2014年7月22日

6月16日に山梨大で行った会見内容の一部修正、および Nature に掲載された撤回理由書の訂正について

山梨大学生命環境学部生命工学科
教授 若山照彦

STAP 幹細胞の調査結果について、6月16日に山梨大で会見を行いました。その後の更なる解析によって判明した結果により、内容の一部修正を致します。

1. 6月16日の会見では、FLS1~8 (STAP 幹細胞) は第三者機関による遺伝子解析の結果、CAG-GFP 遺伝子が 15 番染色体上のゲノム配列と隣接していたことから、CAG-GFP 遺伝子は 15 番染色体上に挿入されていると結論付け、発表致しました。また 15 番染色体に CAG-GFP 遺伝子をもつマウス、及び 129B6F1 系統の ES 細胞は FLS1~8 樹立時には若山研究室に存在しなかったことを発表しました。これらの解析は STAP 論文の記載をもとに FLS 系統は CAG-GFP 遺伝子の挿入株であるとの前提にもとづいたものでした。

しかし、その後 15 番染色体 CAG-GFP マウス及び ES 細胞を探す過程で、横浜理研の遠藤高帆氏より、FLS 系統の CAG-GFP 遺伝子が 15 番染色体上に由来する acrosin 遺伝子のプロモーター配列に隣接していることが指摘されました。更に解析したところ、FLS1~8 は CAG-GFP だけではなく、acrosin-GFP という異なる遺伝子を同一挿入部位に有しているらしいとわかってきました。おそらく FLS1~8 の CAG-GFP 遺伝子挿入は acrosin 遺伝子の配列に挟まれ、さらに別の染色体に挿入されている可能性が示唆されました。現在、FLS1~8 において CAG-GFP と acrosin-GFP がどの染色体に挿入されているのか、正確な位置について調査を進めております。

2. 会見時には 15 番染色体上に CAG-GFP が存在するマウスは若山研究室では一度も飼育されたことがないと発表しました。しかし、FLS1~8 が有するレポーターが CAG-GFP ではなく acrosin-GFP; CAG-GFP であるという当初の予想を超えた事態を受けて再調査を行いました。acrosin-GFP; CAG-GFP を有するマウスは、若山研究室では系統を維持するための最小数が飼育されていました。現在、FLS と同じ特徴をもつ細胞の探索を含め、更なる調査・解析を進めております。

3. 会見時に、もう 1 種類の STAP 幹細胞である GLS (Oct-GFP 遺伝子を持つ B6 マウス由来とされる) は細胞株の 1 番から 13 番まですべてメスの細胞だと報告しました。しかし CDB とともに詳しく精査したところ、GLS すべての細胞株はオスだということがわかりました。原因は、GLS の Y 染色体は性決定遺伝子 SRY を含む Y 染色体の重要な遺伝子群に

欠損があり、用いたプライマーでは Y 染色体が存在しないと誤判定されてしまったからです。

4. Nature に掲載された撤回理由書において、紙版とオンライン版が異なってしまったことについて。紙版のゲラ刷りの修正締切日は、遠藤氏からの指摘があった時点で 2 日過ぎていたため、急きょ修正をお願いしましたが間に合いませんでした。そのためオンライン版のみの修正となったのですが、他の修正もあったため、オンライン版の文章はよく理解できないものになってしまいました。

下記はゲラ刷り段階のオリジナルの文章です。13 行目のハイライト部分は、Nature 側からの指摘で、本文にないデータなので削除してもいいか、という問いに対して、他の共著者が削除をお願いしました。そしてこの後に続く文章 (The GFP transgene insertion site matches that of the mice and ES cells kept in the Wakayama laboratory (in chromosome 18).) は、主語がこの部分だったことから、本来この文章も削除されるべきでした。

次に私が、遠藤氏の指摘により不確実となった 15 番染色体について削除をお願いし、さらに、染色体番号が不明となったことから、若山研では飼育されていない、と断定することも出来なくなり、最後の文章の削除をお願いしました (The origin of the *cag-gfp* insertion line in chromosome 15 was not from the mice at the Wakayama laboratory, as it was never maintained there.)。その結果、削除し損ねた文章 (The GFP . . .) の主語がよりわからなくなってしまったのです。

ゲラ刷り段階の文章の (5) だけ抜粋

(5) In the Letter, **[Author: Is 'Letter' correct? This appears to relate to information in Extended Data Fig. 7 legend of the Article. Please clarify.]** one group of STAP stem cells (STAP-SCs) was reported as being derived from STAP cells induced from spleens of F₁ hybrids from the cross of mouse lines carrying identical *cag-gfp* insertions in chromosome 18 in the background of 129/Sv and B6, respectively, and that they were maintained in the Wakayama laboratory. However, further analysis of the eight STAP-SC lines indicates that, while sharing the same 129×B6 F₁ **[Author: '129×B6 F₁' correct here (rather than '129B6F₁') and two sentences below?]** genetic background, they have a different GFP insertion site in chromosome-15 (under

investigation). [Author: 'have a different GFP insertion site in chromosome 15' correct, or should this be 'have different GFP insertion sites in chromosome 15'?]

Furthermore, while the mice used for STAP cell induction are homozygous for the GFP transgene, the STAP-SCs are heterozygous. Moreover, our analyses show that two of the STAP-SC lines reportedly derived from the 129/Sv background appear to be of 129×B6 F₁ background in origin. [Authors: Have these cell lines been used in the studies? If not, ok to omit the sentence starting 'Moreover, our analyses?'] The GFP transgene insertion site matches that of the mice and ES cells kept in the Wakayama laboratory (in chromosome 18). Thus, there are inexplicable discrepancies in genetic background and transgene insertion sites between the donor mice and the reported STAP-SCs. ~~The origin of the *cag-gfp* insertion line in chromosome 15 was not from the mice at the Wakayama laboratory, as it was never maintained there.~~