

2014年4月1日

STAP現象の検証の実施について

独立行政法人理化学研究所

理化学研究所（理研）は、STAP（Stimulus-Triggered Acquisition of Pluripotency）現象の検証作業を、理事長主導の下、実施する。

1. 検証計画

(1) 概要

検証計画では、刺激による分化細胞の多能性誘導現象が存在するか否かを、科学的に厳密性の高い方法で検証する。そのために、論文で報告されたリンパ球からの多能性誘導の再現性の有無を検討するのみならず、他の分化細胞からの多能性細胞の誘導の可否についても厳密な細胞系譜追跡法を用いて検証する。マウスを用いた実験においては、多能性の検証ために厳密性が高いと評価されている、胚盤胞注入によるキメラ胚への寄与能を調べることで、多能性の有無の確認を行う。具体的な検証方法は以下の通り。

1) リンパ球からの多能性細胞の誘導の再現性の有無の検証（細胞実験）

- ① 基本的に Essential technical tips for STAP cell conversion culture from somatic cells（2014年3月5日公表。以下「technical tips」）に記載した方法に従い、新生児～1週令の Oct3/4-GFP トランスジェニックマウスから脾臓を採取し、CD45 陽性血液細胞を調製。次に、これらを酸処理し、7日間培養して GFP 発現の誘導を検討する。GFP を発現する STAP 様細胞塊が認められた場合、多能性マーカー遺伝子の発現を検証する。
- ② ①の工程の再現性が高まった時点で、以下の検証を行う。
 - i) STAP 様細胞塊を細分化して胚盤胞に注入し、キメラ胚への寄与を、T 細胞受容体再構成を主な指標に検証する。
 - ii) STAP 様細胞塊を細分化して technical tips に記載した方法に従い培養し、STAP 幹細胞の樹立の可否を検討。なお、STAP 幹細胞様の細胞が得られた場合には、T 細胞受容体再構成の PCR による検討を行うとともに、その多能性をキメラ胚形成能により検証する。
 - iii) 検証実験の過程で、適宜 technical tips に記載した方法の再現性を高めるような、より厳密な最適化が可能か否か検証する。

2) 分化細胞からの多能性細胞の誘導の可否についての厳密な検証（マウス実験）

- ① 分化細胞特異的に Cre 組み換え酵素を発現するトランスジェニックマウスと、Cre 組み換え酵素を発現した細胞を恒常的に標識するための遺伝子を持つトランスジェニックマウスを交配し、これらを併せ持つ新生児～1週令のトランスジェニックマウスを得る（Cre-loxP システム）。

- ② ①のマウスから標識された分化細胞を含む臓器を摘出し、酵素処理により単一細胞に解離するとともに、これらを酸処理し、7日間培養して得られたSTAP様細胞塊について、分化細胞由来である事を示す蛍光標識遺伝子の発現を検証する。
- ③ ①及び②の工程の再現性が高まった時点で、以下の検証を行う。
- i) STAP様細胞塊を細分化して胚盤胞に注入し、キメラ胚への寄与を、分化組織における蛍光標識遺伝子の発現により検証する。
 - ii) 細胞塊を細分化して technical tips に記載した方法に従い培養し、STAP幹細胞の樹立の可否を検証する。なお、STAP幹細胞様の細胞が得られた場合には、蛍光標識遺伝子の発現の検討を行うとともに、その多能性をキメラ胚形成能により検証する。
 - iii) 検証実験の過程で、適宜 technical tips に記載した方法の再現性を高めるような、より厳密な最適化が可能か否かを検証する。

(2) 体制

○実験総括責任者：

独立行政法人理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター
特別顧問（相澤研究ユニット 研究ユニットリーダー兼務） 相澤 慎一

○研究実施責任者

独立行政法人理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター
多能性幹細胞研究プロジェクト プロジェクトリーダー 丹羽 仁史

(3) スケジュール

検証計画の期間は、2014年4月1日より概ね1年。検証完了までの間、実験総括責任者は、適宜、理事会に検証実験の状況報告を行う。理事会は、報告を踏まえ、都度、検証実験を継続的に進めるか、否かを判断する。

(4) 情報の公開

実証計画開始4か月を目途に中間報告、検証計画の終了をもって最終報告を行う。

2. 第三者による検証や研究の支援

内外問わず、理研外部からの研究者からの方法の問い合わせには、真摯に対応する。また、検証実験の過程で、すでに公表した technical tips について、より優れた方法が開発できたならば、その情報は迅速に公開するとともに、手技講習の実施も検討し、第三者による検証や研究を支援する。

以上