

新型コロナウイルスの主要抗原遺伝子・抗原蛋白の  
分子進化に関する研究

保健科学研究科 保健科学専攻 博士後期課程 医療科学領域

23D101 長澤 紀佳

研究指導教員 木村 博一 教授



## 論文要旨

### 新型コロナウイルスの主要抗原遺伝子・抗原蛋白の 分子進化に関する研究

保健科学研究科 保健科学専攻 博士後期課程 医療科学領域

23D101 長澤 紀佳

新型コロナウイルス感染症 (Coronavirus Disease-2019, COVID-19) の起因ウイルスである SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Type 2) は、2019 年後半に、中国に出現後、世界的な大流行 (パンデミック) を引き起こした。当該ウイルスは、2003 年に出現した SARS-CoV-1 と同様、ベータコロナウイルス属に分類されるウイルスで、その主要抗原はスパイク蛋白 (S 蛋白) であることが示唆されている。SARS-CoV-2 は、出現後、*S* 遺伝子 (spike protein 遺伝子) の変異とともに抗原性を変化させ、その変化とともに新たな流行を引き起こしてきた。現在もなお、SARS-CoV-2 の *S* 遺伝子/S 蛋白は、変異・進化を重ね、世界各国における新型コロナウイルス感染症伝播に関与していることが示唆されている。また、S 蛋白の抗原性の変化は、*S* 遺伝子をコードしている mRNA ワクチンの有効性にも強い影響を及ぼす可能性がある。しかし、当該ウイルスの抗原性の変化と *S* 遺伝子/S 蛋白の分子レベルでの進化は不明な点が多い。

このような背景から、先駆的バイオインフォマティクス技術を用い、過去に流行した SARS-CoV-2 のいくつかの変異株/亜変異株 (variant / subvariant) の *S* 遺伝子/S 蛋白の詳細な分子進化学的解析を行い、直近 (2023~2024 年) の主流行亜変異株である JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 に対する系統・抗原性の差異解明に資するフィロゲノミクス (phylogenomics) 研究を実施した。

まず、本研究では、SARS-CoV-2 の過去に流行をみせた変異株の *S* 遺伝子情報を用いて Bayesian Markov Chain Monte Carlo (BMCMC) 法による時系列系統解析を行った。その結果、Wuhan 系統、Alpha 系統、Beta 系統、Delta 系統および Omicron 変異株/亜変異株の共通祖先は 2018 年 12 月に分岐したと推定された。その後、2 年かけてさまざまな Omicron 亜変異株を生み出し、2023 年 2 月の分岐により JN.1、JN.1.11.1 をはじめとする主流行亜変異株が出現した。形成された系統樹から Omicron 系統以前の流行変異株、Omicron 系統初期流行亜変異株 (分岐年 2020 年 8 月から 2022 年 3 月)、Omicron 系統現流行亜変異株 (分岐年 2022 年 8 月以降) の 3 系統 (Lineage) が形成された。平均進化速度は、すべての系統において  $10^{-3}$  置換/部位/年 (substitutions / site /

year ; s/s/y) 以上と推定された。つぎに、変異株間の組み換えを検証・解析するために、BA.2、BJ.1、BM.1.1.1、XBB.1.5 および XBB.1.16 の代表株を対象に塩基配列の相同性 (nucleotide identity) 解析を行った。その結果、XBB.1.5 亜変異株の組換え点 (ブレイクポイント) は、*S* 遺伝子開始コドンに換算し、1373 番目に位置することが推定された。さらに、XBB.1.5 変異株は、ブレイクポイントから 5'ヌクレオチド側においては、BJ.1 の塩基配列、3'ヌクレオチド側は、BM.1.1.1 の塩基配列を有する株であることから、本変異株は BJ.1 変異株ならびに BM.1.1.1 変異株の組み換え体 (recombinant) であることが推定された。また、主流変異株に対する XBB.1.5 対応 mRNA ワクチンの有用性を評価するため、XBB.1.5、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 代表株を用い、S 蛋白の詳細な三次元立体構造を作成し、コンフォメーションナルエピトープ (立体配座抗原決定基) 解析を行った。本解析の結果、XBB.1.5 と主流変異株に共通のエピトープは 10 モチーフと推定され、そのほとんどが受容体結合ドメイン (Receptor Binding Domain ; RBD) に位置していた。また、主流変異株は、コンフォメーションナルエピトープモチーフかつ RBD 上に P445H、N481K や A484K などの特異的なアミノ酸変異を獲得していた。さらに、E484K、F486P、R493Q ならびに N501Y などの代表的な免疫原性に関連するアミノ酸変異も有していた。これらの結果は、Omicron 系統の *S* 遺伝子/S 蛋白が免疫原性の変化とともに急速に進化し、ワクチンによる免疫回避をもたらしたことを示唆している。さらに、Omicron 株における S 蛋白の選択圧部位を推定するため、SLAC 法による選択圧解析を実施した。その結果、5 つのアミノ酸残基が正の選択圧部位であると推定され、その中でも F486P 変異は、コンフォメーションナルエピトープ内に位置していた。以上の知見は、これらのアミノ酸変異が各変異株の免疫原性に影響を与えるだけでなく、ワクチン株 (プロトタイプである Wuhan 株、BA.4、BA.5 変異株および XBB.1.5 亜変異株) に対するワクチン効果の回避にも寄与している可能性が示唆された。

以上のことから、本研究によって SARS-CoV-2 出現後における主要抗原遺伝子・抗原蛋白の詳細な分子進化ならびに XBB.1.5 亜変異株を含む現行ワクチンの有効性を推定することが可能になったこれらの知見は、他の呼吸器感染症、例えばインフルエンザのように、今後の COVID-19 の動向予測や流行株に適合したワクチン改変技術に寄与することが期待される。

キーワード : SARS-CoV-2、分子進化、立体配座エピトープ、中和抗体、ワクチン

# 目次

I. 序論	1
1. コロナウイルスならびにコロナウイルス感染症の概要	1
1.1. コロナウイルスの構造と分類の概要	・ ・ 1
1.2. ベータコロナウイルスに関連した重症コロナウイルス感染症の概要	・ ・ 2
1.3. Spike 蛋白 (S 蛋白) の構図の特徴と機能	・ ・ 5
1.4. 新型コロナウイルスの遺伝子変異・亜変異株・変異株ならびに進化	・ ・ 6
1.5. 新型コロナワクチンの概要	・ ・ 8
1.6. 新たに出現した亜変異株による mRNA ワクチンの効果	・ ・ 9
2. 分析方法	12
2.1. バイオインフォマティクスと分子進化学	・ ・ 12
2.2. バイオインフォマティクス技術を基盤とするウイルスゲノムの集団遺伝学的解析	・ ・ 13
2.3. エピトープ解析の意義	・ ・ 15

3. 本研究の目的	17
<b>II. 方法</b>	18
1. SARS-CoV-2 の塩基配列データセットの作成	18
2. 分析方法	19
2.1. ベイジアンマルコフ連鎖モンテカルロ (BMCMC) 法を用いた時系列系統解析による SARS-CoV-2 の <i>S</i> 遺伝子の進化系統樹の作成及び進化速度の推定	・ ・ 19
2.2. 類似性プロット (SimPlot) 解析	・ ・ 21
2.3. SARS-CoV-2 ・ <i>S</i> 蛋白の三次元立体構造モデルの作製	・ ・ 22
2.4. SARS-CoV-2 ・ <i>S</i> 蛋白の三次元立体構造エピトープ解析	・ ・ 23
2.5. SARS-CoV-2 ・ <i>S</i> 蛋白の選択圧解析	・ ・ 24
<b>III. 結果</b>	26
1. SARS-CoV-2 亜種/亜種の <i>S</i> 遺伝子の時系列系統解析	26
2. Omicron サブバリエント BA.2、BJ.1、BM.1.1.1、XBB.1.5、および XBB.1.16 の類似性プロット (SimPlot) 解析	27
3. ホモロジーモデリング	28

4. コンフォメーションナルエピトープ領域とアミノ酸置換部位	29
5. 選択圧解析	30
<b>IV. 考察</b>	<b>31</b>
1. 本研究の要約と意味	31
2. SARS-CoV-2・S 蛋白遺伝子の時系列系統解析	32
3. SARS-CoV-2 Omicron 亜変異株における類似性プロット (SimPlot) 解析	33
4. SARS-CoV-2・S 遺伝子のコンフォメーションナル解析および選択圧解析	34
5. 本研究の課題と今後の展望	36
<b>V. 結論</b>	<b>38</b>
<b>VI. 引用文献</b>	<b>40</b>
<b>VII. 図・表</b>	<b>49</b>
<b>VIII. 補足表</b>	<b>66</b>

謝辞

## I. 序論

### 1. コロナウイルスならびにコロナウイルス感染症の概要

#### 1.1. コロナウイルスの構造と分類の概要

コロナウイルスは、直径約 100nm の球状粒子であり、外殻構造には、Spike (S) 蛋白、Membrane (M) 蛋白および Envelope (E) 蛋白を含む脂質二重膜を含む。また、電子顕微鏡下で観察される構造では、エンベロープ内に Nucleocapsid (N) 蛋白に巻きついたプラス鎖の一本鎖 RNA ゲノムの存在が示されている (図 1) <sup>1,2)</sup>。本ウイルスの名前は、リントングステン酸による陰性染色による電子顕微鏡下で見られるウイルス表面の S 蛋白の突起の集合体が王冠 (corona) に類似していることに由来する <sup>3)</sup>。

ウイルス学的に本ウイルスは、ニドウイルス目コルニドウイルス亜目のコロナウイルス科に分類されている。さらに、コロナウイルス科は、レトロウイルス亜科とオルトコロナウイルス亜科に細分類され、後者はアルファ ( $\alpha$ ) コロナウイルス、ベータ ( $\beta$ ) コロナウイルス、ガンマ ( $\gamma$ ) コロナウイルスならびにデルタ ( $\delta$ ) コロナウイルスの 4 属に分類されている <sup>4)</sup>。コロナウイルスは、ヒトを含めた哺乳動物や鳥類に広く感染すると推定されているが、それぞれのウイルスには自然宿主 (natural reservoir) が存在することが推定されている <sup>3)</sup>。一般に、個々のコロナウイルスは、



それぞれの自然宿主においては無症状ではあるが、種を超える感染が生じた場合には、感染宿主によっては、重症化するなど自然宿主と異なる病態を示す<sup>5)</sup>。今まで、ヒトに感染するヒトコロナウイルス（HCoV）は、7種が同定されており、いずれもアルファコロナウイルス属あるいはベータコロナウイルス属に属している（表1）。

その中で、4種のHCoV（229E、OC43、NL63 および HKU1）は、急性呼吸器感染症（Acute Respiratory Infection：ARI）や下痢症に関連するコロナウイルスであり、感染例の多くは軽症ではあるが、易感染宿主や小児においては肺炎などを引き起こすこともある<sup>6-9)</sup>。なお、これらのコロナウイルスの自然宿主や出現時期には不明な点が多い<sup>10)</sup>。一方、2000年以降、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（SARS-CoV-1）、中東呼吸器症候群コロナウイルス（MERS-CoV）ならびに新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の3種のベータコロナウイルスが新興ウイルスとして出現した。

## 1.2. ベータコロナウイルスに関連した重症コロナウイルス感染症の概要

SARS-CoV-1 による重症急性呼吸器症候群（Severe acute respiratory syndrome; SARS）は、2003年2月に中国広東省に突然発生し、発生地域のみならず、他国にも感染が拡大した<sup>11)</sup>。本疾患は、高い致死率（約10%）の重症肺炎を引き起こすとされている<sup>12)</sup>。当該ウイルスの自然宿主は、キクガシラコウモリであると考えられて

おり、キクガラシコウモリから感染した中間宿主（ハクビシンなど）を介してヒトに感染し、さらにヒトーヒト感染を引き起こしたと考えられている<sup>13,14)</sup>。また、中東呼吸器症候群（Middle East Respiratory Syndrome ; MERS）を引き起こす MERS-CoV は、2012 年にサウジアラビアで発見され、これまでに 27 ヶ国で報告されている<sup>15)</sup>。MERS の場合、その多くは軽い呼吸器症状あるいは不顕性感染にとどまり、高齢者や糖尿病などの基礎疾患をもつ場合に、重症化すると考えられている（致死率 34.4%）<sup>15)</sup>。自然宿主と推定されるヒトコブラクダから、飛沫などでヒトへ感染するが、ヒトーヒト感染も起こると報告されている<sup>16-18)</sup>。その一例として、2015 年韓国の病院内で、中東帰りの 1 人の感染者からアウトブレイクが発生したことで大問題となった。

さらに、2019 年後半に突然出現した新型コロナウイルス感染症（coronavirus disease 2019; COVID-19）は、中国武漢市を中心とした地域で感染拡大後 2020 年初頭から世界的な大流行（パンデミック）を引き起こした<sup>18-20)</sup>。我が国においては、2020 年 1 月初旬、中国武漢市からの輸入感染例を初発例として、感染拡大が始まった<sup>21)</sup>。武漢市を中心とした流行時に報告された本疾患の公衆衛生学上のリスクを考慮し、我が国においては、2020 年 1 月 16 日から 2023 年 5 月 8 日まで、本疾患の法的取り扱い（感染症法）を二類感染症相当とした<sup>22)</sup>。この間、本疾患罹患者総数

は、約 3,353 万人、死亡者総数は 7 万 4,654 人に達し、平均死亡率は約 0.22%であった<sup>23)</sup>。また、同期間において、本疾患の先進諸国における死亡率は、我が国に比し平均 5 倍であった<sup>24)</sup>。このように、本疾患は、出現後世界各国で甚大な健康被害を引き起こした。

SARS-CoV-2 の自然宿主は SARS-CoV-1 と同様にコウモリであると考えられている。しかし、ウイルスの遺伝子配列から、一部がセンザンコウモリ由来のコロनावィルスと類似しているという報告もあり<sup>25)</sup>、当該ウイルスは、過去に 2 種類の動物コロナウイルスが遺伝子組み換えを起こした可能性が考えられる。また、SARS-CoV-2 は、他の新興コロナウイルスである SARS-CoV-1 ならびに MERS-CoV とは伝播性や病原性において明らかに異なるウイルスであり、ヒトからヒトへの伝播は咳や飛沫を介して比較的容易に起こる<sup>25)</sup>。また、高齢者や基礎疾患を有する場合、重症肺炎を引き起こし易い<sup>25)</sup>。また、若年者および中年者や基礎疾患を有しない個体においても発熱や呼吸器症状のみならず嗅覚・味覚異常などを併発する場合がある<sup>26,27)</sup>。

2023 年 5 月 5 日、世界保健機関（World Health Organization ; WHO）は、COVID-19 を国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態宣言を解除したが、依然として多くの国で、特定の地域や集団において一定の割合で持続的感染が生じている（エンデミック）<sup>28)</sup>。

### 1.3. Spike 蛋白 (S 蛋白) の構図の特徴と機能

SARS-CoV-2 の S 蛋白は、ホモ三量体からなるI型膜貫通蛋白であり、大きなエクストドメイン、膜貫通アンカー (Transmembrane anchor ; TM) および細胞内尾部 (intracellular tail ; IC) の3つのセグメントから構成されている<sup>29-31)</sup>。S 蛋白のエクストドメインは、受容体結合ドメイン (Receptor Binding Domain ; RBD) を含む S1 サブユニットと膜融合サブユニット(S2)で構成されている。S 蛋白上の RBD による宿主細胞受容体の認識は、ウイルス感染の最初のステップである<sup>32)</sup>。HCoV はさまざまな宿主受容体を認識するが、最近の研究により、SARS-CoV-2・S 蛋白は、アンジオテンシン変換酵素 2 (Angiotensin-converting enzyme 2 ; ACE2) およびII型膜貫通型セリンプロテアーゼ 2 (Transmembrane protease, serine 2 ; TMPRSS2) を宿主細胞への侵入に利用していることが示唆されており、これは SARS-CoV-1 の感染メカニズムと類似している<sup>32-34)</sup>。また、S 蛋白は、すべてのコロナウイルスに共通し抗体を誘発するための主要な標的となる<sup>32)</sup>。したがって、S 蛋白の構造的・分子的詳細ならびに受容体との相互作用は、SARS-CoV-2 に対するワクチンや抗ウイルス薬の開発のみならずワクチンの有効性に関する推定などに不可欠であると思われる。

#### 1.4. 新型コロナウイルスの遺伝子変異・亜変異株・変異株ならびに進化

ウイルスを含む微生物は、宿主間で増殖する過程で、ウイルスゲノムの塩基に突然変異を引き起こす<sup>33)</sup>。これらの変異が蓄積し、これまでに検出されたウイルスと抗原性などに変化が見られた場合、これらの新しいウイルスの種類は変異株

(variant) や亜変異株 (subvariant) と呼ばれることがある<sup>28)</sup>。ウイルスが宿主間で感染を続け、変異を繰り返す中で、宿主への感染、ウイルスの増殖、伝播に優位な変異を獲得したウイルスが集団の中で選択され、定着していく。このように、祖先ウイルスよりも環境に適応し、子孫をより残し続けるプロセスを「進化」と呼ぶことができる<sup>34)</sup>。一般に、変異の獲得により感染性の上昇や重症度などの感染症としての特性の変化につながる可能性もあるが、病原性や致死性が非常に高くなるような変異は、ウイルス伝播の効率に影響を及ぼすため、ヒトを含めた宿主の集団においては定着しにくいとされている<sup>35)</sup>。

現在、SARS-CoV-2 のゲノムデータは、世界規模で迅速かつ大規模に収集・公開されており、新たな変異ウイルスの発生状況などをリアルタイムで把握することが可能となっている<sup>36)</sup>。WHO やアメリカ疾病予防管理センター (Centers for Disease Control and Prevention ; CDC)、国立感染症研究所などの感染症に関するサーベイランスを行う公的かつ国際公衆衛生機関では、これらのバリエーションのうち、「懸念される変異株

(Variants of Concern ; VOC)」あるいは「注目すべき変異株 (Variants of Interest ; VOI)」と定義し、世界各国に警鐘となる情報を発信している<sup>28)</sup>。また、WHO では 2023 年 9 月より新たに「監視下の変異株 (Variants Under Monitoring ; VUM)」を設け、表現型や疫学的な影響が現時点では不明である変異株を優先的に注意深く監視できるよう体制を整備した<sup>28)</sup>。2020 年以降 SARS-CoV-2 は、世界的感染拡大しながら、変異を蓄積し、その結果として伝搬性や免疫原性に変化を引き起こし、多くの変異株や亜変異株が流行した<sup>28)</sup>。まず、2019 年に出現しパンデミックを引き起こす端緒となった Wuhan 株は、変異を重ね、その結果 Alpha ( $\alpha$ ) 系統が出現、2020 年後半に流行<sup>37)</sup>、続いて Beta ( $\beta$ ) 系統さらに Delta ( $\delta$ ) 系統が出現し、過去の変異株から置き換わる形でパンデミックが続いた<sup>38)</sup>。さらに、今までの変異株と大きく抗原性が異なる Omicron ( $\omicron$ ) 系統が突然出現し、2021 年後半以降に感染拡大が起こった<sup>39)</sup>。Omicron 変異株は、さらに BA.1、BA.2、BA.4、BA.5 といった様々な亜変異株を生み出し、これらの変異株は大規模な流行を引き起こした。くわえて、BA.2 は BJ.1 と BM.1.1.1 の間で組み換えを引き起こし、新たな変異株である XBB を生み出し、2023 年にはこの組み換え体である XBB.1.5 と XBB.1.16 亜変異株の流行が世界中で観察された<sup>39)</sup>。本稿執筆時である 2024 年 9 月においては、BA.2.85、JN.1 および KP.3 が日本を含む多くの国で感染が見られている<sup>40)</sup>。なお、現在流行している亜変異株

のうち、BA.2.86 ならびに JN.1 は VOI に分類されている。また、JN.1.7、KP.2、KP.3、KP.3.1.1、JN.1.18、LB.1、および XEC は VUM に分類されている<sup>28)</sup>。

## 1.5. 新型コロナワクチンの概要

ワクチンは、病原体に特異的な獲得免疫応答を誘導する生物製剤の一種である<sup>41)</sup>。過去に開発された多くのワクチンは、病原体を弱毒化または不活化させた病原体および病原体の成分の一部を含む<sup>41)</sup>。弱毒化した病原体を用いる生ワクチン（弱毒化ワクチン）、病原微生物の感染性を消失させたものを不活化ワクチン、精製抗原を用いたサブユニットワクチンまたは不活化細菌毒素を用いたトキソイドワクチンに大別できる<sup>41)</sup>。しかし、これらのワクチンは、病原体の弱毒化や培養などに多くの時間を必要とし、緊急性を要する新興感染症のワクチン開発には応用しにくいと考えられる<sup>41)</sup>。また、短期間に抗原性の変化が生じるような病原体に対しても上述した方法は応用が困難であると思われる。これらの問題を克服するため、病原体の核酸配列情報を基盤とした核酸を主成分とするワクチンの開発応用が進んでいる<sup>42)</sup>。このようなことから、SARS-CoV-2 に対するワクチンは、mRNA を主成分とした新規ワクチンの開発がなされ短期間で応用化された<sup>43)</sup>。COVID-19 に対する mRNA ワクチンは、SARS-CoV-2 の主要抗原である S 蛋白遺伝子の塩基配列を mRNA に置き換え、

かつ *S* 遺伝子の前後に翻訳を促進する塩基配列の一部を結合させたものである<sup>44,45)</sup>。

さらに、作成した mRNA は人体や環境中に存在する RNA 分解酵素 (RNase など) によって容易に分解される可能性が高いことから、脂質ナノ粒子 (lipid nanoparticle ; LNP) により包含・保護されている<sup>46)</sup>。LNP は、ヒト細胞内に mRNA が取り込まれやすくなる利点に加え、LNP 内の脂質がアジュバントとして自然免疫を刺激する働きにより、免疫誘導を促進させることが可能である<sup>47)</sup>。mRNA ワクチンは SARS-CoV-2 の *S* 遺伝子全体を用いており、筋肉注射で投与されたのち、筋肉細胞や樹状細胞などの免疫細胞の中で mRNA を鋳型として S 蛋白が生成される。筋肉細胞内で生成された S 蛋白の一部が抗原提示され、液性免疫が活性化され、IgG を主体とする S 蛋白に対する中和抗体が短時間かつ大量に誘導される<sup>48)</sup>。また、ワクチンの主成分である RNA は、大量に化学合成が可能であるとともにウイルスの変異による塩基配列の変化にも迅速に対応可能である。よって、SARS-CoV-2 のような短期間に変異が蓄積し、抗原性の変化を伴う病原体に対するワクチン作成には極めて有利であることが示されている。

## 1.6. 新たに出現した亜変異株による mRNA ワクチンの効果

Omicron 系統は、2022 年 9 月以降、XBB 変異株とその亜系統が世界的に主流とな



っていたが、2023 年 7 月に、BA.2 系統の亜変異株である BA.2.86 株が初めて報告された。2023 年 10 月以降、BA.2.86 系統の亜変異株である JN.1 株が置き換わりを見せ、2024 年 1 月頃に主流となった。2024 年 4 月頃からは KP.3 亜変異株の割合が世界的に増加を見せ、現在（2024 年 9 月）も感染の中心となっている。このような背景から、現在（2024 年 10 月）、我が国で定期接種に使用される COVID-19 ワクチンは、JN.1 亜変異株対応 1 価 mRNA ワクチンとなった。以下に、XBB.1.5、JN.1 ならびに KP.3 亜変異株の抗原変異の概要と、それぞれの亜変異株に対する mRNA ワクチンの効果に関する知見を述べる。

まず、JN.1 亜変異株は、系統解析上、S 蛋白に L455S 変異を獲得した BA.2.86 系統の亜変異株である。L455S 変異は受容体である ACE2 への結合能を低下させる一方で、中和抗体による免疫から逃避する可能性を高めることが報告されている<sup>49)</sup>。JN.1 に対する XBB.1.5 対応 mRNA ワクチンの有効性について、Chalkias らは、ヒトにおいて 5 回目の追加接種（モデルナ スパイクバックス®筋注）での免疫原性に関して報告しており、接種前後で XBB.1.5 に対する中和抗体価が 17.5 倍、BA.2.86 には 10.4 倍、JN.1 には 11.2 倍の上昇を確認している<sup>50)</sup>。また、Wang らの研究では、3～4 回の Wuhan 株ワクチンと BA.4/BA.5 変異型 2 価ワクチンを 1 回接種した COVID-19 未感染の健常者において、ファイザー社製（コミナティ RTU®筋注）またはモデルナ社

製（スパイクバックス®筋注）の XBB.1.5 mRNA ワクチン追加接種後の中和抗体価が、XBB.1.5 に対して 26.71 倍、JN.1 に対して 13.03 倍上昇したことを報告している<sup>51)</sup>。XBB.1.5 変異株対応 1 価ワクチンの有効性に関して、JN.1 変異株は感染・発症に対するワクチン有効率（Vaccine Effectiveness; VE）が約 49%と推定する報告<sup>52)</sup>や、VE が 18-59 歳で約 41%、60-85 歳で約 50%と推定する報告などに基づき、これまで主流であった亜変異株と同程度の有効性が期待できるとする報告もある<sup>53)</sup>。一方、他の研究では、JN.1 亜変異株が主流となる以前の感染・発症に対する VE は約 42%であったのに対し、JN.1 亜変異株が主流となった後の VE は約 19%であったといった報告もある<sup>54)</sup>。さらに、KP.3 は JN.1 系統の中で、S 蛋白上に F456L 変異、Q493E 変異および V1104L 変異を獲得した亜変異株である<sup>39)</sup>。Kaku らによるシュードウイルスを用いた LB.1 株、KP.2.3 株および KP.3 株のウイルス学的特徴を解析した報告では、これらの亜変異株は XBB.1.5 系統対応 1 価ワクチンにより誘導される中和抗体に対して、JN.1 亜変異株よりも免疫を逃避する可能性が高いことを示唆している<sup>55)</sup>。さらに KP.3 系統の亜変異株である KP.3.3.1 系統についても、シュードウイルスを用いた *in vitro* 実験において、中和抗体からの免疫を逃避する可能性が高く、標的細胞への感染性が高いことも指摘されている<sup>56)</sup>。KP.3 変異株に対するワクチン効果を推定するだけの疫学的報告は未だなされていないものの、前述した *in vitro* 実験に

おける結果から、KP.3 変異株は JN.1 変異株と比較して、XBB.1.5 対応 mRNA ワクチンに対する効果が低いことが推測されている。よって、XBB.1.5、JN.1 ならびに KP.3 変異株に対するワクチンの効果には差異がある。また、このことは、今後、新たに出現する変異株に対するウイルスサーベイランスを行い、タイムリーな SARS-CoV-2 ワクチン株の候補に関する情報の収集ならびにワクチン株の選定が必要なことを示唆している。

## 2. 分析方法

### 2.1. バイオインフォマティクスと分子進化学

分子進化学は、生物の進化を DNA や蛋白などの情報分子から得られる情報を基に解明することを目的としている<sup>57)</sup>。よって、進化の過程や生物間の系統関係など分子レベルでの生命体の「根源」を明らかにすることが可能である。分子進化学の先駆けとなる生物進化の研究は、目に見える表現型を対象にして行われてきた。1859年、チャールズ・ロバート・ダーウィンは、著者「種の起源」にて、多様な生物がひとつの共通する祖先に由来するとする「共通祖先説」や進化のメカニズムを説いた「自然選択説」を提唱した<sup>58)</sup>。これらの説は、いまなお広く受け入れられている。それからおよそ 100 年後、生物進化の分子的基础の確立を目指し、分子進化学が始ま

った。1960 年代に木村資生の中立進化説やエミール・ズッカーカンドルとライナス・ポーリングによる分子時計の概念が、この分野の基礎となっている<sup>59-63)</sup>。1970 年代には、DNA の塩基配列を決定する技術が進み、分子情報を用いて生物の系統関係を解析する分子系統学が発展した。特にウイルスはその遺伝的な多様性と個体群の大きさから、単に分子進化に関する研究だけでなく、その抗原性や治療薬・ワクチン開発など、疫学的・臨床的に非常に重要な意味を持つ。一方、ウイルスの分子進化解析は、膨大な情報を精密かつ合理的に処理する必要がある。そこで、現在の分子進化研究では生命科学と情報工学や統計学などの情報科学が融合したバイオインフォマティクス (Bioinformatics) 技術が取り入れられており、ウイルスをはじめ、種々の生物の進化のメカニズムを解明するための重要な手段となっている。

## 2.2. バイオインフォマティクス技術を基盤とするウイルスゲノムの集団遺伝学的解析

集団遺伝学とは、生物集団の遺伝的構成・頻度の時間変化に関する分野であり、元来はメンデルの法則とダーウィンの自然選択説とが生物統計学によって組み合わせられ、20 世紀初頭に誕生した<sup>64)</sup>。とくにロナルド・フィッシャーやシュール・グリーン・ライトによる研究は、集団遺伝学の理論的体系化に大きな役割を果たした

<sup>65)</sup>。当初、集団遺伝学は対立遺伝子頻度の時間変化など比較的短時間の進化を取り扱っていた。1970年代以降になると、DNA配列データの増加に伴い、種間進化をアミノ酸配列や塩基配列のデータから類推してきた分子進化学と主に種内進化を対立遺伝子頻度データから類推してきた集団遺伝学が融合し、長期間にわたる進化に関する解析が可能となった<sup>66)</sup>。集団遺伝学の主な目的は、遺伝子の頻度や変異がどのように集団内で変化するかを理解することであり、これにより進化のメカニズムや遺伝的多様性の維持、集団間の遺伝的交流などを明らかにする。本分野では、遺伝子解析や数理モデルを用いて集団の遺伝的構造を解析し、自然選択や遺伝的浮動などの要因が遺伝的变化に与える影響を分析することが可能である。集団遺伝学はウイルスの進化や伝播を理解するための強力なツールであり、ウイルスゲノムの突然変異、自然選択および組み換えなどを説明するのに非常に重要な役割を果たす。最近のウイルスゲノム解析には、高性能コンピュータを用いたバイオインフォマティクス技術が用いられている。莫大なウイルスゲノム情報から、目的ウイルスの遺伝子プールを作成し、系統解析や組み換えを明らかにする類似相同性（SimPlot）解析やウイルス蛋白構造解析などが行われている。これらの解明により、病原体ウイルスが保有する遺伝子の機能や病原性、血清型や遺伝子型の判明など変異に影響を評価することが可能である。このように、現在においては、ウイルスゲノムの分子疫学や分子進化学的アプローチが

ら、感染源の特定、ウイルスの時系列的進化ワクチンの効果予測ならびに抗ウイルス薬の探索、開発の一助となっている。

## 2.3. エピトープ解析の意義

抗原は、免疫細胞に非自己である異物として認識され、自然免疫系の活性化・抗原提示を経て、特異的抗体の産生を含めた一連の免疫反応を誘発する能力を有する物質である<sup>67)</sup>。一般に、抗原となりうる物質は、異種蛋白質あるいは多糖類であることが多い<sup>67,68)</sup>。ウイルスを含む微生物には、構造内外に抗原となりうる物質が存在する<sup>68)</sup>。これらの抗原のうち、誘導された特異抗体が微生物の感染防御抗体として作用する場合がある<sup>68)</sup>。また、抗原には、抗体と反応する特異的なアミノ酸配列を有する抗原構造があり、これをエピトープ（抗原決定基）という<sup>67)</sup>。また、エピトープは、線状エピトープ（リニアエピトープと）と立体配座エピトープ（コンフォメーショナルエピトープ）に分類されている<sup>69)</sup>。リニアエピトープは、特定の蛋白のアミノ酸一次構造配列そのものがエピトープとなる<sup>70)</sup>。一方、コンフォメーショナルエピトープは、蛋白の立体構造上に隣接しているアミノ酸、すなわち一次構造のアミノ酸の順番と関連しないアミノ酸を巻き込むエピトープとなる場合が多く、ウイルス抗原のエピトープの大多数（80%以上）は、コンフォメーショナルエピトープであ

ることが示唆されている<sup>71)</sup>。以上を前段として以下の著述を整理する。免疫細胞は抗原全体ではなく、エピトープ（抗原決定基）を認識しているとされている。エピトープは相補的な抗体が特異的に結合する領域であり、抗原表面にあるいくつかの単糖あるいはアミノ酸残基で構成されている<sup>72)</sup>。コンフォメーションアルエピトープは、マクロファージや樹状細胞を含む抗原提示細胞が提示する重要なアミノ酸モチーフであり、様々な病原体に対する中和抗体の産生を誘導することが明らかとなっている<sup>73)</sup>。エピトープを認識する免疫細胞は T 細胞と B 細胞に大別される。T 細胞は、MHC 分子によって提示される線状ペプチドであり、T 細胞エピトープを認識する。一方 B 細胞は、ヌクレオチド、脂質、糖鎖、蛋白質などの高分子成分である B 細胞エピトープを認識する。特に蛋白質からのエピトープはさらに 2 つのカテゴリーに分類される。1 つ目は線形エピトープと呼ばれ、ポリマー鎖に沿った連続した一連の残基で構成されているセグメントである。2 つ目はコンフォメーションアルエピトープと呼ばれ、抗原がその天然構造に折り畳まれることによってまとめられるいくつかの連続した不連続なセグメントによって構成されている。コンフォメーションアルエピトープに対する抗体は、線形エピトープに対する抗体よりも多様な分離株を中和する<sup>74)</sup>など、コンフォメーションアルエピトープは線形エピトープよりも機能的な利点を有している。コンフォメーションアルエピトープの理解を深めることは、新たな治療薬の開

発やワクチンの設計に有用であるが、*in vitro* 研究での B 細胞エピトープ同定には、多くの時間と費用が必要となる。しかし、近年のバイオインフォマティクス技術の進歩から、アミノ酸配列と三次元蛋白立体構造解析に基づき、低コストならびに比較的短時間での B 細胞エピトープの同定が可能となっている<sup>75)</sup>。

### 3. 本研究の目的

前述したように、分子遺伝学ならびに分子生物学的研究の進歩により集団遺伝学の論理とバイオインフォマティクス技術を融合することで、種々のウイルスゲノムの分子進化的解析を行うことが可能となる<sup>76)</sup>。集団遺伝学は、以下の 5 つの要素、①突然変異 (mutation)、②遺伝的浮動 (genetic drift)、③自然選択 (natural selection)、④遺伝子流動 (gene flow) ならびに⑤組み換え (recombination) を解析することで、研究の対象となる種々の生命体のゲノムレベルでの進化を詳細に解明することが可能となる<sup>66)</sup>。よって、ウイルスゲノムの分子進化を明らかにするためには、上述した個々の要素をバイオインフォマティクス技術により解析し、解析情報を総合的に考察する必要がある<sup>76,77)</sup>。そこで、本研究は、SARS-CoV-2 の主要抗原遺伝子であるスパイク蛋白遺伝子 (S 遺伝子) ならびにスパイク蛋白 (S 蛋白) に関し、集団遺伝学と先駆的バイオインフォマティクス技術を駆使し、以下の解析を行い、SARS-CoV-2 の分子進化を



明らかにすることで、SARS-CoV-2 流行株の変異と適応、抗原性の変化および現行ワクチンの有用性の解明を目的とした。

- 1) SARS-CoV-2 主要抗原である *S* 遺伝子全長配列を基盤とした時系列系統解析
- 2) *S* 遺伝子の塩基配列相同性解析
- 3) *S* 蛋白の選択圧解析
- 4) *S* 蛋白の立体構造を基盤としたエピトープ解析

## II. 方法

### 1. SARS-CoV-2 の塩基配列データセットの作成

分子進化学的研究を行う上で、まず解析に使用する株の収集が必要となる。そこで、本研究では、アメリカ国立衛生研究所・アメリカ国際医学図書館に併設の National Center for Biotechnology Information (NCBI) の遺伝子塩基配列データベース (GenBank) および Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data (GISAID) から、プロトタイプである Wuhan と、かつて流行した SARS-CoV-2 の主な変異株 (Alpha、Beta、Delta、BA.1、BA.2、BA.2.10、BA.2.75、BA.2.86、BA.4、BA.5、BM.1.1.1、BJ.1、BQ.1、XBB、XBB.1.5、XBB.1.16、XBB.2.3、EG.5 および HK.3) の代表株 (表 2) の *S* 遺伝子の全長配列 (位置 21563—25384) を収集した。代表株には、検出・分離時期 (年) および

地域に関する情報が確認できた株、かつ塩基配列が特定できない混合塩基（N、Y、R、あるいは W など）を含まない株を用いた。その中から検出年月が最も古い株を代表株とした。2024 年 6 月頃から流行が見られた変異株（JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1）は最も新しい株を収集した。全 24 株を最終のデータセットとし、すべての株のデータを表 2 に示した。これらの配列は MAFFT version7<sup>78)</sup>によりアライメントを行い、その後、プロトタイプ（Wuhan-Hu-1 Accession No. NC\_045512）の遺伝子配列に基づいて 3822 塩基長に限定して解析に用いた。

## 2. 分析方法

### 2.1. ベイジアンマルコフ連鎖モンテカルロ（BMCMC）法を用いた時系列系統解析に

#### よる SARS-CoV-2 の S 遺伝子の進化系統樹の作成及び進化速度の推定

まず、ウイルスの分子進化学的研究の基盤として分子系統樹解析が挙げられる。分子系統樹はウイルスの DNA や蛋白の配列データを用いて作成され、それらがどのように進化してきたかや、共通の祖先をもつかどうかのルーツを辿ることが可能となる。本研究において、SARS-CoV-2 の S 遺伝子の進化解析には、特にウイルスゲノムの時系列の進化学的解析に有用と考えられているベイジアンマルコフ連鎖モンテカルロ（Bayesian Markov Chain Monte Carlo ; BMCMC）法による解析技術とそのプログラム

を用いた。BMCMC 法は、パラメータの事前確率分布を仮定する。すなわちベイズの定理のもとで尤度を通してデータの情報を加味した事後確率分布を目的関数とするベイズ推定の方法論に基づいている。計算アルゴリズムとしての MCMC により事後確率分布を推定することにより、期待値として最適な樹形を選定する。BMCMC は、複雑なモデルに対して、他の系統樹推定手法と比較して計算時間が短いという利点がある。今回は、ベイズ法に基づき系統樹探索と分岐年代推定を行うソフトウェアである BEAST (version2.4.8)<sup>79)</sup>の BMCMC 法を用いて、SARS-CoV-2・S 遺伝子の全長配列における時系列系統解析を行った。

まず、はじめに、核酸置換の最適モデルを統計的に選択するため、jModelTest プログラム (version2.1.10)<sup>80)</sup>を用いて最適置換モデルを選択した (最適モデル ; TPM 1 uf +I) 。つぎに、この最適置換モデルを使用して、BEAST パッケージに実装されたパスサンプリングで 4 つの clock モデル (Strict Clock、Exponential Relaxed Clock、Log Normal Relaxed Clock、Random Local Clock) と 2 つの tree prior モデル (Coalescent Constant population、Coalescent Exponential population) について最適モデルを決定した。この選択されたモデルの組み合わせを使用し、24 株の BMCMC 解析を、BEAST ソフトウェアを使用して行った。モデル選択の限界尤度 (ML) 値と BMCMC 分析の詳細なパラメータを表 3 および表 4 に示す。つぎに、各パラメータの収束を確認後、BEAST パ

パッケージの TreeAnnotator (version2.4.8) ソフトウェアを使用して、数値の安定しない最初の 10%の系統樹を削除後、最適な系統樹を作成した。最初の 10%削除後における系統樹の解析データについては、その確かさを確認するために、Tracer (version1.6) ソフトウェアを使用して有効サンプルサイズ (Effect Sample Size ; ESS) によって評価し、すべての項目で ESS が 200 を超えることを基準とした。BMCMC 系統樹は Fig Tree (version1.4.03) <sup>81)</sup>ソフトウェアを使用して編集を行い、推定分岐年代の信頼性区間について、95% Highest posterior densities (HPDs) として示した。さらに、構築された SARS-CoV-2・S 遺伝子の系統樹における株の分類は図示した系統樹の分岐パターンに従った。同時に BMCMC 系統樹によって決定された 24 株について、各系統の進化速度を、BMCMC 法を用いて推定した。さらに、系統樹より分類された各系統間の進化速度を統計的に比較するため、EZR ソフトウェア <sup>82)</sup>を用いて、Kruskal-Wallis 検定を行った。統計解析には最初の 10%削除後の MCMC 連鎖から 2000 ステップごとに取得したサンプルを用いた。統計的有意差は、 $p<0.05$  と定義した。

## 2.2. 類似性プロット (SimPlot) 解析

ウイルスの突然変異は、微少突然変異と配列の並びが変化する突然変異に分けられる。微少突然変異は置換や挿入、欠失などの 1 塩基変化による突然変異を示す。後者

は組み換えや逆位など DNA 配列のかなり長い領域が影響を受けるものが含まれる<sup>83)</sup>。

特にウイルス遺伝子の組み換えが起こることで、感染力の増加や、抗原性の変化により、既存のワクチンの効果が低下するなどの影響が考えられる。本研究では変異株 BA.2、BJ.1、BM.1.1.1、XBB.1.5、XBB.1.16 の遺伝子配列間の相同性をプロットし、視覚的に組み換えイベントを特定するため、SimPlot 解析を行った。XBB.1.5、XBB.1.16 の代表株の塩基配列類似度を、SimPlot ソフトウェア (version3.5.1) を用いて計算した。BA.2 参照株 (GISIDE EPI\_ISL\_9028491) の配列をクエリー配列として用いた。類似性は Kimura 2-パラメータ法を用いて調べた。200 ヌクレオチド、S 遺伝子のステップサイズは 20 ヌクレオチドであった。

### 2.3. SARS-CoV-2・S 蛋白の三次元立体構造モデルの作製

本研究では、エピトープと受容体結合部位を SARS-CoV-2・S 蛋白上にマッピングすることで、両者の位置関係を明らかにした。しかし、各変異株の S 蛋白について、実験的に検証された立体構造は知見が乏しい。そこで、BMCMC 系統樹を用いて決定した各変異株 (XBB.1.5、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XD.V.1) の代表株について、ホモロジーモデリングの手法を用いて、SARS-CoV-2 の S 蛋白の三量体立体構造モデルを構築した。ホモロジーモデリングは、立体構造が判明している蛋白を鋳型として、

目的の蛋白立体構造を予測する手法である。BLAST ウェブサーバーの結果に基づき、Protein Data Bank Japan (PDBj) から、SARS-CoV-2・S 蛋白の結晶構造 (PDBID: 6XR8) を鋳型として選択した。各株と鋳型のアミノ酸配列に対して MAFFT version7 を用いてアライメントした。鋳型配列に基づき、Modeller ソフトウェア (version10.5)<sup>84)</sup>を用いて三次元立体構造を構築した。生成されたモデルは、CCP4 パッケージに実装された WinCoot<sup>85)</sup>を用いた Ramachandran Plot 解析によって評価され、最も良いスコアを持つモデルを最適モデルとして選択した。さらに、選択した三量体モデルをテキスト上で単量体に分離し、それぞれの構造に対してエネルギー最小化を行った。エネルギー最小化は、Swiss PDB Viewer (version4.1.0)<sup>86)</sup>に実装されている GROMOS96 を使用して行った。作成した S 蛋白は PyMOL<sup>87)</sup>を用いて三次元的三量体構造に視覚化した。

## 2.4. SARS-CoV-2・S 蛋白の三次元立体構造エピトープ解析

各変異株の SARS-CoV-2・S 蛋白におけるコンフォメーションナルエピトープの変化を予測するため、ホモロジーモデリングで作成した各変異株の三次元立体構造について SEPPA3.0<sup>88)</sup>を用いて、コンフォメーションナルエピトープ解析を行った。SEPPA3.0 は N-結合型糖蛋白抗原の予測を可能にするため、糖鎖修飾が抗原性に与える影響を考慮した予測が可能である。また、その予測精度においても、機械学習モデルの性能を

評価するための指標の一つである AUC (Area Under the Curve) 値から優れていることが示されている。既報によると SEPPA3.0 の性能は、内部検証で AUC 値 0.794、糖蛋白抗原に対する予測では AUC 値 0.749 を記録している<sup>88)</sup>。AUC 値は 0 から 1 で表され、1 に近いほど非常に高い予測性能を示す<sup>89)</sup>。エピトープ解析で用いられる他の主なツールとして BEpro や SEMA、Disco Tope などがあるが、それぞれ AUC 値は 0.664、0.720、0.711 と報告されており<sup>90)</sup>、SEPPA3.0 が他のツールよりも優れた性能を有すること証明している<sup>90-92)</sup>。この手法におけるカットオフ値は 0.1 とした。予測されたエピトープのうち 3 つ以上の連続したアミノ酸残基を有する領域をコンフォメーションルエピトープとみなした。予測されたコンフォメーションルエピトープと過去の報告で同定された受容体結合部位 (アミノ酸配列 R319~F541)<sup>93)</sup>をホモロジーモデリングで作成した S 蛋白モデルにマッピングした。

## 2.5. SARS-CoV-2・S 蛋白の選択圧解析

塩基の突然変異は、アミノ酸変化を伴わない同義置換 (synonymous substitution) とアミノ酸変化を伴う非同義置換 (nonsynonymous substitution) に分けることができる。選択圧解析とは、非同義置換 ( $dN$ ) と同義置換 ( $dS$ ) の比率 ( $dN/dS$ ) を計算することであり、正の選択・負の選択を検出することである。正の選択とはウイルスの生存

に有利な変異が増加することであり、負の選択はウイルスの生存にとって有害な変異が減少することを示している。ゲノム進化学において特定の遺伝子が自然選択による影響の有無を明らかにすることで、病原体ウイルスの進化や宿主との相互作用を明らかにすることができる。

選択圧解析では網羅的に株を収集する必要があるため、GISAID を用いて、SARS-CoV-2・Omicron 株の主な変異株（BA.1、BA.2、BA.2.10、BA.2.75、BA.2.86、BA.4、BA.5、BM.1.1.1、BJ.1、BQ.1、XBB、XBB.1.5、XBB.1.16、XBB.2.3、EG.5、HK.3、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XD.V.1）における S 遺伝子の全長配列（位置 21563-25384）を収集した。収集した株のうち、検出・分離時期（年）および地域に関する情報が確認できない株、塩基配列が特定できない混合塩基（N、Y、R、あるいは W など）を持つ株は除外した。また、GISAID では、塩基配列が 100%一致する S 遺伝子が登録されている場合がある。そのため、S 遺伝子のヌクレオチドの一致率を、Clustal Omega<sup>94)</sup>を用いて算出し、99.4%以上の一致率を示した配列グループからランダムに 1 つの配列を選択し、残りの配列は除外した。この時点で対象とする株は計 1182 株となった。選択圧解析ツールは 500 株を超えるデータではエラーが生じるため、1182 株から乱数を用いてランダムに 500 株抽出し、これを最終的なデータとして解析に用いた（補足表 S1）。

本研究では、各変異株の SARS-CoV-2 の S 蛋白における選択圧解析は、Datamonkey ウ



ェブサーバー内にある Single-Likelihood Ancestor Counting (SLAC)<sup>95)</sup>を用いた。SLAC は迅速かつ詳細なコドンレベルの解析が可能である。正の選択圧 ( $dN/dS > 1$ ) および 負の選択圧 ( $dN/dS < 1$ ) は、 $p$  値 ( $p < 0.05$ ) に基づいて決定した。

### III. 結果

#### 1. SARS-CoV-2 変異株/亜変異株の $S$ 遺伝子の時系列系統解析

現在、ウイルスゲノムの系統解析法には、最尤法 (Maximum likelihood 法) や BMCMC 法が用いられている。BMCMC 法は、系統樹上、枝の分岐点を時間軸で表現することが可能である。したがって、SARS-CoV-2 のような進化が早いウイルスに対しては、各亜変異株の出現時期の推定と各亜変異株系統の総合的な解析が必要と思われる。そこで、本研究においては、BMCMC 法を用い、SARS-CoV-2 亜変異株の  $S$  遺伝子の詳細な時系列系統解析を行った。また、最近までの Omicron 変異株ならびに亜変異株の系統を俯瞰的にあらわすため、SARS-CoV-2・ $S$  遺伝子亜変異株の代表株 (24 株) の全長塩基配列を使用した。まず、図 2 に示すように、プロトタイプである Wuhan 株、Alpha 系統、Beta 系統、Delta 系統と Omicron 系統との共通祖先は、2018 年 12 月に分岐し (95%HPD, 2014 年 3 月-2024 年 10 月)、最終的に Omicron 系統以前の系統、Omicron 系統の初期流行株系統 (分岐年 2020 年 8 月から 2022 年 3 月)、Omicron 系統

現流行株系統（分岐年 2022 年 8 月以降）の 3 つの系統が形成された。その後、Omicron 系統の共通祖先は約 2 年間で BA.1、BA.2、BA.4 ならびに BA.5 を含む Omicron 亜変異株に分岐した。その後、Omicron 株 XBB 系統、BM.1.1.1、BJ.1 の共通祖先が 2021 年 10 月に出現した。さらに、Omicron 系統 BA.2.86、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 あるいは XDV.1 の共通祖先は 2023 年 2 月に分岐・出現した。次に、すべての SARS-CoV-2 亜変異株における S 遺伝子の平均進化速度は、 $3.25 \times 10^{-3}$  置換/部位/年（substitutions / site / year ; s/s/y）（95%HPD,  $2.27 \times 10^{-3} \sim 4.30 \times 10^{-3}$  s/s/y）と推定された。XBB、XBB.1.5 あるいは XBB.1.16 を含む系統 2 の平均推定進化速度は  $2.48 \times 10^{-3}$  s/s/y（95% HPD,  $1.12 \times 10^{-3} \sim 4.00 \times 10^{-3}$  s/s/y）と計算された。さらに、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 あるいは XDV.1 を含む系統 3 の平均推定進化速度は  $1.48 \times 10^{-3}$  s/s/y（95%HPD,  $3.92 \times 10^{-6} \sim 3.02 \times 10^{-3}$  s/s/y）と推定された（表 5）。これらの割合に統計的有意性は認められなかった。

## 2. Omicron 亜変異株 BA.2、BJ.1、BM.1.1.1、XBB.1.5、および XBB.1.16 の類似性プ

### ロット (SimPlot) 解析

XBB.1.5 亜変異株は、異なる亜変異株間の組み換えによって新たに出現した流行系統である。そこで、組み換えの詳細を明らかにするため、SimPlot 解析法により、Omicron 亜変異株 BJ.1、BM.1.1.1 および XBB.1.5 間の S 遺伝子の組換え解析を行った（図 3）。

図 3 より、S 遺伝子塩基配列の同一性 (identity) は、特定のヌクレオチド位置、特に位置番号 1373 付近で著しく変動していることが明らかになり、この位置 (ブレイクポイント) で異なる亜変異株間で組み換えが起こったことが示唆された。また、ブレイクポイント前の BJ.1 と XBB.1.5 の間のヌクレオチド同一性は高く、ブレイクポイント後の BM.1.1.1 と XBB.1.5 の間の同一性も高かった。SimPlot のデータから、ブレイクポイントは塩基配列上の 1373 番目に対応すると推定された。さらに、XBB.1.5 の S 蛋白のアミノ酸変異は、親系統である BJ.1 および BM.1.1.1 とほぼ完全に一致した。これらの結果から、XBB.1.5 亜変異株は、ブレイクポイントから 5'ヌクレオチド側が BJ.1 配列、3'ヌクレオチド側が BM.1.1.1 配列間で組み換えが起こり新たに出現した亜変異株であることが推定された。

### 3. ホモロジーモデリング

各亜変異株間の S 蛋白におけるコンフォメーションルエピトープとアミノ酸変異部位・RBD の位置関係を明らかにするため、SARS-CoV-2・S 蛋白の A 鎖、B 鎖および C 鎖を含む三量体の三次元立体構造を作成・可視化した。まず、鋳型となった S 蛋白のアミノ酸配列は、XBB.1.5、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 の代表亜変異株におけるアミノ酸番号 14-69、77-244、254-618、633-676、689-1162 をカバーしていた (図

4)。よって、本研究で作成したホモロジーモデリングにより、以下に示すデータを得ることが可能となった。

#### 4. コンフォメーションナルエピトープ領域とアミノ酸置換部位

前述で作成した三次元立体モデルを基に、SARS-CoV-2・S 蛋白の XBB.1.5、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 亜変異株の各々のコンフォメーションナルエピトープのアミノ酸配列ならびに S 蛋白上の位置を詳細に比較した。まず、XBB.1.5、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 の S 蛋白のアミノ酸配列において予測されたコンフォメーションナルエピトープモチーフ、アミノ酸置換部位および既報の RBD を三量体・三次元立体構造モデルにマップ化した (図 4a~e)。その結果、すべての亜変異株におけるほとんどのコンフォメーションナルエピトープは RBD に位置していた。エピトープの数は、XBB.1.5 では 16 モチーフ、JN.1 ならびに JN.1.11.1 では 19 モチーフ、KP.3 では 24 モチーフ、XDV.1 では 27 モチーフであった (補足表 S2)。次にこれらのエピトープの中で、すべての亜変異株で共通のアミノ酸モチーフを明らかにした (表 6)。その結果、共通アミノ酸は、10 モチーフ (アミノ酸番号 : 41-45、146-150、280-284、439-446、475-482、484-488、498-506、836-841、890-894 ならびに 1142-1162) であった。さらに XBB.1.5 と比較し、JN.1 では 6 か所、JN.1.11.1 では 7 か所、KP.3 ならびに XDV.1 では 8 か所

のアミノ酸変異を認めた。その中でも、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 で共通のアミノ酸変異 6 か所（K356T、P445H、N450D、L452W、L455S、A484K）が RBD 上もしくは RBD 近傍に位置していた。

## 5. 選択圧解析

SARS-CoV-2・*S* 遺伝子（500 株）Omicron 株における正の選択部位・負の選択部位を同定するために Data Monkey ウェブサーバー (<https://www.data-monkey.com/>) にある SLAC 法により、*dS*（同義置換）と *dN*（非同義置換）の置換率を推定した。その結果、正の選択部位は（アミノ酸部位とその変異：Ser27Ala / Leu、Gly213Glu / Lys / Val、Gly252Ser / Val、Arg346Thr および Phe486Pro / Ser / Val）5 か所、負の選択部位は（アミノ酸部位：16、20、28、68、306、410 ならびに 543）7 か所と推定された（表 7）。予測された正の選択圧部位のうち、RBD 上に位置していたのは 2 ヶ所（アミノ酸部位：346、486）であり、さらにコンフォメーションナルエピトープとも重複していたのはアミノ酸番号 486 の 1 ヶ所のみであった。

## IV. 考察

### 1. 本研究の要約と意味

本研究では、先駆的バイオインフォマティクス解析を用い、SARS-CoV-2・S 遺伝子/S 蛋白の分子進化を明らかにした。まず、主要な変異株における時系列系統解析の結果、Wuhan、Alpha、Beta および Delta 系統の共通祖先は 2018 年 12 月頃に分岐し、Omicron 系統の共通祖先は 2020 年から 2022 年に分岐した（図 2）。Omicron 系統はわずか約 2 年間で様々な亜変異株に分岐し、その進化速度は  $10^{-3}$  s/s/y 以上と推定された（表 5）。本研究で明らかになった当該遺伝子の進化速度は、進化が早いとされるインフルエンザウイルス A 亜型、ヒトノロウイルスあるいはヒト免疫不全ウイルス (HIV) とほぼ一致する<sup>96-98)</sup>。よって、Omicron 系統の S 蛋白遺伝子は、速い速度で進化し、短期間で多数の亜変異株を生み出したことを示唆している。次に、SimPlot 解析法により、XBB.1.5 亜変異株は、異なる Omicron 亜変異株間の組み換えによって新たに出現したことが明らかになった。ブレイクポイントである S 遺伝子の塩基配列における 1373 番目付近を境に BJ.1 と BM.1.1.1 間の遺伝子組み換えが起こったと推定された。XBB.1.5 の S 蛋白のアミノ酸変異は、親系統である BJ.1 と BM.1.1.1 にほぼ一致しており、XBB.1.5 は両者の遺伝子を組み換えた結果生まれた亜変異株であることが示唆された。SARS-CoV-2 亜変異株 XBB.1.5、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 の S 蛋

白におけるコンフォメーションナルエピトープの比較解析では、ほとんどのエピトープが RBD（受容体結合ドメイン）に位置していることが確認された。共通のアミノ酸モチーフは 10 か所見つかり、さらに、XBB.1.5 と他の亜変異株間では、アミノ酸置換が複数確認された。特に RBD やその近傍に位置する 6 か所のアミノ酸変異（K356T、P445H、N450D、L452W、L455S ならびに A484K）が、免疫原性やワクチン回避に影響している可能性が示唆された。さらに、Omicron 株において、正の選択部位と負の選択部位を同定するために選択圧解析を行った。その結果、正の選択部位のうちアミノ酸番号 346 番目と 486 番目は RBD 上に位置し、特に 486 番目はコンフォメーションナルエピトープとも重複していることが明らかになった。これらの正の選択部位は受容体結合に関与する可能性があり、宿主の中和抗体からの免疫回避を示唆している。

私たちの知る限り、種々の Omicron 亜変異株の分子進化を詳細に明らかにした研究は初めてであると思われる。各項目に適切な小見出しを付与し、考察を進める。

## 2. SARS-CoV-2・S 蛋白遺伝子の時系列系統解析

まず、Omicron 系統とその他の SARS-CoV-2 株との共通祖先は 2018 年 12 月に分岐したことが時系列系統樹から示唆された。その後、Omicron XBB、BM.1.1.1 ならびに BJ.1 の共通祖先は 2021 年 12 月に出現した。さらに主流亜変異株である Omicron

BA.2.86、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 ならびに XDV.1 の共通祖先が 2023 年 2 月に出現した。SARS-CoV-2 変異株/亜変異株における S 遺伝子の平均進化速度は、 $3.25 \times 10^{-3}$  s/s/y と推定され、XBB、XBB.1.5 ならびに XBB.1.16 を含む系統 2 では  $2.48 \times 10^{-3}$  s/s/y、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 ならびに XDV.1 を含む系統 3 では  $1.48 \times 10^{-3}$  s/s/y と推定された。既報より、プロトタイプである Wuhan 株の進化速度は  $1.1 \times 10^{-3}$  s/s/y、Alpha 系統ならびに Beta 系統は  $2.2 \times 10^{-3}$  s/s/y、Delta 系統は  $3.3 \times 10^{-3}$  s/s/y と報告されている<sup>97)</sup>。これはインフルエンザウイルス ( $1.8 \times 10^{-3}$  s/s/y)<sup>96)</sup>やノロウイルス( $3.76 \times 10^{-3}$  s/s/y)<sup>97)</sup>などの他の急速に進化するウイルスと同様である。さらに、ライノウイルス( $8.50 \times 10^{-4}$  s/s/y)、RS ウイルス( $7.69 \times 10^{-4}$  s/s/y)あるいはパラインフルエンザウイルス 4( $4.41 \times 10^{-4}$  s/s/y)<sup>99-101)</sup>などの他の呼吸器感染症ウイルスと比較しても進化速度が速い。くわえて、SARS-CoV-2 の Omicron 系統株を除く S 遺伝子の進化速度より、SARS-CoV-2 の S 遺伝子は Wuhan 株から現在流行株となっている Omicron 系統に至るまで絶え間なく進化し、わずか 1 年の間に XBB 変異株や JN 変異株など多くの亜変異株を生み出したことを示唆している。これらの知見は、先行研究<sup>102,103)</sup>と一致する。

### 3. SARS-CoV-2 Omicron 亜変異株における類似性プロット (SimPlot) 解析

次に、Omicron XBB 系統は、BJ.1 と BM.1.1.1 から組換え体であることが既報により



示されている<sup>104)</sup>。そこで、組み換えの詳細な情報を得るため、SimPlot 解析により塩基配列の類似相同性を確認した。その結果、XBB.1.5 は、S 遺伝子の ORF (Open reading frame) 開始配列から、1373 番目の塩基配列位置をブレイクポイントとし、5'塩基側を BJ.1 配列、3'塩基側を BM.1.1.1 配列と塩基配列の相動性が高いことが明らかになった (図 3)。また、XBB.1.5 の S 蛋白のアミノ酸変異は、親株 (BJ.1 および BM.1.1.1) とほぼ完全に一致した。このことから、XBB 変異株は、S 遺伝子の当該ブレイクポイントを境とする BJ.1 変異株と BM.1.1.1 変異株の間の組換え体であることが示唆された。これらの知見は以前の報告<sup>104)</sup>とほぼ一致する。

#### 4. SARS-CoV-2・S 遺伝子のコンフォメーション解析および選択圧解析

さらに、各 Omicron 亜変異株の S 蛋白に関して、中和抗体を誘導するコンフォメーションエピトープと S 蛋白のアミノ酸置換に関する詳細な構造解析を行った。すべての変異株において、ほとんどのコンフォメーションエピトープは、RBD 上に位置していた (図 4、図 5)。また、エピトープ内で、多くの共通したアミノ酸モチーフが確認された (表 6)。特に、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 変異株は、XBB.1.5 に比較し、P445H、N481K あるいは A484K などの特異的なアミノ酸変異を RBD 上に有していた。さらに、F486P、R493Q および N501Y を含む、ウイルスの免疫逃避能力

や感染性に影響を与える可能性のある変異は、XBB.1.5 と同様に、主流行変異株である JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 変異株においても認められた。さらに、主流行変異株のアミノ酸番号 452 番目において、XBB.1.5 とは異なる L452W 変異を認めた。XBB.1.5 で確認された L452R は感染性の増加や中和抗体からの逃避に関連するとされている変異であるが、L452W 変異についてはその免疫原性や感染性に関する情報が明らかになっていない。また、主流行変異株は XBB 系統までの Omicron 変異株では認められなかった E484K 変異を新たに獲得していた。E484K 変異は、通常 Beta 系統や Delta 系統で認められており、免疫逃避能力が高いとされている<sup>105,106</sup>。ワクチン回避に関連すると思われるいくつかの重要なアミノ酸変異とともに、これらの変異株に多くの重複エピトープの存在が明らかとなった。*In vitro* による先行研究においても、JN.1 や KP.3 に対する NT-Ab 力価は、XBB.1.5 変異株に感染した血清の抗体力価と比較して有意に低下することがいくつか報告されている<sup>54,56</sup>。本研究は、XBB.1.5 および主流行変異株である JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 における S 蛋白の RBD 内コンフォメーションエピトープ上のアミノ酸変異が、既報の *in vitro* 研究で観察された中和抗体によるワクチン効果の変化と一致することを示した<sup>107,108</sup>。私の知る限り、これらは初めての知見であると思われる。

さらに、XBB.1.5 と同様に持つ F486P は選択圧解析において正の選択圧部位と同定

され（表 7）、コンフォメーションルエピトープモチーフ内に位置していた（図 4）。

なお、これらの変異は、これらの変異株の免疫原性に影響を与えるだけでなく、ワクチン株（プロトタイプである Wuhan 株、BA.4 および BA.5 変異株、XBB.1.5 変異株）に対するワクチン効果の回避にも寄与している可能性が示唆されている<sup>109)</sup>。

## 5. 本研究の課題と今後の展望

SARS-CoV-2 はパンデミックを引き起こしてから約 4 年が経過している。ワクチンキャンペーンの効果による積極的な予防接種などの施策により、2024 年現在、我が国において、本疾患はエンデミック（地域流行）状態になっている<sup>110)</sup>。しかし、未だに冬季と夏季において、年 2 回流行が起こっている<sup>111)</sup>。また、基礎疾患を有する高齢者などに対し、本疾患は重症化するリスクがインフルエンザなどに比し高い<sup>111)</sup>。このような背景から、本疾患は依然として公衆衛生上、予断を許さない状態となっている。

また、現在までに、Alpha 株、Beta 株、Delta 株ならびに Omicron 株などの様々な変異株が出現し、さらに Omicron 株は BA 系統から XBB 系統、JN 系統ならびに KP 系統を生み出し、流行を続けている。これらの変異株は、主要抗原である S 蛋白にいくつかのアミノ酸変異を示し、ウイルスの再感染やワクチン回避を引き起こす可能性がある<sup>109)</sup>。そこで、研究では SARS-CoV-2・S 蛋白のコンフォメーションル

エピトープと正の選択圧の位置関係を明らかにすることで、主流変異株における  
現行ワクチンの効果を視覚的に明らかにした。

しかし、ワクチンの効果を十分に説明するには、中和抗体を誘導するコンフォメー  
ショナルエピトープだけでなく、感染に重要な細胞受容体（ACE2）との結合能や、結  
合による S 蛋白の構造変化も明らかにする必要がある。近年、機械学習を用いた蛋白  
の立体構造予測手法が応用されている。その一つが AlphaFold である。従来のホモロ  
ジーモデリング手法では X 線回析による立体構造を鋳型とし、目的とする変異を持つ  
蛋白構造を作製する。しかし、AlphaFold では鋳型を必要としないため、立体構造が明  
らかとなっていない蛋白においても、アミノ酸配列からその立体構造を予測することが  
可能となっている。この革新的な技術は、2024 年のノーベル化学賞を受賞し、AI 技術  
が自然科学の解明に寄与する画期的な一例として、バイオインフォマティクス分野へ  
の注目と期待がより一層高まった<sup>112)</sup>。実際、機械学習を用いた手法を組み合わせるこ  
とで蛋白同士の結合予測を行い、蛋白複合体を予測する報告もある<sup>113)</sup>。また、ドッキ  
ング手法においてもディープラーニングを用いた分子動力学 (Molecular Dynamics; MD)  
法が注目されている<sup>114)</sup>。MD 法は、蛋白が本来持つ柔軟性と時間的变化を加味するこ  
とで、より生体内での正確な受容体との複合体を得る方法である。MD 法により、分  
子や蛋白質の動態変化をリアルタイムで観察することが可能となる。これにより、ウ

ウイルスと細胞受容体との結合における構造変化に伴う機能的影響や薬剤の結合部位や親和性の最適化をより生体内に近い状態での予測に応用されている。しかし、これらの解析手法は非常に大きなデータ量を扱うため、コンピュータプログラムの専門的知識や高性能なコンピュータが必要となる。そのため、一般的なバイオインフォマティクス解析を行う実験室では、現段階では応用が困難である<sup>112)</sup>。

このような *in silico* 技術は、*in vitro/in vivo* 実験手法では得られない、精密な分子レベルでの詳細な構造予測や動態解析が可能となった。これらの技術の確立により、分子メカニズムの解明や新薬開発研究をはじめとする生命科学や医薬分野において、研究スピードを飛躍的に向上させると同時に、その精度や効率性の向上に寄与している。

## V. 結論

本研究では、先駆的なバイオインフォマティクス技術を応用し、SARS-CoV-2 の S 蛋白における分子進化解析ならびにコンフォメーションナルエピトープ解析とアミノ酸変異に関する研究を行った。

結果として、BA.1-5 変異株、XBB 変異株、JN 変異株、KP 変異株を含む Omicron 株は、2021-2022 年に祖先から急速に出現したことが明らかになった。その進化速度は

$10^{-3}$  s/s/y 以上と推定され、SARS-CoV-2 の S 遺伝子が Omicron 株に至るまで絶え間なく急速に進化し、ごく短時間（約 1 年）の間に多くの変異株を生み出したことが示唆された。次に、Omicron 株の BJ.1、BM.1.1.1 および XBB.1.5 間の S 遺伝子の組換え解析を行った結果、XBB.1.5 の S 蛋白のアミノ酸変異が親株である BJ.1、BM.1.1.1 とほぼ完全に一致したことから、XBB.1.5 亜変異株は BJ.1 と BM.1.1.1 の組換え体であることが示唆された。さらに、Omicron 株の XBB.1.5 および主流株の JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 を含む S 蛋白のコンフォメーションナルエピトープとアミノ酸変異の関係を調べた。その結果、S 蛋白の変異の多くがその抗原性やワクチン効果に関連している可能性があることが明らかになった。これらの変異は、宿主免疫に対抗する正の選択部位としても同定され、免疫逃避変異体として機能している。

これらの結果を総合すると、SARS-CoV-2 の S 遺伝子における急速な進化により生じた変異は、XBB.1.5 配列を含む mRNA ワクチンのような現行のワクチンの効果を低下させる可能性がある。したがって、これらの亜変異株を標的としたワクチン改変も含めた検討が必要であると思われる。

## VI. 引用文献

1. 増田道明. 新型コロナウイルスのウイルス学的特徴. 新型コロナウイルス感染症 UP-to-date. 2020;66(11):313-320
2. Ujike M, Taguchi F. 2015. Incorporation of spike and membrane glycoproteins into coronavirus virions. *Viruses* 7:1700-25.
3. Paul S. Coronaviridae, p. 825-858. In Knipe DM, Howley PM, Cohen JJ, et al. *Fields Virology*. 6ed, vol. I. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 2013.
4. Sethna PB, Hung SL, Brian DA. 1989. Coronavirus subgenomic minus-strand RNAs and the potential for mRNA replicons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:562630.
5. Hamre D, Procknow JJ. A New Virus Isolated from the Human Respiratory Tract. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1966; 121 (1): 190-193.
6. McIntosh K, Becker WB, Chanock RM. Growth in Suckling-mouse Brain of "IBV-like" Viruses from Patients with Upper Respiratory Tract Disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1967;58(6): 2268-2273.
7. van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, et al. Identification of a New Human Coronavirus. *Nature Medicine*. 2004; 10 (4): 368-373.
8. Woo PC, Lau SK, Chu CM, et al. Characterization and Complete Genome Sequence of a Novel Coronavirus, Coronavirus HKU1, from Patients with Pneumonia HKU1. *Journal of Virology*. 2005; 79(2): 884-895.
9. Drosten C, Günther S, Preiser W, et al. Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2003; 348(20): 1967-1976.
10. Lytras S, Hughes J, Martin D, et al. Exploring the Natural Origins of SARS-CoV-2 in the Light of Recombination. *Genome Biol Evol*. 2022 Feb 4;14(2):evac018.
11. Parashar UD, Anderson LJ. Severe acute respiratory syndrome: review and lessons of the 2003 outbreak. *Int J Epidemiol*. 2004 Aug;33(4):628-34.
12. Weinstein, R. A. Planning for epidemics-the lessons of SARS. *N Engl J Med*. 2004. 350, 2332-2334
13. Li W, Shi Z, Yu M, et al. 2005. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science* 310:676-9.

14. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, et al. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *New England Journal of Medicine*. 2012; 367(19): 1814-1820.
15. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*. 2012 Nov 8;367(19):1814-20.
16. Hemida MG, Perera RA, Wang P, et al. 2013. Middle East Respiratory Syndrome (MERS) coronavirus seroprevalence in domestic livestock in Saudi Arabia, 2010 to 2013. *Euro Surveill* 18:20659.
17. Azhar EI, El-Kafrawy SA, Farraj SA, et al. 2014. Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. *N Engl J Med* 370:2499-505.
18. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. 2020. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 579:265-269.
19. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. 2020. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579:270-273.
20. Lau SK, Li KS, Huang Y, et al. 2010. Ecoepidemiology and complete genome comparison of different strains of severe acute respiratory syndrome-related *Rhinolophus* bat coronavirus in China reveal bats as a reservoir for acute, self-limiting infection that allows recombination events. *J Virol* 84:2808-19.
21. Furuse Y, Ko YK, Saito M, et al. National Task Force for COVID-19 Outbreak in Japan. Epidemiology of COVID-19 Outbreak in Japan, from January-March 2020. *Jpn J Infect Dis*. 2020 Sep 24;73(5):391-393.
22. 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>. (閲覧日 2024/10/20)
23. Our World in Data：Japan: Coronavirus Pandemic Country Profile.  
<https://ourworldindata.org/coronavirus/country/japan> (閲覧日 2024/10/20)
24. Tanaka H, Togawa K, Katanoda K. Impact of the COVID-19 pandemic on mortality trends in Japan: a reversal in 2021? A descriptive analysis of national mortality data, 1995-2021. *BMJ Open*. 2023 Aug 31;13(8):e071785.
25. Chen X, Wei W, Cao J, et al. Clinical features and short-term outcomes of patients with COVID-19 due to different exposure history. *Medicine (Baltimore)*. 2020 Nov 20;99(47):e23319.
26. 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 診療の手引き 別冊 罹患後症状のマネジメント 第1版. <https://www.mhlw.go.jp/content/000935241>. (閲覧日 2024/10/20).



27. World Health Organization 2023 data.who.int, WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard Cases [Dashboard]. <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases> (閲覧日 2024/10/20).
28. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 2020 Mar 13;367(6483):1260-1263.
29. 浦木隆太, 山吉誠也, 河岡義裕. 基礎研究から明らかになった新型コロナウイルス SARS-CoV-2 のウイルス学的特徴. *学術の動向*. 2021. 79-86
30. Wang N, Shang J, Jiang S, et al. Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses. *Front Microbiol*. 2020 Feb 28;11:298.
31. Shang J, Ye G, Shi K, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*. 2020 May;581(7807):221-224.
32. Mittal A, Manjunath K, Ranjan RK, et al. COVID-19 pandemic: Insights into structure, function, and hACE2 receptor recognition by SARS-CoV-2. *PLoS Pathog*. 2020 Aug 21;16(8):e1008762.
33. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020 Apr 16;181(2):271-280.e8.
34. Frost SDW, Magalis BR, Kosakovsky Pond SL. Neutral Theory and Rapidly Evolving Viral Pathogens. *Mol Biol Evol*. 2018 Jun 1;35(6):1348-1354.
35. Combe M, Sanjuán R. Variation in RNA virus mutation rates across host cells. *PLoS Pathog*. 2014 Jan;10(1):e1003855.
36. Desbiez C, Domingo-Calap ML, Pitrat M, et al. Specificity of Resistance and Tolerance to Cucumber Vein Yellowing Virus in Melon Accessions and Resistance Breaking with a Single Mutation in VPg. *Phytopathology*. 2022 May;112(5):1185-1191.
37. Genomic Epidemiology of Novel Coronavirus-Global Subsampling. Available online: <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/6m> (閲覧日 2024/10/20).
38. Underwood BA, Yankie L, Nawrocki EP, et al. Rapid automated validation, annotation and publication of SARS-CoV-2 sequences to GenBank. *Database (Oxford)*. 2022 Mar 1;2022:baac006.
39. covSPECTRUM. <https://covspectrum.org/explore/World/AllSamples/Past6M>. (閲覧日 2024/10/20)
40. Bragazzi NL, Gianfredi V, Villarini M, et al. Vaccines Meet Big Data: State-of-the-Art and Future Prospects. From the Classical 3Is ("Isolate-Inactivate-Inject") Vaccinology 1.0 to Vaccinology 3.0, Vaccinomics, and Beyond: A Historical Overview. *Front Public Health*. 2018 Mar 5;6:62.

41. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines - a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov.* 2018 Apr;17(4):261-279.
42. Khavari A, Orafa Z, Hashemi M, et al. 2016. Different physical delivery systems: An important approach for delivery of biological molecules in vivo. *Arch. Adv.n Biosci.* 7, 48–63.
43. Hodgson J. The pandemic pipeline. *Nat Biotechnol.* 2020 May;38(5):523-532.
44. de Alwis R, Gan ES, Chen S, et al. A Single Dose of Self-Transcribing and Replicating RNA Based SARS-CoV-2 Vaccine Produces Protective Adaptive Immunity In Mice. *bioRxiv.* 2020. 2020 09.03.280446
45. McKay PF, Hu K, Blakney AK, et al. Self-amplifying RNA SARS-CoV-2 lipid nanoparticle vaccine candidate induces high neutralizing antibody titers in mice. *Nat Commun.* 2020;11:3523
46. Malone RW, Felgner PL, Verma IM. Cationic Liposome-Mediated Rna Transfection. *P Natl Acad Sci USA.* 1989;86:6077-81
47. Wadhwa A, Aljabbari A, Lokras A, Foged C, Thakur A. Opportunities and Challenges in the Delivery of mRNA-Based Vaccines. *Pharmaceutics.* 2020; 12(2):102.
48. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, et al. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med.* 2020
49. Kaku Y, Okumura K, Padilla-Blanco M, et al. Virological characteristics of the SARS-CoV-2 JN.1 variant. *Lancet Infect Dis.* Published online January 3, 2024.
50. Chalkias S, McGhee N, Whatley JL, et al. Interim report of the reactogenicity and immunogenicity of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 XBB–containing vaccines. *J Infect Dis* jiae067, 2024.
51. Wang Q, Guo Y, Bowen A, et al. XBB.1.5 monovalent mRNA vaccine booster elicits robust neutralizing antibodies against XBB subvariants and JN.1. *Cell Host Microbe* 32(3):315-321.e3, 2024.
52. Paden C. R., Shirk P., Britton A, et al. 2024. Early Estimates of Updated 2023-2024 (Monovalent XBB.1.5) COVID-19 Vaccine Effectiveness Against Symptomatic SARS-CoV-2 Infection Attributable to Co-Circulating Omicron Variants Among Immunocompetent Adults - Increasing Community Access to Testing Program, United States, September 2023-January 2024. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report,* 73(4), 77–83.
53. Huiberts AJ, Hoeve CE, de Gier B, et al. Effectiveness of Omicron XBB.1.5 vaccine against infection with SARS-CoV-2 Omicron XBB and JN.1 variants, prospective cohort

- study, the Netherlands, October 2023 to January 2024. *Euro Surveill* 29(10):2400109, 2024.
54. Shrestha N. K., Burke P. C., Nowacki A. S. et al. 2024. Effectiveness of the 2023-2024 Formulation of the COVID-19 Messenger RNA Vaccine. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 79(2), 405–411.
  55. Kaku Y, Yo M. S, Tolentino J. E. et al. Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium, Ito, J., & Sato, K. (2024). Virological characteristics of the SARS-CoV-2 KP.3, LB.1, and KP.2.3 variants. *The Lancet. Infectious diseases*, 24(8), e482–e483.
  56. Kaku Y, Uriu K, Okumura K. Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium, Ito, J., & Sato, K. (2024). Virological characteristics of the SARS-CoV-2 KP.3.1.1 variant. *The Lancet. Infectious diseases*, S1473-3099(24)00505-X. Advance online publication.
  57. Jacques F, Bolivar P, Pietras K, et al. Roadmap to the study of gene and protein phylogeny and evolution-A practical guide. *PLoS One*. 2023 Feb 24;18(2):e0279597.
  58. Versteeg L, Almutairi MM, Hotez PJ, Pollet J. Enlisting the mRNA Vaccine Platform to Combat Parasitic Infections. *Vaccines*. 2019; 7(4):122.
  59. Sharma O, Sultan AA, Ding H, Trigg CR. A Review of the Progress and Challenges of Developing a Vaccine for COVID-19. *Front Immunol*. 2020 Oct 14;11:585354.
  60. C. Darwin. *On the Origin of Species*. John Murray. 1859.
  61. Kimura M. Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*. 1968 Feb 17;217(5129):624-6.
  62. Kimura M. The rate of molecular evolution considered from the standpoint of population genetics. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1969 Aug;63(4):1181-8.
  63. Kimura M, Ohta T. Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. *Nature*. 1971 Feb 12;229(5285):467-9.
  64. Montgomery Slatkin ed., Michel Veuille ed. *Modern developments in theoretical population genetics: The legacy of Gustave Malecot*
  65. Crow JF. Wright and Fisher on inbreeding and random drift. *Genetics*. 2010 Mar;184(3):609-11.
  66. Charlesworth B. Molecular population genomics: a short history. *Genet Res (Camb)*. 2010 Dec;92(5-6):397-411.
  67. 小澤一史. 免疫組織化学の原理と基本. *日薬理誌*. 2019;154:156-64.
  68. Sun P, Ju H, Zhang B, et al. Conformational B-cell epitope prediction method based on antigen preprocessing and mimotopes analysis. *Biomed Res Int*. 2015, vol.2015, no.257030.

69. Van Regenmortel MH. Antigenicity and immunogenicity of synthetic peptides. *Biologicals*. 2001;29(3-4):209-13.
70. 橘田和美. 抗原決定基 (エピトープ) . 日本食品科学工学会誌. 2006;53(7):399.
71. Kulkarni-Kale U, Bhosle S, Kolaskar AS. CEP: a conformational epitope prediction server. *Nucleic Acids Res*. 2005 Jul 1;33(Web Server issue):W168-71.
72. Sun P, Ju H, Zhang B, et al. Conformational B-cell epitope prediction method based on antigen preprocessing and mimotopes analysis. *Biomed Res Int*. 2015, vol.2015, no.257030.
73. Steimer KS, Scandella CJ, Skiles PV, Haigwood NL. Neutralization of divergent HIV-1 isolates by conformation-dependent human antibodies to Gp120. *Science*. 1991 Oct 4;254(5028):105-8.
74. Kulkarni-Kale U, Bhosle S, Kolaskar AS. CEP: a conformational epitope prediction server. *Nucleic Acids Res*. 2005 Jul 1;33(Web Server issue):W168-71.
75. Plemper RK, Hammond AL, Cattaneo R. Characterization of a region of the measles virus hemagglutinin sufficient for its dimerization. *J Virol*. 2000, vol.74, no.14, p.6485-6493.
76. andelli A, Monti M, Milanetti E, et al. Structural analysis of SARS-CoV-2 genome and predictions of the human interactome. *Nucleic Acids Res*. 2020 Nov 18;48(20):11270-11283.
77. Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, et al. BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput Biol*. 2014;10(4):e1003537.
78. Katoh K, Standley DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7:improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol*. 2013;30(4):772 80.
79. Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu CH, Xie D, et al. BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput Biol*. 2014;10(4):e1003537.
80. Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods*. 2012;9(8):772.
81. Webb B, Sali A. Protein structure modeling with MODELLER. *Methods Mol Biol*.2014, vol.1137, p.1-15. doi: 10.1007/978-1-4939-0366-5\_1.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24573470/>. (参照日 2024-10-20)
82. Kanda Y. Investigation of the freely available easy to use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48(3):452 8.
83. 斎藤成也. ゲノム進化学入門. 東京, 共立出版、2019, 268p. ISBN978-4-320-05661-9
84. Webb B, Sali A. Protein structure modeling with MODELLER. *Methods Mol Biol*.2014, vol.1137, p.1-15. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24573470/>. (参照日 2024-10-20).

85. Emsley P, Lohkamp B, Scott WG, et al. Features and development of Coot. 2010, vol.66, no.4, p.486-501.
86. Guex N, Peitsch, M.C. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer an environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis*. 1997, vol.18, no.15, p.2714-2723.
87. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.3.4 Schrödinger, LLC.
88. Zhou C, Chen Z, Zhang L, et al. SEPPA 3.0-enhanced spatial epitope prediction enabling glycoprotein antigens. *Nucleic Acids Res*. 2019 Jul 2;47(W1):W388-W394.
89. Liu T, Shi K, Li W. Deep learning methods improve linear B-cell epitope prediction. *BioData Min*. 2020 Apr 17;13:1
90. Sweredoski MJ, Baldi P. PEPITO: improved discontinuous B-cell epitope prediction using multiple distance thresholds and half sphere exposure. *Bioinformatics*. 2008 Jun 15;24(12):1459-60.
91. Shashkova TI, Umerenkov D, Salnikov M, et al. SEMA: Antigen B-cell conformational epitope prediction using deep transfer learning. *Front Immunol*. 2022 Sep 15;13:960985.
92. Kringelum JV, Lundegaard C, Lund O, et al. Reliable B cell epitope predictions: impacts of method development and improved benchmarking. *PLoS Comput Biol*. 2012;8(12):e1002829.
93. Lan J, Ge J, Yu J, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*. 2020 May;581(7807):215-220.
94. Shashkova TI, Umerenkov D, Salnikov M, et al. SEMA: Antigen B cell conformational epitope prediction using deep transfer learning. *Front Immunol*. 2022;13:960985.
95. Yoshihara K, Minh LN, Okada T, et al. Evolutionary dynamics of influenza B strains detected from paediatric acute respiratory infections in central Vietnam. *Infect Genet Evol*. 2020 Jul;81:104264.
96. Kobayashi M, Matsushima Y, Motoya T, et al. Molecular evolution of the capsid gene in human norovirus genogroup II. *Sci Rep*. 2016 Jul 7;6:29400.
97. González-Candelas F, Shaw MA, Phan T, et al. One year into the pandemic: Short-term evolution of SARS-CoV-2 and emergence of new lineages. *Infect Genet Evol*. 2021 Aug;92:104869.
98. Cuevas JM, Geller R, Garijo R, et al. Extremely High Mutation Rate of HIV-1 In Vivo. *PLoS Biol*. 2015 Sep 16;13(9):e1002251. Singh J, Pandit P, McArthur AG, et al. Evolutionary trajectory of SARS-CoV-2 and emerging variants. *Virol J*. 2021 Aug 13;18(1):166.

99. Takahashi T, Akagawa M, Kimura R, et al. Molecular evolutionary analyses of the fusion protein gene in human respirovirus 1. *Virus Res.* 2023 Aug;333:199142.
100. Saito M, Tsukagoshi H, Sada M, et al. Detailed Evolutionary Analyses of the F Gene in the Respiratory Syncytial Virus Subgroup A. *Viruses.* 2021 Dec 15;13(12):2525.
101. Mizukoshi F, Kimura H, Sugimoto S, et al. Molecular Evolutionary Analyses of the Fusion Genes in Human Parainfluenza Virus Type 4. *Microorganisms.* 2024 Aug 9;12(8):1633.
102. Chatterjee S, Bhattacharya M, Nag S, et al. A Detailed Overview of SARS-CoV-2 Omicron: Its Sub-Variants, Mutations and Pathophysiology, Clinical Characteristics, Immunological Landscape, Immune Escape, and Therapies. *Viruses.* 2023 Jan 5;15(1):167.
103. Scarpa F, Sanna D, Azzena I, et al. Genome-based comparison between the recombinant SARS-CoV-2 XBB and its parental lineages. *J Med Virol.* 2023 Mar;95(3):e28625.
104. Li Q, Nie J, Wu J, et al. SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell.* 2021 Apr 29;184(9):2362-2371.e9.
105. Weisblum Y, et al. Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants. *Elife.* 2020;9:e61312.
106. Gaebler C, et al. Evolution of Antibody Immunity to SARS-CoV-2. *Nature.* 2020.
107. Wang Q, Iketani S, Li Z, et al. Alarming antibody evasion properties of rising SARS-CoV-2 BQ and XBB subvariants. *Cell.* 2023 Jan 19;186(2):279-286.e8.
108. Tamura T, Ito J, Uriu K, et al. Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium; Hashiguchi T, Ikeda T, Fukuhara T, Saito A, Tanaka S, Matsuno K, Takayama K, Sato K. Virological characteristics of the SARS-CoV-2 XBB variant derived from recombination of two Omicron subvariants. *Nat Commun.* 2023 May 16;14(1):2800.
109. Graña C, Ghosn L, Evrenoglou T, et al. Efficacy and safety of COVID-19 vaccines. *Cochrane Database Syst Rev.* 2022 Dec 7;12(12):CD015477.
110. Kuniya T, Tokuda Y, Nakamura H, Moromizato T, Shibuya K. Estimating COVID-19 herd immunity in Japan at the beginning of the seventh wave: Transitioning from a pandemic to an endemic. *J Gen Fam Med.* 2022 Aug 14;23(5):295-298.
111. NIID 国立感染研究所. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 2024 年 4 月現在, IASR Vol. 45 p85-86: 2024 年 6 月号. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2547-idsc/iasr-topic/12721-532t.html> (参照日 2024-10-20) .
112. The Nobel Prize. The Nobel Prize in Chemistry 2024. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2024/press-release/> (参照日 2024-10-20)

- 113.Humphreys IR, Pei J, Baek M, et al. Computed structures of core eukaryotic protein complexes. *Science*. 2021, vol.374, no.6573, eabm4805.
- 114.Akagawa M, Shirai T, Sada M, et al. Detailed molecular interactions between respiratory syncytial virus fusion protein and the TLR4/MD-2 complex in silico. *Viruses*. 2022, vol.14.

## VII. 図・表

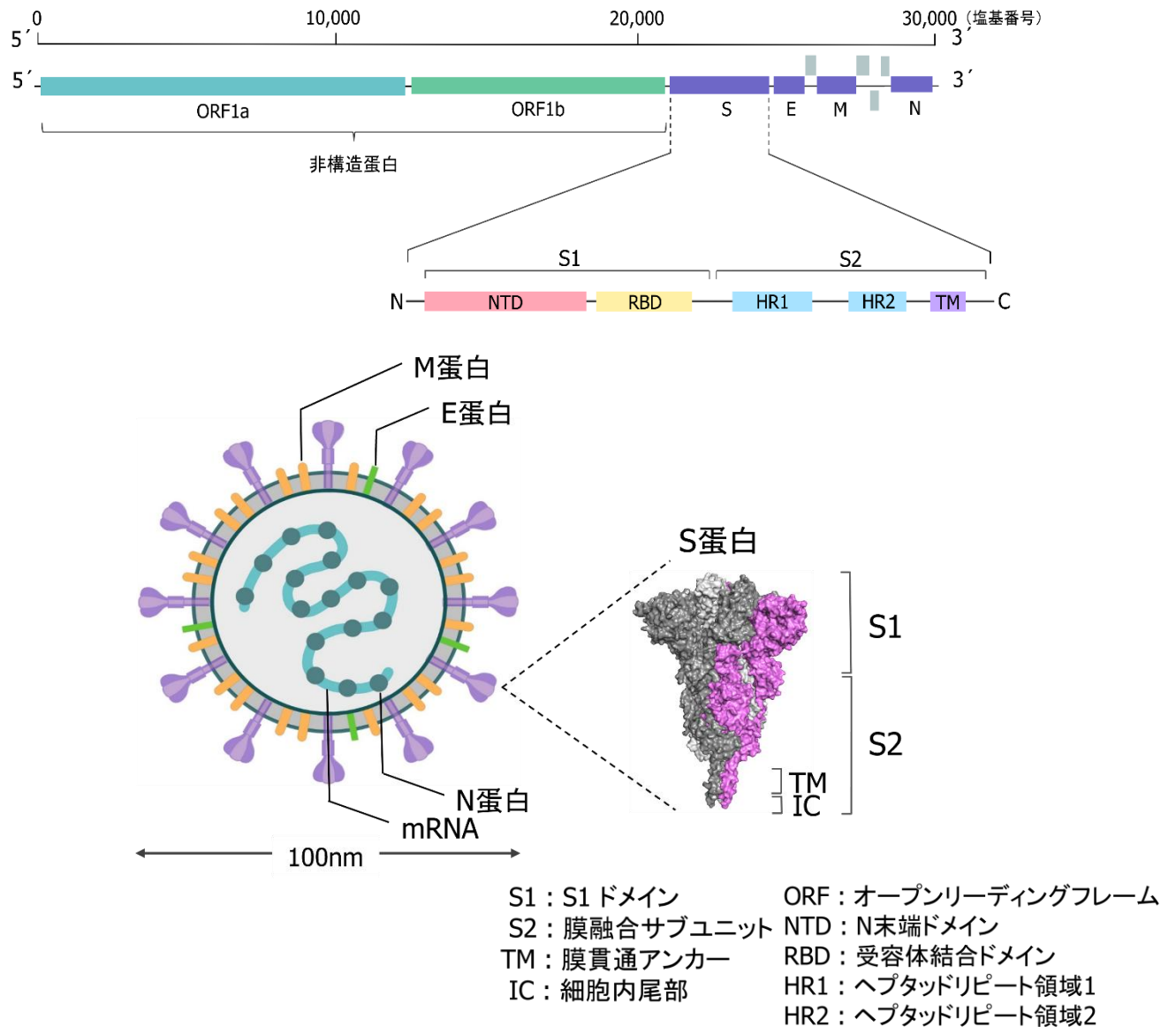


図 1. SARS-CoV-2 ウイルスの遺伝子構成とウイルス構造

SARS-CoV-2 ウイルス全体の遺伝子構成を示した。ORF 領域の他に S 蛋白、E 蛋白、M 蛋白、N 蛋白を標記している。E 蛋白、M 蛋白、N 蛋白の間に位置している灰色の領域はアクセサリー領域を示した。さらに S 蛋白の遺伝子情報を詳細に標記した。また、SARS-CoV-2 ウイルス全体の構造と S 蛋白の構造を示した。



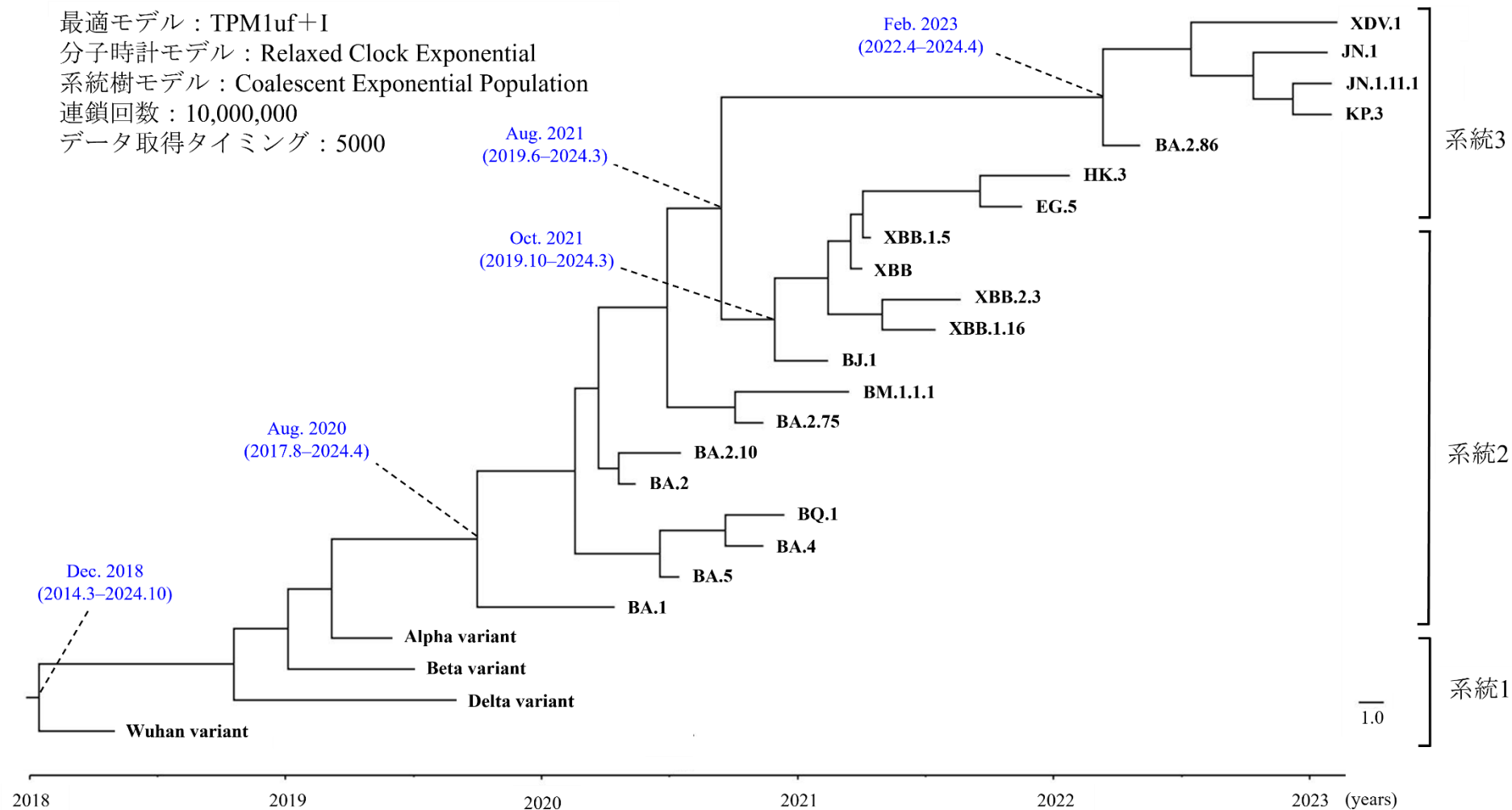


図 2. ベイジアンマルコフ連鎖モンテカルロ (BMCMC) 法によって構築された SARS-CoV-2・S 蛋白の時系列系統樹

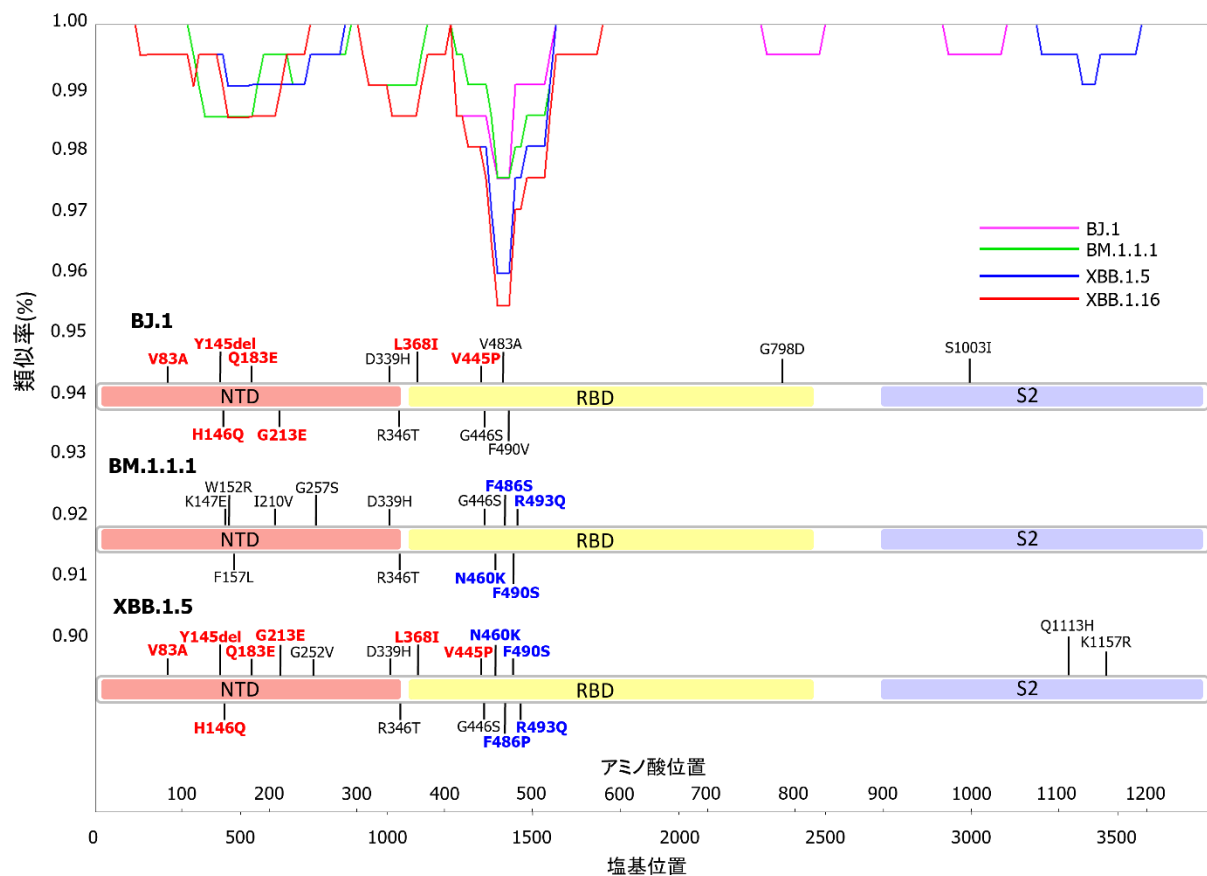


図 3. SARS-CoV-2 Omicron 亜変異株の類似性 (SimPlot) 解析

BJ.1 株を緑、BM.1.1.1 株を緑、XBB.1.5 株を青ならびに XBB.1.16 株を赤で示した。

また、BA.2 株をプロトタイプとした BJ.1 株、BM.1.1.1 株、XBB.1.5 株の塩基配列を

比較した。BJ.1 株と XBB.1.5 株間で一致する変異を赤文字 BM.1.1.1 株と XBB.1.5 株

の株間で一致する変異を青文字で示した。

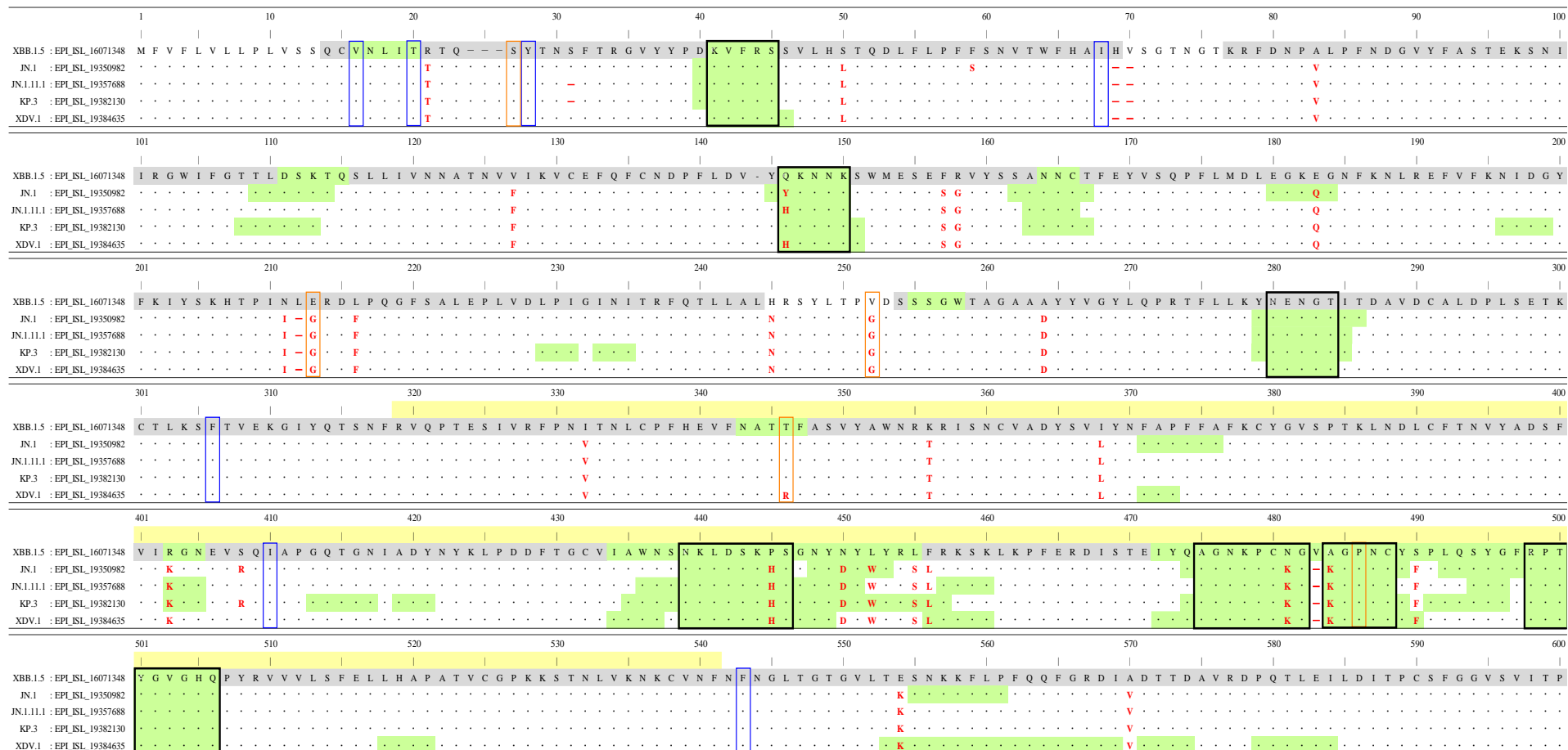


図 4. 本研究で検討した SARS-CoV-2・S 蛋白（XBB.1.5 株、JN.1 株、JN.1.11.1 株、KP.3 株および XDV.1 株）の一次構造・アミノ酸置換部位ならびに置換したアミノ酸の種類

SARS-CoV-2・S 蛋白の立体構造作成に使用したアミノ酸残基を灰色で示した。XBB.1.5 株をプロトタイプとしたアミノ酸置換は、赤文字で示した。オレンジ色と青色の枠はそれぞれ正の選択圧部位と負の選択圧部位を示している。黄緑色で示している部分はコンフォメーションナルエピトープモチーフであり、黒枠はすべての変異株に共通して予測されたエピトープモチーフを示した。



SARS-CoV-2・S 蛋白の立体構造作成に使用したアミノ酸残基を灰色で示した。XBB1.5 株をプロトタイプとしたアミノ酸置換は、赤字で示した。オレンジ色と青色の枠はそれぞれ正の選択圧部位と負の選択部位を示している。黄緑色で示している部分はコンフォメーションナルエピトープモチーフであり、黒枠はすべての変異株に共通して予測されたエピトープモチーフを示した。

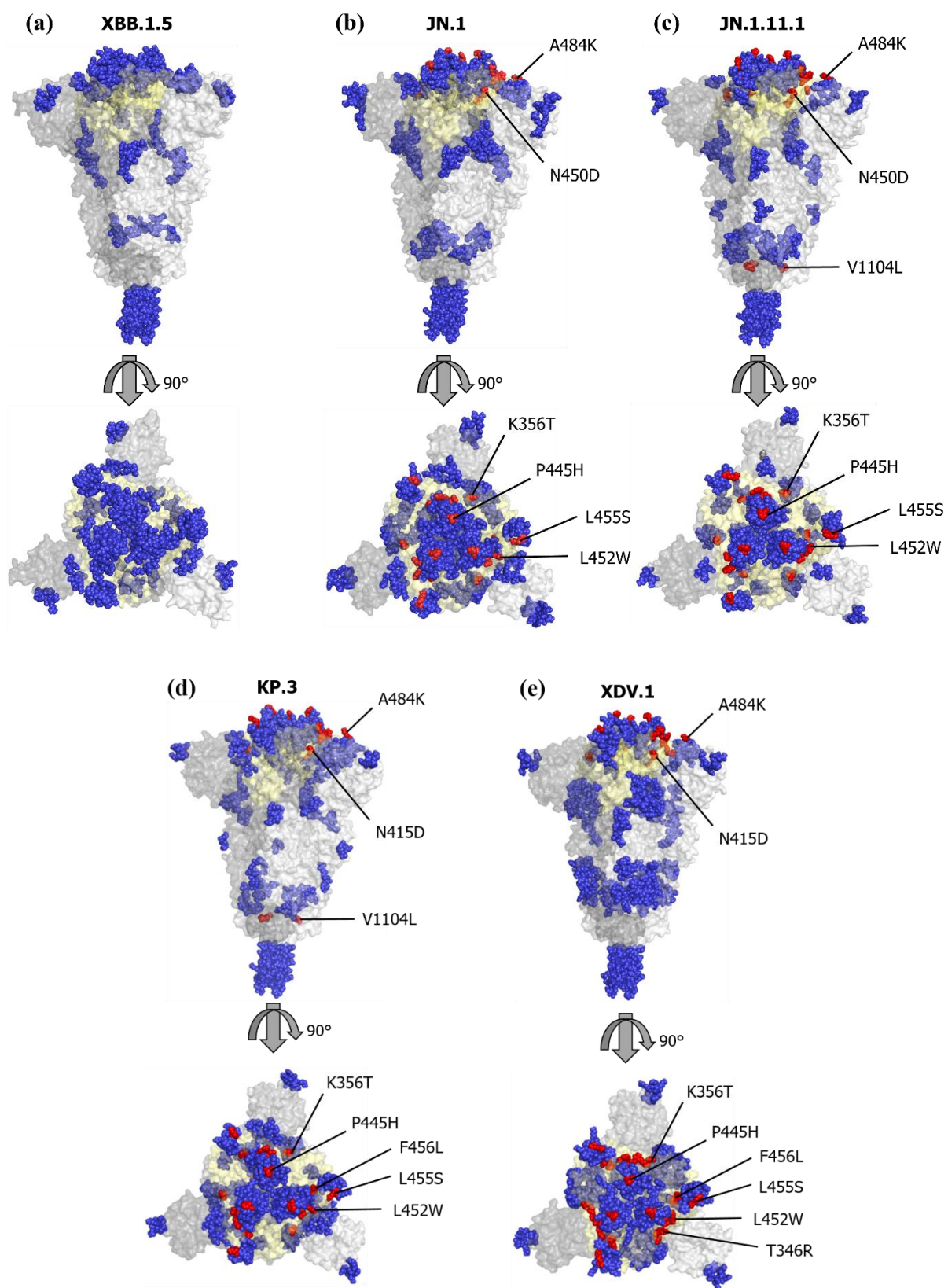


図 5. SARS-CoV-2・S 蛋白の詳細な立体構造モデル上にマッピングされたコンフォ

メーションナルエピトープと主要アミノ酸置換

SARS-CoV-2・S 蛋白の詳細な三次元構造モデル上に予測されたコンフォメーション  
ルエピソードモチーフ、主要変位部位および受容体結合ドメイン（RBD）をマップ  
化・可視化した。本三量体構造における各々のペプチド鎖は、濃い灰色（A 鎖）、灰  
色（B 鎖）あるいは薄い灰色（C 鎖）で色分けした。コンフォメーションルエピソード  
モチーフ、主要変異部位あるいは RBD はそれぞれ青、赤あるいは薄黄色で示した。  
なお、(a) : SARS-CoV-2 XBB.1.5 変異株 S 蛋白の立体構造、(b): SARS-CoV-2 JN.1 変  
異株 S 蛋白の立体構造、(c) : SARS-CoV-2 JN.1.11.1 変異株 S 蛋白の立体構造、(d):  
SARS-CoV-2 KP.3 変異株 S 蛋白の立体構造ならびに(e): SARS-CoV-2 XDV.1 変異株 S  
蛋白の立体構造を示す。

表 1. ヒトに病原性を示すコロナウイルスの属・種・関連疾患ならびに自然宿主

属	種	同定年	感染症名	自然宿主動物
$\alpha$ コロナウイルス	ヒトコロナウイルス 229E	1996	急性呼吸器感染症 (ARI) 下痢症	ヒト
	ヒトコロナウイルス NL63	2004		
$\beta$ コロナウイルス	ヒトコロナウイルス OC43	1967		
	ヒトコロナウイルス HKU1	2005		
	SARS コロナウイルス	2003	重症急性呼吸器症候群 (SARS)	キクガシラコウモリ
	MERS コロナウイルス	2012	中東呼吸器症候群 (MERS)	ヒトコブラクダ
	SARS コロナウイルス-2	2020	新型コロナウイルス感染症 (COVID-19)	コウモリ



表 2. 時系列系統解析に使用した株

遺伝子型	GenBank (Accession No.)  GISIDE (EPI_ISL ID)	株名	検出/分離 年月	発生国	系統
Wuhan	NC_045512	Wuhan-Hu-1	2019/12	China	prototype
Alpha	EPI_ISL_878492	hCoV-19/Jordan/AM- ALSR-5795/2021	2021/1	Jordan	Lineage 1
Beta	EPI_ISL_1007659	hCoV-19/Thailand/CU- SI2107331-NT/2021	2021/2	Thailand	Lineage 1
Delta	EPI_ISL_2038893	hCoV-19/Russia/TVE- CRIE-L188K0270/2021	2021/4	Russia	Lineage 1
BA.1	EPI_ISL_18300366	hCoV-19/South Africa/NHLS-UCT-GP- N551/2021	2021/12	South Africa	Lineage 2
BA.2	EPI_ISL_9028491	hCoV-19/Qatar/QA-QU-18- 34-H6/2021	2021/12	Qatar	Lineage 2
BA.2.10	EPI_ISL_11520937	hCoV-19/Kuwait/Jaber- 20071252/2022	2022/2	Kuwait	Lineage 2
BA.2.75	EPI_ISL_13302209	hCoV-19/India/MH- INSACOG-CSIR- NEERI1874/2022	2022/6	India	Lineage 2
BA.2.86	EPI_ISL_18522000	hCoV- 19/Portugal/PT50147/2023	2023/11	Portugal	Lineage 3
BA.4	EPI_ISL_13389730	hCoV-19/Belgium/reg- 42736/2022	2022/6	Belgium	Lineage 2
BA.5	EPI_ISL_14243867	hCoV- 19/Gambia/PF6331/2022	2022/2	Gambia	Lineage 2
BM.1.1.1	OX361494	COG-UK/QEUH- 325A6D34	2022/10	United Kingdom	Lineage 2
BJ.1	OX339969	COG-UK/QEUH-3F87C32	2022/9	United Kingdom	Lineage 2
BQ.1	EPI_ISL_14333750	hCoV-19/USA/GA-GPHL- 2431/2022	2022/7	USA	Lineage 2
XBB	EPI_ISL_16338736	hCoV-19/Guatemala/10034- LNS/2022	2022/11	Guatemala	Lineage 2
XBB.1.5	EPI_ISL_16071348	hCoV-19/USA/NY-PRL- 221202_01C08/2022	2022/11	USA	Lineage 2
XBB.1.16	EPI_ISL_17620500	hCoV-19/Nepal/NPHL-S- 2452/2023	2023/2	Nepal	Lineage 2
XBB.2.3	EPI_ISL_17500739	hCoV-19/India/MH-ICMR- NIV-G-13798/2023	2023/3	India	Lineage 2
EG.5	EPI_ISL_18207255	hCoV-19/USA/OR-UW- S23674/2023	2023/6	USA	Lineage 3
HK.3	EPI_ISL_18129808	hCoV-19/Canada/AB- ABPHL-100582/2023	2023/8	Canada	Lineage 3
JN.1	EPI_ISL_19350982	hCoV-19/Israel/ICH- 741202233/2024	2024/8	Israel	Lineage 3

表 2. 時系列系統解析に使用した株（続き）

遺伝子型	GenBank (Accession No.) GISIDE (EPI_ISL_ID)	株名	検出/分離 年月	発生国	系統
JN.1.11.1	EPI_ISL_19357688	hCoV-19/Moldova/Nr-38594/2024	2024/8	Moldova	Lineage 3
KP.3	EPI_ISL_19382130	hCoV-19/Italy/VEN-ULSS8-2008535_VI/2024	2024/8	Italy	Lineage 3
XDV.1	EPI_ISL_19384635	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM6775/2024	2024/8	China	Lineage 3

表 3. BMCMC 法による時系列系統解析における詳細なパラメータ

All (24 株)

		Tree prior models	
		Coalescent Constant	Coalescent Exponential
		Population	Population
Clock models	Strict Clock	-6439.3251	-6440.4426
	Relaxed Clock Exponential	-6432.5461	-6431.9693
	Relaxed Clock Log Normal	-6433.1057	-6432.9037
	Random local clock	-6437.6907	-6440.6508

系統 2 (13 株)

		Tree prior models	
		Coalescent Constant	Coalescent Exponential
		Population	Population
Clock models	Strict Clock	-5704.2961	-5704.5986
	Relaxed Clock Exponential	-5704.4962	-5704.4128
	Relaxed Clock Log Normal	-5704.4319	-5705.1014
	Random local clock	-5704.3013	-5705.0510

系統 3 (7 株)

		Tree prior models	
		Coalescent Constant	Coalescent Exponential
		Population	Population
Clock models	Strict Clock	-5579.9011	-5580.8321
	Relaxed Clock Exponential	-5579.7556	-5581.1757
	Relaxed Clock Log Normal	-5579.3586	-5580.8854
	Random local clock	-5579.2677	-5582.0851

表 4. BMCMC 分析における各系統の最適モデル

	Substitution Model	Gamma Shepe	Proportion Invariant	Clock Model	Tree Prior Models	Chain Length	Log Every
All (24 株)	TPM1uf+I	-	0.932	Relaxed Clock Exponential	Coalescent Exponential Population	10,000,000	5000
系統 2 (13 株)	TPM1uf+I	-	0.963	Strict Clock	Coalescent Constant Population	10,000,000	5000
系統 3 (7 株)	HKY+G	0.027	-	Random local clock	Coalescent Constant Population	10,000,000	5000

表 5. SARS-CoV-2・S 蛋白全株と各系統の進化速度

	進化速度 (塩基置換数/部位/年, s/s/y) (95%HPD)	有効サンプルサイズ
All (24 株)	$3.25 \times 10^{-3}$ s/s/y ( $2.37 \times 10^{-3} \sim 4.30 \times 10^{-3}$ s/s/y)	834
系統 2 (13 株)	$2.48 \times 10^{-3}$ s/s/y ( $1.12 \times 10^{-3} \sim 4.00 \times 10^{-3}$ s/s/y)	1467
系統 3 (7 株)	$1.45 \times 10^{-3}$ s/s/y ( $3.92 \times 10^{-6} \sim 3.02 \times 10^{-3}$ s/s/y)	636

HPD: Highest Posterior Density

表 6. SARS-CoV-2・S 蛋白の XBB.1.5 株、JN.1 株、JN.1.11.1 株、KP.3 株および XDV.1 株の共通エピトープモチーフ

XBB.1.5		JN.1		JN.1.11.1	
アミノ酸 番号	予測エピトープモチーフ	アミノ酸 番号	予測エピトープモチーフ	アミノ酸 番号	予測エピトープモチーフ
41-45	<b>KVFRS</b>	40-45	<b>DKVFRS</b>	40-45	<b>DKVFRS</b>
146-150	<b>QKNNK</b>	145-150	<b>YKNNK</b>	146-150	<b>HKNNK</b>
279-285	<b>YNENGTI</b>	279-286	<b>YNENGTIT</b>	279-285	<b>YNENGTI</b>
434-455	IAWNSNKLDSKPSGNYNYLYRL	439-446	<b>NKLDSKHS</b>	436-451	WNSNKLDSK <b>H</b> SGNY <b>DY</b>
		448-453	<b>NYDYWY</b>		
472-494	IYQAGNKPCNGVAGPNCYSPLRS	474-482	<b>QAGNKPCKG</b>	475-482	<b>AGNKPCKG</b>
498-506	<b>RPTYGVGHQ</b>	484-489	<b>KGPPCY</b>	484-488	<b>KGPNC</b>
		492-506	<b>LQSYGFRPTYGVGHQ</b>	494-496	<b>SYG</b>
				498-506	<b>RPTYGVGHQ</b>
832-846	<b>GFIKQYGDCLGDIAA</b>	834-846	<b>IKQYGDCLGDIAA</b>	834-841	<b>IKQYGDCL</b>
890-895	<b>AGAALQ</b>	890-898	<b>AGAALQIPF</b>	887-894	<b>TFGAGAAL</b>
1141-1162	<b>LQPELDSFKEELDKYFKNHTSP</b>	1139-1162	<b>DPLQLLELDSFKEELDKYFKDHTSP</b>	1142-1162	<b>QLLELDSFKEELDKYFKNHTSP</b>

RBD 領域を緑枠で示している。太字は XBB.1.5、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 で共通しているエピトープ領域、赤文字は

XBB.1.5 をプロトタイプとしたアミノ酸置換部位を表している。

表 6. SARS-CoV-2・S 蛋白の XBB.1.5 株、JN.1 株、JN.1.11.1 株、KP.3 株および XDV.1 株の共通エピトープモチーフ（続き）

XBB.1.5		KP.3		XDV.1	
アミノ酸 番号	予測エピトープモチーフ	アミノ酸 番号	予測エピトープモチーフ	アミノ酸 番号	予測エピトープモチーフ
41-45	<b>KVFRS</b>	40-45	<b>DKVFRS</b>	41-46	<b>KVFRSS</b>
146-150	<b>QKNNK</b>	146-151	<b>QKNNKS</b>	146-151	<b>HKNNKS</b>
279-285	<b>YNENGTI</b>	279-285	<b>YNENGTI</b>	280-284	<b>NENGTT</b>
434-455	IAWNSNKLDSPSGNYNYLYRL	435-457	AWNSNKLDSP <b>H</b> SGNY <b>DY</b> WYR <b>SLR</b>	434-437	IAWN
				439-449	<b>NKLDSPH</b> SGNY
472-494	IYQAGNKPCNGVAGPNCYSPLRS	474-482	QAGNKPC <b>KG</b>	472-482	IYQAGNKPC <b>KG</b>
		484-489	<b>KGP</b> NCY	484-490	<b>KGP</b> NCYF
		491-496	PLQSYG		
498-506	<b>RPTYGVGHQ</b>	498-506	<b>RPTYGVGHQ</b>	498-506	<b>RPTYGVGHQ</b>
832-846	GFIK <b>QY</b> GDCLGDIAA	836-841	<b>QY</b> GDCL	832-841	GFIK <b>QY</b> GDCL
890-895	<b>AGA</b> ALQ	890-895	<b>AGA</b> ALQ	886-896	WTFG <b>AGA</b> ALQI
1141-1162	LQPELDSFKEELDKYFKNHTSP	1142-1162	<b>Q</b> LELDSFKEELDKYFKNHTSP	1142-1162	<b>Q</b> LELDSFKEELDKYFKNHTSP

RBD 領域を緑枠で示している。太字は XBB.1.5、JN.1、JN.1.11.1、KP.3 および XDV.1 で共通しているエピトープ領域、赤文字は

XBB.1.5 をプロトタイプとしたアミノ酸置換部位を表している。

表 7. SARS-CoV-2・S 蛋白 Omicron 株の選択圧解析結果

	アミノ酸番号	アミノ酸置換部位と種類
正の選択圧	27	S27A, S27L
	213	G213E, G213K, G213V
	252	G252S, G252V
	346	R346T
	486	F486P, F486S, F486V
負の選択圧	16	V16
	20	T20
	28	Y28
	68	I68
	306	F306
	410	I410
	543	F543



## Ⅷ. 補足表

補足表 S1. 選択圧解析に使用した株

GISIDE EPI_ISL ID	株名	検出/分離 年月	発生国
EPI_ISL_10064162	hCoV-19/Denmark/DCGC-372514/2022	2022/2	Denmark
EPI_ISL_10083933	hCoV-19/Iran/Tehran-NIC-47/2022	2022/2	Iran
EPI_ISL_10255297	hCoV-19/Denmark/DCGC-383824/2022	2022/2	Denmark
EPI_ISL_10443414	hCoV-19/Turkey/HSGM-G2944/2022	2022/2	Turkey
EPI_ISL_10505290	hCoV-19/Poland/PZH-GUM-14135/2022	2022/2	Poland
EPI_ISL_10509756	hCoV-19/Denmark/DCGC-393286/2022	2022/2	Denmark
EPI_ISL_10590661	hCoV-19/Norway/Ahus-3297/2022	2022/2	Norway
EPI_ISL_10732885	hCoV-19/Denmark/DCGC-404143/2022	2022/2	Denmark
EPI_ISL_10807918	hCoV-19/Denmark/DCGC-406534/2022	2022/2	Denmark
EPI_ISL_10810087	hCoV-19/Denmark/DCGC-407845/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_10879903	hCoV-19/Nepal/NPHL-S-1196/2022	2022/2	Nepal
EPI_ISL_10918461	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-603262/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11001397	hCoV-19/India/AP-CCMB-CIC4698/2022	2022/2	India
EPI_ISL_11114759	hCoV-19/Denmark/DCGC-425905/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11262903	hCoV-19/Norway/10298/2022	2022/2	Norway
EPI_ISL_11346037	hCoV-19/Denmark/DCGC-441269/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11367442	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-376221/2022	2022/2	Canada
EPI_ISL_11442788	hCoV-19/Denmark/DCGC-445669/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11463534	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-620957/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11464270	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-621479/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11473032	hCoV-19/England/PHEC-YYDPGJM/2022	2022/3	England
EPI_ISL_11475484	hCoV-19/England/PHEC-YYDPYBB/2022	2022/3	England
EPI_ISL_11478916	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-635563/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11479028	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-635607/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11479363	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-635963/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11486245	hCoV-19/Germany/NW-RKI-I-642296/2022	2022/2	Germany
EPI_ISL_11638818	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-665837/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11643760	hCoV-19/Denmark/DCGC-455378/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11647278	hCoV-19/Germany/HH-RKI-I-668895/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11653940	hCoV-19/Denmark/DCGC-457674/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11655820	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-673288/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11720305	hCoV-19/Denmark/DCGC-457746/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11781271	hCoV-19/Denmark/DCGC-460952/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11781780	hCoV-19/Denmark/DCGC-461134/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11781927	hCoV-19/Denmark/DCGC-461207/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11783270	hCoV-19/Denmark/DCGC-461822/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11786096	hCoV-19/Denmark/DCGC-463351/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11810015	hCoV-19/England/PHEC-YYDAKE1/2022	2022/3	England
EPI_ISL_11874036	hCoV-19/Denmark/DCGC-469763/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_11915181	hCoV-19/Denmark/DCGC-474434/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_11933565	hCoV-19/USA/NY-PRL-2022_0401_00F12/2022	2022/3	USA
EPI_ISL_11933783	hCoV-19/USA/NY-PRL-2022_0401_01H13/2022	2022/3	USA
EPI_ISL_11934398	hCoV-19/USA/NY-PRL-2022_0406_02H11/2022	2022/4	USA
EPI_ISL_11957783	hCoV-19/England/PHEC-YYD6WGY/2022	2022/3	England
EPI_ISL_11962179	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-698374/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11964226	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-700378/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11964401	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-700555/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_11986713	hCoV-19/Denmark/DCGC-474572/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_11987420	hCoV-19/Denmark/DCGC-475156/2022	2022/4	Denmark

補足表 S1. 選択圧解析に使用した株 (続き)

GISIDE EPI_ISL ID	株名	検出/分離 年月	発生国
EPI_ISL_11990712	hCoV-19/Denmark/DCGC-476982/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_11996618	hCoV-19/England/PHEC-YYRY1OJ/2022	2022/3	England
EPI_ISL_12019244	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-708662/2022	2022/3	Germany
EPI_ISL_12027144	hCoV-19/Germany/BB-RKI-I-714516/2022	2022/4	Germany
EPI_ISL_12027173	hCoV-19/Germany/BB-RKI-I-714546/2022	2022/4	Germany
EPI_ISL_12077119	hCoV-19/England/PHEC-YYRDH79/2022	2022/3	England
EPI_ISL_12077896	hCoV-19/England/PHEC-YYREDG7/2022	2022/3	England
EPI_ISL_12099859	hCoV-19/USA/NY-PRL-2022_0411_00G23/2022	2022/4	USA
EPI_ISL_12103617	hCoV-19/England/PHEC-YYREZ6A/2022	2022/4	England
EPI_ISL_12154546	hCoV-19/Netherlands/NB-MVD-CWGS2201637/2022	2022/3	Netherlands
EPI_ISL_12158424	hCoV-19/Denmark/DCGC-480846/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_12162966	hCoV-19/Denmark/DCGC-483843/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_12189231	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-720744/2022	2022/4	Germany
EPI_ISL_12204511	hCoV-19/England/PHEC-YYRONRT/2022	2022/4	England
EPI_ISL_12219713	hCoV-19/Belgium/ULG-25858/2022	2022/4	Belgium
EPI_ISL_12248531	hCoV-19/Denmark/DCGC-493081/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_12258152	hCoV-19/USA/NY-PRL-2022_0418_01E23/2022	2022/4	USA
EPI_ISL_12259830	hCoV-19/England/PHEC-YYRIKTR/2022	2022/4	England
EPI_ISL_12162966	hCoV-19/Denmark/DCGC-483843/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_12189231	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-720744/2022	2022/4	Germany
EPI_ISL_12204511	hCoV-19/England/PHEC-YYRONRT/2022	2022/4	England
EPI_ISL_12219713	hCoV-19/Belgium/ULG-25858/2022	2022/4	Belgium
EPI_ISL_12248531	hCoV-19/Denmark/DCGC-493081/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_12291935	hCoV-19/Denmark/DCGC-495883/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_12293668	hCoV-19/Netherlands/NB-MVD-CWGS2201895/2022	2022/4	Netherlands
EPI_ISL_12308137	hCoV-19/Australia/QLD0x00E23D/2022	2022/4	Australia
EPI_ISL_12329858	hCoV-19/USA/NY-NYULH6562/2022	2022/4	USA
EPI_ISL_12343745	hCoV-19/Germany/NW-RKI-I-738012/2022	2022/4	Germany
EPI_ISL_12345376	hCoV-19/Denmark/DCGC-499365/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_12352996	hCoV-19/Norway/15442/2022	2022/3	Norway
EPI_ISL_12357232	hCoV-19/Germany/HH-RKI-I-746961/2022	2022/4	Germany
EPI_ISL_12383074	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-403368/2022	2022/3	Canada
EPI_ISL_12384419	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-407336/2022	2022/4	Canada
EPI_ISL_12435628	hCoV-19/Denmark/DCGC-503388/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_12444262	hCoV-19/England/PHEC-YYR5HDD/2022	2022/4	England
EPI_ISL_12444349	hCoV-19/England/PHEC-YYR5IZB/2022	2022/4	England
EPI_ISL_12445142	hCoV-19/England/PHEC-YYRH5KW/2022	2022/4	England
EPI_ISL_12445174	hCoV-19/England/PHEC-YYRH5XK/2022	2022/4	England
EPI_ISL_12445899	hCoV-19/Luxembourg/LNS7202528/2022	2022/3	Luxembourg
EPI_ISL_12446204	hCoV-19/Luxembourg/LNS3589994/2022	2022/3	Luxembourg
EPI_ISL_12446418	hCoV-19/Luxembourg/LNS9609389/2022	2022/4	Luxembourg
EPI_ISL_12446763	hCoV-19/Luxembourg/LNS3433050/2022	2022/3	Luxembourg
EPI_ISL_12450413	hCoV-19/USA/NY-PRL_0420_01D09/2022	2022/4	USA
EPI_ISL_12451397	hCoV-19/Luxembourg/LNS3966848/2022	2022/4	Luxembourg
EPI_ISL_12452528	hCoV-19/Luxembourg/LNS9066813/2022	2022/4	Luxembourg
EPI_ISL_12452569	hCoV-19/Luxembourg/LNS9079749/2022	2022/3	Luxembourg
EPI_ISL_12535062	hCoV-19/Belgium/ULG-26094/2022	2022/4	Belgium
EPI_ISL_12558962	hCoV-19/Denmark/DCGC-508174/2022	2022/4	Denmark
EPI_ISL_12567498	hCoV-19/USA/NY-MSHSPSP-PV57884/2022	2022/4	USA
EPI_ISL_12579203	hCoV-19/Denmark/DCGC-508510/2022	2022/3	Denmark
EPI_ISL_12580013	hCoV-19/France/BFC-541JJ8721161387/2022	2022/4	France
EPI_ISL_12590065	hCoV-19/USA/NY-PRL-0427_01G17/2022	2022/4	USA
EPI_ISL_12590213	hCoV-19/USA/NY-PRL-0429_00D16/2022	2022/4	USA
EPI_ISL_12664609	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-425127/2022	2022/4	Canada

補足表 S1. 選択圧解析に使用した株 (続き)

GISIDE EPI_ISL ID	株名	検出/分離 年月	発生国
EPI_ISL_12673270	hCoV-19/Germany/NW-RKI-I-783165/2022	2022/5	Germany
EPI_ISL_12675591	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-786063/2022	2022/5	Germany
EPI_ISL_12689767	hCoV-19/Germany/NW-HHU-25852/2022	2022/4	Germany
EPI_ISL_12728827	hCoV-19/Nepal/NPHL-S-1518/2022	2022/4	Nepal
EPI_ISL_12730677	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-792163/2022	2022/5	Germany
EPI_ISL_12730715	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-792202/2022	2022/5	Germany
EPI_ISL_12790038	hCoV-19/Switzerland/VD-CHUV-GEN11658/2022	2022/5	Switzerland
EPI_ISL_12820655	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-809385/2022	2022/5	Germany
EPI_ISL_12828249	hCoV-19/Germany/ST-RKI-I-818411/2022	2022/5	Germany
EPI_ISL_12859770	hCoV-19/USA/NY-PRL-220511_03I16/2022	2022/5	USA
EPI_ISL_12882720	hCoV-19/Israel/SMC-7066354/2022	2022/4	Israel
EPI_ISL_12885129	hCoV-19/USA/NJ-CDC-LC0622395/2022	2022/5	USA
EPI_ISL_12918099	hCoV-19/England/PHEC-YYFJ9UD/2022	2022/5	England
EPI_ISL_12918411	hCoV-19/England/PHEC-YYFKNZS/2022	2022/5	England
EPI_ISL_12918786	hCoV-19/Spain/MD-HULP-061106914/2022	2022/4	Spain
EPI_ISL_12928247	hCoV-19/USA/CA-CDC-LC0641461/2022	2022/5	USA
EPI_ISL_12932463	hCoV-19/Australia/QLD0x00EB02/2022	2022/4	Australia
EPI_ISL_12967592	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-431641/2022	2022/5	Canada
EPI_ISL_12999795	hCoV-19/England/PHEC-YYFK5WD/2022	2022/5	England
EPI_ISL_13004107	hCoV-19/Germany/MV-RKI-I-825860/2022	2022/5	Germany
EPI_ISL_13031069	hCoV-19/Luxembourg/LNS7319136/2022	2022/5	Luxembourg
EPI_ISL_13032120	hCoV-19/Luxembourg/LNS7791068/2022	2022/5	Luxembourg
EPI_ISL_13041580	hCoV-19/USA/NY-PRL-220519_01I21/2022	2022/5	USA
EPI_ISL_13051136	hCoV-19/Germany/NW-HHU-27468/2022	2022/5	Germany
EPI_ISL_13078510	hCoV-19/USA/CA-CDC-LC0658829/2022	2022/5	USA
EPI_ISL_13090471	hCoV-19/Denmark/DCGC-524348/2022	2022/5	Denmark
EPI_ISL_13102753	hCoV-19/USA/WA-CDC-UW22051648931/2022	2022/5	USA
EPI_ISL_13131257	hCoV-19/Suriname/SR-1020/2022	2022/4	Suriname
EPI_ISL_13131275	hCoV-19/Suriname/SR-1038/2022	2022/5	Suriname
EPI_ISL_13220551	hCoV-19/USA/NJ-CDC-LC0675472/2022	2022/5	USA
EPI_ISL_13241265	hCoV-19/Germany/NW-RKI-I-848419/2022	2022/5	Germany
EPI_ISL_13276991	hCoV-19/Australia/NSW-SAVID-12512/2022	2022/6	Australia
EPI_ISL_13292306	hCoV-19/Luxembourg/LNS3096533/2022	2022/5	Luxembourg
EPI_ISL_13299679	hCoV-19/Denmark/DCGC-528415/2022	2022/6	Denmark
EPI_ISL_13318113	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-436353/2022	2022/5	Canada
EPI_ISL_13320105	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-441278/2022	2022/5	Canada
EPI_ISL_13320613	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-442087/2022	2022/5	Canada
EPI_ISL_13351188	hCoV-19/USA/WA-S20551/2022	2022/5	USA
EPI_ISL_13361947	hCoV-19/England/PHEC-YYFXJ57/2022	2022/6	England
EPI_ISL_13364365	hCoV-19/USA/NY-PRL-220527_02E08/2022	2022/5	USA
EPI_ISL_13371612	hCoV-19/Mexico/CMX-INMEGEN-75-169/2022	2022/6	Mexico
EPI_ISL_13381354	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-867571/2022	2022/6	Germany
EPI_ISL_13389040	hCoV-19/South_Korea/KDCA77170/2022	2022/6	South Korea
EPI_ISL_13389821	hCoV-19/Belgium/reg-42827/2022	2022/6	Belgium
EPI_ISL_13409465	hCoV-19/India/MH-INSACOG-CSIR-NEERI1939/2022	2022/6	India
EPI_ISL_13412582	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-450848/2022	2022/5	Canada
EPI_ISL_13446292	hCoV-19/Ireland/KE-NVRL-S22IRL00314651/2022	2022/5	Ireland
EPI_ISL_13465574	hCoV-19/USA/WA-CDC-UW22060702415/2022	2022/6	USA
EPI_ISL_13502536	hCoV-19/India/MH-GMCA-ICMR-INSACOG-C625778/2022	2022/6	India
EPI_ISL_13521516	hCoV-19/India/HP-INSACOG-NII-903/2022	2022/6	India
EPI_ISL_13525024	hCoV-19/France/BRE-IPP40172/2022	2022/6	France
EPI_ISL_13640176	hCoV-19/India/MH-INSACOG-CSIR-NEERI2202/2022	2022/6	India
EPI_ISL_13640192	hCoV-19/India/MH-INSACOG-CSIR-NEERI2144/2022	2022/6	India

補足表 S1. 選択圧解析に使用した株 (続き)

GISIDE EPI_ISL ID	株名	検出/分離 年月	発生国
EPI_ISL_13716760	hCoV-19/Spain/MD-HGUGM-6663615/2022	2022/6	Spain
EPI_ISL_13719312	hCoV-19/India/MH-GMCA-ICMR-INSACOG-C626384/2022	2022/6	India
EPI_ISL_13725251	hCoV-19/Canada/AB-ABPHL-71222/2022	2022/6	Canada
EPI_ISL_13760415	hCoV-19/Netherlands/NH-RIVM-104280/2022	2022/6	Netherlands
EPI_ISL_13760601	hCoV-19/Netherlands/ZH-RIVM-104389/2022	2022/6	Netherlands
EPI_ISL_13838327	hCoV-19/Reunion/ChuReu-722061809201/2022	2022/6	Reunion
EPI_ISL_13846149	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-104421/2022	2022/6	USA
EPI_ISL_13846363	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-105000/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_13864544	hCoV-19/Japan/OPHO-Hb70-336/2022	2022/7	Japan
EPI_ISL_13891466	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-105195/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_13891522	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-105124/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_13891604	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-105270/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_13891605	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-105269/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_13891751	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-105699/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_13891817	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-105873/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_13929459	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-897932/2022	2022/6	Germany
EPI_ISL_13993924	hCoV-19/France/IDF-IPP44329/2022	2022/7	France
EPI_ISL_13999079	hCoV-19/Canada/AB-ABPHL-72205/2022	2022/6	Canada
EPI_ISL_14055817	hCoV-19/USA/DE-CDC-LC0775397/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_14082616	hCoV-19/USA/UT-UPHL-220722153795/2022	2022/6	USA
EPI_ISL_14099264	hCoV-19/India/MH-INSACOG-CSIR-NEERI2288/2022	2022/6	India
EPI_ISL_14099300	hCoV-19/India/MH-INSACOG-CSIR-NEERI2264/2022	2022/6	India
EPI_ISL_14147783	hCoV-19/Luxembourg/LNS5107694/2022	2022/6	Luxembourg
EPI_ISL_14153192	hCoV-19/Australia/TAS002952/2022	2022/7	Australia
EPI_ISL_14179180	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-107502/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_14179568	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-108085/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_14180480	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-108483/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_14192682	hCoV-19/Singapore/8989/2022	2022/7	Singapore
EPI_ISL_14264255	hCoV-19/USA/NJ-CDC-LC0790337/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_14285457	hCoV-19/Australia/NSW-ICPMR-30808/2022	2022/7	Australia
EPI_ISL_14285531	hCoV-19/Australia/NSW-ICPMR-30882/2022	2022/7	Australia
EPI_ISL_14307695	hCoV-19/France/HDF-IPP47298/2022	2022/7	France
EPI_ISL_14333750	hCoV-19/USA/GA-GPHL-2431/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_14358961	hCoV-19/Singapore/9439/2022	2022/7	Singapore
EPI_ISL_14368284	hCoV-19/Malaysia/IMR_CV04628/2022	2022/6	Malaysia
EPI_ISL_14371478	hCoV-19/India/OR-RMRC_B-ICMR-INSACOG-BBS425821/2022	2022/7	India
EPI_ISL_14394127	hCoV-19/USA/NY-NYGC-3056-VTM1-FMXS262/2022	2022/6	USA
EPI_ISL_14394128	hCoV-19/USA/NY-NYGC-3151-VTM1-GVKD381/2022	2022/6	USA
EPI_ISL_14394131	hCoV-19/USA/NY-NYGC-3347-VTM1-LWPU517/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_14407847	hCoV-19/Germany/BB-RKI-I-931881/2022	2022/7	Germany
EPI_ISL_14410179	hCoV-19/India/PB-VRDLGMCPTA-ICMR-INSACOG-GS0000255/2022	2022/7	India
EPI_ISL_14421716	hCoV-19/India/PB-VRDLGMCPTA-ICMR-INSACOG-GS000096/2022	2022/6	India
EPI_ISL_14434569	hCoV-19/Australia/NSW-ICPMR-31213/2022	2022/7	Australia
EPI_ISL_14434738	hCoV-19/Australia/NSW-ICPMR-31382/2022	2022/7	Australia
EPI_ISL_14439416	hCoV-19/France/IDF-IPP48005/2022	2022/8	France
EPI_ISL_14492166	hCoV-19/Austria/LB-R00094-S298/2022	2022/8	Austria
EPI_ISL_14492177	hCoV-19/Austria/LB-R00094-S309/2022	2022/8	Austria
EPI_ISL_14511801	hCoV-19/Austria/AGES-165279/2022	2022/6	Austria
EPI_ISL_14514769	hCoV-19/Austria/AGES-167276/2022	2022/5	Austria
EPI_ISL_14536246	hCoV-19/Australia/NSW-ICPMR-31555/2022	2022/8	Australia

補足表 S1. 選択圧解析に使用した株 (続き)

GISIDE EPI_ISL ID	株名	検出/分離 年月	発生国
EPI_ISL_14537467	hCoV-19/South_Korea/KDCA99870/2022	2022/8	South Korea
EPI_ISL_14567170	hCoV-19/USA/LA-K-22072127909/2022	2022/8	USA
EPI_ISL_14569468	hCoV-19/Nepal/NPHL-S-1732/2022	2022/7	Nepal
EPI_ISL_14577580	hCoV-19/Australia/SA431046/2022	2022/7	Australia
EPI_ISL_14615947	hCoV-19/Australia/QLD0x010CAE/2022	2022/7	Australia
EPI_ISL_14625141	hCoV-19/Belgium/reg-a-44390/2022	2022/6	Belgium
EPI_ISL_14671617	hCoV-19/Belgium/reg-a-40891/2022	2022/3	Belgium
EPI_ISL_14754995	hCoV-19/Indonesia/JK-CW62-2255/2022	2022/7	Indonesia
EPI_ISL_14760799	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-480800/2022	2022/7	Canada
EPI_ISL_14762417	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-468581/2022	2022/6	Canada
EPI_ISL_14763062	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-480586/2022	2022/7	Canada
EPI_ISL_14780391	hCoV-19/Cambodia/g0814076/2022	2022/8	Cambodia
EPI_ISL_14789215	hCoV-19/Australia/NSW-ICPMR-32743/2022	2022/8	Australia
EPI_ISL_14807694	hCoV-19/Nepal/NPHL-S-1773/2022	2022/8	Nepal
EPI_ISL_14807722	hCoV-19/Nepal/NPHL-S-1801/2022	2022/8	Nepal
EPI_ISL_14814408	hCoV-19/India/OR-RMRC_B-ICMR-INSACOG-BBS428386/2022	2022/8	India
EPI_ISL_14818978	hCoV-19/India/BR-744510345/2022	2022/6	India
EPI_ISL_14819000	hCoV-19/India/DL-751554555/2022	2022/7	India
EPI_ISL_14841698	hCoV-19/India/JK-760331264/2022	2022/7	India
EPI_ISL_14864479	hCoV-19/USA/VA-VTVAS3-GSC37409/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_14892395	hCoV-19/Norway/30255/2022	2022/8	Norway
EPI_ISL_14907628	hCoV-19/Canada/AB-ABPHL-77371/2022	2022/8	Canada
EPI_ISL_14910651	hCoV-19/Belgium/ULG-28384/2022	2022/9	Belgium
EPI_ISL_14910762	hCoV-19/Belgium/UGent-5046/2022	2022/7	Belgium
EPI_ISL_14912865	hCoV-19/Australia/NSW-ICPMR-32824/2022	2022/8	Australia
EPI_ISL_14912942	hCoV-19/Australia/NSW-ICPMR-32901/2022	2022/8	Australia
EPI_ISL_14913110	hCoV-19/Australia/NSW-ICPMR-33070/2022	2022/8	Australia
EPI_ISL_14913123	hCoV-19/Australia/NSW-ICPMR-33083/2022	2022/8	Australia
EPI_ISL_14920450	hCoV-19/Portugal/PT41576/2022	2022/8	Portugal
EPI_ISL_14923225	hCoV-19/India/MH-GMCA-ICMR-INSACOG-C634614/2022	2022/8	India
EPI_ISL_14977541	hCoV-19/Spain/RI-CIBIR-306477240-Run45/2022	2022/8	Spain
EPI_ISL_14993421	hCoV-19/Australia/NSW-ICPMR-33370/2022	2022/9	Australia
EPI_ISL_15030605	hCoV-19/Spain/VC-CVA_ALIC-113158/2022	2022/8	Spain
EPI_ISL_15049529	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-499982/2022	2022/7	Canada
EPI_ISL_15051965	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-506317/2022	2022/8	Canada
EPI_ISL_15074141	hCoV-19/India/GA-ICMR-12386/2022	2022/7	India
EPI_ISL_15089466	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-115454/2022	2022/9	USA
EPI_ISL_15112714	hCoV-19/Netherlands/NH-RIVM-111789/2022	2022/8	Netherlands
EPI_ISL_15173078	hCoV-19/Israel/SMC-7102889/2022	2022/9	Israel
EPI_ISL_15176252	hCoV-19/Israel/ICH-741187874/2022	2022/9	Israel
EPI_ISL_15184228	hCoV-19/Canada/BC-BCCDC-514634/2022	2022/8	Canada
EPI_ISL_15241967	hCoV-19/USA/NY-CDC-LC0892522/2022	2022/9	USA
EPI_ISL_15288183	hCoV-19/Belgium/ULG-28685/2022	2022/9	Belgium
EPI_ISL_15295494	hCoV-19/Iran/NIC-22sh-35/2022	2022/8	Iran
EPI_ISL_15348557	hCoV-19/Belgium/CHUNamur14323264/2022	2022/9	Belgium
EPI_ISL_15369086	hCoV-19/France/ARA-CHUGA-2101278797/2022	2022/10	France
EPI_ISL_15389248	hCoV-19/France/BRE-IPP52309/2022	2022/9	France
EPI_ISL_15393677	hCoV-19/USA/SC-REDDI-E8DF3C797QR/2022	2022/8	USA
EPI_ISL_15481083	hCoV-19/Portugal/PT43366/2022	2022/10	Portugal
EPI_ISL_15489212	hCoV-19/Romania/IS-24799/2022	2022/8	Romania

補足表 S1. 選択圧解析に使用した株 (続き)

GISIDE EPI_ISL ID	株名	検出/分離 年月	発生国
EPI_ISL_15497143	hCoV-19/Spain/VC-FISABIO-105862/2022	2022/3	Spain
EPI_ISL_15506275	hCoV-19/USA/NY-Wadsworth-22042656-01/2022	2022/8	USA
EPI_ISL_15514731	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-117380/2022	2022/10	USA
EPI_ISL_15526358	hCoV-19/Spain/VC-FISABIO-114116/2022	2022/9	Spain
EPI_ISL_15543458	hCoV-19/France/IDF-cerba-22V0060969/2022	2022/8	France
EPI_ISL_15636908	hCoV-19/Switzerland/VD-CHUV-GEN13743/2022	2022/10	Switzerland
EPI_ISL_15643815	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-1016570/2022	2022/10	Germany
EPI_ISL_15670916	hCoV-19/Austria/LB-R001009-S060/2022	2022/11	Austria
EPI_ISL_15691865	hCoV-19/USA/NM-UNM-TRL_0722_752/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_15824858	hCoV-19/USA/NY-MSHSPSP-PV70540/2022	2022/7	USA
EPI_ISL_15846009	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-117553/2022	2022/10	USA
EPI_ISL_15851042	hCoV-19/USA/CA-LACPHL-AF15982/2022	2022/6	USA
EPI_ISL_15851795	hCoV-19/USA/NY-NYULH9379/2022	2022/11	USA
EPI_ISL_15860718	hCoV-19/Russia/MOW-PMVL-DZ-44593284450/2022	2022/7	Russia
EPI_ISL_15865653	hCoV-19/Russia/MOW-PMVL-DZ-23871935241/2022	2022/7	Russia
EPI_ISL_15980028	hCoV-19/South_Korea/KDCA164433/2022	2022/11	South Korea
EPI_ISL_15984579	hCoV-19/Sweden/03_SE600_000200495055N2/2022	2022/11	Sweden
EPI_ISL_15990860	hCoV-19/Germany/BW-RKI-I-1040165/2022	2022/11	Germany
EPI_ISL_16000864	hCoV-19/Cambodia/939647/2022	2022/9	Cambodia
EPI_ISL_16000879	hCoV-19/Cambodia/g1028068/2022	2022/10	Cambodia
EPI_ISL_16012750	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-118732/2022	2022/11	USA
EPI_ISL_16076918	hCoV-19/Qatar/QA.QU_18.59.A2/2022	2022/8	Qatar
EPI_ISL_16076979	hCoV-19/Qatar/QA.QU_18.59.F7/2022	2022/8	Qatar
EPI_ISL_16197030	hCoV-19/Spain/AN-CBA-21886/2022	2022/3	Spain
EPI_ISL_16211937	hCoV-19/Spain/AN-CBA-24089/2022	2022/4	Spain
EPI_ISL_16232755	hCoV-19/Spain/AN-CBA-24286/2022	2022/5	Spain
EPI_ISL_16240481	hCoV-19/Spain/AN-CBA-26135/2022	2022/6	Spain
EPI_ISL_16275317	hCoV-19/Russia/SPE-RII-MH102409S/2022	2022/10	Russia
EPI_ISL_16327373	hCoV-19/Shanghai/SJTU-234191/2022	2022/11	Shanghai
EPI_ISL_16357008	hCoV-19/Denmark/DCGC-631622/2022	2022/12	Denmark
EPI_ISL_16384943	hCoV-19/USA/NC-ECU-116463504/2022	2022/12	USA
EPI_ISL_16433600	hCoV-19/Spain/GA-CHUVI-19548828/2022	2022/12	Spain
EPI_ISL_16438495	hCoV-19/Spain/AN-CBA-26513/2022	2022/6	Spain
EPI_ISL_16438625	hCoV-19/Spain/AN-CBA-26654/2022	2022/6	Spain
EPI_ISL_16444974	hCoV-19/Spain/AN-CBA-28533/2022	2022/8	Spain
EPI_ISL_16453927	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-121490/2022	2022/12	USA
EPI_ISL_16454140	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-121578/2022	2022/12	USA
EPI_ISL_16477770	hCoV-19/India/MH-ICMR-NIV-G-12896/2022	2022/12	India
EPI_ISL_16507786	hCoV-19/USA/NY-Wadsworth-22058036-01/2022	2022/11	USA
EPI_ISL_16516468	hCoV-19/USA/IL-C22WGS9055/2022	2022/12	USA
EPI_ISL_16539529	hCoV-19/Brazil/MG-FUNED-311357433/2022	2022/12	Brazil
EPI_ISL_16542200	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-122253/2023	2023/1	USA
EPI_ISL_16549437	hCoV-19/Sweden/03_SE600_000200511858N2/2022	2022/12	Sweden
EPI_ISL_16553216	hCoV-19/Austria/AGES-1118470/2022	2022/9	Austria
EPI_ISL_16553652	hCoV-19/Austria/AGES-198991/2022	2022/7	Austria
EPI_ISL_16557780	hCoV-19/Austria/AGES-1113238/2022	2022/8	Austria
EPI_ISL_16567577	hCoV-19/Austria/AGES-1151437/2022	2022/11	Austria
EPI_ISL_16598841	hCoV-19/India/MH-ICMR-NIV-INSACOG-NIV23193/2023	2023/1	India
EPI_ISL_16611642	hCoV-19/Australia/VIC80220/2023	2023/1	Australia
EPI_ISL_16731760	hCoV-19/USA/NJ-PHEL-V23002105/2023	2023/1	USA

補足表 S1. 選択圧解析に使用した株 (続き)

GISIDE EPI_ISL ID	株名	検出/分離 年月	発生国
EPI_ISL_16761959	hCoV-19/USA/TX-HMH-MCoV-124195/2023	2023/1	USA
EPI_ISL_16813899	hCoV-19/Sweden/M536953/2023	2023/1	Sweden
EPI_ISL_16840640	hCoV-19/USA/WA-CDC-UW22111455943/2022	2022/11	USA
EPI_ISL_16896835	hCoV-19/Brazil/SC-UFSC_LABIONFO-007/2022	2022/6	Brazil
EPI_ISL_16920015	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-124605/2023	2023/1	USA
EPI_ISL_16931875	hCoV-19/USA/NY-NYULH10429/2023	2023/2	USA
EPI_ISL_16931894	hCoV-19/USA/NY-NYULH10444/2023	2023/2	USA
EPI_ISL_16998614	hCoV-19/USA/NY-NYULH10508/2023	2023/2	USA
EPI_ISL_16998652	hCoV-19/USA/NY-NYULH10546/2023	2023/2	USA
EPI_ISL_17013171	hCoV-19/USA/IL-2212023236/2023	2023/2	USA
EPI_ISL_17093109	hCoV-19/Austria/LB-R00127-S234/2023	2023/3	Austria
EPI_ISL_17157003	hCoV-19/USA/WI-UW-14927/2023	2023/2	USA
EPI_ISL_17159469	hCoV-19/USA/WI-UW-11215/2022	2022/5	USA
EPI_ISL_17159639	hCoV-19/USA/WI-SMPH-0000275/2022	2022/5	USA
EPI_ISL_17180632	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-126363/2023	2023/2	USA
EPI_ISL_17181162	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-126585/2023	2023/3	USA
EPI_ISL_17200008	hCoV-19/Spain/AN-PMC-30948/2022	2022/11	Spain
EPI_ISL_17236295	hCoV-19/India/MH-ICMR-NIV-G-13132/2023	2023/2	India
EPI_ISL_17244707	hCoV-19/India/MH-ICMR-NIV-1301/2023	2023/3	India
EPI_ISL_17244710	hCoV-19/India/MH-ICMR-NIV-1342/2023	2023/3	India
EPI_ISL_17268799	hCoV-19/Sweden/03_SE600_000200518238N2/2023	2023/1	Sweden
EPI_ISL_17329534	hCoV-19/Germany/ST-RKI-I-799530/2022	2022/4	Germany
EPI_ISL_17415233	hCoV-19/South_Korea/KDCA225834/2023	2023/3	South Korea
EPI_ISL_17427616	hCoV-19/Egypt/CPHL-22905/2022	2022/7	Egypt
EPI_ISL_17427621	hCoV-19/Egypt/CPHL-23298/2022	2022/7	Egypt
EPI_ISL_17433777	hCoV-19/Mauritius/11382/2023	2023/3	Mauritius
EPI_ISL_17446117	hCoV-19/India/MH-ICMR-NIV-G-13571/2023	2023/3	India
EPI_ISL_17481213	hCoV-19/Malaysia/IIUM22405/2022	2022/11	Malaysia
EPI_ISL_17500724	hCoV-19/India/MH-ICMR-NIV-G-13703/2023	2023/3	India
EPI_ISL_17500732	hCoV-19/India/MH-ICMR-NIV-G-13601/2023	2023/3	India
EPI_ISL_17508156	hCoV-19/India/HR-767002982939/2023	2023/3	India
EPI_ISL_17508178	hCoV-19/India/HR-606203519472/2023	2023/3	India
EPI_ISL_17508231	hCoV-19/India/HR-607000647579/2023	2023/1	India
EPI_ISL_17508232	hCoV-19/India/HR-607000647591/2023	2023/1	India
EPI_ISL_17510413	hCoV-19/Canada/MB-CPL-615176/2023	2023/3	Canada
EPI_ISL_17526364	hCoV-19/India/MH-HIGS-KH-10/2023	2023/3	India
EPI_ISL_17527125	hCoV-19/Sweden/03_SE600_500000091483SP/2022	2022/12	Sweden
EPI_ISL_17583127	hCoV-19/Canada/MB-CPL-619107/2023	2023/4	Canada
EPI_ISL_17595143	hCoV-19/Brazil/SP-IB_PSP05262/2022	2022/5	Brazil
EPI_ISL_17601662	hCoV-19/USA/WA-S23015/2022	2022/10	USA
EPI_ISL_17764164	hCoV-19/India/HR-801353233/2023	2023/3	India
EPI_ISL_17764178	hCoV-19/India/HR-801669345/2023	2023/4	India
EPI_ISL_17764179	hCoV-19/India/HR-801669887/2023	2023/4	India
EPI_ISL_17764214	hCoV-19/India/HR-801672199/2023	2023/3	India
EPI_ISL_17781218	hCoV-19/Sweden/C-03_SE600_500000160667SP/2022	2022/12	Sweden
EPI_ISL_17789377	hCoV-19/USA/CA-NSYMMPHL-NSYM7423/2023	2023/5	USA
EPI_ISL_17808973	hCoV-19/England/PHEC-YYE4ZNE/2023	2023/6	England
EPI_ISL_17821385	hCoV-19/USA/SC-REDDI-C483974A2EE/2023	2023/1	USA
EPI_ISL_17821392	hCoV-19/USA/SC-REDDI-E1971F7C1GE/2023	2023/1	USA
EPI_ISL_17821418	hCoV-19/USA/SC-REDDI-D8B54850BHW/2023	2023/1	USA
EPI_ISL_17828146	hCoV-19/Australia/VIC-VIDRL-00003035/2022	2022/11	Australia

補足表 S1. 選択圧解析に使用した株 (続き)

GISIDE EPI_ISL ID	株名	検出/分離 年月	発生国
EPI_ISL_17833328	hCoV-19/India/KA-JNC_420/2023	2023/4	India
EPI_ISL_17833329	hCoV-19/India/KA-JNC_421/2023	2023/4	India
EPI_ISL_17853354	hCoV-19/USA/GA-IVY-G43Q59J7/2023	2023/4	USA
EPI_ISL_18031202	hCoV-19/South_Korea/KDCA251165/2023	2023/6	South Korea
EPI_ISL_18037778	hCoV-19/USA/NJ-PHEL-V23012407/2023	2023/7	USA
EPI_ISL_18038438	hCoV-19/Dominican_Republic/BWHDR003264-LNSPDD/2023	2023/5	Dominican Republic
EPI_ISL_18056755	hCoV-19/England/CLIMB-CM7YEO1O/2023	2023/7	England
EPI_ISL_18063901	hCoV-19/England/CLIMB-CM7YRMH4/2022	2022/4	England
EPI_ISL_18063935	hCoV-19/England/CLIMB-CM7YGMYG/2022	2022/4	England
EPI_ISL_18064306	hCoV-19/England/CLIMB-CM7YFKZU/2022	2022/4	England
EPI_ISL_18076986	hCoV-19/USA/TX-UHS-UTHSA8061-P0/2023	2023/7	USA
EPI_ISL_18099006	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-130534/2023	2023/7	USA
EPI_ISL_18099226	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-130566/2023	2023/7	USA
EPI_ISL_18187699	hCoV-19/USA/WA-S23691/2023	2023/6	USA
EPI_ISL_18207255	hCoV-19/USA/OR-UW-S23674/2023	2023/6	USA
EPI_ISL_18210555	hCoV-19/Denmark/DCGC-658984/2023	2023/8	Denmark
EPI_ISL_18235284	hCoV-19/Mauritius/42251/2023	2023/7	Mauritius
EPI_ISL_18237999	hCoV-19/Sweden/C-03_SE600_000200612694N2/2023	2023/8	Sweden
EPI_ISL_18263940	hCoV-19/Denmark/DCGC-659196/2023	2023/9	Denmark
EPI_ISL_18268886	hCoV-19/Romania/NIID_3489/2023	2023/9	Romania
EPI_ISL_18291343	hCoV-19/Canada/SK-RRPL-645520/2023	2023/8	Canada
EPI_ISL_18294618	hCoV-19/Denmark/DCGC-659527/2023	2023/9	Denmark
EPI_ISL_18300830	hCoV-19/Romania/IS-3738/2023	2023/9	Romania
EPI_ISL_18304275	hCoV-19/USA/OR-S23844/2023	2023/6	USA
EPI_ISL_18642144	hCoV-19/Portugal/PT50291/2023	2023/11	Portugal
EPI_ISL_18652928	hCoV-19/France/IDF-IPP30286/2023	2023/12	France
EPI_ISL_18794902	hCoV-19/Ireland/D-SVUH-FAX82013-091/2024	2024/1	Ireland
EPI_ISL_18797884	hCoV-19/Hubei/HCDC-WH3628/2023	2023/12	Hubei
EPI_ISL_18801399	hCoV-19/Netherlands/NH-RIVM-136484/2023	2023/11	Netherlands
EPI_ISL_18810295	hCoV-19/Germany/BY-LGL-6109838/2023	2023/12	Germany
EPI_ISL_18821642	hCoV-19/Malaysia/UNIMAS-B20003/2023	2023/12	Malaysia
EPI_ISL_18853604	hCoV-19/Hubei/HCDC-WH3681/2024	2024/1	Hubei
EPI_ISL_18874615	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-138066/2024	2024/1	USA
EPI_ISL_18874676	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-138101/2024	2024/1	USA
EPI_ISL_18874751	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-138010/2024	2024/1	USA
EPI_ISL_18874842	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-138234/2024	2024/1	USA
EPI_ISL_18878283	hCoV-19/India/KA-INSACOG_JNC_448/2023	2023/12	India
EPI_ISL_18878285	hCoV-19/India/KA-INSACOG_JNC_450/2023	2023/12	India
EPI_ISL_18878297	hCoV-19/India/KA-INSACOG_JNC_462/2023	2023/12	India
EPI_ISL_18916147	hCoV-19/Hubei/HCDC-WH3715/2024	2024/1	Hubei
EPI_ISL_18928196	hCoV-19/USA/RI_SHL2400669/2024	2024/1	USA
EPI_ISL_18928260	hCoV-19/USA/IA-SHL-2398656/2024	2024/1	USA
EPI_ISL_18941290	hCoV-19/Hubei/HCDC-JZ3867/2024	2024/2	Hubei
EPI_ISL_18945025	hCoV-19/France/BRE-IPP03488/2024	2024/2	France
EPI_ISL_18950838	hCoV-19/Peru/LIM-INS-48605/2024	2024/1	Peru
EPI_ISL_18956140	hCoV-19/Poland/Kce-331/2024	2024/2	Poland
EPI_ISL_18957954	hCoV-19/USA/CA-LACPHL-AY05543/2024	2024/2	USA
EPI_ISL_18958081	hCoV-19/Peru/SAM-INS-48808/2024	2024/1	Peru
EPI_ISL_18958103	hCoV-19/Peru/PIU-INS-48802/2024	2024/1	Peru
EPI_ISL_18961208	hCoV-19/Hubei/HCDC-HS3970/2024	2024/2	Hubei



補足表 S1. 選択圧解析に使用した株 (続き)

GISIDE EPI_ISL ID	株名	検出/分離 年月	発生国
EPI_ISL_18961214	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM3922/2024	2024/2	Hubei
EPI_ISL_18982890	hCoV-19/Hubei/HCDC-EZ3971/2024	2024/2	Hubei
EPI_ISL_18983034	hCoV-19/Shanxi/SXJCCDC-JCCX0028/2024	2024/2	Shanxi
EPI_ISL_18997971	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM4152/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_18997995	hCoV-19/Hubei/HCDC-JZ4121/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19009224	hCoV-19/India/GJ-INSACOG-GBRC13872/2024	2024/1	India
EPI_ISL_19013716	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM4249/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19013762	hCoV-19/Hubei/HCDC-WH4216/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19021267	hCoV-19/Henan/LHCDC-0044/2024	2024/2	Henan
EPI_ISL_19021276	hCoV-19/Henan/LHCDC-0051/2024	2024/2	Henan
EPI_ISL_19025101	hCoV-19/Shanxi/SXJCCDC-JCCX0051/2024	2024/3	Shanxi
EPI_ISL_19025128	hCoV-19/Shanxi/SXJCCDC-JCCX0078/2024	2024/3	Shanxi
EPI_ISL_19025143	hCoV-19/Shanxi/SXJCCDC-JCCX0093/2024	2024/3	Shanxi
EPI_ISL_19040191	hCoV-19/Hubei/HCDC-EZ4320/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19040208	hCoV-19/Hubei/HCDC-EZ4323/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19040250	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM4512/2024	2024/4	Hubei
EPI_ISL_19040253	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM4341/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19040256	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM4511/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19040270	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM4350/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19040273	hCoV-19/Hubei/HCDC-JZ4419/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19041038	hCoV-19/Hubei/HCDC-XG4405/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19061133	hCoV-19/Hubei/HCDC-EZ4597/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19061142	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM4663/2024	2024/4	Hubei
EPI_ISL_19061165	hCoV-19/Hubei/HCDC-WH4674/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19061202	hCoV-19/Hubei/HCDC-XG4645/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19061203	hCoV-19/Hubei/HCDC-XG4656/2024	2024/3	Hubei
EPI_ISL_19061733	hCoV-19/New_Zealand/24YA3354/2024	2024/3	New Zealand
EPI_ISL_19068972	hCoV-19/Hubei/HCDC-EZ4691/2024	2024/4	Hubei
EPI_ISL_19068993	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM4730/2024	2024/4	Hubei
EPI_ISL_19069034	hCoV-19/Hubei/HCDC-WH4766/2024	2024/4	Hubei
EPI_ISL_19078881	hCoV-19/Shanghai/SCDC-HG0308-673/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19078899	hCoV-19/Shanghai/SCDC-HG0308-670/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19078925	hCoV-19/Shanghai/SCDC-HG0312-702/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19078927	hCoV-19/Shanghai/SCDC-HG0312-697/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19078932	hCoV-19/Shanghai/SCDC-HG0306-649/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19078949	hCoV-19/Shanghai/SCDC-CM03-020/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19078975	hCoV-19/Shanghai/SCDC-FX0304-009/2024	2024/2	Shanghai
EPI_ISL_19078991	hCoV-19/Shanghai/SCDC-JS04-014/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19078993	hCoV-19/Shanghai/SCDC-ZX0207/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19078995	hCoV-19/Shanghai/SCDC-YP01-094/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19079001	hCoV-19/Shanghai/SCDC-YP01-085/2024	2024/2	Shanghai
EPI_ISL_19079021	hCoV-19/Shanghai/SCDC-YP01-093/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19079056	hCoV-19/Shanghai/SCDC-N-127/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19079060	hCoV-19/Shanghai/SCDC-MHXG031114/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19079088	hCoV-19/Shanghai/SCDC-PT03-030/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19079108	hCoV-19/Shanghai/SCDC-N-137/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19079144	hCoV-19/Shanghai/SCDC-HG0302-621/2024	2024/2	Shanghai
EPI_ISL_19079160	hCoV-19/Shanghai/SCDC-CM03-004/2024	2024/2	Shanghai
EPI_ISL_19079166	hCoV-19/Shanghai/SCDC-AT0196/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19079195	hCoV-19/Shanghai/SCDC-HG0304-639/2024	2024/3	Shanghai
EPI_ISL_19079218	hCoV-19/Shanghai/SCDC-N-123/2024	2024/3	Shanghai

補足表 S1. 選択圧解析に使用した株（続き）

GISIDE EPI_ISL ID	株名	検出/分離 年月	発生国
EPI_ISL_19079228	hCoV-19/Shanghai/SCDC-YP01-072/2024	2024/2	Shanghai
EPI_ISL_19079252	hCoV-19/Shanghai/SCDC-JS03-0010/2024	2024/2	Shanghai
EPI_ISL_19082564	hCoV-19/USA/TX-HMH-M-140507/2024	2024/3	USA
EPI_ISL_19086947	hCoV-19/Hubei/HCDC-SZ4816/2024	2024/4	Hubei
EPI_ISL_19110324	hCoV-19/Shanxi/SXJCCDC-JCCX0152/2024	2024/4	Shanxi
EPI_ISL_19150439	hCoV-19/Hubei/HCDC-EZ5167/2024	2024/4	Hubei
EPI_ISL_19150495	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM5094/2024	2024/4	Hubei
EPI_ISL_19150497	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM5093/2024	2024/4	Hubei
EPI_ISL_19150499	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM5098/2024	2024/5	Hubei
EPI_ISL_19168792	hCoV-19/Uruguay/DLSP_183/2024	2024/3	Uruguay
EPI_ISL_19174728	hCoV-19/USA/OR-OSPHL-09623/2024	2024/5	USA
EPI_ISL_19202093	hCoV-19/Sweden/E-EDWN26A/2024	2024/5	Sweden
EPI_ISL_19211298	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-8094/2024	2024/5	Brazil
EPI_ISL_19256654	hCoV-19/Hubei/HCDC-WH5744/2024	2024/6	Hubei
EPI_ISL_19287650	hCoV-19/Russia/PRI-P599/2024	2024/3	Russia
EPI_ISL_19307122	hCoV-19/Brazil/BA-LACEN-293690636/2024	2024/5	Brazil
EPI_ISL_19323987	hCoV-19/France/IDF-IPP08435/2024	2024/7	France
EPI_ISL_19336754	hCoV-19/Brazil/PR-415656187/2024	2024/3	Brazil
EPI_ISL_19371637	hCoV-19/Shanxi/SXJCCDC-JCCX0185/2024	2024/8	Shanxi
EPI_ISL_19371654	hCoV-19/Shanxi/SXJCCDC-JCCX0210/2024	2024/8	Shanxi
EPI_ISL_19371675	hCoV-19/Shanxi/SXJCCDC-JCCX0209/2024	2024/8	Shanxi
EPI_ISL_19371676	hCoV-19/Shanxi/SXJCCDC-JCCX0211/2024	2024/8	Shanxi
EPI_ISL_19384474	hCoV-19/Hubei/HCDC-EZ6875/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384483	hCoV-19/Hubei/HCDC-EZ6851/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384492	hCoV-19/Hubei/HCDC-EZ6847/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384498	hCoV-19/Hubei/HCDC-EZ6871/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384590	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM6768/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384619	hCoV-19/Hubei/HCDC-JM6771/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384646	hCoV-19/Hubei/HCDC-JZ6652/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384681	hCoV-19/Hubei/HCDC-JZ6489/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384682	hCoV-19/Hubei/HCDC-JZ6660/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384691	hCoV-19/Hubei/HCDC-JZ6668/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384695	hCoV-19/Hubei/HCDC-JZ6674/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384704	hCoV-19/Hubei/HCDC-JZ6665/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384709	hCoV-19/Hubei/HCDC-JZ6664/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384715	hCoV-19/Hubei/HCDC-JZ6824/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384847	hCoV-19/Hubei/HCDC-SZ6639/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384849	hCoV-19/Hubei/HCDC-SZ6641/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384850	hCoV-19/Hubei/HCDC-SZ6645/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384865	hCoV-19/Hubei/HCDC-SZ6637/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384883	hCoV-19/Hubei/HCDC-WH6866/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384936	hCoV-19/Hubei/HCDC-WH6545/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384941	hCoV-19/Hubei/HCDC-WH6855/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_19384964	hCoV-19/Hubei/HCDC-WH6542/2024	2024/8	Hubei
EPI_ISL_9651924	hCoV-19/Denmark/DCGC-351827/2022	2022/1	Denmark
EPI_ISL_9653084	hCoV-19/Denmark/DCGC-352947/2022	2022/2	Denmark
EPI_ISL_9653229	hCoV-19/Denmark/DCGC-353096/2022	2022/1	Denmark

補足表 S2. SARS-CoV-2・S 蛋白のコンフォメーションナルエピトープ解析の結果

XBB.1.5		JN.1	
アミノ酸 番号	予測エピトープモチーフ	アミノ酸 番号	予測エピトープモチーフ
16-20	VNLIT	40-45	DKVFRS
41-45	KVFRS	109-114	TLDSKT
111-115	DSKTQ	145-150	YYKNNK
146-150	QKNNK	162-167	SANNCT
164-166	NNC	180-184	EGKQG
255-258	SSGW	279-286	YNENGIT
279-285	YNENGTI	371-376	FAPFFA
343-347	NATTF	439-446	NKLDISKHS
403-405	RGN	448-453	NYDYWY
434-455	IAWNSNKLDSPSGNYNYLYRL	474-482	QAGNKPCKG
472-494	IYQAGNKPCNGVAGPNCYSPLRS	484-489	KGPNCY
498-506	RPTYGVGHQ	492-506	LQSYGFRPTYGVGHQ
832-846	GFIKQYGDCLGDIAA	555-561	SNKKFLP
890-895	AGAALQ	834-846	IKQYGDCLGDIAA
1044-1048	GKGYH	883-888	TSGWTF
1141-1162	LQPELDSFKEELDKYFKNHTSP	890-898	AGAALQIPF
		911-914	VTQN
		917-920	YENQ
		1139-1162	DPLQLELDSFKEELDKYFKDHTSP

JN.1.11.1		KP.3	
アミノ酸 番号	予測エピトープモチーフ	アミノ酸 番号	予測エピトープモチーフ
40-45	DKVFRS	40-45	DKVFRS
146-150	HKNNK	108-113	TTLDSK
163-166	ANNC	146-151	QKNNKS
279-285	YNENGTI	163-167	ANNCT
403-405	KGN	196-199	NIDG
436-451	WNSNKLDISKHSGNYDY	229-231	LPI
457-460	RKSK	233-235	INI
475-482	AGNKPCKG	279-285	YNENGTI
484-488	KGPNC	403-405	KGN
494-496	SYG	413-417	GQTGN
498-506	RPTYGVGHQ	419-421	ADY
715-719	PTNFT	435-457	AWNSNKLDISKHSGNYDYWYRSL
809-813	PSKPS	474-482	QAGNKPCKG
834-841	IKQYGDCL	484-489	KGPNCY
887-894	TFGAGAAL	491-496	PLQSYG
911-914	VTQN	498-506	RPTYGVGHQ
917-920	YENQ	688-690	ASQ
1067-1070	YVPA	699-704	LGAENS
1142-1162	QLELDSFKEELDKYFKNHTSP	718-720	FTI
		836-841	QYGDCL
		890-895	AGAALQ
		912-915	TQNV
		917-920	YENQ
		1142-1162	QLELDSFKEELDKYFKNHTSP

補足表 S2. SARS-CoV-2・S 蛋白のコンフォメーションナルエピトープ解析の結果（続き）

VDX.1	
アミノ酸 番号	予測エピトープモチーフ
41-46	KVFRSS
146-151	<b>H</b> KNNKS
280-284	NENGT
371-373	FAP
434-437	IAWN
439-449	NKLDSK <b>H</b> SGNY
456-460	<b>L</b> RKSK
472-482	IYQAGNKPC <b>K</b> G
484-490	<b>K</b> GPNCY <b>F</b>
498-506	RPTYGVGHQ
518-521	LHAP
553-569	<b>T</b> <b>K</b> SNKKFLPFQQFGRDI
571-574	DTTD
579-584	PQTLEI
717-724	NFTISVTT
791-797	TPPIKYF
799-804	GFNFSQ
808-815	DPSKPSKR
819-821	EDL
832-841	GFIKQYGDCL
886-896	WTFGAGAALQI
924-926	ANQ
928-930	NSA
932-939	GKIQDSL
1045-1048	KGYH
1106-1108	QRN
1142-1162	<b>Q</b> <b>L</b> ELDSFKEELDKYFKNHTSP

## 謝辞

本研究の遂行にあたり、終始熱心なご指導・ご教示を頂きました群馬パース大学大学院 保健科学研究科 医療科学専攻 医療科学領域 木村博一教授に心より深く感謝いたします。また、本研究の企画・遂行にあたり、ご指導いただきました国立感染研究所 ウイルス第3部 梁明秀室長、北里大学大村智記念研究所 ウイルス感染制御学研究室 片山和彦教授、熊本保健科学 大学保健科学部 医療検査学科 黒田誠教授、杏林大学 呼吸器内科 佐田充助教に深謝いたします。さらに、本研究の研究手法や論文作製に際してご教授いただいた国立感染研究所 ウイルス第3部 白井達也研究員、群馬パース大学附属研究所 先端医療科学研究センター 木村龍介研究員、順天堂大学医学部附属順天堂医院 臨床検査部 赤川真緒技師、群馬パース大学 医療技術学部検査技術学科 岡山香里准教授、同学部 臨床工学科 近土真由美准教授、齋藤慎講師、東京医療保健大学 医療保険学部 医療栄養学科 臨床検査学専攻 藤本友香講師に心より感謝申し上げます。

本研究論文の執筆にあたり、終始貴重なご指導・ご助言をいただいた本学大学院 松下誠教授、渡邊浩教授および荒木泰行講師に深く感謝申し上げます。

1. 主論文（博士論文）

Norika Nagasawa, Ryusuke Kimura, Mao Akagawa, Tatsuya Shirai, Mitsuru Sada, Kaori

Okayama, Yuka Sato-Fujimoto, Makoto Saito, Mayumi Kondo, Kazuhiko Katayama, Akihide

Ryo, Makoto Kuroda, Hirokazu Kimura. Molecular Evolutionary Analyses of the Spike

Protein Gene and Spike Protein in the SARS-CoV-2 Omicron Subvariants. *Microorganisms*.

2023 Sep, 11; 2336.

