

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 537 074**

51 Int. Cl.:

**A61K 35/14** (2015.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61K 39/40** (2006.01)  
**C12P 21/08** (2006.01)  
**C07K 1/00** (2006.01)  
**C07K 14/00** (2006.01)  
**C07K 17/00** (2006.01)  
**C07K 16/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.09.2002 E 02773295 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.02.2015 EP 1429793**

54 Título: **Ácido nucleico y proteína correspondiente denominados STEAP-1 útiles en el tratamiento y la detección de cáncer**

30 Prioridad:

**06.09.2001 US 317840 P**  
**05.04.2002 US 370387 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**02.06.2015**

73 Titular/es:

**AGENSYS, INC. (100.0%)**  
**1800 Stewart Street**  
**Santa Monica, CA 90404, US**

72 Inventor/es:

**FARIS, MARY;**  
**GE, WANGMAO;**  
**RAITANO, ARTHUR B.;**  
**CHALLITA-EID, PIA M. y**  
**JAKOBOVITS, AYA**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 537 074 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Ácido nucleico y proteína correspondiente denominados STEAP-1 útiles en el tratamiento y la detección de cáncer

5 **Campo de la invención**

La invención descrita en el presente documento se refiere a un gen y a su proteína codificada, denominados 08P1D4 o STEAP-1, expresados en determinados cánceres y a métodos diagnósticos y terapéuticos y a composiciones útiles en el control de los cánceres que expresan STEAP-1.

10 **Antecedentes de la invención**

El cáncer es la segunda causa principal de muerte en seres humanos junto con la enfermedad coronaria. En todo el mundo, millones de personas mueren cada año por cáncer. Sólo en los Estados Unidos, según comunica la Sociedad Americana del Cáncer, el cáncer causa la muerte de más de medio millón de personas cada año, siendo diagnosticados más de 1,2 millones de nuevos casos cada año. Aunque las muertes por problemas cardíacos han estado disminuyendo considerablemente, las que se producen por cáncer generalmente están aumentando. En la primera parte del próximo siglo, se prevé que el cáncer será la causa principal de muerte.

En todo el mundo, son varios cánceres los que destacan como principalmente mortales. En particular, los carcinomas de pulmón, próstata, mama, colon, páncreas y ovario representan las causas principales de muerte por cáncer. Estos y prácticamente todos los otros carcinomas comparten una propiedad mortal común. Con muy pocas excepciones, la enfermedad metastásica de un carcinoma es mortal. Además, hasta para aquellos pacientes con cáncer que sobreviven al principio a sus cánceres primarios, la experiencia común ha mostrado que sus vidas se alteran drásticamente. Muchos pacientes con cáncer experimentan una gran ansiedad producida por la conciencia del posible fracaso del tratamiento o de la recurrencia. Muchos pacientes con cáncer experimentan debilitaciones físicas después del tratamiento. Además, muchos pacientes con cáncer experimentan una recurrencia.

En todo el mundo, el cáncer de próstata es el cuarto cáncer más frecuente en hombres. En Norteamérica y Europa del Norte, es con mucho el cáncer más común en hombres y es el segundo que acaba en un resultado de muerte por cáncer en hombres. Sólo en los Estados Unidos, más de 30.000 hombres mueren cada año por esta enfermedad- sólo segunda después del cáncer de pulmón. A pesar de la magnitud de estas cifras, no hay todavía ningún tratamiento eficaz contra el cáncer de próstata metastásico. La prostatectomía quirúrgica, la radioterapia, la terapia de ablación hormonal, la castración quirúrgica y la quimioterapia siguen siendo las principales modalidades de tratamiento. Lamentablemente, estos tratamientos son ineficaces para muchos y a menudo están asociados a consecuencias indeseables.

Respecto al enfoque diagnóstico, la carencia de un marcador tumoral de próstata que pueda detectar con exactitud tumores localizados en una etapa inicial comporta una limitación significativa en el diagnóstico y el tratamiento médico de esta enfermedad. Aunque el análisis del antígeno prostático específico (PSA, por sus siglas en inglés "Prostate Specific Antigen") en suero ha sido una herramienta muy útil, sin embargo, su especificidad y su utilidad general están extensamente consideradas como deficientes en varios aspectos importantes.

El progreso en la identificación de marcadores específicos adicionales para el cáncer de próstata ha mejorado por la generación de xenoinjertos de cáncer de próstata que pueden recapitular las diferentes etapas de la enfermedad en ratones. Los xenoinjertos LAPC (por sus siglas en inglés "Los Angeles Prostate Cancer", en español "Cáncer de Próstata de Los Angeles") son xenoinjertos de cáncer de próstata que han sobrevivido la transferencia en ratones con inmunodeficiencia combinada severa (SCID, por sus siglas en inglés "Severe Combined Immune Deficient") y que han exhibido la capacidad de imitar la transición de la dependencia de andrógenos a la independencia de andrógenos (Klein et al., 1997, Nat. Med. 3: 402). Los marcadores del cáncer de próstata más recientemente identificados incluyen PCTA-1 (Su et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 7252), el antígeno de membrana específico de próstata (PSM, "Prostate-Specific Membrane") (Pinto et al., Clin Cancer Res, 2 de septiembre de 1996 (9):1445-51), STEAP (Hubert, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 7 de diciembre de 1999; 96(25): 14523-8) y el antígeno de células madre de próstata (PSCA, "Prostate Stem Cell Antigen") (Reiter et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 1735).

Aunque los marcadores antes mencionados, tales como PSA, PSM, PCTA y PSCA, han facilitado los esfuerzos para diagnosticar y tratar el cáncer de próstata, continúa existiendo una necesidad de identificación de otros marcadores y dianas terapéuticas para cánceres de próstata y asociados para mejorar posteriormente el diagnóstico y la terapia.

El carcinoma de células renales (RCC, "Renal Cell Carcinoma") representa aproximadamente un 3 por ciento de malignidades en adultos. Una vez que los adenomas alcanzan un diámetro de 2 a 3 cm, existe potencial maligno. En adultos, los dos principales tumores renales malignos son el adenocarcinoma de células renales y el carcinoma de células de transición de pelvis renal o del uréter. La incidencia del adenocarcinoma de células renales se estima en más de 29.000 casos en los Estados Unidos, y más de 11.600 pacientes muertos por esta enfermedad en 1998. El carcinoma de células de transición es menos frecuente, con una incidencia de aproximadamente 500 casos por año

en los Estados Unidos.

La cirugía ha sido la principal terapia para el adenocarcinoma de células renales durante muchas décadas. Hasta hace poco, la enfermedad metastásica ha sido refractaria a cualquier terapia sistémica. Con los desarrollos recientes en terapias sistémicas, particularmente inmunoterapias, se puede tratar agresivamente el carcinoma de células renales metastásico en los pacientes apropiados con posibilidad de tener respuestas duraderas. Sin embargo, hacen falta terapias eficaces para estos pacientes.

De todos los nuevos casos de cáncer en los Estados Unidos, el cáncer de vejiga representa aproximadamente el 5 por ciento en hombres (el neoplasma en quinto lugar más común) y el 3 por ciento en mujeres (el octavo neoplasma más común). La incidencia aumenta despacio, simultáneamente con una creciente población más anciana. En 1998, había aproximadamente 54.500 casos, incluyendo 39.500 en hombres y 15.000 en mujeres. La incidencia por edades en los Estados Unidos es del 32 por 100.000 para hombres y 8 por 100.000 en mujeres. La relación histórica masculina/femenina de 3:1 puede disminuirse en relación con modelos fumadores en mujeres. Hubo aproximadamente 11.000 muertes por cáncer de vejiga en 1998 (7.800 en hombres y 3.900 en mujeres). La incidencia del cáncer de vejiga y la mortalidad aumentan fuertemente con la edad y será un problema creciente según la población se vuelva más anciana.

La mayor parte de los cánceres de vejiga reaparecen en la vejiga. El cáncer de vejiga es tratado con una combinación de resección transuretral de la vejiga (TUR, "Transurethral Resection of the Bladder") y quimioterapia intravesical o inmunoterapia. La naturaleza multifocal y recurrente del cáncer de vejiga destaca las limitaciones de la TUR. La mayoría de los cánceres invasivos musculares no tienen cura solo por TUR. La cistectomía radical y la diversión urinaria son los medios más eficaces para eliminar el cáncer, pero provocan un impacto innegable sobre la función urinaria y sexual. Continúa habiendo una necesidad significativa de modalidades de tratamiento que sean beneficiosas para pacientes con cáncer de vejiga.

Aproximadamente 130.200 casos de cáncer colorrectal aparecieron en 2000 en los Estados Unidos, incluyendo 93.800 casos de cáncer de colon y 36.400 de cáncer rectal. Los cánceres colorrectales son los terceros cánceres más comunes en hombres y mujeres. Las tasas de incidencia disminuyeron considerablemente durante 1992-1996 (-2,1% por año). La investigación sugiere que esta disminución se ha debido a un mayor rastreo y eliminación del pólipo, la progresión de la prevención de pólipos frente a cánceres invasivos. Hubo aproximadamente 56.300 muertes (47.700 de cáncer de colon, 8.600 de cáncer rectal) en 2000, lo que representa aproximadamente el 11% de todas las muertes por cáncer en los estados unidos.

Actualmente, la cirugía es la forma más común de terapia para el cáncer colorrectal, y para los cánceres que no se han extendido, es curativa con frecuencia. Se da quimioterapia, o quimioterapia más radiación, antes o después de la cirugía a la mayor parte de pacientes cuyo cáncer ha perforado profundamente la pared del intestino o se ha extendido a los nodos de linfa. Ocasionalmente es necesaria una colostomía permanente (la creación de una abertura abdominal para la eliminación de los desechos del cuerpo) para el cáncer de colon y raras veces se requiere para el cáncer rectal. Sigue quedando una necesidad de un diagnóstico eficaz y de modalidades de tratamiento para el cáncer colorrectal

Hubo aproximadamente 164.100 de nuevos casos de cáncer de pulmón y de bronquios en 2000, lo que comporta un 14% de todos los diagnósticos de cáncer estadounidenses. La tasa de incidencia del cáncer de pulmón y de bronquios disminuye considerablemente en hombres, desde un alto 86,5 por 100.000 en 1984 a 70,0 en 1996. En 1990, la tasa de aumento entre mujeres comenzó a reducirse. En 1996, la tasa de incidencia en mujeres era de 42,3 por 100.000.

El cáncer de pulmón y de bronquios causó aproximadamente 156.900 muertes en 2000, lo que representa un 28% de todas las muertes por cáncer. Durante 1992-1996, la mortalidad por el cáncer de pulmón disminuyó considerablemente entre hombres (-1,7% por año) mientras que las tasas para mujeres todavía aumentaban considerablemente (0,9% por año). Desde 1987, han muerto más mujeres cada año por cáncer de pulmón que por cáncer de mama, que, en más de 40 años, era la principal causa de muerte por cáncer en mujeres. La disminución de la incidencia del cáncer de pulmón y de los índices de mortalidad lo más probablemente es que sea el resultado de las menores tasas de tabaquismo de los últimos 30 años; sin embargo, la disminución de modelos de fumadores entre mujeres se queda atrás del de los hombres. Es destacable que aunque la disminución del uso del tabaco en adultos se ha reducido, el uso de tabaco en la juventud está aumentando de nuevo.

Las opciones de tratamiento para el cáncer de pulmón y de bronquios son determinadas por el tipo y la etapa del cáncer e incluyen cirugía, radioterapia y quimioterapia. Para muchos cánceres localizados, la cirugía es por lo general el tratamiento de elección. Como se ha descubierto que la enfermedad por lo general se extiende con el tiempo, la radioterapia y la quimioterapia son a menudo necesarias en combinación con la cirugía. La quimioterapia sola o combinada con radiación es el tratamiento de elección para el cáncer de pulmón de células pequeñas; en este régimen, un porcentaje grande de pacientes experimenta una remisión, que en algunos casos es duradera. Queda, sin embargo, una necesidad todavía de un tratamiento eficaz y logros diagnósticos para los cánceres de pulmón y de bronquios.

Se prevé que aparezcan aproximadamente 182.800 nuevos casos invasivos de cáncer de mama entre mujeres en los Estados Unidos durante el 2000. Además, se prevé que se diagnosticarán aproximadamente 1.400 nuevos casos de cáncer de mama en hombres en 2000. Después del aumento de aproximadamente el 4% por año en los años 80, las tasas de incidencia del cáncer de mama en mujeres se han ajustado en los años 90 a aproximadamente 110,6 casos por 100.000.

Sólo en los Estados Unidos hubo aproximadamente 41.200 muertes (40.800 mujeres, 400 hombres) en 2000 debido al cáncer de mama. El cáncer de mama alcanza el segundo puesto entre las muertes por cáncer en mujeres. De acuerdo con los datos más recientes, los índices de mortalidad disminuyeron considerablemente durante 1992-1996 con disminuciones más grandes en las mujeres más jóvenes, tanto de raza blanca como de raza negra. Estas disminuciones son probablemente el resultado de una detección más precoz y de mejores tratamientos.

Teniendo en cuenta las circunstancias médicas y las preferencias del paciente, el tratamiento del cáncer de mama puede implicar una lumpectomía (la eliminación local del tumor) y la eliminación de los nodos linfáticos bajo el brazo; mastectomía (eliminación quirúrgica del pecho) y eliminación de los nodos linfáticos bajo el brazo; radioterapia; quimioterapia; o terapia hormonal. A menudo, se usan dos o más métodos en combinación. Numerosos estudios han mostrado que, durante la etapa inicial de la enfermedad, las tasas de supervivencia a largo plazo después de la lumpectomía más la radioterapia son similares a las tasas de supervivencia después de la mastectomía radical modificada. Los avances significativos en las técnicas de reconstrucción proporcionan varias opciones para la reconstrucción de la mama después de la mastectomía. Recientemente, tal reconstrucción ha sido llevada a cabo al mismo tiempo que la mastectomía.

La escisión local del carcinoma ductal *in situ* (DCIS, "Ductal Carcinoma *In Situ*") con cantidades adecuadas de tejido de mama normal circundante puede prevenir la recurrencia local del DCIS. La radiación en la mama y/o el tamoxifeno pueden reducir la posibilidad de que aparezca el DCIS en el tejido de mama restante. Esto es importante porque el DCIS, de ser dejado sin tratar, puede desarrollarse como un cáncer de mama invasivo. Sin embargo, hay serios efectos secundarios o secuelas con estos tratamientos. Por lo tanto, queda una necesidad de tratamientos eficaces del cáncer de mama.

Hubo aproximadamente 23.100 nuevos casos de cáncer ovárico en los Estados Unidos en 2000. Esto comporta el 4% de todos los cánceres entre mujeres y constituye el segundo entre los cánceres ginecológicos. Durante 1992-1996, las tasas de incidencia del cáncer ovárico disminuyeron considerablemente. Como consecuencia del cáncer ovárico, hubo aproximadamente 14.000 muertes en 2000. El cáncer ovárico causa más muertes que cualquier otro cáncer del sistema reproductor femenino.

La cirugía, radioterapia y quimioterapia son las opciones de tratamiento para el cáncer ovárico. La cirugía, por lo general, incluye la eliminación de uno o ambos ovarios, las trompas de Falopio (salpingo-ooforectomía) y el útero (histerectomía). En algunos tumores muy precoces, sólo será eliminado el ovario implicado, especialmente en las jóvenes que deseen tener niños. En la enfermedad avanzada, se realiza una tentativa para eliminar toda la enfermedad intraabdominal para potenciar el efecto de la quimioterapia. Sigue quedando una necesidad importante de opciones de tratamiento eficaces para el cáncer ovárico.

Hubo aproximadamente 28.300 nuevos casos de cáncer pancreático en los Estados Unidos en 2000. En los últimos 20 años, las tasas del cáncer pancreático han disminuido en hombres. Las tasas entre mujeres han permanecido aproximadamente constantes, pero pueden comenzar a disminuir. El cáncer pancreático causó aproximadamente 28.200 muertes en 2000 en los Estados Unidos. En los últimos 20 años, ha habido una leve disminución pero significativa en los índices de mortalidad entre los hombres (aproximadamente -0,9% por año) mientras que las tasas han aumentado ligeramente entre mujeres.

La cirugía, radioterapia y quimioterapia son opciones de tratamiento para el cáncer pancreático. Estas opciones de tratamiento pueden ampliar la supervivencia y/o aliviar los síntomas en muchos pacientes, pero probablemente no producen una cura para la mayoría. Queda una necesidad significativa de opciones terapéuticas y diagnósticas adicionales para el cáncer pancreático.

## Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un gen, denominado STEAP-1, que ahora se ha descubierto que se sobreexpresa en cáncer, o en cánceres, enumerados en la Tabla I. El análisis de expresión génica por transferencia de Northern de STEAP-1 en tejidos normales muestra un patrón de expresión restringido en tejidos adultos. Se proporcionan las secuencias de nucleótidos (Figura 2) y de aminoácidos (Figura 2, y Figura 3) de STEAP-1. El perfil de STEAP-1 relacionado con tejidos, en tejidos adultos normales, en combinación con la sobreexpresión observada en los tejidos enumerados en la Tabla I, muestra que STEAP-1 se sobreexpresa de manera aberrante en al menos algunos cánceres, y por tanto sirve como una diana diagnóstica, profiláctica, pronóstica y/o terapéutica útil para cánceres del tejido (o tejidos) tales como los enumerados en la Tabla I.



La invención proporciona composiciones, composiciones farmacéuticas, anticuerpos y fragmentos de los mismos, animales transgénicos no humanos e hibridomas, como se define en las reivindicaciones. La invención también proporciona composiciones, polinucleótidos, y vectores para su uso en la inhibición del crecimiento de células cancerosas, como se define en las reivindicaciones. La invención también proporciona péptidos y polinucleótidos para su uso en el tratamiento de enfermedades, como se define en las reivindicaciones.

La invención también proporciona composiciones, polinucleótidos, y vectores en la fabricación de un medicamento para inhibir el crecimiento de células cancerosas, como se define en las reivindicaciones. Adicionalmente, la invención proporciona usos de secuencias peptídicas y polinucleotídicas en el tratamiento del cáncer, como se define en las reivindicaciones. La invención también proporciona métodos para detectar la presencia de una proteína en una muestra, como se define en las reivindicaciones.

Las composiciones de la invención pueden comprender péptidos que constan de una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en los aminoácidos 32-40, 80-88, 99-107, 122-130, 153-161, 180-188, 21-30, 79-88, 121-130, 173-182, 243-252, 244-252, 277-286, 108-116, 140-148, 307-315, 140-149, 307-316, 118-126, 150-158, 294-302, 310-318, 109-118 y 150-159 de la SEC ID NO:3, o un análogo de los péptidos anteriores en el que un resto en una posición de anclaje primaria y/o secundaria mostrada en la Tabla IV se sustituye por otro aminoácido específico para esa posición indicada en la Tabla IV con objeto de aumentar la afinidad de unión, la semivida de unión y/o la reactividad cruzada de ese péptido.

### Breve descripción de las figuras

**Figura 1.** Secuencia HSS de STEAP-1 de 436 nucleótidos.

**Figura 2.** En la Figura 2A se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 1 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.1" o "variante 1 de STEAP-1"). La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 66 al 1085 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2B se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 2 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.2"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2C se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 3 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.3"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 944 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2D se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 4 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.4"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2E se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 5 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.5"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2F se muestra la secuencia de ADNc y la de aminoácidos de la variante 6 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.6"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2G se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 7 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.7"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2H se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 8 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.8"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2I se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 9 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.9"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2J se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 10 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.10"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2K se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 11 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-v.11"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2L se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 12 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-v.12"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2M se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 13 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.13"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2N se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 14 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v. 14"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2O se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 15 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.15"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2P se muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 16 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.16"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. En la Figura 2Q se

muestra la secuencia de ADNc y de aminoácidos de la variante 17 de STEAP-1 (también denominada "STEAP-1 v.17"). El codón de la metionina inicial está subrayado. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación. Tal como se usa en el presente documento, una referencia a STEAP-1 incluye todas sus variantes, incluyendo las que se muestran en las Figuras 10 y 12.

**Figura 3.** En la Figura 3A se muestra la secuencia de aminoácidos de STEAP-1 v.1; tiene 339 aminoácidos. En la Figura 3B se muestra la secuencia de aminoácidos de STEAP-1 v.2; tiene 258 aminoácidos. En la Figura 3C se muestra la secuencia de aminoácidos de STEAP-1 v.3; tiene 282 aminoácidos. En la Figura 3D se muestra la secuencia de aminoácidos de STEAP-1 v.4; tiene 258 aminoácidos. Tal como se usa en el presente documento, una referencia a STEAP-1 incluye todas sus variantes, incluyendo las que se muestran en la Figura 11.

**Figura 4.** En la Figura 4A se muestra el alineamiento de la secuencia de aminoácidos de STEAP-1 v.1 con la proteína relacionada con adipocitos inducida por TNF $\alpha$  de ratón (gi/16905133/). En la Figura 4B se muestra el alineamiento de la secuencia de aminoácidos de STEAP-1 v.1 con la proteína pHyde de rata (gi/21717665/). La Figura 4C muestra la Homología de STEAP-1 con el antígeno epitelial de seis dominios transmembrana de la próstata de ratón (gi|20820492|).

**Figura 5.** (5) Perfil de hidrofiliidad de aminoácidos de la variante 1 de STEAP-1. (5A) Perfil de hidrofiliidad de aminoácidos de la variante 3 de STEAP-1, determinado por análisis de secuencias mediante algoritmo informático usando el método de Hopp y Woods (Hopp T. P., Woods K. R., 1981. Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 78: 3824-3828) al cual se accede desde página web ProtScale localizada en la red informática mundial ([www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.pl](http://www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.pl)) a través del servidor de biología molecular ExPasy.

**Figura 6.** (6) Perfil de hidropaticidad de aminoácidos de la variante 1 de STEAP-1. (6A) Perfil de hidropaticidad de aminoácidos de la variante 3 de STEAP-1, determinado por análisis de secuencias mediante algoritmo informático usando el método de Kyte y Doolittle (Kyte J., Doolittle R. F., 1982. J. Mol. Biol. 157: 105-132) al cual se accede desde la página web ProtScale localizada en la URL de la red informática mundial ([www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.pl](http://www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.pl)) a través del servidor de biología molecular ExPasy.

**Figura 7.** (7) Perfil del porcentaje de restos de aminoácidos accesibles de la variante 1 de STEAP-1. (7A) Perfil del porcentaje de restos de aminoácidos accesibles de la variante 3 de STEAP-1, determinado por análisis de secuencias mediante algoritmo informático usando el método de Janin (Janin J., 1979 Nature 277: 491-492) al cual se accede desde la página web de ProtScale localizada en la URL de la red informática mundial ([www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.pl](http://www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.pl)) a través del servidor de biología molecular ExPasy.

**Figura 8.** (8) Perfil de flexibilidad promedio de aminoácidos de la variante 1 de STEAP-1. (8A) Perfil de flexibilidad promedio de aminoácidos de la variante 3 de STEAP-1, determinado por análisis de secuencias mediante algoritmo informático usando el método de Bhaskaran y Ponnuswamy (Bhaskaran R., y Ponnuswamy P. K., 1988. Int. J. Pept Protein Res. 32: 242-255) al cual se accede desde la página web de ProtScale localizada en la URL de la red informática mundial ([www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.pl](http://www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.pl)) a través del servidor de biología molecular ExPasy.

**Figura 9.** (9) Perfil de aminoácidos del giro beta de la variante 1 de STEAP-1. (9A) Perfil de aminoácidos del giro beta de la variante 3 de STEAP-1, determinado por análisis de secuencias mediante algoritmo informático usando el método de Deleage y Roux (Deleage, G., Roux B. 1987 Protein Engineering 1: 289-294) al cual se accede desde la página web de ProtScale localizada en la URL de la red informática mundial ([www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.pl](http://www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.pl)) a través del servidor de biología molecular ExPasy.

**Figura 10.** Alineamiento esquemático de variantes de los SNP de 8P1D4. Las variantes de 8P1D4 v.4 a v.17 son variantes con diferencias de un solo nucleótido en comparación 8P1D4 v.2. Aunque estas variantes de los SNP se muestran de forma separada, también podrían aparecer en cualquiera de las combinaciones y en cualquiera de las variantes transcripcionales que contengan los pares de bases, por ejemplo, 8P1D4 v.1 y v.3. Los números corresponden a los de 8P1D4 v.2. El recuadro de color negro muestra la misma secuencia que 8P1D4 v.2. Los SNP se indican encima del recuadro.

**Figura 11.** Composiciones exónicas de variantes transcripcionales de 8P1D4. Esta Figura muestra la estructura de variantes transcripcionales sin la cola poli A. Las variantes de 8P1D4 v.1, v.2 y v.3 son variantes transcripcionales que comparten los mismos exones 2 y 3. El primer exón de 8P1D4 v.1 es 30 bases más corto en el extremo 5' que los primeros exones de las otras dos variantes transcripcionales. El cuarto exón de 8P1D4 v.2 es el mismo que el exón 4 combinado, intrón 4 y exón 5 de 8P1D4 v.1. En comparación con 8P1D4 v.1, la variante 8P1D4 v.3 tiene un exón adicional de corte y empalme del intrón 4 de 8P1D4 v.1. Las longitudes de los intrones y los exones no son proporcionales.

**Figura 12.** Alineamiento esquemático de variantes proteicas de 8P1D4. Las variantes proteicas corresponden a variantes de nucleótidos. Las variantes nucleotídicas 8P1D4 v.5 a v.17 de la Figura 10 codifican la misma proteína que 8P1D4 v.2. Las proteínas traducidas de las variantes transcripcionales 8P1D4 v.1 y v.3 tal como se muestra en la Figura 11 pueden contener el aminoácido F (Phe) o L (Leu) en la posición 169. Las diferencias de un solo aminoácido se indican encima de los recuadros. Los recuadros de color negro representan la misma secuencia que 8P1D4 v.1. Los recuadros con patrones de relleno diferentes muestran secuencias diferentes. Los números debajo de cada recuadro corresponden a 8P1D4 v.1

**Figura 13.** Figuras 13(a) - (c). Predicción de la estructura secundaria y de dominios transmembrana de las variantes de la proteína 8P1D4. La estructura secundaria de las variantes 1 (SEC ID Nº: 93), 2 (SEC ID Nº: 94) y 3 (SEC ID Nº: 95) de la proteína 8P1D4; (Figuras 13a-13c, respectivamente) de la proteína 8P1D4 se predijeron usando el método jerárquico de la Red Neural- HNN (Guermeur, 1997, [http://fbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=npsa\\_nn.html](http://fbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_nn.html)), al cual se accede desde el servidor de biología molecular ExPasy localizado en la red informática mundial ([www.expasy.ch/tools/](http://www.expasy.ch/tools/)). Este método predice la presencia y

localización de hélices alfa, cadenas extendidas, y enrollamientos aleatorios de la secuencia de la proteína primaria. También se lista el porcentaje de la proteína en una secundaria determinada. Figuras 13(d), 13(f), y 13(h): representaciones esquemáticas de la probabilidad de existencia de regiones transmembrana y la orientación de las variantes 1-3 de 8P1D4, (Figuras 13(d), 13(f) y 13(h) respectivamente, basándose en el algoritmo TMpred de Hofmann y Stoffel que utiliza TMBASE (K. Hofmann, W. Stoffel. TMBASE - A database of membrane spanning protein segments Biol. Chem. Hoppe-Seyler 374: 166, 1993). Figuras 13(e), 13(g), y 13(i): representaciones esquemáticas de la probabilidad de la existencia de regiones transmembrana y la orientación extracelular e intracelular de las variantes 1-3 de 8P1D4, Figuras 13(e), 13(g), y 13(i) respectivamente, basándose en el algoritmo TMHMM de Sonnhammer, von Heijne y Krogh (Erik L. L. Sonnhammer, Gunnar von Heijne, y Anders Krogh: A hidden Markov model for predicting transmembrane helices in protein sequences. In Proc. of Sixth Int. Conf. On Intelligent Systems for Molecular Biology, págs 175-182 Ed J. Glasgow, T. Littlejohn, F. Major, R. Lathrop, D. Sankoff, y C. Sensen Menlo Park, CA: AAAI Press, 1998). A los algoritmos TMpred y TMHMM se accede desde el servidor de biología molecular ExPasy localizado en la red informática mundial (www). (expasy.ch/tools/).

**Figura 14.** Expresión de STEAP-1 en especímenes de pacientes con cáncer de estómago. Se extrajo ARN de estómago normal (N) y de 10 especímenes diferentes de pacientes con cáncer de estómago (T). Con la secuencia de STEAP-1 se exploró la transferencia de Northern con 10 µg de ARN total/carril. Los resultados muestran fuerte expresión de una STEAP-1 de aproximadamente 1,6 kb en los tejidos de tumor de estómago. Los paneles inferiores representan una tinción con bromuro de etidio de la transferencia mostrando la calidad de las muestras de ARN.

**Figura 15.** Expresión de STEAP-1 en tejidos de pacientes con cáncer rectal. Se extrajo ARN de recto normal (N), de tumores (T) de pacientes con cáncer rectal y de metástasis (M) de cáncer rectal. Las transferencias de Northern se exploraron con 10 µg de ARN total con la secuencia de STEAP-1. Los resultados muestran una fuerte expresión de STEAP-1 en los tejidos de los pacientes con cáncer rectal. El panel inferior representa una tinción con bromuro de etidio de la transferencia que muestra la calidad de las muestras de ARN.

**Figura 16.** (A) Expresión de STEAP-1 en células endoteliales de vena de cordón umbilical humano (HUVEC, siglas en inglés). Se preparó ADNc de la primera cadena a partir de células HUVEC, de xenoinjertos de cáncer de próstata LAPC-4AD y LAPC-9AD, así como de tejidos de cerebro humano. La normalización se realizó mediante PCR usando cebadores para actina y GAPDH. La PCR semicuantitativa se realizó a 27 y 30 ciclos de amplificación usando cebadores para STEAP-1. Como control, en (B) se muestra una PCR usando cebadores para actina. Los resultados muestran una fuerte expresión de STEAP-1 en células HUVEC similar a la expresión detectada en tejidos de xenoinjertos de cáncer de próstata. La expresión de STEAP-1 en células HUVEC indica que, seleccionando como diana STEAP-1, podrían también seleccionarse como diana, células endoteliales de la neovascularización tumoral.

**Figura 17.** Muestra que STEAP-1 aumentó el flujo de calcio en respuesta al LPA.

**Figura 18.** Muestra que el transporte de calcio mediado por STEAP-1 regula el crecimiento de cáncer de próstata mediante la regulación de los niveles intracelulares de calcio.

**Figura 19.** La figura demuestra que STEAP-1 media la transferencia de la molécula pequeña calceína entre células adyacentes, y de ese modo regula la comunicación célula-célula en células de cáncer de próstata. Los resultados demostraron que mientras que las células PC3 control (sin expresión detectable de la proteína STEAP-1) muestran poca transferencia de calceína, la expresión de STEAP-1 permite la transferencia de moléculas pequeñas entre células, de este modo las células receptoras inicialmente rojas toman un color parduzco, y co-localiza las moléculas rojas y verdes.

**Figura 20.** La figura demuestra que STEAP-1 media la transferencia de la molécula pequeña calceína entre células adyacentes, y de este modo regula la comunicación célula-célula en células de cáncer de próstata. La figura muestra la comunicación célula-célula mediada por STEAP-1 de manera dependiente del tiempo, donde se observa poca transferencia en células PC3-STEAP-1 a las 6 horas y mucha transferencia a las 24 horas.

**Figura 21.** Esta figura muestra como la expresión de STEAP-1 es suficiente para regular rutas de señalización específicas que no están activas de otro modo en células PCR3 en reposo, el efecto de estos genes sobre la activación de la cascada de p38 MAPK se investigó en la línea celular de cáncer de próstata PC3. La Figura 21A muestra que mientras la expresión del gen de control neo no tuvo efecto sobre la fosforilación de p38, la expresión de STEAP-1 en células PC3 que es suficiente para inducir la activación de la ruta de p38. La Figura 21B muestra los resultados que se verificaron usando transferencia de western con un anticuerpo anti-p38, que muestra la misma carga de proteína en los geles.

**Figura 22.** Esta figura muestra la suficiencia de la expresión de STEAP-1 en la línea celular de cáncer de próstata PC3 para activar la ruta mitogénica de MAPK, en particular la cascada de ERK. La Figura 22A muestra que mientras la expresión del gen de control neo no tuvo efecto sobre la fosforilación de ERK, la expresión de STEAP-1 en las células PC3 es suficiente para inducir un aumento en la fosforilación de ERK. La Figura 22B muestra estos resultados que se verificaron usando una transferencia de western anti-ERK y confirma la activación de la ruta de ERK mediante STEAP-1 y STEAP-2.

**Figura 23.** Muestra la expresión necesaria de STEAP-1 en células Donantes y Receptoras.

**Figura 24.** Muestra que la introducción de ARNi específico de STEAP-1 reduce la expresión de STEAP-1 en células recombinantes 3T3 y Rat-1. La inmunotinción de células completas reveló que el ARNi de STEAP-1 redujo la expresión de STEAP-1 en células Rat-1 y 3T3. Esta reducción se confirmó mediante análisis de transferencia de Western en el que la proteína STEAP-1 se redujo sustancialmente en células tratadas con ARNi de STEAP-1 respecto a las células control y a las no tratadas.

**Figura 25.** Muestra que el ARNi reduce la expresión endógena de STEAP-1 en el cáncer de próstata y en la línea celular LNCaP.

## Descripción detallada de la invención

### Explicación esquemática de las secciones

#### I.) Definiciones

#### II.) Polinucleótidos de STEAP-1

#### II.A.) Usos de los Polinucleótidos de STEAP-1

##### II.A.1.) Control de Anomalías Genéticas

##### II.A.2.) Antisentido

##### II.A3.) Cebadores y Pares de Cebadores

##### II.A.4.) Aislamiento de Moléculas de Ácido Nucleico que Codifican STEAP-1

##### II.A.5.) Moléculas de Ácido Nucleico Recombinante y Sistemas de Vector-Hospedador

#### III.) Proteínas relacionadas con STEAP-1

##### III.A.) Proteínas que contienen Motivos

##### III.B.) Expresión de Proteínas relacionadas con STEAP-1

##### III.C.) Modificaciones de Proteínas relacionadas con STEAP-1

##### III.D.) Usos de Proteínas relacionadas con STEAP-1

#### IV.) Anticuerpos de STEAP-1

#### V.) Respuestas Inmunitarias Celulares de STEAP-1

#### VI.) Animales Transgénicos de STEAP-1

#### VII.) Métodos de Detección de STEAP-1

#### VIII.) Métodos de Control del Estado de Genes relacionados con STEAP-1 y Sus Productos

#### IX.) Identificación de Moléculas Que Interaccionan Con STEAP-1

#### X.) Métodos Terapéuticos y Composiciones

##### X.A.) Vacunas Anti-Cáncer

##### X.B.) STEAP-1 como una Diana para Terapias Basadas en Anticuerpos

##### X.C.) STEAP-1 como una Diana para Respuestas Inmunitarias Celulares

##### X.C.1. Vacunas Minigénicas

##### X.C.2. Combinaciones de Péptidos CTL con Péptidos Auxiliares

##### X.C.3. Combinaciones de Péptidos CTL con Agentes Cebadores de Células T

##### X.C.4. Composiciones de Vacunas que Comprenden DC Pulsado con Péptidos CTL y/o HTL

##### X.D.) Inmunoterapia Adoptiva

##### X.E.) Administración de Vacunas para Fines Terapéuticos y Profilácticos

#### XI.) Usos de Diagnóstico y Pronóstico de STEAP-1.

#### XII.) Inhibición de la Función de la Proteína STEAP-1

##### XII.A.) Inhibición de STEAP-1 Con Anticuerpos Intracelulares

##### XII.B.) Inhibición de STEAP-1 con Proteínas Recombinantes

##### XII.C.) Inhibición de la Transcripción o Traducción de STEAP-1

##### XII.D.) Consideraciones Generales de Estrategias Terapéuticas

#### XIII.) KITS/Artículos de Fabricación

### I.) Definiciones:

A menos que se defina otra cosa, todos los términos de la técnica, anotaciones y otros términos científicos o terminología usada en el presente documento, pretenden tener los significados que comúnmente entienden los expertos en la materia a la que pertenece esta invención. En algunos casos, en el presente documento, se definen términos con significados comúnmente entendidos para esclarecer y/o facilitar una referencia, y no debe interpretarse que la inclusión de dichas definiciones en el presente documento represente una diferencia sustancial sobre lo que se entiende generalmente en la técnica. Muchas de las técnicas y procedimientos que se describen o se mencionan en el presente documento son muy conocidos y empleados comúnmente por los expertos en la materia, usando metodología convencional, tales como, por ejemplo, las metodologías de clonación molecular ampliamente utilizadas descritas en Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2ª edición (1989) Cold

Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. Según sea apropiado, a menos que se indique lo contrario, los procedimientos que impliquen el uso de kits y reactivos disponibles en el comercio se realizan generalmente de acuerdo con los protocolos y/o parámetros definidos por el fabricante.

- 5 Las expresiones “cáncer de próstata avanzado”, “cáncer de próstata localmente avanzado”, “enfermedad avanzada” y “enfermedad localmente avanzada” significan cánceres de próstata que se han extendido a través de la cápsula de la próstata, y se entiende que incluyen el estadio C de la enfermedad en el sistema de la American Urological Association (AUA), el estadio C1 - C2 de la enfermedad del sistema de Whitmore-Jewett, y el estadio T3 - T4 y N+ de la enfermedad en el sistema de TNM (tumor, nódulo, metástasis). En general, la cirugía no está recomendada en  
10 pacientes con enfermedad localmente avanzada, y estos pacientes tienen desenlaces sustancialmente menos favorables en comparación con los pacientes que tienen cáncer de próstata clínicamente localizado (confinado en un órgano). La enfermedad localmente avanzada se identifica clínicamente por evidencia palpable de endurecimiento más allá del margen lateral de la próstata, o asimetría o endurecimiento por encima de la base de la próstata. En la actualidad, el cáncer de próstata localmente avanzado se diagnostica patológicamente después de prostatectomía  
15 radical si el tumor invade o penetra en la cápsula prostática, se extiende en el margen quirúrgico, o invade las vesículas seminales.

Para los fines del presente documento, la frase “alteración del patrón de glucosilación nativo” pretende significar suprimir uno o más restos de carbohidrato encontrados en la secuencia nativa de STEAP-1 (bien eliminando el sitio  
20 de glucosilación subyacente o suprimiendo la glucosilación por medios químicos y/o enzimáticos), y/o añadiendo uno o más sitios de glucosilación que no están presentes en la secuencia nativa de STEAP-1. Además, la frase incluye cambios cualitativos en la glucosilación de las proteínas nativas, que implican un cambio en la naturaleza y proporciones de los diversos restos de carbohidrato presentes.

25 El término “análogo” se refiere a una molécula que es estructuralmente similar o comparte atributos similares o correspondientes con otra molécula (por ejemplo, una proteína relacionada con STEAP-1). Por ejemplo, un análogo de una proteína STEAP-1 puede unirse específicamente mediante un anticuerpo o célula T que se une específicamente a STEAP-1.

30 El término “anticuerpo” se usa en el más amplio sentido. Por lo tanto, un “anticuerpo” puede ser de origen natural o puede estar fabricado por el hombre, tal como los anticuerpos monoclonales producidos por tecnología de hibridoma convencional. Los anticuerpos anti-STEAP-1 comprenden anticuerpos monoclonales y policlonales así como fragmentos que contienen el dominio de unión a antígeno y/o una o más regiones determinantes de la complementariedad de estos anticuerpos.

35 Un “fragmento de anticuerpo” se define como al menos una porción de la región variable de la molécula de inmunoglobulina que se une a su diana, es decir, la región de unión a antígeno. En una realización esto incluye específicamente anticuerpos sencillos anti-STEAP-1 y clones de los mismos (incluyendo anticuerpos agonistas, antagonistas y neutralizantes) y composiciones de anticuerpos anti-STEAP-1 con especificidad poliepitópica.

40 La expresión “secuencias con codones optimizados” se refiere a secuencias de nucleótidos que se han optimizado para una especie hospedadora en particular, reemplazando cualquier codón que tenga una frecuencia de uso menor de aproximadamente 20 %. Las secuencias de nucleótidos que se han optimizado para la expresión en una especie hospedadora determinada, por eliminación de secuencias de poliadenilación falsas, eliminación de señales de corte  
45 y empalme de exón/intrón, eliminación de repeticiones similares a transposones y/u optimización del contenido en GC, además de la optimización del codón, se mencionan en el presente documento como “secuencias de expresión potenciada”.

La expresión “agente citotóxico” se refiere a una sustancia que inhibe o impide la actividad de expresión de las  
50 células, la función de las células y/o causa la destrucción de las células. La expresión pretende incluir isótopos radiactivos, agentes quimioterapéuticos y toxinas, tales como toxinas de molécula pequeña o toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, incluyendo sus fragmentos y/o variantes. Los ejemplos de agentes citotóxicos incluyen, pero sin limitación, auristatinas, auromicinas, maitansinoides, itrio, bismuto, ricino, cadena A de ricino, combrestatina, duocarmicinas, dolostatinas, doxorubicina, daunorubicina, taxol,  
55 cisplatino, cc1065, bromuro de etidio, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, dihidroxi antracina diona, actinomicina, toxina diftérica, exotoxina A de *Pseudomonas* (PE), PE40, abrina, cadena A de abrina, cadena A de modeccina, alfa-sarcina, gelonina, mitogelina, retrictocina, fenomicina, enomicina, curicina, crotina, callicamicina, inhibidor de *Saponaria officinalis*, y glucocorticoides y otros agentes quimioterapéuticos, así como radioisótopos tales como  $\text{At}^{211}$ ,  $\text{I}^{131}$ ,  $\text{I}^{125}$ ,  $\text{Y}^{90}$ ,  $\text{Re}^{186}$ ,  $\text{Re}^{188}$ ,  $\text{Sm}^{153}$ ,  $\text{Bi}^{212}$  o  $^{213}$ ,  $\text{P}^{32}$  e isótopos radiactivos de Lu  
60 incluyendo  $\text{Lu}^{177}$ . Los anticuerpos también pueden conjugarse con enzimas activadoras de profármacos anticancerosos capaces de convertir el profármaco en su forma activa.

El término “homólogo” se refiere a una molécula que muestra homología con otra molécula, por ejemplo, que tiene  
65 secuencias de restos químicos que son iguales o similares en las posiciones correspondientes.

El “Antígeno Leucocitario Humano” o “HLA” (siglas en inglés) es una proteína del Complejo Mayor de

Histocompatibilidad (MHC) Humano de clase I o clase II (véase, por ejemplo, Stites, *et al.*, IMMUNOLOGY, 8ª ED., Lange Publishing, Los Altos, CA (1994).

Los términos “hibridar”, “hibridación”, “hibrida” y similares, usados en el contexto de polinucleótidos, significa que se refieren a condiciones de hibridación convencionales, preferentemente tales como hibridación en formamida al 50 %/6XSSC/SDS al 0,1 %/ADNmc 100 µg/ml, en las que las temperaturas de hibridación están por encima de 37 grados C y las temperaturas de lavado en 0,1XSSC/SDS al 0,15 están por encima de 55 grados C.

El término “aislado/a” o la frase “biólogicamente puro/a” se refieren a material que está sustancialmente o esencialmente libre de componentes que normalmente acompañan al material tal como se encuentra en su estado nativo. Por lo tanto, los péptidos aislados de acuerdo con la invención no contienen preferentemente materiales normalmente asociados con los péptidos en su entorno *in situ*. Por ejemplo, se dice que un polinucleótido está “aislado” cuando se separa sustancialmente de polinucleótidos contaminantes que se corresponden o que son complementarios a genes distintos de los genes de STEAP-1 o que codifican polipéptidos distintos al producto génico de STEAP-1 o sus fragmentos. Un experto en la materia puede emplear fácilmente procedimientos de aislamiento de ácidos nucleicos para obtener un polinucleótido de STEAP-1 aislado. Se dice que una proteína está “aislada”, por ejemplo, cuando se emplean métodos físicos, mecánicos o químicos para retirar las proteínas STEAP-1 de sus constituyentes celulares que están normalmente asociados con la proteína. Un experto en la materia puede emplear fácilmente métodos de purificación convencionales para obtener una proteína STEAP-1 aislada. Como alternativa, una proteína aislada puede prepararse mediante medios químicos.

El término “mamífero” se refiere a cualquier organismo clasificado como un mamífero, incluyendo ratones, ratas, conejos, perros, gatos, vacas, caballos y seres humanos. En una realización de la invención, el mamífero es un ratón. El mamífero puede ser un ser humano.

Las expresiones “cáncer de próstata metastásico” y “enfermedad metastásica” significan cánceres de próstata que se han diseminado a ganglios linfáticos regiones o a sitios distantes, y se entiende que incluyen el estadio D de la enfermedad en el sistema AUA y el estadio TxNxM+ en el sistema TNM. Como ocurre en el caso del cáncer de próstata localmente avanzado, generalmente la cirugía no está indicada para pacientes con enfermedad metastásica, y la terapia hormonal (ablación androgénica) es una modalidad de tratamiento preferida. Los pacientes con cáncer de próstata metastásico eventualmente desarrollan un estado refractario androgénico en el plazo de 12 a 18 meses de iniciar el tratamiento. Aproximadamente la mitad de estos pacientes refractarios a andrógenos mueren en el plazo de 6 meses después de desarrollar este estado. El sitio más común para la metástasis del cáncer de próstata es el hueso. Las metástasis óseas de cáncer de próstata son a menudo osteoblásticas en lugar de osteolíticas (es decir, dan como resultado la formación neta de hueso). Las metástasis óseas se encuentran más frecuentemente en la columna vertebral, seguido del fémur, la pelvis, la caja torácica, el cráneo y el húmero. Otros sitios comunes para las metástasis incluyen los ganglios linfáticos, los pulmones, el hígado y el cerebro. El cáncer de próstata metastásico se diagnostica normalmente por linfadenectomía pélvica laparoscópica o abierta, escaneos corporales completos con radionúclidos, radiografía esquelética, y/o biopsia de lesión ósea.

La expresión “anticuerpo monoclonal” se refiere a un anticuerpo que se obtiene una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos que comprenden la población son idénticos excepto por posibles mutaciones de origen natural que están presentes en menores cantidades.

Un “motivo”, tal como en el motivo biológico de una proteína relacionada con STEAP-1, se refiere a cualquier patrón de aminoácidos que forma parte de la secuencia primaria de una proteína, que se asocia con una función particular (por ejemplo, interacción proteína-proteína, interacción proteína-ADN, etc.) o modificación (por ejemplo, que está fosforilada, glucosilada o amidada), o localización (por ejemplo, secuencia secretora, secuencia de localización nuclear, etc.) o una secuencia que se correlaciona con ser inmunogénica, bien humoralmente o celularmente. Un motivo puede ser bien continuo o capaz de alinearse con determinadas posiciones que están generalmente correlacionadas con una función o propiedad determinada. En el contexto de motivos de HLA, “motivo” se refiere al patrón de restos de un péptido de longitud definida, habitualmente un péptido de aproximadamente 8 a aproximadamente 13 aminoácidos para un motivo de HLA de clase I y de aproximadamente 6 a aproximadamente 25 aminoácidos para un motivo de HLA de clase II, que reconoce una molécula de HLA particular. Los motivos peptídicos para la unión a HLA son normalmente diferentes para cada proteína codificada por cada alelo de HLA humano y difieren en el patrón de restos de anclaje primario y secundario.

Un “excipiente farmacéutico” comprende un material, tal como un adyuvante, un vehículo, agentes ajustadores de pH y tamponadores, agentes ajustadores de tonicidad, agentes humectantes, conservantes, y similares.

“Farmacéuticamente aceptable” se refiere a una composición no tóxica, inerte, que es fisiológicamente compatible con los seres humanos o con otros mamíferos.

El término “polinucleótido”, significa una forma polimérica de nucleótidos de al menos 10 bases o pares de bases de longitud, bien ribonucleótidos o desoxinucleótidos o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido, y significa que incluye formas de ADN y/o ARN mono y bicatenarias. En la técnica, este término se usa a menudo

indistintamente con "oligonucleótido". Un polinucleótido puede comprender una secuencia de nucleótidos que se divulga en el presente documento en el que la timidina (T), tal como se muestra, por ejemplo, en la Figura 2, puede ser también uracilo (U); esta definición se aplica a las diferencias entre las estructuras químicas del ADN y ARN, en particular la observación de que en el ARN, una de las cuatro bases principales es el uracilo (U) en lugar de la timidina (T).

El término "polipéptido" significa un polímero de al menos aproximadamente 4, 5, 6, 7 u 8 aminoácidos. A lo largo de la memoria descriptiva, se usan designaciones convencionales de tres letras o de una sola letra para los aminoácidos. En la técnica, este término se usa a menudo indistintamente con "péptido" o "proteína".

Un "resto de anclaje primario" del HLA es un aminoácido en una posición específica a lo largo de una secuencia peptídica que se entiende que proporciona un punto de contacto entre el péptido inmunogénico y la molécula de HLA. De uno a tres, habitualmente dos, restos de anclaje primario dentro de un péptido de longitud definida generalmente definen un "motivo" para un péptido inmunogénico. Se entiende que estos restos se ajustan en estrecho contacto con el surco de unión peptídica de una molécula de HLA, con sus cadenas laterales ocultas en bolsillos específicos del surco de unión. En una realización, por ejemplo, los restos de anclaje primario para una molécula de HLA de clase I se localizan en la posición 2 (desde la posición amino terminal) y en la posición carboxilo terminal de un epítipo peptídico de 8, 9, 10, 11 o 12 restos de acuerdo con la invención. En otra realización, por ejemplo, los restos de anclaje primario de un péptido que se unirá a una molécula de HLA de clase II se separan entre sí, en lugar de con el extremo de un péptido, donde el péptido tiene generalmente una longitud de al menos 9 aminoácidos. Las posiciones de anclaje primario de cada motivo y supermotivo se exponen en la Tabla IV. Por ejemplo, pueden crearse péptidos análogos alterando la presencia o ausencia de restos particulares en las posiciones de anclaje primario y/o secundario mostradas en la Tabla IV. Dichos análogos se usan para modular la afinidad de unión y/o cobertura de población de un péptido que comprende un motivo o supermotivo particular de HLA.

Los "radioisótopos" incluyen, pero sin limitación, los siguientes (también se exponen usos ejemplares no limitantes):

Ejemplos de Isótopos Médicos:

Isótopo

Descripción de uso

Actinio-225

(Ac-225)

Véase Torio-229 (Th-229)

Actinio-227

(Ac-227)

Parental del Radio-223 (Ra-223) que es un emisor alfa usado para tratar metástasis en el esqueleto producidas por cáncer (es decir, cánceres de mama y próstata), y radioinmunoterapia contra el cáncer.

Bismuto-212

(Bi-212)

Véase Torio-228 (Th-228)

Bismuto-213

(Bi-213)

Véase Torio-229 (Th-229)

Cadmio-109

(Cd-109)

Detección del cáncer

Cobalto-60

(Co-60)

Fuente de radiación para radioterapia del cáncer, para irradiación de alimentos, y para la esterilización de suministros médicos

Cobre-64

(Cu-64)

Un emisor de positrones que se usa para terapia contra el cáncer y formación de imágenes SPECT

Cobre-67

(Cu-67)

Un emisor beta/gamma que se usa en radioinmunoterapia contra el cáncer y estudios diagnósticos (es decir, cánceres de mama y colon, y linfoma)

Disprosio-166

(Dy-166)

Radioinmunoterapia contra el cáncer

Erbio-169

(Er-169)

Tratamiento de artritis reumatoide, particularmente para las articulaciones pequeñas asociadas con los dedos de las manos y de los pies

Europio-152

(Eu-152)

Fuente de radiación para irradiación de alimentos y para la esterilización de suministros médicos

Europio-154

(Eu-154)

Fuente de radiación para irradiación de alimentos y para la esterilización de suministros médicos

Gadolinio-133

(Gd-153)

Detección de osteoporosis y dispositivos con garantía de calidad médica nuclear

Oro-198

(Au-198)

Implante y Terapia intracavitaria de cánceres de ovario, próstata y cerebro

Holmio-166

(Ho-166)

Tratamiento del mieloma múltiple en terapia dirigida al esqueleto, radioinmunoterapia contra el cáncer, ablación de médula ósea, y tratamiento de la artritis reumatoide

Yodo-125

(I-125)

Detección de osteoporosis, formación de imágenes de diagnóstico, fármacos traza, tratamiento del cáncer cerebral, radiomarcage, formación de imágenes tumorales, mapeo de receptores cerebrales, radioterapia intersticial, braquiterapia para el tratamiento del cáncer de próstata, determinación de la tasa de filtración glomerular (TFG), determinación del volumen plasmático, detección de la trombosis venosa profunda de las piernas

Yodo-131

(I-131)

Evaluación de la función del tiroides, detección de enfermedad del tiroides, tratamiento del cáncer de tiroides así como otras enfermedades no malignas del tiroides (es decir, enfermedad de Graves, gota e hipertiroidismo), tratamiento de leucemia, linfoma, y otras formas de cáncer (por ejemplo, cáncer de mama) usando radioinmunoterapia

Iridio-192

(Ir-192)

Braquiterapia, tratamiento de tumor cerebral y de la médula espinal, tratamiento de arterias bloqueadas (es decir, arterioesclerosis y restenosis), e implantes para tumores de mama y próstata

Lutetio-177

(Lu-177)

Radioinmunoterapia contra el cáncer y tratamiento de arterias bloqueadas (es decir, arterioesclerosis y restenosis)

Molibdeno-99

(Mo-99)

Parental del Tecnecio-99m (Tc-99m) que se usa para la formación de imágenes del cerebro, hígado, pulmones, corazón y otros órganos. Actualmente, el Tc-99m es el radioisótopo de uso más amplio para la formación de imágenes de diagnóstico de diversos cánceres y enfermedades que implican al cerebro, corazón, hígado, pulmones; también se usa en la detección de trombosis venosa profunda de las piernas

Osmio-194

(Os-194)

Radioinmunoterapia contra el cáncer



Paladio-103

(Pd-103)

Tratamiento del cáncer de próstata

Platino-195m

(Pt-195m)

Estudios sobre biodistribución y metabolismo de cisplatino, un fármaco quimioterapéutico

Fósforo-32

(P-32)

Tratamiento de policitemia vera (enfermedad de las células sanguíneas) y de leucemia, tratamiento/diagnóstico de cáncer de hueso; tratamiento de cáncer de colon, páncreas e hígado; radiomarcage de ácidos nucleicos para investigación *in vitro*, diagnóstico de tumores superficiales, tratamiento de arterias bloqueadas (es decir, arterioesclerosis y restenosis), y terapia intracavitaria

Fósforo-33

(P-33)

Tratamiento de leucemia, diagnóstico/tratamiento de enfermedades óseas, radiomarcage, y tratamiento de arterias bloqueadas (es decir, arterioesclerosis y restenosis)

Radio-223

(Ra-223)

Véase Actinio-227 (Ac-227)

Renio-186

(Re-186)

Alivio del dolor por cáncer de hueso, tratamiento de artritis reumatoide, y diagnóstico y tratamiento del linfoma y cánceres de hueso, mama e hígado usando radioinmunoterapia

Renio-188

(Re-188)

Diagnóstico y tratamiento del cáncer usando radioinmunoterapia, alivio del dolor por cáncer de hueso, tratamiento de artritis reumatoide, y tratamiento de cáncer de próstata

Rodio-105

(Rh-105)

Radioinmunoterapia contra el cáncer

Samario-145

(Sm-145)

Tratamiento del cáncer ocular

Samario-153

(Sm-153)

Radioinmunoterapia contra el cáncer y alivio del dolor por cáncer de hueso

Escandio-47

(Sc-47)

Radioinmunoterapia contra el cáncer y alivio del dolor por cáncer de hueso

Selenio-75

(Se-75)

Radiotrazador usado en estudios del cerebro, formación de imágenes de la corteza adrenal por gamma escintigrafía, localizaciones laterales de tumores secretores de esteroides, escaneo pancreático, detección de glándulas paratiroides hiperactivas, medida de la tasa de pérdida de ácido biliar del acervo endógeno

Estroncio-85

(Sr-85)

Detección de cáncer de hueso y escaneo cerebral

Estroncio-89

(Sr-89)

Alivio del dolor por cáncer de hueso, tratamiento del mieloma múltiple, y terapia osteoblástica

Tecnecio-99m

(Tc-99m) Véase Molibdeno-99 (Mo-99)
Torio-228 (Th-228) Parental del Bismuto-212 (Bi-212) que es un emisor alfa que se usa en radioinmunoterapia contra el cáncer
Torio-229 (Th-229) Parental del Actinio-225 (Ac-225) y precursor del Bismuto-213 (Bi-213) que son emisores alfa usados en radioinmunoterapia contra el cáncer
Tulio-170 (Tm-170) Fuente gamma para irradiaciones de sangre, fuente de energía para dispositivos médicos implantados
Tin-117m (Sn-117m) Inmunoterapia contra el cáncer y alivio del dolor por cáncer de hueso
Tungsteno-188 (W-188) Parental del Renio-188 (Re-188) que se usa para el diagnóstico/tratamiento del cáncer, alivio del dolor por cáncer de hueso, tratamiento de artritis reumatoide y tratamiento de arterias bloqueadas (es decir, arterioesclerosis y restenosis)
Xenon-127 (Xe-127) Formación de imágenes neuronales de trastornos cerebrales, estudios SPECT de alta resolución, ensayos de función pulmonar, y estudios de flujo sanguíneo cerebral
Iterbio-175 (Yb-175) Radioinmunoterapia contra el cáncer
Itrio-90 (Y-90) Microsemillas obtenidas de la irradiación con Itrio-89 (Y-89) para el tratamiento de cáncer de hígado
Itrio-91 (Y-91) Un marcador emisor de rayos gamma para Itrio-90 (Y-90) que se usa para la inmunoterapia contra el cáncer (es decir, linfoma, cánceres de mama, de colon, de riñón, de pulmón, de ovario, de próstata, de páncreas y de hígado no operables)

Una molécula de ADN o de ARN "recombinante" es una molécula de ADN o de ARN que se ha sometido a manipulación molecular *in vitro*.

- 5 Los ejemplos no limitantes de moléculas pequeñas incluyen compuestos que se unen o interaccionan con STEAP-1, ligandos incluyendo hormonas, neuropéptidos, quimiocinas, odorizantes, fosfolípidos, y equivalentes funcionales de los mismos que se unen e inhiben preferentemente la función de la proteína STEAP-1. Dichas moléculas pequeñas no limitantes tienen preferentemente un peso molecular menor de aproximadamente 10 kDa, más preferentemente menor de aproximadamente 9, aproximadamente 8, aproximadamente 7, aproximadamente 6, aproximadamente 5 o
- 10 aproximadamente 4 kDa. Las moléculas pequeñas que pueden asociarse físicamente con, o unirse a, la proteína STEAP-1; no se encuentran en rutas metabólicas de origen natural; y/o son más solubles en soluciones acuosas que no acuosas.
- 15 La "rigurosidad" de las reacciones de hibridación la determina fácilmente un experto habitual en la materia, y generalmente es un cálculo empírico que depende de la longitud de la sonda, de la temperatura de lavado, y de la concentración de sales: en general, sondas más largas requieren temperaturas más altas para una hibridación apropiada, mientras que sondas más cortas necesitan temperaturas más bajas. La hibridación generalmente depende de la capacidad de las secuencias de los ácidos nucleicos desnaturalizados para volver a hibridarse por debajo de su temperatura de fusión cuando en un medio existen cadenas complementarias. A mayor grado de
- 20 homología deseado entre la sonda y la secuencia hibridable, mayor será la temperatura relativa que puede usarse. Como resultado, se sigue que temperaturas relativamente altas podrían tender a hacer que las condiciones de reacción fuesen más rigurosas, mientras que temperaturas más bajas serían menos rigurosas. Para detalles

adicionales y explicación de la rigurosidad de las reacciones de hibridación, véase Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers, (1995).

Las “condiciones rigurosas” o “condiciones de alta rigurosidad”, tal como se definen en el presente documento, se identifican por, pero no se limitan a, aquellas que: (1) emplean baja fuerza iónica y alta temperatura de lavado, por ejemplo cloruro sódico 0,015 M/citrato sódico 0,0015 M/dodecil sulfato sódico al 0,1 % a 50 °C; (2) emplean durante la hibridación un agente desnaturizante, tal como formamida, por ejemplo, formamida al 50 % (v/v) con tampón de albúmina de suero bovino al 0,1 %/Ficoll al 0,1 %/polivinilpirrolidona al 0,1 %/fosfato sódico 50 mM a pH 6,5 con cloruro sódico 750 mM, citrato sódico 75 mM a 42 °C; o (3) emplean formamida al 50 %, SSC 5 x (NaCl 0,75 M, citrato sódico 0,075 M), fosfato sódico 50 mM (pH 6,8), pirofosfato sódico al 0,1 %, solución de Denhardt 5 x, ADN de esperma de salmón sometido a ultrasonido (50 µg/ml), SDS al 0,1 %, y sulfato de dextrano al 10 % a 42 °C, con lavados a 42 °C en SSC 0,2 x (cloruro sódico/citrato sódico) y formamida al 50 % a 55 °C, seguido de un lavado de alta rigurosidad que consiste en SSC 0,1 x que contiene EDTA a 55 °C. Las “condiciones moderadamente astringentes” se describen, pero sin limitación, en Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Nueva York: Cold Spring Harbor Press, 1989, e incluyen el uso de soluciones de lavado y condiciones de hibridación (por ejemplo, temperatura, fuerza iónica y % de SDS) menos rigurosas que las descritas anteriormente. Un ejemplo de condiciones moderadamente rigurosas es la incubación durante toda la noche a 37 °C en una solución que comprende: formamida al 20 %, SSC 5 x (NaCl 150 mM, citrato trisódico 15 mM), fosfato sódico 50 mM (pH 7,6), solución de Denhardt x, sulfato de dextrano al 10 %, y 20 mg/ml de ADN de esperma de salmón cortado desnaturizado, seguido del lavado de los filtros en SSC 1 x a aproximadamente 37-50 °C. El experto en la técnica reconocerá como ajustar la temperatura, fuerza iónica, etc. Según sea necesario para ajustarse a factores tales como la longitud de la sonda y similares.

Un “supermotivo” HLA es un péptido con especificidad de unión compartido por moléculas de HLA codificadas por dos o más alelos de HLA.

Como se usa en el presente documento, “tratar” o “terapéutico” y términos gramaticalmente relacionados, se refieren a cualquier mejora de cualquier consecuencia de la enfermedad, tal como supervivencia prolongada, menor morbilidad y/o una disminución de los efectos secundarios que son los subproductos de una modalidad terapéutica alternativa; no se requiere la erradicación completa de la enfermedad.

Un “animal transgénico” (por ejemplo, un ratón o una rata) es un animal que tiene células que contienen un transgén, cuyo transgén se introdujo en el animal o en un ancestro del animal en una fase prenatal, por ejemplo, una fase embrionaria. Un “transgén” es un ADN que está integrado en el genoma de una célula a partir de la cual se desarrolla el animal.

Como se usa en el presente documento, una “vacuna” HLA o de respuesta inmunitaria celular es una composición que contiene o codifica uno o más péptidos de la invención. Existen numerosas realizaciones de dichas vacunas, tal como un cóctel de uno o más péptidos individuales; uno o más péptidos de la invención que comprende un péptido poliepitópico; o ácidos nucleicos que codifican dichos péptidos o polipéptidos individuales, por ejemplo, un minigen que codifica un péptido poliepitópico. El “uno o más péptidos” puede incluir cualquier unidad integradora completa de 1-150 o más, por ejemplo, al menos 2, 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, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145 o 150 o más péptidos de la invención. Los péptidos o polipéptidos pueden modificarse opcionalmente, tal como por lipidación, por adición de secuencias diana u otras secuencias. Los péptidos de HLA de clase I de la invención pueden mezclarse con, o unirse a, péptidos de HLA de clase II, para facilitar la activación de linfocitos T tanto citotóxicos como auxiliares. Las vacunas de HLA también pueden comprender células presentadoras de antígenos pulsadas por péptidos, por ejemplo, células dendríticas.

El término “variante” se refiere a una molécula que muestra una variación de un tipo o norma descrito, tal como una proteína que tiene uno o más restos de aminoácidos distintos en la posición (o posiciones) correspondiente de una proteína específicamente descrita (por ejemplo, la proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3). Un análogo es un ejemplo de una proteína variante. Las isoformas de corte y empalme y los polimorfismos mononucleotídicos (SNP, *Single Nucleotides Polymorphisms*) son ejemplos adicionales de variantes.

Las “proteínas relacionadas con STEAP-1” de la invención incluyen aquellas que se identifican específicamente en el presente documento, así como las variantes alélicas, variantes de sustitución conservativa, análogos y homólogos que pueden aislarse/generarse y caracterizarse sin excesiva experimentación siguiendo los métodos que se explican en el presente documento o que están fácilmente disponibles en la técnica. También se incluyen proteínas de fusión que combinan partes de diferentes proteínas STEAP-1 o fragmentos de las mismas, así como proteínas de fusión de una proteína STEAP-1 y un polipéptido heterólogo. Dichas proteínas STEAP-1 se mencionan conjuntamente como las proteínas relacionadas con STEAP-1, las proteínas de la invención, o STEAP-1. La expresión “proteína relacionada con STEAP-1” se refiere a un fragmento polipeptídico o a una secuencia de proteína STEAP-1 de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o más de 25 aminoácido; o al menos 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625,

650, o 664 o más aminoácidos.

## II.) Polinucleótidos STEAP-1

5 En el presente documento se proporcionan polinucleótidos que corresponden o que son complementarios a toda o parte de un gen, ARNm, y/o secuencia codificante de STEAP-1, preferentemente en forma aislada, incluyendo polipéptidos que codifican una proteína relacionada con STEAP-1 y fragmentos de la misma, ADN, ARN, híbrido de ADN/ARN, y moléculas relacionadas, polinucleótidos u oligonucleótidos complementarios a un gen de STEAP-1 o a una secuencia de ARNm o una parte de la misma, y polinucleótidos u oligonucleótidos que se hibridan con un gen de STEAP-1, ARNm, o con un polinucleótido que codifica STEAP-1 (conjuntamente, "polinucleótidos STEAP-1"). En todos los casos cuando en la Figura 2 de esta sección se hace referencia a las T también pueden ser U.

15 Los ejemplos de un polinucleótido de STEAP-1 incluyen: un polinucleótido de STEAP-1 que tiene una secuencia mostrada en la Figura 2, la secuencia de nucleótidos de STEAP-1 como se muestra en la Figura 2 en la que T es U; teniendo al menos 10 nucleótidos contiguos de un polinucleótido la secuencia como se muestra en la Figura 2; o, teniendo al menos 10 nucleótidos contiguos de un polinucleótido que tiene la secuencia como se muestra en la Figura 2 donde T es U. Los ejemplos de nucleótidos de STEAP-1 proporcionados en el presente documento incluyen:

20 (I) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una secuencia como se muestra en la Figura 2A, en la que T también puede ser U;

25 (II) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en de la secuencia como se muestra en la Figura 2A, desde el resto nucleotídico número 66 hasta el resto nucleotídico número 1085, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

30 (III) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2B, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

(IV) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2C, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 944, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

35 (V) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2D, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

40 (VI) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2E, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

45 (VII) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2F, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

50 (VIII) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2G, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

(IX) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2H, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

55 (X) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2I, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

60 (XII) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2J, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

65 (XIII) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2K, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

(XIV) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2L, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

(XV) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2M, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

(XVI) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2N, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

(XVII) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2O, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

(XVIII) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2P, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

(XIX) un polinucleótido que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en la secuencia como se muestra en la Figura 2Q, desde el resto nucleotídico número 96 hasta el resto nucleotídico número 872, incluyendo el codón de terminación, en el que T también puede ser U;

(XX) un polinucleótido que codifica una proteína relacionada con STEAP-1 que tiene al menos una homología del 90 % con una secuencia completa de aminoácidos que se muestra en la Figura 2A-Q;

(XXI) un polinucleótido que codifica una proteína relacionada con STEAP-1 que tiene al menos una identidad del 90 % con una secuencia completa de aminoácidos que se muestra en la Figura 2A-Q;

(XXII) un polinucleótido que codifica al menos un péptido expuesto en las Tablas V-XVIII y XXII-LI;

(XXIII) un polinucleótido que codifica una región peptídica de al menos 5 aminoácidos de un péptido de la Figura 3A en cualquier aumento de un número completo hasta 339 que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor mayor que 0,5 en el perfil de Hidrofilicidad de la Figura 5;

(XXIV) un polinucleótido que codifica una región peptídica de al menos 5 aminoácidos de un péptido de la Figura 3A en cualquier aumento de un número completo hasta 339 que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor menor que 0,5 en el perfil de Hidropaticidad de la Figura 6;

(XV) un polinucleótido que codifica una región peptídica de al menos 5 aminoácidos de un péptido de la Figura 3A en cualquier aumento de un número completo hasta 339 que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor mayor que 0,5 en el perfil de Porcentaje de Restos Accesibles de la Figura 7;

(XVI) un polinucleótido que codifica una región peptídica de al menos 5 aminoácidos de un péptido de la Figura 3A en cualquier aumento de un número completo hasta 339 que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor mayor que 0,5 en el perfil de Flexibilidad Promedio de la Figura 8;

(XXVII) un polinucleótido que codifica una región peptídica de al menos 5 aminoácidos de un péptido de la Figura 3A en cualquier aumento de un número completo hasta 339 que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor mayor que 0,5 en el perfil de Giro Beta de la Figura 9;

(XXVIII) un polinucleótido que es totalmente complementario a un polinucleótido de uno cualquiera de (I)-(XIX).

(XXIX) un péptido que está codificado por cualquiera de (I)-(XIX); y

(XXX) un polinucleótido de cualquiera de (I)-(XIX) o un péptido de (XXIII-XXVII) junto con un excipiente farmacéutico y/o en una forma de dosificación unitaria para seres humanos.

Como se usa en el presente documento, se entiende que un intervalo desvela específicamente todas las posiciones unitarias del mismo. En el presente documento se desvelan polinucleótidos de STEAP-1 que codifican porciones específicas de secuencias de ARNm de STEAP-1 (y aquellas que son complementarias a dichas secuencias) tales como aquellas que codifican las proteínas y/o fragmentos de las mismas, por ejemplo:

(a) 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190,

195, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 330, 339 o más aminoácidos contiguos de la variante 1 de STEAP-1; las máximas longitudes relevantes para las otras variantes son : variante 2, 258 aminoácidos; variante 3, 282 aminoácidos y variante 4 258 aminoácidos.

- 5 En el presente documento se desvelan polinucleótidos y sus péptidos codificados por ellos mismos que codifican aproximadamente el aminoácido 1 a aproximadamente el aminoácido 10 de la proteína STEAP-1 mostrados en la Figura 2 o Figura 3, los polinucleótidos que codifican aproximadamente el aminoácido 10 a aproximadamente el aminoácido 20 de la proteína STEAP-1 mostrados en la Figura 2 o en la Figura 3, los polinucleótidos que codifican aproximadamente el aminoácido 20 a aproximadamente el aminoácido 30 de la proteína STEAP-1 mostrados en la
- 10 Figura 2 o en la Figura 3, los polinucleótidos que codifican de aproximadamente el aminoácido 30 a aproximadamente el aminoácido 40 de la proteína STEAP-1 mostrados en la Figura 2 o en la Figura 3, los polinucleótidos que codifican de aproximadamente el aminoácido 30 a aproximadamente el aminoácido 40 de la proteína STEAP-1 mostrados en la Figura 2 o en la Figura 3, los polinucleótidos que codifican de aproximadamente el aminoácido 40 a aproximadamente el aminoácido 50 de la proteína STEAP-1 mostrados en la Figura 2 o en la
- 15 Figura 3, los polinucleótidos que codifican de aproximadamente el aminoácido 50 a aproximadamente el aminoácido 60 de la proteína STEAP-1 mostrados en la Figura 2 o en la Figura 3, los polinucleótidos que codifican de aproximadamente el aminoácido 60 a aproximadamente el aminoácido 70 de la proteína STEAP-1 mostrados en la Figura 2 o en la Figura 3, los polinucleótidos que codifican de aproximadamente el aminoácido 70 a aproximadamente el aminoácido 80 de la proteína STEAP-1 mostrados en la Figura 2 o en la Figura 3, los
- 20 polinucleótidos que codifican de aproximadamente el aminoácido 80 a aproximadamente el aminoácido 90 de la proteína STEAP-1 mostrados en la Figura 2 o en la Figura 3, los polinucleótidos que codifican de aproximadamente el aminoácido 90 a aproximadamente el aminoácido 100 de la proteína STEAP-1 mostrados en la Figura 2 o en la Figura 3, en aumentos de aproximadamente 10 aminoácidos, terminando en el aminoácido carboxilo terminal expuesto en la Figura 2 o en la Figura 3. Por consiguiente, en el presente documento se desvelan polinucleótidos
- 25 que codifican porciones de la secuencia de aminoácidos (de aproximadamente 10 aminoácidos), de 100 aminoácidos hasta el aminoácido carboxilo terminal de la proteína STEAP-1. En la que se entiende que cada posición de aminoácido particular revela esa posición más o menos cinco restos de aminoácidos.

- También se desvelan polinucleótidos que codifican porciones relativamente largas de una proteína STEAP-1.. Por ejemplo, los polinucleótidos que codifican de aproximadamente el aminoácido 1 (o 20 o 30 o 40 etc.) a aproximadamente el aminoácido 20, (o 30, o 40 o 50 etc.) de la proteína STEAP-1 "o variante" mostrados en la
- 30 Figura 2 o en la Figura 3 pueden generarse mediante diversas técnicas bien conocidas en la materia. Estos fragmentos polinucleotídicos pueden incluir cualquier porción de la secuencia de STEAP-1 como se muestra en las descripciones de la Figura 2.

- 35 En el presente documento se desvelan fragmentos polinucleotídicos de STEAP-1 que codifican una o más de los motivos biológicos contenidos en una secuencia de la proteína STEAP-1 "o variante", incluyendo una o más de las subsecuencias portadoras de motivos de una proteína STEAP-1 "o variante" expuestos en las Tablas V-XVIII y XXII-LI. Los fragmentos polinucleotídicos típicos pueden codificar una o más de las regiones de la proteína STEAP-1 o
- 40 variante que muestran homología con una molécula conocida. Como alternativa, los fragmentos polinucleotídicos típicos pueden codifican uno o más de los sitios de N-glucosilación de la proteína STEAP-1 o variante, sitios de fosforilación por proteínas quinasas dependientes de AMPc y GMPc, sitios de fosforilación por caseína quinasa II o sitios de N-miristoilación y amidación.

- 45 Obsérvese que para determinar la posición inicial de cualquier péptido expuesto en las Tablas V-XVIII y en las Tablas XXII a LI (conjuntamente Tablas de Péptidos HLA) con respecto a su proteína parental, por ejemplo, variante 1, variante 2, etc., se hace referencia a tres factores: la variante particular, la longitud del péptido en una Tabla de Péptidos HLA, y la Búsqueda de los Péptidos enumerados en la Tabla LVII. Generalmente, se usa una sola Búsqueda de Péptido para obtener los péptidos de HLA para una variante particular. La posición de cada Búsqueda
- 50 de Péptido con respecto a su molécula parental respectiva se enumera en la Tabla LXI. Por consiguiente, si una Búsqueda de Péptido comienza en la posición "X", se debe añadir el valor "X menos 1" a cada posición de las Tablas V-XVIII y de las Tablas XXII a IL para obtener la posición real de los péptidos de HLA en su molécula parental. Por ejemplo, si una Búsqueda de Péptido particular comienza en la posición 150 de su molécula parental, para calcular la posición de ese aminoácido en la molécula parental, debe añadirse 150 - 1, es decir, 149, a cada
- 55 posición aminoacídica del péptido HLA.

## **IIA.) Usos de polinucleótidos de STEAP-1**

### **II.A.1.) Control de anomalías genéticas**

- 60 Los polinucleótidos de los párrafos anteriores tienen diversos usos específicos distintos. El gen de STEAP-1 humano está mapeado en la localización cromosómica expuesta en el Ejemplo titulado "Mapeo Cromosómico de STEAP-1". Por ejemplo, dado que el gen de STEAP-1 mapea en este cromosoma, los polinucleótidos que codifican las distintas regiones de las proteínas STEAP-1 se usan para caracterizar anomalías citogenéticas de esta localización
- 65 cromosómica, identificándose dichas anomalías como asociadas con diversos cánceres. En determinados genes, varias anomalías cromosómicas, incluyendo reordenamientos, se han identificado como anomalías citogenéticas

frecuentes en una serie de distintos cánceres (véase, por ejemplo, Krajinovic *et al.*, *Mutat. Res.* 382(3-4): 81-83 (1998); Johansson *et al.*, *Blood* 86(10): 3905-3914 (1995) y Finger *et al.*, *P.N.A.S.* 85(23): 9158-9162 (1988)). Por tanto, los polinucleótidos que codifican regiones específicas de las proteínas STEAP-1 proporcionan nuevas herramientas que pueden usarse para definir, con mayor precisión de lo que anteriormente era posible, anomalías citogenéticas en la región cromosómica que codifica STEAP-1 que pueden contribuir al fenotipo maligno. En este contexto, estos polinucleótidos satisfacen una necesidad en la técnica para ampliar la sensibilidad de la exploración cromosómica con el fin de identificar anomalías cromosómicas más sutiles y menos comunes (véase, por ejemplo, Evans *et al.*, *Am. J. Obstet. Gynecol* 171(4): 1055-1057 (1994)).

Además, ya que se mostró que STEAP-1 tenía una alta expresión en cáncer de vejiga y en otros cánceres, los polinucleótidos de STEAP-1 se usan en los métodos para evaluar el estado de los productos génicos de STEAP-1 en tejidos normales frente a cancerosos. Normalmente, los polinucleótidos que codifican regiones específicas de las proteínas STEAP-1 se usan para evaluar la presencia de perturbaciones (tales como delecciones, inserciones, mutaciones puntuales, o alteraciones, que tienen como resultado una pérdida de un antígeno etc.) en regiones específicas del gen de STEAP-1, tal como regiones que contienen uno o más motivos. Los ensayos ejemplares incluyen ensayos tanto de RT-PCR así como de análisis de polimorfismos de conformación monocatenaria (SSCP, *Single-Strand Conformation Polymorphism*) (véase, por ejemplo, Marrogi *et al.*, *J. Cutan. Pathol.* 26(8): 369-378 (1999), ambos de los cuales utilizan polinucleótidos que codifican regiones específicas de una proteína para examinar estas regiones dentro de la proteína.

## II.A.2.) Antisentido

En el presente documento también se contemplan ADN genómico, los ADNc, las ribozimas y las moléculas antisentido, así como las moléculas de ácido nucleico basadas en un esqueleto alternativo, o que incluyen bases alternativas, bien derivadas de fuentes naturales o sintetizadas, e incluyen moléculas capaces de inhibir la expresión del ARN o proteína de STEAP-1. Por ejemplo, las moléculas antisentido pueden ser ARN u otras moléculas, incluyendo ácidos nucleicos peptídicos (PNA) o moléculas de ácidos no nucleicos tales como derivados de fosforotioato que se unen específicamente a ADN o a ARN de una manera dependiente de los pares de bases. Un experto en la técnica puede obtener fácilmente estas clases de moléculas de ácido nucleico usando los polinucleótidos de STEAP-1 y las secuencias polinucleotídicas que se divulgan en el presente documento.

La tecnología antisentido supone la administración de oligonucleótidos exógenos que se unen a un polinucleótido diana localizado en las células. El término "antisentido" se refiere al hecho de que dichos oligonucleótidos son complementarios a sus dianas intracelulares, por ejemplo, STEAP-1. Véase, por ejemplo, Jack Cohen, *Oligodeoxynucleotides, Antisense Inhibitors of Gene Expression*, CRC Press, 1989; y *Synthesis* 1: 1-5 (1988). Los oligonucleótidos antisentido de STEAP-1 de la presente invención incluyen derivados tales como S-oligonucleótidos (derivados de fosforotioato o S-oligos, véase, Jack Cohen, anteriormente citado), que muestran acción inhibidora potenciada del crecimiento de las células cancerosas. Los S-oligos (fósforotioatos nucleosídicos) son análogos isoelectrónicos de un oligonucleótido (O-oligo) en el que un átomo de oxígeno que no forma el puente del grupo fosfato se reemplaza por un átomo de azufre. Los S-oligos de la presente invención pueden prepararse por tratamiento de los O-oligos con 3H-1,2-benzoditiol-3-ona-1,1-dióxido, que es un reactivo de transferencia de azufre, véase, por ejemplo, Iyer, R. P. *et al.*, *J. Org. Chem.* 55: 4693-4698 (1990); y Iyer, R. P. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 112: 1253-1254 (1990). Los oligonucleótidos antisentido adicionales de STEAP-1 de la presente invención incluyen oligonucleótidos antisentido morfolino conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Cartridge *et al.*, 1996, *Antisense & Nucleic Acid Drug Development* 6: 169-175).

Los oligonucleótidos antisentido de STEAP-1 de la presente invención normalmente pueden ser ARN o ADN que es complementario a, y se hibrida de forma estable con, los 100 primeros codones en posición 5' o con los 100 últimos codones en posición 3' de una secuencia genómica de STEAP-1 o con el ARNm correspondiente. No se requiere la complementariedad absoluta, aunque se prefieren altos grados de complementariedad. El uso de un oligonucleótido complementario con esta región permite la hibridación selectiva con ARNm de STEAP-1 y no con ARNm que especifica otras subunidades reguladoras de proteínas quinasas. En una realización, los oligonucleótidos antisentido de STEAP-1 de la presente invención son fragmentos de 15 a 30 unidades de moléculas de ADN antisentido que tienen una secuencia que se hibrida con ARNm de STEAP-1. Opcionalmente, el oligonucleótido antisentido de STEAP-1 es un oligonucleótido de 30 unidades que es complementario a una región en los 10 primeros codones en posición 5' o en los 10 últimos codones en posición 3' de STEAP-1. Como alternativa, las moléculas antisentido se modifican para emplear ribozimas en la inhibición de la expresión de STEAP-1, véase, por ejemplo, L. A. Couture y D. T. Stinchcomb; *Trends Genet* 12: 510-515 (1996).

## II.A.3.) Cebadores y pares de cebadores

En el presente documento también se describen cebadores y pares de cebadores, que permiten la amplificación específica de los polinucleótidos descritos en el presente documento o de cualquier parte específica de los mismos, y sondas que se hibridan selectiva o específicamente con moléculas de ácido nucleico descritas en el presente documento o con cualquier parte de las mismas. Las sondas pueden marcarse con un marcador detectable, tal como, por ejemplo, un radioisótopo, un compuesto fluorescente, un compuesto bioluminiscente, un compuesto

quimioluminiscente, un quelante metálico o una enzima. Dichas sondas y cebadores se usan para detectar la presencia de un polinucleótido STEAP-1 en una muestra y como medio para detectar una célula que exprese una proteína STEAP-1.

Los ejemplos de dichas sondas incluyen polipéptidos que comprenden toda o parte de la secuencia de ADNc de STEAP-1 humana que se muestra en la Figura 2. En los ejemplos también se describen ejemplos de pares de cebadores capaces de amplificar específicamente los ARNm de STEAP-1. Tal como entenderá el experto en la técnica, puede prepararse una gran cantidad de cebadores y sondas diferentes basándose en las secuencias proporcionadas en el presente documento y pueden usarse de un modo eficaz para amplificar y/o detectar ARNm de STEAP-1.

Los polinucleótidos de STEAP-1 descritos en el presente documento son útiles para varios fines, que incluyen pero sin limitación, su uso como sondas y cebadores para la amplificación y/o detección del gen (o genes) de STEAP-1, el ARNm (o los ARNm), o fragmentos de los mismos; como reactivos para el diagnóstico y/o pronóstico del cáncer de próstata y otros cánceres; como secuencias codificantes capaces de dirigir la expresión de los polipéptidos STEAP-1; como herramientas para modular o inhibir la expresión del gen (o los genes) de STEAP-1 y/o la traducción del transcrito (o transcritos) de STEAP-1; y como agentes terapéuticos.

En el presente documento se describen sondas que pueden usarse para identificar y aislar una secuencia de ácido nucleico de STEAP-1 o relacionada con STEAP-1 de una fuente de origen natural, tal como de seres humanos u otros mamíferos, así como la secuencia de ácido nucleico aislada de por sí, que podría comprender todas o la mayoría de las secuencias encontradas en la sonda usada.

#### II.A.4.) Aislamiento de moléculas de ácido nucleico que codifican STEAP-1

Las secuencias de ADNc de STEAP-1 descritas en el presente documento permiten el aislamiento de otros polinucleótidos que codifican el producto (o productos) génico de STEAP-1, así como el aislamiento de polinucleótidos que codifican homólogos del producto (o productos) génico de STEAP-1, isoformas de corte y empalmen alternativas, variantes alélicas, y formas mutantes de un producto génico de STEAP-1 así como polinucleótidos que codifican análogos de proteínas relacionadas con STEAP-1. Se conocen bien diversos métodos de clonación molecular que pueden emplearse para aislar los ADNc de longitud completa que codifican un gen de STEAP-1 (véase, por ejemplo, Sambrook, J. *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª edición, Cold Spring Harbor Press, Nueva York, 1989; Current Protocols in Molecular Biology. Ausubel *et al.*, Eds., Wiley and Sons, 1995). Por ejemplo, pueden emplearse convenientemente metodologías de clonación con fagos lambda, que usan sistemas de clonación disponibles en el comercio (por ejemplo, Lambda ZAP Express, Stratagene). Los clones de fagos que contienen los ADNc del gen de STEAP-1 pueden identificarse explorando con un ADNc de STEAP-1 marcado, o con un fragmento del mismo. Por ejemplo, en una realización, un ADNc de STEAP-1 (por ejemplo, Figura 2) o una porción del mismo, puede sintetizarse y usarse como una sonda para recuperar los ADNc solapantes y de longitud completa correspondientes a un gen de STEAP-1. Un gen de STEAP-1 en sí mismo puede aislarse explorando bibliotecas de ADN genómico, bibliotecas cromosómicas artificiales bacterianas (BAC), bibliotecas cromosómicas artificiales de levaduras (YAC), y similares, con sondas o cebadores de ADN de STEAP-1.

#### II.A.5.) Moléculas de ácido nucleico recombinante y sistemas de vector-hospedador

En el presente documento también se proporcionan moléculas de ADN o ARN recombinante que contienen un polinucleótido de STEAP-1, un fragmento, un análogo u homólogo del mismo, incluyendo, pero sin limitación, fagos, plásmidos, fagémidos, cósmidos, YAC, BAC, así como diversos vectores virales y no virales bien conocidos en la técnica, y células transformadas o transfectadas con dichas moléculas de ADN o ARN recombinante. Los métodos para generar dichas moléculas son muy conocidos (véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, 1989, anteriormente mencionado).

La invención también proporciona un sistema de vector-hospedador que comprende una molécula de ADN recombinante que contiene un polinucleótido de STEAP-1, fragmento, análogo u homólogo del mismo, en una célula hospedadora procariota o eucariota adecuada. Los ejemplos de células hospedadoras eucariotas adecuadas incluyen una célula de levadura, una célula vegetal, o una célula animal, tal como una célula de mamífero o una célula de insecto (por ejemplo, una célula infectable por baculovirus tal como una célula Sf9 o HighFive). Los ejemplos de células de mamífero adecuadas incluyen diversas líneas celulares de cáncer de próstata, tales como DU145 y TsuPr1, otras líneas celulares de cáncer de próstata transfectables o transducibles, células primarias (PrEC), así como una serie de células de mamífero que se usan rutinariamente para la expresión de proteínas recombinantes (por ejemplo, células COS, CHO, 293, 293T). Más en particular, puede usarse un nucleótido que comprende la secuencia codificante de STEAP-1 o un fragmento, análogo u homólogo de la misma para generar proteínas STEAP-1 o fragmentos de las mismas usando cualquier serie de sistemas vector-hospedador que se usan rutinariamente y se conocen ampliamente en la técnica.

Se dispone de una amplia gama de sistemas vector-hospedador adecuados para la expresión de proteínas STEAP-1 o fragmentos de las mismas, véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, 1989, anteriormente mencionado; Current



Protocols in Molecular Biology, 1995, anteriormente mencionado. Los vectores preferidos para la expresión en mamíferos incluyen, pero sin limitación, el vector pcDNA 3.1, con una etiqueta de His-Myc y el vector retroviral pSRotkneo (Muller *et al.*, 1991, MCB 11: 1785). Usando estos vectores de expresión, se puede expresar STEAP-1 en varias líneas celulares de cáncer de próstata y de cáncer no de próstata, incluyendo, por ejemplo, la líneas celulares 293, 293T, rat-1, NIH 3T3 y TsuPr1. Los sistemas de vector-hospedador de la invención son útiles para la producción de una proteína STEAP-1 o fragmento de la misma. Dichos sistemas de vector-hospedador pueden emplearse para estudiar las propiedades funcionales de STEAP-1 y mutaciones o análogos de STEAP-1.

La proteína STEAP-1 recombinante humana o un análogo u homólogo o fragmento de la misma pueden producirse mediante células de mamífero transfectadas con una construcción que codifica un nucleótido relacionado con STEAP-1. Por ejemplo, se pueden transfectar células 293T con un plásmido de expresión que codifica STEAP-1 o un fragmento, análogo u homólogo de la misma, una proteína relacionada con STEAP-1 se expresa en las células 293T, y la proteína STEAP-1 recombinante se aísla usando métodos de purificación convencionales (por ejemplo, purificación por afinidad usando anticuerpos anti-STEAP-1). Una secuencia codificante de STEAP-1 puede subclonarse en el vector retroviral pSR $\alpha$ MSVtkneo y se usa para infectar diversas líneas celulares de mamífero, tales como NIH 3T3, TsuPr1, 293 y rat-1 para establecer líneas celulares que expresan STEAP-1. También pueden emplearse otros diversos sistemas de expresión bien conocidos en la técnica. Para la generación de una forma secretada de proteína STEAP-1 recombinante pueden usarse construcciones de expresión que codifiquen un péptido líder ligado en fase con una secuencia codificante de STEAP-1.

Tal como se explica en el presente documento, la redundancia en el código genético permite la variación de las secuencias génicas de STEAP-1. En particular, en la técnica se sabe que, especies hospedadoras específicas, a menudo tienen preferencias de codones específicas, y por lo tanto se puede adaptar la secuencia divulgada como se prefiera para un hospedador deseado. Por ejemplo, las secuencias de codones análogos preferidas normalmente tienen codones poco comunes (es decir, codones que tienen una frecuencia de uso menor de aproximadamente 20 % en secuencias conocidas del hospedador deseado) reemplazados por codones de mayor frecuencia. Las preferencias codónicas de una especie específica se calculan, por ejemplo, utilizando tablas de uso de codones disponibles en INTERNET, tal como en la URL [dna.affrc.go.jp/~nakamura/codon.html](http://dna.affrc.go.jp/~nakamura/codon.html).

Se conocen modificaciones de secuencias adicionales para potenciar la expresión de proteínas en un hospedador celular. Estas incluyen la eliminación de secuencias que codifican señales de poliadenilación falsas, señales de sitios de corte y empalme de exones/intrones, repeticiones similares a transposones, y/u otras dichas secuencias bien caracterizadas que son perjudiciales para la expresión génica. El contenido en GC de la secuencia se ajusta a niveles medios para un hospedador celular determinado, como se calcula por referencia a genes conocidos expresados en la célula hospedadora. Donde es posible, la secuencia se modifica para impedir que se produzcan estructuras secundarias previstas de ARNm en horquilla. Otras modificaciones útiles incluyen la adición de una secuencia consenso de inicio traduccional al comienzo de la fase de lectura abierta, tal como se describe en Kozak, Mol. Cell Biol., 9: 5073-5080 (1989). Los expertos en la técnica entienden que la norma general de que los ribosomas eucariotas inician la traducción exclusivamente en el codón AUG 5' proximal se anula solamente en condiciones poco frecuentes (véase, por ejemplo, Kozak PNAS 92(7): 2662-2666, (1995) y Kozak NAR 15(20): 8125-8148 (1987)).

### **III.) Proteínas relacionadas con STEAP-1**

En el presente documento también se proporcionan proteínas relacionadas con STEAP-1. Los ejemplos específicos de proteínas de STEAP-1 comprenden un polipéptido que tiene toda o parte de la secuencia de aminoácidos de la STEAP-1 humana, como se muestra en la Figura 2 o la Figura 3. Como alternativa, las proteínas de STEAP-1 comprenden polipéptidos variantes, homólogos o análogos que tienen alteraciones en la secuencia de aminoácidos de STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o en la Figura 3.

Los polipéptidos de STEAP-1 descritos en el presente documento incluyen: un polipéptido de STEAP-1 que tiene una secuencia mostrada en la Figura 2, una secuencia peptídica de un polipéptido de STEAP-1 como se muestra en la Figura 2, en la que T es U; teniendo la secuencia como se muestra en la Figura 2 al menos 10 nucleótidos contiguos de un polipéptido; o teniendo la secuencia como se muestra en la Figura 2 al menos 10 péptidos contiguos de un polipéptido, donde T es U. Los péptidos de STEAP-1 descritos en este documento incluyen:

(I) una proteína que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en una secuencia de aminoácidos como se muestra en las Figuras 2A-Q o en las Figuras 3A-D;

(II) una proteína relacionada con 101P3A11 que tiene una homología de al menos 90 % con una secuencia completa de aminoácidos mostrada en las Figuras 2A-Q;

(III) una proteína relacionada con 101P3A11 que tiene una identidad de al menos 90 % con una secuencia completa de aminoácidos mostrada en las Figuras 2A-Q o 3A-D;

(IV) una proteína que comprende al menos un péptido expuesto en las Tablas V-XVIII o en las Tablas XXII a LI,

opcionalmente con la condición de que no sea una proteína completa de la Figura 2;

(V) una proteína que comprende al menos un péptido expuesto en las Tablas V-XVIII, conjuntamente, cuyo péptido también se expone en las Tablas XXII a LI, conjuntamente, opcionalmente con la condición de que no sea una proteína completa de la Figura 2;

(VI) una proteína que comprende al menos dos péptidos seleccionados de los péptidos expuestos en las Tablas V-XVIII y de XXII a LI conjuntamente, opcionalmente con la condición de que no sea una proteína completa de la Figura 2;

(VII) una proteína que comprende al menos dos péptidos seleccionados de los péptidos expuestos en las Tablas V-XVIII y de XXII a LI conjuntamente, con la condición de que la proteína no sea una secuencia contigua de una secuencia de aminoácidos de la Figura 2;

(VIII) una proteína que comprende al menos un péptido seleccionado de los péptidos expuestos en las Tablas V-XVIII; y al menos un péptido expuesto en las Tablas XXII a LI, con la condición de que la proteína no sea una secuencia contigua de una secuencia de aminoácidos de la Figura 2;

(IX) un polipéptido que comprende al menos 5 aminoácidos de una proteína de la Figura 3A, 3B, 3C o 3D en cualquier aumento en número completo hasta 339, 258, 282 o 258 respectivamente, que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor mayor de 0,5 en el perfil de Hidrofilicidad de la Figura 5;

(X) un polipéptido que comprende al menos 5 aminoácidos de una proteína de la Figura 3A, 3B, 3C o 3D en cualquier aumento en número completo hasta 339, 258, 282 o 258, respectivamente, que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor menor de 0,5 en el perfil de Hidropaticidad de la Figura 6;

(XI) un polipéptido que comprende al menos 5 aminoácidos de una proteína de la Figura 3A, 3B, 3C o 3D en cualquier aumento en número completo hasta 339, 258, 282 o 258, respectivamente, que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor mayor de 0,5 en el perfil del Porcentaje de Restos Accesibles de la Figura 7;

(XII) un polipéptido que comprende al menos 5 aminoácidos de una proteína de la Figura 3A, 3B, 3C o 3D en cualquier aumento en número completo hasta 339, 258, 282 o 258, respectivamente, que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor mayor de 0,5 en el perfil de Flexibilidad Promedio de la Figura 8;

(XIII) un polipéptido que comprende al menos 5 aminoácidos de una proteína de la Figura 3A, 3B, 3C o 3D en cualquier aumento en número completo hasta 339, 258, 282 o 258, respectivamente, que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor mayor de 0,5 en el perfil de giro Beta de la Figura 9;

(XIV) un péptido que aparece al menos dos veces en las Tablas V-XVIII y XXII a LI, conjuntamente;

(XV) un péptido que aparece al menos tres veces en las Tablas V-XVIII y XXII a LI, conjuntamente;

(XVI) un péptido que aparece al menos cuatro veces en las Tablas V-XVIII y XXII a LI, conjuntamente;

(XVII) un péptido que aparece al menos cinco veces en las Tablas V-XVIII y XXII a LI, conjuntamente;

(XVIII) un péptido que aparece al menos una vez en las Tablas V-XVIII, y al menos una vez en las tablas XXII a LI;

(XIX) un péptido que comprende una, dos, tres, cuatro o cinco de las siguientes características, o un oligonucleótido que codifica dicho péptido:

i) una región de al menos 5 aminoácidos de un péptido particular de la Figura 3, en cualquier aumento de número completo hasta la longitud completa de esa proteína de la Figura 3, que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor igual a o mayor que 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, o que tiene un valor igual a 1,0, en el perfil de Hidrofilicidad de la Figura 5;

ii) una región de al menos 5 aminoácidos de un péptido particular de la Figura 3, en cualquier aumento de número completo hasta la longitud completa de esa proteína de la Figura 3, que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor igual a o menor que 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, o que tiene un valor igual a 0,0, en el perfil de Hidropaticidad de la Figura 6;

iii) una región de al menos 5 aminoácidos de un péptido particular de la Figura 3, en cualquier aumento de número completo hasta la longitud completa de esa proteína de la Figura 3, que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor igual a o mayor que 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, o que tiene un valor igual a 1,0, en el perfil de Porcentaje de Restos Accesibles de la Figura 7;

iv) una región de al menos 5 aminoácidos de un péptido particular de la Figura 3, en cualquier aumento de número completo hasta la longitud completa de esa proteína de la Figura 3, que incluye una posición

aminoacídica que tiene un valor igual a o mayor que 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, o que tiene un valor igual a 1,0, en el perfil de Flexibilidad Promedio de la Figura 8; o,

v) una región de al menos 5 aminoácidos de un péptido particular de la Figura 3, en cualquier aumento de número completo hasta la longitud completa de esa proteína de la Figura 3, que incluye una posición aminoacídica que tiene un valor igual a o mayor que 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, o que tiene un valor igual a 1,0, en el perfil de giro Beta de la Figura 9;

(XX) un péptido de (I)-(XIX) junto con un excipiente farmacéutico y/o en una forma de dosificación unitaria para seres humanos.

Tal como se usa en el presente documento, se entiende que un intervalo indica específicamente todas las posiciones unitarias del mismo. En el presente documento se desvelan polinucleótidos 101P3A11 que codifican porciones específicas de secuencias de ARNm de 101P3A11 (y aquellas que son complementarias a dichas secuencias) tales como aquellas que codifican las proteínas y/o los fragmentos de las mismas, por ejemplo:

(a) 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 330, 339 o más aminoácidos contiguos de la variante 1 de STEAP-1; las máximas longitudes relevantes para las otras variantes son: variante 2, 258 aminoácidos; variante 3, 282 aminoácidos, y variante 4, 258 aminoácidos.

En general, las variantes alélicas de origen natural de la proteína STEAP-1 humana comparten un alto grado de homología e identidad estructural (por ejemplo, 90 % o más de homología). Normalmente, las variantes alélicas de una proteína STEAP-1 contienen sustituciones de aminoácidos conservativas dentro de las secuencias de STEAP-1 que se describen en el presente documento o contienen una sustitución de un aminoácido de una posición correspondiente en un homólogo de STEAP-1. Una clase de variantes alélicas de STEAP-1 son las proteínas que comparten un alto grado de homología con al menos una región pequeña de una secuencia de aminoácidos particular de STEAP-1, pero contienen adicionalmente una separación radical de la secuencia, tal como una sustitución no conservativa, truncamiento, inserción o desplazamiento de fase. En las comparaciones de secuencias de proteínas, cada uno de los términos, similitud, identidad y homología tiene un significado distinto como se aprecia en el campo de la genética. Además, la ortología y paralogía pueden ser conceptos importantes que describen las relaciones de miembros de una familia de proteínas determinada en un organismo con respecto a los miembros de la misma familia en otros organismos.

En la Tabla II se proporcionan abreviaturas de aminoácidos. Frecuentemente, en una proteína pueden realizarse sustituciones de aminoácidos conservativas sin alterar la conformación ni la función de la proteína. Las proteínas de la invención pueden comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 sustituciones conservativas. Dichos cambios incluyen sustituir cualquiera de isoleucina (I), valina (V) y leucina (L) por cualquier otro de estos aminoácidos hidrófobos; ácido aspártico (D) por ácido glutámico (E) y viceversa; glutamina (Q) por asparagina (N) y viceversa; serina (S) por treonina (T) y viceversa. Otras sustituciones también pueden considerarse conservativas, dependiendo del ambiente del aminoácido particular y de su papel en la estructura tridimensional de la proteína. Por ejemplo, la glicina (G) y la alanina (A) pueden ser intercambiables frecuentemente, como pueden serlo la alanina (A) y la valina (V). La metionina (M), que es relativamente hidrófoba, puede intercambiarse frecuentemente por leucina e isoleucina, y a veces por valina. La lisina (K) y la arginina (R) se intercambian frecuentemente con leucina e isoleucina, y a veces con valina. La lisina (K) y la arginina (R) se intercambian frecuentemente en localizaciones en las que la característica significativa del resto de aminoácido es su carga y las diferencias de pK de estos dos restos de aminoácido no son significativas. Aún otros cambios pueden considerarse "conservativos" en ambientes particulares (véase, por ejemplo, la Tabla III del presente documento; páginas 13-15 "Biochemistry" 2ª ED. Lubert Stryer ed (Stanford University); Henikoff *et al.*, PNAS 1992 Vol 89 10915-10919; Lei *et al.*, J Biol Chem 19 de mayo de 1995; 270(20): 11882-6).

Hay una amplia gama de variantes o análogos de proteínas STEAP-1 aceptados en la técnica, tales como polipéptidos que tienen inserciones, deleciones y sustituciones de aminoácidos. Las variantes de STEAP-1 pueden fabricarse usando métodos conocidos en la técnica, tales como mutagénesis de sitio dirigido, mutagénesis mediante alanina y mutagénesis por PCR. La mutagénesis de sitio dirigido (Carter *et al.*, Nucl. Acids Res., 13: 4331 (1986); Zoller *et al.*, Nucl. Acids Res., 10: 6487 (1987)), mutagénesis de casete (Wells *et al.*, Gene, 34: 315 (1985)), mutagénesis de selección de restricción (Wells *et al.*, Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317: 415 (1986)) u otras técnicas conocidas pueden realizarse en el ADN clonado para producir el ADN variante de STEAP-1.

El análisis de exploración con aminoácidos también puede emplearse para identificar uno o más aminoácidos a lo largo de una secuencia contigua que está implicada en una actividad biológica específica, tal como una interacción proteína-proteína. Entre los aminoácidos de exploración preferidos están los aminoácidos neutros, relativamente pequeños. Dichos aminoácidos incluyen alanina, glicina, serina y cisteína. La alanina es normalmente un aminoácido de exploración preferido dentro de este grupo porque elimina la cadena lateral más allá del carbono beta y es menos probable que altere la conformación de la cadena principal de la variante. La alanina también se prefiere normalmente porque es el aminoácido más común. Además, se ha encontrado frecuentemente en posiciones tanto

ocultas como expuestas (Creighton, *The Proteins*, (W. H. Freeman & Co., N.Y.); Chothia, J. *Mol. Biol.*, 150: 1 (1976)). Si la sustitución de alanina no produce cantidades de variante adecuadas, puede usarse un aminoácido isostérico.

5 Tal como se define en el presente documento, las variantes, análogos y homólogos de STEAP-1 tienen el atributo distintivo de tener al menos un epítipo que tiene "reactividad cruzada" con una proteína STEAP-1 que tiene una secuencia de aminoácidos de la Figura 3. Tal como se usa en esta oración, "reactividad cruzada", significa que un anticuerpo o una célula T, que se une específicamente a una variante de STEAP-1, también se une específicamente a una proteína STEAP-1 que tiene una secuencia de aminoácidos expuesta en la Figura 3. Un polipéptido deja de ser una variante de una proteína que se muestra en la Figura 3, cuando ya no contiene ningún epítipo capaz de ser reconocido por un anticuerpo o una célula T que se une específicamente a la proteína STEAP-1 inicial. Los expertos en la técnica entienden que los anticuerpos que reconocen proteínas se unen a epítopos de tamaño variable, y que un agrupamiento del orden de aproximadamente cuatro a cinco aminoácidos, contiguos o no, se considera como un número típico de aminoácidos en un epítipo mínimo. Véase, por ejemplo, Nair *et al.*, *J. Immunol* 2000 165(12): 6949-6955; Hebbes *et al.*, *Mol Immunol* (1989) 26(9): 865-73; Schwartz *et al.*, *J Immunol* (1985) 135(4): 2598-608.

Otras clases de variantes de proteína relacionadas con STEAP-1 comparten una similitud de 70 %, 75 %, 80 %, 85 % o 90 % o más con una secuencia de aminoácidos de la Figura 3, o un fragmento de la misma. Otra clase específica de variantes o análogos de proteína STEAP-1 comprende uno o más de los motivos biológicos de STEAP-1 que se describen en el presente documento o que se conocen actualmente en la técnica. Por lo tanto, la presente invención incluye análogos de fragmentos de STEAP-1 (ácidos nucleicos o aminoácidos) que tienen propiedades funcionales (por ejemplo, inmunogénicas) alteradas con respecto al fragmento inicial. Debe apreciarse que los motivos que son o serán parte de la técnica se aplican a las secuencias de ácidos nucleicos o aminoácidos de la Figura 2 o Figura 3.

La presente divulgación incluye polipéptidos que contienen menos de la secuencia de aminoácidos completa de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3. Por ejemplo, péptidos/proteínas que tienen cualquiera de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o más aminoácidos contiguos de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3.

En el presente documento se desvelan polipéptidos que consisten en aproximadamente de aproximadamente 1 aminoácido a aproximadamente 10 aminoácidos de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3, polipéptidos que consisten en aproximadamente 10 a aproximadamente 20 aminoácidos de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3, polipéptidos que consisten de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 aminoácidos de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3, polipéptidos que consisten de aproximadamente 30 a aproximadamente 40 aminoácidos de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3, polipéptidos que consisten de aproximadamente 40 a aproximadamente 50 aminoácidos de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3, polipéptidos que consisten de aproximadamente 50 a aproximadamente 60 aminoácidos de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3, polipéptidos que consisten de aproximadamente 60 a aproximadamente 70 aminoácidos de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3, polipéptidos que consisten de aproximadamente 70 a aproximadamente 80 aminoácidos de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3, polipéptidos que consisten de aproximadamente 80 a aproximadamente 90 aminoácidos de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3, polipéptidos que consisten de aproximadamente 90 a aproximadamente 100 aminoácidos de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3, etc. a lo largo de la secuencia de aminoácidos completa de STEAP-1. Además, son realizaciones de la invención polipéptidos que consisten en aproximadamente 1 aminoácido (o 20 o 30 o 40 etc.) a aproximadamente 20 aminoácidos (o 130, o 140 o 150 etc.) de una proteína STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3. Debe apreciarse que las posiciones de inicio y terminación de este párrafo se refieren a la posición específica así como a aquella posición más o menos 5 restos.

Las proteínas relacionadas con STEAP-1 se generan usando tecnología de síntesis peptídica convencional o usando métodos de escisión química bien conocidos en la técnica. Como alternativa, pueden usarse métodos recombinantes para generar moléculas de ácido nucleico que codifican una proteína relacionada con STEAP-1. En una realización, las moléculas de ácido nucleico proporcionan un medio para generar fragmentos definidos de una proteína STEAP-1 (o variantes, homólogos o análogos de la misma).

### **III.A.) Proteínas portadoras de motivos**

En el presente documento también se desvelan polipéptidos de STEAP-1 que comprenden los restos de aminoácidos de uno o más de los motivos biológicos contenidos en una secuencia polipeptídica de STEAP-1 que se expone en la Figura 2 o Figura 3. En la técnica se conocen diversos motivos y la presencia de dichos motivos en una proteína puede evaluarse mediante diversos sitios disponibles al público en Internet (véase, por ejemplo, las direcciones URL: pfam.wustl.edu/; <http://searchlauncher.bcm.tmc.edu/seq-search/struc-predict.html>; psort.ims.u-tokyo.ac.jp/; cbs.dtu.dk/; ebi.ac.uk/interpro/scan.html; expasy.ch/tools/scnpsit1.html; Epimatrix™ y Epimer™, Brown University, brown.edu/Research/TB-HIV\_Lab/epimatrix/epimatrix.html; y BIMAS, bimas.dcrf.nih.gov/).

En las Tablas V-XVIII y XXII-LI se exponen e identifican subsecuencias portadoras de motivos de todas las proteínas variantes de STEAP-1.

La Tabla XIX expone diversos motivos que aparecen frecuentemente basándose en búsquedas pfam (véase la dirección URL [pfam.wustl.edu/](http://pfam.wustl.edu/)). Las columnas de la Tabla XIX enumeran (1) la abreviatura del nombre del motivo, (2) el porcentaje de identidad encontrado entre los diferentes miembros de la familia de motivos, (3) el nombre o la descripción del motivo y (4) la función más común; si el motivo es relevante para la localización se incluye la información de la localización.

Los polipéptidos que comprenden uno o más motivos de STEAP-1, explicados anteriormente, son útiles para esclarecer las características específicas de un fenotipo maligno en vista de la observación de que los motivos de STEAP-1 explicados anteriormente se asocian con disregulación del crecimiento y porque STEAP-1 se sobreexpresa en determinados cánceres (véase, por ejemplo, la Tabla I). La caseína quinasa II, la proteína quinasa dependiente de AMP cíclico y camp, y la Proteína Quinasa C, por ejemplo, son enzimas que se sabe que están asociadas con el desarrollo del fenotipo maligno (véase, por ejemplo, Chen *et al.*, *Lab Invest.*, 78(2): 165-174 (1998); Gaiddon *et al.*, *Endocrinology* 136(10): 4331-4338 (1995); Hall *et al.*, *Nucleic Acids Research* 24(6): 1119-1126 (1996); Peterziel *et al.*, *Oncogene* 18(46): 6322-6329 (1999) y O'Brian, *Oncol. Rep.* 5(2): 305-309 (1998)). Además, tanto la glicosilación como la miristoilación son modificaciones proteicas que también se asocian con cáncer y con progresión de cáncer (véase, por ejemplo, Dennis *et al.*, *Biochem. Biophys. Acta* 1473(1):21-34 (1999); Raju *et al.*, *Exp. Cell Res.* 235(1): 145-154 (1997)). La amidación es otra modificación proteica que también se asocia con cáncer y con progresión de cáncer (véase, por ejemplo, Treston *et al.*, *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* (13): 169-175 (1992)).

Las proteínas proporcionadas en el presente documento comprenden uno o más de los epítomos inmunoreactivos identificados de acuerdo con métodos aceptados en la técnica, tal como los péptidos que se exponen en las Tablas V-XVIII y XXII-LI. Los epítomos CTL pueden determinarse usando algoritmos específicos para identificar péptidos en una proteína STEAP-1 que son capaces de unirse óptimamente a alelos HLA especificados (por ejemplo, Tabla IV; Epimatrix™ y Epimer™, Brown University, URL [brown.edu/Re-search/TB-HIV\\_Lab/epi-matrix/epimatrix.html](http://brown.edu/Re-search/TB-HIV_Lab/epi-matrix/epimatrix.html); y BIMAS, URL [bimas.dcrf.nih.gov/](http://bimas.dcrf.nih.gov/)). Además, en la técnica se conocen bien procesos de identificación de péptidos que tienen la suficiente afinidad de unión por moléculas de HLA y que se correlacionan con ser epítomos inmunogénicos y se llevan a cabo sin excesiva experimentación. Además, los procesos para identificar péptidos que son epítomos inmunogénicos, son muy conocidos en la técnica, y se llevan a cabo sin excesiva experimentación *in vitro* o *in vivo*.

En la técnica también se conocen los principios para crear análogos de dichos epítomos a fin de modular la inmunogenicidad. Por ejemplo, se comienza con un epítopo que porta un motivo CTL o HTL (véanse, por ejemplo, los motivos/supermotivos de HLA de Clase I y HLA de Clase II de la Tabla IV). El epítopo se hace análogo sustituyendo un aminoácido en una de las posiciones especificadas, y reemplazándolo por otro aminoácido especificado para esa posición. Por ejemplo, se puede sustituir un resto perjudicial a favor de cualquier otro resto, tal como un resto preferido como se define en la Tabla IV; sustituir un resto menos preferido por un resto preferido como se define en la Tabla IV; o sustituir un resto preferido de origen natural por otro resto preferido como se define en la Tabla IV. Las sustituciones pueden producirse en posiciones de anclaje primario o en otras posiciones en un péptido; véase, por ejemplo, la Tabla IV.

Varias referencias reflejan la técnica con respecto a la identificación y generación de epítomos en una proteína de interés así como análogos de los mismos. Véase, por ejemplo, el documento WO 97/33602 de Chesnut *et al.*; Sette, *Immunogenetics* 1999 50(3-4): 201-212; Sette *et al.*, *J. Immunol.* 2001 166(2): 1389-1397; Sidney *et al.*, *Hum. Immunol.* 1997 58(1): 12-20; Kondo *et al.*, *Immunogenetics* 1997 45(4): 249-258; Sidney *et al.*, *J. Immunol.* 1996 157(8): 3480-90; y Falk *et al.*, *Nature* 351: 290-6 (1991); Hunt *et al.*, *Science* 255: 1261-3 (1992); Parker *et al.*, *J. Immunol.* 149: 3580-7 (1992); Parker *et al.*, *J. Immunol.* 152: 163-75 (1994); Kast *et al.*, 1994 152(8): 3904-12; Borrás-Cuesta *et al.*, *Hum. Immunol.* 2000 61(3): 266-278; Alexander *et al.*, *J. Immunol.* 2000 164(3): 164(3): 1625-1633; Alexander *et al.*, PMID: 7895164, UI: 95202582; O'Sullivan *et al.*, *J. Immunol.* 1991 147(8): 2663-2669; Alexander *et al.*, *Immunity* 1994 1(9): 751-761 y Alexander *et al.*, *Immunol. Res.* 1998 18(2): 79-92.

En el presente documento se proporcionan polipéptidos que comprenden combinaciones de los distintos motivos expuestos en la Tabla XX, y/o, uno o más de los epítomos CTL previstos de las Tablas V-XVII y XXII-XLVII, y/o, uno o más de los epítomos HTL previstos de las Tablas XLVIII-LI, y/o, uno o más de los motivos de unión a células T conocidos en la técnica. Los casos preferidos no contienen inserciones, deletiones o sustituciones bien dentro de los motivos o dentro de las secuencias de intervención de los polipéptidos. Además, pueden ser deseables ejemplos que incluyan diversos restos de aminoácidos N y/o C terminal en cualquier lado de estos motivos (por ejemplo, para incluir una porción más grande de la arquitectura del polipéptido en la que se localiza ese motivo). Normalmente, el número de restos de aminoácidos N y/o C terminal de cualquier lado de un motivo es entre aproximadamente 1 a aproximadamente 100 restos de aminoácidos, preferentemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 restos de aminoácidos.

Las proteínas relacionadas con STEAP-1 se realizan de muchas formas, preferentemente en formas aisladas. Una molécula de una proteína de STEAP-1 purificada estará sustancialmente libre de otras proteínas o moléculas que

alteren la unión de STEAP-1 a un anticuerpo, célula T u otro ligando. La naturaleza o grado de aislamiento y purificación dependerán del uso que se desee. Las realizaciones de las proteínas relacionadas con STEAP-1 incluyen proteínas purificadas relacionadas con STEAP-1 y proteínas solubles y funcionales relacionadas con STEAP-1. En una realización, una proteína de STEAP-1 soluble, funcional o un fragmento de la misma conserva la capacidad de unirse a un anticuerpo, célula T u otro ligando.

También se proporcionan proteínas STEAP-1 que comprenden fragmentos biológicamente activos de una secuencia de aminoácidos de STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3. Dichas proteínas presentan propiedades de la proteína STEAP-1 inicial, tales como la capacidad de suscitar la generación de anticuerpos que se unen específicamente a un epítipo asociado con la proteína STEAP-1 inicial; para unirse por dichos anticuerpos; para suscitar la activación de HTL o CTL; y/o, ser reconocida por HTL o CTL que también se unen específicamente a la proteína inicial.

Los polipéptidos relacionados con la proteína STEAP-1 que contienen estructuras particularmente interesantes pueden predecirse y/o identificarse usando diversas técnicas analíticas bien conocidas en la técnica, incluyendo, por ejemplo, los métodos de análisis de Chou-Fasman, Garnier-Robson, Kyte-Doolittle, Eisenberg, Karplus-Schultz o Jameson-Wolf, o basándose en la inmunogenicidad. Los fragmentos que contienen dichas estructuras son particularmente útiles en la generación de anticuerpos anti-STEAP-1 o células T específicos de subunidades o en la identificación de factores celulares que se unen a STEAP-1. Por ejemplo, utilizando el método de Hopp, T. P. y Woods, K. R., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 78: 3824-3828, pueden generarse perfiles de hidrofobicidad y los fragmentos peptídicos inmunogénicos pueden identificarse. Usando el método de Kyte, J. y Doolittle, R. F., 1982, J. Mol. Biol. 157: 105-132 pueden generarse perfiles de hidropaticidad y los fragmentos peptídicos inmunogénicos pueden identificarse. Los perfiles de Porcentaje (%) de Restos Accesibles pueden generarse y los fragmentos peptídicos inmunogénicos pueden identificarse, usando el método de Janin J., 1979, Nature 277: 491-492. Los perfiles de Flexibilidad Promedio pueden generarse, y los fragmentos peptídicos inmunogénicos pueden identificarse usando el método de Bhaskaran R., Ponnuswamy P. K., 1988, Int. J. Pept. Protein Res. 32: 242-255. Los perfiles de giro Beta pueden generarse, y los fragmentos peptídicos inmunogénicos pueden identificarse usando el método de Deleage, G., Roux B., 1987, Protein Engineering 1: 289-294.

Los epítopos CTL pueden determinarse usando algoritmos específicos para identificar péptidos en una proteína STEAP-1 que sean capaces de unirse óptimamente a alelos HLA especificados (por ejemplo, usando el sitio SYFPEITHI en la URL de la red informática mundial [www.syfpeithi.bmi-heidelberg.com/](http://www.syfpeithi.bmi-heidelberg.com/); los listados de la Tabla IV(A)-(E); Epimatrix™ y Epimer™, Brown University, URL ([brown.edu/Research/TB-HIV\\_Lab/epimatrix/epimatrix.html](http://brown.edu/Research/TB-HIV_Lab/epimatrix/epimatrix.html)); y BIMAS, URL [bimas.dcrf.nih.gov/](http://bimas.dcrf.nih.gov/)). Ilustrando esto, se predijeron epítopos peptídicos de STEAP-1 que se presentan en el contexto de las moléculas MHC de Clase I humanas, por ejemplo, HLA-A1, A2, A3, A11, A24, B7 y B35 (véanse, por ejemplo, las Tablas V-XVIII, XXII-LI). De manera específica, la secuencia de aminoácidos completa de la proteína STEAP-1 y las porciones relevantes de otras variantes, es decir, las predicciones para los 9 restos flanqueantes para las HLA de Clase I en cada lado de una mutación puntual, y las predicciones para 14 restos flanqueantes para las HLA de Clase II de cada lado de una mutación puntual, se introdujeron en el algoritmo de Búsqueda de Motivos Peptídicos de HLA que se encuentra en el sitio web de la Sección de Bioinformática y Análisis Molecular (BIMAS) anteriormente enumerada; además del sitio SYFPEITHI, en la URL [syfpeithi.bmi-heidelberg.com/](http://syfpeithi.bmi-heidelberg.com/).

El algoritmo de búsqueda de motivos peptídicos HLA lo desarrolló el Dr. Ken Parker basándose en la unión de secuencias peptídicas específicas en el surco de las moléculas de HLA de Clase I, en particular HLA-A2 (véase, por ejemplo, Falk *et al.*, Nature 351: 290-6 (1991); Hunt *et al.*, Science 255: 1261-3 (1992); Parker *et al.*, J. Immunol. 149: 3580-7 (1992); Parker *et al.*, J. Immunol. 152: 163-75 (1994)). Este algoritmo permite la localización y clasificación de péptidos de 8, 9 y 10 meros de una secuencia completa de proteína para una unión prevista a HLA-A2 así como numerosas otras moléculas de HLA de Clase I. Muchos péptidos de unión de HLA de clase I tienen 8-, 9-, 10 u 11 meros. Por ejemplo para el HLA-A2 de Clase I, los epítopos contienen preferentemente una leucina (L) o una metionina (M) en la posición 2 y una valina (V) o leucina (L) en el extremo C (véase, por ejemplo, Parker *et al.*, J. Immunol. 149: 3580-7 (1992)). Los resultados seleccionados de los péptidos de unión a STEAP-1 previstos se muestran en las Tablas V-XVIII y XXII-LI del presente documento. En las Tablas V-XVIII y XXII-XLVII, se muestran candidatos seleccionados, 9 y 10 meros, para cada miembro de la familia junto con su localización, la secuencia de aminoácidos de cada péptido específico, y una puntuación de unión estimada. En las Tablas XLVIII-LI, se muestran candidatos seleccionados, 15 meros, para cada miembro de la familia junto con su localización, la secuencia de aminoácidos de cada péptido específico, y una puntuación de unión estimada. La puntuación de unión corresponde al tiempo medio estimado de disociación de los complejos que contienen el péptido a 37 °C a pH de 6,5. Se prevé que los péptidos con mayor puntuación de unión sean los que más fuertemente se unan al HLA de Clase I en la superficie celular durante el periodo de tiempo más largo y por lo tanto representen las mejores dianas inmunogénicas para el reconocimiento de células T.

La unión real de péptidos a un alelo de HLA puede evaluarse a través de la estabilización de la expresión de HLA en la línea celular T2 con procesamiento antigénico defectuoso (véase, por ejemplo, Xue *et al.*, Prostate 30: 73-8 (1997) y Peshwa *et al.*, Prostate 36: 129-38 (1998)). La inmunogenicidad de péptidos específicos puede evaluarse *in vitro* a través de la estimulación de linfocitos T citotóxicos (CTL) CD8+ en presencia de células presentadoras de antígeno,

tales como las células dendríticas.

Se apreciará que cada uno de los epítomos previstos por el sitio BIMAS, los sitios Epimer™ y Epimatrix™, o especificados por los motivos de HLA de clase I y clase II disponibles en la técnica o que serán parte de la técnica tal como los que se exponen en la Tabla IV (o determinados usando la URL de la red informática mundial ([www.syfpeithi.bmi-heidelberg.com/](http://www.syfpeithi.bmi-heidelberg.com/)), o BIMAS, [bimas.dcrct.nih.gov/](http://bimas.dcrct.nih.gov/)) se “aplicarán” a una proteína STEAP-1 de acuerdo con la invención. Tal como se usa en este contexto “aplicado” significa que una proteína STEAP-1 se evalúa, por ejemplo, visualmente o mediante métodos de búsqueda de patrones basados en ordenador, tal como aprecian los expertos en la técnica en cuestión. Se proporciona cada subsecuencia de una proteína STEAP-1 de 8, 9, 10 u 11 restos de aminoácidos que portan un motivo de HLA de Clase I, o una subsecuencia de 9 o más restos de aminoácidos que porta un motivo de HLA de Clase II.

### **III.B.) Expresión de proteínas relacionadas con STEAP-1**

STEAP-1 puede expresarse convenientemente en células (tales como células 293T) transfectadas con un vector de expresión disponible en el comercio, tal como un vector de expresión dirigido por CMV que codifica STEAP-1 con una etiqueta C terminal de 6 His y MYC (pcDNA3.1/mycHis, Invitrogen o Tag5, GenHunter Corporation, Nashville TN). El vector Tag5 proporciona una señal de secreción de IgGK que puede usarse para facilitar la producción de una proteína STEAP-1 secretada en células transfectadas. La STEAP-1 con etiqueta de HIS secretada en el medio de cultivo puede purificarse, por ejemplo, en una columna de níquel usando técnicas convencionales.

### **III.C.) Modificaciones de proteínas relacionadas con STEAP-1**

Las modificaciones de proteínas relacionadas con STEAP-1 incluyen modificaciones covalentes. Un tipo de modificación covalente incluye hacer reaccionar los restos de aminoácidos dirigidos de un polipéptido STEAP-1 con un agente derivatizante orgánico que sea capaz de reaccionar con las cadenas laterales seleccionadas o con los restos N o C terminales de una proteína STEAP-1. Otro tipo de modificación covalente de un polipéptido STEAP-1 comprende alterar el patrón de glucosilación nativo de una proteína de la invención. Otro tipo de modificación covalente de STEAP-1 comprende ligar un polipéptido STEAP-1 con uno de varios polímeros no proteicos, por ejemplo, polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol, o polioxilalquilenos, del modo que se expone en las Patentes de Estados Unidos Nos 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192 o 4.179.337.

Las proteínas relacionadas con STEAP-1 pueden modificarse también para formar una molécula quimérica que comprenda STEAP-1 fusionada a otra secuencia de polipéptidos o de aminoácidos heteróloga. Dicha molécula quimérica puede sintetizarse química o recombinantemente. Una molécula quimérica puede tener una proteína de la invención fusionada con otro antígeno asociado a tumores o fragmento del mismo. Como alternativa, una proteína de acuerdo con la invención puede comprender una fusión de fragmentos de una secuencia de STEAP-1 (de aminoácidos o ácidos nucleicos) tal como una molécula que se crea que no es, a lo largo de su longitud, directamente homóloga a las secuencias de aminoácidos o ácidos nucleicos que se muestran en la Figura 2 o Figura 3. Dicha molécula quimérica puede comprender múltiplos de la misma subsecuencia de STEAP-1. Una molécula quimérica puede comprender una fusión de una proteína relacionada con STEAP-1 con una etiqueta epitópica de polihistidina, que proporciona un epítipo al cual puede unirse selectivamente níquel inmovilizado, con citocinas o con factores de crecimiento. La etiqueta epitópica generalmente se coloca en el extremo amino o carboxilo de una proteína STEAP-1. Como alternativa, la molécula quimérica puede comprender una fusión de una proteína relacionada con STEAP-1 con una inmunoglobulina o una región particular de una inmunoglobulina. Para una forma bivalente de la molécula quimérica (denominada también “inmunoadesina”), dicha fusión puede ser con la región Fc de una molécula de IgG. Las fusiones de IgG incluyen preferentemente la sustitución de una forma soluble (dominio transmembrana deletado o inactivado) de un polipéptido de STEAP-1 en lugar de al menos una región variable dentro de una molécula de Ig. En una realización preferida, la fusión de inmunoglobulina incluye las regiones bisagra, CH2 y CH3, o la bisagra, CH1, CH2 y CH3 de una molécula de IgG. Para la producción de fusiones de inmunoglobulinas véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 5.428.130 expedida el 27 de junio de 1995.

### **III.D.) Usos de proteínas relacionadas con STEAP-1**

Las proteínas de la invención tienen una serie de distintos usos específicos. Dado que STEAP-1 tiene una alta expresión en próstata y en otros cánceres, las proteínas relacionadas con STEAP-1 se usan en métodos para evaluar el estado de los productos génicos de STEAP-1 en tejidos normales frente a cancerosos, esclareciendo de este modo el fenotipo maligno. Normalmente, se usan polipéptidos de regiones específicas de una proteína STEAP-1 para evaluar la presencia de perturbaciones (tales como delecciones, inserciones, mutaciones puntuales etc.) en aquellas regiones (tales como regiones que contienen uno o más motivos). Los ensayos ejemplares utilizan anticuerpos o células T dirigidos a proteínas relacionadas con STEAP-1 que comprenden los restos de aminoácidos de uno o más de los motivos biológicos contenidos dentro de una secuencia polipeptídica de STEAP-1 para evaluar las características de esta región en tejidos normales frente a cancerosos o para suscitar una respuesta inmunitaria contra el epítipo. Como alternativa, las proteínas relacionadas con STEAP-1 que contienen restos de aminoácidos de uno o más de los motivos biológicos en una proteína STEAP-1, se usan para explorar factores que interaccionan con esa región de STEAP-1.

Los fragmentos/subsecuencias de la STEAP-1 son particularmente útiles en la generación y caracterización de anticuerpos de dominio específico (por ejemplo, anticuerpos que reconocen un epítipo extracelular o intracelular de una proteína STEAP-1), para identificar agentes o factores celulares que se unen a STEAP-1 o a un dominio estructural particular del mismo, y en diversos contextos terapéuticos y diagnósticos, que incluyen, pero sin limitación, ensayos diagnósticos, vacunas contra el cáncer y métodos para preparar dichas vacunas.

Las proteínas codificadas por los genes de STEAP-1, o por análogos, homólogos o fragmentos de los mismos, tienen varios usos, incluyendo pero sin limitación, la generación de anticuerpos y métodos para identificar ligandos y otros agentes y constituyentes celulares que se unen a un producto génico de STEAP-1. Los anticuerpos suscitados contra una proteína STEAP-1 o fragmento de la misma, son útiles en ensayos diagnósticos y pronósticos, y metodologías de formación de imagen en el control de cánceres humanos caracterizados por la expresión de la proteína STEAP-1, tales como los enumerados en la Tabla I. Dichos anticuerpos pueden expresarse intracelularmente y usarse en métodos para tratar pacientes con dichos cánceres. Los ácidos nucleicos o proteínas relacionados con STEAP-1 también se usan en la generación de respuestas HTL o CTL.

Se usan diversos ensayos inmunológicos útiles para la detección de STEAP-1, que incluyen, pero sin limitación, diversos tipos de radioinmunoensayos, ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA), ensayos inmunofluorescentes ligados a enzimas (ELIFA), métodos inmunocitoquímicos y similares. Los anticuerpos pueden marcarse y usarse como reactivos inmunológicos de formación de imágenes que pueden detectar células que expresen STEAP-1 (por ejemplo, en métodos de formación de imágenes por radioescintigrafía). Las proteínas STEAP-1 son particularmente útiles en la generación de vacunas contra el cáncer, tal como se describe adicionalmente en el presente documento.

#### **IV.) Anticuerpos de STEAP-1**

Otro aspecto de la invención proporciona anticuerpos que se unen a proteínas relacionadas con STEAP-1. Los anticuerpos preferidos se unen específicamente a una proteína relacionada con STEAP-1 y no se unen (o se unen débilmente) a péptidos o proteínas que no son proteínas relacionadas con STEAP-1. Por ejemplo, los anticuerpos que se unen a STEAP-1 pueden unirse a proteínas relacionadas con STEAP-1, tales como los análogos o análogos de las mismas.

Los anticuerpos de STEAP-1 de la invención son particularmente útiles en ensayos diagnósticos y pronósticos del cáncer (véase, por ejemplo, la Tabla I), y metodologías de formación de imagen. De forma similar, dichos anticuerpos son útiles en el tratamiento, diagnóstico y/o pronóstico de otros cánceres, en la medida en la que STEAP-1 también se expresa o se sobreexpresa en estos otros cánceres. Además, los anticuerpos expresados intracelularmente (por ejemplo, anticuerpos monocatenarios) son terapéuticamente útiles en el tratamiento de cánceres, tales como cánceres de próstata avanzados o metastásicos, en los que está implicada la expresión de STEAP-1.

Diversos ensayos inmunológicos son útiles para la detección y cuantificación de STEAP-1 y proteínas mutantes relacionadas con STEAP-1. Dichos ensayos pueden comprender uno o más anticuerpos de STEAP-1 capaces de reconocer y unirse a una proteína relacionada con STEAP-1, siempre que sea apropiado. Estos ensayos se realizan en diversos formatos de ensayos inmunológicos bien conocidos en la técnica, que incluyen pero sin limitación, diversos tipos de radioinmunoensayos, ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA), y ensayos inmunofluorescentes ligados a enzimas (ELIFA), y similares.

Los ensayos inmunológicos sin anticuerpos de la presente invención también comprenden ensayos (inhibidores o estimuladores) de inmunogenicidad con células T así como ensayos de unión al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC).

Además, también se proporcionan métodos inmunológicos de formación de imágenes que pueden detectar el cáncer de próstata y otros cánceres que expresen STEAP-1, incluyendo, pero sin limitación, métodos de formación de imágenes por radioescintigrafía que usan anticuerpos de STEAP-1 marcados. Dichos ensayos son clínicamente útiles en la detección, control, y pronóstico de cánceres, tales como cáncer de próstata, que expresan STEAP-1.

Los anticuerpos de STEAP-1 también se usan en métodos para purificar una proteína relacionada con STEAP-1 y para aislar homólogos y moléculas relacionadas con STEAP-1. Por ejemplo, un método para purificar una proteína relacionada con STEAP-1 comprende incubar un anticuerpo de STEAP-1, que se ha acoplado a una matriz sólida, con un lisado u otra solución que contiene una proteína relacionada con STEAP-1 en condiciones que permitan que el anticuerpo de STEAP-1 se una a la proteína relacionada con STEAP-1; lavar la matriz sólida para eliminar las impurezas; y eluir la proteína relacionada con STEAP-1 del anticuerpo acoplado. Otros usos de los anticuerpos de STEAP-1 incluyen generar anticuerpos antiidiotípicos que imiten a una proteína STEAP-1.

En la técnica se conocen bien diversos métodos para la preparación de anticuerpos. Por ejemplo, pueden prepararse anticuerpos inmunizando a un hospedador mamífero adecuado usando una proteína relacionada con STEAP-1, un péptido, o un fragmento, en forma aislada o inmunoconjugada (Antibodies: A Laboratory Manual, CSH



Press, Eds., Harlow, y Lane (1988); Harlow, *Antibodies*, Cold Spring Harbor Press, NY (1989)). Además, también pueden usarse proteínas de fusión de STEAP-1, tales como una proteína de fusión GST STEAP-1. Puede producirse una proteína de fusión con GST que comprenda todas o que pueda ser la mayoría de las secuencias de aminoácidos de la Figura 2 o Figura 3, después usarse como un inmunógeno para generar anticuerpos apropiados.

Como alternativa, puede sintetizarse una proteína relacionada con STEAP-1 y usarse como un inmunógeno.

Además, se usan las técnicas de inmunización de ADN desnudo conocidas en la técnica (con o sin proteína relacionada con STEAP-1 purificada o células que expresan STEAP-1) para generar una respuesta inmunitaria para el inmunógeno codificado (para una revisión, véase Donnelly *et al.*, 1997, *Ann. Rev. Immunol.* 15: 617-648).

La secuencia de aminoácidos de una proteína STEAP-1, como se muestra en la Figura 2 o Figura 3, puede analizarse para seleccionar regiones específicas de la proteína STEAP-1 para generar anticuerpos. Por ejemplo, los análisis de hidrofobicidad e hidrofiliidad de una secuencia de aminoácidos de STEAP-1 se usan para identificar regiones hidrófilas en la estructura de STEAP-1. Las regiones de una proteína STEAP-1 que muestran estructura inmunogénica, así como otras regiones y dominios, pueden identificarse fácilmente usando diversos métodos distintos conocidos en la técnica, tal como los análisis de Chou-Fasman, Garnier-Robson, Kyte-Doolittle, Eisenberg, Karplus-Schultz o Jameson-Wolf. Los perfiles de Hidrofiliidad pueden generarse usando el método de Hopp, T. P. y Woods, K. R., 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 78: 3824-3828. Los perfiles de Hidropaticidad pueden generarse usando el método de Kyte, J. y Doolittle, R. F., 1982, *J. Mol. Biol.* 157: 105-132. Los perfiles de Porcentaje (%) de Restos Accesibles pueden generarse usando el método de Janin J., 1979, *Nature* 277: 491-492. Los perfiles de Flexibilidad Promedio pueden generarse usando el método de Bhaskaran R., Ponnuswamy P. K., 1988, *Int. J. Pept. Protein Res.* 32: 242-255. Los perfiles de giro Beta pueden generarse usando el método de Deleage, G., Roux B., 1987, *Protein Engineering* 1: 289-294. Por lo tanto, se contempla cada región identificada mediante cualquiera de estos programas o métodos. Los métodos para la generación de anticuerpos de STEAP-1 se ilustran adicionalmente a modo de ejemplos proporcionados en el presente documento. Los métodos para preparar una proteína o un polipéptido para su uso como un inmunógeno son muy conocidos en la técnica. También se conocen bien en la técnica métodos para preparar conjugados inmunogénicos de una proteína con un vehículo, tal como BSA, KLH u otra proteína vehículo. En algunas circunstancias, se usa la conjugación directa usando, por ejemplo, reactivos de carbodiimida; en otros casos son eficaces los reactivos de unión, tales como los suministrados por Pierce Chemical Co., Rockford, IL. La administración de un inmunógeno de STEAP-1 se realiza a menudo mediante inyección a lo largo de un periodo de tiempo adecuado y con el uso de un adyuvante adecuado, tal como se sabe en la técnica. Durante el régimen de inmunización, se pueden tomar títulos de anticuerpos para determinar la idoneidad de la formación de anticuerpos.

Los anticuerpos monoclonales de STEAP-1 pueden producirse por diversos medios bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, líneas celulares inmortalizadas que segregan un anticuerpo monoclonal deseado se preparan usando la tecnología convencional del hibridoma de Kohler y Milstein o modificaciones que immortalizan las células B productoras de anticuerpos, tal como se conoce generalmente. Las líneas celulares inmortalizadas que segregan los anticuerpos deseados se exploran mediante inmunoensayos en los que el antígeno es una proteína relacionada con STEAP-1. Cuando se identifica el cultivo apropiado de células inmortalizadas, las células pueden expandirse y los anticuerpos pueden producirse a partir de cultivos *in vitro* o a partir de fluido ascítico.

Los anticuerpos o fragmentos también pueden producirse a través de medios recombinantes. Las regiones que se unen específicamente a las regiones deseadas de una proteína STEAP-1 también pueden producirse en el contexto de los anticuerpos quiméricos o insertados con una región determinante de la complementariedad (CDR) originados en múltiples especies. También pueden producirse anticuerpos humanizados o humanos de STEAP-1 y se prefieren para su uso en contextos terapéuticos. Se conocen bien métodos para humanizar anticuerpos murinos y otros no humanos, sustituyendo una o más de las CDR del anticuerpo no humano por secuencias de anticuerpo correspondientes humanas (véase por ejemplo, Jones *et al.*, 1986, *Nature* 321: 522-525; Riechmann *et al.*, 1988, *Nature* 332: 323-327; Verhoeven *et al.*, 1988, *Science* 239: 1534-1536). Véase también, Carter *et al.*, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 89: 4285 y Sims *et al.*, 1993, *J. Immunol.* 151: 2296.

Los métodos para producir anticuerpos monoclonales completamente humanos incluyen los métodos de presentación de fagos y transgénicos (para una revisión, véase Vaughan *et al.*, 1998, *Nature Biotechnology* 16: 535-539). Los anticuerpos monoclonales completamente humanos de STEAP-1 pueden generarse usando tecnologías de clonación que emplean genotecas combinatorias de gran tamaño de genes de IgG humana (es decir, presentación de fagos) (Griffiths y Hoogenboom, *Building an in vitro immune system: human antibodies from phage display libraries*. In: *Protein Engineering of Antibody Molecules for Prophylactic and Therapeutic Applications* in Man, Clark, M. (Ed.), Nottingham Academic, páginas 45-64 (1993); Burton y Barbas, *Human Antibodies from combinatorial libraries*. Id., páginas 65-82). Los anticuerpos monoclonales completamente humanos de STEAP-1 también pueden producirse usando ratones transgénicos modificados por ingeniería genética para contener los loci de los genes de inmunoglobulinas humanas como se describe en la Solicitud de Patente PTC WO98/24893, Kucherlapati y Jakobovits *et al.*, publicada el 3 de diciembre de 1997 (véase también, Jakobovits, 1998, *Exp. Opin. Invest. Drugs* 7(4): 607-614; patentes de Estados Unidos 6.162.963 expedida el 19 de diciembre de 2000; 6.150.584 expedida el 12 de noviembre de 2000; y 6.114.598 expedida el 5 de septiembre de 2000). Este método impide la manipulación *in vitro* que se requiere en la tecnología de presentación de fagos y produce eficazmente anticuerpos humanos

auténticos de alta afinidad.

La reactividad de los anticuerpos STEAP-1 con una proteína relacionada con STEAP-1 puede establecerse mediante diversos medios bien conocidos, incluyendo transferencia de Western, inmunoprecipitación, ELISA y análisis por FACS usando, siempre que sea apropiado, proteínas relacionadas con STEAP-1, células que expresan STEAP-1 o extractos de las mismas. Un anticuerpo de STEAP-1 o fragmento del mismo puede marcarse con un marcaje detectable o conjugarse con una segunda molécula. Los marcadores detectables adecuados incluyen, pero sin limitación, un radioisótopo, un compuesto fluorescente, un compuesto bioluminiscente, un compuesto quimioluminiscente, un quelante metálico o una enzima. Además, los anticuerpos biespecíficos específicos para dos o más epítomos de STEAP-1 se generan usando métodos que se conocen generalmente en la técnica. Los anticuerpos homodiméricos pueden generarse también mediante técnicas de entrecruzamiento conocidas en la técnica (por ejemplo, Wolff *et al.*, Cancer Res. 53: 2560-2565).

#### **V.) Respuestas inmunitarias celulares de STEAP-1**

Se ha definido el mecanismo por el cual las células T reconocen antígenos. Las composiciones de vacunas de epítomos peptídicos eficaces de la invención incluyen una respuesta inmunitaria terapéutica o profiláctica en segmentos muy amplios de la población mundial. Para entender el valor y la eficacia de las composiciones de la invención que inducen respuestas inmunitarias celulares, se proporciona una breve revisión de la tecnología relacionada con la inmunología.

Un complejo de una molécula de HLA y un antígeno peptídico actúan como el ligando reconocido por las células T restringidas por HLA (Buus, S. *et al.*, Cell 47: 1071, 1986; Babbitt, B. P. *et al.*, Nature 317: 359, 1985; Townsend, A. y Bodmer, H., Annu. Rev. Immunol. 7: 601, 1989; Germain, R. N., Annu. Rev. Immunol. 11: 403, 1993). A través del estudio de análogos de antígeno con un solo aminoácido sustituido y la secuenciación de péptidos endógenamente unidos, procesados de manera natural, se han identificado restos críticos que corresponden a motivos necesarios para la unión específica a moléculas de antígeno de HLA y se exponen en la Tabla IV (véase también, por ejemplo, Southwood, *et al.*, J. Immunol. 160: 3363, 1998; Rammensee, *et al.*, Immunogenetics 41: 178, 1995; Rammensee *et al.*, SYFPEITHI, acceso a través de la URL de la red informática mundial [www.syfpeithi.bmi-heidelberg.com/](http://www.syfpeithi.bmi-heidelberg.com/); Sette, A. y Sidney, J. Curr. Opin. Immunol. 10: 478, 1998; Engelhard, V. H., Curr. Opin. Immunol. 6: 13, 1994; Sette, A. y Grey, H. M., Curr. Opin. Immunol. 4: 79, 1992; Sinigaglia, F. y Hammer, J. Curr. Biol. 6: 52, 1994; Ruppert *et al.*, Cell 74: 929-937, 1993; Kondo *et al.*, J. Immunol. 155: 4307-4312, 1995; Sidney *et al.*, J. Immunol. 157: 3480-3490, 1996; Sidney *et al.*, Human Immunol. 45: 79-93, 1996; Sette, A. y Sidney, J. Immunogenetics 1999 Nov; 50(3-4): 201-12, Review).

Además, análisis cristalográficos con rayos x de complejos péptido-HLA han revelado bolsillos dentro de la hendidura/surco de la unión peptídica de moléculas de HLA que alojan, de un modo específico de alelo, restos sostenidos por ligandos peptídicos; a su vez, estos restos determinan la capacidad de unión a HLA de los péptidos en los que están presentes. (Véase, por ejemplo, Madden, D. R. Annu. Rev. Immunol. 13: 587, 1995; Smith, *et al.*, Immunity 4: 203, 1996; Fremont *et al.*, Immunity 8: 305, 1998; Stem *et al.*, Structure 2: 245, 1994; Jones, E. Y. Curr. Opin. Immunol. 9: 75, 1997; Brown, J. H. *et al.*, Nature 364: 33, 1993; Guo, H. C. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 90: 8053, 1993; Guo, H. C. *et al.*, Nature 360: 364, 1992; Silver, M. L. *et al.*, Nature 360: 367, 1992; Matsumura, M. *et al.*, Science 257: 927, 1992; Madden *et al.*, Cell 70: 1035, 1992; Fremont, D. H. *et al.*, Science 257: 919, 1992; Saper, M. A., Bjorkman, P. J. y Wiley, D. C., J. Mol. Biol. 219: 277, 1991).

Por consiguiente, la definición de motivos de unión a HLA de clase I y clase II, específica de alelo, o supermotivos de clase I o clase II, permite la identificación de regiones dentro de una proteína que se correlaciona con la unión a uno o más antígenos particulares de HLA.

Por lo tanto, mediante un proceso de identificación de motivos HLA, se han identificado candidatos para vacunas basadas en epítomos; dichos candidatos pueden evaluarse adicionalmente mediante ensayos de unión peptídica a HLA para determinar la afinidad de unión y/o el periodo de tiempo de asociación del epítomo y su molécula de HLA correspondiente. Puede realizarse un trabajo confirmatorio adicional para seleccionar, entre estos candidatos a vacunas, epítomos con características preferidas en cuanto a cobertura poblacional y/o inmunogenicidad.

Para evaluar la inmunogenicidad celular pueden utilizarse diversas estrategias, incluyendo:

1) Evaluación de cultivos primarios de células T de individuos normales (véase, por ejemplo, Wentworth, P. A. *et al.*, Mol. Immunol. 32: 603, 1995; Celis, E. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 2105, 1994; Tsai, V. *et al.*, J. Immunol. 158: 1796, 1997; Kawashima, I. *et al.*, Human Immunol. 59:1, 1998). Este procedimiento implica la estimulación de linfocitos de sangre periférica (LSP) de sujetos normales con un péptido de ensayo en presencia de células presentadoras de antígenos *in vitro* durante un periodo de varias semanas. Las células T específicas para el péptido se vuelven activas durante este tiempo y se detectan usando, por ejemplo, un ensayo de liberación de una linfocina o de <sup>51</sup>Cr que implica células diana sensibilizadas con péptidos.

2) Inmunización de ratones transgénicos HLA (véase, por ejemplo, Wentworth, P. A. *et al.*, J. Immunol. 26: 97, 1996; Wentworth, P. A. *et al.*, Int. Immunol. 8: 651, 1996; Alexander, J. *et al.*, J. Immunol. 159: 4753, 1997). Por ejemplo, en dichos métodos, se administran péptidos en adyuvante incompleto de Freund por vía subcutánea a

ratones transgénicos HLA. Varias semanas después de la inmunización, se extraen los esplenocitos y se cultivan *in vitro* en presencia del péptido de ensayo durante aproximadamente una semana. Las células T específicas del péptido se detectan usando, por ejemplo, un ensayo de liberación de  $^{51}\text{Cr}$  que implica células diana sensibilizadas con péptidos y células diana que expresan antígenos generados endógenamente.

3) Demostración de respuestas recuerdo de células T de individuos inmunes que se han vacunado eficazmente y/o de pacientes con enfermedad crónica (véase, por ejemplo, Rehmann, B. *et al.*, J. Exp. Med. 181: 1047, 1995; Doolan, D. L. *et al.*, Immunity 7: 97, 1997; Berton, R. *et al.*, J. Clin. Invest. 100: 503, 1997; Threlkeld, S. C. *et al.*, J. Immunol. 159: 1648, 1997; Diepolder, H. M. *et al.*, J. Virol. 71: 6011, 1997). Por consiguiente, las respuestas recuerdo se detectan cultivando LSP de sujetos que se han expuesto al antígeno debido a la enfermedad y por lo tanto han generado "de manera natural" una respuesta inmunitaria, o de pacientes que se vacunaron contra el antígeno. Los LSP de los sujetos se cultivan *in vitro* durante 1-2 semanas en presencia del péptido de ensayo y de células presentadoras de antígeno (CPA) para permitir la activación de células T de "memoria" en comparación con células T "vírgenes". Al final del periodo de cultivo, la actividad de las células T se detecta usando ensayos que incluyen la liberación de  $^{51}\text{Cr}$  que implican dianas sensibilizadas con péptidos, proliferación de células T o liberación de linfocinas.

#### **VI.) Animales transgénicos de STEAP-1**

También pueden usarse ácidos nucleicos que codifican una proteína relacionada con STEAP-1 para generar animales transgénicos o animales genosuprimidos ("*knock out*") que, en cambio, son útiles en el desarrollo y la exploración de reactivos terapéuticamente útiles. De acuerdo con técnicas establecidas, el ADNc que codifica STEAP-1 puede usarse para clonar ADN genómico que codifica STEAP-1. Las secuencias genómicas clonadas pueden usarse después para generar animales transgénicos que contengan células que expresen ADN que codifica STEAP-1. Los métodos para generar animales transgénicos, en particular animales tales como ratones o ratas, se han vuelto convencionales en la técnica y se describen, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos Nos 4.736.866, expedida el 12 de abril de 1988 y 4.870.009, expedida el 26 de septiembre de 1989. Normalmente, células particulares deberían estar dirigidas para la incorporación del transgén de STEAP-1 con potenciadores específicos de tejido.

Los animales transgénicos que incluyen una copia o un transgén que codifican STEAP-1 pueden usarse para examinar el efecto de la expresión aumentada del ADN que codifica STEAP-1. Dichos animales pueden usarse como animales de ensayo para reactivos que se cree que confieren protección, por ejemplo, de afecciones patológicas asociadas con su sobreexpresión. De acuerdo con este aspecto de la invención, un animal se trata con un reactivo y una incidencia reducida de una afección patológica, en comparación con los animales no tratados que portan el transgén, indicaría una posible intervención terapéutica para la afección patológica.

Como alternativa, pueden usarse homólogos no humanos de STEAP-1 para construir un animal genosuprimido de STEAP-1 que tiene un gen que codifica STEAP-1 defectuoso o alterado como resultado de la recombinación homóloga entre el gen endógeno que codifica STEAP-1 y el ADN genómico alterado que codifica STEAP-1 introducido en una célula embrionaria del animal. Por ejemplo, el ADNc que codifica STEAP-1 puede usarse para clonar ADN genómico que codifica STEAP-1 de acuerdo con técnicas establecidas. Una porción del ADN genómico que codifica STEAP-1 puede delecionarse o reemplazarse por otro gen, tal como un gen que codifica un marcador de selección, que puede usarse para controlar la integración. Normalmente, en el vector se incluyen varias kilobases de ADN flanqueante inalterado (tanto en el extremo 5' como en el 3') (véase, por ejemplo, Thomas y Capecchi, Cell, 51: 503 (1987) para una descripción de vectores de recombinación homóloga). El vector se introduce en una línea de células madre embrionaria (por ejemplo, por electroporación) y se seleccionan células en las que el ADN introducido se ha recombinado de manera homóloga con el ADN endógeno (véase, por ejemplo, Li *et al.*, Cell, 69: 915 (1992)). Las células seleccionadas se inyectan después en un blastocisto de un animal (por ejemplo, un ratón o una rata) para formar quimeras de agregación (véase, por ejemplo, Bradley, in Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach, E. J. Robertson, ed. (IRL, Oxford, 1987), páginas 113-152). Después, un embrión quimérico puede implantarse en un animal adoptivo hembra pseudogestante adecuado, y llevar a término el embrión para crear un animal genosuprimido. La descendencia portadora de ADN recombinado de manera homóloga en sus células germinales puede identificarse por técnicas convencionales y usarse para criar animales en los que todas las células del animal contienen ADN recombinado de manera homóloga. Los animales genosuprimidos pueden caracterizarse, por ejemplo, por su capacidad para defenderse contra determinadas afecciones patológicas o por desarrollar afecciones patológicas debido a la ausencia de un polipéptido de STEAP-1.

#### **VII.) Métodos para la detección de STEAP-1**

En el presente documento también se describen métodos para detectar polinucleótidos de STEAP-1 y proteínas relacionadas con STEAP-1, así como a métodos para identificar una célula que expresa STEAP-1. El perfil de expresión de STEAP-1 hace de este un marcador diagnóstico para enfermedades metastatizadas. Por consiguiente, el estado de los productos génicos de STEAP-1 proporciona información útil para predecir varios factores, incluyendo susceptibilidad a enfermedad en fase avanzada, velocidad de progresión, y/o agresividad del tumor. Tal como se explica con detalle en el presente documento, el estado de los productos génicos de STEAP-1 en las muestras de pacientes puede analizarse por varios protocolos conocidos bien en la técnica incluyendo análisis

inmunohistoquímico, la variedad de técnicas de transferencia de Northern incluyendo hibridación *in situ*, análisis de RT-PCR (por ejemplo en muestras microdisecionadas por láser de captura), análisis de transferencia de Western y análisis de matriz tisular.

Más en particular, se proporcionan ensayos para la detección de polinucleótidos de STEAP-1 en una muestra biológica, tal como suero, hueso, próstata y otros tejidos, y se proporcionan preparaciones de orina, semen, celulares, y similares. Los polinucleótidos de STEAP-1 detectables incluyen, por ejemplo, un gen de STEAP-1 o fragmento del mismo, ARNm de STEAP-1, los ARNm de una variante alternativa de corte y empalme de STEAP-1, y moléculas de ARN o ADN recombinantes que contienen un polinucleótido de STEAP-1. Se conocen bien en la técnica diversos métodos para amplificar y/o detectar la presencia de los polinucleótidos de STEAP-1.

Un método para detectar un ARNm de STEAP-1 en una muestra biológica puede comprender producir ADNc de la muestra mediante retrotranscripción usando al menos un cebador; amplificar el ADNc producido de este modo usando polinucleótidos de STEAP-1 como cebadores sentido y antisentido para amplificar en su interior los ADNc de STEAP-1; y detectar la presencia del ADNc de STEAP-1 amplificado. Opcionalmente, puede determinarse la secuencia del ADNc amplificado de STEAP-1.

Como alternativa, un método para detectar un gen de STEAP-1 en una muestra biológica comprende aislar primero el ADN genómico de la muestra; amplificar el ADN genómico aislado usando polinucleótidos de STEAP-1 como cebadores sentido y antisentido; y detectar la presencia del gen de STEAP-1 amplificado. A partir de una secuencia de nucleótidos de STEAP-1 puede diseñarse cualquier número de combinaciones de sondas sentido y antisentido (véase, por ejemplo, la Figura 2) y usarse para este fin.

La invención proporciona ensayos para detectar la presencia de una proteína STEAP-1 en un tejido u otra muestra biológica, tal como suero, semen, hueso, próstata, orina, preparaciones celulares y similares. Los métodos para detectar una proteína relacionada con STEAP-1 también se conocen bien e incluyen, por ejemplo, inmunoprecipitación, análisis inmunohistoquímico, análisis de transferencia de Western, ensayos de unión molecular, ELISA, ELIFA y similares. Por ejemplo, un método para detectar la presencia de una proteína relacionada con STEAP-1 en una muestra biológica comprende, poner en contacto primero la muestra con un anticuerpo de STEAP-1, con un fragmento reactivo de STEAP-1 del mismo, o con una proteína recombinante que contenga una región de unión antigénica de un anticuerpo de STEAP-1; y detectar después, en la muestra, la unión de la proteína relacionada con STEAP-1.

También se proporcionan métodos para identificar una célula que exprese STEAP-1. Un ensayo para detectar una célula que exprese un gen de STEAP-1 puede comprender detectar la presencia de ARNm de STEAP-1 en la célula. Se conocen bien métodos para detectar ARNm particulares en células e incluyen, por ejemplo, ensayos de hibridación que usan sondas de ADN complementarias (tales como hibridación *in situ* usando ribosondas de STEAP-1 marcadas, transferencia de Northern y técnicas relacionadas) y diversos ensayos de amplificación de ácidos nucleicos (tales como RT-PCR que usa cebadores complementarios específicos para STEAP-1, y métodos de detección de tipo amplificación, tales como, por ejemplo, ADN ramificado, SISBA, TMA y similares). Como alternativa, un ensayo para la identificación de una célula que expresa un gen STEAP-1 comprende detectar la presencia de una proteína relacionada con STEAP-1 en la célula o secretada por la célula. Se conocen bien en la técnica diversos métodos para la detección de proteínas y se emplean para la detección de proteínas relacionadas con STEAP-1 y células que expresan proteínas relacionadas con STEAP-1.

El análisis de la expresión de STEAP-1 también es útil como una herramienta para identificar y evaluar agentes que modulan la expresión génica de STEAP-1. Por ejemplo, la expresión de STEAP-1 está regulada positivamente de manera significativa en cáncer de próstata, y se expresa en cánceres de los tejidos enumerados en la Tabla I. La identificación de una molécula o de un agente biológico que inhibe la expresión o sobreexpresión de STEAP-1 en células cancerosas es de valor terapéutico. Por ejemplo, dicho agente puede identificarse usando una exploración que cuantifique la expresión de STEAP-1 mediante RT-PCR, hibridación de ácidos nucleicos o unión a anticuerpos.

### **VIII.) Métodos para controlar el estado de genes relacionados con STEAP-1 y sus productos**

Se sabe que la oncogénesis es un proceso multietapa en el que el crecimiento celular se desregula progresivamente y las células progresan desde un estado fisiológico normal a un estado precanceroso y después a estados cancerosos (véase, por ejemplo, Alers *et al.*, Lab Invest. 77(5): 437-438 (1997) e Isaacs *et al.*, Cancer Surv. 23: 19-32 (1995)). En este contexto, examinar una muestra biológica para probar la desregulación celular (tal como la expresión aberrante de STEAP-1 en cánceres) permite la detección temprana de dicha fisiología aberrante, antes de que un estado patológico, tal como cáncer, haya progresado a un estadio en el que las opciones terapéuticas están mucho más limitadas o el pronóstico es peor. En dichos exámenes, el estado de STEAP-1 en una muestra biológica de interés puede compararse, por ejemplo, con el estado de STEAP-1 en una muestra normal correspondiente (por ejemplo una muestra de ese individuo o como alternativa de otro individuo que no está afectado por una patología). Una alteración en el estado de STEAP-1 en la muestra biológica (en comparación con la muestra normal) proporciona una prueba de la desregulación del crecimiento celular. Además de usar una muestra biológica que no está afectada por una patología como una muestra normal, también puede usarse un valor

normativo predeterminado, tal como un nivel normal predeterminado de expresión de ARNm (véase, por ejemplo, Grever *et al.*, J. Comp. Neurol. 9 de dic. 1996; 376(2): 306-14 y la Patente de Estados Unidos Nº 5.837.501) para comparar el estado de STEAP-1 en una muestra.

- 5 El término "estado" en este contexto se usa de acuerdo con su significado aceptado en la técnica y se refiere a la condición o estado de un gen y sus productos. Normalmente, los expertos en la técnica usan diversos parámetros para evaluar la condición o estado de un gen y sus productos. Estos incluyen, pero sin limitación, la localización de productos génicos expresados (incluyendo la localización de células que expresan STEAP-1) así como el nivel, y la actividad biológica de los productos génicos expresados (tal como ARNm, polinucleótidos y polipéptidos de STEAP-1). Normalmente, una alteración en el estado de STEAP-1 comprende un cambio en la localización de STEAP-1 y/o de las células que expresan STEAP-1 y/o un aumento de la expresión del ARNm o la proteína de STEAP-1.

15 El estado STEAP-1 en una muestra puede analizarse mediante diversos medios bien conocidos en la técnica, que incluyen, sin limitación, análisis inmunohistoquímicos, hibridación *in situ*, análisis por RT-PCR en muestras microdisecionadas con láser de captura, análisis de transferencia de Western, y análisis de matriz tisular. Los protocolos típicos para evaluar el estado de un gen de STEAP-1 y de los productos génicos se encuentran, por ejemplo, en Ausubel *et al.* eds., 1995, Current Protocols In Molecular Biology, Unidades 2 (Transferencia de Northern), 4 (Transferencia de Southern), 15 (Inmunotransferencia) y 18 (Análisis por PCR). Por lo tanto, el estado de STEAP-1 en una muestra biológica se evalúa por diversos métodos utilizados por expertos en la técnica que incluyen, pero sin limitación, análisis genómico de Southern (para examinar, por ejemplo, perturbaciones en un gen de STEAP-1), análisis de Northern y/o análisis por PCR del ARNm de STEAP-1 (para examinar, por ejemplo, alteraciones de las secuencias de polinucleótidos o niveles de expresión de los ARNm de STEAP-1), y análisis de Western y/o inmunohistoquímicos (para examinar, por ejemplo, alteraciones en las secuencias polipeptídicas, alteraciones en la localización de los polipéptidos dentro de una muestra, alteraciones en los niveles de expresión de las proteínas de STEAP-1 y/o asociaciones de las proteínas de STEAP-1 con miembros de unión polipeptídicos). Los polinucleótidos detectables de STEAP-1 incluyen, por ejemplo, un gen de STEAP-1 o fragmento del mismo, ARNm de STEAP-1, variantes de corte y empalme alternativas, los ARNm de STEAP-1, y moléculas de ADN o ARN recombinantes que contienen un polinucleótido STEAP-1.

30 El perfil de expresión de STEAP-1 hace de este un marcador diagnóstico para la enfermedad local y/o metastatizada, y proporciona información del crecimiento o potencial oncogénico en una muestra biológica. En particular, el estado de STEAP-1 proporciona información útil para predecir la susceptibilidad a estadios de la enfermedad particulares, progresión y/o agresividad del tumor. La invención proporciona métodos y ensayos para determinar el estado de STEAP-1 y diagnosticar cánceres que expresan STEAP-1, tales como cánceres de los tejidos enumerados en la Tabla I. Por ejemplo, dado que el ARNm de STEAP-1 tiene una expresión muy alta en próstata y en otros cánceres, en comparación con el tejido de próstata normal, los ensayos que evalúan los niveles de los transcritos de ARNm o proteínas de STEAP-1 en una muestra biológica pueden usarse para diagnosticar una enfermedad asociada con la desregulación de STEAP-1, y pueden proporcionar información pronóstica útil en la definición de opciones terapéuticas apropiadas.

40 El estado de expresión de STEAP-1 proporciona información que incluye la presencia, el estadio y la localización de células displásicas, precancerosas y cancerosas, prediciendo la susceptibilidad a distintos estadios de la enfermedad, y/o para calibrar la agresividad de un tumor. Además, el perfil de expresión hace que este sea un reactivo de formación de imágenes útil para enfermedades metastatizadas. Por consiguiente, un aspecto de la invención se dirige a los diversos métodos de pronóstico y diagnóstico molecular para examinar el estado de STEAP-1 en muestras biológicas tales como las de los individuos que padecen, o que se sospecha que padecen, una patología caracterizada por la desregulación del crecimiento celular, tal como cáncer.

50 Tal como se describe anteriormente, el estado de STEAP-1 en una muestra biológica puede examinarse mediante diversos procedimientos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, el estado de STEAP-1 en una muestra biológica tomada en una localización corporal específica puede examinarse evaluando la muestra para detectar la presencia o ausencia de células que expresan STEAP-1 (por ejemplo, aquellas que expresan los ARNm o proteínas de STEAP-1). Este examen puede proporcionar pruebas de desregulación del crecimiento celular, por ejemplo, cuando se encuentran células que expresan STEAP-1 en una muestra biológica que normalmente no contiene dichas células (tal como un ganglio linfático), debido a que dichas alteraciones en el estado de STEAP-1 en una muestra biológica se asocian a menudo con desregulación del crecimiento celular. De modo específico, un indicador de la desregulación del crecimiento celular es la metástasis de células cancerosas desde un órgano de origen (tal como la próstata) a una zona corporal distinta (tal como un ganglio linfático). En este contexto, la prueba de la desregulación del crecimiento celular es importante, por ejemplo, debido a que pueden detectarse metástasis ocultas en ganglios linfáticos en una proporción sustancial de pacientes con cáncer de próstata, y dichas metástasis se asocian con indicadores conocidos de progresión de la enfermedad (véase, por ejemplo, Murphy *et al.*, Prostate 42(4): 315-317 (2000); Su *et al.*, Semin. Surg. Oncol. 18(1): 17-28 (2000) y Freeman *et al.*, J Urol agosto de 1995 154(2 Pt 1): 474-8).

65 En el presente documento se describen métodos para controlar productos génicos de STEAP-1 determinando el estado de los productos génicos de STEAP-1 que se expresan en las células de un individuo que se sospecha que

tiene una enfermedad asociada con desregulación del crecimiento celular (tal como hiperplasia o cáncer) y después comparando el estado determinado de ese modo con el estado de los productos génicos de STEAP-1 en una muestra normal correspondiente. La presencia de productos génicos aberrantes de STEAP-1 en la muestra de ensayo respecto a la muestra normal proporciona una indicación de la presencia de la desregulación del crecimiento celular en las células del individuo.

También se proporcionan ensayos que son útiles en la determinación de la presencia de cáncer en un individuo, que comprende detectar un aumento significativo de la expresión del ARN o de las proteínas de STEAP-1 en una muestra de ensayo de células o tejidos respecto a los niveles de expresión en la célula o tejido normal correspondiente. La presencia de ARNm de STEAP-1 puede evaluarse, por ejemplo, en tejidos que incluyen, pero sin limitación, los enumerados en la Tabla I. La presencia de expresión significativa de STEAP-1 en cualquiera de estos tejidos es útil para indicar la aparición, la presencia y/o la gravedad de un cáncer, ya que los tejidos normales correspondientes no expresan ARNm de STEAP-1 o lo expresan a niveles más bajos.

En un caso referido, el estado de STEAP-1 puede determinarse a nivel de proteína más que a nivel de ácidos nucleicos. Por ejemplo, dicho método comprende determinar el nivel de la proteína STEAP-1 que se expresa en las células en una muestra de tejido de ensayo y comparar el nivel determinado de ese modo con el nivel de STEAP-1 expresado en una muestra normal correspondiente. En una realización, la presencia de la proteína STEAP-1 se evalúa, por ejemplo, usando métodos inmunohistoquímicos. Los anticuerpos o compañeros de unión de STEAP-1, capaces de detectar la expresión de la proteína STEAP-1, se usan en varios formatos de ensayo bien conocidos en la técnica para este fin.

Se puede evaluar el estado de una secuencia de nucleótidos o de aminoácidos de STEAP-1 en una muestra biológica para identificar perturbaciones en la estructura de estas moléculas. Estas perturbaciones pueden incluir inserciones, deleciones, sustituciones y similares. Dichas evaluaciones son útiles ya que estas perturbaciones en las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos se observan en un gran número de proteínas asociadas con un fenotipo de desregulación del crecimiento (véase, por ejemplo, Marrogi *et al.*, 1999, J. Cutan. Pathol. 26(8): 369-378). Por ejemplo, una mutación en la secuencia de STEAP-1 puede ser indicativa de la presencia o promoción de un tumor. Por lo tanto, dichos ensayos tienen un valor diagnóstico y predictivo en el que una mutación de STEAP-1 indica una posible pérdida de función o un aumento en el crecimiento tumoral.

En la técnica se conoce una gran variedad de ensayos para observar perturbaciones en las secuencias de nucleótidos y aminoácidos. Por ejemplo, el tamaño y la estructura de las secuencias de ácidos nucleicos o aminoácidos de los productos génicos de STEAP-1 se observan por los protocolos de Northern, Southern, Western, PCR y secuenciación de ADN, explicados en el presente documento. Además, en la técnica se conocen otros métodos para observar las perturbaciones en las secuencias de nucleótidos y aminoácidos, tales como, análisis de polimorfismo de conformación monocatenaria, (véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos N° 5.382.510 expedida el 7 de septiembre de 1999 y 5.952.170 expedida el 17 de enero de 1995).

Adicionalmente, se puede examinar el estado de metilación de un gen de STEAP-1 en una muestra biológica. La desmetilación y/o hipermetilación aberrante de islas CpG en regiones génicas 5' reguladoras se produce frecuentemente en células inmortalizadas y transformadas, y puede dar como resultado la expresión alterada de diversos genes. Por ejemplo, la hipermetilación del promotor de la glutatión S transferasa de clase pi (una proteína que se expresa en próstata normal pero que no se expresa en > 90 % de los carcinomas de próstata) parece silenciar permanentemente la transcripción de este gen y se detecta más frecuentemente en la alteración en carcinomas de próstata (De Marzo *et al.*, Am. J. Pathol. 155(6): 1985-1992 (1999)). Además, esta alteración está presente en al menos el 70 % de los casos de neoplasia prostática intraepitelial (NPI) de alto grado (Brooks *et al.*, Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 1998, 7: 531-536). En otro ejemplo, la expresión del gen específico de tumores LAGE-1 (que no se expresa en próstata normal pero está expresada en el 25-50 % de los cánceres de próstata) se induce mediante desoxi-azacitidina en células linfoblásticas, sugiriendo que la expresión tumoral se debe a la desmetilación (Lethe *et al.*, Int. J. Cancer 76(6): 903-908 (1998)). En la técnica se conocen diversos ensayos para examinar el estado de metilación de un gen. Por ejemplo, en enfoques de hibridación de Southern, se pueden utilizar enzimas de restricción sensibles a metilación que no pueden escindir secuencias que contienen sitios de CpG metilados para evaluar el estado de metilación de islas de CpG. Además, la MSP (PCR específica de metilación) puede perfilar rápidamente el estado de metilación de los sitios CpG presentes en una isla de CpG de un gen determinado. Este procedimiento implica la modificación inicial del ADN por bisulfito sódico (que convertirá todas las citosinas no metiladas en uracilo) seguido por amplificación usando cebadores específicos para ADN metilado frente a no metilado. También pueden encontrarse protocolos que implican interferencia a la metilación, por ejemplo, en Current Protocols In Molecular Biology, Unidad 12, Frederick M. Ausubel *et al.* eds., 1995.

La amplificación génica es un método adicional para evaluar el estado de STEAP-1. La amplificación génica se mide en una muestra directamente, por ejemplo, mediante transferencia de Southern o de Northern convencional para cuantificar la transcripción del ARNm (Thomas, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 77: 5201-5205), transferencia puntual (análisis de ADN), o hibridación *in situ*, usando una sonda marcada apropiadamente, basándose en las secuencias proporcionadas en el presente documento. Como alternativa, se emplean anticuerpos que reconocen dúplex específicos, incluyendo dúplex de ADN, dúplex de ARN, y dúplex híbridos de ADN-ARN o dúplex de ADN-

proteína. Los anticuerpos en cambio están marcados y el ensayo se lleva a cabo cuando el dúplex se une a una superficie, de modo que después de la formación del dúplex en la superficie, se puede detectar la presencia del anticuerpo unido al dúplex.

- 5 Las biopsias de tejido o de sangre periférica pueden ensayarse convenientemente para determinar presencia de células cancerosas usando, por ejemplo, análisis de Northern, transferencia puntual o RT-PCR para detectar la expresión de STEAP-1. La presencia de ARNm de STEAP-1 amplificable por RT-PCR proporciona una indicación de la presencia de cáncer. Los ensayos de RT-PCR se conocen bien en la técnica. Los ensayos de detección de RT-PCR para células tumorales en sangre periférica se están evaluando actualmente para su uso en el diagnóstico y control de diversos tumores sólidos. En el campo del cáncer de próstata, estos incluyen ensayos de RT-PCR para la detección de células que expresan PSA y PSM (Verkaik *et al.*, 1997, Urol. Res. 25: 373-384; Ghossein *et al.*, 1995, J. Clin. Oncol. 13: 1195-2000; Heston *et al.*, 1995, Clin. Chem. 41: 1687-1688).

15 En el presente documento también se describe una evaluación de la susceptibilidad que un individuo tiene para desarrollar cáncer. Un método para predecir la susceptibilidad al cáncer puede comprender detectar ARNm de STEAP-1 o la proteína STEAP-1 en una muestra de tejido, indicando su presencia la susceptibilidad a cáncer, en la que el grado de expresión de ARNm de STEAP-1 se correlaciona con el grado de susceptibilidad. La presencia de STEAP-1 en próstata u otro tejido puede examinarse, proporcionando la presencia de STEAP-1 en la muestra a una indicación de susceptibilidad a cáncer de próstata (o la aparición o existencia de un tumor de próstata). De manera similar, se pueden evaluar la integridad de secuencias de nucleótidos y aminoácidos de STEAP-1 en una muestra biológica, para identificar perturbaciones en la estructura de estas moléculas tales como inserciones, deleciones, sustituciones y similares. La presencia de una o más perturbaciones en los productos génicos de STEAP-1 en la muestra es una indicación de susceptibilidad a cáncer (o la aparición o existencia de un tumor).

25 En el presente documento también se proporcionan métodos para calibrar la agresividad de un tumor. Un método para calibrar la agresividad de un tumor puede comprender determinar el nivel de ARNm de STEAP-1 o de la proteína STEAP-1 expresado por células tumorales, comparar el nivel así determinado con el nivel de ARNm de STEAP-1 o de la proteína STEAP-1 expresado en un tejido normal correspondiente extraído del mismo individuo o una muestra de tejido normal de referencia, en el que el grado de expresión de ARNm o de la proteína STEAP-1 en la muestra tumoral con respecto a la muestra normal indica el grado de agresividad. La agresividad de un tumor puede evaluarse determinando el grado al cual se expresa STEAP-1 en las células tumorales, indicando los mayores niveles de expresión los tumores más agresivos. La evaluación de la integridad de las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de STEAP-1 puede realizarse en una muestra biológica, para identificar perturbaciones en la estructura de estas moléculas tales como inserciones, deleciones, sustituciones y similares. La presencia de una o más perturbaciones indica tumores más agresivos.

40 En el presente documento también se describen métodos para observar la progresión de una malignidad en un individuo a lo largo del tiempo. Los métodos para observar la progresión de una malignidad en un individuo a lo largo del tiempo comprenden determinar el nivel del ARNm de STEAP-1 o de la proteína STEAP-1 que se expresa en las células en una muestra del tumor, comparando el nivel así determinado con el nivel de ARNm de STEAP-1 o la proteína STEAP-1 que se expresa en una muestra de tejido equivalente extraída del mismo individuo en un momento diferente, donde el grado de expresión de ARNm de STEAP-1 o de la proteína STEAP-1 en la muestra tumoral a lo largo del tiempo proporciona información sobre la progresión del cáncer. La progresión del cáncer puede evaluarse determinando la expresión de STEAP-1 en las células tumorales a lo largo del tiempo, donde la expresión aumentada a lo largo del tiempo indica una progresión del cáncer. También, puede evaluarse la integridad de las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de STEAP-1 en una muestra biológica para identificar perturbaciones en la estructura de estas moléculas tales como inserciones, deleciones, sustituciones y similares donde la presencia de una o más perturbaciones indica una progresión del cáncer.

50 Los enfoques diagnósticos anteriores pueden combinarse con uno cualquiera de una amplia variedad de protocolos pronósticos y en la técnica se conocen protocolos de diagnóstico. Por ejemplo, hay métodos para observar una coincidencia entre la expresión de un gen STEAP-1 y productos génicos de STEAP-1 (o perturbaciones en genes de STEAP-1 y productos génicos de STEAP-1) y un factor que está asociado con la malignidad, como un medio para diagnosticar o pronosticar el estado de una muestra de tejido. Puede utilizarse una amplia variedad de factores asociados con malignidad, tales como la expresión de genes asociados con malignidad (por ejemplo, la expresión de PSA, PSCA y PSM para el cáncer de próstata etc.) así como las observaciones macro citológicas (véase, por ejemplo, Bocking *et al.*, 1984, Anal. Quant. Cytol. 6(2): 74-88; Epstein, 1995, Hum. Pathol. 26(2): 223-9; Thorson *et al.*, 1998, Mod. Pathol. 11(6): 543-51; Baisden *et al.*, 1999, Am. J. Surg. Pathol. 23(8): 918-24). Son útiles métodos para observar una coincidencia entre la expresión de un gen de STEAP-1 y productos génicos de STEAP-1 (o perturbaciones en un gen de STEAP-1 y productos génicos de STEAP-1) y otro factor que está asociado con malignidad, por ejemplo, debido a que la presencia de un conjunto de factores específicos que coinciden con la enfermedad proporciona información crucial para diagnosticar y pronosticar el estado de una muestra de tejido.

65 Los métodos para observar una coincidencia entre la expresión de un gen de STEAP-1 y los productos génicos de STEAP-1 (o perturbaciones en un gen de STEAP-1 y productos génicos de STEAP-1) y otro factor asociado con malignidad suponen detectar la sobreexpresión del ARNm o de la proteína de STEAP-1 en una muestra de tejido,

detectar la sobreexpresión del ARNm o de la proteína de PSA en una muestra de tejido (o la expresión de PSCA o PSM), y observar una coincidencia del ARNm o de la proteína de STEAP-1 y la sobreexpresión del ARNm o de la proteína de PSA (o expresión de PSCA o puede que de PSM). La expresión del ARNm de STEAP-1 y PSA en un tejido prostático puede examinarse, en el que la coincidencia de la sobreexpresión del ARNm de STEAP-1 y PSA en la muestra indica la existencia de cáncer de próstata, la susceptibilidad a cáncer de próstata o la aparición o estado de un tumor de próstata.

En el presente documento se describen métodos para detectar y cuantificar la expresión del ARNm o de la proteína de STEAP-1, y en la técnica se conocen bien tecnologías convencionales para la detección y cuantificación de los ácidos nucleicos y proteínas. Los métodos convencionales para la detección y cuantificación del ARNm de STEAP-1 incluyen hibridación *in situ* usando ribosondas marcadas con STEAP-1, técnicas de transferencia de Northern y relacionadas que usan sondas de polinucleótidos de STEAP-1, análisis por PCR que usan cebadores específicos para STEAP-1, y métodos de detección de tipo amplificación, tales como, por ejemplo, ADN ramificado, SISBA, TMA y similares. Puede usarse RT-PCR semicuantitativa para detectar y cuantificar la expresión del ARNm de STEAP-1. Cualquier serie de cebadores capaces de amplificar STEAP-1 pueden usarse para este fin, incluyendo, pero sin limitación, los diversos conjuntos de cebadores que se describen específicamente en el presente documento. En un ensayo inmunohistoquímico de tejido biopsiado, pueden usarse anticuerpos policlonales o monoclonales reactivos específicamente con la proteína STEAP-1 de tipo silvestre.

#### **IX.) Identificación de moléculas que interaccionan con STEAP-1**

Las secuencias de ácidos nucleicos y proteínas de STEAP-1 que se desvelan en el presente documento permiten a un experto en la técnica identificar proteínas, moléculas pequeñas y otros agentes que interaccionan con STEAP-1, así como rutas activadas por STEAP-1 por medio de cualquiera de varios protocolos aceptados en la técnica. Por ejemplo, puede utilizarse uno de los sistemas denominado trampas de interacción (también mencionado como "ensayo de dos híbridos"). En dichos sistemas, las moléculas interaccionan y reconstituyen un factor de transcripción que dirige la expresión de un gen indicador, después de lo cual se ensaya la expresión del gen indicador. Otros sistemas identifican interacciones proteína-proteína *in vivo* a través de la reconstitución de un activador transcripcional eucariota, véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 5.955.280 expedida el 21 de septiembre de 1999, 5.925.523 expedida el 20 de julio de 1999, 5.846.722 expedida el 8 de diciembre de 1998 y 6.004.746 expedida el 21 de diciembre de 1999. En la técnica también se dispone de algoritmos para realizar predicciones basadas en genoma de la función de las proteínas (véase, por ejemplo, Marcotte, *et al.*, Nature 402: 4 de noviembre de 1999, 83-86).

Como alternativa pueden explorarse bibliotecas de péptidos para identificar moléculas que interaccionan con secuencias proteicas de STEAP-1. En dichos métodos, los péptidos que se unen a STEAP-1 se identifican mediante la exploración de bibliotecas que codifican una colección de aminoácidos aleatorios o controlados. Los péptidos codificados por las bibliotecas se expresan como proteínas de fusión de proteínas de recubrimiento de bacteriófagos, las partículas de bacteriófagos se exploran después contra la proteína o proteínas de STEAP-1.

Por consiguiente, de este modo se identifican péptidos que tienen una amplia variedad de usos, tales como reactivos terapéuticos, pronósticos o diagnósticos sin ninguna información sobre la estructura de la molécula ligando o receptora esperada. Las bibliotecas peptídicas típicas y los métodos de exploración que pueden usarse para identificar partículas que interaccionan con secuencias de la proteína STEAP-1 se divulgan, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos Nos 5.723.286 expedida el 3 de marzo de 1998 y 5.733.731 expedida el 31 de marzo de 1998.

Como alternativa, se usan líneas celulares que expresan STEAP-1 para identificar interacciones proteína-proteína mediadas por STEAP-1. Dichas interacciones pueden examinarse usando técnicas de inmunoprecipitación (véase, por ejemplo, Hamilton B. J., *et al.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 1999, 261: 646-51). La proteína STEAP-1 puede inmunoprecipitarse de líneas celulares que la expresan usando anticuerpos anti-STEAP-1. Como alternativa, pueden usarse anticuerpos contra etiquetas de His en una línea celular modificada por ingeniería genética para expresar fusiones de STEAP-1 y una etiqueta de His (vectores anteriormente mencionados). El complejo inmunoprecipitado puede examinarse para determinar la asociación de proteínas mediante procedimientos tales como transferencia de Western, marcaje de proteínas con <sup>35</sup>S metionina, microsecuenciación de proteínas, tinción con plata y de electroforesis en gel bidimensional.

Las moléculas pequeñas y los ligandos que interaccionan con STEAP-1 pueden identificarse, por ejemplo, a través de dichos ensayos de exploración. Por ejemplo, pueden identificarse moléculas pequeñas que interfieren con la función proteica, incluyendo moléculas que interfieren con la capacidad de STEAP-1 para mediar la fosforilación y desfosforilación, interacción con moléculas de ADN y ARN como una indicación de regulación del ciclo celular, señalización de segundos mensajeros o tumorigénesis. De forma similar, se identifican y se usan moléculas pequeñas que modulan canales iónicos relacionados con STEAP-1, la bomba proteica, o las funciones de comunicación celular para tratar pacientes que tienen un cáncer que expresa STEAP-1 (véase, por ejemplo, Hille, B., Ionic Channels of Excitable Membranes 2ª Ed., Sinauer Assoc., Sunderland, MA, 1992). Además, pueden identificarse ligandos que regulan la función de STEAP-1 basándose en su capacidad para unirse a STEAP-1 y



activar una construcción indicadora. Los métodos típicos se explican, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N° 5.928.868 expedida el 27 de julio de 1999, e incluyen métodos para formar ligandos híbridos en los que al menos un ligando es una molécula pequeña. Por ejemplo, pueden usarse células modificadas por ingeniería genética para expresar una proteína de fusión de STEAP-1 y una proteína de unión a ADN para coexpresar una proteína de fusión de un ligando híbrido/molécula pequeña y una proteína activadora de la transcripción de las bibliotecas de ADNc. Las células además contienen un gen indicador, cuya expresión está condicionada sobre la proximidad entre sí de la primera y la segunda proteína de fusión, un suceso que solo se produce si el ligando híbrido se une a sitios diana de ambas proteínas híbridas. Las células que expresan el gen indicador se seleccionan y se identifica la molécula pequeña desconocida o el ligando desconocido. Este método proporciona un método para identificar moduladores, que activan o inhiben STEAP-1.

En el presente documento se describe un método de exploración de una molécula que interacciona con una secuencia de aminoácidos de STEAP-1 mostrada en la Figura 2 o Figura 3, que comprende las etapas de poner en contacto una población de moléculas con una secuencia de aminoácidos de STEAP-1, permitir que la población de moléculas y la secuencia de aminoácidos de STEAP-1 interaccionen en condiciones que faciliten una interacción, determinar la presencia de una molécula que interacciona con la secuencia de aminoácidos de STEAP-1, y después, separar las moléculas que no interaccionan con la secuencia de aminoácidos de STEAP-1 de las moléculas que lo hacen. El método puede comprender adicionalmente purificar, caracterizar e identificar una molécula que interacciona con la secuencia de aminoácidos de STEAP-1. La molécula identificada puede usarse para modular una función realizada por STEAP-1. La secuencia de aminoácidos de STEAP-1 puede ponerse en contacto con una biblioteca de péptidos.

#### **X.) Métodos terapéuticos y composiciones**

La identificación de STEAP-1 como una proteína que normalmente se expresa en un conjunto restringido de tejidos, pero que también se expresa en próstata y otros cánceres, abre una serie de enfoques terapéuticos para el tratamiento de dichos cánceres. Tal como se contempla en el presente documento, STEAP-1 funciona como un factor transcripcional implicado en la activación de genes promotores de tumores o genes represores que bloquean la tumorigénesis.

Por consiguiente, los enfoques terapéuticos que inhiben la actividad de una proteína STEAP-1 son útiles para los pacientes que padecen un cáncer que expresa STEAP-1. Estos enfoques terapéuticos generalmente se encuentran en dos clases. Una clase comprende diversos métodos para inhibir la unión o asociación de una proteína STEAP-1 con su compañero de unión o con otras proteínas. Otra clase comprende varios métodos para inhibir la transcripción de un gen de STEAP-1 o la traducción del ARNm de STEAP-1.

#### **X.A.) Vacunas contra el cáncer**

En el presente documento se proporcionan vacunas contra el cáncer que comprenden una proteína relacionada con STEAP-1 o un ácido nucleico relacionado con STEAP-1. A la vista de la expresión de STEAP-1, las vacunas contra el cáncer previenen y/o tratan cánceres que expresan STEAP-1 con efectos mínimos o sin ellos en tejidos diana. El uso de un antígeno tumoral en una vacuna que genera respuestas inmunitarias humorales y/o mediadas por células como terapia anticancerosa se conoce bien en la técnica y se ha empleado en cáncer de próstata usando inmunógenos PSMA de seres humanos y PAP de roedores (Hodge *et al.*, 1995, Int. J. Cancer 63: 231-237; Fong *et al.*, 1997, J. Immunol. 159: 3113-3117).

Dichos métodos pueden llevarse fácilmente a la práctica empleando una proteína relacionada con STEAP-1, o una molécula de ácido nucleico que codifica STEAP-1 y vectores recombinantes capaces de expresar y presentar el inmunógeno STEAP-1 (que normalmente comprende una serie de anticuerpos o epítomos de células T). Los expertos en la técnica saben que en la técnica se conoce una amplia variedad de sistemas de vacunas para el suministro de epítomos inmunorreactivos (véase, por ejemplo, Heryln *et al.*, Ann Med 1999 Feb 31(1): 66-78; Maruyama *et al.*, Cancer Immunol Immunother junio de 2000 49(3): 123-32). Brevemente, dichos métodos para generar una respuesta inmunitaria (por ejemplo, humoral y/o mediada por células) en un mamífero, comprenden las etapas de exponer el sistema inmunitario del mamífero a un epítomo inmunorreactivo (por ejemplo, un epítomo presente en una proteína STEAP-1 se muestra en la Figura 3 o un análogo u homólogo de la misma) de modo que el mamífero genera una respuesta inmunitaria que es específica para ese epítomo (por ejemplo, genera anticuerpos que este epítomo reconoce específicamente). En un método preferido, un inmunógeno STEAP-1 contiene un motivo biológico, véanse, por ejemplo, las Tablas V-XVIII y XXII-LI, o un péptido de un tamaño que varía de la STEAP-1 indicada en la Figura 5, Figura 6, Figura 7, Figura 8 y Figura 9.

La proteína STEAP-1 completa, regiones inmunogénicas o epítomos de las mismas pueden combinarse y suministrarse mediante diversos medios. Dichas composiciones de vacunas pueden incluir, por ejemplo, lipopéptidos (por ejemplo, Vitiello, A. *et al.*, J. Clin. Invest. 95: 341, 1995), composiciones peptídicas encapsuladas en micropéptidos de poli(DL-láctido-co-glucólido) ("PLG") (véase, por ejemplo, Eldridge, *et al.*, Molec. Immunol. 28: 287-294, 1991; Alonso *et al.*, Vaccine 12: 299-306, 1994; Jones *et al.*, Vaccine 13: 675-681, 1995), composiciones peptídicas contenidas en complejos inmunoestimuladores (ISCOM) (véase, por ejemplo, Takahashi *et al.*, Nature 344: 873-875,

1990; Hu *et al.*, Clin Exp Immunol. 113: 235-243, 1998), sistemas de péptidos de antígenos múltiples (MAPS) (véase, por ejemplo, Tam, J. P., Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 85: 5409-5413, 1988; Tam, J. P., J. Immunol. Methods 196: 17-32, 1996), péptidos formulados como péptidos multivalentes; péptidos para su uso en sistemas de suministro balístico, normalmente péptidos cristalizados, vectores de suministro viral (Perkus, M. E. *et al.*, In: Concepts in vaccine development, Kaufmann, S. H. E., ed., página 379, 1996; Chakrabarti, S. *et al.*, Nature 320: 535, 1986; Hu, S. L. *et al.*, Nature 320: 537, 1986; Kieny, M. P. *et al.*, AIDS Bio/Technology 4: 790, 1986; Top, F. H. *et al.*, J. Infect. Dis. 124: 148, 1971; Chanda, P. K. *et al.*, Virology 175: 535, 1990), partículas de origen viral o sintético (por ejemplo, Kofler, N. *et al.*, J. Immunol. Methods. 192: 25, 1996; Eldridge, J. H. *et al.*, Sem. Hematol. 30: 16, 1993; Falo, L. D., Jr. *et al.*, Nature Med. 7: 649, 1995), adyuvantes (Warren, H. S., Vogel, F. R., y Chedid, L. A. Annu. Rev. Immunol. 4: 369, 1986; Gupta, R. K. *et al.*, Vaccine 11: 293, 1993), liposomas (Reddy, R. *et al.*, J. Immunol. 148: 1585, 1992; Rock, K. L., Immunol. Today 17: 131, 1996), o ADNc desnudo o absorbido a partículas (Ulmer, J. B. *et al.*, Science 259: 1745, 1993; Robinson, H. L., Hunt, L. A., y Webster, R. G., Vaccine 11: 957, 1993 y Berzofsky, J. A., Annu. Rev. Immunol. 12: 923, 1994 y Eldridge, J. H. *et al.*, Sem. Hematol. 30: 16, 1993). También pueden usarse tecnologías de suministro dirigido por toxinas, también conocidas como direccionamiento mediado por receptores, tales como las de Avant Immunotherapeutics, Inc. (Needham, Massachusetts).

En pacientes con cáncer asociado a STEAP-1, las composiciones de vacuna también pueden usarse junto con otros tratamientos usados para el cáncer, por ejemplo, cirugía, quimioterapia, terapias farmacológicas, radioterapias, etc., incluyendo el uso en combinación con adyuvantes inmunitarios, tales como IL-2, IL-12, GM-CSF y similares.

#### Vacunas celulares:

Los epítomos CTL pueden determinarse usando algoritmos específicos para identificar péptidos dentro de la proteína STEAP-1 que se unan a alelos de HLA correspondientes (véase, por ejemplo, la Tabla IV; Epimer™ y Epimatrix™, Brown University (URL brown.edu/Re-search/TB-HIV\_Lab/epimatrix/epimatrix.html); y BIMAS, (URL bimas.dcrn.nih.gov/; SYFPEITHI at URL syfpeithi.bmi-heidelberg.com/). Un inmunógeno de STEAP-1 puede contener una o más secuencias de aminoácidos identificadas usando técnicas bien conocidas en la materia, tales como las secuencias mostradas en las Tablas V-XVIII y XXII-LI o un péptido de 8, 9, 10 u 11 aminoácidos especificado por un motivo/supermotivo del HLA de Clase I (por ejemplo, Tabla IV (A), Tabla IV (D), o Tabla IV (E)) y/o un péptido de al menos 9 aminoácidos que comprende un motivo/supermotivo del HLA de Clase II (por ejemplo, Tabla IV (B) o Tabla IV (C)). Como se aprecia en la técnica, el surco de unión al HLA de Clase I está esencialmente cerrado en su extremo de modo que solo los péptidos de un intervalo de tamaño particular pueden ajustarse y unirse en el interior del surco, generalmente los epítomos del HLA de Clase I tienen una longitud de 8, 9, 10 u 11 aminoácidos. Por el contrario, el surco de unión del HLA de Clase II está esencialmente abierto en su extremo; por lo tanto una molécula de HLA de Clase II puede unir un péptido de aproximadamente 9 o más aminoácidos. Debido a las diferencias del surco de unión entre el HLA de Clase I y de Clase II, los motivos del HLA de Clase I son específicos de longitud, es decir, la posición dos de un motivo de Clase I es el segundo aminoácido en una dirección amino a carboxilo del péptido. Las posiciones aminoacídicas en un motivo de Clase II son solamente relativas entre sí, no con respecto al péptido total, es decir, en los extremos amino y/o carboxilo de una secuencia portadora de motivos pueden unirse aminoácidos adicionales. Los epítomos del HLA de Clase II tienen a menudo una longitud de 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 aminoácidos o mayor de 25 aminoácidos.

#### Vacunas basadas en anticuerpos

En la técnica se conoce una amplia variedad de métodos para generar una respuesta inmunitaria en un mamífero (como por ejemplo la primera etapa en la generación de hibridomas). Los métodos para generar una respuesta inmunitaria en un mamífero comprenden exponer el sistema inmunitario del mamífero a un epítipo inmunogénico en una proteína (por ejemplo, una proteína STEAP-1) de manera que se genere una respuesta inmunitaria. Se proporciona un método para generar una respuesta inmunitaria contra STEAP-1 en un hospedador, poniendo en contacto el hospedador con una cantidad suficiente de al menos un epítipo de células T citotóxicas o células B de STEAP-1 o análogo de las mismas; y después de esto, poner de nuevo en contacto, al menos durante un intervalo periódico, el hospedador con el epítipo de células T citotóxicas o células B de STEAP-1 o análogo de las mismas. El método puede consistir en generar una respuesta inmunitaria contra una proteína relacionada con STEAP-1 o contra un péptido multiepitópico fabricado por el hombre que comprende: administrar el inmunógeno STEAP-1 (por ejemplo, una proteína STEAP-1 o fragmento peptídico de la misma, una proteína de fusión STEAP-1 o análogo etc.) en una preparación de vacuna para un ser humano u otro mamífero. Normalmente, dichas preparaciones de vacuna contienen adicionalmente un adyuvante adecuado (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 6.146.635) o un epítipo auxiliar universal, tal como un péptido PADRE™ (Epimmune Inc., San Diego, CA; véase, por ejemplo, Alexander *et al.*, J. Immunol. 2000 164(3): 1625-1633; Alexander *et al.*, Immunity 1994 1(9): 751-761 y Alexander *et al.*, Immunol. Res. 1998 18(2): 79-92). Un método alternativo comprende generar una respuesta inmunitaria en un individuo contra un inmunógeno de STEAP-1 mediante: la administración *in vivo* en el músculo o en la piel del organismo del individuo de una molécula de ADN que comprende una secuencia de ADN que codifica un inmunógeno de STEAP-1, unir operativamente la secuencia de ADN a secuencias reguladoras que controlen la expresión de la secuencia de ADN; donde las células captan la molécula de ADN, la secuencia de ADN se expresa en las células y la respuesta inmunitaria se genera contra el inmunógeno (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 5.962.428). Opcionalmente también se administra un facilitador de vacuna genética tal como lípidos

aniónicos; saponinas; lectinas; compuestos estrogénicos; alquilos inferiores hidroxilados; dimetil sulfóxido; y urea. Además, para generar una respuesta contra el antígeno diana, puede administrarse un anticuerpo antiidiotípico que imite a STEAP-1.

#### 5 Vacunas de ácidos nucleicos:

Las composiciones de vacunas incluyen modalidades mediadas por ácidos nucleicos. Al paciente se le puede administrar ADN o ARN que codifique una o más proteínas de la invención. Pueden emplearse métodos de inmunización genética para generar respuestas inmunitarias celulares y humorales, profilácticas o terapéuticas, dirigidas contra células cancerosas que expresen STEAP-1. Pueden inyectarse construcciones que comprendan ADN que codifique una proteína relacionada con STEAP-1/inmunógeno y secuencias reguladoras apropiadas directamente en el músculo o en la piel de un individuo, de modo que las células del músculo o de la piel capten la construcción y expresen la proteína/inmunógeno de STEAP-1 codificado. Como alternativa, una vacuna comprende una proteína relacionada con STEAP-1. La expresión de proteína relacionada con STEAP-1/inmunógeno da como resultado la generación de células contra inmunidad celular y humoral profiláctica o terapéutica que portan una proteína STEAP-1. En la técnica pueden usarse diversas técnicas de inmunización genética profiláctica y terapéutica conocidas en la materia (para una revisión, véase la información y las referencias publicadas en la dirección de internet genweb.com). Se describe el suministro basado en ácidos nucleicos, por ejemplo, en Wolff *et al.*, Science 247: 1465 (1990) así como en las Patentes de Estados Unidos Nos 5.580.859; 5.589.466; 5.804.566; 5.739.118; 5.736.524; 5.679.647; y en el documento WO 98/04720. Los ejemplos de tecnologías de suministro basadas en ADN incluyen "ADN desnudo", suministro facilitado (bupivacaína, polímeros, mediado por péptidos), suministro por complejos lipídicos catiónicos, y mediado por partículas ("bombardeo genético") o mediado por presión (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 5.922.687).

Para los fines de inmunización terapéutica o profiláctica, las proteínas de la invención pueden expresarse mediante vectores virales o bacterianos. En la práctica de la invención pueden usarse diversos sistemas de suministro genético viral que incluyen, pero sin limitación, el virus de la vacuna, la viruela aviar, la viruela del canario, adenovirus, gripe, poliovirus, virus adenoasociados, lentivirus y virus sindbis (véase, por ejemplo, Restifo, 1996, Curr. Opin. Immunol. 8: 658-663; Tsang *et al.* J. Natl. Cancer Inst. 87: 982-990 (1995)). También pueden emplearse sistemas de suministro no virales introduciendo en el paciente (por ejemplo, por vía intramuscular o intradérmica) ADN desnudo que codifique una proteína relacionada con STEAP-1 para inducir una respuesta antitumoral.

El virus de la vacuna se usa, por ejemplo, como un vector para expresar secuencias de nucleótidos que codifican los péptidos de la invención. Después de la introducción en un hospedador, los virus recombinantes de la vacuna expresan el péptido inmunogénico de la proteína, y por lo tanto suscitan una respuesta inmunitaria del hospedador. Los vectores de la vacuna y métodos útiles en los protocolos de inmunización se describen, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos Nº 4.722.848. Otro vector es el BCG (Bacilo de Calmette Guérin). Los vectores BCG se describen en Stover *et al.*, Nature 351: 456-460 (1991). Una amplia variedad de otros vectores útiles para la administración o inmunización terapéutica de los péptidos de la invención, por ejemplo, vectores de adenovirus o adenoasociados, vectores retrovirales, vectores de *Salmonella typhi*, vectores desintoxicados de la toxina del ántrax, y similares, serán obvios para aquellos expertos en la técnica a partir de la descripción del presente documento.

Por lo tanto, los sistemas de suministro de genes se usan para suministrar una molécula de ácido nucleico relacionada con STEAP-1. Puede emplearse el ADNc de longitud completa de la STEAP-1 humana. Como alternativa pueden emplearse moléculas de ácidos nucleicos de STEAP-1 que codifiquen epítomos específicos de linfocitos T citotóxicos (CTL) y/o de anticuerpos.

#### Vacunas ex vivo

También pueden emplearse diversas estrategias *ex vivo* para generar una respuesta inmunitaria. Un enfoque implica el uso de células presentadoras de antígenos (CPA) tales como células dendríticas (CD) para presentar un antígeno de STEAP-1 a un sistema inmunitario de un paciente. Las células dendríticas expresan moléculas de MHC de clase I y clase II, coestimulador B7 e IL-12, y son por lo tanto células presentadoras de antígenos altamente especializadas. En cáncer de próstata, se están usando células dendríticas autólogas pulsadas con péptidos del antígeno de membrana específico de próstata (PSMA) en un ensayo clínico de Fase I para estimular el sistema inmunitario de pacientes con cáncer de próstata (Tjoa *et al.*, 1996, Prostate 28: 65-69; Murphy *et al.*, 1996, Prostate 29: 371-380). Por lo tanto, las células dendríticas pueden usarse para presentar péptidos de STEAP-1 a células T en el contexto de moléculas de MHC de clase I o clase II. Las células dendríticas autólogas pueden pulsarse con péptidos de STEAP-1 capaces de unirse a moléculas de MHC de clase I y/o de clase II. Como alternativa, las células dendríticas pueden pulsarse con la proteína STEAP-1 completa. Incluso otra alternativa implica la modificación por ingeniería genética de la sobreexpresión de un gen de STEAP-1 en células dendríticas usando diversos vectores de implementación conocidos en la técnica, tales como virus adenovirus (Arthur *et al.*, 1997, Cancer Gene Ther. 4: 17-25), retrovirus (Henderson *et al.*, 1996, Cancer Res 56: 3763-3770), lentivirus, virus adenoasociados, transfección de ADN (Ribas *et al.*, 1997, Cancer Res. 57: 2865-2869), o transfección de ARN derivado de tumores (Ashley *et al.*, 1997, J. Exp. Med. 186: 1177-1182). Las células que expresan STEAP-1 también pueden modificarse por ingeniería genética para expresar inmunomoduladores, tales como GM-CSF, y se usarse como agentes inmunizantes.

**X.B.) STEAP-1 como una diana para la terapia basada en anticuerpos**

STEAP-1 es una diana atractiva para estrategias terapéuticas basadas en anticuerpos. En la técnica se conocen diversas estrategias con anticuerpos para dirigirse tanto a moléculas extracelulares como a intracelulares (véase, por ejemplo, la destrucción mediada por el complemento y la CCDA, así como el uso de intracuerpos). Dado que células cancerosas de diversos linajes relativos a células normales correspondientes expresan STEAP-1, se prepara la administración sistémica de composiciones inmunorreactivas de STEAP-1 que muestran sensibilidad excelente sin efectos tóxicos, inespecíficas y no dirigidas causadas por la unión de la composición inmunorreactiva con órganos y tejidos no diana. Los anticuerpos específicamente reactivos con dominios de STEAP-1 son útiles para tratar cánceres que expresan STEAP-1 sistémicamente, bien como conjugados con una toxina o con un agente terapéutico, o como anticuerpos desnudos capaces de inhibir la proliferación o función celular.

Los anticuerpos de STEAP-1 pueden introducirse en un paciente de tal modo que el anticuerpo se una a STEAP-1 y module una función, tal como la interacción con un compañero de unión, y consecuentemente media la destrucción de las células tumorales y/o inhibe el crecimiento de las células tumorales. Los mecanismos mediante los cuales dichos anticuerpos ejercen un efecto terapéutico pueden incluir citólisis mediada por complemento, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, modulación de la función fisiológica de STEAP-1, inhibición de la unión a ligandos o rutas de transducción de señales, modulación de la diferenciación de células tumorales, alteración de perfiles de factores angiogénicos tumorales, y/o apoptosis.

Los expertos en la técnica entienden que los anticuerpos pueden usarse para dirigirse específicamente y unir moléculas inmunogénicas tales como una región inmunogénica de una secuencia de STEAP-1 que se muestra en la Figura 2 o Figura 3. Además, los expertos en la técnica entienden que es habitual conjugar anticuerpos con agentes citotóxicos (véase, por ejemplo, Slevers *et al.* Blood 93: 11 3678-3684 (1 de junio de 1999)). Cuando se suministran agentes citotóxicos y/o terapéuticos directamente a las células, tal como conjugándolos con anticuerpos específicos para una molécula expresada por esa célula (por ejemplo, STEAP-1), el agente citotóxico ejercerá su efecto biológico conocido (es decir, citotoxicidad) en esas células.

En la técnica se conoce una gran variedad de composiciones y métodos para usar conjugados de anticuerpo-agente citotóxico para destruir células. En el contexto de cánceres, los métodos típicos suponen administrar a un animal que tiene un tumor una cantidad biológicamente eficaz de un conjugado que comprende un agente citotóxico y/o terapéutico seleccionado unido a un agente diana (por ejemplo, un anticuerpo anti-STEAP-1) que se une a un marcador (por ejemplo, STEAP-1) expresado, accesible para la unión o localizado en las superficies celulares. Por ejemplo, un método para suministrar un agente citotóxico y/o terapéutico a una célula que expresa STEAP-1, puede comprender conjugar el agente citotóxico con un anticuerpo que se une inmunoespecíficamente a un epítipo de STEAP-1, y exponer la célula al conjugado anticuerpo-agente. Otro ejemplo ilustrativo es un método para tratar a un individuo que se sospecha que padece cáncer metastatizado, que comprende la etapa de administrar a dicho individuo, por vía parenteral, una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo conjugado con un agente citotóxico y/o terapéutico.

La inmunoterapia del cáncer usando anticuerpos anti-STEAP-1 puede realizarse de acuerdo con diversos enfoques que se han empleado satisfactoriamente en el tratamiento de otros tipos de cáncer, incluyendo pero sin limitación, cáncer de colon (Arlen *et al.*, 1998, Crit. Rev. Immunol. 18: 133-138), mieloma múltiple (Ozaki *et al.*, 1997, Blood 90: 3179-3186, Tsunenari *et al.*, 1997, Blood 90: 2437-2444), cáncer gástrico (Kasprzyk *et al.*, 1992, Cancer Res. 52: 2771-2776), linfoma de células B (Funakoshi *et al.*, 1996, J. Immunother. Emphasis Tumor Immunol. 19: 93-101), leucemia (Zhong *et al.*, 1996, Leuk. Res. 20: 581-589), cáncer colorrectal (Moun *et al.*, 1994, Cancer Res. 54: 6160-6166; Velders *et al.*, 1995, Cancer Res. 55: 4398-4403), y cáncer de mama (Shepard *et al.*, 1991, J. Clin. Immunol. 11: 117-127). Algunos enfoques terapéuticos implican la conjugación de anticuerpos desnudos con una toxina o radioisótopo, tal como la conjugación de Y<sup>91</sup> o I<sup>131</sup> con anticuerpos anti-CD20 (por ejemplo, Zevalin<sup>TM</sup>, IDEC Pharmaceuticals Corp. o Bexxar<sup>TM</sup>, Coulter Pharmaceuticals), mientras que otros implican la coadministración de anticuerpos y otros agentes terapéuticos, tales como Herceptin<sup>TM</sup> (trastuzumab) con paclitaxel (Genentech, Inc.). Los anticuerpos pueden conjugarse con un agente terapéutico. Para tratar el cáncer de próstata, por ejemplo, los anticuerpos de STEAP-1 pueden administrarse junto con radiación, quimioterapia o ablación hormonal. Además, los anticuerpos pueden conjugarse con una toxina, tal como calicamicina (por ejemplo, Mylotarg<sup>TM</sup>, Wyeth-Ayerst, Madison, NJ, un anticuerpo IgG<sub>4</sub> kappa humanizado recombinante conjugado con el antibiótico antitumoral calicamicina) o un maitansinoide (por ejemplo, Profármaco Activado por Tumores basado en taxano, TAP, platform, ImmunoGen, Cambridge, MA, véase también, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos 5.416.064).

A pesar de que la terapia con anticuerpos es útil para todos los estadios del cáncer, la terapia con anticuerpos puede ser particularmente apropiada en cánceres avanzados o metastásicos. El tratamiento con la terapia de anticuerpos se indica para pacientes que han recibido uno o más ciclos de quimioterapia. Como alternativa, la terapia con anticuerpos se combina con un régimen quimioterapéutico o de radiación para pacientes que no han recibido tratamiento quimioterapéutico. Adicionalmente, la terapia con anticuerpos puede permitir el uso de dosificaciones reducidas de quimioterapia concomitante, en particular para pacientes que no toleran muy bien la toxicidad del agente quimioterapéutico. Fan *et al.* (Cancer Res. 53: 4637-4642, 1993), Prewett *et al.* (International J. of Onco. 9 :

217-224, 1996), y Hancock *et al.* (Cancer Res. 51: 4575-4580, 1991) describen el uso de diversos anticuerpos junto con agentes quimioterapéuticos.

Aunque la terapia con anticuerpos STEAP-1 es útil para todos los estadios de cáncer, la terapia con anticuerpos puede ser particularmente apropiada en cánceres avanzados o metastásicos. El tratamiento con la terapia de anticuerpos se indica en pacientes que han recibido uno o más ciclos de quimioterapia. Como alternativa, la terapia con anticuerpos de la invención se combina con un régimen quimioterapéutico o de radiación para pacientes que no han recibido tratamiento quimioterapéutico. Adicionalmente, la terapia con anticuerpos puede permitir el uso de dosificaciones reducidas de quimioterapia concomitante, particularmente para pacientes que no toleran muy bien la toxicidad del agente quimioterapéutico. Fan *et al.* (Cancer Res. 53:4637-4642,1993), Prewet *et al.* (International J. of Onco. 9:217-224,1996) y Hancock *et al.* (Cancer Res. 51:4575-480, 1991) describen el uso de diversos anticuerpos junto con agentes quimioterapéuticos.

Se puede evaluar a los pacientes de cáncer con respecto a la presencia y nivel de expresión de STEAP-1, usando preferentemente evaluaciones inmunohistoquímicas de tejido tumoral, formación de imágenes cuantitativas de STEAP-1, u otras técnicas que indican con fiabilidad la presencia y el grado de la expresión de STEAP-1. Para ese fin se prefiere el análisis inmunohistoquímico de biopsias tumorales o de especímenes quirúrgicos. En la técnica se conocen bien métodos de análisis inmunohistoquímico de tejidos tumorales.

Los anticuerpos monoclonales anti-STEAP-1 que tratan la próstata y otros cánceres incluyen aquellos que inician una fuerte respuesta inmunitaria contra el tumor o aquellos que son directamente citotóxicos. A este respecto, los anticuerpos monoclonales (Acm) anti-STEAP-1 pueden suscitar la lisis de células tumorales bien mediante mecanismos de citotoxicidad celular mediada por complemento o dependiente de anticuerpos (CCDA), ambos de los cuales requieren una porción de Fc intacta de la molécula de inmunoglobulina para la interacción con sitios receptores de Fc de la célula efectora en las proteínas del complemento. Además, los Acm anti-STEAP-1 que ejercen un efecto biológico directo en el crecimiento tumoral son útiles para tratar cánceres que expresan STEAP-1. Los mecanismos mediante los cuales los Acm citotóxicos actúan directamente incluyen: inhibición del crecimiento celular, modulación de la diferenciación celular, modulación de los perfiles de factores de angiogénesis tumoral, y la inducción de la apoptosis. El mecanismo, o mecanismos, mediante los cuales un Acm anti-STEAP-1 particular ejerce un efecto antitumoral se evalúan usando diversos ensayos *in vitro* que evalúen la muerte celular, tal como la CCDA, la CMMDA, la lisis celular mediada por complemento, y etcétera, como se conoce generalmente en la técnica.

En algunos pacientes, el uso de anticuerpos monoclonales murinos u otros no humanos, o Acm quiméricos humanos/de ratón puede inducir respuestas inmunitarias de moderadas a fuertes contra el anticuerpo no humano. Esto puede dar como resultado la eliminación del anticuerpo de la circulación y reducir la eficacia. En los casos más graves, dicha respuesta inmunitaria puede conducir a la formación extensa de inmunocomplejos que, posiblemente, pueden causar insuficiencia renal. Por consiguiente, los anticuerpos monoclonales preferidos usados en los métodos terapéuticos de la invención son aquellos que son completamente humanos o humanizados que se unen específicamente al antígeno diana STEAP-1 con alta afinidad pero que muestran baja o ninguna antigenicidad en el paciente.

Los métodos terapéuticos proporcionados en el presente documento contemplan la administración de Acm anti-STEAP-1 sencillos así como combinaciones, o cócteles, de diferentes Acm. Dichos cócteles de Acm pueden tener determinadas ventajas en la medida en que contienen Acm que se dirigen a epítomos diferentes, aprovechan mecanismos efectores diferentes o combinan directamente Acm citotóxicos con Acm que se basan en la funcionalidad inmunoefectora. Dichos Acm en combinación pueden mostrar efectos terapéuticos sinérgicos. Además, los Acm anti-STEAP-1 pueden administrarse simultáneamente con otras modalidades terapéuticas, que incluyen, pero sin limitación, diversos agentes quimioterapéuticos, bloqueos androgénicos, inmunomoduladores (por ejemplo, IL-2, GM-CSF), cirugía o radiación. Los Acm anti-STEAP-1 se administran en su forma "desnuda" o no conjugada, o pueden tener uno o más agentes terapéuticos conjugados con los mismos.

Las formulaciones de anticuerpos anti-STEAP-1 se administran mediante cualquier vía capaz de suministrar los anticuerpos a una célula tumoral. Las vías de administración incluyen, pero sin limitación, la intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intratumoral, intradérmica y similares. El tratamiento generalmente implica la administración repetida de la preparación de anticuerpos anti-STEAP-1, mediante una vía de administración aceptable, tal como la inyección intravenosa (IV), normalmente a una dosis en el intervalo de aproximadamente 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 o 25 mg/kg de peso corporal. En general, las dosis en el intervalo de 10-1000 mg de Acm por semana son eficaces y se toleran bien.

Basándose en la experiencia clínica con el Acm Herceptin™ en el tratamiento del cáncer de mama metastásico, una dosis de carga inicial de aproximadamente 4 mg/kg de peso corporal del paciente IV, seguida de dosis semanales de aproximadamente 2 mg/kg IV de la preparación de Acm anti-STEAP-1 representa un régimen de dosificación aceptable. Preferentemente, la dosis de carga inicial se administra como una infusión de 90 minutos o más larga. La dosis de mantenimiento periódico se administra como una infusión de 30 minutos o más larga, siempre que se tolere bien la dosis inicial. Tal como apreciarán los expertos en la técnica, diversos factores pueden influir en el régimen de dosis ideal en un caso particular. Dichos factores incluyen, por ejemplo, la afinidad de unión y la semivida del Ac o

de los Acn usados, el grado de expresión de STEAP-1, la extensión de antígeno STEAP-1 liberado en la circulación, el nivel de concentración de anticuerpo en estado estacionario deseado, la frecuencia de tratamiento, y la influencia de agentes quimioterapéuticos u otros usados en combinación con el método de tratamiento, así como el estado de salud de un paciente en particular.

Opcionalmente, los niveles de STEAP-1 de los pacientes deben evaluarse en una muestra determinada (por ejemplo, los niveles de antígeno STEAP-1 circulante y/o células que expresan STEAP-1) para ayudar en la determinación del régimen de dosificación más eficaz, etc. Dichas evaluaciones también se usan con fines de control durante la terapia, y son útiles para calibrar el éxito terapéutico en combinación con la evaluación de otros parámetros (por ejemplo, citología urinaria y/o niveles InmunoCyt en la terapia del cáncer de vejiga, o por analogía, niveles del PSA en suero en la terapia del cáncer de próstata).

Los anticuerpos anti-idiotípicos anti-STEAP-1 también pueden usarse en terapia anticáncer como una vacuna para inducir una respuesta inmunitaria contra células que expresan una proteína relacionada con STEAP-1. En particular, la generación de anticuerpos anti-idiotípicos se conoce bien en la técnica; esta metodología puede adaptarse fácilmente para generar anticuerpos anti-idiotípicos anti-STEAP-1 que imitan un epítipo en una proteína relacionada con STEAP-1 (véase, por ejemplo, Wagner *et al.*, 1997, Hybridoma 16: 33-40; Foon *et al.*, 1995, J. Clin. Invest. 96: 334-342; Herlyn *et al.*, 1996, Cancer Immunol. Immunother. 43: 65-76). Dicho un anticuerpo idiográfico puede usarse en estrategias de vacunación contra el cáncer.

### **X.C.) STEAP-1 como una diana para respuestas inmunitarias celulares**

En el presente documento se describen vacunas y métodos para preparar vacunas que contienen una cantidad inmunogénicamente eficaz de uno o más péptidos de unión a HLA. Además, las vacunas de acuerdo con la invención incluyen composiciones de uno o más de los péptidos reivindicados. Un péptido puede estar presente en una vacuna individualmente. Como alternativa, el péptido puede existir como un homopolímero que comprende múltiples copias del mismo péptido, o como un heteropolímero de diversos péptidos. Los polímeros tienen la ventaja de aumentar la reacción inmunológica y de que cuando se usan diferentes epítopos peptídicos para constituir el polímero, tienen capacidad adicional de inducir anticuerpos y/o CTL que reaccionan con diferentes determinantes antigénicos de los organismos patógenos o péptidos relacionados con tumores dirigidos para una respuesta inmunitaria. La composición puede ser una región de origen natural de un antígeno o puede prepararse, por ejemplo, mediante síntesis química o de manera recombinante.

Los vehículos que pueden usarse con las vacunas de la invención se conocen bien en la técnica, e incluyen, por ejemplo, tiroglobulina, albúminas, tales como albúmina de suero humano, toxoide tetánico, poli aminoácidos tales como poli L-lisina, poli ácido L-glutámico, proteína núcleo del virus de la gripe, de la hepatitis B, y similares. Las vacunas pueden contener un diluyente fisiológicamente tolerable (es decir, aceptable) tal como agua, o solución salina, preferentemente solución salina tamponada con fosfato. Las vacunas también incluyen normalmente un adyuvante. Los adyuvantes, tales como, adyuvante completo de Freund, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, o alumbre son ejemplos de materiales bien conocidos en la técnica. Adicionalmente, tal como se divulga en el presente documento, las respuestas CTL pueden sensibilizarse conjugando péptidos de la invención con lípidos, tales como la tripalmitoil-S-glicerilcisteinil-serina (P<sub>3</sub>CSS). Además, se ha descubierto que un adyuvante tal como un oligonucleótido sintético que contiene citosina-fosforiotilado-guanina (CpG) aumenta las respuestas CTL de 10 a 100 veces. (Véase, por ejemplo, Davila y Celis, J. Immunol. 165: 539-547 (2000)).

Después de la inmunización con una composición peptídica, a través de inyección, aerosol, vía oral, transdérmica, transmucosa, intrapleural, intratecal, u otras vías adecuadas, el sistema inmunitario del hospedador responde a la vacuna produciendo grandes cantidades de CTL y/o HTL específicos para el antígeno deseado. Por consiguiente, el hospedador se vuelve al menos parcialmente inmune al desarrollo tardío de células que expresan o sobreexpresan el antígeno STEAP-1, u obtiene al menos algún beneficio terapéutico cuando el antígeno estaba asociado a un tumor.

Puede ser deseable combinar los componentes peptídicos de clase I con componentes que inducen o facilitan la neutralización de respuestas al anticuerpo o a células T auxiliares dirigidas contra el antígeno diana. Preferentemente dicha composición comprende epítopos de clase I y clase II. Como alternativa dicha composición comprende un epítipo de clase I y/o de clase II, junto con un epítipo HTL de reactividad cruzada, tal como la molécula PADRE™ (Epimmune, San Diego, CA) (descrita, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos Número 5.736.142).

Una vacuna también puede incluir células presentadoras de antígeno (CPA), tales como células dendríticas (CD), como un vehículo para presentar los péptidos de la invención. Las composiciones de vacunas pueden crearse *in vitro*, después de la movilización y recogida de las células dendríticas, mediante lo cual se produce la carga de células dendríticas *in vivo*. Por ejemplo, las células dendríticas se transfectan, por ejemplo, con un minigen de acuerdo con la invención, o se pulsan con péptidos. La célula dendrítica puede administrarse después a un paciente para suscitar respuestas inmunitarias *in vivo*. Las composiciones de vacunas, basadas en ADN o en péptidos, pueden administrarse también *in vivo* en combinación con movilización de células dendríticas mediante lo cual se

produce la carga de células dendríticas *in vivo*.

Preferentemente, se utilizan los siguientes principios cuando se selecciona una matriz de epítomos para su inclusión en una composición poliepitópica para su uso en una vacuna, o para seleccionar epítomos distintos a incluir en una vacuna y/o que serán codificados por ácidos nucleicos tales como un minigen. Se prefiere equilibrar cada uno de los siguientes principios para realizar la selección. Los múltiples epítomos a incorporar en una composición de vacunación determinada pueden ser, pero no son necesariamente, contiguos en la secuencia en el antígeno nativo del cual derivan los epítomos.

1.) Se seleccionan epítomos que, después de la administración, imitan respuestas inmunitarias que se han observado que se correlacionan con la eliminación del tumor. Para el HLA de Clase I esto incluye 3-4 epítomos que proceden de al menos un antígeno asociado a tumor (AAT). Para el HLA de Clase II se emplea una lógica similar; nuevamente se seleccionan 3-4 epítomos de al menos un AAT (véase, por ejemplo, Rosenberg *et al.*, Science 278: 1447-1450). Los epítomos de un AAT pueden usarse en combinación con epítomos de uno o más AAT adicionales para producir una vacuna que se dirija a tumores con patrones de expresión variables o a los AAT frecuentemente expresados.

2.) Se seleccionan los epítomos que tienen la afinidad de unión necesaria establecida para correlacionarse con inmunogenicidad: para el HLA de Clase I una  $CI_{50}$  de 500 nM o menor, a menudo de 200 nM o menor; y para el de la Clase II una  $CI_{50}$  de 1000 nM o menor.

3.) Se seleccionan suficientes péptidos portadores de supermotivos, o una matriz suficiente de péptidos portadores de motivos específicos de alelo, para dar una amplia cobertura de población. Por ejemplo, es preferible tener una cobertura de población de al menos 80 %. Puede emplearse un análisis de Monte Carlo, una evaluación estadística conocida en la técnica, para evaluar la amplitud, o la redundancia de, una cobertura de población.

4.) Cuando se seleccionan epítomos de antígenos relacionados con cáncer a menudo es útil seleccionar análogos debido a que el paciente puede haber desarrollado tolerancia al epítomo nativo.

5.) Los epítomos mencionados como "epítomos anidados" son de particular relevancia. Los epítomos anidados se producen cuando en una secuencia peptídica determinada se solapan al menos dos epítomos. Una secuencia peptídica anidada puede comprender epítomos de célula B, de HLA de clase I y/o clase II. Cuando se proporcionan epítomos anidados, un objetivo general es proporcionar el mayor número de epítomos por secuencia. Por lo tanto, un aspecto es impedir proporcionar un péptido que tenga cualquier longitud mayor que la del extremo amino del epítomo amino terminal y que la del extremo carboxilo del epítomo carboxilo terminal en péptido. Cuando se proporciona una secuencia multiepitópica, tal como una secuencia que comprende epítomos anidados, generalmente es importante explorar la secuencia para asegurarse que no tiene propiedades patológicas u otras propiedades biológicas perjudiciales.

6.) Si se crea una proteína poliepitópica, o cuando se crea un minigen, es un objetivo generar el péptido de menor tamaño que incluya los epítomos de interés. Este principio es similar, sino es el mismo que el que se emplea cuando se selecciona un péptido que comprende epítomos anidados. Sin embargo, con un péptido poliepitópico artificial, el objetivo de minimización del tamaño se equilibra contra la necesidad de integrar cualquier secuencia espaciadora entre los epítomos en la proteína poliepitópica. Pueden introducirse restos de aminoácidos espaciadores, por ejemplo, para impedir epítomos de unión (un epítomo reconocido por el sistema inmunitario, no presente en el antígeno diana, y creado solamente por la yuxtaposición artificial de epítomos), o para facilitar la escisión entre epítomos y por lo tanto potenciar la presentación epitópica. Generalmente se impedirá que haya epítomos de unión ya que el receptor puede generar una respuesta inmunitaria contra ese epítomo no nativo. Es de particular preocupación que un epítomo de unión sea un "epítomo dominante". Un epítomo dominante puede conducir a una respuesta fervorosa de modo que las respuestas inmunitarias contra otros epítomos disminuyen o se suprimen.

7.) Cuando están presentes las secuencias de variables múltiples de la misma proteína diana, los posibles epítomos peptídicos también pueden seleccionarse basándose en su conservación. Por ejemplo, un criterio de conservación puede definir que toda la secuencia de un péptido de unión a un HLA de clase I o que todo el núcleo de 9-meros de un péptido de unión a la clase II se conserve en un porcentaje designado de las secuencias evaluadas para un antígeno proteico específico.

### X.C.1. Vacunas de minigenes

Se dispone de diversos enfoques que permiten el suministro simultáneo de múltiples epítomos. Los ácidos nucleicos que codifican los péptidos de la invención son particularmente útiles. Los epítomos para su inclusión en un minigen se seleccionan preferentemente de acuerdo con las directrices expuestas en la sección anterior. Un medio preferido para administrar ácidos nucleicos que codifican los péptidos usa construcciones de minigenes que codifican un péptido que comprende uno o múltiples epítomos descritos en el presente documento.

El uso de minigenes multiepitópicos se describe a continuación y en, Ishioka *et al.*, J. Immunol. 162: 3915-3925, 1999; An, L. y Whitton, J. L., J. Virol. 71: 2292, 1997; Thomson, S. A. *et al.*, J. Immunol. 157: 822, 1996; Whitton, J. L. *et al.*, J. Virol. 67: 348, 1993; Hanke, R. *et al.*, Vaccine 16: 426, 1998. Por ejemplo, un plásmido de ADN multiepitópico que codifica epítomos portadores de supermotivos y/o motivos derivados de STEAP-1, el epítomo de células T auxiliares universal PADRE® o múltiples epítomos de HTL de STEAP-1 (véanse, por ejemplo, las Tablas V-XVIII y XXII a LI), y una secuencia señal de translocación en el retículo endoplasmático, pueden modificarse por

ingeniería genética. Una vacuna también puede comprender epítomos que deriven de otros AAT.

La inmunogenicidad de un minigen multiepitópico puede confirmarse en ratones transgénicos para evaluar la magnitud de respuestas de inducción de CTL contra los epítomos ensayados. Además, la inmunogenicidad de epítomos codificados por ADN *in vivo* puede correlacionarse con las respuestas *in vitro* de líneas CTL específicas contra células diana transfectadas con el ADN plasmídico. Por tanto, estos experimentos pueden mostrar que los minigenes sirven para: 1.) generar una respuesta CTL y 2.) que las células inducidas reconocidas por los CTL expresen los epítomos codificados.

Por ejemplo, para crear una secuencia de ADN que codifique los epítomos seleccionados (minigen) para la expresión en células humanas, las secuencias de aminoácidos de los epítomos pueden retrotranscribirse. Se puede usar una tabla de uso de codones humanos para guiar la elección de codones para cada aminoácido. Estas secuencias de ADN que codifican epítomos pueden unirse directamente, de modo que, cuando se traduzcan, se crea una secuencia polipeptídica continua. Para optimizar la expresión y/o la inmunogenicidad, pueden incorporarse elementos adicionales en el diseño del minigen. Los ejemplos de secuencias de aminoácidos que pueden retrotranscribirse e incluirse en la secuencia del minigen incluyen: epítomos de HLA de clase I, epítomos de HLA de clase II, epítomos de anticuerpos, una secuencia señal de ubiquitinación, y/o una señal dirigida al retículo endoplasmático. Además, la presentación HLA de los epítomos CTL y HTL puede mejorarse incluyendo secuencias sintéticas (por ejemplo, de polialanina) o flanqueantes de origen natural adyacentes a los epítomos CTL o HTL.

La secuencia del minigen puede convertirse en ADN ensamblando oligonucleótidos que codifican las cadenas positivas y negativas del minigen. Los oligonucleótidos solapantes (de 30-100 bases de longitud) pueden sintetizarse, fosforilarse, purificarse e hibridarse en condiciones apropiadas usando técnicas bien conocidas. Los extremos de los oligonucleótidos pueden unirse, por ejemplo, usando ADN ligasa de T4. Este minigen sintético, que codifica el polipéptido epitópico, puede después clonarse en un vector de expresión deseado.

Las secuencias reguladoras convencionales bien conocidas por los expertos en la materia se incluyen preferentemente en el vector para garantizar la expresión en las células diana. Varios elementos del vector son deseables: un promotor con un sitio de clonación aguas abajo para la inserción de minigen; una señal de poliadenilación para la terminación eficaz de la transcripción; un origen de replicación de *E. coli*; y un marcador de selección de *E. coli* (por ejemplo, resistencia a ampicilina o a kanamicina). Para este fin pueden usarse numerosos promotores, por ejemplo, el promotor del citomegalovirus humano (hCMV). Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos Nos 5.580.859 y 5.589.466 para otras secuencias promotoras adecuadas.

Pueden desearse modificaciones adicionales del vector para optimizar la expresión y la inmunogenicidad de los minigenes. En algunos casos, se requieren intrones para la expresión génica eficaz, y uno o más intrones sintéticos o de origen natural podrían incorporarse en la región transcrita de un minigen. La inclusión de secuencias estabilizadoras de ARNm y secuencias para la replicación en células de mamífero podría considerarse también para aumentar la expresión del minigen.

Una vez que se selecciona un vector de expresión, el minigen se clona en la región polienlazadora aguas abajo del promotor. Este plásmido se transforma en una cepa apropiada de *E. coli*, y se prepara ADN usando técnicas convencionales. La orientación y la secuencia de ADN del minigen, así como del resto de elementos incluidos en el vector, se confirman usando mapeo de restricción y análisis de secuencia de ADN. Las células bacterianas que alojan el plásmido correcto pueden conservarse como un banco de células maestras y como un banco de células de trabajo.

Además, parece que las secuencias inmunoestimuladoras (ISS o CpG) juegan un papel en la inmunogenicidad de las vacunas de ADN. Estas secuencias pueden incluirse en el vector, fuera de la secuencia codificante del minigen, si se desea potenciar la inmunogenicidad.

Puede usarse un vector de expresión bicistrónico que permita la producción tanto de epítomos codificados por el minigen como de una segunda proteína (incluida para potenciar o disminuir la inmunogenicidad). Los ejemplos de proteínas o polipéptidos que pueden potenciar beneficiosamente la respuesta inmunitaria, si se coexpresan, incluyen citocinas (por ejemplo, IL-2, IL-12, GM-CSF), moléculas inductoras de citocinas (por ejemplo, I $\epsilon$ IF), moléculas coestimuladoras, o para respuestas HTL, proteínas de unión a pan-DR (PADRE<sup>TM</sup>, Epimmune, San Diego, CA). Pueden unirse epítomos (HTL) auxiliares a las señales de direccionamiento intracelular y expresarse por separado de los epítomos CTL expresados; esto permite la dirección de los epítomos HTL a un compartimento celular distinto que el de los epítomos CTL. Si se requiere, esto podría facilitar una entrada más eficaz de los epítomos HTL en la ruta del HLA de clase II, mejorando de este modo la inducción de HTL. Por el contrario, la inducción de HTL o CTL, disminuyendo específicamente la respuesta inmunitaria mediante la coexpresión de moléculas inmunosupresoras (por ejemplo, TGF- $\beta$ ) puede ser beneficioso en determinadas enfermedades.

Pueden producirse cantidades terapéuticas de ADN plasmídico, por ejemplo, por fermentación en *E. coli*, seguido de purificación. Se usan alícuotas del banco de células de trabajo para inocular medio de crecimiento, y crecen hasta la saturación en matraces agitadores o en un biorreactor de acuerdo con técnicas bien conocidas. El ADN plasmídico puede purificarse usando tecnologías convencionales de bioseparación, tales como resinas de intercambio aniónico



en fase sólida proporcionadas por QIAGEN, Inc. (Valencia, California). Si se requiere puede aislarse ADN superenrollado de las formas abiertas circulares y lineales usando electroforesis en gel u otros métodos.

El ADN plasmídico purificado puede prepararse para inyección usando varias formulaciones. La más sencilla de estas es la reconstitución de ADN liofilizado en solución salina tamponada con fosfato (PBS). Este enfoque, conocido como "ADN desnudo", se usa actualmente para la administración intramuscular (IM) en ensayos clínicos. Para maximizar los efectos inmunoterapéuticos de las vacunas de ADN de minigenes, puede ser deseable un método alternativo para formular el ADN plasmídico purificado. Se han descrito varios métodos, y pueden estar disponibles nuevas técnicas. También se pueden usar en la formulación cationes lipídicos, glucolípidos y liposomas fusogénicos (véase, por ejemplo, tal como se describe en el documento WO 93/24640; Mannino y Gould-Fogerite, *BioTechniques* 6(7): 682 (1988); Patente de Estados Unidos Nº 5.279.833; documento WO 91/06309; y Felgner, *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. EE.UU.* 84: 7413 (1987). Además, los péptidos y compuestos denominados en su conjunto compuestos protectores, interactivos, no condensadores (PINC) podrían también formar complejos con ADN plasmídico purificado para ejercer influencia sobre variables tales como la estabilidad, la dispersión intramuscular, o el tránsito a órganos o a tipos de células específicos.

La sensibilización de células diana puede usarse como un ensayo funcional para la expresión y la presentación del HLA de clase I de los epítomos CTL codificados por minigenes. Por ejemplo, el ADN plasmídico se introduce en una línea celular de mamífero que es adecuada como una diana para ensayos de liberación de cromo de CTL convencionales. El método de transfección usado dependerá de la formulación final. La electroporación puede usarse para ADN "desnudo", mientras que los lípidos catiónicos permiten la transfección directa *in vitro*. Un plásmido que expresa la proteína verde fluorescente (GFP) puede cotransfectarse para permitir el enriquecimiento de células transfectadas usando clasificación celular activada por fluorescencia (FACS). Estas células se marcan después con cromo-51 (<sup>51</sup>Cr) y se usan como células diana para las líneas CTL específicas de epítomos; la citolisis, detectada por la liberación de <sup>51</sup>Cr indica tanto la producción de, como la presentación de HLA de, los epítomos CTL codificados por minigenes. La expresión de los epítomos HTL puede evaluarse de un modo análogo usando ensayos para evaluar la actividad de HTL.

La inmunogenicidad *in vivo* es un segundo enfoque para el ensayo funcional de las formulaciones de minigenes de ADN. Ratones transgénicos que expresan proteínas de HLA humanas apropiadas se inmunizan con el producto de ADN. La dosis y la vía de administración son dependientes de la formulación (por ejemplo, IM para ADN en PBS, intraperitoneal (i.p.) para lípidos que forman complejos con ADN). Veintiún días después de la inmunización, se recogen esplenocitos y se reestiman durante una semana en presencia de péptidos que codifican cada epítomo a ensayar. Después de eso, para las células efectoras CTL, se realizan ensayos para la citolisis de células diana marcadas con <sup>51</sup>Cr, cargadas con péptidos, usando técnicas convencionales. La lisis de las células diana que se sensibilizaron mediante HLA cargados con epítomos peptídicos, correspondientes a epítomos codificados por minigenes, demuestra la función de las vacunas de ADN para la inducción *in vivo* de los CTL. La inmunogenicidad de los epítomos HTL se confirma en los ratones transgénicos de un modo análogo.

Como alternativa, los ácidos nucleicos pueden administrarse usando suministro balístico, como se describe, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos Nº 5.204.253. Usando esta técnica, se administran partículas que solo comprenden ADN. Como alternativa, el ADN puede adherirse a partículas, tales como, partículas de oro.

Los minigenes también pueden suministrarse usando otros sistemas de suministro bacterianos o virales bien conocidos en la técnica, por ejemplo, una construcción de expresión que codifica epítomos de la invención puede incorporarse en un vector viral tal como una vacuna.

### **X.C.2. Combinaciones de péptidos CTL con péptidos auxiliares**

Las composiciones de vacunas que comprenden péptidos CTL de la invención pueden modificarse, por ejemplo, analogarse, para proporcionar atributos deseados, tales como semivida en suero mejorada, cobertura de población aumentada o inmunogenicidad potenciada.

Por ejemplo, la capacidad de un péptido para inducir actividad CTL puede potenciarse ligando el péptido a una secuencia que contiene al menos un epítomo que es capaz de inducir una respuesta de células T auxiliares. A pesar de que un péptido CTL puede ligarse directamente a un péptido auxiliar T, a menudo los conjugados epítomo CTL/epítomo HTL se ligan mediante una molécula espaciadora. El espaciador normalmente comprende moléculas neutras, relativamente pequeñas, tales como aminoácidos o miméticos de aminoácidos, que sustancialmente no están cargados en condiciones fisiológicas. Los espaciadores se seleccionan normalmente, por ejemplo, de Ala, Gly, u otros espaciadores neutros de aminoácidos no polares o aminoácidos polares neutros. Se entenderá que el espaciador opcionalmente presente no necesita comprender los mismos restos y por lo tanto puede ser un hetero- u homo- oligómero. Cuando está presente, el espaciador habitualmente tendrá al menos uno o dos restos, más usualmente de tres a seis restos y a veces de 10 o más restos. El epítomo peptídico CTL puede ligarse al epítomo peptídico auxiliar T directamente o mediante un espaciador en cualquiera de los extremos amino o carboxilo del péptido CTL. El extremo amino bien del péptido inmunogénico o del péptido auxiliar T puede estar acilado.

En determinados casos, el péptido auxiliar T puede ser uno que reconozca a las células T auxiliares presentes en una mayoría de una población genéticamente diversa. Esto puede llevarse a cabo seleccionando péptidos que se unan a muchos, a la mayoría, o a todas las moléculas de HLA de clase II. Los ejemplos de dichos aminoácidos que se unen a muchas moléculas de HLA de clase II incluyen secuencias de antígenos tales como el *toxóide tetánico* en las posiciones 830-843 (QYIKANSKFIGITE; SEC ID N°: 44), la proteína del circumsporozoito (CS) de *Plasmodium falciparum* en las posiciones 378-398 (DIEKKIAKMEKASSVFNVNS; SEC ID N°: 45) y la proteína de 18 kD de *Streptococcus* en las posiciones 116-131 (GAVDSILGGVATYGAA; SEC ID N°: 46). Otros ejemplos incluyen péptidos portadores de un supermotivo DR 1-4-7, o cualquiera de los motivos de DR3.

Como alternativa, es posible preparar péptidos sintéticos capaces de estimular linfocitos T auxiliares, de una manera débilmente restringida al HLA, usando secuencias de aminoácidos que no se encuentran en la naturaleza (véase, por ejemplo, la publicación PCT WO 95/07707). Estos compuestos sintéticos denominados epítomos de unión Pan-DR (por ejemplo, PADRE™, Epimmune, Inc., San Diego, CA) se diseñan más preferentemente, para unirse a la mayoría de moléculas HLA-DR (HLA de clase II humano). Por ejemplo, se ha descubierto un péptido epitópico de unión pan-DR que tiene la fórmula: aKXVAAWTLKAAa (SEC ID N°: 47), en la que "X" es ciclohexilalanina, fenilalanina o tirosina, y a es D-alanina o L-alanina, que se une a la mayoría de los alelos HLA-DR, y estimula la respuesta de linfocitos T auxiliares de la mayoría de individuos, independientemente de su tipo HLA. Una alternativa de un epítomo de unión pan-DR comprende todos los aminoácidos naturales "L" y puede proporcionarse en forma de ácidos nucleicos que codifican el epítomo.

Los epítomos peptídicos de HTL también pueden modificarse para alterar sus propiedades biológicas. Por ejemplo, pueden modificarse para incluir D aminoácidos para aumentar su resistencia a proteasas y por lo tanto prolongar su semivida en suero, o pueden conjugarse con otras moléculas tales como lípidos, proteínas, carbohidratos y similares para aumentar su actividad biológica. Por ejemplo un péptido auxiliar T puede conjugarse con una o más cadenas de ácido palmítico en cualquiera de los extremos amino o carboxilo.

### X.C.3. Combinaciones de Péptidos CTL con Agentes sensibilizadores de Células T

Puede ser deseable incluir en las composiciones farmacéuticas de la invención al menos un componente que sensibilice a los linfocitos B o T. Se han identificado lípidos como agentes capaces de sensibilizar a CTL *in vivo*. Por ejemplo, restos de ácido palmítico pueden acoplarse a los grupos  $\epsilon$ - y  $\alpha$ - amino de un resto de lisina y después ligarse, por ejemplo, mediante uno o más restos de ligamiento, tales como Gly, Gly-Gly-, Ser, Ser-Ser, o similares, a un péptido inmunogénico. El péptido lipidado puede después administrarse bien directamente en una micela o partícula, incorporarse en un liposoma, o emulsionarse en un adyuvante, por ejemplo, adyuvante incompleto de Freund. Una composición inmunogénica particularmente eficaz comprende ácido palmítico acoplado a grupos  $\epsilon$ - y  $\alpha$ - amino de Lys, que está acoplado por ligamiento, por ejemplo, Ser-Ser, con el extremo amino del péptido inmunogénico.

Como otro ejemplo de sensibilización con lípidos de respuestas CTL, pueden usarse lipoproteínas de *E. coli*, tales como tripalmitoil-S-gliceril-cisteinilseril-serina (P<sub>3</sub>CSS) para sensibilizar CTL específicos de virus cuando se acoplan covalentemente a un péptido apropiado (véase, por ejemplo, Deres, *et al.*, Nature 342:561, 1989). Los péptidos de la invención pueden acoplarse con P<sub>3</sub>CSS, por ejemplo, y el lipopéptido administrarse a un individuo para sensibilizar específicamente una respuesta inmunitaria contra el antígeno diana. Además, dado que la inducción de anticuerpos neutralizantes también puede sensibilizarse con epítomos conjugados con P<sub>3</sub>CSS, pueden combinarse dos de dichas composiciones para suscitar más eficazmente respuestas tanto humorales como mediadas por células.

**X.C.4. Composiciones de vacunas que comprenden CD pulsadas con péptidos CTL y/o HTL** Una composición de vacuna puede comprender la administración *ex vivo* de un coctel de péptidos portadores de epítomos contra CMSP, o CD aisladas de las mismas, de la sangre de un paciente. Puede usarse un agente farmacéutico, tal como Progenipoiectin™ (Farmacia-Monsanto, St. Louis, MO) o GM-CSF/IL-4, para facilitar la recogida de las CD. Después de pulsar las CD con los péptidos y antes de la reinfusión en los pacientes, las CD se lavan para eliminar los péptidos no unidos. Esta vacuna comprende las CD pulsadas con péptidos que presentan los epítomos peptídicos pulsados formando complejos con moléculas de HLA en sus superficies.

Las CD pueden pulsarse *ex vivo* con un coctel de péptidos, algunos de los cuales estimulan respuestas CTL contra STEAP-1. Opcionalmente, un péptido de célula T auxiliar (HTL), tal como un péptido natural o artificial débilmente restringido para el HLA de Clase II, puede incluirse para facilitar la respuesta CTL. Por lo tanto, se usa una vacuna para tratar un cáncer que expresa o sobreexpresa STEAP-1.

### X.D. Inmunoterapia adoptiva

Los péptidos antigénicos relacionados con STEAP-1 se usan también para suscitar una respuesta CTL y/o HTL *ex vivo*. Las células CTL o HTL resultantes, pueden usarse para tratar tumores en pacientes que no responden a otras formas de terapia convencionales, o que no responderán contra un péptido o ácido nucleico en la vacuna terapéutica de acuerdo con la invención. Las respuestas CTL o HTL *ex vivo* contra un antígeno particular se inducen incubando, en cultivo tisular, las células precursoras CTL o HTL del paciente, o genéticamente compatibles, junto con una

fuelle de células presentadoras de antígenos (CPA), tales como células dendríticas, y el péptido inmunogénico apropiado. Después de un tiempo de incubación apropiado (normalmente de aproximadamente 7-28 días), en el que las células precursoras se activan y se expanden en células efectoras, las células se vuelven a infundir en el paciente, donde destruirán (CTL) o facilitarán la destrucción (HTL) de sus células diana específicas (por ejemplo, una célula tumoral). También pueden usarse células dendríticas transfectadas como células presentadoras de antígeno.

#### **X.E. Administración de vacunas para fines terapéuticos o profilácticos**

Las composiciones farmacéuticas y de vacuna descritas en el presente documento se usan para tratar y/o prevenir un cáncer que expresa o sobreexpresa STEAP-1. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones de péptidos y/o ácidos nucleicos se administran a un paciente en una cantidad suficiente para suscitar una respuesta eficaz de células B, CTL y/o HTL contra el antígeno y para curar o al menos detener parcialmente o ralentizar los síntomas y/o complicaciones. Una cantidad adecuada para conseguir esto se define como "dosis terapéuticamente eficaz". Las cantidades eficaces para este uso dependerán, por ejemplo, de la composición particular administrada, del modo de administración, del estadio y de la gravedad de la enfermedad que vaya a tratarse, del peso y del estado de salud general del paciente, y del criterio del médico que lo prescribe.

Para las composiciones farmacéuticas, los péptidos inmunogénicos de la invención, o el ADN que codifica los mismos, generalmente se administran a un individuo que ya tiene un tumor que expresa STEAP-1. Los péptidos o el ADN que codifica los mismos pueden administrarse individualmente o como fusiones de una o más secuencias peptídicas. Los pacientes pueden tratarse con los péptidos inmunogénicos por separado o junto con otros tratamientos, tales como cirugía, según sea apropiado.

Para el uso terapéutico, la administración debe empezar generalmente en el primer diagnóstico de un cáncer asociado con STEAP-1. Esto es seguido por dosis de refuerzo hasta que al menos se hayan abatido sustancialmente los síntomas y durante un periodo en lo sucesivo. La realización de la composición de vacuna (es decir, que incluye, pero sin limitación, realizaciones tales como cócteles peptídicos, polipéptidos poliepitópicos, minígenos, o células dendríticas pulsadas o CTL específicos de AAT) suministrada al paciente puede variar de acuerdo con el estadio de la enfermedad o el estado de salud del paciente. Por ejemplo, en un paciente con un tumor que expresa STEAP-1, una vacuna que comprende CTL específico de STEAP-1 puede ser más eficaz destruyendo células tumorales en pacientes con enfermedad avanzada.

Es generalmente importante proporcionar una cantidad del epítipo peptídico suministrado mediante un modo de administración suficiente para estimular eficazmente una respuesta de células T citotóxicas; también pueden proporcionarse composiciones que estimulan respuestas de células T auxiliares.

La dosificación para una inmunización terapéutica inicial generalmente se produce en un intervalo de dosificación unitaria en el que el valor más bajo es de aproximadamente 1, 5, 50, 500 o 1.000 µg y el valor más alto es de aproximadamente 10.000; 20.000; 30.000; o 50.000 µg. Los valores de dosificación para un ser humano normalmente varían de aproximadamente 500 µg a aproximadamente 50.000 µg por 70 kilogramos del paciente. Las dosificaciones de refuerzo de entre aproximadamente 1,0 µg a aproximadamente 50.000 µg de péptido de conformidad con un régimen de refuerzo a lo largo de semanas a meses pueden administrarse dependiendo de la respuesta y de la afección del paciente, como se determina midiendo la actividad específica de CTL y HTL obtenida de la sangre del paciente. La administración debería continuar hasta que al menos los síntomas clínicos o los ensayos de laboratorio indiquen que la neoplasia se ha eliminado o reducido y durante un periodo en lo sucesivo. Las dosificaciones, vías de administración, y pautas posológicas se ajustan de acuerdo con metodologías que se conocen en la técnica.

Los péptidos y las composiciones descritas pueden emplearse en patologías graves, es decir, situaciones letales o posiblemente letales. En dichos casos, como resultado de las cantidades mínimas de sustancias externas y de la naturaleza relativa no tóxica de los péptidos, es posible y podría ser deseable para el médico tratante, administrar excesos sustanciales de estas composiciones peptídicas con respecto a estas cantidades de dosificación indicadas.

Las composiciones de vacuna también pueden usarse íntegramente como agentes profilácticos. Generalmente la dosificación para una inmunización profiláctica inicial generalmente se produce en un intervalo de dosificación unitaria en el que el valor más bajo es de aproximadamente 1, 5, 50, 500 o 1.000 µg y el valor más alto es de aproximadamente 10.000; 20.000; 30.000; o 50.000 µg. Los valores de dosificación para un ser humano normalmente varían de aproximadamente 500 µg a aproximadamente 50.000 µg por 70 kilogramos del paciente. Esto se sigue por dosificaciones de refuerzo de entre aproximadamente 1,0 µg a aproximadamente 50.000 µg de péptido administrado a intervalos definidos de desde aproximadamente cuatro semanas a seis meses después de la administración inicial de la vacuna. La inmunogenicidad de la vacuna puede evaluarse midiendo la actividad específica de CTL y HTL obtenida de una muestra de la sangre del paciente.

Las composiciones farmacéuticas para el tratamiento terapéutico se destinan para la administración parenteral,

tópica, oral, nasal, intratecal o local (por ejemplo, como una crema o pomada tópica). Preferentemente, las composiciones farmacéuticas se administran por vía parenteral, por ejemplo, por vía intravenosa, subcutánea, intradérmica o intramuscular. Por tanto, la invención proporciona composiciones para administración parenteral que comprenden una solución de los péptidos inmunogénicos disueltos o suspendidos en un vehículo aceptable, preferentemente un vehículo acuoso.

Se pueden usar varios vehículos acuosos, por ejemplo, agua, agua tamponada, solución salina al 0,8 %, glicina al 0,3 %, ácido hialurónico y similares. Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales bien conocidas o pueden esterilizarse por filtración. Las soluciones acuosas resultantes pueden envasarse para su uso, o liofilizarse, estando la preparación liofilizada combinada con una solución estéril antes de la administración.

Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximarse a las condiciones fisiológicas, tales como agentes ajustadores del pH y tamponadores, agentes ajustadores de la tonicidad, agentes humectantes, conservantes, y similares, por ejemplo, acetato de sodio, lactato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina, etc.

La concentración de péptidos de la invención en las formulaciones farmacéuticas puede variar ampliamente, es decir, desde menos de aproximadamente el 0,1 %, habitualmente a o al menos de aproximadamente el 2 % hasta tanto como del 20 % al 50 % o más en peso, y se seleccionarán principalmente por los volúmenes del fluido, viscosidades, etc., de acuerdo con el modo de administración particular seleccionado.

Una forma de dosis unitaria humana de una composición normalmente se incluye en una composición farmacéutica que comprende una dosis unitaria humana de un vehículo aceptable, en una realización un vehículo acuoso, y se administra en un volumen/cantidad conocido por expertos en la materia para usar para la administración de dichas composiciones en seres humanos (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª Edición, A. Gennaro, Editor, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1985). Por ejemplo una dosis de péptido para la inmunización inicial puede ser de aproximadamente 1 a aproximadamente 50.000 µg, generalmente de 100-5.000 µg, para un paciente de 70 kg. Por ejemplo, para los ácidos nucleicos puede realizarse una inmunización inicial usando un vector de expresión en forma de ácido nucleico desnudo administrado por vía IM (o SC o ID) en las cantidades de 0,5-5 mg en múltiples sitios. El ácido nucleico (de 0,1 a 1000 µg) también puede administrarse usando una pistola de genes. Después de un periodo de incubación de 3-4 semanas, se administra entonces una dosis de refuerzo. El refuerzo puede ser virus de la viruela aviar recombinante administrado a una dosis de  $5 \cdot 10^7$  a  $5 \times 10^9$  ufp.

Para los anticuerpos, un tratamiento generalmente implica la administración repetida de la preparación de anticuerpos anti-STEAP-1, mediante una vía de administración aceptable, tal como inyección intravenosa (IV), normalmente a una dosis en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal. En general, dosis en el intervalo de 10-500 mg de Acm por semana son eficaces y se toleran bien. Además, una dosis de carga inicial de aproximadamente 4 mg/kg por peso corporal del paciente IV, seguido de dosis semanales de aproximadamente 2 mg/kg IV de la preparación de Acm anti-STEAP-1 representa un régimen de dosificación aceptable. Tal como apreciarán los expertos en la materia, diversos factores pueden influir en la dosis ideal en un caso particular. Dichos factores incluyen, por ejemplo, la semivida de una composición, la afinidad de unión de un Ac, la inmunogenicidad de una sustancia, el grado de expresión de STEAP-1 en el paciente, la extensión de antígeno STEAP-1 liberado en la circulación, el nivel de concentración deseado en estado estacionario, la frecuencia del tratamiento, y la influencia de agentes quimioterapéuticos u otros que se usan en combinación con el método de tratamiento de la invención, así como el estado de salud de un paciente particular. Son dosis unitarias humanas no limitantes preferidas, por ejemplo, 500 µg - 1 mg, 1 µg - 50 mg, 50 mg - 100 mg, 100 mg - 200 mg, 200 mg - 300 mg, 400 mg - 500 mg, 500 mg - 600 mg, 600 mg - 700 mg, 700 mg - 800 mg, 800 mg - 900 mg, 900 mg - 1 g, o 1 mg - 700 mg. En determinadas realizaciones, la dosis está en el intervalo de 2-5 mg/kg de peso corporal, por ejemplo, con las siguientes dosis semanales de 1-3 mg/kg; 0,5 mg, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mg/kg de peso corporal seguidas, por ejemplo, de dos, tres o cuatro semanas mediante dosis semanales; de 0,5 - 10 mg/kg de peso corporal, por ejemplo, seguidas de dos, tres o cuatro semanas mediante dosis semanales; de 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400 mg/m<sup>2</sup> de área corporal semanalmente, de 1-600 mg/m<sup>2</sup> de área corporal semanalmente; de 225-400 mg/m<sup>2</sup> de área corporal semanalmente; esta dosis puede seguirse mediante dosis semanales durante 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 19, 11, 12 o más semanas.

Las formas de dosis unitarias de polinucleótidos humanos pueden comprender un intervalo de dosificación adecuado, o una cantidad eficaz adecuada, que proporciona cualquier efecto terapéutico. Tal como aprecia un experto habitual en la materia, un efecto terapéutico depende de numerosos factores, incluyendo la secuencia del polinucleótido, el peso molecular del polinucleótido y la vía de administración. Las dosificaciones generalmente las selecciona el médico u otro profesional sanitario de acuerdo con varios parámetros conocidos en la técnica, tales como la gravedad de los síntomas, el historial del paciente y parámetros similares. Generalmente, para un polinucleótido de aproximadamente 20 bases, puede seleccionarse un intervalo de dosificación, por ejemplo, desde un límite inferior seleccionado independientemente, tal como de aproximadamente 0,1, 0,25, 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 30,

40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400 o 500 mg/kg hasta un límite superior seleccionado independientemente, mayor que el límite inferior, de aproximadamente 60, 80, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000 o 10.000 mg/kg. Por ejemplo, una dosis puede ser de aproximadamente cualquiera de los siguientes: de 0,1 a 100 mg/kg, de 0,1 a 50 mg/kg, de 0,1 a 25 mg/kg, de 0,1 a 10 mg/kg, de 1 a 500 mg/kg, de 100 a 400 mg/kg, de 200 a 300 mg/kg, de 1 a 100 mg/kg, de 100 a 200 mg/kg, de 300 a 400 mg/kg, de 400 a 500 mg/kg, de 500 a 1000 mg/kg, de 500 a 5000 mg/kg o de 500 a 10.000 mg/kg. Generalmente, las vías de administración parenteral pueden requerir dosis más altas de polinucleótidos en comparación con una aplicación más directa del nucleótido en el tejido enfermo, como lo hacen los polinucleótidos de longitud creciente.

Las formas de dosis unitarias de células T pueden comprender un intervalo de dosificación adecuado, o una cantidad eficaz adecuada, que proporciona cualquier efecto terapéutico. Tal como aprecia un experto habitual en la materia, un efecto terapéutico depende de numerosos factores. Las dosificaciones generalmente las selecciona el médico u otro profesional sanitario de acuerdo con varios parámetros conocidos en la técnica, tales como la gravedad de los síntomas, el historial del paciente y parámetros similares. Una dosis puede ser de aproximadamente  $10^4$  células a aproximadamente  $10^6$  células, de aproximadamente  $10^6$  células a aproximadamente  $10^8$  células, de aproximadamente  $10^8$  a aproximadamente  $10^{11}$  células, o de aproximadamente  $10^8$  a aproximadamente  $5 \times 10^{10}$  células. Una dosis puede ser también de aproximadamente  $10^6$  células/m<sup>2</sup> a aproximadamente  $10^{10}$  células/m<sup>2</sup>, o aproximadamente  $10^6$  células/m<sup>2</sup> a aproximadamente  $10^8$  células/m<sup>2</sup>.

La proteína (o proteínas) de la invención y/o los ácidos nucleicos que codifican la proteína (o las proteínas), también pueden administrarse por medio de liposomas que pueden también servir para: 1) dirigir la proteína (o proteínas) a un tejido particular, tal como tejido linfoide; 2) dirigirse selectivamente a células enfermas; o 3) aumentar la semivida de la composición peptídica. Los liposomas incluyen emulsiones, espumas, micelas, monocapas insolubles, cristales líquidos, dispersiones de fosfolípidos, capas laminares y similares. En estas preparaciones, el péptido a suministrar se incorpora como parte de un liposoma, solo o junto con una molécula que se une a un receptor frecuente entre células linfoides, tales como anticuerpos monoclonales que se unen al antígeno CD45, o con otras composiciones terapéuticas o inmunogénicas. Por lo tanto, los liposomas cargados o abastecidos con un péptido deseado de la invención pueden dirigirse al sitio de las células linfoides, donde los liposomas suministran después las composiciones peptídicas. Los liposomas para uso de acuerdo con la invención se forman a partir de lípidos formadores de vesículas convencionales, que generalmente incluyen fosfolípidos neutros y cargados negativamente y un esteroide, tal como colesterol. La selección de lípidos generalmente está orientada considerando, por ejemplo, el tamaño del liposoma, la labilidad ácida y la estabilidad de los liposomas en la corriente sanguínea. Se dispone de varios métodos para preparar liposomas, como se describe, por ejemplo, en Szoka, *et al.*, Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9: 467 (1980), y en las Patentes de Estados Unidos Nos 4.235.871, 4.501.728, 4.837.028, y 5.019.369.

Para el direccionamiento de células diana del sistema inmunitario, un ligando a incorporar en el liposoma puede incluir, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de los mismos específicos para determinantes de la superficie de las células del sistema inmunitario deseadas. Una suspensión de liposomas que contiene un péptido puede administrarse por vía intravenosa, vía local, vía tópica, etc. en una dosis que, entre otras cosas, varía de acuerdo con el modo de administración, con péptido que vaya a suministrarse y con el estadio de la enfermedad que vaya a tratarse.

Para las composiciones sólidas, pueden usarse vehículos sólidos no tóxicos convencionales que incluyen, por ejemplo, calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, sacarosa, carbonato de magnesio, y similares. Para la administración oral, se forma una composición no tóxica, farmacéuticamente aceptable, incorporando cualquiera de los excipientes empleados normalmente, tales como los vehículos previamente enumerados, y generalmente de 10-95 % de principio activo, es decir, uno o más péptidos de la invención, y más preferentemente a una concentración de 25 %-75 %.

Para la administración en aerosol, los péptidos inmunogénicos se proporcionan preferentemente en forma finamente dividida junto con un tensioactivo y un propulsor. Los porcentajes típicos de los péptidos son de aproximadamente 0,01 %-20 % en peso, preferentemente de aproximadamente 1 %-10 %. El tensioactivo debe ser, por supuesto, no tóxico, y preferentemente soluble en el propulsor. Los ésteres o ésteres parciales de ácidos grasos que contienen de aproximadamente 6 a 22 átomos de carbono, tales como los ácidos caproico, octanoico, láurico, palmítico, esteárico, linoleico, linolénico, olestérico y oleico con un alcohol polihídrico alifático o su anhídrido cíclico son representativos de dichos agentes. Puede emplearse ésteres mixtos, tales como glicéridos mixtos o naturales. El tensioactivo puede constituir aproximadamente el 0,1 %-20 % en peso de la composición, preferentemente aproximadamente el 0,25 %-5 %. El equilibrio de la composición es habitualmente propulsor. Para suministro intranasal también puede incluirse un vehículo, según se desee, tal como, por ejemplo, lecitina.

#### **XI.) Usos diagnósticos y pronósticos de STEAP-1.**

Tal como se desvela en el presente documento, los polinucleótidos y polipéptidos de STEAP-1, las células T citotóxicas (CTL) reactivas, las células T auxiliares (HTL) reactivas y los anticuerpos anti-polipéptido, se usan en ensayos diagnósticos, pronósticos y terapéuticos bien conocidos que examinan afecciones asociadas con crecimiento celular desregulado, tal como cáncer, en particular los cánceres enumerados en la Tabla I (véase, por

ejemplo, tanto su patrón de expresión específico en tejidos, como su sobreexpresión en determinados cánceres, como se describe en el Ejemplo titulado “análisis de expresión de STEAP-1 en tejidos normales, y especímenes de pacientes”).

5 STEAP-1 puede compararse con un antígeno asociado a la próstata, el PSA, un marcador arquetípico que durante años han usado los médicos facultativos para identificar y controlar la presencia de cáncer de próstata (véase, por ejemplo, Merrill *et al.*, J. Urol. 163(2): 503-5120 (2000); Polascik *et al.*, J. Urol. Aug; 162(2): 293-306 (1999) y Fortier *et al.*, J. Nat. Cancer Inst. 91(19): 1635-1640(1999)). También se usan diversos marcadores diagnósticos distintos en contextos similares que incluyen p53 y K-ras (véase, por ejemplo, Tulchinsky *et al.*, Int J Mol Med 4 jul 1999 (1): 99-102 y Minimoto *et al.*, Cancer Detect Prev 2000; 24(1): 1-12). Por lo tanto, esta divulgación de polinucleótidos y polipéptidos de STEAP-1 (así como sondas de polinucleótidos de STEAP-1 y anticuerpos anti-STEAP-1 usados para identificar la presencia de estas moléculas) y sus propiedades permiten a los expertos en la materia utilizar estas moléculas en métodos que son análogos a los usados, por ejemplo, en varios ensayos diagnósticos dirigidos a examinar afecciones asociadas con cáncer.

15 Los métodos diagnósticos típicos que utilizan los polinucleótidos y polipéptidos de STEAP-1, las células T reactivas y los anticuerpos son análogos a los métodos de ensayos diagnósticos bien establecidos, que emplean, por ejemplo, PSA, polinucleótidos, polipéptidos, células T reactivas y anticuerpos. Por ejemplo, al igual que los polinucleótidos de PSA se usan como sondas (por ejemplo en análisis de Northern, véase, por ejemplo, Sharief *et al.*, Biochem- Mol. Biol. Int. 33(3): 567-74(1994)) y cebadores (por ejemplo en análisis de PCR, véase, por ejemplo Okegawa *et al.*, J. Urol. 163(4): 1189-1190 (2000)) para observar la presencia y/o el nivel de los ARNm de PSA en métodos para controlar la sobreexpresión de PSA o la metástasis de cánceres de próstata, los polinucleótidos de STEAP-1 descritos en el presente documento pueden utilizarse del mismo modo para detectar la sobreexpresión de STEAP-1 o la metástasis de cáncer de próstata y de otros cánceres que expresen este gen. Como alternativa, al igual que los polipéptidos de PSA se usan para generar anticuerpos específicos para PSA que pueden usarse después para observar la presencia y/o el nivel de proteínas PSA en métodos para controlar la sobreexpresión de la proteína PSA (véase, por ejemplo, Stephan *et al.*, Urology 55(4): 560-3 (2000)) o la metástasis de células de próstata (véase, por ejemplo, Alanen *et al.*, Pathol. Res. Pract 192(3): 233-7 (1996)), los polipéptidos de STEAP-1 descritos en el presente documento pueden utilizarse para generar anticuerpos para su uso en la detección de la sobreexpresión de STEAP-1 o la metástasis de células de próstata y células de otros cánceres que expresen este gen.

Específicamente, dado que la metástasis implica el desplazamiento de células cancerosas de un órgano de origen (tal como el pulmón o la glándula prostática, etc.) a una zona distinta del organismo (tal como un ganglio linfático), para proporcionar pruebas de metástasis, pueden usarse ensayos que examinen una muestra biológica para detectar la presencia de células que expresen polinucleótidos y/o polipéptidos de STEAP-1. Por ejemplo, cuando se encuentra que una muestra biológica de tejido, que normalmente no contiene células que expresan STEAP-1 (ganglio linfático), contiene células que expresan STEAP-1, tales como la expresión de STEAP-1 observada en xenoinjertos de LAPC4 y LAPC9, aislados de ganglios linfáticos y metástasis ósea, respectivamente, este hallazgo es significativo de metástasis.

40 Como alternativa los polinucleótidos y/o polipéptidos de STEAP-1 pueden usarse para proporcionar pruebas de cáncer, por ejemplo, cuando en una muestra biológica se encuentran células que normalmente no expresan STEAP-1 o que expresan STEAP-1 a un nivel diferente o que tienen una expresión de STEAP-1 aumentada (véase, por ejemplo, la expresión de STEAP-1 en los cánceres enumerados en la Tabla I y en muestras de pacientes, etc. Mostradas en las Figuras adjuntas). En dichos ensayos, los especialistas pueden desear general adicionalmente pruebas complementarias de metástasis ensayando la muestra biológica con respecto a la presencia de un segundo marcador restringido a un tejido (además de STEAP-1) tal como PSA, PSCA etc. (véase, por ejemplo, Alanen *et al.*, Pathol. Res. Pract. 192(3): 233-237 (1996)).

50 Al igual que los expertos en la técnica emplean fragmentos de polinucleótidos y variantes de polinucleótidos de PSA para el uso en los métodos de control de PSA, los fragmentos de polinucleótidos y variantes de polinucleótidos de STEAP-1 se usan de un modo análogo. En particular, los polinucleótidos típicos de PSA que se usan en los métodos de control de PSA son sondas o cebadores que consisten en fragmentos de la secuencia de ADNc de PSA. Ilustrando esto, los cebadores que se usan para amplificar por PCR un polinucleótido de PSA deben incluir menos de la secuencia completa de PSA para funcionar en la reacción en cadena de la polimerasa. En el contexto de dichas reacciones de PCR, los expertos en la materia generalmente crean varios fragmentos distintos de polinucleótidos que pueden usarse como cebadores para amplificar distintas porciones de un polinucleótido de interés o para optimizar las reacciones de amplificación (véase, por ejemplo, Caetano-Anolles, G. Biotechniques 25(3): 472-476, 478-480 (1998); Robertson *et al.*, Methods Mol. Biol. 98: 121-154 (1998)). Una ilustración adicional del uso de dichos fragmentos se proporciona en el Ejemplo titulado “Análisis de expresión de STEAP-1 en tejidos normales, y especímenes de pacientes”, en los que el fragmento de polinucleótidos de STEAP-1 se usa como sonda para mostrar la expresión de los ARN de STEAP-1 en células cancerosas. Además, las secuencias de polinucleótidos variantes se usan normalmente como cebadores y sondas para los correspondientes ARNm en análisis de PCR y de Northern (véase, por ejemplo, Sawai *et al.*, Fetal Diagn. Ther. Nov-Dic de 1996 11(6): 407-13 and Current Protocols In Molecular Biology, Volumen 2, Unidad 2, Frederick M. Ausubel *et al.* eds., 1995)). Los fragmentos de polinucleótidos y variantes son útiles en este contexto donde son capaces de unirse a una secuencia

polinucleotídica diana (por ejemplo, un polinucleótido de STEAP-1 mostrado en la Figura 2 o una variante del mismo) en condiciones de alta rigurosidad.

Además, los polipéptidos de PSA que contienen un epítipo que puede reconocer un anticuerpo o célula T que se une específicamente a ese epítipo se usan en métodos para controlar el PSA. Los fragmentos polipeptídicos y análogos o variantes de polipéptidos de STEAP-1 también pueden usarse de modo análogo. Esta práctica de usar fragmentos de polipéptidos o variantes de polipéptido para generar anticuerpos (tales como anticuerpos anti-PSA o células T) es típica en la técnica con una gran variedad de sistemas tales como proteínas de fusión que usan los facultativos (véase, por ejemplo, *Current Protocols In Molecular Biology*, Volumen 2, Unidad 16, Frederick M. Ausubel *et al.* eds., 1995). En este contexto, cada epítipo (o epítipos) actúa para proporcionar la arquitectura con la cual un anticuerpo o célula T es reactivo(a). Normalmente, los expertos en la materia crean varios fragmentos polipeptídicos distintos que pueden usarse para generar respuestas inmunitarias específicas para distintas porciones de un polipéptido de interés (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 5.840.501 y la Patente de Estados Unidos Nº 5.939.533). Por ejemplo puede ser preferible utilizar un polipéptido que comprende uno de los motivos biológicos de STEAP-1 que se explican en el presente documento o una subsecuencia que porta motivos que se identifican fácilmente por un experto en la materia basándose en los motivos disponibles en la técnica. Los fragmentos polipeptídicos, variantes o análogos son normalmente útiles en este contexto siempre que estos comprendan un epítipo capaz de generar un anticuerpo o célula T específica para una secuencia polipeptídica diana (por ejemplo, un polipéptido de STEAP-1 mostrado en la Figura 3).

Tal como se muestra en el presente documento, los polinucleótidos y polipéptidos de STEAP-1 (así como las sondas de polinucleótidos de STEAP-1 y los anticuerpos anti-STEAP-1 o células T que se usan para identificar la presencia de estas moléculas) muestran propiedades específicas que los hacen útiles en el diagnóstico de cánceres tales como los enumerados en la Tabla I. Los ensayos diagnósticos que miden la presencia de productos génicos de STEAP-1, para evaluar la presencia o la aparición de una afección patológica que se describe en el presente documento, tal como cáncer de próstata, se usan para identificar pacientes para medidas preventivas o de control adicional, tal como se ha hecho ya satisfactoriamente con PSA. Además, estos materiales satisfacen una necesidad en la técnica de moléculas que tengan características similares o complementarias a PSA en situaciones en las que, por ejemplo, no pueda realizarse un diagnóstico definitivo de metástasis o de origen prostático basándose en un ensayo solo para PSA (véase, por ejemplo, Alanen *et al.*, *Pathol. Res. Pract.* 192(3): 233-237 (1996)), y consecuentemente, materiales tales como polinucleótidos y polipéptidos de STEAP-1 (así como las sondas de polinucleótidos de STEAP-1 y los anticuerpos anti-STEAP-1 que se usan para identificar la presencia de estas moléculas) necesitan emplearse para confirmar una metástasis de origen prostático.

Finalmente, además de su uso en ensayos diagnósticos, los polinucleótidos de STEAP-1 desvelados en el presente documento tienen diversas otras utilidades tales como su uso en la identificación de anomalías cromosómicas oncogénicas asociadas en la región cromosómica en la que se mapean los genes de STEAP-1 (véase el Ejemplo titulado "Mapeo Cromosómico de STEAP-1" más adelante). Adicionalmente, además de su uso en ensayos diagnósticos, las proteínas y los polinucleótidos relacionados con STEAP-1 desvelados en el presente documento tienen otras utilidades tales como su uso en el análisis forense de tejidos de origen desconocido (véase, por ejemplo, Takahama K *Forensic Sci Int* junio de 1996 28; 80(1-2): 63-9).

Adicionalmente, las proteínas o los polinucleótidos de la invención relacionados con STEAP-1 pueden usarse para tratar una afección patológica caracterizada por la sobreexpresión de STEAP-1. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos o de ácidos nucleicos de la Figura 2 o Figura 3, o fragmentos de cualquiera, pueden usarse para generar una respuesta inmunitaria contra un antígeno STEAP-1. Los anticuerpos u otras moléculas que reaccionan con STEAP-1 pueden usarse para modular la función de esta molécula, y proporcionar de ese modo un beneficio terapéutico.

## **XII.) Inhibición de la función de la proteína STEAP-1**

Existen métodos y composiciones para inhibir la unión de STEAP-1 con su compañero de unión o su asociación con otra proteínas (o proteínas) así como métodos para inhibir la función de STEAP-1.

### **XII.A.) Inhibición de STEAP-1 con anticuerpos intracelulares**

En un enfoque, un vector recombinante que codifica anticuerpos monocatenarios que se unen específicamente a STEAP-1 se introducen en células que expresan STEAP-1 mediante tecnologías de transferencia genética. Por consiguiente, el anticuerpo monocatenario anti STEAP-1 codificado que se expresa intracelularmente, se une a la proteína STEAP-1, e inhibe de ese modo su función. Se conocen bien métodos para modificar genéticamente dichos anticuerpos monocatenarios intracelulares. Dichos anticuerpos intracelulares, conocidos también como "intracuerpos", se dirigen específicamente a un compartimento particular dentro de la célula, proporcionando un control sobre donde se enfoca la actividad inhibidora del tratamiento. Esta tecnología se ha aplicado con éxito en la técnica (para una revisión, véase Richardson y Marasco, 1995, *TIBTECH* vol. 13). Se ha demostrado que los intracuerpos eliminan prácticamente la expresión de receptores de la superficie celular de otro modo abundantes (véase, por ejemplo, Richardson *et al.*, 1995, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 92: 3137-3141; Beerli *et al.*, 1994, *J. Biol.*

Chem. 289: 23931-23936; Deshane *et al.*, 1994, Gene Ther. 1: 332-337).

Los anticuerpos monocatenarios comprenden los dominios variables de la cadena pesada y ligera unidos por un polipéptido enlazador flexible, y se expresan como un solo polipéptido. Opcionalmente, los anticuerpos monocatenarios se expresan como un fragmento de región variable de cadena sencilla unida a la región constante de la cadena ligera. Las señales transitorias intracelulares bien conocidas se modifican genéticamente en vectores polinucleotídicos recombinantes que codifican dichos anticuerpos monocatenarios para dirigir con precisión el intracuerpo al compartimento intracelular deseado. Por ejemplo, los intracuerpos dirigidos al retículo endoplasmático (RE) se modifican genéticamente para incorporar un péptido líder y, opcionalmente, una señal C terminal de retención en el RE, tal como el motivo de aminoácidos KDEL. Los intracuerpos destinados a ejercer la actividad en el núcleo se modifican genéticamente para incluir una señal de localización nuclear. Los restos lipídicos se unen a los intracuerpos para conectar el intracuerpo con el lado citosólico de la membrana plasmática. Los intracuerpos también pueden dirigirse para ejercer su función en el citosol. Por ejemplo, los anticuerpos citosólicos se usan para secuestrar factores en el citosol, impidiendo de este modo que estos se transporten a su destino celular natural.

Los intracuerpos pueden usarse para capturar STEAP-1 en el núcleo, impidiendo de este modo su actividad dentro del núcleo. Las señales de direccionamiento nuclear se modifican genéticamente en dichos intracuerpos de STEAP-1 para conseguir el direccionamiento deseado. Tales intracuerpos de STEAP-1 están diseñados para unirse específicamente a un dominio de STEAP-1 particular. Pueden usarse intracuerpos citosólicos que se unen específicamente a una proteína STEAP-1 para impedir que STEAP-1 acceda al núcleo, impidiendo de este modo que este ejerza cualquier actividad biológica dentro del núcleo (por ejemplo, impidiendo que STEAP-1 forme complejos de transcripción con otros factores).

Para dirigir específicamente la expresión de dichos intracuerpos a células particulares, la transcripción del intracuerpo se coloca bajo el control regulador de un promotor y/o potenciador apropiado específico de tumores. Para dirigir la expresión de intracuerpos específicamente a la próstata, por ejemplo, puede utilizarse el promotor y/o promotor/potenciador de PSA (Véase, por ejemplo, Patente de Estados Unidos N° 5.919.652 expedida el 6 de julio de 1999).

#### **XII.B.) Inhibición de STEAP-1 con proteínas recombinantes**

En otro enfoque, las moléculas recombinantes se unen a STEAP-1 e inhiben de este modo la función de STEAP-1. Por ejemplo, estas moléculas recombinantes impiden o inhiben que STEAP-1 acceda/se una a su compañero o compañeros de unión o se asocie con otra u otras proteínas. Dichas moléculas recombinantes pueden contener, por ejemplo, la parte o partes reactivas de una molécula de anticuerpo específica de STEAP-1. El dominio de unión a STEAP-1 de un compañero de unión a STEAP-1 puede modificarse genéticamente en una proteína de fusión dimérica, comprendiendo de ese modo la proteína de fusión dos dominios de unión a ligando de STEAP-1 ligados a la porción Fc de una IgG humana, tal como la IgG1 humana. Dicha porción de IgG puede contener, por ejemplo, los dominios C<sub>H</sub>2 y C<sub>H</sub>3 y la región bisagra, pero no el dominio C<sub>H</sub>1. Dichas proteínas de fusión diméricas se administran en forma soluble a pacientes que padecen un cáncer asociado con la expresión de STEAP-1, de ese modo la proteína de fusión dimérica se une específicamente a STEAP-1 y bloquea la interacción de STEAP-1 con un compañero de unión. Dichas proteínas de fusión diméricas se combinan además en proteínas multiméricas usando tecnologías conocidas de ligamiento de anticuerpos.

#### **XII.C.) Inhibición de la transcripción o traducción de STEAP-1**

También se describen diversos métodos y composiciones para inhibir la transcripción del gen de STEAP-1. De manera similar, también se proporcionan métodos y composiciones para inhibir la traducción de ARNm de STEAP-1 en la proteína.

En un enfoque, un método de inhibir la transcripción del gen de STEAP-1 comprende poner en contacto el gen de STEAP-1 con un polinucleótido antisentido de STEAP-1. En otro enfoque, un método de inhibir la traducción del ARNm de STEAP-1 comprende poner en contacto un ARNm de STEAP-1 con un polinucleótido antisentido. En otro enfoque, se usa una ribozima específica de STEAP-1 para escindir un mensajero de STEAP-1, inhibiendo de este modo la traducción. Dichos métodos basados en moléculas antisentido y en ribozimas también pueden dirigirse a las regiones reguladoras del gen de STEAP-1, tales como elementos promotores y/o potenciadores de STEAP-1. De manera similar, las proteínas capaces de inhibir un factor de transcripción de STEAP-1 se usan para inhibir la transcripción del ARNm de STEAP-1. Los diversos polinucleótidos y composiciones útiles en los métodos anteriormente mencionados se han descrito anteriormente. El uso de moléculas antisentido y de ribozimas para inhibir la transcripción y la traducción se conoce bien en la técnica.

Otros factores que inhiben la transcripción de STEAP, mediante interferencia con la activación transcripcional de STEAP-1, son también útiles para tratar cánceres que expresan STEAP-1. De modo similar, los factores que interfieren con el procesamiento de STEAP-1 son útiles para tratar cánceres que expresan STEAP-1. Los métodos de tratamiento del cáncer que utilizan dichos factores también están dentro del alcance de la invención.

#### **XII.D.) Consideraciones generales para estrategias terapéuticas**



Las tecnologías de transferencia génica y terapia génica pueden usarse para suministrar moléculas polinucleotídicas terapéuticas a las células tumorales que sintetizan STEAP-1 (es decir, moléculas antisentido, ribozimas, polinucleótidos que codifican intracuerpos y otras moléculas inhibidoras de STEAP-1). En la técnica se conocen diversos enfoques de terapia. Pueden suministrarse vectores recombinantes que codifican polinucleótidos antisentido de STEAP-1, ribozimas, factores capaces de interferir con la transcripción de STEAP-1, y etcétera, a las células tumorales diana usando dichos enfoques de terapia génica.

Los enfoques terapéuticos anteriores pueden combinarse con cualquiera de una amplia variedad de regímenes quirúrgicos, quimioterapéuticos o de radioterapia. Los enfoques terapéuticos de la invención pueden permitir el uso de dosificaciones reducidas de quimioterapia (u otras terapias) y/o una administración menos frecuente, una ventaja para todos los pacientes y particularmente para aquellos que no toleran bien la toxicidad del agente quimioterapéutico.

La actividad antitumoral de una composición particular (por ejemplo, antisentido, ribozima, intracuerpo), o una combinación de dichas composiciones, pueden evaluarse usando diversos sistemas de ensayos *in vitro* e *in vivo*. Los ensayos *in vitro* que evalúan la actividad terapéutica incluyen ensayos de crecimiento celular, ensayos en agar blando y otros ensayos indicativos de actividad promotora tumoral, ensayos de unión capaces de determinar el grado al cual una composición terapéutica inhibirá la unión de STEAP-1 a un compañero de unión, etc.

El efecto de una composición terapéutica de STEAP-1 puede evaluarse *in vivo* en un modelo animal adecuado. Por ejemplo, pueden usarse modelos xenogénicos de cáncer de próstata, en los que los explantes de cáncer de próstata o tejidos de xenoinjerto humano sometidos a pases se introducen en animales inmunocomprometidos, tales como ratones desnudos o SCID (Klein *et al.*, 1997, Nature Medicine 3: 402-408). Por ejemplo, la Solicitud de Patente PCT WO98/1662 y la Patente de Estados Unidos 6.107.540 describen diversos modelos de xenoinjerto de cáncer de próstata humano capaces de recapitular el desarrollo de tumores primarios, micrometástasis y la formación de metástasis osteoblástica característica del estadio tardío de la enfermedad. La eficacia puede predecirse usando ensayos que miden la inhibición de la formación de tumores, la regresión o metástasis de tumores, y similares.

Los ensayos *in vivo* que evalúan la promoción de la apoptosis son útiles en la evaluación de las composiciones terapéuticas. En una realización, los xenoinjertos de ratones portadores de tumor tratados con la composición terapéutica pueden examinarse para determinar la presencia de focos apoptóticos y compararse con ratones no tratados control portadores de xenoinjertos. El grado al cual se encuentran focos apoptóticos en los tumores de los ratones tratados proporciona una indicación de la eficacia terapéutica de la composición.

Las composiciones terapéuticas usadas en la práctica de los métodos anteriores pueden formularse en composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo adecuado para el método de suministro deseado. Los vehículos adecuados incluyen cualquier material que cuando se combina con la composición terapéutica conserva la función antitumoral de la composición terapéutica y generalmente es no reactivo con el sistema inmunitario del paciente. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de una serie de vehículos farmacéuticos convencionales tales como soluciones salinas estériles tamponadas con fosfato, agua bacteriostática, y similares (véase, en líneas generales, Remington's Pharmaceutical Sciences 16<sup>a</sup> Edición, A. Osal., Ed., 1980).

Las formulaciones terapéuticas pueden solubilizarse y administrarse mediante cualquier vía capaz de suministrar la composición terapéutica al sitio tumoral. Las vías de administración posiblemente eficaces incluyen, pero sin limitación, la administración intravenosa, parenteral, intraperitoneal, intramuscular, intratumoral, intradérmica, intraorgánica, ortotópica, y similares. Una formulación preferida para inyección intravenosa comprende la composición terapéutica en una solución de agua bacteriostática conservada, agua estéril no conservada, y/o diluida en bolsas de polivinilcloruro o polietileno que contienen Cloruro Sódico estéril al 0,9 % para Inyección, USP. Las preparaciones de proteína terapéuticas pueden liofilizarse y conservarse como polvos estériles, preferentemente al vacío, y reconstituirse después en agua bacteriostática (que contiene por ejemplo, conservante de alcohol bencílico) o en agua estéril antes de la inyección.

Las dosificaciones y los protocolos de administración para el tratamiento de cánceres usando los métodos anteriores variarán con el método y el cáncer al que se dirigen, y generalmente dependerán de numerosos otros factores apreciados en la técnica.

### **XIII.) Kits/artículos de fabricación**

Para su uso en aplicaciones diagnósticas y terapéuticas descritas en el presente documento, también se proporcionan kits. Dichos kits pueden comprender un vehículo, un envase o recipiente que está compartimentalizado para recibir uno o más recipientes, tales como, viales, tubos y similares, comprendiendo cada recipiente (o recipientes) uno de los elementos distintos a usar en el método. Por ejemplo, el recipiente (o recipientes) puede comprender una sonda que está marcada o que puede marcarse de manera detectable. Dicha sonda puede ser un anticuerpo o un polinucleótido específico para una proteína relacionada con las de la Figura 2 o un gen o mensajero de la Figura 2, respectivamente. Cuando el método utiliza la hibridación de ácidos nucleicos para detectar el ácido

nucleico diana, el kit también puede tener recipientes que contengan uno o más nucleótidos para la amplificación de la secuencia de ácidos nucleicos diana y/o un recipiente que comprenda medios indicadores, tales como una proteína de unión a biotina, tal como avidina o estreptavidina, unida a una molécula indicadora, tal como un marcador enzimático, fluorescente o radioisotópico. El kit puede incluir toda o parte de las secuencias de aminoácidos de la Figura 2 o Figura 3 o análogos de las mismas, o moléculas de ácido nucleico que codifican dichas secuencias de aminoácidos.

Un kit puede comprender normalmente el recipiente anteriormente descrito y uno o más recipientes distintos que comprenden materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, que incluyen tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringuillas; vehículo, envase, recipiente, etiquetas para viales y/o tubos que enumeran el contenido y/o instrucciones para su uso, y prospectos con instrucciones para su uso.

En el recipiente puede haber un marcador para indicar que la composición se usa para una terapia específica o una aplicación no terapéutica, tal como una aplicación diagnóstica o de laboratorio, y también puede indicar las direcciones bien para el uso *in vivo* o *in vitro*, tales como aquellas que se describen en el presente documento. Las direcciones u otra información también pueden incluirse en uno o más prospectos incluidos con o en el kit.

El término “kit” y la expresión “artículo de fabricación” pueden usarse como sinónimos.

Se proporciona uno o más artículos de fabricación que contienen composiciones, tales como una o más secuencias de aminoácidos, una o más moléculas pequeñas, una o más secuencias de ácidos nucleicos, y/o uno o más anticuerpos, por ejemplo, materiales útiles para el diagnóstico, pronóstico, profilaxis y/o tratamiento de neoplasias de tejidos tales como los expuestos en la Tabla I. El artículo de fabricación comprende normalmente al menos un recipiente y al menos un marcador. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringuillas, y tubos de ensayo. Los recipientes pueden estar formados de varios materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente puede contener una o más secuencias de aminoácidos, una o más moléculas pequeñas, una o más secuencias de ácidos nucleicos, y/o uno o más anticuerpos. El recipiente puede contener un polinucleótido para su uso en el examen del perfil de expresión de ARNm de una célula, junto con reactivos usados para esta finalidad.

El recipiente puede, como alternativa, contener una composición que sea eficaz para el tratamiento, diagnóstico, pronóstico o profilaxis de una afección y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo el recipiente puede ser una bolsa con solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable mediante una aguja de inyección hipodérmica). Los agentes activos en la composición pueden ser un anticuerpo capaz de unirse específicamente a STEAP-1 y modular la función de STEAP-1.

El marcador puede estar sobre el recipiente, o asociado al mismo. Un marcador puede estar en un recipiente donde las letras, números u otros caracteres que forman el marcador están moldeadas o grabadas en el propio recipiente; un marcador puede asociarse con un recipiente cuando está presente en un receptáculo o vehículo que también contiene el recipiente, por ejemplo, como un prospecto. El marcador puede indicar que la composición se usa para el diagnóstico, tratamiento, profilaxis o pronóstico de una afección, tal como una neoplasia de un tejido tal como se expone en la Tabla 1. El artículo de fabricación puede comprender adicionalmente un segundo recipiente que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y/o solución de dextrosa. Este puede contener adicionalmente otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agitadores, agujas, jeringuillas, y/o prospectos con indicaciones y/o instrucciones para su uso.

#### **Ejemplos:**

Diversos aspectos de la invención se describen y se ilustran adicionalmente a modo de diversos ejemplos indicados a continuación, sin pretender ninguno de estos aspectos limitar en ámbito de la invención.

#### **Ejemplo 1: aislamiento del fragmento de ADNc del gen de STEAP generado por HSS**

##### Materiales y métodos

##### Xenoinjertos de LAPC:

Los xenoinjertos de LAPC se obtuvieron a través del Dr. Charles Sawyers (UCLA) y generaron tal como se describe (Klein *et al.*, 1997, Nature Med. 3: 402-408; Craft *et al.*, 1999, Cancer Res. 59: 5030-5036). Se desarrollaron xenoinjertos de LAPC-4 dependientes e independientes de andrógenos (LAPC-4 AD y AI, respectivamente) y los xenoinjertos de LAPC-9 (LAPC-9 AD y AI, respectivamente) en machos de ratones SCID intactos o en machos castrados, respectivamente, y se transfirieron como trozos tisulares de pequeño tamaño a machos receptores. Los xenoinjertos de LAPC-4 AI se obtuvieron de tumores LAPC-4 AD y los xenoinjertos de LAPC-9 AI se obtuvieron de tumores LAPC-9 AD. Para generar los xenoinjertos AI, los machos que portaban tumores LAPC AD se castraron y se mantuvieron durante 2-3 meses. Después de que los tumores LAPC volvieran a desarrollarse, los tumores se recogieron y se transfirieron a ratones macho castrados o a hembras SCID.

Los xenoinjertos de LAPC-4 AD se desarrollaron intratibialmente del siguiente modo. El tejido tumoral del xenoinjerto de LAPC-4 AD que desarrollado subcutáneamente se picó en secciones de 1-2 mm<sup>3</sup> a la vez que el tejido se bañó en medio Iscoves 1X, después el tejido picado se centrifugó a 1,3 K rpm durante 4 minutos, el sobrenadante se resuspendió en 10 ml de medio Iscoves 1X enfriado en hielo y se centrifugó a 1,3K rpm durante 4 minutos. El sedimento se resuspendió después en Iscoves 1X con pronasa E al 1 % y se incubó durante 20 minutos a temperatura ambiente con agitación en balanceo suave seguido de incubación en hielo durante 2-4 minutos. El filtrado se centrifugó a 1,3 K rpm durante 4 minutos, y la pronasa se retiró del sedimento aspirado volviendo a suspender en 10 ml de Iscoves y re-centrifugando. Los grupos de células se sembraron después en placas en medio PrEGM y crecieron durante toda la noche. Después, las células se recogieron, se filtraron, se lavaron con RPMI 2X, y se contaron. Se mezclaron aproximadamente 50.000 células con el mismo volumen de Matrigel enfriado en hielo, y se inyectaron quirúrgicamente en la metáfisis tibial proximal de los ratones SCID por medio de una aguja de calibre 27. Después de 10-12 semanas, se recuperaron los tumores LAPC-4 que se desarrollaban en médula ósea.

#### 15 Líneas celulares y tejidos:

Las líneas celulares humanas (por ejemplo, HeLa) se obtuvieron en la ATCC y se mantuvieron en DMEM con suero fetal de ternero al 5 %. Los tejidos humanos para el análisis de ARN y de proteínas se obtuvieron en el Human Tissue Resource Center (HTRC) en la UCLA (Los Ángeles, CA) y en QualTek, Inc. (Santa Bárbara, CA).

#### 20 Aislamiento de ARN:

Los tejidos tumorales y las líneas celulares se homogeneizaron en reactivo Trizol (Life Technologies, Gibco BRL) usando 10 ml/g de tejido o 10 ml/10<sup>8</sup> células para aislar ARN total. La poli A del ARN se purificó del ARN total usando los kits Mini y Midi de Oligotex de Qiagen. El ARN total y el ARNm se cuantificaron mediante análisis espectrofotométrico (D.O. 260/280 nm) y se analizaron por electroforesis en gel.

#### Oligonucleótidos:

30 Se usaron los siguientes oligonucleótidos purificados por HPLC.

#### DPNCDN (cebador de síntesis de ADNc):

5'TTTTGATCAAGCTT<sub>30</sub>3' (SEC ID N°: 48)

#### Adaptador 1:

5'CTAATACGACTCACTATAGGGCTCGAGCGGCCGCGGCGAG3' (SEC ID N°: 49)  
3'GCCCCGTCCTAG5' (SEC ID N°: 50)

#### Adaptador 2:

5'GTAATACGACTCACTATAGGGCAGCGTGGTCGCGGCCGAG3' (SEC ID N°: 51)  
3'CGGCTCCTAG5' (SEC ID N°: 52)

#### Cebador 1 de PCR:

5'CTAATACGACTCACTATAGGGC3' (SEC ID N°: 53)

#### Cebador anidado (NP)1:

5'TCGAGCGGCCGCGGCGAGGA3' (SEC ID N°: 54)

#### Cebador anidado (NP)2:

5'AGCGTGGTCGCGGCCGAGGA3' (SEC ID N°: 55)

#### Hibridación sustractiva por supresión

60 La Hibridación Sustractiva por Supresión (HSS) se usó para identificar los ADNc correspondientes a genes, que podían estar regulados positivamente en cáncer de próstata dependiente de andrógenos en comparación con hiperplasia prostática benigna (HPB).

65 Los ADNc bicatenarios correspondientes al xenoinjerto de LAPC-4 AD (medidor) y el tejido de HPB (controlador) se sintetizaron de 2 µg de poli(A)+ ARN aislado de xenoinjerto y de tejido de HPB, como se describe anteriormente, usando el Kit de Sustracción de ADNc PCR- Select de CLONTECH y 1 ng de oligonucleótido RSACDN como

cebador. La síntesis de la primera y segunda cadena se llevó a cabo como se describe en el protocolo del manual del usuario del Kit (Protocolo CLONTECH N° PT1117-1, N° de Catálogo K1804-1). El ADNc resultante se sometió a digestión con Rsa I durante 3 horas a 37 °C. El ADNc digerido se extrajo con fenol/cloroformo (1:1) y se precipitó con etanol.

5 El ADNc controlador (HPB) se generó combinando, en una relación de 4 a 1, el ADNc de HPB digerido con Rsa I con ADNc digerido de hígado de ratón, para garantizar la sustracción de los genes murinos del ADNc medidor (LAPC-4 AD).

10 El ADNc medidor (LAPC-4 AD) se generó diluyendo 1 µl de ADNc de LAPC-4 AD digerido con Rsa I (400 ng) en 5 µl de agua. El ADNc diluido (2 µl 160 ng) se ligó después con 2 µl de adaptador 1 y adaptador 2 (10 µM), en reacciones de ligamiento distintas, en un volumen total de 10 µl a 16 °C durante toda la noche, usando 400 u de ADN ligasa de T4 (CLONTECH). El ligamiento finalizó con 1 µl de EDTA 0,2 M y calentando a 72 °C durante 5 minutos.

15 La primera hibridación se realizó añadiendo 1,5 µl (600 ng) de ADNc controlador a cada uno de los dos tubos que contenían 1,5 µl (20 ng) de ADNc medidor ligado con adaptador 1 y adaptador 2. En un volumen final de 4 µl, las muestras se cubrieron con aceite mineral, se desnaturalizaron en un termociclador MJ Research a 98 °C durante 1,5 minutos, y después se permitió su hibridación durante 8 horas a 68 °C. Las dos hibridaciones se mezclaron después  
20 junto con 1 µl adicional de ADNc controlador desnaturalizado reciente y se permitió su hibridación durante toda la noche a 68 °C. La segunda hibridación se diluyó después en 200 µl de Hepes 20 mM, pH 8,3, NaCl 50 mM, EDTA 0,2 mM, se calentó a 70 °C durante 7 minutos y se conservó a -20 °C.

#### Amplificación por PCR, clonación y secuenciación de los fragmentos génicos generados de la HSS:

25 Para amplificar los fragmentos génicos resultantes de las reacciones HSS, se realizaron dos amplificaciones por PCR. En la reacción de PCR primaria, se añadió 1 µl de la mezcla de hibridación final diluida a 1 µl de cebador 1 de PCR (10 µM), 0,5 µl de mezcla de dNTP (10 µM), 2,5 µl de tampón de reacción 10 x (CLONTECH) y 0,5 µl de Mezcla de ADNc polimerasa Advantage 50 x (CLONTECH) en un volumen final de 25 µl. La PCR 1 se llevó a cabo  
30 usando las siguientes condiciones: 75 °C durante 5 minutos., 94 °C durante 25 segundos., después 27 ciclos de 94 °C durante 10 segundos, 66 °C durante 30 segundos, 72 °C durante 1,5 minutos. Se realizaron cinco reacciones de PCR primarias para cada experimento. Los productos se agruparon y se diluyeron con agua a una relación de 1:10. Para la reacción de PCR secundaria, se añadió 1 µl de la reacción de PCR primaria agrupada y diluida a la misma  
35 mezcla de reacción que se usó para la PCR 1, excepto que se usaron los cebadores NP1 y NP2 (10 µM) en lugar del cebador 1 de la PCR. La PCR 2 se realizó usando 10-12 ciclos de 94 °C durante 10 segundos, 68 °C durante 30 segundos, 72 °C durante 1,5 minutos. Los productos de la PCR se analizaron usando electroforesis en gel de agarosa al 2 %.

40 Los productos de la PCR se insertaron en pCR2.1 usando el kit de clonación de vectores T/A (Invitrogen). Las *E. coli* transformadas se sometieron a selección con azul/blanco y ampicilina. Las colonias blancas se escogieron y se dispusieron en placas de 96 pocillos y se cultivaron en cultivo líquido durante toda la noche. Para identificar los insertos, se realizó amplificación por PCR en 1 ml de cultivo bacteriano usando las condiciones de la PCR1 y NP1 y NP2 como cebadores. Los productos de la PCR se analizaron usando electroforesis en gel de agarosa al 2 %.

45 Los clones bacterianos se conservaron en glicerol al 20 % en un formato de 96 pocillos. El ADN plasmídico se preparó, se secuenció, y se sometió a búsquedas de homología de ácidos nucleicos de las bases de datos del GenBank, dbEST y NCI-CGAP.

#### Análisis de expresión por RT-PCR:

50 La primera cadena de los ADNc se generó a partir de 1 µg de ARNm con cebadores oligo (dT)12-18 usando el sistema de Preamplificación Superscript de Gibco-BRL. Se usó el protocolo del fabricante y se incluyó una incubación durante 50 minutos a 42 °C con transcriptasa inversa seguido de tratamiento con RNasa H a 37 °C durante 20 minutos. Después de completar la reacción, se aumentó el volumen hasta 200 µl con agua antes de la  
55 normalización. La primera cadena de los ADNc se obtuvo de 16 tejidos humanos normales diferentes de Clontech.

La normalización de la primera cadena de los ADNc de múltiples tejidos se realizó usando los cebadores 5'atatcgccgcgctcgctcgacaa3' (SEC ID N°: 56) y 5'agccacacgcagctcattgtagaagg 3' (SEC ID N°: 57) para amplificar la  
60 β-actina. La primera cadena del ADNc (5 µl) se amplificó en un volumen total de 50 µl que contenía cebadores 0,4 µM, cada uno de los dNTP a 0,2 µM, tampón de PCR 1X (Clontech, Tris-HCL 10 mM, MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM, KCl 50 mM, pH 8,3) y ADN polimerasa KlenTaq 1X (Clontech). Se recogieron cinco µl de la reacción de PCR a los 18, 20 y 22 ciclos y se usaron para la electroforesis en gel de agarosa. La PCR se realizó usando un termociclador MJ Research con las siguientes condiciones: la desnaturalización inicial fue a 94 °C durante 15 segundos, seguido de 18, 20 y 22  
65 ciclos a 94 °C durante 15, 65 °C durante 2 minutos, 72 °C durante 5 segundos. Se llevó a cabo una extensión final a 72 °C durante 2 minutos. Después de la electroforesis en gel de agarosa, las intensidades de las bandas de las

bandas de la  $\beta$ -actina de 283 pb de múltiples tejidos se compararon por inspección visual. Se calcularon los factores de dilución para la primera cadena de los ADNc dando como resultado las mismas intensidades de banda de la  $\beta$ -actina en todos los tejidos después de 22 ciclos de PCR. Se necesitaron tres rondas de normalización para conseguir las mismas intensidades de banda en todos los tejidos después de 22 ciclos de PCR.

Para determinar los niveles de expresión del gen de 8P1D4, se analizaron 5  $\mu$ l de ADNc de la primera cadena normalizado mediante PCR usando 25, 30 y 35 ciclos de amplificación usando los siguientes pares de cebadores:

5' ACT TTG ATG ACC AGG ATT GGA 3' (SEC ID N°: 58)

5' CAG AAC TTC AGC ACA CAC AGG AAC 3' (SEC ID N°: 59)

El análisis de expresión semicuantitativa se realizó comparando los productos de la PCR a números de ciclos que daban intensidades de luz de banda.

## Resultados

Se llevaron a cabo varios experimentos de HSS, como se describe anteriormente en *Materiales y Métodos*, y condujeron al aislamiento de numerosos clones de fragmentos génicos candidatos. Todos los clones candidatos se secuenciaron y se sometieron a análisis de homología contra todas las secuencias en las principales bases de datos públicas de genes y EST para proporcionar información sobre la identidad del gen correspondiente y ayudar a orientar la decisión de analizar un gen particular para la expresión diferencial. En general, los fragmentos génicos que no tenían homología con ninguna secuencia conocida en ninguna de las bases de datos investigadas, y por lo tanto se consideraba que representaban nuevos genes, así como los fragmentos génicos que mostraban homología con etiquetas de secuencia expresadas (EST, *Expressed Sequence Tags*) previamente secuenciadas, se sometieron a análisis de expresión diferencial por RT-PCR y/o análisis de Northern.

Uno de los clones de ADNc, denominado 8P1D4, tenía una longitud de 436 pb y mostró homología con una secuencia de EST en la base de datos de genes tumorales del NCI-CGAP. El ADNc de longitud completa que codifica el gen de 8P1D4 se aisló posteriormente usando este ADNc y se renombró STEAP-1. La secuencia de nucleótidos del ADNc de 8P1D4 se corresponde con los restos nucleotídicos 150 a 585 en la secuencia de ADNc de STEAP-1, tal como se muestra en la FIG. 1A-B. Otro clon, denominado 28P3E1, de 561 pb de longitud mostró homología con diversas secuencias de EST en la base de datos de genes tumorales del NCI-CGAP o en otras bases de datos. Parte de la secuencia de 28P3E1 (356 pb) es idéntica a una EST derivada de tejido fetal humano. Después de obtener y secuenciar el ADNc de longitud completa de STEAP-1, resultó evidente que este clon también se correspondía con STEAP-1 (más específicamente con los 622 restos hasta el extremo 3' de la secuencia de nucleótidos de STEAP-1, como se muestra en la FIG. 1).

El análisis de expresión diferencial por RT-PCR usando cebadores derivados del clon de ADNc de 8P1D4 mostró que el gen de 8P1D4 (STEAP-1) se expresa a aproximadamente a los mismos niveles en próstata normal y en los xenoinjertos de LAPC-4 y LAPC-9. El análisis de expresión por RT-PCR adicional de la primera cadena de los ADNc de 16 tejidos normales mostró niveles de expresión de 8P1D4 más altos en próstata. Sustancialmente pudo detectarse un nivel de expresión más bajo en diversos otros tejidos normales (es decir, colon, ovario, intestino delgado, bazo y testículos) solamente a los 30 ciclos de amplificación en cerebro, páncreas, colon e intestino delgado.

### **Ejemplo 2: aislamiento de ADNc que codifica STEAP-1 de longitud completa**

El fragmento génico 8P1D4 de 436 pb del Ejemplo 1) se usó para aislar ADNc adicionales que codificaban el gen 8P1D4/STEAP-1. Brevemente, se exploró una biblioteca de ADNc de próstata humana normal (Clontech) con una sonda marcada generada a partir de ADNc de 8P1D4 de 436 pb. Uno de los clones positivos, el clon 10, tiene una longitud de 1195 pb y codifica una proteína de 339 aminoácidos que tiene secuencias de nucleótidos y aminoácidos codificadas que no portan homología significativa con ninguno de los genes o proteínas humanos conocidos (homología con una Proteína de Lesión Renal de rata recientemente descrita en la Solicitud Internacional WO98/53071). La proteína codificada contiene al menos 6 motivos transmembrana previstos lo que implica una orientación en la superficie celular (véase la FIG. 1A-B, los motivos transmembrana previstos se indican subrayados). Estas características estructurales condujeron a la denominación de "STEAP", por "Antígeno Epitelial de la Próstata de Seis dominios Transmembrana" (siglas en inglés, *Six Transmembrane Epithelial Antigen of The Prostate*)

La identificación posterior de proteínas "STEAP" adicionales condujo a la re-denominación del producto génico 8P1D4 como "STEAP-1". El ADNc de STEAP-1 y las secuencias de aminoácidos codificadas se muestran en la FIG. 2A-Q. El ADNc de STEAP-1 del clon 10 se depositó en la Colección Americana de Cultivos Tipo ("ATCC") (10801 University Blvd., Manassas, VA 20110-2209 EE.UU.) como plásmido 8P1D4 clon 10.1 el 26 de agosto de 1998 con el Número de Registro de la ATCC 98849. El ADNc del clon de STEAP-1 puede escindirarse del mismo usando doble digestión con EcoRI/XbaI (EcoRI en el extremo 5', XbaI en el extremo 3').

### **Ejemplo 3: mapeo cromosómico de STEAP-1**

La localización cromosómica puede implicar genes en la patogénesis de enfermedades. Se dispone de diversos enfoques de mapeo cromosómico, incluyendo la hibridación fluorescente *in situ* (FISH, *Fluorescent In Situ Hybridization*), los paneles híbridos de radiación (HR) de ser humano/hámster (Walter *et al.*, 1994; Nature Genetics 7: 22; Research Genetics, Huntsville Al), los paneles híbridos de células somáticas de ser humano-roedor, tales como los que están disponibles en el Instituto Coriell (Camden, New Jersey), y los visores genómicos que utilizan homologías BLAST con clones genómicos secuenciados y mapeados (NCBI, Bethesda, Maryland).

STEAP-1 mapea en el cromosoma 7q21 usando la secuencia STEAP-1 y la herramienta BLAST del NCBI: (localizada en la WEB (.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/page.cgi?F=HsBlast.html&&ORG=Hs)).

#### **Ejemplo 4: análisis de expresión de STEAP-1**

La expresión de STEAP-1 en especímenes de pacientes con cáncer de estómago se muestra en la Figura 14. El ARN se extrajo de estómago normal (N) y de 10 especímenes diferentes de pacientes con cáncer (T) de estómago. La transferencia de Northern con 10 µg de ARN/carril se exploró con la secuencia de STEAP-1. El resultado muestra fuerte expresión de una STEAP-1 de aproximadamente 1,6 kb en tejidos tumorales de estómago. El panel inferior representa tinción con bromuro de etidio de la transferencia que muestra la calidad de las muestras de ARN.

La Figura 15 muestra que STEAP-1 se expresó en tejidos de pacientes con cáncer de recto. El ARN se extrajo de recto normal (N), de tumores (T) de pacientes con cáncer de recto y de metástasis (M) de cáncer de recto. Las transferencias de Northern con 10 µg de ARN total se exploraron con la secuencia de STEAP-1. El resultado muestra fuerte expresión de STEAP-1 en tejidos de pacientes con cáncer de recto. El panel inferior representa tinción con bromuro de etidio de la transferencia que muestra la calidad de las muestras de ARN.

La expresión de STEAP-1 por RT-PCR demostró que STEAP-1 se expresaba fuertemente en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC, siglas en inglés) (Figura 16). Se preparó ADNc de primera cadena de células HUVEC, de xenoinjertos de cáncer de próstata LAPC-4AD y LAPC-9AD, así como de tejidos de cerebro humano. La normalización se realizó por PCR usando cebadores para la actina y GAPDH. La PCR semicuantitativa, usando cebadores para STEAP-1, se realizó a 27 y 30 ciclos de amplificación (Figura 16A). Como un control, se muestra la PCR usando cebadores para la actina en la figura 16B. Los resultados muestran fuerte expresión de STEAP-1 en células HUVEC similar a la expresión detectada en tejidos de xenoinjertos de cáncer de próstata. La expresión de STEAP-1 en células HUVEC indica que el direccionamiento de STEAP-1 puede también dirigirse a células endoteliales de la neovascularización de los tumores.

#### **Ejemplo 5: variantes transcripcionales de 8P1D4**

Las variantes transcripcionales son variantes de ARNm maduro del mismo gen que se producen por transcripción alternativa o corte y empalme alternativo. Los transcritos alternativos son transcritos del mismo gen pero comienzan la transcripción en puntos diferentes. Las variantes de corte y empalme son variantes de ARNm que se cortan y empalman de manera diferente del mismo transcrito. En eucariotas, cuando un gen multiexónico se transcribe a partir de ADN genómico, el ARN inicial se corta y empalma para producir ARNm funcional, que tiene solamente exones y se usa para la traducción en una secuencia de aminoácidos. Por consiguiente, un gen determinado puede tener de cero a numerosos transcritos alternativos y cada transcrito puede tener de cero a numerosas variantes de corte y empalme. Cada variante transcripcional está constituida por un solo exón, y puede tener diferentes porciones codificantes y/o no codificantes (extremo 5' o 3'), a partir del transcrito original. Las variantes transcripcionales pueden codificar proteínas similares o diferentes con la misma función o con una función similar o pueden codificar proteínas con funciones diferentes y pueden expresarse en el mismo tejido al mismo tiempo, o en tejidos diferentes al mismo tiempo, o en el mismo tejido a tiempos diferentes, o en tejidos diferentes a tiempos diferentes. Las proteínas codificadas por variantes transcripcionales pueden tener localizaciones celulares o extracelulares similares o diferentes, por ejemplo, secretadas frente a intracelulares.

Las variantes transcripcionales se identifican mediante varios métodos aceptados en la técnica. Por ejemplo, los transcritos alternativos y las variantes de corte y empalme se identifican mediante experimentos de clonación de longitud completa, o mediante el uso de transcritos de longitud completa y secuencias de EST. En primer lugar, todas las EST humanas se agruparon en grupos que mostraban identidad directa o indirecta entre sí. En segundo lugar, las EST del mismo grupo se agruparon posteriormente en sub-grupos y se ensamblaron en una secuencia consenso. La secuencia génica original se compara con una o más secuencias consenso u otras secuencias de longitud completa. Cada secuencia consenso es una posible variante de corte y empalme para ese gen (véase, por ejemplo, Kan, Z., *et al.*, Gene structure prediction and alternative splicing analysis using genomically aligned ESTs, Genome Research, mayor de 2001, 11(5): 889-900). Incluso cuando se identifica una variante que no es un clon de longitud completa, esa porción de la variante es muy útil para la generación de antígenos y para la clonación adicional de la variante de corte y empalme de longitud completa, usando técnicas conocidas en la materia.

Además, en la técnica se dispone de programas informáticos que identifican variantes transcripcionales basándose en secuencias genómicas. Los programas de identificación de variantes transcripcionales basados en el genoma

incluyen FgenesH (A. Salamov y V. Solovyev, "Ab initio gene finding in Drosophila genomic DNA", *Genome Research*. 1 de abril de 2000; 10(4): 516-22); Grail (URL comp-bio.ornl.gov/Grail-bin/EmptyGrailForm) y GenScan (URL genes.mit.edu/GENSCAN.html). Para un análisis general de protocolos de identificación de variantes de corte y empalme, véase, por ejemplo, Southan, C., A genomic perspective on human proteases, *FEBS Lett.* 8 de junio de 2001; 498(2-3): 214-8; de Souza, S.J., *et al.*, Identification of human chromosome 22 transcribed sequences with ORF expressed sequence tags, *Proc. Natl Acad Sci USA* 7 de noviembre de 2000; 97(23): 12690-3.

Para confirmar adicionalmente los parámetros de una variante transcripcional, se dispone de diversas técnicas en la materia, tales como la clonación de longitud completa, la validación proteómica, la validación basada en PCR, y la validación RACE 5', etc. (véase, por ejemplo, Proteomic Validation: Brennan, S.O., *et al.*, Albumin banks peninsula: a new termination variant characterized by electrospray mass spectrometry, *Biochem Biophys Acta*. 17 d agosto de 1999; 1433(1-2): 321-6; Ferranti P, *et al.*, Differential splicing of pre-messenger RNA produces multiple forms of mature caprine alpha(sI)-casein, *Eur J Biochem*. 1 de octubre de 1997; 249(1): 1-7. For PCR-based Validation: Wellmann S, *et al.*, Specific reverse transcription-PCR quantification of vascular endothelial growth factor (VEGF) splice variants by LightCycler technology, *Clin Chem*. Abril 2001; 47(4):654-60; Jia, H.P., *et al.*, Discovery of new human beta-defensins using a genomics-based approach, *Gene*. 24 de enero de 2001; 263(1-2): 211-8. Para la validación basada en PCR y RACE 5': Brigle, K. E., *et al.*, Organization of the murine reduced folate carrier gene and identification of variant splice forms, *Biochem Biophys Acta*. 7 de agosto de 1997; 1353(2): 191-8).

En la técnica se sabe que en los cánceres, las regiones genómicas están moduladas. Cuando la región genómica en la que se mapea un gen está modulada en un cáncer particular, los transcritos alternativos o variantes de corte y empalme del gen se modulan también. En el presente documento se divulga que 8P1D4 tiene un perfil de expresión particular relacionado con cáncer. Los transcritos alternativos y las variantes de corte y empalme de 8P1D4 también pueden estar implicados en cánceres en los mismos tejidos o en tejidos diferentes, sirviendo por lo tanto como marcadores/antígenos asociados a tumores.

La composición exónica del transcrito original, denominado 8P1D4 v.1, se muestra en la Tabla LXI. Usando el gen de longitud completa y las secuencias de EST, se identificaron dos variantes transcripcionales, denominadas 8P1D4 v.2 y v.3. En comparación con 8P1D4 v.1, la variante transcripcional 8P1D4 v.2 no cortó ni empalmó el intrón 4 de 8P1D4 v.1 y la variante 8P1D4 v.3 cortó y empalmó un exón adicional del intrón 4 del 8P1D4 v.1, tal como se muestra en la Figura 11. Teóricamente, cada combinación diferente de exones en orden espacial, por ejemplo, exones 2 y 3, es una posible variante de corte y empalme. La Figura 11 muestra el alineamiento esquemático de los exones de las variantes transcripcionales.

Las Tablas LIII a LX se exponen en una variante mediante bases de variante. Las Tablas LIII y LVII muestran la secuencia de nucleótidos de las variantes transcripcionales. La Tabla LIV muestra el alineamiento de la variante transcripcional con la secuencia de ácidos nucleicos de 8P1D4 v.1. La Tabla LVIII muestra el alineamiento de la variante transcripcional con la secuencia de ácidos nucleicos de 8P1D4 v.2. Las Tablas LV y LIX presentan la traducción de aminoácidos de la variante transcripcional para la orientación de fase de lectura identificada. La Tabla LVI muestra el alineamiento de la secuencia de aminoácidos codificada por la variante de corte y empalme con la de 8P1D4 v.1. La Tabla LX muestra el alineamiento de la secuencia de aminoácidos codificada por la variante de corte y empalme con la de 8P1D4 v.2.

#### **Ejemplo 6: polimorfismos mononucleotídicos de 8P1D4**

Un polimorfismo mononucleotídico (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*) es una variación de un solo par de bases en una secuencia de nucleótidos en una localización específica. En cualquier punto dado del genoma, hay cuatro posibles pares de bases de nucleótidos: A/T, C/G, G/C y T/A. Genotipo se refiere a la secuencia específica de pares de bases de una o más localizaciones en el genoma de un individuo. Haplotipo se refiere a la secuencia de pares de bases de más de una localización en la misma molécula de ADN (o en el mismo cromosoma en organismos superiores), a menudo en el contexto de un gen o en el contexto de diversos genes estrechamente relacionados. Los SNP que se producen en un ADNc se denominan SNPc. Estos SNPc pueden cambiar aminoácidos de la proteína codificada por el gen y por lo tanto cambian las funciones de la proteína. Algunos SNP causan enfermedades hereditarias; otros contribuyen a variaciones cuantitativas en el fenotipo y a reacciones contra factores ambientales, incluyendo la dieta y los fármacos entre individuos. Por lo tanto, los SNP y/o combinaciones de alelos (denominados haplotipos) tienen numerosas implicaciones, incluyendo el diagnóstico de enfermedades hereditarias, determinación de reacciones y dosificación de fármacos, identificación de genes responsables de enfermedades y análisis de la relación genética entre individuos (P. Nowotny, J. M. Kwon y A. M. Goate, "SNP analysis to dissect human traits," *Curr. Opin. Neurobiol.* Octubre de 2001; 11(5): 637-641; M. Pirmohamed y B. K. Park, "Genetic susceptibility to adverse drug reactions", *Trends Pharmacol. Sci.* Junio de 2001; 22(6): 298-305; J. H. Riley, C. J. Allan, E. Lai y A. Roses, "The use of single nucleotide polymorphisms in the isolation of common disease genes", *Pharmacogenomics*. Febrero de 2000; 1(1): 39-47; R. Judson, J. C. Stephens y A. Windemuth, "The predictive power of haplotypes in clinical response", *Pharmacogenomics*. Febrero de 2000.; 1(1):15-26).

Los SNP se identifican mediante varios métodos aceptados en la técnica (P. Bean, "The promising voyage of SNP target discovery", *Am. Clin. Lab.* Octubre y noviembre de 2001; 20(9): 18-20; K. M. Weiss, "In search of human

variation", Genome Res. Julio de 1998; 8(7): 691-697; M. M. She, "Enabling large-scale pharmacogenetic studies by high-throughput mutation detection and genotyping technologies" Clin. Chem. Febrero 2001; 47(2): 164-172). Por ejemplo, los SNP se identifican secuenciando fragmentos de ADN que muestran polimorfismo mediante métodos basados en gel, tales como polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP, siglas en inglés) y electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE, siglas en inglés). Estos también pueden descubrirse por secuenciación directa de muestras de ADN agrupadas de individuos diferentes o por comparación de secuencias de muestras de ADN diferentes. Con la rápida acumulación de datos de secuencias en bases de datos públicas y privadas, los SNP pueden descubrirse por comparación de secuencias usando programas informáticos (Z. Gu, L. Hillier y P. Y. Kwok, "Single nucleotide polymorphism hunting in cyberspace", Hum. Mutat. 1998; 12(4):221-225). Los SNP pueden verificarse y el genotipo y haplotipo de un individuo puede determinarse mediante varios métodos que incluyen la secuenciación directa y las micromatrices de alto rendimiento (P. Y. Kwok, "Methods for genotyping single nucleotide polymorphisms", Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. 2001; 2: 235-258; M. Kokoris, K. Dix, K. Moynihan, J. Mathis, B. Erwin, P. Grass, B. Hines y A. Duesterhoeft, "High-throughput SNP genotyping with the Masscode system", Mol. Diagn. Diciembre de 2000; 5(4): 329-340).

Usando los métodos descritos anteriormente, se identificaron catorce SNP en el transcrito del clon GTH9, denominado 8P1D4 v.2, en las posiciones 602 (C/G), 386 (C/T), 1087 (T/G), 1447 (T/C), 1621 (A/T), 1625 (G/T), 1716 (C/A), 2358 (C/T), 2646 (T/G), 2859 (T/G), 2908 (A/T), 3006 (G/C), 3107 (C/T) y 3180 (A/T). Los transcritos o proteínas con alelos alternativos se denominaron como variantes 8P1D4 v.4, v.5, v.6, v.7, v.8, v.9, v.10, v.11, v.12, v.13, v.14, v.15, v.16 y v.17, respectivamente. La Figura 10 muestra el alineamiento esquemático de las variantes de SNP. La Figura 12 muestra el alineamiento esquemático de las variantes de proteínas, que corresponden a variantes de nucleótidos. Estos alelos de los SNP, a pesar de que se muestran por separado en el presente documento, pueden ocurrir en diferentes combinaciones (haplotipos) y en una cualquiera de las variantes transcripcionales (tales como 8P1D4 v.1 y v.3) que contienen el contexto de la secuencia de los SNP. Por ejemplo, en los dos primeros SNP también estaban en 8P1D4 v.3 en las mismas posiciones, pero en la posición 572 y 356, respectivamente, en 8P1D4 v.1.

#### **Ejemplo 7: producción de 8P1D4 recombinante en sistemas procariotas**

Para expresar el 8P1D4 recombinante y las variantes de 8P1D4 en células procariotas, se clonan las secuencias de ADNc de longitud completa o parcial de 8P1D4 y de la variante de 8P1D4 en uno cualquiera de varios vectores de expresión conocidos en la técnica. Se usa la secuencia de ADNc de longitud completa o cualquiera de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 o más aminoácidos contiguos de 8P1D4, variantes, o análogos de la misma.

##### **A. Construcciones de transcripción y traducción *in vitro*:**

pCRII: para generar sondas de ARN de 8P1D4 en sentido y antisentido para investigaciones de ARN *in situ*, se generan construcciones de pCRII (Invitrogen, Carlsbad CA) que codifican bien todo el ADNc o fragmentos de ADNc de 8P1D4. El vector pCRII tiene los promotores Sp6 y T7 flanqueando el inserto para dirigir la transcripción del ARN de 8P1D4 para el uso como sondas en experimentos de hibridación *in situ* de ARN. Estas sondas se usan para analizar la expresión en células y tejidos de 8P1D4 a nivel de ARN. El ARN de 8P1D4 transcrito que representa la región codificante de aminoácidos del ADNc del gen 8P1D4 se usa en sistemas de traducción *in vitro* tales como el Sistema Acoplado Reticulolisado TnT™ (Promega, Corp., Madison, WI) para sintetizar la proteína 8P1D4.

##### **B. Construcciones bacterianas:**

Construcciones pGEX: para generar proteínas 8P1D4 recombinantes en bacterias que se fusionan con la proteína de Glutatiin S-transferasa (GST), todo o partes del ADNc de 8P1D4 o sus variantes se clonan en el vector de fusión GST de la familia pGEX (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). Estas construcciones permiten la expresión controlada de secuencias de proteína 8P1D4 recombinante con GST fusionada en el extremo amino y un epítipo de seis histidinas (6X His) en el extremo carboxilo. Las etiquetas 6X His y GST permiten la purificación de la proteína de fusión recombinante de bacterias inducidas con la matriz de afinidad apropiada y permiten el reconocimiento de la proteína de fusión con anticuerpos anti-GST y anti-His. La etiqueta 6X His se genera por adición de 6 codones de histidina en el cebador de clonación en el extremo 3', por ejemplo, la fase de lectura abierta (ORF, siglas en inglés). Puede emplearse un sitio de escisión proteolítica, tal como el sitio de reconocimiento PreScission™ en pGEX-6P-1, de tal manera que permita la escisión de la etiqueta GST de la proteína relacionada con 8P1D4. El gen de resistencia a ampicilina y el origen de pBR322 permite la selección y el mantenimiento de los plásmidos pGEX en *E. coli*.

Construcciones pMAL: para generar, en bacterias, proteínas 8P1D4 recombinantes que están fusionadas con la proteína de unión a maltosa (MBP, siglas en inglés), toda o partes de la secuencia codificante de la proteína del ADNc de 8P1D4 se fusiona con el gen de MBP mediante clonación en los vectores pMAL-c2X y pMAL-p2X (New England Biolabs, Beverly, MA). Estas construcciones permiten la expresión controlada de secuencias de proteína 8P1D4 recombinante con MBP fusionada en el extremo amino y una etiqueta epitópica 6X His en el extremo carboxilo. Las etiquetas MBP y 6X His permiten la purificación de la proteína recombinante de las bacterias



inducidas con la matriz de afinidad apropiada y permiten el reconocimiento de la proteína de fusión con anticuerpos anti-MBP y anti-His. La etiqueta epitópica 6X His se genera por adición de 6 codones de histidina en el cebador de clonación en el extremo 3'. Un sitio de reconocimiento del Factor Xa permite la escisión de la etiqueta pMAL de 8P1D4. Los vectores pMAL-c2X y pMAL-p2X se optimizan para expresar la proteína recombinante en el citoplasma o periplasma respectivamente. La expresión en el periplasma potencia el plegamiento de las proteínas con enlaces disulfuro.

**Construcciones pET:** para expresar 8P1D4 en células bacterianas, toda o partes de la secuencia codificante de la proteína del ADNc de 8P1D4 se clona en la familia de vectores pET (Novagen, Madison, WI). Estos vectores permiten la expresión fuertemente controlada de la proteína 8P1D4 recombinante en bacterias con o sin fusión a proteínas que potencian la solubilidad, tales como NusA y tiorredoxina (Trx), y etiquetas epitópicas, tales como 6X His y S-Tag™ que ayudan a la purificación y a la detección de la proteína recombinante. Por ejemplo, las construcciones se preparan utilizando el sistema de fusión pET NusA 43.1 de modo que las regiones de la proteína 8P1D4 se expresan como fusiones amino-terminales a NusA.

#### C. Construcciones en levaduras:

**Construcciones pESC:** para expresar 8P1D4 en la especie de levadura *Saccharomyces cerevisiae* para la generación de proteína recombinante y estudios funcionales, toda o partes de la secuencia codificante de la proteína del ADNc de 8P1D4 se clona en la familia de vectores pESC, conteniendo cada uno de ellos de 1 a 4 marcadores de selección, HIS3, TRP1, LEU2 y URA3 (Stratagene, La Jolla, CA). Estos vectores permiten la expresión controlada del mismo plásmido de hasta 2 genes o secuencias clonadas diferentes que contienen etiquetas epitópicas Flag™ o Myc en la misma célula de levadura. Este sistema es útil para confirmar interacciones proteína-proteína de 8P1D4. Además, la expresión en levaduras produce modificaciones postraduccionales similares, tales como glucosilaciones y fosforilaciones, a las que se encuentran cuando se expresan en células eucariotas.

**Construcciones pESP:** para expresar 8P1D4 en la especie de levadura *Saccharomyces pombe*, toda o partes de la secuencia codificante de la proteína de ADNc de 8P1D4 se clona en la familia de vectores pESP. Estos vectores permiten un alto nivel de expresión controlado de una secuencia de la proteína 8P1D4 que se fusiona en el extremo amino o en el extremo carboxilo con GST que ayuda a la purificación de la proteína recombinante. Una etiqueta epitópica Flag™ permite la detención de la proteína recombinante con un anticuerpo anti-Flag™.

### **Ejemplo 8: producción de STEAP-1 recombinante en sistemas eucariotas**

#### **A. Construcciones en mamíferos:**

Para expresar STEAP-1 en células eucariotas, las secuencias de ADNc de STEAP-1 de longitud completa o parcial pueden clonarse en uno cualquiera de varios vectores de expresión conocidos en la técnica. Una o más de las siguientes regiones de STEAP-1 se expresan en estas construcciones, los aminoácidos 1 a 339 de STEAP-1 v.1, v.4, los aminoácidos 1 a 258 de v.2, los aminoácidos 1 a 282 de v.3, o cualquiera de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 o más aminoácidos contiguos de STEAP-1, variantes o análogos de la misma. Puede expresarse una región de una variante específica de STEAP-1 que codifica un aminoácido en una posición específica que se diferencia del aminoácido de cualquier otra variante encontrada en esa posición. Como alternativa, puede expresarse una región de una variante de STEAP-1 que se encuentra parcial o completamente dentro de una secuencia que es única para esa variante.

Las construcciones pueden transfectarse en una cualquiera de una amplia variedad de células de mamíferos tales como células 293T. Los lisados de células 293T transfectadas pueden explorarse con el suero policlonal anti-STEAP-1, descrito en el presente documento.

**Construcciones pcDNA4/HisMax:** para expresar STEAP-1 en células de mamífero, una ORF de STEAP-1, o porciones de la misma, de STEAP-1 se clonó en pcDNA4/HisMax Versión A (Invitrogen, Carlsbad, CA). La expresión de la proteína se dirige desde el promotor de citomegalovirus (CMV) y el potenciador transcripcional SP16. La proteína recombinante tiene etiquetas epitópicas Xpress™ y de seis histidinas (6X His) fusionadas al extremo amino. El vector pcDNA4/HisMax también contiene la señal de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina (BGH) y la secuencia de terminación de la transcripción para potenciar la estabilidad del ARNm junto con el origen SV40 para la replicación episomal y el rescate simple del vector en líneas celulares que expresan el antígeno T grande. El gen de resistencia a zeocina permite la selección de células de mamífero que expresan la proteína y el gen de resistencia a ampicilina y el origen de ColE1 permiten la selección y el mantenimiento del plásmido en *E. coli*.

**Construcciones pcDNA3.1/MycHis:** para expresar STEAP-1 en células de mamífero, una ORF de STEAP-1, o porciones de la misma, de STEAP-1, con un sitio de inicio de la traducción Kozak consenso, se clonó en pcDNA3.1/MycHis Versión A (Invitrogen, Carlsbad, CA). La expresión de la proteína se dirige desde el promotor de citomegalovirus (CMV). Las proteínas recombinantes tienen el epítipo myc y el epítipo 6X His fusionados al extremo carboxilo. El vector pcDNA3.1/MycHis también contiene la señal de poliadenilación de la hormona de

crecimiento bovina (BGH) y la secuencia de terminación de la transcripción para potenciar la estabilidad del ARNm, junto con el origen SV40 para la replicación episomal y el rescate simple del vector en líneas celulares que expresan el antígeno T grande. Se usó el gen de resistencia a Neomicina ya que permite la selección de células de mamífero que expresan la proteína y el gen de resistencia a ampicilina y el origen de ColE1 permiten la selección y el mantenimiento del plásmido en *E. coli*.

**Construcción pcDNA3.1/CT-GFP-TOPO:** para expresar STEAP-1 en células de mamífero y permitir la detección de las proteínas recombinantes usando fluorescencia, se clonó una ORF de STEAP-1, o porciones de la misma, con un sitio de inicio de transducción Kozak consenso, en pcDNA3.1/CT-GFP-TOPO (Invitrogen, CA). La expresión de la proteína se dirige desde el promotor de citomegalovirus (CMV). Las proteínas recombinantes tienen la Proteína Verde Fluorescente (GFP) fusionada con el extremo carboxilo facilitando la detección *in vivo* y la realización de estudios de biología celular, no invasivos. El vector pcDNA3.1CT-GFP-TOPO también contiene la señal de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina (BGH) y la secuencia de terminación de la transcripción para potenciar la estabilidad del ARNm junto con el origen del SV40 para la replicación episomal y el rescate simple del vector en líneas celulares que expresan el antígeno T grande. El gen de resistencia a neomicina permite la selección de células de mamífero que expresan la proteína, y el gen de resistencia a ampicilina y el origen de ColE1 permiten la selección y mantenimiento del plásmido en *E. coli*. Se preparan construcciones adicionales con una fusión GFP amino-terminal en pcDNA3.1/NT-GFP-TOPO abarcando la longitud completa de una proteína STEAP-1.

**PAPtag:** una ORF de STEAP-1, o porciones de la misma, se clonó en un pAPtag-5 (GenHunter Corp. Nashville, TN). Esta construcción genera una fusión con la fosfatasa alcalina en el extremo carboxilo de una proteína STEAP-1 al mismo tiempo que la secuencia señal de IgGκ se fusiona en el extremo amino. También se generan construcciones en las que la fosfatasa alcalina se fusiona con una secuencia señal amino-terminal de IgGκ al extremo amino de una proteína STEAP-1. Las proteínas STEAP-1 recombinantes resultantes se optimizan para la secreción en los medios de células de mamífero transfectadas y pueden usarse para identificar proteínas, tales como ligandos o receptores, que interactúan con proteínas STEAP-1. La expresión de las proteínas se dirige desde el promotor CMV y las proteínas recombinantes también contienen epítopos myc y 6X His fusionados en el extremo carboxilo lo que facilita la detección y purificación. El gen de resistencia a zeocina presente en el vector permite la selección de células de mamífero que expresan la proteína recombinante y el gen de resistencia a ampicilina permite la selección del plásmido en *E. coli*.

**ptag5:** una ORF de STEAP-1, o porciones de la misma, se clonó en pTag-5. Este vector es similar a pAPtag pero sin la fusión con la fosfatasa alcalina. Esta construcción generó una proteína STEAP-1 con una secuencia señal de IgGκ amino-terminal y etiquetas epitópicas myc y 6X His en el extremo carboxilo que facilitan la detección y purificación por afinidad. La proteína STEAP-1 recombinante resultante se optimizó para la secreción en los medios de células de mamífero transfectadas, y se usó como inmunógeno o ligando para identificar proteínas, tales como ligandos o receptores que interactúan con las proteínas STEAP-1. La expresión de las proteínas se dirigió desde el promotor CMV. El gen de resistencia a zeocina presente en el vector permitió la selección de células de mamífero que expresaban la proteína y el gen de resistencia a ampicilina permite la selección del plásmido en *E. coli*.

**PsecFc:** una ORF de STEAP-1, o porciones de la misma, se clonó en psecFc. El vector psecFc se ensambló clonando la región Fc de la inmunoglobulina G1 humana (IgG) (regiones bisagra, CH2, CH3) en pSecTag2 (Invitrogen, California). Esta construcción generó una fusión IgG1 Fc en el extremo carboxilo de la proteína STEAP-1, al mismo tiempo que fusionaba la secuencia señal IgGκ al extremo N. También se usaron fusiones de STEAP-1 que utilizan la región Fc de la IgG1 murina. Las proteínas de STEAP-1 recombinantes resultantes se optimizaron para la secreción en los medios de células de mamífero transfectadas, y pudieron usarse como inmunógenos o para identificar proteínas, tales como ligandos o receptores, que interactúan con la proteína STEAP-1. La expresión de proteínas se dirige desde el promotor de CMV. El gen de resistencia a higromicina presente en el vector permitió la selección de células de mamífero que expresaban la proteína recombinante, y el gen de resistencia a ampicilina permite la selección del plásmido en *E. coli*.

**Construcciones pSRα:** para generar líneas celulares de mamíferos que expresan STEAP-1 constitutivamente, la ORF de STEAP-1, o porciones de la misma, o STEAP-1 se clonaron en construcciones pSRα. Se generaron retrovirus anfitrópicos y ecotrópicos por transfección de construcciones pSRα en la línea de empaquetamiento 293T-10A1 o por co-transfección de pSRα y un plásmido auxiliar (que contenía secuencias de empaquetamiento eliminadas) en las células 293, respectivamente. El retrovirus se usó para infectar varias líneas celulares de mamífero, dando como resultado la integración del gen clonado, STEAP-1, en las líneas celulares hospedadoras. La expresión de la proteína se dirigió desde una repetición terminal larga (LTR, *Long Terminal Repeat*). El gen de resistencia a neomicina presente en el vector permitió la selección de células de mamíferos que expresaban la proteína, y el gen de resistencia a ampicilina y el origen de ColE1 permiten la selección y el mantenimiento del plásmido en *E. coli*. Los vectores retrovirales se usaron posteriormente para la infección y generación de diversas líneas celulares usando, por ejemplo, células PC3, NIH 3T3, TsuPr1, 293 o rat-1.

Se prepararon construcciones pSRα adicionales, que fusionan una etiqueta epitópica, tal como la etiqueta FLAG<sup>™</sup>, con el extremo carboxilo de secuencias de STEAP-1 para permitir la detección usando anticuerpos anti-Flag. Por

ejemplo, la secuencia FLAG<sup>TM</sup> en 5' gat tac aag gat gac gat aag 3' (SEC ID N°: 60) se añade al cebador de clonación en el extremo 3' de la ORF. Se prepararon construcciones pSRα adicionales para producir ambas proteínas de fusión GFP amino-terminal y carboxilo-terminal y myc/6X His de las proteínas STEAP-1 de longitud completa.

- 5 **Vectores virales adicionales:** se prepararon construcciones adicionales para el suministro mediado por virus y expresión de STEAP-1. En sistemas de suministro de virus, tales como vectores adenovirales y vectores de amplicones herpéticos, se alcanza un título viral elevado que conduce a un alto nivel de expresión de STEAP-1. Una secuencia que codifica STEAP-1 o fragmentos de la misma se amplifica por PCR y se subclona en el vector de lanzadera AdEasy (Stratagene). La recombinación y el empaquetamiento del virus se realizan de acuerdo con las
- 10 instrucciones del fabricante para generar vectores adenovirales. Como alternativa, las secuencias codificantes de STEAP-1 o fragmentos de la misma se clonan en el vector HSV-1 (Imgenex) para generar vectores virales herpéticos. Después de esto, los vectores virales se usan para la infección de diversas líneas celulares, tales como células PC3, NIH 3T3, 293 o rat-1.
- 15 **Sistemas de expresión regulada:** para controlar la expresión de STEAP-1 en células de mamífero, las secuencias codificantes de STEAP-1, o porciones de las mismas, se clonan en sistemas de expresión regulados de mamíferos tales como el sistema T-Rex System (Invitrogen), el Sistema GeneSwitch (Invitrogen) y el Sistema estrechamente regulado de Ecdisona (Stratagene). Estos sistemas permiten estudiar los efectos temporales y dependientes de la concentración de STEAP-1 recombinante. Después de esto, estos vectores se usan para controlar la expresión de
- 20 STEAP-1 en diversas líneas celulares, tales como células PC3, NIH 3T3, 293 o rat-1.

## B. Sistemas de expresión en baculovirus

- 25 Para generar proteínas STEAP-1 recombinantes en un sistema de expresión de baculovirus, la ORF de STEAP-1, o porciones de la misma, se clonan en el vector de transferencia de baculovirus pBlueBac 4.5 (Invitrogen), que proporciona una etiqueta de His en el extremo N. Específicamente, pBlueBac-STEAP-1 se co-transfecta con el plásmido auxiliar pBac-N-Blue (Invitrogen) en células de insecto SF9 (*Spodoptera frugiperda*) para generar baculovirus recombinante (véase el manual de instrucciones de Invitrogen para detalles). Los baculovirus se recogen después del sobrenadante celular y se purifican mediante ensayos en placas. La proteína STEAP-1 recombinante se
- 30 genera después mediante infección de células de Insecto HighFive (Invitrogen) con baculovirus purificados. La proteína STEAP-1 recombinante puede detectarse usando anticuerpos anti-STEAP-1 o anti-etiqueta His. La proteína STEAP-1 puede purificarse y usarse en diversos ensayos basados en células o como un inmunógeno para generar anticuerpos policlonales y monoclonales específicos para STEAP-1.

## 35 **Ejemplo 9: perfiles de antigenicidad y estructura secundaria**

Las Figuras 5-9 y las Figuras 5a-9a representan gráficamente cinco perfiles de aminoácidos de las variantes 1 y 3 de 8P1D4 respectivamente, cada evaluación se encuentra disponible mediante el acceso al sitio web ProtScale (URL [www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.p1](http://www.expasy.ch/cgi-bin/protscale.p1)) en el servidor de biología molecular ExPasy.

- 40 Para identificar regiones antigénicas de la proteína 8P1D4, se usaron estos perfiles: Figura 5, Hidrofilicidad (Hopp T. P., Woods K. R., 1981. Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 78: 3824-3828); Figura 6, Hidropaticidad, (Kyte J., Doolittle R.F., 1982. J. Mol. Biol. 157: 105-132); Figura 7, Porcentaje de Restos Accesibles (Janin J., 1979 Nature 277: 491-492); Figura 8, Flexibilidad Media, (Bhaskaran R., y Ponnuswamy P. K., 1988. Int. J. Pept. Protein Res. 32: 242-255);
- 45 Figura 9, giro Beta (Deleage, G., Roux B. 1987 Protein Engineering 1: 289-294); y opcionalmente otros disponibles en la técnica, tales como en el sitio web ProtScale. Para el análisis, cada uno de los perfiles aminoacídicos anteriores de 8P1D4 se generaron usando los siguientes parámetros de ProtScale: 1) un tamaño de ventana de 9; 2) un 100 % en peso de los bordes de la ventana en comparación con el centro de la ventana; y, 3) valores de los perfiles aminoacídicos normalizados situados entre 0 y 1.

- 50 Los perfiles de Hidrofilicidad (Figura 5), Hidropaticidad (Figura 6) y Porcentaje de Restos Accesibles (Figura 7) se usaron para determinar tramos de aminoácidos hidrófilos (es decir, valores mayores de 0,5 en el perfil de Hidrofilicidad y Porcentaje de Restos Accesibles, y valores menores de 0,5 en el perfil de Hidropaticidad). Dichas regiones probablemente se exponen al ambiente acuoso, están presentes en la superficie de la proteína, y por lo tanto disponibles para el reconocimiento inmunitario, tal como por anticuerpos.

- Los perfiles de Flexibilidad promedio (Figura 8) y de giro Beta (Figura 9) determinan tramos de aminoácidos (es decir, valores mayores de 0,5 en el perfil de giro Beta y en el perfil de Flexibilidad promedio) que no están restringidos en estructuras secundarias, tales como láminas beta y hélices alfa. Dichas regiones se exponen también
- 60 más probablemente en la proteína y por lo tanto son accesibles al reconocimiento inmunitario, tal como por anticuerpos.

- Las secuencias antigénicas de la proteína 8P1D4 y de las proteínas variantes indicadas, por ejemplo, por los perfiles
- 65 péptidos o ácidos nucleicos, que los codifican, para generar anticuerpos terapéuticos y/o diagnósticos anti-8P1D4. El inmunógeno puede tener cualquiera 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35,

40, 45, 50 o más de 50 aminoácidos contiguos, o los ácidos nucleicos correspondientes que los codifican, de las variantes de la proteína 8P1D4 enumeradas en las Figuras 2 y 3. En particular, los inmunogénicos peptídicos de la invención pueden comprender, una región peptídica de al menos 5 aminoácidos de las Figuras 2 y 3 en cualquier aumento en número completo que incluya una posición aminoacídica que tenga un valor mayor que 0,5 en el perfil de Hidrofilicidad de la Figura 5; una región peptídica de al menos 5 aminoácidos de las Figuras 2 y 3 en cualquier aumento de número completo que incluya una posición aminoacídica que tenga un valor menor de 0,5 en el perfil de Hidropaticidad de la Figura 6, una región peptídica de al menos 5 aminoácidos de las Figuras 2 y 3 en cualquier aumento de número completo que incluya una posición aminoacídica que tenga un valor mayor que 0,5 en el perfil de Porcentaje de Restos Accesibles de la Figura 7; una región peptídica de al menos 5 aminoácidos de las Figuras 2 y 3 en cualquier aumento de número completo que incluya una posición aminoacídica que tenga un valor mayor que 0,5 en el perfil de Flexibilidad promedio de la Figura 8; y, una región peptídica de al menos 5 aminoácidos de las Figuras 2 y 3 en cualquier aumento de número completo que incluya una posición aminoacídica que tenga un valor mayor que 0,5 en el perfil de giro Beta de la Figura 9. Los inmunógenos peptídicos de la invención también pueden comprender ácidos nucleicos que codifiquen cualquiera de lo anteriormente citado.

Todos los inmunógenos de la invención, péptidos o ácidos nucleicos, pueden realizarse en forma de dosis unitaria para seres humanos, o incluirse en una composición que incluya un excipiente farmacéutico compatible con la fisiología humana.

Las estructuras secundarias de la variante 1 y variante 3 de 8P1D4, en concreto la secuencia prevista y la localización de las hélices alfa, cadenas extendidas, y enrollamientos aleatorios, se predicen de las secuencias de aminoácidos primarias respectivas usando el método de red neuronal jerárquico HNN (Guermeur, 1997, [http://pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.p1?page=npsa\\_nn.html](http://pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.p1?page=npsa_nn.html)), con acceso en el servidor de biología molecular ExPasy (<http://www.expasy.ch/tools/>). El análisis indica que la variante 1 de 8P1D4 está compuesta por 64,60 % de hélice alfa, 4,72 % de cadena extendida, y 30,68 % de enrollamiento aleatorio (Figura 13a). La variante 2 de 8P1D4 está compuesta por 62,79 % de hélice alfa, 3,10 % de cadena extendida y 34,11 % de enrollamiento aleatorio (Figura 13b). La variante 3 de 8P1D4 está compuesta por 58,87 % de hélice alfa, 5,32 % de cadena extendida y 35,82 % de enrollamiento aleatorio (Figura 13c).

El análisis para detectar la posible presencia de dominios transmembrana en las variantes de 8P1D4 se llevó a cabo usando varios algoritmos de predicción transmembrana a los que se accede desde el servidor de biología molecular ExPasy (<http://www.expasy.ch/tools/>). Gráficamente se muestran los resultados del análisis de la variante 1 que representan la presencia y localización de 6 dominios transmembrana usando el programa TMpred (Figura 13d) y el programa TMHMM (Figura 13e). También se muestran los resultados del análisis de la variante 2 que representan la presencia y localización de 4 dominios transmembrana usando TMpred (Figura 13f) y 3 dominios transmembrana usando TMHMM (Figura 13g). El análisis de la variante 3 predice la presencia de 4 dominios transmembrana usando TMpred (Figura 13h) y 3 dominios transmembrana con TMHMM (Figura 13i). Los resultados de cada programa, en concreto los aminoácidos que codifican los dominios transmembrana se resumen en la Tabla XX.

#### **Ejemplo 10: generación de anticuerpos policlonales de 8P1D4**

En un mamífero pueden suscitarse anticuerpos policlonales, por ejemplo, mediante una o más inyecciones de un agente inmunizante y, si se desea, un adyuvante. Normalmente, el agente inmunizante y/o adyuvante se inyectará en el mamífero mediante inyecciones subcutáneas o intraperitoneales múltiples. Además de inmunizar con la proteína de 8P1D4 de longitud completa, se emplean algoritmos informáticos en el diseño de inmunógenos, que se basan en el análisis de la secuencia de aminoácidos que contiene características de ser antigénica y estar disponible para el reconocimiento por el sistema inmunitario del hospedador inmunizado (véase el Ejemplo titulado "Perfiles de Antigenicidad"). Dichas regiones deberían predecirse por ser hidrófilas, flexibles, en conformaciones de giro beta y estar expuestas en la superficie de la proteína (véase, por ejemplo, la Figura 5, Figura 6, Figura 7, Figura 8 o la Figura 9 para los perfiles de aminoácidos que indican dichas regiones de 8P1D4 y variantes).

Por ejemplo las proteínas o péptidos de fusión bacterianos recombinantes de 8P1D4 o péptidos que contienen regiones hidrófilas, flexibles, de giro beta de variantes de proteínas 8P1D4 se usan como antígenos para generar anticuerpos policlonales en conejos Blancos de Nueva Zelanda. Por ejemplo dichas regiones incluyen, pero sin limitación, los aminoácidos 1-40, los aminoácidos 143-165, los aminoácidos 180-220, de las variantes 1, 2 y 3 de 8P1D4, los aminoácidos 312-339 de la variante 1 de 8P1D4, y los aminoácidos 250-282 de la variante 3 de 8P1D4. Es útil conjugar el agente inmunizante con una proteína que se sabe que es inmunogénica en el mamífero que se está inmunizando. Los ejemplos de dichas proteínas inmunogénicas incluyen, pero sin limitación, hemocianina de lapa de ojo de cerradura (KLH), seroalbúmina, tiroglobulina bovina, e inhibidor de tripsina de semilla de soja. Un péptido que codifica los aminoácidos 250-282 de la variante 3 de 8P1D4 puede conjugarse con KLH y usarse para inmunizar a un conejo. Como alternativa el agente inmunizante puede incluir todas o porciones de las proteínas variantes de 8P1D4, análogos o proteínas de fusión de las mismas. Por ejemplo, usando técnicas de ADN recombinante, la secuencia de aminoácidos de la variante 1 de 8P1D4 puede fusionarse con una cualquiera de varios compañeros de proteínas de fusión muy conocidas en la técnica, tales como las proteínas de fusión glutatión-S-transferasa (GST) y las etiquetadas con histidina. Dichas proteínas de fusión se purifican de bacterias inducidas usando la matriz de afinidad apropiada.

Una proteína de fusión GST que codifica los aminoácidos 250-282, que abarca el segundo bucle extracelular previsto, puede purificarse y usarse como inmunógeno. Otras proteínas de fusión bacteriana recombinantes que pueden emplearse incluyen la proteína de unión a maltosa, LacZ, tioredoxina, NusA o una región constante de inmunoglobulina (véase la sección titulada "Producción de 8P1D4 en Sistemas Procariotas" y Current Protocols In Molecular Biology, Volumen 2, Unidad 16, Frederick M. Ausubul *et al.* eds., 1995; Linsley, P. S., Brady, W., Urnes, M., Grosmaire, L., Damle, N., y Ledbetter, L. (1991) J. Exp. Med. 174, 561-566).

Además de las proteínas de fusión derivadas de bacterias, también se usan antígenos proteicos expresados en mamíferos. Estos antígenos se expresan a partir de vectores de mamíferos tales como los vectores de fusión Tag5 y Fc (véase el Ejemplo titulado "Producción de 8P1D4 Recombinante en Sistemas Eucariotas"), y conservan las modificaciones postraduccionales tales como glucosilaciones encontradas en la proteína nativa. El bucle extracelular previsto de la variante 1, aminoácidos 185-218, puede clonarse en el vector de secreción de mamíferos Tag5. La proteína recombinante se purifica por cromatografía de metales quelados a partir de sobrenadantes del cultivo tisular de células 293T que expresan establemente el vector recombinante. La proteína 8P1D4 purificada de Tag5 se usa después como inmunógeno.

Durante el protocolo de inmunización, es útil mezclar o emulsionar el antígeno en adyuvantes que potencian la respuesta inmunitaria del animal huésped. Los ejemplos de adyuvantes incluyen, pero no están limitados a, adyuvante de Freund completo (CFA) y adyuvante MPL-TDM (Lípido A de monofosforilo, dicorinomicolato de trehalosa sintético).

En un protocolo típico, los conejos se inmunizan inicialmente por vía subcutánea con hasta 200 µg, normalmente 100-200 µg, de proteína de fusión o péptido conjugado con KLH mezclado en adyuvante de Freund completo (CFA). Después, a los conejos se les inyecta subcutáneamente cada dos semanas con hasta 200 µg, normalmente 100-200 µg, del inmunógeno en adyuvante de Freund incompleto (IFA). Las sangrías de ensayo se toman aproximadamente 7- 10 días después de cada inmunización y se usan para monitorizar el título del anti-suero por ELISA.

Para ensayar la reactividad y la especificidad del suero inmune, tal como el suero de conejo derivado de la inmunización con un péptido conjugado con KLH que codifica los aminoácidos 250-282 de la variante 3, el ADNc de la variante 1 de 8P1D4 de longitud completa se clona en el vector de expresión pCDNA 3.1 myc-his (Invitrogen, véase el Ejemplo titulado "Producción de 8P1D4 Recombinante en Sistemas Eucariotas"). Después de la transfección de las construcciones en células 293T, los lisados celulares se exploran con el suero anti-8P1D4 y con anticuerpo anti-His (Santa Cruz Biotechnologies, Santa Cruz, CA) para determinar la reactividad específica contra la proteína 8P1D4 desnaturalizada usando la técnica de transferencia de Western. El suero inmunitario se ensaya después mediante la técnica de transferencia de Western contra las células 293T-8P1D4. Además, el suero inmunitario se ensaya por microscopía de fluorescencia, citometría de flujo e inmunoprecipitación contra células 293T y otras células que expresan 8P1D4 recombinante para determinar el reconocimiento específico de la proteína nativa. También se llevan a cabo transferencias de Western, inmunoprecipitación, microscopía de fluorescencia y técnicas de citometría de flujo usando células que expresan endógenamente 8P1D4 para ensayar la reactividad y la especificidad.

El anti suero de conejos inmunizados con las proteínas de fusión variantes de 8P1D4, tales como las proteínas de fusión GST y MBP, se purifican por agotamiento de anticuerpos reactivos con la secuencia del compañero de fusión pasándolo a través de una columna de afinidad que contiene el compañero de fusión bien solo o en el contexto de una proteína de fusión irrelevante. Por ejemplo, el antisuero derivado de una proteína de fusión GST-8P1D4 que codifica los aminoácidos 250-282 de la variante 3 se purifica primero pasándolo a través de una columna de proteína GST covalentemente acoplada con la matriz AffiGel (BioRad, Hercules, Calif.). El antisuero se purifica después por afinidad pasándolo a través de una columna compuesta por una proteína de fusión MBP que también codifica los aminoácidos de 250-282 covalentemente acoplada a la matriz AffiGel. Después, el suero se purifica adicionalmente mediante cromatografía de afinidad a proteína G para aislar la fracción de IgG. Los sueros de otros conejos inmunizados con antígenos y péptidos etiquetados con His, así como los sueros agotados de compañeros de fusión se purifican por afinidad pasándolos a través de una matriz de columna compuesta por la proteína inmunogénica original o péptido libre.

#### **Ejemplo 11: generación de anticuerpos monoclonales (Acm) de 8P1D4**

Los Acm terapéuticos de las variantes de 8P1D4 pueden comprender aquellos que reaccionan con epítomos específicos para cada proteína variante o específicos para secuencias en común entre las variantes que interrumpirían o modularían la función biológica de las variantes de 8P1D4, por ejemplo aquellos que interrumpirían la interacción con ligandos y substratos o interrumpirían su actividad biológica. Los inmunógenos para la generación de dichos Acm incluyen aquellos diseñados para codificar o contener la secuencia completa de la variante de la proteína 8P1D4, las regiones de las variantes de la proteína 8P1D4 que se predice que son antigénicas a partir de análisis informáticos de la secuencia de aminoácidos (véase, por ejemplo, la Figura 5, Figura 6, Figura 7, Figura 8, o la Figura 9, y el Ejemplo titulado "Perfiles de Antigenicidad"). Los inmunógenos incluyen péptidos, proteínas bacterianas recombinantes y proteínas Tag 5 expresadas en mamíferos y proteínas de fusión IgG FC murinas y

humanas. Además, para inmunizar a los ratones se usan células modificadas genéticamente para expresar altos niveles de una variante de 8P1D4 respectiva, tales como células 293T-8P1D4 variante 1 o Pre-B 300.19 murinas-8P1D4 variante.

5 Para generar los Acm para una variante de 8P1D4, los ratones se inmunizan primero por vía intraperitoneal (IP) con, normalmente 10-50 µg de inmunógeno proteico o  $10^7$  células que expresan 8P1D4 mezcladas en adyuvante completo de Freund. Los ratones después se inmunizan posteriormente IP cada 2-4 semanas con, normalmente, 10-50 µg de inmunógeno proteico o  $10^7$  células mezcladas en adyuvante completo de Freund. Como alternativa, el adyuvante MPL-TDM se usa en las inmunizaciones. Además de las estrategias de inmunización anteriores basadas en proteínas y células, se emplea un protocolo de inmunización basado en ADN en el que un vector de expresión de mamíferos que codifica una secuencia de una variante de 8P1D4 se usa para inmunizar ratones mediante inyección directa de ADN plasmídico. Por ejemplo, los aminoácidos 185-218, se clonan en el vector de secreción de mamíferos Tag5 y el vector recombinante se usa como inmunógeno. En otro ejemplo los mismos aminoácidos se clonan en un vector de secreción de fusión a Fc en el que la secuencia de la variante 1 de 8P1D4 se fusiona en el extremo amino con una secuencia líder de IgK y en el extremo carboxilo con la secuencia codificante de la región Fc de IgG humana o murina. Este vector recombinante se usa después como inmunógeno. Los protocolos de inmunización con plásmidos se usan en combinación con proteínas purificadas que se expresan del mismo vector y con células que expresan la variante de 8P1D4 respectiva.

20 Durante el protocolo de inmunización, se toman muestras de sangre cada 7-10 días después de una inyección para controlar el título y la especificidad de la respuesta inmunitaria. Después, una vez que se ha obtenido la reactividad y especificidad apropiadas, tal como se determina mediante análisis ELISA, transferencia de Western, inmunoprecipitación, microscopia de fluorescencia y citometría de flujo, se lleva a cabo la fusión y generación de hibridomas con procedimientos establecidos bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Harlow y Lane, 1988).

25 En un ejemplo, para generar anticuerpos monoclonales específicos de la variante 3 de 8P1D4, un antígeno de la variante 3 de GST-8P1D4 que codifica los aminoácidos 250-282, se expresa y se purifica de bacterias. Ratones Balb C se inmunizan inicialmente por vía intraperitoneal con 25 µg de la proteína GST-8P1D4 variante 3 mezclada en adyuvante completo de Freund. Posteriormente los ratones se inmunizan cada dos semanas con 25 µg del antígeno mezclado en adyuvante incompleto de Freund durante un total de tres inmunizaciones. Un ELISA que usa una proteína de fusión MBP que codifica los aminoácidos 250-282 determina el título del suero de los ratones inmunizados. La reactividad y especificidad del suero para la proteína 8P1D4 variante 3 de longitud completa se controla por transferencia de Western, inmunoprecipitación y citometría de flujo usando células 293T transfectadas con un vector de expresión que codifica el ADNc de la variante 3 de 8P1D4 en comparación con células transfectadas con ADNc de las variantes 1 y 2 (véase, por ejemplo, el Ejemplo titulado "Producción de 8P1D4 recombinante en Sistemas Eucariotas"). También se usan otras células que expresan la variante 3 de 8P1D4 recombinante o células que expresan endógenamente la variante 3 de 8P1D4. Los ratones que muestran la reactividad específica más fuerte para la variante 3 de 8P1D4 se ponen en reposo y se les proporciona una inyección final de antígeno-GST en PBS y cuatro días después se sacrifican. Los bazo de los ratones sacrificados se extirpan y se fusionan con células de mieloma SPO/2 usando procedimientos convencionales (Harlow y Lane, 1988). Los sobrenadantes de pocillos de cultivo seleccionados con HAT se exploran por ELISA, transferencia de Western, inmunoprecipitación, microscopia de fluorescencia y citometría de flujo para identificar clones productores de anticuerpos específicos de 8P1D4. La afinidad de unión de un anticuerpo de 8P1D4 se determina usando tecnologías convencionales. Las mediciones de afinidad cuantifican la fuerza del anticuerpo para unirse al epítipo y se usan para ayudar a definir qué anticuerpo monoclonal de 8P1D4 se prefiere para su uso diagnóstico o terapéutico, tal como aprecia un experto en la materia. El sistema BIAcore (Uppsala, Suecia) es un método preferido para determinar la afinidad de unión. El sistema BIAcore usa resonancia de plasmón superficial (SPR, Welford K. 1991, Opt. Quant. Elect. 23: 1; Morton y Myszk, 1998, Methods in Enzymology 295: 268) para controlar las interacciones biomoleculares en tiempo real. El análisis BIAcore genera convenientemente constantes de velocidad de asociación, constantes de velocidad de disociación, constantes de disociación en equilibrio y constantes de afinidad.

#### **Ejemplo 12: ensayos de unión a HLA de clase I y de clase II**

55 Los ensayos de unión a HLA de clase I y de clase II que usan moléculas de HLA purificadas se realizan de acuerdo con protocolos divulgados (por ejemplo, publicaciones PCT WO 94/20127 y WO 94/03205; Sidney *et al.*, Current Protocols in Immunology 18.3.1 (1998); Sidney, *et al.*, J. Immunol. 154: 247 (1995); Sette, *et al.*, Mol. Immunol. 31: 813 (1994)). Brevemente, moléculas de MHC purificadas (de 5 a 500 nM) se incuban con diversos inhibidores peptídicos no marcados y péptidos sonda radiomarcados con  $^{125}$ I 1-10 nM tal como se describe. Después de la incubación, los complejos MHC-péptido se separan del péptido libre por filtración en gel y se determina la fracción de péptido unido. Normalmente, en experimentos preliminares, cada preparación de MHC se titula en presencia de cantidades fijas de péptidos radiomarcados para determinar la concentración de moléculas de HLA necesaria para unir el 10-20 % de la radioactividad total. Todos los ensayos de inhibición y de unión directa posteriores se realizan usando estas concentraciones de HLA.

65 Dado que en estas condiciones  $[\text{marcador}] < [\text{HLA}]$  y  $\text{CI}_{50} \geq [\text{HLA}]$ , los valores de  $\text{CI}_{50}$  medidos son aproximaciones

razonables de los verdaderos valores de  $K_D$ . Los inhibidores peptídicos normalmente se ensayan a concentraciones que varían de 120  $\mu\text{g/ml}$  a 1,2  $\text{ng/ml}$ , y se ensayan en de dos a cuatro experimentos completamente independientes. Para permitir la comparación de los datos obtenidos en los distintos experimentos, se calcula una cifra de unión relativa para cada péptido dividiendo la  $\text{CI}_{50}$  de un control positivo entre la  $\text{CI}_{50}$  de inhibición para cada péptido ensayado (normalmente versiones no marcadas del péptido sonda radiomarcado). Para los fines de las bases de datos, y comparaciones entre experimentos, se compilan los valores de unión relativa. Estos valores pueden posteriormente convertirse otra vez en valores de  $\text{CI}_{50}$  nM dividiendo la  $\text{CI}_{50}$  nM de los controles positivos para la inhibición entre la unión relativa del péptido de interés. Este método de compilación de datos es preciso y coherente para comparar péptidos que se han ensayado en días diferentes, o con diferentes lotes de MHC purificado.

Los ensayos de unión, tal como se explica anteriormente, pueden usarse para analizar péptidos portadores de motivos de HLA y/o supermotivos de HLA (véase la Tabla IV).

### **Ejemplo 13: identificación de epítomos candidatos CTL portadores de motivos y supermotivos de HLA**

Las composiciones de vacuna de HLA de la invención pueden incluir epítomos múltiples. Los epítomos múltiples pueden comprender supermotivos o motivos de HLA múltiples para obtener una amplia cobertura de población. Este ejemplo ilustra la identificación y confirmación de epítomos portadores de supermotivos y motivos para la inclusión en dicha composición de vacuna. El cálculo de la cobertura de población se realiza usando la estrategia que se describe a continuación.

#### **Búsquedas informáticas y algoritmos para la identificación de epítomos portadores de supermotivos y/o motivos**

Las búsquedas realizadas para identificar secuencias peptídicas portadoras de motivos del Ejemplo titulado "Perfiles de Antigenicidad" y las Tablas V-XVIII y XXII-LI emplean los datos de secuencias proteicas del producto génico de STEAP-1 que se exponen en las Figuras 2 y 3, los péptidos específicos que se usan para generar las tablas se enumeran en la Tabla LXI.

Las búsquedas informáticas para epítomos portadores de supermotivos o motivos de HLA de Clase I o de Clase II se realizan del siguiente modo. Todas las secuencias proteicas traducidas de STEAP-1 se analizan usando un programa informático de búsqueda de secuencias de caracteres para identificar posibles secuencias peptídicas que contienen motivos de unión a HLA apropiados; dichos programas se producen fácilmente de acuerdo con información en la técnica en vista de divulgaciones conocidas de motivos/supermotivos. Además, dichos cálculos pueden hacerse mentalmente.

Las secuencias supermotivo A2-, A3-, DR identificadas se puntúan usando algoritmos polinómicos para predecir su capacidad para unirse a moléculas específicas de HLA de Clase I o de Clase II. Estos algoritmos polinómicos explican el impacto de diferentes aminoácidos en diferentes posiciones, y se basan esencialmente en la premisa de la afinidad total (o  $\Delta G$ ) de las interacciones entre péptido-molécula de HLA pueden aproximarse como una función lineal polinómica del tipo:

$$\Delta G = a_{1i} \times a_{2i} \times a_{3i} \dots \times a_{ni}$$

donde  $a_{ji}$  es un coeficiente que representa el efecto de la presencia de un aminoácido dado ( $j$ ) en una posición determinada ( $i$ ) a lo largo de la secuencia de un péptido de  $n$  aminoácidos. La suposición crucial de este método es que los efectos en cada posición son esencialmente independientes entre sí (es decir, unión independiente de cadenas laterales individuales). Cuando el resto  $j$  se da en la posición  $i$  en el péptido, se supone que contribuye con una cantidad  $j_i$  constante a la energía de unión libre del péptido independientemente de la secuencia del resto del péptido.

El método de derivación de coeficientes de algoritmos específicos se ha descrito en Gulukota *et al.*, J. Mol. Biol. 267: 1258-126, 1997; (véase también Sidney *et al.*, Human Immunol. 45: 79-93, 1996; y Southwood *et al.*, J. Immunol. 160: 3363-3373, 1998). Brevemente, para todas las posiciones  $i$ , de anclaje y no anclaje por igual, la media geométrica de la unión relativa promedio (ARB, *Binding Relative Average*) de todos los péptidos que llevan  $j$  se calcula con respecto al resto del grupo, y se usa como en la estimación de  $j_i$ . Para los péptidos de Clase II, si son posibles alineamientos múltiples, solamente se utiliza el alineamiento de mayor puntuación, siguiendo un procedimiento repetitivo. Para calcular una puntuación algorítmica de un péptido determinado en un conjunto de ensayo, los valores ARB que corresponden a la secuencia del péptido se multiplican. Si este producto supera un umbral seleccionado, se predice la unión del péptido. Los umbrales apropiados se seleccionan en función del grado de rigurosidad de predicción deseado.

#### **Selección de péptidos con reactividad cruzada del supertipo HLA-A2**

Las secuencias de la proteína STEAP-1 se escanean utilizando programas informáticos de identificación de motivos,

para identificar secuencias de 8-, 9-, 10- y 11-meros que contengan la especificidad de anclaje principal del supermotivo HLA-A2. Normalmente, estas secuencias se puntúan después usando el protocolo anteriormente descrito y los péptidos que corresponden a las secuencias que puntúan positivamente se sintetizan y se ensayan para determinar su capacidad de unirse a moléculas purificadas de HLA-A\*0201 *in vitro* (HLA-A\*0201 se considera que es un prototipo de la molécula del supertipo A2).

Estos péptidos se ensayan después para determinar la capacidad de unirse a moléculas adicionales del supertipo A2 (A\*0202, A\*0203, A\*0206 y A\*6802). Los péptidos que se unen a al menos tres de los cinco alelos del supertipo A2 ensayados normalmente se considerarán agentes de unión de reactividad cruzada del supertipo A2. Los péptidos preferidos se unen con una afinidad igual o menor de 500 nM a tres o más moléculas del supertipo de HLA-A2.

#### Selección de epítomos portadores del supermotivo de HLA-A3

La secuencia o secuencias de la proteína STEAP-1 escaneadas anteriormente también se examinan para determinar la presencia de péptidos con los anclajes primarios del supermotivo de HLA-A3. Los péptidos que corresponden a las secuencias portadoras del supermotivo de HLA A3 se sintetizan después y se ensayan para determinar la unión a las moléculas de HLA-A\*0301 y HLA-A\*1101, las moléculas codificadas por los dos alelos del supertipo A3 más frecuentes. Los péptidos que se unen a al menos uno de los dos alelos con afinidades de unión de  $\leq 500$  nM, a menudo  $\leq 200$  nM, se ensayan después para determinar la unión con reactividad cruzada a los otros alelos comunes del supertipo A3 (por ejemplo, A\*3101, A\*3301 y A\*6801) para identificar aquellos que pueden unirse a al menos tres de las cinco moléculas del supertipo HLA-A3 ensayadas.

#### Selección de epítomos portadores del supermotivo de HLA-B7

La proteína o proteínas STEAP-1 escaneadas anteriormente se analizan también para determinar la presencia de péptidos de 8-, 9-, 10-, u 11-meros con el supermotivo de HLA-B7. Los péptidos correspondientes se sintetizan y se ensayan para determinar la unión a HLA-B\*0702, la molécula codificada por el alelo más común del supertipo B7 (es decir, el alelo prototípico del supertipo B7). Los péptidos que se unen a B\*0702 con una  $CI_{50}$  de  $\leq 500$  nM se identifican usando métodos convencionales. Estos péptidos se ensayan después para determinar la unión a otras moléculas comunes del supertipo B7 (por ejemplo, B\*3501, B\*5101, B\*5301, y B\*5401). De este modo se identifican los péptidos que pueden unirse a tres o más de los cinco alelos del supertipo B7 ensayados.

#### Selección de epítomos portadores de motivos A1 y A24

Para aumentar adicionalmente la cobertura de la población, pueden incorporarse también epítomos HLA-A1 y -A24 en las composiciones de vacuna. También puede realizarse un análisis de la proteína STEAP-1 para identificar secuencias que contengan los motivos HLA-A1 y A24.

Los epítomos de unión de alta afinidad y/o reactividad cruzada que portan otros motivos y/o supermotivos se identifican usando metodología análoga.

#### **Ejemplo 14: Confirmación de inmunogenicidad**

Los péptidos portadores del supermotivo A2 de CTL candidatos con reactividad cruzada que se identifican tal como se describe en el presente documento se seleccionan para confirmar la inmunogenicidad *in vitro*. La confirmación se realiza usando la siguiente metodología:

##### Líneas celulares diana para exploración celular:

Se usó la línea celular 221A2.1, producida por transferencia del gen HLA-A2.1 en la línea celular B-linfoblastoidea humana mutante nula de HLA-A, B, C, 721.221, como diana cargada con péptido para medir la actividad del CTL restringido a HLA-A2.1. Esta línea celular se cultivó en medio RPMI-1640 complementado con antibióticos, piruvato sódico, aminoácidos no esenciales y FCS al 10 % (v/v) termoinactivado. Las células que expresan un antígeno de interés, o transfectantes que comprenden el gen que codifica el antígeno de interés, pueden usarse como células diana para confirmar la capacidad de los CTL específicos de péptido para reconocer el antígeno endógeno.

##### Cultivos de inducción primaria de CTL:

**Generación de Células Dendríticas (CD):** CMSP se descongelaron en RPMI con 30  $\mu$ g/ml de ADNasa, se lavaron dos veces y se resuspendieron en medio completo (RPMI-1640 más 5 % de suero humano AB, aminoácidos no esenciales, piruvato sódico, L-glutamina y penicilina/estreptomicina). Los monocitos se purificaron mediante siembra de  $10 \times 10^6$  CMSP/pocillo en una placa de 6 pocillos. Después de 2 horas a 37 °C, las células no adherentes se eliminaron mediante agitación suave de las placas y aspiración de los sobrenadantes. Las células se lavaron un total de tres veces con 3 ml de RPMI para eliminar la mayor parte de las células no adherentes y laxamente adheridas. Después se añadieron 3 ml de medio completo que contenía 50 ng/ml de GM-CSF y 1.000 U/ml de IL-4 a cada pocillo. El TNF $\alpha$  se añadió a las CD el día 6 a 75 ng/ml y las células se usaron para cultivos de inducción de CTL el



día 7.

*Inducción de CTL con CD y Péptido:* células T CD8+ se aislaron por selección positiva con perlas inmunomagnéticas Dinales (Dynabeads® M-450) y el reactivo detacha-bead®. Normalmente, se procesaron aproximadamente 200-250 x 10<sup>6</sup> CMSP para obtener 24 x 10<sup>6</sup> células T CD8+ (suficientes para una placa de cultivo de 48 pocillos). Brevemente, los CMSP se descongelaron en RPMI con 30 µg/ml de ADNasa, se lavaron una vez con PBS que contenía 1 % de suero AB humano y se resuspendieron en PBS/1 % suero AB a una concentración de 20 x 10<sup>6</sup> células/ml. Las perlas magnéticas se lavaron 3 veces con PBS/suero AB, se añadieron a las células (140 µl 1 perla/20 x 10<sup>6</sup> células) y se incubaron durante 1 hora a 4 °C con mezcla continua. Las perlas y las células se lavaron 4x con PBS/suero AB para eliminar las células no adherentes y se resuspendió a 100 x 10<sup>6</sup> células/ml (basándose en el número de células original) en PBS/suero AB que contenía 100 µl/ml de reactivo detacha-bead® y 30 µg/ml de ADNasa. La mezcla se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con mezcla continua. Las perlas se lavaron de nuevo con PBS/AB/ADNasa para recoger las células T CD8+. Las CD se recogieron y se centrifugaron a 1300 rpm durante 5-7 minutos, se lavaron una vez con PBS con BSA al 1 %, se contaron y se pulsaron con 40 µg/ml de péptido a una concentración celular de 1-2 x 10<sup>6</sup>/ml en presencia de 3 µg/ml de β<sub>2</sub> microglobulina durante 4 horas a 20 °C. Las CD se irradiaron después (4.200 rads), se lavaron 1 vez con medio y se contaron de nuevo.

*Establecimiento de cultivos de inducción:* se co-cultivaron 0,25 ml de CD generadas por citocina (a 1 x 10<sup>5</sup> células/ml) con 0,25 ml de células T CD8+ (a 2 x 10<sup>6</sup> células/ml) en cada pocillo de una placa de 48 pocillos en presencia de 10 ng/ml de IL-7. Se añadió IL-10 recombinante humana el día siguiente a una concentración final de 10 ng/ml y se añadió IL-2 recombinante humana 48 horas después a 10 UI/ml.

*Reestimulación de los cultivos de inducción con células adherentes pulsadas con péptidos:* siete y catorce días después de la primera inducción, las células se reestimularon con células adherentes pulsadas con péptidos. Las CMSP se descongelaron y se lavaron dos veces con RPMI y ADNasa. Las células se resuspendieron a 5 x 10<sup>6</sup> células/ml y se irradiaron a ~4200 rads. Las CMSP se sembraron a 2 x 10<sup>6</sup> en 0,5 ml de medio completo por pocillo y se incubaron durante 2 horas a 37 °C. Las placas se lavaron dos veces con RPMI golpeando suavemente la placa para eliminar las células no adherentes y las células adherentes se pulsaron con 10 µg/ml de péptido en presencia de 3 µg/ml de β<sub>2</sub> microglobulina en 0,25 ml de RPMI/5 % de AB por pocillo durante 2 horas a 37 °C. La solución de péptidos de cada pocillo se aspiró y los pocillos se lavaron una vez con RPMI. La mayor parte del medio se aspiró de los cultivos de inducción (células CD8+) y se llevó a 0,5 ml con medio reciente. Las células se transfirieron después a los pocillos que contenían las células adherentes pulsadas con péptido. Veinticuatro horas después se añadió IL-10 recombinante humana a una concentración final de 10 ng/ml y al día siguiente se añadió IL2 humana recombinante y de nuevo 2-3 días después a 50 UI/ml (Tsai *et al.*, *Critical Reviews in Immunology* 18(1-2): 65-75, 1998). Siete días más tarde, los cultivos se ensayaron para determinar la actividad de CTL en un ensayo de liberación de <sup>51</sup>Cr. En algunos experimentos los cultivos se ensayan para el reconocimiento de péptidos específicos en el ELISA de IFNγ *in situ* en el momento de la segunda reestimulación seguido de un ensayo de reconocimiento endógeno 7 días después. Después de la expansión, se mide la actividad en ambos ensayos para una comparación frente a frente.

#### Medición de la actividad lítica de CTL mediante liberación de <sup>51</sup>Cr.

Siete días después de la segunda reestimulación, se determinó la citotoxicidad en un ensayo convencional (5 h) de liberación de <sup>51</sup>Cr ensayando los pocillos individuales a una relación de E:D simple. Las dianas pulsadas con péptidos se prepararon incubando las células con 10 µg/ml de péptido durante toda la noche a 37 °C.

Las células diana adherentes se retiraron de los matraces de cultivo con tripsina/EDTA. Las células diana se marcaron con 200 µCi de cromato sódico <sup>51</sup>Cr (Dupont, Wilmington, DE) durante 1 hora a 37 °C. Las células diana marcadas se resuspendieron a 10<sup>6</sup> por ml y se diluyeron a 1:10 con células K562 a una concentración de 3,3 x 10<sup>6</sup>/ml (una línea celular de eritoblastoma sensible a NK que se usa para reducir la lisis no específica). Las células diana (100 µl) y efectoras (100 µl) se sembraron en placas de 96 pocillos de fondo redondo y se incubaron durante 5 horas a 37 °C. En ese momento, se recogieron 100 µl de sobrenadante de cada pocillo y el porcentaje de lisis se determinó de acuerdo con la fórmula:

$$\frac{[(\text{cpm de la muestra de ensayo} - \text{cpm de la muestra de liberación de } ^{51}\text{Cr espontáneo}) / (\text{cpm de la muestra de liberación máxima de } ^{51}\text{Cr} - \text{cpm de la muestra de liberación de } ^{51}\text{Cr espontáneo})] \times 100.}$$

Se determinó la liberación máxima y espontánea incubando las dianas marcadas con Triton X-100 al 1 % y medio solo, respectivamente. Se definió un cultivo positivo como uno en el que la lisis específica (muestra-fondo) es del 10 % o mayor en el caso de pocillos individuales y del 15 % o mayor a las dos relaciones de E : D más altas cuando se ensayaron los cultivos expandidos.

Medición *in situ* de la producción de IFN $\gamma$  humana como un indicador de péptidos específicos y endógenosReconocimiento

- 5 Placas Immulon 2 se cubrieron con anticuerpo monoclonal anti-IFN $\gamma$  humano de ratón (4  $\mu$ g/ml NaHCO<sub>3</sub> 0,1 M, pH 8,2) durante la noche a 4 °C. Las placas se lavaron con PBS sin Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>/Tween 20 al 0,05 % y se bloquearon con PBS/FCS al 10 % durante dos horas, después de las cuales los CTL (100  $\mu$ l/pocillo) y las dianas (100  $\mu$ l/pocillo) se añadieron a cada pocillo, dejando pocillos vacíos para los patrones y los blancos (que solo recibieron medio). Las células diana, dianas pulsadas con péptidos o endógenas, se usaron a una concentración de 1 x 10<sup>6</sup> células/ml. Las
- 10 placas se incubaron durante 48 horas a 37 °C con CO<sub>2</sub> al 5 %.

- Se añadió IFN-gamma recombinante a los pocillos patrón comenzando a 400 pg o 1200pg/100 microlitros/pocillo y la placa se incubó durante dos horas a 37 °C. Las placas se lavaron y se añadieron 100  $\mu$ l de anticuerpo monoclonal anti-IFN-gamma humano de ratón marcado con biotina (2 microgramos/ml en PBS/FCS al 3 %/Tween 20 al 0,05 %) y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después, las placas se lavaron 6x con tampón de lavado, se
- 15 añadieron 100 microlitros/pocillo de solución de revelado (TMB 1:1), y se dejó revelar las placas durante 5-15 minutos- La reacción se detuvo con 50 microlitros/pocillo de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 1 M y se realizó la lectura a una DO de 450. Un cultivo se consideraba positivo si medía al menos 50 pg de IFN-gamma/pocillo por encima del fondo y era dos veces el nivel de expresión del fondo.

20

Expansión de CTL

- Aquellos cultivos que demostraban actividad lítica específica contra dianas pulsadas por péptido y/o dianas tumorales se expandieron durante un periodo de dos semanas con anti-CD3. Brevemente, se añadieron 5 x 10<sup>4</sup>
- 25 células CD8<sup>+</sup> a un matraz T25 que contenía lo siguiente: 1 x 10<sup>6</sup> CMSP irradiadas (4.200 rad) (autólogas o alogénicas) por ml, 2 x 10<sup>5</sup> células transformadas con el VEB irradiadas (8.000 rad) por ml, y OKT3 (anti-CD3) a 30 ng por ml en RPMI-1640 que contenía suero AB humano al 10 % (v/v), aminoácidos no esenciales, piruvato sódico, 2-mercaptoetanol 25  $\mu$ M, L-glutamina y penicilina/estreptomicina. Se añadió IL2 humana recombinante 24 horas más tarde a una concentración final de 200 UI/ml y cada tres días posteriormente con medio reciente a 50 UI/ml. Las
- 30 células se dividían si la concentración superaba 1 x 10<sup>6</sup>/ml y los cultivos se ensayaron entre los días 13 y 15 a relaciones de E : D de 30, 10, 3 y 1:1 en el ensayo de liberación de <sup>51</sup>Cr o a 1 x 10<sup>6</sup>/ml en el ensayo de IFN $\gamma$  *in situ* usando las mismas dianas que antes de la expansión.

- Los cultivos se expandieron en ausencia de anti-CD3<sup>+</sup> del siguiente modo. Se seleccionaron los cultivos que
- 35 demostraban actividad lítica específica contra dianas peptídicas y endógenas y se añadieron 5 x 10<sup>4</sup> células CD8<sup>+</sup> a un matraz T25 que contenía lo siguiente: 1 x 10<sup>6</sup> CMSP autólogas por ml que se habían pulsado con péptido con 10  $\mu$ g/ml de péptido durante dos horas a 37 °C e irradiadas (4.200 rad); 2 x 10<sup>5</sup> células transformadas con el VEB irradiadas (8.000 rad) por ml de RPMI-1640 que contenía suero AB humano al 10% (v/v), AA no esenciales, piruvato sódico, 2-ME 25 mM, L-glutamina y gentamicina.

40

Inmunogenicidad de péptidos portadores del supermotivo A2

- Los péptidos de unión con reactividad cruzada del supermotivo A2 se ensayaron en el ensayo celular para determinar la posibilidad de inducir CTL específicos de péptidos en individuos normales. En este análisis, se
- 45 considera que un péptido es normalmente un epítipo si induce CTL específicos de péptidos en al menos individuos, y preferentemente, también reconoce el péptido expresado de manera endógena.

- La inmunogenicidad también puede confirmarse usando CMSP aisladas de pacientes portadores de un tumor que expresa STEAP-1. Brevemente, las CMSP se aíslan de pacientes, se re-estimulan con monocitos pulsados con
- 50 péptidos y se ensayan determinar la capacidad de reconocer células diana pulsadas con péptidos así como células transfectadas que expresan de manera endógena el antígeno.

Evaluación de la inmunogenicidad de A\*03/A11

- 55 Los péptidos de unión con reactividad cruzada portadores del supermotivo HLA-A3 también se evalúan para determinar la inmunogenicidad usando metodología análoga a la que se usó para evaluar la inmunogenicidad de los péptidos de los supermotivos HLA-A2.

Evaluación de la inmunogenicidad de B7

60

La exploración de la inmunogenicidad de los péptidos de unión con reactividad cruzada de supertipo B7 identificados tal como se expone en el presente documento se confirma de manera análoga a la confirmación de péptidos portadores de supermotivos A2 y A3.

- 65 Los péptidos portadores de otros supermotivos/motivos, por ejemplo, HLA-A1, HLA-A24 etc. también se confirman

usando metodología similar.

**Ejemplo 15: implementación del supermotivo extendido para mejorar la capacidad de unión de epítomos nativos mediante la creación de análogos**

Los motivos y supermotivos de HLA (que comprenden restos primarios y/o secundarios) son útiles para la identificación y la preparación de péptidos nativos de alta reactividad cruzada, tal como se demuestra en el presente documento. Además, la definición de motivos y supermotivos de HLA también permite modificar genéticamente epítomos de alta reactividad cruzada identificando restos dentro de una secuencia peptídica nativa que pueden analogarse para conferir al péptido determinadas características, por ejemplo, mejor reactividad cruzada dentro del grupo de las moléculas de HLA que comprende un supertipo, y/o mayor afinidad de unión para algunas o todas las moléculas de HLA. Los ejemplos de péptidos de analogía que muestran afinidad de unión modulada se exponen en este ejemplo.

**Analogización en restos de anclaje primarios**

Las estrategias de modificación genética de los péptidos están implementadas para aumentar adicionalmente la reactividad cruzada de los epítomos. Por ejemplo, los anclajes principales de péptidos portadores del supermotivo A2 están alterados, por ejemplo, para introducir una L, I, V o M preferida en la posición 2, e I o V en el extremo C.

Para analizar la reactividad cruzada de los péptidos análogos, cada análogo modificado genéticamente se ensaya inicialmente para determinar la unión al alelo prototípico del supertipo A2 A\*0201, después, si se mantiene la capacidad de unión a A\*0201, para una reactividad cruzada del supertipo A2.

Como alternativa, un péptido se confirma como de unión a uno o a todos los miembros del supertipo y después se establece la analogía para modular la afinidad de unión a uno cualquiera (o más) de los miembros del supertipo para añadir cobertura a la población.

La selección de análogos para la inmunogenicidad en un análisis de exploración celular normalmente se restringe adicionalmente mediante la capacidad del péptido parental de tipo silvestre (TS) para unirse al menos débilmente, es decir, unirse a una  $CI_{50}$  de 5000 nM o menor, a tres o más de los alelos de supertipo A2. El razonamiento para este requerimiento es que los péptidos de TS deben estar presentes endógenamente en suficiente cantidad para ser biológicamente relevantes. Se ha mostrado que los péptidos analogados tienen inmunogenicidad y reactividad cruzada aumentada por células T específicas para el epítipo parental (véase, por ejemplo, Parkhurst *et al.*, J. Immunol. 157: 2539, 1996; y Pogue *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 92: 8166, 1995).

En la exploración celular de estos análogos peptídicos, es importante confirmar que los CTL específicos del análogo también son capaces de reconocer el péptido de tipo silvestre y, cuando sea posible, células diana que expresan endógenamente el epítipo.

**Analogización de péptidos portadores de supermotivos de HLA-A3 y B7**

Los análogos de péptidos portadores de supermotivos de HLA-A3 se generan usando estrategias similares a las empleadas para la analogización de péptidos portadores del supermotivo de HLA-A2. Por ejemplo, los péptidos que se unen a 3/5 de las moléculas del supertipo A3 se modifican genéticamente en restos de anclaje primario para poseer un resto preferido (V, S, M o A) en la posición 2.

Los péptidos análogos se ensayan después para determinar capacidad de unirse a A\*03 y A\*11 (alelos prototípicos del supertipo A3). Después, se confirma que estos péptidos que demuestran una capacidad de unión  $\leq 500$  nM, tienen reactividad cruzada con el supertipo A3.

De manera similar a los péptidos portadores de los motivos A2 y A3, los péptidos que se unen a 3 o más alelos del supertipo B7 pueden mejorarse, cuando es posible, para conseguir una unión de reactividad cruzada aumentada o una mayor afinidad de unión o semivida de unión. Los péptidos portadores del supermotivo B7, por ejemplo, se modifican genéticamente para poseer un resto preferido (V, I, L o F) en la posición de anclaje primario del extremo C, tal como demuestran Sidney *et al.* (J. Immunol. 157: 3480-3490, 1996).

Los Analogización en restos de anclaje primario de otros epítomos portadores de motivos y/o supermotivos se realizan de una manera similar.

La inmunogenicidad de los péptidos análogos se confirma después, normalmente en un ensayo de exploración celular. De nuevo, es generalmente importante demostrar que los CTL específicos de análogos también son capaces de reconocer el péptido de tipo silvestre y, cuando sea posible, dianas que expresan endógenamente el epítipo.

**Analogización en restos del anclaje secundario**

Por otra parte, los supermotivos de HLA son valiosos en la modificación genética de péptidos con alta reactividad cruzada y/o de péptidos que se unen a moléculas de HLA con afinidad aumentada mediante la identificación de restos particulares en posiciones de anclaje secundarias que se asocian con dichas propiedades. Por ejemplo, se analiza la capacidad de unión de un péptido portador de un supermotivo B7 con un resto F en la posición 1. El péptido se analiza después, por ejemplo, para sustituir L por F en la posición 1. El péptido analogado se evalúa para determinar la afinidad de unión aumentada, la semivida de unión y/o la reactividad cruzada aumentada. Dicho procedimiento identifica péptidos analogados con propiedades potenciadas.

Los análogos modificados genéticamente con capacidad de unión o reactividad cruzada suficientemente mejorada también pueden ensayarse para determinar la inmunogenicidad en ratones transgénicos de HLA-B7, siguiendo por ejemplo, una inmunización IFA o lipopeptídica. Los péptidos analogados se ensayan adicionalmente para determinar la capacidad de estimular una respuesta de recuerdo usando CMSP de pacientes con tumores que expresan STEAP-1.

#### Otras estrategias de analogización

Otra forma de analogizar péptidos, no relacionados con posiciones de anclaje, implica la sustitución de un cisteína por un ácido  $\alpha$  amino butírico. Debido a su naturaleza química, la cisteína es propensa a formar puentes disulfuro y alterar suficientemente el péptido estructuralmente de modo que reduce su capacidad de unión. La sustitución de ácido  $\alpha$  amino butírico por cisteína no solo alivia este problema, sino que se ha mostrado que mejora las capacidades de unión y unión cruzada en algunos casos (véase, por ejemplo, la revisión de Sette *et al.*, In: Persistent Viral Infections, Eds. R. Ahmed y I. Chen, John Wiley & Sons, Inglaterra, 1999).

Por lo tanto, mediante el uso de sustituciones de un solo aminoácido, pueden modularse las propiedades de unión y/o de reactividad cruzada de ligandos peptídicos por moléculas de supertipo HLA.

#### **Ejemplo 16: Identificación y confirmación de secuencias derivadas de STEAP-1 con motivos de unión a HLA-DR**

Los péptidos epitópicos portadores de un supermotivo o motivo de HLA de clase II se identifican y se confirman tal como se explica a continuación usando metodología similar a la descrita para los péptidos de HLA de Clase I.

#### Selección de epítomos portadores de supermotivos de HLA-DR

Para identificar epítomos de HTL de HLA de clase II, derivados de STEAP-1, se analiza un antígeno de STEAP-1 para determinar la presencia de secuencias portadoras de un motivo o supermotivo de HLA-DR. Específicamente, se seleccionan secuencias 15-meros que comprenden un supermotivo DR, que comprende un núcleo de 9-meros, y tres restos N y C terminales de las regiones flanqueantes (15 5 aminoácidos totales).

Se han desarrollado protocolos para predecir la unión peptídica a moléculas DR (Southwood *et al.*, J. Immunol. 160: 3363-3373, 1998). Estos protocolos, específicos para moléculas DR individuales, permiten la puntuación, y la clasificación, de regiones núcleo de 9-meros. Cada protocolo no solamente puntúa secuencias peptídicas para determinar la presencia de anclajes primarios al supermotivo de DR (es decir en la posición 1 y posición 6) dentro de un núcleo de 9-meros, sino que además evalúa secuencias para determinar la presencia de anclajes secundarios. Usando tablas de selección específicas de alelo (véase, por ejemplo, Southwood *et al.*, *ibid*), se ha descubierto que estos protocolos seleccionan de manera eficaz secuencias peptídicas con una alta probabilidad para unirse a una molécula DR particular. Adicionalmente, se ha descubierto que, realizando estos protocolos en tándem, específicamente aquellos para DR1, DR4w4 y DR7, pueden seleccionarse de manera eficaz péptidos con reactividad cruzada para DR.

Los péptidos derivados de STEAP-1 identificados anteriormente se ensayan para determinar su capacidad de unión por diversas moléculas HLA-DR comunes. Todos los péptidos se ensayan inicialmente para determinar la unión a las moléculas DR en el primer panel: DR1, DR4w4 y DR7. Los péptidos que se unen a al menos dos de estas tres moléculas DR se ensayan después para determinar la unión a moléculas DR2w2  $\beta$ 1, DR2w2  $\beta$ 2, DR6w19 y DR9 en ensayos secundarios. Finalmente, los péptidos que se unen a al menos dos de las cuatro moléculas DR del panel secundario, y por lo tanto acumulativamente al menos a cuatro de siete moléculas DR diferentes, se exploran para determinar la unión a moléculas DR4w15, DR5w11 y DR8w2 en ensayos terciarios. Se considera que los péptidos que se unen a al menos siete de las diez moléculas DR que comprenden los ensayos de exploración primarios, secundarios y terciarios, son agentes de unión a DR de reacción cruzada. Son de particular interés los péptidos derivados de STEAP-1 que se encontró que se unían a alelos comunes de HLA-DR.

#### Selección de péptidos con motivos DR3

Dado que alelo HLA-DR3 es un alelo frecuente en las poblaciones caucásica, africana e hispana, la capacidad de unión a DR3 es un criterio relevante en la selección de epítomos HTL. Por lo tanto, los péptidos que muestran ser candidatos pueden también ensayarse para determinar su capacidad de unión a DR3. Sin embargo, en vista de la

especificidad de unión del motivo DR3, los péptidos que se unen solamente a DR3 pueden considerarse también como candidatos para su inclusión en una formulación de vacuna.

Para identificar de manera eficaz péptidos que se unen a DR3, se analizan antígenos diana de STEAP-1 para las secuencias que llevan uno de los dos motivos de unión específicos de DR3 notificados por Geluk *et al.* (J. Immunol. 152: 5742-5748, 1994). Los péptidos correspondientes se sintetizan después y se confirma que tienen la capacidad de unirse a DR3 con una afinidad de 1  $\mu$ M o mejor, es decir, menor de 1  $\mu$ M. Se descubren péptidos que cumplen estos criterios de unión y se califican como agentes de unión de alta afinidad al HLA de clase II.

Los epítomos que se unen a DR3 identificados de este modo se incluyen en composiciones de vacunas con epítomos peptídicos portadores de supermotivo DR.

De manera similar al caso de los péptidos portadores de motivos de HLA de clase I, los péptidos portadores de motivos de HLA de clase II se analogizan para mejorar la afinidad o la reactividad cruzada. Por ejemplo, el ácido aspártico en la posición 4 de la secuencia núcleo de 9-meros es un resto óptimo para la unión a DR3, y la sustitución por ese resto a menudo mejora la unión a DR3.

#### **Ejemplo 17: inmunogenicidad de epítomos HTL derivados de STEAP-1**

Este ejemplo determina epítomos portadores de supermotivos DR y motivos DR3 entre los identificados usando la metodología expuesta en el presente documento.

La inmunogenicidad de los epítomos HTL se confirma de una manera análoga a la determinación de la inmunogenicidad de los epítomos CTL, evaluando la capacidad de estimular respuestas HTL y/o usando modelos de ratón transgénico adecuados. La inmunogenicidad se determina explorando: 1.) la inducción primaria *in vitro* usando CMSP normales o 2.) respuestas de recuerdo de pacientes que tienen tumores que expresan STEAP-1.

#### **Ejemplo 18: cálculo de frecuencias fenotípicas de supertipos de HLA en diversos fondos étnicos para determinar la amplitud de cobertura de la población**

Este ejemplo ilustra la evaluación de la amplitud de cobertura de la población de la composición de vacuna comprendida por múltiples epítomos que comprenden múltiples supermotivos y/o motivos.

Para analizar la cobertura de la población, se determinan frecuencias génicas de alelos HLA. Las frecuencias génicas de cada alelo HLA se calculan a partir de frecuencias antigénicas o alélicas utilizando la fórmula de distribución binomial  $gf=1-(SQRT(1-af))$  (véase, por ejemplo, Sidney *et al.*, Human Immunol. 45: 79-93, 1996). Para obtener frecuencias fenotípicas totales, se calculan las frecuencias génicas acumulativas y las frecuencias antigénicas acumulativas obtenidas usando la fórmula inversa  $[af=1-(1-Cgf)^2]$ .

Cuando no se dispone de datos de frecuencia a nivel de tipificación de ADN, se supone correspondencia con las frecuencias antigénicas serológicamente definidas. Para obtener cobertura de población de supertipos posible total no se supone desequilibrio de ligamiento, y solo se incluyen los alelos que se confirma que pertenecen a cada uno de los supertipos (estimaciones mínimas). Las estimaciones de cobertura posible total obtenidas por combinaciones inter-loci se realizan añadiendo a la cobertura A la proporción de la población no cubierta A que podría esperarse que estuviera cubierta por los alelos B considerados (por ejemplo,  $total=A+B*(1-A)$ ). Los miembros confirmados del supertipo similar a A3 son A3, A11, A31, A\*3301 y A\*6801. Aunque el supertipo similar a A3 también puede incluir A34, A66 y A\*7401, estos alelos no se incluyeron en los cálculos de frecuencia total. Del mismo modo, los miembros confirmados de la familia del supertipo similar a A2 son A\*0201, A\*0202, A\*0203, A\*0204, A\*0205, A\*0206, A\*0207, A\*6802 y A\*6901. Finalmente, los alelos confirmados de supertipo similar a B7 son: B7, B\*3501-03, B51, B\*5301, B\*5401, B\*5501-2, B\*5601, B\*6701 y B\*7801 (potencialmente también B\*1401, B\*3504-06, B\*4201 y B\*5602).

La cobertura de la población obtenida combinando los supertipos A2-, A3- y B7- es de aproximadamente 86 % en cinco grupos étnicos principales. La cobertura puede ampliarse incluyendo péptidos portadores de motivos A1 y A24. En promedio, A1 está presente en el 12 % y A24 en el 29 % de la población en cinco grupos étnicos principales distintos (caucásico, africano, norteamericano, chino, japonés e hispano). En conjunto, estos alelos están representados con una frecuencia media del 39 % en estas mismas poblaciones étnicas. La cobertura total en las etnias principales cuando se combinan A1 y A24 con la cobertura de los alelos de los supertipos A2-, A3- y B7- es >95 %. Puede usarse un enfoque análogo para estimar la cobertura de población obtenida con combinaciones de epítomos portadores de motivos de clase II.

Los estudios de inmunogenicidad en seres humanos (por ejemplo, Bertoni *et al.*, J. Clin. Invest. 100: 503, 1997; Doolan *et al.*, Immunity 7: 97, 1997; y Threlkeld *et al.*, J. Immunol. 159: 1648, 1997) han mostrado que los péptidos de unión con reactividad cruzada alta son casi siempre reconocidos como epítomos. El uso de péptidos de unión con reactividad cruzada alta es un criterio de selección importante en la identificación de epítomos candidatos para su inclusión en una vacuna que es inmunogénica en una población diversa.

Con un número suficiente de epítomos (como se divulga en el presente documento y en técnica), se predice una cobertura de la población media que sea mayor del 95 % en cada una de las principales poblaciones étnicas. El análisis de simulación de teorías de juego de Monte Carlo, conocido en la técnica (véase, por ejemplo, Osborne, M. J. y Rubinstein, A. "A course in game theory" MIT Press, 1994), puede usarse para estimar que porcentaje de individuos en una población comprendida por los grupos étnicos caucásico, africano, norteamericano, japonés, chino e hispano, reconocerían los epítomos de la vacuna que se describe en el presente documento. Un porcentaje preferente es del 90 %. Un porcentaje más preferente es del 95 %.

#### **Ejemplo 19: Reconocimiento CTL de antígenos procesados endógenamente después de sensibilización**

Este ejemplo confirma que los CTL inducidos por epítomos peptídicos nativos o análogos identificados y seleccionados tal como se describe en el presente documento, reconocen antígenos endógenamente sintetizados, es decir, nativos.

Células efectoras aisladas de ratones transgénicos que están inmunizados con epítomos peptídicos, por ejemplo epítomos portadores de supermotivos HLA-A2, se re-estimulan *in vitro* usando células estimuladoras cubiertas con péptidos. Seis días después, las células efectoras se ensayan para determinar la citotoxicidad y las líneas celulares que contienen actividad citotóxica específica de péptido se re-estimulan adicionalmente. Seis días más tarde, estas líneas celulares se ensayan adicionalmente para determinar la actividad citotóxica en células diana Jurkat-A2.1/K<sup>b</sup> marcadas con <sup>51</sup>Cr en ausencia o presencia de péptido, y también se ensaya en células diana marcadas con <sup>51</sup>Cr que portan el antígeno sintetizado endógenamente, es decir, células que se transfectan establemente con vectores de expresión de STEAP-1.

Los resultados demuestran que las líneas CTL obtenidas de animales sensibilizados con el epítomo peptídico, reconocen el antígeno de STEAP-1 sintetizado endógenamente. La elección del modelo de ratón transgénico que se usa para dicho análisis depende del epítomo o de los epítomos que se estén evaluando. Además de ratones transgénicos HLA-A\*0201/K<sup>b</sup>, también pueden usarse diversos otros modelos de ratón transgénico, que incluyen ratones con A11 humano, que también pueden usarse para evaluar epítomos A3, y se han caracterizado alelos B7 y se están desarrollando otros (por ejemplo, ratones transgénicos para HLA-A1 y A24). También se han desarrollado modelos de ratón para HLA-DR1 y HLA-DR3 que pueden usarse para evaluar epítomos de HTL.

#### **Ejemplo 20: actividad de epítomos conjugados con CTL-HTL en ratones transgénicos**

Este ejemplo ilustra la inducción de los CTL y HTL en ratones transgénicos, usando composiciones de vacuna de HTL y CTL derivados de STEAP-1. La composición de vacuna que se usa en el presente documento comprende péptidos a administrar a un paciente con un tumor que expresa STEAP-1. La composición peptídica puede comprender múltiples epítomos CTL y/o HTL. Los epítomos se identifican usando metodología como se describe en el presente documento. Este ejemplo también ilustra que puede obtenerse inmunogenicidad potenciada mediante la inclusión de uno o más epítomos HTL en una composición de vacuna CTL; dicha una composición peptídica puede comprender un epítomo HTL conjugado con un epítomo CTL. El epítomo CTL puede ser uno que se une a múltiples miembros de la familia de HLA con una afinidad de 500 nM o menor, o análogos de ese epítomo. Si se desea los péptidos pueden lipidarse.

*Procedimientos de inmunización:* la inmunización de ratones transgénicos se realiza tal como se describe (Alexander *et al.*, J. Immunol. 159: 4753-4761, 1997). Por ejemplo, ratones A2/K<sup>b</sup>, que son transgénicos para el alelo HLA A2.1 humano y que se usan para confirmar la inmunogenicidad de los epítomos portadores de motivos HLA-A\*0201 o supermotivos HLA-A2, y que se sensibilizan por vía subcutánea (en la base de la cola) con 0,1 ml de péptido en adyuvante completo de Freund, o si la composición peptídica es un conjugado CTL/HTL lipidado, en DMSO/solución salina, o si la composición peptídica es un polipéptido, en PBS o Adyuvante Incompleto de Freund. Siete días después de la sensibilización, los esplenocitos obtenidos de estos animales se re-estimulan con linfoblastos activados con LPS irradiados cubiertos con péptido.

*Líneas celulares:* las células diana para los ensayos de citotoxicidad específica de péptido son células Jurkat transfectadas con el gen quimérico de HLA-A2.1/K<sup>b</sup> (por ejemplo, Vitiello *et al.*, J. Exp. Med. 173: 1007, 1991).

*Activación de CTL *in vitro*:* una semana después de la sensibilización, se cocultivaron células de bazo (30 x 10<sup>6</sup> células/matraz) a 37 °C con linfoblastos (10 x 10<sup>6</sup> células/matraz) cubiertos con péptidos singénicos, irradiados (3000 rads) en 10 ml de medio de cultivo/matraz T25. Seis días después, las células efectoras se recogen y se ensayan para determinar la actividad citotóxica.

*Ensayo de actividad citotóxica:* se incubaron células diana (1,0 a 1,5 x 10<sup>6</sup>) a 37 °C en presencia de 200 µl de <sup>51</sup>Cr. Después de 60 minutos, las células se lavan tres veces y se re-suspenden en medio R10. Se añade el péptido cuando se requiere a una concentración de 1 µg/ml. Para el ensayo, se añaden 10<sup>4</sup> células diana marcadas con <sup>51</sup>Cr a distintas concentraciones de células efectoras (volumen final 200 µl) en placas de 96 pocillos de fondo en U. Después de un periodo de incubación de 6 horas a 37 °C, se recoge una alícuota de 0,1 ml de sobrenadante de cada pocillo y se determina la radioactividad en un contador automático gamma Micromedic. El porcentaje de lisis

específica se determina mediante la fórmula: porcentaje de liberación específica =  $100 \times (\text{liberación experimental} - \text{liberación espontánea}) / (\text{liberación máxima} - \text{liberación espontánea})$ . Para facilitar la comparación entre ensayos CTL distintos procesados en las mismas condiciones, se expresan los datos del % de liberación de  $^{51}\text{Cr}$  como unidades líticas/ $10^6$  células. Una unidad lítica se define arbitrariamente como el número de células efectoras necesario para conseguir una lisis del 30 % de 10.000 células diana en un ensayo de liberación de  $^{51}\text{Cr}$  de seis horas. Para obtener unidades líticas específicas/ $10^6$ , las unidades líticas/ $10^6$  obtenidas en ausencia de péptidos se restan de las unidades líticas/ $10^6$  obtenidas en presencia de péptido. Por ejemplo, si se obtiene el 30 % de liberación de  $^{51}\text{Cr}$  en la relación entre efector (E): diana (D) de 50:1 (es decir,  $5 \times 10^5$  células efectoras por 10.000 dianas) en ausencia de péptido y 5:1 (es decir,  $5 \times 10^4$  células efectoras por 10.000 dianas) en presencia de péptido, las unidades líticas específicas serían:  $[(1/50.000) - (1/500.000)] \times 10^6 = 18 \text{ UL}$ .

Los resultados se analizan para evaluar la magnitud de las respuestas CTL de los animales inyectados con la preparación de vacuna del conjugado inmunogénico CTL/HTL y se comparan con la magnitud de la respuesta CTL conseguida usando, por ejemplo, epítopos CTL, como se explica anteriormente en el Ejemplo titulado "Confirmación de la Inmunogenicidad". Un análisis similar a este puede realizarse para confirmar la inmunogenicidad de conjugados peptídicos que contienen múltiples epítopos CTL y/o múltiples epítopos HTL. De acuerdo con estos procedimientos, se ha descubierto que se induce una respuesta CTL, y que después de la administración de dichas composiciones se induce simultáneamente una respuesta HTL.

#### **Ejemplo 21: selección de epítopos CTL y HTL para su inclusión en una vacuna específica de STEAP-1.**

Este ejemplo ilustra un procedimiento para seleccionar epítopos peptídicos para composiciones de vacuna de la invención. En la composición, los péptidos pueden estar en forma de una secuencia de ácido nucleico, bien de una sola o más secuencias (es decir, minigen) que codifica péptido o péptidos, o pueden ser péptidos sencillos y/o poliepítopicos.

Se utilizan los siguientes principios cuando se selecciona una pluralidad de epítopos para su inclusión en una composición de vacuna. Para efectuar la selección se equilibra cada uno de los siguientes principios.

Se seleccionan epítopos que, después de la administración, imitan respuestas inmunitarias que están correlacionadas con la eliminación de STEAP-1. El número de epítopos usados depende de las observaciones de los pacientes que espontáneamente eliminan STEAP-1. Por ejemplo, si se ha observado que los pacientes que eliminan espontáneamente células que expresan STEAP-1 generan una respuesta inmunitaria contra al menos tres (3) epítopos del antígeno STEAP-1, entonces deberían incluirse al menos tres epítopos para el HLA de clase I. Se usa un razonamiento similar para determinar los epítopos de HLA de clase II.

A menudo se seleccionan epítopos que tienen una afinidad de unión de una  $\text{CI}_{50}$  de 500 nM o menor para una molécula de HLA de clase I, o para una la clase II, una  $\text{CI}_{50}$  de 1000 nM o menor; o péptidos HLA de clase I con puntuaciones de unión altas a partir del sitio web BIMAS, en la URL [bimas.dcrn.nih.gov/](http://bimas.dcrn.nih.gov/).

Para obtener una cobertura amplia de la vacuna a través de una población diversa, se seleccionan péptidos portadores de supermotivos suficientes, o una matriz de péptidos portadores de motivos específicos de alelo suficientes, para dar una amplia cobertura de la población. Los epítopos pueden seleccionarse para proporcionar al menos un 80 % de cobertura de la población. Puede emplearse un análisis de Monte Carlos, una evaluación estadística conocida en la técnica, para evaluar la amplitud, o redundancia, de la cobertura de la población.

Cuando se crean composiciones poliepítopicas, o un minigen que las codifica, es normalmente deseable generar el péptido más pequeño posible que incluya los epítopos de interés. Los principios empleados son similares, sino los mismos, a los que se emplean cuando se selecciona un péptido que comprende epítopos anidados. Por ejemplo, una secuencia de proteínas para la composición de vacuna se selecciona debido a que tiene un número máximo de epítopos incluidos en la secuencia, es decir, tiene una alta concentración de epítopos. Los epítopos pueden estar anidados o pueden solaparse (es decir, desplazados en fase unos con respecto a otros). Por ejemplo, con epítopos solapantes, dos epítopos de 9-meros y un epítipo de 10-meros pueden estar presentes en un péptido de 10 aminoácidos. Cada epítipo puede exponerse u unirse mediante una molécula de HLA después de la administración de dicho péptido. Un péptido multiepítipo puede generarse de manera sintética, recombinante, o por escisión de la fuente nativa. Como alternativa, puede prepararse un análogo de esta secuencia nativa, por lo cual uno o más de los epítopos comprenden sustituciones que alteran las propiedades de reactividad cruzada y/o de afinidad de unión del péptido poliepítipo. Dicha composición de vacuna se administra con fines terapéuticos o profilácticos. Este ejemplo proporciona la posibilidad de que un aspecto de procesamiento del sistema inmunitario aún no descubierto se aplique a la secuencia nativa anidada y de ese modo facilite la producción de composiciones de vacuna inductoras de respuestas inmunitarias terapéuticas o profilácticas. Adicionalmente dicha una realización proporciona la posibilidad de motivos portadores de epítopos para una constitución de HLA que se desconoce en el presente. Además, dicho ejemplo (a falta de crear cualquier análogo) dirige la respuesta inmunitaria a múltiples secuencias peptídicas que están realmente presentes en STEAP-1, evitando por tanto la necesidad de evaluar cualquier epítipo de unión. Finalmente, el ejemplo proporciona una economía de escala cuando se producen composiciones de vacuna de ácidos nucleicos. En relación con este ejemplo, pueden deducirse programas informáticos de acuerdo

con principios de la técnica, que identifiquen en una secuencia diana, el mayor número de epítomos por longitud de secuencia.

- 5 Cuando se administra una composición de vacuna constituida por péptidos seleccionados, es segura, eficaz, y suscita una respuesta inmunitaria similar en magnitud a una respuesta inmunitaria que controla o elimina células que portan o que sobreexpresan STEAP-1.

#### **Ejemplo 22: construcción de plásmidos de “minigenes” de ADN multiepitópico**

- 10 Este ejemplo explica la construcción de un plásmido de expresión de minigenes. Los plásmidos de minigenes pueden, por supuesto, contener diversas configuraciones de epítomos de célula B, CTL y/o HTL o análogos de epítomos tal como se describe en el presente documento.

- 15 Un plásmido de expresión de minigenes normalmente incluye múltiples epítomos peptídicos CTL y HTL. En el presente ejemplo, los epítomos peptídicos portadores de supermotivos HLA-A2, -A3, -B7 y los epítomos peptídicos portadores de motivos HLA-A1 y A24 se usan junto con epítomos portadores del supermotivo DR y/o epítomos DR3. Los epítomos peptídicos portadores del supermotivo o motivo de HLA de clase I derivados de STEAP-1, se seleccionan de modo que se representen supermotivos/motivos múltiples para asegurar una amplia cobertura de población. De manera similar, los epítomos de HLA de clase II se seleccionan de STEAP-1 para proporcionar una amplia cobertura de población, es decir, tanto los epítomos portadores del supermotivo HLA DR-1-4-7 como los epítomos portadores del motivo HLA DR-3 se seleccionan para su inclusión en la construcción del minigen. Los epítomos de CTL y HTL seleccionados se incorporan después en un minigen para la expresión en un vector de expresión.

- 25 Dicha construcción puede incluir adicionalmente secuencias que dirigen los epítomos de HTL al retículo endoplasmático. Por ejemplo, la proteína li puede fusionarse con uno o más epítomos de HTL tal como se describe en la técnica, donde la secuencia CLIP de la proteína li se elimina y se reemplaza con una secuencia epitópica de HLA de clase II de modo que el epítomo de HLA de clase II se dirija al retículo endoplasmático, donde el epítomo se une a moléculas de HLA de clase II.

- 30 Este ejemplo ilustra los métodos a usar para la construcción de un plásmido de expresión portador de minigen. Otros vectores de expresión que pueden usarse para las composiciones de minigenes están disponibles y son conocidos por los expertos en la materia.

- 35 El plásmido de ADN del minigen de este ejemplo contiene una secuencia consenso Kozak y una secuencia señal de cadena ligera kappa Ig murina seguida de epítomos CTL y/o HTL seleccionados de acuerdo con los principios que se divulgan en el presente documento. La secuencia codifica una fase de lectura abierta fusionada con la etiqueta epitópica de anticuerpo Myc y His codificada por el vector pcDNA 3.1 Myc-His.

- 40 Los oligonucleótidos solapantes que pueden, por ejemplo, tener una longitud media de aproximadamente 70 nucleótidos con superposiciones de 15 nucleótidos, se sintetizan y se purifican mediante HPLC. Los oligonucleótidos codifican los epítomos peptídicos seleccionados así como nucleótidos enlazadores apropiados, la secuencia de Kozak y la secuencia señal. El minigen multiepitópico final se ensambla mediante la extensión de los oligonucleótidos solapantes en tres conjuntos de reacciones usando PCR. Se usa un instrumento de PCR Perkin/Elmer 9600 y se realizan un total de 30 ciclos usando las siguientes condiciones: 95 °C durante 15 segundos, temperatura de hibridación (5 °C por debajo de la T<sub>f</sub> más baja calculada de cada par de cebadores) durante 30 segundos, y 72 °C durante 1 minuto.

- 50 Por ejemplo, un minigen se prepara del siguiente modo. Para una primera reacción de PCR, se hibridan y extienden 5 µg de cada uno de dos oligonucleótidos: en un ejemplo usando ocho oligonucleótidos, es decir, cuatro pares de cebadores, oligonucleótidos 1+2, 3+4, 5+6 y 7+8 se combinan en reacciones de 100 µl que contienen tampón de *Pfu* polimerasa (1x= KCL 10 mM, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 mM, tris-cloruro 20 mM, pH 8,75, MgSO<sub>4</sub> 2 mM, Triton X-100 0,1 %, 100 µg/ml de BSA), 0,25 mM de cada dNTP, y 2,5 U de *Pfu* polimerasa. Los productos diméricos de longitud completa se purifican en gel, y se mezclan dos reacciones que contienen el producto de 1+2 y 3+4, y el producto de 5+6 y 7+8, se hibridan y se extienden durante 10 ciclos. La mitad de las dos reacciones se mezclan después, y se llevan a cabo 5 ciclos de hibridación y extensión antes de añadir los cebadores flanqueantes para amplificar el producto de longitud completa. El producto de longitud completa se purifica en gel y se clona en pCR-blunt (Invitrogen) y los clones individuales se exploran por secuenciación.

#### **Ejemplo 23: construcción plasmídica y grado al cual ésta induce inmunogenicidad**

- 60 El grado al cual una construcción plasmídica, por ejemplo, un plásmido construido de acuerdo con el Ejemplo anterior, es capaz de inducir inmunogenicidad se confirma *in vitro* determinando la presentación de epítomos CPA seguido de transducción y/o transfección de las CPA con una construcción de ácido nucleico que expresa el epítomo. Dicho estudio determina la “antigenicidad” y permite el uso de CPA humanas. El ensayo determina la capacidad el epítomo de presentarse por medio de las CPA en un contexto reconocido por una célula B cuantificando la densidad



de complejos de epítipo-HLA de clase I en la superficie celular. La cuantificación puede realizarse midiendo directamente la cantidad de péptido eluido de la CPA (véase, por ejemplo, Sijts *et al.*, J. Immunol. 156: 683-692, 1996; Demotz *et al.*, Nature 342: 682-684, 1989); o el número de complejos péptido-HLA de clase I puede estimarse midiendo la cantidad de lisis o liberación de linfocinas inducida por células diana enfermas o transfectadas, y después determinar la concentración de péptido necesaria para obtener niveles equivalentes de lisis o liberación de linfocinas (véase, por ejemplo, Kageyama *et al.*, J. Immunol. 154: 567-576, 1995).

Como alternativa, la inmunogenicidad se confirma a través de inyecciones *in vivo* en ratones y posterior evaluación *in vitro* de la actividad de los CTL y HTL, que se analizan usando ensayos de citotoxicidad y proliferación, respectivamente, como se detalla, por ejemplo, en Alexander *et al.*, Immunity 1: 751-761, 1994.

Por ejemplo, para confirmar la capacidad de una construcción minigen de ADN que contiene al menos un péptido de supermotivo HLA-A2 para inducir las CTL *in vivo*, ratones transgénicos HLA-A2.1/K<sup>b</sup>, por ejemplo, se inmunizan por vía intramuscular con 100 µg de ADNc desnudo. Como un medio para comparar el nivel de los CTL inducido mediante inmunización con ADNc, un grupo control de animales también se inmuniza con una cantidad real de composición peptídica que comprende múltiples epítopos sintetizados como un solo polipéptido y que podrían codificarse por el minigen.

Los esplenocitos de los animales inmunizados se estimulan dos veces con cada una de las composiciones respectivas (epítopos peptídicos codificados por en el minigen o el péptido poliepitópico), después se ensayan para determinar la actividad citotóxica específica de péptido en un ensayo de liberación de <sup>51</sup>Cr. Los resultados indican la magnitud de la respuesta CTL dirigida contra el epítipo restringido a A2, indicando por lo tanto la inmunogenicidad *in vivo* de la vacuna de minigenes y vacuna poliepitópica.

Se descubre, por lo tanto, que el minigen suscita respuestas inmunitarias dirigidas contra los epítopos peptídicos del supermotivo HLA-A2 tal como lo hace la vacuna peptídica poliepitópica. También se realiza un análisis similar usando otros modelos de ratón transgénico de HLA-A3 y HLA-B7 para evaluar la inducción de CTL por epítopos de supermotivos o motivos de HLA-A3 y HLA-B7, de este modo se descubre también que el minigen suscita respuestas inmunitarias apropiadas dirigidas contra los epítopos proporcionados.

Para confirmar la capacidad de un minigen, que codifica un epítipo de clase II, de inducir los HTL *in vivo*, ratones transgénicos de DR, o para esos epítopos que tienen reactividad cruzada con la molécula de MHC apropiada, ratones I-A<sup>b</sup> restringidos, por ejemplo, se inmunizan por vía intramuscular con 100 µg de ADN plasmídico. Como un medio de comparación del nivel de los HTL inducidos por inmunización con ADN, un grupo de animales control también se inmunizó con una composición peptídica real emulsionada en adyuvante completo de Freund. Las células T CD4+, es decir los HTL, se purifican de esplenocitos de animales inmunizados y estimulados con cada una de las respectivas composiciones (péptidos codificados en el minigen). La respuesta a HTL se mide usando un ensayo de proliferación con incorporación de <sup>3</sup>H-timidina, (véase, por ejemplo, Alexander *et al.* Immunity 1: 751-761, 1994). Los resultados indican la magnitud de la respuesta HTL, demostrando por lo tanto la inmunogenicidad *in vivo* del minigen.

Los minigenes de ADN, contruidos tal como se describe en el Ejemplo anterior, también pueden confirmarse como una vacuna en combinación con un agente de refuerzo usando un protocolo de sensibilización y refuerzo. El agente de refuerzo puede consistir en una proteína recombinante (por ejemplo, Barnett *et al.*, Aids Res. and Human Retroviruses 14, Supplement 3: S299-S309, 1998) o una vacuna recombinante por ejemplo, que expresa un minigen o un ADN que codifica la proteína de interés completa (véase, por ejemplo, Hanke *et al.*, Vaccine 16: 439-445, 1998; Sedegah *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci EE.UU. 95: 7648-53, 1998; Hanke y McMichael, Immunol. Letters 66: 177-181, 1999; y Robinson *et al.*, Nature Med. 5: 526-34, 1999).

Por ejemplo, la eficacia del minigen de ADN que se usa en un protocolo de sensibilización y refuerzo se evalúa inicialmente en ratones transgénicos. En este ejemplo, ratones transgénicos A2.1/K<sup>b</sup> se inmunizan IM con 100 µg de un minigen de ADN que codifica los péptidos inmunogénicos incluyendo al menos un péptido portador de un supermotivo HLA-A2. Después de un periodo de incubación (que varía de 3 a 9 semanas), los ratones reciben un refuerzo por vía IP con 10<sup>7</sup> ufp/ratón de un virus de vacuna recombinante que expresa la misma secuencia codificada por el minigen de ADN. Los ratones control se inmunizan con 100 µg de ADN o vacuna recombinante sin la secuencia del minigen, o con ADN que codifica el minigen, pero sin el refuerzo de vacuna. Después de un periodo de incubación adicional de dos semanas, los esplenocitos de los ratones se ensayan inmediatamente para determinar la actividad específica peptídica en un ensayo ELISPOT. Adicionalmente, los esplenocitos se estimulan *in vitro* con los epítopos peptídicos restringidos a A2 codificados en el minigen y la vacuna recombinante, después se ensayan para determinar la actividad específica del péptido en un ELISA de IFN alfa, beta y/o gamma.

Se ha descubierto que el minigen utilizado en un protocolo de sensibilización y refuerzo suscita mayores respuestas inmunitarias contra los péptidos del supermotivo HLA-A2 que el ADN solo. Dicho análisis también puede realizarse usando modelos de ratones transgénicos de HLA-A11 o HLA-B7 para evaluar la inducción de los CTL por epítopos de motivos o supermotivos HLA-A3 o HLA-B7. El uso de protocolos de sensibilización y refuerzo en seres humanos se describe más adelante en el Ejemplo titulado "Inducción de Respuestas CTL Usando un Protocolo de

Sensibilización y Refuerzo”.

**Ejemplo 24: composiciones peptídicas para usos profilácticos**

Las composiciones de vacuna de la presente invención pueden usarse para impedir la expresión de STEAP-1 en personas que están en riesgo de tener tumores portadores de este antígeno. Por ejemplo, una composición epitópica peptídica poliepitópica (o un ácido nucleico que la contenga) que contiene múltiples epítomos CTL y HTL, como los seleccionados en los Ejemplos anteriores, que también se seleccionan para dirigirse a más del 80 % de la población, se administra a individuos que están en riesgo de tener un tumor asociado a STEAP-1.

Por ejemplo, una composición basada en péptidos se proporciona como un solo polipéptido que abarca múltiples epítomos. La vacuna se administra normalmente en una solución fisiológica que comprende un adyuvante, tal como Adyuvante Incompleto de Freund. La dosis del péptido para la inmunización inicial es de aproximadamente 1 a aproximadamente 50.000 µg, generalmente de 100-5.000 µg, para un paciente de 70 kg. Después de la administración inicial de la vacuna se realizan dosificaciones de refuerzo a las 4 semanas seguido de evaluación de la magnitud de la respuesta inmunitaria en el paciente, mediante técnicas que determinan la presencia de poblaciones de CTL específicas de epítipo, en una muestra de CMSP. Las dosis de refuerzo adicionales se administran según necesidad. Se descubre que la composición es tanto segura como eficaz como una profilaxis contra enfermedades asociadas a STEAP-1.

Como alternativa, para la administración de una vacuna basada en ácidos nucleicos, se usa una composición que normalmente comprende agentes de transfección de acuerdo con metodologías conocidas en la técnica y desveladas en el presente documento.

**Ejemplo 25: composiciones de vacunas poliepitópicas derivadas de secuencias nativas de STEAP-1**

Una secuencia de poliproteína de STEAP-1 nativa se analiza usando preferentemente algoritmos informáticos definidos para cada supermotivo o motivo de clase I y/o clase II, para identificar regiones “relativamente cortas” de la poliproteína que comprenden múltiples epítomos. Las regiones “relativamente cortas” tienen preferentemente una longitud menor que la de un antígeno nativo completo. Esta secuencia relativamente corta que contiene múltiples epítomos distintos o solapantes, “anidados”, puede usarse para generar una construcción minigénica. La construcción se modifica genéticamente para expresar el péptido, que corresponde a la secuencia de la proteína nativa. El péptido “relativamente corto” tiene generalmente una longitud menor de 250 aminoácidos, a menudo menor de 100 aminoácidos, preferentemente menor de 75 aminoácidos y más preferentemente menor de 50 aminoácidos. La secuencia de la proteína de la composición de vacuna se selecciona debido a su máximo número de epítomos contenido en la secuencia, es decir, tiene una alta concentración de epítomos. Como se observa en el presente documento, los motivos epitópicos pueden estar anidados o pueden solaparse (es decir, con un desplazamiento de fase relativo entre sí). Por ejemplo, con epítomos solapantes, en un péptido de 10 aminoácidos puede haber dos epítomos de 9-meros y un epítipo de 10-meros. Dicha composición de vacuna se administra con fines terapéuticos o profilácticos.

La composición de vacuna incluirá, por ejemplo, múltiples epítomos CTL del antígeno STEAP-1 y al menos un epítipo HTL. La secuencia poliepitópica nativa se administra bien como un péptido o como una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el péptido. Como alternativa, puede prepararse un análogo de esta secuencia nativa, de modo que uno o más de los epítomos comprenda sustituciones que alteran las propiedades de reactividad cruzada y/o afinidad de unión del péptido poliepitópico.

Este ejemplo proporciona la posibilidad de que un aspecto aún no descubierto del procesamiento del sistema inmunitario se aplique a la secuencia nativa anidada y de este modo facilite la producción de composiciones de vacuna que inducen una respuesta inmunitaria terapéutica o profiláctica. Adicionalmente, dicha realización proporciona la posibilidad de epítomos portadores de motivos para una o varias constituciones HLA que hasta ahora se desconocen. Además, este ejemplo (excluyendo un ejemplo análogo) dirige la respuesta inmunitaria a múltiples secuencias peptídicas que están realmente presentes en la STEAP-1 nativa, evitando por tanto la necesidad de evaluar cualquier epítipo de unión. Finalmente, el ejemplo proporciona una economía de escala cuando se producen composiciones de vacuna peptídicas o de ácidos nucleicos.

En relación con este ejemplo, se dispone de programas informáticos en la técnica que pueden usarse para identificar, en una secuencia diana, el mayor número de epítomos por longitud de secuencia.

**Ejemplo 26: composiciones de vacuna poliepitópicas de antígenos múltiples**

Los epítomos peptídicos de STEAP-1 de la presente invención se usan junto con epítomos de otros antígenos asociados a tumores diana, para crear una composición de vacuna que sea útil para la prevención o el tratamiento de cáncer que expresa STEAP-1 y dichos otros antígenos. Por ejemplo, una composición de vacuna puede proporcionarse como un solo polinucleótido que incorpore múltiples epítomos de STEAP-1, así como antígenos asociados a tumores que con frecuencia se expresan con un cáncer diana asociado con la expresión de STEAP-1, o puede administrarse como una composición que comprenda un coctel de uno o más epítomos distintos. Como

alternativa, la vacuna puede administrarse como una construcción minigénica o como células dendríticas que se han cargado con los epítomos peptídicos *in vitro*.

#### **Ejemplo 27: uso de péptidos para evaluar una respuesta inmunitaria**

Los péptidos de la invención pueden usarse para analizar una respuesta inmunitaria para determinar la presencia de anticuerpos específicos, dirigidos a CTL o HTL de STEAP-1. Dicho análisis puede realizarse del modo descrito por Ogg *et al.*, Science 279: 2103-2106, 1998. En este Ejemplo, los péptidos de acuerdo con la invención se usan como un reactivo con fines diagnósticos o pronósticos, no como un inmunógeno.

En este ejemplo se usan complejos tetraméricos (tetrámeros) del antígeno leucocitario humano altamente sensibles para un análisis transversal, por ejemplo, de frecuencias de los CTL específicos de STEAP-1 HLA-A\*0201 de individuos positivos a HLA A\*0201 a diferentes estadios de enfermedad o después de la inmunización, que comprende un péptido de STEAP-1 que contiene un motivo A\*0201. Los complejos tetraméricos se sintetizan tal como se describe (Musey *et al.*, N. Engl. J. Med. 337: 1267, 1997). Brevemente, la cadena pesada de HLA purificada (A\*0201 en este ejemplo) y la  $\beta$ 2-microglobulina se sintetizan por medio de un sistema de expresión procariota. La cadena pesada se modifica por delección de la cola citosólica transmembrana y la adición en el extremo COOH terminal de una secuencia que contiene un sitio de biotilización enzimático BirA. La cadena pesada, la  $\beta$ 2-microglobulina y el péptido se repliegan por dilución. El producto replegado de 45-kD se aísla por cromatografía líquida rápida de proteínas y después se marca con biotina mediante BirA en presencia de biotina (Sigma, St. Louis, Missouri), adenosina 5' trifosfato y magnesio. Se añade conjugado de estreptavidina-ficoeritrina en una relación molar de 1:4, y el producto tetramérico se concentra a 1 mg/ml. El producto resultante se denomina tetrámero-ficoeritrina.

Para el análisis de muestras de sangre de pacientes, se centrifugaron aproximadamente un millón de CMSP a 300 g durante 5 minutos y se resuspendieron en 50  $\mu$ l de solución salina enfriada tamponada con fosfato. El análisis tricolor se realiza con el tetrámero-ficoeritrina, junto con anti-CD8-tricolor y anti-CD38. Las CMSP se incuban con tetrámero y anticuerpos en hielo durante 30 a 60 minutos y después se lavan dos veces antes de la fijación en formaldehído. Se aplican ventanas que >99,98 % de las muestras de control. Los controles para los tetrámeros incluyen individuos tanto negativos a A\*0201 como donantes no enfermos positivos a A\*0201. El porcentaje de células teñidas con el tetrámero se determina después por citometría de flujo. Los resultados indican el número de células en la muestra de CMSP que contienen CTL restringidos a epítomo, indicado de este modo fácilmente el grado de respuesta inmunitaria contra el epítomo STEAP-1, y por tanto el estado de exposición a STEAP-1, o exposición a una vacuna que suscita una respuesta protectora o terapéutica.

#### **Ejemplo 28: uso de epítomos peptídicos para evaluar respuestas de recuerdo**

Los epítomos peptídicos de la invención se usan como reactivos para evaluar en pacientes respuestas de células T, tales como respuestas agudas o de recuerdo. Dichos análisis puede realizarse en pacientes que se han recuperado de una enfermedad asociada con STEAP-1 o que se han vacunado con una vacuna de STEAP-1.

Por ejemplo, puede analizarse la respuesta de CTL restringidos a la clase I de personas que se han vacunado. La vacuna puede ser cualquier vacuna de STEAP-1. Se recogen CMSP de individuos vacunados y se tipifica el HLA. Después, los epítomos peptídicos apropiados de la invención que, óptimamente, portan supermotivos para proporcionar reactividad cruzada con múltiples miembros de la familia de supertipo HLA, se usan para el análisis de muestras procedentes de individuos portadores de ese tipo de HLA.

Las CMSP de los individuos vacunados se separan en gradientes de densidad Ficoll-Histopaque (Sigma Chemical Co., San Luis, MO), se lavan tres veces en HBSS (GIBCO Laboratories), se resuspenden en RPMI-1640 (GIBCO Laboratories) se complementan con L-glutamina (2 mM), penicilina (50 U/ml), estreptomycin (50  $\mu$ g/ml), - y Hepes (10 mM) que contiene suero AB humano termoinactivado al 10 % (RPMI completo) y se siembran usando formatos de microcultivo. Durante la primera semana de estimulación, a cada pocillo se le añade un péptido sintético que comprende un epítomo de la invención a 10  $\mu$ g/ml y también a cada pocillo se le añade el epítomo núcleo del VHB de 128-140 a 1  $\mu$ g/ml como una fuente de células T auxiliares.

En el formato de microcultivo, se estimulan  $4 \times 10^5$  CMSP con el péptido en 8 cultivos duplicados en placas de 96 pocillos de fondo redondo en 100  $\mu$ l/pocillo de RPMI completo. Los días 3 y 10, a cada pocillo se le añaden 100  $\mu$ l de RPMI completo y una concentración final de rIL-2 de 20 U/ml. El día 7 los cultivos se transfieren a una placa de 96 pocillos de fondo plano y se reestiman con péptido, rIL-2 y  $10^5$  células alimentadoras autólogas irradiadas (3.000 rad). Los cultivos se ensayan para determinar la actividad citotóxica el día 14. Una respuesta positiva a CTL necesita dos o más de ocho cultivos duplicados para presentar una liberación específica de  $^{51}\text{Cr}$  mayor del 10 %, basándose en la comparación con sujetos control no enfermos, como se describe anteriormente (Rehermann, *et al.*, Nature Med. 2: 1104,1108,1996; Rebennann *et al.*, J. Clin. Invest. 97: 1655-1665, 1996; y Rebermann *et al.* J. Clin. Invest. 98: 1432-1440, 1996).

Las líneas celulares diana son LCL-B transformados con el VEB autólogos o alogénicos que bien se adquieren en la American Society for Histocompatibility and Immunogenetics (ASHI, Boston, MA) o se establecen a partir del conjunto de pacientes tal como se describe (Guilhot, *et al.* J. Virol. 66: 2670-2678, 1992).

- 5 Los ensayos de citotoxicidad se realizan del siguiente modo. Células diana que consisten en la línea celular linfoblastoide B transformada con el VEB alogénicas emparejadas con HLA o autólogas se incuban durante toda la noche con el epítipo peptídico sintético de la invención a 10  $\mu$ M, y se marcan con 100  $\mu$ Ci de  $^{51}\text{Cr}$  (Amersham Corp., Arlington Heights, IL) durante 1 hora después de lo cual se lavan cuatro veces con HBSS.
- 10 La actividad citolítica se determina en un ensayo de liberación de  $^{51}\text{Cr}$  convencional de 4 horas, en pocillos divididos usando placas de 96 pocillos de fondo en U que contienen 3.000 dianas/pocillo. Las CMSP estimuladas se ensayan a relaciones de efector/diana (E/D) de 20-50:1 el día 14. El porcentaje de citotoxicidad se determina a partir de la fórmula:  $100 \times [(\text{liberación experimental} - \text{liberación espontánea}) / (\text{liberación máxima} - \text{liberación espontánea})]$ . La liberación máxima se determina por lisis de dianas con detergente (Triton X-100 al 2 %; Sigma Chemical Co., San Luis, MO). La liberación espontánea es <25 % de la liberación máxima para todos los experimentos.

Los resultados de dicho análisis indican el grado al cual las poblaciones de CTL restringidos a HLA se han estimulado mediante exposición previa a STEAP-1 o a una vacuna de STEAP-1.

- 20 De manera similar, también pueden analizarse las respuestas de los HTL restringidos a la Clase II. Las CMSP purificadas se cultivan en una placa de 96 pocillos de fondo plano a una densidad de  $1,5 \times 10^5$  células/pocillo y se estimulan con 10  $\mu$ g/ml de péptido sintético de la invención, antígeno completo de STEAP-1, o PHA. Las células se siembran rutinariamente en placas en copias de 4-6 pocillos para cada condición. Después de siete días de cultivo, el medio se elimina y se reemplaza por medio reciente que contiene 10 U/ml de IL-2. Dos días más tarde, se añade
- 25 1  $\mu$ Ci de  $^3\text{H}$ -timidina a cada pocillo y la incubación continúa durante 18 horas más. El ADN celular se recoge después en tapetes de fibra y se analizan para determinar la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina. La proliferación de células T específicas de antígeno se calcula como la relación de la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina en presencia de antígeno dividido entre la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina en ausencia de antígeno.

### 30 **Ejemplo 29: inducción de respuestas específicas de CTL en seres humanos**

Se configura un ensayo clínico humano para una composición inmunogénica que comprende epítopos de CTL y HTL de la invención como un estudio IND de Fase I de aumento escalonado de la dosis y se lleva a cabo como un ensayo aleatorio, doble ciego, controlado con placebo. Dicho ensayo se diseña, por ejemplo, del siguiente modo:

- 35 Participa un total de aproximadamente 27 individuos y se divide en 3 grupos:

- Grupo I: a 3 sujetos se les inyecta placebo y a 6 sujetos se les inyecta 5  $\mu$ g de composición peptídica;
- 40 Grupo II: a 3 sujetos se les inyecta placebo y a 6 sujetos se les inyecta 50  $\mu$ g de composición peptídica;
- Grupo III: a 3 sujetos se les inyecta placebo y a 6 sujetos se les inyecta 500  $\mu$ g de composición peptídica.

Después de 4 semanas tras la primera inyección, todos los sujetos reciben una inoculación de refuerzo a la misma dosificación.

- 45 Los criterios de valoración medidos en este estudio se relacionan con la seguridad y tolerabilidad de la composición peptídica así como con su inmunogenicidad. Las respuestas inmunitarias celulares para la composición peptídica son un índice de la actividad intrínseca de esta composición peptídica, y por tanto pueden considerarse como una medida de eficacia biológica. Lo siguiente resume los datos clínicos y de laboratorio que se relacionan con los criterios de valoración de seguridad y eficacia.

- 50 Seguridad: la frecuencia de sucesos adversos se controla en el grupo tratado con placebo y tratado con fármaco y se evalúa en términos de grado y reversibilidad.

- 55 Evaluación de la Eficacia de la Vacuna: Para la evaluación de la eficacia de la vacuna, a los sujetos se les extrae sangre antes y después de la inyección. Las células mononucleares de sangre periférica se aíslan de sangre reciente heparinizada por centrifugación en gradiente de densidad con Ficoll-Hypaque, se dividen en alícuotas en medio de congelación y se conservan congeladas. Las muestras se ensayan con respecto a la actividad CTL y HTL.

Se descubre que la vacuna es tanto segura como eficaz.

### 60 **Ejemplo 30: ensayos clínicos de fase II en pacientes que expresan STEAP-1**

- Los ensayos clínicos de fase II se realizan para estudiar el efecto de la administración de las composiciones peptídicas CTL-HTL a pacientes que tienen cáncer que expresan STEAP-1. Los objetivos principales del ensayo
- 65 clínico son determinar una dosis y un régimen eficaz para inducir los CTL en pacientes con cáncer que expresan

STEAP-1, establecer la seguridad de la inducción de una respuesta CTL y HTL en estos pacientes y observar qué grado de activación de los CTL mejora el cuadro clínico de estos pacientes, tal como se manifestó, por ejemplo, por la reducción y/o disminución de las lesiones. Dicho estudio está diseñado, por ejemplo, del siguiente modo:

los estudios se realizan en múltiples centros. El diseño del estudio clínico es un protocolo de aumento escalonado de la dosis, abierto, no controlado, en el que la composición peptídica se administra como una sola dosis seguida de una sola inyección de refuerzo de la misma dosis seis semanas después. Las dosificaciones son 50, 500 y 5.000 microgramos por inyección. Se registran los efectos adversos asociados con el fármaco (gravedad y reversibilidad).

Hay tres grupos de pacientes. Al primer grupo se le inyectan 50 microgramos de la composición peptídica y al segundo y tercer grupo 500 y 5.000 microgramos de la composición peptídica, respectivamente. El intervalo de edad de los pacientes de cada grupo es de 21 a 65 años y representan diversos orígenes étnicos. Todos ellos tienen un tumor que expresa STEAP-1.

Las manifestaciones clínicas o respuestas de células T específicas de antígeno se controlan para evaluar los efectos de la administración de las composiciones peptídicas. Se descubre que la composición de vacuna es tanto segura como eficaz en el tratamiento de una enfermedad asociada con STEAP-1.

### **Ejemplo 31: inducción de respuestas CTL usando un protocolo de sensibilización y refuerzo**

También puede usarse un protocolo de sensibilización y refuerzo similar en su principio subyacente al que se usa para confirmar la eficacia de una vacuna de ADN en ratones transgénicos, tal como se describe anteriormente en el Ejemplo titulado "construcción plasmídica y grado al cual ésta induce inmunogenicidad", para la administración de la vacuna a seres humanos. Dicho régimen de vacunación puede incluir una administración inicial, por ejemplo, de ADN desnudo seguido de un refuerzo usando virus recombinante que codifica la vacuna, o proteína/polipeptido o una mezcla de péptidos administrada en un adyuvante.

Por ejemplo, la inmunización inicial puede realizarse usando un vector de expresión, tal como el que se construye en el Ejemplo titulado "construcción de plásmidos de "minigenes" de ADN multiepitópico" en forma de ácido nucleico desnudo administrado por vía IM (o SC o ID) en las cantidades de 0,5-5 mg en múltiples sitios. El ácido nucleico (0,1 a 1000 µg) también puede administrarse usando una pistola de genes. Tras de un periodo de incubación de 3-4 semanas, se administra después una dosis de refuerzo. El refuerzo puede ser virus de la viruela aviar recombinante administrado a una dosis de  $5 \cdot 10^7$  a  $5 \times 10^9$  ufp. Para el refuerzo también puede usarse un virus recombinante alternativo, tal como VMA, viruela del canario, adenovirus o virus adenoasociado, t o puede administrarse la proteína poliepitópica o una mezcla de los péptidos. Para la evaluación de la eficacia de la vacuna, las muestras de sangre del paciente se obtienen antes de la inmunización así como a intervalos después de la administración de la vacuna inicial y dosis de refuerzo de la vacuna. Las células mononucleares de sangre periférica se aíslan de sangre reciente heparinizada por centrifugación en gradiente de densidad con Ficoll-Hypaque, se dividen en alícuotas en medio de congelación y se conservan congeladas. Las muestras se ensayan para determinar la actividad CTL y HTL. El análisis de los resultados indica que se genera una magnitud de respuesta suficiente para alcanzar una inmunidad terapéutica o protectora contra STEAP-1.

### **Ejemplo 32: administración de composiciones de vacuna usando células dendríticas (CD)**

Las vacunas que comprenden epítopos peptídicos de la invención pueden administrarse usando CPA, o CPA "profesionales", tales como CD. En este ejemplo, para estimular una respuesta de CTL *in vivo* se administran CD pulsadas con péptidos a un paciente. En este método, las células dendríticas se aíslan, se expanden y se pulsan con una vacuna que comprende epítopos peptídicos de CTL y HTL de la invención. Las células dendríticas se vuelven a infundir en el paciente para suscitar respuestas CTL y HTL *in vivo*. Después, los CTL y HTL inducidos destruyen o facilitan la destrucción, respectivamente, de las células diana portadoras de la proteína STEAP-1 de la que se obtienen los epítopos de la vacuna.

Por ejemplo, se administra un coctel de péptidos que comprende epítopos *ex vivo* a CMSP, o a CD aisladas de los mismos. Se puede usar un agente farmacéutico para facilitar la recogida de las CD, tal como Progenipoietin™ (Monsanto, San Luis, MO) o GM-CSF/IL-4. Después de pulsar las CD con péptidos, y antes de la reinfusión en los pacientes, las CD se lavan para eliminar los péptidos no unidos.

Tal como se aprecia clínicamente y determina fácilmente un experto basándose en resultados clínicos, el número de CD reinfundidas en el paciente puede variar (véase, por ejemplo, Nature Med. 4: 328, 1998; Nature Med. 2: 52, 1996 and Prostate 32: 272, 1997). Aunque se administran normalmente de  $2 \cdot 50 \times 10^6$  CD por paciente, también pueden proporcionarse números mayores de CD, tales como  $10^7$  o  $10^8$ . Dichas poblaciones celulares normalmente contienen entre el 50-90 % de CD.

Las CMSP cargadas con péptido pueden inyectarse en pacientes sin purificación de las CD. Por ejemplo, las CMSP generadas después del tratamiento con un agente tal como Progenipoietin™ se inyectan en pacientes sin

purificación de las CD. El número total de CMSP que se administra a menudo varía de  $10^8$  a  $10^{10}$ . Generalmente, las dosis celulares inyectadas en pacientes se basan en el porcentaje de CD en la sangre de cada paciente, tal como se determina, por ejemplo, mediante análisis de inmunofluorescencia con anticuerpos anti CD específicos. Por lo tanto, por ejemplo, si la Progenipoietin<sup>TM</sup> moviliza el 2 % de las CD en la sangre periférica de un paciente determinado, y este paciente va a recibir  $5 \times 10^6$  CD, entonces al paciente se le inyectará un total de  $2,5 \times 10^8$  CMSP cargadas con péptidos. El porcentaje de CD movilizadas con un agente tal como Progenipoietin<sup>TM</sup> normalmente se estima que es de 2-10 %, pero puede variar como apreciará un experto en la materia.

#### Activación *ex vivo* de respuestas CTL/HTL

Como alternativa, pueden inducirse respuestas CTL o HTL *ex vivo* contra antígenos STEAP-1 incubando, en cultivo tisular, células precursoras de CTL o HTL, o genéticamente compatibles, del paciente, junto con una fuente de CPA, tal como CD, y péptidos inmunogénicos. Después de un tiempo de incubación apropiado (normalmente entre 7-28 días), en el que las células precursoras se activan y se expanden en células efectoras, las células se infunden al paciente, donde estas destruirán (CTL) o facilitarán la destrucción (HTL) de sus células diana específicas, es decir, células tumorales.

#### **Ejemplo 33: un método alternativo de identificación y confirmación de péptidos portadores de motivos**

Otro método de identificación y confirmación de péptidos portadores de motivos es eluirlos de células portadoras de moléculas definidas de MHC. Por ejemplo, las líneas de células B transformadas con el VEB que se usan para la tipificación tisular, se han caracterizado extensivamente para determinar que moléculas de HLA expresan. En determinados casos estas células expresan exclusivamente un solo tipo de moléculas HLA. Estas células pueden transfectarse con ácidos nucleicos que expresan el antígeno de interés, por ejemplo STEAP-1. Los péptidos producidos por procesamiento de péptidos antigénicos endógenos que se producen como resultado de una transfección se unirán después a moléculas de HLA en la célula y se transportarán y mostrarán en la superficie celular. Los péptidos se eluyen después de las moléculas HLA por exposición a condiciones ácidas suaves y su secuencia de aminoácidos se determina, por ejemplo, mediante análisis de espectrometría de masas (por ejemplo, Kubo *et al.*, *J. Immunol.* 152: 3913, 1994). Debido a que la mayor parte de los péptidos que se unen a una molécula particular de HLA son portadores del motivo, esta es una modalidad alternativa para obtener los péptidos portadores de motivos correlacionados con la molécula de HLA particular expresada en la célula.

Como alternativa, las líneas celulares que no expresan las moléculas de HLA endógenas pueden transfectarse con una construcción de expresión que codifica un solo alelo de HLA. Estas células pueden usarse después tal como se describe, es decir, pueden transfectarse con ácidos nucleicos que codifican STEAP-1 para aislar péptidos que corresponden a STEAP-1 que se han presentado en la superficie celular. Los péptidos obtenidos de dicho análisis portarán uno o más motivos que corresponden a la unión al alelo de HLA único que se expresa en la célula.

Como se aprecia en la técnica, se puede realizar un análisis similar en una célula portadora de más de un alelo de HLA y posteriormente determinar péptidos específicos para cada alelo de HLA expresado. Además, el experto podrá reconocer también que medios, distintos de la transfección, tales como cargar con un antígeno proteico, pueden usarse para proporcionar una fuente de antígenos a la célula.

#### **Ejemplo 34: polinucleótidos complementarios**

Las secuencias complementarias a las secuencias que codifican STEAP-1, o cualquier parte de las mismas, se usan para detectar, disminuir, o inhibir la expresión de STEAP-1 de origen natural. Aunque se describe el uso de oligonucleótidos que comprenden aproximadamente de 15 a 30 pares de bases, esencialmente se usa el mismo procedimiento con fragmentos de secuencias más pequeños o más grandes. Se diseñan oligonucleótidos apropiados usando, por ejemplo, el programa informático OLIGO 4.06 (National Biosciences) y la secuencia codificante de STEAP-1. Para inhibir la transcripción, se diseña un oligonucleótido complementario a partir de la secuencia más exclusiva 5' y se usa para impedir la unión del promotor con la secuencia codificante. Para inhibir la traducción, se diseña un oligonucleótido complementario para impedir la unión ribosómica con un transcrito que codifica STEAP-1.

#### **Ejemplo 35: purificación de STEAP-1 de origen natural o recombinante usando anticuerpos específicos de STEAP-1**

STEAP-1 de origen natural o recombinante se purifica sustancialmente por cromatografía de inmunoafinidad usando anticuerpos específicos para STEAP-1. Se construye una columna de inmunoafinidad por acoplamiento covalente de anticuerpo anti STEAP-1 con una resina cromatográfica activada, tal como SEPHAROSE activada con CNBr (Amersham Pharmacia Biotech). Después del acoplamiento, la resina se bloquea y se lava según las instrucciones del fabricante.

Los medios que contienen STEAP-1 se pasan sobre la columna de inmunoafinidad y la columna se lava en condiciones que permitan la absorción preferencial de STEAP-1 (por ejemplo, tampones de alta fuerza iónica en

presencia de detergente). La columna se eluye en condiciones que interrumpen la unión anticuerpo/STEAP-1 (por ejemplo, un tampón de pH 2 a pH 3, o una alta concentración de un caótropro, tal como urea o ión de tiocianato), y se recoge la GCR.P.

#### 5 **Ejemplo 36: identificación de moléculas que interaccionan con STEAP-1**

STEAP-1, o fragmentos biológicamente activos de la misma, se marcan con reactivo Bolton-Hunter marcado con <sup>125</sup>I. (Véase, por ejemplo, Bolton *et al.* (1973) Biochem. J. 133: 529). Las moléculas candidato previamente dispuestas en los pocillos de una placa multipocillo, se incuban con la STEAP-1 marcada, se lavan y se analiza cualquiera de los pocillos con el complejo de STEAP-1 marcada. Los datos obtenidos usando diferentes concentraciones de STEAP-1 se usan para calcular valores para el número, la afinidad y la asociación de STEAP-1 con las moléculas candidato.

#### 15 **Ejemplo 37: ensayo *in vivo* para la promoción del crecimiento tumoral de STEAP-1**

El efecto de la proteína STEAP-1 sobre el crecimiento de células tumorales se evalúa *in vivo* evaluando el desarrollo de tumores y el crecimiento de células que expresan o carecen de STEAP-1. Por ejemplo, se inyecta a ratones SCID por vía subcutánea en cada flanco  $1 \times 10^5$  de líneas celulares 3T3 o de cáncer de próstata (por ejemplo células PC3) que contiene el vector vacío tkNeo o STEAP-1. Pueden usarse al menos dos estrategias: (1) expresión constitutiva de STEAP-1 bajo la regulación de un promotor tal como un promotor constitutivo obtenido de genomas de virus tales como el virus de polio, virus de la viruela aviar (documento UK 2.211.504 publicado el 5 de julio de 1989), adenovirus (tal como Adenovirus 2), virus del papiloma bovino, virus del sarcoma aviar, citomegalovirus, un retrovirus, virus de la hepatitis B, Virus del Simio 40 (SV40), o de promotores heterólogos de mamíferos, por ejemplo, el promotor de actina o un promotor de inmunoglobulina, a condición de que dichos promotores sean compatibles con los sistemas de células hospedadoras y (2) expresión regulada bajo el control de un sistema de vector inducible, tal como ecdisona, tetraciclina, etc. a condición de que dichos promotores sean compatibles con los sistemas de las células hospedadoras. El volumen tumoral se controla después por medición con calibre en la aparición de tumores palpables y se sigue a lo largo del tiempo para determinar si las células que expresan STEAP-1 crecen a una tasa mayor y si los tumores producidos por células que expresan STEAP-1 demuestran características de agresividad alterada (por ejemplo metástasis potenciadas, vascularización, respuesta reducida a fármacos quimioterapéuticos).

Adicionalmente, se pueden implantar a los ratones  $1 \times 10^5$  de las mismas células ortotópicamente para determinar si STEAP-1 tiene un efecto sobre el crecimiento local en la próstata, y si STEAP-1 afecta a la capacidad de las células a metastatizar, específicamente en ganglios linfáticos y hueso (Mild T *et al.*, Oncol Res. 2001; 12: 209; Fu X *et al.*, Int J Cancer. 1991, 49: 938). El efecto de STEAP en la formación y crecimiento de tumores óseos puede evaluarse inyectando células tumorales de próstata por vía intratibial.

El ensayo también es útil para determinar el efecto inhibitorio de STEAP-1 de las composiciones terapéuticas candidato, tales como por ejemplo, intracuerpos de STEAP-1, moléculas antisentido y ribozimas de STEAP-1.

#### 40 **Ejemplo 38: inhibición mediada por anticuerpo monoclonal de STEAP-1 de tumores de próstata *in vivo***

La expresión significativa de STEAP-1 en tejidos cancerosos y la localización en superficie, junto con su expresión restringida en tejidos normales hace de STEAP-1 una buena diana para la terapia con anticuerpos. De manera similar, STEAP-1 es una diana para la inmunoterapia basada en células T. Por lo tanto, la eficacia terapéutica de los Acm anti-STEAP-1 en modelos de ratón de xenoinjerto de cáncer de próstata humano se evalúa usando líneas celulares recombinantes tales como PC3-STEAP-1 y 3T3-STEAP-1 (véase, por ejemplo, Kaighn, M. E., *et al.*, Invest Urol, 1979, 17(1): 16-23), así como modelos de xenoinjerto de próstata humana tales como LAPC 9AD (Saffran *et al.* PNAS 1999, 10: 1073-1078).

La eficacia del anticuerpo sobre el crecimiento tumoral y la formación de metástasis se estudian, por ejemplo, en modelos de xenoinjerto de cáncer de próstata ortotópicos de ratón. Los anticuerpos pueden no estar conjugados, tal como se explica en este ejemplo, o pueden estar conjugados con una modalidad terapéutica, tal como se aprecia en la técnica. Los Acm anti-STEAP-1 inhiben la formación de xenoinjertos tanto de pulmón como de próstata. Los Acm anti-STEAP-1 también retrasan el crecimiento de tumores ortotópicos establecidos y prolongan la supervivencia de ratones portadores del tumor. Estos resultados indican la utilidad de los Acm anti-STEAP-1 en el tratamiento de cáncer de próstata local en estadios avanzados. (Véase, por ejemplo, Saffran, D., *et al.*, PNAS 10: 1073-1078 o la URL de la red mundial informática [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.051624698](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.051624698)).

La administración de los Acm anti-STEAP-1 condujo al retraso del crecimiento de tumores ortotópicos establecidos y a la inhibición de metástasis a sitios distantes, dando como resultado una prolongación significativa de la supervivencia de los ratones que portaban el tumor. Estos estudios indican que STEAP-1 es una diana atractiva para la inmunoterapia y demuestran el potencial terapéutico de los Acm anti-STEAP-1 para el tratamiento de cáncer de próstata local y metastásico. Este ejemplo demuestra que los anticuerpos monoclonales no conjugados de STEAP-1 son eficaces para la inhibición del crecimiento de xenoinjertos de tumores de próstata humanos en ratones

SCID; por consiguiente una combinación de dichos anticuerpos monoclonales eficaces también es efectiva.

### **Inhibición del tumor usando múltiples Acm de STEAP-1 no conjugados**

#### **Materiales y métodos**

5

#### Anticuerpos monoclonales de STEAP-1:

10 Los anticuerpos monoclonales se suscitan contra STEAP-1 tal como se describe en el Ejemplo titulado "Generación de Anticuerpos Monoclonales (Acm) de STEAP-1". Los anticuerpos se caracterizan mediante ELISA, transferencia de Western, FACS e inmunoprecipitación para su capacidad de unirse a STEAP-1. Los datos del mapeo epitópico de los Acm anti-STEAP-1, tal como se determina mediante ELISA y análisis de transferencia de Western, reconocen epítomos en la proteína STEAP-1. Se realiza el análisis inmunohistoquímico de los tejidos de cáncer de próstata y de las células con estos anticuerpos.

15 Los anticuerpos monoclonales se purifican de la ascitis de sobrenadantes de cultivo de tejidos de hibridomas mediante cromatografía de Proteína G Sefarosa, se dializan contra PBS, se esterilizan mediante filtración y se conservan a -20 °C. Las determinaciones de las proteínas se realizan mediante un ensayo de Bradford (Bio-Rad, Hercules, CA). Se prepara un anticuerpo monoclonal terapéutico o un coctel que comprende una mezcla de anticuerpos monoclonales individuales y se usa para el tratamiento de ratones que reciben inyecciones subcutáneas u ortotópicas de xenoinjertos de tumores UM-UC3 y CaLu1.

20

#### Líneas celulares y xenoinjertos

25 Las líneas celulares de cáncer de próstata, líneas celulares PC3 y LNCaP así como la línea de fibroblastos NIH 3T3 (Colección Americana de Cultivos Tipo) se mantienen en RPMI y DMEM respectivamente, complementado con L-glutamina y FBS al 10 %.

30 Las poblaciones celulares de PC3-STEAP-1 y 3T3-STEAP-1 se generan mediante transferencia génica retroviral tal como se describe en Hubert, R. S., *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA, 1999. 96(25): 14523.

30

El xenoinjerto de LAPC-9, que expresa un receptor androgénico de tipo silvestre y produce antígeno específico de próstata (PSA), se transfiere a ratones macho con inmunodeficiencia severa combinada (SCID)-ICR de 6 a 8 semanas de vida (Taconic Farms) mediante implante trocar s.c. (Craft, N., *et al.*, Nat Med. 1999, 5: 280). Se preparan suspensiones unicelulares de células tumorales LAPC-9 tal como se describe en Craft, *et al.*

35

#### Modelos de xenoinjertos en ratón

40 Los tumores subcutáneos (s.c.) se generan mediante inyección de  $1 \times 10^6$  células cancerosas mezcladas en una dilución 1:1 con Matrigel (Collaborative Research) en el flanco derecho de ratones macho SCID. Para ensayar la eficacia del anticuerpo sobre la formación de tumor, es decir, las inyecciones de anticuerpo comienzan el mismo día que las inyecciones de células tumorales. Como control, los ratones reciben una inyección de IgG purificada de ratón (ICN) o PBS; o de un anticuerpo monoclonal purificado que reconoce un antígeno irrelevante que no se expresa en células humanas. En estudios preliminares, no se encuentran diferencias entre las IgG de ratón o el PBS sobre el crecimiento tumoral. Los tamaños tumorales se determinan por mediciones con calibre, y el volumen tumoral se calcula como longitud x anchura x altura. Los ratones con tumores subcutáneos mayores de 1,5 cm de diámetro se sacrifican.

45

Las inyecciones ortotópicas se realizan con anestesia usando quetamina/xilacina. Para los estudios ortotópicos de la próstata, se hace una incisión a través del abdomen para exponer la próstata y las células tumorales LAPC o PC3 ( $5 \times 10^5$ ) mezcladas con Matrigel se inyectan en la cápsula prostática a un volumen de 10  $\mu$ l. Para controlar el crecimiento tumoral, se palpa a los ratones y se les extrae sangre semanalmente para medir los niveles de PSA. Los ratones se separan en grupos para los tratamientos apropiados, con inyecciones i.p. de los Acm anti-STEAP-1 o control.

50

#### Los Acm anti-STEAP-1 inhiben el crecimiento de tumores cancerosos de xenoinjerto que expresan STEAP-1

55

El efecto de los Acm anti-STEAP-1 sobre la formación de tumores se ensaya usando modelos ortotópicos de LNCaP y LAPC9. Tal como se compara con el modelo de tumor s.c., el modelo ortotópico, que requiere la inyección de células tumorales directamente en la próstata del ratón, respectivamente, da como resultado un crecimiento tumoral local, un desarrollo de metástasis en sitios distales, un deterioro de la salud del ratón y muerte posterior (Saffran, D., *et al.*, PNAS anteriormente mencionado). Las características hacen que el modelo ortotópico sea más representativo de la progresión de la enfermedad humana y permiten el seguimiento del efecto terapéutico de los Acm en criterios de valoración final clínicamente relevantes.

60

65 Por consiguiente, las células tumorales se inyectan en la próstata del ratón, y 2 días más tarde, los ratones se separan en dos grupos y se tratan bien con: a) 200-500  $\mu$ g de Ac anti-STEAP-1 o b) PBS tres veces por semana



durante de dos a cinco semanas.

Una ventaja principal de los modelos ortotópicos de cáncer es la capacidad de estudiar el desarrollo de metástasis. La formación de metástasis en ratones portadores de tumores ortotópicos establecidos se estudia mediante análisis de IHC en secciones de pulmón usando un anticuerpo contra una proteína de la superficie celular específica de tumor, tal como anti-CK20, para cáncer de próstata (Lin S *et al*, Cancer Detect Prev. 2001; 25: 202).

Otra ventaja de los modelos de xenoinjertos de cáncer es la capacidad de estudiar la neovascularización y la angiogénesis. El crecimiento tumoral es parcialmente dependiente del desarrollo de nuevos vasos sanguíneos. Aunque el sistema capilar y el desarrollo de la red sanguínea se origina en el hospedador, la iniciación y la arquitectura de la neovascularización están reguladas por el xenoinjerto tumoral (Davidoff AM *et al*, Clin Cancer Res. 2001; 7: 2870; Solesvik O *et al*, Eur J Cancer Clin Oncol. 1984, 20: 1295). El efecto de los anticuerpos y las moléculas pequeñas en la neovascularización se estudia de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica, tales como por análisis de IHC de tejidos tumorales y su microambiente circundante.

A ratones portadores de tumores ortotópicos establecidos se les administran inyecciones de 1000 µg de Acm anti-STEAP-1 o PBS durante un periodo de 4 semanas. A los ratones de ambos grupos se les permite que se establezca una alta carga tumoral, para asegurar una alta frecuencia de formación de metástasis en los pulmones de los ratones. Después, los ratones se sacrifican y sus vejigas, hígados, huesos y pulmones se analizan para la determinar la presencia de células tumorales mediante análisis de IHC. Estos estudios demuestran una amplia eficacia antitumoral de anticuerpos anti-STEAP-1 en la iniciación y progresión de cáncer de próstata en modelos de xenoinjertos en ratón. Los anticuerpos anti-STEAP-1 inhiben la formación de tumores y también retrasan el crecimiento de tumores ya establecidos y prolongan la supervivencia de los ratones tratados. Además, los Acm anti-STEAP-1 demuestran un efecto inhibidor drástico en la diseminación de tumores de próstata locales a sitios distales, incluso en presencia de una gran carga tumoral. Por lo tanto, los Acm anti-STEAP-1 son eficaces en los principales criterios de valoración clínicamente relevantes (crecimiento tumoral), prolongación de la supervivencia y salud.

#### **Ejemplo 39: uso terapéutico y diagnóstico de los anticuerpos anti-STEAP-1 en seres humanos.**

Los anticuerpos monoclonales anti-STEAP-1 se usan de forma segura y eficaz para fines diagnósticos, profilácticos, pronósticos y/o terapéuticos en seres humanos. Los análisis de transferencia de Western e inmunohistoquímicos de los tejidos cancerosos y de los xenoinjertos de cáncer con Acm anti-STEAP-1 muestran una fuerte tinción extensa en el carcinoma pero significativamente menor o niveles indetectables en tejidos normales. La detección de STEAP-1 en carcinoma y en enfermedad metastásica demuestra la utilidad del Acm como un indicador diagnóstico y/o pronóstico. Los anticuerpos anti-STEAP-1 se usan por lo tanto en aplicaciones diagnósticas tales como inmunohistoquímica de especímenes de biopsia riñón para detectar cáncer de pacientes sospechosos.

Tal como se determina mediante citometría de flujo el Acm anti-STEAP-1 se une específicamente a células de carcinoma. Por lo tanto, los anticuerpos anti-STEAP-1 se usan en aplicaciones diagnósticas de formación de imágenes de cuerpo completo, tales como radioinmunoescintigrafía y radioinmunoterapia (véase, por ejemplo, Potamianos S., *et al*. Anticancer Res 20(2A): 925-948 (2000)) para la detección de cánceres localizados y metastásicos que muestran expresión de STEAP-1. La eliminación o liberación de un dominio extracelular de STEAP-1 en el medio extracelular de STEAP-1, tal como el que se observa para la fosfodiesterasa alcalina B10 (Meerson, N. R., Hepatology 27: 563-568 (1998)), permite la detección diagnóstica mediante anticuerpos anti-STEAP-1 en suero y/o muestras de orina de pacientes sospechosos.

Los anticuerpos anti-STEAP-1 que se unen específicamente a STEAP-1 se usan en aplicaciones terapéuticas para el tratamiento de cánceres que expresan STEAP-1. Los anticuerpos anti-STEAP-1 se usan como una modalidad no conjugada y como una forma conjugada en la que los anticuerpos se unen a una de diversas modalidades terapéuticas o de formación de imágenes bien conocidas en la técnica, tales como un profármaco, enzimas o radioisótopos. En estudios preclínicos, los anticuerpos anti-STEAP-1 no conjugados y conjugados se ensayan para determinar la eficacia de la prevención de tumores y la inhibición del crecimiento de los modelos de xenoinjerto de cáncer en ratones SCID, por ejemplo, modelos de cáncer de riñón AGS-K3 y AGS-K6, (véase, por ejemplo, el Ejemplo titulado "Inhibición mediada por Anticuerpos Monoclonales STEAP-1 de Tumores de Vejiga y Pulmón *In Vivo*"). Se usan bien anticuerpos conjugados o no conjugados anti-STEAP-1 como una modalidad terapéutica en ensayos clínicos humanos bien solo o en combinación con otros tratamientos tal como se describe en los siguientes Ejemplos.

#### **Ejemplo 40: ensayos clínicos humanos para el tratamiento y diagnóstico de carcinomas humanos a través del uso de anticuerpos anti-STEAP-1 *in vivo***

Se usan los anticuerpos de acuerdo con al presente invención que reconocen un epítipo de STEAP-1, y se usan en el tratamiento de determinados tumores tales como los enumerados en la Tabla I. Basándose en una serie de factores, incluyendo los niveles de expresión de STEAP-1, tumores tales como los enumerados en la Tabla I son actualmente indicaciones preferidas. En relación con cada una de estas indicaciones, se aplican satisfactoriamente tres enfoques clínicos.

I.) Terapia complementaria: en la terapia complementaria, los pacientes se tratan con anticuerpos anti-STEAP-1 en combinación con un agente quimioterapéutico o antineoplásico y/o radioterapia. Las dianas primarias del cáncer, tales como las enumeradas en la Tabla I, se tratan bajo protocolos convencionales mediante la adición de anticuerpos anti-STEAP-1 para la terapia convencional de primera y segunda línea. Los diseños de los protocolos abordan la efectividad tal como se evalúa mediante la reducción en la masa tumoral así como la capacidad de reducir las dosis habituales de quimioterapia convencional. Estas reducciones de la dosificación permiten terapia adicional y/o prolongada mediante la reducción de la toxicidad relacionada con la dosis del agente quimioterapéutico. Los anticuerpos anti-STEAP-1 se utilizan en diversos ensayos clínicos complementarios en combinación con los agentes quimioterapéuticos o antineoplásicos adriamicina (cáncer de próstata avanzado), cisplatino (cáncer de cabeza y cuello avanzado y carcinomas de pulmón); taxol (cáncer de mama), y doxorubicina (preclínico).

II.) Monoterapia: en relación con el uso de los anticuerpos anti-STEAP-1 en monoterapia de tumores, los anticuerpos se administran a pacientes sin un agente quimioterapéutico o antineoplásico. En una realización, la monoterapia se realiza clínicamente en pacientes de estadio terminal de cáncer con enfermedad metastásica extensiva. Los pacientes muestran alguna estabilización de la enfermedad. Los ensayos demuestran un efecto en pacientes refractarios con tumores cancerosos.

III.) Agente formador de imágenes: a través de la unión de un radionúclido (por ejemplo, yodo o itrio ( $I^{131}$ ,  $Y^{90}$ ) con anticuerpos anti-STEAP-1, los anticuerpos radiomarcados se utilizan como agente de diagnóstico y/o formador de imágenes. En dicho papel, los anticuerpos marcados localizan tumores sólidos, así como lesiones metastásicas de células que expresan STEAP-1. En relación con el uso de los anticuerpos anti-STEAP-1 como agentes formadores de imágenes, los anticuerpos se usan como un complemento para el tratamiento quirúrgico de tumores sólidos, como una exploración prequirúrgica así como también un seguimiento postoperatorio para determinar que tumores permanecen y/o que tumores reaparecen. En una realización, un anticuerpo ( $^{111}In$ )-STEAP-1 se usa como un agente formador de imágenes en un ensayo clínico en humanos de Fase I en pacientes que tienen un carcinoma que expresa STEAP-1 (por analogía véase, por ejemplo, Divgi *et al.* J. Natl. Cancer Inst. 83: 97-104 (1991)). Se sigue a los pacientes con una cámara gamma convencional, anterior y posterior. Los resultados indican que se identifican lesiones primarias y lesiones metastásicas.

#### Dosis y vías de administración

Como apreciarán los expertos habituales en la materia, las cuestiones de dosificación pueden determinarse comparando con productos análogos del entorno clínico. Por tanto, los anticuerpos anti-STEAP-1 pueden administrarse a dosis en el intervalo de 5 a 400 mg/m<sup>2</sup>, usándose la dosis más baja, por ejemplo, en relación con estudios de seguridad. La afinidad de los anticuerpos anti-STEAP-1 con respecto a la afinidad de un anticuerpo conocido para su diana es un parámetro usado por los expertos en la materia para determinar regímenes de dosis análogos. Adicionalmente, los anticuerpos anti-STEAP-1 que son anticuerpos completamente humanos, en comparación con el anticuerpo quimérico, tienen una eliminación más lenta; por consiguiente, la dosificación en pacientes con dichos anticuerpos anti-STEAP-1 completamente humanos, puede ser más baja, quizás en el intervalo de 50 a 300 mg/m<sup>2</sup>, y aún siguen siendo eficaces. La dosificación en mg/m<sup>2</sup>, en oposición a la medición convencional de dosis en mg/kg, es una medición basada en el área de superficie y es una medición de dosificación conveniente que se diseña para incluir pacientes de todos los tamaños, desde niños a adultos.

Tres distintos enfoques de suministro son útiles para el suministro de los anticuerpos anti-STEAP-1. El suministro intravenoso convencional es una técnica de suministro convencional para numerosos tumores. Sin embargo, en relación con tumores en la cavidad peritoneal, tales como tumores de los ovarios, conductos biliares, otros conductos y similares, la administración intraperitoneal puede confirmarse favorable para obtener una alta dosis de anticuerpo en el tumor y para minimizar también la eliminación de los anticuerpos. De un modo similar, determinados tumores sólidos poseen vasculatura que es apropiada para la perfusión regional. La perfusión regional permite una alta dosis de anticuerpo en el sitio de un tumor y minimiza la eliminación a corto plazo del anticuerpo.

#### Plan de desarrollo clínico (PDC)

Visión general: el PDC sigue y desarrolla tratamientos de anticuerpos anti-STEAP-1 en relación con terapia complementaria, monoterapia y como un agente formador de imagen. Los ensayos clínicos demuestran inicialmente seguridad y posteriormente confirman la eficacia de dosis repetidas. Los ensayos clínicos son abiertos comparando la quimioterapia convencional con la terapia convencional más los anticuerpos anti-STEAP-1. Tal como se apreciará, un criterio que puede utilizarse en relación con la incorporación de pacientes son los niveles de expresión de STEAP-1 en sus tumores, determinados por biopsia.

Al igual que cualquier agente terapéutico basado en la infusión de proteínas o anticuerpos, las cuestiones de seguridad están relacionadas principalmente con (i) síndrome de liberación de citocinas, es decir, hipotensión, fiebre, convulsiones, enfriamiento; (ii) el desarrollo de una respuesta inmunogénica contra el material (es decir, desarrollo de anticuerpos humanos por el paciente contra el anticuerpo terapéutico o respuesta HABA); y, (iii) toxicidad contra células normales que expresan STEAP-1. Los ensayos y seguimiento convencionales se utilizan para controlar cada una de estas cuestiones de seguridad. Se descubre que los anticuerpos anti-STEAP-1 son seguros tras su administración en seres humanos.

**Ejemplo 41: ensayo clínico en humanos de terapia complementaria con anticuerpo anti-STEAP-1 humano y agente quimioterapéutico**

- 5 Se inicia un ensayo clínico en humanos de fase I para evaluar la seguridad de seis dosis intravenosas de un anticuerpo anti-STEAP-1 humano en relación con el tratamiento de un tumor sólido, por ejemplo, un cáncer de un tejido enumerado en la Tabla I. En el estudio, se evalúa la seguridad de dosis sencillas de anticuerpos anti-STEAP-1 cuando se utilizan como una terapia complementaria contra un agente antineoplásico o quimioterapéutico, como se define en el presente documento, tal como, sin limitación: cisplatino, topotecán, doxorubicina, adriamicina, taxol o similares. El diseño del ensayo clínico incluye el suministro de seis dosis sencillas de un anticuerpo anti-STEAP-1 con una dosificación de anticuerpo cada vez mayor de aproximadamente 25 mg/m<sup>2</sup> a aproximadamente 275 mg/m<sup>2</sup> durante el transcurso del tratamiento de acuerdo con el siguiente régimen:

	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Día 35
Dosis de Acm	25 mg/m <sup>2</sup>	75 mg/m <sup>2</sup>	225 mg/m <sup>2</sup>	175 mg/m <sup>2</sup>	225 mg/m <sup>2</sup>	275 mg/m <sup>2</sup>
Quimioterapia (dosis convencional) +	+	+	+	+	+	+

- 15 Durante una semana después de cada administración del anticuerpo y de la quimioterapia se realiza un estrecho seguimiento de los pacientes. En particular, se evalúa a los pacientes con relación a las cuestiones de seguridad anteriormente mencionadas: (i) síndrome de liberación de citocinas, es decir, hipotensión, fiebre, convulsiones, enfriamiento, (ii) el desarrollo de una respuesta inmunogénica contra el material (es decir, desarrollo de anticuerpos humanos por el paciente contra el anticuerpo terapéutico humano, o respuesta HABA); y, (iii) toxicidad contra células normales que expresan STEAP-1. Los ensayos y el seguimiento convencionales se utilizan para controlar cada una de estas cuestiones de seguridad. Los pacientes también se evalúan con respecto al desenlace clínico, y particularmente la reducción de la masa tumoral, constatada por IRM u otra técnica de formación de imágenes.

- 25 Se demuestra que los anticuerpos anti-STEAP-1 son seguros y eficaces. Los ensayos clínicos de Fase II confirman la eficacia y perfilan la dosificación óptima.

**Ejemplo 42: ensayo clínico en humanos: monoterapia con anticuerpos anti-STEAP-1 humanos**

- 30 Los anticuerpos anti-STEAP-1 son seguros en relación con el ensayo clínico complementario anteriormente explicado, un ensayo clínico en humanos de Fase II confirma la eficacia y dosificación óptima para la monoterapia. Dicho ensayo se realiza, e implica el mismo análisis de seguridad y desenlace, para el ensayo clínico complementario anteriormente descrito con la excepción de que se realiza en pacientes que no reciben quimioterapia simultánea con la recepción de dosis de anticuerpos anti-STEAP-1.

**Ejemplo 43: ensayo clínico en humanos: formación de imágenes diagnósticas con anticuerpos anti-STEAP-1**

- 40 De nuevo, dado que la terapia complementaria anteriormente explicada es segura dentro de los criterios de seguridad explicados anteriormente, se realiza un ensayo clínico en seres humanos que concierne el uso de anticuerpos anti-STEAP-1 como agente de formación de imágenes diagnósticas. El protocolo se diseña de un modo sustancialmente similar al descrito en la técnica, tal como en Divgi *et al.* J. Natl. Cancer Inst. 83: 97-104 (1991). Se descubre que los anticuerpos son tanto seguros como eficaces cuando se usan en una modalidad diagnóstica.

**Ejemplo 44: comparación de homología de STEAP-1 con secuencias conocidas**

- 45 La proteína STEAP humana no muestra un alto grado de homología con ninguna de las proteínas humanas conocidas. El miembro prototípico de la familia STEAP, STEAP-1v.1, es una proteína de membrana de tipo IIIa que consiste en 339 aminoácidos. STEAP-1 es una proteína con seis dominios transmembrana, con extremos N y C intracelulares.

- 50 El gen STEAP-1 es algo homólogo a un gen anteriormente clonado, en particular con el de la proteína relacionada con adipocitos inducida por TNF $\alpha$  de ratón (gi16905133). STEAP-1v.1 comparte el 40 % de identidad y el 63 % de homología con TIARP. Además, STEAP-1 muestra homología con la proteína pHyde de rata, con 49 % de identidad y 71 % de homología con esa proteína. La proteína TIARP es una proteína con 6 dominios transmembrana de función desconocida que se localiza en la superficie celular (Moldes M *et al.*, J. Biol. Chem 2001, 276: 33938). La pHyde de rata es una proteína que se expresa en líneas de cáncer de próstata de ratas Dunning. La sobreexpresión de pHyde en células DU145 reduce sus propiedades de crecimiento tumoral (Steiner M *et al.*, Cancer Res 2000, 60: 4419). Además, STEAP1 muestra homología significativa con el antígeno epitelial de 6 dominios transmembrana de próstata de ratón (gi 20820492).

- 60 El análisis de los motivos reveló la presencia de varios motivos funcionales proteicos (Tabla XXI). La predicción de impronta identificó una firma de la proteína transformante P21 ras y una firma de repetición de Fibronectina de tipo III, mientras que la predicción de Bloques identificó una repetición Half-A-TPR, y una firma de proteína de membrana

de la bomba de arsénico. La región de repetición de fibronectina de tipo III es un dominio de 100 aminoácidos, que interviene en la unión al ADN, heparina, membrana basal y superficie celular. El papel predominante de estas repeticiones es la unión a la superficie celular, permitiendo la adhesión celular e interviniendo en sucesos de señalización. La repetición Half-A-TPR es un motivo que se encuentra en diversas proteínas que procesan ARN. Las funciones de la bomba de arsénico son la salida de iones y de moléculas pequeñas (Walmsley AR *et al.* J Biol Chem 2001, 276: 6378-91). Los motivos pueden participar en el crecimiento y progresión tumoral mediante la potenciación de los estadios iniciales de la tumorigénesis, tales como toma tumoral o establecimiento de un tumor, permitiendo la adhesión a membranas basales y células circundantes, mediando en la comunicación celular y el transporte de iones.

Por consiguiente, cuando STEAP-1 funciona como un regulador del establecimiento tumoral, formación tumoral, crecimiento tumoral, señalización celular o como un modulador de la transcripción implicado en la activación de genes asociados con supervivencia, invasión, tumorigénesis o proliferación, STEAP-1 se usa para fines terapéuticos, diagnósticos, pronósticos y/o preventivos. Además, cuando una molécula, tal como una variante o SNP de STEAP-1 se expresa en tejidos cancerosos, tales como los enumerados en la Tabla I, estos se usan para fines terapéuticos, diagnósticos, pronósticos y/o preventivos.

#### **Ejemplo 45: regulación de la transcripción**

La localización de STEAP-1 acoplada a la presencia de motivos de procesamiento de ARN dentro de su secuencia indica que STEAP-1 modula la regulación transcripcional de genes eucariotas. La regulación de la expresión génica se confirma, por ejemplo, estudiando la expresión génica en células que expresan o carecen de STEAP-1. Para este fin, se realizan dos tipos de experimentos.

En el primer conjunto de experimentos, el ARN de células parentales y que expresan STEAP-1 se extrae y se hibrida con matrices génicas disponibles en el comercio (Clontech) (Smid-Koopman E *et al.* Br J Cancer. 2000. 83: 246). Se comparan las células en reposo así como las células tratadas con FBS, andrógenos o factores de crecimiento. Los genes que se expresan diferencialmente se identifican de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica. Los genes que se expresan diferencialmente se mapean después para rutas biológicas (Chen K *et al.* Thyroid. 2001. 11: 41).

En el segundo conjunto de experimentos, se evalúa la activación de rutas transcripcionales específicas usando construcciones indicadores de luciferasa disponibles en el comercio (Stratagene) que incluyen: NFkB-luc, SRE-luc, ELK1-luc, ARE-luc, p53-luc y CRE-luc. Estos indicadores transcripcionales contienen sitios de unión consenso para factores de transcripción conocidos que se encuentran aguas abajo de rutas de transducción de señal bien caracterizadas, y representan una buena herramienta para averiguar la activación y la exploración de rutas para moduladores positivos y negativos de rutas de activación.

Por lo tanto, STEAP-1 juega un papel en la regulación génica, y se usa como una diana para fines diagnósticos, pronósticos, preventivos y/o terapéuticos.

#### **Ejemplo 46: Identificación y confirmación de posibles rutas de transducción de señales**

Se ha notificado que muchas proteínas de mamíferos interaccionan con moléculas de señalización y que participan en la regulación de rutas de señalización. (J Neurochem. 2001; 76: 217-223). La fibronectina en particular se ha asociado con la cascada de señalización de MAPK que controla la mitogénesis celular (Jiang F, Jia Y, Cohen I. Blood. 2002, 99: 3579). Además, la proteína STEAP-1 contiene varios sitios de fosforilación (véase la Tabla XXI) indicando una asociación con cascadas de señalización específicas. Usando técnicas de inmunoprecipitación y transferencia de Western, se identifican proteínas que se asocian con STEAP-1 e intervienen en sucesos de señalización. STEAP-1 puede regular varias rutas que se sabe que desempeñan un papel en la biología del cáncer, incluyendo rutas de fosfolípidos tales como PI3K, AKT, etc., rutas de adhesión y migración, incluyendo FAK, Rho, Rac-1, β-catenina, etc., así como cascadas mitogénicas/de supervivencia tales como ERK, p38, etc. (Cell Growth Differ. 2000,11: 279; J Biol Chem. 1999, 274: 801; Oncogene. 2000, 19: 3003, J. Cell Biol. 1997, 138: 913). Para determinar si la expresión de STEAP-1 es suficiente para regular rutas de señalización específicas que no están activas de otro modo en células PC3 en reposo, el efecto de estos genes sobre la activación de la cascada p38 MAPK se investigó en la línea celular de cáncer de próstata PC3 (Figura 21A-B). La activación de la p38 quinasa es dependiente de su fosforilación en restos de tirosina y serina. La p38 fosforilada puede diferenciarse del estado no fosforilado mediante un Acm Fosfo-p38. Este Ac fosfoespecífico se usó para estudiar el estado de fosforilación de p38 en líneas celulares PC3 modificadas genéticamente.

Las células PC3 que expresan de forma estable neo STEAP-1 crecieron durante toda la noche en FBS al 1 % o al 10 %. Los lisados de células completas se analizaron por transferencia de Western. Como control positivo se usaron células PC3 tratadas con los activadores p38 conocidos, NaSaI o TNF. Los resultados muestran que aunque la expresión del gen control neo no tuvo efecto sobre la fosforilación de p38, la expresión de STEAP-1 en células PC3 es suficiente para inducir la activación de la ruta de p38 (Figura 21A). Los resultados se verificaron usando transferencia de Western con un Ac anti-p38, que muestra la misma carga de proteínas en los geles (Figura 21B).

En otro conjunto de experimentos se examinó la suficiencia de la expresión de STEAP-1 en la línea celular de cáncer de próstata PC3 para activar la ruta mitogénica de MAPK, en particular la cascada ERK (Figura 22A-B). La activación de ERK es dependiente de su fosforilación en restos de tirosina y serina. La ERK fosforilada puede diferenciarse del estado no fosforilado mediante un Acm Fosfo-ERK. Este Ac fosfo específico se usó para estudiar el estado de fosforilación de ERK en líneas celulares PC3 modificadas genéticamente. Las células PC3, que expresan una forma activada de Ras, se usaron como control positivo.

Los resultados muestran que aunque la expresión del gen control neo no tuvo efecto sobre la fosforilación de ERK, la expresión de STEAP-1 en células PC3 es suficiente para inducir un aumento en la fosforilación de ERK (Figura 22A). Estos resultados se verificaron usando transferencia de western con anti-ERK (Figura 22B) y confirman la activación de la ruta ERK mediante STEAP-1 y STEAP-2.

Dado que el FBS contiene varios componentes que pueden contribuir a la activación mediada por receptor de ERK, se examinó el efecto de STEAP-1 en niveles bajos y óptimos de FBS. Las células PC3 que expresaban neo o STEAP-1 crecieron en FBS al 0,1 % o al 10 % durante toda la noche. Las células se analizaron por transferencia de western con anti-Fosfo-ERK. Este experimento muestra que STEAP-1 induce la fosforilación de ERK en FBS al 0,1 % y confirma que la expresión de STEAP-1 es suficiente para inducir la activación de la cascada de señalización de ERK en ausencia de estímulos adicionales.

Para confirmar que STEAP-1 activa directa o indirectamente rutas de transducción de señales conocidas en células, se llevaron a cabo ensayos con indicadores transcripcionales basados en luciferasa (luc) en células que expresaban genes individuales. Estos indicadores transcripcionales contienen sitios de unión consenso para factores de transcripción conocidos que están aguas abajo de rutas de transducción de señal bien caracterizadas. Los indicadores y ejemplos de estos factores de transcripción asociados, rutas de transducción de señal y estímulos de activación se enumeran a continuación.

1. NFkB-luc, NFkB/Rel; Ik-quinasa/SAPK; crecimiento/apoptosis/estrés
2. SRE-luc, SRF/TCF/ELK1; MAPK/SAPK; crecimiento/diferenciación
3. AP-1-luc, FOS/JUN; MAPK/SAPK/PKC; crecimiento/apoptosis/estrés
4. ARE-luc, receptor androgénico; esteroides/MAPK; crecimiento/diferenciación/apoptosis
5. p53-luc, p53; SAPK; crecimiento/diferenciación/apoptosis
6. CRE-luc, CREB/ATF2; PKA/p38; crecimiento/apoptosis/estrés
7. TCF-luc, TCF/Lef;  $\beta$ -catenina, Adhesión/invasión

Los efectos mediados por genes pueden ensayarse en células que muestran expresión de ARNm. Los plásmidos indicadores de luciferasa pueden introducirse mediante transfección mediada por lípidos (TFX-50, Promega). La actividad luciferasa, un indicador de la actividad transcripcional relativa, se mide por incubación de extractos celulares con sustrato de luciferina y la luminiscencia de la reacción se controla en un luminómetro.

Las rutas de señalización activadas por STEAP-1 se mapean y se usan para la identificación y validación de dianas terapéuticas. Cuando STEAP-1 está implicada en la señalización celular, ésta se usa como una diana para fines diagnósticos, pronósticos, preventivos y/o terapéuticos.

#### **Ejemplo 47: implicación en la progresión tumoral**

Basándose en el papel documentado de la proteína transformante en la transformación, y progresión, el gen STEAP-1 puede contribuir al crecimiento y transformación de células cancerosas. El papel de STEAP-1 en el crecimiento tumoral se confirma en varias líneas celulares primarias y transfectadas incluyendo líneas celulares de próstata, así como células NIH 3T3 modificadas genéticamente para expresar establemente STEAP-1. Las células parentales que carecen de STEAP-1 y las células que expresan STEAP-1 se evalúan para el crecimiento celular usando un ensayo de proliferación bien documentado (Fraser SP, Grimes JA, Djamgoz MB. Prostate. 2000; 44: 61, Johnson DE, Ochieng J, Evans SL. Anticancer Drugs. 1996, 7: 288).

Para confirmar el papel de STEAP-1 en el proceso de transformación, se investiga su efecto en ensayos de formación de colonias. Células NIH-3T3 parentales que carecen de STEAP-1 se comparan con células NIH-3T3 que expresan STEAP-1, usando un ensayo en agar blando en condiciones rigurosas y más permisivas (Song Z. *et al.* Cancer Res. 2000; 60: 6730).

Para confirmar el papel de STEAP-1 en la invasión y metástasis de células cancerosas, se usa un ensayo bien establecido, por ejemplo, un ensayo de Sistema Inerte Transpocillo (Becton Dickinson) (Cancer Res. 1999; 59: 6010). Las células control, que incluyen líneas celulares de próstata, mama y riñón, que carecen de STEAP-1, se comparan con células que expresan STEAP-1. Las células se cargan con un colorante fluorescente, la calceína, y se siembran en placas en el pocillo superior del inserto de transpocillo cubierto con un análogo de membrana basal. La invasión se determina por fluorescencia de células en la cámara inferior con respecto a la fluorescencia en la población completa de células.

STEAP-1 también puede jugar un papel en el ciclo celular y apoptosis. Las células parentales y las células que expresan STEAP-1 se comparan para determinar diferencias en la regulación del ciclo celular usando un ensayo de BrdU bien establecido (Abdel-Malek ZA. J Cell Physiol. 1988, 136: 247). Resumiendo, las células crecen en condiciones óptimas (suero completo) y limitantes (bajo suero) y se marcan con BrdU y se tiñen con Ac anti-BrdU y yoduro de propidio. Las células se analizan para determinar la entrada en las fases G1, S y G2M del ciclo celular. Como alternativa, el efecto del estrés sobre la apoptosis se evalúa en células parentales control y células que expresan STEAP-1, incluyendo células normales y tumorales de próstata. Las células parentales y modificadas genéticamente se tratan con diversos agentes quimioterapéuticos, tales como etopóxido, taxol, etc., e inhibidores de la síntesis de proteínas tales como cicloheximida. Las células se tiñen con anexina V-FITC y se mide la muerte celular mediante análisis FACS. La modulación de la muerte celular por STEAP-1 puede jugar un papel crítico en la regulación de la progresión tumoral y la carga tumoral.

Cuando STEAP-1 juega un papel en el crecimiento celular, transformación, invasión o apoptosis, ésta se usa como una diana para fines diagnósticos, pronósticos, preventivos y/o terapéuticos.

#### **Ejemplo 48: implicación en angiogénesis**

La angiogénesis o formación de nuevos capilares sanguíneos es necesaria para el crecimiento celular (Hanahan D, Follanan J. Cell. 1996, 86: 353; Folkman J. Endocrinology. 1998 139: 441). Basándose en el efecto de los inhibidores de la fosfodiesterasa en las células endoteliales, STEAP-1 juega un papel en la angiogénesis (DeFouw L *et al*, Microvasc Res 2001, 62: 263). Se han desarrollado diversos ensayos para medir la angiogénesis *in vitro* e *in vivo*, tales como los ensayos de cultivos tisulares de formación en tubo de células endoteliales y de proliferación de células endoteliales. Usando estos ensayos así como la neovascularización *in vitro*, se confirma el papel de STEAP-1 en la potenciación o inhibición de la angiogénesis.

Por ejemplo, las células endoteliales modificadas genéticamente para expresar STEAP-1 se evalúan usando los ensayos de formación y proliferación en tubo. El efecto de STEAP-1 también se confirma en modelos animales *in vivo*. Por ejemplo, células que expresan o que carecen de STEAP-1 se implantan por vía subcutánea en ratones inmunocomprometidos. La migración de células endoteliales y la angiogénesis se evalúa 5-15 días después usando técnicas de inmunohistoquímica. STEAP-1 afecta a la angiogénesis y se usa como una diana para fines diagnósticos, pronósticos, preventivos y/o terapéuticos.

#### **Ejemplo 49: implicación en interacciones proteína-proteína**

Se ha mostrado que los motivos de fibronectina intervienen en la interacción con otras proteínas, incluyendo proteínas de la superficie celular. Usando técnicas de inmunoprecipitación, así como sistemas de doble híbrido en levaduras, se identifican proteínas que se asocian con STEAP-1. Los inmunoprecipitados de células que expresan STEAP-1 y de células que carecen de STEAP-1 se comparan para determinar asociaciones específicas proteína-proteína.

Se realizan estudios para confirmar el grado de asociación de STEAP-1 con moléculas efectoras, tales como proteínas nucleares, factores de transcripción, quinasas, fosfatasa, etc. Los estudios que comparan células positivas a STEAP-1 y negativas a STEAP-1 así como estudios que comparan células no estimuladas/en reposo y células tratadas con activadores de células epiteliales, tales como citocinas, factores de crecimiento, andrógeno y Ac anti-integrina Ac, revelan interacciones exclusivas.

Además, las interacciones proteína-proteína se confirman usando la metodología de doble híbrido en levaduras (Curr Opin Chem Biol. 1999, 3: 64). Un vector portador de una biblioteca de proteínas fusionado con el dominio de activación de un factor de transcripción se introduce en levaduras que expresan una proteína de fusión de dominio de unión a ADN-STEAP-1 y una construcción indicadora. La interacción proteína-proteína se detecta mediante la actividad indicadora colorimétrica. La asociación específica con moléculas efectoras y factores de transcripción dirige a un experto al modo de acción de STEAP-1, y por lo tanto identifica dianas terapéuticas, pronósticas, preventivas y/o diagnósticas para cáncer. Este ensayo y similares también se usan para identificar y explorar moléculas pequeñas que interaccionan con STEAP-1.

Por lo tanto se descubre que STEAP-1 se asocia con proteínas y moléculas pequeñas. Por consiguiente, STEAP-1 y estas proteínas y moléculas pequeñas se usan para fines diagnósticos, pronósticos, preventivos y/o terapéuticos.

#### **Ejemplo 50: implicación de STEAP-1 en el transporte de moléculas pequeñas y en la comunicación célula-célula**

La comunicación célula-célula es esencial para mantener la integridad y homeostasis de órganos, ambas de las cuales se desregulan durante la formación y progresión tumoral. Las comunicaciones intercelulares pueden medirse usando dos tipos de ensayos (J. Biol. Chem. 2000, 275: 25207). En el primer ensayo, las células cargadas con un colorante fluorescente se incuban en presencia de células receptoras no marcadas y las poblaciones celulares se

examinan al microscopio fluorescente. Este ensayo cualitativo mide el intercambio de colorante entre células adyacentes. En el segundo sistema de ensayo, poblaciones de células donantes y receptoras se tratan como se ha indicado anteriormente y se realizan mediciones cuantitativas de la población de células receptoras por análisis por FACS. Usando estos dos sistemas de ensayo, las células que se expresan STEAP-1 se comparan con controles que no expresan STEAP-1, y se ha descubierto que STEAP-1 potencia las comunicaciones celulares. Las Figuras 19 y 20 demuestran que STEAP-1 media la transferencia de la molécula pequeña, calceína, entre células adyacentes, y de ese modo regula la comunicación célula-célula en células de cáncer de próstata. En este experimento, células PC3 receptoras se marcaron con dextrano-Rojo Texas y las células PC3 donantes se marcaron con calceína AM (verde). Las células donantes (verdes) y receptoras (rojas) se cocultivaron a 37 °C y se analizaron por microscopía para determinar la co-localización del Rojo Texas y calceína. Los resultados demostraron que mientras que las células PC3 control (sin expresión detectable de la proteína STEAP-1) muestran poca transferencia de calceína, la expresión de STEAP-1 permite la transferencia de moléculas pequeñas entre células (Figura 19), de este modo las células receptoras inicialmente rojas toman un color parduzco, y co-localizan las moléculas rojas y verdes. Las moléculas pequeñas y/o anticuerpos que modulan la comunicación célula a célula mediada por STEAP-1 se usan como agentes terapéuticos para cánceres que expresan STEAP-1. La Figura 20 muestra la comunicación célula a célula de manera dependiente del tiempo mediada por STEAP-1, donde a las 6 horas se observa poca transferencia en células PC3-STEAP-1, y a las 24 horas se observa mucha transferencia. La Figura 23 demuestra que la expresión de STEAP-1 es necesaria en poblaciones tanto donantes como receptoras para que la transferencia de moléculas pequeñas tenga lugar. En este experimento, células donantes marcadas con dextrano rojo se incubaron con células receptoras marcadas con calceína (verde). Sin embargo, las poblaciones donantes y receptoras se alternaron, de modo que una población de PC3 donante se incubó con una receptora de PC3, o con poblaciones receptoras de PC3-STEAP-1. De manera similar, una población donante PC3-STEAP-1 se cocultivó con una población receptora PC3 o PC3-STEAP-1. Los resultados muestran que el cocultivo de células PC3 y PC3 control no intervenía en la transferencia de calceína. De manera similar, la coincubación de PC3 control y PC3-STEAP-1 no permitió la transferencia de calceína. Sin embargo, el cocultivo de células donantes PC3-STEAP-1 y receptoras PC3-STEAP-1 interviene en la transferencia de moléculas pequeñas como se representa mediante la colocación de pigmentos verdes y rojos en las mismas células. Considerados en conjunto, estos datos mostrados en las figuras 19, 20 y 23 demuestran que STEAP-1 interviene en la transferencia de moléculas pequeñas y regula la comunicación célula-célula mediante la formación de canales de comunicación celular que son similares en cuanto a su función a las uniones comunicantes.

Por lo tanto, dado que STEAP-1 actúa en la comunicación célula-célula y en el transporte de moléculas pequeñas, ésta se usa como una diana o marcador para fines diagnósticos, pronósticos, preventivos y/o terapéuticos.

#### **Ejemplo 51: implicación de STEAP-1 en el transporte iónico.**

La localización y topología de STEAP-1 respalda su función como vehículo. Para confirmar que STEAP-1 actúa como un canal iónico, se usaron técnicas de análisis FACS y microscopía de fluorescencia (Gergely L, *et al.*, Clin Diagn Lab Immunol. 1997; 4:70; Skryma R, *et al.*, J Physiol. 2000, 527: 71). Usando análisis FACS e indicadores disponibles en el comercio (Molecular Probes), se compararon células parentales y células que expresaban STEAP-1 para determinar su capacidad de transportar calcio; en estos estudios se usaron las líneas celulares de cáncer de próstata PC3. Las células PC3 y PC3-STEAP-1 se cargaron con indicadores sensibles a calcio, Fluo4 y rojo Fura, se incubaron en presencia o en ausencia de calcio y ácido lipofosfatídico (LPA), y se analizaron por citometría de flujo. La Figura 17 muestra el flujo de calcio aumentado de STEAP-1 en respuesta al LPA. Estos datos validan un mecanismo importante mediante el cual se regulan las células cancerosas. Esto es particularmente cierto en el caso del calcio, tal como se ha notificado, los inhibidores de calcio inducen la muerte de determinadas células cancerosas, incluyendo líneas celulares de cáncer de próstata (Batra S, Popper LD, Hartley-Asp B. Prostate. 1991;19: 299).

Además, la Figura 18 muestra que el transporte de calcio mediado por STEAP-1 regula el crecimiento del cáncer de próstata mediante la regulación de niveles intracelulares de calcio. En este estudio, células PC3 control y PC3-STEAP-1 crecieron en presencia o ausencia de inhibidores de canales iónicos, en concreto amilorida, NDGA y TEA, que inhiben el transporte de sodio, calcio y potasio, respectivamente. La expresión de STEAP-1 produjo células PC3 sensibles al tratamiento con el inhibidor del canal de  $\text{Ca}^{++}$  NDGA. Mientras que las células PC3 control demostraron un crecimiento del 100 % en presencia del inhibidor, NDGA, a 50  $\mu\text{M}$  inhibió la proliferación de células PC3-STEAP-1 al 42 % y en ejemplo 10 a 51  $\mu\text{M}$  de NDGA inhibió la proliferación al 20 %. Estos hallazgos confirman la importancia de STEAP-1 como regulador del transporte de calcio en la proliferación de células cancerosas que expresan esta proteína. Por lo tanto, STEAP-1 se usa en modalidades terapéuticas que controlan la proliferación de células de cáncer de próstata. Debido a que STEAP-1 actúa como un vehículo iónico, ésta se usa como una diana o marcador para fines diagnósticos, pronósticos, preventivos y terapéuticos.

#### **Ejemplo 52: ARN de interferencia (ARNi)**

El ARN de interferencia (ARNi) utiliza ARN bicatenario específico de secuencia para impedir la expresión génica. El ARN pequeño de interferencia (ARNpi) se transfecta en células de mamífero y de ese modo media la degradación de ARNm específico de secuencia. (Elbashir, *et al.*, Nature, 2001; vol. 411: 494-498). Se usaron las siguientes

secuencias de ARNpi:

STEAP-1 (1) diana: GACAUCACAAACCAAGAAG (correspondiente a los nucleótidos 16-34 de la ORF de STEAP-1) (SEC ID N°: 96)

STEAP-1 (2) diana: GUGGAUAGAUUAAAAACAA (correspondiente a los nucleótidos 893-911 de la ORF de STEAP-1) (SEC ID N°: 97)

La cadena en sentido de STEAP-1 (1) se marca en la posición 3' con fluoresceína, 6-FAM (ABS 494 nm, EMM 525 nm, verde El ARNpi se disuelve en tampón estéril sin ARN (KOAc 100 mM, HEPES KOH 30 mM, MOAc 2 mM, a pH 7,4) para preparar una reserva de 20 µM (200x). El ARNpi se transfecta en células LNCaP, 3T3-STEAP-1 y Rat-1-STEAP-1 sembradas en placas con pocillos con el reactivo oligofectamina (Invitrogen). La concentración final de ARNpi fue de 100x nM. Como control se usaron los siguientes oligonucleótidos para excluir cualquier efecto no específico de los oligonucleótidos de ARNpi de STEAP-1:

Control: GCCUCCCCAUUGUGCUCGC (correspondiente a los nucleótidos 91-109 de la ORF) (SEC ID N°: 98)

La expresión proteica se detectó 24 horas después de la transfección mediante inmunotinción seguido de citometría de flujo. Además, la confirmación de la expresión génica alterada se realizó por transferencia de Western. Los resultados (Figura 24) muestran que la introducción de ARNi específico de STEAP-1 redujo la expresión de STEAP-1 en células 3T3 y Rat-1 recombinantes. Las células 3T3 y Rat-1 se permeabilizaron y se tiñeron con anticuerpos policlonales anti-STEAP-1. La inmunotinción de las células completas reveló que el ARNi de STEAP-1 redujo la expresión de STEAP-1 en células Rat-1 y 3T3. Esta reducción se confirmó mediante análisis de transferencia de western en el que la proteína STEAP-1 se redujo sustancialmente en células tratadas con ARNi de STEAP-1 con respecto a las células control y las células no tratadas. Adicionalmente, el ARNi reduce la expresión endógena de STEAP-1 en el cáncer de próstata y la línea celular LNCaP como se muestra en la Figura 25.

Por consiguiente, las secuencias de nucleótidos de ARN se usan en aplicaciones terapéuticas y profilácticas. Además, las secuencias de oligonucleótidos de ARN se usan para evaluar como la modulación de la expresión de un gen de STEAP-1 afecta a la función de células y/o tejidos cancerosos.

### **Ejemplo 53: modulación de la función de STEAP-1.**

El transporte iónico desempeña un papel importante en la regulación de la permeabilidad intracelular del crecimiento celular, en el tránsito molecular y en la transducción de señales (Minke B. *Cell Mol Neurobiol.* 2001, 21: 629, Golovina *et al*, *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001, 280: H746), que son funciones específicamente relevantes para la afección neoplásica. La comunicación célula-célula regula la homeostasis, la proliferación y la muerte celular (Evans WH, Martin PE. *Mol Membr Biol.* 2002 19: 121; Carruba G, *et al*, *Ann N Y Acad Sci.* 2002, 963: 156) funciones que también son especialmente relevantes para la afección neoplásica.

Usando líneas celulares control y líneas celulares que expresan STEAP-1, se identifican inhibidores de la función de STEAP-1. Por ejemplo, células PC3 y PC3-STEAP-1 pueden incubarse en presencia y en ausencia de Acm o de inhibidores de molécula pequeña. El efecto de estos Acm o inhibidores de molécula pequeña se investiga usando los ensayos de flujo de iones, comunicación celular, proliferación y señalización anteriormente descritos.

La transducción de señal y el resultado biológico mediados por vehículos pueden estar modulados a través de varios mecanismos, incluyendo la inhibición de la unión del ligando y receptor, antagonistas iónicos, interacciones proteicas, regulación del transporte de iones y moléculas pequeñas, etc. (Tang W *et al*, *Front Biosci* 2002, 7: 1583). Usando líneas celulares control y líneas celulares que expresan STEAP-1, se identifican moduladores (inhibidores o potenciadores) de la función de STEAP-1. Por ejemplo, células PC3 y PC3-STEAP-1 se incuban en presencia o en ausencia de Acm o moduladores de molécula pequeña. En vista de las funciones de STEAP-1 que se desvelan en el presente documento, los moduladores que son bloqueadores de canales iónicos usados en el contexto de la presente invención incluyen compuestos tales como amlodipina, azuleno, dihidropiridinas, tianinas, nifedina, verapamilo y sus derivados (Tanaka Y, Shigenobu K. *Cardiovasc Drug Rev.* 2001, 19: 297; Djuric D, Mitrovic V, Jakovljevic V. *Arzneimittelforschung.* 2002, 52: 365; Kourie JI, Wood HB. *Prog Biophys Mol Biol.* 2000; 73: 91); y los moduladores que son inhibidores de la comunicación celular usados en el contexto de la presente invención incluyen compuestos tales como ácido beta-glicerretínico, retinoides, TPA (Krutovskikh VA *et al*, *Oncogene.* 2002, 21: 1989; Rudkin *et al*, *J Surg Res.* 2002, 103: 183; Ruch J *et al*, *J Cell Biochem.* 2001, 83: 163). Por consiguiente, el efecto o los efectos de los Acm o inhibidores de molécula pequeña se investigan usando los ensayos de flujo de iones, comunicación celular, proliferación y señalización que se describen en los Ejemplos anteriores.

Cuando los Acm y las moléculas pequeñas modulan, por ejemplo, inhiben, el transporte y la función tumorigénica de STEAP-1 estos se usan para fines preventivos, pronósticos, diagnósticos y/o terapéuticos.

A lo largo de esta solicitud, se hace referencia a diversos contenidos de datos de sitios web, publicaciones, solicitudes de patentes y patentes. (Se hace referencia a los sitios web por sus direcciones de Localizador Uniforme de Recursos, o URL, en la Red Informática Mundial, *World Wide Web*).



**TABLAS:**

**TABLA I: Tejidos que expresan STEAP-1 cuando son malignos**  
**Estómago**  
**Recto**

**TABLA II: abreviaturas de aminoácidos**

UNA SOLA LETRA	TRES LETRAS	NOMBRE COMPLETO
F	Phe	fenilalanina
L	Leu	leucina
S	Ser	serina
Y	Tyr	tirosina
C	Cys	cisteína
W	Trp	triptófano
P	Pro	prolina
H	His	histidina
Q	Gln	glutamina
R	Arg	arginina
I	Ile	isoleucina
M	Met	metionina
T	Thr	treonina
N	Asn	asparagina
K	Lys	lisina
V	Val	valina
A	Ala	alanina
D	Asp	ácido aspártico
E	Glu	ácido glutámico
G	Gly	glicina

Tabla III: matriz de sustitución de aminoácidos

Adaptada de la matriz de sustitución de aminoácidos del programa informático GCG 9,0 BLOSUM62 (matriz de sustitución de bloqueos). Cuando más alto es el valor, más probable es encontrar una sustitución en proteínas naturales relacionadas. (Véase la URL [www.kip.uribe.ch/manual/blosum62.html](http://www.kip.uribe.ch/manual/blosum62.html))

A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y	.
4	0	-2	-1	-2	0	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	-1	-1	1	0	0	-3	-2	.
	9	-3	-4	-2	-3	-3	-1	-3	-1	-1	-3	-3	-3	-3	-1	-1	-1	-2	-2	A
		6	2	-3	-1	-1	-3	-1	-4	-3	1	-1	0	-2	0	-1	-3	-4	-3	C
			5	-3	-2	0	-3	1	-3	-2	0	-1	2	0	0	-1	-2	-3	-2	D
				6	-3	-1	0	-3	0	0	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-1	1	3	E
					6	-2	-4	-2	-4	-3	0	-2	-2	-2	0	-2	-3	-2	-3	F
						8	-3	-1	-3	-2	1	-2	0	0	-1	-2	-3	-2	2	G
							4	-3	2	1	-3	-3	-3	-3	-2	-1	3	-3	-1	H
								5	-2	-1	0	-1	1	2	0	-1	-2	-3	-2	I
									4	2	-3	-3	-2	-2	-2	-1	1	-2	-1	K
										5	-2	-2	0	-1	-1	-1	1	-1	-1	L
											6	-2	0	0	1	0	-3	-4	-2	M
												7	-1	-2	-1	-1	-2	-4	-3	N
													5	1	0	-1	-2	-2	-1	P
														5	-1	-1	-3	-3	-2	Q
															4	1	-2	-3	-2	R
																5	0	-3	-2	S
																	4	-2	-2	T
																		-3	-1	V
																		11	2	W
																			7	Y

**TABLA IV**  
**Motivos/supermotivos de HLA de Clase I/II**

**TABLA IV (A): motivos/supermotivos de HLA de Clase I**

SUPERMOTIVOS	POSICIÓN	POSICIÓN	POSICIÓN
	2 (Anclaje Primario)	3 (Anclaje Primario)	Extremo C (Anclaje Primario)
<b>A1</b>	<b><i>TILVMS</i></b>		<b>FWY</b>
<b>A2</b>	<b><i>UVMATQ</i></b>		<b><i>TVMATL</i></b>
<b>A3</b>	<b><i>VSMATLÍ</i></b>		<b>RK</b>
<b>A24</b>	<b><i>YFWIVLMT</i></b>		<b><i>FIYWLM</i></b>
<b>B7</b>	<b>P</b>		<b><i>VILFMWYA</i></b>
<b>B27</b>	<b>RHK</b>		<b><i>FYLWMIVA</i></b>
<b>B44</b>	<b>ED</b>		<b><i>FWYLBMA</i></b>
<b>B58</b>	<b>ATS</b>		<b><i>FWYLIVMA</i></b>
<b>B62</b>	<b><i>QULIVMP</i></b>		<b><i>FWYMTVLA</i></b>
<b>MOTIVOS</b>			
<b>A1</b>	<b>TSM</b>		<b>Y</b>
<b>A1</b>		<b>DEAS</b>	<b>Y</b>
<b>A2.1</b>	<b><i>LMVQIAT</i></b>		<b><i>VLIMAT</i></b>
<b>A3</b>	<b><i>LMVISATFCGD</i></b>		<b><i>KYRHFA</i></b>
<b>A11</b>	<b><i>VTMLISAGNCDF</i></b>		<b><i>KRYH</i></b>
<b>A24</b>	<b><i>YFWM</i></b>		<b><i>FLIW</i></b>
<b>A*3101</b>	<b><i>MVTALIS</i></b>		<b>RK</b>
<b>A*3301</b>	<b><i>MVALFIST</i></b>		<b>RK</b>
<b>A*6801</b>	<b><i>AVTMSLI</i></b>		<b>RK</b>
<b>B*0702</b>	<b>P</b>		<b><i>LMFWYAIF</i></b>
<b>B*3501</b>	<b>P</b>		<b><i>LMFWYIVA</i></b>
<b>B51</b>	<b>P</b>		<b><i>LIVFWYAM</i></b>
<b>B*5301</b>	<b>P</b>		<b><i>IMFWYALV</i></b>
<b>B*5401</b>	<b>P</b>		<b><i>ATIFLMFWY</i></b>

Los restos en negrita son los preferidos, los restos en cursiva son los menos preferidos: se considera que un péptido es portador de motivos si tiene anclajes primarios en cada posición de anclaje primario de un motivo o supermotivo tal como se especifica en la tabla anterior.

**TABLA IV (B): supermotivos de HLA de clase II**

1	6	9
W,F,Y,V,I,L	A, V, I, L, P, C, S, T	A,V,I,L,C,S,T,M,Y

TABLA IV (C): motivos de HLA de Clase II

MOTIVOS		anclaje primario 1	2	3	4	5	anclaje primario 6	7	8	9
DR4	preferido perjudicial	<i>FMYLIVW</i>	M	T	W	I	<i>VSTCPALIM</i>	MH R		MH WDE
DR1	preferido perjudicial	<i>MFLIVWY</i>	C	CH	PAMQ FD	CWD	<i>VMATSPLIC</i>	M GDE	D	AVM
DR7	preferido perjudicial	<i>MFLIVWY</i>	M C	W	A G		<i>IVMSACTPL</i>	M GRD	N	IV G
<u>DR3</u>	MOTIVOS	<u>Anclaje primario 1</u>	2	3	<u>Anclaje primario 4</u>	5	<u>Anclaje primario 6</u>			
motivo a preferido		<i>LIVMFY</i>			D					
motivo b preferido		<i>LIVMFAY</i>		DNQEST		KRH				
Supermotivo DR		<i>MFLIVWY</i>				<i>VMSTACPLI</i>				
Los restos en cursiva indican restos menos preferidos o restos "tolerados"										

TABLA IV (D): supermotivos de HLA de clase I

<u>SUPERMOTIVOS</u>	<u>POSICIÓN:</u>	1	2	3	4	5	6	7	8	C terminal
A1			<u>Anclaje</u> primario TILVMS							<u>Anclaje</u> primario FWY
A2			<u>Anclaje</u> primario LVIMATQ							<u>Anclaje</u> primario LVIMAT
A3	Preferidos		<u>Anclaje</u> primario VSMATLI	YFW (4/5)		YFW (3/5)	YFW (4/5)	P (4/5)		<u>Anclaje</u> primario RK
	perjudiciales	DE (3/5); P (5/5)		DE (4/5)						
A24			<u>Anclaje</u> primario YFWIVLMT							<u>Anclaje</u> primario FIY WLM
B7	preferidos	FWY (5/5) LIVM (3/5)	<u>Anclaje</u> primario P	FWY (4/5)						<u>Anclaje</u> primario VLF MWYA
	perjudiciales	DE (3/5); P(5/5); G(4/5); A(3/5); QN(3/5)			DE (3/5)	G (4/5)	QN (4/5)	FWY (3/5) DE (4/5)		
B27			<u>Anclaje</u> primario RHK							<u>Anclaje</u> primario FYLWMI/A
B44			<u>Anclaje</u> primario ED							<u>Anclaje</u> primario FWYLMVA
B58			<u>Anclaje</u> primario ATS							<u>Anclaje</u> primario FWYLI/MA
B62			<u>Anclaje</u> primario QLIVMP							<u>Anclaje</u> primario FWYMI/VA
Los restos en cursiva indican restos menos preferidos o "tolerados"										

TABLA IV (E): supermotivos de HLA de clase I

POSICIÓN:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Extremo C
A1 9-mer	preferido GFY W	<u>Anclaje primario</u> STM	DEA	YFW		P	DEQN	YFW	o extremo C <u>Anclaje primario</u> Y	
	perjudicial DE		RHKLIVMP	A	G	A				
A1 9-mer	preferido GRHK	ASTCLIVM	<u>Anclaje primario</u> DEAS	GSTC		ASTC	LIVM		<u>Anclaje primario</u> Y	
	perjudicial A	RHKDEPY FW		DE	PQN	RHK	PG	GP		
A1 10-mer	preferido YFW	<u>Anclaje primario</u> STM	DEAQN	A	YFWQN	PASTC	GDE	P	<u>Anclaje primario</u> Y	
	perjudicial GP		RHKGLIVM	DE	RHK	QNA	RHKYFW	RHK	A	
A1 10-mer	preferido YFW	STCLIVM	<u>Anclaje primario</u> DE/4S	A	YFW	PG	G	YFW	<u>Anclaje primario</u> Y	
	perjudicial RHK	RHKDEPY FW			P	G	PRHK	QN		
A2.1 9-mer	preferido YFW	<u>Anclaje primario</u> LMIVQAT	YFW	STC	YFW	A	P	<u>Anclaje primario</u> VLIMAT		
	perjudicial DEP		DERKH			RKH	DERKH			
A2.1 10-mer	preferido AYFW	<u>Anclaje primario</u> LMIVQAT	LIVM	G		G	FYWL VIM	DERKH	<u>Anclaje primario</u> VLIMAT	
	perjudicial DEP		DE	RKHA	P	RKH	DERKH	RKH		
A3	preferido RHK	<u>Anclaje primario</u> LMVISATFCGD	YFW	PRHKYFW	A	YFW	P	<u>Anclaje primario</u> KYRHFA		
	perjudicial DEP		DE							
A11	preferido A	<u>Anclaje primario</u> VTLMSAGNCDF	YFW	YFW	A	YFW	YFW	P	<u>Anclaje primario</u> KRYH	
	perjudicial DEP					A	G			
A24 9-mer	preferido YFWRHK	<u>Anclaje primario</u> YFWM		STC		YFW	YFW	YFW	<u>Anclaje primario</u> FLIW	
	perjudicial DEG		DE	G	QNP	DERHK	G	AQN		

A24 10-mer	preferido	<u>Andaje primario</u> YFWM		P	YFWP	P		<u>Andaje primario</u> FLIW
	perjudicial		GDE	QN	RHK	DE	A	QN DEA
A3101	preferido	RHK	<u>Andaje primario</u> MVT/4./S	P	YFW	YFW	AP	<u>Andaje primario</u> RK
	perjudicial	DEP	DE		ADE	DE	DE	DE
A3301	preferido	<u>Andaje primario</u> MVALFI ST	YFW			AYFW		<u>Andaje primario</u> RK
	perjudicial	GP	DE					
A6801	preferido	YFWSTC	<u>Andaje primario</u> AVTMSLJ		YFWLIV M	YFW	P	<u>Andaje primario</u> RK
	perjudicial	GP	DEG		RHK		A	
B0702	preferido	RHKFWY	<u>Andaje primario</u> P		RHK	RHK	PA	<u>Andaje primario</u> LMFWYIIV
	perjudicial	DEQNP	DEP	DE	DE	GDE	QN	DE
B3501	preferido	FWYLIV M	<u>Andaje primario</u> P		FWY		FWY	<u>Andaje primario</u> LMFWYIIV
	perjudicial	AGP			G	G		
B51	preferido	LIVMFWY	<u>Andaje primario</u> P	STC	FWY	G	FWY	<u>Andaje primario</u> LNF WYAM
	perjudicial	AGPDER			DE	G	DEQN	GDE
B5301	preferido	LIVMFWY	<u>Andaje primario</u> P	STC	FWY	LIVMFWY	FWY	<u>Andaje primario</u> IMFWYAL V
	perjudicial	AGPON			G	RHKQN	DE	
B5401	preferido	FWY	<u>Andaje primario</u> P	FWYL IVM	LIVM	ALIVM	FWYAP	<u>Andaje primario</u> ATIVLMF WY
	perjudicial	GPQNDE	GDESTC		RHKDE	DE	QNDE	DE
Los restos en cursiva indican restos menos preferidos o "tolerados". La información de esta Tabla es específica para 9-meros a menos que se especifique otra cosa.								

Tabla V-V1-HLA-A1-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3; se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
32	TGETSMLKR	11,250
180	LSYPMRRSY	7,500
22	LEEDDYLHK	4,500
9	NQEELWKMK	2,700
80	ILASLFLY	2,500
122	SITLLALVY	2,500
7	ITNQEELWK	2,500
31	DTGETSMLK	2,500
277	WIDIKQFVW	2,500
324	WEDVTKINK	2,500
99	ATSHQYFY	2,500
244	SLTWREFHY	2,500
153	WLDKWMLTR	2,500
21	NLEEDDYLH	1,800
100	TSHQYFYK	1,500
286	YTPPTFMIA	1,250
84	LTFLYTLR	1,250
108	KPILVENK	1,000
307	ILFLPCLRK	1,000
208	WIEHDVWRM	0,900
178	YSLSYPMRR	0,750
78	AAIASLTF	0,500
51	HADEFDCPS	0,500
301	VLFKSLF	0,500
148	KKFPHWLDK	0,500
296	FLPIVVLIF	0,500
215	RMEIVVSEG	0,450
297	LPIVVLIFK	0,250
247	WREFHYIQS	0,225
203	NKEDAWHEH	0,225
138	IVQLHNGTK	0,200
140	QLHNGTKYK	0,200
268	HALIFAWNK	0,200
236	TSIPSVSDS	0,150
64	TQELFPQWH	0,135
265	GTHALIFA	0,125
174	LHAISLSY	0,125
264	LGTIHALIF	0,125
210	ENDVWRMEI	0,125
94	VHPLATSH	0,100
60	ELQHTQELF	0,100
306	SILFLPCLR	0,100
240	SVSDSLTWR	0,100
68	FPQWHLPK	0,100
116	KVLPMVSIT	0,100
98	LATSHQQYF	0,100
308	LFLPCLRKK	0,100
91	LREVIHPLA	0,090
139	VQLHNGTKY	0,075
241	VSDSLTWRE	0,075
256	KLGVSLLL	0,050
125	LLALVYLP	0,050
227	LAILALLAV	0,050
88	YTLREVIH	0,050
293	IAVFLPIV	0,050

Tabla V-V1-HLA-A1-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3; se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
223	GIVGLAILA	0,050
123	ITLLALVYL	0,050
224	IVGLAILAL	0,050
97	PLATSHQQY	0,050
170	FFAVLHATY	0,050
261	SLLLGTHIA	0,050
63	HTQELFPQW	0,050
112	LVINKVLP	0,050
258	GIVSLLLGT	0,050
171	FAVLHATY	0,050
81	IASLTFLYT	0,050
49	TAHADEFDC	0,050
135	IAAVQLHN	0,050
266	JHALIFAW	0,050
232	LLAVTSIFS	0,050
221	SLGIVGLAI	0,050
165	GLLSFFFAV	0,050
117	VLPMSITL	0,050
120	MVSITLLAL	0,050
226	GLAILALLA	0,050
323	GWEDVTKIN	0,045
35	TSMLKRPVL	0,030
121	VSTLLALV	0,030
167	LSFFFAVLH	0,030
82	ASLTFLYTL	0,030
305	KSILFLPCL	0,030
34	ETSMLKRPV	0,025
19	RRNLEEDDY	0,025
129	VYLPGVIAA	0,025
24	EDDYHLKDT	0,025
182	YPMRRSYRY	0,025
71	WHLPIKIAA	0,025
285	WYTPPTFMI	0,025
291	FMAVFLPI	0,025
163	QFGLLSFF	0,025
29	HKDTGETSM	0,025
54	EPDCPSLQ	0,025
55	FDCPSLQ	0,025
211	HDVWRMEIY	0,025
161	RKQFGLLSF	0,025
142	HNGTKYKKF	0,025
10	QEELWKMKP	0,022
172	AVLHAIYSL	0,020
321	RHGWEDEVTK	0,020
133	GVIAIVQL	0,020

Tabla V-V2-HLA-A1-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 5; se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
--------	--------------	------------

Tabla V-V2-HLA-A1-9meros:  
STEAP-1

1	WREFHYIQV	0,225
3	EFHYIQVNN	0,001
2	REFHYIQVN	0,001
4	FHYIQVNNI	0,001

Tabla V-V3-HLA-A1-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7; se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
20	LWDPCLTRF	2,500
13	KSDVPESLW	0,750
16	VPESLWDPC	0,225
1	WREFHYIQI	0,225
19	SLWDPCLTR	0,050
4	FHYIQHKK	0,050
18	ESLWDPCLT	0,015
22	DPCLTRFKG	0,013
25	LTRFKGLNL	0,013
8	QIHKKSDV	0,010
6	YIQIHKKKS	0,010
5	HYIQIHKKK	0,010
21	WDPCLTRFK	0,010
14	SDVPESLWD	0,003
3	EFHYIQIHH	0,003
28	FKGLNLIQS	0,003
15	DVPESLWDP	0,001
24	CLTRFKGLN	0,001
23	PCLTRFKGL	0,001
2	REFHYIQII	0,001
12	KKSDVPESL	0,001
27	RFKGLNLIQ	0,001
7	IQIHKKSD	0,001
17	PESLWDPC	0,001
9	IHKKSDVP	0,001
11	HKKSDVPES	0,001
26	TRFKGLNLI	0,001
10	IHKKSDVPE	0,001

Tabla V-V4-HLA-A1-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 9; se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
5	GLLSLFFAV	0,050
8	SLFFAVLHA	0,050
7	LSLFFAVLH	0,030
3	QFGLLSLFF	0,025
6	LLSLFFAVL	0,020
2	KQFGLLSLF	0,015
4	RGLLSLFFA	0,013
1	RKQFGLLSL	0,003
9	LFFAVLHAI	0,001



Tabla VI-V1-HLA-A1-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3; se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
21	NLEDDYLHK	90,000
277	WIDIKQFVWY	50,000
241	VSDSLTWREF	7,500
323	GWEDVTKINK	4,500
243	DSLFWREFHY	3,750
121	VSITLLALVY	3,750
99	ATSHQQYFYK	2,500
173	VLHAIYSLSY	2,500
79	AIASLTFLY	2,500
215	RMEIYVSLGI	2,250
180	LSYPMRRSYR	1,500
210	EHDVWRMBI Y	1,250
286	YTPPTFMIAV	1,250
31	DTGETSMLKR	1,250
296	FLPIVVLIFK	1,000
153	WLDKWMLTR K	1,000
98	LATSHQQYFY	1,000
306	SILFLPOLRK	1,000
6	DITNQEELWK	1,000
247	WREFHYIQSK	0,900
77	IAAIALSLTP	0,500
138	IVQLHNGTKY	0,500
300	VVLIFKSILF	0,500
263	LLGTHALIF	0,500
107	YKIPILVINK	0,500
116	KVLPMSITL	0,500
83	SLTFLYTLR	0,500
179	SLSYPMRRSY	0,500
66	ELFPQWHLPI	0,500
10	QEELWKMKP R	0,450
140	QLHNGTKYK K	0,400
310	LPCIRKKILK	0,250
295	VLPVVLIF	0,250
91	LREVIHPLAT	0,225
195	WAYQQVQON K	0,200
307	ILFLPCIRKK	0,200
176	AIYSLSYPMR	0,200
137	AIVQLHNGTK	0,200
305	KSILFLPCR	0,150
236	TSIPSVSDSL	0,150
64	TQELFPQWHL	0,135
58	PSELQHTQEL	0,135
48	QTAHADEFDC	0,125
96	HPLATSBQQY	0,125
54	EFDCPSELQH	0,125
265	GTHALIFAW	0,125
94	VHPLATSHQ	0,100
51	HADEFDCPSE	0,100
208	WIEHDVWRM E	0,090

Tabla VI-V1-HLA-A1-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3; se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
167	LSFFFAVLHA	0,075
162	KQFGLLSTFF	0,075
260	VSLLLGTHHA	0,075
220	VSLGIVGLAI	0,075
9	NQEELWKMK P	0,068
80	ILASLTFLYT	0,050
226	GLAILALLAV	0,050
292	MIAVFLPTVV	0,050
223	GIVGLAILAL	0,050
169	FFFAVLHAIY	0,050
34	ETSMLKRPVL	0,050
30	KDTGETSMLK	0,050
217	EIYVSLGIVG	0,050
124	TLLALVYLP	0,050
8	TNQEELWK K	0,050
252	YIQSKLGIVS	0,050
111	ILVINKVLPM	0,050
256	KLGIIVSLLG	0,050
301	VLIKLSILFL	0,050
231	ALLAVTSIPS	0,050
134	VIAIVQLHN	0,050
128	LVYLPGVIAA	0,050
287	TPPTFMIAVF	0,050
181	SYPMRRSYRY	0,050
52	ADEFDCPSEL	0,045
139	VQLHNGTKY K	0,030
100	TSHQQYFYKI	0,030
35	TSMLKRPVLL	0,030
7	ITNQEELWK	0,025
4	RKDITNQEEL	0,025
29	HKDTGETSML	0,025
204	KEDAWIHDV	0,025
235	VTSIPSVSDS	0,025
23	EEDDYHLKDT	0,025
285	WYTPPTFMIA	0,025
152	HWLDKWMILT R	0,025
157	WMLTRKQFG L	0,025
24	EDDYHLKDTG	0,025
324	WEDVTKINKT	0,025
177	IYSLSYPMRR	0,025
63	HTQELFPQWH	0,025
32	TGETSMLKRP	0,022
232	LLAVTSIPSV	0,020
43	LIHLHQTAAH	0,020
227	LAILALLAVT	0,020
130	YLPGVIAAIV	0,020
262	LLGTHALIAI	0,020
294	AVFLPIVLLI	0,020
224	IVGLAILALL	0,020
166	LSFFFAVLH	0,020

Tabla VI-V1-HLA-A1-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3; se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
127	ALVYLPGVIA	0,020

Tabla VI-V2-HLA-A1-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 5; se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
2	WREFHYIQVN	0,045
3	REFHYIQVNN	0,001
4	EFHYIQVNNI	0,001
1	TWREFHYIQV	0,000

Tabla VI-V3-HLA-A1-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7; se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
21	LWDPCLTRFK	5,000
19	ESLWDPCLTR	0,750
17	VPESLWDPCL	0,450
14	KSDVPESLWD	0,375
4	EFHYIQHHK	0,050
2	WREFHYIQH	0,045
16	DVPESLWDPC	0,010
5	FHYIQHHKK	0,010
20	SLWDPCLTRF	0,010
25	CLTRFKGLNL	0,005
3	REFHYIQHH	0,003
22	WDPCLTRFKG	0,003
26	LTRFKGLNLI	0,003
23	DPCLTRFKGL	0,003
8	IQHHKSDV	0,002
24	PCLTRFKGLN	0,001
9	QHHKSDVP	0,001
7	YIQHHKSD	0,001
15	SDVPESLWDP	0,001
6	HYIQHHKKS	0,001
13	KKSDVPESLW	0,001
1	TWREFHYIQI	0,000
28	RFKGLNLIS	0,000
27	TRFKGLNLIQ	0,000
10	IHKKSDVPE	0,000
12	HKKSDVPESL	0,000
18	PESLWDPCLT	0,000
11	IHKKSDVPES	0,000

Tabla VI-V4-HLA-A1-10meros:



**STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID ID N°: 9 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
8	LSLFFAVLHA	0.075
3	KQFGLLSLFF	0.075
10	LFFAVLHAIY	0.050
6	GLLSLFFAVL	0.020
7	LLSLFFAVLH	0.020
5	FGLLSLFFAV	0.013
9	SLFFAVLHAI	0.010
2	RKQFGLLSLF	0.005
4	QFGLLSLFFA	0.003
1	TRKQFGLLSL	0.000

Tabla VII-V1-HLA-A2-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
165	GLLSFFFAV	10776.47
	0	
86	FLYTLRELV	470.951
262	LLLGTHAL	309.050
302	LIFKSELFL	233.719
158	MLTRKQFGL	210.633
192	LLNWAYQQV	177.358
130	YLPQVIAAI	110.379
166	LLSFFFAVL	107.503
256	KLGIVSLLL	74.768
291	FMAVFLPI	65.854
292	MAVFLPIV	58.258
36	SMLKRPVLL	57.085
270	LIFAWNKKWI	49.627
309	FLPCLRKKI	47.991
113	VINKVLP MV	37.393
79	AIALSLIFL	37.157
117	VLPMSITL	36.316
164	FGLLSFFFA	33.454
83	SLTFLYTLL	32.044
42	VLLHLHOTA	31.249
90	LLREVIHPL	26.027
76	KIAAHASL	23.646
123	ITLLALVYL	23.608
245	LTWREFHYI	21.365
212	DVWRMEIYV	20.836
219	YVSLGIVGL	19.776
261	SLLLGTHIA	18.382
300	VVLIFKSIL	18.318
263	LLGTHALI	17.736
172	AVLHAIYSL	15.907
126	LALVYLP GV	13.975
65	QELFPQWHL	11.527
221	SLGIVGLAI	10.433
272	FAWNKWIDI	9.405
116	KVLPMSIT	7.963

Tabla VII-V1-HLA-A2-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
120	MVSITLLAL	7.309
224	IVGLAILAL	7.309
294	AVFLPIVVL	6.522
201	QQNKEDAWI	5.818
20	RNLEEDDYL	5.701
252	YIQSKLGIV	5.393
157	WMLTRKQFG	5.038
226	GLAILALLA	4.968
82	ASLTFLYTLL	4.510
27	YLHKDTGET	4.456
133	GVIAAIVQL	4.299
305	KSILFLPCL	4.266
287	TPPTFMIAV	3.968
233	LAVTSIPSV	3.777
227	LAILALLAV	3.777
228	AIALLAVT	3.575
208	WIEHDVWRM	3.469
103	QQYFYKPI	3.385
299	IVVLEFKSI	2.949
258	GIVSLLLT	2.357
8	TNQEELWKM	2.294
176	AIYSLSYPM	2.186
319	KIRHGWEDV	2.119
230	LALLAVTSI	2.096
118	LPMVSITLL	2.017
225	VGLAILALL	2.017
81	IASLTFLYT	1.839
312	CLRKILKI	1.824
109	IPILVINKV	1.775
121	VSITLLALV	1.775
112	LVNKLPLM	1.700
59	SELQHTQEL	1.537
237	SIPSVSDSL	1.439
162	KQFGLLSFF	1.238
137	AVQLHNGT	1.025
279	DKQFVWYT	0.970
128	LVYLPGVIA	0.970
265	GTHALIFA	0.873
150	FPHWLDKWM	0.820
72	HLPIKIAAI	0.816
276	KWIDIKQFV	0.762
105	YFYKIPILV	0.711
223	GIVGLAILA	0.683
293	IAVFLPIV	0.673
127	ALVYLP GVI	0.556
53	DEFDCPSEL	0.473
259	IVSLLLT	0.464
244	SLTWREFHY	0.432
49	TAHADEFDC	0.400
216	MEIYVSLGI	0.345
296	FLPIVVLIF	0.323
131	LPGVIAAV	0.316
214	WRMEIYVSL	0.311
169	FFFAVLHAI	0.284
217	EIYVSLGIV	0.281

Tabla VII-V1-HLA-A2-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
255	SKLGIVSLL	0.252
283	FVWYTPPTF	0.249
286	YTPPTFMAI	0.247
222	LGIVGLAIL	0.224
199	QVQNKEDA	0.213
35	TSMMLKRPVL	0.212
69	PQWHLPIKI	0.193
191	KLLNWAYQQ	0.193
173	VLRAIYSL	0.190
125	LLALVYLP	0.190

Tabla VII-V2-HLA-A2-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID ID N°: 5 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
4	FHYIQVNNI	0.245
2	REFHYIQVN	0.005
1	WREFHYIQV	0.004
3	EFHYIQVNN	0.000

Tabla VII-V3-HLA-A2-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
8	QIIHKKSDV	9.563
2	REFHYIQII	0.708
19	SLWDPCLTR	0.507
12	KKSDVPESL	0.209
6	YIQIIHKKS	0.047
25	LTRFKGLNL	0.038
24	CLTRFKGLN	0.037
23	PCLTRFKGL	0.022
18	ESLWDPCLT	0.013
26	TRFKGLNLI	0.012
17	PESLWDPCL	0.009
15	DVPESLWDP	0.007
16	VPESLWDPC	0.003
7	IQIIHKKSD	0.003
28	FKGLNLIQS	0.001
9	IIHKKSDVP	0.001
13	KSDVPESLW	0.001
1	WREFHYIQI	0.001
4	FHYIQIIHK	0.000
22	DPCLTRFKG	0.000
14	SDVPESLWD	0.000



Tabla VII-V3-HLA-A2-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
21	WDPCLTRFK	0,000
20	LWDPCLTRF	0,000
3	EFHYIQIHF	0,000
10	DIKKSVDPE	0,000
11	HKKSDVPES	0,000
5	HYIQIHKK	0,000
27	RFKGLNLIQ	0,000

Tabla VII-V4-HLA-A2-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 9 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
5	GLLSLFFAV	2833,91
6	LLSLFFAVL	107,503
8	SLFFAVLHA	42,278
4	FGLLSLFFA	40,497
2	KQFGLLSLF	0,225
9	LFFAVLHAI	0,105
1	RKQFGLLSL	0,068
7	LSLFFAVLH	0,012
3	QFGLLSLFF	0,000

Tabla VIII-V1-HLA-A2-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
157	WMLTRKQPG	1523,030
191	KILNWAYQQ	1351,048
291	FMAVFLPIV	828,006
301	VLIFKSILFP	459,398
164	FGLLSFFAV	323,593
125	LLALVYLPGV	271,948
232	LLAVTSIPSV	271,948
165	GLLSFFFAVL	233,977
261	SLLLGTHAL	181,794
89	TLLREVHPL	181,794
226	GLAILALLAV	159,970
130	YLPGVIAAIV	131,175
244	SLTWREFHYI	109,023
283	FVWYTPPIFM	91,283
117	VLPVMSITLL	83,527
108	KIPILVINKV	76,985

Tabla VIII-V1-HLA-A2-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
262	LLLGTHALI	65,622
269	ALIFAWNKWI	57,380
229	ILALLAVTSI	40,792
309	FLPCLRKJIL	40,289
286	YTPPTFMLAV	38,837
122	SITLLALVYL	37,157
86	FLYTLLEVL	30,852
116	KVLPVMSITL	24,206
120	MVSITLLALV	23,795
112	LVINKVLFMV	23,795
221	SLGIVGLAIL	20,145
111	JLVNKLPLM	19,425
80	IASLTFLYT	18,203
200	VQONKEDAWI	9,890
281	KQFVWYTPPT	9,784
458	MLTRKQFGLL	8,970
253	IQSKLGIVSL	8,469
43	LIHLKQTAHA	8,446
294	AVFLPIVVLI	7,769
224	IVGLAILALL	7,309
223	GIVGLAILAL	6,756
292	MAVFLPIVV	6,666
103	QQYFYKPIIL	6,536
278	IDIKQFVWYT	6,343
128	LVYLPGVIAA	5,439
299	IVVLFKSIL	4,951
150	FPHWLDKWM	4,811
275	NKWIDIKQFV	4,410
81	IASLTFLYTIL	4,408
78	AAILASLTFL	3,753
76	KIAAILASLT	3,586
171	FAVLHAIYSL	3,139
162	KQFGLLSFFF	3,121
37	MLKRPVLLHL	2,923
66	ELFPQWHLPI	2,895
90	LLREVIEPLA	2,632
127	ALVYLPQVIA	2,037
7	ITNQEELWEM	2,023
145	TKYKKPPHWL	1,984
204	KEDAWIEHDV	1,893
248	REFHYIQSKL	1,537
209	IEHDVWRMEI	1,414
304	FKSILFLPCL	1,193
64	TQELFPQWHL	1,040
237	SIPSVSDSLT	1,025
296	FLPIVVLIFK	0,867
119	PMVSTILLAL	0,781
82	ASLTFLYTLL	0,774
264	JGTHALIFA	0,697
324	WEDVTKINKT	0,613
256	KLGIVSLLIG	0,600
219	YVSLGIVGLA	0,598
35	TSMLKRPVLL	0,516
215	RMEIYVSLGI	0,482

Tabla VIII-V1-HLA-A2-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
186	LLSFFFAVLH	0,481
293	IAVFLPIVVL	0,476
167	LSFFFAVLHA	0,469
42	VLLHLHQTAH	0,469
36	SMLKRPVLLH	0,458
258	GIVSLLLGTH	0,429
220	VSLGIVGLAI	0,428
124	TLLALVYLPV	0,414
48	QTAHADEFDC	0,400
68	FPQWHLPIKI	0,313
71	WHLPIKIAAI	0,284
216	MEIYVSLGIV	0,282
231	ALLAVTSIPS	0,276
33	GETSMLKRPV	0,270
198	QQVQONKED	0,247
163	QFGLLSFFFA	0,209
260	VSLLLGTHIA	0,204
225	VGLAILALLA	0,204
118	LPMVSTILLA	0,204
277	WIDIKQFVWY	0,197
257	LGIVSLLLGTH	0,190
302	LIFKSILFLP	0,172
27	YLHKDTGETS	0,168
227	LAILALLAVT	0,166
72	HLPIKIAAI	0,145
318	EKIRHGWEDV	0,137
100	TSBQQYFYKI	0,129
173	VLHAIYSLSY	0,127
75	KIAAILASL	0,116
40	RPVLLHLHQ	0,112

Tabla VIII-V2-HLA-A2-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 5 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
3	REFHYIQVNN	0,005
1	TWREFHYIQV	0,005
4	EFHYIQVNNI	0,001
2	WREFHYIQVN	0,000

Tabla VIII-V3-HLA-A2-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
--------	--------------	------------



Tabla VIII-V3-HLA-A2-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 7 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
25	CLTRFKGLNL	21,362
8	IQIHKKSDV	11,988
20	SLWDPCLTRF	5,833
16	DVPESLWDP	0,111
26	LTRFKGLNLI	0,043
23	DPCLTRFKGL	0,020
17	VPELWDPCL	0,015
7	YIQIHKKSD	0,009
10	HHKSDVPE	0,003
18	PESLWDPCLT	0,003
22	WDPCLTRFKG	0,003
3	REFHYIQIH	0,002
13	KKSDVPESLW	0,001
14	KSDVPESLWD	0,001
1	TWREFHYIQI	0,001
9	QIHKKSDVP	0,000
2	WREFHYIQIH	0,000
15	SDVPESLWDP	0,000
5	FHYIQIHKK	0,000
19	ESLWDPCLTR	0,000
24	PCLTRFKGLN	0,000
12	HHKSDVPESL	0,000
11	HHKSDVPES	0,000
28	RFKGLNLIQS	0,000
27	TRFKGLNLIQ	0,000
4	EFHYIQIHKK	0,000
21	LWDPCLTRFK	0,000
6	HYIQIHKKKS	0,000

Tabla VIII-V4-HLA-A2-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 9 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
6	GLLSLFFAVL	233,977
9	SLFFAVLHAI	88,783
5	PGLLSLFFAV	85,156
3	KQFGLLSLFF	0,538
7	LLSLFFAVLH	0,481
8	LSLFFAVLHA	0,469
4	QFGLLSLFFA	0,253
1	TRKQFGLLSL	0,000
2	RKQFGLLSLF	0,000
10	LFFAVLHAIFY	0,000

Tabla IX-V1-A3-9mer: STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 3 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 9  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
307	ILFLPCLRK	300,000
153	WLDKWMLTR	36,000
108	KIPILVINK	36,000
165	GLLSFFFAV	24,300
296	FLPIVVLIF	18,000
244	SLTWREFHY	12,000
140	QLHNGTKYK	10,000
291	FMAVFLPI	8,100
301	VLIFKSILF	6,000
84	LTFLYTLRK	6,000
12	ELWKMKPRR	6,000
256	KLGVLSLL	5,400
166	LLSFFFAVL	5,400
268	HALIFAWNK	2,700
90	LLREVHPL	2,025
162	KQFGLLSFF	2,025
262	LLLGTHAL	2,025
130	YLPGVIAAI	2,025
7	ITNQEELWK	2,000
37	MLKRPVLLH	1,800
221	SLGIVGLAI	1,800
158	MLTRKQFGL	1,800
117	VLPMSVITL	1,800
312	CLRKKILKI	1,800
248	REFHYQSK	1,350
297	LPIVVLIFK	1,350
226	GLAILALLA	1,200
80	ILASLTFLY	1,200
283	FVWYTPPTF	1,000
148	KKFPHWLDK	0,900
31	DTGETSMKL	0,900
72	HLPIKIAAI	0,900
21	NLEDDVYLH	0,900
263	LLGTHALI	0,900
302	LFKSILFL	0,900
36	SMKRPVLL	0,900
191	KLINWAYQQ	0,810
122	SITLLALVY	0,800
294	AVFLPIVVL	0,675
60	ELQHTQLF	0,600
306	SILFLPCLR	0,600
261	SLLLGTHA	0,600
138	IVQLHNGTK	0,600
99	ATSHQQYFY	0,600
240	SVSDSLTWR	0,600
83	SLTFLYILL	0,600
103	QQFYKIP	0,540
9	NQEELWKMK	0,450
270	LIPAWNKKI	0,450
245	LTWREFHYI	0,450
76	KIAAIIASL	0,405
172	AVLHAIFYSL	0,405
133	GVIAIVQL	0,405
97	PLATSHQYQ	0,400
176	ATYSLSYPM	0,300
68	FPQWHLPIK	0,300
100	TSHQYFYK	0,300
309	FLPCLRKKI	0,300
269	ALIFAWNKK	0,300
42	VLLHLHQTA	0,300
127	ALVYLPQVI	0,270
300	VVLIFKSIL	0,270

Tabla IX-V1-A3-9meros: STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 3 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 9  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
ocho.

124	TLLALVYLP	0,270
223	GIVGLAILA	0,270
299	IVVLIFKSI	0,203
116	KVLPMSVIT	0,203
43	LLHLHQTAH	0,200
183	PMRRSYRYK	0,200
192	LINWAYQQV	0,200
178	YSLSYPMRR	0,180
139	VQLHNGTKY	0,180
224	IVGLAILAL	0,180
120	MVSITLLAL	0,180
182	YPMRRSYRY	0,180
208	WIEDVWRM	0,180
112	LVINKVLP	0,180
89	TLLREVHP	0,180
215	RMEIVVSLG	0,180
128	LVYLPQVIA	0,150
86	FLYTLREV	0,150
258	GIVSLLIGT	0,135
265	GTHALIFA	0,135
316	KILKIRHGW	0,135
79	AHAASLTFL	0,135
324	WEDVTINK	0,120
22	LEEDDYLHK	0,120
273	AWNKWIDIK	0,090
141	LHNGTKYKK	0,090
237	SIPSVSDSL	0,090
292	MAVFLPIV	0,090
286	YTPPTFMIA	0,090
119	PMVSITLLA	0,090
219	VVSLGIVGL	0,090
266	THALIFAW	0,090
134	VIAAIVQLH	0,090
15	KMKPRRNLE	0,090
144	GTYKKFPH	0,090
279	DIKQFVWYT	0,081
232	LLAVTSIPS	0,080
123	ITLLALVYL	0,068

Tabla IX-V2-HLA-A3-9meros:

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 5 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 9  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
4	FHYIQVNNI	0,009
2	REFHYIQVN	0,001
1	WREFHYIQV	0,000
3	EFHYIQVNN	0,000

Tabla IX-V3-HLA-A3-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID



Nº: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
19	SLWDPCLTR	60,000
4	FHYIQIHK	0,300
5	HYIQIHK	0,068
25	LTRFKGLNL	0,060
2	REFHYIQI	0,041
8	QIHKKSDV	0,030
24	CLTRFKGLN	0,018
20	LWDPCLTRF	0,005
13	KSDVPESLW	0,005
26	TRFKGLNLI	0,005
15	DVPESLWDP	0,004
6	YIQIHKKS	0,003
12	KKSDVPESL	0,003
21	WDPCLTRFK	0,002
16	VPESLWDPCL	0,002
9	IHKKSDVP	0,002
23	PCLTRFKGL	0,001
1	WREFHYIQI	0,001
17	PESLWDPCL	0,001
7	IQIHKKSD	0,000
18	ESLWDPCLT	0,000
22	DPCLTRFKG	0,000
3	EFHYIQIH	0,000
28	FKGLNLQS	0,000
11	HKKSDVPES	0,000
14	SDVPESLWD	0,000
27	RFKGLNLQ	0,000
10	IHKKSDVPE	0,000

Tabla IX-V4-HLA-A3-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº: 9 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
5	GLLSLFFAV	8,100
8	SLFFAVLHA	6,000
6	LLSLFFAVL	5,400
2	KQFGLLSL	2,825
9	LFFAVLHAI	0,007
7	LSLFFAVLH	0,005
3	QFGLLSLFF	0,004
1	RKQFGLLSL	0,002
4	FGLLSLFFA	0,001

Tabla X-V1-HLA-A3-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
296	FLPTVVLIFK	90,000

Tabla X-V1-HLA-A3-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
140	QLHNGTKYKK	60,000
21	NLEEDDYLHK	60,000
153	WLDKWMELTR	30,000
	K	
165	GLLSFFFAVL	24,300
83	SLTFLYTLLR	24,000
173	VLHAYLSLSY	24,000
307	ELFLPCLRKK	15,000
306	SILFLPCLRK	9,000
66	ELFPQWHLPI	8,100
312	CLRKKILKIR	4,500
272	FAWNKWIDIK	4,500
162	KQFGLSPFF	4,050
263	LLGTHALIF	4,000
99	ATSHQQYFYK	3,000
86	FLYTLLREVI	3,000
157	WMLTRKQFG	2,700
	L	
37	MLKRPVLLHL	2,700
36	SMLKRPVLLH	2,700
301	VLIFKSILFL	2,700
262	LLGTHALIF	2,025
89	YLREVIHPL	2,025
176	AIYSLSYPMR	2,000
229	ILALLAVTSI	1,800
79	AHASLTFLY	1,800
226	GLAILALLAV	1,800
244	SLTWREFHYI	1,800
111	ILVINKVLP	1,800
215	RMEIVVSLGI	1,800
195	WAYQQVQQN	1,500
	K	
261	SLLGTHAL	1,350
294	AVFLPVLVI	1,350
269	ALIFAWNKW	1,350
291	FMAVFLPVI	1,350
116	KVLPVMSITL	1,215
223	GIVGLAILAL	1,215
6	DITNQEELWK	1,200
277	WIDIKQFVWY	1,200
117	VLPVMSITLL	0,900
137	ATVQLHNGTK	0,900
72	HLPIKIAAI	0,900
221	SLGIVGLAIL	0,900
125	LLALVYLPV	0,900
191	KLLNWAYQQ	0,900
	V	
128	LVYLPGVIAA	0,600
300	VVLIFKSILF	0,600
166	LSLFFFAVLH	0,600
183	PMRRSYRYKL	0,540
158	MLTRKQFGLL	0,540
130	YLPGVIAAIV	0,450
139	VQLHNGTKYK	0,450
90	LLREVIHPLA	0,450

Tabla X-V1-HLA-A3-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
127	ALVYLPGVIA	0,450
133	GVIAAIVQLH	0,405
138	IVQLHNGTKY	0,400
179	SLSYPMRRSY	0,400
310	LPCLRKKILK	0,400
42	VLLHLHQTALH	0,300
309	FLPCLRKKIL	0,300
232	LLAVTSIFSV	0,300
31	DTGETSMLKR	0,270
107	YKIPILVINK	0,270
119	PMVSTILLAL	0,270
299	IVVLIFKSIL	0,270
265	GTHALIFAW	0,203
97	PLATSHQQYF	0,200
43	LLHLHQTALH	0,200
267	IHALIFAWN	0,180
30	KDTGETSMLK	0,180
256	KLGVLSLLG	0,180
15	KMKPRRNLE	0,180
283	FVWYTPPTFM	0,150
180	LSYPMRRSYR	0,150
224	IVGLAILALL	0,135
103	QQYFYKIPIL	0,135
281	KQFVWYTPPT	0,135
286	YTPPTFMIAV	0,135
108	KIPILVINKV	0,135
258	GIVSLLGTI	0,121
323	GWEDVTKNK	0,120
231	ALLAVTSIPS	0,120
98	LATSHQQYFY	0,120
102	HQQYFYKIP	0,108
247	WREFHYIQSK	0,090
319	KIRHGWEDVT	0,090
305	KSLFLPCLR	0,090
124	TLLALVYLP	0,090
122	STLLALVYL	0,090
144	GTYKKGFTHW	0,090
64	TQELFPQWHL	0,081
81	IASLTFLYTL	0,081
100	TSHQQYFYKI	0,081
112	LVINKVLPV	0,068
302	LIFKSILFLP	0,068
96	HPLATSHQQY	0,060
192	LLNWAYQQV	0,060
	Q	
206	DAWIEDVW	0,060
	R	
80	IASLTFLYTL	0,060
317	ILKIRHGWED	0,060
188	YRYKLLNWA	0,060
	Y	

Tabla X-V2-HLA-A3-10meros:  
STEAP-1  
Cada péptido es una porción de SEC ID



Tabla X-V2-HLA-A3-10 meros:  
STEAP-1

Nº: 5 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
1	TWREFHYIQV	0,001
4	EFHYIQVNNI	0,001
3	REFHYIQVNN	0,000
2	WREFHYIQVN	0,000

Tabla X-V3-HLA-A3-10 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
20	SLWDPCLTRF	15,000
25	CLTRFKGLNL	1,200
5	FHYIQIHKK	0,225
26	LTRFKGLNLI	0,045
19	ESLWDPCLTR	0,027
17	VPESLWDPCL	0,018
4	EFHYIQIHK	0,018
8	IQIHKKSDV	0,009
3	REFHYIQIH	0,009
16	DVPESLWDPC	0,009
21	LWDPCLTRFK	0,003
9	QIHKKSDVP	0,003
2	WREFHYIQH	0,003
23	DPCLTRFKGL	0,003
10	IHKKSDVPE	0,002
1	TWREFHYIQI	0,002
7	YIQIHKKSD	0,001
13	KKSDVPESLW	0,001
12	HKKSDVPESL	0,001
14	KSDVPESLWD	0,001
15	SDVPESLWDP	0,000
27	TRFKGLNLIQ	0,000
28	RFKGLNLQS	0,000
11	IHKKSDVPES	0,000
22	WDPCLTRFKG	0,000
6	HYIQIHKKS	0,000
18	PESLWDPCLT	0,000
24	PCLTRFKGLN	0,000

Tabla X-V4-HLA-A3-10 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº: 9 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
6	GLLSLFFAVL	24,300
9	SLFFAVLHAI	6,750
3	KQFGLLSLFF	2,700
7	LLSLFFAVLH	0,600

Tabla X-V4-HLA-A3-10 meros:  
STEAP-1

10	LFFAVLHAIY	0,020
8	LSLFFAVLHA	0,009
2	RKQFGLLSLF	0,003
5	FGLLSLFFAV	0,003
1	TRKQFGLLSL	0,002
4	QFGLLSLFFA	0,001

Tabla XI-V1-HLA-A11-9 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
108	KIPILVINK	2,400
138	IVQLHNGTK	2,000
7	ITNQEELWK	2,000
307	ILFLPCLRK	1,600
84	LTPLYTLR	0,800
268	HALFAWNK	0,600
297	LPVVLIFK	0,600
31	DTGETSMLK	0,600
196	AYQQVQONK	0,400
240	SVSDSLTWR	0,400
248	REFHYIQSK	0,360
9	NQEELWKMK	0,300
148	KKFPHWLDK	0,240
140	QLHNGTKYK	0,200
68	FPQWHLPK	0,200
153	WLDKWMLTR	0,160
22	LEEDDYVHK	0,120
306	SILFLPCLR	0,120
324	WEDVTINK	0,120
144	GTYKKKFPK	0,090
133	GVIAAIQVL	0,090
265	GTHALFA	0,090
177	IYSLSYPMR	0,080
181	SYPMRRSYR	0,080
321	RHGWEDEVK	0,060
311	PCLRKILK	0,060
100	TSHQQYFYK	0,060
172	AVLHAIYSL	0,060
112	LVINKVLPK	0,060
165	GLLSLFFAV	0,054
12	BLWKMKPRR	0,048
294	AVFLPIVVL	0,040
141	LHNGTKYKK	0,040
128	LVYLPGVIA	0,040
283	FVWYTFPTF	0,040
120	MVSITLAL	0,040
224	IVGLEAILA	0,040
162	KQFGLLSFF	0,036
223	GIVGLAILA	0,036
308	ILFLPCLRK	0,030
300	VVLIFKSL	0,030
189	RYKLINWAY	0,024
212	DVWRMBIYV	0,024
103	QQYFYKPI	0,024
256	KLGIYSLL	0,024
226	GLAILALLA	0,024

Tabla XI-V1-HLA-A11-9 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
219	YVSLGIVGL	0,020
154	LDKWMLTRK	0,020
273	AWNKWIDIK	0,020
259	IVSLLLGTI	0,020
99	ATSHQQYFY	0,020
286	YTPPTFMIA	0,020
199	QVQQNKEDA	0,020
245	LTWREFHYI	0,020
316	KILKIRHGW	0,018
302	LFKSLFL	0,016
176	AIYSLSYPM	0,016
299	IVVLIFKSI	0,015
123	ITLLALVYL	0,015
88	YTLLREVIH	0,015
178	YSLSYPMRR	0,012
244	SLTWREFHY	0,012
291	FMAVFLPI	0,012
80	ILASLFLY	0,012
277	WIDIKQFVW	0,012
319	KIRHGWEDV	0,012
146	KYKKFPHWL	0,012
285	WYTPPTFMI	0,012
266	THALFAW	0,012
261	SLLLGTIHA	0,012
301	VLIKSLFL	0,012
76	KIAAHASL	0,012
129	VYLPGVIAA	0,012
158	MLTRKQFGL	0,012
251	HYIQSKLGI	0,012
327	VTINKTEI	0,010
63	HTQELFPQW	0,010
159	LTRKQFGLL	0,010
116	KVLPMSVIT	0,009
139	VQLHNGTKY	0,009
187	SYRYKLINW	0,008
122	SHLLALVY	0,008
106	FYKIPILVI	0,008
32	TGETSMLKR	0,008
312	CLRKILKI	0,008
105	YFYKIPILV	0,008
208	WIEHDVWRM	0,008
37	MLKRPVLLH	0,008
182	YPMRRSYRY	0,008
117	VLPMSVITL	0,008
168	SFFFAVLHA	0,008
104	QFYKIPIL	0,008
296	FLPIVVLIF	0,008
21	NLEEDDYHL	0,008
272	PAWNKWIDI	0,008
221	SLGIVGLAI	0,008
207	AWIEHDVWR	0,006
262	LLLGTHAL	0,006
36	SMLKRPVLL	0,006
163	QFGLLSFFF	0,006



Tabla X1-V2-HLA-A11-9meros:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 5 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
4	FHYIQVNNI	0,000
1	WREFHYIQV	0,000
2	REFHYIQVN	0,000
3	EFHYIQVNN	0,000

Tabla X1-V3-HLA-A11-9meros:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
5	HYIQIHKK	0,600
19	SLWDPCLTR	0,320
4	FHYIQIHKK	0,080
25	LTRFKGLNL	0,020
8	QHKKSDV	0,006
2	REFHYIQH	0,004
21	WDPCLTRFK	0,002
15	DVPESLWDP	0,001
27	RFKGLNLIQ	0,001
3	EFHYIQIH	0,001
12	KKSDVPESL	0,001
13	KSDVPESLW	0,001
7	IQHKKSD	0,000
26	TRFKGLNLI	0,000
24	CLTRFKGLN	0,000
9	IHKKSDVP	0,000
1	WREFHYIQI	0,000
6	YIQHKKKS	0,000
20	LWDPCLTRF	0,000
16	VPESLWDPC	0,000
22	DPCLTRFKG	0,000
23	PCLTRFKGL	0,000
14	SDVPESLWD	0,000
17	PESLWDPC	0,000
28	FKGLNLIQS	0,000
11	HKKSDVPES	0,000
10	IHKKSDVPE	0,000
18	ESLWDPCLT	0,000

Tabla X1-V4-HLA-A11-9meros:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 9 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
5	GLLSLFFAV	0,054
2	KQFGLLSLF	0,036
8	SLFFAVLHA	0,016

Tabla X1-V4-HLA-A11-9meros:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 9 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
6	LLSLFFAVL	0,004
9	LFFAVLHAI	0,004
3	QFGLLSLFF	0,004
1	RKQFGLLSL	0,001
4	FGLLSLFFA	0,001
7	LSLFFAVLH	0,000

Tabla X11-V1-HLA-A11-10meros:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
99	ATSHQQYFYK	3,000
306	SILFLPCLRK	1,200
296	FLPIVVLFFK	0,800
21	NLEEDDYLHK	0,800
140	QLHNGTKYK	0,800
137	AIYQLHNGTK	0,600
139	VQLHNGTKYK	0,450
195	WAYQQVQQN	0,400
153	WLDKWMILTR	0,400
272	FAWNKWIDIK	0,400
310	LPCLRKILK	0,400
6	DTINQEELWK	0,240
67	LFQWHLPIK	0,200
116	KVLPMSVJHL	0,180
177	IYSLSPMRR	0,160
83	SLTFLYTLLR	0,160
176	AIYSLSPMR	0,160
265	GTHALIFAW	0,135
30	KDTGETSMLK	0,120
323	GWEDVTIKNK	0,120
31	DTGETSMLKR	0,120
162	KQFGLLSFFF	0,108
133	GVIAAIVQLH	0,090
307	ILFLPCLRK	0,080
128	LVYLPGVIAA	0,080
107	YKIPILVINK	0,060
300	VVLIFKSILF	0,060
147	YKFPFWLWDK	0,040
294	AVFLPIVILI	0,040
182	YPMRRSYRYK	0,040
267	IHALIFAWNK	0,040
312	CLRKILKIR	0,040
283	FWYIPIPIIM	0,040
223	GIVGLAILAL	0,036
144	GTYKKFPHW	0,030
299	IVVLEKSLF	0,030
112	LVINKVLPMV	0,030

Tabla X11-V1-HLA-A11-10meros:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
206	DAWIEHDVW	0,024
226	GLAILALLAV	0,024
215	RMETVVSLSI	0,024
120	MYSITLLALV	0,020
8	TNQEELWKM	0,020
320	IRHGWEDVTK	0,020
7	ITNQEELWKM	0,020
286	YTPPTFMHAY	0,020
138	IVQLHNGTKY	0,020
199	QVQONKEDA	0,020
219	YVSLGIVGLA	0,020
247	WREFHYIQSK	0,020
259	IVSLLLGTHI	0,020
224	IVGLAILALL	0,020
305	KSILFLPCLR	0,018
157	WMLTRKQFG	0,018
79	AIASLTFLY	0,018
191	KLLNWAYQQ	0,018
258	GIVSLLLGTH	0,018
165	GLLSLFFAVL	0,018
104	QYFYKIPILV	0,016
152	HWLDKWMILT	0,012
102	HQQYFYKIP	0,012
36	SMLKRPVLLH	0,012
108	KIPILVINKV	0,012
64	IQELFPQWHL	0,012
103	QQYFYKIPIL	0,012
301	VLIKSLFL	0,012
111	ILVINKVLPM	0,012
63	HTQELFPQWH	0,010
198	QQVQONKED	0,009
93	EVIRPLATSH	0,009
285	WYTPPTFMIA	0,008
181	SYPMRRSYRY	0,008
86	FLYTLLREVI	0,008
37	MLKRPVLLHL	0,008
292	MAVFLPIV	0,008
180	LSYPMRRSYR	0,008
173	VLAHAYSLSY	0,008
118	LPMVSITLLA	0,008
105	YFYKIPILVI	0,008
263	LLGTHALIF	0,008
290	TFMIAVFLPI	0,008
200	VQONKEDAWI	0,006
171	FAVLHAIYSL	0,006
73	LPKIAAIIA	0,006
262	LLGTHIALI	0,006
129	VYLPGVIAAI	0,006



Tabla XII-V1-HLA-A11-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
291	FMAVFLPIV	0,006
253	IQSKLGIVSL	0,006
42	VLLHLHQTAH	0,006
163	QFGLLSFFFA	0,006
326	DVTINKKTEI	0,006
89	TLLREVIHPL	0,006
251	HYIQSKLGIV	0,006
295	VFLPIVVLIF	0,006
10	QEELWKMKP R	0,006
127	ALVYLPGVIA	0,006
261	SLLGTHAL	0,006
218	IYVSLGIVGL	0,006
175	RAJYSLSYPM	0,006
11	EELWKMKPRR	0,005
66	ELFPQWHLPI	0,005

Tabla XII-V2-HLA-A11-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 5 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
4	EFHYIQVNNI	0,001
1	TWREFHYIQV	0,000
3	REFHYIQVNN	0,000
2	WREFHYIQVN	0,000

Tabla XII-V3-HLA-A3 -10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
4	EFHYIQIHK	0,120
5	FHYIQIHKK	0,040
26	LTRFKGLNLI	0,010
8	IQIHKKSDV	0,009
25	CLTRFKGLNL	0,008
20	SLWDPCLTRF	0,008
3	REFHYIQIH	0,007
19	ESLWDPCLTR	0,004
21	LWDPCLTRFK	0,002
17	VPESLWDPCL	0,002
28	RFKGLNLIQS	0,001
9	QIHKKSDVP	0,001
13	KKSDVPESLW	0,001
16	DVPESLWDPC	0,001
10	IHKKSDVPE	0,000

Tabla XII-V3-HLA-A3 -10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
1	TWREFHYIQI	0,000
6	HYIQIHKKS	0,000
23	DPCLTRFKGL	0,000
2	WREFHYIQII	0,000
12	HKKSDVPESL	0,000
7	YQIHKKSD	0,000
14	KSDVPESLWD	0,000
27	TRFKGLNLIQ	0,000
22	WDPCCLTRFKG	0,000
15	SDVPESLWDP	0,000
24	PCLTRFKGLN	0,000
11	IHKKSDVPES	0,000
18	PESLWDPCLT	0,000

Tabla XII-V4-HLA-A3 -10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
6	GLLSLFFAVL	24,300
9	SLFFAVLHAI	6,750
3	KQFGLLSLFF	2,700
7	LLSLFFAVLH	0,600
10	LFFAVLHAIF	0,020
8	LSLFFAVLHA	0,009
2	RKQFGLLSLF	0,003
5	FGLLSLFFAV	0,003
1	TRKQFGLLSL	0,002
4	QFGLLSLFFA	0,001

Tabla XII-V1-HLA-A24-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
140	KYKKPFHWL	400,000
104	QYFYKIPIL	200,000
251	HYIQSKLGI	75,000
87	LYTLREVI	60,000
285	WYTPPTFMI	60,000
106	FYKIPILVI	50,000
249	EFHYIQSKL	30,800
20	RNLBEDDYL	14,400
295	VFLPIVLI	12,600
189	RYKLLNWAY	12,000
163	QFGLLSFFF	12,000
305	KSILFLPCL	12,000

Tabla XII-V1-HLA-A24-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
256	KLGIIVSLLL	11,200
76	KIAAHASL	11,200
329	VYLPGVIAA	9,000
225	VGLAHALL	8,400
237	SIPSVSDSL	8,400
117	VLFPMVSTIL	8,400
67	LFPQWHLPI	7,500
169	FFFAVLHAI	7,000
90	LLREVIHPL	6,720
82	ASLTFLYTL	6,000
222	LGIIVGLAI	6,000
118	LPMVSTILL	6,000
35	TSMLKRPVL	6,000
262	LLLGTHAL	6,000
79	AHASLTFL	6,000
156	KWMLTRKQF	6,000
36	SMKRPVLL	6,000
133	GVIAATVQL	6,000
300	VVLIFKSIL	6,000
172	AVLHAJYSL	6,000
123	ITLLALVYL	6,000
187	SYRYKLLNW	5,000
159	LTRKQFGLL	4,800
166	LLSFFFAVL	4,800
162	KQFGLLSFF	4,800
83	SLTFLYTL	4,800
296	FLPIVVLIF	4,200
302	LIFKSILFL	4,000
310	JPLCKKKIL	4,000
158	MLTRKQFGL	4,000
224	IVGLAHAL	4,000
294	AVFLPIVVL	4,000
120	MVSTILLAL	4,000
219	YVSLGIVGL	4,000
254	QSKLGIVSL	4,000
60	ELQHTQELF	3,000
301	VLFKSILF	3,000
78	AHAASLTFL	3,000
299	IVVLIFKSI	2,520
291	FMAVFLPI	2,520
98	LATSHQQYF	2,400
47	HQTAHADEF	2,200
142	HNGTKYKPF	2,200
73	LPIKIAAI	2,100
130	YLPGVIAAI	2,100
283	FWYTPPTF	2,000
264	LGTHALIF	2,000
309	FLPCLKKKI	1,980
127	ALVYLPGVI	1,800
149	KFPHWLDKW	1,650
230	LALLAVTSI	1,500
201	QONKEDAWI	1,500
72	HLPIKIAAI	1,500
263	LLGTHALI	1,400
221	SLGIVGLAI	1,400



Tabla XIII-V1-HLA-A24-9 meros:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
322	HGWEDVTKI	1.320
5	KDITNQEEL	1.320
196	AYQQVQQNK	1.260
245	LTWREFHYI	1.200
259	IVSLLLGTH	1.200
327	VTINKKTEI	1.100
312	CLRKILKI	1.100
214	WRMEIYVSL	1.008
270	LFAWNKWI	1.000
272	FAWNKWDI	1.000
103	QQFYKIPIL	1.000
8	TNQEELWKM	0.990
218	IYVSLGIVG	0.900
255	SKLGIVSLL	0.840
110	PILVINKVL	0.840
185	RRSYRYKLL	0.800
30	KDTGETSML	0.800
59	SELQHTQEL	0.792
208	WIEHDVWRM	0.750
282	QFVWYTPPT	0.750
181	SYPMRRSYR	0.750
112	LVDNKVLP	0.750
26	DYLHKDTGE	0.750
105	YFYKIPILV	0.700
38	LKRPLVLLH	0.672
331	NKTEICSQL	0.672
276	KWIDIKQEV	0.605
170	FFAVLHAIY	0.600
176	ATYSLSYPM	0.600
150	PPHWLDKWM	0.600
161	RKQFGLLSF	0.600
14	WKMKPRRNL	0.600
65	QELFPQWHL	0.600

Tabla XIII-V2-HLA-A24-9 meros:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 5 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
3	EFHYIQVNN	0.700
4	FHYIQVNNI	0.120
2	REFHYIQVN	0.024
1	WREFHYIQV	0.015

Tabla XIII-V3-HLA-A24-9mer:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición

inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
25	LTRFKGLNL	4.000
20	LWDPCLTRF	2.400
12	KKSDVPESL	1.344
5	HYIQIHKK	1.155
23	PCLTRFKGL	0.720
2	REFHYIQI	0.240
6	YIQIHKKS	0.231
13	KSDVPESLW	0.200
16	VPESLWDP	0.180
8	QHKKSDV	0.150
1	WREFHYIQI	0.150
18	ESLWDPCLT	0.150
27	RFKGLNLQ	0.120
26	TRFKGLNL	0.120
24	CLTRFKGLN	0.100
3	EFHYIQIH	0.070
17	PESLWDPCL	0.040
15	DVPESLWDP	0.018
7	IQIHKKSD	0.015
19	SLWDPCLTR	0.012
11	HKSDVPES	0.011
22	DPCLTRFKG	0.011
9	IHKKSDVP	0.010
28	FKGLNLQS	0.010
21	WDPCLTRFK	0.002
14	SDVPESLWD	0.002
10	IHKKSDVPE	0.001
4	FHYIQIHK	0.001

Tabla XIII-V4-HLA-A24-9 meros:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 9 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
3	QFGLLSLFF	12.000
9	LFFAVLHAI	7.000
2	KQFGLLSLF	4.800
6	LLSLFFAVL	4.800
1	RKQFGLLSL	1.200
5	GLLSLFFAV	0.216
4	FGLLSLFFA	0.150
8	SLFFAVLHA	0.100
7	LSLFFAVLH	0.015

Tabla XIV-V1-HLA-A24-10 meros:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
218	IYVSLGIVGL	300.000
129	VYLPGVIAAI	126.000
295	VFLPIVLI	25.200
116	KVLPMSITL	20.160
282	QFVWYTPPTF	15.000

Tabla XIV-V1-HLA-A24-10 meros:

## STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
290	TFMIAVFLPI	12.600
308	LFLPCLRKKI	11.880
236	TSFVSVDL	10.080
149	KFPHWLDKW	9.000
89	TLLREVHPL	8.400
109	IPILVINKVL	8.400
26	DYLHKDTGET	8.250
181	SYPMRRSYR	7.500
231	HYIQSKUGIV	7.500
187	SYRYKLLNWA	7.200
285	WYTPPTFMAI	7.200
82	ASLTFLYTLL	7.200
165	GLLSFFAVL	7.200
104	QFYKIPILV	7.000
106	FYKIPILVIN	7.000
168	SFFFAVLHAI	7.000
261	SLLGTHAI	6.000
293	IAVLPPIVVL	6.000
299	IVVLIFKSIL	6.000
157	WMLTRKQFG	6.000
223	GIVGLAILAL	6.000
171	FAVLHAIYSL	6.000
309	FLPCLRKKI	6.000
35	TSMLKRPVLL	6.000
117	VLPMSITLL	6.000
78	AAIASLTL	6.000
301	VLIFKSILFL	6.000
64	TQELFPQWHL	6.000
213	VWRMEIYVSL	5.600
254	QSKLGIVSLL	5.600
37	MLKRPVLLHL	5.600
330	INKTEICSQL	5.600
224	IVGLAILAIL	5.600
271	FAWNKWDI	5.000
105	YFYKIPILVI	5.000
158	MLTRKQFGLL	4.800
162	KQFGLLSFFF	4.800
215	RMETVYVSLGI	4.200
103	QQFYKIPIL	4.000
253	IQSKLGIVSL	4.000
122	STILLALVYL	4.000
81	IASLTFLYTL	4.000
34	ETSMLKRPVL	4.000
13	LWKMKPRRN	4.000
221	SLGIVGLAIL	4.000
150	PPHWLDKWM	4.000
287	TPPTFMIAVF	3.000
300	VVLIFKSILF	3.000
241	VSDSLTWREF	2.200
262	LLGTHALI	2.100
72	HLPIKIAAI	2.100

Tabla XIV-V1-HLA-A24-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 3 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
220	VSLGIVGLAI	2,100
274	WNKWIDIKQF	2,000
263	LLGTTHALIF	2,000
77	IAAHASLTF	2,000
68	FPQWHLPKI	1,980
258	GIVSLLLGTI	1,900
126	LALVYLPGVI	1,800
102	HQQYFYKPI	1,500
200	VQQNKEDAWI	1,500
269	ALFAWNKWI	1,500
294	AVFLPIVVL	1,400
100	TSHQQYFYKI	1,320
248	REFHYIQSKL	1,232
86	FLYTLLREVI	1,200
244	SLTWREFHYI	1,200
66	ELFPQWHLP	1,200
19	RNLEEDDYI	1,200
326	DVTKINKTEI	1,100
146	KYKKFPHWLD	1,000
189	RYKLLNWAY Q	1,000
284	VWYTPPTFMI	1,000
114	INKVLPMVSI	1,000
229	ILALLAVTSI	1,000
196	AYQQVQQNK E	0,990
85	TFLYTLLREV	0,990
207	AWIEHDVWR M	0,900
175	HAIYSLSYPM	0,900
4	RKDIINQEEL	0,880
255	SKLGIVSLL	0,840
75	IKIAAHASL	0,840
7	ITNQEELWKM	0,825
58	PSELQHTQEL	0,792
111	ILVINKVLPM	0,750
161	RKQFGLLSFF	0,720
303	IFKSILFLPC	0,720
52	ADEFDCPSEL	0,660
119	PMVSITLLAL	0,600
163	QFGLLSFFFA	0,600
169	FFFAVLHAIY	0,600
132	PGVIAAIVQL	0,600
288	PPTFMIAVFL	0,560
108	KIPILVINKV	0,554
170	FFAVLHAIYS	0,500
87	LYTLLREVIH	0,500

Tabla XIV-V2-HLA-A24-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 5 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición

Tabla XIV-V2-HLA-A24-10meros:  
STEAP-1

inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
4	EFHYIQVNNI	6,000
1	TWREFHYIQV	0,120
3	REFHYIQVNN	0,028
2	WREFHYIQVN	0,018

Tabla XIV-V3-HLA-A24-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 7 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
6	HYIQIHKKKS	11,350
17	VPESLWDPCL	6,000
23	DPCLTRFKGL	4,800
25	CLTRFKGLNL	4,000
20	SLWDPCLTRF	2,400
1	TWREFHYIQI	1,200
26	LTRFKGLNLI	1,200
28	RFKGLNLQIS	1,000
12	HKKSDVPESL	0,560
16	DVPESLWDP	0,216
2	WREFHYIQI	0,180
8	IQIHKKSDV	0,150
4	EFHYIQIHK	0,050
13	KKSDVPESLW	0,024
14	KSDVPESLWD	0,020
19	ESLWDPCLTR	0,015
24	PCLTRFKGLN	0,015
9	QIHKKSDVP	0,015
7	YIQIHKKSD	0,015
21	LWDPCLTRFK	0,014
11	IHKKSDVPES	0,011
10	IHKKSDVPE	0,010
3	REFHYIQIH	0,003
15	SDVPESLWDP	0,002
22	WDPCLTRFKG	0,002
5	FHYIQIHKK	0,002
27	TRFKGLNLIQ	0,001
18	PESLWDPCLT	0,001

Tabla XIV-V4-HLA-A24-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 9 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
6	GLLSLFFAVL	7,200
3	KQFGLLSLFF	4,800
9	SLFFAVLHAI	1,400
2	RKQFGLLSLF	0,720
10	LFFAVLHAIY	0,600
4	QFGLLSLFFA	0,500
1	TRKQFGLLSL	0,400
5	FGLLSLFFAV	0,216

Tabla XIV-V4-HLA-A24-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 9 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
8	LSLFFAVLHA	0,150
7	LLSLFFAVLH	0,010

Tabla XV-V1-HLA-B7-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 3 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 9  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
118	LPMVSITLL	240,000
294	AVELPIVVL	90,000
310	LPCLRKKIL	80,000
172	AVLHAIYSL	60,000
159	LTRKQFGLL	40,000
90	LLREVIHPL	40,000
120	MVSITLLAL	20,000
219	YVSLGIVGL	20,000
224	IVGLAILAL	20,000
150	FPHWLDKWM	20,000
133	GVIAAIVQL	20,000
300	VVLFKSL	20,000
35	TSMLKRPVL	18,000
79	AAIASLTF	12,000
82	ASLTFLYTL	12,000
73	LPIKIAAH	8,000
184	MRRSYRYKL	6,000
112	LVINKVLPM	5,000
38	LKRPVLLHL	4,000
312	CLRKILKI	4,000
305	KSILFLPCL	4,000
225	VGLAILALL	4,000
158	MLTRKQFGL	4,000
254	QSKLGIVSL	4,000
262	LLGTTHAL	4,000
123	ITLLALVYL	4,000
287	TPPTFMIAV	4,000
131	LPGVIAAIV	4,000
166	LLSFFFAVL	4,000
302	LIFKSILFL	4,000
222	LGIVGLAIL	4,000
117	VLPMSITL	4,000
256	KLIVSLLL	4,000
237	SIPSVSDSL	4,000
76	KIAAHASL	4,000
83	SLTFLYTLL	4,000
36	SMLKRPVLL	4,000
20	RNLEEDDYI	4,000
109	IPILVINKV	4,000
176	AIYSLSYPM	3,000
14	WKMKPRRNL	2,700
319	KIRHGVEDV	2,000
259	IVSLLLGTI	2,000



Tabla XV-V1-HLA-B7-9 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
17	KPRRNLEED	2,000
299	IVVLFKSI	2,000
238	IPSVSDSLT	2,000
182	YPMRRSYRY	1,200
272	FAWNKWIDI	1,200
214	WRMEIYVSL	1,200
230	LALLAVTSI	1,200
127	ALVYLPQVI	1,200
8	TNQEELWKM	1,000
212	DVWRMEIYV	1,000
128	LVYLPQVIA	0,750
227	LAILALLAV	0,600
293	IAVFLPIVV	0,600
126	LALVYLPQV	0,600
309	FLPCLRKKI	0,600
65	QELFPQWHL	0,600
233	LAVTSIPSV	0,600
199	QVQONKEDA	0,500
116	KVLPMVSIT	0,500
331	NKTEICSQL	0,400
291	FMAVFLPI	0,400
146	KYKKFPHWL	0,400
322	HGWEDVTIK	0,400
263	LLGTHALI	0,400
245	LTWREFHYI	0,400
221	SLGIVGLAI	0,400
59	SELQHTQEL	0,400
289	PTFMIAVFL	0,400
30	KDTGETSML	0,400
53	DEFDPCSEL	0,400
201	QONKEDAWI	0,400
270	LIFAWNKKWI	0,400
249	EFHYIQSKL	0,400
110	PILVINKVL	0,400
104	QYFYKIPIL	0,400
103	QQYFYKIPIL	0,400
5	KDITNQEEL	0,400
185	RRSYRYKLL	0,400
72	HLPIKIAAI	0,400
130	YLPQVIAAI	0,400
327	VTKINKTEI	0,400
255	SKLGIVSLL	0,400
234	AVTSIPSVS	0,400
49	TAHADEFDC	0,400
77	IAAASLT	0,300
228	AHLALLAVT	0,300
81	IASLTFLYT	0,300
137	AIVQLHNGT	0,300
208	WIRHDVWRM	0,300
252	YIQSKLGIV	0,200
217	EIYVSLGIV	0,200
68	FPQWHLPIK	0,200
40	RPVLLHLHQ	0,200
121	VSITLLALV	0,200
292	MIAVFLPIV	0,200

Tabla XV-V1-HLA-B7-9 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
57	CPSELQHTQ	0,200
192	LLNWAYQQV	0,200

Tabla XV-V2-HLA-B7-9mer:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 5 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
4	FHYIQVNNI	0,040
1	WREFHYIQV	0,006
2	REFHYIQVN	0,002
3	EFHYIQVNN	0,002

Tabla XV-V3-HLA-B7-9 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
25	LTRFKGENL	40,000
16	VPESLWDPC	0,600
12	KKSDVPESL	0,400
23	PCLTRFKGL	0,400
22	DPCLTRFKG	0,300
8	QIHKKSDV	0,200
18	ESLWDPCLT	0,100
15	DVPESLWDP	0,050
17	VPESLWDPC	0,040
26	TRFKGLNLI	0,040
2	REFHYIQH	0,040
6	YIQIHKKS	0,020
24	CLTRFKGLN	0,020
19	SLWDPCLTR	0,015
1	WREFHYIQI	0,012
7	IQIHKKSD	0,010
9	IHKKSDVP	0,010
13	KSDVPESLW	0,009
11	HKKSDVPES	0,002
28	FKGLNLIQS	0,002
4	FHYIQIHK	0,001
21	WDPCLTRFK	0,001
27	RFKGLNLIQ	0,001
5	HYIQIHKK	0,001
3	EFHYIQIH	0,001
10	IHKKSDVPE	0,001
14	SDVPESLWD	0,001
20	LWDPCLTRF	0,001

Tabla XV-V4-HLA-B7-9 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 9 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
6	LISLFFAVL	4,000
1	RKQFGLLSL	0,400
5	GLLSLFFAV	0,200
4	FGLLSLFFA	0,100
8	SLFFAVLHA	0,100
9	LFFAVLHAI	0,040
2	KQFGLLSLF	0,020
7	LSLFFAVLH	0,010
3	QFGLLSLFF	0,002

Tabla XVI-V1-HLA-B7-10 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
109	IPILVINKVL	80,000
150	FPHWLKDWM	80,000
	L	
78	AAIASLTFL	36,000
116	KVLPMVSITL	20,000
299	IVVLFKSIL	20,000
224	TVGLAILALL	20,000
293	IAVFLPIVVL	18,000
82	ASLTFLYTLL	12,000
81	IASLTFLYTLL	12,000
171	FAVLHAIYSL	12,000
35	TSMLKRPVLL	12,000
68	FPQWHLPIK	8,000
288	PTFMIAVFL	8,000
283	FVWYTPPTFM	7,500
183	PMRRSYRYKL	6,000
294	AVFLPIVVL	6,000
118	LPMVSITLLA	6,000
34	ETSMKRPVLL	6,000
261	SLLGTHAL	4,000
165	GLLSFFFAVL	4,000
117	VLPMSITLL	4,000
213	VWRMEIYVSL	4,000
184	MRRSYRYKLL	4,000
254	QSKLGIVSLL	4,000
330	INKTEICSQL	4,000
221	SLGIVGLAIL	4,000
309	FLPCLRKKI	4,000
236	TSIPSVSDSL	4,000
37	MLKRPVLLHL	4,000
301	VLIFKSILFL	4,000
122	SITLLALVYL	4,000
253	IQSKLGIVSL	4,000
103	QQYFYKIPIL	4,000
223	GIVGLAILAL	4,000
157	WMLTRKQFG	4,000

Tabla XVI-V1-HLA-B7-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
	L	
89	TLLREVIHPL	4.000
158	MLTRKQFGLL	4.000
175	HAIYSLSYPM	3.000
326	DVTIKINKTEI	2.000
17	KPRRNLEEDD	2.000
73	LPIKIAAIIA	2.000
40	RPVLLHLHQT	2.000
64	TQELFPQWHL	1.800
269	ALIFAWNKIWI	1.200
126	LALVYLPQVI	1.200
90	LLREVIHPLA	1.000
111	ILVINKVLPM	1.000
7	ITNQEELWKM	1.000
319	KIRHGWEDVT	1.000
112	LVINKVLPMV	1.000
120	MVSITLLALV	1.000
13	LWKMKPRRN	0.900
	L	
136	AAIVQLHNGT	0.900
114	INKVLPMVSI	0.600
182	YPMRRSYRYK	0.600
86	FLYTLLREVI	0.600
219	YVSLGIVGLA	0.500
128	LVYLPQVIAA	0.500
127	ALVYLPQVIA	0.450
220	VSLGIVGLAI	0.400
66	ELFPQWHLPI	0.400
145	TKYKKFPHWL	0.400
255	SKLGIVSLLL	0.400
304	FKSILFLPCL	0.400
200	VQONKEDAWI	0.400
218	IYVSLGIVGL	0.400
287	TPPTFMIAVF	0.400
297	LPIVVLIFKS	0.400
258	GIVSLLLGTI	0.400
262	LLGTHALI	0.400
244	SLTWREFHYI	0.400
238	IPSVSDSLTW	0.400
229	ILALLAVTSI	0.400
75	IKIAAIIASL	0.400
100	TSHQQYFYKI	0.400
96	HPLATSHQQY	0.400
119	PMVSITLLAL	0.400
102	HQQYFYKIPI	0.400
248	REFHYIQSKL	0.400
19	RRNLEEDDYL	0.400
132	PGVIAAIVQL	0.400
72	HLPIKIAAII	0.400
52	ADEFDCPSEL	0.360
207	AWIEHDVWR	0.300
	M	
172	AVLHAISLS	0.300
227	LAILALLAVT	0.300
234	AVTSIPSVSD	0.225

Tabla XVI-V1-HLA-B7-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
232	LLAVTSIPSV	0.200
226	GLAILALLAV	0.200
130	YLPQVIAAIV	0.200
108	KPIILVINKV	0.200
291	FMAIVFLPIV	0.200
164	FGLLSFFFAV	0.200
159	LTRKQFGLLS	0.200
57	CPSELQHTQE	0.200
125	LLALVYLPQV	0.200
292	MIAVFLPIVV	0.200
286	YTPPTFMIAV	0.200
310	LPCLRKKILK	0.200
191	KLLNWAYQQ	0.200
	V	

Tabla XVI-V2-HLA-B7-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 5 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
1	TWREFHYIQV	0.200
4	EFHYIQVNNI	0.040
3	REFHYIQVNN	0.002
2	WREFHYIQVN	0.001

Tabla XVI-V3-HLA-B7-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
23	DPCLTRFKGL	80.000
17	VPESLWDPCL	24.000
25	CLTRFKGLNL	4.000
26	LTRFKGLNLI	4.000
16	DVPESLWDPC	0.500
1	TWREFHYIQI	0.400
12	HKKSDVPESL	0.400
8	IQIHKKSDV	0.200
20	SLWDPCLTRF	0.020
19	ESLWDPCLTR	0.015
2	WREFHYIQII	0.012
10	IHKKSDVPE	0.010
9	QIHKKSDVP	0.010
7	YIQIHKKSD	0.010
13	KKSDVPESLW	0.003
14	KSDVPESLWD	0.003
11	IHKKSDVPES	0.002

Tabla XVI-V3-HLA-B7-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
24	PCLTRFKGLN	0.002
6	HYIQIHKKS	0.002
28	RFKGLNLIQS	0.002
22	WDPCLTRFKG	0.002
18	PESLWDPCLT	0.001
3	REFHYIQIHH	0.001
5	FHYIQIHKK	0.001
15	SDVPESLWDP	0.001
27	TRFKGLNLIQ	0.001
4	EFHYIQIHK	0.001
21	LWDPCLTRFK	0.000

Tabla XVI-V4-HLA-B7-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 9 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
6	GLLSLFFAVL	4.000
9	SLFFAVLHAI	0.400
1	TRKQFGLLSL	0.400
5	FGLLSLFFAV	0.200
8	LSLFFAVLHA	0.100
3	KQFGLLSLFF	0.020
7	LLSLFFAVLH	0.010
4	QFGLLSLFFA	0.010
2	RKQFGLLSLF	0.002
10	LFFAVLHAJY	0.002

Tabla XVII-V1-HLA-B35-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
150	FPHWLDKWM	40.000
182	YPMRRSYRY	40.000
310	LPCLRKKIL	20.000
118	LPMVSITLL	20.000
254	QSKLGIVSL	15.000
305	KSILFLPCL	10.000
180	LSYPMRRSY	10.000
73	LPIKIAAII	8.000
90	LLRBVIHPL	6.000
20	RNLEEDDYL	6.000
8	TNQBELWKM	6.000
82	ASLTFLYTL	5.000
35	TSMLKRPVL	5.000
131	LPGVIAAIV	4.000

Tabla XVII-V1-HLA-B35-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
109	IPILVINKV	4,000
287	TPPTFMIAV	4,000
78	AALASLTF	3,000
159	LTRKQFGLL	3,000
98	LATSHQQYF	3,000
206	DAWIEHDVW	2,250
122	SITLLALVY	2,000
176	AIYSLSYPM	2,000
162	KQFGLLSFF	2,000
112	LVINKVLPM	2,000
76	KIAAHASL	2,000
139	VQLHNGTKY	2,000
80	ILASLTFLY	2,000
244	SLTWREFHY	2,000
238	PSVSDSLT	2,000
256	KLGIIVSLLL	2,000
99	ATSHQQYFY	2,000
288	PPTFMGAVF	2,000
319	KIRHGWEDV	1,200
189	RYKLLNWAY	1,200
17	KPRRNLEED	1,200
272	FAWNKWIDI	1,200
327	VTKINKTEI	1,200
312	CLRKIKILKI	1,200
230	LALLAVTSI	1,200
322	HGWEDVTKI	1,200
262	LLLGTHIAL	1,000
172	AVLHAIYSL	1,000
166	LLSFFFAVL	1,000
219	YVSLGIVGL	1,000
224	IVGLAILAL	1,000
133	GVIAAIVQL	1,000
47	HQTAHADEF	1,000
222	LGIIVLAIL	1,000
63	HTQELFPQW	1,000
294	AVFLPIVVL	1,000
186	RSYRYKLLN	1,000
60	ELQHTQELF	1,000
264	LGTHIALIF	1,000
316	KILKIRHGW	1,000
283	FVWYTPPTF	1,000
225	VGLAILALL	1,000
158	MLTRKQFGL	1,000
121	VSITLLALV	1,000
79	AIALSLTFL	1,000
36	SMLKRPVLL	1,000
300	VVLIFKSIL	1,000
296	FLPIVVLIF	1,000
117	VLPMVSITL	1,000
301	VLIKFSILF	1,000
237	SIPSVSDSL	1,000
123	ITLLALVYL	1,000
142	HNGTKYKKF	1,000
120	MVSITLLAL	1,000
302	LIFKSILFL	1,000

Tabla XVII-V1-HLA-B35-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
83	SLTFLYTLL	1,000
208	WIEHDVWRM	0,900
201	QONKEDAWI	0,600
146	KYKKFPHWL	0,600
233	LAVTSIPSV	0,600
293	IAVFLPIVV	0,600
19	RRNLEEDDY	0,600
245	LTWREFHYI	0,600
126	LALVYLPGV	0,600
227	LAILALLAV	0,600
200	VQONKEDAW	0,500
220	VSLGIVGLA	0,500
269	ALIFAWNKW	0,500
236	TSIPSVSDS	0,500
6	DIINQEELW	0,500
266	THALIFAW	0,500
49	TAHADEFDC	0,450
221	SLGIVGLAI	0,400
259	IVSLLLGTI	0,400
72	HLPIKIAAI	0,400
263	LLGTHIALI	0,400
130	YLPGVIAAI	0,400
299	IVVLIFKSI	0,400
103	QQYFYKIPI	0,400
309	FLPCLRKKI	0,400
40	RPVLLHLHQ	0,400
270	LIFAWNKWI	0,400
291	ALVYLPGLV	0,400
57	FMAVFLPI	0,400
339	CPSELQHTQ	0,400
239	PSVSDSLTW	0,375

Tabla XVII-V2-HLA-B35-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 5 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
4	EFHYIQVNNI	0,040
2	REFHYIQVNN	0,020
3	EFHYIQVNN	0,010
1	WREFHYIQV	0,006

Tabla XVII-V3-HLA-B35-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
--------	--------------	------------

Tabla XVII-V3-HLA-B35-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 7 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
25	LTRFKGLNL	3,000
13	KSDVPESLW	1,500
18	ESLWDPCLT	0,750
16	VPESLWDP	0,500
12	KKSDVPESL	0,400
8	QIHKKSDV	0,200
22	DPCLTRFKG	0,200
6	YIQIHKKS	0,100
24	CLTRFKGLN	0,100
23	PCLTRFKGL	0,100
2	REFHYIQI	0,080
11	HKKSDVPES	0,045
26	TRFKGLNLI	0,040
20	LWDPCLTRF	0,030
19	SLWDPCLTR	0,020
15	DVPESLWDP	0,020
1	WREFHYIQI	0,012
9	IHKKSDVP	0,010
28	FKGLNLQIS	0,010
17	PESLWDPCL	0,010
7	IQIHKKSD	0,010
27	REFGLNLQ	0,006
10	IHKKSDVPE	0,003
14	SDVPESLWD	0,002
3	EFHYIQIH	0,001
5	HYIQIHKK	0,001
4	FHYIQIHK	0,001
21	WDPCLTRFK	0,001

Tabla XVII-V4-HLA-B35-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 9 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
2	KQFGLLSLF	2,000
6	LLSLFFAVL	1,000
1	RKQFGLLSL	0,200
5	GLLSLFFAV	0,200
8	SLFFAVLHA	0,100
4	FGLLSLFFA	0,100
3	QFGLLSLFF	0,100
7	LSLFFAVLH	0,050
9	LFFAVLHAI	0,040

Tabla XVIII-V1-HLA-B35-10meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°: 3 se especifica cada posición inicial; la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición



Inicio	Subsecuencia	Puntuación
96	HPLATSHQQY	40,000
150	FPHWLDKWM	30,000
	L	
109	IPILVINKVL	20,000
287	TPPTFMIAVF	20,000
238	IPSVSDSLTW	15,000
254	QSKLGIVSL	15,000
243	DSLTWREFHY	10,000
121	VSITLLALVY	10,000
68	FPQWHLPIK	8,000
175	HAIYSLSYFM	6,000
98	LATSHQQYFY	6,000
236	TSIPSVSDSL	5,000
35	TSMLKRPVLL	5,000
186	RSYRYKLLNW	5,000
82	ASLTFLYTL	5,000
274	WNKWDIKQF	4,500
40	RFVLLHLHQT	4,000
171	FAVLHAIYSL	3,000
330	INKTEICSQL	3,000
81	IASLTFLYTL	3,000
78	AAIASLTFL	3,000
37	MLKRPVLLHL	3,000
77	IAAIASTFL	3,000
7	ITNQEELWKM	3,000
293	IAVFLPIVVL	3,000
179	SLSYPMRRSY	2,000
297	LPIVVLIFKS	2,000
73	LPIKIAAIA	2,000
283	FVWYTPPTFM	2,000
162	KQFGLLSFFF	2,000
116	KVLPMSITL	2,000
220	VSLGIVGLAI	2,000
138	IVQLHNGTKY	2,000
118	LPMVSITLLA	2,000
288	PPTFMIAVFL	2,000
100	TLHQYFYKI	2,000
111	ILVINKVLPM	2,000
79	AAIASLTFLY	2,000
173	VLHAIYSLSY	2,000
241	VSDSLTWREF	1,500
268	HALFAWNKW	1,500
144	GKYYKKFPHW	1,500
114	DNKVLPMVSI	1,200
17	KPRRNLEEDD	1,200
28	LHKDTGETSM	1,200
126	LALVYLPVVI	1,200
301	VLIFKSILFL	1,000
253	IQSKLGIVSL	1,000
103	QQYFYKIPIL	1,000
224	IVGLAILALL	1,000
122	SITLLALVYL	1,000
263	LLGTIHALIF	1,000
221	SLOIVGLAIL	1,000
223	GIVGLAILAL	1,000
158	MLTRKQFGLL	1,000
89	TLREVIHPL	1,000
157	WMLTRKQFGL	1,000
299	IVVLIFKSIL	1,000
165	GLLSFFFAVL	1,000
261	SLLLGTHIAL	1,000
309	FLPCLRKIKL	1,000

Tabla XVIII-V1-HLA-B35-10 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 3 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
300	VVLIFKSILF	1,000
34	ETSMMLKRPVL	1,000
117	VLPMSITLL	1,000
200	VQONKEDAWI	0,500
277	WIDIKQFVWY	0,600
90	LLREVIHPLA	0,600
207	AWIEHDVWR	0,600
	M	
244	SLTWREFHYI	0,600
319	KIRHGWEDVT	0,600
178	YSLSYPMRRS	0,500
167	LSFFFAVLHA	0,500
265	GTHIALFAW	0,500
260	VSLLLGTIHA	0,500
199	QVQNKEDA	0,500
	W	
269	ALIFAWNKIWI	0,400
191	KLLNWAYQQ	0,400
	V	
149	KFPHWLDKW	0,400
	M	
294	AVFLPIVVL	0,400
86	FLYTLLREVI	0,400
66	ELFPQWHLPI	0,400
258	GIVSLLGTI	0,400
262	LLLGTHIALI	0,400
326	DVTINKTEI	0,400
57	CPSELQHTQE	0,400
102	HQQYFYKIPI	0,400
72	HLPIKIAAI	0,400
108	KIPILVINKV	0,400
229	ILALLAVTSI	0,400
327	VTKINKTEIC	0,300
213	VWRMEIYVSL	0,300
227	LAILALLAVT	0,300
184	MRRSYRYKLL	0,300
159	LTRKQFGLLS	0,300
233	LAVTSIPSVS	0,300
136	AAIVQLHNGT	0,300
64	TQELFPQWHL	0,300
160	TRKQFGLLSF	0,300
13	LWKMKPRRN	0,300
	L	
183	PMRRSYRYKL	0,300

Tabla XVIII-V2-HLA-B35-10 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 5 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
nueve.

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 5 se especifica cada

Tabla XVIII-V2-HLA-B35-10 meros:  
STEAP-1

posición inicial; la longitud del péptido  
es de 10 aminoácidos, y la posición final  
para cada péptido es la posición inicial  
más nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
1	TWREFHYIQV	0,120
4	EFHYIQVNNI	0,040
3	REFHYIQVNN	0,020
2	WREFHYIQVN	0,003

Tabla XVIII-V3-HLA-B35-10 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 7 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
23	DPCLTRFKGL	20,000
17	VPESLWDPCL	6,000
20	SLWDPCLTRF	2,000
26	LTRFKGLNLI	1,200
25	CLTRFKGLNL	1,000
12	HKKSDVPESL	0,300
1	TWREFHYIQI	0,240
8	IQIHKKSDV	0,200
16	DVPESLWDPC	0,200
13	KKSDVPESLW	0,200
28	RFKGLNLIQS	0,060
19	ESLWDPCLTR	0,050
11	IHKKSDVPES	0,045
14	KSDVPESLWD	0,045
2	WREFHYIQII	0,012
6	HYIQIHKKS	0,010
9	QIHKKSDVP	0,010
24	PCLTRFKGLN	0,010
10	IHKKSDVPE	0,010
7	YIQIHKKSD	0,010
3	REFHYIQIHH	0,002
18	PESLWDPCLT	0,002
22	WDPCLTFRKG	0,001
5	FHYIQIHKK	0,001
27	TRFKGLNLIQ	0,001
4	EFHYIQIHK	0,001
15	SDVPESLWDP	0,001
21	LWDPCLTFRK	0,000

Tabla XVIII-V4-HLA-B35-10 meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 9 se especifica cada posición inicial;  
la longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
nueve.

Inicio	Subsecuencia	Puntuación
3	KQFGLLSLFF	2,000
6	GLLSLFFAVL	1,000
8	LSLFFAVLHA	0,500
9	SLFFAVLHAI	0,400
1	TRKQFGLLSL	0,300

**TABLA XVIII V4-HLA-B35-10meros:  
STEAP-1**

**Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº: 9; cada posición inicial se  
específica, la longitud del péptido es  
de 10 aminoácidos, y la posición final  
de cada péptido es la posición inicial  
más nueve**

Inicial	Subsecuencia	Puntuación
10	LFFAVLHAIY	0,200
2	RKQFGIXSLF	0,200
5	FGLLSLFFAV	0,200
4	QFGLLSLFFA	0,010
7	LLSLFFAVLH	0,010

Tabla XIX: motivos que se dan frecuentemente			
Nombre	% medio de identidad	Descripción	Posible Función
zf-C2H2	34 %	Dedo de cinc, tipo C2H2	proteína de unión a ácido nucleico que funciona como factor de transcripción, probable localización nuclear
citocromo_b_N	68 %	Citocromo b(N-terminal)/b6/petB	oxidasa unida a membrana, genera superóxido
Ig	19 %	Dominio de inmunoglobulina	los dominios tienen cien aminoácidos de longitud e incluyen un enlace disulfuro conservado intra-dominio.
WD40	18 %	dominio WD, repetición G-beta	repeticiones en tándem de aproximadamente 40 restos, conteniendo cada uno de ellos un motivo Trp-Asp. Función en transducción de señal e interacción de proteínas
PDZ	23 %	dominio PDZ	puede funcionar en el direccionamiento de moléculas de señalización a sitios submembranosos
LRR	28 %	Repetición Rica en Leucina	motivos de secuencia corta implicados en interacciones proteína-proteína
Pquinasa	23 %	Dominio proteína quinasa	núcleo catalítico conservado común tanto para serina/treonina como tirosina proteína quinasas que contienen un sitio de unión a ATP y un sitio catalítico
PH	16 %	Dominio PH	homología con plekstrina implicada en la señalización intracelular o como constituyentes del citoesqueleto
EGF	34 %	Dominio similar a EGF	de 30-40 aminoácidos de longitud encontrado en el dominio extracelular de proteínas unidas a la membrana o en proteínas secretadas
Rvt	49 %	Transcriptasa inversa (ADN polimerasa dependiente de ARN)	
Ank	25 %	Repetición Ank 0	proteína citoplasmática, asocia proteínas de membrana integrales con el citoesqueleto
Oxidored_q1	32 %	NADH-Ubiquinona/plastoquinona (complejo I), diversas cadenas	asociado a membrana. Implicado en la translocación de protones a través de la membrana
Efhand	24 %	EF hand	dominio de unión a calcio, consiste en un bucle de 12 restos flanqueado en ambos lados por un dominio alfa helicoidal de 12 restos
Rvp	79 %	Aspartil proteasa retroviral	proteasas aspartilo o ácidas, centradas en un resto catalítico de aspartilo

Colágeno	42 %	Repetición de la triple hélice de colágeno (20 copias)	Proteínas estructurales extracelulares implicadas en la formación de tejido conectivo. La secuencia consta de G-X-Y y las cadenas polipeptídicas forman una triple hélice.
fn3	20 %	Dominio de fibronectina tipo III	Localizado en la región extracelular de unión a ligando de receptores y tiene una longitud de aproximadamente 200 restos de aminoácidos con dos pares de cisteínas implicadas en enlaces disulfuro
7tm_1	19 %	Receptor transmembrana 7 (familia de la rodosina)	siete regiones transmembrana hidrófobas con el extremo N localizado extracelularmente mientras que el extremo C es citoplasmático. Señal a través de proteínas G

**Tabla XX: motivos y modificaciones post-traduccionales de STEAP-1**

Sitio de N-glucosilación

143 - 146 NGTK (SEC ID Nº: 61)

331 - 334-NKTE (SEC ID Nº: 62)

Sitio de fosforilación de proteína quinasa C

3 - SrK

160 - 162 TrK

187 - 189 SyR

246 - 248 TwR

Sitio de fosforilación de caseína quinasa II

3 - 6 SrkD (SEC ID Nº: 63)

8 - 11 TnqE (SEC ID Nº: 64)

240 - 243 SvsD (SEC ID Nº: 65)

246 - 249 TwrE (SEC ID Nº: 66)

Sitio de fosforilación de tirosina quinasa

19 - 27 RRNLEEDDY (SEC ID Nº: 67)

Sitio de N-miristoilación

133 - 138 -GVIAAI (SEC ID Nº: 68)

265 - 270 GTIHAL (SEC ID Nº: 69)

Secuencia bipartita de direccionamiento nuclear

4 - 20 RKDITNQEEL WKMKPRR (SEC ID Nº: 70)



**Tabla XXI: propiedades de STEAP-1**

	Programa bioinformático	URL (Localizada en la pág. web de)	Resultado
ORF	Buscador de ORF		1193 pb
Longitud de la proteína			339 aa
Región transmembrana	TM Pred	(.ch.embnet.org/)	6 TM en aa 73-91, 120-141, 163-181, 218-236, 253-274, 286-304
	HMMTop	(.enzim.hu/hmmtop/)	6 TM en aa 73-139, 164-182, 220-238, 257-274, 291-309
	Sosui	(.genome.ad.jp/SOSui/)	6 TM en aa 70-92, 114-136, 163-184, 219-241, 255-273, 292-313
	TMHMM	(.cbs.dtu.dk/services/TMHMM)	6 TM en aa 73-95, 117-139, 164-182, 218-240, 252-374, 289-311
Péptido Señal	P señal	(.cbs.dtu.dk/services/SignalP/)	Posible escisión entre los aa 136 y 137
pl	Herramienta pl/PM	(.expasy.ch/tools/)	9.2 pl
Peso molecular	Herramienta pl/PM	(.expasy.ch/tools/)	39,8 kD
Localización	PSORT	http://psort.nibb.ac.jp/	60 % membrana plasmática, 40 % Golgi, y 30 % retículo endoplasmático
	PSORT II	http://psort.nibb.ac.jp/	66 % retículo endoplasmático, 11 % mitocondrias, 11 % membrana plasmática
Motivos	Pfam	(.sanger.ac.uk/Pfam/)	Ninguno
	Prints	(.biochem.ud.ac.uko)	Firma de la proteína transformante P21 ras, firma de la repetición de Fibronectina de tipo III
	Bloqueos	(.blocks.fhcrc.org/)	Repetición half-A-TPR, firma de la proteína de membrana de la bomba de Arsénico, repetición de proteína M

**Tabla XXII-V1-HLA-A1-  
9meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición  
inicial, la longitud del péptido es de 9  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
ocho.

Pos	123456789	puntuación
99	ATSHQQYFY	24
122	SITLLALVY	24
180	LSYPMRRSY	24
174	LHAIYSLSY	22
278	IDIKQFVWY	20
139	VQLHNGTKY	19
32	TGETSMLKR	18
244	SLTWREFHY	18
80	IASLTFLY	17
153	WLDKWMLTR	17
182	YPMRRSYRY	17
22	LEEDDYHLK	16
58	PSELQHTQE	16
97	PLATSHQQY	16
170	FFAVLHAIY	16
189	RYKLLNWAY	16
19	RRNLEEDDY	15
84	LTFLYTLR	15
211	HDVWRMEIY	15
241	VSDSLTWRE	15
286	YTPPTFMIA	15
203	NKEDAWIEH	14
215	RMEIYVSLG	14
247	WREFHYIQS	14
324	WEDVTINK	14
21	NLEEDDYHL	13
23	EEDDYHLKO	13
54	EFDPCSELQ	13
159	LTRKQFGLL	13
186	RSYRYKLLN	13
7	ITNQEELWK	12
10	QEELWKMKP	12
29	HKDTGETSM	12
38	LKRPVLLHL	12
91	LREVIHPLA	12
129	VYLPGVIAA	12
221	SLGIVGLAI	12
291	FMAVFLPI	12
323	GWEDVTKIN	12
4	RKDITNQEE	11
9	NQEELWKMK	11
37	MLKRPVLLH	11
52	ADEFDCPSE	11
55	FDCPSELQH	11
208	WIEHDVWRM	11
210	EHDVWRMEI	11
258	KLGIYSLLL	11
277	WIDIKQFW	11
296	FLPIVVLIF	11

**Tabla XXII-V2-HLA-A1-  
9meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:5; se especifica cada

posición inicial, la longitud del péptido es de 9  
aminoácidos, y la posición final para cada  
péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
2	WREFHYIQV	14

**Tabla XXII-V3-HLA-A1-  
9meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:7; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
13	KSDVPESLW	17
1	WREFHYIQI	14
20	LWDPCLTRF	14
25	LTRFKGLNL	13
14	SDVPESLWD	12
16	VPESLWDPC	11
19	SLWDPCLTR	10
27	RFKGLNLQ	8

**Tabla XXII-V4-HLA-A1- 9meros:  
STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:9; se especifica cada posición  
inicial, la longitud del péptido es de 9  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
ocho

Pos	123456789	puntuación
8	SLFFAVLHA	10
1	RKQFGLLSL	8
3	QFGLLSLFF	6
7	LSLFFAVLH	6
6	LLSLFFAVL	5
5	GLLSLFFAV	4

**Tabla XXIII-V1-HLA-A0201-  
9meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición  
inicial, la longitud del péptido es de 9  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
ocho.

Pos	123456789	puntuación
262	LLGTHIAL	32
76	KIAIASL	29
88	FLYTLREV	29
90	LLREVIHPL	29
130	YLPGVIAAI	29
72	HLPIKIAAI	26
79	AIASLTFL	26
292	MIAVFLPIV	26
302	LIFKSILFL	26
312	CLRKKILKI	26
113	VINKVLPV	25
126	LALVYLPV	25
165	GLLSFFFAV	25

**Tabla XXIII-V1-HLA-A0201-  
9meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición  
inicial, la longitud del péptido es de 9  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
ocho.

Pos	123456789	puntuación
172	AVLHAIYSL	25
219	YVSLGIVGL	25
252	YIQSKLGIV	25
36	SMLKRPVLL	24
123	ITLLALVYL	24
166	LLSFFFAVL	24
227	LAILALLAV	24
294	AVFLPIVVL	24
117	VLPVMSITL	23
133	GVIAIVQL	23
192	LLNWAYQQV	23
228	AIALAVT	23
233	LAVTSFSPV	23
82	ASLTFLYTL	22
221	SLGIVGLAI	22
222	LGIVGLAIL	22
224	IVGLAILAL	22
230	LALLAVTSI	22
237	SIPSVSDSL	22
256	KLGIYSLLL	22
281	SLLGTHIAH	22
263	LLGTHIALI	22
83	SLTFLYTL	21
109	IPILVINKV	21
158	MLTRKQFGL	21
259	IVSLLGTI	21
309	FLPCLRKKI	21
319	KIRHGWEDV	21
27	YLKDTGET	20
42	VLLHLHQTA	20
120	MVSITLLAL	20
121	VSTLLALV	20
127	ALVYLPVVI	20
217	EIVYSLGIV	20
255	SKLGIVSL	20
258	GIVSLLGT	20
291	FMAVFLPI	20
38	LKRPVLLHL	19
225	VGLAILALL	19
226	GLAILALLA	19
229	ILALLAVTS	19
254	QSKLGIVSL	19
295	VFLPIVVL	19
305	KSILFLPCL	19
59	SELQHTQEL	18
112	LVINKVLP	18
124	TLALVYLP	18
270	LIFAWNKWI	18
300	VVLIFKSIL	18
118	KVLPVMSIT	17
118	LPMVSTILL	17
137	AVQLHNGT	17
176	AIYSLSYPM	17
214	WRMEIYVSL	17



Tabla XXIII-V1-HLA-A0201-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
322	HGWEDVTKI	17
89	TLLREVIHP	16
104	QYFYKIPIL	16
110	PILVINKVL	16
129	VYLPGVIAA	16
159	LTRKQFGLL	16
169	FFFAVLHAI	16
223	GIVGLAILA	16
231	ALLAVTSIP	16
245	LTWREFHYI	16
269	ALIFAWNKW	16
293	IAVFLPIVV	16
296	FLPIVVLIF	16
5	KDITNQEEL	15
37	MLKRPVLHL	15
80	IASLTFLY	15
125	LLALVYLPGL	15
134	VIAAVQLH	15
208	WIEHGVWRM	15
265	GTIHALIFA	15
272	FAWNKWIDI	15
279	DIKQFVWYT	15
299	IVLIFKSI	15
307	ILFLPCRKL	15

Tabla XXIII-V2-HLA-A0201-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
5	FHYQVNNI	15
2	WREFHYIQV	8

Tabla XXIII-V3-HLA-A0201-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
8	QIIHKKSDV	21
19	SLWDPCLTR	18
25	LTRFKGLNL	17
26	TRFKGLNLI	16
2	REFHYIQI	14
12	KKSDVPESL	14
6	YIQIHKKS	11
9	IIHKKSDVP	11

Tabla XXIII-V3-HLA-A0201-  
9meros:STEAP-1

24 CLTRFKGLN 10

Tabla XXIII-V4-HLA-A0201-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
5	GILLSFFAV	25
6	LLSLFFAVL	25
8	SLFFAVLHA	21
1	RKQFGLLSL	18
9	LFFAVLHAI	17

Tabla XXIV-V1-HLA-A0202-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos 123456789 puntuación  
No se encuentran resultados.

Tabla XXIV-V2-HLA-A0202-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos 123456789 puntuación  
No se encuentran resultados.

Tabla XXIV-V3-HLA-A0202-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos 123456789 puntuación  
No se encuentran resultados.

Tabla XXIV-V4-HLA-A0202-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial,

Tabla XXIV-V4-HLA-A0202-  
9meros:STEAP-1

la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos 123456789 puntuación  
No se encuentran resultados.

Tabla XXV-V1-A0203-  
9mer:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos 123456789 puntuación  
No se encuentran resultados

Tabla XXV-V2-HLA-A0203-  
9mer:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos 123456789 puntuación  
No se encuentran resultados

Tabla XXV-V3-HLA-A0203-  
9mer:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos 123456789 puntuación  
No se encuentran resultados.

Tabla XXV-V4-HLA-A0203-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

No se encuentran resultados.

Tabla XXVI-V1-HLA-A3-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos 123456789 puntuación  
138 IVQLHNGTK 28



Tabla XXVI-V1-HLA-A3-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial,  
la longitud del péptido es de 9  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
ocho.

Pos	123456789	puntuación
122	SITLLALVY	26
307	ILFLPCLRK	26
140	QLHNGTKYK	25
229	ILALLAVTS	25
108	KIPILVINK	22
128	LVYLPGVIA	22
133	GVIAIVQL	22
191	KLLNWAYQQ	22
228	AILALLAVT	22
294	AVFLPIVVL	22
321	RHGWEDEVTK	22
37	MLKRPVLLH	21
94	VIHPLATSH	21
116	KVLPMVSIT	21
153	WLDKWWMLTR	21
231	ALLAVTSIP	21
234	AVTSIPSVS	21
93	EVHPLATS	20
97	PLATSHQQY	20
221	SLGIVGLAI	20
76	KIAAIASL	19
127	ALVYLPVVI	19
148	KKFPHWLDK	19
244	SLTWREFHY	19
283	FVWYTPPTF	19
296	FLPIVVLIF	19
78	AAILASLTF	18
112	LVINKVLP	18
226	GLAILALLA	18
240	SVSDSLTWR	18
256	KLGIIVSLLI	18
259	IVSLLLGTI	18
301	VLIFKSILF	18
317	ILKIRHGWE	18
43	LLHLHOTAH	17
79	AIASLTFL	17
80	IASLTFLY	17
111	ILVINKVLP	17
130	YLPGVIAAI	17
168	LLSFFFAVL	17
172	AVLHAIYSL	17
219	YVSLGIVGL	17
224	IVGLAILAL	17
312	CLRKILKI	17
7	ITNOELWK	16
41	PVLLHLHQT	16
42	VLLHLHQT	16
72	HLPIKIAAI	16
125	LLALVYLP	16
180	LSYPMRRSY	16
183	PMRRSYRYK	16
207	AWIEHDVWR	16
248	REFHYIQSK	16
261	SLLLGTIHA	16

Tabla XXVI-V1-HLA-A3-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial,  
la longitud del péptido es de 9  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
ocho.

Pos	123456789	puntuación
268	HALFAWNK	16
269	ALIFAWNKW	16
278	IDIKQFVWY	16
300	VLIFKSIL	16
306	SILFLPCLR	16
311	PCLRKILK	16
319	KIRHGWEDEV	16
21	NLEEDDYH	15
89	TLLREVHPL	15
90	LLREVHPL	15
117	VLPMSVRL	15
120	MVSITLLAL	15
134	VIAAIVQLH	15
161	RKQFGLLSF	15
173	VLHAIYSL	15
178	ANSLSYPM	15
262	LLGTIHAL	15
299	IVVLIFKSI	15
308	LFLPCLRK	15
12	ELWKMKPRR	14
22	LEEDDYHKL	14
45	HLHOTAH	14
60	ELHQTQELF	14
86	FLYTLREV	14
110	PILVINKVL	14
124	TLLALVYLP	14
158	MLTRKQFGL	14
186	RSYRYKLN	14
196	AYQQVQCNK	14
277	WIDIKQFVW	14
297	LPIVVLIFK	14
316	KILKIRHG	14
326	DVTKINKTE	14
56	FDCPSELQH	13
66	ELFPQWHLP	13
74	PIKIAAIA	13
88	YTLREVH	13
165	GLLSFFFAV	13
174	LHAIYSLSY	13
189	RYKLLNWAY	13
192	LLNWAYQQV	13
212	DVWRMEIYV	13
217	EIVVSLGIV	13
223	GIVGLAILA	13
263	LLGTIHALI	13
273	AWNKWIDIK	13

Tabla XXVI-V2-HLA-A3-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:5; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la

Tabla XXVI-V2-HLA-A3-  
9meros:STEAP-1

posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
3	REFHYIQVN	8
5	FHYIQVNNI	5
1	TWREFHYIQ	4
4	EFHYIQVNN	4
2	WREFHYIQV	3

Tabla XXVI-V3-HLA-A3-9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:7; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
19	SLWDFCLTR	23
8	QIIHKKSDV	17
4	FHYIQIHK	15
9	IIHKKSDVP	15
24	CLTRFKGLN	14
5	HYIQIHKK	13
15	DVRESLWDP	11

Tabla XXVI-V4-HLA-A3-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:9; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
6	LLSLFFAVL	18
8	SLFFAVLHA	14
5	GLLSLFFAV	13
7	LSLFFAVLH	13
2	KQFGLLSLF	12
1	RKQFGLLSL	11
3	QFGLLSLFF	10

Tabla XXVII-V1-HLA-A26-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
133	GVIAIVQL	28
302	LIFKSILFL	26
76	KIAAIASL	25
79	AIASLTFL	25
112	LVINKVLP	25
294	AVFLPIVVL	25
80	ELHQTQELF	24
159	LTRKQFGLL	24
219	YVSLGIVGL	24
80	IASLTFLY	23



Tabla XXVII-V1-HLA-A26-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
93	EVHPLATS	23
120	MVSITLLAL	23
123	ITLLALVYL	23
172	AVLHAIYS	23
208	WIEHDVWRM	23
224	IVGLAILAL	23
262	LLGLTHAL	23
296	FLPIVLI	23
90	LLREVIHPL	22
97	PLATSHQQY	22
249	EFHYIQSKL	22
279	DIKQFVWYT	22
83	SLTFLYTL	21
99	ATSHQQYFY	21
122	SITLLALVY	21
166	LLSFFFAVL	21
217	EIVVSLGIV	21
237	SIPSVSDSL	21
283	FVWYTPPTF	21
289	PTFMIAVFL	21
301	VLIFKSILF	21
162	KQFGLSFF	20
176	AIYSLSPYM	20
31	DTGETSMLK	19
53	DEFDCPSEL	19
63	HTQELFPQW	19
66	ELFPQWHLP	19
170	FFAVLHAIY	19
244	SLTWREFHY	19
278	IDIKQFVWY	19
300	VVLIFKSIL	19
110	PILVINKVL	18
158	MLTRKQFGL	18
286	YTPPTFMIA	18
6	DITNQEELW	17
12	ELWKMKPRR	17
34	ETSMKRPV	17
108	KIPILVINK	17
113	VINKVLPV	17
116	KVLPVMSIT	17
117	VLPVMSITL	17
130	YLPGVIAAI	17
163	QFGLSFFF	17
258	GIVSLLGT	17
326	DVTINKTE	17
72	HLPIKIAAI	16
104	QYFYKIPIL	16
134	VIAIVQLH	16
142	HNGTKYKGF	16
212	DVWRMEIYV	16
214	WRMEIYVSL	16
228	AIALAVT	16
240	SVSDSLTWR	16
252	YIQSKLGIV	16

Tabla XXVII-V1-HLA-A26-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
256	KLGIIVSLL	16
265	GTIHALIFA	16
266	TIHALIFAW	16
292	MAIVFLPIV	16
298	PIVVLIFKS	16
8	TNQEELWKM	15
38	LKRPVLLHL	15
41	PVLLHLHQT	15
161	RKQFGLLSF	15
222	LGIVGLAIL	15
254	QSKLGIVSL	15
255	SKLGIVSLL	15
259	IVSLLGTI	15
275	NKWIDIKQF	15
288	PPTFMIAVF	15
299	IVVLIFKSI	15
305	KSILFLPCL	15
312	CLRKKILKI	15
56	DCPSELQHT	14
86	FLYTLREV	14
94	VIHPLATSH	14
153	WLDKMWMLTR	14
165	GLSFFFAV	14
192	LLNWAYQQV	14
211	HDVWRMEIY	14
245	LTWREFHYI	14
23	EEDDYHLKD	13
37	MLKRPVLLH	13
54	EFDCPSELQ	13
89	TLLREVIHP	13
118	LPMVSTLL	13
124	TLLALVYLP	13
125	LLALVYLP	13
137	AVQLHNGT	13
168	SFFFAVLHA	13
169	FFFAVLHAI	13
173	VLHAIYSLS	13
179	LSYPMRRS	13
180	LSYPMRRSY	13
189	RYKLLNWAY	13
223	GIVGLAILA	13
225	VGLAILALL	13
295	VFLPIVLI	13
308	LFLPCLRKK	13
2	ESRKDITNQ	12
30	KDTGETSML	12
78	AAIASLTF	12
82	ASLTFYTL	12
84	LTFLYTLR	12
98	LATSHQQYF	12
144	GTKYKGFPH	12
149	KFPWLDKW	12
174	LHAIYSLSY	12
185	RRSYRYKLL	12

Tabla XXVII-V1-HLA-A26-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
234	AVTSIPSVS	12
235	VTSIPSVSD	12
270	LIFAWNKWI	12
277	WIDIKQFVW	12
303	IFKSILFLP	12
316	KILKIRHGW	12
325	EDVTINKIT	12
327	VTINKITEI	12
331	NKTEICSQL	12

Tabla XXVII-V2-HLA-A26-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:5; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
4	EFHYIQVNN	14
3	REFHYIQVN	7
5	FHYIQVNNI	6

Tabla XXVII-V3-HLA-A26-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:7; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
15	OVPESLWOP	24
25	LTRFKGLNL	20
20	LWDPCLTRF	18
8	QIIHKKSDV	14
23	PCLTRFKGL	13
3	EFHYIQIHH	12
9	IHKKSDVP	12
6	YIQIHKKS	11

Tabla XXVII-V4-HLA-A26-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:9; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
6	LLSLFFAVL	21
2	KQFGLLSLF	20
3	QFGLLSLFF	17
5	GLSLFFAV	15



Tabla XXVII-V4-HLA-26-  
9meros:STEAP-1

8	SLFFAVLHA	15
1	RKQFGLLSL	13
9	LFFAVLHA	13

Tabla XXVIII-V1-HLA-B0702-  
mer :STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos.	123456789	puntuación
118	LPMVSITLL	22
310	LPCLRKKIL	20
238	IPSVSDSLT	19
73	LPIKIAAI	18
131	LPGVIAIV	18
288	PPTFMIAVF	18
294	AVFLPIVVL	18
109	IPILVINKV	17
287	TPPTFMIAV	17
14	WKMKPRRL	16
150	FPHWLDKWM	16
38	LKRPVLLHL	15
79	AIASLTFL	15
120	MVSITLLAL	15
166	LLSFFFAVL	15
224	IVGLAILAL	15
30	KDTGETSML	14
35	TSMLKRPVL	14
76	KIAAIASL	14
159	LTRKQFGL	14
219	YVSLGIVGL	14
256	KLGIIVSL	14
302	LIFKSILF	14
17	KPRRLNEED	13
38	SMLKRPVLL	13
40	RPVLLHLHQ	13
65	QELFPQWHL	13
90	LLREVIHPL	13
123	ITLLALVYL	13
133	GVIAIVQL	13
184	MRRSYRYKL	13
185	RRSYRYKLL	13
214	WRMEIYVSL	13
255	SKLGIVSL	13
262	LLGTIHAL	13
289	PTFMIAVFL	13
57	CPSELQHTQ	12
81	IASLTFLYT	12
82	ASLTFLYT	12
106	FYKIPILVI	12
128	LVYLPGVIA	12
146	KYKFFPHWL	12
172	AVLHAIVSL	12
225	VGLAILALL	12
254	QSKLGIVSL	12
305	KSILFLPCL	12
5	KDITNQEEL	11
20	RNLEEDDYL	11

Tabla XXVIII-V1-HLA-B0702-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
59	SELQHTQEL	11
68	FPQWHLPK	11
83	SLTFLYTLL	11
96	HPLATSHQQ	11
104	QYFYKIPIL	11
110	PILVINKVL	11
115	NKVLPMVSI	11
182	YPMRRSYRY	11
221	SLGIVGLAI	11
222	LGIVGLAIL	11
228	AILALLAVT	11
249	EFHYIQSKL	11
284	VWYTPPTFM	11
285	WYTPPTFMI	11
291	FMAVFLPI	11
297	LPVVLIFK	11
312	CLRKKILKI	11
34	ETSMLKRPV	10
53	DEFDCPSEL	10
78	AAIASLTF	10
92	REVIHPLAT	10
112	LVINKVLP	10
117	VLPVMSITL	10
130	YLPGVIAAI	10
151	PHWLDKWM	10
158	MLTRKQFGL	10
162	KQFGLSFF	10
237	SIPSVSDSL	10
295	VFLPIVLI	10
300	VVLIFKSIL	10
320	IRHGWEDEV	10
331	NKTEICSQL	10

Tabla XXVIII-V2-HLA-B0702-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº5; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
5	FHYIQVNNI	7
2	WREFHYIQV	6
4	EFHYIQVNN	3

Tabla XXVIII-V3-HLA-B0702-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº7; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
25	LTRFKGLNL	15
12	KKSDVPESL	13
17	PESLWOPCL	13
16	VPESLWDPC	11
22	DPCLTRFKG	11
23	PCLTRFKGL	11
20	LWDPCLTRF	9
2	REFHYIQII	7
18	ESLWDPCLT	7
26	TRFKGLNLI	7

Tabla XXVIII-V4-HLA-B0702-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº9; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
6	LLSLFFAVL	15
1	RKQFGLLSL	13
3	QFGLLSLFF	10
2	KQFGLLSLF	9
8	SLFFAVLHA	9
5	GLLSLFFAV	8
9	LFFAVLHA	8
4	FGLLSLFFA	7

Tabla XXIX-V1-HLA-B08-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
312	CLRKKILKI	29
158	MLTRKQFGL	26
310	LPCLRKKIL	26
72	HLPIKIAAI	25
90	LLREVIHPL	25
317	ILKIRHGWE	25
254	QSKLGIVSL	23
301	VLIKFSILF	23
104	QYFYKIPIL	22
144	GTKYKFFPH	22
35	TSMLKRPVL	21
36	SMLKRPVLL	21
272	FAWNKWID	21
13	LWKMKPRRN	20
146	KYKFFPHWL	20
185	RRSYRYKLL	20
187	SYRYKLLNW	19
15	KMKPRRNLE	18
83	SLTFLYTLL	18
106	FYKIPILVI	18
118	LPMVSTLL	18
142	HNGTKYKFF	18
262	LLGTIHAL	18
327	VTKINKTEI	18

Tabla XXIX-V1-HLA-B08-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
37	MLKRPVLLH	17
110	PILVINKVL	17
117	VLPVMSITL	17
38	LKRPVLLHL	16
159	LTRKQFGLL	16
166	LLSFFFAVL	16
184	MRRSYRYKL	16
237	SIPSVSDSL	16
244	SLTWREFHY	16
256	KLGVLSLL	16
76	KIAAIASL	15
221	SLGIVGLAI	15
279	DIKQFVWYT	15
302	LIFKSILFL	15
60	ELQHTQELF	14
74	PIKIAAIIA	14
79	AIIASLTFL	14
130	YLPGVIAAI	14
182	YPMRRSYRY	14
224	IVGLAILAL	14
252	YIQSKLGIV	14
277	WDIKQFVW	14
298	FLPIVLIIF	14
309	FLPCLRKKI	14
11	EELWKMKPR	13
17	KPRRNLEED	13
59	SELQHTQEL	13
123	ITLLALVYL	13
127	ALVYLPGLV	13
133	GVIAAIVQL	13
189	RYKLLNWAY	13
214	WRMEIYVSL	13
219	YVSLGIVGL	13
249	EFHYIQSKL	13
255	SKLGIVSLL	13
288	PPTFMIAVF	13
294	AVFLPIVVL	13
325	EDVTKINKT	13

Tabla XXIX-V2-HLA-B08-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:5; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
1	TWREFHYIQ	8
5	FHYIQVNNI	8
4	EFHYIQVNN	4

Tabla XXIX-V3-HLA-B08-  
9meros:STEAP-1

Tabla XXIX-V3-HLA-B08-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:7; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
25	LTRFKGLNL	26
23	PCLTRFKGL	19
9	IHKKSQDVP	15
8	QIIHKKSQDV	14
11	HKKSDVPES	13
10	IHKKSQDPE	12

Tabla XXIX-V4-B08-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:9; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
6	LLSLFFAVL	17
1	RKQFGLLSL	10
8	SLFFAVLHA	9
5	GLLSLFFAV	8

Tabla XXX-V1-HLA-B1510-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
151	PHWLDKWM	21
219	YVSLGIVGL	16
294	AVFLPIVVL	16
14	WKMKPRRNL	15
35	TSMKRPVL	15
36	SMLKRPVLL	14
71	WHLPIKIAA	14
123	ITLLALVYL	14
133	GVIAAIVQL	14
210	EHDVWRMEI	14
224	IVGLAILAL	14
254	QSKLGIVSL	14
53	DEFDCPSEL	13
110	PILVINKVL	13
166	LLSFFFAVL	13
214	WRMEIYVSL	13
262	LLIGTIHAL	13
267	IHALIFAWN	13
321	RHWEDVTK	13
5	KDITNQEEL	12
28	LHKDTGETS	12
38	LKRPVLLHL	12
50	AHADEFDCP	12
59	SELQHTQEL	12

Tabla XXX-V1-HLA-B1510-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
76	KIAAIASL	12
90	LLREVHPL	12
95	IHPLATSHQ	12
104	QYFYKIPIL	12
118	LPMVSITLL	12
120	MVSITLLAL	12
141	LHNGTKYKK	12
146	KYKKFPHWL	12
222	LGIVGLAIL	12
255	SKLGIVSLL	12
289	PTFMIAVFL	12
302	LIFKSILFL	12
20	RNLEEDDYL	11
30	KDTGETSML	11
62	QHTQELFPQ	11
65	QELFRQWHL	11
82	ASLTFLYTL	11
101	SHQQYFYKI	11
117	VLPVMSITL	11
159	LTRKQFGLL	11
172	AVLHAIYSL	11
174	LHAIYSLSY	11
184	MRRSYRYKL	11
185	RRSYRYKLL	11
249	EFHYIQSKL	11
300	VVLIFKSIL	11
305	KSILFLPCL	11
310	LPCLRKKIL	11
331	NKTEICSQL	11
44	LHLHQTAAH	10
46	LHQTAAHAE	10
79	AIIASLTFL	10
83	SLTFLYTL	10
158	MLTRKQFGL	10
208	WIEDVWRM	10
225	VGLAILALL	10
237	SIPSVSDSL	10
242	SDSLTWREF	10
250	FHYIQSKLG	10
256	KLGVLSLL	10
283	FVWYTPPTF	9
288	PPTFMIAVF	9

Tabla XXX-V2-HLA-B1510-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:5; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
5	FHYIQVNNI	11

Tabla XXX-V3-B1510-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
10	IHKKSDVPE	15
12	KKSDVPESL	13
17	PESLWDPCL	12
4	FHYIQUIHK	11
20	LWDPCLTRF	10
23	PCLTRFKGL	10
25	LTRFKGLNL	10

Tabla XXX-V4-HLA-B\*510-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
6	LLSLFFAVL	13
1	RKQFGLLSL	11
2	KQFGLLSLF	7
3	QFGLLSLFF	6

Tabla XXXI-V1-HLA-B2705-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
19	RRNLEEDDY	24
185	RRSYRYKLL	24
214	WRMEIYVSL	24
313	LRKKILKIR	24
184	MRRSYRYKL	23
39	KRPVLLHLH	22
248	REFHYIQSK	21
294	AVFLPIVVL	21
133	GVIAAIVQL	20
162	KQFGLLSFF	20
302	LIFKSILFL	20
20	RNLEEDDYL	19
161	RKQFGLLSF	19
307	ILFLPCLRK	19
76	KIAAIIASL	18
104	QYFYKIPIL	18
172	AVLHAIYSL	18
196	AYQQVQQNK	18
254	QSKLGIVSL	18
321	RHGWEDEVTK	18
5	KDITNQEEL	17
79	AAIASLTFL	17
108	KIPILVINK	17

Tabla XXXI-V1-HLA-B2705-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
148	KKFPHWLDK	17
188	YRYKLLNWA	17
219	YVSLGIVGL	17
255	SKLGIVSLL	17
262	LLLGTIHAL	17
305	KSILFLPCL	17
314	RKKILKIRH	17
12	ELWKMKPRR	16
30	KDTGETSML	16
65	QELFPQWHL	16
78	AAIASLTF	16
82	ASLTFLYTL	16
118	LPMVSITLL	16
123	ITLLALVYL	16
141	LHNGTKYKK	16
189	RYKLLNWAY	16
207	AWIEHDVWR	16
222	LGIVGLAIL	16
224	IVGLAILAL	16
249	EFHYIQSKL	16
268	HALIFAWNK	16
273	AWNKKWIDIK	16
289	PTFMIAVFL	16
308	LFLPCLRKK	16
7	ITNQEELWK	15
14	WKMKPRRNL	15
36	SMLKRPVLL	15
53	DEFDCPSEL	15
59	SELQHTQEL	15
84	LTFLYTLR	15
80	LLREVHPL	15
110	PILVINKVL	15
154	LDKWMLTRK	15
178	YSLSYPMRR	15
225	VGLAILALL	15
256	KLGVSLILL	15
288	PPTFMIAVF	15
297	LPIVVLIFK	15
301	VLIFKSILF	15
311	PCLRKILK	15
312	CLRKKILKI	15
8	TNQEELWK	14
32	TGETSMLKR	14
35	TSMKRPVL	14
38	LKRPVLLHL	14
94	VIHPLATSH	14
117	VLPMSITL	14
138	IVQLHNGTK	14
139	VQLHNGTKY	14
146	KYKKFPHWL	14
153	WLDKWMLTR	14
156	KWMLTRKQF	14
176	AIYSLSYPM	14
177	IYSLSYPMR	14

Tabla XXXI-V1-HLA-B2705-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
240	SVSDSLTWR	14
260	VSLLGTIHL	14
275	NKWIDIKQF	14
278	IDIKQFVWY	14
300	VVLFKSIL	14
320	IRHGWEDEVTK	14
324	WEDVTINK	14
331	NKTEICSQL	14
3	SRKDITNQE	13
11	EELWKMKPR	13
29	HKDTGETSM	13
31	DTGETSMLK	13
43	LLHLHQTALH	13
73	LPIKIAAIL	13
83	SLTFLYTL	13
112	LVINKVLPM	13
122	SITLLALVY	13
130	YLPGVIAAI	13
142	HNGTKYKKF	13
144	GTYKKFPH	13
151	PHWLDKWML	13
158	MLTRKQFGL	13
160	TRKQFGLLS	13
163	QFGLLSFFF	13
167	LSFFFVLLH	13
230	LALLAVTSI	13
237	SIPSVSDSL	13
251	HYIQSKLGI	13
284	VWYTPPTFM	13
296	FLPIVVLIF	13
306	SILFLPCLR	13
9	NQEELWKMK	12
47	HQTAHADEF	12
55	FDCPSELQH	12
60	ELQHTQELF	12
68	FPQWHLPIK	12
88	YTLREVH	12
91	LREVIHPLA	12
98	LATSHQQYF	12
99	ATSHQQYFY	12
100	TSHQQYFYK	12
106	FYKIPILVI	12
120	MVSITLLAL	12
140	QLHNGTKYK	12
159	LTRKQFGLL	12
166	LLSFFFVAVL	12
180	LSYPMRRSY	12
182	YPMRRSYRY	12
208	WIEHDVWRM	12
242	SDSLTWREF	12
247	WREFHYIQS	12
264	LGTIHALIF	12
283	FWYTPPTF	12
295	VFLPIVLI	12



Tabla XXXI-V1-HLA-B2705-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
310	LPCLRKIL	12
322	HGWEDVTKI	12
18	PRNLEEDD	11
21	NLEEDDYH	11
22	LEEDDYH	11
37	MLKRPVLLH	11
72	HLPIKAAI	11
101	SHQQYFYKI	11
109	IPILVINKV	11
115	NKVLPMVSI	11
169	FFFAVLHAI	11
174	LHAIYSLSY	11
181	SYPMRRSYR	11
183	PMRRSYRYK	11
201	QQNKEDAWI	11
216	MEIYVSLGI	11
259	IVSLLGTI	11
299	IVLIFKSI	11

Tabla XXXI-V2-HLA-B2705-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
2	WREFHYIQV	12
5	FHYIQVNNI	12
3	REFHYIQVN	11
4	EFHYIQVNN	6

Tabla XXXI-V3-HLA-B2705-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
26	TRFKGLNLI	25
5	HYIQIHK	20
1	WREFHYIQI	18
2	REFHYIQI	16
4	FHYIQIHK	16
20	LWDPCLTRF	16
12	KKSDVPESL	14
25	LTRFKGLNL	14
17	PESLWDPCL	13
19	SLWDPCLTR	13
3	EFHYIQIH	12
23	PCLTRFKGL	12

Tabla XXXI-V4-HLA-B2705-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
2	KQFGLLSLF	20
1	RKQFGLLSL	19
3	QFGLLSLFF	14
6	LLSLFFAVL	13
7	LSLFFAVLH	12
9	LFFAVLHAI	11

Tabla XXXII-V1-HLA-B2709-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
185	RRSYRYKLL	24
184	MRRSYRYKL	22
214	WRMEIYVSL	22
20	RNLEEDDYI	16
133	GVIAAIVQL	16
269	PTFMIAVFL	15
19	RRNLEEDDY	14
82	ASLTFlyTL	14
123	ITLLALVYL	14
165	GLLSFFFAV	14
172	AVLHAIYSL	14
255	SKLGIVSL	14
294	AVFLPIVVL	14
295	VFLPIVLI	14
305	KSILFLPCL	14
5	KDITNQEEL	13
30	KDITGETSML	13
36	SMLKRPVLL	13
78	KIAAIASL	13
104	QYFYKIPIL	13
110	PILVINKYL	13
161	RKQFGLLSF	13
176	AIYLSYPM	13
225	VGLAILALL	13
256	KLGIIVSL	13
302	LIFKSILFL	13
331	NKTEICSQL	13
3	SRKDITNQE	12
38	LKRPVLLHL	12
39	KRPVLLHLH	12
53	DEFDCPSEL	12
59	SELQHTQEL	12
65	QELFPQWHL	12
79	AIASLTFL	12
91	LREVIHPLA	12
146	KYKQFPHWL	12
162	KQFGLLSFF	12

Tabla XXXII-V1-HLA-B2709-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
188	YRYKLLNWA	12
224	IVGLAILAL	12
262	LLGLTIHAL	12
276	KWIDIKQFV	12
300	VVLIFKSIL	12
14	WKMKPRRNL	11
35	TSMKRPVL	11
73	LPIKAAII	11
78	AAIASLTFL	11
83	SLTFlyTL	11
105	YFYKIPILV	11
112	LVINKVLP	11
120	MVSITLLAL	11
126	LALVYLP	11
151	PHWLDKMWL	11
156	KWMLTRKQF	11
168	MLTRKQFGL	11
160	TRKQFGLS	11
208	WIEHDVWRM	11
219	YVSLGIVGL	11
222	LGIVGLAIL	11
230	LALLAVTSI	11
237	SIPSVSDSL	11
247	WREFHYIQS	11
249	EFHYIQSKL	11
254	QSKLGIVSL	11
264	LGTIHALIF	11
299	IVLIFKSI	11
313	LKKILKIR	11
320	IRHGWEDVT	11

Tabla XXXII-V2-HLA-B2709-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
2	WREFHYIQV	19
5	FHYIQVNNI	12

Tabla XXXII-V3-B2709- 9meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
26	TRFKGLNLI	20
1	WREFHYIQI	19

Tabla XXXII-V3-B2709-9meros:  
STEAP-1

2	REFHYIQII	14
12	KKSDVPESL	12
23	PCLTRFKGL	12
25	LTRFKGLNL	12
17	PESLWDPCL	11
20	LWDPCLTRF	10
8	QIIHKSDV	9

Tabla XXXII-V4-HLA-B2709-  
9meros :STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:9 se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
1	RKQFGLLSL	15
5	GLLSLFFAV	14
2	KQFGLLSLF	12
6	LLSLFFAVL	10
9	LFFAVLHAI	10
3	QFGLLSLFF	9

Tabla XXXIII-V1-HLA-B4402-  
9meros :STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
53	DEFDCPSEL	24
59	SELQHTQEL	23
216	MEIYVSLGI	22
85	QELFPQWHL	21
294	AVFLPIVVL	21
78	AAIASLTF	18
133	GVIAAIVQL	18
262	LLGTIHAL	18
269	ALIFAWNKW	18
23	EEDDYLHKD	17
79	AIASLTFL	17
82	ASLTFLYTL	17
156	KWMLTRKQF	17
172	AVLHAIYSL	17
224	IVGLAILAL	17
275	NKWIDIKQF	17
5	KDITNQEEL	16
36	SMLKRPVLL	16
219	YVSLGIVGL	16
255	SKLGIVSLL	16
295	VFLPIVVL	16
302	LIFKSILFL	16
305	KSILFLPCL	16
11	EELWKMKPR	15
38	LKRPVLLHL	15
76	KIAAIASL	15
104	QYFYKIPIL	15
110	PILVINKVL	15

Tabla XXXII-V1-HLA-B4402-  
9meros :STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
118	LPMVSITLL	15
120	MVSITLLAL	15
122	SITLLALVY	15
130	YLPGVIAAI	15
162	KQFGLLSFF	15
180	LSYPMRRSY	15
185	RRSYRYKLL	15
204	KEDAWIEHD	15
248	REFHYIQSK	15
254	QSKLGIVSL	15
266	TIHALIFAW	15
278	IDIKQFVWY	15
289	PTFMIAVFL	15
301	VLIFKSILF	15
316	KILKIRHGW	15
1	MESRKDITN	14
35	TSMKRPVL	14
72	HLPIKIAAI	14
90	LLREVIHPL	14
92	REVIHPLAT	14
99	ATSHQQYFY	14
123	ITLLALVYL	14
142	HNGTKYKKF	14
149	KFPHWLDKW	14
169	FFFAVLHAI	14
222	LGIVGLAIL	14
225	VGLAILALL	14
242	SDSLTWREF	14
249	EFHYIQSKL	14
288	PPTFMIAVF	14
310	LPCLRKKIL	14
14	WKMKPRRNL	13
30	KDTGETSML	13
33	GETSMKRP	13
60	ELQHTQELF	13
73	LPIKIAAI	13
106	FYKIPILVI	13
117	VLPMSITLL	13
127	ALVYLPGLV	13
139	VQLHNGTKY	13
146	KYKKFPHWL	13
166	LLSFFFAVL	13
182	YPMRRSYRY	13
187	SYRYKLLNW	13
189	RYKLLNWAY	13
200	VQQNKEDAW	13
214	WRMEIYVSL	13
256	KLGIIVSLL	13
291	FMIAVFLPI	13
296	FLPIVVLIF	13
299	IVVLIFKSI	13
309	FLPCLRKKI	13
312	CLRKKILKI	13
331	NKTEICSQL	13

Tabla XXXIII-V1-HLA-B4402-  
9meros :STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 9 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
6	DITNQEELW	12
10	QEELWKMKP	12
22	LEEDDYLHK	12
63	HTQELFPQW	12
80	IIASLTFLY	12
83	SLTFLYTL	12
97	PLATSHQQY	12
159	LTRKQFGLL	12
161	RKQFGLLSF	12
184	MRRSYRYKL	12
209	IEHDVWRME	12
210	EHDVWRMEI	12
221	SLGIVGLAI	12
237	SIPSVSDSL	12
239	PSVSDSLTW	12
244	SLTWREFHY	12
251	HYIQSKLGI	12
259	IVSLLGLTI	12
264	LGTIHALIF	12
270	LIFAWNKW	12
277	WIDIKQFVW	12
283	FVWYTPPTF	12
285	WYTPPTFMI	12
324	WEDVTINK	12
19	RRNLEEDDY	11
20	RNLEEDDYL	11
47	HQTAHADEF	11
69	PQWHLPIKI	11
87	LYTLLREVI	11
101	SHQQYFYKI	11
115	NKMLPMVSI	11
145	TKYKKFPHW	11
151	PHWLDKWM	11
158	MLTRKQFGL	11
163	QFGLLSFFF	11
174	LHAIYSLSY	11
206	DAWIEHDVW	11
211	HDVWRMEIY	11
230	LALLAVTSI	11
245	LTWREFHYI	11
283	LLGTIHALI	11
300	VVLIFKSIL	11

Tabla XXXIII-V2-HLA-B4402-  
9meros :STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº:5; se  
especifica cada posición inicial, la longitud del  
péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final  
para cada péptido es la posición inicial más  
ocho.

Pos	123456789	puntuación
3	REFHYIQVN	16
5	FHYIQVNNI	10

Tabla XXXIII-V3-B4402-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
2	REFHYIQI	23
17	PESLWDPCL	22
23	PCLTRFKGL	16
20	LWDPCLTRF	15
12	KKSDVPESL	14
13	KSDVPESLW	13
26	TRFKGLNLI	13
25	LTRFKGLNL	11

Tabla XXXIII-V4-HLA-B4402-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
2	KQFGLLSLF	16
6	LLSLFFAVL	14
9	LFFAVLHAI	14
1	RKQFGLLSL	12
3	QFGLLSLFF	12

Tabla XXXIV-V1-B5101-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
230	LALLAVTSI	27
109	IPILVINKY	26
293	IAVFLPIVV	25
73	LPIKIAAI	24
126	LALVYLPV	24
272	FAWNKWIDI	24
322	HGWEDVTKI	24
233	LAVTSIPSV	23
227	LAILALLAV	22
287	TPPTFMIAV	22
118	LPMVSITLL	21
131	LPGVIAAIV	21
310	LPCLRRKIL	19
206	DAWIEHDVV	18
105	YFYKIPILV	17
130	YLPGVIAAI	17
225	VGLAILALL	17
86	FLYTLREVI	16
103	QQYFYKIP	16
106	FYKIPILV	16

Tabla XXXIV-V1-B5101-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
135	IAAIVQLHN	16
169	FFFVLAHAI	16
195	WAYQQVQQN	16
270	LIFAWNKIWI	16
291	FMAVFLPI	16
285	VFLPIVLI	16
297	LPIVLIFFK	16
312	CLRQKILKI	16
69	PQWHLPIKI	15
81	IASLTFLYT	15
87	LYTLREVI	15
212	DVWRMEIYV	15
222	LGIVGLAIL	15
259	IVSLLGTI	15
288	PPTFMIAVF	15
309	FLPCLRRKI	15
57	CPSELQHTQ	14
67	LFPQWHLPI	14
96	HPLATSHQQ	14
101	SHQQYFYKI	14
127	ALVYLPVVI	14
216	MEIYVSLGI	14
217	EIYVSLGIV	14
245	LTWREFHYI	14
299	IVVLIFFKI	14
38	LKRPVLIHL	13
53	DEFDCPSEL	13
72	HLPIKIAAI	13
77	IAAIIASLT	13
78	AAIIASLTF	13
90	LLREVIHPL	13
110	PILVINKVL	13
113	VINKVLPV	13
117	VLPVMSITL	13
171	FAVLHAIYS	13
182	YPMRRSYRY	13
221	SLGIVGLAI	13
238	IPSVSDSLT	13
262	LLGTIHAL	13
263	LLGTIHAL	13
268	HALIFAWNK	13
302	LIFKSIILFL	13

Tabla XXXIV-V2-HLA-B5101-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
5	FHYIQVNNI	18
2	WREFHYIQV	9

Tabla XXXIV-V3-HLA-B5101-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
22	DPCLTRFKG	17
26	TRFKGLNLI	15
2	REFHYIQI	13
1	WREFHYIQI	11
16	VPESLWDP	11
23	PCLTRFKGL	11
12	KKSDVPESL	10
25	LTRFKGLNL	10
8	QIIHKKSDV	9
15	DVPESLWDP	9
4	FHYIQIHK	8

Tabla XXXIV-V4-B5101-9meros:  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 9 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más ocho.

Pos	123456789	puntuación
9	LFFAVLHAI	17
6	LLSLFFAVL	12
4	FGLLSLFFA	11
5	GLLSLFFAV	11
1	RKQFGLLSL	8

Tabla XXXV-V1-HLA-A1-  
9meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
277	WIDIKQFWY	28
121	VSITLLALVY	27
210	EHQVWRMEIY	25
173	VLHAIYSLSY	23
179	SLSYPMRRSY	19
243	DSLWREFHY	19
79	AAIASLTFLY	18
138	IVQLHNGTKY	18
188	YRYKLLNWAY	18
21	NLEEDDYLHK	17
181	SYPMRRSYRY	17
54	EFDPCSELQH	16
91	LREVIHPLAT	16
169	FFFVLAHAIY	16
215	RMEIYVSLGI	16
288	YTPPTFMIAV	16
18	PRRNLEEDDY	15



**Tabla XXXV-V1-HLA-A1-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
96	HPLATSHQQY	15
98	LATSHQQYFY	15
159	LTRKQFGLLS	15
241	VSDSLTWREF	15
31	DTGETSMLKR	14
58	PSELQHTQEL	14
323	GWEDVTKINK	14
88	YTLREVIHP	13
220	VSLGIVGLAI	13

**Tabla XXXV-V2-HLA-A1-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
2	WREFHYIQVN	11

**Tabla XXXV-V3-HLA-A1-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
14	KSDVPESLWD	20
21	LWDPCLTRFK	14
17	VPESLWDPCL	11
2	WREFHYIQII	10
19	ESLWDPCLTR	10

**Tabla XXXV-V4-HLA-A1-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
10	LFFAVLHAIY	15
8	LSLFFAVLHA	11
3	KQFGLLSLFF	7

**Tabla XXXVI-V1-A0201-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de

10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
232	LLAVTSIPSV	31
125	LLALVYLPV	30
261	SLLGTHIAL	30
226	GLAILALLAV	29
221	SLGIVGLAIL	28
229	ILALLAVTSI	28
89	TLLREVIHPL	27
223	GIVGLAILAL	27
301	VLIFKSILFL	27
108	KIPILVINKV	26
130	YLPGVIAAIV	26
262	LLLGTHIALI	26
291	FMIAVFLPIV	26
117	VLPMSITLL	25
122	SITLLALVYL	25
165	GLLSFFFAVL	25
37	MLKRPVLLHL	24
81	IASLTFLYTL	23
112	LVINKVLPV	23
191	KLINWAYQQV	23
258	GIVSLLGTI	23
75	IKIAIIASL	22
78	AAIIASLTL	22
171	FAVLHAIYSI	22
224	IVGLAILALL	22
111	ILVINKVLP	21
116	KVLPMSITL	21
119	PMVSITLLAL	21
157	WMLTRKQFGL	21
293	IAVFLPIVVL	21
294	AVFLPIVVL	21
72	HLPIKIAAI	20
86	FLYTLLREVI	20
120	MVSITLLALV	20
129	VYLPGVIAAI	20
244	SLTWREFHYI	20
253	IQSKLGIVSL	20
269	ALIFAWNKI	20
292	MAVFLPIVV	20
309	FLPCLRKIL	20
66	ELFPQWHLPI	19
71	WHLPKIAAI	19
90	LLREVIHPLA	19
158	MLTRKQFGLL	19
218	IYVSLGIVGL	19
286	YTPPTFMIAV	19
307	ILFLPCLRKK	19
43	LLHLHQTAAH	18
183	PMRRSRYKL	18
227	LAILALLAVT	18
7	ITNQEELWKM	17
36	SMLKRPVLLH	17
80	IIASLTFLYT	17
85	TFLYTLLREV	17
127	ALVYLPGVIA	17
215	RMEIYVSLGI	17
255	SKLGIVSLLL	17
105	YFYKIPILVI	16
126	LALVYLPVGI	16

**Tabla XXXVI-V1-A0201-  
meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
128	LVYLPGVIAA	16
168	SFFFAVLHAI	16
228	AILALLAVTS	16
236	TSIPSVSDSL	16
251	HYIQSKLGIV	16
256	KLGVLSLLLG	16
299	IVVLIFKSIL	16
304	FKSILFLPCL	16
329	KINKTEICSQ	16
76	KIAIIASLT	15
103	QQYFYKIPIL	15
213	VWRMEIYVSL	15
216	MEIYVSLGIV	15
220	VSLGIVGLAI	15
296	FLPIVVLIFK	15
302	LIFKSILFLP	15
308	LFLPCLRKIL	15

**Tabla XXXVI-V2-HLA-A0201-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
1	TWREFHYIQV	12
4	EFHYIQVNNI	9

**Tabla XXXVI-V3-HLA-A0201-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
25	CLTRFKGLNL	20
20	SLWDPCLTRF	18
26	LTRFKGLNLI	18
8	IQIHKKSDV	14
10	IIHKKSDVPE	12
7	YIQIHKKSD	11
12	HKKSDVPESL	11
17	VPESLWDPCL	11
1	TWREFHYIQI	10
2	WREFHYIQII	10
9	QIHKKSDVP	10
5	FHYIQIHKK	9
23	DPCLTRFKGL	9

**Tabla XXXVI-V4-HLA-A0201-**

## 10 meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
9	SLFFAVLHAI	26
6	GLLSLFFAVL	25
1	TRKQFGLLSL	16
5	FGLLSLFFAV	14
7	LLSLFFAVLH	14
8	LSLFFAVLHA	12

## Tabla XXXVII-V1-HLA-A0202-10 meros:STEAP-1

Pos	1234567890	puntuación
No se encuentran resultados.		

## Tabla XXXVII-V2-HLA-A0202-10 meros:STEAP-1

Pos	1234567890	puntuación
No se encuentran resultados.		

## Tabla XXXVII-V3-HLA-A0202-10 meros:STEAP-1

Pos	1234567890	puntuación
No se encuentran resultados.		

## Tabla XXXVII-V4-HLA-A0202-10 meros:STEAP-1

Pos	1234567890	puntuación
No se encuentran resultados.		

## Tabla XXXVIII-V1-HLA-A0203-10 meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
70	QWHLPIKIAA	19
128	LVYLPGVIAA	19
43	LLHLHQTAAH	18
71	WHLPIKIAAI	17
129	VYLPGVIAAI	17
41	PVLLHLHQTAA	10
69	PQWHLPIKIA	10
73	LPIKIAAIIA	10
90	LLREVIHPLA	10
118	LPMVYSITLLA	10
127	ALVYLPGVIA	10
163	QFGLLSFFFA	10
167	LSFFFAVLHA	10
187	SYRYKLLNWA	10
198	QQVQNKEDA	10
219	YVSLGIVGLA	10
222	LGIVGLAILA	10
225	VGLAILALLA	10
260	VSLLLGTIHA	10

## Tabla XXXVIII-V1-HLA-A0203-10 meros:STEAP-1

264	LGTHALIFA	10
285	WYTPPTFMIA	10
42	VLLHLHQTAAH	9
44	LHLHQTAAHAD	9
74	PIKIAAIAS	9
91	LREVIHPLAT	9
119	PMVYSITLLAL	9
164	FGLLSFFFAV	9
168	SFFFAVLHAI	9
188	YRYKLLNWAY	9
199	QVQNKEDAW	9
220	VSLGIVGLAI	9
223	GIVGLAILAL	9
226	GLAILALLAV	9
261	SLLLGTHIAL	9
265	GTHALIFAW	9
286	YTPPTFMIAV	9

## Tabla XXXVIII-V2-HLA-A0203-10 meros:STEAP-1

Pos	123456789	puntuación
No se encuentran resultados.		

## Tabla XXXVIII-V3-HLA-A0203-10 meros:STEAP-1

Pos	123456789	puntuación
No se encuentran resultados.		

## Tabla XXXVIII-V4-HLA-A0203-10 meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
4	QFGLLSFFFA	10
8	LSLFFAVLHA	10
5	FGLLSLFFAV	9
9	SLFFAVLHAI	9
6	GLLSLFFAVL	8
10	LFFAVLHAIV	8

## Tabla XXXIX-V1-HLA-A3-10 meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
137	AIVQLHNGTK	26
228	AILALLAVTS	26
21	NLEEDDYLHK	24
306	SILFLPCLRK	24
6	DITNQEELWK	23
93	EVIHPLATSH	23

## Tabla XXXIX-V1-HLA-A3-10 meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
138	IVQLHNGTKY	23
140	QLHNGTKYKK	23
173	VLHAIYSLSY	23
307	ILFLPCLRRK	23
79	AIASLTFLY	22
116	KVLPMVYSITL	22
320	IRHGWEDEVTK	22
153	WLDKWMLTRK	21
166	LLSFFFAVLH	21
259	IVSLLGTIHI	21
296	FLPIVVLIFK	21
76	KIAAIASLT	20
127	ALVYLPGVIA	20
176	AIYSLSYPMR	20
179	SLSYPMRRSY	20
263	LLGTIHALIF	20
277	WIDIKQFVWY	20
86	FLYTLLREVI	19
121	VSITLLALVY	19
133	GVIAAIVQLH	19
165	GLLSFFFAVL	19
191	KLLNWAYQQV	19
217	EIVVSLGIVG	19
234	AVTSIPSVSD	19
42	VLLHLHQTAAH	18
83	SLTFLYTLIR	18
130	YLPGVIAAIV	18
172	AVLHAIYSLS	18
294	AVFLPIVVL	18
319	KIRHGWEDEV	18
27	YLHKDTGETS	17
37	MLKRPVLLHL	17
41	PVLLHLHQTAA	17
72	HLPIKIAAI	17
124	TLLALVYLP	17
212	DVWRMEIYVS	17
229	ILALLAVTSI	17
231	ALLAVTSIPS	17
256	KLIVSLLLG	17
262	LLLGTHIALI	17
267	IHALFAWNK	17
269	ALIFAWNKWI	17
300	VVLFKSILF	17
312	CLRRKKILIR	17
317	ILKIRHGWEDEV	17
30	KDTGETSMLK	16
66	ELFPQWHLPI	16
107	YKIPILVINK	16
111	ILVINKVLP	16
128	LVYLPGVIAA	16
224	IVGLAILALL	16
226	GLAILALLAV	16
299	IVVLFKSIL	16
301	VLFKSILFL	16

**Tabla XXXIX-V1-HLA-A3-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
N°3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 10 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
77	IAAIIASLTF	15
89	TLLREVIHPL	15
97	PLATSHQQYF	15
112	LVINKVLP	15
180	LSYPMRRSYR	15
221	SLGIVGLAIL	15
252	YIQSKLGIVS	15
261	SLLGTIHAL	15
316	KILKIRHGWE	15
43	LLHLHQTAHA	14
80	IIASLTFLYT	14
90	LLREVIHPLA	14
94	VIHPLATSHQ	14
110	PILVINKVLP	14
113	VINKVLP	14
120	MVSITLLALV	14
122	SITLLALVYL	14
134	VIAAIVQLHN	14
147	YKFFPHWLDK	14
152	HWLDKWMLTR	14
158	MLTRKQFGLL	14
186	RSYRYKLLNW	14
192	LLNWAYQQVQ	14
195	WAYQQVQQNK	14
223	GIVGLAILAL	14
266	TIHALIFAWN	14
292	MAIVFLPIV	14
45	HLHQTAHADE	13
60	ELQHTQELFP	13
96	HPLATSHQQY	13
99	ATSHQQYFYK	13
182	YPMRRSYRYK	13
199	QVQONKEDAW	13
232	LLAVTSIPSV	13
258	GIVSLLGTI	13
279	DIKQFVWYTP	13
329	KINKTEICSQ	13
8	TNQEELWKMK	12
75	IKIAAIIASL	12
92	REVIHPLATS	12
108	KIPILVINKV	12
125	LLALVYLP	12
139	VQLHNGTKYK	12
219	YVSLGIVGLA	12
237	SIPSVSDSLT	12
240	SVSDSLTWRE	12
247	WREFHYIQSK	12
283	FWWYTPPTFM	12
295	VFLPIVVLIF	12
305	KSILFLPCLR	12

**Tabla XXXIX-V2-HLA-A3-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
N°5;

**Tabla XXXIX-V2-HLA-A3-  
10meros:STEAP-1**

se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 10  
aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
nueve.

Pos	1234567890	puntuación
3	REFHYIQVNN	8
1	TWREFHYIQV	7
2	WREFHYIQVN	4

**Tabla XXXIX-V3-HLA-A3-  
10meros:  
STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
N°5; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 10 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
25	CLTRFKGLNL	19
9	QIIHKKSDVP	17
20	SLWDPCLTRF	17
5	FHYIQIIHKK	15
10	IIHKKSDVPE	14
19	ESLWDPCLTR	13
21	LWDPCLTRFK	13
7	YIQIIHKKSD	11
16	DVPESLWDPC	11
4	EFHYIQIIHK	10
28	RFKGLNLIQS	10
8	IQIIHKKSDV	9

**Tabla XXXIX-V4-A3-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
N°9; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 10 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
7	LLSLFFAVLH	22
6	GLLSLFFAVL	19
3	KQFGLLSLFF	12
9	SLFFAVLHAI	12
2	RKQFGLLSLF	11
10	LFFAVLHAIY	11

**Tabla XL-V1-HLA-A26-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
N°3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 10 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
277	WIDIKQFVWY	26
34	ETSMKRPVL	25
223	GIVGLAILAL	25

**Tabla XL-V1-HLA-A26-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID  
N°3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 10 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
7	ITNQEELWK	24
31	DTGETSMLKR	23
122	SITLLALVYL	23
224	IVGLAILALL	23
37	MLKRPVLLHL	22
79	AIASLTFLY	22
165	GLLSPPFAVL	22
295	VFLPIVVLIF	22
301	VLIFKSILFL	22
117	VLPVMSITLL	21
138	IVQLHNGTKY	21
210	EHDVWRMEIY	21
221	SLGIVGLAIL	21
261	SLLGTIHAL	21
89	TLLREVIHPL	20
97	PLATSHQQYF	20
111	ILVINKVLP	20
116	KVLPVMSITL	20
158	MLTRKQFGLL	20
212	DVWRMEIYVS	20
300	VLIFKSILF	20
93	EVHPLATSH	19
169	FFFAVLHAIY	19
173	VLHAIYSLSY	19
179	SLSYPMRRSY	19
299	IVVLIFKSIL	19
66	ELFPQWHLPI	18
112	LVINKVLP	18
263	LLGTIHALIF	18
279	DIKQFVWYTP	18
283	FWWYTPPTFM	18
286	YTPPTFMIAV	18
326	DVTINKTEI	18
84	LFLYTLURE	17
133	GIVAAIVQLH	17
141	LHNGTKYKFF	17
144	GTKYKFFPHW	17
155	DKWMLTRKQF	17
160	TRKQFGLLSF	17
176	AYSLSYPMR	17
207	AWIEHDVWRM	17
243	DSLWREFHY	17
265	GTIHALIFAW	17
282	QFVWYTPPTF	17
294	AVFLPIVVLJ	17
302	LIFKSILFLP	17
309	FLPCLRKIL	17
6	DITNQEELWK	16
12	ELWKMKPRRN	16
74	PIKIAAIIAS	16
75	IKIAAIIASL	16
80	IIASLTFLYT	16
108	KIPILVINKV	16
217	EIVVSLGIVG	16

Tabla XL-V1-HLA-A26-  
10meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 10 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
274	WNKWIDIKQF	16
287	TPPTFMIAVF	16
289	PTFMIAVFLP	16
329	KINKTEICSQ	16
21	NLEEDDYLHK	15
88	YTLEREVIHP	15
120	MVSITLLALV	15
125	LLALVYLPV	15
128	LVYLPGVIAA	15
149	KFPHWLDKWM	15
153	WLDKWMLTRK	15
161	RKQFGLSFF	15
172	AVLHAIYSL	15
218	IYVSLGIVGL	15
232	LLAVTSIPSV	15
235	VTSIPSVSDS	15
253	IQSKLGIVSL	15
258	GIVSLLGTI	15
266	TIHALIFAWN	15
298	PIVVLIFKSI	15
307	ILFLPCLRKK	15
54	EFDCPSELQH	14
60	ELQHTQELFP	14
78	AAIASLTFL	14
94	VIHPLATSHQ	14
99	ATSHQQYFYK	14
119	PMVSITLLAL	14
123	ITLLALVYLP	14
132	PGVIAAIVQL	14
162	KQFGLLSFFF	14
191	KLLNWAYQQV	14
213	VWRMEIYVSL	14
219	YVSLGIVGLA	14
226	GLAILALLAV	14
229	ILALLAVTSI	14
254	QSKLGIVSLL	14
63	HTQELFPQWH	13
67	LFQQWHLPIK	13
103	QQYFYKIPIL	13
168	SFFFAVLHAI	13
171	FAVLHAIYSL	13
184	MRRSYRYKLL	13
234	AVTSIPSVSD	13
236	TSIPSVSDSL	13
237	SIPSVSDSLT	13
241	VSDSLTWREF	13
293	IAVFLPIVVL	13
296	FLPIVVLIFK	13
304	FKSILFLPCL	13
312	CLRKKILKIR	13
76	KIAAIASLT	12
81	IASLTFLYTL	12
82	ASLTFLYTL	12
96	HPLATSHQQY	12

Tabla XL-V1-HLA-A26-  
10meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 10 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
113	VINKVLPVMS	12
121	VSITLLALVY	12
124	TLLALVYLP	12
130	YLPGVIAAIV	12
134	VIAAIVQLHN	12
181	SYPMRRSYRY	12
188	YRYKLLNWAY	12
199	QVQNKEDAW	12
240	SVSDSLTWRE	12
244	SLTWREFHYI	12
248	REFHYIQSKL	12
249	EFHYIQSKLG	12
256	KLIVSLLLG	12
270	LIFAWNKWID	12
303	IFKSILFLPC	12

Tabla XL-V2-HLA-A26-  
10meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:5; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 10 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
4	EFHYIQVNNI	17
1	TWREFHYIQV	7

Tabla XL-V3-HLA-A26-  
10meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:7; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 10 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
20	SLWDPCLTRF	24
16	DVPESLWDPC	19
23	DPCLTRFKGL	19
4	EFHYIQIHK	17
25	CLTRFKGLNL	17
28	LTRFKGLNLI	14
28	RFKGLNIQS	14
9	QIHKKSDVP	12
10	IHKKSDVPE	12
7	YIQIHKKSD	11
12	HKKSDVPESL	11

Tabla XL-V4-A26-  
10meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:9; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de

10 aminoácidos, y la posición final para  
cada péptido es la posición inicial más  
nueve.

Pos	1234567890	puntuación
6	GLLSLFFAVL	22
10	LFFAVLHAIY	19
1	TRKQFGLSL	15
2	RKQFGLSLF	15
9	SLFFAVLHAI	15
3	KQFGLSLFF	14
4	QFGLSLFFA	10

Tabla XLI-V1-HLA-B0702-  
10meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID  
Nº:3; se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 10 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
288	PPTFMIAVFL	23
109	IPILVINKVL	22
118	LPMVSITLLA	20
150	FPHWLDKWM	20
287	TPPTFMIAVF	18
40	RPVLLHLHQT	17
73	LPIKIAAIIA	17
34	ETSMKRPVL	16
68	FPQWHLPIKI	16
253	IQSKLGIVSL	16
223	GIVGLAILAL	15
236	IPSVSDSLTW	15
78	AAIASLTFL	14
213	VWRMEIYVSL	14
255	SKLGIVSLL	14
293	IAVFLPIVVL	14
17	KPRRNLEEDD	13
35	TSMKRPVLL	13
57	CPSELQHTQE	13
75	IKIAAIIASL	13
81	IASLTFLYTL	13
82	ASLTFLYTL	13
119	PMVSITLLAL	13
165	GLLSFFFAVL	13
183	PMRRSYRYKL	13
218	IYVSLGIVGL	13
224	IVGLAILALL	13
301	VLIFKSILFL	13
304	FKSILFLPCL	13
4	RKDTITNQEEL	12
29	HKDTGETSML	12
37	MLKRPVLLHL	12
52	ADEFDCPSEL	12
116	KVLPVMSITL	12
122	SITLLALVYL	12
131	LPGVIAAIVQ	12
132	PGVIAAIVQL	12
184	MRRSYRYKLL	12
221	SLGIVGLAIL	12
13	LWKMKPRRNL	11
19	RRNLEEDDYL	11
58	PSELQHTQEL	11



**Tabla XLI-V1-HLA-B0702-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
66	ELFPQWHLPI	11
80	IIASLTFLY	11
89	TLLREVIHPL	11
96	HPLATSHQQY	11
103	QQYFYKIPIL	11
111	ILVINKVLP	11
117	VLPMSITLL	11
145	TKYKKFPHWL	11
158	MLTRKQFGLL	11
182	YPMRRSYRYK	11
220	VSLGIVGLAI	11
236	TSIPSVSDSL	11
248	REFHYIQSKL	11
254	QSKLGIVSLI	11
261	SLLGTIHAL	11
290	TFMIAVFLPI	11
294	AVFLPIVVI	11
299	IVLIFKSIL	11
330	INKTEICSQL	11

**Tabla XLI-V2-HLA-B0702-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID P°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
1	TWREFHYIQV	8
4	EFHYIQVNNI	8
3	REFHYIQVNN	3

**Tabla XLI-V3-HLA-B0702-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
17	VPESLWDPCL	21
23	DPCLTRFKGL	21
25	CLTRFKGLNL	12
12	HKKSDVPESL	10

**Tabla XLI-V4-HLA-B0702-  
10meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID P°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, la posición final para cada péptido es

**Tabla XLI-V4-HLA-B0702-  
10meros:STEAP-1**

la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
6	GLLSLFFAVL	13
1	TRKQFGLLSL	12
3	KQFGLLSLFF	12
8	LSLFFAVLHA	9
4	QFGLLSLFFA	8
5	FGLLSLFFAV	8
2	RKQFGLLSLF	7
9	SLFFAVLHA	7

**Tabla XLII-V1-HLA-B08-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLII-V2-HLA-B08- 10meros:  
STEAP-1**

Pos 123456789 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLII-V3-HLA-B08-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLII-V4-HLA-B08-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados

**Tabla XLIII-V1-HLA-B1510-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLIII-V2-HLA-B1510-  
10meros:  
STEAP-1**

Pos 123456789 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLIII-V3-HLA-B1510-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLIII-V4-HLA-B1510-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLIV-V1-HLA-B2705-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLIV-V2-HLA-B2705-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLIV-V3-HLA-B2705-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLIV-V4-HLA-B2705-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLV-V1-HLA-B2709-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados

**Tabla XLV-V2-HLA-B2709-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLV-V3-HLA-B2709-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLV-V4-HLA-B2709-  
10meros:STEAP-1**

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

**Tabla XLVI-V1-HLA-  
B4402:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
59	SELQHTQELF	23
248	REFHYIQSKL	23
209	IEHDVWRMEI	20
261	SLLGTIHAL	19
79	AIASLTFLY	18
148	KKFPHWLDKW	18
265	GTIHALIFAW	18
71	WHLPKIAAI	17
78	AAIASLTFL	17
109	IPILVINKVL	17
116	KVLPMSITL	17
121	VSITLLALVY	17
129	VYLPGVIAAI	17
223	GIVGLAILAL	17
294	AVFLPIVVI	17
301	VLIFKSILFL	17
315	KKILKIRHGW	17
5	KDITNQEELW	16
23	EEDDYLHKDT	16
66	ELFPQWHLPI	16
75	IKIAAIASL	16
82	ASLTFLYTLL	16
89	TLLREVIHPL	16



Tabla XLVI-V1-HLA-B4402:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
236	TSIPSVSDSL	16
269	ALIFAWNKIWI	16
274	WNKWDIKQF	16
276	KWIDIKQFVW	16
287	TPPTFMIAVF	16
295	VFLPIVVLIF	16
308	LFLPCLRKKI	16
324	WEDVTKINKT	16
1	MESRKDITNQ	15
34	ETSMKRPVL	15
35	TSMLKRPVLL	15
117	VLFPMVSTLL	15
132	PGVIAAIVQL	15
168	SFFFAVLHAI	15
253	IQSKLGIVSL	15
255	SKLGIVSLLL	15
293	IAVFLPIVVL	15
311	PCLRKIKIKI	15
22	LEEDDYLHKD	14
52	ADEFDCPSEL	14
53	DEFDCPSELQ	14
81	IASLTFLYTL	14
119	PMVSTLLAL	14
122	SITLLALVYL	14
141	LHNGTKYKFF	14
155	OKWMLTRKQF	14
162	KQFGLLSFFF	14
171	FAVLHAIYSL	14
179	SLSYPMRRSY	14
216	MEIYVSEGIV	14
218	IYVSLGIVGL	14
10	QEELWKMKPR	13
11	EELWKMKPRR	13
29	HKDTGETSML	13
37	MLKRPVLLHL	13
65	QELFPQWHLP	13
103	QQFYKIPIL	13
105	YFYKIPILVI	13
158	MLTRKQFGLL	13
165	GLLSFFFAVL	13
183	PMRRSYRYKL	13
184	MRRSYRYKLL	13
186	RSYRYKLLNW	13
204	KEDAWIEHDV	13
205	EDAWIEHDVW	13
210	EHDVWRMEIY	13
220	VSLGIVGLAI	13
224	IVGLAILALL	13
238	IPSVSDSLTW	13
254	QSKLGIVSLL	13
263	LLGTIHALIF	13
268	HALIFAWNKW	13
277	WIDIKQFVWY	13
300	VVLIFKSILF	13

Tabla XLVI-V1-HLA-B4402:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
309	FLPCLRKIKI	13
13	LWKMKPRRNL	12
46	LHQTAAHDEF	12
58	PSEIQTQOEL	12
62	QHTQELFPQW	12
77	IAAIIASLTF	12
92	REVIHPLATS	12
96	HPLATSHQQY	12
138	IVQLHNGTKY	12
145	TKYKKFPHWL	12
157	WMLTRKQFGL	12
160	TRKQFGLLSF	12
169	FFFAVLHAIY	12
181	SYPMRRSYRY	12
188	YRYKLLNWAY	12
199	QVQONKEDAW	12
221	SLGIVGLAIL	12
241	VDSLWTWREF	12
243	DSLWTWREFHY	12
282	QFVWYTPPTF	12
288	PPTFMIAVFL	12
304	FKSILFLPCL	12
330	JNKTEICSQL	12
4	RKDITNQEEL	11
18	PRRNL EDDY	11
19	RRNL EDDYL	11
33	GETSMKRPV	11
64	QELFPQWHL	11
68	FPQWHLPKI	11
86	FLYTLLREVI	11
97	PLATSHQQYF	11
126	LALVYLPQVI	11
144	GTYKKFPHW	11
161	RKQFGLLSFF	11
173	VLHAIYSLSY	11
213	VWRMEIYVSL	11
244	SLTWREFHYI	11
262	LLGTIHALI	11
290	TFMIAVFLPI	11
298	PIVVLIFKSI	11
299	IVVLIFKSIL	11

Tabla XLVI-V2-HLA-B4402-10meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
3	REFHYIQVNN	13
4	EFHYIQVNNI	12

Tabla XLVI-V3-HLA-B4402-10meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
13	KKSDVPESLW	14
18	PESLWDPCLT	14
23	DPCLTRFKGL	14
3	REFHYIQIHH	13
20	SLWDPCLTRF	13
25	CLTRFKGLNL	12
2	WREFHYIQII	11
12	HKKSDVPESL	11
26	LTRFKGLNLI	11
1	TWREFHYIQI	10
17	VPESLWDPCL	10
4	EFHYIQIHHK	6
6	HYIQIHHKKS	6
21	LWDPCLTRFK	6

Tabla XLVI-V4-B4402-10meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 10 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más nueve.

Pos	1234567890	puntuación
3	KQFGLLSLFF	15
9	SLFFFAVLHAI	15
6	GLLSLFFAVL	13
1	TRKQFGLLSL	12
2	RKQFGLLSL	12
10	LFFFAVLHAIY	12
5	FGLLSLFFAV	5
7	LLSLFFFAVLH	5

Tabla XLVII-V1-HLA-B5101-10meros:STEAP-1

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

Tabla XLVII-V2-HLA-B5101-10meros:STEAP-1

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

Tabla XLVII-V3-HLA-B5101-10meros:STEAP-1

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

Tabla XLVII-V4-HLA-B5101-10meros:STEAP-1

Pos 1234567890 puntuación  
No se encuentran resultados.

Tabla XLVIII-V1-HLA-DRB10101-

15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
168	SFFFAVLHAIYSLSY	34
125	LLALVYLPGVIAAIV	33
226	GLAILALLAVTSIPS	32
111	ILVINKVLPVMSITL	31
128	LVYLPGVIAAIVQLH	30
216	MEIYVSLGIVGLAIL	30
261	SLLGTIHALIFAWN	30
106	FYKIPILVINKVLP	28
114	INKVLPVMSITLLAL	28
229	ILALLAVTSIPSVSD	28
70	QWHLPIKIAAIIASL	27
161	RKQFGLSFFFAVLH	27
213	VWRMEIYVSLGIVGL	27
224	IVGLAILALLAVTSI	27
25	DDYLHKDTGETSMLK	26
103	QQYFYKIPILVINKV	26
120	MVSIITLLALVYLP	26
157	WMLTRKQFGLSFF	26
219	YVSLGIVGLAILALL	26
227	LAILALLAVTSIPSV	26
257	LGIVSLLGTIHALI	26
296	FLPIVVLIFKSILFL	26
324	WEDVTIKNKTEICSQ	26
123	ITLLALVYLPGVIAA	25
221	SLGIVGLAILALLAV	25
256	KLGIIVSLLGTIHAL	25
280	IKQFVWYTPPTFMIA	25
298	PIVVLIFKSILFLPC	25
307	ILFLPCLRKIKILIR	25
71	WHLPIKIAAIIASLT	24
81	IASLTFLYTLREVI	24
84	LTFLYTLREVIHPL	24
88	YTLLREVIHPLATSH	24
102	HQQYFYKIPILVINK	24
115	NKVLPVMSITLLALV	24
250	FHYIQSKLGIVSLL	24
258	GIVSLLGTIHALIF	24
282	QFVWYTPPTFMIAVF	24
286	YTPPTFMIAVFLPIV	24
293	IAVFLPIVVLIFKSI	24
297	LPIVVLIFKSILFLP	24
10	QEELWKMMPRRNLEE	23
41	PVLLHLHQTAAHDEF	23
75	IKIAAIIASLTFLYT	23
117	VLPVMSITLLALVYL	23
210	EHVWRMEIYVSLGI	23
247	WREFHYIQSKLGIVS	23
281	KQFVWYTPPTFMIAV	23
64	TQELFPQWHLPIKIA	22
74	PIKIAAIIASLTFLY	22
92	REVIHPLATSHQQYF	22
108	KIPILVINKVLPVMS	22
160	TRKQFGLSFFFAVL	22
218	IYVSLGIVGLAILAL	22
223	GIVGLAILALLAVTS	22

Tabla XLVIII-V1-HLA-DRB10101-  
15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
289	PTFMIAVFLPIVLI	22
290	TFMIAVFLPIVLI	22
11	EELWKMMPRRNLEE	21
56	DCPSELQHTQELFPQ	21
211	HDVWRMEIYVSLGIV	21
232	LLAVTSIPSVSDSLT	21
288	PPTFMIAVFLPIVLI	21
72	HLPIKIAAIIASLTF	20
85	TFLYTLREVIHPLA	20
109	IPILVINKVLPVMSI	20
171	FAVLHAIYSLSYPMR	20
185	RDSYRYKLLNWAYQQ	20
187	SYRYKLLNWAYQQVQ	20
244	SLTWREFHYIQSKLG	20
253	IQSKLGIVSLLGTI	20
306	SILFLPCLRKIKILKI	20
315	KKILKIRHGWEDVT	20
68	FPQWHLPIKIAAII	19
83	SLTFLYTLREVIHP	19
118	LPMVSIITLLALVYL	19
136	AAIVQLHNGTKYKKF	19
147	YKKFPHWLDKWMLTR	19
166	LLSFFFAVLHAIYSL	19
181	SYPMRRSYRYKLLNW	19
248	REFHYIQSKLGIVSL	19
251	HYIQSKLGIVSLLG	19
283	FVWYTPPTFMIAVFL	19
302	LIFKSILFLPCLRK	19
126	LALVYLPGVIAAIVQ	18
127	ALVYLPGVIAAIVQL	18
153	WLDKWMLTRKQFGL	18
155	DKWMLTRKQFGLSF	18
205	EDAWIEHDVWRMEIY	18
242	SDSLTWREFHYIQSK	18
249	EFHYIQSKLGIVSLL	18
267	IHALIFAWNKWIDIK	18
269	ALIFAWNKWIDIKQF	18
291	FMAVFLPIVVLIFK	18
300	VVLIFKSILFLPCLR	18
7	ITNQEELWKMMPRRN	17
32	TGETSMLKRPVLLHL	17
35	TSMLKRPVLLHLHQT	17
39	KRPVLLHLHQTAAHAD	17
40	RPVLLHLHQTAAHDE	17
67	LFQWHLPIKIAAII	17
91	LREVIHPLATSHQQY	17
112	LVINKVLPVMSITLL	17
135	IAIVQLHNGTKYKK	17
156	KWMLTRKQFGLSFF	17
164	FGLSFFFAVLHAIY	17
175	HAIYSLSYPMRRSYR	17
179	SLSYPMRRSYRYKLL	17
194	NWAYQQVQVQNKEDAW	17
217	EIYVSLGIVGLAILA	17

Tabla XLVIII-V1-HLA-DRB10101-  
15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos,  
y la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
222	LGIVGLAILALLAVT	17
239	PSVSDSLTWREFHYI	17
254	QSKLGIVSLLGTIHI	17
259	IVSLLGTIHALIFA	17
277	WIDIKQFVWYTPPTF	17
292	MAVFLPIVVLIFKS	17
284	AVFLPIVVLIFKSIL	17
299	IVVLIFKSILFLPCL	17
301	VLIFKSILFLPCLRK	17
304	TKSILFLPCLRKIL	17
4	RKDITNQEELWKMMP	16
24	EDDYLHKDTGETSML	16
31	DTGETSMLKRPVLLH	16
44	LHLHQTAAHDEFDCP	16
58	PSELQHTQELFPQWH	16
78	AAIIASLTFLYTLR	16
87	LYTLREVIHPLATS	16
95	IHPLATSHQQYFYKI	16
107	YKIPILVINKVLPV	16
110	PILVINKVLPVMSIT	16
119	PMVSIITLLALVYLP	16
122	SITLLALVYLPGVIA	16
143	NGTKYKKFPHWLDKW	16
148	KKFPHWLDKWMLTRK	16
163	QFGLSFFFAVLHAI	16
167	LSFFFAVLHAIYSL	16
170	FFAVLHAIYSLSYPM	16
174	LHAIYSLSYPMRRSY	16
189	RYKLLNWAYQQVQCN	16
192	LLNWAYQQVQVQNKED	16
215	RMEIYVSLGIVGLAI	16
220	VSLGIVGLAILALLA	16
230	LALLAVTSIPSVSDS	16
260	VSLLTGTIHALIFAW	16
264	EGTIHALIFAWNKKW	16
272	FAWNKWIDIKQFVWY	16
274	WNKWIDIKQFVWYTP	16
278	IDIKQFVWYTPPTFM	16
314	RKKILKIRHGWEDVT	16
321	RHGWEDVTIKNKTEI	16

Tabla XLVIII-V2-HLA-DRB10101-  
15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
4	SLTWREFHYIQVNNI	20
2	SDSLTWREFHYIQVN	18

Tabla XLVIII-V3-HLA-DRB10101-

15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°:7;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
9	EFHYIQIHKKSDVP	26
28	DPCLTRFKGLNLIQS	25
12	YIQIHKKSDVPESL	22
4	SLTWREFHYIQIHK	20
2	SOSLTWREFHYIQI	18
10	FHYIQIHKKSDVPE	18
23	PESLWDPCLTRFKGL	17
24	ESLWDPCLTRFKGLN	17
7	WREFHYIQIHKKSD	16
20	SDVPESLWDPCLTRF	16
15	IHKKSDVPESLWDP	15
26	LWDPCLTRFKGLNLI	12

Tabla XLVIII-V4-HLA-DRB10101-  
15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°:9;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
14	SLFFAVLHAIYSLSY	34
7	RKQFGLLSLFFAVLH	27
3	WMLTRKQFGLLSLFF	26
9	QFGLLSLFFAVLHAI	24
6	TRKQFGLLSLFFAVL	22
1	DKWMLTRKQFGLLSL	18
2	KWMLTRKQFGLLSL	17
10	FGLLSLFFAVLHAIY	17
12	LLSLFFAVLHAIYSL	17
13	LSLFFAVLHAIYSL	16

Tabla XLIX-V1-HLA-DRB10301-  
15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°:3;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
155	DKWMLTRKQFGLLSF	27
181	SYPMRRSYRYKLLNW	26
297	LPIVLFKSLFLP	26
95	IHLATSHQQYFYKI	25
177	IYSLSPMRRSYRYK	24
307	ILFLPCLRKILKIR	24
19	RRNLEEDDYHLKDTG	22
117	VLPMSITLLALVYL	22
163	QFGLLSLFFAVLHAI	22
259	IVSLLGTIHALIFA	22
298	PIVVLFKSILFLPC	22
77	IAAIASLTFLYTLL	21
114	INKVLPMSITLLAL	21

Tabla XLIX-V1-HLA-DRB10301-  
15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°:3;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
115	NKVLPMVSITLLALV	21
120	MVSITLLALVYLPV	21
221	SLGIVGLAILALLAV	21
222	LGIIVGLAILALLAVT	21
299	IVVLFKSLFLPCL	21
25	DDYLHKDTGETSMLK	20
35	TSMKRPVLLHLHQT	20
87	LYTLREVHPLATS	20
108	KIPILVINKVLPMS	20
136	AAIVQLHNGTKYK	20
156	KWMLTRKQFGLLSFF	20
206	DAWIEHVVWRMEIYV	20
219	YVSLGIVGLAILALL	20
293	IAVFLPIVVLIFKSI	20
4	RKDTNQEELWKMKP	19
13	LWKMKPRRNLEEDDY	19
40	RPVLLHLHQTAAHAD	19
171	FAVLHAIYSLSYPMR	19
261	SLLGTIHALIFAWN	19
275	NKWIDIKQFVWYTPP	19
306	SILFLPCLRKILKI	19
11	EELWKMKPRRNLEED	18
50	AHADEFDCPSELQHT	18
167	LSFFAVLHAIYSL	18
197	YQVQVQNKEDAWIEH	18
57	CPSELQHTQELFPQW	17
58	PSELQHTQELFPQWH	17
84	LTFLYTLREVHPL	17
132	PGVIAAIVQLHNGTK	17
135	IAAIVQLHNGTKYK	17
138	IVQLHNGTKYKFFPH	17
190	YKLLNWAYQQVQNK	17
267	IHALIFAWNWKWDIK	17
273	AWNKWDIKQFVWYT	17
280	IKQFVWYTPPTFMIA	17
317	ILKIRHGWEDVTKIN	17
324	WEDVTKINKTEICSQ	17
16	MKPRRNLEEDDYHLK	16
32	TGETSMLKRPVLLHL	16
52	ADEFDCPSELQHTQE	16
62	QHTQELFPQWHLPK	16
96	HPLATSHQQYFYKIP	16
107	YKIPILVINKVLPV	16
186	RSYRYKLLNWAYQQV	16
241	VSDSLTWREFHYIQS	16
268	HALIFAWNWKWDIKQ	16
34	ETSMKRPVLLHLHQT	15
39	KRPVLLHLHQTAAHAD	15
153	WLDKWMLTRKQFGLL	15
246	TWREFHYIQSKLGIV	15
2	ESRKDTNQEELWK	14
148	KKFPHWLDKWMLTRK	14
226	GLAILALLAVTSIPS	14
232	LLAVTSIPSVSDSLT	14

Tabla XLIX-V1-HLA-DRB10301-  
15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°:3;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
260	VSLLGTIHALIFAW	14
304	FKSILFLPCLRKIL	14
81	IASLTFLYTLLREVI	13
88	YTLREVHPLATSH	13
109	IPILVINKVLPMSI	13
118	LPMVSITLLALVYLP	13
122	SITLLALVYLPVIA	13
125	LLALVYLPVIAAIV	13
126	LALVYLPVIAAIVQ	13
131	LPGVIAAIVQLHNGT	13
149	KFPHWLDKWMLTRKQ	13
170	FFAVLHAIYSLSYPM	13
189	RYKLLNWAYQQVQNK	13
235	VTSIPSVSDSLTWRE	13
237	SIPSVSDSLTWREFH	13
254	QSKLGIVSLLGTIHAL	13
256	KLGIIVSLLGTIHAL	13
292	MAVFLPIVVLIFKS	13

Tabla XLIX-V2-DRB1-0301-  
15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°:5;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
1	VSDSLTWREFHYIQV	16
2	SDSLTWREFHYIQVN	12

Tabla XLIX-V3-  
DRB10301 15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°:7;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
28	DPCLTRFKGLNLIQS	22
15	IHKKSDVPESLWDP	20
23	PESLWDPCLTRFKGL	18
1	VSDSLTWREFHYIQI	16
10	FHYIQIHKKSDVPE	16
22	VPELWDPCLTRFKG	14
2	SDSLTWREFHYIQI	12
12	YIQIHKKSDVPESL	12
13	IQIHKKSDVPESLW	12
19	KSDVPESLWDPCLTR	12

Tabla XLIX-V4-HLA-0301-  
15meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID



Tabla XLIX-V4-HLA-0301-  
15.meros:STEAP-1

Nº:9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
1	DKWMLTRKQFGLLSL	27
9	QFGLLSLFFAVLHAI	22
2	KWMLTRKQFGLLSL	20
13	LSLFFAVLHAIYSLS	18
10	FGLLSLFFAVLHAI	13

Tabla L-V1-HLA-DR1-0401-  
15.meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº:3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
84	LTFlyTLREVIHPL	26
88	YTLREVIHPLATSH	26
92	REVIHPLATSHQQYF	26
132	PGVIAAIVQLHNGTK	26
135	IAAIVQLHNGTKYKK	26
190	YKLLNWAYQQVQONK	26
229	ILALLAVTSIPSVSD	26
267	IHALFAWNKWDIK	26
103	QQYFYKIPILVINKV	22
144	GTKYKKFPHWLDKWM	22
161	RKQFGLLSFFFAVLH	22
166	LSFFFAVLHAIYSLS	22
167	LSFFFAVLHAIYSLS	22
168	SFFFAVLHAIYSLSY	22
187	SYRYKLLNWAYQQVQ	22
194	NWAYQQVQONKEDAW	22
211	HDVWRMEIYVSLGIV	22
216	MEIYVSLGIVGLAIL	22
244	SLTWREFHYIQSKLG	22
247	WREFHYIQSKLGIVS	22
274	WNKWDIKQFVWYTP	22
282	QFVWYTPPTFMAV	22
288	PPTFMAVFLPIVVL	22
306	SILFLPCLRKILKI	22
321	RHGVEDVTINKITEI	22
19	RRNLEDDYLHKDTG	20
25	DDYLHKDTGETSMLK	20
39	KRPVLLHLHQTAAH	20
40	RPVLLHLHQTAAH	20
41	PVLLHLHQTAAHDEF	20
64	TQELFPQWHLPIKIA	20
72	HLPIKIAIASLTF	20
74	PIKIAIASLTF	20
78	AAIASLTFlyTLR	20
81	IASLTFlyTLREVI	20
87	LYTLREVIHPLATS	20
106	FYKIPILVINKVLP	20
111	ILVINKVLPMSITL	20
114	INKVLPMSITLLAL	20
115	NKVLPMSITLLALV	20

Tabla L-V1-HLA-DR1-0401-  
15.meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº:3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
117	VLPMSITLLALVYL	20
120	MVSITLLALVYLP	20
123	ITLLALVYLP	20
125	LLALVYLP	20
128	LVYLP	20
163	QFGLLSFFFAVLHAI	20
170	FFAVLHAIYSLSYPM	20
171	FAVLHAIYSLSYPMR	20
181	SYPMRRSYRYKLLNV	20
213	VWRMEIYVSLGIVGL	20
219	YVSLGIVGLAILALL	20
221	SLGIVGLAILALLAV	20
222	LGIVGLAILALLAVT	20
224	IVGLAILALLAVTSI	20
226	GLAILALLAVTSIPS	20
227	LAILALLAVTSIPSV	20
232	LLAVTSIPSVSDSLT	20
235	VTSIPSVSDSLTWRE	20
256	KLIGVSLLLGTIHAL	20
260	VSLLLGTIHALIFAW	20
264	LGTIHALIFAWNKI	20
289	PTFMAVFLPIVVL	20
290	TFMAVFLPIVVLIF	20
294	AVFLPIVVLIFKSL	20
296	FLPIVVLIFKSLFL	20
297	LPIVVLIFKSLFLP	20
298	PIVVLIFKSLFLPC	20
304	FKSLFLPCLRKIL	20
307	ILFLPCLRKILKIR	20
314	RKILKIRHGWEDVT	20
324	WEDVTINKITEICSQ	20
28	LHKDTGETSMLKRPV	18
32	TGETSMLKRPVLLHL	18
37	MLKRPVLLHLHQTAAH	18
54	EFCPSLQHTQELF	18
62	QHTQELFPQWHLPIK	18
93	EVHPLATSHQQYFY	18
107	YKIPILVINKVLP	18
207	AWIEHDVWRMEIYVS	18
243	DSLWREFHYIQSKL	18
253	IQSKLIGVSLLLGTI	18
258	GIVSLLGTIHALIF	18
320	IRHGWEDVTINKITE	18
11	EELWKMKPRRILEED	17
24	EDDYHLKDTGETSML	17
65	QELFPQWHLPIKIAA	16
68	FPQWHLPIKIAAIA	16
83	SLTFlyTLREVIHPL	16
85	TLFyTLREVIHPLA	16
104	QYFYKIPILVINKV	16
127	ALVYLP	16
147	YKFPFPHWLDKWM	16
192	LLNWAYQQVQONKED	16
205	EDAWIEHDVWRMEIY	16

Tabla L-V1-HLA-DR1-0401-  
15.meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID Nº:3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
249	EFHYIQSKLIGVSL	16
269	ALIFAWNKWIDIKQF	16
271	IFAWNKWIDIKQFVW	16
283	FVWYTPPTFMAVFL	16
293	IAVFLPIVVLIFKSI	16
301	VLIFKSLFLPCLRK	16
155	DKWMLTRKQFGLLSF	15
4	RKQITNQELWKMKP	14
10	QELWKMKPRRILEE	14
35	TSMKRPVLLHLHQT	14
43	LLHLHQTAAHDEFDC	14
77	IAIASLTFlyTL	14
95	IHPLATSHQQYFYKI	14
108	KIPILVINKVLPMS	14
109	IPILVINKVLPMSI	14
118	LPMVSITLLALVYL	14
122	SITLLALVYLP	14
126	LALVYLP	14
131	LPGVIAAIVQLHNGT	14
138	IVQLHNGTKYKKFPH	14
151	PHVLDYVWMLTRKQF	14
164	QGLLSFFFAVLHAI	14
174	LIAVGLSYFMRQSY	14
177	LYSLYMRPSYRHK	14
189	RYKLLNWAYQQVQON	14
206	DAWIEHDVWRMEIY	14
210	EDAWIEHDVWRMEIY	14
217	EIYVSLGIVGLALA	14
230	LALLAVTSIPSVSD	14
238	IPSVSDSLTWREFHY	14
254	OSKLGIVGLIGTTH	14
257	LGIVSLLGTIHAL	14
259	WLLGTIHALFA	14
261	SLLLGTIHALIFAWN	14
277	WIKQFVWYTPPTF	14
281	KQFVWYTPPTFMAV	14
292	MAVFLPIVVLIFKS	14
305	KSLFLPCLRKILK	14
317	ILKIRHGWEDVTIN	14
1	MESRKQITNQELW	12
2	ESRKQITNQELW	12
5	KQITNQELWKMKP	12
6	QITNQELWKMKP	12
17	KPRRILEEDDYHLK	12
21	MEEEDDYHLKDTGET	12
27	YHLKDTGETSMLKRP	12
38	LKRPVLLHLHQTAAH	12
48	QIAHAEFCPSLQHT	12
50	AHAEFCPSLQHT	12
51	HADEFDCPSLQHTQ	12
55	FCPSLQHTQELFP	12
56	CCPSLQHTQELFP	12
67	LTPQWHLPIKIAA	12
69	PQWHLPIKIAAIA	12

Tabla L-V1-HLA-DR1-0401-  
15.meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
71	WHLPIKIAAIIASLT	12
73	LPIKIAAIIASLTFL	12
75	IKIAAIIASLTFLYT	12
76	KIAAIIASLTFLYTL	12
80	IIASLTFLYTLREY	12
89	TLLREVIHPLATSHQ	12
100	TSHQQYFYKIPILVI	12
105	YFYKIPILVINKVLP	12
112	LVINKVLPVMSITLL	12
116	KVLPVMSITLLALVY	12
129	VYLPGVIAAIVQLHN	12
130	YLPGVIAAIVQLHNG	12
134	VIAAIVQLHNGTKYK	12
137	AIVQLHNGTKYKFKP	12
148	KKFPHWLDKWMMLTRK	12
149	KFPHWLDKWMMLTRKQ	12
152	HWLDKWMMLTRKQFGL	12
153	WLDKWMMLTRKQFGLL	12
160	TRKQFGLLSFFFAVL	12
165	GLLSFFFAVLHAIYS	12
173	VLHAIYSLSYPMRRS	12
186	RSYRYKLLNWAYQQV	12
191	KLLNWAYQQVQONKE	12
193	LNWAYQQVQONKEDA	12
203	NKEDAWIEHDVWRME	12
214	WRMEIYVSLGIVGLA	12
218	IYVSLGIVGLAILAL	12
223	GIVGLAILALLAVTS	12
225	VGLAILALLAVTSIP	12
228	AILALLAVTSIPSVS	12
234	AVTSIPSVSDSLWTR	12
246	TWREFHYIQSKLGIV	12
251	HYIQSKLGIVSLLG	12
265	GTIHALIFAWNWKWD	12
273	AWNWKWDIKQFVWYT	12
279	DIKQFVWYTPPTFMI	12
291	FMIAVFLPIVVLIFK	12
295	VFLPIVVLIFKSILF	12
302	LIFKSILFLPCLRK	12
319	KIRHGWEVDTKINKT	12

Tabla L-V2-HLA-DR10401-  
15.meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
4	SLTWREFHYIQVNNI	22
3	DSLWREFHYIQVNN	18

Tabla L-V3-HLA-DR10401-

15.meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
9	EFHYIQIHKKSDVP	28
4	SLTWREFHYIQIHK	22
7	WREFHYIQIHKKSD	22
24	ESLWDPCLTRFKGLN	22
28	DPCLTRFKGLNLQS	20
3	DSLWREFHYIQIHK	18
10	FHYIQIHKKSDVPE	14

Tabla L-V4-DR10401-15.meros:  
STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
7	RKQFGLLSFFFAVLH	22
13	LSLFFFAVLHAIYSLS	22
14	SLFFFAVLHAIYSLSY	22
9	QFGLLSFFFAVLHAI	20
12	LLSLFFFAVLHAIYS	20
1	DKWMLTRKQFGLLS	15
10	FGLLSLFFFAVLHAIY	14
4	MLTRKQFGLLSLFFFA	12
6	TRKQFGLLSLFFFAVL	12
11	GLLSLFFFAVLHAIYS	12

Tabla LI-V1-DRB1101-  
15.meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
108	KIPILVINKVLPVMS	28
88	YTLLREVIHPLATSH	27
167	LSFFFAVLHAIYSLS	26
68	FPQWHLPIKIAAIIA	24
154	LDKWMMLTRKQFGLLS	24
321	RHGWEVDTKINKTEI	24
168	SFFFAVLHAIYSLSY	23
247	WREFHYIQSKLGIVS	23
161	RKQFGLLSFFFAVLH	22
324	WEDVTINKTEICSQ	22
7	ITNQEELWKMMPRRN	21
84	LTFYTLREVIHPL	21
297	LPIVVLIFKSILFLP	21
307	ILFLPCLRKILKIR	21
22	LEEDDYHLKOTGETS	20
39	KRPVLLHLHQTAAHD	20
122	SITLLALVYLPGVIA	20
314	RKKILKIRHGWEVD	20

Tabla LI-V1-DRB1101-  
15.meros:STEAP-1

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3; se especifica cada posición inicial, la longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y la posición final para cada péptido es la posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
11	EELWKMMPRRNLEED	19
85	TFLYTLREVIHPLA	19
111	ILVINKVLPVMSITL	19
125	LLALVYLPGVIAAIV	19
144	GTYKKFPHWLDKWM	19
210	EHDVWRMEIYVSLGI	19
254	QSKLGIVSLLGTIH	19
283	FWWYTPPTFMIAVFL	19
293	IAVFLPIVVLIFKSI	19
306	SILFLPCLRKILKI	19
226	GLAILALLAVTSIPS	18
229	ILALLAVTSIPSVD	18
31	DTGETSMLKRPVLLH	17
103	QQYFYKIPILVINKV	17
194	NWAYQQVQONKEDAW	17
274	WNKWDIKQFVWYTP	17
185	RRSYRYKLLNWAYQQ	16
187	SYRYKLLNWAYQQVQ	16
216	MEIYVSLGIVGLAIL	16
244	SLTWREFHYIQSKLG	16
268	HALIFAWNWKWDIKQ	16
301	VLFKSILFLPCLRK	16
311	POLRGGLKRIHGW	16
10	EELWKMMPRRNLEED	15
32	TEGETSMLKRPVLLH	15
37	MLKRPVLLHHLHQTAAH	15
64	TEELFPQWHLPIKIA	15
81	WELTYTLREVIH	15
106	FYKIPILVINKVLPV	15
138	HLHNGTKYKFKP	15
177	IYVSLGIVGLAILAL	15
181	SYPMRRSRYRYKLLN	15
203	NKEDAWIEHDVWRME	15
260	YSLGIVGLAILAL	15
43	LIHLHQTAAHAEFDC	14
55	FOCPQELQHTQELFF	14
114	IKVLPVMSITLLAL	14
120	MSITLLALVYLPGV	14
132	PGVIAAIVQLHNGT	14
140	QLHNGTKYKFKP	14
148	KFPHWLDKWMMLTRK	14
153	WLDKWMMLTRKQFGL	14
178	YSLSYPMRRSRYRYK	14
196	AYQQVQONKEDAWNE	14
207	AWIEHDVWRMEIYV	14
215	RMEIYVSLGIVGLAI	14
232	LLAVTSIPSVSDDL	14
277	WIKQFVWYTPPTFM	14
287	TPPTFMIAVFLTW	14
294	AVFLPIVVLIFKSIL	14
295	VFLPIVVLIFKSILF	14
300	VVLIFKSILFLPCLR	14
304	FKSILFLPCLRKIL	14
67	LFPQWHLPIKIAAII	13

**Tabla LI-V1-DRB1101-  
15.meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°3;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
71	WHLPIKIAAIIASLT	13
74	PIKIAAIIASLTFLY	13
115	NKVLPMVSITLLALV	13
128	LVYLPGVIAAIVQLH	13
166	LLSFFFAVLHAIYSL	13
170	FFAVLHAIYSLSPM	13
212	DVWRMEIYVSLGIVG	13
217	EIYVSLGIVGLAILA	13
219	YVSLGIVGLAILALL	13
223	GIVGLAILALLAVTS	13
235	VTSPSVSDSLTWRE	13
250	FHYIQSKLGIVSLLL	13
257	LGIVSLLLGTIHALI	13
261	SLLLGTIHALIFAWN	13
289	PTFMIAVFLPIVLI	13
296	FLPIVLIKKSILFL	13
312	CLRKKILKIRHGWED	13

**Tabla LI-V2-HLA-DRB1-1101-  
15.meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°5;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
4	SLTWREFHYIQVNNI	10
3	DSLWREFHYIQVNN	9
2	SDSLTWREFHYIQVN	8

**Tabla LI-V3-DRB11101-  
15.meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°7;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

Pos	123456789012345	puntuación
9	EFHYIQIHHKSDVP	31
25	SLWDPCLTRFKGLNL	21
10	FHYIQIHHKSDVPE	20
7	WREFHYIQIHHKSD	16

**Tabla LI-V4-DRB1-1101-  
15.meros:STEAP-1**

Cada péptido es una porción de SEC ID N°9;  
se especifica cada posición inicial, la  
longitud del péptido es de 15 aminoácidos, y  
la posición final para cada péptido es la  
posición inicial más catorce.

**Tabla LI-V4-DRB1-1101-  
15.meros:STEAP-1**

13	LSLFFAVLHAIYSLS	26
14	SLFFAVLHAIYSLSY	23
7	RKQFGLLSLFFAVLH	22
9	QFGLLSLFFAVLHAI	13

Tabla LII. Composiciones de los exones de 8PID4 v.1

Número de exón	Comienzo	Fin
1	1	34
2	35	149
3	150	662
4	663	827
5	828	1176



Tabla LIIII. Secuencia de Nucleótidos de la variante transcripcional 8P1D4 v.2 (SEC ID N°: 81)

ggggcccgca	cctctgggca	gcagcgagcag	ccgagactca	cggtcaagct	aaggcgaaga	60
gtgggtggct	gaagccatc	tattttatag	aattaatgga	aagcagaaaa	gacatcacaa	120
accaagaaga	actttggaaa	atgaagccta	ggagaaattt	agaagaagac	gattatttgc	180
ataaggacac	gggagagacc	agcatgctaa	aaagacctgt	gcttttgcat	ttgcaccaa	240
cagcccatgc	tgatgaattt	gactgccctt	cagaacttca	gcacacacag	gaactctttc	300
cacagtggca	cttgccaatt	aaaatagctg	ctattatagc	atctctgact	tttctttaca	360
ctcttctgag	ggaagtaatt	cacctcttag	caacttccca	tcaacaatat	ttttataaaa	420
ttccaatcct	ggtcatcaac	aaagtcttgc	caatggtttc	catcactctc	ttggcattgg	480
tttacctgcc	aggtgtgata	gcagcaattg	tccaacttba	taatggaacc	aagtataaga	540
agtttccaca	ttggttggat	aagtggatgt	taacaagaaa	gcagtttggg	cttctcagtt	600
tcttttttgc	tgtactgcat	gcaatttata	gtctgtctta	cccaatgagg	cgatcctaca	660
gatacaagtt	gctgaactgg	gcataatcaac	aggtccaaac	aaataaagaa	gatgcctgga	720
ttgagcatga	tgtttggaga	atggagattt	atgtgtctct	gggaattgtg	ggattggcaa	780
tactggctct	gttggctgtg	acatctatct	catctgtgag	tgactctttg	acatggagag	840
aatttcacta	tattcaggta	aataatatat	aaaataaacc	taagaggtaa	atcttctttt	900
tgtgtttatg	atatagaata	tgttgacttt	accccataaa	aaataacaaa	tgtttttcaa	960
cagcaaagat	cttatacttg	ttccaattaa	taatgtgctc	tcotgttgtt	ttccctattg	1020
cttctaatta	ggacaagtgt	ttcctagaca	taataaaaag	gcattaaaat	attcttttgt	1080
tttttttttt	tgttttgttt	tttttttgtt	ggttgtttgt	ttttttgaga	tgaagtctcg	1140
ctctgttgc	catgctggag	tacagtggca	ggatctcggc	tcactgcaac	ctgcgcctcc	1200
tgggttcagg	cgattctctt	gcctcagcct	cctgagtagc	tgggattaca	ggcaccctac	1260
accatgtcca	gctaattttt	gtatttttag	tagagacagg	gttttcccat	gttggccagg	1320
ctggctctga	tctcctgacc	tcaaatgata	cgcccaacct	ggcctcccaa	agtgtctggg	1380
tgacagtgt	gagccaccac	actcagcctg	ctctttctaa	tatttgaaac	ttgttagaca	1440
atttgcctac	catctaattg	gatattttag	gaatccaata	tgcattgggt	attatttctt	1500
aaaaaaaaata	ttcttttacc	tgtcacctga	atttagtaat	gccttttatg	ttacacaact	1560
tagcactttc	cagaaacaaa	aactctctcc	ttgaaataat	agagttttta	tctaccnaag	1620
atatgctagt	gtctcatttc	aaaggctgct	ttttccagct	tacattttat	atacttactc	1680
acttgaagtt	tctaattatt	cttgtaattt	taaaactatc	tcagatttac	tgaggtttat	1740
cttctgggtg	tagattatcc	ataagaagag	tgatgtgcca	gaateactct	gggatacttg	1800
tctgacaaga	ttcaaggagc	taaatttaat	tcagtcatga	acactgccaa	ttacogttta	1860
tgggttagaca	tctttggaaa	tttccacaag	gtcagacatt	cgcaactatc	cettctacat	1920
gtccacacgt	atactccaac	actttattag	gcatactgatt	agtttggaaa	gtatgcctcc	1980
atctgaatta	gtccagttgt	gcttagagtt	ggtacaacat	tctcacagaa	tttcttaatt	2040
ttgtagggtc	agcctgataa	ccactggagt	tctttgggtc	tcattaaata	gctttcttca	2100
cacattgtct	tgctgtttac	acatatgatg	aacactgctt	tttagacttc	attaggaatt	2160
taggactgca	tcttgacaa	tgagcctatt	ctactatatg	tacaatacct	agccataaat	2220
aggtatacaa	taacacattg	gtaaaactaa	ttttcaacca	atgacatgta	tttttcaact	2280
agtaacctag	aaattgtttc	cttaaaatct	gagaactggg	tacactacaa	gttaecttgg	2340
agattcatat	atgaaaacgc	aaacttagct	atttgattgt	attcactggg	acttaagaat	2400
gcgcctgaat	aattgtgagt	tcgattttgt	ctggcaggct	aatgaccatt	tccagtaaa	2460
tgaatagagg	tcagaagtcg	tataaaaag	gtgtgtgcag	aacacogttg	agattacata	2520
ggtgaacaa	tatttttaag	caactttatt	tgtgtagtga	caaagcatcc	caatgcaggc	2580
tgaaattgtt	catcacatct	ctggatctct	ctattttgtg	cagacattga	aaaaattgtt	2640
catattattt	ccatgtttac	agaatatttg	atttttttaa	aacataggcc	aagttcattc	2700
acttcattat	tcatttatca	aaatcagagt	gaatcacatt	agtcgccttc	acaactgata	2760
aagatcactg	aagtcaaat	gattttttgt	ataatettca	atctacctat	atttaattga	2820
gaatctaaaa	tgtacaaatc	atttgtttga	ttctgcagtg	atctgctat	aagtaagact	2880
cagtccttga	ttttagggtat	cctgtgaaaa	gcagaattaa	gacaaataca	caagagacaa	2940
agcacaaaa	ataaatatca	taaggggatg	aacaaaatgg	tggagaaaga	gtagacaaag	3000
tttttgatca	cctgccttca	aagaaaggct	gtgaattttg	ttcacttaga	cagcttggag	3060
acaagaaatt	acccaaaagt	aagggtgagga	ggataggcaa	aaagagcaga	aagatgtgaa	3120
tggacattgt	tgagaaatgt	gataggaaaa	caatcataga	taaaggattt	ccaagcaaca	3180
gagcatatcc	agatgaggta	ggatgggata	aaactctatt	gaaccaatct	tcaccaattt	3240
tgtttttctt	ttgcagagca	agctagggaat	tgtttccctt	ctactgggca	caatacaecg	3300
attgattttt	gcctggaata	agtggataga	tataaaacaa	tttgataggt	atacacctcc	3360
aacttttatg	atagctgttt	tccttccaat	tgttgcctct	atatttaaaa	gcatactatt	3420
cctgccatgc	ttgaggaaga	agatactgaa	gattagacat	ggttgggaag	acgtcaccaa	3480
aattaacaaa	actgagatat	gttccagtt	gtagaaacac	tgtttacaca	catttttgtt	3540

caatattgat atattttatc accaacattt caagtttgta tttgttaata aaatgattat 3600  
tcaaggaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 3627

Tabla LIV. Alineamiento de secuencias de nucleótidos de 8P1D4v.1 (SEC ID N°= 82) y 8P1D4 V.2 (SEC ID N°: 83)

Puntuación = bits 1584(824) , Esperado = 0,0Identities = 826/827 (99%) Cadena = Más / Más

```

8P1D4v.1: 1   ccgagactcacggtcaagctaaggcgaagagtgggtggctgaagccatactatatttatag 60
               |||
8P1D4v.2: 31  ccgagactcacggtcaagctaaggcgaagagtgggtggctgaagccatactatatttatag 90
               |||

8P1D4v.1: 61  aattaatggaaagcagaaaagacatcacaaaccaagaagaactttggaaaatgaagccta 120
               |||
8P1D4v.2: 91  aattaatggaaagcagaaaagacatcacaaaccaagaagaactttggaaaatgaagccta 150
               |||

8P1D4v.1: 121 ggagaaatttagaagaagacgattatttgcataaggacacgggagagaccagcatgctaa 180
               |||
8P1D4v.2: 151 ggagaaatttagaagaagacgattatttgcataaggacacgggagagaccagcatgctaa 210
               |||

8P1D4v.1: 181 aaagacctgtgcttttgcatttgcacaaacagcccatgctgatgaatttgactgccctt 240
               |||
8P1D4v.2: 211 aaagacctgtgcttttgcatttgcacaaacagcccatgctgatgaatttgactgccctt 270
               |||

8P1D4v.1: 241 cagaacttcagcacacacaggaactctttccacagtggcacttgccaattaaaatagctg 300
               |||
8P1D4v.2: 271 cagaacttcagcacacacaggaactctttccacagtggcacttgccaattaaaatagctg 330
               |||

8P1D4v.1: 301 ctattatagcatctctgacttttctttacactcttctgaggggaagtaattcacccttag 360
               |||
8P1D4v.2: 331 ctattatagcatctctgacttttctttacactcttctgaggggaagtaattcacccttag 390
               |||

8P1D4v.1: 361 caacttcccatcaacaatatttttataaaattccaatcctggtcatcaacaaagtcttgc 420
               |||
8P1D4v.2: 391 caacttcccatcaacaatatttttataaaattccaatcctggtcatcaacaaagtcttgc 450
               |||

8P1D4v.1: 421 caatggtttccatcactctcttggcattgggttaacctgccaggtgtgatagcagcaattg 480
               |||
8P1D4v.2: 451 caatggtttccatcactctcttggcattgggttaacctgccaggtgtgatagcagcaattg 510
               |||

8P1D4v.1: 481 tccaacttcataatggaaccaagtataagaagttccacattggttggataagtggatgt 540
               |||
8P1D4v.2: 511 tccaacttcataatggaaccaagtataagaagttccacattggttggataagtggatgt 570
               |||

8P1D4v.1: 541 taacaagaaagcagtttgggcttctcagtttcttttttgcgtgtactgcatgcaatttata 600
               |||
8P1D4v.2: 571 taacaagaaagcagtttgggcttctcagtttcttttttgcgtgtactgcatgcaatttata 630
               |||

8P1D4v.1: 601 gtctgtcttacccaatgaggcgatcctacagatacaagttgctaaactgggcatatcaac 660
               |||
8P1D4v.2: 631 gtctgtcttacccaatgaggcgatcctacagatacaagttgctaaactgggcatatcaac 690
               |||

8P1D4v.1: 661 aggtccaacaaaaataaagaagatgcctggattgagcatgatgtttggagaatggagattt 720
               |||
8P1D4v.2: 691 aggtccaacaaaaataaagaagatgcctggattgagcatgatgtttggagaatggagattt 750
               |||

8P1D4v.1: 721 atgtgtctctgggaattgtgggattggcaatactggctctgttggctgtgacatctatcc 780
               |||

```

8P1D4v.2: 751 atgtgtctcttggaattgtgggattggcaatactggctctgttggtgtgacatctattc 810

8P1D4v.1: 781 catctgtgagtgaactctttgacatggagagaatttcactatattcag 827

8P1D4v.2: 811 catctgtgagtgaactctttgacatggagagaatttcactatattcag 857

Puntuación = 714 bits (371), Esperado = 0,0 Identidades = 371/327 (99%) Cadena = Más / Más

Búsqueda: 825 cagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgcattgatttttgcc 884

Sujeto: 3254 cagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgcattgatttttgcc 3313

Búsqueda: 885 tggataaagtggatagatataaaacaatttgtatggtatacacctccaacttttatgata 944

Sujeto: 3314 tggataaagtggatagatataaaacaatttgtatggtatacacctccaacttttatgata 3373

Búsqueda: 945 gctgttttccctccaattgttgcctgatatttaaaagcatactattcctgccatgcttg 1004

Sujeto: 3374 gctgttttccctccaattgttgcctgatatttaaaagcatactattcctgccatgcttg 3433

Búsqueda: 1005 aggaagaagataactgaagattagacatggttgggaagacgtcaccaaaaattaacaaaact 1064

Sujeto: 3434 aggaagaagataactgaagattagacatggttgggaagacgtcaccaaaaattaacaaaact 3493

Búsqueda: 1065 gagatatgttccagttgtagaattactgtttacacacatttttgttcaatattgatata 1124

Sujeto: 3494 gagatatgttccagttgtagaattactgtttacacacatttttgttcaatattgatata 3553

Búsqueda: 1125 ttttatcaccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattattcaaggaaaaaaa 1184

Sujeto: 3554 ttttatcaccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattattcaaggaaaaaaa 3613

Búsqueda: 1185 aaaaaaaaaa 1195

Sujeto: 3614 aaaaaaaaaa 3624

Tabla IV. Secuencias pépticas de la proteína codificada por 8P1D4 v.2 (SEC ID N°: 84)

MESRKDITNQ	EELWQMKPRR	NLEDDYLNK	DTGETSMLKR	PVLLHLHQT	HADEFDCPSE	60
LQHTQELFPQ	WHLPIKIAAI	IASLTFLYTL	LREVINPLAT	SHQQYFYKIP	ILVINKVLP	120
VSITLLALVY	LPGVIAAIVQ	LHNGTKYKKE	PHWLDKWMIT	RKQFGLLSFF	FAVLHAIYSL	180
SYPMRRSYRY	KLLNWAYQQV	QNKEDAWIE	HDVWRMBIYV	SLGIVGLAIL	ALLAVTSIPS	240
VSDSLTWREF	HYIQVNNI					258

Tabla LVI. Alineamiento de secuencias de aminoácidos de 8P1D4v.1 (SEC ID N°= 85) y 8P1D4 v.2 (SEC ID N°: 86)

Puntuación = 521 bits (1342), Esperado = e-147 Identidades = 826/827 (99%) Positivos = 254/254 (100%)

```

8P1D4v.1: 1 MESRKDITNQEELWKMKPRRNLEEDDYHLKDTGETSMLKRPVLLHLHQTAAHADEFDCPSE 60
MESRKDITNQEELWKMKPRRNLEEDDYHLKDTGETSMLKRPVLLHLHQTAAHADEFDCPSE
8P1D4v.2: 1 MESRKDITNQEELWKMKPRRNLEEDDYHLKDTGETSMLKRPVLLHLHQTAAHADEFDCPSE 60

8P1D4v.1: 61 LQHTQELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYTLREVIHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLP 120
LQHTQELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYTLREVIHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLP
8P1D4v.2: 61 LQHTQELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYTLREVIHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLP 120

8P1D4v.1: 121 VSITLLALVYLPGVIAAIVQLHNGTKYKFPHWLDKWLTRKQFGLSFFFVAVLHAIYSL 180
VSITLLALVYLPGVIAAIVQLHNGTKYKFPHWLDKWLTRKQFGLSFFFVAVLHAIYSL
8P1D4v.2: 121 VSITLLALVYLPGVIAAIVQLHNGTKYKFPHWLDKWLTRKQFGLSFFFVAVLHAIYSL 180

8P1D4v.1: 181 SYPMRRSYRYKLLNWAYQQVQONKEDAWIEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPS 240
SYPMRRSYRYKLLNWAYQQVQONKEDAWIEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPS
8P1D4v.2: 181 SYPMRRSYRYKLLNWAYQQVQONKEDAWIEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPS 240

8P1D4v.1: 241 VSDSLTWREFHYIQ 254
VSDSLTWREFHYIQ
8P1D4v.2: 241 VSDSLTWREFHYIQ 254

```

Tabla LVII. Secuencia de nucleótidos de la variante transcripcional 8P1D4 v.3 (SEC ID N°: 87)

```

ggggcccgca cctctgggca gcagcggcag ccgagactca cgggtcaagct aaggcgaaga 60
gtgggtggct gaagccatac tattttatag aattaatgga aagcagaaaa gacatcacaa 120
accaagaaga actttggaaa atgaagccta ggagaaattt agaagaagac gattatttgc 180
ataaggacac gggagagacc agcatgctaa aaagacctgt gcttttgcac ttgcacaaa 240
cagcccatgc tgatgaattt gactgcctt cagaacttca gcacacacag gaactctttc 300
cacagtggca cttgccaat aaaatagctg ctattatagc atctctgact tttctttaca 360
ctcttctgag ggaagtaatt caccctttag caacttcca tcaacaatat tttataaaa 420
ttccaatcct ggtcatcaac aaagtcttgc caatggttc catcaotctc ttggcattgg 480
tttacctgcc aggtgtgata gcagcaattg tccaacttca taatggaaac aagtataaga 540
agtttccaca ttggttggat aagtggatgt taacaagaaa gcagtttggg cttctcagtt 600
tcttttttgc tgtactgcat gcaatttata gtctgtctta cccaatgagg cgatcctaca 660
gatacaagtt gctaaactgg gcataatcaac aggtccaaca aaataaagaa gatgcctgga 720
ttgagcatga tgtttggaga atggagattt atgtgtctct gggaaattgt ggattggcaa 780
tactggctct gttggctgtg acatctatcc catctgtgag tgactctttg acatggagag 840
aatttcacta tattcagatt atccataaga agagtgatgt gccagaatca ctctgggate 900
cttgtctgac aagattcaaa ggactaaatt taattcagtc atgaacactg ccaattaccg 960
tttatgggta gacatctttg gaaatttcca caagagcaag ctagggaattg tttcccttct 1020
actgggcaca atacacgcat tgatttttgc ctggaataag tggatagata taaaacaatt 1080
tgtatgggat acacctccaa cttttatgat agctgttttc cttccaattg ttgtcctgat 1140
atttaaaagc atactattcc tgccatgctt gaggaagaag atactgaaga ttagacatgg 1200
ttgggaagac gtcacaaaaa ttaacaaaac tgagatatgt tccagttgt agaattactg 1260
tttacacaca tttttgttca atattgatat attttatcac caacatttca agtttgtatt 1320
tgttaataaa atgattattc aaggaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 1365

```

Tabla LVIII. Alineamiento de secuencias de nucleótidos de 8P1D4v.2 (SEC ID N°= 88) y 8P1D4 V.3 (SEC ID N°: 89)

Puntuación = 1642 bits (854), Esperado = 0,0Identities = 856/857 (99%) Cadena= Más / Más

```

8P1D4v.2: 1   ggggccccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacggtcaagctaaggcgaaga 60
               |||
8P1D4v.3: 1   ggggccccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacggtcaagctaaggcgaaga 60
               |||

8P1D4v.2: 61   gtgggtggctgaagccatactatTTTatagaattaatggaaagcagaaaagacatcaca 120
               |||
8P1D4v.3: 61   gtgggtggctgaagccatactatTTTatagaattaatggaaagcagaaaagacatcaca 120
               |||

8P1D4v.2: 121  accaagaagaactttggaaaatgaagcctaggagaaatttagaagaagacgattatttgc 180
               |||
8P1D4v.3: 121  accaagaagaactttggaaaatgaagcctaggagaaatttagaagaagacgattatttgc 180
               |||

8P1D4v.2: 181  ataaggacacgggagagaccagcatgctaaaaagacctgtgcttttgcatttgcaccaa 240
               |||
8P1D4v.3: 181  ataaggacacgggagagaccagcatgctaaaaagacctgtgcttttgcatttgcaccaa 240
               |||

8P1D4v.2: 241  cagcccatgctgatgaatttgactgcccttcagaacttcagcacacacaggaactctttc 300
               |||
8P1D4v.3: 241  cagcccatgctgatgaatttgactgcccttcagaacttcagcacacacaggaactctttc 300
               |||

8P1D4v.2: 301  cacagtggcacttgccaattaaaatagctgctattatagcatctctgacttttctttaca 360
               |||
8P1D4v.3: 301  cacagtggcacttgccaattaaaatagctgctattatagcatctctgacttttctttaca 360
               |||

8P1D4v.2: 361  ctcttctgaggggaagtaattcacccttagcaacttcccatcaacaatatTTTataaaa 420

```



```

|||||
8P1D4v.3: 361 ctcttctgaggggaagtaattcacccttttagcaacttcccatcaacaatatattttataaaa 420

8P1D4v.2: 421 ttccaatcctggtcatcaacaaagicttgccaatgggtttocatcactctcttggcattgg 480
|||||
8P1D4v.3: 421 ttccaatcctggtcatcaacaaagicttgccaatgggtttccatcactctcttggcattgg 480

8P1D4v.2: 481 ttacctgccagggtgtgatagcagcaattgtccaacttcataatggaaccaagtataaga 540
|||||
8P1D4v.3: 481 ttacctgccagggtgtgatagcagcaattgtccaacttcataatggaaccaagtataaga 540

8P1D4v.2: 541 agtttccacattgggtgggataagtgatgttaacaagaagcagtttgggcttctcagtt 600
|||||
8P1D4v.3: 541 agtttccacattgggtgggataagtgatgttaacaagaagcagtttgggcttctcagtt 600

8P1D4v.2: 601 tcttttttgtgtactgcatgcaatttatagtctgtcttacccaatgaggcgatcctaca 660
|||||
8P1D4v.3: 601 tcttttttgtgtactgcatgcaatttatagtctgtcttacccaatgaggcgatcctaca 660

8P1D4v.2: 661 gatacaagttgctaaactgggcatatcaacaggtccaacaaaataaagaagatgcctgga 720
|||||
8P1D4v.3: 661 gatacaagttgctaaactgggcatatcaacaggtccaacaaaataaagaagatgcctgga 720

8P1D4v.2: 721 ttgagcatgatgtttggagaatggagatttatgtgtctctgggaattgtgggattggcaa 780
|||||
8P1D4v.3: 721 ttgagcatgatgtttggagaatggagatttatgtgtctctgggaattgtgggattggcaa 780

8P1D4v.2: 781 tactggctctgttggctgtgacatctattccatctgtgagtgactctttgacatggagag 840
|||||
8P1D4v.3: 781 tactggctctgttggctgtgacatctattccatctgtgagtgactctttgacatggagag 840

8P1D4v.2: 841 aatttcactatattcag 857
|||||
8P1D4v.3: 841 aatttcactatattcag 857

Puntuación = 267 bits (139), Esperado = 2e-68Identities = 139/139 (100%) Cadena = Más/Más

8P1D4v.2: 1752 agattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggaccttgtctgacaagat 1811
|||||
8P1D4v.3: 856 agattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggaccttgtctgacaagat 915

8P1D4v.2: 1812 tcaaaggactaaatttaattcagtcatgaacactgccaattaccgtttatgggtagacat 1871
|||||
8P1D4v.3: 916 tcaaaggactaaatttaattcagtcatgaacactgccaattaccgtttatgggtagacat 975

8P1D4v.2: 1872 ctttggaaatttcacaag 1890
|||||
8P1D4v.3: 976 ctttggaaatttcacaag 994

Puntuación = 717 bits (373), Esperado = 0,0Identities = 373/373 (100%) Cadena = Más/Más

8P1D4v.2: 3255 agagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgcattgatttttgcct 3314
|||||
8P1D4v.3: 993 agagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgcattgatttttgcct 1052

```

8P1D4v.2: 3315 ggaataagtgatagatataaaacaatttgatgggtatacacctccaacttttatgatag 3374  
 8P1D4v.3: 1053 ggaataagtgatagatataaaacaatttgatgggtatacacctccaacttttatgatag 1112

8P1D4v.2: 3375 ctgttttcttccaattgtgtcctgatattttaaagcatactattcctgccatgcttga 3434  
 8P1D4v.3: 1113 ctgttttcttccaattgtgtcctgatattttaaagcatactattcctgccatgcttga 1172

8P1D4v.2: 3435 ggaagaagatactgaagattagacatgggtgggaagacgtcaccaaaaattaacaaaactg 3494  
 8P1D4v.3: 1173 ggaagaagatactgaagattagacatgggtgggaagacgtcaccaaaaattaacaaaactg 1232

8P1D4v.2: 3495 agatatgttcccagttgtagaattactgtttacacacatttttggttcaatattgatatat 3554  
 8P1D4v.3: 1233 agatatgttcccagttgtagaattactgtttacacacatttttggttcaatattgatatat 1292

8P1D4v.2: 3555 ttatcaccaacatttcaagtttgatttggtaataaatgattattcaaggaaaaa 3614  
 8P1D4v.3: 1293 ttatcaccaacatttcaagtttgatttggtaataaatgattattcaaggaaaaa 1352

8P1D4v.2: 3615 aaaaaaaaaa 3627  
 8P1D4v.3: 1353 aaaaaaaaaa 1365

Tabla LIX. Secuencias péptidicas de la proteína codificada por 8P1D4 v.3 (SEC ID N°: 90)

MESRKDITNQ	EELWKMKPRR	NLEEDDYLHK	DTGETSMLKR	PVLLHLHQTA	HADEFDCPSE	60
LQHTQELFPQ	WHLPIKIAAI	IASLTFLYTL	LREVIHPLAT	SHQQYFYKIP	ILVINKVLPM	120
VSITLLALVY	LPGVIAAIVQ	LHNGTKYKFF	PHWLDKWMLT	RKQFGLLSFF	FAVLHAIYSL	180
SYPMRRSYRY	KLLNWAYQQV	QONKEDAWIE	HDVWRMEIYV	SLGIVGLAIL	ALLAVTSIPS	240
VSDSLTWREF	HYIQIHKKS	DVPESLWDPC	LTRFKGLNLI	QS		282

Tabla LX. Alineamiento de secuencias de aminoácidos de 8P1D4v.2 (SEC ID N°= 91) y 8P1D4 V.3 (SEC ID N°: 92)

Puntuación = 522 bits (1345), Esperado = e-147Identidades = 254/855 (99%) Positivos = 255/255 (99%)

	MESRKDITNQ	EELWKMKPRR	NLEEDDYLHK	DTGETSMLKR	PVLLHLHQTA	HADEFDCPSE	
8P1D4v.3: 1	MESRKDITNQ	EELWKMKPRR	NLEEDDYLHK	DTGETSMLKR	PVLLHLHQTA	HADEFDCPSE	60
8P1D4v.2: 61	LQHTQELFPQ	WHLPIKIAAI	IASLTFLYTL	LREVIHPLAT	SHQQYFYKIP	ILVINKVLPM	120
8P1D4v.3: 61	LQHTQELFPQ	WHLPIKIAAI	IASLTFLYTL	LREVIHPLAT	SHQQYFYKIP	ILVINKVLPM	120
8P1D4v.2: 121	VSITLLALVY	LPGVIAAIVQ	LHNGTKYKFF	PHWLDKWMLT	RKQFGLLSFF	FAVLHAIYSL	180
8P1D4v.3: 121	VSITLLALVY	LPGVIAAIVQ	LHNGTKYKFF	PHWLDKWMLT	RKQFGLLSFF	FAVLHAIYSL	180
8P1D4v.2: 181	SYPMRRSYRY	KLLNWAYQQV	QONKEDAWIE	HDVWRMEIYV	SLGIVGLAIL	ALLAVTSIPS	240
8P1D4v.3: 181	SYPMRRSYRY	KLLNWAYQQV	QONKEDAWIE	HDVWRMEIYV	SLGIVGLAIL	ALLAVTSIPS	240
8P1D4v.2: 241	VSDSLTWREF	HYIQV					255
8P1D4v.3: 241	VSDSLTWREF	HYIQI					255

Tabla LXI:

## BÚSQUEDA de Péptidos

Variante 1 de STEAP- 1:

nonámeros, decámeros y 15-meros: aa 1-339 (SEC ID N°: 71)

MESRKDITNQ	EELWKKMPRR	NLEEDDYLNK	DTGETSMLKR	PVLLHLHQT	HADEFDCPSE	60
LQHTQELFPQ	WHLPIKIAAI	IASLTFLYTL	LREVIHPLAT	SHQQYFYKIP	ILVINKVLP	120
VSITLLALVY	LPGVIAAIVQ	LHNGTKYKKF	PHWLDKVMLT	RKQFGLLSFF	FAVLHAIYSL	180
SYPMRRSYRY	KLLNWAYQQV	QQNKEDAWIE	HDVWRMEIYV	SLGIVGLAIL	ALLAVTSIPS	240
VSDSLTWREF	HYIQSKLGIV	SLLGTIHAL	IFAWNKWIDI	KQFVWYTPPT	FMIAVFLPIV	300
VLIFKSILFL	PELRKKILKI	RHGVEDVTKI	NKTEICSQL			339

Variante 2:

9-meros aa 247-258 (SEC ID N°: 72)

WREFHYIQVNNI

10-meros aa 246-258 (SEC ID N°: 73)

TWREFHYIQVNNI

15-meros aa 241-258 (SEC ID N°: 74)

VSDSLTWREFHYIQVNNI

Variante 3:

9-meros aa 247- (SEC ID N°: 75)

WREFHYIQIIHKKSDVPESLWDPCLTRFKGLNLIQS

10-meros aa 246- (SEC ID N°: 76)

TWREFHYIQIIHKKSDVPESLWDPCLTRFKGLNLIQS

15-meros aa 241- (SEC ID N°: 77)

VSDSLTWREFHYIQIIHKKSDVPESLWDPCLTRFKGLNLIQS

Variante 4:

9-meros aa 160-176 (SEC ID N°: 78)

RKQFGLLSLFFAVLHAI

10-meros aa 159-177 (SEC ID N°: 79)

TRKQFGLLSLFFAVLHAIY

15-meros aa 154-182 (SEC ID N°: 80)

DKWMLTRKQFGLLSLFFAVLHAIYSLSYP

## REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en los aminoácidos 32-40, 80-88, 99-107, 122-130, 153-161, 180-188, 21-30, 79-88, 121-130, 173-182, 243-252, 244-252, 277-286, 108-116, 140-148, 307-315, 140-149, 307-316, 118-126, 150-158, 294-302, 310-318, 109-118 y 150-159 de SEC ID N°: 3 o;  
un análogo del péptido en el que un resto en una posición de anclaje primaria y/o secundaria mostrada en la Tabla IV se sustituye por otro aminoácido específico para esta posición de la Tabla IV para aumentar la afinidad de unión, la semivida de unión y/o la reactividad cruzada del péptido.
2. Una composición que comprende:  
un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une específicamente a un péptido de la reivindicación 1.
3. Una composición que comprende:  
un anticuerpo o un fragmento de acuerdo con la reivindicación 2 que modula la localización, el nivel o la actividad de una proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9, en donde el anticuerpo o el fragmento están conjugados con un agente citotóxico o con un agente de diagnóstico.
4. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que adicionalmente comprende un vehículo fisiológicamente aceptable.
5. Una composición farmacéutica que comprende la composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en forma de una dosis unitaria humana.
6. Un anticuerpo o un fragmento del mismo como se define en la reivindicación 2, que es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico.
7. Un animal transgénico no humano que produce un anticuerpo como se define en la reivindicación 2.
8. Un hibridoma que produce un anticuerpo como se define en la reivindicación 6.
9. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en la inhibición del crecimiento de células cancerosas que expresan una proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9, en donde el crecimiento de dichas células cancerosas se inhibe administrando la composición a las células.
10. Un polinucleótido que comprende una secuencia codificante para un péptido de acuerdo con la reivindicación 1 o que comprende un polinucleótido complementario a una secuencia codificante para un péptido de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso en la inhibición del crecimiento de células cancerosas que expresan una proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9, en donde el crecimiento de dichas células cancerosas se inhibe administrando el polinucleótido a las células.
11. Un vector para su uso en la inhibición del crecimiento de células cancerosas que expresan una proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9, en donde el vector suministra un nucleótido que codifica un anticuerpo monoclonal monocatenario que tiene la especificidad de un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 2, mediante lo cual el anticuerpo monoclonal monocatenario codificado se expresa de manera intracelular en células cancerosas que expresan una proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9.
12. Un vector para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el vector es un vector viral.
13. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el cáncer se produce en un tejido expuesto en la Tabla 1.
14. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la composición comprende un anticuerpo de la reivindicación 2.
15. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer gástrico, cáncer colorrectal, mieloma múltiple, linfoma de células B, leucemia, cáncer de mama, cáncer renal, cáncer de vejiga y cáncer de pulmón.
16. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde dicho cáncer es metastásico.
17. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 16, en donde dicho cáncer es cáncer de próstata metastásico.

18. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en la que dichos anticuerpo o fragmento de anticuerpo están conjugados con una toxina, un radioisótopo o un agente quimioterapéutico.
19. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en la que dicho agente quimioterapéutico es una auristatina o un maitansinoide.
20. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en la que dichos anticuerpo o fragmento de anticuerpo se co-administran con otro agente terapéutico del cáncer.
21. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 20, en la que el otro agente terapéutico del cáncer es trastuzumab o paclitaxel.
22. Un péptido de acuerdo con la reivindicación 1 y/o una secuencia de nucleótidos que codifica dicho péptido para su uso en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico del cáncer, comprendiendo el tratamiento la generación de una respuesta inmunitaria dirigida contra una proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9.
23. Un péptido y/o una secuencia de nucleótidos para su uso de acuerdo con la reivindicación 22, en los que dicha respuesta inmunitaria se genera por un método que comprende:
  - proporcionar dicho péptido y/o dicha secuencia de ácido nucleico; y
  - poner en contacto el péptido con una célula T citotóxica (CTL) que destruye una célula autóloga que expresa la proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9 después de una activación.
24. Uso de una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la fabricación de un medicamento para inhibir el crecimiento de células cancerosas que expresan una proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9, en donde el crecimiento de dichas células cancerosas se inhibe administrando la composición a las células y en donde el cáncer o la composición son opcionalmente como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 9 y de la 13 a la 21.
25. Uso de un polinucleótido como se define en la reivindicación 10 en la fabricación de un medicamento para inhibir el crecimiento de células cancerosas que expresan una proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9, en donde el crecimiento de dichas células cancerosas se inhibe administrando el polinucleótido a las células.
26. Uso de un vector como se define en la reivindicación 11 o en la reivindicación 12 en la fabricación de un medicamento para inhibir el crecimiento de células cancerosas que expresan una proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9.
27. Uso de un péptido de acuerdo con la reivindicación 1 y/o de una secuencia de nucleótidos que codifica dicho péptido en la fabricación de un medicamento para el tratamiento profiláctico del cáncer, comprendiendo el tratamiento la generación de una respuesta inmunitaria dirigida contra una proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9, en donde la respuesta inmunitaria se genera opcionalmente mediante un método que comprende:
  - proporcionar dicho péptido y/o dicha secuencia de ácido nucleico; y
  - poner en contacto el polipéptido con una célula T citotóxica (CTL) que destruye una célula autóloga que expresa la proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9 después de una activación.
28. Un método para detectar en una muestra la presencia de una proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9, que comprende las etapas de:
  - poner en contacto la muestra con un anticuerpo o un fragmento del mismo de la reivindicación 2; y
  - determinar la existencia de un complejo entre el anticuerpo o un fragmento del mismo y la proteína de SEC ID N°: 3, 5, 7 o 9.



**Figura 1:** secuencia HSS de STEAP-1 de 436 nucleótidos. (SEC ID N°: 1)

```

1  GTACAGCAAA AAAGAACTG AGAAGCCCAA ACTGCTTTCT TGTTAACATC CACTTATGCA
61  ACCAATGTGG AAACCTCTTA TACTTGGTTC CATTATGAAG TTGGACAATT GCTGCTATCA
121 CACCTGGCAG GTAAACCAAT GCCAAGAGAG TGATGGAAAC CATTGGCAAG ACTTTGTTGA
181 TGACCAGGAT TGGAATTTTA TAAAAATATT GTTGATGGGA AGTTGCTAAA GGGTGAATTA
241 CTTCCCTCAG AAGAGTGTA AGAAAAGTCA GAGATGCTAT AATAGCAGCT ATTTTAATG
301 GCAAGTGCCA CTGTGGAAAG AGTTCCTGTG TGTGCTGAAG TTCTGAAGGG CAGTCAAATT
361 CATCAGCATG GGCTATTTGG TGCAAATGCA AAAGCACAGG TCTTTTATAG ATGCTGGTCT
421 CTCCCGTGTC CTTATG

```

Figura 2:

**Figura 2A.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 2) y de aminoácidos (SEC ID N°: 3) de STEAP-1 v.1. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 66 al 1085 incluyendo el codón de terminación.

```

1 ccgagactcacggtcaagctaaggcgaagagtgggtggctgaagccatactattttatag
1   M E S R K D I T N Q E E L W K M K P R
61 aattaATGGAAGCAGAAAAGACATCACAAACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTA
20  R N L E E D D Y L H K D T G E T S M L K
121 GGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGCATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAA
40  R P V L L H L H Q T A H A D E F D C P S
181 AAAGACCTGTGCTTTTGCATTTGCACCAAACAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTT
60  E L Q H T Q E L F P Q W H L P I K I A A
241 CAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTTTTCCACAGTGGCACTTGCCAATTAATAAGCTG
80  I I A S L T F L Y T L L R E V I H P L A
301 CTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACACTCTTCTGAGGGAAGTAATTCAGCCTTTAG
100 T S H Q Q Y F Y K I P I L V I N K V L P
361 CAACTTCCCATCAACAATATTTTTATAAAATTCCAATCCTGGTCATCAACAAGTCTTGC
120 M V S I T L L A L V Y L P G V I A A I V
421 CAATGGTTTCCATCACTCTCTTGGCATTGGTTTACCTGGCAGGTGTGATAGCAGCAATTG
140 Q L H N G T K Y K K F P H W L D K W M L
481 TCCAACCTTCATAATGGAACCAAGTATAAGAAGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGT
160 T R K Q F G L L S F F F A V L H A I Y S
541 TAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTTTCTTTTTTGCTGTACTGCATGCAATTTATA
180 L S Y P M R R S Y R Y K L L N W A Y Q Q
601 GTCTGTCTTACCAATGAGGCGATCCTACAGATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAAC
200 V Q Q N K E D A W I E H D V W R M E I Y
661 AGGTCCAACAAAATAAGAAGATGCTGGATTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTT
220 V S L G I V G L A I L A L L A V T S I P
721 ATGTGTCTCTGGGAATTGTGGGATTGGCAATACDGGCTCTGTGGCTGTGACATCTATTC
240 S V S D S L T W R E F H Y I Q S K L G I
781 CATCTGTGAGTGAATCTTTGACATGGAGAGAATTTCACTATATTCAGAGCAAGCTAGGAA
260 V S L L L G T I H A L I F A W N K W I D
841 TTGTTTCCCTTCTACTGGGCACAATACACGATTGATTTTTGGCTGGAATAAGTGGATAG
280 I K Q P V W Y T P P T F M I A V F L P I
901 ATATAAAACAATTTGTATGGTATACACCTCCAACITTTATGATAGCTGTTTTCCTTCCAA
300 V V L I F K S I L F L P C L R K K I L K
961 TTGTTGTCCTGATATTTAAAGCATACTATTCTGCCATGCTTGAGGAAGAAGATACTGA
320 I R H G W E D V T K I N K T E I C S Q L
1021 AGATTAGACATGGTTGGGAAGACGTCACCAAATTAACAAACTGAGATATGTTCCCACT
340 *
1081 TGTAGAattactgtttacacacatttttgttcaatattgatatatattttatcaccaacatt
1141 tcaagtttgtatttgttaataaaatgattacaagggaiaaaaaaaaaaaaaaaaaa

```

**Figura 2B.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 4) y de aminoácidos (SEC ID N°: 5) de STEAP-1 v.2. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1 ggggccccgcacctctggggcagcagcggcagccgagactcacgggtcaagctaaggcgaaga
1                               M E S R K D I T N
61 gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10  Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30  K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTCACCAAA
50  A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACTCTTTC
70  Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90  L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTATAAAA
110 P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGGCATTGG
130 Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150 F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTT
170 F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGCTGTACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTACCCAATGAGGGGATCCTACA
190 Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGCCTGGA
210 E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTTATGTGTCTCTGGAATTGTGGGATTGGCAA
230 L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250 F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTTCAGGTAAATAATATATAAaataaccctaagaggtaaatcttctttt
901 tgtgtttatgatatagaatatgttgactttaccccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttataacttggtccaattaataatgtgctctcctggttgtttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgttccctagacataaataaaaaggcattaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgtttgttttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcacgatctcggtcactgcaacctggcctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgccctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaccctac
1261 accatgtccagctaatttttgtatttttagtagagacagggttttcccatgttgccagg
1321 ctggtctcgatctcctgacctcaaatgatccgccacctcggcctcccaaagtgtggga
1381 tgacagttgtgagccaaccacactcagcctgctctttcctaattttgaaacttggttagaca
1441 atttgctacccatctaattgtgatatttttaggaatccaatatgcatgggtttattatttctt

```

1501 aaaaaaaatattcttttaacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaaaag  
 1621 atatgctagtgtctcatttcaaaggctgcttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaaatattcttgtaattttaaaactatctcagatttactgaggtttat  
 1741 cttctgggtggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggatccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcacgaacactgccaaattaccgttta  
 1861 tgggttagacatctttggaaatttccacaagggtcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttattaggcatctgattagtttggaaagtatgcctcc  
 1981 atctgaattagtcagtggtggttagagttggtacaacattctcacagaatttcttaatt  
 2041 ttgtaggttcagcctgataaccactggagttctttggtcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgcctgttacacatatgatgaacactgcttttttagacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaatctgagaactggttacactacaagttaccttgg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaaccttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttgttctggcaggctaataccatttccagtaaaag  
 2461 tgaatagagggtcagaagtcgtataaaagaggtgtgtcagaacaccgttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtgcacaaagcatcccaatgcagge  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaattgtt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagttcatto  
 2701 acttcattattcatttatcaaaatcagagtgaaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtcaaattgatttttgcataaatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacaaagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaatatcataaggggatgaacaaaatggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttggag  
 3061 acaagaaattaccctaaagtaagggtgaggagtaggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgcagagcaagctaggaattgtttcccttetactgggeacaatacacgc  
 3301 attgatttttgcctggaataagtggatagatataaaacaatttgtatggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttccctccaattgttgcctgatatttaaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagataactgaagattagacatggttgggaagacgtcaccac  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttcccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatataattttatcaccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2C.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 6) y de aminoácidos (SEC ID N°: 7) de STEAP-1 v.3. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 944 incluyendo el codón de terminación.

```

1 ggggccccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacggtcaagctaaggcgaaga
1      M E S R K D I T N
61 gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10     Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30     K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTCACCAAA
50     A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTCTTC
70     Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90     L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCTTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTATAAAA
110    P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGGCATTGG
130    Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150    F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTT
170    F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTGTGCTGTACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTACCCAATGAGGCGATCCTACA
190    Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAGATGCCTGGA
210    E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTTATGTGTCTCTGGGAATTGTGGGATTGGCAA
230    L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTGCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250    F H Y I Q I I H K K S D V P E S L W D P
841 AATTTCACTATATTTCAGATTATCCATAAGAAGAGTGATGTGCCAGAAATCACTCTGGGATC
270    C L T R F K G L N L I Q S *
901 CTTGTCTGACAAGATTCAAGGACTAAATTTAATTTCAGTCATGAacactgccaattaccg
961 tttatgggtagacatctttggaaatttccacaagagcaagctaggaattgtttcccttct
1021 actgggcacaaatacacgcattgatttttgcctggaataagtggatagatataaaacaatt
1081 tgtatgggtatacacctccaacttttatgatagctgttttccctccaattgttgtcctgat
1141 atttaaaagcatactatttcctgcatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatgg
1201 ttgggaagacgtcaccaaaattaacaaaactgagatatgttcccagttgtagaattactg
1261 tttacacacatttttgttcaatattgatataattttatcaccaacatttcaagtttgtatt
1321 tgttaataaaaatgattattcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

```

**Figura 2D.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 8) y de aminoácidos (SEC ID N°: 9) de STEAP-1 v.4 La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1 ggggccccgcacctctgtggcagcagcggcagccgagaotcacgggtcaagctaaggcgaaga
1      M E S R K D I T N
61 gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10   Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTCG
30   K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGAGCTGTGCTTTTGCATTTCACCAAA
50   A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTTTC
70   Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTCTTTTACA
90   L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCOCATCAACAATATTTTATAAAA
110  P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGGCATTGG
130  Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150  F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S L
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTT
170  F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TGTTTTTTGCTGTACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTACGCAATGAGGCGATCCTACA
190  Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGGCTGGA
210  E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTTATGTGTCTCTGGGAATTGTGGGATTGGCAA
230  L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250  F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTCAGGTAAATAATATATAAAaataaccctaagaggtaaatcttctttt
901 tgtgttttatgatatagaatatgttgactttacccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttataacttggtccaattaataatgtgctctcctgtgttttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaaggcattaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttgtttgtttgtttgttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcagatctcgggtcactgcaacctgcgcctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgccctcagcctcctgagtagctgggattacaggcacccatc
1261 accatgtccagctaatttttgtatttttagtagagacagggttttcccatgttgccagg
1321 ctggctctgatctcctgacctcaaatgatccgccacctcggcctcccaaagtgtggga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttctaataatttgaaactgttagaca

```



1441 atttgctacccatctaattgtgatatttttaggaatccaatatgcatggtttattatttctt  
 1501 aaaaaaaaaatattcttttacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaag  
 1621 atatgctagtgtctcatttcaaaggctgcttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaaatattcttgtaattttaaaactatctcagatttactgagggttat  
 1741 cttctggtaggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggatccctg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcataaacactgccaataccgttta  
 1861 tgggtagacatctttggaaatttccacaaggctcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttattaggtatctgattagtttggaagtatgcctcc  
 1981 atctgaattagtcagtggttagagttgggtacaacattctcacagaatttccataatt  
 2041 ttgtaggttcagcctgataaccactggagttctttgggtcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgcctgttacacatatgatgaacactgcttttttagacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaatctgagaactgggtacactacaagttaccttg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaacttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttgttctggcaggttaatgaccatttccagtaag  
 2461 tgaatagaggtcagaagtcgtataaaagaggtgttgtcagaacaccgttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtgaacaaagcatcccaatgcaggo  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaatgttt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagttcattc  
 2701 acttcattattcatttatcaaaatcagagtgaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtcaaattgatttttgctataatcttcaatctaoctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaatatcataaggggatgaacaaaatggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcaacttagacagcttgag  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgtagagcaagctaggaattgtttcccttctactggggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgctggaataagtggatagatataaaaacaatttgtaggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttcttccaattgttgtcctgatattttaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatgggtgggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatataattttatcaccaacatttcaagtttgattttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2E.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 10) y de aminoácidos (SEC ID N°: 11) de STEAP-1 v.5. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1  ggggccccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacggtcaagctaaggcgaaga
1                               M E S R K D I T N
61  gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10  Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30  K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTCACCAAA
50  A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTCTTTC
70  Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90  L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTTATAAAA
110 P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGGCATTGG
130 Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150 F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCTGGTT
170 F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGCTGTACTGCGATGCAATTTATAGTCTGTCTTACCCCAATGAGGCGATGCTACA
190 Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCARCAAAATAAAGAAGATGCCTGGA
210 E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTTATGTGTCTCTGGGAATTGTGGGATTGGCAA
230 L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTGGCTGTGACATCTATTCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250 F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTCAGGTAAATAATATATAAaataaccctaagaggtaaattcttctttt
901 tgtgttttatgatatagaatatgttgactttaccccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttatacttgttccaattaataatgtgctctcctgttgttttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaaggcattaaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgtttgtttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggtcagatctcggtcactgcaacctgcgcctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgcctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaccctcc
1261 accatgtccagctaatttttgtatttttagtagagacagggtttcccatgttggccagg
1321 ctgggtctcgatctcctgacctcaaatgatccgccacctcggcctcccaaagtgttgga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttctaataatttgaaacttgtagaca
1441 atttgctacocatctaattgtgatatttttaggaatccaatatgcatgggtttattatttctt

```

1501 aaaaaaaatattcttttacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaaaag  
 1621 atatgctagtgtctcatttcaaaggctgctttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagttttctaaatattcttgttaattttaaaactatctcagatttactgaggtttat  
 1741 cttctggtaggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggaccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcataaacactgccattaccgttta  
 1861 tgggtagacatctttggaaatttcacaaaggtcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttattaggtctctgattagtttggaaagtatgcctcc  
 1981 atctgaattagtccagtggtgcttagagttggtacaacattctcagagaatttcccaatt  
 2041 ttgtagggttcagcctgataaccactggagttctttggcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgcctgttacacatatgatgaacactgcttttttagacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaatctgagaactggttacactacaagttaccttgg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaaacttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataaattgtgagttcgatttgttctggcaggctaataccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagaggtcagaagtcgtataaaagaggtgtgtcagaacaccgttgagattatata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtacaaaagcatcccaatgcaggc  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaattggt  
 2641 catattatttccatgttatcagaataatttgatttttttaaaaacataggccaagttcattc  
 2701 acttcattattcatttatcaaaaatcagagtgaaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtcaaattgatttttgcataaatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacaaagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaataatcataaggggatgaacaaaatggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttgag  
 3061 acaagaaattacccaaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgcagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgctggaataagtggatagataaaaacaatttgtatggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttccctccaattgttgcctgatatttaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatggttgggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttccagttgtagaattactgtttacacacattttgtt  
 3541 caatattgatataattttatcaccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2F.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 12) y de aminoácidos (SEC ID N°: 13) de STEAP-1 v.6. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1 ggggcccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacgggtcaagctaaggcgaaga
1      M E S R K D I T N
61 gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10    Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30    K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTCACCAAA
50    A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTCTTC
70    Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAATAAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90    L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTATAAAA
110   P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGGCATGG
130   Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150   F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTT
170   F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGCTGTACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTACCCAATGAGGGGATCCTACA
190   Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGCCTGGA
210   E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTTATGTGTCTCTGGGAATTGTGGGATTTGGCAA
230   L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250   F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTCAGGTAAATAATATATAAAataaccctaagaggtaaattcttctttt
901 tgtgtttatgatatagaatatgttgactttaccccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttataacttggtccaattaataatgtgetctoctgttggtttccctatttg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaaggcattaaaatattctttggtt
1081 ttttttggtttgtttgtttgtttttgtttgtttgtttgttttttgagatgaagtctctg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcagatctcggtcactgcaacctgcgcctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgccctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaccatc
1261 accatgtccagctaatttttgatatttttagtagagacagggttttcccatgttggccagg
1321 ctggtctcgatctoctgacctcaaatgatccgccacctcggcctccaaagtgtctggga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttctaataatttgaaactgttagaca
1441 atttgctacccatctaattgtgatatttttaggaatccaatatgcatggtttattatttctt

```

1501 aaaaaaaatattcttttaacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaag  
 1621 atatgctagtgtctcatttcaaaggctgctttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaataattcttgttaattttaaactatctcagatttactgaggtttat  
 1741 cttctggtggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggatccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcatgaacactgccattaccgttta  
 1861 tgggttagacatctttggaaatttccacaaggtcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttatttaggcattctgattagtttggaaagtatgcctcc  
 1981 atctgaattagtcagtggtggttagagttggtacaacattctcacagaatttcctaatt  
 2041 ttgtagggttcagcctgataaccactggagttctttggtcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgcctgttacacatatgatgaacactgcttttttagacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcattcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaatctgagaactgggtacactacaagttaccttgg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaacttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttgttctggcaggctaataccatttccagtaaaag  
 2461 tgaatagaggtcagaagtcgtataaaagaggtgttgtcagaacaccgttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtgcacaaagcatcccaatgcaggc  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaattgtt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagttcatte  
 2701 acttcattattcattttatcaaaatcagagtgaaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtc aaattgatttttgcctataatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacaaagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaatatcataaggggatgaacaaaatgggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttggag  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgcagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgcctggaataagtgatagataaaaacaatttgtatgggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttccctccaattgttgcctgatattttaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatgggtgggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttcccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatataattttatcaccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2G.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 14) y de aminoácidos (SEC ID N°: 15) de STEAP-1 v.7. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1  ggggccccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacgggtcaagctaaggcgaaga
1  M E S R K D I T N
61  gtgggtggetgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10  Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121  ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30  K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181  ATAAGGACACGGGAGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTCACCAA
50  A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241  CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTCTTTC
70  Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301  CACAGTGGCACTTGCCAATTAAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90  L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361  CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCAGCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTATAAAA
110  P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421  TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTTCATCACTCTCTTGGCATTGG
130  Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481  TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150  F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541  AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTT
170  F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601  TCTTTTGTGCTGTACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTACCCAATGAGGGGATCCTACA
190  Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661  GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGCCPGGA
210  E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721  TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTTATGTGTCTCTGGAATTGTGGGATTGGCAA
230  L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781  TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250  F H Y I Q V N N I *
841  AATTTCACTATATTCAGGTAAATAATATATAAAataaacctaagaggtaaatcttctttt
901  tgtgtttatgatatagaatatgttgactttaccccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961  cagcaaagatcttataacttggttocaattaataatgtgctctcctgttgtttccctattg
1021  cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaaggcattaaaatattctttgtt
1081  tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgtttgttttttgagatgaagtctcg
1141  ctctgttgcccatgctggagtacagtggcagatctcggetcactgcaacctgcgectcc
1201  tgggttcaggcgattctcttgcctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaccatc
1261  accatgtccagctaattttttgtattttttagtagagacagggttttcccatgttggccagg
1321  ctggctctegatctcctgacctcaaatgatccgcccacctcggcctcccaaagtgtggga
1381  tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttotaatatttgaaactgttagaca
1441  atttgccaccatctaatgtgatatttttaggaatccaatatgcatgggtttattattctt

```



1501 aaaaaaaatattcttttacctgtcacctgaatttagtaaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataaatagagtttttatctaccaaag  
 1621 atatgctagtgtctcatttcaaaggctgctttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaaatattcttgaattttaaaactatctcagatttactgaggtttat  
 1741 cttctggtggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggatccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcataaacactgcccaattaccgttta  
 1861 tgggtagacatctttggaaatttccacaaggctcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttattaggtctctgattagtttggaaagtatgcctcc  
 1981 atctgaattagtcacagtggtggttagagttggtacaacattctcacagaatttcttaatt  
 2041 ttgtagggttcagcctgataaccactggagttctttggctcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgcctgttacacatatgatgaacactgcttttttagacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcatttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaaatctgagaactgggttactacaagttaccttg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaaacttagctatttgattgtatttactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttgttctggcaggctaatgaccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagaggtcagaagtcgtataaaaagaggtgtgtcagaacaccgttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtgacaaagcatcccaatgcaggc  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaatgtt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagtcatte  
 2701 acttcattattcatttatcaaaatcagagtgaaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtcaaattgatttttgcctataatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacaaagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaatatcataaggggatgaacaaaatggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttgga  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgcagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgctggaataagtggatagatataaaacaatttgtatggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttcttccaattgttgtcctgatatttaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatgggttgggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatatatattttatcaccaacatttcaagttgtatttgttaataaaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2H.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 16) y de aminoácidos (SEC ID N°: 17) de STEAP-1 v.8. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1 ggggccccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcaagggtcaagctaaggcgaaga
1                               M E S R K D I T N
61 gtgggtggctgaagccatactatatttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10  Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30  K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTGCACCAAA
50  A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGGCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTCTTTC
70  Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTTACA
90  L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTTATAAAA
110 P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCCATCACTCTCTTGGCATTGG
130 Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTTCATAARGGAACCAAGTATAAGA
150 F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCGTT
170 F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGCTGTACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTACGCCAATGAGGCGATCCTACA
190 Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGECTGGA
210 E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTATGTGTCTCTGGGAATTGTGGGATTGGCAA
230 L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250 F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTCAAGGTAAATAATATATAAaataaccctaagaggtaaattcttctttt
901 tgtgtttatgatatagaatatgttgactttacccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttataacttggtccaattaataatgtgctctcctgtgttttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaaggcattaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgtttgttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcagatctcggctcactgcaacctgcgccctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgccctcagcctcctgagtagctgggattacaggcacccatc
1261 accatgtccagctaatttttgtatttttagtagagacagggttttcccatgttggccagg
1321 ctggtctcgatctcctgacctcaaatgatccgcccacctcggcctcccaaagtgttggga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttctaataatttgaaactgttagaca
1441 atttgctacccatctaattgtgatatttttaggaatecaatatgcatgggtttattatttctt

```

1501 aaaaaaaatattcttttaacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagttttatctaccaaaag  
 1621 ttatgctagtgtctcatttcaaaggctgctttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagttttctaaatattcttgtaattttaaaactatctcagatttactgagggtttat  
 1741 cttctgggtggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggaccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcacgaacactgecaattaccgttta  
 1861 tgggttagacatctttggaaatttccacaaggctcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttattagggcatctgattagtttggaaagtatgectcc  
 1981 atctgaattagtcagtggtggttagagttggtacaacattctcacagaatttccctaatt  
 2041 ttgtagggttcagcctgataaccactggagttctttggctcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgctgttacacatatgatgaacactgcttttttagacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaatctgagaactgggtacactacaagttaccttgg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaaacttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataaattgtgagttcgatttgttctggcaggctaataaccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagagggtcagaagtcgtataaaaagagggtgtgtcagaacaccggttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtgaacaaagcatcccaatgcaggc  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaattggt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagttcatte  
 2701 acttcattattcatattatcaaaatcagagtgaaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtcaaaattgatttttgcataatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacaaagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaatatcataaggggatgaacaaaatgggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttggag  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggttaggtaggataaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgcagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgcctggaataagtggatagatataaaacaatttgtatggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttcccttccaattgttgcctgatattttaaagcataactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatgggtgggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatataatttatccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2l.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 18) y de aminoácidos (SEC ID N°: 19) de STEAP-1 v.9. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1 ggggcccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacgggtcaagctaaggcgaaga
1                               M E S R K D I T N
61 gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10  Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30  K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTGCACCAAA
50  A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACTCTTTC
70  Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90  L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCCTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTTATAAAA
110 P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGGCATTGG
130 Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150 F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTT
170 F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGCTGTACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTAGCCAATGAGGCGATCCTACA
190 Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGCCTGGA
210 E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTTATGTGTCTCTGGAATTGTGGGATTGGCAA
230 L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250 F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTCAGGTAAATAATATATAAaataaccctaagaggtaaatacttctttt
901 tgtgtttatgatatagaatatgttgactttaccccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttataacttggtccaattaataatgtgctctcctgttggtttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaaggcattaaaatattctttggt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgtttgttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcagatctcggtcactgcaacctgcgcctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgccctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaccatc
1261 accatgtccagctaattttttgtatttttagtagagacagggttttcccatgttgccagg
1321 ctggtctcgatctcctgacctcaaatgatccgcccacctcggcctcccaaagtgtggga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttctaataatttgaaactgttagaca
1441 atttgctacccatctaattgtgatatttttaggaatccaatatgcatggtttattatttctt

```

1501 aaaaaaaatattcttttacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaaag  
 1621 atattctagtgctcatttcaaaggctgctttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaaatattcttgtaattttaaaactatctcagatttactgaggtttat  
 1741 cttctggtagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggaccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcacgaacactgccaataccgttta  
 1861 tgggtagacatctttggaaatttccacaaggctcagacattcgcaactatccctctacat  
 1921 gtccacacgtataactccaacactttattagggcatctgattagtttggaaagtatgcctcc  
 1981 atctgaattagtcagtggtgcttagagttgggtacaacattctcacagaatttccctaat  
 2041 ttgtagggtcagcctgataaccactggagttctttggctcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgectgttacacatatgatgaacactgcttttttagaacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctageccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaatctgagaactgggtacactacaagttacctgg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaaccttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttggtctggcaggctaataccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagaggtcagaagtcgtataaaagaggtgtgtgcagaacaccgttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttggtgtagtgacaaagcatcccaatgcaggc  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaattgtt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagtctatc  
 2701 acttcattattcatttatcaaaatcagagtgaaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtc aaattgatttttgcctataaatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtcctgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacaaagagacaa  
 2941 agcacaaaaaataaatatcataaggggatgaacaaaatgggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttgag  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgcctggaataagtggtatagatataaaacaatttggtatggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttccctocaattgttgctctgatatttaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagataotgaagattagacatgggtgggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatataattttatcacaacatttcaagtttgtatttggttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2J.** Secuencia de ADNc (SEC ID Nº: 20) y de aminoácidos (SEC ID Nº: 21) de STEAP-1 v.10. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1 ggggcccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacggtcaagctaaggcgaaga
1      M E S R K D I T N
61 gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10    Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTC
30    K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTCACCCAAA
50    A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTCTTC
70    Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTTACA
90    L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCGCATCAACAATATTTTTATAAAA
110   P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGCCATTGG
130   Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTTGTCCAACTTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150   F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCGTTTGGGCTTCTCAGTT
170   F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGCTGTACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTACCCATGAGGCGATCCTACA
190   Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGCCTGGA
210   E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTATGTGTCTCTGGGAATTGTGGGATTGGCAA
230   L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250   F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTCAGGTAAATAATATATAAaataaccctaagaggtaaattcttctttt
901 tgtgttttatgatatagaatatgttgactttaccccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttataacttgttccaattaataatgtgctctctctgttgttttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaaggcattaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgtttgttttttgagatgaagtcctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcacgatctcggctcactgcaacctgcgctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgcctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaccctac
1261 accatgtccagctaatttttgtatttttagtagagacagggttttcccatgttggccagg
1321 ctggtctcgatctcctgacctcaaatgatccgccacctcggcctcccaaagtgtggga
1381 tgacagttgtgagccaccacacacagcctgctcttctaatatttgaaactgttagaca
1441 atttgctacccatctaatgtgatatttttaggaatccaatatgcatgggtttattattctt

```



1501 aaaaaaaaaatattcttttacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagttttatctaccaaag  
 1621 atatgctagtgtctcatttccasaggctgcttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaaatattcttgtaattttaaaaatatctcagatttactgaggtttat  
 1741 cttctggtaggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggaccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcatgaacactgccaatcacggtta  
 1861 tgggttagacatctttggaaatttccacaagggtcagacattcgcaactateccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttattaggtcatctgattagtttggaagtagtgcctcc  
 1981 atctgaatttagtccagtggtggttagagttggtacaacattctcacagaatttcctaatt  
 2041 ttgttaggttcagcctgataaccactggagttctttggtcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgcctgttacacatatgatgaacactgcttttttagacttcatttaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaaatctgagaactggttacactacaagttaccttgg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaaccttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttgttctggcaggctaataaccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagaggtcagaagtcgtataaaaagggtgtgtgcagaacaccggtgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtgacaaagcatccaatgcaggc  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctatatttgtgcagacattgaaaaaattgtt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagttcatte  
 2701 acttcattattcatttatcaaaatcagagtgaaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtcaaattgatttttgcctataatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgtgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaaatatacagaaggggatgaacaaaatgggtggagaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttggag  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaaactcttatgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgcagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgctggaataagtggatagatataaaacaatttgtatggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttccctccaattgttgtcctgatattttaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatggttgggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttcccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatataatttatcaccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2K.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 22) y de aminoácidos (SEC ID N°: 23) de STEAP-1 v.11. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1 ggggcccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacgggtcaagctaaggcgaaga
1      M E S R K D I T N
61 gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10   Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30   K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTCGACCAAAA
50   A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTCTTTC
70   Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90   L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTATAAAA
110  P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTSCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGGCATTGG
130  Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150  F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTT
170  F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGTCTGTACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTAGCCAAATGAGGCGATCCTACA
190  Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGCCTGGA
210  E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTATGTGTCTCTGCGGAATTGTGGGATTGGCAA
230  L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250  F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCATATATTTCAGGTAAATAATATATAAAaataaccctaagaggtaaattcttctttt
901 tgtgtttatgatatagaatatgttgactttaccccataaaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttatacttgttccaattaataatgtgctctcctgttgttttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaaggcattaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgttttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcacgatctcggtcactgcaacctgcgcctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgccctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaccatc
1261 accatgtccagctaatttttgtatttttagtagagacagggttttcccatgttggccagg
1321 ctggtctcgatctcctgacctcaaatgatccgcccacctcggcctcccaaagtgtggga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttctaataatttgaaactgttagaca
1441 atttgctacccatctaattgtgatatttttaggaatccaatatgcatggtttattatttctt

```

1501 aaaaaaaataattcttttacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaag  
 1621 atatgctagtgctctcatttcaaaggctgcttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaaatatcttgtaattttaaaactatctcagatttactgaggtttat  
 1741 cttctggtaggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggatccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaattttaattcagtcacgaacactgccaaattaccgttta  
 1861 tgggtagacatctttggaaatttccacaagggtcagacatttcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttattaggcacctgattagtttggaagatgcctcc  
 1981 atctgaattagtcagtggttagagttgggtacaacattctcacagaatttcctaatt  
 2041 ttgtagggttcagcctgataaccactggagttctttggctcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgcctgttacacatatgatgaacactgctttttagacttcatttaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaaccttagaaaatgtttcacttaaaatctgagaactgggttacactacaagtaccttgg  
 2341 agattcatatatgaaaatgcaaacttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttggtctggcaggctaatgaccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagaggtcagaagtcgtataaaaagaggtgtgtgcagaacaccgttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttggtgtagtgacaaagcatccaatgcagggc  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaattggt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatgtgattttttaaaaacataggccaagttcatc  
 2701 acttcattatttcatttatcaaaatcagagtgaaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtcaaattgatttttgctataatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccctgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaatatcataaggggatgaacaaaatgggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttggag  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgctggaataagtggatagatataaaacaatttgtatggtatcacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttcttccaattgttgcctgatattttaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatgggtgggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatataattttatcaccaacatttcaagtttgtattttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2L.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 24) y de aminoácidos (SEC ID N°: 25) de STEAP-1 v.12. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1  ggggcccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacgggtcaagctaaggcgaaga
1      M E S R K D I T N
61  gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10   Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30   K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTCAGCAAAA
50   A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTCTTTC
70   Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAATAAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90   L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTTATAAAA
110  P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATECTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCATCACTCTCTTGGCATTTGG
130  Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150  F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAATT
170  F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGTGCTGACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTACCCAATGAGGCGATCCTACA
190  Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
561 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGCCTGGA
210  E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTTATGTGTCTCTGCGGAATTGTGGGATTGGCAA
230  L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250  F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTCAGGTAAATAATATATAAaataaccctaagaggtaaattcttctttt
901 tgtgtttatgatatagaatatgttgactttaccccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttatacttgttccaattaataatgtgtctctctgtgtgttttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaaggcattaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgttttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcacgatctcggtcactgcaacctgcgctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgccctcagcctcctgagtagctgggattacaggoacccatc
1261 accatgtccagctaattttttgtattttttagtagagacagggttttcccatgttggocagg
1321 ctgggtctcgatctcctgacctcaaagtatccgccacctcggcctccaaagtgtctggga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttctaataatttgaaacttgttagaca
1441 atttgctacccatctaattgtgatatttttaggaatccaatatgcatgggtttattatttctt

```

1501 aaaaaaaatattcttttacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaaag  
 1621 atatgctagtgtctcatttcaaaggctgcttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagttttctaaatattcttgttaattttaaactatctcagatttactgaggtttat  
 1741 cttctggtggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggaccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcatgaacactgccaataccgttta  
 1861 tgggttagacatctttggaaatttccacaaggctcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttattaggcatctgattagtttggaaagtatgcctcc  
 1981 atctgaattagtcagtggtggttagagttggtacaacattctcacagaatttcctaatt  
 2041 ttgtaggttcagcctgataaccactggagttctttggtcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgctgttacacatatgatgaacactgcttttttagacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaatctgagaactggttacactacaagttaccttgg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaacttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttgttctggcaggctaatagaccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagaggtcagaagtcgtataaaagaggtgtgtcagaacaccggtgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtgacaaagcatccaatgcaggc  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaattggt  
 2641 catatgatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagttcattc  
 2701 acttcattattcatttatcaaaatcagagtgaaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtcaaattgatttttgcataatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacaaagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaatatcataaggggatgaacaaaatggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttggag  
 3061 acaagaaattaccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgcagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgcctggaataagtggtatagatataaaacaatttgtatggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttccctccaattgttgtcctgatattttaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatggttgggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttcccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatataattttatcaccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2M.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 26) y de aminoácidos (SEC ID N°: 27) STEAP-1 v.13. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1  ggggcccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacgggtcaagctaaggcgaaga
1      M E S R K D I T N
61  gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10   Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30   K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTGCAGCAAA
50   A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTCTTTC
70   Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90   L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTATAAAA
110  P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGGCATTGG
130  Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150  F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTT
170  F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGTCTGTACTGCATGCAATTATAGTCTGTCTTACCCAATGAGCGCATCCTACA
190  Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGGCTGGA
210  E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTTATGTGTCTCTGGGAATTTGGGGATTGGCAA
230  L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250  F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTCAGGTAAATAATATATAAataaacccctaagaggtaaatcttctttt
901 tgtgtttatgatatagaatatgttgactttaccccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttataacttgttccaattaataatgtgctctcctgttgttttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaggcattaaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgtttgtttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcagcatctcggctcactgcaacctgcgcctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgccctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaccatc
1261 accatgtccagctaatttttgtatttttagtagagacagggttttcccatgttgccagg
1321 ctggtctcgatctcctgacctcaaagatcgccacccctcggcctcccaaagtgttggga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttctaataatttgaaactgtttagaca
1441 atttgctaaccatctaataatgtgatatttttaggaatccaatatgcatggtttattatttctt

```



1501 aaaaaaaatattcttttacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaaag  
 1621 atatgctagtgtctcatttcaaaggctgcttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaaatattcttgaattttaaaactatctcagatttactgagggttat  
 1741 cttctggtggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggatccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcacgaacactgcccaattaccgttta  
 1861 tgggttagacatctttggaaatttccacaaggctcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttattaggcatctgattagtttggaaagtatgcctcc  
 1981 atctgaattagtcacagtgtggcttagagttggtacaacattctcacagaatttcctaatt  
 2041 ttgtaggttcagcctgataaccactggagttctttggctcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgcctgttacacatatgatgaacactgcttttttagacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaaactctgagaactggttacactacaagttaccttgg  
 2341 agatfcatatatgaaaacgcaaacttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttgttctggcaggctaatagaccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagagggtcagaagtcgtataaaaagagggtgtgtcagaacaccgttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtgcagaagcatcccaatgcaggc  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaattgtt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagttcattc  
 2701 acttcattattcatttatcaaaatcagagtgaaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtcaaattgatttttgctataatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagggatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacagaagacaa  
 2941 agcacaaaaataaatatcataaggggatgaacaaaatggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttggag  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgcagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaaatacacgc  
 3301 attgatttttgcctggaataagtggatagatataaaaacaatttgtatggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttcttccaattgttgtcctgatattttaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatggttgggaagacgtcarcaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatatatattttatcaccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2N.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 28) y de aminoácidos (SEC ID N°: 29) de STEAP-1 v.14. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1  ggggccccgacacctctgggcagcagcggcagccgagactcacgggtcaagctaaggcgaaga
1      M E S R K D I T N
61  gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10   Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAAGCTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30   K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTGACAGCAAA
50   A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACTCTTTC
70   Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTCTTTTACA
90   L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTATAAAA
110  P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCATCACTCTCTTGGCATTGG
130  Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATGTCCAACCTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150  F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTAAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTT
170  F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTGTCTGTACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTACCCAATGAGGGGATCCTACA
190  Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAGATGCGCTGGA
210  E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTATGTGTCTCTGCGGAATTGTGGGATTGGCAA
230  L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250  P H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTCAGGTAAATAATATATAAaataaccctaagaggtaaatcttctttt
901 tgtgtttatgatatagaatatgttgactttaccocataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttataacttggtccaattaataatgtgctctcctgtgttttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaggcattaaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgtttgtttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcacgatctcggctcactgcaacctgcgcctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttcgctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaccatc
1261 accatgtccagctaatttttgtatttttagtagagacagggttttcccatgttgccagg
1321 ctggtctcgatctcctgacctcaaatgatccgcccacctcggcctcccaaagtgtgga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttctaataatttgaaactgttagaca
1441 atttgetaoccatctaattgtgatatttttaggaatccaatatgcatggtttattttctt

```

1501 aaaaaaaatattcttttacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaaag  
 1621 atatgctagtgtctcatttcaaaggctgctttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaaatattcttgtaattttaaaactatctcagatttactgaggtttat  
 1741 cttctggtggttagattatccataagaagagtgtgtgccagaatcactctgggatccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcacgaacactgccaataccgttta  
 1861 tgggtagacatctttggaaatttccacaaggctcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttattaggcatctgattagtttggaaagtatgcctcc  
 1981 atctgaattagtcacagtgtggcttagagttggtacaacattctcacagaatttcctaatt  
 2041 ttgtaggttcagcctgataaccactggagttctttggctcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgcctgttacacatatgatgaacactgctttttagacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaatctgagaactgggtacactacaagttaccttgg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaaacttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttgttctggcaggctaataccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagaggtcagaagtcgtataaaagaggtgtgtcagaacaccgttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtgcacaaagcatcccaatgcaggc  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaattgtt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagttcatte  
 2701 acttcattattcatttatcaaaatcagagtgaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtc aaattgatttttgcctataatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgataagcagaattaagacaaatacacaaagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaatatcataaggggatgaacaaaatgggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttggag  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggttaggtaggataaaactcttattgaaccaatcttcaaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgcagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaaatacacgc  
 3301 attgatttttgcctggaataagtggatagataaaaacaatttgtatggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttcccttcaattgttgtcctgatatttaaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatggttgggaagacgtcaocaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttcccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatatgtatatattttatcaccaacatttcaagttgtatttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2(O).** Secuencia de ADNc (SEC ID Nº: 30) y de aminoácidos (SEC ID Nº: 31) de STEAP-1 v.15. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1 ggggcccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacggtcaagctaaggcgaaga
1      M E S R K D I T N
61 gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10    Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30    K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTGCACCAAA
50    A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTCTTTC
70    Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90    L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTATAAAA
110   P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGGCATTGG
130   Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150   F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTT
170   F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGTCTGTACTGTCATGCAATTTATAGTCTGTCTTACCCAATGAGGCGATCCTACA
190   Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCACAAAATAAAGAAGATGGCTGGA
210   E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTATGTGTCTCTGGGAATTGTGGGATTGGCAA
230   L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250   F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTTCAGGTAAATAATATATAAAaataaccctaagaggtaaattcttctttt
901 tgtgttttatgatatagaatatgttgactttaccccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttataacttggtccaattaataatgtgctctcctgttggtttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaggcattaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgtttgttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcagatctcggtcactgcaacctgcgcctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgccctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaccctc
1261 accatgtccagctaatttttgtatttttagtagagacagggtttcccatgttgccagg
1321 ctggtctcgatctcctgacctcaaatgatccgcccacctcggcctcccaaagtgtggga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttcctaattttgaaactgttagaca
1441 atttgctaoccatctaataatgtgatatttttaggaatccaatatgcatggtttattatttctt

```

1501 aaaaaaaatattcttttacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaag  
 1621 atatgctagtgtctcatttcaaaggctgctttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaaatatcttctgttaattttaaaactatctcagattttactgaggtttat  
 1741 cttctggtaggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggatccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaattttaattcagtcataaacactgccaattaccgttta  
 1861 tgggtagacatctttggaaatttccacaagggtcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttattaggaatctgattagtttggaagtatgcctcc  
 1981 atctgaatttagtccagtggttagagttgggtacaacattctcacagaatttccctaatt  
 2041 ttgtagggttcagcctgataaccactggagttctttgggtcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgcctgttacacatatgatgaacactgcttttttagacttcatttaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaactctgagaactgggtacactacaagttacettgg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaacttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 ggcctgaataattgtgagttcgatttgttctggcaggctaatgaccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagaggtcagaagtcgtataaaagaggtgtgtcagaacaccgttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtgacaaagcatcccaatgcagge  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaatgtt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagtctatc  
 2701 acttcattattcatttatcaaaatcagagtgaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtc aaattgatttttgctataatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatacacaagagacaa  
 2941 agcacaaaaaataaatatcataaggggatgaacaaaatgggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttcatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcacttagacagcttggag  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgctggaataagtggatagataaaaaacaatttgtatgggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttccctccaattgttgcctgatattttaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatgggttggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttcccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatataattttatcaccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2P.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 32) y de aminoácidos (SEC ID N°: 33) de STEAP-1 v.16. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1  ggggccccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacgggtcaagctaaggcgaaga
1      M E S R K D I T N
61  gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10   Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAGACGATTATTTGC
30   K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTCACCAAA
50   A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACCTCAGCACACACAGGAACCTCTTC
70   Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAAATAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90   L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTATAAAA
110  P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGSCATTGG
130  Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATTGTCCAACCTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150  F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCAGTT
170  F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGCTGTACTGCGATGCAATTTATAGTCTGTCTTACCCAATGAGGCGATGCTACA
190  Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A W I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGCGCTGGA
210  E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAAATGGAGATTTATGTGTCTCTGGAATTTGTTGGATTGGCAA
230  L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGA CTCTTTGACATGGAGAG
250  F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTCAGGTAAATAATATATAAataaacctaagaggtaaactcttctttt
901 tgtgtttatgatatagaatatgttgactttaccccataaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttataacttgttccaattaataatgtgctctcctgttgttttcctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaggcattaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgttttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcagcatctcggtcactgcaacctggcctec
1201 tgggttcaggcgattctcttgcctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaccatc
1261 accatgtccagctaatttttgtatttttagtagagacagggttttcccatgttggccagg
1321 ctgggtctcgatctcctgacctcaaatgatccgccacctcggcctccaaagtgttggga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttctaataatttgaaactgttagaca
1441 atttgctaccatctaataatgtgatatttttaggaatccaatatgcatggtttattattctt

```



1501 aaaaaaaatattcttttacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaaaag  
 1621 atatgctagtgtctcatttcaaaggctgctttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaaatattcttgaatttttaaaactatctcagatttactgaggttbat  
 1741 cttctggtggttagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggatccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcacgaacactgccaaattaccgttta  
 1861 tgggtagacatctttggaaatttccacaaggcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtataactccaacactttattaggtatctgattagtttggaaagtatgcctcc  
 1981 atctgaattagtcagtggttagagttggtacaacattctcagagaatttcctaatt  
 2041 ttgtaggttcagcctgataaccactggagttctttggtcctcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgctgttacacatatgatgaacactgcttttagacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaatctgagaactgggtacactacaagttacctgg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaacttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttgttctggcaggctaatacaccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagaggcagaagtcgtataaaagaggtgtgtgcagaacaccgttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttggtgtagtgacaaagcatcccaatgcaggc  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaattgtt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaaacataggccaagttcattc  
 2701 acttcattattcatttatcaaaatcagagtgaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtcaaattgatttttgcctataatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagact  
 2881 cagtcacctgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaatcacaaagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaaatatacagaaggggatgaacaaaatggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttcaacttagacagcttgag  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagtagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaaca  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgcagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgcctggaataagtggtatagataaaaacaatttgatggtatacacetcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttccctccaattgttgtcctgatatttaaaagcactactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatggttgggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttcccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatataattttatcaccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

**Figura 2Q.** Secuencia de ADNc (SEC ID N°: 34) y de aminoácidos (SEC ID N°: 35) de STEAP-1 v.17. La metionina inicial está subrayada. La fase de lectura abierta se extiende desde el ácido nucleico 96 al 872 incluyendo el codón de terminación.

```

1 ggggcccgcacctctgggcagcagcggcagccgagactcacggtaagctaaggcgaaga
1 M E S R K D I T N
61 gtgggtggctgaagccatactattttatagaattaATGGAAAGCAGAAAAGACATCACAA
10 Q E E L W K M K P R R N L E E D D Y L H
121 ACCAAGAAGAACTTTGGAAAATGAAGCCTAGGAGAAATTTAGAAGAAGACGATTATTTGC
30 K D T G E T S M L K R P V L L H L H Q T
181 ATAAGGACACGGGAGAGACCAGCATGCTAAAAAGACCTGTGCTTTTGCATTTCACCAAA
50 A H A D E F D C P S E L Q H T Q E L F P
241 CAGCCCATGCTGATGAATTTGACTGCCCTTCAGAACTTCAGCACACACAGGAACCTCTTC
70 Q W H L P I K I A A I I A S L T F L Y T
301 CACAGTGGCACTTGCCAATTAATAAGCTGCTATTATAGCATCTCTGACTTTTCTTTACA
90 L L R E V I H P L A T S H Q Q Y F Y K I
361 CTCTTCTGAGGGAAGTAATTCACCCCTTAGCAACTTCCCATCAACAATATTTTTATAAAA
110 P I L V I N K V L P M V S I T L L A L V
421 TTCCAATCCTGGTCATCAACAAAGTCTTGCCAATGGTTTCCATCACTCTCTTGSCATTGG
130 Y L P G V I A A I V Q L H N G T K Y K K
481 TTTACCTGCCAGGTGTGATAGCAGCAATGTCCAACCTCATAATGGAACCAAGTATAAGA
150 F P H W L D K W M L T R K Q F G L L S F
541 AGTTTCCACATTGGTTGGATAAGTGGATGTTAACAAGAAAGCAGTTTGGGCTTCTCGATT
170 F F A V L H A I Y S L S Y P M R R S Y R
601 TCTTTTTTGTCTGTACTGCATGCAATTTATAGTCTGTCTTACCCAATGAGGCGATCTTACA
190 Y K L L N W A Y Q Q V Q Q N K E D A N I
661 GATACAAGTTGCTAAACTGGGCATATCAACAGGTCCAACAAAATAAAGAAGATGCCTGGA
210 E H D V W R M E I Y V S L G I V G L A I
721 TTGAGCATGATGTTTGGAGAATGGAGATTATGTGTCTCTGGGAATTGTGGGATTGGCAA
230 L A L L A V T S I P S V S D S L T W R E
781 TACTGGCTCTGTGGCTGTGACATCTATTCCATCTGTGAGTGACTCTTTGACATGGAGAG
250 F H Y I Q V N N I *
841 AATTTCACTATATTCAAGGTAAATAATATATAAaataaccctaagaggtaaattcttctttt
901 tgtgtttatgatatagaatatgttgactttaccccafaaaaaataacaaatgtttttcaa
961 cagcaaagatcttataacttggtccaattaataatgtgctctcctgtgttttccctattg
1021 cttctaattaggacaagtgtttcctagacataaataaaaggcattaaaatattctttgtt
1081 tttttttttttgtttgtttgtttttgtttgtttgtttgttttttgagatgaagtctcg
1141 ctctgttgcccatgctggagtacagtggcagatctcggtcaetgcaacctgcgccctcc
1201 tgggttcaggcgattctcttgccctcagcctcctgagtagctgggattacaggcaacctc
1261 accatgtccagctaattttttagtatttttagtagagacagggttttcccatgttggccagg
1321 ctggtctcgatctcctgacctcaaatgatccgccacctcggcctcccaaagtgtggga
1381 tgacagttgtgagccaccacactcagcctgctctttctaataatttgaaactgttagaca
1441 atttgctacccatctaattgtgatatttttaggaatccaatatgcatgggtttattatttctt

```

1501 aaaaaaaatattcttttacctgtcacctgaatttagtaatgccttttatgtttacacaact  
 1561 tagcactttccagaaacaaaaactctctccttgaaataatagagtttttatctaccaaaag  
 1621 atatgctagtggtctcatttcaaaggctgctttttccagcttacattttatatacttactc  
 1681 acttgaagtttctaaatattcttgttaatttttaaaactatctcagatttactgaggtttat  
 1741 cttctgggtggtagattatccataagaagagtgatgtgccagaatcactctgggatccttg  
 1801 tctgacaagattcaaaggactaaatttaattcagtcacgaacactgccaaattaccgttta  
 1861 tgggtagacatctttggaaaatttccacaaggctcagacattcgcaactatcccttctacat  
 1921 gtccacacgtatactccaacactttatttaggcacatctgattagtttggaaagtatgcctec  
 1981 atctgaattagtcacagtggtggttagagttggtacaacattctcacagaatttcctaatt  
 2041 ttgtaggttcagcctgataaccactggagttctttgggtectcattaaatagctttcttca  
 2101 cacattgctctgcctgttacacatatgatgaacactgcttttttagacttcattaggaatt  
 2161 taggactgcatcttgacaactgagcctattctactatatgtacaatacctagcccataat  
 2221 aggtatacaatacacatttggtaaaactaattttcaaccaatgacatgtatttttcaact  
 2281 agtaacctagaaatgtttcacttaaaactctgagaactgggtacactacaagttaccttgg  
 2341 agattcatatatgaaaacgcaaacttagctatttgattgtattcactgggacttaagaat  
 2401 gcgcctgaataattgtgagttcgatttgttctggcaggctaataccatttccagtaaag  
 2461 tgaatagaggtcagaagtcgtataaaagaggtgttgtcagaacaccgttgagattacata  
 2521 ggtgaacaactatttttaagcaactttatttgtgtagtgacaaagcatcccaatgcagge  
 2581 tgaaatgtttcatcacatctctggatctctctattttgtgcagacattgaaaaaattgtt  
 2641 catattatttccatgttatcagaatatttgattttttaaaaacataggccaagttcatte  
 2701 acttcattattcatttatcaaaatcagagtgaatcacattagtcgccttcacaactgata  
 2761 aagatcactgaagtcaaattgatttttgcataatcttcaatctacctatatttaattga  
 2821 gaatctaaaatgtacaaatcattgtgttgattctgcagtgatcctgctataagtaagaet  
 2881 cagtccttgatttttaggtatcctgtgaaaagcagaattaagacaaaatacacaaagagacaa  
 2941 agcacaaaaataaataatcataaggggatgaacaaaatgggtggagaaagagtagacaaag  
 3001 tttttgatcacctgccttcaaagaaaggctgtgaattttgttacttagacagcttggag  
 3061 acaagaaattacccaaaagtaagggtgaggaggataggcaaaaagagcagaaagatgtgaa  
 3121 tggacattgttgagaaatgtgataggaaaacaatcatagataaaggatttccaagcaact  
 3181 gagcatatccagatgaggtaggatgggataaaactcttattgaaccaatcttcaccaattt  
 3241 tgtttttcttttgcagagcaagctaggaattgtttcccttctactgggcacaatacacgc  
 3301 attgatttttgcctggaataagtggatagatataaaacaatttgtatgggtatacacctcc  
 3361 aacttttatgatagctgttttccctccaattgttgcctgatattttaaagcatactatt  
 3421 cctgccatgcttgaggaagaagatactgaagattagacatgggtgggaagacgtcaccaa  
 3481 aattaacaaaactgagatatgttcccagttgtagaattactgtttacacacatttttgtt  
 3541 caatattgatataattttatcaccaacatttcaagtttgtatttgttaataaaatgattat  
 3601 tcaaggaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

Figura 3.

Figura 3A. Secuencia de aminoácidos de STEAP-1 v.1 (SEC ID Nº: 36). La proteína STEAP-1 v.1 tiene 339 aminoácidos.

```

1 MESRKDITNQ EELWKMKPRR NLEEDDYLHK DTGETSMLKR PVLLHLHQTA HADEFDCPSE
61 LQHTQELFPQ WHLPKIAAI IASLTFLYTL LREVIHPLAT SHQQYFYKIP ILVINKVLPM
121 VSITLLALVY LPGVIAAIVQ LHNGTKYKKF PHWLDKWMLT RKQFGLLSFF FAVLHAIYSL
181 SYPMRRSYRY KLLNWAYQQV QONKEDAWIE HDVWRMEIYV SLGIVGLAIL ALLAVTSIPS
241 VSDSLTWREF HYIQSKLGIV SLLLGTHAL IFAWNKWDI KQFVWYTPPT FMIAVELPIV
301 VLIFKSILFL PCLRKKILKI RHGWEDVTKI NKTEICSQL

```

Figura 3B. Secuencia de aminoácidos de STEAP-1 v.2 (SEC ID Nº: 37). La proteína STEAP-1 v.2 tiene 258 aminoácidos

```

1 MESRKDITNQ EELWKMKPRR NLEEDDYLHK DTGETSMLKR PVLLHLHQTA HADEFDCPSE
61 LQHTQELFPQ WHLPKIAAI IASLTFLYTL LREVIHPLAT SHQQYFYKIP ILVINKVLPM
121 VSITLLALVY LPGVIAAIVQ LHNGTKYKKF PHWLDKWMLT RKQFGLLSFF FAVLHAIYSL
181 SYPMRRSYRY KLLNWAYQQV QONKEDAWIE HDVWRMEIYV SLGIVGLAIL ALLAVTSIPS
241 VSDSLTWREF HYIQVNNI

```

Figura 3C. Secuencia de aminoácidos de STEAP-1 v.3 (SEC ID Nº: 38). La proteína STEAP-1 v.3 tiene 282 aminoácidos

```

1 MESRKDITNQ EELWKMKPRR NLEEDDYLHK DTGETSMLKR PVLLHLHQTA HADEFDCPSE
61 LQHTQELFPQ WHLPKIAAI IASLTFLYTL LREVIHPLAT SHQQYFYKIP ILVINKVLPM
121 VSITLLALVY LPGVIAAIVQ LHNGTKYKKF PHWLDKWMLT RKQFGLLSFF FAVLHAIYSL
181 SYPMRRSYRY KLLNWAYQQV QONKEDAWIE HDVWRMEIYV SLGIVGLAIL ALLAVTSIPS
241 VSDSLTWREF HYIQIHKKS DVPESLWDPC LTRFKGLNLI QS

```

Figura 3D. Secuencia de aminoácidos de STEAP-1 v.4 (SEC ID Nº: 39). La proteína STEAP-1 v.4 tiene 258 aminoácidos

```

1 MESRKDITNQ EELWKMKPRR NLEEDDYLHK DTGETSMLKR PVLLHLHQTA HADEFDCPSE
61 LQHTQELFPQ WHLPKIAAI IASLTFLYTL LREVIHPLAT SHQQYFYKIP ILVINKVLPM
121 VSITLLALVY LPGVIAAIVQ LHNGTKYKKF PHWLDKWMLT RKQFGLLSLF FAVLHAIYSL
181 SYPMRRSYRY KLLNWAYQQV QONKEDAWIE HDVWRMEIYV SLGIVGLAIL ALLAVTSIPS
241 VSDSLTWREF HYIQVNNI

```

Figura 4A Homología de STEAP-1 v.1 (SEC ID N°: 40) con la proteína relacionada con adipocitos inducida por TNF $\alpha$  de ratón (gi|16905133|) (SEC ID N°: 41)

Puntuación = 224 bits (570), Esperado = 2e-57  
 Identidades = 110/270 (40 %), Positivos = 174/270 (63 %)

```

Problema : 66  ELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYTLREVIHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLPVMSITL 125
               +LFP W P +++++ F+Y +REVI+P Y++ I + N+V P+ ++ L
Sujeto : 195  QLFPMWRFPFYLSSVLCIFFFVYCAIREVIYPVNGKTDATYRLAISIPNRVFPITALIL 254

Problema : 126 LALVYLPGVIAAIVQLHNGTKYKKFPHWLDKMWLTKQFGLLSFFFAVLHAIYSLSPMR 185
               -LALVYLPG++AAI+QL+ GTKY++FP+WLD WML RKQ -GL++ FA LH IY+L P+R
Sujeto : 255  LALVYLPGILAAILQLYRGTKYRRFPNWLHDWMLCRKQLGLVALGFAFLHVIYTLVIPR 314

Problema : 186 RSYRYKLLNWAYQQVQONKEDAWIEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPSVSDSL 245
               R++L N Q NK+ +I W + Y++LGI+G + LL +TS+PSVS+ +
Sujeto : 315  YYVRWRLRNATITQALTNKDSPFITSYAWINDSYLALGILGFFLFLLLGITSPLPSVSNMV 374

Problema : 246 TWREFHYIQSKLGIVSLLLGTIHALIFAWNKWIDIKQFVWYTPPTFMIAVFLPIVVLIFK 305
               WREF ++QSKLG ++L+L T H L++ +++ W P +++A+ +P VL+ K
Sujeto : 375  NWREFRFVQSKLGYLTLVLCTAHTLVYGGKRFLSPSILRWSLPSAYILALIIPCAVLVLK 434

Problema : 306 SILFLPCLRKILKIRHGWEVDTKINKTEI 335
               IL +PC+ K + +IR GWE +K ++ +
Sujeto : 435  CILIMPCIDKTLTRIRQGWERNKYTQSAL 464
  
```

Figura 4B Homología de STEAP-1 (SEC ID N°: 42) con la proteína pHyde de rata (SEC ID N°: 43)

Puntuación = 283 bits (724), Esperado = 2e-75  
 Identidades = 127/259 (49 %), Positivos = 184/259 (71 %)

```

Problema : 67  LFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYTLREVIHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLPVMSITL 126
               L P W +P +A +++ ++ Y +R+V+ P + FYK+P+ V+N +P V+ LL
Sujeto : 208  LLPSWKVPTLLALGLSTQSYAYNFIRDVLQPYIRKDNKFKYKMPLSVNTTIPCVAYVLL 267

Problema : 127 ALVYLPGVIAAIVQLHNGTKYKKFPHWLDKMWLTKQFGLLSFFFAVLHAIYSLSPMR 186
               +LVYLPGV+AA +QL GTKY++FP WLD W+ RKQ GLLSFFFA+LHA+YS P+RR
Sujeto : 268  SLVYLPGVLAALQLRRGTKYQRFDPWLDEWLQHRKQIGLLSFFFAVLHAIYSLSPMR 327

Problema : 187 SYRYKLLNWAYQQVQONKEDAWIEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPSVSDSLT 246
               S+RY L+N A +QV NK W+E +VWRMEIY+SIG++ L +L+LLAVTSIPS+++SL
Sujeto : 328  SHRYDLVNLAVKQVLANKSRLWVEEVWRMEIYSLDGLVALGMLSLAVTSIPSIANSIN 387

Problema : 247 WREFHYIQSKLGIVSLLLGTIHALIFAWNKWIDIKQFVWYTPPTFMIAVFLPIVVLIFK 306
               W+EF ++QS LG V+L+L T+H L + W + + +Y PPTF + + LP V+++ K
Sujeto : 388  WKEFSFVQSTLGFVALMLSTMHTLTGWTTRAFFENHYKPYLPPTFTLTLLPCVITLAKG 447

Problema : 307 ILFLPCLRKILKIRHGWE 325
               + LPCL ++ KIR GWE
Sujeto : 448  LFLLPCLSHRLTKIRRGWE 466
  
```

Figura 4C Homología de STEAP-1 (SEC ID Nº: 99) con el antígeno epitelial de seis dominios transmembrana de la próstata de ratón (gi|20820492|). (SEC ID Nº: 100)

Puntuación = 488 bits (1256), Esperado = e-137  
 Identidades = 255/303 (84 %), Positivos = 277/303 (91 %)

```

Problema: 1 MLKRPVLLHLHQTAAHAEFDCPSELQHTQELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYTLREVIH 60
            MLKRP L HL H D FDCPSELQHTQE FP W LP+K+AAII+SLTFLYTLRE+I+
Sujeto: 37 MLKRPGLSHLQHAVHVDADFDCPSELQHTQEFPNWRPLPVKVAIISSLTFLYTLREBIY 96

Problema: 61 PLATSHQQYFYKIPILVINKVLPVMVSITLLALVYLPGVIAAIVQLHNGTKYKKFPHWLDK 120
            PL TS +QYFYKIPILVINKVLPVM+ITLLALVYLPG +AA+VQL NGTKYKKFP WLD+
Sujeto: 97 PLVTSREQYFYKIPILVINKVLPMAITLLALVYLPGELA AAVQLRNGTKYKKFPPWLDL 156

Problema: 121 WMLTRKQFGLLSFFFPAVLHAIYSLSYPMRRSYRYKLLNWAYQQVQONKEDAWIEHDVWRM 180
            WML RKQFGLLSFFFPAVLHA+YSLSYPMRRSYRYKLLNWAY+QVQONKEDAW+EHDVWRM
Sujeto: 157 WMLARKQFGLLSFFFPAVLHAVYSLSYPMRRSYRYKLLNWAYKQVQONKEDAWVEHDVWRM 216

Problema: 181 EIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPSVSDSLTWREFHYIQSKLGIVSLLLGTIHALIFAWN 240
            EIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPSVSDSLTWREFHYIQSKLGIVSLLLGT+HAL+FAWNK
Sujeto: 217 EIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPSVSDSLTWREFHYIQSKLGIVSLLLGTVHALVFAWNK 276

Problema: 241 WIDIKQFVWYTPPTFMIAVFLPIVVLIFKSILFLPCLRKKILKIRHGWEDVTKINKTEIC 300
            W+D+ QFVWY PPTFMIAVFLP +VLI K L LPCLRKKILKIR GWEDV+KIN+TE+
Sujeto: 277 WVDVSQFVWYMPPTFMIAVFLPTLVLICKIALCLPCLRKKILKIRCGWEDVSKINRTEMA 336

Problema: 301 SQL 303
            S+L
Sujeto: 337 SRL 339
  
```



Figura 5 Perfil de Hidrofilicidad de la variante 1 de 8P1D4  
(Hopp T.P., Woods K.R., 1981. Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU 78: 3824-3828)

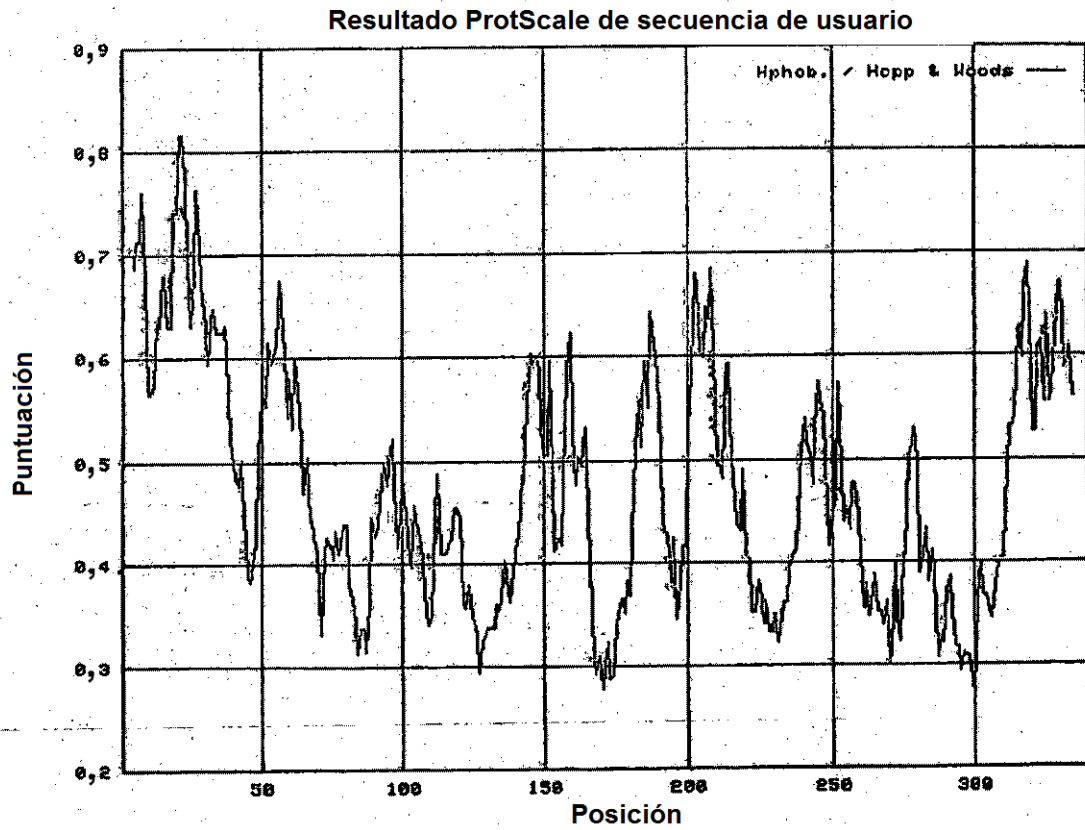


Figura 5a Perfil de Hidrofilicidad de la variante 3 de 8P1D4  
(Hopp T.P., Woods K.R., 1981. Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU 78: 3824-3828)

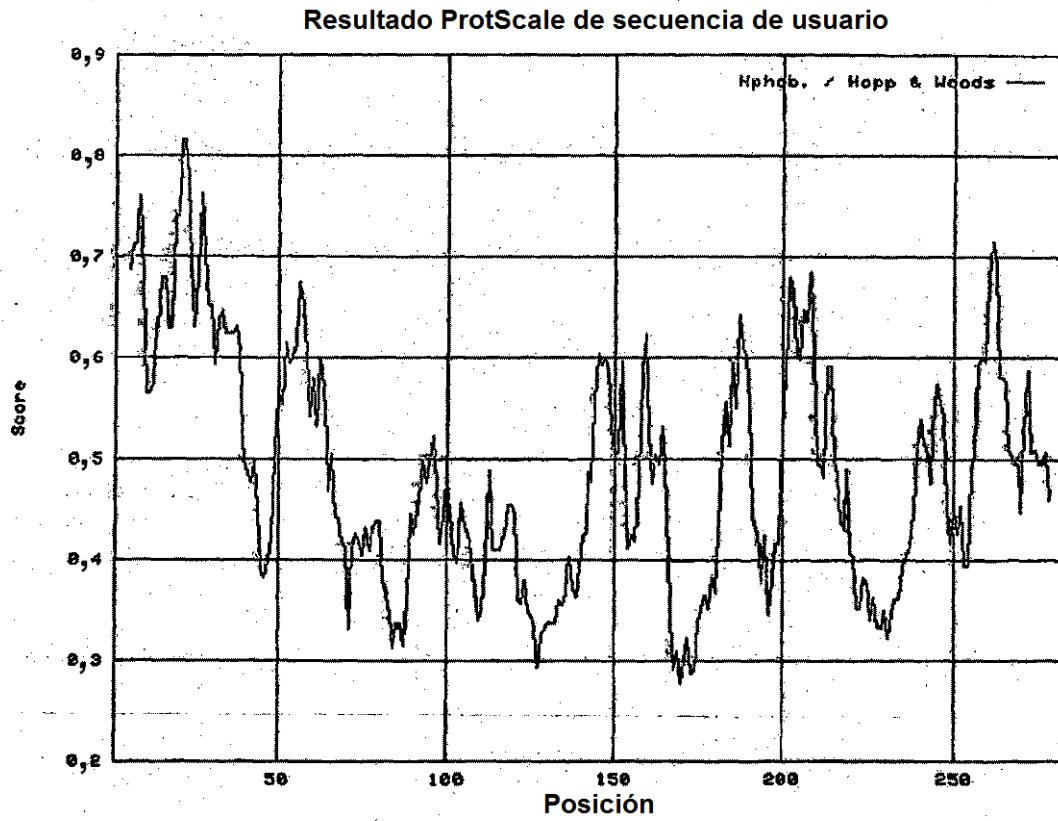


Figura 6 Perfil de Hidropaticidad de la variante 1 de 8P1D4  
(Kyte J., Doolittle R.F., 1982. J. Mol. Biol. 157: 105-132)

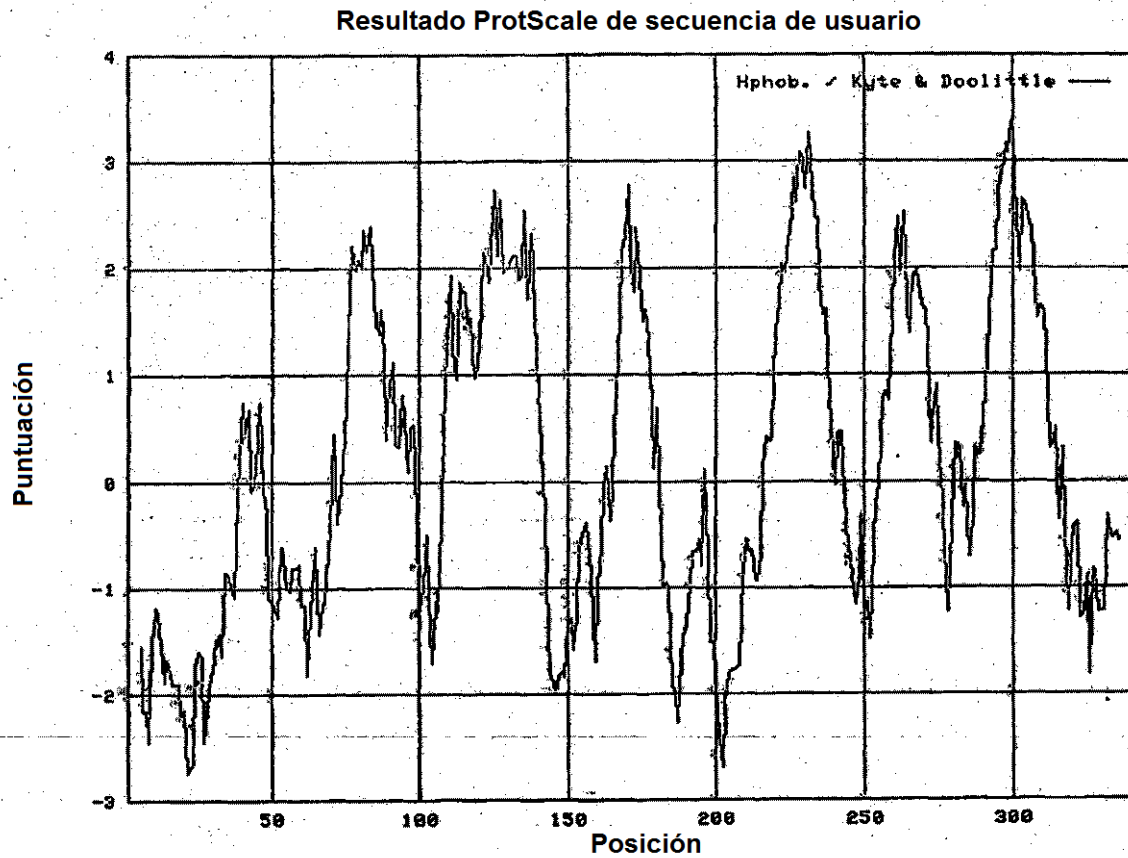


Figura 6a Perfil de Hidropaticidad de la variante 3 de 8P1D4  
(Kyte J., Doolittle R.F., 1982, J. Mol. Biol. 157: 105-132)

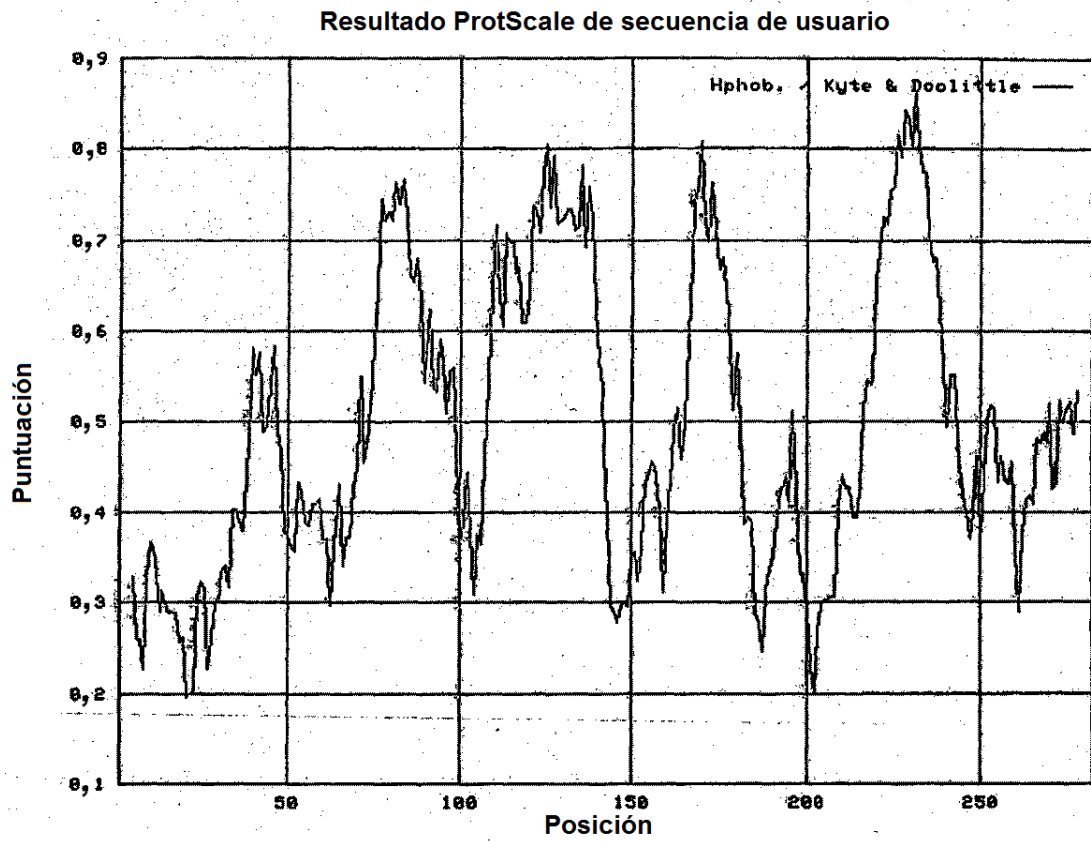


Figura 7 Perfil del % de restos accesibles  
de la variante 1 de 8P1D4  
(Janin J., 1979. Nature 277: 491-492)

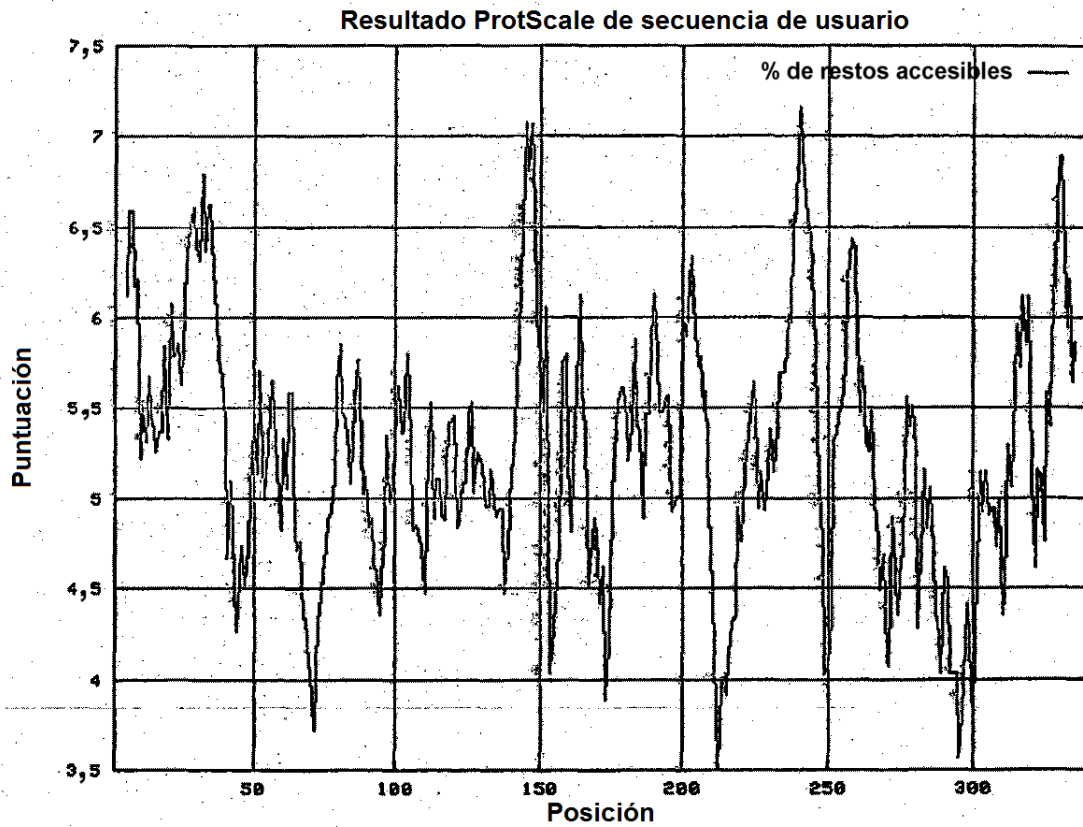
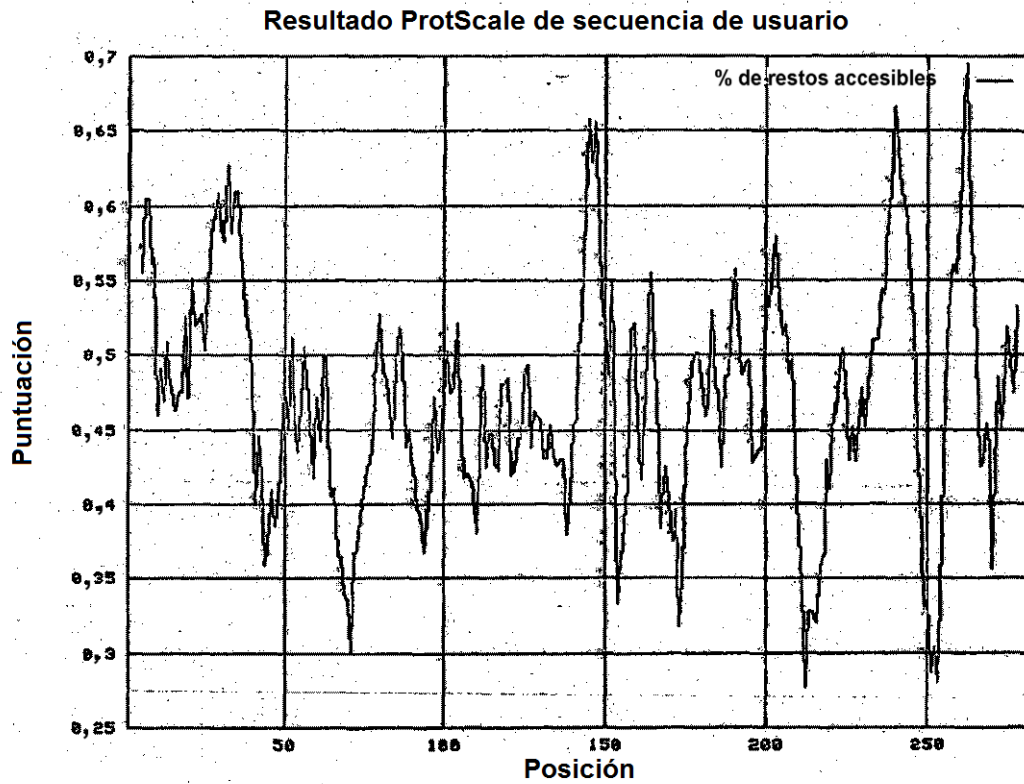


Figura 7a Perfil del % de restos accesibles  
de la variante 3 de 8P1D4  
(Janin J., 1979. Nature 277: 491-492)





# Figura 8 Perfil de flexibilidad promedio de la variante 1 de 8P1D4

(Bhaskaran R, Ponnuswamy P.K., 1988,  
Int. J. Pept. Protein Res. 32: 242-255)

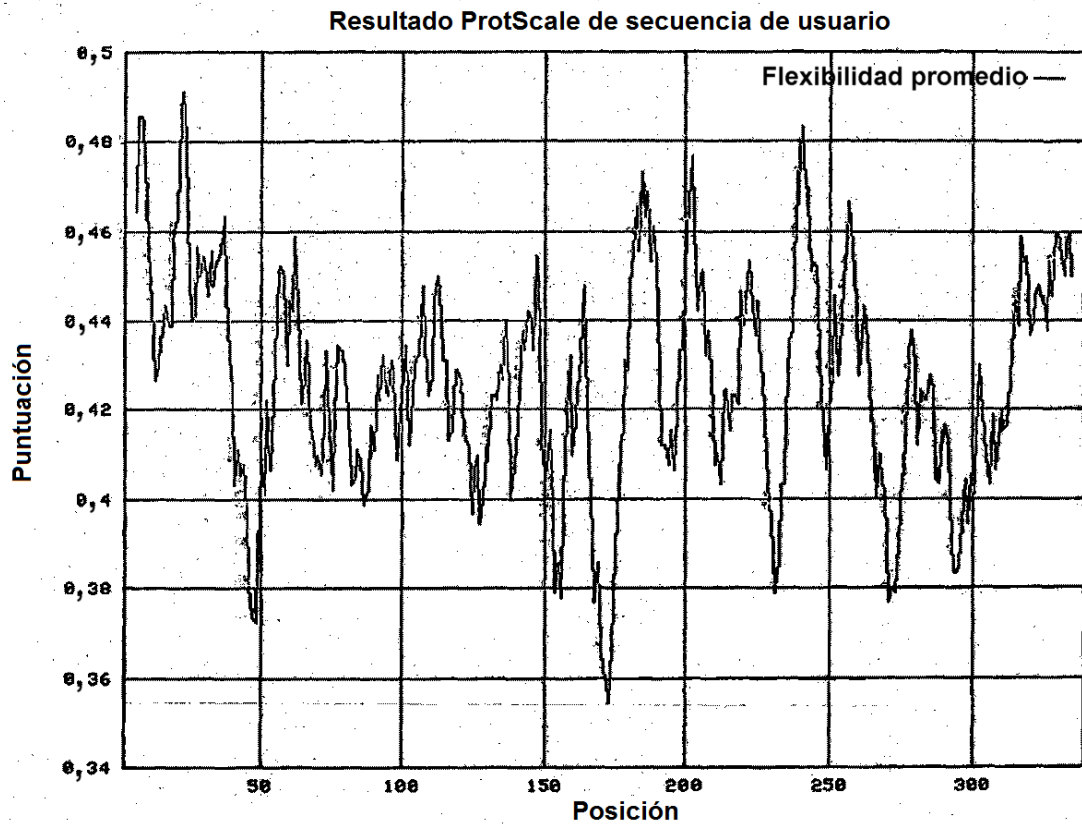


Figura 8a Perfil de flexibilidad promedio  
de la variante 3 de 8P1D4

(Bhaskaran R, Ponnuswamy P.K., 1988,  
Int. J. Pept. Protein Res. 32: 242-255)

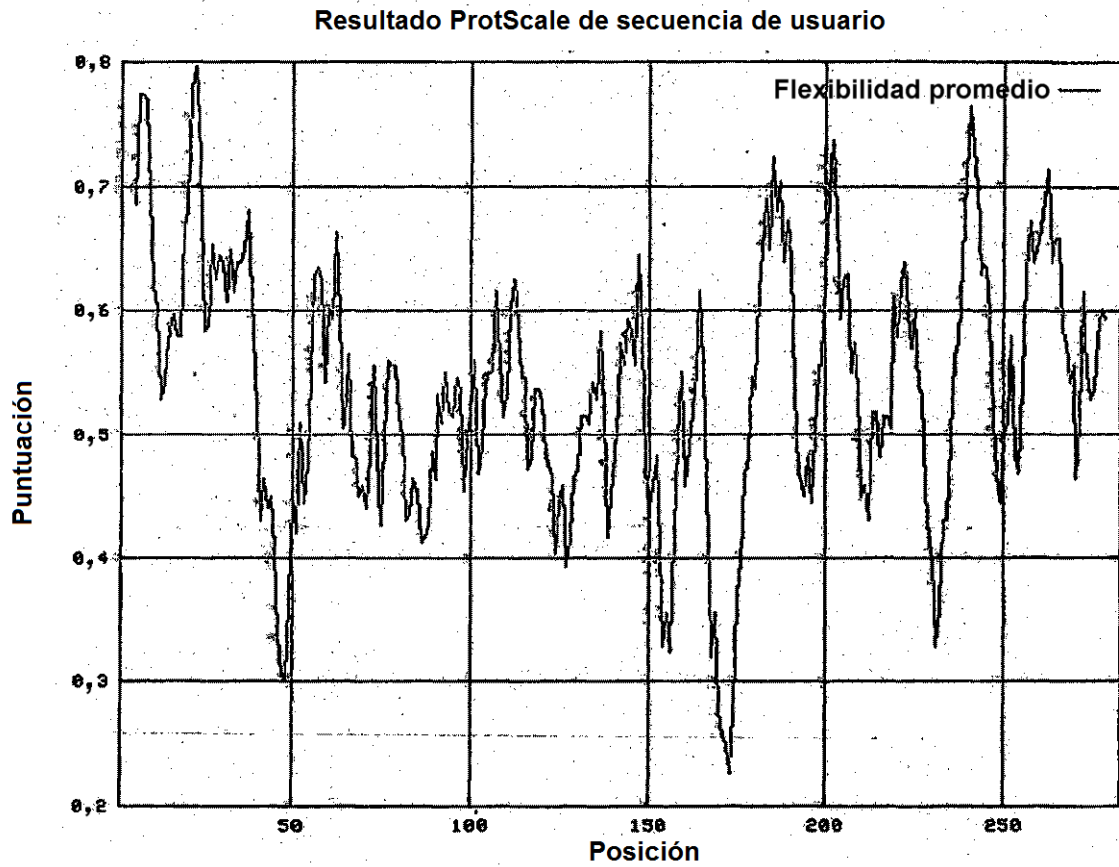


Figura 9 Perfil del giro-beta de la variante 1 de 8P1D4  
(Deleage G., Roux B. 1987. Protein Engineering 1: 289-294)

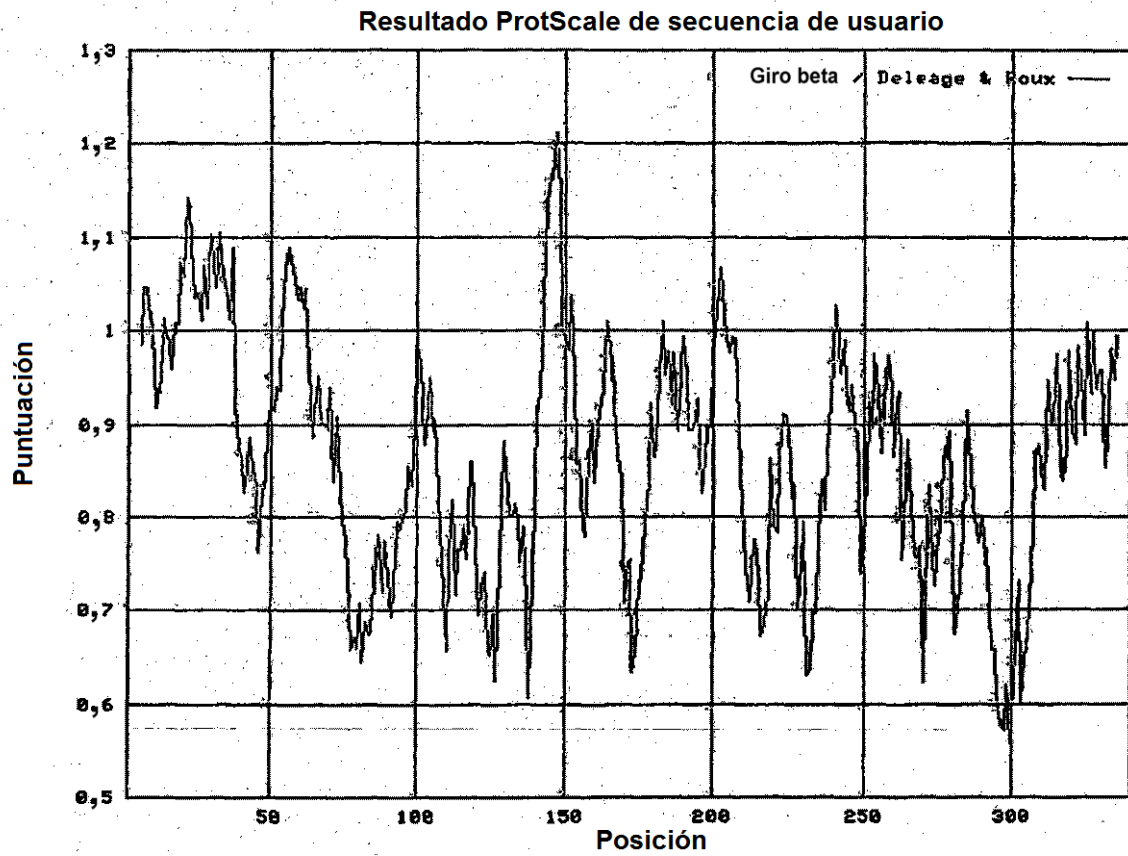


Figura 9a Perfil del giro-beta de la variante 3 de 8P1D4  
(Deleage, G., Roux B. 1987. Protein Engineering 1: 289-294)

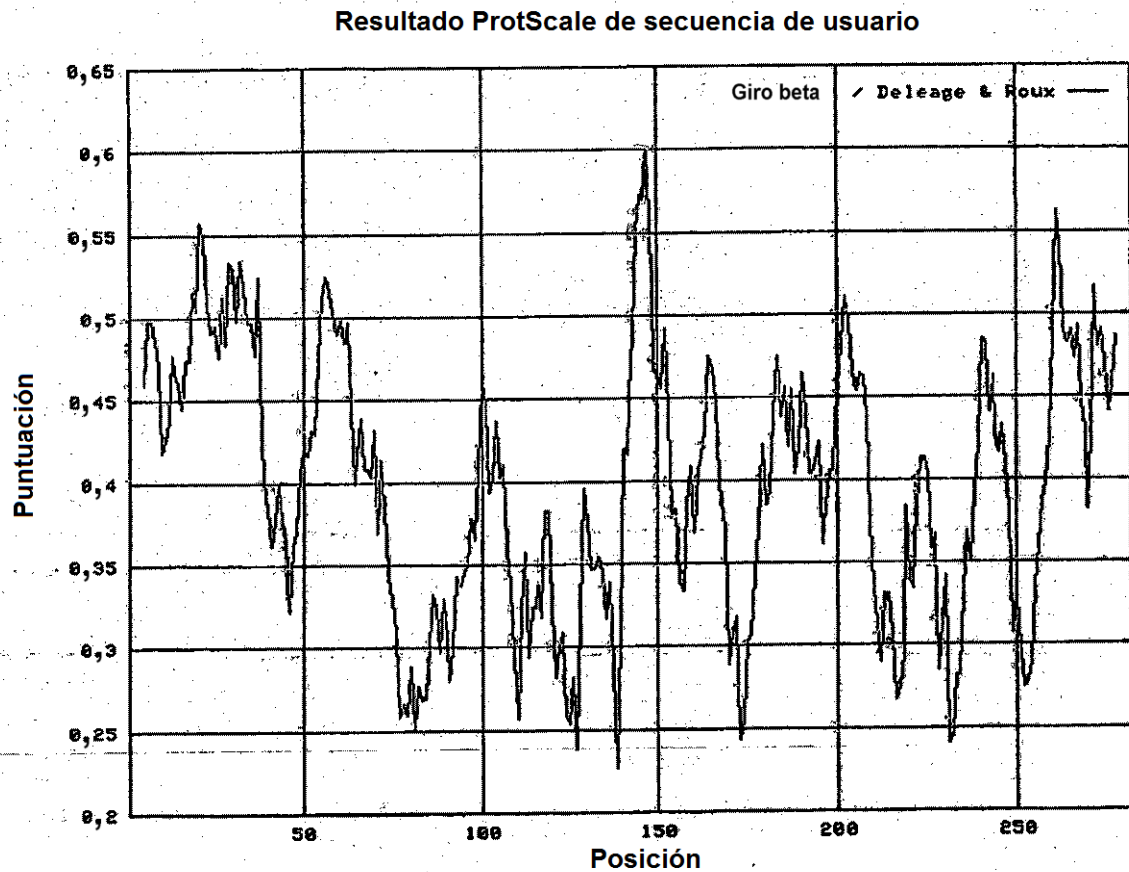


Figura 10

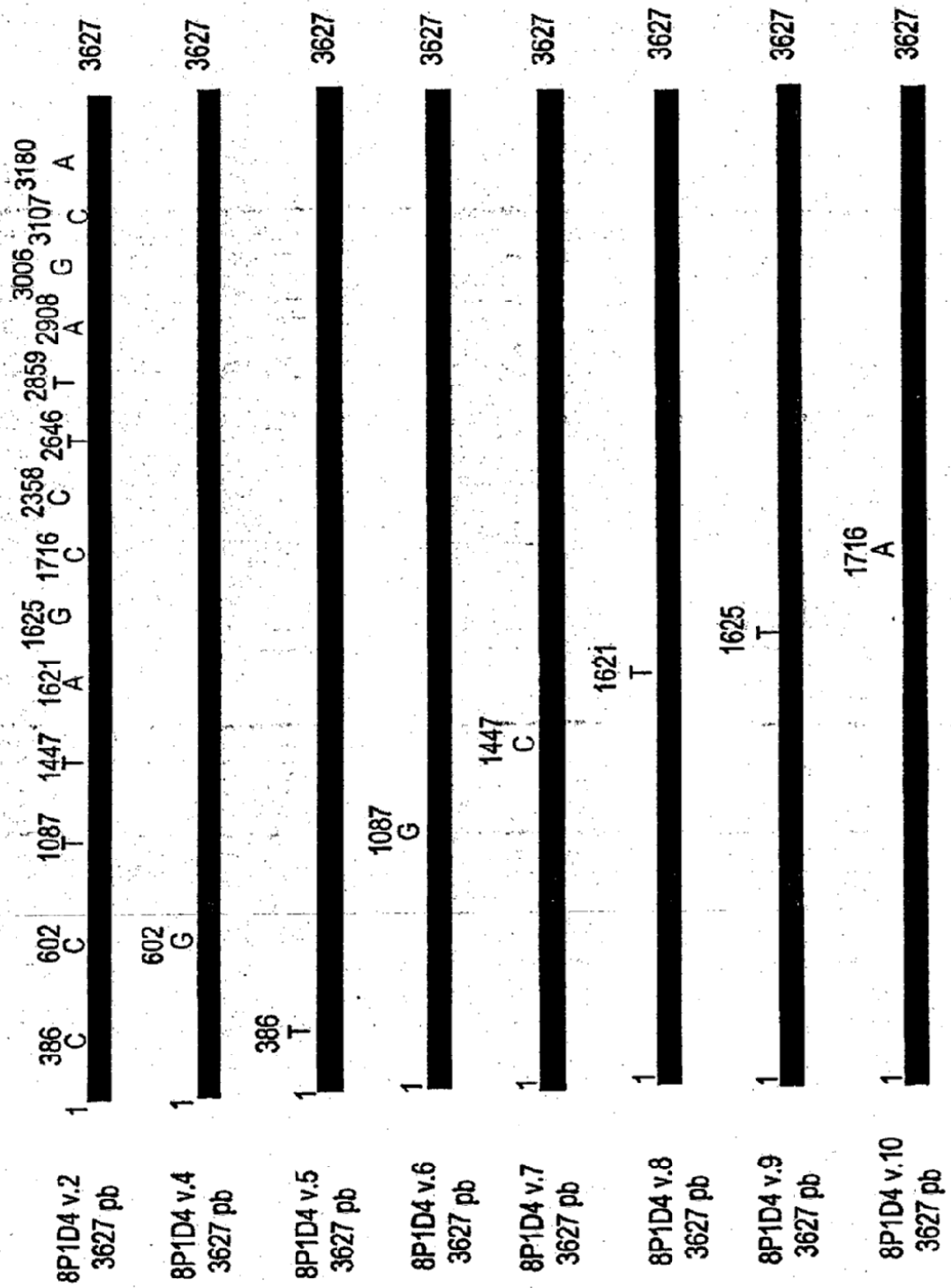


Figura 10 (cont.)

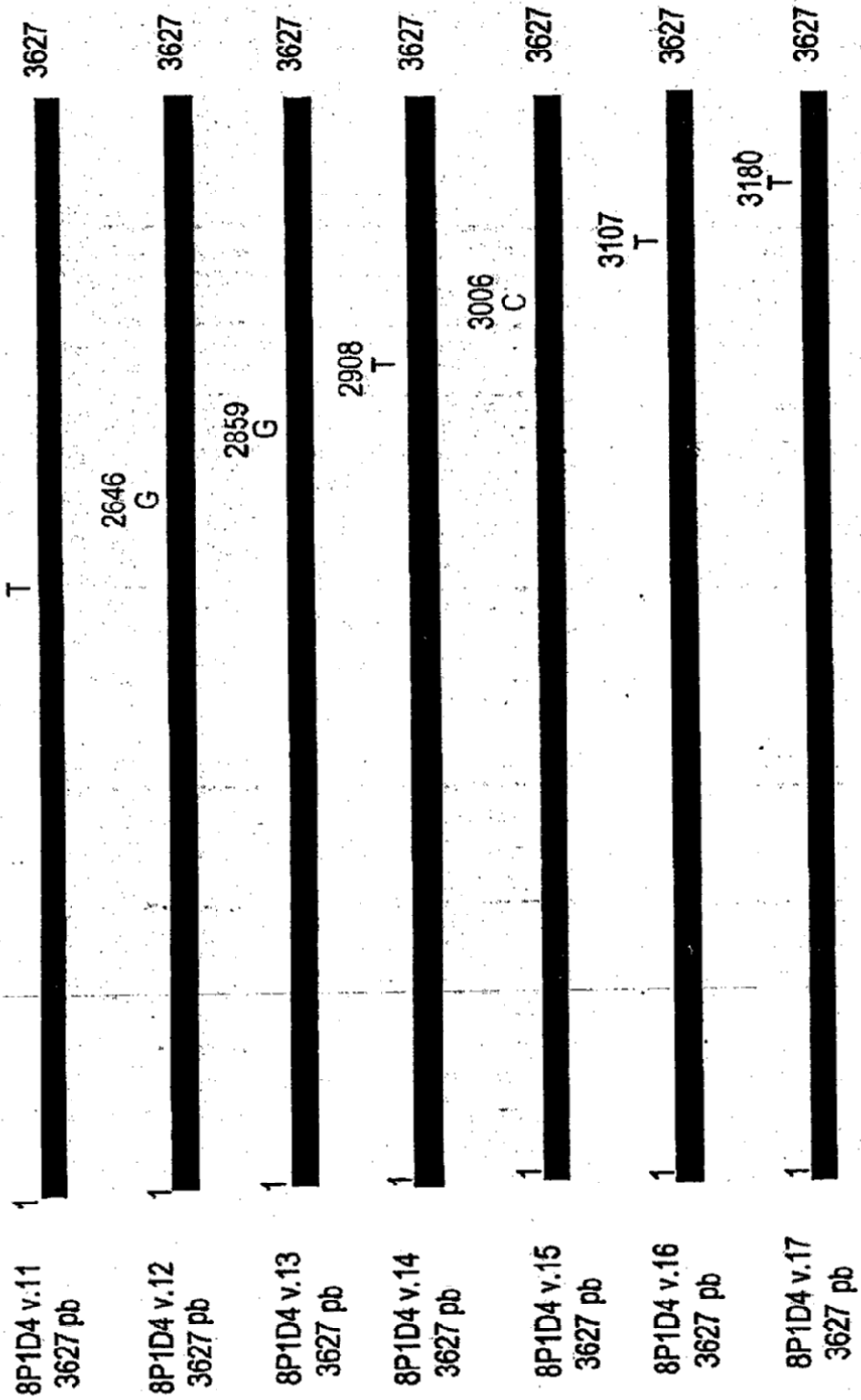




Figura 11

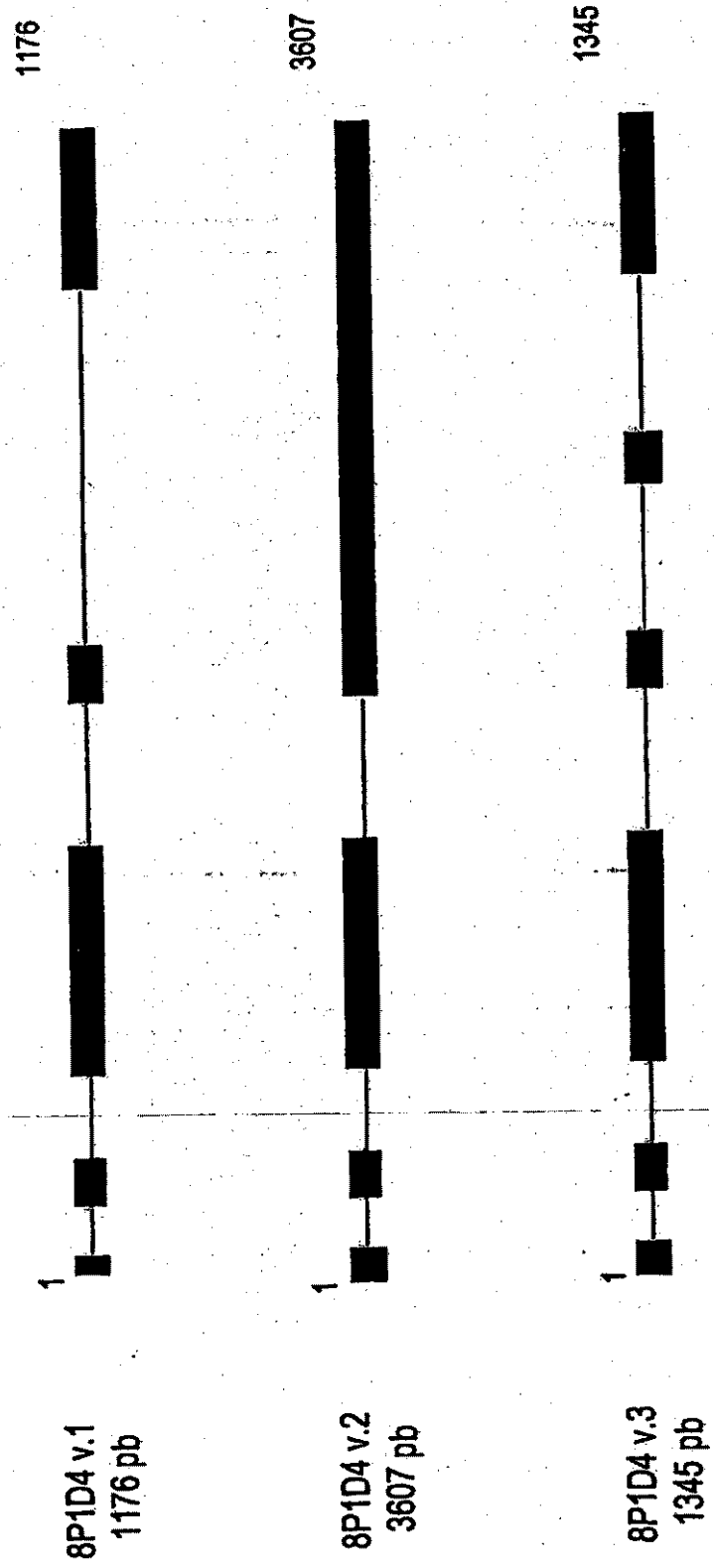
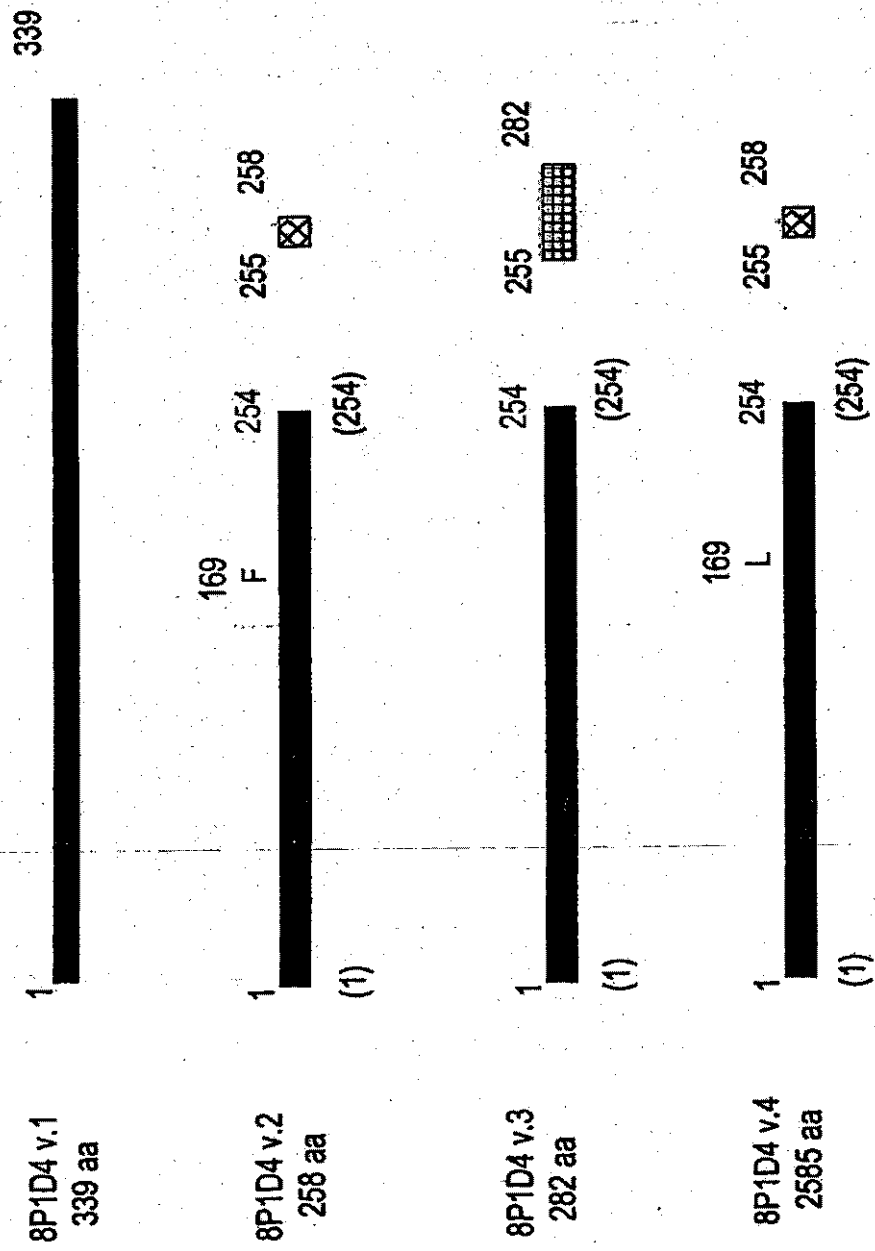
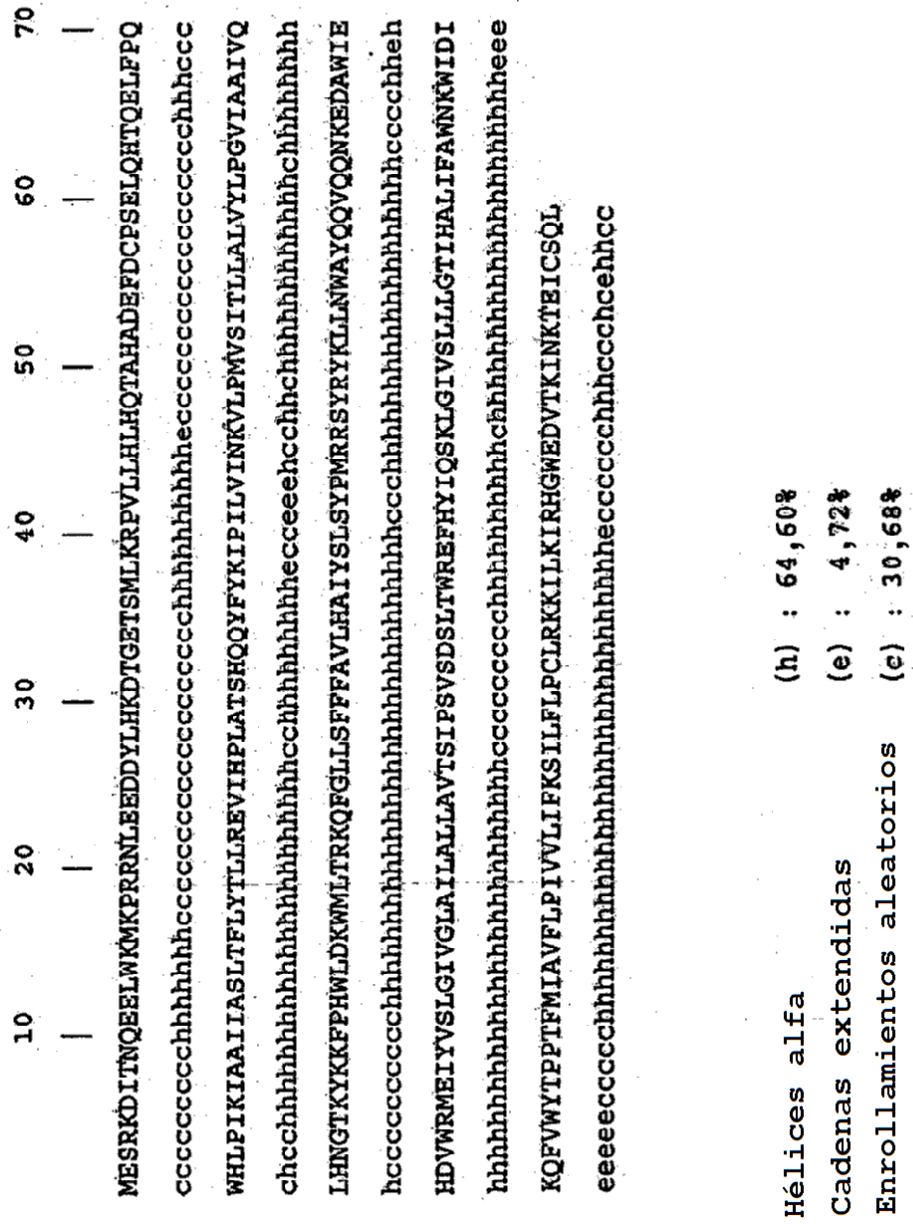


Figura 12



## Predicción de la estructura secundaria de la variante 1 de 8P1D4



## Predicción de la estructura secundaria de la variante 2 de 8P1D4

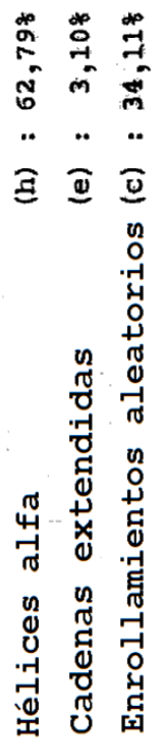
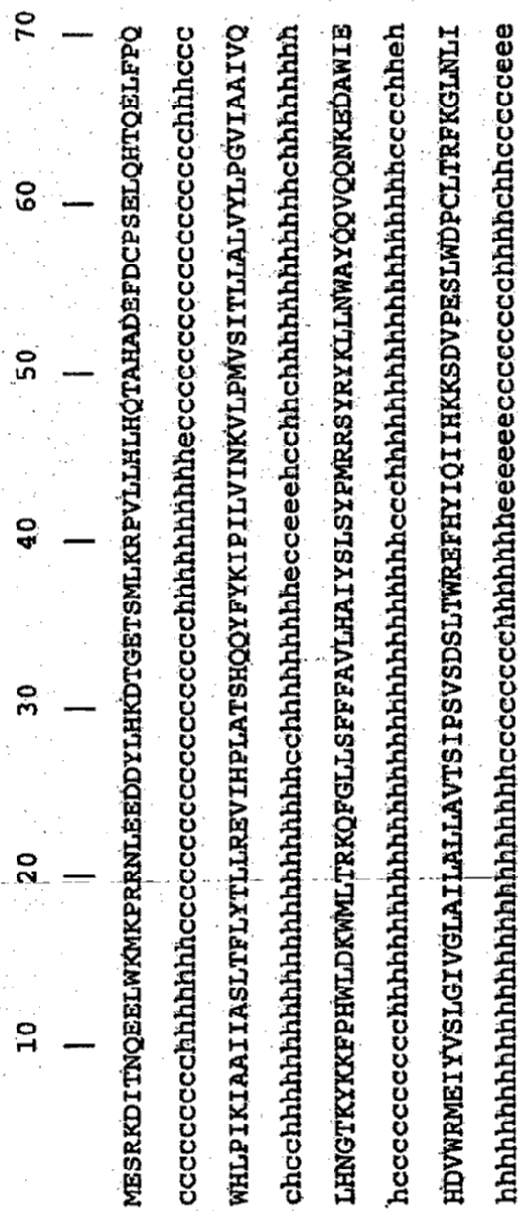


Figura 13C

# Predicción de la estructura secundaria de la variante 3 de 8P1D4



QS

CC

Hélices alfa (h) : 58,87%

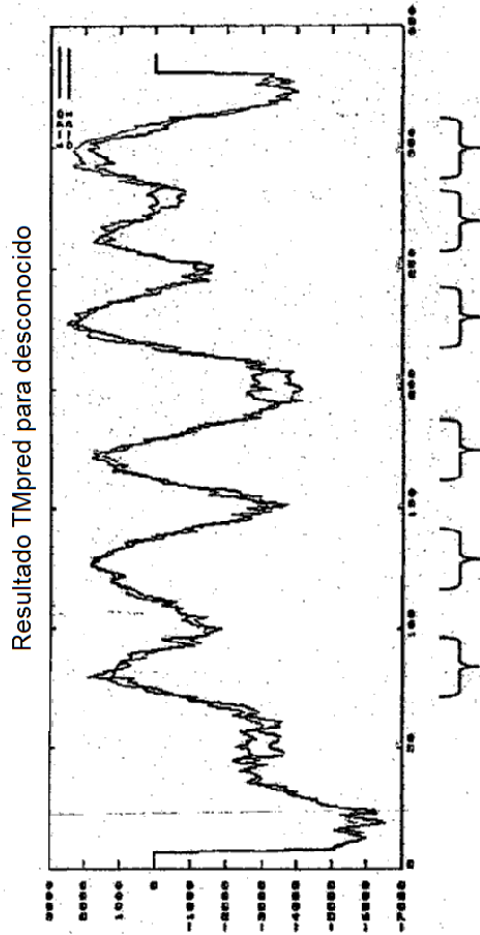
Cadenas extendidas (e) : 5,32%

Enrollamientos aleatorios (c) : 35,82%

Predicción de regiones transmembrana de la variante 1 de 8P1D4

Figura 13D y 13E

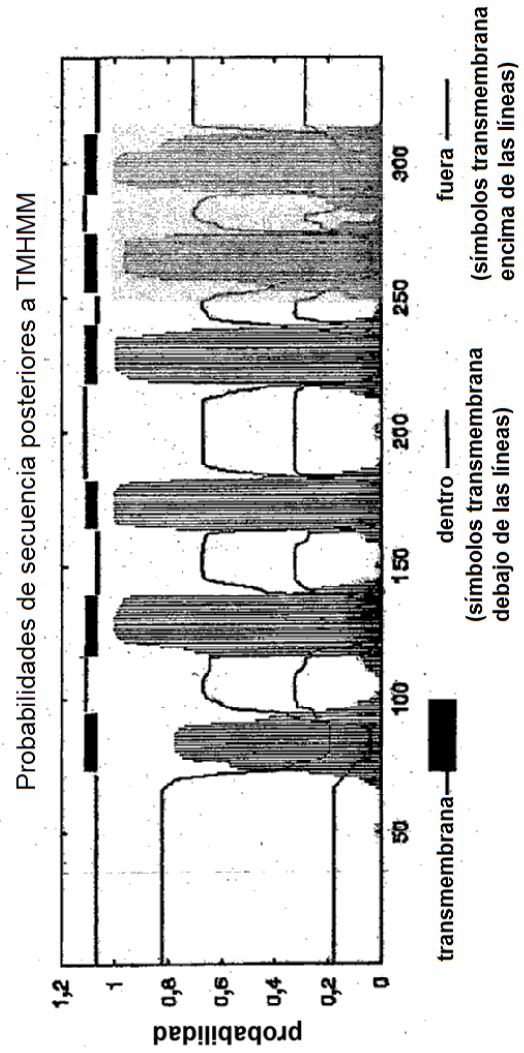
6 dominios transmembrana  
previstos



Dominios transmembrana →

E

6 dominios transmembrana  
previstos

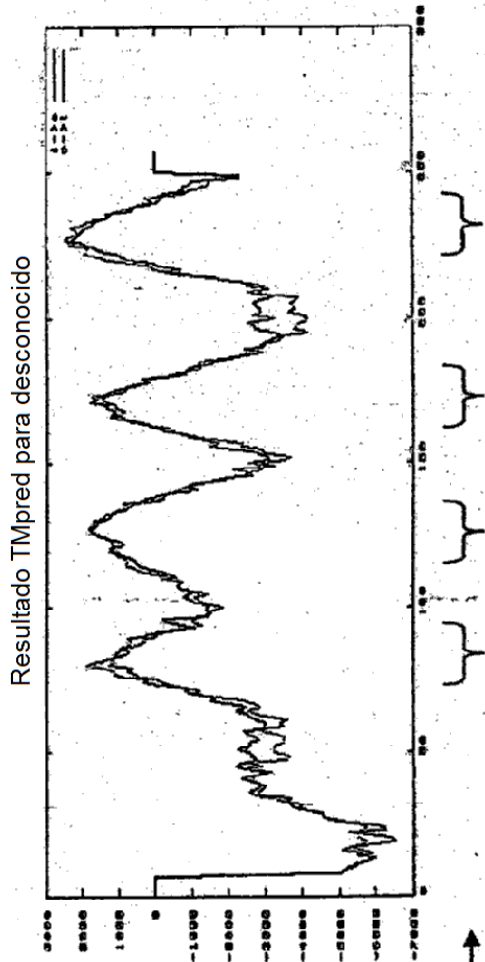




Predicción de regiones transmembrana de la variante 2 de 8P1D4

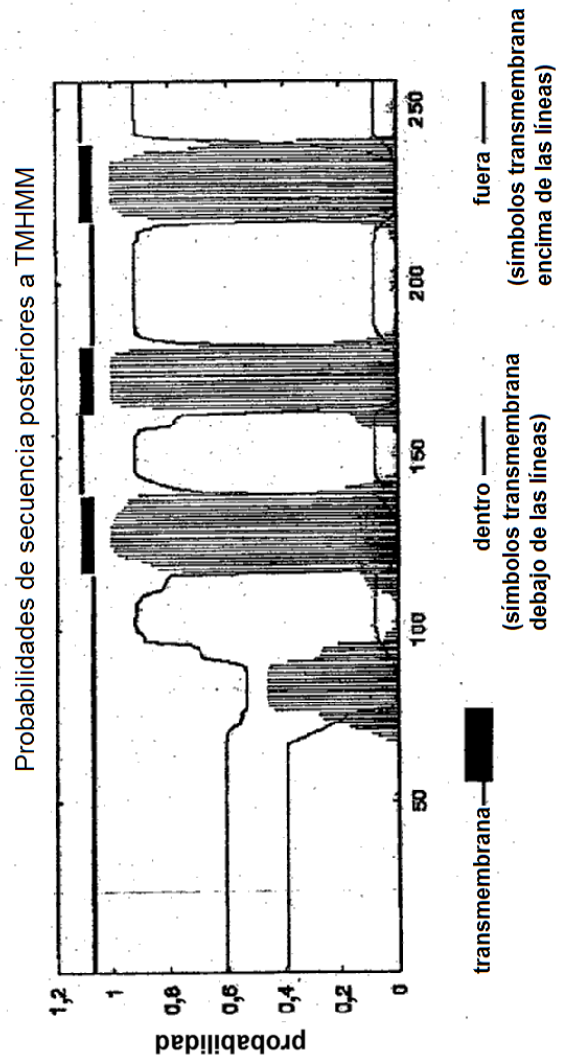
Figura 13F y 13G

4 dominios transmembrana  
previstos



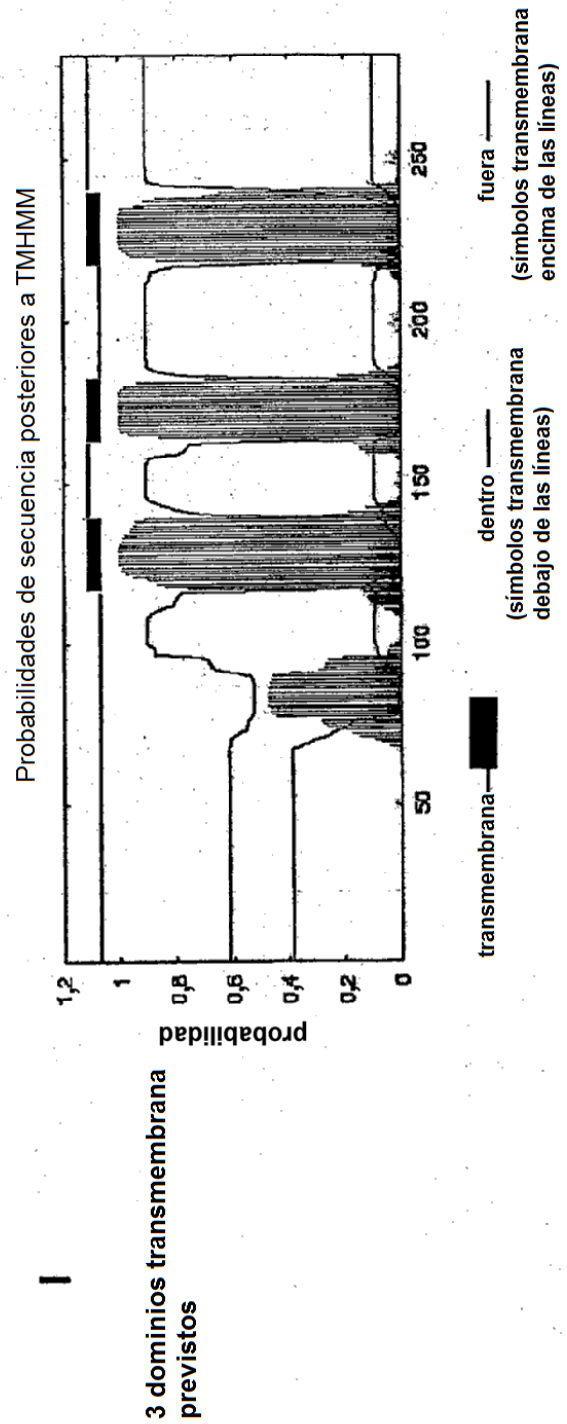
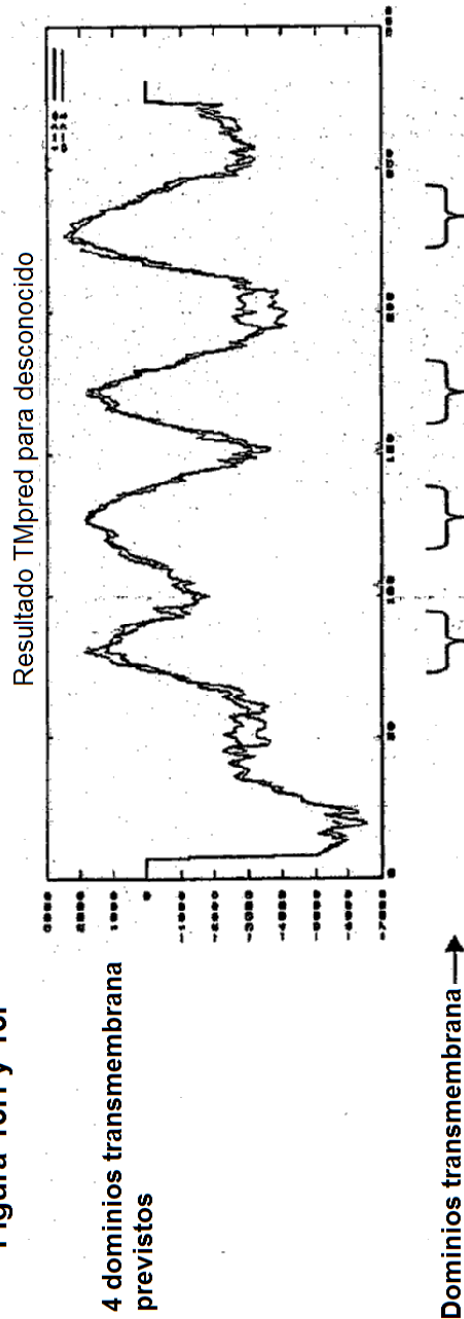
G

3 dominios transmembrana  
previstos

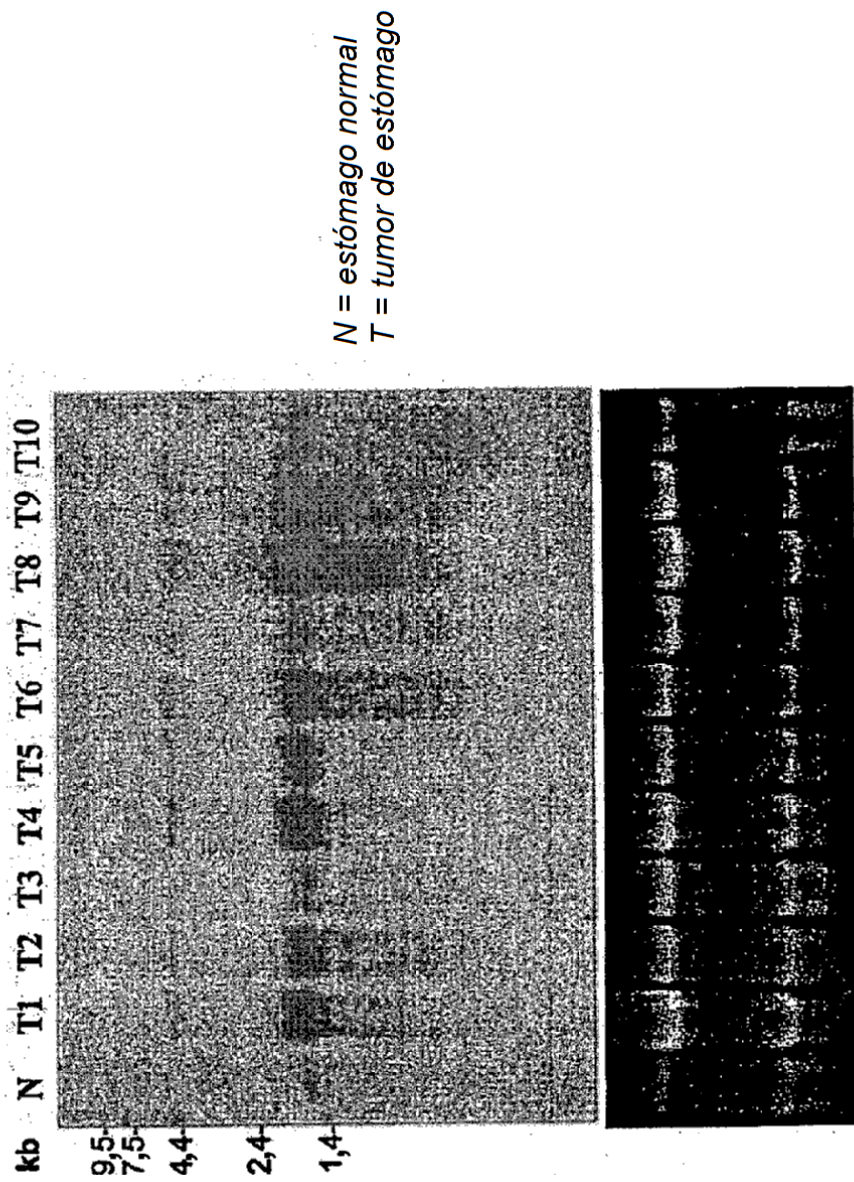


# Predicción de regiones transmembrana de la variante 3 de 8P1D4

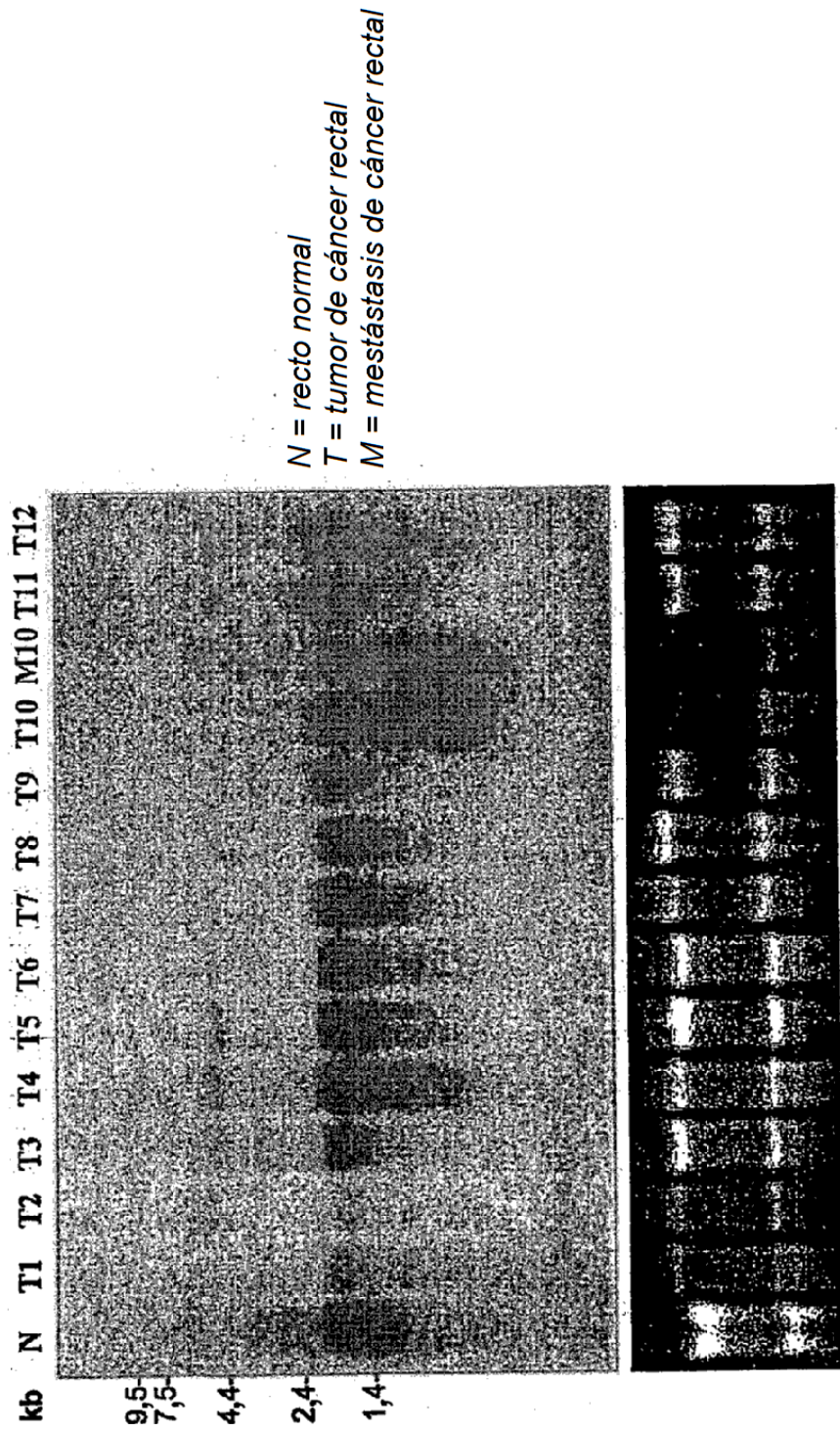
Figura 13H y 13I



**Figura 14** Expresión de STEAP-1 en especímenes de pacientes con cáncer de estómago



**Figura 15** Expresión de STEAP-1 en especímenes de  
pacientes con cáncer rectal



**Figura 16** Expresión de STEAP-1 en HUVEC por RT-PCR

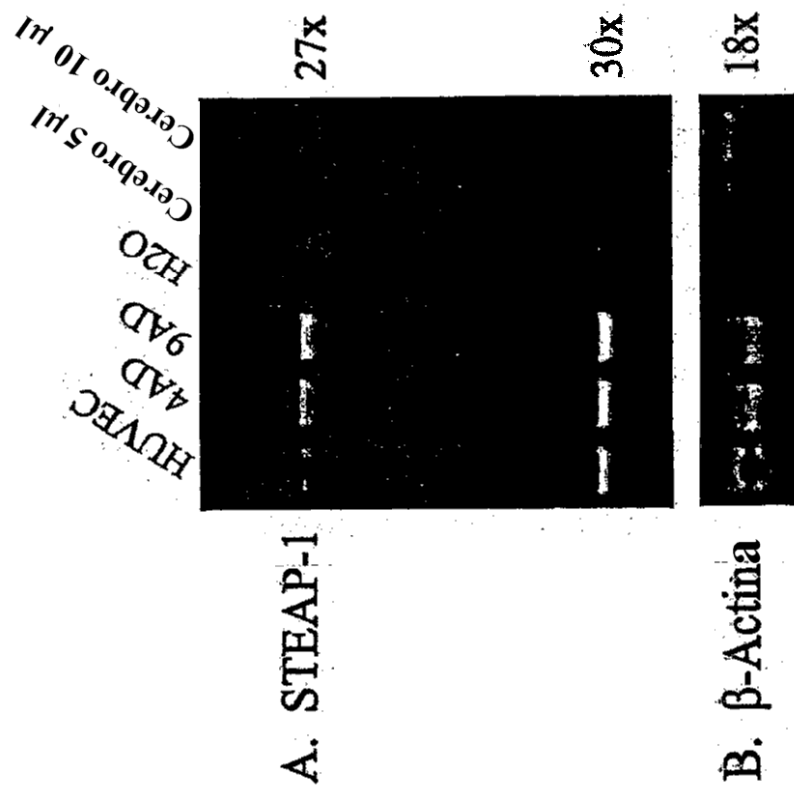


Figura 17: STEAP-1 media el flujo de calcio en respuesta a LPA



Células	Factor de aumento después de LPA
PC3 Parental	1,4
PC3 STEAP-1	3,0
Gen control PC3	1,9



Figura 18: Inhibición de la proliferación de PC3-STEAP-1 por un inhibidor de canales de  $\text{Ca}^{++}$

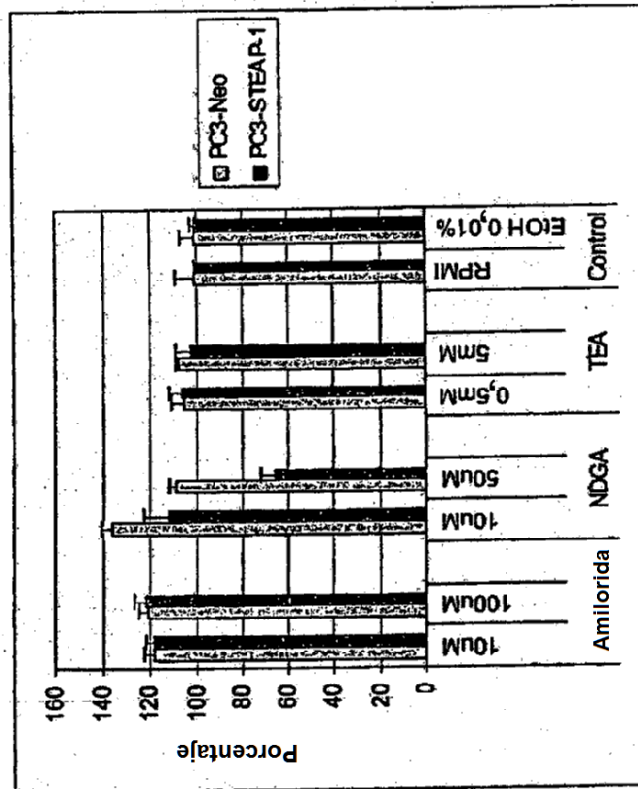


Figura 19: STEAP-1 media la comunicación célula-célula

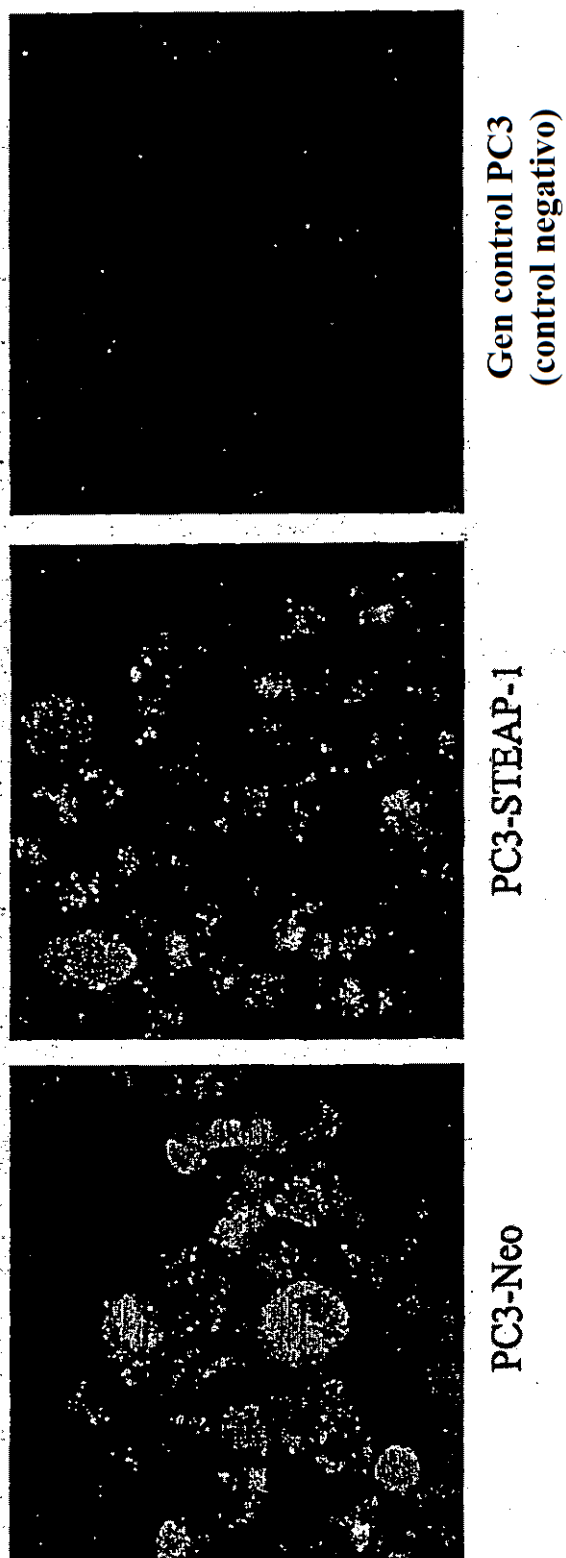


Figura 20: STEAP-1 media la comunicación celular de manera dependiente del tiempo

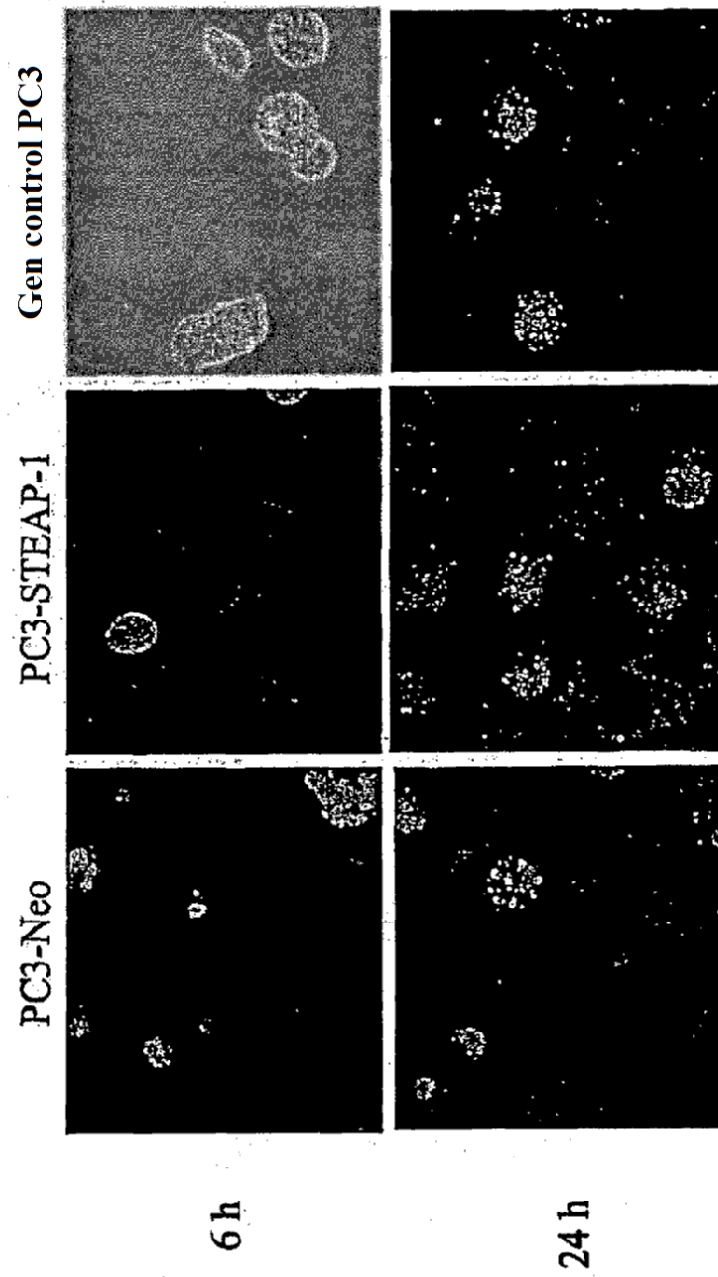


Figura 21

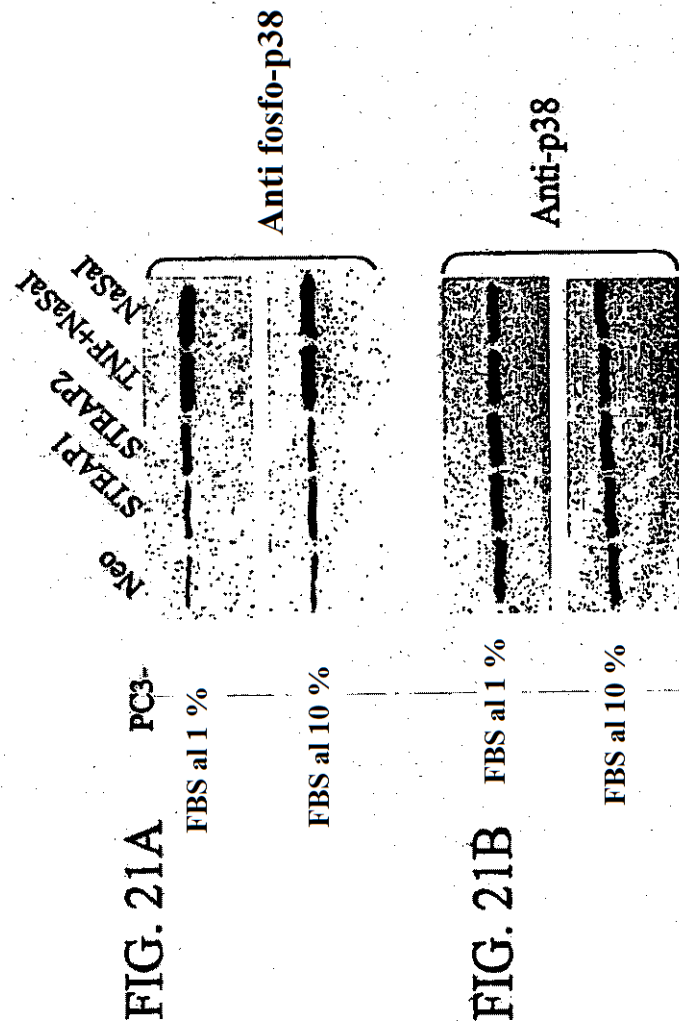


Figura 22

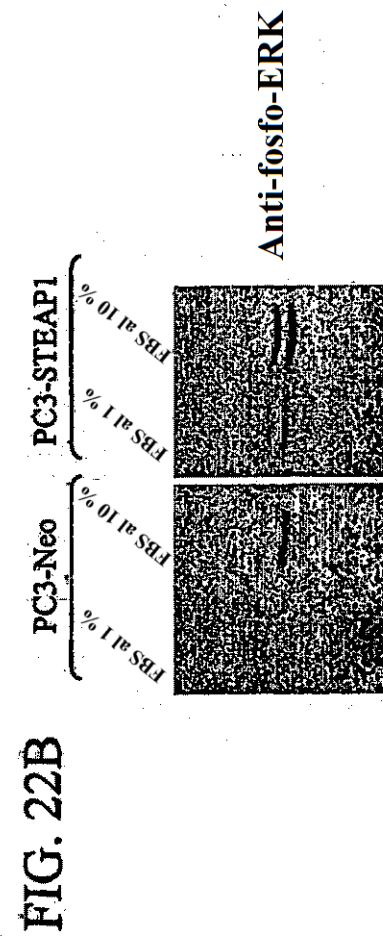
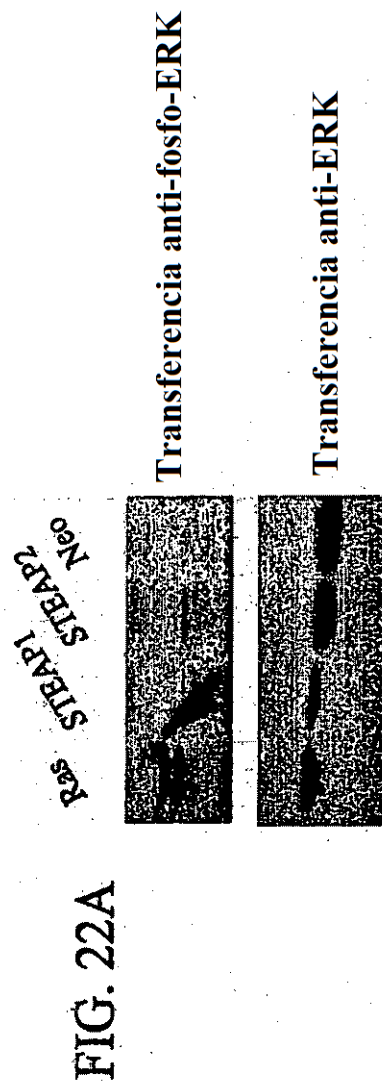
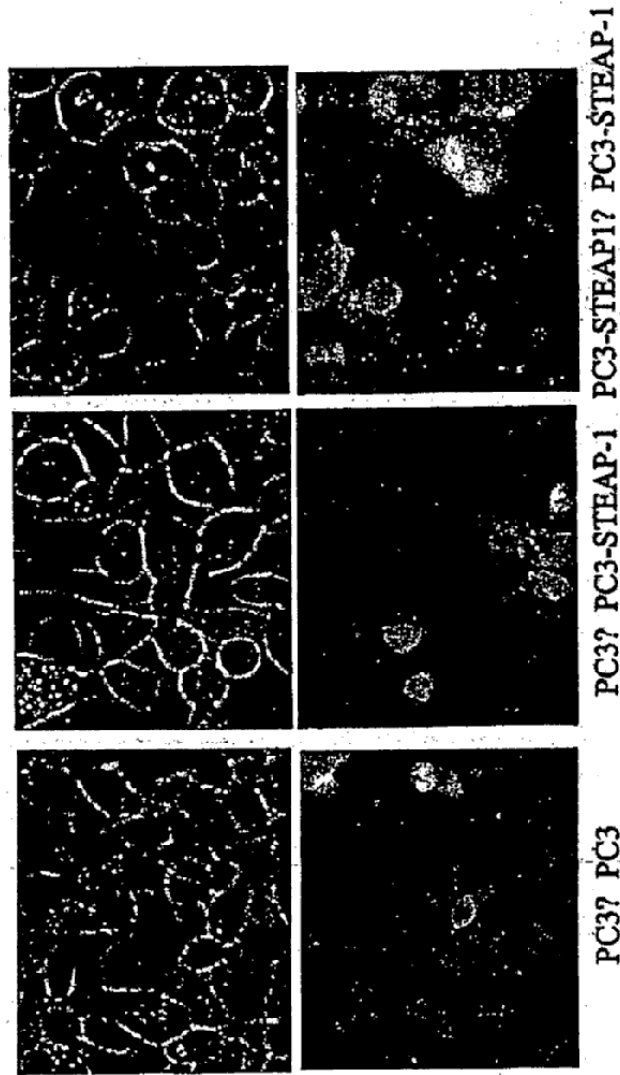


Figura 23

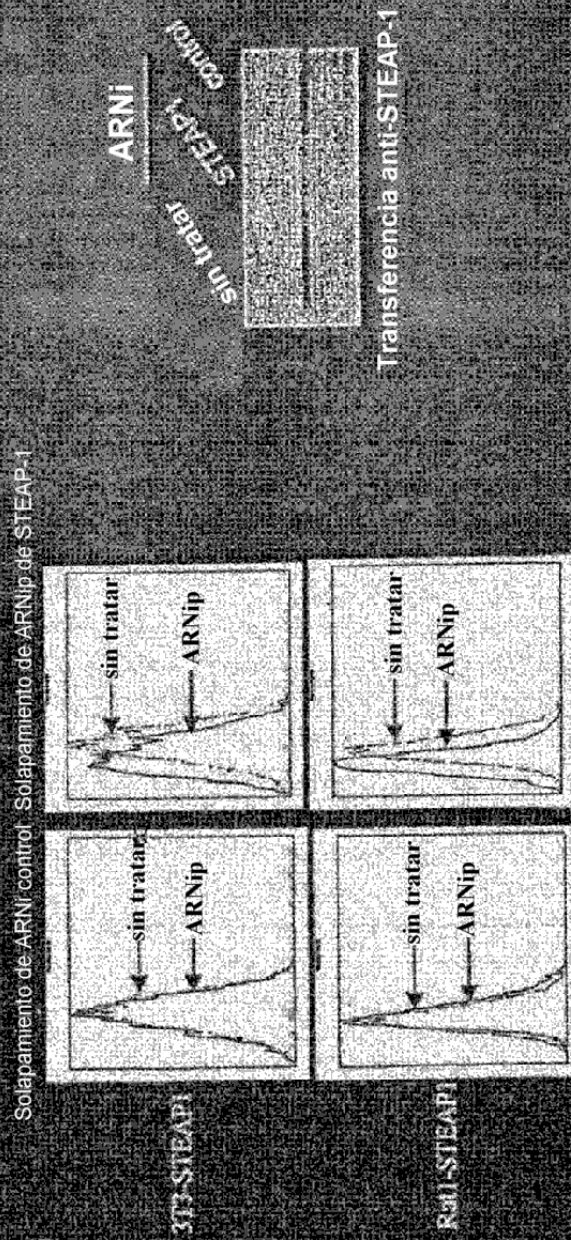
Expresión necesaria de STEAP-1 en células donantes y receptoras



- Métodos: se marcaron células receptoras PC3 o PC3-STEAP-1 con dextrano - rojo Texas. Se marcaron células donantes PC3 o PC3-STEAP-1 con calceína AM. Las células donantes (verdes) y la receptoras (rojas) se co-cultivaron y analizaron al microscopio.
- Conclusión: la expresión de STEAP-1 en la población de células tanto donantes como receptoras es necesaria para la transferencia de calceína.



**Figura 24:**  
**El ARNi reduce la expresión de STEAP-1 en células recombinantes**



**Figura 25:**  
**Efecto del ARNi sobre la expresión de proteínas en células LNCaP**

LNCaP tratadas con ARNi de STEAPI  
Solapado con células no tratadas

