

## 試験結果報告書

依頼者名 マーサーロック株式会社 殿  
品名 ステリクリア RR アパタイト被膜二酸化チタン(SCRR) 1点  
試験項目 抗ウイルス性試験

2022年1月17日提出の試料に対する試験結果は下記の通りです。

2022年2月28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



### 言記

#### ○試験概要

参考試験規格：

JIS R1756 「ファインセラミックス-可視光応答形光触媒材料の抗ウイルス性試験方法-  
バクテリオファージ Q8 を用いる方法」

ISO 21702 「Measurement of antiviral activity on plastics and other non-porous surfaces」

- ・試験ウイルス：Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)  
変異株 (デルタ株) ; hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021  
\* 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 BIOSCIENCES INC., Cat#174012)
- ・密着フィルム：ポリプロピレンフィルム (KOKUYO, Cat# VF-10)
- ・保湿用ガラス板：ほうけい酸ガラス (100mm×100mm)
- ・対照サンプル：未加工品 (依頼者提出品)
- ・試験サンプル：ステリクリア RR アパタイト被膜二酸化チタン(SCRR)
- ・有機物の除去方法：紫外線放射照度 1.0mW/cm<sup>2</sup>で 24 時間予備照射後、直ちに試験実施
- ・照射条件：1,000 Lx (白色蛍光灯 (F120SW,ホタルクス)  
\* UV シャープカットフィルタ (Type B) 使用
- ・試験条件：作用温度 23°C (BSL3 実験室内温度)、作用時間 2 時間、4 時間
- ・試験ウイルス懸濁液接種量：0.15 mL
- ・洗い出し液：SCDLP を 2% FBS 含 DMEM で 10 倍希釈した溶液
- ・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. ウイルス懸濁液を滅菌超純水を用いて 10 倍希釈し、 $6.7 \times 10^6$  PFU/mL ~  $2.6 \times 10^7$  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、加工面を上にして検体 (50mm×50mm) を載せる。
4. 試験ウイルス懸濁液を 0.15 mL 接種する。
5. 密着フィルム (40mm×40mm) をかぶせ、試験ウイルス懸濁液がフィルム全体に行きわたるように軽く押さえつける。
6. 10×10 cm の保湿用ガラスをシャーレの上にかぶせる。
7. 光照射下 (1,000Lx) または暗所で所定時間放置後、洗い出し液 10 mL を加え、試験試料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. 各試験検体に洗い出し液 10 mL 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. 各試験検体に洗い出し液 10 mL を加え、本試験と同様に洗い出し操作を行なう。
2. 上記の洗い出し液 5 mL を滅菌済試験管に採る。
3. EMEM を用いて試験ウイルス懸濁液を  $4 \sim 6 \times 10^4$  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。

\* 宿主細胞検証試験は、以下の基準を満たすことを判定基準とする。

2) - 1 細胞毒性: 無し

2) - 2 ウイルスへの細胞の感受性確認:

$$\lg(\text{対照サンプルのウイルス感染価 (PFU/mL)}) - \lg(\text{試験サンプルのウイルス感染価 (PFU/mL)}) \leq 0.5$$

\* 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。

## ○試験結果

## 1) 本試験

- ・試験ウイルス：SARS-CoV-2 変異株（デルタ株）；hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021
- ・試験ウイルス懸濁液濃度： $2.3 \times 10^7$  PFU/ml

	ウイルス感染価 (PFU/sample)			
	接種直後			
	ウイルス感染価 (常用対数値)		平均値	平均値の常用対数値
未加工品	n1	$3.0 \times 10^6$ (6.47)	$2.9 \times 10^6$	6.46
	n2	$2.9 \times 10^6$ (6.45)		
	n3	$2.9 \times 10^6$ (6.46)		

【照射条件：1,000Lx】

	ウイルス感染価 (PFU/sample)							
	2時間 照射後			2時間 暗所放置後				
	ウイルス感染価	平均値	常用対数値	ウイルス感染価	平均値	常用対数値		
未加工品	n1	$5.1 \times 10^5$	$4.5 \times 10^5$	5.65	n1	$9.0 \times 10^5$	$8.7 \times 10^5$	5.94
	n2	$3.9 \times 10^5$			n2	$7.5 \times 10^5$		
	n3	$4.5 \times 10^5$			n3	$9.5 \times 10^5$		
ステリクリア RR アパタイト被膜 二酸化チタン(SCRR)	n1	$1.1 \times 10^4$	$9.2 \times 10^3$	3.96	n1	$6.5 \times 10^3$	$7.0 \times 10^3$	3.85
	n2	$7.5 \times 10^3$			n2	$7.5 \times 10^3$		
	n3	$9.0 \times 10^3$			n3	$7.0 \times 10^3$		
抗ウイルス活性値	【 $V_{B-1,000}$ 】 1.7			【 $V_D$ 】 2.1				
照射による 抗ウイルス活性値	【 $\Delta V$ 】 -0.4							

	ウイルス感染価 (PFU/sample)							
	4時間 照射後			4時間 暗所放置後				
	ウイルス感染価	平均値	常用対数値	ウイルス感染価	平均値	常用対数値		
未加工品	n1	$1.0 \times 10^5$	$1.3 \times 10^5$	5.12	n1	$3.7 \times 10^5$	$3.7 \times 10^5$	5.57
	n2	$1.4 \times 10^5$			n2	$3.6 \times 10^5$		
	n3	$1.7 \times 10^5$			n3	$3.8 \times 10^5$		
ステリクリア RR アパタイト被膜 二酸化チタン(SCRR)	n1	$1.2 \times 10^3$	$1.2 \times 10^3$	3.07	n1	$1.7 \times 10^3$	$2.0 \times 10^3$	3.31
	n2	$1.1 \times 10^3$			n2	$2.1 \times 10^3$		
	n3	$1.3 \times 10^3$			n3	$2.4 \times 10^3$		
抗ウイルス活性値	【 $V_{B-1,000}$ 】 2.1			【 $V_D$ 】 2.3				
照射による 抗ウイルス活性値	【 $\Delta V$ 】 -0.2							

- \* 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。

## 2) 宿主細胞検証試験

- ・試験ウイルス：SARS-CoV-2 変異株（デルタ株）；hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021
- ・試験ウイルス懸濁液濃度： $4.7 \times 10^4$  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
未加工品	無	2.64
ステリクリア RR アパタイト被膜二酸化チタン(SCRR)	無	2.63
陰性対照 (注 1)	無	2.64

(注 1) 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 変異株（デルタ株）；hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021  
\* 国立感染症研究所より分与
- ・ウイルス懸濁液濃度：>10<sup>8</sup> PFU/ml
- ・リアルタイム PCR 装置：Thermal Cycler Dice<sup>®</sup> Real Time System III（TaKaRa）
- ・検出キット：SARS-CoV-2 Detection Kit -N1 set-（Code NCV-301; Lot# 056700）  
（TOYOBO CO.,LTD. Biotech support Department）
- ・Primer/Probe：

【N501Y Mutation】

- ・ 501N Wild Type Primer & Probe Mixture
  - ・ N501Y Mutant Type Primer & Probe Mixture
- （SARS-CoV-2 N501Y Mutation Detection Kit, Code No.287-35701; Lot# LEN9523, FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation）

【L452R Mutation】

- ・ 452L Wild Type Primer & Probe Mixture
  - ・ L452R Mutant Type Primer & Probe Mixture
- （SARS-CoV-2 E484K Mutation Detection Kit, Code No.287-36301; Lot# LEM9536, FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation）

【E484Q Mutation】

- ・ 484E Wild Type Primer & Probe Mixture
  - ・ E484Q Mutant Type Primer & Probe Mixture
- （SARS-CoV-2 E484K Mutation Detection Kit, Code No.283-36401; Lot# LEM9537, FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation）

\* 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。

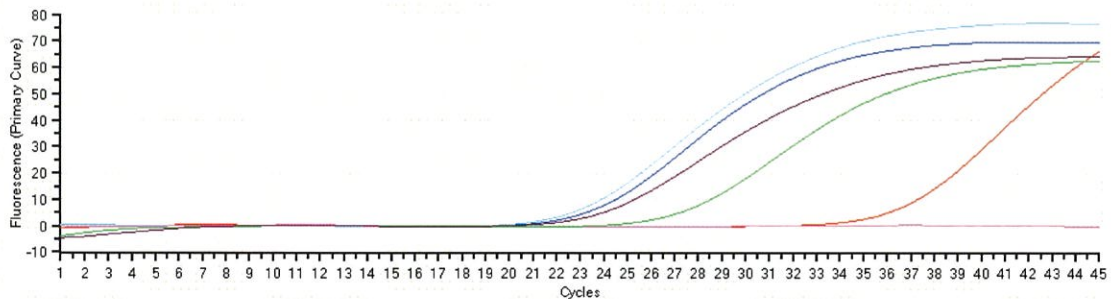
## ○測定結果

・試験ウイルス：SARS-CoV-2 変異株（デルタ株）；hCoV-19/Japan/TY11-927-P1/2021

\* ウイルス懸濁液を PBS を用いて  $10^2$  倍希釈したものを検体とした。

\* 変異株（デルタ株）は、N501Y 遺伝子変異なし、L452R 遺伝子変異、E484Q 遺伝子変異なし、の特徴を持つことが報告されている。

Amplification Plots



- 501N Wild type Primer / Probe
- N501Y Mutant type Primer / Probe
- 452L Wild type Primer / Probe
- L452R Mutant type Primer / Probe
- 484E Wild type Primer / Probe
- E484Q Mutant type Primer / Probe

## &lt;N501Y 変異&gt;

501N Wild type Primer / Probe の増幅曲線（■）が N501Y Mutant type Primer / Probe の増幅曲線（■）に比べ、早期に立ち上がっていることから、N501Y 変異を持たないことが確認された。

## &lt;L452R 変異&gt;

L452R Mutant type Primer / Probe の増幅曲線（■）が 452L Wild type Primer / Probe の増幅曲線（■）に比べ、早期に立ち上がっていることから、L452R 変異株であることが確認された。

## &lt;E484Q 変異&gt;

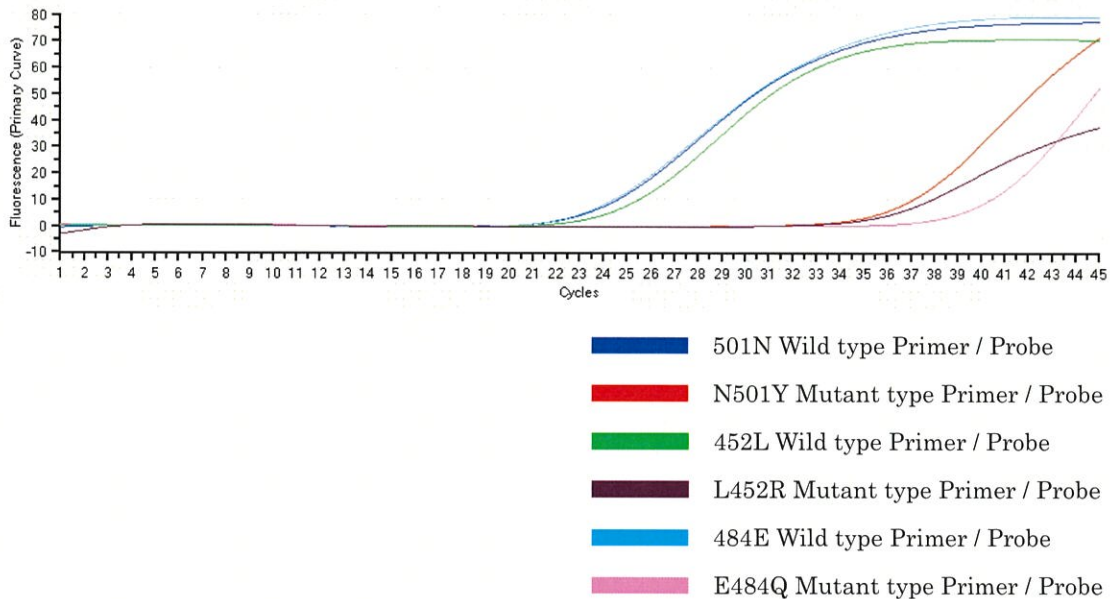
484E Wild type Primer / Probe の増幅曲線（■）が E484Q Mutant type Primer / Probe の増幅曲線（■）に比べ、早期に立ち上がっていることから、E484Q 変異を持たないことが確認された。

- \* 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。

本測定の妥当性を検証するため、従来株である SARS-CoV-2 (JPN/TY/WK-521) を同様の手法で測定した。

- ・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)
- \* ウイルス懸濁液を PBS を用いて  $10^2$  倍希釈したものを検体とした。

Amplification Plots



#### <N501Y 変異>

501N Wild type Primer / Probe の増幅曲線 (■) が N501Y Mutant type Primer / Probe の増幅曲線 (■) に比べ、早期に立ち上がっていることから、N501Y 変異を持たないことが確認された。

#### <L452R 変異>

452L Wild type Primer / Probe の増幅曲線 (■) が L452R Mutant type Primer / Probe の増幅曲線 (■) に比べ、早期に立ち上がっていることから、L452R 変異を持たないことが確認された。

#### <E484Q 変異>

484E Wild type Primer / Probe の増幅曲線 (■) が E484Q Mutant type Primer / Probe の増幅曲線 (■) に比べ、早期に立ち上がっていることから、E484Q 変異を持たないことが確認された。

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。