

試験結果報告書

依頼者名 株式会社エスグロー 殿
品名 生地 2点
試験項目 抗ウイルス性試験

2021年1月13日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2021年4月23日

一般財団法人 日本繊維製品品質技術センター
神戸試験センター 射本



記

○試験内容

繊維製品の光触媒抗ウイルス性を評価する

○試験概要

- ・試験ウイルス：Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)
NIID 分離株；JPN/TY/WK-521 (国立感染症研究所より分与)
- ・宿主細胞：VeroE6/TMPRSS2 JCRB1819
- ・細胞培養液：Dulbecco's modified Eagle's medium (low-glucose)；DMEM (SIGMA, Cat#D6046)
Minimum Essential Medium Eagle；EMEM (SIGMA, Cat#M4655)
- ・ウシ胎児血清：Fetal Bovine Serum (FBS) (NICHIREI, Cat#174012)
- ・対照サンプル：未加工布 (依頼者提出品)
- ・試験サンプル：①エアリーフ (フェアリアル) コーティング加工生地、
②エアリーフ (フェアリアル) 衣類用コーティング加工生地 2点
- ・サンプルサイズ：5 cm×5 cm
- ・洗い出し液：SCDLP を 2% FBS 含 DMEM で 10 倍希釈した溶液
- ・放置条件：放置温度 25℃
放置時間 6 時間
(対照サンプルのみ接種直後も測定)
- ・予備照射条件：紫外線放射照度 1.0mW/cm² で 24 時間予備照射
- ・光照射条件：1,000 Lx (昼白色蛍光灯 (FHF32EX-N-H, Panasonic))
- ・感染価測定法：プラーク測定法

* この報告書は、提出の試料に対する試験結果であり、ロット全体の品質を保証するものではありません。
* 本報告書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。

○試験操作

1) 本試験：

1. 宿主細胞にウイルスを感染させ、EMEM を加え 37℃ で所定時間培養後、4℃、1,000×g で 15 分間遠心分離した上清をウイルス懸濁液とする。
2. 1. で得られたウイルス懸濁液を滅菌蒸留水を用いて 10 倍希釈し、 $1\sim 5\times 10^7$ PFU/mL に調整したものを試験ウイルス懸濁液とする。
3. 滅菌済シャーレの底に滅菌済調湿用ろ紙を置き、滅菌イオン交換水を 4.5 mL 入れ、試験片と調湿用ろ紙とが触れないよう U 字ガラス管を置く。
その上に滅菌済のガラス板(5.5 cm×5.5 cm)を置いて、加工面を上にして、予備照射済の各検体を載せる。
4. 各検体に試験ウイルス懸濁液を 0.15 mL 接種する。
5. 密着ガラス(5.5 cm×5.5 cm)をかぶせ、試験ウイルス懸濁液が、密着ガラス全体に行きわたるように軽く押さえつける。
6. 10×10 cm のカバーガラスをシャーレの上にかぶせる。
7. 光照射下 (1,000 Lx) で 25℃、6 時間放置後、滅菌済ストマッカー袋に検体を移し、洗い出し液 20mL を加え、検体からウイルスを洗い出す。
8. プラーク測定法にてウイルス感染価を測定する。

2) 宿主細胞検証試験：

2) - 1 細胞毒性確認試験

1. 検体を滅菌済ストマッカー袋に検体を入れ、洗い出し液 20mL を加え、本試験と同様に洗い出し操作を行なう。
2. プラーク測定法と同様に細胞を染色し、細胞毒性の有無を確認する。

2) - 2 ウイルスへの細胞の感受性確認試験

1. 検体を滅菌済ストマッカー袋に検体を入れ、洗い出し液 20mL を加え、本試験と同様に洗い出し操作を行なう。
2. 上記 1. の洗い出し液 5 mL を滅菌済試験管に採る。
3. EMEM を用いてウイルス懸濁液を $4\sim 6\times 10^4$ PFU/mL に調製し、その懸濁液 0.05 mL を 2. の洗い出し液に加える。
4. 25℃ で 30 分間静置する。
5. プラーク測定法にてウイルス感染価を測定し、洗い出し液 1mL 当たりのウイルス感染価を測定し、ウイルスへの細胞の感受性を確認する。

○試験結果

1) 本試験

- ・試験ウイルス：SARS-CoV-2 NIID 分離株；JPN/TY/WK-521（国立感染症研究所より分与）
- ・試験ウイルス懸濁液濃度： 3.4×10^7 PFU/ml

検 体		ウイルス感染価 (PFU/sample) ^(注2)		
		常用対数値		常用対数値平均値
対照サンプル ^(注1)	接種直後	n1	6.60	6.65
		n2	6.70	
		n3	6.65	
	6時間 照射後	n1	4.93	4.90
		n2	4.86	
		n3	4.90	
①エアリーフ（フェアリアル） コーティング加工生地	6時間 照射後	n1	2.60	2.40
		n2	< 2.30	
		n3	< 2.30	
②エアリーフ（フェアリアル） 衣類用コーティング加工生地	6時間 照射後	n1	< 2.30	< 2.30
		n2	< 2.30	
		n3	< 2.30	

(注1) 対照サンプル：未加工布（依頼者提出品）、 (注2) PFU：plaque forming units

2) 宿主細胞検証試験

- ・試験ウイルス：SARS-CoV-2 NIID 分離株；JPN/TY/WK-521（国立感染症研究所より分与）
- ・試験ウイルス懸濁液濃度： 4.5×10^4 PFU/ml

検 体	2) - 1 細胞毒性の有無	2) - 2 ウイルスへの細胞の感受性確認
		ウイルス感染価 (PFU/mL) 常用対数平均値
無加工試料	無	2.65
①エアリーフ（フェアリアル） コーティング加工生地	無	2.63
②エアリーフ（フェアリアル） 衣類用コーティング加工生地	無	2.64
陰性対照 ^(注3)	無	2.66

(注3) 陰性対照として SCDLP を 2% FBS 含 DMEM で 10 倍希釈した溶液を用いた。

* 洗い出し原液にて、検体の影響を受けずにウイルス感染価測定ができることを確認した。

- * この報告書は、提出の試料に対する試験結果であり、ロット全体の品質を保証するものではありません。
- * 本報告書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。

<参考情報>

○本試験に供したウイルス懸濁液のリアルタイム RT-PCR 測定

- ・試験ウイルス：SARS-CoV-2 NIID 分離株；JPN/TY/WK-521
(国立感染症研究所より分与)
- ・ウイルス懸濁液濃度： $>10^8$ PFU/ml
- ・リアルタイム PCR 装置：Thermal Cycler Dice® Real Time System III (TaKaRa)
- ・検出キット：SARS-CoV-2 Detection Kit -N1 set- (Code NCV-301; Lot# 038200)
(TOYOBO CO.,LTD. Biotech support Department)

○測定結果

リアルタイム RT-PCR 測定結果 (Fig.1.) より、ウイルス RNA の増幅が確認された。

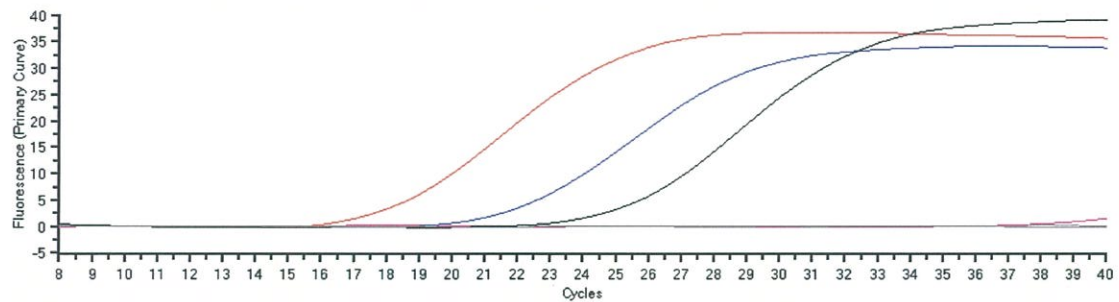


Fig.1. ウイルス懸濁液のリアルタイム RT-PCR 測定結果

グラフ：赤線 (ウイルス懸濁液濃度を PBS にて 10² 倍希釈)

グラフ：青線 (ウイルス懸濁液濃度を PBS にて 10³ 倍希釈)

グラフ：黒線 (ウイルス懸濁液濃度を PBS にて 10⁴ 倍希釈)

グラフ：ピンク線 (Negative control ; EMEM)

以上

* この報告書は、提出の試料に対する試験結果であり、ロット全体の品質を保証するものではありません。
* 本報告書の全部又は一部の無断転用を固くお断りします。