

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6748313号
(P6748313)

(45) 発行日 令和2年8月26日(2020.8.26)

(24) 登録日 令和2年8月11日(2020.8.11)

(51) Int. Cl.	F I
C 1 2 M 3/00 (2006.01)	C 1 2 M 3/00 A
C 1 2 M 1/22 (2006.01)	C 1 2 M 1/22
C 1 2 M 1/26 (2006.01)	C 1 2 M 1/26
C 1 2 M 1/32 (2006.01)	C 1 2 M 1/32
C 1 2 N 5/074 (2010.01)	C 1 2 N 5/074

請求項の数 4 (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願2019-562495 (P2019-562495)	(73) 特許権者 000002174 積水化学工業株式会社 大阪府大阪市北区西天満2丁目4番4号
(86) (22) 出願日 平成30年12月27日(2018.12.27)	(74) 代理人 110001232 特許業務法人 宮▲崎▼・目次特許事務所
(86) 国際出願番号 PCT/JP2018/048391	(72) 発明者 羽根田 聡 大阪府三島郡島本町百山2-1 積水化学工業株式会社内
(87) 国際公開番号 W02019/131982	(72) 発明者 真綱 百里子 大阪府三島郡島本町百山2-1 積水化学工業株式会社内
(87) 国際公開日 令和1年7月4日(2019.7.4)	(72) 発明者 石井 亮馬 大阪府三島郡島本町百山2-1 積水化学工業株式会社内
審査請求日 令和2年1月24日(2020.1.24)	
(31) 優先権主張番号 特願2017-252420 (P2017-252420)	
(32) 優先日 平成29年12月27日(2017.12.27)	
(33) 優先権主張国・地域又は機関 日本国(JP)	
早期審査対象出願	

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 幹細胞培養用足場材料から形成された樹脂膜及び幹細胞培養用容器

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

合成樹脂を含む幹細胞培養用足場材料から形成された樹脂膜であって、
前記合成樹脂がポリビニルアセタール樹脂及びポリ(メタ)アクリル酸エステルのうち
少なくとも一方を含み、

100 貯蔵弾性率が 1.0×10^5 Pa 以上 1.0×10^7 Pa 以下であり、
25 貯蔵弾性率が 1.0×10^8 Pa 以上 1.0×10^{10} Pa 以下であり、二次元
培養に用いられる、幹細胞培養用足場材料から形成された樹脂膜。

【請求項2】

前記合成樹脂がポリビニルアセタール樹脂である、請求項1に記載の樹脂膜。

10

【請求項3】

前記幹細胞が多能性幹細胞である、請求項1または2に記載の樹脂膜。

【請求項4】

請求項1～3のいずれか1項に記載の樹脂膜を備える、幹細胞培養用容器。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、幹細胞培養用足場材料及びそれを用いた幹細胞培養方法に関する。

【背景技術】

【0002】

20

幹細胞は創薬や再生医療への応用が期待されている。幹細胞は、自己複製能と分化能を有する細胞であり、全ての細胞種へ分化可能な多能性幹細胞と、同系列の体組織の構成細胞種へのみ分化可能な組織幹細胞および組織前駆細胞がある。多能性幹細胞は、例えばヒト胚性幹細胞（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）等が挙げられる。幹細胞を安全に、そして再現性良く培養し、増殖させることは、これらの細胞を医療応用する上では必須の基盤技術となる。特に、再生医療の産業利用上においては、幹細胞を未分化状態で多量に扱う必要がある。そのため、天然および合成の高分子やフィーダー細胞を用いて幹細胞の増殖を行うと共に、多能性能（または多分化能）を維持する技術について広範な研究が行われている。特に天然高分子としてラミニン、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定着性が非常に高いことが知られている。

10

【0003】

しかし、天然高分子は生産性が非常に低いため高価であること、天然由来物質であるためロット間にバラツキが見られること、動物由来の成分による安全性上の懸念があることが課題として挙げられる。

【0004】

上記課題を解決するために、合成樹脂を使用した幹細胞培養樹脂担体が提案されている。例えば、特許文献1の実施例の欄には、マウス線維芽細胞の培養において、親水性かつ耐水性に優れる足場材を提供するためにアセタール化度が20～60モル%のポリビニルアセタール化合物が開示されている。特許文献2の実施例の欄にはマウスES細胞の培養において、アクリルポリマーによって構成されたハイドロゲルが開示されている。特許文献3の実施例の欄にはマウスiPSC細胞の培養において、親水性かつ柔軟なポリロタキサンゲルが開示されている。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】特開2006-314285号公報

【特許文献2】特開2010-158180号公報

【特許文献3】特開2017-23008号公報

【発明の概要】

30

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかしながら、特許文献1には、親水性が高いため培地中で膨潤し、足場材樹脂が剥がれる問題がある。また、幹細胞や多能性幹細胞の播種後の定着性が低く、十分に増殖しないという問題がある。特許文献2には、2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸ナトリウム塩、および、p-スチレンスルホン酸ナトリウム、N,N'-ジメチルアクリルアミドを使用しており、親水性が高いため培地中で膨潤し、足場材樹脂が剥がれる問題がある。特許文献3には、親水性が高いため培地中で膨潤し、足場材樹脂が剥がれる問題がある。柔軟な足場材であるために心筋細胞への分化が促進されるという問題がある。

40

さらに、幹細胞を培養容器内に播種する播種工程やにおいて、ピペット先端が培養容器底面に当たることでコーティング膜が剥がれ、試験ロット間でのバラツキが生じることが課題として挙げられる。

【0007】

以上より、適度な親水性と強度を備える幹細胞培養用足場材料及びそれを用いた幹細胞培養方法が求められていた。

本発明は、適度な親水性と強度を備え、幹細胞の播種後の定着性が高く、高効率に細胞増殖が可能であり、耐傷性に優れた幹細胞培養用足場材料及びそれを用いた幹細胞培養方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

50

【0008】

本発明は以下の内容に関する。

(1) 合成樹脂を含む幹細胞培養用足場材料であって、 100 貯蔵弾性率が 1.0×10^4 Pa 以上、 1.0×10^8 Pa 以下であり、 25 貯蔵弾性率と 100 貯蔵弾性率の比 ($(25$ での貯蔵弾性率) / (100 での貯蔵弾性率)) が 1.0×10^1 以上 1.0×10^5 以下である幹細胞培養用足場材料。

(2) 前記合成樹脂がポリビニルアセタール樹脂である(1)記載の幹細胞培養用足場材料。

(3) 前記幹細胞が多能性幹細胞である(1)又は(2)記載の幹細胞培養用足場材料。

(4) (1) ~ (3) のいずれか1項記載の幹細胞培養用足場材料を備える、幹細胞培養用容器。

10

【発明の効果】

【0009】

本発明によれば、適度な親水性と強度を備え、幹細胞の播種後の定着性が高い幹細胞培養用足場材料及びそれを用いた幹細胞培養方法が提供される。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】図1Aは実施の形態に係る幹細胞培養用容器の斜視概念図、図1Bはその側面断面概念図である。

【図2】図2は実施の形態に係る6ウェル型の幹細胞培養用容器の斜視概念図である。

20

【図3】図3は細胞播種後5日後の細胞増殖性の評価基準を示す図である。

【図4】図4A及び図4Bのそれぞれは、実施例及び比較例に係る細胞の播種後5日後の位相差顕微鏡写真である。

【発明を実施するための形態】

【0011】

以下に、実施形態を挙げて本発明の説明を行うが、本発明は以下の実施形態に限定されるものではない。

【0012】

[幹細胞培養用足場材料]

本発明者らは上述の課題を解決するべく、合成樹脂の物性面の観点から鋭意検討した結果、所定の貯蔵弾性率を備える合成樹脂を用いることで、上述の課題を解決できることを見出し、本発明を完成するに至った。即ち、合成樹脂を含む幹細胞培養用足場材料であって、 100 貯蔵弾性率が 1.0×10^4 Pa 以上 1.0×10^8 Pa 以下であり、 25 貯蔵弾性率と 100 貯蔵弾性率の比 ($(25$ での貯蔵弾性率) / (100 での貯蔵弾性率)) が 1.0×10^1 以上 1.0×10^5 以下である幹細胞培養用足場材料に関する。

30

この幹細胞培養用足場材料は、適度な親水性と強度を備えるため、幹細胞の播種後の定着性が向上する。特にフィーダー細胞や接着タンパク質を含まない無血清培地培養において、幹細胞播種後の初期定着率が向上する。

【0013】

40

上述の樹脂膜の 100 貯蔵弾性率は、幹細胞を更に好適に接着させる観点から、 1.0×10^5 Pa 以上 1.0×10^7 Pa 以下がより好ましく、 2.0×10^5 Pa 以上 8.0×10^6 Pa 以下がさらに好ましく、 3.0×10^5 Pa 以上 5.0×10^6 Pa 以下が更に好ましい。

上述の樹脂膜の 25 貯蔵弾性率は、幹細胞を更に好適に接着させる観点から、 1.0×10^8 Pa 以上 1.0×10^{10} Pa 以下が好ましく、 3.0×10^8 Pa 以上 8.0×10^9 Pa がより好ましく、 5.0×10^8 Pa 以上 5.0×10^9 Pa がより好ましい。

上述の樹脂膜の 25 貯蔵弾性率と 100 貯蔵弾性率の比が 1.0×10^1 以上 1.0×10^5 以下が好ましく、 1.0×10^2 以上 1.0×10^4 以下がより好ましい。2

50

5 貯蔵弾性率および100 貯蔵弾性率値の値、25 貯蔵弾性率と100 貯蔵弾性率との比が上記範囲であると、播種工程において、ピペット先端で培養容器底面を傷つけることがなく、37 での培養条件下において弾性率変化し、幹細胞を好適に接着させることが可能である。

上述の樹脂膜のガラス転移点は、幹細胞を好適に接着させる観点より、-30 以上、95 以下であることが好ましく、0 以上90 以下であることがより好ましく、20 以上90 以下であることがさらに好ましい。

なお、貯蔵弾性率及びガラス転移点は以下の方法により測定することができる。具体的には、

1. 試料を熱プレスにより重ね合わせることによって厚さ500 μm のシートとする。
2. 得られたシートを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 から150 の温度範囲を昇温速度5 /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 および100 における貯蔵弾性率を求め、25 貯蔵弾性率 / 100 貯蔵弾性率を算出する。
3. 貯蔵弾性率測定により得られるグラフから損失正弦のピーク温度を求め、ガラス転移温度 T_g とする。

【0014】

100 および25 における貯蔵弾性率は、例えば、主鎖および側鎖に剛直な官能基や結晶性の高い官能基を導入することで高分子鎖の運動性を下げることにより貯蔵弾性率を向上することができる。

一方、主鎖および側鎖に柔軟な官能基や結晶性の低い官能基を導入することで高分子鎖の運動性を下げることにより貯蔵弾性率を低下させることができる。

【0015】

幹細胞培養用足場材料は、上述の要件を満たせば成分は特に制限されないが、合成樹脂を含有することが好ましい。

合成樹脂は、重合性モノマー（以下、単に「モノマー」ともいう）を重合（重縮合も含む）して得られるポリマー（以下、単に「ポリマー」ともいう）を主成分とするものをいう。上記ポリマーは一種または二種以上の重合性モノマーのコポリマーも含む。

【0016】

上記ポリマーとしては、例えば、（不）飽和炭化水素、芳香族炭化水素、（不）飽和脂肪酸、芳香族カルボン酸、（不）飽和ケトン、芳香族ケトン、（不）飽和アルコール、芳香族アルコール、（不）飽和アミン、芳香族アミン、（不）飽和チオール、芳香族チオール、および有機ケイ素化合物からなる群から選択される1種以上の重合性モノマーからなるポリマーが挙げられる。

具体的な上記ポリマーとしては、例えば、ポリオレフィン、ポリエーテル、ポリビニルアルコール、ポリビニルアセタール、ポリエステル、ポリ（メタ）アクリル酸エステル、エポキシ樹脂、ポリアミド、ポリイミド、ポリウレタン、ポリカーボネート、セルロース、およびポリペプチド等が挙げられる。これらのなかでも、幹細胞の定着性の観点より、ポリ（メタ）アクリル酸エステル、およびポリビニルアセタールが好ましく、ポリビニルアセタールがより好ましい。

なお、これらのポリマーは、一種類で用いてもよいし、二種類以上組み合わせて用いてもよい。二種類以上のポリマーを組み合わせる場合は、二種類以上のポリマーを混合して用いてもよいし、二種類以上のポリマーの骨格を化学結合させたポリマーとして用いてもよく、また共重合体構造は、グラフトコポリマーおよびブロックコポリマーならびにその組み合わせであってもよい。したがって、合成樹脂として、複数のものを組み合わせる場合には、ポリ（メタ）アクリル酸エステルと、ポリビニルアセタールとを組み合わせることが好ましい。

【0017】

本明細書における、ポリ（メタ）アクリル酸エステルは、モノマーである（メタ）アクリル酸エステルを重合することによって得られる重合体であるが、（メタ）アクリル酸エ

10

20

30

40

50

ステル以外のモノマーを共重合したものも含む。

上記(メタ)アクリル酸エステルとしては特に限定されないが、(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)アクリル酸アリアルエステル、(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、および(メタ)アクリル酸ホスホリルコリンからなる群から選択される少なくとも1種を含有することが好ましい。

【0018】

上記(メタ)アクリル酸アルキルエステルとしては、例えば、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、ステアリル(メタ)アクリレート、およびイソテトラデシル(メタ)アクリレートなどが挙げられる。

なお、これらの(メタ)アクリル酸アルキルエステルは、特に制限はないが、水素原子が炭素原子数1~3のアルコキシ基、テトラヒドロフルフリル基などの種々の置換基で置換されていてもよい。水素原子が上記置換基により置換された(メタ)アクリル酸アルキルエステルとしては、例えば、メトキシエチルアクリレート、およびテトラヒドロフルフリルアクリレート等が挙げられる。

上記(メタ)アクリル酸環状アルキルエステルとしては、例えば、シクロヘキシル(メタ)アクリレート、イソボルニル(メタ)アクリレートなどが挙げられる。

上記(メタ)アクリル酸アリアルエステルとしては、例えば、フェニル(メタ)アクリレート、ベンジル(メタ)アクリレートなどが挙げられる。

上記アクリルアミド類としては、例えば、(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、6-(メタ)アクリルアミドヘキサン酸などが挙げられる。

上記(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-ジエチレングリコール(メタ)アクリレート、ヒドロキシ-ジエチレングリコール(メタ)アクリレート、メトキシ-トリエチレングリコール(メタ)アクリレート、エトキシ-トリエチレングリコール(メタ)アクリレート、ヒドロキシ-トリエチレングリコール(メタ)アクリレートなどが挙げられる。

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

(メタ)アクリル酸エステル以外のモノマーとしては、特に限定はなく、(メタ)アクリル酸、エチレン、ビニルエステル等が挙げられる。

上記(メタ)アクリル酸エステルは単独で用いてもよく、2種以上を併用してもよい。なお、本明細書において、上記(メタ)アクリル酸とは、アクリル酸及びメタクリル酸を総称するものであり、上記(メタ)アクリレートとは、アクリレート及びメタクリレートを総称するものとする。

合成樹脂のなかでも、ポリビニルアセタール樹脂を用いることが好ましい。以下、ポリビニルアセタール樹脂について説明する。

【0019】

10

20

30

40

50

(ポリビニルアセタール樹脂)

ポリビニルアセタール樹脂は、ポリビニルアルコールに対して、アルデヒドによりアセタール化することにより合成される樹脂であり、側鎖にアセチル基と水酸基、そしてアセタール基を有する。

【0020】

上記アセタール化に用いられるアルデヒドとしては、炭素数1～10の鎖状脂肪族基、環状脂肪族基又は芳香族基を有するアルデヒドが挙げられる。これらのアルデヒドとしては、従来公知のアルデヒドを使用できる。

上記アルデヒドの種類は特に限定されないが、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、ノナール、デカナール、アクロレイン、ベンズアルデヒド、シナムアルデヒド、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、ホルミルオキサソラン、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、ホルミルウラシルなどが挙げられる。上記アルデヒドは鎖状であっても環状であっても良い。

【0021】

上記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、ペンタナールであることが好ましく、ブチルアルデヒドがさらに好ましい。

【0022】

上記ポリビニルアルコールはビニル化合物との共重合体であっても良い。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、無水マレイン酸、マレイミド、イタコン酸、(メタ)アクリル酸、(メタ)アクリル酸エステル等が挙げられる。

【0023】

ポリビニルアセタール樹脂は、その一部にブレンステッド塩基性基またはブレンステッド酸性基を有することが好ましい。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またはブレンステッド酸性基により変性されている場合、フィーダー細胞や接着タンパク質を含まない無血清培地培養において、幹細胞播種後の初期定着率が向上し、幹細胞の培養がし易くなるからである。

【0024】

上記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。このような官能基としては、例えば、アミノ基、イミノ基、アミド基、イミド基が挙げられる。

従って、このようなポリビニルアセタール樹脂としては、骨格中に、アミン構造を有する構成単位、イミン構造を有する構成単位およびアミド構造を有する構成単位からなる群から選択される少なくとも一種を含むポリビニルアセタール樹脂が好ましい。

【0025】

上記ブレンステッド酸性基は、水素イオン H^+ を他の物質に渡すことができる物質の総称である。

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、及び、それらの塩等が挙げられる。なかでも、カルボキシル基が好ましい。

上記ポリビニルアセタール樹脂を上記ブレンステッド酸性基により変性する方法としては特に限定されないが、上記イタコン酸や(メタ)アクリル酸との共重合や、グラフトによって得られる。

10

20

30

40

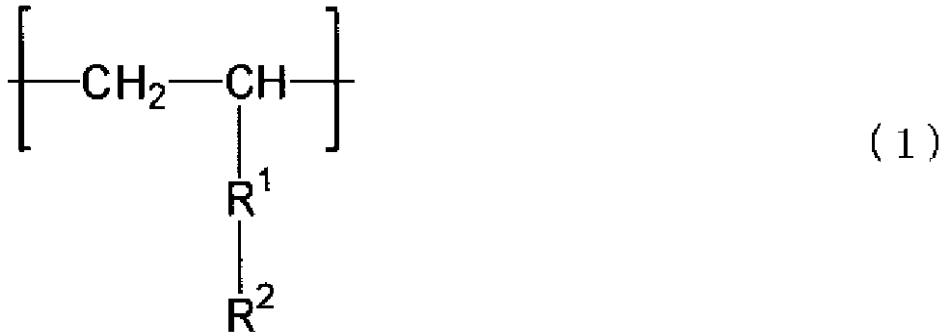
50

【0026】

本発明において、上記イミン構造とは、C = N結合を有する構造をいう。上記変性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。また、上記イミン構造は、変性ポリビニルアセタール樹脂の主鎖を構成する炭素に直接結合してもよく、アルキレン基等の連結基を介して結合していてもよい。なお、上記イミン構造を側鎖に有するとは、上記イミン構造を変性ポリビニルアセタール樹脂のグラフト鎖に有することを含む。上記イミン構造を有する構成単位としては、例えば、下記式(1)に示す構成単位が挙げられる。

【0027】

【化1】



式(1)中、R¹は、単結合、又は、アルキレン基を表し、R²は、イミン構造を有する基を表す。

【0028】

上記式(1)中、R¹がアルキレン基である場合、該アルキレン基の炭素数の好ましい下限は1、好ましい上限は12である。上記アルキレン基の炭素数が12を超えると、最適な強度が得られないことがある。上記R¹がアルキレン基である場合、上記アルキレン基の炭素数のより好ましい上限は5である。

【0029】

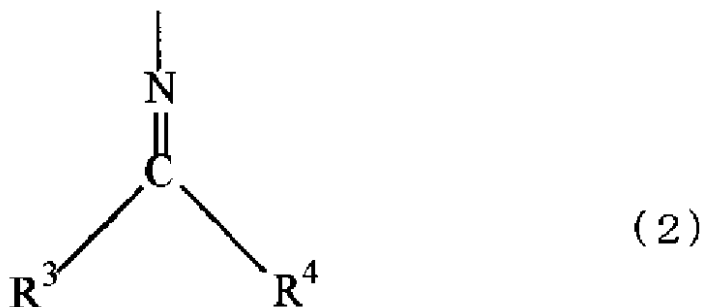
上記式(1)中、R¹がアルキレン基である場合、該アルキレン基としては、例えば、メチレン基、エチレン基、トリメチレン基、テトラメチレン基、ペンタメチレン基、ヘキサメチレン基、オクタメチレン基、デカメチレン基等の直鎖状アルキレン基、メチルメチレン基、メチルエチレン基、1-メチルペンチレン基、1,4-ジメチルブチレン基等の分岐状アルキレン基、シクロプロピレン基、シクロブチレン基、シクロヘキシレン基等の環状アルキレン基等が挙げられる。なかでも、メチレン基、エチレン基、トリメチレン基、テトラメチレン基等の直鎖状アルキレン基が好ましく、メチレン基、エチレン基がより好ましい。

【0030】

上記R²としては、下記式(2)に示す官能基が挙げられる。

【0031】

【化2】



式(2)中、R³は水素原子又は炭素数1~18の炭化水素基を表し、R⁴は炭素数1

10

20

30

40

50

～ 18 の炭化水素基を表す。

【 0 0 3 2 】

上記炭化水素基としては、飽和炭化水素基、不飽和炭化水素基、芳香族系炭化水素基等が挙げられる。なお、上記炭化水素基は、飽和炭化水素基、不飽和炭化水素基、芳香族系炭化水素基のみからなるものであってもよく、これらが2種以上用いられたものであってもよい。

【 0 0 3 3 】

上記飽和炭化水素基としては、例えば、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、*iso*-ブチル基、*sec*-ブチル基、*tert*-ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基、ヘプチル基、2-エチルヘキシル基、オクチル基、ノニル基、デシル基、ウンデシル基、ドデシル基、トリデシル基、テトラデシル基、ペンタデシル基、オクタデシル基等が挙げられる。なかでも、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*n*-ブチル基が好ましい。

上記芳香族系炭化水素基としては、例えば、フェニル基、トルイル基、キシリル基、*t*-ブチルフェニル基、ベンジル基等が挙げられる。

【 0 0 3 4 】

上記変性ポリビニルアセタール樹脂において、上記イミン構造を有する構成単位中、 R^1 が単結合、 R^3 が水素原子、メチル基又はエチル基、 R^4 がメチル基又はエチル基であることが好ましい。

【 0 0 3 5 】

上記変性ポリビニルアセタール樹脂は、イミン構造を有する構成単位の含有量の好ましい下限が0.1モル%、好ましい上限が20.0モル%である。上記イミン構造を有する構成単位の含有量が0.1モル%以上であると、経時粘度安定性が良好なものとなる。上記イミン構造を有する構成単位の含有量が20.0モル%以下であると、アセタール化を十分に進行させることができる。上記イミン構造を有する構成単位の含有量のより好ましい下限は1.0モル%、より好ましい上限は15.0モル%である。

【 0 0 3 6 】

上記変性ポリビニルアセタール樹脂において、イミン構造を有する構成単位の含有量と、後述するアセタール化度の比率（イミン構造を有する構成単位の含有量/アセタール化度）は、0.001～0.5が好ましい。上記範囲内とすることで、高い強度及び優れた接着性を両立して、接着後の耐久性を向上させることが可能となる。

【 0 0 3 7 】

上記変性ポリビニルアセタール樹脂は、イミノ基（=NH）構造を有する構成単位を有することが好ましい。

上記変性ポリビニルアセタール樹脂は、上記イミノ基を側鎖に有することが好ましい。また、上記イミノ基は、変性ポリビニルアセタール樹脂の主鎖を構成する炭素に直接結合してもよく、アルキレン基等の連結基を介して結合していてもよい。

【 0 0 3 8 】

上記変性ポリビニルアセタール樹脂は、アミノ基又はアミド構造を有する構成単位を有することが好ましい。

上記変性ポリビニルアセタール樹脂は、上記アミノ基又はアミド構造を側鎖に有することが好ましい。また、上記アミノ基又はアミド構造は、変性ポリビニルアセタール樹脂の主鎖を構成する炭素に直接結合してもよく、アルキレン基等の連結基を介して結合していてもよい。更に、上記アミノ基は第一級アミンでもよく、第二級アミンでもよく、第三級アミンでもよく、第四級アミンでもよい。これらのなかでも、細胞定着性の観点より、第一級アミンが好ましい

なお、上記アミノ基又はアミド構造を側鎖に有するとは、上記アミノ基又はアミド構造を変性ポリビニルアセタール樹脂のグラフト鎖に有することを意味する。

特に、上記アミノ基は、 $-NH_2$ であることが好ましい。なお、本発明において、アミド構造とは、 $-C(=O)-NH-$ を有する構造をいう。なかでも、上記アミノ基を有す

10

20

30

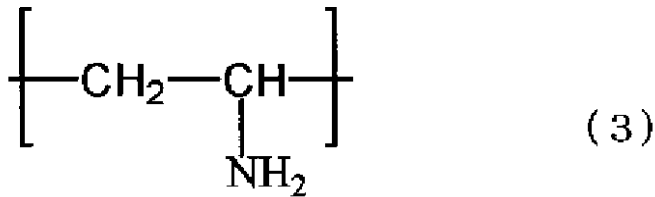
40

50

る構成単位は、下記式(3)に示す構造であることが好ましい。また、上記アミド構造を有する構成単位は、下記式(4)に示す構造であることが好ましい。

【0039】

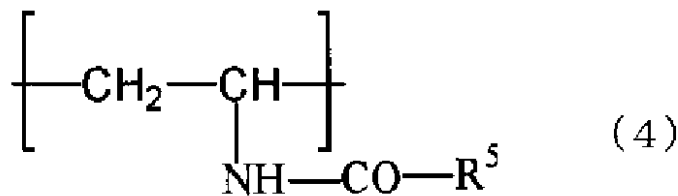
【化3】



10

【0040】

【化4】



式(4)中、R⁵は水素原子又は炭素数1~10の炭化水素基を表す。なお、上記炭化水素基としては、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、シクロアルケニル基が挙げられる。

20

【0041】

上記アミノ基又はアミド構造を有する構成単位の含有量の好ましい下限は0.1モル%、好ましい上限は20モル%である。上記アミノ基又はアミド構造を有する構成単位の含有量が0.1モル%以上であると、付加特性を十分なものとする事ができる。上記含有量が20モル%以下であると、溶解性が上がりすぎることがなく、沈殿法による変性ポリビニルアセタール樹脂粉末の取り出しが容易となる。上記含有量のより好ましい下限は0.5モル%、より好ましい上限は10モル%である。なお、上記アミノ基又はアミド構造を有する構成単位の含有量はNMR等で測定可能である。また、上記アミノ基又はアミド構造を有する構成単位と、イミン構造を有する構成単位とを合計した含有量の好ましい下限は0.1モル%、好ましい上限は20モル%である。上記含有量のより好ましい下限は0.5モル%、より好ましい上限は10モル%である。

30

【0042】

上記変性ポリビニルアセタール樹脂において、イミン構造を有する構成単位と、アミノ基又はアミド構造を有する構成単位との含有量の比率(イミン構造を有する構成単位/アミノ基又はアミド構造を有する構成単位)は、0.5/99.5~99.5/0.5であることが好ましい。上記比率が0.5/99.5以上であると、経時粘度安定性を十分なものとする事ができ、上記比率が99.5/0.5以下であると、定着性の観点より架橋性能を十分に発揮することができる。上記比率のより好ましい下限は5/95、より好ましい上限は75/25である。

40

【0043】

上記変性ポリビニルアセタール樹脂のアセタール化度は特に限定されないが、好ましい下限が60モル%、好ましい上限は90モル%である。アセタール化度が60モル%以上であると、幹細胞の定着性に優れ、高効率に細胞増殖を行うことができる。また、アセタール化度が90モル%以下であると、溶剤への溶解性を良好なものとする事ができる。より好ましくは60モル%よりも高く、さらに好ましくは65モル%以上であり、より好ましくは85モル%以下、さらに好ましくは80モル%以下である。上記変性ポリビニルアセタール樹脂のアセタール度はNMR等で測定可能である。

【0044】

上記変性ポリビニルアセタール樹脂は、アセチル基量は特に限定されず、好ましい下限

50

が 0.0001 モル%、好ましい上限が 5 モル%である。

【0045】

ポリビニルアセタール樹脂の骨格中に、アミン構造を有する構成単位、イミン基を有する構成単位、及びアミド構造を有する構成単位からなる群から選択される少なくとも一種の官能基を、播種直後の細胞接着性の観点から 1 ~ 100.1 ~ 30 モル%含むことが好ましい。モル%含むことがより好ましい。

ここで、本明細書で用いられる用語の説明を行う。

「幹細胞」とは、自己複製能と分化能を有する細胞をいう。幹細胞のうち、自己複製能を有し、かつ、1つの細胞から、内胚葉、中胚葉、外胚葉の全ての細胞へ分化できるものを「多能性幹細胞」という。

多能性幹細胞としては、例えば、人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell、以下「iPS細胞」という。)、胚性幹細胞 (embryonic stem cells、以下「ES細胞」という。)、Muse細胞 (multilineage differentiating stress enduring cells)、胚性がん細胞 (embryonic germ cell)、胚性生殖幹細胞 (embryonic germ cell)、mGS細胞 (multipotent germ stem cell) 等が挙げられる。

幹細胞のうち、自己複製能を有し、外胚葉系組織、内胚葉系組織、中胚葉系組織、生殖系組織のいずれかに属し、それが属している臓器の構成細胞種への限られた分化能を示すものを「組織幹細胞」および「組織前駆細胞」という。

組織幹細胞および組織前駆細胞としては、例えば、神経幹細胞、神経堤幹細胞、網膜幹細胞、角膜幹細胞、ケラチノサイト表皮幹細胞、メラノサイト幹細胞、乳腺幹細胞、肝幹細胞、腸幹細胞、気道幹細胞、造血幹細胞、間葉系幹細胞、心臓幹細胞、血管内皮前駆細胞、血管周皮細胞、骨格筋幹細胞、脂肪幹細胞、腎前駆細胞、精子幹細胞等が挙げられる。

本発明の一実施態様である幹細胞足場材料を使用することで、上記幹細胞種は特に問わないが、幹細胞足場材料として使用することができる。なかでも、多能性幹細胞、特にiPS細胞の培養に用いられることが好ましい。フィーダー細胞や接着タンパク質を含まない無血清培地培養において、幹細胞播種後の初期定着率が向上し、幹細胞の培養を好適に行うことができる。

このような幹細胞としては、例えば「もっとよくわかる！幹細胞と再生医療」(羊土社、長船健二著)に記載の幹細胞を挙げることができる。

【0046】

ポリビニルアセタール樹脂の重合度下限は、100が好ましく、200がより好ましく、500がさらに好ましく、1500がさらにより好ましい。重合度が上記範囲であると、細胞培養にしようとする培地で膨潤しても足場材強度を好適に保つことが出来ることから、細胞増殖性が向上する。重合度上限は6000が好ましく、3000がより好ましく、2500がさらに好ましい。重合度が上記範囲であると、取り扱い性が良く、足場材を好適に成形出来る。

【0047】

[幹細胞の培養方法]

上述の幹細胞培養用足場材料によれば、様々な幹細胞を培養することができるが、その特性を考慮すると、幹細胞のなかでも多能性幹細胞の培養に用いることが好ましい。一般的に、多能性幹細胞は播種後の培養の定着率が低いとされているが、上述の幹細胞培養用足場材料は、培養培地の水分によって膨潤し難く、適度な親水性と強度を維持できるので、多能性幹細胞の播種後の定着率が向上するからである。

【0048】

[幹細胞培養用容器]

本発明は上述の幹細胞培養用足場材料を用いた幹細胞培養用容器にも関する。即ち、幹細胞培養用容器であって、幹細胞培養用容器は、幹細胞の培養領域の少なくとも一部に、上述の幹細胞足場材料からなる樹脂膜を備える幹細胞培養用容器に関する。

図1Aは実施の形態に係る幹細胞培養用容器の斜視概念図、図1Bはその側面断面概念

10

20

30

40

50

図である。幹細胞培養用容器の形状は特に制限されないが、例えば図 1 A に示すような有底円柱状のシャーレ 1 を用意し、その底面の幹細胞の培養領域に、図 1 B に示すように樹脂膜 1 2 を設ける態様が挙げられる。

【 0 0 4 9 】

幹細胞培養用足場材料は、幹細胞の培養において、平面培養（二次元培養方法）に用いることの他に、生体内により近い状態、例えば多孔質膜やハイドロゲルなどの基材上での幹細胞の培養（三次元培養方法）に用いることができる。細胞培養用足場材料をバイオリアクター等に用いることにより、効率良く幹細胞を増殖させることができるからである。

細胞培養用足場材料は、適度な親水性と強度を備えることから、二次元培養方法に用いられることが好ましい。

【 0 0 5 0 】

平面培養（二次元培養方法）用容器としては、形状や大きさは特に限定されないが、1 つまたは複数のウェル（穴）を備える細胞培養用テストプレートや、細胞培養用フラスコが挙げられる。例えば、図 2 に示すような 6 つのウェルを有する幹細胞培養用容器を用いることができる。上記マイクロプレートのウェルの数は限定されず、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は特に限定されないが、平底、丸底、凹凸等が挙げられる。

1 つまたは複数のウェル（穴）を備える細胞培養用テストプレートや、細胞培養用フラスコの材質は特に限定されないが、高分子樹脂や金属、無機材料が挙げられる。上記高分子樹脂としては、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。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。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。

【 0 0 5 1 】

上述の他にも、細胞培養用足場材料は、幹細胞を培地中で自由に浮遊させて成長させる浮遊培養方法に用いることができる。

【 0 0 5 2 】

[その他の実施の形態]

本発明は、上述の幹細胞培養用足場材料の他にも、その他の実施の形態として、幹細胞培養用足場材料を用いた発明が提供される。

例えば、上述の幹細胞培養用足場材料と、多糖類と、を含有する幹細胞培養用担体（媒体）が提供される。多糖類としては、特に制限なく様々な多糖類を用いることができる。なかでも水溶性多糖類が好ましい。

【 0 0 5 3 】

その他にも、幹細胞培養用足場材料を備える幹細胞培養用繊維が提供される。この場合、幹細胞培養用足場材料は、繊維上に塗布されていることが好ましい。また幹細胞培養用足場材料は、繊維中に含漬されたり、練り込まれている形態であってもよい。幹細胞培養用繊維は、フラスコなどの平面構造には接着しにくいですが、線維（fibril）状構造などの立体構造には接着しやすい幹細胞の三次元培養方法に適している。幹細胞のなかでも、特に脂肪幹細胞の培養に適している。

【 0 0 5 4 】

上記幹細胞培養用足場材料は架橋されていても良い。架橋されることで水膨潤性を抑制し、好適に強度を上げることができるからである。幹細胞培養用足場材料に更に架橋剤を加えて架橋させてもよい。

架橋剤としては特に限定されないが、ポリアルコールやポリカルボン酸、ヒドロキシカルボン酸、金属石鹸、多糖類等が挙げられる。

10

20

30

40

50

ポリアルコールとしては特に限定されないが、エチレングリコール、プロピレングリコール、ブタンジオール、ペンタンジオール、ヘキサジオール、ヘプタンジオール、オクタジオール、ノナンジオール、デカンジオール、ドデカンジオール、ウンデカンジオール、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール、テトラエチレングリコール、ポリエチレングリコール、カテコール、ピロガロール、ジボロン酸、メチレンジボロン酸、エチレンジボロン酸、プロピレンジボロン酸、フェニレンジボロン酸、ビフェニルジボロン酸、ビスフェノール誘導体等が挙げられる。

ポリカルボン酸としては特に限定されないが、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、グルタル酸、アジピン酸、ピメリン酸、スペリン酸、アゼライン酸、セバシン酸、フタル酸、ポリ(メタ)アクリル酸等が挙げられる。

10

ヒドロキシカルボン酸としては特に限定されないが、グリコール酸、乳酸、タルトロン酸、グリセリン酸、ヒドロキシ酪酸、リンゴ酸、酒石酸、シトマル酸、クエン酸、イソクエン酸、ロイシン酸、メバロン酸、パントイン酸、リシノール酸、リシネライジン酸、セレブロン酸、キナ酸、シキミ酸、ヒドロキシ安息香酸、サリチル酸、クレオソート酸、バニリン酸、シリング酸、ピロカテク酸、レソルシル酸、プロトカテク酸、ゲンチジン酸、オルセリン酸、没食子酸、マンデル酸、ベンジル酸、アトロラクチン酸、メリロト酸、フロレト酸、クマル酸、ウンベル酸、コーヒー酸、フェルラ酸、シナピン酸、ヒドロキシステアリン酸等が挙げられる。

金属石鹼としては特に限定されないが、ステアリン酸、ラウリン酸、リシノール酸、オクチル酸などの脂肪酸と、リチウム、ナトリウム、マグネシウム、カルシウム、バリウム、亜鉛、アルミニウムなどの金属の塩が挙げられる。

20

多糖類としては特に限定されないが、ペクチン、グアーガム、キサントガム、タマリンドガム、カラギーナン、プロピレングリコール、カルボキシメチルセルロース、アミロース、アミロペクチン、グリコーゲン、セルロース、キチン、アガロース、カラギーナン、ヘパリン、ヒアルロン酸、キシログルカン、グルコマンナン酸等が挙げられる。

【実施例】

【0055】

以下に、実施例及び比較例を挙げて本発明を説明するが本発明は以下の実施例に限定解釈されることはない。なお、得られた合成樹脂の構成単位、例えば、アミノ基を有する構成単位の含有量(モル%)、イミン構造を有する構成単位の含有量(モル%)、アセタール化度(モル%)、アセチル基量(モル%)、水酸基量(モル%)等は、合成樹脂をDMSO-d₆(ジメチルスルホキサイド)に溶解し、¹H-NMR(核磁気共鳴スペクトル)を用いて測定した。

30

【0056】

[実施例1]

(ポリビニルブチラルの調製)

攪拌装置を備えた反応機に、イオン交換水2700mL、平均重合度300、鹼化度99モル%のポリビニルアルコールを300g投入し、攪拌しながら加熱溶解し、溶液を得た。次に、この溶液に触媒として35質量%塩酸を、塩酸濃度が0.2質量%となるように添加し、温度を15℃に調整した後、攪拌しながらn-ブチルアルデヒド(n-BA)20gを添加した。その後、n-ブチルアルデヒド(n-BA)130gを添加したところ、白色粒子状のポリビニルブチラル樹脂が析出した。析出してから15分後に、35質量%塩酸を、塩酸濃度が1.8質量%になるように添加し、50℃に加熱し、50℃で2時間熟成させた。次いで、溶液を冷却し、中和した後、ポリビニルブチラル樹脂を水洗し、乾燥させることにより、ポリビニルブチラルを得た。

40

得られたポリビニルブチラルは、平均重合度300、水酸基量36モル%、アセチル基量1モル%、アセタール化度63モル%であった。

【0057】

(細胞培養用容器の調製)

得られたポリビニルブチラル1gをブタノール19gに溶解させることで、ポリビニ

50

ルブチラール溶液を得た。得られたポリビニルブチラール溶液 150 μ L を 22 mm のカバーガラス上に吐出し、スピンコーターを用いて 2000 rpm、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ガラスごと 22 mm のポリスチレンディッシュに投入することで細胞培養用容器を得た。

【0058】

以下の条件において樹脂膜を備える細胞培養用容器について試験を行った。

(細胞培養試験の方法)

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 $^{\circ}$ C のインキュベーター内で 1 時間静置した。ディッシュ内のリン酸緩衝生理食塩水を除いた後、h-iPS 細胞 253 G1 を 1.5×10^4 を播種し、培地 TeSR E8 (STEM CELL 社製) 1 mL および、ROCK-Inhibitor (Y27632) 10 μ M 存在下、37 $^{\circ}$ C、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 750 μ L 除き、新たな TeSR E8 250 μ L を加え、ROCK-Inhibitor (Y27632) 10 μ M に調整することで培地交換を行った。

10

【0059】

(膜物性の評価方法)

(1) 貯蔵弾性率

得られた樹脂膜を熱プレスにより重ね合わせることで厚さ 500 μ m のシートを得た。得られたシートを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 から 150 $^{\circ}$ C の温度範囲を昇温速度 5 $^{\circ}$ C/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 $^{\circ}$ C および 100 $^{\circ}$ C における貯蔵弾性率を求め、25 $^{\circ}$ C 貯蔵弾性率 / 100 $^{\circ}$ C 貯蔵弾性率を算出した。

20

(2) Tg

貯蔵弾性率測定により得られたグラフから損失正接のピーク温度を求め、ガラス転移温度 Tg とした。

【0060】

(細胞塊培養試験の方法)

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 $^{\circ}$ C 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 252 G1 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 TeSR E8 培地でピペッティングにより 50 ~ 200 μ m に砕かれた細胞塊を 1.0×10^5 を培養容器に播種し、培地 TeSR E8 (STEM CELL 社製) 1 mL および、ROCK-Inhibitor (Y27632) 10 μ M 存在下、37 $^{\circ}$ C、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 750 μ L 除き、新たな TeSR E8 を 250 μ L 加えることで培地交換を行った。

30

【0061】

(培養評価の方法)

(1) 落下評価 (耐傷性評価)

10mm のジルコニアボール (YTZ-10) を高さ 1cm から足場材料に落下させた際に落下痕の有無を目視で判別し評価を行った。以下の基準に従って判定を行った。

○: 落下痕が見られなかった

×: 落下痕が見られた

(2) 細胞増殖性

細胞培養試験において、細胞播種後 5 日経過後の細胞像を位相差顕微鏡 10 \times 4 位の位相差顕微鏡 (オリンパス社製、IX73) を用いて取得した。その際、培養容器内の最も平均的な接着形態を示す視野の画像の取得を行った。得られた画像を図 3 の見本 1 ~ 見本 10 と照らし合わせることで細胞増殖性の評価を行った。図 3 において、細胞増殖によりコロニーが成長するほど高評価とした。なお、コロニーは横方向 (画面の縦横方向) に成

40

50

長し過ぎると縦方向（画面の手前側方向）に積み重なり始めるため、光の透過性が低くなる傾向がある。得られた実施例及び比較例の結果を図4A、図4Bにまとめて示す。

【0062】

[実施例2]

平均重合度250のポリビニルアルコールを使用したこと、n-ブチルアルデヒドの投入量を22g、および148gにしたこと以外は、実施例1同様にして試験を行った。

【0063】

[実施例3]

平均重合度850のポリビニルアルコールを使用したこと以外は、実施例2同様にして試験を行った。

10

【0064】

[実施例4]

平均重合度1700のポリビニルアルコールを使用したこと以外は、実施例2同様にして試験を行った。

【0065】

[実施例5]

平均重合度2400のポリビニルアルコールを使用したこと、および、n-ブチルアルデヒド(n-BA)の代わりに、アセトアルデヒドを使用すること以外は、実施例2同様にして試験を行った。

【0066】

20

[実施例6]

平均重合度850、鹸化度98モル%、エチレン変性度4モル%のポリビニルアルコールを使用したこと以外は、実施例2同様にして試験を行った。

【0067】

[実施例7]

平均重合度250、鹸化度99モル%、上記式(3)に示すアミノ基を有する構成単位を2モル%含有するポリビニルアルコールを使用したこと以外は、実施例2同様にして試験を行った。

【0068】

[実施例8]

30

平均重合度1600、鹸化度99モル%、上記式(3)に示すアミノ基を有する構成単位を2モル%含有するポリビニルアルコールを使用したこと以外は、実施例2同様にして試験を行った。

【0069】

[実施例9]

メタクリル酸メチル48重量部、および、ブチルメタクリレート45重量部、メトキシメチルアクリレート7重量部をテトラヒドロフラン300重量部に溶解させてアクリルモノマー溶液を得た。得られたアクリルモノマー溶液にIrgacure184(BASF社製)2重量部を溶解させ、PETフィル上に塗布した。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で照射することでアクリル樹脂溶液を得た。得られたアクリル樹脂溶液を80、3時間真空乾燥させることでアクリル樹脂を得た。得られたアクリル樹脂を3重量%ブタノール溶液に調整し、実施例1同様にして試験を行った。得られた樹脂の重量平均分子量は約7万であった。

40

【0070】

[比較例1]

足場材樹脂を用いず、ポリスチレンディッシュのみで実施例1同様にて試験を行った。

【0071】

[比較例2]

アクリルモノマーにN-イソプロピルアクリルアミド100重量部を使用したこと以外

50

は、実施例 9 同様にして試験を行った。得られた樹脂の重量平均分子量は約 10 万であった。

【 0 0 7 2 】

[比較例 3]

アクリルモノマーにメタクリル酸メチル 100 重量部を使用したこと以外は、実施例 9 同様にして試験を行った。得られた樹脂の重量平均分子量は約 9 万であった。

【 0 0 7 3 】

[比較例 4]

アクリルモノマーにブチルアクリレート 100 重量部を使用したこと以外は、実施例 9 同様にして試験を行った。得られた樹脂の重量平均分子量は約 12 万であった。

10

【 0 0 7 4 】

[比較例 5]

アクリルモノマーに両末端サイラプレーン FM - 7711 (JNC 社製) 100 重量部を使用したこと以外は、実施例 9 同様にして試験を行った。得られた樹脂の重量平均分子量は分子量が測定不可であった。

【 0 0 7 5 】

得られた結果をまとめて表 1 に示す。なお、いずれの実施例及び比較例においても分化した細胞は観察されなかった。

【表 1】

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	実施例7	実施例8	実施例9	比較例1	比較例2	比較例3	比較例4	比較例5
合成樹脂	アセタル化度(モル%)	63	71	68	65	64	77	77	-	-	-	-	-	-
	ポリビニル アセタル樹脂	1	1	1	1	2	1	1	-	-	-	-	-	-
	アセタル基量(モル%)	36	28	31	34	30	20	20	-	-	-	-	-	-
	水酸基量(モル%)	-	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-
樹脂特性	アミノ基を有する構成単位の含有量(モル%)	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-
	ポリスチレン樹脂(モル%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ポリ(メタ)アクリル酸エステル(モル%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
膜物性	重合度	300	250	850	1700	2400	250	1600	600	1000	800	900	1000	100
	25℃貯蔵弾性率(Pa)	2.1×10^6	2.2×10^9	2.1×10^9	1.5×10^9	2.6×10^9	7.1×10^8	2.8×10^6	1.2×10^3	2.3×10^9	1.4×10^9	3.1×10^9	2.7×10^7	4.6×10^6
	100℃貯蔵弾性率(Pa)	5.2×10^5	2.7×10^6	2.8×10^6	3.0×10^5	3.4×10^6	3.1×10^5	3.3×10^6	1.8×10^6	2.1×10^8	5.4×10^8	1.2×10^9	2.1×10^7	1.6×10^6
	25℃貯蔵弾性率/100℃貯蔵弾性率	4.1×10^9	8.2×10^2	7.5×10^2	5.0×10^2	7.6×10^2	2.3×10^3	9.0×10^2	6.7×10^2	1.1×10^3	2.6×10^9	1.5×10^9	1.3×10^9	2.9×10^9
培養評価	T _g (℃)	66	59	67	71	86	70	72	56	100	134	105	-55	-122
	落下昇温(耐傷性評価)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	x	x
	細胞増殖性	4	4	5	6	6	6	7	3	1	1	1	1	1

10

20

30

40

【 図 1 】

図1A

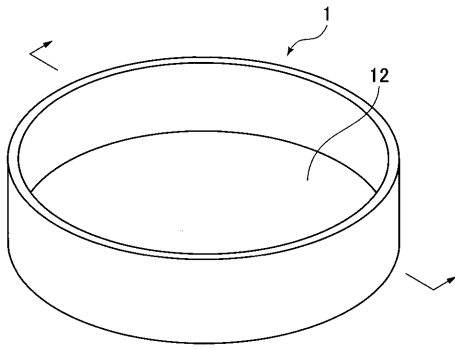
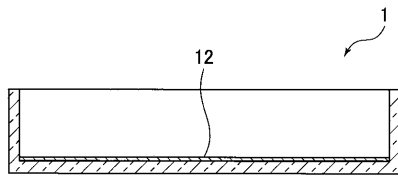
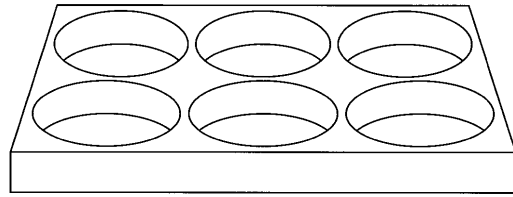


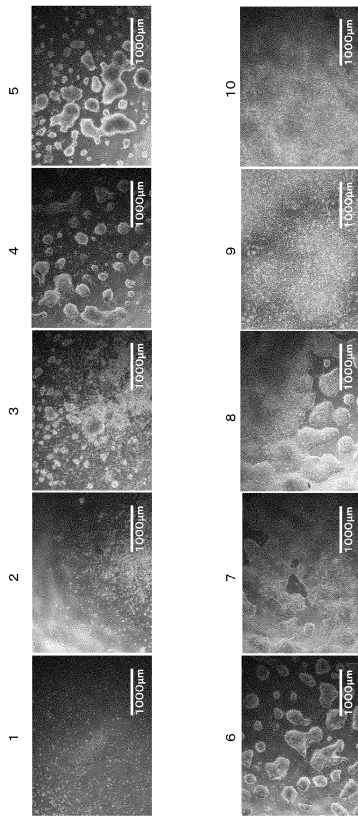
図1B



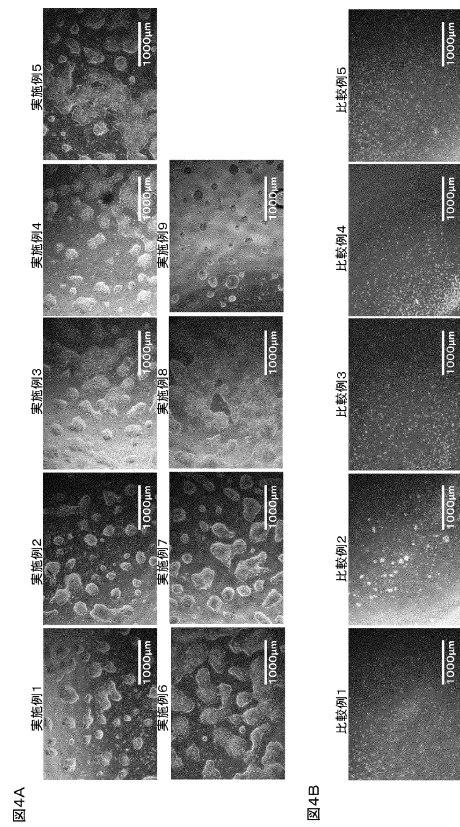
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



フロントページの続き

- (72)発明者 井口 博貴
大阪府三島郡島本町百山2 - 1 積水化学工業株式会社内
- (72)発明者 新井 悠平
大阪府三島郡島本町百山2 - 1 積水化学工業株式会社内

審査官 鈴木 崇之

- (56)参考文献 特開2009 - 273444 (JP, A)
特開2006 - 314285 (JP, A)
TOGAMI W., et al., Effects of water-holding capability of the PVF sponge on the adhesion and differentiation of rat bone, JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH A, 2013年 7月22日, Vol. 102A, Issue 1, pp. 247-253
TOGAMI W., et al., Effects of the water-holding capability of polyvinyl formal sponges on osteogenic ability in vivo, JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH B: APPLIED BIOMATERIALS, 2014年 5月13日, Vol. 103B, Issue 1, pp. 188-194
MIYOSHI H., et al., Three-dimensional culture of mouse bone marrow cells within a porous polymer scaffold: effects of oxygen, JOURNAL OF TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE, 2010年 7月23日, Vol. 5, pp. 112-118

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12M 1/00 - 3/10
C12N 1/00 - 7/08
C08F 8/28
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS(STN)