



受託研究報告書

ナノダイヤモンド触媒含有アルコール除菌液による
新型コロナウイルスに対する不活化効果の評価



2020年12月10日
公立大学法人
奈良県立医科大学医学部
微生物感染症学講座



この度、御社との受託研究における標記の件につきまして、ご報告申し上げます。

記

1. 研究目的

ナノダイヤモンド触媒含有アルコール除菌液による新型コロナウイルスの不活化効果を明らかにすること。

2. 試験品

ナノダイヤモンド触媒含有アルコール除菌液スプレー製品液体

3. 試験ウイルス：新型コロナウイルス（SARS-CoV-2; 2019-nCoV JPN/TY/WK-521 株）

新型コロナウイルスを VeroE6/TMPRSS2 細胞に感染させ、細胞変性効果が確認されたものを回収し、-80°Cのフリーザーに凍結保存した。凍結融解を2回繰り返したものを遠心分離し、上清を限外濾過膜で濃縮・精製した。これを試験ウイルス液とし、試験まで-80°Cのフリーザーに凍結保存した。

なお、SARS-CoV-2 は国立感染症研究所より、VeroE6/TMPRSS2 細胞は国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 JCRB 細胞バンクよりそれぞれ入手した。

4. 試験内容

硬質表面キャリア法による試験

- 日本薬局方の硬質表面キャリア法を参考に、次の手順で抗ウイルス効果を評価した。
- ウイルス液を 20 µl シャーレ上に塗抹乾燥した。
- 新型コロナウイルスを塗抹させたシャーレに、ナノダイヤモンド触媒含有アルコール除菌液を 10~20 cm の距離から十分に濡れる程度噴霧した。
- 試験片に対する作用時間は表 1 の通りとした。
- 作用時間の反応後、SCDLP 培地で希釈して反応を停止させた。
- 回収液を用いてウイルス感染価をプラーク法にて測定した。

表 1. 試験品に対する作用時間

試験品	作用時間	
	0 分	30 秒
スプレー製品液体	○	○
PBS (コントロール)		○

○：測定 3 ポイント x 実施 3 回

不活化効果は以下のように算出した。

$$\begin{aligned} \text{不活化効果 (Mv)} &= \log(\text{Ct}/\text{C}_0) - \log(\text{Nt}/\text{N}_0) \\ &= \log\text{Ct}/\text{Nt} \end{aligned}$$

Ct: コントロール t 時間後の感染価

C₀: コントロール 0 時間後の感染価

Nt: 試験品 t 時間後の感染価

N₀: 試験品 0 時間後の感染価

減少率は対数減少値より次の通り算出した。

$$\text{減少率} = (1 - 1/10^{\text{対数減少値}}) \times 100\%$$

なお全試験は、本学内のバイオセーフティレベル 3 (BSL3) の実験施設において、適切な病原体封じ込め措置のもとに行なった。

5. 結果

結果を表 2~3 と図 1 に示した。

新型コロナウイルスに対してナノダイヤモンド触媒含有アルコール除菌液を作用させると、30 秒後に検出限界の 1.50×10^2 PFU/mL 未満（減少率 > 99.996%）へと感染価は減少した。

表 2. 試験品によるウイルス感染価の推移

	0 分	30 秒
コントロール	6.25E+06	4.75E+06
ナノダイヤモンド触媒含有 アルコール除菌液	6.25E+06	< 1.50E+02

検出限界値：< 1.50E+02

表 3. 試験品によるウイルスの不活化効果と減少率

	0 分	30 秒
不活化効果 (Mv)	-	4.50
減少率 (%)	-	> 99.996%

減少率(%)は小数点第 4 位以下切り捨て

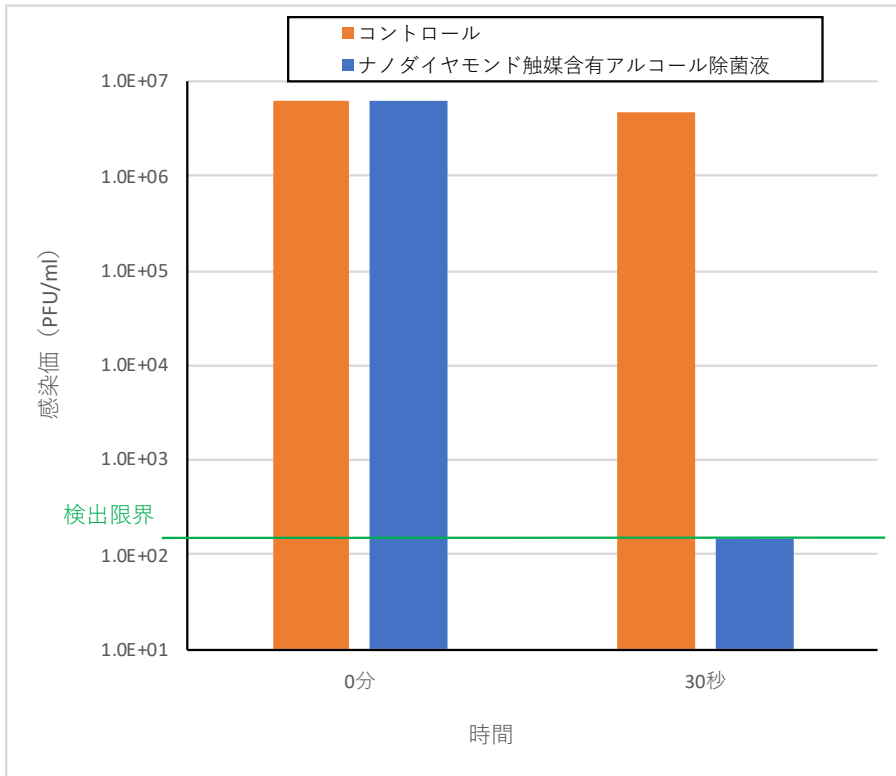


図1. 硬質表面キャリア法試験におけるウイルス感染価の推移

6. まとめ

本試験で使用したナノダイヤモンド触媒含有アルコール除菌液は、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）を速やかに不活化することが判明した。本試験液を使用することにより、物質の表面についた新型コロナウイルスによる接触感染防止に有効である可能性が考えられた。なお、空間に浮遊するウイルスへの効果、人体への影響については検証を行っていない。

本試験結果は本報告書の通りであることを証明いたします。

公立大学法人
奈良県立医科大学医学部
微生物感染症学講座





受託研究報告書

ナノダイヤモンド触媒による

新型コロナウイルスに対する不活化効果の評価



2020年12月21日
公立大学法人
奈良県立医科大学医学部
微生物感染症学講座



この度、御社との受託研究における標記の件につきまして、ご報告申し上げます。

記

1. 研究目的

ナノダイヤモンド触媒による新型コロナウイルスの不活化効果を明らかにすること。

2. 試験品

ナノダイヤモンド触媒をスプレーし、乾燥した PET フィルム

3. 試験ウイルス：新型コロナウイルス（SARS-CoV-2; 2019-nCoV JPN/TY/WK-521 株）

新型コロナウイルスを VeroE6/TMPRSS2 細胞に感染させ、細胞変性効果が確認されたものを回収し、-80°Cのフリーザーに凍結保存した。凍結融解を2回繰り返したものを遠心分離し、上清を限外濾過膜で濃縮・精製した。これを試験ウイルス液とし、試験まで-80°Cのフリーザーに凍結保存した。

なお、SARS-CoV-2 は国立感染症研究所より、VeroE6/TMPRSS2 細胞は国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 JCRB 細胞バンクよりそれぞれ入手した。

4. 試験内容

- 試験方法として、ISO 21702（プラスチック及び非多孔質表面の抗ウイルス活性の測定）を参考に行った。
- 試験品に新型コロナウイルスを接種し、4cm 角のフィルムで被覆した。
- 試験片に対する作用時間は表1の通りとした。
- 作用時間後、EDTA 含有 SCDLP 培地によってウイルスを回収した。
- 回収液を用いてウイルス感染価をプラーク法にて測定した。

表 1. 試験品に対する作用時間

	0 時間	2 時間	4 時間	8 時間
PET フィルム（コントロール）	○	○	○	○
ナノダイヤモンド触媒付着 PET フィルム		○	○	○

○：測定 9 ポイント x 実施 2 回

不活化効果は以下のように算出した。

$$\begin{aligned} \text{不活化効果 (Mv)} &= \log(Ct/C_0) - \log(Nt/N_0) \\ &= \log Ct/Nt \end{aligned}$$

Ct: コントロール t 時間後の感染価

C₀: コントロール 0 時間後の感染価

Nt: 試験品 t 時間後の感染価

N₀: 試験品 0 時間後の感染価

減少率は対数減少値より次の通り算出した。

$$\text{減少率} = (1 - 1/10^{\text{対数減少値}}) \times 100\%$$

なお全試験は、本学内のバイオセーフティレベル 3 (BSL3) の実験施設において、適切な病原体封じ込め措置のもとに行なった。

5. 結果

結果を表 2～3 と図 1 に示した。

新型コロナウイルスをナノダイヤモンド触媒をスプレーし乾燥した PET フィルムに接触させると、ウイルスの感染価は徐々に減少し、 8.50×10^6 PFU/mL のウイルスが 8 時間後に 4.50×10^4 PFU/mL (減少率 99.000%) となった。

表 2. 試験品によるウイルス感染価の推移

	0 時間	2 時間	4 時間	8 時間
PET フィルム (コントロール)	8.50E+06	7.75E+06	5.45E+06	4.50E+06
ナノダイヤモンド触媒付着 PET フィルム	8.50E+06	2.75E+05	1.01E+05	4.50E+04

検出限界値：<5.00E+01

表 3. 試験品によるウイルスの不活化効果と減少率

	0 時間	2 時間	4 時間	8 時間
不活化効果 (Mv)	-	1.45	1.73	2.00
減少率 (%)	-	96.451%	98.142%	99.000%

減少率(%)は小数点第 4 位以下切り捨て

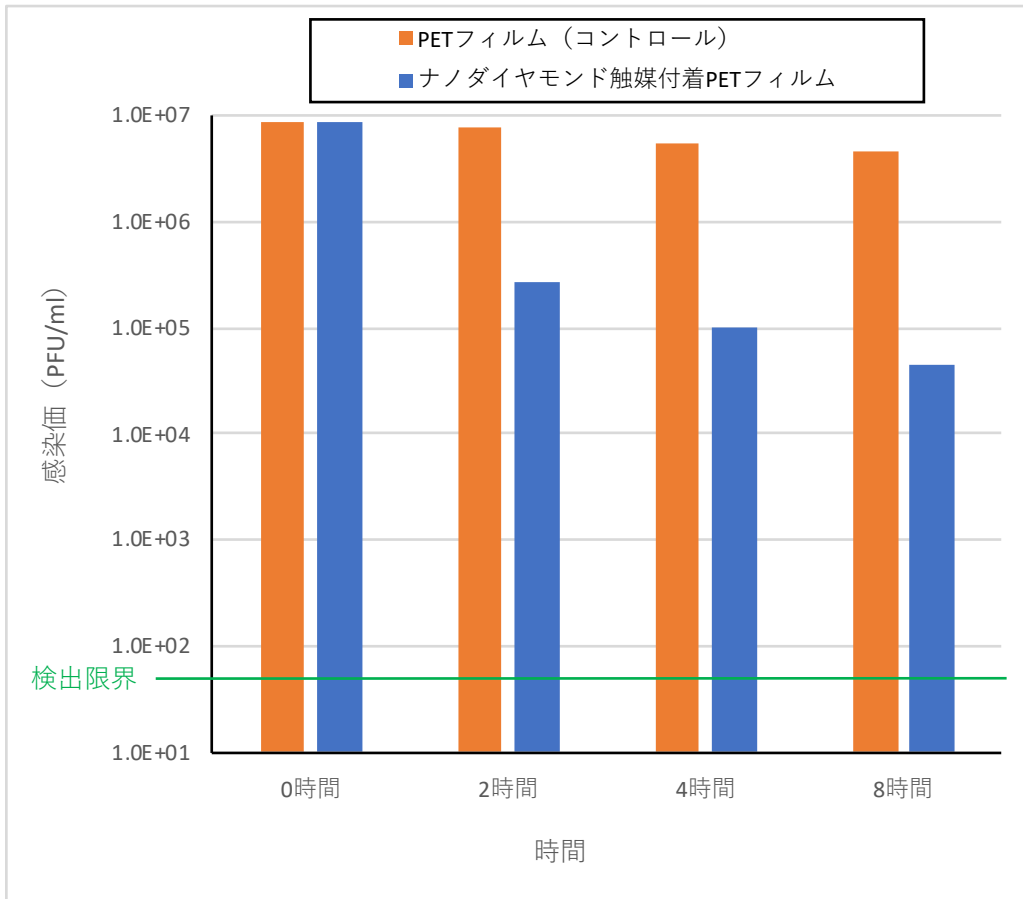


図1. 試験品によるウイルス感染価の推移

6. まとめ

本試験で使用したナノダイヤモンド触媒は、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）を徐々に不活化することが判明した。本試験品を使用することにより、物質の表面についた新型コロナウイルスによる接触感染防止に有効である可能性が考えられた。

なお、空間に浮遊するウイルスへの効果、人体への影響については検証を行っていない。

本試験結果は本報告書の通りであることを証明いたします。

公立大学法人
 奈良県立医科大学医学部
 微生物感染症学講座

