



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105637367 A

(43) 申请公布日 2016. 06. 01

(21) 申请号 201480056359. 9

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2014. 08. 13

G01N 33/574(2006. 01)

(30) 优先权数据

1314485. 2 2013. 08. 13 GB

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2016. 04. 13

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2014/052475 2014. 08. 13

(87) PCT国际申请的公布数据

W02015/022530 EN 2015. 02. 19

(71) 申请人 电泳有限公司

地址 英国萨里郡

申请人 国王学院医院 NHS 信托基金会

(72) 发明人 Z·尤 N·希顿 A·夸利亚

D·布里顿 M·沃德 I·派克

V·米特拉

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 余颖 杨昀

权利要求书7页 说明书29页

序列表28页 附图53页

(54) 发明名称

胰腺癌相关材料和方法

(57) 摘要

本发明涉及胰腺癌相关的材料和方法以及施用于胰腺癌的个体化药物。具体地,本发明涉及用于确定显著调节的蛋白质磷酸化和/或表达以及共同提供肿瘤概况的信号转导通路活性的材料和方法,该肿瘤概况能够基于肿瘤复发的可能性或胰腺癌中激活的药物靶标的身份指导选择最合适的治疗方法。

1. 选自表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15的多种生物标志物在确定对象中胰腺肿瘤的分子表型中的用途,其中所述分子表型选自肿瘤、非肿瘤、复发、不复发、药物敏感性、原发性肿瘤和/或次生(转移)肿瘤;并且所述多种生物标志物至少包括选自下组的生物标志物:同源域-相互作用蛋白激酶1(HIPK1)、丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶MRCK α (MRCK α),和肌球蛋白轻链激酶、平滑肌(MLCK)。

2. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述多种生物标志物至少包括选自下组的2种生物标志物:同源域-相互作用蛋白激酶1(HIPK1)、丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶MRCK α (MRCK α),和肌球蛋白轻链激酶、平滑肌(MLCK)。

3. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述多种生物标志物至少包括同源域-相互作用蛋白激酶1(HIPK1)、丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶MRCK α (MRCK α),和肌球蛋白轻链激酶、平滑肌(MLCK)。

4. 一种胰腺肿瘤分类系统,所述系统包括胰腺肿瘤分类设备和信息通讯终端设备,所述胰腺肿瘤分类设备包括控制元件和存储元件,所述设备通过网络彼此通讯联接;

(1)其中所述信息通讯终端设备包括

(1a)将衍生自对象的胰腺肿瘤样品的蛋白质数据传输到胰腺肿瘤分类设备的蛋白质数据传送单元;

(1b)接收从所述胰腺肿瘤分类设备传输的对象的胰腺肿瘤分类结果的结果接收单元;

(2)其中所述胰腺肿瘤分类设备包括

(2a)接收从所述信息通讯终端设备传输的衍生自对象的胰腺肿瘤样品的蛋白质数据的蛋白质数据接收单元;

(2b)将来自数据接收单元的数据和在存储单元中存储的数据做比较的数据比较单元;

(2c)基于数据比较单元的结果确定对象的胰腺肿瘤的分子表型的确定单元;和

(2d)将通过所述确定单元得到的所述对象的分类结果传输到所述信息通讯终端设备的分类结果传送单元;

其中,所述存储单元含有选自表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15的多种蛋白质的蛋白质表达水平数据和/或蛋白质磷酸化水平数据。

5. 如权利要求4所述的胰腺肿瘤分类系统,其特征在于,所述确定单元将所述对象的胰腺肿瘤分类成包括以下的分子表型:肿瘤、非肿瘤、肿瘤复发、肿瘤不复发、原发性肿瘤、次生(转移)肿瘤和/或药物敏感性。

6. 如权利要求3或权利要求5所述的胰腺肿瘤分类系统,其特征在于,所述存储单元的蛋白质表达水平和/或蛋白质磷酸化水平数据代表衍生自胰腺肿瘤样品的多个数据集。

7. 如权利要求6所述的胰腺肿瘤分类系统,其特征在于,所述多个数据集包括代表相对于来自相同对象的相应胰腺非肿瘤样品的蛋白质表达水平或蛋白质磷酸化水平的蛋白质表达水平或蛋白质磷酸化水平的值。

8. 如前述权利要求中任一项所述的胰腺肿瘤分类系统,其特征在于,所述存储单元含有选自表11A和11B的多种蛋白质的蛋白质磷酸化数据,并且其中所述分类预测所述样品的肿瘤复发或肿瘤不复发。

9. 如权利要求4-7中任一项所述的胰腺肿瘤分类系统,其特征在于,所述存储单元含有选自表15和/或表4的多种蛋白质的蛋白质磷酸化数据,并且其中所述分类预测所述胰腺肿

瘤的药物敏感性。

10. 如前述权利要求4-7中任一项所述的胰腺肿瘤分类系统,其特征在于,所述存储单元含有选自表12和/或表2的多种蛋白质的蛋白质表达水平数据,并且其中所述分类预测所述样品的肿瘤或非肿瘤表型。

11. 如前述权利要求中任一项所述的胰腺肿瘤分类系统,其特征在于,所述胰腺肿瘤分类系统连接至用于确定胰腺肿瘤样品中蛋白质表达水平或蛋白质磷酸化水平的设备。

12. 如权利要求11所述的胰腺肿瘤分类系统,其特征在于,所述设备可使用液相色谱-质谱(LC-MS/MS)来处理多份样品。

13. 一种胰腺肿瘤分类程序,所述程序使包括控制元件和存储元件的信息处理设备执行确定和/或分类对象的胰腺肿瘤的方法,所述方法包括

将基于获自患有或疑似患有胰腺癌的对象的组织样品的选自表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15的多种蛋白质的蛋白质表达水平和/或蛋白质磷酸化水平的数据与所述存储元件中保存的蛋白质数据做比较的比较步骤;和

基于在所述比较步骤中的计算比较,对所述对象的胰腺肿瘤进行分类的分类步骤;

其中所述肿瘤分类成包括以下的表型:肿瘤、非肿瘤、肿瘤复发、肿瘤不复发、原发性肿瘤、次生(转移)肿瘤、和/或药物敏感性。

14. 一种计算机可读记录介质,所述记录介质包含记录于其上的如权利要求13所述的胰腺肿瘤细胞分类程序。

15. 一种诊断对象中胰腺癌的方法,所述方法包括确定获自所述对象的生物样品中选自表12、表2和/或表3的多种蛋白质的调节,其中

(a)所述样品中,所述多种蛋白质的存在指示对象患有胰腺癌;

(b)与所述多种蛋白质的参照量相比,所述多种蛋白质的量(浓度)指示对象患有胰腺癌;

(c)与所述多种蛋白质的参照量相比,所述多种蛋白质的量(浓度)的变化指示对象患有胰腺癌;或

(d)与所述多种蛋白质的参照状态相比,所述多种蛋白质的磷酸化状态的变化指示对象患有胰腺癌。

16. 如权利要求15所述的方法,其特征在于,所述多种蛋白质包括表2和/或表3中提供的蛋白质。

17. 如权利要求15或权利要求16所述的方法,其特征在于,使用如权利要求3-7中任一项所述的胰腺肿瘤分类系统获得与参照量或参照状态的比较。

18. 一种用于将胰腺肿瘤分类成分子表型的方法,所述方法包括

(1)确定获自所述对象的生物样品中多种蛋白质的表达水平和/或蛋白质磷酸化水平,以产生所述样品的蛋白质表达和/或蛋白质磷酸化概况;

(2)将所述概况与所述多种蛋白质的参照蛋白质表达和/或蛋白质磷酸化概况做比较,所述参照概况代表选自以下的胰腺肿瘤表型:肿瘤、非肿瘤、肿瘤复发、肿瘤不复发、药物敏感性、原发性/次生肿瘤;

(3)基于样品概况与参照概况之间的比较,将所述胰腺肿瘤分类为表型;

其中所述多种蛋白质选自由表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15表示的生物标志物组。

19. 如权利要求18所述的方法,其特征在于,所述参照概况获自获自相同对象的非肿瘤胰腺样品的蛋白质表达水平和/或蛋白质磷酸化水平。

20. 如权利要求18所述的方法,其特征在于,所述参照概况衍生自之前获得的胰腺肿瘤样品的蛋白质表达水平和/或蛋白质磷酸化水平。

21. 如权利要求20所述的方法,其特征在于,使用如权利要求3-7中任一项所述的胰腺肿瘤分类系统来进行比较所述概况与参照概况的步骤。

22. 如权利要求18-21中任一项所述的方法,其特征在于,所述胰腺肿瘤分类用于预测肿瘤复发或肿瘤不复发并且所述多种蛋白质选自表11;其中在选自表11A的多种蛋白质相对于正常显示增加的磷酸化并且选自表11B的多种蛋白质相对于正常显示减少的磷酸化的情况下预报肿瘤复发。

23. 如权利要求22所述的方法,其特征在于,所述多种蛋白质包括双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶2。

24. 如权利要求18-21中任一项所述的方法,其特征在于,所述胰腺肿瘤分类区分肿瘤与非肿瘤,并且所述多种蛋白质选自表12和/或表2。

25. 如权利要求18或权利要求19所述的方法,其特征在于,所述胰腺肿瘤分类是药物敏感性并且所述多种蛋白质选自表15和/或表4。

26. 如权利要求25所述的方法,其特征在于,所述药物选自达沙替尼、索拉非尼、伏立诺他、坦西莫司、AEZS-131和GSK2141795。

27. 一种为患有胰腺癌的患者选择治疗方案的方法,所述方法包括

(1)获得所述对象的胰腺肿瘤中多种蛋白质的蛋白质表达水平和/或蛋白质磷酸化水平以产生所述肿瘤的表达水平和/或蛋白质磷酸化概况;

(2)比较所述概况与参照概况,所述参照概况代表选自以下的胰腺肿瘤表型:肿瘤、非肿瘤、复发、不复发、药物敏感性、原发肿瘤和/或次生(转移)肿瘤;

(3)基于肿瘤概况与参照概况之间的比较将所述对象的胰腺肿瘤分类为表型;并且

(4)按照所述对象的胰腺肿瘤的表型选择治疗方案;

其中所述多种蛋白质选自由表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15表示的生物标记物组。

28. 如权利要求27所述的方法,其特征在于,所述多种蛋白质选自表15和/或表4并且在确定药物敏感性表型之后选择所述治疗方案,所述药物敏感性表型的特征在于酪氨酸蛋白激酶Fyn;促分裂原-激活的蛋白激酶1(MAPK1);促分裂原-激活的蛋白激酶3(MAPK3);RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶(AKT1)和/或糖原合成酶激酶-3 α 的磷酸化水平的增加或减少。

29. 一种将胰腺肿瘤样品分类成一种或多种分子表型的方法,所述方法包括

(1)确定取自对象的胰腺肿瘤样品和胰腺非肿瘤样品的选自表12和/或表2的一种或多种蛋白质的蛋白质表达水平

和/或

(2)确定取自对象的胰腺肿瘤样品和胰腺非肿瘤样品的选自表3、表13和/或表11A和/或表11B的一种或多种蛋白质的磷酸化的增加或减少,

(3)将肿瘤样品与非肿瘤样品的所述蛋白质表达水平做比较;和/或将肿瘤样品与非肿瘤样品中磷酸化的增加或减少做比较

(4)应用预测算法以产生所述对象的所述蛋白质表达水平和/或磷酸化水平的预测值;

$\log_2(iT/iNT)$

(其中*i*是对象样品,*T*=肿瘤并且*NT*=非肿瘤)

(5)通过参考包含分子表型的预测值的数据库将所述胰腺肿瘤样品分类成所述表型;

其中所述数据库包括选自表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15的一种或多种蛋白质的预测值;并且

其中所述分子表型选自肿瘤、非肿瘤、肿瘤复发、肿瘤不复发、药物敏感性、原发和/或次生肿瘤。

30.如权利要求29所述的方法,其特征在于,如果 $\log_2 T/NT$ 比率 ≥ 1 或 ≤ -1 ,则认为所述蛋白质增加或减少。

31.如权利要求29或权利要求30所述的方法,其特征在于,通过如权利要求3-7中任一项所述的胰腺肿瘤分类系统来进行所述分类。

32.如前述权利要求中任一项所述的方法,其特征在于,通过质谱进行确定所述样品中一种或几种,或多种蛋白质的蛋白质表达水平或蛋白质磷酸化水平的步骤。

33.如权利要求1-31中任一项所述的方法,其特征在于,通过选择性反应监测来进行所述确定一种或几种或多种蛋白质的蛋白质表达水平或蛋白质磷酸化水平的步骤,所述选择性反应监测利用一种或多种蛋白质衍生肽或磷酸肽转换;并且将测试的样品中的肽或磷酸肽水平与之前确定以代表分子表型的肽或磷酸肽做比较。

34.如权利要求33所述的方法,其特征在于,所述肽水平的比较包括用已知量的相应合成肽来确定来自胰腺样品的蛋白质衍生的肽的量,其中除标记物以外,所述合成肽在序列上与获自所述样品的肽相同。

35.如权利要求34所述的方法,其特征在于,所述标记物是不同质量或重同位素的标签。

36.选自表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15的多种生物标志物用于确定对象中胰腺肿瘤的分子表型中的用途,其中所述分子表型选自肿瘤、非肿瘤、复发、不复发、药物敏感性、原发肿瘤和/或次生(转移)肿瘤。

37.如权利要求36所述的用途,其特征在于,所述生物标志物选自表2和/或表12并且所述表型选自肿瘤或非肿瘤。

38.如权利要求37所述的用途,其特征在于,所述生物标志物包括粘蛋白-1、整联蛋白4,和/或同源域-相互作用蛋白激酶1。

39.如权利要求36所述的用途,其特征在于,所述生物标志物选自表3、11A、11B和/或表13,并且所述表型选自肿瘤复发或肿瘤不复发。

40.如权利要求39所述的用途,其特征在于,所述生物标志物包括双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶激酶2。

41.如权利要求36所述的用途,其特征在于,所述生物标志物选自表4和/或表15,并且所述表型选自药物敏感性。

42.如权利要求41所述的用途,其特征在于,所述生物标志物包括以下的一种或多种:酪氨酸蛋白激酶Fyn、酪氨酸蛋白激酶CSK(Src)、RAF原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶、组蛋白去乙酰化酶1、组蛋白去乙酰化酶2、mTOR的雷帕霉素-不敏感伴侣(RICTOR);ERK1促分裂原-激活的蛋白激酶、ERK2促分裂原-激活的蛋白激酶、整联蛋白β4、联蛋白α-1、连接粘附

分子A(JAM-A);促分裂原-激活的蛋白激酶1(MAPK1);糖原合成酶激酶-3 α ;和/或RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶(AKT1)。

43.一种通过确定一种或几种,或多种标志物蛋白质的量来将胰腺组织样品分类成选自以下的表型的方法:肿瘤、非肿瘤、复发、不复发、药物敏感性、原发性肿瘤和/或次生(转移)肿瘤,所述方法包括:

将所述样品与选择性且独立地结合所述一种或多种蛋白质的特异性结合成员接触;并且

检测和/或定量由所述特异性结合成员与所述一种或多种蛋白质形成的复合物;

基于对所述复合物的检测或定量来分类所述胰腺组织样品;

其中所述一种或多种蛋白质选自表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15。

44.如权利要求43所述的方法,其特征在于,所述特异性结合成员是对所述蛋白质标志物有特异性的抗体或抗体片段。

45.如权利要求43所述的方法,其特征在于,所述特异性结合成员是适体。

46.如权利要求43-45中任一项所述的方法,其特征在于,所述结合成员固定在固体支持物上。

47.一种包含多个结合成员的固体支持物,所述结合成员各自能够特异性并选择性结合所述多种蛋白质或编码所述蛋白质的核酸序列之一,其中所述蛋白质选自表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15。

48.一种合成肽或多种合成肽,所述合成肽各自具有与选自表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15的多种标志物蛋白质之一的片段相同的序列,所述片段产生自通过胰蛋白酶、ArgC、AspN或Lys-C消化对所述蛋白质进行的消化。

49.如权利要求48所述的一种合成肽或多种合成肽,其特征在于,所述多种标志物蛋白质包括选自下组的至少1种标记物蛋白质:同源域-相互作用蛋白激酶1(HIPK1)、丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶MRCK α (MRCK α),和肌球蛋白轻链激酶、平滑肌(MLCK)。

50.如权利要求48或权利要求49所述的合成肽,所述合成肽还包含标记物。

51.如权利要求50所述的合成肽,其特征在于,所述标记物是重同位素。

52.如权利要求50或权利要求51所述的合成肽,所述合成肽用于选择性反应监测。

53.一种用于将胰腺组织样品分类成选自肿瘤、非肿瘤、肿瘤复发、肿瘤不复发、药物敏感性、原发性肿瘤和/或次生(转移)肿瘤的分子表型的试剂盒,所述试剂盒使得使用者能够确定测试的样品中选自表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15的蛋白质的一种或多种分析物、针对所述蛋白质的一种或多种抗体和编码所述蛋白质或其片段的一种或多种核酸分子的上调或下调,所述试剂盒包含:

(a)具有多个结合成员的固体支持物,各自能够结合其上固定的分析物之一;

(b)包含标记物的显影剂;和,任选的

(c)选自洗涤溶液、稀释剂和缓冲剂的一种或多种组分。

54.如权利要求53所述的试剂盒,其特征在于,所述表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15的蛋白质包括选自下组的至少一种蛋白质:同源域-相互作用蛋白激酶1(HIPK1)、丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶MRCK α (MRCK α),和肌球蛋白轻链激酶、平滑肌(MLCK)。

55.一种用于将胰腺组织样品分类成选自肿瘤、非肿瘤、肿瘤复发、肿瘤不复发、药物敏

感性、原发性肿瘤和/或次生(转移)肿瘤的分子表型的试剂盒,所述试剂盒使得使用者能够确定测试的样品中选自表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15的多种标志物蛋白质的表达水平和/或磷酸化水平的增加或减少,所述试剂盒包含

(a)一组试验相容形式的参照肽和/或参照磷酸肽,其中所述组中的各肽和/或磷酸肽独特地代表表2、3、4、11A、11B、12、13和/或15中任一所提供的多种标志物蛋白质之一;和
任选地

(b)选自洗涤溶液、稀释剂和缓冲剂的一种或多种组分。

56.如权利要求55所述的试剂盒,其特征在于,使用代表表3、4、11A、11B、13和/或15中所列标志物蛋白质内差异磷酸化位点的参照磷酸肽来确定蛋白质磷酸化的水平。

57.如权利要求56所述的试剂盒,其特征在于,所述参照磷酸肽对下组中的一种或多种是独特的:酪氨酸蛋白激酶Fyn、酪氨酸蛋白激酶CSK(Src)、RAF原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶、组蛋白去乙酰化酶1、组蛋白去乙酰化酶2、mTOR的雷帕霉素-不敏感伴侣(RICTOR); ERK1促分裂原-激活的蛋白激酶、ERK2促分裂原-激活的蛋白激酶、整联蛋白 β 4、联蛋白 α -1、连接粘附分子A(JAM-A);促分裂原-激活的蛋白激酶1(MAPK1);糖原合成酶激酶-3 α ;双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶激酶2;和/或RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶(AKT1)。

58.一种预测治疗后对象中胰腺肿瘤复发可能性的方法,所述方法包括检测所述对象的肿瘤样品中双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶激酶2的磷酸T-394处的磷酸化水平,其中与背景(非肿瘤)水平相比,T-394处的磷酸化水平升高指示肿瘤复发的可能性。

59.如权利要求58所述的方法,其特征在于,复发在手术后2个月至33个月之间。

60.如权利要求58或权利要求59所述的方法,其特征在于,使用免疫组化确定双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶激酶2的磷酸T-394处的磷酸化水平。

61.一种预测治疗后对象中胰腺肿瘤复发的可能性的方法,所述方法包括检测获自所述对象的肿瘤样品中选自同源域-相互作用蛋白激酶I(HIPK1);丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶MRCK α (MRCK α);和肌球蛋白轻链激酶,平滑肌(MLCK)的至少一种蛋白质的磷酸化水平,与背景(非肿瘤)水平相比升高的磷酸化水平指示肿瘤复发可能性。

62.一种预测胰腺肿瘤对用达沙替尼(BMS-354825-SprycelTM)治疗的敏感性的方法,所述方法包括确定酪氨酸-蛋白质激酶Fyn上磷酸-S21的水平,其中该蛋白质的上调指示胰腺肿瘤将对于用达沙替尼治疗敏感。

63.一种预测胰腺肿瘤对用AEZS-131(AZ公司)和/或SCH772984(默克公司)治疗的敏感性的方法,所述方法包括确定促分裂原-激活的蛋白激酶1(MAPK1)上的磷酸-T185和/或Y187的水平,其中,该蛋白质的上调指示胰腺肿瘤将对用AEZS-131和/或SCH772984敏感。

64.如权利要求62或权利要求63所述的方法,其特征在于,所述确定磷酸化水平的步骤通过免疫组化进行。

65.一种诊断对象中胰腺肿瘤的方法,所述方法包括

(a)确定MLCK的表达水平;

(b)确定MRCK α 的磷酸化水平;或

(c)确定HIPK1的磷酸化水平;其中,与正常组织相比MLCK的表达水平增加指示对象患有胰腺肿瘤,并且其中与正常组织中磷酸化水平相比,MRCK α 和HIPK1的磷酸化增加指示对象患有胰腺肿瘤。

66.一种诊断对象中胰腺肿瘤的方法,所述方法包括确定获自所述对象的生物样品中联蛋白 α -1的磷酸-S655处的磷酸化水平,其中磷酸化水平增加指示对象患有胰腺肿瘤。

67.如权利要求66所述的方法,其特征在于,所述方法还包括确定联蛋白 α -1的磷酸-S641、S655和/或S658的水平。

68.一种诊断对象中胰腺肿瘤的方法,所述方法包括确定获自所述对象的生物样品中整联蛋白 β -4的磷酸-S1483处的磷酸化水平,其中磷酸化水平增加指示对象患有胰腺肿瘤。

69.如权利要求68所述的方法,其特征在于,所述方法还包括确定整联蛋白 β -4的磷酸-S1486的水平。

70.一种诊断对象中胰腺肿瘤的方法,所述方法包括确定获自所述对象的生物样品中的连接粘附分子A(JAM-A)的磷酸-S284处的磷酸化水平,其中磷酸化水平增加指示对象患有胰腺肿瘤。

71.如权利要求65-70中任一项所述的方法,其特征在于,使用免疫组化确定磷酸化水平。

72.一种用于进行如权利要求65-71中任一项所述的方法的试剂盒,所述试剂盒包含能够特异性结合所述蛋白质上的磷酸化位点的抗体或抗体片段。

73.如权利要求72所述的试剂盒,其特征在于,所述抗体或抗体片段经标记以辅助检测和定量。

74.一种治疗患有胰腺癌的对象的方法,所述方法包括给予能够抑制选自下组的蛋白激酶活性的激酶抑制剂:同源域-相互作用蛋白激酶1(HIPK1)、丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶MRCK α (MRCK α),和肌球蛋白轻链激酶、平滑肌(MLCK)。

胰腺癌相关材料和方法

技术领域

[0001] 本发明涉及胰腺癌相关材料和方法以及施用于胰腺癌的个体化药物。具体地,本发明涉及用于确定显著调节的蛋白质磷酸化和/或表达以及共同提供肿瘤概况的信号转导通路活性的材料和方法,该肿瘤概况能够基于肿瘤复发的可能性或胰腺癌组织中激活的药物靶标的身份来指导选择最合适的治疗方法。

[0002] 发明背景

[0003] 蛋白质磷酸化是调节致癌和肿瘤抑制蛋白质的活性的常规过程[1-3]。在许多情况下,由于蛋白质折叠、底物亲和性、稳定性和其底物活性的调节,磷酸化导致蛋白质功能的切换状变化,转而影响控制细胞增殖、迁移、分化和凋亡的信号转导通路。因此磷酸化失调可能导致癌症表型[4]并且提供明显无法使用基因组方法测量的新药物靶标、诊断和预后生物标记物的潜在资源。胰腺癌是最有侵略性的恶性肿瘤之一,其诊断后的平均存活是6个月。这部分是由于很大比例的患者在治疗选项非常有限的晚期阶段被诊断出的事实的结果[5]。与其他癌症的情况相同,分子靶向疗法有希望用于治疗晚期或复发胰腺癌[6]。虽然大多数的分子靶向药物在最近十年中已经出现并且预期在未来几年内有许多其他分子靶向药物,在药物作用和药物选择上仍然需要突破。例如,索拉非尼,一种作用于高活性血管内皮生长因子受体、血小板衍生的生长因子受体和Raf的多激酶抑制剂已经在一些晚期肝细胞癌患者中证明功效[7],但是由于现在没有能够在治疗开始之前预测其在个体患者中的效果的通路活性测试,响应率仍然低得令人沮丧。

[0004] 人们早已认识到化疗,甚至与高选择性分子靶向药物联用将最终由于获得性耐药而失败。通常这是通过在药物治疗的选择压下从一条致癌通路向另一条致癌通路的切换所驱动的。例如,B-Raf的V600E突变是侵略性黑色素瘤中导致Raf信号转导通路的过度活化的共同特征。基于明显的初始治疗响应,快速开发并批准了V600E B-Raf的高选择性抑制剂。然而,绝大多数患者最终通过多种不同机制复发,尽管B-Raf信号转导被沉默,这些机制包括异常二聚化、Raf同种型切换以及MEK和ERK的替代性活化。针对这种获得性耐药模式所提出的解决方案是给予多种分子靶向药物组合,其各自可能不足以杀死肿瘤,但是一起作用能够封闭发展的耐药性。这种策略已被称为“协同致死”。

发明内容

[0005] 发明人已经认识到需要可靠并且节约时间和成本的手段来确定用于治疗胰腺癌的最优药物组合,以及预测和监测这类肿瘤中的药物耐药性。

[0006] 因此,发明人着手建立分析方法以辅助药物选择,其中基于具体分析综合评价多种药物靶标的表达和活性。磷酸化是调节蛋白质活性的关键事件,因此测量蛋白质磷酸化是激活状态的有用指示物。

[0007] 存在上百个抗癌药物靶标和上千个致癌信号转导蛋白质,并且使用免疫组化(IHC)、现有金标分析测量所有这些的表达和激活状态以指导最优治疗选择是不可行的。反相蛋白质微阵列(RPMA)具有提供比IHC更宽的覆盖率的潜力,但是由于当前磷酸化位点特

异性抗体库规模小和弱特异性/交叉反应性而具有限制。由于控制致癌活性的初次调控过程是翻译后修饰,基于基因组的技术不能提供替代解决方案。此前已经开发了基于蛋白质组方法的液相-质谱(LC-MS/MS)来鉴定并定量上千种蛋白质及其磷酸化位点[8,9]并且发明人现在已经成功地将这些方法适用并应用于致癌信号转导通路的分析以鉴定在单个肿瘤内表达的最优药物靶标。

[0008] 发明人已经开发了一种新的基于LC-MS/MS的蛋白质组学工作流程来克服在具体分析基础上在全局或系统宽的水平上有效鉴定和定量激活的蛋白质、激活的信号转导通路,和激活的药物靶标中涉及的许多技术和生物信息难点。具体而言,发明人使用能够同时分析多个样品的同位素和/或同重元素质量标签标记提供了可应用于实验性癌细胞系、异种移植肿瘤组织和临床组织的高密度磷酸-蛋白质组学工作流程[10,11]。优选地,同时分析2个或更多个样品。最优选地,可一起分析至少10个样品。样品可以是来自个体患者或来自超过一名患者,例如至少2名、至少3名或至少4名患者的成对的来自肿瘤的组织 and 相邻健康组织。最优选地,在单个10-重实验中一起分析来自5名患者的成对的肿瘤和健康组织。

[0009] 本发明的一个特定特征在于,考虑到各单个患者生成的大量数据,提供了用于数据储存、修复和分析的系统。具体地,发明人提供了数据库和一套数据分析工具,以从它们的复杂数据集中提取相关的生物学信息。

[0010] 具体地,发明人已应用它们的总磷酸-蛋白质组学工作流程(SysQuant)来比较癌性和非癌性胰腺组织。磷蛋白组学工作流程使得能够同时测量多个磷蛋白并且提供对样品中信号转导活性的快速测量。这种工作流程已经使发明人能够鉴定在所有胰腺癌病例中间在平均水平上癌性和非癌性组织类型之间表达和活性上显示出显著调节的信号转导通路和药物靶标以确定胰腺癌表型的共同影响因素(driver)。发明人能够询问整个数据库来鉴定对单个病例或亚组而言独特的导致癌症表型的分子事件的不同组合。因此,该工作流程不仅首次提供了诊断胰腺癌的方式,更重要的是首次提供了在具体分析基础上基于这些新确定的靶标的激活状态将患者分级至不同治疗方案的方式。

[0011] 另外,测量磷酸肽分子概况首次获得胰腺癌的预后工具。磷酸肽丰度的分级聚类基于复发和不复发将患者分组。这导致鉴定到许多预后磷酸肽并且因此鉴定到形成本发明的独立方面的它们的相应磷蛋白标志物。

[0012] 发明人所采用的方法允许同时检测来自患有胰头腺癌的患者肿瘤对比背景胰腺组织中超过2000个蛋白质的超过5000个磷酸化位点。这些中的许多被确定为已知影响药物靶标活性的调节磷酸化位点,如FYN、GSK3 α/β 、HDAC1/2、RAF激酶、MAPK(p38和ERK2)、AKT、PKC、酪蛋白激酶等。

[0013] 发明人使用各蛋白质独特的非磷酸化肽的 $\log_2$ T/NT比率作为代替物来计算相应蛋白质的相对丰度以确定与非肿瘤(NT)组织相比,肿瘤(T)中蛋白质的相对丰度。

[0014] 从该信息中,他们发现可能开一种发预测性算法来将组织样品分配到肿瘤或非肿瘤表型,即,作为诊断辅助。此外,他们发现差异激活的通路蛋白质可用作治疗靶标。即,可开发能够直接或间接地适当调节感兴趣的蛋白质的表达、激活或抑制至正常健康组织中发现的那些水平的药物。

[0015] 已经在上千个蛋白质之间建立了个体磷酸化位点状态综合数据库,本发明首次提供了进行多个其他分析的手段。例如,预测肿瘤复发的可能性和潜在时间的能力在设计最

优治疗策略中提供了主要益处。使用对数据的分级聚类分析,发明人惊讶地发现能够独立于任何其他临床数据来将肿瘤分类成复发和不复发表型。甚至更令人惊讶地,蛋白质磷酸化位点的亚组与复发高度相关,并且这些各自代表胰腺癌中新的治疗靶标或标志物。因此,发明人也提供了新的治疗靶标以能够开发用于治疗胰腺癌的分子靶向药物。

[0016] 在本发明的另一个方面,与复发胰腺癌表型相关的经调节的蛋白质磷酸化位点中的一个或多个代表了诊断和预后复发胰腺癌的新型标志物。按照本发明的这一方面,提供了检测和/或定量一个或多个位点处的磷酸化的手段。这类方法包括但不限于免疫组化、Western印迹、ELISA和质谱。

[0017] 为了确认在各情况中与非肿瘤组织相比,肿瘤中激酶、其他酶和其他蛋白质类型的相对激活状态,发明人使用含有已知诱导酶激活或抑制的磷酸化位点的磷酸肽的相对丰度。表15提供了显示 $\log_2$ T/NT比率 ≥ 1 或 ≤ -1 的所有磷酸肽,在各情况中,这些肽含有已知诱导磷酸化的酶的激活或抑制的磷酸化位点。

[0018] 除了确定在将所有情况平均化之后,哪些蛋白质和磷酸肽在肿瘤和非肿瘤组织之间的丰度上有显著差异以外,发明人也证明哪些磷酸肽在各个体患者内受到高度调节并且在此提供了用于诊断和预后,包括预测胰腺癌复发和药物耐药性的标志物和靶标。

[0019] 例如,发明人已经确定糖原合成酶激酶-3 α 和 β 、组蛋白去乙酰化酶1和2、RAF原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶、丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶A-Raf、双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶激酶6、促分裂原-激活的蛋白激酶14(p38 MAPK)和超过20种其他酶的相对激活状态(参见,例如,表4和表15)。

[0020] 发明人还提供了证明它们的LC-MS工作流如何能够同时检测肿瘤组织中1000种信号转导和结构蛋白质相对于非肿瘤组织的丰度和活性,以及如何能够使用这类检测来更好地理解导致癌症的分子事件并因此指导最合适抑制剂的选择以使用经批准或实验性分子靶向药物中的一种组合,在个体基础上治疗患者的示例。关键地,发明人已经证明使用磷酸肽 $\log_2$ T/NT比率的分级聚类可以鉴定出与不太可能显示出胰腺癌复发的那些患者相比在相同的时间点处更可能显示出胰腺癌复发的那些患者。

[0021] 因此,就最普遍而言,本发明提供了用于通过鉴定显示癌症和非癌症组织类型之间的表达和活性的显著调节的信号转导通路和药物靶标来进行胰腺癌的诊断、预后和治疗(包括靶向疗法的选择)的材料和方法。本文提供的数据显示在具体分析基础上驱动癌症表型的分子事件,并且首次向临床医师提供了不仅能够预测最有效的靶向治疗,同时能够预测胰腺癌复发的可能性的手段。

[0022] 在第一个方面中,提供了包括胰腺肿瘤分类设备和信息通讯终端设备的胰腺肿瘤分类系统,所述胰腺肿瘤分类设备包括控制元件和存储元件,所述设备通过网络彼此通讯联接;

[0023] (1)其中信息通讯终端设备包括

[0024] (1a)将衍生自对象的胰腺肿瘤样品的蛋白质数据传输到胰腺肿瘤分类设备的蛋白质数据传送单元;

[0025] (1b)接收从胰腺肿瘤分类设备转送的对象的结果接收单元;

[0026] (2)其中胰腺肿瘤分类设备包括

[0027] (2a)接收从信息通讯终端设备传输的衍生自对象的胰腺肿瘤样品的蛋白质数据

的蛋白质数据接收单元;

[0028] (2b)将来自数据接收单元的数据和在存储单元中存储的数据做比较的数据比较单元;

[0029] (2c)基于数据比较单元的结果确定对象的胰腺肿瘤的类别(例如,分子表型)的分类器单元;和

[0030] (2d)将通过分类器单元得到的对象的分类结果传输到信息通讯终端设备的分类结果传送单元;和

[0031] 其中,存储单元含有选自表2、3、4、11、12、13和/或15的至少一种(优选多种)蛋白质的蛋白质表达水平和/或磷酸化数据。

[0032] 存储单元可含有选自各表2、3、4、11、12、13和/或15的至少一种或多种蛋白质的蛋白质表达水平和/或磷酸化数据。即,存储单元可含有来自表2的2种或更多蛋白质的数据与来自表3、4、11、12、13和/或15的2种或更多种、3种或更多种、4种或更多种、5种或更多种蛋白质的组合;或其任意组合。来自表2、3、4、11、12、13和/或15的蛋白质的组合可适用于本文所述的本发明的各个方面。

[0033] 衍生自对象的胰腺肿瘤样品的数据优选是表达水平数据和/或磷酸化状态数据,如从本文所述的方法所得的那些,例如,LC-MS/MS和其他蛋白质组学方法。数据可仅衍生自肿瘤(或疑似肿瘤)样品,但在优选的实施方式中,也可提供衍生自相同对象的非肿瘤(背景)胰腺组织的第二数据集。

[0034] 数据接收单元所接收的蛋白质数据可以是实际蛋白质或磷蛋白水平,或者其可以是从中计算蛋白质或磷蛋白水平的肽或磷酸肽水平。肽或磷酸肽对于至少一种(优选多种)蛋白质或磷蛋白是独特的。在一些实施方式中,优选使用多重,即,2、3、4或5种肽,其全部对于所述蛋白质是独特的。在使用多重肽的情况下,可整理数据并且任选地在数据比较步骤中使用中值。

[0035] 存储单元优选包括与代表胰腺肿瘤的蛋白质表达水平和/或磷蛋白水平相关的数据集。在优选的实施方式中,蛋白质表达水平和/或磷蛋白水平衍生自样品中的实际肽或磷酸肽水平。如果已经使用蛋白质组学方法,如本文所述的LC-MS/MS方法得到数据时,尤其如此。数据集可从数据集集合提供胰腺肿瘤中发现的蛋白质表达水平或磷蛋白水平的代表性(例如,平均)水平,如本文中表12所提供。或者,优选数据集包括代表蛋白质表达水平或磷蛋白水平与获自相同来源的背景组织的蛋白质表达水平或磷蛋白水平相比的比率的值。例如,该值在本文中表示为 $\log_2 T/NT$ 。

[0036] 除了确认样品是胰腺肿瘤以外,蛋白质数据存储单元中保留的数据集允许系统将肿瘤分类成复发或不复发类。通过输入代表取自对象的胰腺组织样品的磷蛋白水平的数据,和任选地,代表取自相同对象的背景胰腺组织的磷蛋白水平的数据,数据比较单元可将该数据与至少包括与存储单元中保留的选自表11的多重蛋白质相关的数据的数据集比较。

[0037] 在一个实施方式中,提供了预测治疗后的对象中胰腺肿瘤复发的可能性的方法,所述方法包括检测获自所述对象的肿瘤样品中选自同源域-相互作用蛋白激酶I(HIPK1);丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶MRCK α (MRCK α);和肌球蛋白轻链激酶,平滑肌(MLCK)的至少一种蛋白质的磷酸化水平,与背景(非肿瘤)水平相比升高的磷酸化水平是肿瘤复发可能性的指示。

[0038] 通过这种方式,系统可比较获自胰腺肿瘤样品的磷蛋白水平与代表相同蛋白质的肿瘤复发表型的磷蛋白水平,并从而将肿瘤分类为可能复发的肿瘤或可能不复发的肿瘤。

[0039] 在优选的实施方式中,磷蛋白水平的比较也可提供对肿瘤复发时间的预测,例如,在切除肿瘤后8至33个月、10至20个月或15至17个月。

[0040] 上述的胰腺肿瘤分类系统也可用于基于药物敏感性分类胰腺肿瘤。在该实施方式中,存储单元可含有,至少多种选自表15或表4的蛋白质的磷蛋白数据。

[0041] 例如,发明人已经确定与正常胰腺组织相比在胰腺肿瘤中上调或下调(和/或具有磷酸化状态差异)的磷蛋白,和已经鉴定含有已知诱导磷酸化的蛋白质(例如酶)的激活或抑制的磷酸化位点的那些磷蛋白。(参见表15和表4)。

[0042] 因此,通过比较胰腺肿瘤样品的磷蛋白水平与选自表15和/或表4的多种蛋白质的磷蛋白水平,系统可能基于药物敏感性对肿瘤进行分类。药物可选自GSK2141795、GSK2141796、GSK214179、达沙替尼、AEZS-131、伏立诺他和索拉非尼。

[0043] 在一些情况中,样品的磷蛋白水平与以下蛋白质的1种或多种、2种或多种、3种或多种、或全部的磷蛋白水平比较:糖原合成酶激酶-3 α 和 β 、组蛋白去乙酰化酶1和2、RAF原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶、丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶A-Raf、双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶激酶6、促分裂原-激活的蛋白激酶14(p38 MAPK)。

[0044] 可使用胰腺肿瘤分类系统来确定获自对象的肿瘤或非肿瘤表型,其中存储单元含有与选自表12或表2的多种蛋白质的蛋白质表达水平相关的数据。

[0045] 结果,系统可比较从样品确定的蛋白质表达水平与代表胰腺肿瘤的存储单元中保存的表达水平。通过这种方式,样品可被鉴定为肿瘤或非肿瘤。

[0046] 虽然发明人知道该系统可用于进行对表型的独立分类,即肿瘤对非肿瘤、复发表型对不复发表型、药物敏感性概况、和原发肿瘤对次生(转移肿瘤),系统的存储单元内含有的数据优选将允许样品分类为多重表型,例如,肿瘤,预测的复发和药物敏感性概况。

[0047] 在优选的实施方式中,系统还包括通过数据传送单元向存储单元中已经保存的存储数据添加数据的数据,使得在由确定单元进行的分析中可包括这一新数据。通过这种方式,持续更新代表胰腺肿瘤分子表型的数据。

[0048] 在优选的实施方式中,胰腺肿瘤分类系统连接至用于确定胰腺肿瘤样品中蛋白质表达水平或蛋白质磷酸化水平并将该数据给予蛋白质数据传送单元的设备。

[0049] 理想地,如本文所述,该设备可使用LC-MS/MS来处理多份样品。

[0050] 按照本发明的第一方面,还提供了胰腺肿瘤细胞分类程序,其使包括控制元件和存储元件的信息处理设备执行确定和/或分类对象的胰腺肿瘤的方法,该方法包括:

[0051] (i)比较步骤,其比较基于获自对象的选自表2、3、4、11、12、13和/或15的至少一种(优选多种)蛋白质的蛋白质表达水平和/或蛋白质磷酸化水平的数据与存储元件中保存的蛋白质表达水平数据和/或蛋白质磷酸化数据;和

[0052] (ii)分类步骤,其用于基于比较步骤中的计算比较对所述对象的胰腺肿瘤细胞进行分类;并且其中所述肿瘤分类成包括肿瘤、非肿瘤;肿瘤复发、肿瘤不复发;原发肿瘤、次生(转移)肿瘤和/或药物敏感性的表型。

[0053] 按照本发明的这一方面,还提供了计算机可读记录介质,包括其上记录的上述胰腺肿瘤分类程序。

[0054] 代表蛋白质表达水平和/或蛋白质磷酸化水平(即,磷酸化的蛋白质的量)的数据可衍生自样品中的肽水平和/或磷酸肽水平,其中所述肽和/或磷酸肽各自对选自专门表格的特定蛋白质是独特的。表格中提供了各蛋白质的示例性肽和磷酸肽。然而,应理解可设计其他肽和磷酸肽,其也应对于其衍生的蛋白质是独特的,例如,通过蛋白酶消化,如胰蛋白酶、aspN、gluC和本领域熟知的其他这类酶来衍生。

[0055] 对于本文所述的本发明的所有方面,蛋白质数据所衍生自的样品可获自已经诊断患有胰腺癌的对象,或者其可获自疑似患有胰腺癌的对象。因此,对于后者,癌症的分类也可包括诊断。

[0056] 在本发明的第二方面,提供了诊断对象中的胰腺癌的方法,该方法包括确定获自所述对象的生物样品中的选自表12和/或表2、表15和/或表3的一种或几种,或多种蛋白质和/或磷酸化位点的调节,其中

[0057] (a)所述样品中存在所述一种或几种,或多种蛋白质指示对象患有胰腺癌;

[0058] (b)与所述一种或几种,或多种蛋白质的参照量相比的所述一种或几种,或多种蛋白质的量(浓度)指示对象患有胰腺癌;

[0059] (c)与所述一种或几种,或多种蛋白质的参照量相比的所述一种或几种,或多种蛋白质的量(浓度)的变化指示对象患有胰腺癌;或

[0060] (d)与所述一种或几种,或多种蛋白质的参照状态相比的所述一种或几种,或多种蛋白质的磷酸化状态的变化指示对象患有胰腺癌。

[0061] 在第三方面,本发明提供了一种将胰腺肿瘤分类成选自下组的分子表型的方法:肿瘤、非肿瘤、复发、不复发、药物敏感性、原发肿瘤和次生(转移)肿瘤,所述方法包括

[0062] (1)确定获自所述对象的生物样品中多种蛋白质的表达水平和/或蛋白质磷酸化水平;

[0063] (2)产生所述样品的表达水平和/或磷蛋白概况;

[0064] (3)比较所述对象概况与代表胰腺肿瘤分子表型的参照概况;和

[0065] (4)基于对象概况与参照概况之间的比较确定胰腺肿瘤的分子表型;

[0066] 其中多种蛋白质选自由表2、3、4、11、12、13和/或15表示的生物标志物组。

[0067] 对于本发明的这一和所有其他方面,可来自相同对象的非肿瘤胰腺组织确定参照蛋白质表达水平和/或蛋白质磷酸化水平概况。通过这种方式,可使用蛋白质表达水平和/或蛋白质磷酸化水平的差异来确定胰腺肿瘤的分子表型。或者,参照水平可以是包含代表选自表2、3、4、11、12、13和15中任意一种或多种的感兴趣蛋白质的表达水平和/或磷酸化水平的数据的数据库。理想地,通过第一方面的胰腺肿瘤分类系统来提供参照水平。代表表达水平和/或蛋白质水平的数据可以获自多重肿瘤样品的数据的集合并且表示为平均值或范围。该数据可与各自对感兴趣的蛋白质独特的特异性肽和/或磷酸肽的水平相关。

[0068] 在本发明的第四方面,提供了为患有胰腺癌的对象选择治疗方案的方法,所述方法包括

[0069] (1)确定获自所述对象的生物样品中一种或几种、或多种蛋白质的表达水平和/或磷酸化水平;

[0070] (2)比较所述表达水平和/或磷酸化状态与所述一种或几种、或多种蛋白质的参照表达水平和/或磷酸化水平,所述参照水平代表选自下组的胰腺肿瘤分子表型:肿瘤、非肿

瘤;肿瘤复发、肿瘤不复发;原发肿瘤,次生(转移)肿瘤和/或药物敏感性;

[0071] (3)基于生物样品中蛋白质的表达水平和/或磷酸化水平与参照表达水平之间的比较确定胰腺肿瘤的分子;并且

[0072] (4)基于胰腺肿瘤的分子表型选择治疗方案。

[0073] 其中多种蛋白质选自表2、3、4、11、12、13和/或15表示的生物标志物组。

[0074] 生物样品优选是胰腺肿瘤的样品(例如,活检物),但是考虑到本发明的这一和其他方面,生物样品可以是能够提供胰腺肿瘤中调节的蛋白质的表现(representation)的对象的任意液体或固体样品。例如,可确定本文鉴定的生物标志物并且从来自对象的血液或尿液样品中定量它们的量或浓度,或磷酸化状态,从而避免活检的需要。

[0075] 例如,该方法可使得用户能够确定获自对象的胰腺样品是否是肿瘤,是否具有复发的可能性(即,切除肿瘤后8至33个月,10至20个月或15至17个月)和/或肿瘤中存在哪些药物靶标。

[0076] 例如,通过与参照表达水平的比较,该方法可鉴定选自表12,或更优选选自表2的多种上调的蛋白质。在其他优选的实施方式中,这些上调的蛋白质包括至少同源域-相互作用的蛋白激酶-1和/或粘蛋白1;任选地与选自表12和/或2的任意1种、2种、3种、4种或更多种其他蛋白质组合。这些与参照水平相比,存在上调的蛋白质将指示样品是胰腺肿瘤。

[0077] 类似地,该方法可确定具有与参照水平相比明显调节的磷酸化位点的那些蛋白质,即,通过比较多种磷酸化的蛋白质的水平与选自表3、11、4、13和/或15的参照水平。这种比较允许将样品分类成具有复发可能性的肿瘤的表型或不可能复发的肿瘤的表型。例如,多种具有调节的磷酸化位点的蛋白质可选自表11,或者更优选地,选自表11A(在复发肿瘤中,磷酸化上调)和表11B(在复发肿瘤中,磷酸化下调)。

[0078] 事实上,本申请的发明人所得的结果表明,单独双特异性促分裂原活化的蛋白激酶激酶2的磷酸化的上调可能足够预测肿瘤在切除肿瘤之后8至33个月、10至20个月或15至17个月的复发可能性。因此,确定获自对象的生物样品中双特异性促分裂原活化的蛋白激酶激酶2的增加的磷酸化以预测胰腺肿瘤复发的可能性形成本发明的另一个方面。在一些情况中,可在双特异性促分裂原活化的蛋白激酶激酶2的苏氨酸394处确定增加的磷酸化。该方法可包括通过例如免疫组化确定仅在该位点处增加的磷酸化,或者其可包括该位点处与其他磷酸化位点的联合确定。该方法还可包括确定在选自表11的一种或多种其他蛋白质上磷酸化位点的增加或减少。

[0079] 在本发明的第四方面的其他实施方式中,该方法允许确定对所述测试的肿瘤的药物敏感性。发明人已经从它们对磷酸肽的分析的数据中确定肿瘤可相对于与非肿瘤相比受影响的信号转导通路分类并且因此可基于在肿瘤中最易感的药物靶标设计个性化治疗方案。具体地,表15提供了这些蛋白质(酶),其含有已知诱导蛋白质(酶)激活或抑制的磷酸化位点。因此,该方法可鉴定多种已经调节(上调或下调)的选自表15的蛋白质并且因此提供肿瘤中受影响的信号转导通路的信息。该信息允许临床医师通过选择已知靶向所述信号转导通路中的特定蛋白质的那些药物来确定所述对象的个性化药物治疗方案。这些药物可选自达沙替尼、索拉非尼、伏立诺他、坦西莫司、AEZS-131和GSK2141795。

[0080] 在优选的实施方式中,选自表15的多种蛋白质包括酪氨酸蛋白激酶(Fyn)、酪氨酸蛋白激酶CSK(Src)、RAF原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶、组蛋白去乙酰化酶1、组蛋白去

乙酰化酶2、mTOR的雷帕霉素-不敏感伴侣(RICTOR);ERK1促分裂原-激活的蛋白激酶、ERK2促分裂原-激活的蛋白激酶,和/或RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶。

[0081] 表15和表4提供了含有已知在磷酸化时抑制或激活蛋白质的磷酸化位点的那些肽的详细内容。与背景(正常)组织相比,发明人已经鉴定含有这些位点的蛋白质在肿瘤中上调或下调。结果,这些位点可用作胰腺肿瘤的标志物并且根据哪些蛋白质在特定样品中调节,可使用这些位点来选择用于治疗该对象以抑制肿瘤的生长或复发的药物组合。

[0082] 在其他优选的实施方式中,多种蛋白质选自整联蛋白 β -4;联蛋白 α -1,连接粘附分子A(JAM-A);酪氨酸蛋白激酶Fyn;促分裂原-激活的蛋白激酶1(MAPK1);RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶(AKT1);糖原合成酶激酶-3 α 。

[0083] 获自所述对象的生物样品优选是取自疑似患有胰腺肿瘤的个体的活检样品。该方法可在一段时间内获自所述对象的多个活检样品上进行以监测药物治疗的效果。

[0084] 在优选的实施方式中,可使用按照第一方面的胰腺肿瘤分类系统进行比较表达水平和/或磷酸化水平并且确定肿瘤的分子表型的步骤。

[0085] 发明人已经使用适合的液相色谱-质谱(LC-MS/MS)方法来对胰腺肿瘤样品进行蛋白质组学分析。虽然这可能是优选的方法,现在发明人已经确定特异性生物标志物,即与非肿瘤相反在肿瘤中显著上调或下调的那些蛋白质,可采用其他标准方法用于确定样品中的这些标志物。事实上,发明人已经确定在肿瘤组织中显著调节的多种标志物,它们可发挥个体标志物的作用,从而避免对多重标志物的分析。

[0086] 因此,可使用任意合适的方法来实现本发明的这一和其他方面的用于确定生物样品中一种或几种,或多种蛋白质的量的方法。确定可包括对蛋白质质量或浓度的直接定量。确定可包括直接定量,例如,使用提供与蛋白质的量(例如,浓度)相关的测量的试验。在本发明的这一和其他方面的方法的某些情况中,确定一种或几种,或多种蛋白质的量包括:

[0087] 将所述样品与选择性且独立结合该一种或几种,或多种蛋白质的特异性结合成员接触;并且

[0088] 检测和/或定量由所述特异性结合成员和一种或几种,或多种蛋白质形成的复合物。

[0089] 该特异性结合成员可以是选择性结合蛋白质生物标志物的抗体或抗体片段。优选抗体经标记用于检测。例如,用于确定蛋白质浓度的便捷试验形式是ELISA。确定可包括使用已知浓度的标准制备肽浓度的标准曲线,并且将来自对象的样品获得的读数与标准曲线做比较,从而得到来自对象的样品中的蛋白生物标志物浓度的测量。可合适地采用多种方法用于确定蛋白质的量(例如,浓度),其非限制示例是:Western印迹、ELISA(酶联免疫吸附试验)、RIA(放射免疫试验)、竞争性EIA(竞争性酶免疫试验)、DAS-ELISA(双抗体夹心-ELISA)、液体免疫试验技术(例如,Luminex xMAP技术或Becton-Dickinson FACS技术)、免疫细胞化学或免疫组化技术、基于包括包含特异性抗体的反相磷蛋白阵列和反相蛋白质微阵列的蛋白质微阵列的技术、“浸染条”试验、亲和色谱技术和配体结合试验。该特异性结合成员可以是选择性结合蛋白质生物标志物的抗体或抗体片段。可以采用任意合适的抗体形式。按照本发明的任意方面考虑的其他类的特异性结合成员包括适体(包括核酸适体和肽适体)。优选地,可使用美国专利号5,475,096和5,270,163中所述的如称为SELEX(通过指数富集对配体进行系统性演化)的技术来提供导向蛋白质生物标志物的适体。

[0090] 在一些按照本发明的这一和其他方面的方法的情况中,确定选自参照表格的蛋白质生物标志物的量可包括通过质谱测量对所述蛋白质独特的肽水平。适于通过质谱测量肽水平的技术是本领域技术人员可得的并且包括与选择性反应监测(SRM)和多重反应监测(MRM)同种型稀释质谱,包括SILAC、AQUA(如WO 03/016861中所公开;其全部内容通过引用具体纳入本文)和TMT校准器(如WO 2008/110581中所公开;其全部内容通过引用具体纳入本文)相关的技术。WO 2008/110581公开了使用同重元素质量标签来标记参照样品种中所有蛋白质的分开的等分样品的方法,在标记之后,其可以定量比率混合以递送标准校准曲线。然后用相同同重元素质量标签组的其他独立成员标记患者样品并与校准曲线混合。该混合物然后经过串联质谱并且可基于在MS/MS谱中从同重元素质量标签上释放的独特质量报告离子的出现来对衍生自特异性蛋白质的肽进行鉴定和定量。

[0091] 通过参照水平的方式,可使用选自表2、3、4、11、12、13和/或表15的标志物蛋白质。在一些情况中,当采用基于质谱的方式确定蛋白质标志物时,本发明的方法包括提供包含含有标志物肽的至少2种不同的等分样品的校准样品,各等分样品是已知的量并且其中用一种或多种同重元素质量标志物来差异标记所述生物样品和各所述等分样品。优选地,同重元素质量标志物各自包含不同的质谱上相区别的质量标志物组。

[0092] 因此,在本发明的优选实施方式中,该方法包括通过使用一种或多种对已知蛋白质标志物衍生的肽确定的转化的选择性反应监测来确定选自表2、3、4、11、12、13和/或表15的一种或几种、或多种标志物蛋白质的表达水平或磷酸化水平的变化;将测试的样品中的肽水平与之前确定的肽水平做比较,以基于所述一种或几种、或多种标志物蛋白质表达的变化表示胰腺癌。比较步骤可包括用已知量的相应合成肽确定来自测试的样品的标志物肽的量。合成肽在序列上与获自样品的肽相同,但是可通过标志物,如不同质量或重同位素的标签区分。

[0093] 这些合成标志物肽(带或不带标志物)中的一种或多种形成本发明的另一方面。可以诊断对象中胰腺癌的目的;或以将来自对象的胰腺样品分类成选自肿瘤、非肿瘤、复发的可能性、不复发的可能性、药物敏感性、原发肿瘤、或次生(转移)肿瘤的分子表型目的;或用于选择所述对象的治疗方案的试剂盒的形式提供这些合成肽。

[0094] 在本发明的这一和其他方面的优选实施方式中,一种或几种蛋白质,或多种蛋白质包括粘蛋白-1和/或同源域-相互作用蛋白激酶-1;任选地与选自表2、3、4、11、12、13和/或15,优选表12和/或表2的1种、2种、3种或4种其他蛋白质组合。

[0095] 其他合适的确定蛋白质表达水平的方法包括表面增强激光电离飞行时间(SELDI-TOF)质谱;基体辅助激光解吸电离飞行时间(MALDI-TOF)质谱,包括LS/MS/MS;电喷射离子化(ESI)质谱;以及优选的SRM和TMT-SRM。

[0096] 在本发明的另一个方面中,提供了用于进行上述方法的试剂盒,尤其是根据获自对象的样品将胰腺癌分类成选自肿瘤、非肿瘤、复发、不复发、药物敏感性、原发肿瘤和/或次生(转移)肿瘤的分子表型。

[0097] 在所有实施方式中,该试剂盒使得用户能够确定测试的样品中多种分析物的蛋白质表达和/或磷酸化状态的存在、水平(上调或下调),这些分析物选自表2、3、4、11、12、13和/或15中提供的多种标志物蛋白质或其片段以及针对所述标志物蛋白质的抗体;该试剂盒包含

[0098] (a)具有多个结合成员的固体支持物,其各自对于其上固定的所述多种分析物之一有独立的特异性;

[0099] (b)包含标记物的显影剂;和,任选的

[0100] (c)选自洗涤溶液、稀释剂和缓冲剂的一种或多种组分。

[0101] 结合成员可如上所述。

[0102] 在一个实施方式中,试剂盒可以试验相容的形式提供分析物。如上所述,本领域已知用于确定样品中蛋白质、抗体或核酸分子的存在或量的各种试验。下文中更详细地描述了各种合适的试验并且各自形成本发明的实施方式。

[0103] 该试剂盒还提供了标准或参照,其提供定量型检测,从而可比较一种或多种标志物蛋白质的表达水平的确定。该标准可指示作为胰腺癌指标的2种或更多种生物标志物的水平。

[0104] 试剂盒还可包含实施方法的印刷说明书。

[0105] 在优选的实施方式中,试剂盒可用于进行质谱试验,并且可包含试验相容形式的一组衍生自表2、3、4、11、12、13和/或15中所列蛋白质的参照肽(例如,SRM肽),其中组中的各肽是多种标志物蛋白质中各蛋白质的独特代表。优选地,2种、3种、4种或5种或更多种这类独特肽用于试剂盒所针对设计的各蛋白质,并且其中提供已知量的各组独特肽,其反映了这类蛋白质在所述样品的标准制备中的水平。任选地,SRM肽是代表表13、3、11和/或表14中所列的靶蛋白质内差异磷酸化位点的磷酸肽。任选地,该试剂盒也可提供从所述样品分离和提取蛋白质的方案和试剂,蛋白水解酶如胰蛋白酶的纯化制备以及包括待监测的前体质量和具体转变的详细内容的方法的详细方案。肽可以是合成肽并且可包含碳、氮、氧和/或氢的一种或多种同位素。

[0106] 本文提供的分类方法也包括确定磷酸化导致的蛋白质修饰。发明人已经显示与背景组织相反,多种蛋白质在胰腺癌组织中被诱导或抑制。因此,发明人提供了包括确定在获自疑似患有胰腺癌的对象样品中选自表13、3、11和/或表14的一种或几种,或多种蛋白质的磷酸化状态的方法。

[0107] 优选地,所述一种或几种或多种蛋白质选自整联蛋白 β -4;联蛋白 α -1,连接粘附分子A(JAM-A);酪氨酸蛋白激酶Fyn;促分裂原-激活的蛋白激酶1(MAPK1);RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶(AKT1);糖原合成酶激酶-3 α 。

[0108] 在优选的实施方式中,蛋白质是双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶激酶2。具体地,发明人已经确定与背景(非肿瘤)相比,肿瘤病例中双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶2在磷酸-T394处的磷酸化增加,并且已经显示该位点处的磷酸化与肿瘤在中值16.5个月处的复发正相关(图4)。

[0109] 表11、15和/或表4提供了蛋白质上其他磷酸化位点的列表,与非肿瘤相比,其在胰腺肿瘤样品中被调节。这些位点各自提供了用于相对于复发可能性和药物敏感性分类胰腺肿瘤的标志物。因此,各磷酸化位点单独或组合形成本发明的一个方面,用于相对于复发的可能性和时间和/或药物敏感性分类胰腺肿瘤。

[0110] 例如,提供了一种预测胰腺肿瘤对用达沙替尼(BMS-354825-SprycelTM)治疗的敏感性的方法,该方法包括确定酪氨酸-蛋白激酶Fyn上磷酸-S21的水平,其中该蛋白质的上调指示胰腺肿瘤将对于用达沙替尼治疗敏感(表4)。

[0111] 此外,还提供了预测胰腺肿瘤对用AEZS-131(AZ公司(Aeterna Zentaris Inc))和/或SCH772984(默克公司(Merck))治疗的敏感性的方法,包括确定促分裂原-激活的蛋白激酶1(MAPK1)上磷酸-T185和/或磷酸-Y187的水平;此外或替代地,促分裂原-激活的蛋白激酶3(MAPK3/ERK1)的磷酸-T202和/或磷酸-Y204的水平,其中该蛋白质磷酸化的上调指示胰腺肿瘤将对用AEZS-131和/或SCH772984治疗敏感。对于其他示例,参见表4。

[0112] 确定蛋白质的磷酸化在本领域中是标准的。例如,对特定磷酸化基序有特异性的抗体可在宿主动物中产生并且用于随后用免疫组化原位检测组织中的相关基序或者用Western印迹或酶联免疫吸附试验(ELISA)从组织或体液中之后提取靶蛋白。其他基于抗体的检测方法是技术人员熟知的并且包括珠-悬浮试验、平面试验、放射性免疫试验和与质谱连接的免疫沉淀。然而,正常情况下需要在两步过程中使用磷蛋白特异性抗体,其中在检测之前首先富集靶蛋白。这是由于特定激酶的多重底物内由这类抗体识别的表位的共性。换言之,激酶识别其底物内的磷酸化位点的方式与抗体识别表位的方式类似,该方式是4-8个氨基酸的保守序列。

[0113] 在一些情况中,可通过在生长培养基或实验动物的食品补充剂中提供磷的放射性同位素(一般是P32)来监测蛋白质的磷酸化。在代谢标记一段确定的时间段之后,在特异性蛋白质中纳入P32之后可以使用标准蛋白质分离方法如凝胶电泳和液相色谱来检测放射性信号。

[0114] 在优选的实施方式中,选自表13、表3和/或表11的多种蛋白质包括整联蛋白 β -4; 联蛋白 α -1,连接粘附分子A(JAM-A);酪氨酸蛋白激酶Fyn;促分裂原-激活的蛋白激酶1(MAPK1);RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶(AKT1);糖原合成酶激酶-3 α 。

[0115] 在本发明的一个其他方面中,提供了用于将胰腺肿瘤样品分类成一种或多种分子表型的方法,该方法包括

[0116] (1)确定取自对象的胰腺肿瘤样品和胰腺非肿瘤样品的选自表12和/或表2的一种或几种,或多种蛋白质的蛋白质表达水平

[0117] 和/或

[0118] (2)确定取自对象的胰腺肿瘤样品和胰腺非肿瘤样品的选自表3、表13和/或表11的一种或几种,或多种磷蛋白的上调或下调,

[0119] (3)比较肿瘤样品与非肿瘤样品的所述蛋白质表达水平;和/或比较肿瘤样品与非肿瘤样品中磷蛋白的上调或下调

[0120] (4)应用预测算法

[0121] $\log_2(iT/iNT)$

[0122] (其中*i*是对象样品,T=肿瘤并且NT=非肿瘤)

[0123] 以产生所述对象的所述蛋白质表达水平和/或磷蛋白水平的预测值;

[0124] (5)通过参考包括所述表型的预测值的数据库将所述胰腺肿瘤样品分类成分子表型,其中所述数据库包括选自表2、3、4、11、12、13和/或15的一种或几种或多种蛋白质的预测值;并且其中该分子表型选自肿瘤、非肿瘤;肿瘤复发;肿瘤不复发;药物敏感性;原发和/或次生肿瘤。

[0125] 在优选的实施方式中,如果 $\log_2 T/NT$ 比率 ≥ 1 或 ≤ -1 ,则认为蛋白质标志物经修饰(通过上调或下调表达或磷酸化)。

[0126] 在优选的实施方式中,通过按照第一方面的胰腺肿瘤分类系统进行分类。

[0127] 优选地,可使用上述方法来确定患有胰腺癌的对象预后。在这一方面,预后包括确定手术切除、放疗或化疗治疗之后早复发、晚复发或不复发。例如,该方法可将表达和磷酸化值与选自表11、3和/或13的一种或几种或多种蛋白质的值做比较。

[0128] 在优选的实施方式中,一种或几种或多种蛋白质包括双特异性促分裂原活化的蛋白激酶激酶2。

[0129] 在本发明的这一和其他方面,手术切除的肿瘤或肿瘤活检的总蛋白质内容物被提取并经过通过本领域已知和/或本文所述的方法的磷蛋白组学分析。通过这类分析检测的各磷酸肽的相对丰度记录在数据库中(例如,使用按照第一方面的系统)并且使用如集结聚类的方法比较复发和不复发胰腺癌的已知病例的总概况。通过这种“由下而上”的方法:每个观察开始于其自己的聚类,并且当其向分级上部移动时,汇集聚类对。在集结聚类方法结束时,经分析的肿瘤已经被聚类为代表其复发可能性的组。在优选的实施方式中,数据库也带有充足数量的具有具体初步治疗或手术后复发时间的样品以将复发的可能时间赋予具有复发肿瘤概况的个体患者。复发的可能时间是切除肿瘤之后的8至33个月、10至20个月或15至17个月。

[0130] 在本发明的其他方面,提供了选择患有胰腺癌的对象的治疗方案的方法,所述方法包括

[0131] (1)确定选自表15和/或表4的一种或几种或多种蛋白质标志物的磷蛋白水平,

[0132] (2)比较所述确定与之前确定的代表药物敏感性的参照,并且

[0133] (3)基于所述肿瘤的药物敏感性选择所述对象的药物治疗方法。

[0134] 在优选的实施方式中,药物靶标是携带差异磷酸化位点的特定蛋白质,或者其是导致这类差异磷酸化的上游激酶或磷酸酶。

[0135] 在优选的实施方式中,多种选自表15和/或表4的蛋白质包括酪氨酸蛋白激酶Fyn、酪氨酸蛋白激酶CSK(Src)、RAF原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶、组蛋白去乙酰化酶1、组蛋白去乙酰化酶2、mTOR的雷帕霉素-不敏感伴侣(RICTOR);ERK1促分裂原-激活的蛋白激酶、ERK2促分裂原-激活的蛋白激酶和/或RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶。

[0136] 优选地,这些药物选自达沙替尼、索拉非尼、伏立诺他、坦西莫司、AEZS-131和GSK2141795。

[0137] 对于本发明的所有方面,优选通过液相色谱-质谱(LC-MS/MS)来进行确定步骤。

[0138] 在本发明的其他方面,提供了用于改善分子靶向药物的设计的方法,其中使用本发明的方法和系统来分析新化合物在调节选自表2、3、12、11、13、14和/或15的蛋白质上的致癌通路中的性能。

[0139] 因此,本发明还提供了测试分子靶向药物的有效性的方法,该方法包括

[0140] 从对象获取胰腺肿瘤的样品;所述肿瘤已与测试的分子靶向药物接触,例如,通过在获得样品之前给予所述对象来进行所述接触;

[0141] 从所述样品提取蛋白组学数据,例如蛋白质或磷酸化的蛋白质的相对丰度;

[0142] 比较所述蛋白组学数据与参照数据,例如在与测试的分子靶向药物接触之前获自相同肿瘤的样品的数据。

[0143] 其中,在与分子靶向药物接触之后获取的样品和在与分子靶向药物接触之前获取

的样品之间蛋白组学数据的变化指示分子靶向药物在治疗胰腺肿瘤中的效果;并且

[0144] 其中,蛋白组学数据包括选自表15和/或表4的多种磷蛋白的相对丰度水平。

[0145] 可通过测量对多种蛋白质各自独特的磷酸肽的相对丰度(例如,上调或下调)获得蛋白组学数据。优选地,磷酸肽选自表15和/或表4。

[0146] 例如,人胰腺癌衍生的细胞系接触不同浓度的候选治疗化合物,包括载剂对照,或者持续不同的时间。在接触候选治疗化合物之后,细胞裂解并且提取总蛋白。优选地,使用蛋白水解酶如胰蛋白酶消化蛋白质,并且例如使用同重元素质量标签标记蛋白质。优选地,同重元素质量标签是串联质量标签(热科学公司(Thermo Scientific))。在通过LC-MS/MS分析之前,来自几种细胞及的标记的肽可混合在一起。优选地,可包括代表候选药物的已知靶标的一种或几种参照标记的肽(例如,选自表15和/或表4)以提供定量内标。在LC-MS/MS分析之后,各处理样品中一种或多种,并且优选所有磷酸肽的相对丰度在本发明的第一方面的系统中经分析,例如SysQuant数据库,并且经集结分级聚类以获得治疗表型。获得阳性治疗表型的化合物可优选用于进一步开发。

[0147] 应理解本发明的这一方面的方法可应用于药物开发过程的任意方面,包括取自参与临床试验的人对象的肿瘤和异种移植肿瘤。

[0148] 还理解本发明的这一方面的方法也可应用于基于从切除的肿瘤制备的原发肿瘤细胞培养,将原发细胞培养接触不同分子靶向药物并使用本文所述的方法,例如,发明人的SysQuant方法分析磷蛋白的相对水平来确定在患有胰腺肿瘤的患者中最有效的分子靶向药物。

[0149] 优选地,蛋白质(或其独特肽)包括以下的一种或几种、或多种:酪氨酸蛋白激酶Fyn、酪氨酸蛋白激酶CSK(Src)、RAF原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶、组蛋白去乙酰化酶1、组蛋白去乙酰化酶2、mTOR的雷帕霉素-不敏感伴侣(RICTOR);ERK1促分裂原-激活的蛋白激酶、ERK2促分裂原-激活的蛋白激酶、整联蛋白 β 4、联蛋白 α -1、连接粘附分子A(JAM-A);促分裂原-激活的蛋白激酶1(MAPK1);糖原合成酶激酶-3 α ;同源域-相互作用蛋白激酶-1(HIPK1);丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶MRCK α (MRCK α);肌球蛋白轻链激酶、平滑肌(MLCK)和/或RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶(AKT1)。

[0150] 在本发明的其他方面中,本发明的方法和系统,例如SysQuant数据库,可应用于复发胰腺癌的分析。当在之前已经接受胰腺癌治疗的患者中鉴定到新肿瘤,即所谓的复发肿瘤时,或在之前已经在身体的其他地方治疗肿瘤的患者胰腺中发现新肿瘤,即所谓转移肿瘤时,在转移肿瘤的复发中鉴定治疗的耐受机制和潜在新靶标是重要的。因此,可在对复发或转移肿瘤的蛋白质和磷酸化位点变化的分子中采用本发明的方法。

[0151] 本发明还提供了选自表2、3、4、11、12、13和/或15的多种生物标志物在用于确定对象中胰腺肿瘤的分子表型中的用途,其中所述分子表型选自肿瘤、非肿瘤、复发、不复发、药物敏感性、原发肿瘤和/或次生(转移)肿瘤。

[0152] 优选地,生物标志物选自表2和/或表12并且分子表型选自肿瘤或非肿瘤。

[0153] 具体地,生物标志物可包括粘蛋白-1、整联蛋白4、和/或同源域-相互作用蛋白激酶1。

[0154] 在其他实施方式中,生物标志物选自表3、11和/或表13并且分子表型选自肿瘤复发或肿瘤不复发,例如,双特异性促分裂原活化的蛋白激酶激酶2。

[0155] 在其他实施方式中,生物标志物选自表4和/或15并且分子表型选自药物敏感性。例如,生物标志物可包括以下的一种或几种、或多种:酪氨酸蛋白激酶Fyn、酪氨酸蛋白激酶CSK(Src)、RAF原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶、组蛋白去乙酰化酶1、组蛋白去乙酰化酶2、mTOR的雷帕霉素-不敏感伴侣(RICTOR);ERK1促分裂原-激活的蛋白激酶、ERK2促分裂原-激活的蛋白激酶、整合蛋白 β 4、联蛋白 α -1、连接粘附分子A(JAM-A);促分裂原-激活的蛋白激酶1(MAPK1);糖原合成酶激酶-3 α ;和/或RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶(AKT1)。

[0156] 发明人已经确定多种在肿瘤与非肿瘤患者中一致性差异表达的蛋白激酶。因此,本发明提供了多种胰腺癌的新型治疗靶标。另外,发明人提供了使用激酶抑制剂治疗胰腺癌患者的方法。在一个实施方式中,本发明提供了治疗对象中胰腺癌的方法,所述方法包括给予在抑制选自HIPK1、MRCK α 和MLCK的一种或多种蛋白质的激酶活性中有效的化合物。

[0157] 本发明的某些方面和实施方式将通过示例的方式并参考上述附图和表格说明。本发明包括所述的优选特征和方面的组合,其中这类组合是明显不允许的或者被说成是表达上避免的。该说明书中提及的所有文献通过引用全文纳入本文用于所有目的。

[0158] 附图和表格简要说明

[0159] 图1维恩图证明在所有3个TMT8重样品总和(TMT8重-ALL)和单独每个TMT8重(TMT8重1、TMT8重2、TMT8重3)之间以下物质的数量:A.独特磷酸肽,B.独特非磷酸肽,和C.在TiO₂、IMAC和/或SysQuant工作流的非富集臂中鉴定到的独特总肽。1.D证明发明人从分析运行1、分析运行2和分析运行3的鉴定中观察的肽的重叠水平(包括从运行1和2的鉴定中编译的时间依赖性排除列表)。

[0160] 图2A:描述数据中13.6%(PC1)和10.6%(PC2)的总方差的前两个主成分的PC1和PC2分数图。圆圈显示了基于95%置信度的T2霍特林空间。2B:描述数据中10.6%(PC2)和14.4%(PC3)的总方差的下一主成分的PC2和PC3分数图。

[0161] 图3:在该研究中定量的所有5409个磷酸肽的log₂ T/NT值上进行分级聚类分析。磷酸肽聚类在排中并且病例聚类在列中。3A:集中在含有在复发的患者的肿瘤组织中证明较低水平(绿色)但是在不复发的患者的肿瘤中证明较高水平(红色)的磷酸肽的聚类图的区域。红色箭头指示与复发最相关的磷酸肽。3B:集中在含有证明与3A相反的磷酸肽的聚类图的区域。3C:证明在所有病例的肿瘤中较低水平(上图),和在所有病例的肿瘤中较高水平(下图)的磷酸肽。3D:计算所有病例之间的皮尔森相关系数并且在这些值上进行分级聚类。表格显示在各病例中淋巴结转移和复发的存在与否。

[0162] 图4.含有双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶2的磷酸-T394的磷酸肽的所有log₂ T/NT比率总结并显示在表格中并在柱形图上作图。在最后一次检验时复发患者(中值跟踪16.5个月)与不复发患者分组。检验时间、复发时间和-80℃冰箱中组织储存时间以及淋巴结转移的存在示于该表格。

[0163] 图5.显示IMAC中测量的(A)蛋白质和(B)磷酸肽,(C)TiO₂中测量的磷酸肽和(D)SysQuant工作流的非富集臂中测量的磷酸肽的log₁₀ P-值与log₂ T/NT比率关系的火山图。红色圆圈指出生物上显著的磷酸肽,因为它们证明log₂ T/NT比率 ≥ 0.75 或 ≤ -0.75 并且p-值 ≤ 0.05 。E:是显示受到显著调节的工作流的三个臂之间635个磷酸肽的分布的维恩图。

[0164] 图6.A:显示了使用来自所有具有显著调节的磷酸肽的蛋白质的登录号构建的STRING蛋白质相互作用网络。在所示的网络中总共存在来自408个蛋白质的635个显著调节

的磷酸肽。B:显示相同的STRING网络但用红色突出显示那些参与KEGG紧密连接信号转导通路的蛋白质。也列出了来自紧密连接蛋白质的磷酸肽。C:用红色突出显示那些与G0生物过程“RAS蛋白质信号转导调节”相关的蛋白质并且这些磷酸肽列于表格中。

[0165] 图7.在胰腺癌组织中受到调节的信号转导通路。(A)该方案总结了从以下KEGG信号转导通路中鉴定为磷酸化的所有蛋白质;紧密连接、粘着连接和焦点粘连。红星显示在12个病例的任意中鉴定为磷酸化的那些蛋白质。用带颜色圆圈突出显示的蛋白质是已知的药物靶标。(B)证明 $\log_2$ T/NT比率 ≥ 1 或 ≤ -1 的来自病例1的磷酸肽(图4B)来自通过DAVID生物信息学资源以最大显著性(基于本杰明)与来自KEGG的紧密连接和粘着连接信号转导通路匹配的蛋白质。红星表示来自病例1的产生 $\log_2$ T/NT比率 ≥ 1 或 ≤ -1 的磷酸肽的蛋白质,并且带颜色的圆圈显示最合适的药物靶标,其在病例1中是FYN。(C)证明 $\log_2$ T/NT比率 ≥ 1 或 ≤ -1 的来自病例10的磷酸肽来自通过DAVID生物信息学资源以最大显著性(基于本杰明)与来自KEGG的紧密连接和焦点粘连信号转导通路匹配的蛋白质。红星表示来自病例10的产生 $\log_2$ T/NT比率 ≥ 1 或 ≤ -1 的磷酸肽的蛋白质,并且带颜色的圆圈显示最合适的药物靶标,其在病例10中似乎是AKT1和MAPK1。

[0166] 图8A:这种MA-图显示整个非标准化的数据集上的对数比率对比对数强度。图8B:该MA-图显示与图8A相同,但是数据通过和量表标准化并因此在零居中方面表现更好。

[0167] 表1:在各TMT8重中和总共鉴定到的肽谱匹配的数量、独特肽的数量和磷酸化位点的数量。

[0168] 表2:在平均总共12个病例中,与背景组织相比,在肿瘤中显著上调的前12种蛋白质。来自各蛋白质的非磷酸化的肽的 $\log_2$ T/NT比率用作替代来计算相应蛋白质的相对丰度。非磷酸化的肽的 $\log_2$ T/NT比率在工作流的三个臂上平均(IMAC、TiO2、非富集)。

[0169] 表3:在平均总共12个病例中,与背景组织相比,在肿瘤中显著调节的磷酸肽。所有的磷酸肽来自参与KEGG信号转导通路、紧密连接、焦点粘连、血管平滑肌收缩、肌动蛋白细胞骨架重排的蛋白质。在此我们展示了蛋白质和磷酸肽的p值和 $\log_2$ T/NT比率。

[0170] 表4:显示了含有已知是抗癌药物靶标的蛋白质上的激活剂和抑制剂磷酸化位点的肽的示例。各肽序列中的磷酸化残基带下划线。 $\log_2$ T/NT比率是从工作流的所有三个臂计算的中值,并且所有 ≥ 1 或 ≤ -1 的比率都用粗体突出显示。红色的肽含有激活剂磷酸化位点,而蓝色的肽含有抑制剂磷酸化位点。黑色的肽含有未知功能的磷酸化位点。

[0171] 表5:14个胰头导管腺癌病例的特征选自肝脏研究院生物资料库用于该研究。

[0172] 表6:研究下的各病例的肿瘤阶段和复发。黄色病例显示切除肿瘤后8和33个月(中值跟踪时间16.5个月)之间复发。IIA期和IIB期之间的差异在于淋巴结转移的存在(IIB)或缺失(IIA)。

[0173] 表7:测试的各病例的临床信息(例如,复发时间)。

[0174] 表8:该研究中用于SysQuant工作流的各样品的蛋白质的量。

[0175] 表9:用不同的串联质量标签(TMT)标记肽。表9显示使用TMT8重标签来标记在该研究中分析的3个TMT8重样品各自内的样品。

[0176] 表10:TMT8重样品的所有3个样品被分成3个等分试样。全部9个TMT标记的肽的等分试样然后通过SCX-HPLC各自分成12个组分。对于这3个TMT8重样品中每一个,使用IMAC对12个组分富集磷酸肽,使用TiO₂对12个组分富集磷酸肽,并且并不对12个组分富集磷酸

肽而是直接通过LC-MS/MS分析以确定相对蛋白质丰度用于标准化的目的。

[0177] 表11:图3D中聚类在一起的来自复发病例的肿瘤对比非肿瘤中显示高($\log_2 T/NT \geq 0.7$)和低($\log_2 T/NT \leq -0.7$)水平的磷酸肽。

[0178] 表12:肿瘤对比非肿瘤中显著调节的蛋白质(150种蛋白质)。提供了12个病例中的T检验p-值和平均 $\log_2 T/NT$ 比率以及各病例的 $\log_2 T/NT$ 比率。

[0179] 表13:也产生证明各病例中 $\log_2 T/NT$ 比率 ≥ 1 或 ≤ -1 (超过2倍上调/下调)的磷酸肽的参与信号转导通路(Kegg通路,示于标题是“术语”的列)的蛋白质的登录号。也显示了诸如p值和本杰明概率的信息。

[0180] 表14:病例1-来自显示 $\log_2 T/NT$ 比率 ≥ 1 或 ≤ -1 的病例1,来自参与以下KEGG信号转导通路的蛋白质的磷酸肽:紧密连接、粘着连接和焦点粘连。

[0181] 表15:具体病例-在已知诱导磷酸化的酶的激活或抑制的位点处显示 $\log_2 T/NT$ 比率 ≥ 1 或 ≤ -1 的磷酸肽。

[0182] 缩写和定义

[0183] HPLC=高压液相色谱

[0184] SCX=强阳离子交换

[0185] TiO_2 =二氧化钛

[0186] IMAC=固定金属亲和色谱

[0187] T=肿瘤

[0188] NT=非肿瘤

[0189] LC-MS=液相色谱-质谱

[0190] STRING=相互作用的基因/蛋白质的修复的检索工具

[0191] GO=基因本体

[0192] KEGG=京都基因与基因组百科全书

[0193] TMT=串联质量标签

[0194] 本发明上下文中的表型“肿瘤”应表示由于胰腺癌症,尤其是胰头腺癌而导致异常增值(恶性生长)的肿瘤性细胞。

[0195] 本发明上下文中的表型“非肿瘤”应表示正常、非肿瘤性或良性肿瘤性胰腺细胞。将理解这类细胞可获自异常生长,但是这种生长不是恶性的,例如囊肿。

[0196] 表型“复发可能性”应该表示肿瘤在通过例如手术切除之后8至30个月再次出现的可能性。

[0197] 表型“不复发可能性”应该表示肿瘤在通过例如手术切除之后不再出现的可能性。

[0198] 本发明上下文中的表型“药物敏感性”应表示呈现指示调节细胞信号转导通路,包括一种或多种分子药物靶标的分子概况的胰腺肿瘤。药物靶标可选自FYN、GSK3 α/β 、HDAC1/2、RAF激酶、MAPK(p38和ERK2)、AKT、PKC、酪蛋白激酶。

[0199] 表型“原发性肿瘤”应该表示源自胰腺的肿瘤。

[0200] 表型“继发性肿瘤”或“转移肿瘤”应该表示由源自位于对象的其他位置处的肿瘤的癌细胞形成的胰腺肿瘤。

[0201] 术语“多种”可表示选自一个或多个参照表格的超过1种、超过2种、超过3种、超过4种、超过5种、超过10种、超过15种、超过20种、超过25种、超过30种蛋白质、肽、磷蛋白或磷酸

肽。

[0202] 术语“多种”也可表示超过1种以参照表格的百分比表示的蛋白质、肽、磷蛋白、磷酸肽。例如，多种可包括参照表格中提供的10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%的蛋白质、肽、磷蛋白或磷酸肽。

[0203] 在两种情况中，在多种选自参照表格的情况中，考虑蛋白质、肽、磷蛋白或磷酸肽的任意组合将形成本发明的实施方式。例如，相对于列出12种蛋白质的表2，考虑多种蛋白质可包括同源域-相互作用蛋白激酶1与一种或多种、两种或多种、三种或多种等表2所列的其余蛋白质。这对于各独立蛋白质也是如此，即粘蛋白-1可与一种或多种、两种或多种、三种或多种等表2所列的其余蛋白质组合。

[0204] 例如，这类组合可在数学上表示为符号“组合”：

$$[0205] \quad \binom{n}{k} = \frac{n!}{k!(n-k)!}$$

[0206] 这可表示为 nC_k (即，“n选k”)的形式。

[0207] 在表12的情况中， $n=12$ (表的总数)并且 k 是所选亚组中的数量。

[0208] 本文中具体考虑了来自表2、3、4、11、12、13、14和/或15的2种或更多种标志物的所有组合，即，对于表2，全部66种可能的对(${}^{12}C_2$)，全部220种3标志物的可能组合(${}^{12}C_3$)，全部495种4标志物的可能组合(${}^{12}C_4$)，全部792种5标志物的可能组合(${}^{12}C_5$)，全部924种6标志物的可能组合(${}^{12}C_6$)等。

[0209] 术语“蛋白质”应解释为包括全长蛋白质或蛋白质的任意形式，例如，翻译剪接变体、同种型、糖基化形式、磷酸化形式或者包括其他翻译后修饰。对于表格中的参照蛋白质，提供了允许获得包括其序列的蛋白质的完整细节的Uniprot-ID。本领域理解，各Uniprot-ID具有历史记录，其允许可以易于确定在任意给定的日期，如本发明的日期上与所述Uniprot-ID相关的特性序列，不管后续的修饰或修正。该信息和数据通过引用纳入本文。

[0210] 因此，蛋白质表达水平的变化可表示其所有形式的蛋白质的表达的上调或下调，或者其可表示特定形式的蛋白质的上调或下调，例如，同种型、剪接变体等。

[0211] 术语“相对丰度”应表示与参照水平，即，来自数据库或来自获自不同/背景样品的水平相比的蛋白质的水平、量或浓度。可从测量对蛋白质独特的1种或多种，优选2种、3种、4种或5种肽的水平、量或浓度并且与参照样样品中相同肽的水平、量或浓度比较来获得所述蛋白质的相对丰度。这提供了各肽的相对丰度水平。可取中值平均以显示蛋白质本身的水平、量或浓度。

[0212] 术语“肽”应表示衍生自全长蛋白质的氨基酸序列。该肽将包含足够的氨基酸使得其序列对于其衍生的蛋白质而言是独特的。这可能是少至至少4,5,6,7,8,9或10个氨基酸长，更优选4至50,40,35,30,25或20个氨基酸，或5至50,45,40,35,30,25或20个氨基酸或者5至50,45,40,35,30,25或20个氨基酸。该肽可以通过合成制成，或者其可以是蛋白水解酶消化产物，例如，全长蛋白质的胰蛋白酶。

[0213] 术语“磷蛋白”应该表示在磷酸化位点，例如丝氨酸、酪氨酸或苏氨酸处已经磷酸化的任意蛋白质。在本文中，这类位点表示为“磷酸-Xyyy”其中X表示单字母或三字母氨基酸代码并且y表示限定相关磷蛋白的Uniprot-ID内的残基位置的整数。

[0214] 术语“磷酸肽”应表示包含一个或多个，优选一个磷酸化位点，例如丝氨酸、酪氨酸

或苏氨酸的肽序列。

[0215] 衍生自磷蛋白的磷蛋白或磷酸肽的磷酸化状态的水平的变化并不必然表示蛋白质本身的量(浓度)的变化,而是所述蛋白质的可能在特定位点处的磷酸化形式的变化。

[0216] 材料与方法

[0217] 选择12个胰头导管腺癌病例(表5)。病例选择描述于下面的补充方法中。简言之,使用SysQuant workflow分析12个肿瘤(T)对比12个非肿瘤(NT)胰腺组织试样。组织样品取自胰腺肿瘤肿块,而NT样品取自相同胰腺的远离肿瘤肿块的位点处。所有的组织样品在手术切除30分钟内冷冻,并且在 -80°C 下储存直至用SysQuant分析(中值储存时间18.5个月(范围是4-28个月))。实验的细节描述于下面的补充方法中。总之,这需从组织试样中提取蛋白质、使蛋白质经胰蛋白酶消化成肽、对肽进行TMT 8-重标记(每次TMT 8-重来自4个病例的肿瘤和非肿瘤组织)之后混合以形成单个8-重样品混合物(参见表9)。各TMT 8-重样品然后被分为3个独立等分试样,各自还通过强阳离子交换(SCX)色谱分成12个组分(表10)。然后,通过纳米流HPLC-MS/MS,利用重复数据依赖性采集运行,之后是采用运行1和2中鉴定到的所有特征的时间依赖性排斥的第三运行,来直接分析第一组12SCX组分。首先使用IMAC或 TiO_2 来对剩余的2组12个组分富集磷酸肽。所得的24个磷酸肽富集的组分经过相同的纳米流HPLC-MS/MS分析。对各TMT 8-重样品进行总共108次分开的纳米流HPLC-MS/MS运行。使用Mascot和Sequest(通过Proteome Discoverer)针对人UniProtKB/Swiss-Prot数据库检索原始MS数据。如果肽谱匹配(PSM)仅以低置信度($\geq 5\%$ FDR)被鉴定到,显示 $\leq 75\%$ 磷酸-RS概率分数,并且有缺失的定量通道(例如,并非所有的同重元素标签在谱中是可见的),则排除肽谱匹配。来自通过过滤器的PSM的同重元素标签的原始强度值可用于定量,并且使用和量表对这些值进行标准化以减少潜在的实验/系统乖离。作为第一步,从同重元素标签强度计算 $\log_2$ 比率,显示对于所有和各病例T与NT之间的调节。磷酸肽T/NT $\log_2$ 比率是来自所有对于特异性肽序列独特的PSM的中值T/NT $\log_2$ 比率。蛋白质T/NT $\log_2$ 比率是来自所有对于特异性蛋白质独特的独特非磷酸化肽的中值T/NT $\log_2$ 比率。对于数据分析,使用一侧t-检验(单一样品位置检验)来计算p-值。将P-值针对火山图上的 $\log_2$ T/NT比率作图以检测所有病例上的任何明显调节。在蛋白质水平,加入使用GO-术语(<http://www.geneontology.org/>)、KEGG-通路(<http://www.genome.jp/kegg/>)和Drugbank(<http://www.drugbank.ca/>)信号的编号,并且也使用如DAVID(<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>)和STRING(<http://string-db.org/>)的资源映射到通路。在磷酸化位点水平上,加入使用PhosphoSitePlus(www.phosphosite.org)的编号,包括磷酸化位点的已知功能和生物/病理作用。使用主成分分析(PCA)和隐结构投影(PLS)从来自工作流的所有臂(IMAC、 TiO_2 和非富集)的所有肽比率(磷酸和非磷酸肽)来对多变量数据集进行建模/研究并且鉴定异常值和组/聚类。最后进行分级聚类以在T和NT组织样品之间与磷酸肽相对丰度相关,并且也与蛋白质相对丰度相关的病理/试样水平上构建聚类分级。使用SysQuant workflow、合并磷酸蛋白组学样品制备、LC-MS/MS分析和生物信息学分析来鉴定发明人认为导致在此处分析的病例中的胰腺癌的重要分子事件。

[0218] 补充方法

[0219] 冷冻临床组织。伦理方面和研究方案得到了国王学院医院,肝脏研究院生物资料库委员会的批准。在肝脏研究院的生物资料库的数据库中选择12个胰头导管腺癌病例(表

5)。最初选择了病例2和3,但是之后发现从该工作流程中提取的蛋白质太少。因此,选择2个额外的病例(病例13和14)来使数量增加回到12。小片组织从Whipple试样速冻并且储存在生物资料库的冰箱中(至少2年)。在30分钟内完成这一组织取样过程。各病例使用癌症(肿瘤)和背景(非肿瘤)的配对样品。表6描述了肿瘤分级以及在中值跟踪16.5个月时受否存在复发(8至33个月的范围)。

[0220] 组织细胞裂解。冷冻的临床组织样品经粉碎,然后在液氮存在下用研杵和研钵研磨成细粉。然后将粉末转移至含1.3mL的冰冷裂解缓冲液(8M尿素,75mM NaCl,50mM Tris-pH 8.2,一片蛋白酶抑制剂混合物(complete mini,罗氏公司(Roche))/10mL裂解缓冲液,和一片磷酸酶抑制剂混合物(罗氏公司)/10mL裂解缓冲液)的eppendorf管中。然后样品在冰上(4℃)以20%幅度下超声20x 1秒(脉冲开关)。在4℃下12,500g离心10分钟后,然后使用Bradford蛋白试验和微孔板光度计来测定各样品的蛋白质浓度。该工作流程中各TMT 8-重的蛋白质的量示于表7。

[0221] 溶液中酪蛋白消化。

[0222] 按照Villén和Gygi,Nature Protocol,方法[Villén,J.,Gygi S.The SCX/IMAC enrichment approach for global phosphorylation analysis by mass spectrometry (通过质谱的全磷酸化分析的SCX/IMAC富集方法).Nature Protocols.3,1630(2008)]对裂解物进行半胱氨酸的还原、烷基化和消化。经消化的样品在2,500g下旋转10分钟,并且在100mg SepPak tC18芯(美国马萨诸塞州米尔福德的沃特世公司(Waters))上脱盐。肽用50%ACN/0.1%TFA稀释并冻干。

[0223] TMT标记。来自所有样品的经消化的肽在200mM TEAB/10%CAN中分开重悬,与它们相应的TMT8重试剂(15mM终浓度)混合,如下文中的标记设计所示,并且在室温下孵育1小时。然后用0.25%羟胺接触15分钟来终止TMT反应。样品收集到3个TMT8重(下面所示的标记设计)并另外孵育15分钟。各TMT8重样品经酸化,并且乙腈的浓度稀释至低于5%,然后分为3个等分试样,其各自在200mg SepPak tC18芯上脱盐,稀释,然后冻干。标记设计示于表8。

[0224] SCX-HPLC。

[0225] 冻干肽的所有9个等分试样(表9)在SCX缓冲液C中重悬,然后通过SCX-HPLC分成12个组分。按照Villén和Gygi,Nature Protocol26,方法使用polySULFOETHYL-A柱(PolyLC)和我们的SCX HPLC系统(Waters Alliance 2695)来进行分离。

[0226] 缓冲液A:水中0.1%TFA。

[0227] 缓冲液C:7mM KH₂PO₄,pH 2.65,30%CAN(体积/体积)。

[0228] 缓冲液D:7mM KH₂PO₄,350mM KCl,pH 2.65,30%CAN(体积/体积)。

[0229] 固定金属亲和色谱(IMAC)和TiO₂。按照生产商的说明书用IMAC(赛默飞世尔皮尔斯公司(Thermo Scientific Pierce)产品编号88300)或TiO₂(赛默飞世尔皮尔斯公司产品编号88301)富集磷酸肽。

[0230] 石墨离心柱。在磷酸肽富集之后,按照生产商的说明书使用石墨离心柱来纯化肽(赛默飞世尔皮尔斯公司产品编号88302)。

[0231] 液相色谱质谱(LC-MS)。来自全部108个组分的肽在35μl的2%CAN,0.1%FA中重悬,然后8μl的各样品使用赛默飞世尔Proxeon EASY-nLC II系统注射到0.1×20mm用ReproSil C18,5μm(Maisch博士)自填充的前置柱上。然后使用在乙腈中0.1%甲酸的升高

梯度(90分钟内10至25%)以300nL/的流速通过 $0.075 \times 150\text{mm}$ 用ReproSil C18, $3\mu\text{m}$ (Maisch博士)自填充的柱来解析肽。在色谱运行期间(115分钟)在赛默飞世尔LTQ Orbitrap Velos上获取质谱,在各FTMS扫描(在30000解析功率@400m/z下的 $2x\mu$ 扫描)之后,使用在15000解析功率@400m/z下的10次更高碰撞诱导的解离(HCD)FTMS扫描。HCD在来自各FTMS扫描的10个强度最高的离子上进行,然后放在动态排除列表中持续30秒(10ppm m/z窗)。各FTMS1扫描的AGC离子注射靶标是1000000(500ms最大注射时间)。各HCD FTMS2扫描的AGC离子注射靶标是50000(500ms最大注射时间)。通过三次LC-MSMS分析重复来分析各样品,其中第三次分析重复使用时间依赖排除列表,在前2次分析重复之一中用1%FDR排除鉴定为肽的所有肽离子。

[0232] 肽鉴定和定量。

[0233] Proteome Discoverer

[0234] 总共有324个原始数据概况(3x TMT8重X3等分试样X12组分X3分析重复),其中有108个原始数据概况属于各TMT8重。使用Proteome Discoverer将所有来自第一TMT8重样品的108原始数据概况合并用于Mudpit检索,如下所述。这也对第二和第三TMT8重样品进行。

[0235] 原始数据使用谱文件节点经过赛默飞世尔Proteome Discoverer 1.3软件。谱选择子设定为其默认值,而Mascot节点设定为针对uniprot_sprot数据库,智人分类检索数据。该节点经编程以检索带脒基甲基(C)、TMT6重(K)和TMT6重(N-Term)的静态修饰的胰蛋白酶水解肽(2个错误切割)。动态修饰设定为STY的脱酰胺(N/Q)、氧化(M)和磷酸化。前体质量公差设为20ppm并且片段(b和y离子)质量公差设为20mmu。也使用与Mascot节点相同的数据库、修饰和公差针对SEQUEST检索谱。也使用PhosphoRS2.0(20mmu的片段质量公差,考虑CID和HCD的中性丢失峰)和Percolator节点检索谱。

[0236] 报告离子定量节点设定为在确定质心之后使用20ppm的容差测量126.12773 m/z(126)、127.12476 m/z(127e)、127.13108 m/z(127)、128.13444 m/z(128)、129.13147 m/z(129e)、129.13779 m/z(129)、130.14115 m/z(130)、131.13818 m/z(131)下来自所有鉴定的PSM的TMT8重单同位素离子的原始强度值。在使用Proteome Discoverer的该阶段不应用过滤器,因此将所有的原始强度值输出至excel用于后续的处理和使用内部软件进行过滤。

[0237] 生物信息学

[0238] 进行统计学分析来研究相对于来自12名患者的T(胰腺肿瘤组织)和NT(非肿瘤组织)疾病组的相关调节。

[0239] 质谱定量方法的准度和精度可能受到以下问题的影响,如实验偏差、系统性错误、随机错误(方差不齐)和缺失的定量值。为了改善准度和精度,发明人评估它们数据的质量,然后过滤并如下所述标准化。

[0240] MS质量-数据过滤和标准化:

[0241] 删除了所有不包括全部TMT-8重报告强度的谱。为了标准化,进行和量表。由于样品之间的差异,在进一步处理之前标准化数据是可取的。可通过以下的maplots(http://en.wikipedia.org/wiki/MA_plot)来观察标准化的效果。

[0242] 统计

[0243] 在第一步骤中,计算log2比率,其显示了所有和各患者的T(胰腺肿瘤组织)对NT(非肿瘤组织)的调节。对于蛋白质比率,所有未磷酸化的肽使用并与中值合并。

[0244] 计算比率:

[0245] $\log_2(iT/iNT)$

[0246] 其中, i = 患者1、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14

[0247] 对于数据分析, 将使用单侧 t -检验 (或单一样品位置检验) [http://en.wikipedia.org/wiki/T_test]. 单侧 t -检验能够检测受研究的对象中的明显调节。

[0248] 可在所附的感兴趣列表中观察到 P -值和 $\log_2$ 比率 (表5)。显著的 p -值用红色突出显示。在蛋白质水平上添加 GO-项、KEGG-通路和 Drugbank info 的注释, 并且在磷酸化位点水平上添加来自磷酸位点的注释。

[0249] 对于磷酸肽比率, 使用在任意磷酸化位置上在 Proteome Discoverer 中具有超过 75% 的磷酸-RS 应用概率的所有肽。

[0250] 结果和讨论

[0251] 总之, 发明人已经从 2101 个蛋白质组中鉴定到了 6543 个独特磷酸肽 (6284 个独特磷酸化位点) (表1)。图1显示了各 TMT8-重的 SysQuant 工作流的所有三个臂 (非富集、TiO₂、IMAC) 上鉴定到的肽 (磷酸化和非磷酸化) 分布。图1也显示了每个样品的三个分析重复中各自检测到的肽的数量。当比较来自各平行组分 (TiO₂、IMAC、非富集) 的结果时, 组合方法的益处是显而易见的。使用 IMAC 富集看到磷酸肽的最大总数, 其占有所有鉴定到的独特磷酸肽的 79%。然而, TiO₂ 组分独特地鉴定到接近 19% 的总数, 其将在使用单一磷酸肽富集策略时丢失 (图1: TMT8重-ALL:a)。这对于在各样品上进行的三次分析运行也是如此。如果进行单一数据依赖运行, 仅看到 20318 个独特肽 (图1: TMT8重-ALL:d)。第二数据依赖运行增加了 5868 个肽, 同时使用运行3中的时间依赖排除允许总共鉴定到另外 3257 个肽。总体上 (运行2和3), 这表示在单独运行1之上增加 45% 并且独特肽总数增加 31%。重要的是, 在第三运行中鉴定到的肽通常是较低丰度的。

[0252] PLS/PCA

[0253] PLS 证明在该数据集中没有异常。PLS PC1 和 PC2 显示有三个聚类 IMAC、TiO₂ 和总蛋白 (即, 工作流的非富集臂), 如图2A所示。描述数据中 13.6% (PC1) 和 10.6% (PC2) 的总方差的前两个主成分的 PC1 和 PC2 分数图。圆圈显示了基于 95% 置信度的 T2 霍特林空间。所有样品都在模型的边界上。PC1 指代富集, PC2 指代患者。总蛋白 (非富集肽) 具有与工作流的富集臂 IMAC 和 TiO₂ 不同的聚类 (图2A)。描述数据中 10.6% (PC2) 和 14.4% (PC3) 的总方差的下一主成分的 PC2 和 PC3 分数图 (图2B)。在 PC3 中, PLS 可将 T 和 NT 分成 2 个聚类。总蛋白 (非富集肽) 具有其自身的聚类, 但是其也可分成类别 T 和 NT。仅在患者 12 中没有观察到 T 与 NT 相比的差别。PLS/PCA 证实实验是成功的, 并且 T 和 NT 之间存在显著差异。TiO₂、IMAC 和总蛋白 (非富集) 之间的差异存在, 但是 TiO₂ 和 IMAC 具有接近等同的相关性。

[0254] 分级聚类分析

[0255] 使用分级聚类分析来聚类证明这 5409 个磷酸肽在 T 相对于 NT 中的相对丰度中有类似概况的病例 (图3A-3C 显示具体的感兴趣区域)。使用全部 5409 个独特磷酸肽, 可将 12 名患者聚类成 3 个独立组。一个聚类含有病例 5、9、1 和 14, 第二聚类含有病例 7、6、4 和 13, 而病例 8、10 和 11 分至第三聚类并且与其他 2 个聚类的成员相比互相之间的关系更远。有趣的是, 当揭示 12 名患者的临床病史时, 发明人发现病例 5、9、1 和 14 是在切除该研究中分析的肿瘤之后 8 至 33 个月 (中值跟踪期 16.5 个月) 之间肿瘤复发的患者, 而病例 7、6、12、4 和 13 是在相同

时间段内没有复发的患者。对于患者病史的更多详情,参见图6和7。这3个异常中2个来自随后复发的患者(病例10和11),并且1个来自非复发患者(病例8)。有趣的是,与复发(4/4IIB期,pT3N1M0)和非复发(4/5IIB期,pT3N1M0)聚类相比,3个异常中的2个具有次晚的IIA期(pT3N0M0)。通过在皮尔森相关系数上聚类来进行聚类分析的进一步细化。通过在所有病例中比较所有的磷酸肽 $\log_2 T/NT$ 值来得到皮尔森相关系数(图3D)。聚类分析的这种细化更好地分开复发和非复发病例。

[0256] 分级聚类分析根据复发和不复发清楚地对患者分组,因此发明人特别感兴趣的是鉴定其丰度与复发正相关或负相关的磷酸肽,因为这些磷酸肽可能证明是有用的预后标志物并且在分析切除的T和NT组织之后辅助预测其在新患者中复发的可能性。可在表11中看到这些磷酸肽。表11展示了在来自图3D中聚类在一起的复发病例的肿瘤对比非肿瘤中显示高($\log_2 T/NT \geq 0.7$)和低($\log_2 T/NT \leq -0.7$)水平的所有磷酸肽。表11中磷酸肽的合并列表提供了辅助临床医师预测将在手术后31个月之前继续存在复发的患者的有用预后标志物。

[0257] 除了T和NT之间总概况的差异以外,存在许多特别感兴趣的个体磷酸化位点变化。例如,如图2B(用红色箭头突出显示)和图4所见的含双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶2的磷酸-T394的磷酸肽的相对丰度概况与在中值16.5个月时肿瘤复发的患者正相关。在所有显示复发的病例中,相对于NT,它们在T中显著增加,并且在所有不显示复发的病例中,相对于NT,它们在T中下调或仅稍稍增加(图4)。该激酶是已知在RAS和RAF下游但在ERK1/2上游的RAS/RAF/MEK/ERK信号转导通路的一部分。在大多数胰腺肿瘤中,K-RAS基因被突变成致癌形式,最常见是K-RAS^{G12D}的形式[12]。不幸的是,在该研究中没有检测到K-RAS肽。然而,测量在K-RAS下游的双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶2的磷酸-T394可证明是辅助预测复发时间的重要预后标志物。发明人用于检索肽的UniProtKB/Swiss-Prot数据库并不含有K-RAS点突变,这解释了在该研究中缺少检测到的K-RAS肽。这强调了对含有已知致癌点突变的数据库的需要。鉴定其他RAS信号转导蛋白质以显示STRING图中看到的显著调节的磷酸肽(参见下文)。

[0258] 发明人也进行了分级聚类分析以聚类证明相对于NT在T中蛋白质相对丰度的相似概况的病例,然而,聚类与复发/不复发之间的相关性不是明显的,这表明蛋白质表达的总体水平变化不如磷酸化剧烈,并且表明我们的磷酸肽分析作为预后工具的重要性。

[0259] 显著调节的蛋白质表达

[0260] 发明人使用各蛋白质独特的非磷酸化肽的 $\log_2 T/NT$ 比率作为代替物来计算相应蛋白质的相对丰度以确定与非肿瘤组织相比,肿瘤中蛋白质的相对丰度。使用单侧t-检验来计算p-值并且这些针对 $\log_2 T/NT$ 比率在火山图上作图以检测所有病例中的明显($\log_2 T/NT \geq 0.3$ 或 ≤ -0.3 且 $p \leq 0.05$)调节(图5A)。总之,基于 $\log_2 T/NT \geq 0.3$ 或 ≤ -0.3 且 $p \leq 0.05$,有150种蛋白质受到显著的调节(图12)。表2显示了与非肿瘤组织相比,肿瘤中12种最显著上调的蛋白质,并且也提供了与癌症相关或各单蛋白质的任何已知功能的表述[13-31]。粘蛋白-1的过表达通常与癌症相关并且发明人也发现粘蛋白-1在胰腺肿瘤组织中显著上调。有趣的是,发明人发现比粘蛋白-1更显著上调的蛋白质,其中的一些可证明是胰腺癌的更特异性标志物,甚至可能是新的治疗靶标,例如,同源域-相互作用蛋白激酶1。

[0261] 发明人选择所有显著调节的蛋白质的登录号并将这些上传到DAVID生物信息学资

源以鉴定最显著调节的那些KEGG信号转导通路。鉴于 $1.0E-3$ 的本杰明分数,焦点粘连KEGG信号转导通路受到最显著的调节。显著调节的焦点粘连蛋白质包括:踝蛋白-1、细丝蛋白-A、细丝蛋白-C、联结蛋白、细丝蛋白B、纤连蛋白、焦点粘连激酶1、斑联蛋白、踝蛋白-2、蛋白磷酸酶1调节亚基12A、和肌球蛋白轻链激酶、平滑肌(表12)。在固定或稳定的细胞中,焦点粘连在正常条件下是特别稳定的,而在游动细胞中是较不稳定的,其中焦点粘连随着细胞在其前缘建立新的接触,在其后边缘打破旧的接触经持续组装和拆卸。

[0262] 肝细胞癌衍生的生长因子也在大多数肿瘤试样中上调并且这基于p-值是显著的($p \leq 0.05$)。

[0263] 发明人特别感兴趣的是,确定了与非肿瘤组织相比,肌球蛋白轻链激酶(MLCK)在肿瘤中显著过表达(中值 $\log_2 T/NT = 0.5$ 且p-值 $= 2.95E-02$)。MLCK是 Ca^{2+} /钙调蛋白依赖性激酶,其调节多种细胞功能,如通过肌球蛋白轻链蛋白质的磷酸化的肌肉收缩和细胞迁移。由于肿瘤细胞迁移是肿瘤扩散的关键步骤,肌球蛋白轻链激酶(MLCK)可以被认为是防止肿瘤扩散的治疗性靶标。事实上,MLCK激活和表达已经发现与转移倾向正相关。

[0264] 显著调节的磷酸肽

[0265] 使用磷酸化的肽的 $\log_2 T/NT$ 比率来计算特异性独特磷酸化位点处的磷酸化相对水平。发明人使用t-检验来计算p-值并且这些在火山图上针对工作流的IMAC、 TiO_2 和非富集臂的 $\log_2 T/NT$ 比率作图以检测在所有病例中的显著($\log_2 T/NT \geq 0.75$ 或 ≤ -0.75 且 $p \leq 0.05$)调节,如图5B-5D所示。在该研究中鉴定到的6543个磷酸肽中,5409个是可定量的(数据未显示)。在可定量的肽中,635个显示显著的调节(图5B-5D)。

[0266] 发明人选择了产生具有肿瘤与非肿瘤组织相比显著差异丰度的磷酸肽(635)的蛋白质的全部408个独特登录号并将这些登录号上传到STRING(相互作用的基因/蛋白质的修复的检索工具)。在将408种蛋白质中的14个与通路匹配之后,STRING以 $2.50E-5$ 的p-值的最大显著性将这些蛋白质与紧密连接KEGG信号转导通路匹配。发明人也使用STRING来鉴定这408种蛋白质与哪些GO项(生物过程、分子功能和细胞组分)有最强的结合。基于肌动蛋白丝的过程($n=29$;p-值 $= 4.47E-8$)、肌动蛋白结合($n=40$;p-值 $= 2.59E-18$)、和细胞骨架($n=77$;p-值 $= 2.66E-13$)是以最大显著性匹配的GO项。发明人也使用STRING来鉴定408个蛋白质中那些与GO生物过程“RAS蛋白质信号转导调节”相关,因为RAS已知是胰腺癌中的重要肿瘤性蛋白质。这408种蛋白质中的16种以 $1.06E-2$ 的p-值与该GO生物过程匹配,而这16种中的10种可映射至STRING网络(如6C)。

[0267] 蛋白激酶的磷酸化

[0268] 发明人特别感兴趣的是与非肿瘤相比,来自丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶MRCK α (参见表11a)的磷酸肽在肿瘤中显著上升。这对于含有磷酸化位点S1629的那些而言也是如此。MRCK α 是Rho GTP酶,CDC42的重要下游效应物,并且在细胞骨架重组调节、细胞凸起的形成中起到关键作用,并且促进细胞迁移。可在Britton等,PLOS ONE,2014年3月;第9卷,第3期,e90948中发现其他信息,其内容通过引用全文纳入本文。

[0269] 因此,MRCK α 作为胰腺癌的重要治疗靶标提供,并且MRCK α 的激酶抑制剂作为潜在治疗剂提供。

[0270] 具体病例

[0271] 除了在所有病例之间平均化时确定哪些蛋白质和磷酸肽在肿瘤和非肿瘤组织之

间显示出丰度的显著差异以外,发明人也想要在具体病例的基础上确定哪些磷酸肽受到高度调节。从病例1中选择产生证明 $\log_2 T/NT$ 比率 ≥ 1 或 ≤ -1 (超过2倍上调/下调)的磷酸肽的蛋白质的登录号。这些登录号然后上传到DAVID生物信息学资源上,其鉴定病例1中最受调节的KEGG信号转导通路。发明人对于各病例重复该方法,然后在具体病例的基础上基于p值和本杰明分数选择证明显著性的KEGG信号转导通路(表13)。表12中本杰明分数 ≤ 0.05 的所有哪些KEGG信号通路用黄色突出显示。基于来自DAVID生物信息学输出的p值,经肿瘤与非肿瘤相比,确定紧密连接信号转导通路在所有病例(12/12病例)中受到调节,其次是粘着连接信号转导(10/12病例)和焦点粘连信号转导(10/12)。图7显示了3条信号转导通路并且用红星标记的矩形表示发明人在全部12个病例中鉴定为磷酸化的那些蛋白质。表3显示了属于参与紧密连接和焦点粘连信号转导通路以及被发现受到显著调节的其他信号转导通路(肌动蛋白细胞骨架和血管平滑肌收缩的调节)的蛋白质的所有显示显著调节的磷酸肽。

[0272] 表14显示了来自病例1的所有证明 $\log_2 T/NT$ 比率 ≥ 1 或 ≤ -1 的磷酸肽,其属于参与紧密连接、粘着连接和焦点粘连KEGG信号转导通路的蛋白质。这些也映射到图7B。

[0273] 整联蛋白 β -4-与病例1的非肿瘤组织相比,含有整联蛋白 β -4磷酸化位点S1483和S1486的双磷酸化肽在肿瘤组织中升高超过2倍。事实上,通常在所有测量的病例中,发现与非肿瘤相比,这种磷酸肽在肿瘤组织中显著升高(数据未显示)。整联蛋白 β -4磷酸化已经与细胞锚定连接的分解相关,如迁移的细胞的后边缘处的半桥粒[32,33]。这类磷酸化时间已经显示由Fyn(主要在酪氨酸残基处)、PKC(主要在丝氨酸残基处)和其他激酶诱导[32]。

[0274] 联蛋白 α -1-在病例1中,与非肿瘤相比,含有联蛋白 α -1磷酸化位点S655的肽在肿瘤组织中升高超过2倍。事实上,平均在所有病例中,含磷酸-S655的单一磷酸化的肽在肿瘤组织中显著升高(数据未显示)。S641、S655和S658处的磷酸化在除了3个病例以外的所有病例的肿瘤组织中升高,这3个病例中的2个在IIA期。有趣的是,联蛋白 α -1在S641处的磷酸化已经显示导致联蛋白 α -1和联蛋白 β -1(β 联蛋白)之间的结合,导致 β 联蛋白的转录激活增加和肿瘤细胞侵入[34]。

[0275] 连接粘附分子A(JAM-A)-在病例1中,与非肿瘤相比,含有JAM-A磷酸化位点S284的肽在肿瘤组织中减少超过2倍,并且发现在所有病例中,与非肿瘤相比,在肿瘤中显著减少(数据未显示)。发现JAM-A在S284处的磷酸化是紧密连接的形成和成熟中的关键步骤[35]。在此,发明人观察到这种磷酸化事件在肿瘤组织中显著减少,这一事件有利于细胞的上皮至间充质的转变(EMT)以及最终的转移扩散。

[0276] 磷酸化事件以表示药物靶标和其他酶的活性状态

[0277] 为了确认在各情况中与非肿瘤组织相比,肿瘤中的酶的相对激活状态,发明人使用含有已知诱导酶激活或抑制的磷酸化位点的磷酸肽的相对丰度。表4和表15简短地列出了显示 $\log_2 T/NT$ 比率 ≥ 1 或 ≤ -1 的所有磷酸肽,在各情况中,这些肽含有已知诱导磷酸化的酶的激活或抑制的磷酸化位点。

[0278] 酪氨酸-蛋白激酶Fyn-与病例1的非肿瘤组织相比,含酪氨酸-蛋白激酶Fyn的磷酸-S21的肽的相对丰度在肿瘤组织中升高超过2倍(表4)。Fyn在丝氨酸21处的磷酸化被报道激活Fyn激酶[36]。因此,这表明与病例1的非肿瘤组织相比,Fyn在肿瘤组织中更有活性。有趣的是,在全部12个病例中检测到Fyn的磷酸-丝氨酸21,但是仅在病例1中,发明人观察到这种与非肿瘤相比肿瘤中的较高水平。相反,病例7的肿瘤组织显示与非肿瘤组织相比,

这种磷酸肽的低2倍的丰度。由于Fyn是批准的激酶抑制剂达沙替尼的靶标,这种新的数据表明使用本文所述的工作流方法测量含磷酸-S21的肽可能是达沙替尼的有吸引力的预测标志物。

[0279] 促分裂原-激活的蛋白激酶1(MAPK1)-与病例5、8和10的非肿瘤组织相比,含MAPK1的磷酸-T185和磷酸-Y187的肽的相对丰度在肿瘤组织中升高超过2倍(表4)。MAPK1在T185和/或Y187处的磷酸化被报道激活MAPK1[37]。因此,这表明与病例5、8和10的非肿瘤组织相比,MAPK1在肿瘤组织中更有活性。相反,病例4和11的肿瘤组织显示与非肿瘤组织相比,这种含磷酸-T185和磷酸-Y187的磷酸肽减少超过2倍。MAPK1是抗癌药物靶标(AEZS-131和SCH772984)并且也是许多其他抗癌药物靶标(抗-HER TKI,抗-MEK KI)的下游,因此这种新的数据表明使用我们的工作流测量含磷酸-T185和磷酸-Y187的肽可以是这些靶向抗癌疗法的预测性标志物。发明人也已测量了含磷酸-T185或磷酸-Y187的单一磷酸化的肽,以及含磷酸-T202和磷酸-Y204的MAPK2双重和单一磷酸化的肽。本文所述的工作流方法可易于确定MAPK2是否在T202和/或Y204上磷酸化和/或MAPK1是否在T185和/或Y187上磷酸化,产生关键的信号转导通路激活状态信息。

[0280] RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶(AKT1)-与病例4、7、10和13的非肿瘤组织相比,含磷酸-S124的单一磷酸化的肽以及含AKT1的磷酸-S124和磷酸-S129的双重磷酸化的肽的相对丰度在肿瘤组织中升高超过2倍(表4)。AKT1在S124和/或S129处的磷酸化被报道激活AKT1[38,39]。这表明与病例4、7、10和13的非肿瘤组织相比,AKT1在肿瘤组织中更有活性。因此,抗-AKT激酶抑制剂可在这些患者中有效。有趣的是,病例10也证明升高的MAPK1活性,表明该患者可能是AKT1和MAPK1双抑制剂治疗的候选物,因为这种组合策略在胰腺癌细胞系和异种移植模型中有证明的功效[12]。相反,含有这些激活剂磷酸化位点的磷酸肽的较低丰度表明与病例1、6、8、9、11和14的非肿瘤组织相比,AKT1在肿瘤组织中活性较低。AKT1是抗癌药物靶标,因此,发明人的数据表明使用本文所述的工作流方法测量含磷酸-S124和磷酸-S129的肽可能是这些靶向抗癌疗法的有吸引力的预测性标志物。

[0281] 糖原合成酶激酶-3 α -与病例1、6、13和14的非肿瘤组织相比,含糖原合成酶激酶-3 α 磷酸化位点Y279的肽在肿瘤组织中增加超过2倍(表15)。Y279的磷酸化导致GSK3 α 的激活,其然后诱导细胞存活并减少糖原产生[40]。在12个病例中的8个中测得GSK3 α 表达并且显示平均在肿瘤中显著过表达。

[0282] 使用测量含有激活剂或抑制剂磷酸化位点的磷酸肽的相对丰度的方法,发明人能够确定糖原合成酶激酶-3 α 和 β 、组蛋白去乙酰化酶1和2、RAF原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶、丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶A-Raf、双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶激酶6、促分裂原-激活的蛋白激酶14和超过20种其他酶的相对激活状态(表4和表15)。

[0283] 值得注意的是,最显著富集的信号转导通路主要属于细胞骨架动态和细胞粘附,通常在细胞运动和转移扩散期间不受调节的通路,突出了这些蛋白质在高度转移性疾病,如胰腺癌中的重要性并且证明发明人方法的有效性。在该实验中也观察到与所述的KEGG信号转导通路无关的许多其他有趣的分子事件,包括在所有肿瘤组织中诱导微管相关蛋白 τ 的磷酸化位点的一致且显著的减少(数据未显示),与其相反的情况已知导致阿尔茨海默病相关的病变。同时,激活剂磷酸化位点,酪蛋白激酶I同种型 ϵ 上的S389平均在肿瘤组织上显著升高。

[0284] 最后,发明人提供了证明它们的LC-MS workflow如何能够同时测量肿瘤组织中1000种信号转导和结构蛋白质相对于非肿瘤组织的丰度和活性,并且显示如何能够使用这类测量来更好地理解导致癌症的分子事件并因此使用最合适的抑制剂在具体病例的基础上治疗患者。关键地,发明人已经证明使用磷酸肽 $\log_2$ T/NT比率的分级聚类可鉴定出与在16.5个月的中值跟踪时间处显示复发的那些患者相比在相同的时间点处更可能显示出胰腺癌复发的那些患者。

[0285] 参考文献

[0286] [1]Smart JE,Oppermann H,Czernilofsky AP等,Characterization of sites for tyrosine phosphorylation in the transforming protein of Rous sarcoma virus(pp60v-src)and its normal cellular homologue(pp60c-src)(劳氏肉瘤病毒(pp60v-src)及其正常细胞同源物(pp60c-src)的转化蛋白中酪氨酸磷酸化的位点的表征).Proc.Natl.Acad.Sci.1981;78:6013-7.

[0287] [2]Langer T,Vogtherr M,Elshorst B等,NMR backbone assignment of a protein kinase catalytic domain by a combination of several approaches: application to the catalytic subunit of cAMP-dependent protein kinase(通过集中方法的组合对蛋白激酶催化结构域进行NMR主链分配:对cAMP-依赖性蛋白激酶的催化亚基的应用).Chembiochem.2004;5:1508-16.

[0288] [3]Chen PL,Scully P,Shew JY等,Phosphorylation of the retinoblastoma gene product is modulated during the cell cycle and cellular differentiation (在细胞循环和细胞分化期间调节成视网膜细胞基因产物的磷酸化).Cell.1989;58:1193-8.

[0289] [4]Bononi A,Agnoletto C,De Marchi E等,Protein kinases and phosphatases in the control of cell fate(细胞命运控制中的蛋白激酶和磷酸酶).Enzyme Res.2011;2011:3290.

[0290] [5]Bond-Smith G,Banga N,Hammond TM等,Pancreatic adenocarcinoma(胰腺癌).BMJ.2012;344:e2476.

[0291] [6]Michl P,Gress TM.Current concepts and novel targets in advanced pancreatic cancer(晚期胰腺癌中的现有概念和新靶标).Gut.2013;62:317-26.

[0292] [7]Llovet JM,Ricci S,Mazzaferro V等,SHARP研究人员研究组.Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma(索拉非尼在晚期肝细胞癌).N Engl J Med.2008;359:378-90.

[0293] [8]Engholm-Keller K,Larsen MR.Technologies and challenges in large-scale phosphoproteomics(大规模磷酸蛋白组学中的技术和挑战).Proteomics.2013;13:910-31.

[0294] [9]Mann M,Kulak NA,Nagaraj N等,The coming age of complete,accurate, and ubiquitous proteomes(即将到来的完全、准确和普遍蛋白组学时代).Mol Cell.2013;49:583-90.

[0295] [10]McAlister GC,Huttlin EL,Haas W等,Increasing the multiplexing capacity of TMTs using reporter ion isotopologues with isobaric masses(使用带

同重元素的报告离子同位素增加TMT的多重化容量).Anal Chem.2012;84:7469-78.

[0296] [11]Werner T,Becher I,Sweetman G等,High-resolution enabled TMT 8-plexing(高分辨率能够进行TMT 8-重化).Anal Chem.2012;84:7188-94.

[0297] [12]Craig D.Logsdon和Marina Pasca di Magliano,Roles for KRAS in Pancreatic Tumor Development and Progression(KRAS在胰腺肿瘤发展和进展中的作用),GASTROENTEROLOGY.2013;144:1220-1229.

[0298] [13]Yang W,Xia Y,Hawke D等,PKM2 phosphorylates histone H3 and promotes gene transcription and tumorigenesis(PKM2磷酸化组蛋白H3并且促进基因转录和肿瘤发生).Cell.2012;150:685-96.

[0299] [14]Christofk HR,Vander Heiden MG,Harris MH等,The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth(丙酮酸激酶的M2剪接同种型对于癌症转移和肿瘤生长是重要的).Nature.2008;452:230-3.

[0300] [15]Kondo S,Lu Y,Debbas M,Lin AW等,Characterization of cells and gene-targeted mice deficient for the p53-binding kinase homeodomain-interacting protein kinase 1(HIPK1)(靶向p53-结合激酶同源域-相互作用蛋白激酶1(HIPK1)缺陷型基因小鼠的基因和细胞的表征).Proc Natl Acad Sci U S A.2003;100:5431-6.

[0301] [16]Lee D,Park SJ,Sung KS等,Mdm2 associates with Ras effector NRE1 to induce the degradation of oncoprotein HIPK1(Mdm2与RAS效应物NRE1结合以诱导肿瘤性蛋白HIPK1的降解).EMBO Rep.2012;13:163-9.

[0302] [17]Zhao L,Wang H,Liu C等,Promotion of colorectal cancer growth and metastasis by the LIM and SH3 domain protein 1(通过LIM和SH3结构域蛋白质1促进结直肠癌生长和转移).Gut.2010;59:1226-35.

[0303] [18]Grunewald TG,Kammerer U,Winkler C等,Overexpression of LASP-1 mediates migration and proliferation of human ovarian cancer cells and influences zyxin localisation(LASP-1的过表达介导人卵巢癌细胞的迁移和增值并且影响斑联蛋白定位).Br J Cancer.2007;96:296-305.

[0304] [19]Zhang Y,Ye Y,Shen D等,Identification of transgelin-2 as a biomarker of colorectal cancer by laser capture microdissection and quantitative proteome analysis(通过激光捕获显微解剖和定量蛋白组分析鉴定转凝蛋白-2为结直肠癌的生物标志物).Cancer Sci.2010;101:523-9.

[0305] [20]Morohashi Y,Balklava Z,Ball M等,Phosphorylation and membrane dissociation of the ARF exchange factor GBF1 in mitosis(有丝分裂中ARF交换因子GBF1的磷酸化和膜解离).Biochem J.2010;427:401-12.

[0306] [21]Miyasaka KY,Kida YS,Sato T等,Csrp 1 regulates dynamic cell movements of the mesendoderm and cardiac mesoderm through interactions with Dishevelled and Diversin(Csrp1通过与蓬乱蛋白和Diversin的相互作用调节中内胚层和心脏中胚层的动态细胞移动).Proc Natl Acad Sci U S A.2007;104:11274-9.

[0307] [22]Hirasawa Y,Arai M,Imazeki F等,Methylation status of genes

upregulated by demethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine in hepatocellular carcinoma(在肝细胞癌中由去甲基化试剂5-氮杂-2'-脱氧胞苷上调的基因的甲基化状态).Oncology.2006;71:77-85.

[0308] [23]Goicoechea SM,Bednarski B,García-Mata R等,Palladin contributes to invasive motility in human breast cancer cells(Palladin导致人乳腺癌细胞中的侵入性运动).Oncogene.2009;28:587-98.

[0309] [24]Weitzdoerfer R,Fountoulakis M,Lubec G.Aberrant expression of dihydropyrimidinase related proteins-2,-3and-4in fetal Down syndrome brain(二氢嘧啶酶相关的蛋白-2、-3和-4在胎儿唐氏综合征脑部中的异常表达).J Neural Transm Suppl.2001;61:95-107.

[0310] [25]Jung CR,Lim JH,Choi Y等,Enigma negatively regulates p53 through MDM2 and promotes tumor cell survival in mice(Enigma通过MDM2负调节p53并且促进小鼠中的肿瘤细胞存活).J Clin Invest.2010;120:4493-506.

[0311] [26]Haynes J,Srivastava J,Madson N等,Dynamic actin remodeling during epithelial-mesenchymal transition depends on increased moesin expression(上皮-间充质转化期间的动态肌动蛋白重塑依赖于增加的膜突蛋白表达).Mol Biol Cell.2011;22:4750-64.

[0312] [27]Yonezawa S,Higashi M,Yamada N等,Mucins in human neoplasms: clinical pathology, gene expression and diagnostic application(人类肿瘤中的粘蛋白:临床病变、基因表达和诊断应用).Pathol Int.2011;61:697-716.

[0313] [28]Wei X,Xu H,Kufe D.Human mucin 1 oncoprotein represses transcription of the p53 tumor suppressor gene(人粘蛋白1癌症蛋白质抑制p53肿瘤抑制基因的转录).Cancer Res.2007;67:1853-8.

[0314] [29]Ren J,Li Y,Kufe D.Protein kinase C delta regulates function of the DF3/MUC1 carcinoma antigen in beta-catenin signaling(蛋白激酶C δ 调节 β -联蛋白信号转导中DF3/MUC1癌症抗原的功能).J Biol Chem.2002;277:17616-22.

[0315] [30]Schwappacher R,Rangaswami H,Su-Yuo J等,cGMP-dependent protein kinase I β regulates breast cancer cell migration and invasion via a novel interaction with the actin/myosin-associated protein caldesmon(cGMP-依赖性蛋白激酶I β 通过与肌动蛋白/肌球蛋白结合的蛋白钙调结合蛋白的新相互作用调节乳腺癌细胞迁移和侵入).J Cell Sci.2013.[电子出版先于印刷出版].

[0316] [31]Mayanagi T,Morita T,Hayashi K等,Glucocorticoid receptor-mediated expression of caldesmon regulates cell migration via the reorganization of the actin cytoskeleton(钙调结合蛋白的糖皮质激素受体-介导的表达通过重组肌动蛋白细胞骨架来调节细胞迁移).J Biol Chem.2008;283:31183-96.

[0317] [32]Germain EC,Santos TM,Rabinovitz I.Phosphorylation of a novel site on the β 4 integrin at the trailing edge of migrating cells promotes hemidesmosome disassembly(在迁移的细胞的后边缘处 β 4整联蛋白上的新位点的磷酸化促进了半桥粒拆卸).Mol Biol Cell.2009;20:56-67.

- [0318] [33] Dans M, Gagnoux-Palacios L, Blaikie P等, Tyrosine phosphorylation of the beta 4 integrin cytoplasmic domain mediates Shc signaling to extracellular signal-regulated kinase and antagonizes formation of hemidesmosomes(B4整联蛋白胞质结构域的酪氨酸磷酸化介导了向胞外信号-调节的激酶的Shc信号转导并且拮抗半桥粒的形成). *J Biol Chem*. 2001;276:1494-502.
- [0319] [34] Ji H, Wang J, Nika H等, EGF-induced ERK activation promotes CK2-mediated disassociation of alpha-Catenin from beta-Catenin and transactivation of beta-Catenin(EGF-诱导的ERK激活促进了α联蛋白与β联蛋白的CK2-介导的解离和β联蛋白的反式激活). *Mol Cell*. 2009;36:547-59.
- [0320] [35] Iden S, Misselwitz S, Peddibhotla SS等, aPKC phosphorylates JAM-A at Ser285 to promote cell contact maturation and tight junction formation(aPKC在Ser285处磷酸化JAM-A以促进细胞接触成熟和紧密连接形成). *J Cell Biol*. 2012;196:623-39.
- [0321] [36] Yeo MG, Oh HJ, Cho HS等, Phosphorylation of Ser 21 in Fyn regulates its kinase activity, focal adhesion targeting, and is required for cell migration(Fyn中Ser21的磷酸化调节其激酶活性、焦点粘连靶向, 并且是细胞迁移所需的). *J Cell Physiol*. 2011;226:236-47.
- [0322] [37] Schramek H, Schumacher M, Wilflingseder D等, Differential expression and activation of MAP kinases in dedifferentiated MDCK-focus cells(去分化的MDCK-焦点细胞中MAP激酶的差异表达和激活). *Am J Physiol*. 1997;272:C383-91.
- [0323] [38] Bellacosa A, Chan TO, Ahmed NN等, Akt activation by growth factors is a multiple-step process: the role of the PH domain(在多步骤过程中由生长因子激活Akt: PH结构域的作用). *Oncogene*. 1998;17:313-25.
- [0324] [39] Di Maira G, Salvi M, Arrigoni G等, Protein kinase CK2 phosphorylates and upregulates Akt/PKB(蛋白激酶CK2磷酸化并且上调Akt/PKB). *Cell Death Differ*. 2005;12:668-77.
- [0325] [40] Kotliarova S, Pastorino S, Kovell LC等, Glycogen synthase kinase-3 inhibition induces glioma cell death through c-MYC, nuclear factor-kappaB, and glucose regulation(糖原合成酶激酶-3抑制通过c-MYC、核因子-κB和葡萄糖调节诱导胶质瘤细胞死亡). *Cancer Res* 2008;68:6643-51.
- [0326] [41] Wang H, Chang-Wong T, Tang HY等, Comparison of Extensive Protein Fractionation and Repetitive LC-MS/MS Analyses on Depth of Analysis for Complex Proteomes(广泛蛋白质分离和重复LC-MS/MS分析在复杂蛋白组学分析深度上的比较). *J Proteome Res*. 2010;9:1032-40.

序列表

<110> 电泳有限公司 (Electrophoretics Limited)

<120> 胰腺癌相关材料和方法

<130> JEC/BP6996037

<150> GB1314485.2

<151> 2013-08-13

<160> 182

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 1

Leu Asn Gln Pro Gly Thr Pro Thr Arg
1 5

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 2

Leu Asn Gln Pro Gly Thr Pro Thr Arg Thr Ala Val
1 5 10

[0001]

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 3

Thr Leu Arg Leu Asn Gln Pro Gly Thr Pro Thr Arg
1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 4

Asp Gly Ser Leu Asn Gln Ser Ser Gly Tyr Arg
1 5 10

<210> 5

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 5

Leu Thr Glu Glu Arg Asp Gly Ser Leu Asn Gln Ser Ser Gly Tyr Arg
1 5 10 15

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 6

Leu Ile Glu Asp Asn Glu Tyr Thr Ala Arg
1 5 10

<210> 7
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 7

Leu Phe Gly Gly Phe Asn Ser Ser Asp Thr Val Thr Ser Pro Gln Arg
1 5 10 15

<210> 8
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 8

Gly Ala Gln Ala Ser Ser Gly Ser Pro Ala Leu Pro Arg
1 5 10

<210> 9
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 9

Ser Thr Ser Thr Pro Asn Val His Met Val Ser Thr Thr Leu Pro Val
1 5 10 15

[0002] Asp Ser Arg

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 10

Ser Ala Ser Glu Pro Ser Leu His Arg
1 5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 11

Ser Ala Ser Glu Pro Ser Leu Asn Arg
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 12

Ile Ser Ile Cys Ser Ser Asp Lys Arg
1 5

<210> 13

<211> 19
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 13

Ile Ala Cys Glu Glu Glu Phe Ser Asp Ser Glu Glu Glu Gly Glu Gly
1 5 10 15

Gly Arg Lys

<210> 14
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 14

Ile Ala Cys Asp Glu Glu Phe Ser Asp Ser Glu Asp Glu Gly Glu Gly
1 5 10 15

Gly Arg Arg

<210> 15
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 15

His Ile Glu Asp Thr Gly Ser Thr Pro Ser Ile Gly Glu Asn Asp Leu
1 5 10 15

[0003]

Lys

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 16

Ser Val Ser Ser Tyr Gly Asn Ile Arg
1 5

<210> 17
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 17

Ile Ala Asp Pro Glu His Asp His Thr Gly Phe Leu Thr Glu Tyr Val
1 5 10 15

Ala Thr Arg

<210> 18
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 18

Val Ala Asp Pro Asp His Asp His Thr Gly Phe Leu Thr Glu Tyr Val
1 5 10 15

Ala Thr Arg

<210> 19
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 19

Ser Gly Ser Pro Ser Asp Asn Ser Gly Ala Glu Glu Met Glu Val Ser
1 5 10 15

Leu Ala Lys Pro Lys
20

<210> 20
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 20

Ser Thr Ser Gln Gly Ser Ile Asn Ser Pro Val Tyr Ser Arg
1 5 10

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 21

Gln Gly Met Ser Pro Thr Phe Ser Arg
1 5

<210> 22
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 22

Ser Asn Ser Asp Glu Ser Asn Phe Ser Glu Lys Leu Arg
1 5 10

<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 23

Leu Gly Ser Leu Ser Ala Arg
1 5

<210> 24
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 24

Leu Gly Ser Leu Ser Ala Arg Ser Asp Ser Glu Ala Thr Ile Ser Arg

[0004]

	1	5	10	15
	<210> 25 <211> 9 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 25 Ser Thr Ser Leu Ser Ala Leu Val Arg 1 5			
	<210> 26 <211> 8 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 26 Gln Val Ser Leu Pro Val Thr Lys 1 5			
	<210> 27 <211> 14 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 27 Ala Thr Ser Leu Pro Ser Leu Asp Thr Pro Gly Glu Leu Arg 1 5 10			
[0005]	<210> 28 <211> 9 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 28 Leu Asn Gln Pro Gly Thr Pro Thr Arg 1 5			
	<210> 29 <211> 12 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 29 Leu Asn Gln Pro Gly Thr Pro Thr Arg Thr Ala Val 1 5 10			
	<210> 30 <211> 10 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 30 Ala Ile Ser Ser Ala Asn Leu Leu Val Arg 1 5 10			
	<210> 31 <211> 12 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 31			

Cys Ser Gly Pro Gly Leu Ser Pro Gly Met Val Arg
1 5 10

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 32

Leu Gly Ser Phe Gly Ser Ile Thr Arg
1 5

<210> 33
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 33

Ser Leu Asp Ser Pro Thr Ser Ser Pro Gly Ala Gly Thr Arg
1 5 10

<210> 34
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 34

Ser Ala Pro Pro Ser Pro Pro Pro Gly Thr Arg
1 5 10

[0006]

<210> 35
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 35

Ser Glu Gly Leu Pro Ser Glu Cys Arg Ser Val Thr Asp
1 5 10

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 36

Thr Tyr Ser Leu Thr Thr Pro Ala Arg
1 5

<210> 37
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 37

Arg Gly Ser Leu Pro Ala Glu Ala Ser Cys Thr Thr
1 5 10

<210> 38
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 38

Thr Ser Ser Glu Asp Asn Leu Tyr Leu Ala Val Leu Arg
1 5 10

<210> 39
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 39

Ser Ser Ser Val Gly Ser Ser Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Pro Ala Val
1 5 10 15

Ser Arg

<210> 40
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 40

Ser Leu Ser Pro Ser Ser Asn Ser Ala Phe Ser Arg
1 5 10

<210> 41
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 41

[0007] Gln Ser Ser Ala Thr Ser Ser Phe Gly Gly Leu Gly Gly Gly Ser Val
1 5 10 15

Arg

<210> 42
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 42

Gln Arg Ser Ala Pro Asp Leu Lys Glu Ser Gly Ala Ala Val
1 5 10

<210> 43
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 43

Asn Leu Ala Leu Ser Arg Glu Ser Leu Val Val
1 5 10

<210> 44
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 44

Val Leu Thr Ala Lys Ala Ser Thr Asp Leu

1	5	10
<210> 45 <211> 6 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 45 Ala Leu Ser Leu Thr Arg 1 5		
<210> 46 <211> 10 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 46 Phe Gly Thr Phe Gly Gly Leu Gly Ser Lys 1 5 10		
<210> 47 <211> 20 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 47 Ile Ala Ser Asp Glu Glu Ile Gln Gly Thr Lys Asp Ala Val Ile Gln 1 5 10 15		
[0008] Asp Leu Glu Arg 20		
<210> 48 <211> 18 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 48 Ser Ser Ser Val Gly Ser Ser Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Pro Ala Val 1 5 10 15		
Ser Arg		
<210> 49 <211> 12 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 49 Thr Ser Ser Glu Pro Glu Phe Asn Ser Leu Pro Arg 1 5 10		
<210> 50 <211> 14 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 50 Ser Gly Ala Glu Ala Ser Ser Thr Pro Leu Ser Pro Thr Arg 1 5 10		

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 51

Leu Ser Pro Ser Pro Thr Ser Gln Arg
1 5

<210> 52
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 52

Ser Val Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Phe Gly Asp Asn Leu Val Thr
1 5 10 15

Arg

<210> 53
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 53

Val Ser Pro Ala Thr Pro Gly Pro Ala Leu Ser Asp Ile Leu Arg
1 5 10 15

[0009]

<210> 54
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 54

Ser Met Ser Leu Thr Leu Gly Lys
1 5

<210> 55
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 55

Thr Ala Ser Gly Ser Ser Val Thr Ser Leu Asp Gly Thr Arg
1 5 10

<210> 56
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 56

Ala Glu Gly Val Ser Thr Pro Leu Ala Gly Arg
1 5 10

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 57

Thr Tyr Ser Asp Glu Ala Asn Gln Met Arg
1 5 10

<210> 58

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 58

Ser Pro Ser Phe Gly Ala Gly Glu Gly Leu Leu Arg
1 5 10

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 59

Ile Leu Ser Gln Ser Thr Asp Ser Leu Asn Met Arg
1 5 10

<210> 60

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 60

Asn Leu Ser Leu Val Arg
1 5

[0010]

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 61

Ser Met Ser Ala Ser Ser Gly Leu Ser Ala Arg
1 5 10

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 62

Ala Gln Ile Ser Ser Pro Asn Leu Arg
1 5

<210> 63

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 63

Ser Leu Ser Val Leu Ser Pro Arg
1 5

<210> 64

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 64

Ser Gly Ser Leu Gly Gln Pro Ser Pro Ser Ala Gln Arg
1 5 10

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 65

Ile Asp Ile Ser Pro Ser Thr Phe Arg
1 5

<210> 66

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 66

Ser Gly Glu Gly Glu Val Ser Gly Leu Met Arg
1 5 10

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 67

Cys Val Ser Ala Leu Gly Arg
1 5

[0011]

<210> 68

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 68

Leu Arg Asn Ser Leu Asp Ser Ser Asp Ser Asp Ser Ala Leu
1 5 10

<210> 69

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 69

Ala Leu Ser Ser Asp Ser Ile Leu Ser Pro Ala Pro Asp Ala Arg
1 5 10 15

<210> 70

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 70

Ser Leu Tyr Ala Ser Ser Pro Gly Gly Val Tyr Ala Thr Arg
1 5 10

<210> 71

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 71
Ser Ser Val Pro Gly Val Arg
1 5

<210> 72
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 72
Met Tyr Pro Glu Ser Thr Thr Gly Ser Pro Ala Arg
1 5 10

<210> 73
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 73
Asp Glu Ile Leu Pro Thr Thr Pro Ile Ser Glu Gln Lys
1 5 10

<210> 74
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 74
[0012] Arg Leu Ser Ser Leu Arg Ala Ser Thr Ser Lys
1 5 10

<210> 75
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 75
Ser Arg Ser Pro Gly Ser Pro Val Gly Glu Gly Thr Gly Ser Pro Pro
1 5 10 15
Lys

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 76
His Gln Ala Ser Ile Asn Glu Leu Lys
1 5

<210> 77
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 77
Gly Gly Phe Ser Glu Thr Arg Ile Glu Lys
1 5 10

[0013]

<210> 78
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 78

Ala Glu Glu Asp Glu Ile Leu Asn Arg Ser Pro Arg
1 5 10

<210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 79

Gly Ser Leu Ala Ser Leu Asp Ser Leu Arg Lys
1 5 10

<210> 80
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 80

Asp Gln Thr Ala Ser Ala Pro Ala Thr Pro Leu Val Asn Lys
1 5 10

<210> 81
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 81

Ser Met Ser Phe Gln Gly Ile Arg
1 5

<210> 82
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 82

Gly Leu Pro Ser Pro Tyr Asn Met Ser Ser Ala Pro Gly Ser Arg
1 5 10 15

<210> 83
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 83

Ser Arg Ser Pro Leu Glu Leu Glu Pro Glu Ala Lys
1 5 10

<210> 84
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 84

Gly Arg Ser Gly Ser Ala Ala Gln Ala Glu Gly Leu Cys Lys

	1	5	10
	<210> 85 <211> 16 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 85 Ser Thr Val Gly Ser Ser Asp Asn Ser Ser Pro Gln Pro Leu Lys Arg 1 5 10 15		
	<210> 86 <211> 10 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 86 Ile Pro Ser Thr Pro Lys Leu Ile Pro Lys 1 5 10		
	<210> 87 <211> 7 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 87 Ser Leu Ala Asp Ile Gly Lys 1 5		
[0014]	<210> 88 <211> 11 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 88 Ser Asn Leu Arg Ser Leu Ala Asp Ile Gly Lys 1 5 10		
	<210> 89 <211> 14 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 89 Ser Leu Ala Asp Ile Gly Lys Thr Val Ser Ser Ala Ser Arg 1 5 10		
	<210> 90 <211> 10 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 90 Ala Gly Glu Thr Arg Phe Thr Asp Thr Arg 1 5 10		
	<210> 91 <211> 9 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 91		

Ser Phe Ser Lys Glu Val Glu Glu Arg
1 5

<210> 92
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 92

Asn Lys Pro Gly Pro Asn Ile Glu Ser Gly Asn Glu Asp Asp Asp Ala
1 5 10 15

Ser Phe Lys

<210> 93
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 93

Leu Gly Ala Pro Glu Asn Ser Gly Ile Ser Thr Leu Glu Arg
1 5 10

<210> 94
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 94

[0015] Ala Ser His Ser Ala Val Asp Ile Thr Lys
1 5 10

<210> 95
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 95

Phe Leu Gln Pro Gly Ser Pro Arg
1 5

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 96

Ser Ile Gln Pro Gln Val Ser Pro Arg
1 5

<210> 97
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 97

Leu Val Gly Ile Ile Ser Ser Arg
1 5

<210> 98
<211> 13

<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 98

Asp Val Asp Ser Arg Pro Glu Ile Gln Arg Leu Asp Thr
1 5 10

<210> 99
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 99

Ser Phe Thr Ser Ser Ser Pro Ser Ser Pro Ser Arg
1 5 10

<210> 100
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 100

Ala Gln Tyr Glu Asp Ile Ala Asn Arg Ser Arg
1 5 10

<210> 101
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 101

[0016]

Gln His Tyr Gln Lys Glu Thr Glu Ser Ala Pro Gly Ser Pro Arg
1 5 10 15

<210> 102
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 102

Val Asp His Gly Ala Glu Ile Ile Thr Gln Ser Pro Gly Arg
1 5 10

<210> 103
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 103

Leu Arg Ala Glu Ser Pro Ser Pro Pro Arg
1 5 10

<210> 104
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 104

Ala Ala Pro Glu Ala Ser Ser Pro Pro Ala Ser Pro Leu Gln His Leu
1 5 10 15

Leu Pro Gly Lys

20

<210> 105
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 105

Ala Ile Thr Ser Leu Leu Gly Gly Gly Ser Pro Lys
1 5 10

<210> 106
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 106

Leu Glu Leu Gln Gly Pro Arg Gly Ser Pro Asn Ala Arg
1 5 10

<210> 107
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 107

Gly Cys Asn Glu Ser Phe Arg Ala Ala Ile Asp Lys
1 5 10

[0017]

<210> 108
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 108

Ser Met Gly Asn Leu Leu Glu Lys
1 5

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 109

Ser Arg Ser Met Leu Glu Val Pro Arg
1 5

<210> 110
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 110

Ser Val Asp Ile Ser Leu Gly Asp Ser Pro Arg
1 5 10

<210> 111
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 111

Arg Phe Val Ser Glu Gly Asp Gly Gly Arg
1 5 10

<210> 112
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 112

Leu Met Ser Met Glu Met Asp
1 5

<210> 113
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 113

Asn Val Phe Thr Ser Ala Glu Glu Leu Glu Arg
1 5 10

<210> 114
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 114

Ala Cys Ser Met Pro Gln Glu Leu Pro Gln Ser Pro Arg
1 5 10

[0018]

<210> 115
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 115

Thr Ala Ser Leu Thr Ser Ala Ala Ser Val Asp Gly Asn Arg
1 5 10

<210> 116
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 116

Gln Pro Gly Leu Arg Gln Pro Ser Pro Ser His Asp Gly Ser Leu Ser
1 5 10 15

Pro Leu Gln Asp Arg
20

<210> 117
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 117

Arg Asp Ser Leu Thr Gly Ser Ser Asp Leu Tyr Lys
1 5 10

<210> 118
<211> 9

[0019]

<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 118

Tyr Gly Met Gly Thr Ser Val Glu Arg
1 5

<210> 119
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 119

Ala Pro Ser Pro Ala Pro Arg Pro Val Pro Gly Ser Pro Ala Arg
1 5 10 15

<210> 120
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 120

Thr His Thr Thr Ala Leu Ala Gly Arg Ser Pro Ser Pro Ala Ser Gly
1 5 10 15

Arg

<210> 121
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 121

Gln Gln Phe Tyr His Ser Val Gln Asp Leu Ser Gly Gly Ser Arg
1 5 10 15

<210> 122
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 122

Gly Pro Pro Ser Pro Pro Ala Pro Val Met His Ser Pro Ser Arg Lys
1 5 10 15

<210> 123
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 123

Val Gln Ser Ser Pro Asn Leu Leu Ala Ala Gly Arg
1 5 10

<210> 124
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 124

Arg Val Gln Ser Ser Pro Asn Leu Leu Ala Ala Gly Arg

	1	5	10
	<210> 125 <211> 12 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 125 Ser Phe Thr Ser Ser Ser Pro Ser Ser Pro Ser Arg 1 5 10		
	<210> 126 <211> 9 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 126 Leu Gly Ser Val Asp Ser Phe Glu Arg 1 5		
	<210> 127 <211> 14 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 127 Lys Phe Leu Glu Glu Ser Val Ser Met Ser Pro Glu Glu Arg 1 5 10		
[0020]	<210> 128 <211> 12 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 128 Arg Ile Pro Tyr Ala Pro Ser Gly Glu Ile Pro Lys 1 5 10		
	<210> 129 <211> 13 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 129 Thr Glu Val Leu Ser Pro Asp Ser Leu Phe Thr Ala Lys 1 5 10		
	<210> 130 <211> 12 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 130 Arg Leu Pro Ser Ser Pro Ala Ser Pro Ser Pro Lys 1 5 10		
	<210> 131 <211> 8 <212> PRT <213> 智人 (Homo sapiens) <400> 131		

Ser Leu Ser Pro Ile Ile Gly Lys
1 5

<210> 132
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 132

Gln Lys Ser Tyr Thr Leu Val Val Ala Lys
1 5 10

<210> 133
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 133

Ser Ser Ser Met Ala Ala Gly Leu Glu Arg
1 5 10

<210> 134
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 134

Ser Arg Thr Ser Val Gln Thr Glu Asp Asp Gln Leu Ile Ala Gly Gln
1 5 10 15

[0021] Ser Ala Arg

<210> 135
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 135

Arg Thr Ser Met Gly Gly Thr Gln Gln Gln Phe Val Glu Gly Val Arg
1 5 10 15

<210> 136
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 136

Ser Asp Phe Gln Val Asn Leu Asn Asn Ala Ser Arg
1 5 10

<210> 137
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 137

Ser Gln Ser Ser His Ser Tyr Asp Asp Ser Thr Leu Pro Leu Ile Asp
1 5 10 15

Arg

<210> 138
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 138

Ser His Ser Glu Ala Ser Leu Ala Gly Pro Gly Pro Val Asp Pro Ser
1 5 10 15

Asn Arg

<210> 139
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 139

Ser Asn Ser Met Leu Glu Leu Ala Pro Lys
1 5 10

<210> 140
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 140

Asp Ala Ser Val Pro Leu Ile Asp Val Thr Asn Leu Pro Thr Pro Arg
1 5 10 15

[0022]

<210> 141
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 141

Ala Phe Gly Pro Gly Leu Gln Gly Gly Ser Ala Gly Ser Pro Ala Arg
1 5 10 15

<210> 142
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 142

Ser Ser Phe Thr Val Asp Cys Ser Lys
1 5

<210> 143
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 143

Leu Gly Ser Phe Gly Ser Ile Thr Arg
1 5

<210> 144
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 144

Gln Leu Val Arg Gly Glu Pro Asn Val Ser Tyr Ile Cys Ser Arg
1 5 10 15

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 145

Val Leu Ser Thr Ser Ser Thr Leu Thr Arg
1 5 10

<210> 146

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 146

Lys Val Ile Tyr Ser Ser Gln Pro Ser Ala Arg
1 5 10

<210> 147

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 147

Ser Arg Ser Thr Thr Glu Leu Asp Asp Tyr Ser Thr Asn Lys
1 5 10

[0023]

<210> 148

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 148

Thr Ser Thr Thr Gly Val Ala Thr Thr Gln Ser Pro Thr Pro Arg
1 5 10 15

<210> 149

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 149

Arg Met Ser Ala Asp Met Ser Glu Ile Glu Ala Arg
1 5 10

<210> 150

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 150

Ala Leu Ser Leu Ala Arg
1 5

<210> 151

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 151

Val Ile Glu Asn Ala Asp Gly Ser Glu Glu Glu Thr Asp Thr Arg
1 5 10 15

<210> 152

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 152

Met Thr Glu Ser Ser Leu Pro Ser Ala Ser Lys
1 5 10

<210> 153

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 153

Ala Leu Ser Leu Thr Arg
1 5

<210> 154

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 154

[0024]

Phe Arg Ile Ser His Glu Leu Asp Ser Ala Ser Ser Glu Val Asn
1 5 10 15

<210> 155

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 155

Ile Ser His Glu Leu Asp Ser Ala Ser Ser Glu Val Asn
1 5 10

<210> 156

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 156

Ala Arg Leu Ser Tyr Ser Asp Lys
1 5

<210> 157

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 157

Ala Lys Thr Gln Thr Pro Pro Val Ser Pro Ala Pro Gln Pro Thr Glu
1 5 10 15

Glu Arg

<210> 158
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 158

Ala Ser Val Pro Thr Ile Gln Asp Gln Ala Ser Ala Met Gln Leu Ser
1 5 10 15

Gln Cys Ala Lys
20

<210> 159
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 159

Cys Val Ser Cys Leu Pro Gly Gln Arg
1 5

<210> 160
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 160

Leu Leu Ser Asp Ser Leu Pro Pro Ser Thr Gly Thr Phe Gln Glu Ala
1 5 10 15

[0025]

Gln Ser Arg

<210> 161
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 161

Gly Leu Ala Gly Ala Val Ser Glu Leu Leu Arg
1 5 10

<210> 162
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 162

Val Val Ala Pro Thr Ile Ser Ser Pro Val Cys Gln Glu Gln Leu Val
1 5 10 15

Glu Ala Gly Arg
20

<210> 163
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 163

Ile Asp Ser Pro Gly Phe Lys Pro Ala Ser Gln Gln Lys
1 5 10

<210> 164
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 164

Asp Leu Ser Gly Leu Asp Ala Glu Thr Leu Leu Lys
1 5 10

<210> 165
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 165

Asp Pro Ser Ala Ser Pro Gly Asp Ala Gly Glu Gln Ala Ile Arg
1 5 10 15

<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 166

Phe Ser Pro Val Thr Pro Lys
1 5

[0026]

<210> 167
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 167

Gln Asn Pro Ser Arg Cys Ser Val Ser Leu Ser Asn Val Glu Ala Arg
1 5 10 15

<210> 168
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 168

Tyr His Gly His Ser Met Ser Asp Pro Gly Val Ser Tyr Arg
1 5 10

<210> 169
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 169

Arg Leu Ser Leu Val Pro Asp Ser Glu Gln Gly Glu Ala Ile Leu Pro
1 5 10 15

Arg

<210> 170
<211> 20

[0027]

<210> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 170
Gly Ser Cys Asn Leu Ser Arg Val Asp Ser Thr Thr Cys Leu Phe Pro
1 5 10 15

Val Glu Glu Lys
20

<210> 171
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 171

Val Asp Ser Thr Thr Cys Leu Phe Pro Val Glu Glu Lys
1 5 10

<210> 172
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 172

Gly Glu Pro Asn Val Ser Tyr Ile Cys Ser Arg
1 5 10

<210> 173
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 173

Thr Thr Ser Phe Ala Glu Ser Cys Lys Pro Val Gln Gln Pro Ser Ala
1 5 10 15

Phe Gly Ser Met Lys
20

<210> 174
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 174

His Thr Asp Asp Glu Met Thr Gly Tyr Val Ala Thr Arg
1 5 10

<210> 175
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 175

Ile Arg Thr Gln Ser Phe Ser Leu Gln Glu Arg
1 5 10

<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 176

Ala Leu Gly Glu Arg Val Ser Ile Leu
1 5

<210> 177

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 177

Ser Ala Ser Ile Thr Asn Leu Ser Leu Asp Arg
1 5 10

<210> 178

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 178

Met Cys Asp Phe Gly Ile Ser Gly Tyr Leu Val Asp Ser Val Ala Lys
1 5 10 15

<210> 179

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 179

[0028]

Gln Ile Ser Phe Lys Ala Glu Val Asn Ser Ser Gly Lys
1 5 10

<210> 180

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 180

Tyr Arg Asp Val Ser Pro Phe Asp His Ser Arg
1 5 10

<210> 181

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 181

Arg Thr Ser Leu Pro Cys Ile Pro Arg
1 5

<210> 182

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 182

Gln Asn Pro Ser Arg Cys Ser Val Ser Leu Ser Asn Val Glu Ala Arg
1 5 10 15

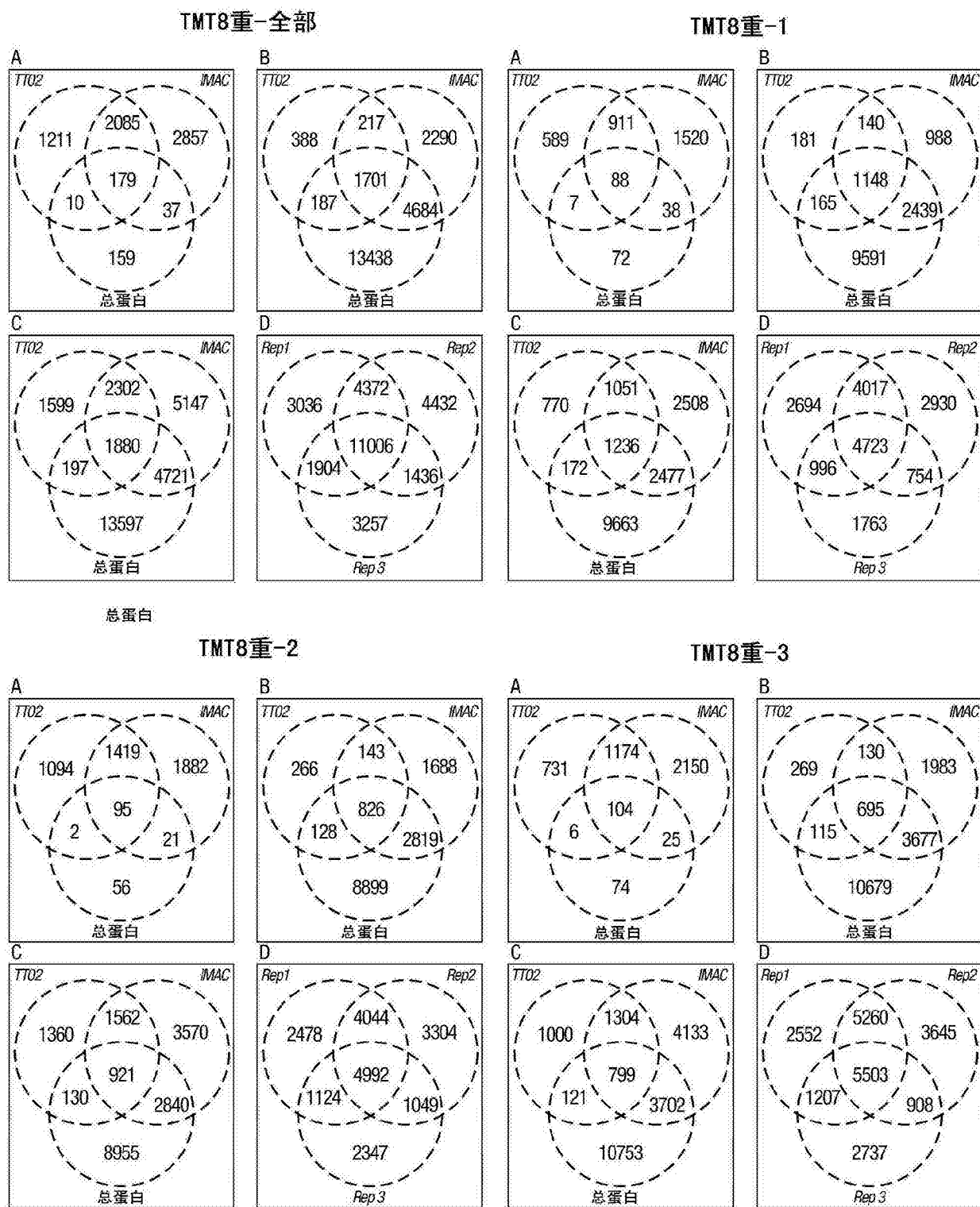


图1

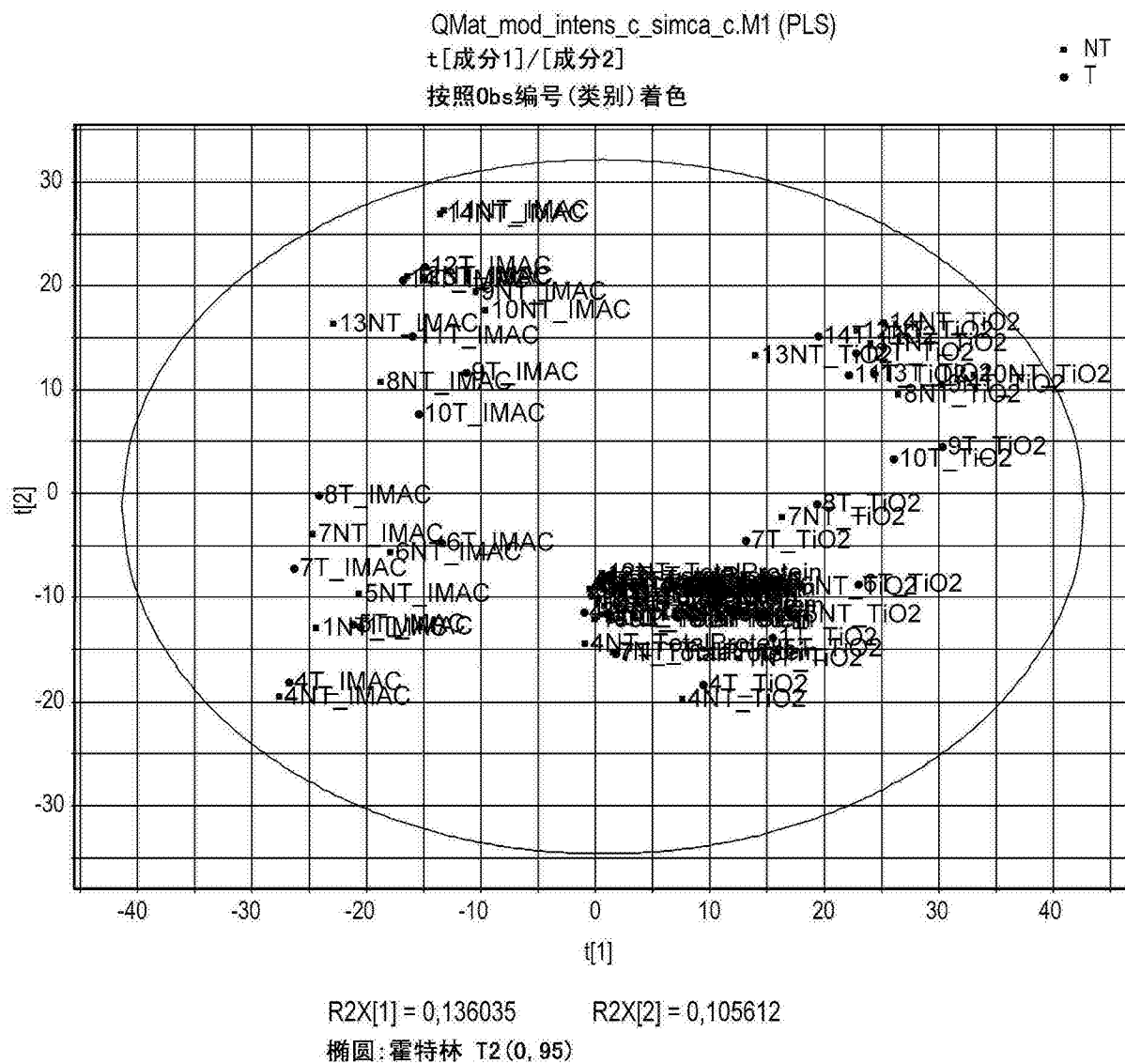


图2a

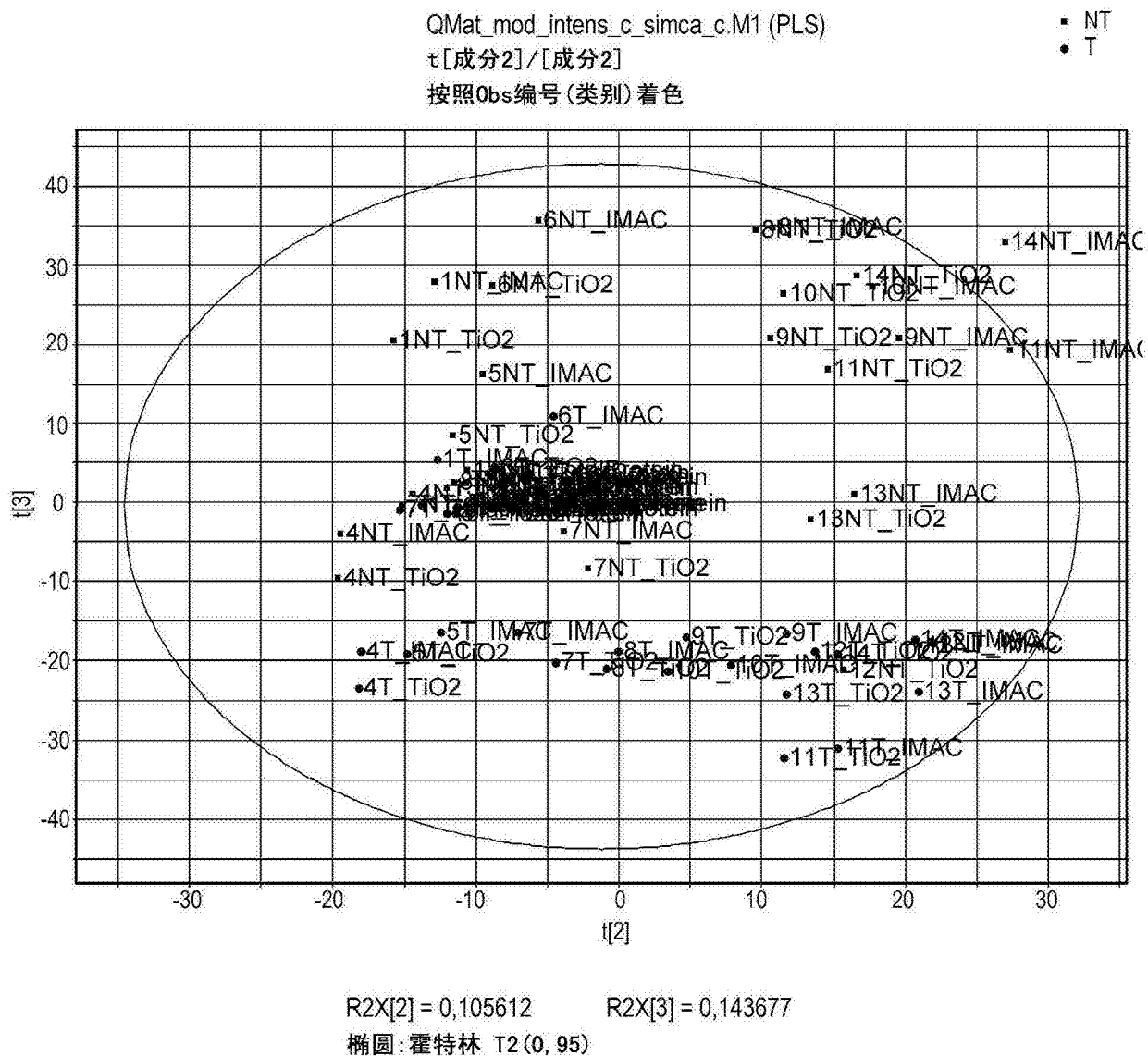
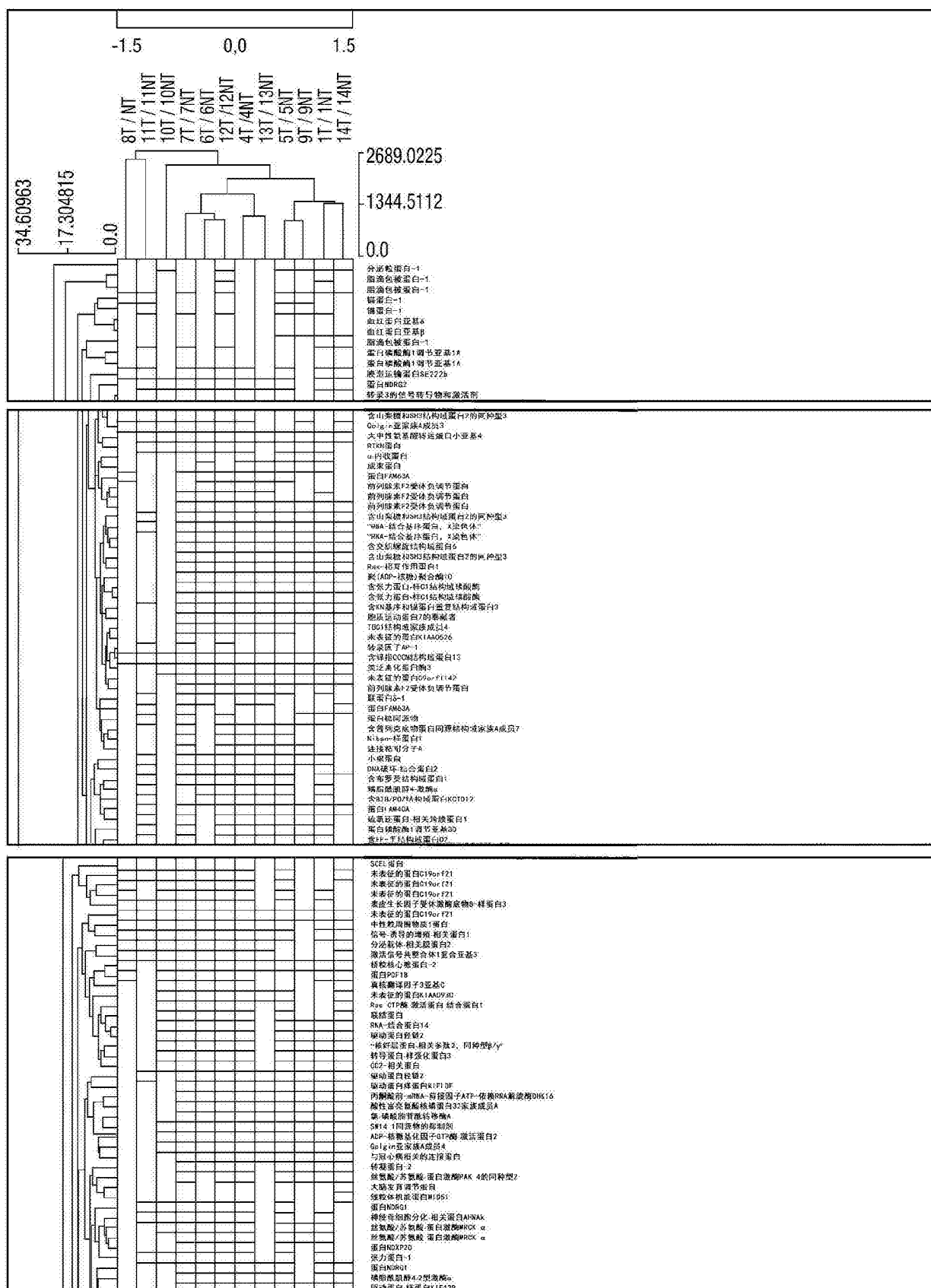
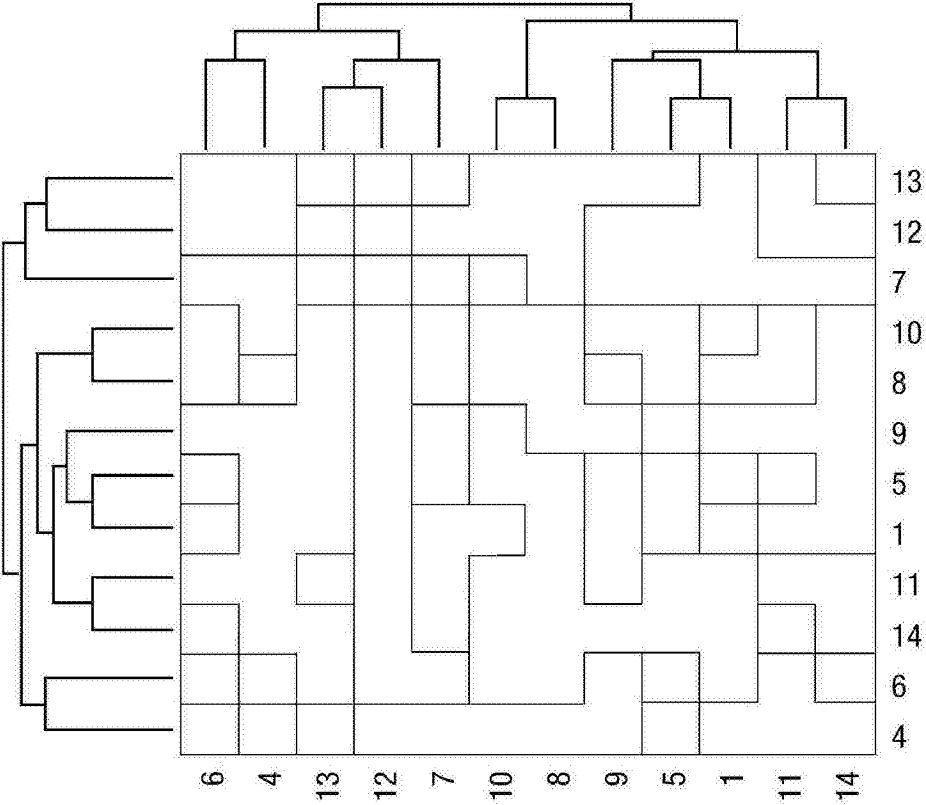


图2b





	病例											
	6	4	13	12	7	10	8	9	5	1	11	14
复发	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
LN转移	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+

图3d

		冰箱中的时间(月)																			
		复发/不复发时间估计(月)																			
		复发																			
		淋巴结转移																			
		肽																			
蛋白质	总磷酸	1T/1NT	5T/5NT	9T/9NT	10T/10 NT	11T/11 NT	14T/14 NT	4T/4NT	6T/6NT	7T/7NT	8T/8NT	12T/12 NT	13T/13 NT								
MEK2	T394	1.79	1.98	1.84	2.09	0.96	2.00	-0.53	1.92	-0.60	-0.05	-0.39	0.16								
MEK2	T394	3.41	2.14	2.12	1.21	4.26	2.39	-0.13	0.22	0.31	-1.14	-0.70	-0.99								
MEK2	T394	NA	NA	0.38	0.67	NA	NA	NA	NA	0.61	1.16	NA	NA								
MEK2	T394	5.20	4.12	4.34	3.97	5.22	4.39	-0.66	2.14	0.32	-0.03	-1.09	-0.83								

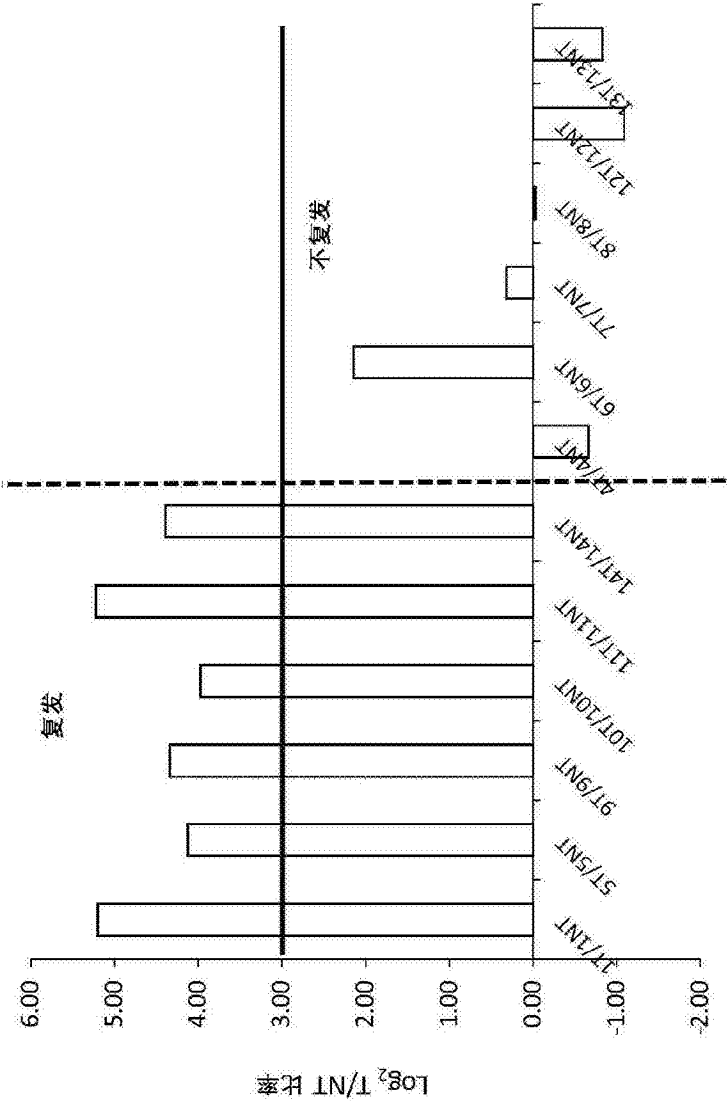


图4

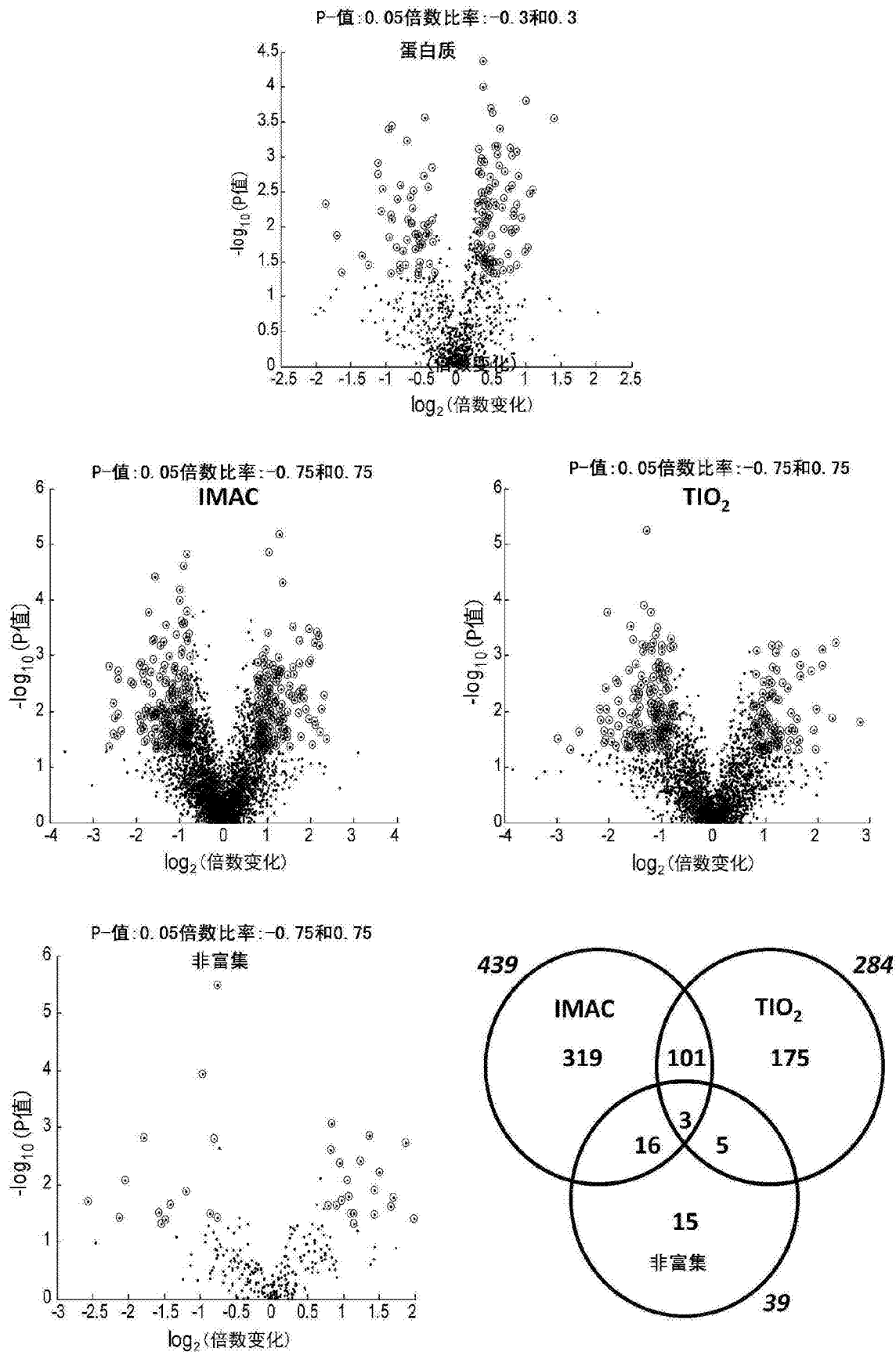


图5

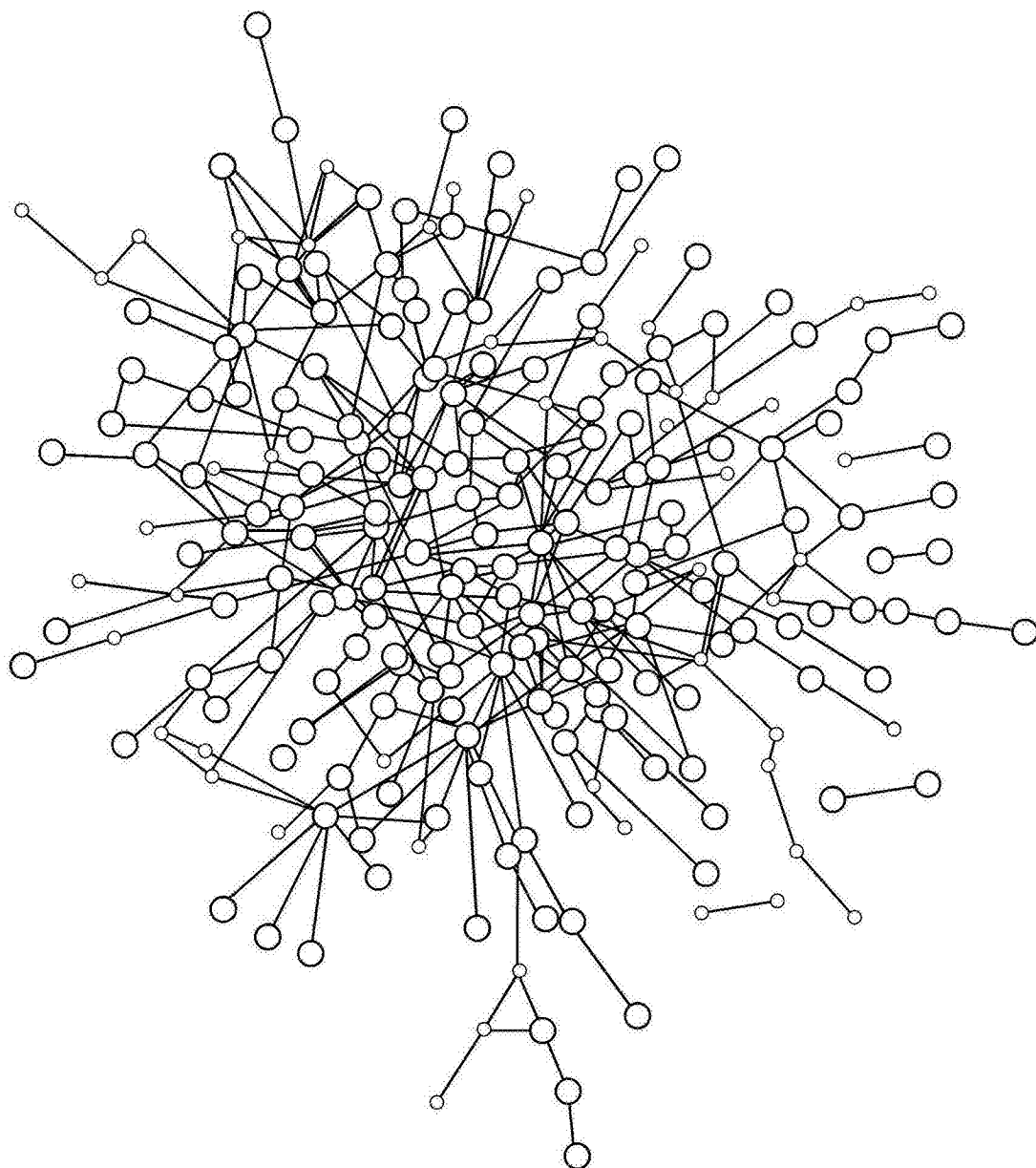
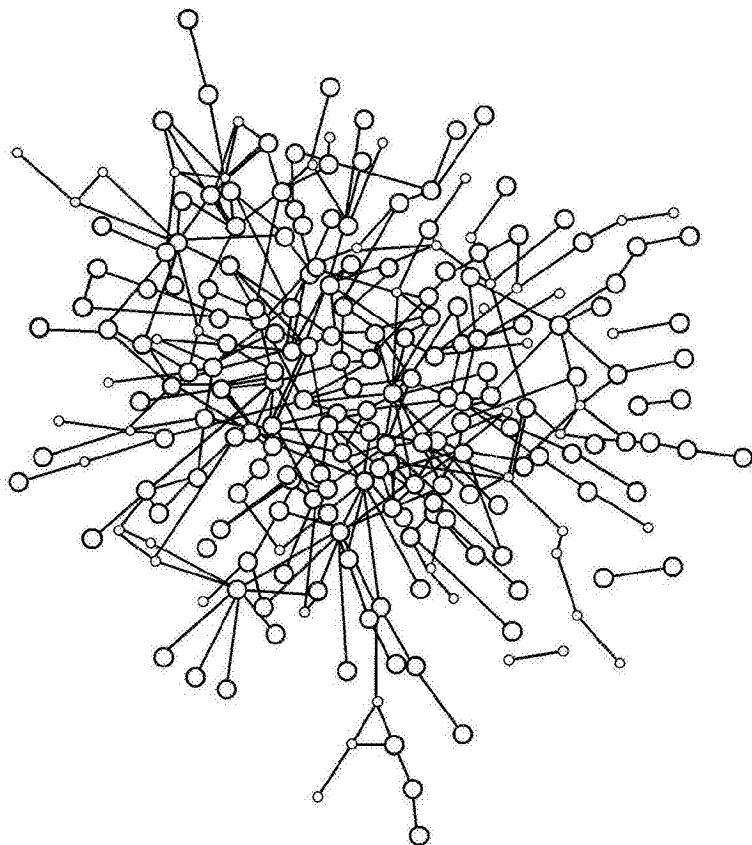
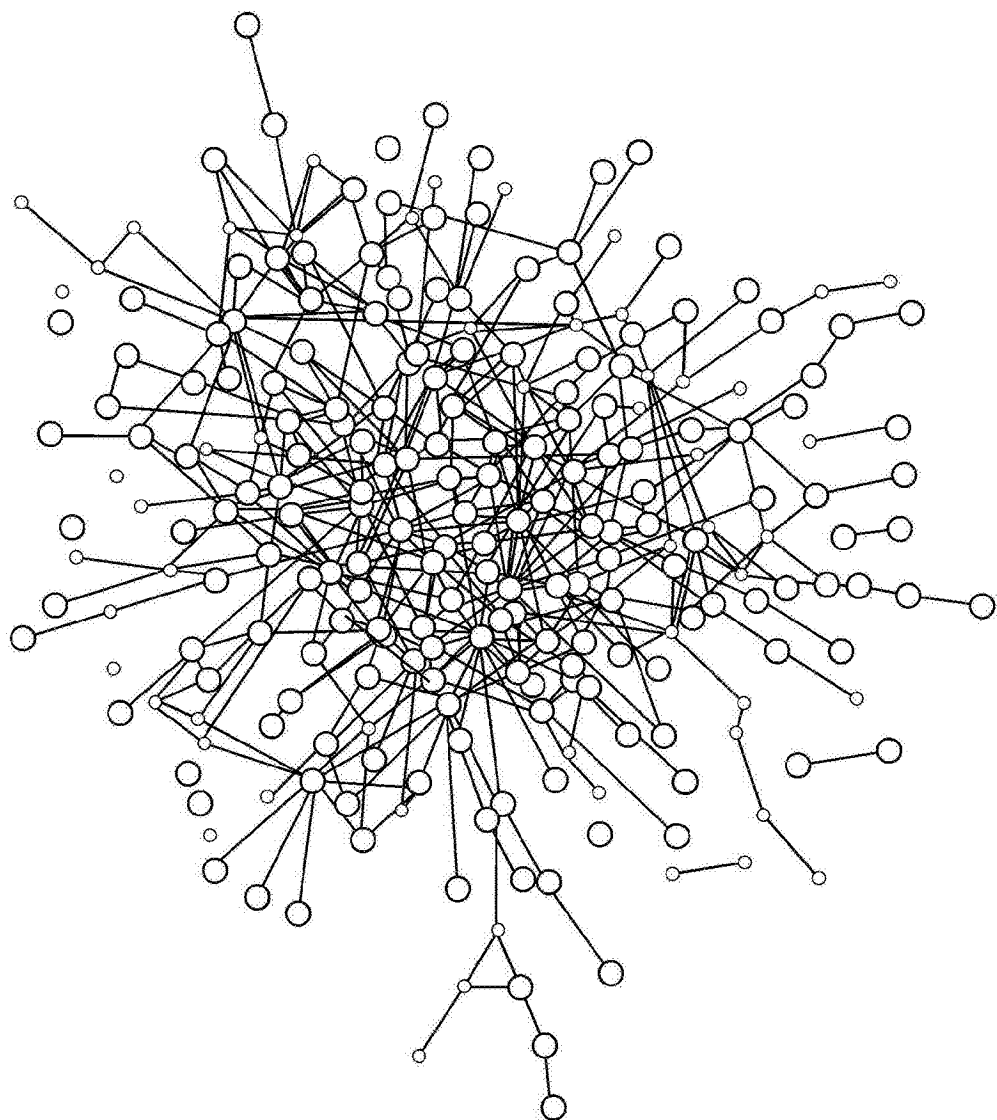


图6a



紧密连接蛋白			IVAC	TIC2	非富集	IVAC	TIC2	非富集
			磷酸肽			磷酸肽		
独特蛋白编号	蛋白质	总	T检验p-值	T检验p-值	T检验p-值	log2 T/NT	log2 T/NT	log2 T/NT
P55196	丝状肌动蛋白结合蛋白抗体	S1721	0.002	0.006	NA	-1.107	-1.538	NA
P55196	丝状肌动蛋白结合蛋白抗体	S1182	0.009	0.033	NA	-0.881	-0.890	NA
P35221	联蛋白 α-1	S431;S435	0.745	0.049	NA	0.205	1.428	NA
Q9P2M7	结肠黏膜扣带蛋白	S149	0.021	0.211	NA	-1.104	-1.281	NA
E9PCJ3	红细胞膜蛋白带4.1-样	S84	0.030	NA	NA	-1.189	NA	NA
Q8NI35	InaD-样蛋白	S645	0.028	NA	NA	-0.932	NA	NA
Q9Y624	连接粘附分子A	S284	0.000	NA	NA	-1.007	NA	NA
P35580	肌球蛋白-10	S1954	0.001	NA	NA	2.098	NA	NA
P35749	肌球蛋白-11	S1954	0.001	NA	NA	2.098	NA	NA
P35749	肌球蛋白-11	S1954	0.020	0.088	NA	0.962	1.687	NA
P35749	肌球蛋白-11	S1954	0.016	0.045	NA	1.247	1.216	NA
P35749	肌球蛋白-11	S1487	0.005	NA	NA	0.870	NA	NA
P35749	肌球蛋白-11	S1487	0.001	NA	NA	2.098	NA	NA
P35749	肌球蛋白-11	S1487	0.020	0.088	NA	0.962	1.687	NA
P35749	肌球蛋白-11	S1487	0.016	0.045	NA	1.247	1.216	NA
P35749	肌球蛋白-11	S1487	0.005	NA	NA	0.870	NA	NA
Q72406	肌球蛋白-14	S1504	0.000	NA	0.083	2.179	NA	1.431
P35579	肌球蛋白-9	S1480	0.001	NA	NA	2.098	NA	NA
Q05655	蛋白激酶C δ型	S645	0.010	NA	NA	-0.769	NA	NA
Q01082	血影蛋白 β 链, 脑部1	S2161	0.364	0.029	NA	-0.821	-1.395	NA
Q01082	血影蛋白 β 链, 脑部1	S2161;S2165;S2169	0.028	NA	NA	-0.938	NA	NA
Q01082	血影蛋白 β 链, 脑部1	S2165;S2169	NA	0.014	NA	NA	-1.985	NA
Q14247	Src底物皮层蛋白	T401;S405	NA	0.019	NA	NA	-0.864	NA
O95049	紧密连接蛋白ZO-3	S605	0.011	NA	NA	0.825	NA	NA

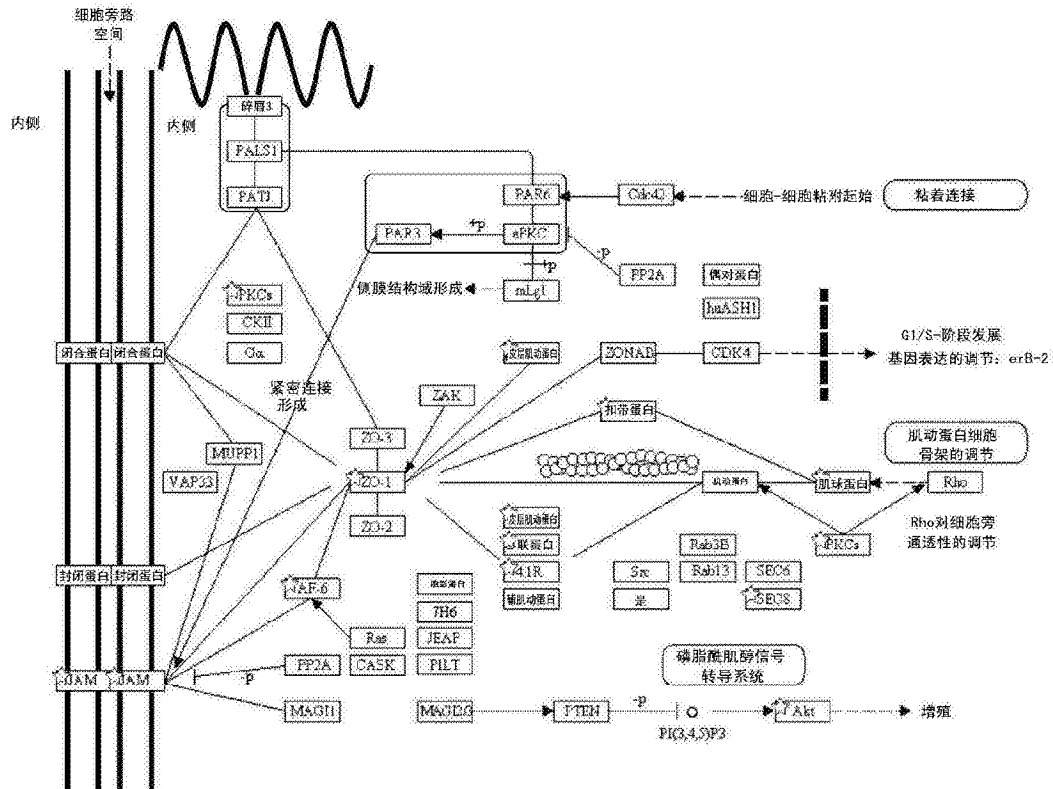
图6b



RAS信号转导蛋白			IMAC	TiO2	非富集	IMAC	TiO2	非富集
			磷酸肽			磷酸肽		
独特蛋白编号	蛋白质	总	T检验p-值	T检验p-值	T检验p-值	log2 T/NT	log2 T/NT	log2 T/NT
Q9P107	GEM-相互作用蛋白C	5437	0.002	0.061	NA	1.460	0.863	NA
Q9P107	GEM-相互作用蛋白C	5437	0.010	0.009	NA	1.471	1.970	NA
Q99569	桥粒斑非素蛋白-4	5461	0.034	NA	NA	0.904	NA	NA
Q14160	蛋白梳同源物	51475	0.009	NA	NA	-1.541	NA	NA
Q14160	蛋白梳同源物	51475	NA	0.046	NA	NA	-1.399	NA
Q14160	蛋白梳同源物	5504	0.000	0.002	NA	-0.940	-1.028	NA
Q14160	蛋白梳同源物	5835	0.037	NA	NA	-0.796	NA	NA
Q5U651	Ras-相互作用蛋白1	5328	0.002	0.045	NA	-0.902	-0.656	NA
Q15085	Rho鸟嘌呤核苷酸交换因子11	5251	0.018	NA	NA	0.808	NA	NA
Q9NZN5	Rho鸟嘌呤核苷酸交换因子12	51327	0.024	NA	NA	-0.893	NA	NA
Q96PE2	Rho鸟嘌呤核苷酸交换因子17	5420	0.006	0.005	NA	1.012	0.665	NA
Q96PE2	Rho鸟嘌呤核苷酸交换因子17	5735	0.002	0.591	NA	1.294	0.052	NA
Q96FS4	信号诱导的增殖相关蛋白1	5908,5912	0.000	0.883	NA	1.033	-0.323	NA
P05412	转录因子AP-1	573	0.001	0.000	0.066	-1.455	-1.584	-0.816

图6c

紧密连接信号转导



紧密连接信号转导

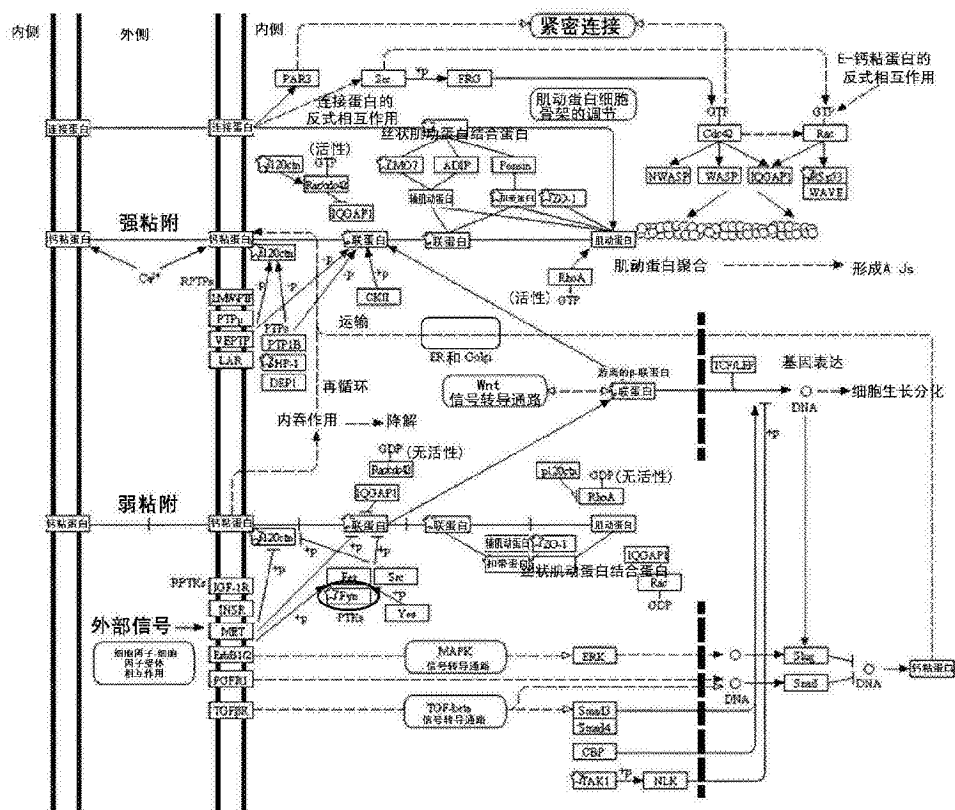


图7b

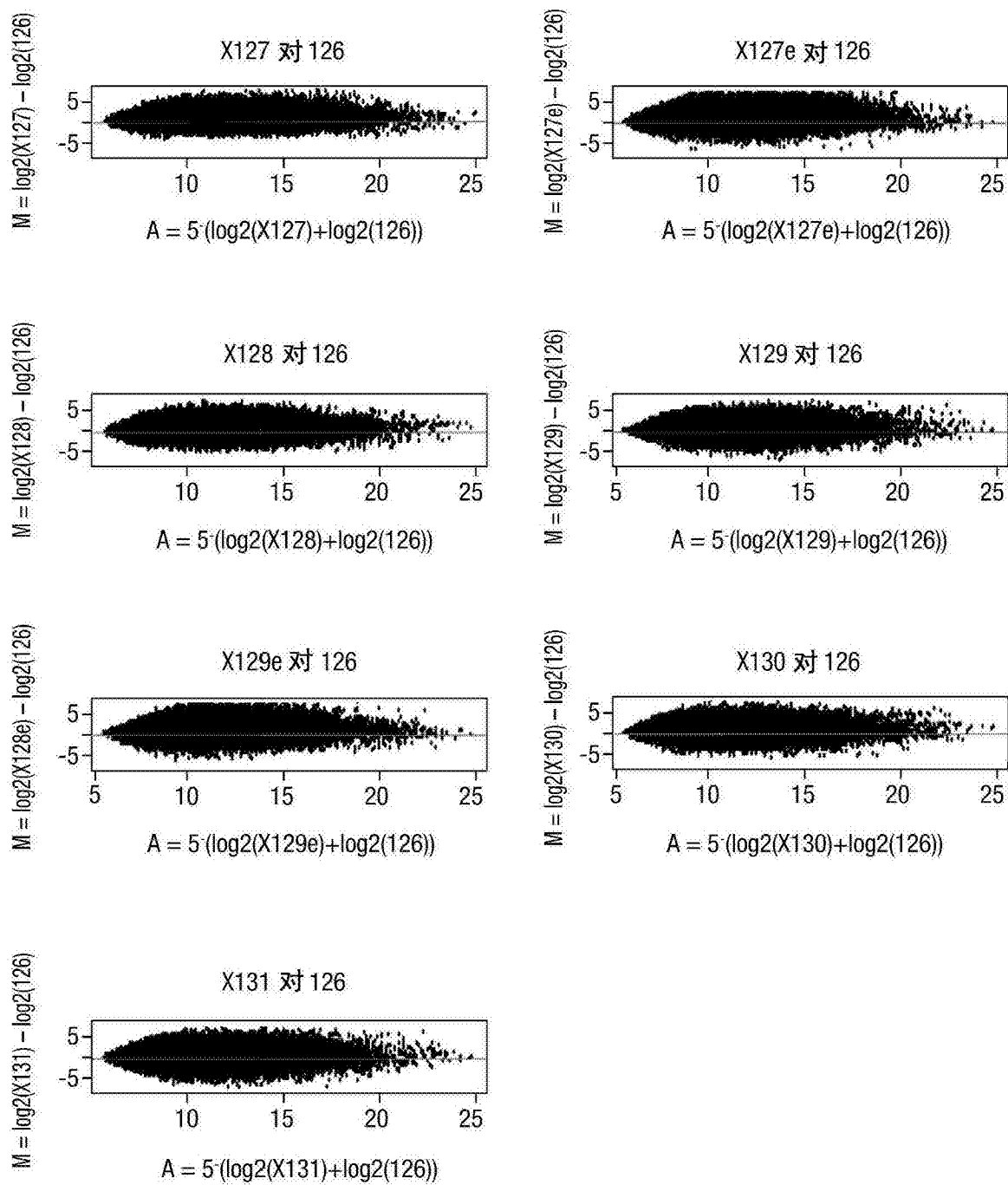


图8a

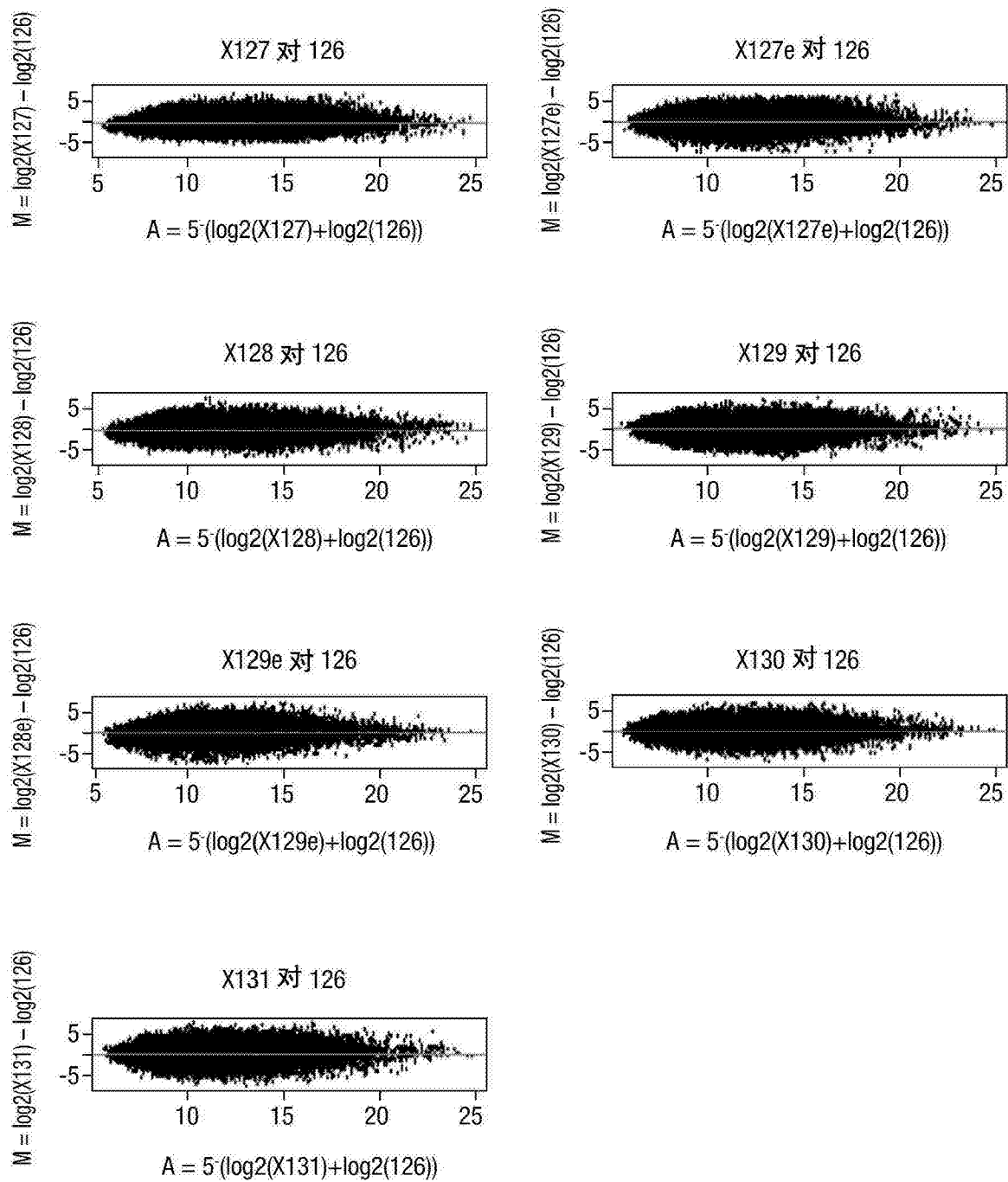


图8b

	# PSM (磷酸)	# PSM (非-磷酸)	# PSM (磷酸 + 非-磷酸)	# 独特肽 (磷酸)	# 独特肽 (非-磷酸)	# 独特肽 (磷酸 + 非-磷酸)	# 磷酸-位点 Mascot + Sequest
Σ TMT8 重 - 1	21428	88911	110339	3245	14673	17918	3161
Σ TMT8 重 - 2	29300	88568	117868	4569	14769	19338	4426
Σ TMT8 重 - 3	25914	102303	128217	4264	17548	21812	4184
Σ TMT8 重 1+2+3	76642	279782	356424	6543	22909	29452	6284

表 1

独特蛋白 编号	蛋白质	T 检验 p-值	log2 (T/NT)	功能	癌症中的作用	参考文献
P14618	丙酮酸激酶同工酶 M1/M2	4. 20E-05	0. 383	催化磷酸集团从磷酸烯醇式丙酮酸 (PEP) 转移至 ADP, 生成 ATP 的糖酵解酶	除了有氧糖酵解以外, 调节基因转录。通中性 M2 在 T11 处磷酸化组蛋白 H3, 其与细胞周期素 D1 和 c-Myc 的表达、肿瘤细胞增殖、细胞周期进程和脑部肿瘤发生相关。	Yang W 等. Cell 2012. Christofk HR 等. Nature 2008.
Z02	同源域-相互作用蛋白质激酶 1	1. 59E-04	1. 002	属于蛋白激酶的 Ser/Th 家族和 HIPK 亚族。磷酸化 p53、DAXX 和 MYB。在没药 TNF 的情况下防止 MAP3K5-JNK 激活。	已知在许多肿瘤细胞系中上调。通过其致癌性和抗细胞凋亡功能参与肿瘤发生和肿瘤生长。	Kondo S 等. Proc Natl Acad Sci USA 2003. Lee D 等. EMBO Rep 2012.
Q14847	LIM 和 SH3 结构域蛋白质 1	2. 01E-04	0. 496	在基于动态肌动蛋白的细胞骨架活性的调节中起到重要作用	参与癌细胞的增殖、入侵和转移。	Zhao L 等. Gut 2010. Grunewald TG 等. Br J Cancer 2007.
P37802	转凝蛋白-2	2. 34E-04	0. 519	含有保守的肌动蛋白结合结构域, 也称为调节蛋白同源物 (GH) 结构域, 表明在细胞骨架组织中的作用。	在各种癌症中过表达。较高表达水平与转移癌、晚起临床阶段和差存活率相关。但其生物功能未知。	Zhang Y 等. Cancer Sci 2010.
Q92538	抗高尔基-特异性布雷菲尔德菌素 A 鸟嘌呤核苷酸交换因子 1	2. 84E-04	1. 397	参与有丝分裂。由 CDK1 磷酸化。通过用 GTP 取代 GDP 来促进 ADP-核糖基化因子 5 (ARF5) 的激活。	未知	Morohashi Y 等. Biochem J 2010.
P21291	富半胱氨酸和甘氨酸蛋白质 α 1	3. 96E-04	0. 628	细胞骨架 lin-11 isl-1 mec-3 (LIN)-结构域蛋白质。参与平滑肌分化。	在干细胞癌个结直肠癌中下调。但其功能未知。	Miyasaka KY 等. Proc Natl Acad Sci U S A 2007. Hirasawa Y 等. Oncology 2006.
Q8WX93	靶蛋白	6. 97E-04	0. 588	正常肌动蛋白细胞骨架组织所需的细胞骨架蛋白质。作用是建立细胞形态、运动、细胞粘附和胞外基质相互作用。	在乳腺癌中过表达。参与细胞迁移。在伪足形成中起关键作用, 仍是有粘附和基质降解功能的富肌动蛋白结构。	Goicoechea SM 等. Oncogene 2009.

表 2

Q14195-2	二氢嘧啶酶-相关蛋白质3的同种型LCRMP-4	7.01E-04	0.555	3型信号素的信号转导以及后转的细胞骨架重塑所必须。在轴突导向和细胞迁移中起到作用	未知	Weitzdoerfer R等. J Neural Transm Suppl. 2001.
Q9NR12	PDZ和LIN结构域蛋白质7	7.39E-04	0.778	PDZ结构域结合肌动蛋白-结合蛋白质如β-原肌球蛋白,而LIN结构域与参与促有丝分裂或胰岛素信号转导的蛋白质如蛋白激酶有相互作用。参与骨形态发生。	通过抑制p53介导的凋亡促进细胞存活和药物抗性。通过抑制MDM2自身泛素化并增加其向细胞中的p53的泛素连接酶活性来诱发p53的降解。	Jung CR等. J Clin Invest 2010.
P26038	膜蛋白	7.62E-04	0.334	膜-细胞骨架连接蛋白,属于ERM(埃兹蛋白、根蛋白和膜突蛋白)家族。参与各种信号转导通路并且在细胞形态、粘附和运动中起到重要作用。	参与肌动蛋白细胞骨架重塑和上皮-间质转化。	Haynes J等. Mol Biol Cell. 2011.
P15941	粘蛋白-1	8.57E-04	0.873	跨膜糖蛋白。α亚基具有细胞粘附性质。β亚基含有C-末端结构域,其通过磷酸化和蛋白原-蛋白原相互作用参与细胞信号转导。	抑制细胞-细胞粘附的抗粘附分子。通过减少整联蛋白与胞外基质之间的相互作用促进运动和侵入性质。参与Wnt和MAP信号通路的激活,和p53基因的抑制	Yonezawa等. Pathol Int 2011. Mei X等. Cancer Res 2007. Ren J等. J Biol Chem 2002.
Q05682	钙调素结合蛋白	9.37E-04	0.597	细胞骨架蛋白。使肌动蛋白细胞骨架稳定并且参与肌球蛋白-肌动蛋白相互作用。在细胞有丝分裂和受体加盖期间起到必要作用。	对细胞运动和迁移的抑制作用。但是在特定位点(即S12)处的磷酸化降低了其迁移作用。	Schwappacher R等. J Cell Sci 2013. Neyanagi T等. J Biol Chem 2008.

表 2 (续)

KEGG	独特蛋白	蛋白质	总	Ti02 + IMAC + 非-富集		IMAC	Ti02		Ti02 + IMAC + 非-富集	IMAC	Ti02		非-富集
				T 检验 p-值	蛋白质	T 检验 p-值	T 检验 p-值	磷酸肽		log2 T/NT	log2 T/NT	磷酸肽	
FA, RAC, VSMC	014974	蛋白质磷酸酶 1 调节亚基 12A	S507	2.31E-02	2.25E-02	2.25E-02	NaN	NaN	0.9886	-0.2470	Na	Na	Na
FA, RAC, VSMC	014974	蛋白质磷酸酶 1 调节亚基 12A	S995	2.31E-02	2.38E-02	2.38E-02	NaN	NaN	0.9886	-0.2245	Na	Na	Na
VSMC	015085	鸟嘌呤核苷酸交换因子 11	S251	NaN	1.81E-02	NaN	NaN	NaN	Na	0.8076	Na	Na	Na
VSMC	043306	腺苷酸环化酶型 6	S576	NaN	1.59E-02	5.05E-02	NaN	NaN	Na	-1.1487	-1.1316	Na	Na
VSMC	043306-2	腺苷酸环化酶型 6 的同种型 2	S576	4.56E-02	1.07E-02	4.00E-02	NaN	NaN	-1.6305	-1.2488	-0.8333	Na	Na
VSMC	043306-2	腺苷酸环化酶型 6 的同种型 2	S576	4.56E-02	1.16E-02	NaN	NaN	NaN	-1.6305	-0.7207	Na	Na	Na
FA, RAC	060610	蛋白质透明同源物 1	S22	1.56E-01	3.24E-02	NaN	NaN	NaN	0.2000	-0.4683	Na	Na	Na
TJ	095049	紧密连接蛋白 ZO-3	S605	NaN	1.15E-02	NaN	NaN	NaN	Na	0.8249	Na	Na	Na
FA	P02452	胶原 α-1(I) 链	S176	2.83E-01	NaN	2.65E-03	NaN	NaN	-0.1859	Na	-0.9487	Na	Na
FA	P05412	转录因子 AP-1	S73	NaN	6.74E-04	2.94E-04	6.64E-02	NaN	Na	-1.4547	-1.5842	-0.8164	Na
FA	P06241	酪氨酸-蛋白激酶 Fyn	Y420	9.78E-02	1.82E-02	2.58E-02	NaN	NaN	0.4737	-0.6782	-0.5255	Na	Na
RAC, VSMC	P10398	丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 A-Raf	S157	NaN	4.78E-02	NaN	NaN	NaN	Na	-0.7991	Na	Na	Na
FA	P10451	骨桥蛋白	S303, S308	NaN	2.21E-02	2.50E-01	NaN	NaN	Na	0.6135	0.1925	Na	Na
TJ, FA	P12931	原癌基因酪氨酸-蛋白激酶 Src	Y419	NaN	3.72E-02	7.01E-02	NaN	NaN	Na	-0.6782	-0.4745	Na	Na
FA, RAC	P16144	糖蛋白 β-4	S1483, S1486	5.22E-01	1.74E-01	4.38E-02	NaN	NaN	0.1948	1.1656	2.0578	Na	Na
FA, RAC	P18206	联结蛋白	S272	4.46E-03	5.71E-01	7.05E-03	NaN	NaN	0.3263	0.1297	0.7110	Na	Na
FA, RAC	P18206	联结蛋白	S270	4.46E-03	8.44E-02	4.62E-02	NaN	NaN	0.3263	1.1502	1.0478	Na	Na
FA, RAC	P18206	联结蛋白	S579	4.46E-03	7.24E-03	NaN	NaN	NaN	0.3263	0.7051	Na	Na	Na
FA, RAC	P18206	联结蛋白	Y822	4.46E-03	4.02E-02	NaN	NaN	NaN	0.3263	-0.7723	Na	Na	Na
FA	P21333	细丝蛋白-A	S1459	1.34E-03	5.43E-01	8.63E-02	3.24E-02	NaN	0.6182	0.3807	0.9812	1.0915	Na
FA, RAC	P26010	整合蛋白-7	T977	NaN	7.29E-03	NaN	NaN	NaN	Na	0.6350	Na	Na	Na
RAC	P26038	膜蛋白	S576	7.62E-04	8.55E-03	NaN	NaN	NaN	0.3340	0.7557	Na	Na	Na
TJ	P35221	膜蛋白 α-1	S655	1.24E-01	7.45E-01	4.86E-02	NaN	NaN	-0.2074	0.2050	1.4275	Na	Na
TJ, RAC	P35579	肌球蛋白-9	S1480	5.93E-03	5.97E-04	NaN	NaN	NaN	0.2877	2.0980	Na	Na	Na
TJ, RAC	P35580	肌球蛋白-10	S1939	2.18E-02	1.19E-02	8.92E-01	NaN	NaN	0.2259	-0.5713	-0.1338	Na	Na
TJ, VSMC	P35749	肌球蛋白-11	S1954	2.75E-02	1.55E-02	4.50E-02	NaN	NaN	0.3431	1.2465	1.2156	Na	Na
TJ, VSMC	P35749	肌球蛋白-11	S1954	2.75E-02	2.01E-02	8.83E-02	NaN	NaN	0.3431	0.9621	1.6869	Na	Na
TJ, VSMC	P35749	肌球蛋白-11	S1954	2.75E-02	1.74E-02	9.48E-02	NaN	NaN	0.3431	0.6778	1.0375	Na	Na
TJ, VSMC	P35749	肌球蛋白-11	S1954	2.75E-02	4.78E-03	NaN	NaN	NaN	0.3431	0.8695	Na	Na	Na
RAC, VSMC	P36507	双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶激酶 2	T394	3.97E-01	1.17E-02	1.91E-02	NaN	NaN	-0.1358	0.5546	0.8362	Na	Na
RAC, VSMC	P36507	双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶激酶 2	T394	3.97E-01	NaN	2.38E-02	NaN	NaN	-0.1358	Na	0.6415	Na	Na
FA, RAC	P49023	桩蛋白	S106	NaN	4.87E-02	4.19E-01	NaN	NaN	Na	-0.5612	-0.0669	Na	Na
RAC	P53667	LIM 结构域蛋白 1	S298	NaN	7.75E-03	2.56E-01	NaN	NaN	Na	0.8768	0.7315	Na	Na

表 3

TJ	P55196	丝状肌动蛋白结合蛋白	S1182	5.11E-01	8.89E-03	3.28E-02	NaN	0.1801	-0.8806	-0.8898	NA
TJ	P55196	丝状肌动蛋白结合蛋白	S1182	5.11E-01	1.56E-02	4.50E-01	NaN	0.1801	-0.8806	-0.8898	NA
TJ	P55196	丝状肌动蛋白结合蛋白	S1721	5.11E-01	1.56E-02	5.75E-03	NaN	0.1801	-1.1066	-1.5385	NA
TJ, VSMC	Q05665	蛋白激酶 C δ 型	S645	5.08E-01	9.93E-03	NaN	NaN	-0.0412	-0.7690	NA	NA
RAC	Q13576	Ras GTP 酶-激活样蛋白质 IQGAP2	S16	3.86E-01	2.04E-03	9.01E-03	NaN	0.1666	-0.6374	-2.1648	NA
RAC	Q13576	Ras GTP 酶-激活样蛋白质 IQGAP2	S16	3.86E-01	9.74E-03	NaN	NaN	0.1666	-1.4953	NA	NA
RAC	Q13576	Ras GTP 酶-激活样蛋白质 IQGAP2	S16	3.86E-01	9.75E-03	NaN	NaN	0.1666	-1.3541	NA	NA
TJ	Q13813	血影蛋白 α 链, 脑部	S1217	3.35E-01	5.40E-01	3.90E-02	NaN	-0.1001	-0.2181	-1.3428	NA
TJ	Q14247	Src 底物皮层蛋白	T401; S405	3.23E-01	NaN	1.97E-02	NaN	0.0531	NA	-0.8638	NA
FA	Q14315	细丝蛋白-C	S2233	2.38E-03	3.08E-04	5.89E-04	1.39E-03	0.5615	1.5875	2.3520	1.3572
VSMC	Q14573	3 型纤维蛋白 1, 4, 5-三磷酸受体	S1832	5.61E-01	4.81E-03	1.15E-01	6.38E-02	0.1397	0.5481	0.3586	1.1922
TJ, VSMC	Q3MNF1	NA		6.29E-02	1.97E-02	7.96E-02	NaN	0.3760	0.9201	1.1924	NA
TJ	Q5JTD0	紧密连接-相关蛋白 1	T422	NaN	4.49E-02	NaN	NaN	NA	0.7021	NA	NA
TJ	Q6P1M3	致死 (2) 巨型幼虫蛋白同源物 2	S1013	3.68E-01	1.50E-02	NaN	NaN	-0.5227	-0.5448	NA	NA
TJ, RAC	Q72406	肌球蛋白-14	S1504	2.03E-02	4.50E-04	NaN	3.33E-02	0.3493	2.1786	NA	1.4309
TJ	Q8N135	InaD-样蛋白	S645	4.68E-01	2.82E-02	NaN	NaN	0.6231	-0.9323	NA	NA
FA	Q92934	细胞死亡的 Be12 拮抗剂	S118	NaN	2.75E-03	NaN	NaN	NA	-1.3183	NA	NA
FA	Q92934	细胞死亡的 Be12 拮抗剂	S134	NaN	1.90E-01	1.79E-02	NaN	NA	0.6779	0.7760	NA
VSMC	Q96A00	蛋白磷酸酶 1 调控亚基 14A	S128; S136	7.28E-01	5.35E-02	2.11E-02	NaN	-0.0997	-1.2981	-0.8118	NA
VSMC	Q96A00	蛋白磷酸酶 1 调控亚基 14A	S128; S136	7.28E-01	1.20E-02	NaN	NaN	-0.0997	-1.5386	NA	NA
TJ	Q9H460	带 4.1-样蛋白 1	S510	9.68E-01	2.87E-03	1.58E-01	NaN	0.1569	-1.8342	-3.3910	NA
TJ	Q9H460	带 4.1-样蛋白 1	S541; S544	9.68E-01	2.83E-02	2.59E-02	NaN	0.1569	-0.4004	-1.3756	NA
TJ	Q9H460	带 4.1-样蛋白 1	S784	9.68E-01	4.85E-03	NaN	NaN	0.1569	-1.2407	NA	NA
TJ	Q9H460	带 4.1-样蛋白 1	S820	9.68E-01	1.68E-04	NaN	NaN	0.1569	-1.7144	NA	NA
RAC, VSMC	Q9NZN5	鸟嘌呤核苷酸交换因子 12	S1327	6.82E-01	1.01E-02	7.07E-02	NaN	0.1252	-0.6148	-1.5399	NA
RAC, VSMC	Q9NZN5	鸟嘌呤核苷酸交换因子 12	T703	6.82E-01	2.42E-02	NaN	NaN	0.1252	-0.8934	NA	NA
TJ	Q9P2N7	带蛋白	S149	NaN	2.09E-02	2.11E-01	NaN	NA	-1.1041	-1.2806	NA
RAC	Q9Y217	1-磷酸肌醇 3-磷酸 5-激酶	S307; S312	NaN	4.38E-02	2.49E-01	NaN	NA	0.6748	0.8822	NA
FA	Q9Y490	踝蛋白-1	S1201	1.06E-03	4.04E-01	7.01E-01	3.26E-02	0.3681	-0.0394	-0.1647	1.1455
FA	Q9Y490	踝蛋白-1	S1225	1.06E-03	3.57E-02	2.13E-01	NaN	0.3681	-0.6687	-0.8313	NA
FA	Q9Y490	踝蛋白-1	S620	1.06E-03	1.08E-02	NaN	NaN	0.3681	1.7192	NA	NA
FA	Q9Y466	踝蛋白-2	T1843	2.00E-02	1.42E-02	NaN	NaN	0.5179	-0.5952	NA	NA
TJ	Q9Y624	连接粘附分子 A	S284	NaN	6.59E-05	NaN	NaN	NA	-1.0066	NA	NA
VSMC	Q9Y6F6	蛋白 MRV11	S657	NaN	1.67E-02	2.19E-01	NaN	NA	0.4638	0.3463	NA
VSMC	Q9Y6F6	蛋白 MRV11	S657	NaN	1.82E-02	NaN	NaN	NA	0.4092	NA	NA

表 3 (续)

肽log ₂ 比率																
TIO2 + IMAC + 总蛋白													名称	序列	总位置	药物资料库
1T / 1NT	4T / 4NT	5T / 5NT	6T / 6NT	7T / 7NT	8T / 8NT	9T / 9NT	10T / 10NT	11T / 11NT	12T / 12NT	13T / 13NT	14T / 14NT					
-	-	-	-	-1.136	0.414	0.386	0.642	-0.71	0.088	0.567	0.483	Fyn	dG ₅ LNQSSGYR	S21	达沙替尼	
1.149	0.076	-0.792	-0.494	0.086	0.801	-0.099	0.615	-	-	-	-	Fyn	ITEERD _{G₅} LNQSSGYR	S21	达沙替尼	
-	-	-	-	-0.749	-0.237	0.375	-0.994	-0.626	-0.195	-0.736	-0.796	Fyn	IIEDNE _Y TAR	Y420	达沙替尼	
-	-	-	-	-	-	-	-	0.769	0.091	-1.227	-0.484	Src	IFGGFN ₅ SDTVTSPQR	S69	达沙替尼	
-	-	-	-	-	-	-	-	-0.626	-0.195	-0.736	-0.796	Src	IIEDNE _Y TAR	Y419	达沙替尼	
0.534	0.188	-0.555	-0.406	-	-	-	-	-	-	-	-	Abl2	gQAASSG ₅ PALPR	S620	达沙替尼	
-	-	-	-	-0.155	-0.453	-0.734	-0.121	-0.971	0.18	0.605	-1.251	Raf1	ST ₅ TPNNVHMVSTTL ₁ LPVDSR	S259	索拉非尼	
-	-	-	-	-0.137	0.46	-0.846	1.485	-1.712	0.354	1.913	0.269	Raf1	SA ₅ EPSLHR	S621	索拉非尼	
-	-	-	-	-0.359	-0.167	-0.223	0.261	0.649	-0.325	0.381	0.48	B-Raf	SA ₅ EPSLNR	S729	索拉非尼	
-1.293	0.08	-0.292	-0.147	-	-	-	-	-	-	-	-	HDAC1	ISIG ₅ SKR	S409	伏立诺他	
-	-	-	-	-0.622	-1.042	0.216	-1.565	-0.636	-0.041	1.656	-0.585	HDAC1	IAC ₅ EEEF ₅ D ₅ EEEGEGGRK	S421;S423	伏立诺他	
-	-	-	-	0.056	1.433	0.055	-0.254	-	-	-	-	HDAC2	IACDEEF ₅ D ₅ EEEGEGGRR	S422	伏立诺他	
-	-	-	-	0.014	-0.13	0.272	0.458	-0.367	-0.408	1.421	0.873	HDAC2	IACDEEF ₅ D ₅ EEEGEGGRR	S422;S424	伏立诺他	
-0.554	1.034	-1.089	0.486	-0.895	-0.421	-0.682	-1.747	-	-	-	-	RICTOR	hIEDTG ₅ TPISIGENDLK	S1174;S1177	替西罗莫司	
0.145	0.438	0.306	-0.195	-	-	-	-	0.124	0.034	1.242	0.093	RPTOR	SV ₅ SYGNIR	S722	替西罗莫司	
-	-	-	-	-0.146	-0.269	-0.734	0.321	-	-	-	-	ERK1	IADPEHDHTGFI ₅ EVATR	T202;Y204	AEZS-131	
-0.115	-1.927	1.046	-0.508	0.037	1.437	-0.428	1.285	-1.074	-0.019	-0.809	0.069	ERK2	VADPDHDHTGFI ₅ EVATR	T185;Y187	AEZS-131	
-1.036	1.305	-0.269	-1.099	1.119	-2.86	-1.263	1.256	-	-	-	-	Akt1	SG ₅ PSDN ₅ GAAEEMEVSLAKPK	S124;S129	GSK2141795	
-1.162	1.587	-0.31	-0.38	-	-	-	-	-	-	-	-	Akt1	SG ₅ PSDN ₅ GAAEEmEVSLAKPK	S124	GSK2141795	
-1.283	1.688	-0.178	-0.029	-0.004	-1.572	-0.127	-0.208	-0.806	0.171	1.482	-0.838	Akt1	SG ₅ PSDN ₅ GAAEEMEVSLAKPK	S124	GSK2141795	

表 4

病例编号	样品名称	生物资料库编号	组织类型	组织重量(mg)
1	1T	14981	胰腺癌	362
1	1NT	14980	背景胰腺	198
2	2T	14837	胰腺癌	102
2	2NT	14836	背景胰腺	128
3	3T	14786	胰腺癌	135
3	3NT	14785	背景胰腺	56
4	4T	14938	胰腺癌	458
4	4NT	14987	背景胰腺	231
5	5T	11967	胰腺癌	204
5	5NT	11966	背景胰腺	223
6	6T	11946	胰腺癌	204
6	6NT	11945	背景胰腺	136
7	7T	11250	胰腺癌	303
7	7NT	11251	背景胰腺	240
8	8T	10652	胰腺癌	315
8	8NT	10653	背景胰腺	273
9	9T	10619	胰腺癌	247
9	9NT	10618	背景胰腺	223
10	10T	10666	胰腺癌	436
10	10NT	10665	背景胰腺	489
11	11T	14894	胰腺癌	145
11	11NT	14896	背景胰腺	150
12	12T	16195	胰腺癌	113
12	12NT	16194	背景胰腺	110
13	13T	14784	胰腺癌	202
13	13NT	14783	背景胰腺	190
14	14T	14950	胰腺癌	190
14	14NT	14949	背景胰腺	120

表 5

1pT3N1	IIB 期
4pT3N1	IIB 期
5pT3N0	IIA 期
6pT3N1	IIB 期
7pT3N1	IIB 期
8pT3N0	IIA 期
9pT3N1	IIB 期
10pT3N0	IIA 期
11pT3N1	IIB 期
12pT3N1	IIB 期
13pT3N1	IIB 期
14pT3N1	IIB 期

表 6

临床信息（例如，复发时间）	病例编号
在 11 个月时肝转移	1
持续 10 个月无复发	4
在 19 个月时局部复发	5
持续 19 个月无复发	6
持续 13 个月无复发	7
持续 23 个月无复发	8
在 5 个月时肝转移	9
在 31 个月时肺转移	10
在 17 个月时局部复发，腹膜疾病	11
持续 8 个月无复发	12
持续 16 个月无复发	13
在 2 个月时局部复发，腹膜疾病	14

表 7

样品名称	μg	μg 8 重
1T	3900	31200
1NT	3900	
4T	3900	
4NT	3900	
5T	3900	
5NT	3900	
6T	3900	
6NT	3900	
10NT	3900	29800
10T	3900	
9NT	3900	
9T	3900	
8NT	3900	
8T	3900	
7NT	3200	
7T	3200	
11T	3900	25720
11NT	3900	
12T	2800	
12NT	2800	
13T	2560	
13NT	2560	
14T	3600	
14NT	3600	

表 8

TMT 报告质量:	126	127e	127	128	129e	129	130	131
TMT8 重-1	1T	1NT	4T	4NT	5T	5NT	6T	6NT
TMT8 重-2	10NT	10T	9NT	9T	8NT	8T	7NT	7T
TMT8 重-3	11T	11NT	12T	12NT	13T	13NT	14T	14NT

表 9

样品/等分试样	SCX-HPLX	富集方法
TMT8 重 1a	12 x 组分	针对 TiO ₂
TMT8 重 1b	12 x 组分	针对 IMAC
TMT8 重 1c	12 x 组分	针对总蛋白
TMT8 重 2a	12 x 组分	针对总蛋白
TMT8 重 2b	12 x 组分	针对 IMAC
TMT8 重 2c	12 x 组分	针对 TiO ₂
TMT8 重 3a	12 x 组分	针对 TiO ₂
TMT8 重 3b	12 x 组分	针对 IMAC
TMT8 重 3c	12 x 组分	针对总蛋白

表 10

Q8829	脂解-刺激的脂蛋白受体	3643	ALASRESLV	55:99:6	2.55	1.36	3.18	3.83	2.03	0.76	0.30	-0.97	-0.21	0.06	-0.57	-0.94
Q8829	脂解-刺激的脂蛋白受体	3643:5646	ALASRESLV	55:100:58:100	2.61	2.84	4.53	5.46	2.19	0.89	0.79	0.70	0.67	1.88	1.43	3.09
Q9357	脂肪酶-优选伴侣	3609	ALFASDL	57:99:7	2.36	2.27	2.94	3.20	1.00	-0.26	-0.53	-0.73	-0.76	-0.20	0.25	-0.69
Q7246	肌球蛋白-14	51594	ALUFR	53:100:0	2.71	2.48	2.20	1.99	2.25	-1.14	1.90	1.09	0.64	3.17	4.93	2.75
Q9666	神经母细胞分化-相关蛋白AHNAK	75824	GF6GSGK	73:100:0	1.59	1.23	1.21	3.71	1.14	-1.02	-0.35	-0.22	-0.01	0.08	-0.02	-0.37
Q9W93	靶蛋白	3893	JAGTFCCTQAVQDER	53:100:0	1.40	1.60	2.27	2.86	1.76	1.19	-0.14	-0.32	-1.31	0.52	1.49	1.43
Q15149	网蛋白	54386	SSVGVSSSPSPASR	53:100:0	1.20	2.29	1.64	2.18	4.12	-0.07	2.36	0.02	-0.44	2.13	2.45	1.05
Q960H2	PNL-PRAR-调节的受体分子1	5382:5388	TSEPEMLPF	53:100:59:100	2.00	1.08	3.17	1.02	1.64	0.53	1.28	-0.17	-0.84	1.05	2.05	-1.15
P02545	重组核纤层蛋白前体-A/C	512	SGQASPTPSR	51:100:0	1.10	1.21	0.98	1.50	3.17	-0.04	0.80	-0.45	-0.05	0.80	2.66	0.57
P02545	重组核纤层蛋白前体-A/C	5392	FRPTSR	54:100:0	1.99	1.55	1.35	2.98	0.74	-0.81	1.27	-0.66	-0.49	0.59	0.30	0.31
P02545	重组核纤层蛋白前体-A/C	5632	SVGGGSGGDNVTR	53:100:0	1.11	1.08	1.14	2.21	1.42	-0.67	1.07	-1.32	-0.58	0.25	2.49	-0.48
P02545	重组核纤层蛋白前体-A/C	5636	SVGGGSGGDNVTR	59:100:0	1.51	1.34	2.30	3.18	1.54	-0.49	0.93	-0.58	-0.65	0.81	3.07	-0.72
Q2M23	蛋白 FAM83E	5351	ASPTAPGALDIF	51:100:0	0.96	1.44	1.04	0.74	1.04	-0.40	-0.01	0.59	0.80	0.49	1.50	-0.75
Q9666	蛋白 MRV1	5657	SMGLGK	53:100:0	0.81	1.37	0.90	1.26	0.96	0.35	0.45	-0.35	-0.08	0.09	1.04	-0.61
Q9666	蛋白 MRV1	5657	SMGLGK	53:100:0	0.76	1.50	0.72	1.11	0.94	0.22	0.49	-0.17	-0.03	0.19	1.72	-0.35
Q92597	蛋白 NORG1	5332:5333	JASGVTSQSTR	55:99:55:99:5	0.95	2.42	3.26	3.19	2.67	-0.23	2.38	0.14	0.91	0.53	3.82	3.72
Q92597	蛋白 NORG1	5333	JASGVTSQSTR	56:99:6	1.06	1.08	2.12	2.55	1.80	0.00	1.48	-0.31	0.42	0.49	3.61	1.29
Q92597	蛋白 NORG1	5333:5336	JASGVTSQSTR	56:98:98:99:94	0.76	0.92	1.82	1.32	1.91	0.74	1.31	0.12	1.64	2.88	3.16	0.76
P2950	蛋白 PML	7667	AEVSLR	76:99:6	1.30	2.22	2.39	1.39	1.64	-0.26	0.87	0.03	-0.18	1.06	2.02	1.26
Q98X6	Rab11家族-相互作用蛋白5	5307	THGQANQMR	53:99:4	1.99	1.99	1.49	2.75	2.53	-0.27	2.32	0.05	-0.44	0.96	4.18	2.31
Q98P2	Rho鸟嘌呤核苷酸交换因子17	5420	SPFAGGLR	53:100:0	0.90	1.92	1.29	1.66	3.09	0.68	0.20	-0.35	-0.05	1.14	1.56	0.89
Q92974	Rho鸟嘌呤核苷酸交换因子2	5174	LSQVDSUNR	55:99:5	1.74	1.77	1.80	1.34	1.82	0.64	0.78	0.42	-0.36	0.99	2.02	0.41
Q92974	Rho鸟嘌呤核苷酸交换因子2	5174	LSQVDSUNR	53:100:0	0.90	1.14	1.99	1.99	3.40	0.27	-0.31	0.84	0.08	0.51	1.37	0.47
Q91Q35	丝氨酸/精氨酸重氮基蛋白2	524	JULUR	53:100:0	0.93	1.20	0.90	1.34	2.36	0.33	1.20	-0.48	0.44	0.37	1.65	-0.46
Q9MT5	丝氨酸/精氨酸重氮基蛋白2	51679	SMASGSLR	53:100:0	0.92	1.41	1.05	0.91	2.45	0.29	1.13	0.14	-0.32	1.61	3.11	1.09
Q9TC21	含SH3和PX结构域蛋白2A	5420	FOKSPMR	54:100:0	1.54	2.67	2.92	3.20	1.76	0.85	0.98	0.30	-1.13	1.24	3.18	1.13
P93814	平滑肌蛋白	5301	SLVSR	53:100:0	1.30	0.95	1.11	1.19	1.34	1.33	-0.89	0.72	0.05	1.79	0.03	-1.25
Q912M1	张力蛋白-1	51119	SGAGQSPQQR	53:100:0	0.87	2.09	0.83	1.33	2.61	-0.84	1.80	-0.63	-0.27	0.91	1.46	2.14
Q912M1	甲狀腺癌受体-相关蛋白3	5682	LDKSTR	54:99:6	1.12	0.99	0.85	1.07	1.14	0.58	0.81	0.09	-0.30	0.72	2.48	0.94
Q13263	转录中间因子1-β	5473	SGGGVGLMR	51:100:0	1.58	4.42	3.01	3.15	2.72	0.40	1.69	-0.27	-0.31	1.54	2.50	0.76
Q13263	转录中间因子1-β	5473	SGGGVGLMR	51:100:0	0.85	2.72	2.71	2.68	1.77	0.29	0.54	-0.09	-0.36	1.13	1.84	-0.36
Q42394	转化生长因子β-1-诱导的副本1蛋白	5413	YVALGR	53:100:0	1.17	1.32	0.71	3.39	1.19	0.02	0.94	-0.57	-0.46	0.45	1.25	0.27
Q72718	未表征的蛋白G19orf96	5425	PMGLSSSSDAL	54:100:0	1.85	0.94	1.66	3.07	2.08	-0.05	-0.51	1.33	-0.82	-0.51	-0.74	0.35
Q91M72	未表征的蛋白G19orf21	5394	ALSDSLSPAPAR	53:100:0	4.39	1.59	1.55	3.12	1.63	-0.39	0.25	0.88	0.33	2.74	1.88	-1.33
P08670	波形蛋白	555	SVASPGVWTR	55:100:0	1.22	2.03	1.36	2.87	3.71	-0.74	0.84	-0.10	-0.39	0.53	2.54	1.02
P08670	波形蛋白	573	SVPSGR	52:100:0	1.18	1.33	0.96	2.12	2.97	-1.87	2.07	-1.75	-1.67	-0.51	2.91	-0.62
Q13383	电压门控钾通道亚基β-2	59	MPSTTGAPR	59:99:9	0.91	0.72	1.68	1.77	1.67	0.89	1.11	0.13	-0.48	-0.34	0.22	0.01

表 11A(续)

表 11B

Q6K79	咬合-B-样蛋白	S2539	ATUL666PK	510.100.0	-1.69	-1.21	-2.17	-2.15	-0.95	1.24	-0.18	1.10	0.19	1.31	-2.33	0.82
P9338	核仁素	S553	LEO3PG6PWAR	S9.100.0	-1.62	-1.07	-1.55	-1.88	-1.03	0.23	0.31	0.57	0.37	-1.02	0.95	0.55
Q8TEW8	分配缺陷3同源物B	S780	gNLSRAADLx	S5.100.0	-1.59	-0.95	-0.93	-2.92	-2.35	-0.62	-1.17	-0.30	0.36	0.36	-2.03	-0.76
Q9959	桥粒斑菲素蛋白-2	S551	smGALLER	S1.100.0	-1.51	-1.31	-1.36	-3.09	-2.55	0.14	-0.52	-0.72	0.30	1.27	-1.90	-2.63
Q6Q23	含普列克底物蛋白同源结构域家族A成员7	S556	SmLEPR	S3.956	-1.04	-1.56	-2.02	-1.62	-1.80	-0.91	-1.15	0.94	0.95	-0.47	-1.31	-1.34
Q6Q23	含普列克底物蛋白同源结构域家族A成员7	S624	sVOSLOPRK	S1.100.0	-1.22	-1.39	-1.23	-1.72	-1.68	-0.10	-1.02	0.30	-0.17	0.24	-1.62	-2.16
Q5E15	程序化细胞死亡蛋白4	S657	pVSGDGGK	S4.100.0	-1.13	-1.07	-2.38	-2.40	-2.05	-0.73	-0.47	-0.32	0.55	0.57	-2.30	-1.25
Q9P22	前列腺素F2受体负调节蛋白	S675	InsMEN0	S3.100.0	-1.51	-1.57	-2.85	-2.27	-1.15	-0.15	0.20	-0.09	0.41	0.57	-0.46	-0.26
Q9P22	前列腺素F2受体负调节蛋白	S675	InsMEN0	S3.100.0	-1.20	-1.40	-2.24	-1.40	-0.56	-0.41	0.53	0.03	0.64	0.13	-0.44	0.03
Q9P22	前列腺素F2受体负调节蛋白	S675	InsMEN0	S3.100.0	-0.74	-1.39	-1.23	-1.71	-0.91	-0.42	0.95	0.54	0.38	0.36	-0.02	-0.09
Q9H86	蛋白	S114	uFTS4EEER	S5.100.0	-1.44	-1.89	-2.72	-3.11	-2.71	0.09	-0.79	-0.38	0.53	0.40	-2.15	-2.56
Q9M52	蛋白	S103	aSMPQEPQPR	S11.100.0	-1.10	-1.10	-1.76	-0.72	-0.92	-1.30	-1.78	-0.54	-0.56	0.68	-2.38	-1.37
Q9N86	蛋白	S3325338	ITdITSA4VDSHW	S3.100.0;S9.100.0	-1.28	-1.12	-0.91	-1.73	-0.75	0.73	0.34	0.05	0.93	0.91	-0.57	0.56
Q96400	蛋白磷酸酶1调节亚基14A	S1265126	qPRLCPSPD539PQDR	S9.100.0;S16.99.2	-2.38	-1.48	-3.04	-2.44	-1.96	0.25	-0.45	-0.20	0.64	0.28	-1.78	-1.70
Q14071	PLMN同源物1	S709	uGdITSSDVK	S3.100.0	-0.95	-1.28	-2.91	-2.15	-2.75	-0.51	-0.53	0.09	0.45	-1.78	-1.42	-2.68
Q0559	丙酮酸脱氢酶E1成分亚基 α , 体形式, 线粒体	S32	YgmG1SEF	S6.995	-1.67	-1.82	-2.07	-3.45	-2.82	0.55	-0.77	-0.31	0.47	0.59	-2.88	-2.81
Q0559	丙酮酸脱氢酶E1成分亚基 α , 体形式, 线粒体	S32	YgmG1SEF	S6.995	-1.53	-1.41	-1.09	-2.81	-3.02	0.38	-0.57	0.04	0.13	2.32	-0.81	-0.14
Q0559	丙酮酸脱氢酶E1成分亚基 α , 体形式, 线粒体	T21	YgmG1SEF	T5.995	-1.74	-1.84	-1.85	-2.51	-1.72	0.52	-0.26	0.16	-0.15	2.09	-1.96	-1.79
Q572Q	小根蛋白	S1460	aSPAPPPGSPAR	S12.100.0	-1.45	-1.23	-0.94	-0.80	-1.80	0.80	0.13	-1.38	0.25	0.58	-0.01	-1.79
Q9U35	丝氨酸/精氨酸重复基蛋白2	S395527	ITHTLAGSPVAGSR	S10.100.0;S12.100.0	-0.93	-0.63	-1.03	-1.36	-1.16	0.66	0.03	-0.18	0.31	0.35	-1.36	-0.14
Q10398	丝氨酸/精氨酸-蛋白激酶A-Raf	S157	qQPH4QDL6GSR	S6.100.0	-0.77	-1.08	-1.03	-3.05	-1.42	-0.76	-0.33	0.30	0.75	0.38	3.27	-0.25
Q13573	含SNW结构域蛋白1	S224522	qPSPAPPHPSR	S4.100.0;S12.100.0	-1.12	-0.68	-1.36	-1.71	-0.84	-0.37	-0.56	0.56	0.29	0.91	-0.76	1.11
EP455	含Sorbin和SH3结构域2	S13	uQSPLLJAGR	S3.100.0	-1.02	-1.04	-2.23	-3.17	-3.31	-0.42	0.07	-0.32	0.29	0.38	-1.11	-2.81
EP455	含Sorbin和SH3结构域2	S13514	uQSPLLJAGR	S4.100.0;S5.100.0	-0.82	-1.85	-1.27	-0.72	-0.83	-0.30	0.54	-0.97	0.75	-0.40	-1.42	-2.33
EP455	含Sorbin和SH3结构域2	S13514	uQSPLLJAGR	S3.100.0;S4.100.0	-0.77	-1.75	-1.84	-1.87	-1.93	-0.84	0.04	-0.95	-0.02	0.15	-1.09	-1.04
EP455	含Sorbin和SH3结构域2	S373	STSSSPGSR	S9.978	-1.10	-1.14	-1.04	-2.71	-0.78	-0.93	0.41	-0.10	0.18	1.61	-1.20	-0.29
Q6943	TBC1结构域家族成员4	S391	uGS0SEF	S6.100.0	-1.04	-1.52	-1.14	-1.99	-2.38	0.35	0.12	-0.56	0.34	-0.10	-1.51	-2.01
P15774	泛素羧基末端水解酶同功酶L3	S130	uEESVSEPR	S10.99.7	-1.32	-1.48	-1.51	-2.34	-1.84	0.38	-0.83	0.79	0.59	-0.29	-0.04	-1.09
Q60701	UDP-葡萄糖-6-脱氢酶	S476	pPVASCEPR	S7.100.0	-1.27	-1.32	-1.16	-2.76	-2.67	-0.67	-0.69	0.30	0.66	0.11	-1.15	-1.06

表 11B(续)

		TI02 + INAC + 非-高集	蛋白质 (非-高集)	蛋白质 (患者 1)	蛋白质 (患者 4)	蛋白质 (患者 5)	蛋白质 (患者 6)	蛋白质 (患者 7)	蛋白质 (患者 8)	蛋白质 (患者 9)	蛋白质 (患者 10)	蛋白质 (患者 11)	蛋白质 (患者 12)	蛋白质 (患者 13)	蛋白质 (患者 14)
			T 值 log2 (7/NT)	log2 比 率	log2 比 率	log2 比 率	log2 比 率	log2 比 率	log2 比 率	log2 比 率	log2 比 率	log2 比 率	log2 比 率	log2 比 率	log2 比 率
MEGG	蛋白质														
糖酵解/糖异生	P14518	丙酮酸脱氢酶 E2 亚基 1	4.20E-05	0.363	0.256	0.210	0.321	0.287	0.618	0.784	0.344	0.557	0.197	0.482	0.314
	Q86202	丙酮酸脱氢酶 E2 亚基 1	1.59E-04	1.002	0.189	0.756	0.171	0.450	2.598	1.711	0.848	2.997	1.216	0.982	0.767
	Q14847	丙酮酸脱氢酶 E2 亚基 1	2.01E-04	0.496	0.492	0.413	0.904	0.251	1.574	0.513	1.004	0.354	0.020	0.878	0.565
	P37802	转氨酶 2	2.34E-04	0.519	0.457	0.363	0.551	0.425	0.864	1.198	0.397	0.354	0.076	1.044	0.122
脂肪酸代谢	P55036	26S 蛋白酶体非-ATP 酶亚基 4	2.77E-04	0.445	-0.723	-1.180	-0.994	-0.323	-0.599	-0.436	-0.334	-0.547	0.191	-0.335	-1.039
	Q82538	肌醇二磷酸 5-磷酸酶 1	2.84E-04	1.397	0.989	2.121	2.614	0.169	3.464	2.151	2.040	0.975	0.048	1.979	3.281
	P31937	3-羟基丁酰-CoA 脱氢酶 1	3.60E-04	-0.913	-0.969	-0.542	-1.056	-0.477	-0.797	-1.374	-0.513	-1.517	0.370	-1.079	-0.933
	P21291	谷氨酰胺转氨酶 1	3.96E-04	0.628	0.638	1.894	0.360	0.279	0.856	0.880	1.243	0.908	-0.002	1.646	0.725
T1	Q95394	乙酰辅酶 A 羧化酶	4.04E-04	-0.961	-1.293	0.153	-1.731	-1.014	-0.250	-0.961	-1.832	-1.319	-0.105	-0.362	-1.151
	Q96A55	羧基酯酶 4	5.29E-04	-0.694	-0.742	-0.865	-0.647	-0.336	-0.229	-0.783	-0.227	-1.109	NA	NA	NA
	Q8W933	肌球蛋白	6.97E-04	0.588	0.309	1.470	0.485	0.476	0.041	0.726	1.016	1.077	0.876	-0.295	0.957
	Q14195-2	肌球蛋白-相关蛋白 3 的 N 端	7.01E-04	0.555	0.677	0.951	0.392	0.854	0.048	0.354	0.721	0.453	-0.353	0.905	1.028
RAC	Q9NR12	PDZ 和 LIM 结构域蛋白 7	7.39E-04	0.778	0.599	1.162	0.775	0.544	0.127	1.259	1.589	0.022	1.101	-0.101	1.961
	P26038	肌球蛋白	7.62E-04	0.334	0.256	0.570	0.391	0.525	-0.003	0.630	0.648	0.535	-0.143	-0.011	0.549
	P15941	肌球蛋白-1	8.57E-04	0.873	0.873	0.863	0.666	-0.217	1.737	0.101	1.479	1.051	0.523	0.063	1.170
	Q95682	肌球蛋白-1	9.37E-04	0.597	1.015	1.240	0.581	0.601	0.005	0.786	0.732	0.673	-0.003	-0.047	0.656
FA	Q92818	核黄素蛋白-1	9.66E-04	0.800	1.472	0.494	2.586	1.895	0.307	2.815	2.055	2.244	-0.517	0.066	1.812
	Q9V290	核黄素蛋白-1	1.08E-04	0.368	0.363	1.017	0.251	0.562	-0.240	0.591	0.567	0.521	0.482	-0.125	0.684
	Q41392-4	肌球蛋白 D54 的 N 端	1.17E-04	0.409	0.213	0.567	0.280	1.354	0.408	0.648	0.171	0.453	0.659	-0.168	1.043
	P06733	α-肌球蛋白	1.18E-04	0.347	0.033	0.906	-0.092	0.590	0.170	0.804	1.027	0.456	0.458	0.158	0.300
糖酵解/糖异生	P53384	肌球蛋白 Fe-5 结合域因子 NU0P1	1.22E-04	-1.109	-0.648	-0.090	-1.135	-1.082	0.092	-2.435	-1.592	-1.298	0.205	-0.747	-1.312
	P21333	肌球蛋白-A	1.34E-04	0.618	0.795	1.436	0.613	0.544	-0.218	0.593	1.020	0.415	0.444	-0.208	0.767
	P11277	肌球蛋白 β 链, 红细胞	1.42E-04	-0.342	-0.105	-1.101	-0.714	-0.058	-0.887	-0.392	-0.098	-1.198	-0.744	-0.038	-0.558
	Q15149-4	肌球蛋白的 N 端	1.62E-04	0.375	0.508	0.557	0.250	0.481	-0.200	1.049	0.689	0.419	0.331	0.033	0.955
FA	P40763	肌球蛋白 3 的 N 端与 N 端和 C 端	1.63E-04	0.687	0.242	0.945	1.336	1.260	-0.057	1.469	0.955	0.673	-0.055	-0.066	1.008
	Q15149	肌球蛋白	1.63E-04	0.324	0.507	0.557	0.249	0.481	-0.200	1.049	0.689	0.419	0.331	0.033	0.955
	Q9H810	肌球蛋白-1	1.74E-04	0.399	0.098	0.646	0.130	0.606	-0.140	0.546	0.703	0.554	0.682	-0.049	0.734
	Q9P937	肌球蛋白 3	1.78E-04	-1.114	-2.285	-0.557	-1.133	-1.020	0.338	-1.864	-1.752	-1.925	-1.232	0.288	-2.711

表 12

			02	0.894	1.077	0.799	C.003	0.989	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
			03	1.88E-03													
			03	1.89E-03	-0.455	-0.759	-1.016	-0.076	-0.215	-0.558	-1.028	-0.455	-1.697	-0.008	-0.128	-1.241	-1.741
			03	1.93E-03	0.491	0.302	0.345	0.723	0.140	1.484	0.897	0.815	0.085	-0.049	1.466	0.419	0.419
			03	2.38E-03	0.562	0.286	0.520	0.384	0.176	1.194	1.051	0.977	0.242	-0.147	1.561	0.647	0.647
FA			03	2.52E-03	-0.785	-0.586	-1.126	-0.286	-0.161	-2.581	-1.170	-2.302	-1.895	0.557	-0.847	-1.295	-1.295
			03	2.53E-03	0.797	0.388	1.385	1.674	0.010	1.772	0.864	0.521	-0.513	0.863	2.527	0.753	0.753
			03	2.72E-03	-0.395	NA	NA	NA	NA	-0.453	-0.583	-0.395	NA	NA	NA	NA	NA
			03	2.82E-03	0.477	0.951	0.018	0.117	0.327	0.211	0.907	1.477	0.225	0.477	-0.074	1.257	1.008
			03	2.98E-03	-1.047	-1.375	-1.243	0.368	-0.076	-1.675	-2.561	-1.262	-2.471	0.022	-0.599	-1.977	-1.977
			03	2.88E-03	0.752	1.432	0.238	1.586	0.076	-0.003	0.746	0.280	2.963	0.200	1.433	0.454	0.454
			03	2.94E-03	1.101	1.189	0.756	1.171	0.543	NA	NA	NA	2.937	1.216	0.592	0.757	0.757
			03	3.05E-03	0.471	0.587	0.798	-0.392	0.537	-0.183	0.744	0.598	0.433	1.168	0.402	1.408	1.408
			03	3.09E-03	-0.609	-0.591	-0.093	-0.377	-0.522	-0.047	-0.745	-1.125	-0.571	-1.836	0.201	-0.331	-1.602
			03	3.21E-03	0.360	0.400	0.617	0.573	0.799	0.167	0.803	0.675	0.031	0.181	-0.251	0.117	0.842
			03	3.27E-03	0.405	0.329	0.593	0.383	0.538	0.038	1.778	0.708	1.956	-0.014	-0.051	0.597	0.762
			03	3.36E-03	1.050	0.732	2.285	1.104	1.538	NA	NA	NA	0.856	-0.238	1.241	1.649	1.649
			03	3.82E-03	-0.651	-0.521	-1.005	-0.175	-0.638	-0.059	-1.575	-1.462	-1.235	NA	NA	NA	NA
			03	3.85E-03	0.682	0.802	1.819	0.695	0.412	0.883	0.964	0.995	0.509	-0.484	-0.137	1.592	1.372
			03	3.97E-03	0.391	0.465	1.004	0.463	0.506	-0.079	0.954	0.931	0.214	-0.070	-0.118	0.407	0.392
			03	4.05E-03	-0.838	0.467	-1.840	-1.896	-1.133	-1.456	0.960	-1.736	0.266	-0.005	-2.186	-1.488	-1.488
			03	4.24E-03	0.440	0.482	1.583	0.383	0.552	0.160	0.475	0.519	0.307	-0.154	-0.051	1.361	0.793
			03	4.44E-03	0.541	0.641	-0.078	0.777	0.488	-0.004	0.772	0.861	1.635	1.900	-0.414	0.784	0.746
FA, KAC			03	4.46E-03	0.326	0.775	0.817	0.196	0.252	-0.055	0.883	0.381	0.315	-0.194	-0.057	0.429	0.369
脂代谢/脂质			03	4.57E-03	0.307	0.038	0.849	0.323	0.139	0.086	1.036	0.802	0.155	0.454	0.268	0.638	-0.175
			03	4.53E-03	-1.862	NA	NA	NA	NA	-0.874	-1.763	-2.786	-1.960	-1.985	0.139	-1.295	-4.019
			03	4.82E-03	0.871	0.840	0.330	0.025	1.105	0.438	3.141	1.221	0.672	1.218	-0.175	2.446	0.593
			03	4.84E-03	0.470	1.119	0.310	0.543	0.409	0.416	0.839	1.961	0.572	-0.122	-0.057	0.461	0.287
			03	4.96E-03	0.572	0.378	0.613	1.414	0.559	-0.367	1.246	1.864	1.015	0.471	0.194	2.079	-0.187
			03	5.02E-03	0.420	0.205	-0.182	0.269	0.771	0.752	1.138	0.843	0.836	1.233	-0.213	-0.171	1.241
			03	5.26E-03	0.662	1.331	0.473	0.34	0.433	0.309	0.848	1.465	-0.176	0.965	0.402	3.307	0.924
			03	5.54E-03	-0.613	-1.362	0.357	-1.319	-0.329	0.015	-1.217	-1.563	-0.551	-1.598	0.143	-0.136	-1.673
			03	5.95E-03	0.828	0.878	1.084	0.828	1.066	0.090	3.991	1.483	0.737	-0.681	0.186	-1.992	-0.201
			03	5.99E-03	-1.067	-1.595	0.017	-1.740	-0.787	0.093	-1.587	-2.356	-1.439	-2.597	0.432	0.488	-2.594

表 12 (续)

Q1498C	核黄素结合蛋白 1	6.21E-03	0.359	-0.112	0.614	0.093	1.456	0.055	0.263	0.348	0.222	0.568	0.092	1.408	-0.538
Q1499	肌动蛋白 结合 LM 蛋白 1	6.72E-03	-0.924	-0.563	-0.565	-1.934	-0.544	0.113	-2.851	-1.788	0.322	-2.58	0.039	-0.996	-1.504
Q665A2	含 B19PQ2 结构域蛋白 KCTD12	6.77E-03	0.477	0.644	0.269	0.178	0.891	-0.148	0.553	0.663	1.20	-0.164	-0.545	1.068	1.487
Q723W4	转铁蛋白结合蛋白 2	7.06E-03	0.833	1.636	0.838	1.609	0.275	-0.377	1.569	0.707	1.131	1.834	0.407	0.811	-0.688
Q9U08	细胞分化蛋白 9	7.16E-03	0.625	0.481	1.246	0.090	0.694	0.134	-0.188	0.900	-0.304	0.614	0.144	0.751	0.573
P11532	肌球蛋白 3	7.40E-03	0.938	0.918	0.806	1.088	1.201	-0.250	2.355	1.278	0.781	-1.059	0.102	2.003	1.502
P52594	含 A4-GAP 结构域和 16 重复蛋白 1	7.77E-03	0.452	-0.091	0.617	-0.105	0.427	0.035	0.293	0.478	0.969	0.524	-0.238	0.965	0.506
Q9P35	3-磷酸腺苷 5A 脱氢酶 3	7.94E-03	-0.680	0.115	-0.712	-0.938	-0.754	0.231	-0.219	-0.490	-0.791	-1.164	0.331	-0.648	-1.447
P50440-1	11 氨基酸基序转铁蛋白 6ATM_人同种型 2_转铁蛋白	7.94E-03	0.912	-1.500	-0.239	-1.764	-0.390	-0.084	-0.967	-2.398	-1.201	NA	NA	NA	NA
Q14791	肌球蛋白 11	8.14E-03	-0.344	-0.080	-0.992	-0.123	-0.069	0.138	-0.492	-1.173	-0.577	-0.924	0.108	-0.524	-0.221
FA	转铁蛋白 8	8.47E-03	0.325	0.202	0.871	0.248	0.409	-0.032	0.603	0.857	0.275	0.374	0.131	1.653	-0.152
Q15075	转铁蛋白/转铁蛋白受体 DC1K1	8.54E-03	0.429	0.035	0.636	1.175	0.672	-0.050	0.282	0.794	0.429	NA	NA	NA	NA
Q53C16	转铁蛋白/转铁蛋白受体 4	8.79E-03	-0.825	-0.777	0.086	-0.815	0.262	0.031	-0.811	-2.262	-1.162	-1.644	0.138	-0.743	-1.649
Q98Z68	转铁蛋白 Niban	8.85E-03	-0.635	-1.097	0.377	-0.997	-0.145	-0.010	-1.125	-0.998	-0.944	-2.389	0.187	-0.210	-1.907
P05408	转铁蛋白/转铁蛋白 752	9.07E-03	-0.399	-0.437	-0.751	-0.395	-0.134	-0.342	-0.378	-0.403	0.080	-0.577	-0.360	0.256	-1.559
P41219	转铁蛋白	9.31E-03	0.383	0.177	0.091	0.443	0.812	0.232	1.513	0.641	1.674	-0.359	-0.054	0.513	1.006
P62753	40S 核糖体蛋白 56	9.57E-03	-0.452	-0.904	0.293	-0.038	0.207	-0.146	-0.227	-1.342	-0.503	-0.819	-0.109	0.305	-1.585
VSVC	转铁蛋白/转铁蛋白 4	1.06E-02	0.582	1.021	1.233	0.602	0.659	NA	NA	NA	NA	-0.014	-0.047	1.205	0.856
Q9H09	ATP 结合 RNA 解旋酶 DDX55	1.07E-02	0.554	2.049	0.509	1.037	0.260	0.456	2.285	1.894	-0.891	1.042	-0.313	0.869	0.749
Q9616	P02 和 LM 结合蛋白 2	1.11E-02	0.783	0.755	0.805	1.169	1.876	-0.616	1.092	0.932	0.190	0.198	-0.335	0.312	1.330
Q9P05	转铁蛋白/转铁蛋白 5	1.14E-02	0.305	0.304	-0.423	1.075	1.040	-0.397	1.247	0.034	0.866	0.936	-0.007	0.575	0.918
P62258	14-3-3 蛋白 8	1.19E-02	-0.384	-0.174	0.382	-0.671	-0.389	-0.255	-0.882	-0.410	-1.060	-1.547	-0.002	0.046	-0.979
Q2Q185	RCK 相关蛋白 5-样	1.19E-02	0.300	NA	NA	NA	NA	1.250	0.545	0.843	0.756	NA	NA	NA	NA
Q347E7	转铁蛋白/转铁蛋白 2	1.22E-02	0.537	0.230	0.651	0.302	1.527	-0.393	-0.419	0.415	0.760	1.260	0.051	0.715	1.658
Q15056	转铁蛋白/转铁蛋白 4H	1.24E-02	-0.424	-0.838	0.063	-0.848	0.143	0.094	-0.485	-0.960	-0.526	-0.920	0.119	0.012	-1.431
Q93175	D-2 转铁蛋白/转铁蛋白	1.27E-02	-0.547	-1.777	0.363	-1.833	0.098	0.210	-0.693	-1.674	-0.791	-1.758	0.250	0.038	-1.409
P11171	转铁蛋白 4.1	1.28E-02	-0.481	0.207	-0.049	-0.736	-0.456	-0.396	-2.049	-0.535	-1.892	0.308	-0.110	-1.187	-0.757
P02751	转铁蛋白	1.22E-02	0.513	1.204	0.526	0.885	0.227	0.097	1.942	1.938	0.007	2.760	-0.103	0.748	0.048
Q05597	转铁蛋白/转铁蛋白 1	1.35E-02	-1.696	NA	NA	NA	NA	-0.705	-1.722	-1.671	-2.063	NA	NA	NA	NA
Q06210	转铁蛋白/转铁蛋白 6-转铁蛋白/转铁蛋白	1.34E-02	-0.434	-1.247	-0.159	-1.328	-0.371	0.058	-0.411	-1.551	-0.394	-2.462	0.277	0.773	-2.012
P16989	转铁蛋白/转铁蛋白 A	1.35E-02	-0.521	-0.043	0.336	-0.370	0.139	-0.510	-0.492	-0.536	-1.565	0.091	-0.521	-0.105	-0.833
Q15751	转铁蛋白/转铁蛋白 HERC1	1.41E-02	-0.947	-1.304	-0.563	-1.570	-1.124	NA	NA	NA	NA	-1.942	0.575	-0.449	-0.770
Q05831	转铁蛋白/转铁蛋白 1_转铁蛋白	1.52E-02	-0.095	-1.049	0.118	-0.786	0.453	0.042	-1.029	-1.429	-0.838	-2.542	0.437	0.351	-1.810
P60468	转铁蛋白/转铁蛋白 Sec61 转铁蛋白	1.58E-02	-0.527	-1.817	0.124	-0.971	-0.377	-0.460	-1.355	-2.080	-0.673	-2.949	0.096	0.860	-3.369

表 12(续)

	Q13884	9-17 蛋白激酶	1.63E-02	-0.329	-0.949	0.186	-0.826	-0.035	-0.433	-0.594	-1.512	-0.106	-1.525	0.190	0.326	-0.934
	Q0341	高尔基体蛋白 1 结合蛋白	1.72E-02	-0.502	-0.730	0.251	-0.897	-0.304	0.082	-0.224	-1.153	-0.197	-1.831	0.018	0.305	-1.764
	Q13357-8	钙调蛋白-肌球蛋白磷酸酶 II 型亚基 8 的同型物 85	1.79E-02	0.301	0.064	0.484	0.316	0.473	-0.032	0.803	0.197	0.301	NA	NA	NA	NA
	Q8TAQ2	SWI/SNF 复合物亚基 SMARCC2	1.78E-02	-0.483	-0.325	-0.117	-0.435	-0.502	-0.003	1.146	-0.586	-1.135	-1.231	0.119	0.669	-0.873
FA	Q19942	肌球蛋白	1.81E-02	0.363	0.721	0.762	0.155	0.645	-0.374	0.206	0.548	-0.074	1.222	-0.144	0.883	0.535
	Q1046	溶酶体酸化蛋白 1 结合蛋白 1	1.96E-02	1.029	0.661	0.866	-0.343	0.126	0.114	1.329	2.224	1.029	NA	NA	NA	NA
	Q5TD40	蛋白 DDI1 同源物 2	1.98E-02	-0.851	NA	NA	NA	NA	-0.775	-1.497	-0.570	-1.630	0.294	0.129	-2.012	-0.927
	P14625	肉豆蔻酰	1.98E-02	-0.578	-1.128	0.126	-0.071	-0.344	0.008	-0.038	-1.148	-0.170	-1.872	0.086	0.270	-1.294
FA	Q3V466	肌球蛋白-2	2.00E-02	0.513	NA	NA	NA	NA	-0.343	1.023	0.645	0.613	0.847	-0.146	0.737	0.785
TL RAC	Q72406	肌球蛋白-14	2.03E-02	0.340	0.255	1.364	0.386	0.325	-0.055	0.737	0.510	0.246	-0.194	0.101	1.741	-0.104
	Q8TE13	含 DENN 结构域蛋白 1A	2.09E-02	-0.578	NA	NA	NA	NA	-0.055	-1.596	-1.421	-1.102	-0.032	0.060	-0.578	-2.003
	P3-542	不均 核糖蛋白 H3	2.16E-02	0.427	-0.023	1.080	-0.101	0.802	0.222	2.455	0.058	1.345	-0.459	0.025	1.711	0.651
	P05387	60S 酸性核糖蛋白 P2	2.21E-02	-0.756	-1.824	0.479	-0.430	-0.134	0.014	-0.587	-1.860	-0.933	-2.680	0.204	0.609	-2.170
FA, RAC, VSMC	Q14974	蛋白核糖蛋白 1 同源物 12A	2.31E-02	0.989	-0.351	1.098	0.136	0.803	NA	NA	NA	NA	1.342	-0.013	1.566	1.401
	P40306	蛋白核糖蛋白 10	2.39E-02	0.408	0.186	0.261	0.100	1.012	0.390	-0.607	1.333	1.324	1.271	-0.240	-0.054	1.289
	P28799	肌球蛋白	2.41E-02	0.747	NA	NA	NA	NA	-0.407	0.408	1.891	1.486	2.622	-0.276	1.122	2.471
	Q13253	转氨酶 1-3	2.56E-02	0.322	0.154	1.204	0.758	1.470	0.237	2.009	0.321	1.081	-0.885	0.090	0.498	-0.204
	Q13202	核糖蛋白 8	2.60E-02	-1.340	-0.445	0.451	-0.969	-0.339	0.140	-1.426	-2.951	-1.718	NA	NA	NA	NA
TL, VSMC	P35749	肌球蛋白-11	2.75E-02	0.343	0.341	1.777	0.120	0.066	0.215	0.180	0.351	0.145	0.040	-0.082	1.930	0.838
	Q00515	肌球蛋白-1	2.80E-02	0.401	0.366	0.004	-0.117	0.593	0.115	0.721	0.643	-0.321	1.010	0.366	0.957	-0.483
	Q39951	内吞蛋白-42	2.83E-02	0.423	NA	NA	NA	NA	-0.068	0.605	0.517	-0.104	0.827	-0.285	0.781	0.601
	P0-533	核糖蛋白受体	2.90E-02	0.398	0.464	-0.351	0.005	0.610	-0.221	0.081	2.144	1.653	0.727	0.694	-0.256	1.589
FA, RAC, VSMC	Q15746	肌球蛋白磷酸酶, 平滑肌	2.95E-02	0.497	0.625	1.843	0.267	0.234	0.004	0.788	1.177	-0.071	-0.027	-0.170	2.051	0.554
	Q8Y7W6	PRC1 亚基核糖蛋白 GY 核糖蛋白 2	3.02E-02	0.376	NA	NA	NA	NA	0.022	0.205	0.135	0.352	0.903	-0.130	0.928	0.874
	D9Y2V3	肌球蛋白 1 (a) 同型物 3	3.03E-02	0.490	0.417	1.548	0.381	0.478	NA	NA	NA	NA	-0.154	-0.039	1.258	0.617
	E9PCT1	核糖蛋白 1 (a) 同型物 3	3.13E-02	0.565	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.160	0.633	0.599	0.380
	Q8YB83	核糖蛋白/核糖蛋白 1	3.13E-02	0.566	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.180	0.633	0.699	0.380
	B14M49	肌球蛋白 1 (H 亚型)	3.22E-02	0.525	NA	NA	NA	NA	-0.061	1.884	2.496	0.300	0.415	0.034	0.918	0.899
	Q0PFC1	未鉴定的蛋白	3.22E-02	0.435	NA	NA	NA	NA	-0.332	1.019	1.002	1.288	0.460	-0.154	0.265	1.443
	Q9P2E9	核糖蛋白结合蛋白 1	3.24E-02	-0.512	-1.465	0.203	-0.395	-0.039	0.011	-0.017	-2.052	-0.598	-2.565	0.177	0.598	-2.087
	E9PN02	平滑肌核糖蛋白结合蛋白 1 (H 亚型)	3.26E-02	0.625	0.123	1.732	0.593	0.672	NA	NA	NA	NA	0.020	0.049	2.299	0.739
	Q86486	多肽蛋白-1	3.29E-02	0.482	NA	NA	NA	NA	0.237	1.674	0.760	0.726	-0.067	0.192	0.034	0.772
	Q14005	蛋白结合-16	3.30E-02	0.520	0.416	1.772	0.809	0.013	-0.264	0.915	1.243	0.124	-0.017	-0.105	-0.342	1.710
	P23588	肌球蛋白结合蛋白 4B	3.46E-02	-0.374	0.598	0.440	-0.578	-0.012	0.169	-1.210	-1.374	-0.594	-0.582	0.065	0.443	-1.451

表 12(续)

Q9H3Q1	Cdc42 效应蛋白 4	3.47E-02	-1.252	-1.386	1.160	-2.577	-0.234	-0.708	-2.058	-1.737	-1.118	NA	NA	NA	NA
Q5SW79	170 kDa 的中心染色体蛋白	3.51E-02	-0.717	-0.585	-0.850	-1.207	-0.271	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Q96Q06	脂滴包被蛋白-4	3.53E-02	-0.804	0.045	-1.850	-0.880	-1.716	0.362	-0.979	-1.071	-1.337	-0.061	0.012	-1.475	1.164
Q92597	蛋白 NDRG1	3.53E-02	0.398	0.187	0.220	-0.408	0.668	-0.125	3.049	0.963	0.747	1.391	0.037	-0.017	1.002
E9FP16	酪氨酸磷酸酶受体相互作用蛋白-β-2	3.55E-02	0.875	NA	NA	NA	NA	0.211	1.011	1.216	0.739	NA	NA	NA	NA
Q86W92-2	酪氨酸磷酸酶受体相互作用蛋白-β-1 的同种型 2	3.55E-02	0.875	NA	NA	NA	NA	0.211	1.011	1.216	0.739	NA	NA	NA	NA
Q9UBG0	C-型甘露糖受体 2	3.59E-02	0.461	0.388	0.729	-0.120	0.654	-0.424	0.445	0.601	0.461	0.501	-0.235	1.241	-0.245
P08727	角蛋白, I 型细胞骨架 19	3.80E-02	0.422	0.198	0.383	0.412	1.078	0.075	0.816	1.428	0.300	-0.839	0.409	2.362	-0.034
P49590	可能的组蛋白-tRNA 连接酶, 线粒体	3.92E-02	-0.520	NA	NA	NA	NA	-0.302	-0.349	-1.031	-0.729	NA	NA	NA	NA
Q92598	热休克蛋白 105 kDa	4.07E-02	0.496	-0.332	0.605	-0.636	0.496	0.250	1.245	0.811	0.128	2.397	-0.102	0.934	0.608
Q9UDT6	CAP-Gly 结构域-包含接头蛋白 2	4.13E-02	0.780	NA	NA	NA	NA	-0.146	2.950	0.835	1.194	0.161	-0.099	1.528	0.801
Q8TD22	蛋白-半胱氨酸亚磺氧化酶 MICAL1	4.26E-02	0.676	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.067	0.253	0.933	0.418
Q36PK2	微管-肌动蛋白交联因子 1, 同种型 4	4.30E-02	0.488	0.644	1.034	0.231	0.655	-0.072	1.827	0.248	0.167	-0.491	-0.053	1.125	-0.140
Q14151	支架附着因子 B2	4.44E-02	-0.535	-0.783	-0.224	-0.535	-0.498	NA	NA	NA	NA	-0.681	0.245	0.278	-0.787
Q94903	脯氨酸合成酶共转录的细菌同源蛋白	4.53E-02	-0.306	-0.862	0.697	-1.113	-0.066	0.094	-1.565	-1.099	-0.721	-2.063	0.135	0.818	-1.546
Q43306-2	腺苷酸环化酶 6 型的同种型 2	4.56E-02	-1.630	NA	NA	NA	NA	-0.789	-0.816	-2.445	-2.667	NA	NA	NA	NA
Q14157	泛素-相关蛋白 2-样	4.57E-02	-0.931	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-0.886	-0.093	-0.975	-1.163
Q8TEW8	分区缺陷 3 同源物 B	4.59E-02	0.581	NA	NA	NA	NA	-0.637	0.451	1.229	1.871	0.604	0.132	0.872	0.558
Q13951-2	核-组蛋白亚基 β 的同种型 2	4.62E-02	0.537	0.342	-0.220	0.733	-0.010	0.003	1.684	1.571	0.842	NA	NA	NA	NA
Q15424	支架附着因子 B1	4.90E-02	-0.535	-0.797	-0.165	-0.535	-0.498	NA	NA	NA	NA	-0.681	0.245	0.278	-0.787
Q9Y4K4	促分裂原-激活的蛋白激酶磷酸酶酶 5	4.93E-02	0.399	0.691	0.285	-0.341	0.048	0.469	0.454	1.004	0.180	2.059	-0.332	0.411	0.029

表 12 (续)

病例	术语	计数	%	值	基因	列表 总数	群命中	群总数	富集倍数	Bonferroni	Benjamini	FDR
T1/NT1	hsa04530: 紧密连接	16	4.8338369	1.67E-07	Q96A65, Q9H4G0, Q3MNF0, Q3MNF1, P35221, Q05655, P35222, P35579, O43491, P55196, Q9P2M7, P35580, Q7Z406, Q3MNV8, Q9V624, P31749, P35749, Q14247, Q07157	113	134	5085	5.3731343	1.92E-05	1.92E-05	1.90E-04
T1/NT1	hsa04520: 粘着连接	11	3.3232628	5.71E-06	P55196, O43318, P29350, P18206, Q8WU11, Q60716, Q9U0B8, P06241, P35221, P35222, Q07157	113	77	5085	6.4285714	6.57E-04	3.28E-04	0.0065072
T1/NT1	hsa05130: 致病大肠杆菌感染	7	2.1148036	1.45E-03	Q92974, P68366, Q9B0E3, P06241, P35222, P19338, Q14247	113	57	5085	5.5263158	0.1539067	5.42E-02	1.6417623
T1/NT1	hsa04660: T细胞受体信号转导通路	9	2.7190332	2.44E-03	Q43318, P29350, Q95999, O14920, Q9BXL7, Q14934, P06241, P36507, P31749	113	108	5085	3.75	0.2445643	6.77E-02	2.7397466
T1/NT1	hsa05416: 病毒性心肌炎	7	2.1148036	4.47E-03	P35580, Q3MNF0, Q7Z406, Q3MNF1, Q04637, P06241, Q3MNV8, P11532, P35749, P35579	113	71	5085	4.4365197	0.4025028	9.79E-02	4.9732348
T1/NT1	hsa04662: B细胞受体信号转导通路	7	2.1148036	5.85E-03	P29350, Q95999, Q14920, Q9BXL7, Q14934, P36507, P31749	113	75	5085	4.2	0.4908272	1.06E-01	6.4670057
T1/NT1	hsa05412: 致心律失常性右室心肌病 (ARVC)	7	2.1148036	6.24E-03	P02545, P15924, P35221, P17661, Q99599, P35222, P11532	113	76	5085	4.1447368	0.5132938	9.78E-02	6.8841508
T1/NT1	hsa04670: 白细胞药内皮迁移	8	2.4169184	1.48E-02	P55196, P18206, O60716, P26038, Q96F54, P35221, P35222, Q9V624	113	118	5085	3.0508475	0.8191351	1.92E-01	15.580936
T1/NT1	hsa04370: VEGF信号转导通路	6	1.8126888	2.41E-02	P29474, Q14934, P36507, P04792, P47712, P31749	113	75	5085	3.6	0.9396232	2.68E-01	24.274084
T1/NT1	hsa05221: 急性髓细胞样白血病	5	1.510574	3.81E-02	Q14920, P36507, P42229, P31749, P29590	113	58	5085	3.8793103	0.9884985	3.60E-01	35.743558
T4/NT4	hsa04530: 紧密连接	13	4.5454545	1.18E-06	Q3MNF1, Q9UDY2, P11171, Q05655, P35222, P35579, Q9P2M7, P55196, P35580, Q51D00, Q7Z406, Q9V624, P31749, P35749	83	134	5085	5.9436252	1.15E-04	1.15E-04	0.0012992
T4/NT4	hsa04660: T细胞受体信号转导通路	8	2.7972028	1.65E-03	Q43318, P29350, Q14920, Q9BXL7, P28482, Q14934, O75791, P31749	83	108	5085	4.5381526	0.1491123	7.76E-02	1.8053893
T4/NT4	hsa04662: B细胞受体信号转导通路	6	2.0979021	6.89E-03	P29350, Q14920, Q9BXL7, P28482, Q14934, P31749	83	75	5085	4.9012048	0.4920664	2.02E-01	7.358219
T4/NT4	hsa05412: 致心律失常性右室心肌病 (ARVC)	6	2.0979021	7.28E-03	P02545, P15924, P17661, Q99599, P35222, P11532	83	76	5085	4.8367153	0.5114174	1.64E-01	7.76333
T4/NT4	hsa04270: 血管平滑肌收缩	7	2.4475524	8.99E-03	Q43306, Q05682, Q3MNF1, P28482, Q05655, O14974, P35749, Q96A00	83	112	5085	3.8290663	0.5873256	1.62E-01	9.5038909
T4/NT4	hsa05221: 急性髓细胞样白血病	5	1.7482517	1.38E-02	Q14920, P28482, Q01196, P40763, P31749	83	58	5085	5.2814707	0.7432498	2.03E-01	14.221884
T4/NT4	hsa04722: 神经营养因子信号转导通路	7	2.4475524	1.44E-02	Q14920, P28482, Q05655, Q13554, Q99759, P31749, Q99523	83	124	5085	3.4585115	0.7589093	1.84E-01	14.828775
T4/NT4	hsa04910: 胰岛素信号转导通路	7	2.4475524	2.11E-02	Q14920, Q15642, P28482, P13861, P46019, P31749, P10644	83	135	5085	3.1767068	0.8762019	2.30E-01	20.998908

表 13

T4/NT4	hsa04010: MAPK信号转导通路	10	3.4965035	2.70E-02	Q14315, Q43318, Q01201, Q14920, P28482, Q14934, P21333, P11831, Q99759, P31749	83	267	5085	2.2945715	0.9314064	2.57E-01	26.090432
T4/NT4	hsa05416: 病毒性心肌炎	5	1.7482517	2.70E-02	P35580, Q72406, Q3MNF1, P11532, P35749, P35579	83	71	5085	4.3144409	0.9314481	2.35E-01	26.095508
T4/NT4	hsa04370: VEGF信号转导通路	5	1.7482517	3.22E-02	P49023, P29474, P28482, Q14934, P31749	83	75	5085	4.0843373	0.9594031	2.53E-01	30.337414
T4/NT4	hsa04520: 粘着连接	5	1.7482517	3.50E-02	P55196, Q43318, P29350, P28482, P35222	83	77	5085	3.9782507	0.9694356	2.52E-01	32.533139
T4/NT4	hsa04510: 局部粘附收缩	8	2.7972028	4.23E-02	Q14315, P49023, P28482, P02452, P21333, P35222, Q14974, P31749	83	201	5085	2.4384104	0.9855755	2.78E-01	38.013707
T5/NT5	hsa04270: 血管平滑肌收缩	11	3.3742331	8.26E-05	Q14573, P63092, Q3MNF0, Q3MNF1, P10398, Q96400, Q9Y6F6, Q43306, Q15746, P28482, P36507, Q3MIV8, P35749, Q15085	105	112	5085	4.7563776	0.0088823	8.88E-03	0.0929764
T5/NT5	hsa04530: 紧密连接	10	3.0674847	1.55E-03	Q9H4G0, B7Z7H6, Q3MNF0, Q3MNF1, Q95049, P35222, P35579, Q9P2M7, P35580, Q72406, Q3MIV8, P35749, Q07157	105	134	5085	3.6140725	0.1538314	8.01E-02	1.7264351
T5/NT5	hsa04540: 缺口连接	8	2.4539877	2.13E-03	Q43306, Q14573, P63092, P68366, Q9BQE3, P28482, P36507, Q07157	105	89	5085	4.35313	0.2057072	7.39E-02	2.3725258
T5/NT5	hsa04510: 局部粘附	12	3.6809816	2.48E-03	Q14315, P21105, P18206, Q15746, Q9Y490, Q92934, P28482, P02452, P21333, Q15942, B7Z7H6, P35222	105	201	5085	2.891258	0.235444	6.49E-02	2.7601375
T5/NT5	hsa05416: 病毒性心肌炎	7	2.1472393	3.09E-03	Q43432, P35580, Q3MNF0, Q72406, Q3MNF1, Q04637, Q3MIV8, P11532, P35749, P35579	105	71	5085	4.7746479	0.2843357	6.47E-02	3.427805
T5/NT5	hsa05130: 致病大肠杆菌感染	6	1.8404908	5.86E-03	Q92974, P68366, P05783, Q9BQE3, P35222, P19338	105	57	5085	5.0977444	0.4696496	1.00E-01	6.398432
T5/NT5	hsa05221: 急性髓细胞样白血病	6	1.8404908	6.31E-03	Q92934, P28482, P10398, P36507, P40763, P29590	105	58	5085	5.0098522	0.4949715	9.30E-02	6.8746491
T5/NT5	hsa04720: 长时程增强	6	1.8404908	1.22E-02	Q14573, Q13522, P28482, P10398, Q13554, P36507	105	68	5085	4.2731092	0.7349611	1.53E-01	12.928771
T5/NT5	hsa04520: 粘着连接	6	1.8404908	2.01E-02	P29350, P18206, Q60716, P28482, P35222, Q07157	105	77	5085	3.7736549	0.8879411	2.16E-01	20.403138
T5/NT5	hsa05216: 甲状腺癌	4	1.2269939	2.07E-02	P28482, P36507, P35222, Q16204	105	29	5085	6.679803	0.8949838	2.02E-01	20.93999
T5/NT5	hsa05213: 子宫内膜癌	5	1.5337423	2.11E-02	Q92934, P28482, P10398, P36507, P35222	105	52	5085	4.6565934	0.8999753	1.89E-01	21.340372
T5/NT5	hsa05110: 霍乱弧菌感染	5	1.5337423	2.69E-02	P13569, P63092, Q43731, P60468, Q07157	105	56	5085	4.3239796	0.9474237	2.18E-01	26.441898
T5/NT5	hsa04912: GnRH信号转导通路	6	1.8404908	4.94E-02	Q43306, Q14573, P63092, P28482, Q13554, P36507	105	98	5085	2.9650146	0.9958125	3.44E-01	43.497593
T6/NT6	hsa04530: 紧密连接	11	4.0892193	1.97E-05	P55196, P35580, Q9H4G0, Q72406, Q51D0, P35221, P35749, P35579, Q9Y624, P31749, Q14247	75	134	5085	5.5656716	0.001774	1.77E-03	0.0214598
T6/NT6	hsa04912: 胰岛素信号转导通路	8	2.9739777	3.25E-03	Q92934, Q14432, Q95685, P10398, P36507, P13861, P31749, P10644	75	135	5085	4.0177778	0.2542474	1.36E-01	3.483869
T6/NT6	hsa05213: 子宫内膜癌	5	1.8587361	6.60E-03	Q92934, P35221, P10398, P36507, P31749	75	52	5085	6.5192308	0.4491342	1.80E-01	6.9537378
T6/NT6	hsa04670: 白细胞跨内皮迁移	7	2.6022305	7.05E-03	P55196, P18206, Q60716, Q96F54, P35221, Q9NRV4, Q9Y624	75	118	5085	4.0220339	0.4709377	1.47E-01	7.4068415
T6/NT6	hsa05221: 急性髓细胞样白血病	5	1.8587361	9.69E-03	Q92934, Q01196, P10398, P36507, P31749	75	58	5085	5.8448276	0.5838409	1.61E-01	10.054798
T6/NT6	hsa05416: 病毒性心肌炎	5	1.8587361	1.93E-02	P35580, Q72406, P11532, P35749, P35579	75	71	5085	4.7746479	0.8265815	2.53E-01	19.085621

表 13(续)

T6/NT6	hsa05220:慢性髓细胞样白血病	5	1.8587361	2.31E 02	Q92934, Q01196, P10398, P36507, P31749	75	75	5085	4.52	0.8779095	2.59E-01	22.446264
T6/NT6	hsa04520:粘着连接	5	1.8587361	2.52E 02	P55196, O43318, P18206, O60716, P35221	75	77	5085	4.4025974	0.8991223	2.49E-01	24.214903
T6/NT6	hsa04810:肌动蛋白细胞骨架的调节	8	2.9739777	3.58E 02	P35580, P18206, Q72406, P36667, P10398, Q9NRV4, P36507, P35579	75	215	5085	2.5227907	0.9623427	3.05E-01	32.724673
T6/NT6	hsa05223:非-小细胞肺癌	4	1.4869888	4.32E 02	Q92934, P10398, P36507, P31749	75	54	5085	5.0222222	0.9812867	3.28E-01	38.177535
T7/NT7	hsa04520:粘着连接	9	3.8793103	9.44E 06	P55196, P08069, P29350, P18206, Q8WW11, O60716, P06241, P18031, Q07157	72	77	5085	8.2548701	8.77E-04	8.77E-04	0.0103315
T7/NT7	hsa04510:局部粘附	10	4.3103448	1.75E 03	P08069, P18206, Q9Y490, P49841, P49023, P02452, P21333, P06241, Q15942, P31749	72	201	5085	3.5136816	0.150061	7.81E-02	1.8957344
T7/NT7	hsa04530:紧密连接	8	3.4482759	2.45E 03	P55196, Q9H460, Q72406, Q95049, P35749, P31749, Q14247, Q07157	72	134	5085	4.2164179	0.2049008	7.35E-02	2.6629666
T8/NT8	hsa04530:紧密连接	20	2.8129395	2.15E 06	Q9H460, Q9G465, Q95049, Q9UDV2, P11171, Q05655, P35579, Q13813, Q8TEW0, P55196, Q9P2M7, P35580, Q5JTD0, Q7Z406, Q9Y212, Q9Y624, P31749, P35749, Q07157, Q14247	213	134	5085	3.5631701	2.84E-04	2.84E-04	0.0025155
T8/NT8	hsa03040:剪接体	18	2.5316456	1.49E 05	P52272, P26368, Q75643, P49756, Q60231, Q13573, Q13247, Q07955, Q9UKV3, Q08170, Q9Y5S9, P08621, Q13242, Q00839, P61978, P09651, Q15365, P38159	213	126	5085	3.4104628	0.0019674	9.84E-04	0.0174202
T8/NT8	hsa04270:血管平滑肌收缩	15	2.1097046	1.99E 04	Q05655, Q60237, Q9NZN5, Q14974, P47712, Q9G400, Q9Y676, Q15746, Q05682, P47901, P28482, P36507, P22694, Q15085, P35749	213	112	5085	3.1973089	0.0259813	8.74E-03	0.2326065
T8/NT8	hsa04520:粘着连接	11	1.5471167	1.22E 03	P55196, Q43318, P29350, P18206, Q8WW11, Q60716, P28482, Q9UQ88, P18031, Q8TEW0, Q07157	213	77	5085	3.4104628	0.148375	3.94E-02	1.4107526
T8/NT8	hsa04910:胰岛素信号转导通路	15	2.1097046	1.35E 03	P49841, Q92934, Q15642, Q95685, P62753, P35568, P13861, P18031, Q9Y4H2, P54646, P28482, P36507, P22694, P31749, P46019	213	135	5085	2.6525822	0.1636104	3.51E-02	1.5680658
T8/NT8	hsa04660:T细胞受体信号转导通路	13	1.8284107	1.64E 03	Q95999, P49841, Q13177, Q75791, Q15111, Q43318, P05412, P29350, Q14934, P28482, Q16539, P36507, P31749	213	108	5085	2.8736307	0.1947729	3.55E-02	1.8981408
T8/NT8	hsa05220:慢性髓细胞样白血病	10	1.4064698	3.68E 03	Q13547, Q9UQ82, Q92934, Q92769, P28482, P36507, P46527, P42229, P31749, Q15111	213	75	5085	3.1830986	0.385359	6.72E-02	4.2142762
T8/NT8	hsa04662:B细胞受体信号转导通路	10	1.4064698	3.68E 03	P05412, P29350, Q95999, P49841, P28482, Q14934, P36507, P31749, Q15111, P07948	213	75	5085	3.1830986	0.385359	6.72E-02	4.2142762
T8/NT8	hsa04010:MAPK信号转导通路	21	2.9535865	7.33E 03	P10636, P21333, P15336, Q13177, P47712, Q15111, Q95819, Q14315, Q9UB16, Q43318, P05412, P16949, P28482, Q14934, Q16539, P36507, Q9NV18, P04792, P22694, Q9Y759, P31749	213	267	5085	1.8776705	0.621331	1.14E-01	8.2319478
T8/NT8	hsa04810:肌动蛋白细胞骨架的调节	18	2.5316456	7.81E 03	P02751, P18206, P16144, Q9UQ88, P19634, Q13177, Q9NZN5, Q14974, P35579, P35580, Q9UR16, P15311, Q15746, Q72406, Q9Y2X7, P28482, P36507, Q13576, Q92934, P28482, P36507, P40763, P42229, P31749, Q15111, P29590	213	215	5085	1.9986898	0.6449799	1.09E-01	8.7539777
T8/NT8	hsa05221:急性髓性白血病	8	1.1251758	9.77E 03	Q92934, P29474, P28482, Q14934, Q16539, P36507, P04792, P47712, P31749	213	58	5085	3.2978606	0.7264061	1.22E-01	10.832901
T8/NT8	hsa04370:VEGF信号转导通路	9	1.2658228	1.22E 02	Q92934, P29474, P28482, Q14934, Q16539, P36507, P04792, P47712, P31749	213	75	5085	2.8647887	0.8022238	1.37E-01	13.356237
T8/NT8	hsa04722:神经营养因子信号转导通路	12	1.6877637	1.38E 02	Q05655, P36507, P35568, Q99759, P31749, Q99523	213	124	5085	2.3103135	0.8397247	1.42E-01	14.952809

表 13 (续)

T8/NT8	hsa04664:Fc ϵ RI信号转导通路	9	1.2658228	1.53E-02	Q9UQC2, P30273, P28482, Q16539, Q05655, P36507, P47712, P31749, P07948, P02751, P18206, Q9V490, P49641, Q92934, P02452, P21333, P16144, Q13177, P10451, Q14974, Q14315, P05412, Q15746, P28482, P31749	213	78	5085	2.7546046	0.8685133	1.44E-01	16.429408
T8/NT8	hsa04510:局部粘附	16	2.2503516	1.97E-02	Q9V4H2, P54546, P35568, Q8N559, P40763, P31749, Q15111, Q96RR4	213	201	5085	1.9003574	0.9275308	1.71E-01	20.719655
T8/NT8	hsa04920:脂肪细胞因子信号转导通路	8	1.1251758	2.06E-02	Q43318, Q13546, P05412, P28482, Q16539, Q9NYH8, P36507, P10451, P31749, Q15111	213	67	5085	2.8505361	0.9363084	1.68E-01	21.619998
T8/NT8	hsa04620:Toll-样受体信号转导通路	10	1.4064698	2.42E-02	P05412, P49841, Q9V934, P28482, Q13177, P36507, P46527, P42229, P31749	213	101	5085	2.3636871	0.960387	1.83E-01	24.844586
T8/NT8	hsa04012:Erk8信号转导通路	9	1.2658228	2.77E-02	Q13547, Q9V680, Q9V618, Q92769, Q13573, Q8TD86	213	87	5085	2.4696455	0.9754317	1.96E-01	27.954395
T8/NT8	hsa04330:Notch信号转导通路	5	0.8438819	4.45E-02	Q96A65, Q9H4G0, Q95049, P35222, P35579, Q9P2M7, P55196, P35580, Q7Z406, P31749, P35749, Q9V624, Q07157	213	47	5085	3.0476476	0.9975498	2.84E-01	41.245623
T9/NT9	hsa04530:紧密连接	13	2.5742574	1.24E-03	P02751, P18206, Q9V490, Q92934, P02452, P21333, P16144, P10451, Q15942, P35222, Q14315, P22105, Q9U412, Q15746, B2Z283, P31749	166	134	5085	2.9718126	0.1402452	1.40E-01	1.4159514
T9/NT9	hsa04510:局部粘附	16	3.1683168	2.04E-03	Q9U4V3, P52272, P26368, Q75643, Q13247, P49756, Q13573, Q8NY27, Q75533, P61978, Q08839, P38159	166	201	5085	2.4384104	0.2204942	1.17E-01	2.3234027
T9/NT9	hsa03040:剪接体	12	2.3762376	2.42E-03	Q92934, Q06455, P10398, P36507, P40763, P31749, Q15111, P29590	166	126	5085	2.9173838	0.2556182	9.37E-02	2.7474917
T9/NT9	hsa05221:急性髓细胞白血病	8	1.5841584	2.49E-03	Q9V4H2, Q92934, P54646, Q15642, Q95685, P62753, P10398, P36507, P35568, P13861, P46019, P31749	166	58	5085	4.2251766	0.2620032	7.31E-02	2.8265259
T9/NT9	hsa04910:胰岛素信号转导通路	12	2.3762376	4.14E-03	P05412, P29350, Q95999, Q98XL7, Q14934, P36507, P31749, Q15111	166	135	5085	2.7228916	0.397191	9.63E-02	4.6545079
T9/NT9	hsa04662:B细胞受体信号转导通路	8	1.5841584	1.04E-02	Q92934, P29474, Q14934, Q16539, P36507, P04792, P47712, P31749	166	75	5085	3.2674699	0.719697	1.91E-01	11.310903
T9/NT9	hsa04370:VEGF信号转导通路	8	1.5841584	1.04E-02	Q9V4H2, P54646, P35568, Q8N559, P40763, P31749, Q15111	166	75	5085	3.2674699	0.719697	1.91E-01	11.310903
T9/NT9	hsa04920:脂肪细胞因子信号转导通路	7	1.3861386	2.08E-02	P05412, P29350, Q95999, Q98XL7, Q14934, Q16539, P36507, P31749, Q15111	166	67	5085	3.2004136	0.9227555	3.06E-01	21.468611
T9/NT9	hsa04660:T细胞受体信号转导通路	9	1.7821782	2.33E-02	P10636, P21333, P15336, Q9V4G8, P47712, Q15111, Q95819, Q14315, P05412, P16949, Q14934, Q16539, P36507, B2Z283, P04792, P31749	166	108	5085	2.5527108	0.9439676	3.02E-01	23.812309
T9/NT9	hsa04010:MAPK信号转导通路	16	3.1683168	2.57E-02	P35196, P15311, P18206, Q60716, P26038, Q96F54, Q16539, P35222, Q9V624	166	267	5085	1.8356572	0.9582575	2.97E-01	25.900039
T9/NT9	hsa04570:白细胞跨内皮迁移	9	1.7821782	3.70E-02	P35196, P29350, P18206, Q8WNW1, Q60716, P35579, P35580, Q15746, P15311, Q7Z406, P36507, Q13576	166	118	5085	2.3363794	0.9899851	3.69E-01	35.23915
T9/NT9	hsa04520:粘着连接	7	1.3861386	3.80E-02	P02751, Q9NYH8, P18206, P26038, P16144, P10398, P35579, P35580, Q15746, P15311, Q7Z406, P36507, Q13576	166	77	5085	2.7847755	0.9910909	3.49E-01	35.950324
T9/NT9	hsa04810:肌动蛋白细胞骨架的调节	13	2.5742574	4.56E-02	Q9H4G0, Q95049, P35221, P11171, P35222, P35579, Q13813, P55196, Q9P2M7, P35580, Q51130, Q7Z406, Q8N135, Q9V624, P31749, P35749, Q07157, Q14247	166	215	5085	1.8521995	0.9966421	3.78E-01	41.584981
T10/NT10	hsa04530:紧密连接	18	2.6509573	5.76E-05	P18206, Q9V490, P49841, Q92934, P02452, P16144, Q14247	222	134	5085	3.0769455	0.0072945	7.29E-03	0.0668322
T10/NT10	hsa04510:局部粘附	21	3.0927835	3.95E-04		222	201	5085	2.3931021	0.0489362	1.25E-02	0.4570234

表 13(续)

T10/NT 10	hsa05216: 甲状腺癌 转导通路	5	0.736377	3.51E-02	P36507, P31749	222	29	5085	3.9492078	0.9895578	1.79E-01	33.95539
T10/NT 10	hsa04010: MAPK信号 转导通路	19	2.7982327	4.10E-02	P12270, P28482, P36507, P35222, Q16204, P10636, Q98209, P21333, P15336, Q9Y4G3, Q13177, Q95819, Q9U0B6, P04049, P05412, P16949, P28482, Q14934, P11831, Q16539, P36507, Q9NVJ8, P04792, P31749	222	267	5085	1.6299727	0.9951076	1.92E-01	38.479787
T10/NT 10	hsa00520: 氨基酸和核 苷酸糖代谢	6	0.8836524	4.06E-02	Q06210, P36871, Q96G03, Q9UJ70, Q60701, Q95394, Q14493, Q9H4G0, P16989, Q3MNF1, Q9NVJ2, Q95049, Q9U0Y2, P35221, Q05655, P35579, Q13813, Q43491, P55196, Q9P2M7, P35580, Q16625, Q3JTD0, Q7Z406, Q8N1B5, Q43707, Q9Y624, P78369, P35749, Q07157	222	44	5085	3.1234644	0.9947976	1.97E-01	38.133693
T11/NT 11	hsa04530: 紧密连接	23	3.1420765	6.44E-08	Q14573, P63092, Q3MNF1, Q13464, P10398, Q05655, Q60237, Q9NZN5, Q14974, Q96A00, Q9Y6F6, P04049, Q05682, P28482, P36507, Q15085, P35749	226	134	5085	3.8619403	8.56E-06	8.56E-06	7.53E-05
T11/NT 11	hsa04270: 血管平滑 肌收缩	16	2.1857923	1.04E-04	P08648, P18206, P26038, Q13464, Q9U0B8, P10398, Q9NZN5, Q14974, P35579, Q14155, P35580, P04049, Q15052, Q7Z406, P49023, P25054, P26010, P28482, Q76176, Q43707, Q9NRY4, P36507, Q13576	226	112	5085	3.2142857	0.0137585	6.90E-03	0.1217248
T11/NT 11	hsa04810: 肌动蛋白 细胞骨架的调节	23	3.1420765	1.74E-04	Q14493, P18206, P26038, Q96F54, Q13464, P35221, P55196, Q16625, P49023, Q15080, Q50716, Q9NRY4, Q43707, Q9Y624, P78369	226	215	5085	2.4069767	0.0229065	7.69E-03	0.2035185
T11/NT 11	hsa04670: 白细胞跨 内皮迁移	15	2.0491803	6.35E-04	P52272, P51991, Q13573, Q13247, Q07955, Q9UKV3, Q16629, Q9Y559, P08621, Q5V7L8, Q13242, P61978, P09651, Q15365, P38159, P08648, P18206, Q9Y490, Q92934, Q13464, P21333, P10451, Q15942, Q14974, Q03135, Q14315, P04049, P05412, P49023, Q9NVD7, P26010, P28482, Q9NRY4, Q43707	226	118	5085	2.8501695	0.0809759	2.09E-02	0.7396365
T11/NT 11	hsa03040: 剪接体	15	2.0491803	1.22E-03	P55196, Q43318, P18206, Q8WW11, Q60716, P28482, Q9U0B8, P35221, Q43707, Q07157, P04049, Q92934, P25054, P28482, P35221, P10398, P36507, Q43524	226	126	5085	2.6785714	0.1502805	3.20E-02	1.4214971
T11/NT 11	hsa04510: 局部粘附	19	2.5956284	3.15E-03	Q13233, Q92934, Q9ULH0, Q05655, P35568, Q43524, Q95523, Q9Y4H2, P04049, Q13480, P05412, P28482, P36507	226	201	5085	2.1268657	0.3425831	6.75E-02	3.6203464
T11/NT 11	hsa04520: 粘着连接	10	1.3661202	6.48E-03	P05412, Q43318, P18206, Q8WW11, Q60716, P28482, Q9U0B8, P35221, Q43707, Q07157, P04049, Q92934, P25054, P28482, P35221, P10398, P36507, Q43524	226	77	5085	2.9220779	0.5788665	1.02E-01	7.3211535
T11/NT 11	hsa05213: 子宫内腺癌	8	1.0928962	7.39E-03	Q13233, Q92934, Q9ULH0, Q05655, P35568, Q43524, Q95523, Q9Y4H2, P04049, Q13480, P05412, P28482, P36507	226	52	5085	3.4615385	0.6273717	1.04E-01	8.3128594
T11/NT 11	hsa04722: 神经营养因 子信号转导通路	13	1.7759563	8.30E-03	P02545, P08648, P15924, Q14126, P26010, P35221, Q43707, Q99595, P16615, P11532	226	124	5085	2.358871	0.6699201	1.05E-01	9.2850054
T11/NT 11	hsa06412: 致心律失常 性右室心肌病 (ARVC)	10	1.3661202	5.95E-03	P15880, P55795, P05387, P05386, P62888, P61247, P62753, P42677, P23396, P26373	226	76	5085	2.9605263	0.5476174	1.07E-01	6.7360995
T11/NT 11	hsa03010: 核糖体	10	1.3661202	1.41E-02	P04049, Q7Z415, Q92934, P28482, P10398, P36507, P42229, P29590	226	87	5085	2.5862069	0.8483653	1.45E-01	15.281282
T11/NT 11	hsa05221: 急性髓细胞 样白血病	8	1.0928962	1.33E-02	Q13131, Q93100, Q92934, Q95685, P62753, P10398, P35568, P13861, Q9Y4H2, P04049, P28482, Q16822, P36507	226	58	5085	3.1034483	0.8313104	1.49E-01	14.483689
T11/NT 11	hsa04910: 胰岛素信号 转导通路	13	1.7759563	1.57E-02	Q15344, Q9C0C9, Q13233, Q15751, Q7Z627, Q9Y385, Q14669, Q9U0X2, Q00308, Q92466, P36507	226	135	5085	2.1666667	0.8786906	1.50E-01	16.926986
T11/NT 11	hsa04120: 泛素介导 的蛋白水解	13	1.7759563	1.75E-02	Q9Y385, Q14669, Q9U0X2, Q00308, Q92466, P36507	226	137	5085	2.1350365	0.9045369	1.54E-01	18.658616

表 13 (续)

表 13(续)

T13/NT 13	hsa04810: 肌动蛋白细胞骨架的调节	12	2.2988506	4.77E-02	P04049, P18206, Q15746, Q72406, P49023, Q14185, Q9UQ88, P19634, P10398, P46108, Q14974, P35579, Q14493, Q9H4G0, Q3MNF1, P15989, Q6PIN3, Q95049, Q9UDY2, P35221, P35222, P35579, P55196, Q9P2M7, P35580, Q16625, Q72406, Q8N9S5, Q9V624, P78369, P35749, Q07157, Q14747	149	215	5085	1.9047916	0.9935063	2.72E-01	42.109451
T14/NT 14	hsa04530: 紧密连接	20	3.2894737	3.65E-07	P52272, Q13573, Q60231, Q13247, P49756, Q07955, Q9UKV3, Q16629, P62995, Q5V7L8, Q13242, P61978, Q00839, P09651, Q15365, P38159	190	134	5085	3.9945012	4.79E-05	4.79E-05	4.26E-04
T14/NT 14	hsa03040: 剪接体	16	2.6315789	5.58E-05	P63092, Q3MNF1, Q13464, P10398, Q9NZN5, Q60237, P47712, Q96A00, Q9V6F6, P04049, Q15746, P36507, Q15085, P35749	190	126	5085	3.3984962	0.0072869	3.65E-03	0.0650832
T14/NT 14	hsa04270: 血管平滑肌收缩	13	2.1381579	8.32E-04	P18206, Q60610, Q13464, P19634, P10398, Q9NZN5, P35579, Q14155, P35580, P04049, Q15746, Q15052, Q72406, P25054, P26010, Q9Y2X7, Q14185, P36507, Q13576	190	112	5085	3.106438	0.1032587	3.57E-02	0.965499
T14/NT 14	hsa04810: 肌动蛋白细胞骨架的调节	19	3.125	9.41E-04	Q13131, Q92934, Q308M2, Q14432, Q95685, P49815, P62753, P10398, P13861, Q9V4H2, P04049, Q16822, P36507	190	215	5085	2.3651163	0.1160829	3.04E-02	1.0924018
T14/NT 14	hsa04910: 胰岛素信号转导通路	13	2.1381579	4.13E-03	P15880, P55795, P05387, P05386, P62888, P61247, P62753, P42677, P23396, P26373	190	135	5085	2.577193	0.4184421	1.03E-01	4.7106193
T14/NT 14	hsa03010: 核糖体	10	1.6447368	4.69E-03	Q43639, Q92974, Q16625, Q13464, P05783, P35222, P19338, Q14247	190	87	5085	3.076225	0.4596029	9.75E-02	5.3312569
T14/NT 14	hsa05130: 致病大肠杆菌感染	8	1.3157895	4.80E-03	P02545, P15924, Q14126, P26010, P35221, P17661, Q99599, P35222, P11532	190	57	5085	3.7562327	0.4676489	8.61E-02	5.4575902
T14/NT 14	hsa05412: 致心律失常性右室室心肌病 (ARVC)	9	1.4802632	6.80E-03	P55196, P08069, Q43318, P18206, Q8WW11, Q60716, P35221, P35222, Q07157	190	76	5085	3.1693213	0.5908833	1.06E-01	7.6477751
T14/NT 14	hsa04520: 粘着连接	9	1.4802632	7.35E-03	P18206, Q60610, Q92934, Q308M2, Q13464, P21333, P10451, P35222, Q14315, P04049, P08069, P05412, Q15746, Q9NVD7, P26010, Q14185	190	77	5085	3.1281613	0.6196813	1.02E-01	8.2458909
T14/NT 14	hsa04510: 局部粘附	16	2.6315789	7.38E-03	P04049, Q92934, P25054, P35221, P10398, P36507, P35222	190	201	5085	2.1304006	0.6210144	9.25E-02	8.2745655
T14/NT 14	hsa05213: 子宫内膜癌	7	1.1513158	1.20E-02	P55196, Q14493, P18206, Q16625, Q60716, Q13464, P35221, P35222, Q9Y624, P78369	190	52	5085	3.6027328	0.7931399	1.33E-01	13.087384
T14/NT 14	hsa04670: 白细胞跨内皮迁移	10	1.6447368	3.06E-02	P08069, P04049, P05412, Q92934, Q308M2, P25054, P10398, P35222	190	118	5085	2.2680642	0.983051	2.88E-01	30.439663
T14/NT 14	hsa05210: 结直肠癌	8	1.3157895	3.57E-02	P04049, P05412, Q43639, Q92934, Q308M2, P10398, P36507, P42229	190	84	5085	2.5488722	0.9914331	3.07E-01	34.538812
T14/NT 14	hsa04012: ErbB 信号转导通路	8	1.3157895	4.20E-02		190	87	5085	2.46098	0.9963749	3.31E-01	39.363299

表 13 (续)

登录号	蛋白质	肽	总	1T/1NT	KEGG 途径
P55196	丝状肌动蛋白	TQVLsPDSLFTak	S1721	-1.63	AJ, TJ
Q9H4G0	带 4.1-样蛋白 1	hQAs INELk	S510	-1.64	TJ
Q9H4G0	带 4.1-样蛋白 1	rLPSsPAsSPk	S541; S544	-1.11	TJ
Q9H4G0	带 4.1-样蛋白 1	SLsPIIGk	S784	-1.53	TJ
Q9H4G0	带 4.1-样蛋白 1	gGFsETRIEk	S820	-1.71	TJ
Q43491	带 4.1-样蛋白 2	qksYTLWAK	S87	-1.28	TJ
Q9U0B8	脑特异性血管生长抑制剂 1-相关蛋白 2	SSsmAAGLER	S366	1.41	AJ
Q9U0B8	脑特异性血管生长抑制剂 1-相关蛋白 2	SSsmAAGLER	S366	1.63	AJ
P35221	联蛋白 α -1	SRTsVGTEDDQLAGQsAR	S655	1.12	AJ, TJ
P35222	联蛋白 β -1	rTsmGGTQQQFVEGVR	S552	-1.03	FA, AJ, TJ
P35222	联蛋白 β -1	rTsmGGTQQQFVEGVR	T551	-1.12	FA, AJ, TJ
Q60716	联蛋白 δ -1	gSLAsLdsLRk	S349; S352	-1.12	AJ
Q60716	联蛋白 δ -1	SDFOVNLNNAAsR	S857	-1.08	AJ
Q9P2M7	扣带蛋白	QSSSHsYDDSTLPLIDR	S864	-1.99	AJ
Q9P2M7	扣带蛋白	SHsQASLAGRPVDPsNR	S131	-1.36	TJ
Q9P2M7	扣带蛋白	SNsmLELAPk	S149	-1.07	TJ
Q9P2M7	扣带蛋白	SNsmLELAPk	S149	-1.87	TJ
Q9P2M7	扣带蛋白	dAsVPPLIDVTNLPTPR	S226	-1.45	TJ
Q9P2M7	扣带蛋白	aFgPQLQGGsAGsPAR	S1084	1.86	FA
P21333	细丝蛋白-A	cSGPQLsPGmVR	S1459	1.94	FA
P21333	细丝蛋白-A	SsFTVDCsK	S2577	1.03	FA
Q14315	细丝蛋白-C	IGsFGSITR	S2233	1.47	FA
P49840	糖原合成酶激酶-3 α	qLVRGEPNVsYlcSR	Y279	1.14	FA
P16144	羧基蛋白 β -4	vlTsTsLIR	S1483; S1486	1.25	FA
Q9Y624	连接粘附分子 A	kVIYQPsAR	S284	-1.00	TJ
Q8WV11	LIM 结构域仅蛋白 7	SRsTTTDLDDYSTNK	S1423	-1.06	AJ
Q8WV11	LIM 结构域仅蛋白 7	TSTTGVAITQsPTPR	S1586	1.16	AJ
Q43318	促分裂原-激活的蛋白激酶激酶 7	rmsAdmSEIEAR	S389	1.13	AJ
P35580	肌球蛋白-10	aLsLAR	S1487	1.94	TJ
P35749	肌球蛋白-11	aLsLAR	S1487	1.94	TJ
P35749	肌球蛋白-11	vIENADGsEEETDTR	S1954	1.56	TJ
P35749	肌球蛋白-11	mTESsLPSASK	S638	1.78	TJ
Q72406	肌球蛋白-14	aLsLAR	S1504	2.71	TJ
P35579	肌球蛋白-9	aLsLAR	S1480	1.94	TJ
P10451	骨桥蛋白	fRIsHELDsASSEVN	S303; S308	1.42	FA
P10451	骨桥蛋白	iSHELDsASSEVN	S308	1.56	FA
Q05655	蛋白激酶 C δ 型	aRLsYSDk	S645	-1.52	TJ

表 14

P31749	RAO- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGSPDSNSGAEEMEVSIAKPK	S124	-1.28	FA, TJ
P31749	RAO- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGSPDSNSGAEEMEVSIAKPK	S124	-1.16	FA, TJ
P31749	RAO- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGSPDSNSGAEEMEVSIAKPK	S124; S129	-1.04	FA, TJ
Q14247	Src 底物皮层蛋白	akTQtPPVSPAPQPTTEER	T401; S405	-2.17	TJ
Q9Y490	踝蛋白-1	aSVPTIQDQASAmQLsQcAk	S1021	1.34	FA
Q9Y490	踝蛋白-1	cVscLPQQR	S1201	2.12	FA
Q9Y490	踝蛋白-1	ILsDSLPPSTGTGFQEAQSR	S1225	1.02	FA
Q9Y490	踝蛋白-1	gLAGAVsELLR	S620	2.47	FA
Q9Y490	踝蛋白-1	vVAPTISsPVcQEQLVEAGR	S729	1.37	FA
Q07157	紧密连接蛋白 ZO-1	iDsPGFkPASQKk	S912	-2.96	AJ, TJ
P06241	酪氨酸蛋白激酶 Fyn	ITEERDGSINSSGYR	S21	1.15	FA, AJ
P29350	酪氨酸蛋白磷酸酶非-受体 6 型	dLsGLDAETLLk	S10	1.79	AJ
P18206	联结蛋白	dPSAsPGDAGEQAIR	S290	1.56	FA, AJ
Q15942	黄联蛋白	fSPVtPK	T270	1.24	FA

表 14 (续)

病列编号	独特蛋白	蛋白质	肽	T/NT	总	磷酸位点 1_功能	磷酸位点 2_功能	药物
1	P47712	胞浆磷脂酶 A2	qNPSRcsVSLSNVEAR	1.63	S727	酶活性, 诱导的		
1	P49840	糖原合成酶激酶-3 α	qLVRGEPNVSYLoSR	1.14	Y279	酶活性, 诱导的		
1	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YGMGTsVER	-1.53	S232	酶活性, 抑制的		
1	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YGmGTsVER	-1.67	S232	酶活性, 抑制的		
1	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YHGHamSDPGVsYR	-1.10	S293; S300	酶活性, 抑制的	酶活性, 抑制的	
1	P31749	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGsPSDnSGAEEmEVSLAKPk	-1.28	S124	酶活性, 诱导的		GSK2141795
1	P31749	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGsPSDnSGAEEmEVSLAKPk	-1.16	S124	酶活性, 诱导的		GSK2141796
1	P31749	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGsPSDnSGAEEmEVSLAKPk	-1.04	S124; S129	酶活性, 诱导的	酶活性, 诱导的	GSK2141797
1	P06241	酪氨酸-蛋白激酶 Fyn	ITEERDgsLNDSSGYR	1.15	S21	酶活性, 诱导的		达沙替尼
4	P28482	促分裂原-激活的蛋白激酶 1	vADPDHDTGFLtEYVATR	-1.93	T185; Y187	酶活性, 诱导的	酶活性, 诱导的	AEZS-131
4	P31749	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGsPSDnSGAEEmEVSLAKPk	1.69	S124	酶活性, 诱导的		GSK2141795
4	P31749	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGsPSDnSGAEEmEVSLAKPk	1.59	S124	酶活性, 诱导的		GSK2141796
4	P31749	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGsPSDnSGAEEmEVSLAKPk	1.31	S124; S129	酶活性, 诱导的	酶活性, 诱导的	GSK2141797
5	P13569	囊性纤维化跨膜转导因子	rLsLYPDSEQGEAILPR	-1.11	S737	酶活性, 抑制的		
5	Q06210	葡萄糖-果糖-6-磷酸氨基转移酶[异构化] ¹	gScNLsRVDsTtCLFPVEEK	-1.02	S261	酶活性, 诱导的		
5	Q06210	葡萄糖-果糖-6-磷酸氨基转移酶[异构化] ¹	vDsTtCLFPVEEK	-1.25	S261	酶活性, 诱导的		

表 15

5	P28482	促分裂原-激活的蛋白激酶 1	vADPDHDHTGFLtEyVATR	1.05	T185;Y187	酶活性, 诱导的	AEZS-131
5	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YGMGTsVER	-1.41	S232	酶活性, 抑制的	
5	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YGMGTsVER	-1.82	S232	酶活性, 抑制的	
5	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YHGHSMDPGVsYR	-1.53	S293;S300	酶活性, 抑制的	
6	Q06210	葡萄糖-果糖-6-磷酸氨基转 移酶[异构化]1	gScNLsRVDsTtclFPVEEK	-1.33	S261	酶活性, 诱导的	
6	Q06210	葡萄糖-果糖-6-磷酸氨基转 移酶[异构化]1	vDsTtclFPVEEK	-1.14	S261	酶活性, 诱导的	
6	P49840	糖原合成酶激酶-3 α	gEPNVsYlcSR	1.03	Y279	酶活性, 诱导的	
6	P31749	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋 白激酶	SGsPSDNsGAEMEVSIAKPk	-1.10	S124;S129	酶活性, 诱导的	GSK2141795
7	Q06210	葡萄糖-果糖-6-磷酸氨基转 移酶[异构化]1	gScNLsRVDsTtclFPVEEK	1.11	S261	酶活性, 诱导的	
7	P49841	糖原合成酶激酶-3 β	TtsFAESckPVQqPSAFGSnk	-1.11	S9	酶活性, 抑制的	
7	P31749	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋 白激酶	SGsPSDNsGAEMEVSIAKPk	1.12	S124;S129	酶活性, 诱导的	GSK2141795
7	P06241	酪氨酸-蛋白激酶 Fyn	dGsLNQSSGYR	-1.14	S21	酶活性, 诱导的	达沙替尼
8	P13569	囊性纤维化跨膜调节因子	rLsLYPDSEQGEAILPR	-4.50	S737	酶活性, 抑制的	
8	Q06210	葡萄糖-果糖-6-磷酸氨基转 移酶[异构化]1	vDsTtclFPVEEK	-1.13	S261	酶活性, 诱导的	
8	P49841	糖原合成酶激酶-3 β	TtsFAESckPVQqPSAFGSnk	2.05	S9	酶活性, 抑制的	

表 15(续)

8	P49841	糖原合成酶激酶-3 β	TTsFAESckPVQPSAFQSmk	1. 23	S9	酶活性, 抑制的	
8	P49841	糖原合成酶激酶-3 β	gEPNVsYlcSR	2. 32	Y216	酶活性, 诱导的	
8	P49841	糖原合成酶激酶-3 β	qLYRGEPNVsYlcSR	1. 13	Y216	酶活性, 诱导的	
8	Q13547	组蛋白去乙酰化酶 1	iAcEEEFsDsEEEEGEGRK	-1. 04	S421; S423	酶活性, 诱导的	伏立诺他
8	Q92769	组蛋白去乙酰化酶 2	iAcDEEFsDSEDEGEGRK	1. 43	S422	酶活性, 抑制的	伏立诺他
8	P28482	促分裂原-激活的蛋白激酶 1	vADPDHDHTGFLtEyVATR	1. 44	T185; Y187	酶活性, 诱导的	AEZS-131
8	Q16539	促分裂原-激活的蛋白激酶 14	hTDDEMtGyVATR	1. 33	T180; Y182	酶活性, 诱导的	
8	Q16539	促分裂原-激活的蛋白激酶 14	hTDDEMTGyVATR	-1. 34	Y182	酶活性, 诱导的	
8	P29474	一氧化氮合成酶, 内皮	iRtQsFSLQER	-1. 23	T1175; S117	酶活性, 诱导的	
8	P29474	一氧化氮合成酶, 内皮	iRtQSFsLQER	-1. 77	T1175; S117 ₉	酶活性, 诱导的	
8	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YGmGTsVER	-2. 68	S232	酶活性, 抑制的	
8	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YHGHSMDPGVsYR	-1. 44	S293; S300	酶活性, 抑制的	
8	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YHGHSMDPGVsYR	-1. 27	S293; S300	酶活性, 抑制的	
8	P31749	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGsPSDMSGAEEMEVSIAKPk	-1. 57	S124	酶活性, 诱导的	GSK2141795
8	P31749	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGsPSDMSGAEEMEVSIAKPk	-2. 86	S124; S129	酶活性, 诱导的	GSK2141795
9	P13569	囊性纤维化跨膜转导调节因子	rLsLVDPSEQGGA/LPR	-2. 35	S737	酶活性, 抑制的	
9	Q06210	葡萄糖-果糖-6-磷酸氨基转移酶[异构化]1	gScNLsRVDS TTcLFPVEEK	-1. 28	S261	酶活性, 诱导的	
9	Q06210	葡萄糖-果糖-6-磷酸氨基转移酶[异构化]1	vDsTTcLFPVEEK	-2. 06	S261	酶活性, 诱导的	

表 15(续)

9	Q16539	促分裂原-激活的蛋白激酶 14	hTDDemGyVATR	1.39	T180;Y182 T1175;S117 ₉	酶活性, 诱导的 酶活性, 诱导的	
9	P29474	一氧化氮合成酶, 内皮	iRtQSFsLQER	-1.22			
9	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YGmGTsVER	-1.03	S232	酶活性, 抑制的	
9	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YGmGTsVER	-2.07	S232	酶活性, 抑制的	
9	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YHGHsmSDPGVsYR	-1.14	S293;S300	酶活性, 抑制的	
9	P31749	RAO- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋 白激酶	SGsPSDNsGAEMEVSIAKPk	-1.26	S124;S129	酶活性, 诱导的	GSK2141795
9	Q15139	丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 D1	aLGERVsIL	1.28	S910	酶活性, 诱导的	
10	Q9Y217	1-磷脂酰肌醇-3-磷酸 5-激 酶	SAAsITNLSLDR	-1.39	S307	酶活性, 诱导的	
10	P13569	囊性纤维化跨膜转导调节因 子	rLsLVDPDSQGGAiLPR	-4.08	S737	酶活性, 抑制的	
10	Q06210	葡萄糖-果糖-6-磷酸氨基转 移酶[异构化]1	vDsTTeLFPVEEK	-2.33	S261	酶活性, 诱导的	
10	P49841	糖原合成酶激酶-3 β	TTsFAESckPVQQPSAFGSnk	1.01	S9	酶活性, 抑制的	
10	P49841	糖原合成酶激酶-3 β	gEPNVsYlcSR	1.80	Y216	酶活性, 诱导的	
10	P49841	糖原合成酶激酶-3 β	qLVRGEPNVsYlcSR	1.57	Y216	酶活性, 诱导的	
10	Q13547	组蛋白去乙酰化酶 1	iAcEEEEFsDsEEEEGGGRK	-1.57	S421;S423	酶活性, 诱导的	伏立诺他
10	P28482	促分裂原-激活的蛋白激酶 1	vADPDHDHTGFLtEyVATR	1.28	T185;Y187	酶活性, 诱导的	AEZS-131
10	Q16539	促分裂原-激活的蛋白激酶 14	hTDDemGyVATR	2.20	T180;Y182 T1175;S117 ₇	酶活性, 诱导的 酶活性, 诱导的	
10	P29474	一氧化氮合成酶, 内皮	iRtQSFsLQER	-1.94		酶活性, 诱导的	
10	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YGmGTsVER	-2.81	S232	酶活性, 抑制的	

表 15(续)

10	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YHGsmSDPGVsYR	-1.58	S293; S300	酶活性, 抑制的	酶活性, 抑制的
10	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YHGhsMSPGVsYR	-1.47	S293; S300	酶活性, 抑制的	酶活性, 抑制的
10	P31749	RAC- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGsPSDNaGAEMEVSLaKPk	1.26	S124; S129	酶活性, 诱导的	酶活性, 诱导的
10	P04049	RAF 原致肿瘤基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SAsePSLHR	1.49	S621	酶活性, 抑制的/诱导的	GSK2141795
10	P10398	丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 A-Raf	SAsePSLHR	1.49	S582	酶活性, 诱导的	索拉菲尼
10	Q15139	丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 D1	aLGERVsIL	-1.23	S910	酶活性, 诱导的	索拉菲尼
11	P52564	双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶 6	mcDFGIGYLVDsVAK	-2.23	S207	酶活性, 抑制的	
11	P49840	糖原合成酶激酶-3 α	qLVRGEPNVsVlcSR	1.38	Y279	酶活性, 诱导的	
11	P28482	促分裂原-激活的蛋白激酶 1	vADPDHDHTGFLtEyVATR	-1.07	T185; Y187	酶活性, 诱导的	AEZ5-131
11	P29474	一氧化氮合成酶, 内皮	iRtQsFSLQER	1.03	T1175; S1177	酶活性, 诱导的	
11	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YQMGTSVER	-2.81	S232	酶活性, 抑制的	
11	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YQmGTsVER	-3.45	S232	酶活性, 抑制的	
11	P04049	RAF 原致肿瘤基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SAsePSLHR	-1.71	S621	酶活性, 抑制的/诱导的	索拉菲尼
11	P10398	丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 A-Raf	SAsePSLHR	-1.71	S582	酶活性, 诱导的	索拉菲尼
11	Q9Y385	泛素结合酶 E2 J1	qIsFkAEVNSGK	-1.42	S184	酶活性, 诱导的	
13	P49840	糖原合成酶激酶-3 α	gEPNVsVlcSR	1.15	Y279	酶活性, 诱导的	
13	Q13547	组蛋白去乙酰化酶 1	iAcEEEFsDsEEEGGGRK	1.66	S421; S423	酶活性, 诱导的	伏立诺他

表 15(续)

13	Q92769	组蛋白去乙酰化酶 2	IACDEEFsEDEGGRR	1.42	S422;S424	酶活性, 抑制的	伏立诺他
13	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YGMGTsVER	2.82	S232	酶活性, 抑制的	
13	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YHGHSMDPGVSIR	1.89	S293	酶活性, 抑制的	
13	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YHGHSMDPGVsYR	1.01	S295;S300	酶活性, 抑制的	
13	P31749	RAO- α 丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SGsPSDMSGAEEMVSLAKPk	1.48	S124	酶活性, 诱导的	GSK2141795
13	P04049	RAF 原癌肿瘤基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SAsEPSLHR	1.91	S621	酶活性, 抑制的/诱导的	索拉菲尼
13	P10398	丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 A-Raf	SAsEPSLHR	1.91	S582	酶活性, 诱导的	索拉菲尼
13	P18031	酪氨酸-蛋白激酶非-受体 1 型	YRDVsPFDHSR	1.38	S50	酶活性, 抑制的诱导的	
14	Q14432	cGMP-抑制的 3, 5-环磷酸二酯酶 A	rTsLPcIPR	-1.42	S312	酶活性, 诱导的	
14	P47712	胞浆磷脂酶 A2	qNPSRcsVsLSNWEAR	1.18	S727;S729	酶活性, 诱导的	
14	P52564	双特异性促分裂原-激活的蛋白激酶 6	mcDFGIGsYLYDsVAK	-2.78	S207	酶活性, 抑制的	
14	P49840	糖原合成酶激酶-3 α	qLYRGEPNVsYlcSR	1.08	Y279	酶活性, 诱导的	
14	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YGMGTsVER	-3.02	S232	酶活性, 抑制的	
14	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YGMGTsVER	-2.82	S232	酶活性, 抑制的	

表 15(续)

14	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YHGHeMSDPGVsYR	-1.38	S293;S300	酶活性, 抑制的	酶活性, 抑制的	索拉菲尼
14	P08559	丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体形式, 线粒体	YHGHeMSDPGVsYR	-1.08	S293;S300	酶活性, 抑制的	酶活性, 抑制的	
14	P04049	RAF 原致肿瘤基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶	SIcTPNVHhVSTTLpVDSR	-1.25	S259	酶活性, 抑制的	酶活性, 抑制的	
14	Q9Y385	泛素结合酶 E2 J1	qIsFrAEVNSSGk	-1.12	S184	酶活性, 诱导的	酶活性, 诱导的	

表 15 (续)