

## 東京都内で分離された新型コロナウイルス（オミクロン株）の 次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析（2022年9月～2023年3月）

浅倉 弘幸<sup>a</sup>, 吉田 勲<sup>b</sup>, 藤原 卓士<sup>a</sup>, 河上 麻美代<sup>a</sup>, 根岸 あかね<sup>a</sup>, 伊藤 仁<sup>a</sup>, 黒木 絢士郎<sup>a</sup>,  
横田 翔太<sup>a</sup>, 小泉 美優<sup>a</sup>, 北村 有里恵<sup>a</sup>, 磯貝 まや<sup>a</sup>, 林 志直<sup>a</sup>, 九澤 香織<sup>a</sup>, 長谷川 道弥<sup>a</sup>, 原田 幸子<sup>a</sup>,  
熊谷 遼太<sup>a</sup>, 糟谷 文<sup>a</sup>, 岡田 若葉<sup>a</sup>, 矢尾板 優<sup>a</sup>, 天野 有紗<sup>a</sup>, 三宅 啓文<sup>c</sup>, 長島 真美<sup>a</sup>, 貞升 健志<sup>c</sup>  
(外部機関査読者: 江原 勇登<sup>d</sup>)

2019年12月に発生した新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の亜系統オミクロン株による新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は世界中で発生が続いている。国内第7波（2022年7月～9月）および第8波（2022年11月～2023年1月）における東京都内でCOVID-19患者から分離された株を次世代シーケンサーで解析した。その結果、都内COVID-19患者から第7波ではオミクロン株亜系統のBA.5が、第8波はBA.2とBA.5の各派生系統およびリコンビナント株のXBB系統が分離された。系統樹解析および変異解析より、オミクロン株は感染力とともに免疫逃避能が向上するアミノ酸変異の蓄積を重ねていた。また、オミクロン株に持続感染していた長期入院患者から分離された株について解析した結果、同時期の分離株と比較してプロテアーゼ合成領域を含む全長に多くの変異を有していた。

**キーワード：** SARS-CoV-2, COVID-19, 分離培養株, オミクロン株, 次世代シーケンサー, 系統樹解析

### はじめに

2019年12月、中国武漢で報告された新型コロナウイルス（以下、SARS-CoV-2）を原因とする新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は世界的流行（パンデミック）となり、3年以上が経過した。世界保健機関（WHO）は2023年5月5日、新型コロナウイルス感染症に関する「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態」の宣言を終了すると発表した<sup>1)</sup>。日本国内においても2023年5月8日より感染症法の位置付けが5類感染症に引き下げられた<sup>2)</sup>。世界的にCOVID-19による死亡者数は減少傾向にあるが、依然として発生が続いており<sup>3)</sup>、2021年11月に南アフリカ共和国で報告されたオミクロン株<sup>4)</sup>から派生したXBB系統が2023年7月現在、世界中で主流株となっている。本報では前報<sup>5)</sup>に引き続き、都内のCOVID-19患者から分離したSARS-CoV-2オミクロン株を次世代シーケンサー（NGS）で解析を行い、都内で蔓延する第7波（2022年7月～9月）以降の都内SARS-CoV-2オミクロン株の特徴について報告する。

### 実験方法

#### 1. 供試材料

2022年9月1日から2023年3月31日に都内の医療機関よりCOVID-19疑い例として搬入され、当センターにてパンサーシステムによるTMA法（HOLOGIC）にてSARS-CoV-2陽性と判定された臨床検体（新型コロナウイルス検査）お

よびSARS-CoV-2変異株調査として搬入された臨床検体（変異株サーベイランス検査）および民間検査機関にてSARS-CoV-2陽性と判定された臨床検体（民間検査機関検体）を対象とした。各臨床検体として鼻咽頭ぬぐい液および唾液を対象として用いた。

#### 2. ウイルス分離とNGS解析

臨床検体からVeroE6系細胞を用いてウイルス分離を行った。細胞接種4日後に細胞変性効果（CPE）を確認し、CPEが確認されたものについて培養上清の回収を行い、QIAmp Viral RNA mini Kit（QIAGEN）を用いてRNAを抽出した。抽出RNAはSARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit（タカラバイオ）を用いてリアルタイムPCR法によりSARS-CoV-2の増殖を確認後、NGSのライブラリー作製に用いた。ライブラリー作製にはNEBNext Ultra RNA Library Prep Kit for Illumina（NEB）を用い、MiSeq（Illumina）を使用してデータを取得した。得られたデータはCLC genomics workbench（Qiagen）を用いて参照株へマッピングを行い、全長配列を取得した。参照株にはWuhan-Hu-1（NC\_045512.2）を用いた。取得した配列はPangolin（Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak LINeages）による系統分類をwebサイト（<https://pangolin.cog-uk.io/>）で行った（pangolin version 4.3, pangolin-data version v1.20）。また、オープンソ

<sup>a</sup> 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

<sup>b</sup> 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科

<sup>c</sup> 東京都健康安全研究センター微生物部

<sup>d</sup> 埼玉県衛生研究所

ースソフトウェアのNextclade (v2.14.1) <sup>6)</sup>を用いて全長配列における変異の探索および系統樹解析を行った。

## 結果および考察

### 1. 分離株の系統分類

全長配列を解読できたSARS-CoV-2分離培養20株についてPangolinによる系統分類を行った(表1)。その結果、分離されたオミクロン株(B.1.1.529)はBN.1.3, CH.1.1.1, CH.1.1.26, BA.5.2, BE.1.1, BF.5, BF.7.19.1, BQ.1.1, BQ.1.1.70, XBB.1.5.19, FL.1(XBB.1.9.1.1), XBF(BA.5.2.3とCJ.1(BA.2.75.3の亜系統)とのリコンビナント)であった。

第7波(2022年7月~9月)では第6波(2022年1月~3月)の主流株であったBA.1やBA.2と置き換わり、BA.5が主流株となった。第8波(2022年11月~2023年1月)における系統は当初はBA.5が最も多かったが、徐々に割合が低下し、代わってBN.1, BQ.1.1, BF.7などのBA.2系統やBA.5系統の子孫系統が増加した<sup>7)</sup>。2023年7月現在、XBB系統の子孫系統(XBB.1.5, XBB.1.9.1, XBB.1.16, XBB.2.3)が世界中で主流系統となっている<sup>8)</sup>。

### 2. 分子系統樹解析

分離株20株から得られたゲノム配列に世界各地から登録されたゲノム配列と合わせた系統樹解析を行った結果、SARS-CoV-2全体での解析では、大きくBA.2系統およびBA.5系統、XBB系統に分類された(図1a)。BA.2系統はさらにBA.2.75系統の派生系統(BN.1.3, CH.1.1.1, CH.1.1.26)に、BA.5系統はBA.5.2系統の派生系統(BF.5, BF.7.19.1)およびBA.5.3系統の派生系統(BQ.1.1, BQ.1.1.70)にそれぞれ分類された(図1b)。また、XBB系統にはXBB.1.5.19, FL.1が分類された(図1c)。

オミクロン株は2021年11月に南アフリカ共和国で報告されたオミクロン株BA.1から分岐する形でBA.2系統とBA.4系統およびBA.5系統に分かれた。世界各地から集積されたSARS-CoV-2ゲノムデータベース<sup>9)</sup>を用いた系統樹<sup>10)</sup>では、BA.2やBA.5系統、XBB系統からさらに派生して枝分かれが進んでおり、オミクロン株が速い速度で変異が蓄積され、変異していることが示された。

### 3. 分離株の変異探索

分離株のスパイク領域の受容体結合部位(RBD)における変異について詳しく調査を行った(表2)。BA.2系統(BA.2.75系統)、BA.5系統、XBB系統ともにRBD領域に多数の共通したアミノ酸変異を有していた。BA.5系統に着目すると、BF.7ではR346Tが、BQ.1.1ではR346T, K444T, N460K変異がBA.5.2系統では見られなかった変異が追加されていた。

L452R変異は免疫逃避の性質を有し<sup>11)</sup>、BA.1系統や当初のBA.2系統には見られなかったが、2022年4月ごろよりBA.2系統の中にL452部位の遺伝子変異(L452Q, L452M)を持つ系統(BA.2.12.1など)が同じくL452R変異を有するBA.4/BA.5系統ともに出現した<sup>12)</sup>。L452Rの他にもR346T, K444T, N460K, F486Sの変異が蓄積する傾向が見られ、これらの変異も中和抗体からの逃避能が上昇する可能性が示唆されており、オミクロン株の適応度が上昇する収斂進化と考えられている<sup>13-14)</sup>。また、N460K変異について、TKYE6mbc30523株(BQ.1.1)ではスパイク蛋白460番目に対応するコドンの3番目の塩基がTからA(コドン:AATからAAA, T22942A変異)に変化することによってアミノ酸もN(アスパラギン)からK(リジン)に変化していたが、TKYE6mbc35710株(CH.1.1.1)、TKYE6mbc30523株(XBB.1.5.19)、TKYE6Kbm88189株(FL.1)ではTからG

表 1. 系統分類および系統樹解析に用いた都内 SARS-CoV-2 分離株

No	株名	搬入日	Pango Lineage	Accession No	備考
1	TKYE6K50307	2022年9月	BA.5.2	LC776708	
2	TKYE6K50395	2022年9月	BE.1.1	LC776709	
3	TKYE6K50410	2022年9月	BA.5.2	LC776710	
4	TKYE6K50411	2022年9月	BA.5.2	LC776711	
5	TKYE6K50682	2022年10月	BA.5.2	LC776712	持続感染例
6	TKYE6S25298	2022年10月	BA.5.2	LC776719	持続感染例
7	TKYE6S26272	2022年11月	BQ.1.1	LC776720	
8	TKYE6S26273	2022年11月	BN.1.3	LC776721	
9	TKYmbc30523	2022年12月	XBB.1.5.19	LC776705	
10	TKYE6K51237	2023年1月	BF.7.19.1	LC776713	
11	TKYE6mbc32952	2023年1月	BF.5	LC776706	
12	TKYE6mbc34162	2023年1月	BF.5	LC776704	
13	TKYE6mbc34631	2023年1月	BQ.1.1.70	LC776707	
14	TKYE6mbc34498	2023年1月	BF.7.19.1	LC776722	
15	TKYE6mbc34662	2023年1月	BF.5	LC776703	
16	TKYE6Kbm88189	2023年1月	FL.1	LC776715	
17	TKYE6Kbm88261	2023年1月	XBF	LC776716	
18	TKYE6mbc35710	2023年2月	CH.1.1.1	LC776717	
19	TKYE6mbc35869	2023年2月	CH.1.1.26	LC776718	
20	TKYE6K51364	2023年3月	BA.5.2	LC776714	

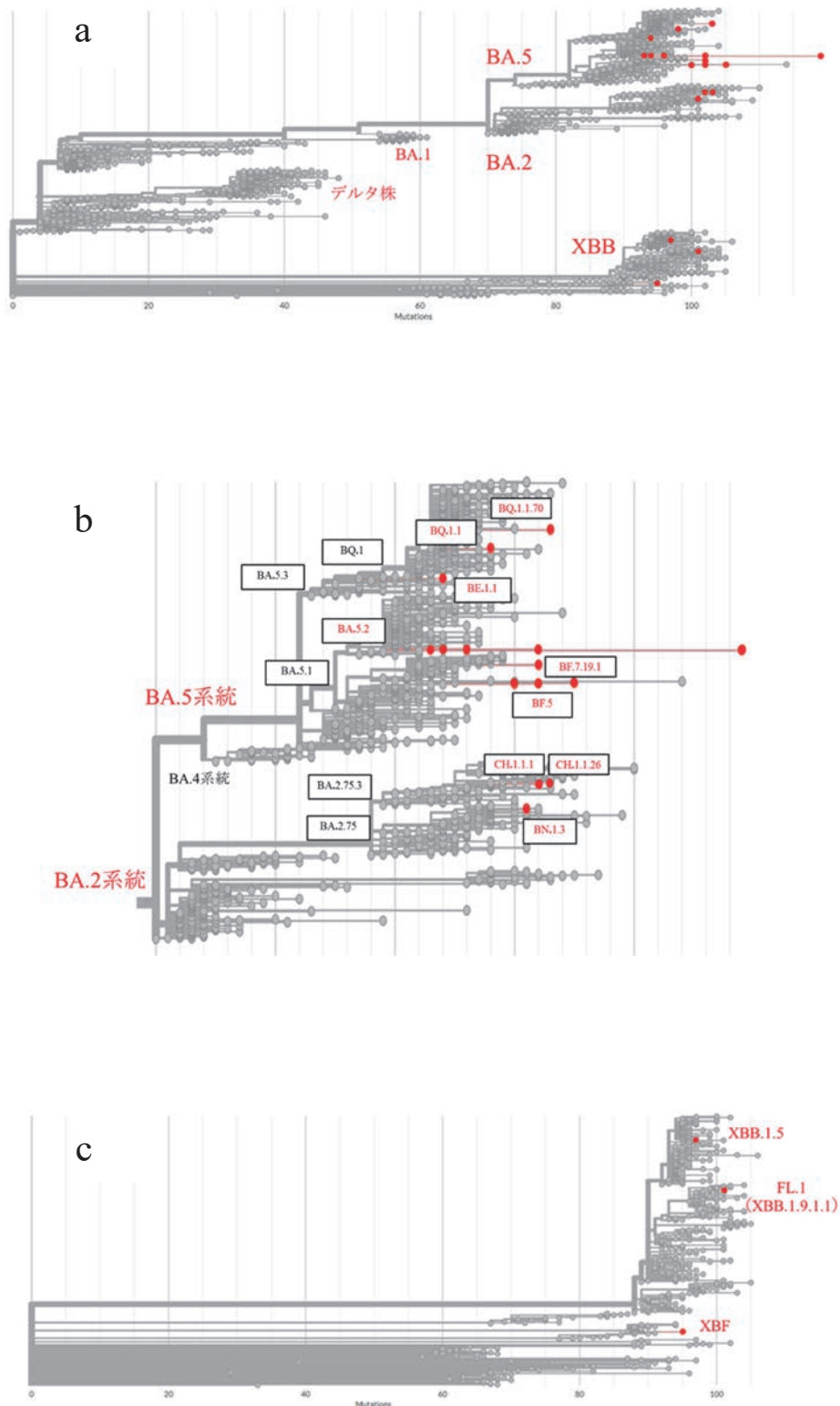


図 1. 分離株の系統樹解析  
(a : SARS-CoV-2 全体, b : オミクロン株 BA.2/BA.5 系統, c : オミクロン株 XBB 系統)  
Nextclade (<https://clades.nextvariants.org/>) にて作成  
赤丸が今回解析した分離株を示す.

表 2. オミクロン株亜系統 (BA.2/BA.5/XBB) の子孫系統株におけるスパイク蛋白受容体結合部位 (RBD : 319-541aa) の主なアミノ酸変異

系統	株名	Pango lineages	G339H	R346T	K417N	N440K	K444T	G446S	L452R	N460K	S477N	T478K	E484A	F486S	F490S	Q498R	N501Y	Y505H
BA.2系統 (BA.2.75系統)	TKYE6mbc35710	CH.1.1.1	○	○	○	○	○	○	○	○ (※1)	○	○	○	○	○	○	○	○
	TKYE6K50307	BA.5.2	○		○	○		○	○		○	○	○	○		○	○	○
BA.5系統	TKYE6K50395	BE.1.1	○		○	○		○	○		○	○	○	○		○	○	○
	TKYE6mbc34662	BF.5	○		○	○		○	○		○	○	○	○		○	○	○
	TKYE6mbc34498	BF.7.19.1	○	○	○	○		○	○		○	○	○	○		○	○	○
	TKYE6S26272	BQ.1.1	○	○	○	○	○		○	○ (※2)	○	○	○	○		○	○	○
XBB系統	TKYE6mbc30523	XBB.1.5.19	○	○	○	○		○		○ (※1)	○	○	○	○	○	○	○	○
	TKYE6Kbm88189	FL.1 (XBB.1.9.1.1)	○	○	○	○		○		○ (※1)	○	○	○	○	○	○	○	○

(※1) T22942G

(※2) T22942A

(コドン: AATからAAG, T22942G変異) の変化によってNからKへアミノ酸変異が起きていた. 系統によって置換した塩基は異なるが, 同様にN460K変異となっていることから, 免疫逃避を有するための収斂進化であると考えられる.

当センターで行う変異株サーベイランス検査は<sup>15)</sup>, N460K変異がBA.2系統やBA.5系統内で異なることを利用するなど, 各オミクロン亜系統株に特異的な変異に着目した検出系を構築することにより, オミクロン株亜系統の詳細な判別が可能である. 変異株サーベイランス検査によって都内のオミクロン株亜系統の蔓延状況についてモニタリングを行っている<sup>7)</sup>. 変異株サーベイランス検査の構築・検証および株の詳細な特徴を把握するためにも, 変異株の分離培養は重要となる.

#### 4. 長期持続感染例の分離株

COVID-19長期持続感染患者2名から分離された2株 (TKYE6K50682, TKYE6S25298) について全長の解析を行った結果, どちらの株もBA.5.2系統に分類されたが, Wuhan-Hu-1株 (NC\_045512.2) と比較してTKYE6K50682株が82箇所, TKYE6S25298株が99箇所の変異があり, 同時期に分離されたBA.5.2系統株の変異箇所73~76と比較してより多くの変異を有していた (図2). また, 系統樹上でも登録されているBA.5.2系統株よりも多くの変異が蓄積されていることが示された (図3).

持続感染株とその他 BA.5.2 系統株で領域別に変異数を調べた結果, すべての株でスパイク領域における変異数が突出して多かったが, 持続感染例では他の BA.5.2 系統株

と比較してORF1abのnsp3領域に変異が多い傾向があった (表3). さらに, 薬剤耐性に起因するアミノ酸変異はなかったが, どちらの株にも ORF1a 領域の nsp3 蛋白合成部位に T1581M 変異が共通して見られた (図4). T1581M変異はBA.2系統やXBB系統でも報告があるが, 今回は BA.5.2 系統の中でも持続感染している株のみで見られた. nsp3 蛋白はパパイン様プロテアーゼ (Papain-Like Protease, PLpro) としての機能を有し, メインプロテアーゼ (3C-like proteinase, Main Protease, Mpro) と同様にウイルスタンパク質の成熟に関与する一方, 宿主の炎症増強反応に関連するユビキチンを分解し, さらに自然免疫系を妨害しインターフェロン産生を抑制する<sup>16)</sup>. 免疫不全状態の宿主では, 数カ月以上にわたってウイルスが体内に留まり, 長期間の感染により変異を蓄積し, 免疫逃避能の飛躍的な向上に寄与すると考えられている<sup>17)</sup>. 分離された2例とも多くの変異が蓄積していたことから, 免疫逃避が向上する変異が多数追加している可能性があり, この T1581M 変異もそのうちの1つの変異として nsp3 の機能変化によって宿主の免疫系から逃れる作用が増強している可能性が示唆された. スパイク領域の変異は抗体からの免疫逃避であるが, プロテアーゼ領域の変異はインターフェロン系に影響することから, 宿主自然免疫からの逃避でもある. これら変異による機能変化の評価にさらに詳細な検討が必要不可欠である. また, ウイルス分離が可能であったことは, 感染性を有するウイルスを産生していたことを意味し, このような多数の変異を有する株によって新たな流行株や派生株が生じる可能性があるため, 持続感染患者および患者から分離されるウイルスにも注視する必要がある.

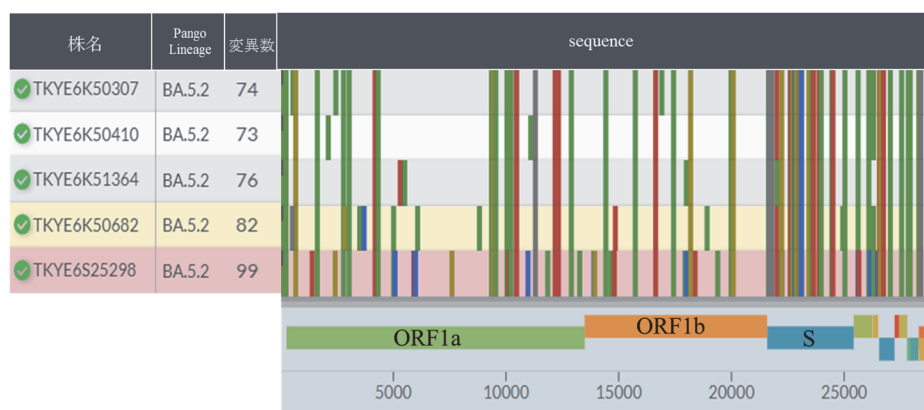


図2. BA.5.2 系統分離株の全長解析による変異箇所

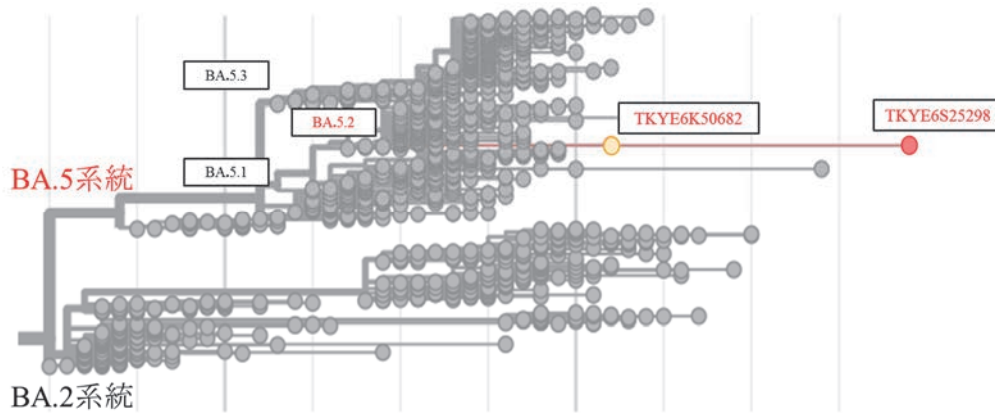


図 3. 都内持続感染患者由来 SARS-CoV-2 分離株の系統樹解析  
Nextclade (<https://clades.nextvariants.org/>) にて作成

表 3. BA.5.2 系統分離株の領域別塩基置換数  
参照株は Wuhan-Hu-1 (NC\_045512.2) を用いた

ORF	5'UTR	ORF1ab					
		nsp1	nsp2	nsp3 (papain-like proteinase)	nsp4	nsp5 (3C-like proteinase)	nsp6
TKYE6K50307	2	2	2	4	4	3	0
TKYE6K50410	2	1	2	4	4	3	1
TKYE6K51364	2	1	1	6	4	3	0
持続感染例 TKYE6K50682	2	1	1	9	5	3	0
持続感染例 TKYE6S25298	2	1	3	10	4	4	2

ORF	ORF1ab							
	nsp7	nsp8	nsp9	nsp10	RdRp	helicase	3'-to-5' exonuclease	endoRNase
TKYE6K50307	0	2	1	0	2	3	1	2
TKYE6K50410	0	2	1	0	2	2	1	2
TKYE6K51364	0	2	1	0	2	3	1	2
持続感染例 TKYE6K50682	0	2	1	0	3	2	2	2
持続感染例 TKYE6S25298	0	2	1	1	6	5	3	2

ORF	S	ORF3a	E	M	ORF6	ORF7a	ORF7b	ORF8
	spike protein	ORF3a protein	envelope protein	membrane glycoprotein	ORF6 protein	ORF7a protein	ORF7b protein	ORF8 protein
TKYE6K50307	29	2	1	4	1	0	1	0
TKYE6K50410	29	2	1	4	1	0	1	0
TKYE6K51364	30	2	0	4	1	0	1	0
持続感染例 TKYE6K50682	30	2	1	4	1	0	1	0
持続感染例 TKYE6S25298	31	5	2	4	1	0	1	0

ORF	N	ORF10	3'UTR	non-coding region	総変異数
	nucleocapsid phosphoprotein	ORF10 protein			
TKYE6K50307	6	0	0	2	74
TKYE6K50410	6	0	0	2	73
TKYE6K51364	6	0	2	2	76
持続感染例 TKYE6K50682	7	1	0	2	82
持続感染例 TKYE6S25298	7	0	0	2	99

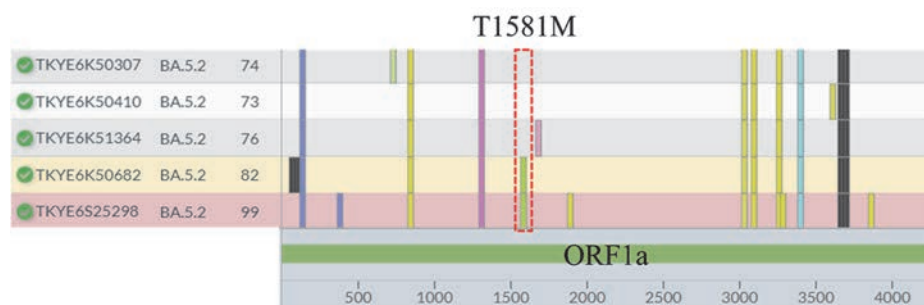


図 4. BA.5.2 系統分離株の ORF1ab 領域におけるアミノ酸変異

## ま と め

東京都内にて国内第7波から第8波にかけて新型コロナウイルス感染症が疑われ、SARS-CoV-2陽性となった検体について、VeroE6系細胞により分離培養を行い、NGSによりSARS-CoV-2の全長塩基配列解析を行った。解析の結果、第7波はオミクロン株亜系統BA.5が、第8波ではBA.5およびBA.2とBA.5の各派生系統、XBB系統が分離された。第7波ではそれまで流行していたオミクロン株亜系統より感染力の高いBA.5が置き換わることによる流行であったが、第8波で分離された株はBA.2系統、BA.5系統、XBB系統の派生系統であり、免疫逃避能が向上する変異が蓄積していた。また、オミクロン株による長期持続感染例から分離された株では、全長にわたり多数の変異が蓄積されており、宿主の免疫逃避に関わる酵素の合成部位における変異も認められた。SARS-CoV-2は今後も新たな変異と流行を繰り返すと予想されることから、SARS-CoV-2の感染実態には、当所で行う変異株サーベイランスによる変異株の蔓延状況の把握に加え、株の特徴を理解するために分離培養と全長解析を継続していく必要があると考えられた。

## 文 献

- 1) WHO : Virtual Press conference on COVID-19 and other global health issues transcript - 5 May 2023  
<https://www.who.int/publications/m/item/virtual-press-conference-on-covid-19-and-other-global-health-issues-transcript---5-may-2023>  
 (2023年7月10日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
- 2) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症の5類感染症移行後の対応について、  
<https://www.mhlw.go.jp/stf/corona5rui.html>  
 (2023年7月10日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
- 3) Our World in Data :  
<https://ourworldindata.org/>  
 (2023年7月10日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
- 4) Department Health Republic of South Africa. SARS-CoV-2 Sequencing & New Variant Update 25 November 2021.  
<https://sacoronavirus.co.za/2021/11/25/sars-cov-2-sequencing-new-variant-update-25-november-2021/>  
 (2023年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
- 5) 浅倉弘幸, 吉田勲, 藤原卓士, 他 : 東京健康研七 年 報, 73, 51-57, 2022.
- 6) Aksamentov, I., Roemer, C., Hodcroft, E. B., *et al.* : Journal of Open Source Software, 6, 3773, 2021.
- 7) 東京都：東京都新型コロナウイルス感染症モニタリング会議・分析資料（令和5年5月8日公表）  
<https://www.bousai.metro.tokyo.lg.jp/taisaku/saigai/1023407/index.html>  
 (2023年7月10日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
- 8) WHO : COVID-19 Situation reports Weekly epidemiological update on COVID-19 - 6 July 2023  
<https://www.who.int/publications/m/item/weeklyepidemiological-update-on-covid-19---6-july-2023>  
 (2023年7月10日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
- 9) GISAID : <https://gisaid.org/>  
 (2023年7月10日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
- 10) Nextstrain : <https://nextstrain.org/>  
 Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 with subsampling focused globally over the past 6 months  
 (2023年7月10日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
- 11) Motozono, C., Toyoda, M., Zahradnik J., *et al.* : Cell Host & Microbe, 29, 1124-1136, 2021.
- 12) 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) の変異株について (第18報)  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551cepr/11257-covid19-18.html>

(2023年7月10日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)

- 13) Cao, Y., Wang, J., Jian, F., et al.: *Nature*, 602, 657–663 2022.
- 14) Ito, J., Suzuki, R., Uriu, K., et al.: *Nature Communications*, 14, 2023.
- 15) 長島真美 : 東京健安研七年报, 73, 15–24, 2022.
- 16) Russo, C, L., Tomasin, R., Matos, A, I., et al.: *JBC*, 3, 101041, 2021.
- 17) Kumata, R., Sasaki, A., : *Proc Biol Sci*, 289, 1986, 2022.



**Genetic Analysis of SARS-CoV-2 Omicron Variants Isolated in Tokyo Using Next Generation Sequencer (NGS)  
(September 2022 to March 2023)**

Hiroyuki ASAKURA , Isao YOSHIDA , Takushi FUJIWARA , Mamiyo KAWAKAMI , Akane NEGISHI , Hitoshi ITOH ,  
Kenshiro KUROKI , Shota YOKOTA , Miyu KOIZUMI , Yurie KITAMURA , Maya ISOGAI , Yukinao HAYASHI ,  
Michiya HASEGAWA , Sachiko HARADA , Ryota KUMAGAI , Fumi KASUYA , Wakaba OKADA , Yu YAOITA , Arisa AMANO ,  
Hirofumi MIYAKE , Mami NAGASHIMA , and Kenji SADAMASU  
(Reviewed by Hayato EHARA<sup>b</sup>)

The novel coronavirus disease (COVID-19) caused by the Omicron strain, a sublineage of the novel coronavirus (SARS-CoV-2) that emerged in December 2019, continues to emerge worldwide. Strains were isolated from COVID-19 patients infected with the Omicron strain in Tokyo, mainly during the 7th (July-September 2022) and the 8th wave (November 2022-January 2023). Using next-generation sequencing, our analysis showed that the 7th wave of patients with new coronavirus infections in Tokyo had the Omicron strain subline BA.5, whereas the 8th wave of BA.2- and BA.5- derived strains and XBB lineage was isolated. Based on the phylogenetic tree and cultivar analysis, the Omicron strain had increased infectivity and immune evasion ability for a period of time. In addition, we analyzed the strain isolated from a patient hospitalized long-term for persistent infection with the Omicron strain, compared with the isolate at the same time, the full length including the protease.

**Keywords:** SARS-CoV-2, COVID-19, isolated strain, omicron subvariants, next-generation sequencing, phylogenetic tree analysis

---

<sup>a</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,  
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

<sup>b</sup> Saitama Institute of Public Health