República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112021004444-2 A2

(22) Data do Depósito: 09/09/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 01/06/2021

(54) Título: MÉTODOS PARA TRATAR PANCREATITE

(51) Int. Cl.: A61K 39/395; C07K 16/28; C07K 16/30.

(30) Prioridade Unionista: 10/09/2018 US 62/729,354.

(71) Depositante(es): COLD SPRING HARBOR LABORATORY.

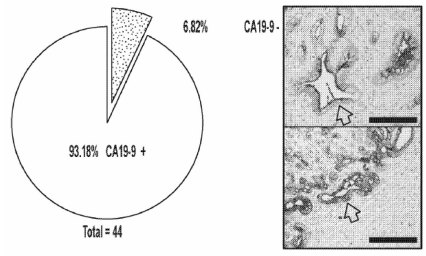
(72) Inventor(es): DANNIELLE D. ENGLE; DAVID A. TUVESON.

(86) Pedido PCT: PCT US2019050262 de 09/09/2019

(87) Publicação PCT: WO 2020/055768 de 19/03/2020

(85) Data da Fase Nacional: 09/03/2021

(57) Resumo: "MÉTODOS PARA TRATAR PANCREATITE". A presente invenção refere-se a um método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a CA19-9.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"MÉTODOS PARA TRATAR PANCREATITE".**

1. CAMPO

[001] A presente invenção refere-se a métodos para prevenir e tratar pancreatite. Especificamente, são fornecidos no presente documento métodos para tratar e/ou prevenir pancreatite usando moléculas que se ligam ao CA19-9.

2. LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

[002] Este pedido incorpora a título de referência o Formulário Legível por Computador (CRF) de uma Listagem de Sequências em formato de texto ASCII enviado via EFS-Web. O arquivo de texto da Listagem de Sequências enviado via EFS-Web, intitulado 12967-046-999_Sequence_Listing.txt, foi criado em 10 de setembro de 2018, e tem 22.963 bytes de tamanho.

3. ANTECEDENTES DA INVENÇÃO:

[003] A pancreatite resulta em 275.000 internações hospitalares a cada ano nos Estados Unidos (Forsmark CE, *et al.,* N Engl J Med. 2016;375(20): 1972-81). A pancreatite inclui pancreatite crônica e pancreatite aguda e pode ser acompanhada por dor abdominal intensa. A taxa de mortalidade em pacientes com pancreatite crônica é maior do que na população em geral, com a sobrevida de 10 anos após o diagnóstico estimada entre 69 a 80% (Seicean A. *et al.,* J Gastrointestin Liver Dis. 2006;15(1):21-6.). Como resultado de complicações e morbidade associadas à pancreatite crônica, os pacientes com pancreatite crônica têm uma expectativa de vida que é cerca de 8 anos mais curta do que a da população em geral (Bang UC. *et al*., Gastroenterology. 2014;146(4):989-94). Em pancreatite aguda grave, a taxa de mortalidade a taxa de mortalidade pode chegar a 16,3%, com mais de 40% das mortes ocorrendo em um prazo de 14 dias após a internação no hospital (Fu C. *et al*., World J Gastroenterol. 2007; 13(13): 1966-1969).

[004] Apesar da mortalidade elevada e morbidade significativa

associadas à pancreatite, houve poucos avanços no modo como essa doença debilitante é tratada. Antes da presente invenção, a pancreatite aguda é frequentemente tratada com cuidados gerais de suporte que consistem em hidratação intravenosa, com taxa variável de ressuscitação com fluidos como a base do cuidado, dependendo da situação de volume do paciente (Capítulo 37- Acute Pancreatitis, GI/Liver Secrets Plus, 4ª edição, editado por McNally PR**,** 2010). A dor que acompanha a pancreatite grave é gerenciada simultaneamente com analgesia intravenosa (Capítulo 37- Acute Pancreatitis, GI/Liver Secrets Plus, 4ª edição, editado por McNally PR, 2010). A pancreatite crônica é frequentemente tratada apenas com medicamentos para tratar a dor ou complicações da pancreatite, deixando a pancreatite crônica subjacente em si não tratada diretamente (Capítulo 38 - Acute Pancreatits, GI/Liver Secrets Plus, 4ª edição, editado por McNally PR, 2010).

[005] Tem havido uma falta de sucesso nos agentes terapêuticos desenvolvidos até agora para tratar, prevenir, gerenciar ou atenuar diretamente a pancreatite ou direcionar os mecanismos subjacentes ao desenvolvimento de pancreatite. Assim, há necessidade de identificar um agente terapêutico que possa tratar, prevenir, gerenciar ou atenuar a pancreatite, incluindo pancreatite crônica e aguda.

4. SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[006] Em um aspecto, é fornecido no presente documento um método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar a pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo, que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a Sialil-Lewisª (anti-sLeª).

[007] Em outro aspecto, é fornecido no presente documento um método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo, que compreende:

(1) administrar ao indivíduo em uma primeira dose um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a Sialil-Lewis^a (anti-sLe^a),

(2) determinar a gravidade da pancreatite no dito indivíduo, e

(3) administrar uma segunda dose do anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a anti-sLe^a em quantidade igual ou mais baixa que a primeira dose se a gravidade da pancreatite no indivíduo for reduzida em comparação com a gravidade da pancreatite no indivíduo antes da administração do anti-sLe^a, ou administrar uma segunda dose do anti-sLe^a em uma quantidade mais alta que a primeira dose se a gravidade da pancreatite no indivíduo não for reduzida.

[008] Em certo aspecto, é fornecido no presente documento um método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo, que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente terapêutico que se liga a um CA19-9.

[009] Em um aspecto, é fornecido no presente documento um método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo que compreende:

(1) administrar ao indivíduo em uma primeira dose um agente terapêutico que se liga a um CA19-9,

(2) determinar a gravidade da pancreatite no dito indivíduo, e

(3) administrar uma segunda dose do agente terapêutico em quantidade igual ou mais baixa que a primeira dose se a gravidade da pancreatite no indivíduo for reduzida em comparação com a gravidade da pancreatite no indivíduo antes da administração do agente, ou administrar uma segunda dose do agente terapêutico em uma quantidade mais alta que a primeira dose se a gravidade da pancreatite no

indivíduo não for reduzida.

[010] Em algumas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende um domínio de cadeia pesada variável (VH), em que o dito domínio VH compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 2, nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 6, nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 10 e nos resíduos 20 a 145 da SEQ ID NO: 14.

[011] Em certas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende um domínio de cadeia leve variável (VL), em que o dito domínio VL compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 4, nos resíduos 20 a 129 da SEQ ID NO: 8, nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 12 e nos resíduos 23 a 130 da SEQ ID NO: 16.

[012] Em outras modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende um domínio de cadeia pesada variável (VH) e um domínio de cadeia leve variável (VL), em que o dito domínio VH e o dito domínio VL, respectivamente, compreendem um sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 2 e nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 4; nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 6 e nos resíduos 20 a 129 da SEQ ID NO: 8; nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 10 e nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 12; e nos resíduos 20 a 145 da SEQ ID NO: 14 e nos resíduos 23 a 130 da SEQ ID NO: 16.

[013] Em algumas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende três regiões determinantes de complementaridade (CDRs)

tendo a sequência de aminoácidos das três CDRs de região variável de cadeia pesada de acordo com a numeração de Kabat de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao American Type Culture Collection (ATCC) HB- 8059, e uma região variável de cadeia leve que compreende três CDRs tendo a sequência de aminoácidos das três CDRs de região variável de cadeia leve de acordo com a numeração de Kabat de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059.

[014] Em certas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada que consiste na sequência de aminoácidos da região variável de cadeia pesada de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao American Type Culture Collection (ATCC) HB-8059, e uma região variável de cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos da região variável de cadeia leve de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059.

[015] Em outras modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende uma cadeia pesada que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia pesada de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059, e uma cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia leve de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059.

[016] Em algumas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o fragmento funcional do anticorpo anti-sLe^a é selecionado do grupo que consiste em um Fab, um Fab ', um F(ab')$_2$, um

scFV, um diacorpo, um triacorpo, um minicorpo e um anticorpo de domínio único (sdAB). Em certas modalidades, o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é um diacorpo. Em outras modalidades, o diacorpo compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 18 ou 20.

[017] Em certas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é um anticorpo monoclonal. Em algumas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é um isotipo IgG ou IgM. Em certas modalidades, o anticorpo IgG é uma subclasse IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4.

[018] Em algumas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é formulado como uma composição farmacêutica que compreende um veículo farmaceuticamente aceitável. Em certas modalidades, o anticorpo ou fragmento de ligação de antígeno do mesmo é administrado a um indivíduo por uma via de administração parenteral. Em algumas modalidades, a administração parenteral é selecionada de um grupo que consiste em injeção subcutânea, injeção intramuscular e injeção intravenosa.

[019] Em algumas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo é administrado a um indivíduo em uma faixa de dose de cerca de 0,1 mg/kg/dose a cerca de 10 mg/kg/dose. Em certas modalidades, o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo é administrado a um indivíduo de modo semanal, quinzenal, mensal ou bimensal. Em algumas modalidades, o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo é administrado por cerca de um, dois, três, quatro, cinco ou seis meses.

[020] Em certas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o agente terapêutico é um anticorpo ou fragmento fun-

cional do mesmo que se liga a Sialil-Lewis^a (anti-sLe^a).

[021] Em algumas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o agente terapêutico é um peptídeo ou molécula peptidomimética. Em certas modalidades, o peptídeo ou peptidomimético tem a propriedade de se ligar especificamente a Sialil-Lewis^a.

[022] Em certas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, a pancreatite é caracterizada por um ou mais marcadores. Em algumas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, a gravidade da pancreatite é determinada por um ou mais marcadores. Em certas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o indivíduo tem níveis elevados de um ou mais marcadores de pancreatite. Em algumas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, a administração do agente terapêutico resulta em níveis reduzidos de um ou mais marcadores para pancreatite no indivíduo. Em certas modalidades, um ou mais marcadores são selecionados de um grupo que consiste em um marcador fisiológico, um marcador histológico, um marcador sorológico e um marcador de sinalização. Em algumas modalidades, o marcador histológico é selecionado de um grupo que consiste em invasão de célula imune, deposição de colágeno, tecido fibrótico, necrose de gordura, edema intersticial, destruição de vaso sanguíneo e acinar, hemorragia intersticial, dilatação ductal, homogeneização de célula acinar e nível de expressão de CA19-9. Em certas modalidades, um ou mais marcadores compreendem o nível de expressão de CA19-9. Em outras modalidades, um ou mais marcadores são determinados por imunoistoquímica. Em certas modalidades, o marcador sorológico é selecionado de um grupo que consiste em nível de lipase sérica, nível de amilase sérica e nível de proteína C reativa sérica. Em algumas modalidades, o um ou mais marcadores é um nível de lipase sérica acima de 200 U/l. Em certas modalidades, o um ou mais marcadores é um nível de amilase

sérica acima de 200 U/l. Em algumas modalidades, o um ou mais marcadores é um nível de amilase sérica três vezes acima do limite superior do nível de amilase sérica normal de um indivíduo de controle. Em certas modalidades, o um ou mais marcadores é um nível de lipase sérica três vezes acima do limite superior do nível de lipase sérica normal de um indivíduo de controle. Em algumas modalidades, o marcador fisiológico é selecionado de um grupo que consiste em perda de peso, má absorção de alimentos, atrofia pancreática, aumento do pâncreas, inflamação pancreática e refluxo biliar.

[023] Em um aspecto, é fornecido no presente documento um método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que tem sLe^a pancreático elevado, sendo que o dito método compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente terapêutico que se liga especificamente a sLe^a.

[024] Em certas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, a pancreatite é uma pancreatite selecionada de um grupo que consiste em pancreatite crônica e pancreatite aguda. Em algumas modalidades, a pancreatite crônica é selecionada de um grupo que consiste em pancreatite crônica leve, pancreatite crônica moderada e pancreatite crônica grave. Em certas modalidades, a pancreatite aguda é selecionada de um grupo que consiste em pancreatite aguda leve, pancreatite aguda moderada e pancreatite aguda grave.

[025] Em algumas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o indivíduo é um mamífero. Em certas modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o mamífero é um ser humano.

5. BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[026] A **Figura 1A** mostra a porcentagem de pacientes com pancreatite crônica humana exibindo altos níveis de tecido pancreático CA19-9 (painel esquerdo) e imunoistoquímica representativa (IHC)

mostrando CA19-9 predominantemente em dutos pancreáticos (dois painéis à direita, indicados por setas abertas). A **Figura 1B** mostra um exemplo de IHC de CA19-9 de espécimes de pancreatite crônica humana excluídos (à esquerda), altos para CA19-9 (meio) e baixos/negativos para CA19-9 (à direita). Barras de escala = 100 µm. A **Figura 1C** mostra a representação esquemática da produção de antígeno de Lewis. A **Figura 1D** mostra que FUT3 ectópico induz Lewis^{x} (Le^{x}), mas não CA19-9/Sialil- Expressão de Lewis^{a} (sLe^{a}) em células de adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC) de camundongo por análise de citometria de fluxo. A **Figura 1E** mostra citometria de fluxo CA19-9 de células PDAC de camundongo que expressam de forma estável e constitutiva FUT3 com β3GALT5 em comparação com controles de células KPC parentais. A expressão de FUT3 e β3GALT5 levou à expressão de CA19-9 na superfície celular em níveis equivalentes aos observados em uma linhagem celular de câncer humano (Colo205). A **Figura 1F** mostra a avaliação de imunofluorescência de CA19-9 da linhagem celular PDAC humana Suit2 (painéis superiores) e células PDAC de camundongo (painéis inferiores) que expressam de forma estável e constitutiva FUT3 e β3GALT5 ou células PDAC que expressam controle de vetor vazio. Barras de escala= 25 µm. A **Figura 1G** mostra níveis circulantes de CA19-9 em camundongos nus transplantados com a linhagem celular PDAC humana negativa para CA19-9 MiaPaCa2, a linhagem celular PDAC humana positiva para CA19-9 Suit2, as linhagens celulares PDAC de camundongo transfectadas com controle de vetor vazio e as células PDAC de camundongo que expressam de forma estável e constitutiva FUT3 e β3GALT5.

[027] A **Figura 2A** mostra uma estratégia de imunoprecipitação/espectrometria de massa (IP/MS) para células PDAC de camundongo que expressam de forma estável e constitutiva FUT3 e β3GALT5 (painel esquerdo), validação de *immunoblot* de eficiência de

CA19-9 IP (painel do meio) e sobreposição de veículos de proteína CA19-9 entre três linhagens replicadas biológicas (FC1199, FC1242 e FC1245) (painel direito). A **Figura 2B** mostra uma estratégia de IP/MS para células PDAC humanas (painel esquerdo), validação de *immuno-blot* de eficiência IP de CA19-9 (painel do meio) e sobreposição de veículos de proteína CA19-9 entre três linhagens de replicação biológica (Capan2, hM1-2D e Suit2) (painel direito). A **Figura 2C** mostra a sobreposição entre os veículos de proteína CA19-9 identificados em 3 de 3 linhagens celulares PDAC humanas (n= 936) com três linhagens celulares PDAC de camundongo independentes que expressam FUT3 e β3GALT5.

[028] As **Figuras 3A a 3D** mostram o projeto, validação e geração de modelos de camundongos geneticamente modificados de CA19-9. A **Figura 3A** mostra a representação esquemática de modelos de camundongos CA19-9 induzíveis. A **Figura 3B** mostra a confirmação de immuno-slot blot de produção de CA19-9 em clones de células mES após transfecção com Cre e tratamento com Dox. A **Figura 3C** mostra *southern blot* para eGFP em gDNA de células mES de tipo selvagem de controle positivo com vetor de alvejamento aumentado em 1 a 5 cópias por genoma e em clones alvejados para células mES. O tamanho de integração correto é 5,548 kb (não alvejado= 4,04 kb). A **Figura 3D** mostra a avaliação de número de cópias de qPCR de eGFP dos clones de célula mES alveados em relação a um clone de célula mES alvejado anteriormente validado que abriga uma integração única e correta do vetor de alvejamento ColA1 (P12).

[029] A **Figura 4** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de hematoxilina e eosina (H & E) de tecidos de camundongos de camundongos R;F não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[030] A **Figura 5** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de

corpo inteiro, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de camundongos R;F tratados com Dox durante 7 dias. Barras de escala = 100 µm.

[031] A **Figura 6** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de camundongos R;F tratados com Dox durante 28 dias. Barras de escala = 100 µm.

[032] A **Figura 7** mostra filhotes da mesma ninhada de controle negativo genético de modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo R;F não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[033] **[0034]** A **Figura 8** mostra filhotes da mesma ninhada de controle negativo genético de modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo R;F tratados com Dox durante 7 dias. Barras de escala = 100 µm.

[034] A **Figura 9** mostra filhotes da mesma ninhada de controle negativo genético de modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo R;F tratados com Dox durante 28 dias. Barras de escala = 100 µm.

[035] A **Figura 10** mostra um modelo de camundongo CA19-9 orientado por PDX1-Cre de pâncreas focal, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[036] A **Figura 11** mostra um modelo de camundongo CA19-9 orientado por PDX1-Cre pâncreas focal, histologia de corpo inteiro em

avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongo de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox durante 7 dias. Barras de escala = 100 µm.

[037] A **Figura 12** mostra um modelo de camundongo CA19-9 dirigido por PDX1-Cre de pâncreas focal, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongo de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox durante 28 dias. Barras de escala = 100 µm.

[038] A **Figura 13** mostra filhotes da mesma ninhada de controle negativo genético de modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas focal, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo $C^{PDX/p48}$,R^{LSL},F^{LSL} não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[039] A **Figura 14** mostra filhotes da mesma ninhada de controle negativo genético de modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas focal,, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo $C^{PDX/p48}$,R^{LSL},F^{LSL} não tratados tratados com Dox durante 7 dias. Barras de escala = 100 µm.

[040] A **Figura 15** mostra filhotes da mesma ninhada de controle negativo genético de modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas focal, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo $C^{PDX/p48}$,R^{LSL},F^{LSL} tratados com Dox durante 28 dias. Barras de escala = 100 µm.

[041] A **Figura 16** mostra um modelo de camundongo CA19-9 dirigido por p48-Cre de pâncreas focal, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de camundongos C^{p48};R^{LSL};F^{LSL} não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[042] A **Figura 17** mostra um modelo de camundongo CA19-9 dirigido por p48-Cre de pâncreas focal, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de camundongos C^{p48};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox durante 7 dias. Barras de escala = 100 µm.

[043] A **Figura 18** mostra um modelo de camundongo CA19-9 dirigido por p48-Cre de pâncreas focal, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de camundongos C^{P48};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox durante 28 dias. Barras de escala = 100 µm.

[044] A **Figura 19** mostra um modelo de camundongo CA19-9de pâncreas focal, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[045] A **Figura 20** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas inteiro, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F tratados com Dox durante 7 dias. Barras de escala = 100 µm.

[046] A **Figura 21** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas inteiro, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F tratados com Dox durante 28 dias. Barras de escala = 100 µm.

[047] A **Figura 22** mostra filhotes da mesma ninhada de controle negativo genético de modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas inteiro, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo C^{PDX};R^{LSL};F não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[048] A **Figura 23** mostra filhotes da mesma ninhada de controle negativo genético de modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas in-

teiro, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo C^{PDX};R^{LSL};F não tratados tratados com Dox durante 7 dias. Barras de escala = 100 µm.

[049] A **Figura 24** mostra filhotes da mesma ninhada de controle negativo genético de modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas inteiro, histologia de corpo inteiro em avaliação histológica de H&E de tecidos de camundongos de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo C^{PDX};R^{LSL};F não tratados tratados com Dox durante 28 dias. Barras de escala = 100 µm.

[050] A **Figura 25A** mostra a avaliação histológica de pâncreas de C^{PDX};R^{LSL};F por coloração com H&E, coloração com tricromo de Masson (MT, azul indica deposição de colágeno) e expressão de CA19-9 (seta aberta, duto CA19-9 +; seta fechada, ilhota CA19-9+) por IHC após tratamento com Dox. Barras de escala= 50 µm. A **Figura 25B** mostra a quantificação da porcentagem de área pancreática que exibe sinais histológicos de pancreatite após o tratamento de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F com Dox. n = 5, 4, 5, 3, 9, respectivamente ($F(4,21) = 22,46$, $p<0,0001$). A **Figura 25C** mostra os níveis circulantes de amilase ($F(5,61) = 74,44$, $p<0,0001$) e lipase ($F(5,61) = 27,59$, $p<0,0001$) (U/l) após o tratamento de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F com Dox. A linha pontilhada indica a elevação do limite necessária para o diagnóstico de pancreatite. A linha tracejada indica o nível máximo de detecção. n = 14, 12, 19, 8 e 9, respectivamente. As linhas vermelhas horizontais médias representam a média e as barras de erro representam o desvio padrão; cada ponto de dados representa uma medição de um camundongo individual. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$ para múltiplas comparações usando o procedimento de Holm-Sidak seguindo uma ANOVA unidirecional.

[051] A **Figura 26** mostra a comparação do modelo de camun-

dongo da gravidade da pancreatite usando avaliação histológica de H&E de pâncreas de camundongo de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo, camundongos R;F, C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} ou C^{p48};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox. Barras de escala = 50 µm.

[052] A **Figura 27** mostra a comparação do modelo de camundongo quanto à abundância estromal usando coloração tricrômica de Masson (azul, deposição de colágeno) de pâncreas de camundongo de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo, camundongos R;F ou C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox. Barras de escala = 50 µm.

[053] As **Figuras 28A** a **28C** mostram a comparação de modelo de camundongo de gravidade da pancreatite em camundongos geneticamente modificados. Filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo, camundongos R;F, C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} ou C^{p48};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox (Dias). Dados para o modelo C;R^{LSL},F das Figuras 25B a 25C são incluídos para comparação relativa. A **Figura 28A** mostra a porcentagem de área pancreática afetada com sinais histológicos de pancreatite ($F_{(4,22)} = 0,5589$; $_{(4,12)} = 16,02$; $_{(4,21)} = 22,46$; $_{(3,19)} = 2,705$). As **Figuras 28B** a **28C** mostram níveis circulantes (U/l) das enzimas pancreáticas amilase **(B)** ($F_{(4, 71)} = 8,828$; $_{(4,22)} = 25,07$; $_{(5,61)} = 74,44$; $_{(4, 58)} = 6,343$) e lipase **(C)** ($F_{(4,71)} = 2,967$; $_{(4,22)} = 7,108$; $_{5,61)} = 27,59$; $_{(4,58)} = 5,637$) após o tratamento com Dox (Dias). A linha pontilhada indica a elevação do limite necessária para o diagnóstico de pancreatite. A linha tracejada indica o nível máximo de detecção possível para amilase. As linhas representam a média; cada ponto de dados representa uma medição de um camundongo individual. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$ usando ANOVA unidirecional com múltiplas comparações.

[054] As **Figuras 29A** a **29B** mostram IHC para eGFP e CA19-9 no pâncreas de cada modelo de camundongo CA19-9. A **Figura 29A**

mostra IHC de eGFP de pâncreas de camundongo de camundongos R;F, , C^{PDX};R^{LSL};F. C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} ou C^{P48};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox durante 0 ou 7 dias. As setas abertas indicam células de ilhotas positivas, as setas fechadas indicam dutos positivos, * indica vasos negativos e "a" indica células acinares positivas. Barras de escala = 50 µm. A **Figura 29B** mostra IHC de CA19-9 de pâncreas de camundongo de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo, camundongos R;F, C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} ou C^{p48};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox. As setas abertas indicam células de ilhotas positivas, as setas fechadas indicam dutos positivos, as setas laranjas indicam células acinares positivas. A inserção mostra a ampliação de dutos positivos indicados por setas fechadas. Barras de escala = 50 µm.

[055] As **Figuras 30A** a **30B** mostram a imunofluorescência de linhagem pancreática (IF) do modelo de camundongo CA19-9 R;F de corpo inteiro. A **Figura 30A** mostra a IF do marcador ductal, CK19, bem como eGFP (marcador de recombinação dependente de Dox), DAPI e CA19-9 em pâncreas de camundongo de camundongos R;F tratados com Dox durante 0, 7 ou 28 dias. A **Figura 30B** mostra a imagem de IF anotada de A Barras de escala = 50 µm.

[056] A **Figura 31** mostra a imunofluorescência de linhagem pancreática (IF) do modelo de camundongo CA19-9 R;F de corpo inteiro. A IF do marcador de fibroblasto, Podoplanina, bem como eGFP (marcador de recombinação dependente de Dox), DAPI e CA19-9 em pâncreas de camundongo de camundongos R;F tratados com Dox por 28 dias. CA19-9+, Podoplanina+, células eGFP- são indicadas com uma seta rosa aberta. CA19-9-, Podoplanina+, células eGFP- são indicadas por uma seta vermelha fechada. Barras de escala = 50 µm.

[057] A **Figura 32** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro: expressão de eGFP em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de eGFP de tecidos de camundongo de R;F não tra-

tados. Barras de escala = 100 µm.

[058] A **Figura 33** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro: expressão de eGFP em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de eGFP de tecidos de camundongo de camundongos R;F tratados com Dox. Barras de escala = 100 µm.

[059] A **Figura 34** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas inteiro; expressão de eGFP em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de eGFP de tecidos de camundongo de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[060] A **Figura 35** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro: expressão de eGFP em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de eGFP de tecidos de camundongo de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F tratados com Dox. Barras de escala = 100 µm.

[061] A **Figura 36** mostra um modelo de camundongo CA19-9 orientado por PDX1-Cre de pâncreas focal: expressão de eGFP em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de eGFP de tecidos de camundongo de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[062] A **Figura 37** mostra um modelo de camundongo CA19-9 orientado por PDX1-Cre de pâncreas focal: expressão de eGFP em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de eGFP de tecidos de camundongo de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox. Barras de escala = 100 µm.

[063] A **Figura 38** mostra um modelo de camundongo CA19-9 orientado por p48-Cre de pâncreas focal: expressão de eGFP em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de eGFP de tecidos de camundongo de camundongos C^{p48};R^{LSL};F^{LSL} não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[064] A **Figura 39** mostra um modelo de camundongo CA19-9 dirigido por P48-Cre de pâncreas focal: expressão de eGFP em teci-

dos não pancreáticos. É mostrada a IHC de eGFP de tecidos de camundongo de camundongos C^{p48};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox. Barras de escala = 100 µm.

[065] A **Figura 40** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro: expressão de CA19-9 em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de CA19-9 de tecidos de camundongo de camundongos R;F não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[066] A **Figura 41** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro: expressão de CA19-9 em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de CA19-9 de tecidos de camundongo de camundongos R;F tratados com Dox durante 7 dias. Barras de escala = 100 µm.

[067] A **Figura 42** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro: expressão de CA19-9 em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de CA19-9 de tecidos de camundongo de camundongos R;F tratados com Dox durante 28 dias. Barras de escala = 100 µm.

[068] A **Figura 43** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de corpo inteiro: expressão de CA19-9 em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de CA19-9 de tecidos de camundongo de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo de R;F não tratados. Barras de escala = 100 µm exceto para o coração, em que a barra de escala = 500 µm.

[069] A **Figura 44** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas focal: expressão de CA19-9 em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de CA19-9 de tecidos de camundongo de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} e C^{p48};R^{LSL};F^{LSL} não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[070] A **Figura 45** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas focal: expressão de CA19-9 em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de CA19-9 de tecidos de camundongo de camundon-

gos C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} e C^{p48};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox durante 7 dias. Barras de escala = 100 µm.

[071] A **Figura 46** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas focal: expressão de CA19-9 em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de CA19-9 de tecidos de camundongo de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} e C^{p48};R^{LS}L;F^{LSL} tratados com Dox durante 28 dias. Barras de escala = 100 µm.

[072] A **Figura 47** mostra um modelo de camundongo CA19-9 de pâncreas focal: expressão de CA19-9 em tecidos não pancreáticos. É mostrada a IHC de CA19-9 de tecidos de camundongo de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo de C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} e C^{p48};R^{LSL};F^{LSL} não tratados. Barras de escala = 100 µm.

[073] As **Figuras 48A** a **48B** mostram uma comparação de modelo de camundongo de peso corporal e pancreático. A **Figura 48A** mostra a porcentagem de alteração no peso corporal de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo, camundongos R;F, C^{PDX};R^{LSL};F ou C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox (Semanas). Cada linha de ponto de dados representa o mesmo camundongo individual ao longo do tempo. O valor p é determinado por testes t de multipleto (Holm Sidak) sem assumir um SD consistente. A **Figura 48B** mostra a porcentagem do peso pancreático normalizado para o peso corporal após 12 semanas de tratamento com Dox de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo, camundongos R;F, C^{PDX};R^{LSL};F ou C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}. O valor p foi determinado por teste t bicaudal paramétrico não pareado (t = 1,225, 5,874, 0,7731, 1,059; df = 29, 4, 10, 4. As linhas representam a média; cada ponto de dados representa uma medição de um camundongo individual. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$.

[074] As **Figuras 49A** a **49D** mostram a avaliação de indicadores de autoimunidade, insuficiência pancreática exócrina, homeostase de

glicose e secreção de CA19-9. A **Figura 49A** mostra a medição sorológica de anticorpos dirigidos por CA19-9 no plasma de camundongos do modelo de camundongo CA19-9 R;F de corpo inteiro, bem como de camundongos imunizados diretamente com CA19-9. A **Figura 49B** mostra os níveis fecais de Quimotripsina e Elastase medidos em camundongos R;F após 0 ou 7 dias de tratamento com Dox. A **Figura 49C** mostra que os níveis de glicose no sangue foram medidos em camundongos alimentados aleatoriamente a partir de modelos R;F e C^{PDX};R^{LSL};F após o tratamento com veículo de Sacarose e água ou Sacarose, água e Dox por 7 dias seguido de mudança para Dox ou ração normal. A **Figura 49D** mostra o nível de circulação de CA19-9 (U/ml) após tratamento de filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo, camundongos R;F, C;R^{LSL};F ou C;R^{LSL};F^{LSL} com Dox (Dias). O valor p é determinado usando ANOVA unidirecional com múltiplas comparações (F (3,30) = 2,305; (3,14) = 13.46, (3,24) = 35,36; (3, 35) = 4,667). As linhas representam a média; cada ponto de dados representa uma medição de um camundongo individual. Valores que excedem 37 U/ml (linha pontilhada) são considerados elevados. * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, **** p<0,0001.

[075] A **Figura 50A** mostra o nível de circulação de CA19-9 (U/ml) após o tratamento de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F com Dox. Valores que excedem 37 U/ml (linha pontilhada) são elevados (F (3,24) = 35,36, p < 0,0001). n = 5, 5, 8 e 10, respectivamente. A **Figura 50B** mostra infiltração de células imunes avaliada por citometria de fluxo em camundongos tratados com Ceruleína (C57Bl/6j, n = 5, 5 e 5, respectivamente) e camundongos C^{PDX};R^{LSL};F tratados com Dox (n = 4, 4 e 6, respectivamente) em comparação com controles geneticamente negativos (GN, n = 3 e 3, respectivamente) (F (7,26/27/26) = 41,06, 14,38, 41,23, p < 0,0001 para todos). Nas Figuras 50A a 50B, as linhas vermelhas horizontais intermediárias representam a média e as barras

de erro representam o desvio padrão; cada ponto de dados representa uma medição de um camundongo individual; * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, **** p<0,0001 para múltiplas comparações usando o procedimento de Holm-Sidak seguindo uma ANOVA unilateral

[076] A **Figura 51A** mostra a representação de células imunes durante a indução de pancreatite em camundongos. A representação do tipo de células imunes foi determinada por citometria de fluxo no baço, linfonodos periféricos, linfonodos mesentéricos e pâncreas em camundongos tratados com Ceruleína para a indução de pancreatite aguda (C57Bl/6j) e camundongos C^{PDX};R^{LSL};F tratados com Dox por 0, 1 ou 3 dias em comparação com controles de ninhada geneticamente negativos (GN). Os dados são representados como a porcentagem de células positivas para CD45. A **Figura 51B** mostra a representação do tipo de células imunes como determinado por citometria de fluxo no pâncreas de camundongos tratados com Ceruleína para a indução de pancreatite aguda (C57Bl/6j) e camundongos C^{PDX};R^{LSL};F tratados com Dox por 0, 1 ou 3 dias em comparação com controles de ninhada geneticamente negativos (GN). As linhas representam a média; cada ponto de dados representa uma medição de um camundongo individual. * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, **** p<0,0001 usando ANOVA unidirecional com múltiplas comparações (F (8,30) = 2,709; 2,034; 3,049; 3,784; 4,739; 6,46; 3,986; 4,688).

[077] A **Figura 52A** mostra que a expressão de CA19-9 causa proliferação ductal. A incorporação de EdU foi avaliada por citometria de fluxo em camundongos C^{PDX};R^{LSL};F (n = 3, 3 e 4, respectivamente) e controles de ninhada geneticamente negativos (GN, n = 3 e 2, respectivamente) após o tratamento com Dox. É mostrada a porcentagem de células positivas para EdU no pâncreas inteiro (F (4,10) = 14,48, p < 0,0004), compartimento imune infiltrante (CD45, F (4,10) = 14,82, p<0,0003) ou linhagem epitelial ductal (CK19, F (4,9) = 48,35,

p<0,0001) é mostrado. As linhas representam a média; cada ponto de dados representa uma medição de um camundongo individual. As **Figuras 52B** a **52C** mostra a avaliação de marcadores de estresse proteotóxico em culturas acinares primárias após tratamento com Dox. A **Figura 52B** mostra os níveis de Amilase e Lipase no meio condicionado de explantes de células acinares de C^{PDX};R^{LSL};F tratados com veículo (PBS), Dox ou Ceruleína para 12 horas. ** p<0,01, *** p<0,001, **** p<0,0001 usando uma ANOVA unidirecional com múltiplas comparações (F (2,3) = 92,37; 37,17). A **Figura 52C** mostra os níveis de Atf4 e Bip que foram quantificados em relação ao controle de carregamento, Cofilina, e o ponto de tempo não tratado por *immunoblot* em lisados de células inteiras de explantes de células acinares de C^{PDX};R^{LSL};F tratados com veículo (PBS), Dox ou Ceruleína por 12 horas.

[078] As **Figuras 53A** a **53B** mostram padrões de proliferação durante a indução de pancreatite em camundongos. A **Figura 53A** mostra a IHC de Ki67 em filhotes da mesma ninhada de controle geneticamente negativo, R;F, camundongos C^{PDX};R^{LSL};F ou C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} tratados com Dox (Dias). A **Figura 53B** mostra a quantificação de IHC de Ki67 de pelo menos três camundongos contando cinco campos de alta potência por animal. * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, **** p<0,0001 usando ANOVA unidirecional com múltiplas comparações (F (3,91) = 5,097; (4,75) = 57,28; (7.197) = 113,1; (4,86) = 12,16). Barras de escala = 50 µm.

[079] As **Figuras 54A** a **54F** mostram análises de RNAseq de organoides C^{PDX};R^{LSL};F**.** A **Figura 54A** mostra o gráfico MA (Bland-Altman, expressão média vs. fold change). A **Figura 54B** mostra um gráfico do vulcão (fold change vs. valor q). Nas **Figuras 54A** e **54B,** genes expressos de forma significativamente diferencial são anotados em azul e os genes expressos mais diferencialmente são anotados adicionalmente. A **Figura 54C** mostra transcrições por milhão para os

transgenes introduzidos no modelo de camundongo geneticamente modificado. A **Figura 54D** mostra os níveis de expressão de Fut3 e β3GalT5 que foram normalizados para HPRTI e comparados entre organoides isolados de pâncreas humano normal ou maligno e os organoides normais de camundongo C^{PDX};R^{LSL};F após o tratamento com Dox. A **Figura 54E** mostra gráfico upSet mostrando a sobreposição entre C^{PDX};R^{LSL};F e organoides de controle geneticamente negativo. Os genes que são expressos diferencialmente em resposta a Dox na ausência de CA19-9 foram subtraídos da lista de genes expressos diferencialmente de organoides de C^{PDX};R^{LSL};F. A **Figura 54F** mostra o mapa de calor de genes diferencialmente expressos nos organoides de C^{PDX};R^{LSL};F tratados em 0 versus 24 horas após a subtração das alterações de expressão gênica induzida por Dox.

[080] A **Figura 55A** mostra GSEA de enriquecimento identificado por organoides de C^{PDX};R^{LSL};F na sinalização ERBB. As **Figuras 55B** e **55C** mostram GSEA de genes diferencialmente expressos a partir das análises de RNAseq de organoides de C^{PDX};R^{LSL};F. São mostrados gráficos de barras do escore de enriquecimento normalizado (NES) para vias com $p<0,05$ e FDR<0,15 e gráficos GSEA selecionados dos conjuntos de genes Hallmarks of Cancer que foram enriquecidos **(Figura 55B)** ou depletados **(Figura 55C)** após o tratamento com Dox de organoides de C^{PDX};R^{LSL};F.

[081] As **Figuras 56A** a **56B** mostram GSEA de genes diferencialmente expressos a partir das análises de RNAseq de organoides de C^{PDX};R^{LSL};F. São representados gráficos de barras do escore de enriquecimento normalizado (NES) para vias com $p<0,05$ e FDR<0,15 e gráficos GSEA selecionados dos conjuntos de genes da via KEGG que foram enriquecidos **(Figura 56A)** ou depletados **(Figura 56B)** após o tratamento com Dox de organoides de C^{PDX};R^{LSL};F**.**

[082] A **Figura 57A** mostra organoides de C^{PDX};R^{LSL};F (n = 3 ré-

plicas biológicas) e organoides geneticamente negativos (GN, n = 2 réplicas biológicas) como avaliado por *immunoblot* para a ativação de vias de sinalização após o tratamento com Dox. Os blots são representativos de três réplicas técnicas, três réplicas biológicas de organoides de C^{PDX};R^{LSL};F e duas réplicas biológicas de organoides de GN. A quantificação foi realizada em relação ao ponto de tempo não tratado após a normalização para Cofilina. As **Figuras 57B** a **57C** mostram a ativação da via de organoide após a indução da expressão de CA19-9. A **Figura 57B** mostra organoides ductais normais de C^{PDX};R^{LSL};F e controles de ninhada geneticamente negativos (GN), como avaliado por *immunoblot* após tratamento com Dox (Horas). A **Figura 57C** mostra organoides ductais normais de C^{PDX};R^{LSL};F (n = 2) e controles de ninhada geneticamente negativos (GN, n =2) como avaliado por *immunoblot* após tratamento com Dox (Goras) em meio de organoide sem EGF e NAC. A **Figura 57D** mostra a imunoistoquímica (IHC) representativa de EGFR fosforilado em camundongos C^{PDX};R^{LSL};F que foram tratados por 0 (n = 4) ou 3 (n = 5) dias com Dox. As inserções são de maior ampliação de ductos pancreáticos. Barras de escala = 50 µm.

[083] As **Figuras 58A a 58D** mostram estado proliferativo de organoide após indução de expressão de CA19-9. São mostrados C^{PDX};R^{LSL};F **(Figura 58A),** R;F **((Figura 58B),** C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} **(Figura 58C)** e organoides normais de camundongo que expressam CA19-9 constitutivos **(Figura 58D)** como avaliado diariamente por Cell Titer Glo para avaliar o crescimento por vários dias. Os controles genéticos negativos são incluídos para linhagens de organoides de C^{PDX};R^{LSL};F (218, 223) e R;F (3384).

[084] As **Figuras 59A a 59C** mostram que CA19-9 não é detectado em EGFR em organoides de C^{PDX};R^{LSL};F**.** A **Figura 59A** mostra IP de EGFR, seguido de *immunoblotting* de CA19-9 usando lisados de

proteína de C^{PDX};R^{LSL};F e organoides ductais normais geneticamente negativos (GN) após tratamento com Dox por 0 a 8 horas. A **Figura 59B** mostra que a expressão de CA19-9 não afeta a sensibilidade de C;R^{LSL};F e organoides ductais normais geneticamente negativos (GN) à inibição da ErbB quinase usando Erlotinibe ou Neratinibe. Organoides de GN: A218. A223. Organoides de C^{PDX};R^{LSL};F: A217, A220, A225.

[085] A **Figura 60** mostra sinalização em organoides de C^{PDX};R^{LSL};F (n = 3 réplicas biológicas) após tratamento com Dox (Horas) na presença de controle de isotipo (MOPC21) ou mAb bloqueador de CA19-9 (NS19-9) como avaliado por *immunoblot*. A quantificação foi realizada em relação ao ponto de tempo não tratado após a normalização para Cofilina. Os blots são representativos de duas réplicas técnicas e três biológicas.

[086] As **Figuras 61A** a **61B** mostram que a pancreatite mediada por CA19-9 é reversível. A **Figura 61A** mostra os níveis sorológicos de amilase e lipase de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F submetidos a experimento de pulso com Dox por 3 dias e procura por 4 dias. Os níveis sorológicos de amilase e lipase são mostrados com dados da Figura 25C mostrados para comparação. A **Figura 61B** mostra a coloração com H&E de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F submetidos a experimento de pulso com Dox por 3 dias e procura por 4 dias. Barras de escala= 100 µm.

[087] A **Figura 62A** mostra os níveis séricos de amilase e lipase e a porcentagem da área de tecido pancreático exibindo sinais histológicos de pancreatite em camundongos C^{PDX};R^{LSL};F após tratamento com controle de isotipo humano (n = 5) ou 5B1 (n = 5) por 8 dias e Dox pelos últimos 7 dias. As linhas vermelhas horizontais intermediárias representam a média e as barras de erro representam o desvio padrão; cada ponto de dados representa uma medição de um camundongo individual. O valor p é determinado usando teste t não pareado,

paramétrico, bicaudal para as comparações de amilase e lipase (t = 4,611, 2,981; df= 8) e teste t não pareado paramétrico com correção de Welch para a porcentagem de pâncreas afetado (t = 2,935, df=4,065); * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, **** p<0,0001. A **Figura 62B** mostra a coloração com H&E de áreas representativas de camundongos tratados com Isotipo ou 5B1, como descrito acima. Barras de escala = 100 µm. As **Figuras 62C** a **62D** mostram a IHC de pEGFR em camundongos representativos tratados com isotipo **(Figura 62C)** ou 5B1 **(Figura 62D)** como descrito acima. Barras de escala= 100 µm.

[088] As **Figuras 63A** a **63C** mostram que a pancreatite mediada por CA19-9 pode ser atenuada pelo anticorpo CA19-9 in vivo. São mostrados nas figuras a coloração com H&E **(Figura 63A),** os níveis séricos de amilase e lipase **(Figura 63B)** e a IHC de pEGFR **(Figura 63C)** em camundongos C^{PDX};R^{LSL};F após o tratamento com MOPC21 ou NS19-9 por 96 horas e Dox pelas últimas 24 horas. Barras de escala = 100 µm, barras de escala inseridas = 50 µm. Na Figura 63B, os tamanhos das amostras eram MOPC21 (n = 5) ou NS19-9 (n = 5). As linhas representam a média; cada ponto de dados representa uma medição de um camundongo individual. O valor p é determinado usando teste t não pareado, paramétrico bicaudal (t = 4,108, 2,961, 3,216; df = 8, 8, 7).

[089] As **Figuras 64A** a **64C** mostram que a pancreatite mediada por CA19-9 pode ser atenuada pelo anticorpo CA19-9 in vivo. A **Figura 64A** mostra a porcentagem da área de tecido pancreático exibindo sinais histológicos de pancreatite em camundongos C^{PDX};R^{LSL};F após tratamento com MOPC21 (n = 5) ou NS19-9 (n = 5) por 96 horas e Dox pelas últimas 24 horas. A **Figura 64B** mostra histologia representativa de pâncreas inteiro (H&E) de um camundongo normal ou camundongos C^{PDX};R^{LSL};F tratados com Dox na presença do controle de isotipo, MOPC21, ou o anticorpo CA19-9, NS19-9. As inserções laranjas são

ampliações maiores representativas das áreas de pancreatite. As inserções pretas são ampliações maiores representativas de áreas pancreáticas normais contendo estruturas ductais. Barras de escala = 100 µm. A **Figura 64C** mostra os níveis de amilase e lipase após o tratamento de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F com uma dose mais baixa de Dox na água potável (0,5 g/l). As linhas representam a média; cada ponto de dados representa uma medição de um camundongo individual. O valor p é determinado usando teste t não pareado, paramétrico, bicaudal.

[090] A **Figura 65A** mostra a coloração com H&E de pâncreas de camundongo C^{PDX};R^{LSL};F após tratamento com Dox, bem como Erlotinibe ou Veículo. As barras de escala são 200 µm, 200 µm, 100 µm e 50 µm da esquerda para a direita. A **Figura 65B** mostra os níveis sorológicos de amilase e lipase de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F após tratamento com Dox, bem como Erlotinibe ou Veículo. A **Figura 65C** mostra a coloração com H&E de pâncreas de camundongo C57Bl/6J após tratamento com Sacarose ou Sacarose e Dox e Veículo ou Erlotinibe. Barras de escala = 100 µm. A **Figura 65D** mostra níveis sorológicos de amilase e lipase de pâncreas de camundongo C57Bl/6J após tratamento com Sacarose ou Sacarose e Dox e Veículo ou Erlotinibe.

[091] As **Figuras 66A** a **66B** mostram que a secreção de ligantes CA19-9 ativa o EGFR. A **Figura 66A** mostra a avaliação de *immunoblot* de organoides de filhotes da mesma ninhada geneticamente negativos (GN) que foram incubados com meio condicionado de organoides de C^{PDX};R^{LSL};F previamente tratados com Dox ou veículo (24 horas). A quantificação foi realizada em relação ao ponto de tempo não tratado após a normalização para Cofilina. A **Figura 66B** mostra avaliação de *immunoblot* de organoides de filhotes da mesma ninhada GN que foram incubados com meio condicionado de organoides de C^{PDX};R^{LSL};F previamente tratados com Dox (24 horas) na presença de Fc-controle

ou Fc conjugado com EGFR. A quantificação foi realizada em relação ao ponto de tempo não tratado após a normalização para Cofilina.

[092] As **Figuras 67A** a **67D** mostram estratégias de sincronismo exemplificativas para experimentos de citometria de fluxo. A **Figura 67A** mostra o *back gating* de citometria de fluxo para a Figura 1D. A **Figura 67B** mostra o *back gating* de citometria de fluxo para a Figura 1E. A **Figura 67C** mostra o *back gating* de citometria de fluxo para a Figura 50B. A **Figura 67D** mostra o *back gating* de citometria de fluxo para a Figura 52A.

6. DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

6.1 DEFINIÇÕES

[093] Como usado no presente documento, o termo "Sialil-Lewis^a" (sLe^a), também conhecido ou referido como sialil-Le^a, Sialil-Lewis. A Lewis Sialilado a, pretende significar um composto de um tetrassacarídeo com uma fórmula molecular de $C_{31}H_{52}N_2O_{23}$ e uma massa molar de 820,74 g/mol. A estrutura de sLe^a pode incluir Neu5Acα2-3Galβ1-3 (Fucα1-4) GlcNAcβ e Neu5Gcα2-3Galβ1-3 (Fucαl-4) GlcNAcβ. sLe^a também é um ligante conhecido da E-selectina, também conhecida como molécula de adesão de leucócitos endoteliais (ELAM). O termo Sialil-Lewis^a inclui todos os tipos de conformação possíveis, incluindo conformação bioativa e conformação não bioativa.

[094] Como usado no presente documento, os termos "CA19-9", "CA 19-9," "CA-19.9" ou "CA 19.9" se referem a qualquer antígeno contendo um epítopo de Sialil Lewis^a. CA19-9 abrange proteínas, por exemplo glicoproteínas, que foram modificadas com uma ou mais porções Sialil Lewis^a. Por exemplo, CA19-9 inclui glicoproteínas contendo Sialil Lewis^a, como C2, CD59, F5, SPARC, MUC1, MUC5AC, MUC16, apolipoproteínas, cininogênio, A2M, ADAM9, AFP, B3GNT5, CD44, CSF3, CTBS, CTSL2, EFNb3, EPHA3, FGFBP1, IGFBP5, IL18RAP, INHBC, MSLN, NPY, PDGFA, PROM1, RAF1, S100A7, TFF3, TGFB2,

TNFRSF10A, WISP1 e WNT9B. CA19-9 inclui também lipídeos, por exemplo glicolipídeos, que foram modificados com um ou mais Sialil Lewis^a e, portanto, contêm um epítopo de Sialil Lewis^a. Os glicolipídeos CA19-9 exemplificativos incluem glicolipídeos associados à membrana globular da bílis, uma vesícula de membrana segregada pela bílis normal, como descrito em Uozumi, N *et al*., J. Proteome Res. 2010, 9, 6345-6353, que está no presente documento incorporado em sua totalidade a título de referência. Exemplos adicionais de CA19-9 foram descritos em Rho J *et al*., J Proteomics. 16 de janeiro de 2014; 96: 291-299 e Trinchera M *et al*., Biology (Basel). 23 de fevereiro de 2017 ;6(1). pii: E16, que estão no presente documento incorporados em sua totalidade a título de referência.

[095] Os termos "prevenindo", "prevenir" ou "prevenção", quando usados em relação à pancreatite e/ou ao dano (por exemplo, físico ou funcional), efeitos ou sintomas de pancreatite, significam retardar o início, dificultar a progressão, dificultar o aparecimento, proteção contra, inibir ou eliminar o surgimento, ou reduzir a incidência, de pancreatite, ou danos, efeitos ou sintomas de pancreatite. Por exemplo, embora alguns pacientes em uma população de pacientes que é tratada com o anticorpo ou fragmento de anticorpo fornecido no presente documento desenvolvam pancreatite, o anticorpo ou fragmento de anticorpo ainda "previne" pancreatite, desde que a população de pacientes que é tratada com o anticorpo ou fragmento de anticorpo exiba uma redução nos danos, efeitos, incidência, taxa de ocorrências ou sintomas de pancreatite em comparação com uma população que não é tratada.

[096] Como usado no presente documento, os termos "tratar" ou "tratamento", quando usados em relação à pancreatite, se destinam a significar a eliminação, redução, gerenciamento ou controle da pancreatite, ou um distúrbio, dano incluindo, por exemplo, dano físico ou

funcional e/ou efeitos ou sintomas resultantes da pancreatite

[097] Como usado no presente documento, o termo "atenuar", quando usado em relação à pancreatite, pretende significar reduzir, aliviar ou mitigar a pancreatite ou um distúrbio, danos incluindo, por exemplo, danos físicos e funcionais e/ou os sintomas resultantes da pancreatite. Por exemplo, uma pessoa versada na técnica pode atenuar os sintomas de pancreatite tornando-a mais suportável, desacelerar a progressão da doença ou restaurar um indivíduo a um estado livre de pancreatite.

[098] Como usado no presente documento, os termos "gerenciar", "gerenciando" ou "gerenciamento", quando usados em relação à pancreatite, pretendem significar a obtenção de um ou mais efeitos benéficos para um paciente por meio da administração de um anticorpo ou fragmento de anticorpo como fornecido no presente documento. Os efeitos benéficos podem ser, por exemplo, regressão, parada da progressão ou progressão menos rápida da pancreatite, alívio, manutenção ou retardo do agravamento do sintoma ou efeitos da pancreatite e reversão, manutenção ou retardo do disseminação dos danos associados à pancreatite. Em certas modalidades, um anticorpo ou fragmento de anticorpo é administrado a um paciente, como fornecido no presente documento, para limitar ou controlar os sintomas de pancreatite, de modo a prevenir a progressão ou agravamento dos sintomas de pancreatite.

[099] Como usado no presente documento, os termos "indivíduo" e "indivíduos" se destinam a significar um animal, por exemplo, um mamífero. O mamífero abrangido pelo termo "indivíduo" inclui, por exemplo, um mamífero não primata, como uma vaca, um porco, um cavalo, um gato, um cachorro, um rato e um camundongo e um mamífero primata, como um macaco, um símio e um ser humano. Um "paciente" se refere a um ser humano que é um alvo adequado para os mé-

todos fornecidos no presente documento.

[0100] Como usado no presente documento, o termo "pancreatite" se destina a significar uma doença em que o pâncreas fica inflamado e lesionado. A pancreatite inclui pancreatite aguda e pancreatite crônica. Pancreatite aguda se refere a uma inflamação súbita no pâncreas que dura um curto período de tempo. Pancreatite crônica se refere a uma inflamação de longa duração do pâncreas. A pancreatite crônica pode ocorrer após um episódio de pancreatite aguda. A pancreatite crônica inclui ainda pancreatite crônica leve, moderada e grave.

[0101] Como usado no presente documento, a frase "agente terapêutico" ou pretende significar qualquer agente que pode ser usado na prevenção, tratamento, gerenciamento ou atenuação da pancreatite associada à expressão de um CA19-9 e sLe^a e/ou um sintoma relacionado ao mesmo. Os agentes terapêuticos fornecidos no presente documento incluem anticorpos (como definido mais adiante), proteínas, peptídeos, ácidos nucleicos, peptidomiméticos, peptoides ou similares. As proteínas incluem proteínas naturais, proteínas projetadas de novo e proteínas produzidas por um animal ou uma célula mediante estimulação, engenharia ou ambas. Exemplos de proteínas incluem ligantes, porções químicas solúveis de receptores e outros produtos biológicos formados predominantemente com aminoácidos. Os ácidos nucleicos como agentes terapêuticos incluem aptâmeros ou aqueles que têm sequências de ácidos nucleicos para atingir certas estruturas secundárias para propriedades funcionais desejadas (como ligação ou bloqueio), em que a sequência pode ser projetada ou identificada por triagem de uma biblioteca de sequências de ácidos nucleicos. Os peptídeos incluem aqueles que têm certas sequências para atingir as propriedades funcionais desejadas (como ligação ou bloqueio), em que a sequência pode ser projetada ou identificada por triagem de uma biblioteca de sequências de peptídeos. Por exemplo, um agente terapêuti-

co pode ser um anticorpo ou fragmento funcional da invenção. Como outro exemplo, um agente terapêutico pode ser uma molécula em vez de um anticorpo ou fragmento funcional da invenção. Um agente terapêutico pode também ser qualquer molécula fornecida pela invenção como útil para a prevenção, tratamento, gerenciamento ou atenuação de uma doença associada à expressão de um CA19-9 e sLe^a e/ou um ou mais sintomas relacionados à mesma.

[0102] Como usado no presente documento, os termos "marcadores de pancreatite" ou "marcadores para pancreatite" se destinam a significar quaisquer indicadores determináveis e/ou observáveis de pancreatite. Os marcadores de pancreatite podem incluir alterações físicas ou danos no pâncreas, alterações funcionais ou fisiológicas no pâncreas, medições funcionais do pâncreas, alterações histológicas no pâncreas, anormalidades no pâncreas em teste de imageamento, anormalidades na expressão ou estrutura de uma ou mais proteínas, incluindo glicoproteínas no pâncreas, anormalidades na expressão ou estrutura de um ou mais carboidratos no pâncreas, anormalidades no DNA, RNA, sequência ou estrutura de microRNA, anormalidades nos indicadores séricos de inflamação pancreática e qualquer medição ou indicador de inflamação pancreática e/ou função pancreática. Exemplos de marcadores de pancreatite incluem marcadores histológicos, como invasão de células imunes, deposição de colágeno, presença e o nível de tecido fibrótico, necrose de gordura, edema intersticial, destruição acinar e dos vasos sanguíneos, hemorragia intersticial, dilatação ductal, homogeneização de células acinares e nível de expressão de CA19-9. Os marcadores de pancreatite incluem também marcadores fisiológicos, como perda de peso, má absorção de alimentos, atrofia pancreática, aumento do pâncreas, inflamação pancreática e refluxo biliar. Os marcadores de pancreatite podem incluir ainda o nível de lipase sérica, nível de amilase sérica e níveis de proteína C reativa sé-

rica (CRP) .

[0103] Como usado no presente documento, o termo "um marcador de sinalização", quando usado em referência ao pâncreas ou pancreatite, se destina a significar uma molécula em uma cascata de sinalização (por exemplo, uma cadeia de reações bioquímicas interconectadas, reações biofísicas, alterações de quantidade (como alterações de nível de expressão) e/ou alterações de localização dos componentes da cascata) no pâncreas ou nas células pancreáticas, em que a ativação, estimulação, bloqueio, inibição ou alteração da cascata de sinalização fundamenta o mecanismo de doença de pancreatite. Esses marcadores de sinalização incluem, por exemplo, fosforilação de Akt elevada no pâncreas, fosforilação de EGFR elevada no pâncreas, fosforilação de Erkl/2 elevada no pâncreas e elevação da expressão de CA19-9.

[0104] Como usado no presente documento, o termo "amilase" se refere a um grupo de enzimas que hidrolisam amido e glicogênio. As ligações químicas exemplificativas hidrolisadas pela amilase incluem ligações glicosídicas presentes no amido. Amilase inclui, por exemplo, α-amilase (EC 3.2.1.1 de acordo com o esquema de classificação numérica para enzimas conhecido como o número da Comissão de Enzimas; mais adiante neste documento, um número EC indica de modo similar o esquema de classificação de enzimas de acordo com o número da Comissão de Enzimas; nomes alternativos: 1,4-α-D-glicano-glicano-hidrolase; glicogenase) que catalisa a endo-hidrólise de ligações (1->4)-alfa-D-glicosídicas em polissacarídeos contendo três ou mais três ou mais unidades de D-glicose ligadas a (1-> 4) -alfa. Amilase inclui também β-amilase (EC 3.2.1.2; nomes alternativos: 1,4-α-D-glicano malto-hidrolase; glicogenase; sacarogênio amilase) que catalisa a hidrólise de ligações (1->4)-alfa-D-glicosídicas em polissacarídeos de modo a remover unidades sucessivas de maltose das extremidades não redutoras das cadeias. Amilase inclui ainda, por exemplo, γ- amilase (EC

3.2.1.3; nomes alternativos: Glicano 1,4-α-glicosidase; amiloglicosidase; Exo 1,4-α-glicosidase; glicoamilase; α-glicosidase lisossomal; 1,4-α-D-glicano glico-hidrolase) que catalisa a hidrólise de resíduos terminais de alfa-D-glicose ligados a (1->4) sucessivamente de extremidades não redutoras das cadeias com liberação de beta-D-glicose. "Amilase sérica" ou "amilase sorológica" se refere ao agregado ou amilase total no soro. Aproximadamente 35% a 45% da amilase sérica normal é de origem pancreática. O nível elevado de amilase sérica pode ser um marcador para pancreatite pois, quando o pâncreas está inflamado, níveis elevados de amilase serão liberados no sangue. O nível sérico normal para amilase em um indivíduo humano saudável é 0 a 137 U/l, que pode ser dependente do método e da população. Portanto, em algumas modalidades, os níveis normais de amilase sérica podem variar de laboratório para laboratório e de uma população humana para outra.

[0105] Como usado no presente documento, o termo "lipase" se refere a uma subclasse das esterases que catalisa a hidrólise de gorduras (lipídeos). O termo lipase pode incluir a triacilglicerol lipase (EC 3.1.1.3) que catalisa, por exemplo, a hidrólise de triacilgliceróis em glicerol, diacilgliceróis, monogliceróis e ácidos graxos livres. O termo lipase inclui também a acilglicerol lipase (EC 3.1.1.23) que catalisa, por exemplo, a hidrólise de monoésteres de glicerol de ácidos graxos de cadeia longa. "Lipase sérica" ou "lipase sorológica" se refere à lipase agregada ou total no soro. A lipase de origem pancreática é responsável por uma fração significativa e importante da lipase sérica. O nível elevado de lipase sérica pode ser um marcador para pancreatite pois, quando o pâncreas está inflamado, níveis elevados de lipase serão liberados no sangue. O nível sérico normal para lipase em um indivíduo humano saudável é 12 a 70 U/l, que é dependente do método e da população. Portanto, em algumas modalidades, os níveis normais de lipase sérica podem variar de laboratório para laboratório e de uma

população humana para outra.

[0106] Como usado no presente documento, o termo "níveis elevados" em referência a um marcador se destina a significar que o nível do marcador é mais alto que aquele de uma faixa de referência normal ou de um indivíduo de controle correspondente com histologia, fisiologia e/ou função pancreática normal. Esse nível elevado pode ser 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 160%, 170%, 180%, 190%, 200%, 250%, 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900%, 10 vezes, 20 vezes, 30 vezes, 40 vezes, 50 vezes, 100 vezes, 200 vezes, 300 vezes, 400 vezes, 500 vezes, 600 vezes, 700 vezes, 800 vezes, 1000 vezes, 2000 vezes, 3000 vezes, 4000 vezes, 5000 vezes, ou mais alto que em um indivíduo controle com histologia, fisiologia e/ou função pancreática normal ou que a faixa de referência normal. Tais faixas de referência são descritas adicionalmente abaixo.

[0107] Como usado no presente documento, o termo "anticorpo" se destina a significar um produto polipeptídico de células B dentro da classe de polipeptídeos de imunoglobulina que tem capacidade para se ligar a um antígeno molecular específico e é composto por dois pares idênticos de cadeias polipeptídicas, em que cada par tem uma cadeia pesada (cerca de 50 a 70 kDa) e uma cadeia leve (cerca de 25 kDa), cada porção amino-terminal de cada cadeia inclui uma região variável de cerca de 100 a cerca de 130 ou mais aminoácidos, e cada porção de carboxi-terminal de cada cadeia inclui um região constante. (Consultar Borrebaeck (ed.) (1995) Antibody Engineering, Segunda Edição, Oxford University Press.; Kuby (1997) Immunology, terceira Edição, W.H. Freeman and Company, Nova Iorque). No contexto da presente invenção, o antígeno molecular específico que pode ser ligado por um anticorpo da invenção inclui o carboidrato alvo sLe^a. O termo anticorpo abrange, por exemplo, anticorpos monoclonais anti-sLe^a individuais e anticorpos monoclonais anti-CA-19-9 (incluindo agonista, antagonista, anticorpos

neutralizantes, anticorpos monoclonais de comprimento total ou intactos), composições de anticorpo anti-sLe^a e anticorpo anti-CA-19-9 com especificidade poliepitópica ou monoepitópica, anticorpos policlonais ou monovalentes, anticorpos multivalentes, anticorpos multiespecíficos (por exemplo, anticorpos biespecíficos desde que exibam a atividade biológica desejada), como descrito abaixo. Um anticorpo pode ser humano, humanizado, quimérico e/ou maturado por afinidade, bem como um anticorpo de outras espécies, por exemplo, camundongo e coelho, etc. Os anticorpos fornecidos no presente documento podem ser de qualquer classe (por exemplo, IgG, IgE, IgM, IgD e IgA) ou qualquer subclasse (para exemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) da molécula de imunoglobulina. Os anticorpos fornecidos no presente documento incluem aqueles biologicamente produzidos, recombinantemente produzidos ou sinteticamente produzidos.

[0108] O termo "humano", quando usado em referência a um anticorpo ou um fragmento funcional do mesmo, se refere a um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que tem uma região variável humana e/ou uma região constante humana ou uma porção da mesma correspondente a sequências de imunoglobulinas de linha germinativa humana. Essas sequências de imunoglobulina de linha germinativa humana são descritas por Kabat *et al*. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edição, US Department of Health and Human Services, NIH Publicação Nº 91-3242. Um anticorpo humano, no contexto da presente invenção, pode incluir um anticorpo que se liga a sLe^a e é codificado por uma sequência de ácidos nucleicos que é uma variante somática de ocorrência natural da sequência de ácidos nucleicos da imunoglobulina da linha germinativa humana. Métodos exemplificativos de produção de anticorpos humanos são fornecidos no Exemplo 1, mas qualquer método bem conhecido pelos versados na técnica pode ser usado.

[0109] O termo "anticorpo monoclonal" se refere a um anticorpo que é o produto de um clone de célula única ou hibridoma ou uma população de células derivadas de uma única célula. Um anticorpo monoclonal também se destina a se referir a um anticorpo produzido por métodos recombinantes a partir de genes de imunoglobulina que codificam cadeias pesadas e leves para produzir uma única espécie de imunoglobulina molecular. As sequências de aminoácidos para anticorpos dentro de uma preparação de anticorpo monoclonal são substancialmente homogêneas e a atividade de ligação de anticorpos dentro de tal preparação exibe substancialmente a mesma atividade de ligação ao antígeno. Em contrapartida, os anticorpos policlonais são obtidos de células B diferentes em uma população, que são uma combinação de moléculas de imunoglobulina que se ligam a um antígeno específico. Cada imunoglobulina dos anticorpos policlonais pode se ligar a um epítopo diferente do mesmo antígeno. Os métodos para a produção de anticorpos monoclonais e policlonais são bem conhecidos na técnica (Harlow e Lane., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989) e Borrebaeck (ed.), Antibody Engineering: A Practical Guide, WH Freeman and Co., Publishers, Nova Iorque, páginas 103-120 (1991)).

[0110] Como usado no presente documento, o termo "fragmento funcional" quando usado em referência a um anticorpo se destina a se referir a uma porção do anticorpo incluindo polipeptídeos de cadeia pesada ou leve que retém parte ou toda a atividade de ligação como o anticorpo do qual o fragmento foi derivado. Tais fragmentos funcionais podem incluir, por exemplo, um Fd, Fv, Fab, F(ab'), $F(ab)_2$, $F(ab')_2$, Fv de cadeia simples (scFv), diacorpo, triacorpo, tetracorpo e minicorpo. Outros fragmentos funcionais podem incluir, por exemplo, polipeptídeos de cadeia pesada ou leve, polipeptídeos de região variável ou polipeptídeos de região determinante de complementaridade (CDR) ou

porções dos mesmos, desde que tais fragmentos funcionais retenham a atividade de ligação. Tais fragmentos de ligação de anticorpos podem ser encontrados, por exemplo, em Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Nova Iorque (1989); Myers (ed.), Molec. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference, Nova Iorque: VCH Publisher, Inc.; Huston *et al*., *Cell Biophysics,* 22:189-224 (1993); Ph.ickthun e Skerra, *Meth. Enzymol.,* 178:497-515 (1989) e em Day, ED, Advanced Immunochemistry, Second Ed., Wiley-Liss, Inc., Nova Iorque, NY (1990).

[0111] O termo "cadeia pesada" quando usado em referência a um anticorpo se refere a uma cadeia polipeptídica de cerca de 50 a 70 kDa, em que a porção amino-terminal inclui uma região variável de cerca de 120 a 130 ou mais aminoácidos e uma porção carbóxi-terminal inclui uma região constante. A região constante pode ser um dos cinco tipos distintos, chamados de alfa (α), delta (δ), épsilon (ε), gama (γ) e mu(μ), com base na sequência de aminoácidos da região constante de cadeia pesada. As cadeias pesadas distintas diferem em tamanho: α, δ e γ contêm aproximadamente 450 aminoácidos, enquanto μ e ε contêm aproximadamente 550 aminoácidos. Quando combinados com uma cadeia leve, esses tipos distintos de cadeias pesadas dão origem a cinco classes bem conhecidas de anticorpos, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, respectivamente, incluindo quatro subclasses de IgG, isto é, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Uma cadeia pesada pode ser uma cadeia pesada humana.

[0112] O termo "cadeia leve" quando usado em referência a um anticorpo se refere a uma cadeia polipeptídica de cerca de 25 kDa, em que a porção amino-terminal inclui uma região variável de cerca de 100 a cerca de 110 ou mais aminoácidos e uma porção carbóxi-terminal inclui uma região constante. O comprimento aproximado de uma cadeia leve é de 211 a 217 aminoácidos. Há dois tipos distintos,

chamados de kappa (κ) ou lambda (λ) com base na sequência de aminoácidos dos domínios constantes. As sequências de aminoácidos da cadeia leve são bem conhecidas na técnica. Uma cadeia leve pode ser uma cadeia leve humana.

[0113] O termo "domínio variável" ou "região variável" se refere a uma porção das cadeias leves ou pesadas de um anticorpo que geralmente está localizada no amino-terminal da cadeia leve ou pesada e tem um comprimento de cerca de 120 a 130 aminoácidos na cadeia pesada e cerca de 100 a 110 aminoácidos na cadeia leve e são usados na ligação e especificidade de cada anticorpo específico para seu antígeno específico. As regiões variáveis diferem extensivamente em sequência entre anticorpos diferentes. A variabilidade na sequência está concentrada nas CDRs enquanto as porções menos variáveis no domínio variável são chamadas de regiões de estrutura (FR). As CDRs das cadeias leve e pesada são as principais responsáveis pela interação do anticorpo com o antígeno. A numeração das posições de aminoácidos usada no presente documento está de acordo com o índice da EU, como em Kabat *et al*. (1991) Sequences of protein of immunological interest. (U.S. Department of Health and Human Services, Washington, DC) 5ª ed. Uma região variável pode ser uma região variável humana.

[0114] Uma CDR se refere a uma das três regiões hipervariáveis (H1, H2 ou H3) dentro da região não estrutural da estrutura de folha β VH de imunoglobulina (Ig ou anticorpo), ou uma de três regiões hipervariáveis (L1, L2 ou L3) dentro da região não estrutural da estrutura de folha β VL do anticorpo. Consequentemente, as CDRs são sequências de região variável intercaladas dentro das sequências de região de estrutura. As regiões CDR são bem conhecidas por aqueles versados na técnica e foram definidas, por exemplo, por Kabat como as regiões de maior hipervariabilidade dentro dos domínios variáveis (V) de anticorpo (Kabat *et al*., *J Biol. Chem.* 252:6609-6616 (1977); Kabat, *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75

(1978)). As sequências de região CDR também foram definidas estruturalmente por Chothia como aqueles resíduos que não fazem parte da estrutura de folha β e, portanto, têm capacidade para adaptar diferentes conformações (Chothia e Lesk, *J Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). Ambas as terminologias são bem reconhecidas na técnica. As posições de CDRs dentro de uma região variável de anticorpo canonical foram determinadas pela comparação de várias estruturas (Al-Lazikani *et al*., *J Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); Morea *et al.,Methods* 20:267-279 (2000)). Como o número de resíduos dentro de uma região hipervariável varia em anticorpos diferentes, resíduos adicionais em relação às posições canonicais são convencionalmente numerados com a, b, c e assim por diante próximo ao número de resíduos no esquema de numeração de domínio variável canonical (Al-Lazikani *et al*., *supra* (1997)). Tal nomenclatura é similarmente conhecida por aqueles versados na técnica.

[0115] Por exemplo, as CDRs definidas de acordo com as designações Kabat (hipervariável) ou Chothia (estrutural) são apresentados na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1: CDR Definições

	Kabat[1]	Chothia[2]	Localização de Alça
CDR1 V_{H}**	31 a 35	26 a 32	ligando as fitas B e C
CDR2 V_H	50 a 65	53 a 55	ligando as fitas C’ e C"
CDR3 V_H	95 a 102	96 a 101	ligando as fitas F e G
CDR1 V_L	24 a 34	26 a 32	ligando as fitas B e C
CDR2 V_L	50-56	50-52	ligando as fitas C’ e C"
CDR3 V_L	89 a 97	91 a 96	que liga as fitas F e G

[1] A numeração de resíduos segue a nomenclatura de Kabat *et al*., *supra*

[2] A numeração de resíduos segue a nomenclatura de Chothia *et al*., *supra*

[0116] Por exemplo, uma ou mais das CDRs podem também ser incorporadas em uma molécula tanto de maneira covalente como não covalente para torná-la uma imunoadesina. Uma imunoadesina pode incorporar a CDR (ou CDRs) como parte de uma cadeia polipeptídica maior, pode ligar covalentemente a CDR (ou CDRs) a outra cadeia polipeptídica, ou pode incorporar a CDR (ou CDRs) de maneira não covalente. As CDRs permitem que a imunoadesina se ligue a um antígeno de interesse específico.

[0117] Isolado se refere a uma molécula referenciada como sendo isenta de pelo menos um componente como é encontrada na natureza. O termo inclui um anticorpo ou um anticorpo funcional que é removido de alguns ou todos os componentes como é encontrado em seu ambiente natural. Os componentes do ambiente natural de um anticorpo incluem, por exemplo, eritrócitos, leucócitos, trombócitos, plasma, proteínas, ácidos nucleicos, sais e nutrientes. Os componentes do ambiente natural de um fragmento funcional de anticorpo incluem, por exemplo, membranas lipídicas, organelas celulares, proteínas, ácidos nucleicos, sais e nutrientes. Um anticorpo ou um fragmento funcional de anticorpo fornecido no presente documento pode também ser isento ou totalmente isento de todos esses componentes ou de qualquer outro componente das células a partir das quais é isolado ou produzido de forma recombinante.

[0118] Como usado no presente documento, "isotipo" se refere à classe de anticorpo que é codificada por genes de região constantes de cadeia pesada. As cadeias pesadas de um determinado anticorpo ou fragmento funcional determinam a classe desse anticorpo ou fragmento funcional: IgM, IgG, IgA, IgD ou IgE. Cada classe pode ter cadeias levesκ ou 'λ. O termo "subclasse" se refere às pequenas diferenças nas sequências de aminoácidos das cadeias pesadas que diferenciam as subclasses. Em seres humanos, há duas subclasses de IgA

(subclasses IgA1 e IgA2) e quatro subclasses de IgG (subclasses IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4). Essas classes e subclasses são bem conhecidas por aqueles versados na técnica.

[0119] Os termos "liga" ou "ligação" como usado no presente documento se referem a uma interação entre moléculas para formar um complexo. As interações podem ser, por exemplo, interações não covalentes, incluindo ligações de hidrogênio, ligações iônicas, interações hidrofóbicas e/ou interações de van der Waals. Um complexo pode também incluir a ligação de duas ou mais moléculas mantidas juntas por ligações, interações ou forças covalentes ou não covalentes. A ligação de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo pode ser detectada usando, por exemplo, um ensaio de imunossorvente ligado à enzima, um método fornecido na Seção 6.3.1 ou qualquer um de vários métodos que são bem conhecidos por aqueles versados na técnica.

[0120] A intensidade das interações não covalentes totais entre um único sítio de ligação ao antígeno em um anticorpo ou fragmento funcional e um único epítopo de uma molécula alvo, como sLe^a, é a afinidade do anticorpo ou fragmento funcional com aquele epítopo. A razão de associação (k_1) para dissociação (k_{-1}) de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo para um antígeno monovalente (k_1/ k_{-1}) é a constante de associação *K,* que é uma medição de afinidade. O valor de *K* varia para diferentes complexos de anticorpo ou fragmento funcional e antígeno e depende de k_1 e k_{-1}. A constante de associação *K* para um anticorpo ou fragmento funcional da invenção pode ser determinada usando qualquer método fornecido no presente documento ou qualquer outro método bem conhecido por aqueles versados na técnica.

[0121] A afinidade em um sítio de ligação nem sempre reflete a verdadeira força de interação entre um anticorpo ou fragmento funcional e um antígeno. Quando antígenos complexos contendo múltiplos

determinantes antigênicos repetitivos, como um sLe^a polivalente, entram em contato com anticorpos contendo múltiplos sítios de ligação, a interação de anticorpo ou fragmento funcional com o antígeno em um sítio aumentará a probabilidade de uma reação em um segundo sítio. A força de tais múltiplas interações entre um anticorpo multivalente e o antígeno é chamada de avidez. A avidez de um anticorpo ou fragmento funcional pode ser uma medição melhor da sua capacidade de ligação do que a afinidade dos seus sítios de ligação individuais. Por exemplo, a alta avidez pode compensar a baixa afinidade como às vezes é encontrada para anticorpos IgM pentaméricos, que podem ter uma afinidade mais baixa que a IgG, mas a alta avidez de IgM, resultante de sua multivalência, permite que a mesma se ligue efetivamente ao antígeno.

[0122] A especificidade de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo se refere à capacidade de um anticorpo individual ou fragmento funcional do mesmo para reagir com apenas um antígeno. Um anticorpo ou fragmento funcional pode ser considerado específico quando consegue distinguir diferenças na estrutura primária, secundária ou terciária de um antígeno ou nas formas isoméricas de um antígeno.

[0123] Como usado no presente documento, o termo "quantidade terapeuticamente eficaz" se destina a significar a quantidade de um agente terapêutico, por exemplo, um anticorpo ou fragmento funcional fornecido no presente documento ou qualquer outro agente terapêutico fornecido no presente documento, que é suficiente para atingir um resultado terapêutico benéfico ou pretendido, por exemplo, tratamento de uma doença, redução e/ou atenuação da gravidade e/ou duração de uma determinada doença e/ou um sintoma relacionado à mesma. Uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente terapêutico pode ser uma quantidade necessária para a regressão, redução ou atenuação da doença, a redução ou atenuação do avanço ou progres-

são de uma determinada doença, redução ou atenuação da recorrência, desenvolvimento ou início de um determinada doença e/ou para atenuar ou intensificar o efeito profilático ou terapêutico de outra terapia *(por exemplo,* uma terapia diferente da administração de um anticorpo ou fragmento funcional fornecido no presente documento). A invenção fornece uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo e fragmento de anticorpo fornecidos no presente documento.

[0124] Como usado no presente documento, uma "quantidade" quando se refere a uma dose como uma quantidade maior, por exemplo, uma dose em "uma quantidade maior", pretende significar que a dose em "uma quantidade maior" contém maior quantidade do anticorpo ou fragmento de anticorpo para obter um efeito benéfico ou pretendido. Tal dose em "uma quantidade maior" inclui, por exemplo, a dose em que a quantidade agregada do anticorpo ou fragmento de anticorpo administrado durante um período de tempo definido é aumentada ou maior em comparação com uma dose de controle ou basal no mesmo período de tempo. Tal dose em "uma quantidade maior" inclui uma dose de administração mais frequente em uma janela de tempo definida. Por exemplo, uma dose de 4 injeções por dia é uma dose de maior quantidade em comparação com uma dose de 3 injeções por dia, com todo o restante igual. Uma dose em "uma quantidade maior" inclui também quantidade aumentada ou maior do anticorpo ou fragmento de anticorpo por administração, mantendo a mesma frequência de administração, por exemplo, 3 injeções de 2 mg de anticorpo por dia em comparação com 3 injeções de 1 mg de anticorpo por dia. Uma dose em "uma quantidade maior" inclui ainda tanto a frequência de administração alterada quanto a quantidade alterada por administração em uma determinada janela de tempo, desde que o produto da frequência de administração em uma determinada janela e a quantidade por administração seja maior do que na dose controle ou basal. Por

exemplo, uma dose de 6 injeções de 1 mg de anticorpo em um dia é uma dose de "quantidade maior" que uma dose de 3 injeções de 1,5 mg de anticorpo em um dia. De modo similar, em uma administração contínua, uma dose de "quantidade maior" inclui uma dose em que o produto da taxa de administração e a duração da administração é maior que a de uma dose controle. Uma "quantidade" quando se refere a uma dose como uma quantidade menor, por exemplo, uma dose em "uma quantidade menor", se destina a significar o inverso de uma dose em "uma quantidade maior", como fornecido no presente documento.

[0125] Como usado no presente documento, o termo "efetor", quando usado em referência a um CA19-9, se destina a significar uma molécula no pâncreas ou células pancreáticas em uma cascata de sinalização que fundamenta o mecanismo de doença da pancreatite, em que a molécula terá uma resposta, por exemplo, se submetendo a alterações bioquímicas, biofísicas, de nível de expressão ou de localização, à presença ou estimulação do CA19-9. Exemplos de um efetor CA19-9 incluem moléculas na via de sinalização de EGFR, como EGFR, Akt e Erk, e moléculas que podem se ligar direta ou indiretamente ao CA19-9 e moléculas que podem ser direta ou indiretamente impactadas por CA19-9 com efeitos biológicos observáveis.

[0126] Como usado no presente documento, os termos "molécula peptidomimética" ou "peptidomimético" se destinam a significar uma molécula semelhante a um peptídeo que tem a atividade do peptídeo no qual se baseia estruturalmente. Tais peptidomiméticos incluem peptídeos quimicamente modificados, moléculas semelhantes a peptídeos contendo aminoácidos de ocorrência não natural e peptoides, e têm uma atividade como a atividade de ligação seletiva do peptídeo do qual o peptidomimético é derivado (consultar, por exemplo, Goodman e Ro , Peptidomimetics for Drug Design, em "Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery" Vol. 1 (ed. ME Wolff; John Wiley & Sons

(1995), páginas 803-861). Uma molécula peptidomimética inclui uma molécula que contém uma imitação de um resíduo de aminoácido (um mimético de aminoácido), incluindo, porém sem limitação, moléculas de núcleo de piperazina, moléculas de núcleo de ceto-piperazina e moléculas de núcleo de diazepina. Tal mimético de aminoácido pode incluir um grupo carboxila e um grupo amino e um grupo correspondente a uma cadeia lateral de aminoácido ou, no caso de um mimético de Glicina, nenhuma cadeia lateral diferente de hidrogênio.

6.2 MÉTODOS DE TRATAMENTO DE PANCREATITE

[0127] É fornecido no presente documento um método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo, que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a Sialil-Lewis^a (anti-sLe^a). Também é fornecido no presente documento um método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo, incluindo: (1) administrar ao indivíduo uma primeira dose de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a Sialil-Lewis^a (anti-sLe^a), (2) determinar a gravidade da pancreatite no dito indivíduo, e (3) administrar uma segunda dose do anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a anti-sLe^a na mesma quantidade ou em quantidade mais baixa que a primeira dose se a gravidade da pancreatite no indivíduo for reduzida em comparação com a gravidade da pancreatite no indivíduo antes da administração do anticorpo anti-sLe^a, ou administrar uma segunda dose do anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga ao anticorpo anti-sLe^a em uma quantidade mais alta que a primeira dose se a gravidade da pancreatite no indivíduo não for reduzida. Anticorpos anti-sLe^a que podem ser usados nos métodos são descritos na Seção 6.2.1.1.

[0128] Também é fornecido no presente documento um método

para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo, incluindo administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente terapêutico que se liga a CA19-9.

[0129] É adicionalmente fornecido no presente documento um método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo, incluindo: (1) administrar ao indivíduo em uma primeira dose um agente terapêutico que se liga a CA19-9, (2) determinar a gravidade da pancreatite no dito indivíduo, e (3) administrar uma segunda dose do agente na mesma quantidade ou em quantidade mais baixa que a primeira dose se a gravidade da pancreatite no indivíduo for reduzida em comparação com a gravidade da pancreatite no indivíduo antes da administração do agente, ou administrar uma segunda dose do agente em uma quantidade mais alta que a primeira dose, se a gravidade da pancreatite no indivíduo não for reduzida.

[0130] Em todos os métodos fornecidos no presente documento e especificamente aqueles descritos nos parágrafos [00139] a [00141]: os agentes terapêuticos que podem ser usados são descritos na Seção 6.2.1, a seleção de pacientes para o tratamento é descrita na Seção 6.2.2, os regimes de dosagem para administração do agente são descritos na Seção 6.2.3 abaixo, os biomarcadores que podem ser usados para identificar os agentes terapêuticos, selecionar os pacientes, determinar o resultado desses métodos, e/ou servir como critérios de qualquer forma para esses métodos são descritos na Seção 6.2.2 abaixo, os resultados terapêuticos são descritos na Seção 6.2.2 abaixo. Portanto, uma pessoa versada na técnica entenderia que os métodos fornecidos no presente documento incluem todas as permutações e combinações dos pacientes, agentes terapêuticos, regimes de dosagem, biomarcadores e resultados terapêuticos como descrito acima e abaixo.

[0131] Como descrito na Seção 6.2.2 abaixo em Populações de Pacientes, a pancreatite tratável, evitável, gerenciável e atenuável pelos métodos fornecidos no presente documento inclui pancreatite crônica, incluindo vários estágios de pancreatite crônica e pancreatite aguda, como descrito em detalhes na definição e na seção População de pacientes acima e abaixo. Em algumas modalidades, os métodos fornecidos no presente documento são aplicáveis à pancreatite crônica leve, pancreatite crônica moderada e/ou pancreatite crônica grave. Os métodos fornecidos no presente documento podem também ser usados para pancreatite aguda leve, pancreatite aguda moderada, e/ou pancreatite aguda grave. Como um paciente com pancreatite aguda pode se recuperar, mas desenvolver pancreatite crônica, um paciente com pancreatite crônica pode desenvolver pancreatite aguda e um paciente pode desenvolver de um estágio de pancreatite crônica ou aguda para outro estágio de pancreatite crônica e aguda, os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para um paciente com um prontuário médico de qualquer permutação ou combinação dos vários estágios de pancreatite crônica ou aguda, como descrito no presente documento.

[0132] Como descrito abaixo na Seção 6.2.1 sobre agente terapêutico, o agente fornecido no presente documento inclui um anticorpo anti-Sialil-Lewis^{a}, um peptídeo ou peptidomimético que se liga a Sialil-Lewis^{a} e/ou modula a atividade de Sialil-Lewis^{a}, ou qualquer permutação ou combinação de qualquer agente terapêutico adequado, como fornecido pela invenção.

[0133] O agente terapêutico fornecido no pressente documento inclui também um anticorpo anti-CA19-9, um peptídeo ou peptidomimético que se liga a um CA19-9 e/ou modula a atividade de CA19-9, ou qualquer permutação ou combinação de qualquer agente terapêutico adequado, como fornecido pela invenção.

[0134] Como descrito na Seção 6.2.1 abaixo sobre agente terapêutico, o agente fornecido no presente documento nos métodos de tratamento de pancreatite pode ser isolado ou purificado com vários níveis de pureza e impurezas; e o agente fornecido no presente documento pode também estar em várias composições farmacêuticas e ser formulado para várias vias de administração. Portanto, os métodos fornecidos no presente documento incluem o uso de um agente que é isolado ou purificado com vários níveis de pureza e impurezas, um agente que está em várias composições farmacêuticas e um agente que é formulado para várias vias de administração, como fornecido pela invenção.

[0135] Os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para vários indivíduos, como descrito no presente documento, incluindo um mamífero. Em uma modalidade, os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para um ser humano.

[0136] Como descrito na Seção 6.2.2 abaixo sobre Populações de Pacientes e Biomarcadores, vários pacientes podem receber os métodos fornecidos no presente documento, e vários biomarcadores podem ser usados para selecionar pacientes e avaliar o resultado dos métodos fornecidos no presente documento. Em algumas modalidades, os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para populações seletivas de pacientes, incluindo pacientes com pancreatite crônica leve, moderada ou grave e pacientes com pancreatite aguda leve, moderada ou grave. Em outras modalidades, os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para populações seletivas de pacientes, incluindo pacientes com atrofia pancreática, inflamação pancreática elevada, invasão de células imunes elevada na pancreatite, deposição elevada de colágeno na pancreatite, tecido fibrótico elevado na pancreatite, necrose de gordura elevada na pancreatite, edema intersticial elevado na pancreatite, destruição acinar e

dos vasos sanguíneos elevada na pancreatite, hemorragia intersticial elevada na pancreatite, dilatação ductal elevada na pancreatite, homogeneização de células acinares elevada na pancreatite, nível de expressão elevado de sLe^a na pancreatite, expressão elevada de um CA19-9, nível elevado de lipase sérica, nível elevado de amilase sérica, nível elevado de proteína C reativa sérica ou qualquer permutação ou combinação dos critérios do paciente como recitado no presente documento. Os métodos fornecidos no presente documento podem também ser usados em todas as permutações e combinações com várias populações de pacientes e vários biomarcadores, como descrito no presente documento.

[0137] Em outras modalidades, os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados em vários pacientes ou com vários biomarcadores para resultados terapêuticos desses métodos, como fornecido na Seção 6.2.2, que pode incluir uma redução na atrofia pancreática, uma redução na inflamação pancreática, uma redução na invasão de células imunes na pancreatite, uma redução na deposição de colágeno na pancreatite, uma redução no tecido fibrótico na pancreatite, uma redução na necrose gordurosa na pancreatite, uma redução no edema intersticial na pancreatite, uma redução na destruição acinar e dos vasos sanguíneos na pancreatite, uma redução na hemorragia intersticial na pancreatite, uma redução na dilatação ductal na pancreatite, uma redução na homogeneização de células acinares na pancreatite, uma redução no nível de expressão de sLe^a na pancreatite, uma redução no nível de expressão de um CA19-9, uma redução no nível de lipase sérica, uma redução no nível de amilase sérica, uma redução no nível de proteína C reativa sérica, ou qualquer permutação ou combinação do resultado como recitado no presente documento. Os métodos fornecidos no presente documento podem ainda ser usados em todas as permutações e combinações com várias populações

de pacientes, vários biomarcadores e/ou resultado terapêutico, como fornecido no presente documento.

6.2.1. AGENTES TERAPÊUTICOS PARA USO COM OS MÉTODOS DE TRATAMENTO DA PANCREATITE

[0138] Vários tipos de moléculas com as propriedades descritas podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento. A invenção prevê que a expressão elevada de um CA19-9 no pâncreas ativa a sinalização e/ou vias patológicas, que fundamentam o início, o desenvolvimento e o agravamento da pancreatite. Consequentemente, a invenção prevê que um agente terapêutico que pode inibir, bloquear, reverter, reduzir ou atenuar a expressão elevada de um CA19-9, níveis elevados de Sialil-Lewis^a, ou a combinação dos mesmos, pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite. A invenção prevê ainda que a expressão elevada ou CA19-9 leva à ativação da via de sinalização de EGFR. Em algumas modalidades específicas, os agentes terapêuticos que podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento incluem os agentes que têm a atividade de reduzir um ou mais marcadores de sinalização no pâncreas, em que o marcador de sinalização é selecionado de um grupo que consiste em fosforilação de Akt no pâncreas, fosforilação de EGFR no pâncreas, fosforilação de Erkl/2 no pâncreas, níveis de CA19-9 no pâncreas e níveis de Sialil-Lewis^a no pâncreas.

[0139] Como discutido acima, CA19-9 abrange proteínas, como glicoproteínas e lipídeos, como glicolipídeos, contendo um epítopo de Sialil Lewis^a. A invenção fornece uma lista de CA19-9 identificado por ensaios de imunoprecipitação com um anticorpo anti-CA19-9 (como 5B1 e NS19-9 nos Exemplos 1, 2 e 3. A invenção fornece também CA19-9 incluindo proteínas, como glicoproteínas e lipídeos, como glicolipídeos, que é conhecido por uma pessoa versada na técnica como

portador de Sialil Lewis[a], como aqueles descritos na definição de CA19-9 acima.

[0140] Como declarado acima, os agentes terapêuticos que podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento incluem várias categorias de agentes, por exemplo, agentes de anticorpos, como anti-CA19-9, como descrito na Seção 6.2.1.1, e peptídeo ou peptidomiméticos, como descrito na Seção 6.2.1.2.

[0141] O agente terapêutico pode modular a atividade de CA19-9. "Modular" uma atividade de uma molécula se refere a alterar uma atividade da molécula. Por exemplo, modular uma atividade de um CA19-9 inclui causar um aumento ou diminuição da magnitude de uma certa atividade de um CA19-9 em comparação com a magnitude da atividade do CA19-9 na ausência de tal modulação. Em certos exemplos, modular uma atividade de CA19-9 inclui diminuir a magnitude de uma ou mais atividades do CA19-9. Em alguns exemplos, modular uma atividade do CA19-9 inclui prevenir completamente uma ou mais atividades do CA19-9. Em outros exemplos, modular uma atividade CA19-9 inclui aumentar a magnitude de pelo menos uma atividade do CA19-9. Em outro exemplo, modular uma atividade CA19-9 inclui induzir uma atividade do CA19-9 que normalmente não ocorre na ausência de tal modulação. Um "modulador" em referência a uma molécula alvo que está sendo modulada se refere a uma molécula que pode "modular" a atividade da molécula alvo, como descrito nesse parágrafo.

[0142] Atividade de CA19-9 se refere a uma atividade de CA19-9 em uma célula, um tecido, um órgão, um organismo ou qualquer sistema biológico, por exemplo, no pâncreas ou células pancreáticas. Os efeitos do CA19-9 se referem às consequências das atividades do CA19-9 em uma célula, um tecido, um órgão, um organismo ou qualquer sistema biológico, por exemplo, no pâncreas ou células pancreá-

ticas. Tais atividades do CA19-9 incluem as atividades imediatas de CA19-9, como a indução de alterações bioquímicas, biofísicas, de localização ou de quantidade em outra molécula que se liga diretamente ou, de outro modo, interage com o CA19-9. Os efeitos correspondentes do CA19-9 incluiriam as consequências, como alterações bioquímicas, biofísicas, de localização ou de quantidade induzidas por CA19-9 da outra molécula que se liga diretamente ou, de outro modo, interage com o CA19-9. Tais atividades incluem também atividades como a indução de alterações bioquímicas, biofísicas, de localização ou de quantidade em outra molécula que não se liga diretamente ou, de outro modo, interage com o CA19-9, mas responde à presença ou estimulação do CA19- 9 mais a jusante de um cascata de atividade (por exemplo, cascata de sinalização) induzida pelo CA19-9. Os efeitos correspondentes de CA19-9 incluiriam, então, as consequências, como alterações bioquímicas, biofísicas, de localização ou de quantidade induzidas por um CA19-9 de outra molécula que não se liga diretamente ou, de outro modo, interage com o CA19-9, mas responde à presença ou estimulação do CA19-9 mais a jusante de uma cascata de atividade (por exemplo, cascata de sinalização) de CA19-9. Exemplos de uma atividade de CA19-9 incluem a ativação da via de sinalização de EGFR que leva à fosforilação aumentada de moléculas como EGFR, Akt e Erk, que se ligam a moléculas que podem interagir direta ou indiretamente com CA19-9, como selectinas, incluindo E-selectina, e mudanças nos níveis de moléculas que podem ser direta ou indiretamente impactadas pelo CA19-9 com efeitos biológicos observáveis.

[0143] Em algumas modalidades, o agente terapêutico fornecido no presente documento pode antagonizar um CA19-9 ou uma atividade de CA19-9. Esse antagonista de CA19-9 terapêutico pode inibir, diminuir ou, de outro modo, bloquear completamente uma ou mais das atividades biológicas de um CA19-9. Um antagonista de uma atividade

de CA19-9 inclui uma molécula que pode bloquear, inibir ou diminuir a sinalização mediada por CA19-9 ou dependente de CA19-9 em uma célula que expressa um CA19-9 ou em uma célula que expressa um ligante de CA19-9, como um receptor de CA19-9. Um antagonista de uma atividade de CA19-9 inclui também uma molécula que pode bloquear, inibir ou diminuir a sinalização de CA19-9. Em algumas modalidades, um antagonista de uma atividade de CA19-9 inclui ainda moléculas que podem bloquear, inibir ou diminuir a ligação de CA19-9 a uma molécula de ligação de CA19-9 natural. Em outras modalidades, um antagonista de uma atividade de CA19-9 inclui adicionalmente moléculas que podem bloquear, inibir ou diminuir a ligação de CA19-9 a um ligante de CA19-9, como um receptor de CA19-9. Em outra modalidade, um antagonista de uma atividade de CA19-9 inclui também moléculas que podem bloquear, inibir ou diminuir a remodelação, processamento, mudança conformacional ou modificação de uma molécula de ligação de CA19-9 ou um efetor de CA19-9. Um "antagonista" de uma molécula alvo é "antagonista" à molécula alvo.

[0144] Em algumas modalidades, o agente terapêutico fornecido no presente documento pode ser um anticorpo bloqueador, um anticorpo neutralizante ou um anticorpo antagonista a um CA19-9 ou uma atividade de CA19-9, em que o anticorpo se liga ao CA19-9 e atua como um antagonista ao CA19-9 à atividade de CA19-9 como definido acima no parágrafo [00156].

6.2.1.1 ANTICORPOS COMO AGENTES TERAPÊUTICOS NOS MÉTODOS.

[0145] Em algumas modalidades, os agentes terapêuticos que podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento são anticorpos que têm as atividades de inibir, bloquear, reverter, reduzir ou atenuar a expressão elevada de CA19-9 no pâncreas, níveis elevados de Sialil-Lewis^{a} no pâncreas ou qualquer combinação dos mes-

mos. Anticorpos exemplificativos adequados para os métodos incluem um anticorpo anti-CA19-9 e um anticorpo anti-Sialil-Lewis^a. Em uma modalidade, os anticorpos exemplificativos adequados para os métodos são anticorpos bloqueadores ou neutralizantes.

[0146] Em algumas modalidades específicas, o agente terapêutico que pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento é um anticorpo anti-CA19-9 ou um anticorpo anti-Sialil-Lewis^a. Em outras modalidades específicas, o agente terapêutico que pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento é um anticorpo anti-CA19-9 bloqueador ou um anticorpo anti-Sialil-Lewis^a bloqueador.

[0147] Como uma pessoa versada na técnica entenderá, o anticorpo anti-Sialil-Lewis^a pode ser um subconjunto de anticorpo anti-CA19-9 e ambos os anticorpos podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento. Em algumas modalidades, o anticorpo que pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento pode ser um anticorpo ou um fragmento funcional do mesmo que se liga a um CA19-9 e/ou Sialil-Lewis^a, em que o anticorpo inclui um domínio VH que tem uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 2, nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 6, nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 10 e nos resíduos 20 a 145 da SEQ ID NO: 14.

[0148] Em outra modalidade, o anticorpo que pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento pode ser um anticorpo ou um fragmento funcional do mesmo que se liga a um CA19-9 e/ou Sialil-Lewis^a, em que o anticorpo inclui um domínio VL que tem uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 4, nos resíduos 20 a 129 da SEQ ID NO: 8, nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 12 e nos resíduos 23 a 130 da SEQ ID NO: 16.

[0149] Em outra modalidade, o anticorpo anti-CA19-9 nos métodos

fornecidos no presente documento pode ser um anticorpo ou um fragmento funcional do mesmo, em que a cadeia pesada ou leve do anticorpo ou fragmento funcional do mesmo tem um ou mais dentre as regiões determinantes de complementaridade (CDRs) representadas nas Figuras 1 a 8 ou listadas na Tabela 2. Em outro aspecto, o anticorpo anti-CA19-9 nos métodos fornecidos no presente documento podem incluir a atividade de citotoxicidade dependente do complemento (CDC) e/ou atividade de citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos (ADCC) de qualquer um dos isolados clonais SB1, 9H3, SH11 ou 7E3 descritos na Patente US nº 9.475.874, que está incorporada em sua totalidade a título de referência. Métodos para avaliar a especificidade, afinidade e/ou avidez de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo são bem conhecidos na técnica e métodos exemplificativos são fornecidos no presente documento.

Tabela 2: CDRs de Isolados Clonais

***Domínio* Variável**	***Resíduos de Ácido Nucleico (SEQ ID NO:)***			***Resíduos de Aminoácidos (SEQ ID NO:)***		
	CDR1	***CDR2***	***CDR3***	***CDR1***	***CDR2***	***CDR3***
5B1 VH	133 a 156 (NO: 1)	208 a 231 (NO: 1)	346 a 393 (NO: 1)	55 a 62 (NO: 2)	70 a 77 (NO: 2)	116 a 131 (NO: 2)
5B1 VL	133 a 156 (NO: 3)	208 a 216 (NO: 3)	325 a 360 (NO: 3)	45 a 52 (NO: 4)	70 a 72 (NO: 4)	109 a 120 (NO: 4)
9H3 VH	133 a 156 (NO: 5)	208 a 231 (NO: 5)	346 a 393 (NO: 5)	45 a 52 (NO: 6)	70 a 77 (NO: 6)	116 a 131 (NO: 6)
9H3 VL	133 a 156 (NO: 7)	208 a 216 (NO: 7)	325 a 357 (NO: 7)	45 a 52 (NO: 8)	70 a 72 (NO: 8)	109 a 119 (NO: 8)

***Domínio* Variável**	***Resíduos de Ácido Nucleico (SEQ ID NO:)***			***Resíduos de Aminoácidos (SEQ ID NO:)***		
5H11 VH	133 a 156 (NO: 9)	208 a 231 (NO: 9)	346 a 393 (NO: 9)	45 a 52 (NO: 10)	70 a 77 (NO: 10)	116 a 131 (NO: 10)
5H11 VL	134 a 156 (NO: 11)	208 a 216 (NO: 11)	325 a 360 (NO: 11)	45 a 52 (NO: 12)	70 a 72 (NO: 12)	109 a 120 (NO: 12)
7E3 VH	133 a 156 (NO: 13)	208 a 231 (NO: 13)	346 a 402 (NO: 13)	45 a 52 (NO: 13)	70 a 77 (NO: 13)	116 a 134 (NO: 14)
7E3 VK	145 a 162 (NO: 15)	214 a 222 (NO: 15)	331 a 360 (NO: 15)	49 a 53 (NO: 16)	72 a 74 (NO: 16)	111 a 120 (NO: 16)

[0150] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CA19-9 nos métodos fornecidos no presente documento pode incluir o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que tem menos de seis CDRs. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo inclui uma, duas, três, quatro ou cinco CDR selecionadas do grupo que consiste em CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL , CDR2 VL e/ou CDR3 VL Em modalidades específicas, o anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo inclui uma, duas, três, quatro ou cinco CDR selecionadas do grupo que consiste em CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL, CDR2 VL e/ou CDR3 VL de isolados clonais 5B1, 9H3, 5H11 ou 7E3 descritos na Patente US nº 9.475.874, que está incorporada em sua totalidade a título de referência.

[0151] Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo, em que o

anticorpo ou fragmento funcional inclui um domínio de cadeia pesada variável (VH) que tem a sequência de aminoácidos CDR1, CDR2 e CDR3 do isolado clonal 5B1, 9H3, 5H11 ou 7E3 como descrito na Patente US nº 9.475.874. Tais domínios VH podem incluir os resíduos de aminoácidos 55 a 62, 70 a 77 e 116 a 131 da SEQ ID NO: 2 ou, alternativamente, os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 77 e 116 a 131 da SEQ ID NO: 6, ou alternativamente os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 77 e 116 a 131 da SEQ ID NO: 10, ou alternativamente os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 77 e 116 a 134 da SEQ ID NO: 14.

[0152] Em outra modalidade, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo, em que o anticorpo inclui um domínio de cadeia leve variável (VL) que tem a sequência de aminoácidos CDR1, CDR2 e CDR3 do isolado clonal 5B1, 9H3, 5H11 ou 7E3 como descrito na Patente US nº 9.475.874. Tal domínio VL pode incluir os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 72 e 109 a 120 da SEQ ID NO: 4, ou alternativamente os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 72 e 109 a 119 da SEQ ID NO: 8, ou alternativamente os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 72 e 109 a 120 da SEQ ID NO: 12, ou alternativamente os resíduos de aminoácidos 49 a 53, 72 a 74 e 111 a 120 da SEQ ID NO: 16.

[0153] Em algumas modalidades, a presente invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo, em que o anticorpo se liga a sLe^a. Consequentemente, em alguns aspectos, a invenção fornece um anticorpo isolado ou fragmento funcional do mesmo que se liga a sLe^a, em que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo inclui um domínio VH que tem uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 2, nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 6, nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 10 e nos resíduos 20 a 145 da SEQ ID NO: 14.

[0154] Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo

anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo que se liga a sLe^a, em que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo inclui um domínio VL que tem uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 4, nos resíduos 20 a 129 da SEQ ID NO: 8, nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 12 e nos resíduos 23 a 130 da SEQ ID NO: 16.

[0155] Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo que se liga a sLe^a, em que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo inclui um domínio VH e um domínio VL, em que o domínio VH e o domínio VL incluem, respectivamente, uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 2 e nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 4; nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 6 e nos resíduos 20 a 129 da SEQ ID NO: 8; nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 10 e nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 12; e nos resíduos 20 a 145 da SEQ ID NO: 14 e nos resíduos 23 a 130 da SEQ ID NO: 16.

[0156] Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo que se liga a sLe^a, em que o anticorpo ou o fragmento funcional tem uma ou mais CDRs descritas na **Tabela 2.** Em algumas modalidades adicionais, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo que inclui uma ou mais CDRs (em particular CDR3) e pode se ligar especificamente a sLe^a, como descrito na Patente US nº 9.475.874. Em alguns aspectos, um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo nos métodos fornecidos no presente documento podem incluir a atividade de CDC e/ou atividade de ADCC de qualquer um dos isolados clonais 5B1, 9H3, 5H11 ou 7E3, como descrito na Patente US nº 9.475.874.

[0157] Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo

anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo nos métodos, em que o anticorpo inclui um domínio de cadeia VH que tem a sequência de aminoácidos CDR1, CDR2 e CDR3 do isolado clonal 5B1, 9H3, 5H11 ou 7E3 como descrito na Patente US nº 9.475.874. Tais domínios VH podem incluir os resíduos de aminoácidos 55 a 62, 70 a 77 e 116 a 131 da SEQ ID NO: 2, ou alternativamente os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 77 e 116 a 131 da SEQ ID NO: 6, ou alternativamente os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 77 e 116 a 131 da SEQ ID NO: 10, ou alternativamente os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 77 e 116 a 134 da SEQ ID NO: 14.

[0158] Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo nos métodos, em que o anticorpo inclui um domínio de cadeia VL que tem a sequência de aminoácidos de CDR1, CDR2 e CDR3 do isolado clonal 5B1, 9H3, 5H11 ou 7E3, como descrito na Patente US nº 9.475.874. Tal domínio VL pode incluir os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 72 e 109 a 120 da SEQ ID NO: 4, ou alternativamente os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 72 e 109 a 119 da SEQ ID NO: 8, ou alternativamente os resíduos de aminoácidos 45 a 52, 70 a 72 e 109 a 120 da SEQ ID NO: 12, ou alternativamente os resíduos de aminoácidos 49 a 53, 72 a 74 e 111 a 120 da SEQ ID NO: 16.

[0159] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo nos métodos é um anticorpo monoclonal. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo nos métodos é um isotipo de IgG ou IgM. Em uma modalidade adicional, o anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo nos métodos é um anticorpo da subclasse IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4.

[0160] Em algumas modalidades, o anticorpo terapêutico anti-CA19-9 ou fragmento funcional do mesmo nos métodos pode ser, po-

rém sem limitação, um Fab, um Fab ', um $F(ab')_2$, um Fabc, um scFV, um diacorpo, um triacorpo, minicorpo ou um anticorpo de domínio único (sdAB). Em alguns aspectos, a invenção fornece aos métodos um diacorpo que inclui a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 18 ou 20. Tais diacorpos da invenção podem ser, em alguns aspectos, codificados por um polinucleotídeo que tem a sequência de ácidos nucleicos da SEQ ID NO: 17 ou 19. Em relação aos anticorpos e fragmentos funcionais dos mesmos, várias formas, alterações e modificações são bem conhecidas na técnica. Os fragmentos de anticorpos específicos de sLe^a ou CA19-9 da invenção podem incluir qualquer uma dessas várias formas, alterações e modificações de anticorpos. Exemplos de várias formas e termos como são conhecidos na técnica são apresentados abaixo.

[0161] Em algumas modalidades, o anticorpo que pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento pode ser um anticorpo ou um fragmento funcional do mesmo que se liga a um CA19-9 e/ou Sialil-Lewis^a, em que o anticorpo inclui uma cadeia pesada que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia pesada de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob número de acesso ao ATCC HB-8059. Em outra modalidade, o anticorpo que pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento pode ser um anticorpo ou um fragmento funcional do mesmo que se liga a um CA19-9 e/ou Sialil-Lewis^a, em que o anticorpo inclui uma cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia leve de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059. Em uma modalidade adicional, o anticorpo que pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento pode ser um anticorpo ou um fragmento funcional do mesmo que se liga a um CA19-9 e/ou Sialil-Lewis^a, em que o anticorpo inclui uma cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia leve de um

anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059, e uma cadeia pesada que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia pesada de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059.

[0162] Em outra modalidade, o anticorpo anti-CA19-9 nos métodos fornecidos no presente documento pode ser um anticorpo ou um fragmento funcional do mesmo, em que a cadeia pesada ou leve do anticorpo ou fragmento funcional do mesmo tem um ou mais de as regiões determinantes de complementaridade (CDRs) de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC. HB-8059. Em outro aspecto, o anticorpo anti-CA19-9 nos métodos fornecidos no presente documento podem incluir a atividade de citotoxicidade dependente do complemento (CDC) e/ou atividade de citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos (ADCC) de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059. Os métodos para avaliar a especificidade, afinidade e/ou avidez de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo são bem conhecidos na técnica e métodos exemplificativos são fornecidos no presente documento.

[0163] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CA19-9 nos métodos fornecidos no presente documento pode incluir o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que tem menos de seis CDRs. Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo inclui uma, duas, três, quatro ou cinco CDRs selecionadas do grupo que consiste em CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL, CDR2 VL e/ou CDR3 VL de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059. Em modalidades específicas, o anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo inclui uma, duas, três, quatro ou cinco

CDRs selecionadas do grupo que consiste em CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL, CDR2 VL e/ou CDR3 VL do isolado clonal nº SW-1116-19-9 (também conhecido como 1116-NS-19-9, NS-19-9 ou NS19-9), que foi descrito na Patente US nº 4.471.057, que está incorporada em sua totalidade a título de referência.

[0164] Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo, em que o anticorpo ou fragmento funcional inclui um domínio de cadeia pesada variável (VH) que tem a sequência de aminoácidos da sequência CDR1, CDR2 e CDR3 de domínio de cadeia VH que tem a sequência CDR1, CDR2 e CDR3 de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059. Em outra modalidade, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo, em que o anticorpo inclui um domínio de cadeia leve variável (VL) que tem a sequência de aminoácidos CDR1, CDR2 e CDR3 da sequência CDR1, CDR2 e CDR3 de domínio de cadeia VL de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059. Em uma modalidade adicional, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo, em que o anticorpo inclui um domínio de cadeia VL que tem a sequência de aminoácidos CDR1, CDR2 e CDR3 da sequência CDR1, CDR2 e CDR3 de domínio de cadeia VL de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059 e um domínio de cadeia VH que tem a sequência de aminoácidos CDR1, CDR2 e CDR3 da sequência CDR1, CDR2 e CDR3 de domínio de cadeia VH de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059.

[0165] Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo isolado ou fragmento funcional do mesmo que se liga a sLe^a, em que o

anticorpo ou fragmento funcional do mesmo inclui um domínio VH que tem a sequência de aminoácidos da cadeia pesada variável de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059. Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo que se liga a sLe^a, em que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo inclui um domínio VL que tem uma sequência de aminoácidos da cadeia leve variável de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059. Em outra modalidade, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo que se liga a sLe^a, em que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo inclui um domínio VL que tem uma sequência de aminoácidos da cadeia leve variável de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059, e um domínio VH que tem a sequência de aminoácidos da cadeia pesada variável de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059.

[0166] Em algumas modalidades, o anticorpo que pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento pode ser um anticorpo ou um fragmento funcional do mesmo que se liga a um CA19-9 e/ou Sialil-Lewis^a, em que o anticorpo inclui uma cadeia pesada que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia pesada de um isolado clonal NS19-9. Em outra modalidade, o anticorpo que pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento pode ser um anticorpo ou um fragmento funcional do mesmo que se liga a um CA19-9 e/ou Sialil-Lewis^a, em que o anticorpo inclui uma cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia leve de um isolado clonal NS19-9. Em uma modalidade adicional, o anticorpo que pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento pode ser um anticorpo ou um fragmento funcional do mesmo que se liga a

um CA19-9 e/ou Sialil-Lewis^a, em que o anticorpo inclui uma cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia leve do isolado clonal NS19-9 e uma cadeia pesada que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia pesada do isolado clonal NS19-9.

[0167] Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo nos métodos, em que o anticorpo inclui um domínio de cadeia VH que tem a sequência de aminoácidos CDR1, CDR2 e CDR3 do isolado clonal NS19-9. Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo nos métodos, em que o anticorpo inclui um domínio de cadeia VL que tem a sequência de aminoácidos CDR1, CDR2 e CDR3 do isolado clonal NS19-9. Em outra modalidade, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo nos métodos, em que o anticorpo inclui um domínio de cadeia VH que tem a sequência de aminoácidos CDR1, CDR2 e CDR3 do isolado clonal NS19-9 e um domínio de cadeia VL que tem a sequência de aminoácidos CDR1, CDR2 e CDR3 do isolado clonal NS19-9.

[0168] Em alguns aspectos adicionais, a invenção fornece um anticorpo isolado ou fragmento funcional do mesmo que se liga a sLe^a, em que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo inclui um domínio VH que tem a sequência de aminoácidos da cadeia pesada variável do isolado clonal NS19-9. Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo que se liga a sLe^a, em que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo inclui um domínio VL que tem uma sequência de aminoácidos da cadeia leve variável do isolado clonal NS19-9. Em outra modalidade, a invenção fornece um anticorpo anti-CA19-9 terapêutico ou fragmento funcional do mesmo que se liga a sLe^a, em que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo inclui um domínio VL que tem

uma sequência de aminoácidos da cadeia leve variável do isolado clonal NS19-9 e um domínio VH que tem a sequência de aminoácidos da cadeia pesada variável do isolado clonal NS19-9.

[0169] Em algumas modalidades, o anticorpo terapêutico ou o fragmento funcional do mesmo nos métodos podem ser produzidos por meios adequados (por exemplo, de forma recombinante, biológica ou sintética) e purificados por meios adequados (por exemplo, cromatografia, centrifugação, separação por afinidade baseada em etiqueta ou solubilidade diferencial), como descrito na Patente US nº 9.475.874, que está no presente documento incorporada em sua totalidade a título de referência.

[0170] O anticorpo terapêutico nos métodos fornecidos no presente documento incluem um fragmento Fab. O fragmento Fab se refere a um fragmento monovalente que consiste nos domínios VL, VH, CL e CH1; um fragmento $F(ab')_2$ é um fragmento bivalente que inclui dois fragmentos Fab ligados por uma ponte de dissulfeto na região de dobradiça; um fragmento Fd que consiste dos domínios VH e CH1; um fragmento Fv que consiste nos domínios VL e VH de um único braço de um anticorpo; e um fragmento dAb (Ward *et al*., *Nature* 341:544-546, (1989)) que consiste em um domínio VH.

[0171] O anticorpo terapêutico nos métodos fornecidos no presente documento pode ter um ou mais sítios de ligação. Se houver mais de um sítio de ligação, os sítios de ligação podem ser idênticos ou podem ser diferentes. Por exemplo, uma imunoglobulina de ocorrência natural tem dois sítios de ligação idênticos, um anticorpo de cadeia única ou fragmento Fab tem um sítio de ligação, enquanto um anticorpo "biespecífico" ou "bifuncional" tem dois sítios de ligação diferentes.

[0172] O anticorpo terapêutico nos métodos fornecidos no presente documento pode também ser um anticorpo de cadeia única. Um anticorpo de cadeia única (scFv) se refere a um anticorpo no qual uma

região VL e uma VH são unidas por meio de um ligante (por exemplo, uma sequência sintética de resíduos de aminoácidos) para formar uma cadeia polipeptídica contínua em que o ligante é longo o suficiente para permitir a cadeia da proteína se enovele novamente sobre si mesma e forme um sítio de ligação ao antígeno monovalente (consultar, por exemplo, Bird *et al*., *Science* 242:423-26(1988) e Huston *et al*., *Proc. Natl. Acad Sci.* USA 85:5879-83 (1988)). Diacorpos se referem a anticorpos bivalentes incluindo duas cadeias polipeptídicas, em que cada cadeia polipeptídica inclui domínios VH e VL unidos por um ligante que é muito curto para permitir o pareamento entre dois domínios na mesma cadeia, permitindo assim que cada domínio seja pareado com um domínio complementar em outra cadeia polipeptídica (consultar, por exemplo, Holliger *et al*., *Proc. Natl. Acad Sci. EUA* 90:6444-48 (1993), e Poljak *et al*., *Structure* 2:1121-23 (1994)). Se as duas cadeias polipeptídicas de um diacorpo forem idênticas, então um diacorpo resultante de seu pareamento terá dois sítios de ligação ao antígeno idênticos. As cadeias polipeptídicas que têm sequências diferentes podem ser usadas para produzir um diacorpo com dois sítios de ligação ao antígeno diferentes. De modo similar, tricorpos e tetracorpos são anticorpos incluindo três e quatro cadeias polipeptídicas, respectivamente, e formando três e quatro sítios de ligação ao antígeno, respectivamente, que podem ser iguais ou diferentes.

[0173] A presente invenção fornece também um anticorpo terapêutico ou fragmento funcional do mesmo que é derivado de 5B1, 9H3, 5H11 e/ou 7E3 como descrito na Patente US nº 9.475.874 bem como NS19-9, como descrito na Patente US nº 4.471.057, em que o anticorpo ou fragmento funcional se liga a CA19-9 e sLe^a. Técnicas padrão bem conhecidas por aqueles versados na técnica podem ser usadas para introduzir mutações na sequência de nucleotídeos que codifica um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo da invenção, incluin-

do, por exemplo, mutagênese sítio-dirigida e mutagênese mediada por PCR que resultam em substituições de aminoácido. Em alguns aspectos, o derivado inclui menos de 25 substituições de aminoácidos, menos de 20 substituições de aminoácidos, menos de 15 substituições de aminoácidos, menos de 10 substituições de aminoácidos, menos de 5 substituições de aminoácidos, menos de 4 substituições de aminoácidos, menos de 3 substituições de aminoácidos ou menos de 2 substituições de aminoácidos em relação à molécula original.

[0174] Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo terapêutico ou fragmento funcional do mesmo que tem formas modificadas de aminoácidos de ocorrência natural, substituições conservativas, aminoácidos de ocorrência não natural, análogos de aminoácidos e miméticos, desde que tal anticorpo ou fragmento funcional retenha a atividade funcional, como definido no presente documento. Em uma modalidade, o derivado tem substituições de aminoácido conservativas que são feitas em um ou mais resíduos de aminoácido não essenciais previstos. Uma substituição de aminoácido conservativa é uma em que o resíduo de aminoácido é substituído por um resíduo de aminoácido que tem uma cadeia lateral com uma carga similar. As famílias de resíduos de aminoácido que têm cadeias laterais com cargas similares foram definidas na técnica. Essas famílias incluem aminoácidos com cadeias laterais básicas *(por exemplo,* lisina, arginina, histidina), cadeias laterais ácidas *(por exemplo,* ácido aspártico, ácido glutâmico), cadeias laterais polares não carregadas *(por exemplo,* glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadeias laterais não polares *(por exemplo,* alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptofano), cadeias laterais beta ramificadas *(por exemplo,* treonina, valina, isoleucina) e cadeias laterais aromáticas *(por exemplo,* tirosina, fenilalanina, triptofano, histidina). Alternativamente, as mutações podem ser introduzidas aleatoriamente ao lon-

go de toda ou parte da sequência de codificação, como por mutagênese de saturação, e os mutantes resultantes podem ser analisados quanto à atividade biológica para identificar os mutantes que retêm a atividade. Após a mutagênese, o anticorpo codificado ou fragmento funcional do mesmo pode ser expresso e a atividade do anticorpo ou fragmento funcional pode ser determinada.

[0175] Em algumas modalidades, a invenção fornece um anticorpo terapêutico ou fragmento funcional do mesmo que tem fucosilação, galactosilação e/ou sialilação modificada de um fragmento Fc contido dentro de um anticorpo ou fragmento funcional da invenção. Tais modificações de um fragmento Fc podem afetar a atividade mediada por receptor de Fc, como discutido em Peipp *et al*., *Blood,* 112(6):2390-2399 (2008). Por exemplo, anticorpos terapêuticos glicosilados desprovidos de resíduos de fucose dos N-glicanos Fc exibem ADCC forte em concentrações mais baixas com eficácia muito maior em comparação com contrapartes fucosiladas. Shields *et al*., *J Biol. Chem., 277(30):26733-40* (2002); Okazaki *et al*., *J Mol Biol., 336:1239-1249* (2004); Natsume *et al*., *J Immunol. Methods.,* 306:93-103 (2005). Métodos para modificar a fucosilação, galactosilação e/ou a sialilação de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo são bem conhecidos na técnica. Por exemplo, as abordagens de desfucosilação podem ser agrupadas em três metodologias (1) conversão da via de N-glicosilação de células de não mamíferos para a via de não fucosilação 'humanizada'; (2) inativação da via de fucosilação de N-glicano de células de mamíferos e (3) síntese química *in vitro* de N-glicoproteína não fucosilada ou modificação enzimática de N-glicanos para formas não fucosiladas, como descrito em Yamane-Ohnuki *et al*., MAbs., 1(3):230-236 (2009). Entende-se que qualquer um desses métodos ou qualquer outro método que é bem conhecido na técnica pode ser usado para produzir um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que

tem fucosilação, galactosilação e/ou sialilação modificada.

6.2.1.2. PEPTÍDEOS E PEPTIDOMIMÉTICOS COMO AGENTES TERAPÊUTICOS NOS MÉTODOS..

[0176] Peptídeos e peptidomiméticos oferecem a diversidade estrutural necessária para interações seletivas e de alta afinidade com uma proteína alvo. A invenção fornece peptídeos e peptidomiméticos como um agente terapêutico nos métodos. Em algumas modalidades, os agentes terapêuticos que podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento são peptídeos ou peptidomiméticos que têm as atividades de inibir, bloquear, reverter, reduzir ou atenuar a expressão elevada de CA19-9 no pâncreas, a via de sinalização de EGFR elevada no pâncreas, níveis elevados de Sialil-Lewis^{a} no pâncreas, ou qualquer combinação dos mesmos. Peptídeos ou peptidomiméticos exemplificativos adequados para os métodos incluem aqueles que se ligam especificamente a um alvo selecionado de um grupo que consiste em CA19-9 e Sialil-Lewis^{a}. Em uma modalidade, os peptídeos exemplificativos adequados para os métodos são peptídeos bloqueadores ou neutralizantes. Em uma modalidade, os peptidomiméticos exemplificativos adequados para os métodos são peptidomiméticos bloqueadores ou neutralizantes.

[0177] Os peptídeos terapêuticos nos métodos podem ser baseados na sequência da região de ligação entre as duas proteínas. As sequências lineares podem se originar de uma alça dentro de um domínio estruturado ou de uma região desordenada nos terminais da proteína ou entre domínios definidos. A fim de obter a eficácia desejada, o peptídeo terapêutico pode ser alvejado para o sítio adequado em um organismo, tecido ou célula através da fusão com uma sequência de alvejamento e se liga à proteína alvo pretendida *in vivo.* Em uma modalidade, um peptídeo terapêutico é uma sequência de peptídeo curta, por exemplo, um peptídeo de não mais que 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11,

12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 aminoácidos, que se ligarão e bloquearão a função de uma proteína alvo para obter as atividades necessárias como fornecido no presente documento. Essas sequências lineares podem ser determinadas de acordo com as informações estruturais disponíveis na proteína alvo - por exemplo, design baseado na estrutura dos peptídeos ou peptidomiméticos. Além disso, um peptídeo e peptidomiméticos terapêuticos podem ser analisados e selecionados para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar o alvo relacionado à pancreatite, como descrito no parágrafo [00189] usando bibliotecas de peptídeos e técnicas de arranjo, como descrito na Seção 6.2.1.2.

[0178] As atividades dos peptídeos terapêuticos da variante dos mesmos podem ser identificadas, testadas e verificadas em qualquer um dos ensaios, como descrito na Seção 6.3 e Exemplos de uma biblioteca de peptídeos ou peptidomiméticos. Os peptídeos terapêuticos podem ser analisados e identificados de acordo com os ensaios descritos na Seção 6.3 e 6.2.1.2 de uma biblioteca de peptídeos ou peptidomiméticos. Os peptídeos podem ser produzidos, de forma recombinante ou sintética, de acordo com métodos bem conhecidos por uma pessoa versada na técnica, por exemplo como descrito no documento nº WO 2007/019545; nº WO 2015/009820A2; e nº WO 2009/094172 A2, que estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0179] Bibliotecas de peptídeos e bibliotecas de peptidomiméticos a partir das quais o peptídeo terapêutico pode ser identificado e selecionado são bem conhecidas por uma pessoa versada na técnica. Por exemplo, uma biblioteca de peptídeos adequada pode ser uma biblioteca de peptídeos biológicos, em que as bibliotecas de peptídeos têm um genótipo, ou sequência de DNA que codifica a sequência de peptí-

deos, que está ligada à expressão do peptídeo, como parte da estrutura normal da biblioteca. Bibliotecas de peptídeos biológicos exemplificativos incluem aquelas de exibição de fagos, bactérias, ribossomos, mRNA, leveduras, cDNA, retrovírus, baculovírus e células de mamíferos. Uma biblioteca de peptídeos adequada pode também ser uma biblioteca de peptídeos químicos, em que as bibliotecas de peptídeos são produzidas sinteticamente. Bibliotecas de peptídeos químicos exemplificativas incluem bibliotecas combinatórias de peptídeos, como bibliotecas de um composto de uma esfera (OBOC) e bibliotecas combinatórias de peptídeos sintéticos de varredura posicional (PS-SPCLs). Por exemplo, uma biblioteca química combinatória linear, como uma biblioteca de polipeptídeos, é formada pela combinação de um conjunto de blocos de construção químicos (aminoácidos) de todas as maneiras possíveis para um determinado comprimento de composto (ou seja, o número de aminoácidos em um composto polipeptídico). Milhões de compostos químicos podem ser sintetizados por meio de tal mistura combinatória de blocos de construção químicos. Protocolos detalhados para produzir as bibliotecas de peptídeos e para selecionar a ligação ao alvo e/ou peptídeos de bloqueio de alvo de várias bibliotecas de peptídeos são descritos em Kehoe JW, *et al*., Chem. Rev. 2005;105:4056; Hill HR, et ai., Mol. Microbial. 1996;20:685; Smith GP, et ai., Chem. Rev. 1997;97:391; Cabilly S. Mol. Biotechnol. 1999;12:143; Fukunaga K, *et al*., J. Nucleic Acids. 2012;2012:9; Gray BP, *et al*., Chem Rev. 2014; 114 (2): 1020-1081, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0180] Em certas modalidades, os peptídeos para uso nos presentes métodos podem incluir certo motivo (ou motivos) estrutural ou funcional. O motivo de um peptídeo se refere a um conjunto de aminoácidos consecutivos dentro da sequência de aminoácidos da cadeia do

peptídeo e/ou a um conjunto de aminoácidos linear ou espacialmente adjacentes dentro da estrutura secundária e/ou terciária do dito peptídeo. Como o motivo pode ser formado total ou parcialmente como resultado de enovelamento de proteínas, os aminoácidos que são adjacentes no motivo descrito podem ser separados por 0, 1 ou mais, 5 ou mais, 10 ou mais, 15 ou mais ou 20 ou mais aminoácidos dentro da sequência linear de aminoácidos do peptídeo. Por exemplo, um peptídeo terapêutico pode ser um peptídeo ou uma variante do mesmo de qualquer uma das sequências de CDR de qualquer um dos anti-CA19-9, como fornecido no presente documento.

[0181] Em certas modalidades, os peptídeos para uso nos presentes métodos incluem peptídeos que têm 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% de identidade de sequência com qualquer peptídeo terapêutico fornecido no presente documento. Para determinar a porcentagem de identidade de duas sequências de aminoácidos, as sequências são alinhadas com propósitos de comparação ideais. Os resíduos de aminoácido nas posições de aminoácidos correspondentes são, então, comparados. Quando uma posição na primeira sequência é ocupada pelo mesmo resíduo de aminoácido que a posição correspondente na segunda sequência, então, as moléculas são idênticas nessa posição. A porcentagem da identidade entre as duas sequências é uma função do número de posições idênticas compartilhadas pelas sequências (ou seja, % de identidade = número de posições sobrepostas idênticas x 100/número total de posições). Em uma modalidade, as duas sequências têm o mesmo comprimento. Em uma modalidade alternativa, as sequências são de comprimentos diferentes e, consequentemente, a porcentagem de identidade se refere a uma comparação da sequência mais curta com uma porção da sequência mais longa, em que a dita porção tem o mesmo comprimento que a dita sequência mais curta.

[0182] Os peptídeos com modificações adicionais podem também ser usados nos métodos fornecidos no presente documento para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite. Por exemplo, os peptídeos dos motivos estruturais mencionados acima podem ser sintetizados com um ou mais (D)-aminoácidos. A escolha de incluir um (L) - ou (D)- aminoácido em um peptídeo útil nos métodos fornecidos no presente documento depende, em parte, das características desejadas do peptídeo. Por exemplo, a incorporação de um ou mais (D)-aminoácidos pode conferir estabilidade crescente ao peptídeo *in vitro* ou *in vivo.* A incorporação de um ou mais (D)-aminoácidos pode também aumentar ou diminuir a atividade de ligação do peptídeo como determinado, por exemplo, usando os bioensaios descritos no presente documento ou outros métodos bem conhecidos na técnica.

[0183] Substituição de toda ou parte de uma sequência de (L)-aminoácidos pela respectiva sequência de (D)-aminoácidos entatioméricos torna uma estrutura opticamente isomérica na respectiva parte da cadeia peptídica. A inversão da sequência de toda ou parte de uma sequência de (L) -aminoácidos torna retroanálogos do peptídeo. A combinação da substituição enantiomérica (L para D, ou D para L) e inversão da sequência torna análogos retroinversos do peptídeo. É conhecido por aqueles versados na técnica que os peptídeos enantioméricos, seus retroanálogos e seus retroinverso-análogos mantêm uma relação topológica significativa com o peptídeo original e, especialmente, um alto grau de semelhança é frequentemente obtido para o progenitor e seus análogos retroinversos. Essa relação e semelhança podem ser refletidas nas propriedades bioquímicas dos peptídeos, especialmente em altos graus de ligação dos respectivos peptídeos e análogos a uma proteína receptora. A síntese das propriedades de análogos retroinversos de peptídeos foi discutida, por exemplo, em Methods of Organic Chemistry (Houben-Weyl), Synthesis of Peptides

and Peptidomimetics - Workbench Edition Volume E22c (Editor-chefe Goodman M.) 2004 (George Thieme Verlag Stuttgart, Nova Iorque), e nas referências citadas no mesmo, todas estão incorporadas no presente documento a título de referência em sua totalidade.

[0184] Os peptídeos terapêuticos fornecidos no presente documento incluem também peptídeos com modificações de aminoácidos. "Modificação" de aminoácido se refere à alteração de um aminoácido de ocorrência natural para produzir um aminoácido de ocorrência não natural. Derivados dos peptídeos que podem ser usados com os métodos fornecidos no presente documento que têm aminoácidos de ocorrência não natural podem ser criados por síntese química ou por incorporação sítio-específica de aminoácidos não naturais em peptídeos durante a biossíntese, como descrito em Christopher J. Noren, Spencer J . Anthony Cahill, Michael C. Griffith, Peter G. Schultz, 1989 Science, 244:182-188, incorporado no presente documento a título de referência em sua totalidade.

[0185] Peptidomiméticos (miméticos de peptídeo) que são estruturalmente similares a peptídeos terapeuticamente úteis podem ser usados para produzir um efeito terapêutico ou profilático equivalente. Em geral, os peptidomiméticos são estruturalmente similares a um polipeptídeo de paradigma (ou seja, um polipeptídeo que tem uma propriedade de bioquímica ou atividade farmacológica), porém têmuma ou mais ligações peptídicas, opcionalmente, substituídas por uma ligação selecionada do grupo que consiste em: --CH_2-NH--' --CH_2S--' --CH_2-CH_2--' --CH=CH- (cis e trans)' --$COCH_2$--' --CH (OH) CH_2--, e-CH_2SO--, por métodos conhecidos na técnica e adicionalmente descritos nas seguintes referências: Spatola, AF. em "Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides, and Proteins," B. Weinstein, eds., Marcel Dekker, Nova Iorque, p 267 (1983); Spatola, AF., Vega Data (Março 1983), Vol. 1. Edição 3, "Peptide Backbone Modifications" (general review); Morely,

J.S., Trends Pharma Sci (1980) pp. 463-468 (análise geral); Hudson, D. *et al*., (1979) Int J Pept Prot Re 14: 177-185 (--CH_2-NH--, --CH_2-CH_2--); Spatola, AF. *et al*., (1986) Life Sci 38:1243-1249 (--CH_2-S--); Hann, M. M., (1982) J Chem Soc Perkin Trans I 307-314 (--CH=CH--, cis e trans); Almquist, R. G. *et al*., (1980) J Med Chem 23: 1392 (--$COCH_2$--); Jennings-White, C *et al*., (1982) Tetrahedron Lett 23:2533 (--$COCH_2$--); Szelke, M*et al*., EuropeanAppln. EP 45665 (1982) CA: 97: 39405 (1982) (--CH(OH)CH_2--); Holladay, MW *et al*., (1983) Tetrahedron Lett 24:4401-4404 (- C (OH) CH_2--); e Hruby, VJ., (1982) Life Sei 31:189-199 (--CH_2-S--); cada um dos quais está incorporado no presente documento a título de referência.

[0186] Em outra modalidade de peptidomiméticos, a ligação não peptídica é --CH_2NH--. Tais miméticos de peptídeos podem ter vantagens significativas sobre as modalidades de peptídeos, incluindo, por exemplo: produção mais econômica, maior estabilidade química, propriedades farmacológicas aprimoradas (meia-vida, absorção, potência, eficácia, etc.), especificidade alterada (por exemplo, um amplo espectro de atividades biológicas), antigenicidade reduzida e outros.

[0187] Uma variedade de designs para miméticos de peptídeos é possível. Por exemplo, peptídeos cíclicos, em que a conformação necessária é estabilizada por não peptídeos, são especificamente contemplados, Patente US nº 5.192.746 de Lobl, *et al*., Patente US nº 5.576.423 de Aversa, *et al*., Patente US nº 5.051.448 de Shashoua, e Patente US nº 5.559.103 de Gaeta, *et al*., todas estão incorporadas no presente documento a título de referência, descrevem múltiplos métodos para a criação de tais compostos. A síntese de compostos não peptídicos que imitam as sequências peptídicas também é conhecida na técnica. Eldred *et al*., J. Med. Chem. 37:3882 (1994), incorporado no presente documento a título de referência em sua totalidade) descrevem antagonistas não peptídicos que imitam a sequência peptídica.

De modo semelhante, Ku *et al*., J. Med. Chem. 38:9 (1995) (incorporado no presente documento a título de referência em sua totalidade) elucida ainda mais a síntese de uma série de tais compostos.

[0188] Adicionalmente, os peptídeos terapêuticos podem ser peptídeos com mutações nas sequências de peptídeos. As mutações fornecidas no presente documento podem ser substituições incluindo substituições conservativas ou não conservativas de resíduos de aminoácidos internos ou terminais, deleções incluindo deleções internas e deleções de resíduos terminais, adições incluindo adições internas e adições às duas terminações dos peptídeos, todas as quais podem ser feitas de acordo métodos bem conhecidos por uma pessoa versada na técnica, por exemplo, como descrito em Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Quarta Edição); ISBN 978-1-936113-42-2.

[0189] Substituições conservativas ou não conservativas de aminoácidos podem ser feitas em um ou mais resíduos de aminoácidos nos peptídeos terapêuticos. Substituições conservativas e não conservativas podem também ser feitas. As substituições conservadoras são aquelas que ocorrem dentro de uma família de aminoácidos que estão relacionados em suas cadeias laterais. As substituições não conservativas são substituições de aminoácidos de uma família por um aminoácido de uma família diferente. Os aminoácidos geneticamente codificados podem ser divididos em quatro famílias: (1) ácido = Asp (D), Glu (G); (2) básico = Lys (K), Arg (R), His (H); (3) não polar (hidrofóbico) = Cys (C), Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Met (M), Trp (W), Gly (G), Tyr (Y); e polar não carregado = Asn (N), Gln (Q), Ser (S), Thr (T). Não polar pode ser subdividido em: fortemente hidrofóbico = Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Met (M), Phe (F); e moderadamente hidrofóbico = Gly (G), Pro (P), Cys (C), Tyr (Y), Trp (W). De maneira alternativa, o repertório de aminoácidos pode ser agrupado como (1) ácido = Asp (D), Glu (G); (2) básico = Lys (K), Arg (R), His (H), (3) ali-

fático = Gly (G), Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Ser (S), Thr (T), com Ser (S) e Thr (T) opcionalmente podem ser agrupados separadamente como hidroxila alifática; (4) aromático = Phe (F), Tyr (Y), Trp (W); (5) amida = Asn (N), Glu (Q); e (6) contendo enxofre = Cys (C) e Met (M). (Consultar, por exemplo, Biochemistry, 4ª ed., Ed. Por L. Stryer, WH Freeman and Co., 1995, que está incorporado no presente documento a título de referência em sua totalidade).

[0190] Em certas modalidades, os peptídeos para uso com os presentes métodos podem ser peptídeos isolados ou purificados. Um peptídeo isolado ou purificado se refere a um peptídeo que é substancialmente isento de pelo menos um componente, pois o peptídeo referenciado é encontrado na célula ou microbiano que produziu o peptídeo, ou é substancialmente isento de pelo menos um componente como o peptídeo referenciado é encontrado na mistura quando foi primeiramente sintetizado. Como tal, o peptídeo pode ser substancialmente isento de materiais celulares (como lipídeos, DNA e/ou carboidratos) ou outras proteínas contaminantes da fonte celular ou tecidual a partir da qual a proteína ou peptídeo é derivado ou substancialmente isento de precursores químicos ou outras substâncias químicas quando sintetizado quimicamente. A linguagem "substancialmente isento de" inclui preparações de um peptídeo em que o peptídeo é separado de um ou mais componentes da mistura da qual o peptídeo é isolado. Dessa forma, um peptídeo que é substancialmente isento de material celular inclui preparações de peptídeos que têm menos de cerca de 30%, 20%, 10%, ou 5% (em peso seco) da proteína heteróloga (também chamada no presente documento como uma "proteína contaminante"). Quando o peptídeo é produzido recombinantemente, o mesmo pode ser substancialmente isento de meio de cultura, por exemplo, o meio de cultura representa menos de cerca de 20%, 10% ou 5% do volume da preparação de proteína. Quando a proteína é produzida por síntese

química, a mesma pode ser substancialmente isenta de precursores químicos ou outros produtos químicos, por exemplo, a mesma é separada dos precursores químicos ou outras produtos químicos que estão envolvidos na síntese da proteína. Consequentemente, tais preparações do peptídeo têm menos de cerca de 30%, 20%, , 10%, 5% (em peso seco) de precursores químicos ou compostos diferentes do peptídeo de interesse. Por exemplo, os peptídeos fornecidos no presente documento e/ou os peptídeos úteis nos métodos como fornecidos no presente documento podem ser peptídeos isolados ou purificados ou peptídeos que não foram isolados ou purificados.

6.2.2 POPULAÇÕES DE PACIENTES, BIOMARCADORES E RESULTADO TERAPÊUTICO

[0191] Como discutido acima, a pancreatite pode ser classificada como pancreatite crônica e pancreatite aguda. Em algumas modalidades, a diferença entre pancreatite aguda e crônica está na duração e persistência da inflamação pancreática e dano pancreático. Pancreatite aguda se refere a um episódio isolado (às vezes súbito ou curto) de pancreatite que é frequentemente acompanhado por dor abdominal aguda. Pancreatite crônica se refere a uma condição inflamatória e fibrótica contínua e irreversível no pâncreas que leva ao comprometimento prolongado de função exócrina e/ou endócrina do pâncreas. Como tal, a pancreatite crônica pode abranger pancreatite em que a inflamação persiste no pâncreas, ou mesmo que a inflamação seja resolvida, o dano resultante ao pâncreas, como aquele caracterizado por fibrose, calcificação e lesões ductais persiste para afetar a função pancreática. Como é evidente a partir das discussões acima e abaixo, as causas e os mecanismos para o desenvolvimento de pancreatite aguda e crônica se sobrepõem. Consequentemente, uma pessoa versada na técnica entenderá que a pancreatite aguda pode levar à pancreatite crônica, os pacientes com pancreatite crônica podem desen-

volver um episódio de pancreatite aguda. Além disso, os pacientes podem desenvolver pancreatite crônica, tendo resolvido um ou mais episódios de pancreatite aguda.

[0192] A pancreatite aguda pode ser ainda classificada em diferentes estágios de acordo com vários marcadores descritos no presente documento. Por exemplo, a pancreatite aguda pode ser ainda classificada como pancreatite aguda leve e pancreatite aguda grave de acordo com a Classificação de Atlanta (Edward L. Bradley, Arch Surg. 1993;128(5):586-590), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência. Pancreatite aguda leve se refere à pancreatite aguda que tem disfunção de órgão mínima, não tem necrose do tecido pancreático, não tem falência de órgãos e/ou está associada a um curso autolimitado. Pancreatite aguda grave se refere à pancreatite acompanhada por falência de órgãos, complicações pancreáticas locais, como pseudocisto e/ou necrose do tecido (pancreatite necrosante). Vários sistemas de pontuação foram adotados para classificar ainda mais a pancreatite aguda, incluindo critérios de Ranson, critérios prognósticos de Glasgow-Imrie, índice de gravidade CT, sistema de classificação APACHE II e sistema de pontuação aprimorado por CT de Balthazar, como descrito no Capítulo 37 em Acute Pancreatitis, GI/Liver Secrets Plus, 4ª edição, editado por McNally PR, 2010 e Carroll JK *et al*., Am Fam Physician 2007;75:1513-20, que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência. Em algumas modalidades, as pontuações dos vários sistemas de pontuação de pancreatite aguda podem ser usadas para classificar a pancreatite aguda. Por exemplo, o cumprimento de menos de 3 critérios dos 11 critérios do sistema Ranson pode indicar pancreatite aguda leve, enquanto que o cumprimento de 3 ou mais dos 11 critérios do sistema Ranson pode indicar pancreatite aguda grave. Em uma modalidade, o cumprimento de 3 ou mais dos 8 critérios no sistema de pon-

tuação de Glasgow-Imrie pode indicar pancreatite aguda grave, enquanto que o cumprimento de menos de 3 critérios no mesmo sistema pode indicar pancreatite aguda leve. Em uma modalidade, a pontuação de 8 ou mais pontos nos 14 critérios do sistema de pontuação APACHE II pode indicar pancreatite aguda grave, enquanto que a pontuação de menos de 8 pontos no mesmo sistema pode indicar pancreatite aguda leve. Em uma modalidade adicional, os critérios e o sistema de pontuação são bem conhecidos por uma pessoa versada na técnica e foram descritos em detalhes no Capítulo 37 em Acute Pancreatitis, GI/Liver Secrets Plus, 4ª edição, editado por McNally PR**,** 2010, Carroll JK *et al*., Am Fam Physician 2007;75:1513-20, e Matull WR *et al*., J Clin Pathol 2006;59:340-344, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência. Os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para pacientes em quaisquer estágios de pancreatite aguda, como classificado por qualquer sistema de classificação descrito no presente documento.

[0193] Alternativamente, a pancreatite aguda pode ser ainda classificada como pancreatite aguda leve, pancreatite aguda moderada e pancreatite aguda grave de acordo com a Classificação Revisada de Atlanta (Banks PA *et al*., Gut 2013;62:102-111), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência. Na Classificação Revisada de Atlanta, pancreatite aguda leve se refere à pancreatite aguda em que os pacientes não apresentam falência de órgãos e nem complicações locais ou sistêmicas; pancreatite aguda moderada se refere à pancreatite aguda em que os pacientes apresentam falência de órgãos transitória (falência de órgãos que se resolve dentro de 48 horas) e/ou complicações locais ou sistêmicas sem falência persistente de órgãos; e pancreatite aguda grave se refere à pancreatite aguda em que os pacientes apresentam falência de órgãos

persistente (falência de um único ou de múltiplos órgãos por mais de 48 horas). Os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para pacientes com pancreatite aguda leve, pancreatite aguda moderada e pancreatite aguda grave de acordo com a Classificação Revisada de Atlanta, como descrito e citado no presente documento.

[0194] A classificação de pancreatite aguda leve, pancreatite aguda moderada e pancreatite aguda grave pode também ser determinada em um sistema de pontuação. Em uma modalidade de tal sistema de pontuação para classificação de pancreatite aguda, os pacientes são avaliados no índice de gravidade por tomografia computadorizada (CTSI). No CTSI, os pacientes são primeiramente avaliados no escore de Balthazar, em que o pâncreas normal recebe uma pontuação de 0, o aumento do pâncreas recebe uma pontuação de 1, as alterações inflamatórias no pâncreas e a gordura peripancreática recebe uma pontuação de 2, coleção única de fluido peripancreático imprecisa recebe uma pontuação de 3, e duas ou mais coleções de fluidos peripancreáticos mal definidas recebem uma pontuação de 4. Os pacientes são ainda avaliados na pontuação de necrose pancreática, em que nenhuma necrose pancreática recebe uma pontuação de 0, não mais que 30% da necrose pancreática recebe uma pontuação de 2, mais de 30%, mas não mais de 50% da necrose pancreática recebe uma pontuação de 4, e mais de 50% da necrose pancreática recebe uma pontuação de 6. Em algumas modalidades, a soma da pontuação de Balthazar e pontuação de necrose pancreática pode, então, ser usada para classificar a pancreatite aguda, em que uma pontuação total de 0 a 3 é classificada como pancreatite aguda leve, uma pontuação total de 4 a 6 é classificada como pancreatite aguda moderada e uma pontuação total de 7 a 10 é classificada como pancreatite aguda grave. Os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para pacientes com pancreatite aguda leve, pancreatite aguda moderada e

pancreatite aguda grave como classificado de acordo com o CTSI, como descrito e citado no presente documento.

[0195] Adicionalmente, a pancreatite aguda pode ser subdividida em dois tipos: pancreatite edematosa intersticial e pancreatite necrosante, de acordo com Banks PA *et al*., Gut 2013;62:102-111. Pancreatite edematosa intersticial se refere à pancreatite aguda com aumento difuso (ou ocasionalmente localizado) do pâncreas devido a edema inflamatório. Pancreatite necrosante se refere à pancreatite aguda com necrose do parênquima pancreático, o tecido peripancreático ou ambos. Os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para pacientes com pancreatite edematosa intersticial ou pancreatite necrosante, como descrito no presente documento.

[0196] De modo similar, a pancreatite crônica pode ser ainda dividida em pancreatite crônica leve, pancreatite crônica moderada e pancreatite crônica grave (também conhecida como Classe de Cambridge ou Estágio de Cambridge I, II e III respectivamente), de acordo com o sistema de classificação de Cambridge, como descrito em Sai JK, *et al*., World J Gastroenterol. Fevereiro de 2008 28;14(8):1218-21; Sarner M, et ai, Gut. 1984 Jul;25(7):756-9; Axon AT, *et al*., Gut. 1984 Oct;25(10): 1107-12, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência. Pancreatite crônica leve se refere à pancreatite que tem 3 ou mais ramificações anormais em achados de colangiopancreatografia retrógrada endoscópica (CPRE) e 2 ou mais de um dos seguintes grupos em achados de ultrassom ou tomografia computadorizada (TC): cavidades <10 mm, irregularidade do ducto, necrose aguda focal, heterogeneidade panrenquimal, aumento da ecogenicidade da parede do ducto e irregularidade do contorno da cabeça ou corpo. Pancreatite crônica moderada se refere à pancreatite que tem mais de 3 ramificações laterais anormais e duto principal anormal em achados de CPRE e 2 ou mais de um dos

seguintes grupos em achados de ultrassom ou TC: cavidades < 10 mm, irregularidade do duto, necrose aguda focal, heterogeneidade panrenquimal, aumento da ecogenicidade da parede do ducto e irregularidade do contorno da cabeça ou corpo. Pancreatite crônica grave se refere à pancreatite que tem pelo menos aquelas anormalidades de pancreatite crônica leve e moderada e, adicionalmente, 1 ou mais de uma cavidade grande selecionada >10 mm, defeitos de enchimento intraductal, obstrução do duto (estenose) e dilatação ou irregularidade do ducto nos achados de ERCP, bem como 1 ou mais de selecionados de cavidade grande >10 mm, defeitos de enchimento intraductal, obstrução do ducto (estenose), dilatação ou irregularidade do ducto, cálculos e/ou calcificação pancreática e invasão de órgãos contíguos. Os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para pacientes com pancreatite crônica leve, pancreatite crônica moderada e pancreatite crônica grave, como descrito no presente documento.

[0197] Como descrito acima e abaixo, os métodos fornecidos no presente documento podem melhorar qualquer um ou mais marcadores de pancreatite, como descrito no presente documento em pacientes com pancreatite. Os termos "melhorar", "melhorando" ou "melhora", quando se referem a um marcador de pancreatite, incluem qualquer alteração do marcador de pancreatite, desde que a mudança seja na direção que o marcador estaria em um indivíduo com pancreatite para aquele em um indivíduo sem pancreatite ou para uma faixa de referência normal. Portanto, para marcadores de pancreatite que se correlacionam com a gravidade da pancreatite, tal "melhora" dos marcadores de pancreatite significaria uma redução dos marcadores de pancreatite. Exemplos de tais marcadores correlativos incluem invasão de células imunes, deposição de colágeno, tecido fibrótico, necrose de gordura, edema intersticial, destruição acinar e dos vasos sanguíneos, hemorragia intersticial, dilatação ductal, homogeneização de células

acinares, níveis de expressão de sLe^a, níveis de expressão de CA19-9, nível de lipase sérica, nível de amilase sérica, nível de proteína C reativa sérica, perda de peso, má absorção de alimentos, atrofia pancreática, aumento do pâncreas, inflamação pancreática, refluxo biliar e penetrância de pancreatite. Para marcadores de pancreatite que se correlacionam inversamente com a gravidade de pancreatite, tal "melhora" dos marcadores de pancreatite significaria um aumento marcadores de pancreatite. Exemplos dos marcadores de pancreatite inversamente correlativos incluem a porcentagem da função pancreática, o número de acino pancreático e o número de células acinares. Descrições adicionais referentes os marcadores e o resultado do tratamento são fornecidas no presente documento.

[0198] Em algumas modalidades específicas, a invenção fornece ainda que os métodos fornecidos no presente documento podem melhorar o resultado terapêutico para os pacientes, resolvendo a pancreatite para os pacientes ou revertendo os estágios de pancreatite, por exemplo, de pancreatite aguda/crônica grave para pancreatite aguda/crônica moderada, de pancreatite aguda/crônica grave para pancreatite aguda/crônica leve, ou de pancreatite aguda/crônica moderada para pancreatite aguda/crônica leve, como classificado por qualquer sistema de classificação descrito no presente documento. Tal melhora como resultado dos métodos fornecidos no presente documento pode também ser um retardo da progressão dos estágios de pancreatite do paciente, como progressão menos rápida de um estágio para outro quando comparado com pacientes similares não tratados ou tratados com um placebo, ou um estabilização do estágio de pancreatite do paciente, como a pancreatite do paciente permanecendo em pancreatite leve, moderada ou grave sem agravamento da doença no próximo estágio.

[0199] Alternativamente, a pancreatite crônica pode ser classifica-

da de acordo com a classificação Marselha-Roma modificada por Sarlesas. Essa classificação divide a pancreatite crônica em quatro grupos com base na epidemiologia, biologia molecular e morfologia. Em tal sistema de classificação, a pancreatite crônica é classificada como pancreatite crônica calcificante, que é caracterizada por fibrose irregular, tampões de proteína intraductal, cálculos intraductais e/ou lesão ductal; pancreatite crônica obstrutiva, que é caracterizada por alterações glandulares, fibrose uniforme, dilatação ductal, atrofia acinar e/ou melhora com remoção de obstrução do ducto pancreático; pancreatite crônica inflamatória, que é caracterizada por infiltração de células mononucleares, destruição parenquimal exócrina, fibrose difusa e/ou atrofia; e fibrose pancreática assintomática, que se caracteriza por fibrose perilobular difusa silenciosa. Os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para pacientes de qualquer estágio de pancreatite crônica classificados de acordo com o esquema de classificação Marselha-Roma, como discutido no Capítulo 38 em Chronic Pancreatitis, GI/Liver Secrets Plus, 4ª edição, editado por McNally PR**,** 2010.

[0200] Vários parâmetros fisiológicos, biológicos, histológicos, sorológicos, e/ou de sinalização podem ser usados como biomarcadores para monitorar o curso do tratamento e para ajustar a dosagem dos agentes terapêuticos descritos no presente documento (como os agentes terapêuticos descritos na Seção 6.2.1). Adicional ou alternativamente, biomarcadores podem ser usados para selecionar pacientes para tratamento com os métodos descritos no presente documento. Nessa seção, são descritos vários desses biomarcadores que podem ser usados com os métodos fornecidos no presente documento.

[0201] Como descrito acima, um sintoma subjacente de pancreatite é a inflamação pancreática e danos ao tecido pancreático. Danos ao tecido pancreático exemplificativos em pacientes com pancreatite in-

cluem danos às ilhotas de Langerhans, células acinares, vasos sanguíneos pancreáticos, ductos pancreáticos, células do ducto pancreático, componentes exócrinos no sistema de órgãos pancreáticos, componentes endócrinos no sistema de órgãos pancreáticos e/ou outros tecidos pancreáticos. O dano pancreático pode ter manifestação estrutural microscópica ou mesmo macroscópica.

[0202] Como descrito acima, a pancreatite inclui, por exemplo, pancreatite aguda e pancreatite crônica, cada uma pode ser causada por ou associada a vários fatores e/ou fisiopatologia. Por exemplo, a pancreatite aguda pode ser causada por obstruções em um tecido ou órgão, incluindo, porém sem limitação, cálculos biliares, microlitíase (lama biliar), tumores ampulares ou pancreáticos, estenose papilar, vermes ou corpos estranhos obstruindo a ampola, disfunção do esfíncter de Oddi, coledococele, divertículos duodenais e, possivelmente, pâncreas divisum. A pancreatite aguda pode também ser induzida por toxinas como álcool (álcool etílico, álcool metílico), veneno de escorpião, inseticidas organofosforados e outras drogas. Além disso, a pancreatite aguda pode ser causada por trauma, como trauma contuso acidental no abdômen e trauma iatrogênico (por exemplo, trauma pós-operatório). Outras causas de pancreatite aguda podem incluir anormalidades metabólicas, como hipertrigliceridemia e hipercalcemia; doenças hereditárias, como fibrose cística e pancreatite hereditária; doenças infecciosas, como infecções parasíticas, virais e bacterianas; doenças vasculares como isquemia (por exemplo, após cirurgia cardíaca), embolias ateroscleróticas, vasculite (por exemplo lúpus eritematoso sistêmico e poliarterite nodosa); outras causas diversas ou idiopáticas, como úlcera péptica, doença de Crohn, síndrome de Reye e hipotermia. Das várias causas, cálculos biliares e álcool são as causas mais comuns de pancreatite aguda. Os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite, incluindo

pancreatite aguda causada por qualquer ou qualquer combinação das causas descritas no presente documento.

[0203] De modo similar, a pancreatite crônica pode ser causada ou associada a vários fatores e/ou fisiopatologia, por exemplo, uso de álcool ou abuso de álcool, doenças autoimunes, anormalidades metabólicas (como hiperparatireoidismo (hipercalcemia), diabetes mellitus ou hipertrigliceridemia), fatores nutricionais ou tropicais, obstruções de tecidos ou órgãos devido a estenoses (como trauma ou episódios anteriores de pancreatite) ou malignidades, doenças genéticas, incluindo pancreatite hereditária e fibrose cística e outras causas idiopáticas. Os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite, incluindo pancreatite crônica causada por qualquer ou qualquer combinação das causas descritas no presente documento.

[0204] Como a pancreatite pode ter várias causas, os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite, incluindo pancreatite aguda e crônica, que é um resultado de uma causa seletiva ou um grupo seletivo de causas. De modo similar, os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite, incluindo pancreatite aguda e crônica, que é um resultado de causas excluindo qualquer fator ou causa específica, ou excluindo um grupo de fatores ou causas seletivas. Por exemplo, os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite, incluindo pancreatite aguda e crônica, que não é causada ou associada a qualquer câncer ou distúrbio neoplásico. Em algumas modalidades, os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em pacientes com pancreatite, em que os pacientes não têm ou não progrediram para um câncer, por exem-

plo, câncer pancreático ou um distúrbio neoplásico, por exemplo, um distúrbio neoplásico pancreático.

[0205] Pancreatite pode ser medida e observada determinando, medindo ou observando vários marcadores de inflamação pancreática e danos pancreáticos. Esses marcadores podem incluir marcadores histológicos que indicam alterações histológicas no pâncreas, marcador sorológico que indica anormalidades no sangue, marcadores de sinalização que indicam mudanças na via de sinalização que é subjacente ao mecanismo patológico de pancreatite ou mudanças nas vias de sinalização que são fenotípicas da patologia de pancreatite ou marcadores fisiológicos que indicam sinais ou alterações fisiológicas em pacientes com pancreatite (por exemplo, sinais fisiológicos prontamente observáveis sem procedimentos invasivos ou coleta de sangue).

6.2.2.1. MARCADORES SOROLÓGICOS. MARCADORES URINÁRIOS E MARCADORES FECAIS PARA PANCREATITE

[0206] Uma ou mais substâncias específicas no sangue ou urina de um paciente com pancreatite, a razão do nível de uma substância em relação a outra no sangue ou urina, o nível agregado de um tipo de substância (por exemplo, o nível agregado de uma enzima específica) no sangue ou na urina, ou a razão que envolve tal nível agregado pode ser usado como biomarcadores para pancreatite. A substância que serve como o marcador pode ser células, tecidos, proteínas (como enzimas), DNA, RNA, microRNA, lipídeo, metabólito ou qualquer outra matéria que possa refletir inflamação ou danos da pancreatite. Exemplos de tais marcadores de pancreatite sorológica incluem nível de lipase sérica, nível de CA19-9 sérico, nível de amilase sérica (incluindo níveis de amilase, isoamilase e amilase total), nível de proteína C reativa sérica, transferrina deficiente em carboidratos, produtos de ativação de tripsinogênio (incluindo, por exemplo, peptídeo de ativação de tripsinogênio, tripsina-1, tripsina-2, complexos de tripsina-1 ou tripsina-

2 com α-antitripsina (também conhecida como tripsina-1-AAT e tripsina-2-AAT), elastase-1, fosfolipase A2, procalcitonina (precursor da calcitonina), lipídeos, citocinas inflamatórias e quimiocinas, microRNAs, peptídeos (RA1609 e RT2864, como descrito em Walgren JL *et al*., Toxicol Sci. 2007 Mar;96(1):184-93), incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência), álcool e metabólitos de álcool (ésteres etílicos de ácidos graxos) e toxinas ou metabólitos de toxinas. Um nível elevado de qualquer um dos marcadores sorológicos ou qualquer combinação dos marcadores sorológicos descritos no presente documento pode ser usado em métodos fornecidos no presente documento.

[0207] Anormalidades urinárias exemplificativas como marcadores de pancreatite podem incluir amilase, isoamilase, peptídeo de ativação de tripsina, peptídeo de ativação de carboxipeptidase e Fosfolipase A2. Um nível elevado de qualquer um dos marcadores urinários pode ser usado individualmente nos métodos fornecidos no presente documento ou em qualquer permutação ou combinação com quaisquer marcadores, como descrito no presente documento.

[0208] Adicionalmente, os marcadores de pancreatite incluem também marcadores fecais, incluindo elastase fecal 1, quimiotripsina fecal e teor de gordura fecal. Um nível elevado de qualquer um dos marcadores fecais pode ser usado individualmente nos métodos fornecidos no presente documento ou em qualquer permutação ou combinação com quaisquer marcadores, como descrito no presente documento.

[0209] Outros marcadores de outras fontes de fluidos corporais podem também ser usados como marcadores de pancreatite. Em algumas modalidades, marcadores de suco pancreático, incluindo CA19-9, catepsinas B, catepsinas L, catepsinas S, hidrolases lisossômicas e peptídeo de ativação de carboxipeptidase B (CACAP), podem

ser usados como marcadores para pancreatite. Um nível elevado de qualquer um dos marcadores de suco pancreático pode ser usado individualmente nos métodos fornecidos no presente documento ou em qualquer permutação ou combinação com quaisquer marcadores, como descrito no presente documento.

[0210] Como discutido acima, um dos marcadores sorológicos é o nível de amilase sérica. A amilase sérica normal de um ser humano saudável pode variar de acordo com os métodos usados para medir a amilase e o laboratório que conduz o ensaio. Uma ampla variedade de kits comerciais está disponível para medir os níveis de amilase sérica, por exemplo, Amylase Assay Kit (Colorimetric) (ab102523) da Abeam e Amylase Activity Assay Kit (MAK009-1KT) da Sigma-Aldrich, Inc .. Uma faixa normal exemplificativa de amilase sérica em um indivíduo saudável é 23 a 85 U/l, embora a amilase sérica normal exemplificativa possa ser 0 a 140 U/l em algum laboratório. Vários níveis de amilase sérica podem ser usados como indicadores de pancreatite. Em algumas modalidades, a amilase sérica ao nível de $\geqslant$ 140 U/l, $\geqslant$ 150 U/l, $\geqslant$160 U/l, $\geqslant$170 U/l, $\geqslant$180 U/l, $\geqslant$190 U/l, $\geqslant$200 U/l, $\geqslant$210 U/l, $\geqslant$220 U/l, $\geqslant$230 U/l, $\geqslant$240 U/l, $\geqslant$250 U/l, $\geqslant$260 U/l, $\geqslant$270 U/l, $\geqslant$280 U/l, $\geqslant$ 290 U/l, $\geqslant$300 U/l, $\geqslant$350 U/l, $\geqslant$400 U/l, $\geqslant$450 U/l, $\geqslant$500 U/l, $\geqslant$600 U/l, $\geqslant$700 U/l, $\geqslant$800 U/l, $\geqslant$900 U/l, 1.000 U/l, $\geqslant$1.500 U/l, $\geqslant$2.000 U/l, $\geqslant$3.000 U/l, ou mais pode ser usado como um marcador nos métodos fornecidos no presente documento. Em uma modalidade específica, amilase sérica no nível de $\geqslant$ 200 U/l é usada como um marcador de pancreatite. Em outra modalidade, a amilase sérica no nível de $\geqslant$ 140 U/l é usada como um marcador de pancreatite.

[0211] Como o nível de amilase sérica pode variar de acordo com os métodos de ensaio e o laboratório que opera o ensaio, a razão entre a amilase sérica de um paciente com pancreatite e a de um indiví-

duo controle saudável pode ser usada como um marcador alternativo para pancreatite. Por exemplo, a razão entre a amilase sérica de um paciente com pancreatite e o limite superior daquele em um indivíduo controle saudável pode ser usada como um marcador nos métodos fornecidos no presente documento. Em algumas modalidades, os marcadores de pancreatite incluem razão de amilase exemplificativa (que em um paciente com pancreatite acima do limite superior de um indivíduo saudável) de ⩾1 ,⩾1,5, ⩾2, ⩾2,5, ⩾ 3, ⩾3,5, ⩾4, ⩾4,5, ⩾5, ⩾ 6, ⩾7, ⩾8, ⩾9, ⩾10, ou mais. Em uma modalidade específica, uma razão de ⩾ 3 é usada como um marcador de pancreatite. Em outra modalidade, uma razão de ⩾ 5 é usada como um marcador de pancreatite.

[0212] Como discutido acima, outro marcador sorológico é o nível de lipase sérica. O nível de lipase sérica normal de um ser humano saudável pode variar de acordo com os métodos usados para medir a lipase e o laboratório que conduz o ensaio. Uma ampla gama de kits comerciais está disponível para medir os níveis de lipase sérica, por exemplo, Amylase Assay Kit (Colorimetric) (ab102524) da Abeam e Amylase Activity Assay Kit (DZ132A-K) da Diazyme Laboratories, Inc., e Lipase Activity Assay Kit (MAK046-1KT) da Sigma- Aldrich, Inc.. Uma faixa exemplificativa de lipase sérica normal em um indivíduo saudável é 12 a 70 U/l, embora a lipase sérica normal exemplificativa possa ser 0 a 160 U/l em algum laboratório. Vários níveis de lipase sérica podem ser usados como indicadores de pancreatite. Em algumas modalidades, a lipase sérica ao nível de ⩾ 140 U/l, ⩾ 150 U/l,⩾ 160 U/l, ⩾ 170 U/l, ⩾ 180 U/l, ⩾190 U/l, ⩾200 U/l, ⩾210 U/l, ⩾220 U/l, ⩾230 U/l, ⩾240 U/l, ⩾250 U/l, ⩾260 U/l, ⩾270 U/l, ⩾280 U/l, ⩾290 U/l, ⩾300 U/l, ⩾350 U/l, ⩾400 U/l, ⩾450 U/l, ⩾500 U/l, ⩾600 U/l, ⩾ 700 U/l, ⩾800 U/l, ⩾900 U/l, ⩾1.000 U/l, ⩾1.500 U/l, ⩾2.000 U/l, ⩾

3.000 U/l, ou mais pode ser usado como um marcador nos métodos fornecidos no presente documento. Em uma modalidade específica, a lipase sérica ao nível de $\geqslant$ 200 U/l é usado como um marcador de pancreatite. Em outra modalidade, a lipase sérica ao nível de $\geqslant$ 140 U/l é usado como um marcador de pancreatite.

[0213] Como o nível de lipase sérica pode variar de acordo com os métodos de ensaio e o laboratório que opera o ensaio, a razão entre a lipase sérica de um paciente com pancreatite e a de um indivíduo controle saudável pode ser usada como um marcador alternativo para pancreatite. Por exemplo, a razão entre a lipase sérica de um paciente com pancreatite e o limite superior daquele em um indivíduo controle saudável pode ser usada como um marcador nos métodos fornecidos no presente documento. Em algumas modalidades, os marcadores de pancreatite incluem razão de lipase exemplificativa (que em um paciente com pancreatite acima do limite superior de um indivíduo saudável) de $\geqslant$1 ,$\geqslant$1,5, $\geqslant$2, $\geqslant$2,5, $\geqslant$ 3, $\geqslant$3,5, $\geqslant$4, $\geqslant$4,5, $\geqslant$5, $\geqslant$6, $\geqslant$7, $\geqslant$ 8, $\geqslant$9, $\geqslant$10, ou mais. Em uma modalidade específica, uma razão de $\geqslant$ 3 é usada como um marcador de pancreatite. Em outra modalidade, uma razão de $\geqslant$ 5 é usada como um marcador de pancreatite.

[0214] Um marcador sorológico adicional é o nível de CA19-9 sérico. Uma ampla gama de kits comerciais está disponível para medir os níveis de CA19-9 sérico, por exemplo, Kit ELISA humano de CA19-9 (cat# EHCA199) da Thermo Fisher Scientific, kit de Teste ELISA humano de CA-19-9 (Item # 6909-16) de Diagnostic Automation/Cortez Diagnostics Inc. e kit ELISA de CA-19de Antígeno de Câncer Humano (ab108642) da Abeam. O CA19-9 sérico é também rotineiramente determinado em um Radioimunoensaio de CA19-9 como é conhecido por uma pessoa versada na técnica.

[0215] Uma faixa normal exemplificativa de CA19-9 sérico em um indivíduo saudável é 0 a 37 U/ml. Vários níveis de CA19-9 sérico po-

dem ser usados como indicadores de pancreatite. Em algumas modalidades, CA19-9 sérico ao nível de ⩾37 U/ml, >37 U/ml, ⩾40 U/ml, ⩾ 50 U/ml, ⩾60 U/ml, ⩾70 U/ml, ⩾80 U/ml, ⩾90 U/ml, ⩾100 U/ml, ⩾ 110 U/ml, ⩾120 U/ml, ⩾130 U/ml, ⩾140 U/ml, ⩾150 U/ml, ⩾160 U/ml, ⩾170 U/ml, ⩾180 U/ml, ⩾190 U/ml, ⩾200 U/ml, ⩾210 U/ml, ⩾ 220 U/ml, ⩾230 U/ml, ⩾240 U/ml, ⩾250 U/ml, ⩾260 U/ml, ⩾270 U/ml, ⩾280 U/ml, ⩾290 U/ml, ⩾300 U/ml, ⩾350 U/ml, ⩾400 U/ml, ⩾ 450 U/ml, ⩾500 U/ml, 600 U/ml ,⩾700 U/ml, ⩾800 U/ml, ⩾900 U/ml, ⩾1.000 U/ml, ou mais pode ser usado como um marcador nos métodos fornecidos no presente documento. Em uma modalidade específica, CA19-9 sérico ao nível de mais de 37, mas não mais de 40 U/l é usado como um marcador de pancreatite. Em outra modalidade, CA19-9 sérico ao nível de mais de 40, mas não mais de 100 U/l é usado como um marcador de pancreatite. Em outra modalidade, CA19-9 sérico ao nível de mais de 100 U/ml é usado como um marcador de pancreatite.

[0216] Como é conhecido por uma pessoa versada na técnica, proteína C reativa (CRP; também conhecida como proteína C reativa de alta sensibilidade (hs-CRP) ou C reativa ultrassensível proteína (us-CRP)) é uma proteína encontrada no plasma sanguíneo e produzida pelo fígado em resposta à inflamação. Portanto, a CRP pode ser usada como um marcador para pancreatite, que como discutido acima é uma doença de inflamação e danos pancreáticos. O nível de **CRP** pode se correlacionar com o nível de inflamação no corpo. Consequentemente, quanto mais alto o nível de CRP, mais inflamação há no corpo. A faixa normal de CRP sérica sanguínea em um indivíduo humano saudável é abaixo de 1 mg/l. Um nível de CRP sérica sanguínea entre 1 e 2,9 mg/l pode indicar um nível intermediário de inflamação no indivíduo humano, entre 3 e 10 mg/l pode indicar um alto nível de inflama-

ção no indivíduo humano, e acima de 10 mg/l pode indicar um nível severo de inflamação no indivíduo humano. Em algumas modalidades, os marcadores de pancreatite nos métodos fornecidos no presente documento incluem um nível exemplificativo de CRP sérica sanguínea acima de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ou 20 mg/l. Uma ampla gama de kits comerciais está disponível para medir os níveis de CRP sérica, por exemplo, Kit de proteína C reativa humana / CRP Quantikine ELISA (cat # DCRP00) de R & D Systems Inc., kit ELISA de CRP (humana) (ENZ-KIT102-0001) de Enzo Life Sciences, Inc., e kit ELISA de Proteína C Reativa Humana (RAB0096-1KT) de Sigma-Aldrich, Inc ..

[0217] Uma pessoa versada na técnica entenderia ainda que vários outros marcadores sorológicos ou outros marcadores de fluido corporal podem ser usados para identificar os agentes terapêuticos, caracterizar a pancreatite, identificar pacientes com pancreatite e determinar os resultados terapêuticos de um método de tratamento para pancreatite. Portanto, uma pessoa versada na técnica entenderia que vários outros marcadores de pancreatite conhecidos podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento. Esses marcadores de pancreatite são descritos em publicações como o Capítulo 37 e 38 em Acute Pancreatitis e Chronic Pancreatitis, respectivamente, GI/Liver Secrets Plus, 4ª edição, editado por McNally PR**,** 2010; Matull WR *et al*., J Clin Pathol 2006;59:340-344; Basnayake C. *et al*., Aust Prescr 2015;38:128-30; Carroll JK *et al*., Am Fam Physician 2007;75:1513-20; Kaphalia BS, Capítulo 16 em Biomarkers in Toxicology, ISBN: 978-0-12-404630-6, (2014); Jasdanwala S*et al*., Integr Mol Med, 2015; 2 (3): 189-195; Buchler MW *et al*., BMC Gastroenterology 2009, 9:93; Duggan SN *et al*., World J Gastroenterol 2016; 22 (7): 2304-2313; Etemad B*et al*., Gastroenterologia 2001;120:682-707, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua tota-

lidade a título de referência. Uma pessoa versada na técnica compreenderá ainda que qualquer e qualquer permutação ou combinação dos marcadores descritos acima e abaixo pode ser usada nos métodos fornecidos no presente documento.

[0218] Consequentemente, a invenção prevê que os pacientes adequados para os métodos incluem pacientes com um ou mais marcadores sorológicos elevados, marcadores urinários e marcadores fecais, incluindo os marcadores enumerados, como descrito no parágrafo [00219] a [00230]. Mais especificamente, os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados em pacientes com qualquer um ou mais dos marcadores dos valores enumerados, como descrito nos parágrafos [00219] a [00230].

[0219] A invenção prevê ainda que os métodos fornecidos no presente documento podem melhorar os resultados terapêuticos para os pacientes, revertendo ou melhorando qualquer um ou mais ou qualquer combinação desses marcadores sorológicos de pancreatite, marcadores urinários e marcadores fecais, como descrito nos parágrafos [00219] a [00230], por exemplo, diminuindo a amilase sérica, diminuindo a lipase sérica ou diminuindo a CRP sérica.

6.2.2.2. MARCADORES HISTOLÓGICOS

[0220] Como discutido acima, os marcadores baseados em anormalidades na histologia pancreática (por exemplo, de coloração histológica ou coloração IHC das amostras de tecido pancreático) podem também ser usados nos métodos fornecidos no presente documento. Esses marcadores histológicos incluem anormalidades na expressão de uma ou mais proteínas no pâncreas, presença ou números anormais de certo tipo de células não pancreáticas (por exemplo, células imunes, incluindo leucócitos, macrófagos e neutrófilos) no pâncreas, alterações anormais na abundância ou número de certas células no pâncreas e anormalidades na estrutura de células pancreáticas ou te-

cidos pancreáticos (por exemplo, anormalidades no parênquima pancreático, ductos pancreáticos, ilhotas de Langerhans e células/tecidos acinares). As anormalidades estruturais pancreáticas podem ser localizadas em áreas ou estruturas pancreáticas específicas, como o parênquima pancreático, ductos pancreáticos, ilhotas de Langerhans, as células/tecidos acinares, o componente exócrino do pâncreas, o componente endócrino do pâncreas ou cistos.

[0221] Exemplos de marcadores histológicos no pâncreas como mostrado na coloração histológica ou coloração IHC de pâncreas ou tecidos pancreáticos incluem, fibrose parenquimal, atrofia acinar, distorção ductal, calcificação intraductal, invasão ou infiltração de células imunes (por exemplo invasão/infiltração de macrófagos, neutrófilos e leucócitos), deposição de colágeno, tecido fibrótico, necrose de gordura, edema intersticial, destruição de células acinares, glândula aumentada (edema), esclerose irregular, perda de parênquima pancreático, destruição de vasos sanguíneos pancreáticos, hemorragia intersticial, dilatação ductal, grandes focos confluentes de necrose gordurosa ao redor do pâncreas, hemorragia focal, necrose de células acinares, homogeneização de células acinares, níveis de expressão de sLe^a e níveis de expressão de CA19-9. Esses marcadores histológicos podem ser usados para vários estágios de pancreatite aguda ou crônica. Um nível elevado de qualquer um dos marcadores histológicos pode ser usado individualmente nos métodos fornecidos no presente documento ou em qualquer permutação ou combinação com quaisquer marcadores, como descrito no presente documento.

[0222] Em algumas modalidades, os marcadores histológicos para pancreatite crônica podem incluir esclerose irregular no pâncreas, perda de parênquima exócrino no pâncreas. Em outras modalidades, necrose gordurosa, glândula aumentada (edema), grandes focos confluentes de necrose gordurosa ao redor do pâncreas, hemorragia focal e

necrose de células acinares podem ser usados como marcadores para pancreatite aguda.

[0223] Como é bem conhecido por uma pessoa versada na técnica, vários ensaios de histologia ou IHC para os marcadores histológicos foram desenvolvidos e podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento, por exemplo, ensaios como descrito em Matull WR *et al*., J Clin Pathol 2006;59:340-344; Basnayake C. *et al*., Aust Prescr 2015;38:128-30; Carroll JK *et al*., Am Fam Physician 2007;75:1513-20; Kaphalia BS, Capítulo 16 em Biomarkers in Toxicology, ISBN: 978-0-12-404630-6, (2014); Jasdanwala S*et al*., Integr Mol Med, 2015; 2 (3): 189-195; Buchler MW *et al*., BMC Gastroenterology 2009, 9:93; Duggan SN *et al*., World J Gastroenterol 2016; 22 (7): 2304-2313; Etemad B*et al*., Gastroenterologia 2001;120:682-707, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0224] Como as técnicas de imageamento frequentemente medem as estruturas histológicas, uma pessoa versada na técnica entenderá que os marcadores histológicos frequentemente se correlacionam com anormalidades estruturais detectadas por imageamento que podem ser usadas como marcadores de inflamação pancreática e dano pancreático. Consequentemente, os marcadores, por exemplo, anormalidades detectadas em várias técnicas de imageamento, podem ser usados como marcadores histológicos para pancreatite nos métodos fornecidos no presente documento. As estruturas do pâncreas podem ser imageadas como descrito mais abaixo na Seção 6.2.2.2 e 6.3.2.2. Marcadores histológicos exemplificativos de inflamação pancreática e dano pancreático detectados por imagem incluem atrofia pancreática, obstrução de ductos biliares ou ducto pancreático (como cálculos biliares), ducto pancreático dilatado, calcificação pancreática, estenoses biliares, cicatrizes parenquimatosas e ductais no pâncreas, estenose

do ducto pancreático, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0225] Em algumas modalidades, os marcadores histológicos nos métodos fornecidos no presente documento incluem morfologia pancreática anormal mostrada na tomografia computadorizada (TC) que reflete a inflamação ou danos causados pela pancreatite ou reflete as complicações associadas à pancreatite. Por exemplo, os marcadores histológicos observáveis em imageamento de TC que refletem a pancreatite incluem calcificações pancreáticas, como calcificações dentro dos ductos pancreáticos ou parênquima, ductos pancreáticos dilatados, como os ductos principais e atrofia pancreática, como atrofia do parênquima pancreático. Os marcadores histológicos observáveis em imagens de TC que refletem complicações de pancreatite incluem pseudocistos, ducto biliar comum dilatado, trombose da veia esplênica, varizes gástricas, pseudoaneurisma, estenose duodenal, malignidade e qualquer combinação dos mesmos.

[0226] De modo similar, os marcadores histológicos nos métodos fornecidos no presente documento incluem morfologia pancreática anormal mostrada na colangiopancreatografia retrógrada endoscópica (CPRE) que reflete a inflamação ou danos causados pela pancreatite ou reflete as complicações associadas à pancreatite. Por exemplo, os marcadores histológicos observáveis em imagens de CPRE que refletem a pancreatite incluem dilatação e irregularidade dos ductos menores e ramificações do pâncreas para pancreatite leve, dilatação e irregularidade dos ductos principais do pâncreas para pancreatite moderada e tortuosidade, estenose, calcificações, e cistos no pâncreas para pancreatite grave. Em algumas modalidades, os marcadores histológicos pancreáticos encontrados na CPRE, incluindo o número de anormalidades ductais, ramificações laterais extáticas, defeitos de enchimento intraductal e anormalidades ductulares (como múltiplas áreas de estenose, dilatação, dutos de ramificação irregulares e cálculos in-

traductais) podem ser usados como marcadores para pancreatite nos métodos fornecidos no presente documento.

[0227] Em outras modalidades, os marcadores histológicos nos métodos fornecidos no presente documento incluem anormalidades no pâncreas mostradas na ultrassonografia endoscópica (EUS) que refletem a inflamação ou danos causados pela pancreatite ou refletem as complicações associadas à pancreatite. Em algumas modalidades específicas, os marcadores histológicos observáveis em EUS que refletem pancreatite leve incluem irregularidade leve e dilatação do ducto pancreático principal, margens do ducto hiperecoico e acúmulo hiperecoico no parênquima pancreático. Os marcadores histológicos observáveis em EUS que refletem pancreatite grave incluem contorno lobular do pâncreas e dilatação do ducto pancreático principal. Outros marcadores de pancreatite observáveis em EUS incluem aqueles descritos nos critérios de Rosemont, como focos hiperecoicos com acúmulo, lobularidade com faveolamento, focos hiperecoicos, lobularidade, cistos, filamentos hiperecoicos, cálculos, contorno irregular do ducto pancreático principal, margem do ducto pancreático principal hiperecoico, ramificações laterais dilatadas, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0228] Em outras modalidades, os marcadores histológicos nos métodos fornecidos no presente documento incluem anormalidades no pâncreas mostradas na imagem por ressonância magnética, como colangiopancreatografia por ressonância magnética (MRCP) que refletem a inflamação ou danos causados pela pancreatite ou refletem as complicações associadas à pancreatite. Esses marcadores histológicos observáveis em MRCP do pâncreas incluem ductos dilatados, pseudocistos comunicantes, estenoses curtas, cálculo pancreático ou ductal ou qualquer combinação dos mesmos.

[0229] Marcadores histológicos adicionais mostrados em um teste

de imageamento incluem ainda aqueles descritos em Etemad B*et al*., Gastroenterology 2001;120:682-707; Duggan, SN, *et al*., World J Gastroenterol 2016; 22 (7): 2304-2313; e Capítulo 37 e 38 em Acute Pancreatitis e Chronic Pancreatitis, respectivamente, GI/Liver Secrets Plus, 4ª edição, editado por McNally PR, 2010, todos estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência. Um ou mais marcadores histológicos podem ser usados individualmente ou em qualquer combinação de qualquer número de outros marcadores, como descrito no presente documento.

[0230] Consequentemente, a invenção prevê que os pacientes adequados para os métodos incluem pacientes com qualquer um ou mais marcadores histológicos, incluindo os marcadores histológicos enumerados, como descrito nos parágrafos [00233] a [00242].

[0231] A invenção prevê ainda que os métodos fornecidos no presente documento podem melhorar o resultado terapêutico para os pacientes, revertendo ou melhorando qualquer um ou mais ou qualquer combinação desses marcadores histológicos de pancreatite, como parágrafo descrito [00233] a [00242].

6.2.2.3. MARCADORES FUNCIONAIS

[0232] Como a gravidade da pancreatite pode se refletir na funcionalidade do pâncreas, os marcadores de pancreatite podem também incluir marcadores funcionais. Os marcadores funcionais se referem a quaisquer marcadores que se correlacionam, direta ou inversamente, com a função pancreática. Como uma pessoa versada na técnica entenderia, duas das principais funções do pâncreas são a função exócrina pancreática e a função endócrina pancreática. Consequentemente, a invenção prevê que deficiências na função exócrina pancreática, deficiências na função endócrina pancreática ou ambas podem ser usadas como marcadores para pancreatite nos métodos fornecidos no presente documento. Como também é conhecido por uma pessoa ver-

sada na técnica, as secreções exócrinas pancreáticas têm alto teor de bicarbonato. Portanto, um teste de estimulação de secretina, com ou sem a administração de colecistocinina (CCK), pode ser usado para medir diretamente a função pancreática monitorando o volume dessas secreções pancreáticas e a concentração de bicarbonato após a injeção de secretina. Em algumas modalidades, um nível de bicarbonato menor que 50 mEq/l em um teste de estimulação de secretina (com ou sem administração de CCK) pode ser um marcador para pacientes com pancreatite e usado nos métodos fornecidos no presente documento. Em outras modalidades, um nível de bicarbonato menor que 5 mEq/l, 10 mEq/l, 15 mEq/l, 20 mEq/l, 25 mEq/l, 30 mEq/l, 35 mEq/l, 40 mEq/l, 45 mEq/l, 50 mEq/l, 55 mEq/l, 60 mEq/l, 65 mEq/l, 70 mEq/l, 75 mEq/l ou 80 mEq/l em um teste de estimulação de secretina (com ou sem administração de CCK) pode ser um marcador para pacientes com pancreatite e usado nos métodos fornecidos no presente documento.

[0233] Alternativamente, a função pancreática pode ser determinada medindo-se as enzimas pancreáticas no soro e nas fezes ou quaisquer metabólitos das enzimas no soro ou na urina após um composto administrado por via oral. Como esses marcadores refletem o nível de má digestão pancreática, quanto mais avançada a doença, mais sensíveis os marcadores podem ser para detectar ou diagnosticar a pancreatite. Esses marcadores funcionais que podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento incluem tripsinogênio sérico, em que um valor muito baixo (por exemplo, 20 ng/ml ou menos) em pacientes marca pancreatite crônica avançada e esteatorreia, quimiotripsina fecal, em que uma quimiotripsina fecal abaixo de 3 U/g de fezes sugere pancreatite crônica avançada, elastase fecal, em que elastase fecal de menos de 100 mcg/g de fezes indica insuficiência pancreática grave e gordura fecal, em que gordura fecal de mais de 7

g/d indica pancreatite e gordura fecal de mais de 20 g/d indica pancreatite grave. Outros valores exemplificativos como marcadores funcionais para pancreatite incluem tripsinogênio sérico menor que 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ou 40 ng/ml; quimotripsina fecal abaixo de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 U/g de fezes; elastase fecal menor que 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 ou 150 mcg/g de fezes; gordura fecal maior que 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ou 30 g/d de gordura fecal; ou qualquer combinação dos mesmos.

[0234] Uma pessoa versada na técnica entenderia que quaisquer marcadores funcionais que podem se correlacionar com a pancreatite, incluindo aqueles descritos no presente documento, podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento. Outros marcadores funcionais que podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento incluem ainda aqueles descritos em John G Lieb II e Peter V Draganov, World J Gastroenterol. 28 de maio de 2008; 14(20): 3149-3158; Clain JE, *et al*., Surg Clin North Am1999;79:829-845; Couper R. Can J Gastroenterol 1997;11:153-156; Layer P, *et al*., J Clin Gastroenterol 1999;28:3-10; Toskes PP. Curr Gastroenterol Rep 1999;1:145-153; Capítulo 38 em Chronic Pancreatitis, GI/Liver Secrets Plus, 4ª edição, editado por McNally PR, 2010; todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência. Um ou mais marcadores funcionais podem ser usados individualmente ou em qualquer combinação de qualquer número de outros marcadores, como fornecido no presente documento.

[0235] Consequentemente, a invenção prevê que os pacientes adequados para os métodos incluem pacientes com qualquer um ou mais marcadores funcionais , incluindo os marcadores funcionais enumerados, como descrito nos parágrafos [00245] a [00247].

[0236] A invenção fornece ainda que os métodos fornecidos no

presente documento podem melhorar o resultado terapêutico para os pacientes, revertendo ou melhorando qualquer um ou mais desses marcadores funcionais de pancreatite, como descrito nos parágrafos [00245] a [00247]. Em algumas modalidades específicas, a invenção prevê que os métodos fornecidos no presente documento podem melhorar o resultado terapêutico para os pacientes, aumentando o nível de bicarbonato em um teste de estimulação de secretina, aumentando o tripsinogênio sérico, aumentando a quimiotripsina fecal, aumentando a elastase fecal, diminuindo a gordura fecal ou qualquer combinação dos mesmos.

6.2.2.4. MARCADORES DE SINALIZAÇÃO

[0237] A invenção prevê que a pancreatite se correlaciona com os níveis de um CA19-9 e Sialil-Lewis^{a} no pâncreas, e CA19-9 e Sialil-Lewis^{a} elevados são fatores no mecanismo subjacente que causa pancreatite.

[0238] Adicionalmente, a invenção prevê que CA19-9 elevado no pâncreas ativa a via de sinalização do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) no pâncreas. A ativação de sinalização de EGFR é ativada pela dimerização do receptor induzida por ligante após a qual o domínio de quinase intrínseco de um receptor fosforila de forma cruzada resíduos específicos na cauda do C-terminal do receptor parceiro, fornecendo assim um arcabouço para o recrutamento de outras proteínas na via de sinalização de EGFR (proteínas efetoras e adaptadoras). Isso ocorre através da homologia Src 2 (SH2) e domínios de ligação de fosfotirosina (PTB) nas proteínas efetoras e o motivo fosfotirosina presente no domínio tirosina quinase intracelular do EGFR. As proteínas adaptadoras e efetoras ativadas estimularão ainda mais suas cascatas de sinalização correspondentes, que incluem o eixo RAS, RAF, MEK e ERK da via de sinalização, a fosfoinositídeo 3-quinase (PI3K), eixo da proteína fosfolipase C gama da via de sinalização e a

via de PKB/Akt quinase e via de sinalização STAT, que leva a uma variedade de respostas biológicas, incluindo proliferação celular, angiogênese, migração, sobrevivência e adesão.

[0239] Consequentemente, a invenção prevê que os marcadores para pancreatite podem incluir todos os indicadores para uma via de sinalização de EGFR ativada, incluindo mudanças de nível de expressão, mudanças de localização, mudanças em parceiros de ligação ou quaisquer mudanças bioquímicas ou biofísicas (como fosforilação, ubiquitilação e mudanças conformacionais) para uma molécula em uma via de sinalização de EGFR. Em algumas modalidades, os marcadores para pancreatite adequados para os métodos fornecidos no presente documento podem ser fosforilação de Akt no pâncreas, fosforilação de EGFR no pâncreas, fosforilação de Erkl/2 no pâncreas, ativação de RAS (por exemplo, carregamento de GTP de RAS) no pâncreas, fosforilação de RAF no pâncreas e fosforilação de MEK no pâncreas. Outros marcadores da via de sinalização de EGFR ativada adequados para os métodos fornecidos no presente documento são descritos adicionalmente em Seshacharyulu, P *et al*., Expert Opin Ther Targets. Janeiro de 2012; 16 (1): 15-31; Normanna N*et al*., Gene. Janeiro de 2006 17;366(1):2-16; Oda Ket ai., Mol Syst Biol. 2005;1: 2005.0010; Lurje G*et al*., Oncologia. 2009;77(6):400-10; Yarden, Y*et al*., 2007; 131(5): 1018-1018, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0240] Além disso, como a invenção prevê que a pancreatite se correlaciona com os níveis de CA19-9 no pâncreas e que CA19-9 elevado é um fator no mecanismo subjacente que causa pancreatite, uma pessoa versada na técnica entenderia que CA19-9 e quaisquer outros marcadores de sinalização na pancreatite que podem ser induzidos em resposta a níveis elevados de CA19-9 podem ser usados como marcadores nos métodos fornecidos no presente documento. Além

disso, CA19-9 pode ser usado individualmente ou em combinação com quaisquer marcadores descritos acima e abaixo nos métodos fornecidos no presente documento.

[0241] Consequentemente, a invenção prevê que os pacientes adequados para os métodos incluem pacientes com qualquer um ou mais marcadores funcionais, incluindo os marcadores funcionais enumerados, como descrito nos parágrafos [00250] a [00253]. A invenção prevê ainda que os métodos fornecidos no presente documento podem melhorar o resultado terapêutico para os pacientes, revertendo ou melhorando qualquer um ou mais desses marcadores de sinalização de pancreatite, como descrito nos parágrafos [00250] a [00253].

6.2.2.5. MARCADORES HISTOLÓGICOS

[0242] Como a pancreatite pode afetar a fisiologia e causar outros sintomas observáveis no indivíduo, quaisquer marcadores que reflitam os sintomas fisiológicos de um paciente com pancreatite podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento. Tais marcadores fisiológicos incluem perda de peso, dor, como dor abdominal, má absorção de alimentos, atrofia pancreática, aumento do pâncreas, inflamação pancreática e refluxo biliar. Tais marcadores fisiológicos podem ser diretamente observados ou determinados com base nas descrições das sensações sintomáticas do paciente. Consequentemente, a invenção prevê que os pacientes adequados para os métodos incluem pacientes com qualquer um ou mais desses marcadores fisiológicos e os métodos fornecidos no presente documento podem melhorar o resultado terapêutico para os pacientes, revertendo ou melhorando qualquer um ou mais desses marcadores de sinalização de pancreatite.

[0243] Em certas modalidades, qualquer 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 ou mais dos marcadores descritos no presente documento podem ser usados, em qualquer permutação ou

combinação, nos métodos fornecidos no presente documento. Em outras modalidades, qualquer número dos marcadores fornecidos no presente documento pode ser usado em qualquer permutação ou combinação com os ensaios, seleção das populações de pacientes (por exemplo, usando qualquer um ou mais marcadores como critérios de seleção de pacientes), regimes de dosagem (por exemplo, aumentando ou diminuindo a dose com base na melhora ou piora em um ou mais dos marcadores), resultados terapêuticos (por exemplo, avaliando a melhora em um ou mais dos marcadores), e/ou agentes terapêuticos (por exemplo, usando um ou mais marcadores para confirmar a propriedade funcional dos agentes terapêuticos) nos métodos, como fornecido no presente documento.

6.2.3. REGIMES DE DOSAGEM, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS E VIAS DE ADMINISTRAÇÃO

[0244] Em uma modalidade, os métodos fornecidos no presente documento usam uma composição farmacêutica que compreende um agente terapêutico que pode ser administrado sistemicamente para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite. Tal administração pode ser por via parenteral ou transmucosa, *por exemplo,* oral, bucal, nasal, sublingual, submucosa ou transdérmica. Em algumas modalidades, a administração é parenteral, por exemplo, por meio de injeção intravenosa ou intraperitoneal, intra-arterial, administração intramuscular, administração intradérmica e administração subcutânea.

[0245] Para outras vias de administração, como por meio do uso de um perfusato, injeção em um órgão ou outra administração local, será fornecida uma composição farmacêutica que resulta em níveis similares de um agente terapêutico, como descrito adicionalmente abaixo.

[0246] As composições farmacêuticas do agente terapêutico fornecidas no presente documento podem compreender uma quantidade

terapeuticamente eficaz de um agente terapêutico e um veículo farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade específica, o termo "farmaceuticamente aceitável", significa aprovado por uma agência reguladora do Governo Federal ou um Estado ou listados na U.S. Pharmacopeia ou outra farmacopeia estrangeira geralmente reconhecida para uso em animais e mais particularmente em seres humanos. O termo "veículo" se refere a um diluente, adjuvante, excipiente ou veículo com o qual a terapêutica é administrada. Tais veículos farmacêuticos podem ser líquidos estéreis, como soluções salinas em água e óleos, inclusive aqueles de petróleo, origem animal, vegetal ou sintética, como óleo de amendoim, óleo de soja, óleo mineral, óleo de gergelim e similares. Uma solução salina é um veículo quando a composição farmacêutica é administrada por via intravenosa. Soluções salinas e soluções de dextrose e glicerol aquosas também podem ser empregadas como veículos líquidos, particularmente para soluções injetáveis. Excipientes farmacêuticos adequados incluem amido, glicose, lactose, sacarose, gelatina, malte, arroz, farinha, giz, gel de sílica, estearato de sódio, monoestearato de glicerol, talco, cloreto de sódio, leite desnatado em pó, glicerol, propilenoglicol, água, etanol e similares. A composição pode também conter quantidades menores de agentes umectantes ou emulsificantes, ou agentes tamponantes de pH. Essas composições podem assumir a forma de soluções, suspensões, emulsão, comprimidos, pílulas, cápsulas, pós, formulações de liberação sustentada e similares. A composição pode ser formulada como um supositório, com aglutinantes tradicionais e veículos como triglicerídeos. Os agentes terapêuticos fornecidos no presente documento podem ser formulados como formas neutras ou de sal. Sais farmaceuticamente aceitáveis incluem aqueles formados com grupos amino livres, como aqueles derivados de ácidos clorídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico, etc. e aqueles formados com grupos carboxila livres, como

aqueles derivados de sódio, potássio, amônio, cálcio, hidróxidos férricos, isopropilamina, trietilamina, 2-etilamino etanol, histidina, procaína, etc. Exemplos de veículos farmacêuticos adequados são descritos em "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E.W. Martin, que está incorporado no presente documento a título de referência em sua totalidade. Tais composições conterão uma quantidade terapeuticamente eficaz do terapêutico, por exemplo, na forma purificada ou não purificada, juntamente com uma quantidade adequada de veículo para fornecer a forma para a administração adequada ao paciente. Uma pessoa versada na técnica saberia que a formulação pode ser selecionada para se adequar ao modo de administração.

[0247] Formulações para aumentar a adsorção transmucosa de um agente terapêutico, como um peptídeo, são também fornecidas no presente documento. Composições farmacêuticas adaptadas para administração oral podem ser fornecidas como cápsulas ou comprimidos; como pós ou grânulos; como soluções, xaropes ou suspensões (em líquidos aquosos ou não aquosos); como espumas ou cremes; ou como emulsões. Comprimidos ou cápsulas de gelatina dura podem compreender lactose, amido ou derivados dos mesmos, estearato de magnésio, sacarina sódica, celulose, carbonato de magnésio, ácido esteárico ou sais dos mesmos. As cápsulas de gelatina mole podem compreender óleos vegetais, ceras, gorduras, polióis semissólidos ou líquidos, etc. As soluções e xaropes podem compreender água, polióis e açúcares.

[0248] Um agente terapêutico destinado para administração oral pode ser revestido ou misturado por adição com um material que retarda a desintegração e/ou a absorção do agente ativo no trato gastrointestinal *(por exemplo,* monoestearato de glicerila ou diestearato de glicerila pode ser usado). Dessa forma, a liberação sustentada de um agente ativo pode ser realizada ao longo de muitas horas, o agente

ativo pode ser protegido contra degradação no estômago. As composições farmacêuticas para administração oral podem ser formuladas para facilitar a liberação de um agente ativo em um local gastrointestinal específico devido a condições de pH ou enzimáticas específicas.

[0249] As composições farmacêuticas adequadas para administração transdérmica podem ser fornecidas como emplastros distintos destinados a permanecerem em contato íntimo com a epiderme do receptor durante um período de tempo prolongado. As composições farmacêuticas adaptadas para administração tópica podem ser fornecidas como pomadas, cremes, suspensões, loções, pós, soluções, pastas, géis, sprays, aerossóis ou óleos. Para administração tópica na pele, boca, olhos ou outros tecidos externos, uma pomada ou creme tópico pode ser usado. Quando formulado em uma pomada, o ingrediente ativo pode ser empregado com uma base de pomada parafínica ou miscível em água. Alternativamente, o ingrediente ativo pode ser formulado em um creme com uma base de óleo em água ou uma base de água em óleo. As composições farmacêuticas adaptadas para administração tópica ao olho incluem colírios. Nessas composições, o ingrediente ativo pode ser dissolvido ou suspenso em um veículo adequado, por exemplo, em um solvente aquoso.

[0250] As composições farmacêuticas adaptadas para administração parenteral incluem soluções ou suspensões injetáveis estéreis aquosas e não aquosas, as quais podem conter antioxidantes, tampões, bacteriostatos e/ou solutos que tornam as composições substancialmente isotônicas com o sangue de um receptor pretendido. Outros componentes que podem estar presentes em tais composições incluem água, álcoois, polióis, glicerina e óleos vegetais, por exemplo. As composições adaptadas para administração parenteral podem ser apresentadas em recipientes de doses unitárias ou múltiplas doses, como ampolas e frascos vedados, e podem ser armazenadas em uma

condição seca por congelamento (liofilizada) que exige apenas a adição de um veículo líquido estéril, por exemplo, solução salina estéril para injeções, imediatamente antes do uso. Soluções e suspensões de injeção extemporânea podem ser preparadas a partir de pós estéreis, grânulos e tabletes. Em uma modalidade, um autoinjetor que compreende uma solução injetável de um agente terapêutico pode ser fornecido para uso de emergência por ambulâncias, salas de emergência e até mesmo para autoadministração em um ambiente doméstico, como um paciente pancreático que fica em casa.

[0251] Em uma modalidade, a composição é formulada de acordo com os procedimentos de rotina como uma composição farmacêutica adaptada para administração intravenosa a seres humanos. Tipicamente, composições para administração intravenosa são soluções em tampão aquoso isotônico estéril. Quando necessário, a composição pode também incluir um agente solubilizante e um anestésico local como lidocaína para aliviar a dor no local da injeção. Em geral, os ingredientes são fornecidos separadamente ou misturados em forma de dosagem unitária, por exemplo, como um pó seco liofilizado ou concentrado isento de água em um recipiente hermeticamente fechado, como uma ampola ou sachê, indicando a quantidade de agente ativo. Quando a composição é administrada por infusão, a mesma pode ser dispensada com uma garrafa de infusão contendo água de grau farmacêutico estéril ou solução salina. Quando a composição é administrada por injeção, uma ampola de solução salina estéril pode ser fornecida de modo que os ingredientes possam ser misturados antes da administração.

[0252] Os supositórios, em geral, contêm ingrediente ativo na faixa de 0,5% a 10% em peso; as formulações orais podem conter de 10% a 95% de ingrediente ativo.

[0253] A revelação fornece também uma embalagem ou kit farma-

cêutico que compreende um ou mais recipientes carregados com um ou mais dos ingredientes das composições farmacêuticas de um ou mais agentes terapêuticos fornecidos no pressente documento. Opcionalmente associado a tal recipiente (ou recipientes) pode estar um aviso sob a forma prescrita por uma agência governamental que regula a fabricação, uso ou venda de produtos farmacêuticos ou biológicos, tal aviso reflete a aprovação pela agência de fabricação, uso ou venda para administração em seres humanos.

[0254] Em outra modalidade, por exemplo, um agente terapêutico pode ser administrado em um sistema de liberação controlada. Por exemplo, o agente terapêutico pode ser administrado usando infusão intravenosa, uma bomba osmótica implantável, um emplastro transdérmico, lipossomas ou outros modos de administração. Em uma modalidade, uma bomba pode ser usada (consultar Langer, *Science* 249:1527-1533 (1990); Sefton, 1987, CRC Crit. Ref Biomed. Eng. 14:201; Buchwald *et al.,* 1980, Surgery 88:507; Saudek *et al.,* 1989, N. Engl. J. Med. 321:574, cada um dos quais está incorporado no presente documento a título de referência em sua totalidade). Em outra modalidade, o agente terapêutico pode ser administrado em uma vesícula, por exemplo, um lipossoma *(consultar* Langer, *Science* 249:1527-1533 (1990); Treat *et al.,* in Liposomes in the Therapy oflnfectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein e Fidler (eds.), Liss, Nova Iorque, páginas 353-365 (1989); WO 91/04014; Patente U.S. nº 4.704.355; Lopez-Berestein, *ibid,* páginas 317-327). Em outra modalidade, materiais poliméricos podem ser usados (consultar Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Press: Boca Raton, Flórida, 1974; Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen e Ball (eds. .), Wiley: Nova Iorque (1984); Ranger e Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61, 1953; consultar também Levy *et al.,* 1985, Science 228:190; During *et al.,*

1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard *et al.,* 1989, J. Neurosurg. 71:105, todos os quais estão incorporados no presente documento a título de referência em sua totalidade.

[0255] Em ainda outra modalidade, um sistema de liberação controlada pode ser colocado na proximidade para o alvo terapêutico, *isto é,* as células alvo, tecido ou órgão, exigindo assim apenas uma fração da dose sistêmica (consultar *por exemplo,* Goodson, páginas 115-138 em Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, 1984, que está incorporado no presente documento a título de referência em sua totalidade). Outros sistemas de liberação controlada são discutidos na revisão por Langer (1990, Science 249:1527- 1533, que está incorporado no presente documento a título de referência em sua totalidade).

[0256] Em outra modalidade, um agente terapêutico, como formulado adequadamente, pode ser administrado por administração nasal, bucal, oral, retal, ocular, transdérmica, parenteral, inalatória ou sublingual.

[0257] Em uma modalidade específica, pode ser útil administrar um agente terapêutico fornecido no presente documento localmente à área que precisa de tratamento; isto pode ser obtido através de, por exemplo, e não a título de limitação, infusão local durante a cirurgia, aplicação tópica, por exemplo, por meio de um cateter, por meio de um supositório ou por meio de um implante, sendo que o dito implante é de um material poroso, não poroso ou gelatinoso, incluindo membranas, como membranas silásticas ou fibras. Um exemplo não limitante de tal modalidade inclui um stent ou outro arcabouço revestido com um agente terapêutico fornecido no presente documento que é implantado em uma porção da vasculatura, ducto, etc.

[0258] A seleção de uma dose eficaz será prontamente determinável por um versado na técnica com base na consideração de vários fatores, que são conhecidos por um versado na técnica. Tais fatores

incluem a forma específica do agente terapêutico e seus parâmetros farmacocinéticos como biodisponibilidade, metabolismo, meia-vida, etc., que são estabelecidos durante os procedimentos de desenvolvimento usuais tipicamente empregados para obter aprovação regulamentar para um agente terapêutico. Outros fatores ao considerar a dose incluem a afecção ou estágio da doença a ser tratada ou o benefício a ser obtido em um indivíduo normal, a massa corporal do paciente, a via de administração, se a administração é aguda ou crônica, medicamentos concomitantes e outros fatores bem conhecidos por afetar a eficácia de agentes farmacêuticos administrados.

[0259] Embora o receptor contemplado de um agente terapêutico com os propósitos no presente documento seja um ser humano, os métodos no presente documento se aplicam igualmente a outros mamíferos, particularmente animais domésticos, gado, animais de estimação e de zoológico. Entretanto, os métodos fornecidos no presente documento não são limitantes e os benefícios podem ser aplicados a qualquer mamífero. Em aspectos adicionais de métodos fornecidos no presente documento, qualquer agente terapêutico como descrito na Seção 6.2.1 pode ser empregado em qualquer combinação ou permutação com a formulação fornecida no presente documento.

[0260] Em certas modalidades, a invenção fornece uma composição farmacêutica em forma de dosagem unitária para os métodos fornecidos no presente documento, que compreende uma quantidade de um agente terapêutico dentro da faixa de cerca de 0,1 pg a 30 mg, 0,5 pg a 25 mg, 1 pg a 20 mg, 500 pg a 10 mg, 1 ng a 10 mg, 500 ng a 10 mg, 1 µg a 10 mg, 500 µg a 10 mg, 1 mg a 5 mg, ou 1 mg a 10 mg do agente terapêutico e um veículo farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade, a quantidade do agente terapêutico está dentro da faixa de cerca de 0,5 pg a 1 mg.

[0261] Uma faixa de doses pode ser administrada aos pacientes,

como contemplado nos métodos fornecidos no presente documento, dependendo do tipo e da gravidade da doença. Em uma modalidade, uma dose entre cerca de 1 mg e 12 mg de agente terapêutico é administrada ao paciente. Em outras modalidades, a dose está em uma faixa de cerca de 2 mg a cerca de 12 mg, de cerca de 2 mg a cerca de 11 mg, de cerca de 3 mg a cerca de 10 mg, de cerca de 4 mg a cerca de 9 mg, de cerca de 5 mg a cerca de 8 mg ou de cerca de 6 mg a cerca de 7 mg. Em certas modalidades, a dose é de cerca de 2 mg a cerca de 8 mg. Em certas modalidades, a dose é de cerca de 1 mg, cerca de 2 mg, cerca de 3 mg, cerca de 4 mg, cerca de 5 mg, cerca de 6 mg, cerca de 7 mg, cerca de 8 mg, cerca de 9 mg, cerca de 10 mg, cerca de 11 mg ou cerca de 12 mg. Em certas modalidades, a dose é de 4 mg.

[0262] A dose na qual um agente terapêutico é administrado aos pacientes pode ser baseada no peso corporal do paciente. Em tal modalidade, uma dose entre cerca de 0,1 µg/kg a cerca de 120 µg/kg de peso corporal de um agente terapêutico é administrada ao paciente. Em certas modalidades, a dose está em uma faixa de cerca de 0,4 µg/kg a cerca de 110 µg/kg, de cerca de 0,5 µg/kg a cerca de 100 µg/kg, de cerca de 1 µg/kg a cerca de 95 µg/kg, de cerca de 5 µg/kg a cerca de 90 µg/kg, de cerca de 10 µg/kg a cerca de 85 µg/kg, de cerca de 15 µg/kg a cerca de 80 µg/kg, de cerca de 20 µg/kg a cerca de 75 µg/kg, de cerca de 25 µg/kg a cerca de 70 µg/kg, de cerca de 30 µg/kg a cerca de 65 µg/kg, de cerca de 35 µg/kg a cerca de 60 µg/kg ou de cerca de 40 µg/kg a cerca de 50 µg/kg de peso corporal. Em certas modalidades, a dose do agente terapêutico está em uma faixa de cerca de 0,2 µg/kg a cerca de 120 µg/kg de peso corporal. Em certas modalidades, a dose está em uma faixa de cerca de 1 µg/kg a cerca de 60 µg/kg, de cerca de 10 µg/kg a cerca de 30 µg/kg, cerca de 20 µg/kg a cerca de 50 µg/kg, ou de cerca de 30 µg/kg a cerca de 60 µg/kg. Em

certas modalidades, a dose é cerca de 1 µg/kg, cerca de 2 µg/kg, cerca de 3 µg/kg, cerca de 4 µg/kg, cerca de 5 µg/kg, cerca de 6 µg/kg, cerca de 7 µg/kg, cerca de 8 µg/kg, cerca de 9 µg/kg, cerca de 10 µg/kg, cerca de 11 µg/kg, cerca de 12 µg/kg, cerca de 13 µg/kg, cerca de 14 µg/kg, cerca de 15 µg/kg, cerca de 16 µg/kg, cerca de 17 µg/kg, cerca de 18 µg/kg, cerca de 19µg/kg, cerca de 20 µg/kg, cerca de 21 µg/kg, cerca de 22 µg/kg, cerca de 23 µg/kg, cerca de 24 µg/kg, cerca de 25 µg/kg, cerca de 26 µg/kg, cerca de 27 µg/kg, cerca de 28 µg/kg, cerca de 29 µg/kg ou cerca de 30 µg/kg. Em certas modalidades, a dose é menos que cerca de 80 µg/kg, menos que cerca de 50 µg/kg, menos que cerca de 30 µg/kg, menos que cerca de 20 µg/kg, menos que cerca de 15 µg/kg, ou menos que cerca de 10 µg/kg. Em certas modalidades, a dose é de 10 µg/kg. Em certas modalidades, a dose é de 30 µg/kg. Em outras modalidades, um agente terapêutico fornecido no presente documento pode ser administrado sistemicamente em uma dosagem entre cerca de 1 ng e cerca de 300 µg /kg de peso corporal, cerca de 5 a 150 µg /kg de peso corporal ou cerca de 10 a 100 µg /kg de peso corporal, por administração.

[0263] Em outras modalidades dos métodos fornecidos no presente documento, o agente terapêutico é administrado em uma faixa de dose de cerca de 0,1 mg/kg/dose a cerca de 10 mg/kg/dose. Em algumas modalidades, o agente terapêutico é administrado em uma dose de cerca de 0,1 mg/kg/dose, cerca de 0,2 mg/kg/dose, cerca de 0,3 mg/kg/dose, cerca de 0,4 mg/kg/dose, cerca de 0,5 mg/kg/dose, cerca de 0,6 mg/kg/dose, cerca de 0,7 mg/kg/dose ou cerca de 0,8 mg/kg/dose, cerca de 0,9 mg/kg/dose, cerca de 1 mg/kg/dose, cerca de 2 mg/kg/dose, cerca de 3 mg/kg/dose, cerca de 4 mg/kg/dose, cerca de 5 mg/kg/dose, cerca de 6 mg/kg/dose, cerca de 7 mg/kg/dose, ou cerca de 8 mg/kg/dose, cerca de 9 mg/kg/dose, cerca de 10 mg/kg/dose, ou mais.

[0264] Em certas modalidades, os agentes terapêuticos para uso nos presentes métodos podem ser administrados em uma quantidade profilaticamente eficaz. Uma quantidade profilaticamente eficaz se refere à quantidade de um agente terapêutico suficiente para prevenir pancreatite e/ou os danos, efeitos ou sintomas resultantes da pancreatite. Usado em conjunto com uma quantidade de um agente terapêutico, a quantidade profilaticamente eficaz pode abranger uma quantidade que melhora a profilaxia geral ou aumenta a eficácia profilática na prevenção da pancreatite ou fornece um efeito sinérgico com outro agente profilático que pode prevenir a pancreatite.

[0265] Além disso, os agentes terapêuticos nos métodos fornecidos no presente documento podem ser administrados em intervalos regulares ao longo do tempo. Em certas modalidades, os agentes terapêuticos são administrados diariamente, dia sim, dia não, uma vez por semana, uma vez a cada 10 dias, uma vez a cada duas semanas, uma vez a cada três semanas, uma vez a cada quatro semanas, uma vez a cada seis semanas ou uma vez a cada oito semanas . Em outras modalidades, a administração de agentes terapêuticos pode ser repetida de hora em hora, diariamente, enquanto for clinicamente necessário, ou após um intervalo adequado, por exemplo, a cada 1 a 12 horas, a cada 6 a 12 horas; a cada 2 a 6 dias, a cada 2 a 4 dias; a cada 1 a 12 semanas, a cada 1 a 3 semanas. Em modalidades adicionais, os agentes terapêuticos são administrados uma vez por mês (mensalmente), uma vez a cada dois meses (bimestralmente), uma vez a cada três meses, uma vez a cada quatro meses, uma vez a cada cinco meses ou uma vez a cada seis meses.

[0266] Em algumas modalidades, os agentes terapêuticos fornecidos no presente documento nos métodos são administrados por cerca de 1 semana a cerca de 48 semanas. Em certas modalidades, os agentes terapêuticos fornecidos no presente documento nos métodos

são administrados por cerca de 1 semana a cerca de 44 semanas; cerca de 1 semana a cerca de 40 semanas, cerca de 1 semana a cerca de 36 semanas; cerca de 1 semana a cerca de 32 semanas; cerca de 1 semana a cerca de 28 semanas; cerca de 1 semana a cerca de 24 semanas; cerca de 1 semana a cerca de 20 semanas; cerca de 1 semana a cerca de 16 semanas; ou cerca de 1 semana a cerca de 12 semanas. Em outras modalidades, os agentes terapêuticos fornecidos no presente documento nos métodos são administrados por cerca de 1 semana a cerca de 48 semanas; cerca de 4 semanas a cerca de 44 semanas; cerca de 8 semanas a cerca de 40 semanas; cerca de 12 semanas a cerca de 36 semanas; cerca de 16 semanas a cerca de 32 semanas; ou cerca de 20 semanas a cerca de 28 semanas. Em determinadas modalidades, o agente terapêutico fornecido no presente documento nos métodos são administrados por cerca de 1 semana a cerca de 24 semanas; cerca de 2 semanas a cerca de 24 semanas; cerca de 4 semanas a cerca de 24 semanas; cerca de 6 semanas a cerca de 24 semanas; cerca de 8 semanas a cerca de 24 semanas; cerca de 10 semanas a cerca de 24 semanas; cerca de 12 semanas a cerca de 24 semanas; cerca de 14 semanas a cerca de 24 semanas; cerca de 16 semanas a cerca de 24 semanas; cerca de 18 semanas a cerca de 24 semanas; cerca de 20 semanas a cerca de 24 semanas; ou cerca de 22 semanas a cerca de 24 semanas.

[0267] Em algumas modalidades específicas, os agentes terapêuticos fornecidos no presente documento podem ser usados para administração a longo prazo. Em certas modalidades, a administração pode durar enquanto a pancreatite estiver presente no paciente.

[0268] Em outras modalidades, a quantidade eficaz de um agente terapêutico e um veículo farmaceuticamente aceitável pode ser embalada em um frasco de dose única ou outro recipiente. Em modalidades adicionais, os agentes terapêuticos, que têm capacidade para exercer

as atividades descritas no presente documento, são usados a longo prazo para combater uma pancreatite crônica.

[0269] Como é bem conhecido por uma pessoa versada na técnica, formulações, vias de administração e doses para proteínas terapêuticas, incluindo anticorpos terapêuticos e polipeptídeo terapêutico, podem ser diferentes. Várias formulações, vias de administração e doses específicas para proteínas terapêuticas, incluindo anticorpos terapêuticos e polipeptídeo terapêutico, são bem conhecidas na técnica. Formulações, vias de administração e doses exemplificativas para anticorpos terapêuticos são descritas nos documentos nº WO2015112886 e nº WO2017019957; formulações, vias de administração e doses exemplificativas para polipeptídeos terapêuticos são descritas nos documentos nº WO2007019545, nº WO2009094172 e nº WO2015009820, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

6.3 ENSAIOS PARA TESTE DE AGENTES TERAPÊUTICOS

[0270] Vários ensaios podem ser usados para determinar as atividades e a eficácia dos agentes terapêuticos descritos na Seção 6.2.1 para uso nos métodos terapêuticos fornecidos no presente documento. Os ensaios para vários marcadores são também fornecidos no presente documento. A invenção prevê ainda que as atividades, utilidades e eficácia de vários agentes terapêuticos, como descrito na Seção 6.2.1, podem ser avaliadas de acordo com os biomarcadores ou o resultado terapêutico do paciente, como descrito na Seção 6.2.2. Adicionalmente, um versado na técnica reconhecerá que a adequação de vários agentes terapêuticos nos métodos fornecidos no presente documento pode ser confirmada por meio de vários *ensaios de pancreatite in vitro* e *in vivo* conhecidos na técnica ou fornecidos no presente documento.

6.3.1. ENSAIOS DE LIGAÇÃO

[0271] Vários ensaios de rotina podem ser usados para determinar

prontamente a ligação entre um agente terapêutico e um CA19-9 ou Sialil-Lewis[a] ou entre quaisquer duas moléculas (como entre duas proteínas) nos métodos fornecidos no presente documento. Ensaios de ligação de rotina exemplificativos incluem um ensaio de imunoistoquímica, um imunoensaio enzimático (EIA) ou um ELISA, um ensaio de FACS, um ensaio de *immunoblotting*, um ensaio de ressonância plasmônica de superfície (SPR), um ensaio de coimunoprecipitação, cromatografia ou ensaios de deslocamento de gel, calorimetria por titulação isotérmica, vários ensaios de fluorescência (como espectroscopia de correlação de fluorescência e polarização/anisotropia fluorescente), ensaios de ligação competitiva, diálise de equilíbrio, transferência ressonante de energia por fluorescência (FRET) e quaisquer outros ensaios para testar a ligação entre duas moléculas conhecidas por um versado na técnica. Os detalhes desses ensaios de rotina foram descritos abaixo e em Wu, Ge. Capítulo 5, General Protein Binding Assay Formats, em Assay Development: Fundamentals and Practices, Online ISBN: 9780470583128; Imprimir ISBN: 9780470191156 (2010); Wan H *et al*., Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, (2007) 30: 681-700, ambos incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0272] Como é bem conhecido por uma pessoa na técnica, é comum usar um ensaio de imunoistoquímica para determinar a interação entre um agente terapêutico (por exemplo, uma proteína, como um anticorpo) e um alvo em uma célula ou um tecido. Em um exemplo de um ensaio de IHC, o ensaio de IHC determina uma proteína (como um anticorpo) que se liga a uma molécula alvo em células ou tecidos in situ, em geral usando sinais cromogênicos ou fluorescentes bem conhecidos na técnica como as medições finais. Em algumas modalidades, a amostra de tecido é colocada em contato com uma proteína (como um anticorpo primário) destinada a se ligar a um alvo específico

durante um período de tempo suficiente para que ocorra a ligação proteína-alvo. A proteína ligada (como o anticorpo primário ligado) pode ser detectada por marcadores diretos nas próprias proteínas, por exemplo, marcadores radioativos, marcadores fluorescentes, marcadores de hapteno, como biotina, ou uma enzima, como peroxidase de raiz-forte ou fosfatase alcalina. Alternativamente, uma proteína não marcada (como um anticorpo primário não marcado) é usada em conjunto com um anticorpo secundário marcado, que compreende antissoros, antissoros policlonais ou um anticorpo monoclonal específico para a proteína (como o anticorpo primário). Como tal, pode ser aplicado um anticorpo secundário marcado com enzima, que reconhece especificamente a proteína (por exemplo, reconhecendo o isotipo do anticorpo do anticorpo primário). O anticorpo secundário reage com a proteína ligada à amostra (por exemplo, anticorpo primário ligado à amostra), seguido de desenvolvimento e/ou detecção de sinal. O anticorpo de detecção de segunda camada pode ser marcado com uma enzima, como uma peroxidase, que reage com o cromógeno 3, 3'-diaminobenzidina (DAB) para produzir um precipitado marrom no sítio de reação. O sinal final dos marcadores no anticorpo secundário, como sinal cromogênico, fluorescência e radioatividade, pode ser usado para determinar o nível, força e especificidade da ligação entre a proteína (como o anticorpo primário) ao alvo na célula ou tecido. Sistemas automatizados para processamento de IHC estão comercialmente disponíveis e permitem o desempenho de rotina do ensaio em um formato de rendimento moderado a alto. O sistema Leica BOND Autostainer e Leica Bond Refine Detection é um exemplo de tal sistema automatizado.

[0273] Alternativamente, um Imunoensaio Enzimático (EIA) ou um ELISA pode ser rotineiramente usado para determinar a ligação entre duas proteínas, como um agente terapêutico e um CA19-9. Ambos os

ensaios EIA e ELISA são conhecidos na técnica. Uma ampla gama de formatos de ensaio ELISA está disponível, consultar, por exemplo, Patentes US nº 4.016.043, nº 4.424.279 e nº 4.018.653, que estão incorporadas no presente documento a título de referência em sua totalidade. Esses incluem ensaios de sítio único e de dois sítios ou "sanduíche" dos tipos não competitivos, bem como nos ensaios de ligação competitiva tradicionais. Esses ensaios incluem também a ligação direta de um anticorpo marcado a uma proteína alvo. Ensaios sanduíche são também ensaios comumente usados. Várias variações da técnica de ensaio ELISA estão disponíveis. Por exemplo, para testar a ligação entre a proteína X e a proteína Y, a proteína X pode ser imobilizada em um substrato sólido e a proteína Y ou uma amostra contendo proteína Y pode ser colocada em contato com a proteína X imobilizada. Após um período de incubação adequado, durante um período de tempo suficiente para permitir a formação de complexo de ligação de proteína X e proteína Y, um segundo anticorpo específico para a proteína Y, marcado com uma molécula repórter com capacidade para produzir um sinal detectável é, então, adicionado e incubado, permitindo tempo suficiente para a formação de outro complexo de proteína X, proteína Y e anticorpo secundário marcado. Qualquer material não reagido é lavado e a ligação entre a proteína X e a proteína Y é determinada pela observação de um sinal produzido pela molécula repórter. Os resultados podem ser qualitativos, pela simples observação do sinal visível ou pode ser quantificado por determinação dos níveis de ligação em uma série de concentrações crescentes de proteína X ou proteína Y e curvas de ligação de ajuste, como conhecido por uma pessoa versada na técnica.

[0274] Em algumas modalidades dos ensaios EIA ou ELISA, uma enzima é conjugada ao segundo anticorpo. Em outras modalidades, anticorpos secundários marcados fluorescentemente podem ser usa-

dos no lugar do anticorpo secundário marcado com enzima para produzir um sinal detectável em um formato de ensaio ELISA. Quando ativado por iluminação com luz de um comprimento de onda específico, o anticorpo marcado com fluorocromo adsorve a energia da luz, induzindo um estado de excitação na molécula, seguido de emissão da luz em uma cor característica detectável por um equipamento de detecção. Como no EIA e no ELISA, o anticorpo marcado fluorescentemente pode se ligar ao complexo formado pelo par de proteínas de ligação a ser testado. Após a lavagem do reagente não ligado, o complexo terciário restante é, então, exposto à luz do comprimento de onda adequado e, com controles adequados conhecidos por uma pessoa versada na técnica, a fluorescência observada indica o nível, força e especificidade de ligação. As técnicas de imunofluorescência e EIA são ambas muito bem estabelecidas na técnica e são descritas no presente documento. Como é bem conhecido por uma pessoa versada na técnica, é comum realizar ensaios EIA ou ELISA para testar a ligação entre duas moléculas e comum adotar tais ensaios para um formato de alto rendimento.

[0275] De modo similar, um ensaio de *immunoblotting* pode ser usado para determinar a ligação entre duas proteínas, como um agente terapêutico e um CA19-9. Os detalhes dos ensaios de *immunoblotting* foram descritos na Seção 6.3.2.5. Em uma modalidade, um CA19-9 pode estar em uma membrana e a ligação entre um anticorpo terapêutico e o CA19-9 pode ser determinada em qualquer ensaio de *immunoblotting* descrito na Seção 6.3.2.5.

[0276] Adicionalmente, um ensaio FACS pode ser usado para determinar a ligação entre duas proteínas, como um agente terapêutico e um CA19-9. Os detalhes dos ensaios FACS foram descritos na Seção 6.3.2.5. Em uma modalidade, uma célula que normalmente não expressa CA19-9 pode ser geneticamente modificada para expressar um

ou mais CA19-9 e a ligação entre um agente terapêutico (como um anticorpo terapêutico, uma proteína terapêutica ou um peptídeo terapêutico) e o CA19-9 pode ser determinada em qualquer ensaio FACS descrito na Seção 6.3.2.5 medindo o aumento na ligação dos agentes terapêuticos às células que expressam CA19-9 em relação às células de controle que não expressam CA19-9.

[0277] Ligação entre um agente terapêutico e um CA19-9 pode também ser determinada em um ensaio de imunoprecipitação, um ensaio de coprecipitação ou um ensaio de coimunoprecipitação. Em um ensaio de imunoprecipitação, um anticorpo (como um anticorpo terapêutico) contra uma proteína alvo específica (como CA19-9) forma um complexo imune com esse alvo em uma amostra, como um lisado celular. O complexo imune é então capturado ou precipitado, em um suporte encapsulado em que uma proteína de ligação ao anticorpo é imobilizada (como a proteína A ou G), e quaisquer proteínas não precipitadas nas microesferas são lavadas. Por fim, a proteína alvo (e o anticorpo, se não estiver covalentemente ligado às microesferas e/ou ao usar tampões desnaturantes) é eluída do suporte e analisada por uma variedade de meios, como por espectrometria de massa (com ou sem digestão enzimática) ou por eletroforese em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) (frequentemente combinada com *western blotting*)

[0278] A coimunoprecipitação é uma extensão da imunoprecipitação que se baseia no potencial de reações de imunoprecipitação para capturar e purificar o alvo primário (como um CA19-9), bem como outras macromoléculas que estão ligadas ao alvo principal por interações na solução de amostra. Por exemplo, se a proteína X puder se ligar à proteína Y, uma imunoprecipitação de proteína X como descrito acima fará com que alguma proteína Y seja coimunoprecipitada, pois a proteína Y está ligada à proteína X. A proteína Y pode ser eluída do com-

plexo imunoprecipitado e analisada por uma variedade de meios, como por espectrometria de massa (com ou sem digestão enzimática) ou por eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) (frequentemente combinada com *western blotting*). Como tal, a ligação entre a proteína X e a proteína Y pode ser determinada. Um ensaio de coprecipitação é realizado de acordo com essencialmente o mesmo princípio e formato que um ensaio de imunoprecipitação ou coimunoprecipitação, exceto que nenhum anticorpo é usado em um ensaio de coprecipitação. Por exemplo, microesferas de glutationa-agarose podem ser usadas para precipitar uma proteína X fundida com GST. A proteína Y ligada à proteína X pode ser identificada juntamente com a proteína X no precipitante por uma variedade de meios como na imunoprecipitação e tal coprecipitação da proteína X e da proteína Y poderia indicar que as duas proteínas podem interagir.

[0279] Em um ensaio de imunoprecipitação, um ensaio de coimunoprecipitação ou um ensaio de coprecipitação, o parceiro de ligação da proteína alvo precipitada pode também ser detectado ou determinado por espectrometria de massa (incluindo combinação de cromatografia líquida e espectrometria de massa, LC-MS) para identificar milhares de parceiros de ligação em um ensaio. Por exemplo, se um CA19-9 for a proteína alvo que é precipitada em qualquer um dos ensaios de precipitação fornecidos no presente documento, todo e qualquer parceiro de interação ligado ao CA19-9 pode ser eluído e submetido à espectrometria de massa (incluindo LC-MS) para identificação . Como tal, se um CA19-9 foi colocado em contato com uma biblioteca de moléculas, todas as moléculas da biblioteca que podem se ligar ao CA19-9 podem ser identificadas de uma vez em um ensaio. Como é bem conhecido por um versado na técnica, é comum realizar um ensaio de imunoprecipitação, um ensaio de coimunoprecipitação ou um ensaio de coprecipitação para testar a ligação entre duas moléculas e

comum adotar tais ensaios para um formato de alto rendimento.

[0280] Além disso, a ligação entre um agente terapêutico e um CA19-9 pode também ser determinada em um ensaio de ressonância plasmônica de superfície (SPR) . Em ensaios SPR, as moléculas alvo, mais frequentemente as proteínas, são imobilizadas em uma superfície de sensor de ouro preparada e uma amostra contendo um potencial parceiro de interação em solução é injetada sobre a superfície através de uma série de células de fluxo. Durante o curso da interação, a luz polarizada é direcionada para a superfície do sensor e o ângulo de luz refletida de intensidade mínima é detectado. Esse ângulo muda como as moléculas se ligam e se dissociam e, dessa forma, o perfil de interação é registrado em tempo real em um sensorgrama. Em um exemplo de tal ensaio SPR para ligação entre Sialil-Lewis^{a} e um anticorpo terapêutico, sLe^{a} univalente marcado com biotina (Cat # 02-044) ou sLe^{a} PAA-biotina polivalente (Cat # 01-044) pode ser acoplado a células de fluxo separadas de um chip biossensor SPA de acordo com as instruções do fabricante. Uma célula de fluxo bloqueada com HSA e meio de cultura contendo biotina livre é usada como uma célula de referência. Os parâmetros cinéticos de ligação podem ser determinados a partir de várias concentrações conhecidas de anticorpo diluído em tampão HBS-EP (10 mmol/l de HEPES, pH 7,4, 150 mmol/l de NaCl, 3,4 mmol/l de EDTA, tensoativo P20 a 0,005%) usando a célula de fluxo revestida com sLe^{a}-PAA-biotina. O software de ajuste de curva fornecido pelo instrumento Biacore é, então, usado para gerar estimativas das taxas de associação e dissociação a partir do qual as afinidades são calculadas. O sistema de ensaio SPR comercial está disponível, como um Biacore 3000 (GE Healthcare). Exemplos de ensaios SPR implementados foram descritos na Patente US 9.475.874. Como é bem conhecido por uma pessoa versado na técnica, é comum realizar um ensaio de SPR para testar a ligação entre

duas moléculas.

[0281] Adicionalmente, é comum usar ensaios de cromatografia ou deslocamento em gel para medir as interações entre um agente terapêutico e CA19-9 (ou Sialil Lewis^a), como descrito em Hellman LM *et al*., Nat Protoc. 2007; 2 (8): 1849-1861; Mallik R *et al*., J Chromatogr A 23 de abril de 2010; 1217 (17): 2796-2803; Koeplinger KA *et al*., Analytical Biochemistry (1996) 243 (1): 66-73; Chan J*et al*., Mol Cell Proteomics. Julho de 2012; 11 (7): M1 11.016642. Bloustine J, *et al*., Biophys J. outubro de 2003; ;85(4): 2619-2623, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência. Também é comum usar calorimetria de titulação isotérmica para medir interações entre um agente terapêutico e CA19-9 (ou Sialil Lewis^a), como descrito em Freyer MW *et al*., Methods Cell Biol. 2008;84:79-113, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0282] Além disso, é comum usar ensaios de fluorescência (como espectroscopia de correlação de fluorescência e polarização/anisotropia fluorescente) para medir as interações entre um agente terapêutico e CA19-9 (ou Sialil Lewis^a), como descrito em Langowski J, Methods Cell Biol. 2008;85:471-84; Lagerkvist AC *et al*., Protein Science (2001), 10:1522-1528; Melo AM, *et al*., Quantifying Lipid-Protein Interaction by Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS). In: Engelborghs Y., Visser A (eds) Fluorescence Spectroscopy and Microscopy. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), vol 1076. Humana Press, Totowa, NJ; Hall MD *et al*., Methods and Applications in Fluorescence, 2016; volume 4, número 2, 022001; Gijsbers A *et al*., J Vis Exp. Outubro de 2016 21;(116); James NG *et al*., Methods Mol Biol. 2014;1076:29-42; Jameson DM *et al*., Methods Mol Biol. 2005;305:301-22, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0283] Uma pessoa versada na técnica pode também usar ensaios de ligação competitiva de rotina para medir as interações entre um agente terapêutico e CA19-9 (ou Sialil Lewis[a]), como descrito em Hu L*et al*., Anal Chem. Maio de 201321;85(10):5071-7; Crolla LJ *et al*., Clinical Chemistry, Capítulo 3, pp 57-68, ACS Symposium Series, Vol. 36, ISBN13: 9780841203457; Schmidt KJ *et al*., Laboratory Medicine, outubro de 1972, páginas 42-45, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0284] De modo similar, também é comum usar transferência ressonante de energia por fluorescência (FRET) para medir as interações entre um agente terapêutico e CA19-9 (ou Sialil Lewis[a]), como descrito em Margineanu A *et al*, Sci Rep . 2016 junho 24;6:28186; Vercruysse T *et al*., RNA Biology, 8:2, 316-324; Du Y*et al*., Assay Drug Dev Technol. Julho de 2013; 11 (6): 367-381, todos incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência. Na mesma linha, é comum usar a transferência ressonante de energia por bioluminescência (BRET) para medir as interações entre um agente terapêutico e CA19-9 (ou Sialil Lewis[a]) nos métodos fornecidos no presente documento, como descrito em Cui B, *et al*., MBio , 5 (3), e01050-14; Dimri S*et al*., Methods Mol Biol. 2016;1443:57-78; Mild JG, *et al*., Mol Biotechnol (2018). pp 1-11, todos incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0285] Outros ensaios de ligação de rotina bem conhecidos disponíveis são descritos em Ligand - Binding Assays: Development, Validation, and Implementation in the Drug Development Arena, Editado por Khan MN e Findlay JW, ISBN:9780470041383; Golemis E Protein- interactions: A molecular cloning manual. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press. p ix, 682. (2002); Phizicky EM, *et al*., Protein-protein interactions: Methods for detection and analysis. Microbiol Rev (1995) 59:94-123, todos os quais estão incorporados no pre-

sente documento em sua totalidade a título de referência.

6.3.2. ENSAIOS PARA ATIVIDADES TERAPÊUTICAS CONTRA PANCREATITE

[0286] Como descrito acima, uma causa subjacente de pancreatite é a inflamação pancreática e dano pancreático. Portanto, os ensaios úteis para avaliar a eficácia dos métodos fornecidos no presente documento para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite podem incluir empregar uma ou mais etapas dos métodos fornecidos no presente documento, por exemplo, administrar por vários regimes de dosagem um agente terapêutico fornecido no presente documento a um sistema de ensaio, determinar uma ou mais leituras do sistema de ensaio e comparar as leituras entre o grupo tratado com agente terapêutico e o grupo tratado com controle (placebo) (ou uma faixa de referência). Mudanças nas leituras são usadas para determinar as atividades do agente terapêutico para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite.

[0287] Como descrito na Seção 6.2.2, a pancreatite pode ser determinada e observada determinando, medindo ou observando vários indicadores e/ou marcadores. Portanto, os sistemas de ensaio descritos nessa Seção podem usar uma ou mais leituras com base em um ou mais marcadores, como discutido acima na Seção 6.2.2 Biomarcadores.

6.3.2.1. IMUNOISTOQUÍMICA (IHC) OU ENSAIOS DE COLORAÇÃO HISTOLÓGICA PARA PANCREATITE

[0288] Como descrito na Seção 6.2.2, os marcadores para pancreatite incluem anormalidades na histologia pancreática (por exemplo, de coloração histológica ou coloração IHC das amostras de tecido pancreático). Esses marcadores histológicos incluem anormalidades na expressão de uma ou mais proteínas no pâncreas, presença ou números anormais de certo tipo de células não pancreáticas (por

exemplo, células imunes, incluindo leucócitos, macrófagos e neutrófilos) no pâncreas, alterações anormais na abundância ou número de certas células no pâncreas e anormalidades na estrutura de células pancreáticas ou tecidos pancreáticos (por exemplo, anormalidades no parênquima pancreático, ductos pancreáticos, ilhotas de Langerhans e células/tecidos acinares). Portanto, os ensaios úteis para avaliar a eficácia dos métodos fornecidos no presente documento para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite incluem ensaios para coloração histolopatológica e/ou ensaios IHC para detectar tais anormalidades na histologia pancreática.

[0289] Em algumas modalidades do ensaio nos métodos fornecidos no presente documento, um agente terapêutico é administrado de acordo com os métodos fornecidos no presente documento a um sistema de ensaio modelo como discutido adicionalmente abaixo na Seção 6.3.3, e um ou mais marcadores histológicos são determinados pelos ensaios descritos nessa seção. Os agentes terapêuticos que revertem as anormalidades dos marcadores histológicos na pancreatite ou alteram os marcadores histológicos em direção a um nível de referência normal ou de um indivíduo de controle saudável podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento.

[0290] **[00303]** Como é bem conhecido por uma pessoa versada na técnica, é comum realizar um ensaio IHC para determinar qualquer um dos marcadores histológicos de pancreatite. Para os ensaios de IHC, as técnicas de IHC que utilizam um anticorpo para sondar e visualizar antígenos celulares in situ, em geral, por métodos cromogênicos ou fluorescentes, são bem conhecidas na técnica. Os anticorpos primários ou antissoros, como antissoros policlonais e anticorpos monoclonais que se ligam especificamente a uma proteína alvo, podem ser usados para detectar os níveis de um alvo em um ensaio IHC. Em algumas modalidades, a amostra de tecido é colocada em contato com

um anticorpo primário para um alvo específico durante um período de tempo suficiente para que ocorra a ligação anticorpo-alvo. Os anticorpos podem ser detectados por marcadores diretos nos próprios anticorpos, por exemplo, marcadores radioativos, marcadores fluorescentes, marcadores de hapteno, como biotina, ou uma enzima, como peroxidase de raiz-forte ou fosfatase alcalina. Alternativamente, um anticorpo primário não marcado é usado em conjunto com um anticorpo secundário marcado, como antissoros, antissoros policlonais ou um anticorpo monoclonal específico para o anticorpo primário. Um anticorpo secundário marcado com enzima pode, então, ser aplicado, o que reconhece especificamente o isotipo de anticorpo do anticorpo primário (segunda camada). O anticorpo secundário reage com o anticorpo primário e pode ser seguido de desenvolvimento de um sinal de detecção, como a aplicação de substrato-cromógeno. O anticorpo de segunda camada pode ser marcado com uma enzima, como uma peroxidase, que reage com o cromógeno 3, 3'-diaminobenzidina (DAB) para produzir um precipitado marrom no sítio de reação. Esse método é sensível e versátil devido à potencial amplificação de sinal através da aplicação de um sistema de amplificação de sinal. Os protocolos e kits de IHC são bem conhecidos na técnica e estão comercialmente disponíveis. Sistemas automatizados para preparação de lâminas e processamento de IHC estão comercialmente disponíveis. O sistema Leica BOND Autostainer e Leica Bond Refine Detection é um exemplo de tal sistema automatizado.

[0291] Os ensaios fornecidos no presente documento podem também usar coloração histolopatológica rotineira utilizando moléculas diferentes de anticorpos para visualizar estruturas histológicas pancreáticas e detectar anormalidades na histologia pancreática. Na coloração histopatológica, um ou mais corantes de coloração são usados para marcar células, tecidos, ácidos nucleicos, proteínas, lipídeos e/ou ou-

tros componentes celulares ou de tecido para auxiliar no exame microscópico da histologia pancreática. O procedimento típico de coloração histopatológica envolve fixação, processamento, embebimento, corte, coloração, lavagem/desenvolvimento como descrito em Alturkistani *et al*., Histological Stains: A Literature Review and Case Study, *Glob J Health Sci.,* (março de 2016), 8 (3): 72-79, ou como comercialmente disponível da Leica Biosystems (por exemplo, Infinity Stain Kit System da Leica). Uma coloração histolopatológica exemplificativa é a coloração com hematoxilina e eosina (H&E) que é usado rotineiramente com todas as amostras de tecido para revelar as estruturas e condições subjacentes do tecido. Como é evidente para uma pessoa versada na técnica, a coloração histopatológica e IHC podem ser combinadas em várias permutações e combinações para os ensaios contemplados por essa invenção.

[0292] Consequentemente, em algumas modalidades do ensaio para os agentes terapêuticos ou os métodos fornecidos no presente documento, um agente terapêutico é administrado de acordo com os métodos fornecidos no presente documento a um sistema de ensaio modelo como discutido adicionalmente abaixo na Seção 6.3.3, e as anormalidades no pâncreas são determinadas por coloração histopatológica e/ou IHC como descrito nessa seção. Os agentes terapêuticos que reduzem, alteram ou revertem as anormalidades na histologia pancreática em direção à histologia pancreática de referência normal ou de um indivíduo controle saudável podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento.

6.3.2.2. ENSAIOS DE PANCREATITE POR IMAGEAMENTO

[0293] Como discutido acima, os marcadores de pancreatite podem também ser detectados por ensaios de imageamento. Anormalidades nas estruturas pancreáticas podem ser imageadas, por exemplo, com ultrassom (como EUS), tomografia computadorizada, colan-

giopancreatografia retrógrada endoscópica (CPRE) e imageamento por ressonância magnética (como MRCP), com ou sem aumento de contraste, como é bem conhecido por uma pessoa versada na técnica. Marcadores de pancreatite exemplificativos detectados por imageamento foram descritos acima na Seção 6.2.2.2. Portanto, em algumas modalidades dos ensaios para atividades dos agentes terapêuticos fornecidos no presente documento, os agentes terapêuticos são administrados de acordo com os métodos fornecidos no presente documento a um sistema de ensaio modelo, como discutido adicionalmente abaixo na Seção 6.3.3, e as anormalidades no pâncreas são determinadas pelos ensaios de imageamento como descrito nessa seção. Os agentes terapêuticos que reduzem, melhoram, alteram ou revertem as anormalidades nos marcadores de pancreatite (descritos na Seção 6.2.2 e 6.2.1) detectados pelos ensaios de imageamento em direção à faixa de referência normal dos marcadores ou de um indivíduo controle saudável podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento.

[0294] Como é bem conhecido por uma pessoa versada na técnica, é comum realizar um ensaio de imageamento para determinar qualquer um dos marcadores de pancreatite fornecidos no presente documento. Os protocolos detalhados para os ensaios de imageamento são bem conhecidos por uma pessoa versada na técnica e foram descritos em Etemad B*et al*., Gastroenterology 2001;120:682-707; Duggan, SN, *et al*., World J Gastroenterol 2016; 22 (7): 2304-2313; e Capítulo 37 e 38 em Acute Pancreatitis e Chronic Pancreatitis, respectivamente, GI/Liver Secrets Plus, 4ª edição, editado por McNally PR, 2010; Sai JK *et al*, World J Gastroenterol 28 de fevereiro de 2008; 14 (8): 1218-1221; Banks PA *et al*., Gut 2013;62:102-111; Iglesias-Garia Jet a., Gut 2006;55:1661- 1684, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

6.3.2.3. ENSAIOS DE PANCREATITE COM BASE EM MARCADORES SOROLÓGICOS

[0295] Os marcadores sorológicos, urinários e fecais fornecidos na Seção 6.2.2.1 podem ser detectados por ensaios bioquímicos, como um ensaio imunológico, como é bem conhecido por uma pessoa versada na técnica. O formato de tais ensaios pode incluir ensaio ELISA, um teste de tira, um ensaio FACS baseado em microesferas, um ensaio de *western blotting*, um ensaio de cromatografia (por exemplo, FPLC e HPLC), um ensaio de espectroscopia, um ensaio colorimétrico e espectrometria de massa.

[0296] Em algumas modalidades do ensaio nos métodos fornecidos no presente documento, um agente terapêutico é administrado de acordo com os métodos fornecidos no presente documento a um sistema de ensaio modelo como discutido adicionalmente abaixo na Seção 6.3.3, e um ou mais marcadores sorológicos são determinados pelos ensaios descritos nessa seção. Os agentes terapêuticos que revertem as anormalidades dos marcadores sorológicos na pancreatite ou alteram os marcadores de nível sorológico em direção a um nível de referência normal ou de um indivíduo e controle saudável podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento.

[0297] Amilase, lipase, CRP séricas e outros marcadores fornecidos na Seção 6.2.2.1 podem ser detectados usando imunoensaios, como um Imunoensaio Enzimático (EIA) ou um ELISA. Ambos os ensaios EIA e ELISA são conhecidos na técnica, *por exemplo,* para análise de uma ampla variedade de tecidos e amostras, incluindo sangue, urina, soro ou tecidos pancreáticos. Uma ampla gama de formatos de ensaio ELISA está disponível, consultar, por exemplo, Patentes US nº 4.016.043, nº 4.424.279 e nº 4.018.653, que estão incorporadas no presente documento a título de referência em sua totalidade. Esses incluem ensaios de sítio único e de dois sítios ou "sanduíche" dos tipos

não competitivos, bem como nos ensaios de ligação competitiva tradicionais. Esses ensaios incluem também a ligação direta de um anticorpo marcado a uma proteína alvo. Ensaios sanduíche são ensaios comumente usados. Há várias variações da técnica do ensaio sanduíche. Por exemplo, em um ensaio direto típico, um anticorpo não marcado é imobilizado em um substrato sólido e a amostra a ser testada é colocada em contato com o anticorpo imobilizado. Após um período adequado de incubação, por um período de tempo suficiente para permitir a formação de um complexo de anticorpo-antígeno, um segundo anticorpo específico para o antígeno, etiquetado com uma molécula repórter que pode produzir um sinal detectável é, então, adicionado e incubado, permitindo tempo suficiente para a formação de outro complexo de anticorpo marcado com anticorpo-antígeno. Um material não reagido é lavado e a presença do antígeno é determinada pela observação de um sinal produzido pela molécula repórter. Os resultados podem ou ser qualitativos, pela simples observação do sinal visível ou podem ser quantificados em comparação com uma amostra controle que contém quantidades conhecidas de proteína alvo.

[0298] Em algumas modalidades dos ensaios EIA ou ELISA, uma enzima é conjugada ao segundo anticorpo. Em outras modalidades, anticorpos secundários marcados fluorescentemente podem ser usados no lugar do anticorpo secundário marcado com enzima para produzir um sinal detectável em um formato de ensaio ELISA. Quando ativado por iluminação com luz de um comprimento de onda específico, o anticorpo marcado com fluorocromo adsorve a energia da luz, induzindo um estado de excitação na molécula, seguido de emissão da luz em uma cor característica detectável por um equipamento de detecção. Tal como no EIA e no ELISA, o anticorpo marcados fluorescentemente pode se ligar ao primeiro complexo anticorpo-proteína alvo. Após a lavagem do reagente não ligado, o complexo terciário res-

tante é, então, exposto à luz do comprimento de onda adequado, e a fluorescência observada indica a presença ou quantidade da proteína alvo de interesse. As técnicas de imunofluorescência e EIA são ambas muito bem estabelecidas na técnica e são descritas no presente documento.

[0299] Em uma modalidade, o ensaio fornecido no presente documento emprega uma técnica de imunoensaio enzimático sanduíche quantitativo. Um anticorpo monoclonal específico para um marcador de pancreatite fornecido no presente documento é pré-revestido em uma microplaca. Os padrões e as amostras (por exemplo, amostras de sangue ou soro) são pipetados nos poços e qualquer marcador presente é ligado pelo anticorpo imobilizado. Após a lavagem de quaisquer substâncias não ligadas, o anticorpo policlonal ligado à enzima específico para o marcador é adicionado aos poços. Após uma lavagem para remover qualquer reagente de anticorpo-enzima não ligado, uma solução de substrato é adicionada aos poços e a cor se desenvolve proporcionalmente à quantidade do marcador ligado na etapa inicial, que se correlaciona com o nível do marcador na amostra (por exemplo, amostras de sangue ou soro). O desenvolvimento da cor é interrompido e a intensidade da cor é medida. As medições são usadas como uma aproximação para o nível do marcador na amostra (por exemplo, amostras de sangue ou soro).

[0300] Como é bem conhecido por uma pessoa versada na técnica, é comum realizar um ensaio EIA ou ELISA para determinar qualquer um dos marcadores de pancreatite fornecidos no presente documento. Ensaios comerciais exemplificativos para medir a amilase sérica, lipase sérica, CRP e outros marcadores de pancreatite foram fornecidos na Seção 6.2.2.1. Consequentemente, em algumas modalidades do ensaio nos métodos fornecidos no presente documento, um agente terapêutico é administrado de acordo com os métodos fornecidos no presente do-

cumento a um sistema de ensaio modelo como discutido adicionalmente abaixo na Seção 6.3.3, e os níveis de um marcador sorológico como amilase, lipase ou CRP são determinados pelos ensaios descritos nessa seção. Os agentes terapêuticos que reduzem o nível do marcador ou alteram o nível do marcador em direção a uma faixa de referência normal ou de um indivíduo de controle saudável podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento.

[0301] Em algumas modalidades, os métodos fornecidos no presente documento podem ser usados com alguns ensaios específicos de amilase, lipase e CRP, como são bem conhecidos por uma pessoa versada na técnica. Exemplos de tais ensaios específicos para amilase, lipase, CRP e outros marcadores sorológicos são descritos em Kaphalia BS, Capítulo 16, Biomarkers of acute and cronic pancreatitis in Biomarkers in Toxicology, editado por Gupta R., ISBN: 978-0-12-404630-6 (2014); Sutton PA, *et al*., Ann R Coll Surg Engl 2009; 91: 381-384; Matull WR, *et al*., J Clin Pathol 2006;59:340-344; Basnayake C *et al*., Aust Prescr 2015;38:128-30; e Jasdanwala S*et al*., Integr Mol Med, 2015; 2 (3): 189-195, todos incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

6.3.2.4. ENSAIOS PARA A FUNÇÃO DO PÂNCREAS

[0302] Em algumas modalidades do ensaio nos métodos fornecidos no presente documento, um agente terapêutico é administrado de acordo com os métodos fornecidos no presente documento a um sistema de ensaio modelo como discutido adicionalmente abaixo na Seção 6.3.3, e a função do pâncreas é determinada pelos ensaios descritos nessa seção. Os agentes terapêuticos que restauram a função do pâncreas ou alteram o nível da função do pâncreas para uma faixa de referência normal ou de um indivíduo controle saudável podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento. Vários protocolos detalhados para testar a função do pâncreas são bem conheci-

dos por uma pessoa versada na técnica e comuns para realizar, como descrito, por exemplo, em John G Lieb II e Peter V Draganov, World J Gastroenterol. 28 de maio de 2008; 14 (20): 3149-3158; Clain JE, *et al*., Surg Clin North Am 1999;79:829-845; Couper R. Can J Gastroenterol 1997;11:153-156; Layer P, *et al*., J Clin Gastroenterol 1999;28:3-10; Toskes PP. Curr Gastroenterol Rep 1999;1:145-153; Capítulo 38 em Chronic Pancreatitis, GI/Liver Secrets Plus, 4ª edição, editado por McNally PR, 2010; todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

6.3.2.5. ENSAIOS PARA MARCADORES DE SINALIZAÇÃO

[0303] Em algumas modalidades do ensaio nos métodos fornecidos no presente documento, um agente terapêutico é administrado de acordo com os métodos fornecidos no presente documento a um sistema de ensaio modelo como discutido adicionalmente abaixo na Seção 6.3.3, e um ou mais marcadores de sinalização são determinados pelos ensaios descritos nessa seção. Os agentes terapêuticos que reduzem o nível dos marcadores de sinalização ou alteram o nível dos marcadores de sinalização em direção a uma faixa de referência normal ou de um indivíduo controle saudável podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento. Os marcadores de sinalização que podem ser usados nos ensaios são descritos acima na Seção 6.2.2.4.

[0304] Em algumas modalidades, os marcadores de sinalização podem ser detectados com anticorpos descritos no presente documento usando um ensaio de *immunoblotting*. Em algumas modalidades de um ensaio de *immunoblotting*, as proteínas podem ser (mas não precisam ser) separadas por eletroforese e transferidas para membranas (geralmente nitrocelulose ou membrana de PVDF), por exemplo, em um ensaio de *western blotting*. Similar aos ensaios de IHC, anticorpos primários ou antissoros, como antissoros policlonais e anticorpos mo-

noclonais que alvejam especificamente um marcador de sinalização podem ser usados para detectar o nível do marcador de sinalização. Em algumas modalidades, a membrana é colocada em contato com um anticorpo primário para um alvo específico durante um período de tempo suficiente para que ocorra a ligação anticorpo-antígeno e os anticorpos ligados podem ser detectados por marcadores diretos nos próprios anticorpos primários, por exemplo, com marcadores radioativos, marcadores fluorescentes, marcadores de hapteno, como biotina, ou enzimas, como peroxidase de raiz-forte ou fosfatase alcalina. Em outras modalidades, um anticorpo primário não marcado é usado em um ensaio indireto como descrito acima para ensaios de IHC em conjunto com um anticorpo secundário marcado específico para o anticorpo primário. Como descrito no presente documento, os anticorpos secundários podem ser marcados, por exemplo, com enzimas ou outros marcadores detectáveis, como marcadores fluorescentes, marcadores luminescentes, marcadores colorimétricos ou radioisótopos. Os protocolos e kits de *immunoblotting* são bem conhecidos na técnica e estão comercialmente disponíveis. Sistemas automatizados para *immunoblotting*, por exemplo, iBind Western Systems para *western blotting* (ThermoFisher, Waltham, MA USA 02451), estão disponíveis comercialmente. O *immunoblotting* inclui, porém sem limitação, *Western blot*, *Western blot* na célula e *dot blot*. *Dot blot* é um procedimento simplificado no qual as amostras de proteínas não são separadas por eletroforese, mas são manchadas diretamente em uma membrana. Em *Western blot* de células envolve a inoculação de células em placas de microtitulação, fixação/permeabilização das células e a detecção subsequente com um anticorpo primário marcado ou um anticorpo primário não marcado seguido de um anticorpo secundário marcado como descrito no presente documento.

[0305] Em outras modalidades, os níveis de marcadores de sinali-

zação podem também ser detectados com os anticorpos descritos no presente documento em um ensaio de citometria de fluxo, incluindo um ensaio de classificação de células ativadas por fluorescência (FACS). Similar aos ensaios de IHC ou *immunoblotting*, anticorpos primários ou antissoros, como antissoros policlonais e anticorpos monoclonais que alvejam especificamente um marcador de sinalização podem ser usados para detectar os níveis do marcador de sinalização em um ensaio FACS. Em algumas modalidades, as células são coradas com anticorpos primários contra um marcador de sinalização específico durante um período de tempo suficiente para que ocorra a ligação anticorpo-antígeno e os anticorpos ligados podem ser detectados por marcadores diretos nos anticorpos primários, por exemplo, marcadores fluorescentes ou marcadores de hapteno, como biotina nos anticorpos primários. Em outras modalidades, um anticorpo primário não marcado é usado em um ensaio indireto como descrito acima para ensaios de IHC em conjunto com um anticorpo secundário marcados fluorescentemente específico para o anticorpo primário. FACS fornece um método para classificar ou analisar uma mistura de células biológicas marcadas fluorescentemente, uma célula de cada vez, com base na dispersão de luz específica e nas características fluorescentes de cada célula. O citômetro de fluxo, portanto, detecta e relata a intensidade do anticorpo marcado com fluorocromo, que indica os níveis do marcador de sinalização em cada célula. Portanto, os níveis de marcadores de sinalização podem ser detectados usando anticorpos contra o marcador de sinalização. Um marcador de sinalização citoplasmático pode também ser observado por coloração de células permeabilizadas. Os métodos para realizar a coloração e análises FACS são bem conhecidos por uma pessoa versada na técnica e são descritos por Teresa S. Hawley e Robert G. Hawley em Flow Cytometry Protocols, Humana Press, 2011 (ISBN 1617379506, 9781617379505). É

comum para uma pessoa versada na técnica realizar um ensaio FACS e um ensaio de *immunoblotting* para determinar qualquer um dos marcadores de sinalização fornecidos no presente documento.

[0306] Como é conhecido por uma pessoa versada na técnica, os níveis de marcadores de sinalização podem também ser rotineiramente detectados usando imunoensaios, como um Imunoensaio enzimático (EIA) ou um ELISA como descrito acima na Seção 6.3.2.3.

6.3.3. SISTEMAS DE MODELO PARA OS ENSAIOS

6.3.3.1. MODELOS ANIMAIS

[0307] A invenção fornece modelos animais *(por exemplo,* modelo de camundongo transgênico), em que o animal *(por exemplo,* camundongo) é geneticamente modificado para expressar CA19-9 no pâncreas e desenvolver pancreatite. As seguintes descrições são fornecidas usando camundongo como o modelo animal exemplificativo, mas uma pessoa versada na técnica entenderia que a invenção inclui e é aplicável a outros animais, por exemplo, macaco, porco, cachorro, rato, e/ou coelho. A invenção fornece ainda que CA19-9 é gerado pela adição gradual de diferentes porções químicas de açúcar às cadeias precursoras do Tipo 1, culminando na ligação α1,4 de fucose a GlcNAc. Como usado no presente documento, Fut3 se refere a uma fucosiltransferase com a capacidade para adicionar porções químicas de fucose através de uma ligação α1,4. Em uma modalidade de um modelo de pancreatite de camundongo transgênico, células-tronco embrionárias de camundongo (mESCs) podem ser geradas, em que os mESCs expressam *Fut3* e *β3GalT5 por meio de* um promotor induzível dependente da expressão específica de tecido de Cre, recombinação de uma cassete de parada flanqueada LoxP (LSL) e administração de Doxiciclina (Dox). Os camundongos podem ser gerados a partir de mESCs com e sem transfecção Cre para gerar linhas que são dependentes ou independentes da expressão de Cre. Nesses camundongos

transgênicos, a expressão de *Fut3* e *β3GalT5* e, portanto, a expressão de CA19-9 podem ser induzidas com a administração de Dox. Como tal, a invenção fornece camundongos em que a expressão de CA19-9 pode ser induzida em todo o pâncreas dos camundongos, camundongos em que a expressão de CA19-9 pode ser induzida em áreas focais do pâncreas dos camundongos e camundongos em que a expressão de CA19-9 pode ser induzida em todo o corpo dos camundongos. Esses camundongos são chamados de modelos de camundongo CA19-9 e cada um pode ser usado nos métodos fornecidos no presente documento.

[0308] Em todos os modelos de camundongos CA19-9 em que a expressão de CA19-9 é induzida no pâncreas, os tecidos não pancreáticos exibem histologia normal em relação aos controles geneticamente negativos da ninhada após um período de tratamento com Dox. A indução da expressão de CA19-9 no pâncreas do modelo de camundongo resulta em pancreatite, incluindo múltiplos sinais fisiológicos, histológicos e sorológicos de pancreatite (por exemplo, atrofia acinar, invasão de células imunes, deposição de colágeno, lipase e amilase elevadas), enquanto nenhuma pancreatite pode ser observada em controles negativos genéticos tratados com Dox ou em camundongos não tratados. Adicionalmente, os camundongos CA19-9 com expressão induzida de CA19-9 em todos os camundongos exibem perda de peso corporal e atrofia pancreática após a expressão de CA19-9, em alguns casos resultando em perda de mais de 20% de massa corporal e eutanásia subsequente. Todos os tecidos, exceto o pâncreas, permanecem saudáveis nos camundongos CA19-9 com expressão induzida de CA19-9 nos camundongos inteiros, demonstrando que a pancreatite em camundongos CA19-9 após a expressão de CA19-9 não é mediada por autoimunidade.

[0309] Camundongos CA19-9 que têm expressão induzida de

CA19-9 no pâncreas inteiro desenvolvem pancreatite altamente penetrante e níveis elevados de amilase e lipase sem perda de peso corporal ou pancreático. Os tipos de células imunes presentes no baço, linfonodos e pâncreas de camundongos CA19-9 que têm expressão induzida de CA19-9 em todo o pâncreas são comparáveis com o modelo de ceruleína (discutido abaixo) de pancreatite aguda. Ambos os camundongos CA19-9 que têm expressão induzida de CA19-9 em todo o pâncreas e modelos de ceruleína exibem um influxo dependente de tratamento de monócitos inflamatórios e macrófagos no pâncreas sem qualquer alteração na representação do tipo de célula imune no baço ou linfonodos. Os camundongos CA19-9 que têm expressão induzida de CA19-9 em áreas focais do pâncreas desenvolveram focos de pancreatite menores e níveis elevados de amilase e lipase em relação aos controles genéticos e não tratados sem perda de peso corporal ou pancreático e exibiram o padrão de expressão de CA19-9 esperado. Todos os modelos de camundongos CA19-9 exibem pancreatite crônica com múltiplos marcadores histológicos para pancreatite crônica. O CA19-9 também é detectável no plasma do modelo de camundongo CA19-9 com expressão de CA19-9 em todo o corpo dos camundongos e o modelo de camundongo CA19-9 com expressão de CA19-9 em todo o pâncreas dos camundongos. Em uma modalidade, camundongos CA19-9 com expressão de CA19-9 em todo o pâncreas fornecem a alta penetrância do fenótipo de pancreatite sem perda de peso. Como usado no presente documento, a penetrância de pancreatite se refere à porcentagem de área do pâncreas que é afetada pela pancreatite: quanto maior a porcentagem de áreas afetadas, maior a penetrância.

[0310] Adicionalmente, os modelos de pancreatite adequados para os métodos fornecidos no presente documento incluem pacientes clínicos humanos com pancreatite. Esses pacientes para testes clínicos

podem ser identificados de acordo com os marcadores de pancreatite e o esquema de classificação descritos acima na Seção 6.2.2.

6.3.3.2. MODELOS DE CÉLULAS

[0311] Alternativamente, os modelos celulares que recapturam algumas ou todas as vias de sinalização ou mecanismos na pancreatite podem ser usados nos métodos fornecidos no presente documento para identificar os agentes terapêuticos, confirmando as atividades dos agentes terapêuticos na redução ou aumento de marcadores de sinalização como descrito acima, determinando os resultados terapêuticos dos agentes terapêuticos na pancreatite e testando a eficácia dos agentes terapêuticos na pancreatite. Além disso, como discutido acima, qualquer um dos modelos de células fornecidos no presente documento pode ser usado em qualquer permutação ou combinação com os ensaios descritos no presente documento. Esses modelos de células adequados para os métodos fornecidos no presente documento incluem linhagens celulares de adenocarcinoma ductal pancreático de camundongo (PDAC) que foram geneticamente modificadas para expressar CA19-9 (por exemplo, introduzindo a expressão de *Fut3* e/ou *β3GalT5* nas células PDAC de camundongo) e linhagens celulares PDAC humanas (como Suit2). A invenção prevê que as células PDAC que expressam CA19-9, natural ou recombinantemente, recapitulam algumas ou todas as vias de sinalização e mecanismos subjacentes à pancreatite humana e podem ser usadas nos métodos e ensaios fornecidos no presente documento.

[0312] Adicionalmente, as células acinares primárias isoladas de animais (como porcos, macacos ou seres humanos) ou linhagens de células acinares (como a linhagem de células acinares pancreáticas de rato AR42J) podem ser usadas como modelos de células nos métodos fornecidos no presente documento para identificar os agentes terapêuticos, confirmar as atividades dos agentes terapêuticos na redução ou

aumento de marcadores de sinalização, como descrito acima, determinar os resultados terapêuticos dos agentes terapêuticos na pancreatite e testar a eficácia dos agentes terapêuticos na pancreatite. Células acinares de agrupamento simples, duplo e grande são obtidas usando um protocolo de digestão com colagenase como descrito em Burnham DB, *et al*., J Physiol 349: 475-482, 1984; Criddle DN, *et al*., J Gastroenterol Hepatol 21 Supl 3: S14-17, 2006; Peikin SR, *et al*., Am J Physiol 235 (6): E743-749, 1978; Schultz GS, *et al*., Exp Cell Res 130 (1): 49-62, 1980; Williams JA, *et al*., Am J Physiol 235 (5): 517-524, 1978, todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência. A invenção prevê que as células acinares recapitulam algumas ou todas as vias de sinalização e mecanismos subjacentes à pancreatite humana e podem ser usadas nos métodos e ensaios fornecidos no presente documento.

[0313] Culturas de células tridimensionais (3D), seja cultura 3D in vitro ou estruturas 3D isoladas de pâncreas de animais, podem também ser usadas como modelos de células nos métodos fornecidos no presente documento, como discutido acima. Essas culturas 3D recapitulam algumas ou todas as vias de sinalização e mecanismos subjacentes à pancreatite humana, incluindo a sinalização intracelular e a sinalização intercelular, e podem ser usadas nos métodos e ensaios fornecidos no presente documento. Estruturas 3D isoladas de pâncreas de animais incluem lóbulos pancreáticos, organoides pancreáticos e fatias de pâncreas.

[0314] Como é conhecido por uma pessoa versada na técnica, os lóbulos pancreáticos podem ser preparados por difusão dos mesmos por meio de injeção de tampão de bicarbonato de Krebs-Ringer no tecido conjuntivo frouxo do pâncreas e, então, excisando individualmente o lóbulos por microdissecção sob um estereomicroscópio. Esse procedimento minimiza o dano às células acinares, uma vez que a maior

parte do trauma cirúrgico é limitado aos ductos e vasos. Os lóbulos excisados preservam a arquitetura acinar geral do tecido e seu pequeno tamanho e permitem a fácil penetração de oxigênio e solutos do meio de incubação. Seguindo esse método, os lóbulos podem ser mantidos por várias horas em cultura e usados para ensaios subsequentes, incluindo ensaios de alto rendimento. O procedimento para isolar lóbulos pancreáticos adequados para os ensaios e os métodos são descritos em detalhes em Barreto SG, *et al*., Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 299 (1): G10-22, 2010; Barreto SG, *et al*., Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 297 (2): G333-339, 2009; Flowe KM, *et al*., Pancreas 9 (4): 513-517, 1994; Linari G, *et al*., Pharmacol Res Society 43 (3): 219-223, 2001; Scheele GA *et al*., J Biol Chem 250 (7): 2660-2670, 1975; Schloithe AC, *et al*., Neurogastroenterol Motil 20 (9): 1060-1069, 2008, todos incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0315] Como é conhecido, organoides se referem a culturas de células tridimensionais, tecidos ou órgãos. Os organoides pancreáticos podem ser gerados rapidamente a partir de tumores pancreáticos ressecados, tecidos pancreáticos e biópsias pancreáticas após digestão com colagenase XI e inoculação em Matrigel com fator de crescimento reduzido. O condicionamento do meio com o fator de crescimento R-espondina promove uma população de células predominantemente ductais. Esses organoides pancreáticos sobrevivem à criopreservação e exibem características ductais e específicas do estágio da doença. Além disso, os organoides pancreáticos de camundongos recapitulam com precisão aspectos fisiologicamente relevantes da progressão da doença in vitro. Após o transplante ortotópico, os organoides pancreáticos foram capazes de regenerar arquiteturas ductais normais. Em uma modalidade específica para preparar organoides pancreáticos, ductos de pâncreas podem ser colhidos após a digestão enzimática

com colagenase XI a 0,012% (Sigma) e dispase a 0,12% (GIBCO) em DMEM contendo FBS a 1% (GIBCO) e embebidos em Matrigel com fator de crescimento reduzido a 100% (GFR) (BD) para a manutenção dos organoides pancreáticos isolados. Procedimentos detalhados para isolamento e cultura de organoides pancreáticos são descritos em Boj SF, *et al*., Cell 160 (1-2): 324-338, 2015; Huch M, *et al*., EMBO J 32 (20): 2708-2721, 2013, ambos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0316] Para obter uma fatia do pâncreas, um gel de agarose de baixo ponto de fusão pode ser infundido no ducto pancreático de um camundongo anestesiado por meio de uma punção transduodenal e canulação do ducto biliar comum. O pâncreas pode, então, ser excisado e aparado. A agarose torna o pâncreas firme o suficiente para, então, ser cortado, usando um vibratome, com uma espessura de 80 a 140 µm. Além disso, a agarose é porosa e, portanto, fornece troca livre de tecido com tampão, garantindo saúde ideal em cultura por até dois dias. Os procedimentos detalhados para o isolamento e cultura de fatias pancreáticas são descritos em Huang YC, *et al*., J Physiol 589 (Pt 2): 395-408, 2011; Huch M, *et al*., EMBO J 32 (20): 2708-2721, 2013, ambos os quais são incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

[0317] Essas células e estruturas celulares 3D podem ser usadas em qualquer ensaio, como fornecido no presente documento, para medir qualquer ou qualquer combinação de marcadores de pancreatite, como fornecido no presente documento, por exemplo, marcadores de sinalização, marcadores histológicos, marcadores fisiológicos, marcadores funcionais e marcadores sorológicos. Em algumas modalidades específicas, as células e estruturas celulares 3D são usadas para testar os agentes terapêuticos usando sinalização de EGFR, por exemplo, fosforilação de EGFR, fosforilação de Erkl/2, fosforilação de

Akt, ou qualquer combinação das mesmas, como a medição do ensaio. Em outras modalidades específicas, as células e estruturas celulares 3D são usadas para testar os agentes terapêuticos usando CA19-9, Sialil-Lewis[a] ou qualquer combinação dos mesmos como a medição do ensaio.

6.3.4. ENSAIOS DE TRIAGEM DE ALTO RENDIMENTO

[0318] Os ensaios que usam as células e estruturas celulares 3D podem ser um ensaio de alto rendimento. Como é conhecido por uma pessoa versada na técnica, qualquer um dos ensaios descritos nas Seções 6.3.1, 6.3.2 e nos Exemplos pode ser adotado para um ensaio de alto rendimento quando se usa células ou estruturas de células 3D como o sistema modelo. O ensaio pode ser projetado para usar triagem de placas de 36 poços, 64 poços, 96 poços, 384 poços e 1536 poços medindo qualquer um dos marcadores de sinalização, marcadores histológicos e marcadores serológicos, como descrito no presente documento. Para configurar tais ensaios de alto rendimento, os sistemas de manipulação de líquidos são conhecidos na técnica para transferir agentes terapêuticos e outros reagentes de ensaio, por exemplo, sistemas PlateMate Plus da Matrix (Hudson, NH) e os sistemas Mini-Trak e Multiprobe II HTEX da PerkinElmer. Os dados com base nas medições de qualquer um dos marcadores de sinalização, marcadores histológicos e marcadores sorológicos, como descrito no presente documento, podem ser coletados usando sistemas de imageamento comercialmente disponíveis, como o ViewLux Imaging System (PerkinElmer). Em uma modalidade específica, células do tipo selvagem, estruturas de células 3D do tipo selvagem, células de indivíduos saudáveis ou estruturas de células 3D de indivíduos saudáveis podem ser usadas como controles nos ensaios de alto rendimento para indicar a faixa normal ou de referência das medições de qualquer um dos marcadores de sinalização, marcadores histológicos e marcadores soroló-

gicos.

[0319] Em algumas modalidades específicas, qualquer um dos ensaios de ligação fornecidos no presente documento pode ser rotineiramente adotado em formato de ensaio de alto rendimento para testar prontamente a ligação de milhares de pares de parceiros de ligação, por exemplo, entre um agente terapêutico e um CA19-9 (ou Sialil Lewis^a), para examinar uma biblioteca de moléculas para um agente terapêutico que se liga a um CA19-9 (ou Sialil Lewis^a), ou para identificar ou examinar uma biblioteca de CA19-9.

[0320] Alternativamente, qualquer um dos ensaios fornecidos no presente documento pode ser combinado com espectrometria de massa, como LC-MS, para identificar um CA19-9 ou um agente terapêutico de uma biblioteca de moléculas potenciais. Por exemplo, ensaios de imunoprecipitação, coimunoprecipitação ou coprecipitação podem ser combinados com espectrometria de massa (MS) ou espectrometria de massa de cromatografia líquida (LC-MS) para identificar CA19-9 precipitando anticorpo anti-Sialil-Lewis^a ou identificar uma molécula que se liga a um CA19-9 precipitando o CA19-9. Em uma modalidade de tal ensaio de alto rendimento adaptado, a coimunoprecipitação com um anticorpo anti Sialil-Lewis^a é combinada com **LC-MS** para identificar uma lista de CA19-9.

[0321] Como é bem conhecido por uma pessoa versada na técnica, é comum adotar um ou mais ensaios fornecidos no presente documento em um formato de alto rendimento para testar a ligação entre um agente terapêutico e CA19-9 (ou Sialil-Lewis^a) e testar os efeitos de um agente terapêutico em um ou mais marcadores em um sistema modelo fornecido no presente documento. Protocolos detalhados e vários formatos para adaptar ensaios para ensaios de alto rendimento são descritos em Szymanski P*et al*., Int J Mol Sei. 2012; 13 (1): 427-452; Klumpp, M., *et al*., Journal of biomolecular screening, 11 (6), 617-

633; Mayr, LM, *et al*., Journal of Biomolecular Screening, 2008; 13 (6), 443-448; Mayr, LM, *et al*., 2009; 9 (5), 580-588; D Cronk, D, Capítulo 8, em Drug Discovery and Development (Segunda Edição), 2013, editado por Hill RG, ISBN: 978-0-7020-4299-7, todos incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência.

7. EXEMPLOS

EXEMPLO 1

[0322] Os materiais usados nas modalidades nos EXEMPLOS foram preparados, fabricados, adquiridos, comprados, determinados, avaliados, validados e/ou obtidos da seguinte forma.

Espécimes Humanos:

[0323] Os espécimes humanos foram obtidos após a aprovação do comitê de ética humana Ethikkommission an der Technischen Universitat Dresden (Institute of Pathology, University Hospital Dresden, Dresden, Alemanha) e do Institutional Review Board (IRB) de Cold Spring Harbor Laboratory. O tecido pancreático normal foi obtido a partir de programas de transplante de ilhotas da University of Illinois em Chicago e University of Miami Miller School of Medicine. Um microarranjo de tecido foi preparado a partir de amostras de pacientes com pancreatite crônica obtidas após consentimento informado adequado em Dresden (Institute of Pathology, University Hospital Dresden). O consentimento informado foi obtido para cada paciente, após revisão pelo comitê de ética humana: Ethikkommission an der Technischen Universitat Dresden (EK59032007). As amostras de pancreatite crônica foram coletadas de 1993 a 2009 de pacientes submetidos à cirurgia. O diagnóstico de pancreatite crônica foi confirmado por um patologista (D.A.). O diagnóstico final foi estabelecido por um patologista com base no exame histológico e PDAC descartado nos grupos de doenças por um tempo médio de acompanhamento de 24 meses. Para pacientes com pancreatite, os critérios de inclusão para todas as coor-

tes incluíram consentimento informado por escrito dado pelos pacientes e pancreatite crônica preexistente. O diagnóstico de pancreatite crônica era feito se um ou mais dos seguintes critérios fossem cumpridos e nenhum outro diagnóstico fosse mais provável (Mayerle, J**.** *et al*., Dtsch Arztebl Int 110, 387-393, (2013), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência): surtos recorrentes de dor pancreática com aumento documentado na atividade da amilase ou lipase por mais de um ano e evidências radiológicas que sustentam o diagnóstico, calcificações pancreáticas, prova histológica de pancreatite crônica, alterações inequívocas na morfologia do ducto pancreático, testes de função pancreática severamente anormais com má digestão. As calcificações foram identificadas na TC, o diabetes foi diagnosticado como sugerido pela definição da OMS e a insuficiência exócrina foi determinada por medição de elastase fecal ou suplementação simultânea de enzimas pancreáticas. Os critérios de exclusão foram outras doenças malignas concomitantes, tratamento curativo para doença maligna nos últimos 2 anos antes do recrutamento, doenças císticas concomitantes do pâncreas, gravidez ou pacientes incapazes de dar consentimento informado. A determinação de CA19-9 foi realizada centralizada em um laboratório clínico certificado.

Anticorpos:

[0324] CD4 (100428, clone GK1.5), CD8 (100714, clone 53.6.7), clone TcR beta (109222, clone H57-597), TcR gama delta (118106, clone GL3), CD19 (152406, clone 1D3), CD45 (103138, clone 30-F11), NKp46 (137716, clone 29A1.4), CD11b (101224, clone Ml/70), CD11c (117318, clone N418), Ly6C (128016, clone HK1.4), Ly6G (27606, clone 1A8), PDGFRa (APA5), BV421 antirrato (4054) e estreptavidina (405214) foram adquiridos da Biolegend. CA19-9 (r5B-1, Mabvax (Sawada, R. *et al*. Clin Cancer Res 17, 1024-1032, (2011); Viola-Villegas, NT *et al*. Journal of nuclear medicine : publicação oficial, Society of

Nuclear Medicine 54, 1876-1882, (2013), ambos os quais estão incorporados em sua totalidade a título de referência)), CA19-9 (ATCC Hybridoma 1116-NS-19-9 HB8059), fosfo-EGFR (8G6.2, EMD Millipore, IHC), fosfo-ERKI/2 (4370, Cell Signaling), ERKI/2 (4695, Cell Signaling), fosfo-Akt (4060,2965, Cell Signaling), Akt (4685, Cell Signaling), fósforo ribossômico S6 (4858, Cell Signaling) e proteína ribossômica S6 (2317, Cell Signaling), fosfo- EGFR (3777, Cell Signaling), EGFR (71655, Cell Signaling), EGFR (4267, Cell Signaling), EGFR-Fc de camundongo recombinante (RnD), Ki67 (Spring Bioscience M3062), CK19 (TROMA III, DSHB), eGFP (A-11122, Termofisher), FLAG (Sigma, F7425), controle de isotipo humano (Synagis), controle de isotipo de camundongo (MOPC21).

EXEMPLO 2

Clonagem:

[0325] O cDNA de FUT3 humano foi amplificado por PCR, subclonado em pBabe-Neo e confirmado usando sequenciamento de Sanger. FUT3 humano eβ3GalT5 (Dharmacon, expressão lentiviral ampla de CCSB OHS6085-213580074) foram amplificados por PCR e subclonados como uma fusão de T2A (Fut3-T2A-β3GaIT5) em pBabe-Neo e na cassete de alvejamento ColA1 (Beard C, *et al*., Genesis. 2006;44(1):23-8).

Alvejamento de células-tronco embrionárias:

[0326] Células mES D34 (híbrido 129/C57Bl/6J F1) contendo o sítio FRT pré-alvejado ColA1 para troca de cassete mediada por recombinase (Beard, C., Genesis 44, 23-28, (2006), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência) e o CAGS-LSL-rtTA3 -IRES-mKate2 (Dow LE, *et al*., PLoS One. 2014;9(4):e95236, que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência) alelos foram usados para introduzir o construto Fut3-T2A-β3GalT5-IRES-eGFP orientado por TRE. Em

suma, a linhagem celular mES D34 foi descongelada em meio celular mES contendo LIF na passagem 3 em alimentadores de fibroblastos embrionários de camundongo DR4 irradiados em placas de cultura de tecidos revestidos com gelatina e foram trocados para condições 2i (Ying, QL *et al*., Nature 453, 519-523 (2008), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência) 48 horas depois. As células mES foram tripsinizadas e a refixação dos alimentadores DR4 irradiados foi permitida por 45 minutos a 37 °C. A eletroporação foi realizada usando 2,5 µg de FlpE e 5 µg do cassete de alvejamento contendo o transgene TRE-Fut3-T2A-β3GalT5-IRES-eGFP. 600.000 células mES foram ressuspensas em tampão de eletroporação (P3, Amaxa de Lonza), misturadas com DNA, transferidas para poços de tira de eletroporação e eletroporadas usando o programa de eletroporação Amaxa otimizado para células mES. Após a eletroporação, as células mES foram transferidas para placas de 6 cm contendo alimentadores DR4 irradiados. A seleção de higromicina B (140µg/ml, Roche) foi iniciada 48 horas depois e as colônias sobreviventes foram colhidas 11 dias depois para expansão e avaliação. Os clones de células mES foram tratados em uma placa separada com Geneticina para confirmar a recombinação correta 364 e restauração da sensibilidade à Neomicina. Além disso, em uma placa adicional, as células mES foram transfectadas com CRE e tratadas com Doxiciclina para confirmar a fluorescência de mKate dependente de Cre e a fluorescência de eGFP dependente de Cre e Dax.

[0327] Os camundongos foram gerados a partir de mESCs com e sem transfecção Cre para gerar linhagens que são dependentes ou independentes da expressão de Cre. Camundongos portadores de **R**osa26:CAGGS-rtTA-mKate, e ColA1 :TRE-**F**ut3-β3GalT5-GFP **(R;F-corpo inteiro),** Pdxl- OR p48 -**C**re, **R**osa26:CAGGS-LSL-rtTA371 mKate, e ColA1:TRE-LSL-**F**ut3- β3GalT5-GFP **($C^{PDX1/p48}$;R^{LSL};F^{LSL}-**

pâncreas focal), e Pdx1-**C**re, **R**osa26:CAGGS-LSL- rtTA-mKate e CoIA1 :TRE-**F**ut3- β3GalT5-GFP **(C^{PDX};R^{LSL};F - pâncreas inteiro)** foram gerados.

Isolamento de gDNA para Southern blotting:

[0328] O gDNA de células mES foi coletado de 15 clones (Gentra, Puregene). Resumidamente, as células foram lavadas duas vezes STF PBS e 300 µl de solução de lise celular foram adicionados por poço e as células foram raspadas usando um raspador de células. O lisado foi transferido para um novo tubo e incubado a 37 °C durante 45 minutos. 100 µl de solução de precipitação de proteína foram adicionados e o tubo foi invertido dez vezes. O lisado foi centrifugado por 2 minutos à velocidade máxima e o sobrenadante foi transferido para um novo tubo. 300 µl de isopropanol foram adicionados e o tubo invertido 50 vezes seguido de centrifugação por 2 minutos à velocidade máxima. O sobrenadante foi cuidadosamente decantado, manchado em papel absorvente e deixado secar ao ar. O pélete de DNA foi ressuspenso em 50 µl de água e incubado a 65 °C por uma hora e temperatura ambiente com agitação suave por 4 horas antes de ser armazenado a -20 °C.

Southern blotting e PCR:

[0329] O gDNA de células ES foi digerido com EcoRI (NEB) a 37 °C por 18 horas com agitação suave. O gDNA digerido foi conduzido para um gel de TAE a 0,8% por 22 horas a 20 a 35V. O gel foi corado com brometo de etídio durante a rotação por 10 minutos e imageado antes da lavagem em água. O gel foi incubado em solução desnaturante (NaOH 0,5N, NaCl 1,5M) durante rotação por 30 minutos seguido de uma lavagem em água. O gel foi incubado por 30 minutos em solução desnaturante (Tris 1M, NaCl 3M, pH 7,0) durante rotação por 30 minutos seguido de uma lavagem em água. O gel foi transferido por fluxo capilar em 20x SSC de um dia para o outro à temperatura ambiente em uma membrana de náilon (Schleicher & Schuell Nytran). A

membrana foi enxaguada em 2x SSC e colocada em papel Whatman para secar ao ar seguido de reticulação UV durante 60 segundos. A membrana foi colocada em 10 ml de solução Pre-Hyb em um tubo Robbins e incubada a 68 °C por 30 minutos em rotação. A lavagem com Pre-hyb foi repetida a 42 °C durante a rotação. A membrana foi, então, incubada de um dia para o outro em solução de hibridização contendo a sonda adequada a 42 °C durante a rotação. As sondas foram geradas contra eGFP (482958 CPM, Rediprime) e Puromicina (186409 CPM, Rediprime). A membrana foi, então, lavada duas vezes em 3 x SSC/SDS a 0,5% a 68 °C por 30 minutos durante a rotação antes de ser exposta ao filme de um dia para o outro a -80 °C. O gDNA foi também enviado para Transnetyx para genotipagem para eGFP de modo a excluir clones com sinal maior do que as inserções de cópia única validadas. Os clones FB8 e FB12 foram selecionados para complementação tetraploide (NYU), ambos os quais geraram fundadores transmitidos pela linha germinativa. Ambos os clones exibiram o mesmo padrão de expressão de CA19-9 e os fundadores do clone FB12 foram selecionados para avaliação adicional.

Camundongos:

[0330] Camundongos KPC ($Kras^{+/LSL-G12D}$; $Trp53^{+/R172H}$; Pdx1-Cre) foram descritos anteriormente (Hingorani SR, *et al*., Cancer Cell. 2003;4(6):437-50; Hingorani SR, *et al*., Cancer Cell. 2005;7(5):469-83) e foram retrocruzados no C57Bl/6J antecedentes (The Jackson Laboratory, estirpe 000664). Todos os experimentos com animais foram conduzidos de acordo com os procedimentos aprovados pela IACUC no Cold Spring Harbor Laboratory. Os camundongos foram incluídos em estudos experimentais entre 6 e 8 semanas de idade. Os camundongos foram administrados com doxiciclina através de água potável (0,5 a 2 mg/ml) suplementada com 10 mg/ml de Sacarose por períodos de estudo de até uma semana. A doxiciclina foi administrada por

meio de ração para estudos experimentais de mais de uma semana, que foi projetada para fornecer 2 a 3 mg de doxiciclina por dia com base no consumo de 4 a 5g/dia por camundongo (Harlan Teklad, dietTD.01306, Doxiciclina 625 mg). EdU (300 µg, Santa Cruz) foi administrado por via intraperitoneal duas vezes ao dia durante três dias consecutivos. Ceruleína foi administrada em doses de 8 horas de 200 µl (10 µg/ml) por via intraperitoneal por 48 horas e os camundongos C57Bl/6J foram deixados se recuperar durante 24 ou 72 horas. Os níveis de glicose no sangue foram medidos usando o ACCU-CHECK Nano (Roche) na veia safena lateral 414.

Produção e infecção retroviral:

[0331] Células Ecotrópicas Phoenix (ATCC) foram inoculadas em $4x10^6$ células por placa de cultura de tecido de 10 cm. 24 horas depois, as células estavam 70 a 80% confluentes. Uma hora antes da transfecção, o meio foi substituído por FBS a 10%, 25 µm de Cloroquina em DMEM. 10 µg de DNA de plasmídeo em um volume total de 438 µl de água foram adicionados a 62 µl de CaCl2. Com a adição da mistura de DNA/CaCl2 por gotejamento a 500 µl de HBS 2x, ar foi borbulhado simultaneamente através da solução. A mistura foi incubada à temperatura ambiente por 30 minutos. A solução foi agitada com vórtice e, então, adicionada por gotejamento às placas de cultura de tecidos. 16 horas depois, o meio foi substituído por DMEM suplementado com FBS a 10%. O sobrenadante viral foi colhido em 24 e 48 horas e filtrado (0,45 µm). Um volume de concentrador Retro-X (Clontech) foi adicionado a três volumes de sobrenadante viral e incubado a 4 °C de um dia para o outro. Após centrifugação a 1500 x g por 45 minutos a 4 °C, o pélete de vírus foi ressuspenso com meio adequado para infecção. Para infecção de células em monocamada, o vírus foi ressuspenso em FBS suplementado com DMEM a 10% contendo 10 µg/ml de polibreno. A seleção foi iniciada 48 horas após a infecção. Para a in-

fecção de organoides, o pélete viral foi ressuspenso em meio organoide contendo 10 µg/ml de polibreno e 10,5 µM de inibidor de Rho quinase Y-27632 (Sigma). As infecções de organoides foram realizadas após a dissociação de célula única usando espinoculação a 600 RCF por 1 hora à temperatura ambiente (100.000 a 250.000 células) seguida de ressuspensão em Matrigel e propagação como organoides na presença de 10,5 µM de inibidor de Rho quinase Y-27632 (Sigma) durante as primeiras 72 horas. Dois dias após a infecção, os organoides foram tratados com 1 mg/ml de Geneticina (Life technologies) ou blasticidina (10 µg/ml, concentração final) para seleção.

Imunoistoquímica:

[0332] Blocos fixados em formalina e embebidos em parafina foram seccionados e desparafinizados. A recuperação do antígeno foi realizada em tampão Citrato por 6 minutos em uma panela de pressão, exceto onde especificado em contrário. A IHC de fosfo-EGFR foi realizada como descrito anteriormente (Ardito CM, *et al*., Cancer Cell. 2012;22(3):304-17) após 30 minutos de recuperação do antígeno do tampão citrato, a peroxidase endógena foi bruscamente arrefecida em Peróxido de hidrogênio a 3% em TBS por 20 minutos à temperatura ambiente. As lâminas foram, então, enxaguadas em água da torneira e transferidas para o sistema Cadenza. As lâminas foram bloqueadas em BSA a 3% em TBST por uma hora à temperatura ambiente e incubadas em anticorpo primário de um dia para o outro. As lâminas foram lavadas três vezes em TBST, então, incubadas em anticorpo secundário conjugado com peroxidase de raiz-forte por uma hora à temperatura ambiente. As lâminas foram lavadas três vezes em TBST e desmontadas do sistema Cadenza. ImmPACT DAB (Vector) foi incubado durante 1 a 10 minutos seguido de uma lavagem com água e incubação em corante de contraste de Hematoxilina. As lâminas foram, então, desidratadas e lameladas em cytoseal 60.

[0333] A imunoistoquímica automatizada foi realizada em seções de 5 µm fixadas em formalina e embebidas em parafina coletadas em Slides Plus (Fischer Scientific) e armazenadas à temperatura ambiente. Antes da coloração, as lâminas foram incubadas por 1 hora em forno de convecção a 60 °C. A imunoistoquímica cromogênica foi realizada em uma plataforma Ventana Medical Systems Discovery XT com desparafinização online usando reagentes e kits de detecção de Ventana, exceto onde observado em contrário e como descrito anteriormente (Perez-Aso M, *et al*., FASEB J. 2016;30(1):457-65). Em suma, as seções foram desparafinizadas em xileno (3 alterações), reidratadas através de álcoois graduados (3 alterações com etanol a 100%, 3 alterações com etanol a 95%) e enxaguadas em água destilada. A recuperação de epítopo induzida por calor foi realizada em um micro-ondas de 1200 Watts com potência de 100% em tampão citrato de sódio 10 mM, pH 6,0 por 20 minutos. As seções foram deixadas resfriar por 30 minutos e, então, enxaguadas em água destilada. A atividade da peroxidase endógena foi bloqueada. Os anticorpos primários foram diluídos 1:1.000 a 1:10.000 em solução salina tamponada com Tris (Tris 25 mM, NaCl 0,15 M) e incubados durante 10 horas à temperatura ambiente. Os anticorpos secundários conjugados com peroxidase de raiz-forte (Jackson ImmunoResearch Laboratories) foram diluídos 1:200 em tampão Tris e incubados durante 1 hora a 37 °C. O complexo foi visualizado com 3,3 diaminobenzideno e intensificado com sulfato de cobre. As lâminas foram lavadas em água destilada, contracoradas com hematoxilina, desidratadas e montadas com meio permanente. Os controles negativos substituíram o diluente de anticorpo individualmente por anticorpo primário.

Quantificação histológica:

[0334] As lâminas foram examinadas usando um scanner Aperio CS2 (Leica) e a área de pixel total ocupada foi calculada em Images-

cope (Leica). As áreas afetadas pela pancreatite em lâminas coradas com H&E foram anotadas manualmente e as áreas não envolvidas e afetadas foram medidas. As áreas de pancreatite foram definidas pela presença de linfócitos infiltrantes, edema intralobular acinar, metaplasia acinar a ductal, fibrose e reposição de células adiposas. O número de núcleos Ki67-positivos foi contado manualmente em cinco campos representativos de alta potência de pelo menos quatro animais por grupo.

Medições sorológicas:

[0335] níveis de amilase e lipase no plasma (heparina de lítio, BD biosciences) foram medidos pelos serviços de Patologia da IDEXX. Os níveis de CA19-9 foram medidos usando o ensaio de biomarcador de câncer humano (EMD Millipore) na plataforma de ELISA multiplex MagPIX (Luminex). Os níveis de glicose no sangue foram medidos usando um monitor Accu-Chek Nano (Roche) na veia safena lateral. Os níveis de anticorpos dirigidos a CA19-9 foram medidos revestindo placas de fundo plano de poliestireno de alta ligação com 275 unidades de CA19-9 (MyBioSource, MBS318287) de um dia para o outro à temperatura ambiente. As placas revestidas com CA19-9 foram lavadas em Tween 20 a 0,05% em PBS e bloqueadas em BSA a 1% em tampão de lavagem antes da incubação de 10µl de plasma de camundongo em um volume final de 100 µl de tampão bloqueador.

Medições fecais:

[0336] Amostras fecais frescas foram coletadas e processadas usando ruptura manual (Biomasher II) em cada respectivo tampão de ensaio. As medições de Quimotripsina (BioVision) e Elastase (EnzChek, ThermoFisher) foram realizadas de acordo com as instruções do fabricante.

Organoides, explante acinar, linhagens celulares monocamada e condições de cultura:

[0337] Procedimentos detalhados para o isolamento e propagação de culturas de organoides ductais pancreáticos foram descritos anteriormente (Boj Sylvia F, *et al*., Cell. 2015;160(1- 2):324-38). Resumidamente, os dutos do pâncreas foram colhidos após a digestão enzimática com colagenase XI a 0,012% (Sigma) e dispase a 0,12% (GIBCO) em DMEM contendo FBS a 1% (GIBCO), e embebidos em Matrigel (BD) com fator de crescimento reduzido (GFR) a 100%. Os organoides foram tratados com uma concentração final de 100 ng a 1 µg/ml de Doxiciclina. Quando necessário *(por exemplo* , curvas de crescimento), os organoides foram dissociados em uma suspensão de célula única usando 2 mg/ml de dispase seguida de 10 min de incubação de TrypLE a 37 °C. As células foram filtradas com um coador de células de 40 µm. A concentração celular foi determinada usando Laranja de Acridina e Iodeto de Propídio em um Nexcelom Cellometer. As células organoides únicas foram colocadas em placas de 384 poços a 500 células por poço em Matrigel a 10% para análises da curva de crescimento usando CellTiter-Glo. Os experimentos de bloqueio de anticorpos foram realizadas usando 2 a 4 µg de anticorpo.

[0338] Os explantes acinares foram realizados em tecido pancreático moído após uma breve digestão de 5 a 10 minutos em DMEM/F12 Avançado (GIBCO) contendo 5 mg/ml de Colagenase II (GIBCO), 1 mg/ml de dispase (GIBCO), FBS a 2,50% (GIBCO) e 1 mg/ml de Inibidor de Tripsina de Soja (GIBCO). Os aglomerados acinares foram monitorados a cada 3 a 5 minutos durante a digestão a 37 °C até que os nódulos acinares atingissem tamanhos de aglomerados de aproximadamente 20 a 200 células. Os aglomerados acinares foram lavados uma vez e, então, colocados em placas em DMEM/F12 Avançado (GIBCO) contendo 1x Glutamax (GIBCO), 1x Penicilina/Estreptomicina (P/S, GIBCO), 1x HEPES (GIBCO), 3 x NEAA (GIBCO) e BSA a 0,1% (Sigma-Aldrich).

[0339] Linhagens celulares monocamada de tumores pancreáticos de camundongo foram criadas por dissecção do tumor primário longe do pâncreas normal adjacente e manualmente moídas em fragmentos de ~1 mm^3. O tecido moído foi digerido enzimaticamente em 100 mg/ml de Colagenase V por 45 minutos a 37 °C durante a rotação. A digestão foi bruscamente arrefecida com FBS a 10%, P/S em DMEM e o material digerido foi centrifugado a 300 RCF por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e o material digerido ressuspenso em FBS a 10%, P/S, DMEM e colocado em uma placa de cultura de tecidos de 10 cm para criopreservação e propagação. As linhagens celulares de câncer pancreático humano, Capan2, Suit2, Miapaca2 (ATCC) e hM1-2D foram propagadas em FBS a 10%, P/S em RPMI (GIBCO).

Suspensão de célula única de tecidos de camundongos primários para citometria de fluxo:

[0340] Os baços e linfonodos foram dissociados mecanicamente, homogeneizados e passados por um coador de células de náilon (BD Falcon) em tampão FACS (eBioscience). Os pâncreas foram mecanicamente dissociados e digeridos com 0,4 mg/ml de liberase, 0,05 mg/ml de colagenase D, e 0,1 mg/ml de DNase I (Roche) em DMEM (Gibco) suplementado com FCS a 10% a 37 °C por 30 min e as suspensões foram passadas através de um coador de células de náilon.

Análises de citometria de fluxo:

[0341] Coloração foi realizada incubando as células em um agitador de placa, por 15 min a 4 °C, com anticorpos em um tampão FACS (eBioscience). As análises de citometria de fluxo multicoloridas foram realizadas usando um citômetro LSR Fortessa (BD Biosciences). Estratégias de sincronismo (gating) para todos os experimentos de citometria de fluxo são descritas mais detalhadamente abaixo.

Western blotting:

[0342] Técnicas padrão foram empregadas para *immunoblotting*.

Em suma, os lisados de proteína foram separados em géis Bis-Tris NuPAGE a 4 a 12% (Life technologies), transferidos para membrana PVDF (Millipore) e bloqueados em BSA a 3% (Sigma) em Tween20 a 0,1% em TBS durante uma hora. As membranas foram, então, incubadas em anticorpo primário de um dia para o outro com agitação a 4 °C seguido de incubação em anticorpos secundários adequados conjugados com peroxidase de raiz-forte por uma hora e detecção por ECL (GE Healthcare). As alterações normalizadas para os alvos de proteína indicados foram quantificadas em relação ao controle de carregamento Cofilina e o ponto de tempo não tratado.

Isolamento de proteína a partir de linhagens celulares:

[0343] As placas de cultura de tecido foram lavadas três vezes com STF gelada e lisadas na placa em TritonX-100 a 1%, Tris-HCl 50 mM pH7,5, NaCl 150 mM, EDTA 5 mM com 1X protease e coquetéis de inibidor de fosfatase em gelo por 30 minutos. O lisado foi transferido para um tubo de microcentrífuga e clarificado em 16100 RCF por 10 minutos a 4 °C, e aliquotado em novos tubos para armazenamento a -20 °C.

Isolamento de proteínas de organoides:

[0344] O meio líquido de sobreposição foi aspirado de organoides e solução de recuperação celular gelada (Cell Recovery Solution) (Corning) contendo coquetel inibidor de protease mini completo 0,5x (Roche, sem EDTA) e 0,5x PhosSTOP (Roche). Os organoides foram incubados em CRS com inibidores de protease e fosfatase 0,5x em gelo por 10 minutos seguido de centrifugação em 1.500 RCF por 5 minutes a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e os organoides foram lavados uma vez em CRS com inibidores de protease e fosfatase 0,5x. Os péletes de organoides foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -80 °C. Os organoides foram lisados em Triton X-100 a 1%, Tris HCl 50 mM pH 7,5, NaCl 150 mM, EDTA 5 mM com coquetéis

inibidores de protease e fosfatase 1x em gelo por 30 minutos, clarificado em 16.100 RCF por 10 minutos a 4 °C e aliquotado em novos tubos para armazenamento a - 20 °C.

Imunoprecipitação:

[0345] A imunoprecipitação de CA19-9 foi realizada em tampão IP contendo HEPES 20 mM, NaCl 150 mM na presença de coquetel inibidor de protease mini completo 0,5x (Roche, isento de EDTA). Os anticorpos monoclonais foram conjugados com M-270 Epoxy Dynabeads (Thermo Fisher) de acordo com as instruções do fabricante. 100 µl de Dynabeads conjugadas com mAb foram lavados 3 vezes em tampão IP e incubados com 500 µg de lisados de células inteiras de linhagens celulares monocamada em 1 ml de tampão IP em um tubo de microcentrífuga LoBind de 1,5 ml (Eppendorf) ou com 4 ml de meio condicionado com organoide em um tubo LoBind de 5,0 ml (Eppendorf) durante a rotação a 4 °C por uma hora. As amostras se ligaram ao ímã durante um minuto antes de o sobrenadante ser removido e as microesferas foram lavadas três vezes em tampão IP.

[0346] A imunoprecipitação de Flag foi realizada em TBS (Tris 50 mM, pH7,6; NaCl 150 mM) usando 5 ml de meio condicionado, 10 µg de anticorpo anti-Flag de Coelho (Sigma) e Dynabeads conjugadas com Proteína G (ThermoFisher) de acordo com as instruções do fabricante. As proteínas imunoprecipitadas foram eluídas em gelo usando o peptídeo DYK (100 µg/ml) com agitação suave por 1 hora ou tampão de eluição de IgG de baixo pH, à base de amina, resfriado em gelo (ThermoFisher) e bruscamente arrefecido com TBS 10x.

[0347] A imunoprecipitação de EGFR foi realizada em Triton X-100 a 1%, NaCl 150 mM e Tris 50 mM, pH 7,5.

Isolamento de RNA, Síntese de cDNA e RT-PCR Quantitativa a partir de organoides:

[0348] O RNA foi extraído de culturas de células e organoides

usando Trizol e o kit de isolamento de RNA PureLink de acordo com as instruções do fabricante (Thermo Fisher). O cDNA foi sintetizado usando 1 µg de RNA total e reagentes de Transcrição Reversa TaqMan (Applied Biosystems). Todos os alvos foram amplificados (40 ciclos) usando iniciadores Taqman específicos de gene e conjuntos de sondas (Applied Biosystems) em um instrumento de PCR em tempo real QuantStudio 6-flex (Applied Biosystems). A quantificação da expressão de gene relativa foi realizada usando o método DDCt com o software de PCR em tempo real QuantStudio v1.1 (Applied Biosystems). Os níveis de expressão foram normalizados para Hprt. O gene exemplificativo analisado inclui: Mm01187858_m1 (EGFR); Mm0065854l_m1 (Her2); Mm01159999_m1 (Erbb3); Mm01256793_m1 (Erbb4); Mm00438696_m1 (EGF); Mm00446232_m1 (TGFa); Mm01354339_m1 (Areg); Mm00514794_m1 (Ereg); Mm00446968_m1 (Hprt).

Sequenciamento e análise de RNA

[0349] O sequenciamento de RNA foi realizado no Judith Sulzberger Columbia Genome Center com cobertura de 60x e leituras de extremidade pareadas de 100 bp em um instrumento Illumina HiSeq 2500. Kallisto 0,44 (Bray, N. L., *et al*., Nat Biotechnol 34, 525-527 (2016), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência) quantificou as abundâncias transcritas usando o transcriptoma de camundongo Ensembl GRCh38, combinado com cDNA para β3GALT5 (ENST00000380620.8, ENST00000475838.1, ENST00000380618.5, ENST00000398714.3, ENST00000615480.4, ENST00000615480.4), FUT3 (ENST00000458379.6, ENST00000458379.6, ENST00000303225.10, ENST00000589620.5, ENST00000589620.5, ENST00000587048.1, ENST00000587048.1, ENST00000585715.1, ENST00000587183.1, ENST00000588539.1) eGFP (pBS3 1'-RBGpA\TRE), rtTA3 (pRosa-

pA-CAGGs-L) e mKate2 (Akama-Garren, EH *et al*. Sci Rep 6, 16836, (2016), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência).

[0350] Abundâncias no nível de transcrição foram resumidas no nível do gene usando tximport 1.8 (R/Bioconductor (Soneson, C., *et al*., F1000Research 4, 1036 (2015), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência)). DESeq2 1,2 (R/Bioconductor (Love, M. I., *et al*., Genome Biol 15, 550, (2014), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência)) realizou a expressão diferencial em contagens de nível de gene com o seguinte ponto de tempo e contrastes de condição: organoides negativos genéticos em 4 h vs organoides genéticos negativos em 0 h, organoides genéticos negativos em 24 h vs organoides genéticos negativos em 0 h, organoides genéticos negativos em 24 h vs organoides genéticos negativos em 4 h, organoides $C^{PDX}.R^{LSL}$;F em 4 h vs organoide $C^{PDX}.R^{LSL}$;F em 0 h vs organoides $C^{PDX}.R^{LSL}$;F em 24 h vs organoides $C^{PDX}.R^{LSL}$;F em 0 h e organoides $C^{PDX}.R^{LSL}$;F em 24 h vs organoides C^{PDX};$R^{LSL;}$F em 4 h. O gene repórter eGFP e os transgenes humanos β3GALT5 e FUT3 foram excluídos para evitar análises de expressão diferencial tendenciosas (que agrupam informações entre os genes). Os genes *Oprd1* e *Gstm5* foram identificados como resultados fora dos limites devido à sua expressão diferencial extrema e também foram excluídos.

[0351] Os genes foram classificados usando -log10 (valor q) * sinal (log2FoldChange), em que o valor q é um valor p corrigido para múltiplos testes (método de Benjamini & Hochberg). O enriquecimento de conjunto de genes foi realizado na lista de genes classificados como tratados em 24h vs tratados em 0h usando GSEA 3.0 (Subramanian, A *et al*. Proc Natl Acad Sci US A 102, 15545-15550, (2005), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de refe-

rência) com os seguintes bancos de dados MSigDB 6.1: C2 KEGG, C5, C6, e H. GSEA usou os seguintes parâmetros não padrão: -nperm 2000, - set_min 10, -set_max 1000. Os genes diferencialmente expressos nos organoides geneticamente negativos em 24h vs contraste de organoides geneticamente negativos em 0h foram removidos da lista de classificação de genes antes da execução de GSEA.

[0352] Para visualizações, as contagens brutas foram normalizadas para controlar o tamanho da biblioteca e as relações de dispersão-média usando a função de Transformação Estabilizadora de variância de DESeq2.

Digestão Tríptica e Marcação de iTRAQ:

[0353] As microesferas foram reconstituídas com 20 µl de tampão de bicarbonato de trietilamônio 50 mM (TEAB). RapiGest foi adicionado a uma concentração final de 0,1% e *tris(2-* carboxietil)fosfina (TCEP) foi adicionado a uma concentração final de 5 mM. As amostras foram, então, aquecidas a 55 °C por 20 min, deixadas resfriar até a temperatura ambiente e metanotiossulfonato de metila (MMTS) adicionado a uma concentração final de 10 mM. As amostras foram incubadas à temperatura ambiente durante 20 min para completar o bloqueio dos grupos sulfidrila livres. 2 µg de tripsina de grau de sequenciamento (Promega) foram, então, adicionados às amostras e essas foram digeridas de um dia para o outro a 37 °C. Após a digestão, o sobrenadante foi removido das microesferas e foi seco a vácuo. Os peptídeos foram reconstituídos em 50 µl de TEAB 0,5 M/etanol a 70% e marcados com reagente iTRAQ 8-plex por 1 hora à temperatura ambiente (Ross PL, *et al*., Mol Cell Proteomics. 2004;3(12): 1154-69). As amostras marcadas foram, então, acidificadas a pH 4 usando ácido fórmico, combinadas e concentradas a vácuo até restarem ~ 10 µl.

2-Fracionamento Bidimensional usando Colunas de Rotação:

[0354] Os peptídeos foram fracionados usando um Kit de Fracio-

namento de Peptídeos de Fase Reversa Pierce de Alto pH (Thermo Scientific) de acordo com as instruções do fabricante com pequenas modificações. Brevemente, os peptídeos foram reconstituídos em 150 µl de TFA a 0,1%, carregados na coluna de rotação e centrifugados em 3000 g por 2 minutos. A coluna foi lavada com água e, então, os peptídeos foram eluídos com as seguintes porcentagens de acetonitrila (ACN) em trietilamina a 0,1% (TEA): 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 20%, 30% e 50%. Cada uma das 8 frações foi, então, injetada separadamente no espectrômetro de massa usando LC de fase reversa capilar em baixo pH.

2-Fracionamento Bidimensional por LC:

[0355] Os peptídeos foram fracionados usando uma estratégia de separação de fase reversa de pH alto-baixo (adaptado de Gilar, M., *et al*., Journal of Separation Science 28, 1694-1703 (2005), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência). Para a primeira dimensão (pH alto), os peptídeos foram fracionados em uma coluna de 10 cm x 1,0 mm embalada com resina Gemini 3u C18 (Phenomenex, Ventura, CA) a uma fluidez de 100 µl/min. A fase móvel A consistia em formiato de amônio 20 mM pH 10 e a fase móvel B consistia em acetonitrila a 90%/ formiato de amônio 20 mM pH 10. As amostras foram reconstituídas com 50 µl de fase móvel A e toda a amostra injetada na coluna. Os peptídeos foram separados usando um gradiente linear de 35 minutos de B a 5% a B a 70% e, então, aumentando a fase móvel de B para 95% por 10 minutos. As frações foram coletadas a cada minuto por 40 minutos e, então, combinadas em 8 frações usando a estratégia de concatenação descrita por Wang, Y. *et al*. Proteomics 11, 2019-2026 (2011) (que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência). Cada uma das 8 frações foi, então, injetada separadamente no espectrômetro de massa usando LC de fase reversa capilar em baixo pH.

Espectrometria de Massa (Velos):

[0356] Um espectrômetro de massa Orbitrap Velos Pro (Thermo Scientific), equipado com uma fonte de spray de nano-íons foi acoplado a um sistema EASY-nLC (Thermo Scientific). O sistema LC de nanofluxo foi configurado com uma coluna de captura capilar de sílica fundida id de 180 µm contendo 3 cm de material Aqua C18 de 5 µm (Phenomenex) e uma coluna analítica PicoFrit ™ de 100 µm com um emissor de 8 µm (New Objective, Woburn, MA) embalada a 15 cm com material Aqua de 3 µm C18 (Phenomenex). A fase móvel A consistia em acetonitrila a 2%; ácido fórmico a 0,1% e a fase móvel B consistia em acetonitrila a 90%; ácido fórmico a 0,1%. 3 µl de cada amostra dissolvida em fase móvel A foram injetados através do autoamostrador na coluna de captura. Os peptídeos foram, então, separados usando as seguintes etapas de gradiente linear a uma fluidez de 400 nl/min: B a 5% por 1 min, B a 5% a B a 35% por 70 min, B a 35% a B a 75% por 15 min, mantidos em B a 75% por 8 min, B a 75% a B a 8% por 1 min e nos 5 min finais mantidos em B a 8%.

[0357] Os peptídeos eluídos foram diretamente eletroaspergidos no espectrômetro de massa Orbitrap Velos Pro com a aplicação de uma tensão de aspersão distal de 2,3 kV e uma temperatura capilar de 275 °C. Cada espectro de massa de varredura completa (Res=60,000; 380-1.700 *m/z)* foi seguido de espectros de MS/MS para as 12 massas principais. A dissociação colisional de alta energia (HCD) foi usada com a energia de colisão normalizada ajustada para 35 para fragmentação, a largura de isolamento ajustada para 1,2 e o tempo de ativação de 0,1. Uma duração de 70 segundos foi definida para a exclusão dinâmica com um tamanho de lista de exclusão de 500, contagem de repetição de 1 e largura de massa de exclusão de 10 ppm. Foi usada a seleção de precursor monoisotópico para estados de carga 2+ e maior, e todos os dados foram adquiridos no modo de perfil.

Espectrometria de Massa (Fusão):

[0358] Um espectrômetro de massa Orbitrap Fusion Lumos (Thermo Scientific), equipado com uma fonte de spray de nano-íons foi acoplado a um sistema EASY-nLC 1200 (Thermo Scientific). O sistema LC foi configurado com uma coluna analítica self-pack PicoFrit ™ de 75 µm com um emissor de 8 µm (New Objective, Woburn, MA) embalada a 25 cm com ReproSil-Pur C18-AQ, material de 1,9 uM (Dr. Maish GmbH). A fase móvel A consistia em acetonitrila a 2%; ácido fórmico a 0,1% e a fase móvel B consistia em acetonitrila a 90%; ácido fórmico a 0,1%. Os peptídeos foram, então, separados usando as seguintes etapas: a uma fluidez de 200 nl/min: B a 2% a B a 6% B por 1 min, B a 6% a B a 30% por 84 min, B a 30% a B a 60% por 9 min, B a 60% a B a 90% por 1 min, mantidos em B a 90% por 5 min, B a 90% a B a 50% por 1 min e, então, a taxa de fluxo foi aumentada para 500 nl/min como B a 50% foi mantido por 9 min.

[0359] Os peptídeos eluídos foram eletroaspergidos diretamente no espectrômetro de massa Fusion Lumos com a aplicação de uma tensão de aspersão distal de 2,3 kV e uma temperatura capilar de 300 °C. O espectro de massa de varredura completa (Res=60,000; 400 a 1.600 *m/z)* foi seguido de MS/MS usando o método de seleção "Top Speed". A dissociação colisional de alta energia (HCD) foi usada com a energia de colisão normalizada ajustada para 35 para fragmentação, a largura de isolamento ajustada para 1,2 e uma duração de 10 segundos foi ajustada para a exclusão dinâmica com uma largura de massa de exclusão de 10 ppm. Foi usada a seleção de precursor monoisotópico para estados de carga 2+ e maior, e todos os dados foram adquiridos no modo de perfil.

Pesquisa de Banco de Dados:

[0360] Arquivos de Peaklist (.MGF) foram gerados por Mascot Distiller 2.6 (Matrix Science). A identificação e quantificação de proteína

foram realizadas usando Mascot 2.6 (Perkins, D. N**.** *et al*., Electrophoresis 20, 3551-3567 (1999), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência) pesquisando contra o proteomas de referência de ou humanos UniProt (60.725 e 93.799 sequências, respectivamente). A metiltiolação de cisteína e N-terminal e modificações de lisina iTRAQ foram definidas como modificações fixas, a oxidação e desamidação de metionina (NQ) como variáveis. A tripsina foi usada como enzima de clivagem com uma clivagem perdida permitida. A tolerância de massa foi ajustada em 30 ppm para massa de peptídeo intacta e 0,3 Da para fragmentos de íons. Os resultados da pesquisa foram redefinidos para fornecer uma FDR final a 1% ou 5% usando uma versão aleatória dos mesmos bancos de dados Uniprot humanos ou de camundongo. As razões de iTRAQ em nível de proteína foram calculadas como intensidade ponderada, usando apenas peptídeos com FDR de valores esperados < 1% ou 5%. Como esses eram experimentos de proteína IP , nenhuma normalização de razão global foi aplicada. O enriquecimento de proteína foi então calculado dividindo as verdadeiras razões de proteína de amostra pelas taxas de amostra de controle correspondentes com um valor de 1,8 usado como um ponto de corte para enriquecimento (SD > 2).

A expressão de CA19-9 é elevada em pacientes com pancreatite:

[0361] A pancreatite é uma afecção médica grave e comum que pode levar à morte ou uma afecção crônica com morbidade significativa, resposta inflamatória sistêmica e síndromes de disfunção de múltiplos órgãos. A pancreatite também está associada a um risco 16,5 vezes elevado de desenvolver câncer pancreático (Lowenfels, A. B. *et al*. N Engl J Med 328, 1433-1437 (1993), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência), indicando claramente que são necessários mais estudos sobre a etiologia e tratamento de pancreatite. Alterações de glicosilação, incluindo a elevação

de CA19-9, foram observadas no soro de alguns pacientes com pancreatite (10 a 30%), mas nenhuma função foi atribuída a esse epítopo de glicano na progressão da doença (Haglund, C. *et al*., Br J Cancer 53, 189-195 (1986); Makovitzky, J. Virchows Archiv. B, Cell pathology including molecular pathology 51, 535-544 (1986); ambos estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência). Foi avaliado um microarranjo de tecido (TMA) de espécimes de pancreatite ressecados e foi constatado que CA19-9 foi predominantemente expresso nas células ductais, mas não nas células epiteliais acinares em mais de 90% dos pacientes **(Figura 1A, 1B),** demonstrando sua presença proeminente nessa doença. CA19-9 é gerado pela adição gradual de diferentes porções químicas de açúcar às cadeias precursoras do Tipo 1, culminando na ligação α1,4 de fucose à N-acetilglicosamina (GlcNAc) **(Figura 1C)** e pode ser multivalentemente adicionado a proteínas secretadas e de superfície celular. A avaliação da significância funcional de CA19-9 em camundongos foi dificultada pela falta de Fut3, que é um pseudogene em roedores (Xia, B. *et al*., Anal Biochem 387, 162-170 (2009); Narimatsu, H. em Handbook of Glycosyltransferases and Related Genes (eds Naoyuki Taniguchi *et al*.) 218-225 (Springer Japan, 2002); ambos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência). Fut3 é a única fucosiltransferase com a capacidade para adicionar porções químicas de fucose por meio de uma ligação α1,4. Foi constatado que a expressão de FUT3 e β3GALT5, que é necessária para a produção de precursores de cadeia do Tipo I (Ishijima, N. *et al*. J Biol Chem 286, 25256-25264 (2011), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência), foi necessária para a produção de CA19-9 (Sialil-Lewis^{a}, sLe^{a}) em culturas de células de adenocarcinoma ductal pancreático de camundongo (PDAC) **(Figura 1C-E).** A expressão de FUT3 e β3GALT5 levou à expressão na su-

perfície celular de CA19-9 em níveis equivalentes aos observados em uma linhagem de células de câncer humano (Colo205) **(Figura 1E).** Para confirmar que o epítopo CA19-9 foi expresso de maneira adequada nas células PDAC de camundongo geneticamente modificadas, as mesmas foram comparadas com linhagens de células PDAC humanas e também exibiram a localização de membrana esperada em cultura **(Figura 1F).** Além disso, as proteínas conjugadas com CA19-9 foram secretadas in vivo após o transplante ortotópico, demonstrando a produção de CA19-9 em níveis comparáveis com os receptores de transplante de linhagem de células PDAC humanas **(Figura 1G).**

[0362] Para determinar se CA19-9 é falsamente ligado a proteínas no sistema de expressão de roedores, proteínas modificadas de CA19-9 presentes nas linhagens de células PDAC de camundongo geneticamente modificadas foram comparadas com as proteínas modificadas de CA19-9 endógenas presente em células PDAC humanas. Os veículos de proteína CA19-9 foram imunoprecipitados (IP) e identificados por comparação espectrométrica de massa (MS) das células que expressam CA19-9 (FB) com controles transduzidos de vetor vazio (Neo) **(Figura 2A).** Diferenças na abundância relativa de proteínas entre células positivas e negativas para CA19-9 foram determinadas usando Marcadores isobáricos para Quantificação Relativa e Absoluta (iTRAQ) (Ross, PL *et al*. Mol Cell Proteomics 3, 1154-1169 (2004)), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência). Dois clones de anticorpo CA19-9 foram selecionados com base em seu uso na literatura (SB1, NS19-9) (Koprowski, H. *et al*. Somatic Cell Genet 5, 957-971 (1979); Sawada, R. *et al*. Clin Cancer Res 17, 1024-1032 (2011); ambos estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência). Os veículos de proteína CA19-9 foram definidos como regulados para cima pelo menos 1,5 vez nas amostras positivas para CA19-9 em relação às negativas

usando o anticorpo CA19-9. Essas análises identificaram veículos de proteína CA19-9 conhecidos nas células de camundongo FB, incluindo Mucl, Lgals3bp, CD44 e Muc5ac (Sperandio, M. *et al*., Immunological reviews 230, 97-113 (2009); Yue, T. *et al*. PLoS One 6, e29180 (2011); Yue, T. *et al*. Proteomics 11, 3665-3674 (2011); Hirao, Y. *et al*., Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis 03, (2012); todos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência). A linhagem de células PDAC humanas, MiaPaCa-2, é negativa para CA19-9 e usada como um controle para identificar proteínas de núcleo CA19-9 humanas nas linhagem de células positivas para CA19-9, Capan2, Suit2 e hM1-2D **(Figura 2B).** Os portadores de proteína CA19-9 de camundongo e humana foram comparados e foi encontrada uma média de 72,3% (CI a 95% 60,3 a 84,3%) das proteínas modificadas CA19-9 identificadas em três das três linhagens celulares PDAC humanas que também foram encontradas em três linhagens celulares FB PDAC de camundongo, demonstrando que a expressão de FUT3 e β3GALT5 em células de camundongo recapitula amplamente o perfil de portador de CA19-9 humano **(Figura 2C).** Um total de 4.260 proteínas não redundantes que são portadoras de Sialil Lewis^a em três células de adenocarcinoma ductal pancreático de camundongo modelo (PDAC) , um total de 1.521 proteínas comuns que são portadoras de Sialil Lewis^a em três células PDAC de camundongo modelo, um total de 3.017 proteínas não redundantes que são portadoras de Sialil Lewis^a em três células PDAC humanas modelo, e um total de 926 proteínas comuns que são portadoras de Sialil Lewis^a em três células PDAC humanas modelo foram identificadas.

A expressão de CA19-9 causa pancreatite:

[0363] Foram geradas células-tronco embrionárias de camundongo (mES) que expressam multigenicamente FUT3, β3GALT5 e eGFP por meio de um promotor induzível e condicional regulado por um cas-

sete STOP flanqueado por LoxP (LSL) e um elemento promotor responsivo à tetraciclina (TRE) **(Figura 3A a 3D)** (Beard, C. *et al*., Genesis 44, 23-28 (2006), que está incorporado no presente documento em sua totalidade a título de referência). Vários tipos de modelos de camundongo foram gerados portadores de expressão de corpo inteiro **(R;F),** pancreático inteiro **(C^{PDX};R^{LSL};F),** ou pancreático focal **(C^{PDX} ou ^{p48};R^{LSL};F^{LSL})** de CA19-9. Em todos os modelos de camundongos CA19-9, os tecidos não pancreáticos exibiram histologia normal em relação aos controles geneticamente negativos de filhotes da mesma ninhada após um período de tratamento com Dox **(Figuras 4 a 24).** Surpreendentemente, todos os modelos demonstraram seletivamente sinais fisiológicos, histológicos e sorológicos de pancreatite (atrofia acinar, invasão de células imunes, deposição de colágeno, lipase e amilase elevadas), enquanto nenhuma pancreatite foi observada em controles geneticamente negativos tratados com Dox ou camundongos não tratados **(Figuras 25A a 25C, Figuras 26 a 27, Figuras 28A a 28C).**

[0364] A expressão de eGFP e CA19-9 após a administração de Dox indicou a expressão nos tecidos esperados de cada modelo de camundongo CA19-9 **(Figura 25A, Figuras 29A a 29B, Figuras 30A a 30B, Figuras 31 a 47).** Nos modelos R;F e C^{PDX};R^{LSL};F, a expressão de eGFP foi detectada por imunoistoquímica (IHC) na maioria das células ductais e acinares pancreáticas, em forma de mosaico em ilhotas, e nunca no estroma pancreático ou compartimentos endoteliais **(Figura 29A, Figuras 30A a 30B, Figura 31).** O eGFP também foi detectado de maneira dependente de Dox em todos os outros órgãos de camundongos R;F **(Figuras 32 a 33).** Em contrapartida, os modelos C^{PDX} ou ^{p48};RLSL;F^{LSL} exibiram positividade para eGFP esporadicamente no compartimento acinar, raramente no compartimento ductal e nunca nos compartimentos pancreáticos de ilhota, estromais ou endo-

teliais **(Figura 29A).** Como esperado, a recombinação conduzida pelo promotor PDX também resultou na expressão de eGFP em mosaico dependente de Dox no duodeno e na vesícula biliar, enquanto a recombinação mediada por p48-CRE não resultou na expressão de eGFP em órgãos não pancreáticos **(Figuras 34 a 39).** Nos modelos R;F e C;R^{LSL};F, CA19-9 foi detectado predominantemente em células ductais intralobulares e intercaladas e células de ilhotas do pâncreas, com raras células acinares positivas **(Figura 25A, Figura 29B).** CA19-9 foi detectado principalmente no compartimento acinar e raramente nas células ductais do modelo C;RLSL;FLSL usando CRE orientado por a PDX1 ou p48 com positividade de ilhotas esporádica limitada ao modelo orientado por PDX-Cre **(Figura 29B).** Nos camundongos R;F, CA19-9 foi detectado em todos os tecidos examinados após tratamento com Dox **(Figuras 40 a 43).** A expressão de CA19- 9 foi limitada ao pâncreas, duodeno e vesícula biliar em modelos orientados por PDX1-CRE, mas nenhuma expressão não pancreática de CA19-9 foi observada em camundongos orientados por p48-CRE **(Figuras 44 a 47).** Uma avaliação detalhada de imunofluorescência de pâncreas de R;F revelou coexpressão de CA19-9, eGFP e do marcador ductal, CK19. Curiosamente, embora as células acinares também expressem eGFP, as mesmas permaneceram negativas para CA19-9. Além disso, as ilhotas eram frequentemente duplamente positivas para eGFP e CA19-9, apesar de algumas células de ilhotas negativas para eGFP também fossem positivas para CA19-9. A expressão de CA19-9 também foi detectada na vasculatura negativa para eGFP e nas células estromais. Análises de imunofluorescência adicionais indicaram que células negativas para eGFP e positivas para Podoplanina (fibroblastos) existem tanto no estado positivo como negativo para CA19-9. Esses dados demonstram o acúmulo de CA19-9 secretado na vasculatura e estroma negativos para eGFP **(Figuras 29B, 30A a 30B e 31).**

[0365] Os camundongos R;F exibiram pancreatite altamente penetrante, perda de peso corporal e atrofia pancreática após expressão de CA19-9, em alguns casos resultando em perda de mais de 20% da massa corporal e subsequente eutanásia **(Figuras 48A a 48B).** Os camundongos R;F não geraram uma resposta de anticorpo dirigida para CA19-9 discernível **(Figura 49A)** e todos os tecidos não pancreáticos pareceram histologicamente saudáveis **(Figuras 4 a 6),** indicando que a pancreatite observada não é mediada por autoimunidade. Em vez disso, é provável que a perda de peso no R;F após a administração de Dox se deva à alta penetrância da pancreatite, uma vez que esse modelo não depende de recombinação mediada por Cre. De fato, a insuficiência pancreática exócrina é frequentemente observada em casos de pancreatite crônica e é acompanhada por perda de peso severa em pacientes (Struyvenberg MR *et al.,* BMC Med.;15(1):29-, (10 de fevereiro de 2017)). O grau significativo de atrofia pancreática observado no modelo R;F **(Figura 48B)** e a produção insuficiente de enzimas digestivas **(Figura 49B)** sugerem que esses camundongos sofrem de insuficiência pancreática exócrina. Também é improvável que a perda de peso se deva à perda de regulação glicêmica, visto que os camundongos R;F e C^{PDX};R^{LSL};F em estado de alimentação aleatória que expressam CA19-9 exibiram níveis normais de glicose no sangue em relação às contrapartes tratadas e não tratadas com veículo **(Figura 49C).**

[0366] O tratamento com Dox de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F também revelou pancreatite altamente penetrante e níveis elevados de amilase e lipase sem perda de peso corporal ou pancreático **(Figuras 25A** a **25C** e **48A a 48B).** O tratamento com Dox de camundongos $C^{PDX\ ou\ p\ 48}$**;**$R^{\mathbf{LSL}}$**;**F^{LSL} revelou focos de pancreatite menores e níveis elevados de amilase e lipase em relação aos controles genéticos e não tratados sem perda de peso corporal ou pancreático **(Figuras 26** a

27, 28A a **28C** e **48A** a **48B).** Todos os modelos exibiram normalização dos níveis de amilase e lipase após 4 semanas de tratamento com Dox, mas exibiram sinais histológicos de pancreatite crônica **(Figuras 25A** a **25C, 26** a **27** e **28A** a **28C).** Níveis elevados de CA19-9 foram detectados no plasma de camundongos R;F e C;R^{LSL};F após o tratamento com Dox, mas não no modelo C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} **(Figuras 49D** e **50A).** Outros estudos focaram nos camundongos C^{PDX};R^{LSL};F que receberam alta penetrância do fenótipo de pancreatite sem insuficiência pancreática e perda de peso com a localização pancreática correta e secreção de CA19-9.

[0367] Os tipos de células imunes presentes no baço, linfonodos e pâncreas de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F em relação ao modelo de Ceruleína de pancreatite aguda foram caracterizados por citometria de fluxo e revelaram um influxo de monócitos e macrófagos inflamatórios no pâncreas de ambos os modelos, sem alteração na representação do tipo de célula imune no baço ou linfonodos após indução de pancreatite **(Figuras 50B** e **51A).** Nenhum dos modelos exibiu recrutamento de células T ou B nos pontos de tempo examinados (1 a 3 dias) **(Figura 51B).**

EXEMPLO 3

[0368] Os métodos e ensaios descritos no Exemplo 2 estão incorporados no presente documento nesse Exemplo.

A *expressão de CA19-9 causa proliferação ductal e alterações de sinalização:*

[0369] A expressão de CA19-9 no modelo genético de camundongo levou a um aumento na proliferação pancreática, particularmente em células ductais e células imunes avaliadas por imunoistoquímica Ki67 (IHC) e incorporação de Edu in vivo **(Figuras 52A e 53A a 53B).** Não houve evidência de indução dependente de Dox de Atf4 e Bip em culturas de explante acinar, apesar da estimulação da liberação de en-

zima, reduzindo a probabilidade de que o estresse proteotóxico exerceu uma função na pancreatite observada **(Figuras 52B a 52C).**

[0370] Para dissecar as alterações da via de sinalização que ocorrem em resposta direta à expressão de CA19-9, os organoides ductais pancreáticos de camundongos C^{PDX};R^{LSL};F foram isolados (Boj, Sylvia F. *et al*. Cell 160, 324-338 (2015), que está incorporado em sua totalidade a título de referência). Análises de RNA-seq dos organoides C^{PDX};R^{LSL};F após a indução da expressão de CA19-9 revelaram as alterações esperadas na expressão do transgene **(Figuras 54A a 54F)** e expressão permitida de FUT3 e β3GALT5 em organoides ductais de camundongo em níveis dentro da faixa endogenamente observada em organoides ductais humanos **(Figura 54D)** (Tiriac, H. *et al*. CancerDiscov, doi: 10.1158/2159- 8290.CD-18-0349. [Epub ahead of print] (2018), que está incorporado em sua totalidade a título de referência). A Análise de Enriquecimento de Conjunto de Genes (GSEA) revelou uma redução de um conjunto de genes de Resposta de Proteína Desenovelada e o enriquecimento de vias associadas com Quimiocina e sinalização de TGF Beta após expressão de CA19-9 **(Figuras 55A a 55C e 56A a 56B).** O enriquecimento da sinalização de Erbb e PI3K e Akt Foi adicionalmente explorado após a expressão de CA19-9 **(Figuras 55A a 55C e 56A a 56B).** A expressão de CA19-9 induzida por Dox em organoides C^{PDX};R^{LSL};F elevou seletiva e proeminentemente a fosforilação de EGFR enquanto diminui os níveis de EGFR total, indicando maior fluxo através dessa via **(Figura 57A).** O aumento de fosfo-EGFR foi acompanhado por níveis aumentados de fosfo-Akt e fosfo-Erk1/2 **(Figura 57A).** Nenhuma mudança consistente em fosfo-S6 ou total, Her2 e p65 foi observada **(Figura 57B).** Essas constatações foram independentes da inclusão de Egf murino nos meios das culturas **(Figura 57C).** Além disso, fosfo-EGFR estava presente in vivo nos ductos pancreáticos de camundongos C;R^{LSL};F após tratamento com

Dox **(Figura 57D).** A expressão de CA19-9 não alterou a proliferação organoides C;R^{LSL};F, R;F ou C ;R^{LSL};F^{LSL} após a indução Dox de expressão de CA19-9, bem como em organoides ductais pancreáticos normais de camundongo com expressão de CA19-9 constitutiva **(Figuras 58A a 58D),** sugerindo que indicações extrínsecas adicionais são necessárias para o aumento da proliferação ductal *in vivo.*

[0371] Foi relatado que o estado de glicosilação do EGFR pode afetar sua capacidade de ativar e responder aos inibidores de quinase alvejados (Liu, Y. C. *et al*. Proc Natl Acad Sei US A 108, 11332-11337 (2011); Matsumoto, K. *et al*. Cancer science 99, 1611-1617 (2008); ambos os quais estão incorporados no presente documento em sua totalidade a título de referência), mas foi encontrada modificação CA19-9 de EGFR **(Figura 59A).** Além disso, a expressão de CA19-9 também não afetou a EC50 ou o fenótipo inibitório de crescimento dos inibidores da ERBB quinase, Erlotinibe e Neratinibe, em organoides C^{PDX};R^{LSL};F **(Figuras 59B a 59C).** Por outro lado, a adição de um anticorpo monoclonal a CA19-9 foi suficiente para bloquear a fosforilação de EGFR em organoides normais induzidos para expressar CA19-9 com Dox **(Figura 60).**

EXEMPLO 4

[0372] Os métodos e ensaios descritos nos Exemplos 2 e 3 estão incorporados no presente documento nesse Exemplo.

A pancreatite induzida por CA19-9 é reversível e pode ser tratada com anticorpos específicos para CA19-9:

[0373] Além disso, foi constatado ainda no modelo genético de camundongo que a pancreatite mediada por CA19-9 era completamente reversível após um pulso de Dox de 3 dias e um período de recuperação de 4 dias **(Figuras 61A a 61B).** Esses dados sugerem que o alvejamento de CA19-9 pode ser terapeuticamente útil para atenuar a gravidade e a recorrência dos episódios de pancreatite. É importante

ressaltar que os anticorpos dirigidos contra CA19-9 também melhoraram os sinais histológicos e sorológicos de pancreatite e reduziram a hiperativação de EGFR in vivo em casos de pancreatite aguda (24 horas de 2 g/l de Dox, clone NS19-9) e aguda grave (7 dias de 0,5g/l de Dox, clone 5B1), sugerindo uma função do glicano e dos polipeptídeos centrais aos quais está afixado na patogênese da doença **(Figuras 62A a 62D, 63A a 63C e 64A a 64C).** No entanto, o inibidor de EGFR, Erlotinibe, paradoxalmente não foi capaz de substituir a terapia anti-CA19-9, visto que o tratamento com Erlotinibe 24 horas antes da indução de pancreatite resultou em perda de peso severa de mais de 20%, resultando em ponto final humanitário antes da conclusão do estudo. A atrofia pancreática foi evidente na necropsia e a vacuolização do compartimento acinar foi evidente pela histologia **(Figuras 65A a 65B).** Esses efeitos não foram relacionados à toxicidade associada ao Erlotinibe em camundongos normais (C57Bl/6J) **(Figuras 65C a 65D).** Esses dados sugerem que a ativação de EGFR serve como um mecanismo de proteção para o compartimento acinar após a instigação da cascata inflamatória por CA19-9.

[0374] Para discernir se a ativação dependente de CA19-9 de EGFR foi devido a um ligante solúvel, o meio condicionado de organoides positivos para CA19-9 foi avaliado e constatou-se que estimula a fosforilação de EGFR em organoides ductais murinos de controle **(Figura 66A).** Essa atividade foi atenuada pela adição de EGFR-Fc (Captura de EGFR), sustentando ainda mais a presença de um ou mais ligantes de EGFR **(Figura 66B).** Uma vez que essas constatações sugeriram a presença de um ligante EGFR secretado, modificado por CA19-9, proteínas modificadas CA19-9 exemplificativas foram identificadas por IP/MS **(Tabela 3 e Tabela 4 abaixo).**

Tabela 3: Dados de IP/MS de CA19-9 de meio condicionado de organoide C;R^{LSL};F ou geneticamente negativo (A220 e A217, respectivamente) após 8 horas de tratamento com Dox. "17 0H NS19" indica organoides A217 antes do tratamento com NS19-9; "17 8H NS19" indica organoides A217 após 8 horas de tratamento com NS19-9; "17 0H 5B1" indica organoides A217 antes do tratamento com 5B1; "17 8H 5B1" indica organoides A217 após 8 horas de tratamento com 5B1; "20 0H NS19" indica organoides A220 antes do tratamento com NS19-9; "20 8H NS19" indica organoides A220 após 8 horas de tratamento com NS19-9; "20 0H 5B1" indica organoides A220 antes do tratamento com 5B1; "20 8H 5B1" indica organoides A220 após 8 horas de tratamento com 5B1.

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
1	1	P01868	1	1,113	0,158	0,094	1,102	1,139	0,098	0,181	Forma secretada da região C da cadeia gama-1 de Ig OS=Mus musculus GN=Ighg1 PE=1 SV=1
1	2	AOA075B5P4	1	1,116	0,152	0,09	1,099	1,136	0,092	0,171	Forma secretada de região C de cadeia gama-1 de Ig (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighg1 PE=1 SV=1
2	1	P07724	1	1,1	0,409	0,388	1,072	1,113	0,288	0,405	Albumina sérica OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3
3	1	P01637	1	0,661	0,17	0,158	0,991	1,149	0,133	0,202	Região T1 VV da cadeia kappa de Ig OS=Mus musculus PE=4 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
3	2	AO-AI40T8P9	1	0,548	0,235	0,197	0,987	1,184	0,173	0,313	Variável kappa de imunoglobulina 14-111 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=lgkv14-111 PE=4 SV=2
4	1	P01837	1	0,885	0,072	0,091	0,931	1,189	0,057	0,103	Região C de cadeia kappa de lg OS=Mus musculus PE=1 SV=1
4	2	AOA075B5P2	1	0,882	0,072	0,09	0,932	1,192	0,057	0,103	Constante kappa de imunoglobulina (fragmento) OS=Mus musculus GN=lgkc PE=1 SV=1
5	1	P20152	1	0,527	10,657	10,327	0,566	0,661	10,501	10,411	Vimentina OS=Mus musculus GN=Vim PE=1 SV=3
5	2	P50446	1	1,21	1,494	0,796	0,708	0,462	1,064	1,845	Queratina, citoesquelética 6A tipo II OS=Mus musculus GN=Krt6a PE=1 SV=3
5	3	Q922U2	1	1,206	1,435	0,816	0,707	0,482	1,016	1,859	Queratina, citoesquelética 5 tipo II OS=Mus musculus GN=Krt5 PE=1 SV=1
5	4	E9QlZO	1	1,128	1,417	0,778	0,71	0,468	0,988	1,828	Queratina 90 OS=Mus musculus GN=Krt90 PE=1 SV=1

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
5	5	P04104	1	1,547	1,458	0,711	0,521	0,596	1,083	2,299	Queratina, citoesquelética 1 tipo II OS=Mus musculus GN=Krtl PE=1 SV=4
5	6	Pll679	1	1,075	3,427	3,472	0,475	0,566	2,793	3,151	Queratina, citoesquelética 8 tipo II OS=Mus musculus GN=Krt8 PE=1 SV=4
5	7	P31001	1	0,743	22,1	21,134	0,914	1,1	20,623	20,94	Desmina OS=Mus musculus GN=Des PE=1 SV=3
5	8	Q6IFZ6	1	2,003	1,722	0,85	0,434	0,57	1,282	2,155	Queratina, citoesquelética 1b tipo II OS=Mus musculus GN=Krt77 PE=1 SV=1
5	9	Q3TTY5	1	2,077	1,234	0,65	0,466	0,496	1,285	1,328	Queratina, citoesquelética 2 epidérmico tipo II OS=Mus musculus GN=Krt2 PE=1 SV=1
5	10	Q3UV17	1	1,383	1,233	0,725	0,829	0,433	1,003	1,926	Queratina, citoesquelética oral 2 tipo II OS=Mus musculus GN=Krt76 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
5	11	Q8VED5	1	1,679	2,503	0,726	0,478	0,383	1,138	1,565	Queratina, citoesquelética 79 tipo II OS=Mus musculus GN=Krt79 PE=1 SV=2
5	12	Q9DCV7	1	1,01	4,42	3,691	0,557	0,578	3,596	3,895	Queratina, citoesquelética 7 tipo II OS=Mus musculus GN=Krt7 PE=1 SV=1
6	1	Q68FD5	1	0,654	3,27	3,203	0,549	0,569	2,822	3,475	Cadeia pesada 1 de clatrina OS=Mus musculus GN=Cltc PE=1 SV=3
7	1	P52480	1	0,517	5,698	6,066	0,592	0,633	5,275	6,739	Piruvato quinase PKM OS=Mus musculus GN=Pkm PE=1 SV=4
8	1	Q9WVF5	1	1,022	0,277	0,206	1,044	0,325	0,288	0,925	Receptor do fator de crescimento epidérmico OS=Mus musculus GN=egfrpe=1 SV=1
9	1	P05213	1	0,679	6,255	6,52	0,623	0,665	4,707	6,258	Cadeia de tubulina alfa-lb OS=Mus musculus GN=Tuba1b PE=1 SV=2

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
9	2	P68373	1	0,65	6,066	6,264	0,588	0,627	4,46	5,891	Cadeia de tubulina alfa-1C OS=Mus musculus GN=Tuba1c PE=1 SV=1
10	1	Pll499	1	0,678	5,162	5,452	0,681	0,748	4,681	5,627	Proteína de choque térmico HSP 90-beta OS=Mus musculus GN=Hsp90ab1 PE=1 SV=3
10	2	P07901	1	0,689	4,213	4,407	0,616	0,728	3,683	4,413	Proteína de choque térmico HSP 90-alfa OS=Mus musculus GN=Hsp90aa1 PE=1 SV=4
10	3	P08113	1	0,927	3,5	3,435	0,525	0,585	2,739	3,536	Endoplasmina OS=Mus musculus GN=Hsp90b1 PE=1 SV=2
11	1	P99024	1	0,649	4,289	4,365	0,567	0,615	3,894	4,685	Cadeia beta-5 da tubulina OS=Mus musculus GN=Tubb5 PE=1 SV=1
11	2	P68372	1	0,585	4,286	4,135	0,593	0,671	3,906	4,686	Cadeia beta-4B de tubulina OS=Mus musculus GN=Tubb4b PE=1 SV=1

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
11	3	Q9CWF2	1	0,687	4,532	4,413	0,612	0,674	4,113	4,992	Cadeia beta-2B de tubulina OS=Mus musculus GN=Tubb2b PE=1 SV=1
12	1	AOA075B5T3	1	1,062	0,242	0,177	0,944	0,958	0,178	0,34	Variável pesada de imunoglo-bulina 6-6 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv6-6 PE=4 SV=1
12	2	P01796	1	0,872	0,201	0,164	0,867	0,951	0,159	0,267	Região A4 V-III da cadeia pe-sada de Ig OS=Mus musculus PE=1 SV=1
13	1	P26443	1	0,564	6,728	7,206	0,637	0,609	6,1	7,041	Glutamato desidrogenase 1, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Glud1 PE=1 SV=1
14	1	P58252	1	0,555	4,768	5,051	0,55	0,638	4,22	5,289	Fator de elongação 2 OS=Mus musculus GN=Eef2 PE=1 SV=2
15	1	AOA075B5P3	1	1,005	0,466	0,454	1,157	1,16	0,397	0,454	Constante pesada de imuno-globulina gama 2B (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighg2b PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
15	2	P01867	1	1,002	0,442	0,439	1,135	1,193	0,388	0,419	Região C da cadeia gama-2B de lg OS=Mus musculus GN=Igh-3 PE=1 SV=3
15	3	P01863	1	0,984	0,471	0,46	1,392	1,411	0,417	0,488	Região C da cadeia gama-2A de lg, alelo A OS=Mus musculus GN=Ighg PE=1 SV=1
16	1	P50247	1	0,536	6,74	7,244	0,646	0,64	5,616	7,209	Adenosil-homocisteinase OS=Mus musculus GN=Ahcy PE=1 SV=3
17	1	A2A513	1	1,771	1,267	0,488	0,484	0,464	1,177	1,743	Queratina, citoesquelético 10 tipo I OS=Mus musculus GN=Krt10 PE=1 SV=1
17	2	Q9QWL7	1	0,727	3,614	0,892	0,406	0,368	0,848	1,769	Queratina, citoesquelético 17 tipo I OS=Mus musculus GN=Krt17 PE=1 SV=3
17	3	BlAQ77	1	1,273	1,809	0,654	0,433	0,447	1,023	1,772	Queratina 15, isoforma CRA_a OS=Mus musculus GN=Krt15 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
17	4	Q9Z2Kl	1	1,553	1,366	0,566	0,469	0,498	1,182	1,796	Queratina, citoesquelético 16 tipo I OS=Mus musculus GN=Krt16 PE=1 SV=3
17	5	Pl9001	1	0,774	2,718	1,015	0,367	0,379	0,775	1,614	Queratina, citoesquelético 19 tipo I OS=Mus musculus GN=Krt19 PE=1 SV=1
18	1	035565	1	0,678	6,079	6,439	0,77	0,847	6,246	7,582	Fator de crescimento de fibroblastos 10 OS=Mus musculus GN=Fgf10 PE=2 SV=1
19	1	P63017	1	0,77	6,36	6,817	0,778	0,746	5,57	6,947	Proteína cognata de choque térmico de 71 kda OS=Mus musculus GN=Hspa8 PE=1 SV=1
19	2	Pl7879	1	0,65	3,157	3,557	0,511	1,538	3,1	3,903	Proteína 1B de choque térmico de 70 kda OS=Mus musculus GN=Hspa1b PE=1 SV=3

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
19	3	Pl6627	1	0,657	3,45	3,954	0,55	1,549	3,284	4,238	Semelhante à proteína 1 de choque térmico de 70 kda OS=Mus musculus GN=Hspa11 PE=1 SV=4
19	4	P20029	1	0,748	5,836	6,854	0,833	0,721	5,533	7,259	Proteína regulada por glicose de 78 kda OS=Mus musculus GN=Hspa5 PE=1 SV=3
20	1	Q9ZlR9	1	1,142	0,931	0,878	0,182	0,169	0,282	0,231	MCG124046 OS=Mus muscu-lus GN=Prss1 PE=1 SV=1
20	2	Q792Y8	1	1,165	0,901	0,816	0,151	0,137	0,24	0,17	MCG15081 OS=Mus musculus GN=Gm10334 PE=3 SV=1
21	1	Pl4206	1	0,674	5,639	5,687	0,707	0,791	5,321	6,366	Proteína ribossômica SA 40S OS=Mus musculus GN=Rpsa PE=1 SV=4
22	1	Q61838	1	1,026	0,396	0,354	1,187	1,182	0,309	0,339	Proteína da zona de gravidez OS=Mus musculus GN=Pzp PE=1 SV=3

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
23	1	AOA075B5P6	1	1,032	0,45	0,468	1,045	0,973	0,41	0,531	Região C da cadeia mu de Ig (fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighm PE=1 SV=1
24	1	AOAOA-OMQF6	1	0,717	7,518	7,779	0,795	0,656	6,46	8,331	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase OS=Mus musculus GN=Gapdh PE=1 SV=1
25	1	Pl0126	1	0,652	5,036	4,381	0,694	0,804	3,724	4,767	Fator de elongação 1-alfa 1 OS=Mus musculus GN=Eefla1 PE=1 SV=3
25	2	P62631	1	0,615	5,35	4,606	0,687	0,783	4,076	5,042	Fator de elongação 1-alfa 2 OS=Mus musculus GN=Eefla2 PE=1 SV=1
26	1	P97466	1	0,71	10,036	10,991	0,805	0,762	9,104	10,895	Noguina OS=Mus musculus GN=Nog PE=2 SV=1
27	1	P68040	1	0,639	4,614	4,672	0,69	0,617	3,944	5,059	Receptor de proteína C quinase 1 ativada OS=Mus musculus GN=Rack1 PE=1 SV=3

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
28	1	P80314	1	0,712	2,306	2,255	0,731	0,642	1,964	2,584	Subunidade beta da proteína 1 do complexo T OS=Mus musculus GN=Cct2 PE=1 SV=4
29	1	Q07797	1	0,777	4,31	4,679	0,613	0,795	4,024	6,366	Proteína de ligação à galectina 3 OS=Mus musculus GN=Lgals3bp PE=1 SV=1
30	1	P80315	1	0,596	2,439	2,546	0,462	0,599	2,235	2,701	Subunidade delta da proteína do complexo T 1 OS=Mus musculus GN=Cct4 PE=1 SV=3
30	2	P80316	1	0,44	3,653	2,923	0,648	0,526	2,631	3,033	Subunidade épsilon da proteína do complexo T 1 OS=Mus musculus GN=Cct5 PE=1 SV=1
31	1	P99027	1	0,448	4,432	4,951	0,523	0,625	4,357	4,495	Proteína ribossômica ácida P2 60S OS=Mus musculus GN=Rplp2 PE=1 SV=3
32	1	Q02053	1	0,563	3,51	3,389	0,499	0,55	2,73	3,229	Enzima 1 de ativação de modificador semelhante à ubiquitina OS=Mus musculus GN=Uba1 PE=1 SV=1

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
33	1	Q9ET01	1	0,651	2,278	2,313	0,5	0,366	1,898	2,282	Glicogênio fosforilase, forma hepática OS=Mus musculus GN=Pyg1 PE=1 SV=4
33	2	E9PUM3	1	0,522	2,479	2,508	0,457	0,424	2,245	2,793	Alfa-1,4 glucanfosforilase OS=Mus musculus GN=Pygm PE=1 SV=1
34	1	Q9D8NO	1	0,711	3,914	3,944	0,68	0,54	3,488	4,008	Fator de elongação 1-gama OS=Mus musculus GN=Eef1g PE=1 SV=3
35	1	AOAOA-OMQA3	1	0,966	0,444	0,372	0,882	0,942	0,291	0,285	Alfa-1-antitripsina 1-1 OS=Mus musculus GN=Serpina1a PE=1 SV=1
35	2	P22599	1	1,003	0,416	0,39	0,9	0,944	0,277	0,297	Alfa-1-antitripsina 1-2 OS=Mus musculus GN=Serpina1b PE=1 SV=2
35	3	Q00897	1	1,015	0,385	0,397	0,869	0,935	0,282	0,284	Alfa-1-antitripsina 1-4 OS=Mus musculus GN=Serpina1d PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
36	1	P60710	1	0,835	2,534	1,997	0,762	0,661	1,67	1,935	Actina, citoplasmático 1 OS=Mus musculus GN=Actb PE=1 SV=1
37	1	P01670	1	1,113	0,134	0,095	0,775	0,921	0,066	0,142	Região V-III da cadeia kappa de igg PC 6684 OS=Mus musculus PE=1 SV=1
37	2	P01654	1	0,717	0,676	0,844	0,849	0,875	0,743	0,894	Região V-III da cadeia kappa de lg PC 2880/PC 1229 OS=Mus musculus PE=1 SV=1
37	3	P01659	1	0,711	0,557	0,746	0,844	0,915	0,652	0,816	Região V-III da cadeia kappa de igg TEPC 124 OS=Mus musculus PE=1 SV=1
37	4	P01644	1	1,128	0,107	0,072	0,774	0,92	0,045	0,077	Região VV da cadeia kappa de lg HP R16.7 OS=Mus musculus PE=1 SV=1
38	1	035490	1	0,438	4,545	4,685	0,493	0,407	4,172	5,147	Betaína - homocisteína S-metiltransferase 1 OS=Mus musculus GN=Bhmt PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
39	1	P24270	1	0,606	3,37	3,427	0,565	0,629	3,106	3,732	Catalase OS=Mus musculus GN=Cat PE=1 SV=4
40	1	F8VQJ3	1	0,589	3,141	3,222	0,559	0,591	2,723	3,368	Subunidade gama-1 da laminina OS=Mus musculus GN=Lamc1 PE=1 SV=1
41	1	P35979	1	0,817	3,185	2,918	0,545	0,622	2,718	3,167	Proteína ribossômica L12 60S OS=Mus musculus GN=Rp112 PE=1 SV=2
42	1	E9QOFO	1	1,094	1,235	0,783	0,652	0,524	0,83	2,297	Queratina 78 OS=Mus musculus GN=Krt78 PE=1 SV=1
43	1	AOA1BOGSR9	1	0,599	3,14	3,281	0,451	0,587	2,911	3,571	L-lactato desidrogenase OS=Mus musculus GN=Ldha PE=1 SV=1
43	2	Pl6125	1	0,614	3,417	3,424	0,491	0,548	2,825	3,633	Cadeia B de L-lactato desidrogenase OS=Mus musculus GN=Ldhb PE=1 SV=2
44	1	Q3V117	1	0,706	3,971	4,041	0,551	0,65	3,59	4,242	ATP-citrato sintase OS=Mus musculus GN=Acly PE=1 SV=1

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
45	1	Q06890	1	1,306	2,559	3,943	0,65	0,929	1,709	3,742	Clusterina OS=Mus musculus GN=Clu PE=1 SV=1
46	1	P62827	1	0,535	3,969	3,832	0,588	0,624	3,991	4,723	Proteína nuclear de ligação a GTP Ran OS=Mus musculus GN=Ran PE=1 SV=3
47	1	Pll983	1	0,605	3,461	3,706	0,603	0,562	3,052	3,845	Subunidade alfa do complexo T da proteína 1 OS=Mus musculus GN=Tcp1 PE=1 SV=3
48	1	Pl7182	1	0,499	2,205	2,195	0,396	0,419	1,789	2,184	Alfa-enolase OS=Mus musculus GN=Eno1 PE=1 SV=3
49	1	Q8BSL7	1	0,495	1,545	1,57	0,321	0,349	1,376	1,671	Fator de ribosilação de ADP 2 OS=Mus musculus GN=Arf2 PE=1 SV=2
50	1	P05784	1	0,888	1,55	2,148	0,563	0,485	1,589	1,915	Queratina, citoesquelético 18 tipo I OS=Mus musculus GN=Krt18 PE=1 SV=5
51	1	P55937	1	0,697	2,495	2,198	0,538	0,51	1,942	2,181	Membro 3 da subfamília A de Golgina OS=Mus musculus GN=Golga3 PE=1 SV=3

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
52	1	P80318	1	0,584	5,751	5,943	0,645	0,613	4,809	6,133	Subunidade gama da proteína 1 do complexo T OS=Mus musculus GN=Cct3 PE=1 SV=1
53	1	P47738	1	0,665	2,599	2,783	0,433	0,411	2,399	2,839	Aldeído desidrogenase, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Aldh2 PE=1 SV=1
54	1	Q8C483	1	0,615	5,397	5,208	0,527	0,6	4,274	5,248	Serina - trna ligase, citoplasmático OS=Mus musculus GN=Sars PE=1 SV=1
55	1	Q61753	1	0,617	4,268	3,794	0,665	0,543	3,294	3,744	D-3-fosfoglicerato desidrogenase OS=Mus musculus GN=Phgdh PE=1 SV=3
56	1	AOA075B5P5	1	0,9	0,713	0,622	0,896	0,913	0,526	0,562	Constante pesada gama 3 de imunoglobulina (fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighg3 PE=4 SV=1
57	1	P80317	1	0,66	2,494	2,42	0,466	0,696	2,041	2,439	Subunidade zeta de proteína 1 de complexo T OS=Mus musculus GN=Cct6a PE=1 SV=3

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
58	1	F8VQ40	1	0,673	4,307	3,634	0,625	0,532	3,366	3,523	Subunidade alfa-1 da laminina OS=Mus musculus GN=Lama1 PE=1 SV=1
59	1	P61164	1	0,722	3,698	3,748	0,827	0,979	3,399	4,202	Alfa-centractina OS=Mus musculus GN=Actr1a PE=1 SV=1
60	1	Pl4869	1	0,534	5,899	6,377	0,489	0,497	5,955	6,89	Proteína ribossômica ácida 60S PO OS=Mus musculus GN=Rp1p0 PE=1 SV=3
61	1	G3UY38	1	0,705	4,154	4,438	0,492	0,667	3,312	4,421	Ribonucleoproteína L nuclear heterogênea OS=Mus musculus GN=Hmnp1 PE=1 SV=1
62	1	Q9DBJ1	1	0,714	2,958	2,747	0,584	0,514	2,313	2,967	Fosfoglicerato mutase 1 OS=Mus musculus GN=Pgam1 PE=1 SV=3
63	1	Q00623	1	0,86	10,507	11,86	0,911	0,735	8,414	11,419	Apolipoproteína AI OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
64	1	H3BL49	1	0,677	5,168	4,93	0,505	0,574	4,114	5,44	Subunidade teta de proteína 1 de complexo T OS=Mus mus-culus GN=Cct8 PE=1 SV=1
65	1	AOA087WPL5	1	0,791	5,944	7,331	0,502	0,93	6,152	6,652	RNA helicase A dependente de ATP OS=Mus musculus GN=Dhx9 PE=1 SV=1
66	1	Q5XJF6	1	0,67	5,135	5,499	0,621	0,587	5,037	5,953	Proteína ribossômica OS=Mus musculus GN=Rp110a PE=1 SV=1
67	1	B2MlR6	1	0,339	3,136	2,928	0,346	0,64	2,275	2,869	Ribonucleoproteína nuclear heterogênea K OS=Mus mus-culus GN=Hmnpk PE=1 SV=1
68	1	P01027	1	0,758	1,291	1,298	0,716	0,786	1,026	1,333	Complemento C3 OS=Mus musculus GN=C3 PE=1 SV=3
69	1	D3YX34	1	0,708	12,653	9,271	1,254	1,49	7,798	9,476	Subunidade 1 da dinactina OS=Mus musculus GN=Dctn1 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
70	1	P0941 l	1	0,798	3,736	3,461	0,631	0,542	2,25	2,901	Fosfoglicerato quinase 1 OS=Mus musculus GN=Pgk1 PE=1 SV=4
71	1	AOA087WR50	1	1,051	1,541	2,37	0,785	0,885	1,116	1,747	Fibronectina OS=Mus musculus GN=Fn1 PE=1 SV=1
72	1	Q3U367	1	0,47	2,658	2,622	0,526	0,684	2,35	2,634	4-trimetilaminobutiraldeído desidrogenase OS=Mus musculus GN=Aldh9a1 PE=1 SV=1
73	1	Q9CPN9	1	0,707	1,371	1,106	0,339	0,347	0,752	0,708	Gene 2210010C04 de cdna RIKEN OS=Mus musculus GN=2210010C04Rik PE=1 SV=1
74	1	Pl0493	1	0,472	2,974	2,984	0,412	0,485	2,449	3,146	Nidogênio-1 OS=Mus musculus GN=Nid1 PE=1 SV=2
75	1	AOA140T8P6	1	0,657	1,018	0,803	0,764	0,97	0,823	1,101	Variável 12-46 kappa de imunoglobulina (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 12-46 PE=1 SV=2

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
75	2	AOA140T8Q l	1	0,849	0,604	0,577	1,073	1,247	0,449	0,425	Proteína lgkv12-41 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 12-41 PE=1 SV=2
76	1	AOA075B5K 2	1	0,719	0,488	0,496	0,856	0,858	0,341	0,379	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 9-124 OS=Mus musculus GN=Igkv 9-124 PE=1 SV=7
77	1	Q8Cl96	1	0,633	2,958	3,227	0,469	0,478	2,679	3,558	Carbamoil-fosfato sintase [amônia], mitocondrial OS=Mus musculus GN=Cps1 PE=1 SV=2
78	1	P80313	1	0,704	2,255	2,089	0,558	0,556	1,829	2,158	Proteína 1 de complexo T su-bunidade eta OS=Mus muscu-lus GN=Cct7 PE=1 SV=1
79	1	Pl2023	1	1,207	1,775	3,393	0,44	1,229	1,115	4,568	Proteína A4 amiloide-beta OS=Mus musculus GN=App PE=1 SV=3

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
80	1	D6RGQO	1	0,893	0,923	0,899	0,761	0,869	0,842	0,816	Fator de complemento H OS=Mus musculus GN=Cfh PE=1 SV=1
81	1	P20918	1	0,973	0,987	0,903	0,983	1,044	0,756	0,879	Plasminogênio OS=Mus musculus GN=Plg PE=1 SV=3
82	1	P60122	1	0,608	2,081	1,961	0,469	0,544	1,597	2,044	Semelhante a ruvb 1 OS=Mus musculus GN=Ruvb11 PE=1 SV=1
83	1	P01786	1	0,976	0,93	0,786	1,034	1,028	0,724	0,703	Região V da cadeia pesada de Ig MOPC 47A OS=Mus musculus PE=1 SV=1
84	1	AOA171KXD3	1	0,789	3,859	3,809	0,616	0,553	3,271	4,228	Proteína arginina N-metiltransferase 1 OS=Mus musculus GN=Prmt1 PE=1 SV=1
85	1	070475	1	0,596	2,177	1,917	0,367	0,574	1,929	2,18	UDP-glicose 6-desidrogenase OS=Mus musculus GN=Ugdh PE=1 SV=1

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
86	1	070310	1	0,643	2,454	2,24	0,699	0,691	2,047	2,201	Glicilpeptídeo N-tetradecanoiltransferase 1 OS=Mus musculus GN=Nmt1 PE=1 SV=1
87	1	AOA140T8V5	1	0,73	3,129	3,124	0,687	0,803	2,62	3,306	Antígeno nuclear de célula em proliferação OS=Mus musculus GN=Pcna-ps2 PE=3 SV=1
88	1	AOAOUl-RNJl	1	0,789	3,48	3,49	0,568	0,494	3,075	3,575	Sintase de ácido graxo OS=Mus musculus GN=Fasn PE=1 SV=1
89	1	Pl9324	1	0,505	2,255	2,356	0,447	0,413	2,045	2,588	Serpina H1 OS=Mus musculus GN=Serpinh1 PE=1 SV=3
90	1	Q9CQ62	1	0,557	2,269	2,301	0,284	0,366	1,91	2,611	2,4-dienoil-coa redutase, mito-condrial OS=Mus musculus GN=Decr1 PE=1 SV=1
91	1	G3X8Q5	1	0,837	0,468	0,388	0,696	0,931	0,347	0,436	Ceruloplasmina OS=Mus mus-culus GN=Cp PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
92	1	G3UXL2	1	0,23	0,995	0,713	0,168	0,213	0,818	0,931	Semelhante 3 à fosforibosil pirofosfato sintetase 1 OS=Mus musculus GN=Prps113 PE=3 SV=1
93	1	AOA140LI59	1	0,679	1,403	0,984	0,391	0,608	0,956	1,137	Proteína 1 deletada em tumores cerebrais malignos OS=Mus musculus GN=Dmbt1 PE=1 SV=1
94	1	AOA-OG2JE99	1	1,075	0,737	0,674	1,146	1,166	0,662	0,884	Constante lambda 1 de imunoglobulina (fragmento) OS=Mus musculus GN=Iglc1 PE=4 SV=1
95	1	P70168	1	0,404	1,805	1,796	0,316	0,235	1,571	1,906	Subunidade beta-1 de importina OS=Mus musculus GN=Kpnb1 PE=1 SV=2
96	1	P52196	1	0,484	4,304	4,508	0,806	0,39	3,105	4,241	Tiossulfato sulfurtransferase OS=Mus musculus GN=Tst PE=1 SV=3

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
97	1	AOA140T8N9	1	0,988	0,246	0,208	0,999	1,139	0,203	0,196	Variável kappa de imunoglobulina 6-32 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=lgkv 6-32 PE=4 SV=2
98	1	D3YYM6	1	0,765	3,263	3,719	0,878	1,101	3,14	3,89	Proteína ribossômica 40S S5 (fragmento) OS=Mus musculus GN=Rps5 PE=1 SV=1
99	1	P62908	1	0,529	3,92	4,071	0,491	0,533	3,44	4,57	Proteína ribossômica 40S S3 OS=Mus musculus GN=Rps3 PE=1 SV=1
100	1	Q9ERK4	1	0,669	7,384	8,429	0,701	0,659	5,471	8,396	Exportina-2 OS=Mus musculus GN=Cse 11 PE=1 SV=1
101	1	P28665	1	0,906	0,755	0,583	0,864	0,837	0,447	0,473	Murinoglobulina-1 OS=Mus musculus GN=Mug1 PE=1 SV=3
102	1	P62264	1	0,704	3,021	2,647	0,5	0,58	2,435	3,4	Proteína ribossômica 40S S14 OS=Mus musculus GN=Rps14 PE=1 SV=3

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
103	1	P31254	1	0,694	2,673	3,007	0,445	0,364	2,462	3,477	Enzima 1 de ativação de modificador semelhante à ubiquitina OS=Mus musculus GN=Ubaly PE=1 SV=1
104	1	G5E866	1	0,72	1,673	1,776	0,349	0,484	1,517	1,707	Fator de splicing 3B subunidade 1 OS=Mus musculus GN=Sf3b1 PE=1 SV=1
105	1	E9Q035	1	0,776	0,456	0,52	0,739	0,757	0,436	0,371	Gene previsto 20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1
106	1	P24549	1	0,713	5,531	5,654	0,547	0,572	4,672	5,436	Desidrogenase retinal 1 OS=Mus musculus GN=Aldh1a1 PE=1 SV=5
107	1	AOA140T8NO	1	0,712	0,639	0,79	1,113	0,761	0,457	0,467	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 9-120 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 9-120 PE=1 SV=2

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
108	1	AOA075B5K8	1	0,891	0,183	0,175	0,782	0,913	0,235	0,151	Variável kappa de imunoglobulina 1-99 OS=Mus musculus GN=Igkv 1-99 PE=4 SV=7
109	1	P07759	1	0,955	0,782	0,945	0,858	0,934	0,95	1,165	Inibidor de serina protease A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2
110	1	F6VW30	1	0,683	2,926	2,422	0,438	0,62	1,985	2,674	Proteína teta 14-3-3 (fragmento) OS=Mus musculus GN=Ywhaq PE=1 SV=1
111	1	E9QOU1	1	0,955	0,997	0,996	0,254	0,189	0,632	0,97	Subunidade 13 reguladora não-atpase do proteassoma 26S OS=Mus musculus GN=Psmd13 PE=1 SV=1
112	1	Q8RIB4	1	0,281	1,054	0,914	0,236	0,315	0,96	1,002	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade C OS=Mus musculus GN=Eif3c PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
113	1	P60843	1	0,617	3,747	3,945	0,571	0,554	2,78	3,653	Fator de iniciação eucariótica 4A-l OS=Mus musculus GN=Eif4a1 PE=1 SV=1
114	1	Q9DCH4	1	0,378	3,567	3,033	0,607	0,519	2,683	3,151	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade F OS=Mus musculus GN=Eif3f PE=1 SV=2
115	1	Q8VDM4	1	0,322	0,882	1,196	0,279	0,354	0,932	1,387	Subunidade 2 reguladora não-atpase do proteassoma 26S OS=Mus musculus GN=Psmd2 PE=1 SV=1
116	1	AOA075B666	1	0,857	0,479	0,496	0,876	0,966	0,539	0,582	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 13-85 (Fragmento) OS=Mus musculus Gn=lgkv 13-85 PE=4 SV=5
117	1	Q99LF4	1	0,711	1,252	1,032	0,705	0,754	0,765	0,844	Homólogo de rtcb de ligase de splicing de trna OS=Mus musculus GN=Rtcb PE=1 SV=1

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
118	1	E9QN70	1	0,691	5,329	5,611	0,373	0,241	4,703	5,203	Subunidade beta-1 de laminina OS=Mus musculus GN=Lamb1 PE=1 SV=1
119	1	P01675	1	0,863	1,7	1,759	1,09	0,799	1,768	1,771	Região V-Vl da cadeia kappa de lg XRPC 44 OS=Mus mus-culus PE=1 SV=1
120	1	P56480	1	0,622	2,126	2,174	0,312	0,293	1,758	1,902	ATP sintase subunidade beta, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Atp5b PE=1 SV=2
121	1	AOA075B5Q 4	1	0,907	1,108	0,961	0,849	0,878	0,776	1,366	Variável pesada de imunoglo-bulina 5-12 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv5-12 PE=4 SV=1
122	1	P01806	1	0,897	0,85	0,663	1,175	1,18	0,639	0,615	Região V da cadeia pesada de lg 441 OS=Mus musculus PE=4 SV=1
122	2	Pl8524	1	1,131--	-1,305	1,188	2,4	2,359	1,014	1,061	Região V da cadeia pesada de lg RF OS=Mus musculus PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
123	1	D3YYB1	1	0,472	6,722	7,098	0,94	1,072	5,336	6,996	Septina-2 (fragmento) OS=Mus musculus GN=Sept2 PE=1 SV=1
124	1	AOA075B5K l	1	1,467	0,646	0,456	1,598	1,499	0,467	0,483	Variável kappa de imunoglobulina 11-125 OS=Mus musculus GN=Igkv 11-125 PE=4 SV=7
125	1	AOA075B66 3	1	0,962	0,392	0,334	1,195	1,289	0,303	0,335	Variável lambda 1 de imunoglobulina (fragmento) OS=Mus musculus GN=Iglv1 PE=4 SV=1
126	1	Q8R2K3	1	0,387	2,152	2,022	0,453	0,309	1,458	1,69	Proteína 1 de ligação ao DNA de fita simples OS=Mus musculus GN=Ssbp1 PE=1 SV=1
127	1	Q6ZWY9	1	0,825	1,189	1,261	0,755	0,77	0,965	1,144	Tipo de histona H2B 1-C/E/G OS=Mus musculus GN=Hist1h2bc PE=1 SV=3
128	1	AOA-OR4J039	1	0,531	0,504	0,44	0,415	0,459	0,324	0,453	Glicoproteína rica em histidina OS=Mus musculus GN=Hrg PE=1 SV=1

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
129	1	Q3U741	1	0,367	2,749	2,768	0,314	0,319	2,176	2,404	Polipeptídeo de box DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 17, isoforma CRA a OS=Mus musculus GN=Ddx17 PE=1 SV=1
130	1	AOA-OG2JGC1	1	0,642	2,827	2,814	0,679	0,43	2,401	2,729	Proteína serina/treonina-fosfatase OS=Mus musculus GN=Ppplcc PE=1 SV=1
131	1	AOAOA-OMQ68	1	0,266	7,236	6,761	0,403	0,189	3,793	7,116	Glutaril-coa desidrogenase, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Gcdh PE=1 SV=1
132	1	Q9CXY6	1	0,299	0,953	1,028	0,171	0,201	0,822	1,052	Fator de ligação ao intensifica-dor de interleucina 2 OS=Mus musculus GN=I1f2 PE=1 SV=1
133	1	Q91VC3	1	0,595	2,581	1,984	0,6	0,621	2,076	2,196	Fator de iniciação eucariótica 4A-III OS=Mus musculus GN=Eif4a3 PE=1 SV=3
134	1	D3YVB4	1	1,095	2,686	3,063	0,881	0,525	2,888	3,237	Proteína ribossômica 40S Sl5a (fragmento) OS=Mus musculus GN=Rps15a PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
135	1	Q3TYH2	1	0,382	1,547	1,566	0,432	0,517	1,304	1,603	Proteína Rab-15 relacionada a Ras OS=Mus musculus GN=Rab15 PE=1 SV=1
136	1	AOAOB4J1Il	1	0,922	0,624	0,773	0,652	0,356	0,297	0,634	Variável kappa de imunoglobulina 16-104 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 16-104 PE=4 SV=1
137	1	P60229	1	0,576--	1,577	1,379	0,594	0,613	1,597	1,421	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade E OS=Mus musculus GN=Eif3e PE=1 SV=1
138	1	A2AL12	1	0,827	3,032	3,011	0,54	0,53	2,714	3,239	Ribonucleoproteína L nuclear heterogênea OS=Mus musculus GN=Hmnpa3 PE=1 SV=1
139	1	AOA-OB4JIH7	1	0,887	0,515	0,447	0,789	0,824	0,424	0,487	Variável kappa de imunoglobulina 1-135 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 1-135 PE=4 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
140	1	AOA-OG2JFB4	1	0,629	2,67	2,762	0,503	0,501	3,114	3,355	Fator de iniciação de tradução eucariótica 4E OS=Mus musculus GN=Eif4e PE=1 SV=1
141	1	A2AWQ2	1	0,206	0,921	0,599	0,155	0,349	0,649	0,649	Proteína RCC2 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Rcc2 PE=1 SV=1
142	1	Q8BGQ7	1	0,555	2,945	2,891	0,412	0,567	2,559	2,638	Alanina--trna ligase, citoplasmática OS=Mus musculus GN=Aars PE=1 SV=1
143	1	Q9CWJ9	1	0,716	1,491	1,223	0,546	0,696	1,099	1,417	Proteína PURH de biossíntese de purina bifuncional OS=Mus musculus GN=Atic PE=1 SV=2
144	1	AOA075B5VI	1	0,808	0,458	0,317	1,218	1,466	0,283	0,265	Variável pesada de imunoglobulina 1-31 OS=Mus musculus GN=Ighv 1-31 PE=4 SV=1
145	1	Q8BWT1	1	0,344	2,253	2,21	0,218	0,285	1,806	2,223	3-cetoacil-coa tiolase, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Acaa2 PE=1 SV=3

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
146	1	Q8BHOO	1	0,558	3,014	2,803	0,585	0,525	2,783	3,523	Família de 8 membros de aldeído desidrogenase Al OS=Mus musculus GN=Aldh8al PE=1 SV=1
147	1	AOA-OR4JlE2	1	0,674	2,127	2,067	0,493	0,615	1,481	1,7	Fator de elongação 1-delta OS=Mus musculus GN=Eefld PE=1 SV=1
148	1	Q3THK7	1	0,747	2,58	2,592	0,699	0,653	2,124	2,54	GMP sintase [glutamina-hidrolisante] OS=Mus musculus GN=Gmps PE=1 SV=2
149	1	Q3UH59	1	0,545	2,477	1,898	0,313	0,308	1,684	2,31	Miosina-10 OS=Mus musculus GN=Myh10 PE=1 SV=1
149	2	Q8VDD5	1	0,936	2,228	1,89	0,624	0,47	1,638	1,937	Miosina-9 OS=Mus musculus GN=Myh9 PE=1 SV=4
150	1	D3YVC1	1	0,693	3,287	3,337	0,493	0,586	3,002	3,478	Proteína ribossômica 40S S2 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Rps2 PE=1 SV=1
151	1	Q9EPL8	1	0,552	1,741	2,393	0,382	0,335	1,635	2,319	Importina-7 OS=Mus musculus GN=Ipo7 PE=1 SV=2

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
152	1	Q04447	1	0,673	3,09	2,713	0,421	0,685	1,888	2,804	Creatina quinase tipo B OS=Mus musculus GN=Ckb PE=1 SV=1
153	1	P62855	1	0,977	2,823	2,867	0,462	0,523	2,057	3,891	Proteína ribossômica 40S S26 OS=Mus musculus GN=Rps26 PE=1 SV=3
154	1	AOA087WS46	1	0,558	3,435	2,962	0,703	0,676	2,743	3,453	Fator de elongação de tradução eucariótica 1 beta 2 OS=Mus musculus GN=Eeflb2 PE=1 SV=1
155	1	P60766	1	0,616	2,402	2,179	0,408	0,421	1,597	1,894	Homólogo de proteína de controle de divisão celular 42 OS=Mus musculus GN=Cdc42 PE=1 SV=2
156	1	A0A140LIM5	1	0,545	2,759	2,667	0,612	0,472	2,019	2,837	Proteína de ponto de verificação mitótico BUB3 OS=Mus musculus GN=Bub3 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
157	1	AOA140T8N7	1	1,052	0,316	0,258	1,19	1,444	0,253	0,242	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 6-25 (Fragmento) OS=Mus musculus Gn=Igkv 6-25 PE=4 SV=2
157	2	AOA075B5N7	1	0,954	0,267	0,215	0,888	1,086	0,212	0,215	Variável kappa de imunoglobulina 6-13 OS=Mus musculus GN=Igkv 6-13 PE=1 SV=7
158	1	Q91X72	1	0,661	1,347	0,697	0,662	0,941	0,649	0,738	Hemopexina OS=Mus musculus GN=Hpx PE=1 SV=2
159	1	AOA075B5R4	1	0,829	0,575	0,568	0,922	0,843	0,55	0,593	Variável pesada de imunoglobulina 14-1 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv 14-1 PE=4 SV=1
160	1	AOAILISSTO	1	0,683	4,099	4,39	0,552	0,821	4,053	5,038	Peptidil-prolil cis-trans isomerase OS=Mus musculus GN=Ppia PE=1 SV=1
161	1	AOA075B5M7	1	1,107	0,336	0,388	0,968	1,205	0,432	0,271	Variável kappa de imunoglobulina 5-39 OS=Mus musculus GN=Igkv 5-39 PE=1 SV=7

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
162	1	P62305	1	0,459	1,19	0,955	0,438	0,41	0,906	0,912	Ribonucleoproteína E nuclear pequena OS=Mus musculus GN=Snrpe PE=1 SV=1
163	1	P97351	1	0,664	2,005	1,73	0,438	0,376	1,336	1,611	Proteína ribossômica 40S S3a OS=Mus musculus GN=Rps3a PE=1 SV=3
164	1	AOA087WP24	1	0,215	1,002	0,804	0,112	0,059	0,712	0,874	Proteína ABHD14B (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Abhd14b PE=1 SV=1
165	1	I7HIQ2	1	0,734	1,17	1,547	0,587	0,983	1,072	1,996	Quimiocina 16 do motivo CXC (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Cxcl16 PE=1 SV=1
166	1	AOA-OA6YW67	1	0,699	2,344	1,81	0,54	0,718	1,418	1,512	MCG23377, isoforma CRA_b OS=Mus musculus GN=Gm8797 PE=4 SV=1
167	1	Q3U2G2	1	0,934	3,186	2,905	0,746	0,588	2,703	3,188	Proteína 4 de choque térmico de 70 kda OS=Mus musculus GN=Hspa4 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
168	1	AOA-OG2JGQ8	1	0,871	0,426	0,359	0,703	0,649	0,434	0,483	Região C de cadeia lambda-3 de Ig (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Iglc3 PE=1 SV=1
169	1	AOA075B5W4	1	1,101	0,186	0,152	1,099	1,097	0,112	0,183	Variável pesada de imunoglobulina V8-6 OS=Mus musculus GN=Ighv 8-6 PE=4 SV=1
170	1	AOA-OR4J038	1	0,761	1,46	0,879	0,92	0,956	0,865	1,951	Cininogênio-1 OS=Mus musculus GN=Kng1 PE=1 SV=1
171	1	AOA1W2P733	1	0,613	1,997	1,523	0,458	0,53	1,294	1,772	C-1-tetraidrofolato sintase, citoplasmática OS=Mus musculus GN=Mthfd1 PE=1 SV=1
172	1	G3UY93	1	0,387	3,882	3,251	0,396	0,362	3,07	3,604	Valina - trna ligase (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Vars PE=1 SV=1
173	1	P63325	1	0,825	2,226	2,15	0,775	0,663	1,537	1,784	Proteína ribossômica 40S S10 OS=Mus musculus GN=Rps10 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
174	1	Q01853	1	0,773	1,352	1,814	0,443	0,536	1,283	1,618	Retículo endoplasmático transicional atpase OS=Mus musculus GN=Vcp PE=1 SV=4
175	1	P23 l 16	1	0,436	3,536	3,66	0,572	0,598	3,444	4,49	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade A OS=Mus musculus GN=Eif3a PE=1 SV=5
176	1	088844	1	0,735	3,39	2,947	0,536	0,585	2,088	2,763	Isocitrato desidrogenase [NADP] citoplasmático OS=Mus musculus GN=Idh1 PE=1 SV=2
177	1	AOA-OA6YX19	1	0,595	0,61	0,511	0,523	0,566	0,408	0,468	Variável pesada de imunoglobulina V6-4 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv 6-4 PE=4 SV=1
178	1	Pl4131	1	0,356	1,975	1,839	0,275	0,342	1,656	1,966	Proteína ribossômica 40S Sl6 OS=Mus musculus GN=Rpsl6 PE=1 SV=4
179	1	Q6P5F9	1	0,494	2,119	1,927	0,494	0,591	1,524	1,994	Exportina-1 OS=Mus musculus GN=Xpo1 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
180	1	AOA1BOGRW3	1	0,583	8,795	9,344	0,737	1,042	8,734	8,967	Helicase semelhante a ruvb (fragmento) OS=Mus musculus GN=Ruvb12 PE=1 SV=1
181	1	P62715	1	0,814	3,192	3,071	0,723	0,703	2,716	3,299	Isoforma beta da subunidade catalítica da proteína serina/treonina fosfatase 2A OS=Mus musculus GN=Ppp2cb PE=1 SV=1
182	1	A2A5F5	1	0,717	3,079	3,471	0,539	0,572	2,769	3,56	Proteína Rab-5C relacionada a Ras (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Rab5c PE=1 SV=1
183	1	Pl8528	1	0,679	1,187	0,387	0,957	0,939	0,369	0,366	Região V da cadeia pesada de Ig 6,96 OS=Mus musculus PE=4 SV=1
184	1	P40142	1	0,524	2,337	1,672	0,311	0,193	1,923	1,611	Transcetolase OS=Mus musculus GN=Tkt PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
185	1	P98086	1	0,082	0,236	0,151	0,085	0,112	0,068	0,135	Complemento Clq subcomponente subunidade A OS=Mus musculus GN=Clqa PE=1 SV=2
186	1	AOA1Y7VKY1	1	1,04	19,293	19,615	0,837	0,935	16,389	20,137	MCG116671 OS=Mus musculus GN=mcg 116671 PE=3 SV=1
187	1	H3BKL5	1	1,564	10,925	12,367	4,29	1,025	9,639	12,804	3-cetoacil-coa tiolase A, peroxissomal OS=Mus musculus GN=Acaala PE=1 SV=1
188	1	AOA075B5S9	1	0,83	0,711	0,786	3,619	3,835	0,49	0,822	Variável pesada de imunoglobulina 9-4 OS=Mus musculus GN=Ighv9-4 PE=4 SV=1
189	1	Q9ZlZ2	1	0,914	3,069	2,843	0,738	0,658	2,352	2,934	Proteína associada ao receptor de serina-treonina quinase OS=Mus musculus GN=Strap PE=1 SV=2
190	1	Q9IBU4	1	0,538	1,357	1,14	0,291	0,325	1,088	1,125	Dineína citoplasmática 1, cadeia pesada 1 OS=Mus musculus GN=Dynclh1 PE=1 SV=2

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
191	1	Q8BH95	---	---	---	---	---	---	---	---	Enoil-coa hidratase, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Echs1 PE=1 SV=1
192	1	Q61171	1	0,513	1,942	2,046	0,51	0,507	1,655	2,44	Peroxirredoxina-2 OS=Mus musculus GN=Prdx2 PE=1 SV=3
193	1	P62806	1	0,796	2,562	1,797	0,521	0,859	1,499	1,654	Histona H4 OS=Mus musculus GN=Histlh4a PE=1 SV=2
194	1	I7HFT9	1	0,714	1,104	0,895	0,69	0,525	0,933	1,072	Histona Hlt OS=Mus musculus GN=Histlhlt PE=1 SV=1
195	1	Q8JZQ9	1	0,455	1,607	1,39	0,397	0,434	1,286	1,475	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade B OS=Mus musculus GN=Eif3b PE=1 SV=1
196	1	P02104	1	0,977	3,916	3,568	0,602	0,812	2,878	3,735	Subunidade épsilon-Y2 de hemoglobina OS=Mus musculus GN=Hbb-y PE=1 SV=2

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
197	1	055135	1	0,402	2,848	2,479	---	0,687	1,496	2,106	Fator de iniciação da tradução eucariótica 6 OS=Mus musculus GN=Eif6 PE=1 SV=2
198	1	Q8BHN3	1	0,476	5,616	6,225	0,867	0,631	4,305	5,769	Alfa-glicosidase AB neutra OS=Mus musculus GN=Ganab PE=1 SV=1
199	1	Q6PE01	1	0,17	2,914	3,131	0,62	0,396	2,697	2,906	Proteína ribonucleoproteína nuclear pequena U5 de 40 kda OS=Mus musculus GN=Smnp40 PE=1 SV=1
200	1	AOA075B6A3	1	0,975	1,966	1,423	0,844	0,928	1,037	1,596	Constante alfa pesada de imunoglobulina (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igha PE=1 SV=1
201	1	P60867	1	0,708	2,743	2,328	0,777	0,754	1,677	2,143	Proteína ribossômica 40S S20 OS=Mus musculus GN=Rps20 PE=1 SV=1

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
202	1	AOA140T8N2	1	0,857	2,045	1,563	0,726	0,806	1,284	1,539	Proteína Igkv5-48 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 5-48 PE=1 SV=2
203	1	Q8BP47	1	0,588	2,357	2,31	0,613	0,549	1,962	2,34	Asparagina - trna ligase, cito-plasmática OS=Mus musculus GN=Nars PE=1 SV=2
204	1	A2A7S7	1	0,659	3,017	3,098	0,412	0,505	2,508	3,12	Tirosina - trna ligase OS=Mus musculus GN=Yars PE=1 SV=1
205	1	P21614	1	0,901	0,609	0,365	0,767	0,928	0,412	0,659	Proteína de ligação à vitamina D OS=Mus musculus GN=Gc PE=1 SV=2
206	1	E9Q718	1	0,989	3,378	3,203	1,158	0,793	2,934	3,103	Procolágeno-lisina, 2-oxoglutarato 5-dioxigenase 2 OS=Mus musculus GN=Plod2 PE=1 SV=1
207	1	070514	1	0,606	2,317	3,106	0,656	0,694	1,595	3,708	Proteína 1 de ligação ao fator de crescimento de fibroblastos OS=Mus musculus GN=Fgfbn1 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
208	1	AOA075B5L8	1	0,281	0,432	0,357	0,223	0,296	0,409	0,29	Variável kappa de imunoglobulina 4-79 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=lgkv 4-79 PE=4 SV=2
209	1	D3Z5M7	1	0,588	2,844	2,785	0,425	0,758	2,348	2,342	Homólogo de peroxidasina OS=Mus musculus GN=Pxdn PE=1 SV=2
210	1	P63038	1	0,534	1,687	1,65	0,45	0,547	1,241	1,434	Proteína de choque térmico de 60 kda, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Hspd1 PE=1 SV=1
211	1	P51150	1	0,671	1,645	1,178	0,493	0,53	1,253	1,16	Proteína Rab-7a relacionada a Ras OS=Mus musculus GN=Rab7a PE=1 SV=2
212	1	Pl0639	1	0,442	1,254	1,833	0,368	0,353	1,19	1,885	Tioredoxina OS=Mus musculus GN=Txn PE=1 SV=3
213	1	D6RDC7	1	0,487	3,274	2,775	---	0,384	2,327	3,359	Proteína 61 contendo repetição WD OS=Mus musculus GN=Wdr61 PE=1 SV=2

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
214	1	E9Q7D8	1	0,527	1,612	1,444	0,596	0,547	1,503	1,84	Proteína 3 de ligação a poli(rc) OS=Mus musculus GN=Pcbp3 PE=1 SV=1
215	1	P32261	1	0,345	3,046	3,193	0,421	0,408	2,519	3,052	Antitrombina-III OS=Mus musculus GN=Serpinc1 PE=1 SV=1
216	1	Q3THE2	1	1,372	6,315	5,784	0,484	0,697	4,18	5,643	Cadeia leve reguladora de miosina 12B OS=Mus musculus GN=Myl12b PE=1 SV=2
217	1	Q921I9	1	0,62	1,712	1,445	0,471	0,54	0,996	1,83	Componente complexo de exossoma RRP4 l OS=Mus musculus GN=Exosc4 PE=1 SV=3
218	1	AOA-OJ9YKD4	1	---	42,422	39,008	0,894	1,008	29,919	38,247	Creatina quinase tipo M OS=Mus musculus GN=Ckm PE=1 SV=1
219	1	Q9JHU9	1	0,219	1,548	1,629	0,08	0,159	1,283	1,42	Inositol-3-fosfato sintase 1 OS=Mus musculus GN=Isyna1 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
220	1	AOA075B6D5	1	0,875	0,582	0,541	1,199	1,34	0,687	0,616	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 19-93 OS=Mus musculus GN=Igkv 19-93 PE=1 SV=7
221	1	Q9QWK4	1	0,536	0,774	0,455	0,655	0,456	0,67	0,55	Semelhante ao antígeno CD5 OS=Mus musculus GN=Cd51 PE=1 SV=3
222	1	G3X8P9	1	0,419	5,103	5,022	0,738	0,706	6,295	8,275	Aldeído oxidase 1 OS=Mus musculus GN=Aox1 PE=1 SV=1
223	1	Q6PDM2	1	0,234	0,997	0,883	0,214	0,269	0,809	0,879	Fator de splicing 1 rico em serina/arginina OS=Mus musculus GN=Srsf1 PE=1 SV=3
224	1	Q91VB8	1	0,45	2,337	2,3	0,669	0,478	1,884	2,099	Alfa globina 1 OS=Mus musculus GN=Hba-a2 PE=1 SV=1
225	1	P61161	1	0,405	2,223	1,903	0,48	0,544	1,744	2,012	Proteína 2 relacionada à actina OS=Mus musculus GN=Actr2 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
226	1	AOA075B5L7	1	0,482	0,979	0,767	0,378	0,357	0,933	1,005	Variável kappa de imunoglobulina 4-80 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=lgkv 4-80 PE=4 SV=2
227	1	E9QlG8	1	0,56	1,883	2,321	0,478	0,501	1,933	2,256	Septina-7 OS=Mus musculus GN=Sept7 PE=1 SV=2
228	1	D3YUG4	1	0,582	3,576	2,537	0,67	0,469	2,335	2,531	Proteína acil-tioesterase 1 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Lypla1 PE=1 SV=1
229	1	Q8R317	1	0,684	1,305	0,595	0,631	0,572	0,798	1,503	Ubiquilina-1 OS=Mus musculus GN=Ubqln1 PE=1 SV=1
230	1	P27641	1	---	3,472	3,891	---	---	3,988	5,176	Proteína 5 de complementação cruzada de reparo de raios-X OS=Mus musculus GN=Xrcc5 PE=1 SV=4
231	1	Q6ZQ38	1	0,164	2,632	2,648	0,324	0,369	1,833	2,094	Proteína 1 dissociada de NEDD8 associada à culina OS=Mus musculus GN=Cand1 PE=1 SV=2

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
232	1	AO-AI40T8M4	1	0,771	1,063	1,01	0,779	0,926	1,073	0,667	Variável kappa de imunoglobu-lina 8-19 OS=Mus musculus GN=Igkv 8-19 PE=1 SV=2
233	1	Q8CIH9	1	0,848	2,005	1,656	0,543	0,891	1,507	1,925	Amidofosforibosiltransferase OS=Mus musculus GN=Ppat PE=1 SV=1
234	1	AOA075B5L2	1	1,618	0,869	0,58	1,297	1,512	0,707	0,596	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 4-91 (Fragmen-to) OS=Mus musculus Gn=lgkv 4-91 PE=4 SV=2
235	1	AOA075B5R6	1	1,07	0,084	0,118	1,421	1,81	---	0,15	Variável pesada de imunoglo-bulina 11-1 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv 11-1 PE=4 SV=1
236	1	A2AFQ2	1	0,528	1,617	1,628	0,393	0,267	0,776	1,206	3-hidroxiacil-coa desidrogenase tipo 2 OS=Mus musculus GN=Hsdl7b10 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
237	1	Q8VIJ6	1	0,874	4,604	4,737	0,799	0,654	3,735	4,567	Fator de splicing, rico em prolina e glutamina OS=Mus musculus GN=Sfpq PE=1 SV=1
238	1	AOA1W2P6P4	1	0,369	0,706	0,725	0,154	0,127	0,49	0,611	Proteína Nova-I de ligação a RNA (fragmento) OS=Mus musculus GN=Noval PE=1 SV=1
239	1	Q9WU78	1	1,143	1,766	1,966	3,037	0,475	1,201	1,952	Proteína que interage com a morte celular programada 6 OS=Mus musculus GN=Pdcd6ip PE=1 SV=3
240	1	AOA1C7ZMZ5	1	0,65	0,989	0,86	0,52	0,8	0,668	0,655	Glutationa peroxidase (fragmento) OS=Mus musculus GN=Gpx3 PE=1 SV=1
241	1	P59016	1	0,297	2,626	1,678	0,113	0,258	1,306	1,554	Proteína vacuolar associada à classificação de proteína 33B OS=Mus musculus GN=Vps33b PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
242	1	AOA140LJ59	1	0,838	4,938	4,606	0,474	0,435	3,987	4,082	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade K OS=Mus musculus GN=Eif3k PE=1 SV=1
243	1	F6RV17	1	0,511	1,423	1,147	0,239	0,165	1,297	1,313	Proteína serina/treonina- fosfatase 2A de 55 kda subunidade reguladora B OS=Mus musculus GN=Ppp2r2d PE=1 SV=2
244	1	Q3TGU7	1	0,397	1,061	1,051	0,652	0,812	1,125	1,148	2G4 associado à proliferação OS=Mus musculus GN=Pa2g4 PE=1 SV=1
245	1	A2CEK3	1	0,555	1,813	1,523	0,433	0,504	1,154	1,418	Fosfoglicomutase-2 OS=Mus musculus GN=Pgm2 PE=1 SV=1
246	1	Q8BGJ5	1	0,466	2,224	1,5	0,319	0,486	1,944	2,36	MCG13402, isoforma CRA_a OS=Mus musculus GN=Ptbp1 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
247	1	Q9CZD3	1	0,441	5,688	5,299	1,021	1,066	4,688	4,333	Glicina - trna ligase OS=Mus musculus GN=Gars PE=1 SV=1
248	1	P97310	1	0,409	1,542	1,411	0,512	0,44	1,777	2,25	Fator de licenciamento de replicação de DNA MCM2 OS=Mus musculus GN=Mcm2 PE=1 SV=3
249	1	Q64674	1	0,569	2,696	3,056	0,412	0,466	2,561	3,135	Espermidina sintase OS=Mus musculus GN=Srm PE=1 SV=1
250	1	Q6PFB2	1	0,247	9,766	9,927	0,467	0,574	8,042	9,76	Proteína Rccl OS=Mus musculus GN=Rccl PE=1 SV=1
251	1	Q3UE92	1	0,842	1,966	1,961	0,633	0,56	1,66	1,535	X-prolil aminopeptidase (Aminopeptidase P) 1, solúvel, isoforma CRA_b OS=Mus musculus GN=Xpnpep1 PE=1 SV=1
252	1	AOA1BOGR44	1	0,616	1,44	1,073	0,53	0,469	1,068	1,077	Ribonucleoproteína pequena nuclear Ul de 70 kda (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Smnp70 PE=1 SV=1

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
253	1	AOA1LlSSH 9	1	0,545	2,279	1,444	0,401	0,483	1,601	2,096	SPARC OS=Mus musculus GN=Sparc PE=1 SV=1
254	1	Q99KP6	1	0.4ll	4,136	3,436	0,514	0,591	3,364	4,537	Fator de pré-processamento de mrna 19 OS=Mus musculus GN=Prpf19 PE=1 SV=1
255	1	Q9QZD9	1	0,455	3,088	3,321	0,427	0,338	2,689	2,871	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade I OS=Mus musculus GN=Eif3i PE=1 SV=1
256	1	Q6P5H2	1	1,712	1,513	0,707	0,553	0,582	1,036	2,072	Nestina OS=Mus musculus GN=Nes PE=1 SV=1
257	1	F6RPJ9	1	0,385	1,047	0,65	0,157	0,215	0,737	0,975	Enzima degradadora de insuli-na (fragmento) OS=Mus mus-culus GN=Ide PE=1 SV=1
258	1	P52955	1	0,826	0,11	0,108	0,643	0,732	0,092	0,084	Fator de transcrição LBX1 OS=Mus musculus GN=Lbx1 PE=1 SV=2
259	1	035988	---	---	---	---	---	---	---	---	Sindecano-4 OS=Mus muscu-lus GN=Sdc4 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
260	1	P61407	1	0,823	0,571	0,525	0,185	0,224	0,299	---	Proteína 6 contendo domínio Tudor OS=Mus musculus GN=Tdrd6 PE=1 SV=1
261	1	AOA075B5N4	1	0,92	1,061	1,095	1,518	1,742	0,846	1,239	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 8-27 OS=Mus musculus GN=Igkv 8-27 PE=4 SV=1
262	1	AOA-OB4J1I5	1	0,818	0,286	0,254	0,798	0,786	0,217	0,256	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 4-70 (Fragmento) OS=Mus musculus Gn=Igkv 4-70 PE=4 SV=1
263	1	AOA075B5T9	1	1,1	0,778	0,907	0,606	0,542	0,474	0,52	Variável pesada de imunoglobulina V1-9 OS=Mus musculus GN=Ighv 1-9 PE=4 SV=1
264	1	AOA075B5V8	1	0,889	0,661	0,553	1,051	1,289	0,855	0,576	Variável pesada de imunoglobulina 1-47 OS=Mus musculus GN=Ighv 1-47 PE=4 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
265	1	AOA-OA6YXN4	1	0,594	0,727	0,677	1,999	1,876	0,521	0,789	Variável pesada de imunoglobulina V1-18 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv 1-18 PE=1 SV=1
266	1	Q8VGI4	1	0,255	3,468	3,627	0,322	0,366	3,109	3,6	Receptor olfativo 476 OS=Mus musculus GN=Olfr476 PE=3 SV=1
267	1	Q8VEK3	1	0,595	2,14	2,123	0,665	0,658	1,932	1,931	Ribonucleoproteína nuclear heterogênea U OS=Mus musculus GN=Hmnpu PE=1 SV=1
268	1	F8WHL2	1	0,632	2,507	1,658	0,567	0,548	1,993	2,252	Subunidade alfa de coatômero OS=Mus musculus GN=Copa PE=1 SV=1
269	1	P53994	1	0,459	0,562	0,541	1,278	0,775	0,584	0,527	Proteína Rab-2A relacionada a Ras OS=Mus musculus GN=Rab2a PE=1 SV=1
270	1	L7MTU6	1	0,522	2,822	2,248	0,64	0,374	1,801	1,848	Interferon alfa B OS=Mus musculus GN=Ifnab PE=3 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
271	1	Q61646	1	1,119	0,356	0,181	1,098	0,849	0,214	0,467	Haptoglobina OS=Mus musculus GN=Hp PE=1 SV=1
272	1	B8JK32	1	0,602	1,644	1,661	0,272	0,432	1,681	2,273	Ribonucleoproteína nuclear heterogênea M OS=Mus musculus GN=Hnrnpm PE=1 SV=1
273	1	A2A4Jl	1	0,398	3,341	3,345	0,386	0,305	1,98	2,971	Complexo de ativador de proteassoma subunidade 3 (fragmento) OS=Mus musculus GN=Psme3 PE=1 SV=1
274	1	Q9D892	1	0,855	1,766	2,106	0,278	0,635	1,611	2,111	Inosina trifosfato pirofosfatase OS=Mus musculus GN=Itpa PE=1 SV=2
275	1	Q8QZY1	1	0,853	3,805	3,518	0,79	1,255	2,789	3,222	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade L OS=Mus musculus GN=Eif31 PE=1 SV=1
276	1	Q9JKR6	1	0,486	2,282	2,379	0,728	0,521	3,009	2,585	Proteína 1 regulada para cima por hipóxia OS=Mus musculus GN=Hyou1 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
277	1	D3Z6N3	1	0,601	1,4	1,368	0,583	0,617	1,317	1,481	Fator de licenciamento de replicação de DNA MCM7 OS=Mus musculus GN=Mcm7 PE=1 SV=1
278	1	G3UXG7	1	0,548	2,638	1,143	0,348	0,662	1,637	1,452	Caseína quinase II subunidade beta OS=Mus musculus GN=Csnk2b PE=1 SV=1
279	1	Q9D8E6	1	0,665	1,529	1,612	0,437	0,615	1,246	1,554	Proteína ribossômica 60S L4 OS=Mus musculus GN=Rpl4 PE=1 SV=3
280	1	AOA-OR4J1NI	1	0,708	0,956	0,865	0,496	0,309	0,869	0,937	Inibidor de inter alfa-tripsina, cadeia pesada 4 OS=Mus musculus GN=Itih4 PE=1 SV=1
281	1	PI7751	1	0,734	1,87	1,45	0,73	0,882	1,528	1,534	Triosefosfato isomerase OS=Mus musculus GN=Tpil PE=1 SV=4

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
282	1	P62334	1	0,561	1,651	1,432	0,524	0,454	1,279	1,73	Subunidade reguladora de proteassoma 26S 10B OS=Mus musculus GN=Psmc6 PE=1 SV=1
283	1	Q8C2Q7	1	0,404	3,867	2,918	0,454	0,286	2,215	2,192	Ribonucleoproteína H nuclear heterogênea OS=Mus musculus GN=Hnrnph1 PE=1 SV=1
284	1	S4RIl6	1	0,563	2,671	2,6	0,786	0,709	2,209	2,164	MCG2872, isoforma CRA_b OS=Mus musculus GN=Ddx5 PE=1 SV=1
286	1	Q6ZWN5	1	0,849	3,088	3,404	0,637	0,586	2,497	3,102	Proteína ribossômica 40S S9 OS=Mus musculus GN=Rps9 PE=1 SV=3
287	1	F6YZU5	1	0,779	1,055	1,159	0,453	0,558	0,728	0,8	Discos grandes homólogos 5 (fragmento) OS=Mus musculus GN=Dlg5 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
288	1	A2AW05	1	0,675	2,062	1,466	0,544	0,49	0,983	1,427	Subunidade do complexo FACT ssrpl (fragmento) OS=Mus musculus GN=Ssrp1 PE=1 SV=1
289	1	AOA-OR4Jl87	1	0,68	1,446	1,537	0,714	0,948	0,913	1,425	Proteína 6 de complementação cruzada de reparo de raios-X OS=Mus musculus GN=Xrcc6 PE=1 SV=1
290	1	Q9QZE5	1	0,139	1,108	1,278	0,14	0,121	1,15	1,413	Subunidade gama-1 de coatômero OS=Mus musculus GN=Copg1 PE=1 SV=1
291	1	Q9DB16	1	1,149	1,254	1,843	0,826	4,987	1,682	1,847	Semelhante à proteína 39 de ligação a cálcio OS=Mus musculus GN=Cab391 PE=1 SV=3
292	1	P62962	1	0,347	1,223	1,112	0,603	0,804	1,099	1,127	Profilina-1 OS=Mus musculus GN=Pfn1 PE=1 SV=2
293	1	F6XI62	1	0,74	1,544	0,92	0,223	0,435	1,142	1,34	Proteína ribossômica L7 60S (fragmento) OS=Mus musculus GN=Rpl7 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
294	1	F8WIV5	1	0,248	0,84	0,965	0,206	0,165	0,74	0,913	Dinamina-2 OS=Mus musculus GN=Dnm2 PE=1 SV=2
295	1	AOA075B5P8	1	0,916	0,462	0,425	0,92	0,975	0,391	0,424	Variável pesada de imunoglobulina 2-2 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv2-2 PE=4 SV=1
296	1	P62702	1	0,891	3,453	2,239	0,603	0,663	2,145	2,252	Proteína ribossômica 40S S4, isoforma X OS=Mus musculus GN=Rps4x PE=1 SV=2
297	1	055142	1	0,555	2,709	1,631	0,568	0,815	1,045	1,647	Proteína ribossômica 60S L35a OS=Mus musculus GN=Rpl35a PE=1 SV=2
298	1	AOA1Y7VJM8	1	0,388	1,598	1,726	0,381	0,35	1,092	1,161	Proteína dedo de zinco 934 OS=Mus musculus GN=Zfp934 PE=4 SV=1
299	1	Q9JJN6	1	1,192	2,975	3,304	1,111	0,337	1,111	0,93	Proteína 1 que interage com beta-catenina OS=Mus musculus GN=Ctnnbipl PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
300	1	Q9DCC4	1	0,614	2,17	1,789	0,831	0,195	2,244	3,024	Pirrolina-5-carboxilato redutase 3 OS=Mus musculus GN=Pycr3 PE=1 SV=2
301	1	P32233	1	0,465	1,123	0,577	0,122	0,269	0,459	0,738	Proteína 1 de ligação a GTP regulada pelo desenvolvimento OS=Mus musculus GN=Drg1 PE=1 SV=1
302	1	D3Z4Q4	1	0,874	1,145	1,259	0,601	0,509	0,672	0,923	Quinona oxidorredutase (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Cryz PE=1 SV=1
303	1	A2AC16	1	0,626	3,389	3,384	0,57	0,268	3,272	3,683	Dicarbonil L-xilulose redutase, isoforma CRA_a OS=Mus musculus GN=Dcxr PE=1 SV=1
304	1	Q8BVN8	1	0,656	4,731	4,234	1,352	1,133	4,175	4,589	Polipeptídeo intermediário leve de dineína axonemal 1 OS=Mus musculus GN=Dnalil PE=1 SV=1

Famí-lia	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	Descrição
305	1	Q9D964	1	0,442	1,699	1,883	0,456	0,518	1,674	1,752	Glicina amidinotransferase mi-tocondrial OS=Mus musculus GN=Gatrn PE=1 SV=1
306	1	Q6GQT1	1	0,494	1,798	1,95	0,154	0,214	1,105	1,629	Alfa-2-macroglobulina-P OS=Mus musculus GN=A2m PE=2 SV=2

Tabela 4: Dados de IP/MS de CA19-9 de meio condicionado de organoide C;R^{LSL};F ou geneticamente negativo (A225 e A223, respectivamente) após 8 horas de tratamento com Dox. "25 0H NS19" indica organoides A225 antes do tratamento com NS19-9; "25 8H NS19" indica organoides A225 após 8 horas de tratamento com NS19-9; "25 0H 5B1" indica organoides A225 antes do tratamento com 5B1; "25 8H 5B1" indica organoides A225 após 8 horas de tratamento com 5B1; "23 0H NS19" indica organoides A223 antes do tratamento com NS19-9; "23 8H NS19" indica organoides A223 após 8 horas de tratamento com NS19-9; "23 0H 5B1" indica organoides A223 antes do tratamento com 5B1; "23 8H 5B1" indica organoides A223 após 8 horas de tratamento com 5B1.

Família	Membro	Acesso UniProt_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
1	1	P01868	1	1,069	0,117	0,069	1,086	0,956	0,091	0,177	Forma secretada da região C da cadeia gama-1 de Ig OS=Mus musculus GN=Ighg1 PE=1 SV=1
1	2	AOA075B5P4	1	1,072	0,112	0,066	1,088	0,957	0,088	0,164	Forma secretada de região C de cadeia gama-1 de Ig (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighg1 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
2	1	P01637	1	1,139	0,285	0,202	2,018	1,655	0,243	0,336	Região T1 VV da cadeia kappa de Ig OS=Mus mus-culus PE=4 SV=1
2	2	AO-AI40T8P9	1	1,105	0,31	0,166	1,879	1,578	0,207	0,29	Variável kappa de imuno-globulina 14-111 (Fragmen-to) OS=Mus musculus GN=Igkv14-111 PE=4 SV=2
3	1	P01837	1	1,164	0,109	0,081	1,443	1,363	0,058	0,142	Região C de cadeia kappa de Ig OS=Mus musculus PE=1 SV=1
3	2	AOA075B5P2	1	1,153	0,107	0,081	1,433	1,347	0,058	0,141	Constante kappa de imuno-globulina (fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkc PE=1 SV=1
4	1	P07724	1	0,929	0,204	0,187	1,061	0,903	0,146	0,27	Albumina sérica OS=Mus musculus GN=Alb PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
5	1	P20152	1	0,542	11,23	9,977	0,724	0,767	10,68	14,82	Vimentina OS=Mus musculus GN=Vim PE=1 SV=3
5	2	P50446	1	0,685	1,22	1,07	0,934	0,691	1,425	1,126	Queratina, citoesquelética 6A tipo II OS=Mus musculus GN=Krt6a PE=1 SV=3
5	3	P11679	1	0,895	1,633	1,507	0,791	0,683	2,206	2,604	Queratina, citoesquelética 8 tipo II OS=Mus musculus GN=Krt8 PE=1 SV=4
5	4	P04104	1	0,646	1,089	0,866	0,804	0,547	1,751	0,905	Queratina, citoesquelética 1 tipo II OS=Mus musculus GN=Krtl PE=1 SV=4
5	5	P31001	1	0,295	11,52	9,866	0,409	0,458	13,22	15,16	Desmina OS=Mus musculus GN=Des PE=1 SV=3
5	6	Q8VED5	1	0,851	1,532	1,103	1,045	0,696	1,186	1,292	Queratina, citoesquelética 79 tipo II OS=Mus musculus GN=Krt79 PE=1 SV=2

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
5	7	Q6NXH9	1	0,653	1,123	0,848	0,989	0,665	1,323	1,156	Queratina, citoesquelética 73 tipo II OS=Mus musculus GN=Krt73 PE=1 SV=1
5	8	Q9DCV7	1	0,872	1,337	1,401	0,846	0,656	1,772	2,35	Queratina, citoesquelética 7 tipo II OS=Mus musculus GN=Krt7 PE=1 SV=1
5	9	Q3TTY5	1	0,754	1,446	0,913	0,921	0,753	1,105	1,215	Queratina, citoesquelética 2 epidérmico tipo II OS=Mus musculus GN=Krt2 PE=1 SV=1
5	10	Q3UV17	1	0,658	1,197	0,991	1,028	0,651	1,621	1,025	Queratina, citoesquelética oral 2 tipo II OS=Mus musculus GN=Krt76 PE=1 SV=1
5	11	P07744	1	0,82	1,422	1,192	1,102	0,83	1,561	1,751	Queratina, citoesquelética 4 tipo II OS=Mus musculus GN=Krt4 PE=1 SV=2

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
6	1	AOA075B5T3	1	1,127	0,303	0,276	1,156	1,077	0,323	0,514	Variável pesada de imuno-globulina 6-6 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv6-6 PE=4 SV=1
6	2	P01796	1	1,112	0,337	0,301	1,535	1,245	0,343	0,512	Região A4 V-III da cadeia pesada de Ig OS=Mus mus-culus PE=1 SV=1
7	1	P05213	1	0,75	4,685	4,035	0,727	0,665	3,521	5,493	Cadeia de tubulina alfa-1e OS=Mus musculus GN=Tuba1b PE=1 SV=2
8	1	P52480	1	0,571	5,34	4,177	0,653	0,569	4,463	6,417	Piruvato quinase PKM OS=Mus musculus GN=Pkm PE=1 SV=4
9	1	Pl 1499	1	0,818	4,865	3,988	0,922	0,76	3,98	5,618	Proteína de choque térmico HSP 90-beta OS=Mus mus-culus GN=Hsp90ab1 PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
9	2	P07901	1	0,848	3,685	3,04	0,913	0,784	2,998	4,086	Proteína de choque térmico HSP 90-alfa OS=Mus musculus GN=Hsp90aa1 PE=1 SV=4
9	3	P08113	1	0,832	3,586	2,899	0,715	0,779	3,001	3,873	Endoplasmina OS=Mus musculus GN=Hsp90b1 PE=1 SV=2
10	1	Q68FD5	1	0,765	3,631	3,184	0,854	0,723	2,825	4,176	Cadeia pesada 1 de clatrina OS=Mus musculus GN=Cltc PE=1 SV=3
11	1	P26443	1	0,681	8,259	6,636	0,947	0,77	6,399	8,311	Glutamato desidrogenase 1, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Glud1 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
12	1	AOA075B5P3	1	0,897	0,331	0,27	0,975	0,846	0,257	0,29	Constante pesada gama 2B de imunoglobulina (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighg2b PE=1 SV=1
12	2	P01867	1	0,9	0,318	0,262	0,973	0,859	0,259	0,292	Região C da cadeia gama-2B de Ig OS=Mus musculus GN=Igh-3 PE=1 SV=3
12	3	P01863	1	0,798	0,245	0,227	0,997	0,879	0,19	0,244	Região C da cadeia gama-2A de Ig, alelo A OS=Mus musculus GN=Ighg PE=1 SV=1
13	1	Q61838	1	0,855	0,243	0,208	0,959	0,856	0,202	0,212	Proteína da zona de gravidez OS=Mus musculus GN=Pzp PE=1 SV=3
14	1	P58252	1	0,737	4,985	4,221	0,824	0,806	4,117	5,373	Fator de elongação 2 OS=Mus musculus GN=Eef2 PE=1 SV=2

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
14	2	A2AH85	1	0,776	3,331	2,779	0,634	0,659	2,615	3,589	Componente de ribonucleo-proteína nuclear pequena U5 de 116 kda OS=Mus musculus GN=Eftud2 PE=1 SV=1
15	1	Q9ZlR9	1	3,838	2,933	3,243	3,829	3,089	1,806	1,209	MCG124046 OS=Mus mus-culus GN=Prss1 PE=1 SV=1
15	2	Q792Y8	1	3,987	2,916	3,244	3,904	3,133	1,63	1,07	MCG15081 OS=Mus mus-culus GN=Gm10334 PE=3 SV=1
15	3	Q792Zl	1	4,18	3,033	3,368	4,081	3,265	1,651	1,092	MCG140784 OS=Mus mus-culus GN=Try10 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
16	1	P63017	1	0,81	5,69	4,331	0,939	0,841	4,318	6,09	Proteína cognata de choque térmico de 71 kda OS=Mus musculus GN=Hspa8 PE=1 SV=1
16	2	Pl7879	1	0,753	4,922	3,812	0,758	1,484	3,99	5,519	Proteína 1B de choque térmico de 70 kda OS=Mus musculus GN=Hspa1b PE=1 SV=3
16	3	Pl6627	1	0,782	5,422	4,224	0,779	1,774	4,494	6,214	Semelhante à proteína 1 de choque térmico de 70 kda OS=Mus musculus GN=Hspa11 PE=1 SV=4
16	4	P20029	1	0,697	5,037	4,064	0,821	0,688	4,271	5,732	Proteína regulada por glicose de 78 kda OS=Mus musculus GN=Hspa5 PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
17	1	P99024	1	0,963	4,791	3,931	1,143	0,766	3,722	5,468	Cadeia beta-5 da tubulina OS=Mus musculus GN=Tubb5 PE=1 SV=1
17	2	P68372	1	0,932	4,251	3,488	1,103	0,855	3,267	4,92	Cadeia beta-4B de tubulina OS=Mus musculus GN=Tubb4b PE=1 SV=1
18	1	A2A513	1	0,751	1,352	0,812	0,914	0,699	1,102	1,021	Queratina, citoesquelética 10 tipo I OS=Mus musculus GN=Krt10 PE=1 SV=1
18	2	Pl9001	1	0,883	1,432	1,473	0,776	0,588	1,738	1,856	Queratina, citoesquelética 19 tipo I OS=Mus musculus GN=Krtl9 PE=1 SV=1
18	3	Q61781	1	0,845	1,295	1,106	0,917	0,816	1,16	1,543	Queratina, citoesquelético 14 tipo I OS=Mus musculus GN=Krt14 PE=1 SV=2

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
19	1	P50247	1	0,586	7,664	6,361	0,736	0,693	6,445	8,288	Adenosil-homocisteinase OS=Mus musculus GN=Ahcy PE=1 SV=3
20	1	AOAOA-OMQF6	1	0,919	7,123	6,146	1,076	0,88	5,781	8,724	Gliceraldeído-3-fosfato de-sidrogenase OS=Mus mus-culus GN=Gapdh PE=1 SV=1
21	1	Pl4206	1	0,679	3,016	2,309	0,65	0,605	2,401	3,355	Proteína ribossômica SA 40S OS=Mus musculus GN=Rpsa PE=1 SV=4
22	1	035565	1	0,798	6,656	5,286	0,898	0,87	4,8	7,394	Fator de crescimento de fibroblastos 10 OS=Mus musculus GN=Fgf10 PE=2 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
23	1	AOA140LI 59	1	1,507	1,729	1,959	0,882	0,721	1,57	2,088	Proteína 1 deletada em tu-mores cerebrais malignos OS=Mus musculus GN=Dmbt1 PE=1 SV=1
24	1	Q06890	1	2,011	2,26	4,091	0,94	0,775	1,915	2,594	Clusterina OS=Mus muscu-lus GN=Clu PE=1 SV=1
25	1	P97466	1	0,93	24,74	21,19	1,461	1,273	19,15	25,6	Noguina OS=Mus musculus GN=Nog PE=2 SV=1
26	1	AOA075B5 P6	1	0,905	0,292	0,253	1,017	0,869	0,202	0,235	Região C da cadeia mu de lg (fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighm PE=1 SV=1
27	1	Q07797	1	0,959	3,086	2,687	0,701	0,663	7,637	10,25	Proteína de ligação à galec-tina 3 OS=Mus musculus GN=Lgals3bp PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
28	1	P99027	1	0,831	4,398	2,989	0,98	0,658	2,758	4,68	Proteína ribossômica ácida P2 60S OS=Mus musculus GN=Rplp2 PE=1 SV=3
29	1	AOAOA-OMQA3	1	0,969	0,269	0,193	0,964	0,924	0,196	0,187	Alfa-1-antitripsina 1-1 OS=Mus musculus GN=Serpina1a PE=1 SV=1
29	2	Q00897	1	0,972	0,394	0,321	0,983	0,908	0,309	0,33	Alfa-1-antitripsina 1-4 OS=Mus musculus GN=Serpina1d PE= 1 SV=1
29	3	P22599	1	0,937	0,321	0,218	0,935	0,901	0,227	0,203	Alfa-1-antitripsina 1-2 OS=Mus musculus GN=Serpina1b PE=1 SV=2
30	1	P01654	1	0,889	0,884	0,741	1,005	0,828	0,759	0,816	Região V-III da cadeia kappa de Ig PC 2880/PC 1229 OS=Mus musculus PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
30	2	P01670	1	1,493	0,117	0,076	1,446	1,375	0,067	0,055	Região V-III da cadeia kappa de igg PC 6684 OS=Mus musculus PE=1 SV=1
30	3	P01644	1	1,493	0,11	0,073	1,447	1,376	0,063	0,053	Região VV da cadeia kappa de lg HP R16.7 OS=Mus musculus PE=1 SV=1
31	1	E9QlF2	1	1	2,055	1,8	0,728	0,681	1,843	2,192	Actina, citoplasmática 1 OS=Mus musculus GN=Actb PE=1 SV=1
32	1	035490	1	0,678	6,665	5,406	0,973	0,775	5,071	6,826	Betaína - homocisteína S-metiltransferase 1 OS=Mus musculus GN=Bhmt PE=1 SV=1
33	1	P05784	1	0,78	2,038	1,825	0,685	0,489	2,324	2,98	Queratina, citoesquelético 18 tipo I OS=Mus musculus GN=Krt18 PE=1 SV=5

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
34	1	Q9WVF5	1	1,078	0,287	0,241	0,979	0,499	1,161	0,887	Receptor do fator de cres-cimento epidérmico OS=Mus musculus GN=egfrpe=1 SV=1
35	1	Q9D8NO	1	0,816	5,581	4,469	1,407	0,84	4,612	6,075	Fator de elongação 1-gama OS=Mus musculus GN=Eef1g PE=1 SV=3
36	1	Q02053	1	0,681	4,983	3,921	0,662	0,701	3,541	5,333	Enzima 1 de ativação de modificador semelhante à ubiquitina OS=Mus muscu-lus GN=Uba1 PE=1 SV=1
36	2	P31254	1	0,669	3,674	3,008	0,687	0,699	2,289	3,93	Enzima 1 de ativação de modificador semelhante à ubiquitina OS=Mus muscu-lus GN=Ubaly PE=1 SV=1
37	1	E9QOFO	1	0,696	1,095	1,01	1,003	0,687	1,598	0,949	Queratina 78 OS=Mus mus-culus GN=Krt78 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
38	1	P68040	1	0,791	5,071	4,13	0,87	0,748	3,508	6,026	Receptor de proteína C qui-nase 1 ativada OS=Mus musculus GN=Rack1 PE=1 SV=3
39	1	AOA-OR4JlH6	1	0,616	3,521	2,512	0,697	0,651	3,101	3,308	Membro 3 da subfamília A de Golgina OS=Mus muscu-lus GN=Golga3 PE=1 SV=1
40	1	AOA087W R50	1	0,617	0,763	1,423	0,559	0,5	0,582	0,766	Fibronectina OS=Mus mus-culus GN=Fn1 PE=1 SV=1
41	1	Q3Vll7	1	0,442	1,513	1,21	0,44	0,418	1,312	1,657	ATP-citrato sintase OS=Mus musculus GN=Acly PE=1 SV=1
42	1	AOA075B5 P5	1	0,899	0,434	0,399	0,951	0,845	0,368	0,443	Constante pesada gama 3 de imunoglobulina (frag-mento) OS=Mus musculus GN=Ighg3 PE=4 SV=1

Família	Membro	Acesso UniProt_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
43	1	Q9ET01	1	0,683	3,434	2,589	0,744	0,693	2,841	3,593	Glicogênio fosforilase, forma hepática OS=Mus musculus GN=Pyg1 PE=1 SV=4
44	1	P07759	1	0,906	0,366	0,325	0,999	0,863	0,36	0,315	Inibidor de serina protease A3K OS=Mus musculus GN=Serpina3k PE=1 SV=2
45	1	Q6PHC1	1	0,695	2,278	1,775	1,08	0,761	2,074	2,582	Alfa-enolase OS=Mus musculus GN=Eno1 PE=1 SV=1
46	1	P80313	1	0,772	2,707	2,055	0,762	0,655	2,115	2,694	Proteína 1 de complexo T subunidade eta OS=Mus musculus GN=Cct7 PE=1 SV=1
47	1	Pl0126	1	0,903	7,373	5,512	1,136	0,954	5,789	7,761	Fator de elongação 1-alfa 1 OS=Mus musculus GN=Eefla1 PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
47	2	P62631	1	0,848	7,304	5,43	1,075	0,891	5,657	7,616	Fator de elongação 1-alfa 2 OS=Mus musculus GN=Eefla2 PE=1 SV=1
48	1	F8VQJ3	1	0,828	4,689	4,676	0,991	0,819	4,401	4,925	Subunidade gama-1 da la-minina OS=Mus musculus GN=Lamc1 PE=1 SV=1
49	1	P62827	1	0,656	4,222	3,003	0,709	0,669	2,961	4,721	Proteína nuclear de ligação a GTP Ran OS=Mus mus-culus GN=Ran PE=1 SV=3
50	1	P80318	1	0,761	5,679	4,817	0,928	0,87	5,117	6,078	Subunidade gama da prote-ína 1 do complexo T OS=Mus musculus GN=Cct3 PE=1 SV=1
51	1	P47738	1	0,756	3,736	3,021	0,847	0,771	3,327	4,109	Aldeído desidrogenase, mi-tocondrial OS=Mus muscu-lus GN=Aldh2 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
52	1	P80317	1	0,597	2,931	2,39	0,67	0,594	2,25	2,964	Subunidade zeta de proteí-na 1 de complexo T OS=Mus musculus GN=Cct6a PE=1 SV=3
53	1	AOA1BOGSR9	1	0,612	3,981	4,162	0,868	0,646	2,106	5,322	L-lactato desidrogenase OS=Mus musculus GN=Ldha PE=1 SV=1
54	1	AOA075B5K2	1	0,902	0,466	0,505	1,049	0,919	0,446	0,851	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 9-124 OS=Mus musculus GN=Igkv 9-124 PE=1 SV=7
55	1	Q00623	1	0,891	12,55	11,79	1,144	0,789	11,71	13,38	Apolipoproteína AI OS=Mus musculus GN=Apoa1 PE=1 SV=2

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
56	1	Pl 1983	1	0,672	2,953	2,222	0,727	0,616	2,329	2,897	Subunidade alfa do comple-xo T da proteína 1 OS=Mus musculus GN=Tcp1 PE=1 SV=3
57	1	P80315	1	0,791	2,472	1,835	0,804	0,734	1,783	2,212	Proteína 1 do complexo T subunidade delta OS=Mus musculus GN=Cct4 PE=1 SV=3
57	2	P80316	1	0,468	2,224	1,598	0,448	0,637	1,177	1,906	Proteína 1 do complexo T subunidade épsilon OS=Mus musculus GN=Cct5 PE=1 SV=1
58	1	P24270	1	0,653	3,375	2,819	0,648	0,636	2,665	3,665	Catalase OS=Mus musculus GN=Cat PE=1 SV=4

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
59	1	Q9CPN9	1	1,328	2,28	1,42	1,086	1,029	1,495	1,245	Gene 2210010C04 de cdna RIKEN OS=Mus musculus GN=2210010C04Rik PE=1 SV=1
60	1	P35979	1	0,919	2,929	2,082	0,768	0,902	1,99	2,755	Proteína ribossômica 60S L12 OS=Mus musculus GN=Rpll2 PE=1 SV=2
61	1	Q61753	1	0,647	5,947	4,971	0,937	0,699	5,211	6,535	D-3-fosfoglicerato desidro-genase OS=Mus musculus GN=Phgdh PE=1 SV=3
62	1	Pl6125	1	0,749	5,136	4,409	0,743	0,923	4,467	5,374	Cadeia B de L-lactato desi-drogenase OS=Mus muscu-lus GN=Ldhb PE=1 SV=2
63	1	F8VQ40	1	0,577	2,046	1,465	0,594	0,538	1,559	1,939	Subunidade alfa-1 da lami-nina OS=Mus musculus GN=Lama1 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
64	1	Pl4869	1	0,515	4,374	3,251	0,58	0,49	3,427	4,934	Proteína ribossômica ácida 60S PO OS=Mus musculus GN=Rp1p0 PE=1 SV=3
65	1	AOA-OG2JE99	1	0,86	0,559	0,454	0,935	0,775	0,46	0,681	Constante lambda 1 de imunoglobulina (fragmento) OS=Mus musculus GN=Iglc1 PE=4 SV=1
66	1	A2AFSO	1	0,714	6,183	4,995	0,775	0,72	3,808	6,214	Serina - trna ligase, cito-plasmática (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Sars PE=1 SV=1
67	1	P61164	1	0,635	2,686	1,837	0,906	0,786	2,038	2,084	Alfa-centractina OS=Mus musculus GN=Actr1a PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
68	1	AOA140T8 P6	1	0,772	0,9	0,611	1,086	0,837	0,794	0,885	Variável 12-46 kappa de imunoglobulina (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 12-46 PE=1 SV=2
68	2	AOA140T8 Ql	1	0,718	0,485	0,313	1,063	0,897	0,399	0,324	Proteína Igkvl2-41 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 2-41 PE=1 SV=2
69	1	Pl0493	1	0,534	1,72	1,254	0,466	0,451	1,561	2,03	Nidogênio-1 OS=Mus musculus GN=Nid1 PE=1 SV=2
70	1	P80314	1	0,837	2,152	1,558	0,637	0,851	1,543	1,551	Proteína 1 do complexo T subunidade beta OS=Mus musculus GN=Cct2 PE=1 SV=4
71	1	AOA075B5 L8	1	0,986	0,464	0,483	1,332	1,19	0,447	0,557	Variável kappa de imunoglobulina 4-79 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 4-79 PE=4 SV=2

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
72	1	AOA075B666	1	0,85	0,59	0,559	0,989	0,759	0,551	0,487	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 13-85 (Fragmento) OS=Mus musculus Gn=Igkv 13-85 PE=4 SV=5
73	1	P01027	1	0,634	0,647	0,555	0,755	0,659	0,499	0,474	Complemento C3 OS=Mus musculus GN=C3 PE=1 SV=3
74	1	Q5XJF6	1	0,918	5,197	4,599	1,07	0,713	3,512	6,136	Proteína ribossômica OS=Mus musculus GN=Rp110a PE=1 SV=1
75	1	AOA-OB4JlH7	1	1,057	0,283	0,227	1,095	1,076	0,239	0,254	Variável kappa de imuno-globulina 1-135 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 1-135 PE=4 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
76	1	Q8BHOO	1	0,971	8,707	5,73	1,256	0,712	7,142	8,854	Família de 8 membros de aldeído desidrogenase Al OS=Mus musculus GN=Aldh8al PE=1 SV=1
77	1	AOA075B5 Vl	1	0,894	0,146	0,117	0,969	0,871	0,076	0,139	Variável pesada de imuno-globulina 1-31 OS=Mus musculus GN=Ighv 1-31 PE=4 SV=1
78	1	P09411	1	0,913	4,417	3,703	0,909	0,72	3,796	3,6	Fosfoglicerato quinase 1 OS=Mus musculus GN=Pgk1 PE=1 SV=4
79	1	AOA-OB4Jll9	1	1,115	0,544	0,482	1,345	1,118	0,539	0,537	Variável kappa 4-55 de imunoglobulina (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 4-55 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
80	1	P61205	1	0,621	2,889	1,862	0,618	0,567	1,905	2,099	Fator de ribosilação de ADP 3 OS=Mus musculus GN=Arf3 PE=2 SV=2
81	1	Q8Cl96	1	0,592	4,622	3,601	0,544	0,598	3,901	4,472	Carbamoil-fosfato sintase [amônia], mitocondrial OS=Mus musculus GN=Cps1 PE=1 SV=2
82	1	AOAOUl-RNJl	1	0,646	3,434	3,151	0,816	0,544	2,52	4,353	Sintase de ácido graxo OS=Mus musculus GN=Fasn PE=1 SV=1
83	1	Q91X72	1	0,771	1,287	0,407	0,882	0,924	0,64	0,52	Hemopexina OS=Mus mus-culus GN=Hpx PE=1 SV=2
84	1	AOA087W PL5	1	0,496	2,36	1,85	0,487	0,606	2,273	3,053	RNA helicase A dependente de ATP OS=Mus musculus GN=Dhx9 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
85	1	070475	1	0,596	1,243	0,962	0,623	0,57	1,03	1,347	UDP-glicose 6-desidrogenase OS=Mus musculus GN=Ugdh PE=1 SV=1
86	1	E9Q035	1	0,874	0,473	0,474	0,945	0,788	0,402	0,356	Gene previsto 20425 OS=Mus musculus GN=Gm20425 PE=4 SV=1
87	1	AOA075B5 K8	1	1,063	0,379	0,106	1,094	1,122	0,17	0,129	Variável kappa de imuno-globulina 1-99 OS=Mus musculus GN=Igkv 1-99 PE=4 SV=7
88	1	G3X8Q5	1	1,046	0,683	0,639	1,057	0,948	0,632	0,7	Ceruloplasmina OS=Mus musculus GN=Cp PE=1 SV=1
89	1	P60843	1	0,803	1,821	1,395	0,875	0,818	1,333	1,596	Fator de iniciação eucarióti-ca 4A-I OS=Mus musculus GN=Eif4aI PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
90	1	AOA171KXD3	1	0,669	4,437	3,854	0,757	0,772	3,222	4,845	Proteína arginina N-metiltransferase 1 OS=Mus musculus GN=Prmt1 PE=1 SV=1
91	1	Q9CQ62	1	1,242	2,245	2,229	1,1	1,078	2,376	2,962	2,4-dienoil-coa redutase, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Decr1 PE=1 SV=1
92	1	H3BL49	1	0,96	2,355	1,784	1,091	0,855	1,923	2,541	Proteína 1 de complexo T subunidade teta OS=Mus musculus GN=Cct8 PE=1 SV=1
93	1	Q9DBJ1	1	0,669	2,125	1,66	0,655	0,65	1,363	2,045	Fosfoglicerato mutase 1 OS=Mus musculus GN=Pgam1 PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
94	1	AOA075B6A3	1	0,959	0,886	0,652	1,179	0,991	0,815	0,777	Constante alfa pesada de imunoglobulina (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igha PE=1 SV=1
95	1	D6RGQO	1	0,798	1,123	0,787	0,832	0,644	0,733	0,828	Fator de complemento H OS=Mus musculus GN=Cfh PE=1 SV=1
96	1	AOA075B5Q4	1	0,74	0,468	0,33	0,969	0,715	0,528	0,54	Variável pesada de imuno-globulina 5-12 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv5-12 PE=4 SV=1
97	1	Q8VDD5	1	0,669	1,14	1,011	0,638	0,545	0,992	1,244	Miosina-9 OS=Mus muscu-lus GN=Myh9 PE=1 SV=4
98	1	P20918	1	0,592	0,746	0,487	0,759	0,707	0,464	0,682	Plasminogênio OS=Mus musculus GN=Plg PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
99	1	B2MlR6	1	0,823	2,359	1,977	0,664	0,789	2,092	2,45	Ribonucleoproteína nuclear heterogênea K OS=Mus musculus GN=Hnrnpk PE=1 SV=1
100	1	A2AKJ6	1	0,802	2,573	2,422	0,621	0,408	2,226	2,769	Sintenina-1 (fragmento) OS=Mus musculus GN=Sdcbp PE=1 SV=1
101	1	D3YYM6	1	1,054	5,753	4,191	1,059	0,849	3,93	5,708	Proteína ribossômica 40S S5 (fragmento) OS=Mus musculus GN=Rps5 PE=1 SV=1
102	1	G5E866	1	0,698	3,211	2,738	0,619	0,537	2,469	3,562	Fator de splicing 3B subuni-dade 1 OS=Mus musculus GN=Sf3b1 PE=1 SV=1
103	1	Q8BWT1	1	0,557	2,794	2,312	0,465	0,792	2,157	3,201	3-cetoacil-coa tiolase, mito-condrial OS=Mus musculus GN=Acaa2 PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
104	1	AOA075B5 Kl	1	0,772	0,639	0,495	0,856	0,759	0,516	0,514	Variável kappa de imuno-globulina 11-125 OS=Mus musculus GN=Igkv 1-125 PE=4 SV=7
105	1	P01806	1	0,858	0,792	0,599	0,958	0,802	0,594	0,751	Região V da cadeia pesada de Ig 441 OS=Mus muscu-lus PE=4 SV=1
106	1	Q8R2K3	1	0,528	2,234	1,797	0,591	0,658	1,677	1,733	Proteína 1 de ligação ao DNA de fita simples OS=Mus musculus GN=Ssbp1 PE=1 SV=1
107	1	AOA-OG2JGQ8	1	0,884	0,544	0,401	0,999	0,79	0,617	0,417	Região C de cadeia lamb-da-3 de Ig (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Iglc3 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
108	1	P28665	1	0,936	0,405	0,38	1,184	1,04	0,373	0,492	Murinoglobulina-1 OS=Mus musculus GN=Mug1 PE=1 SV=3
109	1	AOA-OB4Jlll	1	0,986	---	0,161	1,099	0,589	0,181	0,224	Variável kappa de imuno-globulina 16-104 (Fragmen-to) OS=Mus musculus GN=Igkv 16-104 PE=4 SV=1
110	1	AOA140T8M3	1	0,913	0,369	0,364	1,235	1,038	0,375	0,445	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 8-30 (Frag-mento) OS=Mus musculus Gn=Igkv 8-30 PE=4 SV=2
111	1	Q6ZWY9	1	1,434	1,176	1,527	0,811	0,735	0,941	1,167	Tipo de histona H2B 1-C/E/G OS=Mus musculus GN=Hist1h2bc PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
112	1	AOA-OA6YW67	1	1,138	2,633	2,465	0,715	0,551	2,181	2,53	MCG23377, isoforma CRA_b OS=Mus musculus GN=Gm8797 PE=4 SV=1
113	1	PI4131	1	0,574	4,228	4,052	0,57	0,541	4,522	6,059	Proteína ribossômica 40S S16 OS=Mus musculus GN=Rps16 PE=1 SV=4
114	1	P01675	1	1,304	1,889	1,658	1,721	1,52	2,056	1,925	Região V-VI da cadeia kap-pa de igg XRPC 44 OS=Mus musculus PE=1 SV=1
115	1	Q91VC3	1	0,817	2,843	1,736	0,793	0,875	1,653	2,195	Fator de iniciação eucarióti-ca 4A-III OS=Mus musculus GN=Eif4a3 PE=1 SV=3
116	1	D3YV76	---	---	---	---	---	---	---	---	Septina-2 (fragmento) OS=Mus musculus GN=Sept2 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
117	1	Q8BKC5	1	0,805	3,081	2,221	0,763	0,963	2,833	3,389	Importina-5 OS=Mus mus-culus GN=Ipo5 PE=1 SV=3
118	1	Pl2023	1	1,458	1,244	3,728	0,673	0,588	1,016	1,259	Proteína A4 amiloide-beta OS=Mus musculus GN=App PE=1 SV=3
119	1	P62264	1	0,61	2,494	1,853	0,507	0,666	1,532	2,602	Proteína ribossômica 40S S14 OS=Mus musculus GN=Rps14 PE=1 SV=3
120	1	Q99LF4	1	0,862	1,955	1,269	0,875	0,774	1,39	2,119	Homólogo de rtcb de ligase de splicing de trna OS=Mus musculus GN=Rtcb PE=1 SV=1
121	1	B1ASC1	1	0,586	2,543	2,2	0,612	0,551	2,265	3,046	Homólogo de R-espondina (Xenopus laevis) OS=Mus musculus GN=Rspo1 PE=2 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
122	1	P24549	1	0,652	3,779	2,987	0,831	0,581	2,88	3,877	Desidrogenase retinal 1 OS=Mus musculus GN=Aldh1a1 PE=1 SV=5
123	1	Q04447	1	0,413	1,231	1,006	0,533	0,485	1,068	1,529	Creatina quinase tipo B OS=Mus musculus GN=Ckb PE=1 SV=1
124	1	Q3U367	1	0,695	4,579	3,932	1,149	0,803	3,815	5,041	4-trimetilaminobutiraldeído desidrogenase OS=Mus musculus GN=Aldh9a1 PE=1 SV=1
125	1	AOA075B663	1	0,908	0,527	0,479	1,343	1,118	0,557	0,454	Variável lambda 1 de imunoglobulina (fragmento) OS=Mus musculus GN=Iglv1 PE=4 SV=1
126	1	AOA087WP24	1	0,061	0,474	0,454	0,074	0,262	0,432	0,649	Proteína ABHD14B (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Abhd14b PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
127	1	E9QN70	1	0,662	4,071	3,185	0,631	0,617	3,203	4,593	Subunidade beta-1 da lami-nina OS=Mus musculus GN=Lamb 1 PE=1 SV=1
128	1	AOA140T8 M4	1	0,819	0,618	0,482	0,909	0,82	0,596	0,604	Variável kappa de imuno-globulina 8-19 OS=Mus musculus GN=Igkv 8-19 PE=1 SV=2
128	2	AOA075B5 N3	1	0,793	0,71	0,508	0,881	0,825	0,692	0,617	Variável kappa de imuno-globulina 8-28 OS=Mus musculus GN=Igkv 8-28 PE=1 SV=7
129	1	P25444	1	0,785	3,186	1,785	0,82	0,682	2,471	3,23	Proteína ribossômica 40S S2 OS=Mus musculus GN=Rps2 PE=1 SV=3
130	1	P70168	1	0,539	4,492	3,545	0,521	0,575	4,218	6,126	Subunidade beta-1 de im-portina OS=Mus musculus GN=Kpnb1 PE=1 SV=2

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
131	1	F6ZEW4	1	0,83	3,768	1,979	0,596	0,677	2,003	4,373	Exportina-2 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Cse11 PE=1 SV=1
132	1	AOA-OA6YX19	1	1,155	0,559	0,389	1,537	1,25	0,525	0,445	Variável pesada de imuno-globulina V6-4 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv 6-4 PE=4 SV=1
133	1	Q9CXY6	1	0,51	1,72	1,464	0,304	0,447	1,414	1,656	Fator de ligação ao intensi-ficador de interleucina 2 OS=Mus musculus GN=Ilf2 PE=1 SV=1
134	1	AOA075B5R4	1	0,664	0,609	0,617	0,671	0,533	0,553	0,74	Variável pesada de imuno-globulina 14-1 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv 14-1 PE=4 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
135	1	P63038	1	0,798	2,367	2,301	0,694	0,633	2,059	2,225	Proteína de choque térmico de 60 kda, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Hspd1 PE=1 SV=1
136	1	Pl8528	1	0,73	1,01	0,283	1,083	0,742	0,206	0,242	Região V da cadeia pesada de Ig 6,96 OS=Mus musculus PE=4 SV=1
137	1	070310	1	0,708	2,875	2,291	0,873	0,748	2,11	2,722	Glicilpeptídeo N-tetradecanoiltransferase 1 OS=Mus musculus GN=Nmt1 PE=1 SV=1
138	1	P52196	1	0,742	9,942	8,506	1,497	0,901	9,523	12,71	Tiossulfato sulfurtransferase OS=Mus musculus GN=Tst PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
139	1	AOA140T8NO	1	0,71	0,47	0,44	1,022	0,906	0,255	0,451	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 9-120 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 9-120 PE=1 SV=2
140	1	AOA075B5U4	1	0,822	0,465	0,317	1,16	0,758	0,568	0,535	Variável pesada de imunoglobulina Vl-18 OS=Mus musculus GN=Ighv 1-18 PE=1 SV=1
141	1	AOA140T8N2	1	0,85	2,578	0,967	1,003	0,979	0,724	0,965	Proteína Igkv5-48 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 5-48 PE=1 SV=2
142	1	AOA-OA6YXF6	1	0,566	2,457	1,54	0,519	0,674	1,654	1,901	Proteína transformadora rhoa (fragmento) OS=Mus musculus GN=Rhoa PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
143	1	P62908	1	0,786	2,418	1,699	0,811	0,84	1,86	2,706	Proteína ribossômica 40S S3 OS=Mus musculus GN=Rps3 PE=1 SV=1
144	1	Pl9324	1	0,539	3,575	2,845	0,604	0,55	2,902	4,009	Serpina H1 OS=Mus musculus GN=Serpinh1 PE=1 SV=3
145	1	Q9ZlZ2	1	0,812	2,715	1,945	0,745	0,575	1,599	2,388	Proteína associada ao receptor de serina-treonina quinase OS=Mus musculus GN=Strap PE=1 SV=2
146	1	P23 l 16	1	0,64	3,48	2,798	0,603	0,556	3,719	3,382	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade A OS=Mus musculus GN=Eif3a PE=1 SV=5

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
147	1	AOA140T8 N7	1	0,627	0,306	0,276	1,256	0,797	0,238	0,237	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 6-25 (Frag-mento) OS=Mus musculus Gn=Igkv 6-25 PE=4 SV=2
148	1	Q922D8	1	1,045	3,527	2,432	1,031	0,708	2,798	3,674	C-1-tetraidrofolato sintase, citoplasmática OS=Mus musculus GN=Mthfd1 PE=1 SV=4
149	1	P56480	1	0,773	1,813	1,371	0,723	0,567	1,378	1,609	ATP sintase subunidade beta, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Ato5b PE=1 SV=2
150	1	P62806	1	1,939	1,724	2,005	0,716	0,733	1,387	1,866	Histona H4 OS=Mus mus-culus GN=Histlh4a PE=1 SV=2

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
151	1	P60229	1	0,502	2,269	1,69	0,438	0,565	3,016	2,497	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade E OS=Mus musculus GN=Eif3e PE=1 SV=1
152	1	Q9Z204	1	0,897	2,679	1,695	0,788	0,831	1,806	2,301	Ribonucleoproteínas nucleares heterogêneas C1/C2 OS=Mus musculus GN=Hnrnpc PE=1 SV=1
153	1	Q9CWJ9	1	0,663	1,121	0,831	0,969	0,739	1,186	1,274	Proteína PURH de biossíntese de purina bifuncional OS=Mus musculus GN=Atic PE=1 SV=2
154	1	F6RV17	1	0,629	2,732	1,901	0,339	0,617	2,154	3,066	Proteína serina/treonina-fosfatase 2A de 55 kda subunidade reguladora B OS=Mus musculus GN=Ppp2r2d PE=1 SV=2

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
155	1	Q8RlB4	1	0,543	2,75	2,33	0,528	0,454	2,333	3,091	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade C OS=Mus musculus GN=Eif3c PE=1 SV=1
156	1	AOA-OG2JFF1	1	0,641	3,91	2,733	0,786	0,924	2,983	3,887	Proteína serina/treonina-fosfatase (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Poolcc PE=1 SV=1
157	1	Q8BGJ5	1	0,979	4,003	3,142	0,527	0,335	3,705	4,143	MCG13402, isoforma CRA_a OS=Mus musculus GN=Ptbp1 PE=1 SV=1
158	1	AO-AI40T8N9	1	0,99	0,109	0,107	1,032	0,94	0,107	0,114	Variável kappa de imunoglobulina 6-32 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 6-32 PE=4 SV=2

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
159	1	F7D439	1	1,602	3,631	2,671	1,331	1,011	3,021	3,901	Argininosuccinato liase (fragmento) OS=Mus musculus GN=Asl PE=1 SV=2
160	1	AOA-OR4JlE2	1	0,559	2,128	2,002	0,855	0,703	2,074	2,565	Fator de elongação 1-delta OS=Mus musculus GN=Eefld PE=1 SV=1
161	1	P21614	1	0,791	0,598	0,515	0,731	0,662	0,485	0,491	Proteína de ligação à vitamina D OS=Mus musculus GN=Gc PE=1 SV=2
162	1	Q922B2	1	0,11	0,253	0,287	0,084	0,175	0,168	0,401	Aspartato- trna ligase, citoplasmática OS=Mus musculus GN=Dars PE=1 SV=2
163	1	Q3U741	1	0,335	3,982	2,718	0,415	0,278	3,047	3,797	Polipeptídeo de box DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 17, isoforma CRA a OS=Mus musculus GN=Ddx17 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
164	1	Q8BH95	1	1,051	21,16	22,42	1,342	1,957	16,57	28,68	Enoil-coa hidratase, mito-condrial OS=Mus musculus GN=Echs1 PE=1 SV=1
165	1	Q61171	1	0,73	2,132	1,704	0,523	0,5	1,814	2,604	Peroxirredoxina-2 OS=Mus musculus GN=Prdx2 PE=1 SV=3
166	1	F6ZDS4	1	1,181	2,139	1,56	0,834	0,454	1,627	1,347	Nucleoproteína TPR OS=Mus musculus GN=Tpr PE=1 SV=1
167	1	P01741	1	1,17	1,141	0,923	1,256	1,199	0,912	1,116	Região V da cadeia pesada de Ig OS=Mus musculus PE=1 SV=1
168	1	AOA-OR4J038	1	0,84	0,556	0,238	0,928	0,75	0,182	0,392	Cininogênio-1 OS=Mus musculus GN=Kng1 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
169	1	Q60972	1	0,606	2,145	1,544	0,641	0,668	1,741	1,73	Proteína de ligação à histo-na RBBP4 OS=Mus muscu-lus GN=Rbbp4 PE=1 SV=5
170	1	A0Al40LIM 5	1	0,691	1,942	1,625	1,344	1,218	1,653	1,917	Proteína de ponto de verifi-cação mitótico BUB3 OS=Mus musculus GN=Bub3 PE=1 SV=1
171	1	P40124	1	0,541	1,505	1,145	0,432	0,342	1,139	1,146	Proteína 1 associada à adenilil ciclase OS=Mus musculus GN=Cap1 PE=1 SV=4
172	1	P01592	1	0,672	0,384	0,273	0,711	0,679	0,401	0,434	Cadeia J de imunoglobulina OS=Mus musculus Gn=cadeia J PE=1 SV=4
173	1	P01786	1	0,648	0,976	0,736	0,787	0,764	0,881	0,703	Região V da cadeia pesada de Ig MOPC 47A OS=Mus musculus PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
174	1	AOA075B5QO	1	0,752	0,94	0,556	0,669	0,675	0,827	0,655	Variável pesada de imuno-globulina 5-6 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv5-6 PE=4 SV=1
175	1	AOA-IL1SV25	1	0,99	1,259	0,912	0,811	0,537	1,245	1,262	Alfa-actinina-4 OS=Mus musculus GN=Actn4 PE=1 SV=1
176	1	Q6PDM2	1	0,339	1,964	1,135	0,342	0,216	1,55	2,017	Fator de splicing 1 rico em serina/arginina OS=Mus musculus GN=Srsf1 PE=1 SV=3
177	1	Q9QWK4	1	0,717	0,696	0,497	0,721	0,695	0,469	0,566	Semelhante ao antígeno CD5 OS=Mus musculus GN=Cd51 PE=1 SV=3

Família	Membro	Acesso UniProt_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
178	1	P62305	1	0,354	1,164	0,863	0,528	0,304	0,895	1,062	Ribonucleoproteína E nuclear pequena OS=Mus musculus GN=Snrpe PE=1 SV=1
179	1	Q8JZQ9	1	0,817	2,585	1,903	0,89	0,709	2,229	2,667	Fator de iniciação da tradução eucariótica 3 subunidade B OS=Mus musculus GN=Eif3b PE=1 SV=1
180	1	Pl0639	1	0,771	1,301	0,916	0,602	0,664	1,283	1,6	Tioredoxina OS=Mus musculus GN=Txn PE=1 SV=3
181	1	P62267	1	0,597	1,519	1,175	0,543	0,582	1,179	1,855	Proteína ribossômica 40S S23 OS=Mus musculus GN=Rps23 PE=1 SV=3
182	1	P97351	1	0,789	1,784	1,398	0,872	0,633	1,351	1,844	Proteína ribossômica 40S S3a OS=Mus musculus GN=Rps3a PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
183	1	Q3U2G2	1	0,686	2,57	2,18	0,662	0,366	2,075	3,023	Proteína 4 de choque térmi-co de 70 kda OS=Mus mus-culus GN=Hspa4 PE=1 SV=1
184	1	F8WHL2	1	0,601	1,941	1,322	0,711	0,829	1,331	1,651	Subunidade alfa de coatô-mero OS=Mus musculus GN=Copa PE=1 SV=1
185	1	Q8BGQ7	1	1,395	4,22	2,427	0,811	0,564	2,555	2,632	Alanina--trna ligase, cito-plasmática OS=Mus muscu-lus GN=Aars PE=1 SV=1
186	1	H7BXC3	1	0,651	1,294	1,139	0,682	0,775	1,177	1,362	Triosefosfato isomerase OS=Mus musculus GN=Tpil PE=1 SV=1
188	1	AOA-OJ9YKD4	1	0,471	7,699	5,593	0,472	0,744	6,653	8,402	Creatina quinase tipo M OS=Mus musculus GN=Ckm PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
189	1	Q9JKK7	1	0,972	5,912	4,983	0,829	0,982	4,575	7,092	Tropomodulina-2 OS=Mus musculus GN=Tmod2 PE=1 SV=2
190	1	G3UYR8	1	0,571	2,114	1,386	0,637	0,653	1,364	1,74	Semialdeído desidrogenase alfa-aminoadípica OS=Mus musculus GN=Aldh7a1 PE=1 SV=1
191	1	AOA075B5 W4	1	0,988	0,08	0,083	1,101	1,037	0,093	0,079	Variável pesada de imuno-globulina V8-6 OS=Mus musculus GN=Ighv 8-6 PE=4 SV=1
192	1	E9QlG8	1	0,386	1,968	1,927	0,581	0,474	1,439	1,984	Septina-7 OS=Mus musculus GN=Sept7 PE=1 SV=2
193	1	Q61646	1	1,065	0,521	0,449	1,072	0,864	0,461	0,446	Haptoglobina OS=Mus musculus GN=Hp PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
194	1	Q3UH59	1	0,65	2,34	1,833	0,547	0,384	1,817	1,717	Miosina-10 OS=Mus musculus GN=Myh10 PE=1 SV=1
195	1	A2AFQ2	1	0,313	0,888	0,378	0,245	0,399	0,253	0,421	3-hidroxiacil-coa desidrogenase tipo 2 OS=Mus musculus GN=Hsdl7b10 PE=1 SV=1
196	1	AOA075B5R6	1	0,73	0,091	0,064	0,83	0,625	0,084	0,279	Variável pesada de imunoglobulina 11-1 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv 11-1 PE=4 SV=1
197	1	AOA-OU1RQ71	1	0,705	1,893	1,404	0,988	0,848	1,465	1,84	Proteína ribossômica 40S S13 OS=Mus musculus GN=Rps13 PE=1 SV=1
198	1	P29699	1	0,78	0,638	0,56	0,947	0,467	0,514	0,547	Alfa-2-HS-glicoproteína OS=Mus musculus GN=Ahsg PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
199	1	AOA-OG2JFB4	1	0,78	3,393	3,102	0,947	0,731	2,011	5,569	Fator de iniciação de tradução eucariótica 4E OS=Mus musculus GN=Eif4e PE=1 SV=1
200	1	AO-AlLISSTO	1	1,42	3,701	5,268	0,583	0,472	1,758	8,143	Peptidil-prolil cis-trans isomerase OS=Mus musculus GN=Ppia PE=1 SV=1
201	1	AOA1BOGR44	1	0,669	1,342	1,061	0,66	0,689	0,965	1,089	Ribonucleoproteína pequena nuclear Ul de 70 kda (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Smnp70 PE=1 SV=1
202	1	Q01853	1	0,676	1,251	1,048	0,612	0,862	1,085	1,421	Retículo endoplasmático transicional atpase OS=Mus musculus GN=Vcp PE=1 SV=4

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
203	1	Q60749	1	0,624	3,408	2,905	0,798	0,587	2,493	3,944	Proteína 1 associada à transdução de sinal contendo domínio KH, ligação a RNA OS=Mus musculus GN=Khdrbs1 PE=1 SV=2
204	1	AOA1Y7VKY1	1	0,442	7,321	7,263	0,495	0,692	6,824	11,35	MCG116671 OS=Mus musculus GN=mcg 116671 PE=3 SV=1
205	1	Q9JMA2	1	0,564	1,636	1,208	0,431	0,603	1,284	1,426	Subunidade catalítica 1 de Queuine trna-ribosiltransferase OS=Mus musculus GN=Qtrtl PE=1 SV=2
206	1	P62715	1	0,899	2,474	2,39	1,319	0,993	1,872	2,717	Isoforma beta da subunidade catalítica da proteína serina/treonina fosfatase 2A OS=Mus musculus GN=Ppp2cb PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
207	1	AOA-OR4J039	1	0,756	0,75	0,523	0,664	0,631	0,703	0,54	Glicoproteína rica em histi-dina OS=Mus musculus GN=Hrg PE=1 SV=1
208	1	AOA-OR4Jl87	1	0,501	1,78	1,823	0,636	0,542	1,376	2,66	Proteína 6 de complemen-tação cruzada de reparo de raios-X OS=Mus musculus GN=Xrcc6 PE=1 SV=1
209	1	P98086	1	0,159	0,323	0,449	0,139	0,245	0,206	0,172	Complemento Clq subcom-ponente subunidade A OS=Mus musculus GN=Clqa PE=1 SV=2
210	1	I7HIQ2	1	0,933	1,068	0,993	0,577	0,648	0,843	1,107	Quimiocina 16 do motivo CXC (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Cxcl16 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
211	1	P60867	1	0,647	3,082	2,083	1,342	0,794	1,787	2,503	Proteína ribossômica 40S S20 OS=Mus musculus GN=Rps20 PE=1 SV=1
212	1	Q3UW83	1	0,647	2,877	2,172	0,479	0,584	2,52	3,016	Proteína ribossômica 40S S10 OS=Mus musculus GN=Rps10 PE=1 SV=1
213	1	Q91Z50	1	0,942	4,109	3,591	1,232	1,161	3,891	5,233	Endonuclease 1 de retalho OS=Mus musculus GN=Fen1 PE=1 SV=1
214	1	P62334	1	0,576	1,367	1,037	0,815	0,623	1,176	1,751	Subunidade reguladora de proteassoma 26S lob OS=Mus musculus GN=Psmc6 PE=1 SV=1
215	1	P62259	1	1,086	2,463	2,3	1,552	0,884	2,109	2,692	Proteína épsilon 14-3-3 OS=Mus musculus GN=Ywhae PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
216	1	P40142	1	0,51	1,608	1,303	0,563	0,472	1,76	1,48	Transcetolase OS=Mus musculus GN=Tkt PE=1 SV=1
217	1	D3Z5M7	1	0,816	2,945	2,318	0,725	0,634	1,654	3,259	Homólogo de peroxidasina OS=Mus musculus GN=Pxdn PE=1 SV=2
218	1	A2AC16	1	0,958	3,258	2,421	0,655	0,766	2,743	3,667	Dicarbonil L-xilulose redu-tase, isoforma CRA_a OS=Mus musculus GN=Dcxr PE=1 SV=1
219	1	G3UY38	1	0,416	2,856	2,158	0,935	0,943	2,207	3,335	Ribonucleoproteína nuclear heterogênea L OS=Mus musculus GN=Hnrnpl PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
220	1	P57784	1	0,6	2,382	1,774	0,952	0,524	1,629	2,484	Ribonucleoproteína A' nu-clear pequena U2 OS=Mus musculus GN=Snrpa1 PE=1SV=2
221	1	AOA-OR4J1Nl	1	0,817	0,725	0,415	0,984	0,716	0,419	0,451	Inibidor de inter alfa-tripsina, cadeia pesada 4 OS=Mus musculus GN=Itih4 PE=1 SV=1
222	1	AOA1BOG RW3	1	0,551	5,757	5,295	0,896	0,823	4,836	6,175	Helicase semelhante a ruvb (fragmento) OS=Mus mus-culus GN=Ruvb12 PE=1 SV=1
223	1	G3UWL2	1	0,768	1,683	1,493	0,388	0,595	1,853	2,25	Isoforma alfa da subunidade A reguladora de proteína serina/treonina fosfatase 2A de 65 kda (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ppp2r1a PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
224	1	Q8C2Q7	1	0,595	3,223	2,042	0,569	0,469	2,529	3,748	Ribonucleoproteína H nuclear heterogênea OS=Mus musculus GN=Hnrnph1 PE=1 SV=1
225	1	BlAWD8	1	1,082	5,08	4,94	0,926	0,939	4,153	6,096	Cadeia leve de clatrina OS=Mus musculus GN=Clta PE=1 SV=1
226	1	AOA075B5L2	1	1,059	0,519	0,38	1,033	1,01	0,38	0,397	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 4-91 (Fragmento) OS=Mus musculus Gn=lgkv 4-91 PE=4 SV=2
227	1	V9GWYO	1	0.835 -	- 2-.199	1,811	0,26	0,415	1,626	2,482	Proteína ribossômica S4 40S OS=Mus musculus GN=Gm15013 PE=3 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
228	1	Q3THK7	1	0,64	1,606	1,179	0,753	0,486	1,36	1,278	GMP sintase [glutamina-hidrolisante] OS=Mus mus-culus GN=Gmps PE=1 SV=2
229	1	A2AWQ2	1	0,344	1,932	1	0,562	1,199	1,1	0,966	Proteína RCC2 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Rcc2 PE=1 SV=1
230	1	P60766	1	0,582	2,072	1,481	0,687	0,672	1,104	1,633	Homólogo de proteína de controle de divisão celular 42 OS=Mus musculus GN=Cdc42 PE=1 SV=2
231	1	AOA087W NS9	1	1,117	4,913	3,616	0,86	0,561	2,397	5,72	Antígeno linfocitário 6E (Fragmento) OS=Mus mus-culus GN=Ly6e PE=1 SV=6
232	1	AOA1C7Z MZ5	1	0,501	1,013	0,719	0,53	0,708	0,885	0,764	Glutationa peroxidase (fra-gmento) OS=Mus musculus GN=Gpx3 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
233	1	P32233	1	0,352	1,29	0,902	0,186	0,328	1,039	1,249	Proteína 1 de ligação a GTP regulada pelo desenvolvi-mento OS=Mus musculus GN=Drg1 PE=1 SV=1
234	1	AOA-OB4Jll5	1	1,001	0,511	0,404	1,199	1,217	0,361	0,369	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 4-70 (Frag-mento) OS=Mus musculus Gn=Igkv 4-70 PE=4 SV=1
235	1	AOA1W2P 6P4	1	0,898	4,327	3,723	0,847	1,075	4,47	5,501	Proteína Nova-1 de ligação a RNA (fragmento) OS=Mus musculus GN=Nova1 PE=1 SV=1
236	1	BlAXW5	1	0,844	2,601	2,066	1,097	0,646	3,007	3,446	Peroxirredoxina-1 (Frag-mento) OS=Mus musculus GN=Prdxl PE=1 SV=8

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
237	1	AOA140T8 V5	1	0,703	2,519	1,723	0,817	0,705	1,221	1,876	Antígeno nuclear de célula em proliferação OS=Mus musculus GN=Pcna-ps2 PE=3 SV=1
238	1	P46664	1	0,639	3,463	2,71	0,717	0,599	3,222	3,957	Isozima 2 de adenilossucci-nato sintetase OS=Mus musculus GN=Adss PE=1 SV=2
239	1	AOA075B5 J9	1	0,722	0,238	0,317	0,893	0,713	0,152	0,291	Variável kappa de imuno-globulina 17-127 OS=Mus musculus GN=Igkv 17-127 PE=4 SV=7
240	1	AOA1BOG RR3	1	0,603	1,916	1,799	1,021	0,306	1,717	1,482	Proteína ribossômica 40S S11 OS=Mus musculus GN=Rps11 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
241	1	P01029	1	1,517	2,155	1,795	1,651	1,178	2,882	2,078	Complemento C4-B OS=Mus musculus GN=C4b PE=1 SV=3
242	1	AOA087WS46	1	0,95	10,1	6,903	0,715	1,096	6,002	9,535	Fator de elongação de tradução eucariótica 1 beta 2 OS=Mus musculus GN=Eeflb2 PE=1 SV=1
243	1	A2A7S7	1	0,715	3,249	2,641	1,017	0,526	2,289	3,412	Tirosina - trna ligase OS=Mus musculus GN=Yars PE=1 SV=1
244	1	Q8BHN3	1	0,948	4,175	3,14	0,737	0,752	3,069	4,272	Alfa-glicosidase AB neutra OS=Mus musculus GN=Ganab PE=1 SV=1
245	1	P51881	1	0,798	1,039	1,116	0,628	0,475	0,908	1,481	ADP/ATP translocase 2 OS=Mus musculus GN=Slc25a5 PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
246	1	Q6P5H2	1	0,694	1,281	0,855	1,057	0,684	1,845	0,812	Nestina OS=Mus musculus GN=Nes PE=1 SV=1
247	1	Q8JZK9	1	0,643	1,079	0,805	0,519	0,506	0,999	1,157	Hidroximetilglutaril-coa sintase, citoplasmática OS=Mus musculus GN=Hmgcs1 PE=1 SV=1
248	1	P97310	1	0,553	2,77	1,723	0,608	0,568	2,23	2,508	Fator de licenciamento de replicação de DNA MCM2 OS=Mus musculus GN=Mcm2 PE=1 SV=3
249	1	Q91VB8	1	0,67	2,657	1,646	0,622	0,569	2,44	3,115	Alfa globina 1 OS=Mus musculus GN=Hba-a2 PE=1 SV=1
250	1	Q9JHU4	1	0,288	1,94	1,655	0,308	0,284	1,785	2,339	Dineína citoplasmática 1, cadeia pesada 1 OS=Mus musculus GN=Dynclh1 PE=1 SV=2

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
251	1	Q8BP47	1	0,256	1,381	0,972	0,208	0,29	1,067	1,751	Asparagina - trna ligase, citoplasmática OS=Mus musculus GN=Nars PE=1 SV=2
252	1	Q9ZlF9	1	0,795	1,577	1,046	0,5	0,754	1,08	1,258	Subunidade 2 de enzima ativadora de SUMO OS=Mus musculus GN=Uba2 PE=1 SV=1
253	1	A2AAW9	1	0,748	2,627	1,897	1,018	1,212	1,731	2,578	Subunidade 3 do fator de iniciação da tradução euca-riótica 2, ligado a X OS=Mus musculus GN=Eif2s3x PE=1 SV=1
254	1	Pl 1103	1	0,423	3,322	2,828	0,731	0,485	2,75	2,51	Poli [ADP-ribose] polimera-se 1 OS=Mus musculus GN=Parp1 PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
255	1	AOA075B5 Yl	1	0,78	0,601	0,484	0,775	0,682	0,267	0,528	Variável pesada de imuno-globulina V1-74 OS=Mus musculus GN=Ighv 1-74 PE=4 SV=1
256	1	G3UXL2	1	1,318	6,131	5,212	1,095	1,168	3,681	7,362	Semelhante 3 à fosforibosil pirofosfato sintetase 1 OS=Mus musculus GN=Prps113 PE=3 SV=1
257	1	Q9CR49	1	0,622	1,032	5,211	0,773	0,779	0,758	5,878	Globina b1 OS=Mus muscu-lus GN=Hbb-y PE=1 SV=1
258	1	AOA140T8 M5	1	0,759	0,557	0,499	1,163	1,017	0,441	0,596	Variável 6-15 kappa de imunoglobulina (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Igkv 6-15 PE=1 SV=2
259	1	AOAOA-OMQ68	1	0,497	1,552	1,494	0,202	0,33	1,788	2,288	Glutaril-coa desidrogenase, mitocondrial OS=Mus mus-culus GN=Gcdh PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
260	1	AOA087WP86	1	0,137	1,201	0,946	0,234	---	1,135	1,151	Proteína 3 relacionada à actina (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Actr3 PE=1 SV=1
261	1	AOA075B5K9	1	0,708	1,305	0,869	1,045	0,949	2,026	0,941	Variável kappa de imuno-globulina 12-98 OS=Mus musculus GN=Igkv 12-98 PE=4 SV=7
262	1	Q63870	1	0,762	8,637	8,601	2,41	0,796	11,59	10,74	Cadeia alfa-1 (VII) de colá-geno OS=Mus musculus GN=Col7a1 PE=1 SV=3
263	1	S4RII6	1	0,583	1,989	1,672	0,757	0,557	1,714	2,148	MCG2872, isoforma CRA_b OS=Mus musculus GN=Ddx5 PE=1 SV=1
264	1	Q9QXK3	1	0,239	1,444	1,214	0,308	0,374	1,218	1,822	Subunidade gama-2 de coa-tômero OS=Mus musculus GN=Copg2 PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
265	1	Q9DBM2	1	0,647	2,24	1,909	0,715	0,636	1,734	2,203	Enzima bifuncional peroxis-somal OS=Mus musculus GN=ehhadhpe=1 SV=4
266	1	AOA075B6 D5	1	0,439	0,689	0,46	0,664	0,645	0,462	0,51	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 19-93 OS=Mus musculus GN=Igkv 19-93 PE=1 SV=7
267	1	Q921M3	1	0,66	1,836	1,273	0,455	0,587	1,506	2,593	Fator de splicing 3B subuni-dade 3 OS=Mus musculus GN=Sf3b3 PE=1 SV=1
268	1	AOA075B5 L4	1	1,021	2,049	1,249	1,053	0,897	2,002	2,169	Variável de cadeia kappa de imunoglobulina 12-89 OS=Mus musculus GN=Igkv 12-89 PE=4 SV=7
269	1	G3UY93	1	0,304	4,516	3,545	0,504	0,606	4,105	4,936	Valina - trna ligase (Frag-mento) OS=Mus musculus GN=Vars PE=1 SV=1

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mou se	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
270	1	D3YW60	1	0,571	1,2	1,144	0,445	0,538	1,162	1,567	Helicase semelhante a ruvb (fragmento) OS=Mus mus-culus GN=Ruvb11 PE=1 SV=1
271	1	Q9CZD3	1	0,609	2,335	1,447	0,583	0,699	1,325	1,647	Glicina - trna ligase OS=Mus musculus GN=Gars PE=1 SV=1
272	1	Q9D892	1	1,197	1,796	1,328	1,036	1,643	1,366	1,483	Inosina trifosfato pirofosfa-tase OS=Mus musculus GN=Itpa PE=1 SV=2
273	1	E9QOU7	1	0,687	2,999	2,083	0,529	0,738	2,032	2,387	Proteína de choque térmico de 105 kda OS=Mus mus-culus GN=Hsph1 PE=1 SV=1
274	1	Q9D8E6	1	0,982	1,863	0,85	1,229	0,873	1,51	2,251	Proteína ribossômica 60S L4 OS=Mus musculus GN=Rpl4 PE=1 SV=3

Fa-mília	Mem-bro	Acesso Uni-Prot_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
275	1	AOA075B5V8	1	0,826	0,303	0,151	1,223	0,752	0,083	0,095	Variável pesada de imuno-globulina 1-47 OS=Mus musculus GN=Ighv 1-47 PE=4 SV=1
276	1	Q9EQH3	1	0,506	1,431	1,263	0,444	0,434	1,231	1,506	Proteína vacuolar associada à classificação de proteína 35 OS=Mus musculus GN=Vps35 PE=1 SV=1
277	1	Q8K2G4	1	0,318	1,008	0,544	0,324	0,345	0,755	0,899	Homólogo de proteína 7 da síndrome de Bardet-Biedl OS=Mus musculus GN=Bbs7 PE=1 SV=1
278	1	P32261	1	0,572	1,315	1,028	0,633	0,309	1,164	1,288	Antitrombina-III OS=Mus musculus GN=Serpinc1 PE=1 SV=1

Família	Membro	Acesso UniProt_mouse	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	Descrição
279	1	Q9D964	1	0,56	2,718	2,328	1,064	0,883	2,362	2,36	Glicina amidinotransferase, mitocondrial OS=Mus musculus GN=Gatm PE=1 SV=1
280	1	AOA075B5Q5	1	1,001	4,747	3,097	2,198	1,585	7,816	4,239	Variável pesada de imunoglobulina 2-9 (Fragmento) OS=Mus musculus GN=Ighv2-9 PE=4 SV=1
281	1	AOA1W2P6F6	1	0,732	2,193	1,027	0,764	0,857	1,399	1,959	Polipeptídeo leve de miosina 6 OS=Mus musculus GN=Myl6 PE=1 SV=1

[0375] Um desequilíbrio na glicosilação foi comumente descrito em doenças humanas, mas a função biológica de alterações de glicano na mediação de doenças foi amplamente inexplorada. Embora a elevação de CA19-9 tenha sido correlacionada com a pancreatite, não foi considerada anteriormente como contribuindo diretamente para a patogênese da doença. A capacidade de expressão de CA19-9 para instigar e perpetuar a pancreatite em camundongos sugere que esse epítopo de glicano e suas vias efetoras a jusante podem representar novas estratégias de tratamento para a resolução da pancreatite e prevenção da tumorigênese pancreática. Atualmente, as opções de tratamento para pacientes com pancreatite permanecem limitadas, apesar do risco de morbidade e câncer pancreático. Os anticorpos anti-CA19-9 fornecidos no presente documento (Sawada, R. *et al*. Clin Cancer Res 17, 1024-1032 (2011), que está no presente documento incorporado, em sua totalidade, a título de referência) podem facilitar a tradução rápida de terapia alvejada com CA19-9 para a clínica para o tratamento de pacientes com pancreatite.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a Sialil-Lewis^a (anti-sLe^a).

2. Método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo **caracterizado** pelo fato de que compreende:

(1) administrar ao indivíduo em uma primeira dose um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a Sialil-Lewis^a (anti-sLe^a),

(2) determinar a gravidade da pancreatite no dito indivíduo, e

(3) administrar uma segunda dose do anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a anti-sLe^a em quantidade igual ou mais baixa do que a primeira dose se a gravidade da pancreatite no indivíduo for reduzida em comparação com a gravidade da pancreatite no indivíduo antes da administração do anti-sLe^a, ou administrar uma segunda dose do anti-sLe^a em uma quantidade mais alta que a primeira dose se a gravidade da pancreatite no indivíduo não for reduzida.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende um domínio de cadeia pesada variável (VH), em que o dito domínio de VH compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 2, nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 6, nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 10 e nos resíduos 20 a 145 da SEQ ID NO: 14.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracte-**

rizado pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende um domínio de cadeia leve variável (VL), em que o dito domínio de VL compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 4, nos resíduos 20 a 129 da SEQ ID NO: 8, nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 12 e nos resíduos 23 a 130 da SEQ ID NO: 16.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende um domínio de cadeia pesada variável (VH) e um domínio de cadeia leve variável (VL), em que o dito domínio de VH e o dito domínio de VL, respectivamente, compreendemuma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 2 e nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 4; nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 6 e nos resíduos 20 a 129 da SEQ ID NO: 8; nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 10 e nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 12; e nos resíduos 20 a 145 da SEQ ID NO: 14 e nos resíduos 23 a 130 da SEQ ID NO: 16.

6. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende três regiões determinantes de complementaridade (CDRs) que têm a sequência de aminoácidos das três CDRs de região variável de cadeia pesada de acordo com a numeração de Kabat de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao American Type Culture Collection (ATCC) HB-8059, e uma região variável de cadeia leve que compreende três CDRs que têm a sequência de aminoácidos das três CDRs de região variável de cadeia leve de acordo com a numeração de Kabat e um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-

8059.

7. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 ou 2 e 6, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada que consiste na sequência de aminoácidos da região variável de cadeia pesada de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao American Type Culture Collection (ATCC) HB-8059, e uma região variável de cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos da região variável de cadeia leve de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059.

8. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 ou 2 e 6 ou 7, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende uma cadeia pesada que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia pesada de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059, e uma cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia leve de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059.

9. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, **caracterizado** pelo fato de que o dito fragmento funcional de anticorpo anti-sLe^a é selecionado do grupo que consiste em um Fab, um Fab', um F(ab')2, um scFV, um diacorpo, um triacorpo, um minicorpo e um anticorpo de domínio único (sdAB).

10. Método, de acordo com a reivindicação 9, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é um diacorpo.

11. Método, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** pelo fato de que o dito diacorpo compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 18 ou 20.

12. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é um anticorpo monoclonal.

13. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizado** pelo fato de que o dito anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é um isotipo IgG ou IgM.

14. Método, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo IgG é uma subclasse IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4.

15. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é formulado como uma composição farmacêutica que compreende um veículo farmaceuticamente aceitável.

16. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo é administrado por uma via de administração parenteral.

17. Método, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de que a administração parenteral é selecionada de um grupo que consiste em injeção subcutânea, injeção intramuscular e injeção intravenosa.

18. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 17, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo é administrado em uma faixa de dose de cerca de 0,1 mg/kg/dose a cerca de 10 mg/kg/dose.

19. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo é administrado de modo semanal, quinzenal, mensal ou bimestral.

20. Método, de acordo com a reivindicação 19, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo é ad-

ministrado por cerca de um, dois, três, quatro, cinco ou seis meses.

21. Método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente terapêutico que se liga a um CA19-9.

22. Método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo **caracterizado** pelo fato de que compreende:

(1) administrar ao indivíduo em uma primeira dose um agente terapêutico que se liga a um CA19-9,

(2) determinar a gravidade da pancreatite no dito indivíduo, e

(3) administrar uma segunda dose do agente terapêutico em quantidade igual ou mais baixado que a primeira dose se a gravidade da pancreatite no indivíduo for reduzida em comparação com a gravidade da pancreatite no indivíduo antes da administração do agente, ou administrar uma segunda dose do agente terapêutico em uma quantidade mais alta que a primeira dose se a gravidade da pancreatite no indivíduo não for reduzida.

23. Método, de acordo com a reivindicação 21 ou 22, **caracterizado** pelo fato de que o agente terapêutico é um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a Sialil-Lewis^{a} (anti-sLe^{a}).

24. Método, de acordo com a reivindicação 23, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo anti-sLe^{a} ou fragmento funcional do mesmo é um anticorpo monoclonal de camundongo, quimérico, humanizado ou completamente humano.

25. Método, de acordo com a reivindicação 23 ou 24, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^{a} ou fragmento funcional do mesmo compreende um domínio de cadeia pesada variável (VH), em que o dito domínio de VH compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 142 da SEQ

ID NO: 2, nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 6, nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 10 e nos resíduos 20 a 145 da SEQ ID NO: 14.

26. Método, de acordo com a reivindicação 23 ou 24, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende um domínio de cadeia leve variável (VL), em que o dito domínio de VL compreende uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 4, nos resíduos 20 a 129 da SEQ ID NO: 8, nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 12 e nos resíduos 23 a 130 da SEQ ID NO: 16.

27. Método, de acordo com a reivindicação 23 ou 24, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende um domínio de cadeia pesada variável (VH) e um domínio de cadeia leve variável (VL), em que o dito domínio de VH e o dito domínio de VL, respectivamente, compreendem uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 2 e nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 4; nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 6 e nos resíduos 20 a 129 da SEQ ID NO: 8; nos resíduos 20 a 142 da SEQ ID NO: 10 e nos resíduos 20 a 130 da SEQ ID NO: 12; e nos resíduos 20 a 145 da SEQ ID NO: 14 e nos resíduos 23 a 130 da SEQ ID NO: 16.

28. Método, de acordo com a reivindicação 23 ou 24, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada que compreende três regiões determinantes de complementaridade (CDRs) que têm a sequência de aminoácidos das três CDRs de região variável de cadeia pesada de acordo com a numeração de Kabat de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao American Type Culture Collection (ATCC) HB-8059, e uma região variável de cadeia leve que compreende três CDRs que têm a sequência de

aminoácidos das três CDRs de região variável de cadeia leve de acordo com a numeração de Kabat e um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059.

29. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 ou 24 e 28, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada que consiste na sequência de aminoácidos da região variável de cadeia pesada de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao American Type Culture Collection (ATCC) HB-8059, e uma região variável de cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos da região variável de cadeia leve de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059.

30. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 ou 24 e 28 ou 29, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo compreende uma cadeia pesada que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia pesada de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059, e uma cadeia leve que consiste na sequência de aminoácidos da cadeia leve de um anticorpo produzido por um hibridoma depositado sob o número de acesso ao ATCC HB-8059.

31. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 30, **caracterizado** pelo fato de que o dito fragmento funcional de anticorpo anti-sLe^a é selecionado do grupo que consiste em um Fab, um Fab', um F(ab')2, um scFV, um diacorpo, um triacorpo, um minicorpo e um anticorpo de domínio único (sdAB).

32. Método, de acordo com a reivindicação 31, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é um diacorpo.

33. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracteriza-**

do pelo fato de que o dito diacorpo compreende a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 18 ou 20.

34. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 33, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é um anticorpo monoclonal.

35. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 34, **caracterizado** pelo fato de que o dito anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é um isotipo IgG ou IgM.

36. Método, de acordo com a reivindicação 35, **caracterizado** pelo fato de que o dito anticorpo IgG é uma subclasse IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4.

37. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 36, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo anti-sLe^a ou fragmento funcional do mesmo é formulado como uma composição farmacêutica que compreende um veículo farmaceuticamente aceitável.

38. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 37, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo é administrado por uma via de administração parenteral.

39. Método, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que a administração parenteral é selecionada de um grupo que consiste em injeção subcutânea, injeção intramuscular e injeção intravenosa.

40. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 39, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo é administrado em uma faixa de dose de cerca de 0,1 mg/kg/dose a cerca de 10 mg/kg/dose.

41. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 23 a 40, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo é administrado de modo semanal, quinzenal, mensal ou bimestral.

42. Método, de acordo com a reivindicação 41, **caracterizado** pelo fato de que o anticorpo ou fragmento funcional do mesmo é administrado por cerca de um, dois, três, quatro, cinco ou seis meses.

43. Método, de acordo com a reivindicação 21 ou 22, **caracterizado** pelo fato de que o agente terapêutico é uma molécula de peptídeo ou peptidomimético.

44. Método, de acordo com a reivindicação 43, **caracterizado** pelo fato de que o peptídeo ou peptidomimético tem a propriedade de se ligar especificamente a Sialil-Lewis^{a}.

45. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 44, **caracterizado** pelo fato de que a pancreatite é distinguida por um ou mais marcadores.

46. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 20, 22 a 45, **caracterizado** pelo fato de que a gravidade da pancreatite é determinada por um ou mais marcadores.

47. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 46, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo tem níveis elevados de um ou mais marcadores para pancreatite.

48. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 47, **caracterizado** pelo fato de que a administração do agente terapêutico resulta em níveis reduzidos de um ou mais marcadores de pancreatite no indivíduo.

49. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 45 a 48, **caracterizado** pelo fato de que o um ou mais marcadores são selecionados de um grupo que consiste em um marcador fisiológico, um marcador histológico, um marcador sorológico e um marcador de sinalização.

50. Método, de acordo com a reivindicação 49, **caracterizado** pelo fato de que o marcador histológico é selecionado de um grupo que consiste em invasão de célula imune, deposição de colágeno, tecido fi-

brótico, necrose de gordura, edema intersticial, destruição de vaso sanguíneo e acinar, hemorragia intersticial, dilatação ductal, homogeneização de célula acinar e nível de expressão de CA19-9.

51. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 45 a 50, **caracterizado** pelo fato de que o um ou mais marcadores compreendem nível de expressão de CA19-9.

52. Método, de acordo com a reivindicação 50 ou 51, **caracterizado** pelo fato de que o um ou mais marcadores são determinados por imunoistoquímica.

53. Método, de acordo com a reivindicação 49, **caracterizado** pelo fato de que o marcador sorológico é selecionado de um grupo que consiste em nível de lipase sérica, nível de amilase sérica e nível de proteína C-reativa sérica.

54. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o nível de lipase sérica é mais de 200 U/L.

55. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o nível de amilase sérica é mais de 200 U/L.

56. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o nível de amilase sérica está três vezes acima do limite superior de nível de amilase sérica normal de um indivíduo de controle.

57. Método, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado** pelo fato de que o nível de lipase sérica está três vezes acima do limite superior de nível de lipase sérica normal de um indivíduo de controle.

58. Método, de acordo com a reivindicação 49, **caracterizado** pelo fato de que o marcador fisiológico é selecionado de um grupo que consiste em perda de peso, má absorção de alimento, atrofia pancreática, aumento do pâncreas, inflamação pancreática e refluxo de bile.

59. Método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pan-

creatite em um indivíduo que tem sLe^a pancreático elevado, em que o dito método é **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente terapêutico que se liga especificamente a sLe^a.

60. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 59, **caracterizado** pelo fato de que a pancreatite é uma pancreatite selecionada de um grupo que consiste em pancreatite crônica e pancreatite aguda.

61. Método, de acordo com a reivindicação 60, **caracterizado** pelo fato de que a pancreatite crônica é selecionada de um grupo que consiste em pancreatite crônica leve, pancreatite crônica moderada e pancreatite crônica grave.

62. Método, de acordo com a reivindicação 60, **caracterizado** pelo fato de que a pancreatite aguda é selecionada de um grupo que consiste em pancreatite aguda leve, pancreatite aguda moderada e pancreatite aguda grave.

63. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 62, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo é um mamífero.

64. Método, de acordo com a reivindicação 63, **caracterizado** pelo fato de que o mamífero é um ser humano.

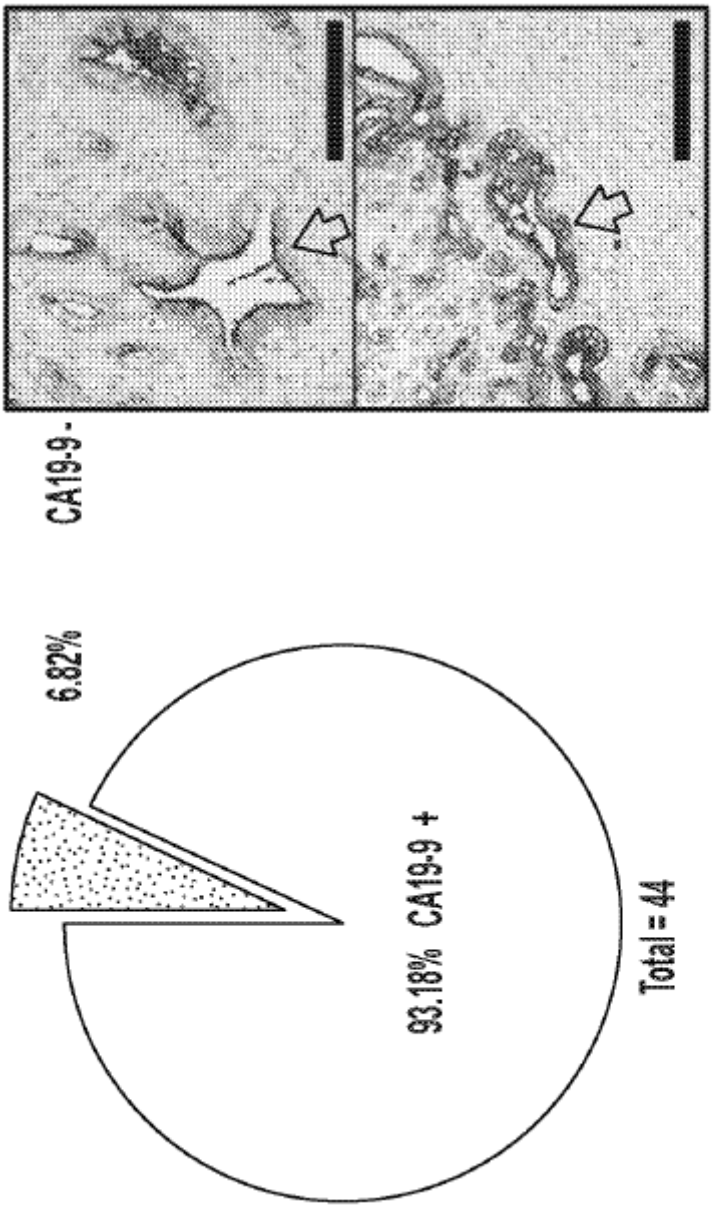


FIG. 1A

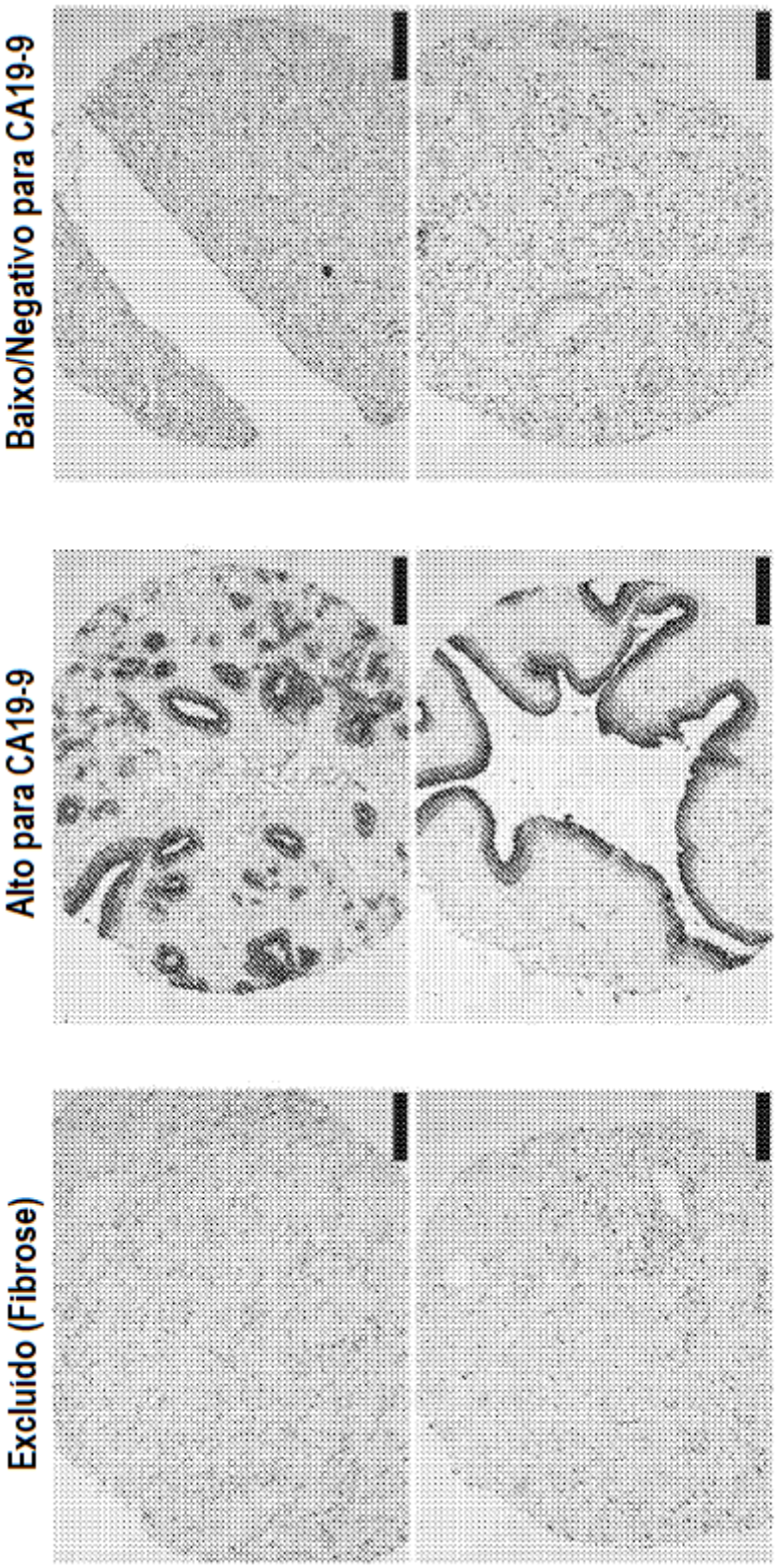

Baixo/Negativo para CA19-9
Alto para CA19-9
Excluído (Fibrose)

FIG. 1B

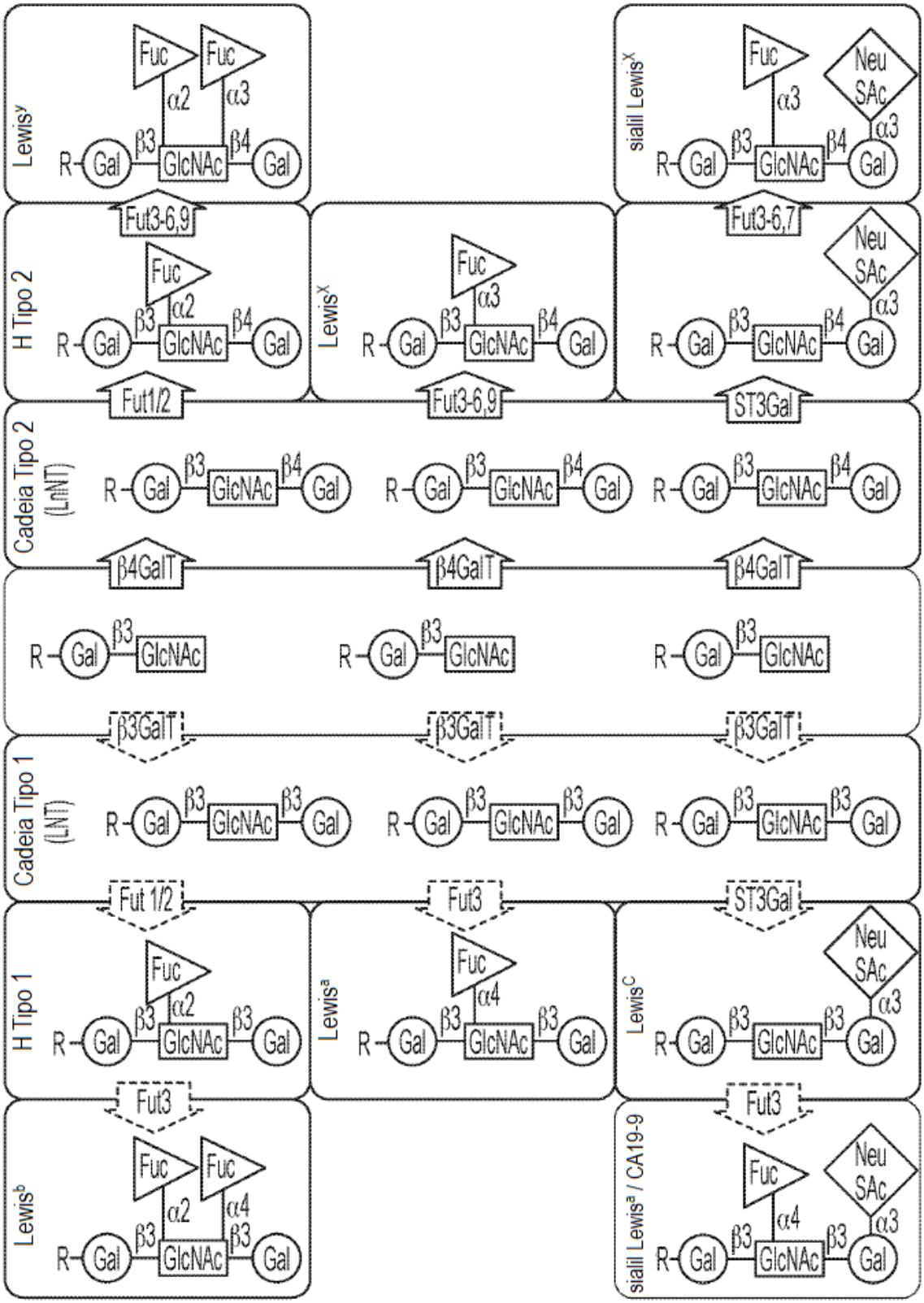

Lewis^y
Fuc
Fuc
α2
α3
R-Gal β3 GlcNAc β4 Gal
sialil Lewis^X
Neu SAc
α3
Fut3-6,9
Fut3-6,7
H Tipo 2
Lewis^X
Fut1/2
Fut3-6,9
ST3Gal
Cadeia Tipo 2 (LnNT)
β4GalT
β3GalT
Cadeia Tipo 1 (LNT)
Fut 1/2
Fut3
ST3Gal
H Tipo 1
Lewis^a
α4
Lewis^C
Lewis^b
sialil Lewis^a / CA19-9

FIG. 1C

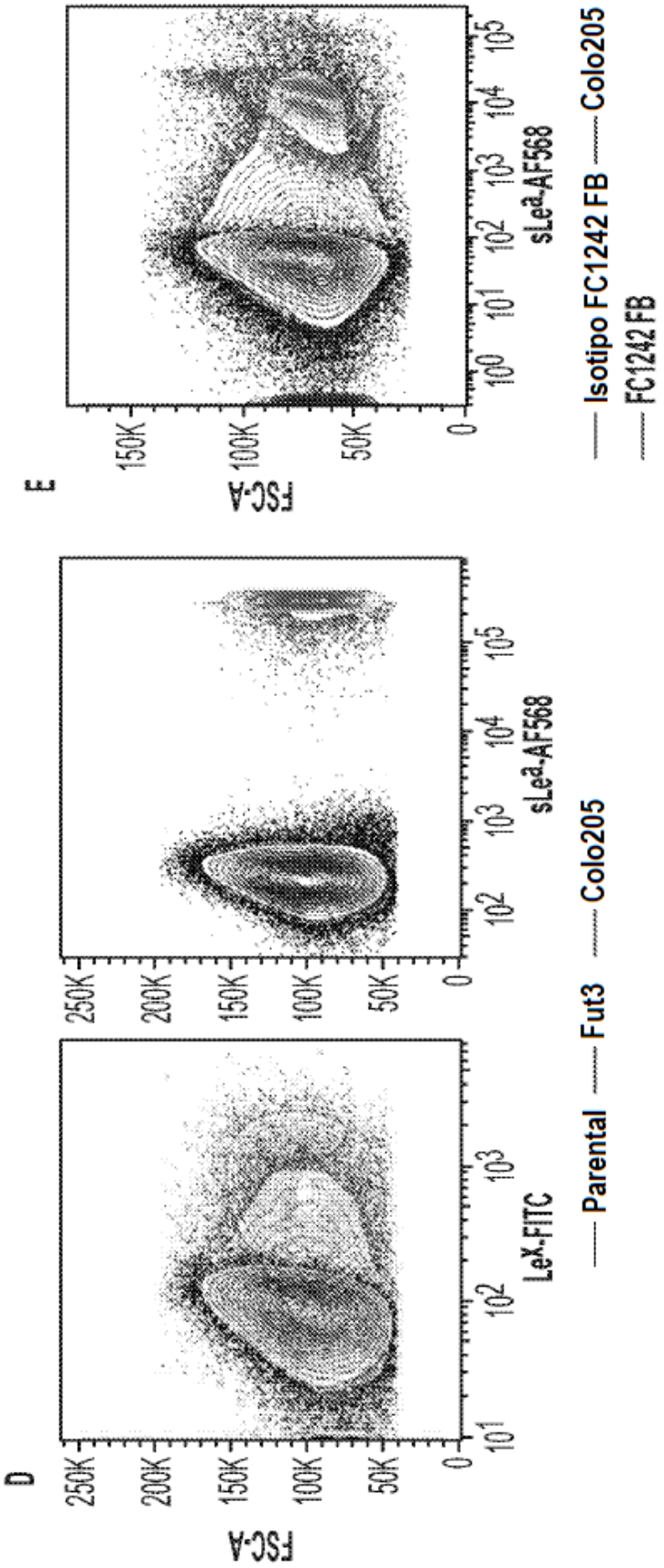


FIG. 1 (Continuação)

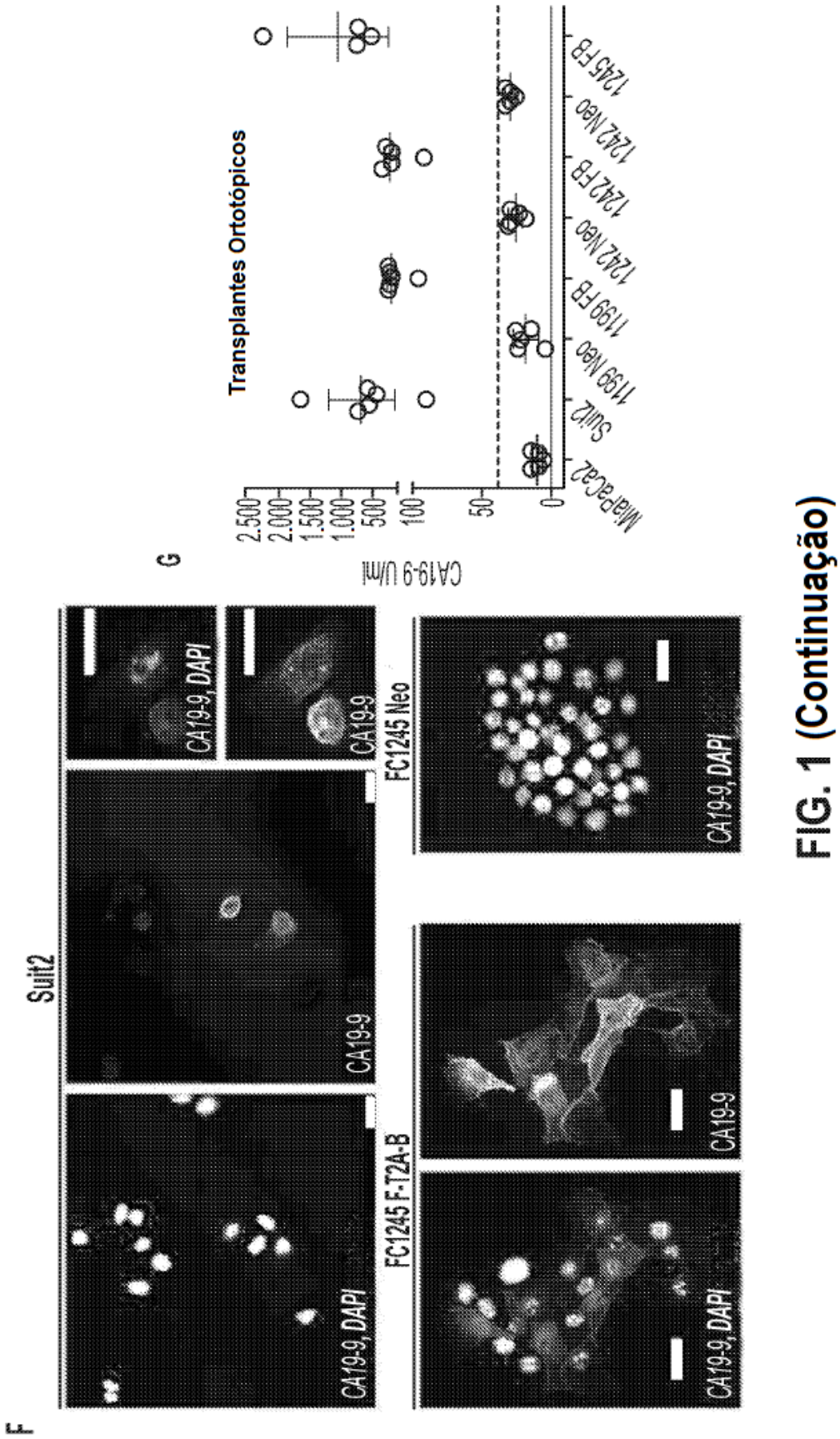


FIG. 1 (Continuação)

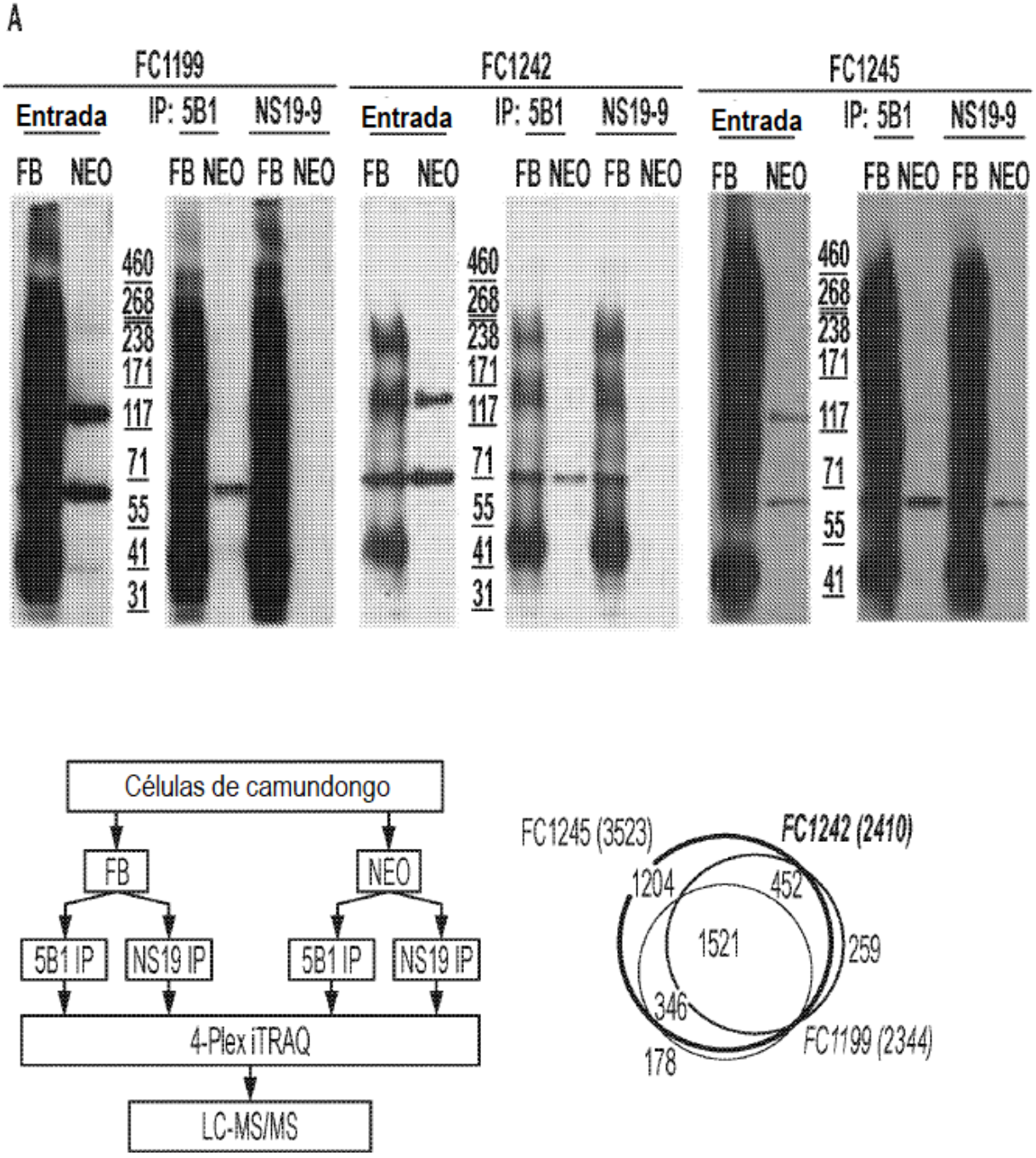
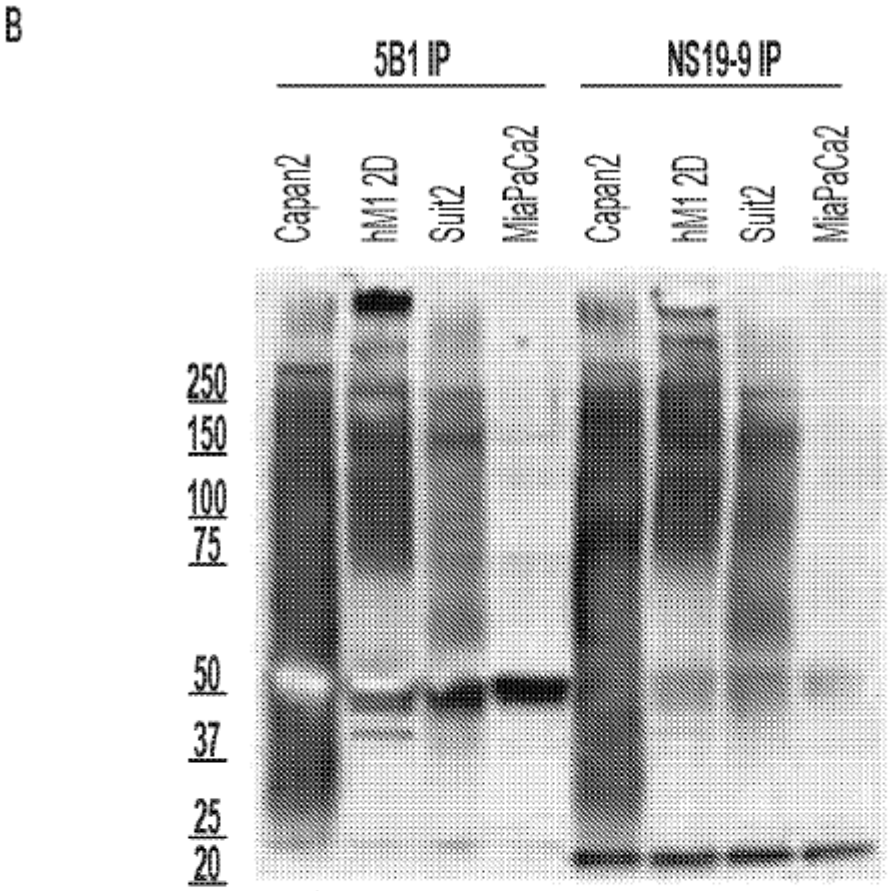
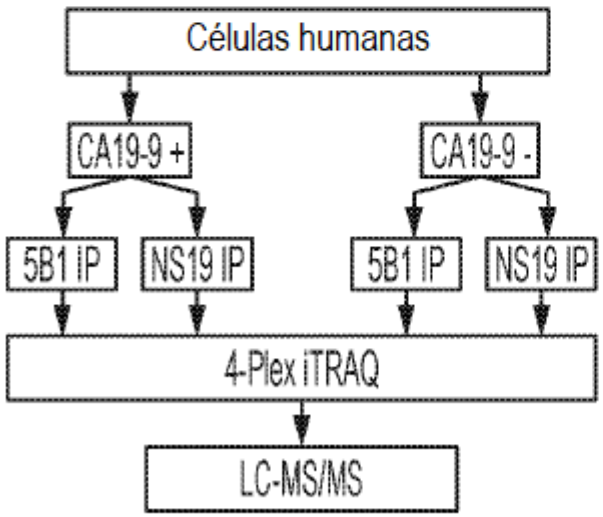

A
FC1199
FC1242
FC1245
Entrada
IP: 5B1
NS19-9
FB
NEO
460
268
238
171
117
71
55
41
31
Células de camundongo
FB
NEO
5B1 IP
NS19 IP
4-Plex iTRAQ
LC-MS/MS
FC1245 (3523)
FC1242 (2410)
FC1199 (2344)
1204
452
1521
259
346
178

FIG. 2





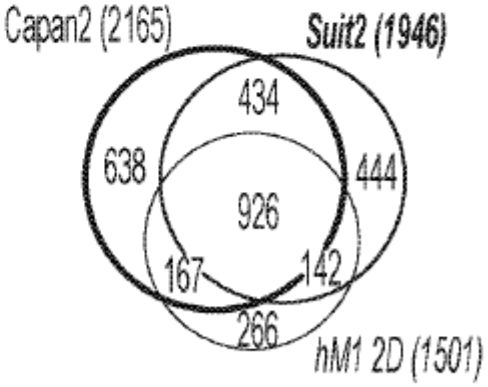


FIG. 2 (Continuação)

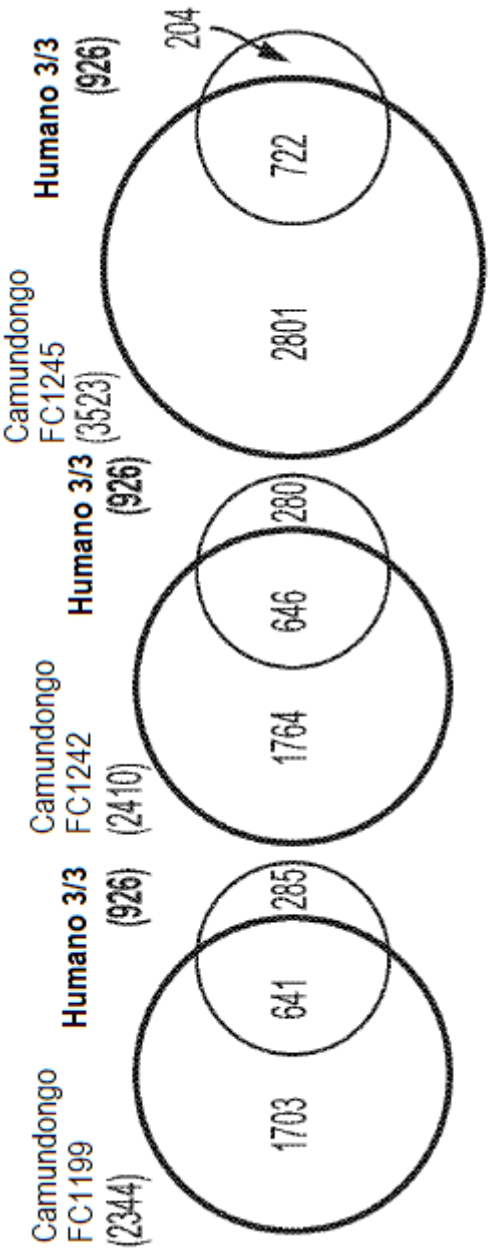

Camundongo FC1199 (2344)
Humano 3/3 (926)
Camundongo FC1242 (2410)
Humano 3/3 (926)
Camundongo FC1245 (3523)
Humano 3/3 (926)
1703
641
285
1764
646
280
2801
722
204

FIG. 2C

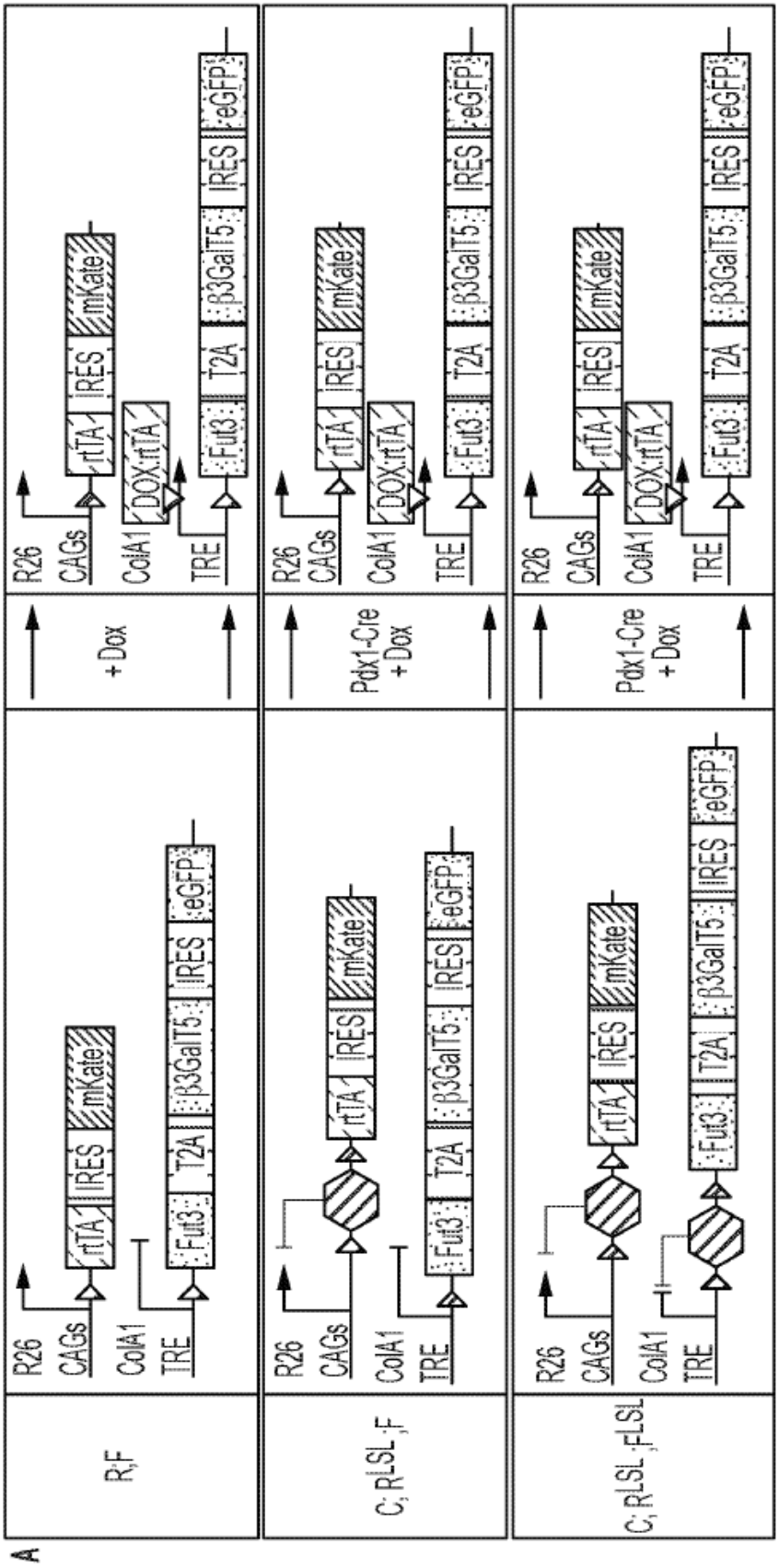

A
R;F
C; RLSL ;F
C; RLSL ;FLSL
R26
CAGs
ColA1
TRE
rtTA
IRES
mKate
DOX:rtTA
Fut3
T2A
β3GalT5
IRES
eGFP
+ Dox
Pdx1-Cre
+ Dox
B
Cre:
Dox:
Clone 1 ESC
Clone 2 ESC

FIG. 3

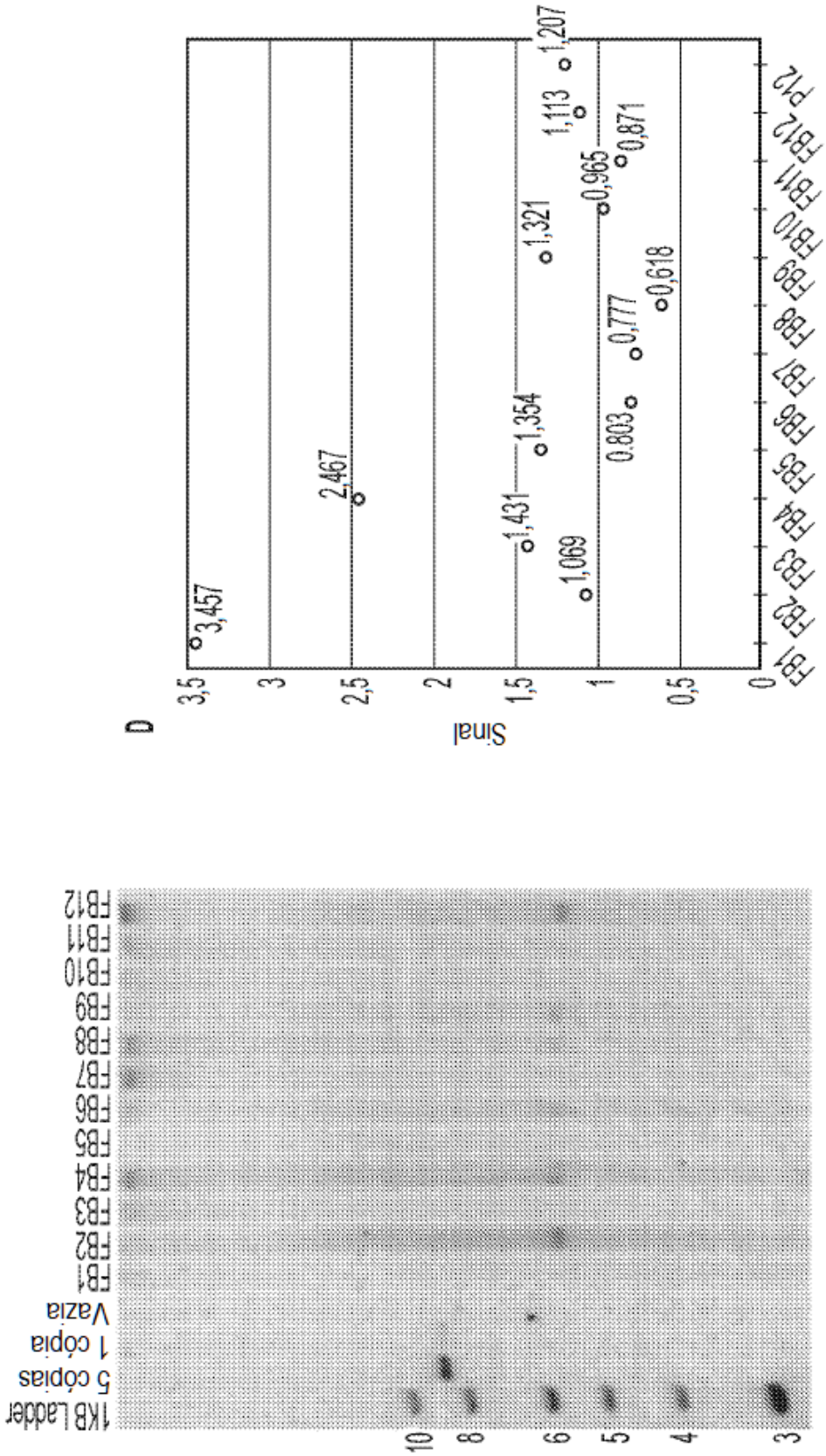


FIG. 3 (Continuação)

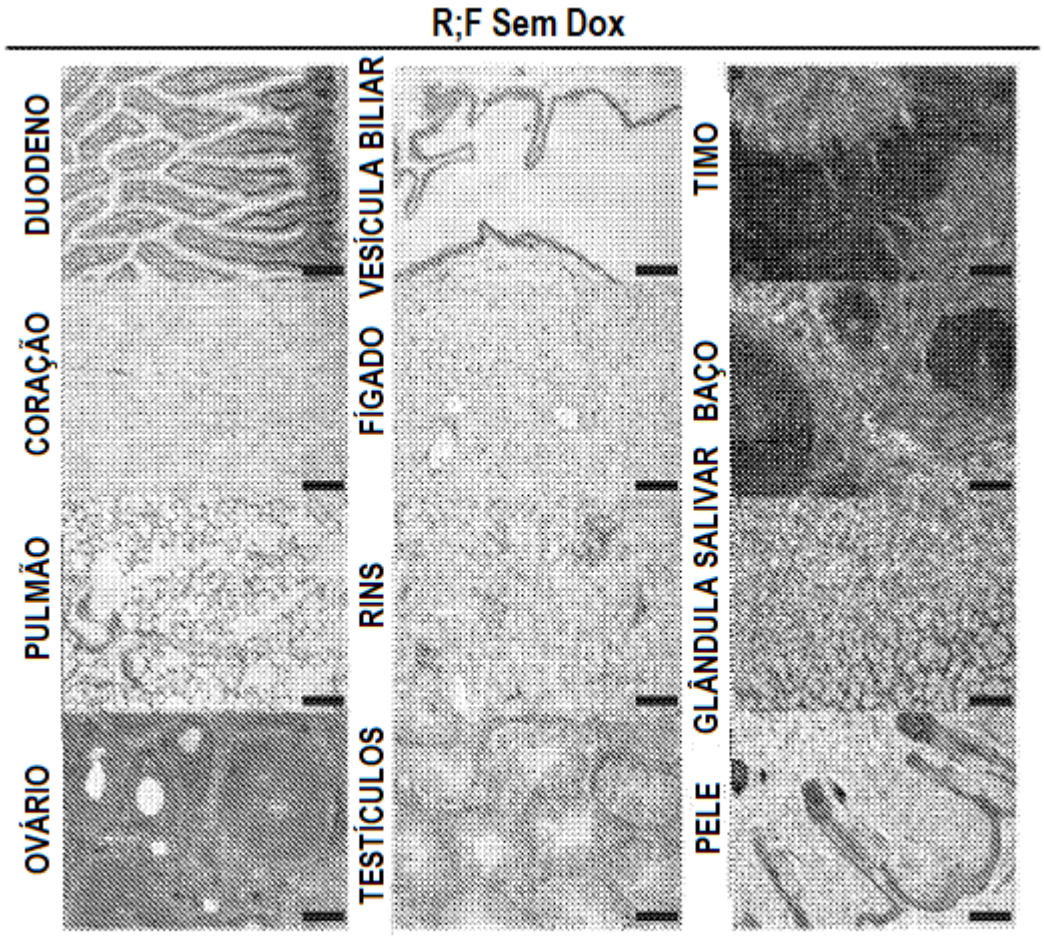

R;F Sem Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 4

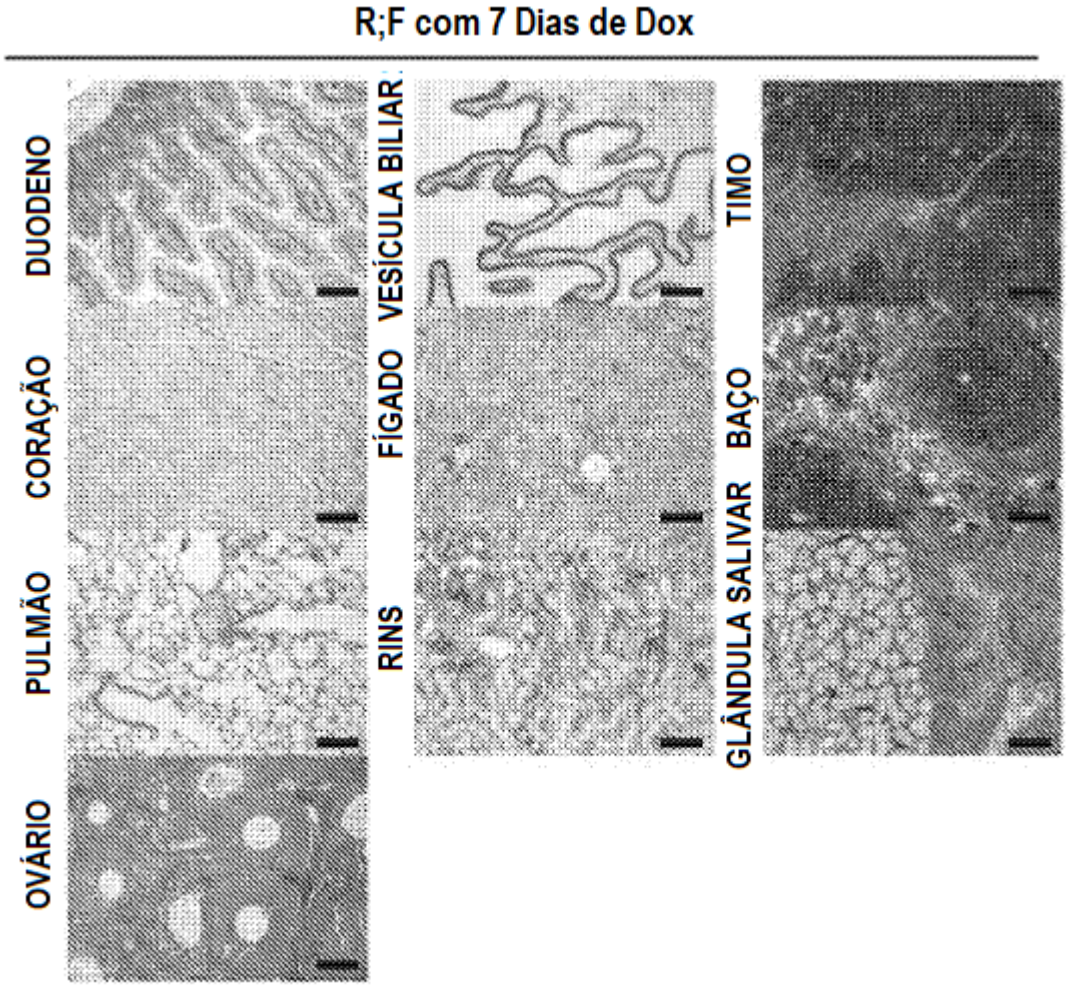

R;F com 7 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 5

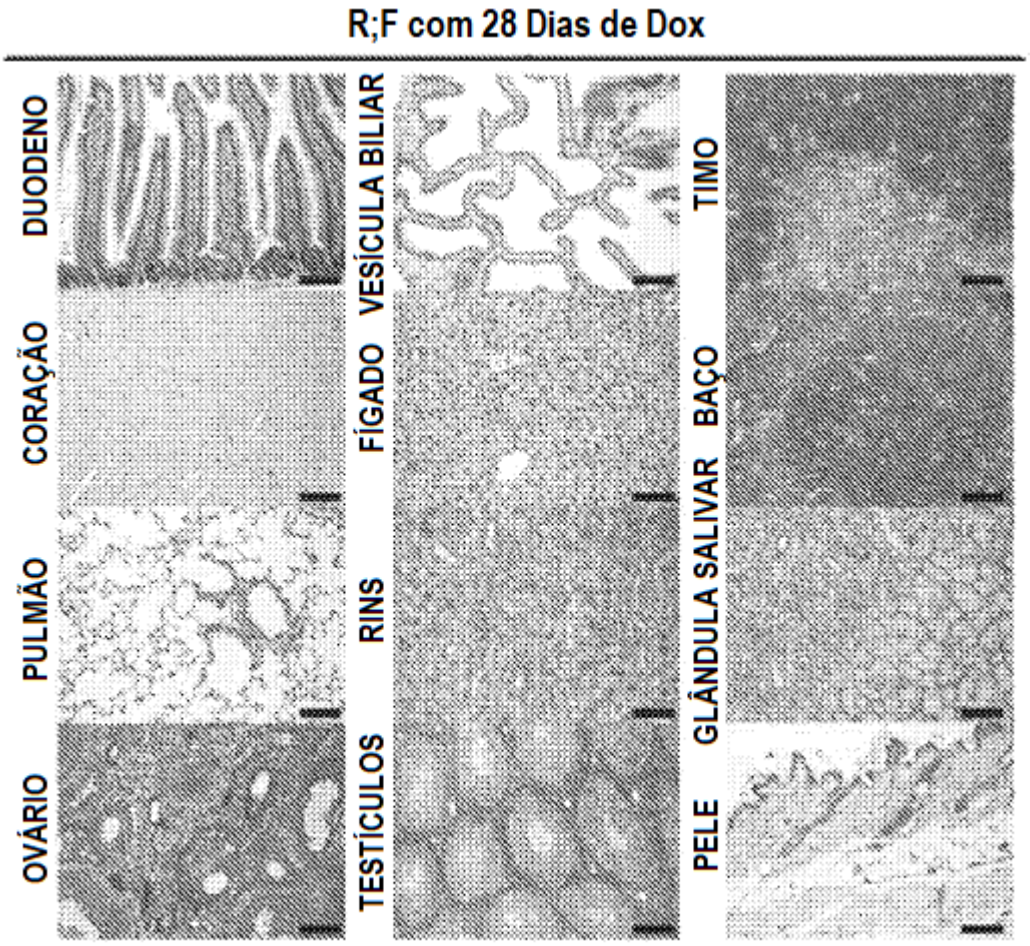

R;F com 28 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 6

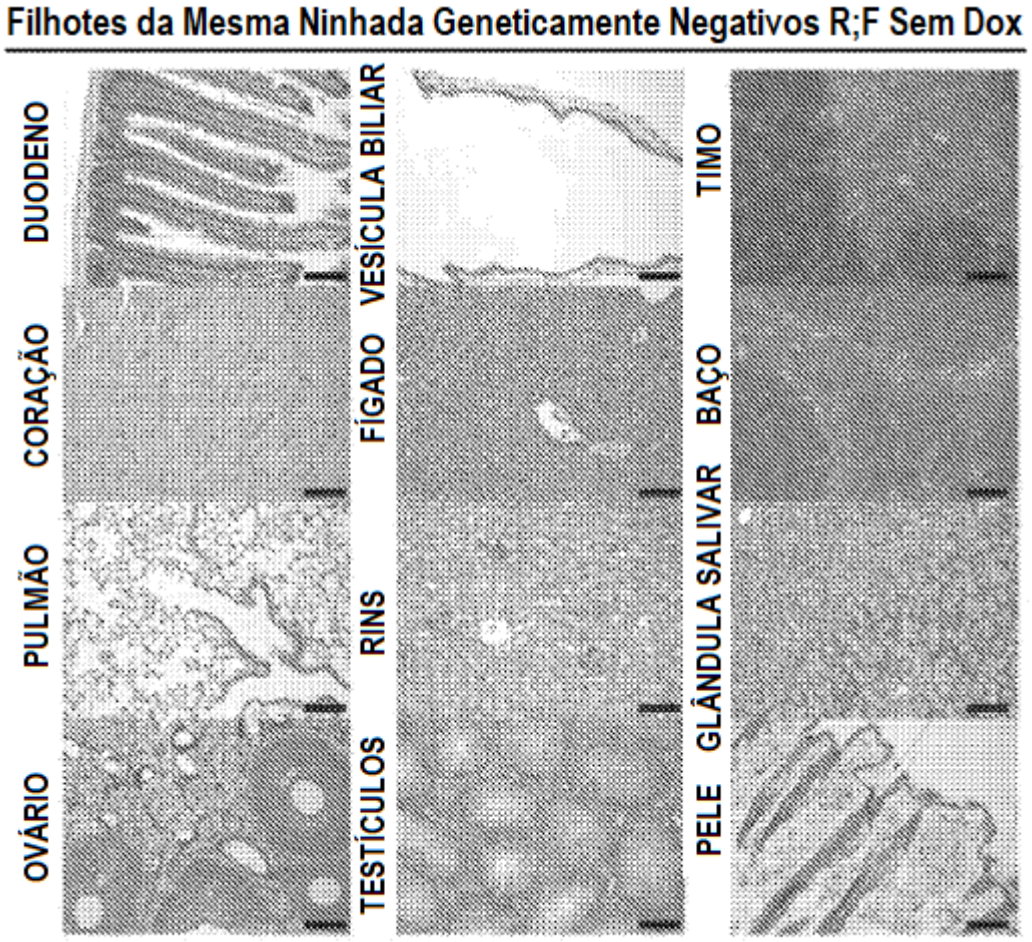

Filhotes da Mesma Ninhada Geneticamente Negativos R;F Sem Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 7

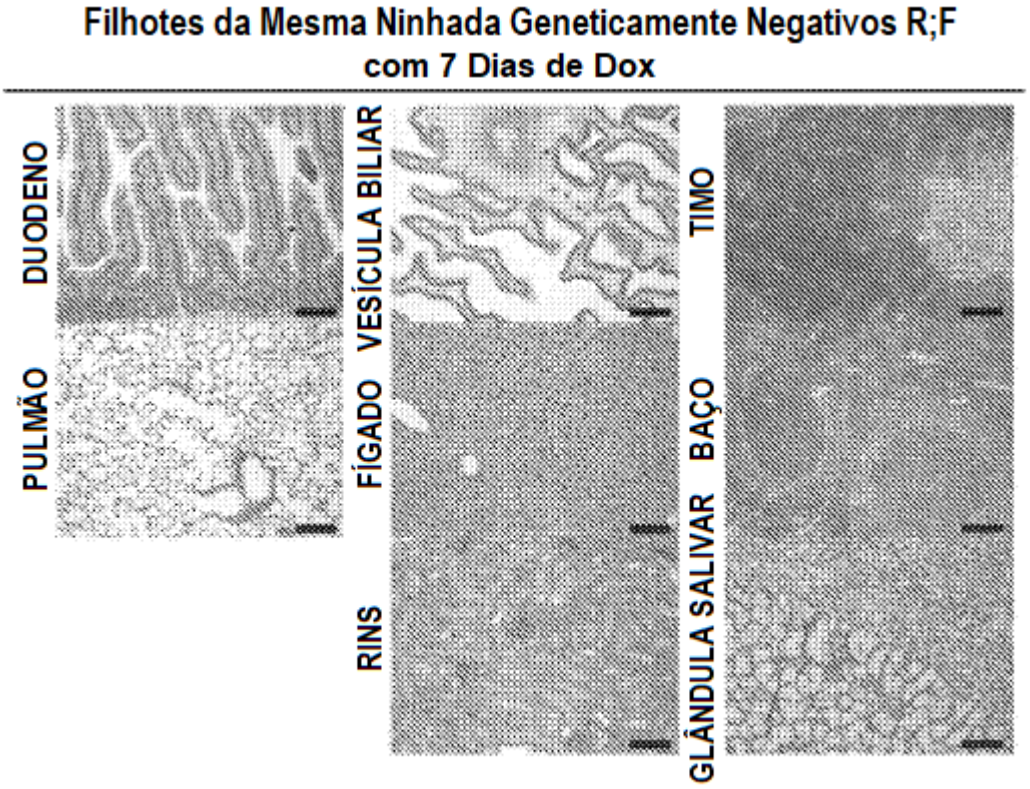

Filhotes da Mesma Ninhada Geneticamente Negativos R;F
com 7 Dias de Dox
DUODENO
PULMÃO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 8

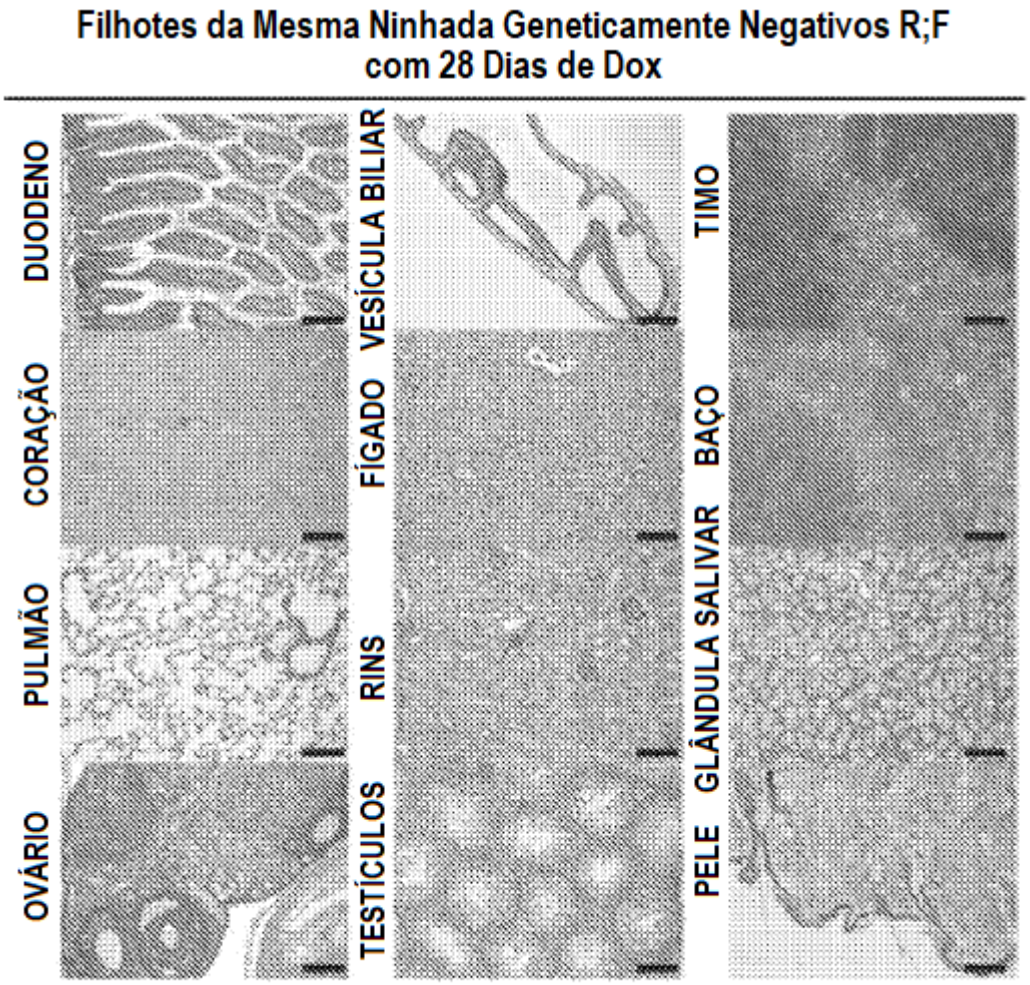

Filhotes da Mesma Ninhada Geneticamente Negativos R;F
com 28 Dias de Dox
DUODENO
VESÍCULA BILIAR
TIMO
CORAÇÃO
FÍGADO
BAÇO
PULMÃO
RINS
GLÂNDULA SALIVAR
OVÁRIO
TESTÍCULOS
PELE

FIG. 9

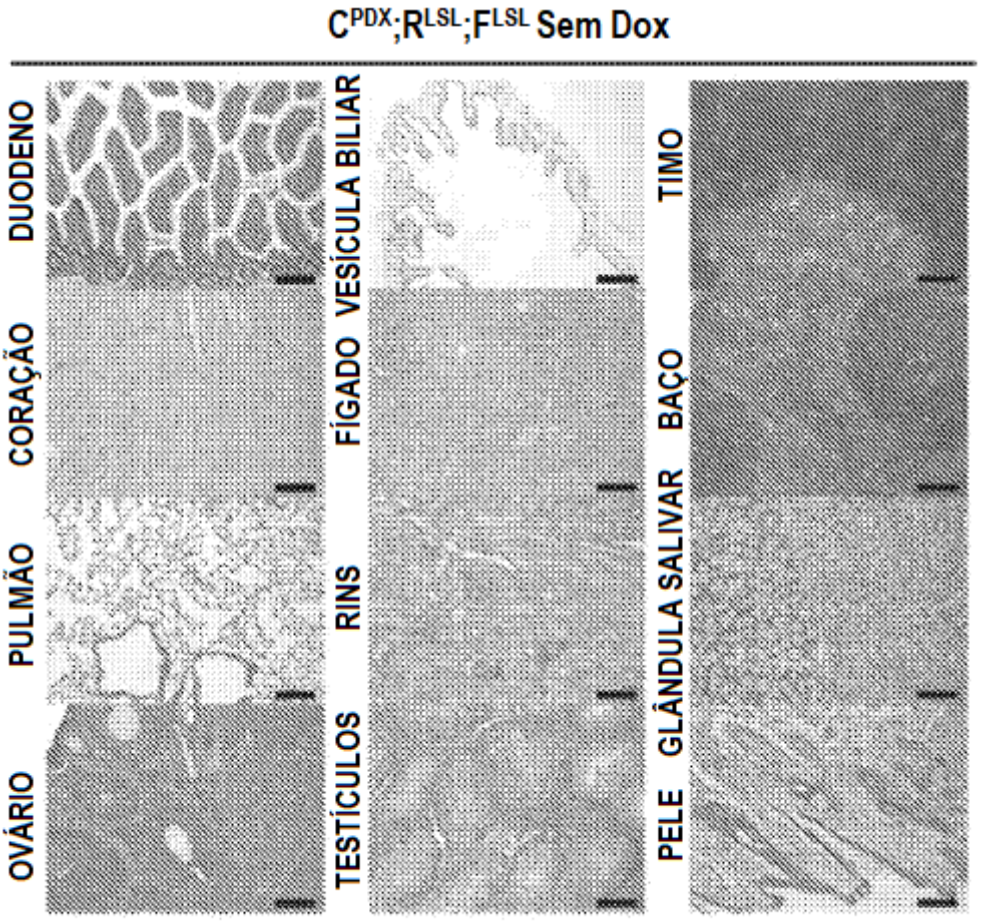

C^PDX;R^LSL;F^LSL Sem Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 10

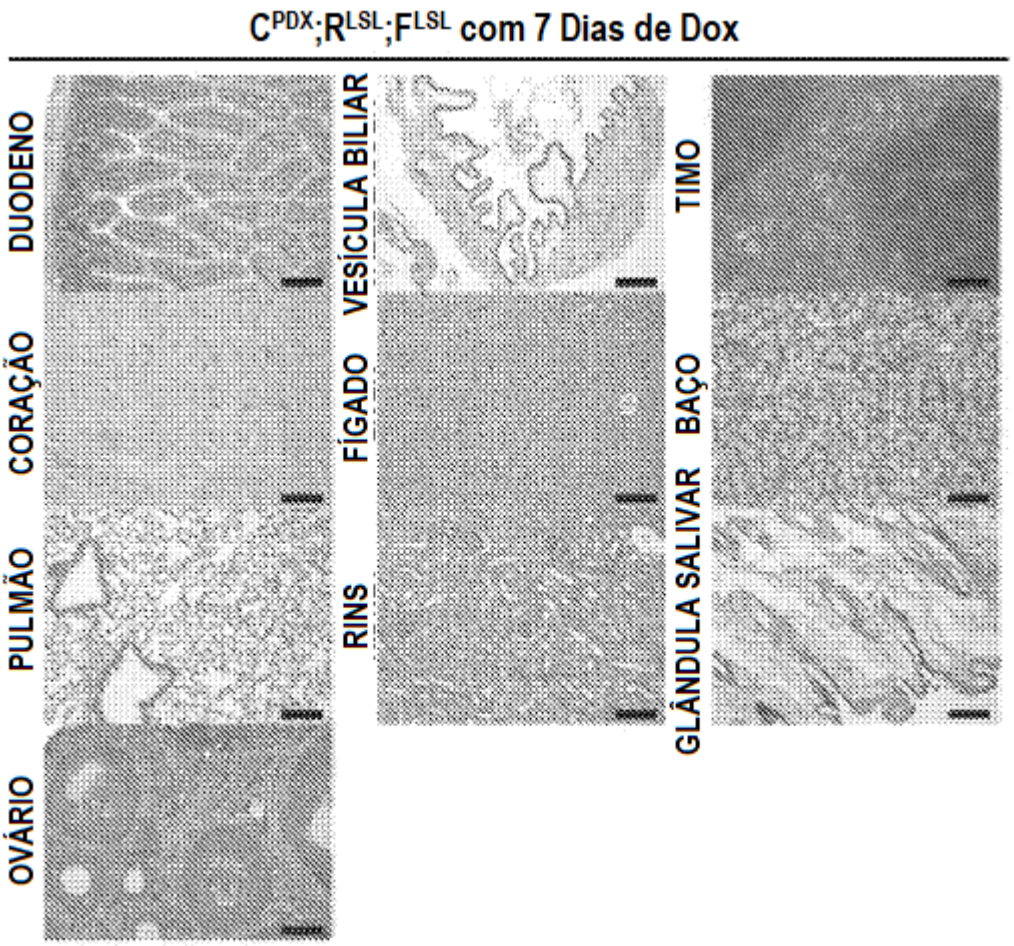

C^PDX;R^LSL;F^LSL com 7 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 11

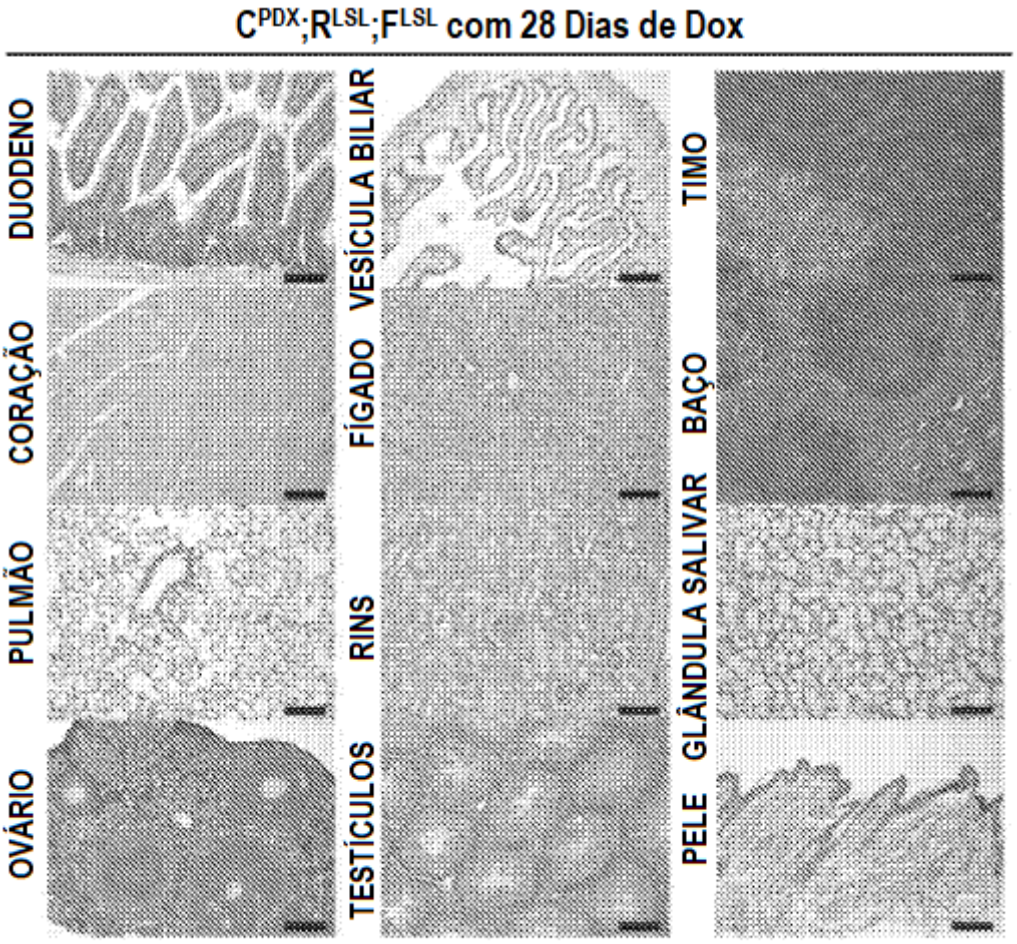

C^PDX;R^LSL;F^LSL com 28 Dias de Dox
DUODENO
VESÍCULA BILIAR
TIMO
CORAÇÃO
FÍGADO
BAÇO
PULMÃO
RINS
GLÂNDULA SALIVAR
OVÁRIO
TESTÍCULOS
PELE

FIG. 12

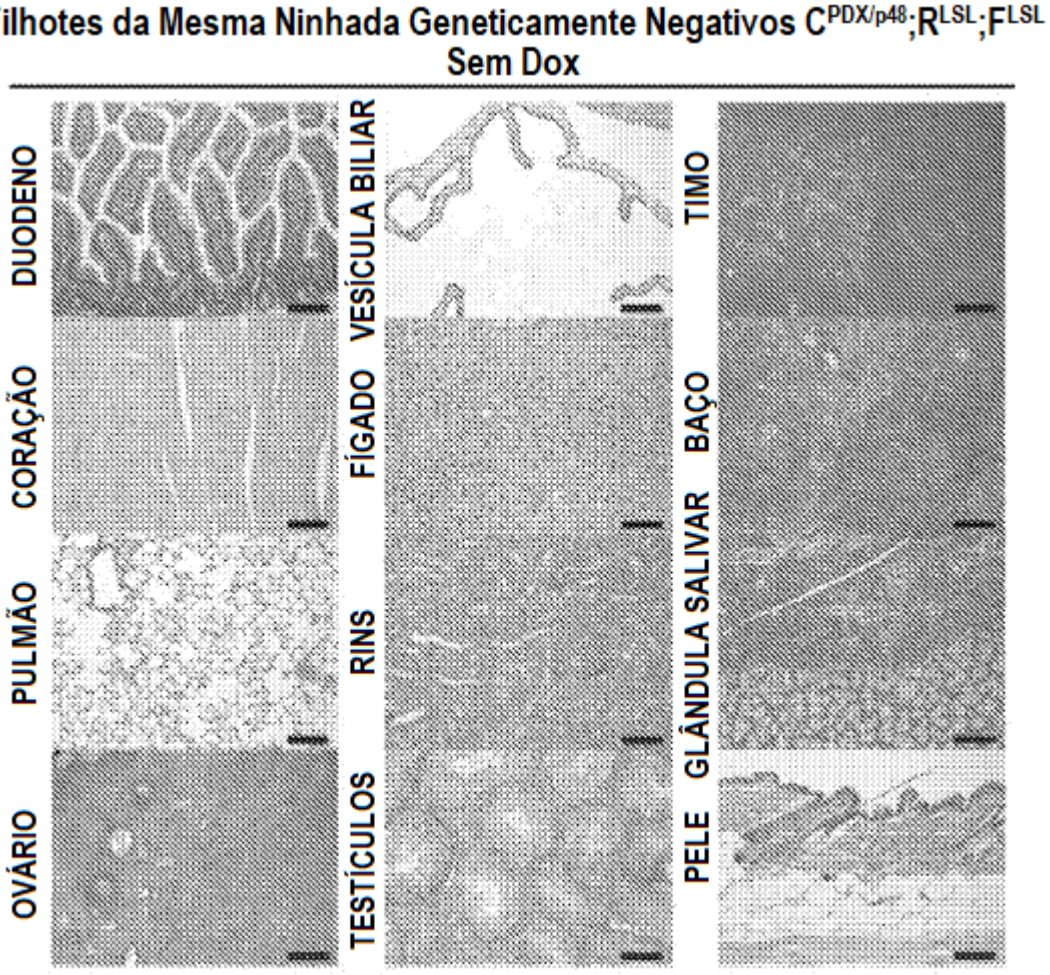

Filhotes da Mesma Ninhada Geneticamente Negativos C^PDX/p48;R^LSL;F^LSL
Sem Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 13

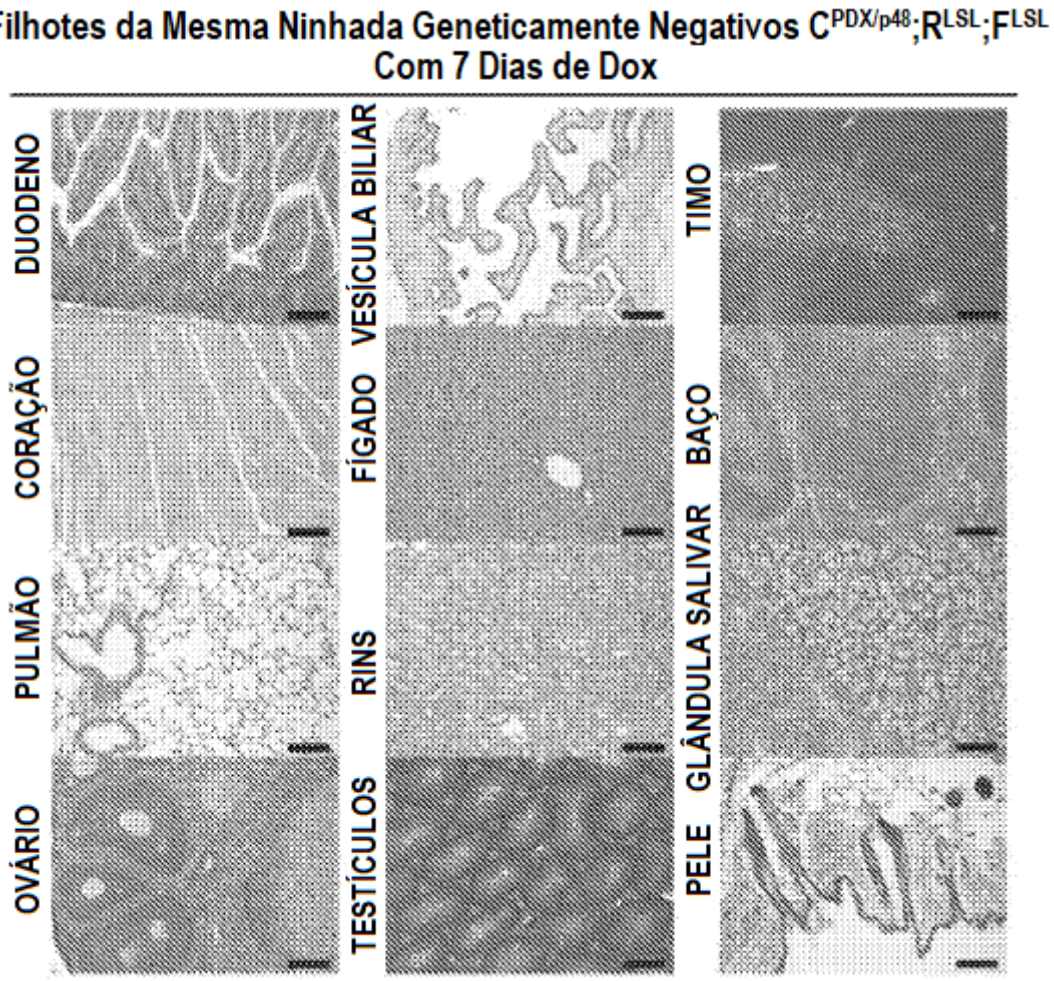

Filhotes da Mesma Ninhada Geneticamente Negativos C$^{PDX/p48}$;R^{LSL};F^{LSL}
Com 7 Dias de Dox
DUODENO
VESÍCULA BILIAR
TIMO
CORAÇÃO
FÍGADO
BAÇO
PULMÃO
RINS
GLÂNDULA SALIVAR
OVÁRIO
TESTÍCULOS
PELE

FIG. 14

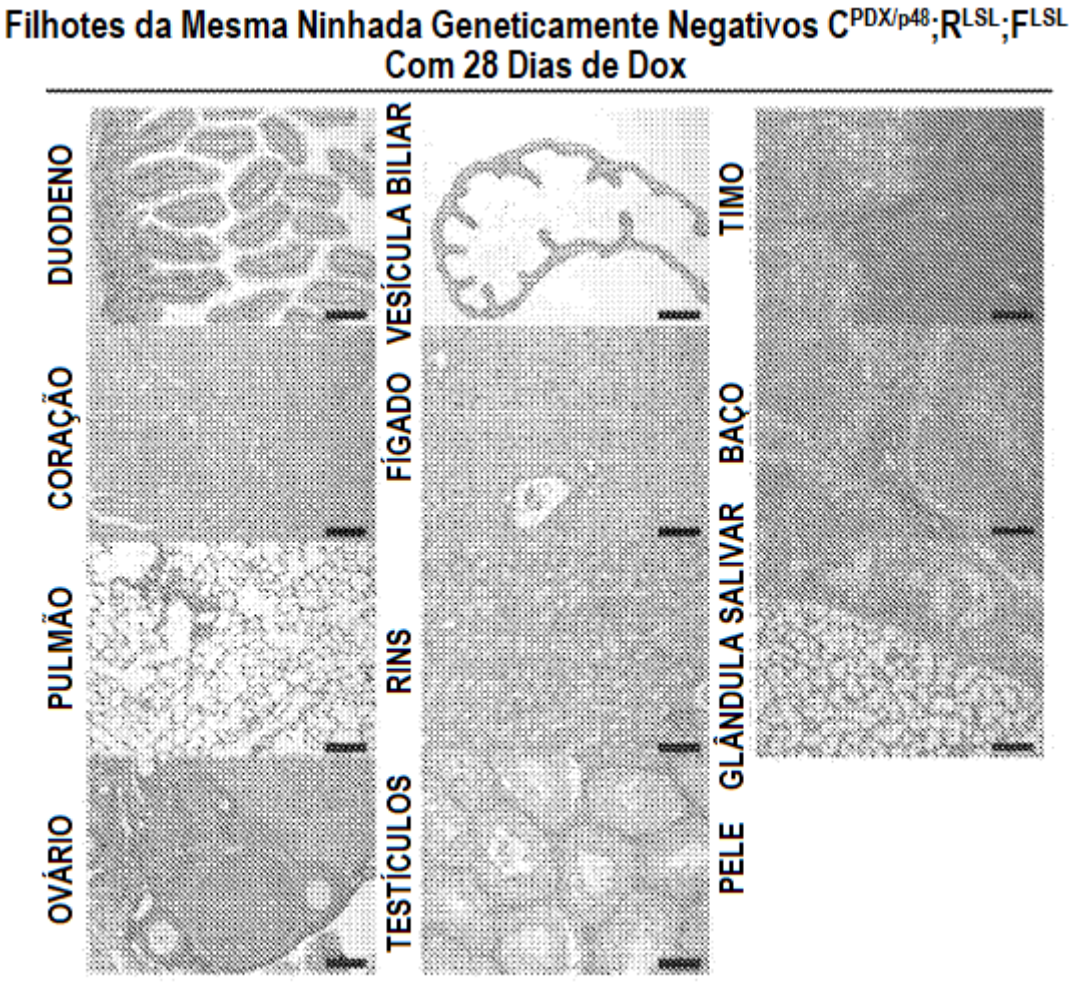

Filhotes da Mesma Ninhada Geneticamente Negativos C$^{PDX/p48}$;R^{LSL};F^{LSL}
Com 28 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 15

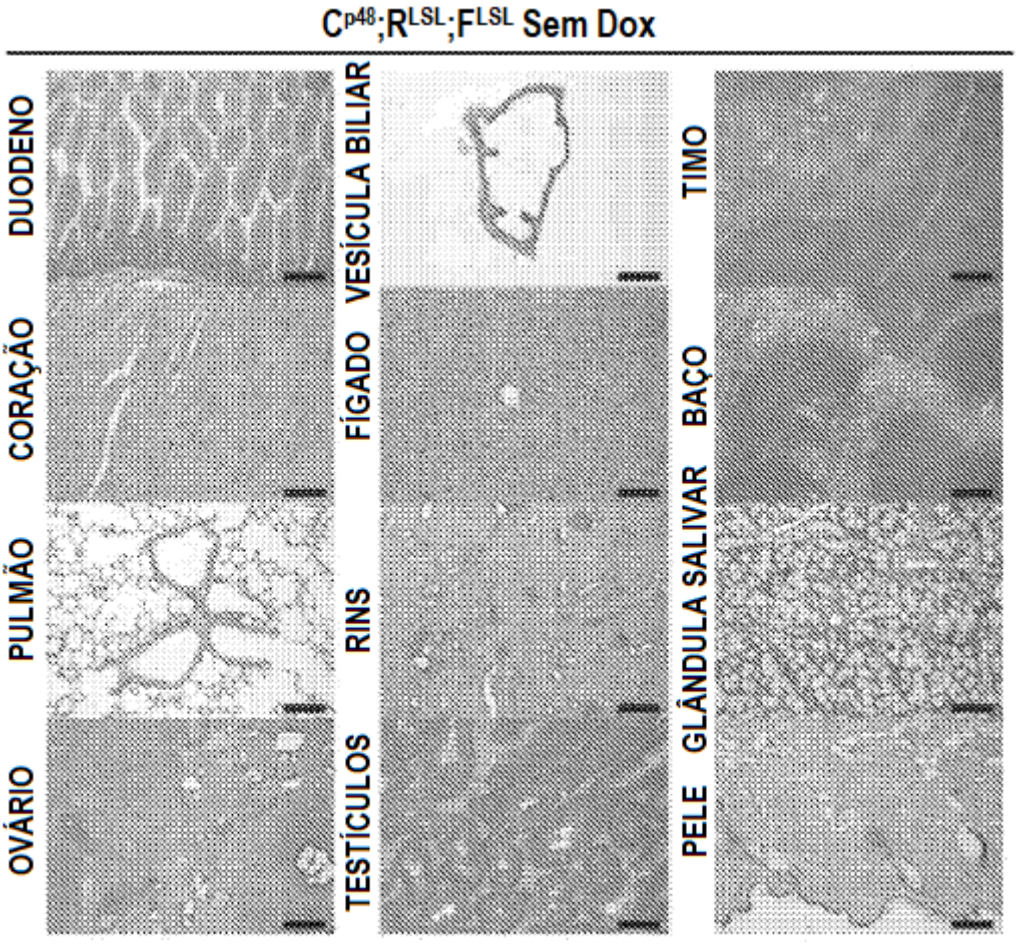

C^p48;R^LSL;F^LSL Sem Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 16

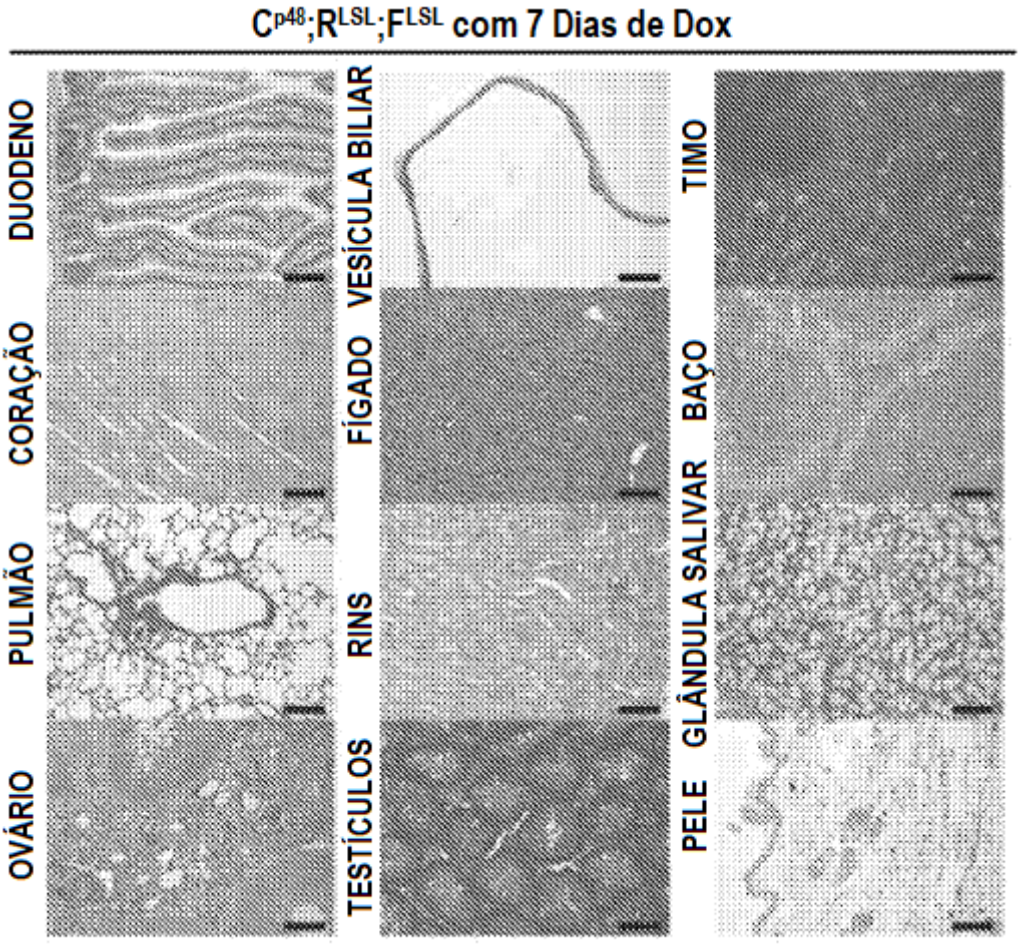

Cp48;RLSL;FLSL com 7 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 17

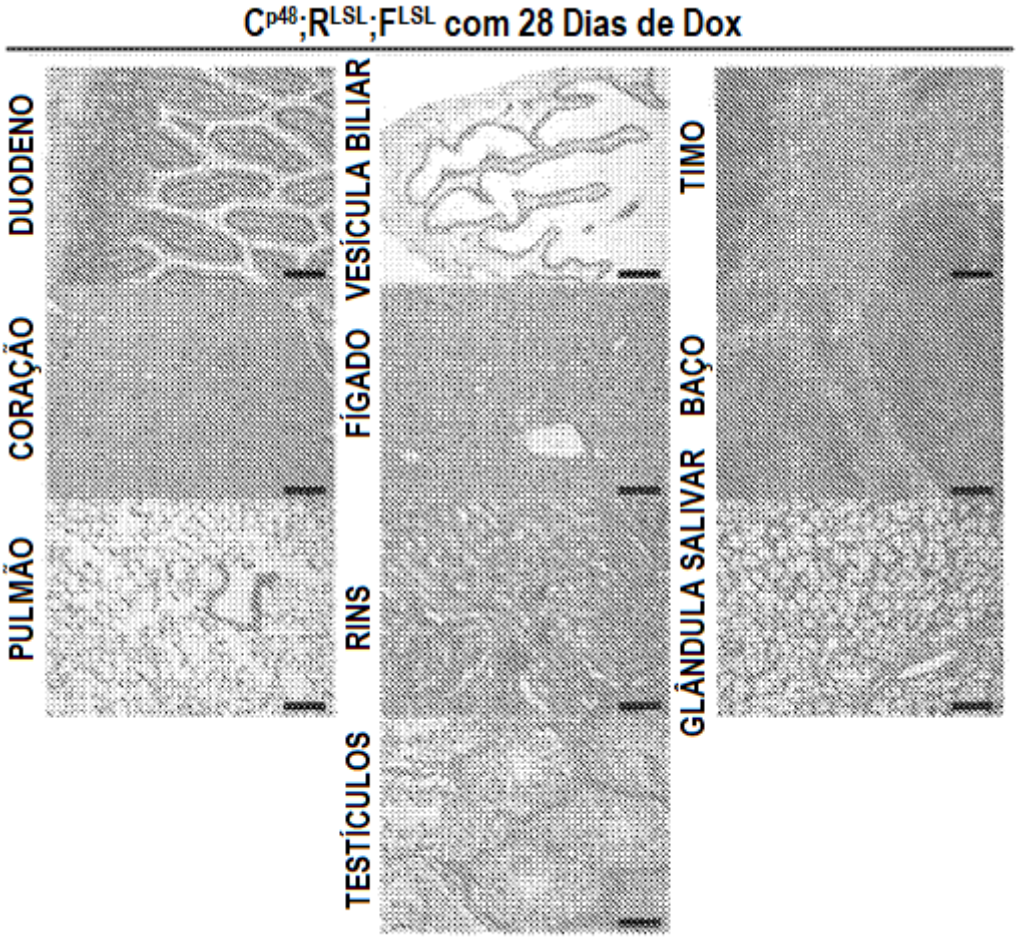

C^p48;R^LSL;F^LSL com 28 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 18

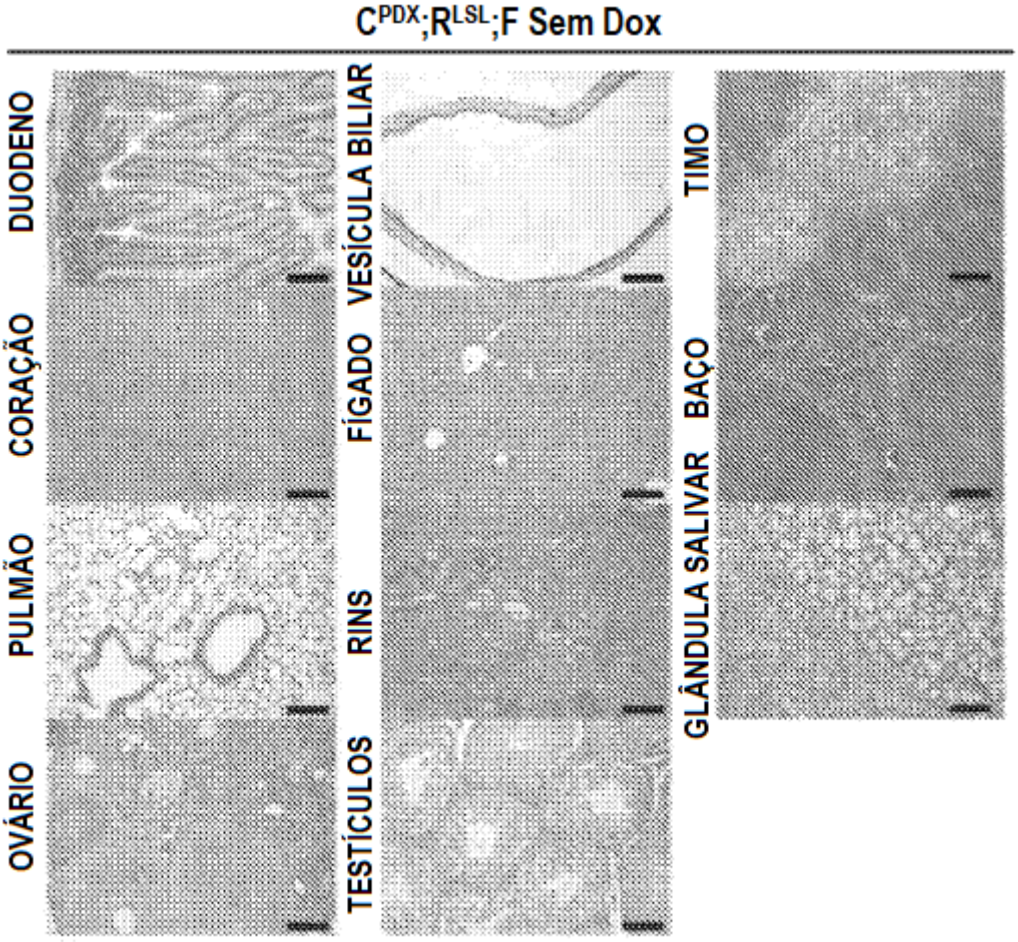

C^PDX;R^LSL;F Sem Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 19

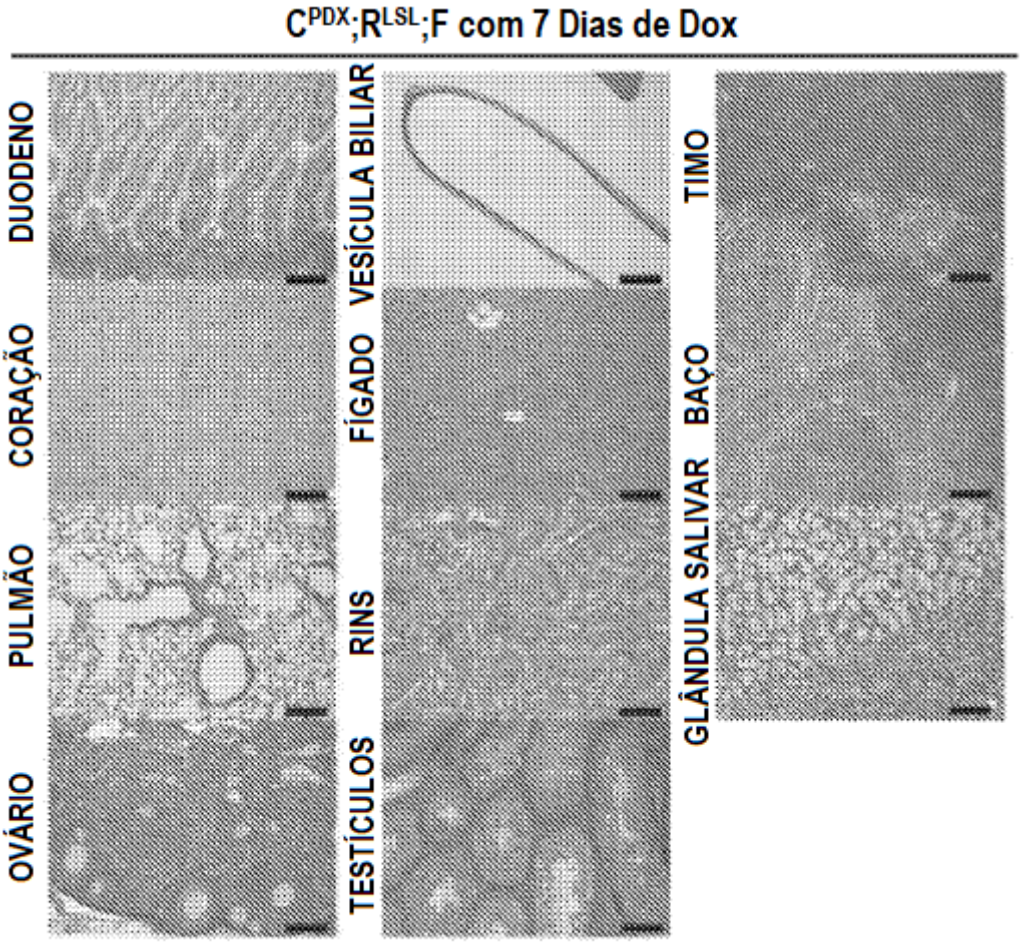

C^PDX;R^LSL;F com 7 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 20

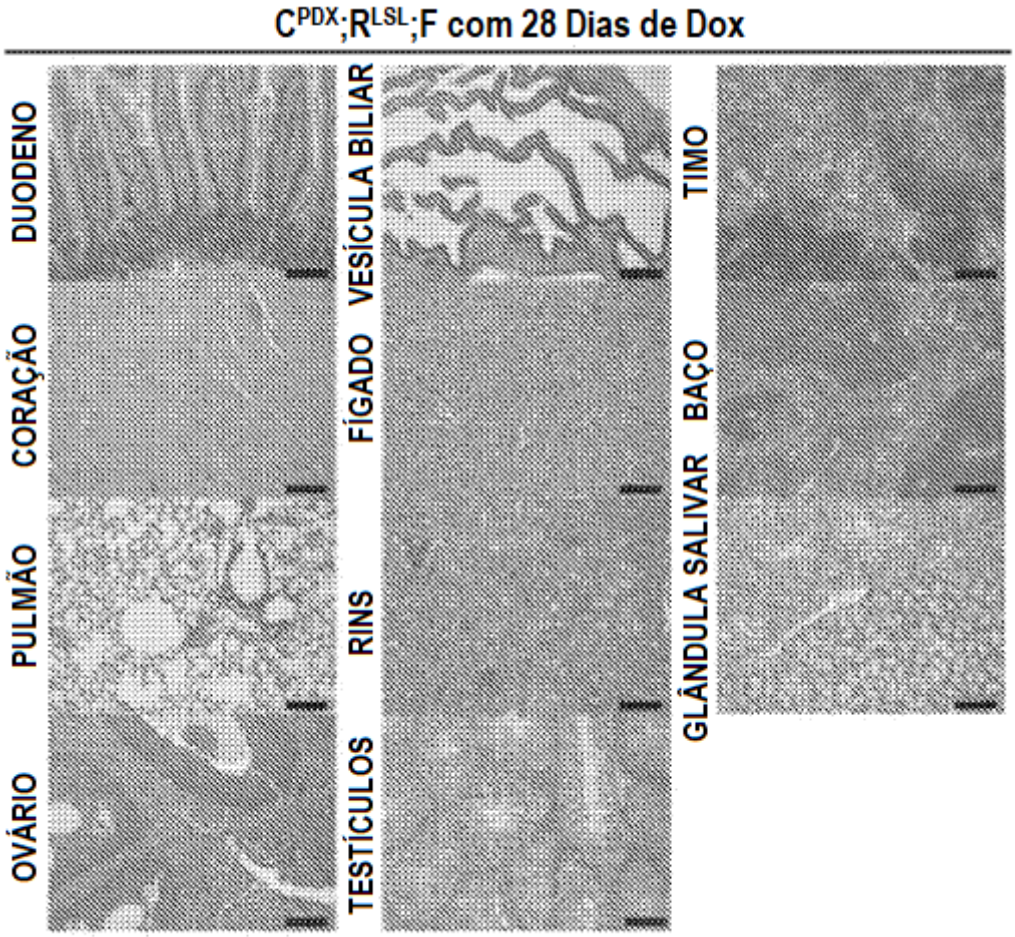

C^PDX;R^LSL;F com 28 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 21

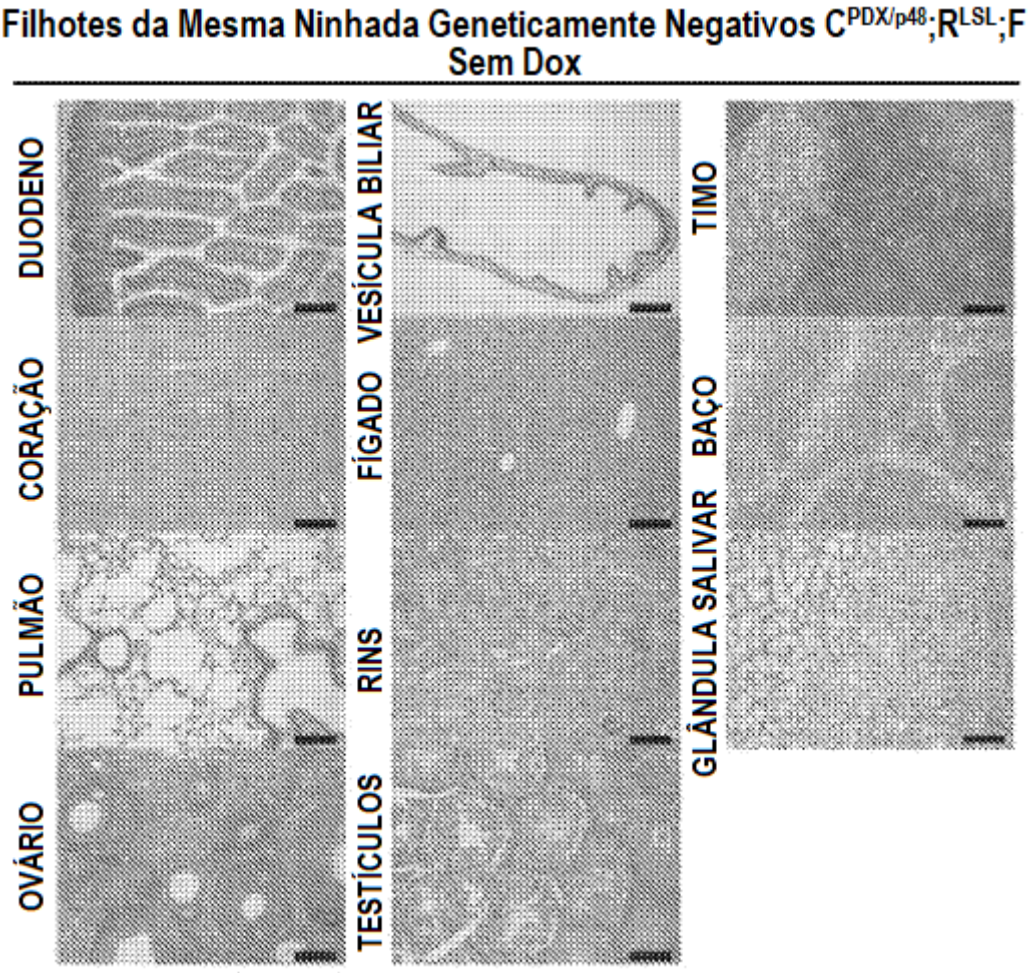

Filhotes da Mesma Ninhada Geneticamente Negativos C^PDX/p48;R^LSL;F
Sem Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 22

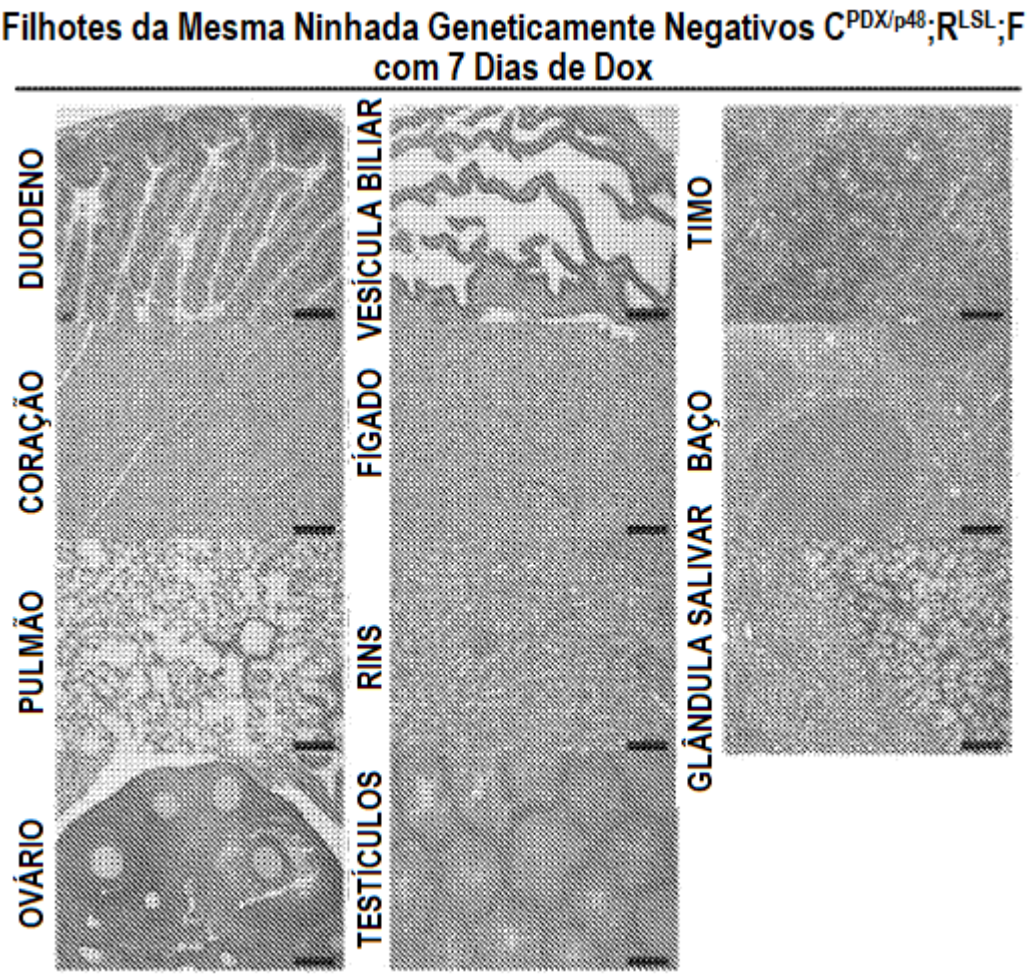

Filhotes da Mesma Ninhada Geneticamente Negativos C$^{PDX/p48}$;R^{LSL};F
com 7 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 23

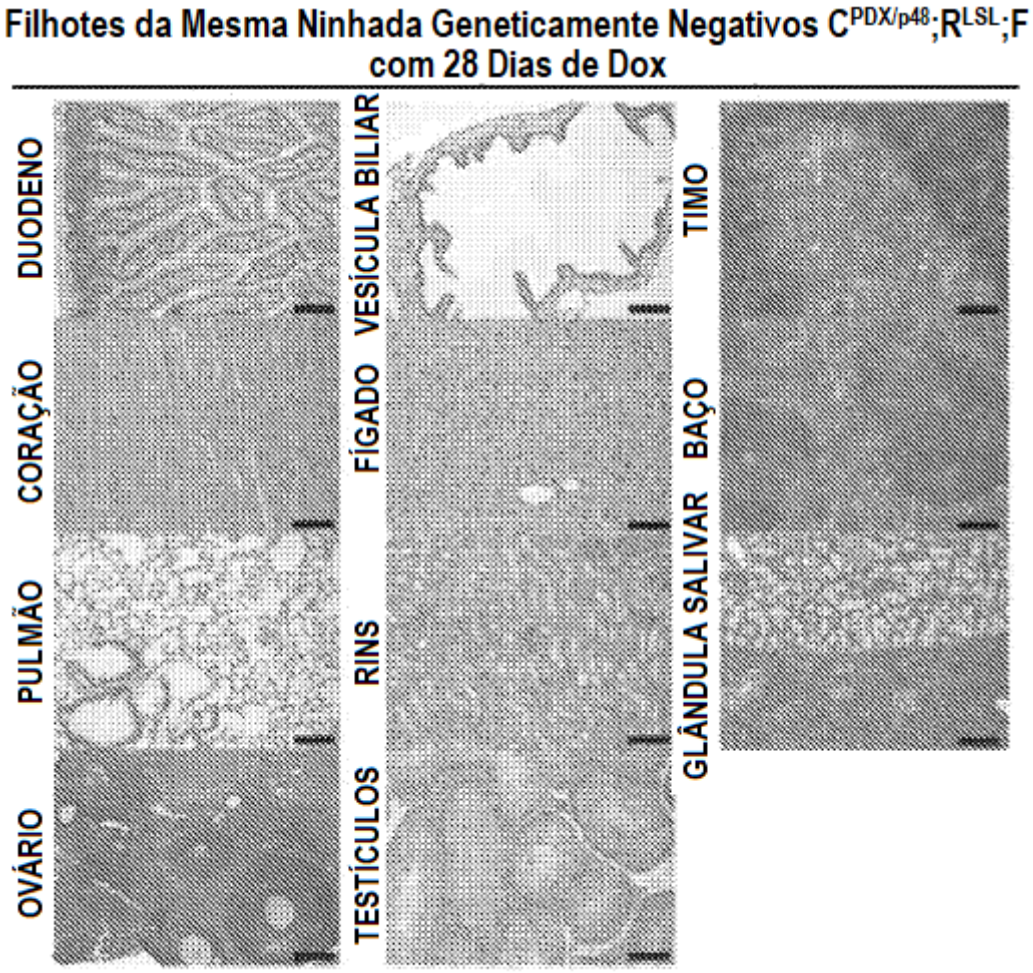

Filhotes da Mesma Ninhada Geneticamente Negativos C$^{PDX/p48}$;R^{LSL};F
com 28 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TESTÍCULOS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 24

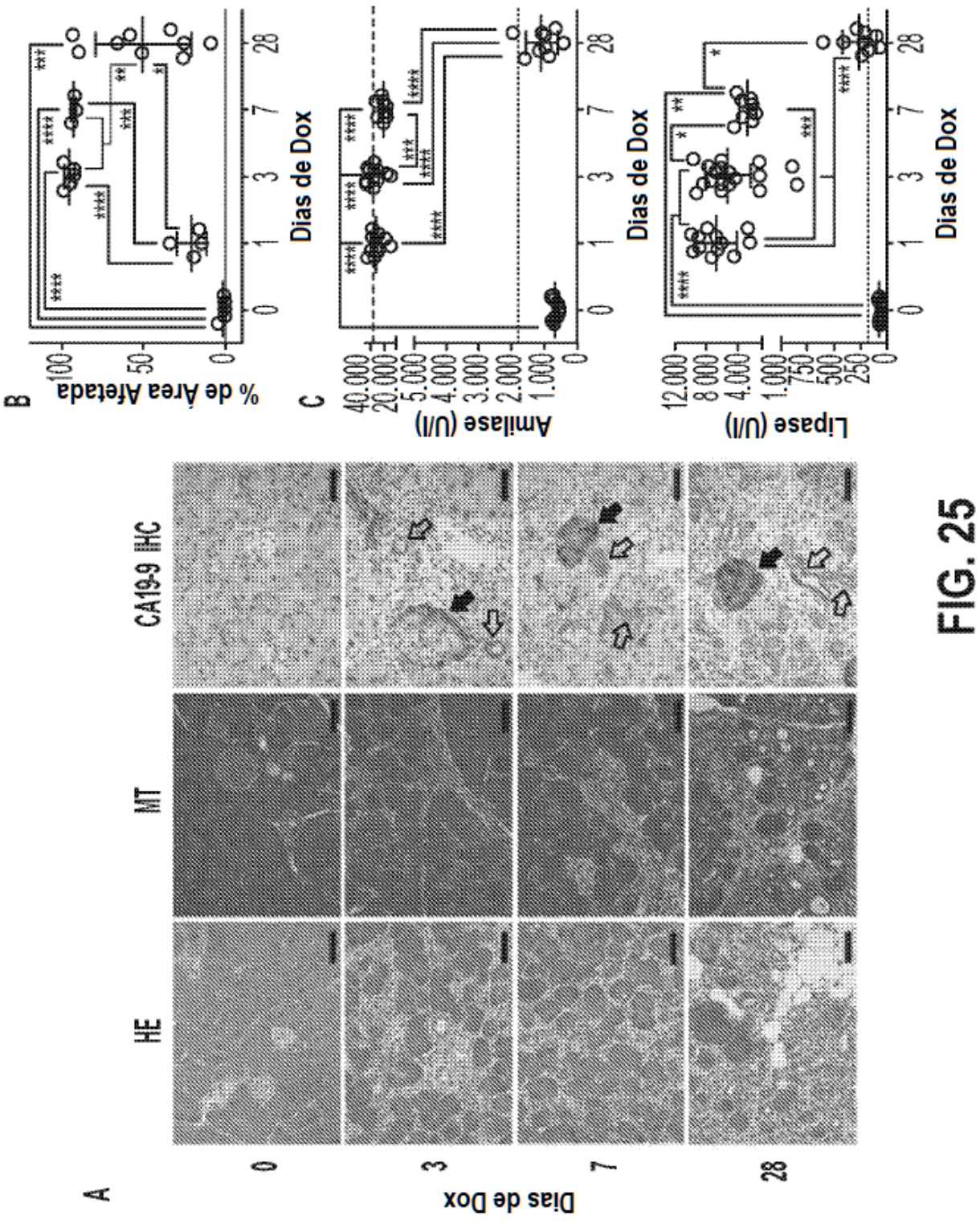

A
HE
MT
CA19-9 IHC
Dias de Dox
0
3
7
28
B
% de Área Afetada
Dias de Dox
C
Amilase (U/l)
Lipase (U/l)
Dias de Dox
Dias de Dox

FIG. 25

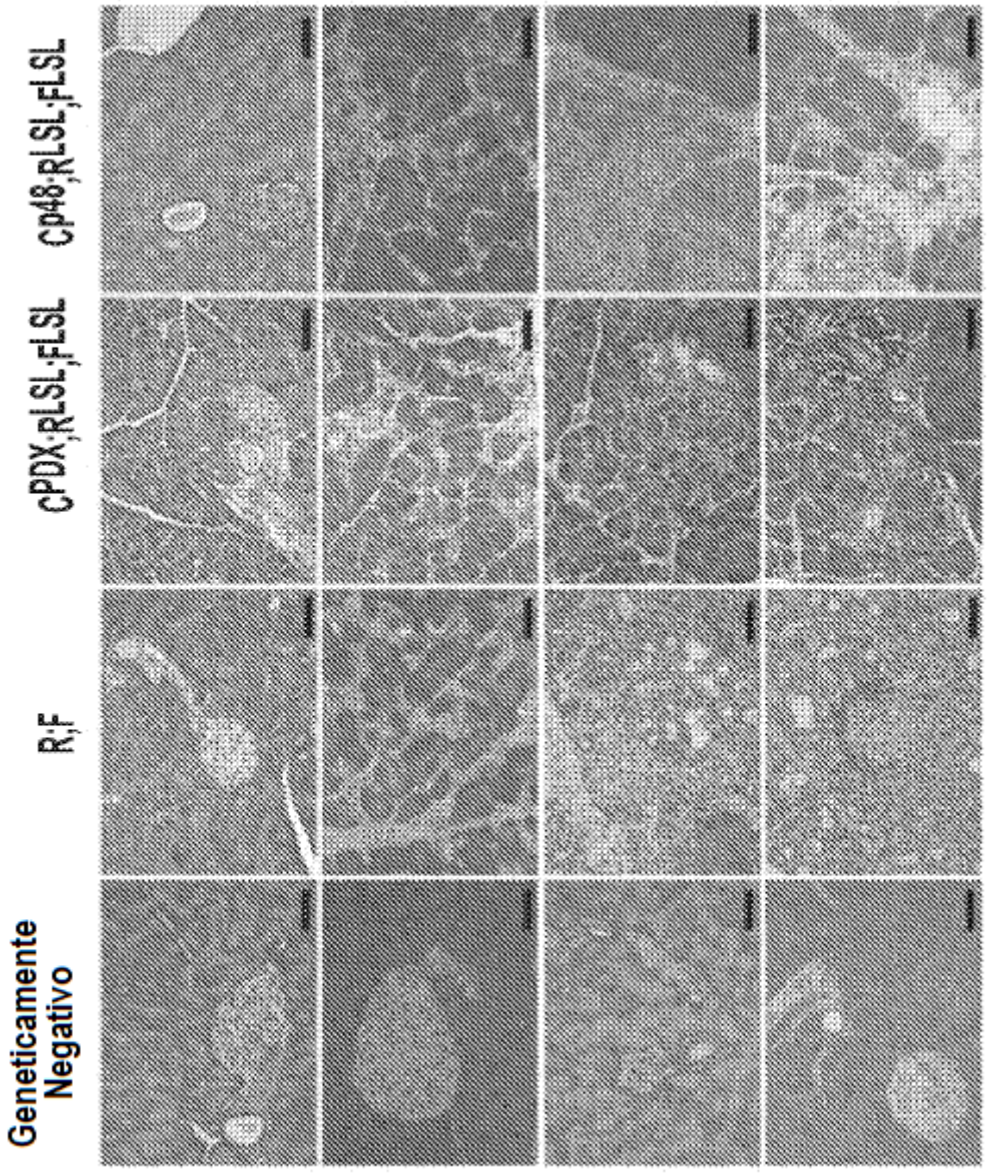

Dias em Dox:
Geneticamente Negativo
R;F
cPDX;RLSL;FLSL
Cp48;RLSL;FLSL
0
3
7
28

FIG. 26

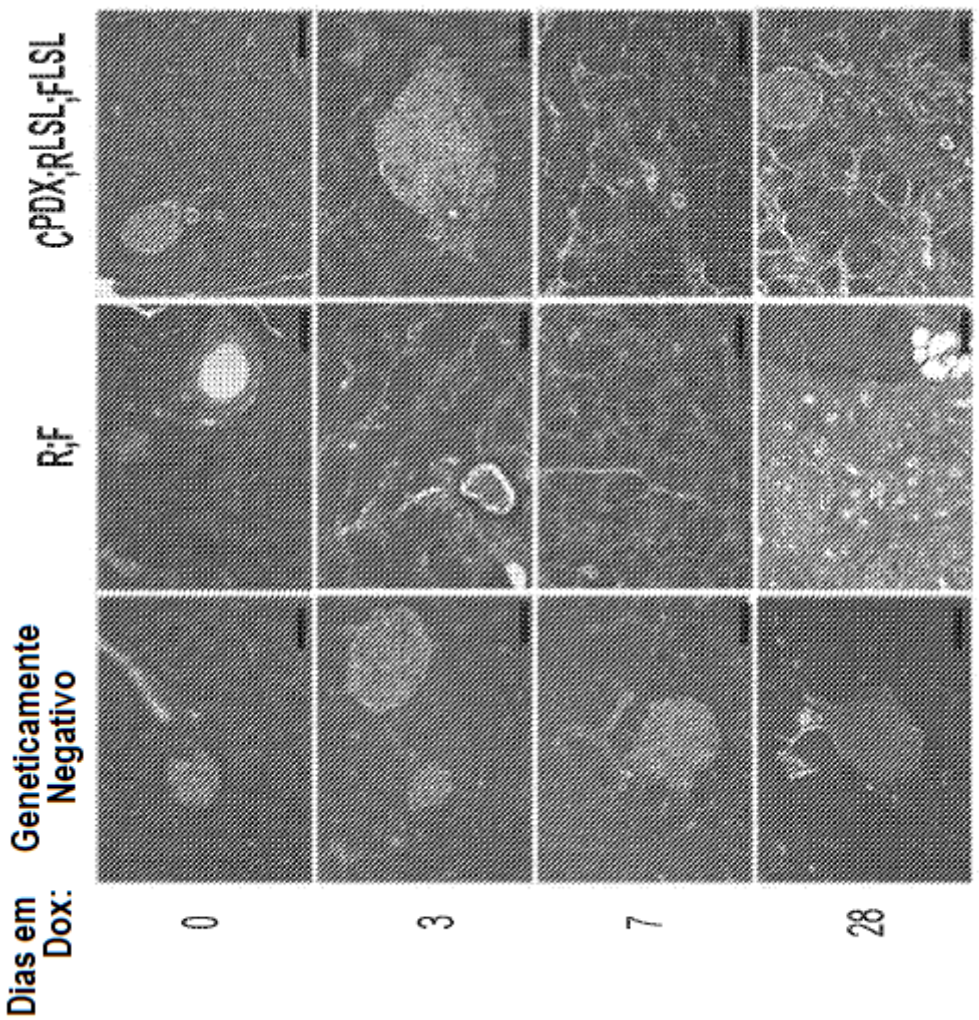


FIG. 27

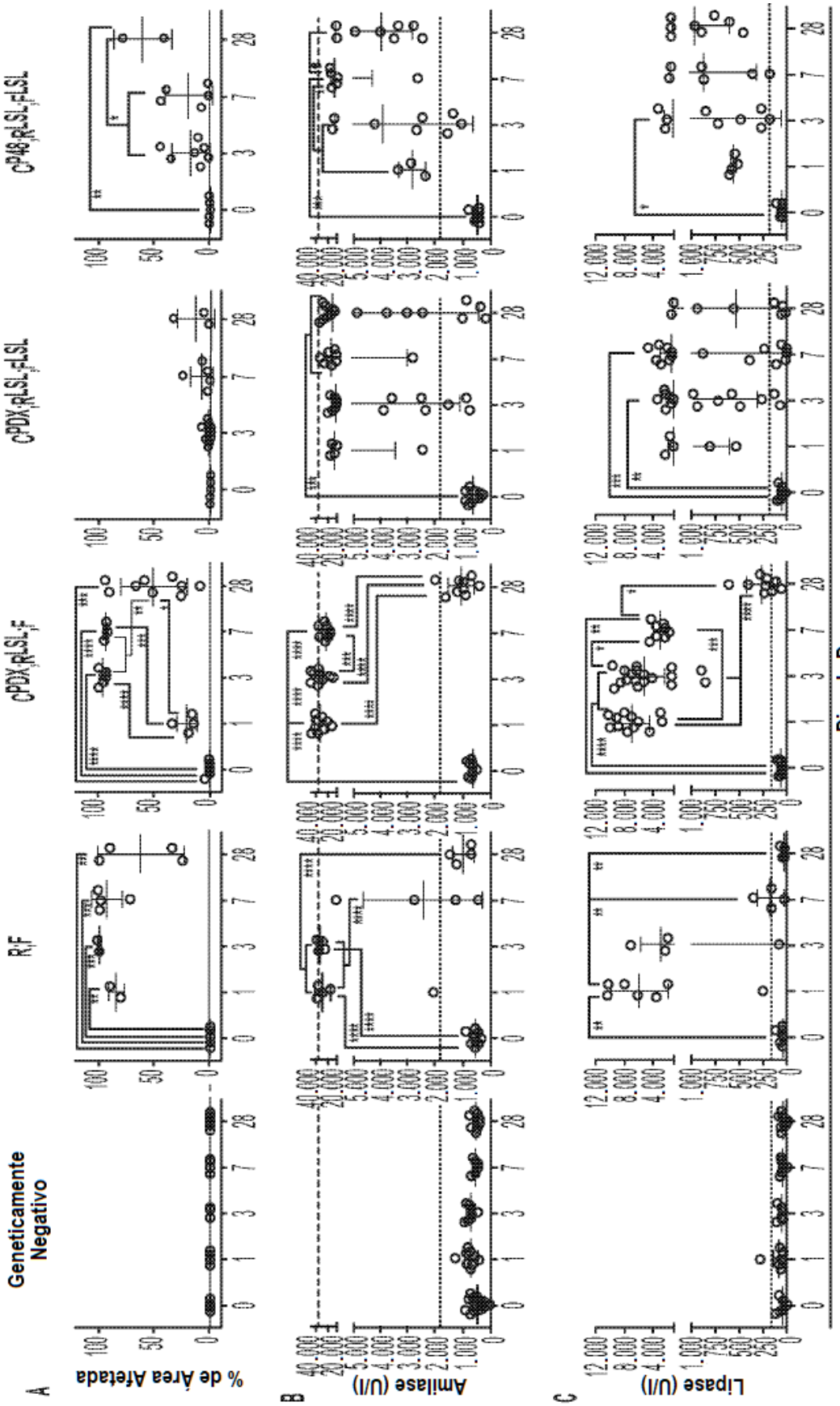

Geneticamente Negativo
R;F
cPDX;RLSL;F
cPDX;RLSL;FLSL
cP48;RLSL;FLSL
A
% de Área Afetada
B
Amilase (U/l)
C
Lipase (U/l)
Dias de Dox

FIG. 28

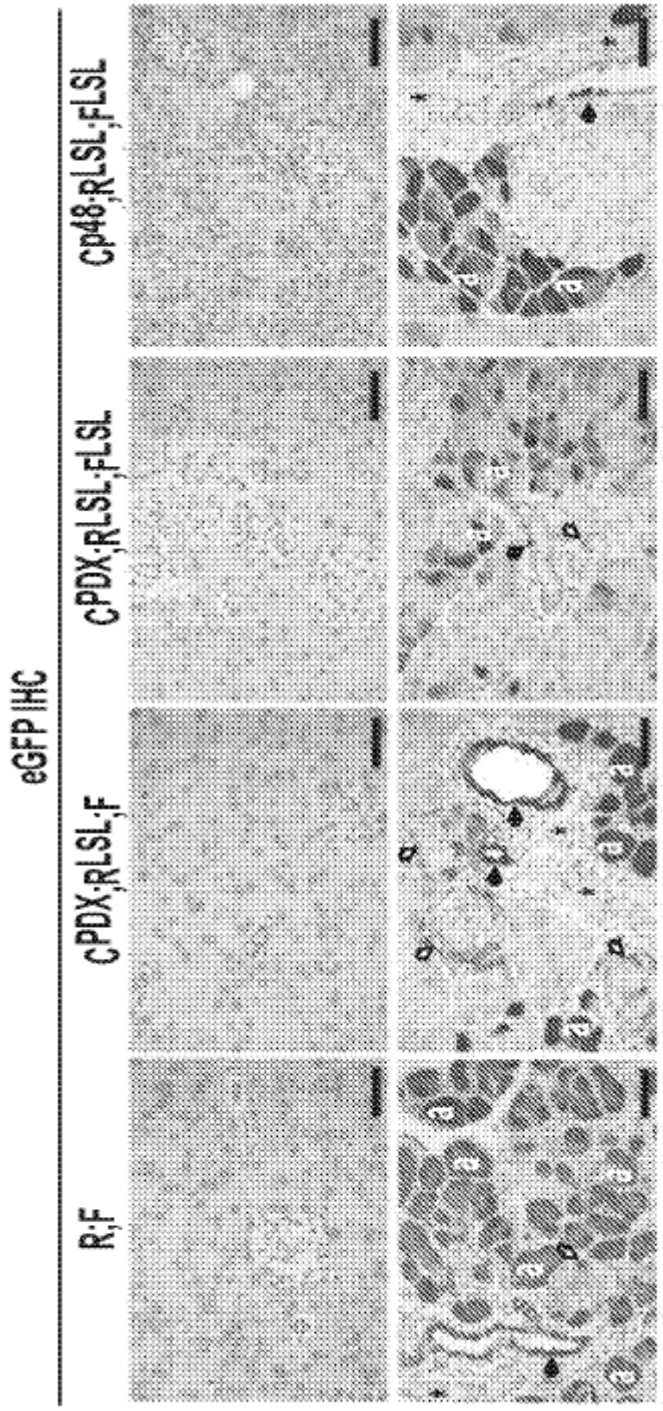

eGFP IHC
R;F
cPDX;RLSL;F
cPDX;RLSL;FLSL
Cp48;RLSL;FLSL
Dias em Dox:
0
7

FIG. 29A

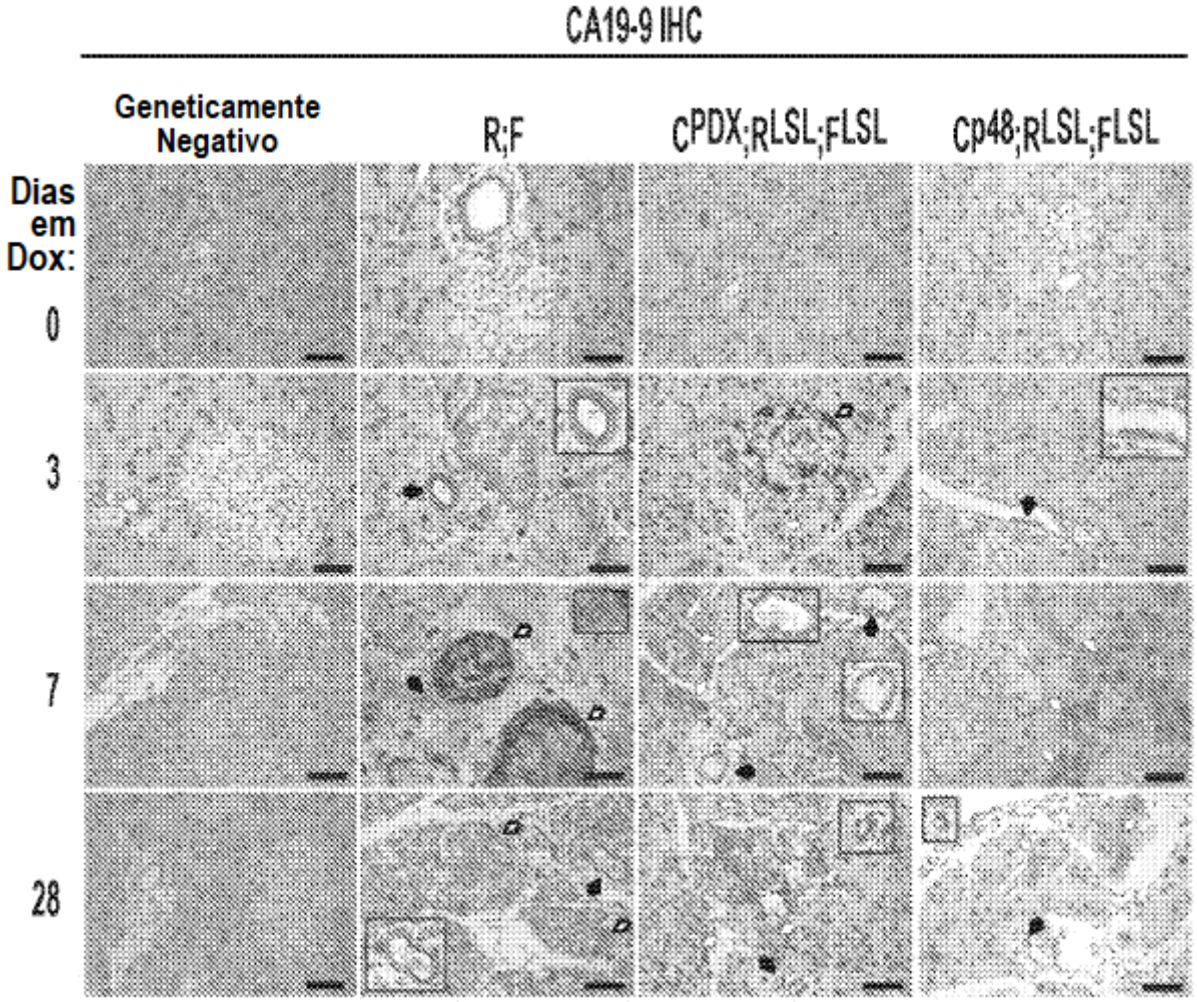

CA19-9 IHC
Geneticamente Negativo
R;F
CPDX;RLSL;FLSL
Cp48;RLSL;FLSL
Dias em Dox:
0
3
7
28

FIG. 29B

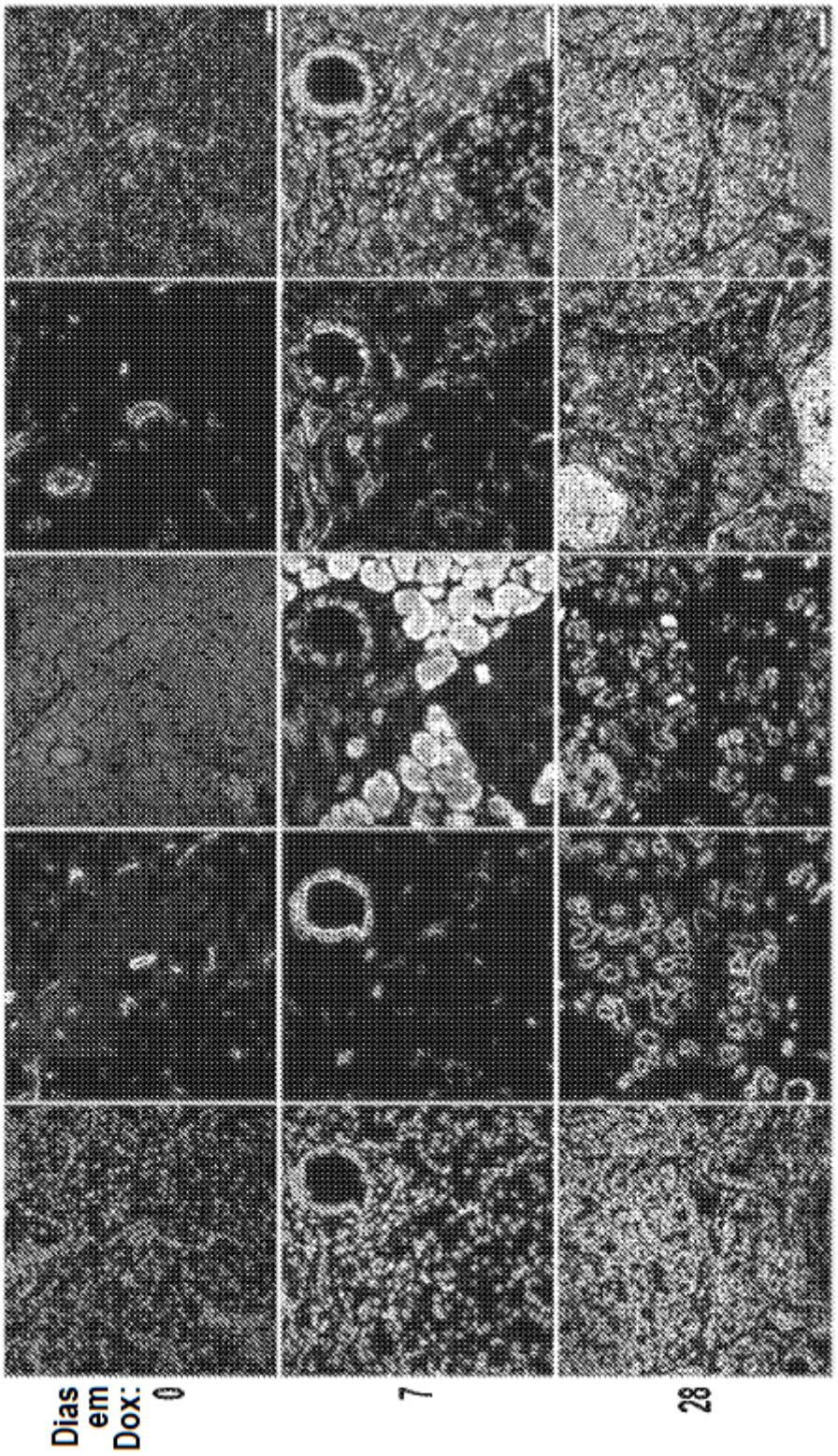


FIG. 30A

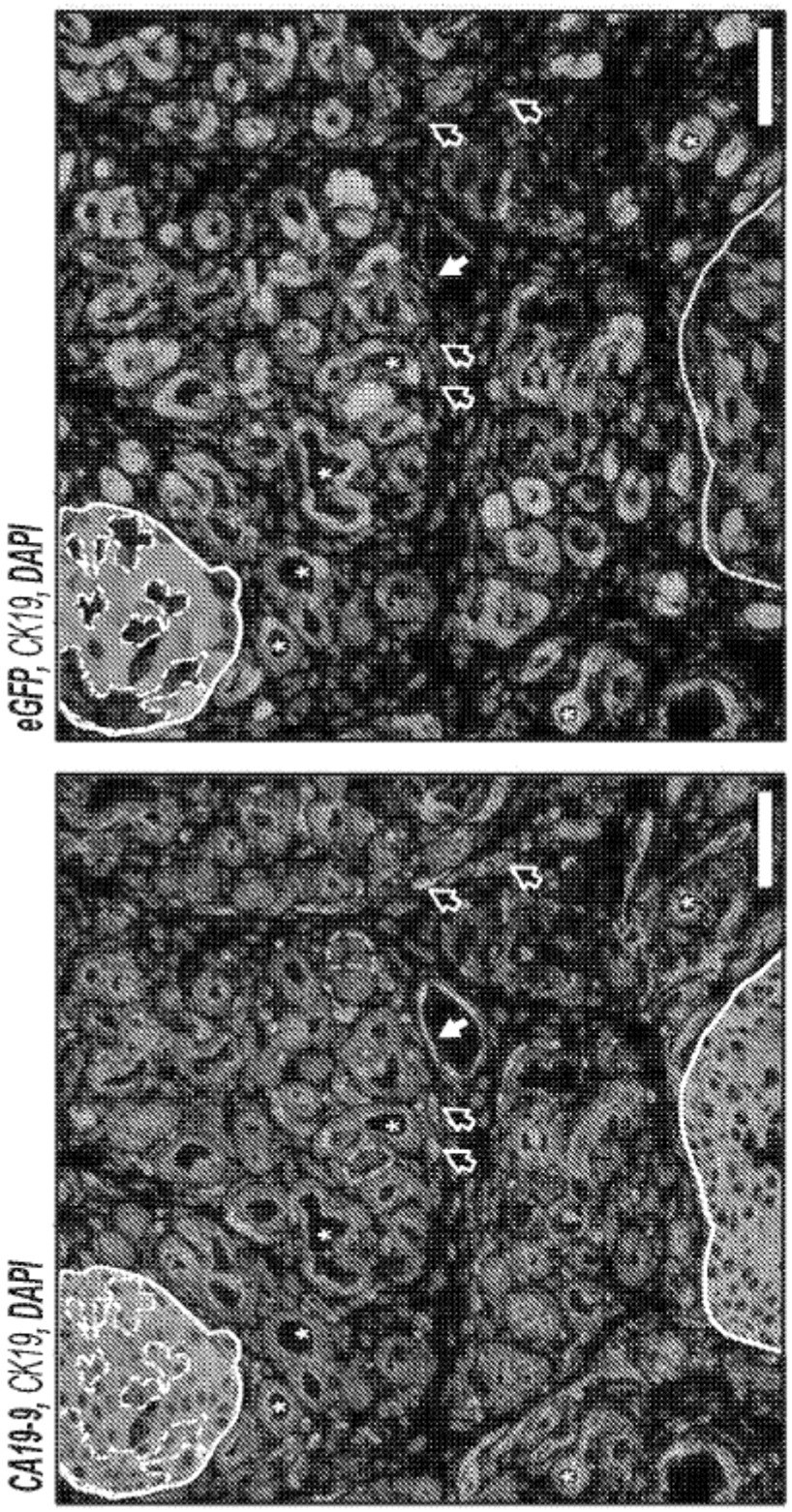
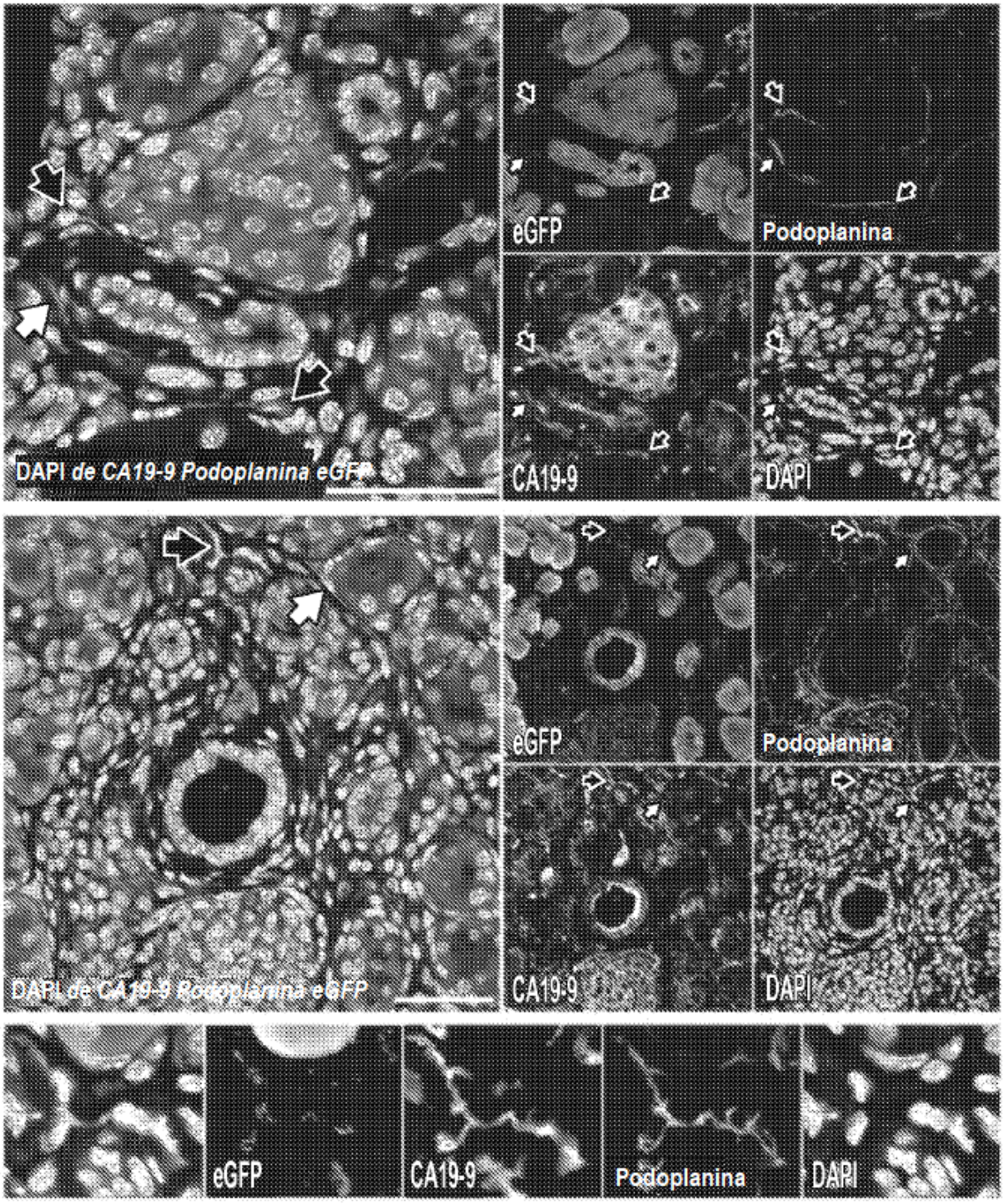

CA19-9, CK19, DAPI
eGFP, CK19, DAPI
Legenda
CA19-9+, célula estromal eGFP-
CA19-9+, célula de ilhota eGFP-
Ilhota
CA19-9+, ducto eGFP+
CA19-9-, célula acinar eGFP+
CA19-9+, vaso sanguíneo eGFP-

FIG. 30B



Podoplanina *eGFP*
CA19-9 DAPI

FIG. 31

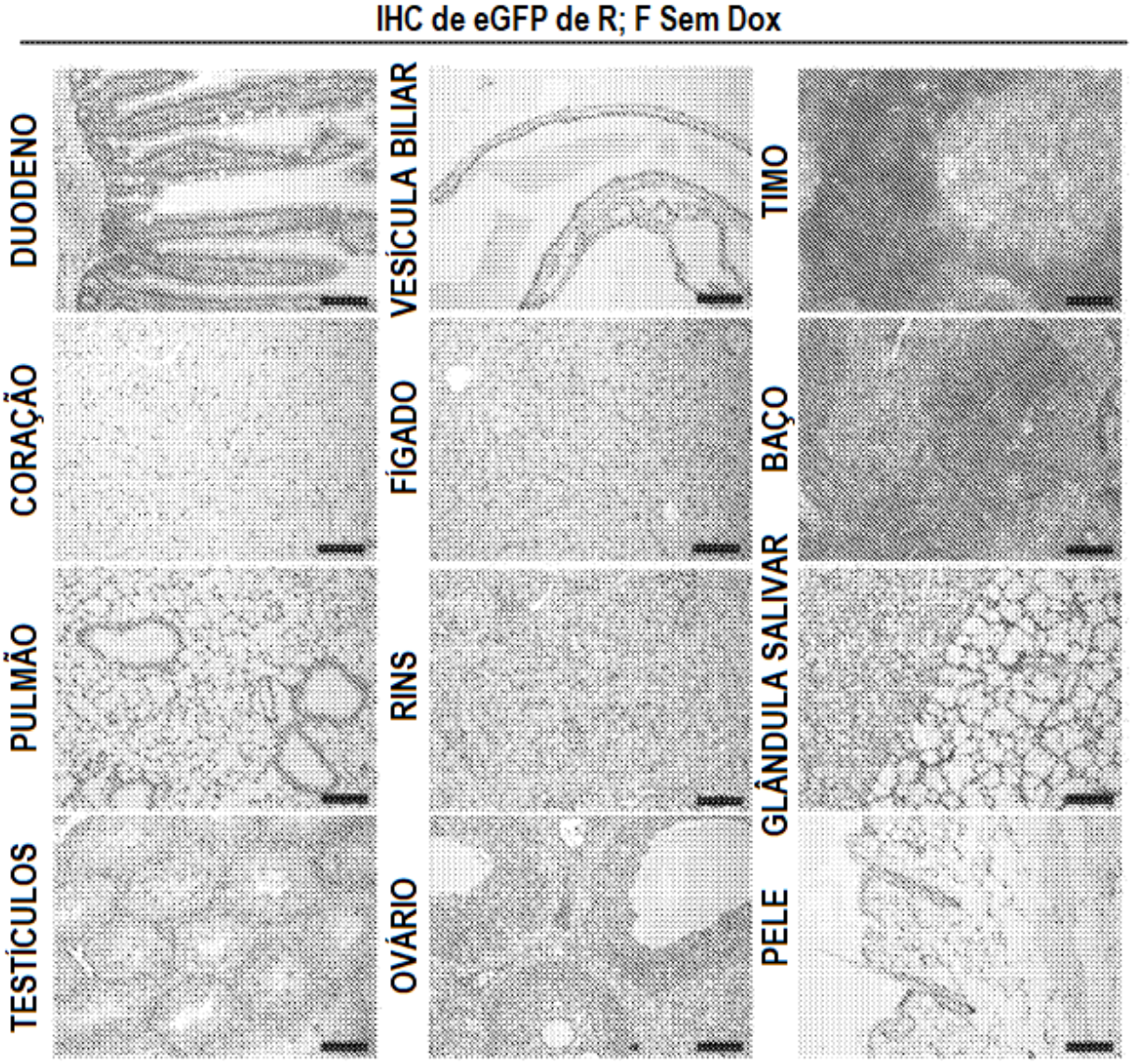

IHC de eGFP de R; F Sem Dox
DUODENO
VESÍCULA BILIAR
TIMO
CORAÇÃO
FÍGADO
BAÇO
PULMÃO
RINS
GLÂNDULA SALIVAR
TESTÍCULOS
OVÁRIO
PELE

FIG. 32

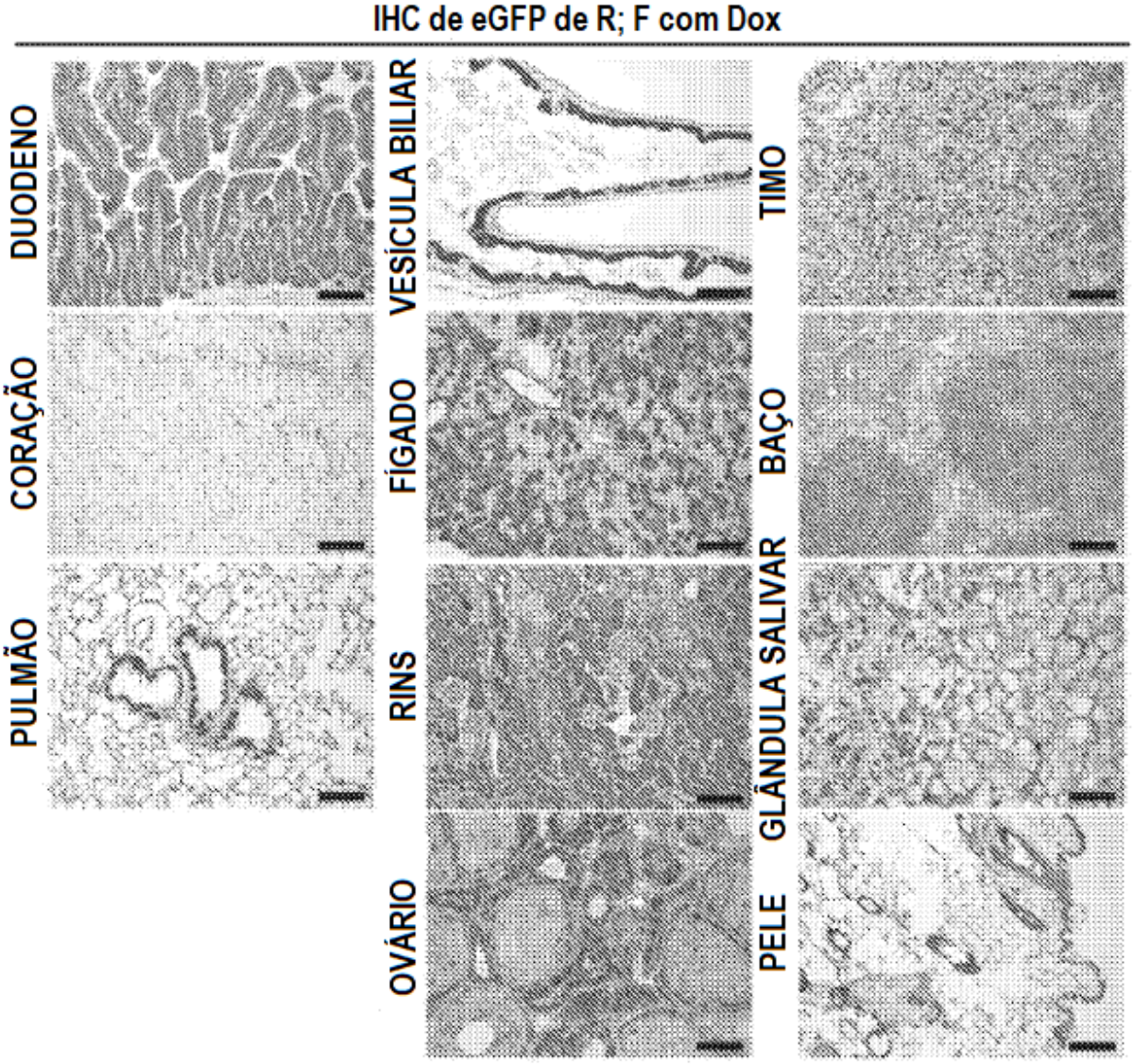

IHC de eGFP de R; F com Dox
DUODENO
VESÍCULA BILIAR
TIMO
CORAÇÃO
FÍGADO
BAÇO
PULMÃO
RINS
GLÂNDULA SALIVAR
OVÁRIO
PELE

FIG. 33

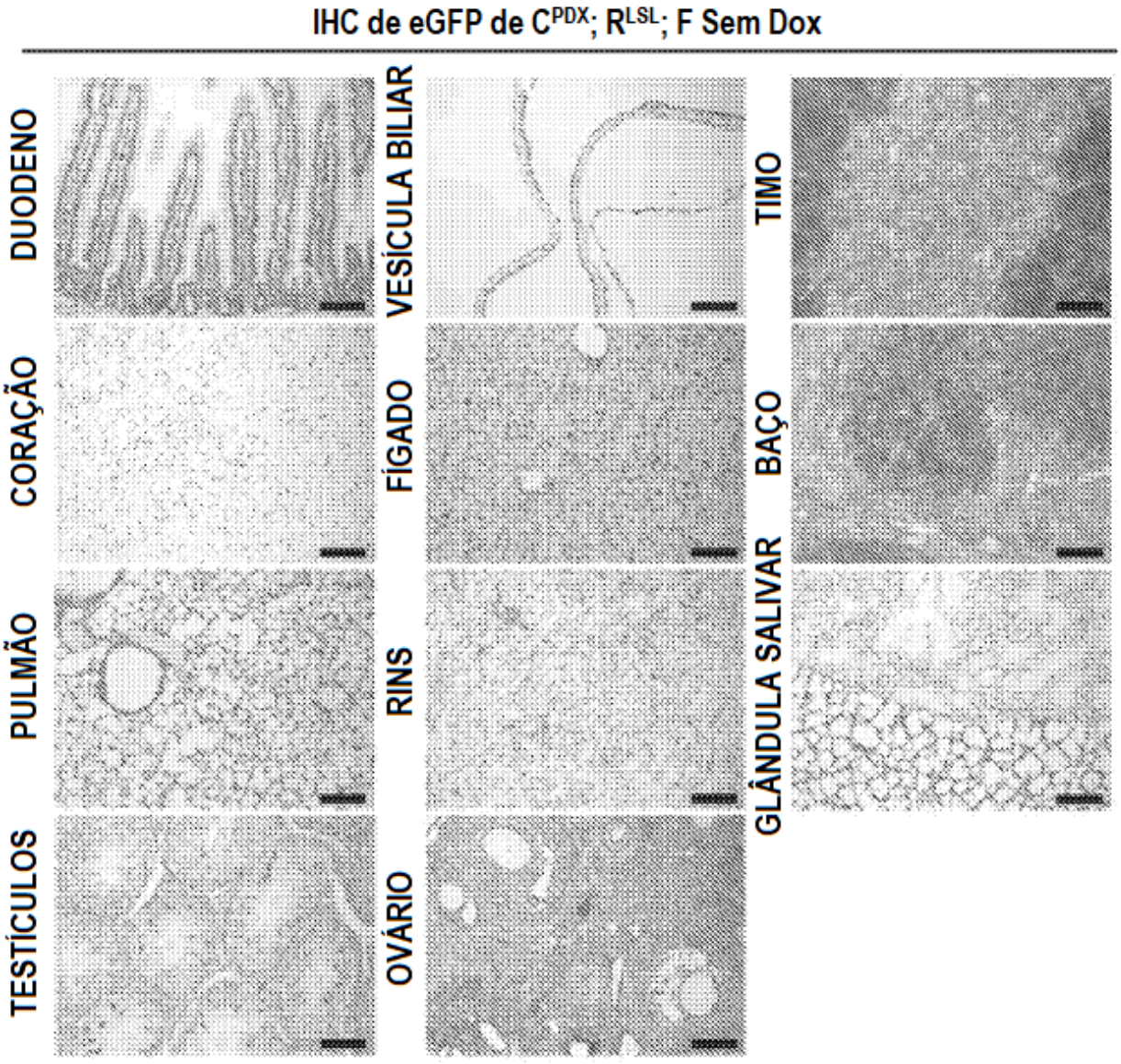

IHC de eGFP de C^{PDX}; R^{LSL}; F Sem Dox
DUODENO
VESÍCULA BILIAR
TIMO
CORAÇÃO
FÍGADO
BAÇO
PULMÃO
RINS
GLÂNDULA SALIVAR
TESTÍCULOS
OVÁRIO

FIG. 34

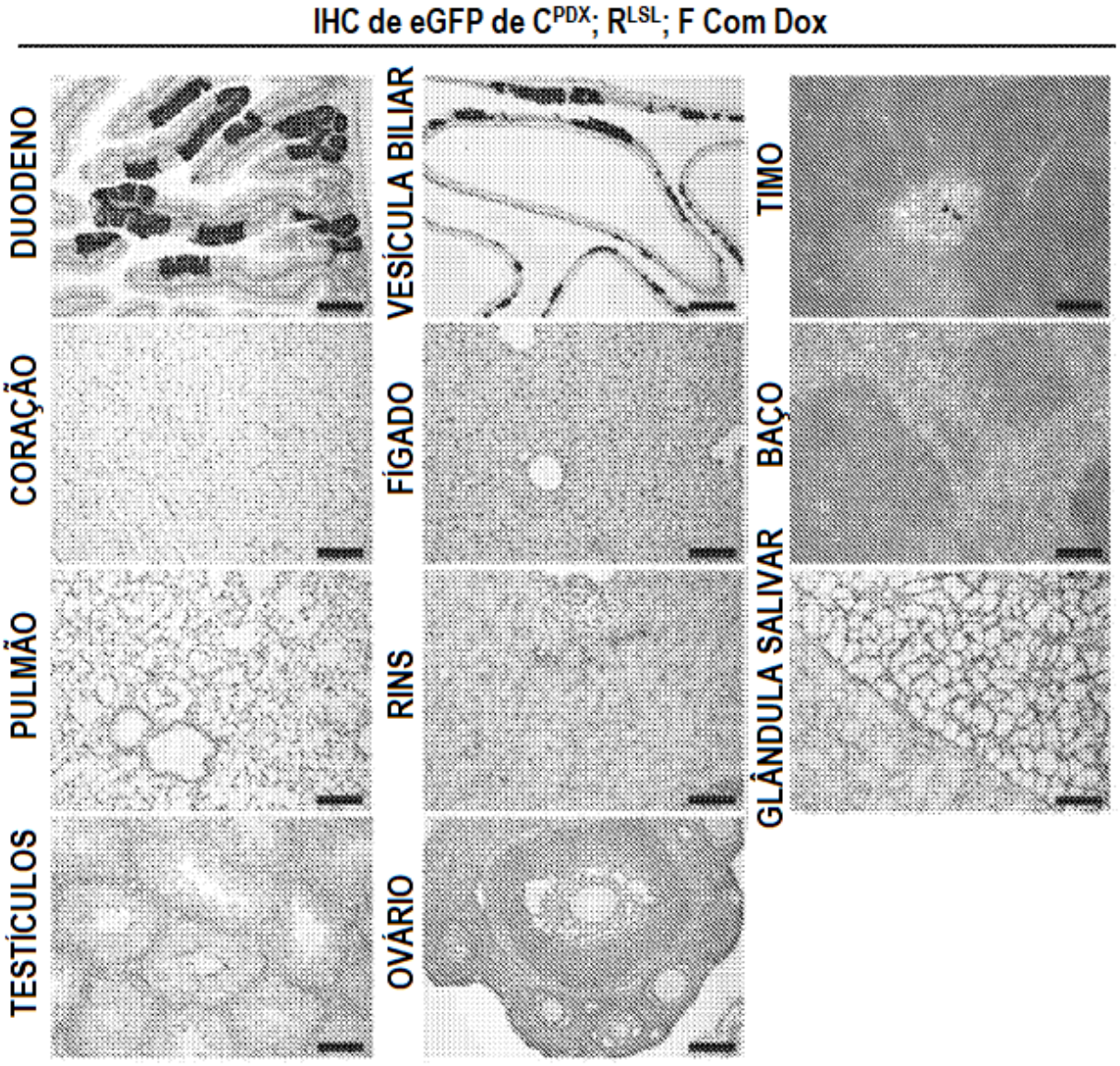

IHC de eGFP de C^{PDX}; R^{LSL}; F Com Dox
DUODENO
VESÍCULA BILIAR
TIMO
CORAÇÃO
FÍGADO
BAÇO
PULMÃO
RINS
GLÂNDULA SALIVAR
TESTÍCULOS
OVÁRIO

FIG. 35

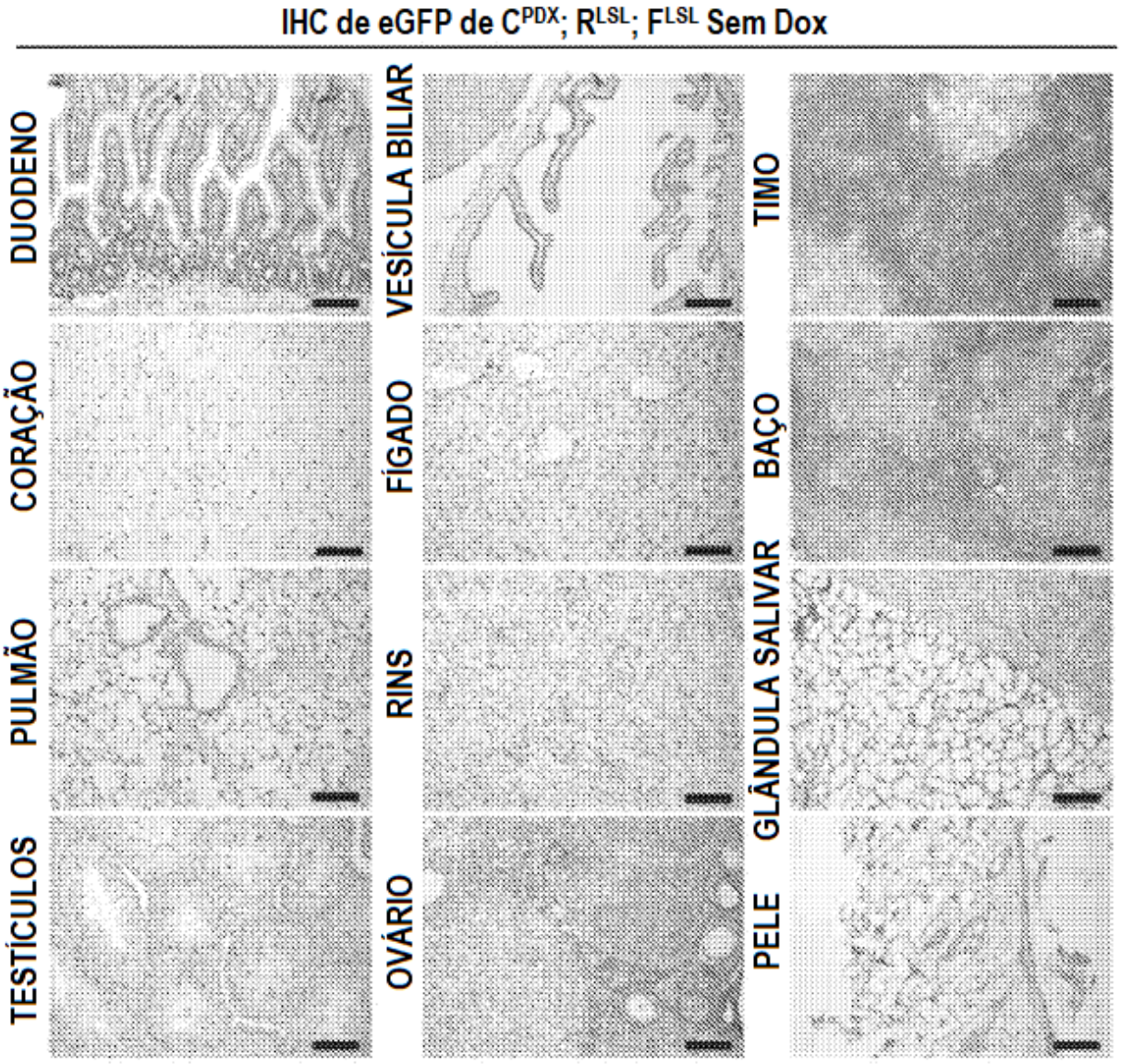

IHC de eGFP de C^{PDX}; R^{LSL}; F^{LSL} Sem Dox
DUODENO
VESÍCULA BILIAR
TIMO
CORAÇÃO
FÍGADO
BAÇO
PULMÃO
RINS
GLÂNDULA SALIVAR
TESTÍCULOS
OVÁRIO
PELE

FIG. 36

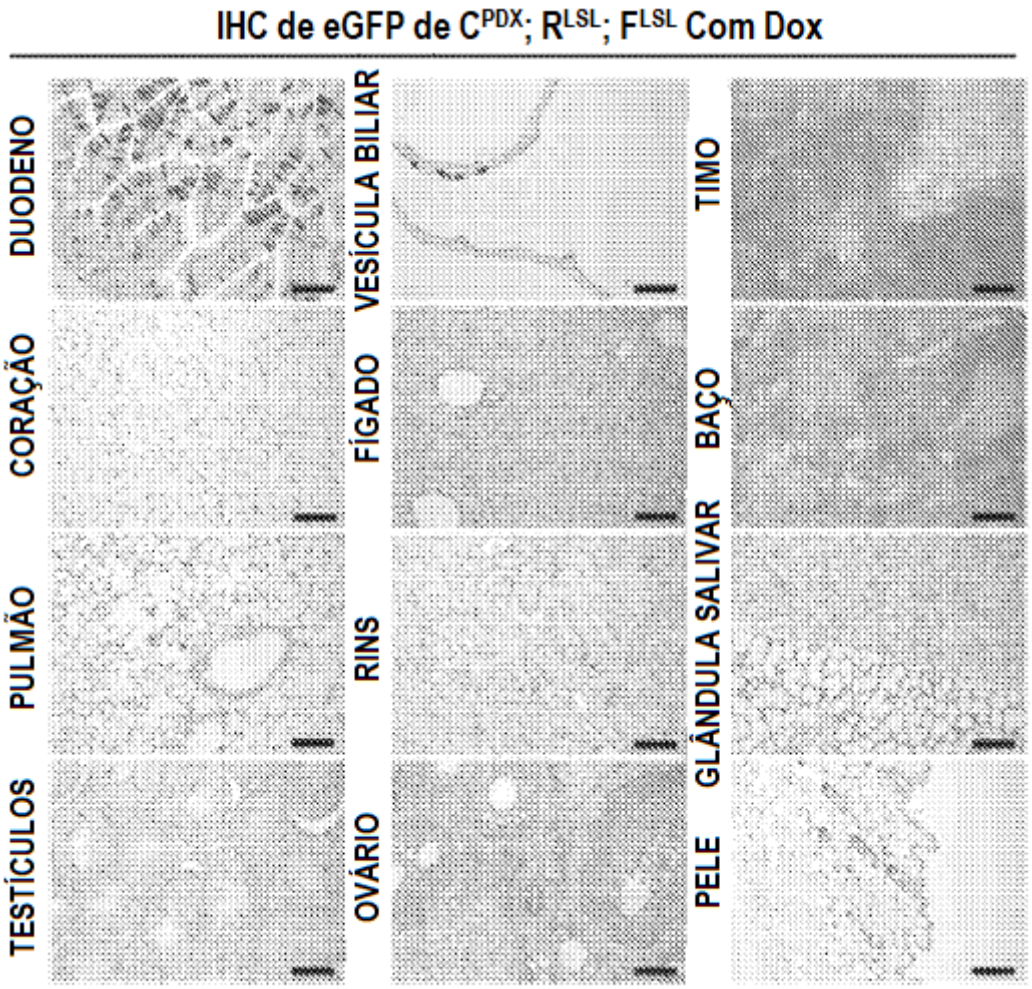

IHC de eGFP de C^PDX; R^LSL; F^LSL Com Dox
DUODENO
VESÍCULA BILIAR
TIMO
CORAÇÃO
FÍGADO
BAÇO
PULMÃO
RINS
GLÂNDULA SALIVAR
TESTÍCULOS
OVÁRIO
PELE

FIG. 37

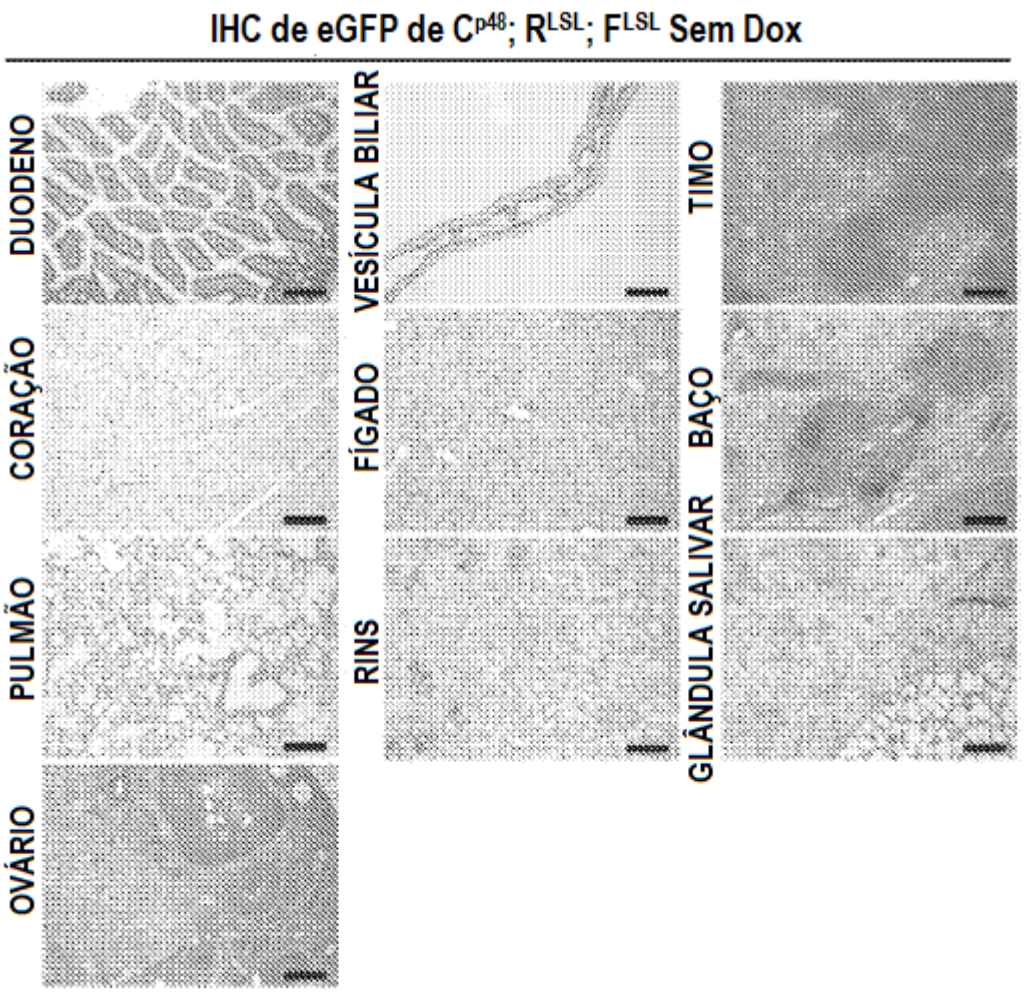

IHC de eGFP de Cp48; RLSL; FLSL Sem Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVÁRIO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 38

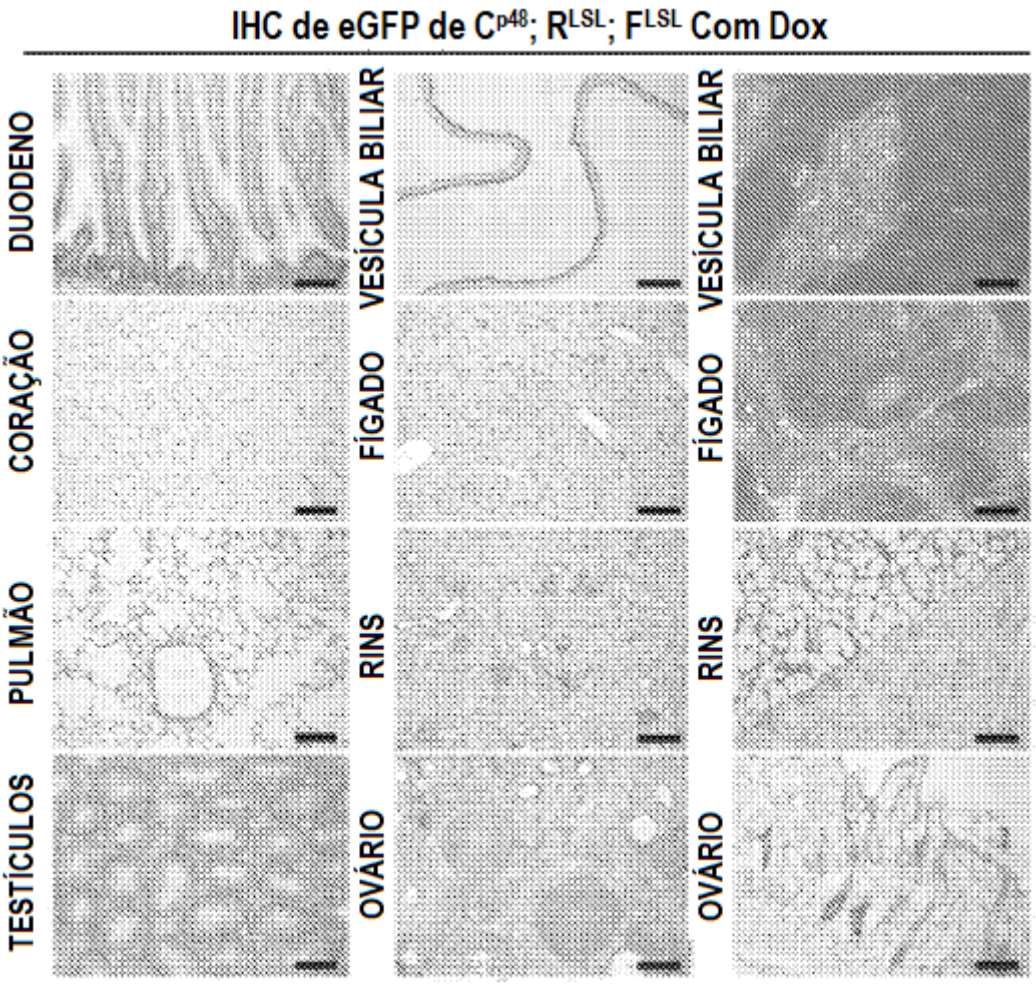

IHC de eGFP de Cp48; RLSL; FLSL Com Dox
DUODENO
VESÍCULA BILIAR
VESÍCULA BILIAR
CORAÇÃO
FÍGADO
FÍGADO
PULMÃO
RINS
RINS
TESTÍCULOS
OVÁRIO
OVÁRIO

FIG. 39

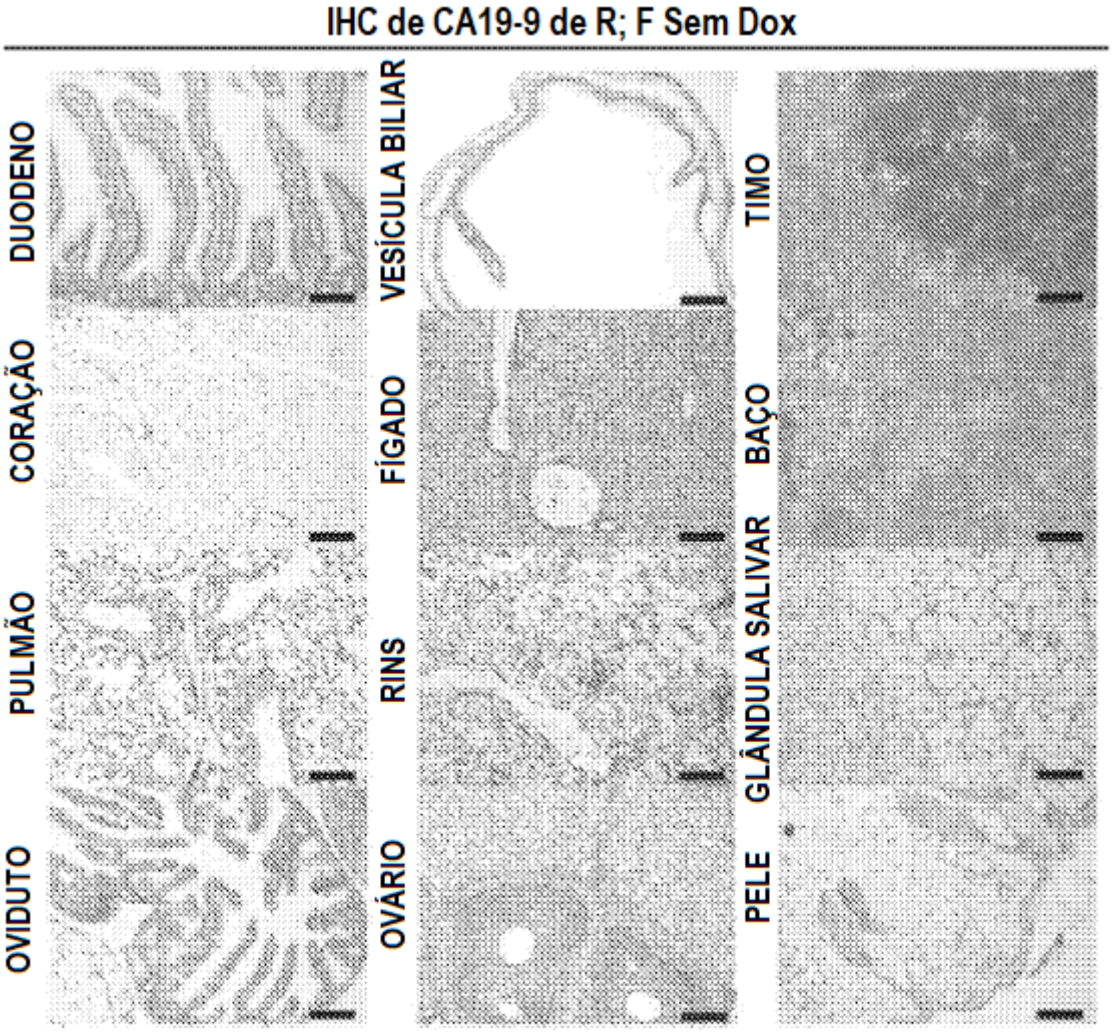

IHC de CA19-9 de R; F Sem Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
OVIDUTO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
OVÁRIO
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 40

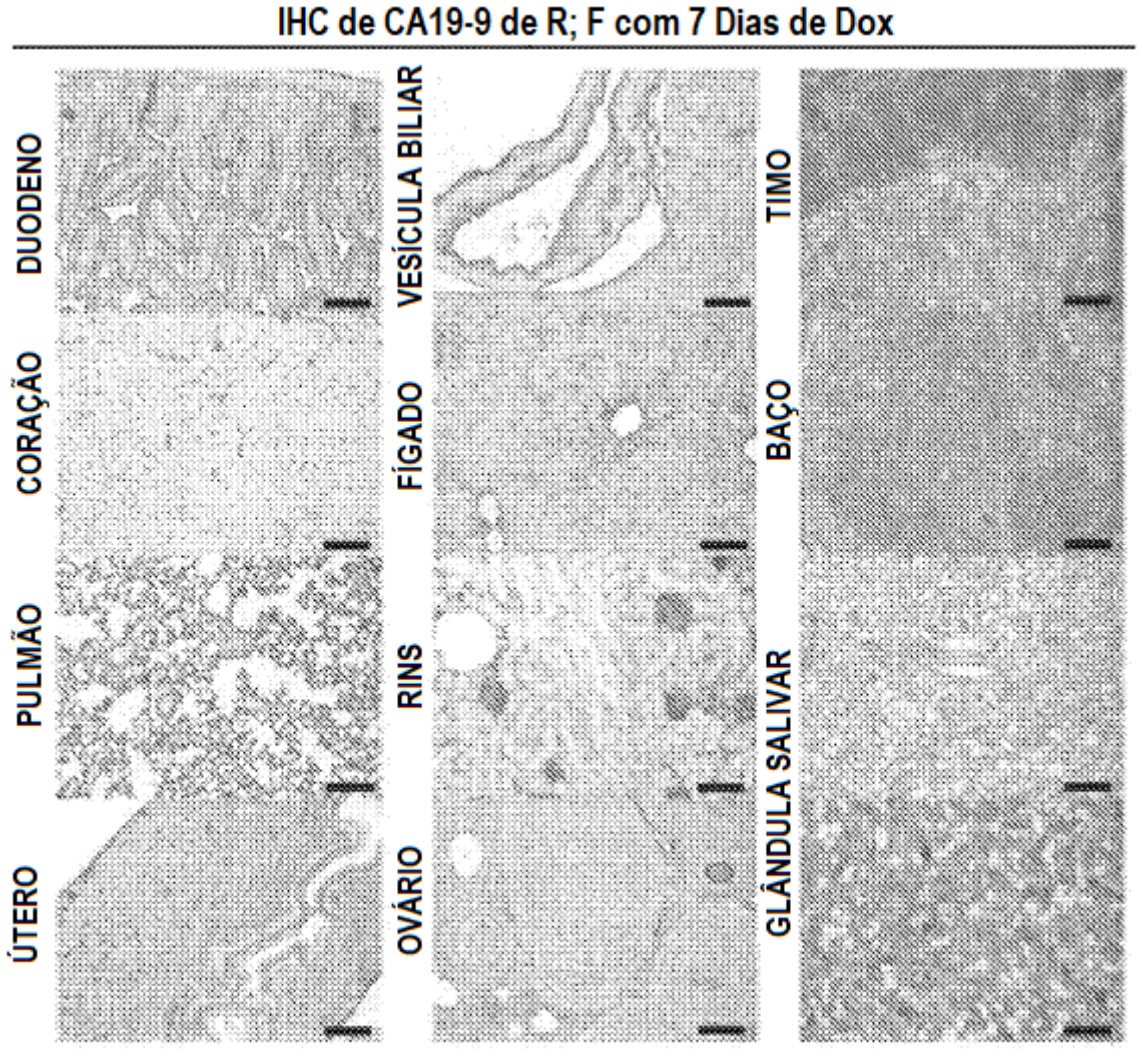

IHC de CA19-9 de R; F com 7 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
ÚTERO
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
OVÁRIO
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 41

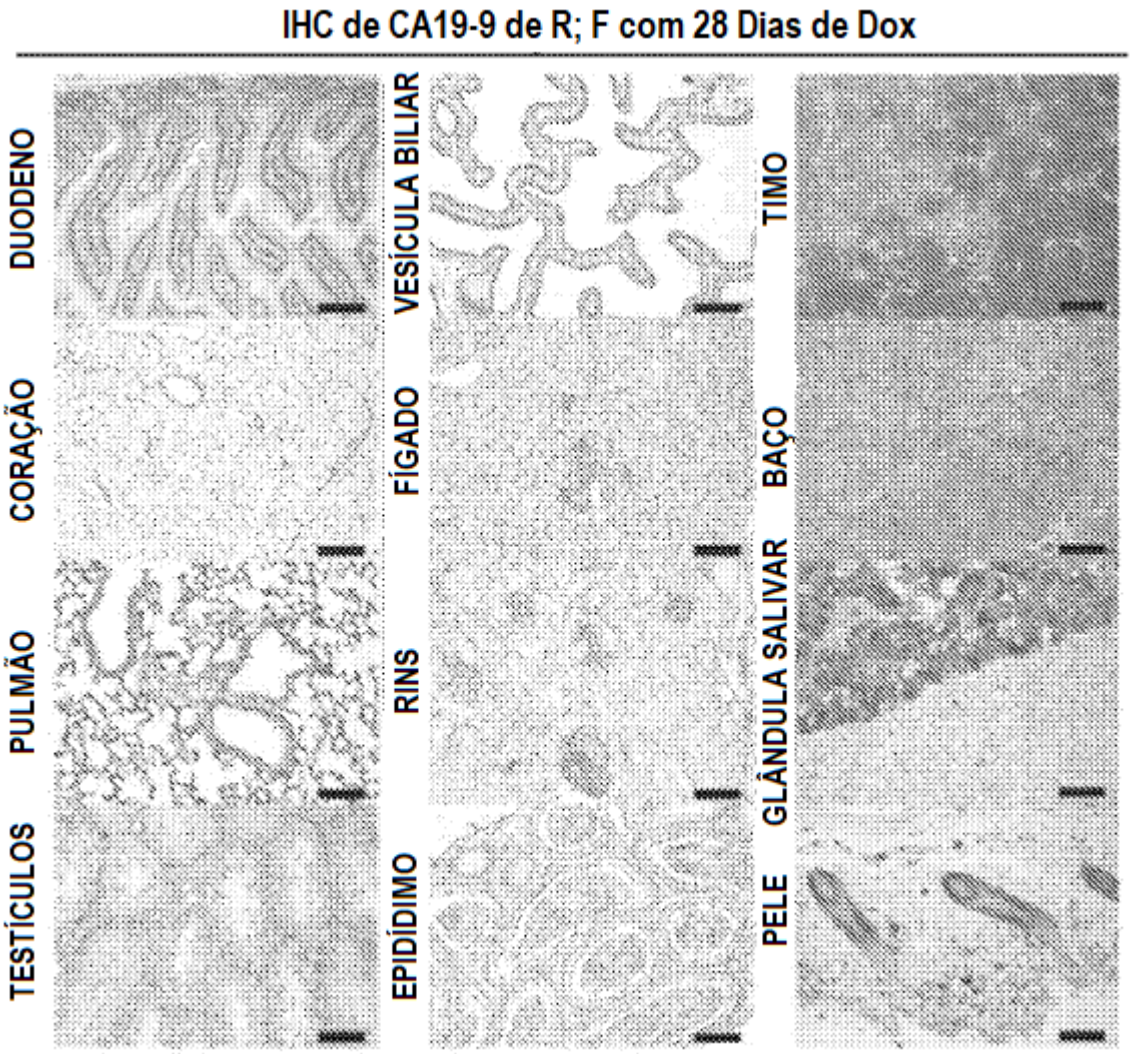

IHC de CA19-9 de R; F com 28 Dias de Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
TESTÍCULOS
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
EPIDÍDIMO
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 42

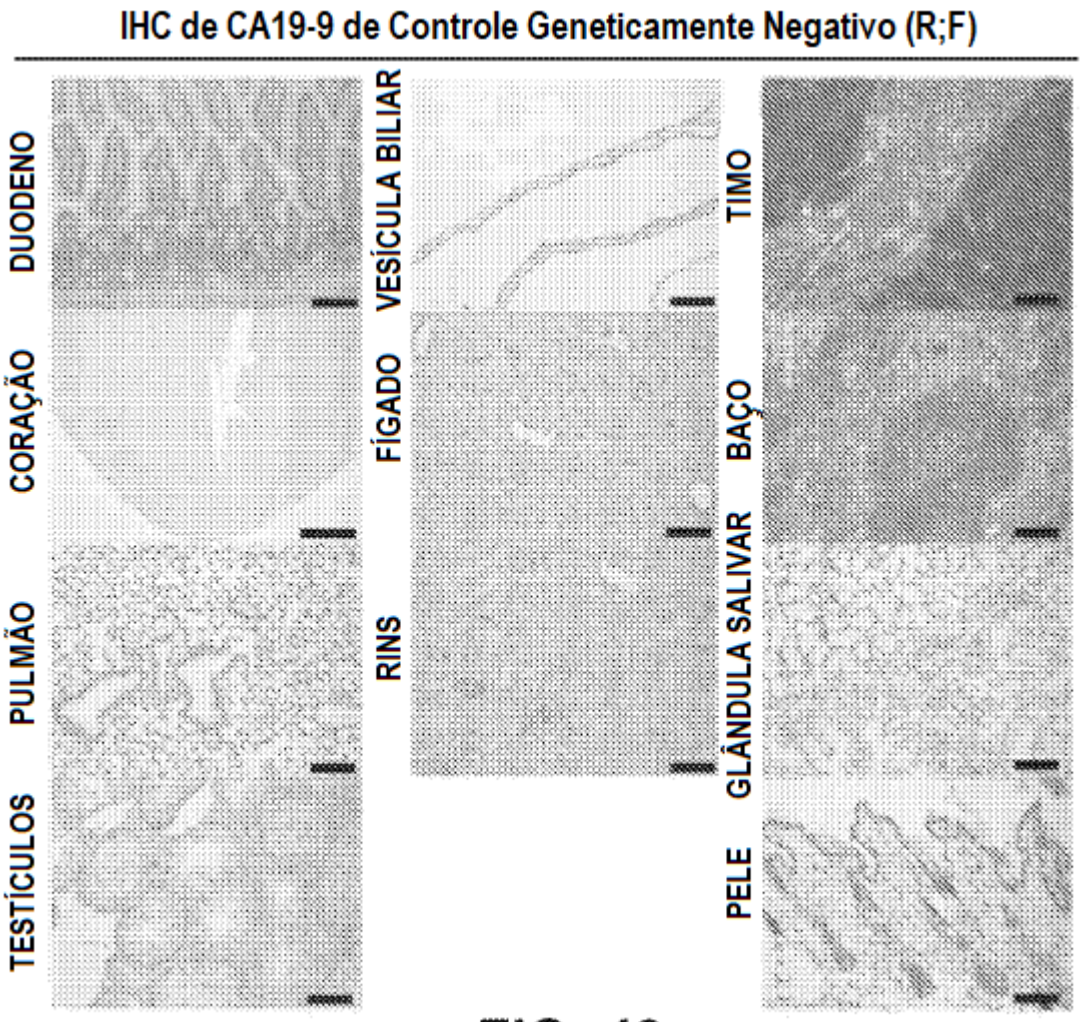

IHC de CA19-9 de Controle Geneticamente Negativo (R;F)
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
TESTÍCULOS
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 43

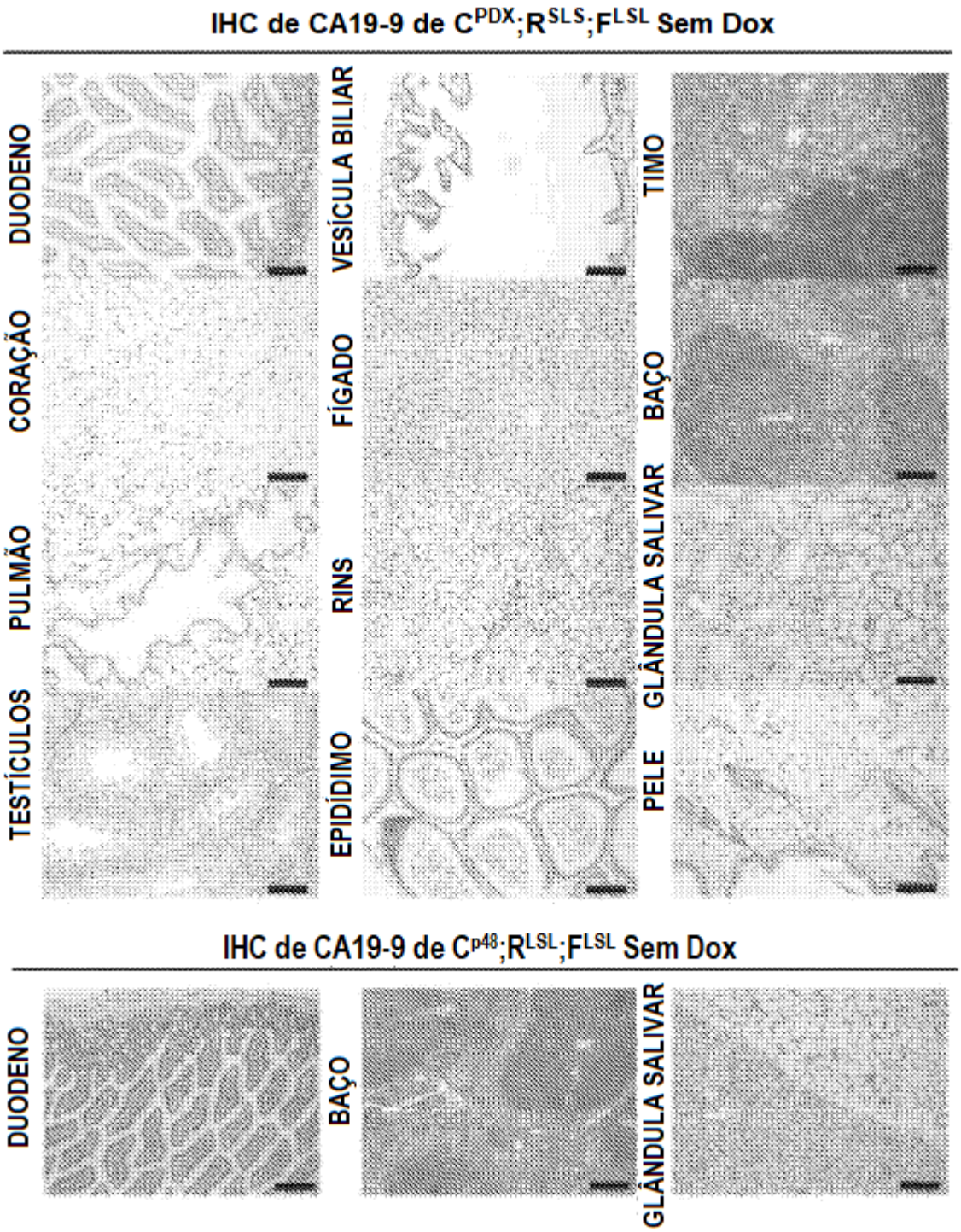

IHC de CA19-9 de C^{PDX};R^{SLS};F^{LSL} Sem Dox
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
TESTÍCULOS
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
EPIDÍDIMO
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE
IHC de CA19-9 de C^{p48};R^{LSL};F^{LSL} Sem Dox
DUODENO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 44

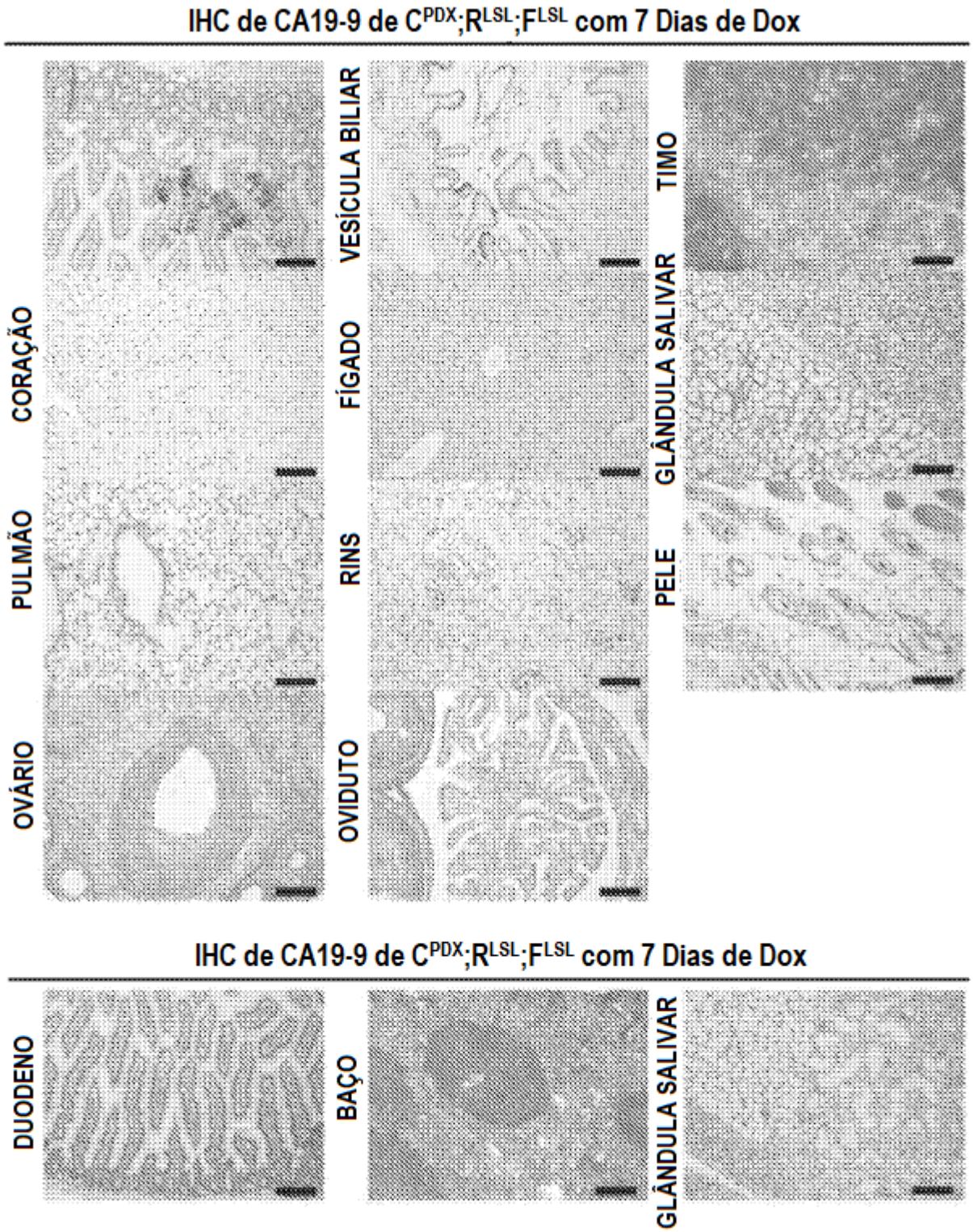

IHC de CA19-9 de C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} com 7 Dias de Dox
CORAÇÃO
VESÍCULA BILIAR
TIMO
PULMÃO
FÍGADO
GLÂNDULA SALIVAR
OVÁRIO
RINS
PELE
OVIDUTO
IHC de CA19-9 de C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} com 7 Dias de Dox
DUODENO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 45

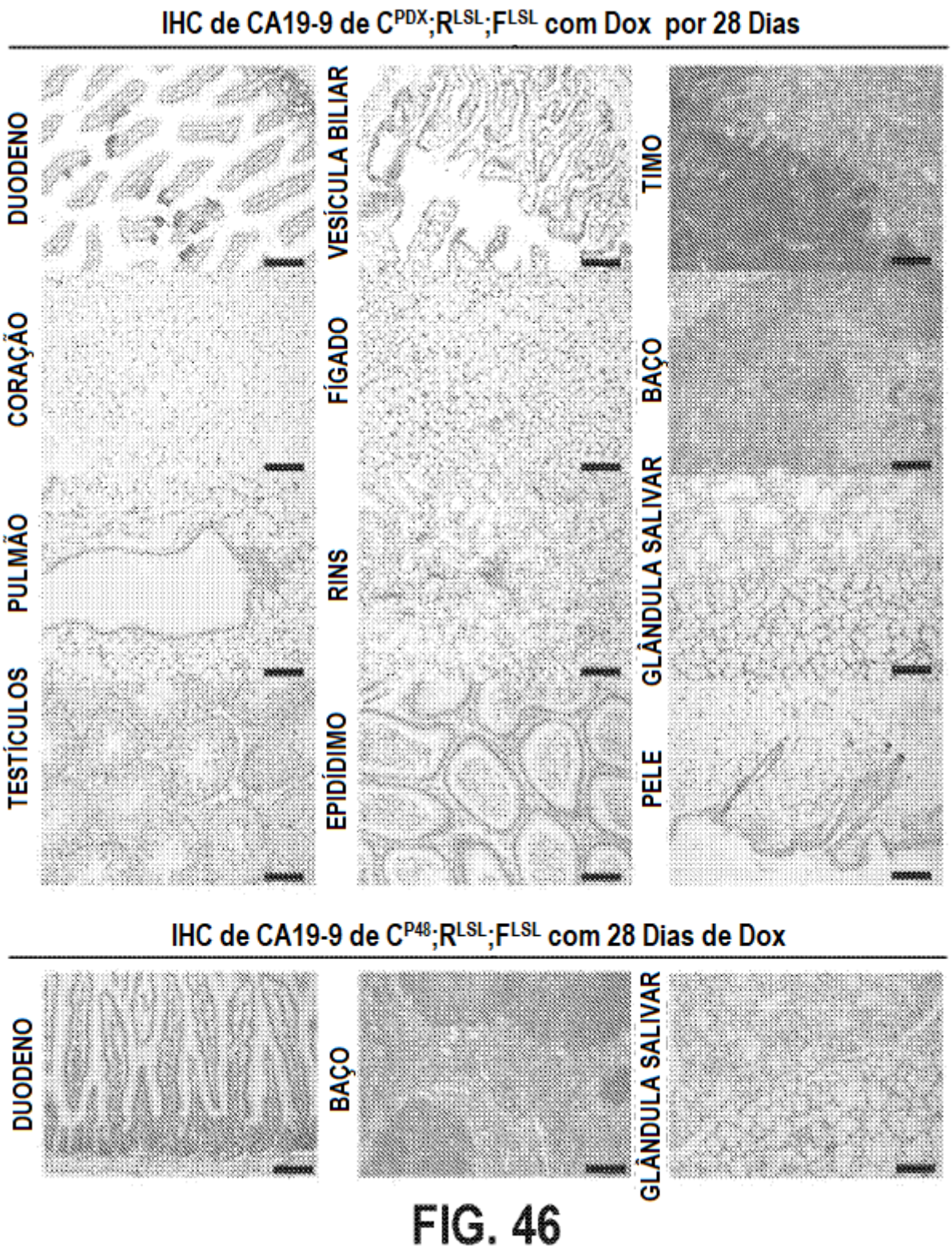

IHC de CA19-9 de C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL} com Dox por 28 Dias
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
TESTÍCULOS
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
EPIDÍDIMO
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE
IHC de CA19-9 de C^{P48};R^{LSL};F^{LSL} com 28 Dias de Dox
DUODENO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR

FIG. 46

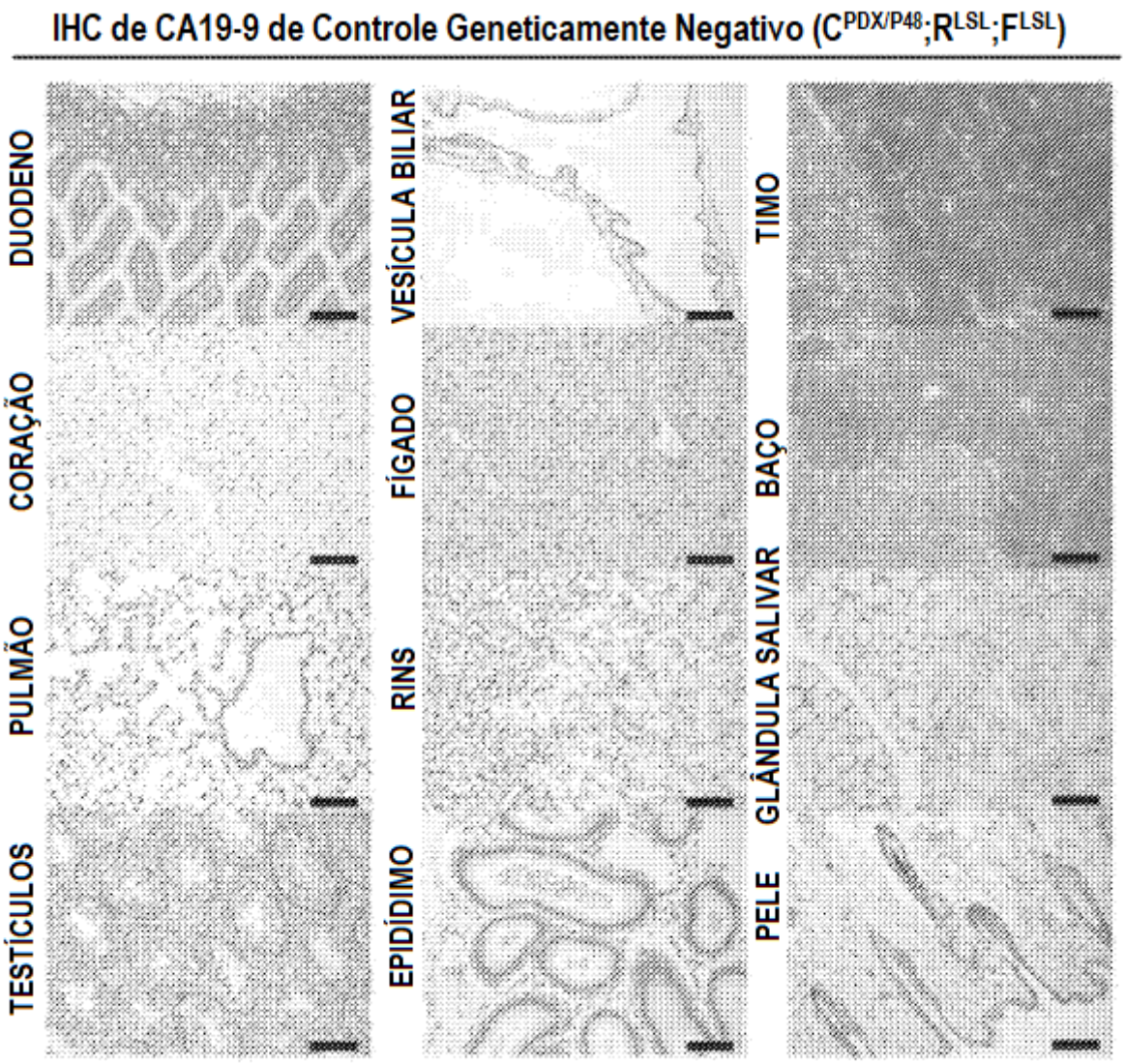

IHC de CA19-9 de Controle Geneticamente Negativo ($C^{PDX/P48};R^{LSL};F^{LSL}$)
DUODENO
CORAÇÃO
PULMÃO
TESTÍCULOS
VESÍCULA BILIAR
FÍGADO
RINS
EPIDÍDIMO
TIMO
BAÇO
GLÂNDULA SALIVAR
PELE

FIG. 47

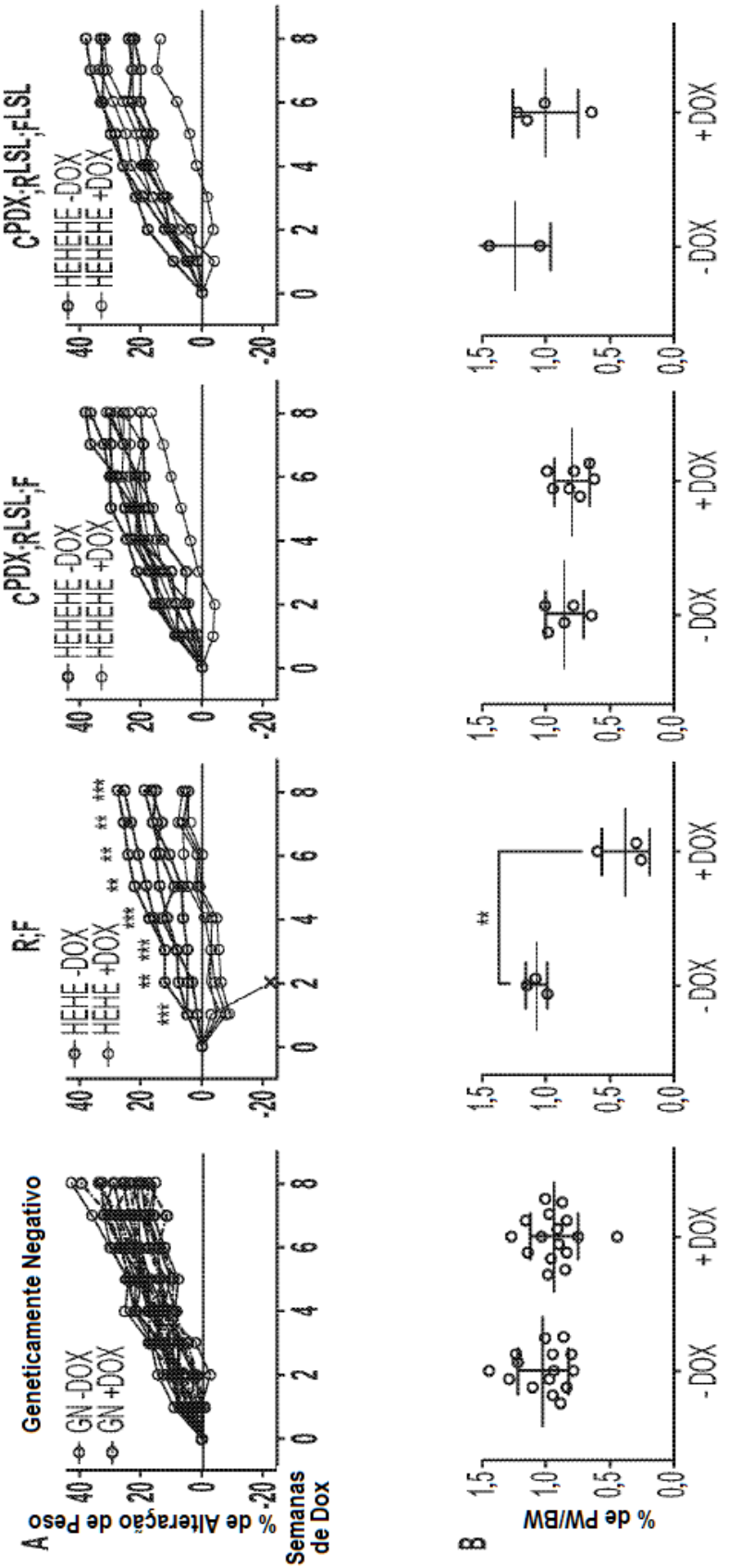

A
Geneticamente Negativo
GN -DOX
GN +DOX
R;F
HEHE -DOX
HEHE +DOX
cPDX;RLSL;FLSL
HEHEHE -DOX
HEHEHE +DOX
% de Alteração de Peso
Semanas de Dox
B
% de PW/BW
-DOX
+DOX

FIG. 48

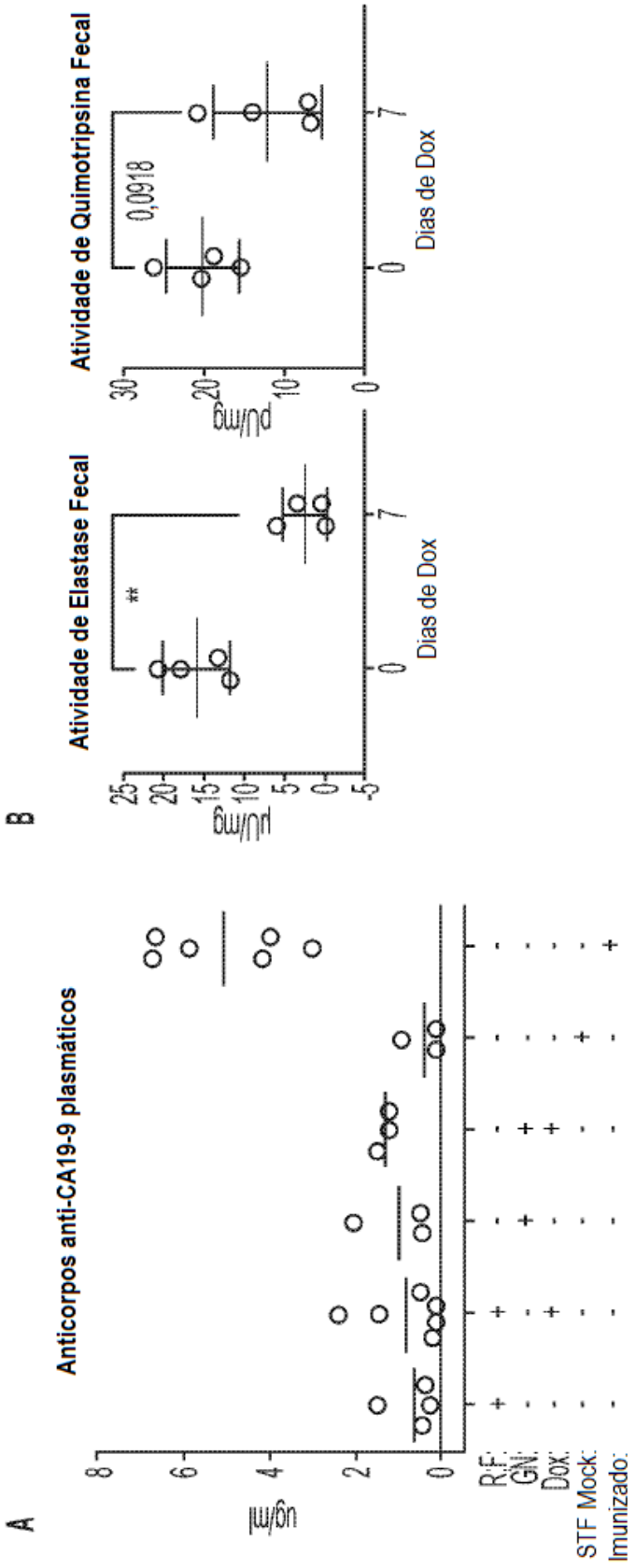

A
Anticorpos anti-CA19-9 plasmáticos
ug/ml
8
6
4
2
0
R.F.
GN.
Dox.
STF Mock.
Imunizado
B
Atividade de Elastase Fecal
μU/mg
25
20
15
10
5
0
-5
**
0
7
Dias de Dox
Atividade de Quimotripsina Fecal
μU/mg
30
20
10
0
0,0918
0
7
Dias de Dox

FIG. 49

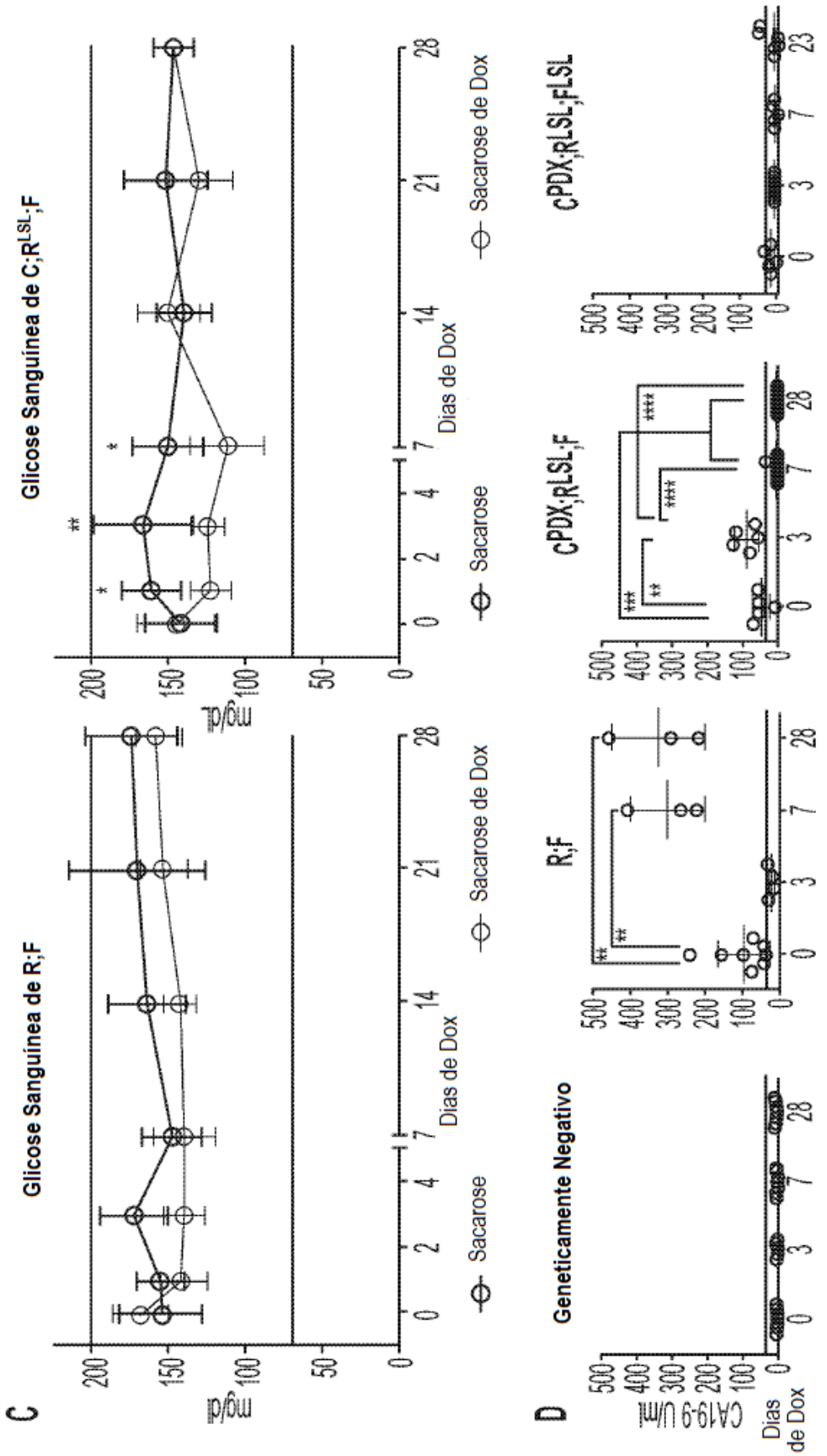


FIG. 49
(Continuação)

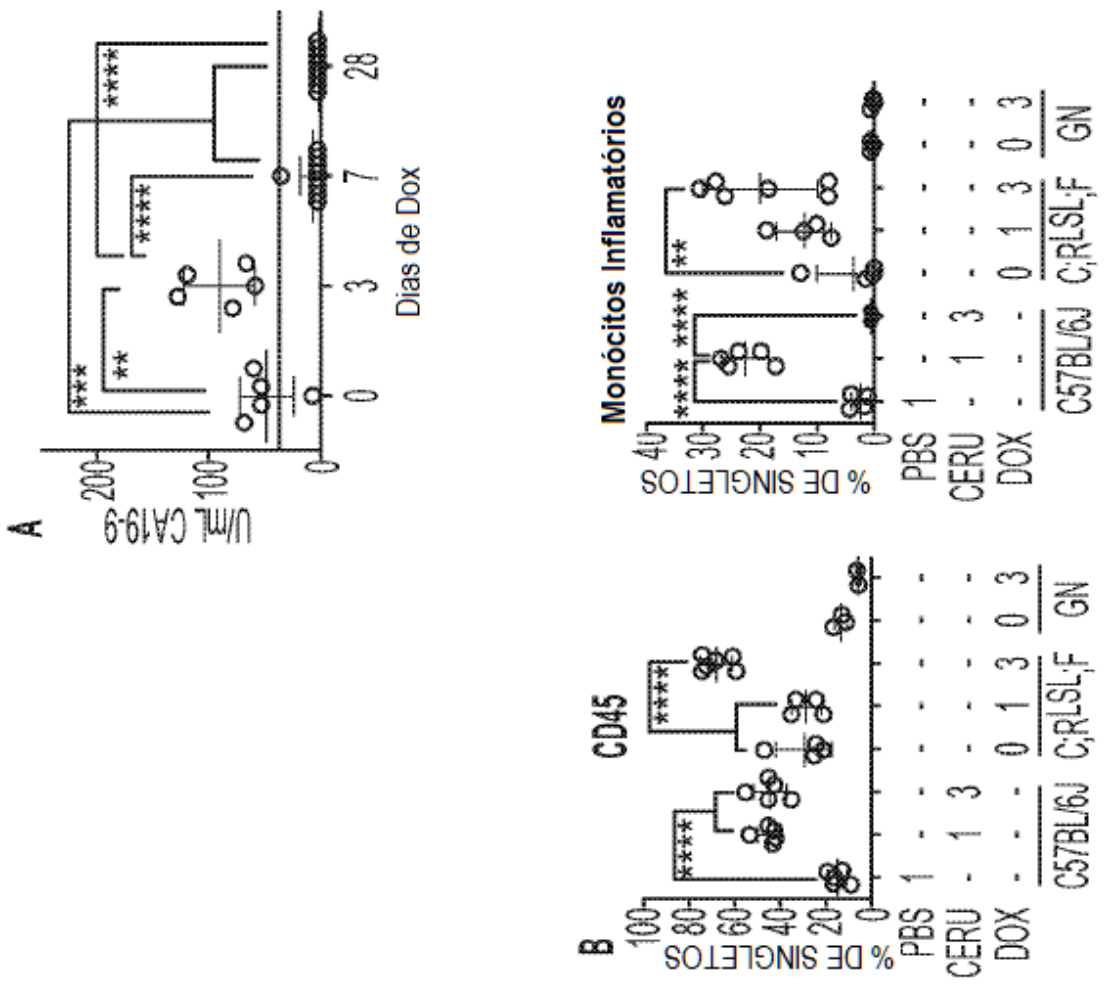

A
U/mL CA19-9
200
100
0
0
3
7
28
Dias de Dox
***
**
****
****
B
CD45
% DE SINGLETOS
100
80
60
40
20
0
PBS 1 - - - - - - -
CERU - 1 3 - - - - -
DOX - - - 0 1 3 0 3
C57BL/6J C;RLSL;F GN
****
****
Monócitos Inflamatórios
% DE SINGLETOS
40
30
20
10
0
PBS 1 - - - - - - -
CERU - 1 3 - - - - -
DOX - - - 0 1 3 0 3
C57BL/6J C;RLSL;F GN
**** ****
**
Monócitos/Macrófagos
% DE SINGLETOS
40
30
20
10
0
PBS 1 - - - - - - -
CERU - 1 3 - - - - -
DOX - - - 0 1 3 0 3
C57BL/6J C;RLSL;F GN
****

FIG. 50

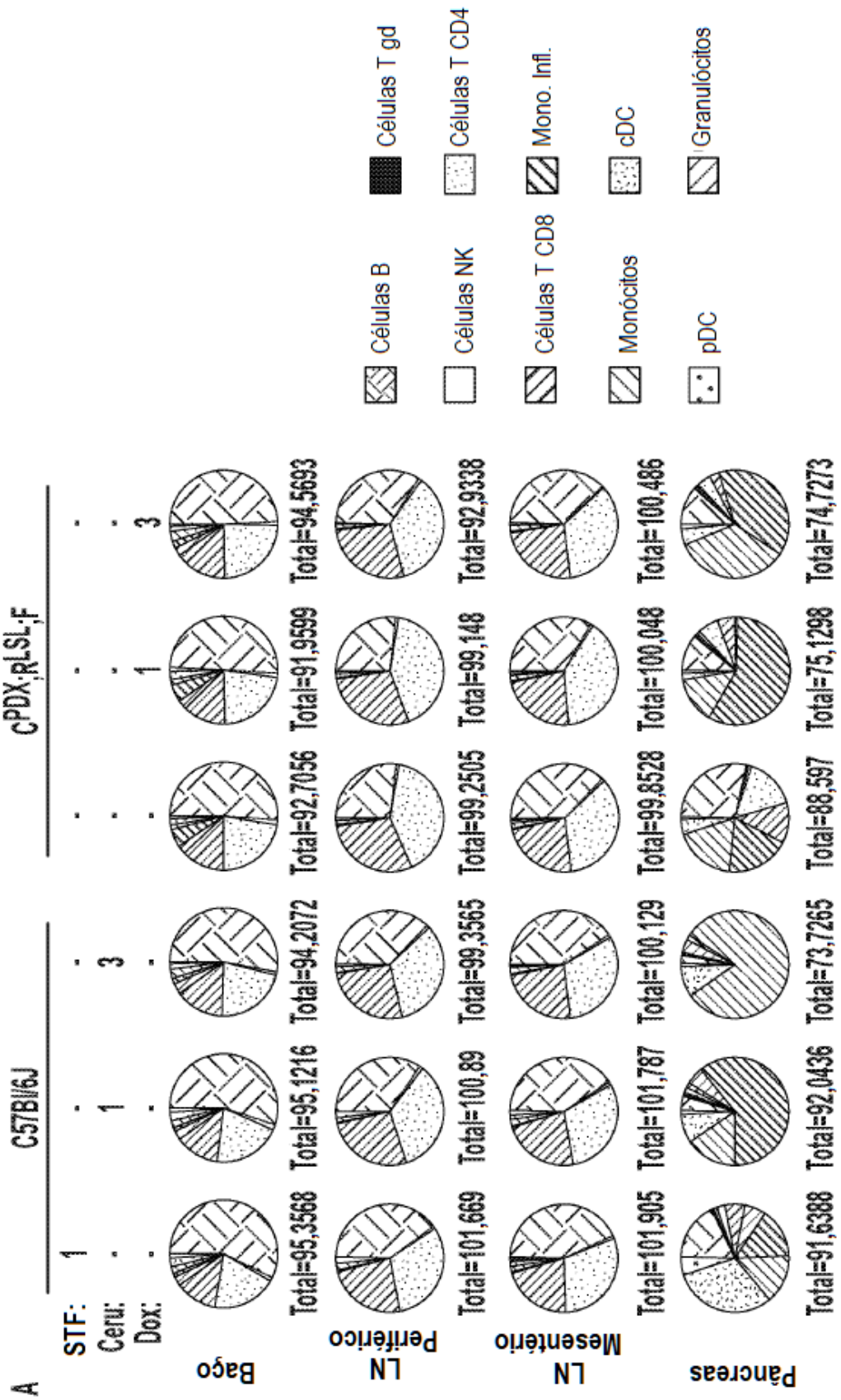

A
C57Bl/6J
C^PDX;RLSL;F
STF: 1 - - - - -
Ceru: - 1 3 - - -
Dox: - - - - 1 3
Baço
Total=95,3568
Total=95,1216
Total=94,2072
Total=92,7056
Total=91,9599
Total=94,5693
LN Periférico
Total=101,669
Total=100,89
Total=99,3565
Total=99,2505
Total=99,148
Total=92,9338
LN Mesentério
Total=101,905
Total=101,787
Total=100,129
Total=99,8528
Total=100,048
Total=100,486
Pâncreas
Total=91,6388
Total=92,0436
Total=73,7265
Total=88,597
Total=75,1298
Total=74,7273
Células B
Células T gd
Células NK
Células T CD4
Células T CD8
Mono. Infl.
Monócitos
cDC
pDC
Granulócitos

FIG. 51

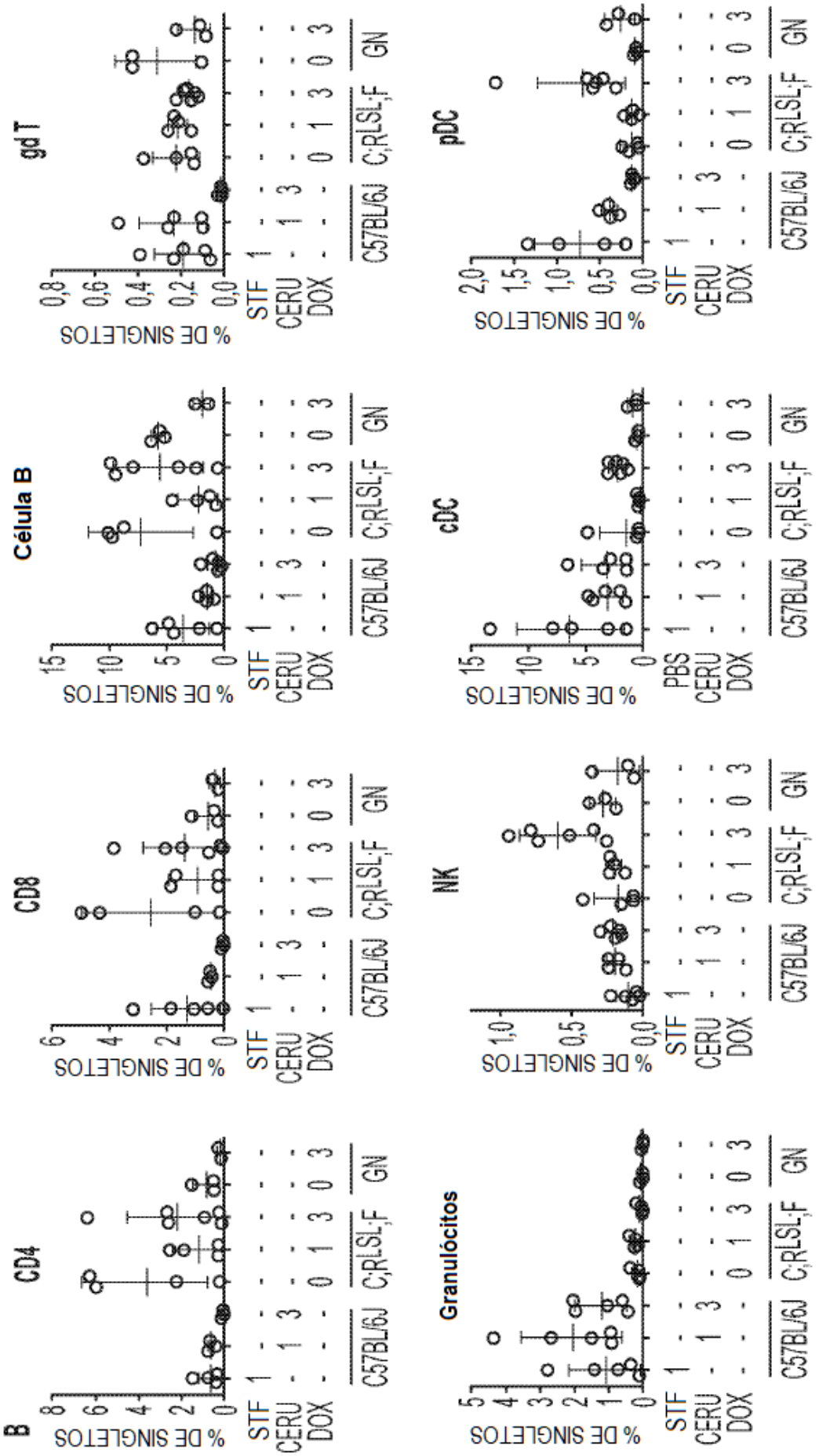


FIG. 51
(Continuação)

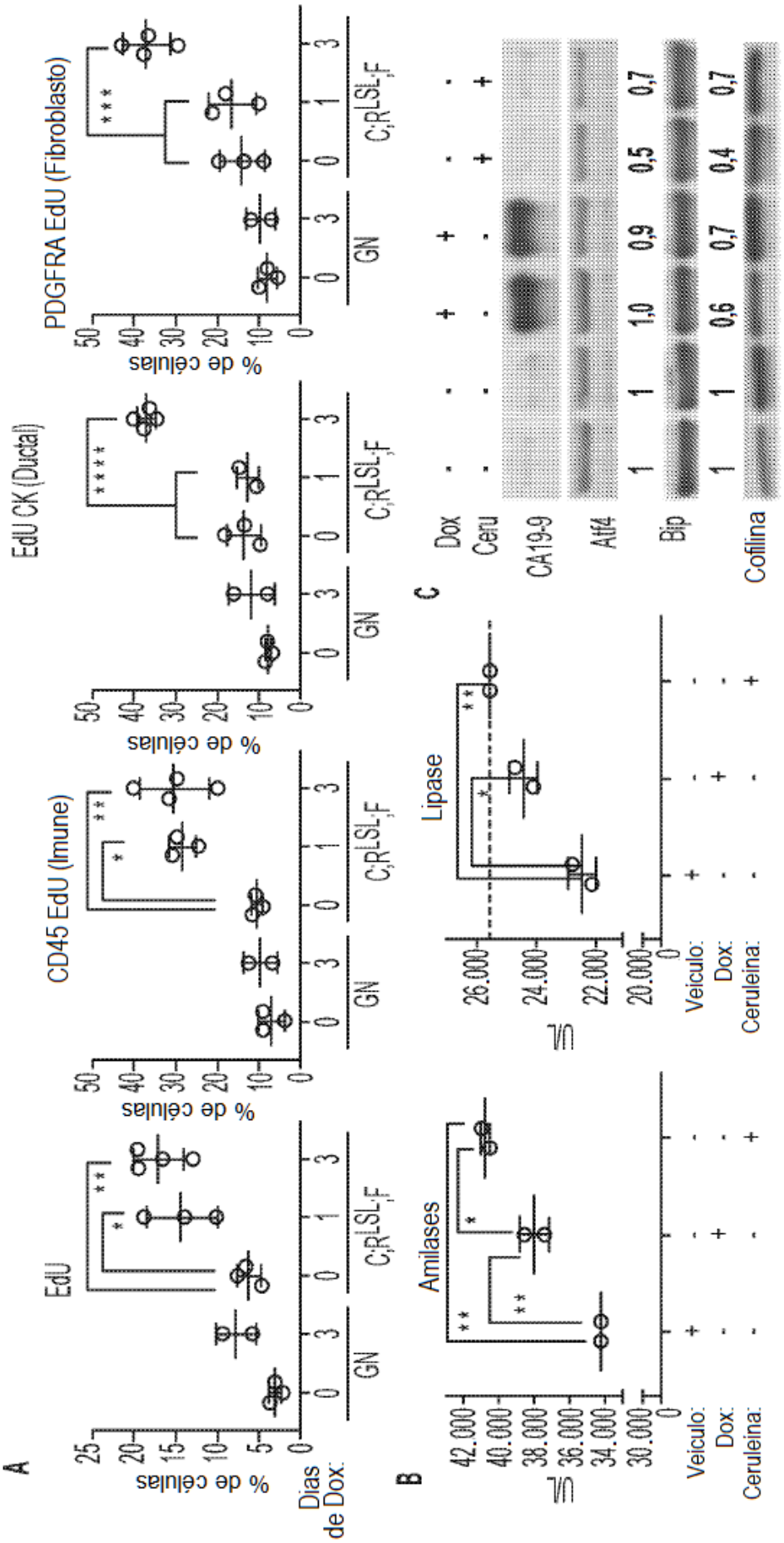

A
EdU
% de células
Dias de Dox:
GN
C;R|SL-F;F
CD45 EdU (Imune)
EdU CK (Ductal)
PDGFRA EdU (Fibroblasto)
B
Amilases
UA
Lipase
Veículo:
Dox:
Ceruleína:
C
Dox
Ceru
CA19-9
Atf4
Bip
Cofilina

FIG. 52

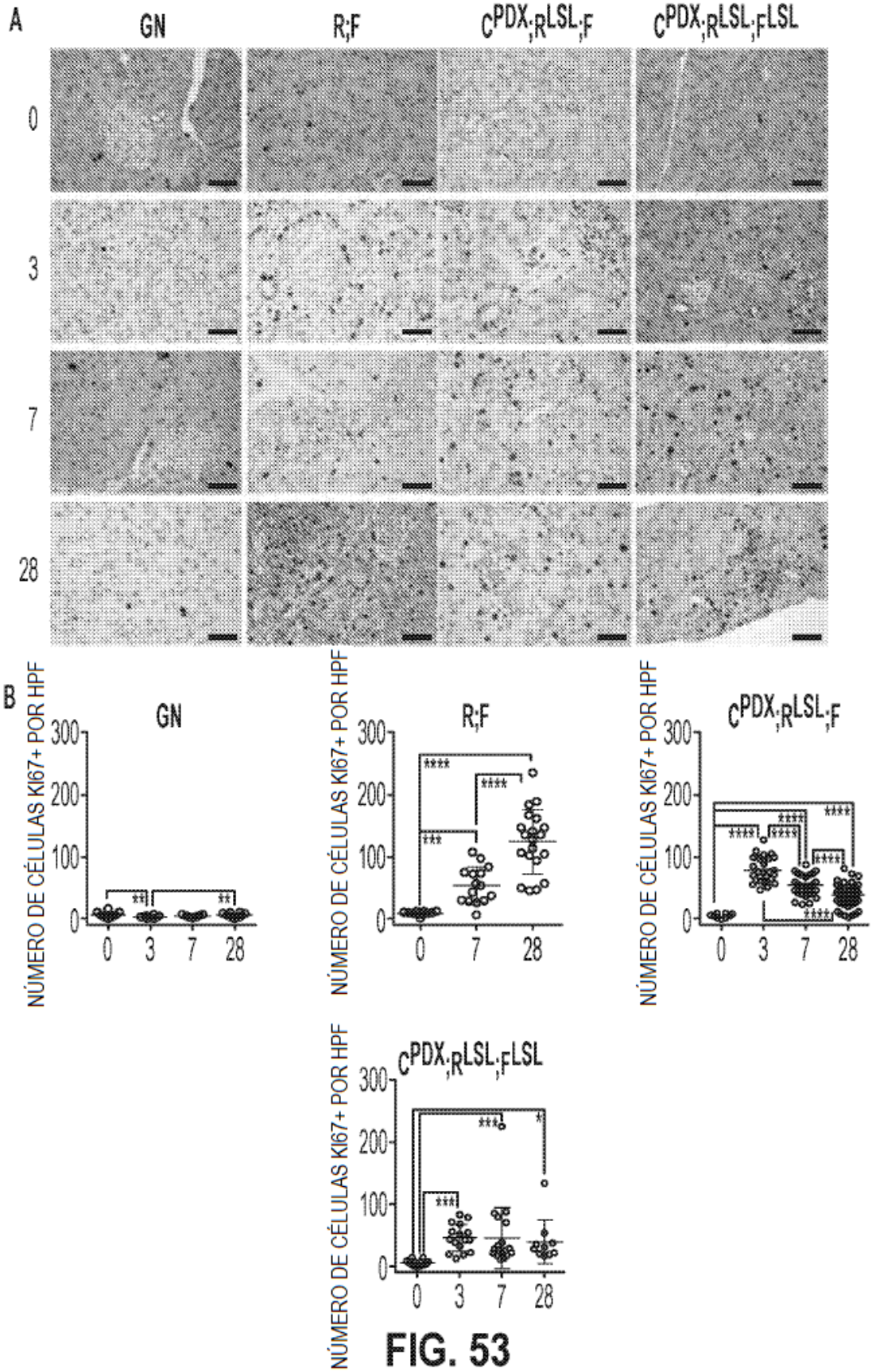

A
GN
R;F
C^PDX;R^LSL;F
C^PDX;R^LSL;F^LSL
0
3
7
28
B
GN
R;F
C^PDX;R^LSL;F
C^PDX;R^LSL;F^LSL
NÚMERO DE CÉLULAS KI67+ POR HPF
300
200
100
0
0
3
7
28

FIG. 53

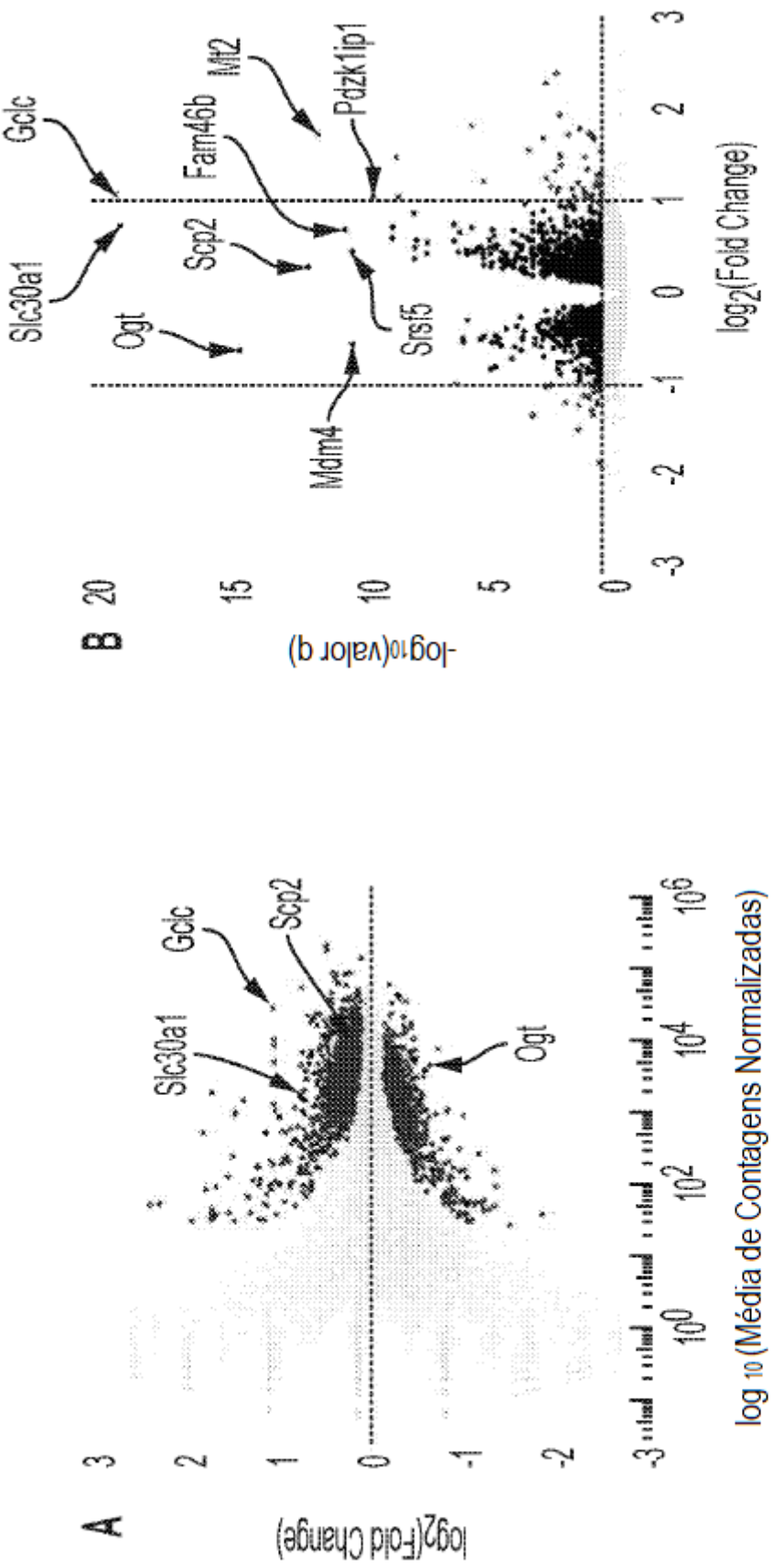

A
log2(Fold Change)
log 10 (Média de Contagens Normalizadas)
Slc30a1
Gclc
Scp2
Ogt
B
-log10(valor q)
log2(Fold Change)
Gclc
Slc30a1
Ogt
Scp2
Fam46b
Mt2
Pdzk1ip1
Srsf5
Mdm4

FIG. 54

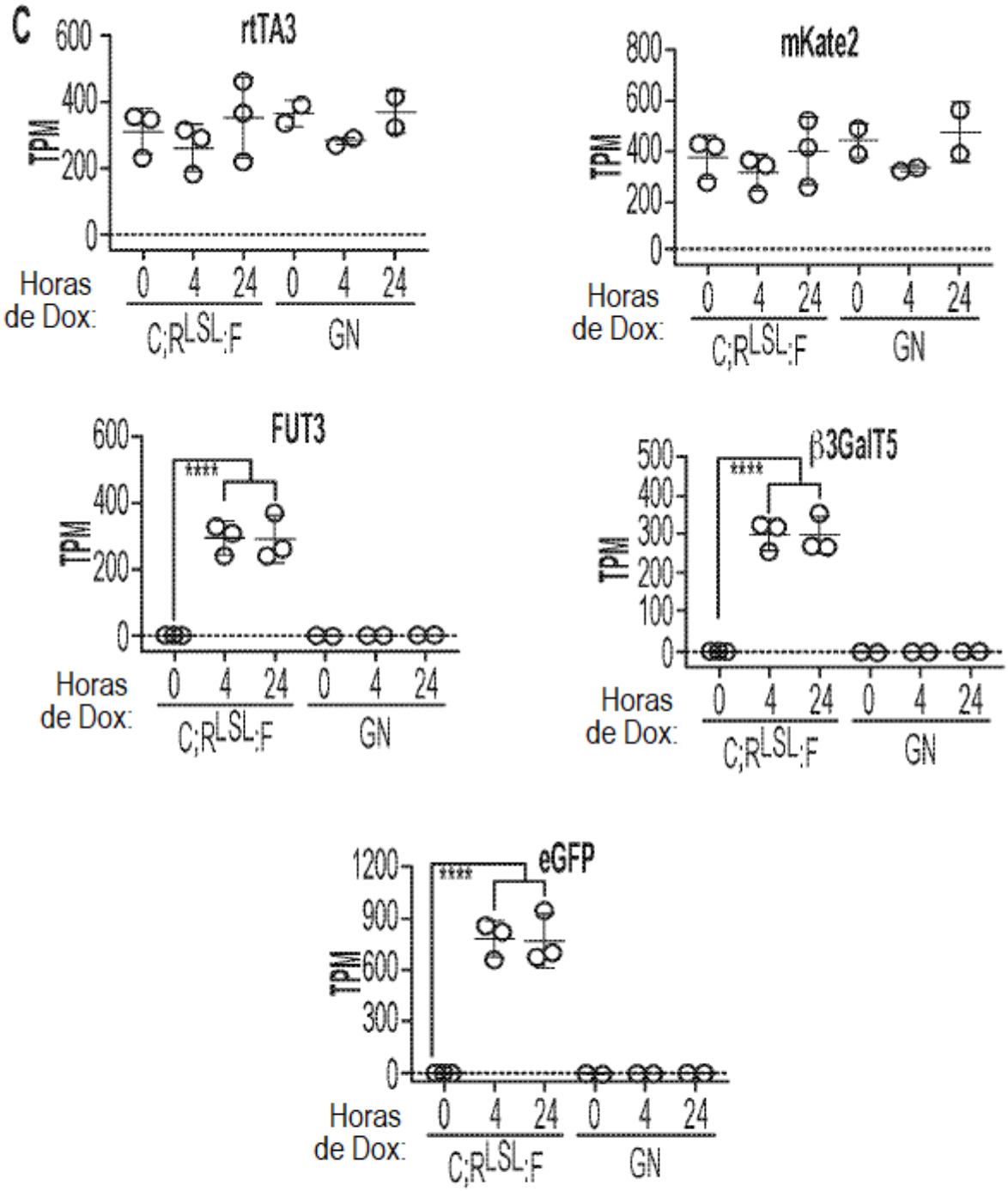


FIG. 54
(Continuação)

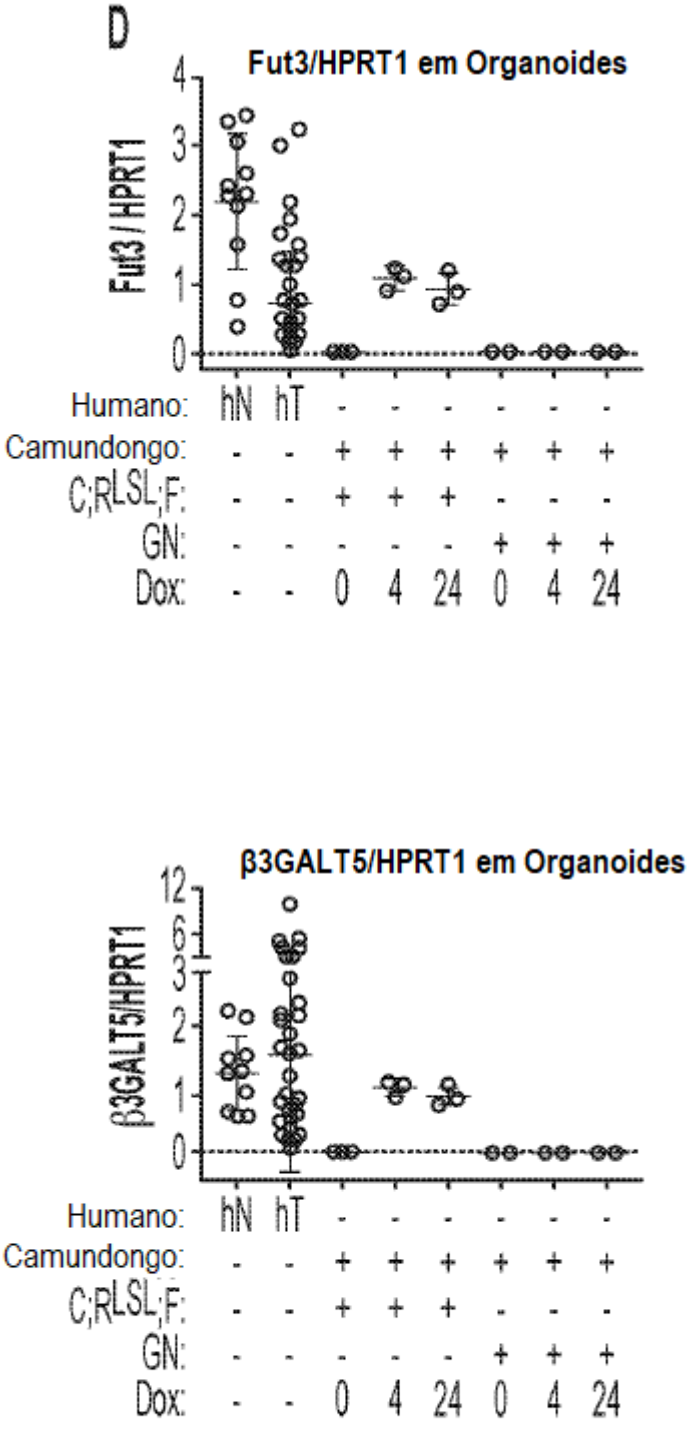


FIG. 54
(Continuação)

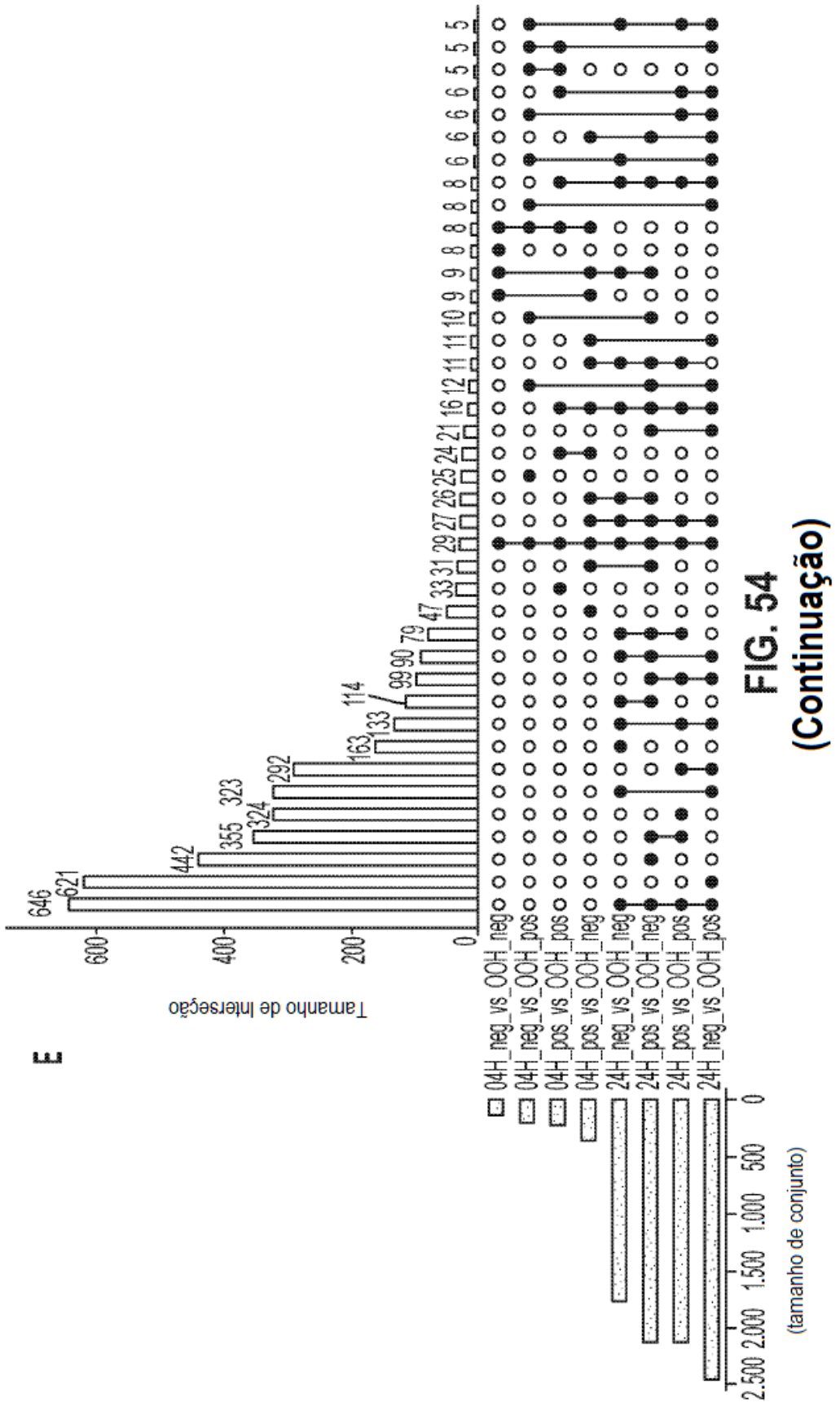


FIG. 54
(Continuação)

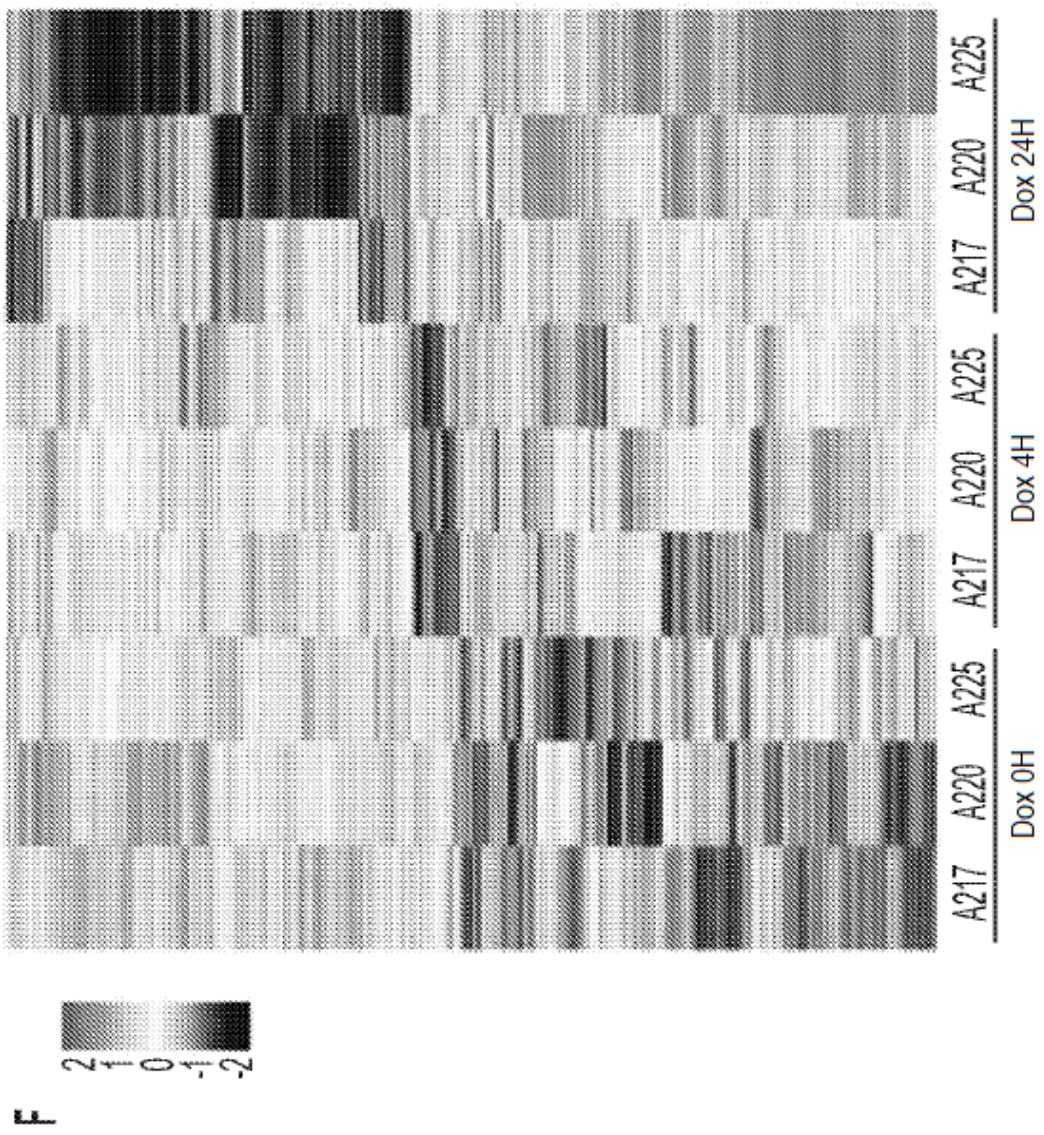


FIG. 54
(Continuação)

A

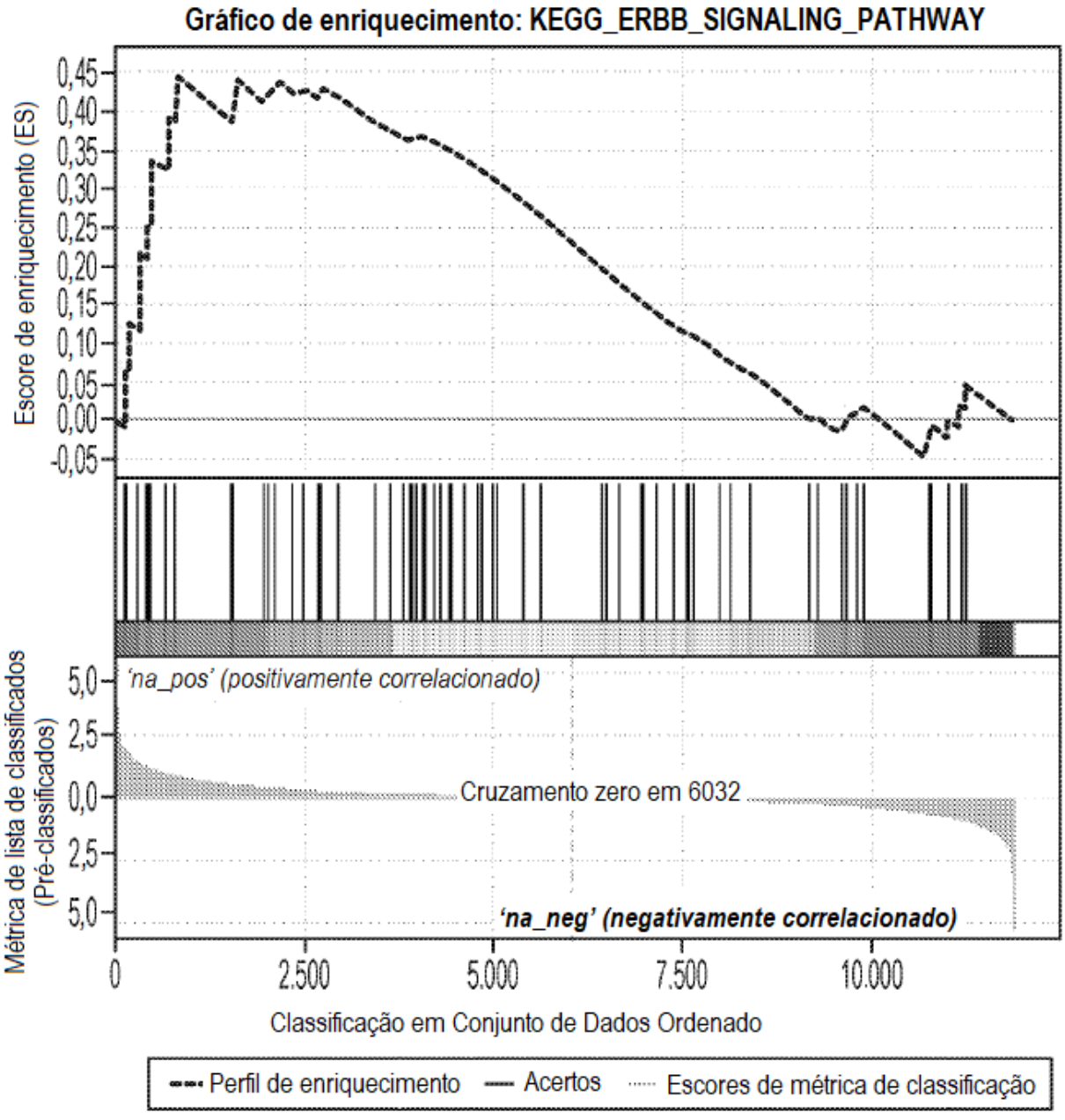
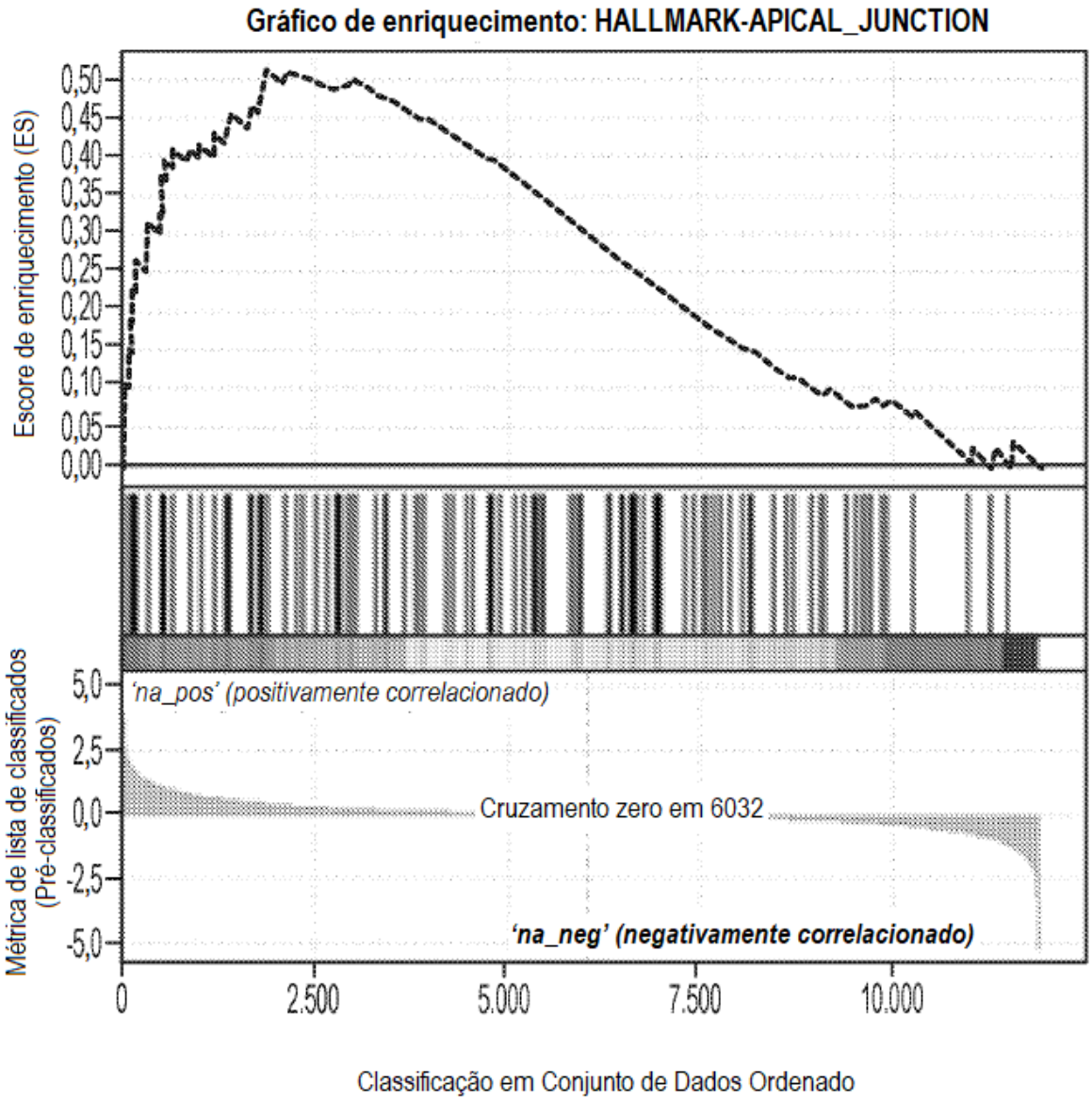

Gráfico de enriquecimento: KEGG_ERBB_SIGNALING_PATHWAY
Escore de enriquecimento (ES)
0,45
0,40
0,35
0,30
0,25
0,20
0,15
0,10
0,05
0,00
-0,05
'na_pos' (positivamente correlacionado)
Métrica de lista de classificados (Pré-classificados)
5,0
2,5
0,0
2,5
5,0
Cruzamento zero em 6032
'na_neg' (negativamente correlacionado)
0
2.500
5.000
7.500
10.000
Classificação em Conjunto de Dados Ordenado
Perfil de enriquecimento
Acertos
Escores de métrica de classificação

FIG. 55

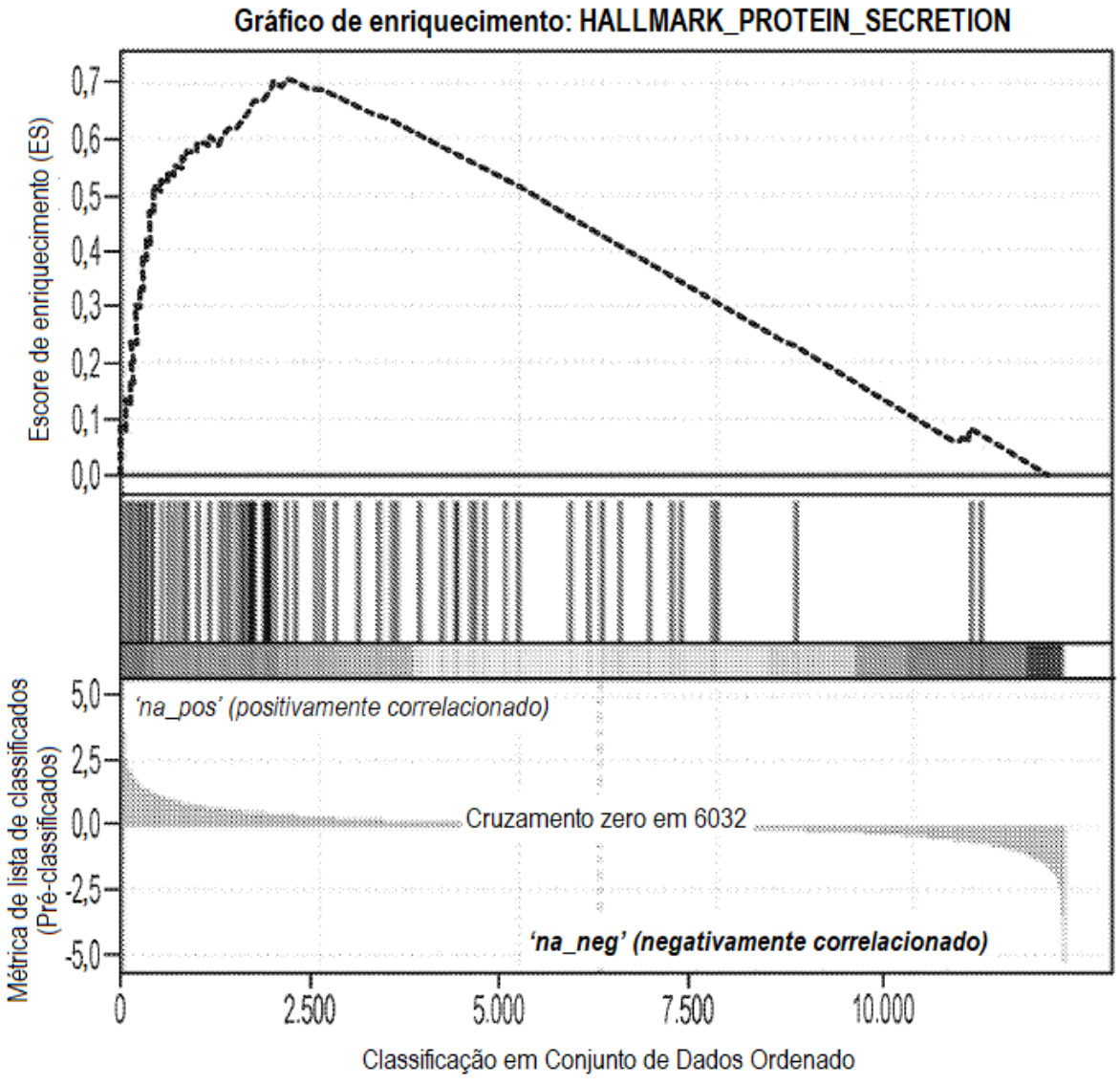
B



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
115	1,7156699	0	0,01618065

FIG. 55
(Continuação)

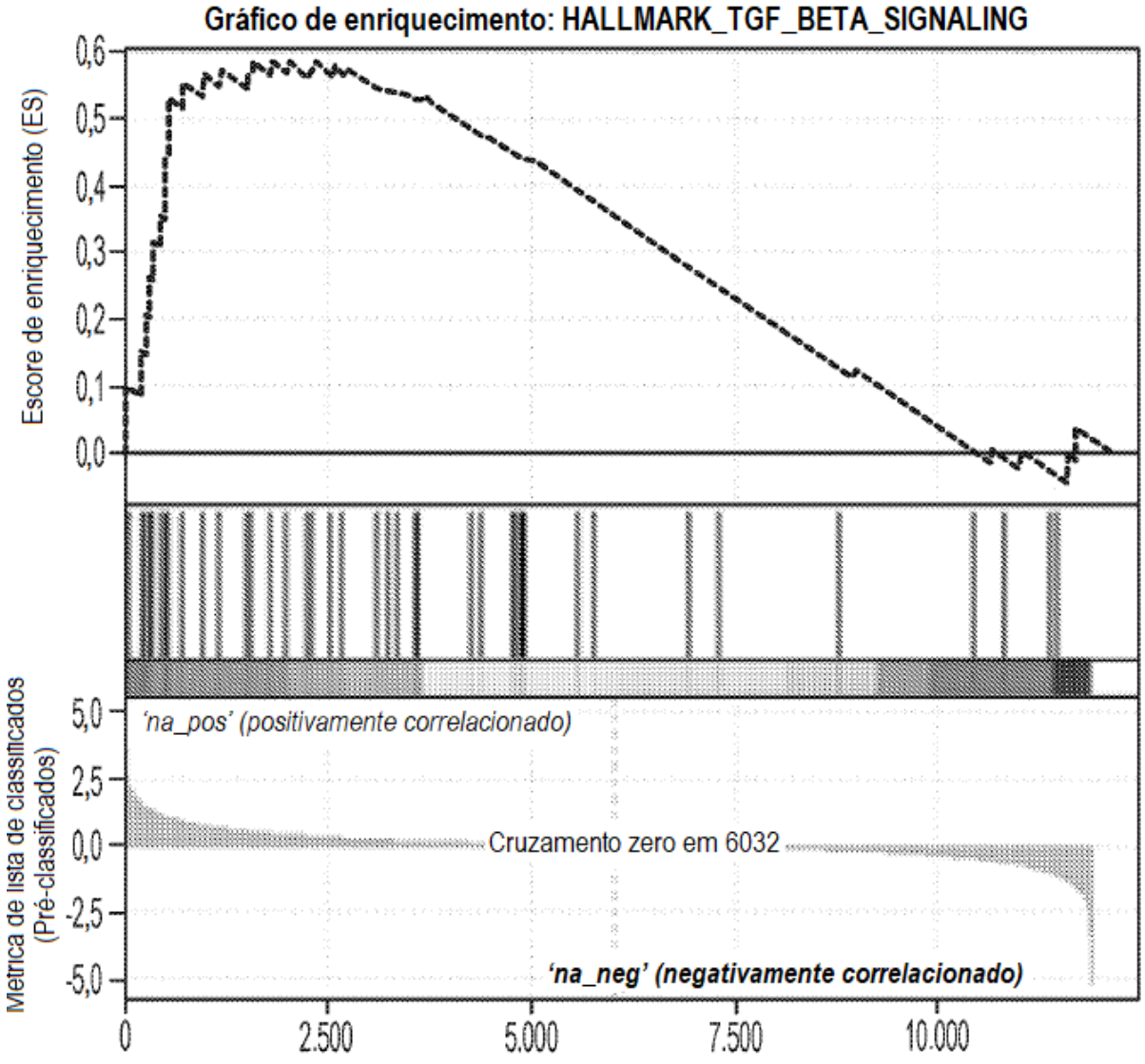
B



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
71	2,2473056	0	0

FIG. 55
(Continuação)

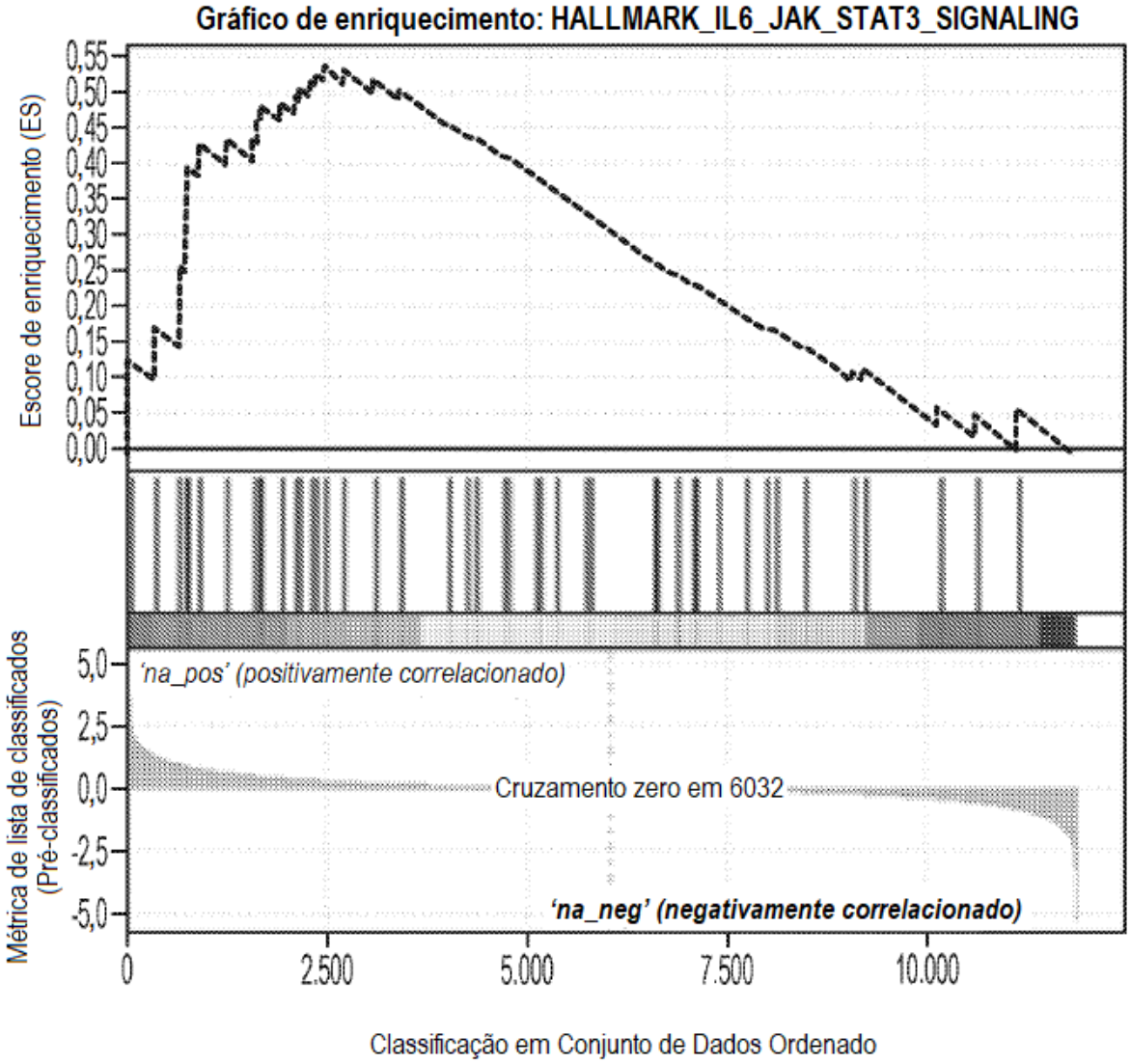
B



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
44	1,642211	0,004557885	0,022126924

FIG. 55
(Continuação)

B



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
49	1,578398	0,008474576	0,024815591

FIG. 55
(Continuação)

B

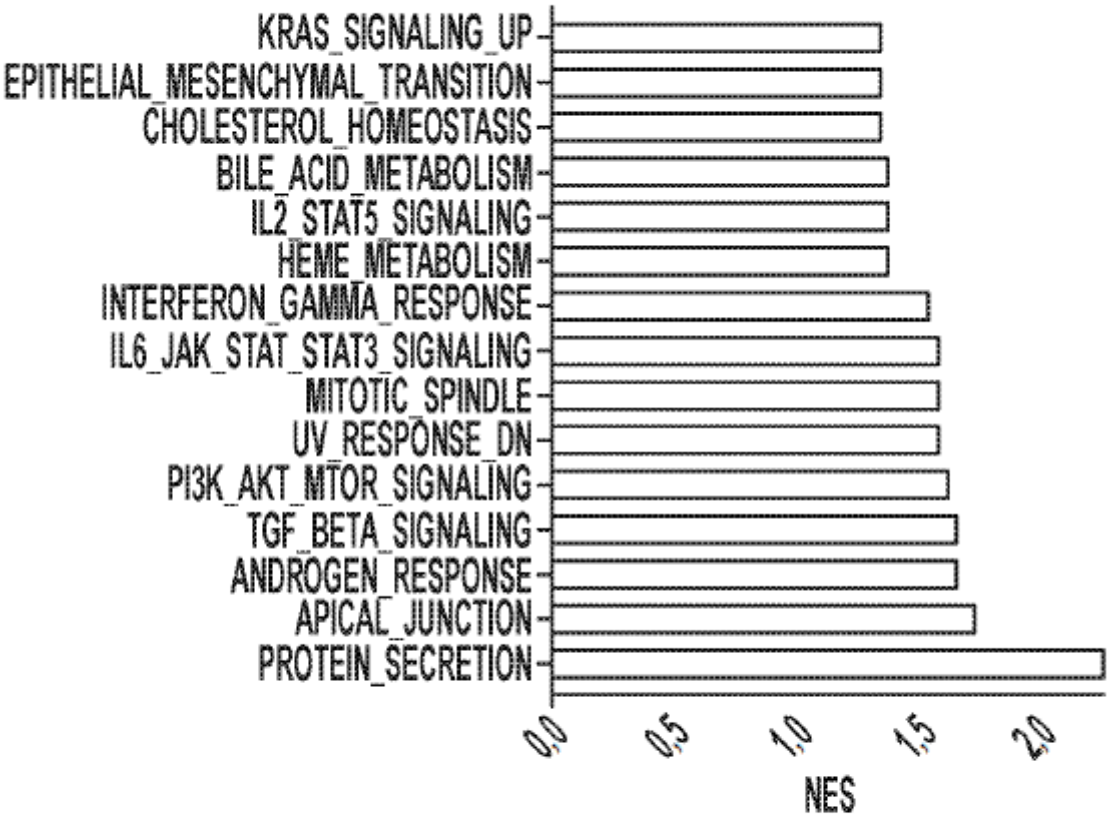
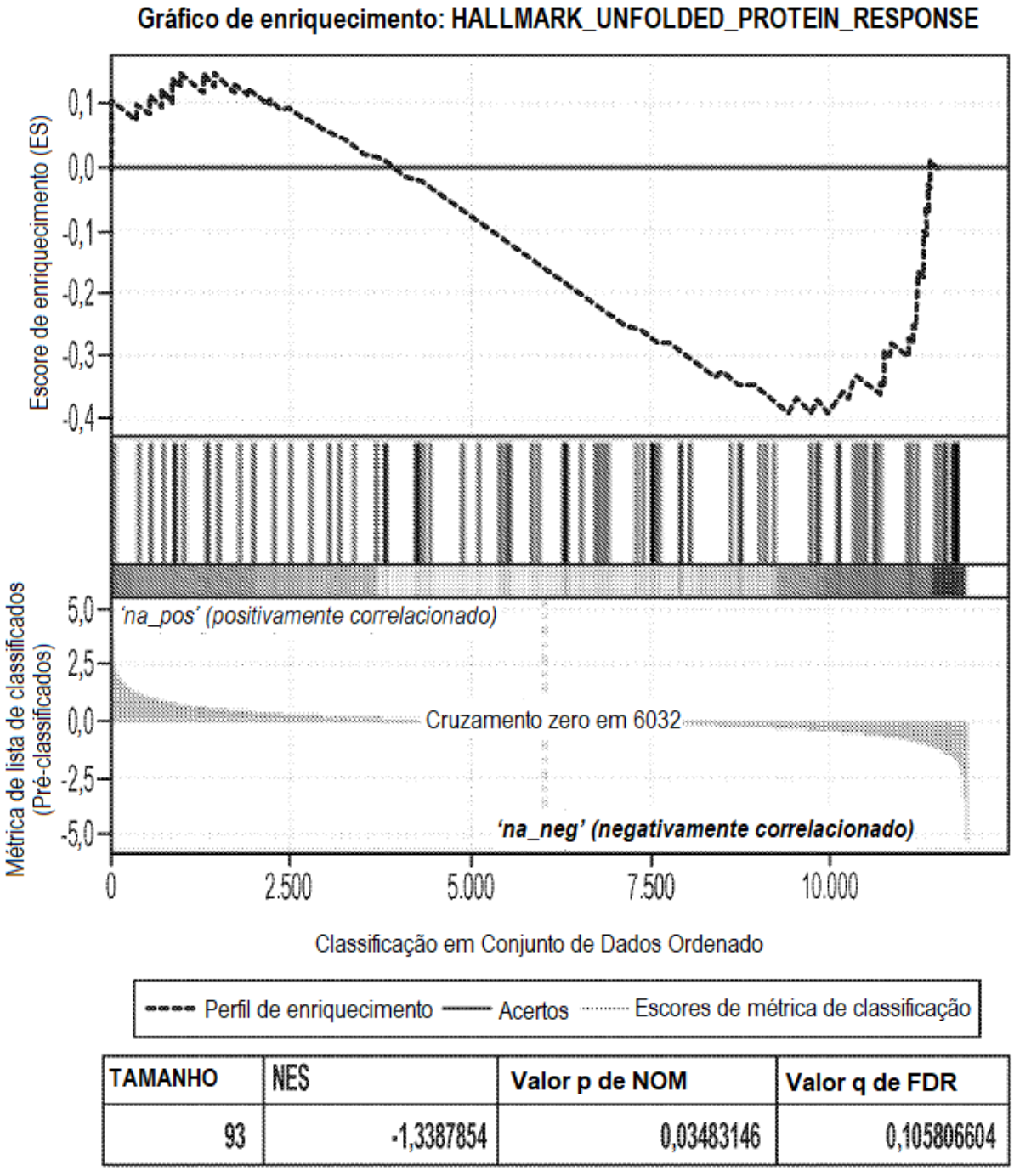


FIG. 55
(Continuação)

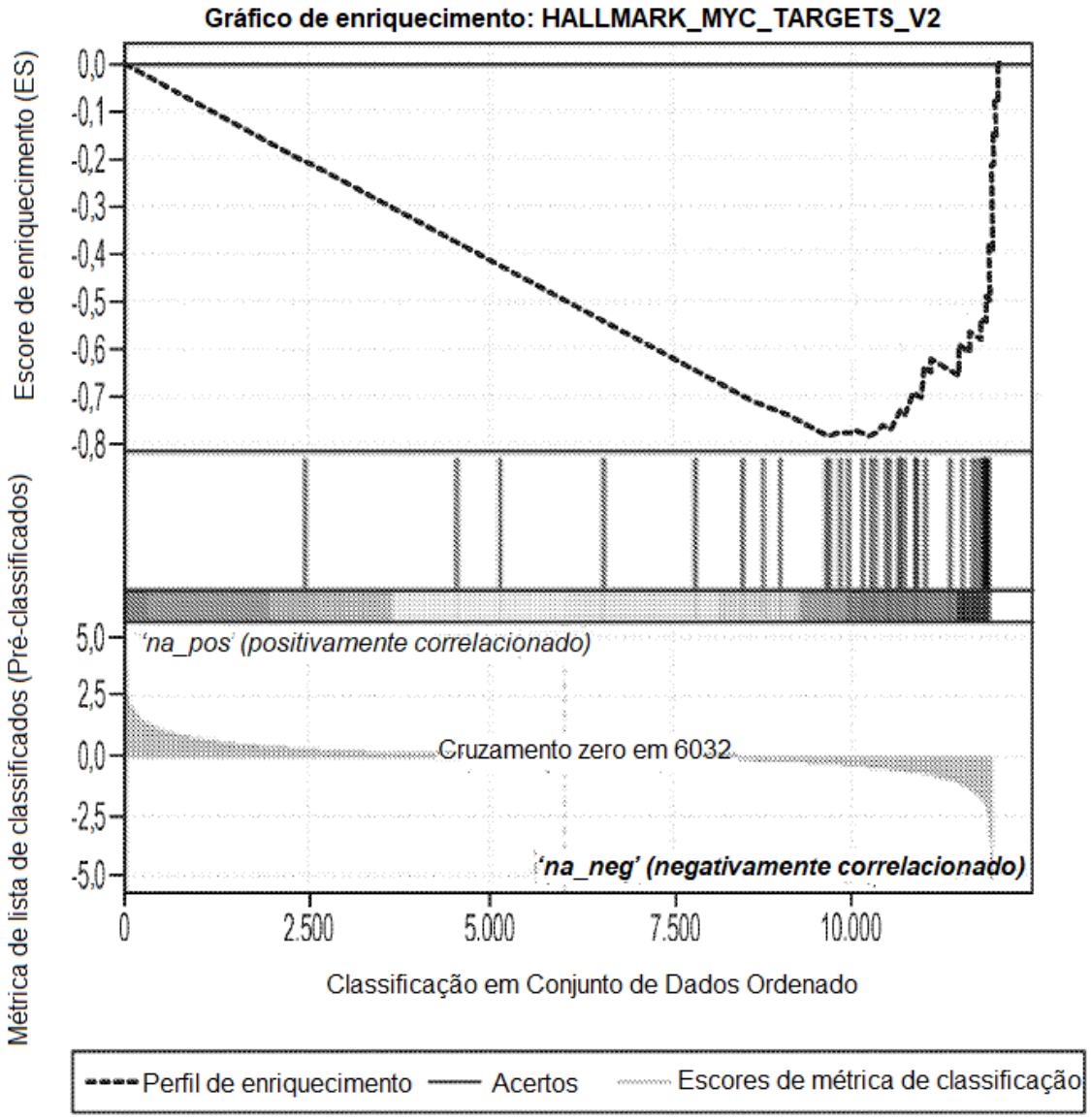
C



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
93	-1,3387854	0,03483146	0,105806604

FIG. 55
(Continuação)

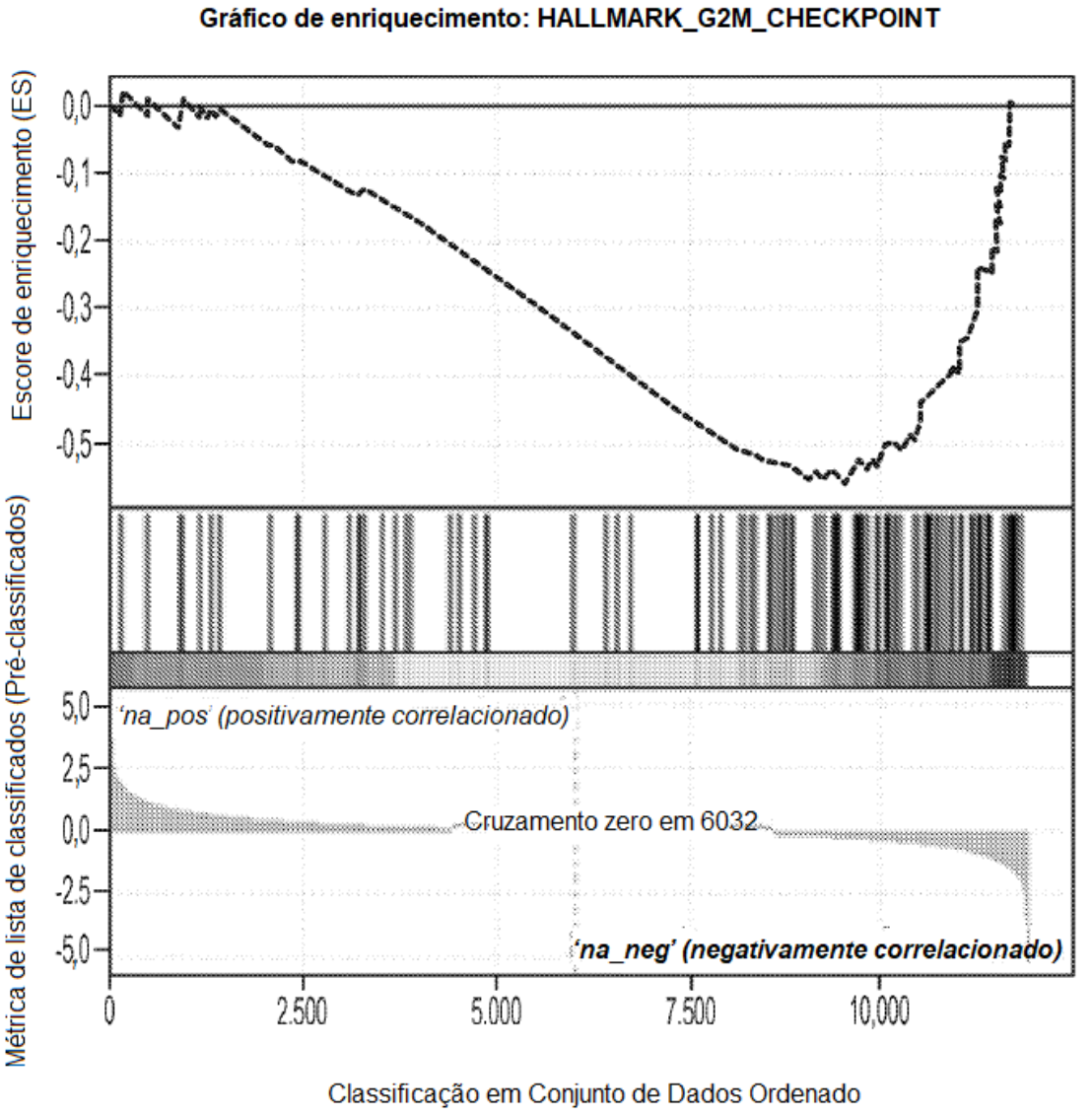
C



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
38	-2,214992	0	0

FIG. 55
(Continuação)

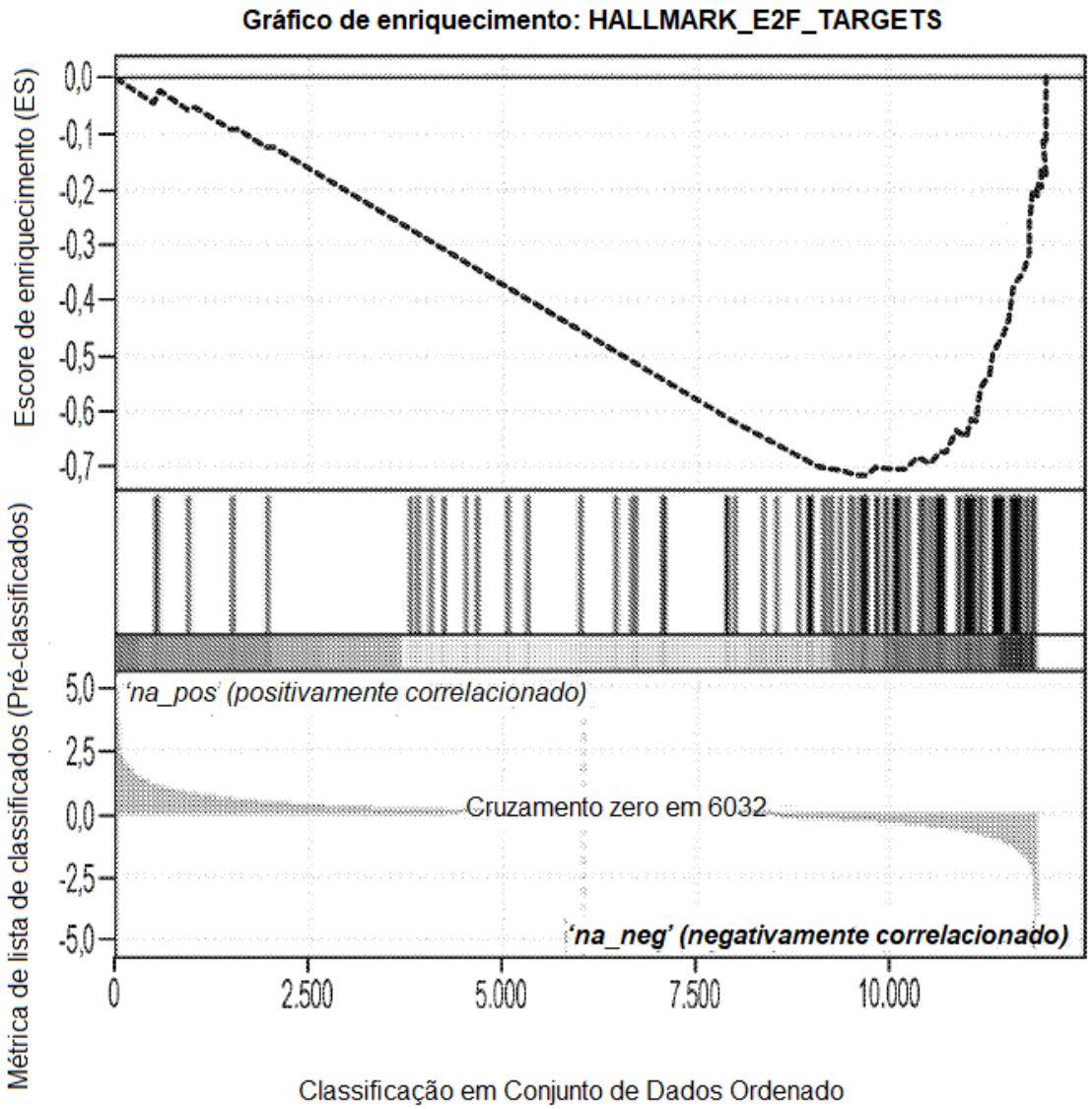
C



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
119	-1,9664263	0	1,34E-04

FIG. 55
(Continuação)

C



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
113	-2,41037	0	0

FIG. 55
(Continuação)

C

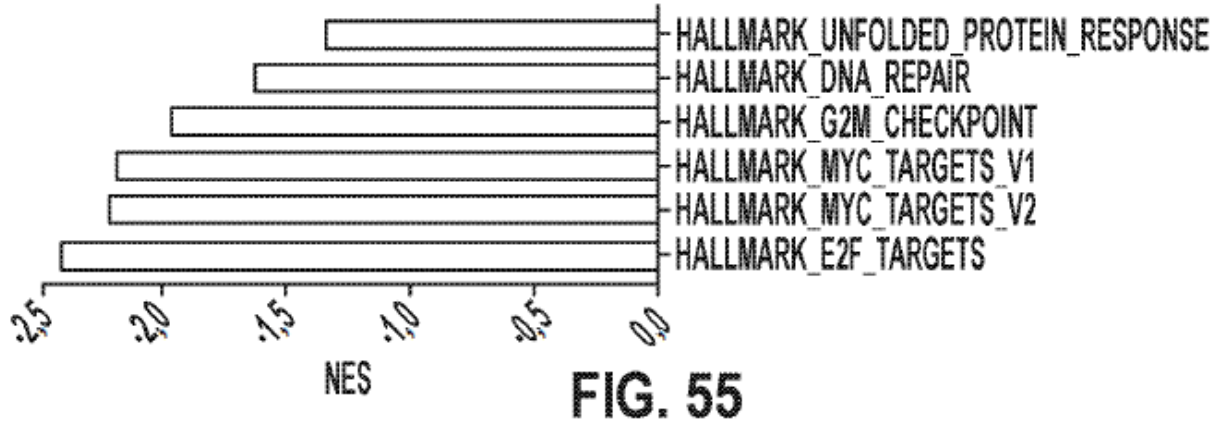
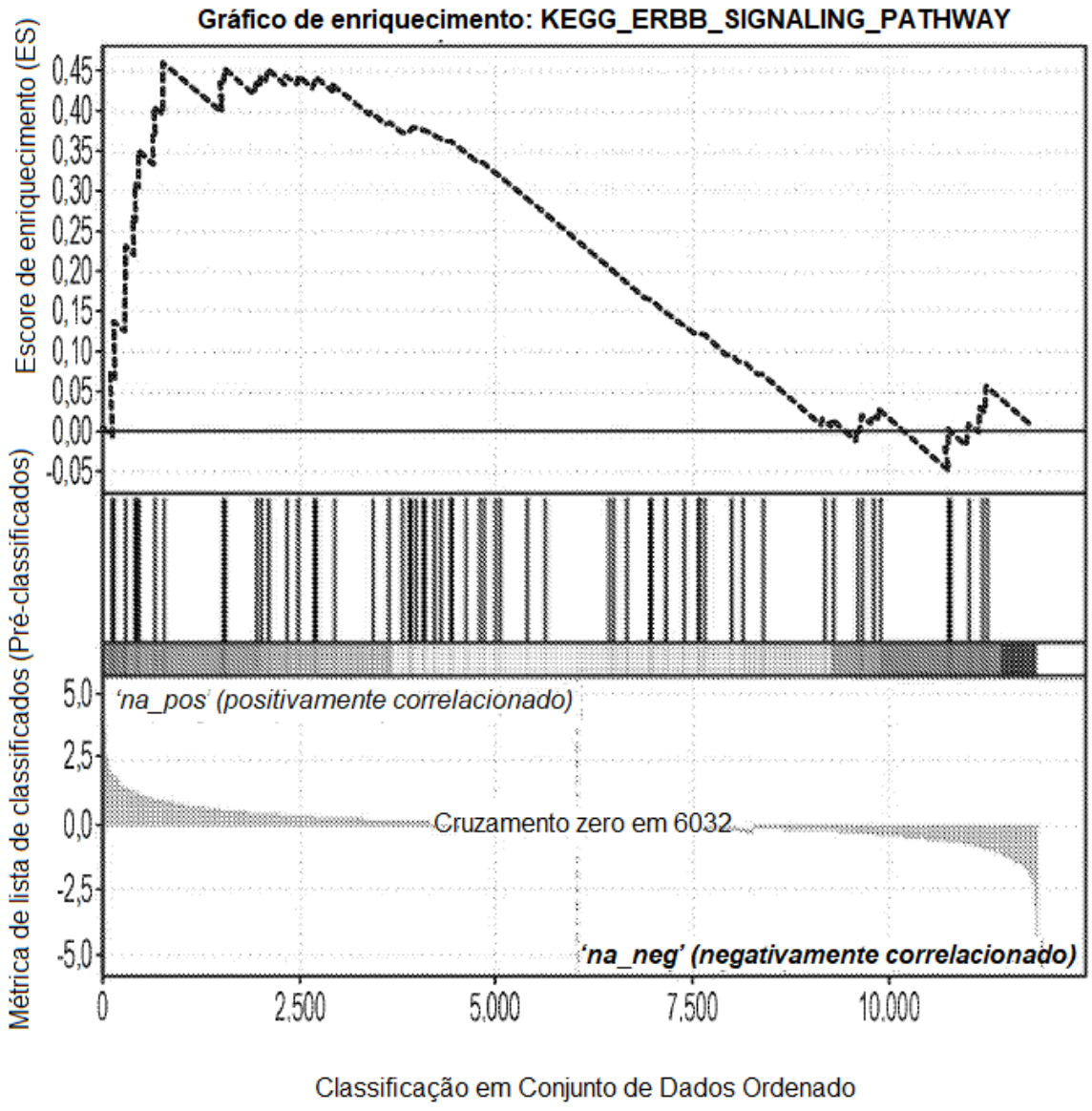


FIG. 55
(Continuação)

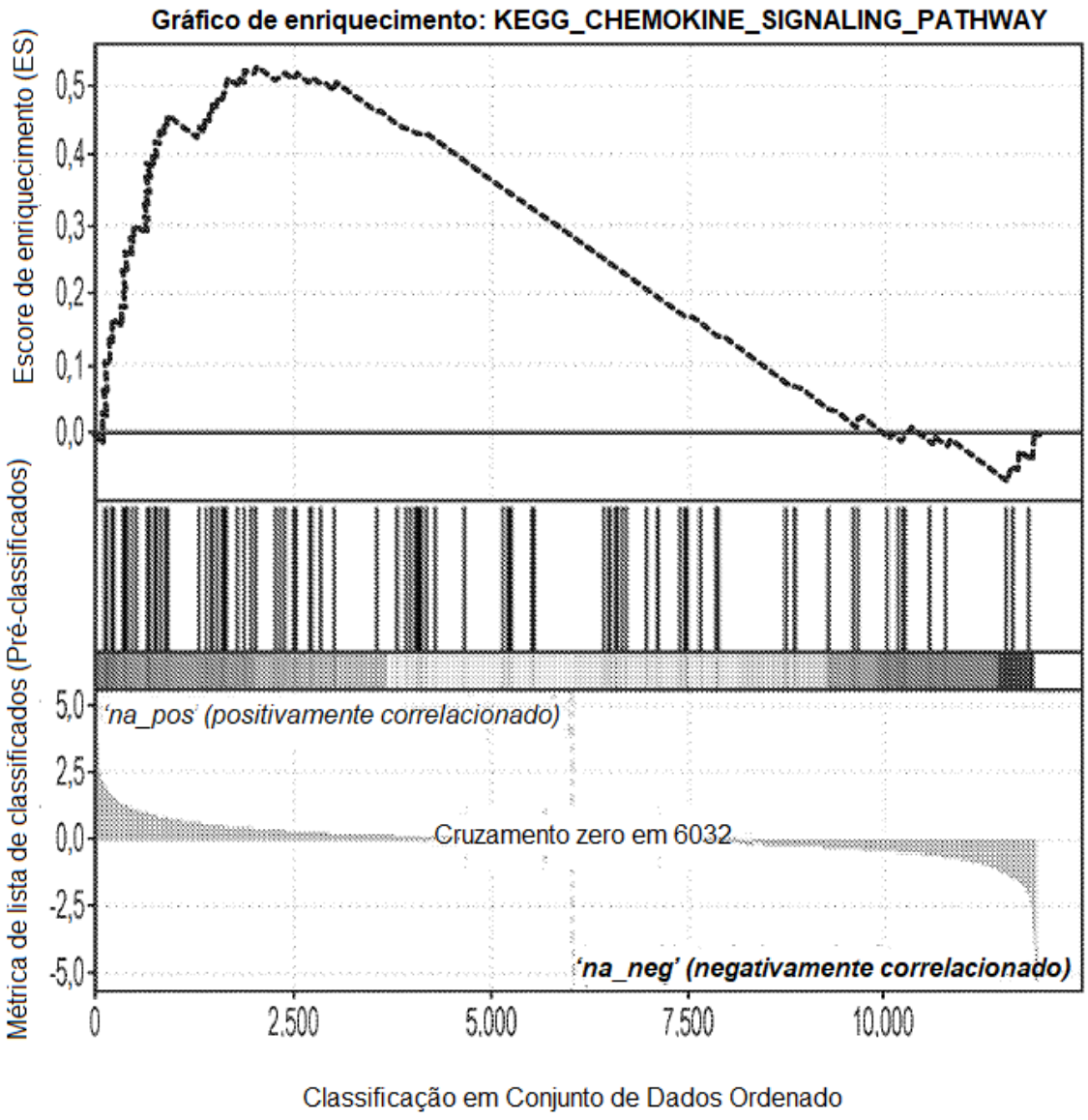
A



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
67	1,4281645	0,019160584	0,117798045

FIG. 56

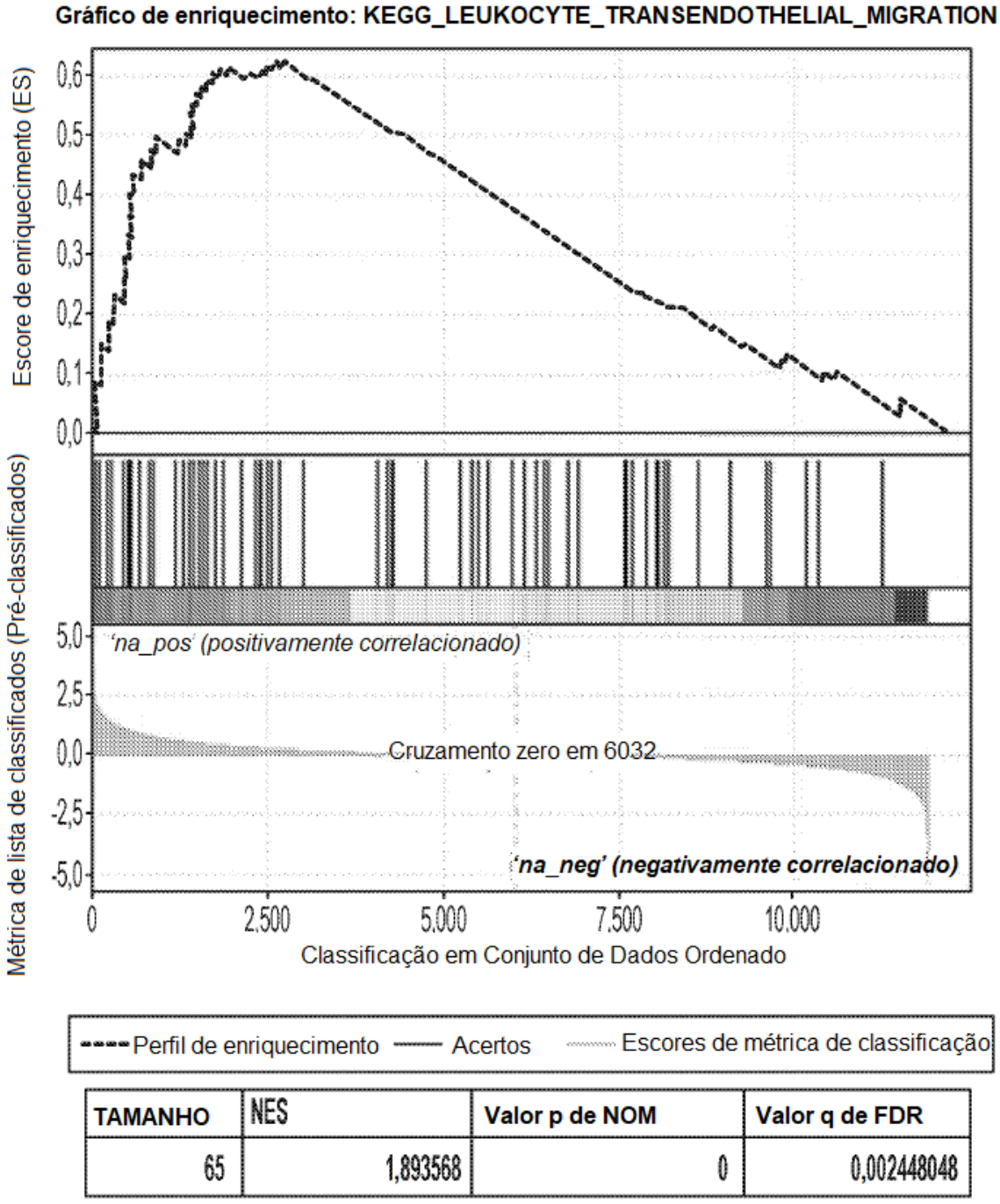
A



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
96	1,6923779	0	0,029260581

FIG. 56
(Continuação)

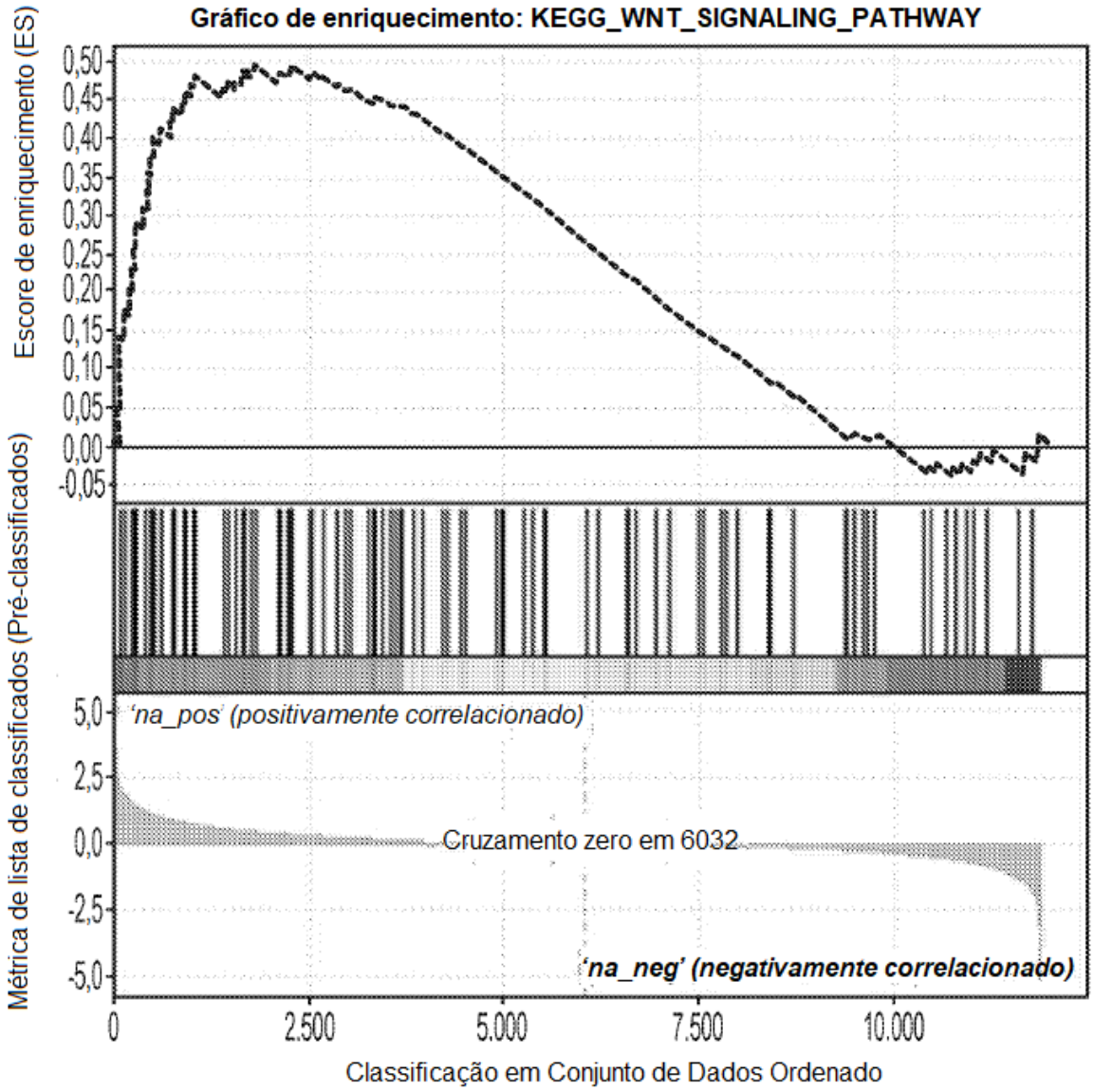
A



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
65	1,893568	0	0,002448048

FIG. 56
(Continuação)

A



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
91	1,6000315	0,00180018	0,059982605

FIG. 56
(Continuação)

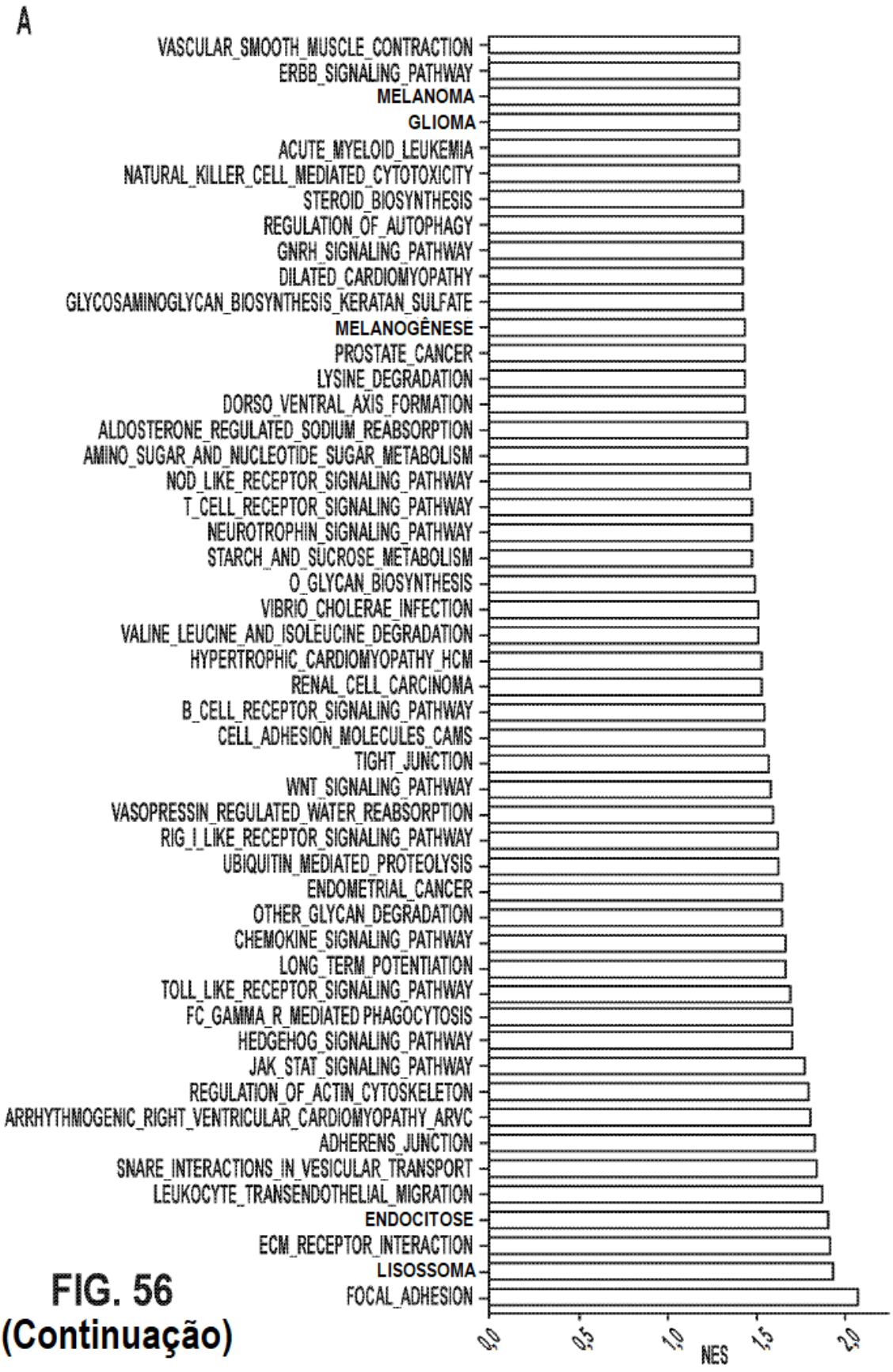
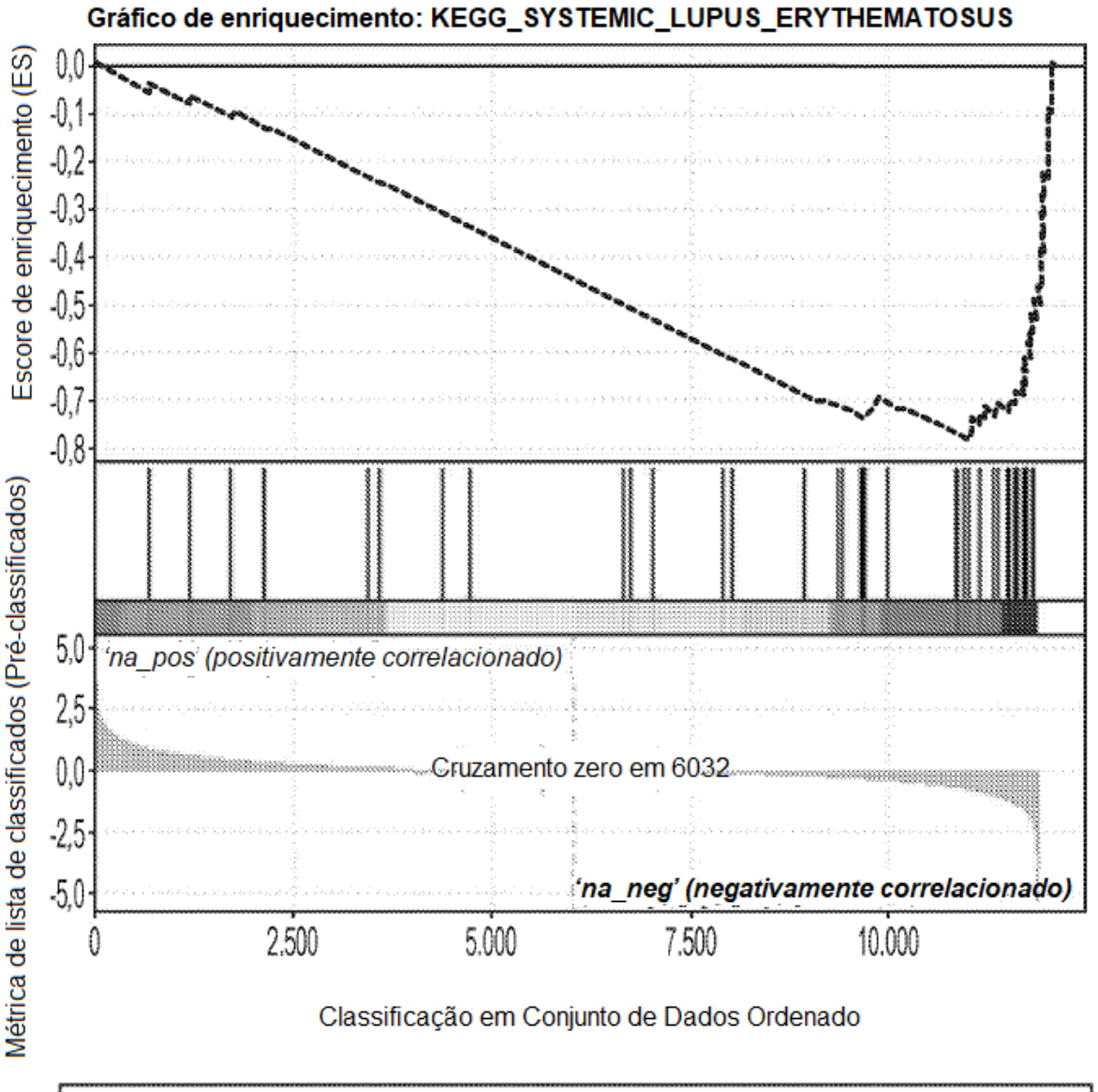


FIG. 56 (Continuação)

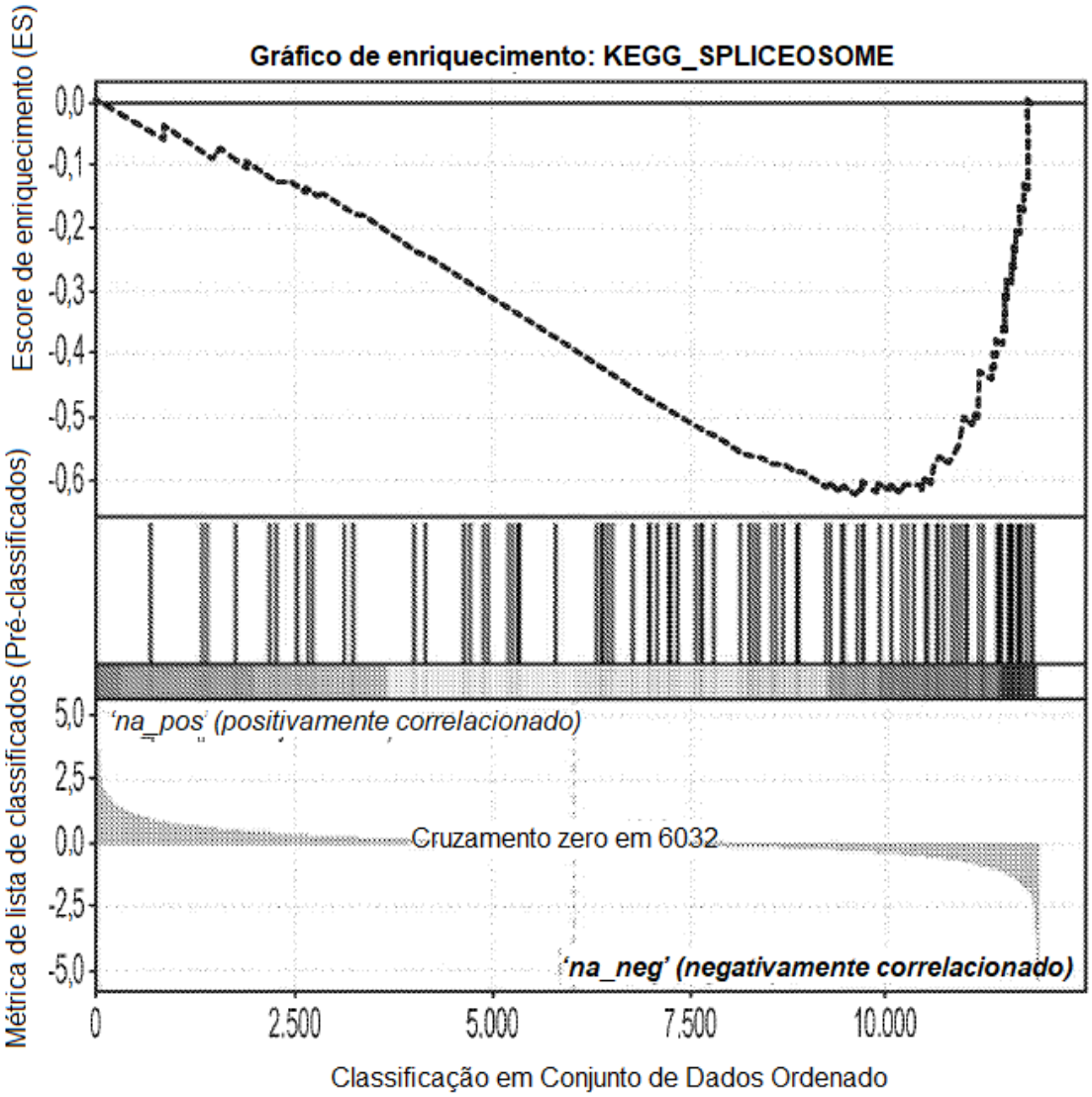
B



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
49	-2,388153	0	0

FIG. 56
(Continuação)

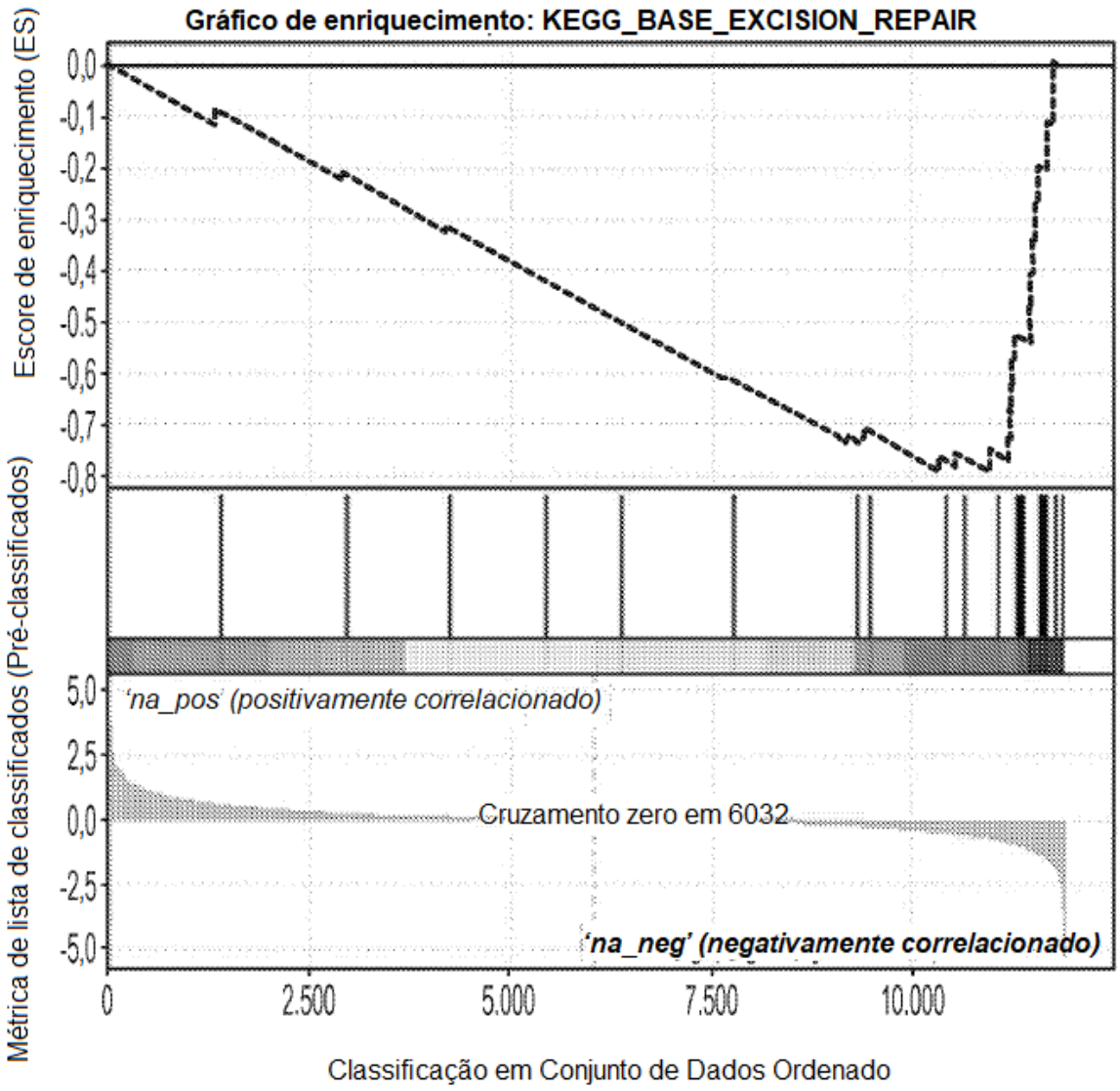
B



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
97	-2,1252491	0	0

FIG. 56
(Continuação)

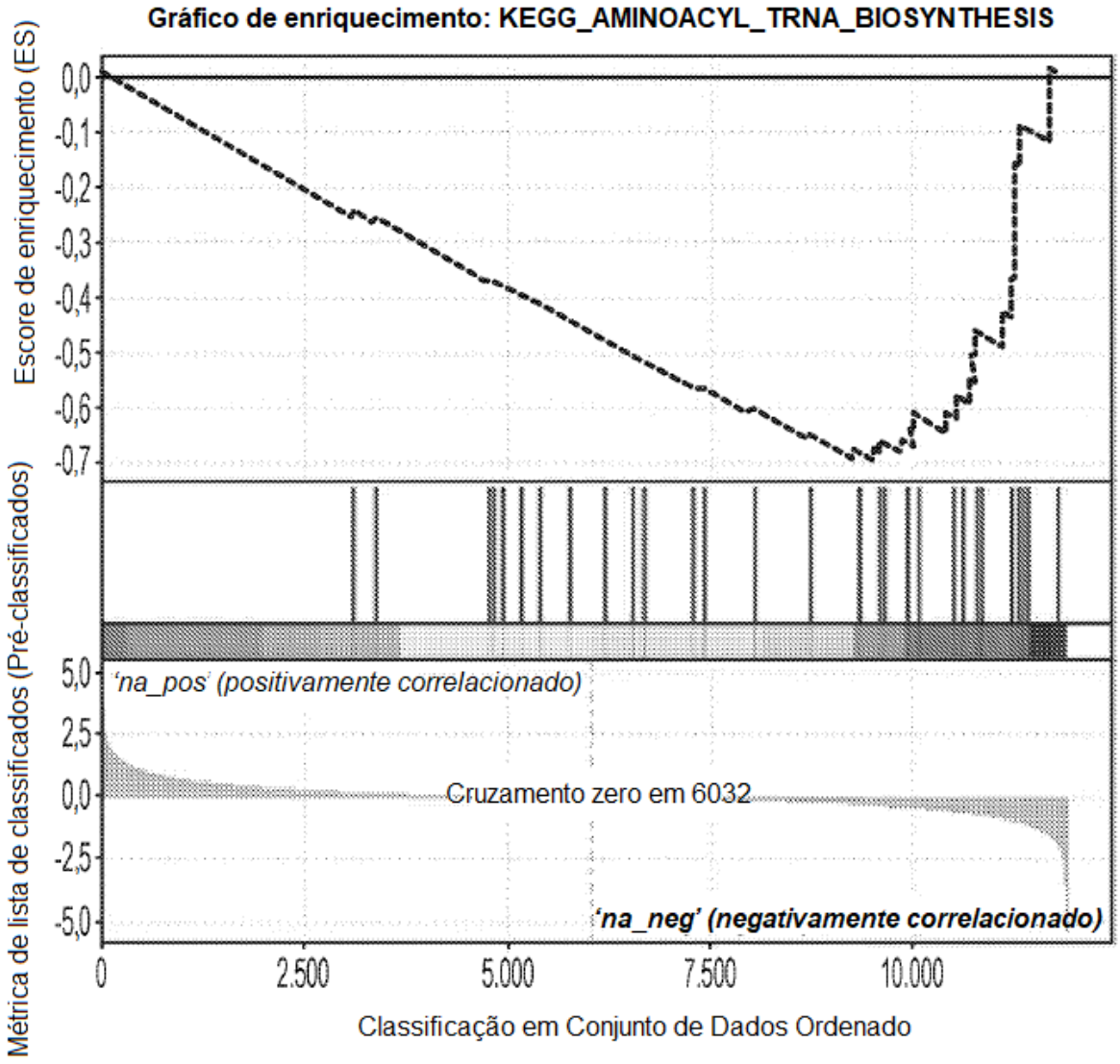
B



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
24	-2,066975	0	0

FIG. 56
(Continuação)

B



TAMANHO	NES	Valor p de NOM	Valor q de FDR
37	-1,9937093	0	1,64E-04

FIG. 56
(Continuação)

B

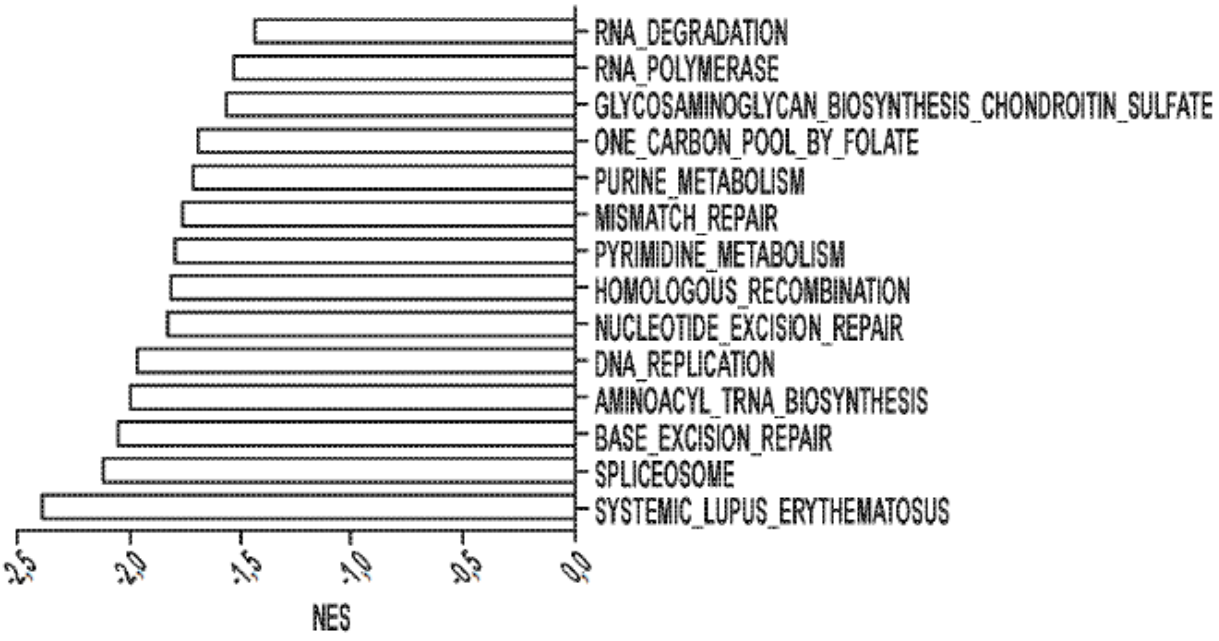


FIG. 56
(Continuação)

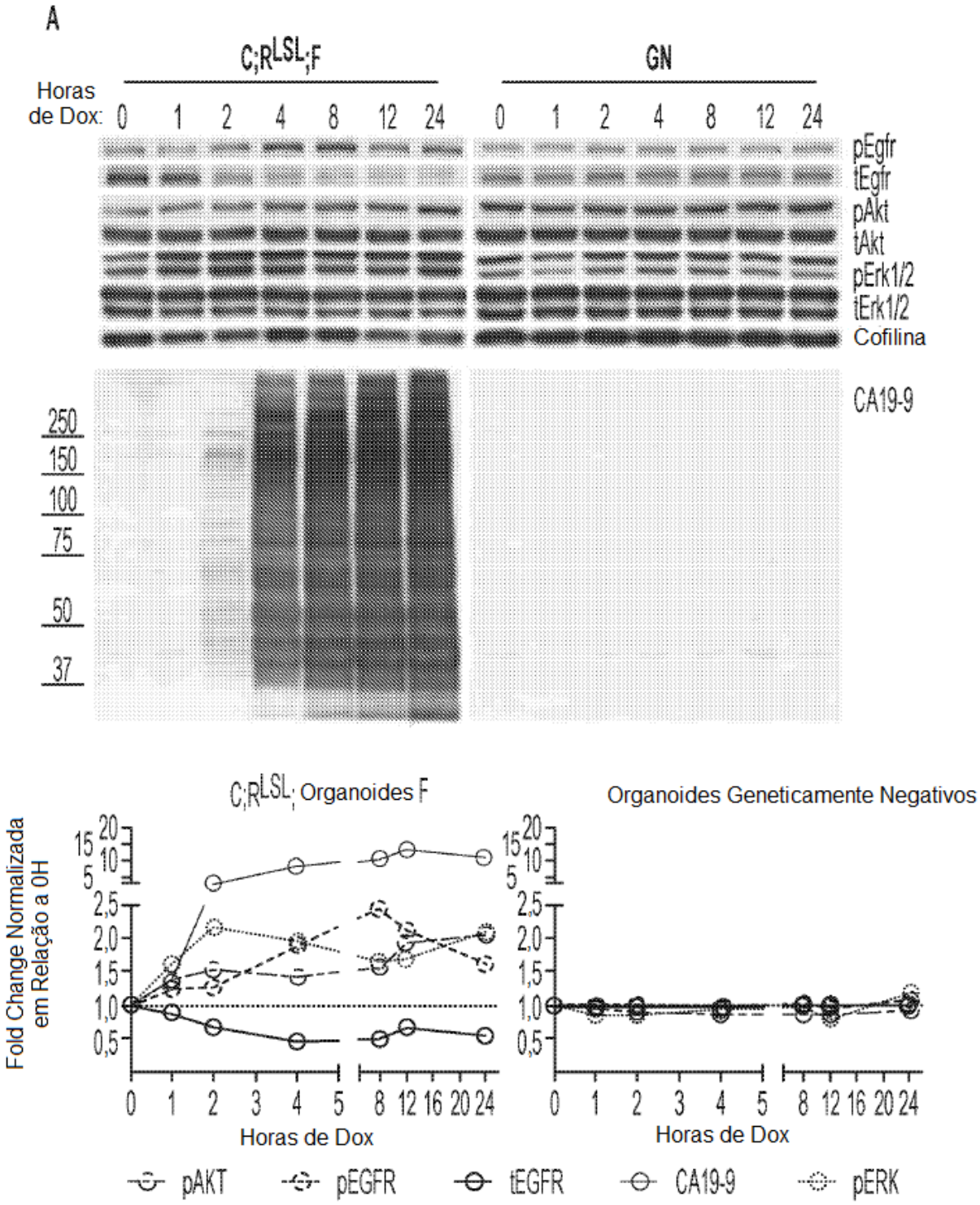

A
C;R^LSL;F
GN
Horas de Dox: 0 1 2 4 8 12 24 0 1 2 4 8 12 24
pEgfr
tEgfr
pAkt
tAkt
pErk1/2
tErk1/2
Cofilina
CA19-9
250
150
100
75
50
37
C;R^LSL; Organoides F
Organoides Geneticamente Negativos
Fold Change Normalizada em Relação a 0H
Horas de Dox
Horas de Dox
pAKT
pEGFR
tEGFR
CA19-9
pERK

FIG. 57

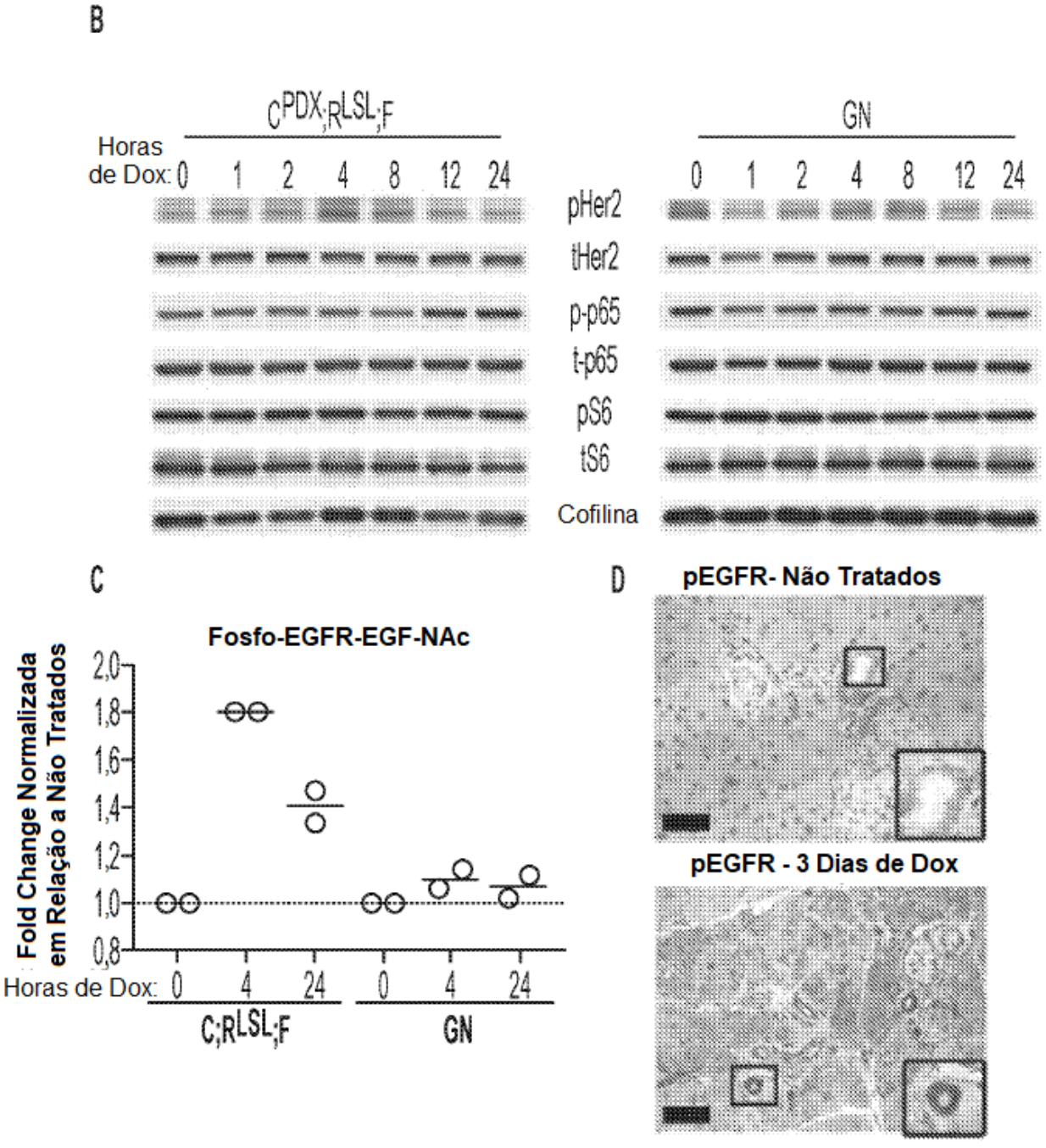


FIG. 57
(Continuação)

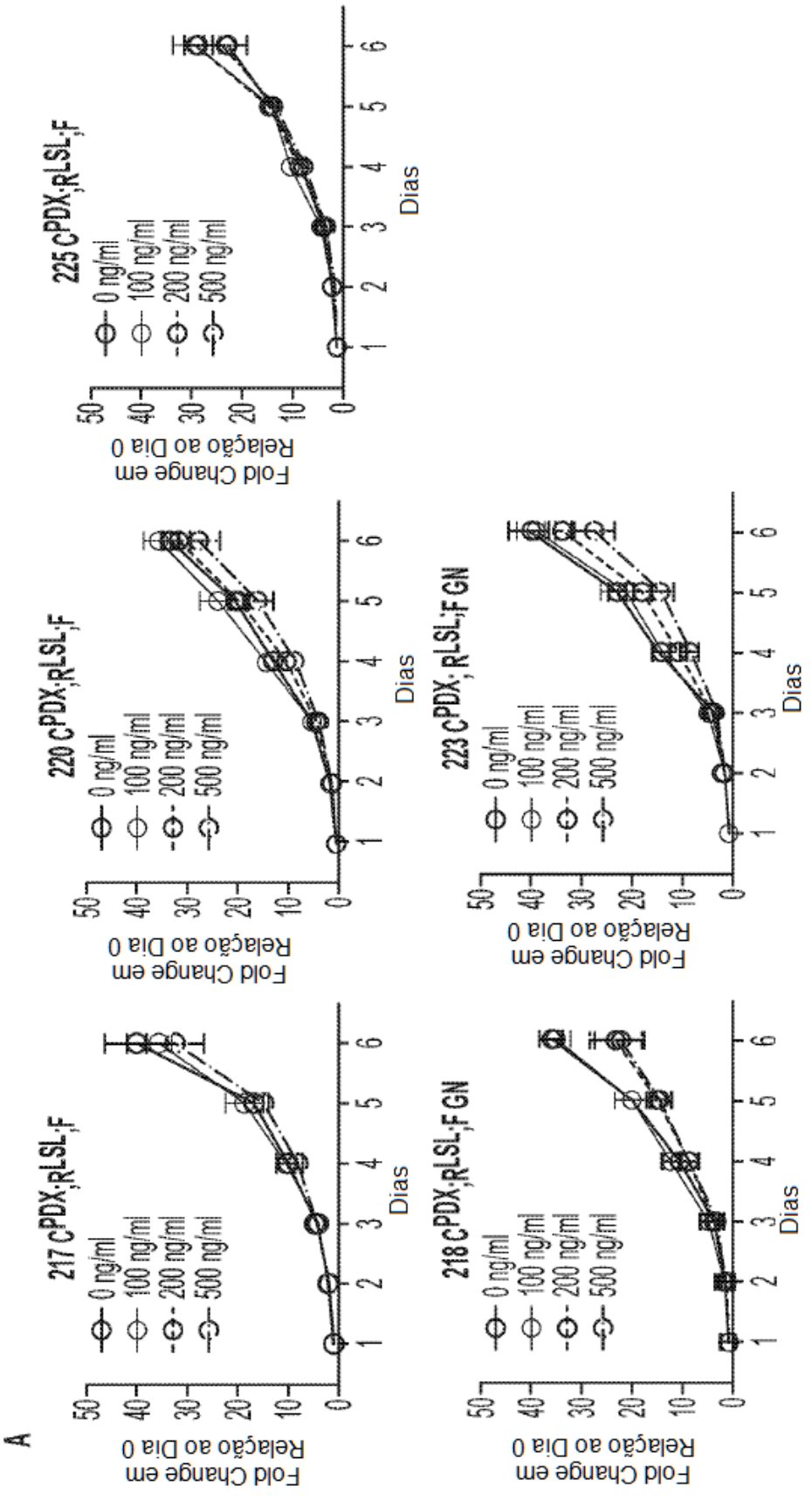

A
217 cPDX;RLSL;F
220 cPDX;RLSL;F
223 cPDX; RLSL;F GN
225 cPDX;RLSL;F
218 cPDX;RLSL;F GN
0 ng/ml
100 ng/ml
200 ng/ml
500 ng/ml
Fold Change em Relação ao Dia 0
Dias

FIG. 58

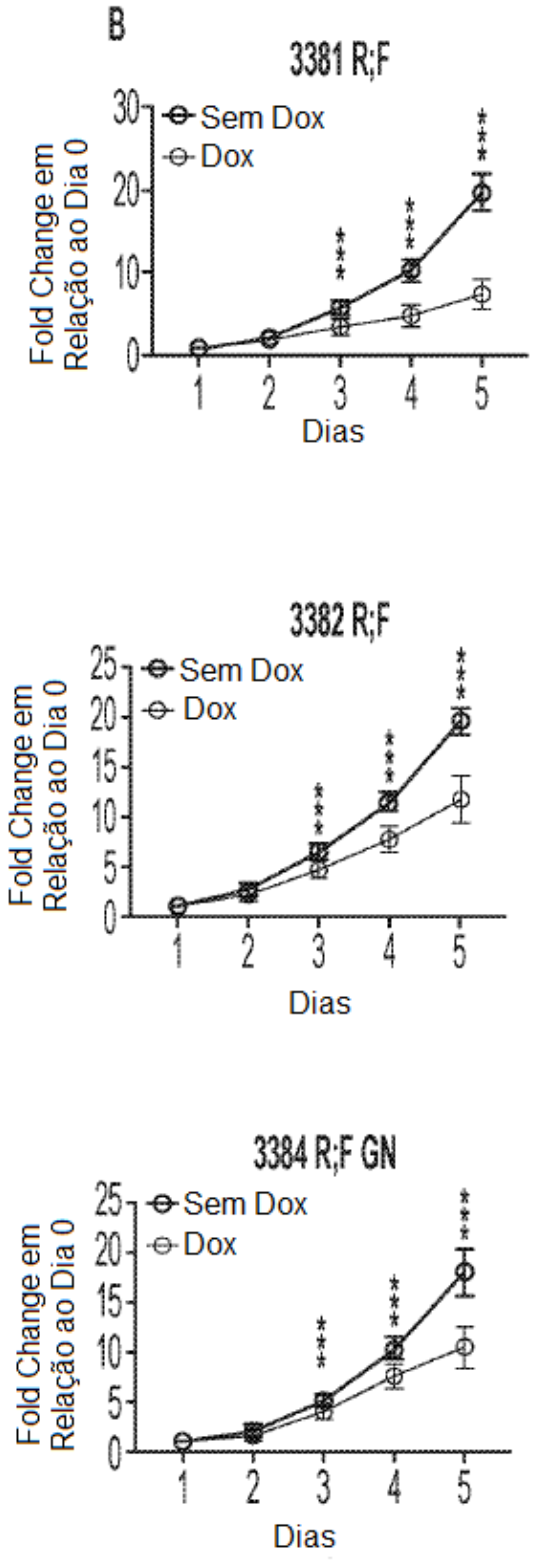


FIG. 58 (Continuação)

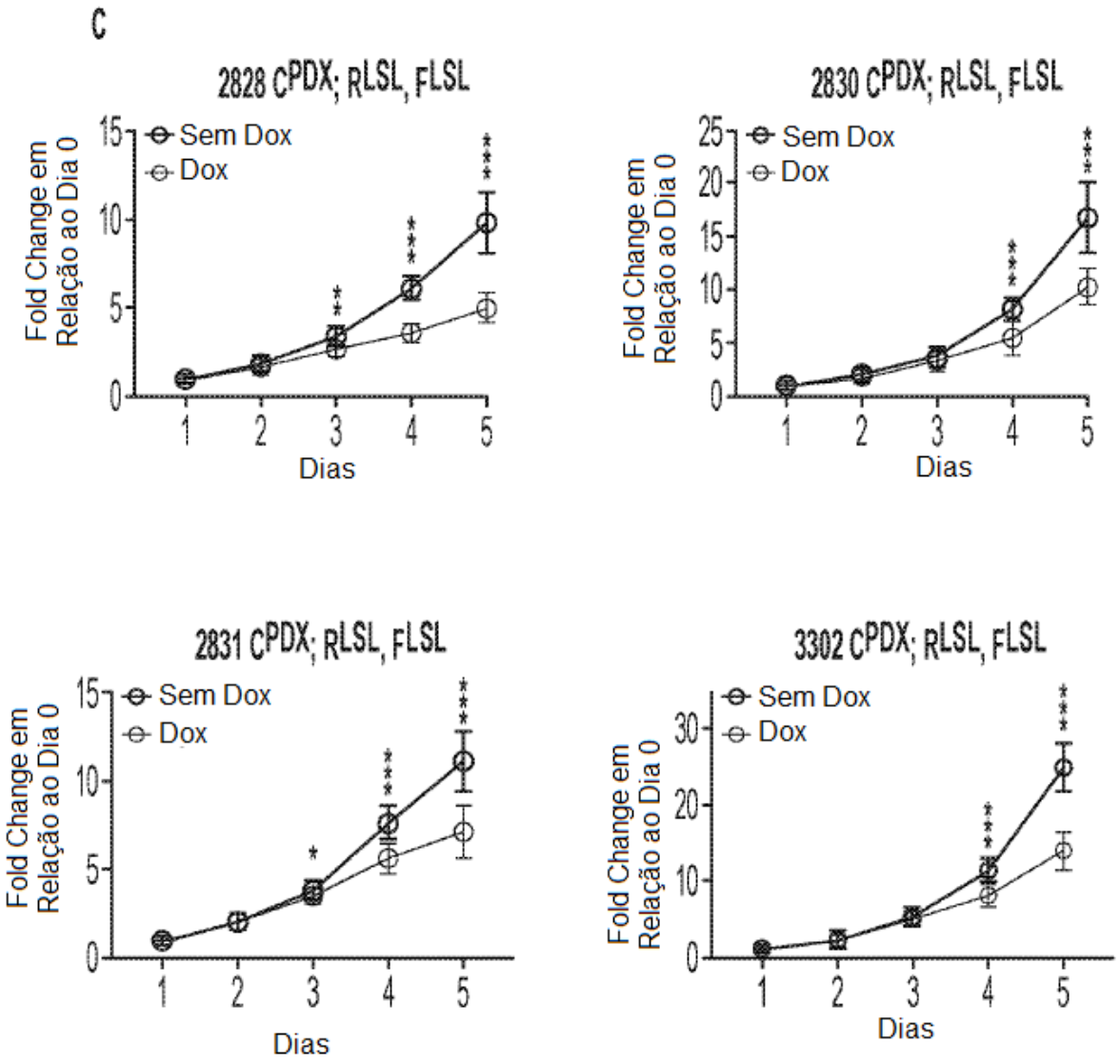
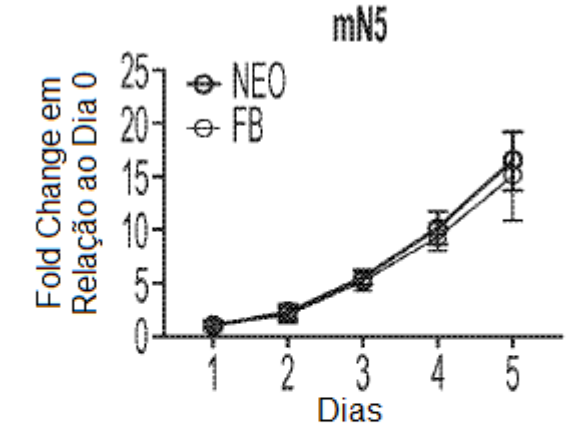
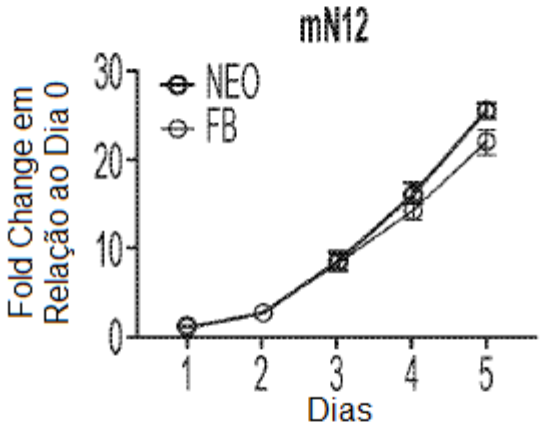


FIG. 58 (Continuação)

D





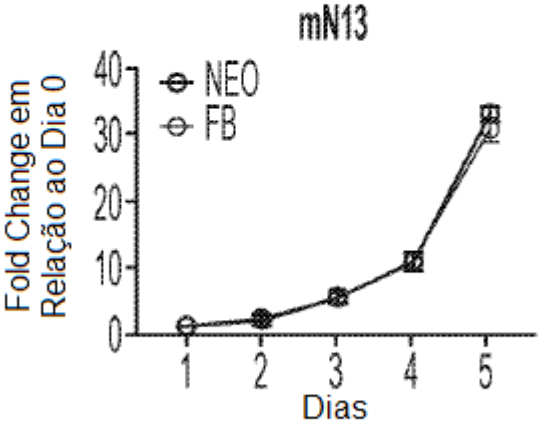


FIG. 58 (Continuação)

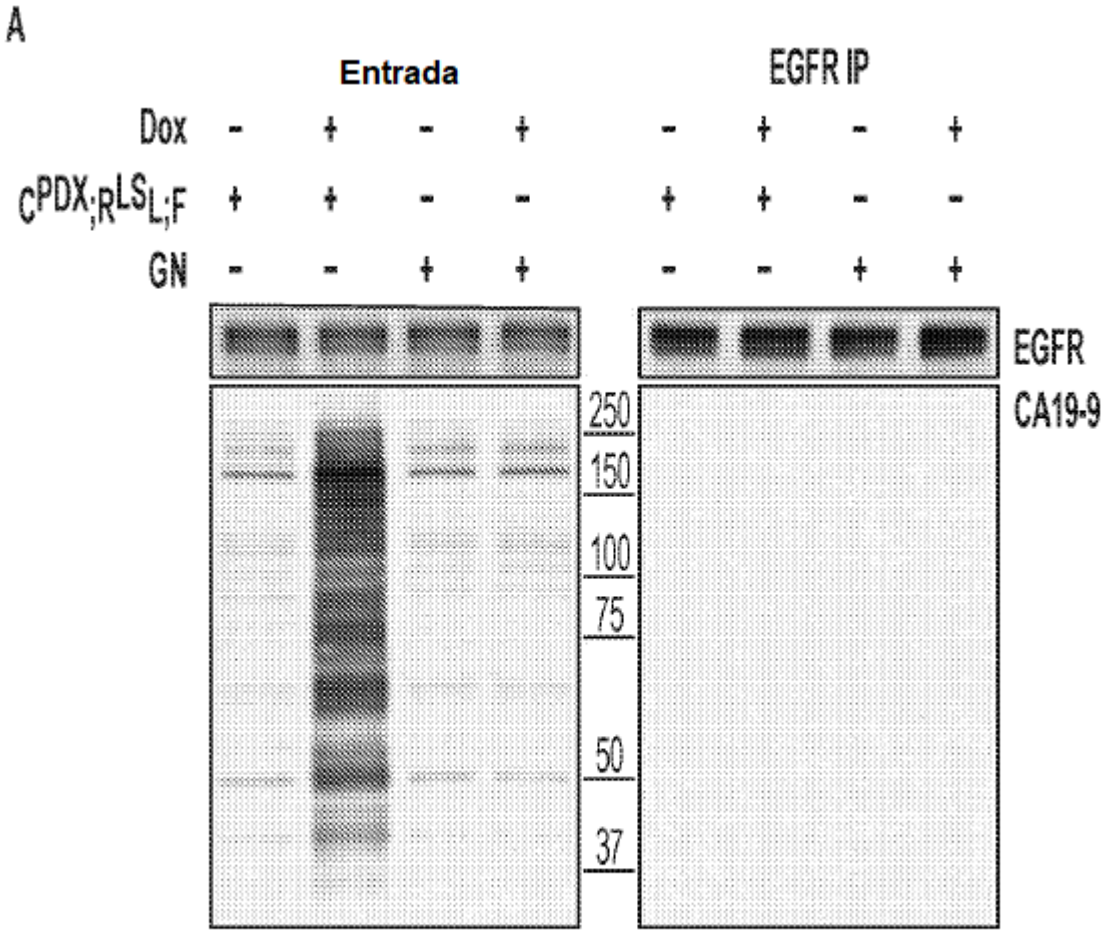
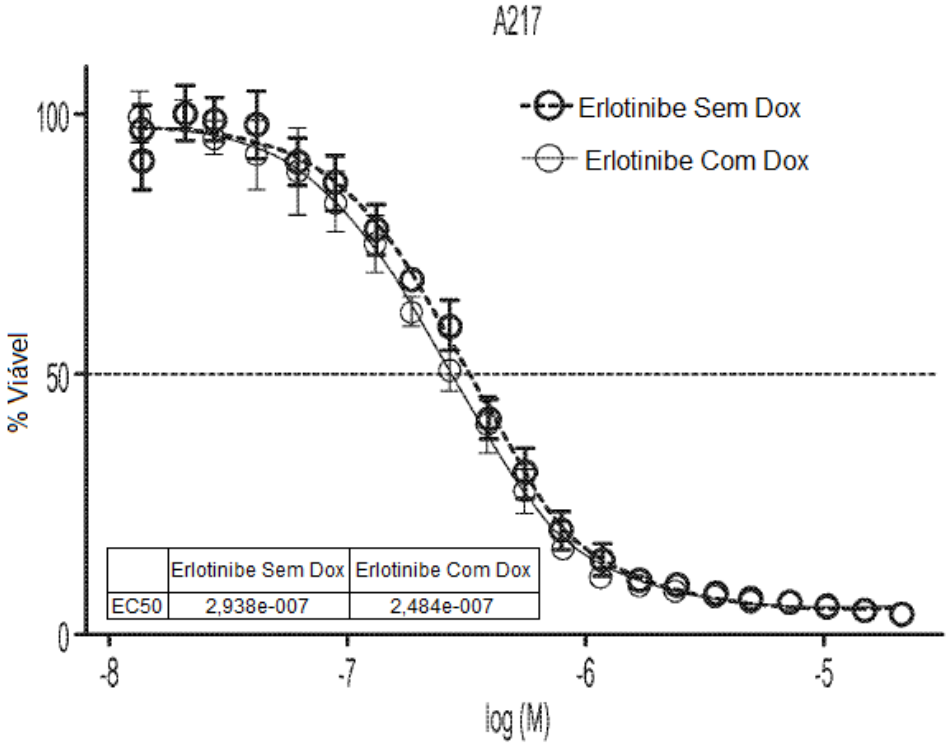

A
Entrada
EGFR IP
Dox
CPDX;RLSL;F
GN
EGFR
CA19-9
250
150
100
75
50
37

FIG. 59

B



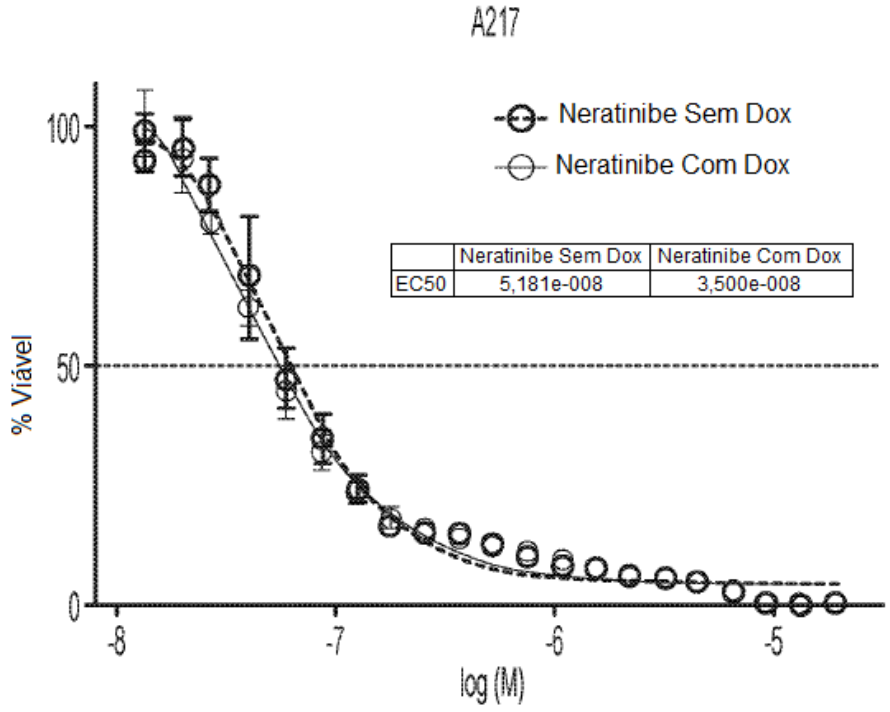


FIG. 59
(Continuação)

B

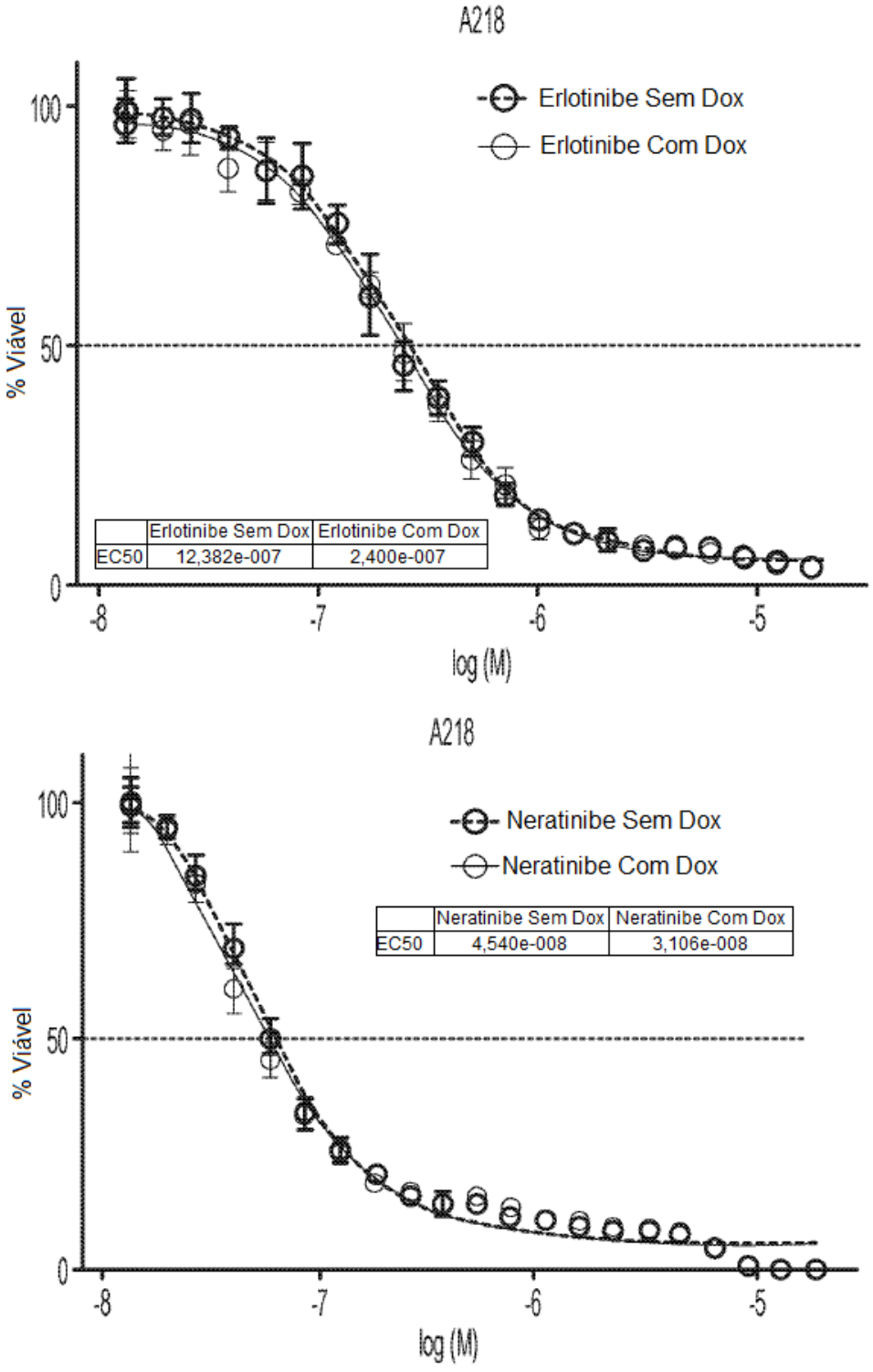


FIG. 59
(Continuação)

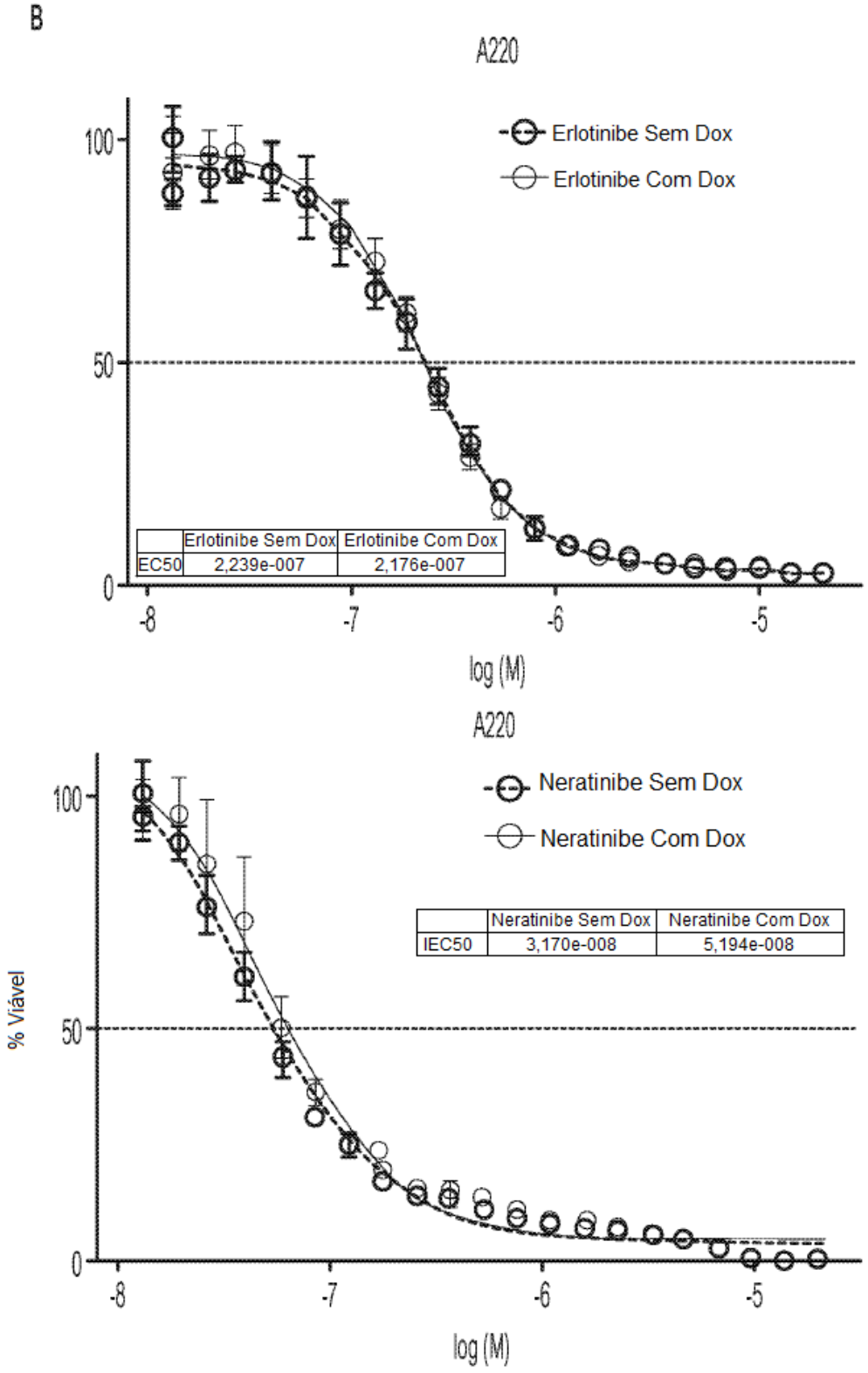


FIG. 59
(Continuação)

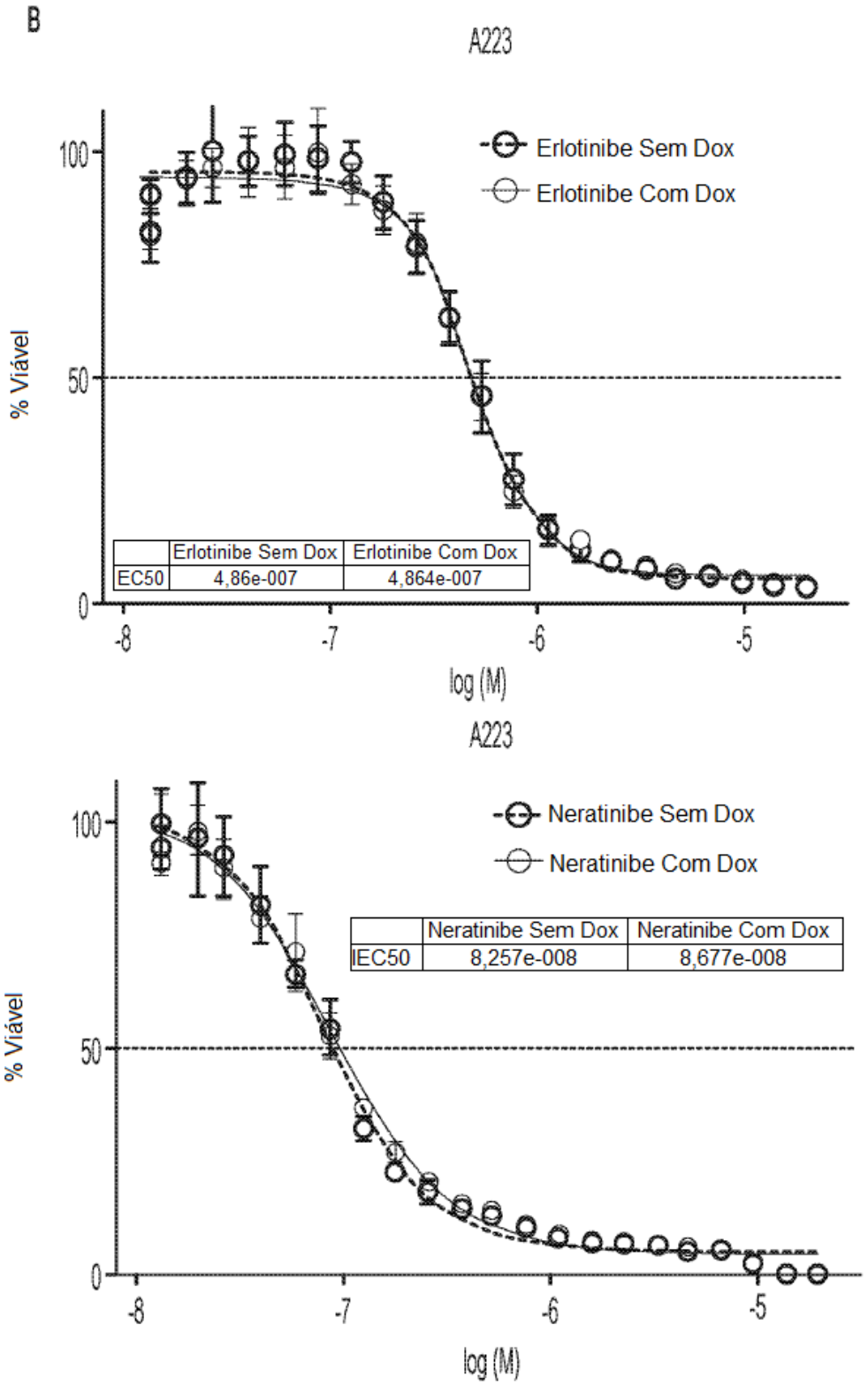


FIG. 59
(Continuação)

B

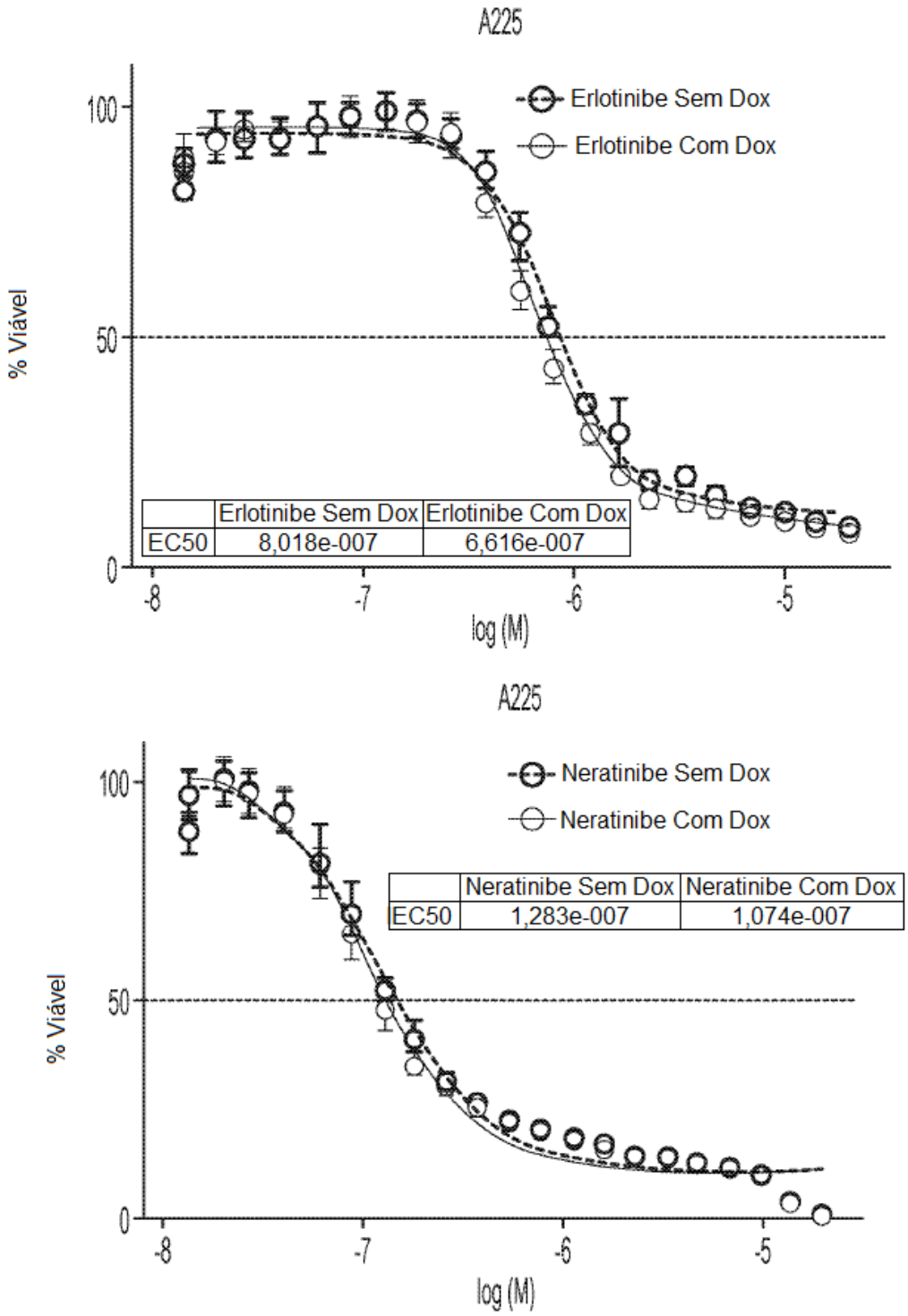


FIG. 59
(Continuação)

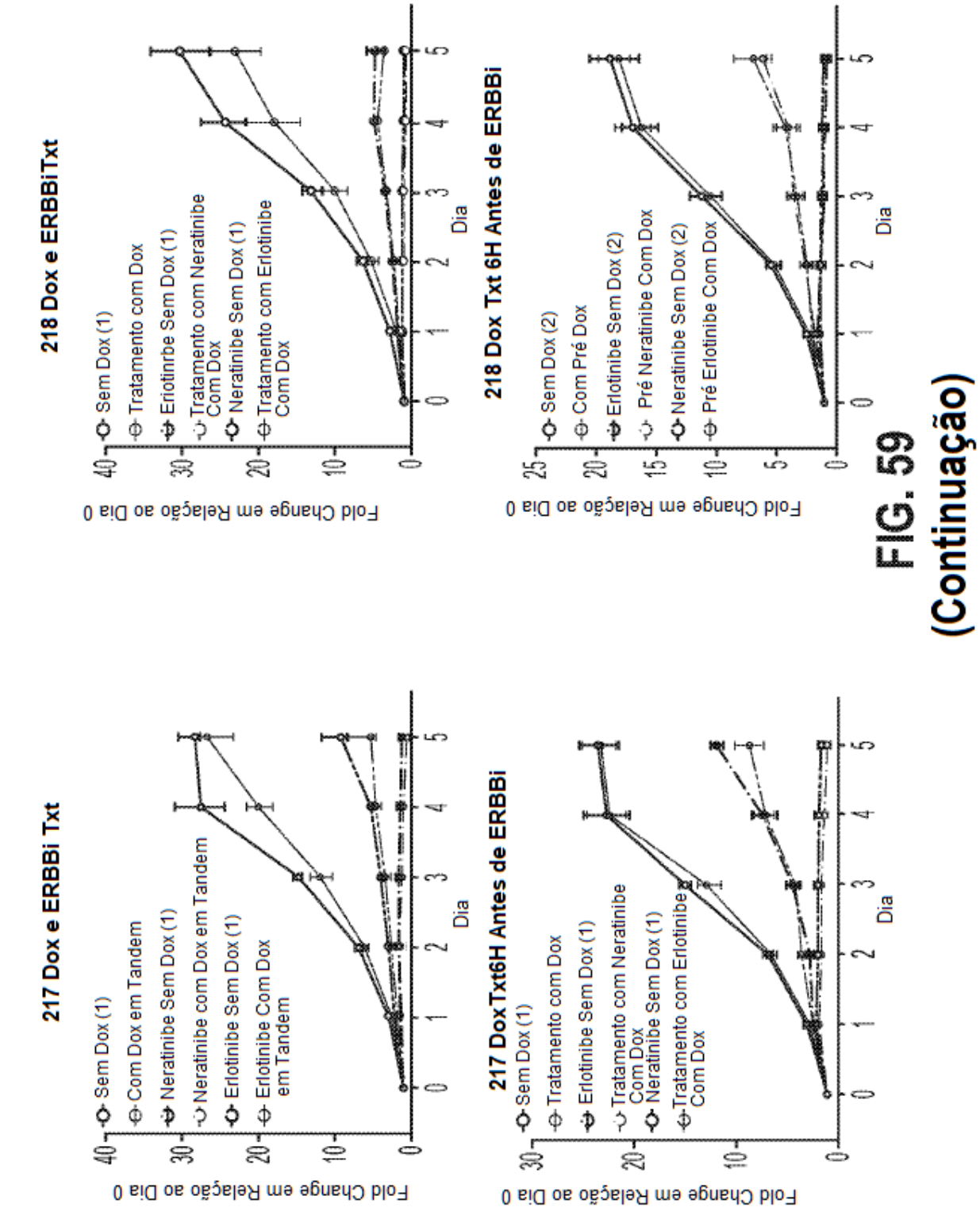


FIG. 59
(Continuação)

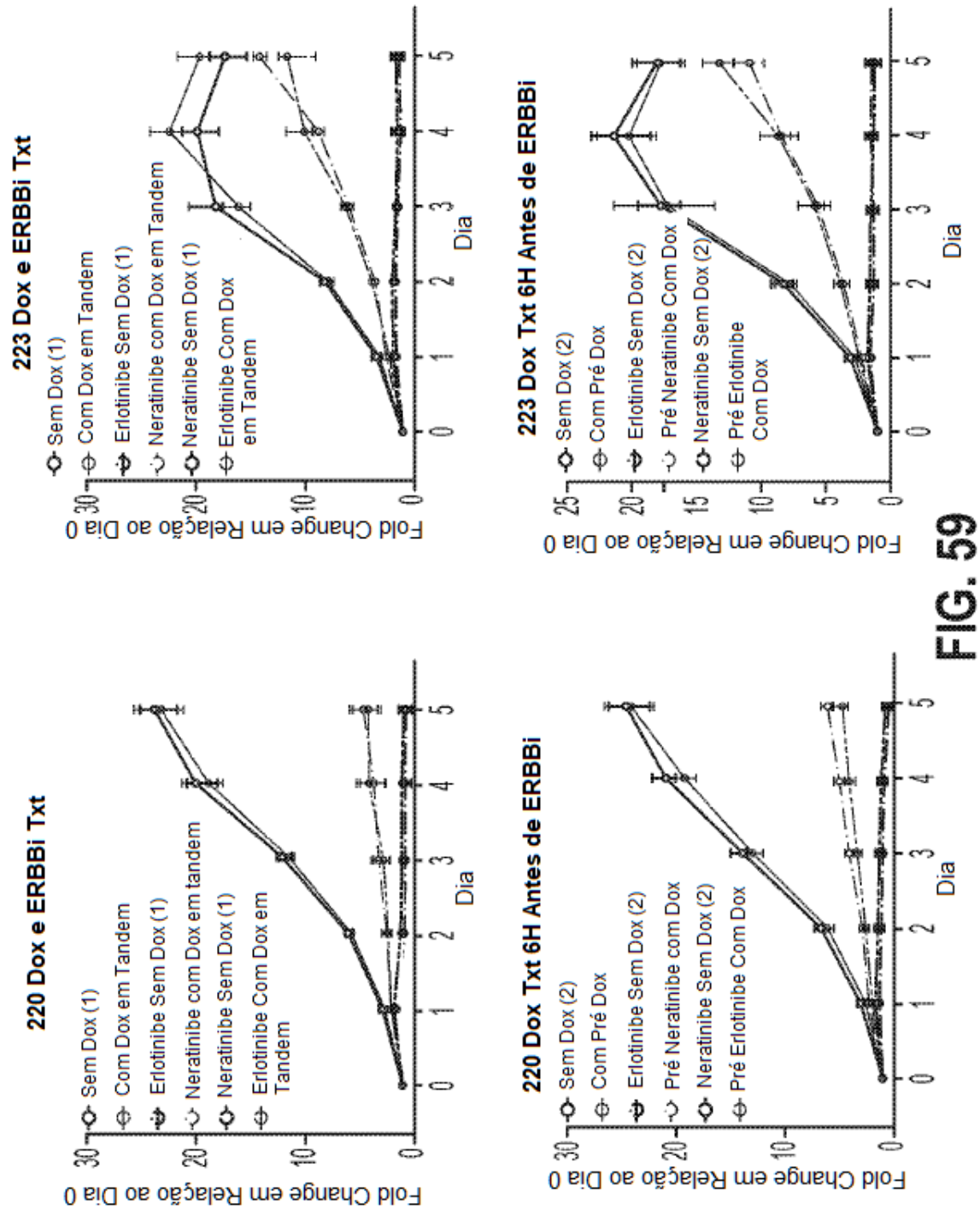


FIG. 59
(Continuação)

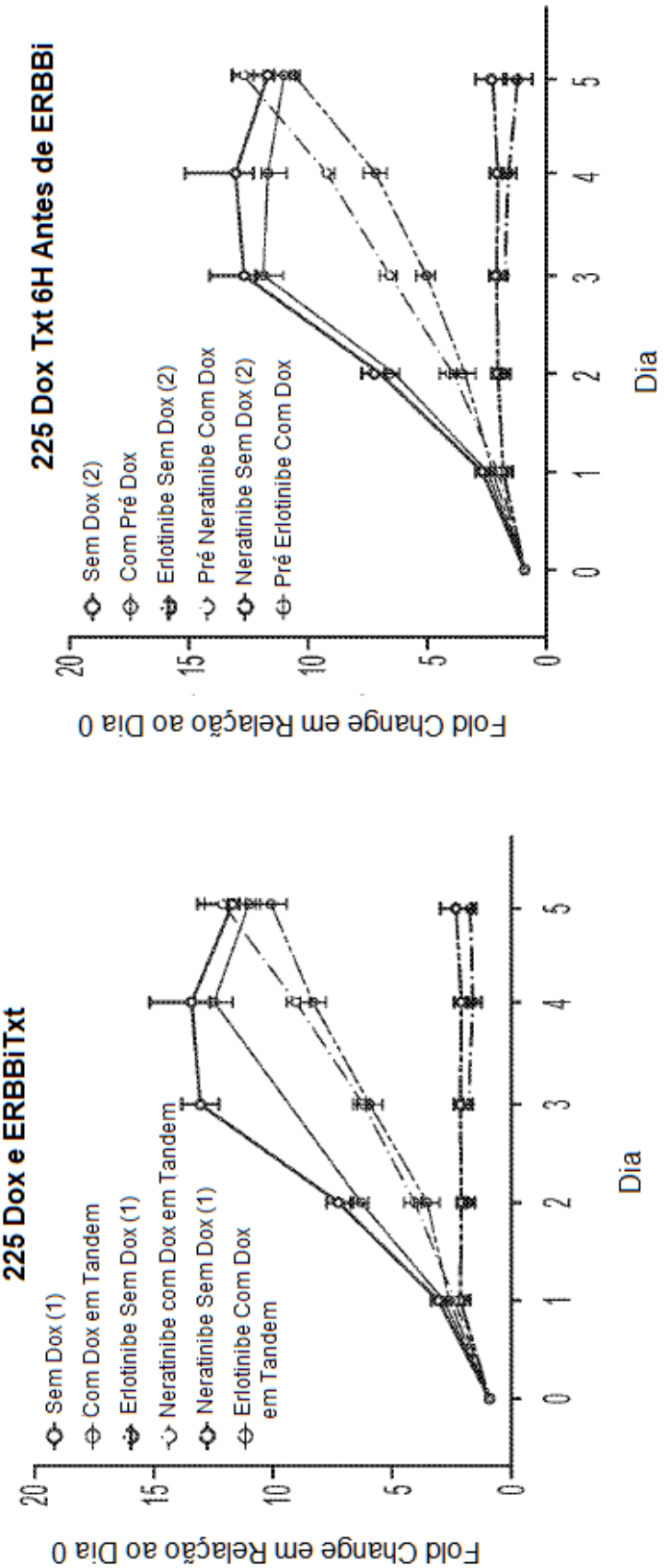


FIG. 59 (Continuação)

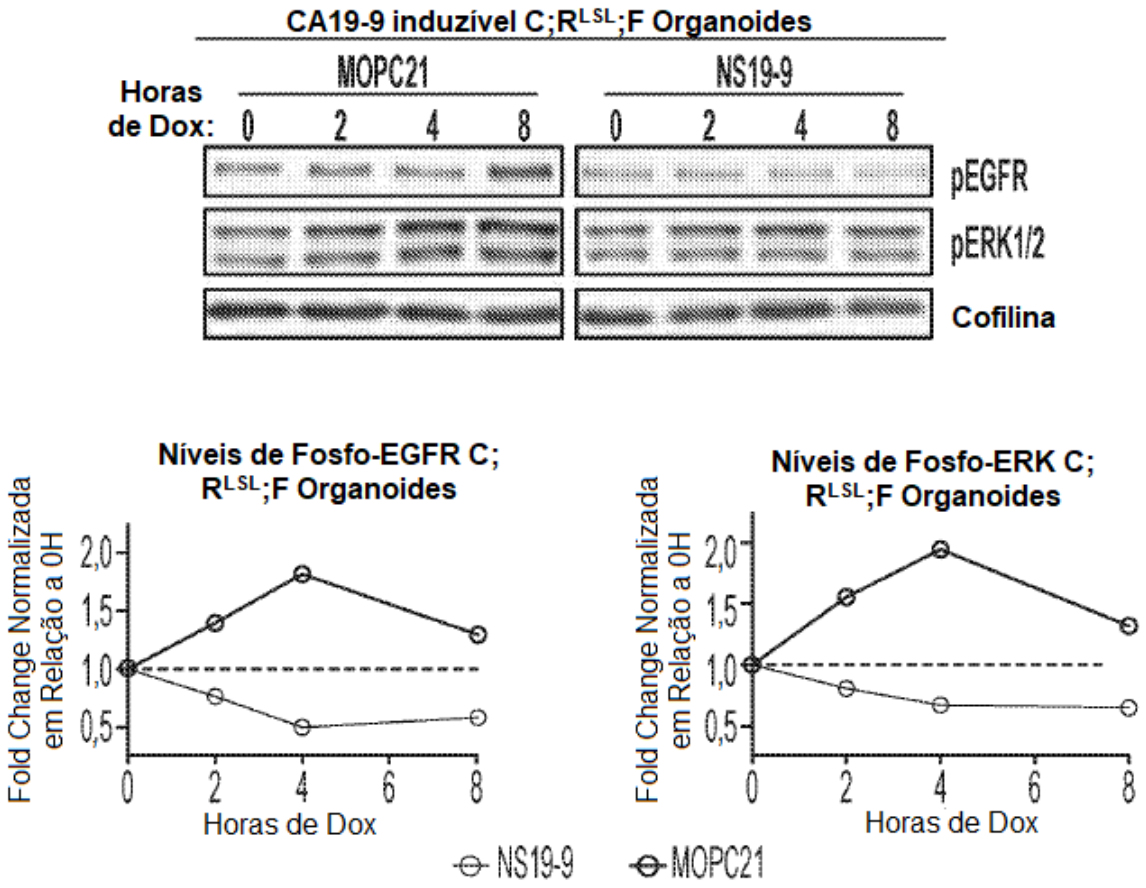

CA19-9 induzível C;R^LSL;F Organoides
MOPC21
NS19-9
Horas de Dox:
0
2
4
8
pEGFR
pERK1/2
Cofilina
Níveis de Fosfo-EGFR C; R^LSL;F Organoides
Fold Change Normalizada em Relação a 0H
2,0
1,5
1,0
0,5
0
2
4
6
8
Horas de Dox
NS19-9
MOPC21
Níveis de Fosfo-ERK C; R^LSL;F Organoides
Fold Change Normalizada em Relação a 0H
2,0
1,5
1,0
0,5
0
2
4
6
8
Horas de Dox

FIG. 60

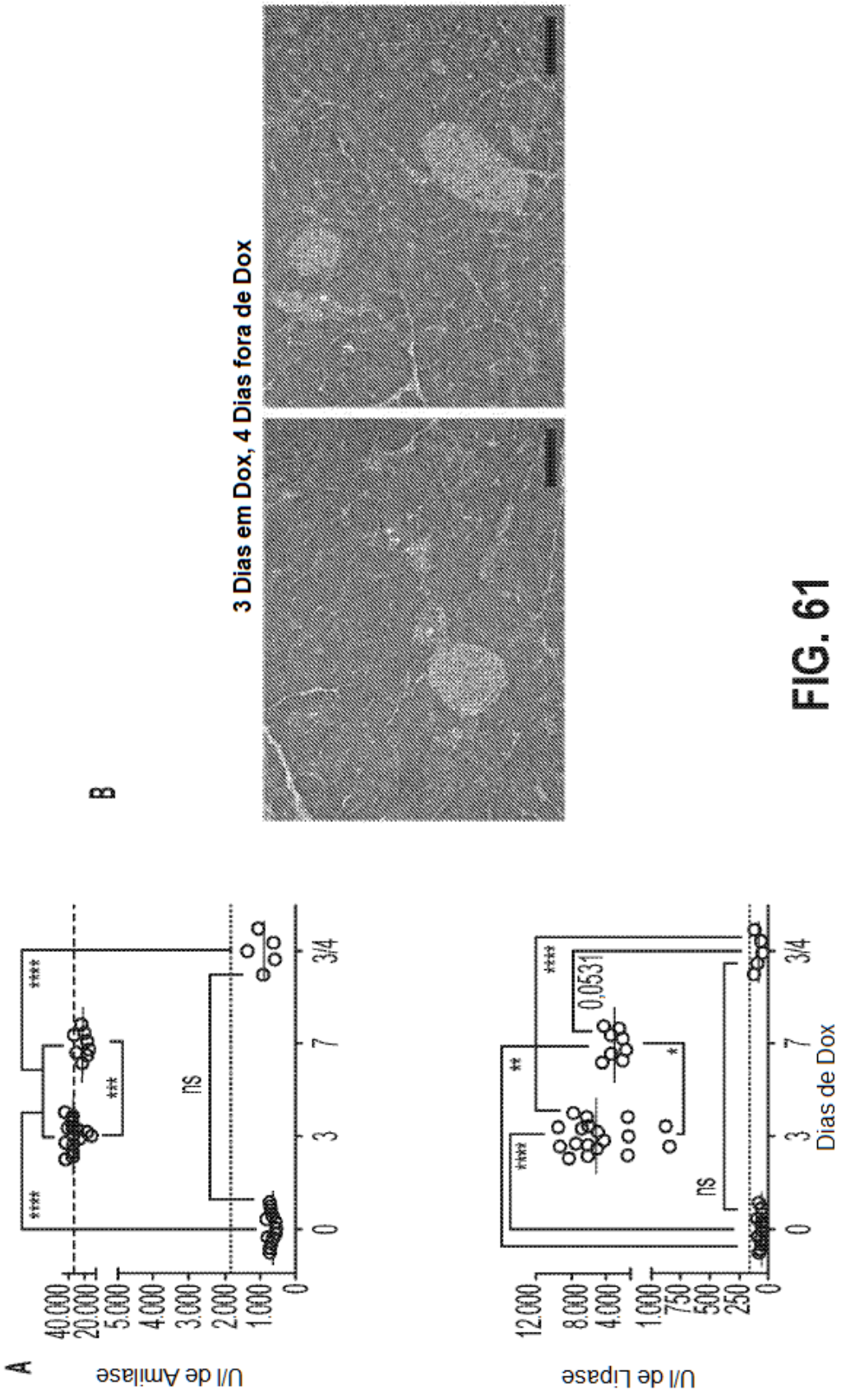

A
U/l de Amilase
40.000
20.000
5.000
4.000
3.000
2.000
1.000
0
****
***
ns
****
0
3
7
3/4
U/l de Lipase
12.000
8.000
4.000
1.000
750
500
250
0
****
**
*
ns
0,0531
****
0
3
7
3/4
Dias de Dox
B
3 Dias em Dox, 4 Dias fora de Dox

FIG. 61

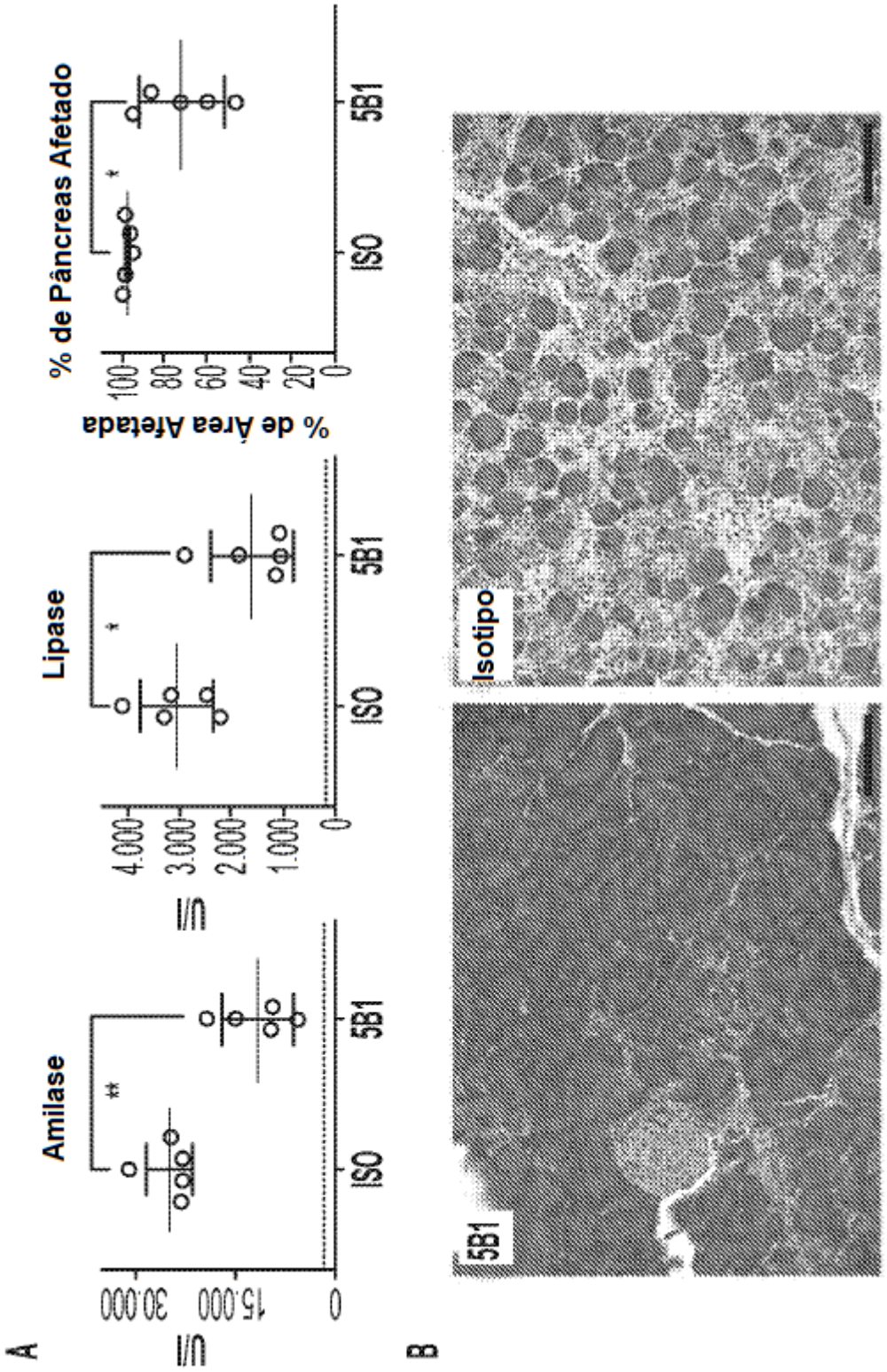

A
Amilase
U/l
30.000
15.000
0
ISO
5B1
**
Lipase
U/l
4.000
3.000
2.000
1.000
0
ISO
5B1
*
% de Área Afetada
100
80
60
40
20
0
ISO
5B1
*
% de Pâncreas Afetado
B
5B1
Isotipo

FIG. 62

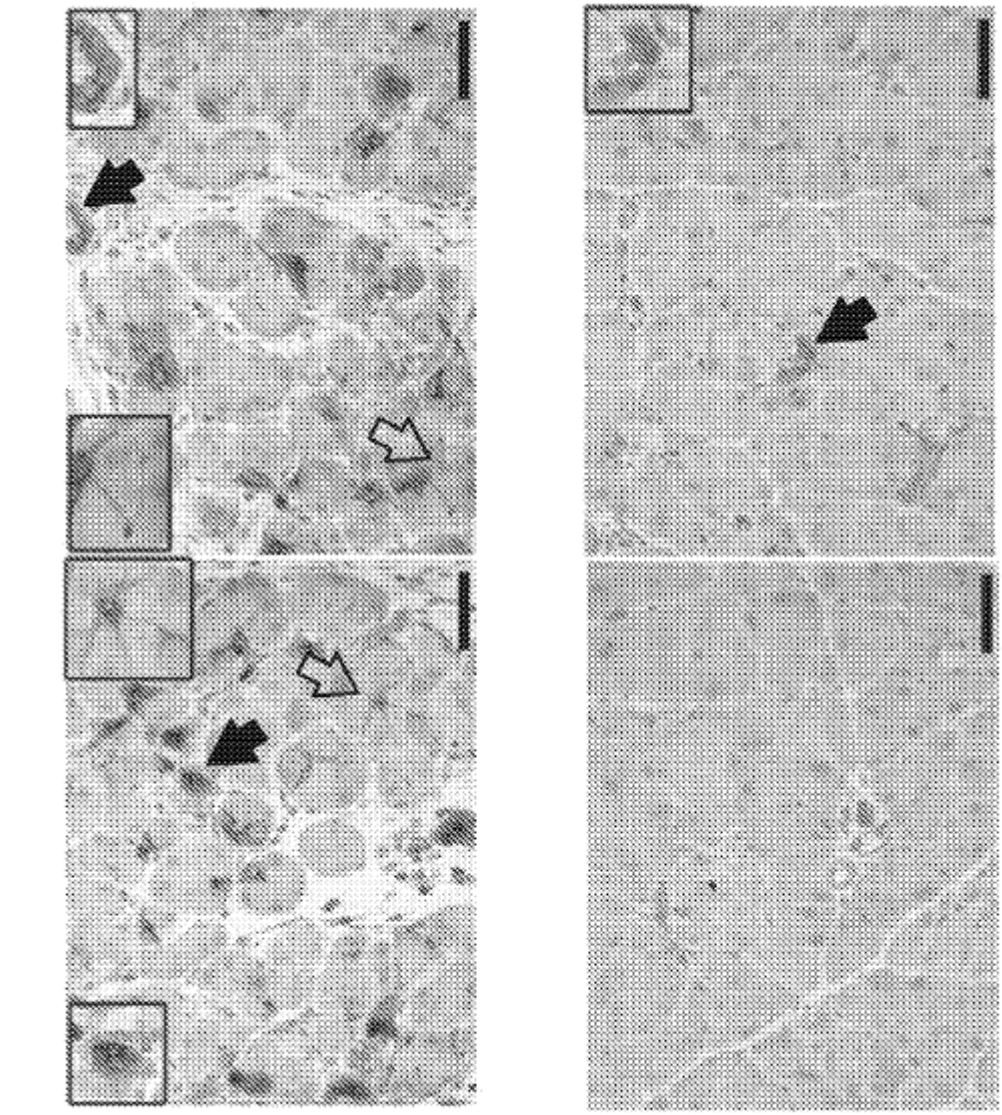


FIG. 62
(Continuação)

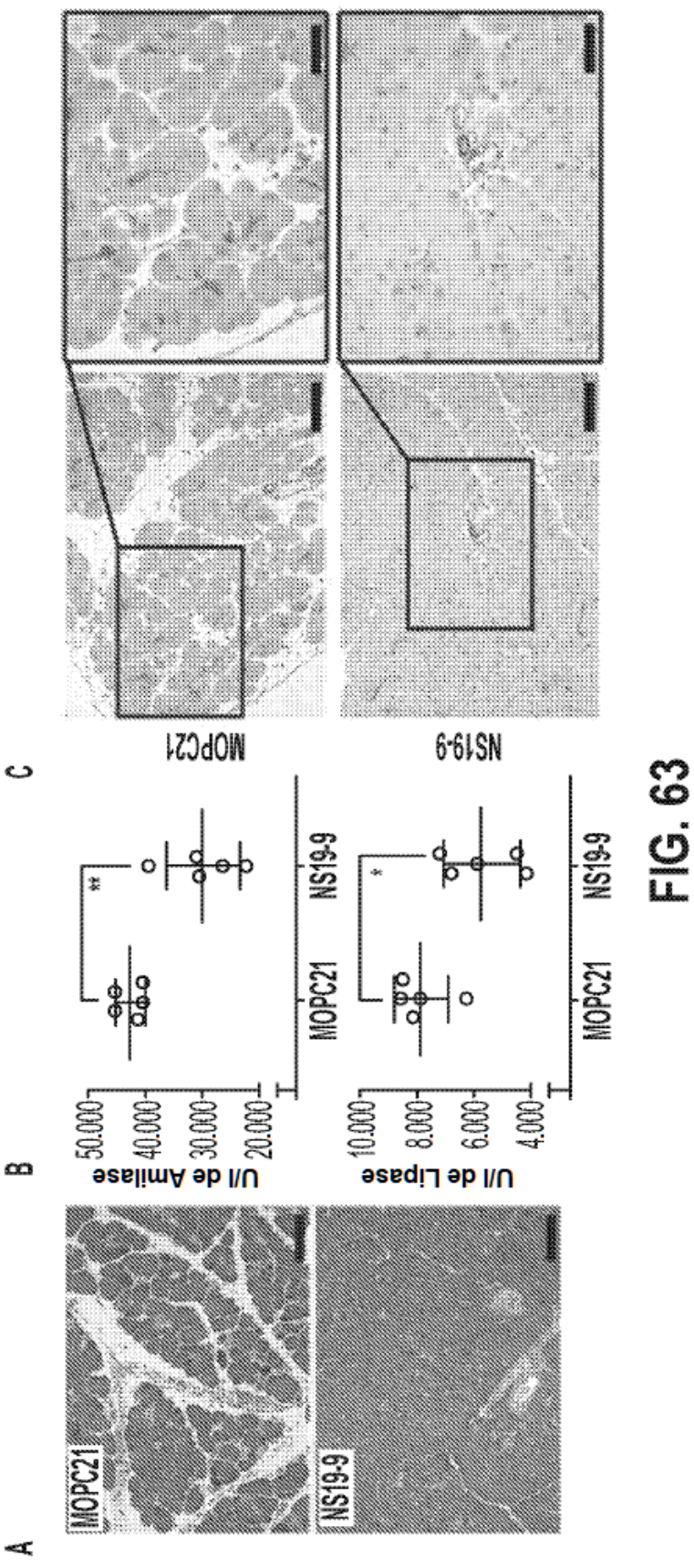

A
MOPC21
NS19-9
B
U/l de Amilase
50.000
40.000
30.000
20.000
**
MOPC21
NS19-9
U/l de Lipase
10.000
8.000
6.000
4.000
*
MOPC21
NS19-9
C
MOPC21
NS19-9

FIG. 63

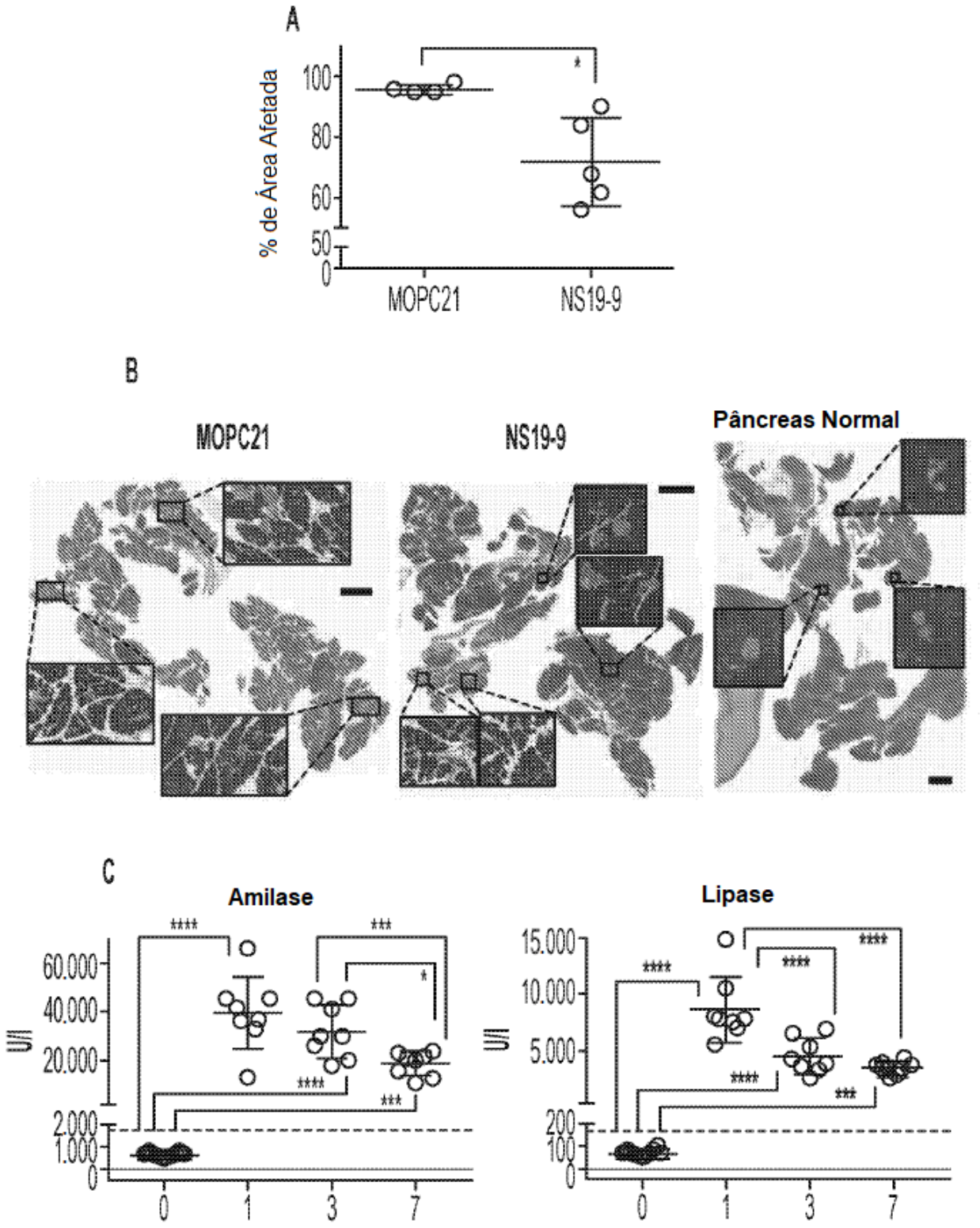

A
% de Área Afetada
100
80
60
50
0
MOPC21
NS19-9
*
B
MOPC21
NS19-9
Pâncreas Normal
C
Amilase
U/l
60.000
40.000
20.000
2.000
1.000
0
0
1
3
7
****
***
*
Lipase
U/l
15.000
10.000
5.000
200
100
0

FIG. 64

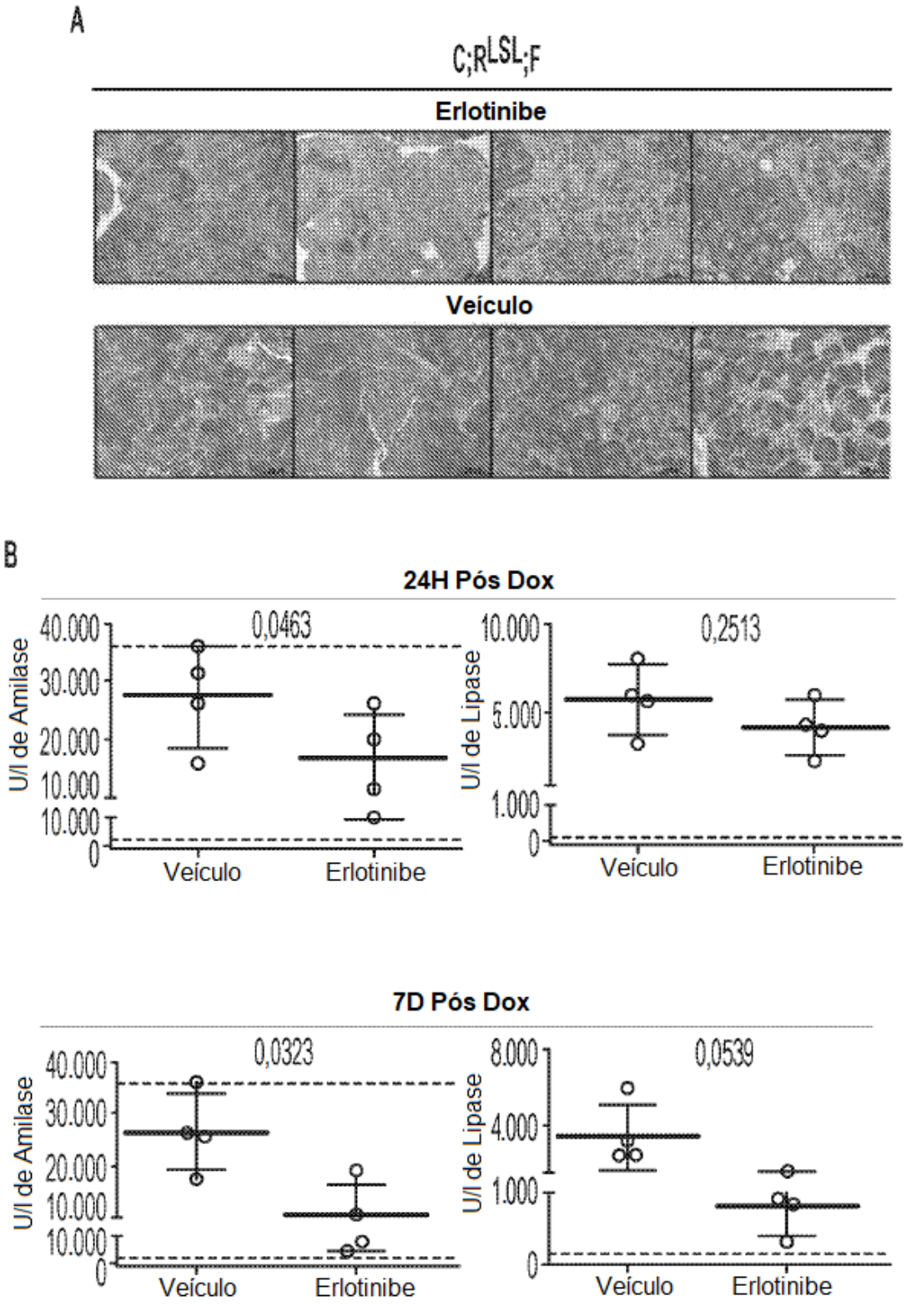

A
C;R^LSL;F
Erlotinibe
Veículo
B
24H Pós Dox
U/l de Amilase
40.000
30.000
20.000
10.000
10.000
0
0,0463
Veículo
Erlotinibe
U/l de Lipase
10.000
5.000
1.000
0
0,2513
Veículo
Erlotinibe
7D Pós Dox
U/l de Amilase
40.000
30.000
20.000
10.000
10.000
0
0,0323
Veículo
Erlotinibe
U/l de Lipase
8.000
4.000
1.000
0
0,0539
Veículo
Erlotinibe

FIG. 65

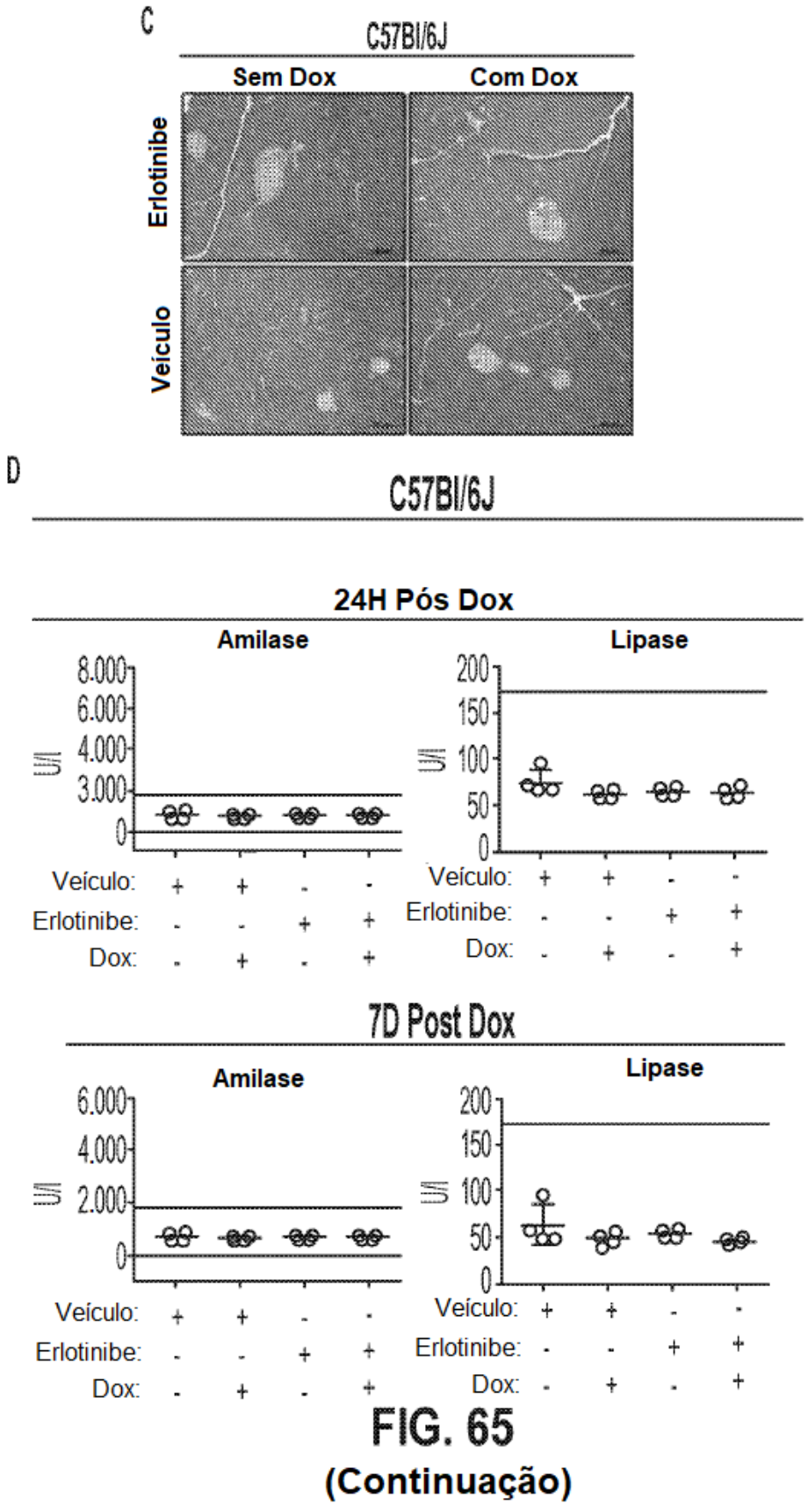


FIG. 65
(Continuação)

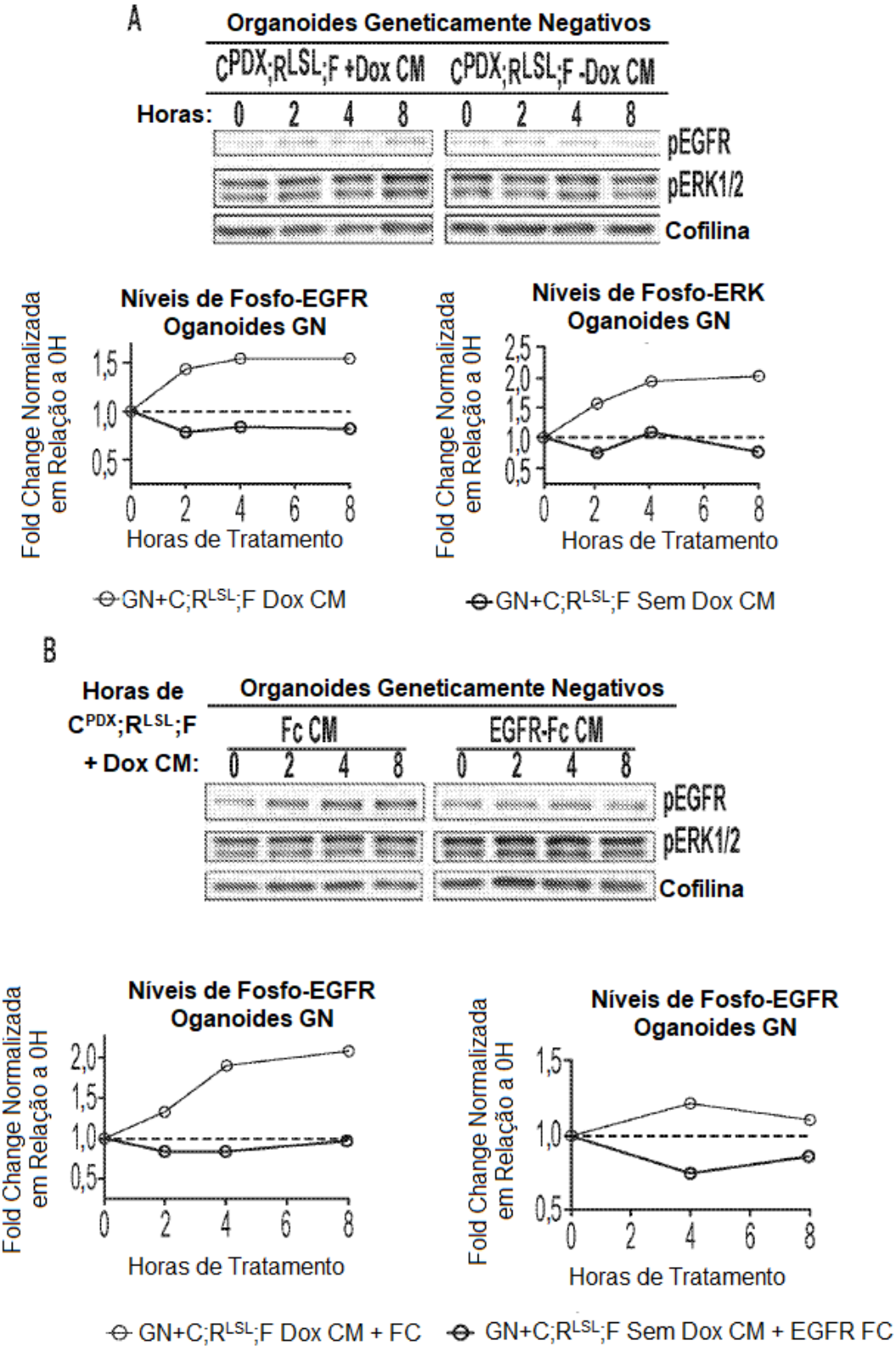
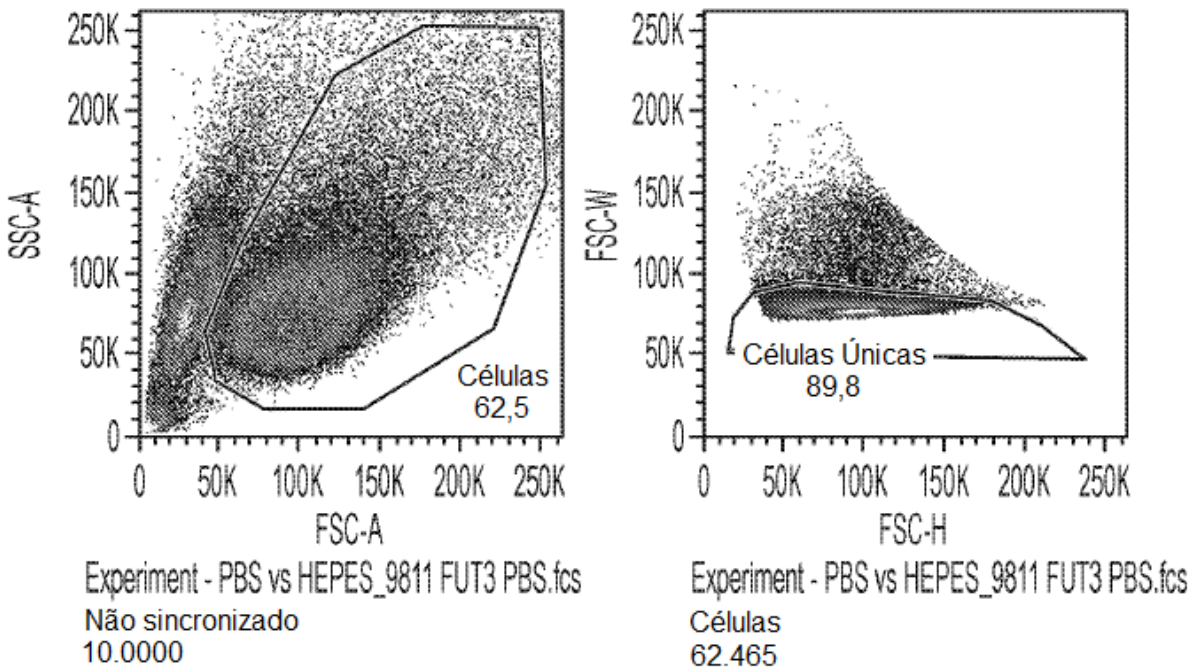

A
Organoides Geneticamente Negativos
CPDX;RLSL;F +Dox CM
CPDX;RLSL;F -Dox CM
Horas: 0 2 4 8 0 2 4 8
pEGFR
pERK1/2
Cofilina
Níveis de Fosfo-EGFR
Oganoides GN
Fold Change Normalizada em Relação a 0H
Horas de Tratamento
Níveis de Fosfo-ERK
Oganoides GN
GN+C;RLSL;F Dox CM
GN+C;RLSL;F Sem Dox CM
B
Horas de CPDX;RLSL;F + Dox CM:
Organoides Geneticamente Negativos
Fc CM
EGFR-Fc CM
Níveis de Fosfo-EGFR
Oganoides GN
GN+C;RLSL;F Dox CM + FC
GN+C;RLSL;F Sem Dox CM + EGFR FC

FIG. 66

A


SSC-A
250K
200K
150K
100K
50K
0
0
50K
100K
150K
200K
250K
FSC-A
Células
62,5
Experiment - PBS vs HEPES_9811 FUT3 PBS.fcs
Não sincronizado
10.0000
FSC-W
Células Únicas
89,8
FSC-H
Experiment - PBS vs HEPES_9811 FUT3 PBS.fcs
Células
62.465

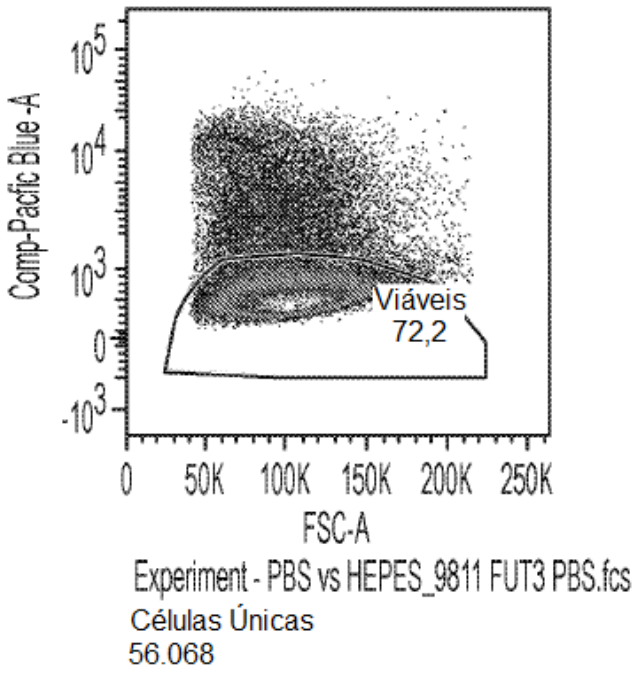

Comp-Pacific Blue -A
10^5
10^4
10^3
0
-10^3
0
50K
100K
150K
200K
250K
FSC-A
Viáveis
72,2
Experiment - PBS vs HEPES_9811 FUT3 PBS.fcs
Células Únicas
56.068

FIG. 67

B

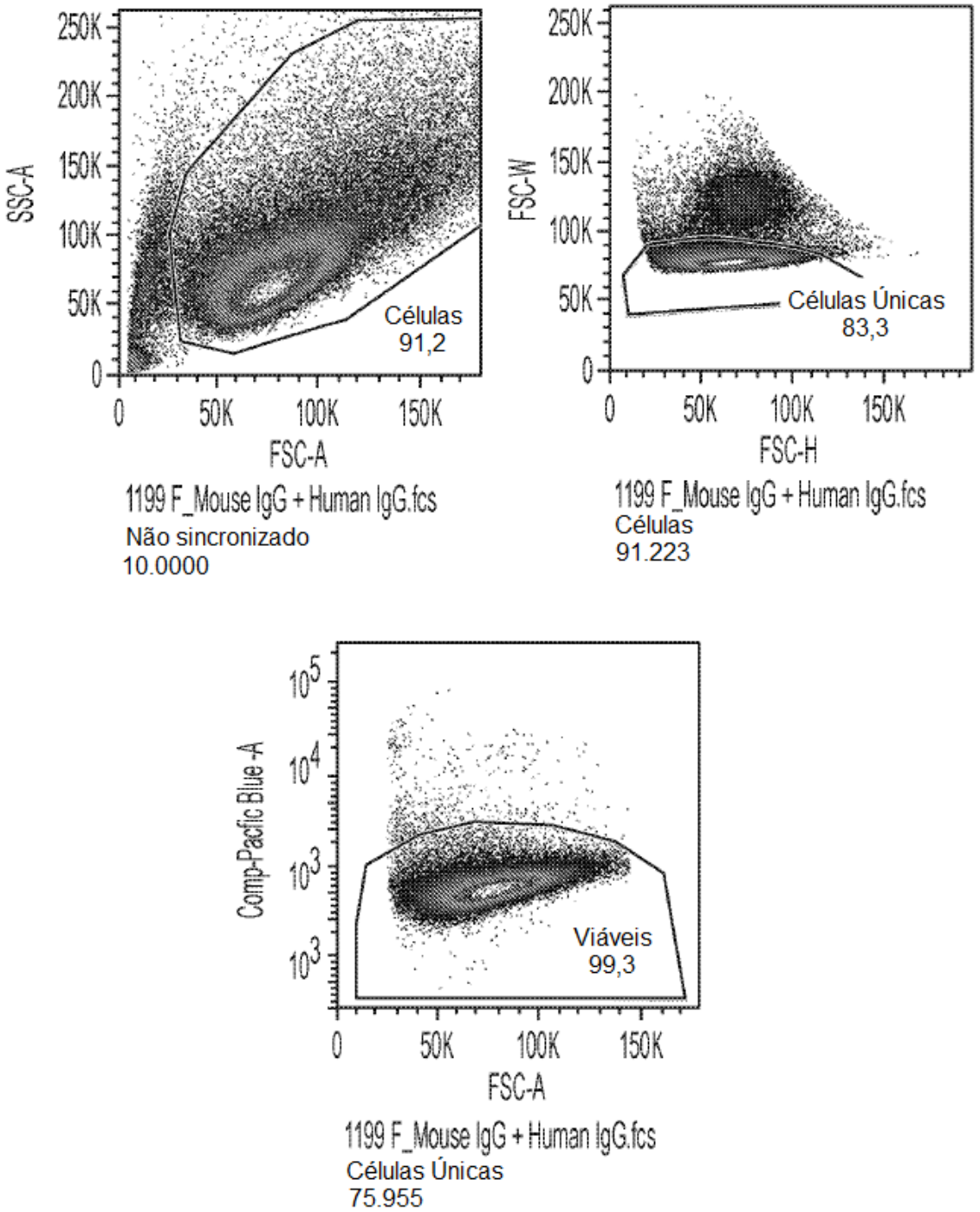


FIG. 67
(Continuação)

C

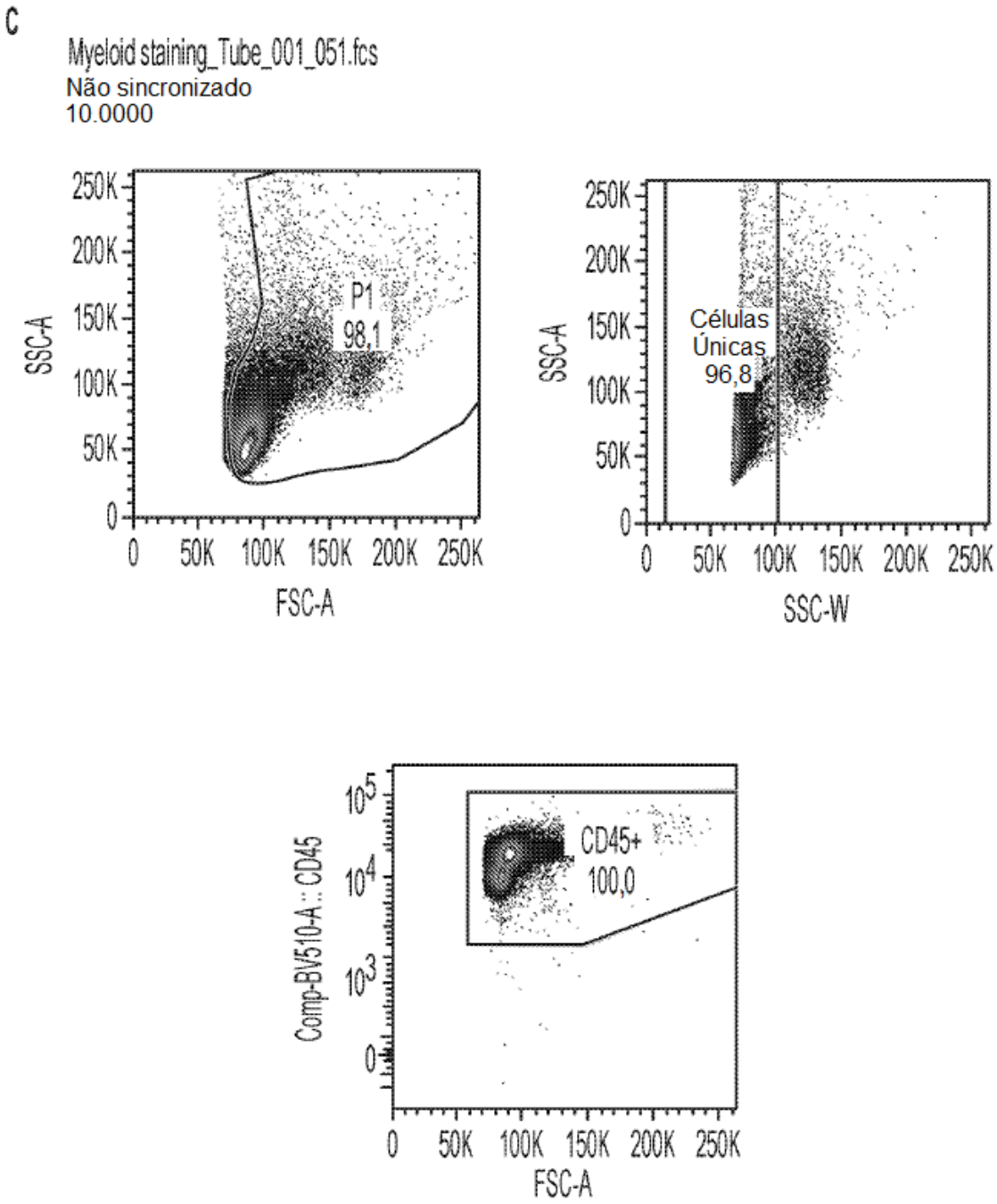
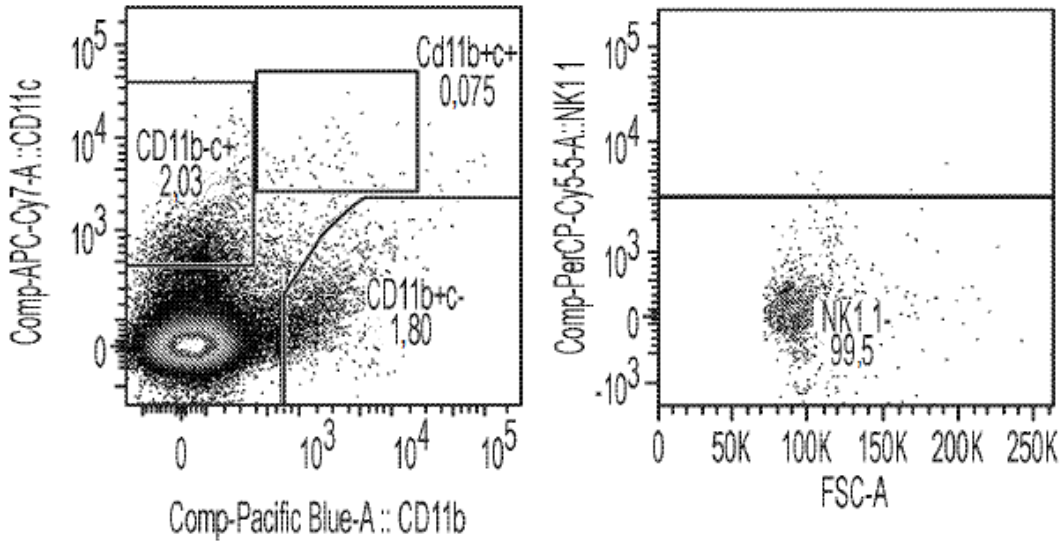


FIG. 67
(Continuação)

C



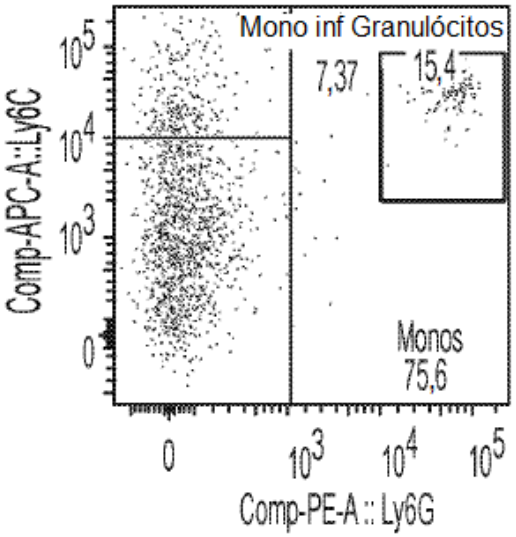


FIG. 67
(Continuação)

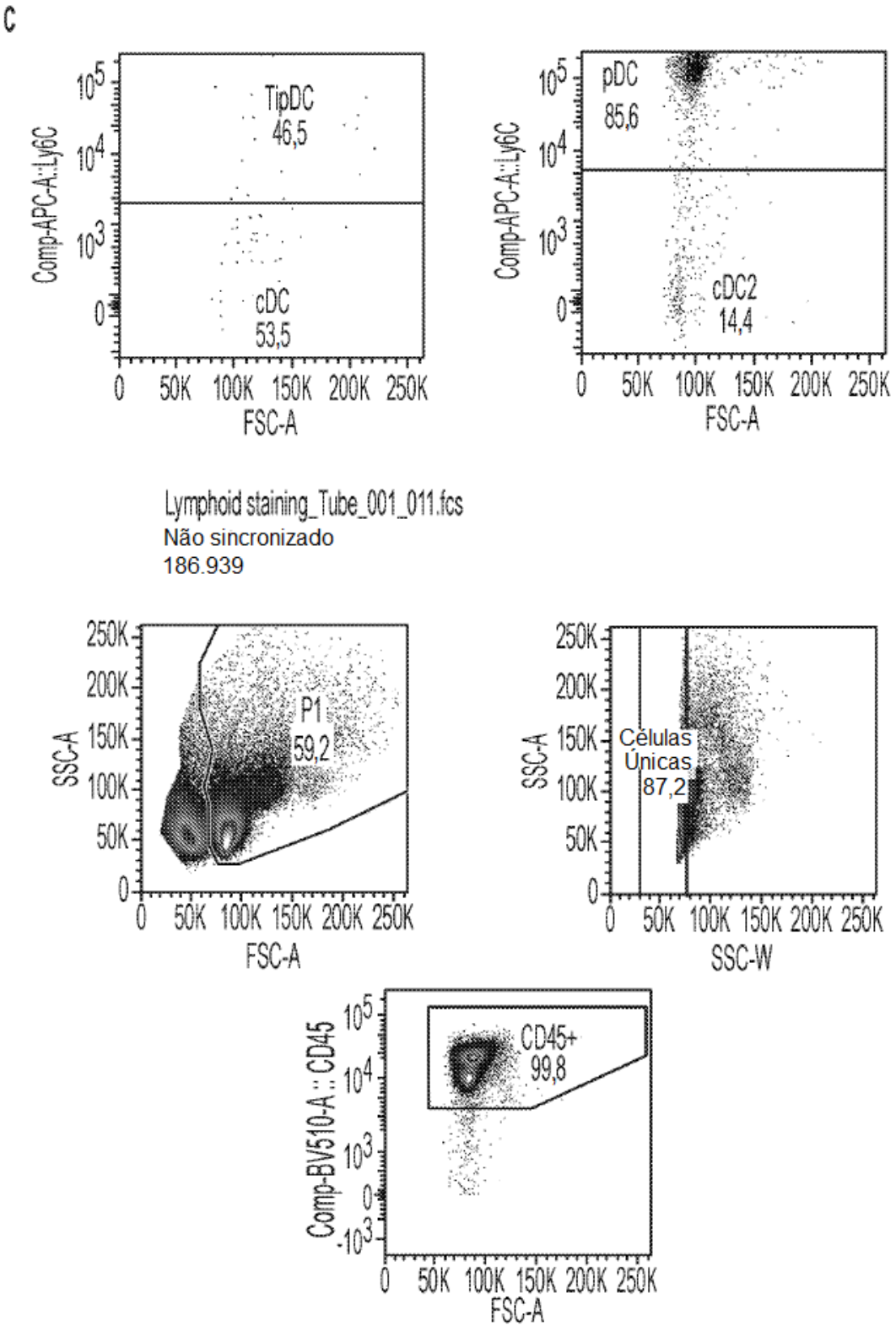


FIG. 67
(Continuação)

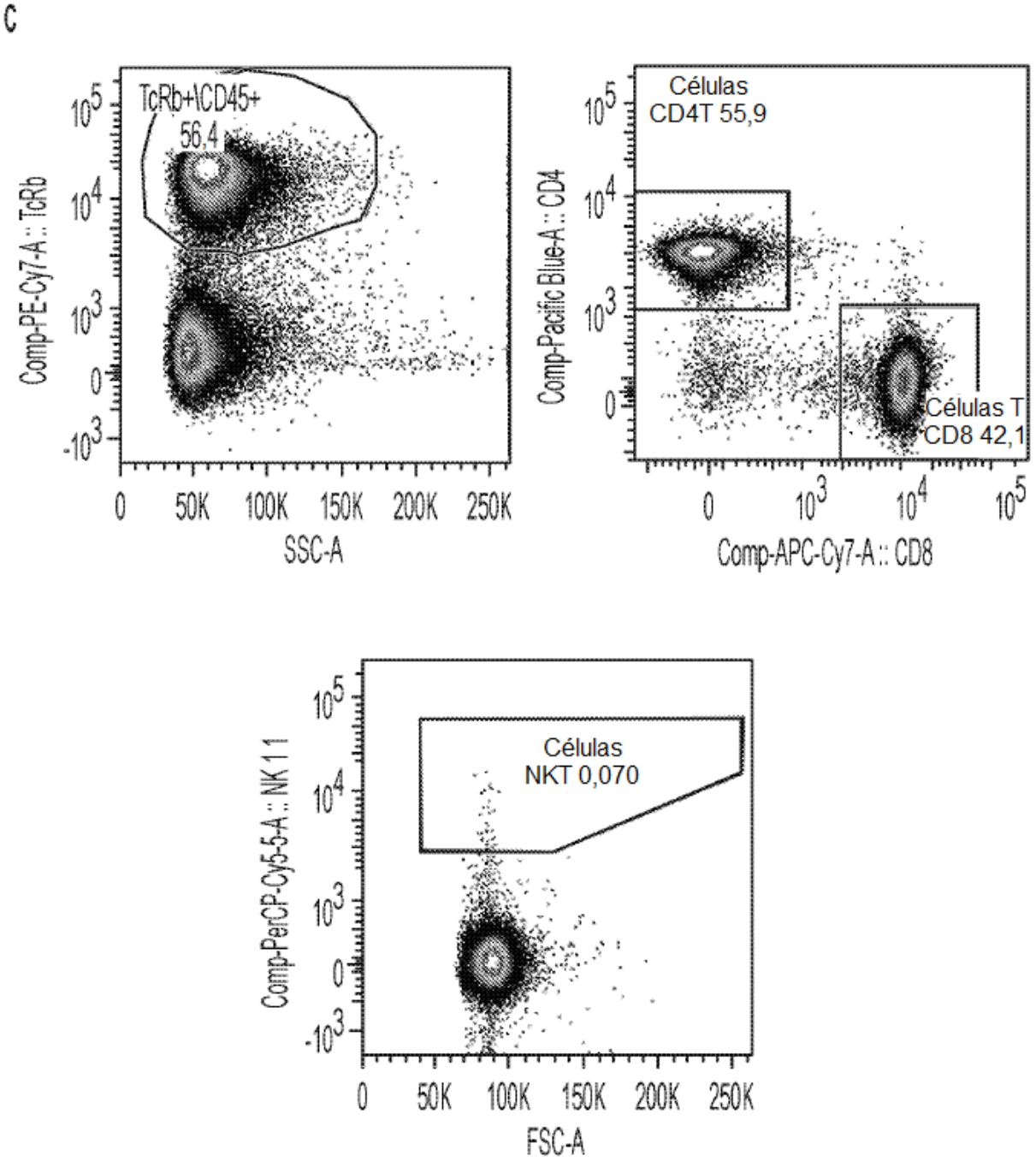


FIG. 67
(Continuação)

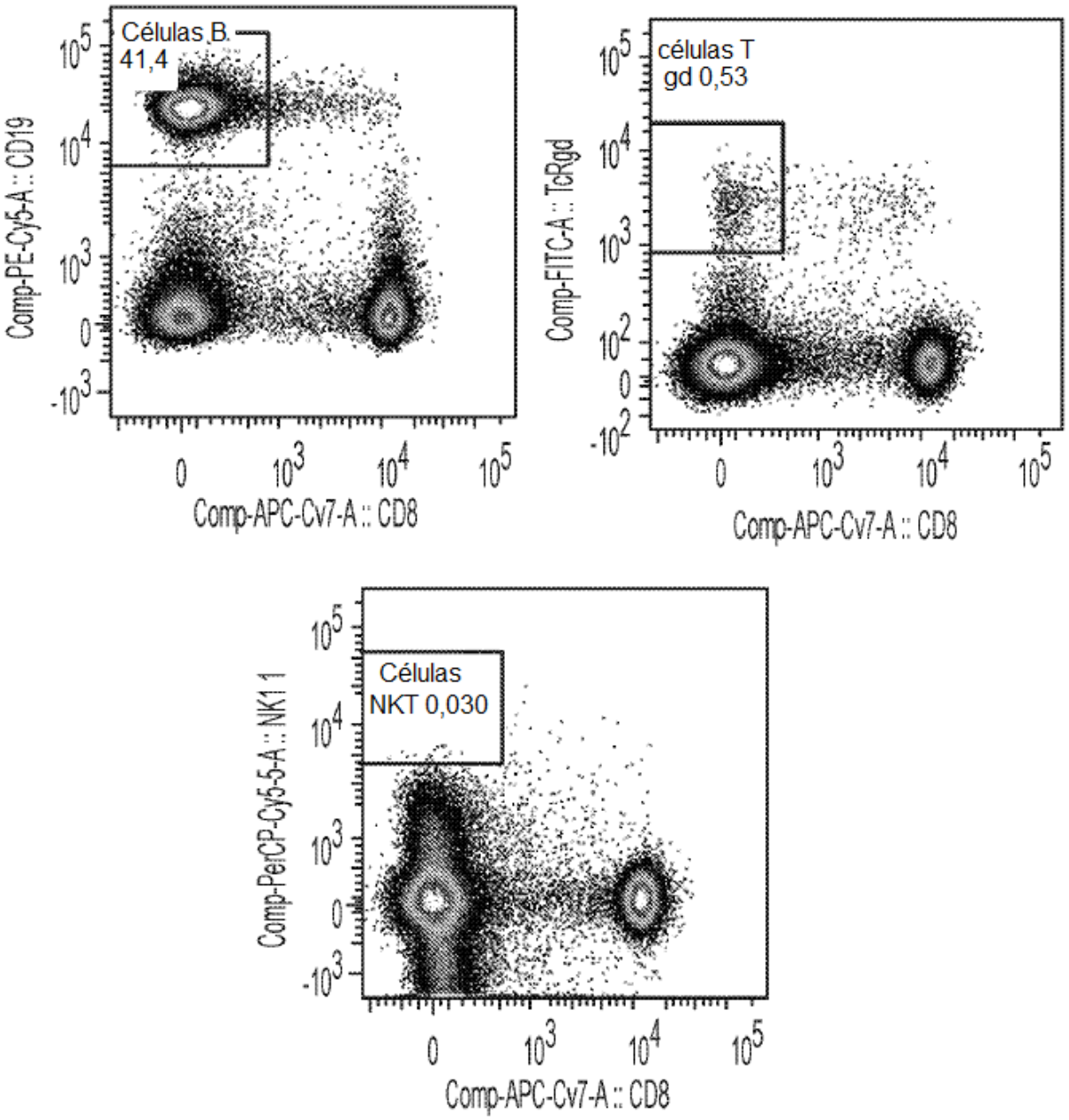


FIG. 67
(Continuação)

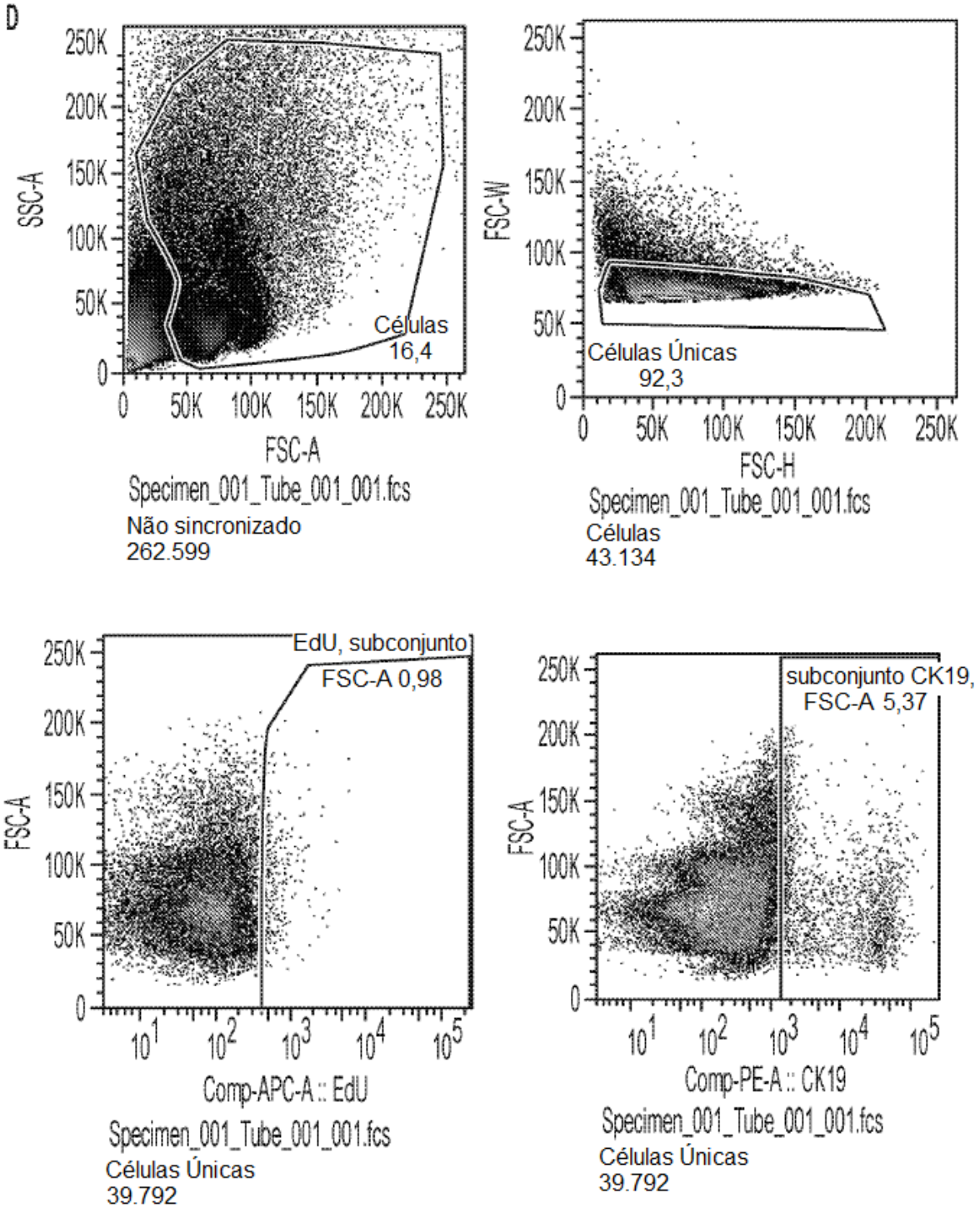


FIG. 67
(Continuação)

D

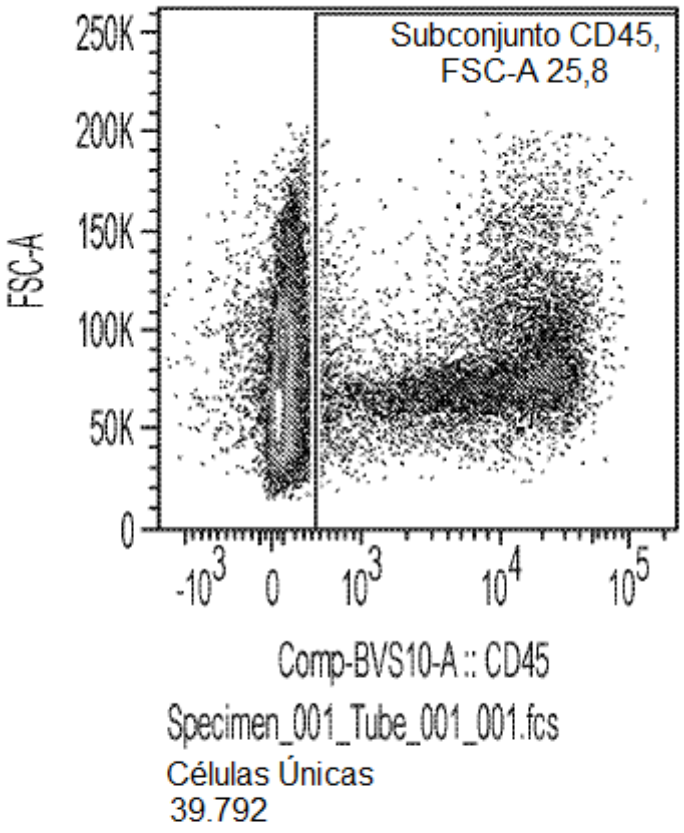


FIG. 67
(Continuação)

RESUMO

Patente de Invenção: **"MÉTODOS PARA TRATAR PANCREATITE".**

A presente invenção refere-se a um método para prevenir, tratar, atenuar ou gerenciar pancreatite em um indivíduo que precisa do mesmo que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um anticorpo ou fragmento funcional do mesmo que se liga a CA19-9.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: P252487 - LISTSEQ (JUNTADA TRADUÇÃO).TXT
- Data de Geração do Código: 17/05/2021
- Hora de Geração do Código: 09:13:30
- Código de Controle:
  - Campo 1: A18C4EC42CCECF38
  - Campo 2: 40980398593E599A