(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2005 年2 月24 日 (24.02.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/017151 A1

(51) 国際特許分類[7]: C12N 15/09, C07K 14/705

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/014811

(22) 国際出願日: 2003 年11 月20 日 (20.11.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2003-293912 2003 年8 月15 日 (15.08.2003) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人理化学研究所 (RIKEN) [JP/JP]; 〒351-0198 埼玉県 和光市広沢 2 番 1 号 Saitama (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 御子柴 克彦 (MIKOSHIBA,Katsuhiko) [JP/JP]; 〒351-0198 埼玉県 和光市広沢 2番1号 独立行政法人理化学研究所内 Saitama (JP). 服部 光治 (HATTORI,Mitsuharu) [JP/JP]; 〒216-0032 神奈川県 川崎市宮前区神木 2-2-2-A104 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 平木 祐輔, 外 (HIRAKI,Yusuke et al.); 〒105-0001 東京都 港区 虎ノ門一丁目17番1号 虎ノ門5森ビル 3階 Tokyo (JP).

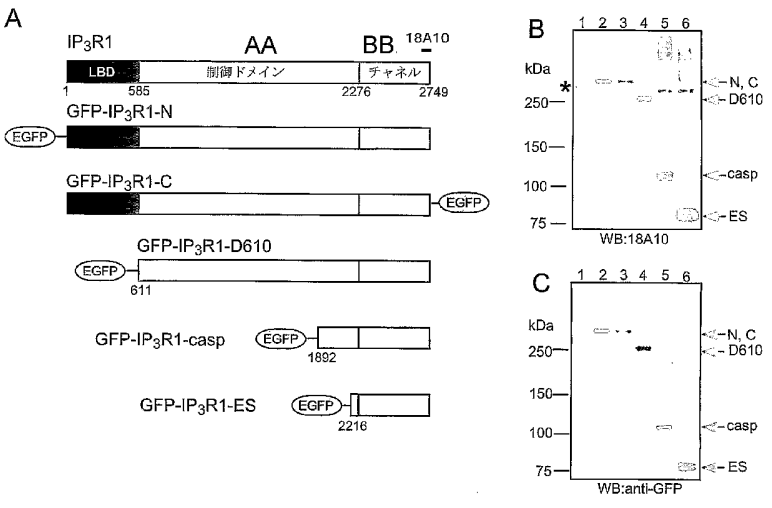
(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッ

[続葉有]

(54) Title: END-DEFICIENT MUTANT OF IP_3 RECEPTOR PROTEIN INDUCING APOPTOSIS

(54) 発明の名称: アポトーシスを誘導するIP_3受容体タンパク質の末端切断型変異体



AA...REGULATORY DOMAIN
BB...CHANNEL

(57) Abstract: A novel apoptosis-inducing drug which makes it possible to prevent or treat cell proliferative diseases. By expressing a mutant protein consisting of the channel domain alone of an IP_3 receptor, apoptosis can be induced in a cell in which it is expressed. This mutant protein is localized on endoplasmic reticulum in a cell and makes calcium in the endoplasmic reticulum to flow toward the cytoplasm to thereby induce apoptosis of the cell.

[続葉有]

WO 2005/017151 A1

パ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

２文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約: 本発明は、新規アポトーシス誘導薬に関する。該アポトーシス誘導薬により、細胞増殖性疾患の予防または治療が可能となる。 IP_3受容体のチャネルドメインのみからなる変異体タンパク質を発現させることにより、該発現細胞においてアポトーシスを誘導する。該変異体タンパク質は、細胞の小胞体上に局在して小胞体内のカルシウムを細胞質へと流出させることにより、該細胞のアポトーシスを誘導する。

明 細 書

アポトーシスを誘導するIP$_3$受容体タンパク質の末端切断型変異体

技術分野

本発明は、IP$_3$受容体のC末端側に位置するチャネル形成ドメインのみを含むタンパク質が、アポトーシス誘導薬として作用することに関する。したがって、本発明は、該タンパク質による抗癌治療等の細胞増殖性疾患の治療にかかる分野に属する。

背景技術

細胞膜上のレセプターの活性化に伴いホスファチジルイノシトール4,5-ビスホスフェート(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate)が加水分解されると、細胞内セカンドメッセンジャーであるイノシトール1,4,5-三リン酸(inositol 1,4,5-trisphosphate (IP$_3$))が生成する。IP$_3$はIP$_3$受容体(IP$_3$R)に結合することにより、細胞内カルシウム貯蔵オルガネラ（主に小胞体）からのCa^{2+}流出を誘導する。このIP$_3$/Ca^{2+}シグナル経路において、IP$_3$受容体は、IP$_3$のシグナルをCa^{2+}のシグナルへ変換する役割を担っている(1-3)。

IP$_3$受容体は、4量体の細胞内IP$_3$-誘導性Ca^{2+}放出チャネル（IP$_3$-gated Ca^{2+} release channel）である(3, 4)。哺乳動物では、3種の異なるIP$_3$受容体が存在する(5-7)。IP$_3$により誘発されるIP$_3$受容体チャネル開口の詳細な機序は未だ不明であるが、IP$_3$結合がIP$_3$受容体の何らかの立体構造変化を誘導することによって、チャネルの開口が起こると考えられる(10)。チャネルの開口以外にも、IP$_3$-誘導性の立体構造変化は、IP$_3$受容体の分解にも関与していると考えられる (13, 14)。

IP$_3$受容体の活性化による細胞質Ca^{2+}濃度の増加によって、多種多様な下流標的分子の活性が制御される。これら下流標的分子は、受精、発生、増殖、分泌、シナプス可塑性など多岐に渡る細胞応答において重要な役割を担っている (1-2, 15)。このような多岐に渡る細胞機能を制御するために、Ca^{2+}シグナルは、空間、

時間、および濃度の点で厳密に制御される必要がある(2, 15)。このようなCa^{2+}シグナルの複雑な制御は、IP_3受容体アイソフォームの発現の多様性、IP_3受容体アイソフォームのヘテロ4量体の形成、IP_3受容体の細胞内分布、ならびにCa^{2+}自体、ATPおよびリン酸化によるIP_3受容体の制御によって部分的に担われている(3-4, 16)。IP_3受容体チャネルはまた、カルモジュリン(18, 19)、FKBP12 (20-22、23-24)、カルシニューリン(21、25、23-24)、アンキリン(26-28)、σ-1 受容体(28)、クロモグラニンAおよびB (29-31)、IRAG (32)、Fyn(33)ならびにBANK(34)などの該チャネルと相互作用するタンパク質によっても制御される(4, 17)。さらに、CaBPと呼ばれるファミリーが、Ca^{2+}依存的にIP_3受容体と結合し、IP_3非存在下でIP_3受容体を直接活性化することが示された(35)。IP_3受容体はまた、タンパク質-タンパク質間相互作用によってその上流または下流のシグナル分子に物理的に会合していることが示されている。例えば、IP_3受容体は、Homerファミリータンパク質を介して代謝型グルタミン酸受容体グループ１(mGluRs)と結合し(36)、また、未知の機序によってB_2ブラジキニン受容体(B_2Rs)と結合している(37)。mGluRsやB_2Rsの活性化によって、IP_3受容体に近接した位置でIP_3が産生され、効率的かつ特異的にシグナルが伝播される。

このように、IP_3分子は、様々な細胞機能を制御する重要なセカンドメッセンジャーであり、その細胞内の濃度は時間空間的に制御された形で変化していると考えられる。

上述の制御ドメインのC末端側近傍にはカスパーゼ3特異的切断部位が存在する。カスパーゼ3により該切断部位で切断されると、IP_3受容体のチャネルドメインのみを含むタンパク質が生じる。カスパーゼ3によりIP_3受容体が切断されると細胞のアポトーシスが起こることが、種々の培養細胞系において示されている（38）。

しかし、カスパーゼ3により切断されたIP_3受容体が、カルシウムの細胞内プールに対してどのような作用をするのかは不明である。

細胞質Ca^{2+}の局在パターンの変動がアポトーシスにどの様な影響を与えるのかということは、現在論争の的であり、細胞種、アポトーシス誘導の刺激、細胞の環境等、種々の条件によって異なることが明らかにされている（2）。しかし、IP_3受容体がアポトーシスに関与していることを示唆する報告がある。例えば、

Jurkat細胞におけるアンチセンスRNA法によりIP_3受容体の存在量を低下させた場合（39）、およびDT40ニワトリB細胞においてIP_3受容体の遺伝子を欠失させた場合（40）、有意にアポトーシスが阻害されるとの報告がある。IP_3受容体タイプ3（IP_3R3）は、リンパ細胞のアポトーシスの際に選択的に増加し、IP_3R3アンチセンスRNAを発現させることによりアポトーシスが阻害されることも報告されている（41、42）。Bcl-XLは、IP_3R1およびIP_3R3をダウンレギュレートするが、該ダウンレギュレートは抗アポトーシス作用の一部であると考えられる（43）。したがって、IP_3受容体とそのカスパーゼ3切断産物は、条件によってはアポトーシスに必須のシグナル伝達を任っている可能性が高い。

しかしながら、現時点でIP_3受容体のカスパーゼ3切断産物のアポトーシスに対する影響を直接的に証明した例は報告されていない。

本発明は、IP_3受容体のチャネルドメインのみからなる変異体タンパク質によってアポトーシスを誘導し、細胞増殖性疾患の治療等に有用な薬剤および方法を提供する。

発明の開示

本発明者らは、種々の長さのIP_3受容体タイプ1（IP_3R1）変異体タンパク質をグリーン蛍光タンパク質（GFP）で標識したものを作製し、それぞれを細胞内で発現させることにより、IP_3受容体のチャネルドメインのみからなるタンパク質を発現させた場合、そのチャネルが開いた状態となるか、または少なくともCa^{2+}イオンの透過が可能な状態であることを見出した。

このことから、IP_3受容体のチャネルドメインのみからなるタンパク質を強制発現させた細胞では、小胞体（ER）から細胞質へとCa^{2+}イオンが流出し、アポトーシスが誘導されることがわかった。

したがって、上記チャネルドメインのみを含むタンパク質および該タンパク質をコードする遺伝子は、アポトーシス誘導薬として細胞増殖性疾患の治療に用いることができる。

以上の知見より、本発明は、以下の態様：

1．　IP_3受容体タンパク質のチャネルドメインを含み、かつその制御ドメイン

を機能しうる形で含まないIP_3受容体変異体タンパク質；

2． IP_3受容体タンパク質がIP_3受容体タイプ1タンパク質である、上記１記載のタンパク質；

3． 以下の(a)または(b)のいずれかのタンパク質である、上記２記載のタンパク質；

(a) 配列番号１に示すアミノ酸配列のうち、少なくとも2216～2749位、または2276～2749位の配列を含み、かつ少なくとも第1～1891位の配列は含まないタンパク質

(b) 上記(a)に規定するタンパク質において、1～60個のアミノ酸が置換、欠失、挿入または付加された配列を有するタンパク質であって、哺乳動物細胞で発現させた場合に小胞体内から細胞質へのCa^{2+}の流出を誘導することができるタンパク質

4． 以下の(a)または(b)のいずれかのタンパク質である、上記２記載のタンパク質；

(a) 配列番号２に示すアミノ酸配列のうち、少なくとも第2222～2695位の配列を含み、かつ少なくとも第１～2221位の配列は含まないタンパク質

(b) 上記(a)に規定するタンパク質において、1～60個のアミノ酸が置換、欠失、挿入または付加された配列を有するタンパク質であって、哺乳動物細胞で発現させた場合に、小胞体内から細胞質へのCa^{2+}の流出を誘導することができるタンパク質

5． 上記１～４のいずれかに記載のタンパク質をコードする核酸分子；

6． 上記１～４のいずれかに記載のタンパク質をコードする核酸分子と、少なくとも80％の相同性を有する核酸分子、またはこれらにストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子；

7． 上記１～４のいずれかに記載のIP_3受容体変異体タンパク質を、対象とする細胞に発現させることにより、該細胞のアポトーシスを誘導する方法；

8． 上記１～４のいずれかに記載のIP_3受容体変異体タンパク質を発現させた細胞内で、小胞体内のCa^{2+}濃度が減少することを特徴とする、上記７記載の方法；

９．　上記５または６記載の核酸分子を、対象とする細胞に導入することにより上記タンパク質を発現させる、上記７または８記載の方法；

１０．　上記１～４のいずれかに記載のタンパク質を、対象とする細胞で発現させる、上記７または８記載の方法；

１１．　上記５または６記載の核酸分子を含む、アポトーシス誘導薬；

１２．　上記５または６記載の核酸分子を、対象とする細胞に導入することにより上記タンパク質を発現させ、該細胞の小胞体内のCa^{2+}濃度を減少させることを特徴とする、上記１０記載のアポトーシス誘導薬；

に関する。

本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願2003-293912号の明細書および/または図面に記載される内容を包含する。

図面の簡単な説明

図１は、GFPタグを付したマウスIP_3R1構築物の構造（Ａ）およびその発現産物のサイズ（ＢおよびＣ）を示す。Ａ中、LBDはリガンド結合ドメインを示す。抗IP_3R1モノクローナル抗体18A10によって認識されるエピトープ部位は、C末端部分である。ＢおよびＣは、HeLa細胞で各GFP-IP_3R1変異体を発現させ、その細胞溶解液を、それぞれ抗体18A10および抗GFP抗体によるウェスタンブロット（5％ゲルSDS-PAGE）に供した結果である。レーン１はコントロールベクター、レーン２はGFP-IP_3R1-Nの発現プラスミド、レーン３はGFP-IP_3R1-C、レーン４はGFP-IP_3R1-D610、レーン５はGFP-GFP-R1-caspおよびレーン6はGFP-IP_3R1-ESである。ネイティブなIP_3R1の位置を星印で示している（Ｂ）。

図２は、各GFP-IP_3R1変異体を発現させたHela細胞のATPおよびTGに対する細胞内Ca^{2+}濃度の変化を調べた結果である。ＡおよびＢ中、細い実線は、各GFP-IP_3R1変異体を発現させていないHela細胞（コントロール）であり、太い実線は、それぞれGFP-IP_3R1-N、GFP-IP_3R1-D610、をそれぞれに発現させたHela細胞である。また、ＣおよびＤ中、細い実線は、各GFP-IP_3R1変異体を発現させていないHela細胞（コントロール）であり、太い実線は、それぞれGFP-IP_3R1-casp、GFP-IP_3R1-ESを低発現した細胞、破線はそれぞれを高発現した細胞である。発現レベ

ルは、470～490nmで励起しGFPによる510～550nmの蛍光強度を指標に判断した。GFPの蛍光画像（左上のパネル）中、高発現細胞を棒付き矢印、低発現細胞を矢羽印で示している。星印はGFP-IP3R1変異体の局在が正常でないか、または凝集しているものを示す。Ｅは、Ａ～Ｄの結果をグラフ化したものである。同じ実験を4回繰り返して実施したが同様の結果が得られた。

図３は、各GFP- P_3R1変異体を発現させたHeLa細胞のTGに対する応答および続いて細胞外Ca^{2+}濃度を上昇させた場合のCa^{2+}の流入を調べた結果を示す。GFP-IP_3R1-N、GFP-P_3R1-D610、GFP-IP_3R1-casp、GFP-IP_3R1-ESをそれぞれ発現するHeLa細胞（Ａ～Ｄ：Ca^{2+}不含BSS中）を10分間0.3μMのTGで処理し、その後TGを含まない2mMCa^{2+}含有BSSで処理した。細い実線はGFP-IP_3R1変異体を発現させてない細胞（コントロール）、太い実線は各GFP-IP_3R1変異体を発現させたものを示す。それぞれ12～14個の細胞について観察された平均を示す。同じ実験を3回繰り返し実施したが、同様の結果が得られた。

図４は、各GFP-IP3R1変異体を発現させたHeLa細胞の細胞外Ca^{2+}濃度の変化に対する細胞質内へのCa^{2+}の流入について調べた結果を示す。細胞を2mMCa^{2+}含有BSSからCa^{2+}不含BSSに培地交換し、さらにその10分後に再度2mMCa^{2+}含有BSSに培地交換した。その際のFura-2によるF340/380の蛍光変化を図に示している。細い実線はGFP-IP_3R1変異体を発現させてない細胞（コントロール）、太い実線はGFP-IP_3R1-N、GFP-IP_3R1-D610、GFP-IP_3R1-casp、GFP-IP_3R1-ESをそれぞれ発現させたHeLa細胞（Ａ～Ｄ）を示す。それぞれ10～14個の細胞について観察された平均を示す。同じ実験を3回繰り返し実施したが、同様の結果が得られた。

図５は、GFP-IP_3R1-caspまたはGFP-IP_3R1-ESによる細胞死の誘導を確認した結果を示す。GFP-IP_3R1-caspまたはGFP-IP_3R1-ESを一過性発現させたHeLa細胞について、トランスフェクション後96時間におけるGFPの蛍光を発する細胞を計測し、GFPのみを発現させたコントロールHeLa細胞の生存率を100％として細胞生存率を算出した。

発明を実施するための形態

以下、本発明を具体的に説明する。

IP_3受容体は、4量体の細胞内IP_3-誘導性Ca^{2+}放出チャネル（IP_3-gated Ca^{2+} release channel）である(3, 4)。哺乳動物では、3種の異なるサブタイプのIP_3受容体が存在する(5-7)。いずれのサブタイプも、N末端近傍にIP_3結合ドメイン、C末端近傍に6回膜貫通領域を有するチャネル形成ドメイン、およびこれら2つのドメインの間に制御ドメインが存在する(10, 11)。

マウスIP_3受容体タイプ1（IP_3R1）では、配列番号1に示すアミノ酸配列を有する。N末端側（1～610残基）がリガンド結合ドメインで、C末端側（2276～2749残基）がチャネル形成ドメインであり、これらの間に制御ドメイン（611～2275残基）が存在する。該タンパク質の1891残基と1892残基の間のペプチド結合は、カスパーゼ3特異的切断部位である。上述のとおり、カスパーゼ3切断断片がアポトーシスを促進することが報告されていることから、カスパーゼ3切断部位よりC末端側がアポトーシスの誘導に重要であると考えられる。

この知見に基づいて、本発明者らは、アポトーシス誘導に関与するIP_3受容体部位をさらに限定するために、マウスIP_3R1のカスパーゼ3切断C末端側断片よりさらに短い、配列番号1に示すマウスIP_3R1のアミノ酸配列のうち2216～2749位の配列のみを含むタンパク質にGFPタグを付したもの(GFP-IP_3R1-ES)を作製した。すなわち、該タンパク質は、IP_3R1のC末端に存在するチャネルドメインとそのN末端側の制御ドメインのC末端配列60残基を含むものであり、これにはリガンド結合ドメインおよび制御ドメインは機能し得る形で含まれていない。

このGFP-IP_3R1-ESを、細胞に強制発現させたところ、細胞の小胞体内におけるCa^{2+}ストアからのCa^{2+}の流出が起こり、小胞体内のCa^{2+}濃度が低くなる。この小胞体内のCa^{2+}濃度の低下により、細胞外から細胞質へのストア作動性Ca^{2+}流入が起こる。これにより、IP_3R1-ESを強制発現した細胞ではアポトーシスが誘導される。

IP_3R1-ESはほぼチャネルドメインのみからなるものであり、N末端側の制御ドメイン由来の60残基は機能を有してはいない。IP_3Rの制御ドメインは、リガンド結合ドメインへのIP_3の結合を受けてチャネルドメインの何らかの立体構造変化を誘導してチャネルの開口をもたらすと考えられている。本明細書中、「制御ドメインを機能しうる形で含まない」とは、制御ドメインを構成するアミノ酸配列の全部を含まないか、または一部または全部を含むものの上記のようなリガンド

結合部位によるチャネルドメインの開口を誘導するという制御ドメイン本来の機能を有していないことをいう。したがって、IP_3R1-ESも、「制御ドメインを機能しうる形で含まない」IP_3R1変異体タンパク質に含まれる。

マウスIP_3R1のアミノ酸配列のうち2276～2749位のチャネルドメインを構成するアミノ酸配列のみを含むタンパク質も、IP_3R1-ESと同様のアポトーシス誘導作用を示し得ることが当業者であれば容易に認識し得るであろう。さらに、これらのIP_3R1の2216～2749位、または2276～2749位のアミノ酸配列を含むタンパク質と機能的に同等なタンパク質も、アポトーシス誘導作用を有する。ここで、「機能的に同等なタンパク質」とは、上記アミノ酸配列において、1～60、好ましくは1～20、さらに好ましくは1～10、特に好ましくは1～5個のアミノ酸が置換、欠失、挿入または付加された配列を有するタンパク質であって、IP_3R1-ESと同様に哺乳動物細胞で発現させた場合、小胞体膜上に存在して小胞体内から細胞質へのCa^{2+}の流出を誘導することができるタンパク質をいう。

また、IP_3受容体タイプ１に限らず、IP_3受容体タイプ２およびタイプ３についても同様に、チャネルドメインを含み、かつ制御ドメインを機能し得る形で含まない変異体タンパク質は、アポトーシス誘導作用を有すると考えられるため、これらのタンパク質およびこれらと機能的に同等なタンパク質もまた本発明の範囲内である。

また、あらゆる哺乳動物に由来するIP_3受容体についても同様である。したがって、例えば配列番号２にアミノ酸配列を示すヒトIP_3受容体タイプ１では、少なくとも第2222～2695位の配列を含み、少なくとも第596～2221位の配列は含まないタンパク質、およびこれに機能的に同等なタンパク質もまた、アポトーシス誘導作用を有する。

したがって、これらのタンパク質は全て本発明の範囲内にある。

また、これらのタンパク質をコードする核酸分子もまた本発明の範囲内である。本明細書中、「核酸分子」という用語は、DNAおよびRNAを含む。また、これらの核酸分子と少なくとも80％の相同性を有する核酸分子、好ましくはBLAST等を用いて計算したときに（例えば、BLASTのデフォルトすなわち初期条件のパラメーターを用いた場合に）、90％の相同性を有する核酸分子、さらに好ましくは95％

の相同性を有する核酸分子、およびこれらにストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子もまた、本発明に含まれる。本明細書中「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする」とは、例えば、ナトリウム濃度が10mM～300mMであり、好ましくは37～65℃、より好ましくは42℃である条件でハイブリダイズすることをいう。

さらに、上記の核酸分子を含むベクター、上記核酸分子が発現可能なように該核酸分子にプロモーターが機能し得る形で連結されているベクター、および上記核酸分子の発現産物を標識化するための何らかの標識物をコードする核酸分子と上記核酸分子がインフレームで連結されているベクター、さらにはこれらのベクターを含有する宿主細胞(哺乳動物細胞が好ましいが、これらに限定はされない)も、本発明に包含される。

本発明のタンパク質を発現させるためには、IP_3受容体のアミノ酸配列に基づいて上記タンパク質のアミノ酸配列をコードする核酸分子を作製し、これを周知の遺伝子工学的手法を用いて、適切な発現ベクターに組込むとよい。アミノ酸配列に基づいて遺伝子を作製または単離する技法、および哺乳動物細胞での発現に適切な発現ベクターは、様々なものが公知であり、当業者であれば容易に適切なものを選択することができる。

対象とする細胞に該発現ベクターを導入して、該細胞で上記遺伝子を発現させるための種々の方法も知られている。

IP_3R1が細胞の小胞体膜上に存在するためには、チャネルドメインのみが必要十分であることを本発明者らは見出しており、少なくともチャネルドメインを含む上記IP_3受容体変異体タンパク質を細胞で強制発現させた場合、該変異体タンパク質は小胞体膜上に局在する。該変異体タンパク質は、制御ドメインを欠くため、正常なIP_3受容体の立体構造をとることができず、チャネルが完全に閉口せず、小胞体内のCa^{2+}を細胞質へと流出させ、細胞をアポトーシスへと導くと考えられる。

すなわち、上述のタンパク質は細胞のアポトーシス誘導薬として有用である。アポトーシス誘導薬は、細胞増殖性疾患の治療に有用である。

細胞増殖性疾患とは、特定の細胞種が異常増殖することにより発症する疾患で

あり、皮膚T細胞増殖性疾患、血管平滑筋細胞増殖性疾患、骨芽細胞増殖性疾患、眼内細胞増殖性疾患、甲状腺の細胞増殖性疾患等を含む各種腫瘍および慢性関節リウマチ（RA）などが挙げられるが、これらに限定はされない。

かかる細胞増殖性疾患において、増殖する細胞をアポトーシスにより死滅させる治療が該疾患において有効であり得る。

上記アポトーシス誘導薬としてのIP_3受容体変異体タンパク質をコードする遺伝子を、所望の細胞内で該タンパク質を発現し得る形で導入することにより、所望の細胞のアポトーシスを誘導し得る。IP_3R受容体変異体タンパク質をコードする遺伝子が所望の細胞でのみ発現し得るように、該細胞種に特異的な発現プロモーター等の調節因子を上記遺伝子に機能し得る形で連結した発現カセットを含むベクターを用いて、対象とする生物個体に導入することができる。これらの方法は、種々のものが既に公知であり、いずれの方法を使用することも可能であるが、例えばアデノウイルス等を用いることができる。細胞種特異的な発現プロモーターも個々の細胞種について様々なものが公知であり、当業者であれば適切なものを選択することは容易である。

例えば、IP_3受容体変異体タンパク質をコードするDNAを上記治療薬として使用する場合は、本発明のDNAを単独あるいは、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルス随伴性ウイルスベクターなどの適当なベクターに挿入した後、常法に従って、患者に投与することができる。該DNAは、そのままで、あるいは摂取促進のための補助剤とともに、遺伝子銃やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。例えば、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。また、DNAを生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ビヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は当業者であれば適当な用量がわかるであろう。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、ゼラ

チン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなビヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリソルベート80™、HCO-50）などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

また、上記治療薬は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。

投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより相違し、対象とする患者の健康状態、体重、併用する治療方法等の条件によって、個別に担当医によって決定される。

以下、本発明の理解を助けるために、実施例を例示として記載する。

実施例

GFPタグを付したIP_3受容体タイプ1変異体DNAの構築とその発現

IP_3受容体タイプ1の1892残基よりC末端側のアミノ酸配列のみからなるペプチドのN末端側にグリーン蛍光タンパク質EGFPを付したIP_3受容体タイプ1変異体（GFP-IP_3R1-casp）、および、IP_3受容体タイプ1の2216残基よりC末端側のアミ

ノ酸配列のみからなるペプチドのN末端側にグリーン蛍光タンパク質EGFPを付加したIP$_3$受容体タイプ1変異体（GFP-IP$_3$R1-ES）を作製した。

まず、マウスIP$_3$R1をコードするcDNAを、Pfu turbo（Stratagene, La Jolla, CA）を用いて常法に従ってPCRにより増幅した。該cDNA断片とEGFPのコード配列（Clontech, Palo Alto, CA）とを、pcDNA3.1/Zeo$^+$（Invitrogen, Carlsbad, CA）内にEGFPcDNAがIP$_3$R1cDNAの上流に位置するようにサブクローニングし、GFP-IP$_3$R1-N発現ベクターを得た。該ベクター内ではEGFPcDNAとIP$_3$R1cDNAとの間にリンカーとしてLeu-Lys（AflII制限酵素認識配列に含まれる）が挿入されている。GFP-IP$_3$R1-Cは、EGFP分子がIP$_3$R1のC末端側に付加されており、同様の方法で、GFP-IP$_3$R1-C発現ベクターも作製することができる。IP$_3$R1cDNAとEGFPcDNAとの間にリンカーとしてGly-Pro-Alaが挿入されている。

さらに、上記GFP-IP$_3$R1-N発現ベクターからIP$_3$R1の1～610残基をコードする配列部位をAflII/SacII消化により切り出し、そこにGly-Ser-Ser-Glyをコードするオリゴヌクレオチドリンカーを挿入して、GFP-IP$_3$R1-610発現ベクターを得た。さらに、上記GFP-IP$_3$R1-N発現ベクターからIP$_3$R1の1～2216残基をコードする配列部位をAflII/EcoRI消化により切り出し、そこにGlu-Pheをコードするオリゴヌクレオチドリンカーを挿入して、GFP-IP$_3$R1-ES発現ベクターを得た。さらに、IP$_3$R1のArg1892～Glu2216アミノ酸配列をコードするcDNA断片をPCRにより増幅させて、上記GFP-IP$_3$R1-ES発現ベクターのEcoRI部位に挿入することにより、GFP-IP$_3$R1-casp発現ベクターを得た。図１Ａ参照のこと。

50μg/mlポリリジンでコートしたガラスカバースリップ（直径18mm）またはガラス底マイクロウェルディッシュ（直径35mm、コーティングなし）上で細胞を増殖させ、リポフェクトアミン2000溶液（Invitorgen）を説明書の指示どおりの方法で、上記発現ベクターをHeLa細胞に一過性にトランスフェクトして、その細胞溶解液を抗IP$_3$R1モノクローナル抗体18A10（IP$_3$R1のC末端部を認識する）(14)を用いたウェスタンブロットにより各発現タンパク質の分子量を検定したところ、いずれも予想どおりの分子量を有することが確認された(図１Ｂ)。さらに、抗GFP抗体(Santa Cruz CA)によるウェスタンブロットの結果でも同様であった(図１Ｃ)。

なお、本明細書中に開示する実施例中の細胞培養では、COS細胞およびHeLa細胞は、10％ウシ胎児血清（FCS）、1.0g/lグルコース、2mM L-グルタミン、ペニシリンストレプトマイシン含有ダルベッコ改変イーグル培地（DMEM）を用いて行い、培養は37℃、5％CO_2湿潤環境下で行った。

Ca^{2+}イメージング

次に、これらのIP_3R1変異体を強制発現させたHela細胞を用いて、シングルセルCa^{2+}イメージングを実施した。

トランスフェクションの１～２日後、HeLa細胞を5μM fura-2アセトキシメチルエステル(Molecular Probe)で45分間処理し、fura-2をロードした細胞を倒立蛍光顕微鏡(IX-70、オリンパス社製)にセットし、平衡塩類溶液(BSS；115mM NaCl、5.4mM KCl、2mM $CaCl_2$、1mM $MgCl_2$、10mM グルコースおよび20mM HEPES(pH7.4)を2.0ml/分の流速で灌流させた。画像処理は、Argus50/CA(浜松フォトニクス社製)を用いて、室温にて340nmと380nmとで交互に励起して、それぞれの励起に対する蛍光イメージを取得した。細胞は、100μM ATPおよびタプシガルジン(TG)それぞれで刺激して、その際の蛍光比率(F340/F380)の変化を観察した。結果を図２に示す。

GFP-IP_3R1-NおよびGFP-IP_3R1-D610は、ATP誘導性およびTG誘導性のCa^{2+}流入にはほとんど影響を与えなかった(図２Ａ、Ｂ)。一方、GFP-IP_3R1-caspおよびGFP-IP_3R1-ESはATP-誘導性およびTG誘導性Ca^{2+}流入の両方とも応答が減少した(図２Ｃ、Ｄ)。GFP-IP_3R1-caspおよびGFP-IP_3R1-ESの発現量の増加に従って、減少が顕著であった。

COS細胞を用いて同様の実験を行った場合も、同様の結果を示した(データは示していない)。

この機序を探るために、さらに実験を行った。

各種IP_3R1変異体を発現させたCOS細胞のTG誘導性のCa^{2+}ストアからのCa^{2+}の漏出およびこれに伴うストア作動性Ca^{2+}流入を調べた。GFP-IP_3R1-NおよびGFP-IP_3R1-D610を発現させた細胞は、TGの誘導によるCa^{2+}ストアからのCa^{2+}の漏出およびストア作動性Ca^{2+}の流入ともにほとんど影響を示さなかったが、GFP-IP_3R1-caspおよびGFP-IP_3R1-ESを発現させた細胞では、TG処理による細胞内Ca^{2+}濃度の

上昇がほとんど認められなかった。しかし、細胞外Ca^{2+}濃度を上げた際のストア作動性Ca^{2+}の流入は明らかに認められた(図３Ｃ、Ｄ)。この現象は、GFP-IP_3R1-caspまたはGFP-IP_3R1-ESを発現させた細胞の小胞体内のCa^{2+}濃度が低すぎ、すなわち小胞体のCa^{2+}ストアが枯渇した状態にあり、TG刺激による細胞内Ca^{2+}濃度の上昇が認められないことを示唆するものである。

このことをさらに証明するために、TGによる前処理を行わずに、細胞外Ca^{2+}濃度を変化させてCa^{2+}の流入を観察した(図４)。GFP-IP_3R1-NまたはGFP-IP_3R1-D610を発現させた細胞では、細胞内Ca^{2+}濃度は細胞外Ca^{2+}濃度に影響されることなくほぼ安定していたのに対し(図４Ａ、Ｂ)、GFP-IP_3R1-caspまたはGFP-IP_3R1-ESを発現させた細胞では、細胞外Ca^{2+}の除去に伴い細胞内Ca^{2+}濃度が低下し、細胞外Ca^{2+}の増加とともに細胞内Ca^{2+}濃度が上昇した(図４Ｃ、Ｄ)。

これらの結果より、GFP-IP_3R1-caspおよびGFP-IP_3R1-ESはいずれも、小胞体内のCa^{2+}ストアからCa^{2+}を漏洩させていると考えられる。GFP-IP_3R1-caspおよびGFP-IP_3R1-ESは、Ca^{2+}ストア内のCa^{2+}量が低下し、細胞外から細胞質内へのストア作動性カルシウム流入が起こり、その状態が維持されると考えられる。

GFP-IP_3R1-caspおよびGFP-IP_3R1-ESによる細胞死

次いで、GFP-IP_3R1-caspまたはGFP-IP_3R1-ESによる細胞死の誘導を調べた。GFP-IP_3R1-caspまたはGFP-IP_3R1-ESをトランスフェクションした後、96時間後におけるGFPの蛍光を発する細胞を計測し、GFPのみを発現させたコントロールHeLa細胞の生存率を100％として細胞生存率を算出した（図５）。

GFP-IP_3R1-caspおよびGFP-IP_3R1-ESのいずれを発現させた細胞でも、細胞死の誘導が顕著に認められた。この結果は、IP_3R1のチャネルドメインのみの変異体がアポトーシスを誘導することを示唆するものである。

産業上の利用の可能性

以上より、本発明により、細胞内Ca^{2+}ストアから細胞質へのCa^{2+}の流出を誘導することにより細胞のアポトーシスを誘導するタンパク質、およびそれによるアポトーシス誘導方法が提供される。また、IP_3受容体のチャネルドメインからなるアポトーシス誘導薬が提供される。

本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

参考文献

1. Berridge, M. J. (1993) Nature 361, 315-325
2. Berridge, M. J.ら、(2000) Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 1, 11-21
3. Furuichi, T.および Mikoshiba, K. (1995) J. Neurochem. 64, 953-960
4. Patel, S.ら、(1999) Cell Calcium 25, 247-264
5. Furuichi, T.ら、(1989) Nature 342, 32-38
6. Sudhof, T. C.ら、(1991) EMBO J. 10, 3199-3206
7. Blondel, O.ら、(1993) J. Biol. Chem. 268, 11356-11363
8. Worley, P. F.ら、(1987) Nature 325, 159-161
9. Furuichi, T.ら、(1993) Recept. Channels 1, 11-24
10. Mignery, G. A.およびSudhof, T. C. (1990) EMBO J. 9, 3893-3898
11. Miyawaki, A.ら、(1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 4911-4915
12. Yoshikawa, F.ら、(1996) J. Biol. Chem. 271, 18277-18284
13. Zhu, C.-C.ら、(1999) J. Biol. Chem. 274, 3476-3484
14. Zhu, C.-C.およびWojcikiewicz, R. J. H. (2000) Biochem. J. 348, 551-556
15. Berridge, M. J.ら、(1998) Nature 395, 645-648
16. Thrower, E. C.ら、(2001) Trends Pharmacol. Sci. 22, 580-586
17. Mackrill, J. J. (1999) Biochem. J. 337, 345-361
18. Patel, S.ら、(1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 11627-11632
19. Michikawa, T.ら、(1999) Neuron 23, 799-808
20. Cameron, A. M.ら、(1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 1784-1788
21. Cameron, A. M.ら、(1997) J. Biol. Chem. 272, 27582-27588
22. Dargan, S. L.ら、(2002) Biochem. J. 361, 401-407
23. Bultynck, G.ら、(2000) J. Physiol. 525, 681-693
24. Bultynck, G.ら、(2001) Biochem. J. 354, 413-422

25. Cameron, A. M.ら、(1995) Cell 83, 463-472

26. Joseph, S. K.ら、(1993) J. Biol. Chem. 268, 7290-7297

28. Hayashi, T.およびSu, T.-P. (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 491-496

29. Yoo, S. H.ら、(2000) J. Biol. Chem. 275, 12553-12559

30. Yoo, S. H.およびJeon, C. J. (2000) J. Biol. Chem. 275, 15067-15073

31. Thrower, E. C.ら、(2002) J. Biol. Chem. 277, 15801-15806

32. Schlossmann, J.ら、(2000) Nature 404, 197-201

33. Jayaraman, T.ら、(1996) Science 272, 1492-1494

34. Yokoyama, K.ら、(2002) EMBO J. 21, 83-92

35. Yang, J.ら、(2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 7711-7716

36. Tu, J. C.ら、(1998) Neuron 21, 717-726

37. Delmas, P.ら、(2002) Neuron 14, 209-220

38. Hirota, J.ら、(1999)J. Biol. Chem. 274, 34433-34437

39. Jayaraman, T., およびMarks, A. R. (1997) Mol.Ce..Biol.17, 3005-3012

40. Sugawara, H.ら、(1997) EMBO J. 16, 3078-3088

41. Khan, A. A.ら、(1996) Science 273, 503-507

42. Blackshaw, S.ら、(2000) FASEB J. 14, 1375-1379

43. Li, C.ら、(2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 9830-9835

請求の範囲

1． IP_3受容体タンパク質のチャネルドメインを含み、かつその制御ドメインを機能しうる形で含まないIP_3受容体変異体タンパク質。

2． IP_3受容体タンパク質がIP_3受容体タイプ1タンパク質である、請求項１記載のタンパク質。

3． 以下の(a)または(b)のいずれかのタンパク質である、請求項２記載のタンパク質。

(a) 配列番号１に示すアミノ酸配列のうち、少なくとも2216～2749位、または2276～2749位の配列を含み、かつ少なくとも第1～1891位の配列は含まないタンパク質

(b) 上記(a)に規定するタンパク質において、1～60個のアミノ酸が置換、欠失、挿入または付加された配列を有するタンパク質であって、哺乳動物細胞で発現させた場合に小胞体内から細胞質へのCa^{2+}の流出を誘導することができるタンパク質

4． 以下の(a)または(b)のいずれかのタンパク質である、請求項２記載のタンパク質。

(a) 配列番号２に示すアミノ酸配列のうち、少なくとも第2222～2695位の配列を含み、かつ少なくとも第１～2221位の配列は含まないタンパク質

(b) 上記(a)に規定するタンパク質において、1～60個のアミノ酸が置換、欠失、挿入または付加された配列を有するタンパク質であって、哺乳動物細胞で発現させた場合に、小胞体内から細胞質へのCa^{2+}の流出を誘導することができるタンパク質

5． 請求項１～４のいずれか1項に記載のタンパク質をコードする核酸分子。

6． 請求項１～４のいずれか1項に記載のタンパク質をコードする核酸分子と、少なくとも80％の相同性を有する核酸分子、およびこれらにストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子。

7． 請求項１～４のいずれか1項に記載のIP_3受容体変異体タンパク質を、対象とする細胞に発現させることにより、該細胞のアポトーシスを誘導する方法。

８．　請求項１～４のいずれか1項に記載のIP_3受容体変異体タンパク質を発現させた細胞内で、小胞体内のCa^{2+}濃度が減少することを特徴とする、請求項７記載の方法。

９．　請求項５または６記載の核酸分子を、対象とする細胞に導入することにより上記タンパク質を発現させる、請求項７または８記載の方法。

１０．　請求項１～４のいずれか1項に記載のタンパク質を、対象とする細胞で発現させる、請求項７または８記載の方法。

１１．　請求項５または６記載の核酸分子を含む、アポトーシス誘導薬。

１２．　請求項５または６記載の核酸分子を、対象とする細胞に導入することにより上記タンパク質を発現させ、該細胞の小胞体内のCa^{2+}濃度を減少させることを特徴とする、請求項１１記載のアポトーシス誘導薬。

図 1

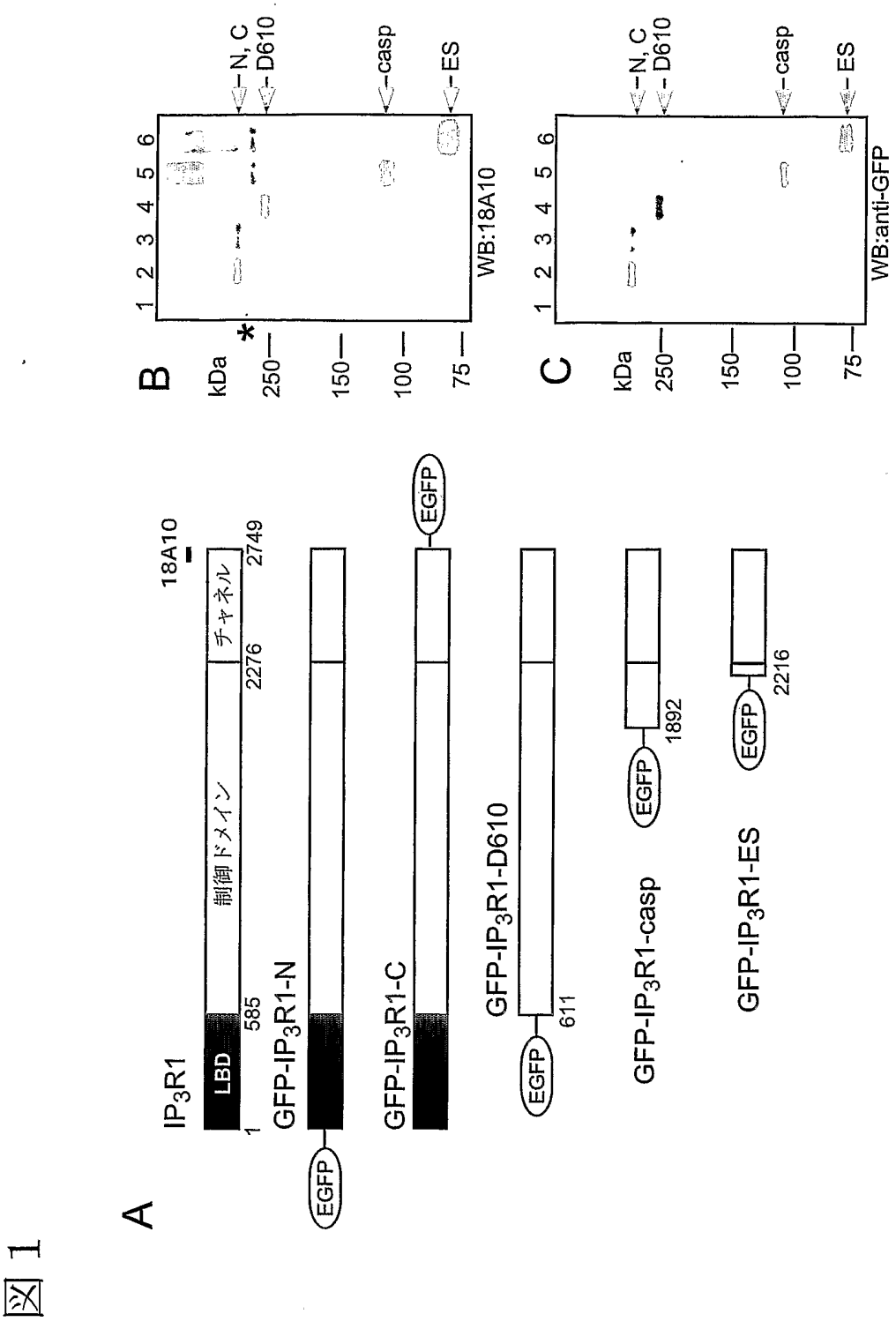

A
IP3R1
18A10
LBD
制御ドメイン
チャネル
1
585
2276
2749
GFP-IP3R1-N
EGFP
GFP-IP3R1-C
EGFP
GFP-IP3R1-D610
EGFP
611
GFP-IP3R1-casp
EGFP
1892
GFP-IP3R1-ES
EGFP
2216
B
kDa
250
150
100
75
1 2 3 4 5 6
*
N, C
D610
casp
ES
WB:18A10
C
kDa
250
150
100
75
1 2 3 4 5 6
N, C
D610
casp
ES
WB:anti-GFP

図 2

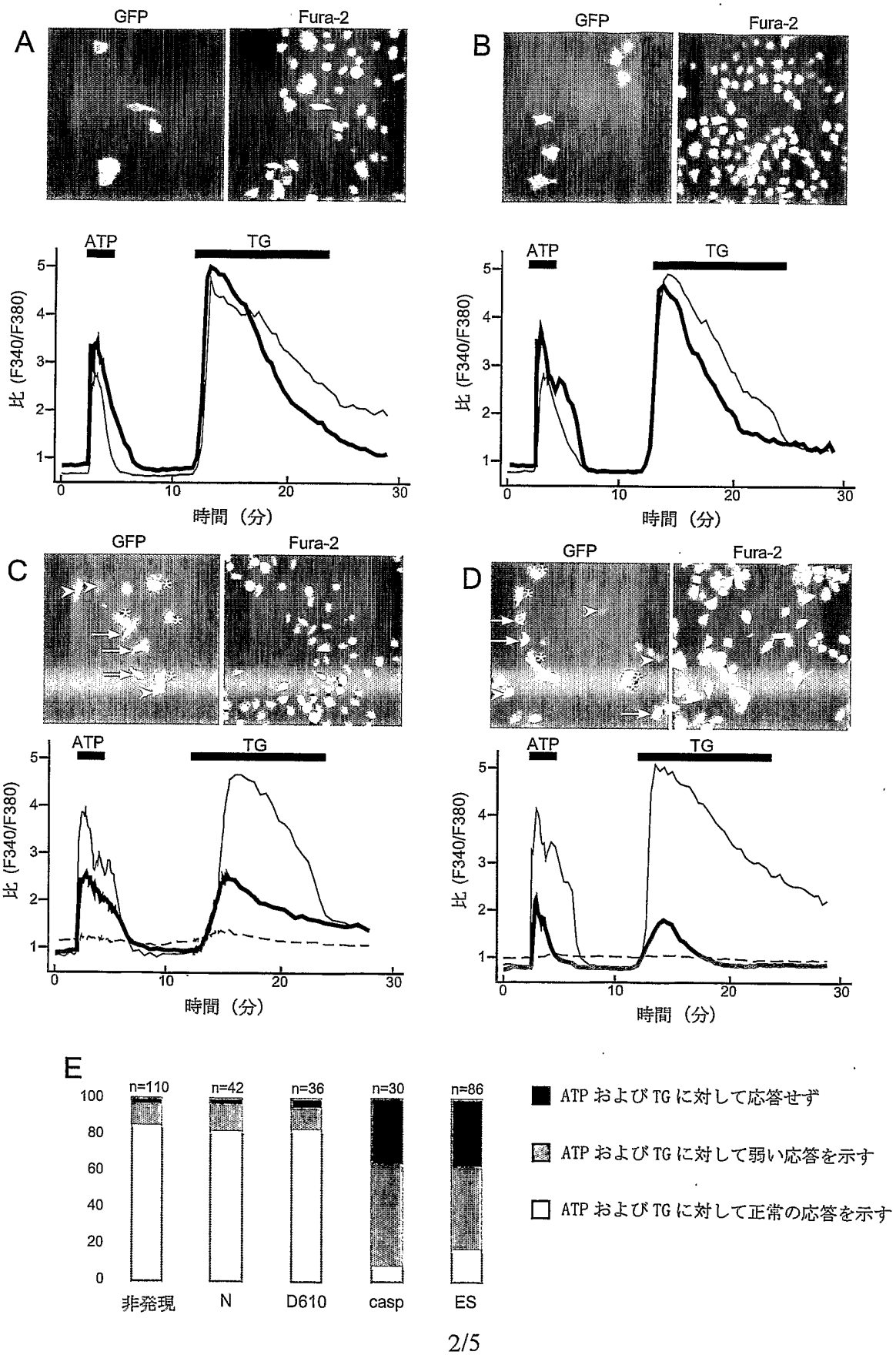

A
GFP
Fura-2
ATP
TG
比 (F340/F380)
時間 (分)
B
C
D
E
n=110
n=42
n=36
n=30
n=86
非発現
N
D610
casp
ES
ATP および TG に対して応答せず
ATP および TG に対して弱い応答を示す
ATP および TG に対して正常の応答を示す

図3

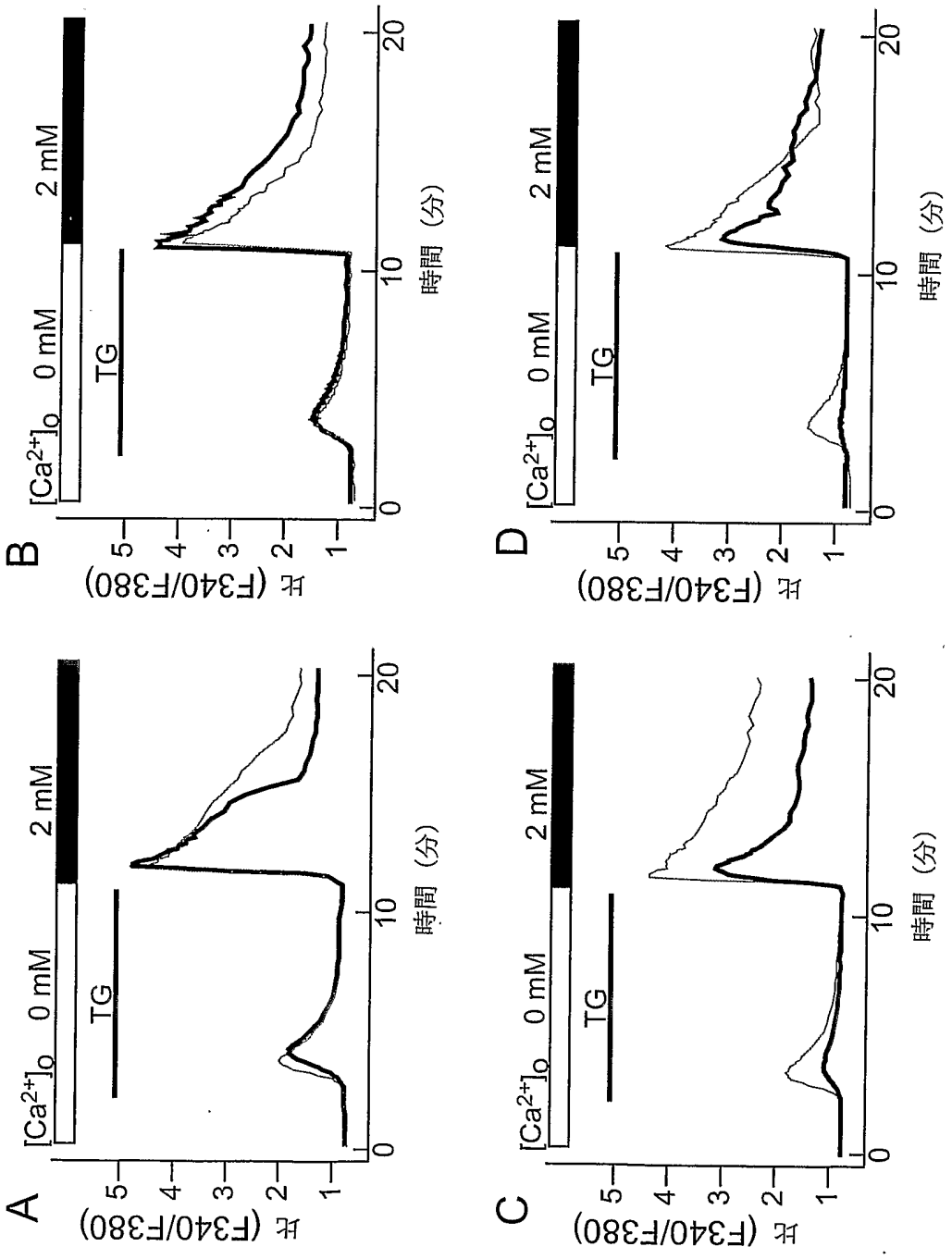


図 4

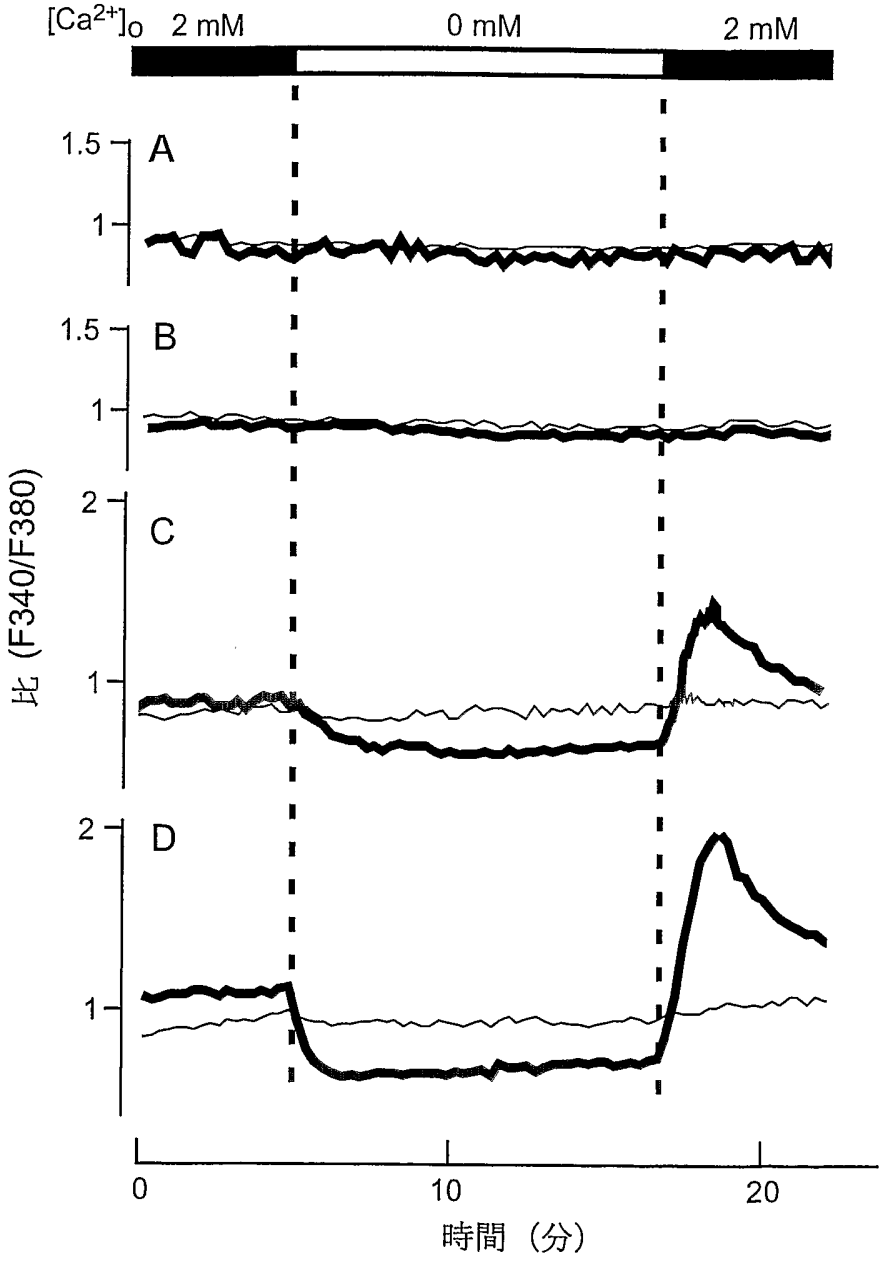
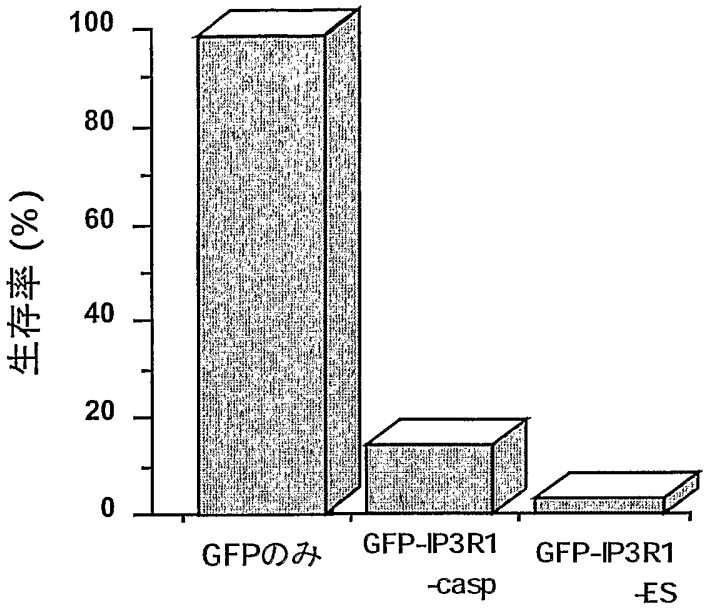


図 5



SEQUENCE LISTING

<110> RIKEN

<120> Truncated mutants of IP3 receptor that induce apoptosis

<130> PH-1939-PCT

<140>

<141>

<150> JP2003/293912

<151> 2003-08-15

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 2749

<212> PRT

<213> Mouse

<220>

<223> IP3 receptor type 1

<400> 1

Met Ser Asp Lys Met Ser Ser Phe Leu His Ile Gly Asp Ile Cys Ser
1 5 10 15

Leu Tyr Ala Glu Gly Ser Thr Asn Gly Phe Ile Ser Thr Leu Gly Leu
20 25 30

Val Asp Asp Arg Cys Val Val Gln Pro Glu Ala Gly Asp Leu Asn Asn
35 40 45

Pro Pro Lys Lys Phe Arg Asp Cys Leu Phe Lys Leu Cys Pro Met Asn
50 55 60

Arg Tyr Ser Ala Gln Lys Gln Phe Trp Lys Ala Ala Lys Pro Gly Ala
65 70 75 80

Asn Ser Thr Thr Asp Ala Val Leu Leu Asn Lys Leu His His Ala Ala
85 90 95

Asp Leu Glu Lys Lys Gln Asn Glu Thr Glu Asn Arg Lys Leu Leu Gly
100 105 110

Thr Val Ile Gln Tyr Gly Asn Val Ile Gln Leu Leu His Leu Lys Ser
115 120 125

Asn Lys Tyr Leu Thr Val Asn Lys Arg Leu Pro Ala Leu Leu Glu Lys
130 135 140

Asn Ala Met Arg Val Thr Leu Asp Glu Ala Gly Asn Glu Gly Ser Trp
145 150 155 160

Phe Tyr Ile Gln Pro Phe Tyr Lys Leu Arg Ser Ile Gly Asp Ser Val
165 170 175

Val Ile Gly Asp Lys Val Val Leu Asn Pro Val Asn Ala Gly Gln Pro
180 185 190

Leu His Ala Ser Ser His Gln Leu Val Asp Asn Pro Gly Cys Asn Glu
195 200 205

Val Asn Ser Val Asn Cys Asn Thr Ser Trp Lys Ile Val Leu Phe Met
210 215 220

Lys Trp Ser Asp Asn Lys Asp Asp Ile Leu Lys Gly Gly Asp Val Val
225 230 235 240

Arg Leu Phe His Ala Glu Gln Glu Lys Phe Leu Thr Cys Asp Glu His
245 250 255

Arg Lys Lys Gln His Val Phe Leu Arg Thr Thr Gly Arg Gln Ser Ala
260 265 270

Thr Ser Ala Thr Ser Ser Lys Ala Leu Trp Glu Val Glu Val Val Gln
275 280 285

His Asp Pro Cys Arg Gly Gly Ala Gly Tyr Trp Asn Ser Leu Phe Arg
290 295 300

Phe Lys His Leu Ala Thr Gly His Tyr Leu Ala Ala Glu Val Asp Pro
305 310 315 320

Asp Phe Glu Glu Glu Cys Leu Glu Phe Gln Pro Ser Val Asp Pro Asp

325 330 335

Gln Asp Ala Ser Arg Ser Arg Leu Arg Asn Ala Gln Glu Lys Met Val
340 345 350

Tyr Ser Leu Val Ser Val Pro Glu Gly Asn Asp Ile Ser Ser Ile Phe
355 360 365

Glu Leu Asp Pro Thr Thr Leu Arg Gly Gly Asp Ser Leu Val Pro Arg
370 375 380

Asn Ser Tyr Val Arg Leu Arg His Leu Cys Thr Asn Thr Trp Val His
385 390 395 400

Ser Thr Asn Ile Pro Ile Asp Lys Glu Glu Glu Lys Pro Val Met Leu
405 410 415

Lys Ile Gly Thr Ser Pro Leu Lys Glu Asp Lys Glu Ala Phe Ala Ile
420 425 430

Val Pro Val Ser Pro Ala Glu Val Arg Asp Leu Asp Phe Ala Asn Asp
435 440 445

Ala Ser Lys Val Leu Gly Ser Ile Ala Gly Lys Leu Glu Lys Gly Thr
450 455 460

Ile Thr Gln Asn Glu Arg Arg Ser Val Thr Lys Leu Leu Glu Asp Leu
465 470 475 480

Val Tyr Phe Val Thr Gly Gly Thr Asn Ser Gly Gln Asp Val Leu Glu
485 490 495

Val Val Phe Ser Lys Pro Asn Arg Glu Arg Gln Lys Leu Met Arg Glu
500 505 510

Gln Asn Ile Leu Lys Gln Ile Phe Lys Leu Leu Gln Ala Pro Phe Thr
515 520 525

Asp Cys Gly Asp Gly Pro Met Leu Arg Leu Glu Glu Leu Gly Asp Gln
530 535 540

Arg His Ala Pro Phe Arg His Ile Cys Arg Leu Cys Tyr Arg Val Leu
545 550 555 560

Arg His Ser Gln Gln Asp Tyr Arg Lys Asn Gln Glu Tyr Ile Ala Lys
565 570 575

Gln Phe Gly Phe Met Gln Lys Gln Ile Gly Tyr Asp Val Leu Ala Glu
580 585 590

Asp Thr Ile Thr Ala Leu Leu His Asn Asn Arg Lys Leu Leu Glu Lys
595 600 605

His Ile Thr Ala Ala Glu Ile Asp Thr Phe Val Ser Leu Val Arg Lys
610 615 620

Asn Arg Glu Pro Arg Phe Leu Asp Tyr Leu Ser Asp Leu Cys Val Ser
625 630 635 640

Met Asn Lys Ser Ile Pro Val Thr Gln Glu Leu Ile Cys Lys Ala Val
645 650 655

Leu Asn Pro Thr Asn Ala Asp Ile Leu Ile Glu Thr Lys Leu Val Leu
660 665 670

Ser Arg Phe Glu Phe Glu Gly Val Ser Thr Gly Glu Asn Ala Leu Glu
675 680 685

Ala Gly Glu Asp Glu Glu Glu Val Trp Leu Phe Trp Arg Asp Ser Asn
690 695 700

Lys Glu Ile Arg Ser Lys Ser Val Arg Glu Leu Ala Gln Asp Ala Lys
705 710 715 720

Glu Gly Gln Lys Glu Asp Arg Asp Ile Leu Ser Tyr Tyr Arg Tyr Gln
725 730 735

Leu Asn Leu Phe Ala Arg Met Cys Leu Asp Arg Gln Tyr Leu Ala Ile
740 745 750

Asn Glu Ile Ser Gly Gln Leu Asp Val Asp Leu Ile Leu Arg Cys Met
755 760 765

Ser Asp Glu Asn Leu Pro Tyr Asp Leu Arg Ala Ser Phe Cys Arg Leu
770 775 780

Met Leu His Met His Val Asp Arg Asp Pro Gln Glu Gln Val Thr Pro

785 790 795 800

Val Lys Tyr Ala Arg Leu Trp Ser Glu Ile Pro Ser Glu Ile Ala Ile
805 810 815

Asp Asp Tyr Asp Ser Ser Gly Thr Ser Lys Asp Glu Ile Lys Glu Arg
820 825 830

Phe Ala Gln Thr Met Glu Phe Val Glu Glu Tyr Leu Arg Asp Val Val
835 840 845

Cys Gln Arg Phe Pro Phe Ser Asp Lys Glu Lys Asn Lys Leu Thr Phe
850 855 860

Glu Val Val Asn Leu Ala Arg Asn Leu Ile Tyr Phe Gly Phe Tyr Asn
865 870 875 880

Phe Ser Asp Leu Leu Arg Leu Thr Lys Ile Leu Leu Ala Ile Leu Asp
885 890 895

Cys Val His Val Thr Thr Ile Phe Pro Ile Ser Lys Met Thr Lys Gly
900 905 910

Glu Glu Asn Lys Gly Ser Asn Val Met Arg Ser Ile His Gly Val Gly
915 920 925

Glu Leu Met Thr Gln Val Val Leu Arg Gly Gly Gly Phe Leu Pro Met
930 935 940

Thr Pro Met Ala Ala Ala Pro Glu Gly Asn Val Lys Gln Ala Glu Pro
945 950 955 960

Glu Lys Glu Asp Ile Met Val Met Asp Thr Lys Leu Lys Ile Ile Glu
965 970 975

Ile Leu Gln Phe Ile Leu Asn Val Arg Leu Asp Tyr Arg Ile Ser Cys
980 985 990

Leu Leu Cys Ile Phe Lys Arg Glu Phe Asp Glu Ser Asn Ser Gln Ser
995 1000 1005

Ser Glu Thr Ser Ser Gly Asn Ser Ser Gln Glu Gly Pro Ser Asn Val
1010 1015 1020

Pro Gly Ala Leu Asp Phe Glu His Ile Glu Glu Gln Ala Glu Gly Ile
1025 1030 1035 1040

Phe Gly Gly Ser Glu Glu Asn Thr Pro Leu Asp Leu Asp Asp His Gly
1045 1050 1055

Gly Arg Thr Phe Leu Arg Val Leu Leu His Leu Thr Met His Asp Tyr
1060 1065 1070

Pro Pro Leu Val Ser Gly Ala Leu Gln Leu Leu Phe Arg His Phe Ser
1075 1080 1085

Gln Arg Gln Glu Val Leu Gln Ala Phe Lys Gln Val Gln Leu Leu Val
1090 1095 1100

Thr Ser Gln Asp Val Asp Asn Tyr Lys Gln Ile Lys Gln Asp Leu Asp
1105 1110 1115 1120

Gln Leu Arg Ser Ile Val Glu Lys Ser Glu Leu Trp Val Tyr Lys Gly
1125 1130 1135

Gln Gly Pro Asp Glu Pro Met Asp Gly Ala Ser Gly Glu Asn Glu His
1140 1145 1150

Lys Lys Thr Glu Glu Gly Thr Ser Lys Pro Leu Lys His Glu Ser Thr
1155 1160 1165

Ser Ser Tyr Asn Tyr Arg Val Val Lys Glu Ile Leu Ile Arg Leu Ser
1170 1175 1180

Lys Leu Cys Val Gln Glu Ser Ala Ser Val Arg Lys Ser Arg Lys Gln
1185 1190 1195 1200

Gln Gln Arg Leu Leu Arg Asn Met Gly Ala His Ala Val Val Leu Glu
1205 1210 1215

Leu Leu Gln Ile Pro Tyr Glu Lys Ala Glu Asp Thr Lys Met Gln Glu
1220 1225 1230

Ile Met Arg Leu Ala His Glu Phe Leu Gln Asn Phe Cys Ala Gly Asn
1235 1240 1245

Gln Gln Asn Gln Ala Leu Leu His Lys His Ile Asn Leu Phe Leu Lys

1250 1255 1260

Pro Gly Ile Leu Glu Ala Val Thr Met Gln His Ile Phe Met Asn Asn
1265 1270 1275 1280

Phe Gln Leu Cys Ser Glu Ile Asn Glu Arg Val Val Gln His Phe Val
1285 1290 1295

His Cys Ile Glu Thr His Gly Arg Asn Val Gln Tyr Ile Lys Phe Leu
1300 1305 1310

Gln Thr Ile Val Lys Ala Glu Gly Lys Phe Ile Lys Lys Cys Gln Asp
1315 1320 1325

Met Val Met Ala Glu Leu Val Asn Ser Gly Glu Asp Val Leu Val Phe
1330 1335 1340

Tyr Asn Asp Arg Ala Ser Phe Gln Thr Leu Ile Gln Met Met Arg Ser
1345 1350 1355 1360

Glu Arg Asp Arg Met Asp Glu Asn Ser Pro Leu Met Tyr His Ile His
1365 1370 1375

Leu Val Glu Leu Leu Ala Val Cys Thr Glu Gly Lys Asn Val Tyr Thr
1380 1385 1390

Glu Ile Lys Cys Asn Ser Leu Leu Pro Leu Asp Asp Ile Val Arg Val
1395 1400 1405

Val Thr His Glu Asp Cys Ile Pro Glu Val Lys Ile Ala Tyr Ile Asn
1410 1415 1420

Phe Leu Asn His Cys Tyr Val Asp Thr Glu Val Glu Met Lys Glu Ile
1425 1430 1435 1440

Tyr Thr Ser Asn His Met Trp Lys Leu Phe Glu Asn Phe Leu Val Asp
1445 1450 1455

Ile Cys Arg Ala Cys Asn Asn Thr Ser Asp Arg Lys His Ala Asp Ser
1460 1465 1470

Ile Leu Glu Lys Tyr Val Thr Glu Ile Val Met Ser Ile Val Thr Thr
1475 1480 1485

Phe Phe Ser Ser Pro Phe Ser Asp Gln Ser Thr Thr Leu Gln Thr Arg
1490 1495 1500

Gln Pro Val Phe Val Gln Leu Leu Gln Gly Val Phe Arg Val Tyr His
1505 1510 1515 1520

Cys Asn Trp Leu Met Pro Ser Gln Lys Ala Ser Val Glu Ser Cys Ile
1525 1530 1535

Arg Val Leu Ser Asp Val Ala Lys Ser Arg Ala Ile Ala Ile Pro Val
1540 1545 1550

Asp Leu Asp Ser Gln Val Asn Asn Leu Phe Leu Lys Ser His Asn Ile
1555 1560 1565

Val Gln Lys Thr Ala Leu Asn Trp Arg Leu Ser Ala Arg Asn Ala Ala
1570 1575 1580

Arg Arg Asp Ser Val Leu Ala Ala Ser Arg Asp Tyr Arg Asn Ile Ile
1585 1590 1595 1600

Glu Arg Leu Gln Asp Ile Val Ser Ala Leu Glu Asp Arg Leu Arg Pro
1605 1610 1615

Leu Val Gln Ala Glu Leu Ser Val Leu Val Asp Val Leu His Arg Pro
1620 1625 1630

Glu Leu Leu Phe Pro Glu Asn Thr Asp Ala Arg Arg Lys Cys Glu Ser
1635 1640 1645

Gly Gly Phe Ile Cys Lys Leu Ile Lys His Thr Lys Gln Leu Leu Glu
1650 1655 1660

Glu Asn Glu Glu Lys Leu Cys Ile Lys Val Leu Gln Thr Leu Arg Glu
1665 1670 1675 1680

Met Met Thr Lys Asp Arg Gly Tyr Gly Glu Lys Gln Ile Ser Ile Asp
1685 1690 1695

Glu Ser Glu Asn Ala Glu Leu Pro Gln Ala Pro Glu Ala Glu Asn Ser
1700 1705 1710

Thr Glu Gln Glu Leu Glu Pro Ser Pro Pro Leu Arg Gln Leu Glu Asp

1715 1720 1725

His Lys Arg Gly Glu Ala Leu Arg Gln Ile Leu Val Asn Arg Tyr Tyr
1730 1735 1740

Gly Asn Ile Arg Pro Ser Gly Arg Arg Glu Ser Leu Thr Ser Phe Gly
1745 1750 1755 1760

Asn Gly Pro Leu Ser Pro Gly Gly Pro Ser Lys Pro Gly Gly Gly Gly
1765 1770 1775

Gly Gly Pro Gly Ser Ser Ser Thr Ser Arg Gly Glu Met Ser Leu Ala
1780 1785 1790

Glu Val Gln Cys His Leu Asp Lys Glu Gly Ala Ser Asn Leu Val Ile
1795 1800 1805

Asp Leu Ile Met Asn Ala Ser Ser Asp Arg Val Phe His Glu Ser Ile
1810 1815 1820

Leu Leu Ala Ile Ala Leu Leu Glu Gly Gly Asn Thr Thr Ile Gln His
1825 1830 1835 1840

Ser Phe Phe Cys Arg Leu Thr Glu Asp Lys Lys Ser Glu Lys Phe Phe
1845 1850 1855

Lys Val Phe Tyr Asp Arg Met Lys Val Ala Gln Gln Glu Ile Lys Ala
1860 1865 1870

Thr Val Thr Val Asn Thr Ser Asp Leu Gly Asn Lys Lys Lys Asp Asp
1875 1880 1885

Glu Val Asp Arg Asp Ala Pro Ser Arg Lys Lys Ala Lys Glu Pro Thr
1890 1895 1900

Thr Gln Ile Thr Glu Glu Val Arg Asp Gln Leu Leu Glu Ala Ser Ala
1905 1910 1915 1920

Ala Thr Arg Lys Ala Phe Thr Thr Phe Arg Arg Glu Ala Asp Pro Asp
1925 1930 1935

Asp His Tyr Gln Ser Gly Glu Gly Thr Gln Ala Thr Thr Asp Lys Ala
1940 1945 1950

Lys Asp Asp Leu Glu Met Ser Ala Val Ile Thr Ile Met Gln Pro Ile
1955 1960 1965

Leu Arg Phe Leu Gln Leu Leu Cys Glu Asn His Asn Arg Asp Leu Gln
1970 1975 1980

Asn Phe Leu Arg Cys Gln Asn Asn Lys Thr Asn Tyr Asn Leu Val Cys
1985 1990 1995 2000

Glu Thr Leu Gln Phe Leu Asp Cys Ile Cys Gly Ser Thr Thr Gly Gly
2005 2010 2015

Leu Gly Leu Leu Gly Leu Tyr Ile Asn Glu Lys Asn Val Ala Leu Ile
2020 2025 2030

Asn Gln Thr Leu Glu Ser Leu Thr Glu Tyr Cys Gln Gly Pro Cys His
2035 2040 2045

Glu Asn Gln Asn Cys Ile Ala Thr His Glu Ser Asn Gly Ile Asp Ile
2050 2055 2060

Ile Thr Ala Leu Ile Leu Asn Asp Ile Asn Pro Leu Gly Lys Lys Arg
2065 2070 2075 2080

Met Asp Leu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Ala Ser Lys Leu Leu Leu
2085 2090 2095

Ala Ile Met Glu Ser Arg His Asp Ser Glu Asn Ala Glu Arg Ile Leu
2100 2105 2110

Tyr Asn Met Arg Pro Lys Glu Leu Val Glu Val Ile Lys Lys Ala Tyr
2115 2120 2125

Met Gln Gly Glu Val Glu Phe Glu Asp Gly Glu Asn Gly Glu Asp Gly
2130 2135 2140

Ala Ala Ser Pro Arg Asn Val Gly His Asn Ile Tyr Ile Leu Ala His
2145 2150 2155 2160

Gln Leu Ala Arg His Asn Lys Glu Leu Gln Thr Met Leu Lys Pro Gly
2165 2170 2175

Gly Gln Val Asp Gly Asp Glu Ala Leu Glu Phe Tyr Ala Lys His Thr

2180 2185 2190

Ala Gln Ile Glu Ile Val Arg Leu Asp Arg Thr Met Glu Gln Ile Val
2195 2200 2205

Phe Pro Val Pro Ser Ile Cys Glu Phe Leu Thr Lys Glu Ser Lys Leu
2210 2215 2220

Arg Ile Tyr Tyr Thr Thr Glu Arg Asp Glu Gln Gly Ser Lys Ile Asn
2225 2230 2235 2240

Asp Phe Phe Leu Arg Ser Glu Asp Leu Phe Asn Glu Met Asn Trp Gln
2245 2250 2255

Lys Lys Leu Arg Ala Gln Pro Val Leu Tyr Trp Cys Ala Arg Asn Met
2260 2265 2270

Ser Phe Trp Ser Ser Ile Ser Phe Asn Leu Ala Val Leu Met Asn Leu
2275 2280 2285

Leu Val Ala Phe Phe Tyr Pro Phe Lys Gly Val Arg Gly Gly Thr Leu
2290 2295 2300

Glu Pro His Trp Ser Gly Leu Leu Trp Thr Ala Met Leu Ile Ser Leu
2305 2310 2315 2320

Ala Ile Val Ile Ala Leu Pro Lys Pro His Gly Ile Arg Ala Leu Ile
2325 2330 2335

Ala Ser Thr Ile Leu Arg Leu Ile Phe Ser Val Gly Leu Gln Pro Thr
2340 2345 2350

Leu Phe Leu Leu Gly Ala Phe Asn Val Cys Asn Lys Ile Ile Phe Leu
2355 2360 2365

Met Ser Phe Val Gly Asn Cys Gly Thr Phe Thr Arg Gly Tyr Arg Ala
2370 2375 2380

Met Val Leu Asp Val Glu Phe Leu Tyr His Leu Leu Tyr Leu Leu Ile
2385 2390 2395 2400

Cys Ala Met Gly Leu Phe Val His Glu Phe Phe Tyr Ser Leu Leu Leu
2405 2410 2415

Phe Asp Leu Val Tyr Arg Glu Glu Thr Leu Leu Asn Val Ile Lys Ser
2420 2425 2430

Val Thr Arg Asn Gly Arg Ser Ile Ile Leu Thr Ala Val Leu Ala Leu
2435 2440 2445

Ile Leu Val Tyr Leu Phe Ser Ile Val Gly Tyr Leu Phe Phe Lys Asp
2450 2455 2460

Asp Phe Ile Leu Glu Val Asp Arg Leu Pro Asn Glu Thr Ala Val Pro
2465 2470 2475 2480

Glu Thr Gly Glu Ser Leu Ala Asn Asp Phe Leu Tyr Ser Asp Val Cys
2485 2490 2495

Arg Val Glu Thr Gly Glu Asn Cys Thr Ser Pro Ala Pro Lys Glu Glu
2500 2505 2510

Leu Leu Pro Ala Glu Glu Thr Glu Gln Asp Lys Glu His Thr Cys Glu
2515 2520 2525

Thr Leu Leu Met Cys Ile Val Thr Val Leu Ser His Gly Leu Arg Ser
2530 2535 2540

Gly Gly Gly Val Gly Asp Val Leu Arg Lys Pro Ser Lys Glu Glu Pro
2545 2550 2555 2560

Leu Phe Ala Ala Arg Val Ile Tyr Asp Leu Leu Phe Phe Phe Met Val
2565 2570 2575

Ile Ile Ile Val Leu Asn Leu Ile Phe Gly Val Ile Ile Asp Thr Phe
2580 2585 2590

Ala Asp Leu Arg Ser Glu Lys Gln Lys Lys Glu Glu Ile Leu Lys Thr
2595 2600 2605

Thr Cys Phe Ile Cys Gly Leu Glu Arg Asp Lys Phe Asp Asn Lys Thr
2610 2615 2620

Val Thr Phe Glu Glu His Ile Lys Glu Glu His Asn Met Trp His Tyr
2625 2630 2635 2640

Leu Cys Phe Ile Val Leu Val Lys Val Lys Asp Ser Thr Glu Tyr Thr

2645 2650 2655

Gly Pro Glu Ser Tyr Val Ala Glu Met Ile Arg Glu Arg Asn Leu Asp
2660 2665 2670

Trp Phe Leu Arg Met Arg Ala Met Ser Leu Val Ser Ser Asp Ser Glu
2675 2680 2685

Gly Glu Gln Asn Glu Leu Arg Asn Leu Gln Glu Lys Leu Glu Ser Thr
2690 2695 2700

Met Lys Leu Val Thr Asn Leu Ser Gly Gln Leu Ser Glu Leu Lys Asp
2705 2710 2715 2720

Gln Met Thr Glu Gln Arg Lys Gln Lys Gln Arg Ile Gly Leu Leu Gly
2725 2730 2735

His Pro Pro His Met Asn Val Asn Pro Gln Gln Pro Ala
2740 2745

<210> 2
<211> 2695
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> IP3 receptor type 1

<400> 2

Met Ser Asp Lys Met Ser Ser Phe Leu His Ile Gly Asp Ile Cys Ser
1 5 10 15

Leu Tyr Ala Glu Gly Ser Thr Asn Gly Phe Ile Ser Thr Leu Gly Leu
20 25 30

Val Asp Asp Arg Cys Val Val Gln Pro Glu Thr Gly Asp Leu Asn Asn
35 40 45

Pro Pro Lys Lys Phe Arg Asp Cys Leu Phe Lys Leu Cys Pro Met Asn
50 55 60

Arg Tyr Ser Ala Gln Lys Gln Phe Trp Lys Ala Ala Lys Pro Gly Ala
65 70 75 80

Asn Ser Thr Thr Asp Ala Val Leu Leu Asn Lys Leu His His Ala Ala
85 90 95

Asp Leu Glu Lys Lys Gln Asn Glu Thr Glu Asn Arg Lys Leu Leu Gly
100 105 110

Thr Val Ile Gln Tyr Gly Asn Val Ile Gln Leu Leu His Leu Lys Ser
115 120 125

Asn Lys Tyr Leu Thr Val Asn Lys Arg Leu Pro Ala Leu Leu Glu Lys
130 135 140

Asn Ala Met Arg Val Thr Leu Asp Glu Ala Gly Asn Glu Gly Ser Trp

145 150 155 160

Phe Tyr Ile Gln Pro Phe Tyr Lys Leu Arg Ser Ile Gly Asp Ser Val
165 170 175

Val Ile Gly Asp Lys Val Val Leu Asn Pro Val Asn Ala Gly Gln Pro
180 185 190

Leu His Ala Ser Ser His Gln Leu Val Asp Asn Pro Gly Cys Asn Glu
195 200 205

Val Asn Ser Val Asn Cys Asn Thr Ser Trp Lys Ile Val Leu Phe Met
210 215 220

Lys Trp Ser Asp Asn Lys Asp Asp Ile Leu Lys Gly Gly Asp Val Val
225 230 235 240

Arg Leu Phe His Ala Glu Gln Glu Lys Phe Leu Thr Cys Asp Glu His
245 250 255

Arg Lys Lys Gln His Val Phe Leu Arg Thr Thr Gly Arg Gln Ser Ala
260 265 270

Thr Ser Ala Thr Ser Ser Lys Ala Leu Trp Glu Val Glu Val Val Gln
275 280 285

His Asp Pro Cys Arg Gly Gly Ala Gly Tyr Trp Asn Ser Leu Phe Arg
290 295 300

Phe Lys His Leu Ala Thr Gly His Tyr Leu Ala Ala Glu Val Asp Pro
305 310 315 320

Asp Gln Asp Ala Ser Arg Ser Arg Leu Arg Asn Ala Gln Glu Lys Met
325 330 335

Val Tyr Ser Leu Val Ser Val Pro Glu Gly Asn Asp Ile Ser Ser Ile
340 345 350

Phe Glu Leu Asp Pro Thr Thr Leu Arg Gly Gly Asp Ser Leu Val Pro
355 360 365

Arg Asn Ser Tyr Val Arg Leu Arg His Leu Cys Thr Asn Thr Trp Val
370 375 380

His Ser Thr Asn Ile Pro Ile Asp Lys Glu Glu Glu Lys Pro Val Met
385 390 395 400

Leu Lys Ile Gly Thr Ser Pro Val Lys Glu Asp Lys Glu Ala Phe Ala
405 410 415

Ile Val Pro Val Ser Pro Ala Glu Val Arg Asp Leu Asp Phe Ala Asn
420 425 430

Asp Ala Ser Lys Val Leu Gly Ser Ile Ala Gly Lys Leu Glu Lys Gly
435 440 445

Thr Ile Thr Gln Asn Glu Arg Arg Ser Val Thr Lys Leu Leu Glu Asp
450 455 460

Leu Val Tyr Phe Val Thr Gly Gly Thr Asn Ser Gly Gln Asp Val Leu
465 470 475 480

Glu Val Val Phe Ser Lys Pro Asn Arg Glu Arg Gln Lys Leu Met Arg
485 490 495

Glu Gln Asn Ile Leu Lys Gln Ile Phe Lys Leu Leu Gln Ala Pro Phe
500 505 510

Thr Asp Cys Gly Asp Gly Pro Met Leu Arg Leu Glu Glu Leu Gly Asp
515 520 525

Gln Arg His Ala Pro Phe Arg His Ile Cys Arg Leu Cys Tyr Arg Val
530 535 540

Leu Arg His Ser Gln Gln Asp Tyr Arg Lys Asn Gln Glu Tyr Ile Ala
545 550 555 560

Lys Gln Phe Gly Phe Met Gln Lys Gln Ile Gly Tyr Asp Val Leu Ala
565 570 575

Glu Asp Thr Ile Thr Ala Leu Leu His Asn Asn Arg Lys Leu Leu Glu
580 585 590

Lys His Ile Thr Ala Ala Glu Ile Asp Thr Phe Val Ser Leu Val Arg
595 600 605

Lys Asn Arg Glu Pro Arg Phe Leu Asp Tyr Leu Ser Asp Leu Cys Val

610 615 620

Ser Met Asn Lys Ser Ile Pro Val Thr Gln Glu Leu Ile Cys Lys Ala
625 630 635 640

Val Leu Asn Pro Thr Asn Ala Asp Ile Leu Ile Glu Thr Lys Leu Val
645 650 655

Leu Ser Arg Phe Glu Phe Glu Gly Val Ser Ser Thr Gly Glu Asn Ala
660 665 670

Leu Glu Ala Gly Glu Asp Glu Glu Glu Val Trp Leu Phe Trp Arg Asp
675 680 685

Ser Asn Lys Glu Ile Arg Ser Lys Ser Val Arg Glu Leu Ala Gln Asp
690 695 700

Ala Lys Glu Gly Gln Lys Glu Asp Arg Asp Val Leu Ser Tyr Tyr Arg
705 710 715 720

Tyr Gln Leu Asn Leu Phe Ala Arg Met Cys Leu Asp Arg Gln Tyr Leu
725 730 735

Ala Ile Asn Glu Ile Ser Gly Gln Leu Asp Val Asp Leu Ile Leu Arg
740 745 750

Cys Met Ser Asp Glu Asn Leu Pro Tyr Asp Leu Arg Ala Ser Phe Cys
755 760 765

Arg Leu Met Leu His Met His Val Asp Arg Asp Pro Gln Glu Gln Val
770 775 780

Thr Pro Val Lys Tyr Ala Arg Leu Trp Ser Glu Ile Pro Ser Glu Ile
785 790 795 800

Ala Ile Asp Asp Tyr Asp Ser Ser Gly Ala Ser Lys Asp Glu Ile Lys
805 810 815

Glu Arg Phe Ala Gln Thr Met Glu Phe Val Glu Glu Tyr Leu Arg Asp
820 825 830

Val Val Cys Gln Arg Phe Pro Phe Ser Asp Lys Glu Lys Asn Lys Leu
835 840 845

Thr Phe Glu Val Val Asn Leu Ala Arg Asn Leu Ile Tyr Phe Gly Phe
850 855 860

Tyr Asn Phe Ser Asp Leu Leu Arg Leu Thr Lys Ile Leu Leu Ala Ile
865 870 875 880

Leu Asp Cys Val His Val Thr Thr Ile Phe Pro Ile Ser Lys Met Ala
885 890 895

Lys Gly Glu Glu Asn Lys Gly Ser Asn Val Met Arg Ser Ile His Gly
900 905 910

Val Gly Glu Leu Met Thr Gln Val Val Leu Arg Gly Gly Gly Phe Leu
915 920 925

Pro Met Thr Pro Met Ala Ala Ala Pro Glu Gly Asn Val Lys Gln Ala
930 935 940

Glu Pro Glu Lys Glu Asp Ile Met Val Met Asp Thr Lys Leu Lys Ile
945 950 955 960

Ile Glu Ile Leu Gln Phe Ile Leu Asn Val Arg Leu Asp Tyr Arg Ile
965 970 975

Ser Cys Leu Leu Cys Ile Phe Lys Arg Glu Phe Asp Glu Ser Asn Ser
980 985 990

Gln Thr Ser Glu Thr Ser Ser Gly Asn Ser Ser Gln Glu Gly Pro Ser
995 1000 1005

Asn Val Pro Gly Ala Leu Asp Phe Glu His Ile Glu Glu Gln Ala Glu
1010 1015 1020

Gly Ile Phe Gly Gly Ser Glu Glu Asn Thr Pro Leu Asp Leu Asp Asp
1025 1030 1035 1040

His Gly Gly Arg Thr Phe Leu Arg Val Leu Leu His Leu Thr Met His
1045 1050 1055

Asp Tyr Pro Pro Leu Val Ser Gly Ala Leu Gln Leu Leu Phe Arg His
1060 1065 1070

Phe Ser Gln Arg Gln Glu Val Leu Gln Ala Phe Lys Gln Val Gln Leu

1075 1080 1085

Leu Val Thr Ser Gln Asp Val Asp Asn Tyr Lys Gln Ile Lys Gln Asp
1090 1095 1100

Leu Asp Gln Leu Arg Ser Ile Val Glu Lys Ser Glu Leu Trp Val Tyr
1105 1110 1115 1120

Lys Gly Gln Gly Pro Asp Glu Thr Met Asp Gly Ala Ser Gly Glu Asn
1125 1130 1135

Glu His Lys Lys Thr Glu Glu Gly Asn Asn Lys Pro Gln Lys His Glu
1140 1145 1150

Ser Thr Ser Ser Tyr Asn Tyr Arg Val Val Lys Glu Ile Leu Ile Arg
1155 1160 1165

Leu Ser Lys Leu Cys Val Gln Glu Ser Ala Ser Val Arg Lys Ser Arg
1170 1175 1180

Lys Gln Gln Gln Arg Leu Leu Arg Asn Met Gly Ala His Ala Val Val
1185 1190 1195 1200

Leu Glu Leu Leu Gln Ile Pro Tyr Glu Lys Ala Glu Asp Thr Lys Met
1205 1210 1215

Gln Glu Ile Met Arg Leu Ala His Glu Phe Leu Gln Asn Phe Cys Ala
1220 1225 1230

Gly Asn Gln Gln Asn Gln Ala Leu Leu His Lys His Ile Asn Leu Phe
1235 1240 1245

Leu Asn Pro Gly Ile Leu Glu Ala Val Thr Met Gln His Ile Phe Met
1250 1255 1260

Asn Asn Phe Gln Leu Cys Ser Glu Ile Asn Glu Arg Val Val Gln His
1265 1270 1275 1280

Phe Val His Cys Ile Glu Thr His Gly Arg Asn Val Gln Tyr Ile Lys
1285 1290 1295

Phe Leu Gln Thr Ile Val Lys Ala Glu Gly Lys Phe Ile Lys Lys Cys
1300 1305 1310

Gln Asp Met Val Met Ala Glu Leu Val Asn Ser Gly Glu Asp Val Leu
1315 1320 1325

Val Phe Tyr Asn Asp Arg Ala Ser Phe Gln Thr Leu Ile Gln Met Met
1330 1335 1340

Arg Ser Glu Arg Asp Arg Met Asp Glu Asn Ser Pro Leu Met Tyr His
1345 1350 1355 1360

Ile His Leu Val Glu Leu Leu Ala Val Cys Thr Glu Gly Lys Asn Val
1365 1370 1375

Tyr Thr Glu Ile Lys Cys Asn Ser Leu Leu Pro Leu Asp Asp Ile Val
1380 1385 1390

Arg Val Val Thr His Glu Asp Cys Ile Pro Glu Val Lys Ile Ala Tyr
1395 1400 1405

Ile Asn Phe Leu Asn His Cys Tyr Val Asp Thr Glu Val Glu Met Lys
1410 1415 1420

Glu Ile Tyr Thr Ser Asn His Met Trp Lys Leu Phe Glu Asn Phe Leu
1425 1430 1435 1440

Val Asp Ile Cys Arg Ala Cys Asn Asn Thr Ser Asp Arg Lys His Ala
1445 1450 1455

Asp Ser Ile Leu Glu Lys Tyr Val Thr Glu Ile Val Met Ser Ile Val
1460 1465 1470

Thr Thr Phe Phe Ser Ser Pro Phe Ser Asp Gln Ser Thr Thr Leu Gln
1475 1480 1485

Thr Arg Gln Pro Val Phe Val Gln Leu Leu Gln Gly Val Phe Arg Val
1490 1495 1500

Tyr His Cys Asn Trp Leu Met Pro Ser Gln Lys Ala Ser Val Glu Ser
1505 1510 1515 1520

Cys Ile Arg Val Leu Ser Asp Val Ala Lys Ser Arg Ala Ile Ala Ile
1525 1530 1535

Pro Val Asp Leu Asp Ser Gln Val Asn Asn Leu Phe Leu Lys Ser His

1540 1545 1550

Ser Ile Val Gln Lys Thr Ala Met Asn Trp Arg Leu Ser Ala Arg Asn
1555 1560 1565

Ala Ala Arg Arg Asp Ser Val Leu Ala Ala Ser Arg Asp Tyr Arg Asn
1570 1575 1580

Ile Ile Glu Arg Leu Gln Asp Ile Val Ser Ala Leu Glu Asp Arg Leu
1585 1590 1595 1600

Arg Pro Leu Val Gln Ala Glu Leu Ser Val Leu Val Asp Val Leu His
1605 1610 1615

Arg Pro Glu Leu Leu Phe Pro Glu Asn Thr Asp Ala Arg Arg Lys Cys
1620 1625 1630

Glu Ser Gly Gly Phe Ile Cys Lys Leu Ile Lys His Thr Lys Gln Leu
1635 1640 1645

Leu Glu Glu Asn Glu Glu Lys Leu Cys Ile Lys Val Leu Gln Thr Leu
1650 1655 1660

Arg Glu Met Met Thr Lys Asp Arg Gly Tyr Gly Glu Lys Gly Glu Ala
1665 1670 1675 1680

Leu Arg Gln Val Leu Val Asn Arg Tyr Tyr Gly Asn Val Arg Pro Ser
1685 1690 1695

Gly Arg Arg Glu Ser Leu Thr Ser Phe Gly Asn Gly Pro Leu Ser Ala
1700 1705 1710

Gly Gly Pro Gly Lys Pro Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Ser
1715 1720 1725

Ser Met Ser Arg Gly Glu Met Ser Leu Ala Glu Val Gln Cys His Leu
1730 1735 1740

Asp Lys Glu Gly Ala Ser Asn Leu Val Ile Asp Leu Ile Met Asn Ala
1745 1750 1755 1760

Ser Ser Asp Arg Val Phe His Glu Ser Ile Leu Leu Ala Ile Ala Leu
1765 1770 1775

Leu Glu Gly Gly Asn Thr Thr Ile Gln His Ser Phe Phe Cys Arg Leu
1780 1785 1790

Thr Glu Asp Lys Lys Ser Glu Lys Phe Phe Lys Val Phe Tyr Asp Arg
1795 1800 1805

Met Lys Val Ala Gln Gln Glu Ile Lys Ala Thr Val Thr Val Asn Thr
1810 1815 1820

Ser Asp Leu Gly Asn Lys Lys Lys Asp Asp Glu Val Asp Arg Asp Ala
1825 1830 1835 1840

Pro Ser Arg Lys Lys Ala Lys Glu Pro Thr Thr Gln Ile Thr Glu Glu
1845 1850 1855

Val Arg Asp Gln Leu Leu Glu Ala Ser Ala Ala Thr Arg Lys Ala Phe
1860 1865 1870

Thr Thr Phe Arg Arg Glu Ala Asp Pro Asp Asp His Tyr Gln Pro Gly
1875 1880 1885

Glu Gly Thr Gln Ala Thr Ala Asp Lys Ala Lys Asp Asp Leu Glu Met
1890 1895 1900

Ser Ala Val Ile Thr Ile Met Gln Pro Ile Leu Arg Phe Leu Gln Leu
1905 1910 1915 1920

Leu Cys Glu Asn His Asn Arg Asp Leu Gln Asn Phe Leu Arg Cys Gln
1925 1930 1935

Asn Asn Lys Thr Asn Tyr Asn Leu Val Cys Glu Thr Leu Gln Phe Leu
1940 1945 1950

Asp Cys Ile Cys Gly Ser Thr Thr Gly Gly Leu Gly Leu Leu Gly Leu
1955 1960 1965

Tyr Ile Asn Glu Lys Asn Val Ala Leu Ile Asn Gln Thr Leu Glu Ser
1970 1975 1980

Leu Thr Glu Tyr Cys Gln Gly Pro Cys His Glu Asn Gln Asn Cys Ile
1985 1990 1995 2000

Ala Thr His Glu Ser Asn Gly Ile Asp Ile Ile Thr Ala Leu Ile Leu

2005 2010 2015

Asn Asp Ile Asn Pro Leu Gly Lys Lys Arg Met Asp Leu Val Leu Glu
2020 2025 2030

Leu Lys Asn Asn Ala Ser Lys Leu Leu Leu Ala Ile Met Glu Ser Arg
2035 2040 2045

His Asp Ser Glu Asn Ala Glu Arg Ile Leu Tyr Asn Met Arg Pro Lys
2050 2055 2060

Glu Leu Val Glu Val Ile Lys Lys Ala Tyr Met Gln Gly Glu Val Glu
2065 2070 2075 2080

Phe Glu Asp Gly Glu Asn Gly Glu Asp Gly Ala Ala Ser Pro Arg Asn
2085 2090 2095

Val Gly His Asn Ile Tyr Ile Leu Ala His Gln Leu Ala Arg His Asn
2100 2105 2110

Lys Glu Leu Gln Ser Met Leu Lys Pro Gly Gly Gln Val Asp Gly Asp
2115 2120 2125

Glu Ala Leu Glu Phe Tyr Ala Lys His Thr Ala Gln Ile Glu Ile Val
2130 2135 2140

Arg Leu Asp Arg Thr Met Glu Gln Ile Val Phe Pro Val Pro Ser Ile
2145 2150 2155 2160

Cys Glu Phe Leu Thr Lys Glu Ser Lys Leu Arg Ile Tyr Tyr Thr Thr
2165 2170 2175

Glu Arg Asp Glu Gln Gly Ser Lys Ile Asn Asp Phe Phe Leu Arg Ser
2180 2185 2190

Glu Asp Leu Phe Asn Glu Met Asn Trp Gln Lys Lys Leu Arg Ala Gln
2195 2200 2205

Pro Val Leu Tyr Trp Cys Ala Arg Asn Met Ser Phe Trp Ser Ser Ile
2210 2215 2220

Ser Phe Asn Leu Ala Val Leu Met Asn Leu Leu Val Ala Phe Phe Tyr
2225 2230 2235 2240

Pro Phe Lys Gly Val Arg Gly Gly Thr Leu Glu Pro His Trp Ser Gly
2245 2250 2255

Leu Leu Trp Thr Ala Met Leu Ile Ser Leu Ala Ile Val Ile Ala Leu
2260 2265 2270

Pro Lys Pro His Gly Ile Arg Ala Leu Ile Ala Ser Thr Ile Leu Arg
2275 2280 2285

Leu Ile Phe Ser Val Gly Leu Gln Pro Thr Leu Phe Leu Leu Gly Ala
2290 2295 2300

Phe Asn Val Cys Asn Lys Ile Ile Phe Leu Met Ser Phe Val Gly Asn
2305 2310 2315 2320

Cys Gly Thr Phe Thr Arg Gly Tyr Arg Ala Met Val Leu Asp Val Glu
2325 2330 2335

Phe Leu Tyr His Leu Leu Tyr Leu Val Ile Cys Ala Met Gly Leu Phe
2340 2345 2350

Val His Glu Phe Phe Tyr Ser Leu Leu Leu Phe Asp Leu Val Tyr Arg
2355 2360 2365

Glu Glu Thr Leu Leu Asn Val Ile Lys Ser Val Thr Arg Asn Gly Arg
2370 2375 2380

Ser Ile Ile Leu Thr Ala Val Leu Ala Leu Ile Leu Val Tyr Leu Phe
2385 2390 2395 2400

Ser Ile Val Gly Tyr Leu Phe Phe Lys Asp Asp Phe Ile Leu Glu Val
2405 2410 2415

Asp Arg Leu Pro Asn Glu Thr Ala Val Pro Glu Thr Gly Glu Ser Leu
2420 2425 2430

Ala Ser Glu Phe Leu Phe Ser Asp Val Cys Arg Val Glu Ser Gly Glu
2435 2440 2445

Asn Cys Ser Ser Pro Ala Pro Arg Glu Glu Leu Val Pro Ala Glu Glu
2450 2455 2460

Thr Glu Gln Asp Lys Glu His Thr Cys Glu Thr Leu Leu Met Cys Ile

2465 2470 2475 2480

Val Thr Val Leu Ser His Gly Leu Arg Ser Gly Gly Gly Val Gly Asp
2485 2490 2495

Val Leu Arg Lys Pro Ser Lys Glu Glu Pro Leu Phe Ala Ala Arg Val
2500 2505 2510

Ile Tyr Asp Leu Leu Phe Phe Phe Met Val Ile Ile Ile Val Leu Asn
2515 2520 2525

Leu Ile Phe Gly Val Ile Ile Asp Thr Phe Ala Asp Leu Arg Ser Glu
2530 2535 2540

Lys Gln Lys Lys Glu Glu Ile Leu Lys Thr Thr Cys Phe Ile Cys Gly
2545 2550 2555 2560

Leu Glu Arg Asp Lys Phe Asp Asn Lys Thr Val Thr Phe Glu Glu His
2565 2570 2575

Ile Lys Glu Glu His Asn Met Trp His Tyr Leu Cys Phe Ile Val Leu
2580 2585 2590

Val Lys Val Lys Asp Ser Thr Glu Tyr Thr Gly Pro Glu Ser Tyr Val
2595 2600 2605

Ala Glu Met Ile Lys Glu Arg Asn Leu Asp Trp Phe Pro Arg Met Arg
2610 2615 2620

Ala Met Ser Leu Val Ser Ser Asp Ser Glu Gly Glu Gln Asn Glu Leu
2625 2630 2635 2640

Arg Asn Leu Gln Glu Lys Leu Glu Ser Thr Met Lys Leu Val Thr Asn
2645 2650 2655

Leu Ser Gly Gln Leu Ser Glu Leu Lys Asp Gln Met Thr Glu Gln Arg
2660 2665 2670

Lys Gln Lys Gln Arg Ile Gly Leu Leu Gly His Pro Pro His Met Asn
2675 2680 2685

Val Asn Pro Gln Gln Pro Ala
2690 2695

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/14811

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl[7] C12N15/09, C07K14/705

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl[7] C12N15/09, C07K14/705

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
MEDLINE, BIOSIS/WPI(DIALOG), SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/Geneseq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Junji HIROTA et al., Inositol 1, 4, 5-trispho sphate receptor type 1 is a substrate for caspase-3 and is cleaved during apoptosis in a caspase-3-dependent manner, The Journal of Bio logical Chemistry, 1999, Vol.274, No.48, pages 34433 to 34437	1-12
A	Leta K., et al., Bax-mediated Ca^{2+} Mobilization Promotes Cytochrome c Release during Apoptosis, The Journal of Biological Chemistry, 2002, Vol.277, No.23, pages 20301 to 20308	1-12

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [ ] See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 February, 2004 (16.02.04)	02 March, 2004 (02.03.04)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/14811

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	D. Ferri, Endoplasmic reticulum, Bcl-2 and Ca^{2+} handling in apoptosis, Cell.Calcium, 2002, Vol.32, pages 413 to 120	1-12
A	Thottala Jayaraman et al., T. cells deficient in inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor are resistant to apoptosis, Molecular and Cellular Biology, 1997, Vol.17, No.6, pages 3005 to 3012	1-12
A	Seth Blackshaw et al., Type 3 inositol 1, 4, 5-trisphoshate receptor modulates cell death, The FASEB Journal, 2000, Vol.14, pages 1375 to 1379	1-12
A	Kozo HAMADA et al., Two-state Conformational Changes in Inositol 1, 4, 5-Trisphosphate receptor Regulated by Calcium, The Journal of Biological Chemistry, 2002, Vol.277, No.24, pages 21115 to 21118	1-12
A	S.Patel et al., Molocular properties of inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptors, Cell Calcium, 1999, Vol.25, pages 247 to 264	1-12
A	Edwin C. et al., Regulation of Ins(1,4,5)P^3 receptor isoforms by endgenous modulators, TRENDS in Phamacological Sciences, 2001, Vol.22, pages 580 to 586	1-12
A	Frederick C. et al., Molecular cloning of a cDNA for the human inositol 1, 4, 5-triphoshate recceptor type 1, and the identification of a third alternatively spliced variant, Molecular Brain Research, 1995, Vol.32, pages 291 to 296	1-12
A	FURUICHI T., et al., Nucleotide sequence of cDNA encoding P400 protein in the mouse cerebellum, Nucleic Acids Research, 1989, Vol.17, pages 5385 to 5386	1-12

国際調査報告	国際出願番号　PCT／JP03／14811

A.　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int. Cl[7] C12N15/09, C07K14/705

B.　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int. Cl[7] C12N15/09, C07K14/705

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

MEDLINE, BIOSIS／WPI(DIALOG), SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/Geneseq

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
X	Junji Hirota et al., Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 is a substrate for caspase-3 and is cleaved during apoptosis in a caspase-3-dependent manner, The Journal of Biological Chemistry, 1999, Vol.274, No.48, p.34433-34437	1-12
A	Leta K., et al., Bax-mediated Ca^{2+} Mobilization Promotes Cytochrome c Release during Apoptosis, The Journal of Biological Chemistry, 2002, Vol.277, No.23, p.20301-20308	1-12

☒ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　　☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
１６．０２．２００４	02.3.2004

国際調査機関の名称及びあて先	特許庁審査官（権限のある職員）	4N	3227
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ） 郵便番号１００－８９１５ 東京都千代田区霞が関三丁目４番３号	田中　耕一郎 電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４８８		

C（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
A	D. Ferri, Endoplasmic reticulum, Bcl-2 and Ca^{2+} handling in apoptosis, Cell Calcium, 2002, Vol. 32, p. 413-420	1-12
A	Thottala Jayaraman et al., T cells deficient in inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor are resistant to apoptosis, Molecular and Cellular Biology, 1997, Vol. 17, No. 6, p. 3005-3012	1-12
A	Seth Blackshaw et al., Type 3 inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor modulates cell death, The FASEB Journal, 2000, Vol. 14, p. 1375-1379	1-12
A	Kozo Hamada et al., Two-state Conformational Changes in Inositol 1, 4, 5-Trisphosphate receptor Regulated by Calcium, The Journal of Biologicl Chemistry, 2002, Vol. 277, No. 24, p. 21115-21118	1-12
A	S. Patel et al., Molocular properties of inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptors, Cell Calcium, 1999, Vol. 25, p. 247-264	1-12
A	Edwin C. et al., Regulation of Ins(1, 4, 5)P^3 receptor isoforms by endogenous modulators, TRENDS in Phamacological Sciences, 2001 Vol. 22, p. 580-586	1-12
A	Frederick C. et al., Molecular cloning of a cDNA for the huma n inositol 1, 4, 5-triphosphate recceptor type 1, and the identification of a third alternatively spliced variant, Molecular Brain Research, 1995, Vol. 32, p. 291-296	1-12
A	Furuichi T. et al., Nucleotide sequence of cDNA encoding P400 protein in the mouse cerebellum, Nucleic Acids Research, 1989, Vol. 17, p. 5385-5386	1-12