

都内の新型コロナウイルス施設内感染事例における

次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析

林 真輝^a, 山崎 貴子^a, 長島 真美^a, 草深 明子^{b,c}, 岡田 麻友^d, 星 美代子^d, 三宅 啓文^a, 根岸 あかね^a, 藤原 卓士^a, 長谷川 道弥^a, 浅倉 弘幸^a, 永野 美由紀^a, 河上 麻美代^a, 矢尾板 優^a, 黒木 絢士郎^a, 北村 有里恵^a, 加來 英美子^a, 磯貝 まや^a, 森 功次^a, 原田 幸子^a, 熊谷 遼太^a, 鈴木 愛^a, 糟谷 文^a, 天野 有紗^a, 小杉 知宏^a, 林 志直^a, 内田 悠太^{e,f}, 中坪 直樹^{b,g}, 吉田 敦^d, 鈴木 淳^a, 千葉 隆司^{e,h}, 貞升 健志ⁱ

2019年12月に中国で出現し、世界各地で流行した新型コロナウイルス感染症は、国内でも2020年1月以降、多くの感染事例が報告され、未だ感染収束が認められていない。東京都内でも病院や高齢者施設などの施設内感染が発生し、保健所等を中心にそれらの疫学解析を実施してきた。今回、2020年6月28日から2021年4月30日までに搬入された、都内における新型コロナウイルス感染症の集団発生30事例の臨床検体計135件から次世代シーケンサーを用いて全ゲノム配列を取得し、得られた塩基配列の比較により遺伝子解析の有用性を評価した。その結果、系統樹解析により集団発生の事例によりほぼ同一のClusterが形成された。さらに得られた新型コロナウイルスのゲノムにおける変異の検出および変異パターンの比較により、同一事例内でも数塩基異なる場合があることが明らかとなった。各事例で検出された新型コロナウイルスの変異が5か所までの範囲であれば、同一の感染源である可能性が示唆され、全ゲノム配列を用いた系統樹解析は感染経路の推定に有用と考えられた。

キーワード：新型コロナウイルス、COVID-19、SARS-CoV-2、施設内感染、次世代シーケンサー

はじめに

2019年12月に中国で出現した新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)は、急速に世界中に広がり、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)のパンデミックを引き起こした¹⁾。国内では2020年1月に最初の症例が確認されて以降、症例数の増加に加え、病院や高齢者施設における集団(クラスター)発生が認められ、COVID-19対策の重要な柱の一つとして保健所等を中心にクラスター対策が実施されてきた。また、クラスター対策では濃厚接触者を中心に感染経路を追跡調査して感染拡大を防ぐため、感染源を特定できる情報は非常に重要となる。しかしながら、症状の有無、発症日、行動歴、接触歴、PCR検査結果等の疫学情報だけでは感染経路や患者間の詳細な関係性の推定には限界がある。

次世代シーケンサー(NGS)によって得られるSARS-CoV-2の全ゲノム配列データは全世界で共有され、抗原性の評価²⁾、遺伝子検出法の設計³⁾、ワクチンの性能評価⁴⁾等、抗ウイルス戦略に主要な役割を果たしている。また、SARS-CoV-2の全ゲノム配列は、発生した集団における系

統伝播の調査にも役立てられている^{5,6)}。我が国でも変異株解析に用いられ、国内の感染状況の把握や蔓延防止の取組みに利用されている⁷⁾。世界、国、地域レベルのメタデータとして活用されている一方で、院内感染や学校や事業所等、個別のCOVID-19集団発生の患者から得られた全ゲノム配列データを詳細に分析した報告は少ない。

当センターでは、2020年1月からSARS-CoV-2のPCR検査を実施しており、陽性となった一部の臨床検体およびその分離試料の核酸抽出液からNGSを用いたSARS-CoV-2のゲノム解析を行い、系統樹解析による情報提供等を行ってきた^{8,9)}。また、都内で発生したCOVID-19集団発生に対する保健所支援として東京都実地疫学調査チーム(TEIT)が派遣された事例では、患者のSARS-CoV-2の全ゲノム配列の比較も行っている。今回、集団発生事例から得られた配列の比較によりNGSを用いた遺伝子解析の有用性を評価した。

^a 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 当時：東京都健康安全研究センター企画調整部健康危機管理情報課

^c 現所属：東京都多摩府中保健所保健対策課 183-0022 東京都府中市宮西町1-26-1

^d 東京都健康安全研究センター企画調整部健康危機管理情報課

^e 当時：東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科

^f 現所属：東京都環境局多摩環境事務所環境改善課 190-0022 東京都立川市錦町4-6-3

^g 現所属：東京都教育庁都立学校教育部署学校健康推進課 163-8001 東京都新宿区西新宿2-8-1

^h 現所属：東京都健康安全研究センター企画調整部健康危機管理情報課

ⁱ 東京都健康安全研究センター微生物部

実験方法

1. 材料

2020年6月28日から2021年4月30日の間に都内で発生したCOVID-19集団事例で、リアルタイムPCRによりSARS-CoV-2をCt値12.7~32.8で検出した検体を試料とした。内訳は病院（Hospital）10事例、高齢者施設（Care home）11事例、学校（School）4事例、保育施設（Childcare facility）3事例、事業所（Business）2事例の計30事例で、各事例の検体数はTable 1に示す計135検体であり、これらの臨床検体（咽頭ぬぐい液、鼻咽頭ぬぐい液または唾液）の核酸抽出物を試料とした。当所に臨床検体の状態で搬入された検体はQIAmp Viral RNA mini Kit（QIAGEN）を用いて核酸を抽出し、核酸抽出物として搬入された検体はそのまま試料として用いた。リアルタイムPCRのCt値は、予め所外の検査により報告されている67件についてはその値を参考とし、Ct値の不明な68件についてはQuantitect Probe RT-PCR Kit（QIAGEN）を用いた長島らの方法^{8,10)}、Ampdirect™ 2019-nCoV検出キット（島津製作所）¹¹⁾またはSARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit（タカラバイオ）¹¹⁾のいずれかにより算出した。

2. NGS解析

試料の核酸抽出物からNGSのライブラリーを作成し、全ゲノム配列を決定した。ライブラリー作製方法および試薬は、Wellcome Trust ARTIC Network 提唱のプロトコルを基にした糸川らのプロトコル¹²⁾を用いた。すなわち、試料中のSARS-CoV-2の全長RNAを98領域¹³⁾（各約400bp長）のマルチプレックスPCR産物として増幅したものを、Ampure XP（ベックマン・コールター）を用いて精製し、QIAseq FX DNA Library Kit（QIAGEN）を用いてライブラリーを作製した。次世代シーケンサー装置として

MiSeq® システム（Illumina）または iSeq™ 100 システム（Illumina）を使用してデータを取得した。得られたデータからPythonプログラム¹³⁾を使用して各リード末端に存在するプライマー配列部分を除去し、CLC Genomics Workbench（CLC bio）を用いて参照株へのマッピングによりコンティグを作成し、バリエーション検出を行うとともにMEGA7を用いて近接結合法による系統樹解析を行った。マッピング後のリードの確認にはTabletソフトウェア（The James Hutton Institute）を用いた。参照株にはWuhan-Hu-1（NCBI reference sequence: NC_045512.2）を用いた。

結果

1. 系統樹解析

依頼情報からCOVID-19集団発生事例と判断された30事例の検体計135件（Table 1）について全ゲノム配列（約29,800塩基）を取得し、国際データベースのひとつであるGISAIDに登録した。Hospital Jのアルファ株2例を除いて、今回供試した検体にWHOや国立感染症研究所がVOIやVOCに位置付けている変異株は含まれていない。なお、SARS-CoV-2のゲノム解析についてはCt値≤30を参考に実施の有無を判断することとされている¹⁴⁾。今回、保健所からの依頼を受け実施したCt値が30~32.8の検体のデータには、カバレッジが薄い領域も存在したが、これらについてはTabletを用いて各リードとコンティグ配列を確認し、全ゲノム配列を決定した。

得られた全ゲノム配列135株に参照株（Wuhan-Hu-1, NC_045512.2）の配列を合わせ系統樹解析を行ったところ、ほぼ全てが事例ごとにClusterを形成した（Fig. 1）。Cluster 2およびCluster 5では複数の事例が近傍に位置し、大きなClusterを形成した。検体の陽性判定日（不明の場合

Table 1. List of cases and number of samples, mutations, mutation patterns and mutation in the facility

Facility	No. of samples	No. of mutations*	No. of mutation patterns	No. of mutations in the facility	Facility	No. of samples	No. of mutations*	No. of mutation patterns	No. of mutations in the facility
Hospital A	2	13	1	0	Care home F	9	14-16	3	2
Hospital B	3	15-17	3	1-2	Care home G	2	19	2	1
Hospital C	26	17-20	10	1-3	Care home H	5	21-22	2	1
Hospital D	7	18-19	3	1	Care home I	2	21	1	0
Hospital E	11	19-20	5	1	Care home J	13	20-26	5	1-5
Hospital F	6	20-23	5	1-3	Care home K	2	25-26	2	1
Hospital G	3	18	2	1	School A	2	9	1	0
Hospital H	3	23-24	2	1	School B	3	14	1	0
Hospital I	3	25-26	3	1	School C	2	16-17	2	1
Hospital J	2	48-51	2	1	School D	2	16-17	2	1
Care home A	8	18	6	1-4	Childcare facility A	2	16	1	0
Care home B	2	20	1	0	Childcare facility B	2	23-25	2	2
Care home C	2	18-20	2	2	Childcare facility C	2	25	1	0
Care home D	2	19	1	0	Business A	2	15-16	2	1
Care home E	2	14-16	2	2	Business B	3	12-13	2	1

*) Number of mutations to Wuhan-Hu-1 (Accession No. NC_045512)

Table 2. Comparison of mutation patterns between clinical samples at Hospital C

Reference Position*	Reference	Mutation pattern									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
241	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
313	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
3037	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
4346	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
4653	C	C	C	C	T	C	C	C	C	C	C
5365	C	C	C	C/T	C	C	C	C	C	C	C
5907	C	C	C	T	C	C	C	C	C	C	C
6906	C	C	C	C	C	C	C	C	C	T	C
8076	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
9286	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
10376	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
10525	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
10582	C	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C
14408	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
14708	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
16308	C	C	C	C	C	T	C	T	C	C	C
20823	C	C	C	C	C	C	C	C	T	C	C
21432	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	C
23403	A	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
24943	T	T	T	T	T	C	T	C	T	T	T
25469	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
26753	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C	C
28725	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
28881	GGG	AAC	AAC	AAC	AAC	AAC	AAC	AAC	AAC	AAC	AAC
29692	G	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Number of samples		17	1	1	1	1	1	1	1	1	1

*) Wuhan-Hu-1 (Accession No. NC_045512)

Mutation pattern 1) hCoV-19/Japan/TKYN20/2020, hCoV-19/Japan/TKYN21/2020, hCoV-19/Japan/TKYN22/2020, hCoV-19/Japan/TKYN23/2020, hCoV-19/Japan/TKYN25/2020, hCoV-19/Japan/TKYN27/2020, hCoV-19/Japan/TKYN00028/2020, hCoV-19/Japan/TKYN00029/2020, hCoV-19/Japan/TKYN00030/2020, hCoV-19/Japan/TKYN00032/2020, hCoV-19/Japan/TKYN00036/2020, hCoV-19/Japan/TKYN00037/2020, hCoV-19/Japan/TKYN00038/2020, hCoV-19/Japan/TKYN00044/2020, hCoV-19/Japan/TKYN00051/2020, hCoV-19/Japan/TKYN00052/2020, hCoV-19/Japan/TKYN00053/2020

Mutation pattern 2) hCoV-19/Japan/TKYN24/2020

Mutation pattern 3) hCoV-19/Japan/TKYN26/2020

Mutation pattern 4) hCoV-19/Japan/TKYN00031/2020

Mutation pattern 5) hCoV-19/Japan/TKYN00033/2020

Mutation pattern 6) hCoV-19/Japan/TKYN00035/2020

Mutation pattern 7) hCoV-19/Japan/TKYN00039/2020

Mutation pattern 8) hCoV-19/Japan/TKYN00041/2020

Mutation pattern 9) hCoV-19/Japan/TKYN00042/2020

Mutation pattern 10) hCoV-19/Japan/TKYN00050/2020

Table 3. Comparison of mutation patterns between clinical samples at Care home J

Reference Position*	Reference	Mutation pattern				
		1	2	3	4	5
241	C	T	T	T	T	T
313	C	T	T	T	T	T
3037	C	T	T	T	T	T
5365	C	T	T	T	T	T
5392	C	C	C	C	C	C/T
6525	C	T	T	T	T	T
8917	C	T	T	T	T	T
11572	C	C	C/T	C	C	C
12049	C	T	T	T	T	T
14185	A	C	C	C	C	C
14403	C	T	T	T	T	T
14408	C	T	T	T	T	T
18167	C	T	T	T	T	T
19496	A	A	T	T	A	A
20560	G	T	T	T	T	T
20703	C	T	T	T	T	T
21518	G	T	T	T	T	T
21786	G	C	C	C	C	C
23403	A	G	G	G	G	G
26493	GT	GT	TC	GT	GT	GT
26496	T	T	G	T	T	T
28849	C	C	C	C	C/T	C
28881	GGG	AAC	AAC	AAC	AAC	AAC
28975	G	T	T	T	T	T
29679	C	T	C/T	T	T	T
Number of samples		7	1	3	1	1

*) Wuhan-Hu-1 (Accession No. NC_045512)

Mutation pattern 1) hCoV-19/Japan/TKYN00114/2021, hCoV-19/Japan/TKYN00116/2021, hCoV-19/Japan/TKYN00118/2021, hCoV-19/Japan/TKYN00120/2021, hCoV-19/Japan/TKYN00121/2021, hCoV-19/Japan/TKYN00124/2021, hCoV-19/Japan/TKYN00126/2021

Mutation pattern 2) hCoV-19/Japan/TKYN00115/2021

Mutation pattern 3) hCoV-19/Japan/TKYN00117/2021, hCoV-19/Japan/TKYN00123/2021, hCoV-19/Japan/TKYN00125/2021

Mutation pattern 4) hCoV-19/Japan/TKYN00119/2021

Mutation pattern 5) hCoV-19/Japan/TKYN00122/2021

Table 4. Comparison of mutation patterns between clinical samples at Hospital E

Reference Position*	Reference	Mutation pattern				
		1	2	3	4	5
241	C	T	T	T	T	T
313	C	T	T	T	T	T
594	A	G	G	G	G	G
3037	C	T	T	T	T	T
7005	C	C	C	C	C/A	C
7321	C	T	T	T	T	T
8917	C	T	T	T	T	T
9679	C	C	C	C	C	C/T
10156	C	T	T	T	T	T
12896	C	C	C	A	C	C
14408	C	T	T	T	T	T
15957	G	T	T	T	T	T
18167	C	T	T	T	T	T
20715	A	A	A/C	A	A	A
21518	G	T	T	T	T	T
23403	A	G	G	G	G	G
27630	C	T	T	T	T	T
28817	G	T	T	T	T	T
28881	GGG	AAC	AAC	AAC	AAC	AAC
28975	G	T	T	T	T	T
29679	C	T	T	T	T	T
Number of samples		7	1	1	1	1

*) Wuhan-Hu-1 (Accession No. NC_045512)

Mutation pattern 1) hCoV-19/Japan/TKY57699/2020, hCoV-19/Japan/TKY57766/2020, hCoV-19/Japan/TKY57780/2020, hCoV-19/Japan/TKY58459/2020, hCoV-19/Japan/TKY58467/2020, hCoV-19/Japan/TKY64455/2020, hCoV-19/Japan/TKY64458/2020

Mutation pattern 2) hCoV-19/Japan/TKY57761/2020

Mutation pattern 3) hCoV-19/Japan/TKY58451/2020

Mutation pattern 4) hCoV-19/Japan/TKY58469/2020

Mutation pattern 5) hCoV-19/Japan/TKY58472/2020

合は検体採取日)を集団発生の起こった時期とし、2020年6月～10月、2020年11月～2021年2月、2021年3月以降をそれぞれCOVID-19国内流行の第二波、第三波、第四波としてみたとき、各事例は流行の波ごとにまとまり、Cluster 1では第三波と第四波、Cluster 2では第三波、Cluster 3では第二波と第三波、Cluster 4は第三波、Cluster 5は第二波、その他は事例と時期ごとに異なるクラスターに分類された (Fig. 1)。事例の関連性について検討したところ、Cluster 2の2施設は管轄保健所と施設の属性が同一で発生時期も近かったが、その他の事例では施設の属性、管轄保健所、発生時期に関連性は認められなかった。

2. 変異の検出および変異パターン比較

集団発生事例ごとに、参照株に対する変異の数、各事例内における変異の数、患者間の塩基の変異パターンを比較した結果、1つの塩基でも一塩基バリエーション (SNV)、混合塩基、挿入、欠失となった個所を1か所の変異として参照株と比較したところ、どの事例でも参照株と比べ9～51か所の変異が存在した (Table 1)。参照株に対する塩基の位置28881～28883間の3塩基の変異 (Table 2-4)や、同11288～11296間の9塩基欠損など (Hospital J, Alpha, V1)、SNVと塩基欠失は隣り合う連続する塩基にわたって存在するケースも認められた。

次に各事例内で見られた変異の数と変異パターンを検討した結果、Hospital A、Care home B、Care home D、Care home I、School A、School B、Childcare facility A、Childcare facility Cの事例では全ゲノム配列がそれぞれの施設内で一致し変異パターンも1種類のみであった (Table 1)。一方で、同一事例でも患者間で塩基の相違があるために複数の

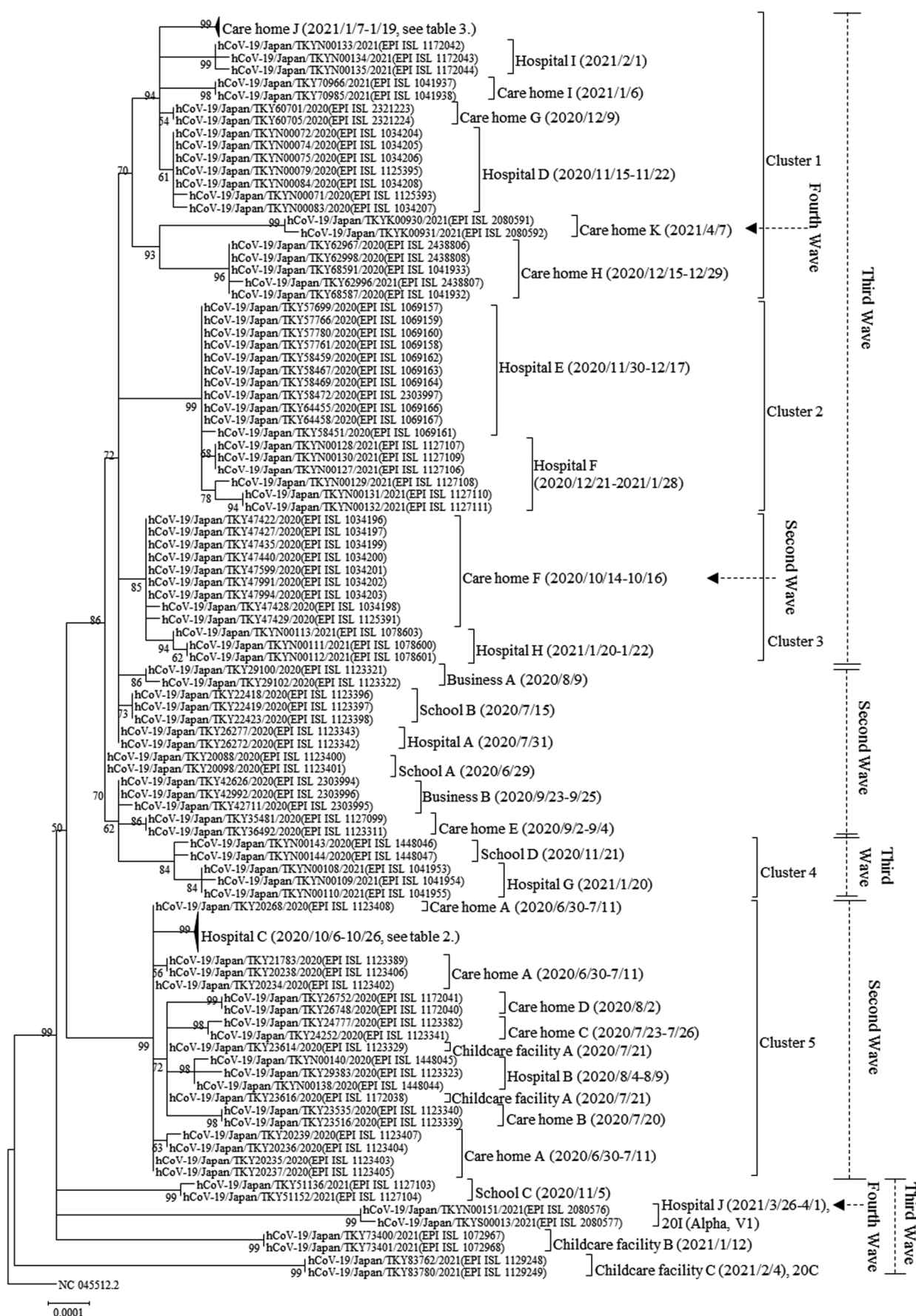


Fig. 1. Phylogenetic tree based on SARS-CoV-2 whole genome sequences

Sample: Virus name (GISAID Accession ID), Case: Facility (Date determined positive)

変異パターンに分かれる事例もあった。1事例のサンプル数が多かったHospital C (26検体), Care home J (13検体), Hospital E (11検体) の事例における変異パターンをみると, Hospital Cでは26件中17件で, Care home Jでは13件中7件, 3件で, Hospital Eでは11件中7件でそれぞれ変異パターンが一致し, 残りの株は各事例の主要な変異パターンに比べ1~5か所塩基が異なっていた (Table 2-4)。これらの変異パターンと各事例の患者の陽性判定日に相関は認められなかった。陽性判定日を集団発生の起きた期間として, 期間ごとの変異数を比較したところ, 各事例の主要な変異パターンに比べHospital Cでは1~3か所/21日間, Care home Jでは1~5か所/13日間, Hospital Eでは1か所/18日間であった。

考 察

全ゲノム配列を用いた系統樹解析で各事例でほぼ独立したClusterを形成したことから, 集団発生のような関連性を疑う場合には全ゲノム配列の系統樹解析を行いClusterの形成を確認することが効果的と推察する。Cluster 2とCluster 4のように集団発生の時期が同時期でも, 全く異なるClusterへ分類される事例もあった一方で, Cluster 2内のように関連性が高いと推察できる事例も存在した。Hospital EとHospital Fは合わせてCluster 2を形成していたが, Hospital Fは2つの系統に分かれ単一のClusterを形成しなかった。両施設が医療機関であること, 同一の保健所管内にあること, 関係や事例の発生時期が1か月以内であることを考慮すると, Hospital Eと同じ配列の株またはその上流にある株がHospital Fでその後2つの系統に分かれた可能性も推察される。都内のSARS-CoV-2陽性患者の全てについて全ゲノム配列を取得することは不可能なため, 今回取得できた株の流行の起源を完全に特定することはできないものの, 集団発生のあった施設の属性や地理的な関係に合わせ, 全ゲノム配列を用いた系統樹解析は感染経路の推定に有用であることが明らかとなった。引き続き, できるだけデータを増やし, 感染経路の推定の確度を高めていく必要がある。

コロナウイルスはRNA複製の校正機能を持つため変異頻度は他のRNAウイルスより低く, SARS-CoV-2の変異速度は2週間に1か所程度と推定されている^{15,16)}。今回, 母集団の大小に関わらず同一事例内であっても患者間で1~5か所の変異が認められた。特に, 比較的母亲集団の大きい3事例では, 複数の変異パターンが存在し, 変異部位にバリエーションも見られた。また, この3事例では推定されている頻度より高い頻度で変異が生じていた可能性もあった。この理由として, 各集団における最初の患者にSARS-CoV-2が感染し, 次の患者へと感染が拡大し臨床検体として採材されるまでの間に2週間以上の期間があったことによる可能性が考えられるが, COVID-19の潜伏期間は1~14日 (平均5-6日) とされているため¹⁷⁾, 採材までの期間を短縮することは困難である。しかしながら, 変

異は感染性の伝播経路にも左右されると考えられ, 事例内で変異パターンが複数生じていても, 変異が5か所までの範囲であれば, 同一の感染源である可能性が本研究から示唆された。

SARS-CoV-2のPCR検査陽性例における, 疫学情報のみに基づいた各事例や患者相互の関連性の解明には限界がある。NGSにより得られる全ゲノム配列を用いた系統樹解析は感染経路の推定に有用であると考えられた。

ま と め

2020年6月28日から2021年4月30日までに搬入された, 都内におけるCOVID-19集団発生30事例の臨床検体計135件からNGSを用いて, 得られた全ゲノム配列の比較によりNGSを用いた遺伝子解析の有用性を評価した。系統樹解析により集団発生の事例によりほぼ同一のClusterを形成した。変異の検出および変異パターンの比較からは, 同一事例内でも数塩基異なる場合があることが明らかとなった。各事例で検出された新型コロナウイルスの変異が5か所までの範囲であれば, 同一の感染源である可能性が示唆され, 全ゲノム配列を用いた系統樹解析は感染経路の推定に有用であると考えられた。

謝 辞

SARS-CoV-2の検査および遺伝子解析などにご尽力いただいた当センター微生物部, 食品化学部, 薬事環境科学部の関係各位に深謝いたします。

文 献

- 1) Wu, F., Zhao, S., Yu, B., *et al.*: *Nature*, **579**, 265–269, 2020.
- 2) Li, Q., Wu, J., Nie, J., *et al.*: *Cell*, **182**, 1284–1294, 2020.
- 3) Peñarrubia, L., Ruiz, M., Porco, R., *et al.*: *Int. J. Infect. Dis.*, **97**, 225–229, 2020.
- 4) Ahmed, SF., Quadeer, AA., McKay, MR., *et al.*: *Nat. Protoc.*, **15**, 2141–2142, 2020.
- 5) Munnink, BBO., Nieuwenhuijse, DF., Stein, M., *et al.*: *Nat. Med.*, **26**, 1405–1410, 2020.
- 6) McAloose, D., Laverack, M., Wang, L., *et al.*: *mBio*, **11**, 1–13, 2020.
- 7) 国立感染症研究所: 感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の新規変異株について (第9報), 2021.
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/coronavirus/2019-ncov/2484-idsc/10434-covid19-43.html> (2021年10月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 8) 浅倉弘幸, 長島真美, 熊谷遼太, 他: 東京健安研セ年報, **71**, 65–72, 2020.
- 9) 東京都健康安全研究センター: 東京都で検出された新型コロナウイルスの全領域遺伝子解析結果, 2021.

http://www.tokyo-eiken.go.jp/lb_virus/sars2ngstree/

(2021年10月15日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)

- 10) 長島真美, 熊谷遼太, 河上麻美代, 他: 東京健安研セ
年報, **72**, 65-71, 2021.
- 11) 熊谷遼太, 長島真美, 浅倉弘幸, 他: 東京健安研セ年
報, **71**, 73-78, 2020.
- 12) Itokawa, K., Sekizuka, T., Hashino, M., et al.: nCoV-2019
sequencing protocol for illumina V.3, 2020.
[https://www.protocols.io/view/ncov-2019-sequencing-
protocol-for-illumina-bnn7mdhn?version_warning=no](https://www.protocols.io/view/ncov-2019-sequencing-protocol-for-illumina-bnn7mdhn?version_warning=no)
(2021年10月15日現在. なお本URLは変更または抹
消の可能性がある)
- 13) Itokawa, K.: Alternative primers for the ARTIC Network's
nCov2019 multiplex PCR. 2021.
https://github.com/ItokawaK/Alt_nCov2019_primers
(2021年10月15日現在. なお本URLは変更または抹
消の可能性がある)
- 14) 厚生労働省: 令和3年2月5日健感発0205第4号「新型
コロナウイルス感染症の積極的疫学調査における検
体提出等について(要請)」,
<https://www.mhlw.go.jp/content/000794688.pdf> (2021
年10月15日現在. なお本URLは変更または抹消の可
能性がある)
- 15) 増田 道明: モダンメディア, **66**, 11, 313-320, 2020.
- 16) GISAID: Genomic epidemiology of novel coronavirus -
Global subsampling, 2021.
<https://nextstrain.org/ncov/global?l=clock> (2021年10月15
日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性があ
る)
- 17) WHO: Coronavirus disease (COVID-19), 2020.
[https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-
coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-
detail/coronavirus-disease-covid-19](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-detail/coronavirus-disease-covid-19) (2021年10月15日現
在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)

Genetic Analysis of SARS-CoV-2 in Institutional Infection Cases in Tokyo Using Next Generation Sequencing

Masaki HAYASHI^a, Takako YAMAZAKI^a, Mami NAGASHIMA^a, Akiko KUSABUKA^b, Mayu OKADA^a, Miyoko HOSHI^a, Hirofumi MIYAKE^a, Akane NEGISHI^a, Takushi FUJIWARA^a, Michiya HASEGAWA^a, Hiroyuki ASAKURA^a, Miyuki NAGANO^a, Mamiyo KAWAKAMI^a, Yu YAOITA^a, Kenshirou KUROKI^a, Yurie KITAMURA^a, Emiko KAKU^a, Maya ISOGAI^a, Kouji MORI^a, Sachiko HARADA^a, Ryota KUMAGAI^a, Ai SUZUKI^a, Fumi KASUYA^a, Arisa AMANO^a, Tomohiro KOSUGI^a, Yukinao HAYASHI^a, Yuuta UCHIDA^b, Naoki NAKATSUBO^b, Atsushi YOSHIDA^a, Jun SUZUKI^a, Takashi CHIBA^a, and Kenji SADAMASU^a

The novel coronavirus disease 2019 (COVID-19), which appeared in China in December 2019, has spread fast and has been affecting people worldwide. First reported in Japan in January 2020, its epidemic continues. So far, in Japan, we have conducted cluster measures to prevent outbreaks in institutional infections, such as hospitals and care home for the elderly. In this study, we obtained 135 whole genome sequences of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) derived from clinical specimens of 30 institutional outbreak cases between June 28, 2020 and April 30, 2021 in Tokyo using the next-generation sequencing (NGS) and evaluated the usefulness of genetic analysis using NGS. Phylogenetic tree analysis by institution and comparison of mutation positions and patterns suggested that if the SARS-CoV-2 mutations ranged up to five locations, they could be the same source of infection.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, institutional infection, NGS

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

^b Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, at the time when this work was carried out