

现代生物技术前沿

〔美〕K. 阿帕萨尼 主编
殷勤伟 等 译

RNA 干扰技术

——从基础科学到药物开发



科学出版社

www.sciencep.com

现代生物技术前沿

〔美〕K. 阿帕萨尼 主编

殷勤伟 等 译

RNA 干扰技术

——从基础科学到药物开发

科学出版社
北京

图字: 01-2006-5893 号

内 容 简 介

本书是一本全面而详尽地反映当前国际上 RNA 干扰 (RNAi) 技术研究进展的专著, 全书共分 7 篇 34 章, 主要讲述关于 RNAi 的基本概念及其在药物研发领域上的应用。内容包括: RNAi、siRNA、microRNA 及基因沉默的原理, siRNA 的设计和合成, 载体的研发以及体内外和卵内的递送系统, 模式生物体中的基因沉默, 药物靶点的确认, 治疗剂与药物研发, 以及高通量全基因组 RNAi 分析等 RNA 干扰技术的现状、存在的问题和应用前景。本书的特点是将 RNAi 的基本原理和实际应用整合为一体呈递给读者。

本书可供细胞生物学、分子生物学、功能基因组学、RNA 组学、微生物学、基础与临床医学、生物技术、药学以及农、林、牧等方面的科研教学人员、研究生、临床医生和生物医药公司的研发决策者参考使用。

The Syndicate of the Press of the University
(Cambridge University Press)
Cambridge
England
Krishnarao Appasani
RNA Interference Technology, 2005
© Cambridge University Press 2005

图书在版编目(CIP)数据

RNA 干扰技术: 从基础科学到药物开发/(美)阿帕萨尼(Appasani, K.)主编; 殷勤伟等译. —北京: 科学出版社, 2007

(现代生物技术前沿)

ISBN 978-7-03-018859-5

I. R… II. ①阿…②殷… III. 核糖核酸-生物技术 IV. Q522

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 053287 号

责任编辑: 夏 梁 彭克里 席 慧/责任校对: 赵桂芬

责任印制: 钱玉芬/封面设计: 陈 敬

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007 年 5 月第 一 版 开本: B5 (720×1000)

2007 年 5 月第一次印刷 印张: 31 1/2·插页: 4

印数: 1—3 000 字数: 590 000

定价: 85.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈环伟〉)

译者序

小 RNA, 一种短片段的非编码 RNA (ncRNA) 的发现和哺乳动物细胞中的成功应用是转录组学和功能基因组学的一个重大发现和突破, 为新一代的基因药物的设计和药靶的鉴定提供了全新的概念、构思和技术途径。美国《科学》杂志连续 6 年将有关小 RNA 的发现评定为世界十大科技成就之一。随着人体全部基因序列测定的胜利完成, 以及在植物到人体内大量的 ncRNA 分子的不断发现, 生物科学家们已越来越清楚地认识到在后基因组时代基础和应用研究的重点不仅仅是编码基因的产物——蛋白质的结构和功能, 更重要的是非编码基因的产物——不同长度的 RNA, 尤其是小 RNA。

2006 年 10 月 2 日, 瑞典皇家卡罗林斯卡 (Karolinska) 医学院宣布, 将 2006 年度诺贝尔生理学或医学奖授予两名美国科学家安德鲁·费里 (Andrew Z. Fire) 和克拉格·米洛 (Craig C. Mello), 以表彰他们在 1998 年的重要发现。瑞典皇家卡罗林斯卡医学院在颁奖声明中宣称, 费里和米洛的发现能解释许多令人困惑、相互矛盾的实验结果, 并提示了控制遗传信息流动的自然机制。这开启了一个新的研究领域。RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 已被广泛用作研究基因功能的一种强有力的手段, 并有望在未来帮助科学家开发出治疗疾病的新疗法。目前, 尽管尚有一些难题阻碍着 RNA 干扰技术的发展, 但科学界普遍对这一新兴的生物工程技术寄予厚望。这也是诺贝尔奖评审委员会为什么不坚持研究成果要经过数十年实践验证的惯例, 而破例为费里和米洛颁奖的主要原因。

RNA 干扰 (RNAi) 是一种强大的基因沉默技术, siRNA (小干扰 RNA) / miRNA (micro RNA) 介导的基因沉默是细胞内监控寄生的遗传物质、消除无用的信息模板和调节基因时空表达的一种分子机制。它与体液和细胞免疫一起形成了高级生物体内免疫系统的三大支柱, 从不同水平上来对抗体内外有害物质的侵犯。现已清楚, 大约 22 个核苷酸长的 RNA 可通过序列特异地指导 RNA 诱导的沉默复合体 (RISC) 高效地抑制同源的靶 RNA 分子的功能。这一古老而又迷人的系统已被公认为是鉴定基因功能、调控基因表达和改变基因表型的简单而有效的方法。可以预计这一新颖的技术在不久的将来必定会开辟一条预防和治疗人

类疾病的新途径。

虽然 RNA 干扰技术在世界各国都已得到不同程度的发展，在中国也开始引起科学界的关注，但是由于此领域的发展时间不长且国内缺少相应的研究人员，所以通过这本书系统而详尽地向国人介绍这一革命性的新技术就显得非常重要。本书由 RNA 干扰技术的发明者 Fire 教授和诺贝尔奖获得者 Nirenberg 博士作序，由 8 个国家的 118 位此领域的专家和学者执笔，从 RNAi 的基本原理到药物开发多层次全方位地讲述了这一技术的方方面面。此书由中国科学院生物物理研究所殷勤伟研究员和中国医学科学院生物医药技术研究所邵荣光研究员主持翻译，一些学生也参与了部分工作，他们是高翔、谷同军、郭维锐、何灵杰、姜琳、廖洁莹、谭余良、辛秀芳、薛礼、易翔、于海和张维。最后，由殷勤伟研究员进行了统一审校。希望此书能为中国的 ncRNA 的探索，特别是小 RNA 的研究起到应有的作用。

由于时间仓促和水平有限，在翻译中不免有些欠缺，敬请读者批评指正。

殷勤伟

写于中国科学院生物物理研究所

2006 年 10 月

序 一

关注 RNA 干扰 (RNAi) 技术在过去 10 年来的发展是一件非常荣幸的事情。此领域在开发初期使人们充满着好奇和烦恼,而现在已成为影响生物医学研究中每一个领域的重要力量和可利用的源泉。RNAi 的研究起因于一系列的并无明显关联的发现,如植物中奇异的花色类型、反义核酸和过表达研究中未料到的成功和失败,以及细菌中小调节 RNA 的发现。如果说有一种必修并需重复的科学课程,那就是“追求未知”。基础研究和应用开发的每一次进步都是这种追求的硕果。显然,这也是过去 10 年有关 RNAi 研究的最好写照。

这本书中所收集的来自不同研究领域的百余位研究者的辛勤工作,应该能够为广大的读者提供充实的信息,以便今后能设计和评价相关的试验和讲述生动而有趣的科学故事以激励大家坚持不懈地进行科学研究。我们对 RNAi 调节基因王国的了解正在以相当高的速度增长。科学家在 1981 年发现了第一个小调节 RNA 的例子(调节 ColE1 质粒的复制数目),而今天已经认识到小 RNA 可以在不同的水平来调节基因的活性、DNA 和染色体的结构和转录、RNA 的结构和稳定性、翻译和蛋白质的稳定性。同样,我们利用这一系统来实验性地改变细胞的能力也在以前所未有过的速率增强着。1990 年,试验诱导基因沉默的一些例子只是极个别的现象并带着偶然的色彩,如植物花色的变化。至今,基于基因沉默的方法已成为一种广泛使用的标准化的分子生物学的有效工具。

此领域的研究绝没有完成。我们仍然不了解有关 RNA 触发的基因调节的所有方式,不清楚这些方式为什么存在,也不明白它们之间是怎样相互作用的。我们还没有得到有关基于 RNA 调节的全貌图纸。只有当这些问题得到进一步地调查和解决,当潜在的机制被详尽地剖析,我们才有可能对基因的功能进行越来越精细的实验。更进一步的问题是:一些生物体是怎样使用 RNAi 触发来产生一个系统的应答? RNAi 的长期效应是怎样持续下去的? RNAi 和免疫系统之间的关系是什么?局部的或全面的灭活或放大 RNAi 干扰途径,会产生什么样的生物效应?我们怎样才能最有效地使用 RNAi 这一技术来发现最敏感而关键的靶基因,并将它们用于生物学的研究和药物的开发?我们能通过特异地触发 RNAi 途径攻

击不正常的基因来治愈疾病吗？我们能通过上调或下调特殊细胞中 RNAi 系统本身的成分来处理一些疾患吗？细胞和有机体是怎样长期地应答持续的调节和使用 RNAi 机器的？

在今后相当长的一段时间中我们都将忙于阐明这些问题。此领域中有一件肯定能料到的事情就是更多的惊喜。

Andrew Fire

写于美国加州斯坦福大学医学院

2004 年 8 月 2 日

序 二

RNA 干扰 (RNAi) 是一种强有效的抑制基因功能的工具。其原理是促进靶基因的转录产物 mRNA 的降解, 或在某些情况下阻止靶基因的转录, 或防止 mRNA 翻译成相应的蛋白质。用经典方法产生基因的突变来研究基因的功能, 耗时费力。相比之下, 用双链 RNA 或 22nt 长的双链寡聚核苷酸来沉默基因的功能却省时省力。由 Krishnarao Appasani 主编的这本书及时而全面地提供了 RNAi 技术的内容信息。它不管是对从事 RNAi 研究的专家, 还是对其他相关领域的研究者来说, 都是非常有用的。

RNAi 是一个只有 6 年历史的领域, 但对 RNAi 的研究却一直以惊人的速率发展着。尽管此领域尚处在它的发展初期, 但研究者们怀着巨大的兴趣把 RNAi 技术作为一个探索胚胎发育过程中和许多生物体的成熟阶段中基因功能的有用的工具。RNAi 的许多方向仍有待进一步的探讨。例如, 有关 RNAi 介导的 mRNA 降解的代谢过程和分子事件至今仍完全不清楚。与其相似的是, 对有关 RNAi 介导的 DNA 修饰的分子机制 (如调节 DNA 转录) 和 RNA 指导的 mRNA 翻译抑制, 也是略知一二。再者, 有关大多数 miRNA 基因的功能也有待进一步的研究。因为 RNAi 也可用来调节一些特殊细胞类型中基因的表达, 所以 RNAi 这种靶向特异基因的沉默技术有可能用于治疗不同的疾病或某些病毒性感染。然而, 在此应用之前, 必须克服一些困难的问题。例如, 怎样将合适的双链寡聚核苷酸导入细胞, 寡聚核苷酸的稳定性、使用的浓度、毒副效应以及在细胞中的作用时间如何。这些都是具有挑战性的课题。不管怎样, 使用寡聚核苷酸作为治疗药剂来沉默基因的表达有着巨大的美好前景。siRNA 文库和短发夹 RNA (shRNA) 平台已经建成并可用于培养细胞的进一步筛选。此外, 高通量地筛选 siRNA 或 shRNA 的方法也在建立。RNAi 已被用来抑制培养细胞中病毒的复制, 如 HIV、丙型肝炎病毒和乙型肝炎病毒。在慢性髓样白血病细胞中, 癌基因融合蛋白 P210 可促进这些细胞的分裂, 而 siRNA 和表达相应的 shRNA 的慢病毒载体却可减少细胞中的 P210 蛋白的表达水平, 从而抑制细胞的分裂。另外, RNAi 已经用于小鼠体内来降低一种突变基因的功能。这种基因与运动性疾病即脊髓小脑

共济性失调 I 型有关。用 RNAi 处理这种小鼠能够改善运动协调能力，消除这种疾患的脑特征性的细胞学的改变。RNAi 也可用于治疗眼部疾患。

现在去说 RNAi 治疗将是如何成功还太早。但是我们已清楚地看到 RNAi 是一个使基础研究产生变革的有力的工具，也已认识到 RNAi 能够下调任何一个基因，这将为探讨利用双链寡聚核苷酸作为许多疾病的治疗药物提供了令人瞩目的机遇。

Marshall Nirenberg

写于美国国立卫生院，国家心、肺和血液研究所，生化遗传学实验室

作者信息

Jeff Aalfs

Wyeth Research
35 Cambridge Park Drive
Cambridge, MA 02140
USA

Level 4, 1 Central Avenue
Eveleigh, NSW 1430
Sydney, Australia
E-mail: garndt@medau.jnj.com

Hideo Akashi

Department of Chemistry and Biotechnology
School of Engineering
The University of Tokyo
Hongo, Tokyo 113-8656
Japan

Thomas Baeriswyl

University of Zurich, Institute of Zoology
Winterthurerstrasse 190, CH-8057
Zurich, Switzerland

Ahmad Z. Amin

Biology Department
616 Fordham Hall, CB# 3280
University of North Carolina
Chapel Hill, NC 27599-3280
USA

Mehdi Banan

Ambion, Inc.
2130 Woodward Street
Austin, Texas 78744
USA

Krishnarao Appasani, PhD., MBA

GeneExpression Systems, Inc.
P. O. Box 540170
Waltham, Massachusetts 02454-0170
USA
E-mail: DrAppasani @ expressgenes.com

John E. Bisi

Cellular Genomics
GlaxoSmithKline R&D
Stevenage, Herts
UK

Greg Arndt, PhD.

Johnson & Johnson Research

Peter Blume-Jensen, PhD.

Department of Molecular Oncology
Serono Reproductive Biology Institute
One Technology Place
Rockland, MA 02370
USA

Queta Boese, PhD.

Dharmacon, Inc.

2650 Crescent Dr, Suite #100

Lafayette, CO 80026

USA

E-mail: boese.q@dharmacon.com

Dimitris Bourikas

University of Zurich, Institute of Zoology

Winterthurerstrasse 190, CH-8057

Zurich, Switzerland

Michael Boutros, PhD.

German Cancer Research Center
(DKFZ/B110)

Im Neuenheimer Feld 580

69120 Heidelberg

Germany

E-mail: m.boutros@dkfz.de

David Brown, PhD.

Ambion, Inc.

2130 Woodward Street

Austin, Texas 78744

USA

E-mail: dbrown@ambion.com

Frank Buchholz

Max Plank Institute of Molecular Cell

Biology and Genetics

Pfotenhauer Strasse 108 Dresden

Germany

E-mail: buchholz@mpi-cbg.de

Mike Byrom

Ambion, Inc.

2130 Woodward Street

Austin, Texas 78744

USA

Federico Calegari

Max Plank Institute of Molecular Cell

Biology and Genetics

Pfotenhauer Strasse 108 Dresden

Germany

E-mail: Calegari@mpi-cbg.de

Howard Y. Chang

Depart. of Biochemistry and Dermatology

Stanford University School of Medicine

Stanford, CA 94305

USA

Padmanabhan Chellappan, PhD.

International Laboratory for Tropical
Agricultural Biotechnology

Donald Danforth Plant Science Center

975 N. Watson Rd.

St Louis, MO 63132

USA

E-mail: iltab@danforthcenter.org

Jen-Tsan Chi

Departments of Biochemistry and Dermatology

Stanford University School of Medicine

Stanford, CA 94305
USA
E-mail: chi@pmgm2.stanford.edu

Chris Childs

Wyeth Research
35 Cambridge Park Drive
Cambridge, MA 02140
USA

Nell J. Clarke, PhD.

Cellular Genomics
GlaxoSmithKline R&D
Stevenage, Herts
UK
E-mail: neil.j.clarke@gsk.com

Sandra Clauder-Miinster

Anadys Pharmaceuticals Europe
GmbH
Meyershofstr. 1
69117 Heidelberg
Germany

Caretha L. Creasy

Cellular Genomics
GlaxoSmithKline R&D
Stevenage, Herts
UK

Ye Ding, PhD.

New York State Health Department
Wodsworth Center
Division of Molecular Medicine,
Room C-660
Empire State Plaza

Albany, NY 12201-0509
USA
E-mail: yding@wadsworth.org

Graeme Doran

Department of Human Anatomy and
Genetics
South Parks Road
University of Oxford
Oxford OX1 3QU
UK
E-mail: graeme.doran@st-edmund-
hall.oxford.ac.uk

Mark E. Drew, PhD.

Dept. of Mol. Microbiology, Rm.
9210
Washington University School of
Medicine
Box 8230, 4940 Parkview Place
St. Louis, MO 63110
USA
E-mail: drew@borcim.wustl.edu

Nathaniel R. Dudley, PhD.

Biology Department
616 Fordham Hall, CB# 3280
University of North Carolina
Chapel Hill, NC 27599-3280
USA
E-mail: ndudley@unc.edu

Michael K. Dush, PhD.

Cellular Genomics
GlaxoSmithKline R&D
Stevenage, Herts

UK

Derek M. Dykxhoorn, PhD.

The Center for Blood Research

Harvard Medical School

800 Huntington Ave

Boston, MA 02151

USA

E-mail: dykxhoor@cbr.med.harvard.edu

Mark R. Edbrooke, PhD.

Cellular Genomics

GlaxoSmithKline R&D

Stevenage, Herts

UK

E-mail: mark.r.edbrooke@gsk.com

Paul T. Englund, PhD.

Department of Biological Chemistry

Johns Hopkins Medical School

725 N. Wolfe St.

Baltimore, MD 21205

USA

E-mail: penglund@jhmi.edu

Andrew Farmer, D. Phil.

BD Biosciences Clontech

1020 East Meadow Circle

Palo Alto, CA 94303

USA

E-mail: Andrew_Farmer@bd.com;
aafarmer@clontech.com

Claude M. Fauquet, PhD.

International Laboratory for Tropical

Agricultural Biotechnology

Donald Danforth Plant Science Center

975 N. Watson Rd.

St Louis, MO 63132

USA

E-mail: iltab@danforthcenter.org

James E. Ferrell, Jr., PhD.

Department of Molecular Pharmacology

Stanford University School of Medicine

269 Campus Drive, CCSR Rm 3160

Stanford, CA 94305-5174

USA

Andrew Fire, PhD.

Departments of Pathology and Genetics

Stanford University School of Medicine

300 Pasteur Drive, Room L235

Stanford, CA 94305-5324

USA

E-mail: afire@stanford.edu

Kris J. Fisher

Cellular Genomics

GlaxoSmithKline R&D

Stevenage, Herts

UK

Lance Ford, PhD.

Ambion, Inc.

2130 Woodward Street

Austin, Texas 78744

USA

Takashi Futami

Department of Chemistry and Biotechnology
School of Engineering
The University of Tokyo
Hongo, Tokyo 113-8656
Japan

Marc Gentzel

European Molecular Biology Organization
Meyerhofstr. 1
69117 Heidelberg
Germany

Bob Goldstein, PhD.

Biology Department
616 Fordham Hall, CB# 3280
University of North Carolina
Chapel Hill, NC 27599-3280
USA
E-mail: bobg@unc.edu

Alia Grishok, PhD.

Center for Cancer Research
Massachusetts Institute of Technology
40 Ames Street
Cambridge, MA
USA
E-mail: agrishok@mit.edu

Philipp Hadwiger

Research and Development

Alnylam Europe AG

Fritz-Hornschuch-Strasse 9

95326 Kulmbach

Germany

E-mail: phadwiger@alnylam.de; hpvornlocher@alnylam.de

Steven A. Haney

Wyeth Research
35 Cambridge Park Drive
Cambridge, MA 02140
USA

E-mail: shaney@wyeth.com

Marc Hild, PhD.

Novartis Institute for Biomedical Research
100 Technology Square
Cambridge, MA 02139
USA

Wieland B. Huttner

Max Plank Institute of Molecular Cell Biology and Genetics
Pfortenhauer Strasse 108 Dresden
Germany
E-mail: huttner@mpi-cbg.de

John M. Johnson III

Cellular Genomics
GlaxoSmithKline R&D
Stevenage, Herts
UK

Takashi Kadowaki

Department of Internal Medicine

Graduate School of Medicine
The University of Tokyo
Hongo, Tokyo 113-8655
Japan

Shih-Chu Kao

Department of Neurology and Center
for Neurologic Diseases
Brigham and Women's Hospital
Harvard Medical School
4 Blackfan Circle, HIM 760
Boston, MA 02115
USA

Mark A. Kay, MD., PhD.

Stanford University School of Medicine
Departments of Pediatrics and Genetics
Program in Human Gene Therapy
Stanford, CA 94305
USA

Anastasia Khvorova, PhD.

Dharmacon, Inc.
2650 Crescent Dr, Suite #100
Lafayette, CO 80026
USA
E-mail: khvorova.a@dharmacon.com

Ralf Kittler

Max Plank Institute of Molecular Cell
Biology and Genetics
Pfortenhauer Strasse 108 Dresden
Germany

Kenneth S. Kosik, MD.

Department of Neurology and Center
for Neurologic Diseases
Brigham and Women's Hospital
Harvard Medical School
4 Blackfan Circle, HIM 760
Boston, MA 02115
USA

Anna M. Krichevsky, PhD.

Department of Neurology and Center
for Neurologic Diseases
Brigham and Women's Hospital
Harvard Medical School
4 Blackfan Circle, HIM 760
Boston, MA 02115
USA
E-mail: krichevsky@cnd.bwh.harvard.edu; akrichevsky@rics.bwh.harvard.edu

Po-Tsan Ku

Ambion, Inc.
2130 Woodward Street
Austin, Texas 78744
USA

Stefan Kubicka, MD.

Department of Gastroenterology
Medical School of Hannover
Carl-Neuberg-Str. 1
30623 Hannover
Germany
E-mail: kubicka.Stefan@mh-hannover.de

Patricia E. Kuwabara, PhD.
Department of Biochemistry
University of Bristol
The School of Medical Sciences
University Walk, Bristol BS8 1TD
UK
E-mail: p.kuwabara@bristol.ac.uk

Eric Lader, PhD.
QIAGEN, Inc.
19300 Germantown Rd
Germantown, MD 20874
USA
E-mail: E.lader@qiagen.com

Laurence Lamarca
BD Biosciences Clontech
1020 East Meadow Circle
Palo Alto, CA 94303
USA

Peter Lapan
Wyeth Research
35 Cambridge Park Drive
Cambridge, MA 02140
USA

Robert Larsen
BD Biosciences Clontech
1020 East Meadow Circle
Palo Alto, CA 94303
USA

Kathy Latham, PhD.
Ambion, Inc.

2130 Woodward Street
Austin, Texas 78744
USA

Charles E. Lawrence, PhD.
New York State Health Department
Wodsworth Center
Division of Molecular Medicine,
Room C-660
Empire State Plaza
Albany, NY 12201-0509
USA

Joe D. Lewis
Anadys Pharmaceuticals Europe
GmbH
Meyerhofstr. 1
69117 Heidelberg
Germany

Patrick Y. Lu, PhD.
Intradigm Corporation
Rockville, Maryland
USA
E-mail: patricklu@intradigm.com

Michael P. Manns, MD.
Department of Gastroenterology
Medical School of Hannover
Carl-Neuberg-Str. 1
30623 Hannover
Germany
E-mail: manns.michael@mh-hannover.de

Ying Mao

BD Biosciences Clontech
1020 East Meadow Circle
Palo Alto, CA 94303
USA

William S. Marshall, PhD.

Dharmacon, Inc.
2650 Crescent Dr, Suite #100
Lafayette, CO 80026
USA
E-mail: Marshall, b@dharmacon. com

Sahohime Matsumoto

Department of Chemistry and Biotechnology
School of Engineering
The University of Tokyo
Hongo, Tokyo 113-8656
Japan
and
Gene Function Research Center
National Institute of Advanced Industrial Science and Technology
(AIST)
Central 4, 1-1-1 Higashi
Tsukuba Science City 305-8562
Japan
and
Department of Internal Medicine
Graduate School of Medicine
The University of Tokyo
Hongo, Tokyo 113-8655
Japan

Anton P. McCaffrey, PhD.

Stanford University School of Medicine
Departments of Pediatrics and Genetics
Program in Human Gene Therapy
Stanford, CA 94305
USA
E-mail: anton-mccaffrey@uiowa. edu

Chris Mello

BD Biosciences Clontech
1020 East Meadow Circle
Palo Alto, CA 94303
USA

Chris Miller

Wyeth Research
3S Cambridge Park Drive
Cambridge, MA 02140
USA

Makoto Miyagishi

Department of Chemistry and Biotechnology
School of Engineering
The University of Tokyo
Hongo, Tokyo 113-8656
Japan
and
Gene Function Research Center
National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)
Central 4, 1-1-1 Higashi
Tsukuba Science City 305-8S62
Japan