

【STAP現象の存在の有無に関する私の見解は、4月1日に発表した声明と同じです】

「STAP現象を前提にしないと容易に説明できないデータがあるが、論文全体の信頼性が過誤や不備により大きく損ねられた以上、STAP現象の真偽の判断には理研内外の予断ない再現検証が必要である」



一旦、検証をすると決めた以上、理論上は、STAP現象は検証すべき「仮説」とする必要がある
ただし、観察データに基づいて考えると検証する価値のある「合理性の高い仮説」であると考えている

「STAP現象を前提にしないと容易に説明できない部分」

- A) ライブ・セル・イメージング(顕微鏡ムービー)
- B) 特徴ある細胞の性質
- C) 胚盤胞の細胞注入実験(キメラマウス実験)の結果



反証仮説としての「ES細胞などの混入」「自家蛍光によるアーティファクト」などでは説明できない

STAP現象の検証では二つ実験が必要

- ①OCT4陽性の小型の未分化な細胞の塊を形成すること(形成過程)
- ②この小型の細胞塊が多能性を発揮することを示すこと(多能性解析過程)

科学研究面に関する説明資料2

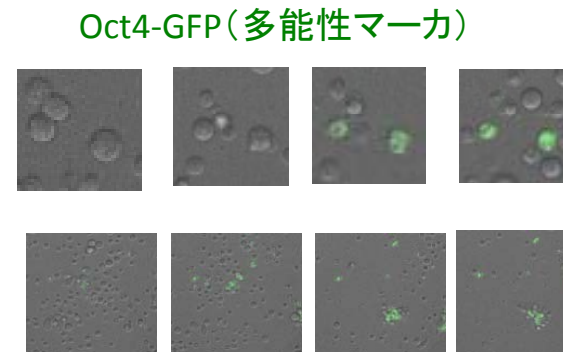
「STAP現象を前提にしないと容易に説明できないデータがある」の例

A) ライブ・セル・イメージング(顕微鏡ムービー)

10以上の視野を同時に観察できる
自動的に撮影し、人為的なデータ操作は
実質上不可能

GFPは死細胞の自家蛍光とは別 (FACSでも確認)

Oct4-GFPを発現しない分散したリンパ球から
Oct4-GFPを発現するSTAP細胞特有の細胞塊が形成



B) 特徴ある細胞の性質

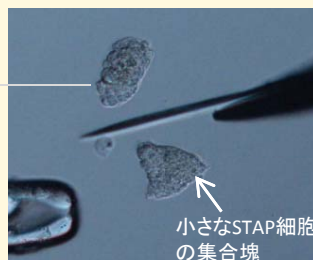
リンパ球やES細胞よりSTAP細胞はさらに小型サイズの特異的な細胞
遺伝子発現パターンの詳細解析でも、STAP細胞は、ES細胞や他の幹細胞とも一致せず
ES細胞は、増殖能は高く、分散培養可能；一方、STAP細胞は増殖能が低く、分散培養不可



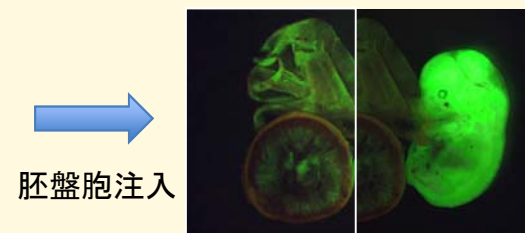
C) 胚盤胞の細胞注入実験(キメラマウス実験)の結果

ES細胞、TS細胞の混ざり物では
細胞接着が上手く行かず
1つの細胞塊にならない

ES細胞と異なり、分散した細胞ではキメラを作らない



胎仔、胎盤、卵黄膜内胚葉に細胞貢献
(ES細胞、TS細胞の混入では起こり得ない)



「一個人の人為的な操作」が困難である確度の高いデータのみを見ても

- ① Oct4-GFPを発現しない脾臓の血球系細胞からOct4-GFPを発現する「他の細胞では知られていない」形質を持った小型細胞の塊が生じること
- ② 胚盤胞への注入された細胞の貢献は、ES細胞やTS細胞では説明できない特別な多能性の表現型を示し、また内部細胞塊や桑実胚の細胞とも考えにくい

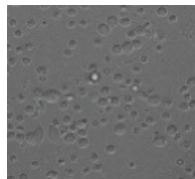
①②を統一的に考えるのに、STAP現象は現在最も有力な仮説と考える

今後の理研でのSTAP現象の確実な立証には、①②の現象を連続的かつ統一的に、客観性の担保された状況下で第三者の研究者が実証することが非常に重要

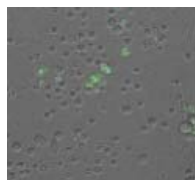
科学研究面に関する説明資料3

「STAP現象の再現はどこが難しいのか」 (形成過程について)

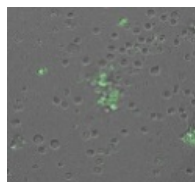
ライブイメージング等からは下記のステップが想定



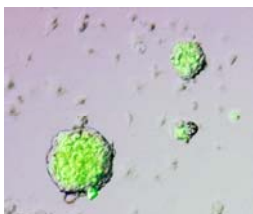
【第1ステップ】 ストレス処理後、最初の1-2日目ごろ
 いわば「サバイバル」ステップです。
 細胞は強いストレスを受けたが、大半は死には至っていない



【第2ステップ】 2日-3日目ごろ
 大半の細胞が破綻して細胞死を起こすなか、ストレス後の自己防衛が成功した細胞は、小型化し、Oct4-GFP (多能性マーカー) を弱く発現。逆に、分化マーカーの発現は減弱。



【第3ステップ】 3日-5日目ごろ
 Oct4-GFP陽性細胞が集合して、互いに弱い接着を介して小さい集合塊を形成する。その際には、集合塊はシャーレの中を活発に移動。LIFという増殖因子が必要。



【第4ステップ】 5日-7日目ごろ
 集合塊はさらに大きくなりOct4-GFPの発現強度が高くなり、その他の多能性マーカーの発現も強くなる。LIFという増殖因子が必要。

8割程度の細胞が「遅延性の細胞死」
 2割程度の細胞が回復し生存

ストレスが強すぎると全滅
 弱すぎるとストレス反応がなく
 リプログラムされない

この時点で止まると
 弱いOct4-GFPの細胞塊
 で、多能性は発揮しない

生後3週齢以降の
 マウス細胞では
 ここで止まりやすい



キメラ形成能など
 多能性の解析検証

これらのどこの段階で頓挫しても、最終的な多能性のあるSTAP細胞塊は形成されない
 (これらの4つの段階は、それぞれ何が制御因子なのかの詳細は未だ不明)