

株式会社 G-HEAD 御中

# 報 告 書

試験の名称: 緩衝法次亜水のヒトコロナウイルス不活化効果試験

令和2年10月30日

R2-111

特定非営利活動法人 バイオメディカルサイエンス研究会

〒141-0021 東京都品川区上大崎2-20-8 3F

TEL : 03-5740-6181 FAX : 03-5740-6185



試験の名称：緩衝次亜水のヒトコロナウイルス効果試験

依頼者：株式会社 G-HEAD

受託者：特定非営利法人バイオメディカルサイエンス研究会

試験主任者：習志野実験施設 常任理事 水越幹雄

試験実施施設：千葉県習志野市茜浜 1-12-3

特定非営利法人バイオメディカルサイエンス研究会習志野実験施設

資料の保管場所：同上

報告書作成日：令和2年10月30日

報告書作成者：習志野実験施設 常任理事 水越幹雄

# 緩衝法次亜水のヒトコロナウイルス不活化効果試験

目的：緩衝法次亜水の抗コロナウイルス（ヒト）への効果を検証する。

## 材料

- 被験物質（サンプル）：  
緩衝法次亜水 300ppm—HASH  
対照                    PBS
- 使用ウイルス：Human Coronavirus 229E (ATCC VR-740)  
使用細胞：MRC-5 Lung Fibroblast (ATCC 171)

## 試験方法① 不活化試験 (ISO 18184 準拠)

- 検体の作成  
上記被験物質 50・100・200  $\mu$ l を規定のバイアル瓶に加え、さらに純水を各 150・100・0  $\mu$ l を追加して準備する。対象として PBS(pH6.8)を 200  $\mu$ l 加える。
- 本試験
  - 上記サンプル入りバイアル瓶に（ヒトコロナウイルス液）を 200  $\mu$ l 垂らし、25℃にてバイアル瓶内に保つ。
  - 1分後・5分後 SCDLP 培地を 9ml 加え、バイアル瓶にてヴォルテックスで1分間×3回抽出後プラークアッセイまで4℃に保つ。
  - 感染価測定：MRC-5によるプラーク法で行う。

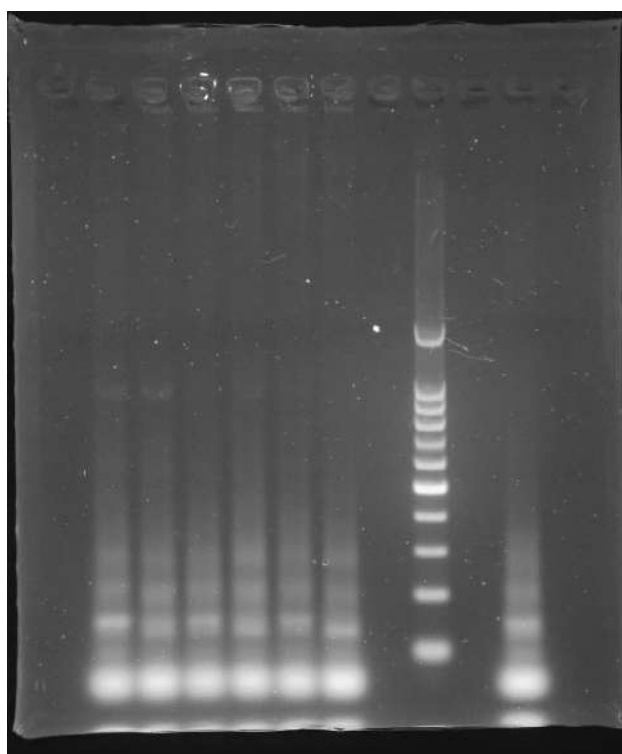
## 3. 結果（検出限界 10<sup>1</sup>）

被験物質	1分間	5分間
PBS	1.3 × 10 <sup>6</sup>	1.3 × 10 <sup>6</sup>
緩衝法次亜水 50 $\mu$ l	2.8 × 10 <sup>3</sup>	<10 <sup>1</sup>
緩衝法次亜水 100 $\mu$ l	7.1 × 10 <sup>2</sup>	<10 <sup>1</sup>
緩衝法次亜水 200 $\mu$ l	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>

各被験物質について、ヒトコロナウイルス液と反応させ、経時的に PCR 検査を実施した。ヒトコロナウイルスの RNA のバンドは時間とともに消失し、プラーク法の結果と一致した。

# 電気泳動写真

1分後



1 2 3 4 5 6 7

- 凡例 -

- 1. 50  $\mu$ l 75ppm 相当
- 2. 50  $\mu$ l 75ppm 相当
- 3. 100  $\mu$ l 150ppm 相当
- 4. 100  $\mu$ l 150ppm 相当
- 5. 200  $\mu$ l 300ppm 相当
- 6. 200  $\mu$ l 300ppm 相当
- 7. マーカー

5分後



1 2 3 4 5 6 7 8 9

- 凡例 -

- 1. 50  $\mu$ l 75ppm 相当
- 2. 50  $\mu$ l 75ppm 相当
- 3. 100  $\mu$ l 150ppm 相当
- 4. 100  $\mu$ l 150ppm 相当
- 5. 200  $\mu$ l 300ppm 相当
- 6. 200  $\mu$ l 300ppm 相当
- 7. マーカー
- 8. PBS
- 9. PBS

**考察：** 緩衝法次亜水（300ppm—HASH）は、顕著なウイルス不活活性を示し、5 分間では3 濃度のすべてで、完全に不活し、PCR で RNA は完全に消滅した。

1 分間では、100ppm 以上で、 $10^5$  の5 乗以上の活性値を示した。PCR では、75ppm 条件で RNA のバンドが見える。