

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

浅倉 弘幸^a, 吉田 勲^b, 藤原 卓士^a, 永野 美由紀^a, 鈴木 愛^a, 根岸 あかね^a, 河上 麻美代^a, 伊藤 仁^a,
矢尾板 優^a, 黒木 絢士郎^a, 横田 翔太^a, 北村 有里恵^a, 加来 英美子^a, 磯貝 まや^a, 長谷川 道弥^a,
原田 幸子^a, 熊谷 遼太^a, 糟谷 文^a, 天野 有紗^a, 林 志直^a, 三宅 啓文^c, 長島 真美^a, 貞升 健志^c

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）変異株の相次ぐ出現により、現在も世界各地で新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の流行が続いている。2022年7月現在、世界中で流行している変異株はオミクロン株であり、東京都においてもオミクロン株の感染によるCOVID-19患者が連日報告されている。今回、SARS-CoV-2オミクロン株について、2021年12月から2022年6月までにVero系細胞を用いたSARS-CoV-2分離株を次世代シーケンサーを用いて解析した。その結果、第6波の主流株であるオミクロン株は、感染力の強い亜系統が相次いで置き換わることによって第6波長期化の要因となっていた。また、第5波で流行したデルタ株とオミクロン株の混合感染検体におけるVeroE6/TMPRSS2細胞を用いた培養の結果、デルタ株のみ分離されたことからオミクロン株はデルタ株とは感染複製様式が異なることが推察された。

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

はじめに

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）は現在も世界的流行（パンデミック）が続いており、未だ終息に至っていない。流行が続いている要因として感染力や免疫逃避能が高まった変異株の出現が一因と考えられている。特にVOC（Variant of Concern：懸念される変異株）による流行が繰り返されており、国内においてもアルファ株やデルタ株がそれぞれ第4波（2021年4月～6月）や第5波（2021年7月～9月）の主流株となった。

2021年11月24日に南アフリカ共和国から報告²⁾されたオミクロン株（VOC）は、瞬く間に世界中に広がり、2022年7月現在、世界中で検出されるSARS-CoV-2はほぼオミクロン株である³⁾。国内においても2021年11月30日に空港検疫で初めて確認され⁴⁾、東京都内では2021年12月24日に市中感染が疑われる初めての感染事例が報告された⁵⁾。その後、都内では2022年1月から爆発的に陽性者数が増加し、2021年2月2日には21,562人の陽性者が報告され⁶⁾、過去最大の流行となる第6波となった。現在もオミクロン株の感染者が連日報告されており、依然猛威を振っている。本報では前報⁷⁾に引き続き、都内で蔓延するSARS-CoV-2の感染実態について調査するため、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）で解析を行ったのでその結果について報告する。

実験方法

1. 供試材料

2021年12月1日から2022年6月30日に都内の医療機関よりCOVID-19疑い例およびSARS-CoV-2変異株の調査として搬入された臨床検体（鼻咽頭ぬぐい液、唾液）からVeroE6細胞またはVeroE6細胞にヒトTMPRSS2を発現させた細胞（VeroE6/TMPRSS2）を用いて分離されたウイルス株をNGS解析の対象とした。

2. ウイルス分離とNGS解析

各種臨床検体からSARS-CoV-2をVeroE6細胞およびVeroE6/TMPRSS2で培養した。培養4日後にCPEを確認後、培養上清からQIAmp Viral RNA mini Kit（QIAGEN）を用いてRNAを抽出した。抽出RNAはリアルタイムPCRにより分離細胞中のSARS-CoV-2の増殖を確認後、ライブラリー作製に用いた。NGSの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 genomic work bench（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 4.1.1, pangolin-data version v1.12）。また、オープンソースソフトウェアのNext Clade⁸⁾を用いて全長配列におけ

^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 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科
^c 東京都健康安全研究センター微生物部

る変異の探索および系統樹解析を行った。

3. SARS-CoV-2変異株の混合感染疑い例の解析

東京都健康安全研究センターが行う変異株サーベイランス検査によって、同一検体から「変異あり」および「変異なし」のどちらも検出されてヘテロと判定された検体について、Wellcome Trust ARTIC Network 提唱を基にしたプロトコル⁹⁾により臨床検体中のSARS-CoV-2全長配列を決定した。さらに、VeroE6/TMPRSS2細胞で培養した後、他のウイルス分離株のNGS解析法と同様の手法でSARS-CoV-2全長配列を取得した。臨床検体およびVeroE6/TMPRSS2細胞による分離株から得られたそれぞれの全長配列について比較を行った。

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の分離培養28株についてPangolinによる系統分類を行った(表1)。その結果、2021年12月から2022年6月に分離されたオミクロン株(B.1.1.529)の亜系統はBA.1, BA.2, BA.4, BA.5であった。さらに、Pangolin系統分類ではオミクロン株亜系統のさらに下位の子孫系統に細分類されており、BA.1はBA.1.1, BC.1(BA.1.1.1.1), BA.1.1.2, BA.1.15, BA.1.20に、BA.2はBA.2.3, BA.2.24, BA.2.56に分類された。また、2022年1月上旬にはデルタ株も分離された(AY29.2)。

今回解析対象とした株は都内で初めてオミクロン株が確認された2021年12月から2022年6月までを対象とした。オミクロン株が国内で報告された2021年12月から2022年2月頃まではBA.1が第6波流行の主体であった。特にBA.1の子孫系統であるBA.1.1.2は日本の第6波流行中に派生した日本固有の系統とされている¹⁰⁾。2月上旬にBA.1による流行のピークを迎えた後、より感染力が強いBA.2に置き換わりが進んだことにより新規陽性者数の減少が鈍くなり第6波は長期化した。さらにBA.2より感染力が強いBA.4やBA.5に置き換わりが進んでおり、新たな第7波の流行となりつつある¹¹⁾(2022年7月現在)。

オミクロン株亜系統のBA.1, BA.2, BA.4, BA.5はいずれも南アフリカ共和国で初めて報告され、その後、流行した後に欧米へと感染が拡大した。その後欧米から国内に侵入し、第6波の流行となった。このように過去のVOCの流行と同様に、都内の流行は感染力の強いオミクロン株亜系統が海外から流入することにより起きていた。そのため、特に海外での感染力の強い系統の発生の探知および都内への流入に注視する必要がある。東京都健康安全研究センターではリアルタイムPCR法による変異株サーベイランス検査を行っており¹²⁾、オミクロン株ではins214EPEによるBA.1/BA.2の判定やBA.2とBA.4/BA.5の区別が可能なL452R変異株サーベイランス検査などを通じ、オミクロン株亜系統の都内蔓延状況についてモニタリングを行って

る。しかし、変異株サーベイランス検査ではオミクロン株亜系統の都内の蔓延状況を迅速に把握できるが、株の詳細な特徴まではわからない。NGSによる全長配列解析ではさらに下位の子孫系統を明らかにすることにより地域で流行するオミクロン株の特徴まで知ることができる。そのため、変異株サーベイランス検査に加えて分離株のNGSによる全長解析は都内で流行するSARS-CoV-2の特徴を把握するために重要である。

2. 分離株の変異探索

2021年1月に分離されたデルタ株(No.4, TKYTSS1706_2022, AY.29.2)では武漢参照株と比較して約50ほどの変異を有していたのに対し、同時期のオミクロン株(No.1, TKYTS1505_2022, BA.1.15)は約60ほどの変異が存在した。特にデルタ株ではスパイク領域の変異は10カ所ほどであったのに対し、オミクロン株のスパイク領域には約30ほどの変異が存在した(図1)。このことからオミクロン株はこれまでの変異株に比べ変異の数が多く、抗原性が大きく異なっているため、大きな流行となったと考えられる。さらに、スパイク領域のL452部位における変異は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部位の遺伝子変異を持つ亜型が著しく増加している。BA.2に分類される株のうち、LからMに変異があるもの(No.26, TKYTS15536_2022)や、LからQに変化したBA.2.12.1系統、さらに、同部位がLからRに変化したBA.4やBA.5等は2022年7月現在増加傾向にあり、これらL452部位の遺伝子変異を持つ亜型はWHOにより「監視中のVOC亜型(VOC-LUM)」に指定され、今後の動向が注目されている。L452R変異はデルタ株にも存在し、免疫逃避の性質を有する¹³⁾ことから、ワクチン接種の影響により獲得した変異であると推察される。

3. 分子系統樹解析

分離株28株の系統樹解析を行った結果、オミクロン株はアルファ株やデルタ株などを含むその他のSARS-CoV-2とは系統樹上では大きく離れていた(図2)。また、オミクロン株で最初に報告されたBA.1から分岐する形でBA.2系統とBA.4系統およびBA.5系統が分類された。

SARS-CoV-2の全長配列解析は世界各地で盛んに行われており、世界中から集積された配列データベース¹⁴⁾による系統樹解析¹⁵⁾によってSARS-CoV-2の進化の過程を知ることができる。アルファ株やデルタ株はCOVID-19発生初期の系統株が世界各地へと広がった後、国境を越えた人流の制限によりそれぞれの国や地域内での流行により変異を繰り返すことによって感染力が高まったアルファ株やデルタ株が発生し、世界中で流行した。

オミクロン株も同様に瞬く間に世界各地へ広がり、現在世界中で流行している主流株となっている。過去に世界中でVOCとして流行した変異株と同様に、オミクロン株は

表 1. 系統分類および系統樹解析に用いた分離株

No	検体名	分離株名	分離細胞	搬入日	Pango系統	Accession No
1	S1505	TKYE6S1505_2021	VeroE6	2021/12/13	BA.1.15	LC726744
2	S1539	TKYTS1539_2021	VeroE6/TMPRSS2	2021/12/19	BA.1.1	LC726745
3	K36444	TKYTK36444_2021	VeroE6/TMPRSS2	2021/12/21	BA.1.15	LC726734
4	S1706	TKYTS1706_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/3	AY.29.2	LC726746
5	S1708	TKYTS1708_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/3	BA.1.1.2	LC726747
6	S1719	TKYTS1719_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/4	BA.1.15	LC726748
7	S1825	TKYTS1825_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/5	AY.29.2	LC726749
8	S1827	TKYTS1827_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/5	BA.1.1.2	LC726750
9	S1920	TKYTS1920_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/6	AY.29.2	LC726751
10	S1926	TKYTS1926_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/6	BA.1.1.2	LC726752
11	S1956	TKYTS1956_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/7	BA.1.1.2	LC726753
12	S1974	TKYE6S1974_2022	VeroE6	2022/1/7	BA.1.1	LC726754
13	S2307	TKYE6S2307_2022	VeroE6	2022/1/14	BA.2.3	LC726755
14	S2338	TKYTS2338_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/14	BA.1.1.2	LC726756
15	S2339	TKYTS2339_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/14	BA.1.1.2	LC726757
16	S2340	TKYTS2340_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/14	BA.1.15	LC726737
17	S2349	TKYTS2349_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/15	BA.1.20	LC726738
18	S2428	TKYTS2428_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/1/18	BA.1.1.2	LC726739
19	K46176	TKYTE646176_2022	VeroE6	2022/2/8	BA.2.24	LC726735
20	K46177	TKYTK46177_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/2/8	BA.1.1	LC726736
21	K46183	TKYTK46183_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/2/8	BA.1.1.2	LC726730
22	K46468	TKYTK46468_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/2/15	BC.1	LC726731
23	K46493	TKYTK46493_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/2/15	BA.1.1.2	LC726732
24	K46500	TKYE6K46500_2022	VeroE6	2022/2/15	BA.1.1.2	LC726733
25	S14631	TKYTS14631_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/5/7	BA.5.2.1	LC726740
26	S15536	TKYTS15536_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/5/30	BA.2.56	LC726741
27	S16295	TKYTS16295_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/6/20	BA.4	LC726742
28	S16296	TKYTS16296_2022	VeroE6/TMPRSS2	2022/6/20	BA.4	LC726743

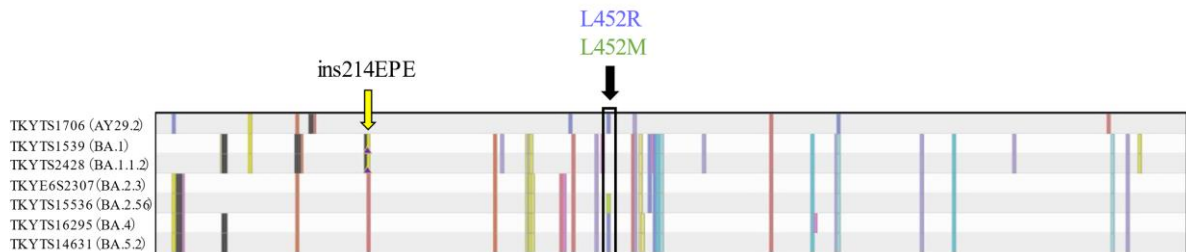


図 1. スパイク領域 (一部) のアミノ酸変異 (デルタ株, オミクロン株)
Nextclade (<https://clades.nextvariants.org/>) にて作成

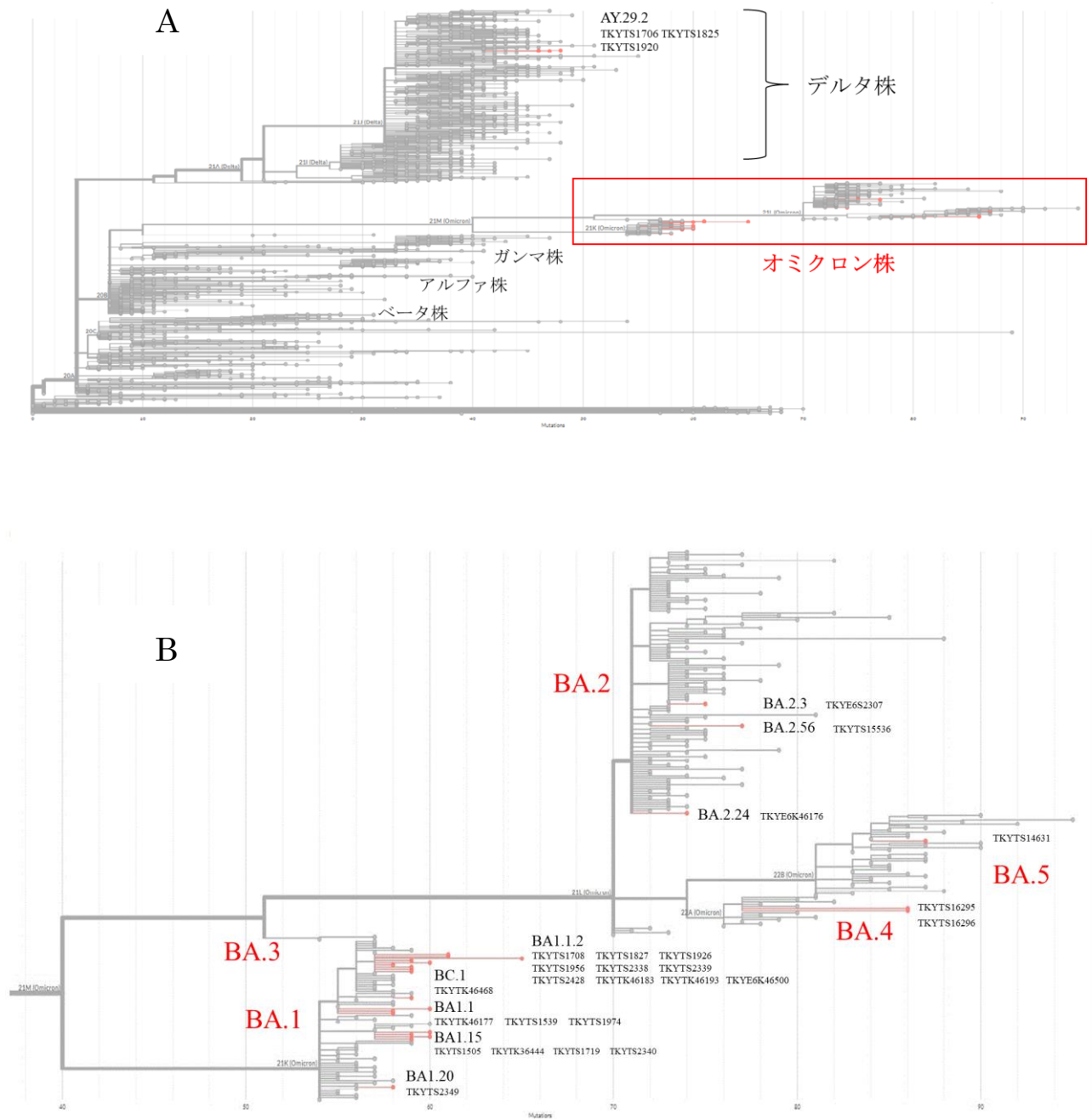


図 2. 分離株の系統樹解析 (A : SARS-CoV-2 全体, B : オミクロン株)
Nextclade (<https://clades.nextvariants.org/>) にて作成
赤丸が今回解析した分離株を示す。

系統樹上ではそれまで流行していたSARS-CoV-2とは異なる別の系統に位置していた。今後もSARS-CoV-2の流行株はそれまで報告されてこなかった新しい系統から発生する可能性があるが、新たな変異株と従来株との感染力や病原性の違いを予測することは困難である。そのため、今後発生しうる新たな変異株と過去流行したSARS-CoV-2との性質の違いの調査を行うためにも、分離培養とNGSによる全長解析を続けていく必要がある。

4. デルタ株とオミクロン株の混合感染疑い株の解析

検体番号No.9のS1920患者臨床検体から抽出したRNAを用いたL452R変異株サーベイランス検査で、L452LとL452Rのどちらも検出され、ヘテロと判定された。S1920の搬入日は2022年1月6日であり、当時は同時期に搬入されていた他検体からデルタ株も検出されていたため、S1920はデルタ株とオミクロン株の混合感染が疑われた。そこで、S1920臨床検体をVeroE6/TMPRSS2細胞によりウイルス分離を行い、解析を試みた。その結果、S1920分離株(TKYTS1920_2022)では混合塩基は認められず、デルタ株(AY.29.2)の配列となった。S1920臨床検体中のSARS-CoV-2全長配列解析では、スパイク部位におけるL452R変異(22917T>G)は認められなかったが、その他の部位においてデルタ株とオミクロン株にそれぞれ固有の変異が混在した(表2)。S1920分離株(TKYTS1920_2022)のスパイク部位に認められた10個の変異は同時期に分離されたデルタ株(TKYTS1706_2022)と同一であった。S1920臨床検体ではデルタ株特有の変異(22029-22034 del, 22803A>G, 23604C>G, 24410G>A)のリード数は約40%で

あったのに対し、オミクロン株に特有の変異(21987-21995 del, 23604C>A)のリード数は約60%であった。また、23604部位にはデルタ株ではC>G, オミクロン株でC>Aのそれぞれ異なる2種類の変異があるが、S1920臨床検体中には23604C>Gが38%であり、23604C>Aが62%であった。さらに、S1920臨床検体ではそれぞれ同時期に分離されたデルタ株(S1706, AY.29.2)とオミクロン株(S1708, BA.1.1.2)のスパイク部位には3か所に同一の変異があり(21846C>T, 22995C>A, 23403A>G), S1920分離株(TKYTS1920_2022)ではこれら3か所に同一の変異を有するリード数は100%であった。

以上の結果より、S1920の患者臨床検体中にはデルタ株が約40%、オミクロン株が約60%存在していたが、VeroE6/TMPRSS2による培養ではオミクロン株よりデルタ株の複製が早く、デルタ株のみが分離された。

今回の我々の結果と同様に、VeroE6/TMPRSS2細胞ではオミクロン株はデルタ株より増殖効率が落ちると報告がある^{16,17)}。その理由として細胞への侵入経路の違いがあり、デルタ株ではTMPRSS2経路を利用するのにに対し、オミクロン株ではエンドサイトーシス経路を主に用いているためと推察されている。細胞への侵入経路の違いは感染性や病原性にも影響する。TMPRSS2は肺胞細胞で多く発現しているため、デルタ株は肺で増殖することによって重症化しやすいが、オミクロン株は上気道で増殖しやすいことから、オミクロン株はデルタ株と比較して感染力が強く、病原性は低いと推察されている。今回の結果においてもオミクロン株の感染複製様式はデルタ株とは異なることが明確となった。

表2. S1920分離株および臨床検体のスパイク部位における変異の比較

部位	参照配列 Wuhan-Hu-1 (NC_045512.2)	S1920						参考株	
		分離株			臨床検体			S1706T AY.29.2 (デルタ株)	S1708T BA.1.1.2 (オミクロン株)
		塩基	変異を有するリード数/ 全リード数	変異の割合 (%)	塩基	変異を有するリード数/ 全リード数	変異の割合 (%)		
21618	C	G	2328/2330	100	C	-	-	G	C
21846	C	T	1410/1413	100	T	447/448	100	T	T
21987-21995	GTGTTTATT	ATGTTTATT	1530/1530	100	9bp del	406/589	69	ATGTTTATT	9bp del
22029-22034	AGTTCA	6bp del	1699/1702	100	6bp del	52/123	42	6bp del	AGTTCA
22803	A	G	1045/1046	100	G	288/601	48	G	A
22917	T	G	807/807	100	T	-	-	G	T
22995	C	A	1295/1296	100	A	365/365	100	A	A
23403	A	G	2108/2112	100	G	892/892	100	G	G
23604	C	G	1978/1980	100	G	146/380	38	G	-
			-	-	A	233/380	61	-	A
24410	G	A	1687/1690	100	A	173/414	42	A	G

ま と め

2020年12月1日から2022年6月30日までに東京都内にて新型コロナウイルス感染症が疑われて搬入された検体について、Vero系細胞により分離培養を行い、NGSを用いてSARS-CoV-2の全長塩基配列解析を行った。解析の結果、第6波主流株のオミクロン株はそれまでの変異株とは異なる多くの変異を有していた。さらに、海外で報告された感染力の強いオミクロン株亜系統が国内に流入し、感染力の強いものに次々と置き換わることによって第6波長期化の要因となっていた。また、オミクロン株の培養細胞における感染複製様式はデルタ株と異なっていた。オミクロン株の分離培養株のNGS解析は、都内に蔓延するSARS-CoV-2の実態の把握に有用であると考えられた。

文 献

- 1) 東京都健康安全研究センター：東京都の新型コロナウイルス変異株の経時的变化
https://www.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/lb_virus/sars2ngstree/
(2022年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 2) Department Health Republic of South Africa. SARS-CoV-2 Sequencing & New Variant Update 25 November2021.
<https://sacoronavirus.co.za/2021/11/25/sars-cov-2-sequencing-new-variant-update-25-november-2021/>
(2022年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 3) Our World in Data : <https://ourworldindata.org/>
(2022年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 4) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症（変異株）の無症状病原体保有者について（空港検疫）
https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_22507.html
(2022年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 5) 東京都福祉保健局：オミクロン株の患者の発生について（第2747報）
<https://www.metro.tokyo.lg.jp/tosei/hodohappyo/press/2021/12/24/22.html> (2022年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 6) 東京都：新型コロナウイルス感染症対策サイト、報告日別による陽性者数の推移
<https://stopcovid19.metro.tokyo.lg.jp/>
(2022年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 7) 浅倉弘幸, 吉田勲, 熊谷遼太, 他：東京健安研七
年報, **72**, 103–108, 2021.
- 8) Aksamentov, I., Roemer, C., Hodcroft, E. B., *et al.* :
Journal of Open Source Software, **6**, 3773, 2021.
- 9) Itokawa, K., Sekizuka, T., Hashino, M., *et al.*: nCoV-
2019 sequencing protocol for illumina V.5, 2021.
https://www.protocols.io/view/ncov-2019-sequencing-protocol-for-illumina-eq2ly398mgx9/v5?version_warning=no (2022年7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) 東京都健康安全研究センター：世界の新型コロナウイルス変異株流行状況
https://www.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/lb_virus/worldmutation/
(2022年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 11) 東京都：（第93回）東京都新型コロナウイルス感染症モニタリング会議資料（令和4年7月14日）
<https://www.bousai.metro.tokyo.lg.jp/taisaku/saigai/1021348/1021840.html> (2022年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 12) 長島真美, 熊谷遼太, 河上麻美代, 他：東京健安研七
年報, **72**, 65–71, 2021.
- 13) Motozono, C., Toyoda, M., Zahradnik J., *et al.*:
Cell Host & Microbe, **29**, 1124–1136, 2021.
- 14) GISAID : <https://www.gisaid.org/>
(2022年7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) Nextvariants :
<https://nextvariants.org/narratives/ncov/sit-rep/ja/2020-03-20> (2022年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 16) Zhao, H., Lu, L., Peng, Zheng., *et al.* :*Emerg. Microbes. Infect.*, **11**, 277–283, 2022.
- 17) Meng, B., Abdullahi, A., Ferreira, I. A.T.M., *et al.* :
Nature, **603**, 706–714, 2022.

Genetic Analysis of SARS-CoV-2 Omicron Variants Isolated in Tokyo Using Next Generation Sequencer (NGS)

Hiroyuki ASAKURA^a, Isao YOSHIDA^a, Takushi FUJIWARA^a, Miyuki NAGANO^a, Ai SUZUKI^a, Akane NEGISHI^a, Mamiyo KAWAKAMI^a, Hitoshi ITO^a, Yu YAOITA^a, Kenshiro KUROKI^a, Shouta YOKOTA^a, Yurie KITAMURA^a, Emiko KAKU^a, Maya ISOGAI^a, Michiya HASEGAWA^a, Sachiko HARADA^a, Ryota KUMAGAI^a, Fumi KASUYA^a, Arisa AMANO^a, Yukinao HAYASHI^a, Hirofumi MIYAKE^a, Mami NAGASHIMA^a, and Kenji SADAMASU^a

Because of the emergence of new SARS-CoV-2 variants, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) remains a global pandemic agent. The variants that are currently the most common all over the world, and COVID-19 patients due to infection with the Omicron variants are reported every day in Tokyo. The properties of SARS-CoV-2 Omicron variants, isolated using Vero cells and examined using a next generation sequencer (NGS) were investigated. As a result of the successive replacement of highly infectious subvariants, the Omicron variants, which are the mainstream variants of the 6th epidemic in Tokyo have emerged. Furthermore, only the Delta strain was isolated after culturing with VeroE6/TMPRSS2 cells in a mixed infection population of the Delta strain, and the Omicron strain. The patterns in the VeroE6/TMPRSS2 cells were found to be distinct.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, isolated strain, mutation variants, omicron subvariants, next generation sequencer, phylogenetic tree analysis

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