

REIVINDICACIONES:

1. Un anticuerpo que comprende un dominio de unión al antígeno que es capaz de unirse a una proteína CD3 o un fragmento de esta, caracterizado porque el dominio de unión al antígeno CD3 comprende una región variable de cadena pesada (VH) de

5 acuerdo con una cualquiera de las siguientes:

una región VH que comprende las siguientes CDR:

HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de
ident.: 90;

10 HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de
ident.: 91; y

HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de
ident.: 92,

una región VH que comprende las siguientes CDR:

15 HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de
ident.: 82;

HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de
ident.: 83; y

HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de
ident.: 84,

20 una región VH que comprende las siguientes CDR:

HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de
ident.: 78;

HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de
ident.: 79; y

HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 80,

una región VH que comprende las siguientes CDR:

5 HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 66;

HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 67; y

HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 68,

10 una región VH que comprende las siguientes CDR:

HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 70;

HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 71; y

15 HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 72,

una región VH que comprende las siguientes CDR:

HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 74;

20 HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 75; y

HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 76,

una región VH que comprende las siguientes CDR:

HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 86;

HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 87; y

5 HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 88,

una región VH que comprende las siguientes CDR:

HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 94;

10 HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 95; y

HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 96, y

una región VH que comprende las siguientes CDR:

15 HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 98;

HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 99; y

20 HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 100,

y en donde el dominio de unión al antígeno CD3 comprende una región variable de cadena pesada (VH) de acuerdo con una cualquiera de las siguientes:
una región VL que comprende las siguientes CDR:

25 HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 46;

HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 47; y

HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 48,

5 una región VL que comprende las siguientes CDR:

HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 58;

HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 59; y

10 HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 60, y

una región VL que comprende las siguientes CDR:

HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 62;

15 HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 63; y

HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 64.

20 2. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el dominio de unión al antígeno CD3 comprende una región VH y una región VL que comprende uno de los siguientes conjuntos de las CDR:

o

vii. HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 90,

25

viii. HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 91,

ix. HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 92,

5 x. LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 46,

xi. LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 47

10 xii. LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 48; o

vii. HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 82,

15 viii. HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 83,

ix. HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 84,

x. LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 46,

20 xi. LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 47,

xii. LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 48; o

vii. HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 78

viii. HDCR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 79

5 ix. HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 80,

x. LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 62,

10 xi. LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 63,

xii. LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 64,

3. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2,
15 caracterizado porque el dominio de unión al antígeno CD3 comprende una región VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con la sec. con. núm. de ident.: 77, la sec. con. núm. de ident.: 89, o la sec. con. núm. de ident.: 81.

20 4. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el dominio de unión al antígeno CD3 comprende una región VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con la sec. con. núm. de ident.: 45, o la sec. con. núm. de ident.: 61.

5. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el dominio de unión al antígeno CD3 comprende:

una región VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con la sec. con. núm. de ident.: 77,

5 y una región VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con la sec. con. núm. de ident.: 61;

una región VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con la sec. con. núm. de ident.: 89,

10 y una región VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con la sec. con. núm. de ident.: 45 o

una región VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con la sec. con. núm. de ident.: 81,

y una región VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con la sec. con. núm. de ident.: 45.

15

6. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el dominio de unión al antígeno CD3 se une a CD3 humano con una afinidad que tiene una K_d que es:

i. entre 10 y 200 veces mayor;

20 ii. entre 15 y 200 veces mayor;

iii. entre 20 y 200 veces mayor; o

iv. entre 25 y 200 veces mayor

en comparación con la K_d de un dominio de unión al antígeno de control que se une a CD3 humano, en donde la unión al dominio del antígeno de control tiene una

secuencia de dominio VH de la sec. con. núm. de ident.: 5 y una secuencia de dominio VL de la sec. con. núm. de ident.: 1.

7. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores,
5 caracterizado porque el dominio de unión al antígeno CD3 exhibe una actividad reducida de células T fuera de la diana en comparación con un dominio de unión al antígeno de control, en donde la unión al dominio del antígeno de control tiene una secuencia de dominio VH de la sec. con. núm. de ident.: 5 y una secuencia de dominio VL de la sec. con. núm. de ident.: 1, opcionalmente en donde la activación de las células T fuera de la diana se determina en un
10 ensayo de activación de las células T en ausencia del involucramiento con una célula diana.

8. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un dominio de unión al antígeno diana.

15 9. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado porque el dominio de unión al antígeno diana es capaz de unirse a un antígeno asociado a tumores (TAA).

10. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado porque el TAA se selecciona de la lista que consiste en AFP, $\alpha_n\beta_3$ (receptor de vitronectina), $\alpha_n\beta_6$, agente
20 de maduración de células B (BCMA), CA125 (MUC16), CD4, CD20, CD22, CD33, CD52, CD56, CD66e, CD80, CD140b, CD227 (MUC1), EGFR (HER1), EpCAM, gangliósido GD3, HER2, antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA), antígeno específico de la próstata (PSA), CD5, CD19, CD21, CD25, CD37, CD30, CD33, CD45, HLA-DR, antiidiotipo, antígeno carcinoembrionario (CEA), p. ej., molécula de adhesión
25 celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 5 (CEACAM5), TAG-72, proteína

de unión a folato, A33, G250, ferritina, glicolípidos tales como gangliósidos, carbohidratos tales como CA-125, receptor de IL-2, proteína de activación de fibroblastos (FAP), IGF1 R, B7H3, B7H4, PD-L1, CD200, EphA2, c-Met, y mesotelina.

5 11. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado porque el TAA es EGFR, HER2, STEAP2, GPC3, y c-Met.

12. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, caracterizado porque uno de los dominios de unión al antígeno comprende una región
10 CH1 y una región constante lambda (CL λ), opcionalmente en donde los dominios de unión al antígeno CD3 comprenden la región CH1 y CL λ .

13. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizado porque la CL λ tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de la sec.
15 con. núm. de ident.: 105.

14. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 12 o la reivindicación 13, caracterizado porque los dominios de unión al antígeno que comprenden la región CL λ comprenden un par de carga lambda, opcionalmente en donde el par de carga lambda se ubica en uno o más de
20 los siguientes pares de posiciones en el dominio de unión al antígeno:

- (i) posición 117 en la CL λ y posición 141 en la CH1;
- (ii) posición 117 en la CL λ y posición 185 en la CH1;
- (iii) posición 119 en la CL λ y posición 128 en la CH1;
- (iv) posición 134 en la CL λ y posición 128 en la CH1;
- 25 (v) posición 134 en la CL λ y posición 145 en la CH1;

- (vi) posición 134 en la CL λ y posición 183 en la CH1;
- (vii) posición 136 en la CL λ y posición 185 en la CH1;
- (viii) posición 178 en la CL λ y posición 173 en la CH1; y
- (ix) posición 117 en la CL λ y posición 187 en la CH1,

5 en donde el par de carga lambda comprende un residuo de aminoácido cargado positivamente opcionalmente seleccionado de arginina, lisina o histidina ubicado en una de las posiciones en el par de carga lambda y un residuo de aminoácido cargado negativamente opcionalmente seleccionado de ácido aspártico, ácido glutámico, serina o treonina ubicado en la otra posición en el par de carga lambda, y

10 en donde la numeración es de acuerdo con el índice EU.

15. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 14, caracterizado porque el par de carga lambda se ubica en la posición 117 en la CL λ y la posición 141 en la CH1, opcionalmente en donde el par de carga lambda se selecciona de la siguiente lista:

- 15 a. arginina en la posición 117 de la CL λ y ácido aspártico en la posición 141 de la CH1;
- b. arginina en la posición 117 de la CL λ y ácido glutámico en la posición 141 de la CH1;
- c. arginina en la posición 117 de la CL λ y serina en la posición 141 de la CH1;
- 20 d. arginina en la posición 117 de la CL λ y treonina en la posición 141 de la CH1; y
- e. lisina en la posición 117 de la CL λ y ácido aspártico en la posición 141 de la CH1.

16. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15, caracterizado porque el otro dominio de unión al antígeno comprende una región CL κ

25

constante CH1 y kappa, opcionalmente en donde los dominios de unión al antígeno diana comprenden la región CH1 y CLk.

17. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 16, caracterizado porque la CLk
5 tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de la sec.
con. núm. de ident.: 106.

18. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 16 o la reivindicación 17,
caracterizado porque los dominios de unión al antígeno que comprenden la región CLk
10 comprenden un par de carga kappa, opcionalmente en donde el par de carga kappa se
ubica en la posición 133 en la CLk y la posición 183 en la CH1.

19. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 18,
caracterizado porque:

15 (i) el enlace disulfuro entre la cadena ligera y CH1 en el brazo de unión al
antígeno CD3 se forma entre un par de cisteínas diseñadas por ingeniería
genética en la cadena ligera y la CH1 del brazo de unión al antígeno CD3, y el
enlace disulfuro entre la cadena ligera y CH1 en el brazo de unión al antígeno
diana se forma entre un par de cisteínas nativas; o

20 (ii) el enlace disulfuro entre la cadena ligera y CH1 en el brazo de unión al
antígeno diana se forma entre un par de cisteínas diseñadas por ingeniería
genética en la cadena ligera y la CH1 del brazo de unión al antígeno diana, y el
enlace disulfuro entre la cadena ligera y CH1 en el brazo de unión al antígeno
CD3 se forma entre un par de cisteínas nativas.

20. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 21, caracterizado porque el par de cisteínas diseñadas por ingeniería genética en la cadena ligera y CH1 del brazo de unión al antígeno CD3 se ubican en la posición 122 de la cadena ligera y la posición 126 de la CH1 del brazo de unión al antígeno CD3, y en donde la cadena ligera del brazo de unión al antígeno CD3 comprende un residuo distinto de la cisteína en la posición 212 y la CH1 del brazo de unión al antígeno CD3 comprende un residuo distinto de la cisteína en la posición 220, opcionalmente en donde los residuos distintos de la cisteína son valinas.

21. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 20, caracterizado porque la región de unión al antígeno CD3 comprende además una primera región Fc y el brazo de unión al antígeno diana comprende además una segunda región Fc.

22. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 21, que comprende modificaciones en la primera y segunda regiones Fc para facilitar la heterodimerización de la primera y segunda regiones Fc.

23. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 22, caracterizado porque las modificaciones se ubican en la CH3 de las regiones Fc.

24. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 23, caracterizado porque la modificación en la CH3 de una de las primera y segunda regiones Fc es una sustitución de un residuo de aminoácido por uno que tiene una cadena lateral más grande, generando de esta manera una protuberancia (botón) en la superficie de dicho dominio CH3, y la modificación en la CH3 de la otra región Fc es una sustitución de un residuo de aminoácido por uno que tiene una cadena lateral más pequeña, generando de esta manera una cavidad

(ojal) en la superficie de dicho dominio CH3, opcionalmente en donde el dominio CH3 que contiene la protuberancia (botón) es parte del primer polipéptido de cadena pesada y el dominio CH3 que contiene la cavidad (ojal) es parte de la segunda cadena pesada.

5 25. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 24, caracterizado porque la sustitución para generar un botón es una sustitución por triptófano en la posición 366 y la sustitución para generar un ojal es una sustitución para generar un ojal es una o más de las siguientes:

i) una sustitución por valina en la posición 407;

ii) una sustitución por serina en la posición 366; y

10 iii) una sustitución por alanina en la posición 368.

26. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 24 o la reivindicación 25, caracterizado porque el dominio CH3 que contiene la protuberancia (botón) comprende una cisteína en la posición 354 y el dominio CH3 que contiene la cavidad (ojal)

15 comprende una cisteína en la posición 349.

27. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 21 a 26, caracterizado porque al menos una de las regiones Fc comprende las sustituciones de aminoácidos:

20 (a) L234F/L235E/P331S;

(b) E233P/L234V/L235A/G236del/S267K; y/o

(c) M252Y/S254T/T256E.

28. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 27, que

25 comprende dos dominios de unión al antígeno que son capaces de unirse a la misma diana.

29. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 28, que comprende además un dominio de unión al antígeno CD8, opcionalmente caracterizado porque el dominio de unión al antígeno CD8 es un VHH y comprende cualquiera de

5 (1) las siguientes regiones determinantes de la complementariedad (CDR):

HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 109, 116 o 117;

HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 110; y

10 HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 111; o

(2) comprende una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 % de identidad de secuencia, con mayor preferencia una de al menos 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 15 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la sec. con. núm. de ident.: 112, 118, 119 o 120.

30. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 27, que comprende además un tercer dominio de unión al antígeno, opcionalmente caracterizado 20 porque el tercer dominio de unión al antígeno se une a CD8, o se une a una diana diferente al dominio de unión al antígeno diana.

31. Uno o más ácido(s) nucleico(s) que codifica(n) el anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

32. Un vector que comprende el (los) ácido(s) nucleico(s) de la reivindicación 31.

33. Una célula huésped aislada que comprende el (los) ácido(s) nucleico(s) de la reivindicación 31, o el vector de la reivindicación 32.

5

34. Un método para producir un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, que comprende el cultivo de la célula huésped recombinante de acuerdo con la reivindicación 33 en condiciones para la producción de la molécula de anticuerpo.

10

35. El método de acuerdo con la reivindicación 34 que comprende además aislar y/o purificar la molécula de anticuerpo.

15

36. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30 y un portador farmacéuticamente aceptable.

20

37. Un método para tratar una enfermedad en un paciente que lo necesita, el método que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva del anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 36.

38. El método de la reivindicación 37, caracterizado porque la enfermedad es cáncer.

39. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 36, para usar como medicamento, opcionalmente caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico.

5 40. El anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 36, para usar en el tratamiento del cáncer, opcionalmente caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico.

10 41. Uso del anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 36, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento del cáncer, opcionalmente caracterizado porque el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico.