生理食塩水1 mLを加えて37℃のインキュベーター内で1時間静置後、培養容器内のリン酸緩衝生理食塩水を除いた。35 mmディッシュにコンフルエント状態になったh-iPS細胞253G1のコロニーを加え、次に1 mLの0.5 mMエチレンジアミン/リン酸緩衝溶液を加え、室温で2分静置した。その後、エチレンジアミン/リン酸緩衝溶液を除き、1 mLのTeSRE8培地でピペッティングにより50~200 µmに碎かれた細胞塊(0.5×10^5 cells)を培養容器に播種した。培地TeSRE8(STEM CELL社製)1.7 mL、及び、ROCK-Inhibitor(Y27632)10 µMの存在下で、37℃及びCO₂濃度5%のインキュベーター内で培養を行った。24時間

毎に培地を1 mL除き、新たなTeSR E8を1 mL加えることで培地交換を行った。5日後における定着細胞塊を、TryPLE Express剥離液 1.0 mLを用いて剥離し、セルカウンター（Nucleocounter NC-3000、Chemometec社製）を用いて細胞数をカウントした。

[0174] 下記式を用いて参考例Aに対する細胞増殖率を求めた。

[0175] 参考例Aに対する細胞増殖率（％）＝（実施例・比較例における細胞数）
／（参考例Aにおける細胞数）×100

[0176] 細胞増殖率について、以下の基準に従って評価した。

[0177] [評価基準]

A A A…参考例Aに対する細胞増殖率が、70％以上

A A…参考例Aに対する細胞増殖率が、60％以上、70％未満

A…参考例Aに対する細胞増殖率が、50％以上、60％未満

B…参考例Aに対する細胞増殖率が、40％以上、50％未満

C…参考例Aに対する細胞増殖率が、30％以上、40％未満

D…参考例Aに対する細胞増殖率が、30％未満

[0178] 結果を下記の表1～4に示す。

[0179]

[表1]

		実施例 1	実施例 2	実施例 3	実施例 4	実施例 5	実施例 6
合成樹脂	アセタール化度(mol%)	69.0	63.0	49.0	39.9	35.0	28.0
	水酸基(mol%)	27.5	25.2	19.6	16.0	14.0	11.2
	アセチル基量(mol%)	2.1	1.8	1.4	1.1	1.0	0.8
	N-ビニルピロリドン(mol%)	0.3	2.0	5.0	7.0	8.3	10.0
物性	n-ラウリルメタクリレート(mol%)	1.2	8.0	25.0	36.0	41.7	50.0
	25℃貯蔵弾性率(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
	100℃貯蔵弾性率(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℃貯蔵弾性率/100℃貯蔵弾性率	8.2×10^2	6.6×10^2	6.3×10^2	2.7×10^2	2.1×10^2	2.1×10^2
	水膨潤倍率(%)	15	16	18	15	10	11
	表面自由エネルギー	35.8	36	36.8	43.5	44.2	44.5
相分離パラメータ	分散項成分(dSFE)(mJ/m ²)	2.3	2	2.7	2.5	1.6	2
	極性項成分(pSFE)(mJ/m ²)	0.015	0.1	0.3	0.43	0.5	0.6
	相分離構造の表面積分率(-)	0.0800	0.0133	0.0160	0.0286	0.0333	0.0267
	周囲長/面積(1/nm)	2	2	4	10	70	60
培養評価	島個数(個/μm ²)	50	300	250	140	120	150
	平均島サイズ(nm)	30	33	51	69	65	55
	参考例Aに対する細胞増殖率(%)	C	C	A	AA	AA	A
細胞培養性能							

[0180]

[表2]

		実施例 7	実施例 8	実施例 9	実施例 10	実施例 11
合成樹脂	ポリビニルアセタール樹脂	アセタール化度(mol%)	23.1	18.5	14.0	7.0
		水酸基量(mol%)	10.0	6.0	5.5	2.7
		アセチル基量(mol%)	0.7	0.5	0.5	0.3
物性	ビニル化合物A (アクリル・ビニル)	N-ビニルピロリドン(mol%)	11.0	12.5	13.0	15.0
		n-ラウリルメタクリレート(mol%)	55.0	62.5	67.0	75.0
	貯蔵弾性率	25℃貯蔵弾性率(Pa)	9.2×10^8	8.0×10^8	6.0×10^8	3.0×10^8
		100℃貯蔵弾性率(Pa)	3.8×10^6	3.8×10^6	2.6×10^6	2.6×10^6
		25℃貯蔵弾性率/100℃貯蔵弾性率	2.4×10^2	2.1×10^2	2.3×10^2	1.2×10^2
	表面自由エネルギー	水膨潤倍率(%)	12	10	9	10
		分散項成分(dSFE)(mJ/m ²)	43.6	44.0	44.7	45.0
相分離ハラメータ	相分離構造の表面積分率(-)	極性項成分(pSFE)(mJ/m ²)	2.2	2.0	2.3	1.7
		極性項成分(pSFE)(mJ/m ²)	0.66	0.75	0.8	0.95
	島個数/面積(1/nm)	周囲長/面積(1/nm)	0.0160	0.0027	0.0016	0.0013
		島個数(個/μm ²)	20	2	4	1
培養評価	平均島サイズ(nm)	250	1500	2500	3000	3200
		参考例Aに対する細胞増殖率(%)	61	41	48	35
	細胞培養性能	AA	B	B	C	C

[0181]

[表3]

		実施例 12	実施例 13	実施例 14	実施例 15	実施例 16	実施例 17
合成樹脂	アセタール化度 (mol%)	69.3	64.3	64.0	57.5	54.0	24.0
	水酸基量 (mol%)	26.7	25.0	22.0	23.0	21.0	9.0
	アセチル基量 (mol%)	2.9	3.0	3.0	3.0	3.0	1.0
	N-ビニルピロリドン (mol%)	—	—	—	—	—	—
	n-ラウリルメタクリレート (mol%)	—	—	—	—	—	—
ペプチド部	アクリル酸 (mol%)	0.1	0.7	1.0	1.5	2.0	6.0
	含有率 (mol%)	1.0	7.0	10.0	15.0	20.0	60.0
	25℃貯蔵弾性率 (Pa)	2.5×10^8	2.0×10^9	1.9×10^9	2.2×10^8	2.0×10^9	2.5×10^9
	100℃貯蔵弾性率 (Pa)	3.0×10^8	4.0×10^6	3.5×10^6	3.4×10^6	1.0×10^6	2.0×10^6
	25℃貯蔵弾性率/100℃貯蔵弾性率	8.3×10^2	5.0×10^2	5.4×10^2	6.5×10^2	2.0×10^3	1.3×10^2
物性	水膨潤倍率 (%)	4	6	7	10	15	18
	表面自由エネルギー	—	—	—	—	—	—
	分散項成分 (dSFE) (mJ/m ²)	—	—	—	—	—	—
	極性項成分 (pSFE) (mJ/m ²)	—	—	—	—	—	—
	相分離構造の表面積分率 (-)	0.079	0.100	0.353	0.495	0.589	0.785
相分離パラメータ	周囲長/面積 (1/nm)	0.2000	0.1000	0.0400	0.0133	0.0080	0.0040
	島個数/個/μm ²	250	80	45	7	3	1
	平均島サイズ (nm)	20	40	100	300	500	1000
	参考例Aに対する細胞増殖率 (%)	69	95	98	64	59	59
培養評価	細胞培養性能	AA	AAA	AAA	AA	A	A

[0182]

[表4]

		比較例 1	比較例 2	比較例 3	比較例 4	参考例 A
合成樹脂	ポリビニルアセタール樹脂					
	アセタール化度(mol%)	1.4	—	70.0	—	VTN
	水酸基量(mol%)	0.56	—	28.0	—	
	アセチル基量(mol%)	0.04	—	2.0	—	
	ビニル化合物A (アクリル・ビニル)	16.0	—	—	17.0	
物性	n-ラウリルメタクリレート(mol%)	82.0	—	—	83.0	—
	25℃貯蔵弾性率(Pa)	1.6×10^8	2.3×10^9	2.2×10^9	1.2×10^6	
	100℃貯蔵弾性率(Pa)	6.0×10^5	2.1×10^8	2.7×10^6	9.0×10^3	
	25℃貯蔵弾性率/100℃貯蔵弾性率	2.6×10^2	1.1×10^1	8.2×10^2	1.3×10^2	
	水膨潤倍率(%)	26	0	16	55	
	表面自由エネルギー	48	29.4	32.8	50	
	分散項成分(dSFE)(mJ/m ²) 極性項成分(pSFE)(mJ/m ²)	1	20.6	3.6	0.5	
相分離ハラメータ	相分離構造の表面積分率(—)	0.98	0	0	0	—
	周囲長/面積(1/nm)	0.0011	—	—	—	—
	島個数(個/μm ²)	0	0	0	0	—
	平均島サイズ(nm)	3500	0	0	0	—
培養評価	参考例Aに対する細胞増殖率(%)	18	0	20	0	—
	細胞培養性能	D	D	D	D	—

符号の説明

- [0183]
- 1 …細胞培養用容器

2 …容器本体

2 a …表面

3 …樹脂膜

請求の範囲

- [請求項1] 細胞培養用足場材料により形成された樹脂膜であって、
前記細胞培養用足場材料は、合成樹脂を含み、
前記樹脂膜が、少なくとも第1の相及び第2の相を含む、相分離構造を有し、
前記第1の相及び第2の相のうち一方の相の表面全体に対する表面積の比が、0.01以上、0.95以下である、樹脂膜。
- [請求項2] 前記第2の相の面積に対する周囲長の比（周囲長／面積）が、0.001（1／nm）以上、0.40（1／nm）以下である、請求項1に記載の樹脂膜。
- [請求項3] 前記相分離構造が、海島構造であり、
前記第1の相が海部であり、前記第2の相が島部である、請求項1又は2に記載の樹脂膜。
- [請求項4] 前記島部である前記第2の相の個数が、1個／ μm^2 以上、5000個／ μm^2 以下である、請求項3に記載の樹脂膜。
- [請求項5] 前記相分離構造が、前記合成樹脂の分子内における相分離構造により構成されている、請求項1～4のいずれか1項に記載の樹脂膜。
- [請求項6] 表面自由エネルギーの分散項成分が25.0mJ／ m^2 以上、50.0mJ／ m^2 以下、かつ、極性項成分が1.0mJ／ m^2 以上、20.0mJ／ m^2 以下である、請求項1～5のいずれか1項に記載の樹脂膜。
- [請求項7] 前記合成樹脂が、カチオン性官能基を有し、
前記合成樹脂の構造単位中に含まれる前記カチオン性官能基の含有量が、0.2モル％以上、50モル％以下である、請求項1～6のいずれか1項に記載の樹脂膜。
- [請求項8] 前記第2の相が、ペプチド部を有する、請求項1～5のいずれか1項に記載の樹脂膜。
- [請求項9] 前記ペプチド部が、細胞接着性のアミノ酸配列を有する、請求項8

に記載の樹脂膜。

- [請求項10] 水膨潤倍率が50%以下である、請求項1～9のいずれか1項に記載の樹脂膜。
- [請求項11] 100℃における貯蔵弾性率が、 $1.0 \times 10^4 \text{ Pa}$ 以上、 $1.0 \times 10^8 \text{ Pa}$ 以下であり、
25℃における貯蔵弾性率と100℃における貯蔵弾性率との比（
（25℃における貯蔵弾性率）／（100℃における貯蔵弾性率））
が、 1.0×10^{-1} 以上、 1.0×10^5 以下である、請求項1～10のいずれか1項に記載の樹脂膜。
- [請求項12] 前記細胞培養用足場材料は、動物由来の原料を実質的に含まない、請求項1～11のいずれか1項に記載の樹脂膜。
- [請求項13] 前記合成樹脂がビニル重合体を含む、請求項1～12のいずれか1項に記載の樹脂膜。
- [請求項14] 前記合成樹脂が、少なくともポリビニルアルコール誘導体又はポリ（メタ）アクリル酸エステルを含む、請求項1～13のいずれか1項に記載の樹脂膜。
- [請求項15] 担体と、
請求項1～14のいずれか1項に記載の樹脂膜と、を備え、
前記担体の表面上に、前記樹脂膜が配置されている、細胞培養用担体。
- [請求項16] 容器本体と、
請求項1～14のいずれか1項に記載の樹脂膜と、を備え、
前記容器本体の表面上に、前記樹脂膜が配置されている、細胞培養用容器。