

グリーンアクア通信 「号外」

新型コロナウイルス に対する グリーンアクア電解水の 有効性について

弱アルカリ高濃度電解水
グリーンアクア
無角膜電気分解システム



新型コロナウイルス 不活化試験 最終報告書

不活化とは、ウイルス粒子が感染力を失うことを意味します。

株式会社シーエムエスは常に目に見えないモノを実証する使命、科学的な根拠と「エビデンス」にこだわります。

新型コロナウイルス不活化試験及び細胞毒性試験について

新型コロナウイルスに対するグリーンアクア電解水（無角膜電気分解システム）の有効性がついに認められました。弊社は新型コロナウイルスに対するグリーンアクア電解水の有効性を実証する為、国内多数の検査機関に不活化試験の依頼をしておりましたが、新型コロナウイルスはエマージングウイルス（新種ウイルス）の為、培養が出来ませんので検査機関自体にコロナウイルスの検体が存在しません。結果的に現段階では不活化試験は不可能でしたが、令和4年、国立大学法人群馬大学発ベンチャー企業 株式会社グッドアイ（国立大学法人群馬大学理工学府教授 板橋英之様）の検査機関にて、新型コロナウイルスに対するグリーンアクア電解水の不活化試験を行い令和4年12月に新型コロナウイルス不活化試験最終報告が出ました。

最終的な結果はグリーンアクア電解水（10倍希釈）30秒後に新型コロナウイルス99.99%の不活化が確認されました。グリーンアクア電解水によるウイルス不活化メカニズムはウイルスの有するレセプター受容体（細胞内に侵入する際の結合子）を酸化させて最終的にレセプター受容体を剥離するのでグリーンアクア電解水はヒトの細胞内にウイルスが侵入するのを阻止するというメカニズムを実証いたしました。又、細胞毒性試験でも被検体に接触させていない無血清DMEN培地を暴露した細胞の吸光度の値に対して、反応させた後のグリーンアクア電解水60ppm混合液では値に大きな減少が見られなかったことから、10倍希釈することにより各被検体に接触した溶液の細胞に対する毒性はないことも確認されましたのでご報告させていただきます。

グリーンアクア電解水（新型コロナウイルス不活化データ）

**10倍希釈、30秒後に
99.99%不活化を確認！**

不活化とは、ウイルス粒子が感染力を失うことを意味します。

新型コロナウイルスに対する グリーンアクア電解水の有効性

依頼主：株式会社シーエムエス

被検体：グリーンアクア電解水60ppm

被検体の製法：独自製法

コントロール：反応時間0分のウイルス溶液

リファレンス：水道水

ウイルス：新型ヒトコロナウイルス (SARS-CoV-2 YT38-873)オミクロン株

試験概要：各検体に対してウイルス液を滴下し、反応時間毎に暴露したウイルス液を採取し、細胞へ感染させウイルス感染力価を測定する。

検査機関：国立大学法人群馬大学発ベンチャー企業株式会社グッドアイ
国立大学法人群馬大学理工学府教授 板橋英之

新型コロナウイルス不活化評価結果報告書

2022.12.19

No. 20221012-0208-1

新型コロナウイルス不活化試験 結果報告書

令和4年12月

株式会社グッドアイ

〒376-8515 群馬県利根市天神町1丁目5番地1号
TEL: 0270-46-9277 FAX: 0277-46-9275

GUDI
www.gudi.co.jp

ウイルス不活化評価結果報告書

2022年12月19日

責任者： 国立大学法人群馬大学発ベンチャー企業 株式会社グッドアイ
国立大学法人群馬大学理工学府教授 板橋英之

依頼主： 株式会社シーエムエス
被検体： グリーンアクア電解水 60ppm
被検体の製法： 独自製法
コントロール： 反応時間 0 分のウイルス溶液
リファレンス： 水道水
ウイルス： 新型ヒトコロナウイルス (SARS-CoV-2 YT38-873) オミクロン株
ウイルス力価 (原液)： 9.3×10^6 TCID₅₀/mL
細胞： VeroE6/TMPRSS2 細胞 (株番号：JCRB1819 培地組成：10%血清(FBS)/DMEM)

試験概要：
各検体に対してウイルス液を滴下し、反応時間毎に暴露したウイルス液を採取し、細胞へ感染させウイルス感染力価を測定する。

試験方法：

1. ウイルスの準備
Vero細胞を 1.0×10^6 cells/mL に調整後、10mL を 75 mL のティッシュカルチャーに注ぎ、37°C、CO₂ 濃度 5% のインキュベーターで 1 日培養後、 $10^5 \sim 10^6$ TCID₅₀/mL 程度の SARS-CoV-2 を 10 μ L 接種した。その後、CO₂ 濃度 5% のインキュベーターで 3 日間培養後、TCID₅₀法に基づきウイルス力価を測定した。
2. 細胞の準備
Vero細胞を 1.0×10^6 cells/mL に調整後、96well plate に 100 μ L/well ずつ接種し、37°C、CO₂ 濃度 5% のインキュベーターで 1 日培養した。
3. 被検体の準備
被検体を各 950 μ L ずつ 24 well plate に配置した。

4. ウイルスと検体の反応

ウイルス液 50 μ L を被検体 950 μ L に滴下し、30 秒と 60 秒反応させた。その後、反応を停止させるため、無血清の DMEM 培地 900 μ L にウイルス混合液を 100 μ L 添加し 10 倍希釈した。さらに、無血清の DMEM 培地で 10 倍希釈を調整した。

5. Vero 細胞への添加と培養

4. で希釈した液を 2. で準備した細胞に 1 被検体・1 反応時間・1 希釈あたり 4well ずつ 50 μ L/well 接種した。37°C、CO₂ 濃度 5% のインキュベーターで 4 日間培養した後、ウイルス感染力価を評価した。

リファレンスのウイルス感染力に対する各反応時間におけるグリーンアクア電解水 60ppm のウイルス不活化率
30 秒後にはリファレンスに対して 99.99% 以上のウイルスの不活化が確認された。

Table 2 リファレンスに対するグリーンアクア電解水 60ppm のウイルス不活化率 [%]

反応時間	30sec	60sec
不活化率	>99.99	>99.98

結論：

今回の結果から、本試験ではウイルス感染力は約 30 秒後に検出限界以下 (不活化率 99.99% 以上) 相当になることが確認された。

備考：

試験を行うにあたり、本試験方法で被検体が細胞に毒性を示さないことを確認するために、以下のとおり細胞毒性評価 (MTT アッセイ) を行った。

試験概要：

実験方法 4「ウイルスと検体の反応」の試験を、ウイルス液の代わりに無血清 DMEM50 μ L を行い、被検体に接触した溶液の希釈液を調整し、細胞毒性を評価した。この試験では、細胞で起る MTT の色素をホルマジン色素還元する酵素活性を光学的に測定する。これにより、細胞が死滅等により減少した場合は、吸光度が小さくなる。

1. 細胞の準備

Vero細胞を 1.0×10^6 cells/mL に調整後、96well plate に 100 μ L/well ずつ接種し、37°C、CO₂ 濃度 5% のインキュベーターで 1 日培養した。

2. 被検体の準備

被検体を各 950 μ L ずつ 24 well plate に配置した。

3. 無血清 DMEM と検体の反応

無血清 DMEM50 μ L を被検体 950 μ L に滴下し、60 秒反応させた。その後、反応を停止させるため、無血清の DMEM 培地 900 μ L に混合液を 100 μ L 添加し 10 倍希釈した。

4. Vero 細胞への添加と培養

3. で 10 倍希釈した液を 1. で準備した細胞に 1 被検体あたり 4well ずつ 50 μ L/well 接種した。その後、37°C、CO₂ 濃度 5% のインキュベーターで 1 日間培養した。

5. 細胞毒性試験

MTT 溶液を各 well に 10 μ L ずつ添加し、37°C、CO₂ 濃度 5% のインキュベーターで 2 時間呈色反応させた。その後、可溶性溶液を 100 μ L ずつ添加し、マイクロプレートリーダーを用いて、595nm の吸光度を測定した。

結果：
各反応時間におけるウイルス感染力
グリーンアクア電解水 60ppm では 30 秒後のウイルス感染力が検出限界以下まで減少したことが確認された。

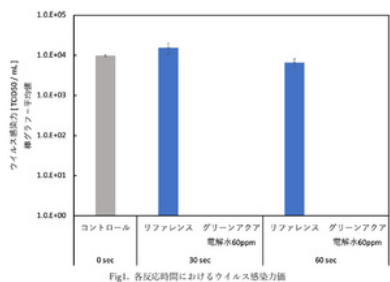


Table 1 各反応時間におけるウイルス感染力 [TCID₅₀/mL]

反応時間	0 sec	30 sec	60 sec
検体名	コントロール	リファレンス	グリーンアクア電解水 60ppm
平均値	9.9E+03	1.5E+04	0.0E+00
標準誤差 SE	6.4E+02	4.6E+03	0.0E+00

株式会社シーエムエスはウイルスの不活化試験だけでなく、ヒトの細胞に対する「安全性」についても実証いたしました。

群馬県のマスコット
「ぐんまちゃん」
許諾第2021-150279



「グリーンアクア電解水はヒトの細胞に対するダメージもなく、ウイルスだけの効果を確認いたしました！」

細胞毒性試験結果

被検体に接触させていない無血清 DMEM 培地を暴露した細胞の吸光度の値に大きな減少が見られなかったことから、10倍希釈することにより各被検体に接触した溶液の細胞に対する毒性もないことが確認されました。

(グリーンアクア電解水60ppm)

グリーンアクア電解水（原液）による安全性試験も取得済！

グリーンアクア電解水は原液（600ppm）による安全性試験についても一般財団法人日本食品分析センターにて2015年に取得しています。

6. 細胞毒性試験結果

被検体に接触させていない無血清 DMEM 培地を暴露した細胞の吸光度の値に対して、反応させた後のグリーンアクア電解水 60ppm 混合液では値に大きな減少が見られなかったことから、10倍希釈することにより各被検体に接触した溶液の細胞に対する毒性はないことが確認された。

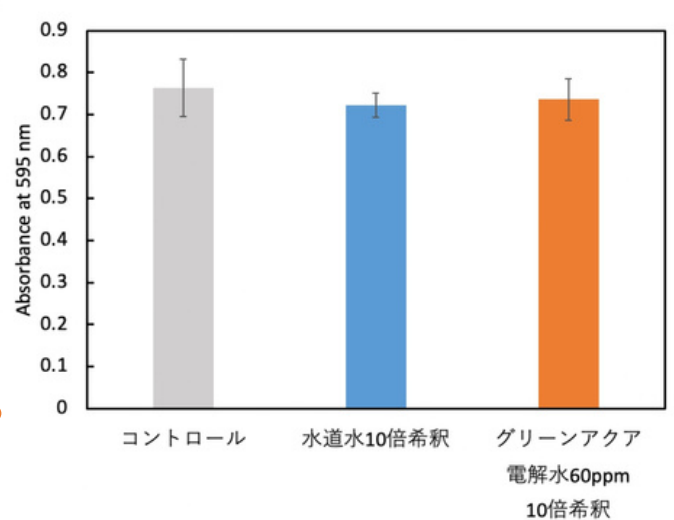


Fig.2 希釈した反応溶液を暴露した細胞における吸光度

Table 3 希釈した反応溶液を暴露した細胞における吸光度

試料名	コントロール	水道水 10 倍希釈	グリーンアクア電解水 60ppm
平均値	0.764	0.722	0.736
標準誤差 SE	0.068	0.029	0.049

・眼刺激性試験 ・皮膚一次刺激性試験 ・急性経口毒性試験