

博士論文

新型コロナウイルス変異株の感染性および免疫逃避能の変化
(Infectivity and immune evasion of the SARS-CoV-2 variants)

瓜生 慧也

新型コロナウイルス変異株の感染性および免疫逃避能の変化

(Infectivity and immune evasion of the SARS-CoV-2 variants)

東京大学大学院医学系研究科

病因・病理学専攻 微生物学講座 感染制御学

システムウイルス学分野

指導教員

佐藤 佳 教授

瓜生 慧也

目次

1.	要旨	3 頁
2.	序文	4-16 頁
3.	方法	17-24 頁
3-1.	倫理に関する声明	
3-2.	本研究で使用したヒト血清	
3-3.	実効再生産数 (R_e) の推定	
3-4.	プラスミドコンストラクション	
3-5.	モノクローナル抗体の調製	
3-6.	細胞培養	
3-7.	シュードウイルスの作製	
3-8.	HiBiT アッセイ	
3-9.	シュードウイルスの感染力価の定量 (シュードウイルスアッセイ)	
3-10.	シュードウイルスを用いた感染中和試験	

4.	結果	25-53 頁
4-1.	オミクロン BA.2 株の感染性と中和抗体からの逃避	
4-2.	オミクロン BA.2 株の多様化と感染性・中和抗体逃避能の変化	
4-2-1.	オミクロン BA.5 株の感染性と中和抗体逃避能	
4-2-2.	オミクロン BA.2.75 株の感染性と中和抗体逃避能	
4-3.	オミクロン BA.5 株の進化と感染性・中和抗体逃避能の変化	
4-4.	オミクロン BA.2.75 株の進化と感染性・中和抗体逃避能の変化	
4-5.	オミクロン XBB.1 系統株の多様化と感染性・中和抗体逃避能の変化	
5.	考察	53-66 頁
6.	謝辞	67 頁
7.	参考文献	68-81 頁
8.	図表	82-134 頁

1. 要旨 (300 字/300 字)

COVID-19 の原因ウイルスである SARS-CoV-2 は、2019 年末に初めてヒトへの感染が確認されて以降、約 4 年間で世界 7 億人以上に感染し、700 万人近くを死に至らしめた。SARS-CoV-2 はこれまでに、デルタ株やオミクロン株など様々な変異株が置き換わりを繰り返しながら流行し、特にオミクロン系統株は極めて多様化している。本研究では、SARS-CoV-2 の S タンパク質を介した感染性や抗体の中和効果に着目し、種々の変異株の性状を解析した。その結果、特に多様化の著しいオミクロン系統株において、S タンパク質による感染性および中和抗体逃避能が、ウイルスの進化に沿って上昇していることを明らかにした。このことは、これらの要素がオミクロン系統株の進化に重要であることを示している。

2. 序文

2019 年 12 月、中国湖北省武漢市において、謎のウイルス性肺炎が報告された。報告から数週間後、中国の研究グループにより、この肺炎の原因ウイルスとして新型コロナウイルス(2019-nCoV)が同定され¹、世界保健機関(world health organization; WHO)はこのウイルス感染症を coronavirus disease 2019 (COVID-19) と命名した²。この新型コロナウイルス(2019-nCoV)は、2003 年に香港やシンガポールなどの東アジアでアウトブレイクを起こした重症急性呼吸器症候群(severe acute respiratory syndrome; SARS)の原因ウイルスである SARS coronavirus (SARS-CoV)³とウイルスゲノム配列が 79.6%相同であり系統的に近縁であることから¹「SARS coronavirus 2 (SARS-CoV-2)」と名付けられた。2020 年に入り、SARS-CoV-2 感染者数は全世界で爆発的に増加し、WHO は同年 1 月 30 日、「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態(public health emergency of international concern; PHEIC)」を宣言し⁴、パンデミック(世界的大流行)の状態となった。WHO の統計によると、2023 年 10 月時点で SARS-CoV-2 は、全世界累計 7 億人以上に感染し、700 万人近くを死に至らしめており、本邦でも累計 3 千万人以上がこのウイルスに感染、7 万人以上が COVID-19 で死亡している(WHO, WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard, <https://covid19.who.int/>)。

SARS-CoV-2 の出現と大流行は人類社会にさまざまな影響を与えた。感染拡大を防ぐためロックダウン処置がヨーロッパ諸国を中心に実施され、本邦でも緊急事態

宣言が発令されるなど、人々は行動を制限され生活様式も大きく変化した。重要なこととして COVID-19 パンデミックにおいて、メッセンジャーRNA（mRNA）ワクチンや組換えタンパク質ワクチン、アデノウイルスベクターを用いたワクチンなど、種々の COVID-19 ワクチンの開発が急速に進められ⁵⁻⁸、2021 年末時点で世界人口のおよそ 5 割、2023 年 10 月時点で世界人口のおよそ 7 割の人が少なくとも 1 回 COVID-19 ワクチンを接種している。また本邦でも 2021 年 10 月時点で全人口の 8 割以上の人が少なくとも 1 回以上 COVID-19 ワクチンを接種している。（Our world in Data, Coronavirus (COVID-19) Vaccinations, <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations>）。さらに治療用抗体医薬として多くのモノクローナル抗体も開発された。例えば、カシリビマブ（REGN10933）とイムデビマブ（REGN10987）はいずれも SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質に対するモノクローナル抗体であり、これら 2 つを組み合わせた抗体カクテル（商品名：REGN-COV2、リジェネロン・ファーマシューティカルズ社、米国）は、COVID-19 の治療に効果があることが示されている⁹⁻¹¹。また、2003 年に SARS に罹患し、回復した患者から採取した B 細胞より単離されたモノクローナル抗体のいくつかは SARS-CoV-2 に対しても中和活性を示すことが明らかとされている¹²。その中の 1 つである S309 に由来するソトロビマブは SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質に結合するように設計され、COVID-19 の治療用抗体医薬として有用であることが確認されている^{13,14}。このような COVID-19 に対するワクチンや抗体医薬の開発・普及の功績は大きく、2023 年に入り COVID-19 ワクチンの接種が普及し SARS-CoV-2 感染に対

する免疫がヒト集団内で高まったことや、世界的に COVID-19 による死亡者数が減少傾向に転じたことを理由に、2023 年 5 月 4 日、WHO は COVID-19 に関する PHEIC を解除した¹⁵。しかしながら、2023 年 10 月時点でも、未だに SARS-CoV-2 の「変異株」が複数世界中で流行しており（Nextstrain, <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time>）、このウイルスの流行が収束したわけではない。

SARS-CoV-2 はその流行の過程で極めて多様化しており、ウイルスゲノムの複数の変異を持つ変異ウイルス（変異株）が繰り返し出現し幾度も人類社会の脅威となってきた（図 1）。COVID-19 パンデミックにおいて、ウイルスゲノムのサーベイランスが非常に大規模に行われている。2023 年 10 月時点で、公共データベース global initiative on sharing avian influenza data（GISAID）には 1600 万配列を超える SARS-CoV-2 のゲノム配列データが登録・公開されている（<https://gisaid.org>）。また、SARS-CoV-2 変異株の分類には、PANGO 系統（phylogenetic assignment of named global outbreak lineages; PANGO lineages）と呼ばれる系統分類命名法が国際的に用いられている他¹⁶、WHO はウイルスの流行状況や重症化リスクなどにに基づき、いくつかの変異ウイルスについては、「懸念される変異株（variant of concern; VOC）」や「注目すべき変異株（variant of interest; VOI）」、「監視下の変異株（variants under monitoring; VUM）」として独自に分類している（WHO, Tracking SARS-CoV-2 variants, <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>）。例えば、これまでアルファ株（B.1.1.7 系統）、ベータ株（B.1.351 系統）、デルタ株（B.1.617.2 系統）、オミクロン

株（B.1.1.529 系統および BA 系統）などが VOC に指定された変異株であり、本邦においてもこれらの変異株の出現によって新規感染者数が一過性に急増するなど、社会活動に大きな影響を与えた（図 2A）。そして、オミクロン株はこれまでに著しく多様化している（図 1）。具体的には、オミクロン株は初めオミクロン BA.1 株が流行したが、その直後に別系統のオミクロン株であるオミクロン BA.2 株が出現、流行した（図 1）。その後は、オミクロン BA.2 株から派生したオミクロン BA.5 株やオミクロン XBB.1 株など複数のオミクロン系統株が相次いで出現、流行し、本邦においてもそれぞれ第 7 波、第 8 波の主な原因となった（図 2A）。2023 年 10 月時点では、オミクロン XBB.1 株からさらに派生したオミクロン XBB.1.5 株やオミクロン XBB.1.16 株、オミクロン EG.5.1 株など複数のオミクロン XBB.1 系統株が世界中で流行している（図 1）（Nextstrain, <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time>）。

ウイルスの流行拡大能力は実効再生産（ R_e ）により定量、比較することができる。実効再生産数（ R_e ）とは、ある特定の環境下において、“1 人の感染者から生じる二次感染者数の期待値”を示す指標である。つまり、ある変異株 A の R_e が 1 である場合、1 人の感染者から 1 人の二次感染者が生じることが期待されることを意味する（図 2B）。仮に、変異株 A（ $R_e=1$ ）が流行しているところに、 R_e が 1 よりも高い変異株 B（ $R_e=2$ ）が出現したと仮定する。その場合、変異株 A の感染者から 1 人の二次感染者が生じる間に、変異株 B の感染者からは 2 人の二次感染者が生じるため、時間経過に伴って変異株 B に感染する人の割合が増加する。すなわち、流行する変異株の割合が

徐々に変異株 A から変異株 B へと置き換わる（図 2B）。ある時点での変異株間の R_e を相対値（relative effective reproduction number）として比較することができれば、どの変異株が将来主流株になるかを推定することができる。なお、実効再生産数（ R_e ）は免疫逃避等の効果を含むため、純粋なウイルスの伝播力（基本再生産数）を示すものではないことに留意する必要がある。共同研究者である伊東潤平准教授（東京大学）らは、GISAID に登録されたウイルスゲノム配列データ基に、各変異株の実効再生産数（ R_e ）を数理モデルにより推定する手法を開発した。このモデルでは、各変異株の検出頻度変化の速度をロジスティックモデルで算出することで、変異株間の相対的な実効再生産数（ R_e ）を推定する。なおこのモデルでは、変異株間の実効再生産数（ R_e ）の相対値が時間に対し不変であるという強い仮定をおいていることに留意が必要である（実世界においては、変異株間の相対的な実効再生産数（ R_e ）はヒト集団内における免疫状態の変化等に伴い変化しうる）。

伊東准教授らが 2021 年 1 月 1 日から 2021 年 12 月 24 日までに GISAID に登録されたウイルスゲノム配列データを用いて、南アフリカ共和国（オミクロン株が最初に確認された国）におけるいくつかの変異株について実効再生産数（ R_e ）を推定・比較したところ、オミクロン（BA.1）株の実効再生産数（ R_e ）は、当時世界中で流行していたデルタ株よりも 3.3 倍高いと推定された¹⁷。このことは、当時オミクロン（BA.1）株がデルタ株よりもヒト集団内で流行拡大する可能性が高い変異株であることを示している。実際に、その後オミクロン株は瞬く間に全世界に拡がり、主流株

がデルタ株からオミクロン (BA.1) 株に置き換わった (Nextstrain, <https://nextstrain.org>)。さらに、オミクロン BA.1 株に置き換わり流行拡大したオミクロン BA.2 株は、オミクロン BA.1 株に比べて、その実効再生産数 (R_e) がおよそ 1.4 倍高いと推定された (2022 年 1 月時点)¹⁸。すなわちこれらの知見は、SARS-CoV-2 の流行において、既存の変異株に比べ、より高い実効再生産数 (R_e) を示す変異株が新しく出現すると、その変異株が選択的に流行を拡大し、次の感染拡大を引き起こす次期流行株となる傾向にあることを示している。SARS-CoV-2 は、こうしたより高い実効再生産数 (R_e) を示す変異株が相次いで出現した結果、このウイルスの出現からおよそ 4 年間で流行株が次々と置き換わったと考えられる。

では SARS-CoV-2 において、ウイルスの実効再生産数 (R_e) を上昇させるメカニズムは何なのか。可能性はいくつか考えられるが、それはウイルスゲノムに生じた変異の効果が大きく影響するはずである。SARS-CoV-2 はおよそ 3 万塩基長のプラス鎖の一本鎖 RNA をゲノムに持つエンベロープウイルスであり¹、4 種類の構造タンパク質；スパイク (S) タンパク質、エンベロープ (E) タンパク質、ヌクレオキャプシド (N) タンパク質、メンブレン (M) タンパク質と、16 個の非構造タンパク質 (non-structural protein; NSP1-16) および 9 個のアクセサリータンパク質 (ORF3a, 3b, 6, 7a, 7b, 8, 9b, 9c, 10) を持っている (図 3A)^{1,19,20}。特に、S タンパク質は、SARS-CoV-2 の宿主感染受容体であるアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) との結合を介したウイルスの宿主細胞への侵入に必須である一方¹、ウイルスの感染を阻害する中和抗体の主要

な標的分子である（図 3A）²¹。これまで出現した変異株のほとんどは、S タンパク質に多くの変異が検出されており、ウイルスの宿主細胞への侵入効率の上昇や、抗体による中和活性の低下が懸念されている^{22,23}。また、SARS-CoV-2 の宿主細胞への侵入経路として大きく 2 つの経路、すなわち transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2) という II 型膜貫通型セリンプロテアーゼに依存した細胞表面での膜融合を介した侵入経路と、TMPRSS2 に依存しないエンドソームを介した侵入経路の存在が知られている（図 3B）。重要なことに、この細胞侵入経路が変異株間で異なることが知られている。例えば、デルタ株の場合には、武漢で最初に検出された SARS-CoV-2（以下、武漢株）と比べ、TMPRSS2 への依存度が高く、培養細胞における増殖性や膜融合活性（SARS-CoV-2 はエンベロープウイルスであるため、細胞に侵入する際はウイルス膜と宿主細胞膜の膜融合が重要になる）が TMPRSS2 存在下で上昇することが報告されている²⁴。一方で、オミクロン（BA.1）株の場合は、TMPRSS2 依存的経路を利用することがほとんどできず、代わりにエンドソームを介した侵入経路を用いることが明らかとされている²⁵⁻²⁷。さらにこの感染経路の違いは病原性と関連すると考えられている。実験動物モデルでの解析では、TMPRSS2 依存的感染経路をよく利用するデルタ株は TMPRSS2 の発現量の多い肺組織でよく増殖するため肺炎症状や肺機能の低下が観察される一方、TMPRSS2 非依存的感染経路をよく利用するオミクロン（BA.1）株は TMPRSS2 の発現量の少ない上気道で増殖し、逆に肺組織ではほとんど増殖しないため、肺炎症状などはデルタ株などに比べると極めて軽微である^{17,28,29}。

ウイルスの実効再生産数 (R_e) を上昇させる第一の可能性は、S タンパク質を介した宿主細胞への感染性の上昇である。これまでに S タンパク質に生じた変異で最も有名なものは、武漢株と比べ、S タンパク質受容体結合ドメイン (receptor binding domain; RBD) 内にある 614 番目のアミノ酸がアスパラギン酸 (D) からグリシン (G) に置換した D614G である。タンパク質構造解析などから、D614 は隣接するプロトマーと水素結合や塩橋を形成することがわかっているが^{30,31}、614 のアミノ酸がアスパラギン酸 (D) からグリシン (G) に変わったことで、それらの相互作用が消失し S タンパク質全体の構造が変化するために、結果的にヒト ACE2 受容体との結合力が上昇することが示されている³⁰。実際、タンパク質の結合解析や培養細胞を用いた実験から、D614G によってヒト ACE2 受容体との結合力が上昇すること、そしてウイルスの宿主細胞への感染性も上昇することが報告されている^{30,32}。さらに、河岡義裕特任教授 (東京大学)、Ralph S. Baric 教授 (ノースカロライナ大学、米国) らの研究チームは、培養細胞やハムスターを用いた動物実験などから、D614G によってウイルスの増殖効率や、個体間の感染伝播性が上昇することを報告している³³。重要なことに、この変異は SARS-CoV-2 が出現して間もない 2020 年初めから検出され始め、その後急速にこの変異を持つウイルスが拡がり、現在では全ての SARS-CoV-2 変異株がこの変異を有している (Nextstrain, <https://nextstrain.org>)。

さらに、本邦における第 4 波の主な原因であり (図 2A)、かつて WHO も VOC に指定していたアルファ株 (B.1.1.7 系統) は、武漢株に比べ、D614G に加えて S タン

パク質に 8 カ所の変異がある³⁴。中でも RBD 内にある N501Y は、D614G と同様、ヒト ACE2 受容体との結合力の上昇に寄与することが知られている他^{35,36}、ハムスターモデルを用いた実験から、個体間の感染伝播性の上昇にも寄与することが明らかとされている³⁷。また、本邦における第 5 波の主な原因であり（図 2A）、2021 年には世界中で猛威を奮ったデルタ株（B.1.617.2 系統）は、武漢株に比べ、D614G に加えて S タンパク質に 7 カ所の変異がある³⁴。そのうち RBD 内にある L452R は、ヒト ACE2 受容体との結合面付近に位置しており、正電荷を持つアルギニン（R）に変化したことで、ACE2 の E35/E37/D38 といった負電荷を持つグルタミン酸（E）やアスパラギン酸（D）などのアミノ酸残基との電荷的相互作用が強まるために ACE2 への結合力の上昇に寄与することが明らかとされており^{38,39}、その結果 S タンパク質を介した宿主細胞への感染効率や膜融合活性が向上することが実験的に実証されている^{38,40}。加えて、デルタ株の S タンパク質には L452R の他に、P681R という特徴的な変異がある。この変異は、ウイルス膜と宿主細胞膜の膜融合活性を著しく上昇させる変異であり、ハムスターを用いた動物実験では、感染した肺組織へのダメージが大きくなり、病原性が武漢株に比べて極めて高くなることが示されている^{24,41}。これらの知見は実世界とも一致しており、本邦における COVID-19 の重症者数はデルタ株が猛威を振るった第 4 波に相当する時期が最も多い（2023 年 5 月 8 日までの厚生労働省による統計オープンデータ、<https://www.mhlw.go.jp/stf/covid-19/open-data.html>）。これらの例は、S タンパク質とヒト ACE2 受容体との相互作用を介した宿主細胞への感染効率の上昇が、ウイ

ルスの実効再生産数 (R_e) を上昇させる一つの可能性であることを示している。

第二の可能性として自然免疫からの逃避が考えられる。I 型インターフェロン (IFN-I) シグナルはウイルス防御に関わる様々な宿主遺伝子の発現を誘導することでウイルス感染に対する生体防御の第一線を担う。一方でウイルスは、IFN-I シグナルを抑制する働きを持つウイルスタンパク質を発現することで、宿主の自然免疫応答から逃れ、効率的に増殖する術を持つ。SARS-CoV-2 の場合には、例えばアクセサリータンパク質である ORF3b、ORF6、ORF9b など、複数のウイルスタンパク質が IFN-I シグナル阻害活性を持つことが知られている⁴²⁻⁴⁵。興味深いことに、2020 年 4 月、エクアドルの重症 COVID-19 患者検体から検出されたウイルス配列には、*ORF3b* 遺伝子に変異が生じており、この変異によって IFN-I 阻害活性がさらに増強する実験結果が報告されている⁴²。このことは、SARS-CoV-2 のウイルスタンパク質による IFN-I シグナルの阻害が、COVID-19 の重症度に影響する可能性を示唆している。さらにアルファ株の場合には、祖先株（ここではパンデミック初期にオーストラリアまたはイギリスで分離された SARS-CoV-2）と比較して、N タンパク質の 3 番目のアミノ酸がアスパラギン酸 (D) からロイシン (L) に置換した D3L が存在する。この変異によって *ORF9b* 遺伝子 (*N* 遺伝子の一部と重複している) の転写調節配列に変異が生じたことで、祖先株と比べ感染細胞内での *ORF9b* の発現量が多くなり、結果として IFN-I シグナル介して誘導されるウイルス防御に関わる宿主遺伝子の発現が抑制されていることが知られている⁴⁶。このことは、自然免疫からの逃避が SARS-CoV-2 の実効再生産

数 (R_e) の上昇、すなわちウイルスの流行拡大に寄与する可能性を提起している。一方で、2022 年以降出現が相次いでいるオミクロン系統株の中にも、*ORF9b* 遺伝子に変異を持つ変異株もいくつか出現している。しかしながら、これら変異株 *ORF9b* の IFN-I 阻害活性についてはいずれも武漢株 *ORF9b* と顕著な差は認められていない⁴⁷。すなわち自然免疫からの逃避は、SARS-CoV-2 のオミクロン系統株における実効再生産数 (R_e) の上昇においては必ずしも必須な要因ではないと考えられる。

第三の可能性として獲得免疫からの逃避が挙げられる。獲得免疫の中でも、液性免疫の主要な働きの 1 つである、B 細胞から産生される中和抗体は、宿主細胞へのウイルス感染を阻害する有効な感染防御システムである。SARS-CoV-2 においては、S タンパク質が中和抗体の主な標的分子であり (図 3A)²¹、パンデミック初期から開発が進められた COVID-19 ワクチンは武漢株 (Wuhan-Hu-1) の S タンパク質を基に設計されている。実際、COVID-19 ワクチン接種により誘導される中和抗体は主に S タンパク質の RBD を標的とすることが知られている⁴⁸⁻⁵⁰。加えて一部の中和抗体は、S タンパク質の N 末端ドメイン (N-terminal domain; NTD) など、RBD 以外の領域を標的とすることも明らかとなっている^{51,52}。一方 SARS-CoV-2 変異株は、その S タンパク質の変異によって中和抗体との親和性が低下する (つまり中和抗体から逃避する) ことが懸念されている。例えばベータ株 (B.1.351 系統) は、武漢株に比べ、S タンパク質に 8 カ所の変異が存在するが、その中でも RBD 内にある K417N、E484K という 2 つの変異は中和抗体との親和性を減弱させる変異であることが報告されている^{35,53-}

⁵⁵。ベータ株もかつて WHO が VOC に指定していた変異株であり、2020 年に南アフリカを中心に流行した。また 2021 年には、コロンビアを中心とした南米諸国でミュー株 (B.1.621 系統) が流行した。ミュー株は、オミクロン (BA.1) 株出現以前において、ベータ株を含む VOC/VOI の中で最も中和抗体逃避能を高めた変異株の代表例である ^{56,57}。ミュー株の場合、S タンパク質 RBD 内の E484K (ベータ株と同様の変異) に加えて、NTD 内の YY144-145TSN という変異が中和抗体からの逃避に寄与することが明らかとなっている ⁵⁷。興味深いことに、この YY144-145TSN を含む領域は NTD を標的とした中和抗体の主要なターゲットとなっている ⁵¹。構造モデリング解析から、通常 S タンパク質分子の外側に突き出していた Y144 残基がこの変異によって消失することから、この構造変化が NTD を標的とした中和抗体との親和性の低下につながっていると考えられている ⁵⁷。重要なことに、ミュー株が流行を拡大し始めた 2021 年 1 月ごろ、当時の南米諸国では別の変異株であるガンマ株 (P.1 系統) が流行株の中心であった。その中でミュー株がガンマ株に置き換わり流行を上げた事実は、中和抗体からの逃避が SARS-CoV-2 の流行拡大に寄与する重要な要素の 1 つである可能性を提起している。

我々は COVID-19 パンデミックという有事において、基礎研究の立場からこの脅威に対抗するため、国内外の研究者と協力し、これまで相次いで出現した SARS-CoV-2 変異株の性状をリアルタイムに解析し ^{17,18,38,39,41,58-62}、一般社会と情報共有を続けてきた。本論文では、これまで明らかにした変異株の性状の中で、感染性の変化と

各変異株に対する中和抗体の効果についてまとめ、SARS-CoV-2 の進化と合わせて議論する。

3. 方法

3-1. 倫理に関する声明

京都大学、インターパーク倉持クリニックおよび千葉大学で募集したヒトを対象とした検体を含むすべてのプロトコールは、京都大学（承認番号：G1309）、インターパーク倉持クリニック（承認番号：G2021-004）および千葉大学（承認番号：HS202103-03）の施設審査委員会の審査および承認を得た。すべての被験者が書面によるインフォームド・コンセントを行った。ヒト検体の使用に関するすべてのプロトコールは、東京大学医科学研究所（承認番号：2021-1-0416 および 2021-18-0617）、熊本大学（承認番号：2066）および宮崎大学（承認番号：O-1021）の施設審査委員会の審査および承認を得た。

3-2. 本研究で使用したヒト血清

本研究で使用したヒト血清の詳細な情報は表 1 および 2（図 7, 9 に対応）、表 3 および 4（図 12, 11 に対応）、表 5 および 6（図 15, 14 に対応）、表 7 および 8（図 18, 17 に対応）、表 9 および 10（図 20, 23 に対応）、表 11（図 23 に対応）にまとめた。本研究で使用した全てのヒト血清は 56°C で 30 分間非動化处理したのち、使用時まで-80°C で保存した。

3-3. 実効再生産数 (R_e) の推定

ヒト集団における SARS-CoV-2 の各系統の伝播率を定量化するため、ウイルスゲノムサーベイランスデータに基づいて算出された流行動態に従って、各ウイルス系統の相対的な実効再生産数を推定した。データは GISAID (<https://www.gisaid.org/>) からダウンロードした。以下のような特徴を持つデータは解析対象から除外した、i) 収集日情報の欠如、ii) ヒト以外の動物でのサンプリング、iii) 検疫によるサンプリング。各国の各日に収集された各系統のウイルスゲノム配列をカウントし、系統の数、収集した国の数および時間を掛け合わせた数 ($\text{lineage} \times \text{country} \times \text{time}$) の配列を得た。この配列は以下に示す統計モデルの入力データとして用いた。

ベイズ階層モデルを構築し、多項ロジスティック回帰を用いて各ウイルス系統の相対的な流行動態を描出した。このモデルの基礎となる数学的理論は他で詳述されており^{63,64}、このモデルの構築および各ウイルス系統の相対的な実効再生産数 (R_e) を推定する解析は共同研究者である伊東潤平准教授 (東京大学) らによって行われた。

3-4. プラスミドコンストラクション

本研究で使用したすべての SARS-CoV-2 スパイク (S) タンパク質の発現プラスミドはヒトコドンに最適化した。武漢株 (Wuhan-Hu-1) の S タンパク質発現プラスミドは徳永研三主任研究官 (国立感染症研究所) より分与いただいた³⁰。従来株 (B.1.1 系統、S タンパク質に D164G 変異を持つ)、アルファ株 (B.1.1.7 系統)、デルタ株 (B.1.617.2

系統)、およびオミクロン BA.1 株の S タンパク質発現プラスミドは、武漢株の S タンパク質発現プラスミドを鋳型とし、site-directed overlap extension PCR により作製した。

オミクロン BA.2 株の S タンパク質発現プラスミドは、オミクロン BA.1 株の S タンパク質発現プラスミドを鋳型とし、site-directed overlap extension PCR により作製した。

オミクロン BA.5 株、BA.2.75 株、BQ.1.1 株、XBB.1 株の S タンパク質発現プラスミドは、オミクロン BA.2 株の S タンパク質発現プラスミドを鋳型とし、site-directed overlap extension PCR により作製した。オミクロン XBB.1.5 株の S タンパク質発現プラスミドは、オミクロン XBB.1 株の S タンパク質発現プラスミドを鋳型とし、site-directed overlap extension PCR により作製した。オミクロン XBB.1.16 株、EG.5.1 株、の S タンパク質発現プラスミドは、オミクロン XBB.1.5 株の S タンパク質発現プラスミドを鋳型とし、site-directed overlap extension PCR により作製した。PCR に用いたプライマーは表 12 に一覧を示す。得られた PCR 断片を In-Fusion HD Cloning Kit (Takara, Cat# Z9650N) を用いて pCAGGS ベクター⁶⁵ の制限酵素 KpnI および NotI 部位に挿入した。作製したプラスミド DNA の配列は、DNA シークエンスサービス (ユーロフィージェノミクス株式会社) により決定し、配列データは SnapGene ソフトウェア v6.1.1 (www.snapgene.com) により解析した。

3-5. モノクローナル抗体の調製

本研究で用いたモノクローナル抗体カシリビマブ、イムデビマブ、ソトロビマブそれ

それぞれの免疫グロブリン可変領域の重鎖および軽鎖の配列情報は抗体情報データベース (SAbDab, <https://opig.stats.ox.ac.uk/webapps/sabdab-sabpred/sabdab>) より入手し、ユーロフィンジェノミクス株式会社の人工遺伝子合成サービスを用いて人工合成した。人工合成した遺伝子断片を In-Fusion HD Cloning Kit (Takara, Cat# Z9650N) を用いて pCAGGS ベクター⁶⁵ の制限酵素 BsmBI および XhoI を部位に挿入した。作製したプラスミド DNA の配列は、DNA シークエンスサービス (ユーロフィンジェノミクス株式会社) により決定し、配列データは SnapGene ソフトウェア v6.1.1 (www.snapgene.com) により解析した。作製した免疫グロブリンの重鎖および軽鎖をそれぞれコードする pCAGGS ベクターを PEI Max (Polysciences, Cat# 24765-1) を用いて HEK293T 細胞に 1:1 の割合でコトランスフェクションし、翌日 10%FBS (Sigma-Aldrich Cat# 172012-500ML) およびペニシリン (100 units) とストレプトマイシン (100 µg/ml) (Sigma-Aldrich, Cat# P4333-100ML) を含む DMEM (高グルコース) に交換した。トランスフェクション後 96 時間後に、培養上清を回収し、Nab protein A plus spin kit (Thermo Fisher Scientific, Cat# 89948) を用いて抗体を精製した。精製方法は製品のプロトコルに従って行った。

3-6. 細胞培養

ヒト胎児腎由来細胞株 HEK293T 細胞 (human embryonic kidney cell line、ATCC, CRL-3216)、LentiX-293T 細胞 (Takara, Cat# 632180)、ヒト ACE2 およびヒト TMPRSS2 を

安定発現するヒト骨肉腫細胞株 HOS 細胞 (human osteosarcoma、HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞、国立感染症研究所 徳永研三先生より分与)^{30,40} は、10%ウシ胎児血清 (fetal bovine serum, FBS) (Sigma-Aldrich Cat# 172012-500ML) およびペニシリン (100 units) とストレプトマイシン (100 µg/ml) (Sigma-Aldrich, Cat# P4333-100ML) を含むダルベッコ改変イーグル培地 (Dulbecco's modified Eagle's medium; DMEM) (高グルコース) (Wako, Cat# 044-29765) で培養した。

ヒト ACE2 を安定発現する HEK293 細胞 (human embryonic kidney cell line、ATCC, CRL-1573) (HEK293-ACE2 細胞) は、10% FBS (Sigma-Aldrich Cat# 172012-500ML) およびペニシリン (100 units) とストレプトマイシン (100 µg/ml) (Sigma-Aldrich, Cat# P4333-100ML)、1 µg/ml puromycin (InvivoGen, Cat# ant-pr-1) を含む DMEM (高グルコース) (Wako, Cat# 044-29765) で培養した。ヒト ACE2 およびヒト TMPRSS2 を安定発現する HEK293 細胞 (human embryonic kidney cell line、ATCC, CRL-1573) (HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞) は、10% FBS (Sigma-Aldrich Cat# 172012-500ML) およびペニシリン (100 units) とストレプトマイシン (100 µg/ml) (Sigma-Aldrich, Cat# P4333-100ML)、1 µg/ml puromycin (InvivoGen, Cat# ant-pr-1)、200 µg/ml hygromycin (Nacalai Tesque, Cat# 09287-84) を含む DMEM (高グルコース) (Wako, Cat# 044-29765) で培養した。いずれの細胞株も 37°C、5%CO₂ 存在下で培養した。

3-7. シュードウィルスの作製

本研究で用いたシュードウイルスはヒト免疫不全ウイルス 1 型 (human immunodeficiency virus type 1; HIV-1) を基にしたルシフェラーゼ発現レポーターウイルスを SARS-CoV-2 の S タンパク質でシュードタイプした (図 4A)。トランスフェクションの前日に、LentiX-293T 細胞を 6well プレート (500,000 細胞/well) に播種した。翌日、800 ng の psPAX2-IN/HiBiT (HiBiT タグ融合インテグラーゼをコードするパッケージングプラスミド)⁶⁶、800 ng の pWPI-Luc2 (ホタルルシフェラーゼ遺伝子をコードするレポータープラスミド)⁶⁶、400 ng の S タンパク質発現プラスミドを、TransIT-293 トランスフェクション試薬 (Mirus, Cat# MIR2704) を用いてコトランスフェクションした。トランスフェクション方法は製品のプロトコルに従って行った。トランスフェクション 48 時間後、培養上清を回収し、Millex 13mm Durapore PVDF .45um Sterile (Millipore, SLHVJ13SL) を用いてフィルトレーションしたのち、-80°C で保存した。

3-8. HiBiT アッセイ

作製したシュードウイルスのウイルス量は、Nano Glo HiBiT lytic detection system (Promega, Cat# N3040)を用いた HiBiT assay により定量した (図 4B)⁶⁶。本研究で用いたシュードウイルスは、HIV-1 のインテグラーゼタンパク質に HiBiT タグが融合しており、Split NanoLuc luciferase である LgBiT と基質を供給することで、luciferase が再構築され、発光測定により HiBiT value を得ることができる。測定された HiBiT value と HIV-1 p24 キャプシドタンパク質はよく相関している (図 4B)⁶⁶。すなわち、HiBiT

value を用いてシュードウイルスのウイルス量を定量することができる。

3-9. シュードウイルスの感染力価の定量（シュードウイルスアッセイ）

それぞれのシュードウイルスの感染力価を調べるために、上記の方法を用いてウイルス量を定量し、同じ量のシュードウイルスを標的細胞に感染させることで、感染力価を測定した。標的細胞には HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞（国立感染症研究所 徳永研三 主任研究官より分与）、HEK293-ACE2 細胞および HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞を用いた。シュードウイルス感染 48 時間後に、Bright-Glo luciferase assay system（Promega, Cat# E2620）を用いて細胞溶解し、ホタルルシフェラーゼ反応による発光シグナルを GloMax explorer multimode microplate reader 3500 (Promega)を用いて測定した（図 4B）。

3-10. シュードウイルスを用いた感染中和試験

それぞれの SARS-CoV-2 の S タンパク質を持つシュードウイルス（50,000 relative light units を含む）を 3 倍刻みに段階希釈した非動化処理済みの血清、あるいは精製したモノクローナル抗体と混合し、1 時間 37°C で反応させた。またシュードウイルスは血清やモノクローナル抗体を含まない培地のみとも同様に反応させ、コントロールとした。1 時間反応後、ウイルスと血清/モノクローナル抗体の混合液を HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞（10,000 細胞/well、細胞培養と発光測定が可能な 96 白プレートに感染前日に播種したもの）に接種した。感染 48 時間後に、Bright-Glo luciferase assay system（Promega,

Cat# E2620) を用いて細胞溶解し、ホタルルシフェラーゼ反応による発光シグナルを GloMax explorer multimode microplate reader 3500 (Promega)を用いて測定した (図 5)。

この実験は、それぞれの血清あるいはモノクローナル抗体の検体について triplicate で実施し、Prism 9 (GraphPad Software) を用いてシュードウイルスの感染を 50%阻害する血清の希釈倍率である「50%感染中和力価」、シュードウイルスの感染を 50%阻害するモノクローナル抗体の濃度「50%感染阻害濃度 (50% Inhibition Concentration, IC₅₀)」をそれぞれ算出した (図 5)。NT50 は血清の希釈倍率を示しているため、この値が高いほどその血清のウイルスに対する中和活性が高く、逆に値が低いほど中和活性が低い (ウイルスとしては、中和抗体から逃避しやすい) ことを意味している。IC₅₀ は抗体濃度を示しているため、この値が高いほどモノクローナル抗体の S タンパク質との親和性が低い (ウイルスとしては、中和抗体から逃避しやすい) ことを意味している (図 5)。

4. 結果

4-1. オミクロン BA.2 株の感染性と中和抗体からの逃避

2021 年 11 月に南アフリカ共和国で出現した SARS-CoV-2 オミクロン株 (B.1.1.529, BA 系統) は、出現後瞬く間に全世界に伝播し、当時の主流株であったデルタ株 (B.1.617.2 系統) を駆逐し、2022 年初めごろには流行株がほぼ完全にオミクロン株に置き換わった¹⁷。オミクロン株は当初、オミクロン BA.1 株が主体であったが、2022 年 2 月ごろから、別系統のオミクロン株であるオミクロン BA.2 株が世界各国で検出されるようになり (図 1, 6A)、同年 3 月ごろにはオミクロン BA.2 株が主流株となった (Nextstrain, <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time>)。オミクロン BA.2 株はその後著しく多様化し (図 1)、2023 年 10 月時点で流行している SARS-CoV-2 の変異株はほぼ全てオミクロン BA.2 株の派生株である。これはすなわち、オミクロン BA.2 株が、オミクロン BA.1 株に比べ、ヒト集団内でより優位に拡がることができたウイルスであったことを示している。実際、伊東潤平准教授 (東京大学) らによる解析から、2022 年 1 月時点における SARS-CoV-2 変異株の実効再生産数 (R_e) は、オミクロン BA.2 株がオミクロン BA.1 株に比べおよそ 1.4 倍高いことが明らかとなっている¹⁸。スパイク (S) タンパク質において、オミクロン BA.1 株は、従来株 (B.1.1 系統、武漢株に比べ S タンパク質に D614G 変異のみを持つ) と比べ、30 ヶ所以上もの変異

が認められるが、オミクロン BA.2 株は、そのオミクロン BA.1 株と比較しても 20 ヶ所以上もさらに変異している¹⁸。これはすなわち、オミクロン BA.2 株の S タンパク質は、オミクロン BA.1 株のものよりも、その性質が大きく変化している可能性を示唆している。

SARS-CoV-2 の S タンパク質は、宿主のヒト ACE2 受容体との結合を介したウイルスの宿主細胞内への侵入に必須なウイルスタンパク質であるとともに、中和抗体の主要な標的分子である（図 3A）^{67,68}。共同研究者である Jiri Zahradnik 博士（カレル大学、チェコ）らが行った結合アッセイでは、オミクロン BA.2 株の S タンパク質 RBD とヒト ACE2 受容体との結合力は、オミクロン BA.1 株のものに比べおよそ 1.7 倍上昇していることが示されている¹⁸。この結果は、オミクロン BA.1 株に比べ、オミクロン BA.2 株の方が S タンパク質とヒト ACE2 受容体との相互作用を介した細胞侵入効率が上昇している可能性を提起している。そこで、S タンパク質を介した感染性を評価するためにシュードウイルスを用いた感染実験を実施した。SARS-CoV-2 に関する研究においては、臨床分離株だけでなく、リバーシジェネティク法による組換えウイルスを用いた研究の他に、安全性や利便性の面から、水泡性口内炎ウイルス（vesicular stomatitis virus; VSV）、あるいはヒト免疫不全ウイルス 1 型（human immunodeficiency virus type 1; HIV-1）を含むレンチウイルスを基に SARS-CoV-2 の S タンパク質を搭載したシュードウイルス（偽ウイルス）が広く実験に用いられている。本研究においても、SARS-CoV-2 の S タンパク質を介した宿主細胞への感染性を安全

かつ簡便に定量するため、ルシフェラーゼ遺伝子を組み込んだレンチウイルス（HIV-1）の外被に SARS-CoV-2 各種変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスを用いた（図 4A）⁶⁶。シュードウイルスの感染力価は、HIV-1 のウイルス抗原である p24 タンパク質量を揃えることでウイルス量を揃え、同一量のウイルスを HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞に感染させ、感染 48 時間後にルシフェラーゼアッセイにより、ウイルスの感染価を定量した（図 4B）⁶⁶。図 6B に示すように、Jiri Zahradnik 博士らによる結合アッセイの結果と一致して¹⁸、オミクロン BA.2 株のシュードウイルスの感染力価は、従来株に比べ低いが、オミクロン BA.1 株と比べると 2 倍以上高いことがわかった（*: $P < 0.05$, two-tailed Student's t tests）。これまでの研究から、従来株やデルタ株などが TMPRSS2 依存的な経路で感染するのに対し、オミクロン（BA.1）株は TMPRSS2 非依存的な経路をよく利用することが示されている^{24-26,41}。しかし、オミクロン BA.2 株の S タンパク質には、オミクロン BA.1 株に比べ、20 カ所以上ものアミノ酸変異が存在するため、感染経路における TMPRSS2 の依存性も変化している可能性も考えられた。これについて検証するため、先ほどのシュードウイルス感染実験を、標的細胞として HEK293-ACE2 細胞（ヒト ACE2 遺伝子を安定発現させた HEK293 細胞）および HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞（ヒト ACE2 遺伝子およびヒト TMPRSS2 遺伝子を安定発現させた HEK293 細胞）を用いて実施した。なお、HEK293 細胞には細胞表面にほとんど TMPRSS2 は発現していない¹⁸。TMPRSS2 がシュードウイルスの感染にどの程度影響を与えているかを調べるために、HEK293-ACE2 細胞と HEK293-

ACE2/TMPRSS2 細胞それぞれでの感染力価に基づいて、TMPRSS2 によるシュードウイルス感染力価の上昇倍率を算出し、変異株間で比較した。先行研究に一致して^{26,41}、従来株やデルタ株のシュードウイルスは TMPRSS2 の存在によって感染力価が上昇したが、オミクロン BA.1 株のシュードウイルスの感染力価はほとんど変化しなかった（図 6C）。オミクロン BA.2 株もオミクロン BA.1 株と同様、TMPRSS2 の存在によるシュードウイルス感染力価の上昇はほとんど認められなかった（図 6C）。このことはオミクロン BA.1 株と同様、オミクロン BA.2 株も宿主細胞への侵入において、TMPRSS2 への依存度が低く、TMPRSS2 非依存的なエンドソーム経路をよく利用していることを示唆している。実際カテプシン L などのシステインプロテアーゼ阻害剤である E64d の処理により、オミクロン BA.1 株および BA.2 株の感染は阻害されることから、オミクロン BA.2 株は TMPRSS2 非依存的な経路を介して細胞に侵入していると考えられる^{18,26}。

続いてオミクロン BA.2 株に対する抗体の感染中和活性を調べるために、種々のヒト由来の抗血清（さまざまな種類の中和抗体が含まれる）や治療用抗体医薬を用いて、ウイルスの感染中和試験を行った。本研究で行った感染中和試験は、“中和抗体が SARS-CoV-2 の S タンパク質を介した細胞侵入をどの程度阻害できるか”を評価するものであるため、ここでも SARS-CoV-2 各種変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスを用いた⁶⁶。具体的には、まずシュードウイルスを段階希釈した種々のヒト由来の抗血清もしくはモノクローナル抗体と反応させたのち、HOS-

ACE2/TMPRSS2 細胞に感染させ、感染 48 時間後にルシフェラーゼアッセイにより、ウイルスの感染価を測定した (図 5)。この結果を基に、シュードウイルスの感染を 50%阻害する、50%感染中和力価を算出した (図 5)。この 50%感染中和力価の値が小さいほど、血清による感染中和活性が低下している、すなわち、中和抗体からより逃避しやすくなっていることを意味する (図 5)。

まず COVID-19 ワクチン接種により誘導される中和抗体について評価するため、mRNA-1273 (mRNA ワクチン、モデルナ社、2 回接種 1 ヶ月後：16 ドナー)、ChAdOx1 (アデノウイルスベクターワクチン、アストラゼネカ社、2 回接種 1 ヶ月後：9 ドナー)、BNT162b2 (mRNA ワクチン、ファイザー社、2 回接種 1 ヶ月後、4 ヶ月後、および 3 回接種 1 ヶ月後：13 ドナーでそれぞれ同一ドナー) それぞれのワクチン接種者の血清を用いて解析した。ウイルスは、オミクロン BA.1 株、BA.2 株に加え、従来株およびデルタ株を比較対象に用いた。いずれの COVID-19 ワクチン接種者血清 (2 回接種 1 ヶ月後) においても、デルタ株は、従来株に比べ、2-3 倍程度中和活性が減弱しているものの、ほぼ全てのドナーで中和活性が認められた (図 7)。一方、オミクロン BA.1 株、BA.2 株ともに、mRNA-1273、もしくは ChAdOx1 接種により誘導される中和抗体に対して、従来株に比べ 10 倍以上も抵抗性になっていることがわかった (図 7A,B)。また、BNT162b2 の 2 回接種では、少なくとも試験したドナーにおいては、オミクロン BA.1 株、BA.2 株いずれに対しても中和活性が全く認められなかった (図 7C)。しかし興味深いことに、BNT162b2 の 3 回接種 (ブースター接種) では、

1 人のドナーを除いてオミクロン BA.1 株/BA.2 株いずれに対しても中和効果を持つ中和抗体が誘導されていた (図 7C)。このようなオミクロン株に対するブースター効果は他の研究チームからも同様の実験結果が報告されている^{69,70}。しかしながら、その中和活性は、従来株やデルタ株に比べると弱く、オミクロン BA.1 株/BA.2 株いずれも、COVID-19 ワクチン接種によって誘導される中和抗体に対する抵抗性が上昇していることが明らかとなった (図 7C)。また、オミクロン BA.1 株とオミクロン BA.2 株を比較すると、これらの COVID-19 ワクチン接種による中和抗体からの逃避において、両者の間に有意な差は認められなかったが、オミクロン BA.2 株の方が、より逃避能が高い傾向であった (図 7)。

続いて、臨床で COVID-19 の治療等に用いられている抗体医薬のオミクロン BA.2 株に対する感染中和効果について評価した。ここでは、カシリビマブ、イムデビマブ、およびソトロビマブを用いて、従来株、オミクロン BA.1 株および BA.2 株のシールドウイルスに対する 50%阻害濃度 (half maximal (50%) inhibitory concentration, IC50) を算出した。図 8 に示すように、従来株に対しては、カシリビマブ単体 (IC50=8.7 ng/ml)、イムデビマブ単体 (IC50=6.6 ng/ml)、カシリビマブ+イムデビマブ (IC50=3.1 ng/ml)、ソトロビマブ (IC50=12 ng/ml) いずれも中和活性が認められた。一方でオミクロン BA.1 株および BA.2 株に対しては、カシリビマブ単体、イムデビマブ単体、およびカシリビマブ+イムデビマブは、中和活性が全く認められなかった。ソトロビマブはオミクロン BA.1 株および BA.2 株に対しても中和活性を示したが、従来株に比べると

IC50 が高く中和活性が減弱していた。さらに、オミクロン BA.1 株とオミクロン BA.2 株で比較すると、オミクロン BA.2 株の方がさらに中和活性が減弱していた。これらの結果は、COVID-19 ワクチン接種血清と同様に、従来株に比べ、中和抗体による感染中和効果がオミクロン BA.1 株および BA.2 株に対して著しく減弱していることを示している（図 7, 8）。

次に、SARS-CoV-2 の自然感染によって誘導される中和抗体の効果について検証した。ここでは、パンデミック初期における感染者（2020 年 5 月まで。いずれもワクチン接種歴なし：12 ドナー）、アルファ株感染者（いずれもワクチン接種歴なし：8 ドナー）、デルタ株感染者（いずれもワクチン接種歴なし：15 ドナー）の回復期血清を用いて解析した。加えて、オミクロン BA.1 株感染者の回復期血清（ワクチン接種歴あり：13 ドナー、およびワクチン接種歴なし：8 ドナー）を用いて解析した。これらの血清に対する抵抗性倍率はいずれも感染した変異株を基準とし、実験にもそれぞれ感染した変異株の S タンパク質シュードウィルスをコントロールとして含めた。図 9 に示すように SARS-CoV-2 感染回復者の血清の場合、従来株だけでなく、オミクロン BA.1 株も含めた変異株であっても、それぞれの感染した変異株に対する中和抗体が誘導されていることがわかった。これはすなわち、オミクロン BA.1 株などの変異株 S タンパク質の免疫原性が低いわけではないことを意味している。しかし、COVID-19 ワクチン接種者血清を用いた解析と一致して（図 7）、パンデミック初期における感染者、アルファ株感染者、デルタ株感染者の回復期血清では、オミクロン BA.1

株および BA.2 株いずれに対しても中和活性が著しく減弱していた (図 9)。一方、オミクロン BA.1 株ブレイクスルー感染 (COVID-19 ワクチンを 2 回以上接種したのちにオミクロン BA.1 株に感染) した人の血清の場合では、試験した全てのドナーでオミクロン BA.1 株およびオミクロン BA.2 株の両方に対する中和活性が確認された (図 9)。重要なことに、オミクロン BA.1 株ブレイクスルー感染者の血清は、オミクロン BA.1 株ではなく従来株に対する中和活性が最も高かった (図 9)。このことは、ブレイクスルー感染の場合誘導される中和抗体では、感染した変異株ではなく、ワクチン株 (ここでは武漢株) に対する中和抗体の割合が多い可能性を示唆している。さらに、COVID-19 ワクチン未接種の状態でオミクロン BA.1 株に感染した人の血清では、オミクロン BA.2 株に対する中和活性が、オミクロン BA.1 株に比べ 4.1 倍低く ($P=0.016$, Wilcoxon signed-rank test)、オミクロン BA.1 株自体に対する中和活性もワクチン接種歴有りの場合に比べ低かった (図 9)。これら結果は、オミクロン BA.2 株の方がオミクロン BA.1 株に比べ、S タンパク質を介した細胞への感染性や中和抗体からの逃避能が上昇していることが、優位に感染を拡大した要因である可能性を示唆している。

4-2. オミクロン BA.2 株の多様化と感染性・中和抗体逃避能の変化

4-2-1. オミクロン BA.5 株の感染性と中和抗体からの逃避

オミクロン BA.2 株はその後以降著しく多様化した（図 1, 10A）。その中でも流行拡大に成功した変異株の一つが「オミクロン BA.4/BA.5 株」であり（S タンパク質の配列は 100% 相同なので、以下オミクロン BA.5 株と記述する）、本邦における第 7 波の主な原因となった（図 2A）。オミクロン BA.5 株は、南アフリカ共和国を中心に 2022 年 5 月頃から流行が広がり始め、2022 年 9 月ごろには全世界の流行株の 70% 以上を占めた（Nextstrain, <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time>）。オミクロン BA.5 株の S タンパク質にはオミクロン BA.2 株と比較して、NTD 内に HV69-70del、RBD 内に L452R、F486V、R493Q の計 4 カ所の変異がある（図 10A）。NTD 内の HV69-70del はアルファ株（B.1.1.7 系統）に代表される変異であり、シュードウウイルスの感染力価（すなわち S タンパク質を介したウイルスの細胞への侵入効率）を上昇することが報告されている⁷¹。同様に RBD 内の L452R はデルタ株（B.1.617.2 系統）に代表される変異で、こちらもヒト ACE2 受容体との結合力や膜融合活性の上昇、シュードウウイルスの感染力価の上昇に寄与することが明らかにされている^{38,40}。また、同時期アメリカを中心とした一部の地域では、同じ 452 番目のアミノ酸変異である L452Q を持つオミクロン BA.2.12.1 株が流行した（図 10A）。重要なことに、オミクロン BA.5 株（南アフリカ共和国において）もオミクロン BA.2.12.1 株（アメリカにおいて）も、いずれも 2022 年 5 月時点でのウイルスの実効再生産数(R_e)が祖先株であるオミクロン BA.2 株よりそれぞれおよそ 1.2 倍、1.1 倍高いことが示されている³⁹。これらの知見は、この 2 つのオミクロン BA.2 株から派生した変異株では、S タンパク質によるウイルス

の感染力の上昇が流行拡大に寄与した可能性を示唆している。

この可能性を検証するため、これらの変異株 S タンパク質を持つシュードウイルスの感染力価を測定した。図 10B に示すように、オミクロン BA.5 株の S タンパク質シュードウイルスの感染力価は、オミクロン BA.2 株に比べおよそ 20 倍も高い値を示した。またオミクロン BA.2.12.1 株も、オミクロン BA.2 株に比べ、シュードウイルスの感染力価が有意に上昇していた (*: $P < 0.01$, two-tailed Student's t tests)。さらに、オミクロン BA.2 株を基に作製した点変異体では、先行研究に一致して、HV69-70del⁷¹ および L452R³⁸ でシュードウイルスの感染力価が上昇し、加えて L452Q と F486V も感染力価の上昇に寄与することが明らかとなった (*: $P < 0.01$, two-tailed Student's t tests)。一方、R493Q はシュードウイルスの感染力価の上昇には影響しなかった (図 10B)。

これらの結果は、オミクロン BA.5 株やオミクロン BA.2.12.1 株は、特に 452 番目に生じたアミノ酸変異によって細胞への感染性が上昇したことが、適応度の上昇に寄与した可能性を示唆している。続いて、オミクロン BA.5 株、BA.2.12.1 株の細胞侵入における TMPRSS2 の影響について調べるために、HEK293-ACE2 細胞と HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞を標的細胞として、同様の感染実験を行った。これまでの実験結果と一致して (図 6C)、オミクロン BA.2 株は従来株と比べ、S タンパク質を介した細胞侵入に TMPRSS2 をほとんど必要としなかった (図 10C)。同じように、オミクロン BA.5 株、BA.2.12.1 株もまた、TMPRSS2 の存在によって感染力価の上昇はほとんど認められなかった (図 10C)。このことは、オミクロン BA.5 株、BA.2.12.1 株も、

祖先株であるオミクロン BA.2 株と同様、TMPRSS2 非依存的経路を利用して細胞へ感染していることを示唆している。

次にこれら変異株に対する中和抗体の効果が、祖先株であるオミクロン BA.2 株に比べどのように変化しているのか検証するため、シュードウイルスと種々のヒト由来の抗血清を用いて感染中和試験を実施した。ここではまず、オミクロン BA.1 株ブレイクスルー感染者（2 回ワクチン接種歴：16 ドナー）、あるいはオミクロン BA.2 株ブレイクスルー感染者（2 回ワクチン接種歴：9 ドナー、3 回ワクチン接種歴：5 ドナー、計 14 ドナー）を用いて、オミクロン株のブレイクスルー感染によって誘導される中和抗体の効果について検証した。オミクロン BA.1 株ブレイクスルー感染者血清の場合、オミクロン BA.5 株に対する中和活性は、オミクロン BA.2 株に比べ 2.3 倍低下していた ($P<0.0001$, Wilcoxon signed-rank test) (図 11A)。同様に、オミクロン BA.2 株ブレイクスルー感染者血清の場合でも、オミクロン BA.5 株に対する中和活性は、オミクロン BA.2 株に比べ 1.8 倍低下していた ($P=0.0059$, Wilcoxon signed-rank test) (図 11B)。また、いずれの血清の場合にも、オミクロン BA.2.12.1 株に対する中和活性は、オミクロン BA.2 株と同程度だった (図 11)。次に、オミクロン BA.2 株を基に作製した点変異体を用いた解析から、オミクロン BA.1 株ブレイクスルー感染者血清の場合には F486V が (図 11A)、オミクロン BA.2 株ブレイクスルー感染者血清の場合には S704L が (図 11B)、それぞれこれらの血清中に含まれる中和抗体からの逃避に寄与していることがわかった。一方、HV69-70del と R493Q は逆にこれらの血清に

より中和されやすくなる変異であった（図 11）（*: $P=0.05$, Wilcoxon signed-rank test）。

続いて、COVID-19 ワクチン 3 回接種後 1 ヶ月および 4 ヶ月のワクチン接種者の血清（BNT162b2（mRNA ワクチン、ファイザー社）、3 回接種 1 ヶ月後、および 4 ヶ月後：15 ドナーでそれぞれ同一ドナー）を用いて、COVID-19 ワクチン接種により誘導される中和抗体について検証した。オミクロン BA.1 株、BA.2 株のブレイクスルー血清の結果と一致して（図 11）、オミクロン BA.5 株はオミクロン BA.2 株に比べ、3 回接種 1 ヶ月後の血清の場合で 1.8 倍抵抗性（ $P=0.0039$, Wilcoxon signed-rank test）

（図 12A）、3 回接種 4 ヶ月後の血清の場合で 1.6 倍抵抗性（ $P=0.0039$, Wilcoxon signed-rank test）であった（図 12B）。ブレイクスルー感染者血清の場合と同様に、ワクチン接種者血清の場合にも、オミクロン BA.2.12.1 株に対する中和活性は、オミクロン BA.2 株と同程度だったが（図 12）、S704L は抵抗性に寄与する変異であることがわかった（図 12）（*: $P=0.05$, Wilcoxon signed-rank test）。以上の結果から、オミクロン BA.5 株はオミクロン BA.2 株に比べ、S タンパク質を介した細胞への感染性および中和抗体からの逃避能の両方が上昇していることが明らかとなった。

4-2-2. オミクロン BA.2.75 株の感染性と中和抗体からの逃避

オミクロン BA.5 株が全世界に流行を拡大していた 2022 年 8 月頃、インド北中部など

一部の地域で流行していた別系統のオミクロン BA.2 株の子孫株が「オミクロン BA.2.75 株」である (図 1, 13A)。2022 年 8 月時点でのウイルスゲノム配列を用いた解析では、インド国内におけるオミクロン BA.2.75 株の実効再生産数 (R_e) はオミクロン BA.5 株よりも 1.3 倍高く、この地域においてはオミクロン BA.5 株よりも拡がりやすいウイルスであった⁵⁸。オミクロン BA.2.75 株の S タンパク質には、オミクロン BA.2 株に比べ、9 カ所のアミノ酸変異がある (図 13A)。重要なことに、オミクロン BA.2.75 株の S タンパク質とヒト ACE2 受容体との結合力は、オミクロン BA.2 株やオミクロン BA.5 株に比べ、著しく上昇していることが示されている^{58,72,73}。そこで、オミクロン BA.2.75 株の S タンパク質を介した細胞への感染性も、オミクロン BA.2 株あるいは BA.5 株に比べ上昇している可能性が考えられた。この可能性を検証するため、オミクロン BA.2.75 株 S タンパク質、およびオミクロン BA.2 株 S タンパク質を基に、オミクロン BA.2.75 株 S タンパク質の変異を一つずつ挿入した点変異 S タンパク質のシュードウイルスをそれぞれ作製し、感染力価を測定した。予想に反して、オミクロン BA.2.75 株 S タンパク質シュードウイルスの感染力価は、オミクロン BA.2 株によりは高いものの、オミクロン BA.5 株のものと比べると低かった(*; $P < 0.05$, two-tailed Student's t tests) (図 13B)。ヒト ACE2 受容体との結合力の解析では^{58,72,73}、単量体の RBD のみの組み替えタンパク質が用いられている。一方で、シュードウイルス感染力価の実験では S タンパク質全長が 3 量体を形成しているため、この実験系の違いが結果の齟齬につながっている理由の一つと考えられる。また、オミクロン BA.2

株を基に作製した点変異体 S タンパク質を用いた解析から、RBD 内の 460 番目の N460K をはじめとする複数のアミノ酸変異がシュードウイルスの感染力価の上昇に寄与することがわかった (図 13B)。一方で、NTD 内の W152R は、シュードウイルスの感染力価を有意に減少させた (*: $P < 0.05$, two-tailed Student's t tests) (図 13B)。これらの結果は、オミクロン BA.5 株同様オミクロン BA.2.75 株も、祖先株であるオミクロン BA.2 株と比べ、S タンパク質を介した細胞への感染性が上昇したことが、流行拡大に寄与した可能性を示唆している。続いて、オミクロン BA.2.75 株の細胞侵入における TMPRSS2 の影響について調べるために、HEK293-ACE2 細胞と HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞を標的細胞として、同様の感染実験を行った。これまでの実験結果と一致して (図 6C, 10C)、オミクロン BA.2 株は従来株と比べ、S タンパク質を介した細胞侵入に TMPRSS2 をほとんど必要としなかった (図 13C)。同じように、オミクロン BA.2.75 株の場合も、TMPRSS2 の存在によって感染力価の上昇はほとんど認められなかった (図 13C)。このことは、オミクロン BA.2.75 株も、祖先株であるオミクロン BA.2 株と同様、TMPRSS2 非依存的経路を利用して細胞へ感染していることを示唆している。

オミクロン BA.5 株は、祖先であるオミクロン BA.2 株に比べ、ウイルスの感染力(ここでは細胞への侵入効率)と COVID-19 ワクチン接種やオミクロン BA.1/BA.2 株ブレイクスルー感染によって誘導される中和抗体からの逃避能の両方が上昇していた (図 10-12)。次に、同じくオミクロン BA.2 株から派生した変異株であるオミク

ロン BA.2.75 株の中和抗体からの逃避能の変化について検証した。オミクロン BA.5 株の解析と同様、シュードウイルスと種々のヒト由来の抗血清を用いて感染中和試験を実施した。まずはオミクロン BA.1 株ブレイクスルー感染者（2 回ワクチン接種歴：16 ドナー）、オミクロン BA.2 株ブレイクスルー感染者（2 回ワクチン接種歴：9 ドナー、3 回ワクチン接種歴：5 ドナー、計 14 ドナー）、さらに加えてオミクロン BA.5 株ブレイクスルー感染者（2 回ワクチン接種歴：2 ドナー、3 回ワクチン接種歴：17 ドナー、4 回ワクチン接種歴：1 ドナー、計 20 ドナー）、を用いてこれらのオミクロン系統株のブレイクスルー感染によって誘導される中和抗体の効果について検証した。これまでの知見に一致して（図 11）^{74,75}、オミクロン BA.5 株は、オミクロン BA.1 株および BA.2 株ブレイクスルー感染によって誘導される中和抗体に対して有意に抵抗性を示した（図 14A, 14B）。一方で、オミクロン BA.2.75 株に対するこれらの血清の中和活性は、オミクロン BA.2 株と同程度であった（図 14A, 14B）⁷²。この結果は、オミクロン BA.2.75 株は、オミクロン BA.5 株に比べて、オミクロン BA.1 株/BA.2 株ブレイクスルー感染によって誘導される中和抗体に対する抵抗性が低い（中和抗体による中和活性が高い）ことを示している。一方で、オミクロン BA.5 株ブレイクスルー感染者血清の場合、オミクロン BA.5 株に比べ、オミクロン BA.2 株は 1.2 倍（ $P=0.037$, Wilcoxon signed-rank test）、オミクロン BA.2.75 株は 1.7 倍（ $P=0.021$, Wilcoxon signed-rank test）抵抗性を示した（図 14C）⁷²。さらに、オミクロン BA.2 株を基に作製した点変異体 S タンパク質を用いた解析から、NTD 内の K147E、W152R、RBD 内の G446S

の複数のアミノ酸変異が、オミクロン BA.5 株ブレイクスルー感染によって誘導される中和抗体に対するオミクロン BA.2.75 株の抵抗性に寄与していた (*: $P=0.05$, Wilcoxon signed-rank test) (図 14C) ⁷²。

続いて、COVID-19 ワクチン (BNT162b2 ; mRNA ワクチン、ファイザー社) 3 回接種後 1 ヶ月および 4 ヶ月のワクチン接種者の血清、3 回接種 1 ヶ月後、および 4 ヶ月後 : 15 ドナーでそれぞれ同一ドナー) を用いて、COVID-19 ワクチン接種により誘導される中和抗体の効果について検証した。先の実験結果と一致して (図 12) ^{74,75}、オミクロン BA.5 株は、ワクチン 3 回接種によって誘導される中和抗体に対して有意に抵抗性を示した (図 15A, 15B)。一方で、オミクロン BA.2.75 株に対するこれらの血清の中和活性は、オミクロン BA.2 株と同程度であった。しかしながら、COVID-19 ワクチン 4 回接種後 1 ヶ月のワクチン接種者の血清 (BNT162b2 (mRNA ワクチン、ファイザー) / mRNA-1273 (mRNA ワクチン、モデルナ)、4 回接種 1 ヶ月後 : 15 ドナー) では、オミクロン BA.2 株に比べて、オミクロン BA.5 株 (2.1 倍抵抗性、 $P=0.00012$, Wilcoxon signed-rank test)、オミクロン BA.2.75 株 (1.7 倍抵抗性、 $P=0.00025$, Wilcoxon signed-rank test) いずれも有意に抵抗性を示した (図 15C)。さらに、オミクロン BA.2 株を基に作製した点変異体 S タンパク質を用いた解析から、NTD 内の 4 つのアミノ酸変異、K147E、W152R、F157L、I210V と、RBD 内の N460K 変異が、4 回のワクチン接種によって誘導される中和抗体に対するオミクロン BA.2.75 株の抵抗性に寄与していた (*: $P=0.05$, Wilcoxon signed-rank test) (図 15C) ⁷²。これらの結果は、オミクロ

ン BA.2.75 株はオミクロン BA.5 株ほどではないが、祖先であるオミクロン BA.2 株と比べて、中和抗体からの逃避能が上昇していることを示している。また、オミクロン BA.5 ブレイクスルー感染者血清の場合には、オミクロン BA.2.75 株はオミクロン BA.5 株よりも抵抗性を示した（図 14C）^{58,72}。このことは、オミクロン BA.2.75 株とオミクロン BA.5 株の S タンパク質の抗原性がそれぞれ異なる可能性を示唆している。

4-3. オミクロン BA.5 株の進化と感染性・中和抗体逃避能の変化

2022 年 10 月頃から 2023 年 1 月頃にかけては、オミクロン BA.5 株の派生株であるオミクロン BQ.1.1 株が出現し、アメリカやイギリス、オーストラリアを中心に世界各地で流行した（図 1, 16A）。GISAID に登録されたウイルスゲノム配列に基づいて推定されたオミクロン BQ.1.1 株の実効再生産数（ R_e ）は、祖先であるオミクロン BA.5 株に比べて 1.7 倍高い値を示した（2022 年 11 月 7 日時点）⁵⁹。これは、2022 年 5 月 15 日時点でのオミクロン BA.2 株とオミクロン BA.5 株の実効再生産数（ R_e ）の差に匹敵する値である³⁹。すなわち、オミクロン BA.2 株からオミクロン BA.5 株へ流行が置き換わったように、オミクロン BA.5 株からオミクロン BQ.1.1 株へ置き換わっていく可能性を示唆している。実際には、オミクロン BQ.1.1 株から少し遅れて出現した別のオミクロン系統株であるオミクロン XBB.1 株が優勢になっていったため（Nextstrain,

<https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time>)、オミクロン BQ.1.1 株が世界中で猛威を振るうことはなかった。

オミクロン BQ.1.1 株の S タンパク質には、オミクロン BA.5 株と比較して、RBD 内に R346T、K444T、N460K という 3 ヶ所のアミノ酸変異がある (図 16A) ^{76,77}。中でも N460K は、オミクロン BA.2.75 株の S タンパク質にも存在した変異であり、ヒト ACE2 受容体との結合力の増加、シュードウイルスの感染力価の上昇、膜融合活性の上昇などに寄与することが示されている ^{58,78}。そこでまず、これらの変異がシュードウイルスの感染力価に与える影響について調べた。これまでの実験結果と一致して (図 13B)、N460K はシュードウイルスの感染力価を著しく上昇させた。R346T もシュードウイルスの感染力価を上昇させたが、K444T はシュードウイルス感染力価には影響を与えなかった (図 16B)。オミクロン BQ.1.1 株 S タンパク質のシュードウイルスの感染力価は、オミクロン BA.5 株よりも著しく高いが、それは N460K 変異体と同程度であるため、オミクロン BQ.1.1 株のシュードウイルス感染力価の上昇は、R346T ではなく、N460K によって規定されていると考えられる (*; $P < 0.05$, two-tailed Student's t tests) (図 16B)。組換え RBD タンパク質を用いた結合アッセイでも同様の結果が示されており、オミクロン BQ.1.1 株の S タンパク質 RBD とヒト ACE2 受容体との結合力は、オミクロン BA.5 株の場合と比べて有意に増加し、それが N460K によって規定されていることが明らかとされている ⁵⁹。これらの結果は、オミクロン BQ.1.1 株 S タンパク質は、祖先であるオミクロン BA.5 株よりもさらにヒト ACE2 受

容体との結合力が増加したために、細胞への侵入効率が増加したことが、流行拡大に寄与している可能性を示唆している。続いて、オミクロン BQ.1.1 株の細胞侵入における TMPRSS2 の影響についても検証した。これまでと同様に、HEK293-ACE2 細胞と HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞を標的細胞として、同様の感染実験を行った。これまでの実験結果と一致して（図 6C, 10C）、オミクロン BA.2 株および BA.5 株は従来株と比べ、S タンパク質を介した細胞侵入に TMPRSS2 をほとんど必要としなかった（図 16C）。同じように、オミクロン BQ.1.1 株の場合も、TMPRSS2 の存在によって感染力価の上昇はほとんど認められなかった（図 16C）。このことは、オミクロン BQ.1.1 株も、祖先株であるオミクロン BA.2 株および BA.5 株と同様、TMPRSS2 非依存的経路を利用して細胞へ感染していることを示唆している。

重要なことに、オミクロン BQ.1.1 株は、アメリカ食品医薬品局（Food and Drug Administration: FDA）で承認されている治療用モノクローナル抗体に対して著しく抵抗性になっていることが示されている^{76,77}。また、COVID-19 に対する不活化ワクチンである CoronaVac（シノバック、中国）のワクチン接種や、CoronaVac 接種後のブレイクスルー感染によって誘導される中和抗体に対しても逃避能が上昇していること、さらにその抵抗性が R346T、K444T によって主に規定されていることが報告されている⁷⁷。しかし、mRNA ワクチンの接種や、接種後の以前のオミクロン系統株によるブレイクスルー感染によって誘導される中和抗体のオミクロン BQ.1.1 株に対する効果は検証されていなかった。そこでここでは、シュードウイルスを用いて、mRNA ワク

チン接種者の血清、mRNA ワクチン接種後にオミクロン BA.2 株/BA.5 株にブレイクスルー感染した人の血清の中和活性について評価した。これまでの実験結果と一致して (図 11B)、mRNA ワクチン接種後にオミクロン BA.2 株にブレイクスルー感染した人の血清の場合 (2 回接種後 : 9 ドナー、3 回接種後 : 5 ドナー、計 14 ドナー)、オミクロン BA.2 株に比べ、オミクロン BA.5 株は有意に (2.5 倍、 $P=0.0002$, Wilcoxon signed-rank test) 抵抗性を示した。オミクロン BQ.1.1 株はそれよりも強力に (6.9 倍、 $P=0.0002$, Wilcoxon signed-rank test) 抵抗性を示すことがわかった (図 17A)。図 16A に示すように、オミクロン BQ.1.1 株 S タンパク質には、R346T、K444、N460K の 3 つのアミノ酸変異が存在する。そこで、これらのどの変異がオミクロン BQ.1.1 株の強力な中和抗体逃避能を規定しているのかについて明らかにするため、オミクロン BA.5 株 S タンパク質をもとに、これらのアミノ酸変異を一つずつ挿入した点変異体を作製して同様の実験を行った。しかしながら、これらの点変異体はいずれも、オミクロン BA.5 株より有意に抵抗性を示さなかったことから、これらの変異が複合的にオミクロン BQ.1.1 株の中和抗体逃避能の上昇に寄与していると考えられる (図 17A)。mRNA ワクチン接種後にオミクロン BA.5 株にブレイクスルー感染した人の血清の場合 (2 回接種後 : 2 ドナー、3 回接種後 : 17 ドナー、4 回接種 : 1 ドナー、計 20 ドナー)、オミクロン BA.5 株に比べ、オミクロン BQ.1.1 株は中和抗体逃避能が上昇していた (5.6 倍、 $P=0.0005$, Wilcoxon signed-rank test) (図 17B)。重要なことに、試験した 20 人のうち 6 人 (2 回接種後 1 人、3 回接種後 5 人) については、この実験条件において、オ

ミクロン BQ.1.1 株に対する中和活性が全く認められなかった。さらに、オミクロン BA.5 株ブレイクスルー血清に対するオミクロン BQ.1.1 株の中和抗体抵抗性を規定する変異を同定するため、先ほどと同様の点変異体を用いて解析した。3 つの点変異体の中で、N460K が元のオミクロン BA.5 株に比べ、有意に抵抗性を示したが（1.6 倍、*: $P < 0.05$, Wilcoxon signed-rank test）、残りの 2 つの変異に関しては有意な差が認められなかった（図 17B）。ただし、オミクロン BA.5 株ブレイクスルー血清に対するオミクロン BQ.1.1 株の抵抗性（5.6 倍）に比べて、N460K による抵抗性（1.6 倍）は著しく低い。これはすなわち、オミクロン BA.2 株ブレイクスルー血清の場合と同じように、オミクロン BQ.1.1 株 S タンパク質にある 3 つのアミノ酸変異（R346T、K444、N460K）が複合的に中和抗体逃避に関与していることを意味している。

次に、mRNA ワクチンの接種者の血清を用いて、オミクロン BQ.1.1 株に対する mRNA ワクチン接種誘導性の中和抗体の効果について検証した。ここでは、武漢株（Wuhan-Hu-1）の S タンパク質に基づいて設計された一価の mRNA ワクチン 4 回接種者血清（19 ドナー）に加えて、武漢株/オミクロン BA.1 株の二価 mRNA ワクチン（22 ドナー）あるいは武漢株/オミクロン BA.5 株の二価 mRNA ワクチン（21 ドナー）を用いて実験を行った。ここでの実験は、池田輝政准教授（熊本大学）ら（一価の mRNA ワクチン 4 回接種者血清）および齊藤暁准教授（宮崎大学）ら（武漢株/オミクロン BA.1 株の二価 mRNA ワクチン接種者血清）との共同で実施した。図 18 に示すように、オミクロン BQ.1.1 株は従来株（B.1.1 系統、D614G 変異を持つ）に比べ、

一価 mRNA ワクチン接種者血清（47 倍、 $P<0.0001$, Wilcoxon signed-rank test）、武漢株/オミクロン BA.1 株の二価 mRNA ワクチン接種者血清（50 倍、 $P<0.0001$, Wilcoxon signed-rank test）、武漢株/オミクロン BA.5 株の二価 mRNA ワクチン接種者血清（26 倍、 $P<0.0001$, Wilcoxon signed-rank test）において有意に抵抗性を示した。さらに点変異体を用いた解析から、一価 mRNA ワクチン接種者血清では、いずれの変異も元のオミクロン BA.5 株と同等の感受性を示したが（図 18A）、少なくとも二つの変異（K444T と N460K）はオミクロン BA.1 株または BA.5 株の二価 mRNA ワクチン接種者血清に対する抵抗性に寄与していた（図 18B, 18C）。これらの結果は、オミクロン BQ.1.1 株 S タンパク質の 3 つのアミノ酸変異（R346T、K444T、N460K）は、オミクロン BQ.1.1 株の中和抗体逃避能を顕著に上昇させ、ヒト集団でのオミクロン BA.5 株感染により誘導される中和抗体から逃避するために重要であることが示唆された。

4-4. オミクロン BA.2.75 株の進化と感染性・中和抗体逃避能の変化

2022 年 9 月ごろから、インドを中心にオミクロン XBB.1 株が急速に流行を拡大した。オミクロン XBB.1 株は 2 種類のオミクロン株「オミクロン BJ.1 株」と「オミクロン BM.1.1.1 株（オミクロン BA.2.75 の子孫株）」が S タンパク質の RBD 内において遺伝子組換えを起こしたことで生じた、これまで出現した SARS-CoV-2 変異ウイルスの中

では珍しいタイプの変異株である（図 19A）。伊東潤平助教（東京大学）らの解析によると、2022 年 11 月時点でのオミクロン XBB.1 株の実効再生産数（ R_e ）は、オミクロン BA.5 株に比べおよそ 1.2 倍高く、他のオミクロン系統株よりも高い値を示すことから、より流行拡大する可能性の高いウイルスであることが示されている⁶⁰。実際、2023 年 10 月現在、世界で流行している主な変異株はオミクロン XBB.1 株から派生した変異株である。オミクロン XBB.1 株の流行拡大に寄与する要因について実験的に検証するため、まず S タンパク質のシュードウイルスを用いた感染実験を行った。図 19B に示すように、祖先株であるオミクロン BA.2 株や BA.2.75 株、さらに従来株（B.1.1 系統）よりも高い感染力を示した（*： $P < 0.05$, two-tailed Student's t tests）。この結果は、オミクロン XBB.1 株の S タンパク質を介した細胞侵入効率が祖先株と比べ高く、これがオミクロン XBB.1 株の流行拡大に寄与する一つの要素であることを意味している。続いて、この高い細胞侵入効率の責任変異の同定を試みた。オミクロン BA.2 株を基に、オミクロン XBB.1 株の S タンパク質に見られるアミノ酸変異を一つずつ挿入した点変異 S タンパク質を作製して、それぞれのシュードウイルスを作製し、同様に感染実験をおこなった。その結果、NTD 内の V83A と、RBD 内の R346T および L386I がシュードウイルスの感染力価の向上に寄与し、一方で NTD 内の 144Y 欠損変異（Y144del）はシュードウイルスの感染力価を著しく減少させることがわかった（図 19B）。池田輝政准教授（熊本大学）らが行った膜融合活性解析では、この V83A が膜融合活性の上昇に寄与することが示されており⁶⁰、膜融合活性の上昇の結果、シ

ュードウイルスの感染力価も向上した可能性が考えられる。また、Jiri Zahradnik 博士（カレル大学、チェコ共和国）らが行った組換え RBD タンパク質と ACE2 タンパク質を用いた結合力の解析から、RBD 内の R346T および L386I がいずれも ACE2 受容体との結合力の増強に寄与していることが明らかとなっており⁶⁰、シュードウイルスの感染力価の向上と相関する。続いて、オミクロン XBB.1 株の細胞侵入における TMPRSS2 の影響についても検証した。さらに、HEK293-ACE2 細胞と HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞を標的細胞として、同様の感染実験を行った。これまでの実験結果と一致して（図 6C, 13C）、オミクロン BA.2 株および BA.2.75 株は従来株と比べ、S タンパク質を介した細胞侵入に TMPRSS2 をほとんど必要としなかった（図 19C）。同じように、オミクロン XBB.1 株の場合も、TMPRSS2 の存在によって感染力価の上昇はほとんど認められなかった（図 19C）。このことは、オミクロン XBB.1 株も、祖先株であるオミクロン BA.2 株および BA.2.75 株と同様、TMPRSS2 非依存的経路を利用して細胞へ感染していることを示唆している。

次に、オミクロン XBB.1 株に対する中和抗体の効果を評価した。同時にオミクロン BA.2 株を基に作製した点変異 S タンパク質シュードウイルスを用いて、オミクロン XBB.1 株 S タンパク質の各変異が中和抗体に対する感受性に与える影響についても調べた。血清には、オミクロン XBB.1 株の祖先株であるオミクロン BA.2 株、もしくは当時の主流株であるオミクロン BA.5 株のブレイクスルー感染者の血清を用いた。図 20 に示すように、驚くべきことに、オミクロン BA.2 株（30 倍、 $P=0.0002$,

Wilcoxon signed-rank test) および BA.5 株 (13 倍、 $P<0.0001$, Wilcoxon signed-rank test) のブレイクスルー感染によって誘導される中和抗体は、オミクロン XBB.1 株に対してほぼ完全に感染中和効果を消失していることが明らかとなった。同様に、従来株 (B.1.1 系統) と比較して、起源株 (Wuhan-hu-1) 対応の mRNA ワクチンを 4 回接種 (23.3 倍、 $P<0.0001$, Wilcoxon signed-rank test)、3 回目以降にオミクロン BA.1 株対応二価 mRNA ワクチン (18.9 倍、 $P<0.0001$, Wilcoxon signed-rank test)、BA.5 株対応二価 mRNA ワクチン (40.6 倍、 $P<0.0001$, Wilcoxon signed-rank test) を接種した人の血清を用いた実験においても、オミクロン XBB.1 株に対する感染中和活性はほとんど認められなかった (図 21)。なお、ここでの実験は、池田輝政准教授 (熊本大学) ら (一価の mRNA ワクチン 4 回接種者血清) および齊藤暁准教授 (宮崎大学) ら (武漢株/オミクロン BA.1 株の二価 mRNA ワクチン接種者血清) との共同で実施した。これらの結果は、オミクロン XBB.1 株はこれまで出現したオミクロン系統株の中で、中和抗体からの逃避能を最も高めた変異株の一つであることを意味している。また、点変異 S タンパク質のシュードウイルスを用いた結果から、オミクロン BA.2 株または BA.5 株のブレイクスルー感染によって誘導される中和抗体に対して、NTD 内の Y144del が免疫逃避に寄与していることがわかった (*: $P<0.05$, Wilcoxon signed-rank test) (図 20)。一方で、ワクチン接種により誘導される中和抗体に対しては、Y144del が免疫逃避に寄与しているわけではなかった (図 21)。また、興味深いことに、オミクロン BA.2 株ブレイクスルーと起源株対応の mRNA ワクチンを 4 回接種によって誘導される中和

抗体に対しては、NTD 内の V83A、および RBD 内の R346T と L386I の変異が中和抗体からの逃避に寄与していた (*: $P<0.05$, Wilcoxon signed-rank test) (図 21)。これらはシュードウイルスの感染力価の向上にも寄与していることから、オミクロン XBB.1 株においては、これらの変異はウイルスにとって多面的に有利になるような変異であることを意味している。

4-5. オミクロン XBB.1 系統株の多様化と感染性・中和抗体逃避能の変化

オミクロン XBB.1 株は、2022 年後半から 2023 年 10 月現在までにさらに多様化しており、オミクロン XBB.1.5 株や EG.5.1 株など複数のオミクロン XBB.1 系統株が世界中で流行している (図 1, 22A) (<https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time>)。具体的には、まずオミクロン XBB.1.5 株が台頭した。オミクロン XBB.1.5 株は 2022 年 12 月ごろより、アメリカを中心に流行が急速に拡大した変異株であり、2023 年 1 月時点での実効再生産数 (R_e) は祖先であるオミクロン XBB.1 株に比べおよそ 1.2 倍高いと推定された⁶¹。オミクロン XBB.1.5 株の S タンパク質には、オミクロン XBB.1 株と比較して、RBD 内に唯一 F486P というアミノ酸変異が存在している。この 486 位はヒト ACE2 受容体との結合面に位置していることから⁷⁹、ヒト ACE2 受容体との相互作用が変化していることが予想された。共同研究者である Jiri Zahradnik 博士 (カレル大

学、チェコ) らが行った結合アッセイでは、驚くべきことに、オミクロン XBB.1.5 株の S タンパク質 RBD とヒト ACE2 受容体との結合力が、オミクロン XBB.1 株に比べ 4.3 倍も上昇していた⁶¹。結合アッセイの結果と一致して⁶¹、オミクロン XBB.1.5 株のシュードウイルス感染力価は、オミクロン XBB.1 株に比べ有意に上昇していることがわかった (*: $P < 0.05$, two-tailed Student's t tests) (図 22B)。

オミクロン XBB.1.5 株の祖先であるオミクロン XBB.1 株は、SARS-CoV-2 感染や COVID-19 ワクチン接種により誘導される中和抗体に対して極めて抵抗性を示す変異株である (図 20, 21)。そこで次に、オミクロン XBB.1.5 株に対する中和抗体の効果について検証した。オミクロン XBB.1 株に対する中和活性がほとんど認められなかったオミクロン BA.2 株/BA.5 株ブレイクスルー感染者の血清を用いて検証したところ、オミクロン XBB.1 株と同様、オミクロン XBB.1.5 株に対してもほとんど中和活性が認められなかった (図 22C, 22D)。これらの結果は、オミクロン XBB.1.5 株が、高い中和抗体逃避能を保持しつつ、F486P 変異によってヒト ACE2 受容体との結合力が上昇し、細胞への感染性が上昇したことが、急激な流行拡大につながったことを示唆している。

2023 年 6 月ごろには、中国を中心として、世界的にオミクロン EG.5.1 株 (別名オミクロン XBB.1.9.2.5.1 株、オミクロン XBB.1.9.2 株から派生) が増え始め⁸⁰、2023 年 7 月時点での実効再生産数 (R_e) はオミクロン XBB.1.5 株 (当時の主流株) に比べても、1.2 倍高い値を示していた⁸⁰。オミクロン EG.5.1 株の S タンパク質には、

祖先であるオミクロン XBB.1.9.2 株（配列はオミクロン XBB.1.5 株と 100%相同である）に比べ、NTD 内に Q52H、RBD 内に F456L という計 2 ヶ所のアミノ酸変異が存在している。オミクロン EG.5.1 株がオミクロン XBB.1.5 株よりもさらに流行拡大した要因を明らかにするため、まずシュードウイルスの感染力価を測定した。同時に、オミクロン XBB.1.5 株の S タンパク質を基に、Q52H と F456L をそれぞれ挿入した点変異体（オミクロン XBB.1.5/1.9.2 株+Q52H およびオミクロン XBB.1.5/1.9.2 株+F456L）も合わせて作製し、シュードウイルスの感染力価を測定した。図 23A に示すように、オミクロン EG.5.1 株のシュードウイルス感染力価は、オミクロン XBB.1.5 株よりも有意に低く、特に F456L がシュードウイルス感染力価の減弱に影響していた (**: $P<0.01$, ***: $P<0.001$, two-tailed Student's t tests)。この結果は、オミクロン EG.5.1 株はオミクロン XBB.1.5 株とは異なる要因で実効再生産数 (R_e) が上昇した可能性を示している。

続いて、オミクロン EG.5.1 株の流行拡大の要因として、中和抗体からの逃避の可能性を検証した。ここでは、オミクロン XBB.1 系統株にブレイクスルー感染したヒトの血清（オミクロン XBB.1.5 株：8 ドナー、オミクロン XBB.1.9 株：6 ドナー、オミクロン XBB.1.16 株：10 ドナー、計 24 ドナー）と、シュードウイルスを用いて感染中和試験を行った。図 23B に示すように、オミクロン XBB.1 系統株ブレイクスルー感染によって誘導される中和抗体に対して、オミクロン XBB.1.5 株は、祖先株であるオミクロン XBB.1 株と同程度の感受性を示す一方で、オミクロン EG.5.1 株はオミ

クロン XBB.1 株よりも 1.4 倍抵抗性を示した ($P<0.0001$, Wilcoxon signed-rank test)。

さらに感染中和力価の値は、オミクロン XBB.1.5/1.9.2 株+Q52H はオミクロン XBB.1 や XBB.1.5/1.9.2 株、XBB.1.16 株と同程度であったが、オミクロン XBB.1.5/1.9.2 株+F456L ではこれが有意に減少していた (1.9 倍、 $P<0.0001$, Wilcoxon signed-rank test)

(図 23B)。また興味深いことに、これらの血清は、オミクロン XBB.1 株に対してもある程度中和活性を示したものの、その中和活性は従来株やその他のオミクロン系統株 (BA.2 株、BA.5 株、BQ.1.1 株) に比べると低く、それらの変異株に比べ、オミクロン XBB.1 株に対する有効な中和抗体が十分に誘導されていないことがわかった(図 23B)。これらの結果は、オミクロン EG.5.1 株の場合、オミクロン XBB.1 株と比較して、S タンパク質を介した感染性の上昇ではなく、中和抗体からの逃避能の上昇が、実効再生産数 (R_e) の上昇に寄与している可能性を示している。重要なことに、2023 年 10 月末時点において、全世界における各変異株の割合を見ると、オミクロン EG.5.1 株が 50% 以上を占めており、最も流行が広がっている変異株と言える (<https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time>)。これらの知見は、中和抗体からの逃避能の向上がオミクロン EG.5.1 株の流行拡大に寄与していることを示唆している。

5. 考察

SARS-CoV-2 は、2019 年 12 月中国武漢市にて出現して以降、およそ 4 年間の流行の中で高度に多様化し、ウイルスゲノムにさまざまな変異を蓄積しながら進化してきた。一般に SARS-CoV-2 を含む RNA ウイルスは、ヒト免疫不全ウイルス⁸¹や A 型インフルエンザウイルス⁸²に代表されるように、ゲノム複製時にエラーが起きやすく変異を起こしやすいことが知られている。しかし、SARS-CoV-2 は NSP14 と呼ばれるゲノム複製時の変異を校正する機能を持つウイルスタンパク質を持っており^{19,83,84}、他の RNA ウイルスと比べると変異が起こりにくいと考えられていた。ところが予想に反して、SARS-CoV-2 はこれまでアルファ株 (B.1.1.7 系統)、ベータ株 (B.1.351 系統)、ガンマ株 (P.1 系統)、デルタ株 (B.1.617.2 系統)、オミクロン株 (B.1.1.529 系統および BA 系統)、そして多数のオミクロン系統株が出現している (図 1)。このようにウイルスが変異していくことは、感染症制御が困難であることの大きな要因である。COVID-19 に限らず、ウイルス感染症の制御を目指すためには、そのウイルスの性状を迅速に解明し、一般社会と情報共有することが必要不可欠である。我々は、COVID-19 パンデミックという有事の中で、国内外の多くの研究者と協力し、これまでに出現した SARS-CoV-2 変異株について、本論文で示した感染性の変化や中和抗体の効果以外にも、そのウイルス学的性状をさまざまな観点からリアルタイムに明らかにしてきた^{17,18,38,39,41,58-62}。特に、本論文の序文で記述したミュー株 (B.1.621 系統) に対する

COVID-19 ワクチン接種者もしくは自然感染回復者の血清の効果を検証した研究は⁵⁶、
Paúl Cárdenas 医師（サン・フランシスコ・デ・キト大学、エクアドル）との連携により、WHO がミュー株を VOI に指定したわずか1週間後にプレプリントとして bioRxiv に実験結果を公開した⁸⁵。また、本論文で示したオミクロン XBB.1.5 株について、オミクロン BA.2 株/BA.5 株ブレイクスルー感染者の血清の効果を検証した研究は⁶¹、伊東准教授（東京大学）らとの連携により、まさにオミクロン XBB.1.5 株が流行拡大している最中、研究開始から2週間ほどでプレプリントとして bioRxiv に実験結果を公開した⁸⁶。このオミクロン XBB.1.5 株に関する研究⁶¹については、2023年1月24日に行われた ECDC/WHO Europe Joint SARS-CoV-2 virus characterisation working group の第17回ミーティングに参加し、研究結果を発表した。このような変異株のリアルタイム解析と、プレプリント等を活用した迅速かつ積極的な一般社会との情報共有体制は、COVID-19 パンデミックにおいて我々のみならず世界の多くの研究チームらによって形作られてきた。これはすなわち、パンデミックという有事において、我々の研究を含めた上記のような研究が極めて重要な意味を持っていることを示している。

ここでは、特に多様化の著しいオミクロン系統株について、S タンパク質を介した細胞への感染性や各変異株に対する中和抗体の効果に関する結果を示した。一連の解析から、オミクロン BA.5 系統株（オミクロン BA.5 株/BQ.1.1 株）（図 10-12, 16-18）およびオミクロン BA.2.75 系統株（オミクロン BA.2.75 株/XBB.1 株）（図 13-15, 19-21）のオミクロン系統の異なる2つの独立した系統において、ウイルスの進化に伴

い、細胞への感染性が段階的に上昇し、また中和抗体からの逃避能も徐々に上昇していることが明らかとなった。特に2つのオミクロン系統株の組換えによって誕生したオミクロン XBB.1 株は、それまで出現した変異株の中で最も中和抗体からの逃避能が高い変異株であった (図 20, 21)。オミクロン XBB.1 株の出現以降は、それから派生したオミクロン XBB.1 系統株が多数流行している (図 1)。オミクロン XBB.1 系統株が世界的な主流株となるきっかけとなったのは、2022 年末のオミクロン XBB.1.5 株の出現と急速な流行拡大である (Neststrain, <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time>)。本研究の結果から、興味深いことに、オミクロン XBB.1.5 株の流行拡大に寄与した要因は、F486P 変異の獲得によるヒト ACE2 受容体との結合力の上昇と細胞への感染性の上昇であり、中和抗体からの逃避能の更なる上昇ではないことが示された (図 22)。これは、オミクロン XBB.1 株の時点で、既に中和抗体からの逃避能が極めて高くなっており、その逃避能を保持しつつ、感染性の上昇に寄与する変異の獲得したことがウイルスが拡がっていくうえで有利であったことを示唆している。実際、オミクロン XBB.1.5 株以外のオミクロン XBB.1 系統株においても、独立にこの変異が獲得されており、これまで出現したほぼ全てのオミクロン XBB.1 系統株がこの変異を有している (Neststrain, https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/6m?c=gt-S_486&gmax=25384&gmin=21563)。一方で、オミクロン XBB.1.5 株に続いて流行拡大したオミクロン XBB.1 系統株の一つであるオミクロン EG.5.1 株の場合、F456L 変異の獲得によってオミクロン XBB.1.5 株に比べ、感染性は低下しており、逆に中和抗体

からの逃避能が上昇していた(図 23)。このことは、オミクロン EG.5.1 株においては、中和抗体からより逃避することに寄与する変異を獲得したことが、流行拡大につながったことを意味している。これらの知見は、次のような可能性を示唆している。すなわち、オミクロン XBB.1 株以前のオミクロン系統株では、細胞への感染性の上昇と中和抗体からの逃避能の更なる上昇の 2 点が、ウイルスの流行拡大において重要な要因であった。しかし、オミクロン XBB.1 系統株では必ずしもその 2 点が重要ではなく、いずれかの上昇に寄与する変異が生じるだけで流行拡大につながることから、オミクロン XBB.1 系統株の以前と以後で、ウイルスの進化パターンが変化している可能性を示唆している。

オミクロン系統株の進化において、中和抗体からの逃避能が段階的に上昇したのは、既存のウイルスと比べ、変異によって抗原性が変化し、抗体を中心とした免疫から逃れるウイルスが選択的に流行したからと考えられる。これはヒト集団内の免疫状態が大きく影響している。オミクロン株(B.1.1.529 系統および BA 系統)が出現した 2021 年 10 月時点で、世界人口の 40%以上は少なくとも 1 回は COVID-19 ワクチンを接種しており、オミクロン株が最初に検出された南アフリカ共和国でも、デルタ株が流行していた時期に比べワクチン接種率はおおよそ 2 倍に増えていた。(Our world in Data, Coronavirus (COVID-19) Vaccinations, <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations>)。また、一部の人(当時、多くは医療従事者)は、ワクチンの 3 回目接種(ブースター接種)を受けており、SARS-CoV-2 変異株の感染に対しても有効な免疫

を獲得していた^{70,87,88}。加えて、COVID-19 ワクチン接種後に SARS-CoV-2 に感染する「ブレイクスルー感染」が確認されるようになった^{89,90}。これらのことから、ワクチン接種の有無やその回数、ワクチン接種後に SARS-CoV-2 に自然感染したか、あるいは未接種の状態で自然感染したかなど、SARS-CoV-2 が出現した直後と比較して、ヒト集団内での免疫の状態が極めて複雑化していたと考えられる。本邦においてもオミクロン（BA.1）株が出現して数ヶ月後の 2022 年 4 月時点では、全人口の 5 割近くが COVID-19 ワクチンを 3 回以上接種しており（デジタル庁、新型コロナワクチンの接種状況 <https://info.vrs.digital.go.jp/dashboard>）、集団内の免疫状態はより多様化しているといえる。SARS-CoV-2 の多様化も、オミクロン株（B.1.1.529 系統および BA 系統）の出現以前と比べ、出現後の方が著しく、2022 年以降はオミクロン株から派生した数多くの変異株が出現している（図 1）。つまり、COVID-19 ワクチンの急速な普及等によりヒト集団内の免疫が広がったため、より免疫から逃れるウイルスが選択的に流行したと言える。

関連して、オミクロン系統株に対する効果的な中和抗体が誘導されにくい原因として「刷り込み免疫（imprinted immunity）」の可能性が挙げられる。COVID-19 パンデミックにおいて開発された種々の COVID-19 ワクチンのうち、第一世代のものは武漢株（Wuhan-Hu-1）の S タンパク質に基づいて設計された一価ワクチンである⁹¹。しかし、これまで出現した多くの変異株、特にオミクロン BA.2 株、BA.5 株、BQ.1.1 株、XBB.1 株、EG.5.1 株など、さまざまなオミクロン系統株はその抗原性の変化によって

⁶⁰、従来株（B.1.1 系統）やより前に出現した変異株よりも高い中和抗体逃避能を示している（図 7, 12, 15）。このような中和抗体逃避能の高い変異株の出現に対して有効な免疫を獲得するため、武漢株の S タンパク質に基づいたワクチンとオミクロン BA.1 株あるいは BA.5 株の S タンパク質に基づいたワクチンを組み合わせた二価ワクチンが開発され⁹²、これまで本邦でも接種が進められてきた。しかしながら、これらの二価ワクチンの追加接種では、オミクロン系統株に対する中和抗体の誘導効率は低く、元の SARS-CoV-2 に対する中和抗体がよく誘導される傾向がある（図 18, 21）⁹³。同様に、オミクロン系統株のブレイクスルー感染でも、自然感染した変異株に対する中和抗体ではなく、元の SARS-CoV-2 に対する中和抗体がよく誘導される傾向がある（図 11, 14, 17, 20）^{61,94,95}。これらの知見は、「刷り込み免疫（imprinted immunity）」の可能性を懸念させている。すなわち、ワクチン接種により第一の抗原（この場合は武漢株の S タンパク質）に暴露されていると、第二の抗原（例えばオミクロン系統株）に対する中和抗体の誘導効率が減弱する可能性を示唆している^{77,92,96,97}。しかし、「刷り込み免疫（imprinted immunity）」によって変異株に対する効果的な抗体の誘導効率が低いからといってワクチンの効果が否定されるわけではないことに留意すべきである。例えば本研究において、オミクロン BA.1 株感染者でワクチン接種歴のある人と無い人の感染回復期血清の中和活性を比較した際には（図 9）、ワクチン接種歴のある人の方が明らかに試験した変異株に対する中和活性が高い。また、ワクチン 3 回接種よりも 4 回接種の方が変異株に対する中和活性が増強している（図 15A, 15C）。加えて、

中和抗体だけでなく、メモリーB細胞の誘導や、中和抗体の産生を促進するヘルパーT細胞や、細胞障害性T細胞などのT細胞応答も生体防御に極めて重要な役割を担っている。重要なことに、COVID-19 ワクチン（ブースター）接種や自然感染によって、オミクロン株を含むさまざまな変異株に対して応答できるメモリーB細胞が増加するほか、CD4 陽性 T 細胞や CD8 陽性 T 細胞の増加が認められており、重症化予防などに十分な効果があることが示されている⁹⁸⁻¹⁰⁰。すなわち、COVID-19 ワクチンの（追加）接種は変異株に対する感染予防や重症化防止に効果的であると考えられる。しかし一方では、デルタ株（B.1.617.2 系統）に代表される L452R はヒト白血球抗原（human leukocyte antigen; HLA）の1種「HLA-A24」を介した細胞性免疫から逃れることが知られており³⁸、この変異はオミクロン BA.5 株などいくつかのオミクロン系統株にも見られている。こうした最近の変異株に対する中和抗体以外の免疫の効果については現在不明な点も多く、今後の研究を注視する必要がある。

これまで示したように、中和抗体からの逃避は、SARS-CoV-2、特にオミクロン系統株において、ウイルスの流行拡大に大きく関わっている。しかし、中和抗体からの逃避に寄与する変異の一部は、ヒト ACE2 受容体との結合能を低下させたり、S タンパク質を介した感染性を減弱させる場合がある。例えば、オミクロン BA.5 株の場合には、S タンパク質 RBD 内に存在する F486V は、ヒト ACE2 受容体との結合能を低下させるが³⁹、オミクロン BA.1 株ブレイクスルー感染や COVID-19 ワクチン接種により誘導される中和抗体に対して抵抗性を示す変異である（図 11A, 12B）。オミ

クロン BA.5 株では同時に S タンパク質 RBD 内に L452R というヒト ACE2 受容体との結合能を上昇させる変異が生じたことで、オミクロン BA.2 株と同等のヒト ACE2 受容体への結合能を保持し³⁹、S タンパク質を介した感染性はオミクロン BA.2 株よりも上昇していた (図 10B)。L452 はヒト ACE2 受容体との結合面付近に位置するアミノ酸残基であり、R452 に変異すること表面電荷が正になることで、ヒト ACE2 受容体の結合面 (負に帯電している) との親和性が増大する³⁸。同じように、オミクロン BA.2.75 株では、S タンパク質の G446S と (オミクロン BA.5 株ブレイクスルー感染により誘導される中和抗体に対する抵抗性の上昇とヒト ACE2 受容体との結合能の低下を示す変異) (図 14C)、N460K や R493Q (ヒト ACE2 受容体との結合能を上昇させる変異)^{58,72} が同時に生じている。構造解析から、例えば N460K の場合は、D420 と分子内で塩橋を形成することが明らかとなり、RBD の立体構造の安定性に寄与する可能性が示唆されているほか、ヒト ACE2 受容体の N90 残基上の N 結合型糖鎖との相互作用を介して、S タンパク質とヒト ACE2 受容体の結合に寄与していると考えられている⁵⁸。さらに、オミクロン XBB.1 株でも S タンパク質の F486S (オミクロン BA.2 株ブレイクスルー感染および COVID-19 ワクチン接種により誘導される中和抗体に対して抵抗性の上昇とヒト ACE2 受容体との結合能の低下を示す変異) (図 20A, 21A, 21B) と、R346T/L368I (ヒト ACE2 受容体との結合能および S タンパク質を介した感染性を上昇させる変異) (図 19B)⁵⁸ が同時に生じている。これらの知見は、オミクロン系統株の進化において、中和抗体からの逃避能の上昇に寄与する代わりに減

弱するヒト ACE2 受容体との結合力を、それを上昇させる変異を同時に獲得することで、ヒト ACE2 受容体との結合や感染性の減弱を補い、両者のバランスを取るように変異を獲得していると考えられる。

このような 2 つの効果を示す変異（すなわち感染性の上昇と中和抗体からの逃避能の上昇）の獲得は S タンパク質の RBD に限ったことではない。オミクロン BA.2.75 株では、NTD 内に K147E/W152R/F157L というアミノ酸変異が存在するが（図 13A）、これらの変異は、NTD を標的とする中和抗体の主要なエピトープに位置している^{51,101}。実際これらはオミクロン BA.5 株ブレイクスルー感染や COVID-19 ワクチン接種により誘導される中和抗体に対する抵抗性に寄与する（図 14C, 15C）。さらに、オミクロン XBB.1 株では、NTD 内の Y144del がオミクロン BA.2 株および BA.5 株ブレイクスルー感染により誘導される中和抗体に対する抵抗性に寄与する（図 20）。一方で、これらの変異（W152R と Y144del）S タンパク質を介した感染性を著しく減弱させる変異である（図 13B, 19B）。つまり、RBD のみならず、S タンパク質全長に渡って、中和抗体からの逃避はウイルスの感染性の低下を伴う場合がある。すなわち SARS-CoV-2 オミクロン系統株は、中和抗体からの逃避能の上昇させる（ウイルスにとって有利となる）と同時に感染性を低下させる（ウイルスにとって不利となる）変異に対して、感染性を上昇させる（ウイルスにとって有利となる）変異を同時に獲得しているケースが多い。こうした S タンパク質を介した感染性と中和抗体からの逃避能のバランスを取ることが、オミクロン系統株の進化の特徴の一つと言える。

なぜ、オミクロン系統株では、中和抗体からの逃避能の上昇に加えて、S タンパク質を介した感染性もウイルスの流行拡大に重要なのか。その理由の可能性の1つとして、オミクロン系統株の細胞侵入経路が、従来株 (B.1.1 系統) や他の変異株と比べて異なる点が挙げられる。従来株 (B.1.1 系統) やデルタ株などと比較して、TMPRSS2 非依存的経路 (エンドソーム経路) を利用して宿主細胞内に侵入することが、オミクロン (BA.1) 株の特徴として挙げられる²⁶。この感染経路では TMPRSS2 による S タンパク質の開裂を受けないため、ウイルスが効率的に宿主細胞に侵入するためには、ヒト ACE2 受容体との相互作用がより重要になる。少なくとも本研究でシュードウイルスを用いて解析した限り、オミクロン系統変異株では、S タンパク質を介した細胞への感染において TMPRSS2 の利用に大きな違いはなく、その依存度は従来株と比べ極めて低い (図 6C, 10C, 13C, 16C, 19C)。この結果は、オミクロン系統株の多様化の中で、細胞への感染経路は大きく変化していないことを示している。一方で、S タンパク質 RBD と感染受容体であるヒト ACE2 受容体との結合力は、その大小関係が必ずしもウイルスの進化の順に比例するわけではないが、オミクロン BA.1 株と比べると、オミクロン BA.2 株から XBB.1 株まではいずれも結合力が増大している^{18,39,58-60}。S タンパク質 RBD とヒト ACE2 受容体の結合力の増大と一致して、各 SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスの感染力価も、オミクロン BA.1 株と比べると、オミクロン BA.2 株から XBB.1 株まではいずれもウイルスの進化に伴って上昇している (図 6B, 10B, 13B, 16B, 19B)。これらの結果から、オミクロン系統株

は著しく多様化した一方で、細胞への主な感染経路として TMPRSS2 に依存しない経路を利用することに変化がないため、ヒト ACE2 受容体の結合および S タンパク質を介した感染性の上昇による感染性の上昇が、より効率的な感染につながると考えられる。

この宿主細胞への感染経路における TMPRSS2 の依存性の違いは、ウイルス感染における病原性との関連が示唆されている。実験動物モデルを用いた解析から、デルタ株など TMPRSS2 依存的経路をよく利用する変異株は、TMPRSS2 の発現量が多い肺組織でよく増殖する一方で、TMPRSS2 非依存的感染経路をよく利用するオミクロン (BA.1) 株は TMPRSS2 の発現量の少ない上気道でよく増殖し、逆に肺組織ではほとんど増殖しない^{17,28,29}。臨床での知見も一致して^{102,103}、オミクロン株は一般的に病原性、重症度が低い。同じウイルスに感染していても、重症度の低い人では惹起される免疫応答が弱く、感染した株に対する中和抗体は十分に誘導されにくいことが予想される。すなわち、オミクロン系統株は他の変異株（例えばデルタ株など）と比べ一般的に重症化しづらいため、オミクロン系統株の S タンパク質特異的な中和抗体が誘導されにくいと考えられる。実際、少なくとも本研究で試験したドナーにおいては、デルタ株の場合と比べオミクロン BA.1 株の場合には、感染したウイルス株に対する特異的な抗体（ここではオミクロン BA.1 株に対して中和活性を示す抗体）の誘導率が低い（図 9）。さらに、オミクロン XBB.1 系統株のブレイクスルー感染者の血清を用いた解析では、最も中和活性を示すのは従来株 (B.1.1 系統) に対してであり、

オミクロン XBB.1 系統株（オミクロン XBB.1.5 株やオミクロン XBB.1.16 株など）に対する中和活性は、他のオミクロン系統株（オミクロン BA.2 株や BA.5 株など）と比べても低い（図 23B）。これらのことから、オミクロン系統株では感染しても一般的に症状が比較的軽微なため、感染したウイルス株に対する特異的な中和抗体が十分に誘導されにくいと考えられる。また、オミクロン系統株の中でもオミクロン XBB.1 系統株は、その免疫原性が低く、感染してもオミクロン XBB.1 系統株に対する中和抗体が十分に誘導されない可能性がある。2023 年 9 月 20 日より、本邦ではオミクロン XBB.1.5 株対応の一価ワクチンの接種が始まっている。プレプリントサーバー medRxiv に公開された研究では、このワクチン接種によって、オミクロン EG.5.1 株に対しても中和効果も上昇し、効果が期待できるとの研究結果が報告されている¹⁰⁴。ただし、オミクロン XBB.1.5 株対応一価ワクチンの効果に関する研究結果はまだ数が多いかないため、他の研究チームからの報告も踏まえて考える必要がある。

最後に、本論文ではオミクロン系統株についてこれまで実施してきた変異株リアルタイム解析の中で、S タンパク質を介した感染性の変化や各ウイルス株に対する中和抗体の効果についてまとめたが、それらについては種々の点変異体を用いた解析を行い、どの変異が重要なのかについて詳細に解析した。このような解析は、COVID-19 パンデミックにおいてウイルスゲノムサーベイランスが非常に大規模行われ、解像度の高い研究が可能になったことによるものである。こうした解析は今後のウイルス進化を予測する手法の開発などに必要な実験データとして、基礎医学研究基

盤の構築に寄与するものである。また、今回の COVID-19 パンデミックという有事の中で、その脅威と最前線で対峙してきた経験は、非常に特殊で貴重な経験であると理解している。この経験を、次なるウイルス感染症による有事の際に生かすことはもちろん、平事においても今後のウイルス学研究の発展に繋げることが、この経験をした人間としての役割だと考えている。

6. 謝辞

本研究を行うにあたり、日々研究指導を賜りました東京大学医科学研究所感染・免疫部門 システムウイルス学分野 佐藤 佳 教授、伊東 潤平 准教授に深謝いたします。また、本研究で使用したヒト由来の臨床血清検体を提供くださいました、京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学講座 高折 晃史 教授、白川 康太郎 講師、インターパーク倉持クリニック 倉持 仁 院長、千葉大学大学院医学研究院 救急集中治療医学 中田孝明 教授、千葉大学大学院医学研究院 分子腫瘍学 金田 篤志 教授、千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学 鈴木 拓児 教授に心より感謝申し上げます。また、本研究で使用したプラスミドや細胞の一部を分与いただきました、国立感染症研究所 徳永 研三 主任研究官に心より感謝申し上げます。また、佐藤教授率いる研究コンソーシアム「The Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium」のメンバーとして参加されている全ての先生やそのラボの皆様にも大変お世話になりました。この場を借りて感謝申し上げます。最後に、所属するシステムウイルス学分野の皆様に深くお礼申し上げます。

7. 参考文献

- 1 Zhou, P. *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* **579**, 270-273, doi:10.1038/s41586-020-2012-7 (2020).
- 2 WHO, WHO Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020., <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>
- 3 Rota, P. A. *et al.* Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science* **300**, 1394-1399, doi:10.1126/science.1085952 (2003).
- 4 WHO, Statement on the second meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV), [https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov))
- 5 Polack, F. P. *et al.* Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med* **383**, 2603-2615, doi:10.1056/NEJMoa2034577 (2020).
- 6 Anderson, E. J. *et al.* Safety and Immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccine in Older Adults. *N Engl J Med* **383**, 2427-2438, doi:10.1056/NEJMoa2028436 (2020).
- 7 Heath, P. T. *et al.* Safety and Efficacy of NVX-CoV2373 Covid-19 Vaccine. *N Engl J*

- Med* **385**, 1172-1183, doi:10.1056/NEJMoa2107659 (2021).
- 8 Falsey, A. R. *et al.* Phase 3 Safety and Efficacy of AZD1222 (ChAdOx1 nCoV-19) Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med* **385**, 2348-2360, doi:10.1056/NEJMoa2105290 (2021).
 - 9 Baum, A. *et al.* REGN-COV2 antibodies prevent and treat SARS-CoV-2 infection in rhesus macaques and hamsters. *Science* **370**, 1110-1115, doi:10.1126/science.abe2402 (2020).
 - 10 Weinreich, D. M. *et al.* REGN-COV2, a Neutralizing Antibody Cocktail, in Outpatients with Covid-19. *N Engl J Med* **384**, 238-251, doi:10.1056/NEJMoa2035002 (2021).
 - 11 O'Brien, M. P. *et al.* Subcutaneous REGEN-COV Antibody Combination to Prevent Covid-19. *N Engl J Med* **385**, 1184-1195, doi:10.1056/NEJMoa2109682 (2021).
 - 12 Pinto, D. *et al.* Cross-neutralization of SARS-CoV-2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody. *Nature* **583**, 290-295, doi:10.1038/s41586-020-2349-y (2020).
 - 13 Gupta, A. *et al.* Early Treatment for Covid-19 with SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody Sotrovimab. *N Engl J Med* **385**, 1941-1950, doi:10.1056/NEJMoa2107934 (2021).
 - 14 Group, A. C.-T. f. I. w. C.-S. Efficacy and safety of two neutralising monoclonal antibody therapies, sotrovimab and BII-196 plus BII-198, for adults hospitalised with COVID-19 (TICO): a randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* **22**, 622-635, doi:10.1016/S1473-3099(21)00751-9 (2022).
 - 15 WHO, Statement on the fifteenth meeting of the IHR (2005) Emergency Committee on

- the COVID-19 pandemic, [https://www.who.int/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-\(covid-19\)-pandemic](https://www.who.int/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-(covid-19)-pandemic)
- 16 O'Toole, A. *et al.* Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool. *Virus Evol* **7**, veab064, doi:10.1093/ve/veab064 (2021).
 - 17 Suzuki, R. *et al.* Attenuated fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Omicron variant. *Nature* **603**, 700-705, doi:10.1038/s41586-022-04462-1 (2022).
 - 18 Yamasoba, D. *et al.* Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2 spike. *Cell* **185**, 2103-2115 e2119, doi:10.1016/j.cell.2022.04.035 (2022).
 - 19 Gordon, D. E. *et al.* A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *Nature* **583**, 459-468, doi:10.1038/s41586-020-2286-9 (2020).
 - 20 Muller, M. *et al.* ORF3c is expressed in SARS-CoV-2-infected cells and inhibits innate sensing by targeting MAVS. *EMBO Rep*, e57137, doi:10.15252/embr.202357137 (2023).
 - 21 Gruell, H. *et al.* Antibody-mediated neutralization of SARS-CoV-2. *Immunity* **55**, 925-944, doi:10.1016/j.immuni.2022.05.005 (2022).
 - 22 Volz, E. Fitness, growth and transmissibility of SARS-CoV-2 genetic variants. *Nat Rev Genet* **24**, 724-734, doi:10.1038/s41576-023-00610-z (2023).
 - 23 Ramasamy, R. Overview of immunological & virological factors driving the evolution

- & global spread of SARS-CoV-2 variants. *Indian J Med Res* **158**, 257-268, doi:10.4103/ijmr.ijmr_2591_22 (2023).
- 24 Mlcochova, P. *et al.* SARS-CoV-2 B.1.617.2 Delta variant replication and immune evasion. *Nature* **599**, 114-119, doi:10.1038/s41586-021-03944-y (2021).
 - 25 Zhao, H. *et al.* SARS-CoV-2 Omicron variant shows less efficient replication and fusion activity when compared with Delta variant in TMPRSS2-expressed cells. *Emerg Microbes Infect* **11**, 277-283, doi:10.1080/22221751.2021.2023329 (2022).
 - 26 Meng, B. *et al.* Altered TMPRSS2 usage by SARS-CoV-2 Omicron impacts infectivity and fusogenicity. *Nature* **603**, 706-714, doi:10.1038/s41586-022-04474-x (2022).
 - 27 Shuai, H. *et al.* Attenuated replication and pathogenicity of SARS-CoV-2 B.1.1.529 Omicron. *Nature* **603**, 693-699, doi:10.1038/s41586-022-04442-5 (2022).
 - 28 Abdelnabi, R. *et al.* The omicron (B.1.1.529) SARS-CoV-2 variant of concern does not readily infect Syrian hamsters. *Antiviral Res* **198**, 105253, doi:10.1016/j.antiviral.2022.105253 (2022).
 - 29 McMahan, K. *et al.* Reduced pathogenicity of the SARS-CoV-2 omicron variant in hamsters. *Med* **3**, 262-268 e264, doi:10.1016/j.medj.2022.03.004 (2022).
 - 30 Ozono, S. *et al.* SARS-CoV-2 D614G spike mutation increases entry efficiency with enhanced ACE2-binding affinity. *Nat Commun* **12**, 848, doi:10.1038/s41467-021-21118-2 (2021).

- 31 Zhang, J. *et al.* Structural impact on SARS-CoV-2 spike protein by D614G substitution. *Science* **372**, 525-530, doi:10.1126/science.abf2303 (2021).
- 32 Zhang, L. *et al.* SARS-CoV-2 spike-protein D614G mutation increases virion spike density and infectivity. *Nat Commun* **11**, 6013, doi:10.1038/s41467-020-19808-4 (2020).
- 33 Hou, Y. J. *et al.* SARS-CoV-2 D614G variant exhibits efficient replication ex vivo and transmission in vivo. *Science* **370**, 1464-1468, doi:10.1126/science.abe8499 (2020).
- 34 outbreak.info, <https://outbreak.info>
- 35 Zahradnik, J. *et al.* SARS-CoV-2 variant prediction and antiviral drug design are enabled by RBD in vitro evolution. *Nat Microbiol* **6**, 1188-1198, doi:10.1038/s41564-021-00954-4 (2021).
- 36 Tian, F. *et al.* N501Y mutation of spike protein in SARS-CoV-2 strengthens its binding to receptor ACE2. *Elife* **10**, doi:10.7554/eLife.69091 (2021).
- 37 Liu, Y. *et al.* The N501Y spike substitution enhances SARS-CoV-2 infection and transmission. *Nature* **602**, 294-299, doi:10.1038/s41586-021-04245-0 (2022).
- 38 Motozono, C. *et al.* SARS-CoV-2 spike L452R variant evades cellular immunity and increases infectivity. *Cell Host Microbe* **29**, 1124-1136 e1111, doi:10.1016/j.chom.2021.06.006 (2021).
- 39 Kimura, I. *et al.* Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2 subvariants, including BA.4 and BA.5. *Cell* **185**, 3992-4007 e3916,

- doi:10.1016/j.cell.2022.09.018 (2022).
- 40 Ferreira, I. *et al.* SARS-CoV-2 B.1.617 Mutations L452R and E484Q Are Not Synergistic for Antibody Evasion. *J Infect Dis* **224**, 989-994, doi:10.1093/infdis/jiab368 (2021).
- 41 Saito, A. *et al.* Enhanced fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Delta P681R mutation. *Nature* **602**, 300-306, doi:10.1038/s41586-021-04266-9 (2022).
- 42 Konno, Y. *et al.* SARS-CoV-2 ORF3b Is a Potent Interferon Antagonist Whose Activity Is Increased by a Naturally Occurring Elongation Variant. *Cell Rep* **32**, 108185, doi:10.1016/j.celrep.2020.108185 (2020).
- 43 Kimura, I. *et al.* Sarbecovirus ORF6 proteins hamper induction of interferon signaling. *Cell Rep* **34**, 108916, doi:10.1016/j.celrep.2021.108916 (2021).
- 44 Xia, H. *et al.* Evasion of Type I Interferon by SARS-CoV-2. *Cell Rep* **33**, 108234, doi:10.1016/j.celrep.2020.108234 (2020).
- 45 Gordon, D. E. *et al.* Comparative host-coronavirus protein interaction networks reveal pan-viral disease mechanisms. *Science* **370**, doi:10.1126/science.abe9403 (2020).
- 46 Thorne, L. G. *et al.* Evolution of enhanced innate immune evasion by SARS-CoV-2. *Nature* **602**, 487-495, doi:10.1038/s41586-021-04352-y (2022).
- 47 Tsujino, S. *et al.* Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron EG.5.1 variant. *bioRxiv*, doi:10.1101/2023.10.19.563209 (2023).

- 48 Yuan, M. *et al.* A highly conserved cryptic epitope in the receptor binding domains of SARS-CoV-2 and SARS-CoV. *Science* **368**, 630-633, doi:10.1126/science.abb7269 (2020).
- 49 Wang, C. *et al.* A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun* **11**, 2251, doi:10.1038/s41467-020-16256-y (2020).
- 50 Greaney, A. J. *et al.* Antibodies elicited by mRNA-1273 vaccination bind more broadly to the receptor binding domain than do those from SARS-CoV-2 infection. *Sci Transl Med* **13**, doi:10.1126/scitranslmed.abi9915 (2021).
- 51 Chi, X. *et al.* A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the Spike protein of SARS-CoV-2. *Science* **369**, 650-655, doi:10.1126/science.abc6952 (2020).
- 52 Liu, L. *et al.* Potent neutralizing antibodies against multiple epitopes on SARS-CoV-2 spike. *Nature* **584**, 450-456, doi:10.1038/s41586-020-2571-7 (2020).
- 53 Madhi, S. A. *et al.* Efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 Covid-19 Vaccine against the B.1.351 Variant. *N Engl J Med* **384**, 1885-1898, doi:10.1056/NEJMoa2102214 (2021).
- 54 Reincke, S. M. *et al.* SARS-CoV-2 Beta variant infection elicits potent lineage-specific and cross-reactive antibodies. *Science* **375**, 782-787, doi:10.1126/science.abm5835 (2022).
- 55 Liu, C. *et al.* The antibody response to SARS-CoV-2 Beta underscores the antigenic distance to other variants. *Cell Host Microbe* **30**, 53-68 e12,

- doi:10.1016/j.chom.2021.11.013 (2022).
- 56 Uriu, K. *et al.* Neutralization of the SARS-CoV-2 Mu Variant by Convalescent and Vaccine Serum. *N Engl J Med* **385**, 2397-2399, doi:10.1056/NEJMc2114706 (2021).
 - 57 Uriu, K. *et al.* Characterization of the Immune Resistance of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Mu Variant and the Robust Immunity Induced by Mu Infection. *J Infect Dis* **226**, 1200-1203, doi:10.1093/infdis/jiac053 (2022).
 - 58 Saito, A. *et al.* Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2.75 variant. *Cell Host Microbe* **30**, 1540-1555 e1515, doi:10.1016/j.chom.2022.10.003 (2022).
 - 59 Ito, J. *et al.* Convergent evolution of SARS-CoV-2 Omicron subvariants leading to the emergence of BQ.1.1 variant. *Nat Commun* **14**, 2671, doi:10.1038/s41467-023-38188-z (2023).
 - 60 Tamura, T. *et al.* Virological characteristics of the SARS-CoV-2 XBB variant derived from recombination of two Omicron subvariants. *Nat Commun* **14**, 2800, doi:10.1038/s41467-023-38435-3 (2023).
 - 61 Uriu, K. *et al.* Enhanced transmissibility, infectivity, and immune resistance of the SARS-CoV-2 omicron XBB.1.5 variant. *Lancet Infect Dis* **23**, 280-281, doi:10.1016/S1473-3099(23)00051-8 (2023).
 - 62 Yamasoba, D. *et al.* Virological characteristics of the SARS-CoV-2 omicron XBB.1.16 variant. *Lancet Infect Dis* **23**, 655-656, doi:10.1016/S1473-3099(23)00278-5 (2023).

- 63 Obermeyer, F. *et al.* Analysis of 6.4 million SARS-CoV-2 genomes identifies mutations associated with fitness. *Science* **376**, 1327-1332, doi:10.1126/science.abm1208 (2022).
- 64 Vohringer, H. S. *et al.* Genomic reconstruction of the SARS-CoV-2 epidemic in England. *Nature* **600**, 506-511, doi:10.1038/s41586-021-04069-y (2021).
- 65 Niwa, H., Yamamura, K. & Miyazaki, J. Efficient selection for high-expression transfectants with a novel eukaryotic vector. *Gene* **108**, 193-199, doi:10.1016/0378-1119(91)90434-d (1991).
- 66 Ozono, S., Zhang, Y., Tobiume, M., Kishigami, S. & Tokunaga, K. Super-rapid quantitation of the production of HIV-1 harboring a luminescent peptide tag. *J Biol Chem* **295**, 13023-13030, doi:10.1074/jbc.RA120.013887 (2020).
- 67 Errico, J. M., Adams, L. J. & Fremont, D. H. Antibody-mediated immunity to SARS-CoV-2 spike. *Adv Immunol* **154**, 1-69, doi:10.1016/bs.ai.2022.07.001 (2022).
- 68 Corti, D., Purcell, L. A., Snell, G. & Veesler, D. Tackling COVID-19 with neutralizing monoclonal antibodies. *Cell* **184**, 3086-3108, doi:10.1016/j.cell.2021.05.005 (2021).
- 69 Andrews, N. *et al.* Covid-19 Vaccine Effectiveness against the Omicron (B.1.1.529) Variant. *N Engl J Med* **386**, 1532-1546, doi:10.1056/NEJMoa2119451 (2022).
- 70 Gruell, H. *et al.* mRNA booster immunization elicits potent neutralizing serum activity against the SARS-CoV-2 Omicron variant. *Nat Med* **28**, 477-480, doi:10.1038/s41591-021-01676-0 (2022).

- 71 Meng, B. *et al.* Recurrent emergence of SARS-CoV-2 spike deletion H69/V70 and its role in the Alpha variant B.1.1.7. *Cell Rep* **35**, 109292, doi:10.1016/j.celrep.2021.109292 (2021).
- 72 Cao, Y. *et al.* Characterization of the enhanced infectivity and antibody evasion of Omicron BA.2.75. *Cell Host Microbe* **30**, 1527-1539 e1525, doi:10.1016/j.chom.2022.09.018 (2022).
- 73 Wang, Q. *et al.* Antigenic characterization of the SARS-CoV-2 Omicron subvariant BA.2.75. *Cell Host Microbe* **30**, 1512-1517 e1514, doi:10.1016/j.chom.2022.09.002 (2022).
- 74 Hachmann, N. P. *et al.* Neutralization Escape by SARS-CoV-2 Omicron Subvariants BA.2.12.1, BA.4, and BA.5. *N Engl J Med* **387**, 86-88, doi:10.1056/NEJMc2206576 (2022).
- 75 Wang, Q. *et al.* Antibody evasion by SARS-CoV-2 Omicron subvariants BA.2.12.1, BA.4 and BA.5. *Nature* **608**, 603-608, doi:10.1038/s41586-022-05053-w (2022).
- 76 Arora, P. *et al.* Omicron sublineage BQ.1.1 resistance to monoclonal antibodies. *Lancet Infect Dis* **23**, 22-23, doi:10.1016/S1473-3099(22)00733-2 (2023).
- 77 Cao, Y. *et al.* Imprinted SARS-CoV-2 humoral immunity induces convergent Omicron RBD evolution. *Nature* **614**, 521-529, doi:10.1038/s41586-022-05644-7 (2023).
- 78 Qu, P. *et al.* Evasion of neutralizing antibody responses by the SARS-CoV-2 BA.2.75

- variant. *Cell Host Microbe* **30**, 1518-1526 e1514, doi:10.1016/j.chom.2022.09.015 (2022).
- 79 Yan, R. *et al.* Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science* **367**, 1444-1448, doi:10.1126/science.abb2762 (2020).
- 80 Kaku, Y. *et al.* Antiviral efficacy of the SARS-CoV-2 XBB breakthrough infection sera against omicron subvariants including EG.5. *Lancet Infect Dis* **23**, e395-e396, doi:10.1016/S1473-3099(23)00553-4 (2023).
- 81 Hahn, B. H. *et al.* Genetic variation in HTLV-III/LAV over time in patients with AIDS or at risk for AIDS. *Science* **232**, 1548-1553, doi:10.1126/science.3012778 (1986).
- 82 Nobusawa, E. & Sato, K. Comparison of the mutation rates of human influenza A and B viruses. *J Virol* **80**, 3675-3678, doi:10.1128/JVI.80.7.3675-3678.2006 (2006).
- 83 Eckerle, L. D. *et al.* Infidelity of SARS-CoV Nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing. *PLoS Pathog* **6**, e1000896, doi:10.1371/journal.ppat.1000896 (2010).
- 84 Graepel, K. W. *et al.* Proofreading-Deficient Coronaviruses Adapt for Increased Fitness over Long-Term Passage without Reversion of Exoribonuclease-Inactivating Mutations. *mBio* **8**, doi:10.1128/mBio.01503-17 (2017).
- 85 Uriu, K. *et al.* Ineffective neutralization of the SARS-CoV-2 Mu variant by convalescent and vaccine sera. *bioRxiv*, doi:10.1101/2021.09.06.459005 (2021).

- 86 Uriu, K. *et al.* Enhanced transmissibility, infectivity and immune resistance of the SARS-CoV-2 Omicron XBB.1.5 variant. *bioRxiv*, doi:10.1101/2023.01.16.524178 (2023).
- 87 Falsey, A. R. *et al.* SARS-CoV-2 Neutralization with BNT162b2 Vaccine Dose 3. *N Engl J Med* **385**, 1627-1629, doi:10.1056/NEJMc2113468 (2021).
- 88 Choi, A. *et al.* Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 variant mRNA vaccine boosters in healthy adults: an interim analysis. *Nat Med* **27**, 2025-2031, doi:10.1038/s41591-021-01527-y (2021).
- 89 Bergwerk, M. *et al.* Covid-19 Breakthrough Infections in Vaccinated Health Care Workers. *N Engl J Med* **385**, 1474-1484, doi:10.1056/NEJMoa2109072 (2021).
- 90 Kustin, T. *et al.* Evidence for increased breakthrough rates of SARS-CoV-2 variants of concern in BNT162b2-mRNA-vaccinated individuals. *Nat Med* **27**, 1379-1384, doi:10.1038/s41591-021-01413-7 (2021).
- 91 Krammer, F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature* **586**, 516-527, doi:10.1038/s41586-020-2798-3 (2020).
- 92 Offit, P. A. Bivalent Covid-19 Vaccines - A Cautionary Tale. *N Engl J Med* **388**, 481-483, doi:10.1056/NEJMp2215780 (2023).
- 93 Wang, Q. *et al.* Antibody Response to Omicron BA.4-BA.5 Bivalent Booster. *N Engl J Med* **388**, 567-569, doi:10.1056/NEJMc2213907 (2023).

- 94 Muik, A. *et al.* Omicron BA.2 breakthrough infection enhances cross-neutralization of BA.2.12.1 and BA.4/BA.5. *Sci Immunol* **7**, eade2283, doi:10.1126/sciimmunol.ade2283 (2022).
- 95 Park, Y. J. *et al.* Imprinted antibody responses against SARS-CoV-2 Omicron sublineages. *bioRxiv*, doi:10.1101/2022.05.08.491108 (2022).
- 96 Reynolds, C. J. *et al.* Immune boosting by B.1.1.529 (Omicron) depends on previous SARS-CoV-2 exposure. *Science* **377**, eabq1841, doi:10.1126/science.abq1841 (2022).
- 97 Park, Y. J. *et al.* Imprinted antibody responses against SARS-CoV-2 Omicron sublineages. *Science* **378**, 619-627, doi:10.1126/science.adc9127 (2022).
- 98 Keeton, R. *et al.* T cell responses to SARS-CoV-2 spike cross-recognize Omicron. *Nature* **603**, 488-492, doi:10.1038/s41586-022-04460-3 (2022).
- 99 GeurtsvanKessel, C. H. *et al.* Divergent SARS-CoV-2 Omicron-reactive T and B cell responses in COVID-19 vaccine recipients. *Sci Immunol* **7**, eabo2202, doi:10.1126/sciimmunol.abo2202 (2022).
- 100 Liu, J. *et al.* Vaccines elicit highly conserved cellular immunity to SARS-CoV-2 Omicron. *Nature* **603**, 493-496, doi:10.1038/s41586-022-04465-y (2022).
- 101 McCallum, M. *et al.* N-terminal domain antigenic mapping reveals a site of vulnerability for SARS-CoV-2. *Cell* **184**, 2332-2347 e2316, doi:10.1016/j.cell.2021.03.028 (2021).

- 102 Davies, M. A. *et al.* Outcomes of laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection in the Omicron-driven fourth wave compared with previous waves in the Western Cape Province, South Africa. *Trop Med Int Health* **27**, 564-573, doi:10.1111/tmi.13752 (2022).
- 103 Abdullah, F. *et al.* Decreased severity of disease during the first global omicron variant covid-19 outbreak in a large hospital in tshwane, south africa. *Int J Infect Dis* **116**, 38-42, doi:10.1016/j.ijid.2021.12.357 (2022).
- 104 Chalkias, S. *et al.* Safety and Immunogenicity of XBB.1.5-Containing mRNA Vaccines. *medRxiv*, doi:10.1101/2023.08.22.23293434 (2023).

8. 図表

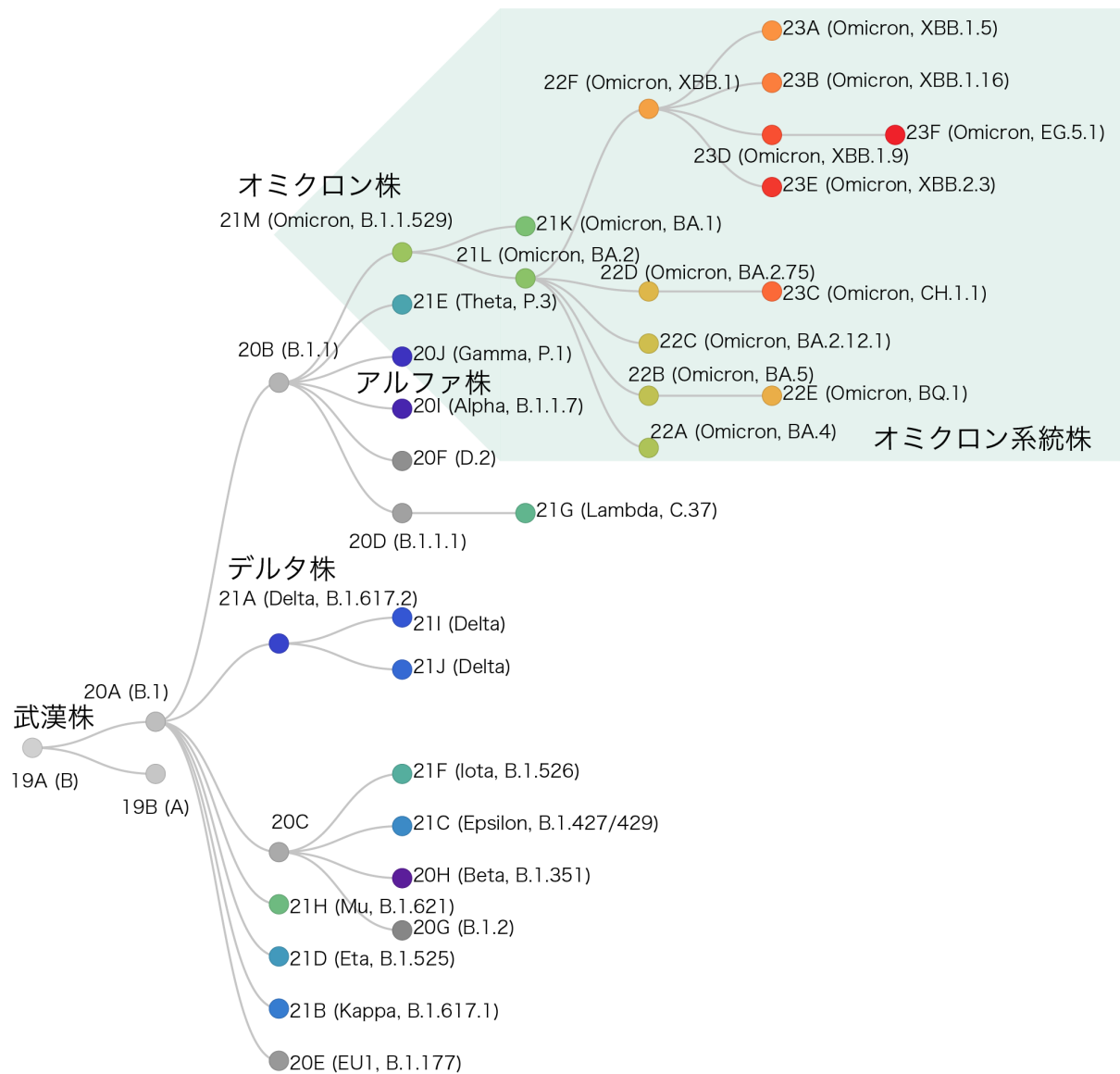


図 1. 模式的な SARS-CoV-2 の系統樹。

これまで出現した主な SARS-CoV-2 変異株が示されており、それぞれ Nextstrain、PANGO 系統、WHO が定義した変異株の名称が記載されている。オミクロン株（B.1.1.529 および BA 系統）から派生したオミクロン系統株は緑色でハイライトした。Nextclade (<https://clades.nextstrain.org/>) より引用・改変した。

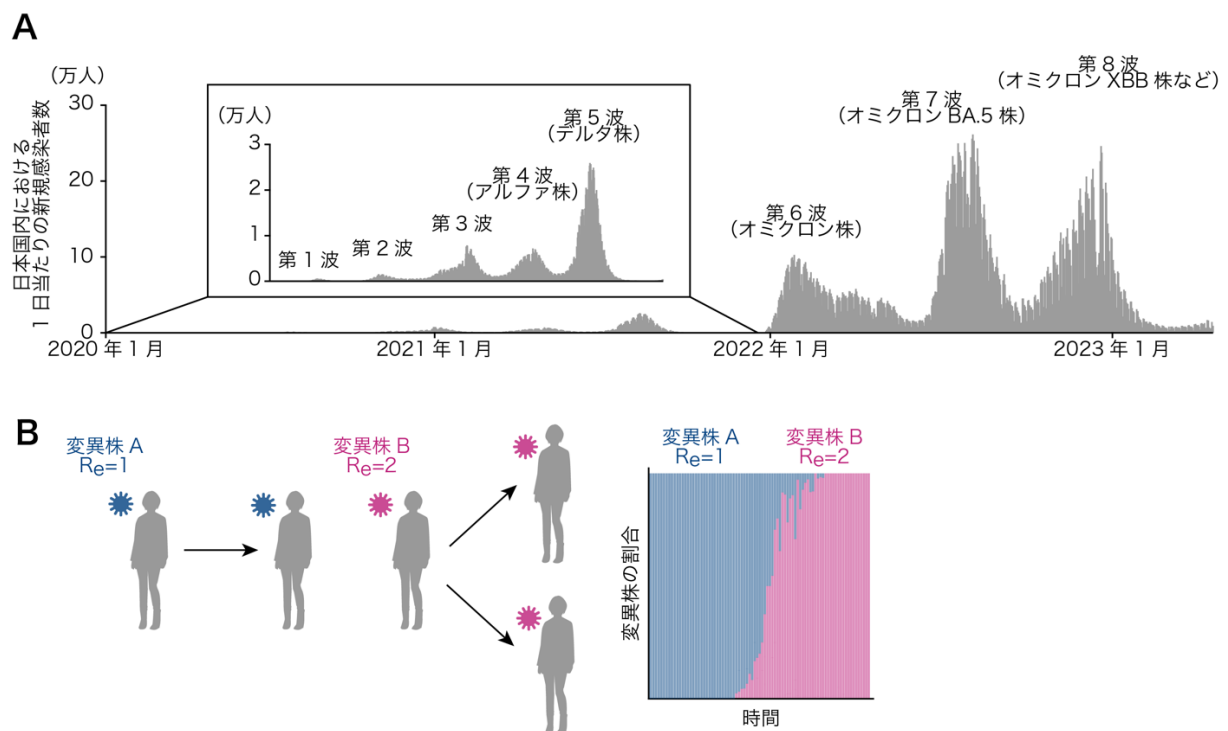


図2. SARS-CoV-2 変異株の変遷と置き換え。

(A) 本邦における1日あたりの新規 SARS-CoV-2 感染者数の推移。これまで本邦で発生した新規感染者数の推移とその主たる原因となった SARS-CoV-2 変異株をそれぞれ示した(第4波以降)。2023年5月8日までの厚生労働省による統計オープンデータ(<https://www.mhlw.go.jp/stf/covid-19/open-data.html>)より引用・作成した。(B) ウイルスの実効再生産数(effective reproduction number, R_e)とウイルスの流行の推移の模式図。変異株 A ($R_e=1$) と変異株 B ($R_e=2$) を例に示す。それぞれのウイルス感染者から生じる二次感染者(左)と時間経過に伴うウイルスの流行動態の変化(右)を模式的に示した。

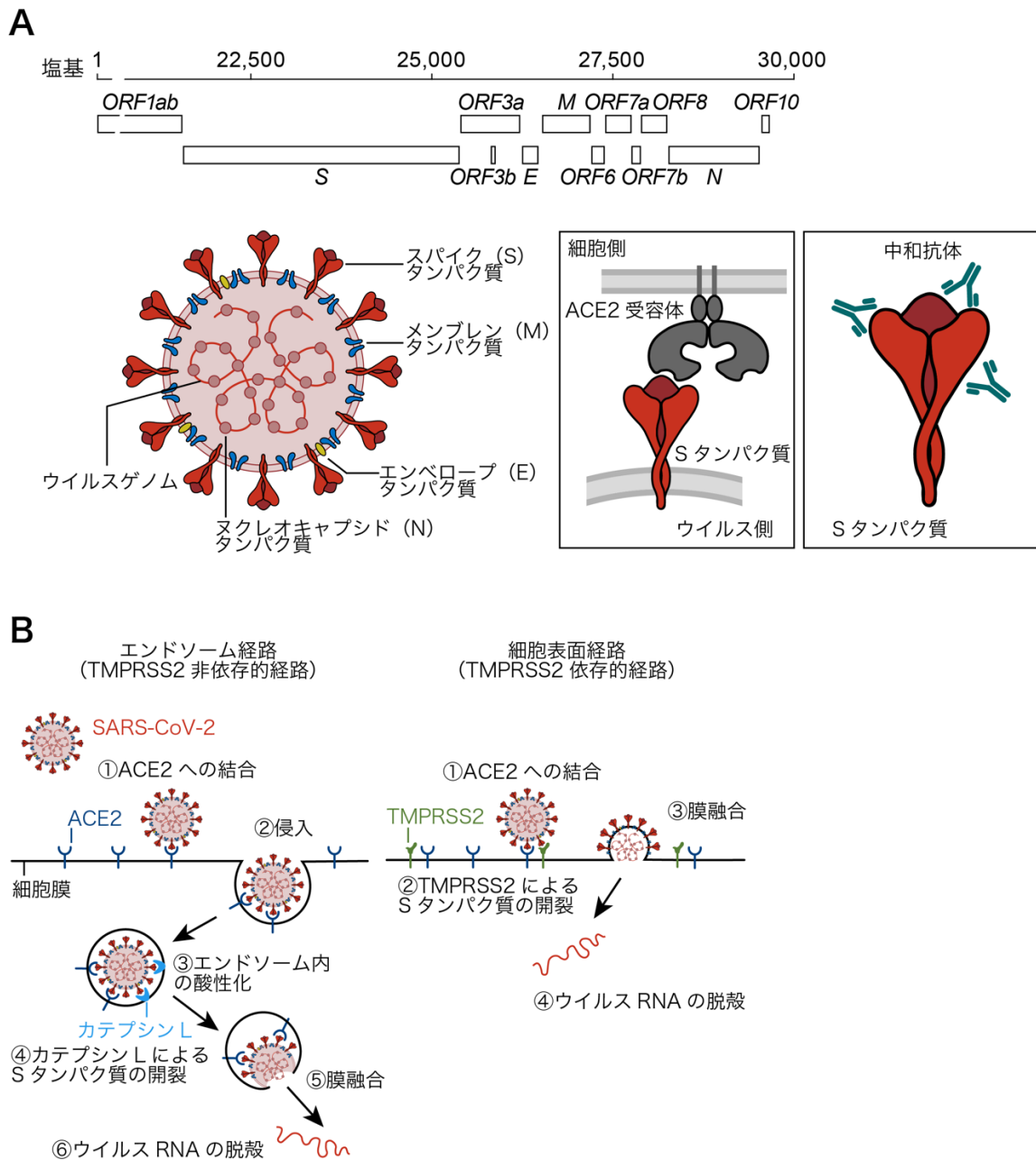


図 3. SARS-CoV-2 のウイルス学的特徴。

(A) SARS-CoV-2 ウイルスゲノムとウイルス粒子構造の模式図。スパイク (S) タンパク質は宿主細胞表面に発現している ACE2 受容体との結合を介した細胞侵入に関わる一方で、ウイルスの侵入を防ぐ中和抗体の主な標的分子である。(B) SARS-CoV-2 の宿主細胞への侵入経路を示した模式図。SARS-CoV-2 の宿主細胞への侵入経路は、宿主プロテアーゼである TMPRSS2 に依存する経路（細胞表面経路）と、TMPRSS2 依存しない経路（エンドソーム経路）の 2 つの細胞内侵入経路が存在する。SARS-CoV-2 変異株によって利用する経路が異なることが知られている。

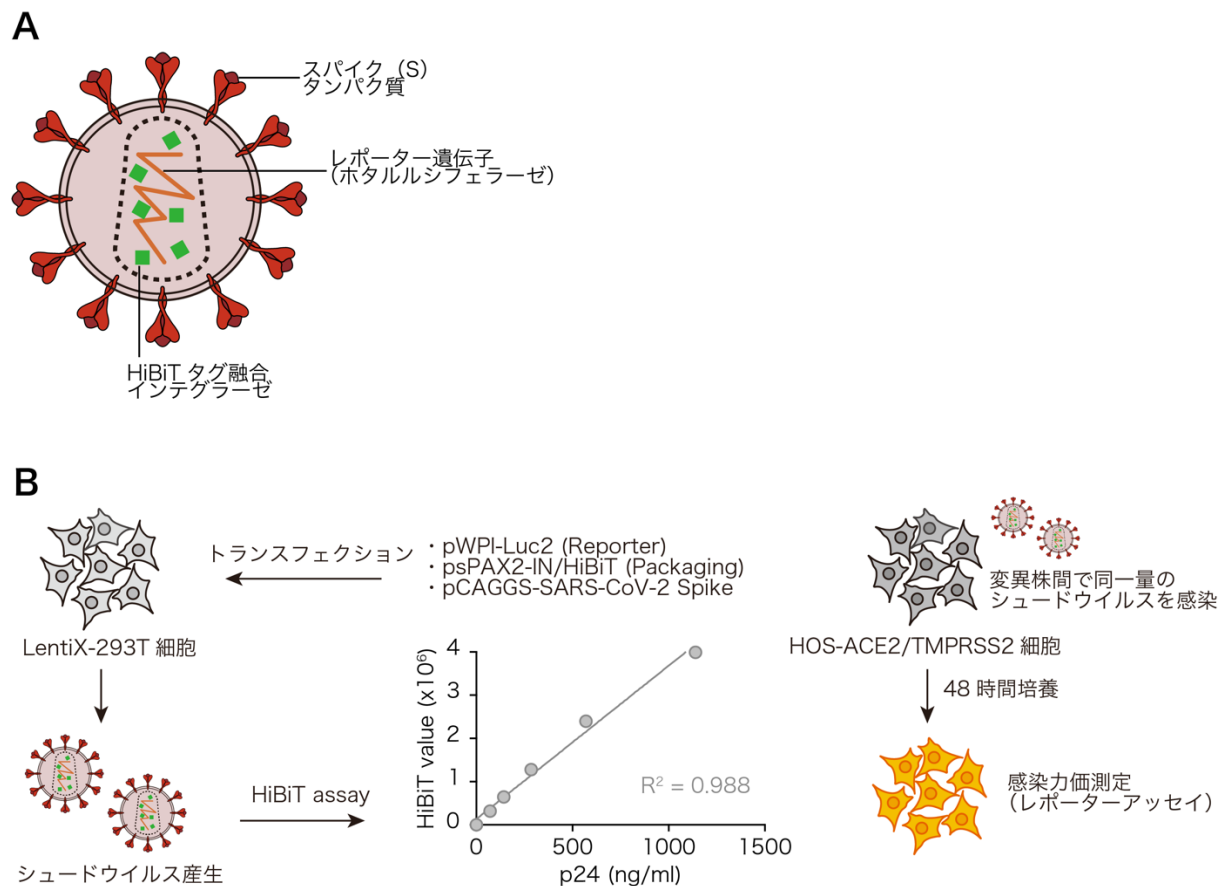


図 4. 本研究で実施したシュードウイルス感染実験の概略図。

(A) 本研究で用いたシュードウイルスの構造。ここではレンチウイルス (HIV-1) 粒子を基に SARS-CoV-2 の S タンパク質を搭載したシュードウイルスを用いた。HIV-1 のウイルスタンパク質であるインテグラーゼには HiBiT タグが付加されるよう設計されている。また、レポーター遺伝子としてホタルルシフェラーゼ遺伝子を導入した。(B) S タンパク質搭載シュードウイルスの作製と感染力価の測定方法。まずシュードウイルスの作製に必要な 3 つのプラスミド ; pWPI-Luc2 (レポータープラスミド)、psPAX2-IN/HiBiT (パッケージングプラスミド)、pCAGGS-SARS-CoV-2 Spike (pCAGGS ベクターに SARS-CoV-2 S 遺伝子をクローニングした S タンパク質発現プラスミド) を LentiX-293T 細胞に共導入した。その後、培養上清中に産生されたシュードウイルス粒子量を HiBiT アッセイにより定量した (左)。シュードウイルス感染力価測定では、同一量 (HIV-1 p24 抗原タンパク質 1000 pg 相当) のシュードウイルス粒子を HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞に感染させ、感染 48 時間後にレポーターアッセイにより感染力価を測定した。

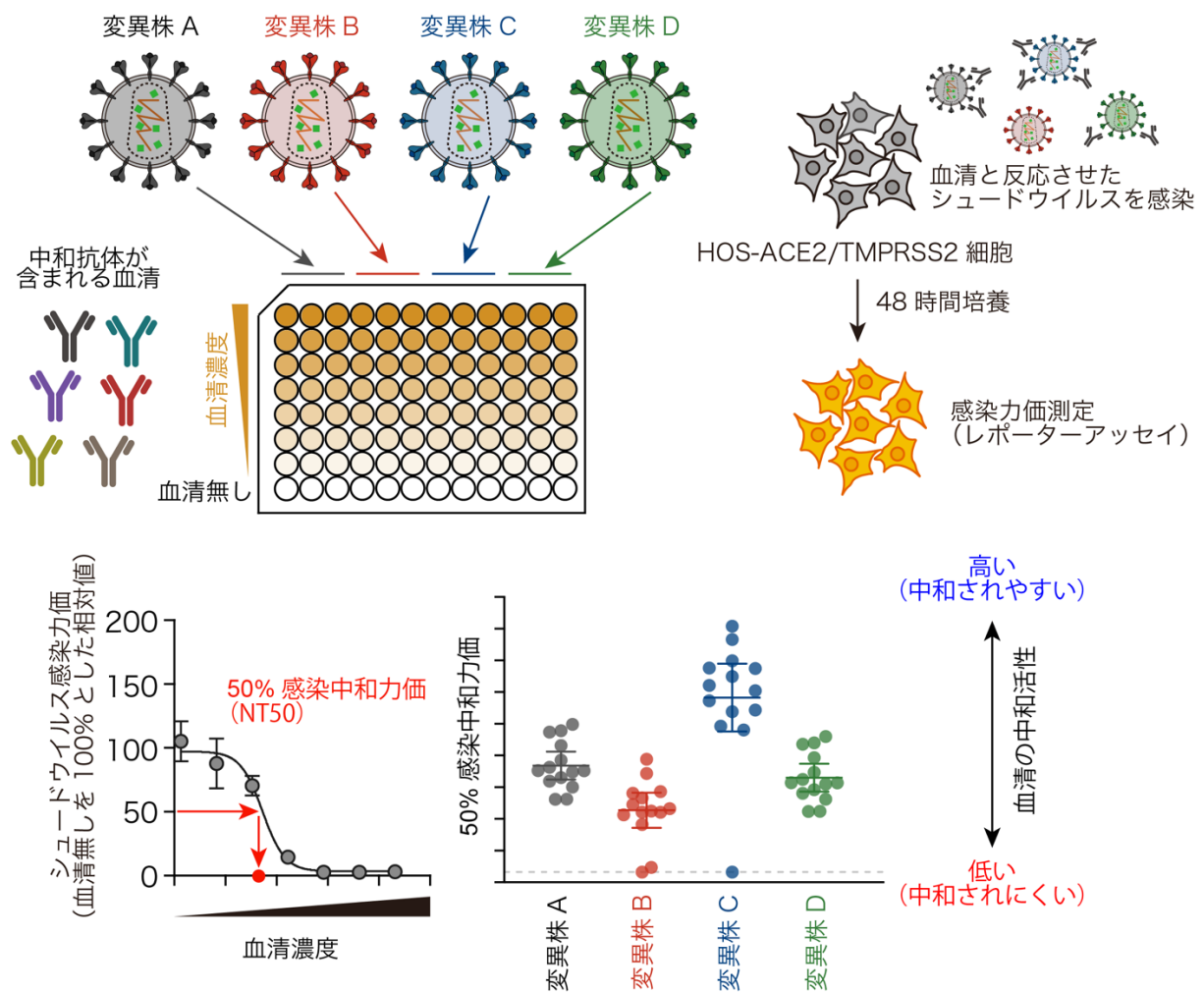


図 5. 本研究で実施した感染中和試験の概略図。

ここではレンチウイルス（HIV-1）粒子を基に S タンパク質を搭載したシュードウイルスを感染中和試験に用いた。まず、種々の中和抗体が含まれるヒト血清を 3 倍ずつ段階希釈した希釈系列を作成し、シュードウイルスと混合した。血清とシュードウイルスの混合液を 37°C で 1 時間反応させた後、HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞に感染させ、感染 48 時間後にシュードウイルスの感染力価をレポーターアッセイにより測定した（上）。血清無しにおけるシュードウイルスの感染力価を基準とし、各血清希釈条件におけるシュードウイルスの感染力価の相対値を算出し、その結果に基づいて、シュードウイルスの感染を 50% 阻害する血清の希釈倍率（50% 感染中和力価）求めた。50% 感染中和力価は Prism 9 を用いて算出した（左下）。最終的に、50% 感染中和力価を縦軸に、各変異株 S タンパク質搭載シュードウイルスに対する 50% 感染中和力価をドナーごとにプロットしたグラフを作成した（右下）。50% 感染中和力価の値が低ければ低いほど、血清に含まれる中和抗体による中和効果が低い、すなわち中和抗体からの逃避能が高いことを示す。

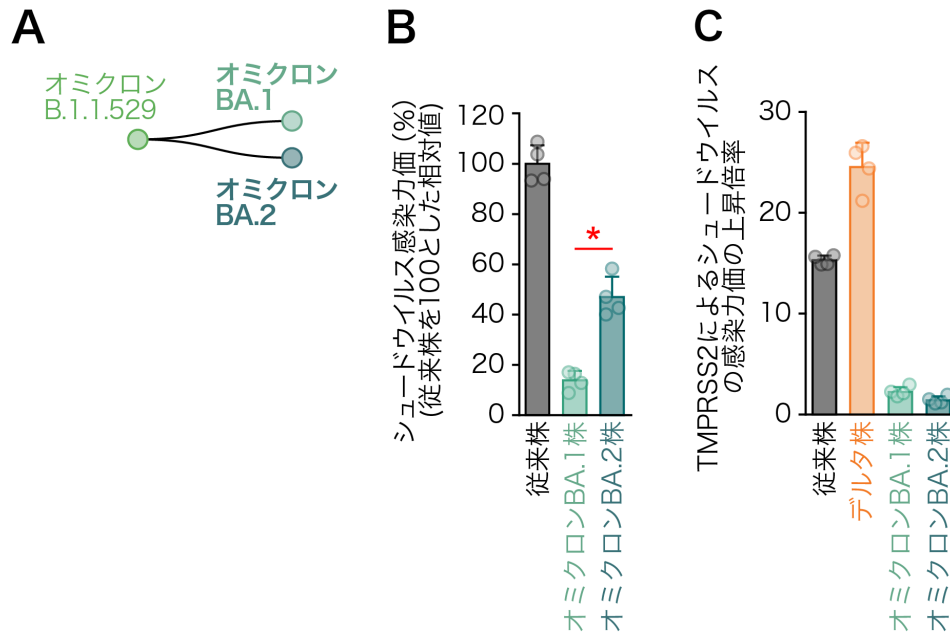


図 6. オミクロン BA.2 株 S タンパク質の感染力価。

(A) 模式的な SARS-CoV-2 の系統樹。図 1 より抜粋した。(B) シュードウイルスアッセイ。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスを HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞に感染させ、感染力価を定量した。感染力価は、従来株 (B.1.1 系統、D614G 変異を持つ) を 100%とした際の相対値で示している。オミクロン BA.1 株と BA.2 株間のシュードウイルス感染力価の統計的有意差は two-tailed Student's t tests によって決定した (*: $P < 0.01$)。(C) シュードウイルスの感染に与える TMPRSS2 の影響。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスを HEK293-ACE2 細胞および HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞に感染させ、感染力価を測定した。シュードウイルスの感染に与える TMPRSS2 の効果は、HEK293-ACE2 細胞での感染力価と HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞における感染力価の比較から算出した TMPRSS2 によるシュードウイルスの感染力価の上昇倍率で評価した。

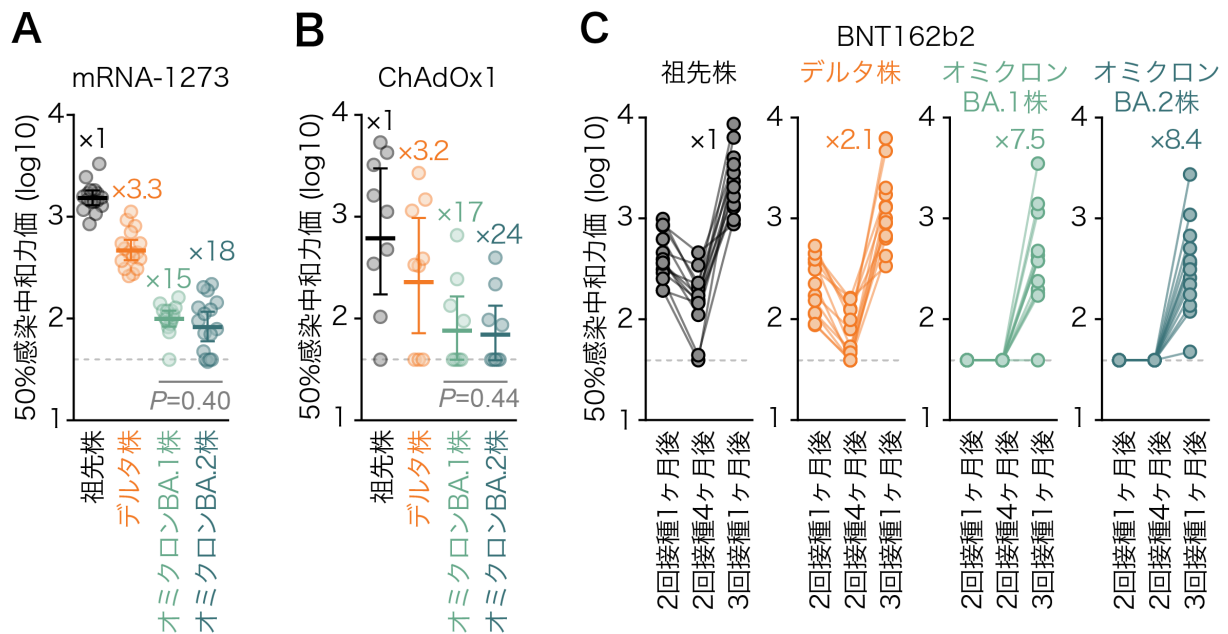


図 7. オミクロン BA.2 株に対するワクチン者血清の中和効果。

(A-C) シュードウイルスを用いた感染中和試験。感染中和試験は、従来株 (B.1.1 系統、D614G 変異を持つ)、デルタ株 (B.1.617.2 系統)、オミクロン BA.1 株および BA.2 株の S タンパク質をそれぞれ持つシュードウイルスを用いて行った。血清は以下に示すものを用いた。(A) mRNA-1273 ワクチン (mRNA ワクチン、モデルナ社、2 回接種 1 ヶ月後 : n=16)、(B) ChAdOx1 ワクチン (アデノウイルスベクターワクチン、アストラゼネカ社、2 回接種 1 ヶ月後 : n=9)、(C) BNT162b2 ワクチン (mRNA ワクチン、ファイザー社、2 回接種 1 ヶ月後、4 ヶ月後、および 3 回接種 1 ヶ月後 : n=13 でそれぞれ同一ドナー)。それぞれの血清検体に対して triplicate で実験を行い、50%感染中和力価を求めた。それぞれのドットは一つの 50%感染中和力価の値を示しており、幾何平均および 95%信頼区間をそれぞれ示している。それぞれの変異株に対する抵抗性倍率を図中に示した。波線は検出限界 (40 倍希釈) を示す。オミクロン BA.1 株と BA.2 株間の統計的有意差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests で検定を行った。使用した血清の情報は表 1 および 2 にまとめた。

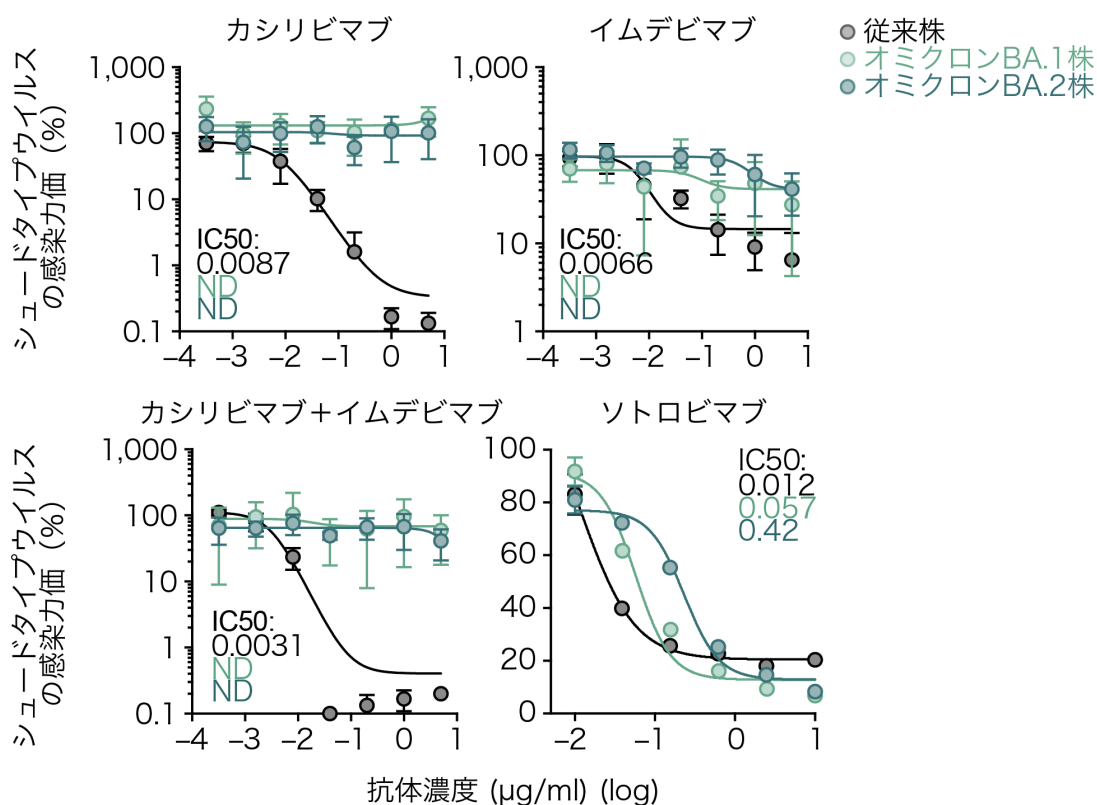


図 8. オミクロン BA.2 株に対する抗体医薬の効果。

感染中和試験は、従来株（B.1.1 系統、D614G 変異を持つ）、オミクロン BA.1 株および BA.2 株の S タンパク質をそれぞれ持つシュードウイルスを用いて行った。抗体医薬（カシリビマブ、イムデビマブ、カシリビマブ+イムデビマブ、ソトロビマブ）はいずれも自作のものを使用した。それぞれの抗体に対して triplicate で実験を行い、50%阻害濃度（50% Inhibition Concentration, IC50）を求めた。IC50 は Prism 9 を用いて算出した。ND, not determined。図は平均値±標準偏差を示している。

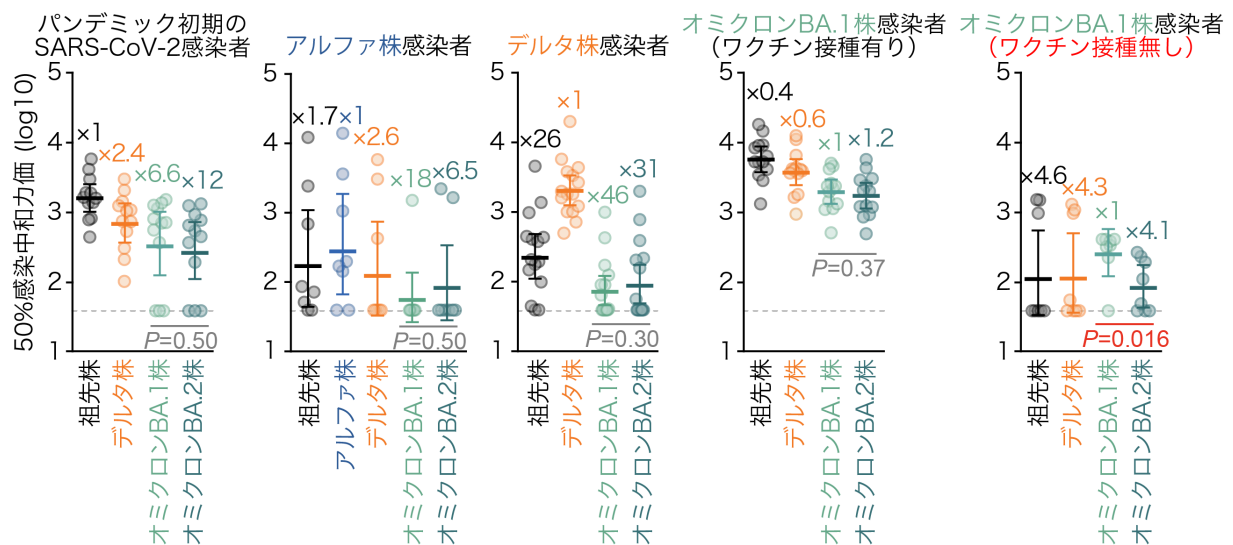


図 9. オミクロン BA.2 株に対する SARS-CoV-2 感染者血清の中和効果。

感染中和試験は、従来株（B.1.1 系統、D614G 変異を持つ）、アルファ株（B.1.1.7 系統）、デルタ株（B.1.617.2 系統）、オミクロン BA.1 株および BA.2 株の S タンパク質をそれぞれ持つシュードウイルスを用いて行った。血清は、パンデミック初期のウイルス（2020 年 3 月まで、n=12）、アルファ株（n=8）、デルタ株（n=15）あるいはオミクロン BA.1 株（ワクチン 2 回接種歴あり：n=13、ワクチン接種歴なしあるいは 1 回のみ接種：n=8）感染回復者血清を用いた。それぞれの血清検体は triplicate で実験を行い、50%感染中和力価を求めた。それぞれのドットは一つの 50%感染中和力価を示しており、幾何平均および 95%信頼区間をそれぞれ示している。それぞれの変異株に対する抵抗性倍率を図中に示した。波線は検出限界（40 倍希釈）を示す。オミクロン BA.1 株と BA.2 株間の統計的有意差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests で検定を行った。使用した血清の情報は表 1 および 2 にまとめた。

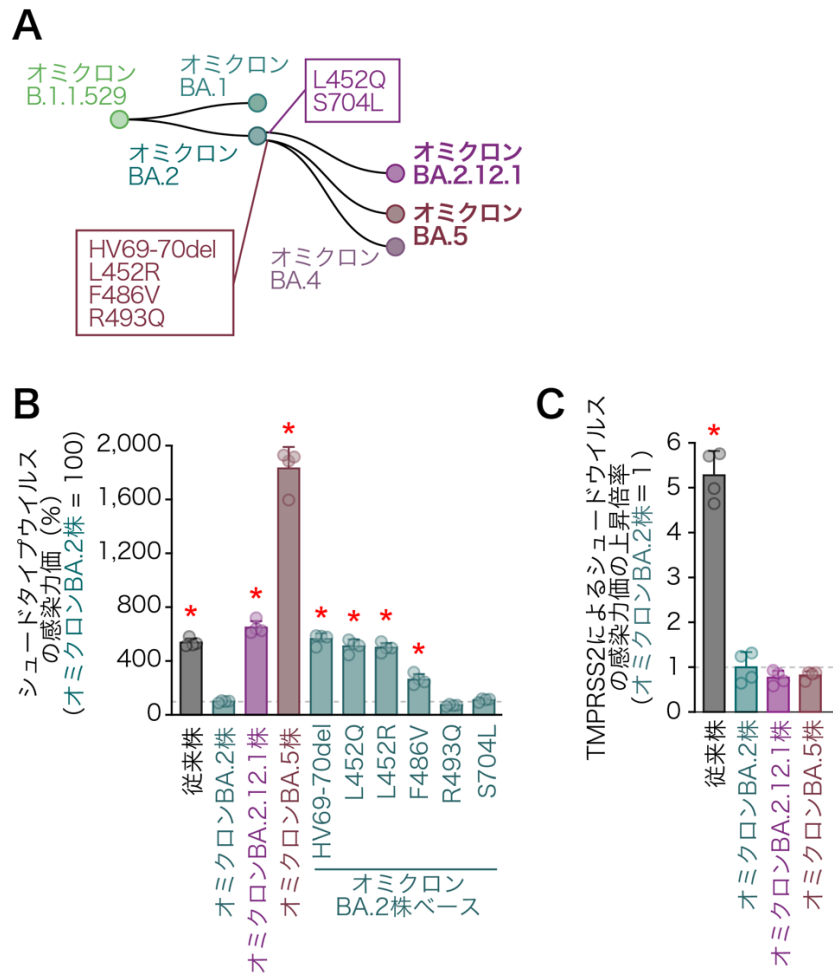


図 10. オミクロン BA.5 株 S タンパク質の感染力価。

(A) 模式的な SARS-CoV-2 の系統樹。図 1 より抜粋した。四角の中には、オミクロン BA.2 株 S タンパク質と比べ、変異株 S タンパク質に存在するアミノ酸変異を記載した。(B) シュードウイルスアッセイ。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスの HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞における感染力価を、オミクロン BA.2 株を 100% とした際の相対値で示している。オミクロン BA.2 株と比較したシュードウイルス感染力価の統計的有意差は two-tailed Student's t tests によって決定した (*: $P < 0.01$)。 (C) シュードウイルス感染における TMPRSS2 の影響。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスの HEK293-ACE2 細胞または HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞における感染力価から、TMPRSS2 によるシュードウイルスの感染力価の上昇倍率を算出した。オミクロン BA.2 株の場合を 1 とした相対値で示している。オミクロン BA.2 株と比較した TMPRSS2 によるシュードウイルスの感染力価の上昇倍率の統計的有意差は two-tailed Student's t tests によって決定した (*: $P < 0.01$)。

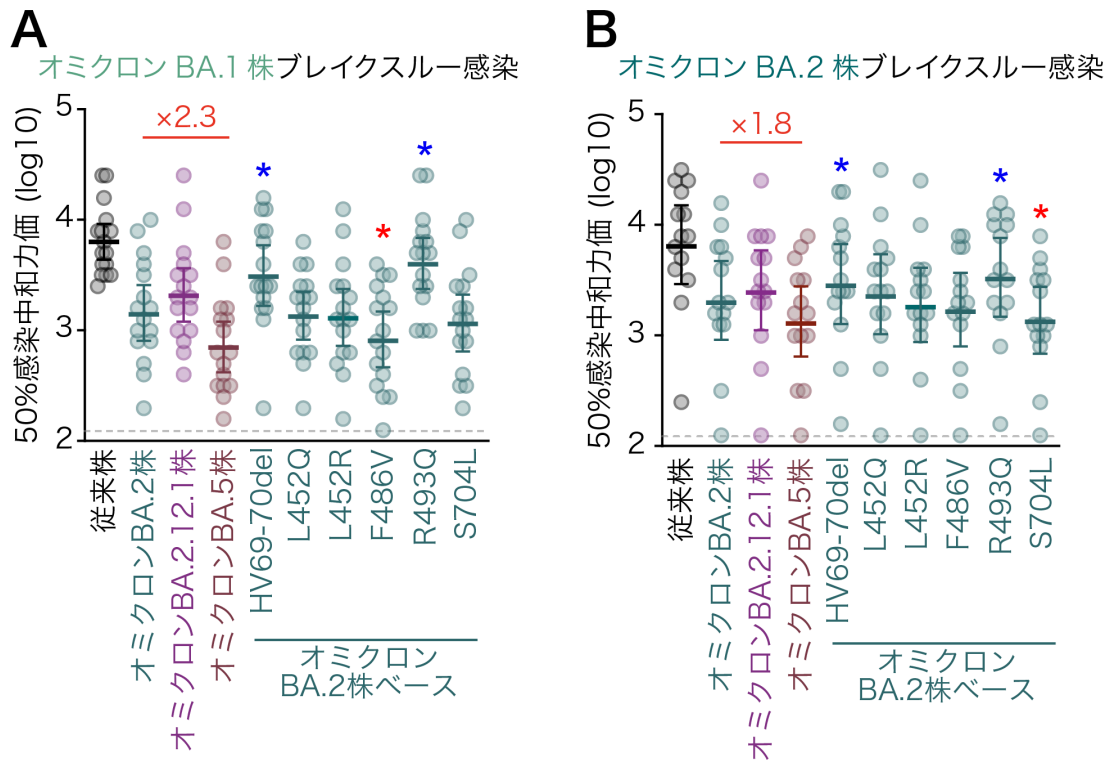


図 11. オミクロン BA.5 株に対するオミクロン BA.1 株/BA.2 株ブレイクスルー感染者血清の効果。

(A,B) シュードウイルスを用いた感染中和試験。実験には、従来株 (B.1.1 系統、D614G を持つ)、オミクロン BA.2 株、BA.2.12.1 株、BA.5 株、および BA.2 株を基に作製した点変異体の S タンパク質を持つシュードウイルスを用いた。血清は以下のものを用いた：オミクロン BA.1 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清 (ワクチン 2 回接種済：16 ドナー) (D)、オミクロン BA.2 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清 (ワクチン 2 回接種済：9 ドナー、ワクチン 3 回接種済：5 ドナー、計 14 ドナー) (E)。50%感染中和力価を求めるために、それぞれの血清について triplicate で実験を行った。図中の各ドットは 1 個の 50%感染中和力価の値を表し、エラーバーは幾何平均値および 95%信頼区間を示す。図中の数字は抵抗性倍率を示す。統計的に有意な差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests によって決定した。赤色のアスタリスクはオミクロン BA.2 株の場合と比べ、中和抗体抵抗性が有意に上昇したもの、青色のアスタリスクは中和抗体抵抗性が有意に減弱したものを示す。横の破線は検出限界 (120 倍) を示す。使用した血清の情報は表 3 および 4 にまとめた。

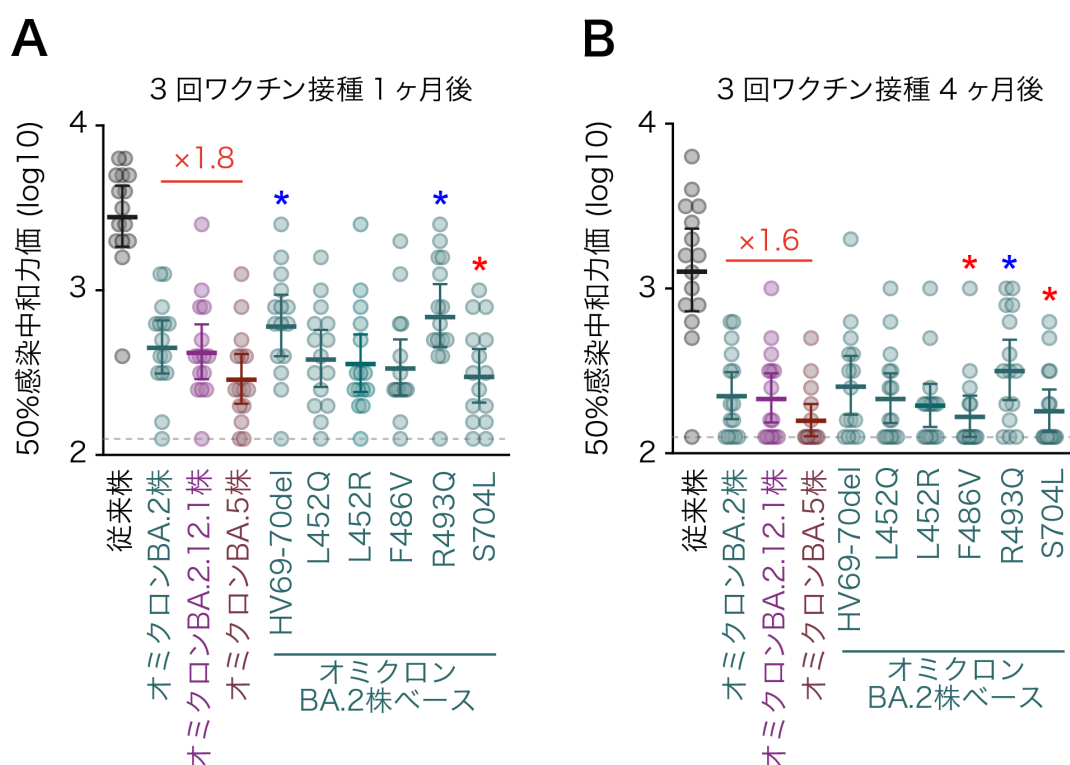
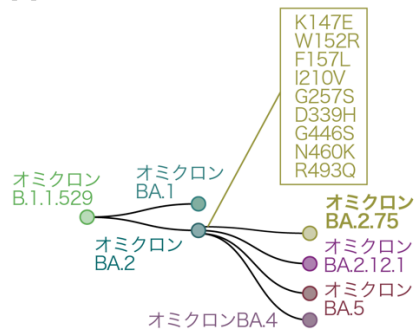


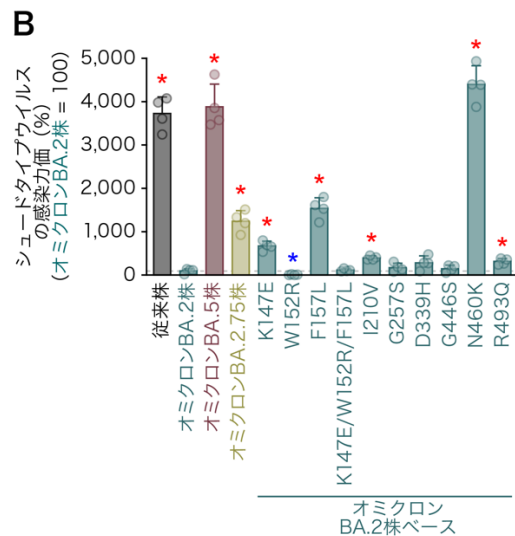
図 12. オミクロン BA.5 株に対するワクチン接種者血清の効果。

(A,B) シュードウイルスを用いた感染中和試験。実験には、従来株 (B.1.1 系統、D614G を持つ)、オミクロン BA.2 株、BA.2.12.1 株、BA.5 株、および BA.2 株を基に作製した点変異体の S タンパク質を持つシュードウイルスを用いた。血清は以下のものを用いた：一価ワクチン 3 回接種 1 ヶ月後 (A) および 4 ヶ月後 (B) のワクチン血清 (15 ドナー、いずれも同一のドナー)。50%感染中和力価を求めるために、それぞれの血清について triplicate で実験を行った。図中の各ドットは 1 個の 50%感染中和力価の値を表し、エラーバーは幾何平均値および 95%信頼区間を示す。図中の数字は抵抗性倍率を示す。統計的に有意な差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests によって決定した。赤色のアスタリスクはオミクロン BA.2 株の場合と比べ、中和抗体抵抗性が有意に上昇したもの、青色のアスタリスクは中和抗体抵抗性が有意に減弱したものを示す。横の破線は検出限界 (120 倍) を示す。使用した血清の情報は表 3 および 4 にまとめた。

A



B



C

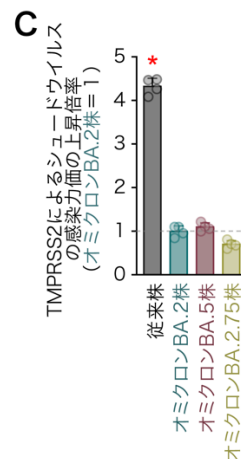


図 13. オミクロン BA.2.75 株の感染力価。

(A) 模式的な SARS-CoV-2 の系統樹。図 1A より抜粋した。四角の中には、オミクロン BA.2 株に比べ、変異株 S タンパク質に存在するアミノ酸変異を記載した。

(B) シュードウイルスアッセイ。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスの HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞における感染力価を、オミクロン BA.2 株を 100%とした際の相対値で示している。オミクロン BA.2 株と比較したシュードウイルス感染力価の統計的有意差は two-tailed Student's t tests によって決定した (*: $P < 0.01$)。赤色のアスタリスクはオミクロン BA.2 株の場合と比べ、感染力価が有意に上昇したもの、青色のアスタリスクは感染力価が有意に減弱したものを示す。(C) シュードウイルス感染における TMPRSS2 の影響。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスの HEK293-ACE2 細胞または HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞における感染力価から、TMPRSS2 によるシュードウイルスの感染力価の上昇倍率を算出した。オミクロン BA.2 株の場合を 1 とした相対値で示している。オミクロン BA.2 株と比較した TMPRSS2 によるシュードウイルスの感染力価の上昇倍率の統計的有意差は two-tailed Student's t tests によって決定した (*: $P < 0.01$)。

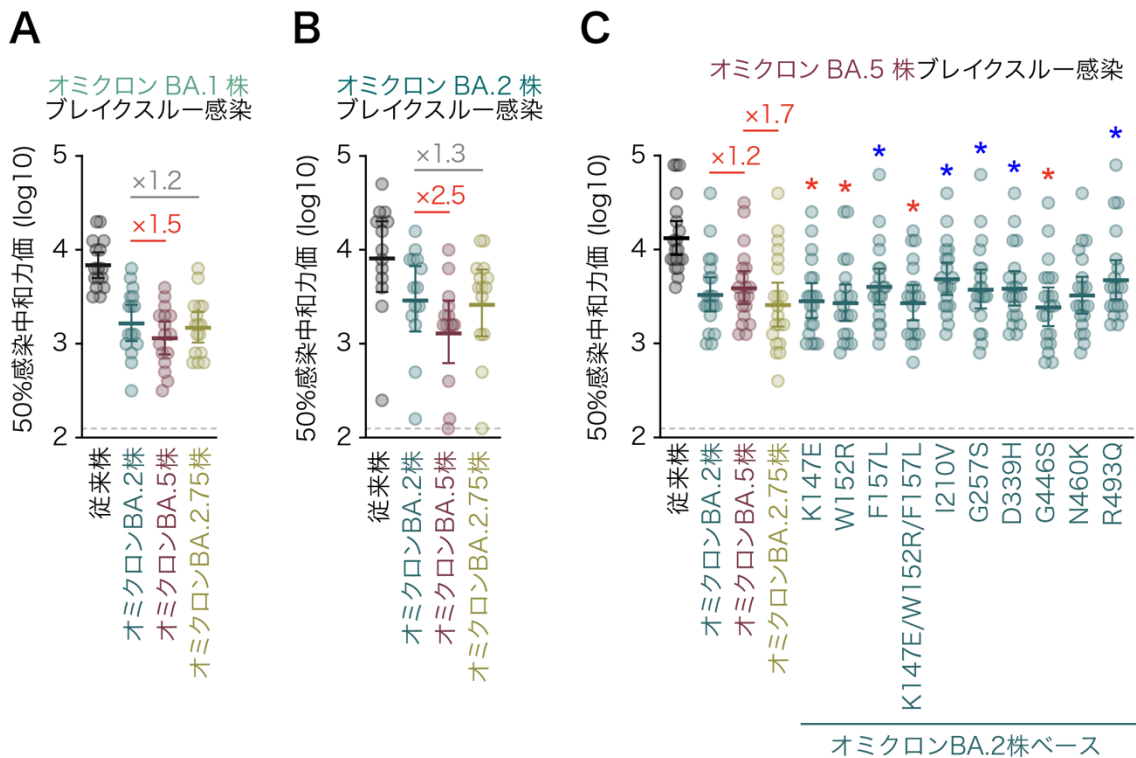


図 14. オミクロン BA.2.75 株に対するオミクロン BA.1 株/BA.2 株/BA.5 株ブレイクスルー感染者血清の効果。

(A-C) シュードウイルスを用いた感染中和試験。実験には、従来株 (B.1.1 系統、D614G を持つ)、オミクロン BA.2 株、BA.5 株、BA.2.75 株、および BA.2 株を基に作製した点変異体の S タンパク質を持つシュードウイルスを用いた。血清は以下のものを用いた：オミクロン BA.1 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清 (ワクチン 2 回接種済：16 ドナー) (A)、オミクロン BA.2 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清 (ワクチン 2 回接種済：9 ドナー、ワクチン 3 回接種済：5 ドナー、計 14 ドナー) (B)、オミクロン BA.5 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清 (2 回接種済：2 ドナー、3 回接種済：17 ドナー、4 回接種済：ドナー1、計 20 ドナー) (C)。

50%感染中和力価を求めるために、それぞれの血清について triplicate で実験を行った。図中の各ドットは 1 個の 50%感染中和力価の値を表し、エラーバーは幾何平均値および 95%信頼区間を示す。図中の数字は抵抗性倍率を示す。統計的有意差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests によって決定した。赤色のアスタリスクはオミクロン BA.2 株の場合と比べ、中和抗体抵抗性が有意に上昇したもの、青色のアスタリスクは中和抗体抵抗性が有意に減弱したものを示す。横の破線は検出限界 (120 倍) を示す。使用した血清の情報は表 5 および 6 にまとめた。

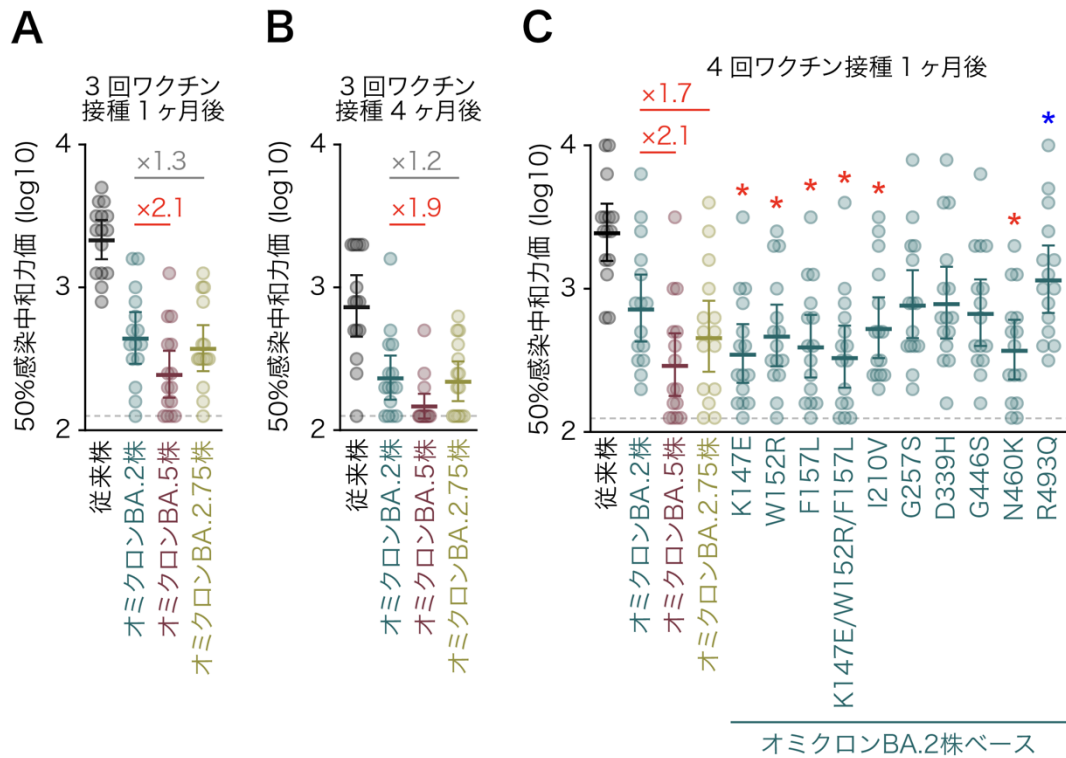


図 15. オミクロン BA.2.75 株に対するワクチン接種者血清の効果。

(A-C) シュードウイルスを用いた感染中和試験。実験には、従来株 (B.1.1 系統、D614G を持つ)、オミクロン BA.2 株、BA.5 株、BA.2.75 株、および BA.2 株を基に作製した点変異体の S タンパク質を持つシュードウイルスを用いた。血清は以下のものを用いた：一価ワクチン 3 回接種 1 ヶ月後 (A) および 4 ヶ月後 (B) のワクチン血清 (15 ドナー、いずれも同一のドナー)、一価ワクチン 4 回接種 1 ヶ月後のワクチン血清 (15 ドナー) (C)。50%感染中和力価を求めるために、それぞれの血清について triplicate で実験を行った。図中の各ドットは 1 個の 50%感染中和力価の値を表し、エラーバーは幾何平均値および 95%信頼区間を示す。図中の数字は抵抗性倍率を示す。統計的有意差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests によって決定した。赤色のアスタリスクはオミクロン BA.2 株の場合と比べ、中和抗体抵抗性が有意に上昇したもの、青色のアスタリスクは中和抗体抵抗性が有意に減弱したものを示す。横の破線は検出限界 (120 倍) を示す。使用した血清の情報は表 5 および 6 にまとめた。

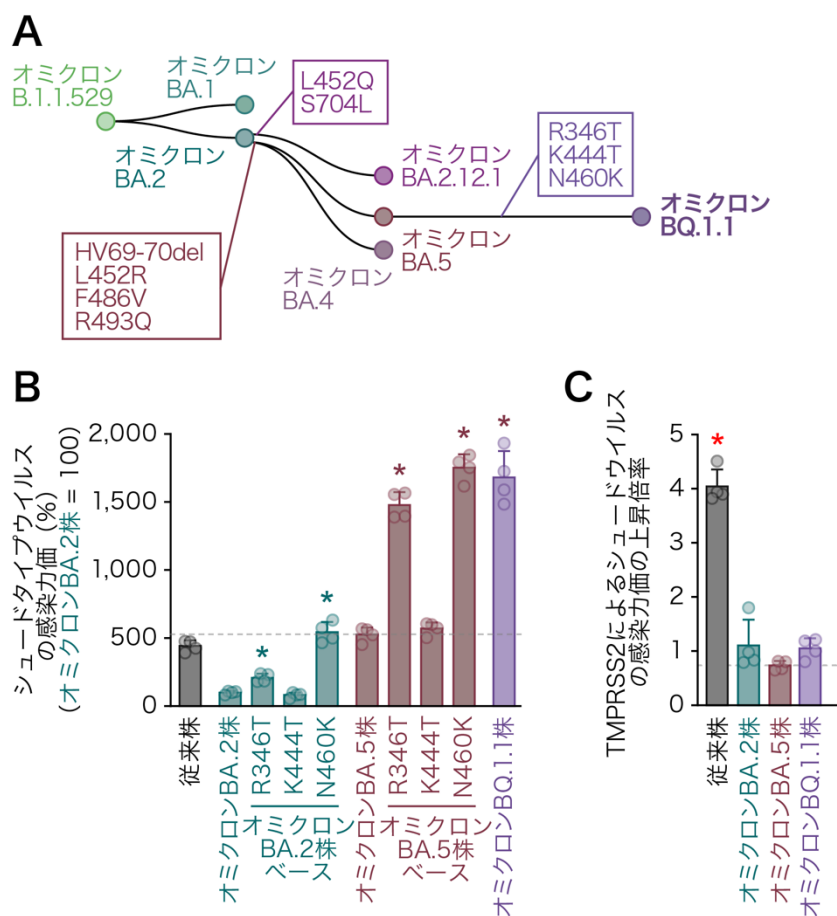


図 16. オミクロン BQ.1.1 株の感染力価。

(A) 模式的な SARS-CoV-2 の系統樹。図 1A より抜粋した。四角の中には、オミクロン BA.2 株に比べ、変異株 S タンパク質に存在するアミノ酸変異を記載した。

(B) シュードウイルスアッセイ。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスの HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞における感染力価を、オミクロン BA.2 株を 100%とした際の相対値で示している。オミクロン BA.2 株と比較したシュードウイルス感染力価の統計的有意差は two-tailed Student's t tests によって決定した (*: $P < 0.01$)。緑色のアスタリスクはオミクロン BA.2 株の場合と比べて、濃い赤色のアスタリスクはオミクロン BA.5 株の場合と比べて感染力価が有意に上昇したものを示す。(C) シュードウイルス感染における TMPRSS2 の影響。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスの HEK293-ACE2 細胞または HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞における感染力価から、TMPRSS2 によるシュードウイルスの感染力価の上昇倍率を算出した。オミクロン BA.2 株の場合を 1 とした相対値で示している。オミクロン BA.2 株と比較した TMPRSS2 によるシュードウイルスの感染力価の上昇倍率の統計的有意差は two-tailed Student's t tests によって決定した (*: $P < 0.01$)。

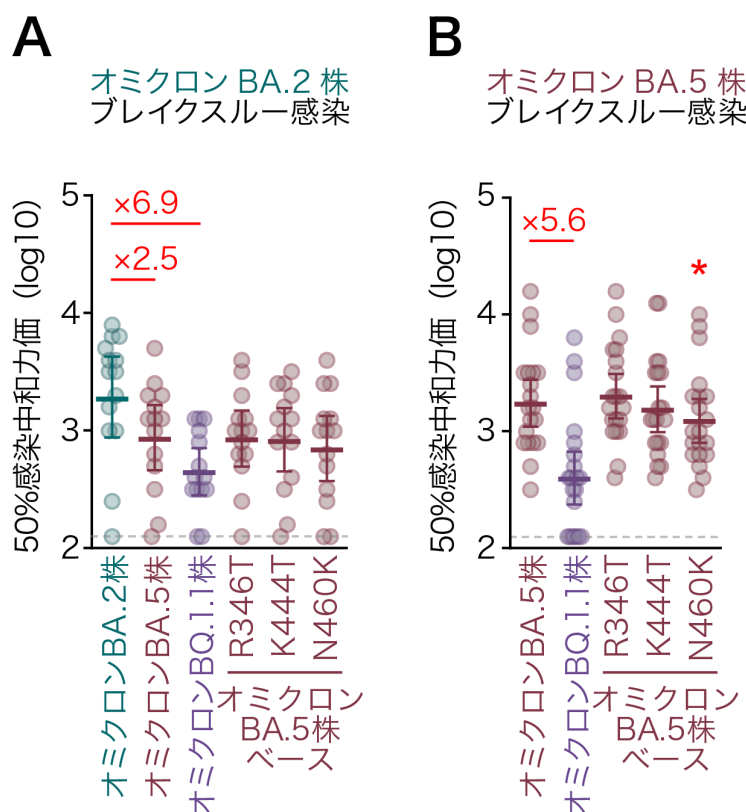


図 17. オミクロン BQ.1.1 株に対するオミクロン BA.2 株/BA.5 株ブレイクスルー感染者血清の効果。

(A,B) シュードウイルスを用いた感染中和試験。実験には、オミクロン BA.2 株、BA.5 株、BQ.1.1 株、および BA.5 株を基に作製した点変異体の S タンパク質を持つシュードウイルスを用いた。血清は以下のものを用いた：オミクロン BA.2 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清（ワクチン 2 回接種：9 ドナー、3 回接種：5 ドナー、計 14 ドナー）（A）、オミクロン BA.5 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清（2 回接種：2 ドナー、3 回接種：17 ドナー、4 回接種：ドナー 1、計 20 ドナー）（B）。50%感染中和力価を求めるために、それぞれの血清について triplicate で実験を行った。図中の各ドットは 1 個の 50%感染中和力価の値を表し、エラーバーは幾何平均値および 95%信頼区間を示す。図中の数字は抵抗性倍率を示す。統計的に有意な差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests によって決定した。アスタリスクはオミクロン BA.5 株の場合と比べ、中和抗体抵抗性が有意に上昇したものを示す。横の破線は検出限界（120 倍）を示す。使用した血清の情報は表 7 および 8 にまとめた。

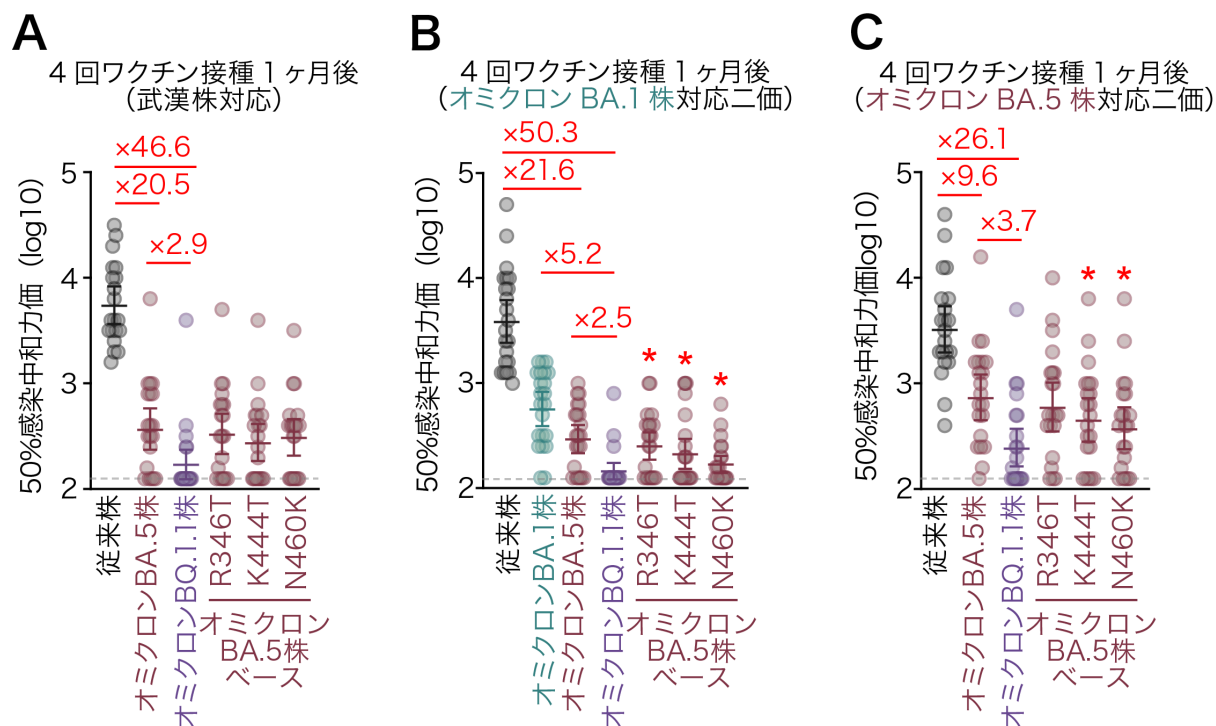


図 18. オミクロン BQ.1.1 株に対するワクチン接種者血清の効果。

(A-C) シュードウイルスを用いた感染中和試験。実験には、従来株 (B.1.1 系統、D614G を持つ)、オミクロン BA.1 株、BA.5 株、BQ.1.1 株、および BA.5 株を基に作製した点変異体の S タンパク質を持つシュードウイルスを用いた。血清は以下のものを用いた：一価ワクチン 4 回接種 1 ヶ月後のワクチン血清 (15 ドナー) (A)、オミクロン BA.1 株対応二価ワクチン接種 1 ヶ月後のワクチン血清 (20 ドナー) (B)、オミクロン BA.5 株対応二価ワクチン接種 1 ヶ月後のワクチン血清 (21 ドナー) (C)。

50%感染中和力価を求めるために、それぞれの血清について triplicate で実験を行った。図中の各ドットは 1 個の 50%感染中和力価の値を表し、エラーバーは幾何平均値および 95%信頼区間を示す。図中の数字は抵抗性倍率を示す。統計的に有意な差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests によって決定した。アスタリスクはオミクロン BA.5 株の場合と比べ、中和抗体抵抗性が有意に上昇したものを示す。横の破線は検出限界 (120 倍) を示す。使用した血清の情報は表 7 および 8 にまとめた。

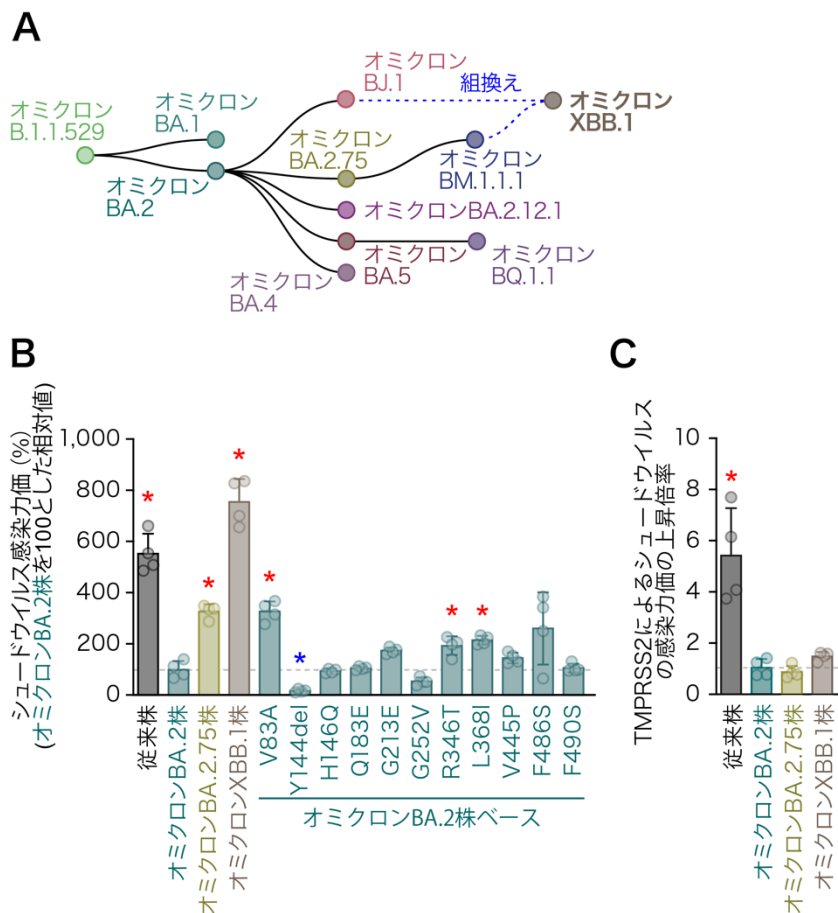


図 19. オミクロン XBB.1 株の感染力価。

(A) 模式的な SARS-CoV-2 の系統樹。図 1A より抜粋・改変した。(B) シュードウイルスアッセイ。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスの HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞における感染力価を、オミクロン BA.2 株を 100%とした際の相対値で示している。オミクロン BA.2 株と比較したシュードウイルス感染力価の統計的有意差は two-tailed Student's t tests によって決定した (*: $P<0.01$)。赤色のアスタリスクはオミクロン BA.2 株の場合と比べ、感染力価が有意に上昇したもの、青色のアスタリスクは感染力価が有意に減弱したものを示す。

(C) シュードウイルス感染における TMPRSS2 の影響。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスの HEK293-ACE2 細胞または HEK293-ACE2/TMPRSS2 細胞における感染力価から、TMPRSS2 によるシュードウイルスの感染力価の上昇倍率を算出した。オミクロン BA.2 株の場合を 1 とした相対値で示している。オミクロン BA.2 株と比較した TMPRSS2 によるシュードウイルスの感染力価の上昇倍率の統計的有意差は two-tailed Student's t tests によって決定した (*: $P<0.01$)。 (

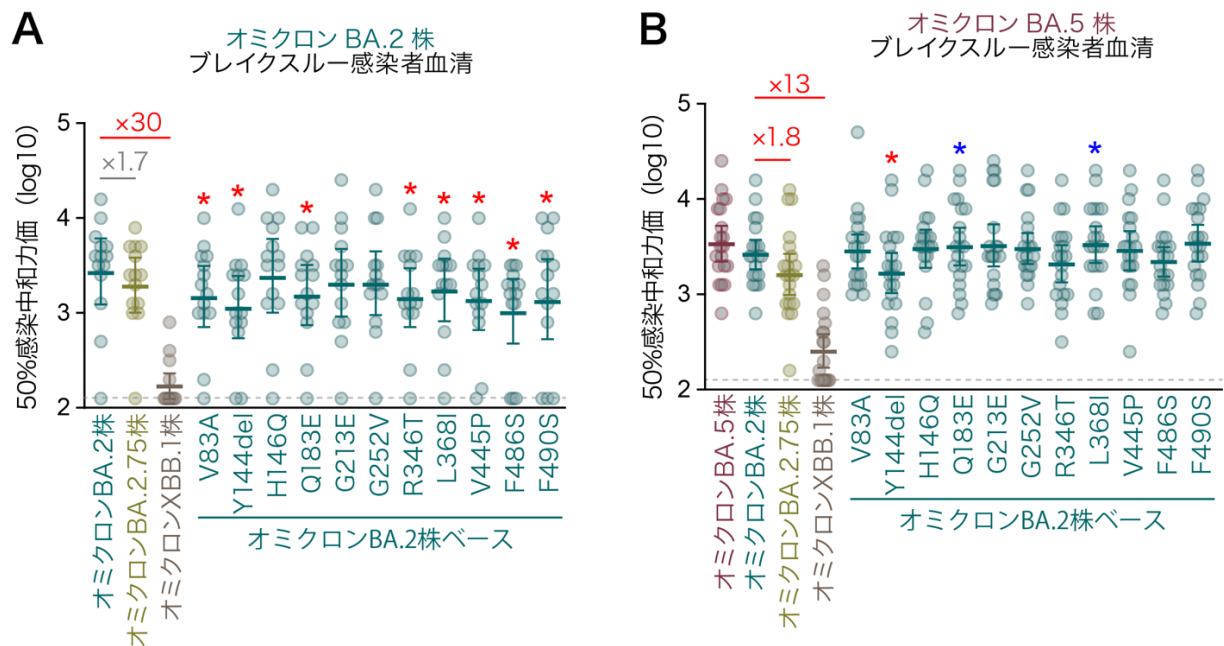


図 20. オミクロン XBB.1 株に対するオミクロン BA.2 株/BA.5 株ブレイクスルー感染者血清の効果。

(A,B) シュードウイルスを用いた感染中和試験。実験には、オミクロン BA.2 株、BA.5 株、BA.2.75 株、XBB.1 株、および BA.2 株を基に作製した点変異体の S タンパク質を持つシュードウイルスを用いた。血清は以下のものを用いた：オミクロン BA.2 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清（ワクチン 2 回接種：9 ドナー、3 回接種：5 ドナー、計 14 ドナー）（A）、オミクロン BA.5 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清（2 回接種：2 ドナー、3 回接種：17 ドナー、4 回接種：ドナー 1、計 20 ドナー）（B）。50%感染中和力価を求めるために、それぞれの血清について triplicate で実験を行った。図中の各ドットは 1 個の 50%感染中和力価の値を表し、エラーバーは幾何平均値および 95%信頼区間を示す。図中の数字は抵抗性倍率を示す。統計的に有意な差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests によって決定した。赤色のアスタリスクはオミクロン BA.2 株の場合と比べ、中和抗体抵抗性が有意に上昇したもの、青色のアスタリスクは中和抗体抵抗性が有意に減弱したものを示す。横の破線は検出限界（120 倍）を示す。使用した血清の情報は表 9 および 10 にまとめた。

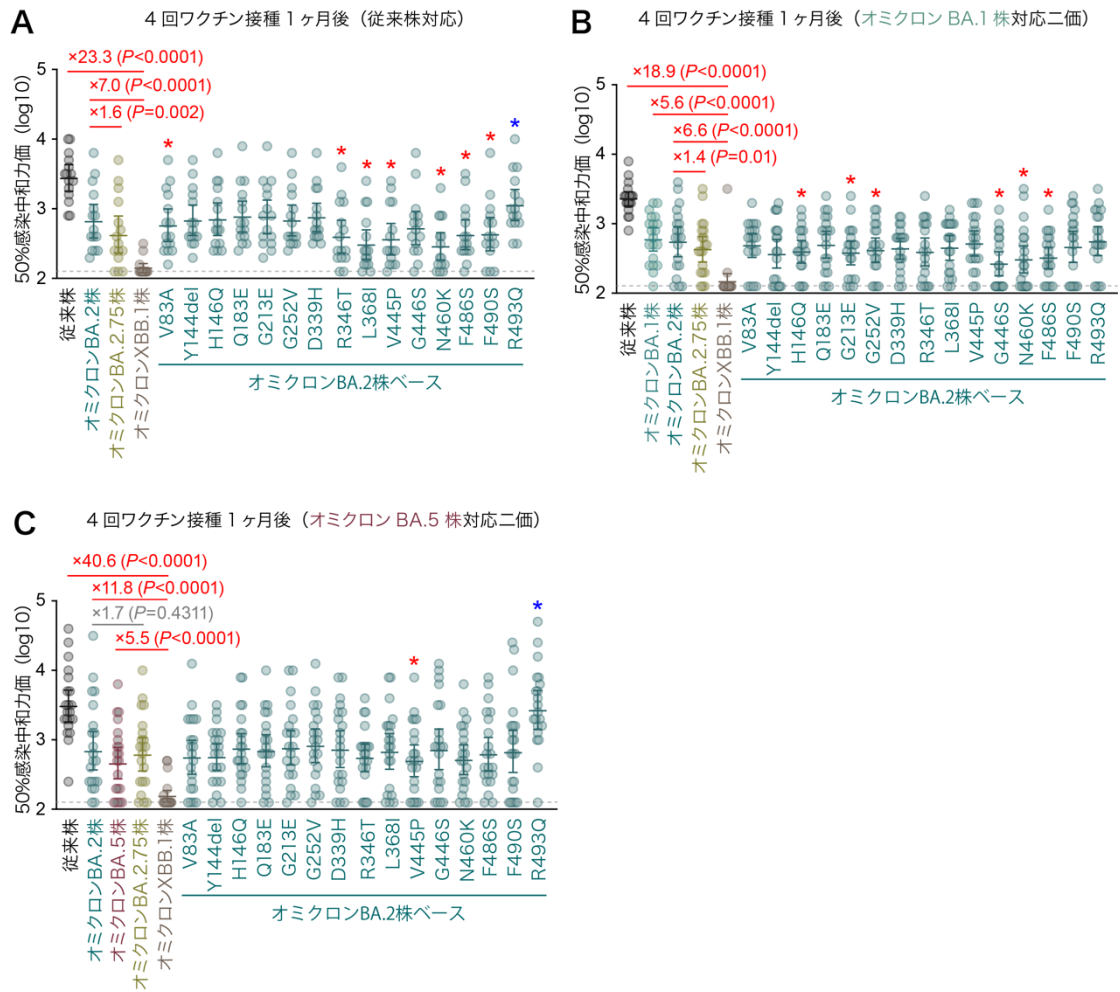


図 21. オミクロン XBB.1 株に対するワクチン接種者血清の効果。

(A-C) シュードウイルスを用いた感染中和試験。実験には、従来株（B.1.1 系統、D614G を持つ）、オミクロン BA.1 株、BA.2 株、BA.5 株、BA.2.75 株、XBB.1 株、および BA.2 株を基に作製した点変異体の S タンパク質を持つシュードウイルスを用いた。血清は以下のものを用いた：一価ワクチン 4 回接種 1 ヶ月後のワクチン血清（15 ドナー）（A）、オミクロン BA.1 株対応二価ワクチン接種 1 ヶ月後のワクチン血清（20 ドナー）（B）、オミクロン BA.5 株対応二価ワクチン接種 1 ヶ月後のワクチン血清（21 ドナー）（C）。50%感染中和力価を求めるために、それぞれの血清について triplicate で実験を行った。図中の各ドットは 1 個の 50%感染中和力価の値を表し、エラーバーは幾何平均値および 95%信頼区間を示す。図中の数字は抵抗性倍率を示す。統計的に有意な差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests によって決定した。赤色のアスタリスクはオミクロン BA.2 株の場合と比べ、中和抗体抵抗性が有意に上昇したもの、青色のアスタリスクは中和抗体抵抗性が有意に減弱したものを示す。横の破線は検出限界（120 倍）を示す。使用した血清の情報は表 9 および 10 にまとめた。

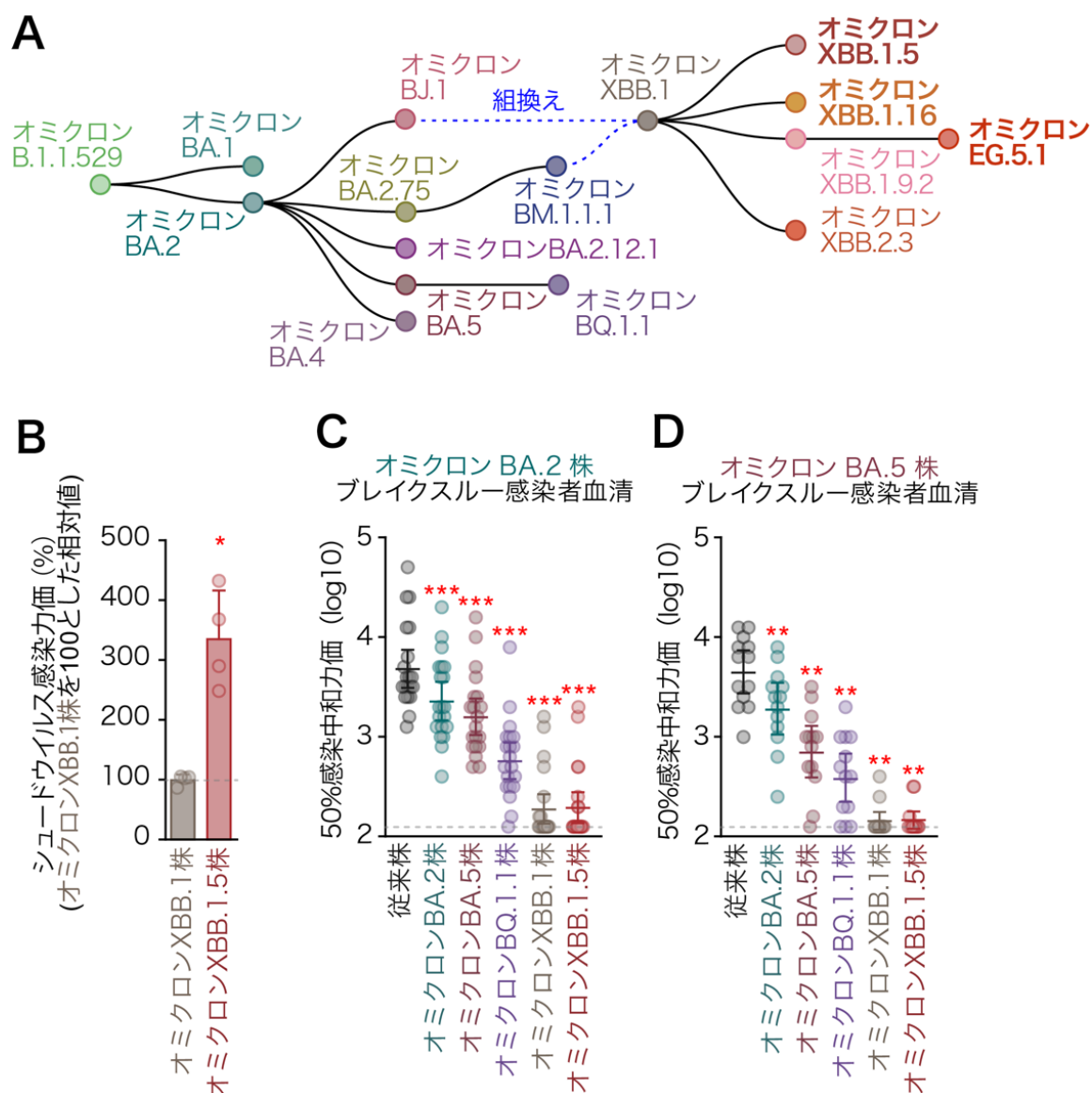


図 22. オミクロン XBB.1.5 株の感染力価と中和抗体の効果。

(A) 模式的な SARS-CoV-2 の系統樹。図 1 より抜粋・改変した。(B) シュードウイルスアッセイ。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスの HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞における感染力価を、オミクロン XBB.1 株を 100% とした際の相対値で示している。オミクロン XBB.1 株と比較したシュードウイルス感染力価の統計的有意差は two-tailed Student's t tests によって決定した (*: $P < 0.01$)。NS: 統計的有意差なし。(C, D) シュードウイルスを用いた感染中和試験。実験には、従来株 (B.1.1 系統、D614G を持つ)、オミクロン BA.2 株、BA.5 株、BQ.1.1 株、XBB.1 株、XBB.1.5 株の S タンパク質を持つシュードウイルスを用いた。血清は以下のものを用いた：オミクロン BA.2 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清 (ワクチン 2 回接種：9 ドナー、3 回接種：5 ドナー、計 14 ドナー)

(C)、オミクロン BA.5 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清（2 回接種：2 ドナー、3 回接種：17 ドナー、4 回接種：ドナー1、計 20 ドナー）(D)。50%感染中和力価を求めるために、それぞれの血清について triplicate で実験を行った。図中の各ドットは 1 個の 50%感染中和力価の値を表し、エラーバーは幾何平均値および 95%信頼区間を示す。図中の数字は抵抗性倍率を示す。統計的に有意な差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests によって決定した。赤色のアスタリスクはオミクロン BA.2 株の場合と比べ、中和抗体抵抗性が有意に上昇したもの、青色のアスタリスクは中和抗体抵抗性が有意に減弱したものを示す。横の破線は検出限界（120 倍）を示す。使用した血清の情報は表 9 および 10 にまとめた。

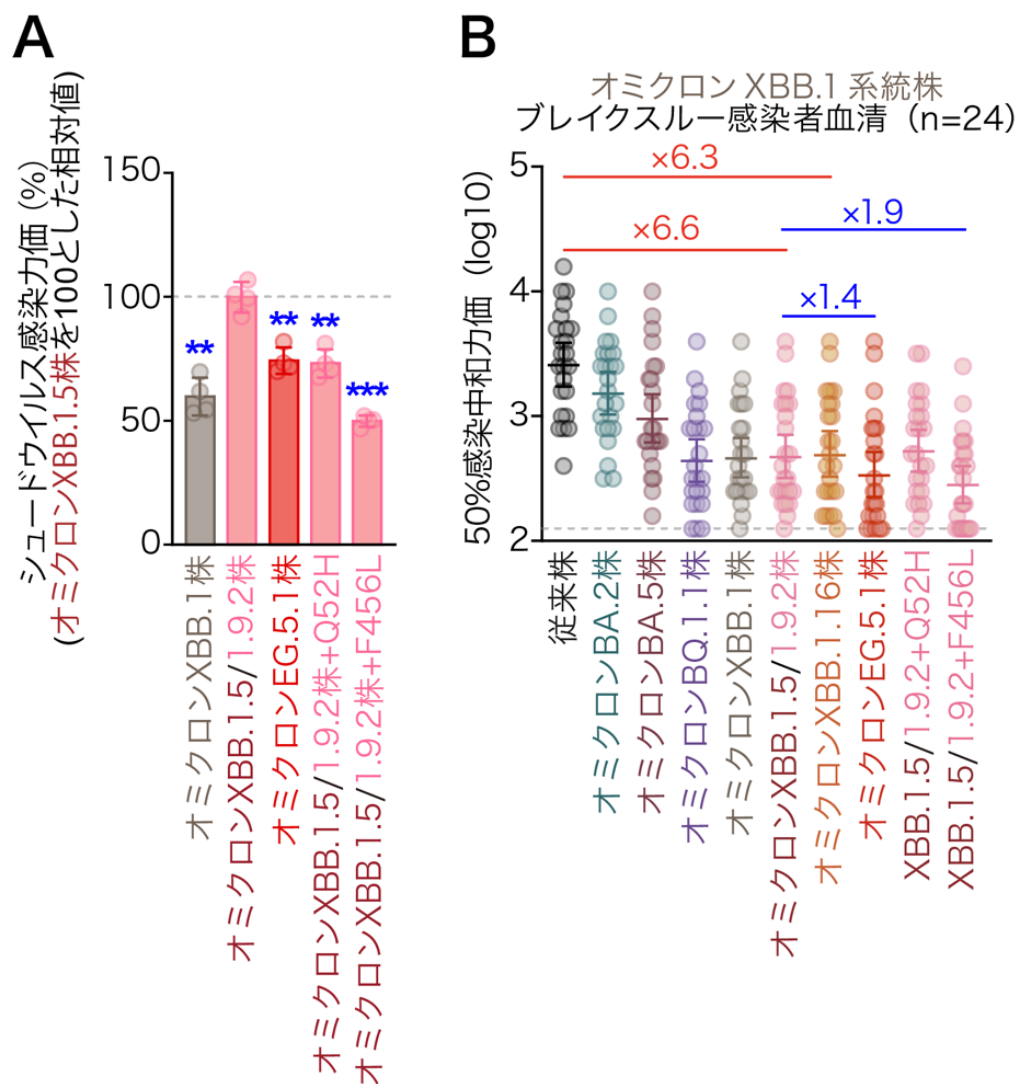


図 23. オミクロン EG.5.1 株の感染性と中和抗体の効果。

(A) シュードウイルスアッセイ。それぞれの SARS-CoV-2 変異株の S タンパク質を搭載したシュードウイルスの HOS-ACE2/TMPRSS2 細胞における感染力価を、オミクロン XBB.1 株を 100%とした際の相対値で示している。オミクロン XBB.1.5 株と比較したシュードウイルス感染力価の統計的有意差は two-tailed Student's t tests によって決定した (**: $P < 0.001$, ***: $P < 0.0001$)。青色のアスタリスクはオミクロン XBB.1.5 株の場合と比べ、感染力価が有意に低下したものを示す。(B) オミクロン XBB.1 系統株ブレイクスルー感染者の血清を用いた感染中和試験。実験には、従来株 (B.1.1 系統、D614G を持つ)、オミクロン BA.2 株、BA.5 株、BQ.1.1 株、XBB.1 株、XBB.1.5/XBB.1.9.2 株 (S タンパク質のアミノ酸配列は 100%相同)、XBB.1.16 株、EG.5.1 株、XBB.1.5/XBB.1.9.2 株+Q52H、および XBB.1.5/XBB.1.9.2 株+F456L の S タンパク質を持つシュードウイルスを用いた。血清は以下のものを使用した：オミクロン XBB.1.5 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清 (ワクチン 3 回接種：n=5、5 回接種：n=3、計 n=8)、オミクロン XBB.1.9 株にブレイクスルー感染した人の回復期血

清（2 回接種：n=1、3 回接種：n=1、4 回接種：n=2、5 回接種：n=2、計 n=6）、オミクロン XBB.1.16 株にブレイクスルー感染した人の回復期血清（2 回接種：n=2、3 回接種：n=4、4 回接種：n=3、6 回接種：n=1、計 n=10）。図中の数字は抵抗性倍率を示す（いずれも $P<0.05$ ）。50%感染中和力価を求めるために、それぞれの血清について triplicate で実験を行った。図中の各ドットは 1 個の 50%感染中和力価の値を表し、エラーバーは幾何平均値および 95%信頼区間を示す。統計的に有意な差は、two-tailed Wilcoxon signed-rank tests によって決定した（*： $P<0.05$ ）。横の破線は検出限界（120 倍）を示す。使用した血清の情報は表 11 にまとめた。

表 1. 本研究で使用したワクチン接種者の血清（図 7 に対応）

				Date of 2nd vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (1 month after the 2nd dose) (YYYY-MM-DD)
Vaccine (company)	Donor ID	Sex	Age		
ChAdOx1 (Oxford-AstraZeneca)	392015	Male	43	2021/5/20	2021/6/10
ChAdOx1 (Oxford-AstraZeneca)	0391236-SR1	Male	51	2021/4/25	2021/5/10
ChAdOx1 (Oxford-AstraZeneca)	391457	Female	51	2021/4/29	2021/5/18
ChAdOx1 (Oxford-AstraZeneca)	391875	Male	54	2021/5/17	2021/6/7
ChAdOx1 (Oxford-AstraZeneca)	391879	Female	28	2021/5/13	2021/6/7
ChAdOx1 (Oxford-AstraZeneca)	391927	Female	41	2021/5/18	2021/6/8
ChAdOx1 (Oxford-AstraZeneca)	391015	Male	35	2021/4/18	2021/4/28
ChAdOx1 (Oxford-AstraZeneca)	392102	Male	52	2021/5/25	2021/6/15
ChAdOx1 (Oxford-AstraZeneca)	392111	Male	47	2021/5/26	2021/6/15
mRNA-1273 (Moderna)	#129	Male	21	2021/7/31	2021/8/30
mRNA-1273 (Moderna)	#130	Female	41	2021/7/31	2021/8/26
mRNA-1273 (Moderna)	#131	Male	37	2021/7/31	2021/8/26
mRNA-1273 (Moderna)	#134	Female	24	2021/7/31	2021/8/31
mRNA-1273 (Moderna)	#135	Female	23	2021/7/31	2021/8/27
mRNA-1273 (Moderna)	#136	Male	24	2021/7/31	2021/8/31
mRNA-1273 (Moderna)	#139	Female	24	2021/7/31	2021/8/31
mRNA-1273 (Moderna)	#140	Male	24	2021/7/31	2021/8/27
mRNA-1273 (Moderna)	#141	Female	24	2021/7/31	2021/8/31
mRNA-1273 (Moderna)	#146	Female	21	2021/7/31	2021/8/30
mRNA-1273 (Moderna)	#147	Female	22	2021/7/31	2021/8/31
mRNA-1273 (Moderna)	#149	Female	20	2021/7/31	2021/8/31
mRNA-1273 (Moderna)	#150	Female	22	2021/7/31	2021/8/31
mRNA-1273 (Moderna)	#162	Male	42	2021/7/31	2021/8/31
mRNA-1273 (Moderna)	#165	Female	47	2021/7/31	2021/9/1
mRNA-1273 (Moderna)	#169	Male	21	2021/8/21	2021/9/22
				Date of 2nd vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (1 month after the 2nd dose) (YYYY-MM-DD)
Vaccine (company)	Donor ID	Sex	Age		
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	10	Female	53	2021/4/26	2021/5/24
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	41	Female	33	2021/4/27	2021/5/26
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	66	Male	29	2021/3/26	2021/5/6
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	71	Male	34	2021/4/8	2021/5/6
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	74	Male	28	2021/4/16	2021/4/28
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	78	Female	32	2021/4/22	2021/5/6
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	100	Male	32	2021/6/8	2021/7/7
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	101	Male	31	2021/6/1	2021/6/29
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	103	Male	35	2021/4/7	2021/5/7
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	105	Male	49	2021/6/7	2021/7/7
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	109	Female	46	2021/6/4	2021/7/1
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	113	Female	32	2021/6/4	2021/7/2
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	116	Female	30	2021/6/9	2021/7/7

表 1. 本研究で使用したワクチン接種者の血清（図 7 に対応）（続き）

[illegible]

表 2. 本研究で使した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 9 に対応)

SARS-CoV-2 infected	Donor ID	Sex	Age	Date of test (YYYY/MM/DD)	Date of sampling (YYYY/MM/DD)
Early pandemic	PS324	Female	76	2020/4/1	2020/5/3
Early pandemic	PS329	Female	92	2020/4/2	2020/5/3
Early pandemic	PS362	Female	52	2020/4/17	2020/5/17
Early pandemic	PS364	Female	74	2020/4/17	2020/5/17
Early pandemic	PS313	Female	69	2020/4/1	2020/5/3
Early pandemic	PS314	Female	64	2020/4/2	2020/5/3
Early pandemic	PS330	Female	60	2020/4/2	2020/5/3
Early pandemic	PS340	Female	73	2020/4/2	2020/5/3
Early pandemic	PS361	Female	68	2020/4/17	2020/5/17
Early pandemic	PS363	Female	81	2020/4/17	2020/5/17
Early pandemic	PS375	Female	67	2020/4/17	2020/5/17
Early pandemic	PS379	Male	75	2020/4/17	2020/5/17
Alpha	IPK-p44-1	Male	21	2020/5/7	2020/6/5
Alpha	IPK-p46-1	Female	27	2020/5/10	2020/5/27
Alpha	IPK-p135-1	Male	44	2020/7/26	2020/8/28
Alpha	IPK-p161-1	Male	46	2020/8/9	2020/9/6
Alpha	IPK-p61-1	Male	43	2021/5/18	2021/7/30
Alpha	IPK-p65-1	Female	57	2021/5/27	2021/7/15
Alpha	IPK-p91-1	Female	41	2021/6/17	2021/6/22
Alpha	CUE-0001	Male	48	2021/6/1	2021/10/25
Delta	IPK-p117-1	Male	62	2020/7/15	2020/8/19
Delta	IPK-p118-1	Female	52	2020/7/15	2020/8/19
Delta	IPK-p123-1	Male	39	2020/7/20	2020/9/13
Delta	IPK-p125-1	Male	43	2020/7/21	2020/8/13
Delta	IPK-p127-1	Male	22	2020/7/24	2020/8/17
Delta	IPK-p143-1	Male	47	2020/7/29	2020/8/22
Delta	IPK-p144-1	Male	63	2020/8/2	2020/8/23
Delta	IPK-p149-1	Female	33	2020/8/6	2020/8/22
Delta	IPK-p154-1	Female	53	2020/8/5	2020/8/11
Delta	IPK-p156-1	Male	46	2020/8/10	2020/9/11
Delta	CUE-0005	Male	65	2021/7/5	2021/7/12
Delta	CUE-0006	Male	67	2021/7/5	2021/7/12
Delta	CUE-0022	Male	57	2021/8/18	2021/9/27
Delta	CUE-0024	Male	60	2021/8/22	2021/9/24
Delta	CUE-0030	Male	52	2021/8/30	2021/9/27
BA.1	P264	Male	60	2022/1/3	2022/1/29
BA.1	P265	Female	57	2022/1/4	2022/1/28
BA.1	P274	Female	20	2022/1/15	2022/1/29
BA.1	P276	Male	44	2022/1/20	2022/1/30
BA.1	P279	Male	61	2022/1/18	2022/2/5
BA.1	P282	Male	56	2022/1/22	2022/2/6
BA.1	P285	Female	65	2022/1/23	2022/2/6
BA.1	P295	Female	41	2022/1/25	2022/2/6
BA.1	2112	Male	44	2022/1/18	2022/1/25
BA.1	1880	Female	25	2022/1/7	2022/2/3
BA.1	2187	Male	32	2022/1/20	2022/2/5
BA.1	2137	Female	32	2022/1/19	2022/2/5
BA.1	2550	Female	24	2022/1/25	2022/2/5
BA.1	P268	Female	28	2022/1/7	2022/1/28
BA.1	P267	Male	25	2022/1/4	2022/1/15
BA.1	P270	Female	31	2022/1/11	2022/1/29
BA.1	P275	Male	24	2022/1/17	2022/1/29
BA.1	3788	Female	55	2022/2/6	2022/2/18
BA.1	4075-2	Male	16	2022/2/11	2022/2/26
BA.1	4222-2	Female	35	2022/2/10	2022/2/26
BA.1	4257	Male	73	2022/2/9	2022/2/22

表 2. 本研究で使⽤した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 9 に対応) (続き)

[illegible]

表 3. 本研究で使用したワクチン接種者の血清（図 12 に対応）

Vaccine (company)	Donor ID	Sex	Age	Date of 2nd vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (1 month after the 2nd dose) (YYYY-MM-DD)
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	5	Female	34	2021-04-30	2021-05-27
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	27	Male	41	2021-04-27	2021-05-25
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	28	Female	42	2021-04-28	2021-05-26
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	36	Male	34	2021-04-27	2021-05-27
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	38	Female	24	2021-04-27	2021-05-26
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	46	Female	42	2021-04-27	2021-05-25
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	55	Female	45	2021-04-30	2021-05-28
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	61	Female	48	2021-06-04	2021-07-02
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	69	Male	42	2021-07-17	2021-08-12
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	71	Male	34	2021-04-08	2021-05-06
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	87	Male	34	2021-06-02	2021-06-30
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	89	Male	45	2021-06-04	2021-06-29
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	97	Female	43	2021-06-04	2021-07-02
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	100	Male	32	2021-06-08	2021-07-07
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	102	Male	30	2021-05-31	2021-06-28

表 3. 本研究で使⽤したワクチン接種者の血清（図 12 に対応）（続き）

Date of 3rd vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (1 month after the 3rd dose) (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (4 month after the 3rd dose) (YYYY-MM-DD)	Prior infection?
2022-01-22	2022-02-24	2022-05-13	No
2022-01-22	2022-02-24	2022-05-13	No
2022-01-22	2022-03-16	2022-05-13	No
2022-01-25	2022-02-25	2022-05-19	No
2022-01-26	2022-02-18	2022-05-19	No
2021-12-26	2022-02-14	2022-05-18	No
2022-01-28	2022-02-18	2022-05-19	No
2022-01-29	2022-02-14	2022-05-17	No
2022-01-28	2022-02-22	2022-05-19	No
2021-12-28	2022-01-21	2022-05-13	No
2022-01-26	2022-02-16	2022-05-19	No
2022-01-24	2022-02-15	2022-05-17	No
2022-01-26	2022-02-16	2022-05-18	No
2022-01-22	2022-02-17	2022-05-17	No
2022-01-22	2022-02-21	2022-05-17	No

表 4. 本研究で使した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 11 に対応)

SARS-CoV-2 infected	Donor ID	Sex	Age	Date of test (YYYY/MM/DD)	Date of sampling (YYYY/MM/DD)	Prior infection?
BA.1	P264	Male	60	2022/01/03	2022/01/29	No
BA.1	P265	Female	57	2022/01/04	2022/01/28	No
BA.1	P274	Female	20	2022/01/15	2022/01/29	No
BA.1	P276	Male	44	2022/01/20	2022/01/30	No
BA.1	P279	Male	61	2022/01/18	2022/02/05	No
BA.1	P282	Male	56	2022/01/22	2022/02/06	No
BA.1	P285	Female	65	2022/01/23	2022/02/06	No
BA.1	P295	Female	41	2022/01/25	2022/02/06	No
BA.1	P288	Female	76	2022/01/24	2022/02/07	No
BA.1	P289	Female	51	2022/01/24	2022/02/07	No
BA.1	P290	Male	53	2022/01/25	2022/02/07	No
BA.1	2651	Male	71	NA	2022/02/14	No
BA.1	1880	Female	25	2022/01/07	2022/02/03	No
BA.1	2187	Male	32	2022/01/20	2022/02/05	No
BA.1	2137	Female	32	2022/01/19	2022/02/05	No
BA.1	2550	Female	24	2022/01/25	2022/02/05	No
BA.2	P378	Male	43	2022/03/28	2022/04/10	No
BA.2	P398	Male	48	2022/04/13	2022/04/30	No
BA.2	P407	Male	29	2022/05/01	2022/05/12	No
BA.2	P401	Male	35	2022/04/22	2022/05/05	No
BA.2	P412	Female	82	2022/05/04	2022/05/26	No
BA.2	6449	Male	43	2022/04/03	2022/04/23	No
BA.2	6355	Male	50	2022/04/02	2022/04/20	No
BA.2	6547	Male	54	2022/04/06	2022/04/22	No
BA.2	7951	Female	71	2022/04/25	2022/05/12	No
BA.2	8645	Female	41	2022/05/07	2022/05/20	No
BA.2	8682	Female	25	2022/05/08	2022/05/24	No
BA.2	5949	Male	24	2022/03/22	2022/05/22	No
BA.2	8463	Male	84	2022/05/05	2022/05/23	No
BA.2	8796	Female	34	2022/05/10	2022/06/05	No
NA, not applicable.						

表 4. 本研究で使⽤した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 11 に対応) (続き)

Prior vaccination?	Vaccine	Date of 1st vaccination (YYYY/MM/DD)	Date of 2nd vaccination (YYYY/MM/DD)	Date of 3rd vaccination (YYYY/MM/DD)
Yes	BNT162b2	2021/08/27	2021/09/18	-
Yes	BNT162b2	2021/10/04	2021/10/25	-
Yes	mRNA-1273	2021/09/11	2021/10/09	-
Yes	BNT162b2	2021/08/06	2021/08/22	-
Yes	BNT162b2	2021/07/03	2021/07/24	-
Yes	BNT162b2	2021/09/18	2021/10/12	-
Yes	BNT162b2	2022/01/07	2022/01/28	-
Yes	BNT162b2	2021/08/07	2021/08/28	-
Yes	BNT162b2	2021/06/29	2021/07/20	-
Yes	BNT162b2	2021/08/02	2021/08/23	-
Yes	BNT162b2	2021/09/02	2021/09/30	-
Yes	BNT162b2	2021/06/14	2021/07/12	-
Yes	BNT162b2	2021/09/09	2021/09/30	-
Yes	mRNA-1273	2021/07/09	2021/08/06	-
Yes	mRNA-1273	2021/07/09	2021/08/06	-
Yes	BNT162b2	2021/10/12	2021/11/02	-
Yes	BNT162b2	2021/10/10	2021/10/31	-
Yes	BNT162b2	2021/09/18	2021/10/09	2022/04/09
Yes	mRNA-1273	2021/09/13	2021/10/11	-
Yes	BNT162b2	2021/09/09	2021/09/30	-
Yes	BNT162b2	2021/06/11	2021/07/09	-
Yes	BNT162b2	2021/08/13	2021/09/11	-
Yes	NA	2021/04/28	2021/05/19	2022/01/19
Yes	BNT162b2	2021/08/25	2021/09/15	-
Yes	Mix	2021/06/20 (BNT162b2)	2021/07/16 (BNT162b2)	2022/02/16 (mRNA-1273)
Yes	BNT162b2	2021/05/23	2021/06/13	2022/01/20
Yes	BNT162b2	2021/09/03	2021/09/27	-
Yes	mRNA-1273	2021/08/05	2021/09/02	-
Yes	Mix	2021/05/27 (BNT162b2)	2021/06/21 (BNT162b2)	2022/02/22(mRNA-1273)
Yes	BNT162b2	2021/09/26	2021/10/17	-

表 5. 本研究で使用したワクチン接種者の血清（図 15 に対応）

				Date of 2nd vaccination (YYYY-MM-DD)
Vaccine (company)	Donor ID	Sex	Age	
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	5	Female	34	2021-04-30
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	27	Male	41	2021-04-27
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	28	Female	42	2021-04-28
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	36	Male	34	2021-04-27
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	38	Female	24	2021-04-27
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	46	Female	42	2021-04-27
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	55	Female	45	2021-04-30
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	61	Female	48	2021-06-04
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	69	Male	42	2021-07-17
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	71	Male	34	2021-04-08
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	87	Male	34	2021-06-02
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	89	Male	45	2021-06-04
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	97	Female	43	2021-06-04
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	100	Male	32	2021-06-08
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)	102	Male	30	2021-05-31
				Date of 2nd vaccination (YYYY-MM-DD)
Vaccine (company)	Donor ID	Sex	Age	
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	4	Female	43	2021-06-04
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	8	Female	56	2021-06-04
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	14	Female	43	2021-06-04
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	28	Female	42	2021-04-28
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	62	Male	46	2021-06-10
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	63	Female	49	2021-05-31
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	64	Female	42	2021-05-31
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	67	Male	38	2021-06-01
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	90	Male	45	2021-06-02
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	92	Female	30	2021-06-10
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	94	Male	36	2021-06-01
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	97	Female	43	2021-06-04
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	103	Male	35	2021-04-07
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	113	Female	32	2021-06-04
BNT162b2 (Pfizer/BioNTech)/mRNA-1273 (Moderna)	122	Female	45	2021-06-11

表 5. 本研究で使したワクチン接種者の血清（図 15 に対応）（続き）

Date of sampling (1 month after the 2nd dose) (YYYY-MM-DD)	Date of 3rd vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (1 month after the 3rd dose) (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (4 month after the 3rd dose) (YYYY-MM-DD)
2021-05-27	2022-01-22	2022-02-24	2022-05-13
2021-05-25	2022-01-22	2022-02-24	2022-05-13
2021-05-26	2022-01-22	2022-03-16	2022-05-13
2021-05-27	2022-01-25	2022-02-25	2022-05-19
2021-05-26	2022-01-26	2022-02-18	2022-05-19
2021-05-25	2021-12-26	2022-02-14	2022-05-18
2021-05-28	2022-01-28	2022-02-18	2022-05-19
2021-07-02	2022-01-29	2022-02-14	2022-05-17
2021-08-12	2022-01-28	2022-02-22	2022-05-19
2021-05-06	2021-12-28	2022-01-21	2022-05-13
2021-06-30	2022-01-26	2022-02-16	2022-05-19
2021-06-29	2022-01-24	2022-02-15	2022-05-17
2021-07-02	2022-01-26	2022-02-16	2022-05-18
2021-07-07	2022-01-22	2022-02-17	2022-05-17
2021-06-28	2022-01-22	2022-02-21	2022-05-17
Date of sampling (1 month after the 2nd dose) (YYYY-MM-DD)	Date of 3rd vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (1 month after the 3rd dose) (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (4 month after the 3rd dose) (YYYY-MM-DD)
2021-07-01	2022-01-28	2022-02-24	2022-05-25
2021-07-01	2022-01-28	2022-02-24	2022-05-20
2021-07-01	2022-01-28	2022-02-18	2022-05-20
2021-05-26	2022-01-22	2022-03-16	2022-05-13
2021-07-08	2022-01-28	2022-02-22	2022-05-20
2021-06-28	2022-02-05	2022-03-01	2022-05-26
2021-06-28	2022-02-03	2022-02-24	2022-05-25
2021-06-29	2022-02-01	2022-02-25	2022-05-25
2021-06-30	2022-01-25	2022-02-15	2022-05-18
2021-07-08	2022-01-26	2022-02-15	2022-05-18
2021-06-29	2022-02-02	2022-02-25	2022-05-24
2021-07-02	2022-01-26	2022-02-16	2022-05-18
2021-05-07	2022-01-25	2022-02-15	2022-05-18
2021-07-02	2022-01-28	2022-02-18	2022-05-20
2021-07-08	2022-02-16	2022-03-16	2022-06-07

表 5. 本研究で使用したワクチン接種者の血清（図 15 に対応）（続き）

Date of 4th vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (1 month after the 4th dose) (YYYY-MM-DD)	Prior infection?	Note
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
-	-	No	-
Date of 4th vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (1 month after the 4th dose) (YYYY-MM-DD)	Prior infection?	Note
2022-08-01	2022-08-22	No	-
2022-08-05	2022-08-26	No	-
2022-08-05	2022-08-16	No	-
2022-07-30	2022-08-23	No	Included in the list of 3rd dose
2022-08-05	2022-08-26	No	-
2022-08-02	2022-08-25	No	-
2022-08-01	2022-08-25	No	-
2022-08-03	2022-08-24	No	-
2022-08-02	2022-08-24	No	-
2022-08-04	2022-08-26	No	-
2022-08-05	2022-08-26	No	-
2022-07-21	2022-08-19	No	Included in the list of 3rd dose
2022-08-02	2022-08-26	No	-
2022-08-02	2022-08-23	No	-
2022-08-01	2022-08-22	No	-

表 6. 本研究で使した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 14 に対応) (続き)

SARS-CoV-2 infected	Donor ID	Sex	Age	Date of test (YYYY/MM/DD)
BA.1	P264	Male	60	2022/01/03
BA.1	P265	Female	57	2022/01/04
BA.1	P274	Female	20	2022/01/15
BA.1	P276	Male	44	2022/01/20
BA.1	P279	Male	61	2022/01/18
BA.1	P282	Male	56	2022/01/22
BA.1	P285	Female	65	2022/01/23
BA.1	P295	Female	41	2022/01/25
BA.1	P288	Female	76	2022/01/24
BA.1	P289	Female	51	2022/01/24
BA.1	P290	Male	53	2022/01/25
BA.1	2651	Male	71	NA
BA.1	1880	Female	25	2022/01/07
BA.1	2187	Male	32	2022/01/20
BA.1	2137	Female	32	2022/01/19
BA.1	2550	Female	24	2022/01/25
BA.2	P378	Male	43	2022/03/28
BA.2	P398	Male	48	2022/04/13
BA.2	P407	Male	29	2022/05/01
BA.2	P401	Male	35	2022/04/22
BA.2	P412	Female	82	2022/05/04
BA.2	6449	Male	43	2022/04/03
BA.2	6355	Male	50	2022/04/02
BA.2	6547	Male	54	2022/04/06
BA.2	7951	Female	71	2022/04/25
BA.2	8645	Female	41	2022/05/07
BA.2	8682	Female	25	2022/05/08
BA.2	5949	Male	24	2022/03/22
BA.2	8463	Male	84	2022/05/05
BA.2	8796	Female	34	2022/05/10
BA.5	P427	Female	49	2022/07/06
BA.5	P440	Male	25	2022/07/24
BA.5	P439	Female	73	2022/07/23
BA.5	P451	Female	55	2022/07/29
BA.5	P456	Male	44	2022/08/04
BA.5	P455	Male	29	2022/08/03
BA.5	P464	Male	63	2022/08/08
BA.5	9341	Male	56	2022/06/12
BA.5	9584	Male	55	2022/07/08
BA.5	11318	Female	51	2022/07/24
BA.5	23S-08	Male	25	2022/07/23
BA.5	11597	Female	41	2022/07/26
BA.5	10978	Female	46	2022/07/22
BA.5	10826	Male	63	2022/07/21
BA.5	11079	Female	65	2022/07/23
BA.5	14847	Female	70	2022/08/13
BA.5	13180	Female	63	2022/08/04
BA.5	12912	Male	64	2022/08/02
BA.5	14956	Female	33	2022/08/13
BA.5	15707	Female	52	2022/08/16
NA, not applicable.				

表 6. 本研究で使した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 14 に対応) (続)

Date of sampling (YYYY/MM/DD)	Prior infection?	Prior vaccination?	Vaccine
2022/01/29	No	Yes	BNT162b2
2022/01/28	No	Yes	BNT162b2
2022/01/29	No	Yes	mRNA-1273
2022/01/30	No	Yes	BNT162b2
2022/02/05	No	Yes	BNT162b2
2022/02/06	No	Yes	BNT162b2
2022/02/06	No	Yes	BNT162b2
2022/02/06	No	Yes	BNT162b2
2022/02/07	No	Yes	BNT162b2
2022/02/07	No	Yes	BNT162b2
2022/02/07	No	Yes	BNT162b2
2022/02/14	No	Yes	BNT162b2
2022/02/03	No	Yes	BNT162b2
2022/02/05	No	Yes	mRNA-1273
2022/02/05	No	Yes	mRNA-1273
2022/02/05	No	Yes	BNT162b2
2022/04/10	No	Yes	BNT162b2
2022/04/30	No	Yes	BNT162b2
2022/05/12	No	Yes	mRNA-1273
2022/05/05	No	Yes	BNT162b2
2022/05/26	No	Yes	BNT162b2
2022/04/23	No	Yes	BNT162b2
2022/04/20	No	Yes	NA
2022/04/22	No	Yes	BNT162b2
2022/05/12	No	Yes	Mix
2022/05/20	No	Yes	BNT162b2
2022/05/24	No	Yes	BNT162b2
2022/05/22	No	Yes	mRNA-1273
2022/05/23	No	Yes	Mix
2022/06/05	No	Yes	BNT162b2
2022/07/25	No	Yes	NA
2022/08/07	No	Yes	BNT162b2
2022/08/08	No	Yes	BNT162b2
2022/8/12	No	Yes	BNT162b2
2022/08/14	No	Yes	BNT162b2
2022/08/17	No	Yes	mRNA-1273
2022/08/19	No	Yes	BNT162b2
2022/06/30	No	Yes	BNT162b2
2022/07/25	No	Yes	BNT162b2
2022/08/05	No	Yes	BNT162b2
2022/08/08	No	Yes	BNT162b2
2022/08/08	No	Yes	BNT162b2
2022/08/11	No	Yes	BNT162b2
2022/08/11	No	Yes	BNT162b2
2022/08/11	No	Yes	mRNA-1273
2022/08/25	No	Yes	BNT162b2
2022/08/25	No	Yes	BNT162b2
2022/08/25	No	Yes	mRNA-1273
2022/08/28	No	Yes	BNT162b2
2022/08/29	No	Yes	BNT162b2

表 6. 本研究で使⽤した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 14 に対応) (続き)

Date of 1st vaccination (YYYY/MM/DD)	Date of 2nd vaccination (YYYY/MM/DD)	Date of 3rd vaccination (YYYY/MM/DD)	Date of 4rd vaccination (YYYY/MM/DD)
2021/08/27	2021/09/18		
2021/10/04	2021/10/25		
2021/09/11	2021/10/09		
2021/08/06	2021/08/22		
2021/07/03	2021/07/24		
2021/09/18	2021/10/12		
2022/01/07	2022/01/28		
2021/08/07	2021/08/28		
2021/06/29	2021/07/20		
2021/08/02	2021/08/23		
2021/09/02	2021/09/30		
2021/06/14	2021/07/12		
2021/09/09	2021/09/30		
2021/07/09	2021/08/06		
2021/07/09	2021/08/06		
2021/10/12	2021/11/02		
2021/10/10	2021/10/31		
2021/09/18	2021/10/09	2022/04/09	
2021/09/13	2021/10/11		
2021/09/09	2021/09/30		
2021/06/11	2021/07/09		
2021/08/13	2021/09/11		
2021/04/28	2021/05/19	2022/01/19	
2021/08/25	2021/09/15		
2021/06/20 (BNT162b2)	2021/07/16 (BNT162b2)	2022/02/16 (mRNA-1273)	
2021/05/23	2021/06/13	2022/01/20	
2021/09/03	2021/09/27		
2021/08/05	2021/09/02		
2021/05/27 (BNT162b2)	2021/06/21 (BNT162b2)	2022/02/22(mRNA-1273)	
2021/09/26	2021/10/17		
2021/07/30	2021/08/25	2022/03/18	
2021/11/24	2021/12/15		
2021/06/19	2021/07/20	2022/02/04 (mRNA-1273)	
2021/04/26	2021/05/20	2022/01/18	
2021/08/11	2021/09/01	2022/03/13 (mRNA-1273)	
2021/07/26	2021/08/27	2022/04/18	
2021/08/08	2021/08/29	2022/04/07 (mRNA-1273)	
2021/08/10	2021/08/31	2022/03/18	
2021/07/14	2021/08/05	2022/03/22	
2021/09/01	2021/09/22	2022/05/19 (mRNA-1273)	
2021/04/27	2021/05/18	2022/01/11	
2021/04/30	2021/05/21	2022/01/11	
2021/08/27	2021/09/17	2022/05/15	
2021/07/27	2021/08/17	2022/03/04	2022/8/9 (mRNA-1273)
2021/07/08	2021/08/05	2022/03/17	
2021/07/13	2021/08/20	2022/03/08 (mRNA-1273)	
2021/07/16	2021/08/06	2022/03/08 (mRNA-1273)	
2021/09/02	2021/09/30	2021/04/01	
2021/09/06	2021/10/07		
2021/08/07	2021/08/28	2022/04/03	

表 7. 本研究で使用したワクチン接種者の血清（図 18 に対応）

Donor ID	Sex	Age	vaccine (1st vaccination)	Date of 1st vaccination (YYYY-MM-DD)	vaccine (2nd vaccination)
4	Female	43	BNT162b2	2021-05-14	BNT162b2
8	Female	56	BNT162b2	2021-05-14	BNT162b2
14	Female	43	BNT162b2	2021-05-14	BNT162b2
28	Female	42	BNT162b2	2021-04-06	BNT162b2
61	Female	48	BNT162b2	2021-05-14	BNT162b2
62	Male	46	BNT162b2	2021-05-14	BNT162b2
63	Female	49	BNT162b2	2021-05-12	BNT162b2
64	Female	42	BNT162b2	2021-05-10	BNT162b2
67	Male	38	BNT162b2	2021-05-11	BNT162b2
69	Male	42	BNT162b2	2021-06-11	BNT162b2
71	Male	34	BNT162b2	2021-03-18	BNT162b2
74	Male	28	BNT162b2	2021-03-26	BNT162b2
90	Male	45	BNT162b2	2021-05-11	BNT162b2
92	Female	30	BNT162b2	2021-05-20	BNT162b2
94	Male	36	BNT162b2	2021-05-11	BNT162b2
97	Female	43	BNT162b2	2021-05-12	BNT162b2
103	Male	35	BNT162b2	2021-03-17	BNT162b2
113	Female	32	BNT162b2	2021-05-13	BNT162b2
122	Female	45	BNT162b2	2021-05-20	BNT162b2
115117	Male	65	BNT162b2	2021-08-01	BNT162b2
210718	Female	55	NA	NA	NA
331843	Male	58	NA	2021-08-22	NA
2362037	Male	57	NA	NA	NA
108127	Female	57	BNT162b2	2021-08-07	BNT162b2
190497	Female	52	BNT162b2	2021-08-30	BNT162b2
1437	Female	73	BNT162b2	2021-07-31	BNT162b2
247029	Female	50	NA	2021-09-21	NA
2382760	Female	30	mRNA-1273	2021-07-08	BNT162b2
129061	Male	42	NA	NA	NA
318009	Female	58	BNT162b2	2021-08-06	BNT162b2
218082	Female	45	BNT162b2	2021-09-24	BNT162b2
7371	Female	45	NA	NA	NA
145410	Male	71	BNT162b2	2021-07-23	BNT162b2
2362083	Female	57	BNT162b2	2021-09-26	BNT162b2
2420192	Female	36	BNT162b2	2021-03-08	BNT162b2
149621	Female	80	BNT162b2	2021-06-29	BNT162b2
309473	Female	57	NA	NA	NA
2385248	Male	56	NA	NA	NA
2362137	Male	63	NA	NA	NA
15548	Male	55	NA	NA	NA
2372779	Female	37	BNT162b2	2021-04-27	BNT162b2
KS221117	Male	40	BNT162b2	2021-06-17	BNT162b2
216850	Female	59	BNT162b2	2021-09-04	BNT162b2
226147	Male	49	BNT162b2	2021-09-21	BNT162b2
2422938	Female	27	BNT162b2	2021-09-10	BNT162b2
2422916	Female	54	BNT162b2	2021-09-28	BNT162b2
2422887	Male	32	BNT162b2	2021-08-23	mRNA-1273
2404750	Female	51	BNT162b2	2021-07-23 or 2021-07-24	BNT162b2
2363002	Male	52	BNT162b2	2021-08-27	BNT162b2
1053	Male	86	BNT162b2	2021-05-17	NA
2420132	Female	50	BNT162b2	2021-08-27	BNT162b2
2423214	Male	77	BNT162b2	2021-03-	NA
2423218	Female	82	BNT162b2	2021-03-	NA
233746	Male	52	BNT162b2	2021-07-	NA
NM221207	Female	54	BNT162b2	2021-06-26	BNT162b2
2366112	Female	42	NA	2021-10-01	NA
14137	Female	41	BNT162b2	2021-09-10	BNT162b2
2418539	Female	72	NA	NA	NA
2420249	Male	47	BNT162b2	2021-09-05	BNT162b2
2423718	Female	49	BNT162b2	2021-09-	BNT162b2
319561	Male	18	BNT162b2	2021-09-21	BNT162b2
2372043	Male	43	NA	NA	NA
NA, not applicable.					

表 7. 本研究で使用したワクチン接種者の血清（図 18 に対応）（続き）

Date of 2nd vaccination (YYYY-MM-DD)	vaccine (3rd vaccination)	Date of 3rd vaccination (YYYY-MM-DD)	vaccine (4th vaccination)	Date of 4th vaccination (YYYY-MM-DD)
2021-06-04	BNT162b2	2022-01-28	BNT162b2	2022-08-01
2021-06-04	BNT162b2	2022-01-28	BNT162b2	2022-08-05
2021-06-04	BNT162b2	2022-01-28	BNT162b2	2022-08-05
2021-04-28	BNT162b2	2022-01-22	BNT162b2	2022-07-30
2021-06-04	BNT162b2	2022-01-29	BNT162b2	2022-08-05
2021-06-10	BNT162b2	2022-01-28	BNT162b2	2022-08-05
2021-05-31	BNT162b2	2022-02-05	BNT162b2	2022-08-02
2021-05-31	BNT162b2	2022-02-03	BNT162b2	2022-08-01
2021-06-01	BNT162b2	2022-02-01	BNT162b2	2022-08-03
2021-07-17	BNT162b2	2022-01-28	BNT162b2	2022-08-10
2021-04-08	BNT162b2	2021-12-28	BNT162b2	2022-08-09
2021-04-16	BNT162b2	2022-01-28	BNT162b2	2022-08-09
2021-06-02	BNT162b2	2022-01-25	BNT162b2	2022-08-02
2021-06-10	BNT162b2	2022-01-26	BNT162b2	2022-08-04
2021-06-01	BNT162b2	2022-02-02	BNT162b2	2022-08-05
2021-06-04	BNT162b2	2022-01-26	BNT162b2	2022-07-21
2021-04-07	BNT162b2	2022-01-25	BNT162b2	2022-08-02
2021-06-04	BNT162b2	2022-01-28	BNT162b2	2022-08-02
2021-06-11	BNT162b2	2022-02-16	BNT162b2	2022-08-01
2021-08-22	BNT162b2	2022-03-25	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-01
NA	NA	2022-04-10	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-02
2021-10-03	BNT162b2	2022-04-23	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-03
2021-08-29	BNT162b2	2022-04-07	BNT162b2 (BA.1)	2022-09-29
2021-09-08	BNT162b2	2022-04-07	BNT162b2 (BA.1)	2022-09-30
2021-09-21	mRNA-1273	2022-03-28	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-01
2021-09-08	BNT162b2	2022-04-24	BNT162b2 (BA.1)	2022-09-28
2021-10-20	BNT162b2	2022-04-28	BNT162b2 (BA.1)	2022-09-28
2021-10-10	BNT162b2	2022-04-21	BNT162b2 (BA.1)	2022-09-28
NA	BNT162b2	2022-04-14	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-01
2021-08-30	BNT162b2	2022-03-18	BNT162b2 (BA.1)	2022-09-29
2021-10-15	BNT162b2	2022-04-16	BNT162b2 (BA.1)	2022-09-30
NA	mRNA-1273	2022-04-23	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-08
2021-08-23	BNT162b2	2022-03-18	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-08
2021-10-17	BNT162b2	2022-04-17	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-08
2021-03-29	BNT162b2	2021-12-10	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-08
2021-07-28	BNT162b2	2022-03-04	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-07
2021-09-17	NA	NA	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-07
NA	BNT162b2	2022-05-18	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-06
NA	mRNA-1273	2022-03-04	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-06
NA	mRNA-1273	2022-04-13	BNT162b2 (BA.1)	2022-10-06
2021-05-18	BNT162b2	2022-01-14	BNT162b2 (BA.1)	2022-09-30
2022-07-07	mRNA-1273	2022-03-28	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-27
2021-09-25	BNT162b2	2022-04-07	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-27
2021-10-20	BNT162b2	2022-05-21	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-27
2021-11-02	BNT162b2	2022-05-	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-31
2021-10-19	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-31		
2021-09-21	mRNA-1273	2022-03-28	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-31
2021-08-12	BNT162b2	2022-03-16	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-31
2021-09-17	BNT162b2	2022-04-09	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-29
2021-06-07	NA	NA	NA	NA
2021-09-17	BNT162b2	2022-03-24	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-28
2021-03-	NA	2022-03-29	NA	2022-07-05
2021-03-	NA	2022-03-29	NA	2022-07-05
2021-07-	NA	2022-03-	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-31
2021-07-17	BNT162b2	2022-02-05	BNT162b2 (BA.5)	2022-11-16
2021-10-	NA	2022-05-01	BNT162b2 (BA.5)	2022-11-01
2021-10-01	BNT162b2	2022-04-16	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-29
NA	BNT162b2	2021-07-22	BNT162b2 (BA.5)	2022-11-06
2021-09-26	BNT162b2	2022-04-10	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-30
2022-01-	BNT162b2	2022-04-	BNT162b2 (BA.5)	2022-11-03
2021-10-12	BNT162b2	2022-04-15	BNT162b2 (BA.5)	2022-11-01
NA	BNT162b2	2022-05-26	BNT162b2 (BA.5)	2022-11-01

表 7. 本研究で使したワクチン接種者の血清（図 18 に対応）（続き）

vaccine (5th vaccination)	Date of 5th vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (YYYY-MM-DD)	Prior infection?
		2022-08-22	No
		2022-08-26	No
		2022-08-26	No
		2022-08-23	No
		2022-09-06	No
		2022-08-26	No
		2022-08-25	No
		2022-08-25	No
		2022-08-24	No
		2022-09-06	No
		2022-09-06	No
		2022-09-07	No
		2022-08-24	No
		2022-08-26	No
		2022-08-26	No
		2022-08-19	No
		2022-08-26	No
		2022-08-23	No
		2022-08-22	No
		2022-10-22	No
		2022-10-23	No
		2022-10-23	No
		2022-10-21	No
		2022-10-21	No
		2022-10-23	No
		2022-10-22	No
		2022-10-21	No
		2022-10-17	No
		2022-10-22	No
		2022-10-26	No
		2022-10-29	No
		2022-10-30	No
		2022-10-29	No
		2022-10-29	No
		2022-10-29	No
		2022-10-28	No
		2022-11-01	No
		2022-10-30	Yes (2021-08-14)
		2022-10-29	No
		2022-11-19	No
		2022-11-01	NO
		2022-11-17	No
		2022-11-21	No
		2022-11-21	No
		2022-11-22	No
		2022-11-22	No
		2022-11-22	Yes (2021-08-)
		2022-11-22	Yes (2022-07-08)
		2022-11-23	No
BNT162b2 (BA.5)	2022-11-01	2022-11-24	No
		2022-11-23	No
BNT162b2 (BA.5)	2022-11-01	2022-11-24	No
BNT162b2 (BA.5)	2022-11-01	2022-11-24	No
		2022-11-24	No
		2022-12-07	No
		2022-11-25	No
		2022-11-27	No
		2022-11-27	No
		2022-11-27	No
		2022-11-27	No
		2022-11-27	No
		2022-11-28	No

表 8. 本研究で使⽤した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 17 に対応)

SARS-CoV-2 infected	Donor ID	Sex	Age	Date of test (YYYY/MM/DD)
BA.2	P378	Male	43	2022/03/28
BA.2	P398	Male	48	2022/04/13
BA.2	P407	Male	29	2022/05/01
BA.2	P401	Male	35	2022/04/22
BA.2	P412	Female	82	2022/05/04
BA.2	6449	Male	43	2022/04/03
BA.2	6355	Male	50	2022/04/02
BA.2	6547	Male	54	2022/04/06
BA.2	7951	Female	71	2022/04/25
BA.2	8645	Female	41	2022/05/07
BA.2	8682	Female	25	2022/05/08
BA.2	5949	Male	24	2022/03/22
BA.2	8463	Male	84	2022/05/05
BA.2	8796	Female	34	2022/05/10
BA.5	P427	Female	49	2022/07/06
BA.5	P440	Male	25	2022/07/24
BA.5	P439	Female	73	2022/07/23
BA.5	P451	Female	55	2022/07/29
BA.5	P456	Male	44	2022/08/04
BA.5	P455	Male	29	2022/08/03
BA.5	P464	Male	63	2022/08/08
BA.5	9341	Male	56	2022/06/12
BA.5	9584	Male	55	2022/07/08
BA.5	11318	Female	51	2022/07/24
BA.5	23S-08	Male	25	2022/07/23
BA.5	11597	Female	41	2022/07/26
BA.5	10978	Female	46	2022/07/22
BA.5	10826	Male	63	2022/07/21
BA.5	11079	Female	65	2022/07/23
BA.5	14847	Female	70	2022/08/13
BA.5	13180	Female	63	2022/08/04
BA.5	12912	Male	64	2022/08/02
BA.5	14956	Female	33	2022/08/13
BA.5	15707	Female	52	2022/08/16
NA, not applicable.				

表 8. 本研究で使⽤した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 17 に対応) (続き)

Date of sampling (YYYY/MM/DD)	Prior infection?	Prior vaccination?	Vaccine	Date of 1st vaccination (YYYY/MM/DD)
2022/04/10	No	Yes	BNT162b2	2021/10/10
2022/04/30	No	Yes	BNT162b2	2021/09/18
2022/05/12	No	Yes	mRNA-1273	2021/09/13
2022/05/05	No	Yes	BNT162b2	2021/09/09
2022/05/26	No	Yes	BNT162b2	2021/06/11
2022/04/23	No	Yes	BNT162b2	2021/08/13
2022/04/20	No	Yes	NA	2021/04/28
2022/04/22	No	Yes	BNT162b2	2021/08/25
2022/05/12	No	Yes	Mix	2021/06/20 (BNT162b2)
2022/05/20	No	Yes	BNT162b2	2021/05/23
2022/05/24	No	Yes	BNT162b2	2021/09/03
2022/05/22	No	Yes	mRNA-1273	2021/08/05
2022/05/23	No	Yes	Mix	2021/05/27 (BNT162b2)
2022/06/05	No	Yes	BNT162b2	2021/09/26
2022/07/25	No	Yes	NA	2021/07/30
2022/08/07	No	Yes	BNT162b2	2021/11/24
2022/08/08	No	Yes	BNT162b2	2021/06/19
2022/8/12	No	Yes	BNT162b2	2021/04/26
2022/08/14	No	Yes	BNT162b2	2021/08/11
2022/08/17	No	Yes	mRNA-1273	2021/07/26
2022/08/19	No	Yes	BNT162b2	2021/08/08
2022/06/30	No	Yes	BNT162b2	2021/08/10
2022/07/25	No	Yes	BNT162b2	2021/07/14
2022/08/05	No	Yes	BNT162b2	2021/09/01
2022/08/08	No	Yes	BNT162b2	2021/04/27
2022/08/08	No	Yes	BNT162b2	2021/04/30
2022/08/11	No	Yes	BNT162b2	2021/08/27
2022/08/11	No	Yes	BNT162b2	2021/07/27
2022/08/11	No	Yes	mRNA-1273	2021/07/08
2022/08/25	No	Yes	BNT162b2	2021/07/13
2022/08/25	No	Yes	BNT162b2	2021/07/16
2022/08/25	No	Yes	mRNA-1273	2021/09/02
2022/08/28	No	Yes	BNT162b2	2021/09/06
2022/08/29	No	Yes	BNT162b2	2021/08/07

表 8. 本研究で使用した SARS-CoV-2 感染者の血清（図 17 に対応）（続き）

Date of 2nd vaccination (YYYY/MM/DD)	Date of 3rd vaccination (YYYY/MM/DD)	Date of 4rd vaccination (YYYY/MM/DD)
2021/10/31		
2021/10/09	2022/04/09	
2021/10/11		
2021/09/30		
2021/07/09		
2021/09/11		
2021/05/19	2022/01/19	
2021/09/15		
2021/07/16 (BNT162b2)	2022/02/16 (mRNA-1273)	
2021/06/13	2022/01/20	
2021/09/27		
2021/09/02		
2021/06/21 (BNT162b2)	2022/02/22(mRNA-1273)	
2021/10/17		
2021/08/25	2022/03/18	
2021/12/15		
2021/07/20	2022/02/04 (mRNA-1273)	
2021/05/20	2022/01/18	
2021/09/01	2022/03/13 (mRNA-1273)	
2021/08/27	2022/04/18	
2021/08/29	2022/04/07 (mRNA-1273)	
2021/08/31	2022/03/18	
2021/08/05	2022/03/22	
2021/09/22	2022/05/19 (mRNA-1273)	
2021/05/18	2022/01/11	
2021/05/21	2022/01/11	
2021/09/17	2022/05/15	
2021/08/17	2022/03/04	2022/8/9 (mRNA-1273)
2021/08/05	2022/03/17	
2021/08/20	2022/03/08 (mRNA-1273)	
2021/08/06	2022/03/08 (mRNA-1273)	
2021/09/30	2021/04/01	
2021/10/07		
2021/08/28	2022/04/03	

表 9. 本研究で使用したワクチン接種者の血清（図 21 に対応）

Donor ID	Sex	Age	vaccine (1st vaccination)	Date of 1st vaccination (YYYY-MM-DD)
4	Female	43	BNT162b2	2021-05-14
8	Female	56	BNT162b2	2021-05-14
14	Female	43	BNT162b2	2021-05-14
28	Female	42	BNT162b2	2021-04-06
62	Male	46	BNT162b2	2021-05-14
63	Female	49	BNT162b2	2021-05-12
67	Male	38	BNT162b2	2021-05-11
70	Female	48	BNT162b2	2021-05-12
90	Male	45	BNT162b2	2021-05-11
92	Female	30	BNT162b2	2021-05-20
94	Male	36	BNT162b2	2021-05-11
97	Female	43	BNT162b2	2021-05-12
100	Male	32	BNT162b2	2021-05-18
103	Male	35	BNT162b2	2021-03-17
122	Female	45	BNT162b2	2021-05-20
115117	Male	65	BNT162b2	2021-08-01
210718	Female	55	NA	NA
331843	Male	58	NA	2021-08-22
2362037	Male	57	NA	NA
108127	Female	57	BNT162b2	2021-08-07
190497	Female	52	BNT162b2	2021-08-30
1437	Female	73	BNT162b2	2021-07-31
247029	Female	50	NA	2021-09-21
2382760	Female	30	mRNA-1273	2021-07-08
129061	Male	42	NA	NA
318009	Female	58	BNT162b2	2021-08-06
218082	Female	45	BNT162b2	2021-09-24
7371	Female	45	NA	NA
145410	Male	71	BNT162b2	2021-07-23
2362083	Female	57	BNT162b2	2021-09-26
2420192	Female	36	BNT162b2	2021-03-08
149621	Female	80	BNT162b2	2021-06-29
309473	Female	57	NA	NA
2385248	Male	56	NA	NA
2362137	Male	63	NA	NA
KS221117	Male	40	BNT162b2	2021-06-17
216850	Female	59	BNT162b2	2021-09-04
226147	Male	49	BNT162b2	2021-09-21
2422938	Female	27	BNT162b2	2021-09-10
2422916	Female	54	BNT162b2	2021-09-28
2422887	Male	32	BNT162b2	2021-08-23
2404750	Female	51	BNT162b2	2021-07-23 or 2021-07-24
2363002	Male	52	BNT162b2	2021-08-27
1053	Male	86	BNT162b2	2021-05-17
2420132	Female	50	BNT162b2	2021-08-27
2423214	Male	77	BNT162b2	2021-03-
2423218	Female	82	BNT162b2	2021-03-
233746	Male	52	BNT162b2	2021-07-
NM221207	Female	54	BNT162b2	2021-06-26
2366112	Female	42	NA	2021-10-01
14137	Female	41	BNT162b2	2021-09-10
2418539	Female	72	NA	NA
2420249	Male	47	BNT162b2	2021-09-05
2423718	Female	49	BNT162b2	2021-09-
319561	Male	18	BNT162b2	2021-09-21
2372043	Male	43	NA	NA

表 9. 本研究で使用したワクチン接種者の血清（図 21 に対応）（続き）

vaccine (2nd vaccination)	Date of 2nd vaccination (YYYY-MM-DD)	vaccine (3rd vaccination)	Date of 3rd vaccination (YYYY-MM-DD)	vaccine (4th vaccination)
BNT162b2	2021-06-04	BNT162b2	2022-01-28	BNT162b2
BNT162b2	2021-06-04	BNT162b2	2022-01-28	BNT162b2
BNT162b2	2021-06-04	BNT162b2	2022-01-28	BNT162b2
BNT162b2	2021-04-28	BNT162b2	2022-01-22	BNT162b2
BNT162b2	2021-06-10	BNT162b2	2022-01-28	BNT162b2
BNT162b2	2021-05-31	BNT162b2	2022-02-05	BNT162b2
BNT162b2	2021-06-01	BNT162b2	2022-02-01	BNT162b2
BNT162b2	2021-06-02	BNT162b2	2022-01-22	BNT162b2
BNT162b2	2021-06-02	BNT162b2	2022-01-25	BNT162b2
BNT162b2	2021-06-10	BNT162b2	2022-01-26	BNT162b2
BNT162b2	2021-06-01	BNT162b2	2022-02-02	BNT162b2
BNT162b2	2021-06-04	BNT162b2	2022-01-26	BNT162b2
BNT162b2	2021-06-08	BNT162b2	2022-01-22	BNT162b2
BNT162b2	2021-04-07	BNT162b2	2022-01-25	BNT162b2
BNT162b2	2021-06-11	BNT162b2	2022-02-16	BNT162b2
BNT162b2	2021-08-22	BNT162b2	2022-03-25	BNT162b2 (BA.1)
NA	NA	NA	2022-04-10	BNT162b2 (BA.1)
NA	2021-10-03	BNT162b2	2022-04-23	BNT162b2 (BA.1)
NA	2021-08-29	BNT162b2	2022-04-07	BNT162b2 (BA.1)
BNT162b2	2021-09-08	BNT162b2	2022-04-07	BNT162b2 (BA.1)
BNT162b2	2021-09-21	mRNA-1273	2022-03-28	BNT162b2 (BA.1)
BNT162b2	2021-09-08	BNT162b2	2022-04-24	BNT162b2 (BA.1)
NA	2021-10-20	BNT162b2	2022-04-28	BNT162b2 (BA.1)
BNT162b2	2021-10-10	BNT162b2	2022-04-21	BNT162b2 (BA.1)
NA	NA	BNT162b2	2022-04-14	BNT162b2 (BA.1)
BNT162b2	2021-08-30	BNT162b2	2022-03-18	BNT162b2 (BA.1)
BNT162b2	2021-10-15	BNT162b2	2022-04-16	BNT162b2 (BA.1)
NA	NA	mRNA-1273	2022-04-23	BNT162b2 (BA.1)
BNT162b2	2021-08-23	BNT162b2	2022-03-18	BNT162b2 (BA.1)
BNT162b2	2021-10-17	BNT162b2	2022-04-17	BNT162b2 (BA.1)
BNT162b2	2021-03-29	BNT162b2	2021-12-10	BNT162b2 (BA.1)
BNT162b2	2021-07-28	BNT162b2	2022-03-04	BNT162b2 (BA.1)
NA	2021-09-17	NA	NA	BNT162b2 (BA.1)
NA	NA	BNT162b2	2022-05-18	BNT162b2 (BA.1)
NA	NA	mRNA-1273	2022-03-04	BNT162b2 (BA.1)
BNT162b2	2022-07-07	mRNA-1273	2022-03-28	BNT162b2 (BA.5)
BNT162b2	2021-09-25	BNT162b2	2022-04-07	BNT162b2 (BA.5)
BNT162b2	2021-10-20	BNT162b2	2022-05-21	BNT162b2 (BA.5)
BNT162b2	2021-11-02	BNT162b2	2022-05-	BNT162b2 (BA.5)
BNT162b2	2021-10-19	BNT162b2 (BA.5)	2022-10-31	
mRNA-1273	2021-09-21	mRNA-1273	2022-03-28	BNT162b2 (BA.5)
BNT162b2	2021-08-12	BNT162b2	2022-03-16	BNT162b2 (BA.5)
BNT162b2	2021-09-17	BNT162b2	2022-04-09	BNT162b2 (BA.5)
NA	2021-06-07	NA	NA	NA
BNT162b2	2021-09-17	BNT162b2	2022-03-24	BNT162b2 (BA.5)
NA	2021-03-	NA	2022-03-29	NA
NA	2021-03-	NA	2022-03-29	NA
NA	2021-07-	NA	2022-03-	BNT162b2 (BA.5)
BNT162b2	2021-07-17	BNT162b2	2022-02-05	BNT162b2 (BA.5)
NA	2021-10-	NA	2022-05-01	BNT162b2 (BA.5)
BNT162b2	2021-10-01	BNT162b2	2022-04-16	BNT162b2 (BA.5)
NA	NA	BNT162b2	2021-07-22	BNT162b2 (BA.5)
BNT162b2	2021-09-26	BNT162b2	2022-04-10	BNT162b2 (BA.5)
BNT162b2	2022-01-	BNT162b2	2022-04-	BNT162b2 (BA.5)
BNT162b2	2021-10-12	BNT162b2	2022-04-15	BNT162b2 (BA.5)
NA	NA	BNT162b2	2022-05-26	BNT162b2 (BA.5)

表 9. 本研究で使用したワクチン接種者の血清（図 21 に対応）（続き）

Date of 4th vaccination (YYYY-MM-DD)	vaccine (5th vaccination)	Date of 5th vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (YYYY-MM-DD)	Prior infection?
2022-08-01			2022-08-22	No
2022-08-05			2022-08-26	No
2022-08-05			2022-08-26	No
2022-07-30			2022-08-23	No
2022-08-05			2022-08-26	No
2022-08-02			2022-08-25	No
2022-08-03			2022-08-24	No
2022-08-04			2022-08-25	No
2022-08-02			2022-08-24	No
2022-08-04			2022-08-26	No
2022-08-05			2022-08-26	No
2022-07-21			2022-08-19	No
2022-07-17			2022-08-18	No
2022-08-02			2022-08-26	No
2022-08-01			2022-08-22	No
2022-10-01			2022-10-22	No
2022-10-02			2022-10-23	No
2022-10-03			2022-10-23	No
2022-09-29			2022-10-21	No
2022-09-30			2022-10-21	No
2022-10-01			2022-10-23	No
2022-09-28			2022-10-22	No
2022-09-28			2022-10-21	No
2022-09-28			2022-10-17	No
2022-10-01			2022-10-22	No
2022-09-29			2022-10-26	No
2022-09-30			2022-10-29	No
2022-10-08			2022-10-30	No
2022-10-08			2022-10-29	No
2022-10-08			2022-10-29	No
2022-10-08			2022-10-29	No
2022-10-07			2022-10-28	No
2022-10-07			2022-11-01	No
2022-10-06			2022-10-30	Yes (2021-08-14)
2022-10-06			2022-10-29	No
2022-10-27			2022-11-17	No
2022-10-27			2022-11-21	No
2022-10-27			2022-11-21	No
2022-10-31			2022-11-22	No
			2022-11-22	No
2022-10-31			2022-11-22	Yes (2021-08-)
2022-10-31			2022-11-22	Yes (2022-07-08)
2022-10-29			2022-11-23	No
NA	BNT162b2 (BA.5)	2022-11-01	2022-11-24	No
2022-10-28			2022-11-23	No
2022-07-05	BNT162b2 (BA.5)	2022-11-01	2022-11-24	No
2022-07-05	BNT162b2 (BA.5)	2022-11-01	2022-11-24	No
2022-10-31			2022-11-24	No
2022-11-16			2022-12-07	No
2022-11-01			2022-11-25	No
2022-10-29			2022-11-27	No
2022-11-06			2022-11-27	No
2022-10-30			2022-11-27	No
2022-11-03			2022-11-27	No
2022-11-01			2022-11-27	No
2022-11-01			2022-11-28	No

表 10. 本研究で使⽤した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 20, 22 に対応)

SARS-CoV-2 infected	Donor ID	Sex	Age
BA.2	P378	Male	43
BA.2	P398	Male	48
BA.2	P407	Male	29
BA.2	P401	Male	35
BA.2	P412	Female	82
BA.2	6449	Male	43
BA.2	6355	Male	50
BA.2	6547	Male	54
BA.2	7951	Female	71
BA.2	8645	Female	41
BA.2	8682	Female	25
BA.2	5949	Male	24
BA.2	8463	Male	84
BA.2	8796	Female	34
BA.5	P427	Female	49
BA.5	P440	Male	25
BA.5	P439	Female	73
BA.5	P451	Female	55
BA.5	P456	Male	44
BA.5	P455	Male	29
BA.5	P464	Male	63
BA.5	9341	Male	56
BA.5	9584	Male	55
BA.5	11318	Female	51
BA.5	23S-08	Male	25
BA.5	11597	Female	41
BA.5	10978	Female	46
BA.5	10826	Male	63
BA.5	11079	Female	65
BA.5	14847	Female	70
BA.5	13180	Female	63
BA.5	12912	Male	64
BA.5	14956	Female	33
BA.5	15707	Female	52
NA, not applicable.			

表 10. 本研究で使⽤した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 20, 22 に対応) (続き)

Date of test (YYYY/MM/DD)	Date of sampling (YYYY/MM/DD)	Prior infection?	Prior vaccination?	Vaccine
2022/03/28	2022/04/10	No	Yes	BNT162b2
2022/04/13	2022/04/30	No	Yes	BNT162b2
2022/05/01	2022/05/12	No	Yes	mRNA-1273
2022/04/22	2022/05/05	No	Yes	BNT162b2
2022/05/04	2022/05/26	No	Yes	BNT162b2
2022/04/03	2022/04/23	No	Yes	BNT162b2
2022/04/02	2022/04/20	No	Yes	NA
2022/04/06	2022/04/22	No	Yes	BNT162b2
2022/04/25	2022/05/12	No	Yes	Mix
2022/05/07	2022/05/20	No	Yes	BNT162b2
2022/05/08	2022/05/24	No	Yes	BNT162b2
2022/03/22	2022/05/22	No	Yes	mRNA-1273
2022/05/05	2022/05/23	No	Yes	Mix
2022/05/10	2022/06/05	No	Yes	BNT162b2
2022/07/06	2022/07/25	No	Yes	NA
2022/07/24	2022/08/07	No	Yes	BNT162b2
2022/07/23	2022/08/08	No	Yes	BNT162b2
2022/07/29	2022/8/12	No	Yes	BNT162b2
2022/08/04	2022/08/14	No	Yes	BNT162b2
2022/08/03	2022/08/17	No	Yes	mRNA-1273
2022/08/08	2022/08/19	No	Yes	BNT162b2
2022/06/12	2022/06/30	No	Yes	BNT162b2
2022/07/08	2022/07/25	No	Yes	BNT162b2
2022/07/24	2022/08/05	No	Yes	BNT162b2
2022/07/23	2022/08/08	No	Yes	BNT162b2
2022/07/26	2022/08/08	No	Yes	BNT162b2
2022/07/22	2022/08/11	No	Yes	BNT162b2
2022/07/21	2022/08/11	No	Yes	BNT162b2
2022/07/23	2022/08/11	No	Yes	mRNA-1273
2022/08/13	2022/08/25	No	Yes	BNT162b2
2022/08/04	2022/08/25	No	Yes	BNT162b2
2022/08/02	2022/08/25	No	Yes	mRNA-1273
2022/08/13	2022/08/28	No	Yes	BNT162b2
2022/08/16	2022/08/29	No	Yes	BNT162b2

表 10. 本研究で使した SARS-CoV-2 感染者の血清（図 20, 22 に対応）（続き）

Date of 1st vaccination (YYYY/MM/DD)	Date of 2nd vaccination (YYYY/MM/DD)	Date of 3rd vaccination (YYYY/MM/DD)	Date of 4rd vaccination (YYYY/MM/DD)
2021/10/10	2021/10/31		
2021/09/18	2021/10/09	2022/04/09	
2021/09/13	2021/10/11		
2021/09/09	2021/09/30		
2021/06/11	2021/07/09		
2021/08/13	2021/09/11		
2021/04/28	2021/05/19	2022/01/19	
2021/08/25	2021/09/15		
2021/06/20 (BNT162b2)	2021/07/16 (BNT162b2)	2022/02/16 (mRNA-1273)	
2021/05/23	2021/06/13	2022/01/20	
2021/09/03	2021/09/27		
2021/08/05	2021/09/02		
2021/05/27 (BNT162b2)	2021/06/21 (BNT162b2)	2022/02/22(mRNA-1273)	
2021/09/26	2021/10/17		
2021/07/30	2021/08/25	2022/03/18	
2021/11/24	2021/12/15		
2021/06/19	2021/07/20	2022/02/04 (mRNA-1273)	
2021/04/26	2021/05/20	2022/01/18	
2021/08/11	2021/09/01	2022/03/13 (mRNA-1273)	
2021/07/26	2021/08/27	2022/04/18	
2021/08/08	2021/08/29	2022/04/07 (mRNA-1273)	
2021/08/10	2021/08/31	2022/03/18	
2021/07/14	2021/08/05	2022/03/22	
2021/09/01	2021/09/22	2022/05/19 (mRNA-1273)	
2021/04/27	2021/05/18	2022/01/11	
2021/04/30	2021/05/21	2022/01/11	
2021/08/27	2021/09/17	2022/05/15	
2021/07/27	2021/08/17	2022/03/04	2022/8/9 (mRNA-1273)
2021/07/08	2021/08/05	2022/03/17	
2021/07/13	2021/08/20	2022/03/08 (mRNA-1273)	
2021/07/16	2021/08/06	2022/03/08 (mRNA-1273)	
2021/09/02	2021/09/30	2021/04/01	
2021/09/06	2021/10/07		
2021/08/07	2021/08/28	2022/04/03	

表 11. 本研究で使⽤した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 23 に対応)

SARS-CoV-2 infected	Donor ID	Sex	Age	Date of 1st vaccination	Date of 2nd vaccination	Date of 3rd vaccination
				(YYYY-MM-DD)	(YYYY-MM-DD)	(YYYY-MM-DD)
XBB.1.5	37306	Female	53	2021-04-27 (P)	2021-05-18 (P)	2022-02-01 (P)
XBB.1.5	37097	Female	44	NA (M)	2021-08-16 (M)	2022-05-13 (M)
XBB.1.5	37598	Female	43	2021-04-28 (P)	2021-05-19 (P)	2022-11-08 (P)
XBB.1.5	37072	Female	15	2021-09-25 (P)	2021-10-18 (P)	2022-05-02 (P)
XBB.1.5	37071	Female	48	2021-10-01 (P)	2021-11-01 (P)	2022-05-06 (P)
XBB.1.5	36845	Male	29	2021-09-01 (M)	2021-09-29 (M)	2022-05-27 (M)
XBB.1.5	37229	Female	74	2021-06-24 (P)	2021-07-15 (P)	2022-02-16 (M)
XBB.1.5	36708	Male	55	2021-08-07 (P)	2021-08-27 (P)	2022-04-14 (P)
XBB.1.9	37317	Male	65	NA (P)	NA (P)	NA (P)
XBB.1.9	37463	Female	21	2021-08-01 (M)	2021-09-01 (M)	
XBB.1.9	37087	Female	50	2021-09-05 (P)	2021-09-26 (P)	2022-03-26 (M)
XBB.1.9	P592	Female	32	NA (NA)	NA (NA)	2022-10-26 (P)
XBB.1.9	P595	Female	88	2021-05-18 (P)	2021-06-08 (P)	2022-02-04 (M)
XBB.1.9	KS-230718	Male	41	2021-06-17 (P)	2021-07-07 (P)	2022-03-28 (M)
XBB.1.16	KY-230807	Female	53	2021-08-18 (P)	2021-09-08 (P)	2022-04-13 (P)
XBB.1.16	LC-230807	Male	26	2021-07-22 (P)	2021-08-21 (P)	2022-03-30 (M)
XBB.1.16	37090	Male	56	2021-08-01 (P)	2021-08-22 (P)	2022-04-08 (P)
XBB.1.16	37300	Female	54	2021-08-31 (P)	2021-09-29 (P)	2022-04-08 (P)
XBB.1.16	37302	Female	42	2021-09-06 (M)	2021-10-04 (M)	
XBB.1.16	AH-230816	Male	34	2021-08-27 (M)	2021-09-24 (M)	2022-04-16 (M)
XBB.1.16	P601	Male	38	2021-11-05 (P)	2021-11-26 (P)	2022-05-27 (P)
XBB.1.16	P593	Male	65	2021-08-02 (P)	2021-08-30 (P)	2022-04-03 (P)
XBB.1.16	P594	Male	18	2021-09-06 (P)	2021-10-15 (P)	
XBB.1.16	JI-230718	Male	34	2021-07-19 (M)	2021-08-20 (M)	2022-05-13 (M)
NA, not applicable.						
P, Pfizer-BioNTech; M, Moderna						

表 11. 本研究で使⽤した SARS-CoV-2 感染者の血清 (図 23 に対応) (続き)

Date of 4th vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of 5th vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of 6th vaccination (YYYY-MM-DD)	Date of test (YYYY-MM-DD)	Date of sampling (YYYY-MM-DD)	Prior infection?
2022-07-30 (M)	2022-12-17 (P)		2023-07-20	2023-08-08	No
			2023-07-13	2023-08-11	No
2022-07-08 (M)	2022-12-27 (P)		2023-07-28	2023-08-11	Yes
			2023-07-11	2023-08-11	No
			2023-07-15	2023-08-11	No
			2023-06-26	2023-08-11	No
2022-07-20 (M)	2023-03-25 (M)		2023-07-17	2023-08-01	No
			2023-06-01	2023-07-09	No
NA (P)	NA (P)		2023-07-20	2023-08-12	No
			2023-07-24	2023-08-12	No
2022-11-05 (P)			2023-07-11	2023-08-12	No
			2023-05-06	2023-05-16	No
2022-07-19 (M)	2022-11-18 (P)		2023-05-13	2023-05-19	No
2022-10-27 (M)			2023-06-30	2023-07-18	No
2022-10-21 (P)			2023-07-24	2023-08-07	No
			2023-07-24	2023-08-07	No
2022-09-24 (P)	2023-01-20 (P)	2023-06-07 (P)	2023-07-12	2023-08-11	No
2022-09-28 (P)			2023-07-19	2023-08-12	No
			2023-07-19	2023-08-12	No
			2023-08-03	2023-08-16	Yes
			2023-07-06	2023-07-14	No
			2023-05-09	2023-05-16	No
			2023-05-07	2023-05-19	No
2022-11-22 (M)			2023-07-03	2023-07-18	Yes

表 12. 本研究で使したプライマー

Primer name	Primer sequence (5'-to-3')	Purpose
D614G_Fwd	CTGTGCTCTACCAAGGTTGTAAGTGTACTGA	Preparation of B.1.1 S expression plasmid
D614G_Rev	TCAGTACAGTTCACACCTGGTAGAGCACAG	Preparation of B.1.1 S expression plasmid
HV69-70del_Fwd	CTGGTCCATGCCATCTCTGGCAACCAATGGCA	Preparation of Alpha S expression plasmid
HV69-70del_Rev	TGCCATTGGTGCCAGAGATGGCATGGAACCAAG	Preparation of Alpha S expression plasmid
Y144del_Fwd	CATTCTGGGAGTCTACCACAAGAACA	Preparation of Alpha S expression plasmid
Y144del_Rev	TTGTCTTGGTGAAGTCCCAAGGAATG	Preparation of Alpha S expression plasmid
N501Y_Fwd	CCAACCAACCTATGGAGTGGG	Preparation of Alpha S expression plasmid
N501Y_Rev	CCCACTCCATAGGTTGGTTGG	Preparation of Alpha S expression plasmid
A570D_Fwd	CAGGGACATTGATGACACCACA	Preparation of Alpha S expression plasmid
A570D_Rev	TGTGGTGTATCAATGTCCCTG	Preparation of Alpha S expression plasmid
P681H_Fwd	ACCAACAGCCATAGGAGGGCAA	Preparation of Alpha S expression plasmid
P681H_Rev	TTGCCCTCTATGGCTGTTGGT	Preparation of Alpha S expression plasmid
T716I_Fwd	GCCATCCCAATCAACTTCACC	Preparation of Alpha S expression plasmid
T716I_Rev	GGTGAAGTTGATTGGGATGGC	Preparation of Alpha S expression plasmid
S982A_Fwd	AATGACATCTCGGCCAGAGTGGACAA	Preparation of Alpha S expression plasmid
S982A_Rev	TTGTCCAGTCTGGCCAGGATGTCATT	Preparation of Alpha S expression plasmid
D1118H_Fwd	TTATCACACACACAAACCTT	Preparation of Alpha S expression plasmid
D1118H_Rev	AAGGTGTTGTGTGGTGATAA	Preparation of Alpha S expression plasmid
T19R_Fwd	GTGTGTGAACCTGAGAACCAGGACCAACT	Preparation of Delta S expression plasmid
T19R_Rev	AGTTGGGCTCTGGTTCTCAGGTTACACAC	Preparation of Delta S expression plasmid
G142D_Fwd	ATGACCCATTCTGGAGCTCTACTACCACAAG	Preparation of Delta S expression plasmid
G142D_Rev	CTTGTGGTAGACGCTCCAGGAATGGGTCAT	Preparation of Delta S expression plasmid
EFR156-8G_Fwd	CTGGATGGAGTCTGGAGTCTACTCTCTGCG	Preparation of Delta S expression plasmid
EFR156-8G_Rev	GCAGAGGAGTAGACTCCAGACTCCATCCAG	Preparation of Delta S expression plasmid
L452R_Fwd	CAACTACAACCTACCGTTACAGACTGTTCCAGG	Preparation of Delta S expression plasmid
L452R_Rev	CCTGAACAGCTGTAAACGGTAGTGTATTTG	Preparation of Delta S expression plasmid
T478K_Fwd	ACCAGGCTGGCAGCAAGCCATGTAATGGAGT	Preparation of Delta S expression plasmid
T478K_Rev	ACTCCATTACATGGCTTGTCTGCCAGCCTGGT	Preparation of Delta S expression plasmid
P681R_Fwd	CCAGACCAACAGCCGGAGGAGGGCAAGGCTCT	Preparation of Delta S expression plasmid
P681R_Rev	AGACCTTGCCCTCTCCGGGCTGTTGGTCTGG	Preparation of Delta S expression plasmid
D950N_Fwd	CTGGGCAAACTCCAAAATGTGGTGAACCAAG	Preparation of Delta S expression plasmid
D950N_Rev	CTGGTTCACCACATTTTGGAGTTTGCCAG	Preparation of Delta S expression plasmid
A67V_HV6970del_Fwd	AATGTGACCTGGTTCATGTATCTCTGGCAACCAATGGC	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
A67V_HV6970del_Rev	GCCATTGGTGCCAGAGATCACATGGAACCAAGGTCACATT	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
T95I_Fwd	GGAGTCTACTTTGGCCAGCATCAGAGAAGCAACATCATC	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
T95I_Rev	GATGATGTTGCTCTTCTCGATGCTGGCAAGTAGACTCC	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
GVYY142-145D_Fwd	TGTAATGACCCATTCTCGGACCAAGAACAACAGTCC	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
GVYY142-145D_Rev	GGACTTGTGTTCTTGTGGTCCAGGAATGGGTCAATACA	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
NLVR211-214IVREPE_Fwd	AAACACACCAATCATCTGTGAGAGAGCCGAGGACCTGCCACAGGGC	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
NLVR211-214IVREPE_Rev	CCCTGTGGCAGGCTCTCGGGCTCTCTCACGATGATTGGTGTGTTT	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
G339D_Fwd	ACCAACCTGTGCCATTGACGAGGTTGTTCAATGCCACC	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
G339D_Rev	GGTGGCATTGAACACCTCTGTAATGGACACAGGTTGGT	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
S371L_S373P_S375F_Fwd	CTCTGTGCTACAAACCTGGCCCCCTTCTTCCACTTCAAGTGTATG	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
S371L_S373P_S375F_Rev	CATAACACTTTGAAGGTGAAGAAGGGGGCCAGGTTGAGAGCAGAG	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
N440K_G446S_Fwd	CCTGGAACAGCAACAAGCTGGACAGCAAGGTGAGCGGCAACTACAACATAC	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
N440K_G446S_Rev	GTAGTTGATGTTGCCGCTCACCTTGCTGTCCAGCTGTTGCTGTTCCAGG	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
ST477-478NK_E484A_Fwd	TTACCAGGCTGGCAACAAGCCATTGTAAGTAGGTTGGCCGGCTTCAACTGTT	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
ST477-478NK_E484A_Rev	AACAGTTGAAGCCGCCACTCCATTACATGGCTTGTGCCAGCCTGGTAA	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
Q493R_G496S_Q498R_Fwd	GTACTTTCCACTCAGATCCTATAGCTTCAGACCAACCTATGGAGTG	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
Q493R_G496S_Q498R_Rev	CACCTCCATAGTTGGTCTGAAGCTATAGGATCTGAGTGGAAAGTAAC	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
Y505H_Fwd	CAACCTATGGAGTGGGGCACCACATACAGGGTGGT	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
Y505H_Rev	ACCACCTGTATGGTGGTGGGGCCCACTCATAGGTTG	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
T547K_Fwd	TTCAACTTCAATGGACTGAAGGGGACAGGAGTGTGCACA	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
T547K_Rev	TGTGACCACTCTGTGCCCTTCAGTCTTGAAGTTGAA	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
N679K_P681H_Fwd	TCCTACCAGACCCAGACCAAGAGCCATAGGAGGGCAAGGTCTGTG	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
N679K_P681H_Rev	CACAGACCTTGCCCTCTTATGGCTCTTGGTCTGGGCTCGGTAGGA	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
N764K_Fwd	TCCTTTCTGATCCCAACTTAAGAGGGCTTGACAGGCATT	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
N764K_Rev	AATGCCCTGTGACAGGCCCTCTTAAGTTGGGTACAGAAAGA	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
D796Y_Fwd	AAGACACCTCCAATCAAGTACTTTGAAGGCTTCAACATTC	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
D796Y_Rev	GAAGTTGAAGCCCTCCAAGTACTTGATTGGAGGTGTCTT	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
N856K_Fwd	ATTGTGCCCAAGGTTCAAGGGACTGACAGTGTGCTGCCT	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
N856K_Rev	AGGCAGCACTGTGAGTCCCTTGAACCTCTGGGCACAAAT	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
Q954H_Fwd	CTCCAAGATGGTGAACCAACAATGCCAGGCTCTGAAC	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
Q954H_Rev	GTTCAGAGCCTGGGCATTGTGGTTCACCACTCTTTGAG	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
N969K_Fwd	GTGAAGCAACTTTCCAGCAAGTTTGGAGCCATCTCTCTCT	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
N969K_Rev	AGAGGAGATGGCTCCAAACTTGTCTGGAAGTTGCTTAC	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
L981F_Fwd	CTGTGCTGAATGACATCTTCAGCAGACTGGACAAGGTG	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
L981F_Rev	CACCTTGTCCAGTCTGCTGAAGATGTGATTGACGACAGA	Preparation of Omicron BA.1 S expression plasmid
pC-S_BA.1_T19I_LPPA24-27S_Fwd	GTGTGAACCTGATCACCAGGACCCAAAGCTACACCAACTC	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_T19I_LPPA24-27S_Rev	GAGTTGGTGTAGCTTTGGGTCCTGGTGATCAGGTTACAC	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_Vi67-68AIHV_Fwd	ACCTGGTTCATGCCATCCATGTGTCTGGCAACCAATGGCA	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_Vi67-68AIHV_Rev	TGCCATTGGTGCCAGACACATGGATGGCATGGAACCAAGGT	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_I95T_Fwd	TGGAGTCTACTTTGCCAGCAGACAGGAAGCAACATCATC	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_I95T_Rev	GATGATGTTGCTCTTCTGTGCTGGCAAGTAGACTCCA	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_D140DVYY_Fwd	TGTAATGACCCATTCTGGACGTCTACTACACACAAGAACA	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_D140DVYY_Rev	TGTTCTTGTGGTAGTAGAGCTCCAGGAATGGGTCAATTACA	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
lpC-S_BA.1_VREPE206-212NLGR_Fwd	AACACACCAATCAACCTGGGCGAGGACCTGCCACAGGG	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_IVREPE206-212NLGR_Rev	CCCTGTGGCAGGTCCTGCCAGGTTGATTGGTGTGTGTT	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_L368F_T373A_Fwd	GCTCTACAACCTTCGCCCTCTTCTGCCCTTCAAGTGTATT	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_L368F_T373A_Rev	ATAACACTTGAAGGCGAAGAAGGGGGCAAGTTGTAGAGC	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_D402N_R405S_I407I_Fwd	TTGTGATTAGGGGAAACGAGGTGAGCCAGATTGCCCTGG	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_D402N_R405S_I407I_Rev	CCAGGGCAATCTGGCTCACCTCGTTTCCCTTAACACAA	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_S443G_Fwd	AAGCTGGACAGCAAGGTGGGAGGCAACTACAATACCTCT	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_S443G_Rev	AGAGGTAGTTGTAGTTGCCCTCCACCTTGTGTGCCAGCTT	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_S493G_Fwd	CTTTCCACTCAGATCCTATGGCTTCAGACCAACCTATGGA	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_S493G_Rev	TCCATTAGGTTGGTCTGAAGCCATAGGATCTGAGTGAAGAG	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_K544T_Fwd	CTTCAACTTCAATGGAAGTACAGAGGACAGGATGCTGACA	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_K544T_Rev	GTGACGACCTCTGTGCTGTGAGTCAATGAAGTTGAAG	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_K853N_Fwd	GATTTGTGCCAGAAAGTTCAATGGACTGACAGTGCCTGCT	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_K853N_Rev	AGGCAGCACTGTGAGTCCATTGAACCTCTGGGCACAAATC	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_F978L_Fwd	TCTGTGCTGAATGACATCTGAGCAGACTGGACAAGGTGG	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid
pC-S_BA.1_F978L_Rev	CCACCTGTGTCAGTCTGCTCAGGATGTCATTGACGACAGA	Preparation of Omicron BA.2 S expression plasmid

表 12. 本研究で使したプライマー（続き）

pC-S_BA.2_HV69-70del_Fwd	TGGTTCATGCCATCTCTGGCACCAATGGC	Preparation of Omicron BA.5 S expression plasmid
pC-S_BA.2_HV69-70del_Rev	GCCATTGGTGCCAGAGATGGCATGGAACCA	Preparation of Omicron BA.5 S expression plasmid
pC-S_BA.2_L452R_Fwd	CAACTACAACCTACCCTTACAGACTGTTACAGG	Preparation of Omicron BA.5 S expression plasmid
pC-S_BA.2_L452R_Rev	CCTGAACAGTCTGTAACCGTAGTTGTATGTTG	Preparation of Omicron BA.5 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F486V_Fwd	TGGAGTGGCCGGCGTGAAGCTGTACTTTTC	Preparation of Omicron BA.5 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F486V_Rev	GAAAGTAACAGTTCACGCCGGCCACTCCCA	Preparation of Omicron BA.5 S expression plasmid
pC-S_BA.2_R493Q_Fwd	TTACTTTCCACTCCAATCCTATGGCTTCA	Preparation of Omicron BA.5 S expression plasmid
pC-S_BA.2_R493Q_Rev	TGAAGCCATAGGATTGGAGTGGAAGATAA	Preparation of Omicron BA.5 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F486V_R493Q_Fwd	TGGCCGGCGTGAAGCTGTACTTTCCACTCCAATCCTATGG	Preparation of Omicron BA.5 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F486V_R493Q_Rev	CCATAGGATTGGAGTGGAAAGTAACAGTTCACGCCGGCCA	Preparation of Omicron BA.5 S expression plasmid
pC-S_BA.2_L452Q_Fwd	CAACTACAACCTACCAGTACAGACTGTTCA	Preparation of Omicron BA.2.12.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_L452Q_Rev	TGAACAGTCTGTACTGGTAGTTGTAGTTG	Preparation of Omicron BA.2.12.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_S704L_Fwd	GGGAGCAGAGAACCTGGTGGCTTACAGCA	Preparation of Omicron BA.2.12.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_S704L_Rev	TGCTGTAAGCCACCAAGGTTCTCTGCTCCC	Preparation of Omicron BA.2.12.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_K147E_W152R_F157L_Fwd	CAACAAGTCCAGAAATGGAGTCTGAGCTGAGGGTCTACTCC	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_K147E_W152R_F157L_Rev	CAGACTCCATTCTGGACTTGTGTCTCTGTTGATAGAC	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_K147E_Fwd	GTCTACTACCACGAGACAACAAAGTCC	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_K147E_Rev	GGACTTGTGTCTCTGTTGATGATAGAC	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_W152R_Fwd	AACAACAAGTCCAGAAATGGAGTCTGAG	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_W152R_Rev	CTCAGACTCCATTCTGGACTTGTGTGT	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F157L_Fwd	ATGGAGTCTGAGCTGAGGGTCACTCC	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F157L_Rev	GGAGTAGACCCCTCAGCTCAGACTCCAT	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_I210V_Fwd	AAACACACACCAAGTGAACCTGGGACAGG	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_I210V_Rev	CCTGCCACAGTTCACCTGGTGTGTGT	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_G257S_Fwd	GACTCCTCTCTGAGCTGGACAGCAGGA	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_G257S_Rev	TCCTGCTGTCCAGCTAGAGGAGGAGTCT	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_D339H_Fwd	CTGTGTCCATTTCACGAGGTGTTCAT	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_D339H_Rev	ATTGAACACCTCGTGAATGGACACAG	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_G446S_Fwd	GACAGCAAGGTGAGCGGCAACTACAAC	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_G446S_Rev	GTTGTAGTTGCCGCTCACCCTTGCTGTC	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_N460K_Fwd	TTGAGGAAGAGCAAGCTGAAACCATTT	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_N460K_Rev	AAATGGTTTACAGTTGCTCTTCCTGAA	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_R493Q_Fwd	TTACTTTCCACTCCAATCCTATGCTTCA	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_R493Q_Rev	TGAAGCCATAGGATTGGAGTGGAAAGTAA	Preparation of Omicron BA.2.75 S expression plasmid
pC-S_BA.2_R346T_Fwd	GTGTTCAATGGCCACCCTTTGCCCTGTCTAT	Preparation of Omicron BQ.1.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_R346T_Rev	ATAGACAGAGGCAAAAGGTGGTGCAATTGAACAC	Preparation of Omicron BQ.1.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_K444T_Fwd	AACAAGCTGGACAGCACCGTGGGAGGCAACTAC	Preparation of Omicron BQ.1.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_K444T_Rev	GTAGTTGCCCTCCACCGTGTCTGTCAGCTGTGT	Preparation of Omicron BQ.1.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_N460K_Fwd	TTGAGGAAGAGCAAGCTGAAACCATTT	Preparation of Omicron BQ.1.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_N460K_Rev	AAATGGTTTACAGTTGCTCTTCCTGAA	Preparation of Omicron BQ.1.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_V83A_Fwd	AGGTTTGACAACCTGCGCTGCCATTCAATGAT	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_V83A_Rev	ATCATTTGAATGGCAGGGCAGGGTTGTCAAACCT	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_Y144del_Fwd	CCATTCTCGGACGTCTACCACAAGAACCAAC	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_Y144del_Rev	GTTGTCTTGTGGTAGACGTCCAGGAATGG	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_H146Q_Fwd	CTGGACGTCTACTACCAAGAACCAACAAAGTCC	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_H146Q_Rev	GGACTTGTGTCTTCTGGTAGTAGACGTCCAG	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_Q183E_Fwd	GACTTGGAGGGCAAGGAGGGCAACTTCAAGAAC	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_Q183E_Rev	GTTCTTGAAGTTGCCCTCTTGGCCCTCCAAGTC	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_G213S_Fwd	ACACCAATCAACCTGGAGAGGGACCTGCCACAG	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_G213S_Rev	CTGTGGCAGGTCCCTCTCCAGGTTGATTTGGTGT	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_G252V_Fwd	TCCATCCTGACACCTGTGGACTTCCCTCTGGGC	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_G252V_Rev	GCCAGAGGAGGAGTCCACAGGTGTGACAGTAGGA	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_R346T_Fwd	GTGTTCAATGCCACCACCTTTGCCCTGTCTAT	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_R346T_Rev	ATAGACAGAGGCAAAAGGTGGTGCAATTGAACAC	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_L368I_Fwd	GCTGACTACTCTGTGATCTACAACCTTCGCCCTCC	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_L368I_Rev	GGGGCGGAAGTTGTAGATCACAGATGTGACG	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_V445P_Fwd	AAGCTGGACAGCAAGCCCGAGGGCAACTACAAC	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_V445P_Rev	GTTGTAGTTGCCCTCCGGGCTTGTCTGCCAGCTT	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F486S_Fwd	AATGGAGTGGCCGGCAGCAACTGTACTTTTCCA	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F486S_Rev	TGGAAGTAACAGTTGTGCGCGGCCCACTCAATT	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F490S_Fwd	GGCTTCAACTGTTACAGCCCACTCAGATCTCTAT	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F490S_Rev	ATAGATCTGAGTGGGCTGTAACAGTTGAAGCC	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_Y144del_H146Q_Fwd	CCATTCTGGAGCTCTACCAGAGAACCAACAAAGTCC	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_Y144del_H146Q_Rev	GGACTTGTGTCTTCTGGTAGACTCCAGGAATGG	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_VG445-446PS_Fwd	AAGCTGGACAGCAACCCAGCGGCAACTACAAC	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_VG445-446PS_Rev	GTTGTAGTTGCCCTGGGCTTGTGTGCCAGCTT	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F486S_F490S_R493Q_Fwd	AATGGAGTGGCCGGCAGCAACTGTACAGCCCACTCCAT	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_BA.2_F486S_F490S_R493Q_Rev	ATAGAGCTGGAGTGGGCTGTAACAGTTGCTGCCGGCCACTCCATT	Preparation of Omicron XBB.1 S expression plasmid
pC-S_XBB.1_S486P_Fwd	AATGGAGTGGCCGGCCCAACTGTTCACAGCCA	Preparation of Omicron XBB.1.5 S expression plasmid
pC-S_XBB.1_S486P_Rev	TGGGCTGTAACAGTTGGGGCCGGCCACTCCATT	Preparation of Omicron XBB.1.5 S expression plasmid
pC-S_XBB1.5_E180V_Fwd	TTCTGTAGTGACTTGGTGGGCAAGGAGGGCAA	Preparation of Omicron XBB.1.16 S expression plasmid
pC-S_XBB1.5_E180V_Rev	TTGCCCTCTTGGCCACCAAGTCCACTAGGAA	Preparation of Omicron XBB.1.16 S expression plasmid
pC-S_XBB1.5_K478R_Fwd	ACCAGGCTGGCAACAGGCCATGTAAATGGAGTG	Preparation of Omicron XBB.1.16 S expression plasmid
pC-S_XBB1.5_K478R_Rev	CACTCCATTACATGGGCTTGTGCCAGGCTGGT	Preparation of Omicron XBB.1.16 S expression plasmid
pC-S_XBB1.5_Q52H_Fwd	GTGCTGCACAGCACCCACGACCTGTTCCTGCC	Preparation of Omicron EG.5.1 S expression plasmid
pC-S_XBB1.5_Q52H_Rev	GGCAGGAACAGTCTGTGGTGTCTGTGCAGCAC	Preparation of Omicron EG.5.1 S expression plasmid
pC-S_XBB1.5_F456L_Fwd	CTACCTCTACAGACTGTGAGGAAGAGCAAGCTG	Preparation of Omicron EG.5.1 S expression plasmid
pC-S_XBB1.5_F456L_Rev	CAGCTTGCTCTTCTCAGCAGCTGTAGAGGTTAG	Preparation of Omicron EG.5.1 S expression plasmid
casirivimab_HC_Fwd	GTTGAGCTACGGACTCGAGCAGGTTCAAGCTCGTT	Preparation of casirivimab Heavy chain expression plasmid
casirivimab_HC_Rev	TGGGCCCTTGGTGGAGGAGCAACTAACAGTGAC	Preparation of casirivimab Heavy chain expression plasmid
casirivimab_LC_Fwd	GTTGAGCTACGGACTCGAGCAGGTTCAAGCTCGTT	Preparation of casirivimab Light chain expression plasmid
casirivimab_LC_Rev	TGGGCCCTTGGTGGAGGAGCAACTAACAGTGAC	Preparation of casirivimab Light chain expression plasmid
imudevimab_LC_Fwd	GTTGAGCTACGGACTCGAGCAGTCTGCTCTGACTCAGCC	Preparation of imudevimab Heavy chain expression plasmid
imudevimab_LC_Rev	GTTGAGCTACGGACTCGAGCAGTCTGCTCTG	Preparation of imudevimab Heavy chain expression plasmid
imudevimab_LC_Rev	TGGTGACGCCACAGTTTGAAGAACTGTACGCTTGTGTC	Preparation of imudevimab Light chain expression plasmid
imudevimab_LC_Rev	TGGTGACGCCACAGTTTGAAGAACTGTACGAC	Preparation of imudevimab Light chain expression plasmid
sotrovimab_HC_Fwd	GTTGAGCTACGGACTCGAGCAAGTGACGCTCGTG	Preparation of sotrovimab Heavy chain expression plasmid
sotrovimab_HC_Rev	TGGGCCCTTGGTGGAGGCCCTGTCTGCCAGTT	Preparation of sotrovimab Heavy chain expression plasmid
sotrovimab_LC_Fwd	GTTGAGCTACGGACTCGAGGAGATGTCTTGAC	Preparation of sotrovimab Light chain expression plasmid
sotrovimab_LC_Rev	TGGTGACGCCACAGTTTGAAGAACTGTACGAC	Preparation of sotrovimab Light chain expression plasmid