

株式会社ユニワイド御中

報告書

液体検体の新型コロナウイルスへの効果試験

令和3年3月31日

R3-149-2

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：液状検体の新型コロナウイルスへの効果試験

依頼者：株式会社ユニワイド

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：常任理事 水越幹雄

試料保管場所：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

報告書作成日：令和 3 年 3 月 3 1 日

報告書作成者：常任理事 水越幹雄

液状検体の新型コロナウイルスへの効果試験

目的：宮崎大学において液状検体の新型コロナウイルスへの効果を検証する。

材料

1 被験物質（サンプル）：

液状検体 ホタテ貝焼成抽出（ユニウォッシュ）

2 使用ウイルス

使用ウイルス：SARS-CoV-2/JPN/TY/WK-521 国立感染症研究所より分与

使用細胞：VeroE6/TMPRSS2 国立感染症研究所より分与

試験方法（宮崎大学実施方法）

1 感作

5.3×10^5 pfu/mL のウイルス液 $10 \mu\text{L}$ に、試験対象液（原液）を $30 \mu\text{L}$ 混合し、常温で5分間、30分間感作した。

2 測定

① FCS入り培地（EMEM + 2%FCS） $960 \mu\text{l}$ を添加した。

② 10倍階段希釈

③ 各希釈液 $500 \mu\text{l}$ を100%コンフルのVeroE6/TMPRESS2細胞に接種する（12-well Plate）

④ $37^\circ\text{C} \cdot 5\% \text{CO}_2$ で2時間吸着させ、その後PBSで1回洗浄し、その後、重曹培地（メチルセルロース添加）、 $37^\circ\text{C} \cdot 5\% \text{CO}_2$ で3日間培養する。

3 固定・染色

① 被検体と陰性コントロール（PBS）でN=3で行う。

② 固定は10%ホルマリン液を重曹培地の上から 1mL/well で添加し、安全キャビネット内・UV下で30分間静置する。

③ 水道水で洗浄した後、0.2%クリスタルバイオレット溶液で5分間染色し、再び水道水で洗浄し乾燥した。

4 細胞毒性評価

細胞毒性が認められなかった。

成績：成績は下表のようであった。

感染価ならびに不活化率

被験織物	感染価 (PFU/0.1mL) 5 分間	感染価 (PFU/0.1mL) 30 分間
初期値 (想定値 5.0×10^5)	5.29×10^5 —	5.29×10^5 —
ホタテ貝焼成抽出 (ユニウォッシュ)	$< 2 \times 10^2$ 検出限界 99.96%	$< 2 \times 10^2$ 検出限界 99.96%

考察：液状検体は、新型コロナウイルスに対して、顕著な抗ウイルス性を示した。

以上

Materials

Virus: SARS-CoV-2 JPN/TY/WK-521 (provided by NIID)

Cells: VeroE6/TMPRSS2 (12-well plate)

Protocol

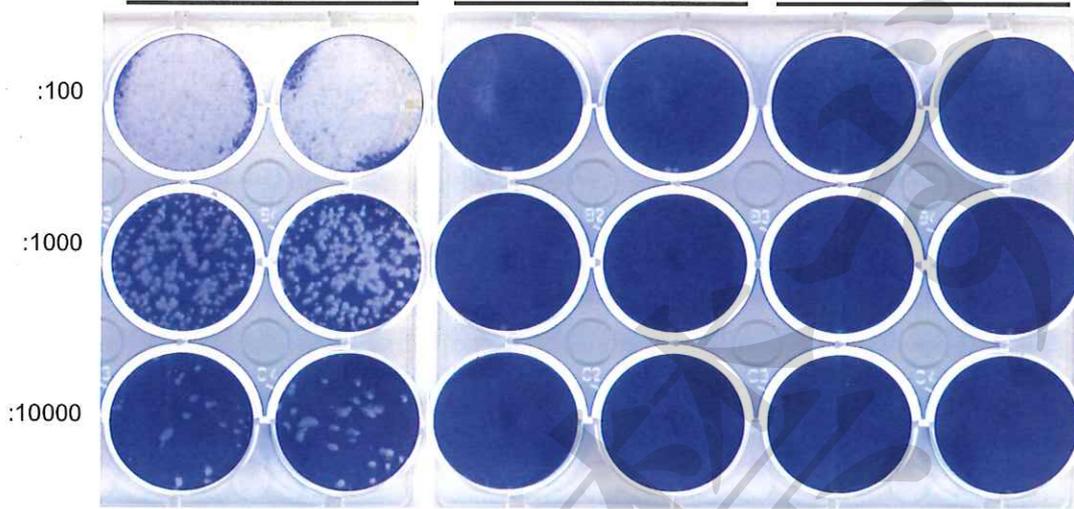
1. A: Virus sol. 10 μ L (9×10^5 pfu/mL) + Disinfectant sample 90 μ L \rightarrow pipetting
B: Virus sol. 10 μ L (9×10^5 pfu/mL) + Disinfectant sample 30 μ L \rightarrow pipetting
C: Virus sol. 10 μ L (9×10^5 pfu/mL) + Disinfectant sample 10 μ L \rightarrow pipetting
2. Incubate at room temp. for 1min, 5 min
3. A: Add 900 μ L of medium (DMEM+10%FCS) $\rightarrow 10^{-1}$
B: Add 960 μ L of medium (DMEM+10%FCS) $\rightarrow 10^{-1}$
C: Add 980 μ L of medium (DMEM+10%FCS) $\rightarrow 10^{-1}$
4. 10-fold serial dilution with medium ($10^{-2} \sim 10^{-3}$)
5. Inoculate diluted sol. 500 μ L/well
6. Incubate at 37°C for 2 hours
7. Remove the inoculum
8. Apply overlay medium 1 mL/well
9. Incubate at 37°C for 3 days
10. Fix and Stain

B

(-)cont
MilliQ

ホタテ貝焼成抽出
5分間

ホタテ貝焼成抽出
30分間



力価 pfu/mL

5.0×10^5 5.6×10^5 $< 2 \times 10^2$ $< 2 \times 10^2$ $< 2 \times 10^2$ $< 2 \times 10^2$

幾何平均

5.29×10^5 $< 2 \times 10^2$ $< 2 \times 10^2$

減少率

$> 99.96\%$ $> 99.96\%$

複製丸