(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 120267815 A
(43)申请公布日 2025.07.08

(21)申请号 202510438979.9
(22)申请日 2019.09.09
(30)优先权数据
62/729,354 2018.09.10 US
(62)分案原申请数据
201980073543.7 2019.09.09
(71)申请人 冷泉港实验室
地址 美国纽约
(72)发明人 D·D·恩格莱 D·A·图维森
(74)专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限责任公司 11287
专利代理师 刘锋
(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
A61P 1/18(2006.01)

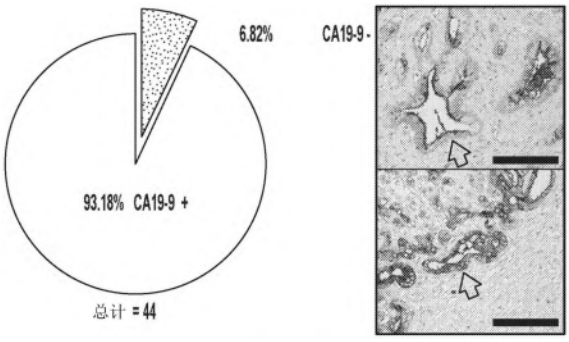
权利要求书2页 说明书123页
序列表（电子公布） 附图122页

(54)发明名称

用于治疗胰腺炎的方法

(57)摘要

本申请涉及用于治疗胰腺炎的方法。本文提供了一种用于预防、治疗、减轻或管理有需要的受试者中的胰腺炎的方法，其包括向所述受试者施用治疗有效量的与CA19-9结合的抗体或其功能片段。



CN 120267815 A

1.一种用于预防、治疗、减轻或管理有需要的受试者中的胰腺炎的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的与唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段(抗sLe^a)。

2.一种用于预防、治疗、减轻或管理有需要的受试者中的胰腺炎的方法,其包括:

(1)以第一剂量向所述受试者施用与唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段(抗sLe^a),

(2)确定所述受试者中的胰腺炎的严重性,以及

(3)如果与施用抗sLe^{a}前所述受试者中的胰腺炎的严重性相比,所述受试者中的胰腺炎的严重性降低,则以与所述第一剂量相同或更低的量施用第二剂量的与抗sLe^{a}结合的抗体或其功能片段;或者如果所述受试者中的胰腺炎的严重性没有降低,则以比所述第一剂量高的量施用第二剂量的抗sLe^a。

3.如权利要求1至2中任一项所述的方法,其中所述抗sLe^{a}抗体或其功能片段包含可变重链(VH)结构域,所述VH结构域包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2的残基20-142、SEQ ID NO:6的残基20-142、SEQ ID NO:10的残基20-142、以及SEQ ID NO:14的残基20-145。

4.如权利要求1至2中任一项所述的方法,其中所述抗sLe^{a}抗体或其功能片段包含可变轻链(VL)结构域,所述VL结构域包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQID NO:4的残基20-130、SEQ ID NO:8的残基20-129、SEQ ID NO:12的残基20-130、以及SEQ ID NO:16的残基23-130。

5.如权利要求1至2中任一项所述的方法,其中所述抗sLe^{a}抗体或其功能片段包含可变重链(VH)结构域和可变轻链(VL)结构域,其中所述VH结构域和所述VL结构域分别包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2的残基20-142和SEQID NO:4的残基20-130;SEQ ID NO:6的残基20-142和SEQ ID NO:8的残基20-129;SEQ ID NO:10的残基20-142和SEQ ID NO:12的残基20-130以及SEQ ID NO:14的残基20-145和SEQ ID NO:16的残基23-130。

6.如权利要求1至2中任一项所述的方法,其中所述抗sLe^{a}抗体或其功能片段包含重链可变区,所述重链可变区包含三个互补决定区(CDR),所述三个互补决定区具有根据由以美国典型培养物保藏中心(ATCC)登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的Kabat编号的三个重链可变区CDR的氨基酸序列;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含三个CDR,所述三个CDR具有根据由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的Kabat编号的三个轻链可变区CDR的氨基酸序列。

7.如权利要求1至2和权利要求6中任一项所述的方法,其中所述抗sLe^{a}抗体或其功能片段包含重链可变区,所述重链可变区由以美国典型培养物保藏中心(ATCC)登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的重链可变区的氨基酸序列组成;以及

轻链可变区,所述轻链可变区由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的轻链可变区的氨基酸序列组成。

8.如权利要求1至2和权利要求6至7中任一项所述的方法,其中所述抗sLe^{a}抗体或其功能片段包含重链,所述重链由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的重链氨基酸序列组成;以及轻链,所述轻链由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的轻链氨基酸序列组成。

9.如权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述抗sLe^a抗体功能片段选自由以下组成的组:Fab、Fab'、$F(ab')_2$、scFV、双抗体、三抗体、小分子抗体和单域抗体(sdAB)。

10.如权利要求9所述的方法,其中所述抗sLe^a抗体或其功能片段是双抗体。

用于治疗胰腺炎的方法

[0001] 本申请是申请日为2019年9月9日、申请号为“201980073543.7”、名称为“用于治疗胰腺炎的方法”的发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本文提供了用于预防和治疗胰腺炎的方法。具体地,本文提供了使用与CA19-9结合的分子用于治疗和/或预防胰腺炎的方法。

[0003] 序列表

[0004] 本分案申请的原申请提交了文件名为12967-046-999_Sequence_Listing.txt、创建于2018年9月10日、大小为22,963字节的序列表文本文件。本分案申请递交了ST.26格式的序列表。

背景技术

[0005] 胰腺炎导致美国每年有275,000人入院(Forsmark CE等N Engl J Med.2016;375(20):1972-81)。胰腺炎包括慢性胰腺炎和急性胰腺炎,并且可伴有严重的腹痛。患有慢性胰腺炎患者的死亡率高于一般群体,其中诊断后的10年存活估计在69-80%之间(Seicean A.等,J Gastrointestin Liver Dis.2006;15(1):21-6)。由于慢性胰腺炎引起的并发症和发病率,患有慢性胰腺炎患者的预期寿命比一般群体的预期寿命短约8年(Bang UC.等,Gastroenterology.2014;146(4):989-94)。在重度急性胰腺炎中,死亡率可高达16.3%,其中40%以上的死亡发生在入院14天内(Fu C.等,World J Gastroenterol.2007;13(13):1966-1969)。

[0006] 尽管与胰腺炎相关的死亡率和显著的发病率升高,但是在如何治疗这种使人衰弱的疾病方面几乎没有进展。在本公开之前,急性胰腺炎常常用由静脉内水合组成的一般支持性护理治疗,根据患者的容量状态,以不同的液体复苏率作为护理的基础(第37章-Acute Pancreatitis,GI/Liver Secrets Plus,第4版,McNally PR编,2010)。重度胰腺炎伴有的疼痛同时用静脉内镇痛管理(第37章-Acute Pancreatitis,GI/Liver Secrets Plus,第4版,McNally PR编,2010)。慢性胰腺炎常常仅用治疗胰腺炎的疼痛或并发症的药物治疗,使潜在的慢性胰腺炎本身并未得到直接治疗(第38章-Chronic Pancreatitis,GI/Liver Secrets Plus,第4版,McNally PR编,2010)。

[0007] 迄今为止,在开发用于直接治疗、预防、管理或减轻胰腺炎或靶向胰腺炎发展基础的潜在机制的治疗剂方面一直缺乏成功。因此,需要鉴定可以治疗、预防、管理或减轻胰腺炎(包括慢性和急性胰腺炎)的治疗剂。

发明内容

[0008] 在一方面,本文提供了一种用于预防、治疗、减轻或管理有需要的受试者中的胰腺炎的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的与唾液酸化路易斯^{a}(Sialyl-Lewis^{a})结合的抗体或其功能片段(抗sLe^{a})。

[0009] 在另一方面,本文提供了一种用于预防、治疗、减轻或管理有需要的受试者中的胰腺炎的方法,其包括:

[0010] (1)以第一剂量向所述受试者施用与唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段(抗sLe^a),

[0011] (2)确定所述受试者中的胰腺炎的严重性,以及

[0012] (3)如果与施用抗sLe^{a}前所述受试者中的胰腺炎的严重性相比,所述受试者中的胰腺炎的严重性降低,则以与所述第一剂量相同或更低的量施用第二剂量的与抗sLe^{a}结合的抗体或其功能片段;或者如果所述受试者中的胰腺炎的严重性没有降低,则以比所述第一剂量高的量施用第二剂量的抗sLe^a。

[0013] 在某些方面,本文提供了一种用于预防、治疗、减轻或管理有需要的受试者中的胰腺炎的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的与CA19-9结合的治疗剂。

[0014] 在一方面,本文提供了一种用于预防、治疗、减轻或管理有需要的受试者中的胰腺炎的方法,其包括:

[0015] (1)以第一剂量向所述受试者施用与CA19-9结合的治疗剂,

[0016] (2)确定所述受试者中的胰腺炎的严重性,以及

[0017] (3)如果与施用所述剂前所述受试者中的胰腺炎的严重性相比,所述受试者中的胰腺炎的严重性降低,则以与所述第一剂量相同或更低的量施用第二剂量的所述治疗剂;或者如果所述受试者中的胰腺炎的严重性没有降低,则以比所述第一剂量高的量施用第二剂量的所述治疗剂。

[0018] 在本文提供的方法的一些实施方案中,所述抗sLe^{a}抗体或其功能片段包含可变重链(VH)结构域,所述VH结构域包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2的残基20-142、SEQ ID NO:6的残基20-142、SEQ ID NO:10的残基20-142、以及SEQ ID NO:14的残基20-145。

[0019] 在本文提供的方法的某些实施方案中,所述抗sLe^{a}抗体或其功能片段包含可变轻链(VL)结构域,所述VL结构域包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4的残基20-130、SEQ ID NO:8的残基20-129、SEQ ID NO:12的残基20-130以及SEQ ID NO:16的残基23-130。

[0020] 在本文提供的方法的其他实施方案中,所述抗sLe^{a}抗体或其功能片段包含可变重链(VH)结构域和可变轻链(VL)结构域,其中所述VH结构域和所述VL结构域分别包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2的残基20-142和SEQ ID NO:4的残基20-130;SEQ ID NO:6的残基20-142和SEQ ID NO:8的残基20-129;SEQ ID NO:10的残基20-142和SEQ ID NO:12的残基20-130;以及SEQ ID NO:14的残基20-145和SEQ ID NO:16的残基23-130。

[0021] 在本文提供的方法的一些实施方案中,所述抗sLe^{a}抗体或其功能片段包含重链可变区,所述重链可变区包含三个互补决定区(CDR),所述三个互补决定区具有根据由以美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection,ATCC)登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的Kabat编号的三个重链可变区CDR的氨基酸序列;以及轻链可变区,所述轻链可变区包含三个CDR,所述三个CDR具有根据由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的Kabat编号的三个轻链可变区CDR的氨基酸序列。

[0022] 在本文提供的方法的某些实施方案中,所述抗sLe^{a}抗体或其功能片段包含重链可

变区,所述重链可变区由以美国典型培养物保藏中心(ATCC)登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的重链可变区的氨基酸序列组成;以及轻链可变区,所述轻链可变区由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的轻链可变区的氨基酸序列组成。

[0023] 在本文提供的方法的其他实施方案中,所述抗sLe^a抗体或其功能片段包含重链,所述重链由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的重链氨基酸序列组成;以及轻链,所述轻链由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的轻链氨基酸序列组成。

[0024] 在本文提供的方法的一些实施方案中,所述抗sLe^a抗体功能片段选自由以下组成的组:Fab、Fab'、$F(ab')_2$、scFV、双抗体(diabody)、三抗体(triabody)、小分子抗体(minibody)和单域抗体(sdAB)。在某些实施方案中,所述抗sLe^a抗体或其功能片段是双抗体。在其他实施方案中,所述双抗体包含氨基酸序列SEQ ID NO:18或20。

[0025] 在本文提供的方法的某些实施方案中,所述抗sLe^a抗体或其功能片段是单克隆抗体。在本文提供的方法的一些实施方案中,所述抗sLe^a抗体或其功能片段是IgG或IgM同种型。在某些实施方案中,IgG抗体是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4亚类。

[0026] 在本文提供的方法的一些实施方案中,将所述抗sLe^a抗体或其功能片段配制成包含药学上可接受的载剂的药物组合物。在某些实施方案中,通过肠胃外施用途径向受试者施用所述抗体或其功能片段。在一些实施方案中,所述肠胃外施用选自由以下组成的组:皮下注射、肌肉内注射和静脉内注射。

[0027] 在本文提供的方法的一些实施方案中,以约0.1mg/kg/剂量至约10mg/kg/剂量的剂量范围向受试者施用所述抗体或其功能片段。在某些实施方案中,每周、每两周、每月或每两个月向受试者施用所述抗体或其功能片段。在一些实施方案中,所述抗体或其功能片段施用约一个、两个、三个、四个、五个或六个月。

[0028] 在本文提供的方法的某些实施方案中,所述治疗剂是与唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段(抗sLe^a)。

[0029] 在本文提供的方法的一些实施方案中,所述治疗剂是肽或拟肽物分子。在某些实施方案中,所述肽或拟肽物具有与唾液酸化路易斯^{a}特异性结合的特性。

[0030] 在本文提供的方法的某些实施方案中,胰腺炎的特征在于一种或多种标志物。在本文提供的方法的一些实施方案中,胰腺炎的严重性通过一种或多种标志物来确定。在本文提供的方法的某些实施方案中,所述受试者的胰腺炎的一种或多种标志物的水平升高。在本文提供的方法的一些实施方案中,所述治疗剂的施用导致所述受试者中胰腺炎的一种或多种标志物的水平降低。在某些实施方案中,所述一种或多种标志物选自由以下组成的组:生理标志物、组织学标志物、血清学标志物和信号传导标志物。在一些实施方案中,所述组织学标志物选自由以下组成的组:免疫细胞侵入、胶原蛋白沉积、纤维化组织、脂肪坏死、间质水肿、腺泡和血管破坏、间质出血、导管扩张、腺泡细胞均质化和CA19-9的表达水平。在某些实施方案中,所述一种或多种标志物包含CA19-9的表达水平。在其他实施方案中,所述一种或多种标志物通过免疫组织化学来确定。在某些实施方案中,所述血清学标志物选自由以下组成的组:血清脂肪酶水平、血清淀粉酶水平和血清C反应蛋白水平。在一些实施方案中,所述一种或多种标志物是超过200U/L的血清脂肪酶水平。在某些实施方案中,所述一种或多种标志物是超过200U/L的血清淀粉酶水平。在一些实施方案中,所述一种或多种标志物是高于对照受试者正常血清淀粉酶水平的上限三倍的血清淀粉酶水平。在某些实施方

案中,所述一种或多种标志物是高于对照受试者正常血清脂肪酶水平的上限三倍的血清脂肪酶水平。在一些实施方案中,所述生理标志物选自由以下组成的组:体重减轻、食物吸收不良、胰腺萎缩、胰腺肿大、胰腺炎症和胆汁反流。

[0031] 在一方面,本文提供了一种用于预防、治疗、减轻或管理胰腺sLe^a升高的受试者中的胰腺炎的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的与sLe^a特异性结合的治疗剂。

[0032] 在本文提供的方法的某些实施方案中,胰腺炎是选自由慢性胰腺炎和急性胰腺炎组成的组的胰腺炎。在一些实施方案中,慢性胰腺炎选自由以下组成的组:轻度慢性胰腺炎、中度慢性胰腺炎和重度慢性胰腺炎。在某些实施方案中,急性胰腺炎选自由以下组成的组:轻度急性胰腺炎、中度急性胰腺炎和重度急性胰腺炎。

[0033] 在本文提供的方法的一些实施方案中,所述受试者是哺乳动物。在本文提供的方法的某些实施方案中,所述哺乳动物是人。

附图说明

[0034] 图1A示出了表现高水平胰腺组织CA19-9的人慢性胰腺炎患者的百分比(左图),以及显示CA19-9主要在胰管中的代表性免疫组织化学(IHC)(右两图,用空心箭头指示)。图1B示出了来自排除的(左)、CA19-9高(中)和CA19-9低/阴性(右)的人慢性胰腺炎标本的CA19-9 IHC实例。比例尺=100μm。图1C示出了路易斯抗原产生的示意图。图1D示出,通过流式细胞术分析,异位FUT3诱导小鼠胰腺导管腺癌(PDAC)细胞中的路易斯^x(Le^x)表达,但不诱导CA19-9/唾液酸化路易斯^a(SLe^a)表达。图1E示出了与亲本KPC细胞对照相比,稳定和组成性表达FUT3和β3GALT5的小鼠PDAC细胞的CA19-9流式细胞术。FUT3和β3GALT5的表达都导致CA19-9的细胞表面表达达到与人类癌细胞系(Colo205)中观察到的相同的水平。图1F示出了人PDAC细胞系Suit2(上图)以及稳定和组成性表达FUT3和β3GALT5的小鼠PDAC细胞(下图)或表达空载体对照的PDAC细胞的CA19-9免疫荧光评估。比例尺=25μm。图1G示出了在移植有CA19-9阴性人PDAC细胞系MiaPaCa2、CA19-9阳性人PDAC细胞系Suit2、用空载体对照转染的小鼠PDAC细胞系以及稳定和组成性表达FUT3和β3GALT5的小鼠PDAC细胞的裸鼠中的循环CA19-9水平。

[0035] 图2A示出了稳定和组成性表达FUT3和β3GALT5的小鼠PDAC细胞的免疫沉淀/质谱(IP/MS)策略(左图)、CA19-9 IP效率的免疫印迹验证(中图)以及三种生物复制系(FC1199、FC1242和FC1245)之间CA19-9蛋白载剂的重叠(右图)。图2B示出了人PDAC细胞的IP/MS策略(左图)、CA19-9 IP效率的免疫印迹验证(中图)以及三种生物复制系(Capan2、hM1-2D和Suit2)之间CA19-9蛋白载剂的重叠(右图)。图2C示出了在3种人类PDAC细胞系(n=936)中的3种中鉴定出的CA19-9蛋白载剂与表达FUT3和β3GALT5的三个独立小鼠PDAC细胞系之间的重叠。

[0036] 图3A-3D示出了CA19-9遗传工程化小鼠模型的设计、验证和产生。图3A示出了诱导型CA19-9小鼠模型的示意图。图3B示出了在Cre转染和Dox治疗后mES细胞克隆中CA19-9产生的免疫印迹确认。图3C示出了阳性对照野生型mES细胞gDNA中eGFP的DNA印迹(southern blot),其中靶向载体以每个基因组1-5个拷贝加标,并且在mES细胞靶向克隆中。正确的整合大小为5.548kb(非靶向的=4.04kb)。图3D示出了相对于先前验证的带有单一且正确整

合的ColA1靶向载体(P12)的靶向mES细胞克隆,靶向mES细胞克隆的eGFP qPCR拷贝数评估。

[0037] 图4示出了在来自未治疗的R;F小鼠的小鼠组织的苏木精-伊红(haematoxylin and eosin,H&E)组织学评估中的全身CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0038] 图5示出了在来自用Dox治疗7天的R;F小鼠的小鼠组织的H&E组织学评估中的全身CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0039] 图6示出了在来自用Dox治疗28天的R;F小鼠的小鼠组织的H&E组织学评估中的全身CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0040] 图7示出了在来自未治疗的R;F遗传阴性对照同窝仔的小鼠组织的H&E组织学评估中的全身CA19-9小鼠模型遗传阴性对照同窝仔、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0041] 图8示出了在来自用Dox治疗7天的R;F遗传阴性对照同窝仔的小鼠组织的H&E组织学评估中的全身CA19-9小鼠模型遗传阴性对照同窝仔、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0042] 图9示出了在来自用Dox治疗28天的R;F遗传阴性对照同窝仔的小鼠组织的H&E组织学评估中的全身CA19-9小鼠模型遗传阴性对照同窝仔、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0043] 图10示出了在来自未治疗的C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的H&E组织学评估中的局灶性胰腺、PDX1-Cre驱动的CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0044] 图11示出了在来自用Dox治疗7天的C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的H&E组织学评估中的局灶性胰腺、PDX1-Cre驱动的CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0045] 图12示出了在来自用Dox治疗28天的C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的H&E组织学评估中的局灶性胰腺、PDX1-Cre驱动的CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0046] 图13示出了在来自未治疗的$C^{PDX/p48}$;R^{LSL};F^{LSL}遗传阴性对照同窝仔的小鼠组织的H&E组织学评估中的局灶性胰腺、CA19-9小鼠模型遗传阴性对照同窝仔、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0047] 图14示出了在来自用Dox治疗7天的$C^{PDX/p48}$;R^{LSL};F^{LSL}未治疗的遗传阴性对照同窝仔的小鼠组织的H&E组织学评估中的局灶性胰腺、CA19-9小鼠模型遗传阴性对照同窝仔、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0048] 图15示出了在来自用Dox治疗28天的$C^{PDX/p48}$;R^{LSL};F^{LSL}遗传阴性对照同窝仔的小鼠组织的H&E组织学评估中的局灶性胰腺、CA19-9小鼠模型遗传阴性对照同窝仔、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0049] 图16示出了在来自未治疗的C^{p48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的H&E组织学评估中的局灶性胰腺、p48-Cre驱动的CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0050] 图17示出了在来自用Dox治疗7天的C^{p48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的H&E组织学评估中的局灶性胰腺、p48-Cre驱动的CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0051] 图18示出了在来自用Dox治疗28天的C^{p48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的H&E组织学评估中的局灶性胰腺、p48-Cre驱动的CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0052] 图19示出了在来自未治疗的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的小鼠组织的H&E组织学评估中的整个胰腺CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0053] 图20示出了在来自用Dox治疗7天的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的小鼠组织的H&E组织学评估中的整个胰腺CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0054] 图21示出了在来自用Dox治疗28天的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的小鼠组织的H&E组织学评估

中的整个胰腺CA19-9小鼠模型、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0055] 图22示出了在来自未治疗的C^{PDX};R^{LSL};F遗传阴性对照同窝仔的小鼠组织的H&E组织学评估中的整个胰腺CA19-9小鼠模型遗传阴性对照同窝仔、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0056] 图23示出了在来自用Dox治疗7天的未治疗的C^{PDX};R^{LSL};F遗传阴性对照同窝仔的小鼠组织的H&E组织学评估中的整个胰腺CA19-9小鼠模型遗传阴性对照同窝仔、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0057] 图24示出了在来自用Dox治疗28天的未治疗的C^{PDX};R^{LSL};F遗传阴性对照同窝仔的小鼠组织的H&E组织学评估中的整个胰腺CA19-9小鼠模型遗传阴性对照同窝仔、全身组织学。比例尺＝100μm。

[0058] 图25A示出了用Dox治疗后通过H&E染色、马森(Masson)三色染色(MT,蓝色表示胶原蛋白沉积)和通过IHC的CA19-9表达(空心箭头,CA19-9+导管;实心箭头,CA19-9+胰岛)对C^{PDX};R^{LSL};F胰腺的组织学评估。比例尺＝50μm。图25B示出了用Dox治疗C^{PDX};R^{LSL};F小鼠后,显示出胰腺炎组织学体征的胰腺面积百分比的定量,分别地n＝5、4、5、3、9,($F(4,21)=22.46$,$p<0.0001$)。图25C示出了用Dox治疗C^{PDX};R^{LSL};F小鼠后的淀粉酶($F(5,61)=74.44$,$p<0.0001$)和脂肪酶($F(5,61)=27.59$,$P<0.0001$)的循环水平(U/L)。虚线指示诊断胰腺炎所需的阈值升高。短划线指示最大检测水平,分别地n＝14、12、19、8和9。中间的水平红线代表平均值,并且误差条代表标准偏差;每个数据点代表来自单只小鼠的测量。*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001、****p<0.0001用于单向ANOVA后使用Holm-Sidak方法进行的多重比较。

[0059] 图26示出了使用H&E组织学评估的来自用Dox治疗的遗传阴性对照同窝仔R;F、C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}或C^{p48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠胰腺的胰腺炎严重性的小鼠模型比较。比例尺＝50μm。

[0060] 图27示出了使用马森三色染色(蓝色,胶原蛋白沉积)的来自用Dox治疗的遗传阴性对照同窝仔R;F或C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠胰腺的基质丰度的小鼠模型比较。比例尺＝50μm。

[0061] 图28A-图28C示出了遗传工程化小鼠中胰腺炎严重性的小鼠模型比较。包括用Dox(天数)治疗的遗传阴性对照同窝仔R;F、C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}或C^{p48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠、来自图25B-25C的C;R^{LSL};F模型的数据用于相对比较。图28A示出了受胰腺炎组织学体征影响的胰腺面积百分比($F(4,22)=0.5589$;$(4,12)=16.02$;$(4,21)=22.46$;$(3,19)=2.705$)。图28B-28C示出了用Dox(天数)治疗后的胰酶淀粉酶(B)($F(4,71)=8.828$;$(4,22)=25.07$;$(5,61)=74.44$;$(4,58)=6.343$)和脂肪酶(C)($F(4,71)=2.967$;$(4,22)=7.108$;$(5,61)=27.59$;$(4,58)=5.637$)的循环水平(U/L)。虚线指示诊断胰腺炎所需的阈值升高。短划线指示淀粉酶可能的最大检测水平。线代表平均值;每个数据点代表来自单只小鼠的测量。*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001、****p<0.0001,使用单向ANOVA进行多重比较。

[0062] 图29A-29B示出了每个CA19-9小鼠模型的胰腺中eGFP和CA19-9的IHC。图29A示出了来自用Dox治疗0或7天的R;F、C^{PDX};R^{LSL};F、C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}或C^{p48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠胰腺的eGFP IHC。空心箭头指示胰岛细胞阳性,实心箭头指示导管阳性,*指示血管阴性,并且“a”指示腺泡细胞阳性。比例尺＝50μm。图29B示出了来自用Dox治疗的遗传阴性对照同窝仔R;F、C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}或C^{P48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠胰腺的CA19-9 IHC。空心箭头指示胰岛细胞阳

性,实心箭头指示导管阳性,橙色箭头指示腺泡细胞阳性。插图示出由实心箭头指示的放大的阳性导管。比例尺＝50μm。

[0063] 图30A-30B示出了R;F CA19-9小鼠模型的全身胰腺谱系免疫荧光(IF)。图30A示出了来自用Dox治疗0、7或28天的R;F小鼠的小鼠胰腺中的导管标志物CK19以及eGFP(Dox依赖性重组标志物)、DAPI和CA19-9的IF。图30B示出了来自A的带注释的IF图像。比例尺＝50μm。

[0064] 图31示出了R;F CA19-9小鼠模型的全身胰腺谱系免疫荧光(IF)。来自用Dox治疗28天的R;F小鼠的小鼠胰腺中的成纤维细胞标志物平足蛋白(Podoplanin)以及eGFP(Dox依赖性重组标志物)、DAPI和CA19-9的IF。用空心粉红色箭头指示CA19-9+、平足蛋白+、eGFP-细胞。由实心红色箭头指示CA19-9-、平足蛋白+、eGFP-细胞。比例尺＝50μm。

[0065] 图32示出了全身CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的eGFP表达。示出了来自未治疗的R;F的小鼠组织的eGFP IHC。比例尺＝100μm。

[0066] 图33示出了全身CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的eGFP表达。示出了来自用Dox治疗的R;F小鼠的小鼠组织的eGFP IHC。比例尺＝100μm。

[0067] 图34示出了整个胰腺CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的eGFP表达。示出了来自未治疗的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的小鼠组织的eGFP IHC。比例尺＝100μm。

[0068] 图35示出了整个胰腺CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的eGFP表达。示出了来自用Dox治疗的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的小鼠组织的eGFP IHC。比例尺＝100μm。

[0069] 图36示出了局灶性胰腺、PDX1-Cre驱动的CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的eGFP表达。示出了来自未治疗的C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的eGFP IHC。比例尺＝100μm。

[0070] 图37示出了局灶性胰腺、PDX1-Cre驱动的CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的eGFP表达。示出了来自用Dox治疗的C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的eGFP IHC。比例尺＝100μm。

[0071] 图38示出了局灶性胰腺、p48-Cre驱动的CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的eGFP表达。示出了来自未治疗的C^{P48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的eGFP IHC。比例尺＝100μm。

[0072] 图39示出了局灶性胰腺、p48-Cre驱动的CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的eGFP表达。示出了来自用Dox治疗的C^{P48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的eGFP IHC。比例尺＝100μm。

[0073] 图40示出了全身CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的CA19-9表达。示出了来自未治疗的R;F小鼠的小鼠组织的CA19-9 IHC。比例尺＝100μm。

[0074] 图41示出了全身CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的CA19-9表达。示出了来自用Dox治疗7天的R;F小鼠的小鼠组织的CA19-9 IHC。比例尺＝100μm。

[0075] 图42示出了全身CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的CA19-9表达。示出了来自用Dox治疗28天的R;F小鼠的小鼠组织的CA19-9 IHC。比例尺＝100μm。

[0076] 图43示出了全身CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的CA19-9表达。示出了来自未治疗的R;F遗传阴性对照同窝仔的小鼠组织的CA19-9 IHC。比例尺＝100μm(除心脏外,心脏中所述比例尺＝500μm)。

[0077] 图44示出了局灶性胰腺CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的CA19-9表达。示出了来自未治疗的C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}和C^{P48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的CA19-9 IHC。比例尺＝100μm。

[0078] 图45示出了局灶性胰腺CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的CA19-9表达;示出了来自用Dox治疗7天的C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}和C^{P48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的CA19-9 IHC。比例尺＝100μm。

[0079] 图46示出了局灶性胰腺CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的CA19-9表达;示出了来自用Dox治疗28天的C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}和C^{P48};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的小鼠组织的CA19-9 IHC。比例尺=100μm。

[0080] 图47示出了局灶性胰腺CA19-9小鼠模型:非胰腺组织中的CA19-9表达。来自未治疗的C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}和C^{P48};R^{LSL};F^{LSL}遗传阴性对照同窝仔的小鼠组织的CA19-9 IHC。比例尺=100μm。

[0081] 图48A-48B示出了体重和胰腺重量的小鼠模型比较。图48A示出了用Dox(周数)治疗的遗传阴性对照同窝仔R;F、C^{PDX};R^{LSL};F或C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}小鼠体重变化的百分比。每个数据点线代表随时间推移的相同单只小鼠,p值由多重t检验(Holm-Sidak)确定,而不假设一致的SD。图48B示出了遗传阴性对照同窝仔R;F、C^{PDX};R^{LSL};F或C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}小鼠进行Dox治疗12周后归一化为体重的胰腺重量百分比,p值由非配对、参数、双尾t检验确定(t=1.225、5.874、0.7731、1.059;df=29、4、10、4。线代表平均值;每个数据点代表来自单只小鼠的测量。*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001、****p<0.0001。

[0082] 图49A-49D示出了对自身免疫、胰腺外分泌功能不全、葡萄糖稳态和CA19-9分泌的指标的评估。图49A示出了从R;F全身CA19-9小鼠模型以及直接用CA19-9免疫的小鼠的小鼠血浆中CA19-9定向抗体的血清学测量。图49B示出了Dox治疗0或7天后在R;F小鼠中测量的胰凝乳蛋白酶和弹性蛋白酶的粪便水平。图49C示出了在用蔗糖媒介物水或Dox蔗糖水治疗7天,然后换成Dox或正常食物后,在来自R;F和C^{PDX};R^{LSL};F模型的随机喂养的小鼠中测量的血糖水平。图49D示出了用Dox(天数)治疗遗传阴性对照同窝仔R;F、C;R^{LSL};F或C;R^{LSL};F^{LSL}小鼠后的CA19-9的循环水平(U/ml),p值通过使用单向ANOVA与多重比较来确定(F(3,30)=2.305;(3,14)=13.46,(3,24)=35.36;(3,35)=4.667)。线代表平均值;每个数据点代表来自单只小鼠的测量。超过37U/ml(虚线)的值被认为是升高的。*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001、****p<0.0001。

[0083] 图50A示出了用Dox治疗C^{PDX};R^{LSL};F小鼠后的CA19-9的循环水平(U/ml)。超过37U/ml(虚线)的值是升高的(F(3,24)=35.36,p<0.0001),分别地n=5、5、8和10。图50B示出了与遗传阴性对照(GN,分别地n=3和3)相比,用蛙皮素(cerulein)治疗的小鼠(C57B1/6j,分别地n=5、5和5)和用Dox治疗的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠(分别地n=4、4和6)中通过流式细胞术评估的免疫细胞浸润(F(7,26/27/26)=41.06、14.38、41.23,所有p<0.0001)。对于图50A-50B,中间的水平红线代表平均值,并且误差条代表标准偏差;每个数据点代表来自单只小鼠的测量;*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001、****p<0.0001,用于使用单向ANOVA后的Holm-Sidak方法进行的多重比较。

[0084] 图51A示出了在小鼠胰腺炎诱导期间的免疫细胞代表。通过流式细胞术来确定与遗传阴性同窝仔对照(GN)相比,用蛙皮素治疗诱导急性胰腺炎的小鼠(C57B1/6j)和用Dox治疗0、1或3天的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的脾、外周淋巴结、肠系膜淋巴结和胰腺中的免疫细胞类型代表。数据表示为CD45阳性细胞的百分比。图51B示出了与遗传阴性同窝仔对照(GN)相比,如通过流式细胞术确定的用蛙皮素治疗诱导急性胰腺炎的小鼠(C57B1/6j)和用Dox治疗0、1或3天的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的胰腺中的免疫细胞类型代表。线代表平均值;每个数据点代表来自单只小鼠的测量。*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001、****p<0.0001,使用单向ANOVA进行多重比较(F(8,30)=2.709;2.034;3.049;3.784;4.739;6.46;3.986;4.688)。

[0085] 图52A示出CA19-9表达引起导管增殖。用Dox治疗后,通过流式细胞术评估C^{PDX};R^{LSL};F小鼠(分别地n=3、3和4)和遗传阴性同窝仔对照(GN,分别地n=3和2)中的EdU掺入。示出了在整个胰腺(F(4,10)=14.48,p<0.0004)、浸润性免疫区室(CD45,F(4,10)=14.82,p<0.0003)或导管上皮谱系(CK19,F(4,9)=48.35,p<0.0001)中的EdU阳性细胞百分比。线代表平均值;每个数据点代表来自单只小鼠的测量。图52B-52C示出了Dox治疗后初级腺泡培养物中蛋白毒性应激标志物的评估。图52B示出了来自用媒介物(PBS)、Dox或蛙皮素治疗12小时的C^{PDX};R^{LSL};F腺泡细胞外植体的条件培养基中淀粉酶和脂肪酶的水平。**p<0.01、***p<0.001、****p<0.0001,使用单向ANOVA进行多重比较(F(2,3)=92.37;37.17);图52C示出了Atf4和Bip的水平,其相对于上样对照丝切蛋白(cofilin)和未治疗的时间点通过免疫印迹对来自用媒介物(PBS)、Dox或蛙皮素治疗12小时的C^{PDX};R^{LSL};F腺泡细胞外植体的全细胞裂解物进行定量。

[0086] 图53A-53B示出了在小鼠胰腺炎诱导期间的增殖模式。图53A示出了对用Dox(天数)治疗的遗传阴性对照同窝仔R;F、C^{PDX};R^{LSL};F或C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}小鼠的Ki67 IHC。图53B示出了来自至少三只小鼠的Ki67 IHC的定量,每只动物计数五个高倍视野。*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001、****p<0.0001,使用单向ANOVA进行多重比较(F(3,91)=5.097;(4,75)=57.28;(7,197)=113.1;(4,86)=12.16),比例尺=50μm。

[0087] 图54A-54F示出了C^{PDX};R^{LSL};F类器官的RNAseq分析。图54A示出了MA图(Bland-Altman,平均表达对倍数变化)。图54B示出了火山图(倍数变化对q值)。在图54A和54B中,以蓝色注释显著差异表达的基因,并进一步注释最具差异表达的基因。图54C示出了导入遗传工程化小鼠模型的转基因的每百万转录本。图54D示出了Fut3和β3GalT5的表达水平,其归一化为HPRT1,并在Dox治疗后从正常或恶性人胰腺中分离的类器官与C^{PDX};R^{LSL};F小鼠正常类器官之间进行比较。图54E示出了显示C^{PDX};R^{LSL};F与遗传阴性对照类器官之间的重叠的颠倒图。从C^{PDX};R^{LSL};F类器官的差异表达基因列表中减去在不存在CA19-9的情况下响应于Dox而差异表达的基因。图54F示出了减去Dox诱导的基因表达变化后,在0对24小时治疗的C^{PDX};R^{LSL};F类器官中差异表达的基因的热图。

[0088] 图55A示出了在ERBB信号传导中鉴定出富集的C^{PDX};R^{LSL};F类器官的GSEA。图55B和55C示出了来自C^{PDX};R^{LSL};F类器官的RNAseq分析的差异表达基因的GSEA。描绘的是p<0.05和FDR<0.15的途径的归一化富集评分(NES)的条形图,以及从Dox治疗C^{PDX};R^{LSL};F类器官后富集(图55B)或耗竭(图55C)的癌症基因标志集中选择的GSEA图。

[0089] 图56A-56B示出了来自C^{PDX};R^{LSL};F类器官的RNAseq分析的差异表达基因的GSEA。描绘的是p<0.05和FDR<0.15的途径的归一化富集评分(NES)的条形图,以及从Dox治疗C^{PDX};R^{LSL};F类器官后富集(图56A)或耗竭(图56B)的KEGG途径基因集中选择的GSEA图。

[0090] 图57A示出了如用Dox治疗后通过免疫印迹评估的信号传导途径的激活的C^{PDX};R^{LSL};F类器官(n=3个生物复制物)和遗传阴性类器官(GN,n=2个生物复制物)。印迹代表三个技术复制物、C^{PDX};R^{LSL};F类器官的三个生物复制物和GN类器官的两个生物复制物。相对于归一化为丝切蛋白后的未治疗的时间点进行定量。图57B-57C示出了诱导CA19-9表达后的类器官途径激活。图57B示出了如用Dox(小时)治疗后通过免疫印迹评估的来自C^{PDX};R^{LSL};F和遗传阴性同窝仔对照(GN)的正常导管类器官。图57C示出了如在缺乏EGF和NAC的类器官培养基中用Dox(小时)治疗后,通过免疫印迹评估的来自C^{PDX};R^{LSL};F(n=2)和遗传阴性同窝

仔对照(GN,n＝2)的正常导管类器官。图57D示出了用Dox治疗0(n＝4)或3(n＝5)天的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠中代表性的磷酸化-EGFR免疫组织化学(IHC)。插图是更高放大率的胰管。比例尺＝50μm。

[0091] 图58A-58D示出了诱导CA19-9表达后的类器官增殖状态。描绘的是如通过细胞滴度Glo每天评估生长几天的C^{PDX};R^{LSL};F(图58A)、R;F(图58B)、C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}(图58C)和组成性CA19-9表达的小鼠正常类器官(图58D)。包括C^{PDX};R^{LSL};F(218,223)和R;F(3384)类器官系的遗传阴性对照。

[0092] 图59A-59C示出在C^{PDX};R^{LSL};F类器官中的EGFR上未检测到CA19-9。图59A示出了EGFR IP,随后是使用来自Dox治疗0-8小时后的C^{PDX};R^{LSL};F和遗传阴性(GN)正常导管类器官的蛋白裂解物的CA19-9免疫印迹。图59B示出,CA19-9表达不影响C;R^{LSL};F和遗传阴性(GN)正常导管类器官对使用厄洛替尼(Erlotinib)或奈拉替尼(Neratinib)的ErbB激酶抑制的敏感性。GN类器官:A218、A223。C^{PDX};R^{LSL};F类器官:A217、A220、A225。

[0093] 图60示出了在存在同种型对照(MOPC21)或CA19-9阻断mAb(NS19-9)的情况下用Dox(小时)治疗后如通过免疫印迹评估的C^{PDX};R^{LSL};F类器官(n＝3个生物复制物)中的信号传导。相对于归一化为丝切蛋白后的未治疗的时间点进行定量。印迹代表两个技术复制物和三个生物复制物。

[0094] 图61A-61B示出CA19-9介导的胰腺炎是可逆的。图61A示出了用Dox脉冲3天并追踪4天的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的淀粉酶和脂肪酶的血清学水平。示出了淀粉酶和脂肪酶的血清学水平,与示出的来自图25C的数据进行比较。图61B示出了用Dox脉冲3天并追踪4天的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的H&E染色。比例尺＝100μm。

[0095] 图62A示出了在人同种型对照(n＝5)或5B1(n＝5)治疗8天和Dox治疗最后7天后,C^{PDX};R^{LSL};F小鼠中的血清淀粉酶和脂肪酶水平以及表现出胰腺炎组织学体征的胰腺组织面积百分比。中间的水平红线代表平均值,并且误差条代表标准偏差;每个数据点代表来自单只小鼠的测量,p值使用用于淀粉酶和脂肪酶比较的非配对、参数、双尾t检验(t＝4.611、2.981;df＝8)以及用Welch校正用于受影响胰腺的百分比的非配对、参数t检验(t＝2.935,df＝4,065);*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001、****p<0.0001)来确定。图62B示出了来自如上所述用同种型或5B1治疗的小鼠的代表性区域的H&E染色。比例尺＝100μm。图62C-62D示出了对如上所述用同种型(图62C)或5B1(图62D)治疗的代表性小鼠的pEGFR IHC。比例尺＝100μm。

[0096] 图63A-63C示出CA19-9介导的胰腺炎可以在体内被CA19-9抗体减弱。图中描绘的是在MOPC21或NS19-9治疗96小时和Dox治疗最后24小时后,C^{PDX};R^{LSL};F小鼠中的H&E染色(图63A)、血清淀粉酶和脂肪酶水平(图63B)和pEGFR IHC(图63C)。比例尺＝100μm,插图比例尺＝50μm。在图63B中,样品大小为MOPC21(n＝5)或NS19-9(n＝5)。线代表平均值;每个数据点代表来自单只小鼠的测量,p值使用非配对、参数、双尾t检验来确定(t＝4.108、2.961、3.216;df＝8、8、7)。

[0097] 图64A-64C示出CA19-9介导的胰腺炎可以在体内被CA19-9抗体减弱。图64A示出了在MOPC21(n＝5)或NS19-9(n＝5)治疗96小时和Dox治疗最后24小时后,C^{PDX};R^{LSL};F小鼠中表现出胰腺炎组织学体征的胰腺组织面积百分比。图64B示出了在同种型对照MOPC21或CA19-9抗体NS19-9存在的情况下,来自用Dox治疗的正常小鼠或C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的代表性整个胰

腺组织学(H&E)。橙色插图代表更高放大率的胰腺炎区域。黑色插图代表更高放大率的含有导管结构的正常胰腺区域。比例尺＝100μm。图64C示出了C^{PDX};R^{LSL};F小鼠在其饮用水中用较低剂量的Dox(0.5g/L)治疗后的淀粉酶和脂肪酶水平。线代表平均值;每个数据点代表来自单只小鼠的测量,p值使用非配对、参数、双尾t检验来确定。

[0098] 图65A示出了用Dox以及厄洛替尼或媒介物治疗后C^{PDX};R^{LSL};F小鼠胰腺的H&E染色。比例尺从左到右分别为200μm、200μm、100μm和50μm。图65B示出了用Dox以及厄洛替尼或媒介物治疗后C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的淀粉酶和脂肪酶的血清学水平。图65C示出了用蔗糖或Dox蔗糖以及媒介物或厄洛替尼治疗后的C57B1/6J小鼠胰腺的H&E染色。比例尺＝100μm。图65D示出了用蔗糖或Dox蔗糖以及媒介物或厄洛替尼治疗后的C57B1/6J小鼠胰腺的淀粉酶和脂肪酶的血清学水平。

[0099] 图66A-66B示出CA19-9配体的分泌激活EGFR。图66A示出了来自遗传阴性(GN)同窝仔的类器官的免疫印迹评估,所述类器官与来自先前用Dox或媒介物治疗(24小时)的C^{PDX};R^{LSL};F类器官的条件培养基一起孵育。相对于归一化为丝切蛋白后的未治疗的时间点进行定量。图66B示出了在Fc-对照或EGFR缀合Fc存在的情况下,来自与先前用Dox治疗(24小时)的C^{PDX};R^{LSL};F类器官的条件培养基一起孵育的GN同窝仔的类器官的免疫印迹评估。相对于归一化为丝切蛋白后的未治疗的时间点进行定量。

[0100] 图67A-67D示出了用于流式细胞术实验的示例性门控策略。图67A示出了图1D的流式细胞术反向门控。图67B示出了图1E的流式细胞术反向门控。图67C示出了图50B的流式细胞术反向门控。图67D示出了图52A的流式细胞术反向门控。

具体实施方式

[0101] 6.1定义

[0102] 如本文所用,术语“唾液酸化路易斯^a”(sLe^a),也已知为或称为唾液酸化Le^a、唾液酸化路易斯A、唾液酸化路易斯a,旨在意指分子式为$C_{31}H_{52}N_2O_{23}$且摩尔质量为820.74g/mol的四糖化合物。sLe^a的结构可以包括Neu5Acα2-3Galβ1-3(Fucα1-4)GlcNAcβ和Neu5Gcα2-3Galβ1-3(Fucα1-4)GlcNAcβ。sLe^a也是E-选择素(也称为内皮白细胞粘附分子(ELAM))的已知配体。术语唾液酸化路易斯^{a}包括具有所有可能的构象,包括生物活性构象和非生物活性构象。

[0103] 如本文所用,术语“CA19-9”、“CA 19-9”、“CA-19.9”或“CA 19.9”是指带有唾液酸化路易斯^{a}表位的任何抗原。CA19-9涵盖已用一个或多个唾液酸化路易斯^{a}部分修饰的蛋白质,例如糖蛋白。例如,CA19-9包括携带唾液酸化路易斯^{a}的糖蛋白,诸如C2、CD59、F5、SPARC、MUC1、MUC5AC、MUC16、载脂蛋白、激酶原、A2M、ADAM9、AFP、B3GNT5、CD44、CSF3、CTBS、CTSL2、EFNB3、EPHA3、FGFBP1、IGFBP5、IL18RAP、INHBC、MSLN、NPY、PDGFA、PROM1、RAF1、S100A7、TFF3、TGFB2、TNFRSF10A、WISP1和WNT9B。CA19-9还包括已用一个或多个唾液酸化路易斯^{a}修饰并因此带有唾液酸化路易斯^{a}的表位的脂质,例如糖脂。示例性糖脂CA19-9包括与胆汁球状膜(由正常胆汁分泌的膜囊泡)相关的糖脂,如Uozumi,N等,J.Proteome Res.2010,9,6345-6353中所述,所述参考以引用的方式整体并入本文。CA19-9的额外实例描述于Rho J等,J Proteomics.2014Jan 16;96:291-299以及Trinchera M等,Biology(Basel).2017Feb 23;6(1).pii:E16中,所述参考以引用的方式整体并入本文。

[0104] 术语“预防/防止(preventing/prevent/prevention)”,当关于胰腺炎和/或胰腺炎的损害(例如物理或功能的)、影响或症状使用时,旨在意指延迟胰腺炎或胰腺炎的损害、影响或症状的发作、阻碍其进展、阻碍其出现、保护免受其伤害、抑制或消除其出现或减少其发生率。例如,即使用本文提供的抗体或抗体片段治疗的患者群体中的一些患者发展为胰腺炎,但只要用所述抗体或抗体片段治疗的患者群体当与未治疗的群体相比时,表现出胰腺炎的损害、影响、发生率、发生的速率或症状减少,则所述抗体或抗体片段仍然“预防”胰腺炎。

[0105] 如本文所用,术语“治疗(treat/treatment)”当关于胰腺炎使用时,旨在意指消除、减少、管理或控制胰腺炎或胰腺炎引起的病症、损害(包括例如物理或功能的损害)和/或影响或症状。

[0106] 如本文所用,术语“减轻”当关于胰腺炎使用时,旨在意指减少、减轻或缓解胰腺炎或胰腺炎引起的病症、损害(包括例如物理和功能的损害)和/或影响或症状。例如,本领域技术人员可以通过使其更容易忍受、减慢疾病的进展或使受试者恢复到无胰腺炎的状态来减轻胰腺炎的症状。

[0107] 如本文所用,术语“管理(manage/managing/management)”当关于胰腺炎使用时,旨在意指通过施用如本文所提供的抗体或抗体片段实现对患者的一种或多种有益作用。有益作用可以是例如胰腺炎的消退、进展的停止或较不迅速的进展,胰腺炎的症状恶化或影响的缓解、保持或延缓,以及与胰腺炎相关的损害扩散的逆转、保持或延缓。在某些实施方案中,向患者施用如本文所提供的抗体或抗体片段以限制或控制胰腺炎的症状,以便防止胰腺炎症状的进展或恶化。

[0108] 如本文所用,术语“受试者”旨在意指动物,例如哺乳动物。术语“受试者”所涵盖的哺乳动物包括例如非灵长类哺乳动物诸如牛、猪、马、猫、狗、大鼠和小鼠,以及灵长类哺乳动物诸如猴、猿和人类。“患者”是指作为本文提供的方法的合适靶标的人。

[0109] 如本文所用,术语“胰腺炎”旨在意指胰腺发炎和受损的疾病。胰腺炎包括急性胰腺炎和慢性胰腺炎。急性胰腺炎是指持续时间短的胰腺突发的炎症。慢性胰腺炎是指胰腺的长期炎症。慢性胰腺炎可发生在急性胰腺炎发作后。慢性胰腺炎还包括轻度、中度和重度慢性胰腺炎。

[0110] 如本文所用,短语“治疗剂”或旨在意指可用于预防、治疗、管理或减轻与CA19-9和sLe^a表达相关的胰腺炎和/或与之相关的症状的任何剂。本文提供的治疗剂包括抗体(如下文进一步定义)、蛋白质、肽、核酸、拟肽物、类肽等。蛋白质包括天然蛋白质、从头设计的蛋白质,以及动物或细胞在刺激、工程化或两者后产生的蛋白质。蛋白质的实例包括配体、受体的可溶部分以及主要由氨基酸形成的其他生物产物。作为治疗剂的核酸包括适体或具有核酸序列的适体,以实现某些具有所需功能特性(诸如结合或阻断)的二级结构,其中所述序列可以通过筛选核酸序列文库来设计或鉴定。肽包括具有某些序列以实现所需功能特性(诸如结合或阻断)的肽,其中所述序列可以通过筛选肽序列文库来设计或鉴定。例如,治疗剂可以是本公开的抗体或功能片段。对于另一个实例,治疗剂可以是除本公开的抗体或功能片段以外的分子。治疗剂还可以是用于预防、治疗、管理或减轻与CA19-9和sLe^a表达相关的疾病和/或与之相关的一种或多种症状的本公开提供的任何分子。

[0111] 如本文所用,术语“胰腺炎标志物”或“用于胰腺炎的标志物”旨在意指任何可确定

和/或可观察到的胰腺炎指标。胰腺炎标志物可以包括胰腺的物理变化或损害;胰腺的功能或生理变化;胰腺的功能测量;胰腺的组织学变化;影像学检查中的胰腺异常;一种或多种蛋白质(包括胰腺中的糖蛋白)的表达或结构异常;胰腺中一种或多种碳水化合物的表达或结构异常;DNA、RNA、微小RNA序列或结构异常;胰腺炎症的血清指标以及胰腺炎症和/或胰腺功能的任何测量或指标异常。胰腺炎标志物的实例包括组织学标志物,诸如免疫细胞侵入、胶原蛋白沉积、纤维化组织的存在和水平、脂肪坏死、间质水肿、腺泡和血管破坏、间质出血、导管扩张、腺泡细胞均质化和CA19-9的表达水平。胰腺炎标志物还包括生理标志物,诸如体重减轻、食物吸收不良、胰腺萎缩、胰腺肿大、胰腺炎症和胆汁反流。胰腺炎标志物还可包括血清脂肪酶水平、血清淀粉酶水平和血清C反应蛋白(CRP)水平。

[0112] 如本文所用,术语“信号传导标志物”当关于胰腺或胰腺炎来使用时,旨在意指胰腺或胰腺细胞中的信号传导级联中的分子(例如,相互联系的生物化学反应、生物物理反应、数量变化(诸如表达水平变化)和/或级联的组分的位置变化的链),其中信号传导级联的激活、刺激、阻断、抑制或改变是胰腺炎疾病机制的基础。此类信号传导标志物包括例如胰腺中的Akt磷酸化升高、胰腺中的EGFR磷酸化升高、胰腺中的Erk1/2磷酸化升高以及CA19-9表达的升高。

[0113] 如本文所用,术语“淀粉酶”是指水解淀粉和糖原的一组酶。由淀粉酶水解的示例性化学键包括存在于淀粉中的糖苷键。淀粉酶包括例如α-淀粉酶(根据称为酶学委员会编号的酶的数字分类方案的EC 3.2.1.1;以下EC编号类似地指示根据酶学委员会编号的酶分类方案;替代名称:1,4-α-D-葡聚糖葡聚糖水解酶;糖原酶),所述α-淀粉酶催化含有三个或更多个(1->4)-α-连接的D-葡萄糖单元的多糖中的(1->4)-α-D-糖苷键的内水解。淀粉酶还包括β-淀粉酶(EC 3.2.1.2;替代名称:1,4-α-D-葡聚糖麦芽糖水解酶;糖原酶;糖原淀粉酶),所述β-淀粉酶催化多糖中的(1->4)-α-D-糖苷键的水解,以便从链的非还原端去除连续的麦芽糖单元。淀粉酶还包括例如γ-淀粉酶(EC 3.2.1.3;替代名称:葡聚糖1,4-α-葡糖苷酶;淀粉葡糖苷酶;Exo-1,4-α-葡糖苷酶;葡糖淀粉酶;溶酶体α-葡糖苷酶;1,4-α-D-葡聚糖葡糖水解酶),所述γ-淀粉酶催化末端(1->4)-连接的α-D-葡萄糖残基从链的非还原端连续水解,并释放β-D-葡萄糖。“血清淀粉酶”或“血清学淀粉酶”是指血清中的合计淀粉酶或总淀粉酶。正常血清淀粉酶的约35%-45%为胰腺来源。血清淀粉酶水平提高可以作为胰腺炎的标志物,因为当胰腺发炎时,高水平的淀粉酶将被释放到血液中。健康人受试者中淀粉酶的正常血清水平为0-137U/L,这可能与方法和群体有关。因此,在一些实施方案中,正常的血清淀粉酶水平可以因实验室以及因人类群体而异。

[0114] 如本文所用,术语“脂肪酶”是指催化脂肪(脂质)水解的酯酶的亚类。术语脂肪酶可以包括催化例如三酰甘油水解为甘油、二酰甘油、单甘油和游离脂肪酸的三酰甘油脂肪酶(EC 3.1.1.3)。术语脂肪酶还包括催化例如长链脂肪酸的甘油单酯水解的酰基甘油脂肪酶(EC 3.1.1.23)。“血清脂肪酶”或“血清学脂肪酶”是指血清中的合计脂肪酶或总脂肪酶。胰腺来源的脂肪酶占血清脂肪酶的显著和重要部分。血清脂肪酶水平提高可以作为胰腺炎的标志物,因为当胰腺发炎时,高水平的脂肪酶将被释放到血液中。健康人受试者中脂肪酶的正常血清水平为12-70U/L,这与方法和群体有关。因此,在一些实施方案中,正常的血清脂肪酶水平可以因实验室以及因人类群体而异。

[0115] 如本文所用,术语“水平升高”在提及标志物时,旨在意指标志物的水平高于正常

参考范围或具有正常胰腺组织学、生理学和/或功能的对应对照受试者的水平。此类升高的水平可以是具有正常胰腺组织学、生理学和/或功能的对照受试者或正常参考范围的水平的110％、120％、130％、140％、150％、160％、170％、180％、190％、200％、250％、300％、400％、500％、600％、700％、800％、900％、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、600倍、700倍、800倍、1000倍、2000倍、3000倍、4000倍、5000倍或更高倍。此类参考范围在下文进一步描述。

[0116] 如本文所用,术语“抗体”旨在意指免疫球蛋白类别的多肽内的B细胞的多肽产物或其合成或重组产生的等效物,其能够与特异性分子抗原结合,并由两对相同的多肽链组成,其中每对具有一条重链(约50-70kDa)和一条轻链(约25kDa),并且每条链的每个氨基末端部分包含约100至约130个或更多个氨基酸的可变区,并且每条链的每个羧基末端部分包含恒定区(参见Borrebaeck(编)(1995)Antibody Engineering,第二版,Oxford University Press.;Kuby(1997)Immunology,第三版,W.H.Freeman and Company,New York)。在本公开的上下文中,可以被本公开的抗体结合的特异性分子抗原包括靶标碳水化合物sLe^a。术语抗体涵盖例如,如下所述的单独的抗sLe^a单克隆抗体和抗CA-19-9单克隆抗体(包括激动剂、拮抗剂、中和抗体、全长或完整的单克隆抗体)、具有多表位或单表位特异性的抗sLe^a抗体和抗CA-19-9抗体组合物、多克隆抗体、单价抗体、多价抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体,只要它们表现出所需的生物活性)。抗体可以是人的、人源化的、嵌合的和/或亲和成熟的,以及来自其他种类的抗体,例如小鼠和兔等。本文提供的抗体可以是免疫球蛋白分子的任何类别(例如IgG、IgE、IgM、IgD和IgA)或任何亚类(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)。本文提供的抗体包括生物产生、重组产生或合成产生的那些抗体。

[0117] 术语“人”当关于抗体或其功能片段来使用时,是指具有对应于人种系免疫球蛋白序列的人可变区和/或人恒定区或其一部分的抗体或其功能片段。此类人种系免疫球蛋白序列由Kabat等(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH出版号91-3242描述。在本公开的上下文中,人抗体可以包括与sLe^a结合并由作为人种系免疫球蛋白核酸序列的天然存在的体细胞变体的核酸序列编码的抗体。实施例I中提供了产生人抗体的示例性方法,但是可以使用本领域技术人员众所周知的任何方法。

[0118] 术语“单克隆抗体”是指作为单细胞克隆或杂交瘤或衍生自单细胞的细胞群的产物的抗体。单克隆抗体还旨在指由重链和轻链编码免疫球蛋白基因通过重组方法产生的抗体,以产生单一分子免疫球蛋白种类。单克隆抗体制剂内的抗体的氨基酸序列基本上是同质的,并且这种制剂内的抗体的结合活性表现出基本上相同的抗原结合活性。相反,多克隆抗体是从群体内的不同B细胞获得的,所述多克隆抗体是与特异性抗原结合的免疫球蛋白分子的组合。多克隆抗体的每个免疫球蛋白可以结合相同抗原的不同表位。用于产生单克隆抗体和多克隆抗体的方法是本领域众所周知的(Harlow和Lane.,Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989)以及Borrebaeck(编),Antibody Engineering:A Practical Guide,W.H.Freeman and Co.,Publishers,New York,第103-120页(1991))。

[0119] 如本文所用,术语“功能片段”当关于抗体来使用时,旨在指包括重链或轻链多肽

的抗体的一部分,所述部分保留了与所述片段衍生的抗体一样的一些或全部结合活性。此类功能片段可以包括例如Fd、Fv、Fab、F(ab')、F(ab)$_2$、F(ab')$_2$、单链Fv(scFv)、双抗体、三抗体、四抗体和小分子抗体。其他功能片段可以包括例如重链或轻链多肽、可变区多肽或互补决定区(CDR)多肽或其部分,只要此类功能片段保持结合活性。此类抗体结合片段可以描述于例如Harlow和Lane,Antibodies:ALaboratoryManual,Cold Spring Harbor Laboratory,New York(1989);Myers(编),Molec.Biologyand Biotechnology:AComprehensiveDeskReference,New York:VCH Publisher,Inc.;Huston等,Cell Biophysics,22:189-224(1993);Plückthun和Skerra,Meth.Enzymol.,178:497-515(1989)以及Day,E.D.,AdvancedImmunochemistry,第二版,Wiley-Liss,Inc.,New York,NY(1990)。

[0120] 术语"重链"当关于抗体来使用时,是指约50-70kDa的多肽链,其中氨基末端部分包括约120至130个或更多个氨基酸的可变区并且羧基末端部分包括恒定区。恒定区可以是基于重链恒定区的氨基酸序列的五种不同类型(称为α、δ、ε、γ和μ)中的一种。不同的重链大小不同:α、δ和γ包含约450个氨基酸,而μ和ε包含约550个氨基酸。当与轻链组合时,这些不同类型的重链分别产生五种众所周知的抗体类别IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,包括IgG的四个亚类,即IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。重链可以是人重链。

[0121] 术语"轻链"当关于抗体来使用时,是指约25kDa的多肽链,其中氨基末端部分包括约100至约110个或更多个氨基酸的可变区并且羧基末端部分包括恒定区。轻链的大约长度为211至217个氨基酸。有基于恒定结构域的氨基酸序列的两种不同的类型,称为κ或λ。轻链氨基酸序列是本领域众所周知的。轻链可以是人轻链。

[0122] 术语"可变结构域"或"可变区"是指抗体的轻链或重链的一部分,其通常位于轻链或重链的氨基末端,并且在重链中长度为约120至130个氨基酸以及在轻链中长度为约100至110个氨基酸,并且用于每种特定抗体对其特定抗原的结合和特异性。可变结构域在不同抗体之间的序列中有广泛的差异。序列的可变性集中在CDR中,而可变结构域中的较小可变部分称为框架区(FR)。轻链和重链的CDR主要负责抗体与抗原的相互作用。本文使用的氨基酸位置的编号是根据EU索引,如Kabat等(1991)Sequences of proteins of immunological interest.(U.S.Department of Health and Human Services,Washington,DC.)第5版。可变区可以是人可变区。

[0123] CDR是指免疫球蛋白(Ig或抗体)VHβ折叠(β-sheet)框架的非框架区内的三个高变区(H1、H2或H3)中的一种,或抗体VLβ折叠框架的非框架区内的三个高变区(L1、L2或L3)中的一种。因此,CDR是穿插在框架区序列内的可变区序列。CDR区是本领域技术人员众所周知的,并且已经由例如Kabat定义为抗体可变(V)结构域内最具高变性的区域(Kabat等,J.Biol.Chem.252:6609-6616(1977);Kabat,Adv.Prot.Chem.32:1-75(1978))。CDR区序列也已由Chothia在结构上定义为那些不属于保守β折叠框架的一部分的残基,并因此能够适应不同的构象(Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。两种术语均是本领域中公认的。已通过比较众多结构确定了规范抗体可变结构域内CDR的位置(Al-Lazikani等,J.Mol.Biol.273:927-948(1997);Morea等,Methods 20:267-279(2000))。因为高变区内的残基数在不同的抗体中会有所不同,所以相对于规范位置的额外残基常规地在规范可变结构域编号方案中残基编号的旁边用a、b、c等编号(Al-Lazikani等,同上(1997))。此类命名

法对于本领域技术人员是类似地众所周知的。

[0124] 例如,根据Kabat(高变)或Chothia(结构性)指定定义的CDR,在下文表1中列出。

[0125] 表1:CDR定义

[0126]

	Kabat[1]	Chothia[2]	环位置
V_H CDR1	31-35	26-32	连接B链和C链
V_H CDR2	50-65	53-55	连接C'链和C"链
V_H CDR3	95-102	96-101	连接F链和G链
V_L CDR1	24-34	26-32	连接B链和C链
V_L CDR2	50-56	50-52	连接C'链和C"链
V_L CDR3	89-97	91-96	连接F链和G链

[0127]

[0128] [1]残基编号遵循Kabat等的命名法,同上

[0129] [2]残基编号遵循Chothia等的命名法,同上

[0130] 一个或多个CDR还可共价地或非共价地掺入分子中以使所述分子为免疫粘附素。免疫粘附素可掺入CDR作为较大多肽链的一部分,可将CDR共价地连接至另一多肽链,或可非共价地掺入CDR。CDR允许免疫粘附素与特定感兴趣的抗原结合。

[0131] 分离的是指所提及的分子不含自然界中发现的至少一种组分。所述术语包括在其天然环境中发现的从一些或全部其他组分中去除的抗体或抗体功能片段。抗体的天然环境的组分包括例如红细胞、白细胞、血小板、血浆、蛋白质、核酸、盐类和营养素。抗体功能片段的天然环境的组分包括例如脂质膜、细胞器、蛋白质、核酸、盐类和营养素。本文提供的抗体或抗体功能片段还可以不含或直至基本上不含分离或重组产生其的细胞的所有这些组分或任何其他组分。

[0132] 如本文所用,"同种型"是指由重链恒定区基因编码的抗体类别。给定抗体或功能片段的重链决定所述抗体或功能片段的类别:IgM、IgG、IgA、IgD或IgE。每个类别可以具有κ或λ轻链。术语"亚类"是指区分亚类的重链氨基酸序列的微小差异。在人类中,有两个IgA亚类(IgA1和IgA2亚类),并且有四个IgG亚类(IgG1、IgG2、IgG3和IgG4亚类)。此类类别和亚类是本领域技术人员众所周知的。

[0133] 如本文所用,术语"结合(binds/binding)"是指分子之间形成复合物的相互作用。相互作用可以是例如非共价相互作用,包括氢键、离子键、疏水相互作用和/或范德华(van der Waals)相互作用。复合物还可包括通过共价或非共价键、相互作用或力结合在一起的两个或多个分子的结合。可以使用例如酶联免疫吸附测定(第6.3.1节中提供的方法)或本领域技术人员众所周知的许多方法中的任何一种来检测抗体或其功能片段的结合。

[0134] 抗体或功能片段上的单个抗原结合位点与靶分子(诸如sLe^a)的单个表位之间的总非共价相互作用的强度是所述抗体或功能片段对所述表位的亲和力。抗体或其功能片段与单价抗原的缔合(k_1)与解离(k_{-1})的比率(k_1/k_{-1})为缔合常数K,其是亲和力的量度。对于抗体或功能片段和抗原的不同复合物,K的值是变化的,并且取决于k_1和k_{-1}。可以使用本文提供的任何方法或本领域技术人员众所周知的任何其他方法来确定本公开的抗体或功能片段的缔合常数K。

[0135] 在一个结合位点处的亲和力并不总是反映抗体或功能片段与抗原之间相互作用的真实强度。当包含多个重复抗原决定簇的复杂抗原(诸如多价sLe^a)与包含多个结合位点的抗体接触时,抗体或功能片段与抗原在一个位点处的相互作用将增加在第二个位点处发生反应的概率。多价抗体与抗原之间的此类多重相互作用的强度称为亲合力。抗体或功能片段的亲合力可以比其单个结合位点的亲和力更好地测量其结合能力。例如,高亲合力可以弥补有时发现的五聚体IgM抗体的低亲和力,所述IgM抗体的亲和力可以比IgG低,但是由于IgM的多价性,其高亲合力使其能够有效结合抗原。

[0136] 抗体或其功能片段的特异性是指单个抗体或其功能片段仅与一种抗原反应的能力。当抗体或功能片段可以区分抗原的一级、二级或三级结构或抗原的异构形式中的差异时,就可以认为其是特异性的。

[0137] 如本文所用,术语“治疗有效量”旨在意指治疗剂(例如本文提供的抗体或功能片段或本文提供的任何其他治疗剂)的量,其足以达到有益的或预期的治疗结果,例如治疗疾病、减少和/或减轻给定疾病和/或与之相关的症状的严重性和/或持续时间。治疗剂的治疗有效量可以是疾病的消退、减少或减轻;给定疾病的推进或进展的减少或减轻;给定疾病的复发、发展或发作的减少或减轻和/或改善或增强另一种疗法(例如除本文提供的抗体或功能片段的施用以外的疗法)的预防或治疗作用所必需的量。本公开提供了治疗有效量的本文提供的抗体和抗体片段。

[0138] 如本文所用,当将剂量称为更高量时,例如“更高量”时的剂量,“量”旨在意指“更高量”时的剂量包含更高量的抗体或抗体片段,以达到有益或预期的作用。此类“更高量”时的剂量包括例如,与在相同时间段内的对照或基础剂量相比,在限定时间段内施用的抗体或抗体片段的总量增加或更高的剂量。此类“更高量”时的剂量包括在限定的时间窗中更频繁地施用的剂量。例如,每天4次注射的剂量是与每天3次注射的剂量相比更高量的剂量,其中其他所有条件都相同。“更高量”时的剂量还包括每次施用增加或更高数量的抗体或抗体片段,同时保持施用频率相同,例如与每天3次注射1mg抗体相比,每天3次注射2mg抗体。“更高量”时的剂量还包括在给定时间窗中改变的施用频率和改变的每次施用量,只要在给定窗口中施用频率和每次施用量的乘积高于对照或基础剂量中的乘积即可。例如,一天中6次注射1mg抗体的剂量是比一天中3次注射1.5mg抗体的剂量“更高量”的剂量。类似地,在连续施用中,“更高量”的剂量包括其中施用速率和施用持续时间的乘积高于对照剂量中的乘积的剂量。当将剂量称为更低量(例如“更低量”时的剂量)时,“量”旨在意指如本文所提供的“更高量”时的剂量的相反说法。

[0139] 如本文所用,术语“效应子”当关于CA19-9使用时,旨在意指信号传导级联中胰腺或胰腺细胞中的分子,其是胰腺炎的疾病机制的基础,其中所述分子将响应于CA19-9的存在或刺激,例如经历生物化学、生物物理、表达水平或位置变化。CA19-9效应子的实例包括EGFR信号传导途径中的分子诸如EGFR、Akt和Erk,以及可以直接或间接与CA19-9结合的分子,以及可以以可观察到的生物效应而直接或间接受CA19-9影响的分子。

[0140] 如本文所用,术语“拟肽物分子”或“拟肽物”旨在意指具有其在结构上所基于的肽的活性的肽样分子。此类拟肽物包括化学修饰的肽、含有非天然存在的氨基酸的肽样分子以及类肽,并且具有得以衍生拟肽物的肽的活性诸如选择性结合活性(参见例如Goodman和Ro,Peptidomimetics for Drug Design,in“Burger's Medicinal Chemistry and Drug

Discovery"第1卷(M E.Wolff编;John Wiley&Sons(1995),第803-861页)。拟肽物分子包括含有氨基酸残基的模拟物(氨基酸模拟物)的分子,包括但不限于哌嗪核心分子、酮-哌嗪核心分子和二氮杂(diazepine)核心分子。此类氨基酸模拟物可以包含羧基和氨基两者以及对应于氨基酸侧链的基团,或者就甘氨酸模拟物而言,除氢以外没有侧链。

[0141] 6.2治疗胰腺炎的方法

[0142] 本文提供了一种用于预防、治疗、减轻或管理有需要的受试者中的胰腺炎的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的与唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段(抗sLe^a)。本文还提供了一种用于预防、治疗、减轻或管理有需要的受试者中的胰腺炎的方法,其包括:(1)以第一剂量向所述受试者施用与唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段(抗sLe^a),(2)确定所述受试者中的胰腺炎的严重性,以及(3)如果与施用抗sLe^{a}抗体前所述受试者中的胰腺炎的严重性相比,所述受试者中的胰腺炎的严重性降低,则以与所述第一剂量相同或更低的量施用第二剂量的与抗sLe^{a}结合的抗体或其功能片段;或者如果所述受试者中的胰腺炎的严重性没有降低,则以比所述第一剂量高的量施用第二剂量的与抗sLe^{a}结合的抗体或其功能片段。可用于所述方法的抗sLe^{a}抗体描述于第6.2.1.1节中。

[0143] 本文还提供了一种用于预防、治疗、减轻或管理有需要的受试者中的胰腺炎的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的与CA19-9结合的治疗剂。

[0144] 本文另外提供了一种用于预防、治疗、减轻或管理有需要的受试者中的胰腺炎的方法,其包括:(1)以第一剂量向所述受试者施用与CA19-9结合的治疗剂,(2)确定所述受试者中的胰腺炎的严重性,以及(3)如果与施用所述剂前所述受试者中的胰腺炎的严重性相比,所述受试者中的胰腺炎的严重性降低,则以与所述第一剂量相同或更低的量施用第二剂量的所述剂;或者如果所述受试者中的胰腺炎的严重性没有降低,则以比所述第一剂量高的量施用第二剂量的所述剂。

[0145] 在本文提供的所有方法中,特别是在第[0139]至[0141]段中描述的方法中:可以使用的治疗剂描述于第6.2.1节中,用于治疗的患者的选择描述于第6.2.2节中,用于施用所述剂的给药方案描述于下文第6.2.3节中,可用于鉴定所述治疗剂、选择所述患者、确定这些方法结果和/或以任何方式用作这些方法的标准的生物标志物描述于下文第6.2.2节中,所述治疗结果描述于下文第6.2.2节中。因此,本领域技术人员将理解,本文提供的方法包括如上文和下文所述的患者、治疗剂、给药方案、生物标志物和治疗结果的所有排列和组合。

[0146] 如下文关于患者群体的第6.2.2节中所述,通过本文提供的方法可治疗、可预防、可管理和可减轻的胰腺炎包括如上文和下文的定义和患者群体部分详细描述的慢性胰腺炎(包括慢性胰腺炎的各个阶段)以及急性胰腺炎。在一些实施方案中,本文提供的方法适用于轻度慢性胰腺炎、中度慢性胰腺炎和/或重度慢性胰腺炎。本文提供的方法还可用于轻度急性胰腺炎、中度急性胰腺炎和/或重度急性胰腺炎。因为患有急性胰腺炎的患者可以康复但发展为慢性胰腺炎,患有慢性胰腺炎的患者可以发展为急性胰腺炎,并且患者可以从慢性或急性胰腺炎的一个阶段发展为慢性和急性胰腺炎的另一阶段,因此本文提供的方法可用于具有如本文所述的慢性或急性胰腺炎的各个阶段的任何排列或组合的医疗记录的患者。

[0147] 如下文关于治疗剂的第6.2.1节中所述,本文提供的剂包括抗唾液酸化路易斯^{a}抗

体、与唾液酸化路易斯^{a}结合和/或调节唾液酸化路易斯^{a}活性的肽或拟肽物,或如本公开所提供的任何合适的治疗剂的任何排列或组合。

[0148] 本文提供的治疗剂还包括抗CA19-9抗体、与CA19-9结合和/或调节CA19-9活性的肽或拟肽物,或如本公开所提供的任何合适的治疗剂的任何排列或组合。

[0149] 如下文关于治疗剂的第6.2.1节中所述,本文提供的在治疗胰腺炎的方法中的剂可以以各种水平的纯度和杂质来分离或纯化;并且本文提供的剂还可以在各种药物组合物中,并被配制用于各种施用途径。因此,本文提供的方法包括使用如本公开所提供的以各种水平的纯度和杂质来分离或纯化的剂、各种药物组合物中的剂以及被配制用于各种施用途径的剂。

[0150] 本文提供的方法可以用于如本文所公开的各种受试者,包括哺乳动物。在一个实施方案中,本文提供的方法可用于人。

[0151] 如下文关于患者群体和生物标志物的第6.2.2节所公开,各种患者可以接受本文提供的方法,并且各种生物标志物可以用于选择患者并评估本文提供的方法的结果。在一些实施方案中,本文提供的方法可用于患者的选择性群体,包括患有轻度、中度或重度慢性胰腺炎的患者,以及患有轻度、中度或重度急性胰腺炎的患者。在其他实施方案中,本文提供的方法可用于患者的选择性群体,包括具有以下的患者:胰腺萎缩、胰腺炎症升高、胰腺炎中免疫细胞侵入升高、胰腺炎中胶原蛋白沉积升高、胰腺炎中纤维化组织升高、胰腺炎中脂肪坏死升高、胰腺炎中间质水肿升高、胰腺炎中腺泡和血管破坏升高、胰腺炎中间质出血升高、胰腺炎中导管扩张升高、胰腺炎中腺泡细胞均质化升高、胰腺炎中sLe^{a}的表达水平升高、CA19-9的表达升高、血清脂肪酶水平升高、血清淀粉酶水平升高、血清C反应蛋白水平升高或如本文所列举的患者标准的任何排列或组合。本文提供的方法还可以用于具有本文所述的各种患者群体和各种生物标志物的所有排列和组合。

[0152] 在其他实施方案中,本文提供的方法可用于各种患者或与各种生物标志物一起用于如第6.2.2节中提供的这些方法的治疗结果,其可以包括减少胰腺萎缩、减少胰腺炎症、减少胰腺炎中免疫细胞侵入、减少胰腺炎中胶原蛋白沉积、减少胰腺炎中纤维化组织、减少胰腺炎中脂肪坏死、减少胰腺炎中间质水肿、减少胰腺炎中腺泡和血管破坏、减少胰腺炎中间质出血、减少胰腺炎中导管扩张、减少胰腺炎中腺泡细胞均质化、降低胰腺炎中sLe^{a}的表达水平、降低CA19-9的表达水平、降低血清脂肪酶水平、降低血清淀粉酶水平、降低血清C反应蛋白水平或如本文所列举的结果的任何排列或组合。本文提供的方法可以进一步用于具有如本文提供的各种患者群体、各种生物标志物和/或治疗结果的所有排列和组合。

[0153] 6.2.1与治疗胰腺炎的方法一起使用的治疗剂

[0154] 具有所述特性的各种分子可以用于本文提供的方法中。本公开提供了胰腺中CA19-9的表达升高触发信号传导和/或病理学途径,这是胰腺炎的起始、发展和恶化的基础。因此,本公开提供了可以抑制、阻断、逆转、减少或减弱CA19-9的表达升高、唾液酸化路易斯^{a}的水平升高或其组合的治疗剂,可以用于本文提供的用于预防、治疗、减轻或管理胰腺炎的方法中。本公开进一步提供了升高的CA19-9表达导致EGFR信号传导途径的激活。在一些具体的实施方案中,可用于本文提供的方法的治疗剂包括具有减少胰腺中一种或多种信号传导标志物的活性的剂,其中所述信号传导标志物选自由以下组成的组:胰腺中的Akt磷酸化、胰腺中的EGFR磷酸化、胰腺中的Erk1/2磷酸化、胰腺中的CA19-9水平以及胰腺中的

唾液酸化路易斯[a]水平。

[0155] 如上所讨论,CA19-9涵盖带有唾液酸化路易斯[a]表位的蛋白质诸如糖蛋白以及脂质诸如糖脂。本公开提供了通过用抗CA19-9抗体(诸如实施例1、2和3中的5B1和NS19-9)进行的免疫沉淀测定鉴定的CA19-9的列表。本公开还提供了CA19-9,其包括本领域技术人员已知的携带唾液酸化路易斯[a]的蛋白质诸如糖蛋白以及脂质诸如糖脂,诸如上文CA19-9的定义中描述的那些。

[0156] 如上所述,可用于本文提供的方法的治疗剂包括各种类别的剂,例如抗体剂(诸如第6.2.1.1节中所述的抗CA19-9)以及如第6.2.1.2节所述的肽或拟肽物。

[0157] 治疗剂可以调节CA19-9的活性。“调节”分子的活性是指改变分子的活性。例如,与在不存在此类调节的情况下的CA19-9活性的大小相比,调节CA19-9活性包括引起CA19-9的某种活性的大小增加或减少。在某些实例中,调节CA19-9活性包括减少CA19-9的一种或多种活性的大小。在一些实例中,调节CA19-9活性包括完全阻止CA19-9的一种或多种活性。在其他实例中,调节CA19-9活性包括增加CA19-9的至少一种活性的大小。在另一个实例中,调节CA19-9活性包括诱导在不存在此类调节的情况下通常不会发生的CA19-9活性。涉及被调节的靶分子的“调节剂”是指可以“调节”此段中所述靶分子活性的分子。

[0158] CA19-9的活性是指CA19-9在细胞、组织、器官、生物体或任何生物系统中,例如在胰腺或胰腺细胞中的活性。CA19-9的作用是指CA19-9活性在细胞、组织、器官、生物体或任何生物系统中,例如在胰腺或胰腺细胞中的结果。CA19-9的此类活性包括CA19-9的即时活性,诸如诱导直接与CA19-9结合或以其他方式与CA19-9相互作用的另一种分子的生物化学、生物物理、位置或数量变化。然后,CA19-9的对应作用将包括由直接与CA19-9结合或以其他方式与CA19-9相互作用的其他分子的由CA19-9诱导的结果诸如生物化学、生物物理、位置或数量变化。此类活性还包括诸如诱导另一种分子上的生物化学、生物物理、位置或数量变化的活性,所述另一种分子不直接与CA19-9结合或以其他方式与CA19-9相互作用但在由CA19-9诱导的活性级联(例如信号传导级联)的进一步下游来响应于CA19-9的存在或刺激。然后,CA19-9的对应作用将包括后果,诸如由另一种分子的由CA19-9诱导的生物化学、生物物理、位置或数量变化,所述另一种分子不直接与CA19-9结合或以其他方式与CA19-9相互作用但在由CA19-9的活性级联(例如信号传导级联)的进一步下游来响应于CA19-9的存在或刺激。CA19-9活性的实例包括激活EGFR信号传导途径,从而导致诸如EGFR、Akt和Erk的分子的磷酸化增加,与可直接或间接与CA19-9相互作用的分子诸如选择素(包括E-选择素)结合,以及可以以可观察到的生物效应而直接或间接受CA19-9影响的分子水平的变化。

[0159] 在一些实施方案中,本文提供的治疗剂可以拮抗CA19-9或CA19-9活性。这种治疗性CA19-9拮抗剂可以抑制、降低或完全阻断CA19-9的一种或多种生物活性。CA19-9活性的拮抗剂包括在表达CA19-9的细胞或表达CA19-9配体(诸如CA19-9受体)的细胞中可以阻断、抑制或减少CA19-9介导的或CA19-9依赖性信号传导的分子。CA19-9活性的拮抗剂还包括可以阻断、抑制或减少CA19-9信号传导的分子。在一些实施方案中,CA19-9活性的拮抗剂还包括可以阻断、抑制或减少CA19-9与天然CA19-9结合分子结合的分子。在其他实施方案中,CA19-9活性的拮抗剂另外包括可以阻断、抑制或减少CA19-9与CA19-9配体诸如CA19-9受体结合的分子。在另一个实施方案中,CA19-9活性的拮抗剂还包括可以阻断、抑制或减少CA19-9结合分子或CA19-9效应子的重塑、加工、构象变化或修饰的分子。靶分子的“拮抗剂”

对靶分子是“拮抗的”。

[0160] 在一些实施方案中,本文提供的治疗剂可以是对CA19-9或CA19-9活性的阻断抗体、中和抗体或拮抗剂抗体,其中所述抗体与CA19-9结合并用作如上文第[0156]段中所定义的CA19-9或CA19-9活性的拮抗剂。

[0161] 6.2.1.1.所述方法中的抗体作为治疗剂。

[0162] 在一些实施方案中,可用于本文提供的方法的治疗剂是抗体,其具有抑制、阻断、逆转、减少或减弱胰腺中CA19-9表达升高、胰腺中唾液酸化路易斯^{a}水平升高或其任何组合的活性。适用于所述方法的示例性抗体包括抗CA19-9抗体和抗唾液酸化路易斯^{a}抗体。在一个实施方案中,适用于所述方法的示例性抗体是阻断或中和抗体。

[0163] 在一些具体的实施方案中,可用于本文提供的方法的治疗剂是抗CA19-9抗体或抗唾液酸化路易斯^{a}抗体。在其他具体的实施方案中,可用于本文提供的方法的治疗剂是阻断抗CA19-9抗体或阻断抗唾液酸化路易斯^{a}抗体。

[0164] 如本领域普通技术人员将理解,抗唾液酸化路易斯^{a}抗体可以是抗CA19-9抗体的子集,并且两种抗体都可以用于本文提供的方法中。在一些实施方案中,可用于本文提供的方法的抗体可以是与CA19-9和/或唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段,其中所述抗体包含VH结构域,所述VH结构域具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2的残基20-142、SEQ ID NO:6的残基20-142、SEQ ID NO:10的残基20-142、以及SEQ ID NO:14的残基20-145。

[0165] 在另一个实施方案中,可用于本文提供的方法的抗体可以是与CA19-9和/或唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段,其中所述抗体包含VL结构域,所述VH结构域具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4的残基20-130、SEQ ID NO:8的残基20-129、SEQ ID NO:12的残基20-130、以及SEQ ID NO:16的残基23-130。

[0166] 在另一个实施方案中,本文提供的方法中的抗CA19-9抗体可以是抗体或其功能片段,其中所述抗体重链或轻链或其功能片段具有图1-图8中描绘的或表2中列出的一个或多个互补决定区(CDR)。在另一方面,本文提供的方法中的抗CA19-9抗体可以包括美国专利号9,475,874中描述的克隆分离物5B1、9H3、5H11或7E3中任何一种的补体依赖性细胞毒性(CDC)活性和/或抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)活性,所述专利以引用的方式整体并入。用于评估抗体或其功能片段的特异性、亲和力和/或亲合力的方法是本领域众所周知的,并且本文提供了示例性方法。

[0167] 表2:克隆分离物的CDR

[0168]

可变结构域	核酸残基 (SEQ ID NO:)			氨基酸残基 (SEQ ID NO:)		
	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
5B1 VH	133-156 (NO:1)	208-231 (NO:1)	346-393 (NO:1)	55-62 (NO:2)	70-77 (NO:2)	116-131 (NO:2)
5B1 VL	133-156 (NO:3)	208-216 (NO:3)	325-360 (NO:3)	45-52 (NO:4)	70-72 (NO:4)	109-120 (NO:4)
9H3 VH	133-156 (NO:5)	208-231 (NO:5)	346-393 (NO:5)	45-52 (NO:6)	70-77 (NO:6)	116-131 (NO:6)
9H3 VL	133-156 (NO:7)	208-216 (NO:7)	325-357 (NO:7)	45-52 (NO:8)	70-72 (NO:8)	109-119 (NO:8)
5H11 VH	133-156 (NO:9)	208-231 (NO:9)	346-393 (NO:9)	45-52 (NO:10)	70-77 (NO:10)	116-131 (NO:10)
5H11 VL	134-156 (NO:11)	208-216 (NO:11)	325-360 (NO:11)	45-52 (NO:12)	70-72 (NO:12)	109-120 (NO:12)
7E3 VH	133-156 (NO:13)	208-231 (NO:13)	346-402 (NO:13)	45-52 (NO:13)	70-77 (NO:13)	116-134 (NO:14)
7E3 VK	145-162 (NO:15)	214-222 (NO:15)	331-360 (NO:15)	49-53 (NO:16)	72-74 (NO:16)	111-120 (NO:16)

[0169] 在一些实施方案中,本文提供的方法中的抗CA19-9抗体可包含具有少于六个CDR的抗体或其功能片段。在一些实施方案中,治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段包含选自由VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和/或VL CDR3组成的组的一个、两个、三个、四个或五个CDR。在具体实施方案中,治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段包含选自由美国专利号9,475,874中描述的克隆分离物5B1、9H3、5H11或7E3的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和/或VL CDR3组成的组的一个、两个、三个、四个或五个CDR,所述专利以引用的方式整体并入。

[0170] 在一些实施方案中,本公开提供了治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体或功能片段包含具有如美国专利号9,475,874中所述的克隆分离物5B1、9H3、5H11或7E3的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的可变重(VH)链结构域。此类VH结构域可包含SEQ ID NO:2的氨基酸残基55-62、70-77和116-131,或可替代地SEQ ID NO:6的氨基酸残基45-52、70-77和116-131,或可替代地SEQ ID NO:10的氨基酸残基45-52、70-77和116-131,或可替代地SEQ ID NO:14的氨基酸残基45-52、70-77和116-134。

[0171] 在另一个实施方案中,本公开提供了治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体包含具有如美国专利号9,475,874中所述的克隆分离物5B1、9H3、5H11或7E3的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的可变轻(VL)链结构域。此类VL结构域可包含SEQ ID NO:4的氨基酸残基45-52、70-72和109-120,或可替代地SEQ ID NO:8的氨基酸残基45-52、70-72和109-119,或可替代地SEQ ID NO:12的氨基酸残基45-52、70-72和109-120,或可替代地SEQ ID NO:16的氨基酸残基49-53、72-74和111-120。

[0172] 在一些实施方案中,本公开提供了治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体与sLe^a结合。因此,在一些方面,本公开提供了与sLe^a结合的分离的抗体或其功能片段,其中所述抗体或其功能片段包含VH结构域,所述VH结构域具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2的残基20-142、SEQ ID NO:6的残基20-142、SEQ ID NO:10的残基20-142、以及SEQ ID NO:14的残基20-145。

[0173] 在一些实施方案中,本公开提供了与sLe^a结合的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片

段,其中所述抗体或其功能片段包含VL结构域,所述VL结构域具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4的残基20-130、SEQ ID NO:8的残基20-129、SEQ ID NO:12的残基20-130、以及SEQ ID NO:16的残基23-130。

[0174] 在一些实施方案中,本公开提供了与sLe^a结合的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体或其功能片段包含VH结构域和VL结构域,其中所述VH结构域和所述VL结构域分别包含选自选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2的残基20-142和SEQ ID NO:4的残基20-130;SEQ ID NO:6的残基20-142和SEQ ID NO:8的残基20-129;SEQ ID NO:10的残基20-142和SEQ ID NO:12的残基20-130;以及SEQ ID NO:14的残基20-145和SEQ ID NO:16的残基23-130。

[0175] 在一些实施方案中,本公开提供了结合sLe^a的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体或所述功能片段具有表2中列出的描绘的一个或多个CDR。在一些其他实施方案中,本公开提供了治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,所述抗体或其功能片段包含一个或多个CDR(特别是CDR3),并且可以如美国专利号9,475,874中所述与sLe^a特异性结合。在一些方面,本文提供的方法中的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段可以包括如美国专利号9,475,874中所述的克隆分离物5B1、9H3、5H11或7E3中的任何一种的CDC活性和/或ADCC活性。

[0176] 在一些实施方案中,本公开提供了所述方法中的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体包含具有如美国专利号9,475,874中所述的克隆分离物5B1、9H3、5H11或7E3的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的VH链结构域。此类VH结构域可包含SEQ ID NO:2的氨基酸残基55-62、70-77和116-131,或可替代地SEQ ID NO:6的氨基酸残基45-52、70-77和116-131,或可替代地SEQ ID NO:10的氨基酸残基45-52、70-77和116-131,或可替代地SEQ ID NO:14的氨基酸残基45-52、70-77和116-134。

[0177] 在一些实施方案中,本公开提供了所述方法中的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体包含具有如美国专利号9,475,874中所述的克隆分离物5B1、9H3、5H11或7E3的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的VL链结构域。此类VL结构域可包含SEQ ID NO:4的氨基酸残基45-52、70-72和109-120,或可替代地SEQ ID NO:8的氨基酸残基45-52、70-72和109-119,或可替代地SEQ ID NO:12的氨基酸残基45-52、70-72和109-120,或可替代地SEQ ID NO:16的氨基酸残基49-53、72-74和111-120。

[0178] 在一些实施方案中,所述方法中的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段是单克隆抗体。在一些实施方案中,所述方法中的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段是IgG或IgM同种型。在其他实施方案中,所述方法中的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4亚类的抗体。

[0179] 在一些实施方案中,所述方法中的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段可以是但不限于Fab、Fab'、$F(ab')_2$、Fabc、scFV、双抗体、三抗体、小分子抗体或单域抗体(sdAB)。在一些方面,本公开为所述方法提供了双抗体,所述双抗体包含氨基酸序列SEQ ID NO:18或20。在一些方面,本公开的此类双抗体可以由具有核酸序列SEQ ID NO:17或19的多核苷酸编码。关于抗体及其功能片段,各种形式、改变和修饰是本领域众所周知的。本公开的sLe^a或CA19-9特异性抗体片段可以包括任何此类各种抗体形式、改变和修饰。下文列出了本领域已知的此类各种形式和术语的实例。

[0180] 在一些实施方案中,可用于本文提供的方法的抗体可以是与CA19-9和/或唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段,其中所述抗体包含重链,所述重链由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的重链氨基酸序列组成。在另一个实施方案中,可用于本文提供的方法的抗体可以是与CA19-9和/或唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段,其中所述抗体包含轻链,所述轻链由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的轻链氨基酸序列组成。在其他实施方案中,可用于本文提供的方法的抗体可以是与CA19-9和/或唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段,其中所述抗体包含轻链,所述轻链由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的轻链氨基酸序列组成;以及重链,所述重链由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的重链氨基酸序列组成。

[0181] 在另一个实施方案中,本文提供的方法中的抗CA19-9抗体可以是抗体或其功能片段,其中所述抗体重链或轻链或其功能片段具有由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的一个或多个互补决定区(CDR)。在另一方面,本文提供的方法中的抗CA19-9抗体可以包括由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的补体依赖性细胞毒性(CDC)活性和/或抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)活性。用于评估抗体或其功能片段的特异性、亲和力和/或亲合力的方法是本领域众所周知的,并且本文提供了示例性方法。

[0182] 在一些实施方案中,本文提供的方法中的抗CA19-9抗体可包含具有少于六个CDR的抗体或其功能片段。在一些实施方案中,治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段包含选自由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和/或VL CDR3组成的组的一个、两个、三个、四个或五个CDR。在具体的实施方案中,治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段包含选自由克隆分离物号SW-1116-19-9(也称为1116-NS-19-9、NS-19-9或NS19-9)的VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和/或VL CDR3组成的组的一个、两个、三个、四个或五个CDR,所述克隆分离物描述于美国专利号4,471,057中,所述专利以引用的方式整体并入。

[0183] 在一些实施方案中,本公开提供了治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体或功能片段包含可变重(VH)链结构域,所述可变重链结构域具有由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的VH链结构域CDR1、CDR2和CDR3序列的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列。在另一个实施方案中,本公开提供了治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体包含可变轻(VL)链结构域,所述可变轻链结构域具有由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的VL链结构域CDR1、CDR2和CDR3序列的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列。在其他实施方案中,本公开提供了治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体包含VL链结构域,所述VL链结构域具有由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的VL链结构域CDR1、CDR2和CDR3序列的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列;以及VH链结构域,所述VH链结构域具有由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的VH链结构域CDR1、CDR2和CDR3序列的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列。

[0184] 在一些实施方案中,本公开提供与sLe^{a}结合的分离的抗体或其功能片段,其中所述抗体或其功能片段包含VH结构域,所述VH结构域具有由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的可变重链的氨基酸序列。在一些实施方案中,本公开提供与sLe^{a}结合的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体或其功能片段包含VL结构域,所述VL结构域具有由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的可变轻链的氨基酸序列。在

另一个实施方案中,本公开提供与sLe^a结合的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体或其功能片段包含VL结构域,所述VL结构域具有由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的可变轻链的氨基酸序列;以及VH结构域,所述VH结构域具有由以ATCC登录号HB-8059保藏的杂交瘤产生的抗体的可变重链的氨基酸序列。

[0185] 在一些实施方案中,可用于本文提供的方法的抗体可以是与CA19-9和/或唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段,其中所述抗体包含由克隆分离物NS19-9的重链氨基酸序列组成的重链。在另一个实施方案中,可用于本文提供的方法的抗体可以是与CA19-9和/或唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段,其中所述抗体包含由克隆分离物NS19-9的轻链氨基酸序列组成的轻链。在其他实施方案中,可用于本文提供的方法的抗体可以是与CA19-9和/或唾液酸化路易斯^{a}结合的抗体或其功能片段,其中所述抗体包含由克隆分离物NS19-9的轻链氨基酸序列组成的轻链,以及由克隆分离物NS19-9的重链氨基酸序列组成的重链。

[0186] 在一些实施方案中,本公开提供了所述方法中的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体包含具有克隆分离物NS19-9的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的VH链结构域。在一些实施方案中,本公开提供了所述方法中的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体包含具有克隆分离物NS19-9的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的VL链结构域。在另一个实施方案中,本公开提供了所述方法中的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体包含具有克隆分离物NS19-9的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的VH链结构域,以及具有克隆分离物NS19-9的CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的VL链结构域。

[0187] 在一些其他方面,本公开提供了与sLe^a结合的分离的抗体或其功能片段,其中所述抗体或其功能片段包含具有克隆分离物NS19-9的可变重链氨基酸序列的VH结构域。在一些实施方案中,本公开提供了与sLe^a结合的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体或其功能片段包含具有克隆分离物NS19-9的可变轻链氨基酸序列的VL结构域。在另一个实施方案中,本公开提供了与sLe^a结合的治疗性抗CA19-9抗体或其功能片段,其中所述抗体或其功能片段包含具有克隆分离物NS19-9的可变轻链氨基酸序列的VL结构域,以及具有克隆分离物NS19-9的可变重链氨基酸序列的VH结构域。

[0188] 在一些实施方案中,所述方法中的治疗性抗体或其功能片段可以如美国专利号9,475,874中所述通过合适的手段(例如重组地、生物地或合成地)来产生,并通过合适的手段(例如色谱、离心、基于标签的亲和分离或微分溶出率)来纯化,所述专利在此以引用的方式整体并入。

[0189] 本文提供的方法中的治疗性抗体包含Fab片段。Fab片段是指由VL、VH、CL和CH1结构域组成的单价片段;$F(ab')_2$片段是包含通过铰链区处的二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段;Fd片段由VH和CH1结构域组成;Fv片段由抗体单臂的VL和VH结构域组成;并且dAb片段(Ward等,Nature 341:544-546,(1989))由VH结构域组成。

[0190] 本文提供的方法中的治疗性抗体包括可以具有一个或多个结合位点。如果存在多于一个结合位点,则所述结合位点可彼此相同或可不同。例如,天然存在的免疫球蛋白具有两个相同的结合位点,单链抗体或Fab片段具有一个结合位点,而“双特异性”或“双功能”抗体具有两个不同的结合位点。

[0191] 本文提供的方法中的治疗性抗体还可以是单链抗体。单链抗体(scFv)是指其中VL

和VH区经由接头(例如氨基酸残基的合成序列)连接以形成连续多肽链的抗体,其中所述接头足够长以允许蛋白链自身折叠并形成单价抗原结合位点(参见例如Bird等,Science242:423-26(1988)以及Huston等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-83(1988))。双抗体是指包含两个多肽链的二价抗体,其中每个多肽链包含通过接头连接的VH结构域和VL结构域,所述接头太短以致不能允许在同一条链上的两个结构域之间配对,因此允许每个结构域与另一条多肽链上的互补结构域配对(参见例如Holliger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-48(1993)以及Poljak等,Structure 2:1121-23(1994))。如果双抗体的两条多肽链是相同的,则由其配对所产生的双抗体将具有两个相同的抗原结合位点。具有不同序列的多肽链可用于制备具有两个不同抗原结合位点的双抗体。类似地,三抗体和四抗体是分别包含三条多肽链和四条多肽链并且分别形成三个抗原结合位点和四个抗原结合位点的抗体,所述抗原结合位点可相同或不同。

[0192] 本公开还提供了治疗性抗体或其功能片段,其是如美国专利号9,475,874中所述的5B1、9H3、5H11和/或7E3以及如美国专利号4,471,057中所述的NS19-9的衍生物,其中所述抗体或功能片段与CA19-9和sLe^a结合。可以使用本领域技术人员众所周知的标准技术在编码本公开的抗体或其功能片段的核苷酸序列中引入突变,所述突变包括例如产生氨基酸取代的定点诱变和PCR介导的诱变。在一些方面,所述衍生物相对于原始分子包括少于25个氨基酸取代、少于20个氨基酸取代、少于15个氨基酸取代、少于10个氨基酸取代、少于5个氨基酸取代、少于4个氨基酸取代、少于3个氨基酸取代或少于2个氨基酸取代。

[0193] 在一些实施方案中,本公开提供了治疗性抗体或其功能片段,其具有天然存在的氨基酸、保守取代、非天然存在的氨基酸、氨基酸类似物和模拟物的修饰形式,只要此类抗体或功能片段保留如本文所定义的功能活性。在一个实施方案中,所述衍生物具有在一个或多个预测的非必需氨基酸残基上进行的保守氨基酸取代。保守氨基酸取代是其中氨基酸残基被具有带类似电荷的侧链的氨基酸残基置换的一种保守氨基酸取代。具有带类似电荷的侧链的氨基酸残基的家族已经在本领域中定义。这些家族包括具有以下的氨基酸:碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷的极性侧链(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、β支链侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)以及芳香族侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。可替代地,可以诸如通过饱和诱变沿着所有或部分的编码序列随机引入突变,并且可以筛选所得突变体的生物活性以鉴定保留活性的突变体。诱变后,可以表达编码的抗体或其功能片段,并且可以确定所述抗体或功能片段的活性。

[0194] 在一些实施方案中,本公开提供了治疗性抗体或其功能片段,其具有包含在本公开的抗体或功能片段内的Fc片段的修饰的岩藻糖基化、半乳糖基化和/或唾液酸化。Fc片段的此类修饰可以影响Fc受体介导的活性,如Peipp等,Blood,112(6):2390-2399(2008)中所讨论。例如,与岩藻糖基化的对应物相比,缺少来自Fc N-聚糖的核心岩藻糖残基的糖基工程化的治疗性抗体在更低浓度下显示出强大的ADCC与更高的功效。Shields等,J.Biol.Chem.,277(30):26733-40(2002);Okazaki等,J MolBiol.,336:1239-1249(2004);Natsume等,J.Immunol.Methods.,306:93-103(2005)。用于修饰抗体或其功能片段的岩藻糖基化、半乳糖基化和/或唾液酸化的方法是本领域众所周知的。例如,去岩藻糖基化方法

可以分为三种方法:(1)将非哺乳动物细胞的N-糖基化途径转化为“人源化”非岩藻糖基化途径;(2)哺乳动物细胞N-聚糖岩藻糖基化途径的失活以及(3)非岩藻糖基化N-糖蛋白的体外化学合成或将N-聚糖酶促修饰为非岩藻糖基化形式,如Yamane-Ohnuki等,MAbs.,1(3):230-236(2009)中所述。应理解,这些方法中的任何一种或本领域众所周知的任何其他方法都可用于产生具有修饰的岩藻糖基化、半乳糖基化和/或唾液酸化的抗体或其功能片段。

[0195] 6.2.1.2.所述方法中的肽和拟肽物作为治疗剂。

[0196] 肽和拟肽物提供与靶蛋白进行选择性和高亲和力相互作用所需的结构多样性。本公开提供了在所述方法中作为治疗剂的肽和拟肽物。在一些实施方案中,可用于本文提供的方法的治疗剂是肽或拟肽物,其具有抑制、阻断、逆转、减少或减弱胰腺中CA19-9表达升高、胰腺中EGFR信号传导途径升高、胰腺中唾液酸化路易斯^{a}水平升高或其任何组合的活性。适用于所述方法的示例性肽或拟肽物包括与靶标特异性结合的肽或拟肽物,所述靶标选自由CA19-9和唾液酸化路易斯^{a}组成的组。在一个实施方案中,适用于所述方法的示例性肽是阻断或中和肽。在另一个实施方案中,适用于所述方法的示例性拟肽物是阻断或中和拟肽物。

[0197] 所述方法中的治疗性肽可以基于两种蛋白质之间的结合区域的序列。线性序列可以源自结构化结构域内的环,或源自蛋白质末端或限定结构域之间的无序区域。为了达到期望的功效,治疗性肽可经由与靶向序列融合来靶向至生物体、组织或细胞中的适当位点,并在体内与预期的蛋白质靶标结合。在一个实施方案中,治疗肽是短肽序列,例如不超过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个氨基酸的肽,所述氨基酸将结合并阻断靶蛋白的功能以达到如本文所提供的所需活性。可以根据靶蛋白上可用的结构信息,例如肽或拟肽物的基于结构的设计,来确定这些线性序列。此外,可以使用第6.2.1.2节中所述的肽文库和阵列技术来筛选和选择如第[0189]段中所述用于预防、治疗、减轻或管理与胰腺炎相关靶标的治疗性肽和拟肽物。

[0198] 可以在第6.3节和实施例中所述的任何测定中,从肽或拟肽物文库中鉴定、测试和验证治疗性肽或其变体的活性。可以根据第6.3节和第6.2.1.2节中描述的测定,从肽或拟肽物文库中筛选和鉴定治疗性肽。所述肽可以根据本领域普通技术人员众所周知的方法例如如WO 2007/019545;WO 2015/009820A2;和WO 2009/094172 A2中所述重组地或合成地产生,所述专利在此以引用的方式整体并入。

[0199] 可以从中鉴定和选择治疗性肽的肽文库和拟肽物文库是本领域普通技术人员众所周知的。例如,合适的肽文库可以是生物肽文库,其中所述肽文库具有基因型或编码所述肽序列的DNA序列,所述DNA序列与所述肽的表达相关,作为文库正常结构的一部分。示例性生物肽文库包括噬菌体、细菌、核糖体、mRNA、酵母、cDNA、逆转录病毒、杆状病毒和哺乳动物细胞展示的生物肽文库。合适的肽文库还可以是化学肽文库,其中所述肽文库是合成产生的。示例性化学肽文库包括组合肽文库,诸如单珠单化合物(OBOC)文库和位置扫描合成肽组合文库(PS-SPCL)。例如,线性组合化学文库诸如多肽文库是针对给定的化合物长度(即多肽化合物中氨基酸的数量)通过以各种可能方式组合化学构建块(氨基酸)集合而形成的。数百万种化学化合物可通过化学构建块的此类组合混合而合成。用于产生肽文库以及用于从各种肽文库中选择靶结合和/或靶阻断肽的详细方案描述于Kehoe JW等,

Chem.Rev.2005;105:4056;Hill HR等,Mol.Microbiol.1996;20:685;Smith GP等,Chem.Rev.1997;97:391;Cabilly S.Mol.Biotechnol.1999;12:143;Fukunaga K等,J.Nucleic Acids.2012;2012:9;Gray BP等,Chem Rev.2014;114(2):1020-1081,所述专利均在此以引用的方式整体并入。

[0200] 在某些实施方案中,用于本发明方法的肽可包含某些结构或功能基序。肽的基序是指肽链的氨基酸序列内的一组连续氨基酸和/或所述肽的二级和/或三级结构内的一组线性或空间相邻的氨基酸。因为所述基序可以全部或部分由于蛋白质折叠而形成,所以描述的基序中相邻的氨基酸可以被肽的线性氨基酸序列内的0个、1个或更多个、5个或更多个、10个或更多个、15个或更多个或20个或更多个氨基酸分开。例如,治疗性肽可以是如本文所提供的任何抗CA19-9的任何CDR序列的肽或其变体。

[0201] 在某些实施方案中,用于本发明方法的肽包含与本文提供的任何治疗性肽具有30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%序列同一性的肽。为了确定两个氨基酸序列的同一性百分比,将序列进行比对以达到最佳的比较目的。然后比较对应氨基酸位置的氨基酸残基。当第一序列中的位置由与第二序列中的对应位置相同的氨基酸残基占据时,那么在所述位置处的分子是相同的。两个序列之间的同一性百分比是所述序列共享的相同位置数的函数(即同一性%=相同重叠位置数×100/总位置数)。在一个实施方案中,所述两个序列具有相同长度。在替代实施方案中,序列具有不同的长度,并因此同一性百分比是指较短序列与较长序列的一部分的比较,其中所述部分与所述较短序列的长度相同。

[0202] 具有额外修饰的肽还可以用于本文提供的用于预防、治疗、减轻或管理胰腺炎的方法中。例如,上述结构基序的肽可以用一个或多个(D)-氨基酸合成。将(L)-氨基酸或(D)-氨基酸包括到本文提供的方法中有用的肽中的选择部分取决于所述肽的所需特征。例如,一个或多个(D)-氨基酸的掺入可以赋予所述肽在体外或体内增加的稳定性。一个或多个(D)-氨基酸的掺入还可以增加或降低例如如使用本文所述的生物测定或本领域众所周知的其他方法测定的所述肽的结合活性。

[0203] 用对映体(D)-氨基酸的相应序列置换(L)-氨基酸序列的全部或部分,使肽链的相应部分呈现光学异构结构。(L)-氨基酸序列的全部或部分序列的倒位呈现肽的逆向类似物。对映体(L至D,或D至L)置换和序列倒位的组合呈现肽的逆向-反向类似物。本领域技术人员已知对映体肽、它们的逆向类似物和它们的逆向-反向类似物与亲本肽保持显著的拓扑关系,并且特别是所述亲本和其逆向-反向类似物常常获得高度相似性。这种关系和相似性可以反映在肽的生物化学特性中,特别是对应的肽和类似物与受体蛋白的高度结合。例如,在Methods of Organic Chemistry(Houben-Weyl)、Synthesis of Peptides and Peptidomimetics-Workbench版第E22c卷(Goodman M.主编)2004(George Thieme Verlag Stuttgart,New York)以及其中引用的参考文献中已讨论了肽的逆向-反向类似物的特性的合成,所述参考均在此以引用的方式整体并入本文。

[0204] 本文提供的治疗性肽还包括具有氨基酸修饰的肽。氨基酸“修饰”是指天然存在氨基酸的改变以产生非天然存在氨基酸。可以与本文提供的方法一起使用的具有非天然存在氨基酸的肽的衍生物可以通过化学合成或通过在生物合成过程中将非天然氨基酸位点特异性掺入肽中来产生,如Christopher J.Noren,Spencer J.Anthony-Cahill,Michael

C.Griffith,Peter G.Schultz,1989Science,244:182-188中所述,所述参考在此以引用的方式整体并入本文。

[0205] 在结构上类似于治疗上有用的肽的拟肽物(肽模拟物)可用于产生等效的治疗或预防作用。一般来说,拟肽物在结构上类似于范式多肽(即具有生物化学特性或药理活性的多肽),但具有一个或多个肽键,所述肽键任选地被选自由以下组成的组的键置换:--CH_2—NH--、--CH_2S--、--CH_2—CH_2--、--CH=CH—(顺式和反式)、--$COCH_2$--、--CH(OH)CH_2--和—CH_2SO--,上述置换通过本领域已知并在以下参考文献中进一步描述的方法来进行:Spatola,A.F.在“Chemistry and Biochemistry of Amino Acids,Peptides,and Proteins,”中B.Weinstein编,Marcel Dekker,New York,第267页(1983);Spatola,A.F.,Vega Data(1983年3月),第1卷第3期,“Peptide Backbone Modifications”(综述);Morely,J.S.,Trends Pharma Sci(1980)第463-468页(综述);Hudson,D.等,(1979)Int J Pept Prot Re 14:177-185(--CH_2—NH--、--CH_2—CH_2--);Spatola,A.F.等,(1986)Life Sci38:1243-1249(--CH_2—S--);Hann,M.M.,(1982)J Chem Soc Perkin Trans I 307-314(--CH=CH--,顺式和反式);Almquist,R.G.等,(1980)J Med Chem 23:1392(--$COCH_2$--);Jennings-White,C等,(1982)Tetrahedron Lett 23:2533(--$COCH_2$--);Szelke,M等,欧洲申请EP 45665(1982)CA:97:39405(1982)(--CH(OH)CH_2--);Holladay,M.W.等,(1983)Tetrahedron Lett 24:4401-4404(--C(OH)CH_2--);以及Hruby,V.J.,(1982)Life Sci 31:189-199(--CH_2—S--);所述参考各自以引用的方式并入本文。

[0206] 在拟肽物的另一个实施方案中,非肽键是--CH_2NH--。此类肽模拟物相对于肽实施方案具有显著优势,包括例如:更经济的生产、更大的化学稳定性、增强的药理特性(半衰期、吸收、效力、功效等)、改变的特异性(例如广谱的生物活性)、降低的抗原性等。

[0207] 肽模拟物的多种设计是可能的。例如,特别设想了其中必需构象被非肽稳定的环肽,Lobl等的美国专利号5,192,746、Aversa等的美国专利号5,576,423、Shashoua的美国专利号5,051,448以及Gaeta等的美国专利号5,559,103(均在此以引用的方式并入)描述了产生此类化合物的多种方法。模拟肽序列的非肽化合物的合成也是本领域中已知的。Eldred等,J.Med.Chem.37:3882(1994)(在此以引用的方式整体并入本文)描述了模拟肽序列的非肽拮抗剂。同样,Ku等,J.Med.Chem 38:9(1995)(在此以引用的方式整体并入本文)进一步阐明了一系列此类化合物的合成。

[0208] 另外,治疗性肽可以是在肽序列中具有突变的肽。本文提供的突变可以是取代,包含内部或末端氨基酸残基的保守或非保守取代;缺失,包含内部缺失和末端残基缺失;添加,包含内部添加和对肽的两个末端的添加,所有这些都可以根据本领域普通技术人员众所周知的方法进行,例如如Molecular Cloning:A Laboratory Manual(第四版);ISBN 978-1-936113-42-2中所述。

[0209] 可以在治疗性肽中的一个或多个氨基酸残基处进行保守或非保守氨基酸取代。还可以进行保守和非保守取代。保守置换是发生在其侧链中相关的氨基酸家族内的置换。非保守取代是一个家族的氨基酸被来自不同家族的氨基酸取代。遗传编码的氨基酸可分为四个家族:(1)酸性=Asp(D)、Glu(G);(2)碱性=Lys(K)、Arg(R)、His(H);(3)非极性(疏水性)=Cys(C)、Ala(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Pro(P)、Phe(F)、Met(M)、Trp(W)、Gly(G)、Tyr(Y);(4)不带电的极性=Asn(N)、Gln(Q)、Ser(S)、Thr(T)。非极性可细分为:强疏水性=Ala

(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Met(M)、Phe(F);和中度疏水性=Gly(G)、Pro(P)、Cys(C)、Tyr(Y)、Trp(W)。以替代的方式,氨基酸组库可分组为(1)酸性=Asp(D)、Glu(G);(2)碱性=Lys(K)、Arg(R)、His(H);(3)脂肪族=Gly(G)、Ala(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Ser(S)、Thr(T),其中Ser(S)和Thr(T)任选地单独分组为脂肪族-羟基;(4)芳香族=Phe(F)、Tyr(Y)、Trp(W);(5)酰胺=Asn(N)、Glu(Q);以及(6)含硫=Cys(C)和Met(M)。(参见例如Biochemistry,第4版,L.Stryer编,WH Freeman and Co.,1995,所述参考以引用的方式并入本文)。

[0210] 在某些实施方案中,用于本方法的肽可以是分离的或纯化的肽。分离的或纯化的肽是指一种肽,这种肽基本上不含所提及的肽存在于产生所述肽的细胞或微生物中时的至少一种组分,或基本上不含所提及的肽在首次合成时以混合物形式存在时的至少一种组分。因此,所述肽可以基本上不含细胞材料(诸如脂质、DNA和/或碳水化合物)或来自蛋白质或肽所衍生的细胞或组织来源的其他污染蛋白质,或在化学合成时基本上不含化学前体或其他化学物质。"基本上不含"一词包括肽的制备,其中所述肽与从中分离出所述肽的混合物的一种或多种组分分离。因此,基本上不含细胞材料的肽包含具有少于约30%、20%、10%或5%(以干重计)的异源蛋白(在本文中也称为"污染蛋白")的肽的制剂。当重组产生肽时,所述肽可以基本上不含培养基,例如培养基占蛋白质制剂体积的少于约20%、10%或5%。当通过化学合成产生肽时,所述肽可以基本上不含化学前体或其他化学物质,例如,所述肽与蛋白质合成中涉及的化学前体或其他化学物质分离。因此,此类肽的制剂具有少于约30%、20%、10%、5%(以干重计)的感兴趣的肽以外的化学前体或化合物。例如,本文提供的肽和/或用于如本文所提供的方法的肽可以是分离或纯化的肽,或尚未分离或纯化的肽。

[0211] 6.2.2患者群体、生物标志物和治疗结果

[0212] 如上所讨论,胰腺炎可分为慢性胰腺炎和急性胰腺炎。在一些实施方案中,急性胰腺炎与慢性胰腺炎之间的差异在于胰腺炎症和胰腺损害的持续时间和持续性。急性胰腺炎是指单独的(有时是突然的或短暂的)胰腺炎发作,常常伴有剧烈的腹痛。慢性胰腺炎是指胰腺中持续的不可逆的炎症和纤维化病状,导致胰腺外分泌和/或内分泌功能的长期损害。因此,慢性胰腺炎可涵盖胰腺中炎症持续存在的胰腺炎,或者即使炎症已经消退,但由此导致的对胰腺的损害(诸如以纤维化、钙化和导管损伤为特征的损害)仍然会影响胰腺功能。从上文和下文的讨论中可以清楚地看出,发展为急性胰腺炎和慢性胰腺炎的原因和机制是重叠的。因此,本领域技术人员将理解,急性胰腺炎可导致慢性胰腺炎,慢性胰腺炎患者可发生急性胰腺炎的发作。此外,已解决一种或多种急性胰腺炎发作的患者可发展为慢性胰腺炎。

[0213] 根据本文所述的各种标志物,急性胰腺炎可以进一步分为不同的阶段。例如,根据Atlanta分类,急性胰腺炎可进一步分为轻度急性胰腺炎和重度急性胰腺炎(Edward L.Bradley,Arch Surg.1993;128(5):586-590),所述参考以引用的方式整体并入本文。轻度急性胰腺炎是指具有最小的器官功能障碍、无胰腺组织坏死、无器官衰竭和/或与自限性病程相关的急性胰腺炎。重度急性胰腺炎是指伴有器官衰竭、局部胰腺并发症(诸如假性囊肿)和/或组织坏死(坏死性胰腺炎)的胰腺炎。已采用各种评分系统对急性胰腺炎进行进一步分类,包括Ranson标准、Glasgow-Imrie预后标准、CT严重性指数、APACHE II分类系统和

Balthazar CT增强评分系统,如GI/Liver Secrets Plus,第4版,McNally PR编,2010的关于急性胰腺炎的第37章以及Carroll JK等,Am Fam Physician2007;75:1513-20中所公开,所述参考以引用的方式整体并入本文。在一些实施方案中,来自各种急性胰腺炎评分系统的评分可以用于对急性胰腺炎进行分类。例如,满足Ranson系统的11个标准中的3个标准以下可以指示轻度急性胰腺炎,而在Ranson系统中满足11个标准中的3个或更多个标准可以指示重度急性胰腺炎。在一个实施方案中,在Glasgow-Imrie评分系统中满足8个标准中的3个或更多个标准可以指示重度急性胰腺炎,而在同一系统中满足3个以下标准可以指示轻度急性胰腺炎。在另一个实施方案中,在APACHE II评分系统的14个标准中评分为8或更多分可以指示重度急性胰腺炎,而在同一系统中评分少于8分可以指示轻度急性胰腺炎。在其他实施方案中,标准和评分系统是本领域普通技术人员众所周知的,并且已经在GI/Liver Secrets Plus,第4版,McNally PR编,2010的关于急性胰腺炎的第37章;Carroll JK等,Am Fam Physician2007;75:1513-20以及Matull WR等,J Clin Pathol 2006;59:340-344中详细描述,所述参考均以引用的方式整体并入本文。本文提供的方法可用于由本文公开的任何分类系统分类的急性胰腺炎的任何阶段的患者。

[0214] 可替代地,根据修订的Atlanta分类(Banks PA等,Gut 2013;62:102-111),急性胰腺炎可进一步分为轻度急性胰腺炎、中度急性胰腺炎和重度急性胰腺炎,所述参考以引用的方式整体并入本文。在修订的Atlanta分类中,轻度急性胰腺炎是指患者无器官衰竭且无局部或全身性并发症的急性胰腺炎;中度急性胰腺炎是指患者患有短暂性器官衰竭(在48小时内消退的器官衰竭)和/或局部或全身性并发症而无持续性器官衰竭的急性胰腺炎;并且重度急性胰腺炎是指患者患有持续性器官衰竭(单器官衰竭或多器官衰竭超过48小时)的急性胰腺炎。本文提供的方法可用于根据本文公开和引用的修订的Atlanta分类的轻度急性胰腺炎、中度急性胰腺炎和重度急性胰腺炎的患者。

[0215] 还可以在评分系统中确定轻度急性胰腺炎、中度急性胰腺炎和重度急性胰腺炎的分类。在用于急性胰腺炎分类的此类评分系统的一个实施方案中,以计算机断层扫描严重性指数(CTSI)评估患者。在CTSI中,首先以Balthazar评分对患者进行评估,其中正常胰腺的评分为0,胰腺肿大的评分为1,胰腺和胰周脂肪炎性变化的评分为2,限定不清的单个胰周液收集评分为3,并且两个或更多个限定不清的胰周液收集评分为4。进一步以胰腺坏死评分对患者进行评估,其中无胰腺坏死评分为0,不超过30%的胰腺坏死评分为2,超过30%但不超过50%的胰腺坏死评分为4,并且超过50%的胰腺坏死评分为6。在一些实施方案中,然后可以将Balthazar评分和胰腺坏死评分的总和用于对急性胰腺炎进行分类,其中总评分为0至3被分类为轻度急性胰腺炎,总评分为4至6被分类为中度急性胰腺炎,并且总评分为7至10被分类为重度急性胰腺炎。本文提供的方法可用于根据本文公开的CTSI分类的轻度急性胰腺炎、中度急性胰腺炎和重度急性胰腺炎的患者。

[0216] 另外,根据Banks PA等,Gut 2013;62:102-111,急性胰腺炎可以细分为两种类型:间质性水肿性胰腺炎和坏死性胰腺炎。间质性水肿性胰腺炎是指具有由于炎性水肿引起的胰腺弥漫性(或偶发性局部性)肿大的急性胰腺炎。坏死性胰腺炎是指具有胰腺实质、胰周组织或两者坏死的急性胰腺炎。本文提供的方法可以用于本文公开的间质性水肿性胰腺炎或坏死性胰腺炎的患者。

[0217] 类似地,根据Cambridge分类系统,慢性胰腺炎可进一步分为轻度慢性胰腺炎、中

度慢性胰腺炎和重度慢性胰腺炎(分别也称为Cambridge分类或Cambridge I、II和III期),如Sai JK等,World J Gastroenterol.2008年2月28日;14(8):1218-21;Samer M等,Gut.1984年7月;25(7):756-9;Axon AT等,Gut.1984年10月;25(10):1107-12中所述,所述参考均以引用的方式整体并入本文。轻度慢性胰腺炎是指在内镜逆行胰胆管造影术(ERCP)检查结果中具有3个或更多个异常分支,并且在超声或计算机断层扫描(CT)检查结果中具有以下组之一中的2个或更多个的胰腺炎:腔<10mm、导管不规则、局灶性急性坏死、实质(panrenchymal)异质性、导管壁回声增强以及头部或身体轮廓不规则。中度慢性胰腺炎是指在ERCP检查结果中具有超过3个异常侧枝和主导管异常,并且在超声或CT检查结果中具有以下组之一中的2个或更多个的胰腺炎:腔<10mm、导管不规则、局灶性急性坏死、实质异质性、导管壁回声增强以及头部或身体轮廓不规则。重度慢性胰腺炎是指至少具有轻度和中度慢性胰腺炎异常,并且另外选自ERCP检查结果中的大腔>10mm、导管内充盈缺损、导管阻塞(狭窄)以及导管扩张或不规则的1种或多种,以及选自大腔>10mm、导管内充盈缺损、导管阻塞(狭窄)、导管扩张或不规则、结石和/或胰腺钙化以及邻近器官侵入中的1种或多种的胰腺炎。本文提供的方法可用于本文公开的轻度慢性胰腺炎、中度慢性胰腺炎和重度慢性胰腺炎的患者。

[0218] 如上文和下文所述,本文提供的方法可以改善胰腺炎患者中本文所述的胰腺炎标志物的任何一种或多种。当指胰腺炎标志物时,术语“改善(improve/improving/improvement)”包括胰腺炎标志物的任何变化,只要所述变化在从患有胰腺炎的受试者的标志物到无胰腺炎的受试者的标志物或正常参考范围的方向。因此,对于与胰腺炎的严重性相关的胰腺炎标志物,所述胰腺炎标志物的这种“改善”将意指胰腺炎标志物的减少。此类相关标志物的实例包括免疫细胞侵入、胶原蛋白沉积、纤维化组织、脂肪坏死、间质水肿、腺泡和血管破坏、间质出血、导管扩张、腺泡细胞均质化、sLe^a的表达水平、CA19-9的表达水平、血清脂肪酶水平、血清淀粉酶水平、血清C反应蛋白水平、体重减轻、食物吸收不良、胰腺萎缩、胰腺肿大、胰腺炎症、胆汁反流和胰腺炎渗透率。对于与胰腺炎的严重性反向相关的胰腺炎标志物,所述胰腺炎标志物的这种“改善”将意指胰腺炎标志物的增加。反向相关的胰腺炎标志物的实例包括胰腺功能的百分比、胰腺腺泡的数量和腺泡细胞的数量。本文提供了关于标志物和治疗结果的进一步公开。

[0219] 在一些具体的实施方案中,本公开进一步提供了本文提供的方法可以通过解决患者的胰腺炎或逆转如通过本文所述的任何分类系统所分类的胰腺炎的阶段来改善患者的治疗结果,例如从重度急性/慢性胰腺炎到中度急性/慢性胰腺炎、从重度急性/慢性胰腺炎到轻度急性/慢性胰腺炎,或从中度急性/慢性胰腺炎到轻度急性/慢性胰腺炎。由于本文提供的方法而导致的此类改善还可以是患者胰腺炎阶段的进展迟缓,诸如当与未治疗或用安慰剂治疗的类似患者相比时,从一个阶段到另一个阶段的进展不迅速,或者可以是患者胰腺炎阶段的稳定,诸如患者的胰腺炎停留在轻度、中度或重度胰腺炎而所述疾病不会恶化至下一阶段。

[0220] 可替代地,可以根据由Sarlesas修改的Marseilles-Rome分类对慢性胰腺炎进行分类。基于流行病学、分子生物学和形态学,此分类将慢性胰腺炎分为四组。在这种分类系统中,慢性胰腺炎被分类为钙化性慢性胰腺炎,其特征在于不规则纤维化、导管内蛋白栓、导管内结石和/或导管损伤;阻塞性慢性胰腺炎,其特征在于腺体变化、均匀纤维化、导管扩

张、腺泡萎缩和/或随着胰管阻塞消除而来的改善;炎性慢性胰腺炎,其特征在于单核细胞浸润、外分泌实质破坏、弥漫性纤维化和/或萎缩;和无症状性胰腺纤维化,其特征在于无声弥漫性小叶周围纤维化。本文提供的方法可用于根据Marseilles-Rome分类方案分类的任何阶段的慢性胰腺炎患者,如GI/Liver Secrets Plus,第4版,McNally PR编,2010的关于慢性胰腺炎的第38章中所讨论。

[0221] 各种生理学、生物学、组织学、血清学和/或信号传导参数可用作生物标志物,以监测治疗过程并调整本文所述治疗剂(诸如第6.2.1节中所述治疗剂)的剂量。另外地或可替代地,生物标志物可用于选择使用本文公开的方法治疗的患者。在本节中,描述了可与本文提供的方法一起使用的各种此类生物标志物。

[0222] 如上所公开,胰腺炎的潜在症状是胰腺炎症和胰腺组织损害。胰腺炎患者中示例性的胰腺组织损害包括对胰岛(islet of Langerhans)、腺泡细胞、胰腺血管、胰管、胰管细胞、胰腺器官系统中的外分泌组分、胰腺器官系统中的内分泌组分和/或其他胰腺组织的损害。胰腺损害可具有微观甚至宏观的结构表现。

[0223] 如上所述,胰腺炎包括例如急性胰腺炎和慢性胰腺炎,它们各自可以由各种因素和/或病理生理学引起或与之相关。例如,急性胰腺炎可由组织或器官的阻塞引起,包括但不限于胆结石、微石症(胆泥形成)、壶腹或胰腺肿瘤、乳头狭窄、蠕虫或异物阻塞壶腹、Oddi括约肌功能障碍、胆总管囊肿、十二指肠憩室,并且可能还有胰腺分裂。急性胰腺炎还可以由诸如醇(乙醇、甲醇)、蝎毒、有机磷杀虫剂和其他药物的毒素诱导。另外,急性胰腺炎可由创伤引起,诸如腹部意外钝性创伤和医源性创伤(例如术后创伤)。急性胰腺炎的其他原因可包括代谢异常,诸如高甘油三酯血症和高钙血症;遗传性病状,诸如囊性纤维化和遗传性胰腺炎;感染性疾病,诸如寄生虫、病毒、细菌感染;血管疾病,诸如缺血(例如心脏手术后)、动脉粥样硬化栓塞、血管炎(例如系统性红斑狼疮和结节性多动脉炎);其他杂项或特发性原因,诸如消化性溃疡病、克罗恩(Crohn)病、雷伊(Reye)综合征和体温过低。在各种原因中,胆结石和醇是急性胰腺炎的最常见原因。本文提供的方法可用于预防、治疗、减轻或管理胰腺炎,包括由本文公开的任何原因或原因的任何组合引起的急性胰腺炎。

[0224] 类似地,慢性胰腺炎可以由多种因素和/或病理生理学引起或与之相关,例如饮酒或酗酒、自身免疫性疾病、代谢异常(诸如甲状旁腺功能亢进(高钙血症)、糖尿病或高甘油三酯血症)、营养性或热带因素、狭窄(诸如创伤或先前的胰腺炎发作)或恶性肿瘤引起的组织或器官阻塞、遗传性疾病(包括遗传性胰腺炎和囊性纤维化)以及其他特发性原因。本文提供的方法可用于预防、治疗、减轻或管理胰腺炎,包括由本文公开的任何原因或原因的任何组合引起的慢性胰腺炎。

[0225] 因为胰腺炎可具有各种原因,因此本文提供的方法可用于预防、治疗、减轻或管理胰腺炎(包括急性和慢性胰腺炎),所述胰腺炎是选择性原因或选择性原因组的结果。类似地,本文提供的方法可用于预防、治疗、减轻或管理胰腺炎(包括急性和慢性胰腺炎),所述胰腺炎是排除任何特定因素或原因或排除一组选择性因素或原因的原因的结果。例如,本文提供的方法可用于预防、治疗、减轻或管理胰腺炎(包括急性和慢性胰腺炎),所述胰腺炎并非由任何癌症或赘生性病症引起或与之无关。在一些实施方案中,本文提供的方法可用于预防、治疗、减轻或管理患有胰腺炎的患者中的胰腺炎,其中所述患者未患有癌症或尚未发展为癌症,例如胰腺癌或赘生性病症,例如胰腺赘生性病症。

[0226] 可以通过确定、测量或观察胰腺炎症和胰腺损害的各种标志物来测量和观察胰腺炎。此类标志物可以包括指示胰腺中组织学变化的组织学标志物;指示血液异常的血清学标志物;指示作为胰腺炎病理机制基础的信号传导途径中的变化或作为胰腺炎病理表型的信号传导途径中的变化的信号传导标志物;或指示胰腺炎患者中的生理体征或变化(例如无需侵入性程序或抽血即可轻易观察到的生理体征)的生理标志物。

[0227] 6.2.2.1.胰腺炎的血清学标志物、尿液标志物和粪便标志物

[0228] 胰腺炎患者的血液或尿液中的一种或多种特定物质、血液或尿液中一种物质相对于另一种物质的水平的比率、血液或尿液中一种物质的合计水平(例如特定酶的合计水平)或涉及此类合计水平的比率可以用作胰腺炎的生物标志物。用作标志物的物质可以是细胞、组织、蛋白质(诸如酶)、DNA、RNA、微小RNA、脂质、代谢物或任何其他可反映胰腺炎炎症或损害的物质。此类血清学胰腺炎标志物的实例包括血清脂肪酶水平、血清CA19-9水平、血清淀粉酶水平(包括淀粉酶、异淀粉酶和总淀粉酶的水平)、血清C反应蛋白水平、碳水化合物缺乏的转铁蛋白、胰蛋白酶原激活产物(包括例如胰蛋白酶原激活肽、胰蛋白酶1、胰蛋白酶2、胰蛋白酶1或胰蛋白酶2与α-抗胰蛋白酶的复合物(也称为胰蛋白酶-1-AAT和胰蛋白酶-2-AAT)、弹性蛋白酶1、磷脂酶A2、降钙素原(降钙素的前体)、脂质、炎性细胞因子和趋化因子、微小RNA、肽(RA1609和RT2864,如Walgren JL等,Toxicol Sci.2007年3月;96(1):184-93中所公开),所述参考以引用的方式整体并入本文)、醇和醇代谢物(脂肪酸乙酯)以及毒素或毒素代谢物。升高水平的本文公开的任何血清学标志物或血清学标志物的任何组合可用于本文提供的方法中。

[0229] 作为胰腺炎标志物的示例性尿液异常可以包括淀粉酶、异淀粉酶、胰蛋白酶原激活肽、羧肽酶激活肽和磷脂酶A2。升高水平的任何尿液标志物可以在本文提供的方法中单独使用,或与本文公开的任何标志物以任何排列或组合使用。

[0230] 另外,胰腺炎的标志物还涵盖粪便标志物,包括粪便弹性蛋白酶1、粪便胰凝乳蛋白酶和粪便脂肪含量。升高水平的任何粪便标志物可以在本文提供的方法中单独使用,或与本文公开的任何标志物以任何排列或组合使用。

[0231] 来自其他体液来源的其他标志物还可以用作胰腺炎的标志物。在一些实施方案中,来自胰液的标志物(包括CA19-9、组织蛋白酶B、组织蛋白酶L、组织蛋白酶S、溶酶体水解酶和羧肽酶B激活肽(CACAP))可以用作胰腺炎的标志物。升高水平的任何胰液标志物可以在本文提供的方法中单独使用,或与本文公开的任何标志物以任何排列或组合使用。

[0232] 如上所讨论,血清学标志物之一是血清淀粉酶的水平。健康人的正常血清淀粉酶可以根据用于测量淀粉酶的方法和进行测定的实验室而变化。各种各样的商业试剂盒可用于测量血清淀粉酶水平,例如来自Abeam的淀粉酶测定试剂盒(比色)(ab 102523)和来自Sigma-Aldrich,Inc.的淀粉酶活性测定试剂盒(MAK009-1KT)。健康个体中示例性血清淀粉酶正常范围是23-85U/L,虽然在一些实验室中示例性正常血清淀粉酶可以是0-140U/L。各种水平的血清淀粉酶可用作胰腺炎的指标。在一些实施方案中,≥140U/L、≥150U/L、≥160U/L、≥170U/L、≥180U/L、≥190U/L、≥200U/L、≥210U/L、≥220U/L、≥230U/L、≥240U/L、≥250U/L、≥260U/L、≥270U/L、≥280U/L、≥290U/L、≥300U/L、≥350U/L、≥400U/L、≥450U/L、≥500U/L、≥600U/L、≥700U/L、≥800U/L、≥900U/L、≥1000U/L、≥1500U/L、≥2000U/L、≥3000U/L或更高的血清淀粉酶水平可用作本文提供的方法中的标志物。在具体

的实施方案中,将≥200U/L的血清淀粉酶水平用作胰腺炎标志物。在另一个实施方案中,将≥140U/L的血清淀粉酶水平用作胰腺炎标志物。

[0233] 因为血清淀粉酶水平可以根据测定方法和进行测定的实验室而变化,所以胰腺炎患者的血清淀粉酶与健康对照受试者的血清淀粉酶之间的比率可以用作胰腺炎的替代标志物。例如,胰腺炎患者的血清淀粉酶与健康对照受试者的血清淀粉酶上限之间的比率可以用作本文提供的方法中的标志物。在一些实施方案中,胰腺炎标志物包括≥1、≥1.5、≥2、≥2.5、≥3、≥3.5、≥4、≥4.5、≥5、≥6、≥7、≥8、≥9、≥10或更高的示例性淀粉酶比率(即在胰腺炎患者中相对于健康个体的上限的比率)。在具体的实施方案中,将比率≥3用作胰腺炎标志物。在另一个实施方案中,将比率≥5用作胰腺炎标志物。

[0234] 如上所讨论,另一种血清学标志物是血清脂肪酶的水平。健康人的正常血清脂肪酶水平可以根据用于测量脂肪酶的方法和进行测定的实验室而变化。各种各样的商业试剂盒可用于测量血清脂肪酶水平,例如来自Abeam的脂肪酶活性测定试剂盒(比色)(ab 102524)、来自Diazyme Laboratories,Inc.的脂肪酶测定试剂盒(DZ132A-K)和来自Sigma-Aldrich,Inc.的脂肪酶活性测定试剂盒(MAK046-1KT)。健康个体中正常血清脂肪酶的示例性范围为12-70U/L,虽然在一些实验室中示例性正常血清脂肪酶可高达0-160U/L。各种水平的血清脂肪酶可用作胰腺炎的指标。在一些实施方案中,≥140U/L、≥150U/L、≥160U/L、≥170U/L、≥180U/L、≥190U/L、≥200U/L、≥210U/L、≥220U/L、≥230U/L、≥240U/L、≥250U/L、≥260U/L、≥270U/L、≥280U/L、≥290U/L、≥300U/L、≥350U/L、≥400U/L、≥450U/L、≥500U/L、≥600U/L、≥700U/L、≥800U/L、≥900U/L、≥1000U/L、≥1500U/L、≥2000U/L、≥3000U/L或更高的血清脂肪酶水平可用作本文提供的方法中的标志物。在具体的实施方案中,将≥200U/L的血清脂肪酶水平用作胰腺炎标志物。在另一个实施方案中,将≥140U/L的血清脂肪酶水平用作胰腺炎标志物。

[0235] 因为血清脂肪酶水平可以根据测定方法和进行测定的实验室而变化,所以胰腺炎患者的血清脂肪酶与健康对照受试者的血清脂肪酶之间的比率可以用作胰腺炎的替代标志物。例如,胰腺炎患者的血清脂肪酶与健康对照受试者的血清脂肪酶上限之间的比率可以用作本文提供的方法中的标志物。在一些实施方案中,胰腺炎标志物包括≥1、≥1.5、≥2、≥2.5、≥3、≥3.5、≥4、≥4.5、≥5、≥6、≥7、≥8、≥9、≥10或更高的示例性脂肪酶比率(即在胰腺炎患者中相对于健康个体的上限的比率)。在具体的实施方案中,将比率≥3用作胰腺炎标志物。在另一个实施方案中,将比率≥5用作胰腺炎标志物。

[0236] 额外的血清学标志物是血清CA19-9的水平。各种各样的商业试剂盒可用于测量血清CA19-9水平,例如来自Thermo Fisher Scientific的CA19-9人ELISA试剂盒(目录号EHCA199)、来自Diagnostic Automation/Cortez Diagnostics Inc.的人CA-19-9ELISA测试试剂盒(项目号6909-16)和来自Abcam的人癌症抗原CA19-9 ELISA试剂盒(ab 108642)。如本领域普通技术人员已知的,血清CA19-9还常规地在CA 19-9放射免疫测定中确定。

[0237] 健康个体中血清CA19-9的示例性正常范围是0-37U/ml。各种水平的血清CA19-9可用作胰腺炎的指标。在一些实施方案中,≥37U/ml、>37U/ml、≥40U/ml、≥50U/ml、≥60U/ml、≥70U/ml、≥80U/ml、≥90U/ml、≥100U/ml、≥110U/ml、≥120U/ml、≥130U/ml、≥140U/ml、≥150U/ml、≥160U/ml、≥170U/ml、≥180U/ml、≥190U/ml、≥200U/ml、≥210U/ml、≥220U/ml、≥230U/ml、≥240U/ml、≥250U/ml、≥260U/ml、≥270U/ml、≥280U/ml、≥290U/

ml、≥300U/ml、≥350U/ml、≥400U/ml、≥450U/ml、≥500U/ml、≥600U/ml、≥700U/ml、≥800U/ml、≥900U/ml、≥1000U/ml或更高的血清CA19-9水平可以用作本文提供的方法中的标志物。在具体的实施方案中,将超过37U/ml但不超过40U/ml的血清CA19-9水平用作胰腺炎标志物。在另一个实施方案中,将超过40U/ml但不超过100U/ml的血清CA19-9水平用作胰腺炎标志物。在另一个实施方案中,将超过100U/ml的血清CA19-9水平用作胰腺炎标志物。

[0238] 如本领域普通技术人员已知的,C反应蛋白(CRP;也称为高敏C反应蛋白(hs-CRP)或超敏C反应蛋白(us-CRP))是在血浆中发现的蛋白质,并由肝脏响应于炎症而产生。因此,CRP可用作胰腺炎的标志物,如上所讨论,胰腺炎是胰腺炎症和损害的疾病。CRP的水平可以与体内炎症的水平相关。因此,CRP水平越高,体内炎症越多。健康人的血清CRP正常范围在1mg/L以下。血清CRP水平在1与2.9mg/L之间可以指示人受试者中的中等炎症水平,在3与10mg/L之间可以指示人受试者中的高炎症水平,并且超过10mg/L可以指示人受试者中严重的炎症水平。在一些实施方案中,本文提供的方法中的胰腺炎标志物包括超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20mg/L的示例性血清CRP水平。各种各样的商业试剂盒可用于测量血清CRP水平,例如来自R&D Systems Inc.的人C反应蛋白/CRP Quantikine ELISA试剂盒(目录号DCRP00)、来自Enzo Life Sciences,Inc.的CRP(人)ELISA试剂盒(ENZ-KIT102-0001)和来自Sigma-Aldrich,Inc.的人C反应蛋白ELISA试剂盒(RAB0096-1KT)。

[0239] 本领域普通技术人员将进一步理解,各种其他血清学标志物或来自体液的其他标志物可用于鉴定治疗剂、表征胰腺炎、鉴定胰腺炎患者并确定用于胰腺炎的治疗方法的治疗结果。因此,本领域普通技术人员将理解,各种其他已知的胰腺炎标志物可用于本文提供的方法中。此类胰腺炎标志物公开于出版物诸如GI/Liver Secrets Plus,第4版,McNally PR编,2010的分别地关于急性胰腺炎和慢性胰腺炎的第37章和第38章;Matull WR等,J Clin Pathol 2006;59:340-344;Basnayake C.等,Aust Prescr 2015;38:128-30;Carroll JK等,Am Fam Physician 2007;75:1513-20;Kaphalia BS,Biomarkers in Toxicology的第16章,ISBN:978-0-12-404630-6,(2014);Jasdanwala S等,Integr Mol Med,2015;2(3):189-195;Büchler MW等,BMC Gastroenterology 2009,9:93;Duggan SN等,World J Gastroenterol 2016;22(7):2304-2313;Etemad B等,Gastroenterology2001;120:682-707中,所述出版物均以引用的方式整体并入本文。本领域普通技术人员将进一步理解,上文和下文公开的任何标志物和标志物的任何排列或组合可以用于本文提供的方法中。

[0240] 因此,本公开提供了适用于所述方法的患者,包括具有如第[0219]段至第[0230]段中所述的升高的一种或多种血清学标志物、尿液标志物和粪便标志物(包括列举的标志物)的患者。更具体地说,本文提供的方法可用于具有如第[0219]段至第[0230]段所述的列举值的标志物中的任何一种或多种的患者。

[0241] 本公开进一步提供了本文提供的方法可以通过逆转或改善如第[0219]段至第[0230]段所述的这些胰腺炎的血清学标志物、尿液标志物和粪便标志物中的任何一种或多种或它们的任何组合来改善患者的治疗结果,例如降低血清淀粉酶、降低血清脂肪酶或降低血清CRP。

[0242] 6.2.2.2.组织学标志物

[0243] 如上所讨论,基于胰腺组织学异常的标志物(例如来自胰腺组织样品的组织学染

色或IHC染色)还可用于本文提供的方法中。此类组织学标志物包括胰腺中一种或多种蛋白质的表达异常、胰腺中某种类型的非胰腺细胞(例如免疫细胞,包括白细胞、巨噬细胞和中性粒细胞)的存在或异常数量、胰腺中某些细胞的丰度或数量中的异常变化,以及胰腺细胞或胰腺组织的结构异常(例如胰腺实质、胰管、胰岛和腺泡细胞/组织中的异常)。胰腺结构异常可位于特定的胰腺区域或结构,诸如胰腺实质、胰管、胰岛、腺泡细胞/组织、胰腺外分泌组分、胰腺内分泌组分或囊肿。

[0244] 如胰腺或胰腺组织的组织学染色或IHC染色所示,胰腺中的组织学标志物的实例包括实质纤维化、腺泡萎缩、导管变形、导管内钙化、免疫细胞侵入或浸润(例如巨噬细胞、中性粒细胞和白细胞的侵入/浸润)、胶原蛋白沉积、纤维化组织、脂肪坏死、间质水肿、腺泡细胞破坏、腺体肿大(水肿)、不规则硬化、胰腺实质丧失、胰腺血管破坏、间质出血、导管扩张、胰腺周围大的融合灶脂肪坏死、局灶性出血、腺泡细胞坏死、腺泡细胞均质化、sLe^a的表达水平和CA19-9的表达水平。这些组织学标志物可用于急性或慢性胰腺炎的各个阶段。升高水平的任何组织学标志物可以在本文提供的方法中单独使用,或与本文公开的任何标志物以任何排列或组合使用。

[0245] 在一些实施方案中,慢性胰腺炎的组织学标志物可包括胰腺中的不规则硬化、胰腺中外分泌实质的丧失。在其他实施方案中,脂肪坏死、腺体肿大(水肿)、胰腺周围大的融合灶脂肪坏死、局灶性出血和腺泡细胞坏死可用作急性胰腺炎的标志物。

[0246] 如本领域普通技术人员众所周知的,已开发用于组织学标志物的各种组织学或IHC测定,并且可用于本文提供的方法中,例如如Matull WR等,J Clin Pathol 2006;59:340-344;Basnayake C.等,Aust Prescr 2015;38:128-30;Carroll JK等,Am Fam Physician 2007;75:1513-20;Kaphalia BS,Biomarkers in Toxicology的第16章,ISBN:978-0-12-404630-6,(2014);Jasdanwala S等,Integr Mol Med,2015;2(3):189-195;Büchler MW等,BMC Gastroenterology 2009,9:93;Duggan SN等,World J Gastroenterol2016;22(7):2304-2313;Etemad B等,Gastroenterology 2001;120:682-707中所公开的测定,所述参考均以引用的方式整体并入本文。

[0247] 因为成像技术常常测量组织学结构,所以本领域技术人员将理解,组织学标志物常常与通过成像检测到的结构异常相关,所述结构异常可用作胰腺炎症和胰腺损害的标志物。因此,可以将标志物例如在各种成像技术中检测到的异常用作本文提供的方法中的胰腺炎的组织学标志物。胰腺结构可以如下文第6.2.2.2节和第6.3.2.2节所述进行成像。通过成像检测到的胰腺炎症和胰腺损害的示例性组织学标志物包括胰腺萎缩、胆管或胰管阻塞(诸如胆结石)、胰管扩张、胰腺钙化、胆道狭窄、胰腺实质和导管瘢痕、胰管狭窄或其任何组合。

[0248] 在一些实施方案中,本文提供的方法中的组织学标志物包括计算机断层扫描(CT)中显示的异常胰腺形态,其反映由胰腺炎引起的炎症或损害或反映与胰腺炎相关的并发症。例如,在CT成像中可观察到的反映胰腺炎的组织学标志物包括胰腺钙化,诸如胰管或实质内的钙化;胰管(诸如主胰管)扩张;以及胰腺萎缩,诸如胰腺实质萎缩。CT成像中可观察到的反映胰腺炎并发症的组织学标志物包括假性囊肿、胆总管扩张、脾静脉血栓形成、胃静脉曲张、假性动脉瘤、十二指肠狭窄、恶性肿瘤及其任何组合。

[0249] 类似地,本文提供的方法中的组织学标志物包括内镜逆行胰胆管造影术(ERCP)中

显示的异常胰腺形态,其反映由胰腺炎引起的炎症或损害或反映与胰腺炎相关的并发症。例如,在ERCP成像中可观察到的反映胰腺炎的组织学标志物包括:轻度胰腺炎的胰腺小导管和分支的扩张和不规则;中度胰腺炎的胰腺主导管扩张和不规则;以及重度胰腺炎的胰腺中的曲折度、狭窄、钙化和囊肿。在一些实施方案中,ERCP中发现的胰腺组织学标志物(包括导管异常的数量、欣欣向荣的侧支、导管内充盈缺损和导管异常(诸如多个区域的狭窄、扩张、不规则分支导管和导管内结石))可用作本文提供的方法中的胰腺炎标志物。

[0250] 在其他实施方案中,本文提供的方法中的组织学标志物包括内镜超声检查(EUS)中显示的胰腺异常,其反映由胰腺炎引起的炎症或损害或反映与胰腺炎相关的并发症。在一些具体的实施方案中,在EUS中可观察到的反映轻度胰腺炎的组织学标志物包括主胰管的轻度不规则和扩张、高回声导管边缘和胰腺实质中的高回声股线。在EUS中可观察到的反映重度胰腺炎的组织学标志物包括胰腺小叶轮廓和主胰管扩张。EUS中可观察到的其他胰腺炎标志物包括Rosemont标准中描述的胰腺炎标志物,诸如具有股线的高回声灶、具有蜂窝状的小叶、高回声灶、小叶、囊肿、高回声股、结石、主胰管轮廓不规则、高回声主胰管边缘、侧支扩张或其任何组合。

[0251] 在其他实施方案中,本文提供的方法中的组织学标志物包括磁共振成像(诸如磁共振胰胆管造影术(MRCP))中显示的胰腺异常,其反映由胰腺炎引起的炎症或损害或反映与胰腺炎相关的并发症。胰腺的MRCP中可观察到的此类组织学标志物包括扩张的导管、连通的假性囊肿、短小的狭窄、胰腺或导管结石或其任何组合。

[0252] 成像测试中显示的额外的组织学标志物还包括Etemad B等,Gastroenterology 2001;120:682-707;Duggan,SN等,World J Gastroenterol 2016;22(7):2304-2313;以及GI/Liver Secrets Plus,第4版,McNally PR编,2010的分别地关于急性胰腺炎和慢性胰腺炎的第37章和第38章中描述的组织学标志物,所述参考均在此以引用的方式整体并入。对于如本文所提供的方法,可以单独使用一种或多种组织学标志物或以本文公开的任何数量的其他标志物的任何组合使用。

[0253] 因此,本公开提供了适用于所述方法的患者,包括具有如第[0233]段至第[0242]段中所述的组织学标志物(包括列举的组织学标志物)中的任何一种或多种的患者。

[0254] 本公开进一步提供了本文提供的方法可以通过逆转或改善如第[0233]段至第[0242]段所述的这些胰腺炎组织学标志物的任何一种或多种或它们的任何组合来改善患者的治疗结果。

[0255] 6.2.2.3.功能标志物

[0256] 因为胰腺炎的严重性可以反映在胰腺的功能中,所以胰腺炎的标志物还可以包括功能标志物。功能标志物是指与胰腺功能直接或反向相关的任何标志物。如本领域技术人员将理解的,胰腺的两个主要功能是胰腺外分泌功能和胰腺内分泌功能。因此,本公开提供了胰腺外分泌功能的缺陷、胰腺内分泌功能的缺陷或两者均可用作本文提供的方法中的胰腺炎的标志物。如本领域普通技术人员还已知的,胰腺外分泌分泌的碳酸氢盐含量高。因此,在有或无胆囊收缩素(CCK)施用的情况下,促胰液素刺激试验可通过监测这些胰腺分泌物的体积和注射促胰液素后的碳酸氢盐浓度来用于直接测量胰腺功能。在一些实施方案中,在促胰液素刺激试验(有或无CCK施用)中小于50mEq/L的碳酸氢盐水平可以是患有胰腺炎患者的标志物,并且可用于本文提供的方法中。在其他实施方案中,促胰液素刺激试验

(有或无CCK施用)中的小于5mEq/L、10mEq/L、15mEq/L、20mEq/L、25mEq/L、30mEq/L、35mEq/L、40mEq/L、45mEq/L、50mEq/L、55mEq/L、60mEq/L、65mEq/L、70mEq/L、75mEq/L或80mEq/L的碳酸氢盐水平可用作患有胰腺炎患者的标志物,并用于本文提供的方法中。

[0257] 可替代地,可以通过在口服施用化合物之后测量血清和粪便中的胰酶或血清或尿液中的酶的任何代谢物来确定胰腺功能。因为这些标志物反映胰腺消化不良的水平,所以疾病越严重,所述标志物对于检测或诊断胰腺炎可越敏感。可用于本文提供的方法的此类功能标志物包括血清胰蛋白酶原,其中患者的极低值(例如20ng/mL或更低)标志着晚期慢性胰腺炎和脂肪泻;粪便胰凝乳蛋白酶,其中粪便胰凝乳蛋白酶低于3U/g的粪便表明晚期慢性胰腺炎;粪便弹性蛋白酶,其中粪便弹性蛋白酶低于100mcg/g的粪便指示严重胰腺功能不全;以及粪便脂肪,其中粪便脂肪大于7g/d指示胰腺炎并且粪便脂肪大于20g/d指示重度胰腺炎。作为胰腺炎功能标志物的其他示例性值包括血清胰蛋白酶原低于5、10、15、20、25、30、35或40ng/mL;粪便胰凝乳蛋白酶低于1、2、3、4、5、6、7、8、9或10U/g的粪便;粪便弹性蛋白酶低于10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140或150mcg/g的粪便;粪便脂肪超过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或30g/d的粪便脂肪;或其任何组合。

[0258] 本领域普通技术人员将理解,可与胰腺炎相关的任何功能标志物(包括本文所述的功能标志物)可用于本文提供的方法中。可用于本文提供的方法的其他功能标志物还包括John G Lieb II和Peter V Draganov,World J Gastroenterol.2008年5月28日;14(20):3149-3158;Clain JE等,Surg Clin North Am 1999;79:829-845;Couper R.Can J Gastroenterol 1997;11:153-156;Layer P等,J Clin Gastroenterol 1999;28:3-10;Toskes PP.Curr Gastroenterol Rep 1999;1:145-153;GI/Liver Secrets Plus,第4版,McNally PR编,2010的关于慢性胰腺炎的第38章中描述的功能标志物;所述参考均在此以引用的方式整体并入。对于如本文所提供的方法,可以单独使用一种或多种功能标志物或以本文公开的任何数量的其他标志物的任何组合使用。

[0259] 因此,本公开提供了适用于所述方法的患者,包括具有如第[0245]段至第[0247]段中所述的功能标志物(包括列举的功能标志物)中的任何一种或多种的患者。

[0260] 本公开进一步提供了本文提供的方法可以通过逆转或改善如第[0245]段至第[0247]段所述的这些胰腺炎功能标志物的任何一种或多种来改善患者的治疗结果。在一些具体实施方案中,本公开提供了本文提供的方法可通过提高促胰液素刺激试验中的碳酸氢盐水平、增加血清胰蛋白酶原、增加粪便胰凝乳蛋白酶、增加粪便弹性蛋白酶、减少粪便脂肪或其任何组合来改善患者的治疗结果。

[0261] 6.2.2.4.信号传导标志物

[0262] 本公开提供了胰腺炎与胰腺中CA19-9和唾液酸化路易斯^{a}的水平相关,并且升高的CA19-9和唾液酸化路易斯^{a}是引起胰腺炎的潜在机制中的因素。

[0263] 另外,本公开提供了胰腺中升高的CA19-9激活胰腺中的表皮生长因子受体(EGFR)信号传导途径。EGFR信号传导的激活由配体诱导的受体二聚化触发,随后一个受体的固有激酶结构域交叉磷酸化配偶体受体C末端尾部中的特定残基,从而为EGFR信号传导途径中其他蛋白(效应子和衔接子蛋白)的募集提供了支架。这是经由效应蛋白上的Src同源2(SH2)和磷酸酪氨酸结合(PTB)结构域以及递呈在EGFR的胞内酪氨酸激酶结构域上的磷酸

酪氨酸基序发生的。激活的衔接子和效应蛋白将进一步刺激其对应的信号传导级联(包括信号传导途径的RAS、RAF、MEK和ERK轴、磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)、信号传导途径的磷脂酶Cγ蛋白轴和PKB/Akt激酶途径以及STAT信号传导途径),这导致多种生物反应,包括细胞增殖、血管生成、迁移、存活和粘附。

[0264] 因此,本公开提供了胰腺炎的标志物可以包括激活的EGFR信号传导途径的所有指标,包括EGFR信号传导途径中的分子的表达水平变化、位置变化、结合配偶体变化或任何生物化学或生物物理变化(诸如磷酸化、泛素化和构象变化)。在一些实施方案中,适用于本文提供的方法的胰腺炎标志物可以是胰腺中的Akt磷酸化、胰腺中的EGFR磷酸化、胰腺中的Erk1/2磷酸化、胰腺中的RAS激活(例如RAS的GTP负荷)、胰腺中的RAF磷酸化以及胰腺中的MEK磷酸化。适用于本文提供的方法的激活的EGFR信号传导途径的其他标志物进一步描述于Seshacharyulu,P等,Expert Opin Ther Targets.2012年1月;16(1):15-31;Normanno N等,Gene.2006Jan 17;366(1):2-16;Oda K等,Mol Syst Biol.2005;1:2005.0010;LuijeG等,Oncology.2009;77(6):400-10;Yarden,Y等,2007;131(5):1018-1018中,所述参考均在此以引用的方式整体并入。

[0265] 另外,因为本公开提供了胰腺炎与胰腺中CA19-9的水平相关,并且升高的CA19-9是引起胰腺炎的潜在机制中的因素,因此本领域普通技术人员将理解,CA19-9和可响应于CA19-9水平升高而诱导的胰腺炎中的任何其他信号传导标志物可用作本文提供的方法中的标志物。此外,在本文提供的方法中,CA19-9可单独使用或与上文和下文公开的任何标志物组合使用。

[0266] 因此,本公开提供了适用于所述方法的患者,包括具有如第[0250]段至第[0253]段中所述的信号传导标志物(包括列举的信号传导标志物)中的任何一种或多种的患者。本公开进一步提供了本文提供的方法可以通过逆转或改善如第[0250]段至第[0253]段所述的这些胰腺炎信号传导标志物的任何一种或多种来改善患者的治疗结果。

[0267] 6.2.2.5.生理标志物

[0268] 因为胰腺炎可影响受试者的生理并引起其他可观察到的症状,所以反映胰腺炎患者的生理症状的任何标志物均可用于本文提供的方法中。此类生理标志物包括体重减轻、诸如腹痛的疼痛、食物吸收不良、胰腺萎缩、胰腺肿大、胰腺炎症和胆汁反流。可以直接观察或基于患者症状感觉的描述来确定此类生理标志物。因此,本公开提供了适用于所述方法的患者包括具有这些生理标志物中的任何一种或多种的患者,并且本文提供的方法可以通过逆转或改善这些胰腺炎信号传导标志物中的任何一种或多种来改善患者的治疗结果。

[0269] 在某些实施方案中,本文所述的任何1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50或更多的标志物都可以任何排列或组合用于本文提供的方法中。在其他实施方案中,本文提供的任何数量的标志物可以任何排列或组合用于本文提供的方法中的测定、患者群体的选择(例如使用任何一种或多种标志物作为患者选择标准)、给药方案(例如基于一种或多种标志物的改善或恶化增加或降低剂量)、治疗结果(例如评估一种或多种标志物的改善)和/或治疗剂(例如使用一种或多种标志物来确认治疗剂的功能特性)。

[0270] 6.2.3给药方案、药物组合物和施用途径

[0271] 在一个实施方案中,本文提供的方法使用包含治疗剂的药物组合物,所述治疗剂可全身施用以预防、治疗、减轻或管理胰腺炎。此类施用可以是肠胃外或经粘膜地,例如经

口、经颊、鼻、舌下、粘膜下或透皮。在一些实施方案中,施用是肠胃外施用,例如经由静脉内或腹膜内注射、动脉内、肌肉内施用、皮内施用和皮下施用。

[0272] 对于其他施用途径(诸如通过使用灌注液、注射到器官中或其他局部施用),将提供药物组合物,所述药物组合物产生类似水平的治疗剂,如下文进一步描述。

[0273] 本文提供的治疗剂的药物组合物可以包含治疗有效量的治疗剂和药学上可接受的载剂。在具体实施方案中,术语"药学上可接受的"意指由联邦或州政府的监管机构批准的或者在美国药典或其他通常认可的外国药典上列出,以用于动物并且更具体地为用于人。术语"载剂"是指与治疗剂一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒介物。此类药物载剂可以是无菌液体,诸如水和油中的盐水溶液,包括石油、动物、植物和合成来源(诸如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等)的那些油。当静脉内施用药物组合物时,盐水溶液可以是载剂。盐水溶液和水性右旋糖以及甘油溶液还可用作液体载剂,特别是用于可注射溶液。合适的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂乳粉、甘油、丙二醇、水、乙醇等。组合物还可包含少量润湿剂或乳化剂或pH缓冲剂。这些组合物可采用溶液、悬浮液、乳液、片剂、丸剂、胶囊、粉末、缓慢释放制剂等的形式。组合物可用传统粘合剂和载剂(诸如甘油三酯)配制成栓剂。本文提供的治疗剂可以配制成中性或盐形式。药学上可接受的盐包括与游离氨基形成的盐,诸如衍生自盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等的盐;以及与游离羧基形成的盐,诸如衍生自钠、钾、铵、钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因(procaine)等的盐。合适的药物载剂的实例描述于E.W.Martin的"Remington's Pharmaceutical Sciences"中,所述参考在此以引用的方式整体并入。此类制剂将包含治疗有效量的治疗剂(例如呈纯化或未纯化的形式)以及合适量的载剂以便提供用于适当施用至所述患者的形式。本领域普通技术人员将知道,可以选择制剂以适合施用方式。

[0274] 本文还提供了用于增加治疗剂诸如肽的经粘膜吸附的制剂。适用于口服施用的药物组合物可以胶囊或片剂提供;以粉末或颗粒提供;以溶液、糖浆或悬浮液(在水性或非水性液体中)提供;以可食用泡沫或鞭状物提供;或以乳液提供。片剂或硬明胶胶囊可以包含乳糖、淀粉或其衍生物、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁、硬脂酸或其盐。软明胶胶囊可包含植物油、蜡、脂肪、半固体或液体多元醇。溶液和糖浆可包含水、多元醇和糖。

[0275] 预期用于口服施用的治疗剂可以用在胃肠道中延迟活性剂的崩解和/或吸收的材料涂覆或与之混合(例如可使用单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯)。因此,可以在许多小时内实现活性剂的持续释放,并且如果需要,可以保护活性剂免于在胃中降解。可以配制用于口服施用的药物组合物,以促进活性剂由于特异性pH或酶促条件而在特定胃肠道位置处释放。

[0276] 适用于透皮施用的药物组合物可以离散的贴剂提供,所述贴剂旨在长时间段内保持与接受者的表皮紧密接触。适用于局部施用的药物组合物可以软膏、乳膏、悬浮液、洗剂、粉末、溶液、糊剂、凝胶、喷雾剂、气雾剂或油提供。为了局部施用至皮肤、口、眼睛或其他外部组织,可以使用局部软膏或乳膏。当配制成软膏时,活性成分可与石蜡或水互溶性软膏基质一起使用。可替代地,活性成分可与水包油基质或油包水基质一起配制成乳膏。适用于局部施用至眼睛的药物组合物包括滴眼剂。在这些组合物中,活性成分可溶解或悬浮于合适的载剂中,例如在水性溶剂中。

[0277] 适用于肠胃外施用的药物组合物包括水性和非水性无菌注射溶液或悬浮液,其可以包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和/或使组合物与预期接受者的血液基本上等渗的溶质。可以存在于此类组合物中的其他组分包括例如水、醇、多元醇、甘油和植物油。适用于肠胃外施用的组合物可以存在于单位剂量或多剂量容器(例如密封的安瓿和小瓶)中,并且可以在冷冻干燥(冻干)条件下储存,仅需要在使用前立即添加无菌液体载剂(例如无菌盐水溶液)以供注射。临时注射溶液和悬浮液可由无菌粉末、颗粒和片剂制备。在一个实施方案中,可以提供包括治疗剂的可注射溶液的自动注射器,以供救护车、急诊室紧急使用,并且甚至用于家庭环境中的自我施用,诸如待在家里的胰腺患者。

[0278] 在一个实施方案中,根据常规程序将组合物配制为适用于静脉内施用至人的药物组合物。通常,用于静脉内施用的组合物是无菌等渗水性缓冲液中的溶液。必要时,组合物还可包含增溶剂和局部麻醉剂(诸如利多卡因(lidocaine))以减轻注射部位的疼痛。

[0279] 通常,成分被分开供应或以单位剂型混合在一起,例如作为干燥冻干粉末或无水浓缩物在气密性密封容器(诸如指示活性剂的量的安瓿或药囊)中。当组合物待通过输注施用时,所述组合物可用含有无菌药用级水或盐水的输注瓶来分配。在组合物是通过注射施用时,可以提供无菌盐水的安瓿以使得成分可以在施用之前混合。

[0280] 栓剂通常包含范围为0.5重量%至10重量%的活性成分;口服制剂可包含10%至95%的活性成分。

[0281] 本公开还提供了一种药物包装或试剂盒,其包含一个或多个容器,所述容器装有本文提供的一种或多种治疗剂的药物组合物的一种或多种成分。任选地,与此类容器相关联的可以是呈由监管药物或生物产品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的通知,所述通知反映所述机构批准制造、使用或销售供人施用。

[0282] 在另一个实施方案中,例如,可以在控制释放系统中递送治疗剂。例如,治疗剂可以使用静脉内输注、可植入的渗透泵、透皮贴剂、脂质体或其他施用方式来施用。在一个实施方案中,可以使用泵(参见Langer,Science 249:1527-1533(1990);Sefton,1987,CRC Crit.Ref.Biomed.Eng.14:201;Buchwald等,1980,Surgery 88:507;Saudek等,1989,N.Engl.J.Med.321:574,所述参考各自以引用的方式整体并入本文)。在另一个实施方案中,治疗剂可在囊泡(例如脂质体)中递送(参见Langer,Science 249:1527-1533(1990);Treat等,in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer,Lopez-Berestein和Fidler(编),Liss,New York,第353-365页(1989);WO 91/04014;美国专利号4,704,355;Lopez-Berestein,ibid.,第317-327页)。在另一个实施方案中,可使用聚合物材料(参见Medical Applications of Controlled Release,Langer和Wise(编),CRC Press:Boca Raton,Florida,1974;Controlled Drug Bioavailability,Drug Product Design and Performance,Smolen和Ball(编),Wiley:New York(1984);Ranger和Peppas,J.Macromol.Sci.Rev.Macromol.Chem.23:61,1953;还参见Levy等,1985,Science 228:190;During等,1989,Ann.Neurol.25:351;Howard等,1989,J.Neurosurg.71:105,所述参考均以引用的方式整体并入本文。

[0283] 在又另一实施方案中,控制释放系统可放置在治疗靶标(即靶细胞、组织或器官)处的附近,因此仅需要全身剂量的一部分(参见例如Goodson,Medical Applications of Controlled Release,第2卷,1984的第115-138页,所述参考以引用的方式整体并入本文)。

其他控制释放系统在Langer(1990,Science 249:1527-1533,所述参考以引用的方式整体并入本文)的综述中讨论。

[0284] 在另一个实施方案中,如适当配制的治疗剂可通过鼻、颊、经口、直肠、眼、透皮、肠胃外、吸入或舌下施用来施用。

[0285] 在具体的实施方案中,将本文提供的治疗剂局部施用至需要治疗的区域可以是有用的;这可以通过例如但不限于手术期间的局部输注、局部施用(例如通过注射、通过导管、通过栓剂或通过植入物)来实现,所述植入物是多孔的、无孔的或凝胶状的材料,包括膜诸如硅橡胶膜或纤维。这种实施方案的非限制性实例包括用本文提供的治疗剂涂覆的支架(stent)或其他支架,其被植入到脉管系统、导管等的一部分中。

[0286] 有效剂量的选择将由技术人员基于考虑几个因素而容易确定,所述因素是本领域普通技术人员已知的。此类因素包括治疗剂的特定形式及其药代动力学参数,诸如生物利用度、代谢、半衰期等,所述参数是在通常用于获得治疗剂监管批准的常规开发程序中确定的。考虑剂量的其他因素包括待治疗的疾病的病状或阶段或在正常个体中待实现的益处、患者的体重、施用途径、是否施用是急性还是慢性的、并用药物和其他众所周知的影响施用药剂功效的因素。

[0287] 虽然出于本文整个目的设想的治疗剂的接受者是人,但本文的方法同样适用于其他哺乳动物,特别是驯养动物、牲畜、伴侣动物和动物园动物。然而,本文提供的方法不是限制性的,并且益处可以应用于任何哺乳动物。在本文提供的方法的其他方面,如第6.2.1节所述的任何治疗剂都可以与本文提供的制剂以任何组合或排列使用。

[0288] 在某些实施方案中,本公开提供了一种适用于本文提供的方法的呈剂量单位形式的药物组合物,其包含在约0.1pg至30mg、0.5pg至25mg、1pg至20mg、500pg至10mg、1ng至10mg、500ng至10mg、1μg至10mg、500μg至10mg、1mg至5mg或1mg至10mg治疗剂范围内的治疗剂的量,以及药学上可接受的载剂。在一个实施方案中,治疗剂的量在约0.5pg至1mg的范围内。

[0289] 根据疾病的类型和严重性,如本文提供的方法中所设想的,可以向患者施用一系列的剂量。在一个实施方案中,向患者施用约1mg至12mg治疗剂的剂量。在某些实施方案中,剂量在约2mg至约12mg、约2mg至约11mg、约3mg至约10mg、约4mg至约9mg、约5mg至约8mg或约6mg至约7mg范围内。在某些实施方案中,剂量为约2mg至约8mg。在某些实施方案中,剂量为约1mg、约2mg、约3mg、约4mg、约5mg、约6mg、约7mg、约8mg、约9mg、约10mg、约11mg或约12mg。在某些实施方案中,剂量为4mg。

[0290] 向患者施用治疗剂的剂量可以基于患者的体重。在一个此类实施方案中,向患者施用约0.1μg/kg与约120μg/kg体重之间的治疗剂剂量。在某些实施方案中,剂量在约0.4μg/kg至约110μg/kg、约0.5μg/kg至约100μg/kg、约1μg/kg至约95μg/kg、约5μg/kg至约90μg/kg、约10μg/kg至约85μg/kg、约15μg/kg至约80μg/kg、约20μg/kg至约75μg/kg、约25μg/kg至约70μg/kg、约30μg/kg至约65μg/kg、约35μg/kg至约60μg/kg或约40μg/kg至约50μg/kg体重的范围内。在某些实施方案中,治疗剂的剂量在约0.2μg/kg至约120μg/kg体重的范围内。在某些实施方案中,剂量在约1μg/kg至约60μg/kg、约10μg/kg至约30μg/kg、约20μg/kg至约50μg/kg或约30μg/kg至约60μg/kg的范围内。在某些实施方案中,剂量为约1μg/kg、约2μg/kg、约3μg/kg、约4μg/kg、约5μg/kg、约6μg/kg、约7μg/kg、约8μg/kg、约9μg/kg、约10μg/kg、约11

μg/kg、约12μg/kg、约13μg/kg、约14μg/kg、约15μg/kg、约16μg/kg、约17μg/kg、约18μg/kg、约19μg/kg、约20μg/kg、约21μg/kg、约22μg/kg、约23μg/kg、约24μg/kg、约25μg/kg、约26μg/kg、约27μg/kg、约28μg/kg、约29μg/kg或约30μg/kg。在某些实施方案中,剂量小于约80μg/kg、小于约50μg/kg、小于约30μg/kg、小于约20μg/kg、小于约15μg/kg或小于约10μg/kg。在某些实施方案中,剂量为10μg/kg。在某些实施方案中,剂量为30μg/kg。在其他实施方案中,本文提供的治疗剂可以每次施用约1ng与约300μg/kg体重之间、约5-150μg/kg体重或约10-100μg/kg体重的剂量进行全身施用。

[0291] 在本文提供的方法的其他实施方案中,以约0.1mg/kg/剂量至约10mg/kg/剂量的剂量范围施用治疗剂。在一些实施方案中,治疗剂以约0.1mg/kg/剂量、约0.2mg/kg/剂量、约0.3mg/kg/剂量、约0.4mg/kg/剂量、约0.5mg/kg/剂量、约0.6mg/kg/剂量、约0.7mg/kg/剂量或约0.8mg/kg/剂量、约0.9mg/kg/剂量、约1mg/kg/剂量、约2mg/kg/剂量、约3mg/kg/剂量、约4mg/kg/剂量、约5mg/kg/剂量、约6mg/kg/剂量、约7mg/kg/剂量或约8mg/kg/剂量、约9mg/kg/剂量、约10mg/kg/剂量或更高的剂量施用。

[0292] 在某些实施方案中,用于本发明方法的治疗剂可以预防有效量施用。预防有效量是指足以预防胰腺炎和/或由胰腺炎引起的损害、作用或症状的治疗剂的量。与治疗剂的量结合使用时,预防有效量可以涵盖改善总体预防或增强预防胰腺炎的预防功效或与另一种可预防胰腺炎的预防剂提供协同作用的量。

[0293] 另外,本文提供的方法中的治疗剂可以随时间以规则的时间间隔施用。在某些此类实施方案中,每天、每隔一天、每周一次、每10天一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每六周一次或每八周一次施用治疗剂。在其他实施方案中,只要临床需要,治疗剂的施用可以每小时、每天或在适当的时间间隔(例如每1-12小时、每6-12小时;每2-6天、每2-4天;每1至12周、每1至3周)之后重复。在额外的实施方案中,治疗剂每月(每月)一次、每两个月(双月)一次、每三个月一次、每四个月一次、每五个月一次或每六个月一次施用。

[0294] 在一些实施方案中,本文所述方法中提供的治疗剂施用约1周至约48周。在某些实施方案中,本文所述方法中提供的治疗剂施用约1周至约44周;约1周至约40周;约1周至约36周;约1周至约32周;约1周至约28周;约1周至约24周;约1周至约20周;约1周至约16周;或约1周至约12周。在其他实施方案中,本文所述方法中提供的治疗剂施用约1周至约48周;约4周至约44周;约8周至约40周;约12周至约36周;约16周至约32周;或约20周至约28周。在某些实施方案中,本文所述方法中提供的治疗剂施用约1周至约24周;约2周至约24周;约4周至约24周;约6周至约24周;约8周至约24周;约10周至约24周;约12周至约24周;约14周至约24周;约16周至约24周;约18周至约24周;约20周至约24周;或约22周至约24周。

[0295] 在一些具体的实施方案中,本文所述方法中提供的治疗剂可用于长期施用。在某些实施方案中,只要患者存在胰腺炎,施用就可以持续。

[0296] 在其他实施方案中,有效量的治疗剂和药学上可接受的载剂可以包装在单剂量小瓶或其他容器中。在额外的实施方案中,能够发挥本文所述活性的治疗剂长期用于对抗慢性胰腺炎。

[0297] 如本领域普通技术人员众所周知的,包括治疗性抗体和治疗性多肽的治疗性蛋白质的制剂、施用途径和剂量可以不同。对于治疗性蛋白(包括治疗性抗体和治疗性多肽)具有特异性的各种制剂、施用途径和剂量是本领域众所周知的。治疗性抗体的示例性制剂、施

用途径和剂量描述于WO2015112886和WO2017019957中;治疗性多肽的示例性制剂、施用途径和剂量描述于WO2007019545、和WO2015009820中,所述专利均在此以引用的方式整体并入。

[0298] 6.3用于测试治疗剂的测定

[0299] 可以使用各种测定来确定第6.2.1节中所述的治疗剂的活性和功效,以用于本文提供的治疗方法中。本文还提供了各种标志物的测定。本公开进一步提供,如6.2.1节所述的各种治疗剂的活性、效用和功效可以根据如第6.2.2节所述的生物标志物或患者治疗结果进行测定。另外,本领域普通技术人员将认识到,可以通过本领域已知或本文提供的各种体外和体内胰腺炎测定来证实本文提供的方法中各种治疗剂的适用性。

[0300] 6.3.1结合测定

[0301] 可以使用各种常规测定来容易地确定本文提供的方法中的治疗剂与CA19-9或唾液酸化路易斯^{a}之间或任何两个分子之间(诸如两个蛋白质之间)的结合。示例性常规结合测定包括免疫组织化学测定、酶免疫测定(EIA)或ELISA、FACS测定、免疫印迹测定、表面等离子体共振(SPR)测定、共免疫沉淀测定、色谱或凝胶移位测定、等温滴定量热法、各种荧光测定(诸如荧光相关光谱和荧光偏振/各向异性)、竞争性结合测定、平衡透析、荧光共振能量转移(FRET),以及本领域普通技术人员已知的用于测试两个分子之间结合的任何其他测定。这些常规测定的细节描述于下文和Wu,Ge.第5章,General Protein Binding Assay Formats,in Assay Development:Fundamentals and Practices,在线ISBN:9780470583128;印刷ISBN:9780470191156(2010);Wan H等,Journal of Liquid Chromatography&Related Technologies,(2007)30:681-700中,两者均在此以引用的方式整体并入。

[0302] 如本领域普通技术人员众所周知的,常规使用免疫组织化学测定来确定治疗剂(例如蛋白质诸如抗体)与细胞或组织中的靶标之间的相互作用。在IHC测定的实例中,IHC测定通常通过使用本领域众所周知的显色或荧光信号作为最终测量来确定与细胞或组织中的靶分子原位结合的蛋白质(诸如抗体)。在一些实施方案中,使组织样品与预期结合特异性靶标的蛋白质(诸如一抗)接触一段足以使蛋白质-靶标结合发生的时间。结合的蛋白质(诸如结合的一抗)可以通过蛋白质本身上的直接标记,例如放射性标记、荧光标记、半抗原标记(诸如生物素)或酶(诸如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)来进行检测。可替代地,将未标记的蛋白质(诸如未标记的一抗)与标记的二抗结合使用,所述二抗包含抗血清、多克隆抗血清或对所述蛋白质(诸如一抗)具有特异性的单克隆抗体。因此,可以应用酶标记的二抗,其特异性识别蛋白质(例如识别一抗的抗体同种型)。二抗与与样品结合的蛋白质(例如与样品结合的一抗)反应,然后进行信号产生和/或检测。第二层检测抗体可以用酶(诸如过氧化物酶)标记,所述酶与色原3,3'-二氨基联苯胺(DAB)反应以在反应位点处产生棕色沉淀。来自二抗上的标记的最终信号(诸如显色信号、荧光和放射性)可用于确定蛋白(诸如一抗)与细胞或组织中的靶标之间结合的水平、强度和特异性。用于IHC处理的自动化系统是可商购获得的,并能够以中等到高通量的形式来常规执行所述测定。Leica BOND Autostainer和Leica Bond Refine Detection系统是这种自动化系统的实例。

[0303] 可替代地,酶免疫测定(EIA)或ELISA可常规地用于确定两种蛋白质(诸如治疗剂和CA19-9)之间的结合。EIA和ELISA测定两者是本领域已知的。各种各样的ELISA测定形式

是可用的,参见例如美国专利号4,016,043、4,424,279和4,018,653,所述专利在此以引用的方式整体并入。这些包括非竞争类型以及在传统竞争结合测定中的单位点测定和双位点测定或“夹心”测定。这些测定还包括标记抗体与靶蛋白的直接结合。夹心测定也是常用的测定。ELISA测定技术有多种变化。例如,为了测试蛋白质X与蛋白质Y之间的结合,可以将蛋白质X固定在固体底物上,并使蛋白质Y或包含蛋白质Y的样品与固定的蛋白质X接触。在合适的孵育时间段后,持续足以允许形成蛋白质X和蛋白质Y结合复合物的时间段,然后添加用能够产生可检测信号的报告分子来标记的对蛋白质Y具有特异性的第二抗体并孵育,容许足以形成蛋白质X、蛋白质Y和标记的二抗的另一种复合物的时间。洗掉任何未反应的物质,并通过观察报告分子产生的信号来确定蛋白质X与蛋白质Y之间的结合。结果可以是定性的(通过简单观察可见信号)或者可以是定量的(通过确定一系列增加浓度的蛋白质X或蛋白质Y的结合水平并拟合如本领域普通技术人员已知的结合曲线)。

[0304] 在EIA或ELISA测定的一些实施方案中,将酶缀合至第二抗体。在其他实施方案中,可以使用荧光标记的二抗代替酶标记的二抗以产生呈ELISA测定形式的可检测的信号。当通过特定波长的光照射而激活时,荧光染料标记的抗体吸收光能,诱导分子中的激发态,然后以检测设备可检测到的特征颜色发射光。如在EIA和ELISA中一样,允许荧光标记的抗体与被测试的一对结合蛋白形成的复合物结合。洗去未结合的试剂后,然后将剩余的三级复合物暴露于适当波长的光下,并且在本领域普通技术人员已知的适当对照下,观察到的荧光指示结合的水平、强度和特异性。免疫荧光和EIA技术均是本领域中非常成熟的,并在本文中公开。如本领域技术人员众所周知的,进行EIA或ELISA测定以测试两个分子之间的结合是常规的,并且对于高通量形式采用此类测定是常规的。

[0305] 类似地,免疫印迹测定可用于确定两种蛋白质(诸如治疗剂和CA19-9)之间的结合。免疫印迹测定的细节进一步描述于第6.3.2.5节中。在一个实施方案中,CA19-9可以在膜上,并且可以在第6.3.2.5节中描述的任何免疫印迹测定中确定治疗性抗体与CA19-9之间的结合。

[0306] 另外,FACS测定可用于确定两种蛋白质(诸如治疗剂和CA19-9)之间的结合。FACS测定的细节进一步描述于第6.3.2.5节中。在一个实施方案中,可以将通常不表达CA19-9的细胞工程化以表达一种或多种CA19-9,并且通过测量治疗剂与表达CA19-9的细胞的结合比其与不表达CA19-9的对照细胞的结合的增加,治疗剂(诸如治疗性抗体、治疗性蛋白质或治疗性肽)与CA19-9之间的结合可在第6.3.2.5节中描述的任何FACS测定中确定。

[0307] 治疗剂与CA19-9之间的结合还可以在免疫沉淀测定、共沉淀测定或免疫共沉淀测定中确定。在免疫沉淀测定中,针对特异性靶蛋白(诸如CA19-9)的抗体(诸如治疗性抗体)与样品(诸如细胞裂解物)中的所述靶标形成免疫复合物。然后将免疫复合物捕获或沉淀在固定有抗体结合蛋白(诸如蛋白A或G)的珠状支持物上,并将未沉淀在珠子上的任何蛋白质洗掉。最后,将靶蛋白(和抗体,如果所述抗体没有共价连接到珠子和/或使用变性缓冲液时)从支持物中洗脱出来,并通过各种手段,诸如通过质谱(有或无酶消化)或通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)(常常与蛋白质印迹组合)来进行分析。

[0308] 免疫共沉淀是免疫沉淀的延伸,其基于免疫沉淀反应的潜力以捕获和纯化主要靶标(诸如CA19-9)以及样品溶液中通过相互作用与主要靶标结合的其他大分子。例如,如果蛋白质X可以与蛋白质Y结合,则如上所述的蛋白质X的免疫沉淀将导致一些蛋白质Y被免疫

共沉淀,因为蛋白质Y与蛋白质X结合。蛋白质Y可以从免疫沉淀的复合物中洗脱出来,并通过各种手段,诸如通过质谱(有或无酶消化)或通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)(常常与蛋白质印迹组合)来进行分析。因此,可以确定蛋白质X与蛋白质Y之间的结合。除了在共沉淀测定中不使用抗体以外,根据与免疫沉淀或免疫共沉淀测定基本相同的原理和形式进行共沉淀测定。例如,谷胱甘肽-琼脂糖珠可用于沉淀GST融合蛋白X。与蛋白质X结合的蛋白质Y可以通过如在免疫沉淀中的各种手段与蛋白质X一起在沉淀剂中鉴定出来,并且蛋白质X和蛋白质Y的此类共沉淀将指示这两种蛋白质可以相互作用。

[0309] 在免疫沉淀测定、免疫共沉淀测定或共沉淀测定中,沉淀的靶蛋白的结合配偶体还可以通过质谱(包括液相色谱和质谱的组合LC-MS)进行检测或测定,以在一次测定中鉴定出数千个结合配偶体。例如,如果CA19-9是在本文提供的任何沉淀测定中沉淀的靶蛋白,则可以洗脱与CA19-9结合的任何和所有相互作用配偶体并进行质谱(包括LC-MS)以进行鉴定。因此,如果已使CA19-9与分子文库接触,则可以在一次测定中立即鉴定出可与CA19-9结合的来自所述文库的所有分子。如本领域技术人员众所周知的,进行免疫沉淀测定、免疫共沉淀测定或共沉淀测定以测试两个分子之间的结合是常规的,并且对于高通量形式采用此类测定是常规的。

[0310] 此外,还可以在表面等离子体共振(SPR)测定中确定治疗剂与CA19-9之间的结合。在SPR测定中,靶分子(最常见的是蛋白质)被固定在制备的金传感器表面上,并且通过一系列流通池将溶液中含有潜在相互作用配偶体的样品注入到表面上。在相互作用的过程中,偏振光被引向传感器表面,并且检测到最小强度反射光的角度。此角度随着分子结合和解离而变化,并因此相互作用曲线实时记录在传感图中。在用于唾液酸化路易斯^{a}与治疗性抗体之间结合的此类SPR测定的实例中,根据制造商的说明,可以将生物素标记的单价sLe^a(目录号02-044)或多价sLe^a-PAA-生物素(目录号01-044)偶联至单独的SPA生物传感器芯片的流通池中。用HSA和含有游离生物素的培养基阻断的流通池用作参考池。结合动力学参数可以使用sLe^a-PAA-生物素涂覆的流通池由稀释于HBS-EP缓冲液(10mmol/L HEPES、pH 7.4、150mmol/L NaCl、3.4mmol/L EDTA、0.005%表面活性剂P20)的若干种已知浓度的抗体来确定。然后,使用通过Biacore仪器提供的曲线拟合软件来生成缔合率和解离率的估计值,据此计算亲和力。商业SPR测定系统是可用的,诸如Biacore3000(GE Healthcare)。实施的SPR测定的实例描述于美国专利9,475,874中。如本领域技术人员众所周知的,进行SPR测定以测试两个分子之间的结合是常规的。

[0311] 另外,使用色谱或凝胶移位测定来测量治疗剂与CA19-9(或唾液酸化路易斯^a)之间的相互作用是常规的,如Hellman LM等,Nat Protoc.2007;2(8):1849-1861;Mallik R等,J Chromatogr A.2010年4月23日;1217(17):2796-2803;Koeplinger KA等,Analytical Biochemistry(1996)243(1):66-73;Chan J等,Mol Cell Proteomics.2012年7月;11(7):M111.016642.Bloustine J等,Biophys J.2003年10月;85(4):2619-2623中所述,所述参考均在此以引用的方式整体并入。使用等温滴定量热法来测量治疗剂与CA19-9(或唾液酸化路易斯^a)之间的相互作用也是常规的,如Freyer MW等,Methods Cell Biol.2008;84:79-113中所述,所述参考均在此以引用的方式整体并入。

[0312] 此外,使用荧光测定(诸如荧光相关光谱和荧光偏振/各向异性)来测量治疗剂与CA19-9(或唾液酸化路易斯^a)之间的相互作用是常规的,如Langowski J,Methods Cell

Biol.2008;85:471-84;Lagerkvist AC等,Protein Science(2001),10:1522-1528;Melo AM等,Quantifying Lipid-Protein Interaction by Fluorescence Correlation Spectroscopy(FCS).In:Engelborghs Y.,Visser A.(编)Fluorescence Spectroscopy and Microscopy.Methods in Molecular Biology(Methods and Protocols),第1076卷.Humana Press,Totowa,NJ;Hall MD等,Methods and Applications in Fluorescence,2016;第4卷,第2期,022001;Gijsbers A等,J Vis Exp.2016年10月21日;(116);James NG等,Methods Mol Biol.2014;1076:29-42;Jameson DM等,Methods Mol Biol.2005;305:301-22中所述,所述参考均在此以引用的方式整体并入。

[0313] 本领域普通技术人员还可以使用常规的竞争性结合测定来测量治疗剂与CA19-9(或唾液酸化路易斯[a])之间的相互作用,如Hu L等,Anal Chem.2013年5月21日;85(10):5071-7;Crolla LJ等,Clinical Chemistry,第3章,第57-68页,ACS Symposium Series,第36卷,ISBN13:9780841203457;Schmidt KJ等,Laboratory Medicine,1972年10月第42-45页中所述,所述参考均在此以引用的方式整体并入。

[0314] 类似地,使用荧光共振能量转移(FRET)来测量治疗剂与CA19-9(或唾液酸化路易斯[a])之间的相互作用也是常规的,如Margineanu A等,Sci Rep.2016年6月24日;6:28186;Vercruysse T等,RNA Biology,8:2,316-324;Du Y等,Assay Drug Dev Technol.2013年7月;11(6):367-381中所述,所述参考均在此以引用的方式整体并入。同样,在本文提供的方法中,使用生物发光共振能量转移(BRET)来测量治疗剂与CA19-9(或唾液酸化路易斯[a])之间的相互作用是常规的,如Cui B等,MBio,5(3),e01050-14;Dimri S等,Methods Mol Biol.2016;1443:57-78;Mild JG等,Mol Biotechnol(2018).第1-11页中所述,所述参考均在此以引用的方式整体并入。

[0315] 其他可用的众所周知的常规结合测定描述于Ligand-Binding Assays:Development,Validation,and Implementation in the Drug Development Arena,Khan MN和Findlay JW编,ISBN:9780470041383;Golemis E Protein-protein interactions:A molecular cloning manual.Cold Spring Harbor(NY):Cold Spring Harbor Laboratory Press,p ix,682.(2002);Phizicky EM等,Protein-protein interactions:Methods for detection and analysis.Microbiol Rev(1995)59:94-123中,所述参考均在此以引用的方式整体并入。

[0316] 6.3.2针对胰腺炎的治疗活性测定

[0317] 如上所公开,胰腺炎的根本原因是胰腺炎症和胰腺损害。因此,可用于评估用于预防、治疗、减轻或管理胰腺炎的本文所提供的方法有效性的测定可包括采用本文所提供的方法的一个或多个步骤,例如通过各种给药方案将本文提供的治疗剂施用至测定系统;确定来自测定系统的一个或多个读数;以及比较治疗剂治疗组与对照(安慰剂)治疗组(或参考范围)之间的读数。读数的变化用于确定用于预防、治疗、减轻或管理胰腺炎的治疗剂的活性。

[0318] 如第6.2.2节中所公开,可以通过测定、测量或观察各种指标和/或标志物来确定和观察胰腺炎。因此,此节中描述的测定系统可以使用基于如上文第6.2.2节生物标志物中所讨论的一种或多种标志物的一种或多种读数。

[0319] 6.3.2.1.用于胰腺炎的免疫组织化学(IHC)或组织学染色测定

[0320] 如第6.2.2节所公开,胰腺炎的标志物包括胰腺组织学(例如来自胰腺组织样品的组织学染色或IHC染色)中的异常。此类组织学标志物包括胰腺中一种或多种蛋白质的表达异常、胰腺中某种类型的非胰腺细胞(例如免疫细胞,包括白细胞、巨噬细胞和中性粒细胞)的存在或异常数量、胰腺中某些细胞的丰度或数量中的异常变化,以及胰腺细胞或胰腺组织的结构异常(例如胰腺实质、胰管、胰岛和腺泡细胞/组织中的异常)。因此,可用于评估用于预防、治疗、减轻或管理胰腺炎的本文提供的方法有效性的测定包括用于组织病理学染色的测定和/或用于检测胰腺组织学中此类异常的IHC测定。

[0321] 在本文提供的方法中的测定的一些实施方案中,根据本文提供的方法将治疗剂施用至如下文第6.3.3节中进一步讨论的模型测定系统,并且一种或多种组织学标志物通过如此节所述的测定来确定。逆转胰腺炎中组织学标志物异常或将组织学标志物向正常参考水平或健康对照受试者参考水平改变的治疗剂可用于本文提供的方法中。

[0322] 如本领域普通技术人员众所周知的,进行IHC测定以确定任何组织学胰腺炎标志物是常规的。对于IHC测定,通常通过显色或荧光方法利用抗体来原位探测和可视化细胞抗原的IHC技术是本领域众所周知的。一抗或抗血清(诸如多克隆抗血清和特异性结合靶蛋白的单克隆抗体)可用于在IHC测定中检测靶标的水平。在一些实施方案中,使组织样品与针对特异性靶标的一抗接触一段足以使抗体-靶标结合发生的时间。所述抗体可以通过抗体本身上的直接标记,例如放射性标记、荧光标记、半抗原标记(诸如生物素)或酶(诸如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)来进行检测。可替代地,将未标记的一抗与标记的二抗(诸如抗血清、多克隆抗血清或对所述一抗具有特异性的单克隆抗体)结合使用。然后可以应用酶标记的二抗,所述二抗特异性识别一抗(第二层)的抗体同种型。所述二抗与所述一抗反应,并且可以接着产生检测信号诸如底物色原应用。第二层抗体可以用酶(诸如过氧化物酶)标记,所述酶与色原3,3'-二氨基联苯胺(DAB)反应以在反应位点处产生棕色沉淀。由于通过应用信号放大系统的潜在的信号放大,因此这种方法灵敏且通用。IHC方案和试剂盒是本领域中众所周知的,并且是可商购获得的。用于载玻片制备和IHC处理的自动化系统是可商购获得的。Leica BOND Autostainer和Leica Bond Refine Detection系统是这种自动化系统的实例。

[0323] 本文提供的测定还可以使用常规的组织病理学染色、利用除抗体以外的分子来可视化胰腺组织学结构并检测胰腺组织学中的异常。在组织病理学染色中,一种或多种染色染料用于标记细胞、组织、核酸、蛋白质、脂质和/或其他细胞或组织组分,以帮助对胰腺组织学进行显微镜检查。组织病理学染色的典型程序包括固定、处理、包埋、切片、染色、洗涤/显影,如Alturkistani等,Histological Stains:A Literature Review and Case Study,Glob J Health Sci.,(2016年3月),8(3):72-79中所公开,或可从Leica Biosystems商购获得(例如来自Leica的Infinity染色试剂盒系统)。示例性组织病理学染色是苏木精-伊红染色(H&E),其常规地用于所有组织标本以揭示潜在的组织结构和状况。对本领域技术人员清楚的是,组织病理学染色和IHC可以各种排列和组合进行组合,用于本公开设想的测定。

[0324] 因此,在用于本文提供的治疗剂或方法的测定的一些实施方案中,根据本文提供的方法将治疗剂施用至如下文第6.3.3节中进一步讨论的模型测定系统,并且胰腺中的异常通过如此节所述的组织病理学染色和/或IHC染色来确定。减少、改变或逆转胰腺组织学中的异常,使其趋向正常参考胰腺组织学或健康对照受试者的参考胰腺组织学的治疗剂可

用于本文提供的方法中。

[0325] 6.3.2.2.胰腺炎的成像测定

[0326] 如上所讨论,胰腺炎标志物还可以通过成像测定来检测。如对本领域技术人员来说众所周知的,胰腺结构中的异常可通过例如用超声(诸如EUS)、计算机断层扫描、内镜逆行胰胆管造影术(ERCP)和磁共振成像(诸如MRCP)(有或无造影剂增强)来进行成像。通过成像检测的示例性胰腺炎标志物描述于上文第6.2.2.2节中。因此,在用于本文提供的治疗剂的活性的测定的一些实施方案中,根据本文提供的方法将治疗剂施用至如下文第6.3.3节中进一步讨论的模型测定系统,并且胰腺中的异常通过如此节所述的成像测定来确定。减少、改善、改变或逆转成像测定检测到的胰腺炎标志物(描述于第6.2.2节和第6.2.1节)异常,使其趋向标志物的正常参考范围或健康对照受试者参考范围的治疗剂可用于本文提供的方法中。

[0327] 如本领域普通技术人员众所周知的,进行成像测定以确定本文提供的任何胰腺炎标志物是常规的。用于成像测定的详细方案是本领域普通技术人员众所周知的,并且已描述于Etemad B等,Gastroenterology 2001;120:682-707;Duggan,SN等,World J Gastroenterol 2016;22(7):2304-2313;以及GI/Liver Secrets Plus,第4版,McNally PR编,2010的分别地关于急性胰腺炎和慢性胰腺炎的第37章和第38章;Sai JK等,World J Gastroenterol 2008February 28;14(8):1218-1221;Banks PA等,Gut 2013;62:102-111;Iglesias-Garia J等,Gut 2006;55:1661-1684中,所述参考均在此以引用的方式整体并入。

[0328] 6.3.2.3.基于血清学标志物的胰腺炎测定

[0329] 如对本领域技术人员来说众所周知的,第6.2.2.1节中提供的血清学、尿液和粪便标志物可以通过生物化学测定诸如免疫测定来检测。此类测定的形式可以包括ELISA测定、试纸条测试、基于珠的FACS测定、蛋白质印迹测定、色谱测定(例如FPLC和HPLC)、光谱测定、比色测定和质谱。

[0330] 在本文提供的方法中的测定的一些实施方案中,根据本文提供的方法将治疗剂施用至如下文第6.3.3节中进一步讨论的模型测定系统,并且一种或多种血清学标志物通过如此节所述的测定来确定。逆转胰腺炎中血清学标志物异常或将血清学标志物水平向正常参考范围或健康对照受试者参考范围改变的治疗剂可用于本文提供的方法中。

[0331] 第6.2.2.1节中提供的血清淀粉酶、脂肪酶、CRP和其他标志物可以使用免疫测定诸如酶免疫测定(EIA)或ELISA进行检测。EIA和ELISA测定两者是本领域已知的,例如用于测定各种组织和样品,包括血液、尿液、血清或胰腺组织。各种各样的ELISA测定形式是可用的,参见例如美国专利号4,016,043、4,424,279和4,018,653,所述专利在此以引用的方式整体并入。这些包括非竞争类型以及在传统竞争结合测定中的单位点测定和双位点测定或“夹心”测定。这些测定还包括标记抗体与靶蛋白的直接结合。夹心测定是常用的测定。存在夹心测定技术的多种变化。例如,在典型的正向测定中,将未标记的抗体固定在固体底物上,并使待测样品与固定的抗体接触。在合适的孵育时间段后,持续足以允许形成抗体-抗原复合物的时间段,然后添加用能够产生可检测信号的报告分子来标记的对抗原具有特异性的第二抗体并孵育,容许足以形成抗体-抗原标记的抗体的另一种复合物的时间。洗掉任何未反应的物质,并通过观察报告分子产生的信号来确定抗原的存在。结果可以是定性的

(通过对可见信号的简单观察)或者可以是定量的(通过与包含已知量靶蛋白的对照样品进行比较)。

[0332] 在EIA或ELISA测定的一些实施方案中,将酶缀合至第二抗体。在其他实施方案中,可以使用荧光标记的二抗代替酶标记的二抗以产生呈ELISA测定形式的可检测的信号。当通过特定波长的光照射而激活时,荧光染料标记的抗体吸收光能,诱导分子中的激发态,然后以检测设备可检测到的特征颜色发射光。如在EIA和ELISA中一样,允许荧光标记的抗体与第一抗体-靶蛋白复合物结合。洗去未结合的试剂后,然后将剩余的三级复合物暴露于适当波长的光下,并且观察到的荧光指示感兴趣的靶蛋白的存在或数量。免疫荧光和EIA技术均是本领域中非常成熟的,并在本文中公开。

[0333] 在一个实施方案中,本文提供的测定采用定量夹心酶免疫测定技术。将本文提供的对胰腺炎标志物具有特异性的单克隆抗体预涂覆在微孔板上。将标准品和样品(例如血液或血清样品)移液到孔中,并且存在的任何标志物都被固定的抗体结合。洗去所有未结合的物质后,将对标志物具有特异性的酶联多克隆抗体加入到孔中。洗涤以去除任何未结合的抗体-酶试剂后,将底物溶液加入到孔中,并且显色与初始步骤中结合的标志物的量成比例,这与样品(例如血液或血清样品)中的标志物水平相关。停止显色并测量颜色的强度。所述测量用作样品(例如血液或血清样品)中标志物水平的替代物。

[0334] 如本领域普通技术人员众所周知的,进行EIA或ELISA测定以确定本文提供的任何胰腺炎标志物是常规的。第6.2.2.1节中已提供用于测量血清淀粉酶、血清脂肪酶、CRP和其他胰腺炎标志物的示例性商业测定。因此,在本文提供的方法中的测定的一些实施方案中,根据本文提供的方法将治疗剂施用至如下文第6.3.3节中进一步讨论的模型测定系统,并且血清学标志物(诸如淀粉酶、脂肪酶或CRP)的水平通过如此节所述的测定来确定。降低标志物水平或将标志物水平向正常参考范围或健康对照受试者参考范围改变的治疗剂可用于本文提供的方法中。

[0335] 在一些实施方案中,如本领域普通技术人员众所周知的,本文提供的方法可以与一些特异性淀粉酶、脂肪酶和CRP测定一起使用。淀粉酶、脂肪酶、CRP和其他血清学标志物的此类特异性测定的实例描述于Kaphalia BS,第16章,Biomarkers of acute and chronic pancreatitis in Biomarkers in Toxicology,Gupta R.编,ISBN:978-0-12-404630-6(2014);Sutton PA等,Ann R Coll Surg Engl 2009;91:381-384;Matull WR等,J Clin Pathol2006;59:340-344;Basnayake C等,Aust Prescr 2015;38:128-30;以及Jasdanwala S等,Integr Mol Med,2015;2(3):189-195中,所述参考均在此以引用的方式整体并入。

[0336] 6.3.2.4.胰腺功能的测定

[0337] 在本文提供的方法中的测定的一些实施方案中,根据本文提供的方法将治疗剂施用至如下文第6.3.3节中进一步讨论的模型测定系统,并且胰腺功能通过如此节所述的测定来确定。恢复胰腺功能或将胰腺功能水平向正常参考范围或健康对照受试者参考范围改变的治疗剂可用于本文提供的方法中。用于测定胰腺功能的各种详细方案是本领域普通技术人员众所周知的,并且是常规进行的,例如,如John G Lieb II和Peter V Draganov,World J Gastroenterol.2008年5月28日;14(20):3149-3158;Clain JE等,Surg Clin North Am1999;79:829-845;Couper R.Can J Gastroenterol 1997;11:153-156;Layer P

等,J Clin Gastroenterol 1999;28:3-10;Toskes PP.Curr Gastroenterol Rep 1999;1:145-153;GI/Liver Secrets Plus,第4版,McNally PR编,2010的关于慢性胰腺炎的第38章中所述;所述参考均在此以引用的方式整体并入。

[0338] 6.3.2.5.信号传导标志物的测定

[0339] 在本文提供的方法中的测定的一些实施方案中,根据本文提供的方法将治疗剂施用至如下文第6.3.3节中进一步讨论的模型测定系统,并且一种或多种信号传导标志物通过如此节所述的测定来确定。降低信号传导标志物水平或将信号传导标志物水平向正常参考范围或健康对照受试者参考范围改变的治疗剂可用于本文提供的方法中。可用于测定的信号传导标志物描述于上文第6.2.2.4节中。

[0340] 在一些实施方案中,可以使用免疫印迹测定用本文所述的抗体检测信号传导标志物。在免疫印迹测定的一些实施方案中,蛋白质可以(但不是必须)通过电泳分离并转移到膜(通常是硝酸纤维素膜或PVDF膜)上,例如在蛋白质印迹测定中。类似于IHC测定,特异性靶向信号传导标志物的一抗或抗血清(诸如多克隆抗血清和单克隆抗体)可用于检测信号传导标志物的水平。在一些实施方案中,使膜与针对特异性靶标的一抗接触一段足以使抗体-抗原结合发生的时间,并且结合的抗体可以通过一抗本身上的直接标记例如用放射性标记、荧光标记、半抗原标记(诸如生物素)或酶(诸如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)来进行检测。在其他实施方案中,未标记的一抗与对一抗具有特异性的标记的二抗结合用于如上文针对IHC测定所述的间接测定中。如本文所述,二抗可以例如用酶或其他可检测的标记诸如荧光标记、发光标记、比色标记或放射性同位素进行标记。免疫印迹方案和试剂盒是本领域中众所周知的,并且是可商购获得的。用于免疫印迹的自动化系统,例如用于蛋白质印迹的iBind Western系统(ThermoFisher,Waltham,MA USA 02451)是可商购获得的。免疫印迹包括但不限于蛋白质印迹、细胞内蛋白质印迹和斑点印迹。斑点印迹是一种简化的程序,其中蛋白质样品不通过电泳分离,而是直接置于膜上。细胞内蛋白质印迹涉及将细胞接种在微量滴定板中、固定/透化细胞,并且随后用标记的一抗或未标记的一抗,接着用如本文所述的标记的二抗进行检测。

[0341] 在其他实施方案中,还可以在流式细胞术测定(包括荧光激活细胞分选(FACS)测定)中用本文所述的抗体检测信号传导标志物的水平。类似于IHC或免疫印迹测定,特异性靶向信号传导标志物的一抗或抗血清(诸如多克隆抗血清和单克隆抗体)可用于检测FACS测定中的信号传导标志物水平。在一些实施方案中,用针对特异性信号传导标志物的一抗将细胞染色一段足以使抗体-抗原结合发生的时间,并且结合的抗体可以通过一抗上的直接标记例如一抗上的荧光标记或半抗原标记(诸如生物素)来进行检测。在其他实施方案中,未标记的一抗与对一抗具有特异性的荧光标记的二抗结合用于如上文针对IHC测定所述的间接测定中。FACS提供了一种根据每个细胞的特异性光散射和荧光特征,一次一个细胞对荧光标记的生物细胞混合物进行分选或分析的方法。因此,流式细胞仪检测并报告荧光染料标记抗体的强度,所述强度指示每个细胞中信号传导标志物的水平。因此,可以使用针对信号传导标志物的抗体来检测信号传导标志物的水平。还可以通过对透化细胞染色来观察细胞质信号传导标志物。进行FACS染色和分析的方法是本领域技术人员众所周知的,并且由Teresa S.Hawley和Robert G.Hawley in Flow Cytometry Protocols,Humana Press,2011(ISBN 1617379506、9781617379505)描述。对本领域普通技术人员来说,进行

FACS测定和免疫印迹测定以确定本文提供的任何信号传导标志物是常规的。

[0342] 如本领域普通技术人员所知,信号传导标志物的水平还可以使用上文第6.3.2.3节所述的免疫测定诸如酶免疫测定法(EIA)或ELISA进行常规检测。

[0343] 6.3.3用于测定的模型系统

[0344] 6.3.3.1.动物模型

[0345] 本公开提供了动物模型(例如转基因小鼠模型),其中所述动物(例如小鼠)被遗传工程化以在胰腺中表达CA19-9并发展为胰腺炎。使用小鼠作为示例性动物模型来提供以下公开,但是本领域技术人员将理解,本公开包括并且适用于其他动物,例如猴、猪、狗、大鼠和/或兔。本公开进一步提供了CA19-9是通过将不同的糖部分逐步添加到1型前体链中,最终将岩藻糖的α1,4键联到GlcNAc而产生的。如本文所用,Fut3是指具有通过α1,4键添加岩藻糖部分的能力的岩藻糖基转移酶。在转基因小鼠胰腺炎模型的一个实施方案中,可以产生小鼠胚胎干细胞(mESC),其中所述mESC经由依赖于Cre的组织特异性表达、LoxP侧翼终止盒(LSL)的重组和强力霉素(Doxycycline,Dox)的施用的诱导型启动子来表达Fut3和β3GalT5。可以从有和无Cre转染的mESC中产生小鼠,以产生依赖或独立于Cre表达的品系。在这些转基因小鼠中,可以通过施用Dox诱导Fut3和β3GalT5的表达,并因此诱导CA19-9的表达。因此,本公开提供了其中可在小鼠的整个胰腺中诱导CA19-9表达的小鼠、其中可在小鼠胰腺的局灶区域中诱导CA19-9表达的小鼠以及其中可在小鼠的全身中诱导CA19-9表达的小鼠。这些小鼠被称为CA19-9小鼠模型,并且每个都可以用于本文提供的方法中。

[0346] 在其中在胰腺中诱导CA19-9表达的所有CA19-9小鼠模型中,相对于遗传阴性同窝仔对照,经过一段时间的Dox治疗后,非胰腺组织表现出正常的组织学。小鼠模型的胰腺中CA19-9表达的诱导导致胰腺炎,包括胰腺炎的多种生理、组织学和血清学体征(例如腺泡萎缩、免疫细胞侵入、胶原蛋白沉积、脂肪酶和淀粉酶升高),而在Dox治疗的遗传阴性对照或未治疗的小鼠中不能观察到胰腺炎。另外,在整个小鼠中已诱导CA19-9表达的CA19-9小鼠在CA19-9表达后表现出体重减轻和胰腺萎缩,在一些情况下导致体重减轻超过20%并随后进行安乐死。在整个小鼠中已诱导CA19-9表达的CA19-9小鼠中,除胰腺以外的所有组织均保持健康,这表明在CA19-9表达后CA19-9小鼠中的胰腺炎不是自身免疫介导的。

[0347] 在整个胰腺中已诱导CA19-9表达的CA19-9小鼠发展为高渗透性胰腺炎,并且淀粉酶和脂肪酶水平升高,而没有体重减轻或胰腺重量减轻。存在于在整个胰腺中已诱导CA19-9表达的CA19-9小鼠的脾、淋巴结和胰腺中的免疫细胞类型与急性胰腺炎的蛙皮素模型(下文讨论)相当。在整个胰腺中已诱导CA19-9表达的CA19-9小鼠和蛙皮素模型均表现出胰腺中的炎性单核细胞和巨噬细胞的治疗依赖性流入,而脾或淋巴结中的免疫细胞类型代表没有任何变化。相对于遗传对照和未治疗的对照,在胰腺局灶区域已诱导CA19-9表达的CA19-9小鼠发展为较小的胰腺炎病灶,并且淀粉酶和脂肪酶水平升高,而没有体重减轻或胰腺重量减轻,并表现出预期的CA19-9表达模式。所有CA19-9小鼠模型均表现出具有多种慢性胰腺炎组织学标志物的慢性胰腺炎。在小鼠全身具有CA19-9表达的CA19-9小鼠模型的血浆和在小鼠的整个胰腺中具有CA19-9表达的CA19-9小鼠模型的血浆中还可以检测到CA19-9。在一个实施方案中,在整个胰腺中具有CA19-9表达的CA19-9小鼠提供了胰腺炎表型的高渗透率而没有体重减轻。如本文所用,胰腺炎的渗透率是指胰腺中受胰腺炎影响的面积百分比:受影响的面积百分比越高,渗透率越高。

[0348] 另外,适用于本文提供的方法的胰腺炎模型包括临床人胰腺炎患者。用于临床测试的此类患者可以根据上文第6.2.2节中所述的胰腺炎标志物和分类方案进行鉴定。

[0349] 6.3.3.2.细胞模型

[0350] 可替代地,重现胰腺炎中一些或全部信号传导途径或机制的细胞模型可用于本文提供的方法中,以鉴定治疗剂、确认治疗剂在减少或增加如上文所述的信号传导标志物中的活性、确定治疗剂在胰腺炎中的治疗结果以及测试治疗剂在胰腺炎中的功效。此外,如上所讨论,本文提供的任何细胞模型可与本文公开的测定以任何排列或组合使用。适用于本文提供的方法的这些细胞模型包括已被工程化以表达CA19-9的小鼠胰腺导管腺癌(PDAC)细胞系(例如通过在小鼠PDAC细胞中引入Fut3和/或β3GalT5的表达)和人PDAC细胞系(诸如Suit2)。本公开提供了天然或重组表达CA19-9的PDAC细胞重现了作为人胰腺炎的基础的一些或全部信号传导途径和机制,并且可用于本文提供的方法和测定中。

[0351] 另外,从动物(诸如猪、猴或人)或腺泡细胞系(诸如大鼠胰腺腺泡细胞系AR42J)中分离出的初级腺泡细胞可在本文提供的方法中用作细胞模型,以鉴定治疗剂、确认治疗剂在减少或增加如上文所述的信号传导标志物中的活性、确定治疗剂在胰腺炎中的治疗结果以及测试治疗剂在胰腺炎中的功效。使用胶原酶消化方案获得单簇、双簇和大簇腺泡细胞,所述方案描述于Burnham DB等,J Physiol 349:475-482,1984;Criddle DN等,J Gastroenterol Hepatol 21第3增刊:S14-17,2006;Peikin SR等,Am J Physiol235(6):E743-749,1978;Schultz GS等,Exp Cell Res 130(1):49-62,1980;Williams JA等,Am J Physiol 235(5):517-524,1978中,所述参考均在此以引用的方式整体并入。本公开提供了腺泡细胞重现了作为人胰腺炎的基础的一些或全部信号传导途径和机制,并且可用于本文提供的方法和测定中。

[0352] 三维(3D)细胞培养物,无论是体外3D培养物还是从动物胰腺中分离的3D结构,还可以用作如上所讨论的本文提供的方法中的细胞模型。此类3D培养物重现了作为人胰腺炎的基础的一些或全部信号传导途径和机制,包括细胞内信号传导和细胞间信号传导,并且可用于本文提供的方法和测定中。从动物胰腺中分离的3D结构包括胰小叶、胰腺类器官和胰腺切片。

[0353] 如本领域普通技术人员已知的,胰小叶可以通过经由将Krebs-Ringer碳酸氢盐缓冲液注射到胰腺的疏松结缔组织中而散开它们,并且然后通过在立体显微镜下通过显微解剖单独切除小叶来制备。因为大多数手术创伤仅限于导管和血管,因此这种过程可最大程度地减少对腺泡细胞的损害。切除的小叶保留了组织的总体腺泡结构及其小尺寸,并允许氧气和溶质易于从孵育液中渗透。按照这种方法,小叶可以在培养物中保持若干个小时,并用于子序列测定(包括高通量测定)。分离适用于测定的胰小叶的程序和方法详细描述于Barreto SG等,Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 299(1):G10-22,2010;Barreto SG等,Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 297(2):G333-339,2009;Flowe KM等,Pancreas 9(4):513-517,1994;Linari G等,Pharmacol Res Society 43(3):219-223,2001;Scheele GA等,J Biol Chem 250(7):2660-2670,1975;Schloithe AC等,Neurogastroenterol Motil 20(9):1060-1069,2008中,所述参考均在此以引用的方式整体并入。

[0354] 众所周知,类器官是指三维细胞、组织或器官培养物。在用胶原酶XI消化并接种到

生长因子减少的基质胶(Matrigel)中后,可以从切除的胰腺肿瘤、胰腺组织和胰腺活检中迅速产生胰腺类器官。用生长因子R-脊椎蛋白(spondin)调节培养基可促进主要的导管细胞群体。这些胰腺类器官可在冷冻保存下存活,并表现出导管和疾病阶段特异性的特征。此外,来自小鼠的胰腺类器官在体外准确地重现疾病进展的生理相关方面。原位移植后,胰腺类器官能够再生正常的导管结构。在用于制备胰腺类器官的具体实施方案中,可以在含有1% FBS(GIBCO)的DMEM中用0.012%胶原酶XI(Sigma)和0.12%分散酶(GIBCO)进行酶消化后收获来自胰腺的导管,并将其包埋到100%生长因子减少的(GFR)基质胶(BD)中以保持分离的胰腺类器官。分离和培养胰腺类器官的详细过程描述于Boj SF等,Cell 160(1-2):324-338,2015;Huch M等,EMBO J 32(20):2708-2721,2013中,两者均在此以引用的方式整体并入。

[0355] 为了获得胰腺切片,可以经由经十二指肠穿刺和胆总管插管将低熔点琼脂糖凝胶注入麻醉小鼠的胰管中。然后可以切除和修剪胰腺。琼脂糖使胰腺足够坚固,然后以使用振动切片机进行切片,厚度为80-140μm。此外,琼脂糖是多孔的,并因此可以提供组织与缓冲液的自由交换,从而确保长达两天的最佳培养健康。分离和培养胰腺切片的详细过程描述于Huang YC等,J Physiol 589(Pt 2):395-408,2011;Huch M等,EMBO J32(20):2708-2721,2013中,两者均在此以引用的方式整体并入。

[0356] 这些细胞和3D细胞结构可用于本文提供的任何测定中,以测量任何本文提供的胰腺炎标志物例如信号传导标志物、组织学标志物、生理标志物、功能标志物和血清学标志物或它们的任何组合。在一些具体的实施方案中,所述细胞和3D细胞结构用于使用EGFR信号传导(例如EGFR的磷酸化、Erk1/2的磷酸化、Akt的磷酸化或其任何组合)作为测定的测量来测试治疗剂。在其他具体的实施方案中,所述细胞和3D细胞结构用于使用CA19-9、唾液酸化路易斯^{a}或其任何组合作为测定的测量来测试治疗剂。

[0357] 6.3.4高通量筛选测定

[0358] 使用细胞和3D细胞结构的测定可以是高通量测定。如本领域普通技术人员已知的,当使用细胞或3D细胞结构作为模型系统时,可以将第6.3.1节、第6.3.2节和实施例中描述的任何测定用于高通量测定。通过测量本文所述的信号传导标志物、组织学标志物和血清学标志物中的任一种,可以将测定设计为使用36孔、64孔、96孔、384孔和1536孔板筛选。为了建立此类高通量测定,用于转移治疗剂和其他测定试剂的液体处理系统是本领域已知的,例如来自Matrix(Hudson,NH)的PlateMate Plus系统和来自PerkinElmer系统的MiniTrak和Multiprobe II HTEX。基于本文所述的信号传导标志物、组织学标志物和血清学标志物中的任一种测量的数据可以使用诸如ViewLux成像系统(PerkinElmer)的可商购获得的成像系统来收集。在具体的实施方案中,野生型细胞、野生型3D细胞结构、来自健康受试者的细胞或来自健康受试者的3D细胞结构可以用作高通量测定中的对照,以指示信号传导标志物、组织学标志物和血清学标志物中的任一种测量的正常或参考范围。

[0359] 在一些具体的实施方案中,本文提供的任何结合测定可以常规地采用高通量测定形式,以容易地测试数千对结合配偶体(例如治疗剂与CA19-9(或唾液酸化路易斯^a)之间)的结合;以针对与CA19-9(或唾液酸化路易斯^a)结合的治疗剂来筛选分子文库;或以鉴定或筛选CA19-9的文库。

[0360] 可替代地,本文提供的任何测定都可以与质谱(诸如LC-MS)组合,以从潜在分子文

库中鉴定CA19-9或治疗剂。例如,免疫沉淀、免疫共沉淀或共沉淀测定可以与质谱(MS)或液相色谱-质谱(LC-MS)组合,以通过沉淀抗唾液酸化路易斯[a]抗体来鉴定CA19-9或通过沉淀CA19-9来鉴定与CA19-9结合的分子。在此类适应性高通量测定的一个实施方案中,将具有抗唾液酸化路易斯[a]抗体的免疫共沉淀与LC-MS组合以鉴定CA19-9的列表。

[0361] 如本领域普通技术人员众所周知的,以高通量形式采用本文提供的一种或多种测定以测试治疗剂与CA19-9(或唾液酸化路易斯[a])之间的结合,并在本文提供的模型系统中测试治疗剂对一种或多种标志物的作用是常规的。高通量测定的适应性测定的详细方案和各种形式描述于Szymański P等,Int J Mol Sci.2012;13(1):427-452;Klumpp,M.等,Journal of biomolecular screening,11(6),617-633;Mayr,L.M.等,Journal of Biomolecular Screening,2008;13(6),443-448;Mayr,L.M.等,2009;9(5),580-588;D Cronk,D,第8章,in Drug Discovery and Development(第二版),2013,Hill RG编,ISBN:978-0-7020-4299-7中,所述参考均在此以引用的方式整体并入。

[0362] 实施例

[0363] 实施例1

[0364] 在实施例中的实施方案中使用的材料如下制备、制造、获取、购买、确定、评估、验证和/或获得。

[0365] 人类标本:

[0366] 人类标本是在德累斯顿工业大学(Ethikkommission an der Technischen Universität Dresden)人类伦理委员会(病理研究所,德累斯顿大学医院,Dresden,Germany)和Cold Spring Harbor Laboratory的机构审查委员会(Institutional Review Board,IRB)的批准下获得的。正常胰腺组织从伊利诺伊大学芝加哥分校(University of Illinois at Chicago)和迈阿密大学米勒医学院(University of Miami Miller School of Medicine)的胰岛移植项目中获得。在适当的知情同意后,在Dresden(病理研究所,德累斯顿大学医院)中获得的慢性胰腺炎患者样品中制备组织芯片。经人类伦理委员会:德累斯顿工业大学(EK59032007)审查后,获得了每位患者的知情同意。从1993年至2009年从经历手术的患者中收集慢性胰腺炎样品。病理学家(D.A.)证实了对慢性胰腺炎的诊断。病理学家基于组织学检查确定了最终诊断,并且通过24个月的中等随访时间排除了疾病组中的PDAC。对于胰腺炎患者,所有队列的纳入标准包括患者给予的书面知情同意书和预先存在的慢性胰腺炎。如果满足以下标准中的一个或多个,并且没有其他可能性更高的诊断,则诊断为慢性胰腺炎(Mayerle,J.等,Dtsch Arztebl Int 110,387-393,(2013),其在此以引用的方式整体并入):反复发作的胰腺疼痛伴有记录的淀粉酶或脂肪酶活性升高持续时间超过一年,并且有支持诊断的放射学证据、胰腺钙化、慢性胰腺炎的组织学证明、胰管形态的明确改变、胰腺功能测试严重异常伴消化不良。在CT扫描上鉴定出钙化,根据WHO的定义建议诊断为糖尿病,并通过粪便弹性蛋白酶测量或并行补充胰酶来确定外分泌功能不全。排除标准为其他伴随的恶性疾病、募集前最近两年内的恶性疾病的治愈性治疗、胰腺伴随的囊性疾病、妊娠或无法给予知情同意的患者。CA19-9测定在经过认证的临床实验室集中进行。

[0367] 抗体:

[0368] CD4(100428,克隆GK1.5)、CD8(100714,克隆53.6.7)、TcRβ克隆(109222,克隆H57-

597)、TcRγδ(118106,克隆GL3)、CD19(152406,克隆1D3)、CD45(103138,克隆30-F11)、NKp46(137716,克隆29A1.4)、CD11b(101224,克隆M1/70)、CD11c(117318,克隆N418)、Ly6C(128016,克隆HK1.4)、Ly6G(27606,克隆1A8)、PDGFRa(APA5)、抗大鼠BV421(4054)和链霉亲和素(streptavidin)(405214)均购自Biolegend,CA19-9(r5B-1,Mabvax(Sawada,R.等Clin Cancer Res 17,1024-1032,(2011);Viola-Villegas,N.T.等Journal of nuclear medicine:official publication,Society of Nuclear Medicine 54,1876-1882,(2013),两者均以引用的方式整体并入本文)),CA19-9(ATCC杂交瘤1116-NS-19-9HB8059)、磷酸化EGFR(8G6.2,EMD Millipore,IHC)、磷酸化ERK1/2(4370,Cell Signaling)、ERK1/2(4695,Cell Signaling)、磷酸化Akt(4060,2965,Cell Signaling)、Akt(4685,Cell Signaling)、磷酸核糖体S6(4858,Cell Signaling)和S6核糖体蛋白(2317,Cell Signaling)、磷酸化EGFR(3777,Cell Signaling)、EGFR(71655,Cell Signaling)、EGFR(4267,Cell Signaling)、重组小鼠EGFR-Fc(RnD)、Ki67(Spring Bioscience M3062)、CK19(TROMA III,DSHB)、eGFP(A-11122,Thermofisher)、FLAG(Sigma,F7425)、人同种型对照(Synagis)、小鼠同种型对照(MOPC21)。

[0369] 实施例2

[0370] 克隆:

[0371] 将人FUT3 cDNA经PCR扩增、亚克隆到pBabe-Neo中,并用Sanger测序确认。将人FUT3和β3GalT5(Dharmacon,CCSB-广谱慢病毒表达OHS6085-213580074)经PCR扩增并将其作为T2A融合蛋白(Fut3-T2A-β3GalT5)亚克隆到pBabe-Neo和ColA1靶向盒中(Beard C等,Genesis.2006;44(1):23-8)。

[0372] 胚胎干细胞靶向:

[0373] 包含用于重组酶介导的盒交换的ColA1预靶向FRT位点(Beard,C.,Genesis 44,23-28,(2006),其以引用的方式整体并入本文)和CAGS-LSL-rtTA3-IRES-mKate2(Dow LE等,PLoS One.2014;9(4):e95236,其以引用的方式整体并入本文)等位基因的D34 mES细胞(129/C57B1/6J F1杂交)用于引入TRE驱动的Fut3-T2A-β3GalT5-IRES-eGFP构建体。简而言之,将mES细胞系D34在第3代在含有LIF的mES细胞培养基中解冻到明胶涂覆的组织培养板中的辐照的DR4小鼠胚胎成纤维细胞饲养器上,并在48小时后转换至2i条件(Ying,Q.L.等,Nature 453,519-523(2008),其以引用的方式整体并入本文)。使mES细胞胰蛋白酶化,并在37℃下将辐照的DR4饲养器重新附着45分钟。使用2.5μg FlpE和5μg含有TRE-Fut3-T2A-β3GalT5-IRES-eGFP转基因的靶向盒进行电穿孔。将600,000个mES细胞重悬于电穿孔缓冲液(P3,来自Lonza的Amaxa)中、与DNA混合、转移至电穿孔试纸条孔中,并使用mES细胞优化的Amaxa电穿孔程序进行电穿孔。电穿孔后,将mES细胞转移至含有辐照的DR4饲养器的6cm平板。在48小时后开始选择潮霉素(hygromycin)B(140μg/ml,Roche),并在11天后选择存活的菌落进行扩增和评估。将mES细胞克隆在单独的平板中用遗传霉素(Geneticin)治疗,以确认正确的重组364和新霉素(neomycin)敏感性的恢复。此外,在额外的平板中,将mES细胞用CRE转染,并用强力霉素治疗,以确认Cre依赖性mKate荧光以及Cre依赖性和Dox依赖性eGFP荧光。

[0374] 从有和无Cre转染的mES中产生小鼠,以产生依赖或独立于Cre表达的品系。产生带有Rosa26:CAGGS-rtTA-mKate和ColA1:TRE-Fut3-β3GalT5-GFP(R;F-全身)、Pdx1-OR p48-

Cre,Rosa26:CAGGS-LSL-rtTA371 mKate和ColA1:TRE-LSL-Fut3-β3GalT5-GFP($C^{PDX/P48}$;R^{LSL};F^{LSL}-局灶性胰腺)以及Pdx1-Cre,Rosa26:CAGGS-LSL-rtTA-mKate和ColA1:TRE-Fut3-β3GalT5-GFP(C^{PDX};R^{LSL};F-整个胰腺)的小鼠。

[0375] 用于DNA印迹的gDNA分离:

[0376] 从15个克隆(Gentra,Puregene)中收获mES细胞gDNA。简而言之,将细胞用PBS洗涤两次,并且每孔添加300μl细胞裂解溶液,并使用细胞铲(cell lifter)刮擦细胞。将裂解物转移到新试管中,并在37℃下孵育45分钟。加入100μl蛋白质沉淀溶液,并将试管倒置十次。将裂解物以最大速度离心2分钟,并将上清液转移到新试管中。加入300μl异丙醇,并将试管倒置50次,然后以最大速度离心2分钟。小心倒出上清液,在吸水纸上吸干,并使其风干。将DNA沉淀重悬于50μl水中,并在65℃下孵育一小时,在室温下在轻轻摇动的同时孵育4小时,然后在-20℃下储存。

[0377] DNA印迹和PCR:

[0378] 将ES细胞gDNA用EcoRI(NEB)在37℃下消化18小时,同时轻轻摇动。将消化的gDNA在0.8% TAE琼脂糖凝胶上以20-35V运行22小时。将凝胶用溴化乙锭染色,同时旋转10分钟,并在用水洗涤之前成像。将凝胶在变性溶液(0.5N NaOH,1.5M NaCl)中孵育,同时旋转30分钟,然后在水中洗涤。将凝胶在中和溶液(1M Tris,3M NaCl,pH7.0)中孵育30分钟,同时旋转30分钟,然后在水中洗涤。通过在室温下在20×SSC中将毛细管流动过夜,将凝胶转移到尼龙膜(Schleicher&Schuell Nytran)上。将膜在2×SSC中冲洗并置于Whatman纸上以风干,然后进行UV交联60秒。将膜置于Robbins管中的10ml Pre-Hyb溶液中,并在68℃下孵育30分钟,同时旋转。在42℃下重复进行Pre-hyb洗涤,同时旋转。然后将膜在含有适当探针的杂交溶液中在42℃下孵育过夜,同时旋转。产生针对eGFP(482958CPM,Rediprime)和嘌呤霉素(puromycin)(186409CPM,Rediprime)的探针。然后将膜在68℃下在3×SSC/0.5% SDS中洗涤两次,持续30分钟,同时旋转,然后在-80℃下暴露于膜过夜。gDNA也被送到Transnetyx进行eGFP的基因分型,以排除信号高于验证的单拷贝插入的克隆。选择了克隆FB8和FB12进行四倍体互补(NYU),两者均产生种系传播的建立者。两个克隆均显示相同的CA19-9表达模式,并选择克隆FB12建立者进行进一步评估。

[0379] 小鼠:

[0380] 先前已描述了KPC小鼠($Kras^{+/LSL-G12D}$;$Trp53^{+/R172H}$;Pdx1-Cre)(Hingorani SR等,Cancer Cell.2003;4(6):437-50;Hingorani SR等,Cancer Cell.2005;7(5):469-83)并将其回交到C57B1/6J背景(The Jackson Laboratory,菌株000664)上。所有动物实验都根据Cold Spring Harbor Laboratory处的IACUC批准的程序进行。将小鼠纳入6至8周龄的实验研究中。通过补充有10mg/ml蔗糖的饮用水(0.5-2mg/ml)向小鼠施用强力霉素,研究持续时间长达一周。通过食物施用强力霉素,用于超过一周的实验研究,基于每只小鼠4-5g/天的消耗量,其被设计为每天递送2-3mg强力霉素(Harlan Teklad,饮食TD.01306,强力霉素625mg)。连续三天每天两次腹膜内施用EdU(300μg,Santa Cruz)。以每8小时200μl(10μg/ml)的剂量腹膜内施用蛙皮素48小时,并使C57B1/6J小鼠恢复24或72小时。使用ACCU-CHECK Nano(Roche)在414侧大隐静脉上测量血糖水平。

[0381] 逆转录病毒的产生和感染:

[0382] 将嗜亲性Phoenix细胞(ATCC)以每10cm组织培养板4×10^6个细胞接种。24小时后,

细胞有70-80％融合。转染前一小时,将培养基更换为DMEM中的10％ FBS、25μm氯喹。将总体积为438μl水中的10μg质粒DNA加入到62μl CaCl2中。当将DNA/CaCl2混合物逐滴加入到500μl 2×HBS中时,使空气同时鼓泡通过溶液。将混合物在室温下孵育30分钟。将溶液涡旋,并且然后逐滴加入到组织培养板中。16小时后,将培养基更换为10％ FBS补充DMEM。在24小时和48小时时收获病毒上清液并过滤(0.45μm)。将一体积的Retro-X浓缩液(Clontech)加入到三体积的病毒上清液中,并在4℃下孵育过夜。在4℃下以1500x g离心45分钟后,将病毒沉淀用适当的培养基重悬以进行感染。为了感染单层细胞,将病毒重悬于含有10μg/ml聚凝胺(polybrene)的10％ FBS补充DMEM中。感染后48小时开始选择。为了感染类器官,将病毒沉淀重悬于含有10μg/ml聚凝胺和10.5μM Rho激酶抑制剂Y-27632(Sigma)的类器官培养基中。在单细胞解离后,在室温下在600RCF下使用自旋接种1小时(100,000-250,000个细胞),然后重悬于基质胶中并在存在10.5μM Rho激酶抑制剂Y-27632(Sigma)的情况下作为类器官繁殖前72小时,以进行类器官感染。感染后两天,用1mg/ml遗传霉素(Life technologies)或杀稻瘟素(10μg/mL,最终浓度)治疗类器官,以进行选择。

[0383] 免疫组织化学:

[0384] 将福尔马林固定的石蜡包埋的块进行切片并脱蜡。除非另外说明,否则在高压锅中在柠檬酸盐缓冲液中进行抗原修复6分钟。在柠檬酸盐缓冲液抗原修复30分钟后,如先前所述进行磷酸化EGFR IHC(Ardito CM等,Cancer Cell.2012;22(3):304-17)。在室温下,将内源性过氧化物酶用TBS中的3％过氧化氢淬灭20分钟。然后将载玻片在自来水中冲洗,并转移到Cadenza系统中。在室温下,将载玻片在TBST中的3％ BSA中阻断1小时,并在一抗中孵育过夜。将载玻片在TBST中洗涤3次,然后在辣根过氧化物酶缀合的二抗中在室温下孵育一小时。将载玻片在TBST中洗涤3次,并从Cadenza系统中拆卸出来。将ImmPACT DAB(载体)孵育1-10分钟,然后水洗并在苏木精复染液中孵育。然后将载玻片脱水并在cytoseal 60中盖玻片。

[0385] 在Plus载玻片(Fischer Scientific)上收集并在室温下保存的福尔马林固定的石蜡包埋的5μm切片上进行自动化免疫组织化学。在染色之前,将载玻片在60℃对流烘箱中孵育1小时。除非另外说明并如前所述(Perez-Aso M等,FASEB J.2016;30(1):457-65),否则显色免疫组织化学是在Ventana Medical Systems Discovery XT平台上进行的,使用Ventana的试剂和检测试剂盒进行在线脱蜡。简而言之,将切片在二甲苯中脱蜡(3种变化),通过分级的醇(3种变化100％乙醇,3种变化95％乙醇)再水化并在蒸馏水中冲洗。在1200瓦的微波炉中以100％功率在10mM柠檬酸钠缓冲液(pH 6.0)中进行热诱导表位修复20分钟。使切片冷却30分钟,并且然后在蒸馏水中冲洗。内源性过氧化物酶活性被阻断。将一抗以1:1000-1:10000稀释于Tris缓冲盐水(25mM Tris,0.15M NaCl)中,并在室温下孵育10小时。将偶联至辣根过氧化物酶的二抗(Jackson ImmunoResearch Laboratories)以1:200稀释于Tris缓冲液中,并在37℃下孵育1小时。将所述复合物用3,3二氨基联苯胺可视化,并用硫酸铜增强。将载玻片在蒸馏水中洗涤、用苏木精复染、脱水并用永久性介质固定。阴性对照仅用抗体稀释剂取代一抗。

[0386] 组织学定量:

[0387] 使用Aperio CS2扫描仪(Leica)扫描载玻片,并在Imagescope(Leica)中计算总占用像素面积。手动注释H&E染色载玻片上的受影响的胰腺炎区域,并测量未累及和受影响的

区域。胰腺炎区域的定义是存在浸润性淋巴细胞、腺泡小叶内肿胀、腺泡至导管化生、纤维化和脂肪细胞置换。在每组至少四只动物的五个代表性高倍视野中,手动计数Ki67阳性核的数量。

[0388] 血清学测量:

[0389] 通过IDEXX病理学服务测量血浆(肝素锂,BD biosciences)中的淀粉酶和脂肪酶水平。使用人癌症生物标志物测定(EMD Millipore)在MagPIX多重ELISA平台(Luminex)上测量CA19-9水平。使用Accu-Chek Nano监测器(Roche)在侧大隐静脉上测量血糖水平。通过在室温下用275个单位的CA19-9(MyBioSource,MBS318287)涂覆高结合力聚苯乙烯平底板过夜来测量CA19-9定向抗体的水平。将CA19-9涂覆的板在PBS中的0.05% Tween20中洗涤,并在洗涤缓冲液中的1% BSA中阻断,然后将10μl小鼠血浆在最终体积为100μl的阻断缓冲液孵育。

[0390] 粪便测量:

[0391] 收集新鲜的粪便样品,并在每个相应的测定缓冲液中使用手动破坏(Biomasher II)进行处理。胰凝乳蛋白酶(BioVision)和弹性蛋白酶(EnzChek,ThermoFisher)的测量均根据制造商的说明进行。

[0392] 类器官、腺泡外植体、单层细胞系和培养条件:

[0393] 先前已描述胰腺导管类器官培养物分离和繁殖的详细程序(Boj Sylvia F等,Cell.2015;160(1-2):324-38)。简而言之,在含有1% FBS(GIBCO)的DMEM中用0.012%胶原酶XI(Sigma)和0.12%分散酶(GIBCO)进行酶消化后收获来自胰腺的导管,并将其包埋到100%生长因子减少的(GFR)基质胶(BD)中。用最终浓度为100ng-1μg/ml强力霉素治疗类器官。必要时(例如生长曲线),用2mg/ml分散酶将类器官解离成单细胞悬浮液,然后在37℃下进行10分钟的TrypLE孵育。用40μm细胞过滤器过滤细胞。在Nexcelom Cellometer上使用吖啶橙和碘化丙啶测定细胞浓度。将类器官单细胞以每孔500个细胞在10%基质胶中接种在384孔板中,以使用CellTiter-Glo进行生长曲线分析。使用2-4μg抗体进行抗体阻断实验。

[0394] 在含有5mg/ml胶原酶II(GIBCO)、1mg/ml分散酶(GIBCO)、2.50% FBS(GIBCO)和1mg/ml大豆胰蛋白酶抑制剂(GIBCO)的高级DMEM/F12(GIBCO)中短暂消化5-10分钟后,在切碎的胰腺组织上进行腺泡移植。每3-5分钟监测一次腺泡簇,同时在37℃下消化直到腺泡团达到约20-200个细胞的簇大小。洗涤腺泡簇一次,并且然后接种于含有1×Glutamax(GIBCO)、1×青霉素/链霉素(P/S,GIBCO)、1×HEPES(GIBCO)、3×NEAA(GIBCO)和0.1% BSA(Sigma-Aldrich)的高级DMEM/F12(GIBCO)中。

[0395] 来自小鼠胰腺肿瘤的单层细胞系是通过将原发肿瘤从邻近的正常胰腺上解剖并手动切碎成约1mm^{3}片段而产生的。将切碎的组织在100mg/ml胶原酶V中在37℃下酶消化45分钟,同时旋转。将消化用DMEM中的10% FBS、P/S淬灭,并且将消化的材料在300RCF下离心5分钟。弃去上清液,并且将消化的材料重悬于10% FBS、P/S、DMEM中,并接种在10cm组织培养板上用于冷冻保存和繁殖。人胰腺癌细胞系Capan2、Suit2、Miapaca2(ATCC)和hM1-2D在RPMI(GIBCO)中的10% FBS、P/S中繁殖。

[0396] 用于流式细胞术的原代小鼠组织的单细胞悬浮液:

[0397] 将脾和淋巴结机械解离、均质化,并在FACS缓冲液(eBioscience)中通过尼龙细胞过滤器(BD Falcon)。机械解离胰腺,并在37℃下在补充有10% FCS的DMEM(Gibco)中用

0.4mg/mL释放酶(liberase)、0.05mg/mL胶原酶D和0.1mg/mL DNase I(Roche)消化30分钟,并且将悬浮液通过尼龙细胞过滤器。

[0398] 流式细胞术分析:

[0399] 通过将细胞与FACS缓冲液(eBioscience)中的抗体在4℃下在平板振荡器上孵育15分钟来进行染色。使用LSR Fortessa细胞计数器(BD Biosciences)进行多色流式细胞术分析。所有流式细胞术实验的门控策略在下文进一步描述。

[0400] 蛋白质印迹:

[0401] 采用标准技术进行免疫印迹。简而言之,将蛋白裂解物在4-12% Bis-Tris NuPAGE凝胶(Life technologies)上分离,转移到PVDF膜(Millipore)中,并在TBS中的0.1% Tween20的3% BSA(Sigma)中阻断1小时。然后将膜在一抗中在4℃下摇动孵育过夜,然后在与辣根过氧化物酶缀合的适当的二抗中孵育一小时,并通过ECL(GE Healthcare)进行检测。相对于上样对照丝切蛋白和未治疗的时间点,对指示的蛋白质靶标的归一化变化进行定量。

[0402] 从细胞系中分离蛋白质:

[0403] 将组织培养板用冰冷的PBS洗涤三次,并在1% Triton X-100、50mM Tris-HCl pH7.5、150mM NaCl、5mM EDTA中,用冰上的1×蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物在平板上裂解30分钟。将裂解物转移到微量离心管中,并在4℃下在16100RCF下澄清10分钟,并且等分到新试管中以在-20℃下储存。

[0404] 从类器官中分离蛋白质:

[0405] 从含有0.5×完全微型蛋白酶抑制剂混合物(Roche,不含EDTA)和0.5×PhosSTOP(Roche)的类器官和冰冷的细胞回收液(Corning)中吸取液体覆盖培养基。将类器官与冰上的0.5×蛋白酶和磷酸酶抑制剂在CRS中一起孵育10分钟,然后在4℃下在1500RCF下离心5分钟。弃去上清液,并用0.5×蛋白酶和磷酸酶抑制剂在CRS中洗涤类器官一次。将类器官沉淀在液氮中速冻并储存在-80℃下。在1% Triton X-100、50mM Tris-HCl pH 7.5、150mM NaCl、5mM EDTA中,将类器官用冰上的1×蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物裂解30分钟,在4℃下在16100RCF下离心10分钟,并且等分到新试管中以在-20℃下储存。

[0406] 免疫沉淀:

[0407] 在0.5×完全微型蛋白酶抑制剂混合物(Roche,不含EDTA)存在的情况下,在含有20mM HEPES、150mM NaCl的IP缓冲液中进行CA19-9免疫沉淀。根据制造商的说明,将单克隆抗体与M-270环氧Dynabeads(Thermo Fisher)缀合。将100μl mAb缀合的Dynabeads在IP缓冲液中洗涤3次,并在1.5ml LoBind微量离心管(Eppendorf)中的1ml IP缓冲液中与来自单层细胞系的500μg全细胞裂解物一起孵育,或与5.0ml LoBind管(Eppendorf)中的4ml类器官条件培养基一起孵育,同时在4℃下旋转一小时。在去除上清液并将珠子在IP缓冲液中洗涤3次之前,将样品与磁体结合一分钟。

[0408] 根据制造商的说明,使用5ml条件培养基、10μg兔抗-Flag抗体(Sigma)和蛋白质G缀合的Dynabeads(ThermoFisher),在TBS(50mM Tris,pH7.6;150mM NaCl)中进行Flag免疫沉淀。将免疫沉淀的蛋白使用DYK肽(100μg/ml)轻轻摇动1小时,或冰冷的、基于胺的、低pH IgG洗脱缓冲液(ThermoFisher)在冰上洗脱并用10×TBS淬灭。

[0409] EGFR免疫沉淀在1% Triton X-100、150mM NaCl和50mM Tris,pH7.5中进行。

[0410] 类器官的RNA分离、cDNA合成和定量RT-PCR:

[0411] 根据制造商的说明(Thermo Fisher),使用Trizol和PureLink RNA分离试剂盒从细胞和类器官培养物中提取RNA。使用1μg总RNA和TaqMan逆转录试剂(Applied Biosystems)合成cDNA。在QuantStudio 6-flex实时PCR仪器(Applied Biosystems)上使用基因特异性Taqman引物和探针组(Applied Biosystems)扩增所有靶标(40个循环)。使用DDCt方法与QuantStudio实时PCR软件v1.1(Applied Biosystems)进行相对基因表达定量。将表达水平归一化为Hprt。分析的示例性基因包括:Mm01187858_m1(EGFR);Mm00658541_m1(Her2);Mm01159999_m1(Erbb3);Mm01256793_m1(Erbb4);Mm00438696_m1(EGF);Mm00446232_m1(TGFa);Mm01354339_m1(Areg);Mm00514794_m1(Ereg);Mm00446968_m1(Hprt)。

[0412] RNA测序和分析

[0413] RNA测序在Judith Sulzberger哥伦比亚基因组中心进行,覆盖率为60×,并在Illumina HiSeq 2500仪器上具有100bp配对末端读数。Kallisto 0.44(Bray,N.L.等,Nat Biotechnol34,525-527(2016),其在此以引用的方式整体并入)使用Ensembl GRCh38小鼠转录组结合03GALT5(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(pBS31'-RBGpA\TRE)、rtTA3(pRosa-pA-CAGGs-L)和mKate2(Akama-Garren,E.H.等Sci Rep 6,16836,(2016),其在此以引用的方式整体并入)的cDNA来定量转录本丰度。

[0414] 使用tximport 1.8(R/Bioconductor(Soneson,C.等,Fl000Research 4,1036(2015),其在此以引用的方式整体并入))在基因水平上总结转录水平丰度。DESeq2 1.2(R/Bioconductor(Love,M.I.等,Genome Biol 15,550,(2014),其在此以引用的方式整体并入))对基因水平计数进行差异表达,其具有以下时间点和条件对比:4小时遗传阴性类器官对0小时遗传阴性类器官、24小时遗传阴性类器官对0小时遗传阴性类器官、24小时遗传阴性类器官对4小时遗传阴性类器官、4小时C^{PDX};R^{LSL};F类器官对0小时C^{PDX};R^{LSL};F类器官、24小时C^{PDX};R^{LSL};F类器官对0小时C^{PDX};R^{LSL};F类器官以及24小时C^{PDX};R^{LSL};F类器官对4小时C^{PDX};R^{LSL};F类器官。排除报告基因eGFP和人转基因β3GALT5和FUT3,以避免偏倚的差异表达分析(其跨基因汇集信息)。由于基因Oprd1和Gstm5的极端差异表达,它们被鉴定为离群值并且也被排除。

[0415] 使用-log10(q值)*符号(log2倍数变化)对基因进行排序,其中q值是针对多重检验(Benjamini&Hochberg方法)校正的p值。使用GSEA 3.0(Subramanian,A.等Proc Natl Acad Sci U S A 102,15545-15550,(2005),其在此以引用的方式整体并入)与以下MSigDB 6.1数据库:C2 KEGG、C5、C6和H对24小时治疗和0小时治疗的排序基因列表进行基因集富集。GSEA使用以下非默认参数:-nperm 2000、-set_min 10、-set_max 1000。在运行GSEA之前,从排序的基因列表中去除24小时遗传阴性类器官对0小时遗传阴性类器官对比中的差异表达的基因。

[0416] 对于可视化,使用DESeq2的方差稳定转化函数将原始计数归一化以控制文库大小

和分散-平均值关系。

[0417] 胰蛋白酶消化和iTRAQ标记:

[0418] 用20μL的50mM三乙基碳酸氢铵缓冲液(TEAB)重构珠子。添加RapiGest至最终浓度为0.1%,并且添加三(2-羧乙基)膦(TCEP)至最终浓度为5mM。然后将样品加热至55℃20分钟,使其冷却至室温,并添加甲基硫代磺酸甲酯(MMTS)至最终浓度为10mM。将样品在室温下孵育20分钟,以完全阻断游离巯基。然后将2μg测序级胰蛋白酶(Promega)加入到样品中,并将它们在37℃下消化过夜。消化后,将上清液从珠子上移出并真空干燥。将肽在50μL的0.5M TEAB/70%乙醇中重构,并在室温下用8-plex iTRAQ试剂标记1小时(Ross PL等,Mol Cell Proteomics.2004;3(12):1154-69)。然后使用甲酸将标记的样品酸化至pH 4,合并并进行真空浓缩,直到剩下约10μL。

[0419] 使用自旋柱的二维分馏:

[0420] 根据略作修改的制造商的说明,使用Pierce高pH反相肽分馏试剂盒(Thermo Scientific)对肽进行分馏。简而言之,将肽在150μL 0.1% TFA中重构,上样到自旋柱上,并在3000g下离心2分钟。用水洗涤柱,并且然后用0.1%三乙胺(TEA)中的以下百分比的乙腈(ACN)洗脱肽:5%、7.5%、10%、12.5%、15%、20%、30%和50%。然后使用毛细管反相LC在低pH下将8个馏分中的每一个分别注入质谱仪中。

[0421] LC的二维分馏:

[0422] 使用高-低pH反相分离策略对肽进行分馏(改编自Gilar,M.等,Journal of separation science 28,1694-1703(2005),其在此以引用的方式整体并入)。对于第一维(高pH),将肽在装有Gemini 3u C18树脂(Phenomenex,Ventura,CA)的10cm×1.0mm柱上以100μl/分钟的流速分馏。流动相A由pH 10的20mM甲酸铵组成,并且流动相B由pH 10的90%乙腈/20mM甲酸铵组成。用50μL流动相A重构样品,并将整个样品注入到柱上。使用35分钟的线性梯度(从5% B到70% B)分离肽,并且然后在10分钟内将流动相增加到95% B。每分钟收集馏分,持续40分钟,并且然后使用Wang,Y.等Proteomics 11,2019-2026(2011)(其在此以引用的方式整体并入)描述的连接策略将其合并为8个馏分。然后使用毛细管反相LC在低pH下将8个馏分中的每一个分别注入质谱仪中。

[0423] 质谱(Velos):

[0424] 将配备有纳米离子喷雾源的Orbitrap Velos Pro质谱仪(Thermo Scientific)偶合到EASY-nLC系统(Thermo Scientific)。纳米流LC系统配置有内径为180-μm的熔融石英毛细管捕集柱,所述柱包含3cm Aqua 5-μm C18材料(Phenomenex)以及具有8-μm发射器(New Objective,Woburn,MA)的用Aqua 3-μm C18材料(Phenomenex)装填至15cm的自装PicoFrit™100-μm分析柱。流动相A由2%乙腈;0.1%甲酸组成,并且流动相B由90%乙腈;0.1%甲酸组成。通过自动进样器将3μL溶解于流动相A的每种样品注入到捕集柱上。然后使用以下线性梯度步骤以400nL/分钟的流速分离肽:5% B持续1分钟、5% B至35% B经过70分钟、35% B至75% B经过15分钟、在75% B保持8分钟、75% B至8% B经过1分钟,并且最后5分钟保持在8% B。

[0425] 使用施加远端2.3kV喷雾电压和275℃的毛细管温度,将洗脱的肽直接电喷雾到Orbitrap Velos Pro质谱仪中。每个全扫描质谱图(Res=60,000;380-1700m/z)之后是前12个物质的MS/MS光谱。使用高能碰撞离解(HCD),归一化碰撞能量设置为35用于片段化,隔

离宽度设置为1.2,并且激活时间为0.1。动态排除的持续时间设置为70秒,排除列表大小为500,重复计数为1,并且排除质量宽度为10ppm。我们使用单一同位素前体选择2+或更大的电荷状态,并且所有数据均以分布模式获取。

[0426] 质谱(Fusion):

[0427] 将配备有纳米离子喷雾源的Orbitrap Fusion Lumos质谱仪(Thermo Scientific)偶合到EASY-nLC 1200系统(Thermo Scientific)。LC系统配置有具有8-μm发射器(New Objective,Woburn,MA)的用ReproSil-Pur C18-AQ,1.9uM材料(Dr.Maish GmbH)装填至25cm的自装PicoFrit™75-μm分析柱。流动相A由2%乙腈;0.1%甲酸组成,并且流动相B由90%乙腈;0.1%甲酸组成。然后使用以下步骤以200nL/分钟的流速分离肽:2% B至6% B经过1分钟、6% B至30% B经过84分钟、30% B至60% B经过9分钟、60% B至90% B经过1分钟、在90% B保持5分钟、90% B至50% B经过1分钟,并且然后流速增加到500nL/分钟,同时50% B保持9分钟。

[0428] 使用施加远端2.3kV喷雾电压和300℃的毛细管温度,将洗脱的肽直接电喷雾到Fusion Lumos质谱仪中。全扫描质谱(Res=60000;400-1600m/z),然后使用"最高速度"方法进行MS/MS选择。使用高能碰撞离解(HCD),归一化碰撞能量设置为35用于片段化,隔离宽度设置为1.2,并且动态排除的持续时间设置为10秒,排除质量宽度为10ppm。我们使用单一同位素前体选择2+或更大的电荷状态,并且所有数据均以分布模式获取。

[0429] 数据库搜索:

[0430] Peaklist(.MGF)文件由Mascot Distiller 2.6(Matrix Science)生成。使用针对UniProt小鼠或人参考蛋白质组(分别为60,725和93,799序列)的Mascot 2.6(Perkins,D.N.等,Electrophoresis 20,3551-3567(1999),其在此以引用的方式整体并入)搜索,进行蛋白质鉴定和定量。将半胱氨酸的甲基硫醇化以及N末端和赖氨酸iTRAQ修饰设置为固定修饰,将甲硫氨酸氧化和脱酰胺(NQ)设置为变量。将胰蛋白酶用作裂解酶,允许有一次错过的裂解。完整肽质量的质量公差设置为30ppm,并且片段离子的质量公差设置为0.3Da。使用相同的Uniprot人或小鼠数据库的随机版本,对搜索结果进行重新评分,以给出最终1%或5%的FDR。仅使用期望值<1%或5% FDR的肽,按强度加权计算蛋白质水平的iTRAQ比率。因为这些是蛋白质IP实验,因此未应用全局比率归一化。然后通过将真实样品的蛋白质比率除以对应的对照样品比率(将1.8的值用作富集的截止(>2SD))来计算蛋白质的富集。

[0431] 胰腺炎患者中CA19-9表达升高:

[0432] 胰腺炎是一种严重且常见的医学病状,其可以导致死亡或具有显著发病率、全身性炎性反应和多器官功能障碍综合征的慢性病状。胰腺炎还与患胰腺癌的风险升高16.5倍相关(Lowenfels,A.B等N Engl J Med 328,1433-1437(1993),其在此以引用的方式整体并入),这清楚地表明,需要进一步研究胰腺炎的病因和治疗。在一些胰腺炎患者的血清中已注意到糖基化的变化,包括CA19-9的升高(10-30%),但这种聚糖表位在疾病进展中没有作用(Haglund,C.等,Br J Cancer 53,189-195(1986);Makovitzky,J.Virchows Archiv.B,Cell pathology including molecular pathology 51,535-544(1986);两者均在此以引用的方式整体并入)。我们评估了切除的胰腺炎标本的组织芯片(TMA),并且发现CA19-9主要在90%以上的患者的导管(而不是腺泡上皮细胞)中表达(图1A、1B),表明其在这种疾病中的突出存在。CA19-9是通过将不同的糖部分逐步添加到1型前体链中,最终将岩藻糖的α

1,4键联到N-乙酰葡糖胺(GlcNAc)而产生的(图1C)并且可以多价加入到分泌蛋白和细胞表面蛋白中。缺乏啮齿动物中的假基因Fut3阻碍CA19-9在小鼠中的功能意义评估(Xia,B.等,Anal Biochem 387,162-170(2009);Narimatsu,H.in Handbook of Glycosyltransferases and Related Genes(Naoyuki Taniguchi等编)218-225(Springer Japan,2002);两者均在此以引用的方式整体并入)。Fut3是唯一具有通过α1,4键添加岩藻糖部分的能力的岩藻糖基转移酶。我们发现,生产I型链前体所必需的FUT3和β3GALT5的表达(Ishijima,N.等J Biol Chem 286,25256-25264(2011),其在此以引用的方式整体并入)是在小鼠胰腺导管腺癌(PDAC)细胞培养物中产生CA19-9(唾液酸化路易斯^a,SLe^a)所必需的(图1C-1E)。FUT3和β3GALT5的表达都导致CA19-9的细胞表面表达达到与人类癌细胞系(Colo205)中观察到的相同的水平(图1E)。为了确认CA19-9表位在工程化的小鼠PDAC细胞中以适当的方式表达,将它们与人PDAC细胞系进行比较,并且发现它们在培养物中也表现出预期的膜定位(图1F)。此外,原位移植后,CA19-9缀合蛋白在体内被分泌出来,证明CA19-9的产生水平与人PDAC细胞系移植接受者的水平相当(图1G)。

[0433] 为了确定CA19-9是否被虚假地附加到啮齿动物表达系统中的蛋白质,将存在于工程化的小鼠PDAC细胞系中的CA19-9修饰的蛋白质与存在于人PDAC细胞中的内源性CA19-9修饰的蛋白质进行比较。对CA19-9蛋白载剂进行免疫沉淀(IP),并通过质谱(MS)将CA19-9表达细胞(FB)与空载体转导的对照(Neo)进行比较来鉴定(图2A)。使用同位素标记相对定量和绝对定量(isobaric Tags for Relative and Absolute Quantification,iTRAQ)确定CA19-9阳性和阴性细胞之间的相对蛋白丰度差异(Ross,P.L等Mol Cell Proteomics 3,1154-1169(2004),其在此以引用的方式整体并入)。基于两个CA19-9抗体克隆(5B1,NS19-9)在文献中的使用来进行选择(Koprowski,H.等Somatic Cell Genet 5,957-971(1979);Sawada,R.等Clin Cancer Res 17,1024-1032(2011);两者均在此以引用的方式整体并入)。使用任一种CA19-9抗体,将CA19-9蛋白载剂定义为CA19-9阳性相对于阴性样品上调至少1.5倍。这些分析鉴定了FB小鼠细胞中已知的CA19-9蛋白载剂,包括Mucl、Lgals3bp、CD44和Muc5ac(Sperandio,M.等,Immunological reviews 230,97-113(2009);Yue,T.等PLoS One 6,e29180(2011);Yue,T.等Proteomics 11,3665-3674(2011);Hirao,Y.等,Journal of Molecular Biomarkers&Diagnosis 03,(2012);所述参考均在此以引用的方式整体并入)。人PDAC细胞系MiaPaCa-2是CA19-9阴性的,并用作对照,以鉴定CA19-9阳性细胞系Capan2、Suite2和hM1-2D中的人CA19-9核心蛋白(图2B)。我们比较了小鼠和人CA19-9蛋白载剂,并且发现在三个人PDAC细胞系中的三个中鉴定出的平均72.3%(95% CI 60.3-84.3%)的CA19-9修饰蛋白也发现在FB PDAC细胞系中,表明小鼠细胞中FUT3和β3GALT5的表达在很大程度上重现了人CA19-9载剂的概况(图2C)。鉴定出在三种模型小鼠胰腺导管腺癌(PDAC)细胞中作为唾液酸化路易斯^{a}载剂的共4260个非冗余蛋白;在三种模型小鼠PDAC细胞中作为唾液酸化路易斯^{a}载剂的共1521个常见蛋白;在三种模型人PDAC细胞中作为唾液酸化路易斯^{a}载剂的共3017个非冗余蛋白,以及在三种模型人PDAC细胞中作为唾液酸化路易斯^{a}载剂的共926个常见蛋白。

[0434] CA19-9表达引起胰腺炎:

[0435] 我们生成了小鼠胚胎干(mES)细胞,所述细胞经由LoxP侧翼STOP盒(LSL)和四环素反应性启动子元件(TRE)调控的诱导型和条件启动子来多基因表达FUT3、β3GALT5和eGFP

(图3A-3D)(Beard,C.等,Genesis 44,23-28(2006),其在此以引用的方式整体并入)。产生了带有CA19-9的全身(R;F)、整个胰腺(C^{PDX};R^{LSL};F)或局灶性胰腺($C^{PDX或P48}$;R^{LSL};F^{LSL})表达的若干种类型的小鼠模型。在所有CA19-9小鼠模型中,相对于遗传阴性同窝仔对照,经过一段时间的Dox治疗后,非胰腺组织表现出正常的组织学(图4-24)。令人惊讶的是,所有模型均选择性地表现胰腺炎的生理、组织学和血清学体征(腺泡萎缩、免疫细胞侵入、胶原蛋白沉积、脂肪酶和淀粉酶升高),而在Dox治疗的遗传阴性对照或未治疗的小鼠中未观察到胰腺炎(图25A-25C、图26-27、图28A-28C)。

[0436] Dox施用后eGFP和CA19-9的表达指示在每个CA19-9小鼠模型的预期组织中的表达(图25A、图29A-29B、图30A-30B、图31-47)。在R;F和C^{PDX};R^{LSL};F模型中,通过免疫组织化学(IHC)在大多数胰腺导管细胞和腺泡细胞中检测到eGFP表达,在胰岛中以斑纹形式检测到eGFP表达,而从未在胰腺基质或内皮区室中检测到eGFP表达(图29A、图30A-30B、图31)。在R;F小鼠的所有其他器官中也以Dox依赖性方式检测到eGFP(图32-33)。相比之下,$C^{PDX或p48}$;R^{LSL};F^{LSL}模型在腺泡区室中偶发显示eGFP阳性,很少在导管区室中显示eGFP阳性,而在胰岛、基质或内皮胰腺区室中从未显示eGFP阳性(图29A)。正如预期的那样,PDX启动子驱动的重组还导致十二指肠和胆囊中Dox依赖性、斑纹状eGFP表达,而p48-CRE介导的重组并没有导致非胰腺器官中的eGFP表达(图34-39)。在R;F和C;R^{LSL};F模型中,CA19-9主要在胰腺的小叶内和插层导管细胞以及胰岛细胞中检测到,其中阳性腺泡细胞很少(图25A、图29B)。使用PDX1驱动的或p48驱动的CRE在C;RLSL;FLSL模型的腺泡区室中主要检测到CA19-9,并且很少在导管细胞中检测到CA19-9,其中偶发的胰岛阳性仅限于PDX-Cre驱动的模型(图29B)。在R;F小鼠中,Dox治疗后在所有检查的组织中均检测到CA19-9(图40-43)。在PDX 1-CRE驱动的模型中,CA19-9的表达仅限于胰腺、十二指肠和胆囊,但在p48-CRE驱动的小鼠中未观察到CA19-9的非胰腺表达(图44-47)。R;F胰腺的详细免疫荧光评估显示CA19-9、eGFP和导管标志物CK19的共表达。有趣的是,虽然腺泡细胞常常也表达eGFP,但它们仍然是CA19-9阴性的。此外,胰岛常常对eGFP和CA19-9呈双重阳性,尽管一些eGFP阴性的胰岛细胞也是CA19-9阳性的。在eGFP阴性脉管系统和基质细胞中还检测到CA19-9表达。额外的免疫荧光分析表明,eGFP阴性、平足蛋白阳性细胞(成纤维细胞)以CA19-9阳性和阴性状态存在。这些数据证明了分泌的CA19-9在eGFP阴性脉管系统和基质上的积累(图29B、30A-30B和31)。

[0437] R;F小鼠在CA19-9表达后表现出高渗透性胰腺炎、体重减轻和胰腺萎缩,在一些情况下导致体重减轻超过20%并随后进行安乐死(图48A-48B)。R;F小鼠未产生可辨别的CA19-9定向抗体反应(图49A)并且所有非胰腺组织在组织学上均表现健康(图4-6),表明观察到的胰腺炎不是自身免疫介导的。相反,考虑到此模型不依赖于Cre介导的重组,Dox施用后R;F中的体重减轻很可能是由于胰腺炎的高渗透率。实际上,在慢性胰腺炎的病例中常常观察到胰腺外分泌功能不全,并伴有患者中的严重的体重减轻(Struyvenberg MR等,BMC Med.;15(1):29-,(2017年2月10日))。在R;F模型中观察到的显著程度的胰腺萎缩(图48B)和消化酶产生不足(图49B)表明这些小鼠患有胰腺外分泌功能不全。体重减轻也不太可能是由于血糖调节的损失,因为表达CA19-9的随机喂养状态R;F和C^{PDX};R^{LSL};F小鼠相对于媒介物治疗和未治疗的对应物表现出正常的血糖水平(图49C)。

[0438] Dox治疗的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠还显示高渗透性胰腺炎以及淀粉酶和脂肪酶水平升高,而没有体重减轻或胰腺重量减轻(图25A-25C和图48A-48B)。相对于遗传和未治疗的对照,

Dox治疗的$C^{PDX或p48}$;R^{LSL};F^{LSL}小鼠显示更小的胰腺炎病灶以及淀粉酶和脂肪酶水平升高,而没有体重减轻或胰腺重量减轻(图26-27、图28A-28C和图48A-48B)。所有模型在Dox治疗4周后均表现出淀粉酶和脂肪酶水平正常化,但表现出慢性胰腺炎的组织学体征(图25A-25C、图26-27和图28A-28C)。Dox治疗后,在R;F和C;R^{LSL};F小鼠血浆中可检测到CA19-9水平升高,但在C^{PDX};R^{LSL};F^{LSL}模型中未检测到(图49D和50A)。进一步的研究集中在C^{PDX};R^{LSL};F小鼠,其表现出胰腺炎表型的高渗透率,而没有胰腺功能不全和体重减轻,其中胰腺正确定位且分泌CA19-9。

[0439] 通过流式细胞术对相对于急性胰腺炎的蛙皮素模型的C^{PDX};R^{LSL};F小鼠的脾、淋巴结和胰腺中存在的免疫细胞类型进行表征,并显示在两种模型的胰腺中均有炎性单核细胞和巨噬细胞的流入,而诱导胰腺炎后脾或淋巴结中的免疫细胞类型代表没有变化(图50B和图51A)。在检查的时间点(1-3天),两种模型均未表现出T细胞或B细胞募集(图51B)。

[0440] 实施例3

[0441] 实施例2中描述的方法和测定在此并入本实施例中。

[0442] CA19-9表达引起导管增殖和信号传导变化:

[0443] 如通过Ki67免疫组织化学(IHC)和体内Edu掺入所评估,遗传小鼠模型中的CA19-9表达导致胰腺增殖增加,特别是在导管细胞和免疫细胞中的增加(图52A和53A-53B)。尽管刺激了酶的释放,但没有证据表明腺泡外植体培养物中有Dox依赖性Atf4和Bip诱导,降低了蛋白毒性应激在观察到的胰腺炎中发挥作用的可能性(图52B-52C)。

[0444] 为了剖析直接响应于CA19-9表达而发生的信号传导途径变化,我们从C^{PDX};R^{LSL};F小鼠中分离出胰腺导管类器官(Boj,Sylvia F.等Cell 160,324-338(2015),其在此以引用的方式整体并入)。诱导CA19-9表达后的C^{PDX};R^{LSL};F类器官的RNA-seq分析显示了预期的转基因表达变化(图54A-54F),并使小鼠导管类器官中FUT3和β3GALT5的表达水平在人导管类器官中内源性观察到的范围内(图54D)(Tiriac,H.等Cancer Discov,doi:10.1158/2159-8290.CD-18-0349.[印刷之前的电子版](2018),其以引用的方式整体并入)。基因集富集分析(GSEA)显示,CA19-9表达后未折叠的蛋白质反应基因集减少以及与趋化因子和TGFβ信号传导相关的途径富集(图55A-55C和56A-56B)。我们进一步探讨了CA19-9表达后Erbb和PI3K和Akt信号传导的富集(图55A-55C和56A-56B)。C^{PDX};R^{LSL};F类器官中Dox诱导的CA19-9表达选择性地且显著升高EGFR磷酸化,同时降低总EGFR的水平,表明通过此途径的通量更大(图57A)。磷酸化EGFR的增加伴随着磷酸化Akt和磷酸化Erk1/2水平的升高(图57A)。未观察到总的或磷酸化的S6、Her2和p65的一致变化(图57B)。这些检查结果与培养物的培养基中包含鼠类Egf无关(图57C)。另外,Dox治疗后,磷酸化EGFR体内存在于C;R^{LSL};F小鼠的胰管中(图57D)。与在具有组成性CA19-9表达的小鼠正常胰腺导管类器官中相比,CA19-9表达并未同样好地改变Dox诱导CA19-9表达后的C;R^{LSL};F、R;F或C;R^{LSL};F^{LSL}类器官增殖(图58A-58D),表明在体内增加导管增殖需要额外的外在线索。

[0445] 据报道,EGFR的糖基化状态可影响其激活和响应于靶向激酶抑制剂的能力(Liu,Y.C.等Proc Natl Acad Sci U S A 108,11332-11337(2011);Matsumoto,K.等Cancer science99,1611-1617(2008);两者均在此以引用的方式整体并入),但我们没有发现EGFR的CA19-9修饰(图59A)。同样,CA19-9表达也不会影响C^{PDX};R^{LSL};F类器官上的ERBB激酶抑制剂厄洛替尼和奈拉替尼的EC50或生长抑制表型(图59B-59C)。另一方面,在CA19-9中添加单

克隆抗体足以阻断用Dox诱导表达CA19-9的正常类器官中的EGFR磷酸化(图60)。

[0446] 实施例4

[0447] 实施例2和实施例3中描述的方法和测定在此并入本实施例中。

[0448] CA19-9诱导的胰腺炎是可逆的且可用CA19-9特异性抗体治疗:

[0449] 我们进一步在遗传小鼠模型中发现,在3天的Dox脉冲和4天的恢复期后,CA19-9介导的胰腺炎是完全可逆的(图61A-61B)。这些数据表明,靶向CA19-9可能对减弱胰腺炎发作的严重性和复发是治疗上有用的。重要的是,在急性(24小时的2g/L Dox,NS19-9克隆)和重度急性(7天的0.5g/L Dox,5B1克隆)的胰腺炎病例中,针对CA19-9的抗体还减轻了胰腺炎的组织学和血清学体征,并减少了EGFR在体内的过度激活,表明聚糖及其所附着的核心多肽在疾病发病中的作用(图62A-62D、63A-63C和64A-64C)。然而,EGFR抑制剂厄洛替尼反常地不能取代抗CA19-9疗法,因为在诱导胰腺炎之前24小时用厄洛替尼治疗导致严重的体重减轻超过20%,从而导致研究完成前的人道终点。尸体剖检时胰腺萎缩明显,并且腺泡区室的空泡化在组织学上显而易见(图65A-65B)。这些作用与正常小鼠(C57B1/6J)中与厄洛替尼相关联的毒性无关(图65C-65D)。这些数据表明,在CA19-9诱发炎性级联后,EGFR激活用作腺泡区室的保护机制。

[0450] 为了辨别CA19-9依赖性EGFR激活是否是由于可溶性配体引起的,对来自CA19-9阳性类器官的条件培养基进行评估,并且发现其刺激了对照鼠类导管类器官中的EGFR磷酸化(图66A)。EGFR-Fc(EGFR捕集)的添加减弱了这种活性,进一步支持了一种或多种EGFR配体的存在(图66B)。因为这些检查结果表明存在CA19-9修饰的分泌的EGFR配体,因此可通过IP/MS来鉴定示例性CA19-9修饰蛋白(下文表3和表4)。

[0451]

表 3: Dox 治疗 8 小时后，来自 C;R^{LSL};F 或遗传阴性类器官(分别为 A220 和 A217)条件培养基的 CA19-9 IP/MS 数据。“17 0H NS19”表示用 NS19-9 治疗前的 A217 类器官；“17 8H NS19”表示用 NS19-9 治疗 8 小时后的 A217 类器官；“17 0H 5B1”表示用 5B1 治疗前的 A217 类器官；“17 8H 5B1”表示用 5B1 治疗 8 小时后的 A217 类器官；“20 0H NS19”表示用 NS19-9 治疗前的 A220 类器官；“20 8H NS19”表示用 NS19-9 治疗 8 小时后的 A220 类器官；“20 0H 5B1”表示用 5B1 治疗前的 A220 类器官；“20 8H 5B1”表示用 5B1 治疗 8 小时后的 A220 类器官。

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
1	1	P01868	1	1.113	0.158	0.094	1.102	1.139	0.098	0.181	Ig γ-1 链 C 区分泌形式 OS=小家鼠 GN=Ighg1 PE=1 SV=1
1	2	A0A075B5P4	1	1.116	0.152	0.09	1.099	1.136	0.092	0.171	Ig γ-1 链 C 区分泌形式(片段) OS=小家鼠 GN=Ighg1 PE=1 SV=1
2	1	P07724	1	1.1	0.409	0.388	1.072	1.113	0.288	0.405	血清白蛋白 OS=小家鼠 GN=Alb PE=1 SV=3
3	1	P01637	1	0.661	0.17	0.158	0.991	1.149	0.133	0.202	Ig κ 链 V-V 区 T1 OS=小家鼠 PE=4 SV=1
3	2	A0A140T8P9	1	0.548	0.235	0.197	0.987	1.184	0.173	0.313	免疫球蛋白 κ 可变 14-111 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv14-111 PE=4 SV=2
4	1	P01837	1	0.885	0.072	0.091	0.931	1.189	0.057	0.103	Ig κ 链 C 区 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
4	2	A0A075B5P2	1	0.882	0.072	0.09	0.932	1.192	0.057	0.103	免疫球蛋白 κ 恒定(片段) OS=小家鼠 GN=Igkc PE=1 SV=1
5	1	P20152	1	0.527	10,657	10,327	0.566	0.661	10,501	10,411	波形蛋白 OS=小家鼠 GN=Vim PE=1 SV=3
5	2	P50446	1	1.21	1.494	0.796	0.708	0.462	1.064	1.845	角蛋白，II 型细胞骨架 6A OS=小家鼠 GN=Krt6a PE=1 SV=3
5	3	Q922U2	1	1.206	1.435	0.816	0.707	0.482	1.016	1.859	角蛋白,II 型细胞骨架 5 OS=小家鼠 GN=Krt5 PE=1 SV=1

[0452]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
5	4	E9Q1Z0	1	1.128	1.417	0.778	0.71	0.468	0.988	1.828	角蛋白 90 OS=小家鼠 GN=Krt90 PE=1 SV=1
5	5	P04104	1	1.547	1.458	0.711	0.521	0.596	1.083	2.299	角蛋白，II 型细胞骨架 1 OS=小家鼠 GN=Krt1 PE=1 SV=4
5	6	P11679	1	1.075	3.427	3.472	0.475	0.566	2.793	3.151	角蛋白，II 型细胞骨架 8 OS=小家鼠 GN=Krt8 PE=1 SV=4
5	7	P31001	1	0.743	22.1	21,134	0.914	1.1	20,623	20.94	结蛋白 OS=小家鼠 GN=Des PE=1 SV=3
5	8	Q6IFZ6	1	2.003	1.722	0.85	0.434	0.57	1.282	2.155	角蛋白，II 型细胞骨架 1b OS=小家鼠 GN=Krt77 PE=1 SV=1
5	9	Q3TTY5	1	2.077	1.234	0.65	0.466	0.496	1.285	1.328	角蛋白，II 型细胞骨架 2 表皮 OS=小家鼠 GN=Krt2 PE=1 SV=1
5	10	Q3UV17	1	1.383	1.233	0.725	0.829	0.433	1.003	1.926	角蛋白，II 型细胞骨架 2 ロ OS=小家鼠 GN=Krt76 PE=1 SV=1
5	11	Q8VED5	1	1.679	2.503	0.726	0.478	0.383	1.138	1.565	角蛋白，II 型细胞骨架 79 OS=小家鼠 GN=Krt79 PE=1 SV=2
5	12	Q9DCV7	1	1.01	4.42	3.691	0.557	0.578	3.596	3.895	角蛋白，II 型细胞骨架 7 OS=小家鼠 GN=Krt7 PE=1 SV=1
6	1	Q68FD5	1	0.654	3.27	3.203	0.549	0.569	2.822	3.475	网格蛋白重链 1 OS=小家鼠 GN=Cltc PE=1 SV=3
7	1	P52480	1	0.517	5.698	6.066	0.592	0.633	5.275	6.739	丙酮酸激酶 PKM OS=小家鼠 GN=Pkm PE=1 SV=4
8	1	Q9WVF5	1	1.022	0.277	0.206	1.044	0.325	0.288	0.925	表皮生长因子受体 OS=小家鼠 GN=Egfr PE=1 SV=1
9	1	P05213	1	0.679	6.255	6.52	0.623	0.665	4.707	6.258	微管蛋白 α-1B 链 OS=小家鼠 GN=Tuba1b PE=1 SV=2

[0453]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
9	2	P68373	1	0.65	6.066	6.264	0.588	0.627	4.46	5.891	微管蛋白 α-1C 链 OS=小家鼠 GN=Tuba1c PE=1 SV=1
10	1	P11499	1	0.678	5.162	5.452	0.681	0.748	4.681	5.627	热休克蛋白 HSP 90-β OS=小家鼠 GN=Hsp90ab1 PE=1 SV=3
10	2	P07901	1	0.689	4.213	4.407	0.616	0.728	3.683	4.413	热休克蛋白 HSP 90-α OS=小家鼠 GN=Hsp90aa1 PE=1 SV=4
10	3	P08113	1	0.927	3.5	3.435	0.525	0.585	2.739	3.536	内质蛋白 OS=小家鼠 GN=Hsp90b1 PE=1 SV=2
11	1	P99024	1	0.649	4.289	4.365	0.567	0.615	3.894	4.685	微管蛋白 β-5 链 OS=小家鼠 GN=Tubb5 PE=1 SV=1
11	2	P68372	1	0.585	4.286	4.135	0.593	0.671	3.906	4.686	微管蛋白 β-4B 链 OS=小家鼠 GN=Tubb4b PE=1 SV=1
11	3	Q9CWF2	1	0.687	4.532	4.413	0.612	0.674	4.113	4.992	微管蛋白 β-2B 链 OS=小家鼠 GN=Tubb2b PE=1 SV=1
12	1	A0A075B5T3	1	1.062	0.242	0.177	0.944	0.958	0.178	0.34	免疫球蛋白重可变 6-6 (片段) OS=小家鼠 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	Ig 重链 V-III 区 A4 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
13	1	P26443	1	0.564	6.728	7.206	0.637	0.609	6.1	7.041	谷氨酸脱氢酶 1，线粒体 OS=小家鼠 GN=Gludl PE=1 SV=1
14	1	P58252	1	0.555	4.768	5.051	0.55	0.638	4.22	5.289	延伸因子 2 OS=小家鼠 GN=Eef2 PE=1 SV=2
15	1	A0A075B5P3	1	1.005	0.466	0.454	1.157	L16	0.397	0.454	免疫球蛋白重恒定 γ 2B (片段) OS=小家鼠 GN=Ighg2b PE=1 SV=1
15	2	P01867	1	1.002	0.442	0.439	1.135	1.193	0.388	0.419	Ig γ-2B 链 C 区 OS=小家鼠 GN=Igh-3 PE=1 SV=3

[0454]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
15	3	P01863	1	0.984	0.471	0.46	1.392	1.411	0.417	0.488	Ig γ-2A 链 C 区，A 等位基因 OS=小家鼠 GN=Ighg PE=1 SV=1
16	1	P50247	1	0.536	6.74	7.244	0.646	0.64	5.616	7.209	腺苷同型半胱氨酸酶 OS=小家鼠 GN=Ahcy PE=1 SV=3
17	1	A2A513	1	1.771	1.267	0.488	0.484	0.464	1.177	1.743	角蛋白，I 型细胞骨架 10 OS=小家鼠 GN=Krt10 PE=1 SV=1
17	2	Q9QWL7	1	0.727	3.614	0.892	0.406	0.368	0.848	1.769	角蛋白,I 型细胞骨架 17 OS=小家鼠 GN=Krt17 PE=1 SV=3
17	3	B1AQ77	1	1.273	1.809	0.654	0.433	0.447	1.023	1.772	角蛋白 15，同工型 CRA_a OS=小家鼠 GN=Krt15 PE=1 SV=1
17	4	Q9Z2K1	1	1.553	1.366	0.566	0.469	0.498	1.182	1.796	角蛋白，I 型细胞骨架 16 OS=小家鼠 GN=Krt16 PE=1 SV=3
17	5	P19001	1	0.774	2.718	1.015	0.367	0.379	0.775	1.614	角蛋白，I 型细胞骨架 19 OS=小家鼠 GN=Krt19 PE=1 SV=1
18	1	O35565	1	0.678	6.079	6.439	0.77	0.847	6.246	7.582	成纤维细胞生长因子 10 OS=小家鼠 GN=Fgf10 PE=2 SV=1
19	1	P63017	1	0.77	6.36	6.817	0.778	0.746	5.57	6.947	热休克同源 71 kDa 蛋白 OS=小家鼠 GN=Hspa8 PE=1 SV=1
19	2	P17879	1	0.65	3.157	3.557	0.511	1.538	3.1	3.903	热休克 70 kDa 蛋白 1B OS=小家鼠 GN=Hspa1b PE=1 SV=3
19	3	P16627	1	0.657	3.45	3.954	0.55	1.549	3.284	4.238	热休克 70 kDa 蛋白 1 样 OS=小家鼠 GN=Hspa1l PE=1 SV=4
19	4	P20029	1	0.748	5.836	6.854	0.833	0.721	5.533	7.259	78 kDa 葡萄糖调节蛋白 OS=小家鼠 GN=Hspa5 PE=1 SV=3

[0455]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
20	1	Q9Z1R9	1	1.142	0.931	0.878	0.182	0.169	0.282	0.231	MCG124046 OS=小家鼠 GN=Prss 1 PE=1 SV=1
20	2	Q792Y8	1	1.165	0.901	0.816	0.151	0.137	0.24	0.17	MCG15081 OS=小家鼠 GN=Gm10334 PE=3 SV=1
21	1	P14206	1	0.674	5.639	5.687	0.707	0.791	5.321	6.366	40S 核糖体蛋白 SA OS=小家鼠 GN=Rpsa PE=1 SV=4
22	1	Q61838	1	1.026	0.396	0.354	1.187	1.182	0.309	0.339	妊娠区蛋白 OS=小家鼠 GN=Pzp PE=1 SV=3
23	1	A0A075B5P6	1	1.032	0.45	0.468	1.045	0.973	0.41	0.531	Ig μ 链 C 区(片段) OS=小家鼠 GN=Ighm PE=1 SV=1
24	1	A0A0A0MQF6	1	0.717	7.518	7.779	0.795	0.656	6.46	8.331	甘油醛-3-磷酸脱氢酶 OS=小家鼠 GN=Gapdh PE=1 SV=1
25	1	P10126	1	0.652	5.036	4.381	0.694	0.804	3.724	4.767	延伸因子 1-α1 OS=小家鼠 GN=Eefla1 PE=1 SV=3
25	2	P62631	1	0.615	5.35	4.606	0.687	0.783	4.076	5.042	延伸因子 1-α2 OS=小家鼠 GN=Eefla2 PE=1 SV=1
26	1	P97466	1	0.71	10,036	10,991	0.805	0.762	9.104	10,895	头蛋白 OS=小家鼠 GN=Nog PE=2 SV=1
27	1	P68040	1	0.639	4.614	4.672	0.69	0.617	3.944	5.059	活化蛋白 C 激酶 1 受体 OS=小家鼠 GN=Rack1 PE=1 SV=3
28	1	P80314	1	0.712	2.306	2.255	0.731	0.642	1.964	2.584	T-复合蛋白 1 亚基 β OS=小家鼠 GN=Cct2 PE=1 SV=4
29	1	Q07797	1	0.777	4.31	4.679	0.613	0.795	4.024	6.366	半乳凝素-3-结合蛋白 OS=小家鼠 GN=Lgals3bp PE=1 SV=1
30	1	P80315	1	0.596	2.439	2.546	0.462	0.599	2.235	2.701	T-复合蛋白 1 亚基 δ OS=小家鼠 GN=Cct4 PE=1 SV=3

[0456]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
30	2	P80316	1	0.44	3.653	2.923	0.648	0.526	2.631	3.033	T-复合蛋白 1 亚基 ε OS=小家鼠 GN=Cct5 PE=1 SV=1
31	1	P99027	1	0.448	4.432	4.951	0.523	0.625	4.357	4.495	60S 酸性核糖体蛋白 P2 OS=小家鼠 GN=Rplp2 PE=1 SV=3
32	1	Q02053	1	0.563	3.51	3.389	0.499	0.55	2.73	3.229	泛素样修饰物激活酶 1 OS=小家鼠 GN=Uba1 PE=1 SV=1
33	1	Q9ET01	1	0.651	2.278	2.313	0.5	0.366	1.898	2.282	糖原磷酸化酶，肝型 OS=小家鼠 GN=Pygl PE=1 SV=4
33	2	E9PUM3	1	0.522	2.479	2.508	0.457	0.424	2.245	2.793	α-1,4 葡聚糖磷酸化酶 OS=小家鼠 GN=Pygm PE=1 SV=1
34	1	Q9D8N0	1	0.711	3.914	3.944	0.68	0.54	3.488	4.008	延伸因子 1-γ OS=小家鼠 GN=Eef1g PE=1 SV=3
35	1	A0A0A0MQA3	1	0.966	0.444	0.372	0.882	0.942	0.291	0.285	α-1-抗胰蛋白酶 1-1 OS=小家鼠 GN=Serpina1a PE=1 SV=1
35	2	P22599	1	1.003	0.416	0.39	0.9	0.944	0.277	0.297	α-1-抗胰蛋白酶 1-2 OS=小家鼠 GN=Serpina1b PE=1 SV=2
35	3	Q00897	1	1.015	0.385	0.397	0.869	0.935	0.282	0.284	α-1-抗胰蛋白酶 1-4 OS=小家鼠 GN=Serpina1d PE=1 SV=1
36	1	P60710	1	0.835	2.534	1.997	0.762	0.661	1.67	1.935	肌动蛋白，细胞质 1 OS=小家鼠 GN=Actb PE=1 SV=1
37	1	P01670	1	1.113	0.134	0.095	0.775	0.921	0.066	0.142	Ig κ 链 V-III 区 PC 6684 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
37	2	P01654	1	0.717	0.676	0.844	0.849	0.875	0.743	0.894	Ig κ 链 V-III 区 PC 2880/PC 1229 OS=小家鼠 PE=1 SV=1

[0457]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
37	3	P01659	1	0.711	0.557	0.746	0.844	0.915	0.652	0.816	Ig κ 链 V-III 区 TEPC 124 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
37	4	P01644	1	1.128	0.107	0.072	0.774	0.92	0.045	0.077	Ig κ 链 V-V 区 HP R16.7 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
38	1	O35490	1	0.438	4.545	4.685	0.493	0.407	4.172	5.147	甜菜碱-同型半胱氨酸 S-甲基转移酶 1 OS=小家鼠 GN=Bhmt PE=1 SV=1
39	1	P24270	1	0.606	3.37	3.427	0.565	0.629	3.106	3.732	过氧化氢酶 OS=小家鼠 GN=Cat PE=1 SV=4
40	1	F8VQJ3	1	0.589	3.141	3.222	0.559	0.591	2.723	3.368	层粘连蛋白亚基 γ-1 OS=小家鼠 GN=Lamc1 PE=1 SV=1
41	1	P35979	1	0.817	3.185	2.918	0.545	0.622	2.718	3.167	60S 核糖体蛋白 L12 OS=小家鼠 GN=Rpl12 PE=1 SV=2
42	1	E9Q0F0	1	1.094	1.235	0.783	0.652	0.524	0.83	2.297	角蛋白 78 OS=小家鼠 GN=Krt78 PE=1 SV=1
43	1	A0A1B0GSR9	1	0.599	3.14	3.281	0.451	0.587	2.911	3.571	L-乳酸脱氢酶 OS=小家鼠 GN=Ldha PE=1 SV=1
43	2	P16125	1	0.614	3.417	3.424	0.491	0.548	2.825	3.633	L-乳酸脱氢酶 B 链 OS=小家鼠 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-柠檬酸合酶 OS=小家鼠 GN=Acly PE=1 SV=1
45	1	Q06890	1	1.306	2.559	3.943	0.65	0.929	1.709	3.742	簇蛋白 OS=小家鼠 GN=Clu PE=1 SV=1
46	1	P62827	1	0.535	3.969	3.832	0.588	0.624	3.991	4.723	GTP 结合核蛋白 Ran OS=小家鼠 GN=Ran PE=1 SV=3
47	1	P11983	1	0.605	3.461	3.706	0.603	0.562	3.052	3.845	T-复合蛋白 1 亚基 α OS=小家鼠 GN=Tcp1 PE=1 SV=3
48	1	P17182	1	0.499	2.205	2.195	0.396	0.419	1.789	2.184	α-烯醇酶 OS=小家鼠 GN=Eno1 PE=1 SV=3

[0458]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
49	1	Q8BSL7	1	0.495	1.545	1.57	0.321	0.349	1.376	1.671	ADP-核糖基化因子 2 OS=小家鼠 GN=Arf2 PE=1 SV=2
50	1	P05784	1	0.888	1.55	2.148	0.563	0.485	1.589	1.915	角蛋白，I 型细胞骨架 18 OS=小家鼠 GN=Krt18 PE=1 SV=5
51	1	P55937	1	0.697	2.495	2.198	0.538	0.51	1.942	2.181	高尔基体蛋白亚族 A 成员 3 OS=小家鼠 GN=Golga3 PE=1 SV=3
52	1	P80318	1	0.584	5.751	5.943	0.645	0.613	4.809	6.133	T-复合蛋白 1 亚基 γ OS=小家鼠 GN=Cct3 PE=1 SV=1
53	1	P47738	1	0.665	2.599	2.783	0.433	0.411	2.399	2.839	醛脱氢酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Aldh2 PE=1 SV=1
54	1	Q8C483	1	0.615	5.397	5.208	0.527	0.6	4.274	5.248	丝氨酸-tRNA 连接酶，细胞质 OS=小家鼠 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-磷酸甘油酸脱氢酶 OS=小家鼠 GN=Phgdh PE=1 SV=3
56	1	A0A075B5P5	1	0.9	0.713	0.622	0.896	0.913	0.526	0.562	免疫球蛋白重恒定 γ 3 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighg3 PE=4 SV=1
57	1	P80317	1	0.66	2.494	2.42	0.466	0.696	2.041	2.439	T-复合蛋白 1 亚基 ζ OS=小家鼠 GN=Cct6a PE=1 SV=3
58	1	F8VQ40	1	0.673	4.307	3.634	0.625	0.532	3.366	3.523	层粘连蛋白亚基 α-1 OS=小家鼠 GN=Lama1 PE=1 SV=1
59	1	P61164	1	0.722	3.698	3.748	0.827	0.979	3.399	4.202	α-中心体肌动蛋白 OS=小家鼠 GN=Actrla PE=1 SV=1
60	1	P14869	1	0.534	5.899	6.377	0.489	0.497	5.955	6.89	60S 酸性核糖体蛋白 P0 OS=小家鼠 GN=Rplp0 PE=1 SV=3

[0459]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
61	1	G3UY38	1	0.705	4.154	4.438	0.492	0.667	3.312	4.421	不均一核糖核蛋白 L OS=小家鼠 GN=Hnrnpl1PE=1 SV=1
62	1	Q9DBJ1	1	0.714	2.958	2.747	0.584	0.514	2.313	2.967	磷酸甘油酸变位酶 1 OS=小家鼠 GN=Pgam1 PE=1 SV=3
63	1	Q00623	1	0.86	10,507	11.86	0.911	0.735	8.414	11,419	载脂蛋白 A-I OS=小家鼠 GN=Apoa1 PE=1 SV=2
64	1	H3BL49	1	0.677	5.168	4.93	0.505	0.574	4.114	5.44	T-复合蛋白 1 亚基 θ OS=小家鼠 GN=Cct8 PE=1 SV=1
65	1	A0A087WPL5	1	0.791	5.944	7.331	0.502	0.93	6.152	6.652	ATP 依赖性 RNA 解旋酶 A OS=小家鼠 GN=Dhx9 PE=1 SV=1
66	1	Q5XJF6	1	0.67	5.135	5.499	0.621	0.587	5.037	5.953	核糖体蛋白 OS=小家鼠 GN=Rpl10a PE=1 SV=1
67	1	B2M1R6	1	0.339	3.136	2.928	0.346	0.64	2.275	2.869	不均一核糖核蛋白 K OS=小家鼠 GN=Hnrnpk PE=1 SV=1
68	1	P01027	1	0.758	1.291	1.298	0.716	0.786	1.026	1.333	补体 C3 OS=小家鼠 GN=C3 PE=1 SV=3
69	1	D3YX34	1	0.708	12,653	9.271	1.254	1.49	7.798	9.476	动力蛋白亚基 1 OS=小家鼠 GN=Dctn1 PE=1 SV=1
70	1	P09411	1	0.798	3.736	3.461	0.631	0.542	2.25	2.901	磷酸甘油酸激酶 1 OS=小家鼠 GN=Pgk1 PE=1 SV=4
71	1	A0A087WR50	1	1.051	1.541	2.37	0.785	0.885	1.116	1.747	纤连蛋白 OS=小家鼠 GN=Fn1 PE=1 SV=1
72	1	Q3U367	1	0.47	2.658	2.622	0.526	0.684	2.35	2.634	4-三甲基氨基丁醛脱氢酶 OS=小家鼠 GN=Aldh9a1 PE=1 SV=1
73	1	Q9CPN9	1	0.707	1.371	1.106	0.339	0.347	0.752	0.708	RIKEN cDNA 2210010C04 基因 OS=小家鼠 GN=2210010C04Rik PE=1 SV=1
74	1	P10493	1	0.472	2.974	2.984	0.412	0.485	2.449	3.146	巢蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Nid1 PE=1 SV=2

[0460]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
75	1	A0A140T8P6	1	0.657	1.018	0.803	0.764	0.97	0.823	1.101	免疫球蛋白 κ 可变 12-46 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv12-46 PE=1 SV=2
75	2	A0A140T8Q1	1	0.849	0.604	0.577	1.073	1.247	0.449	0.425	蛋白质 Igkv12-41 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv 12-41 PE=1 SV=2
76	1	A0A075B5K2	1	0.719	0.488	0.496	0.856	0.858	0.341	0.379	免疫球蛋白 κ 链可变 9-124 OS=小家鼠 GN=Igkv9-124 PE=1 SV=7
77	1	Q8C196	1	0.633	2.958	3.227	0.469	0.478	2.679	3.558	氨甲酰磷酸合酶[氨], 线粒体 OS=小家鼠 GN=Cps1 PE=1 SV=2
78	1	P80313	1	0.704	2.255	2.089	0.558	0.556	1.829	2.158	T-复合蛋白 1 亚基 η OS=小家鼠 GN=Cct7 PE=1 SV=1
79	1	P12023	1	1.207	1.775	3.393	0.44	1.229	1.115	4.568	淀粉样 β 蛋白 A4 蛋白 OS=小家鼠 GN=App PE=1 SV=3
80	1	D6RGQ0	1	0.893	0.923	0.899	0.761	0.869	0.842	0.816	补体因子 H OS=小家鼠 GN=Cfh PE=1SV=1
81	1	P20918	1	0.973	0.987	0.903	0.983	1.044	0.756	0.879	纤溶酶原 OS=小家鼠 GN=Plg PE=1 SV=3
82	1	P60122	1	0.608	2.081	1.961	0.469	0.544	1.597	2.044	RuvB 样 1 OS=小家鼠 GN=Ruvbl1 PE=1 SV=1
83	1	P01786	1	0.976	0.93	0.786	1.034	1.028	0.724	0.703	Ig 重链 V 区 MOPC 47A OS=小家鼠 PE=1 SV=1
84	1	A0A171KXD3	1	0.789	3.859	3.809	0.616	0.553	3.271	4.228	蛋白质精氨酸 N-甲基转移酶 1 OS=小家鼠 GN=Prmt1 PE=1 SV=1
85	1	O70475	1	0.596	2.177	1.917	0.367	0.574	1.929	2.18	UDP-葡萄糖 6-脱氢酶 OS=小家鼠 GN=Ugdh PE=1 SV=1
86	1	O70310	1	0.643	2.454	2.24	0.699	0.691	2.047	2.201	糖肽 N-十四烷酰基转移酶 1 OS=小家鼠 GN=Nmt1 PE=1 SV=1

[0461]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
87	1	A0A140T8V5	1	0.73	3.129	3.124	0.687	0.803	2.62	3.306	增殖细胞核抗原 OS=小家鼠 GN=Pcna-ps2 PE=3 SV=1
88	1	A0A0U1RNJ1	1	0.789	3.48	3.49	0.568	0.494	3.075	3.575	脂肪酸合酶 OS=小家鼠 GN=Fasn PE=1 SV=1
89	1	P19324	1	0.505	2.255	2.356	0.447	0.413	2.045	2.588	丝氨酸蛋白酶抑制剂 H1 OS=小家鼠 GN=Serpinh1 PE=1 SV=3
90	1	Q9CQ62	1	0.557	2.269	2.301	0.284	0.366	1.91	2.611	2,4-二烯酰-CoA 还原酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Decr1 PE=1 SV=1
91	1	G3X8Q5	1	0.837	0.468	0.388	0.696	0.931	0.347	0.436	铜蓝蛋白 OS=小家鼠 GN=Cp PE=1 SV=1
92	1	G3UXL2	1	0.23	0.995	0.713	0.168	0.213	0.818	0.931	磷酸核糖焦磷酸合成酶 1 样 3 OS=小家鼠 GN=Prpsl3 PE=3 SV=1
93	1	A0A140LI59	1	0.679	1.403	0.984	0.391	0.608	0.956	1.137	恶性脑肿瘤缺失 1 蛋白 OS=小家鼠 GN=Dmbt1 PE=1 SV=1
94	1	A0A0G2JE99	1	1.075	0.737	0.674	1.146	1.166	0.662	0.884	免疫球蛋白 λ 恒定 1 (片段) OS=小家鼠 GN=Iglc1 PE=4 SV=1
95	1	P70168	1	0.404	1.805	1.796	0.316	0.235	1.571	1.906	输入蛋白亚基 β-1 OS=小家鼠 GN=Kpnb1 PE=1 SV=2
96	1	P52196	1	0.484	4.304	4.508	0.806	0.39	3.105	4.241	硫代硫酸盐硫转移酶 OS=小家鼠 GN=Tst PE=1 SV=3
97	1	A0A140T8N9	1	0.988	0.246	0.208	0.999	1.139	0.203	0.196	免疫球蛋白 κ 可变 6-32 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv6-32 PE=4 SV=2
98	1	D3YYM6	1	0.765	3.263	3.719	0.878	1.101	3 丨 4	3.89	40S 核糖体蛋白 S5 (片段) OS=小家鼠 GN=Rps5 PE=1 SV=1
99	1	P62908	1	0.529	3.92	4.071	0.491	0.533	3.44	4.57	40S 核糖体蛋白 S3 OS=小家鼠 GN=Rps3 PE=1 SV=1

[0462]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
100	1	Q9ERK4	1	0.669	7.384	8.429	0.701	0.659	5.471	8.396	输出蛋白 2 OS=小家鼠 GN=Csell PE=1 SV=1
101	1	P28665	1	0.906	0.755	0.583	0.864	0.837	0.447	0.473	鼠球蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Mug1 PE=1 SV=3
102	1	P62264	1	0.704	3.021	2.647	0.5	0.58	2.435	3.4	40S 核糖体蛋白 S14 OS=小家鼠 GN=Rps14 PE=1 SV=3
103	1	P31254	1	0.694	2.673	3.007	0.445	0.364	2.462	3.477	泛素样修饰物激活酶 1 Y OS=小家鼠 GN=Ubaly PE=1 SV=2
104	1	G5E866	1	0.72	1.673	1.776	0.349	0.484	1.517	1.707	剪接因子 3B 亚基 1 OS=小家鼠 GN=Sf3b1 PE=1 SV=1
105	1	E9Q035	1	0.776	0.456	0.52	0.739	0.757	0.436	0.371	预测基因 20425 OS=小家鼠 GN=Gm20425 PE=4 SV=1
106	1	P24549	1	0.713	5.531	5.654	0.547	0.572	4.672	5.436	视黄醛脱氢酶 1 OS=小家鼠 GN=Aldhla1 PE=1 SV=5
107	1	A0A140T8N0	1	0.712	0.639	0.79	1.113	0.761	0.457	0.467	免疫球蛋白 κ 链可变 9-120 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv9-120 PE=1 SV=2
108	1	A0A075B5K8	1	0.891	0.183	0.175	0.782	0.913	0.235	0.151	免疫球蛋白 κ 可变 1-99 OS=小家鼠 GN=Igkv1-99 PE=4 SV=7
109	1	P07759	1	0.955	0.782	0.945	0.858	0.934	0.95	1.165	丝氨酸蛋白酶抑制剂 A3K OS=小家鼠 GN=Serpina3k PE=1 SV=2
110	1	F6VW30	1	0.683	2.926	2.422	0.438	0.62	1.985	2.674	14-3-3 蛋白 θ (片段) OS=小家鼠 GN=Ywhaq PE=1 SV=1
111	1	E9Q0U1	1	0.955	0.997	0.996	0.254	0.189	0.632	0.97	26S 蛋白酶体非 ATPase 调节亚基 13 OS=小家鼠 GN=Psmd13 PE=1 SV=1
112	1	Q8R1B4	1	0.281	1.054	0.914	0.236	0.315	0.96	1.002	真核翻译起始因子 3 亚基 C OS=小家鼠 GN=Eif3c PE=1 SV=1

[0463]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
113	1	P60843	1	0.617	3.747	3.945	0.571	0.554	2.78	3.653	真核起始因子 4A-I OS=小家鼠 GN=Eif4a1 PE=1 SV=1
114	1	Q9DCH4	1	0.378	3.567	3.033	0.607	0.519	2.683	3.151	真核翻译起始因子 3 亚基 F OS=小家鼠 GN=Eif3f PE=1 SV=2
115	1	Q8VDM4	1	0.322	0.882	1.196	0.279	0.354	0.932	1.387	26S 蛋白酶体非 ATPase 调节亚基 2 OS=小家鼠 GN=Psmd2 PE=1 SV=1
116	1	A0A075B666	1	0.857	0.479	0.496	0.876	0.966	0.539	0.582	免疫球蛋白 κ 链可变 13-85 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv13-85 PE=4 SV=5
117	1	Q99LF4	1	0.711	1.252	1.032	0.705	0.754	0.765	0.844	tRNA 剪接连接酶 RtcB 同源物 OS=小家鼠 GN=Rtcb PE=1 SV=1
118	1	E9QN70	1	0.691	5.329	5.611	0.373	0.241	4.703	5.203	层粘连蛋白亚基 β-1 OS=小家鼠 GN=Lamb1 PE=1 SV=1
119	1	P01675	1	0.863	1.7	1.759	1.09	0.799	1.768	1.771	Ig κ 链 V-VI 区 XRPC 44 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
120	1	P56480	1	0.622	2.126	2.174	0.312	0.293	1.758	1.902	ATP 合酶亚基 β，线粒体 OS=小家鼠 GN=Atp5b PE=1 SV=2
121	1	A0A075B5Q4	1	0.907	1.108	0.961	0.849	0.878	0.776	1.366	免疫球蛋白重可变 5-12 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighv5-12 PE=4 SV=1
122	1	P01806	1	0.897	0.85	0.663	1.175	L18	0.639	0.615	Ig 重链 V 区 441 OS=小家鼠 PE=4 SV=1
122	2	P18524	1	1.131	1.305	1.188	2.4	2.359	1.014	1.061	Ig 重链 V 区 RF OS=小家鼠 PE=1 SV=1
123	1	D3YYB1	1	0.472	6.722	7.098	0.94	1.072	5.336	6.996	隔蛋白 2 (片段) OS=小家鼠 GN=Sept2 PE=1 SV=1
124	1	A0A075B5K1	1	1.467	0.646	0.456	1.598	1.499	0.467	0.483	免疫球蛋白 κ 可变 11-125 OS=小家鼠 GN=Igkv11-125 PE=4 SV=7

[0464]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
125	1	A0A075B663	1	0.962	0.392	0.334	1.195	1.289	0.303	0.335	免疫球蛋白 λ 可变 1 (片段) OS=小家鼠 GN=Iglv1 PE=4 SV=1
126	1	Q8R2K3	1	0.387	2.152	2.022	0.453	0.309	1.458	1.69	单链 DNA 结合蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Ssbp1 PE=1 SV=1
127	1	Q6ZWY9	1	0.825	1.189	1.261	0.755	0.77	0.965	1.144	组蛋白 H2B 类型 1-C/E/G OS=小家鼠 GN=Hist1h2bc PE=1 SV=3
128	1	A0A0R4J039	1	0.531	0.504	0.44	0.415	0.459	0.324	0.453	富含组氨酸糖蛋白 OS=小家鼠 GN=Hrg PE=1 SV=1
129	1	Q3U741	1	0.367	2.749	2.768	0.314	0.319	2.176	2.404	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)盒多肽 17，同工型 CRA_a OS=小家鼠 GN=Ddx17 PE=1 SV=1
130	1	A0A0G2JGC1	1	0.642	2.827	2.814	0.679	0.43	2.401	2.729	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 OS=小家鼠 GN=Ppplcc PE=1 SV=1
131	1	A0A0A0MQ68	1	0.266	7.236	6.761	0.403	0.189	3.793	7.116	谷氨酰辅酶 A 脱氢酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Gcdh PE=1 SV=1
132	1	Q9CXY6	1	0.299	0.953	1.028	0.171	0.201	0.822	1.052	白介素增强子结合因子 2 OS=小家鼠 GN=Ilf2 PE=1 SV=1
133	1	Q91VC3	1	0.595	2.581	1.984	0.6	0.621	2.076	2.196	真核起始因子 4A-III OS=小家鼠 GN=Eif4a3 PE=1 SV=3
134	1	D3YVB4	1	1.095	2.686	3.063	0.881	0.525	2.888	3.237	40S 核糖体蛋白 S15a (片段) OS=小家鼠 GN=Rps15a PE=1 SV=1
135	1	Q3TYH2	1	0.382	1.547	1.566	0.432	0.517	1.304	1.603	Ras 相关蛋白 Rab-15 OS=小家鼠 GN=Rab15 PE=1 SV=1
136	1	A0A0B4J1I1	1	0.922	0.624	0.773	0.652	0.356	0.297	0.634	免疫球蛋白 κ 可变 16-104 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv16-104 PE=4 SV=1

[0465]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
137	1	P60229	1	0.576	1.577	1.379	0.594	0.613	1.597	1.421	真核翻译起始因子 3 亚基 E OS=小家鼠 GN=Eif3e PE=1 SV=1
138	1	A2AL12	1	0.827	3.032	3.011	0.54	0.53	2.714	3.239	不均一核糖核蛋白 A3 OS=小家鼠 GN=Hnrnpa3 PE=1 SV=1
139	1	A0A0B4J1H7	1	0.887	0.515	0.447	0.789	0.824	0.424	0.487	免疫球蛋白 κ 可变 1-135 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv1-135 PE=4 SV=1
140	1	A0A0G2JFB4	1	0.629	2.67	2.762	0.503	0.501	3.114	3.355	真核翻译起始因子 4E OS=小家鼠 GN=Eif4e PE=1 SV=1
141	1	A2AWQ2	1	0.206	0.921	0.599	0.155	0.349	0.649	0.649	蛋白质 RCC2 (片段) OS=小家鼠 GN=Rcc2 PE=1 SV=1
142	1	Q8BGQ7	1	0.555	2.945	2.891	0.412	0.567	2.559	2.638	丙氨酸-tRNA 连接酶，细胞质 OS=小家鼠 GN=Aars PE=1 SV=1
143	1	Q9CWJ9	1	0.716	1.491	1.223	0.546	0.696	1.099	1.417	双功能嘌呤生物合成蛋白 PURH OS=小家鼠 GN=Atic PE=1 SV=2
144	1	A0A075B5V1	1	0.808	0.458	0.317	1.218	1.466	0.283	0.265	免疫球蛋白重可变 1-31 OS=小家鼠 GN=Ighv1-31 PE=4 SV=1
145	1	Q8BWT1	1	0.344	2.253	2.21	0.218	0.285	1.806	2.223	3-酮酰基-CoA 硫解酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Acaa2 PE=1 SV=3
146	1	Q8BH00	1	0.558	3.014	2.803	0.585	0.525	2.783	3.523	醛脱氢酶家族 8 成员 A1 OS=小家鼠 GN=Aldh8a1 PE=1 SV=1
147	1	A0A0R4J1E2	1	0.674	2.127	2.067	0.493	0.615	1.481	1.7	延伸因子 1-δ OS=小家鼠 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 合酶[谷氨酰胺水解] OS=小家鼠 GN=Gmps PE=1 SV=2

[0466]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
149	1	Q3UH59	1	0.545	2.477	1.898	0.313	0.308	1.684	2.31	肌球蛋白 10 OS=小家鼠 GN=Myh10 PE=1 SV=1
149	2	Q8VDD5	1	0.936	2.228	1.89	0.624	0.47	1.638	1.937	肌球蛋白 9 OS=小家鼠 GN=Myh9 PE=1 SV=4
150	1	D3YVC1	1	0.693	3.287	3.337	0.493	0.586	3.002	3.478	40S 核糖体蛋白 S2 (片段) OS=小家鼠 GN=Rps2 PE=1 SV=1
151	1	Q9EPL8	1	0.552	1.741	2.393	0.382	0.335	1.635	2.319	输入蛋白 7 OS=小家鼠 GN=Ipo7 PE=1 SV=2
152	1	Q04447	1	0.673	3.09	2.713	0.421	0.685	1.888	2.804	肌酸激酶 B 型 OS=小家鼠 GN=Ckb PE=1 SV=1
153	1	P62855	1	0.977	2.823	2.867	0.462	0.523	2.057	3.891	40S 核糖体蛋白 S26 OS=小家鼠 GN=Rps26 PE=1 SV=3
154	1	A0A087WS46	1	0.558	3.435	2.962	0.703	0.676	2.743	3.453	真核翻译延伸因子 1 β 2 OS=小家鼠 GN=Eef1b2 PE=1 SV=1
155	1	P60766	1	0.616	2.402	2.179	0.408	0.421	1.597	1.894	细胞分裂控制蛋白 42 同源物 OS=小家鼠 GN=Cdc42 PE=1 SV=2
156	1	A0A140LIM5	1	0.545	2.759	2.667	0.612	0.472	2.019	2.837	有丝分裂检查点蛋白 BUB3 OS=小家鼠 GN=Bub3 PE=1 SV=1
157	1	A0A140T8N7	1	1.052	0.316	0.258	1.19	1.444	0.253	0.242	免疫球蛋白 κ 链可变 6-25 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv6-25 PE=4 SV=2
157	2	A0A075B5N7	1	0.954	0.267	0.215	0.888	1.086	0.212	0.215	免疫球蛋白 κ 可变 6-13 OS=小家鼠 GN=Igkv6-13 PE=1 SV=7
158	1	Q91X72	1	0.661	1.347	0.697	0.662	0.941	0.649	0.738	血红素结合蛋白 OS=小家鼠 GN=Hpx PE=1 SV=2
159	1	A0A075B5R4	1	0.829	0.575	0.568	0.922	0.843	0.55	0.593	免疫球蛋白重可变 14-1 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighv14-1 PE=4 SV=1

[0467]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
160	1	A0A1L1SST0	1	0.683	4.099	4.39	0.552	0.821	4.053	5.038	肽基脯氨酰顺反异构酶 OS=小家鼠 GN=Ppia PE=1 SV=1
161	1	A0A075B5M7	1	1.107	0.336	0.388	0.968	1.205	0.432	0.271	免疫球蛋白 κ 可变 5-39 OS=小家鼠 GN=Igkv5-39 PE=1 SV=7
162	1	P62305	1	0.459	1.19	0.955	0.438	0.41	0.906	0.912	核小核糖核蛋白 E OS=小家鼠 GN=Snrpe PE=1 SV=1
163	1	P97351	1	0.664	2.005	1.73	0.438	0.376	1.336	1.611	40S 核糖体蛋白 S3a OS=小家鼠 GN=Rps3a PE=1 SV=3
164	1	A0A087WP24	1	0.215	1.002	0.804	0.112	0.059	0.712	0.874	蛋白质 ABHD14B (片段) OS=小家鼠 GN=Abhd14b PE=1 SV=1
165	1	I7HIQ2	1	0.734	1.17	1.547	0.587	0.983	1.072	1.996	C-X-C 基序趋化因子 16 (片段) OS=小家鼠 GN=Cxcl16 PE=1 SV=1
166	1	A0A0A6YW67	1	0.699	2.344	1.81	0.54	0.718	1.418	1.512	MCG23377，同工型 CRA_b OS=小家鼠 GN=Gm8797 PE=4 SV=1
167	1	Q3U2G2	1	0.934	3.186	2.905	0.746	0.588	2.703	3.188	热休克 70 kDa 蛋白 4 OS=小家鼠 GN=Hspa4 PE=1 SV=1
168	1	A0A0G2JGQ8	1	0.871	0.426	0.359	0.703	0.649	0.434	0.483	Ig λ-3 链 C 区(片段) OS=小家鼠 GN=Iglc3 PE=1 SV=1
169	1	A0A075B5W4	1	1.101	0.186	0.152	1.099	1.097	0.112	0.183	免疫球蛋白重可变 V8-6 OS=小家鼠 GN=Ighv8-6 PE=4 SV=1
170	1	A0A0R4J038	1	0.761	1.46	0.879	0.92	0.956	0.865	1.951	激肽原 1 OS=小家鼠 GN=Kng1 PE=1 SV=1
171	1	A0A1W2P733	1	0.613	1.997	1.523	0.458	0.53	1.294	1.772	C-1-四氢叶酸合酶，细胞质 OS=小家鼠 GN=Mthfd1 PE=1 SV=1
172	1	G3UY93	1	0.387	3.882	3.251	0.396	0.362	3.07	3.604	缬氨酸--tRNA 连接酶(片段) OS=小家鼠 GN=Vars PE=1 SV=1

[0468]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
173	1	P63325	1	0.825	2.226	2.15	0.775	0.663	1.537	1.784	40S 核糖体蛋白 S10 OS=小家鼠 GN=Rps10 PE=1 SV=1
174	1	Q01853	1	0.773	1.352	1.814	0.443	0.536	1.283	1.618	过渡性内质网 ATPase OS=小家鼠 GN=Vcp PE=1 SV=4
175	1	P23116	1	0.436	3.536	3.66	0.572	0.598	3.444	4.49	真核翻译起始因子 3 亚基 A OS=小家鼠 GN=Eif3a PE=1 SV=5
176	1	088844	1	0.735	3.39	2.947	0.536	0.585	2.088	2.763	异柠檬酸脱氢酶[NADP]细胞质 OS=小家鼠 GN=Idh1 PE=1 SV=2
177	1	A0A0A6YX19	1	0.595	0.61	0.511	0.523	0.566	0.408	0.468	免疫球蛋白重可变 V6-4 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighv6-4 PE=4 SV=1
178	1	P14131	1	0.356	1.975	1.839	0.275	0.342	1.656	1.966	40S 核糖体蛋白 S16 OS=小家鼠 GN=Rps16 PE=1 SV=4
179	1	Q6P5F9	1	0.494	2.119	1.927	0.494	0.591	1.524	1.994	输出蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Xpo1 PE=1 SV=1
180	1	A0A1B0GRW3	1	0.583	8.795	9.344	0.737	1.042	8.734	8.967	RuvB 样解旋酶(片段) OS=小家鼠 GN=Ruvbl2 PE=1 SV=1
181	1	P62715	1	0.814	3.192	3.071	0.723	0.703	2.716	3.299	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 2A 催化亚基 β 同工型 OS=小家鼠 GN=Ppp2cb PE=1 SV=1
182	1	A2A5F5	1	0.717	3.079	3.471	0.539	0.572	2.769	3.56	Ras 相关蛋白 Rab-5C (片段) OS=小家鼠 GN=Rab5c PE=1 SV=1
183	1	P18528	1	0.679	1.187	0.387	0.957	0.939	0.369	0.366	Ig 重链 V 区 6.96 OS=小家鼠 PE=4 SV=1
184	1	P40142	1	0.524	2.337	1.672	0.311	0.193	1.923	1.611	转酮醇酶 OS=小家鼠 GN=Tkt PE=1 SV=1
185	1	P98086	1	0.082	0.236	0.151	0.085	0.112	0.068	0.135	补体 Clq 亚组分亚基 A OS=小家鼠 GN=Clqa PE=1 SV=2
186	1	A0A1Y7VKY1	1	1.04	19,293	19,615	0.837	0.935	16,389	20,137	MCG116671 OS=小家鼠 GN=mCG_116671 PE=3 SV=1

[0469]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
187	1	H3BKL5	1	1.564	10,925	12,367	4.29	1.025	9.639	12,804	3-酮酰基-CoA 硫解酶 A，过氧化物酶体 OS=小家鼠 GN=Acaala PE=1 SV=1
188	1	A0A075B5S9	1	0.83	0.711	0.786	3.619	3.835	0.49	0.822	免疫球蛋白重可变 9-4 OS=小家鼠 GN=Ighv9-4 PE=4 SV=1
189	1	Q9Z1Z2	1	0.914	3.069	2.843	0.738	0.658	2.352	2.934	丝氨酸-苏氨酸激酶受体相关蛋白 OS=小家鼠 GN=Strap PE=1 SV=2
190	1	Q9JHU4	1	0.538	1.357	1.14	0.291	0.325	1.088	1.125	细胞质动力蛋白 1 重链 1 OS=小家鼠 GN=Dync1h1 PE=1 SV=2
191	1	Q8BH95	---	---	---	---	---	---	---	---	烯酰-CoA 水合酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Echs 1 PE=1 SV=1
192	1	Q61171	1	0.513	1.942	2.046	0.51	0.507	1.655	2.44	过氧化物酶 2 OS=小家鼠 GN=Prdx2 PE=1 SV=3
193	1	P62806	1	0.796	2.562	1.797	0.521	0.859	1.499	1.654	组蛋白 H4 OS=小家鼠 GN=Histlh4a PE=1 SV=2
194	1	I7HFT9	1	0.714	1.104	0.895	0.69	0.525	0.933	1.072	组蛋白 H1t OS=小家鼠 GN=Histlh1t PE=1 SV=1
195	1	Q8JZQ9	1	0.455	1.607	1.39	0.397	0.434	1.286	1.475	真核翻译起始因子 3 亚基 B OS=小家鼠 GN=Eif3b PE=1 SV=1
196	1	P02104	1	0.977	3.916	3.568	0.602	0.812	2.878	3.735	血红蛋白亚基 ε-Y2 OS=小家鼠 GN=Hbb-y PE=1 SV=2
197	1	O55135	1	0.402	2.848	2.479	---	0.687	1.496	2.106	真核翻译起始因子 6 OS=小家鼠 GN=Eif6 PE=1 SV=2
198	1	Q8BHN3	1	0.476	5.616	6.225	0.867	0.631	4.305	5.769	中性 α-葡糖苷酶 AB OS=小家鼠 GN=Ganab PE=1 SV=1

[0470]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
199	1	Q6PE01	1	0.17	2.914	3.131	0.62	0.396	2.697	2.906	U5 核小核糖核蛋白 40 kDa 蛋白 OS=小家鼠 GN=Snrnp40 PE=1 SV=1
200	1	A0A075B6A3	1	0.975	1.966	1.423	0.844	0.928	1.037	1.596	免疫球蛋白重恒定 α (片段) OS=小家鼠 GN=Igha PE=1 SV=1
201	1	P60867	1	0.708	2.743	2.328	0.777	0.754	1.677	2.143	40S 核糖体蛋白 S20 OS=小家鼠 GN=Rps20 PE=1 SV=1
202	1	A0A140T8N2	1	0.857	2.045	1.563	0.726	0.806	1.284	1.539	蛋白质 Igkv5-48 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv5-48 PE=1 SV=2
203	1	Q8BP47	1	0.588	2.357	2.31	0.613	0.549	1.962	2.34	天冬酰胺--tRNA 连接酶，细胞质 OS=小家鼠 GN=Nars PE=1 SV=2
204	1	A2A7S7	1	0.659	3.017	3.098	0.412	0.505	2.508	3.12	酪氨酸--tRNA 连接酶 OS=小家鼠 GN=Yars PE=1 SV=1
205	1	P21614	1	0.901	0.609	0.365	0.767	0.928	0.412	0.659	维生素 D 结合蛋白 OS=小家鼠 GN=Gc PE=1 SV=2
206	1	E9Q718	1	0.989	3.378	3.203	1.158	0.793	2.934	3.103	前胶原蛋白赖氨酸，2-氧戊二酸 5-双加氧酶 2 OS=小家鼠 GN=Plod2 PE=1 SV=1
207	1	O70514	1	0.606	2.317	3.106	0.656	0.694	1.595	3.708	成纤维细胞生长因子结合蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Fgfbp1 PE=1 SV=1
208	1	A0A075B5L8	1	0.281	0.432	0.357	0.223	0.296	0.409	0.29	免疫球蛋白 κ 可变 4-79 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv4-79 PE=4 SV=2
209	1	D3Z5M7	1	0.588	2.844	2.785	0.425	0.758	2.348	2.342	过氧蛋白同系物 OS=小家鼠 GN=Pxdn PE=1 SV=2
210	1	P63038	1	0.534	1.687	1.65	0.45	0.547	1.241	1.434	60 kDa 热休克蛋白，线粒体 OS=小家鼠 GN=Hspdl PE=1 SV=1

[0471]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
211	1	P51150	1	0.671	1.645	1.178	0.493	0.53	1.253	1.16	Ras 相关蛋白 Rab-7a OS=小家鼠 GN=Rab7aPE=1 SV=2
212	1	P10639	1	0.442	1.254	1.833	0.368	0.353	L19	1.885	硫氧还蛋白 OS=小家鼠 GN=Txn PE=1 SV=3
213	1	D6RDC7	1	0.487	3.274	2.775	---	0.384	2.327	3.359	WD 重复蛋白 61 OS=小家鼠 GN=Wdr61 PE=1 SV=2
214	1	E9Q7D8	1	0.527	1.612	1.444	0.596	0.547	1.503	1.84	聚(rC)结合蛋白 3 OS=小家鼠 GN=Pcbp3 PE=1 SV=1
215	1	P32261	1	0.345	3.046	3.193	0.421	0.408	2.519	3.052	抗凝血酶 III OS=小家鼠 GN=Serpincl PE=1 SV=1
216	1	Q3THE2	1	1.372	6.315	5.784	0.484	0.697	4.18	5.643	肌球蛋白调节轻链 12B OS=小家鼠 GN=Myl12b PE=1 SV=2
217	1	Q9211I9	1	0.62	1.712	1.445	0.471	0.54	0.996	1.83	外泌体复合组分 RRP41 OS=小家鼠 GN=Exosc4 PE=1 SV=3
218	1	A0A0J9YKD4	1	---	42.422	39.008	0.894	1.008	29.919	38.247	肌酸激酶 M 型 OS=小家鼠 GN=Ckm PE=1 SV=1
219	1	Q9JHU9	1	0.219	1.548	1.629	0.08	0.159	1.283	1.42	肌醇 3-磷酸合酶 1 OS=小家鼠 GN=Isynal PE=1 SV=1
220	1	A0A075B6D5	1	0.875	0.582	0.541	1.199	1.34	0.687	0.616	免疫球蛋白 κ 链可变 19-93 OS=小家鼠 GN=Igkv19-93 PE=1 SV=7
221	1	Q9QWK4	1	0.536	0.774	0.455	0.655	0.456	0.67	0.55	CD5 抗原样 OS=小家鼠 GN=Cd5l PE=1 SV=3
222	1	G3X8P9	1	0.419	5.103	5.022	0.738	0.706	6.295	8.275	醛氧化酶 1 OS=小家鼠 GN=Aox1 PE=1 SV=1
223	1	Q6PDM2	1	0.234	0.997	0.883	0.214	0.269	0.809	0.879	富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子 1 OS=小家鼠 GN=Srsf1 PE=1 SV=3

[0472]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
224	1	Q91VB8	1	0.45	2.337	2.3	0.669	0.478	1.884	2.099	α 球蛋白 1 OS=小家鼠 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	肌动蛋白相关蛋白 2 OS=小家鼠 GN=Actr2 PE=1 SV=1
226	1	A0A075B5L7	1	0.482	0.979	0.767	0.378	0.357	0.933	1.005	免疫球蛋白 κ 可变 4-80 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv4-80 PE=4 SV=2
227	1	E9Q1G8	1	0.56	1.883	2.321	0.478	0.501	1.933	2.256	隔蛋白 7 OS=小家鼠 GN=Sept7 PE=1 SV=2
228	1	D3YUG4	1	0.582	3.576	2.537	0.67	0.469	2.335	2.531	酰基蛋白硫酯酶 1 (片段) OS=小家鼠 GN=Lypla1 PE=1 SV=1
229	1	Q8R317	1	0.684	1.305	0.595	0.631	0.572	0.798	1.503	泛醌蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Ubqln1 PE=1 SV=1
230	1	P27641	1	---	3.472	3.891	---	---	3.988	5.176	X 射线修复交叉互补蛋白 5 OS=小家鼠 GN=Xrcc5 PE=1 SV=4
231	1	Q6ZQ38	1	0.164	2.632	2.648	0.324	0.369	1.833	2.094	与 Cullin 相关的 NEDD8 解离蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Cand1 PE=1 SV=2
232	1	A0A140T8M4	1	0.771	1.063	1.01	0.779	0.926	1.073	0.667	免疫球蛋白 κ 可变 8-19 OS=小家鼠 GN=Igkv8-19 PE=1 SV=2
233	1	Q8CIH9	1	0.848	2.005	1.656	0.543	0.891	1.507	1.925	酰胺基磷酸核糖基转移酶 OS=小家鼠 GN=Ppat PE=1 SV=1
234	1	A0A075B5L2	1	1.618	0.869	0.58	1.297	1.512	0.707	0.596	免疫球蛋白 κ 链可变 4-91 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv4-91 PE=4 SV=2
235	1	A0A075B5R6	1	1.07	0.084	0.118	1.421	1.81	---	0.15	免疫球蛋白重可变 11-1 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighvll-l PE=4 SV=1
236	1	A2AFQ2	1	0.528	1.617	1.628	0.393	0.267	0.776	1.206	3-羟酰基-CoA 脱氢酶 2 型 OS=小家鼠 GN=Hsdl7b1O PE=1 SV=1

[0473]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
237	1	Q8VIJ6	1	0.874	4.604	4.737	0.799	0.654	3.735	4.567	剪接因子，富含脯氨酸和谷氨酰胺 OS=小家鼠 GN=Sfpq PE=1 SV=1
238	1	A0A1W2P6P4	1	0.369	0.706	0.725	0.154	0.127	0.49	0.611	RNA 结合蛋白 Nova-1 (片段) OS=小家鼠 GN=Nova1 PE=1 SV=1
239	1	Q9WU78	1	1.143	1.766	1.966	3.037	0.475	1.201	1.952	程序性细胞死亡 6 相互作用蛋白 OS=小家鼠 GN=Pdcd6ip PE=1 SV=3
240	1	A0A1C7ZMZ5	1	0.65	0.989	0.86	0.52	0.8	0.668	0.655	谷胱甘肽过氧化物酶(片段) OS=小家鼠 GN=Gpx3 PE=1 SV=1
241	1	P59016	1	0.297	2.626	1.678	0.113	0.258	1.306	1.554	液泡蛋白分选相关蛋白 33B OS=小家鼠 GN=Vps33b PE=1 SV=1
242	1	A0A140LJ59	1	0.838	4.938	4.606	0.474	0.435	3.987	4.082	真核翻译起始因子 3 亚基 K OS=小家鼠 GN=Eif3k PE=1 SV=1
243	1	F6RV17	1	0.511	1.423	1.147	0.239	0.165	1.297	1.313	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 2A 55 kDa 调节亚基 B OS=小家鼠 GN=Ppp2r2d PE=1 SV=2
244	1	Q3TGU7	1	0.397	1.061	1.051	0.652	0.812	1.125	1.148	增殖相关的 2G4 OS=小家鼠 GN=Pa2g4 PE=1 SV=1
245	1	A2CEK3	1	0.555	1.813	1.523	0.433	0.504	1.154	1.418	葡萄糖磷酸变位酶 2 OS=小家鼠 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，同工型 CRA_a OS=小家鼠 GN=Ptbp1 PE=1 SV=1
247	1	Q9CZD3	1	0.441	5.688	5.299	1.021	1.066	4.688	4.333	甘氨酸-tRNA 连接酶 OS=小家鼠 GN=Gars PE=1 SV=1
248	1	P97310	1	0.409	1.542	1.411	0.512	0.44	1.777	2.25	DNA 复制许可因子 MCM2 OS=小家鼠 GN=Mcm2 PE=1 SV=3

[0474]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
249	1	Q64674	1	0.569	2.696	3.056	0.412	0.466	2.561	3.135	亚精胺合成酶 OS=小家鼠 GN=Srm PE=1 SV=1
250	1	Q6PFB2	1	0.247	9.766	9.927	0.467	0.574	8.042	9.76	Rcc1 蛋白 OS=小家鼠 GN=Rcc1 PE=1 SV=1
251	1	Q3UE92	1	0.842	1.966	1.961	0.633	0.56	1.66	1.535	X-脯氨酰氨肽酶(氨肽酶 P) 1，可溶性，同工型 CRA_b OS=小家鼠 GN=Xpnpep1 PE=1 SV=1
252	1	A0A1B0GR44	1	0.616	1.44	1.073	0.53	0.469	1.068	1.077	U1 核小核糖核蛋白 70 kDa (片段) OS=小家鼠 GN=Snrnp70 PE=1 SV=1
253	1	A0A1L1SSH9	1	0.545	2.279	1.444	0.401	0.483	1.601	2.096	SPARC OS=小家鼠 GN= Sparc PE=1 SV=1
254	1	Q99KP6	1	0.411	4.136	3.436	0.514	0.591	3.364	4.537	mRNA 前加工因子 19 OS=小家鼠 GN=Prpf19 PE=1 SV=1
255	1	Q9QZD9	1	0.455	3.088	3.321	0.427	0.338	2.689	2.871	真核翻译起始因子 3 亚基 I OS=小家鼠 GN=Eif3i PE=1 SV=1
256	1	Q6P5H2	1	1.712	1.513	0.707	0.553	0.582	1.036	2.072	神经上皮干细胞蛋白 OS=小家鼠 GN=Nes PE=1 SV=1
257	1	F6RPJ9	1	0.385	1.047	0.65	0.157	0.215	0.737	0.975	胰岛素降解酶(片段) OS=小家鼠 GN=Ide PE=1 SV=1
258	1	P52955	1	0.826	0.11	0.108	0.643	0.732	0.092	0.084	转录因子 LBX1 OS=小家鼠 GN=Lbx1 PE=1 SV=2
259	1	O35988	--	--	--	--	--	--	--	--	多配体蛋白聚糖 4 OS=小家鼠 GN=Sdc4 PE=1 SV=1
260	1	P61407	1	0.823	0.571	0.525	0.185	0.224	0.299	---	含 Tudor 结构域的蛋白质 6 OS=小家鼠 GN=Tdrd6 PE=1 SV=1
261	1	A0A075B5N4	1	0.92	1.061	1.095	1.518	1.742	0.846	1.239	免疫球蛋白 κ 链可变 8-27 OS=小家鼠 GN=Igkv8-27 PE=4 SV=1

[0475]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
262	1	A0A0B4J1I5	1	0.818	0.286	0.254	0.798	0.786	0.217	0.256	免疫球蛋白 κ 链可变 4-70 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv4-70 PE=4 SV=1
263	1	A0A075B5T9	1	1.1	0.778	0.907	0.606	0.542	0.474	0.52	免疫球蛋白重可变 V1-9 OS=小家鼠 GN=Ighv1-9 PE=4 SV=1
264	1	A0A075B5V8	1	0.889	0.661	0.553	1.051	1.289	0.855	0.576	免疫球蛋白重可变 1-47 OS=小家鼠 GN=Ighv1-47 PE=4 SV=1
265	1	A0A0A6YXN4	1	0.594	0.727	0.677	1.999	1.876	0.521	0.789	免疫球蛋白重可变 V1-18 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighv1-18 PE=1 SV=1
266	1	Q8VGI4	1	0.255	3.468	3.627	0.322	0.366	3.109	3.6	嗅觉受体 476 OS=小家鼠 GN=01fr476 PE=3 SV=1
267	1	Q8VEK3	1	0.595	2.14	2.123	0.665	0.658	1.932	1.931	不均一核糖核蛋白 U OS=小家鼠 GN=Hnrnpu PE=1 SV=1
268	1	F8WHL2	1	0.632	2.507	1.658	0.567	0.548	1.993	2.252	外被体亚基 α OS=小家鼠 GN=Copa PE=1 SV=1
269	1	P53994	1	0.459	0.562	0.541	1.278	0.775	0.584	0.527	Ras 相关蛋白 Rab-2A OS=小家鼠 GN=Rab2a PE=1 SV=1
270	1	L7MTU6	1	0.522	2.822	2.248	0.64	0.374	1.801	1.848	干扰素 α B OS=小家鼠 GN=Ifnab PE=3 SV=1
271	1	Q61646	1	1.119	0.356	0.181	1.098	0.849	0.214	0.467	触珠蛋白 OS=小家鼠 GN=Hp PE=1 SV=1
272	1	B8JK32	1	0.602	1.644	1.661	0.272	0.432	1.681	2.273	不均一核糖核蛋白 M OS=小家鼠 GN=Hnrnpm PE=1 SV=1
273	1	A2A4J1	1	0.398	3.341	3.345	0.386	0.305	1.98	2.971	蛋白酶体激活物复合亚基 3 (片段) OS=小家鼠 GN=Psme3 PE=1 SV=1
274	1	Q9D892	1	0.855	1.766	2.106	0.278	0.635	1.611	2.111	肌苷三磷酸焦磷酸酶 OS=小家鼠 GN=Itpa PE=1 SV=2

[0476]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
275	1	Q8QZY1	1	0.853	3.805	3.518	0.79	1.255	2.789	3.222	真核翻译起始因子 3 亚基 L OS=小家鼠 GN=Eif31 PE=1 SV=1
276	1	Q9JKR6	1	0.486	2.282	2.379	0.728	0.521	3.009	2.585	缺氧上调蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Hyou1 PE=1 SV=1
277	1	D3Z6N3	1	0.601	1.4	1.368	0.583	0.617	1.317	1.481	DNA 复制许可因子 MCM7 OS=小家鼠 GN=Mcm7 PE=1 SV=1
278	1	G3UXG7	1	0.548	2.638	1.143	0.348	0.662	1.637	1.452	酪蛋白激酶 II 亚基 β OS=小家鼠 GN=Csnk2b PE=1 SV=1
279	1	Q9D8E6	1	0.665	1.529	1.612	0.437	0.615	1.246	1.554	60S 核糖体蛋白 L4 OS=小家鼠 GN=Rpl4 PE=1 SV=3
280	1	A0A0R4J1N1	1	0.708	0.956	0.865	0.496	0.309	0.869	0.937	间 α-胰蛋白酶抑制剂，重链 4 OS=小家鼠 GN=Itih4 PE=1 SV=1
281	1	P17751	1	0.734	1.87	1.45	0.73	0.882	1.528	1.534	磷酸丙糖异构酶 OS=小家鼠 GN=Tpil PE=1 SV=4
282	1	P62334	1	0.561	1.651	1.432	0.524	0.454	1.279	1.73	26S 蛋白酶体调节亚基 10B OS=小家鼠 GN=Psmc6 PE=1 SV=1
283	1	Q8C2Q7	1	0.404	3.867	2.918	0.454	0.286	2.215	2.192	不均一核糖核蛋白 H OS=小家鼠 GN=Hnrnph1 PE=1 SV=1
284	1	S4R1I6	1	0.563	2.671	2.6	0.786	0.709	2.209	2.164	MCG2872，同工型 CRA_b OS=小家鼠 GN=Ddx5 PE=1 SV=1
286	1	Q6ZWN5	1	0.849	3.088	3.404	0.637	0.586	2.497	3.102	40S 核糖体蛋白 S9 OS=小家鼠 GN=Rps9 PE=1 SV=3
287	1	F6YZU5	1	0.779	1.055	1.159	0.453	0.558	0.728	0.8	盘大同系物 5 (片段) OS=小家鼠 GN=Dlg5 PE=1 SV=1

[0477]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
288	1	A2AW05	1	0.675	2.062	1.466	0.544	0.49	0.983	1.427	FACT 复合亚基 SSRP1 (片段) OS=小家鼠 GN=Ssrp1 PE=1 SV=1
289	1	A0A0R4J187	1	0.68	1.446	1.537	0.714	0.948	0.913	1.425	X 射线修复交叉互补蛋白 6 OS=小家鼠 GN=Xrcc6 PE=1 SV=1
290	1	Q9QZE5	1	0.139	1.108	1.278	0.14	0.121	1.15	1.413	外被体亚基 γ-1 OS=小家鼠 GN=Copg1 PE=1 SV=1
291	1	Q9DB16	1	1.149	1.254	1.843	0.826	4.987	1.682	1.847	钙结合蛋白 39 样 OS=小家鼠 GN=Cab39l PE=1 SV=3
292	1	P62962	1	0.347	1.223	1.112	0.603	0.804	1.099	1.127	前纤维蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Pfn1 PE=1 SV=2
293	1	F6XI62	1	0.74	1.544	0.92	0.223	0.435	1.142	1.34	60S 核糖体蛋白 L7 (片段) OS=小家鼠 GN=Rpl7 PE=1 SV=1
294	1	F8WIV5	1	0.248	0.84	0.965	0.206	0.165	0.74	0.913	发动蛋白 2 OS=小家鼠 GN=Dnm2 PE=1 SV=2
295	1	A0A075B5P8	1	0.916	0.462	0.425	0.92	0.975	0.391	0.424	免疫球蛋白重可变 2-2 (片段) OS=小家鼠 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	40S 核糖体蛋白 S4，X 同工型 OS=小家鼠 GN=Rps4x PE=1 SV=2
297	1	O55142	1	0.555	2.709	1.631	0.568	0.815	1.045	1.647	60S 核糖体蛋白 L35a OS=小家鼠 GN=Rpl35a PE=1 SV=2
298	1	A0A1Y7VJM8	1	0.388	1.598	1.726	0.381	0.35	1.092	1.161	锌指蛋白 934 OS=小家鼠 GN=Zfp934 PE=4 SV=1
299	1	Q9JJN6	1	1.192	2.975	3.304	1.111	0.337	1.111	0.93	β-连环蛋白相互作用蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Ctnnbip1 PE=1 SV=1

[0478]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	17 0H NS19	17 8H NS19	17 0H 5B1	17 8H 5B1	20 0H NS19	20 8H NS19	20 0H 5B1	20 8H 5B1	描述
300	1	Q9DCC4	1	0.614	2.17	1.789	0.831	0.195	2.244	3.024	吡咯啉-5-羧酸还原酶 3 OS=小家鼠 GN=Pycr3 PE=1 SV=2
301	1	P32233	1	0.465	1.123	0.577	0.122	0.269	0.459	0.738	发育调控的 GTP 结合蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Drgl PE=1 SV=1
302	1	D3Z4Q4	1	0.874	1.145	1.259	0.601	0.509	0.672	0.923	醌氧化还原酶(片段) OS=小家鼠 GN=Cryz PE=1 SV=1
303	1	A2AC16	1	0.626	3.389	3.384	0.57	0.268	3.272	3.683	二羰基 L-木酮糖还原酶，同工型 CRA_a OS=小家鼠 GN=Dcxr PE=1 SV=1
304	1	Q8BVN8	1	0.656	4.731	4.234	1.352	1.133	4.175	4.589	轴索动力蛋白轻中间体多肽 1 OS=小家鼠 GN=Dnalil PE=1 SV=1
305	1	Q9D964	1	0.442	1.699	1.883	0.456	0.518	1.674	1.752	甘氨酸脒基转移酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Gatm PE=1 SV=1
306	1	Q6GQT1	1	0.494	1.798	1.95	0.154	0.214	1.105	1.629	α-2-巨球蛋白-P OS=小家鼠 GN=A2m PE=2 SV=2

[0479]

表 4: Dox 治疗 8 小时后，来自 C;R^{LSL};F 或遗传阴性类器官(分别为 A225 和 A223)条件培养基的 CA19-9 IP/MS 数据。“25 0H NS19”表示用 NS19-9 治疗前的 A225 类器官；“25 8H NS19”表示用 NS19-9 治疗 8 小时后的 A225 类器官；“25 0H 5B1”表示用 5B1 治疗前的 A225 类器官；“25 8H 5B1”表示用 5B1 治疗 8 小时后的 A225 类器官；“23 0H NS19”表示用 NS19-9 治疗前的 A223 类器官；“23 8H NS19”表示用 NS19-9 治疗 8 小时后的 A223 类器官；“23 0H 5B1”表示用 5B1 治疗前的 A223 类器官；“23 8H 5B1”表示用 5B1 治疗 8 小时后的 A223 类器官。

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
1	1	P01868	1	1.069	0.117	0.069	1.086	0.956	0.091	0.177	Ig γ-1 链 C 区分泌形式 OS=小家鼠 GN=Ighg1 PE=1 SV=1
1	2	A0A075B5P4	1	1.072	0.112	0.066	1.088	0.957	0.088	0.164	Ig γ-1 链 C 区分泌形式(片段) OS=小家鼠 GN=Ighg1 PE=1 SV=1
2	1	P01637	1	1.139	0.285	0.202	2.018	1.655	0.243	0.336	Ig κ 链 V-V 区 T1 OS=小家鼠 PE=4 SV=1
2	2	A0A140T8P9	1	1.105	0.31	0.166	1.879	1.578	0.207	0.29	免疫球蛋白 κ 可变 14-111 (片段) OS=小家鼠 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	Ig κ 链 C 区 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
3	2	A0A075B5P2	1	1.153	0.107	0.081	1.433	1.347	0.058	0.141	免疫球蛋白 κ 恒定(片段) OS=小家鼠 GN=Igkc PE=1 SV=1
4	1	P07724	1	0.929	0.204	0.187	1.061	0.903	0.146	0.27	血清白蛋白 OS=小家鼠 GN=Alb PE=1 SV=3
5	1	P20152	1	0.542	11.23	9.977	0.724	0.767	10.68	14.82	波形蛋白 OS=小家鼠 GN=Vim PE=1 SV=3

[0480]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
5	2	P50446	1	0.685	1.22	1.07	0.934	0.691	1.425	1.126	角蛋白，II 型细胞骨架 6A OS=小家鼠 GN=Krt6a PE=1 SV=3
5	3	Pl 1679	1	0.895	1.633	1.507	0.791	0.683	2.206	2.604	角蛋白，II 型细胞骨架 8 OS=小家鼠 GN=Krt8 PE=1 SV=4
5	4	P04104	1	0.646	1.089	0.866	0.804	0.547	1.751	0.905	角蛋白，II 型细胞骨架 1 OS=小家鼠 GN=Krt1 PE=1 SV=4
5	5	P31001	1	0.295	11.52	9.866	0.409	0.458	13.22	15.16	结蛋白 OS=小家鼠 GN=Des PE=1 SV=3
5	6	Q8VED5	1	0.851	1.532	1.103	1.045	0.696	1.186	1.292	角蛋白，II 型细胞骨架 79 OS=小家鼠 GN=Krt79 PE=1 SV=2
5	7	Q6NXH9	1	0.653	1.123	0.848	0.989	0.665	1.323	1.156	角蛋白，II 型细胞骨架 73 OS=小家鼠 GN=Krt73 PE=1 SV=1
5	8	Q9DCV7	1	0.872	1.337	1.401	0.846	0.656	1.772	2.35	角蛋白，II 型细胞骨架 7 OS=小家鼠 GN=Krt7 PE=1 SV=1
5	9	Q3TTY5	1	0.754	1.446	0.913	0.921	0.753	1.105	1.215	角蛋白，II 型细胞骨架 2 表皮 OS=小家鼠 GN=Krt2 PE=1 SV=1
5	10	Q3UV17	1	0.658	1.197	0.991	1.028	0.651	1.621	1.025	角蛋白，II 型细胞骨架 2 ロ OS=小家鼠 GN=Krt76 PE=1 SV=1
5	11	P07744	1	0.82	1.422	1.192	1.102	0.83	1.561	1.751	角蛋白，II 型细胞骨架 4 OS=小家鼠 GN=Krt4 PE=1 SV=2
6	1	A0A075B5T3	1	1.127	0.303	0.276	1.156	1.077	0.323	0.514	免疫球蛋白重可变 6-6 (片段) OS=小家鼠 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	Ig 重链 V-III 区 A4 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
7	1	P05213	1	0.75	4.685	4.035	0.727	0.665	3.521	5.493	微管蛋白 α-1B 链 OS=小家鼠 GN=Tubalb PE=1 SV=2

[0481]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
8	1	P52480	1	0.571	5.34	4.177	0.653	0.569	4.463	6.417	丙酮酸激酶 PKM OS=小家鼠 GN=Pkm PE=1 SV=4
9	1	P11499	1	0.818	4.865	3.988	0.922	0.76	3.98	5.618	热休克蛋白 HSP 90-β OS=小家鼠 GN=Hsp90ab1 PE=1 SV=3
9	2	P07901	1	0.848	3.685	3.04	0.913	0.784	2.998	4.086	热休克蛋白 HSP 90-α OS=小家鼠 GN=Hsp90aa1 PE=1 SV=4
9	3	P08113	1	0.832	3.586	2.899	0.715	0.779	3.001	3.873	内质蛋白 OS=小家鼠 GN=Hsp90b1 PE=1 SV=2
10	1	Q68FD5	1	0.765	3.631	3.184	0.854	0.723	2.825	4.176	网格蛋白重链 1 OS=小家鼠 GN=Cltc PE=1 SV=3
11	1	P26443	1	0.681	8.259	6.636	0.947	0.77	6.399	8.311	谷氨酸脱氢酶 1，线粒体 OS=小家鼠 GN=Glud1 PE=1 SV=1
12	1	A0A075B5P3	1	0.897	0.331	0.27	0.975	0.846	0.257	0.29	免疫球蛋白重恒定 γ 2B (片段) OS=小家鼠 GN=Ighg2b PE=1 SV=1
12	2	P01867	1	0.9	0.318	0.262	0.973	0.859	0.259	0.292	Ig γ-2B 链 C 区 OS=小家鼠 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	Ig γ-2A 链 C 区，A 等位基因 OS=小家鼠 GN=Ighg PE=1 SV=1
13	1	Q61838	1	0.855	0.243	0.208	0.959	0.856	0.202	0.212	妊娠区带蛋白 OS=小家鼠 GN=Pzp PE=1 SV=3
14	1	P58252	1	0.737	4.985	4.221	0.824	0.806	4.117	5.373	延伸因子 2 OS=小家鼠 GN=Eef2 PE=1 SV=2
14	2	A2AH85	1	0.776	3.331	2.779	0.634	0.659	2.615	3.589	116 kDa U5 核小核糖核蛋白组分 OS=小家鼠 GN=Eftud2 PE=1 SV=1

[0482]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
15	1	Q9Z1R9	1	3.838	2.933	3.243	3.829	3.089	1.806	1.209	MCG124046 OS=小家鼠 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=小家鼠 GN=Gml0334 PE=3 SV=1
15	3	Q792Z1	1	4.18	3.033	3.368	4.081	3.265	1.651	1.092	MCG140784 OS=小家鼠 GN=Tryl0 PE=1 SV=1
16	1	P63017	1	0.81	5.69	4.331	0.939	0.841	4.318	6.09	热休克同源 71 kDa 蛋白 OS=小家鼠 GN=Hspa8 PE=1 SV=1
16	2	P17879	1	0.753	4.922	3.812	0.758	1.484	3.99	5.519	热休克 70 kDa 蛋白 IB OS=小家鼠 GN=Hspalb PE=1 SV=3
16	3	P16627	1	0.782	5.422	4.224	0.779	1.774	4.494	6.214	热休克 70 kDa 蛋白 1 样 OS=小家鼠 GN=Hspa1l PE=1 SV=4
16	4	P20029	1	0.697	5.037	4.064	0.821	0.688	4.271	5.732	78 kDa 葡萄糖调节蛋白 OS=小家鼠 GN=Hspa5 PE=1 SV=3
17	1	P99024	1	0.963	4.791	3.931	1.143	0.766	3.722	5.468	微管蛋白 β-5 链 OS=小家鼠 GN=Tubb5 PE=1 SV=1
17	2	P68372	1	0.932	4.251	3.488	1.103	0.855	3.267	4.92	微管蛋白 β-4B 链 OS=小家鼠 GN=Tubb4b PE=1 SV=1
18	1	A2A513	1	0.751	1.352	0.812	0.914	0.699	1.102	1.021	角蛋白，I 型细胞骨架 10 OS=小家鼠 GN=Krt10 PE=1 SV=1
18	2	P19001	1	0.883	1.432	1.473	0.776	0.588	1.738	1.856	角蛋白，I 型细胞骨架 19 OS=小家鼠 GN=Krtl9 PE=1 SV=1
18	3	Q61781	1	0.845	1.295	1.106	0.917	0.816	1.16	1.543	角蛋白，I 型细胞骨架 14 OS=小家鼠 GN=Krtl4 PE=1 SV=2

[0483]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
19	1	P50247	1	0.586	7.664	6.361	0.736	0.693	6.445	8.288	腺苷同型半胱氨酸酶 OS=小家鼠 GN=Ahcy PE=1 SV=3
20	1	A0A0A0MQF6	1	0.919	7.123	6.146	1.076	0.88	5.781	8.724	甘油醛-3-磷酸脱氢酶 OS=小家鼠 GN=Gapdh PE=1 SV=1
21	1	P14206	1	0.679	3.016	2.309	0.65	0.605	2.401	3.355	40S 核糖体蛋白 SA OS=小家鼠 GN=Rpsa PE=1SV=4
22	1	O35565	1	0.798	6.656	5.286	0.898	0.87	4.8	7.394	成纤维细胞生长因子 10 OS=小家鼠 GN=Fgf10 *PE*=2 SV=1
23	1	A0A140LI59	1	1.507	1.729	1.959	0.882	0.721	1.57	2.088	恶性脑肿瘤缺失 1 蛋白 OS=小家鼠 GN=Dmbt1 PE=1 SV=1
24	1	Q06890	1	2.011	2.26	4.091	0.94	0.775	1.915	2.594	簇蛋白 OS=小家鼠 GN=CluPE=1 SV=1
25	1	P97466	1	0.93	24.74	21.19	1.461	1.273	19.15	25.6	头蛋白 OS=小家鼠 GN=NogPE=2 SV=1
26	1	A0A075B5P6	1	0.905	0.292	0.253	1.017	0.869	0.202	0.235	Ig μ 链 C 区(片段) OS=小家鼠 GN=Ighm PE=1 SV=1
27	1	Q07797	1	0.959	3.086	2.687	0.701	0.663	7.637	10.25	半乳凝素-3-结合蛋白 OS=小家鼠 GN=Lgals3bp PE=1 SV=1
28	1	P99027	1	0.831	4.398	2.989	0.98	0.658	2.758	4.68	60S 酸性核糖体蛋白 P2 OS=小家鼠 GN=Rplp2 PE=1 SV=3
29	1	A0A0A0MQA3	1	0.969	0.269	0.193	0.964	0.924	0.196	0.187	α-1-抗胰蛋白酶 1-1 OS=小家鼠 GN=Serpina 1a PE=1 SV=1
29	2	Q00897	1	0.972	0.394	0.321	0.983	0.908	0.309	0.33	α-1-抗胰蛋白酶 1-4 OS=小家鼠 GN=Serpina 1d PE=1 SV=1
29	3	P22599	1	0.937	0.321	0.218	0.935	0.901	0.227	0.203	α-1-抗胰蛋白酶 1-2 OS=小家鼠 GN=Serpina1b PE=1 SV=2

[0484]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
30	1	P01654	1	0.889	0.884	0.741	1.005	0.828	0.759	0.816	Ig κ 链 V-III 区 PC 2880/PC 1229 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
30	2	P01670	1	1.493	0.117	0.076	1.446	1.375	0.067	0.055	Ig κ 链 V-III 区 PC 6684 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
30	3	P01644	1	1.493	0.11	0.073	1.447	1.376	0.063	0.053	Ig κ 链 V-V 区 HP R16.7 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
31	1	E9Q1F2	1	1	2.055	1.8	0.728	0.681	1.843	2.192	肌动蛋白，细胞质 1 OS=小家鼠 GN=Actb PE=1 SV=1
32	1	O35490	1	0.678	6.665	5.406	0.973	0.775	5.071	6.826	甜菜碱-同型半胱氨酸 S-甲基转移酶 1 OS=小家鼠 GN=Bhmt PE=1 SV=1
33	1	P05784	1	0.78	2.038	1.825	0.685	0.489	2.324	2.98	角蛋白，I 型细胞骨架 18 OS=小家鼠 GN=Krt18 PE=1 SV=5
34	1	Q9WVF5	1	1.078	0.287	0.241	0.979	0.499	1.161	0.887	表皮生长因子受体 OS=小家鼠 GN=Egfr PE=1 SV=1
35	1	Q9D8N0	1	0.816	5.581	4.469	1.407	0.84	4.612	6.075	延伸因子 1-γ OS=小家鼠 GN=Eef1g PE=1 SV=3
36	1	Q02053	1	0.681	4.983	3.921	0.662	0.701	3.541	5.333	泛素样修饰物激活酶 1 OS=小家鼠 GN=Uba1 PE=1 SV=1
36	2	P31254	1	0.669	3.674	3.008	0.687	0.699	2.289	3.93	泛素样修饰物激活酶 1 Y OS=小家鼠 GN=Uba1y PE=1 SV=2
37	1	E9Q0F0	1	0.696	1.095	1.01	1.003	0.687	1.598	0.949	角蛋白 78 OS=小家鼠 GN=Krt78 PE=1 SV=1
38	1	P68040	1	0.791	5.071	4.13	0.87	0.748	3.508	6.026	活化蛋白 C 激酶 1 受体 OS=小家鼠 GN=Rack1 PE=1 SV=3

[0485]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
39	1	A0A0R4J1H6	1	0.616	3.521	2.512	0.697	0.651	3.101	3.308	高尔基体蛋白亚族 A 成员 3 OS=小家鼠 GN=Golga3 PE=1 SV=1
40	1	A0A087WR50	1	0.617	0.763	1.423	0.559	0.5	0.582	0.766	纤连蛋白 OS=小家鼠 GN=Fnl PE=1 SV=1
41	1	Q3V117	1	0.442	1.513	1.21	0.44	0.418	1.312	1.657	ATP-柠檬酸合酶 OS=小家鼠 GN=Acly PE=1 SV=1
42	1	A0A075B5P5	1	0.899	0.434	0.399	0.951	0.845	0.368	0.443	免疫球蛋白重恒定 γ 3 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighg3 PE=4 SV=1
43	1	Q9ET01	1	0.683	3.434	2.589	0.744	0.693	2.841	3.593	糖原磷酸化酶，肝型 OS=小家鼠 GN=Pygl PE=1 SV=4
44	1	P07759	1	0.906	0.366	0.325	0.999	0.863	0.36	0.315	丝氨酸蛋白酶抑制剂 A3K OS=小家鼠 GN=Serpina3k PE=1 SV=2
45	1	Q6PHC1	1	0.695	2.278	1.775	1.08	0.761	2.074	2.582	α-烯醇酶 OS=小家鼠 GN=Eno1 PE=1 SV=1
46	1	P80313	1	0.772	2.707	2.055	0.762	0.655	2.115	2.694	T-复合蛋白 1 亚基 η OS=小家鼠 GN=Cct7 PE=1 SV=1
47	1	P10126	1	0.903	7.373	5.512	1.136	0.954	5.789	7.761	延伸因子 1-α1 OS=小家鼠 GN=Eefla1 PE=1 SV=3
47	2	P62631	1	0.848	7.304	5.43	1.075	0.891	5.657	7.616	延伸因子 1-α2 OS=小家鼠 GN=Eefla2 PE=1 SV=1
48	1	F8VQJ3	1	0.828	4.689	4.676	0.991	0.819	4.401	4.925	层粘连蛋白亚基 γ-1 OS=小家鼠 GN=Lamc1 PE=1 SV=1
49	1	P62827	1	0.656	4.222	3.003	0.709	0.669	2.961	4.721	GTP 结合核蛋白 Ran OS=小家鼠 GN=Ran PE=1 SV=3
50	1	P80318	1	0.761	5.679	4.817	0.928	0.87	5.117	6.078	T-复合蛋白 1 亚基 γ OS=小家鼠 GN=Cct3 PE=1 SV=1

[0486]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
51	1	P47738	1	0.756	3.736	3.021	0.847	0.771	3.327	4.109	醛脱氢酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Aldh2 PE=1 SV=1
52	1	P80317	1	0.597	2.931	2.39	0.67	0.594	2.25	2.964	T-复合蛋白 1 亚基 ζ OS=小家鼠 GN=Cct6a PE=1 SV=3
53	1	A0A1B0GSR9	1	0.612	3.981	4.162	0.868	0.646	2.106	5.322	L-乳酸脱氢酶 OS=小家鼠 GN=Ldha PE=1 SV=1
54	1	A0A075B5K2	1	0.902	0.466	0.505	1.049	0.919	0.446	0.851	免疫球蛋白 κ 链可变 9-124 OS=小家鼠 GN=Igkv9-124 PE=1 SV=7
55	1	Q00623	1	0.891	12.55	11.79	1.144	0.789	11.71	13.38	载脂蛋白 A-I OS=小家鼠 GN=Apoal PE=1 SV=2
56	1	P11983	1	0.672	2.953	2.222	0.727	0.616	2.329	2.897	T-复合蛋白 1 亚基 α OS=小家鼠 GN=Tcpl PE=1 SV=3
57	1	P80315	1	0.791	2.472	1.835	0.804	0.734	1.783	2.212	T-复合蛋白 1 亚基 δ OS=小家鼠 GN=Cct4 PE=1 SV=3
57	2	P80316	1	0.468	2.224	1.598	0.448	0.637	1.177	1.906	T-复合蛋白 1 亚基 ε OS=小家鼠 GN=Cct5 PE=1 SV=1
58	1	P24270	1	0.653	3.375	2.819	0.648	0.636	2.665	3.665	过氧化氢酶 OS=小家鼠 GN=Cat PE=1 SV=4
59	1	Q9CPN9	1	1.328	2.28	1.42	1.086	1.029	1.495	1.245	RIKEN cDNA 2210010C04 基因 OS=小家鼠 GN=2210010C04Rik PE=1 SV=1
60	1	P35979	1	0.919	2.929	2.082	0.768	0.902	1.99	2.755	60S 核糖体蛋白 L12 OS=小家鼠 GN=Rpl12 PE=1 SV=2
61	1	Q61753	1	0.647	5.947	4.971	0.937	0.699	5.211	6.535	D-3-磷酸甘油酸脱氢酶 OS=小家鼠 GN=Phgdh PE=1 SV=3

[0487]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
62	1	P16125	1	0.749	5.136	4.409	0.743	0.923	4.467	5.374	L-乳酸脱氢酶 B 链 OS=小家鼠 GN=Ldhb PE=1 SV=2
63	1	F8VQ40	1	0.577	2.046	1.465	0.594	0.538	1.559	1.939	层粘连蛋白亚基 α-1 OS=小家鼠 GN=Lama1 PE=1 SV=1
64	1	P14869	1	0.515	4.374	3.251	0.58	0.49	3.427	4.934	60S 酸性核糖体蛋白 P0 OS=小家鼠 GN=Rplp0 PE=1 SV=3
65	1	A0A0G2JE99	1	0.86	0.559	0.454	0.935	0.775	0.46	0.681	免疫球蛋白 λ 恒定 1 (片段) OS=小家鼠 GN=Iglc1 PE=4 SV=1
66	1	A2AFS0	1	0.714	6.183	4.995	0.775	0.72	3.808	6.214	丝氨酸--tRNA 连接酶，细胞质(片段) OS=小家鼠 GN=Sars PE=1 SV=1
67	1	P61164	1	0.635	2.686	1.837	0.906	0.786	2.038	2.084	α-中心体肌动蛋白 OS=小家鼠 GN=Actrla PE=1 SV=1
68	1	A0A140T8P6	1	0.772	0.9	0.611	1.086	0.837	0.794	0.885	免疫球蛋白 κ 可变 12-46 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv12-46 PE=1 SV=2
68	2	A0A140T8Q1	1	0.718	0.485	0.313	1.063	0.897	0.399	0.324	蛋白质 Igkv12-41 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv12-41 PE=1 SV=2
69	1	P10493	1	0.534	1.72	1.254	0.466	0.451	1.561	2.03	巢蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Nidl PE=1 SV=2
70	1	P80314	1	0.837	2.152	1.558	0.637	0.851	1.543	1.551	T-复合蛋白 1 亚基 β OS=小家鼠 GN=Cct2 PE=1 SV=4
71	1	A0A075B5L8	1	0.986	0.464	0.483	1.332	L19	0.447	0.557	免疫球蛋白 κ 可变 4-79 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv4-79 PE=4 SV=2
72	1	A0A075B666	1	0.85	0.59	0.559	0.989	0.759	0.551	0.487	免疫球蛋白 κ 链可变 13-85 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv13-85 PE=4 SV=5
73	1	P01027	1	0.634	0.647	0.555	0.755	0.659	0.499	0.474	补体 C3 OS=小家鼠 GN=C3 PE=1 SV=3

[0488]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
74	1	Q5XJF6	1	0.918	5.197	4.599	1.07	0.713	3.512	6.136	核糖体蛋白 OS=小家鼠 GN=Rpl10a PE=1 SV=1
75	1	A0A0B4J1H7	1	1.057	0.283	0.227	1.095	1.076	0.239	0.254	免疫球蛋白 κ 可变 1-135 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv1-135 PE=4 SV=1
76	1	Q8BH00	1	0.971	8.707	5.73	1.256	0.712	7.142	8.854	醛脱氢酶家族 8 成员 A1 OS=小家鼠 GN=Aldh8a1 PE=1 SV=1
77	1	A0A075B5V1	1	0.894	0.146	0.117	0.969	0.871	0.076	0.139	免疫球蛋白重可变 1-31 OS=小家鼠 GN=Ighv1-31 PE=4 SV=1
78	1	P09411	1	0.913	4.417	3.703	0.909	0.72	3.796	3.6	磷酸甘油酸激酶 1 OS=小家鼠 GN=Pgk1 PE=1 SV=4
79	1	A0A0B4J1I9	1	1.115	0.544	0.482	1.345	1.118	0.539	0.537	免疫球蛋白 κ 可变 4-55 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv4-55 PE=1 SV=1
80	1	P61205	1	0.621	2.889	1.862	0.618	0.567	1.905	2.099	ADP-核糖基化因子 3 OS=小家鼠 GN=Arf3 PE=2 SV=2
81	1	Q8C196	1	0.592	4.622	3.601	0.544	0.598	3.901	4.472	氨甲酰磷酸合酶[氨], 线粒体 OS=小家鼠 GN=Cps 1 PE=1 SV=2
82	1	A0A0U1RNJ1	1	0.646	3.434	3.151	0.816	0.544	2.52	4.353	脂肪酸合酶 OS=小家鼠 GN=Fasn PE=1 SV=1
83	1	Q91X72	1	0.771	1.287	0.407	0.882	0.924	0.64	0.52	血红素结合蛋白 OS=小家鼠 GN=Hpx PE=1 SV=2
84	1	A0A087WPL5	1	0.496	2.36	1.85	0.487	0.606	2.273	3.053	ATP 依赖性 RNA 解旋酶 A OS=小家鼠 GN=Dhx9 PE=1 SV=1
85	1	O70475	1	0.596	1.243	0.962	0.623	0.57	1.03	1.347	UDP-葡萄糖 6-脱氢酶 OS=小家鼠 GN=Ugdh PE=1 SV=1

[0489]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
86	1	E9Q035	1	0.874	0.473	0.474	0.945	0.788	0.402	0.356	预测基因 20425 OS=小家鼠 GN=Gm20425 PE=4 SV=1
87	1	A0A075B5K8	1	1.063	0.379	0.106	1.094	1.122	0.17	0.129	免疫球蛋白 κ 可变 1-99 OS=小家鼠 GN=Igkv1-99 PE=4 SV=7
88	1	G3X8Q5	1	1.046	0.683	0.639	1.057	0.948	0.632	0.7	铜蓝蛋白 OS=小家鼠 GN=Cp PE=1 SV=1
89	1	P60843	1	0.803	1.821	1.395	0.875	0.818	1.333	1.596	真核起始因子 4A-I OS=小家鼠 GN=Eif4a1 PE=1 SV=1
90	1	A0A171KXD3	1	0.669	4.437	3.854	0.757	0.772	3.222	4.845	蛋白质精氨酸 N-甲基转移酶 1 OS=小家鼠 GN=Prmt1 PE=1 SV=1
91	1	Q9CQ62	1	1.242	2.245	2.229	1.1	1.078	2.376	2.962	2,4-二烯酰-CoA 还原酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Decr1 PE=1 SV=1
92	1	H3BL49	1	0.96	2.355	1.784	1.091	0.855	1.923	2.541	T-复合蛋白 1 亚基 θ OS=小家鼠 GN=Cct8 PE=1 SV=1
93	1	Q9DBJ1	1	0.669	2.125	1.66	0.655	0.65	1.363	2.045	磷酸甘油酸变位酶 1 OS=小家鼠 GN=Pgam1 PE=1 SV=3
94	1	A0A075B6A3	1	0.959	0.886	0.652	1.179	0.991	0.815	0.777	免疫球蛋白重恒定 α (片段) OS=小家鼠 GN=Igha PE=1 SV=1
95	1	D6RGQ0	1	0.798	1.123	0.787	0.832	0.644	0.733	0.828	补体因子 H OS=小家鼠 GN=Cfh PE=1 SV=1
96	1	A0A075B5Q4	1	0.74	0.468	0.33	0.969	0.715	0.528	0.54	免疫球蛋白重可变 5-12 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighv5-12 PE=4 SV=1
97	1	Q8VDD5	1	0.669	L14	1.011	0.638	0.545	0.992	1.244	肌球蛋白 9 OS=小家鼠 GN=Myh9 PE=1 SV=4
98	1	P20918	1	0.592	0.746	0.487	0.759	0.707	0.464	0.682	纤溶酶原 OS=小家鼠 GN=Plg PE=1 SV=3

[0490]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
99	1	B2M1R6	1	0.823	2.359	1.977	0.664	0.789	2.092	2.45	不均一核糖核蛋白 K OS=小家鼠 GN=Hnmpk PE=1 SV=1
100	1	A2AKJ6	1	0.802	2.573	2.422	0.621	0.408	2.226	2.769	内居蛋白 1 (片段) OS=小家鼠 GN=Sdcbp PE=1 SV=1
101	1	D3YYM6	1	1.054	5.753	4.191	1.059	0.849	3.93	5.708	40S 核糖体蛋白 S5 (片段) OS=小家鼠 GN=Rps5 PE=1 SV=1
102	1	G5E866	1	0.698	3.211	2.738	0.619	0.537	2.469	3.562	剪接因子 3B 亚基 1 OS=小家鼠 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-酮酰基-CoA 硫解酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Acaa2 PE=1 SV=3
104	1	A0A075B5K1	1	0.772	0.639	0.495	0.856	0.759	0.516	0.514	免疫球蛋白 κ 可变 11-125 OS=小家鼠 GN=Igkv11-125 PE=4 SV=7
105	1	P01806	1	0.858	0.792	0.599	0.958	0.802	0.594	0.751	Ig 重链 V 区 441 OS=小家鼠 PE=4 SV=1
106	1	Q8R2K3	1	0.528	2.234	1.797	0.591	0.658	1.677	1.733	单链 DNA 结合蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Ssbp1 PE=1 SV=1
107	1	A0A0G2JGQ8	1	0.884	0.544	0.401	0.999	0.79	0.617	0.417	Ig λ-3 链 C 区(片段) OS=小家鼠 GN=Iglc3 PE=1 SV=1
108	1	P28665	1	0.936	0.405	0.38	1.184	1.04	0.373	0.492	鼠球蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Mug1 PE=] SV=3
109	1	A0A0B4J1I1	1	0.986	---	0.161	1.099	0.589	0.181	0.224	免疫球蛋白 κ 可变 16-104 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv16-104 PE=4 SV=1
110	1	A0A140T8M3	1	0.913	0.369	0.364	1.235	1.038	0.375	0.445	免疫球蛋白 κ 链可变 8-30 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv8-30 PE=4 SV=2
111	1	Q6ZWY9	1	1.434	1.176	1.527	0.811	0.735	0.941	1.167	组蛋白 H2B 类型 1-C/E/G OS=小家鼠 GN=Histlh2bc PE=1 SV=3

[0491]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
112	1	A0A0A6YW67	1	1.138	2.633	2.465	0.715	0.551	2.181	2.53	MCG23377，同工型 CRA_b OS=小家鼠 GN=Gm8797 PE=4 SV=1
113	1	P14131	1	0.574	4.228	4.052	0.57	0.541	4.522	6.059	40S 核糖体蛋白 S16 OS=小家鼠 GN=Rps16 PE=1 SV=4
114	1	P01675	1	1.304	1.889	1.658	1.721	1.52	2.056	1.925	Ig κ 链 V-VI 区 XRPC 44 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
115	1	Q91VC3	1	0.817	2.843	1.736	0.793	0.875	1.653	2.195	真核起始因子 4A-III OS=小家鼠 GN=Eif4a3 PE=1 SV=3
116	1	D3YV76	---	---	---	---	---	---	---	---	隔蛋白 2 (片段) OS=小家鼠 GN=Sept2 PE=1 SV=1
117	1	Q8BKC5	1	0.805	3.081	2.221	0.763	0.963	2.833	3.389	输入蛋白 5 OS=小家鼠 GN=Ipo5 PE=1 SV=3
118	1	P12023	1	1.458	1.244	3.728	0.673	0.588	1.016	1.259	淀粉样 β 蛋白 A4 蛋白 OS=小家鼠 GN=App PE=1 SV=3
119	1	P62264	1	0.61	2.494	1.853	0.507	0.666	1.532	2.602	40S 核糖体蛋白 S14 OS=小家鼠 GN=Rps14 PE=1 SV=3
120	1	Q99LF4	1	0.862	1.955	1.269	0.875	0.774	1.39	2.119	tRNA 剪接连接酶 RtcB 同源物 OS=小家鼠 GN=Rtcb PE=1 SV=1
121	1	B1ASC1	1	0.586	2.543	2.2	0.612	0.551	2.265	3.046	R-脊椎蛋白同源物(非洲爪蟾) OS=小家鼠 GN=Rspol PE=2 SV=1
122	1	P24549	1	0.652	3.779	2.987	0.831	0.581	2.88	3.877	视黄醛脱氢酶 1 OS=小家鼠 GN=Aldh1a1 PE=1 SV=5
123	1	Q04447	1	0.413	1.231	1.006	0.533	0.485	1.068	1.529	肌酸激酶 B 型 OS=小家鼠 GN=Ckb PE=1 SV=1

[0492]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
124	1	Q3U367	1	0.695	4.579	3.932	1.149	0.803	3.815	5.041	4-三甲基氨基丁醛脱氢酶 OS=小家鼠 GN=Aldh9a1 PE=1 SV=1
125	1	A0A075B663	1	0.908	0.527	0.479	1.343	1.118	0.557	0.454	免疫球蛋白 λ 可变 1 (片段) OS=小家鼠 GN=Iglv1 PE=4 SV=1
126	1	A0A087WP24	1	0.061	0.474	0.454	0.074	0.262	0.432	0.649	蛋白质 ABHD14B (片段) OS=小家鼠 GN=Abhd14b PE=1 SV=1
127	1	E9QN70	1	0.662	4.071	3.185	0.631	0.617	3.203	4.593	层粘连蛋白亚基 β-1 OS=小家鼠 GN=Lamb1 PE=1 SV=1
128	1	A0A140T8M4	1	0.819	0.618	0.482	0.909	0.82	0.596	0.604	免疫球蛋白 κ 可变 8-19 OS=小家鼠 GN=Igkv8-19 PE=1 SV=2
128	2	A0A075B5N3	1	0.793	0.71	0.508	0.881	0.825	0.692	0.617	免疫球蛋白 κ 可变 8-28 OS=小家鼠 GN=Igkv8-28 PE=1 SV=7
129	1	P25444	1	0.785	3.186	1.785	0.82	0.682	2.471	3.23	40S 核糖体蛋白 S2 OS=小家鼠 GN=Rps2 PE=1 SV=3
130	1	P70168	1	0.539	4.492	3.545	0.521	0.575	4.218	6.126	输入蛋白亚基 β-1 OS=小家鼠 GN=Kpnb1 PE=1 SV=2
131	1	F6ZEW4	1	0.83	3.768	1.979	0.596	0.677	2.003	4.373	输出蛋白 2 (片段) OS=小家鼠 GN=Cse1l PE=1 SV=1
132	1	A0A0A6YX19	1	1.155	0.559	0.389	1.537	1.25	0.525	0.445	免疫球蛋白重可变 V6-4 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighv6-4 PE=4 SV=1
133	1	Q9CXY6	1	0.51	1.72	1.464	0.304	0.447	1.414	1.656	白介素增强子结合因子 2 OS=小家鼠 GN=Ilf2 PE=1 SV=1
134	1	A0A075B5R4	1	0.664	0.609	0.617	0.671	0.533	0.553	0.74	免疫球蛋白重可变 14-1 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighv14-1 PE=4 SV=1

[0493]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
135	1	P63038	1	0.798	2.367	2.301	0.694	0.633	2.059	2.225	60 kDa 热休克蛋白，线粒体 OS=小家鼠 GN=Hspd1 PE=1 SV=1
136	1	P18528	1	0.73	1.01	0.283	1.083	0.742	0.206	0.242	Ig 重链 V 区 6.96 OS=小家鼠 PE=4 SV=1
137	1	O70310	1	0.708	2.875	2.291	0.873	0.748	2.11	2.722	糖肽 N-十四烷酰基转移酶 1 OS=小家鼠 GN=Nmt1 PE=1 SV=1
138	1	P52196	1	0.742	9.942	8.506	1.497	0.901	9.523	12.71	硫代硫酸盐硫转移酶 OS=小家鼠 GN=Tst PE=1 SV=3
139	1	A0A140T8N0	1	0.71	0.47	0.44	1.022	0.906	0.255	0.451	免疫球蛋白 κ 链可变 9-120 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv9-120 PE=1 SV=2
140	1	A0A075B5U4	1	0.822	0.465	0.317	L16	0.758	0.568	0.535	免疫球蛋白重可变 V1-18 OS=小家鼠 GN=Ighv1-18 PE=1 SV=1
141	1	A0A140T8N2	1	0.85	2.578	0.967	1.003	0.979	0.724	0.965	蛋白质 Igkv5-48 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv5-48 PE=1 SV=2
142	1	A0A0A6YXF6	1	0.566	2.457	1.54	0.519	0.674	1.654	1.901	转化蛋白 RhoA (片段) OS=小家鼠 GN=Rhoa PE=1 SV=1
143	1	P62908	1	0.786	2.418	1.699	0.811	0.84	1.86	2.706	40S 核糖体蛋白 S3 OS=小家鼠 GN=Rps3 PE=1 SV=1
144	1	P19324	1	0.539	3.575	2.845	0.604	0.55	2.902	4.009	丝氨酸蛋白酶抑制剂 H1 OS=小家鼠 GN=Serpinh1 PE=1 SV=3
145	1	Q9Z1Z2	1	0.812	2.715	1.945	0.745	0.575	1.599	2.388	丝氨酸-苏氨酸激酶受体相关蛋白 OS=小家鼠 GN=Strap PE=1 SV=2
146	1	P23116	1	0.64	3.48	2.798	0.603	0.556	3.719	3.382	真核翻译起始因子 3 亚基 A OS=小家鼠 GN=Eif3a PE=1 SV=5
147	1	A0A140T8N7	1	0.627	0.306	0.276	1.256	0.797	0.238	0.237	免疫球蛋白 κ 链可变 6-25 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv6-25 PE=4 SV=2

[0494]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
148	1	Q922D8	1	1.045	3.527	2.432	1.031	0.708	2.798	3.674	C-1-四氢叶酸合酶，细胞质 OS=小家鼠 GN=Mthfdl PE=1 SV=4
149	1	P56480	1	0.773	1.813	1.371	0.723	0.567	1.378	1.609	ATP 合酶亚基 β，线粒体 OS=小家鼠 GN=Atp5b PE=1 SV=2
150	1	P62806	1	1.939	1.724	2.005	0.716	0.733	1.387	1.866	组蛋白 H4 OS=小家鼠 GN=Histlh4a PE=1 SV=2
151	1	P60229	1	0.502	2.269	1.69	0.438	0.565	3.016	2.497	真核翻译起始因子 3 亚基 E OS=小家鼠 GN=Eif3e PE=1 SV=1
152	1	Q9Z204	1	0.897	2.679	1.695	0.788	0.831	1.806	2.301	不均一核糖核蛋白 C1/C2 OS=小家鼠 GN=Hnmpc PE=1 SV=1
153	1	Q9CWJ9	1	0.663	L121	0.831	0.969	0.739	1.186	1.274	双功能嘌呤生物合成蛋白 PURH OS=小家鼠 GN=Atic PE=1 SV=2
154	1	F6RV17	1	0.629	2.732	1.901	0.339	0.617	2.154	3.066	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 2A 55 kDa 调节亚基 B OS=小家鼠 GN=Ppp2r2d PE=1 SV=2
155	1	Q8R1B4	1	0.543	2.75	2.33	0.528	0.454	2.333	3.091	真核翻译起始因子 3 亚基 C OS=小家鼠 GN=Eif3c PE=1 SV=1
156	1	A0A0G2JFF1	1	0.641	3.91	2.733	0.786	0.924	2.983	3.887	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶(片段) OS=小家鼠 GN=Ppplcc PE=1 SV=1
157	1	Q8BGJ5	1	0.979	4.003	3.142	0.527	0.335	3.705	4.143	MCG13402，同工型 CRA_a OS=小家鼠 GN=Ptbp1 PE=1 SV=1
158	1	A0A140T8N9	1	0.99	0.109	0.107	1.032	0.94	0.107	0.114	免疫球蛋白 κ 可变 6-32 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv6-32 PE=4 SV=2
159	1	F7D439	1	1.602	3.631	2.671	1.331	1.011	3.021	3.901	精氨琥珀酸裂解酶(片段) OS=小家鼠 GN=Asl PE=1 SV=2

[0495]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
160	1	A0A0R4J1E2	1	0.559	2.128	2.002	0.855	0.703	2.074	2.565	延伸因子 1-δ OS=小家鼠 GN=Eefld PE=1 SV=1
161	1	P21614	1	0.791	0.598	0.515	0.731	0.662	0.485	0.491	维生素 D 结合蛋白 OS=小家鼠 GN=Gc PE=1 SV=2
162	1	Q922B2	1	0.11	0.253	0.287	0.084	0.175	0.168	0.401	天冬氨酸--tRNA 连接酶，细胞质 OS=小家鼠 GN=Dars PE=1 SV=2
163	1	Q3U741	1	0.335	3.982	2.718	0.415	0.278	3.047	3.797	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp)盒多肽 17，同工型 CRA_a OS=小家鼠 GN=Ddx17 PE=1 SV=1
164	1	Q8BH95	1	1.051	21.16	22.42	1.342	1.957	16.57	28.68	烯酰-CoA 水合酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Echsl PE=1 SV=1
165	1	Q61171	1	0.73	2.132	1.704	0.523	0.5	1.814	2.604	过氧化物酶 2 OS=小家鼠 GN=Prdx2 PE=1 SV=3
166	1	F6ZDS4	1	1.181	2.139	1.56	0.834	0.454	1.627	1.347	核蛋白 TPR OS=小家鼠 GN=Tpr PE=1 SV=1
167	1	P01741	1	1.17	L141	0.923	1.256	1.199	0.912	1.116	Ig 重链 V 区 OS=小家鼠 PE=1 SV=1
168	1	A0A0R4J038	1	0.84	0.556	0.238	0.928	0.75	0.182	0.392	激肽原 1 OS=小家鼠 GN=Kng1 PE=1 SV=1
169	1	Q60972	1	0.606	2.145	1.544	0.641	0.668	1.741	1.73	组蛋白结合蛋白 RBBP4 OS=小家鼠 GN=Rbbp4 PE=1 SV=5
170	1	A0A140LIM5	1	0.691	1.942	1.625	1.344	1.218	1.653	1.917	有丝分裂检查点蛋白 BUB3 OS=小家鼠 GN=Bub3 PE=1 SV=1
171	1	P40124	1	0.541	1.505	1.145	0.432	0.342	1.139	1.146	腺苷酸环化酶相关蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Cap1 PE=1 SV=4
172	1	P01592	1	0.672	0.384	0.273	0.711	0.679	0.401	0.434	免疫球蛋白 J 链 OS=小家鼠 GN=J 链 PE=1 SV=4

[0496]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
173	1	P01786	1	0.648	0.976	0.736	0.787	0.764	0.881	0.703	Ig 重链 V 区 MOPC 47A OS=小家鼠 PE=1 SV=1
174	1	A0A075B5Q0	1	0.752	0.94	0.556	0.669	0.675	0.827	0.655	免疫球蛋白重可变 5-6 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighv5-6 PE=4 SV=1
175	1	A0A1L1SV25	1	0.99	1.259	0.912	0.811	0.537	1.245	1.262	α-辅肌动蛋白-4 OS=小家鼠 GN=Actn4 PE=1 SV=1
176	1	Q6PDM2	1	0.339	1.964	1.135	0.342	0.216	1.55	2.017	富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子 1 OS=小家鼠 GN=Srsf1 PE=1 SV=3
177	1	Q9QWK4	1	0.717	0.696	0.497	0.721	0.695	0.469	0.566	CD5 抗原样 OS=小家鼠 GN=Cd51 PE=1 SV=3
178	1	P62305	1	0.354	1.164	0.863	0.528	0.304	0.895	1.062	核小核糖核蛋白 E OS=小家鼠 GN=Snrpe PE=1 SV=1
179	1	Q8JZQ9	1	0.817	2.585	1.903	0.89	0.709	2.229	2.667	真核翻译起始因子 3 亚基 B OS=小家鼠 GN=Eif3b PE=1 SV=1
180	1	P10639	1	0.771	1.301	0.916	0.602	0.664	1.283	1.6	硫氧还蛋白 OS=小家鼠 GN=Txn PE=1 SV=3
181	1	P62267	1	0.597	1.519	1.175	0.543	0.582	1.179	1.855	40S 核糖体蛋白 S23 OS=小家鼠 GN=Rps23 PE=1 SV=3
182	1	P97351	1	0.789	1.784	1.398	0.872	0.633	1.351	1.844	40S 核糖体蛋白 S3a OS=小家鼠 GN=Rps3a PE=1 SV=3
183	1	Q3U2G2	1	0.686	2.57	2 丨 8	0.662	0.366	2.075	3.023	热休克 70 kDa 蛋白 4 OS=小家鼠 GN=Hspa4 PE=1 SV=1
184	1	F8WHL2	1	0.601	1.941	1.322	0.711	0.829	1.331	1.651	外被体亚基 α OS=小家鼠 GN=Copa PE=1SV=1

[0497]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
185	1	Q8BGQ7	1	1.395	4.22	2.427	0.811	0.564	2.555	2.632	丙氨酸-tRNA 连接酶，细胞质 OS=小家鼠 GN=Aars PE=1 SV=1
186	1	H7BXC3	1	0.651	1.294	1.139	0.682	0.775	1.177	1.362	磷酸丙糖异构酶 OS=小家鼠 GN=Tpil PE=1 SV=1
188	1	A0A0J9YKD4	1	0.471	7.699	5.593	0.472	0.744	6.653	8.402	肌酸激酶 M 型 OS=小家鼠 GN=Ckm PE=1 SV=1
189	1	Q9JKK7	1	0.972	5.912	4.983	0.829	0.982	4.575	7.092	原肌球调节蛋白 2 OS=小家鼠 GN=Tmod2 PE=1 SV=2
190	1	G3UYR8	1	0.571	2.114	1.386	0.637	0.653	1.364	1.74	α-氨基己二酸半醛脱氢酶 OS=小家鼠 GN=Aldh7a1 PE=1 SV=1
191	1	A0A075B5W4	1	0.988	0.08	0.083	1.101	1.037	0.093	0.079	免疫球蛋白重可变 V8-6 OS=小家鼠 GN=Ighv8-6 PE=4 SV=1
192	1	E9Q1G8	1	0.386	1.968	1.927	0.581	0.474	1.439	1.984	隔蛋白 7 OS=小家鼠 GN=Sept7 PE=1 SV=2
193	1	Q61646	1	1.065	0.521	0.449	1.072	0.864	0.461	0.446	触珠蛋白 OS=小家鼠 GN=Hp PE=1 SV=1
194	1	Q3UH59	1	0.65	2.34	1.833	0.547	0.384	1.817	1.717	肌球蛋白 10 OS=小家鼠 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-羟酰基-CoA 脱氢酶 2 型 OS=小家鼠 GN=Hsdl7bl0 PE=1 SV=1
196	1	A0A075B5R6	1	0.73	0.091	0.064	0.83	0.625	0.084	0.279	免疫球蛋白重可变 11-1 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighv11-1 PE=4 SV=1
197	1	A0A0U1RQ71	1	0.705	1.893	1.404	0.988	0.848	1.465	1.84	40S 核糖体蛋白 S13 OS=小家鼠 GN=Rps13 PE=1 SV=1
198	1	P29699	1	0.78	0.638	0.56	0.947	0.467	0.514	0.547	α-2-HS-糖蛋白 OS=小家鼠 GN=Ahsg PE=1 SV=1

[0498]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
199	1	A0A0G2JFB4	1	0.78	3.393	3.102	0.947	0.731	2.011	5.569	真核翻译起始因子 4E OS=小家鼠 GN=Eif4e PE=1 SV=1
200	1	A0A1L1SST0	1	1.42	3.701	5.268	0.583	0.472	1.758	8.143	肽基脯氨酰顺反异构酶 OS=小家鼠 GN=Ppia PE=1 SV=1
201	1	A0A1B0GR44	1	0.669	1.342	1.061	0.66	0.689	0.965	1.089	U1 核小核糖核蛋白 70 kDa (片段) OS=小家鼠 GN=Snrnp70 PE=1 SV=1
202	1	Q01853	1	0.676	1.251	1.048	0.612	0.862	1.085	1.421	过渡性内质网 ATPase OS=小家鼠 GN=Vcp PE= 1 SV=4
203	1	Q60749	1	0.624	3.408	2.905	0.798	0.587	2.493	3.944	含 KH 结构域蛋白、RNA 结合蛋白、信号转导相关蛋白 1 OS=小家鼠 GN=Khdrbs1 PE=1 SV=2
204	1	A0A1Y7VKY1	1	0.442	7.321	7.263	0.495	0.692	6.824	11.35	MCG116671 OS=小家鼠 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	Queuine tRNA-核糖基转移酶催化亚基 1 OS=小家鼠 GN=Qtrt1 PE=1 SV=2
206	1	P62715	1	0.899	2.474	2.39	1.319	0.993	1.872	2.717	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 2A 催化亚基 β 同工型 OS=小家鼠 GN=Ppp2cb PE=1 SV=1
207	1	A0A0R4J039	1	0.756	0.75	0.523	0.664	0.631	0.703	0.54	富含组氨酸糖蛋白 OS=小家鼠 GN=Hrg PE=1 SV=1
208	1	A0A0R4J187	1	0.501	1.78	1.823	0.636	0.542	1.376	2.66	X 射线修复交叉互补蛋白 6 OS=小家鼠 GN=Xrcc6 PE=1 SV=1
209	1	P98086	1	0.159	0.323	0.449	0.139	0.245	0.206	0.172	补体 C1q 亚组分亚基 A OS=小家鼠 GN=C1qa PE=1 SV=2

[0499]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
210	1	I7HIQ2	1	0.933	1.068	0.993	0.577	0.648	0.843	1.107	C-X-C 基序趋化因子 16 (片段) OS=小家鼠 GN=Cxcl16 PE=1 SV=1
211	1	P60867	1	0.647	3.082	2.083	1.342	0.794	1.787	2.503	40S 核糖体蛋白 S20 OS=小家鼠 GN=Rps20 PE=1 SV=1
212	1	Q3UW83	1	0.647	2.877	2.172	0.479	0.584	2.52	3.016	40S 核糖体蛋白 S10 OS=小家鼠 GN=Rps10 PE=1 SV=1
213	1	Q91Z50	1	0.942	4.109	3.591	1.232	1.161	3.891	5.233	瓣状核酸内切酶 1 OS=小家鼠 GN=Fen1 PE=1 SV=1
214	1	P62334	1	0.576	1.367	1.037	0.815	0.623	1.176	1.751	26S 蛋白酶体调节亚基 10B OS=小家鼠 GN=Psmc6 PE=1 SV=1
215	1	P62259	1	1.086	2.463	2.3	1.552	0.884	2.109	2.692	14-3-3 蛋白 ε OS=小家鼠 GN=Ywhae PE=1 SV=1
216	1	P40142	1	0.51	1.608	1.303	0.563	0.472	1.76	1.48	转酮醇酶 OS=小家鼠 GN=Tkt PE=1 SV=1
217	1	D3Z5M7	1	0.816	2.945	2.318	0.725	0.634	1.654	3.259	过氧蛋白同系物 OS=小家鼠 GN=Pxdn PE=1 SV=2
218	1	A2AC16	1	0.958	3.258	2.421	0.655	0.766	2.743	3.667	二羰基 L-木酮糖还原酶，同工型 CRA_a OS=小家鼠 GN=Dcxr PE=1 SV=1
219	1	G3UY38	1	0.416	2.856	2.158	0.935	0.943	2.207	3.335	不均一核糖核蛋白 L OS=小家鼠 GN=Hnrnpl PE=1 SV=1
220	1	P57784	1	0.6	2.382	1.774	0.952	0.524	1.629	2.484	U2 核小核糖核蛋白 A^1 OS=小家鼠 GN=Snrpal PE=1 SV=2
221	1	A0A0R4J1N1	1	0.817	0.725	0.415	0.984	0.716	0.419	0.451	间 α-胰蛋白酶抑制剂，重链 4 OS=小家鼠 GN=Itih4 PE=1 SV=1
222	1	A0A1B0GRW3	1	0.551	5.757	5.295	0.896	0.823	4.836	6.175	RuvB 样解旋酶(片段) OS=小家鼠 GN=Ruvbl2 PE=1 SV=1

[0500]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
223	1	G3UWL2	1	0.768	1.683	1.493	0.388	0.595	1.853	2.25	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 2A 65 kDa 调节亚基 A α 同工型(片段) OS=小家鼠 GN=Ppp2r1a PE=1 SV=1
224	1	Q8C2Q7	1	0.595	3.223	2.042	0.569	0.469	2.529	3.748	不均一核糖核蛋白 H OS=小家鼠 GN=Hnrnph1 PE=1 SV=1
225	1	B1AWD8	1	1.082	5.08	4.94	0.926	0.939	4.153	6.096	网格蛋白轻链 OS=小家鼠 GN=Clta PE=1 SV=1
226	1	A0A075B5L2	1	1.059	0.519	0.38	1.033	1.01	0.38	0.397	免疫球蛋白 κ 链可变 4-91 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv4-91 PE=4 SV=2
227	1	V9GWY0	1	0.835	2.199	1.811	0.26	0.415	1.626	2.482	40S 核糖体蛋白 S4 OS=小家鼠 GN=Gm15013 PE=3 SV=1
228	1	Q3THK7	1	0.64	1.606	1.179	0.753	0.486	1.36	1.278	GMP 合酶[谷氨酰胺水解] OS=小家鼠 GN=Gmps PE=1 SV=2
229	1	A2AWQ2	1	0.344	1.932	1	0.562	1.199	1.1	0.966	蛋白质 RCC2 (片段) OS=小家鼠 GN=Rcc2 PE=1SV=1
230	1	P60766	1	0.582	2.072	1.481	0.687	0.672	1.104	1.633	细胞分裂控制蛋白 42 同源物 OS=小家鼠 GN=Cdc42 PE=1 SV=2
231	1	A0A087WNS9	1	1.117	4.913	3.616	0.86	0.561	2.397	5.72	淋巴细胞抗原 6E (片段) OS=小家鼠 GN=Ly6e PE=1 SV=6
232	1	A0A1C7ZMZ5	1	0.501	1.013	0.719	0.53	0.708	0.885	0.764	谷胱甘肽过氧化物酶(片段) OS=小家鼠 GN=Gpx3 PE=1 SV=1
233	1	P32233	1	0.352	1.29	0.902	0.186	0.328	1.039	1.249	发育调控的 GTP 结合蛋白 1 OS=Mus musculus GN=Drg1 PE=1 SV=1
234	1	A0A0B4J1I5	1	1.001	0.511	0.404	1.199	1.217	0.361	0.369	免疫球蛋白 κ 链可变 4-70 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv4-70 PE=4 SV=1

[0501]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
235	1	A0A1W2P6P4	1	0.898	4.327	3.723	0.847	1.075	4.47	5.501	RNA 结合蛋白 Nova-1 (片段) OS=小家鼠 GN=Nova1 PE=1 SV=1
236	1	B1AXW5	1	0.844	2.601	2.066	1.097	0.646	3.007	3.446	过氧化物酶 1 (片段) OS=小家鼠 GN=Prdx1 PE=1 SV=8
237	1	A0A140T8V5	1	0.703	2.519	1.723	0.817	0.705	1.221	1.876	增殖细胞核抗原 OS=小家鼠 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	腺苷琥珀酸合成酶同工酶 2 OS=小家鼠 GN=Adss PE=1 SV=2
239	1	A0A075B5J9	1	0.722	0.238	0.317	0.893	0.713	0.152	0.291	免疫球蛋白 κ 可变 17-127 OS=小家鼠 GN=Igkv17-127 PE=4 SV=7
240	1	A0A1B0GRR3	1	0.603	1.916	1.799	1.021	0.306	1.717	1.482	40S 核糖体蛋白 S11 OS=小家鼠 GN=Rps11 PE=1 SV=1
241	1	P01029	1	1.517	2.155	1.795	1.651	1.178	2.882	2.078	补体 C4-B OS=小家鼠 GN=C4b PE=1 SV=3
242	1	A0A087WS46	1	0.95	10.1	6.903	0.715	1.096	6.002	9.535	真核翻译延伸因子 1 β 2 OS=小家鼠 GN=Eef1b2 PE=1 SV=1
243	1	A2A7S7	1	0.715	3.249	2.641	1.017	0.526	2.289	3.412	酪氨酸-tRNA 连接酶 OS=小家鼠 GN=Yars PE=1SV=1
244	1	Q8BHN3	1	0.948	4.175	3.144	0.737	0.752	3.069	4.272	中性 α-葡糖苷酶 AB OS=小家鼠 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 移位酶 2 OS=小家鼠 GN=Slc25a5 PE=1 SV=3
246	1	Q6P5H2	1	0.694	1.281	0.855	1.057	0.684	1.845	0.812	神经上皮干细胞蛋白 OS=小家鼠 GN=Nes PE=1 SV=1

[0502]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
247	1	Q8JZK9	1	0.643	1.079	0.805	0.519	0.506	0.999	1.157	羟甲基戊二酰-CoA 合酶，细胞质 OS=小家鼠 GN=Hmgcsl PE=1 SV=1
248	1	P97310	1	0.553	2.77	1.723	0.608	0.568	2.23	2.508	DNA 复制许可因子 MCM2 OS=小家鼠 GN=Mcm2 PE=1 SV=3
249	1	Q91VB8	1	0.67	2.657	1.646	0.622	0.569	2.44	3.115	α 球蛋白 1 OS=小家鼠 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	细胞质动力蛋白 1 重链 1 OS=小家鼠 GN=Dync1h1 PE=1 SV=2
251	1	Q8BP47	1	0.256	1.381	0.972	0.208	0.29	1.067	1.751	天冬酰胺--tRNA 连接酶，细胞质 OS=小家鼠 GN=Nars PE=1 SV=2
252	1	Q9Z1F9	1	0.795	1.577	1.046	0.5	0.754	1.08	1.258	SUMO-激活酶亚基 2 OS=小家鼠 GN=Uba2 PE=1 SV=1
253	1	A2AAW9	1	0.748	2.627	1.897	1.018	1.212	1.731	2.578	真核翻译起始因子 2 亚基 3，X 连锁 OS=小家鼠 GN=Eif2s3x PE=1 SV=1
254	1	P11103	1	0.423	3.322	2.828	0.731	0.485	2.75	2.51	聚[ADP-核糖]聚合酶 1 OS=小家鼠 GN=Parp1 PE=1 SV=3
255	1	A0A075B5Y1	1	0.78	0.601	0.484	0.775	0.682	0.267	0.528	免疫球蛋白重可变 V1-74 OS=小家鼠 GN=Ighv1-74 PE=4 SV=1
256	1	G3UXL2	1	1.318	6.131	5.212	1.095	1.168	3.681	7.362	磷酸核糖焦磷酸合成酶 1 样 3 OS=小家鼠 GN=Prps1l3 PE=3 SV=1
257	1	Q9CR49	1	0.622	1.032	5.211	0.773	0.779	0.758	5.878	球蛋白 b1 OS=小家鼠 GN=Hbb-y PE=1 SV=1
258	1	A0A140T8M5	1	0.759	0.557	0.499	1.163	1.017	0.441	0.596	免疫球蛋白 κ 可变 6-15 (片段) OS=小家鼠 GN=Igkv6-15 PE=1 SV=2

[0503]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
259	1	A0A0A0MQ68	1	0.497	1.552	1.494	0.202	0.33	1.788	2.288	谷氨酰辅酶 A 脱氢酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Gcdh PE=1 SV=1
260	1	A0A087WP86	1	0.137	1.201	0.946	0.234	---	1.135	1.151	肌动蛋白相关蛋白 3 (片段) OS=小家鼠 GN=Actr3 PE=1 SV=1
261	1	A0A075B5K9	1	0.708	1.305	0.869	1.045	0.949	2.026	0.941	免疫球蛋白 κ 可变 12-98 OS=小家鼠 GN=Igkv12-98 PE=4 SV=7
262	1	Q63870	1	0.762	8.637	8.601	2.41	0.796	11.59	10.74	胶原蛋白 α-1 (VII)链 OS=小家鼠 GN=Col7a1 PE=1 SV=3
263	1	S4R1I6	1	0.583	1.989	1.672	0.757	0.557	1.714	2.148	MCG2872，同工型 CRA_b OS=小家鼠 GN=Ddx5 PE=1 SV=1
264	1	Q9QXK3	1	0.239	1.444	1.214	0.308	0.374	1.218	1.822	外被体亚基 γ-2 OS=小家鼠 GN=Copg2 PE=1 SV=1
265	1	Q9DBM2	1	0.647	2.24	1.909	0.715	0.636	1.734	2.203	过氧化物酶体双功能酶 OS=小家鼠 GN=Ehhadh PE=1 SV=4
266	1	A0A075B6D5	1	0.439	0.689	0.46	0.664	0.645	0.462	0.51	免疫球蛋白 κ 链可变 19-93 OS=小家鼠 GN=Igkv19-93 PE=1 SV=7
267	1	Q921M3	1	0.66	1.836	1.273	0.455	0.587	1.506	2.593	剪接因子 3B 亚基 3 OS=小家鼠 GN=Sf3b3 PE=1 SV=1
268	1	A0A075B5L4	1	1.021	2.049	1.249	1.053	0.897	2.002	2.169	免疫球蛋白 κ 链可变 12-89 OS=小家鼠 GN=Igkv12-89 PE=4 SV=7
269	1	G3UY93	1	0.304	4.516	3.545	0.504	0.606	4.105	4.936	缬氨酸--tRNA 连接酶(片段) OS=小家鼠 GN=Vars PE=1 SV=1
270	1	D3YW60	1	0.571	1.2	1.144	0.445	0.538	1.162	1.567	RuvB 样解旋酶(片段) OS=小家鼠 GN=Ruvbll PE=1 SV=1

[0504]

家族	成员	UniProt_小鼠登录号	25 0H NS19	25 8H NS19	25 0H 5B1	25 8H 5B1	23 0H NS19	23 8H NS19	23 0H 5B1	23 8H 5B1	描述
271	1	Q9CZD3	1	0.609	2.335	1.447	0.583	0.699	1.325	1.647	甘氨酸--tRNA 连接酶 OS=小家鼠 GN=Gars PE=1 SV=1
272	1	Q9D892	1	1.197	1.796	1.328	1.036	1.643	1.366	1.483	肌苷三磷酸焦磷酸酶 OS=小家鼠 GN=Itpa PE=1 SV=2
273	1	E9Q0U7	1	0.687	2.999	2.083	0.529	0.738	2.032	2.387	热休克蛋白 105 kDa OS=小家鼠 GN=Hsphl PE=1 SV=1
274	1	Q9D8E6	1	0.982	1.863	0.85	1.229	0.873	1.51	2.251	60S 核糖体蛋白 L4 OS=小家鼠 GN=Rp14 PE=1 SV=3
275	1	A0A075B5V8	1	0.826	0.303	0.151	1.223	0.752	0.083	0.095	免疫球蛋白重可变 1-47 OS=小家鼠 GN=Ighv1-47 PE=4 SV=1
276	1	Q9EQH3	1	0.506	1.431	1.263	0.444	0.434	1.231	1.506	液泡蛋白分选相关蛋白 35 OS=小家鼠 GN=Vps35 PE=1 SV=1
277	1	Q8K2G4	1	0.318	1.008	0.544	0.324	0.345	0.755	0.899	Bardet-Biedl 综合征 7 蛋白同源物 OS=小家鼠 GN=Bbs7 PE=1 SV=1
278	1	P32261	1	0.572	1.315	1.028	0.633	0.309	1.164	1.288	抗凝血酶 III OS=小家鼠 GN=Serpincl PE=1 SV=1
279	1	Q9D964	1	0.56	2.718	2.328	1.064	0.883	2.362	2.36	甘氨酸胲基转移酶，线粒体 OS=小家鼠 GN=Gatm PE=1 SV=1
280	1	A0A075B5Q5	1	1.001	4.747	3.097	2.198	1.585	7.816	4.239	免疫球蛋白重可变 2-9 (片段) OS=小家鼠 GN=Ighv2-9 PE=4 SV=1
281	1	A0A1W2P6F6	1	0.732	2.193	1.027	0.764	0.857	1.399	1.959	肌球蛋白轻多肽 6 OS=小家鼠 GN=Myl6 PE=1 SV=1

[0505] 糖基化失衡在人类疾病中已被普遍描述,但聚糖变化在介导疾病中的生物作用尚未得到充分探讨。虽然CA19-9升高与胰腺炎有关,但先前尚未认为其直接导致疾病发病。

CA19-9表达在小鼠中诱发和延续胰腺炎的能力表明,这种聚糖表位及其下游效应子途径可能代表解决胰腺炎和预防胰腺肿瘤发生的新治疗策略。目前,尽管有发病和胰腺癌的风险,但胰腺炎患者的治疗选择仍然有限。本文提供的抗CA19-9抗体(Sawada,R.等Clin Cancer Res 17,1024-1032(2011),其在此以引用的方式整体并入)可促进CA19-9靶向疗法快速转化为胰腺癌患者的临床治疗。

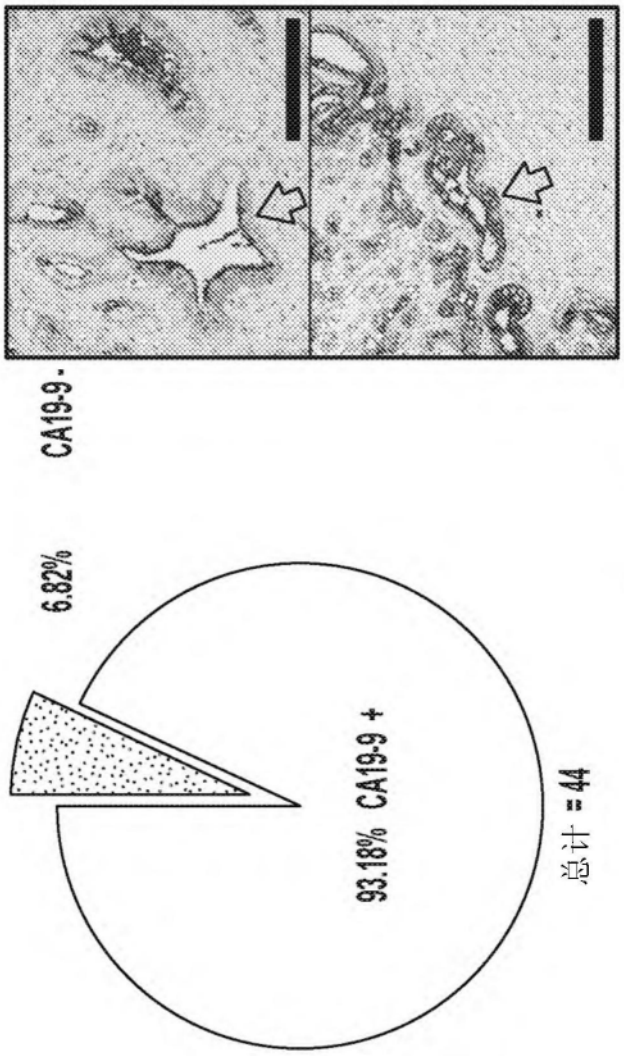


图1A

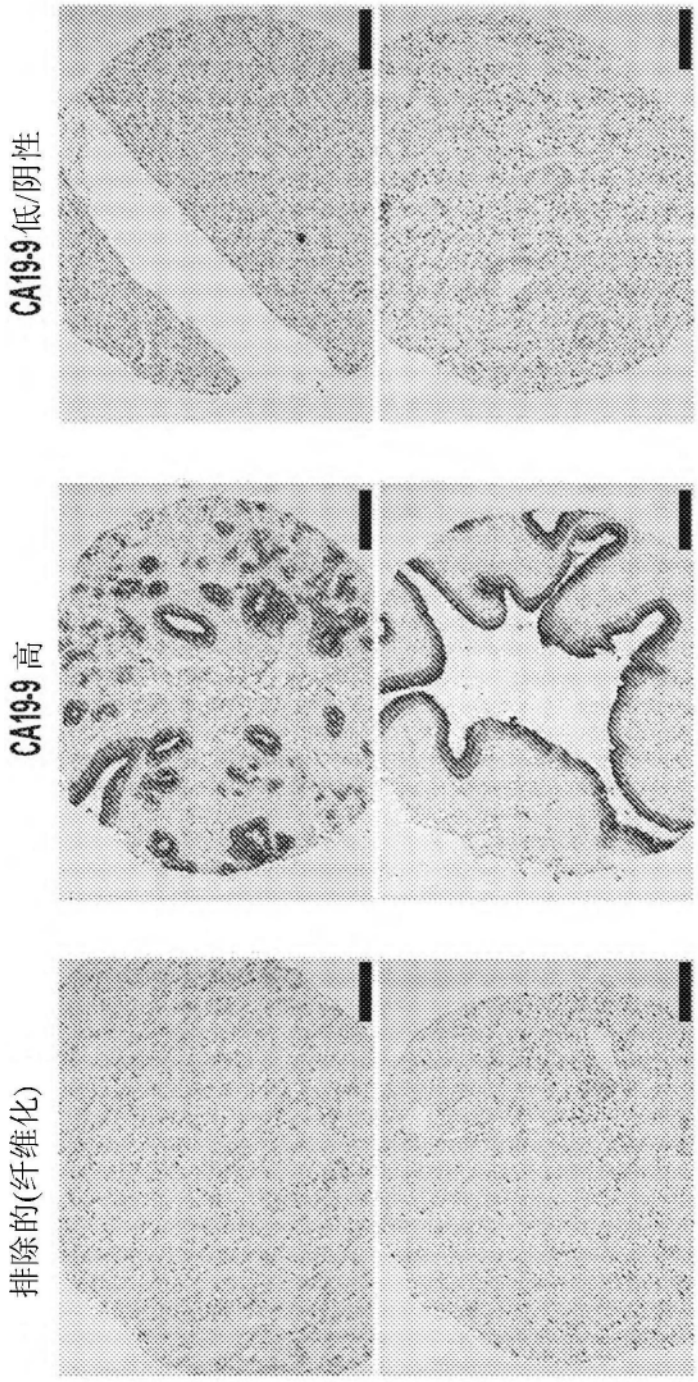


图1B

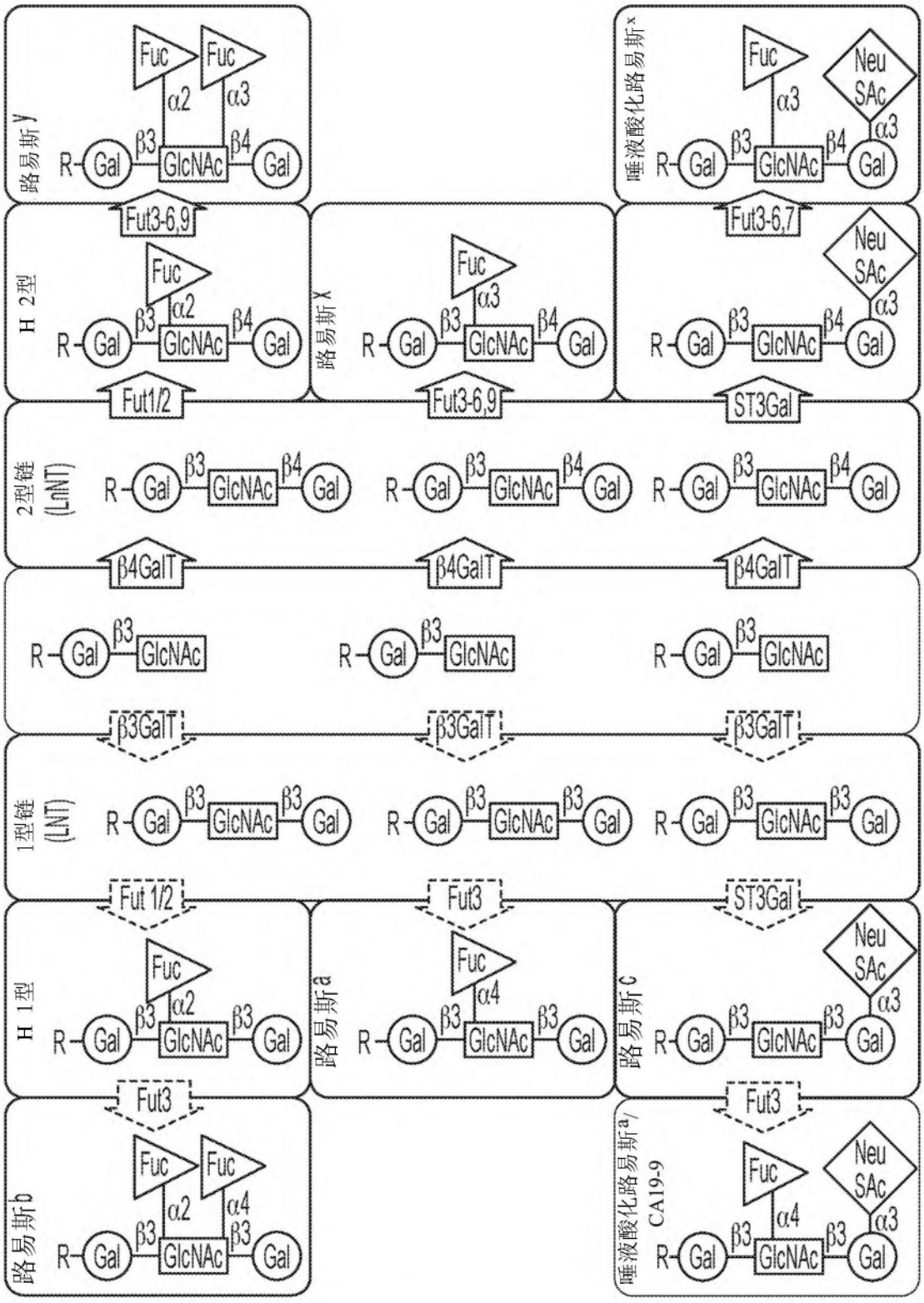

路易斯 y
Fuc
Fuc
α2
α3
R-Gal β3 GlcNAc β4 Gal
Fut3-6,9
H 2型
Fuc
α2
R-Gal β3 GlcNAc β4 Gal
Fut1/2
2型链 (LnNT)
R-Gal β3 GlcNAc β4 Gal
β4GalT
R-Gal β3 GlcNAc
β3GalT
1型链 (LNT)
R-Gal β3 GlcNAc β3 Gal
Fut 1/2
H 1型
Fuc
α2
R-Gal β3 GlcNAc β3 Gal
Fut3
路易斯b
Fuc
Fuc
α2
α4
R-Gal β3 GlcNAc β3 Gal
路易斯 x
Fuc
α3
R-Gal β3 GlcNAc β4 Gal
Fut3-6,9
路易斯a
Fuc
α4
R-Gal β3 GlcNAc β3 Gal
Fut3
唾液酸化路易斯 x
Fuc
Neu SAc
α3
α3
R-Gal β3 GlcNAc β4 Gal
Fut3-6,7
Neu SAc
α3
R-Gal β3 GlcNAc β4 Gal
ST3Gal
R-Gal β3 GlcNAc β3 Gal
ST3Gal
路易斯c
Neu SAc
α3
R-Gal β3 GlcNAc β3 Gal
Fut3
唾液酸化路易斯a/ CA19-9
Fuc
Neu SAc
α4
α3
R-Gal β3 GlcNAc β3 Gal

图1C

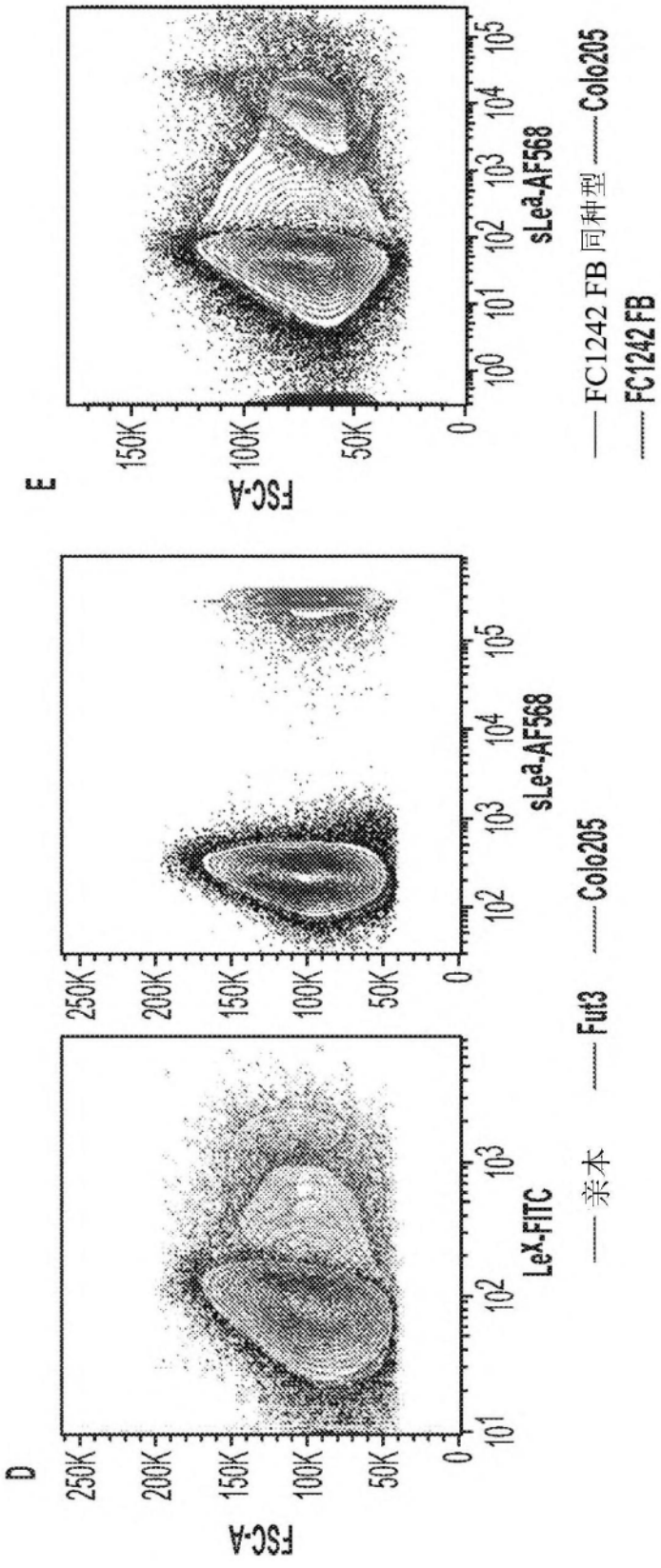

D
E
FSC-A
250K
200K
150K
100K
50K
0
LeX-FITC
sLe^a-AF568
—— 亲本
—— Fut3
—— Colo205
—— FC1242 FB 同种型
—— Colo205
—— FC1242 FB

图1D图1E

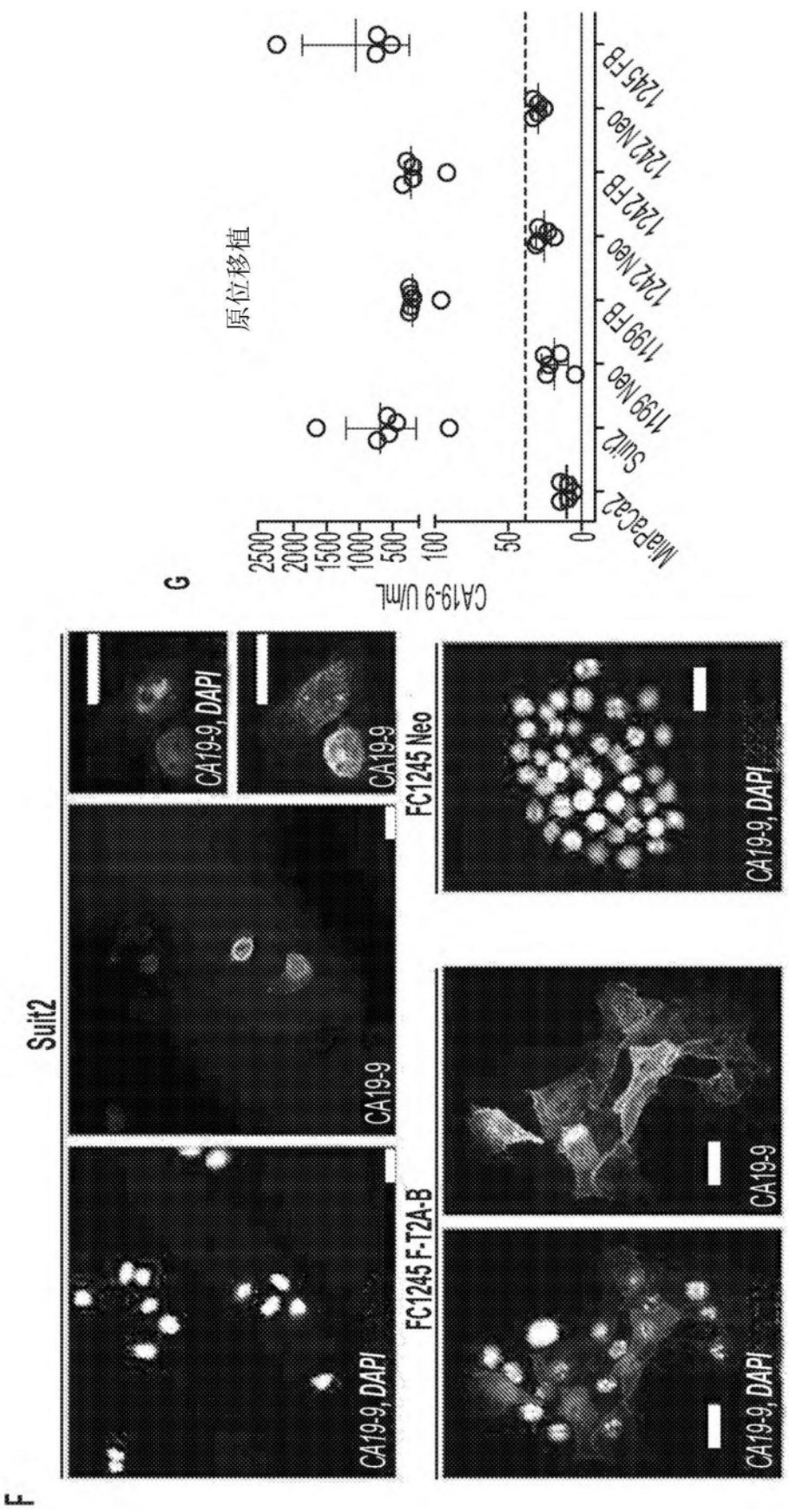

F
Suit2
CA19-9, DAPI
CA19-9
FC1245 F-T2A-B
CA19-9, DAPI
CA19-9
FC1245 Neo
CA19-9, DAPI
CA19-9
G
原位移植
CA19-9 U/mL
2500
2000
1500
1000
500
100
50
0
MiaPaCa2
Suit2
1199 Neo
1199 FB
1242 Neo
1242 FB
1242 Neo
1245 FB

图1F图1G

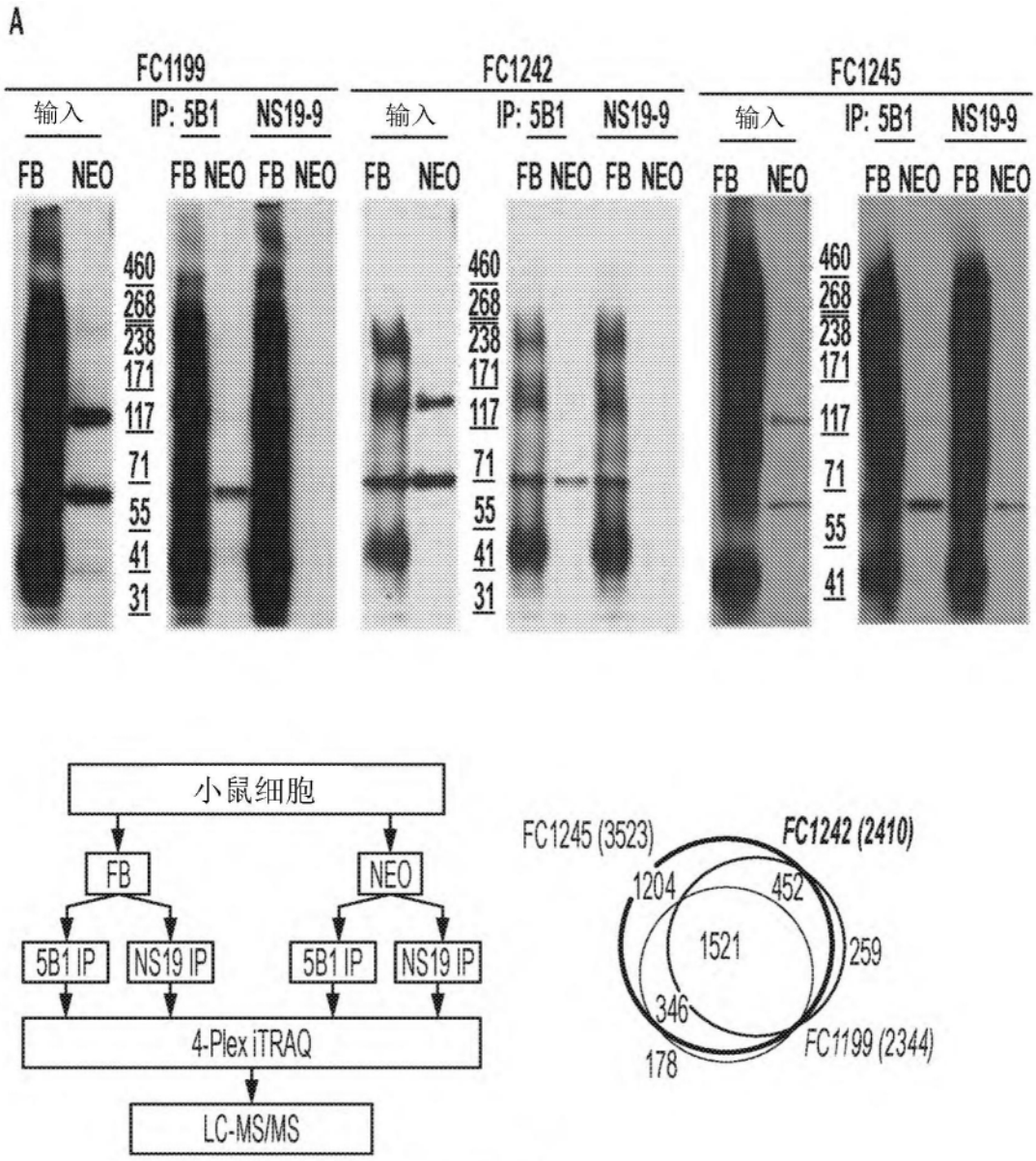

A
FC1199
FC1242
FC1245
输入
IP: 5B1
NS19-9
FB
NEO
460
268
238
171
117
71
55
41
31
小鼠细胞
FB
NEO
5B1 IP
NS19 IP
4-Plex iTRAQ
LC-MS/MS
FC1245 (3523)
FC1242 (2410)
FC1199 (2344)
1204
452
1521
259
346
178

图2A

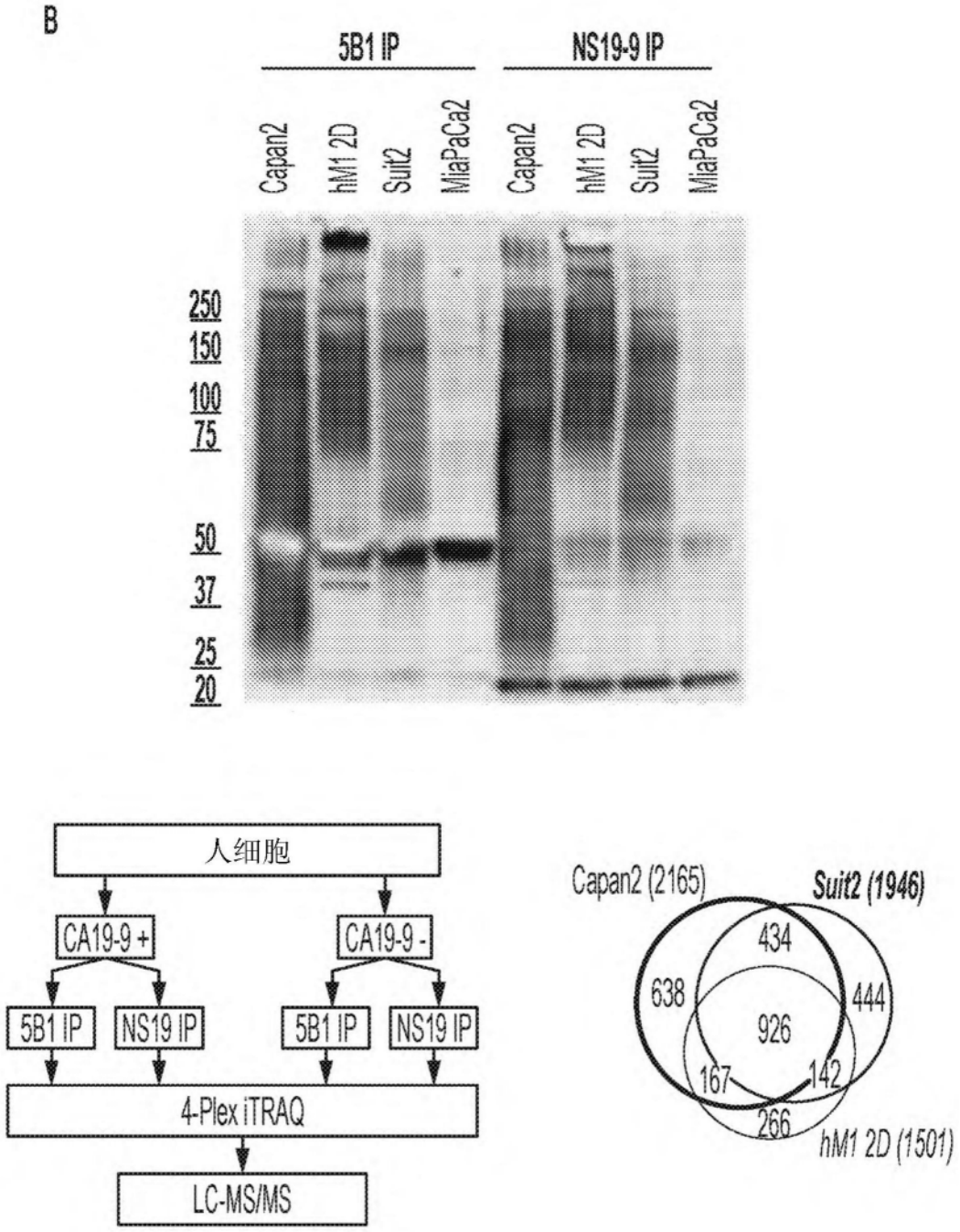

B
5B1 IP
NS19-9 IP
Capan2
hM1 2D
Suit2
MiaPaCa2
Capan2
hM1 2D
Suit2
MiaPaCa2
250
150
100
75
50
37
25
20
人细胞
CA19-9 +
CA19-9 -
5B1 IP
NS19 IP
5B1 IP
NS19 IP
4-Plex iTRAQ
LC-MS/MS
Capan2 (2165)
Suit2 (1946)
434
638
444
926
167
142
266
hM1 2D (1501)

图2B

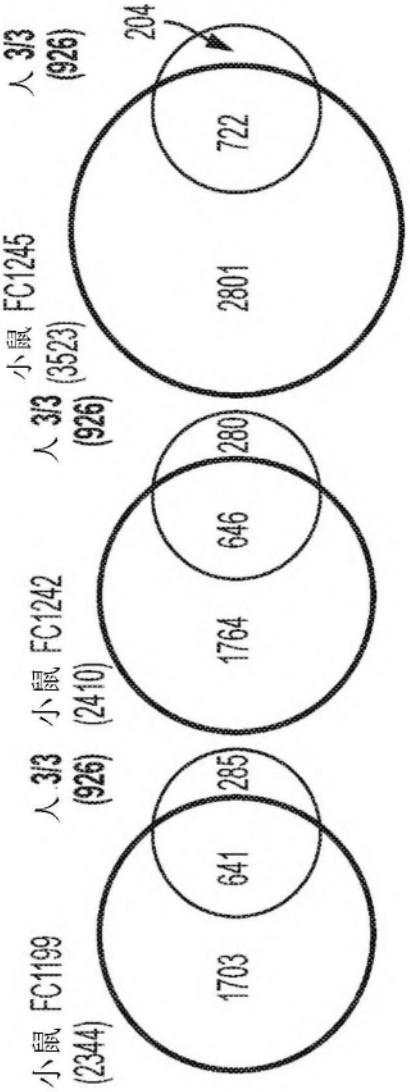

人 3/3
(926)
204
722
小鼠 FC1245
(3523)
2801
人 3/3
(926)
280
646
小鼠 FC1242
(2410)
1764
人 3/3
(926)
285
641
小鼠 FC1199
(2344)
1703

图2C

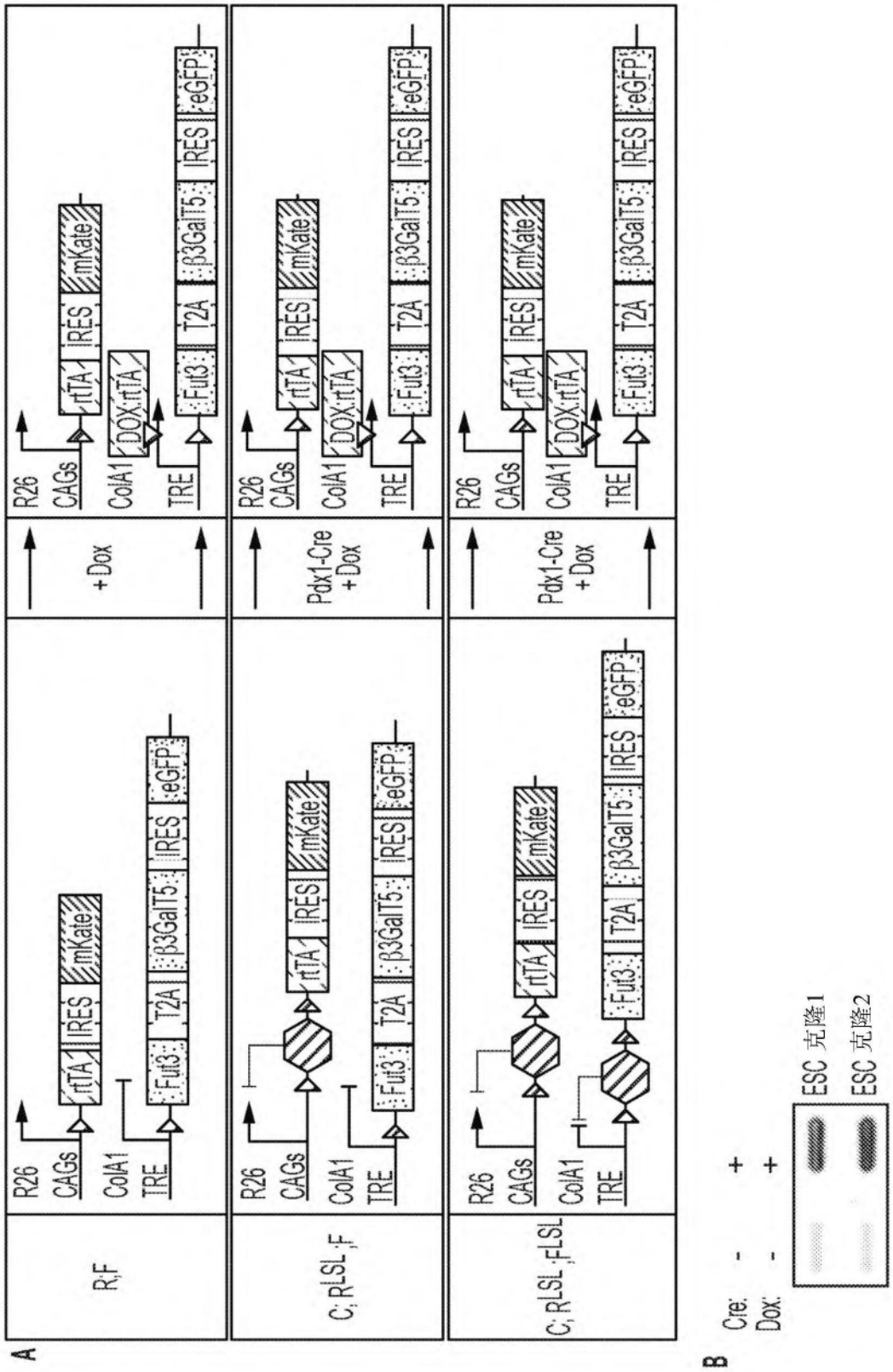

A
R;F
C;RLSL;F
C;RLSL;FLSL
R26
CAGs
ColA1
TRE
rtTA
IRES
mKate
Fut3::
T2A
β3GalT5::
eGFP
DOX:rtTA
+Dox
Pdx1-Cre
+Dox
B
Cre:
Dox:
ESC 克隆1
ESC 克隆2

图3

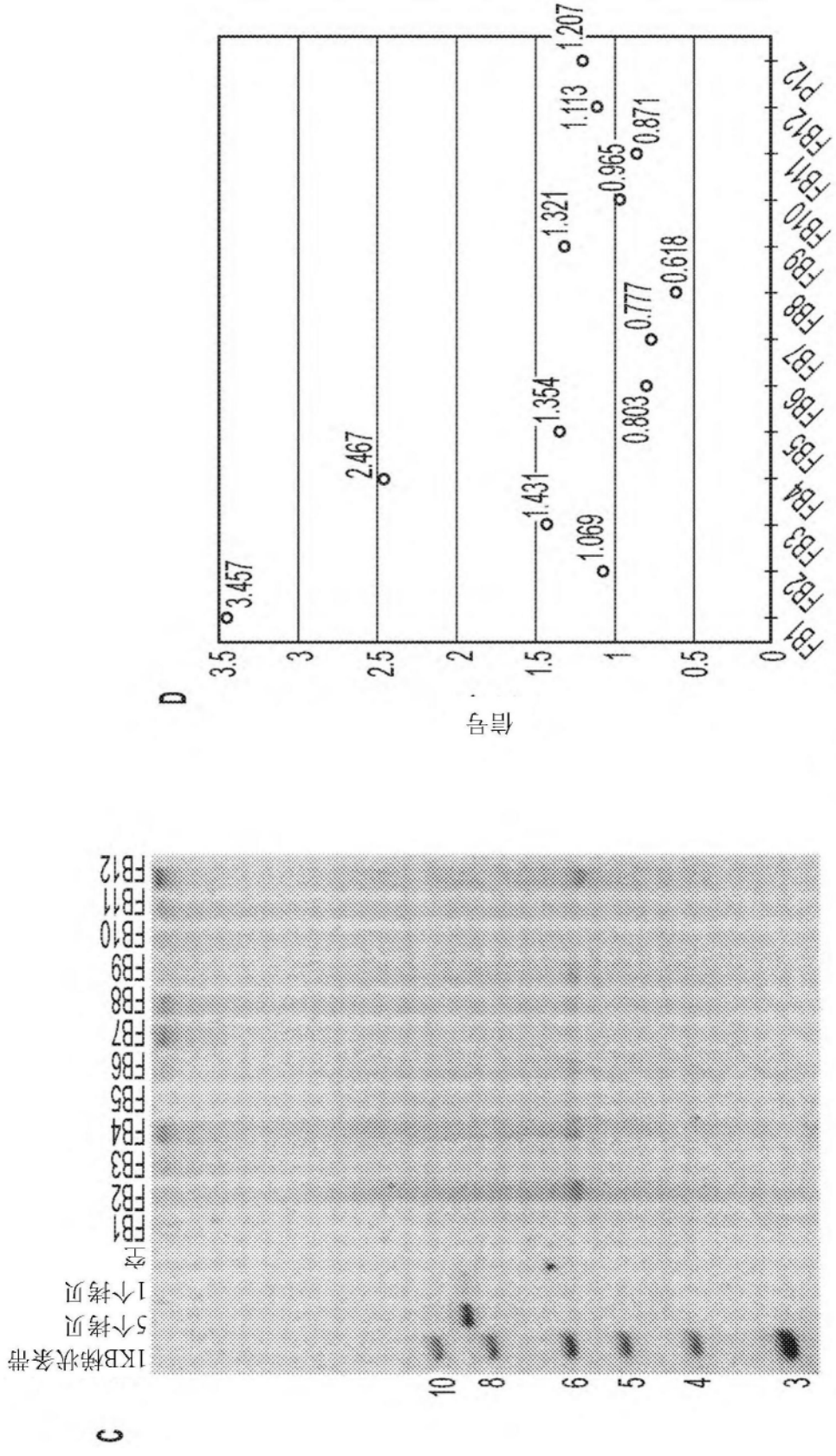

C
1KB梯状条带
5个拷贝
1个拷贝
空
FB1
FB2
FB3
FB4
FB5
FB6
FB7
FB8
FB9
FB10
FB11
FB12
10
8
6
5
4
3
D
信号
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
3.457
2.467
1.431
1.354
1.069
1.321
0.803
0.965
0.777
1.113
0.618
0.871
1.207
FB1
FB2
FB3
FB4
FB5
FB6
FB7
FB8
FB9
FB10
FB11
FB12
P12

图3(续)

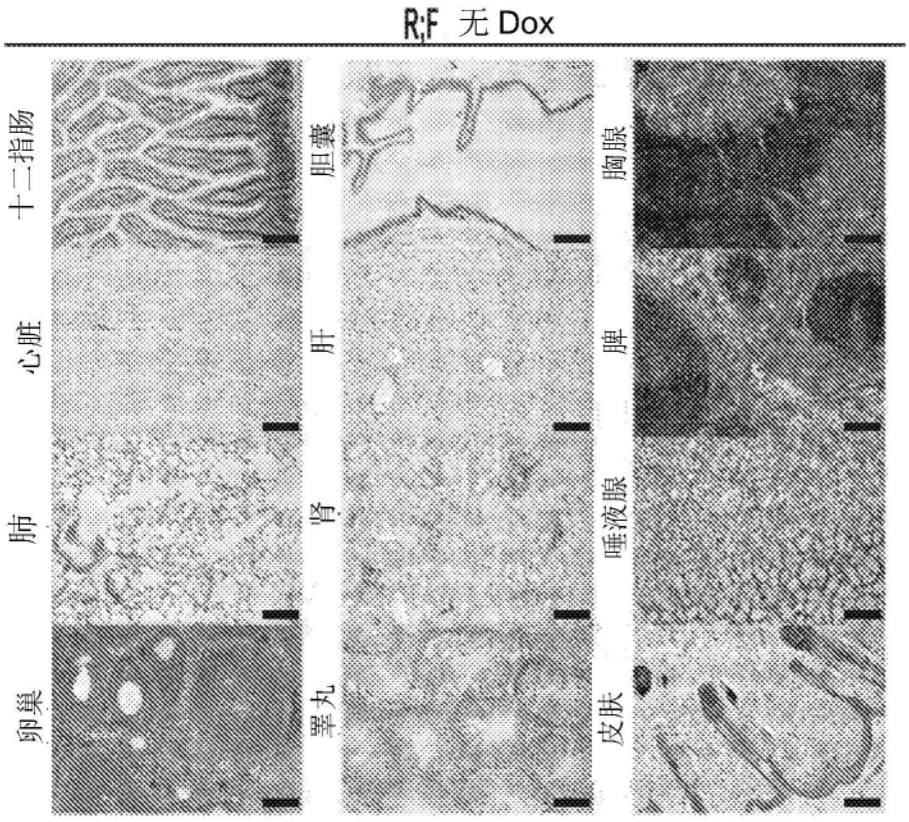


图4

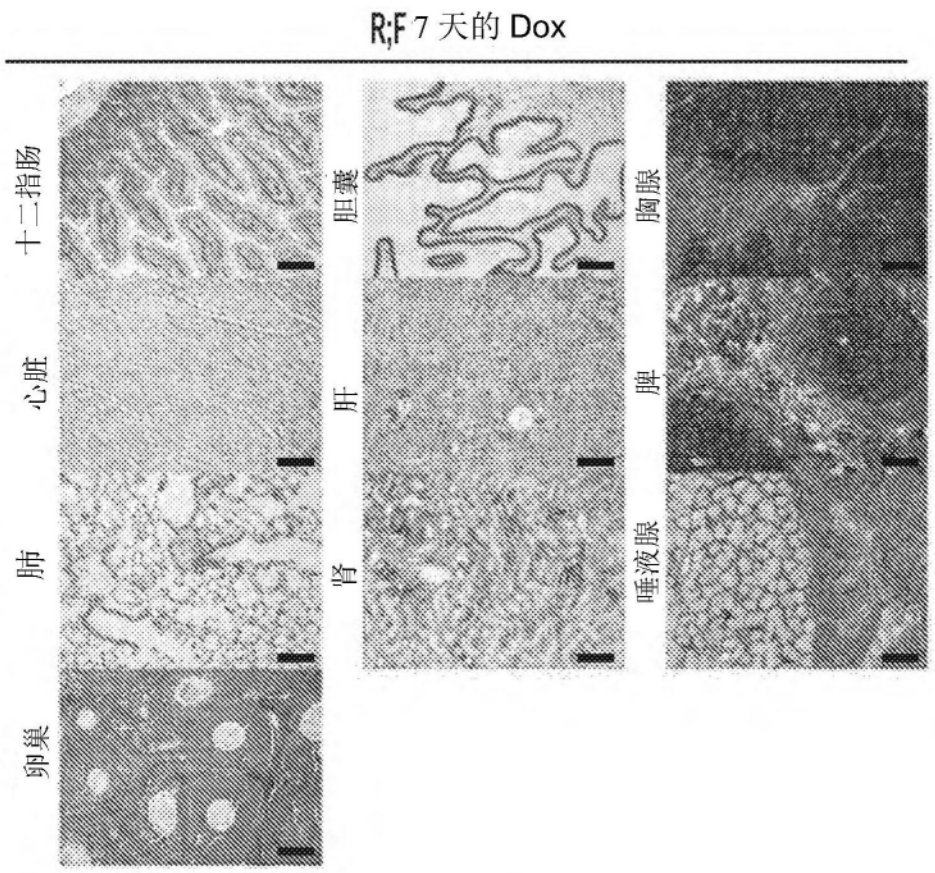


图5

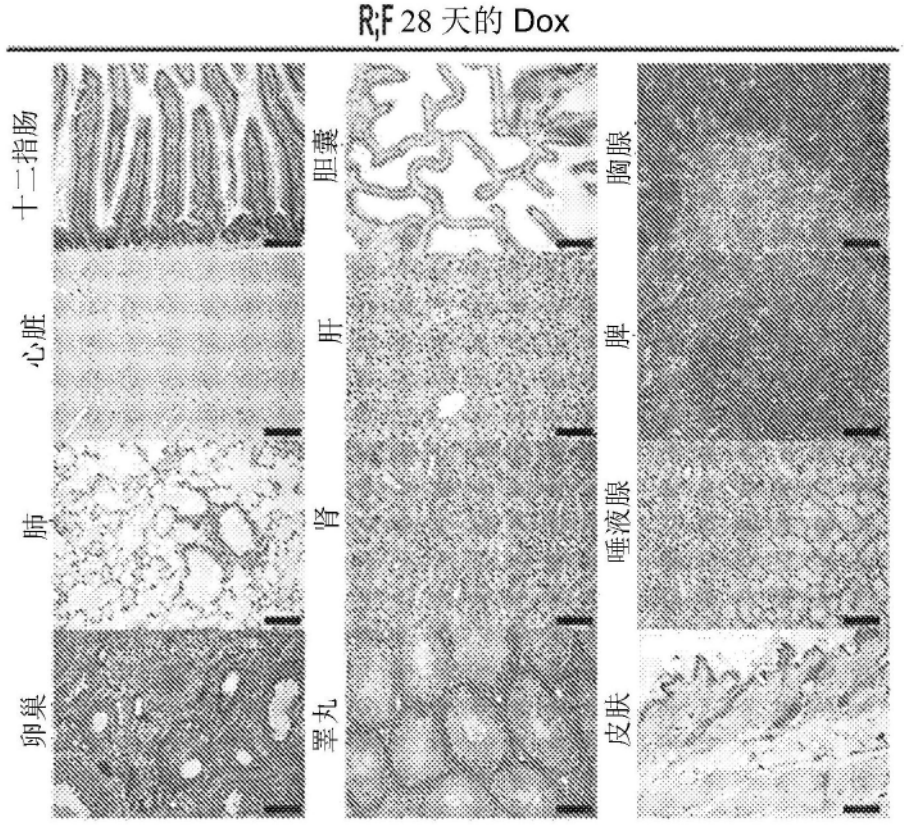


图6

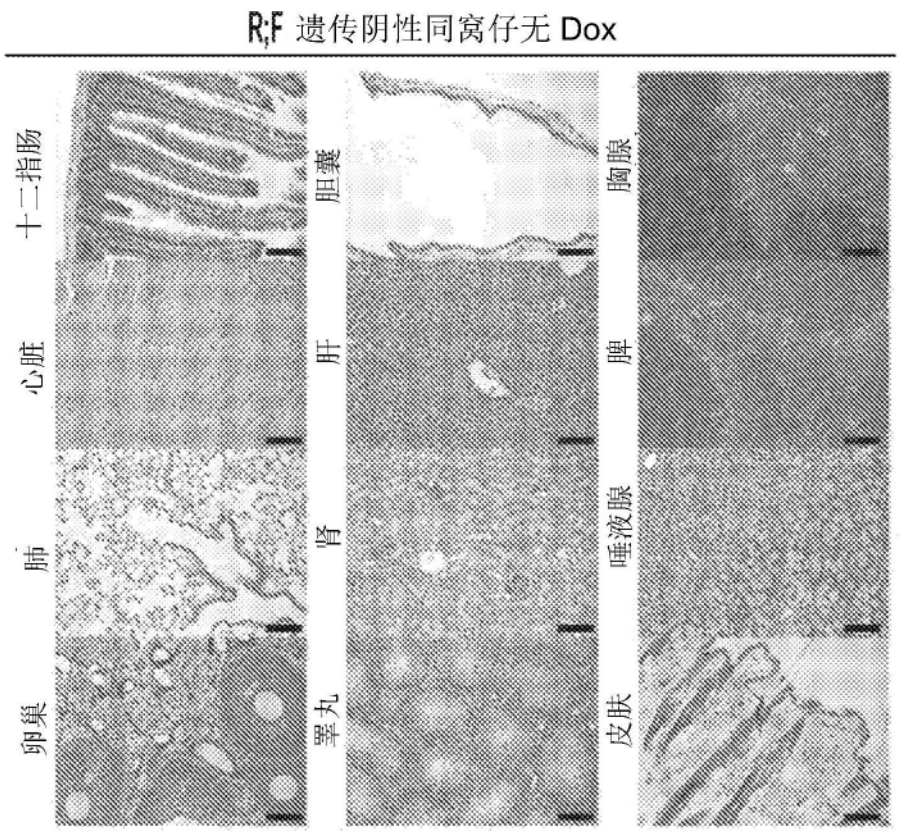

R1F 遗传阴性同窝仔无 Dox
十二指肠
心脏
肺
卵巢
胆囊
肝
肾
睾丸
胸腺
脾
唾液腺
皮肤

图7

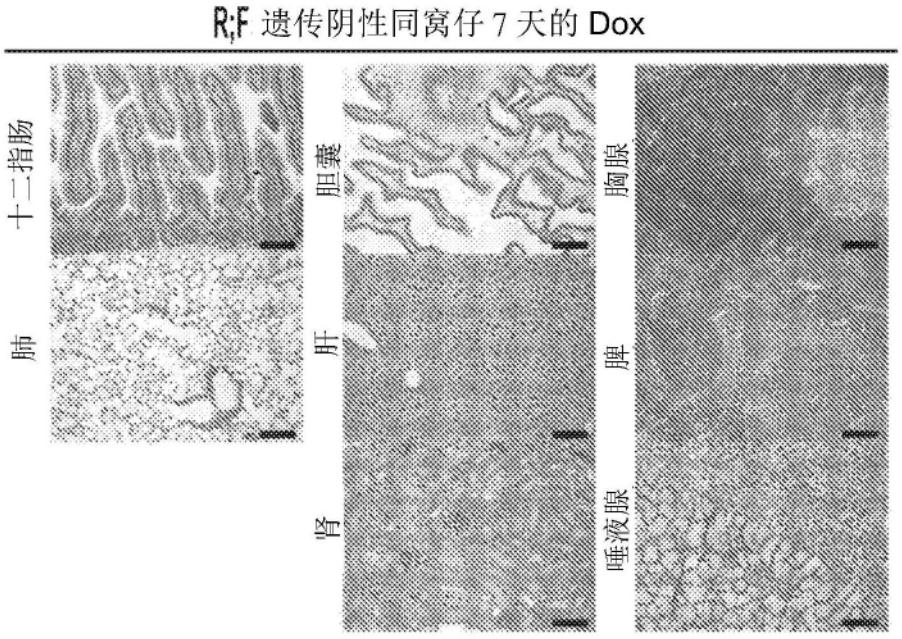

R1F 遗传阴性同窝仔 7 天的 Dox
十二指肠
肺
胆囊
肝
肾
胸腺
脾
唾液腺

图8

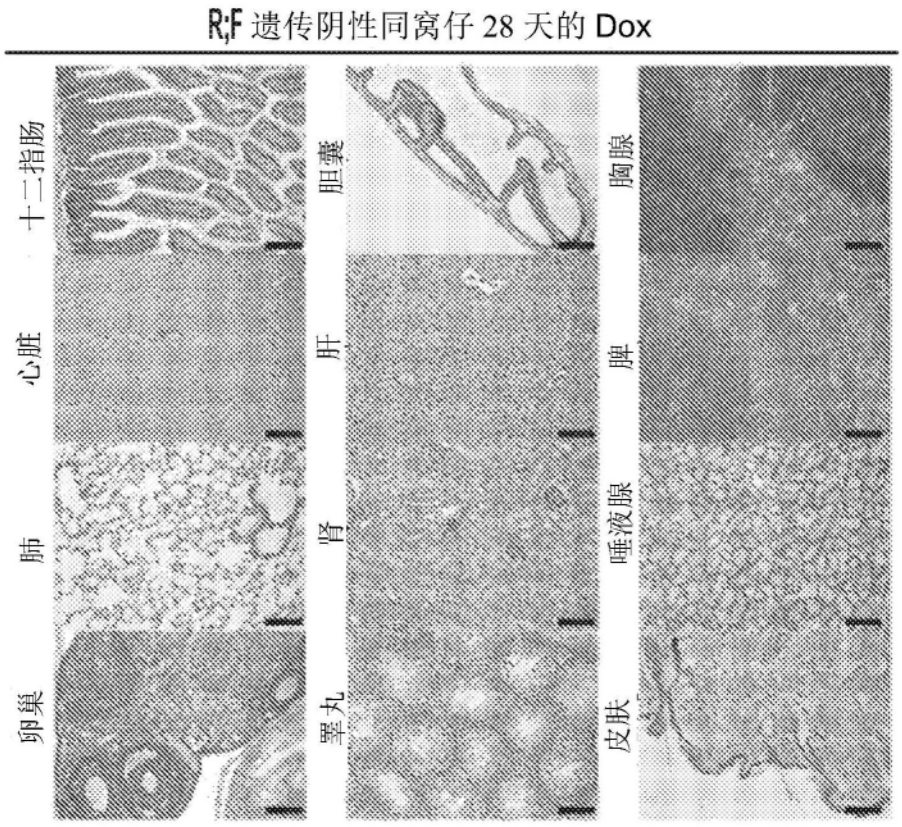


图9

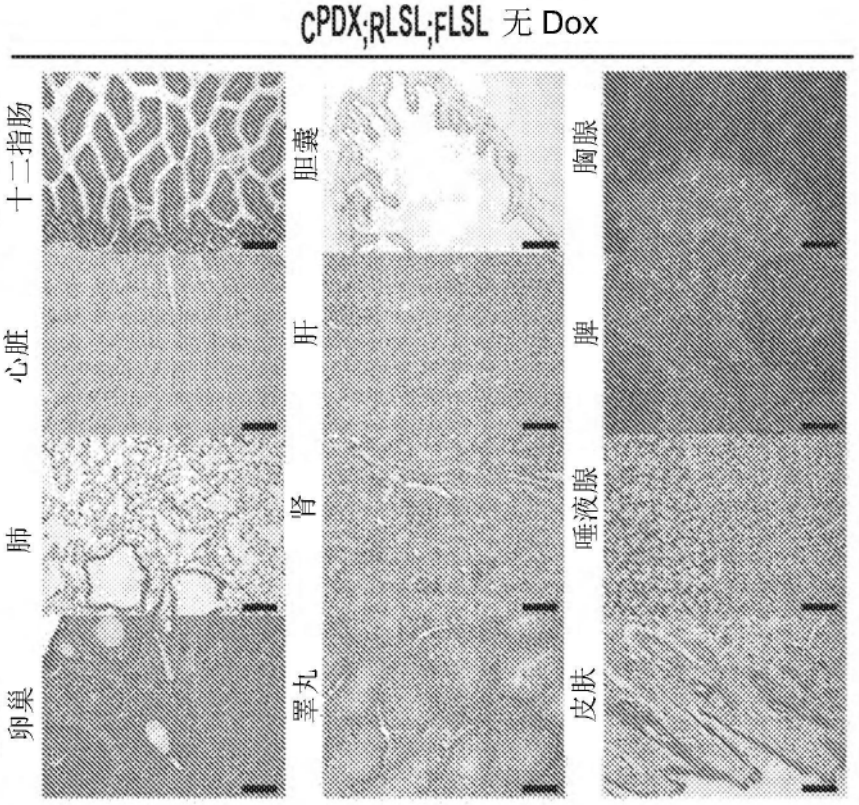


图10

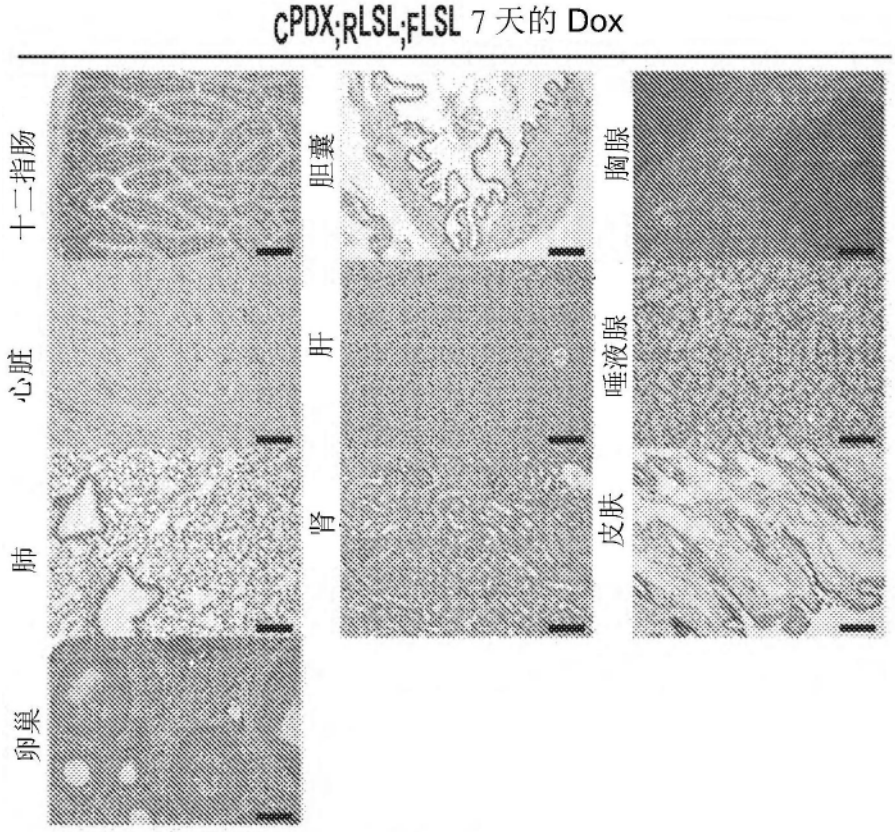


图11

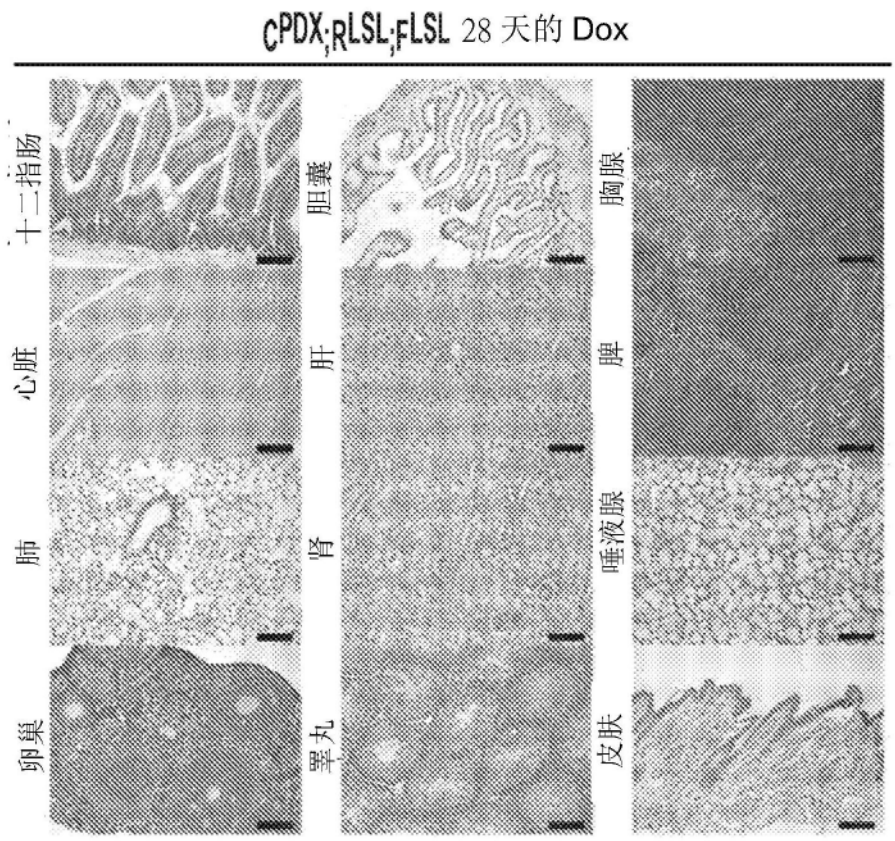


图12

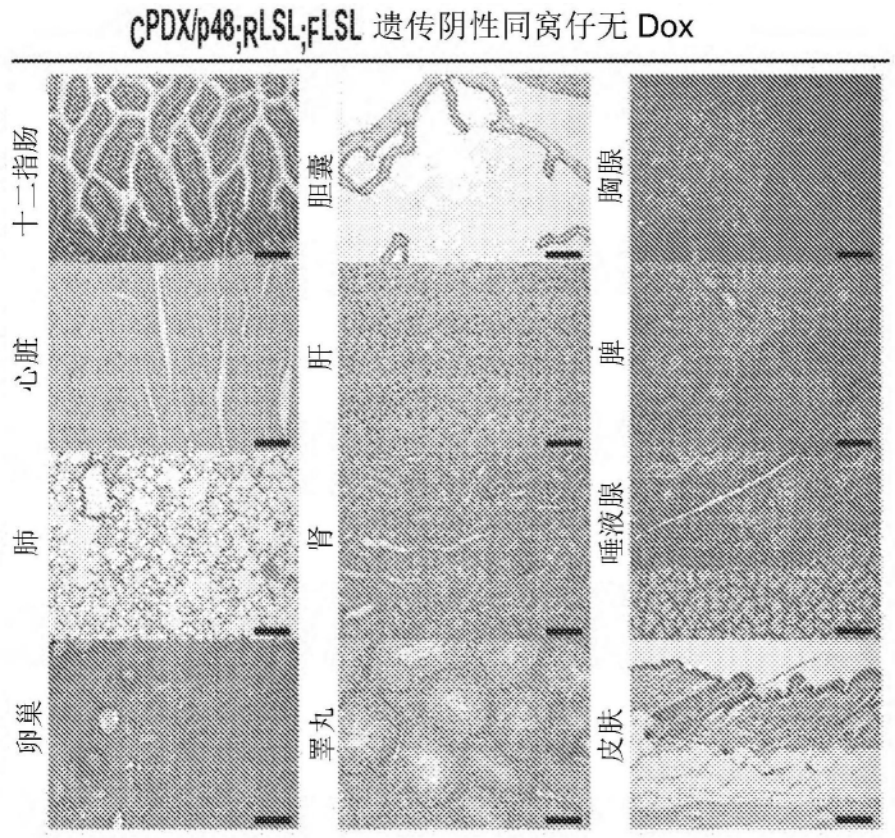


图13

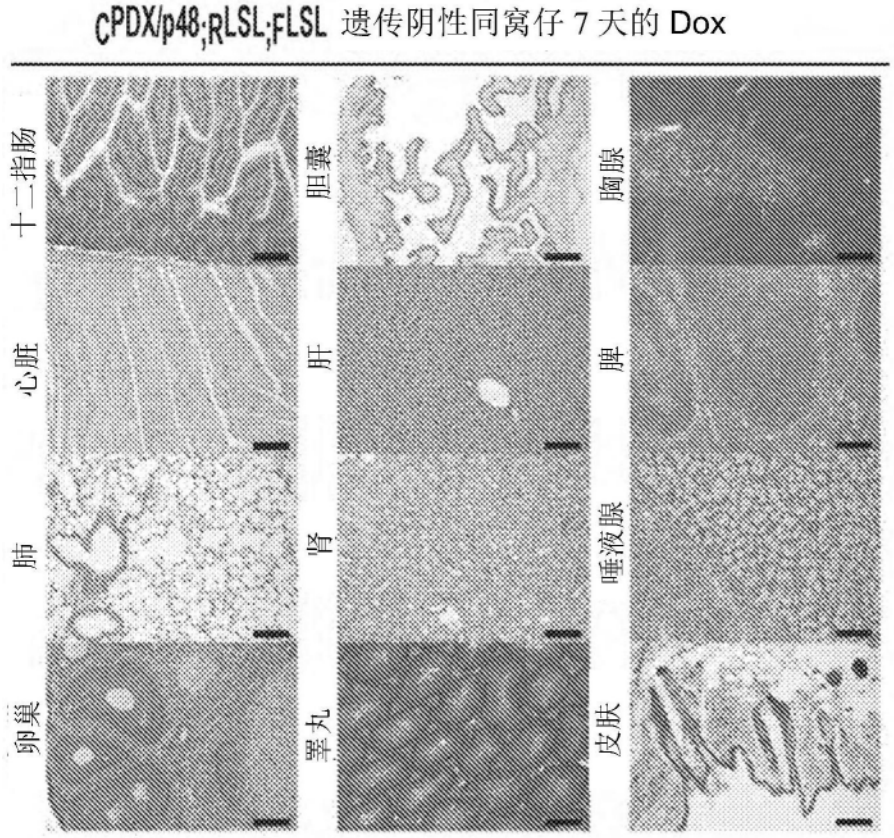

CPDX/p48;RLSL;FLSL 遗传阴性同窝仔 7 天的 Dox
十二指肠
胆囊
胸腺
心脏
肝
脾
肺
肾
唾液腺
卵巢
睾丸
皮肤

图14

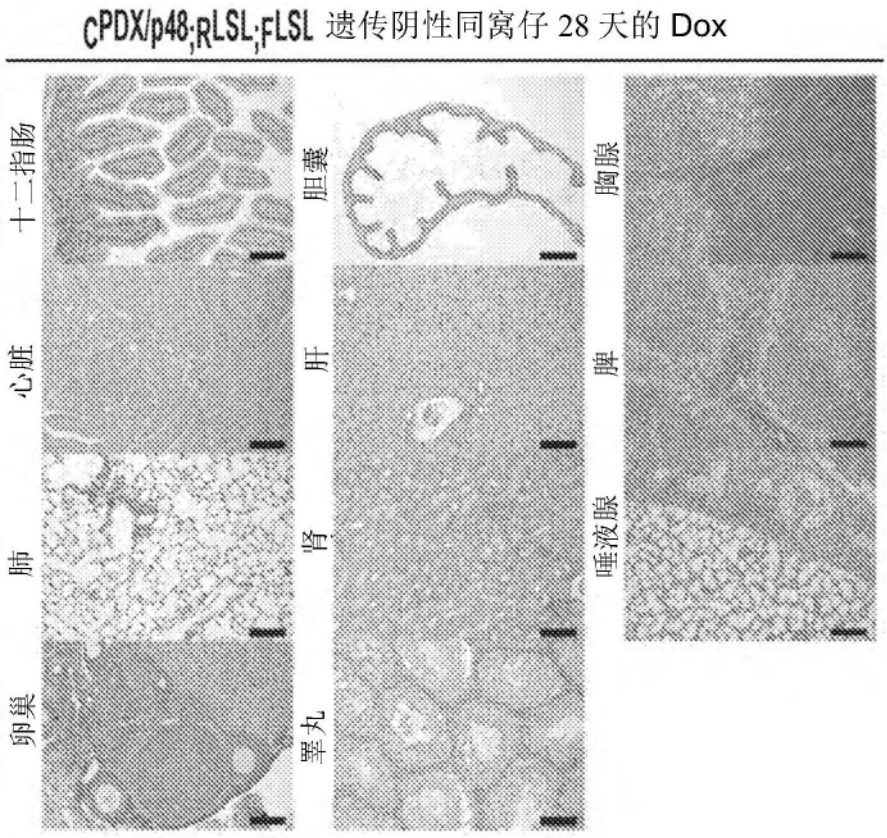

CPDX/p48;RLSL;FLSL 遗传阴性同窝仔 28 天的 Dox
十二指肠
心脏
肺
卵巢
胆囊
肝
肾
睾丸
胸腺
脾
唾液腺

图15

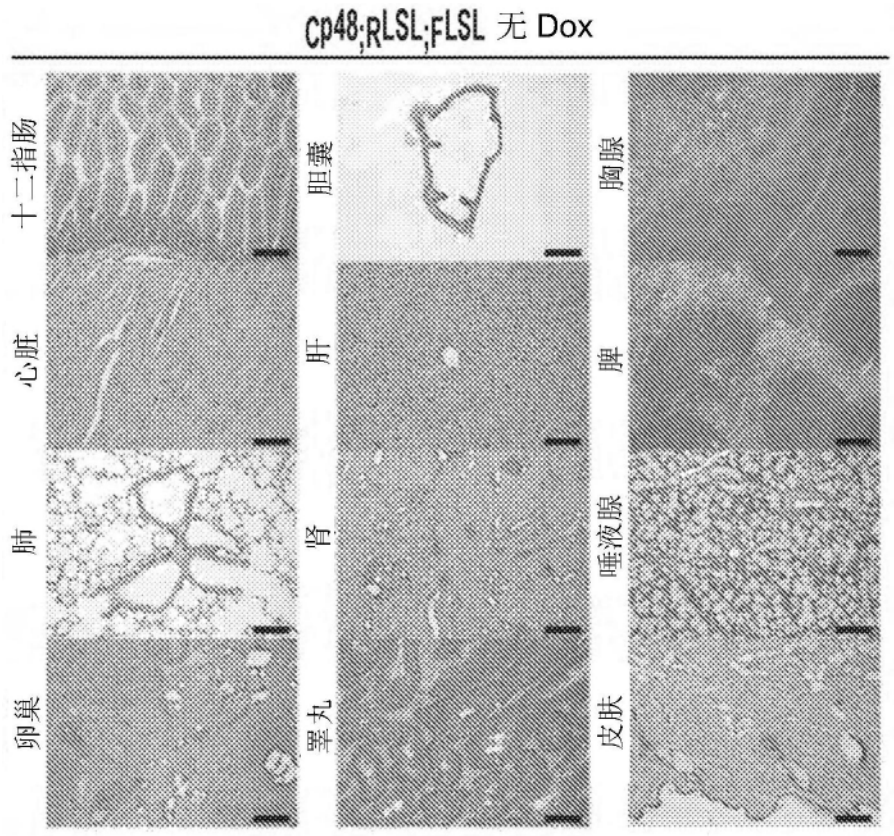


图16

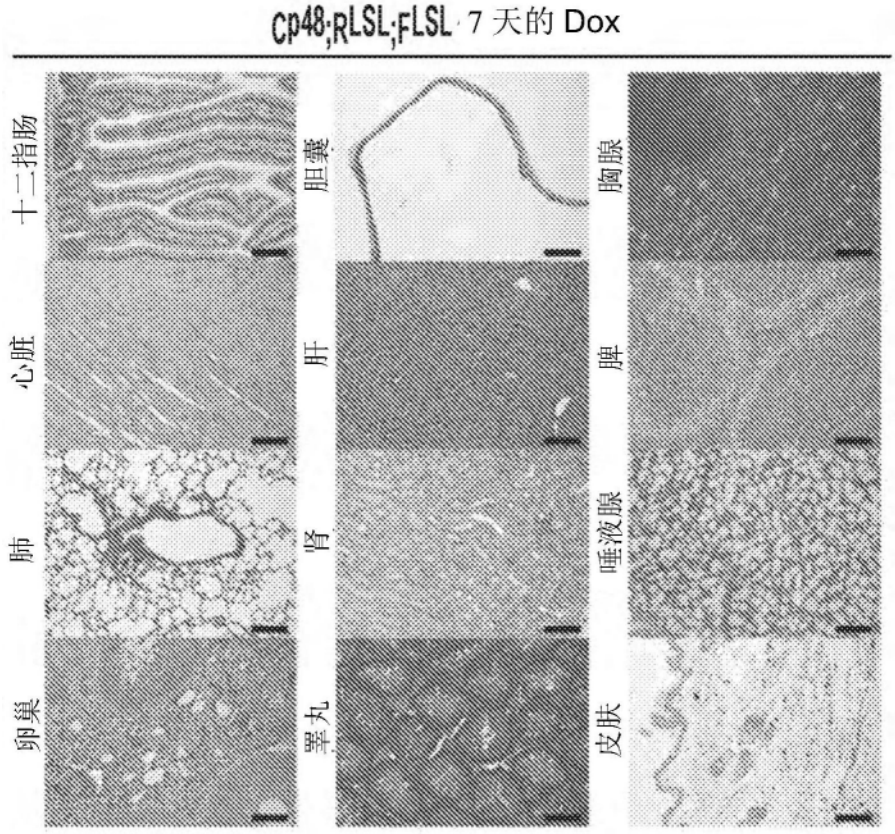


图17

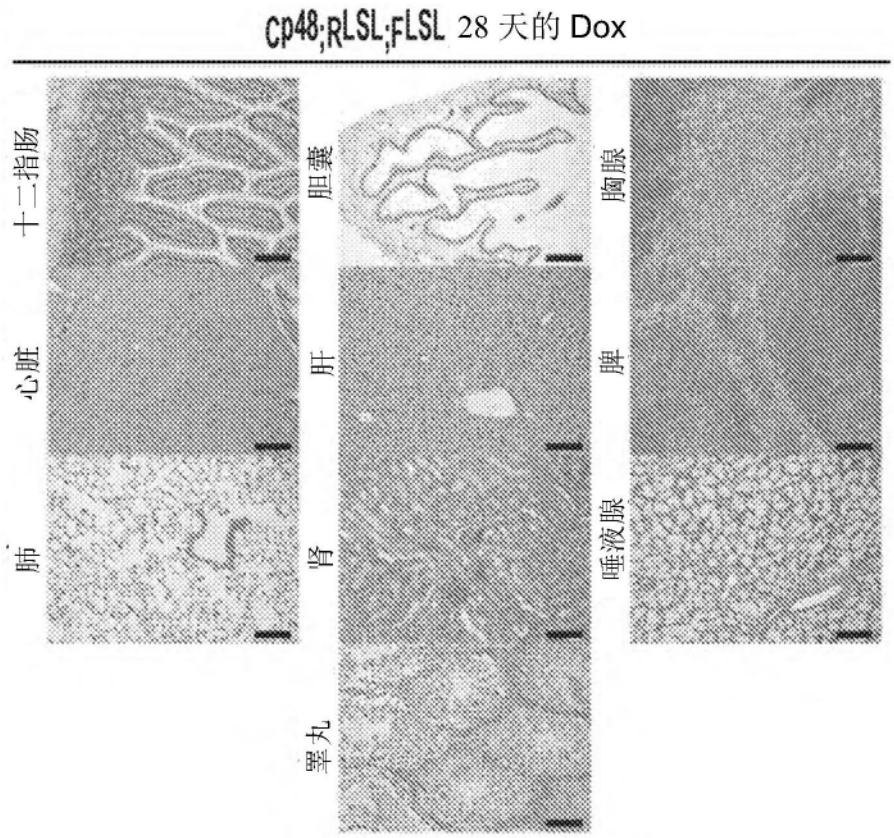


图18

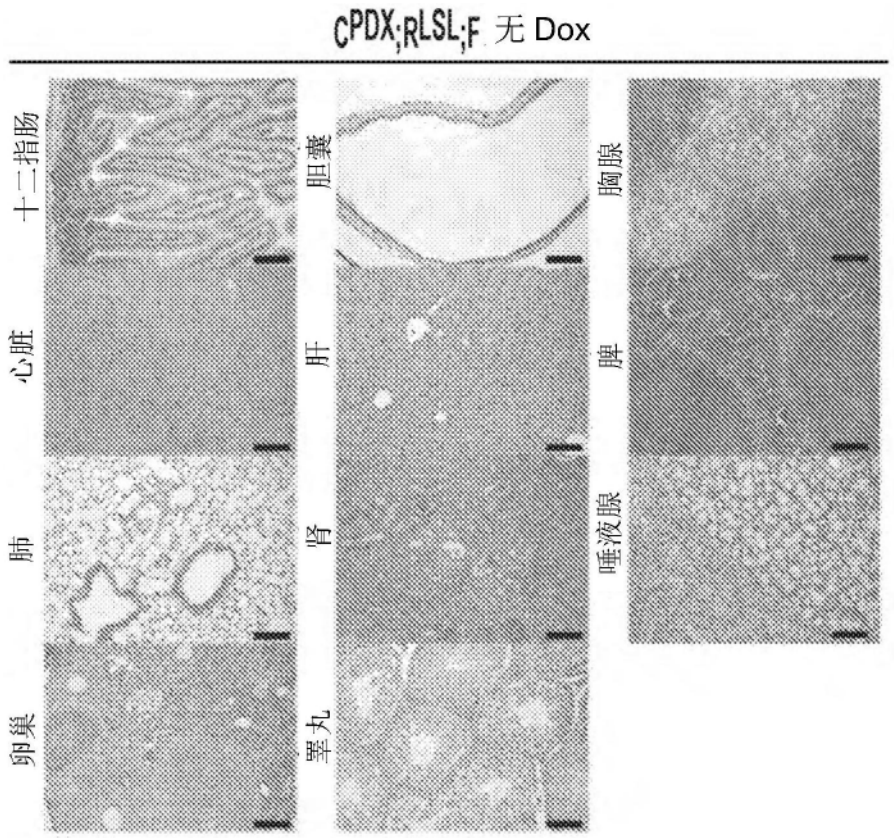


图19

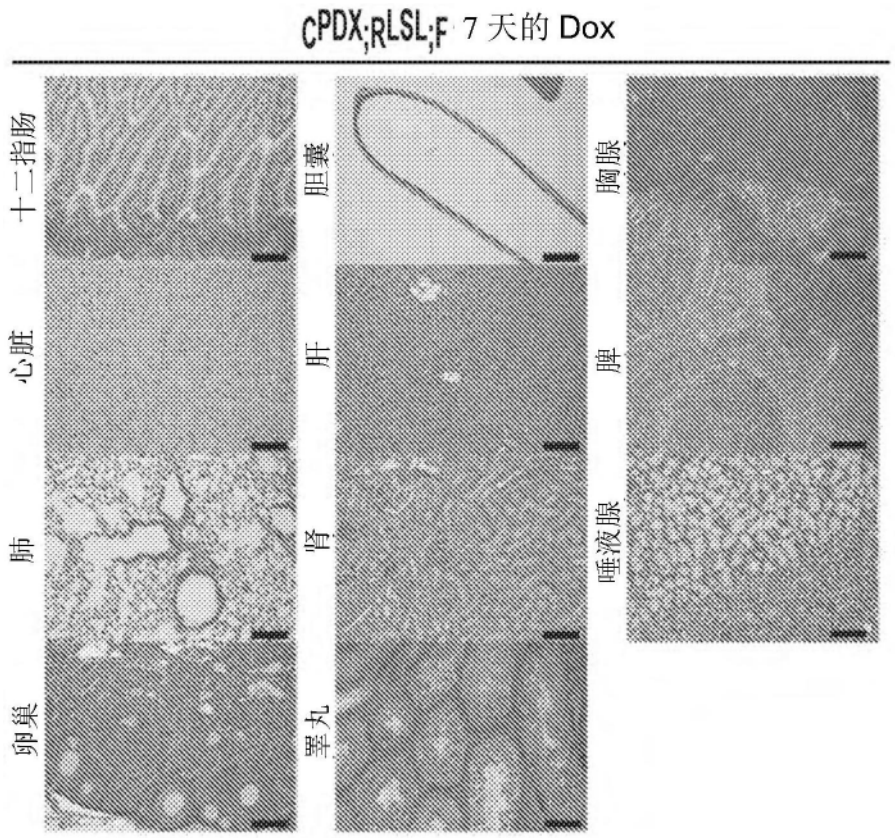


图20

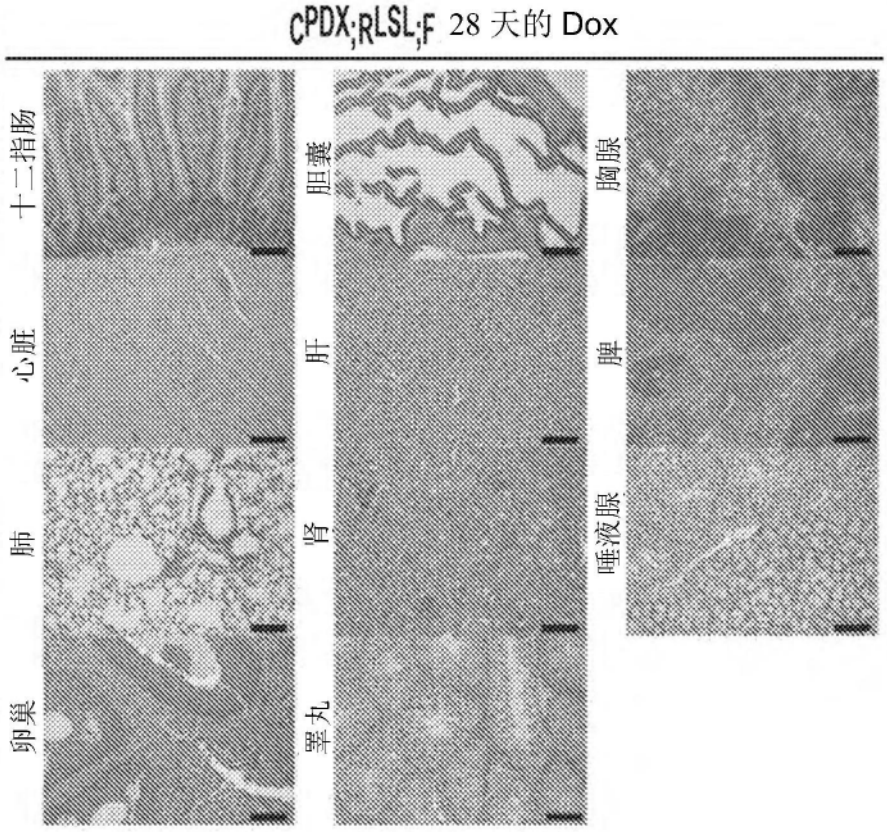


图21

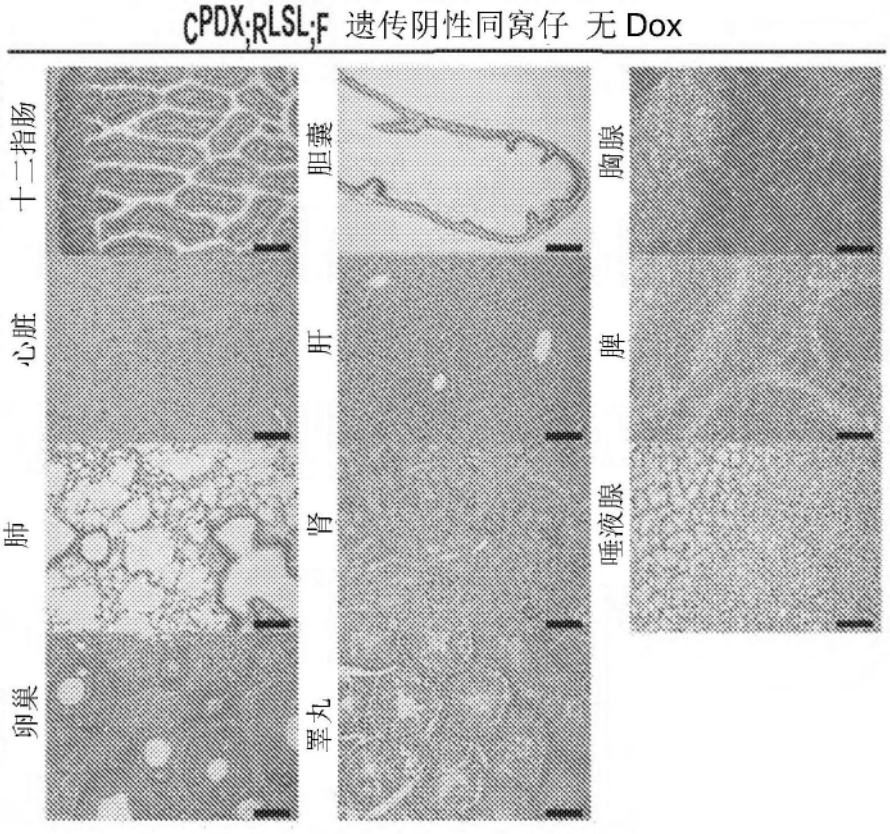


图22

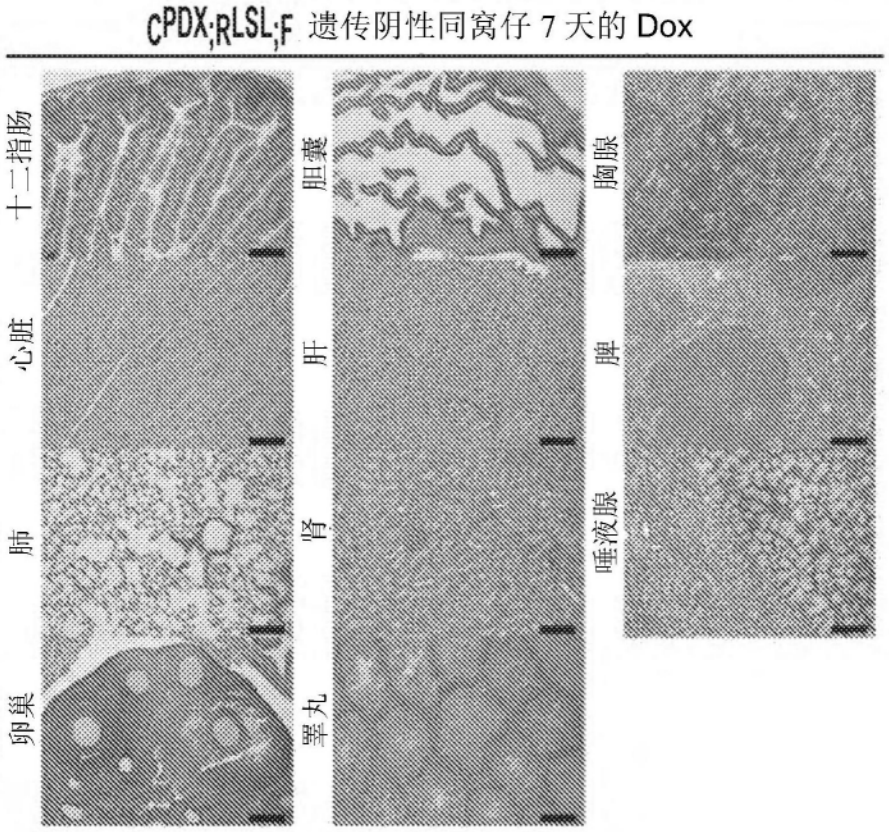


图23

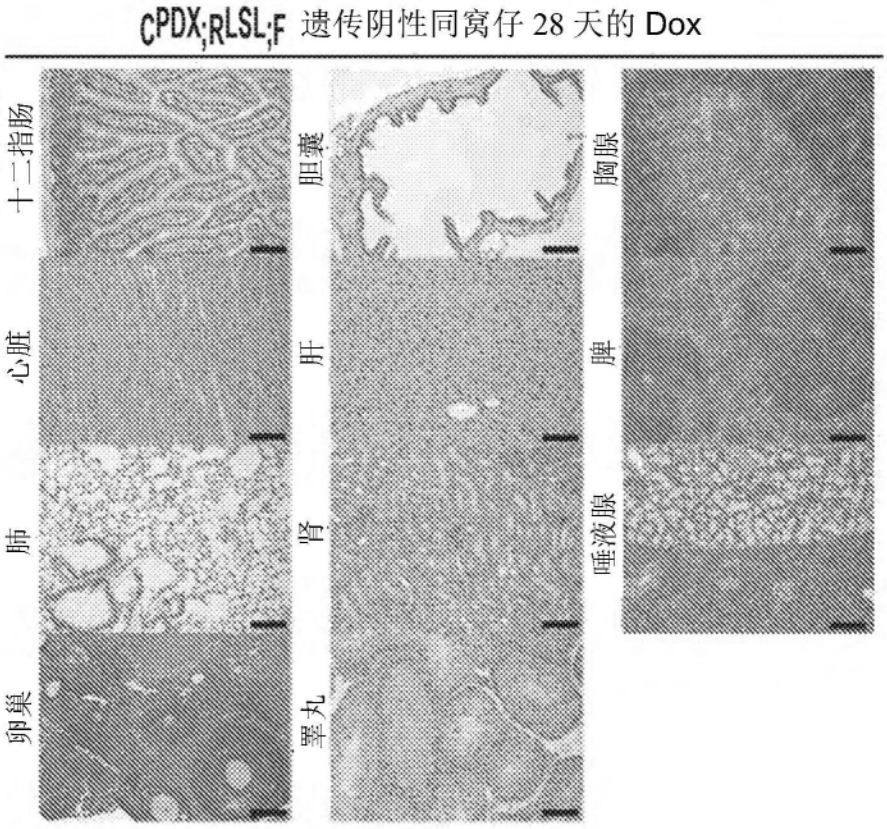


图24

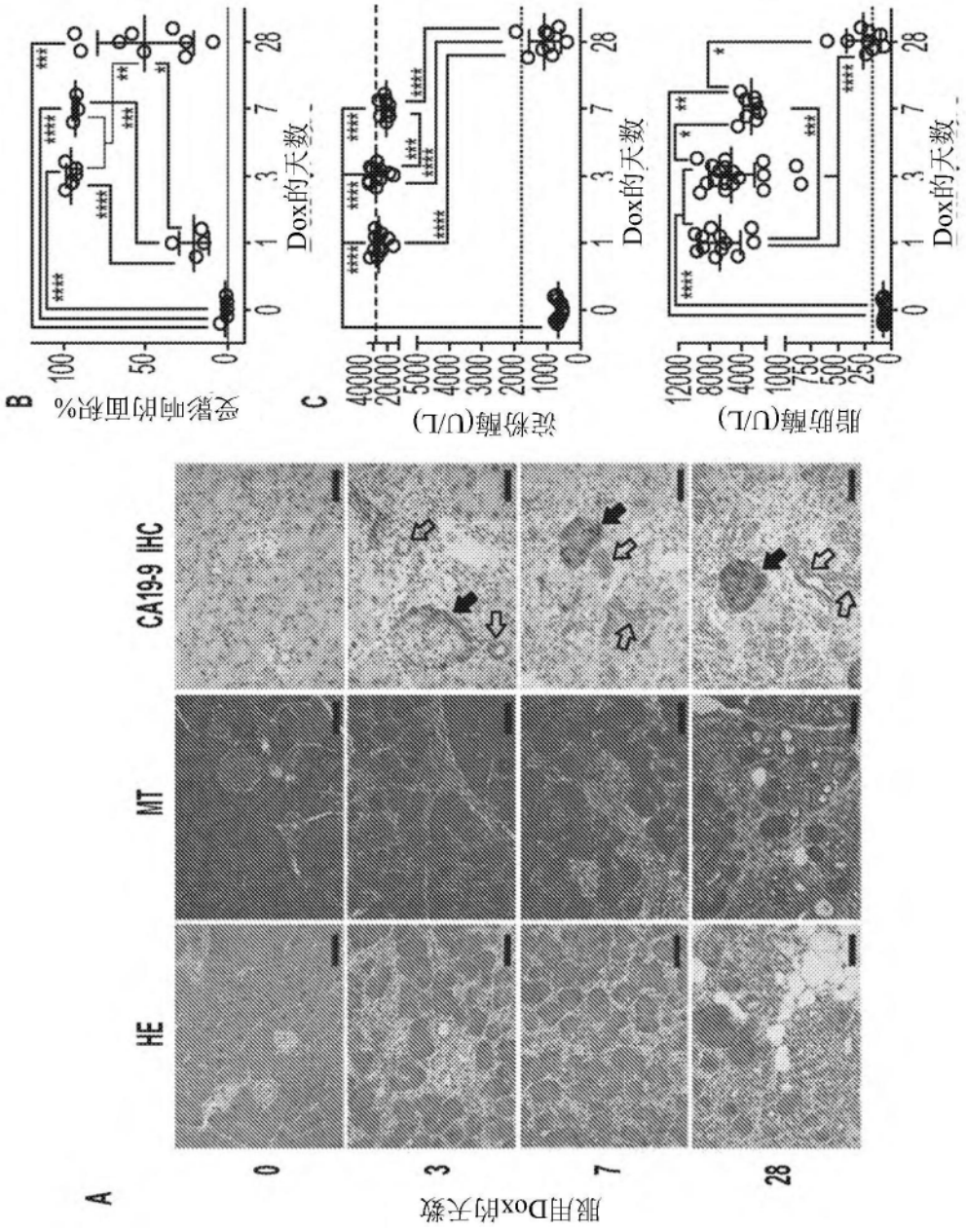

A
HE
MT
CA19-9 IHC
0
3
7
28
服用Dox的天数
B
受影响的面积%
C
淀粉酶(U/L)
脂肪酶(U/L)
Dox的天数

图25

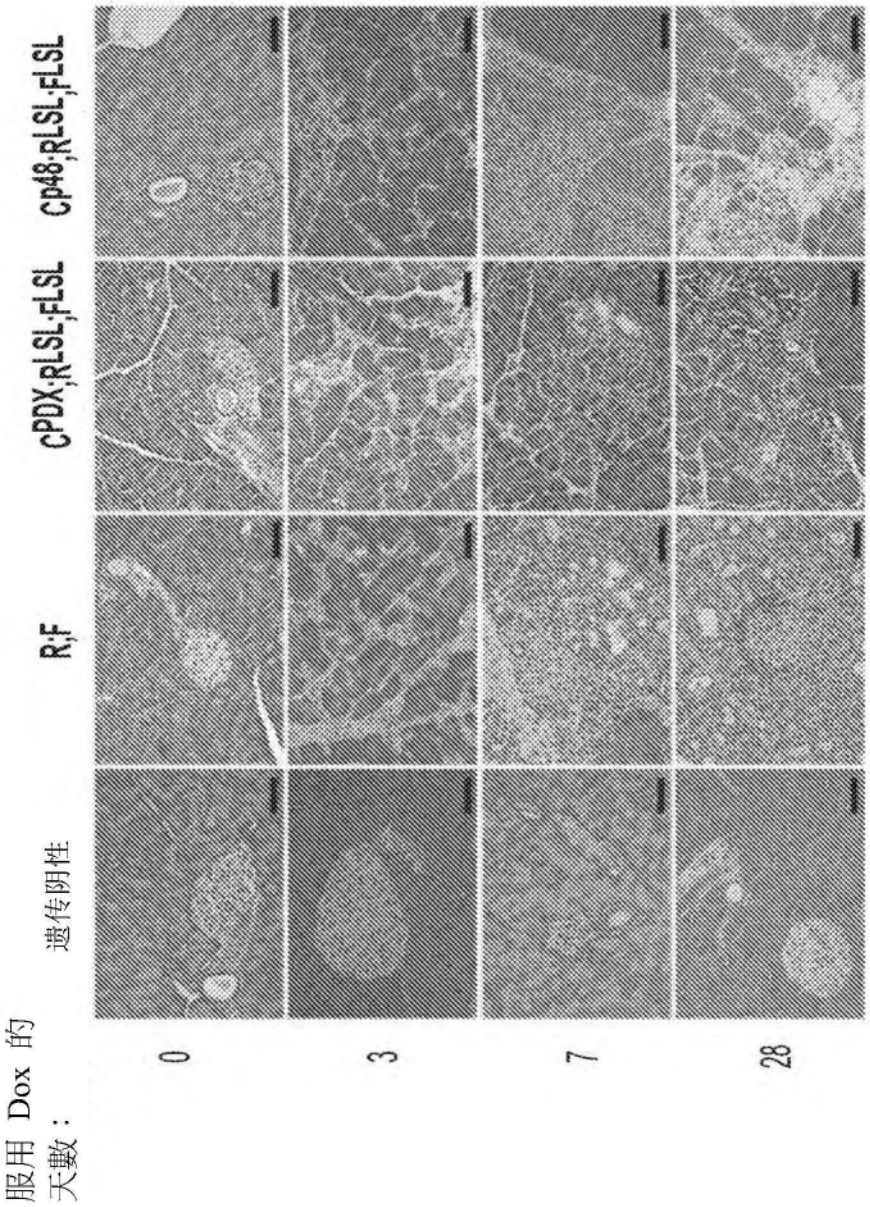


图26

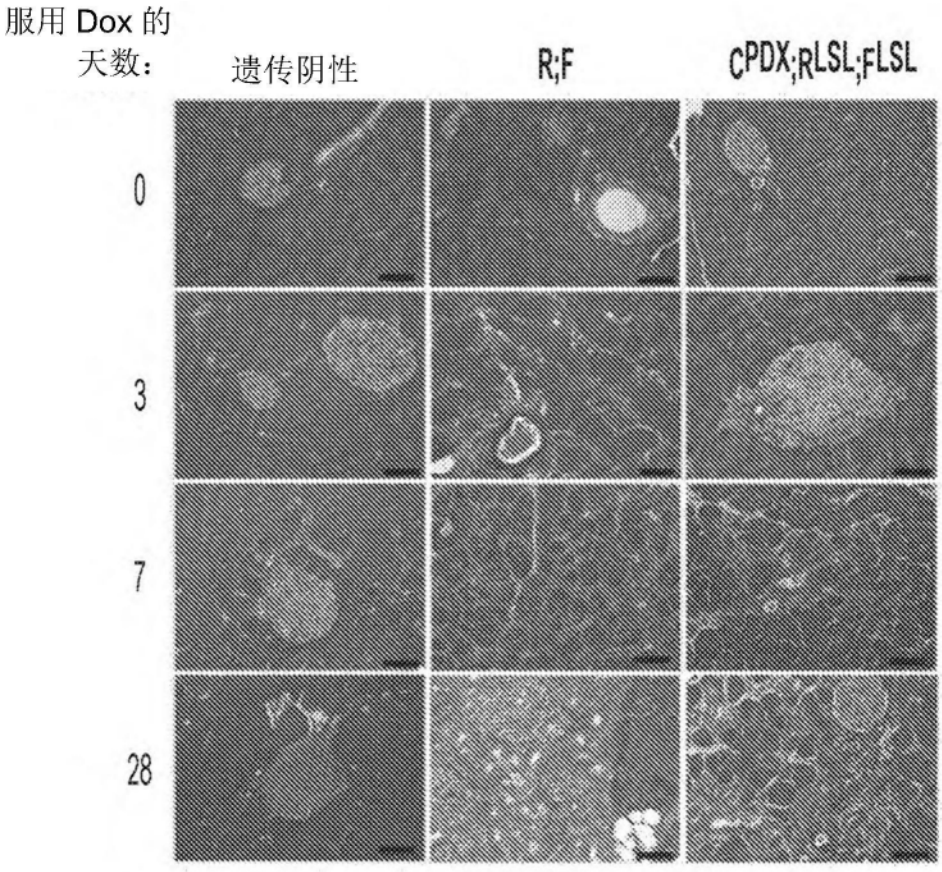


图27

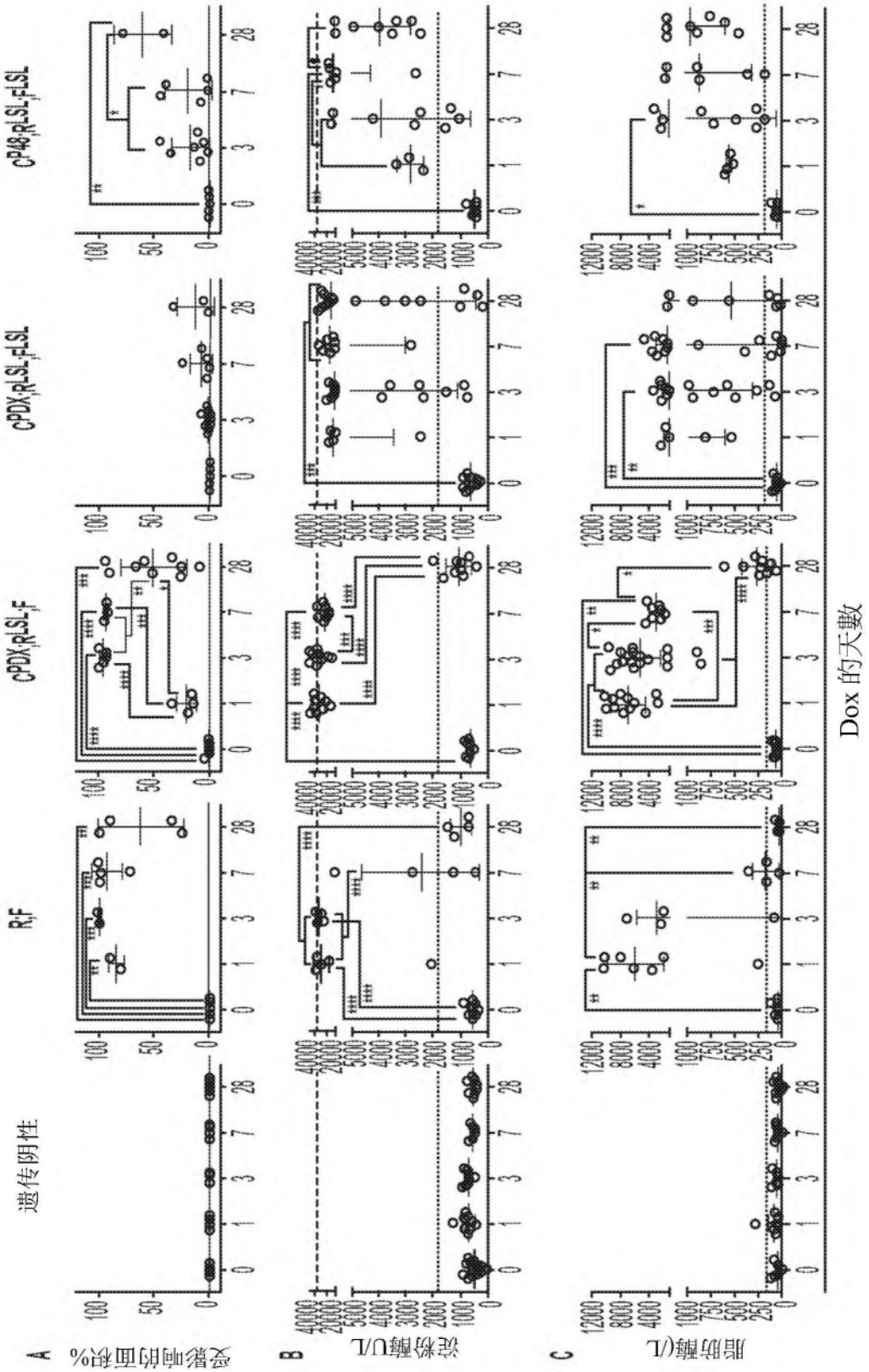

遗传阴性
R:F
cPDX1R-SL1F
cPDX1R-SL1F-FLSL
cP48R-SL1F-FLSL
A
受影响的面积%
B
淀粉酶U/L
C
脂肪酶U/L
Dox 的天數

图28

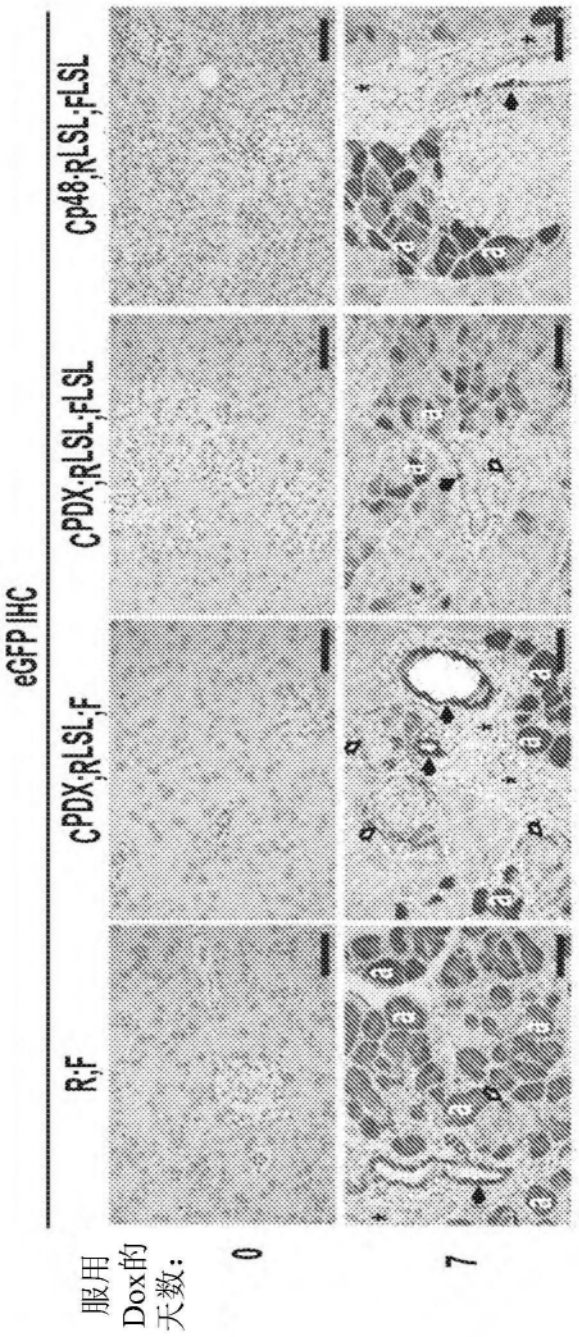

eGFP IHC
R;F
cPDX;RLSL;F
cPDX;RLSL;FLSL
Cp48;RLSL;FLSL
服用Dox的天数:
0
7

图29A

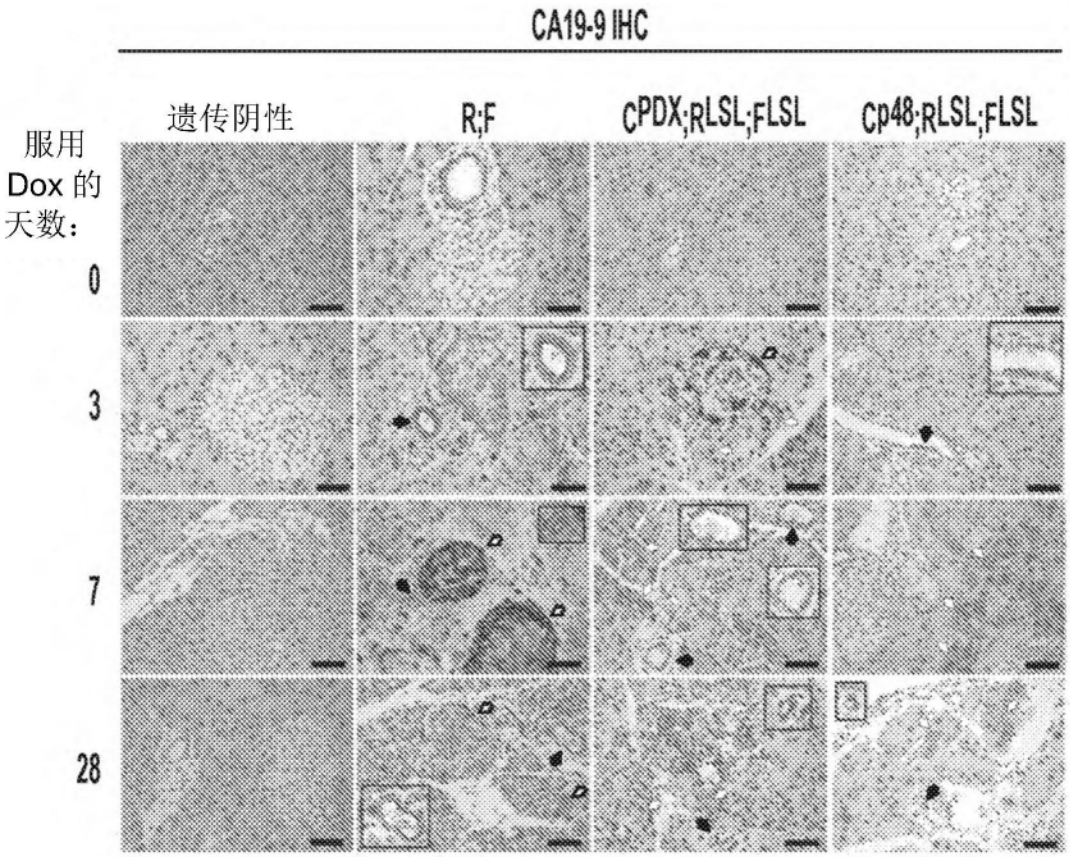

CA19-9 IHC
遗传阴性
R;F
CPDX;RLSL;FLSL
Cp48;RLSL;FLSL
服用 Dox 的天数:
0
3
7
28

图29B

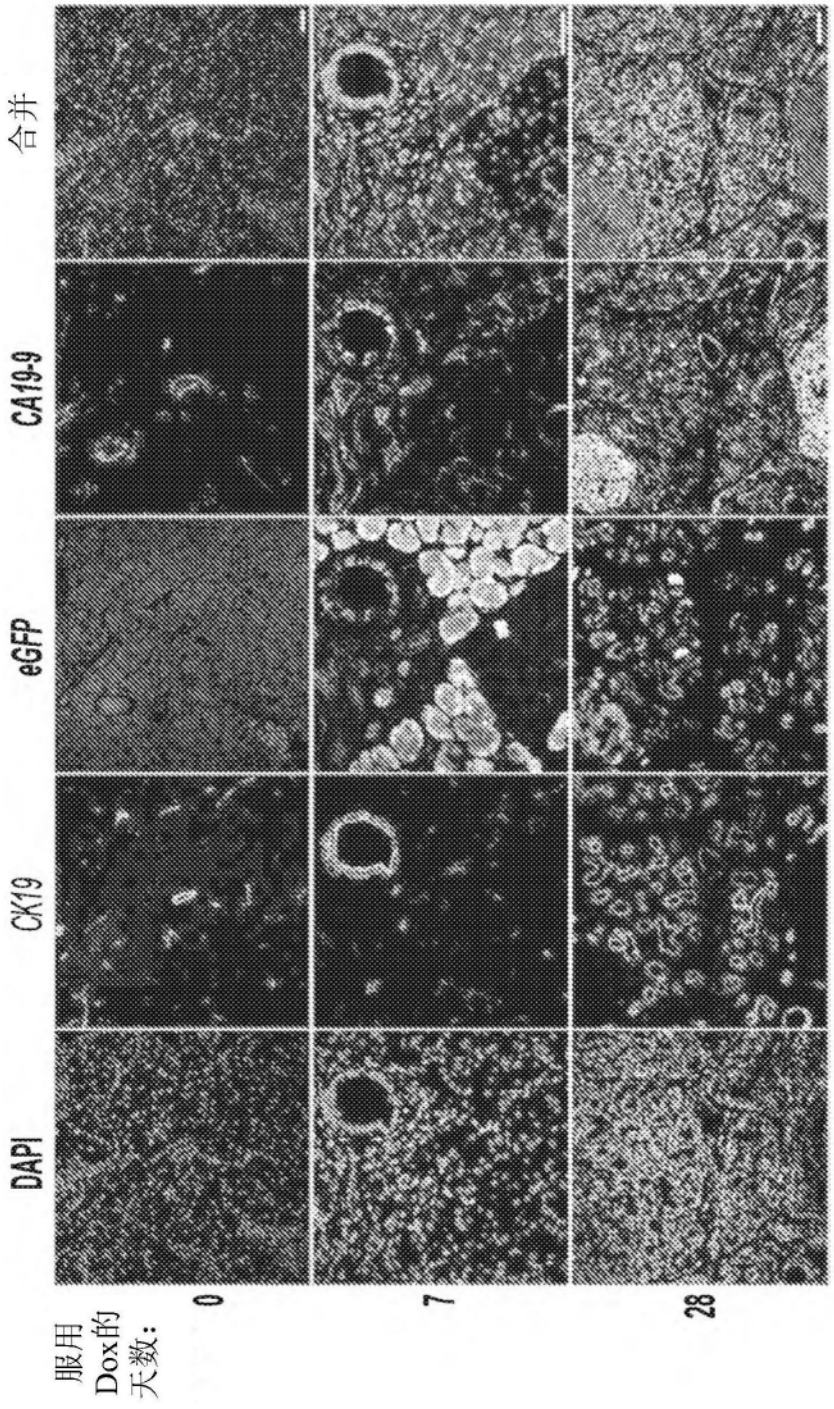


图30A

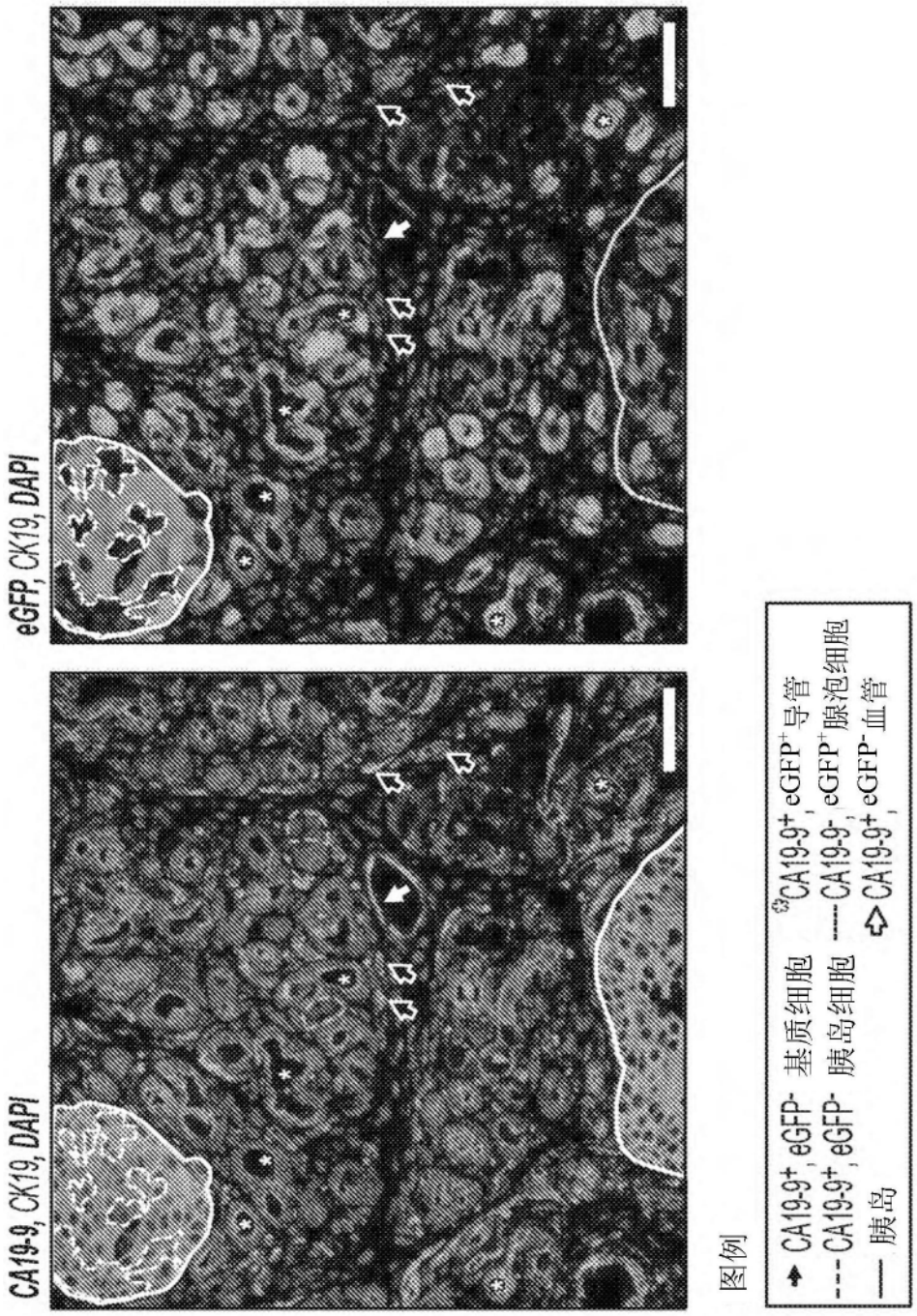

CA19-9, CK19, DAPI
eGFP, CK19, DAPI
图例
CA19-9+, eGFP- 基质细胞
CA19-9+, eGFP- 胰岛细胞
胰岛
CA19-9+ eGFP+ 导管
CA19-9-, eGFP+ 腺泡细胞
CA19-9+, eGFP- 血管

图30B

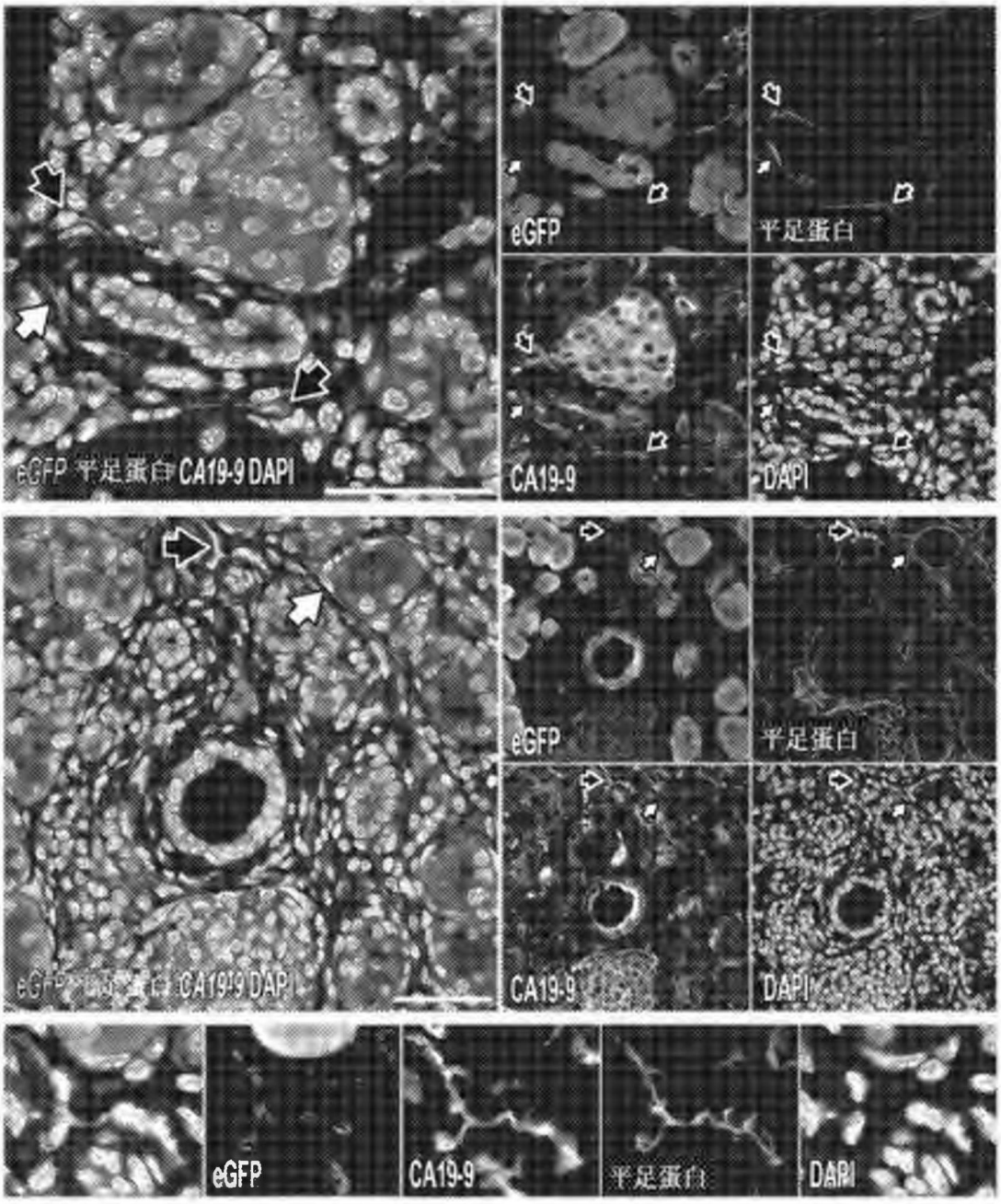

eGFP 平足蛋白 CA19-9 DAPI
eGFP
平足蛋白
CA19-9
DAPI
eGFP
平足蛋白
CA19-9
DAPI
eGFP
CA19-9
平足蛋白
DAPI
eGFP 平足蛋白
CA19-9 DAPI

图31

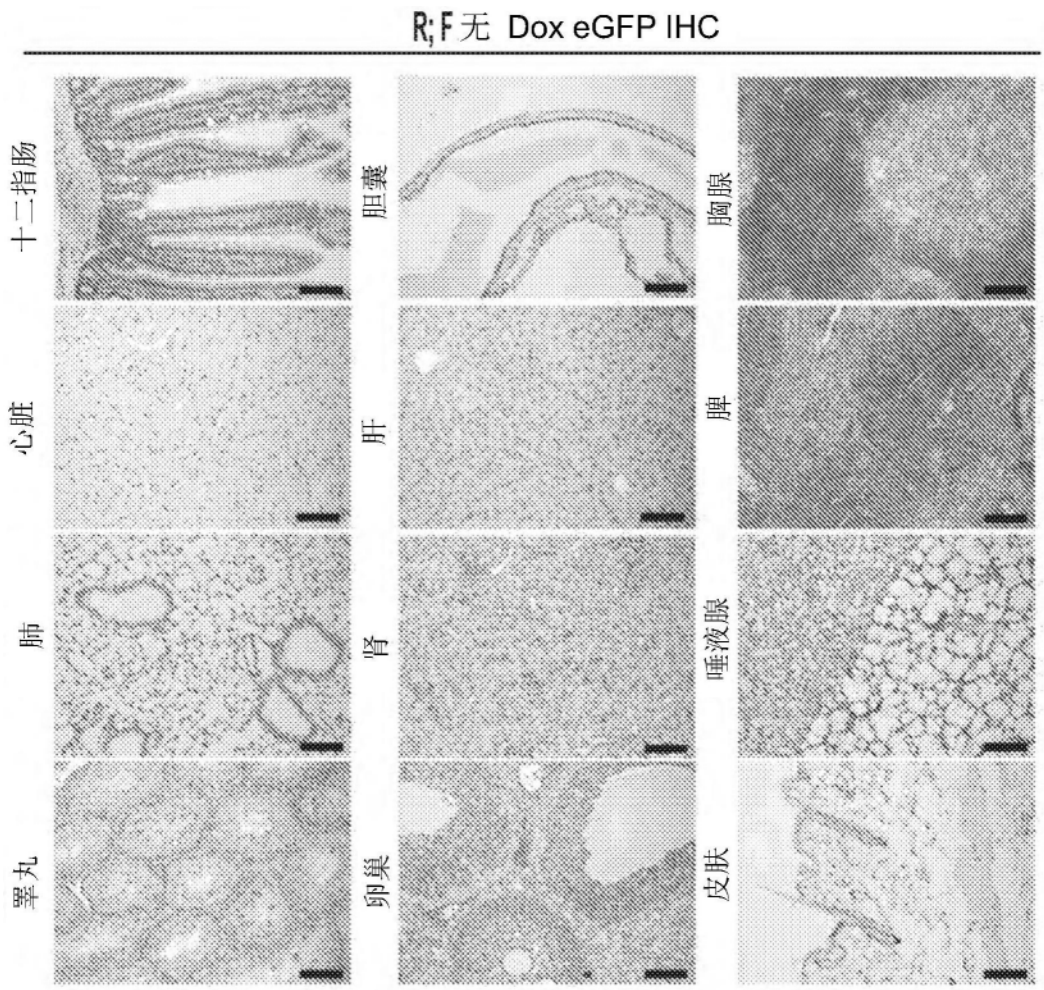


图32

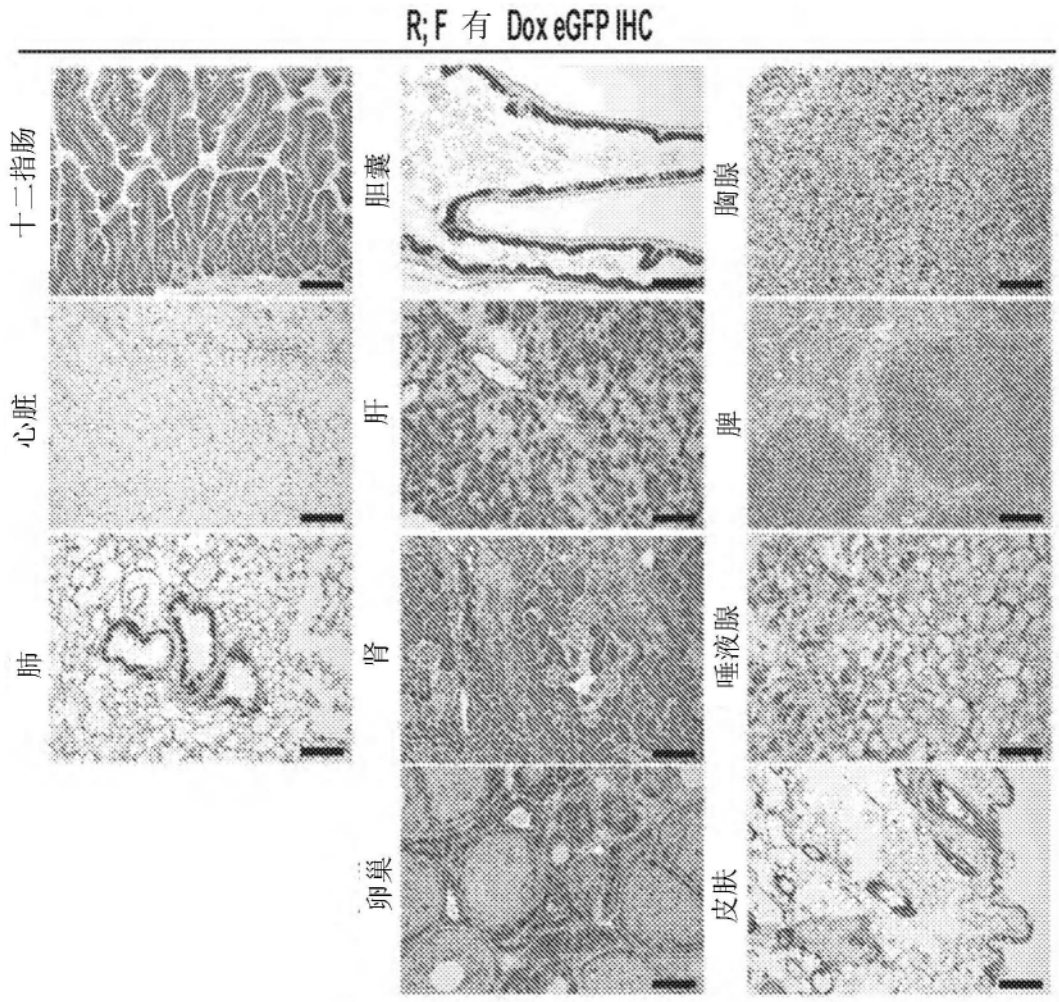


图33

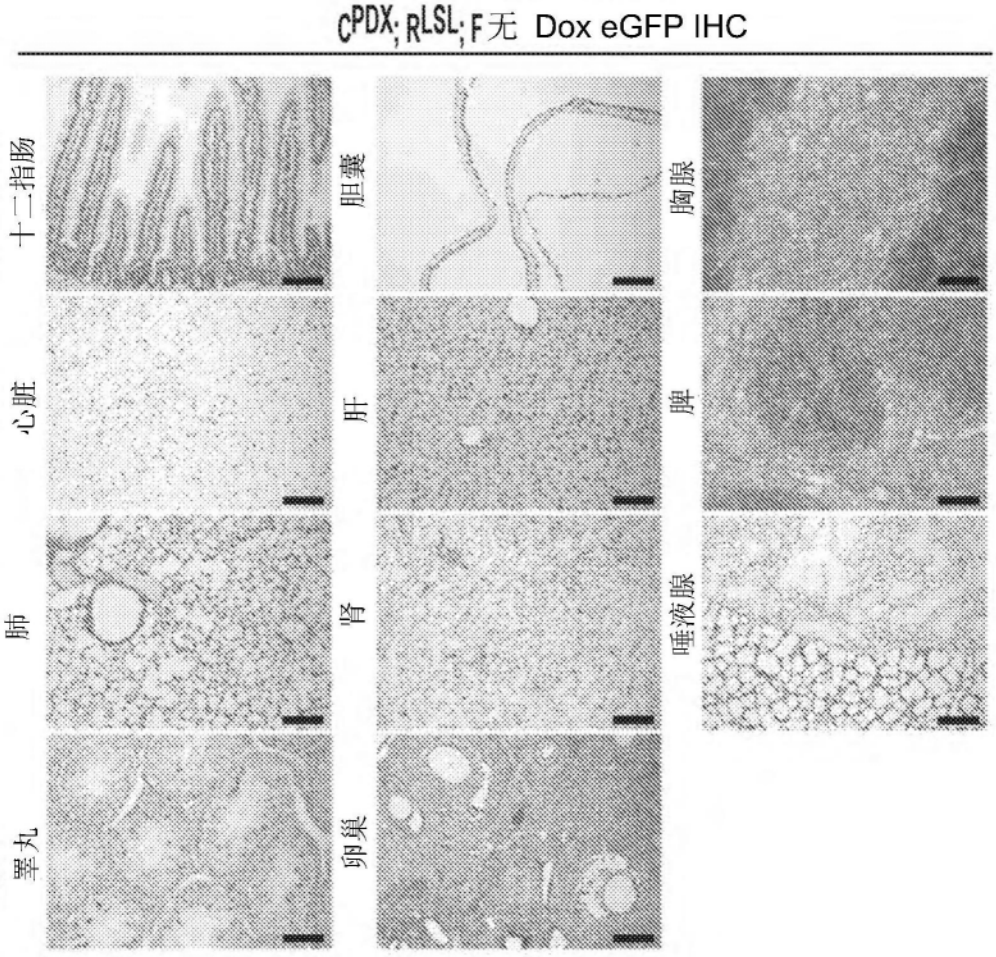


图34

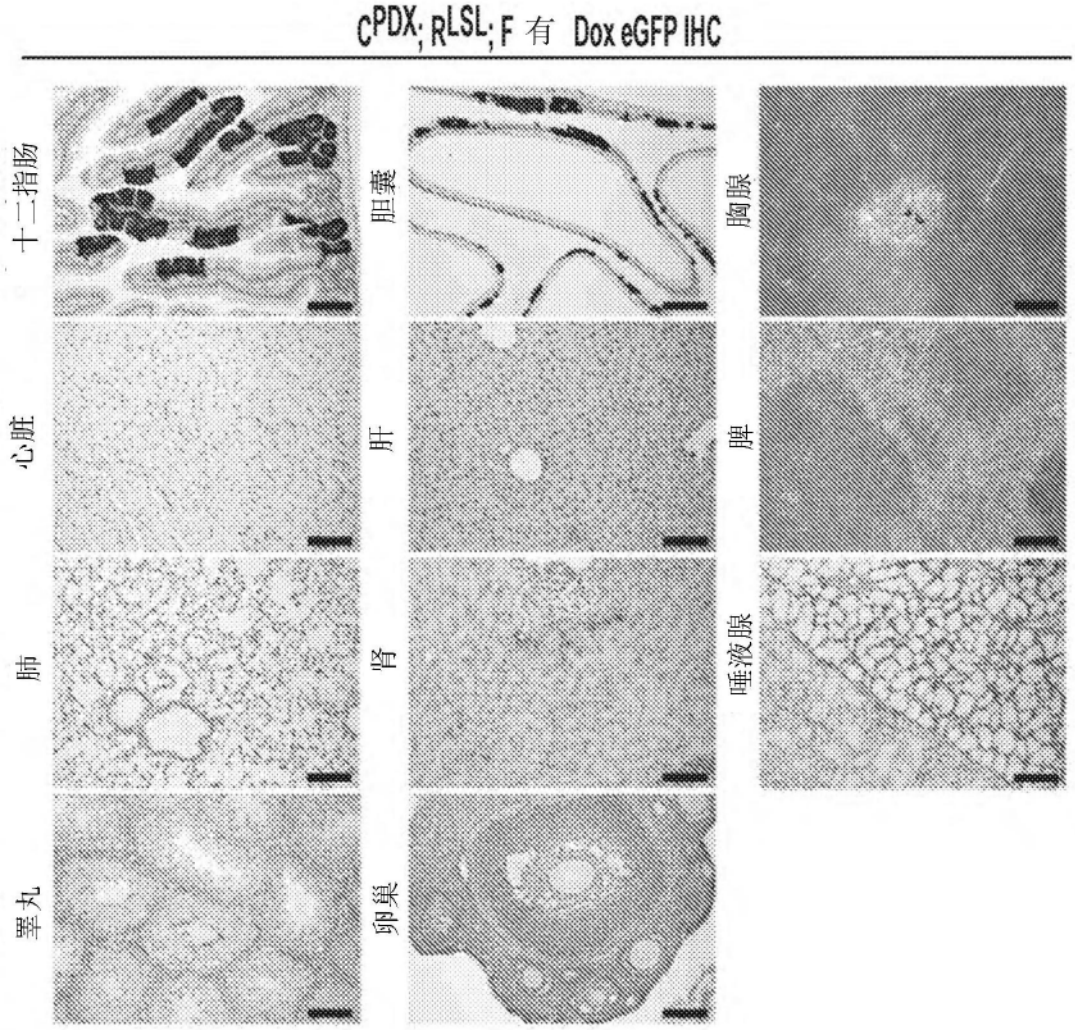


图35

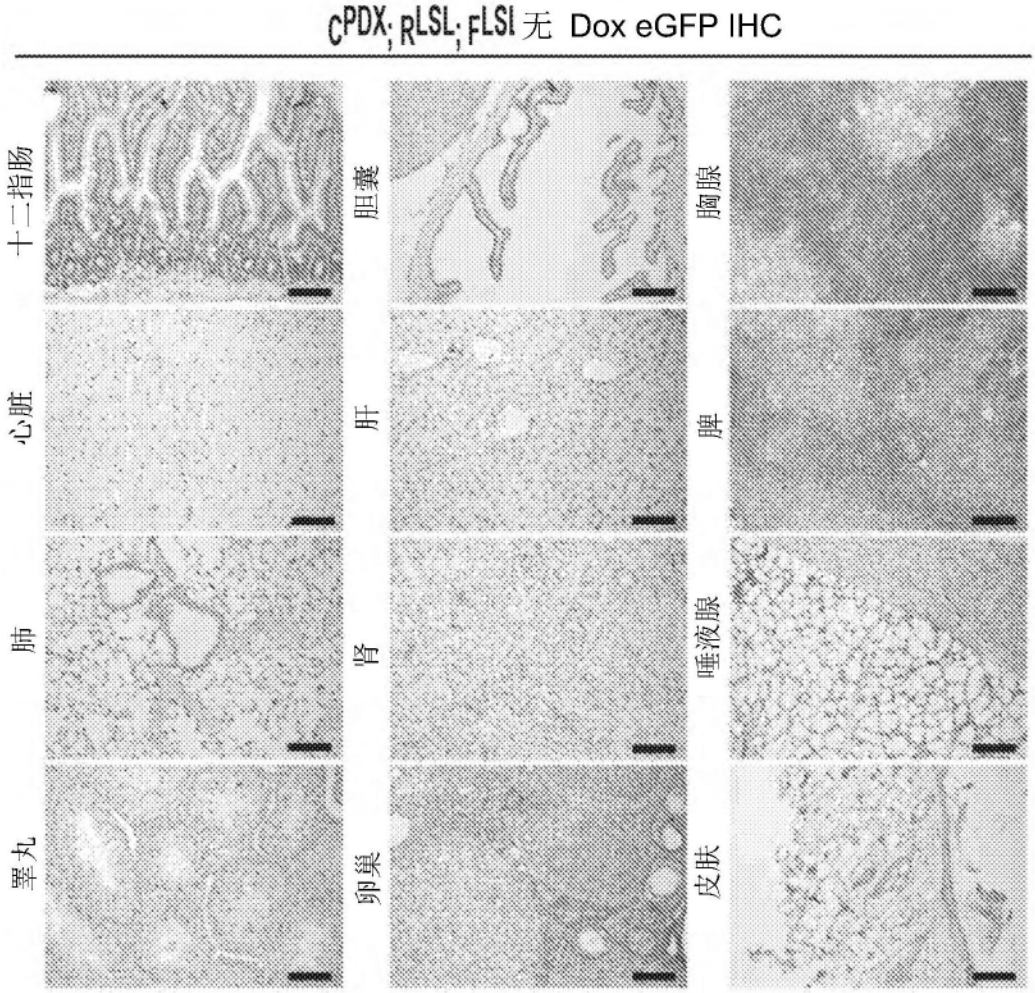


图36

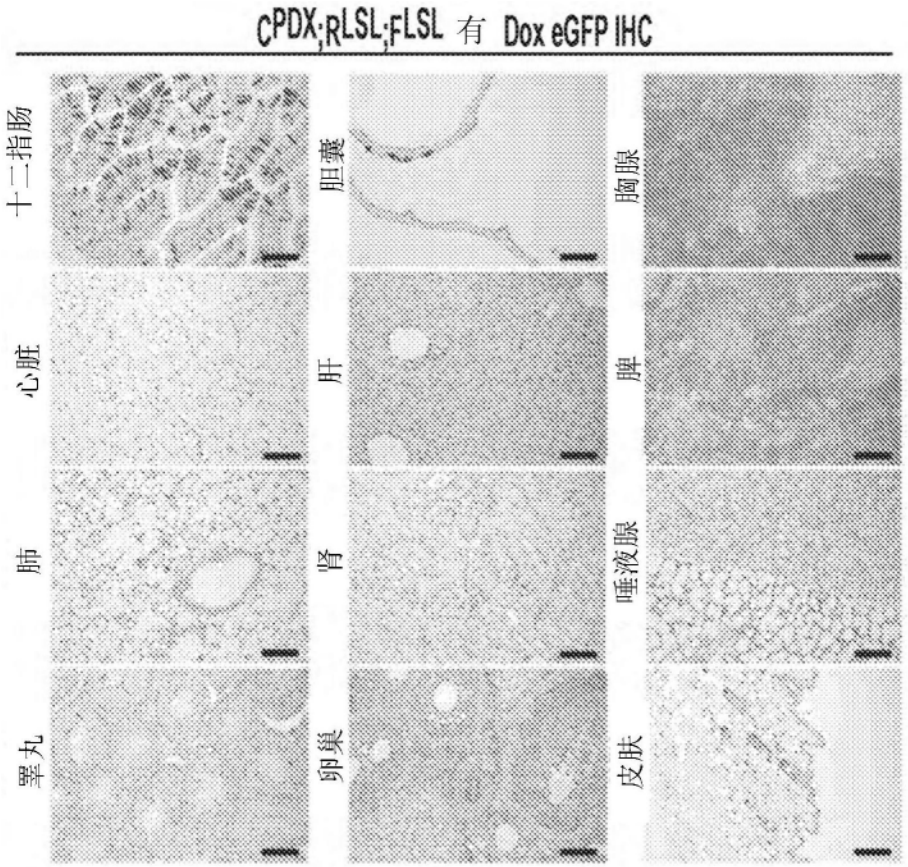


图37

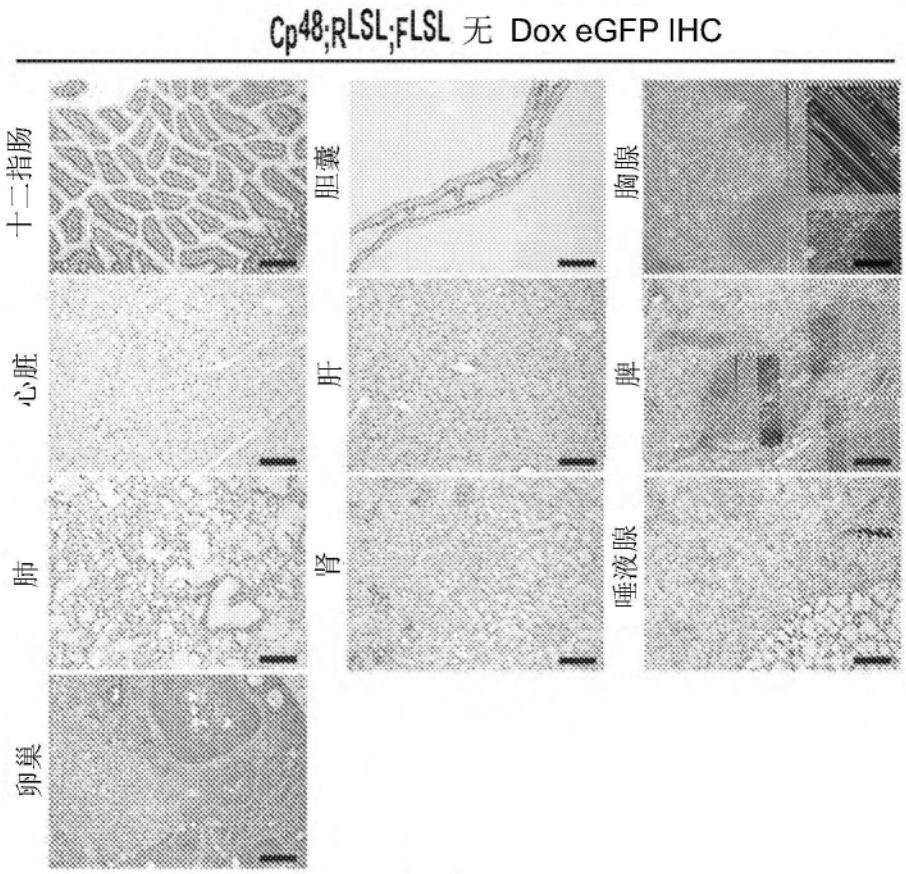


图38

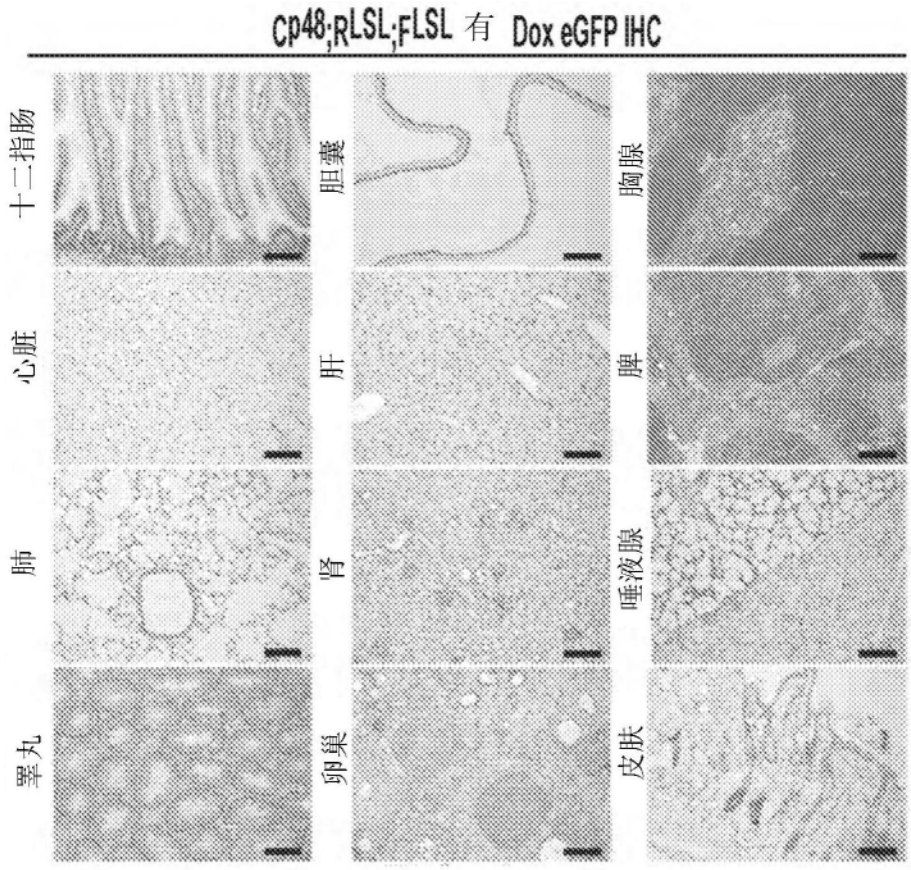


图39

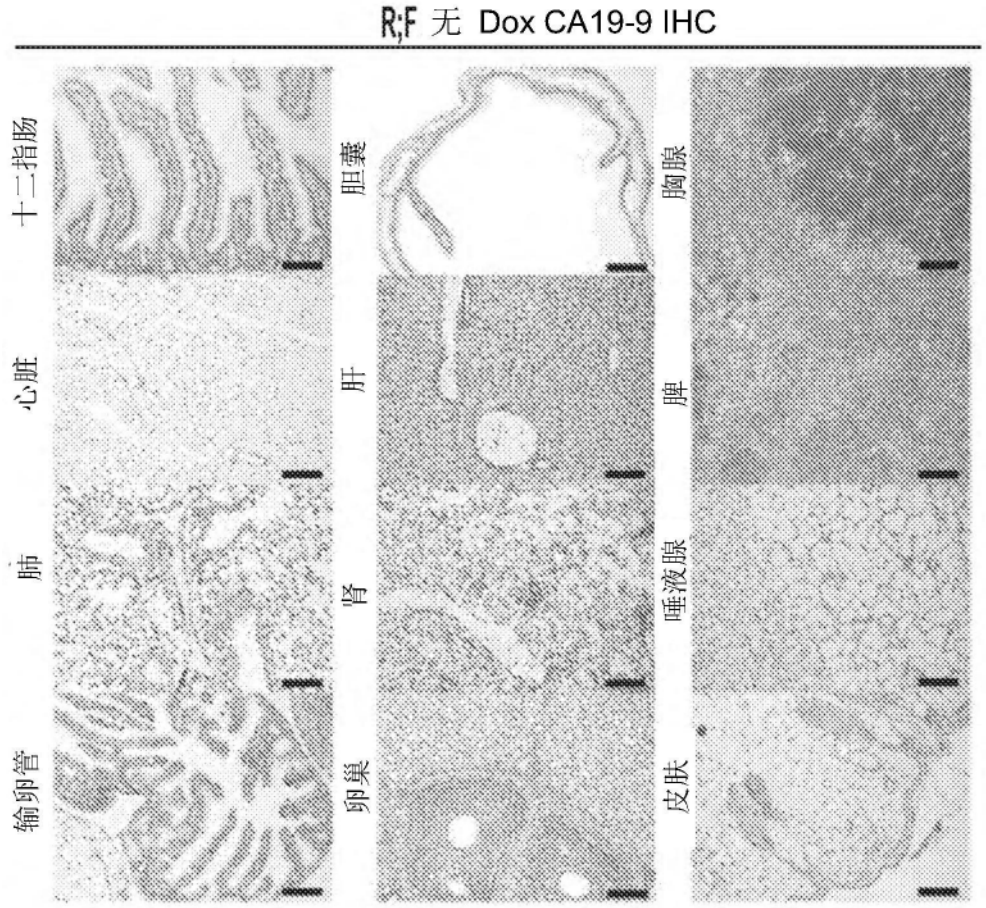


图40

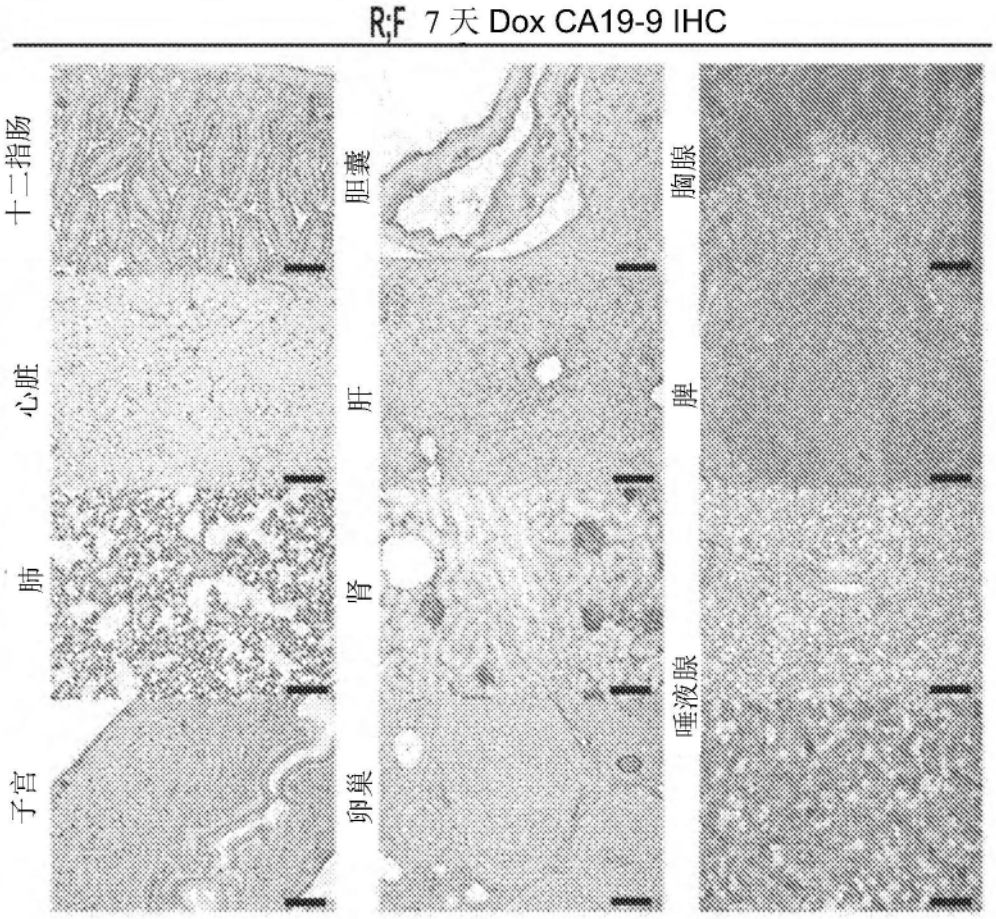


图41

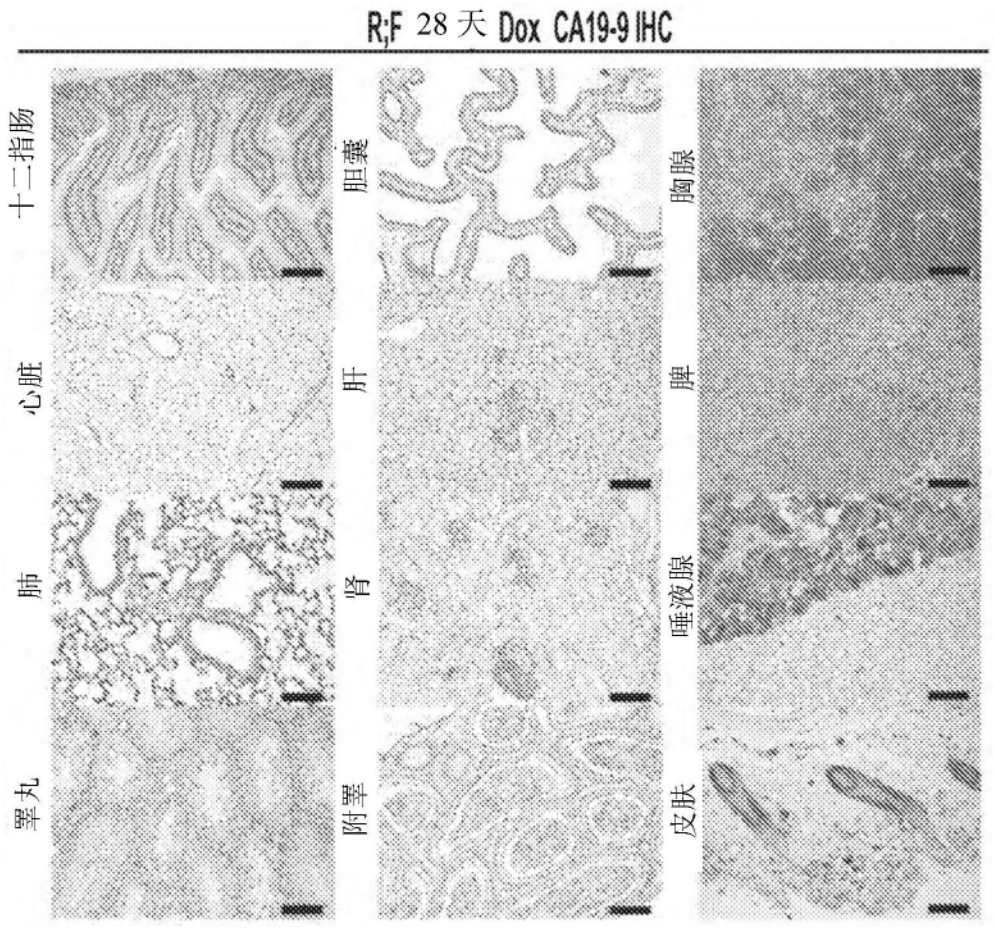


图42

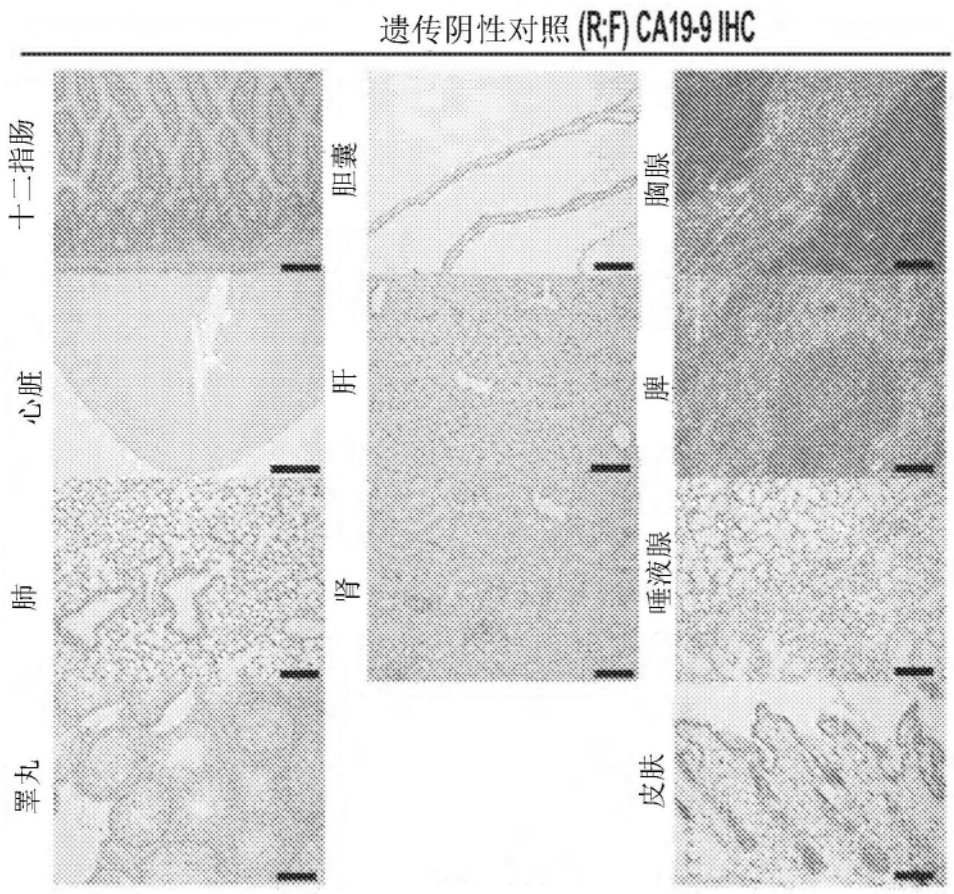


图43

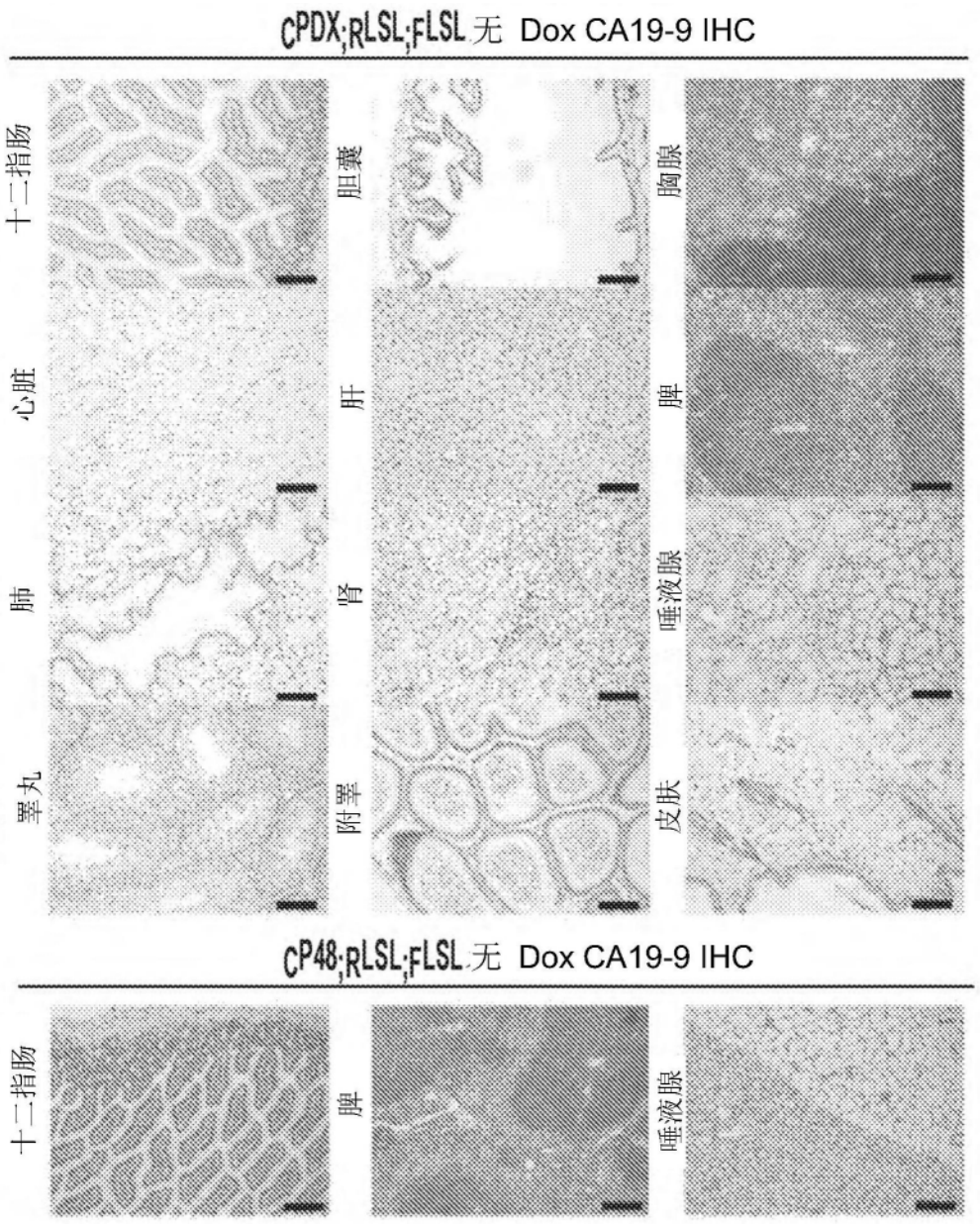

CPDX;RLSL;FLSL 无 Dox CA19-9 IHC
十二指肠
心脏
肺
睾丸
胆囊
肝
肾
附睾
胸腺
脾
唾液腺
皮肤
CP48;RLSL;FLSL 无 Dox CA19-9 IHC
十二指肠
脾
唾液腺

图44

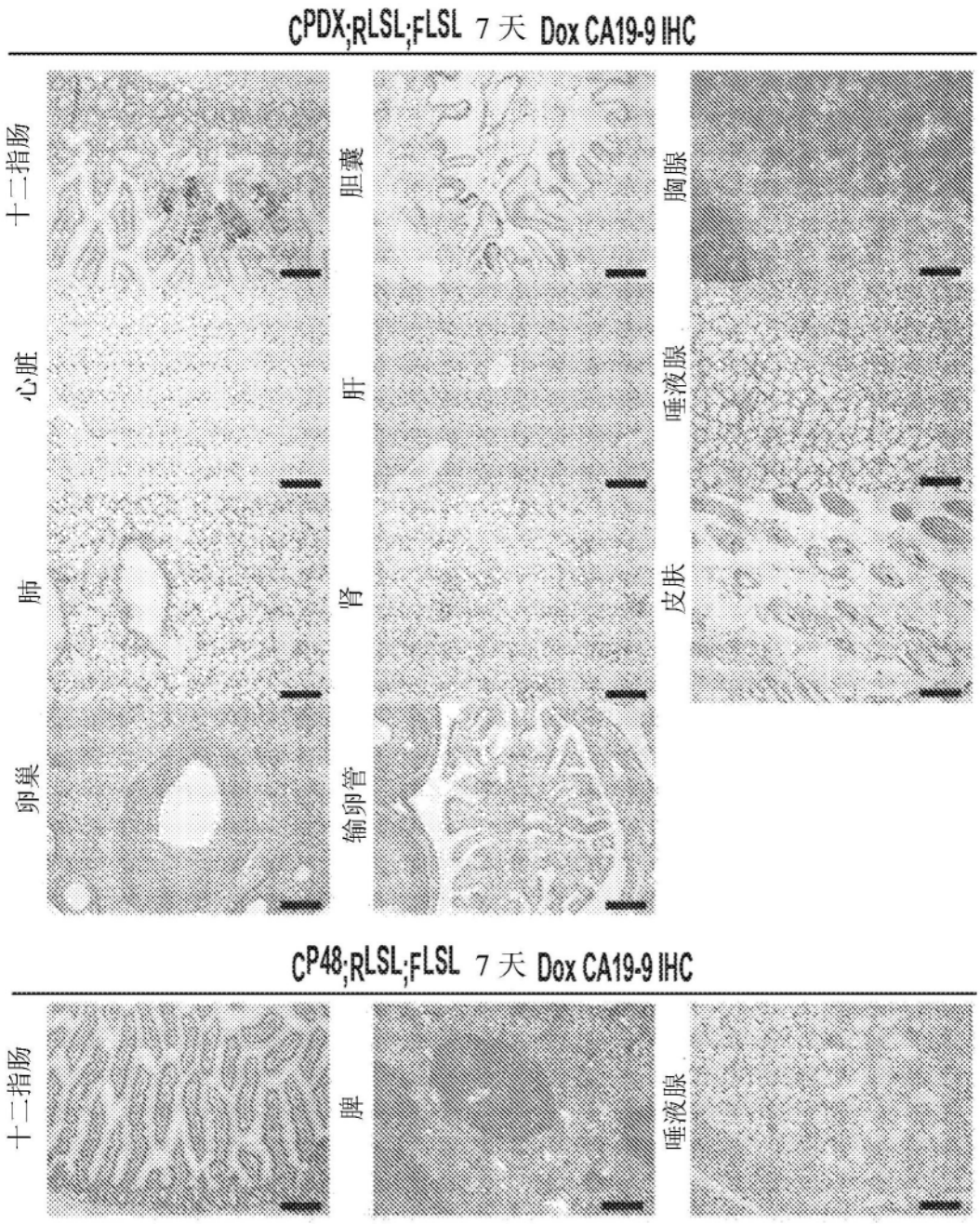

CPDX;RLSL;FLSL 7 天 Dox CA19-9 IHC
十二指肠
心脏
肺
卵巢
胆囊
肝
肾
输卵管
胸腺
唾液腺
皮肤
CP48;RLSL;FLSL 7 天 Dox CA19-9 IHC
十二指肠
脾
唾液腺

图45

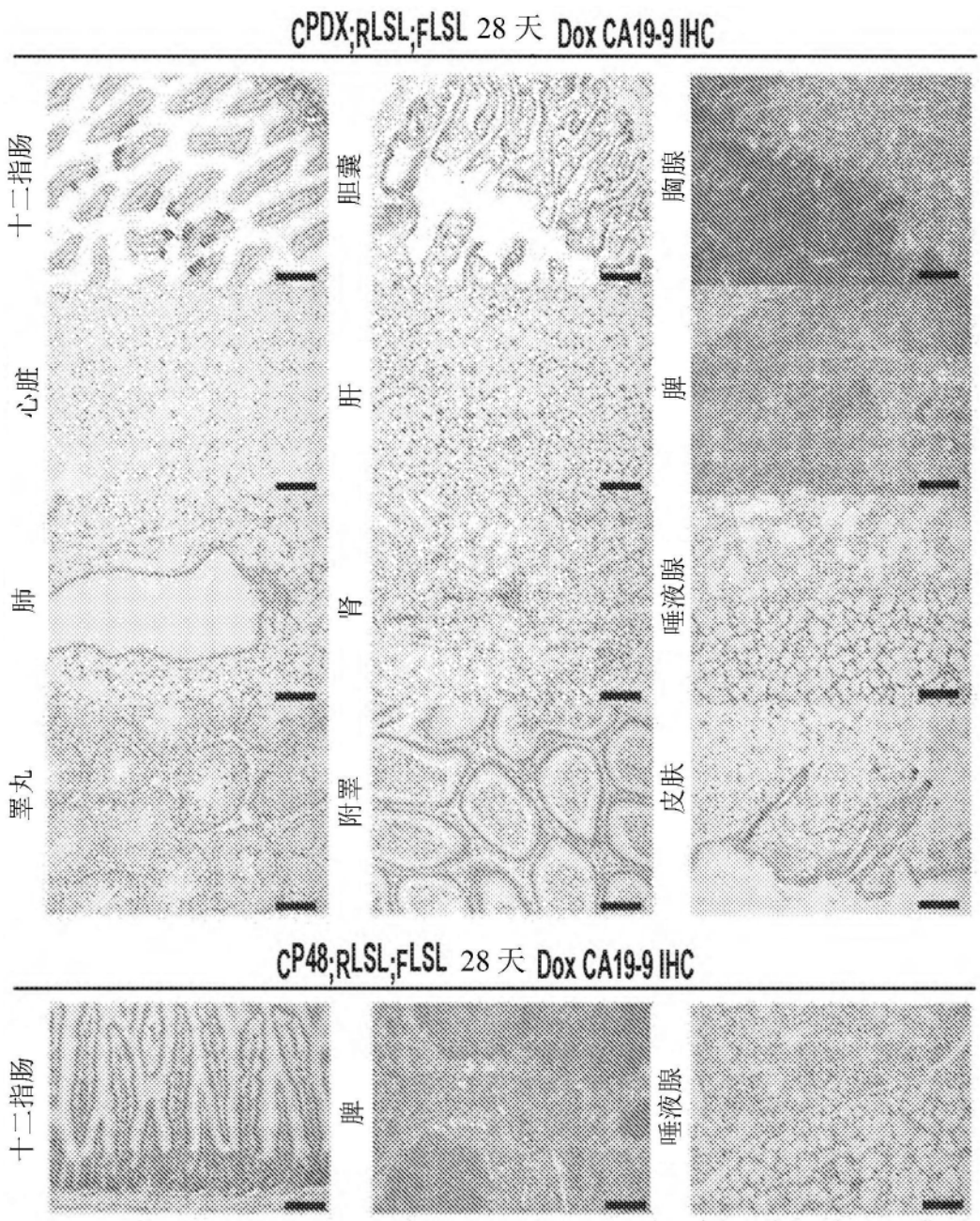

CPDX;RLSL;FLSL 28 天 Dox CA19-9 IHC
十二指肠
心脏
肺
睾丸
胆囊
肝
肾
附睾
胸腺
脾
唾液腺
皮肤
CP48;RLSL;FLSL 28 天 Dox CA19-9 IHC
十二指肠
脾
唾液腺

图46

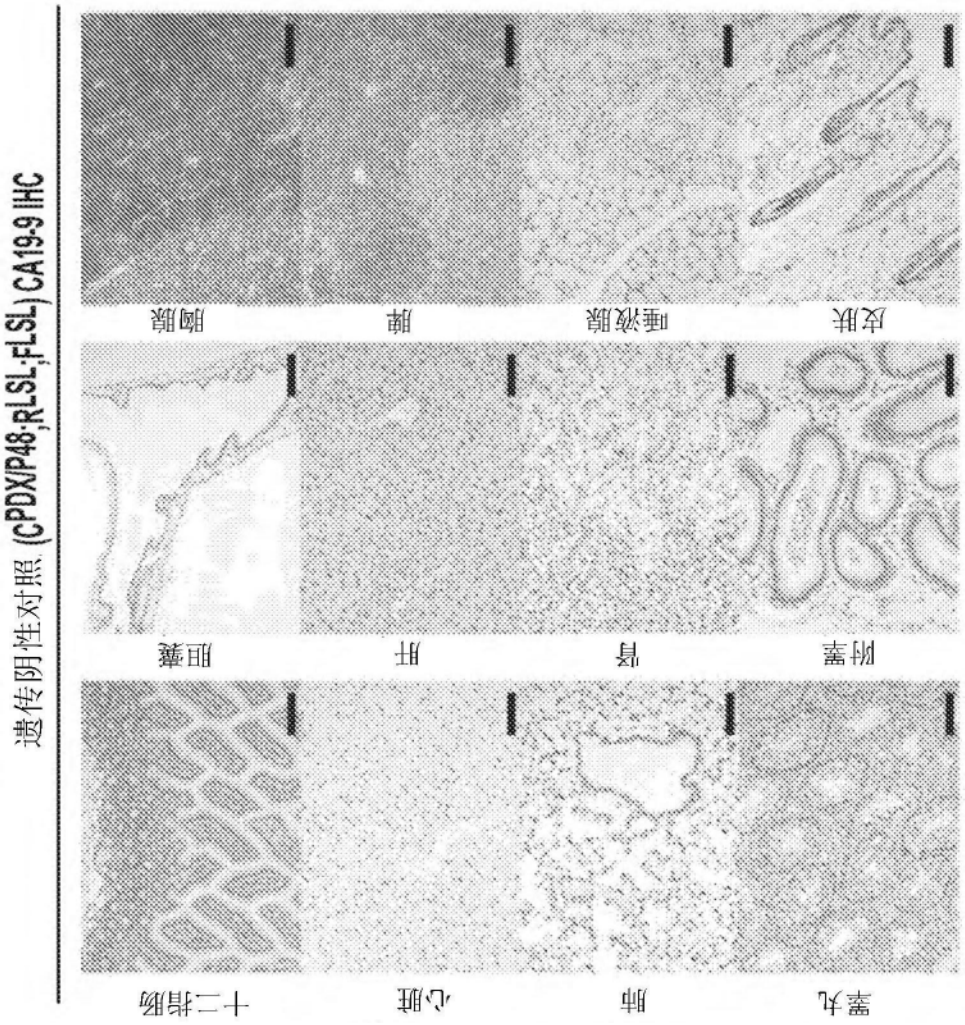

遗传阴性对照 (cPDX/P48;rLSL;fLSL) CA19-9 IHC
睾丸
肺
心脏
十二指肠
附睾
肾
肝
胆囊
皮肤
唾液腺
脾
胸腺

图47

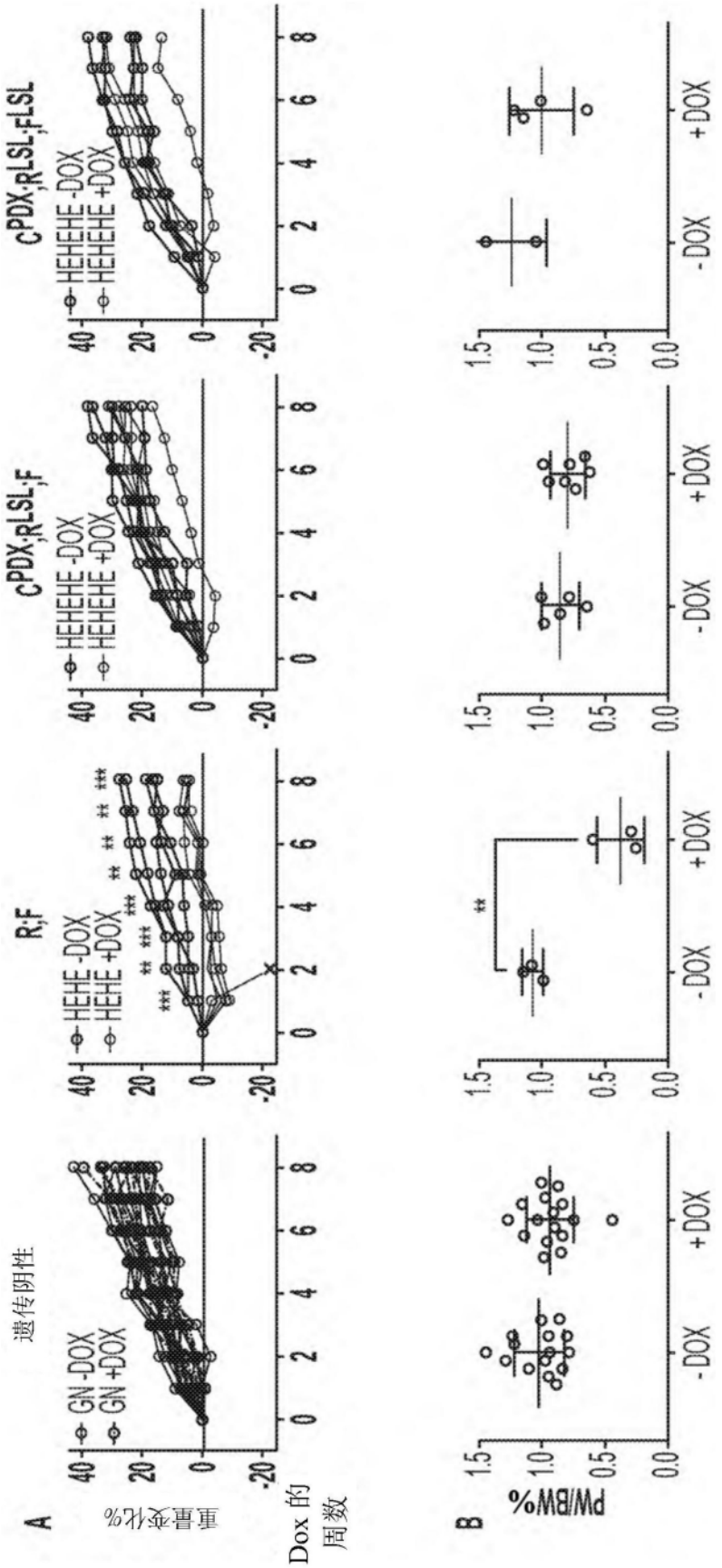

A
遗传阴性
GN -DOX
GN +DOX
R;F
HEHE -DOX
HEHE +DOX
cPDX;RLSL;FLSL
HEHEHE -DOX
HEHEHE +DOX
重量变化%
Dox 的周数
B
PW/BW%
-DOX
+DOX

图48

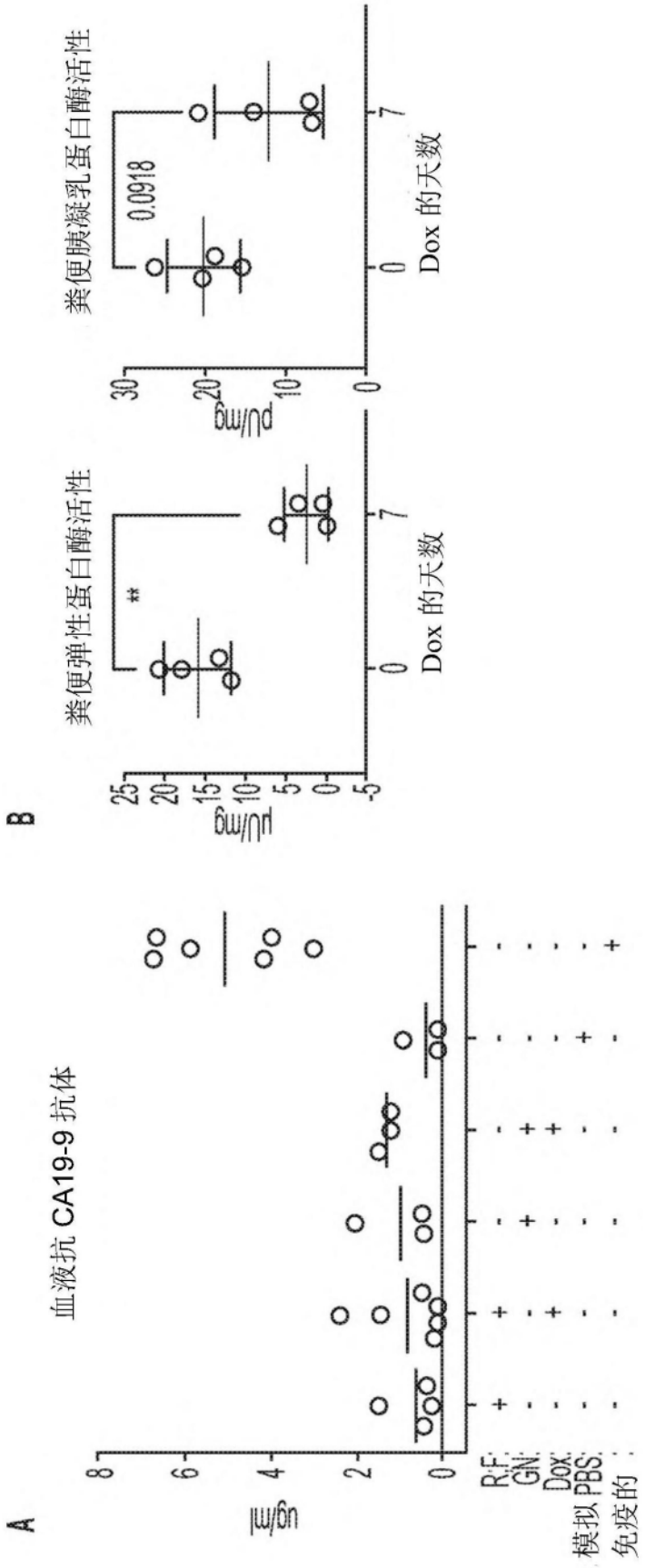

A
血液抗 CA19-9 抗体
ug/ml
R:F:
GN:
Dox:
模拟 PBS:
免疫的
B
粪便弹性蛋白酶活性
μU/mg
**
Dox 的天数
粪便胰凝乳蛋白酶活性
μU/mg
0.0918
Dox 的天数

图49

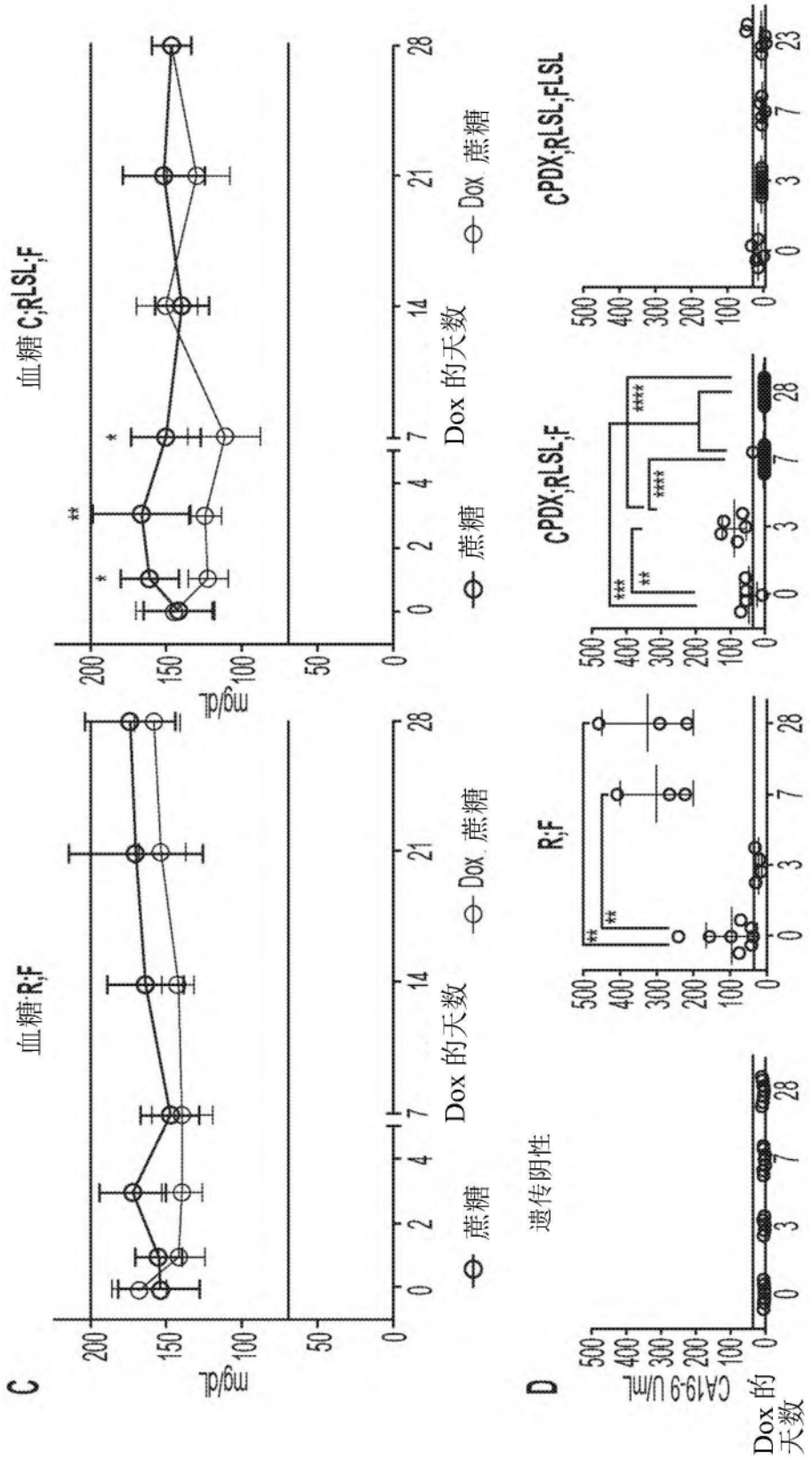

C
血糖 R;F
血糖 C;RLSL;F
mg/dL
Dox 的天数
蔗糖
Dox 蔗糖
D
遗传阴性
R;F
cPDX;RLSL;F
cPDX;RLSL;FLSL
CA19-9 U/mL
Dox 的天数

图49(续)

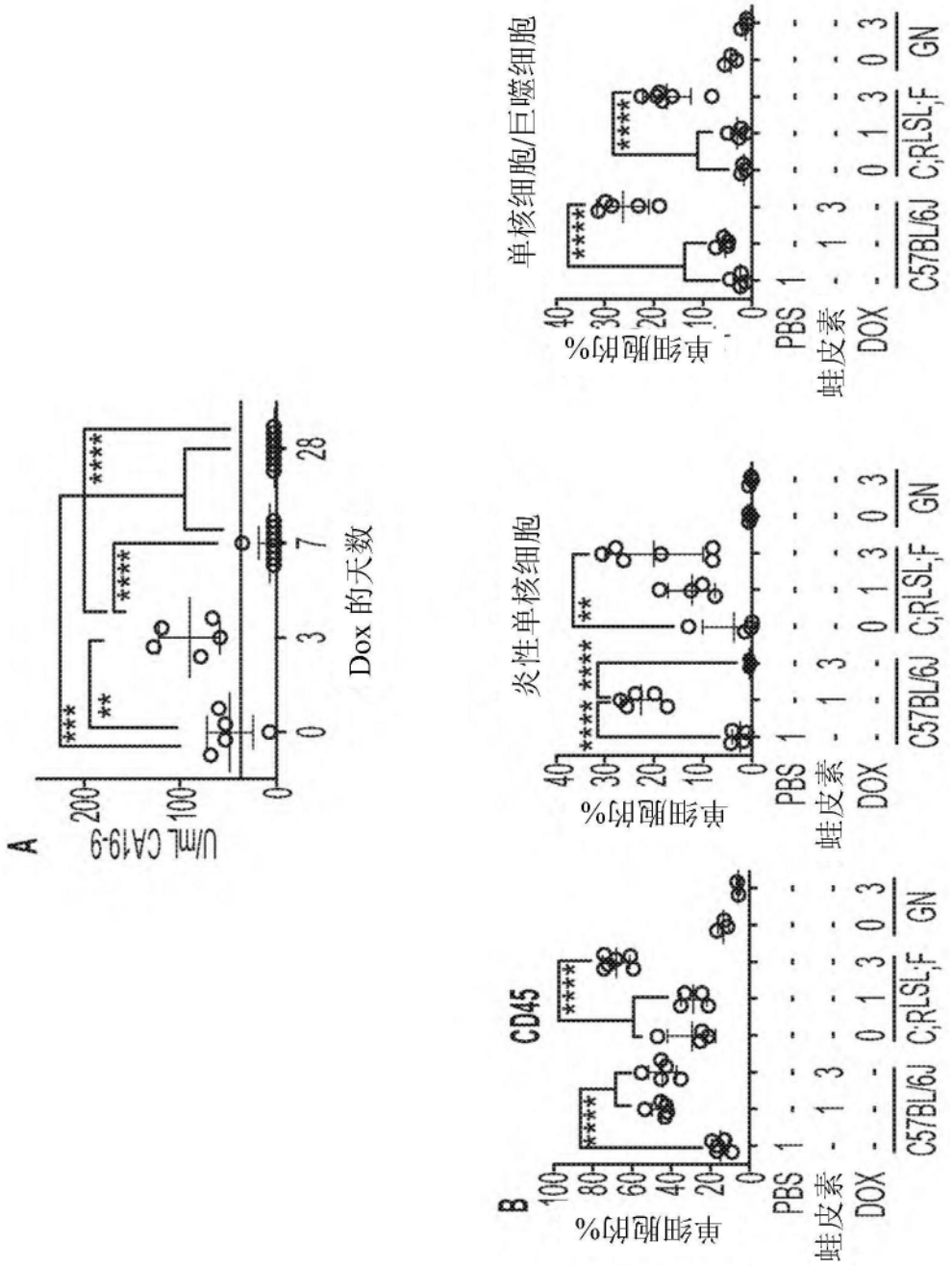

A
U/mL CA19-9
Dox 的天数
B
CD45
炎性单核细胞
单核细胞/巨噬细胞
单细胞的%
蛙皮素
DOX
PBS
C57BL/6J
C;RLSL;F
GN

图50

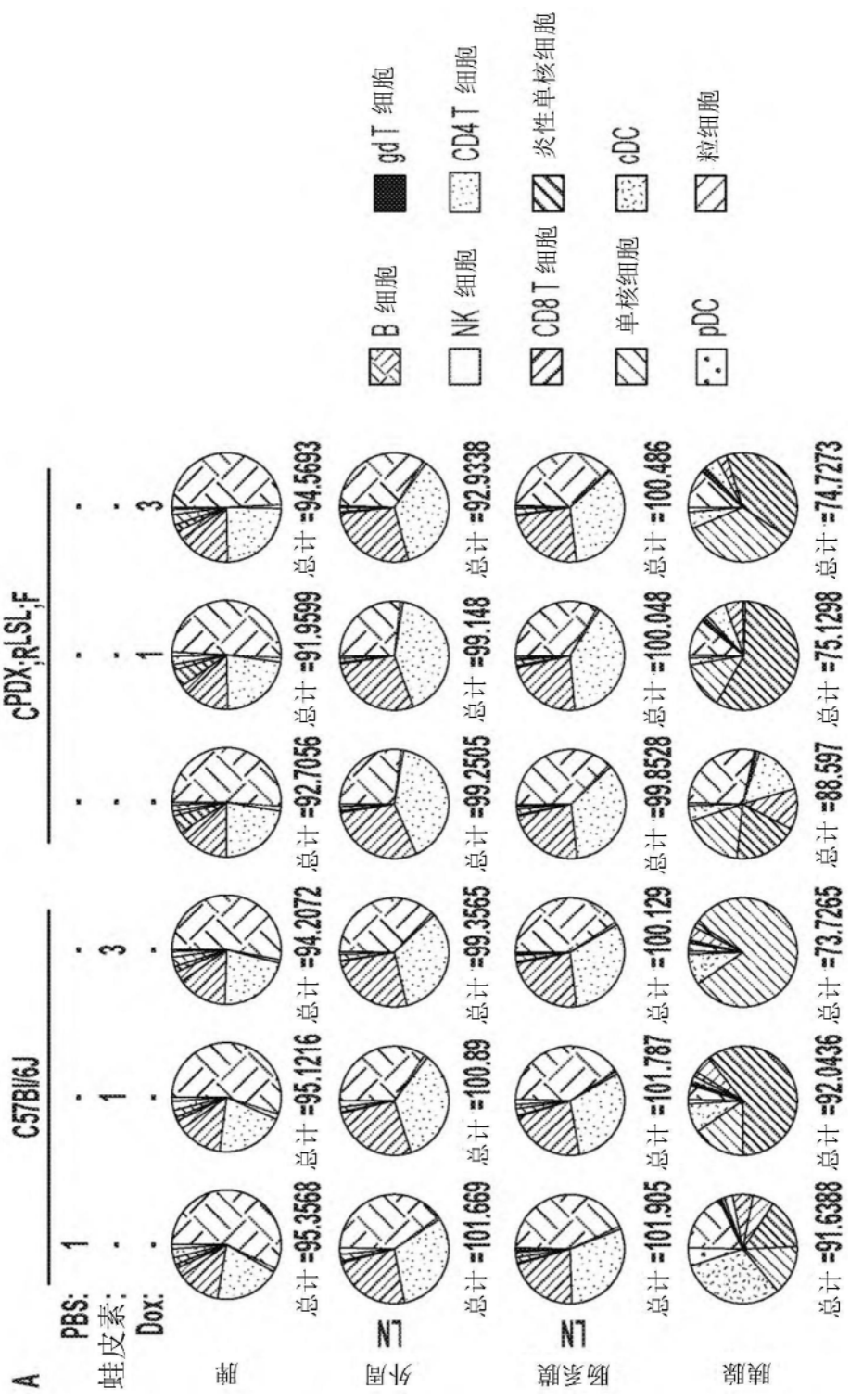

A
C57BL/6J
cPDX-rLSL-F
PBS: 1 . . . . .
蛙皮素: . 1 3 . . .
Dox: 1 3
脾
外周LN
肠系膜LN
胰腺
总计=95.3568 总计=95.1216 总计=94.2072 总计=92.7056 总计=91.9599 总计=94.5693
总计=101.669 总计=100.89 总计=99.3565 总计=99.2505 总计=99.148 总计=92.9338
总计=101.905 总计=101.787 总计=100.129 总计=99.8528 总计=100.048 总计=100.486
总计=91.6388 总计=92.0436 总计=73.7265 总计=88.597 总计=75.1298 总计=74.7273
B 细胞
gdT 细胞
NK 细胞
CD4 T 细胞
CD8 T 细胞
炎性单核细胞
单核细胞
cDC
pDC
粒细胞

图51

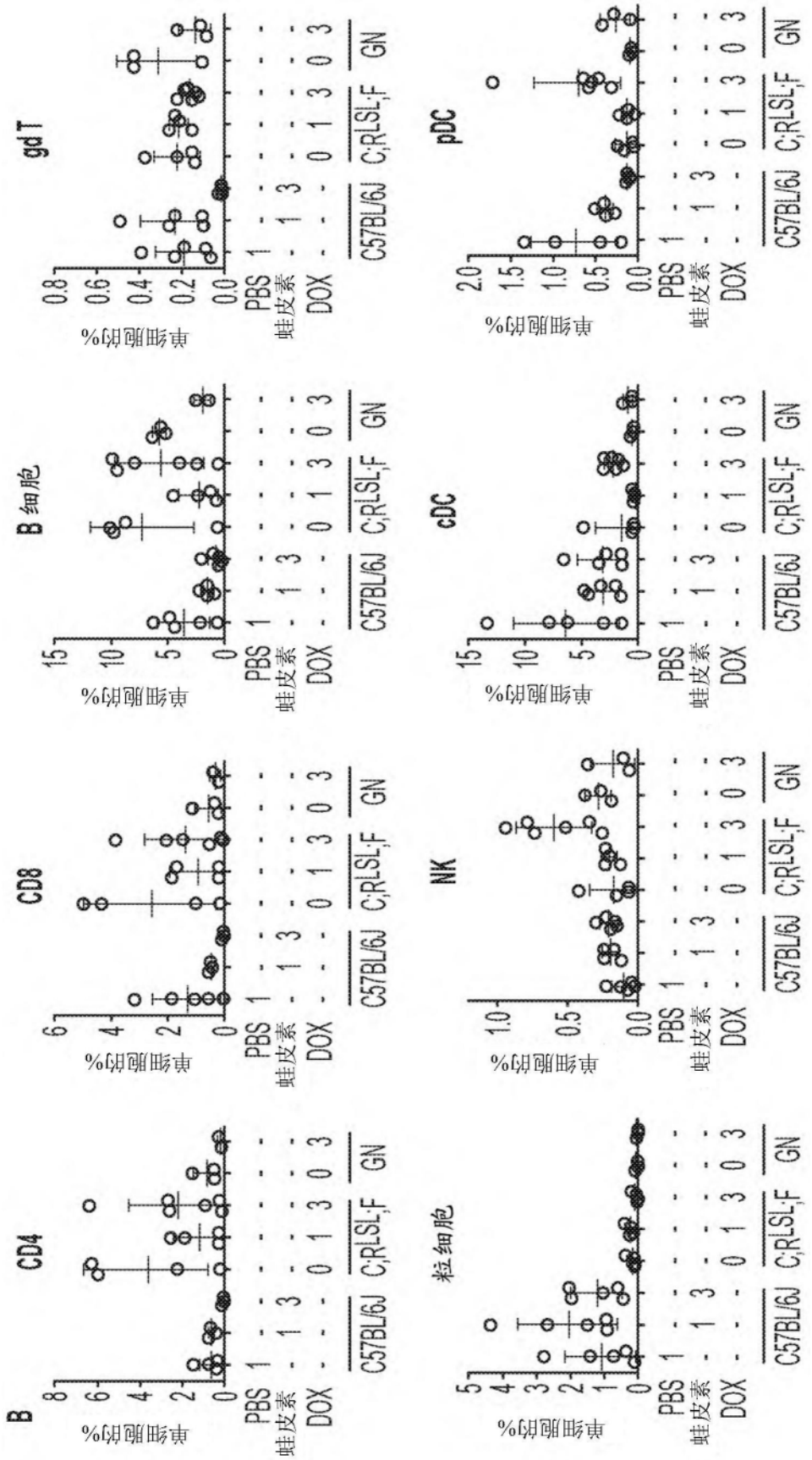

B
CD4
CD8
B 细胞
gd T
粒细胞
NK
cDC
pDC
单细胞的%
蛙皮素
PBS
DOX
C57BL/6J
C;R|SL;F
GN

图51(续)

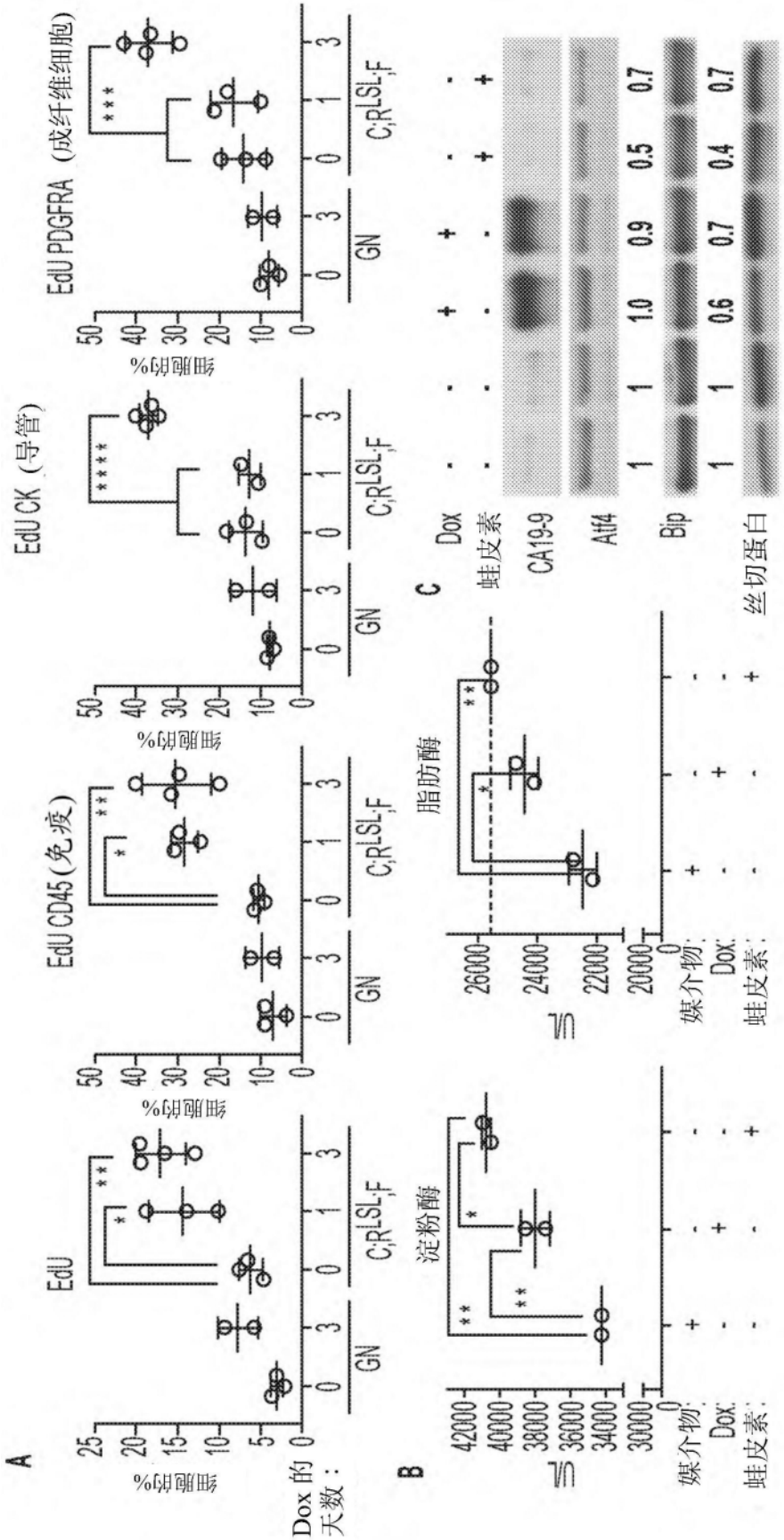

A
EdU
EdU CD45(免疫)
EdU CK (导管)
EdU PDGFRA (成纤维细胞)
细胞的%
Dox 的天数：
GN
C;RLSL-F
B
淀粉酶
脂肪酶
媒介物：
Dox：
蛙皮素：
C
Dox
蛙皮素
CA19-9
Atf4
Bip
丝切蛋白

图52

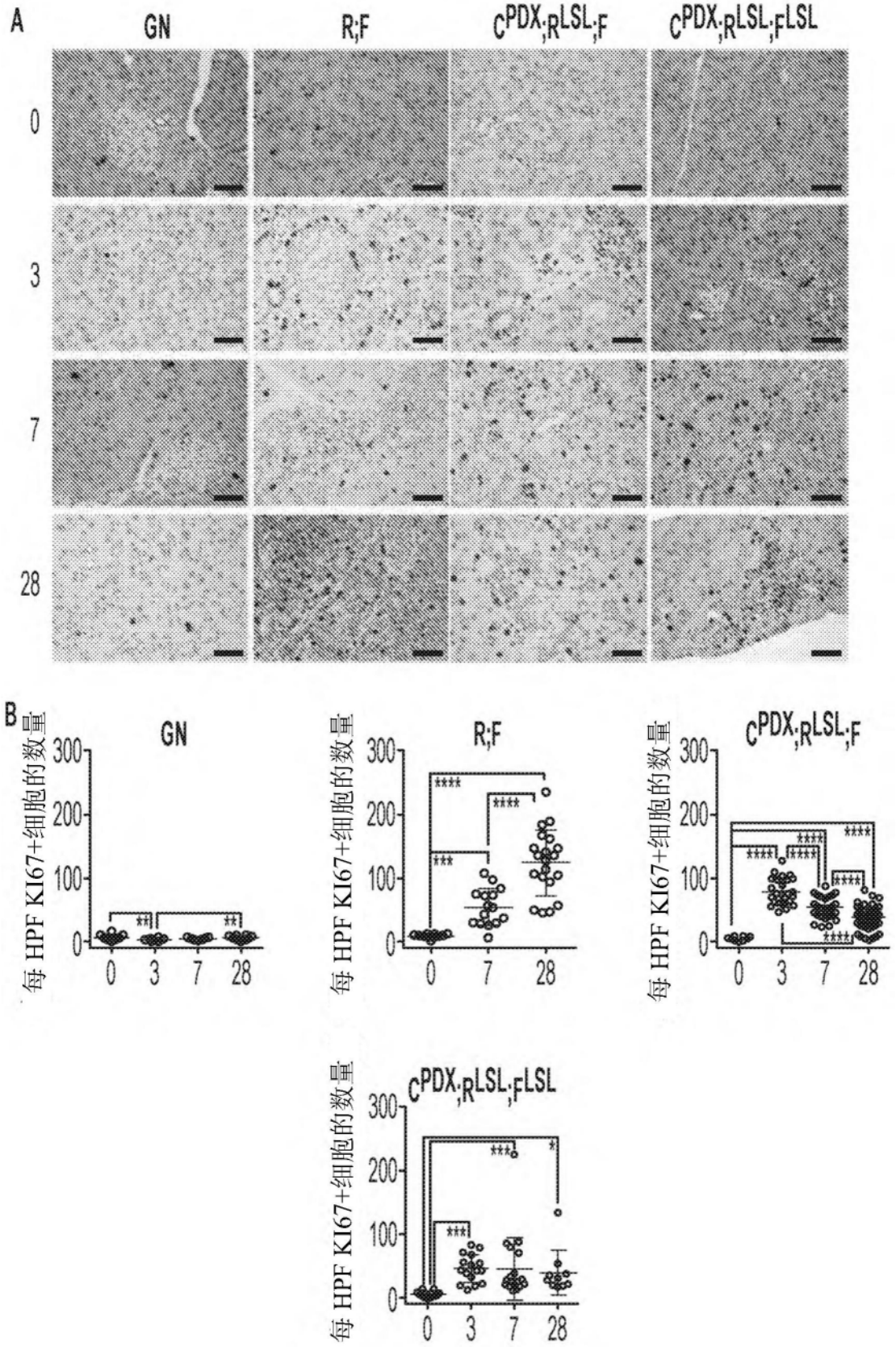

A
GN
R;F
cPDX;RLSL;F
cPDX;RLSL;FLSL
0
3
7
28
B
每 HPF KI67+细胞的数量
GN
R;F
cPDX;RLSL;F
cPDX;RLSL;FLSL
0
100
200
300
0
3
7
28

图53

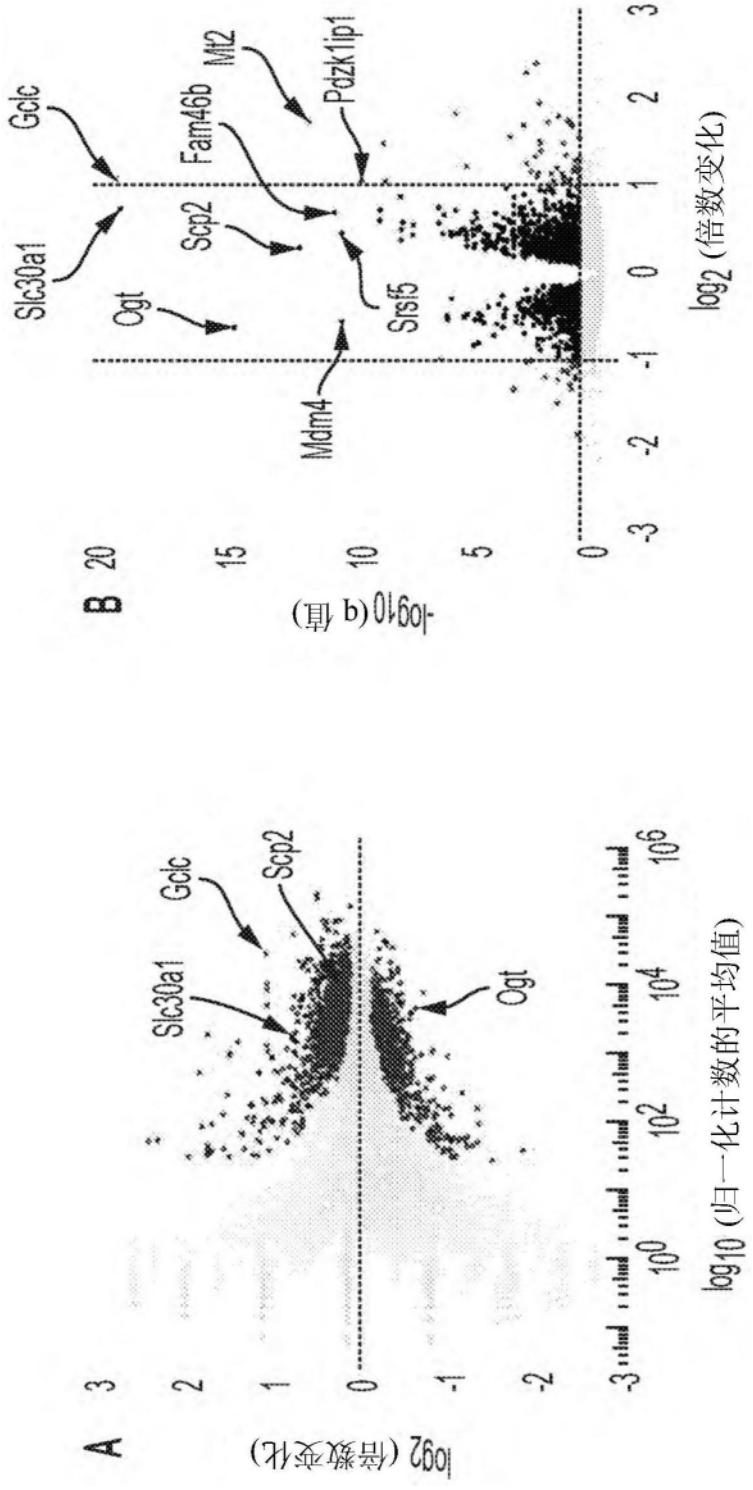

A
B
Gclc
Slc30a1
Scp2
Ogt
Fam46b
Mt2
Pdzk1ip1
Srsf5
Mdm4
log2 (倍数变化)
-log10 (q 值)
log10 (归一化计数的平均值)

图54

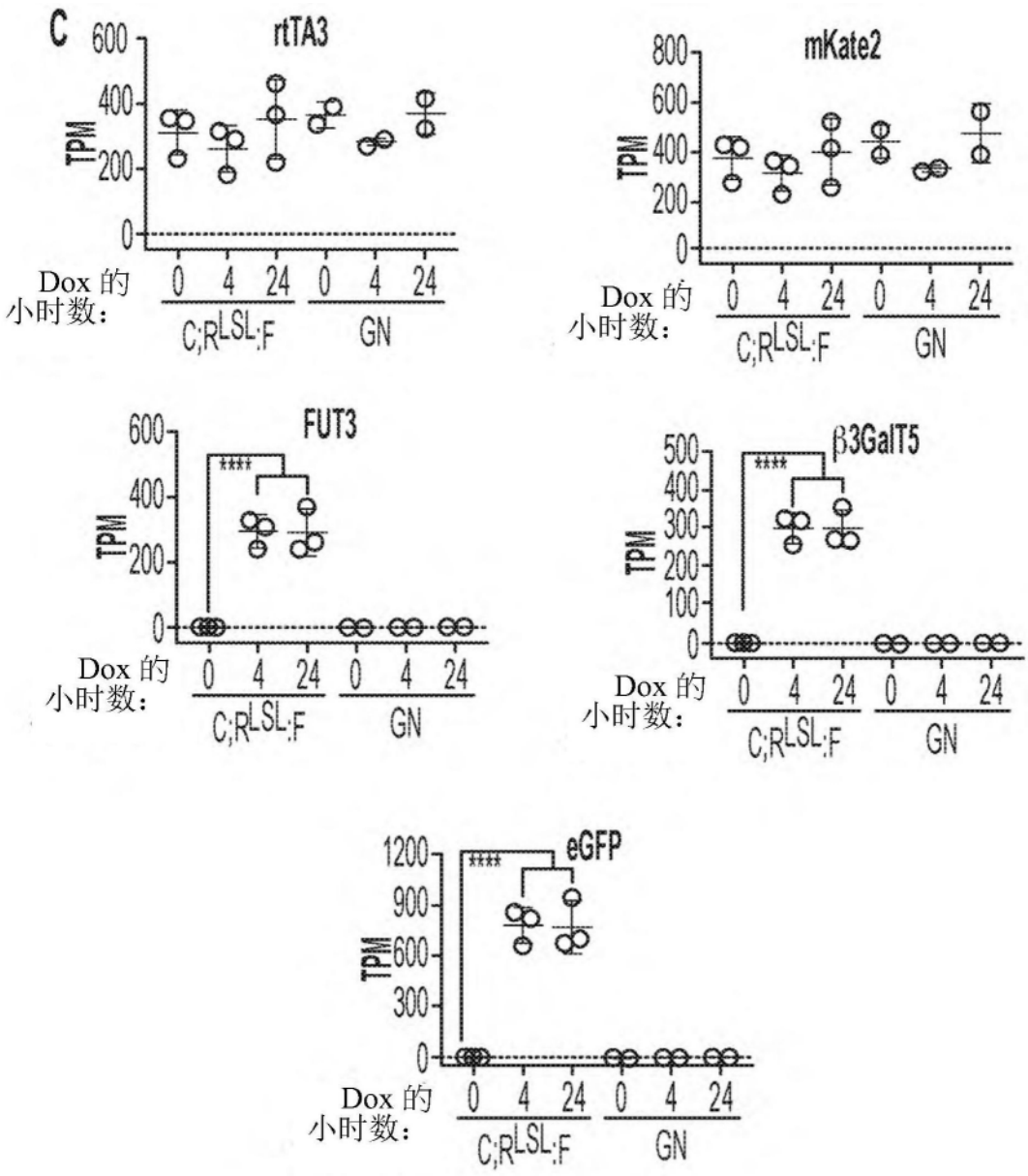

C
rtTA3
TPM
600
400
200
0
Dox 的
小时数：
0 4 24 0 4 24
C;RLSL:F
GN
mKate2
800
600
400
200
0
FUT3
****
β3GalT5
500
400
300
200
100
eGFP
1200
900
600
300

图54(续)


D
类器官中的 Fut3/HPRT1
Fut3 / HPRT1
4
3
2
1
0
人:
小鼠:
C;RLSL;F:
GN:
Dox:
hN hT - - - - - -
- - + + + + + +
- - + + + - - -
- - - - - + + +
- - 0 4 24 0 4 24
类器官中的 β3GALT5/HPRT1
β3GALT5/HPRT1
12
6
3
2
1
0
人:
小鼠:
C;RLSL;F:
GN:
Dox:
hN hT - - - - - -
- - + + + + + +
- - + + + - - -
- - - - - + + +
- - 0 4 24 0 4 24

图54(续)

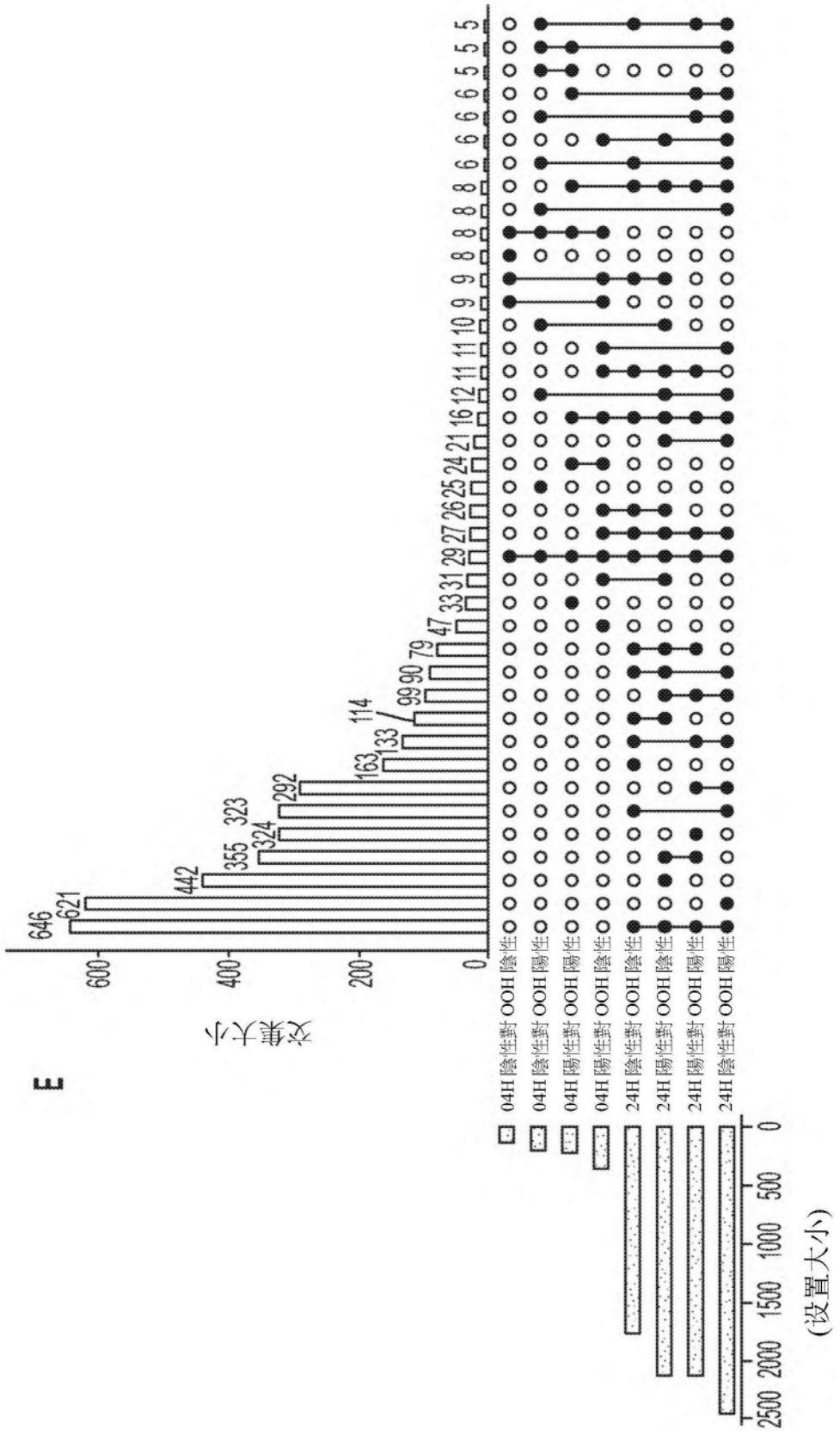

E
交集大小
646
621
442
355
324
323
292
163
133
114
99
90
79
47
33
31
29
27
26
25
24
21
16
12
11
11
10
9
9
8
8
8
8
6
6
6
6
6
5
5
5
5
600
400
200
0
04H 陰性對 OOH 陰性
04H 陰性對 OOH 陽性
04H 陽性對 OOH 陽性
04H 陽性對 OOH 陰性
24H 陰性對 OOH 陰性
24H 陽性對 OOH 陰性
24H 陽性對 OOH 陽性
24H 陰性對 OOH 陽性
2500 2000 1500 1000 500 0
(設置大小)

图54(续)

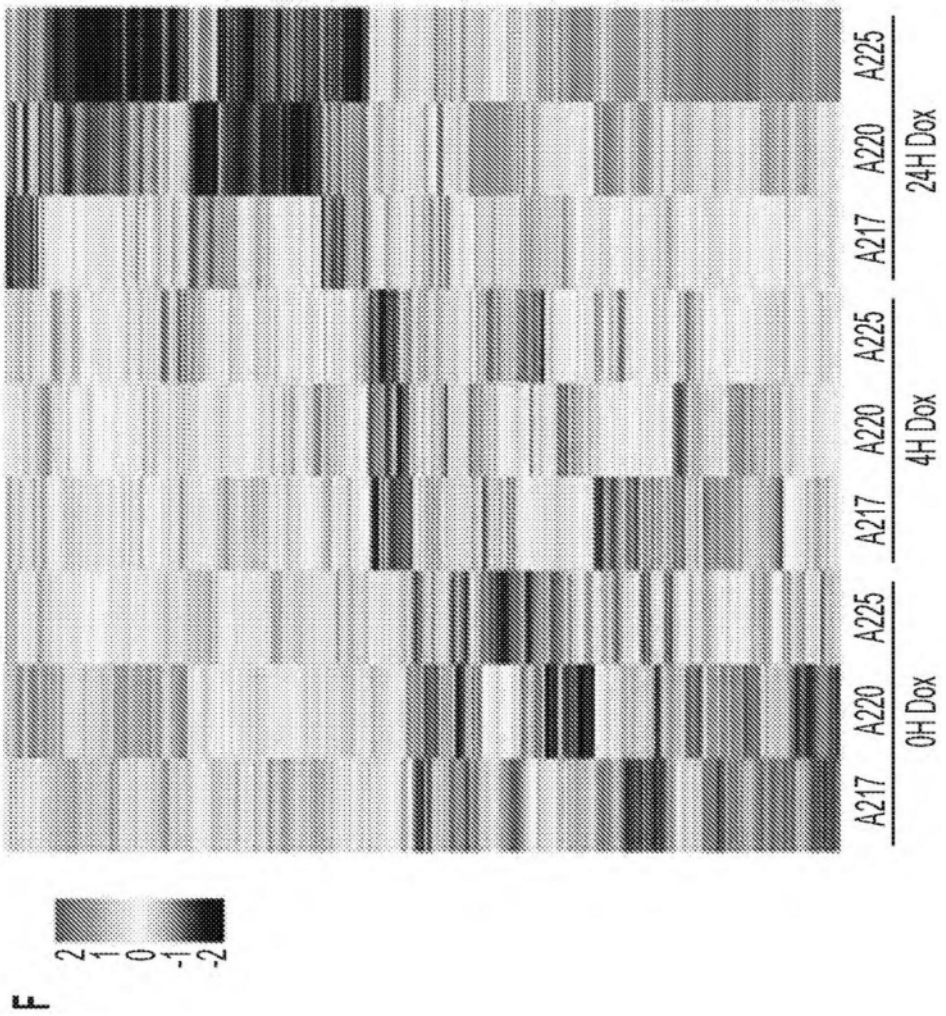

A217
A220
A225
0H Dox
A217
A220
A225
4H Dox
A217
A220
A225
24H Dox
F
2
1
0
-1
-2

图54(续)

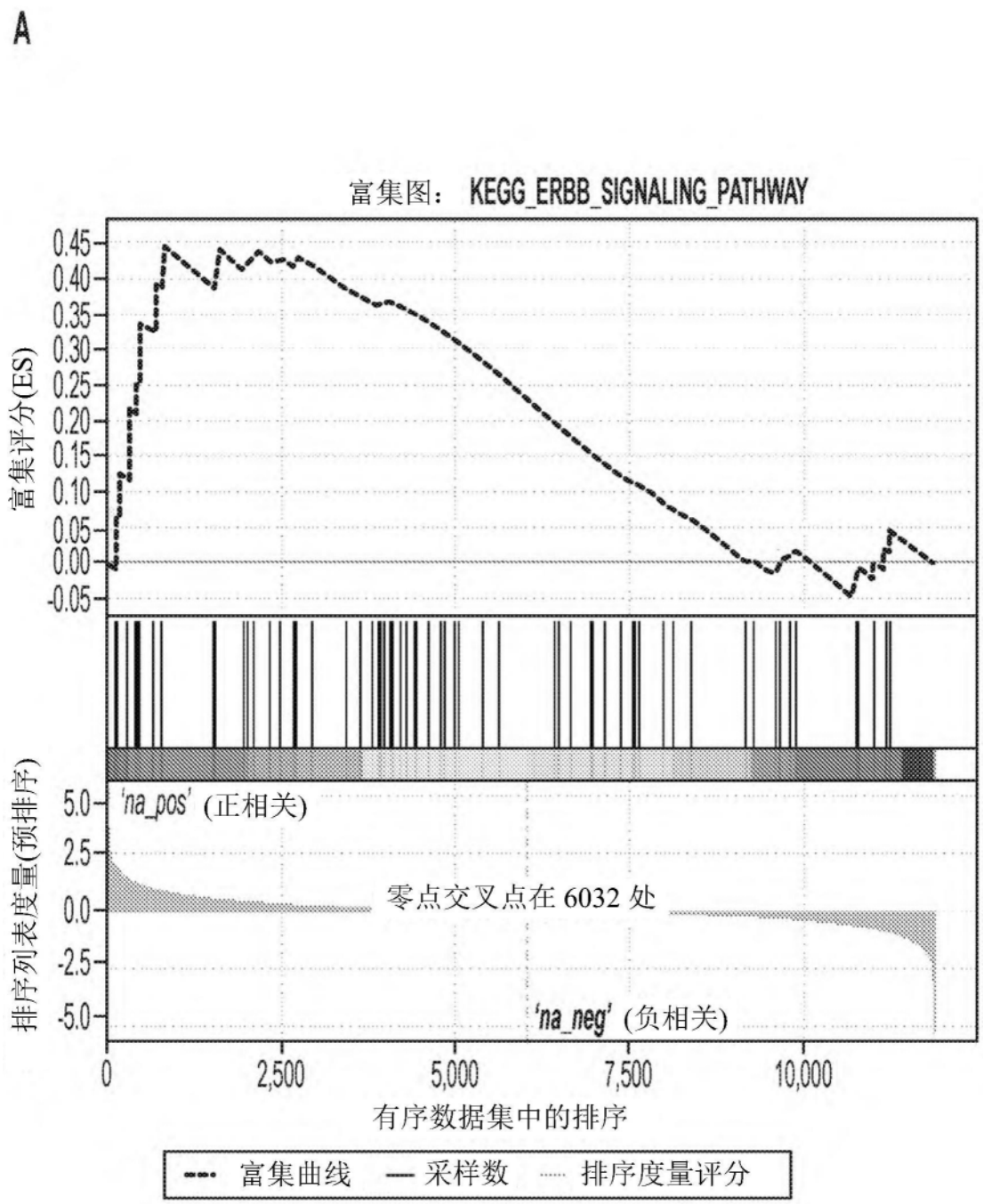
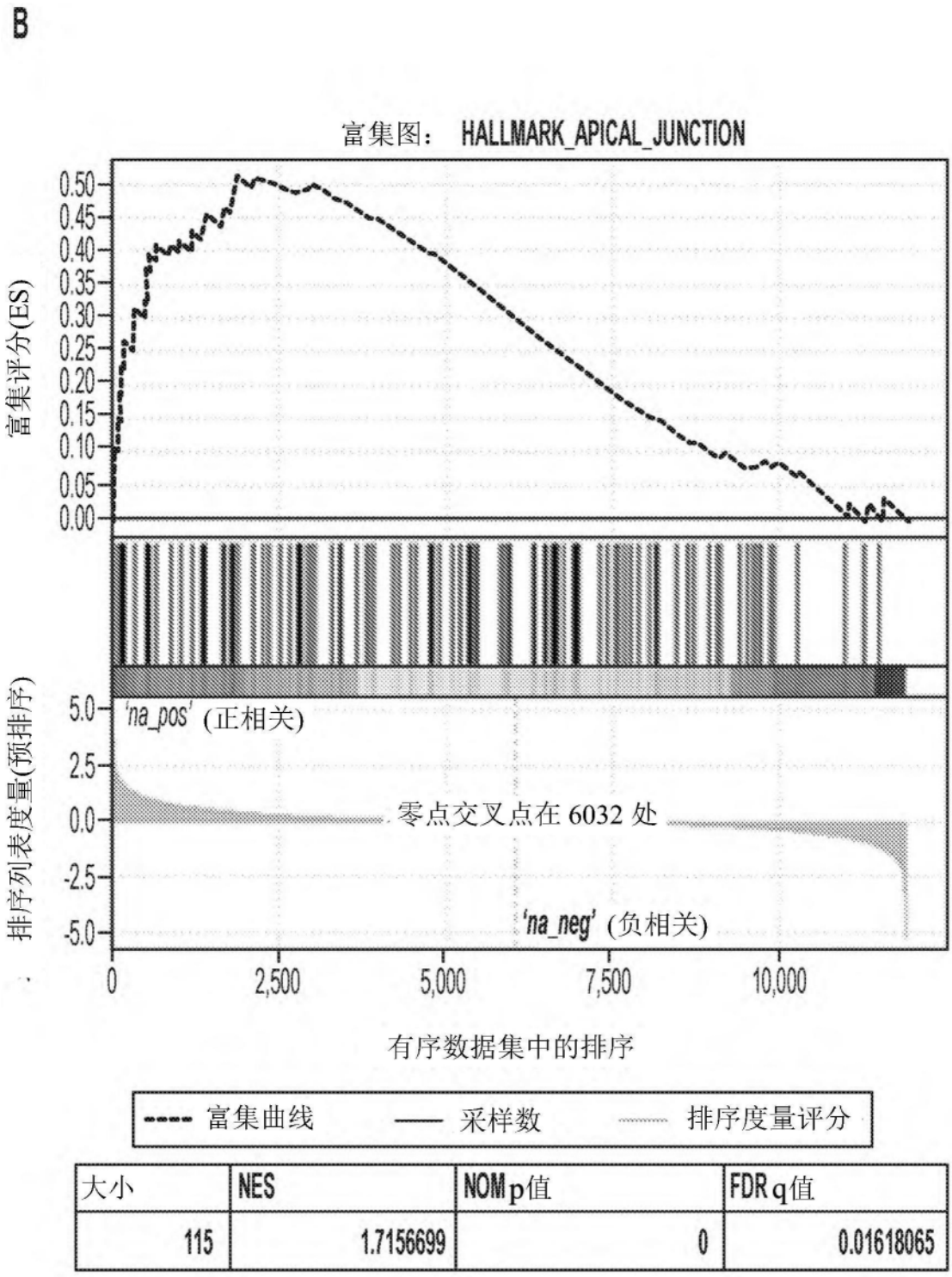
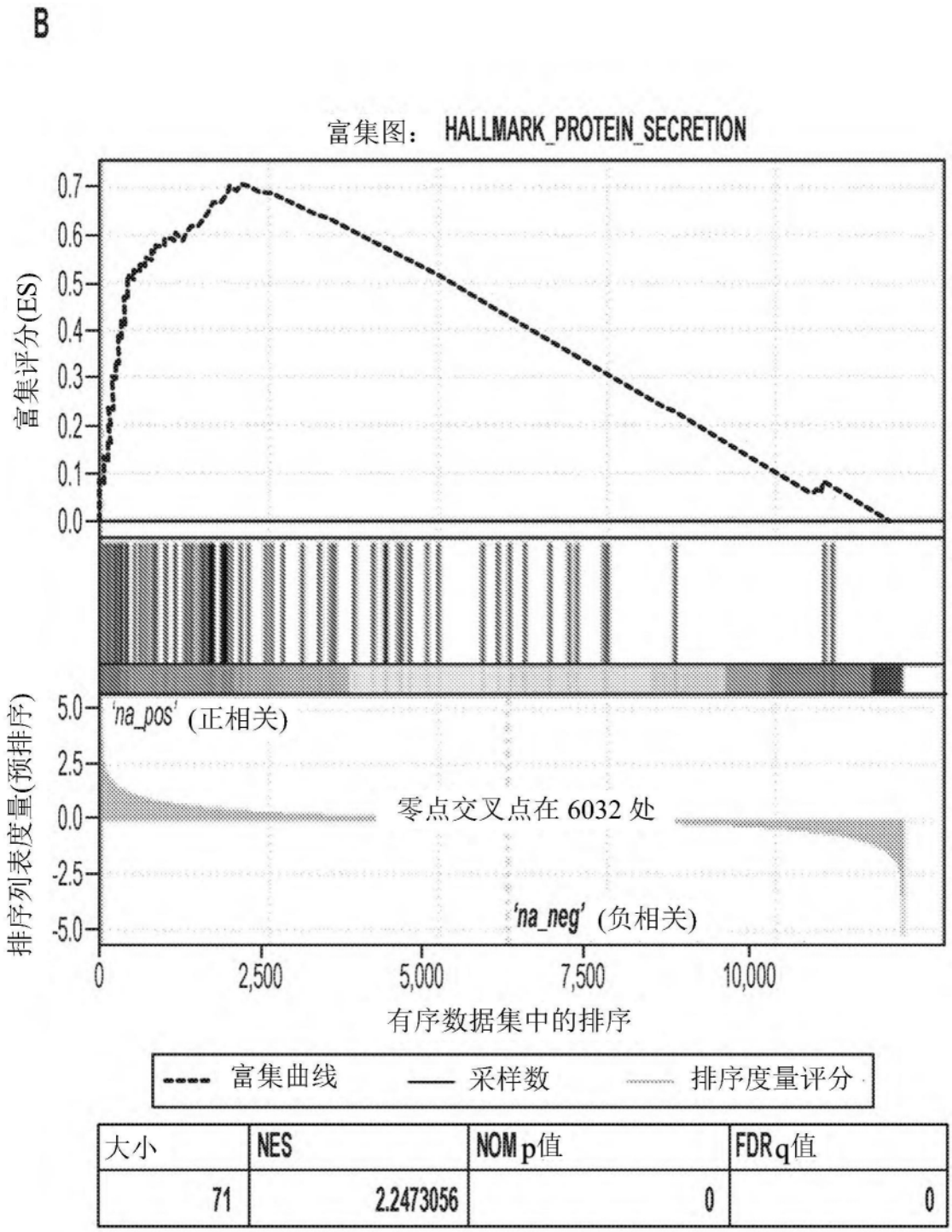

A
富集图： KEGG_ERBB_SIGNALING_PATHWAY
富集评分(ES)
0.45
0.40
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
-0.05
'na_pos' (正相关)
零点交叉点在 6032 处
'na_neg' (负相关)
排序列表度量(预排序)
5.0
2.5
0.0
-2.5
-5.0
0
2,500
5,000
7,500
10,000
有序数据集中的排序
富集曲线
采样数
排序度量评分

图55



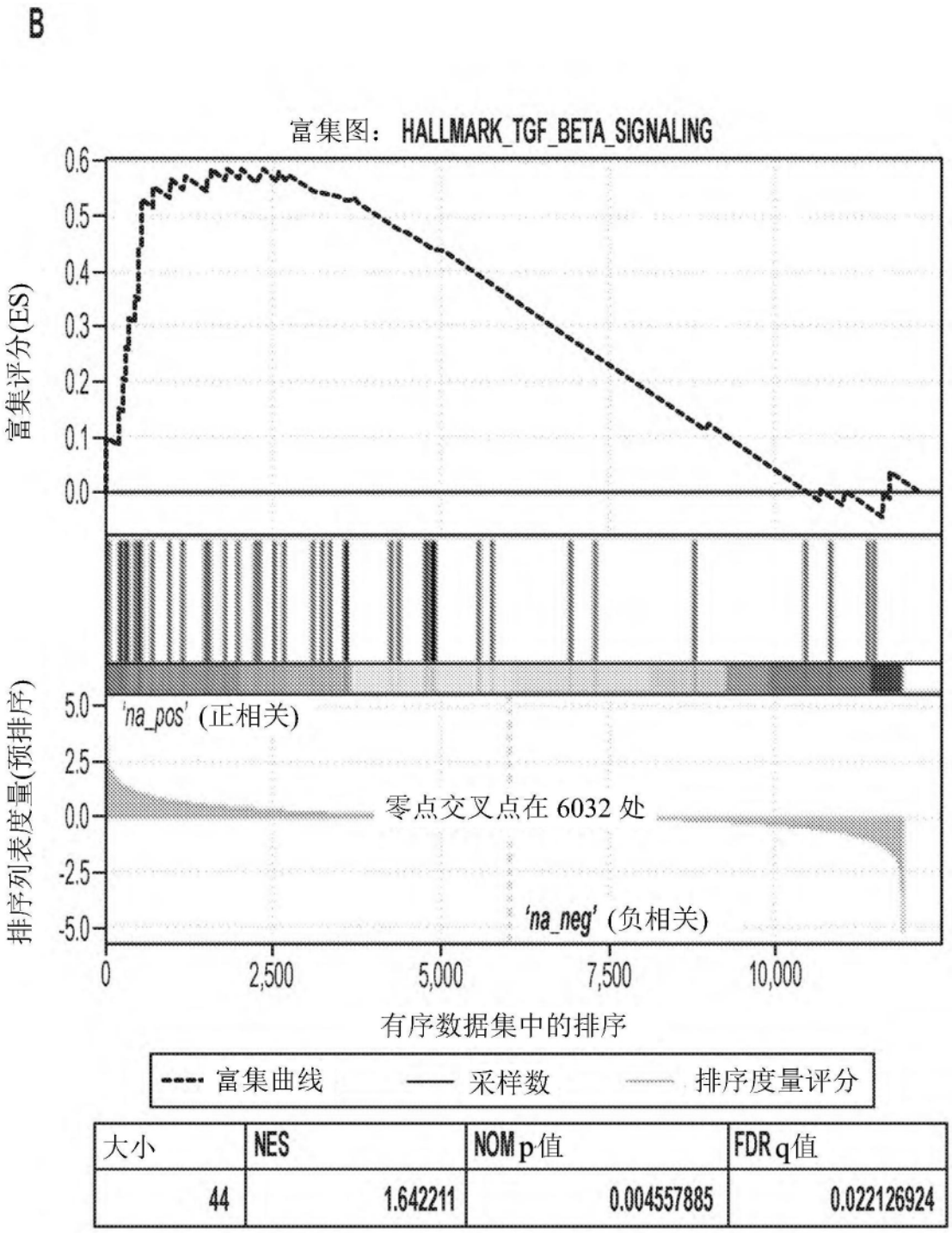
大小	NES	NOM p值	FDR q值
115	1.7156699	0	0.01618065

图55(续)



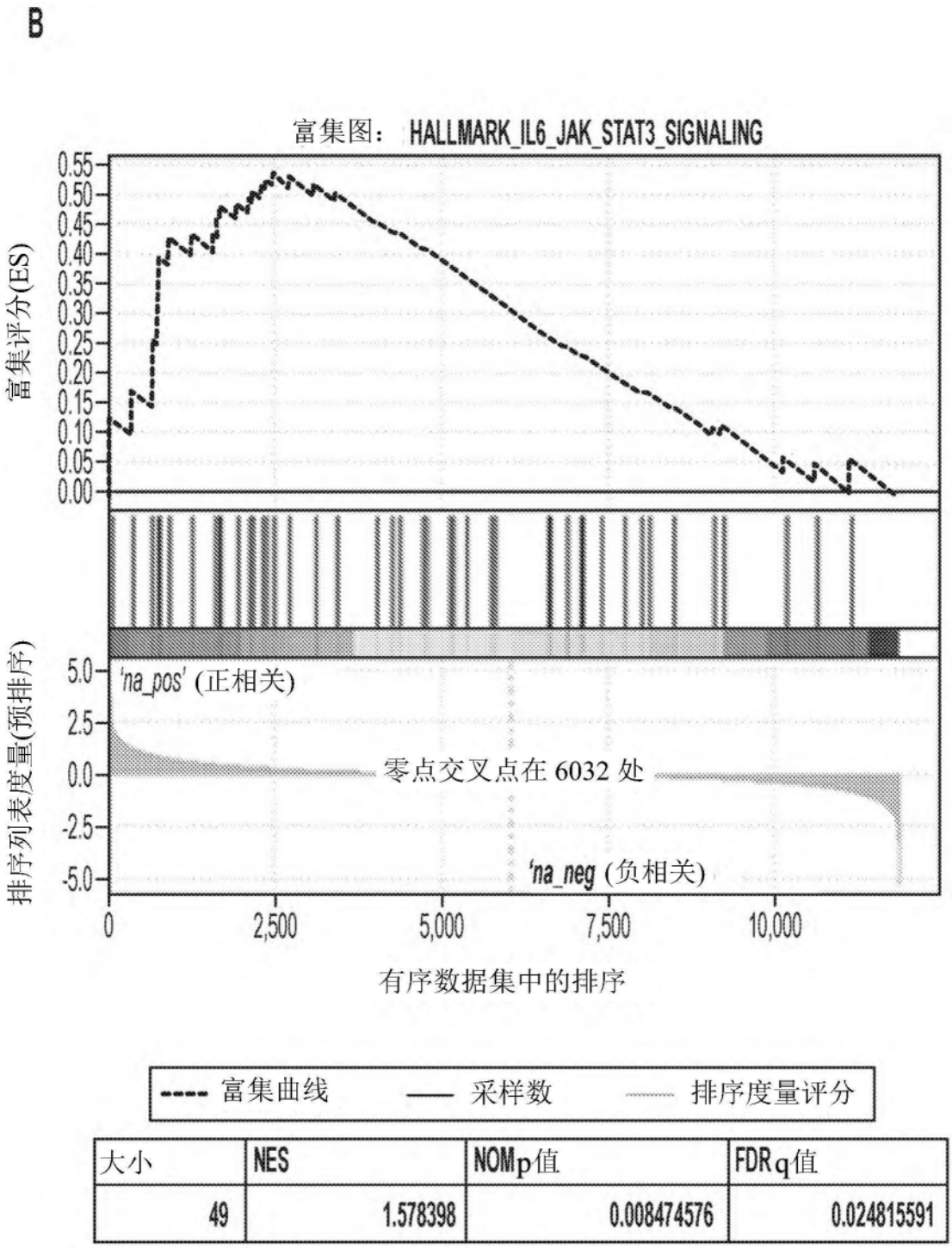
大小	NES	NOM p值	FDR q值
71	2.2473056	0	0

图55(续)



大小	NES	NOM p值	FDR q值
44	1.642211	0.004557885	0.022126924

图55(续)



大小	NES	NOMp值	FDRq值
49	1.578398	0.008474576	0.024815591

图55(续)

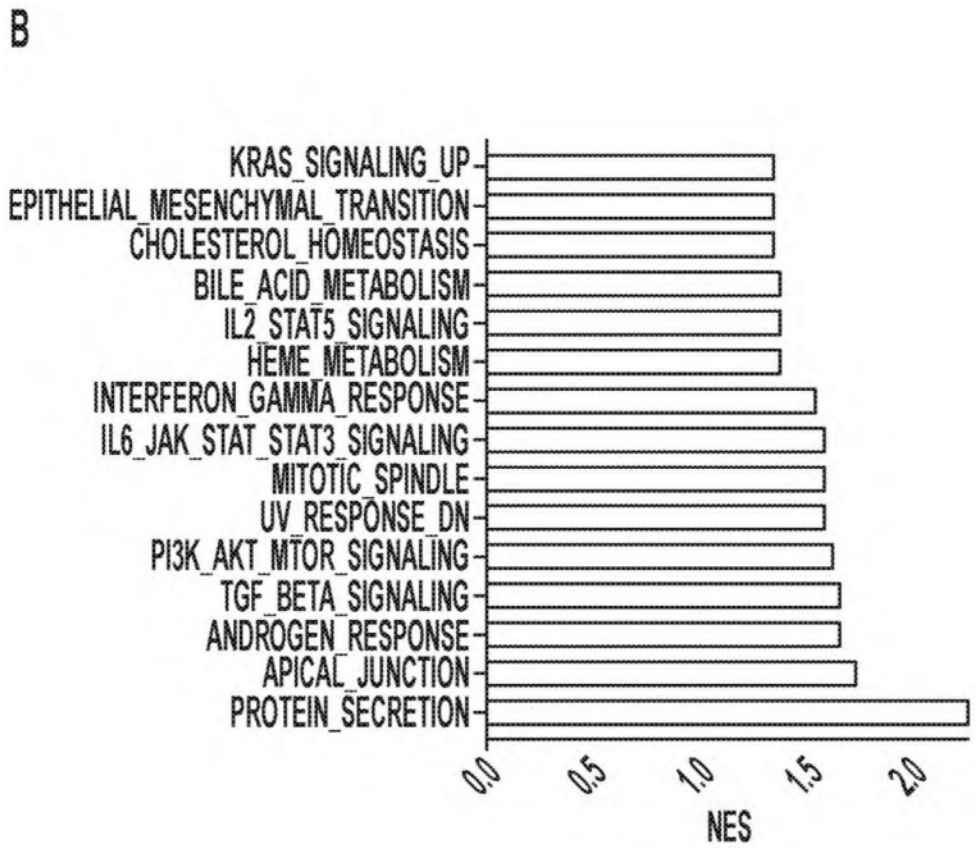
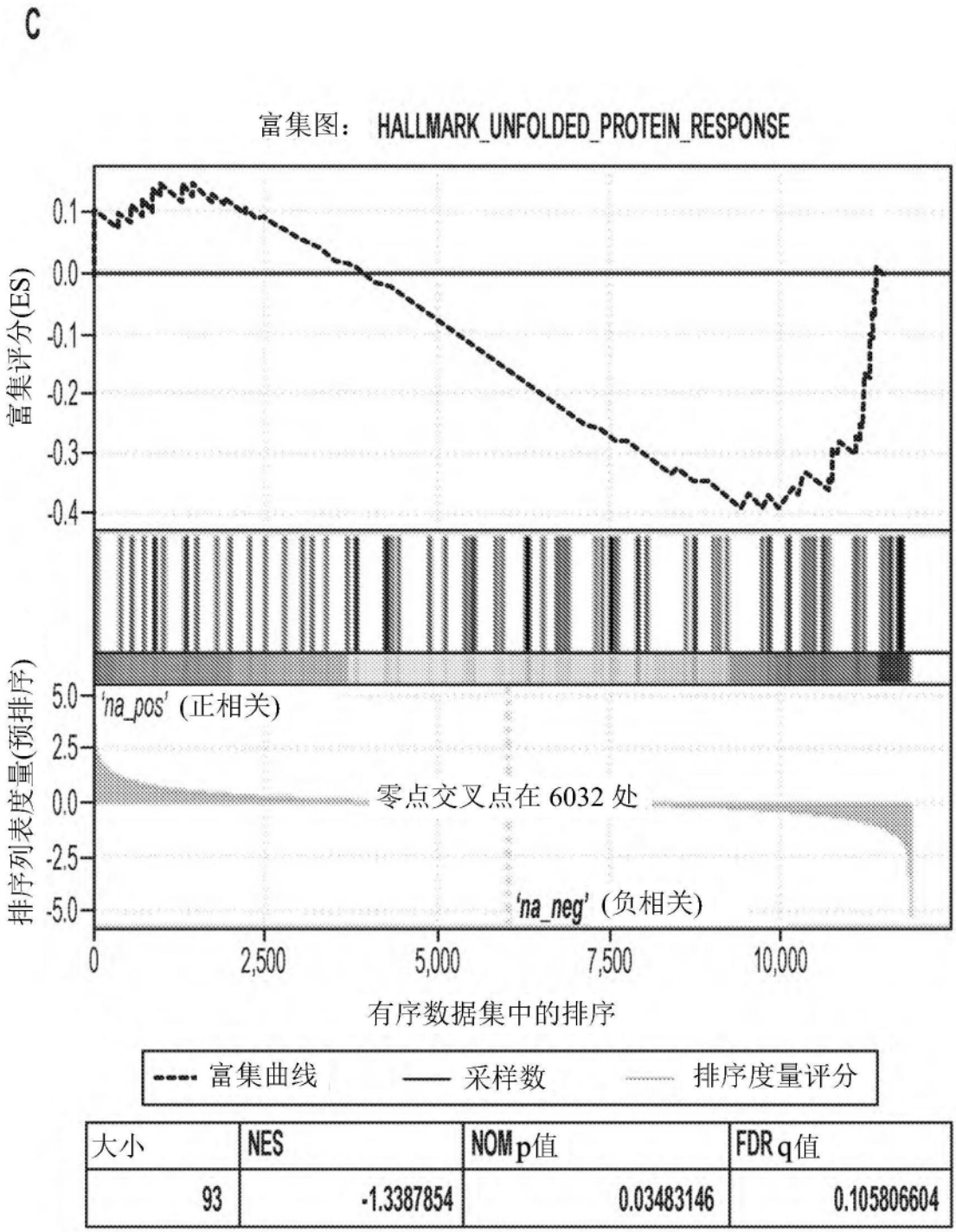

B
KRAS_SIGNALING_UP
EPITHELIAL_MESENCHYMAL_TRANSITION
CHOLESTEROL_HOMEOSTASIS
BILE_ACID_METABOLISM
IL2_STAT5_SIGNALING
HEME_METABOLISM
INTERFERON_GAMMA_RESPONSE
IL6_JAK_STAT_STAT3_SIGNALING
MITOTIC_SPINDLE
UV_RESPONSE_DN
PI3K_AKT_MTOR_SIGNALING
TGF_BETA_SIGNALING
ANDROGEN_RESPONSE
APICAL_JUNCTION
PROTEIN_SECRETION
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
NES

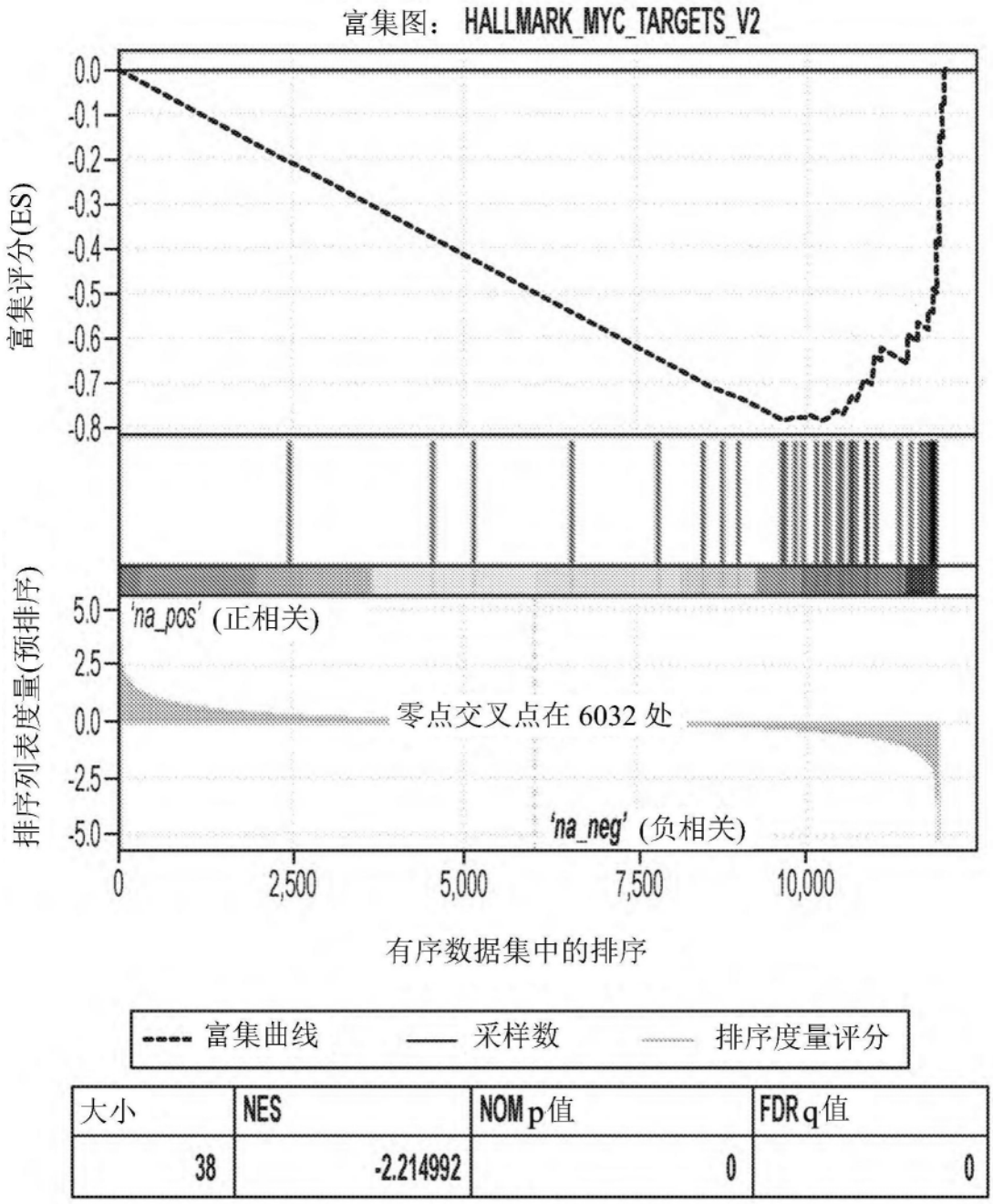
图55(续)



大小	NES	NOM p值	FDR q值
93	-1.3387854	0.03483146	0.105806604

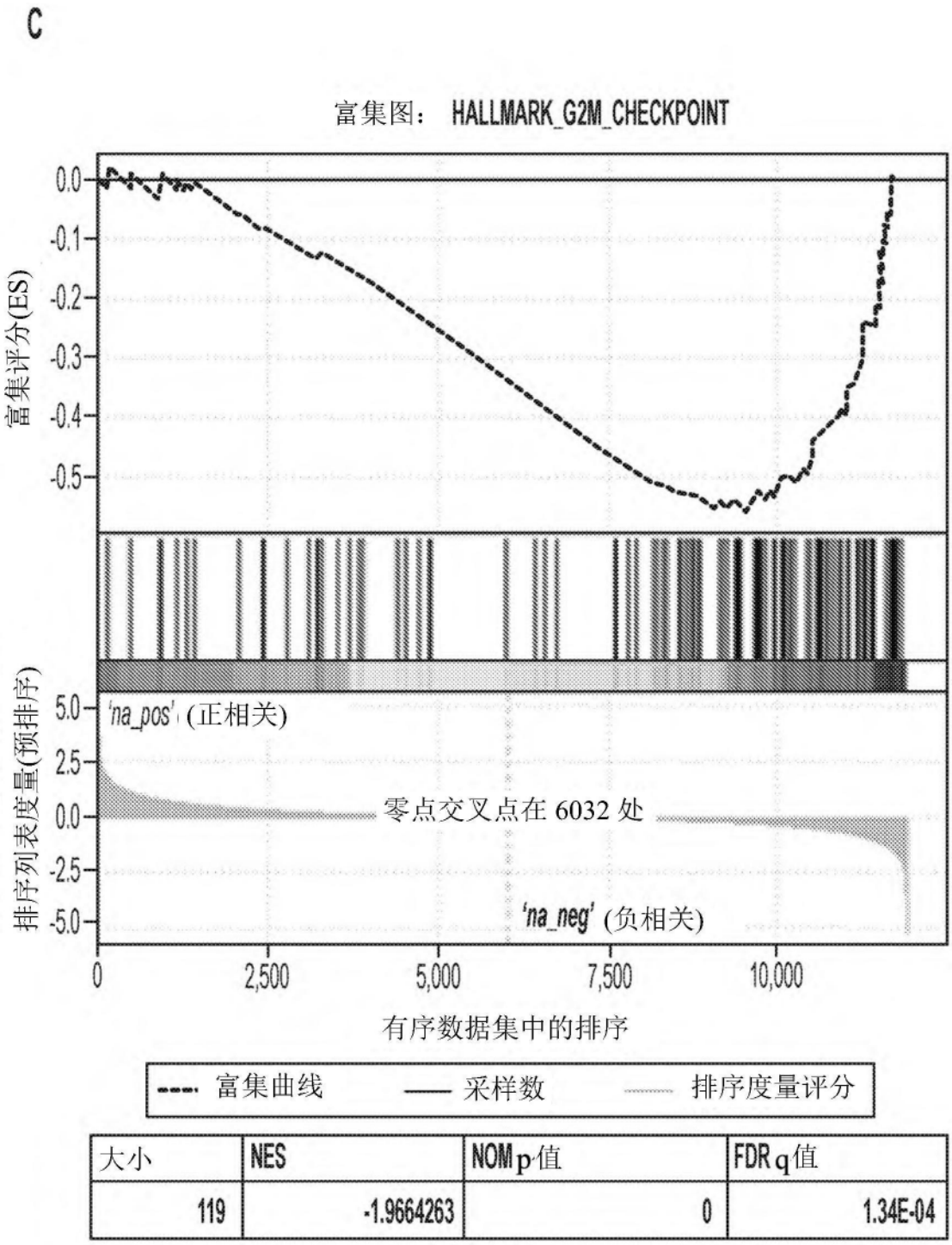
图55(续)

C



大小	NES	NOM p值	FDR q值
38	-2.214992	0	0

图55(续)



大小	NES	NOM p值	FDR q值
119	-1.9664263	0	1.34E-04

图55(续)

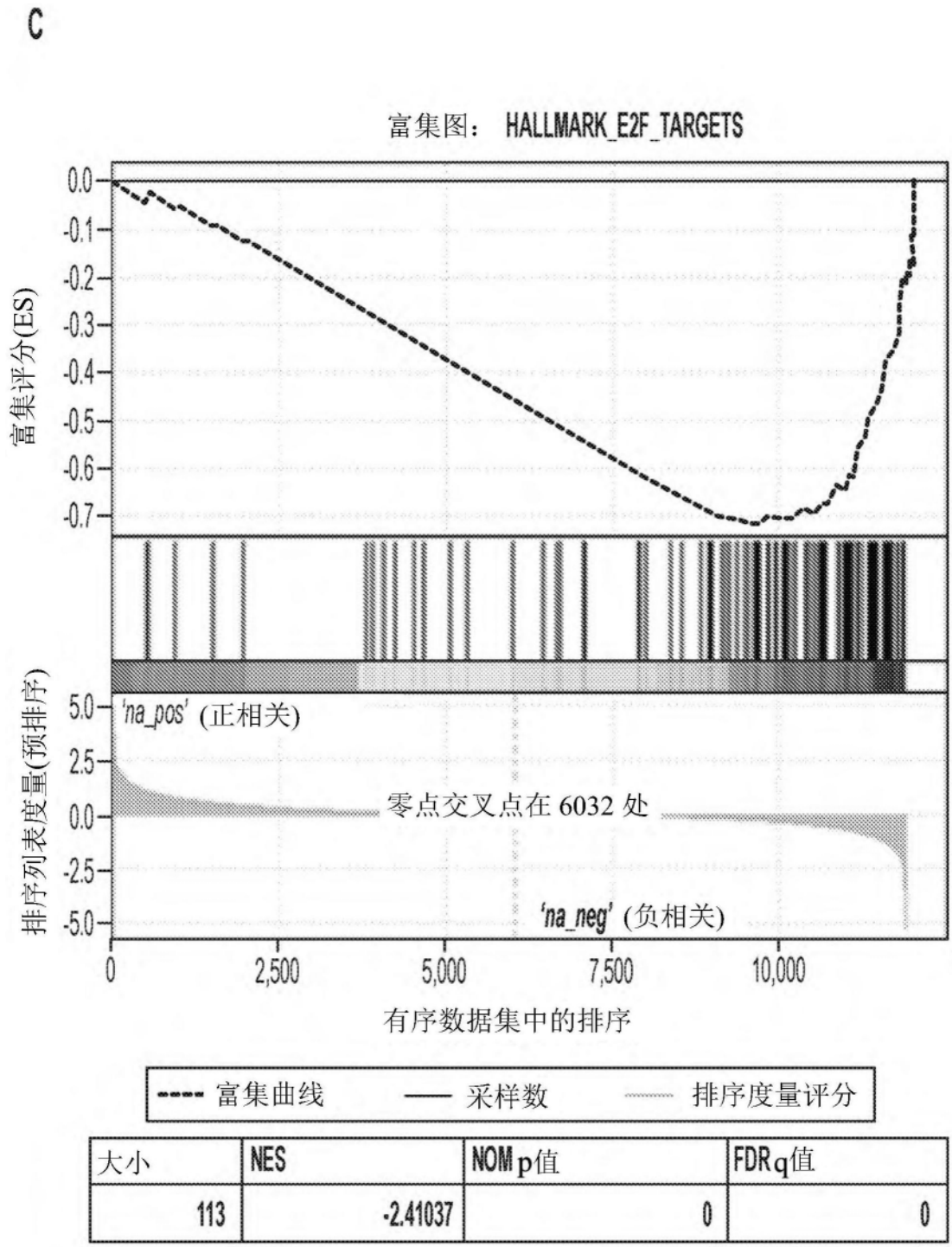

C
富集图： HALLMARK_E2F_TARGETS
富集评分(ES)
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
-0.7
排序列表度量(预排序)
5.0
2.5
0.0
-2.5
-5.0
'na_pos' (正相关)
零点交叉点在 6032 处
'na_neg' (负相关)
0
2,500
5,000
7,500
10,000
有序数据集中的排序
富集曲线
采样数
排序度量评分
大小
NES
NOM p值
FDR q值
113
-2.41037
0
0

图55(续)

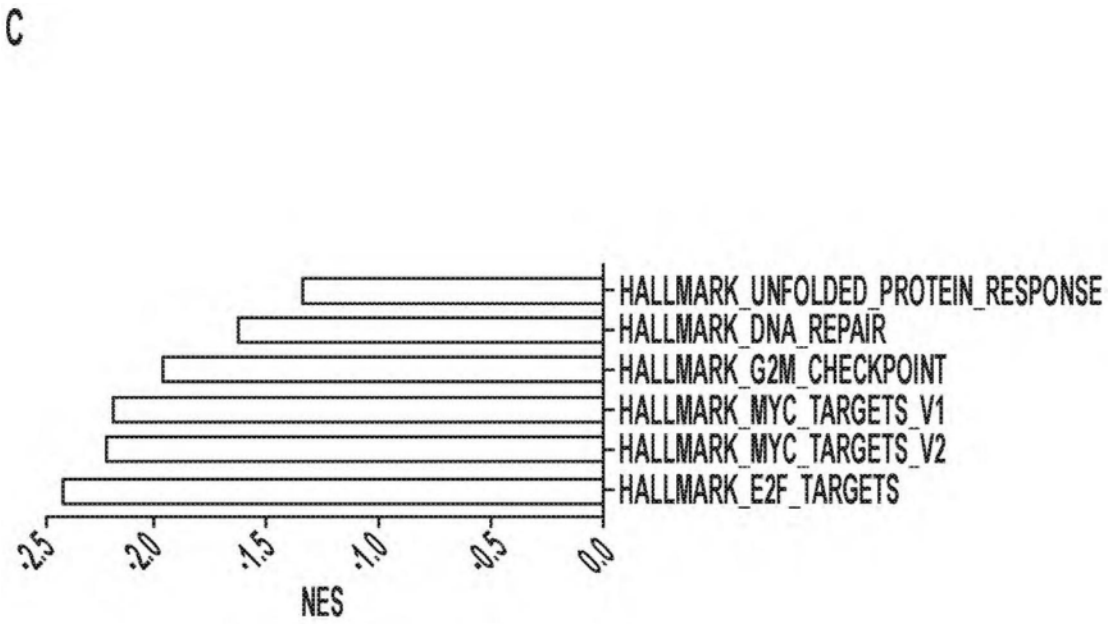
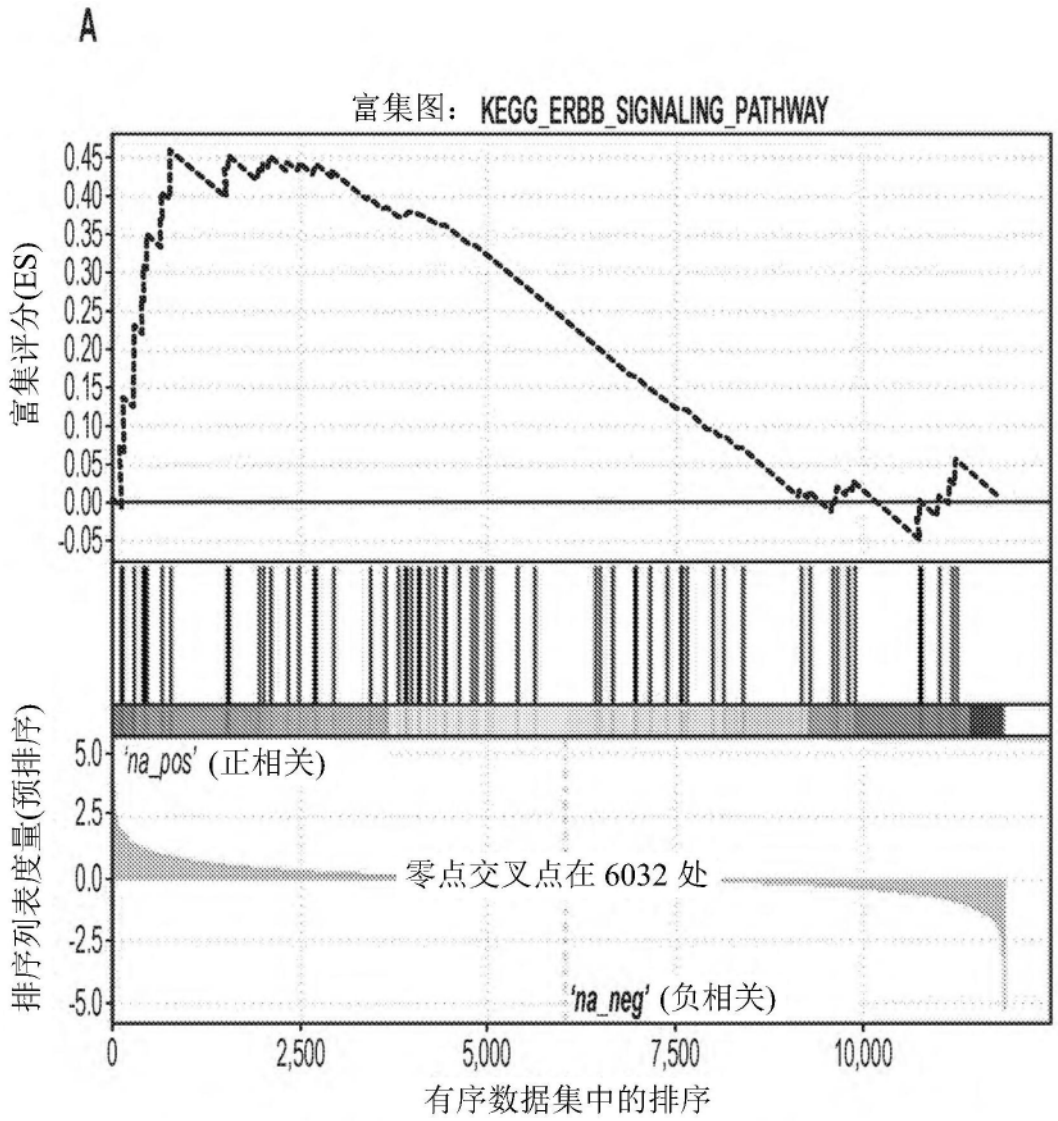
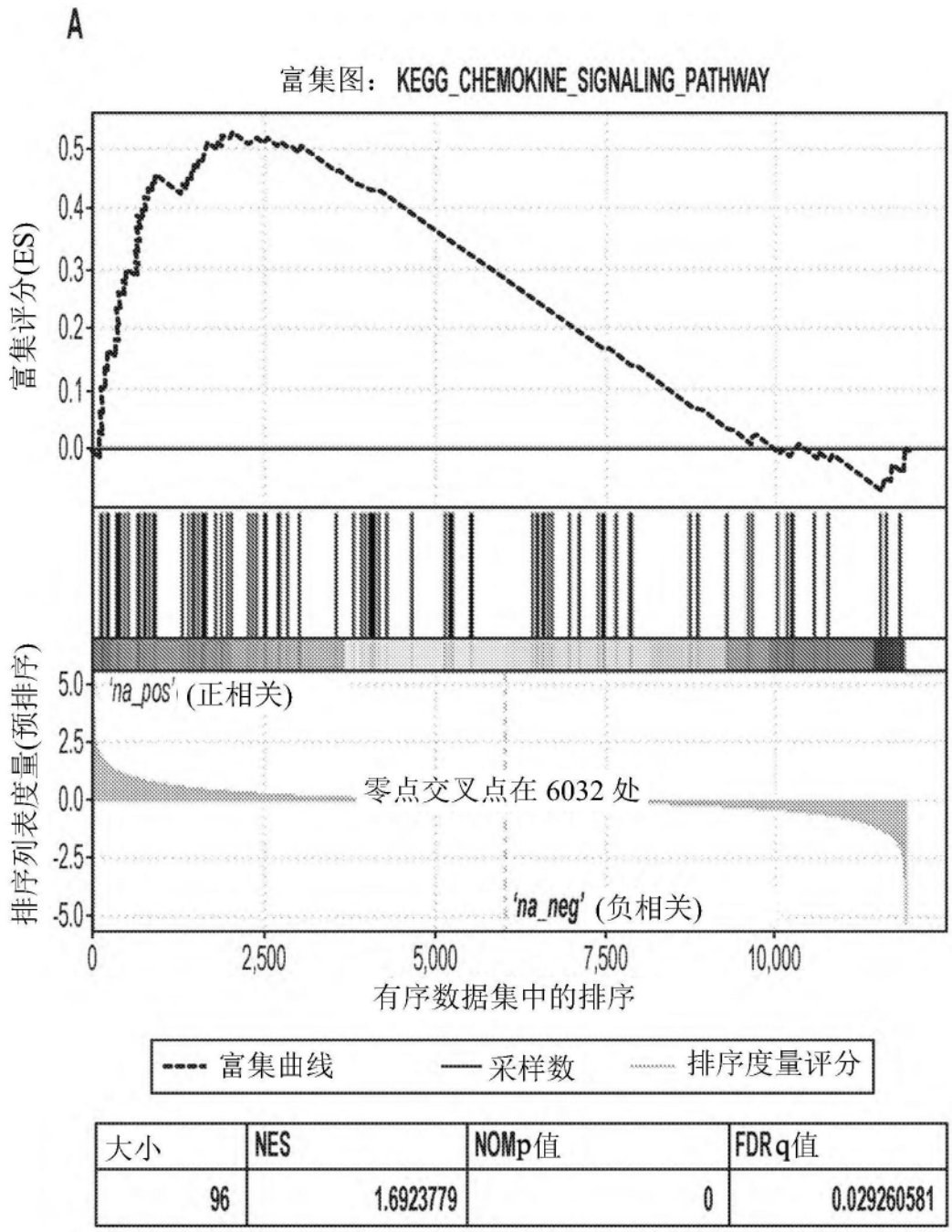

C
HALLMARK_UNFOLDED_PROTEIN_RESPONSE
HALLMARK_DNA_REPAIR
HALLMARK_G2M_CHECKPOINT
HALLMARK_MYC_TARGETS_V1
HALLMARK_MYC_TARGETS_V2
HALLMARK_E2F_TARGETS
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
NES

图55(续)



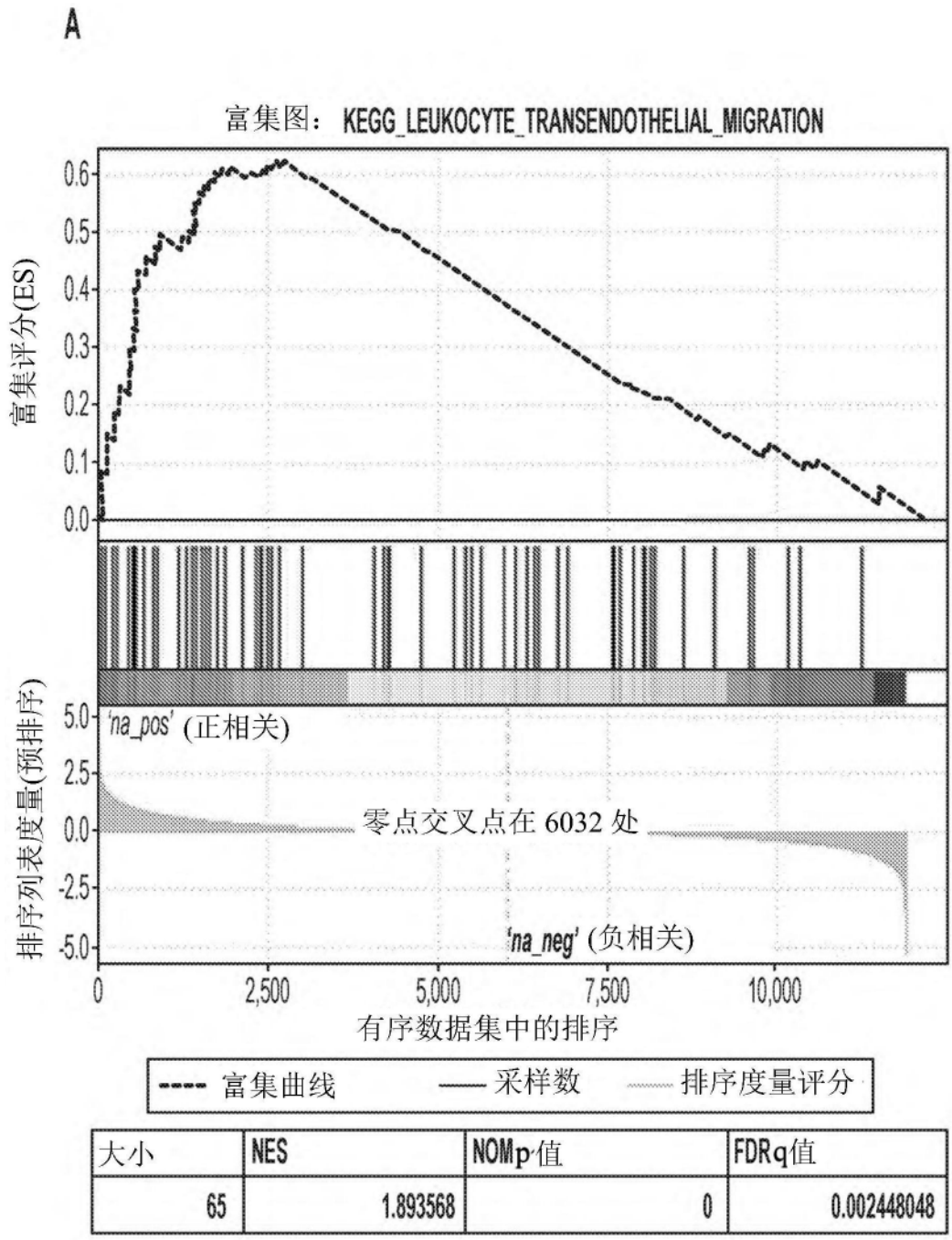
大小	NES	NOMp值	FDR q值
67	1.4281645	0.019160584	0.117798045

图56



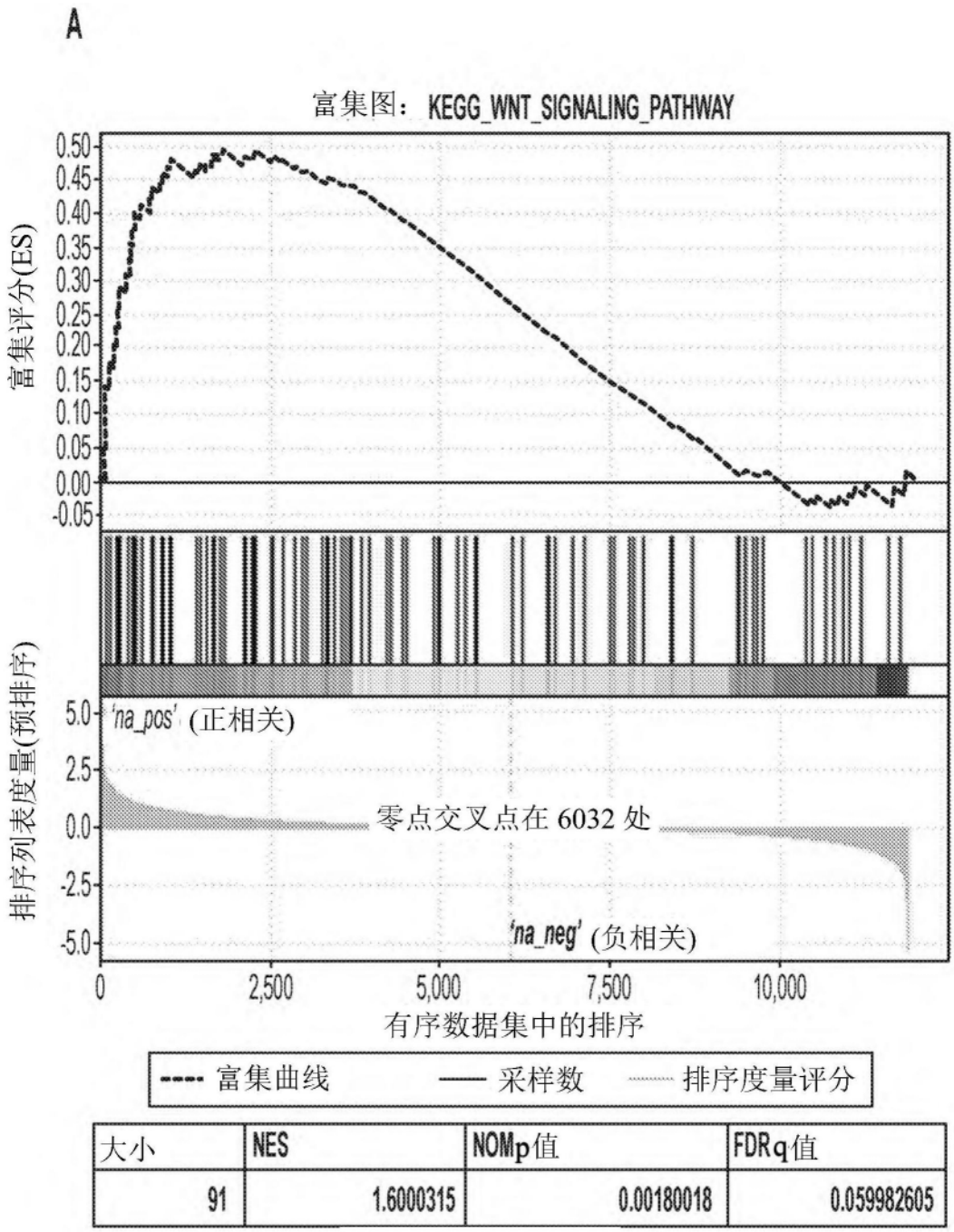
大小	NES	NOMp值	FDRq值
96	1.6923779	0	0.029260581

图56(续)



大小	NES	NOMp值	FDRq值
65	1.893568	0	0.002448048

图56(续)



大小	NES	NOMp值	FDRq值
91	1.6000315	0.00180018	0.059982605

图56(续)

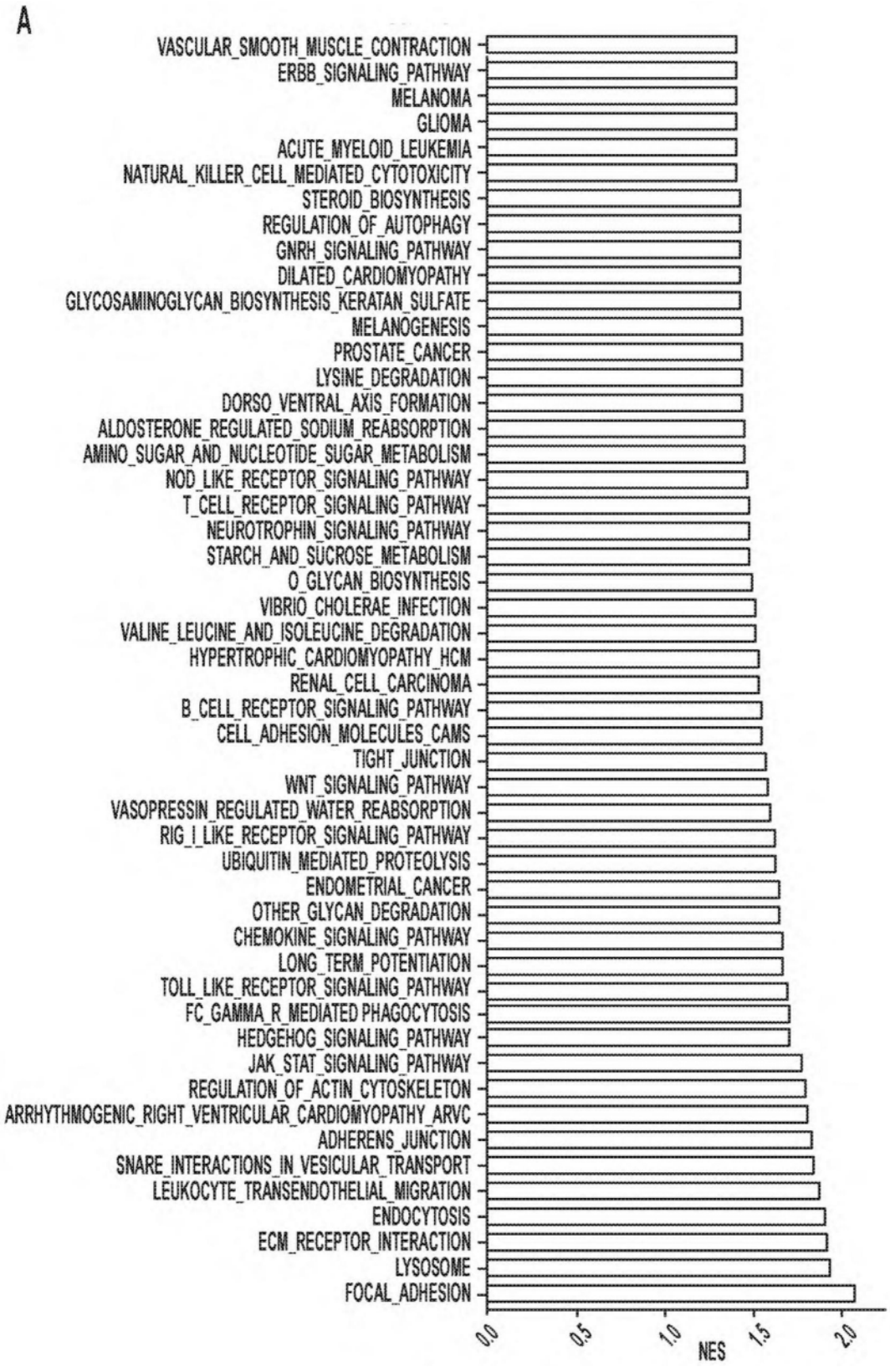
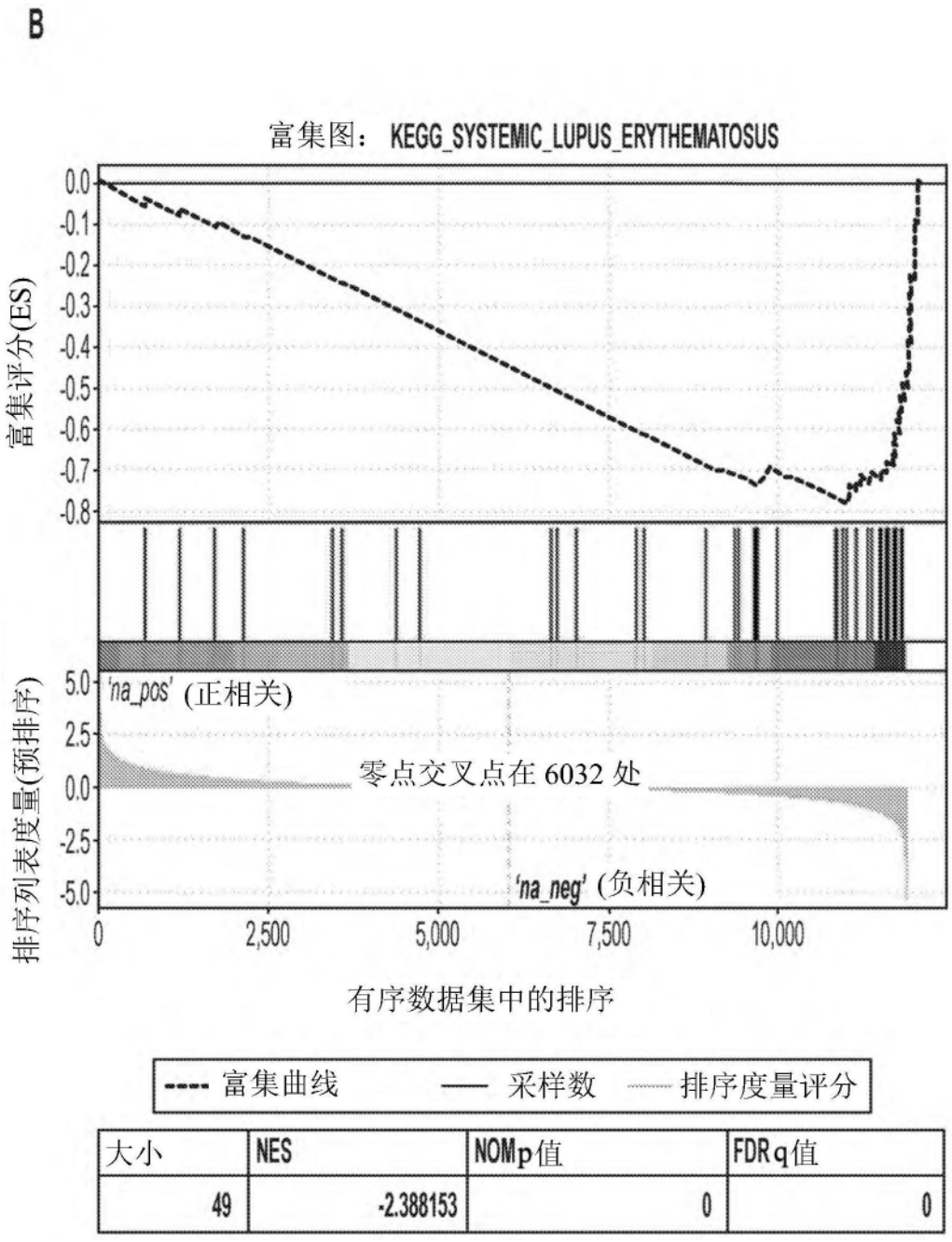
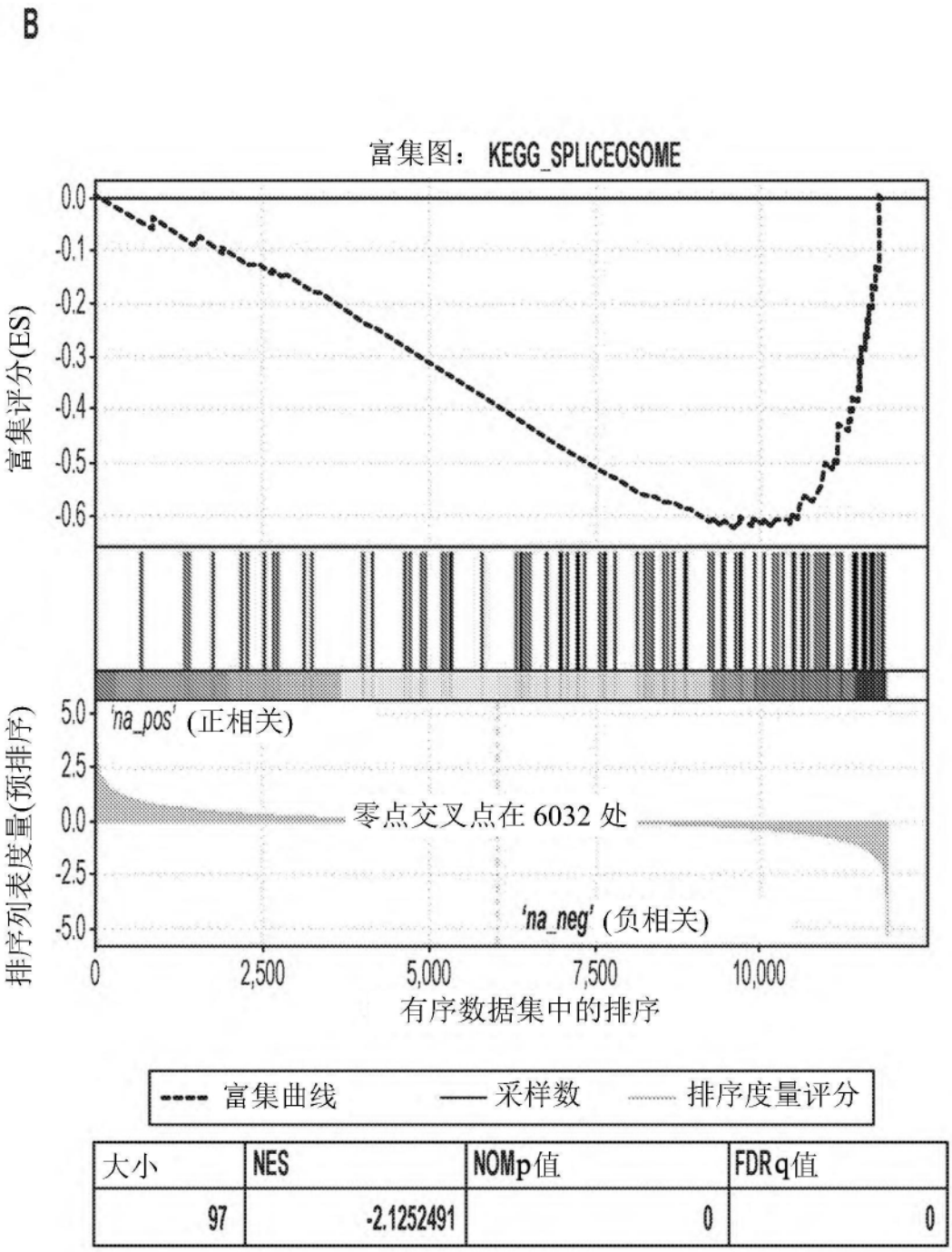

A
VASCULAR_SMOOTH_MUSCLE_CONTRACTION
ERBB_SIGNALING_PATHWAY
MELANOMA
GLIOMA
ACUTE_MYELOID_LEUKEMIA
NATURAL_KILLER_CELL_MEDIATED_CYTOTOXICITY
STEROID_BIOSYNTHESIS
REGULATION_OF_AUTOPHAGY
GNRH_SIGNALING_PATHWAY
DILATED_CARDIOMYOPATHY
GLYCOSAMINOGLYCAN_BIOSYNTHESIS_KERATAN_SULFATE
MELANOGENESIS
PROSTATE_CANCER
LYSINE_DEGRADATION
DORSO_VENTRAL_AXIS_FORMATION
ALDOSTERONE_REGULATED_SODIUM_REABSORPTION
AMINO_SUGAR_AND_NUCLEOTIDE_SUGAR_METABOLISM
NOD_LIKE_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY
T_CELL_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY
NEUROTROPHIN_SIGNALING_PATHWAY
STARCH_AND_SUCROSE_METABOLISM
O_GLYCAN_BIOSYNTHESIS
VIBRIO_CHOLERAE_INFECTION
VALINE_LEUCINE_AND_ISOLEUCINE_DEGRADATION
HYPERTROPHIC_CARDIOMYOPATHY_HCM
RENAL_CELL_CARCINOMA
B_CELL_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY
CELL_ADHESION_MOLECULES_CAMS
TIGHT_JUNCTION
WNT_SIGNALING_PATHWAY
VASOPRESSIN_REGULATED_WATER_REABSORPTION
RIG_I_LIKE_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY
UBIQUITIN_MEDIATED_PROTEOLYSIS
ENDOMETRIAL_CANCER
OTHER_GLYCAN_DEGRADATION
CHEMOKINE_SIGNALING_PATHWAY
LONG_TERM_POTENTIATION
TOLL_LIKE_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY
FC_GAMMA_R_MEDIATED PHAGOCYTOSIS
HEDGEHOG_SIGNALING_PATHWAY
JAK_STAT_SIGNALING_PATHWAY
REGULATION_OF_ACTIN_CYTOSKELETON
ARRHYTHMOGENIC_RIGHT_VENTRICULAR_CARDIOMYOPATHY_ARVC
ADHERENS_JUNCTION
SNARE_INTERACTIONS_IN_VESICULAR_TRANSPORT
LEUKOCYTE_TRANSENDOTHELIAL_MIGRATION
ENDOCYTOSIS
ECM_RECEPTOR_INTERACTION
LYSOSOME
FOCAL_ADHESION
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
NES

图56(续)



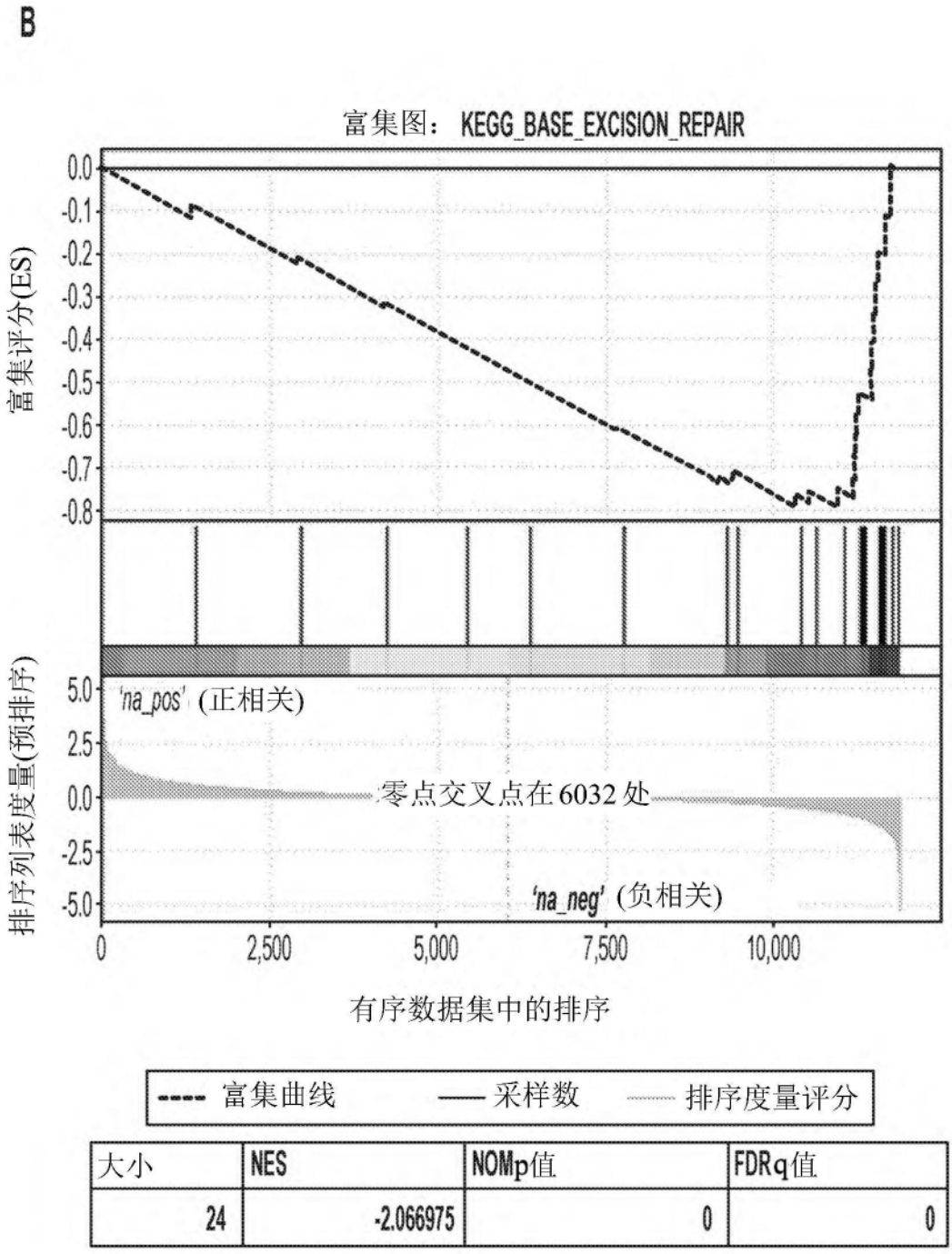
大小	NES	NOMp值	FDRq值
49	-2.388153	0	0

图56(续)



大小	NES	NOMp值	FDRq值
97	-2.1252491	0	0

图56(续)



大小	NES	NOMp值	FDRq值
24	-2.066975	0	0

图56(续)

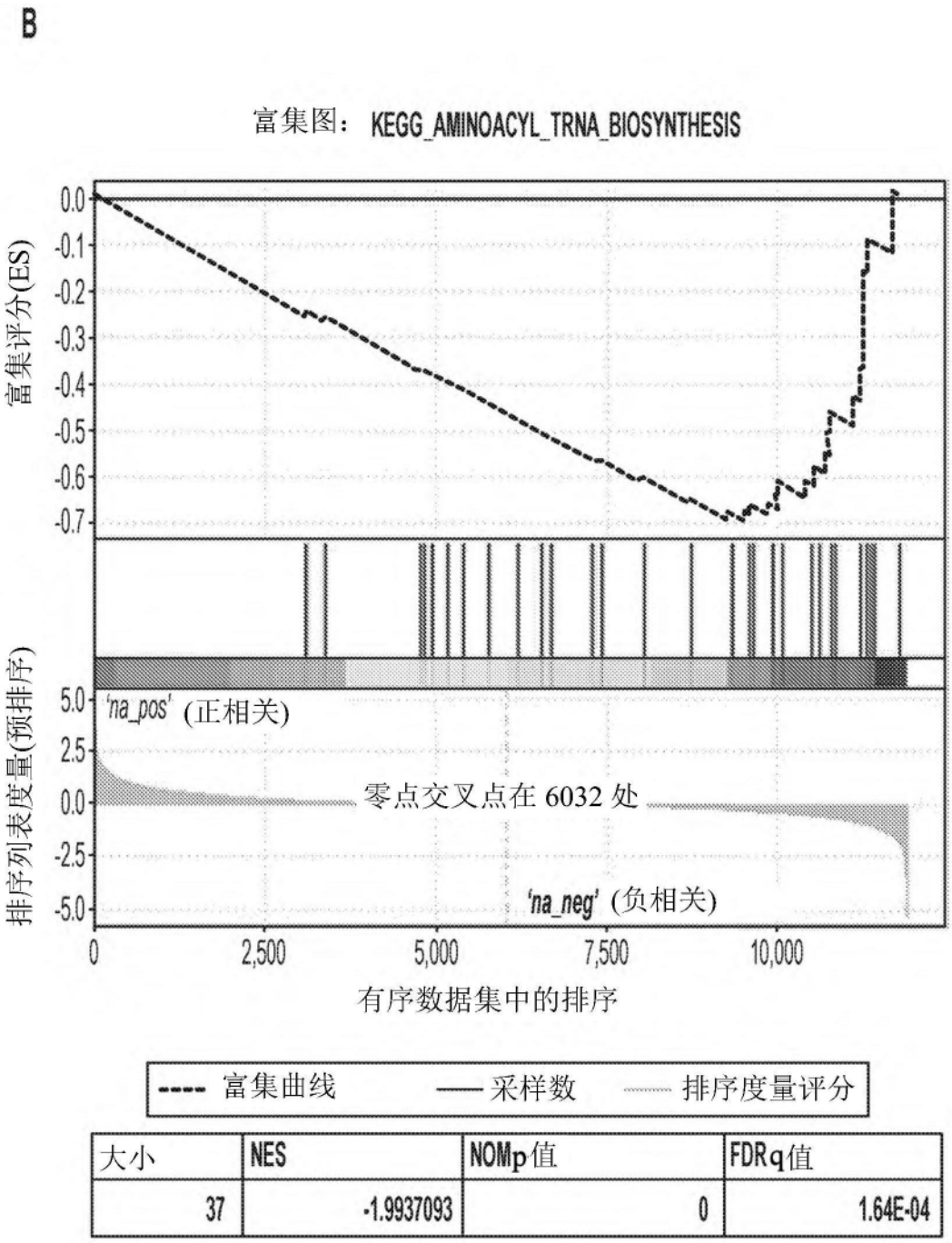

B
富集图： KEGG_AMINOACYL_TRNA_BIOSYNTHESIS
富集评分(ES)
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
-0.4
-0.5
-0.6
-0.7
排序列表度量(预排序)
5.0
2.5
0.0
-2.5
-5.0
'na_pos' (正相关)
零点交叉点在 6032 处
'na_neg' (负相关)
0
2,500
5,000
7,500
10,000
有序数据集中的排序
富集曲线
采样数
排序度量评分
大小 NES NOMp值 FDRq值
37 -1.9937093 0 1.64E-04

图56(续)

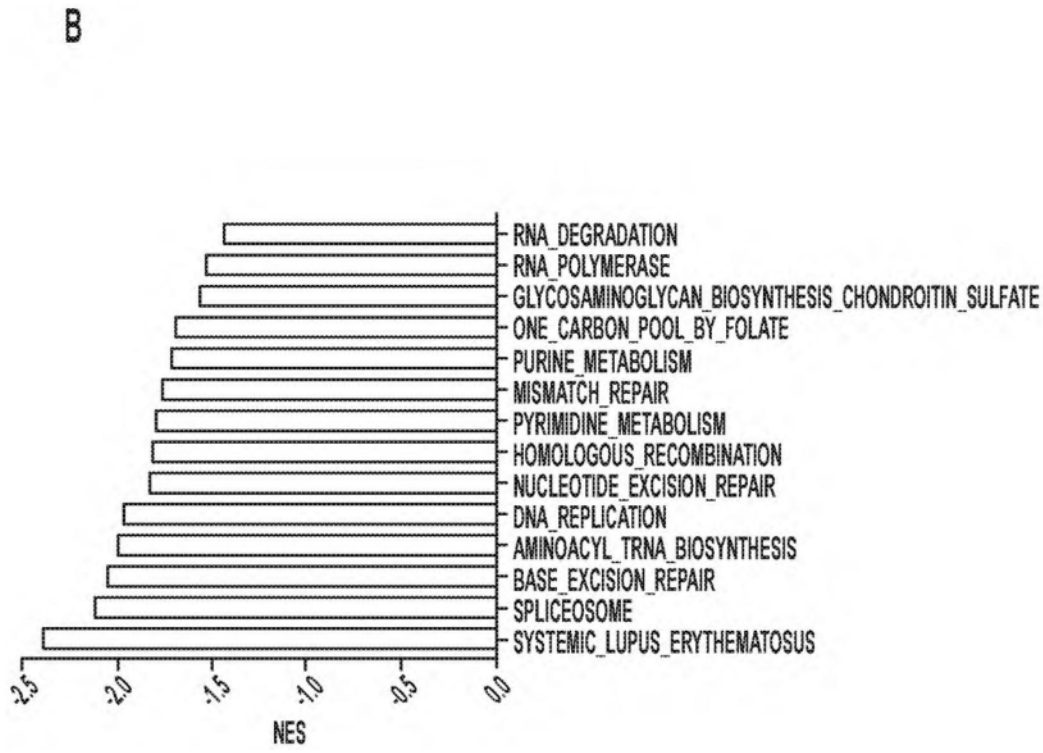

B
RNA_DEGRADATION
RNA_POLYMERASE
GLYCOSAMINOGLYCAN_BIOSYNTHESIS_CHONDROITIN_SULFATE
ONE_CARBON_POOL_BY_FOLATE
PURINE_METABOLISM
MISMATCH_REPAIR
PYRIMIDINE_METABOLISM
HOMOLOGOUS_RECOMBINATION
NUCLEOTIDE_EXCISION_REPAIR
DNA_REPLICATION
AMINOACYL_TRNA_BIOSYNTHESIS
BASE_EXCISION_REPAIR
SPLICEOSOME
SYSTEMIC_LUPUS_ERYTHEMATOSUS
-2.5
-2.0
-1.5
-1.0
-0.5
0.0
NES

图56(续)

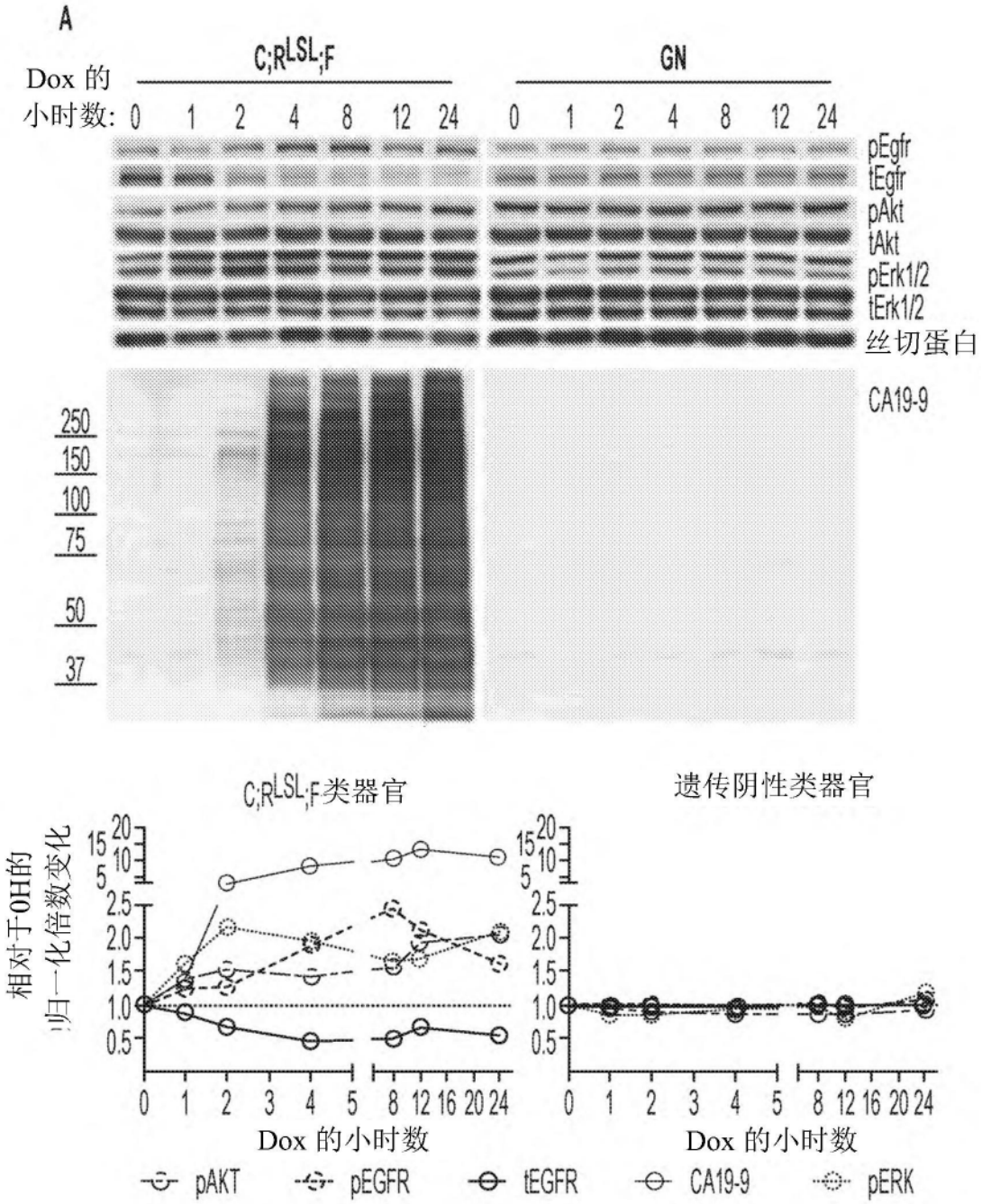

A
Dox 的
小时数: 0 1 2 4 8 12 24 0 1 2 4 8 12 24
C;R^LSL;F
GN
pEgfr
tEgfr
pAkt
tAkt
pErk1/2
tErk1/2
丝切蛋白
CA19-9
250
150
100
75
50
37
C;R^LSL;F类器官
遗传阴性类器官
相对于0H的归一化倍数变化
Dox 的小时数
Dox 的小时数
pAKT
pEGFR
tEGFR
CA19-9
pERK

图57

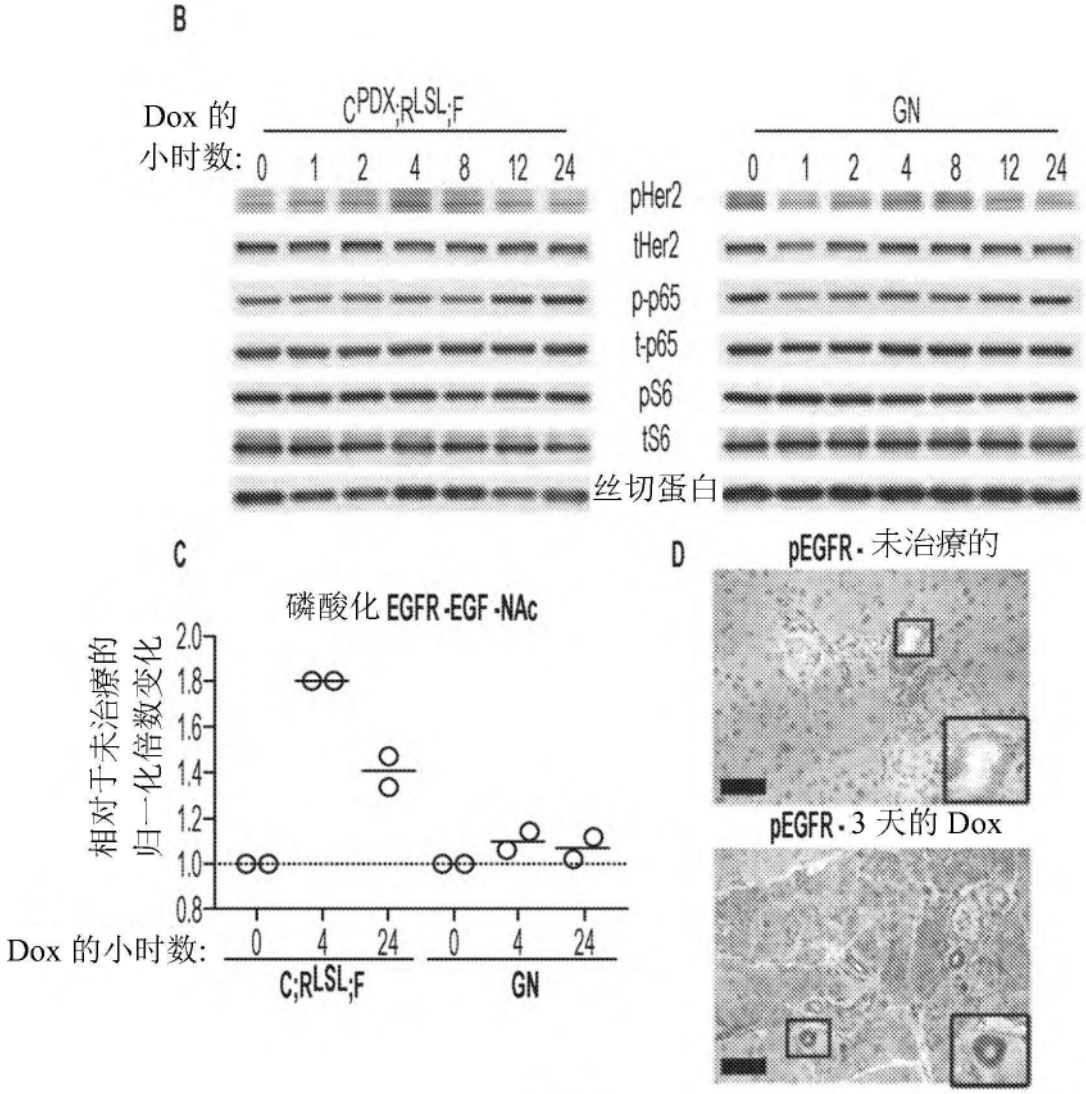

B
Dox 的小时数:
C^PDX;RLSL;F
GN
0 1 2 4 8 12 24
pHer2
tHer2
p-p65
t-p65
pS6
tS6
丝切蛋白
C
磷酸化 EGFR-EGF-NAc
相对于未治疗的归一化倍数变化
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
Dox 的小时数: 0 4 24 0 4 24
C;RLSL;F
GN
D
pEGFR - 未治疗的
pEGFR - 3 天的 Dox

图57(续)

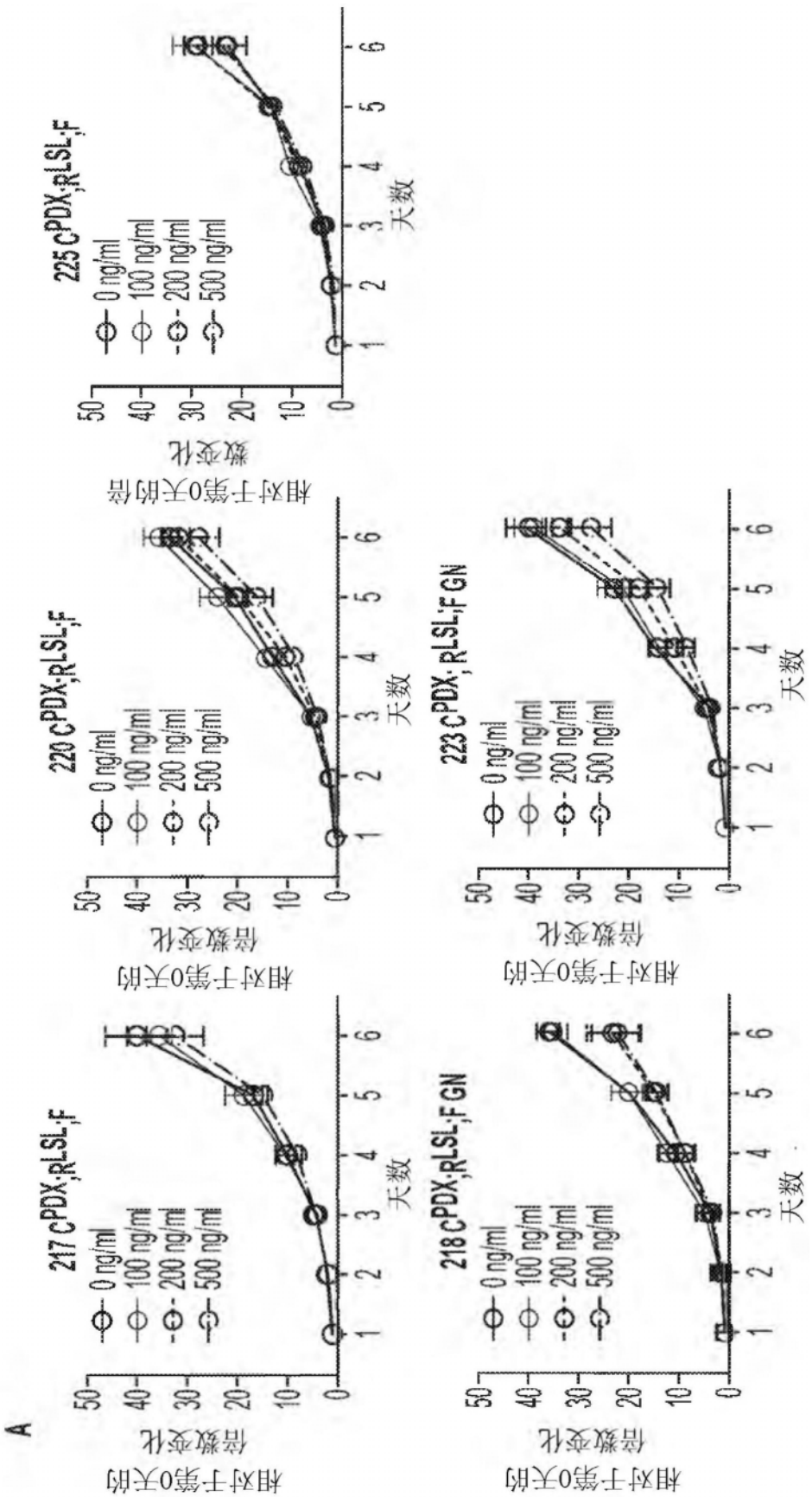

A
217 cPDX;RLSL;F
218 cPDX;RLSL;F GN
220 cPDX;RLSL;F
223 cPDX; RLSL;F GN
225 cPDX;RLSL;F
0 ng/ml
100 ng/ml
200 ng/ml
500 ng/ml
相对于第0天的倍数变化
天数

图58

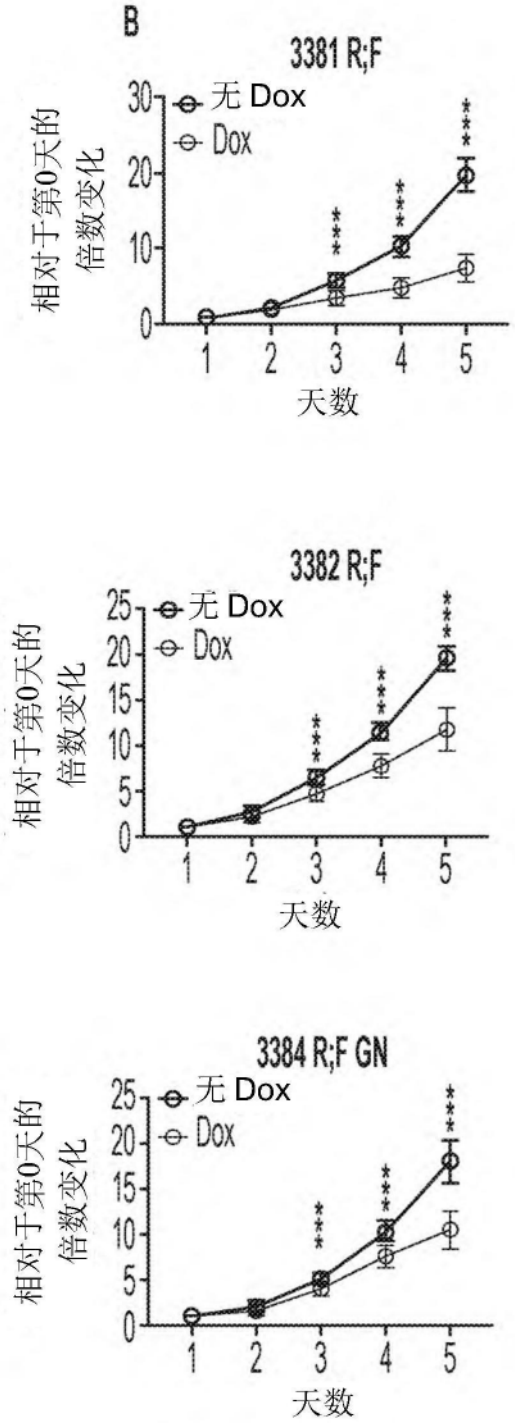

B
3381 R;F
无 Dox
Dox
相对于第0天的倍数变化
天数
3382 R;F
无 Dox
Dox
相对于第0天的倍数变化
天数
3384 R;F GN
无 Dox
Dox
相对于第0天的倍数变化
天数

图58(续)

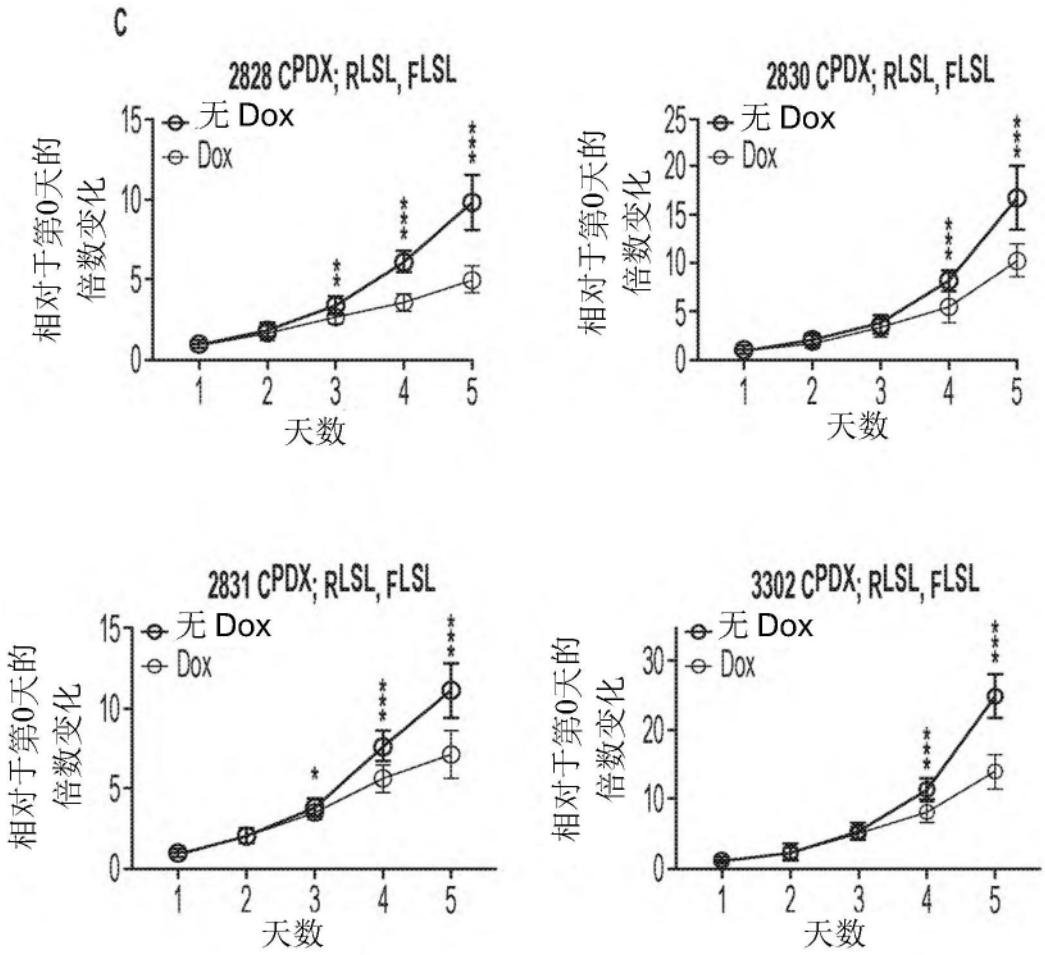

C
2828 CPDX; RLSL, FLSL
2830 CPDX; RLSL, FLSL
2831 CPDX; RLSL, FLSL
3302 CPDX; RLSL, FLSL
无 Dox
Dox
相对于第0天的倍数变化
天数

图58(续)

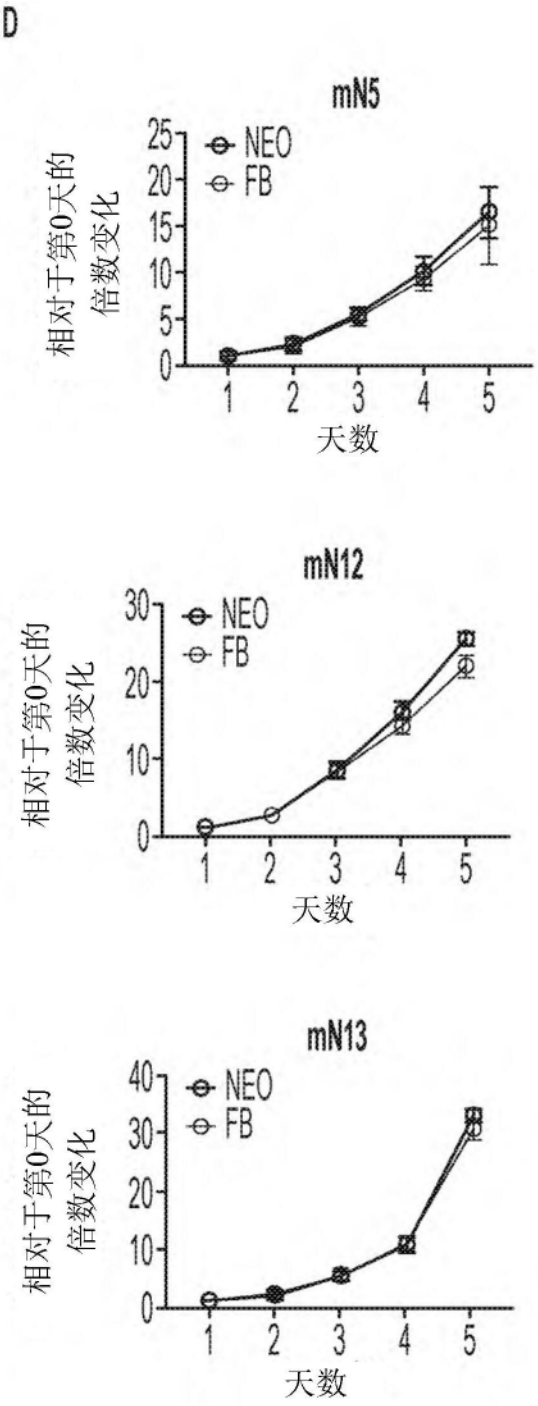

D
mN5
NEO
FB
相对于第0天的
倍数变化
25
20
15
10
5
0
1
2
3
4
5
天数
mN12
NEO
FB
相对于第0天的
倍数变化
30
20
10
0
1
2
3
4
5
天数
mN13
NEO
FB
相对于第0天的
倍数变化
40
30
20
10
0
1
2
3
4
5
天数

图58(续)

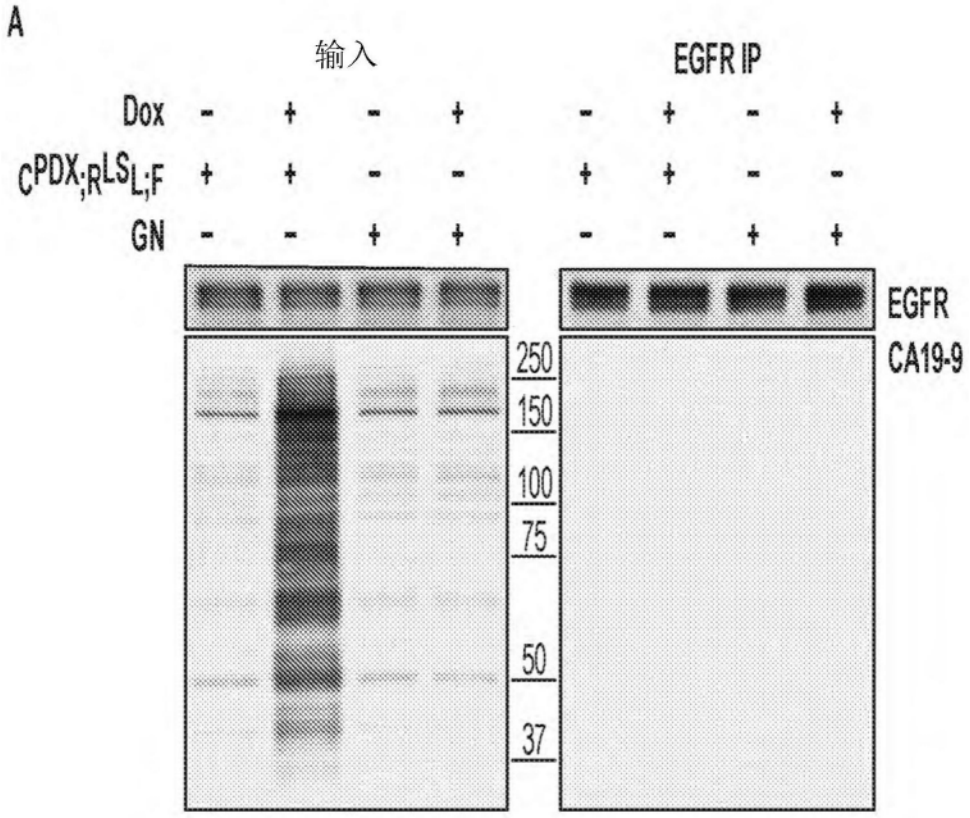


图59

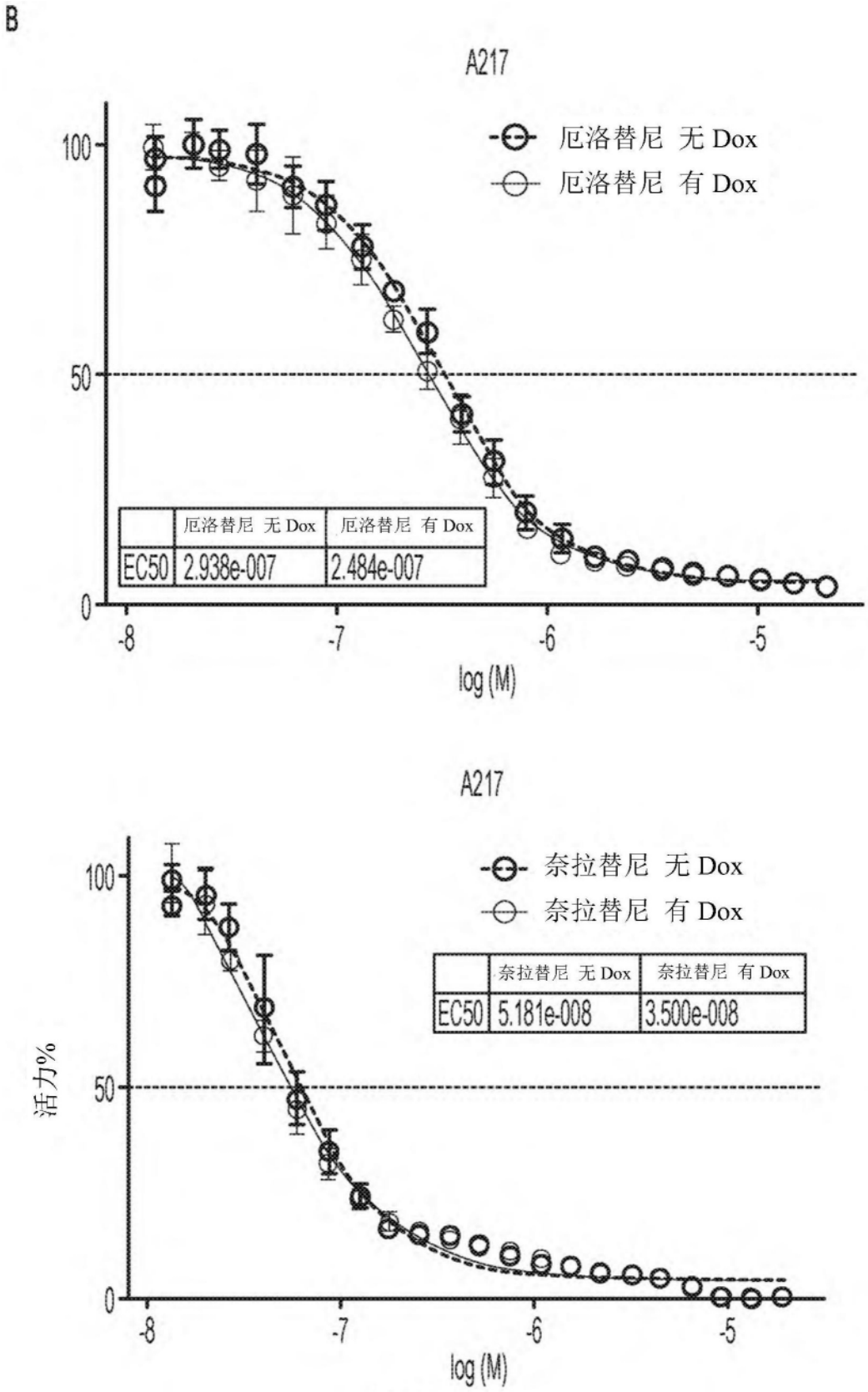

B
A217
厄洛替尼 无 Dox
厄洛替尼 有 Dox
100
50
0
-8
-7
-6
-5
log (M)
厄洛替尼 无 Dox
厄洛替尼 有 Dox
EC50
2.938e-007
2.484e-007
A217
奈拉替尼 无 Dox
奈拉替尼 有 Dox
活力%
奈拉替尼 无 Dox
奈拉替尼 有 Dox
EC50
5.181e-008
3.500e-008
log (M)

图59(续)

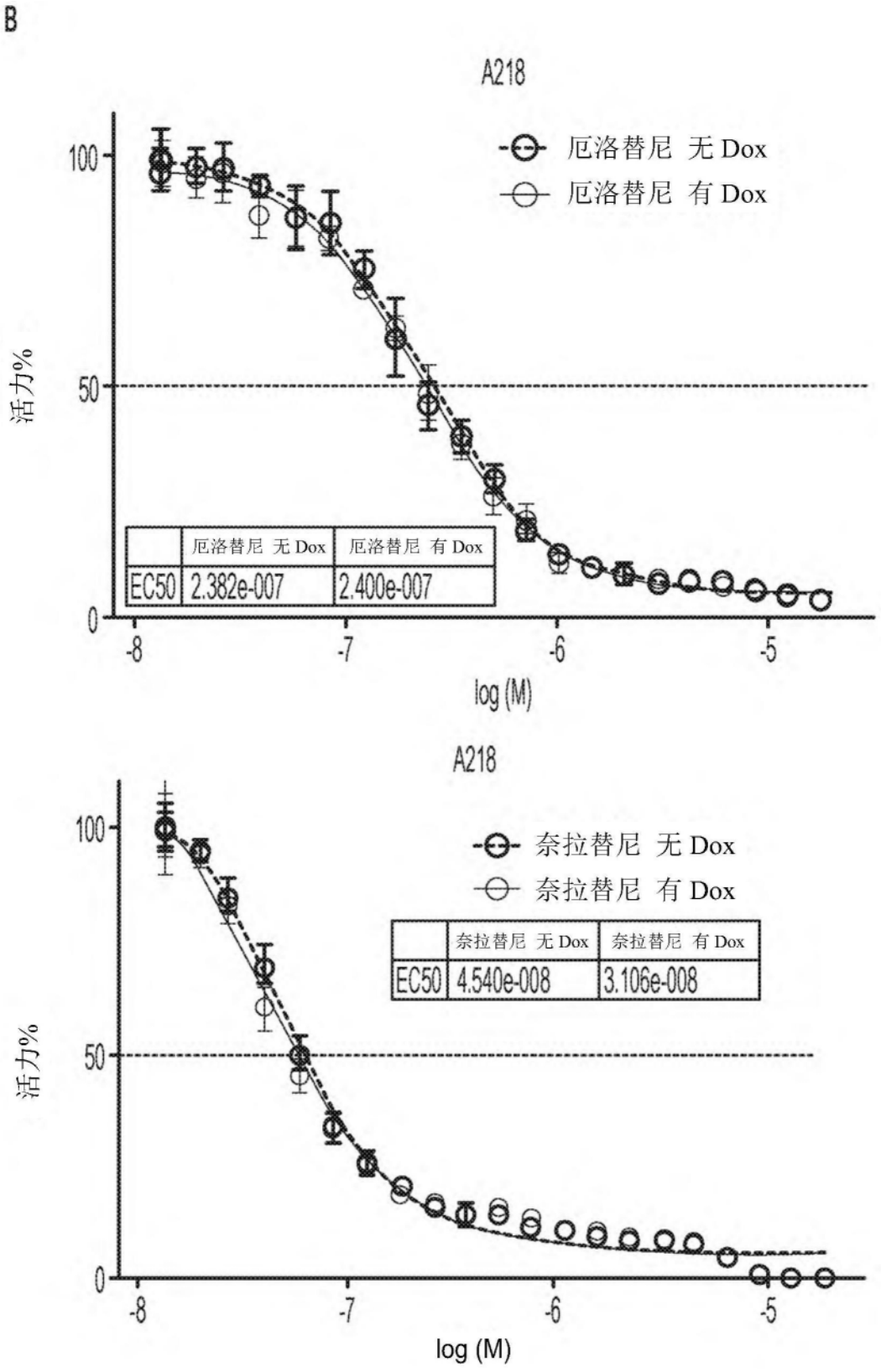

B
A218
厄洛替尼 无 Dox
厄洛替尼 有 Dox
活力%
100
50
0
-8
-7
-6
-5
log (M)
厄洛替尼 无 Dox
厄洛替尼 有 Dox
EC50
2.382e-007
2.400e-007
A218
奈拉替尼 无 Dox
奈拉替尼 有 Dox
活力%
log (M)
奈拉替尼 无 Dox
奈拉替尼 有 Dox
EC50
4.540e-008
3.106e-008

图59(续)

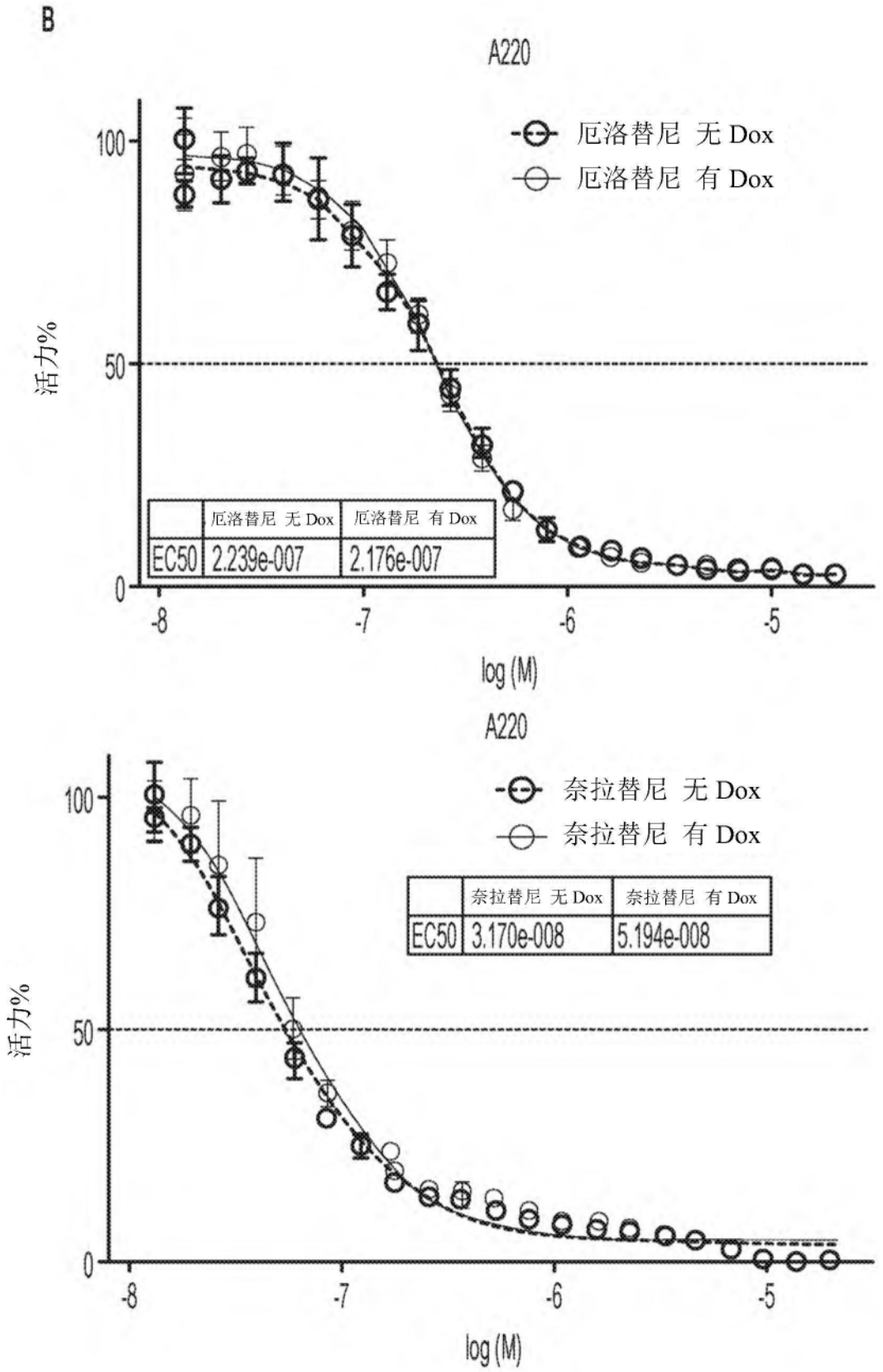

B
A220
厄洛替尼 无 Dox
厄洛替尼 有 Dox
活力%
100
50
0
-8
-7
-6
-5
log (M)
厄洛替尼 无 Dox
厄洛替尼 有 Dox
EC50
2.239e-007
2.176e-007
A220
奈拉替尼 无 Dox
奈拉替尼 有 Dox
活力%
log (M)
奈拉替尼 无 Dox
奈拉替尼 有 Dox
EC50
3.170e-008
5.194e-008

图59(续)

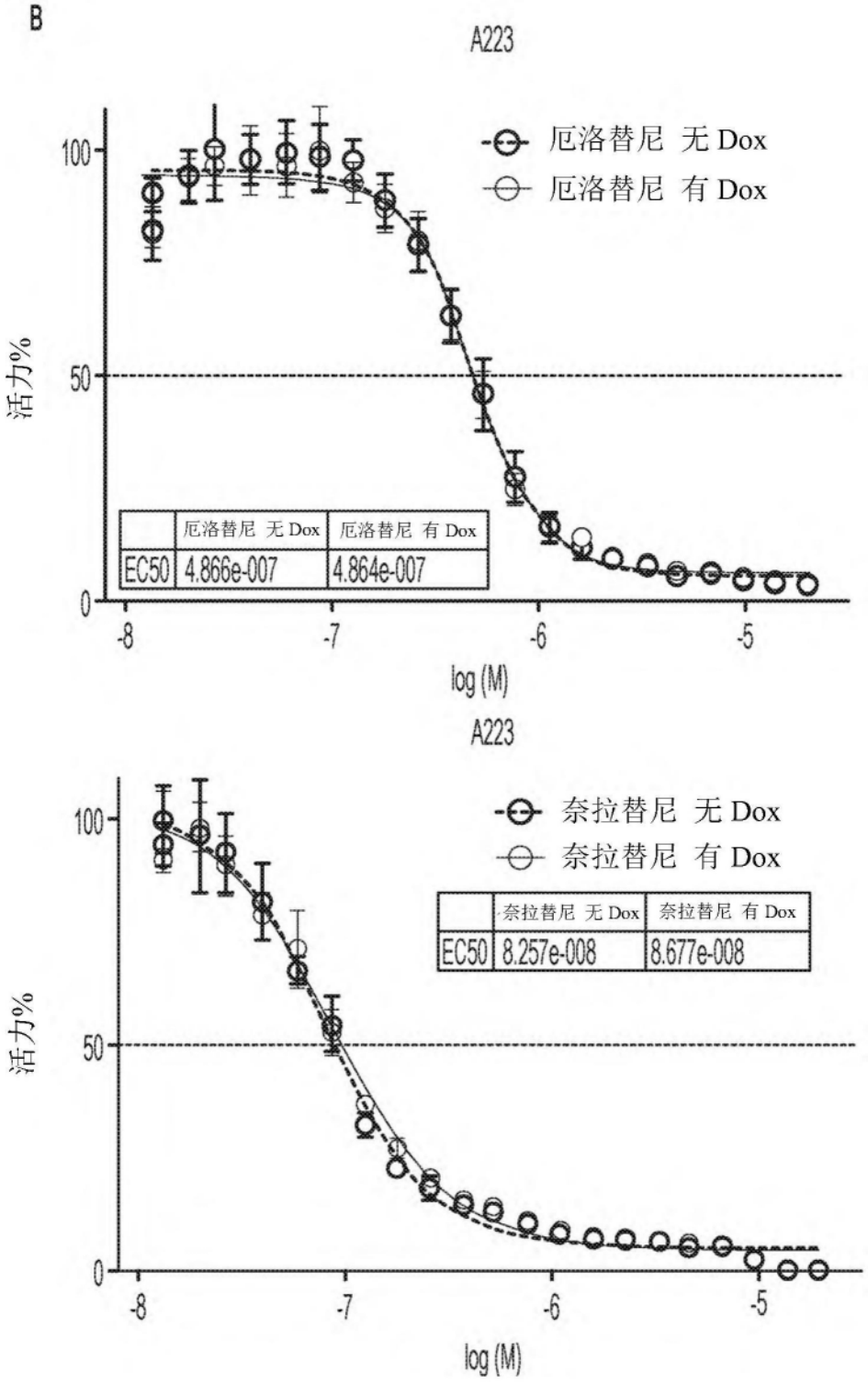

B
A223
厄洛替尼 无 Dox
厄洛替尼 有 Dox
活力%
100
50
0
-8
-7
-6
-5
log (M)
厄洛替尼 无 Dox
厄洛替尼 有 Dox
EC50
4.866e-007
4.864e-007
A223
奈拉替尼 无 Dox
奈拉替尼 有 Dox
活力%
100
50
0
-8
-7
-6
-5
log (M)
奈拉替尼 无 Dox
奈拉替尼 有 Dox
EC50
8.257e-008
8.677e-008

图59(续)

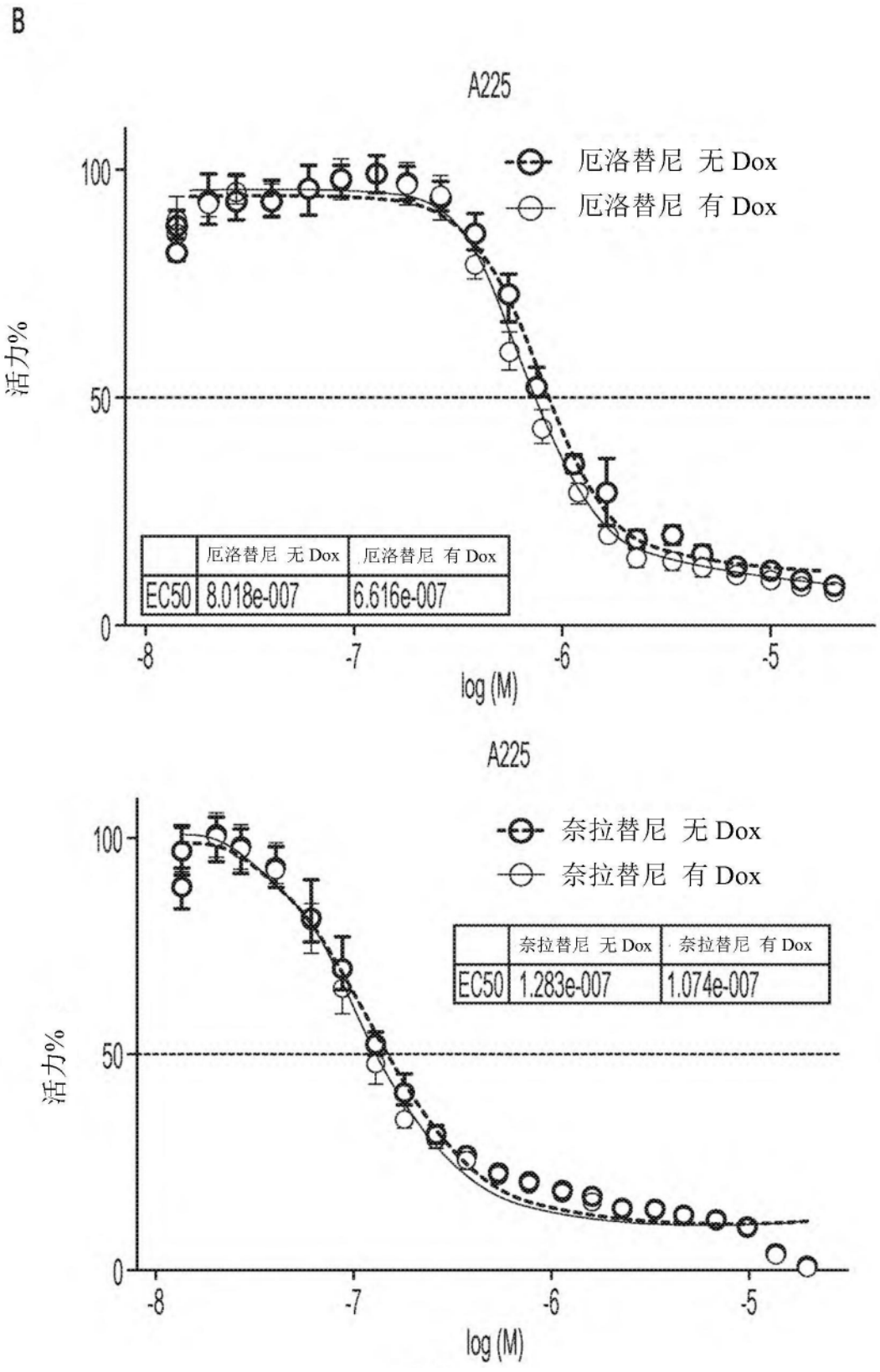

B
A225
厄洛替尼 无 Dox
厄洛替尼 有 Dox
活力%
100
50
0
-8
-7
-6
-5
log (M)
厄洛替尼 无 Dox
厄洛替尼 有 Dox
EC50
8.018e-007
6.616e-007
A225
奈拉替尼 无 Dox
奈拉替尼 有 Dox
活力%
100
50
0
-8
-7
-6
-5
log (M)
奈拉替尼 无 Dox
奈拉替尼 有 Dox
EC50
1.283e-007
1.074e-007

图59(续)

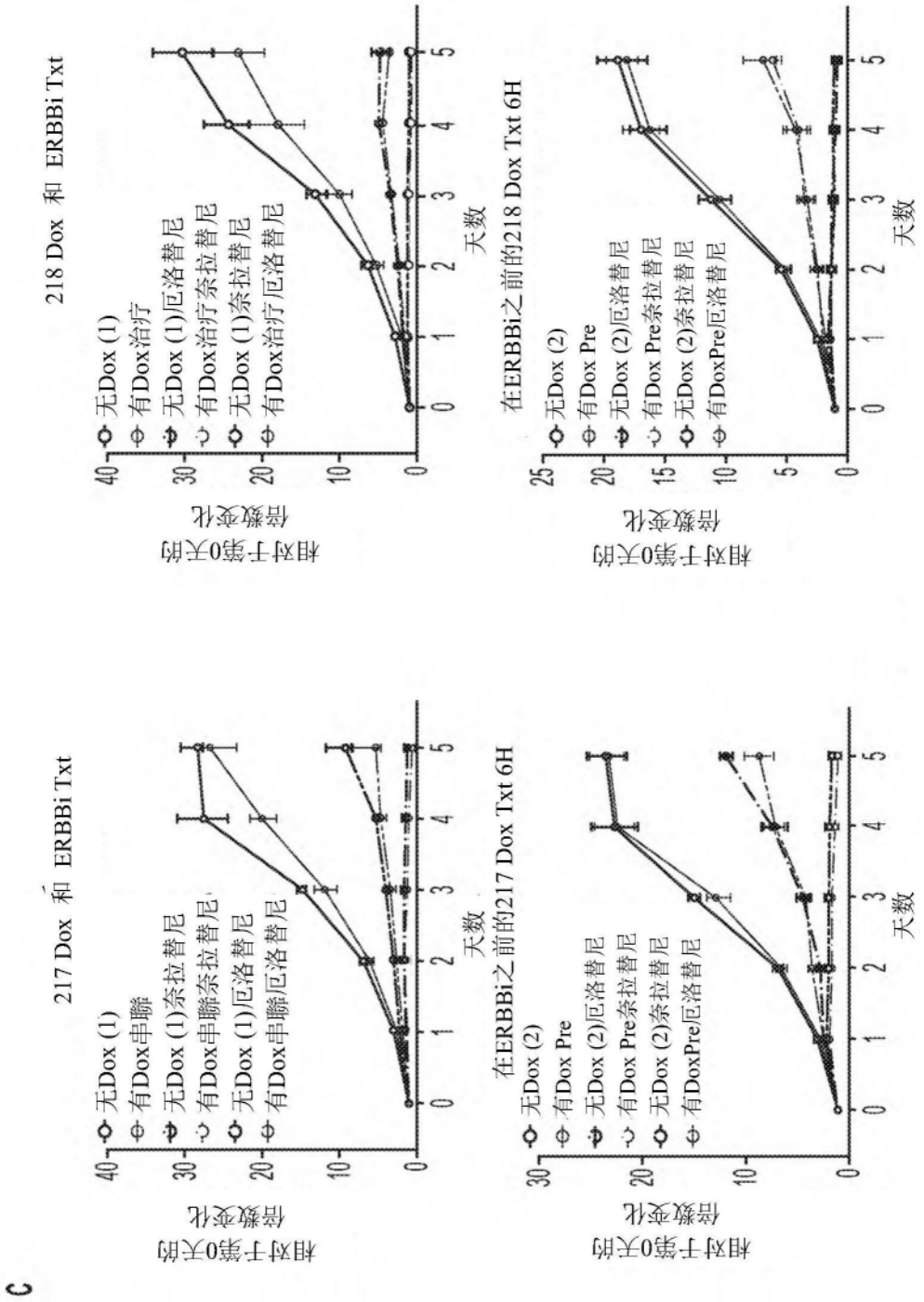

C
217 Dox 和 ERBBi Txt
无Dox (1)
有Dox串联
无Dox (1)奈拉替尼
有Dox串联奈拉替尼
无Dox (1)厄洛替尼
有Dox串联厄洛替尼
相对于第0天的倍数变化
天数
在ERBBi之前的217 Dox Txt 6H
无Dox (2)
有Dox Pre
无Dox (2)厄洛替尼
有Dox Pre奈拉替尼
无Dox (2)奈拉替尼
有DoxPre厄洛替尼
相对于第0天的倍数变化
天数
218 Dox 和 ERBBi Txt
无Dox (1)
有Dox治疗
无Dox (1)厄洛替尼
有Dox治疗奈拉替尼
无Dox (1)奈拉替尼
有Dox治疗厄洛替尼
相对于第0天的倍数变化
天数
在ERBBi之前的218 Dox Txt 6H
无Dox (2)
有Dox Pre
无Dox (2)厄洛替尼
有Dox Pre奈拉替尼
无Dox (2)奈拉替尼
有DoxPre厄洛替尼
相对于第0天的倍数变化
天数

图59(续)

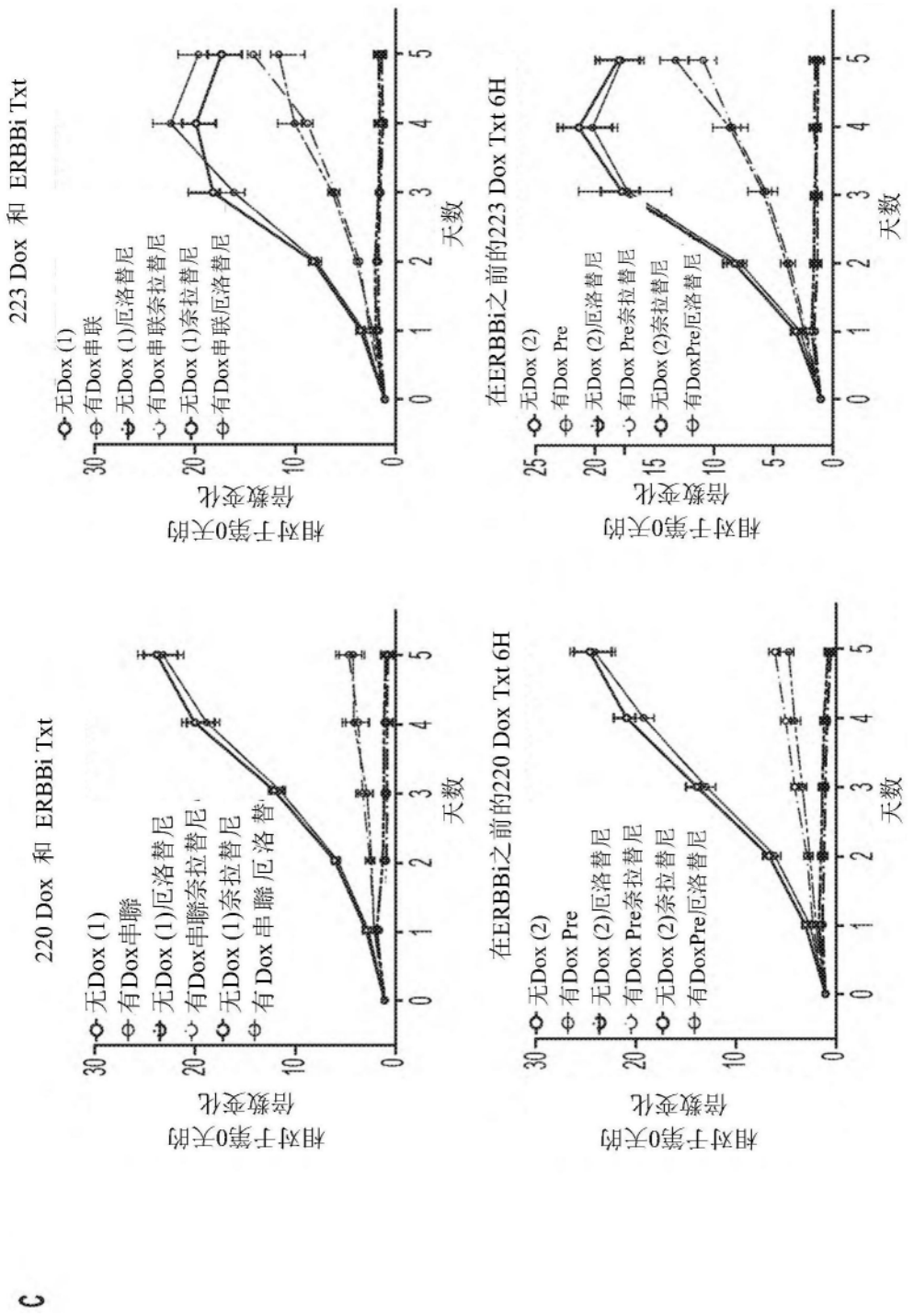
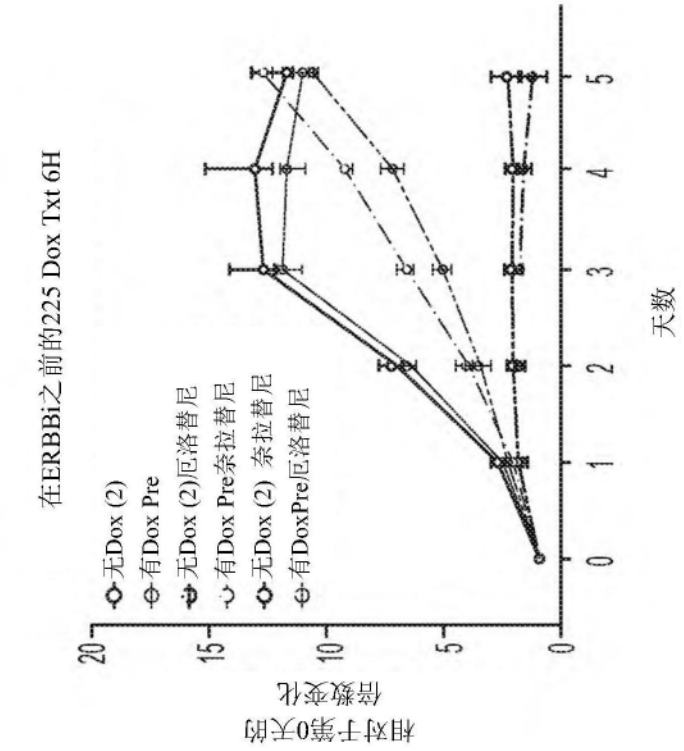
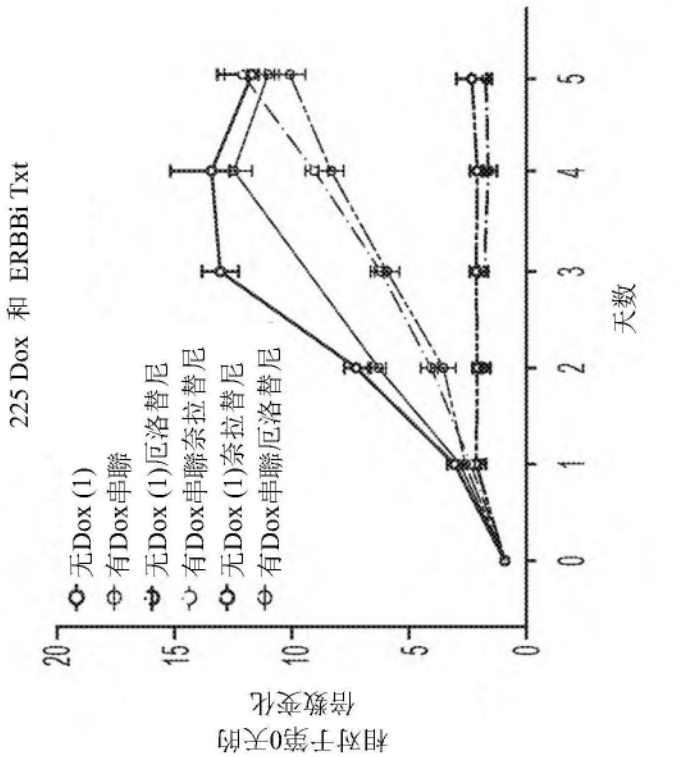

C
220 Dox 和 ERBBi Txt
无Dox (1)
有Dox串联
无Dox (1)厄洛替尼
有Dox串联奈拉替尼
无Dox (1)奈拉替尼
有 Dox 串联 厄洛 替
相对于第0天的倍数变化
天数
在ERBBi之前的220 Dox Txt 6H
无Dox (2)
有Dox Pre
无Dox (2)厄洛替尼
有Dox Pre奈拉替尼
无Dox (2)奈拉替尼
有DoxPre厄洛替尼
相对于第0天的倍数变化
天数
223 Dox 和 ERBBi Txt
无Dox (1)
有Dox串联
无Dox (1)厄洛替尼
有Dox串联奈拉替尼
无Dox (1)奈拉替尼
有Dox串联厄洛替尼
相对于第0天的倍数变化
天数
在ERBBi之前的223 Dox Txt 6H
无Dox (2)
有Dox Pre
无Dox (2)厄洛替尼
有Dox Pre奈拉替尼
无Dox (2)奈拉替尼
有DoxPre厄洛替尼
相对于第0天的倍数变化
天数

图59(续)


在ERBBi之前的225 Dox Txt 6H
无Dox (2)
有Dox Pre
无Dox (2)厄洛替尼
有Dox Pre奈拉替尼
无Dox (2) 奈拉替尼
有DoxPre厄洛替尼
相对于第0天的倍数变化
天数


225 Dox 和 ERBBi Txt
无Dox (1)
有Dox串联
无Dox (1)厄洛替尼
有Dox串联奈拉替尼
无Dox (1)奈拉替尼
有Dox串联厄洛替尼
相对于第0天的倍数变化
天数

C

图59(续)

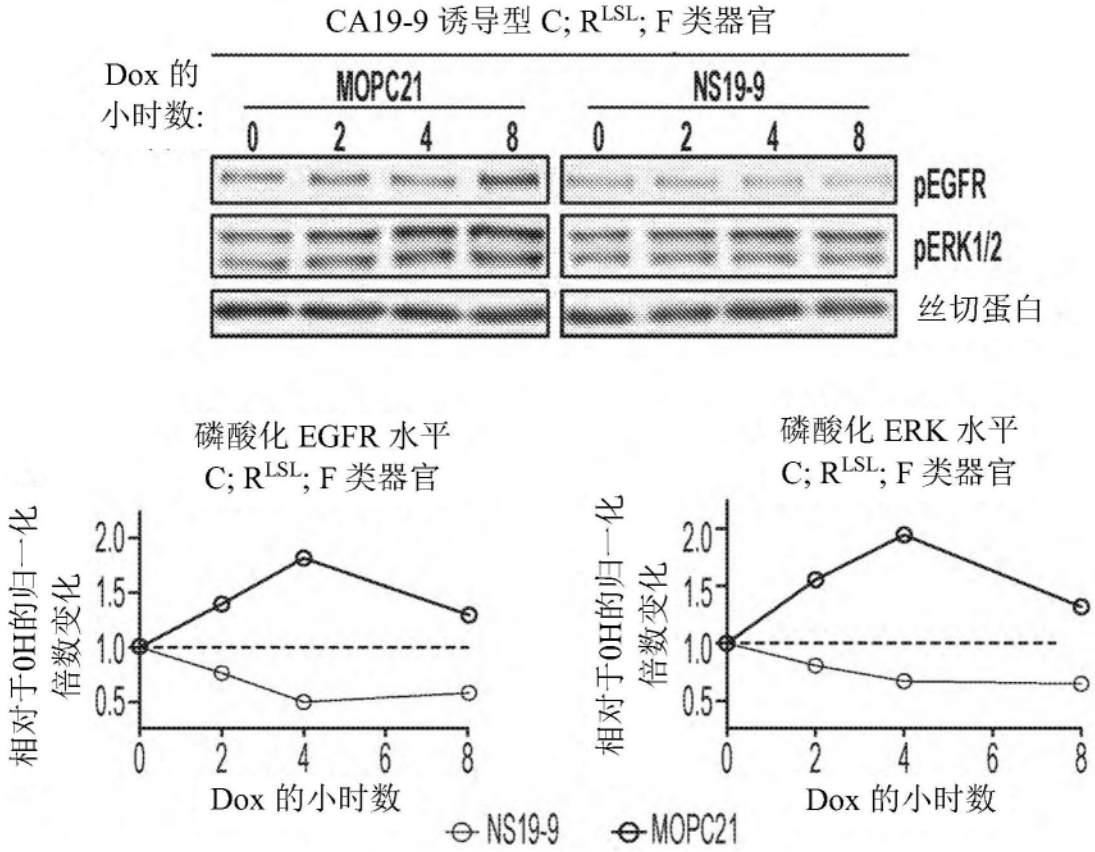

CA19-9 诱导型 C; R^LSL; F 类器官
Dox 的小时数:
MOPC21
NS19-9
0 2 4 8 0 2 4 8
pEGFR
pERK1/2
丝切蛋白
磷酸化 EGFR 水平
C; R^LSL; F 类器官
相对于0H的归一化倍数变化
2.0
1.5
1.0
0.5
0 2 4 6 8
Dox 的小时数
NS19-9
磷酸化 ERK 水平
C; R^LSL; F 类器官
相对于0H的归一化倍数变化
2.0
1.5
1.0
0.5
0 2 4 6 8
Dox 的小时数
MOPC21

图60

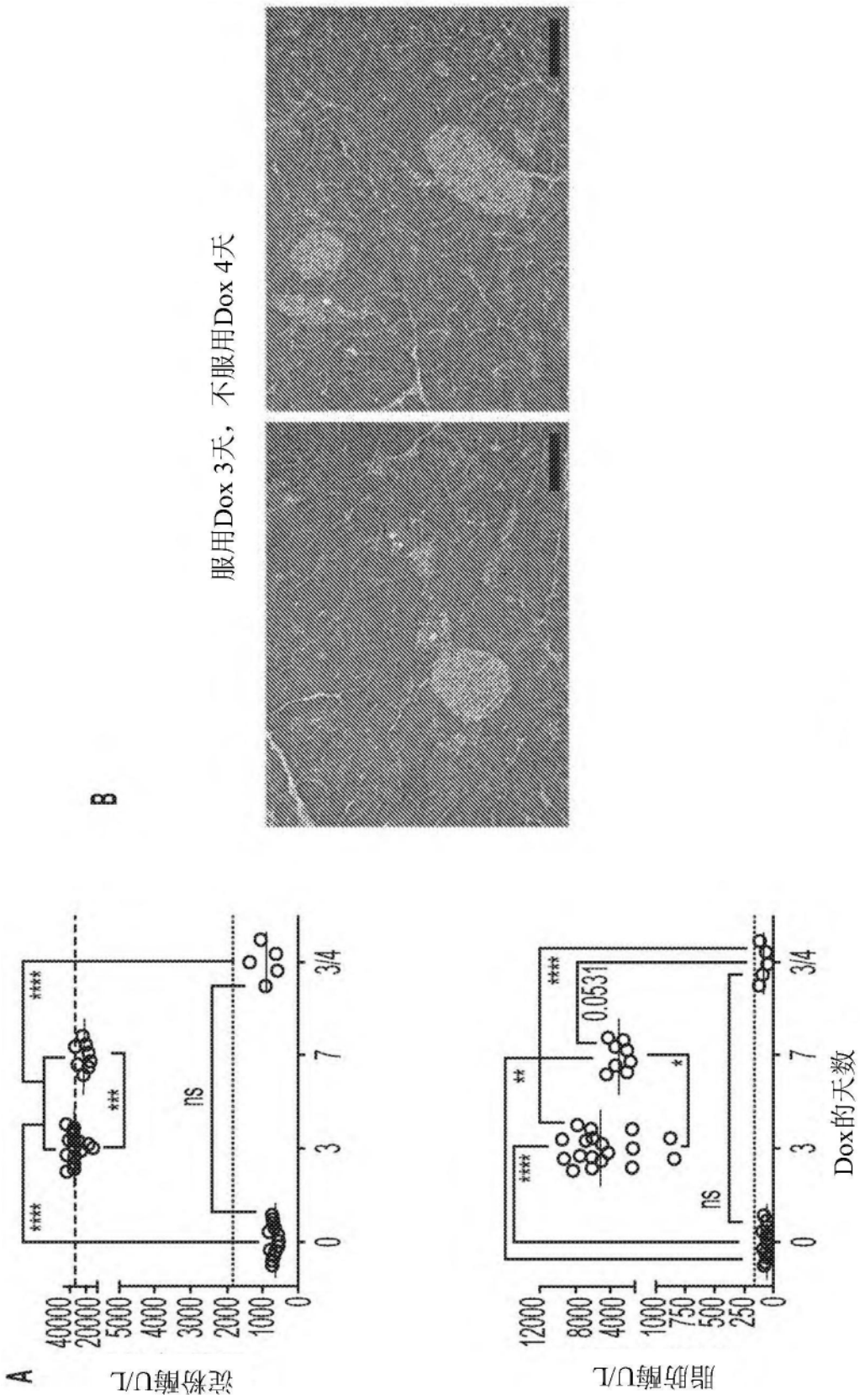

A
淀粉酶U/L
40000
20000
5000
4000
3000
2000
1000
0
****
***
ns
0
3
7
3/4
脂肪酶U/L
12000
8000
4000
1000
750
500
250
0
****
**
*
ns
0.0531
Dox的天数
B
服用Dox 3天，不服用Dox 4天

图61

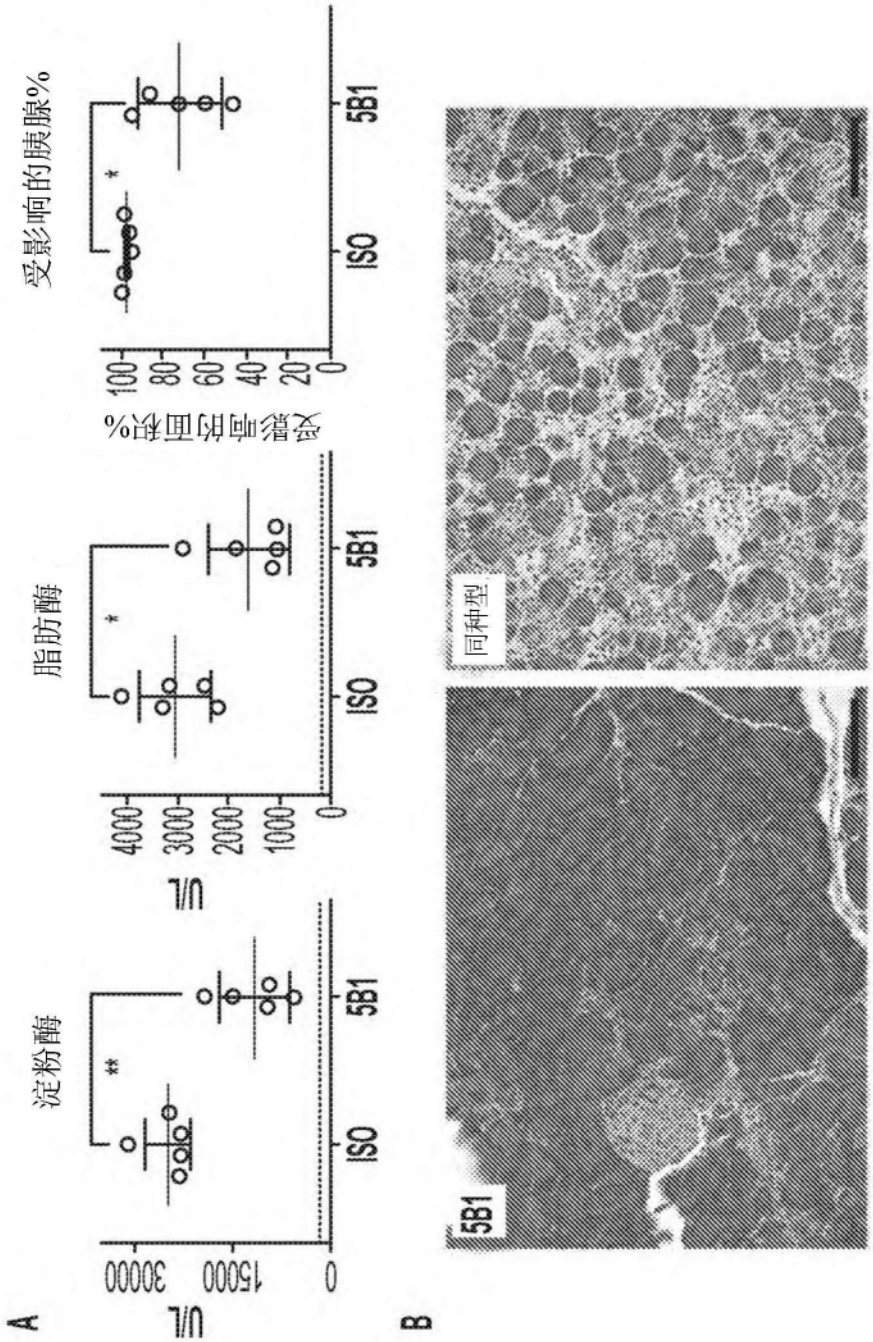

A
淀粉酶
U/L
30000
15000
0
**
ISO
5B1
脂肪酶
U/L
4000
3000
2000
1000
0
*
ISO
5B1
受影响的面积%
100
80
60
40
20
0
*
ISO
5B1
受影响的胰腺%
B
同种型
5B1

图62

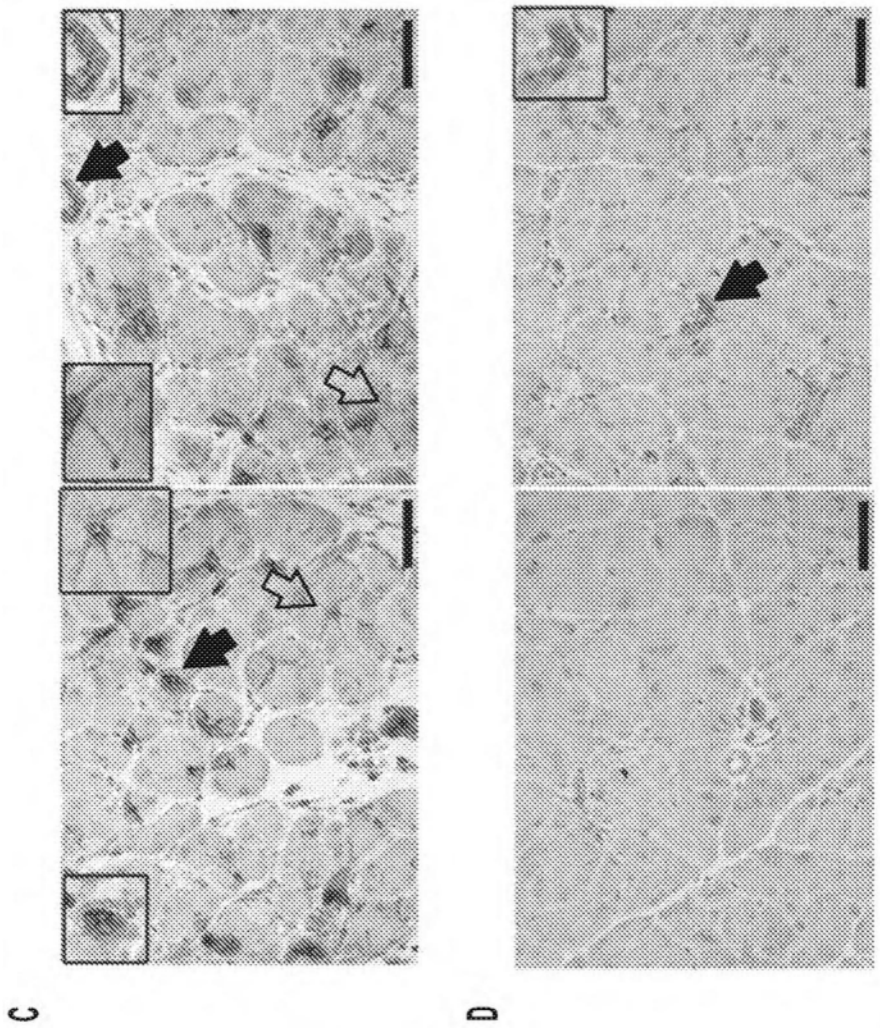


图62(续)

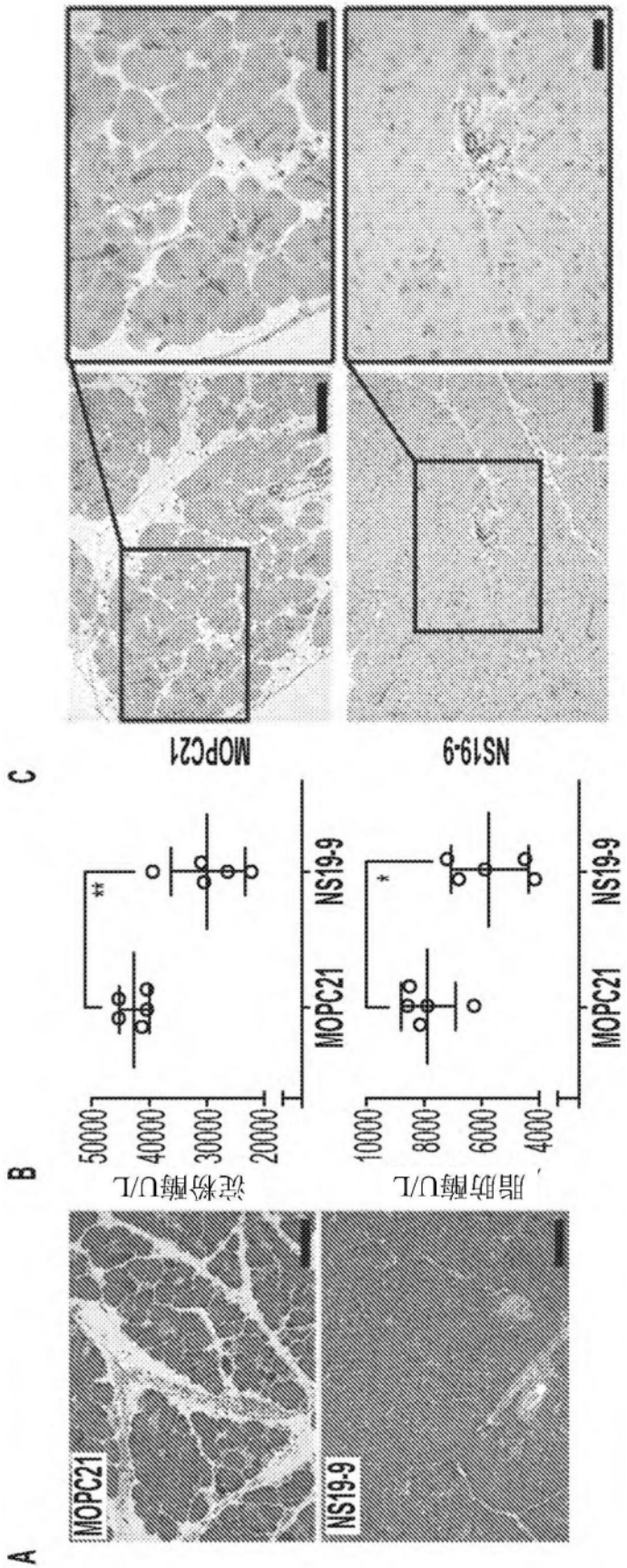

A
MOPC21
NS19-9
B
脂肪酶U/L
10000
8000
6000
4000
MOPC21
NS19-9
*
淀粉酶U/L
50000
40000
30000
20000
MOPC21
NS19-9
**
C
MOPC21
NS19-9

图63

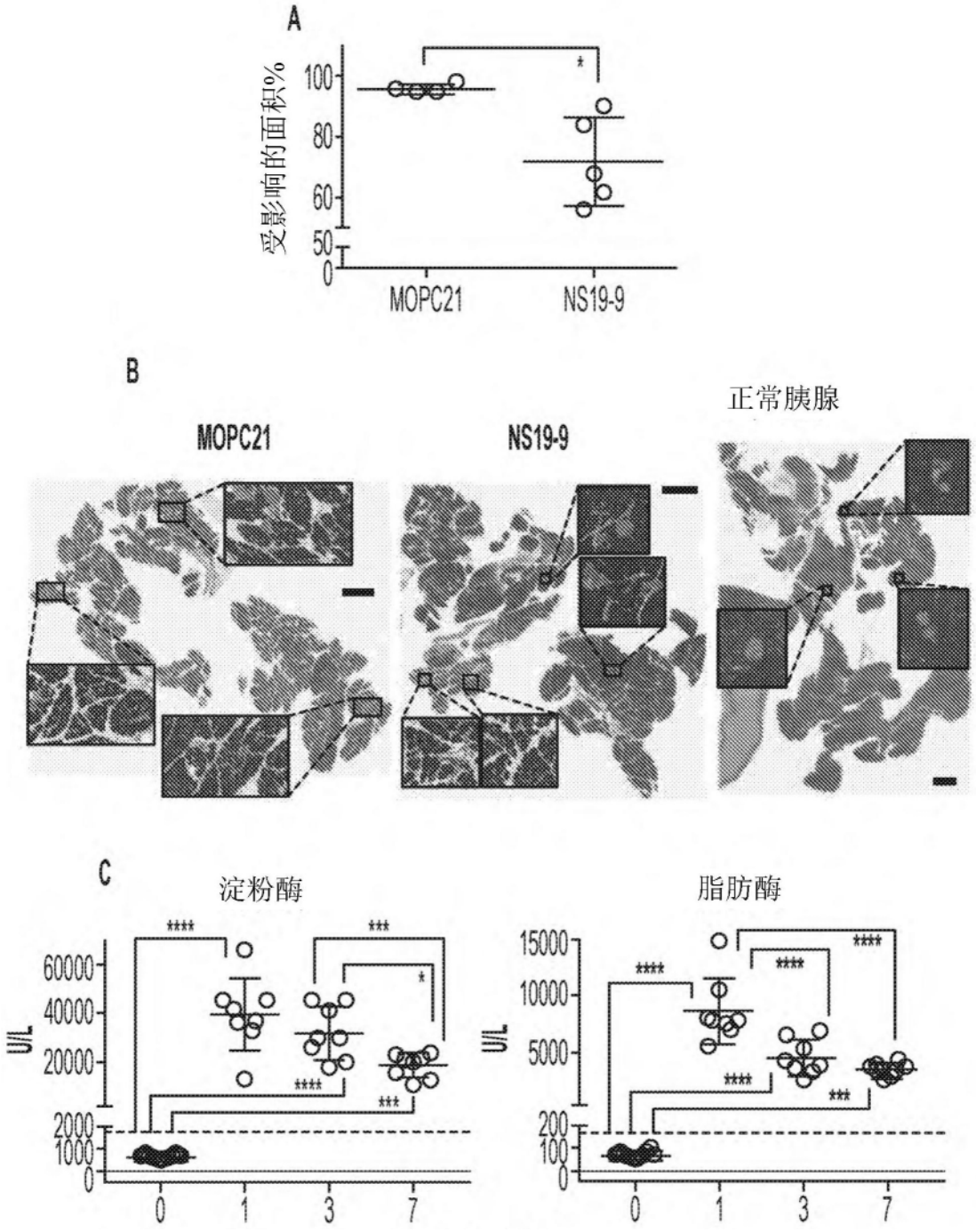

A
受影响的面积%
100
80
60
50
0
*
MOPC21
NS19-9
B
MOPC21
NS19-9
正常胰腺
C
淀粉酶
U/L
60000
40000
20000
2000
1000
0
****
***
****
***
*
0
1
3
7
脂肪酶
U/L
15000
10000
5000
200
100
0
****
****
****
****
***
0
1
3
7

图64

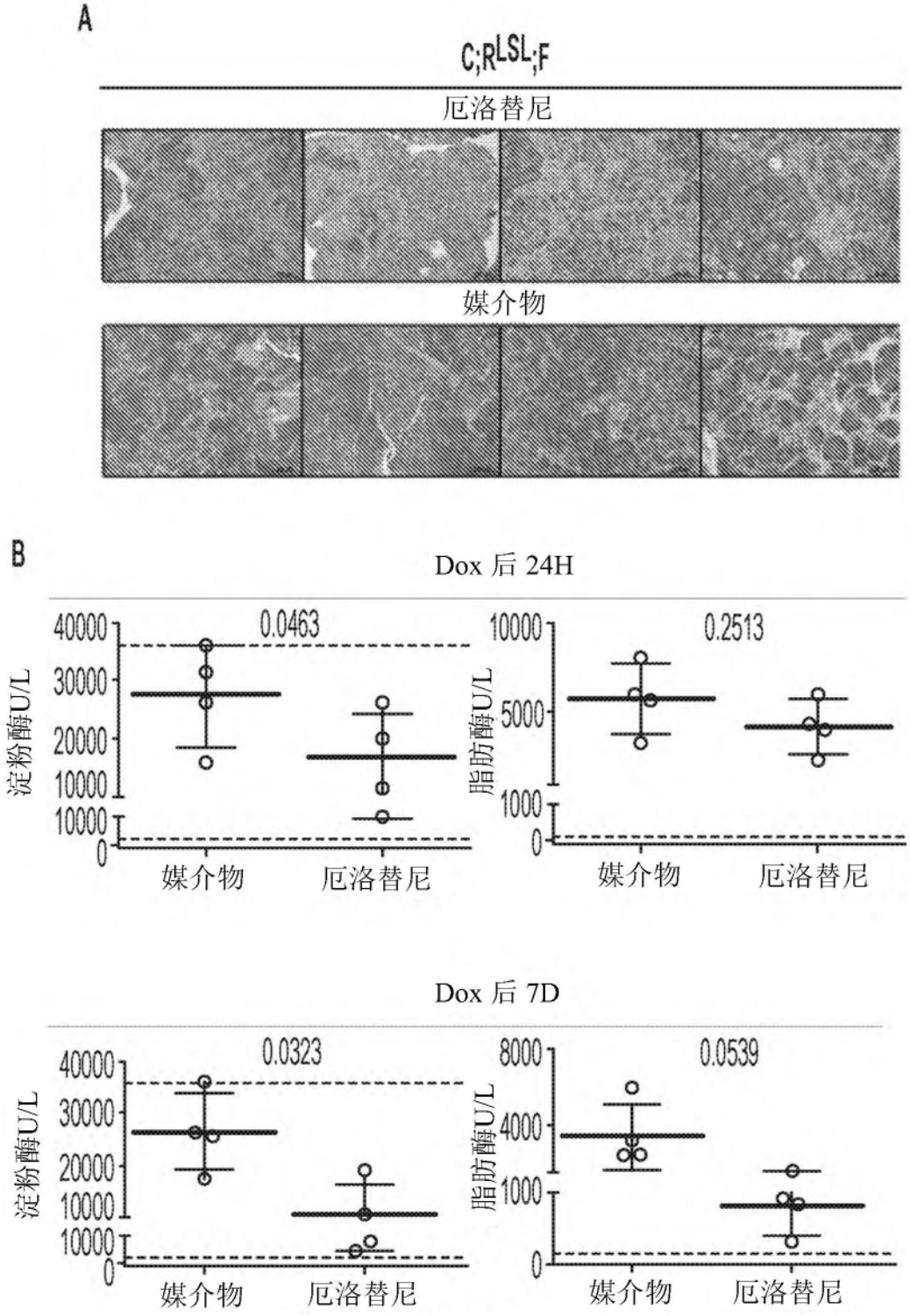

A
C;R^LSL;F
厄洛替尼
媒介物
B
Dox 后 24H
淀粉酶U/L
0.0463
40000
30000
20000
10000
10000
0
媒介物
厄洛替尼
脂肪酶U/L
0.2513
10000
5000
1000
0
媒介物
厄洛替尼
Dox 后 7D
淀粉酶U/L
0.0323
40000
30000
20000
10000
10000
0
媒介物
厄洛替尼
脂肪酶U/L
0.0539
8000
4000
1000
0
媒介物
厄洛替尼

图65

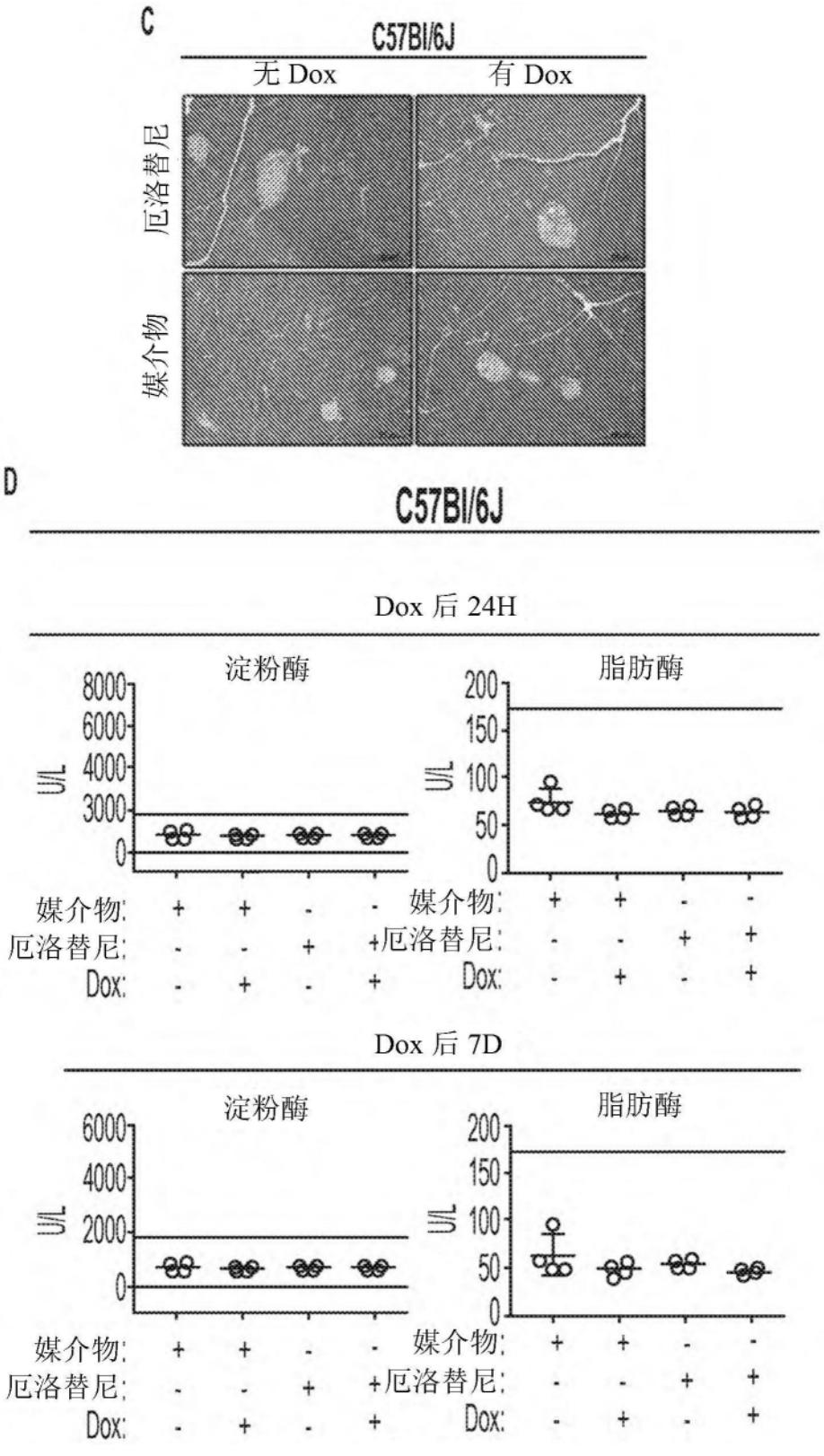

C
C57Bl/6J
无 Dox
有 Dox
厄洛替尼
媒介物
D
C57Bl/6J
Dox 后 24H
淀粉酶
脂肪酶
U/L
8000
6000
4000
3000
0
200
150
100
50
媒介物:
厄洛替尼:
Dox:
Dox 后 7D
2000

图65(续)

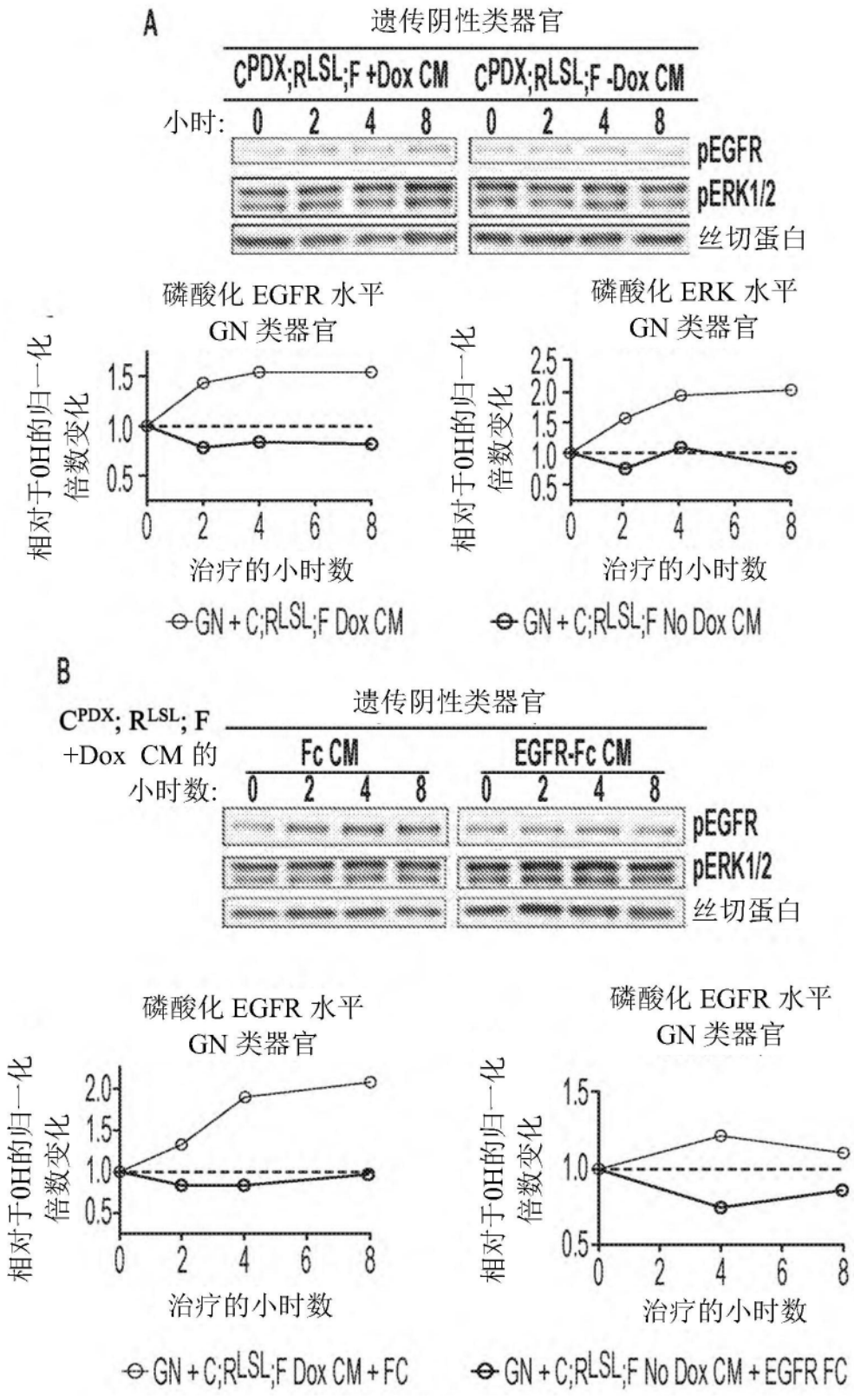

A
遗传阴性类器官
CPDX;RLSL;F +Dox CM
CPDX;RLSL;F -Dox CM
小时: 0 2 4 8 0 2 4 8
pEGFR
pERK1/2
丝切蛋白
磷酸化 EGFR 水平
GN 类器官
相对于0H的归一化倍数变化
治疗的小时数
GN + C;RLSL;F Dox CM
磷酸化 ERK 水平
GN 类器官
相对于0H的归一化倍数变化
治疗的小时数
GN + C;RLSL;F No Dox CM
B
遗传阴性类器官
CPDX; RLSL; F +Dox CM 的小时数:
Fc CM
EGFR-Fc CM
0 2 4 8 0 2 4 8
pEGFR
pERK1/2
丝切蛋白
磷酸化 EGFR 水平
GN 类器官
相对于0H的归一化倍数变化
治疗的小时数
GN + C;RLSL;F Dox CM + FC
磷酸化 EGFR 水平
GN 类器官
相对于0H的归一化倍数变化
治疗的小时数
GN + C;RLSL;F No Dox CM + EGFR FC

图66

A

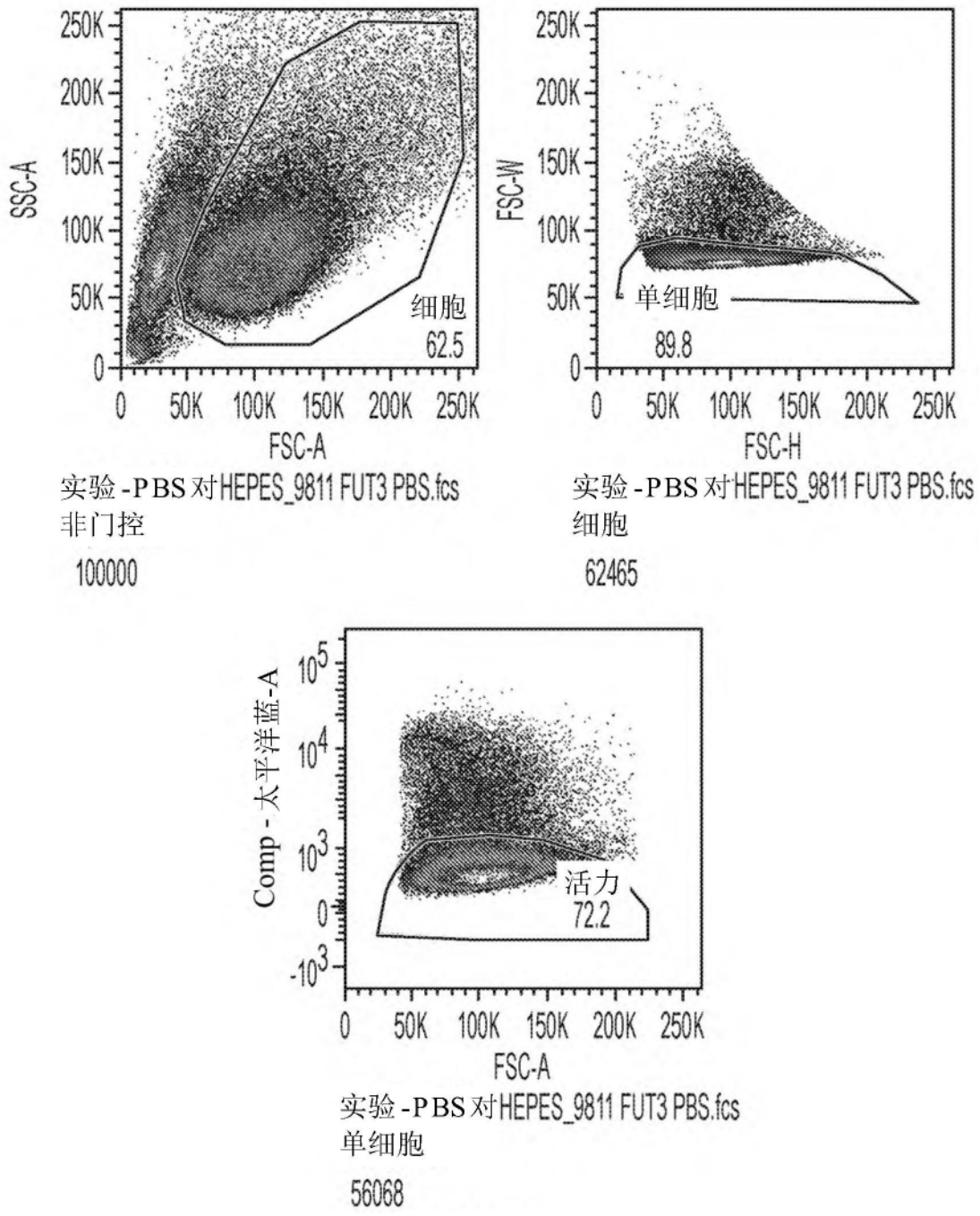

SSC-A
FSC-A
细胞
62.5
实验 -PBS 对HEPES_9811 FUT3 PBS.fcs
非门控
100000
FSC-W
FSC-H
单细胞
89.8
实验 -PBS 对HEPES_9811 FUT3 PBS.fcs
细胞
62465
Comp - 太平洋蓝-A
活力
72.2
实验 -PBS 对HEPES_9811 FUT3 PBS.fcs
单细胞
56068

图67

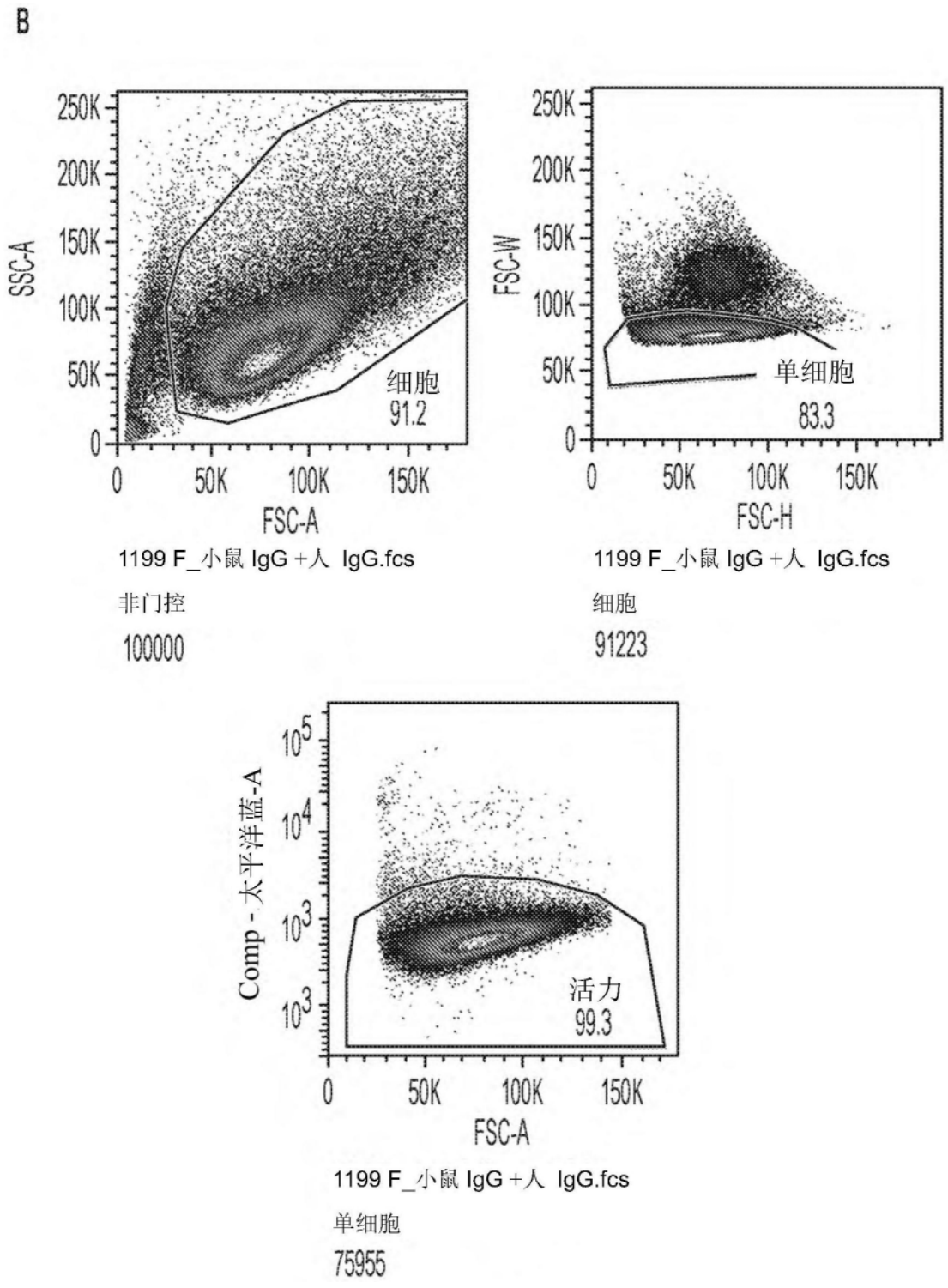

B
250K
200K
150K
100K
50K
0
SSC-A
0
50K
100K
150K
FSC-A
细胞
91.2
1199 F_小鼠 IgG +人 IgG.fcs
非门控
100000
FSC-W
FSC-H
单细胞
83.3
1199 F_小鼠 IgG +人 IgG.fcs
细胞
91223
Comp - 太平洋蓝-A
10^5
10^4
10^3
10^3
活力
99.3
1199 F_小鼠 IgG +人 IgG.fcs
单细胞
75955

图67(续)

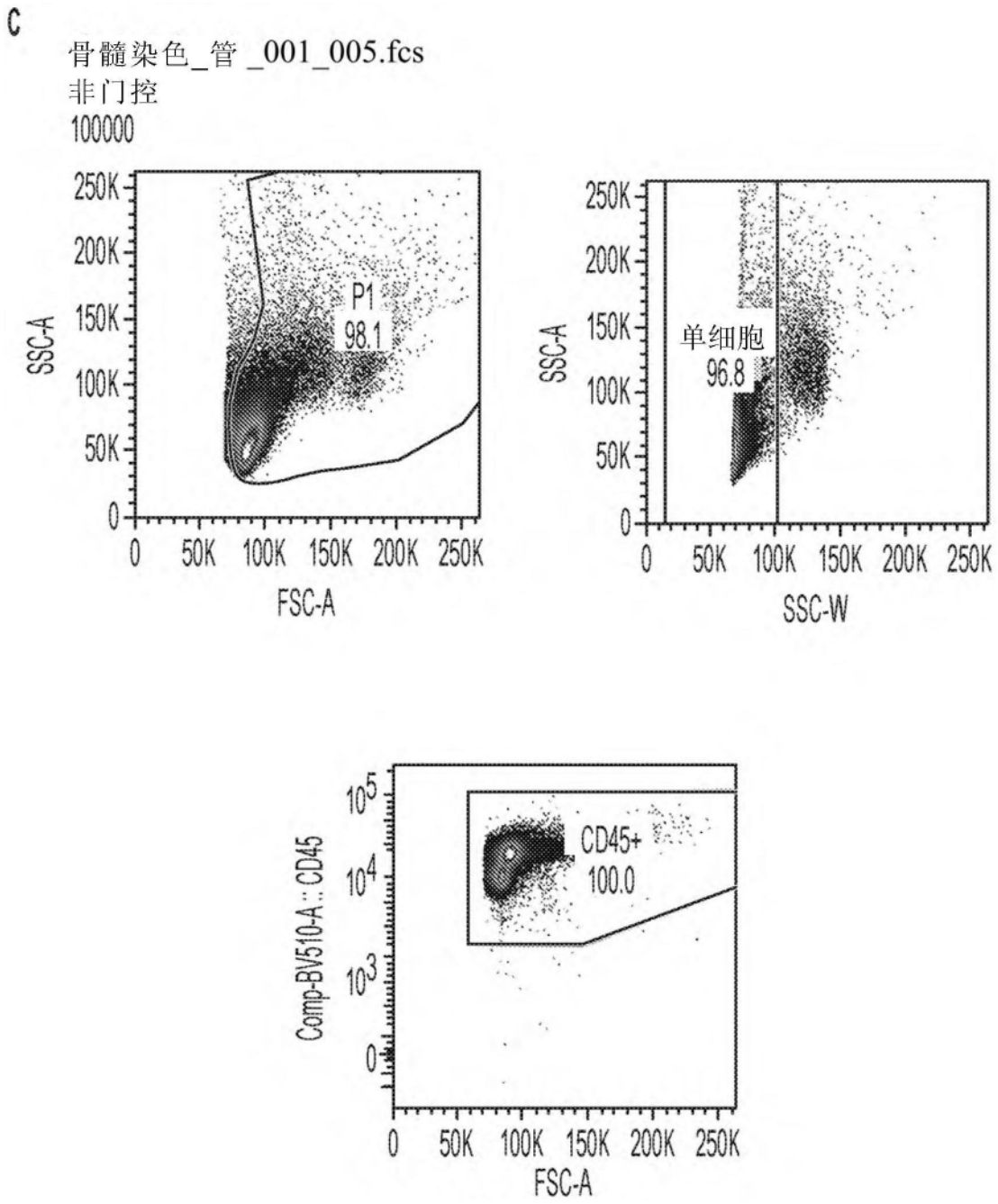
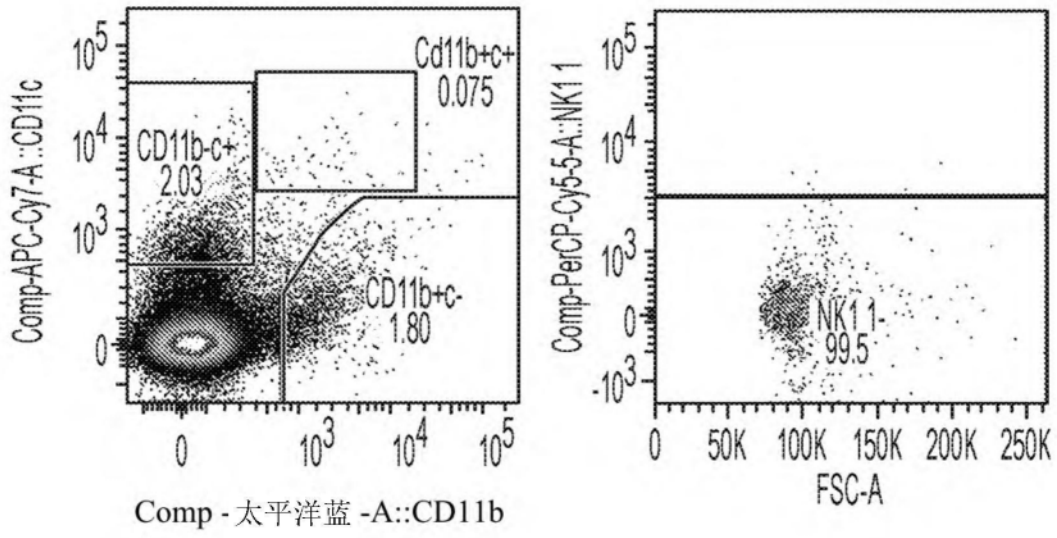

C
骨髓染色_管 _001_005.fcs
非门控
100000
SSC-A
FSC-A
P1
98.1
单细胞
96.8
SSC-W
Comp-BV510-A :: CD45
CD45+
100.0

图67(续)

C


Comp-APC-Cy7-A::CD11c
Cd11b+c+
0.075
CD11b-c+
2.03
CD11b+c-
1.80
Comp - 太平洋蓝 -A::CD11b
Comp-PerCP-Cy5-5-A::NK1 1
NK1.1-
99.5
FSC-A

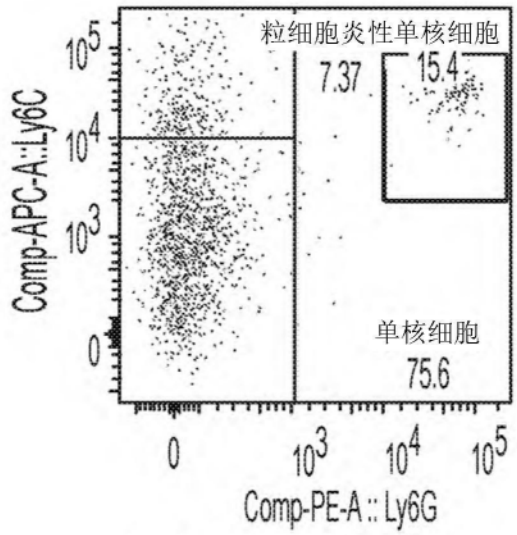

粒细胞炎性单核细胞
7.37
15.4
单核细胞
75.6
Comp-APC-A::Ly6C
Comp-PE-A :: Ly6G

图67(续)

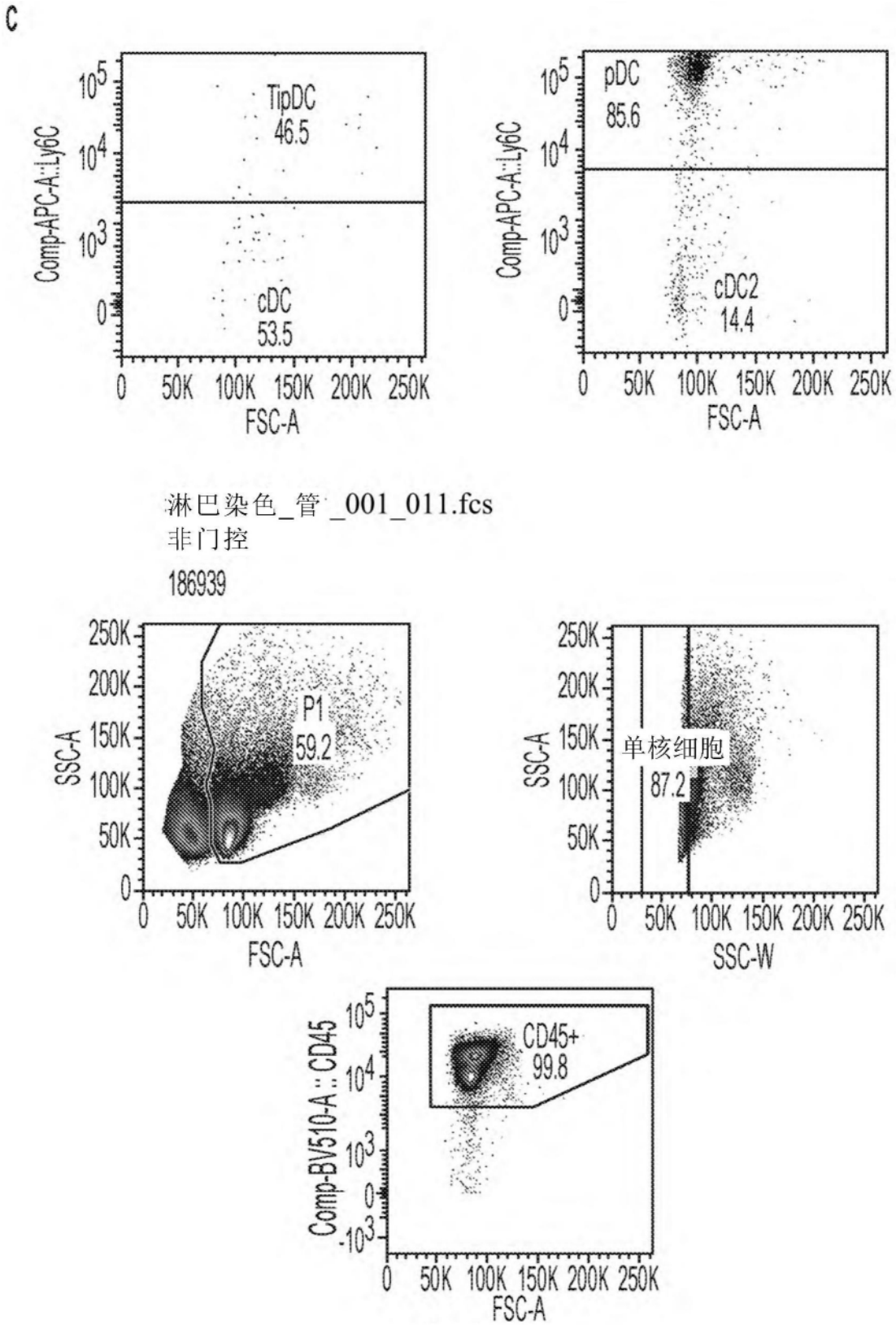

C
TipDC
46.5
cDC
53.5
Comp-APC-A::Ly6C
FSC-A
pDC
85.6
cDC2
14.4
淋巴染色_管 _001_011.fcs
非门控
186939
P1
59.2
SSC-A
单核细胞
87.2
SSC-W
CD45+
99.8
Comp-BV510-A :: CD45

图67(续)

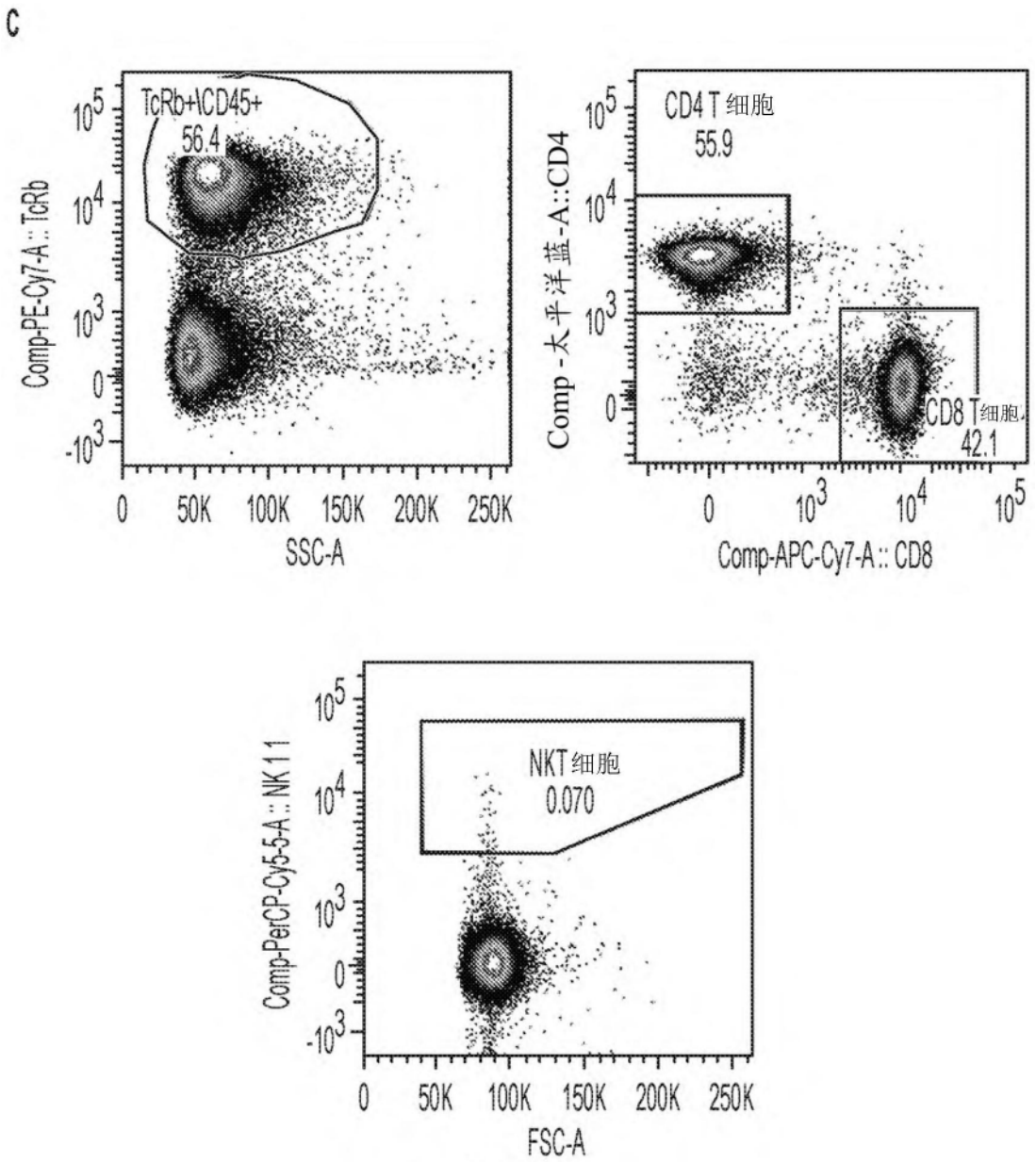

C
TcRb+ICD45+
56.4
Comp-PE-Cy7-A:: TcRb
SSC-A
CD4 T 细胞
55.9
CD8 T细胞
42.1
Comp - 太平洋蓝 -A::CD4
Comp-APC-Cy7-A:: CD8
NKT细胞
0.070
Comp-PerCP-Cy5-5-A:: NK 1 1
FSC-A

图67(续)

C

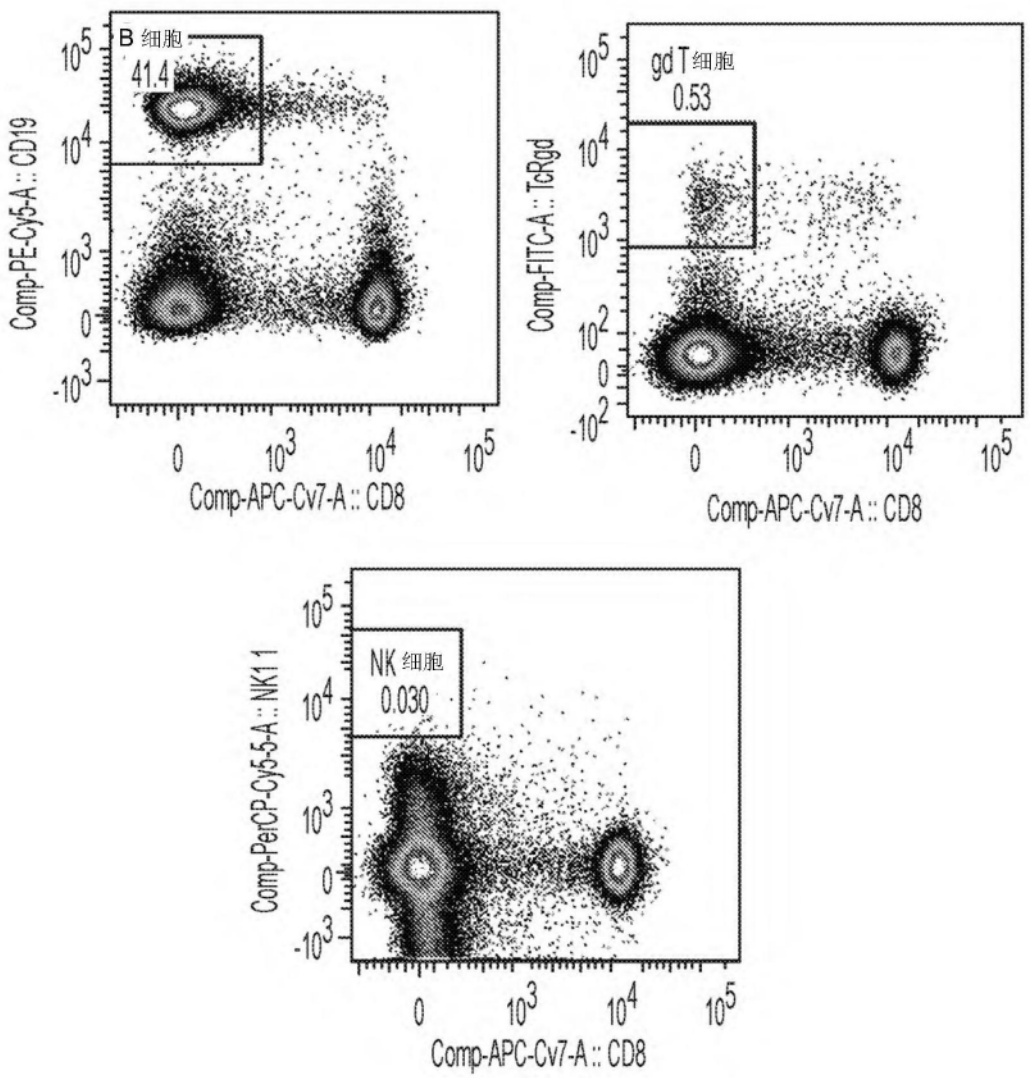

B 细胞
41.4
Comp-PE-Cy5-A :: CD19
Comp-APC-Cv7-A :: CD8
gd T 细胞
0.53
Comp-FITC-A :: TcRgd
Comp-APC-Cv7-A :: CD8
NK 细胞
0.030
Comp-PerCP-Cy5-5-A :: NK1 1
Comp-APC-Cv7-A :: CD8

图67(续)

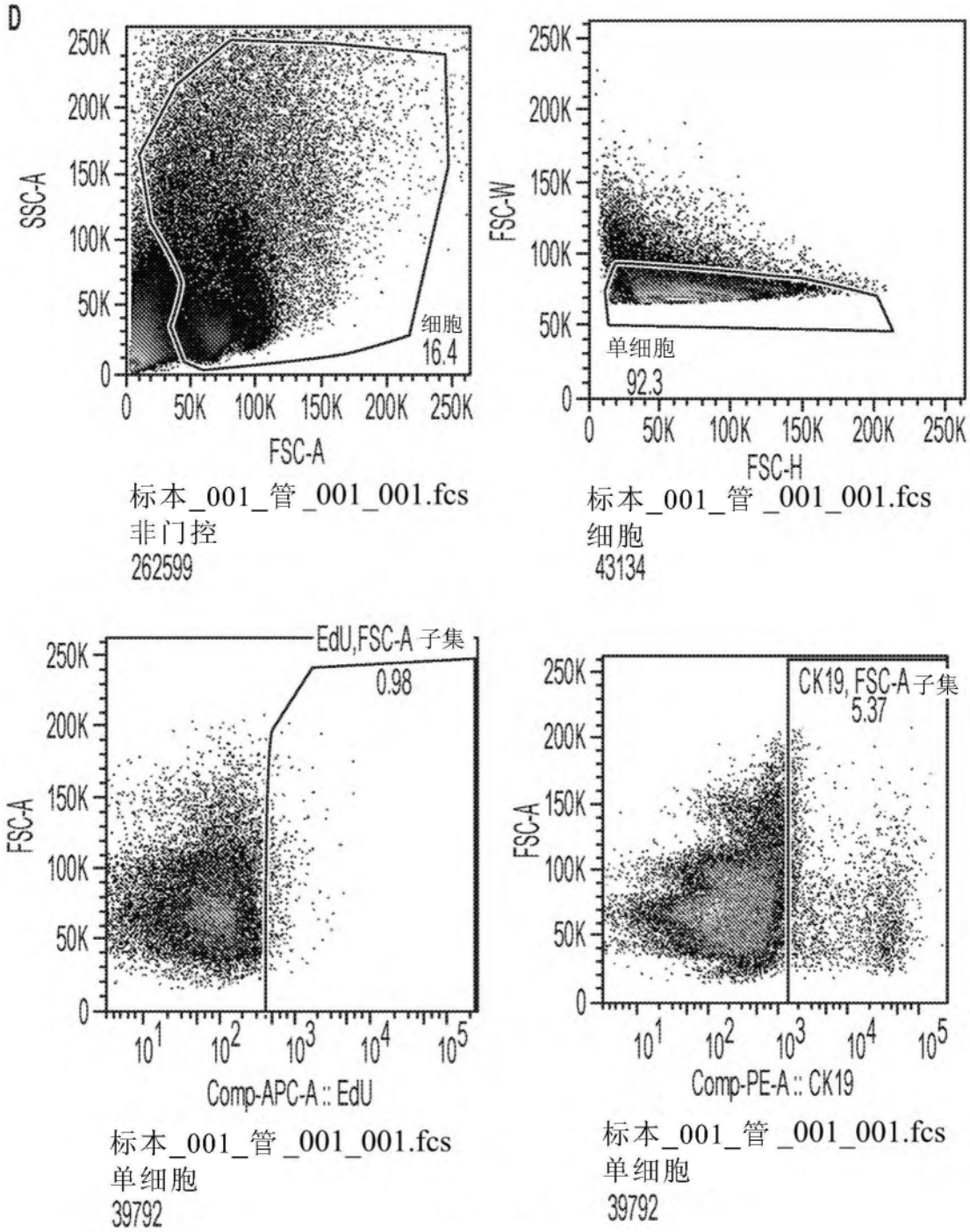

D
SSC-A
FSC-A
细胞
16.4
标本_001_管 _001_001.fcs
非门控
262599
FSC-W
FSC-H
单细胞
92.3
标本_001_管 _001_001.fcs
细胞
43134
FSC-A
EdU,FSC-A 子集
0.98
Comp-APC-A :: EdU
标本_001_管 _001_001.fcs
单细胞
39792
CK19, FSC-A子集
5.37
Comp-PE-A :: CK19
标本_001_管 _001_001.fcs
单细胞
39792

图67(续)

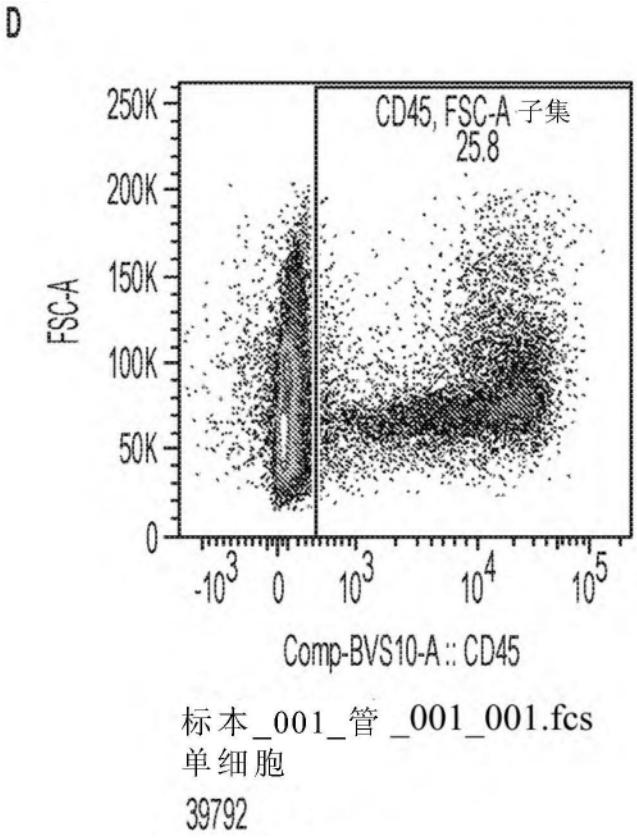

D
CD45, FSC-A 子集
25.8
250K
200K
150K
100K
50K
0
FSC-A
-10^3
0
10^3
10^4
10^5
Comp-BVS10-A :: CD45
标本_001_管 _001_001.fcs
单细胞
39792

图67(续)