

REIVINDICACIONES:

1. Un anticuerpo que comprende por lo menos una región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 (glicoproteína trofoblástica), en donde el anticuerpo puede bloquear la unión a 5T4 de un anticuerpo que comprende una
5 región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 5, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 9 [059].
2. El anticuerpo de la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo bloquea la unión a 5T4 de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en:
 - 10 a) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 40 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 44 [207],
 - 15 b) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 47 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 51 [226], y
 - 20 c) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 5 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 9 [059],
3. El anticuerpo de la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho anticuerpo bloquea la unión a 5T4 de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en:
 - 25 a) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 40 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 44 [207], y
 - b) un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 47 y una

región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 51 [226].

4. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde 5T4 es una 5T4 humana (*Homo sapiens*), tal como la
5 secuencia de polipéptidos madura de la SEQ ID N°: 1.
5. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde 5T4 es una 5T4 de mono cinomolgo (*Macaca fascicularis*), tal como la secuencia de polipéptidos madura de la SEQ ID N°: 2.
6. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3,
10 en donde la 5T4 es una 5T4 de pollo (*Gallus gallus*), tal como la secuencia de polipéptidos madura de la SEQ ID N°: 3.
7. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la 5T4 es una 5T4 humana, tal como el polipéptido maduro de la SEQ ID N°: 1 y una 5T4 de mono cinomolgo, tal como el polipéptido maduro de
15 la SEQ ID N°: 2.
8. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la 5T4 es una 5T4 humana, tal como la secuencia de polipéptidos madura de la SEQ ID N°: 1, una 5T4 de mono cinomolgo, tal como la secuencia de polipéptidos madura de la SEQ ID N°: 2 y una 5T4 de pollo, tal como la
20 secuencia de polipéptidos madura de la SEQ ID N°: 3.
9. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde dicho anticuerpo se puede unir a una 5T4 humana, una 5T4 de mono cinomolgo y/o de pollo, con una afinidad de unión que corresponde a un valor de K_D de 1E-7 M o menos, tal como 5E-8 M o menos, 1E-8 M o menos, 5E-9 M o
25 menos o tal como 1E-9 M o menos tal como con una afinidad de unión correspondiente a una valor de K_D que se encuentra dentro del rango de entre 1E-7 y 5E-10 M, tal como dentro del rango de entre 1E-7 y 1E-9 M, tal como entre 5E-8 y 5E-10 M, entre 5E-8 y 1E-9 M, tal como entre 1E-8 y 5E-10 M, entre 1E-8 y 1E-9 M o tal como entre 1E-8 y 5E-9 M.

10. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la afinidad de unión se determina mediante interferometría de biocapas, opcionalmente como se describe en el Ejemplo 2 en la presente.
11. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 y 10,
5 en donde la afinidad de unión se determina usando una interferometría de biocapas que comprende los pasos de:
- I) Inmovilizar una cantidad del anticuerpo a 1 µg/ml durante 600 segundos sobre un biosensor de captura anti-Fc IgG humano
 - 10 II) Determinar la asociación sobre un período de tiempo de 200 segundos y la disociación sobre un período de tiempo de 1000 segundos de 5T4 ECDHis (proteína madura de la SEQ ID N°: 99) o 5T4 de mono cinomolgo (proteína madura de la SEQ ID N°: 2, o una proteína recombinante de 5T4 de mono cinomolgo (Cusabio; N° cat. CSB-MP024093MOV), usando una serie de dilución 2X en un rango de entre
15 100 nM y 1,56 nM.
 - III) Referir los datos a un control de solución amortiguadora (0 nM).
12. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11,
20 en donde la afinidad de unión se determina usando un anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es un anticuerpo bivalente mono-específico, tal como un anticuerpo que es una IgG1 de longitud completa.
13. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo reconoce un epítopo o una región de unión al anticuerpo o sitio de unión en 5T4, donde dicha región de unión al anticuerpo, sitio
25 de unión o epítopo es reconocido por cualquiera de los anticuerpos seleccionados del grupo que consiste en:
- a) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 5 y una región VL que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 9 [059],

- b) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 12 y una región VL que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 16 [076],
- 5 c) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 19 y una región VL que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 23 [085],
- d) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 26 y una región VL que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 30 [106],
- 10 e) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 33 y una región VL que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 37 [127],
- f) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 40 y una región VL que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 44 [207]; y
- 15 g) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 47 y una región VL que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 51 [226].
14. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones
- 20 precedentes, en donde dicho anticuerpo se une a una región de unión al anticuerpo, un sitio de unión o un epítopo en 5T4, que no es una región de unión al anticuerpo, un sitio de unión ni un epítopo, o que es diferente de una región de unión al anticuerpo, un sitio de unión o un epítopo, que se une a un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en:
- 25 a) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 87 y una región VL que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 88 [H8],
- b) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 83 y una región VL que
- 30 comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 84 [A1]; y

c) un anticuerpo que comprende una región VH que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 85 y una región VL que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 86 [A3].

5 15. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la unión de dicho anticuerpo a 5T4 se bloquea mediante la unión a 5T4 de un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 85 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 86 [A3].

10 16. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo presenta desplazamiento de un anticuerpo unido a 5T4 ECDHis (proteína madura de la SEQ ID N°: 99), donde dicho anticuerpo unido a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 85 y una región variable
15 de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 86 [A3].

17. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 14 ó 15, en donde el bloqueo cruzado, o la capacidad de un anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones precedentes para bloquear la unión de otro anticuerpo a 5T4 se
20 determina mediante el ensayo de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), tal como en un ensayo realizado como se describe en el Ejemplo 5.

18. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, en donde el bloqueo cruzado, o la capacidad de un anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones precedentes para bloquear la unión de otro anticuerpo a 5T4,
25 se determina como la capacidad de un anticuerpo no conjugado para bloquear la unión de un anticuerpo conjugado, y opcionalmente se determina mediante un procedimiento que comprende los pasos de:

i) Proveer un conjunto de muestras, donde cada muestra comprende una mezcla de células SK-OV-3 de adenocarcinoma de ovario humano, un
30 anticuerpo que se une a 5T4 y que está conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) y un exceso de anticuerpo no conjugado dirigido a 5T4,

- ii) Incubar las muestras durante 30 minutos a 4 °C, y a continuación someter las muestras a centrifugación,
 - iii) Separar el sobrenadante de cada muestra y volver a suspender las células en solución amortiguadora y determinar la intensidad de fluorescencia promedio (MFI) del FITC usando un citómetro de flujo; y
 - iv) Calcular el porcentaje de unión como:

La diferencia de MFI entre células incubadas con una mezcla de anticuerpos conjugados con FITC o con anticuerpos no conjugados y células incubadas sin anticuerpos conjugados con FITC o con anticuerpos no conjugados, multiplicarla por 100 y luego dividir el resultado por la diferencia de MFI entre las células incubadas con una mezcla de anticuerpos conjugados con FITC y anticuerpos IgG-b12 y las células incubadas sin anticuerpos conjugados con FITC o con anticuerpos no conjugados.
19. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 14 a 17, en donde la capacidad de dicho anticuerpo para bloquear la unión de otro anticuerpo a 5T4 o para desplazar a otro anticuerpo unido a 5T4 ECDHis (proteína madura de la SEQ ID N°: 99), se determina usando interferometría de biocapas, tal como en un ensayo que se describe en el Ejemplo 3.
20. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 14 a 18, en donde la capacidad del anticuerpo para bloquear la unión de otro anticuerpo a 5T4, o para desplazar otro anticuerpo unido a 5T4, se determina usando interferometría de biocapas en un procedimiento que comprende los pasos de:
- i) Inmovilizar un anticuerpo, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, a una cantidad de 20 µg/ml en una solución amortiguadora de acetato de sodio 10 mM en un biosensor de 2ª Generación amino-reactivo activado,
 - ii) Inactivar el biosensor con el anticuerpo inmovilizado en etanolamina a pH 8,5,
 - iii) Sumergir el biosensor con el anticuerpo inmovilizado en una composición que comprende 3,6 µg/ml (100 nM) de la 5T4 ECDHis human

(proteína madura de la SEQ ID N°: 99) por un período de tiempo de 500 segundos, y luego

- iv) Sumergir el biosensor con el anticuerpo inmovilizado y 5T4 ECDHis en una composición que comprende 10 µg/ml del otro anticuerpo dirigido a 5T4 y determinar la respuesta de asociación sobre un período de tiempo de 500 segundos;

en donde los pasos i)-iv) se llevan a cabo a una temperatura de 30 °C y con agitación a 1000 rpm.

21. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo se une a un epitope o a una región de unión al anticuerpo en la 5T4 humana que comprende los residuos de aminoácidos R73, Y92 y R94; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

22. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo se une a un epitope o a una región de unión al anticuerpo en la 5T4 humana que comprende los residuos de aminoácidos S69, R73, Y92 y R94; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

23. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-21, en donde dicho anticuerpo se une a un epitope o a una región de unión al anticuerpo en la 5T4 humana que comprende los residuos de aminoácidos R73, T74, Y92, R94 y N95; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

24. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21 a 23, en donde dichos residuos de aminoácidos están involucrados de manera directa en la unión del anticuerpo.

25. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21 a 24, en donde uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos adicionales están involucrados en la unión del anticuerpo, tal como involucrados de manera indirecta en la unión, por ejemplo porque afecta el plegamiento de la proteína y/o la ubicación

de uno o más de los residuos de aminoácidos involucrados de manera directa en la unión del anticuerpo: L89, F111, L117, F138, L144, D148, N152; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

5 26. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo se une a un epítopo o a una región de unión al anticuerpo en la 5T4 humana en los cuales los residuos de aminoácidos R73, Y92 y R94 están involucrados de manera directa en la unión del anticuerpo, y en donde uno o más de los residuos de aminoácidos F111, F138, L144 y D148 están involucrados de manera indirecta en dicha unión; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

27. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, en donde dicho anticuerpo se une a un epítopo o a una región de unión al anticuerpo en la 5T4 humana en los cuales los residuos de aminoácidos S69, R73, Y92 y R94 están involucrados de manera directa en la unión del anticuerpo, y en donde uno o más de los residuos de aminoácidos F111, F138 y D148 están involucrados de manera indirecta en dicha unión; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

28. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, en donde dicho anticuerpo se une a un epítopo o a una región de unión al anticuerpo en la 5T4 humana en los cuales los residuos de aminoácidos R73, T74, Y92, R94 y N95 están involucrados de manera directa en la unión del anticuerpo, y en donde el residuo de aminoácido F138 está involucrado de manera indirecta en dicha unión; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

29. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 21 a 28, en donde los residuos de aminoácidos comprendidos en dicho epítopo o en dicha región de unión al anticuerpo y opcionalmente dichos uno o más residuos de aminoácidos adicionales se identifican mediante barrido de alanina de la 5T4 humana que presenta la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID N°: 1 o la secuencia de polipéptidos madura de la SEQ ID N°: 1.

30. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 29, en donde el barrido de alanina se realiza como se describe o como se describe esencialmente en el Ejemplo 16 en la presente.

31. El anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 29 a 30, en donde el
5 barrido de alanina se realiza mediante un procedimiento que comprende los pasos de:

i) Expresar polipéptidos mutantes de la 5T4 humana en los cuales todos los residuos de aminoácidos en el dominio extracelular de la 5T4 humana (correspondientes a los residuos de aminoácidos 32-355 de la SEQ ID N°: 1),
10 excepto cisteínas y alaninas, se sustituyen individualmente por alanina, y los polipéptidos de la 5T4 de tipo salvaje (residuos de aminoácidos 32-355 de la SEQ ID N°: 1) se sustituyen individualmente en células de riñón embrionario humano, por ejemplo células HEK 293, de manera tal que por cada 5T4 mutante o de tipo salvaje se provee una muestra que comprende 70-90.000
15 células, tal como 80.000 células,

ii) Incubar las células de cada muestra con 20 µl de dicho anticuerpo, que es un anticuerpo conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (3 µg/ml; en solución amortiguadora FACS), durante 40 minutos a temperatura ambiente, y subsiguientemente lavar cada muestra dos veces en 150-180 µl
20 de solución amortiguadora FACS (solución amortiguadora salina con fosfato + 0,1% [p/v] de BSA + 0,02% [p/v] de azida sódica) y volver a suspender las células de cada muestra en 30 µl de solución amortiguadora FACS,

iii) Determinar, para cada muestra, la cantidad promedio de anticuerpo unido por célula como la media geométrica de la intensidad de fluorescencia (gMFI) para la población de células individuales, viables, en dicha muestra y
25 normalizar los datos para cada anticuerpo de prueba contra la intensidad de unión de un anticuerpo control de bloqueo no cruzado específico de 5T4 usando la siguiente ecuación:

$$\text{gMFI normalizada}_{\text{posición aa}} = \text{Log}_{10} \left(\frac{\text{gMFI}_{\text{Ab de prueba}}}{\text{gMFI}_{\text{Ab control}}} \right)$$

en donde la 'posición aa' se refiere a la posición que fue mutada por una alanina,

en donde el puntaje Z se calcula para expresar la pérdida o el aumento de unión del anticuerpo, de acuerdo con el siguiente cálculo:

$$\text{Puntaje Z (cambio)} = \frac{\text{gMFI normalizada}_{\text{posición aa}} - \mu}{\sigma}$$

5

en donde μ y σ son la media y la desviación estándar, respectivamente, del valor de gMFI normalizado calculado a partir de todos los mutantes,

10

en donde los datos se excluyen del análisis si el valor de gMFI del anticuerpo control para un mutante 5T4 particular es menor que el valor promedio de gMFI_{Control Ab} - 2,5 x DE del valor promedio de gMFI_{Control Ab} (de todos los mutantes); y opcionalmente

15

en donde se excluyen los datos del análisis de un residuo que se une con un puntaje Z justo por debajo de -1,5 (por ejemplo, entre -1,5 y -1,8, tal como entre -1,5 y -1,7 o tal como entre -1,5 y -1,6) y se predice que dicho residuo está enterrado y separado espacialmente de la mayoría de los residuos, predichos para estar expuestos en la superficie y para los cuales se determina una pérdida de unión o una unión reducida.

20

32. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 31, en donde el anticuerpo control de bloqueo no cruzado específico de 5T4 del paso iv) es un anticuerpo biespecífico que comprende

25

- una región de unión al antígeno, que comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 83 y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 84 [A1]; y
- una región de unión al antígeno, que comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 97 y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 98 [B12].

33. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, en donde dicho anticuerpo se une a 5T4 de manera tal que hay pérdida de unión o

la unión esta reducida si cualquiera entre uno o más de los residuos de aminoácidos R73, Y92 y R94 está/n sustituido/s por alanina; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

34. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 y 33, en donde dicho anticuerpo se une a 5T4 de manera tal que hay pérdida de unión o la unión esta reducida si cualquiera entre uno o más de los residuos de aminoácidos S69, R73, Y92 y R94 está/n sustituido/s por alanina; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

35. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 y 33, en donde dicho anticuerpo se une a 5T4 de manera tal que hay pérdida de unión o la unión esta reducida si cualquiera entre uno o más de los residuos de aminoácidos R73, T74, Y92, R94 y N95 está/n sustituido/s por alanina; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

36. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 y 33 a 35, en donde dicho anticuerpo se une a 5T4 de manera tal que hay pérdida de unión o la unión esta reducida si cualquiera entre uno o más de los residuos de aminoácidos L89, F111, L117, F138, L144, D148, N152 está/n sustituido/s por alanina; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

37. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 y 33 a 36, en donde dicho anticuerpo se une a 5T4 de manera tal que hay pérdida de unión o la unión esta reducida si cualquiera entre uno o más de los residuos de aminoácidos R73, Y92, R94, F111, F138, L144 y D148 está/n sustituido/s por alanina; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

38. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 y 33 a 36, en donde dicho anticuerpo se une a 5T4 de manera tal que hay pérdida de unión o la unión esta reducida si cualquiera entre uno o más de los residuos de

aminoácidos S69, R73, Y92, R94, F111, F138 y D148 está/n sustituido/s por alanina; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

39. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 y 33 a 36, en donde dicho anticuerpo se une a 5T4 de manera tal que hay pérdida de unión o la unión esta reducida si cualquiera entre uno o más de los residuos de aminoácidos R73, T74, Y92, R94, N95 y F138 está/n sustituido/s por alanina; donde la numeración de cada residuo de aminoácido se refiere a su posición en la SEQ ID N°: 1.

40. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 33 a 39, en donde el efecto de la sustitución por alanina se determina mediante barrido de alanina de un polipéptido que comprende los residuos de aminoácidos 32-355 de la SEQ ID N°: 1.

41. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 33 a 39, en donde el efecto de la sustitución por alanina se determina mediante un procedimiento que se describe o que se describe esencialmente en el Ejemplo 16 en la presente.

42. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 33 a 39, en donde la pérdida de unión se define como un puntaje Z en la unión menor que 1,5; donde el puntaje Z opcionalmente se calcula como se describe o como se describe esencialmente en el Ejemplo 16 en la presente.

43. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 42, en donde el efecto de la sustitución por alanina se determina mediante un procedimiento que comprende los pasos de:

i) Expresar polipéptidos mutantes de la 5T4 humana en los cuales todos los residuos de aminoácidos en el dominio extracelular de la 5T4 humana (correspondientes a los residuos de aminoácidos 32-355 de la SEQ ID N°: 1), excepto cisteínas y alaninas, se sustituyen individualmente por alanina, y los polipéptidos de la 5T4 de tipo salvaje se sustituyen individualmente en células de riñón embrionario humano, por ejemplo células HEK 293, de

manera tal que por cada 5T4 mutante o de tipo salvaje se provee una muestra que comprende 70-90.000 células, tal como 80.000 células,

- 5 ii) Incubar las células de cada muestra con 20 µl de dicho anticuerpo, que es un anticuerpo conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (3 µg/ml; en solución amortiguadora FACS), durante 40 minutos a temperatura ambiente, y subsiguientemente lavar cada muestra dos veces en 150-180 µl de solución amortiguadora FACS (solución amortiguadora salina con fosfato + 0,1% [p/v] de BSA + 0,02% [p/v] de azida sódica) y volver a suspender las células de cada muestra en 30 µl de solución amortiguadora FACS,
- 10 iii) Determinar, para cada muestra, la cantidad promedio de anticuerpo unido por célula como la media geométrica de la intensidad de fluorescencia (gMFI) para la población de células individuales, viables, en dicha muestra y normalizar los datos para cada anticuerpo de prueba contra la intensidad de unión de un anticuerpo control de bloqueo no cruzado específico de 5T4
- 15 usando la siguiente ecuación:

$$\text{gMFI normalizada}_{\text{posición aa}} = \text{Log}_{10} \left(\frac{\text{gMFI}_{\text{Ab de prueba}}}{\text{gMFI}_{\text{Ab control}}} \right)$$

en donde la 'posición aa' se refiere a la posición que fue mutada por una alanina,

- 20 en donde el puntaje Z se calcula para expresar la pérdida o el aumento de unión del anticuerpo, de acuerdo con el siguiente cálculo:

$$\text{Puntaje Z (cambio)} = \frac{\text{gMFI normalizada}_{\text{posición aa}} - \mu}{\sigma}$$

- en donde μ y σ son la media y la desviación estándar, respectivamente, del valor de gMFI normalizado calculado a partir de todos los mutantes,
- en donde los datos se excluyen del análisis si el valor de gMFI del anticuerpo control para un mutante 5T4 particular es menor que el valor promedio de gMFI_{Control Ab} - 2,5 x DE del valor promedio de gMFI_{Control Ab} (de todos los mutantes); y opcionalmente
- en donde se excluyen los datos del análisis de un residuo que se une con un puntaje Z justo por debajo de -1,5 (por ejemplo, entre -1,5 y -1,8, tal como entre -1,5 y -1,7 o tal como entre -1,5 y -1,6) y se predice que dicho residuo está enterrado y separado espacialmente de la mayoría de los residuos, predichos para estar expuestos en la superficie y para los cuales se determina una pérdida de unión o una unión reducida.
44. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 43, en donde el anticuerpo control de bloqueo no cruzado específico de 5T4 del paso iii) es un anticuerpo biespecífico que comprende
- una región de unión al antígeno, que comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 83 y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 84 [A1]; y
 - una región de unión al antígeno, que comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 97 y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 98 [B12].
45. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo tiene una capacidad de internalización reducida como lo demuestra una citotoxicidad reducida cuando se conjuga con una unidad citotóxica en comparación con un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 87 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 88 [H8].

46. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 45, en donde la citotoxicidad se determina usando un procedimiento que se describe en el Ejemplo 7, tal como en un procedimiento que comprende los pasos de:

- 5 i) Proveer un anticuerpo monovalente que comprende un primer brazo de Fab de un anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones precedentes y un segundo brazo de Fab que se puede unir a la proteína gp120 viral del VIH (HIV-1 gp120), y está conjugado con Duostatin-3,
- 10 ii) Poner células de cáncer de mama MDA-MB-468 (ATCC, clon HTB-132) o HCC1954 (ATCC, clon CRL-1338) en contacto con dicho anticuerpo monovalente durante 5 días a 37 °C; y
- iii) Determinar la viabilidad de las células.

47. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) seleccionada del grupo
15 que consiste en:

- a) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 6, 7 y 8 [059],
- b) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 13, 14 y 15 [076],
- 20 c) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 20, 21 y 22 [085],
- d) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 27, 28 y 29 [106],
- e) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 34, 35 y 36 [127],
- 25 f) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 41, 42 y 43 [207],
- g) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 48, 49 y 50 [226], y
- 30 h) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3, donde dichas secuencias de CDR1,

CDR2 y CDR3 comprenden en total, como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o como máximo 10 sustituciones de aminoácidos, en comparación con las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 definidas en cualquiera de a) a g).

48. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) seleccionada del grupo que consiste en:

- a) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 6, 7 y 8 [059],
- 10 b) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 41, 42 y 43 [207],
- c) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 48, 49 y 50 [226]; y
- 15 d) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3, donde dichas secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 comprenden en total, como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o como máximo 10 sustituciones de aminoácidos, en comparación con las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 definidas en cualquiera de a) a c).

49. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 6, 7 y 8 [059].

50. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4
25 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) seleccionada del grupo que consiste en: una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 41, 42 y 43 [207].

51. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4
30 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) seleccionada del grupo

que consiste en: una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 48, 49 y 50 [226].

52. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4

5 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena liviana (VL) seleccionadas del grupo que consiste en:

a) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 6, 7 y 8, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que
10 comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 10, AAS y de la SEQ ID N°: 11, respectivamente [059],

b) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 13, 14 y 15, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que
15 comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 17, DAS y de la SEQ ID N°: 18, respectivamente [076],

c) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 20, 21 y 22, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que
20 comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 24, DAS y de la SEQ ID N°: 25, respectivamente [085],

d) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 27, 28 y 29, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que
25 comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 31, DVS y de la SEQ ID N°: 32, respectivamente [106],

e) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 34, 35 y 36, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que
30 comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 38, DAS y de la SEQ ID N°: 39, respectivamente [127],

- 5 f) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 41, 42 y 43, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 45, DAS y de la SEQ ID N°: 46, respectivamente [207],
- 10 g) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 48, 49 y 50, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 52, DAS y de la SEQ ID N°: 53, respectivamente [226], y
- 15 h) una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena liviana (VL), donde cada región comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3, donde dichas secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 comprenden en total, como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o como máximo 10 sustituciones de aminoácidos, en comparación con las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 definidas en cualquiera de a) a g).

53. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde las seis regiones determinantes de complementariedad (CDR) de una o más regiones de unión al antígeno que se pueden unir a 5T4
20 comprenden, en total, como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o como máximo 10 sustituciones de aminoácidos, en comparación con

- i) las secuencias de CDR de las SEQ ID N°: 6, 7, 8, 10, AAS y de la SEQ ID N°: 11 [059],
- 25 ii) las secuencias de CDR de las SEQ ID N°: 41, 42, 43, 45, DAS y de la SEQ ID N°: 46 [207]; o
- iii) las secuencias de CDR de las SEQ ID N°: 48, 49, 50, 52, DAS y de la SEQ ID N°: 53 [226].

54. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 22 a 29, en donde 1, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 de dichas sustituciones de
30 aminoácidos son sustituciones de aminoácidos conservadoras.

55. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el anticuerpo comprende una o dos regiones variables de la cadena pesada en donde la región determinante de complementariedad 3 (CDR3) comprende seis residuos de aminoácidos consecutivos de la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 102 (YYGMDV) [059, 207, 226].
56. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 55, en donde dichos seis residuos de aminoácidos consecutivos son los residuos de aminoácidos más C-terminales en la CDR3.
57. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una o dos regiones variables de la cadena liviana (VH) que comprenden la secuencia de CDR1 de la SEQ ID N°: 41 (GGSFSGYY), la secuencia de CDR2 de la SEQ ID N°: 103 (IDHSX₁ST) y la secuencia de CDR3 de la SEQ ID N°: 104 (AX₂WFGELX₃X₄YYYGMDV), y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de CDR1 de la SEQ ID N°: 105 (QSVSSX₅), la secuencia de CDR2 DAS y la secuencia de CDR3 de la SEQ ID N°: 46 (QQRSNWPLT), y en donde X₁ es G o E, X₂ es A o G, X₃ es W o Y, X₄ es D o H y X₅ es Y o F [207, 226].
58. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 6, 7 y 8, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 10, AAS y de la SEQ ID N°: 11, respectivamente [059].
59. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 41, 42 y 43, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las

secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 45, DAS y de la SEQ ID N°: 46, respectivamente [207].

60. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 48, 49 y 50, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 52, DAS y de la SEQ ID N°: 53, respectivamente [226].

61. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) seleccionada del grupo que consiste en:

- a) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 5 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 5 [059],
- b) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 12 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 12 [076],
- c) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 19 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 19 [085],
- d) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 26 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 26 [106],
- e) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 33 o una secuencia que presenta por lo menos

90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 33 [127],
f) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 40 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 40 [207]; y
g) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 47 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 47 [226].

62. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 5 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 5 [059].

63. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 40 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 40 [207].

64. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 47 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 47 [226].

65. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4

comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena liviana (VL) seleccionadas del grupo que consiste en:

- 5 a) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 5 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 5, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 9 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 9 [059],
- 10 b) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 12 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 12, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 16 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 16 [076],
- 15 c) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 19 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 19, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 23 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 23 [085],
- 20 d) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 26 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 26, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 30 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos
- 25
- 30

- 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 30 [106],
- 5 e) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 33 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 33, y una
- 10 región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 37 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 37 [127],
- 15 f) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 40 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 40, y una
- 20 región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 44 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 44 [207],
- 25 g) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 47 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 47, y una
- 30 región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 51 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 51 [226].
66. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la
- cadena liviana (VL) seleccionadas del grupo que consiste en:

- a) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 5 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 9 [059],
- 5 b) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 12 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 16 [076],
- c) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 19 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 23 [085],
- 10 d) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 26 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 30 [106],
- e) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 33 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 37 [127],
- 15 f) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 40 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 44 [207]; y
- g) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 47 y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 51 [226].
- 20

67. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa, tal como un anticuerpo de IgG1 de longitud completa.

- 25 68. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es un anticuerpo monovalente.

69. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es un anticuerpo bivalente.

70. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es un anticuerpo monoespecífico.
- 30

71. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es un anticuerpo biespecífico.
72. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende una región de unión al antígeno de un anticuerpo que se une a CD3, tal como una CD3 ϵ (épsilon) humana, tal como la CD3 ϵ (épsilon) humana especificada en la SEQ ID N°: 4.
73. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 72, en donde la región de unión al antígeno que se une a CD3 comprende
- una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 54, 55 y 56, respectivamente; [anti-CD3 de tipo salvaje (SP34/SP34 humanizada, WO 2015001085 (Genmab)) – secuencias VH CDR];
- y, opcionalmente,
- una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 58, GTN y 59, respectivamente [anti-CD3 de tipo salvaje, secuencias VL CDR].
74. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 72 ó 73, en donde la región de unión al antígeno que se une a CD3 comprende
- una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 57, o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 57 [anti-CD3 de tipo salvaje – secuencia VH de longitud completa];
- y, opcionalmente,
- una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 60 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 60, [anti-CD3 de tipo salvaje – secuencia VL de longitud completa].
75. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72 a 74, en donde dicho anticuerpo tiene una menor afinidad de unión por la CD3 ϵ humana

que un anticuerpo que tiene una región de unión al antígeno que comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 57, y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60 [anti-CD3 de tipo salvaje (SP34 humanizada, WO 2015001085 (Genmab)), secuencias VH y VL], preferiblemente en donde dicha

5 afinidad es por lo menos 5 veces menor, tal como por lo menos 10 veces menor, por ejemplo por lo menos 20 veces menor, por lo menos 30 veces menor, por lo menos 40 veces menor, por lo menos 45 veces menor o tal como por lo menos 50 veces menor.

76. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72 a 74,

10 en donde dicha región de unión al antígeno se une a CD3 con un constante de disociación en el equilibrio K_D en el rango de 200 – 1000 nM, tal como en el rango de 300 – 1000 nM, en el rango de 400 – 1000 nM, en el rango de 500 – 1000 nM, en el rango de 300 – 900 nM en el rango de 400 – 900 nM, en el rango de 400 – 700 nM, en el rango de 500 – 900 nM, en el rango de 500 – 800 nM, en el rango de 500 –

15 700 nM, en el rango de 600 – 1000 nM, en el rango de 600 – 900 nM, en el rango de 600 – 800 nM o tal como en el rango de 600 – 700 nM.

77. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 72 ó 75, en donde dicha región de unión al antígeno se une a CD3 con un constante de disociación en el equilibrio K_D en el rango de 1 – 100 nM, tal como en el rango de 5 – 100 nM, en el

20 rango de 10 – 100 nM, en el rango de 1 – 80 nM, en el rango de 1 – 60 nM en el rango de 1 – 40 nM, en el rango de 1 – 20 nM, en el rango de 5 – 80 nM, en el rango de 5 – 60 nM, en el rango de 5 – 40 nM, en el rango de 5 – 20 nM, en el rango de 10 – 80 nM, en el rango de 10 – 60 nM, en el rango de 10 – 40 nM o tal como en el rango de 10 – 20 nM.

25 78. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72 a 77, en donde

la región de unión al antígeno que se une a CD3 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende una secuencia CDR1, una secuencia CDR2 y una secuencia CDR3,

la región variable de la cadena pesada (VH), en comparación con una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 57, tiene una sustitución de aminoácidos en una de las secuencias de CDR, donde dicha sustitución es en una posición seleccionada del grupo que consiste en: T31, N57, H101, G105, S110 y Y114; y dichas posiciones se numeran de acuerdo con la secuencia de la SEQ ID N°: 57 [VH_huCD3-H1L1]; y

la región variable de la cadena liviana (VL) de tipo salvaje comprende las secuencias CDR1, CDR2 y CDR3 que se muestran en la SEQ ID N°: 58, GTN y la SEQ ID N°: 59, respectivamente.

79. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 72, en donde la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la región variable de la cadena pesada (VH) de la región de unión al antígeno que se une a CD3 comprende, en total, como máximo 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituciones de aminoácidos, en comparación con la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 57.

80. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 72 ó 73, en donde las secuencias de aminoácidos de la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la región variable de la cadena pesada (VH) de la región de unión al antígeno que se une a CD3 tiene por lo menos un 95% de identidad de secuencia, tal como por lo menos 96% de identidad de secuencia, por lo menos 97% de identidad de secuencia, por lo menos 98% de identidad de secuencia o por lo menos 99% de identidad de secuencia con las secuencias de aminoácidos de la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la región variable de la cadena pesada (VH) de tipo salvaje, donde la identidad de secuencia se calcula en base a un alineamiento de una secuencia de aminoácidos que consiste en las secuencias de la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la región variable de la cadena pesada (VH) de la región de unión al antígeno que se une a CD con una secuencia de aminoácidos que comprende las secuencias de la CDR1, la CDR2 y la CDR3 de la región variable de la cadena pesada (VH) de tipo salvaje.

81. El anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 72 a 74, en donde la región de unión al antígeno que se une a CD3 comprende una mutación

seleccionada del grupo que consiste en: T31M, T31P, N57E, H101G, H101N, G105P, S110A, S110G, Y114M, Y114R, Y114V.

82. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde cuando dicho anticuerpo es un anticuerpo biespecífico no tiene o tiene una función efectora mediada por Fc reducida (anticuerpo “inerte”), y comprende una región de unión al antígeno de un anticuerpo que se une a CD3, entonces el anticuerpo:

a) puede mediar la citotoxicidad dependiente de la concentración de las células SK-OV-3, cuando se usan PBMC o células T purificadas como células efectoras, por ejemplo cuando se evalúa como se describe en el Ejemplo 14 en la presente,

b) puede mediar la citotoxicidad dependiente de la concentración de las células MDA-MB-231, cuando se usan células T purificadas como células efectoras, por ejemplo cuando se evalúa como se describe en el Ejemplo 13 en la presente,

c) puede activar células T *in vitro* en la presencia de células tumorales MDA-MB-231; por ejemplo cuando se evalúa como se describe en el Ejemplo 13 en la presente,

d) puede activar células T *in vitro* en la presencia de células tumorales BxPC-3, PANC-1, Ca Ski y/o SiHa; por ejemplo cuando se evalúa como se describe en el Ejemplo 17 en la presente,

e) puede inducir citotoxicidad contra células tumorales BxPC-3, PANC-1, Ca Ski y/o SiHa cuando se usan células T purificadas como células efectoras, por ejemplo cuando se evalúa como se describe en el Ejemplo 17 en la presente; y/o

f) muestra actividad antitumoral, tal como una extensión demorada del tumor, en un modelo de xenoinjerto en ratón de reconstitución de células madre hematopoyética inmunes humanizadas, tales como NOD.*Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ* inoculadas con células tumorales MDA-MB-231 humanas; por ejemplo cuando se determina como se describe en el Ejemplo 15.

83. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 82, en donde la capacidad del anticuerpo para mediar la citotoxicidad dependiente de la concentración de células SK-OV-3 se determina en un ensayo de citotoxicidad *in vitro* que comprende los pasos de:
- 5 i) aislar células mononucleares de sangre periférica (PBMC) o células T de capas leucocitarias de donantes humanos sanos,
- ii) proveer:
- un primer conjunto de muestras, en donde cada muestra comprende PBMC y células SK-OV-3 de adenocarcinoma de ovario humano, y en
- 10 donde las relaciones de PBMC:células SK-OV-3 en dichas muestras son de 1:2, 1:1, 2:1, 4:1, 8:1 y 12:1; y
- un segundo conjunto de muestras, en donde cada muestra comprende células T y células SK-OV-3 de adenocarcinoma de ovario humano y en
- donde las relaciones de células T:células SK-OV-3 en dichas muestras
- 15 son de 1:2, 1:1, 2:1, 4:1 y 8:1
- iii) agregar el anticuerpo a cada conjunto de muestras a concentraciones que varían en un rango entre 0,0128 ng/ml y 1000 ng/ml e incubar las muestras durante 72 horas a 37 °C; y luego
- iv) evaluar la viabilidad de las células SK-OV-3 usando Resazurin (10-óxido de 7-hidroxi-3H-fenoxazin-3-ona).
- 20
84. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 82, en donde la capacidad para activar células T *in vitro* en la presencia de células tumorales MDA-MB-231 se determina en un ensayo que comprende los pasos de:
- i) aislar células T de capas leucocitarias de donantes humanos sanos,
- 25 ii) proveer un conjunto de muestras, en donde cada muestra comprende células T y células MDA-MB-231 de adenocarcinoma de mama humano y en donde la relación de células T:células MDA-MB-231 en dichas muestras es de 8:1,
- iii) agregar el anticuerpo al conjunto de muestras a concentraciones que
- 30 varían en un rango entre 0,0128 ng/ml y 1000 ng/ml e incubar las muestras durante 72 horas a 37 °C,

- iv) teñir las células T con anticuerpos marcados con fluorescencia contra marcadores de activación de células T, tales como los anticuerpos CD69-APC, CD25-PE-Cy7 y CD279/PD1-BV604, mediante incubación con dichos anticuerpos durante 30 minutos a 4 °C; y
- 5 v) analizar las muestras mediante citometría de flujo.

85. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 82, en donde la activación de las células T *in vitro* en la presencia de células tumorales BxPC-3, PANC-1, Ca Ski y/o SiHa se determina con un procedimiento que comprende los pasos de:

- i) proveer células T aisladas de capas leucocitarias de donantes humanos sanos,
- 10 ii) proveer un conjunto de muestras, en donde cada muestra comprende dichas células T y células tumorales BxPC-3, PANC-1, Ca Ski o SiHa, y en donde la relación de células T:células tumorales en dichas muestras es de 4:1,
- iii) agregar el anticuerpo al conjunto de muestras a concentraciones que varían en un rango entre 0,0128 ng/ml y 5000 ng/ml (tal como diluciones 5X) e
- 15 incubar las muestras durante 72 horas a 37 °C,
- iv) recolectar de cada muestra 110 µl de sobrenadante que contiene células T y teñir las células T con anticuerpos marcados con fluorescencia contra marcadores de células T, tales como CD3-eFluor450, CD4-APC-eFluor780, DC8-AF700, y con anticuerpos contra marcadores de células T, tales como los anticuerpos 69-APC, CD25-PE-Cy7 y CD279/PD1-BV604, mediante
- 20 incubación con dichos anticuerpos durante 30 minutos a 4 °C; y
- v) analizar las muestras mediante citometría de flujo.

86. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 82, en donde la capacidad para inducir citotoxicidad contra células tumorales BxPC-3, PANC-1, Ca Ski y/o SiHa se determina en un procedimiento que comprende los pasos de

25

- i) proveer células T aisladas de capas leucocitarias de donantes humanos sanos,
- ii) proveer un conjunto de muestras de prueba y muestras control, en donde cada muestra comprende dichas células T y células tumorales BxPC-3, PANC-1, Ca Ski o SiHa que se habían dejado adherir al fondo de una placa
- 30

para cultivo tisular de 96 pocillos y en donde la relación de células T:células tumorales en dichas muestras es de 4:1,

5 iii) agregar el anticuerpo al conjunto de muestras de prueba a concentraciones que varían en un rango entre 0,0128 ng/ml y 5000 ng/ml (tal como diluciones 5X), en tanto las muestras control permanecen sin tratar o se incuban con estaurosporina 5 µM, e incubar todas las muestras durante 72 horas a 37 °C,

10 iv) incubar las células adherentes en 10% (p/p) de 10-óxido de 7-hidroxi-3H-fenoxazin-3-ona (Resazurin) en medio RPMI-1640 suplementado con 10% (p/p) de suero bovino donante con hierro y penicilina/estreptomicina a 37 °C durante 4 horas,

15 v) medir la absorbancia de las células; definir la absorbancia de las células incubadas con estaurosporina como 0% de viabilidad y las células no tratadas como 100% de viabilidad y calcular el porcentaje de células viables de la siguiente manera

$$\times 100\% \text{ células viables} = \left(\frac{[\text{absorbancia de la muestra} - \text{absorbancia de células tratadas con estaurosporina}]}{[\text{absorbancia de células sin tratar} - \text{absorbancia de células tratadas con estaurosporina}]} \right)$$

87. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72 y 78 a 84, en donde la región de unión al antígeno que se puede unir a CD3 comprende:

20 a) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ ID N°: 61, 55 y 56 [VH CDR1-T31P + VH CDR 2,3 de tipo salvaje], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje],

25 o

30 b) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ ID N°: 63, 55 y 56 [VH CDR1-T31M + VH CDR 2,3 de tipo salvaje], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que

comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje],
o

5 c) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ ID N°: 54, 65 y 56 [VH CDR-N57E + VH CDR 1,3 de tipo salvaje], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se
10 muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje],
o

d) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ
15 ID N°: 54, 55 y 67 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-H101G], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje],
20 respectivamente;

e) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ
ID N°: 54, 55 y 69 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-H101N], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que
25 comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje],
respectivamente;

f) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las
30 CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ ID N°: 54, 55 y 71 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-G105P], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que

comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje], respectivamente;

5 g) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ ID N°: 54, 55 y 73 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-S110A], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se
10 muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje], respectivamente; o

h) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ
15 ID N°: 54, 55 y 75 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-S110G], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje],
20 respectivamente;

i) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ ID N°: 54, 55 y 77 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-Y114V], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que
25 comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje], respectivamente; o

j) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ
30 ID N°: 54, 55 y 79 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-Y114M], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que

comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje], respectivamente; o

- 5 k) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ ID N°: 54, 55 y 81 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-Y114R], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje], respectivamente;
- 10

88. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72 y 78 a 85, en donde la región de unión al antígeno que se puede unir a CD3 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2, y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ ID N°: 54, 55 y 67 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-H101G], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje], respectivamente.
- 15
- 20

89. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72 y 78 a 85, en donde la región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 6, 7 y 8, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las secuencias de las CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 10, AAS y la SEQ ID N°: 11, respectivamente [059];
- 25

30 y

la región de unión al antígeno que se puede unir a CD3 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ ID N°: 54, 55 y 67 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-H101G], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje], respectivamente.

90. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72 y 78 a 85, en donde

la región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de las CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 41, 42 y 43, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las secuencias de las CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 45, DAS y 46, respectivamente [207];

y

la región de unión al antígeno que se puede unir a CD3 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ ID N°: 54, 55 y 67 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-H101G], respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°: 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59, respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje], respectivamente.

91. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 47 y 51 a 59, en donde

la región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las secuencias de las CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID N°: 48, 49 y 50, respectivamente, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las secuencias

de las CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID N°: 52, DAS y 53, respectivamente [226];

y

la región de unión al antígeno que se puede unir a CD3 comprende una
5 región variable de la cadena pesada (VH) que comprende las CDR1, CDR2
y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en las SEQ ID N°: 54,
55 y 67 [VH CDR 1,2 de tipo salvaje + VH CDR3-H101G], respectivamente,
y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende las CDR1,
CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias que se muestran en la SEQ ID N°:
10 58, la secuencia GTN y la secuencia que se muestra en la SEQ ID N°: 59,
respectivamente [VL CDR 1,2,3 de tipo salvaje], respectivamente.

92. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72 y 78
a 91, en donde la región de unión al antígeno que se puede unir a la CD3 humana
comprende una secuencia VH y una secuencia VL seleccionada del grupo que
15 consiste en:

- a) una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 62 [secuencia de longitud completa de VH T31P] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60 [secuencia de longitud completa de tipo salvaje],
- b) una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 64 [secuencia de longitud completa de VH T31M] y una secuencia VL que se muestra en la
20 SEQ ID N°: 60,
- c) una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 66 [secuencia de longitud completa de VH N57E] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60,
- d) una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 68 [secuencia de longitud completa de VH H101G] y una secuencia VL que se muestra en la
25 SEQ ID N°: 60,
- e) una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 70 [secuencia de longitud completa de VH H101N] y una secuencia VL que se muestra en la
30 SEQ ID N°: 60,

- f) una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 72 [secuencia de longitud completa de VH G105P] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60,
- 5 g) una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 74 [secuencia de longitud completa de VH S110A] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60,
- h) una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 76 [secuencia de longitud completa de VH S110G] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60,
- 10 i) una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 78 [secuencia de longitud completa de VH Y114V] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60,
- j) una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 80 [secuencia de longitud completa de VH Y114M] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60; y
- 15 k) una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 82 [secuencia de longitud completa de VH Y114R] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60.

93. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72 y 78 a 92, en donde la región de unión al antígeno que se puede unir a la CD3 humana comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 68 [secuencia de longitud completa de VH H101G] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60.

20

94. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 78 a 93, en donde

25

la región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 5 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 5 [059: secuencia VH de longitud completa];

30

- y
- la región de unión al antígeno que se puede unir a la CD3 humana comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 68 [secuencia de longitud completa de VH H101G] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60.
- 5
95. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72 y 78 a 93, en donde
- la región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 40 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 40 [207: secuencia VH de longitud completa];
- 10
- y
- 15 la región de unión al antígeno que se puede unir a la CD3 humana comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 68 [secuencia de longitud completa de VH H101G] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60.
96. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 47 y 51 a 64, en donde
- 20 la región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 47 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 47 [226: secuencia VH de longitud completa];
- 25
- y
- la región de unión al antígeno que se puede unir a la CD3 humana comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 68 [secuencia de longitud completa de VH H101G] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60.
- 30

97. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72 y 78 a 94, en donde

5 la región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 5 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 5, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 9 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%,
10 por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 9 [059];

y

15 la región de unión al antígeno que se puede unir a la CD3 humana comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 68 [secuencia de longitud completa de VH H101G] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60.

98. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72, 78 a 93 y 95, en donde

20 la región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 40 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 40, y una región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la
25 SEQ ID N°: 44 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 44 [207: VH + secuencias VL de longitud completa];

y

30 la región de unión al antígeno que se puede unir a la CD3 humana comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 68

[secuencia de longitud completa de VH H101G] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60.

99. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 72, 78 a 93 y 96, en donde

5 la región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 47 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 47, y una
10 región variable de la cadena liviana (VL) que comprende la secuencia de la SEQ ID N°: 51 o una secuencia que presenta por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 97% o por lo menos 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de la SEQ ID N°: 51 [226: VH + secuencias VL de longitud completa];

15 y
la región de unión al antígeno que se puede unir a la CD3 humana comprende una secuencia VH que se muestra en la SEQ ID N°: 68 [secuencia de longitud completa de VH H101G] y una secuencia VL que se muestra en la SEQ ID N°: 60.

20 100. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde cada región de unión al antígeno comprende una región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena liviana (VL), y en donde cada una de dichas regiones variables comprenden tres secuencias CDR, CDR1, CDR2 y CDR3, respectivamente, y cuatro secuencias de marco, FR1, FR2,
25 FR3 y FR4, respectivamente.

101. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 100, en donde el anticuerpo comprende dos regiones constantes de la cadena pesada (CH) y dos regiones constantes de la cadena liviana (CL).

102. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 100 ó 101, en donde
30 dicho anticuerpo comprende una primera y una segunda cadena pesada, donde

cada una de dichas primera y segundas cadenas pesadas comprende por lo menos una región de bisagra, una región CH2 y CH3, en donde en dicha primera cadena pesada por lo menos uno de los aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones seleccionadas del grupo que consiste en T366, L368, K370, D399, F405, Y407 y K409 en una cadena pesada de la IgG1 humana ha sido sustituida, y en dicha segunda cadena pesada por lo menos uno de los aminoácidos en las posiciones correspondientes a una posición seleccionada del grupo que consiste en T366, L368, K370, D399, F405, Y407 y K409 en una cadena pesada de la IgG1 humana ha sido sustituida, en donde dichas substituciones de dicha primera y dicha segunda cadenas pesadas no se encuentran en las mismas posiciones, y en donde las posiciones de los aminoácidos están numeradas de acuerdo con la numeración EU.

103. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 100 a 102, en donde el aminoácido en la posición correspondiente a K409 en una cadena pesada de la IgG1 humana es R en dicha primera cadena pesada, y el aminoácido en la posición correspondiente a F405 en una cadena pesada de la IgG1 humana es L en dicha segunda cadena pesada, o viceversa.

104. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el anticuerpo comprende una primera y una segunda cadena pesada, y en donde en ambas primera y segunda cadenas pesadas, los residuos de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones L234 y L235 en una cadena pesada de la IgG1 humana de acuerdo con la numeración EU son F y E, respectivamente.

105. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el anticuerpo comprende una primera y una segunda cadenas pesadas, y en donde en ambas primera y segunda cadenas pesadas, el residuo de aminoácido en la posición correspondiente a la posición D265 en una cadena pesada de la IgG1 humana de acuerdo con la numeración EU es A.

106. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde

- a) una o más regiones de unión al antígeno que se pueden unir a 5T4 están humanizadas y/o
 - b) la región de unión al antígeno que se puede unir a CD3, si estuviera presente, está humanizada.
- 5 107. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde
- a) una o más regiones de unión al antígeno que se pueden unir a 5T4 son humanas y/o
 - b) la región de unión al antígeno que se puede unir a CD3, si estuviera
- 10 presente, es humana.
108. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde
- a) una o más regiones de unión al antígeno que se pueden unir a 5T4 son quiméricas y/o
 - b) la región de unión al antígeno que se puede unir a CD3, si estuviera
- 15 presente, es quimérica.
109. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo comprende una primera y, opcionalmente, una segunda cadena pesada y en donde la primera cadena pesada, y la segunda
- 20 cadena pesada si estuviera presente, está modificada de manera que el anticuerpo induce una función efectora mediada por Fc en menor grado con relación a un anticuerpo idéntico no modificado.
110. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo comprende una cadena liviana kappa (κ).
- 25 111. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo comprende una cadena liviana lambda (λ).
112. El anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo comprende una cadena liviana lambda (λ) y una cadena liviana kappa (κ); por ejemplo un anticuerpo con una cadena pesada y
- 30 una cadena liviana lambda que comprende la región de unión que se puede unir a

CD3, y una cadena pesada y una cadena liviana kappa que comprende la región de unión que se puede unir a 5T4.

113. Un inmunoconjugado o un conjugado de anticuerpo y fármaco (ADC) que comprende el anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, y una unidad terapéutica, tal como un agente citotóxico, un fármaco quimioterapéutico, una citoquina, un inmunosupresor, antibióticos o un radioisótopo.

114. Una construcción de ácidos nucleicos que comprende

a) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de la cadena pesada de un anticuerpo que comprende una región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 definida en cualquiera de las reivindicaciones 1-113 y/o

b) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de la cadena liviana de un anticuerpo que comprende una región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 definida en cualquiera de las reivindicaciones 72 a 113.

115. La construcción de ácidos nucleicos de acuerdo con la reivindicación 114, que además comprende

a) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de la cadena pesada de un anticuerpo que comprende una región de unión al antígeno que se puede unir a CD3 definida en cualquiera de las reivindicaciones 72 a 113; y/o

b) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de la cadena liviana de un anticuerpo que comprende una región de unión al antígeno que se puede unir a CD3 definida en cualquiera de las reivindicaciones 72 a 113.

116. Un vector de expresión que comprende

a) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de la cadena pesada de un anticuerpo que comprende una región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 definida en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 112 y/o

- b) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de la cadena liviana de un anticuerpo que comprende una región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 definida en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 112.
- 5 117. Un vector de expresión de acuerdo con la reivindicación 116, que además comprende
- a) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de la cadena pesada de un anticuerpo que comprende una región de unión al antígeno que se puede unir a CD3 definida en cualquiera de las
- 10 reivindicaciones 72 a 112; y/o
- b) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de la cadena liviana de un anticuerpo que comprende una región de unión al antígeno que se puede unir a CD3 definida en cualquiera de las reivindicaciones 72 a 112.
- 15 118. Una célula que comprende una construcción de ácidos nucleicos definida en cualquiera de las reivindicaciones 114 a 115, o un vector de expresión definido en la reivindicación 116 ó 117, tal como una célula que se obtuvo mediante transfección de una célula huésped con dicha construcción de ácidos nucleicos o el vector de expresión, tal como una célula huésped recombinante.
- 20 119. La célula de acuerdo con la reivindicación 118, en donde dicha célula huésped es de origen humano, tal como una célula de riñón embrionario humano (HEK), tal como una célula HEK/Expi, o es de origen de roedores, tal como una célula de ovario de hámster chino, tal como una célula CHO/N50.
120. Una composición que comprende un anticuerpo definido en cualquiera
- 25 de las reivindicaciones 1 a 112.
121. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 112 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
122. El anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 112 para
- 30 usar como un medicamento.

123. El anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 112 para usar en el tratamiento de una enfermedad.
124. El anticuerpo para usar de acuerdo con la reivindicación 122 ó 123, en donde la enfermedad es cáncer.
- 5 125. El anticuerpo para usar de acuerdo con la reivindicación 124, en donde el cáncer se caracteriza por expresar 5T4 en por lo menos algunas de las células tumorales.
126. El anticuerpo para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 122 a 125, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste
10 en cáncer de riñón/renal, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de vejiga, cáncer de útero/endometrio/cervical, cáncer de pulmón, cáncer gastrointestinal, cáncer de estómago, cáncer de páncreas, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuello, linfoma, leucemia mieloide aguda.
127. Un método de tratamiento de una enfermedad, donde dicho método
15 comprende administrar un anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 112, la composición definida en la reivindicación 120 o la composición farmacéutica definida en la reivindicación 121, a un sujeto que lo necesita.
128. El método de acuerdo con la reivindicación 127, donde dicho método es para el tratamiento de un cáncer.
- 20 129. El método de acuerdo con la reivindicación 128, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de riñón/renal, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de vejiga, cáncer de útero/endometrio/cervical, cáncer de pulmón, cáncer gastrointestinal, cáncer de estómago, cáncer de páncreas, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuello,
25 linfoma, leucemia mieloide aguda.
130. Un método para producir un anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 112, que comprende los pasos de
- a) cultivar una célula huésped que comprende un vector de expresión definido en la reivindicación 114 ó 117; y
- 30 b) y purificar dicho anticuerpo a partir del medio de cultivo.

131. Un método para producir un anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 112, que comprende los pasos de
- a) Proveer un anticuerpo que se puede unir a 5T4 mediante cultivo de una célula huésped que comprende un vector de expresión definido en la reivindicación 116 ó 117 en condiciones que permitirán la expresión del anticuerpo que se puede unir a 5T4, y purificar el anticuerpo que se puede unir a 5T4 a partir del medio de cultivo;
 - b) Proveer un anticuerpo que se puede unir a CD3 mediante cultivo de una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende
 - I) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de la cadena pesada de un anticuerpo que comprende una región de unión al antígeno que se puede unir a CD3 definida en cualquiera de las reivindicaciones 72 a 112; y
 - II) una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de la cadena liviana de un anticuerpo que comprende una región de unión al antígeno que se puede unir a CD3 definida en cualquiera de las reivindicaciones 72 a 112.en condiciones que permitirán la expresión del anticuerpo que se puede unir a CD3, y purificar el anticuerpo que se puede unir a CD3 a partir del medio de cultivo;
 - c) incubar dicho anticuerpo que se puede unir a 5T4 junto con dicho anticuerpo que se puede unir a CD3 en condiciones reductoras suficientes como para someter las cisteínas en la región de bisagra a isomerización con puentes disulfuro, y
 - d) obtener dicho anticuerpo.
132. Un kit de partes, tal como un kit para usar como un conjunto de elementos de diagnóstico/para identificar en una población de pacientes aquellos pacientes que tienden a responder a un tratamiento con un anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 112 o un inmunoconjugado o conjugado de anticuerpo y fármaco (ADC) definido en la reivindicación 113, o para predecir la eficacia de dicho anticuerpo o inmunoconjugado o ADC cuando se usa en el tratamiento de un paciente, que comprende un anticuerpo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 112; e instrucciones para usar dicho kit.

133. Un anticuerpo antiidiotípico, que se une a la región de unión al antígeno que se puede unir a 5T4 definida en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 112.