(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0086678
(43) 공개일자 2020년07월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/44 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 47/64 (2017.01) *G01N 33/543* (2006.01)
G01N 33/558 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/44 (2013.01)
A61K 47/643 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2020-7013636
(22) 출원일자(국제) 2018년10월15일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년05월13일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/055961
(87) 국제공개번호 WO 2019/075487
국제공개일자 2019년04월18일
(30) 우선권주장
62/572,126 2017년10월13일 미국(US)

(71) 출원인
어슈어, 인크.
미국 02134 매사추세츠주 보스턴 웨스턴 애비뉴 127 하버드 라이프 랩
(72) 발명자
도우트릿지, 기펀
미국 02138 매사추세츠주 캠브릿지 하버드 스트리트 367 유닛 2
카도스, 케이스
미국 18015 펜실베니아주 베슬리헴 하이랜드 드라이브 1535
(74) 대리인
양영준, 이상남

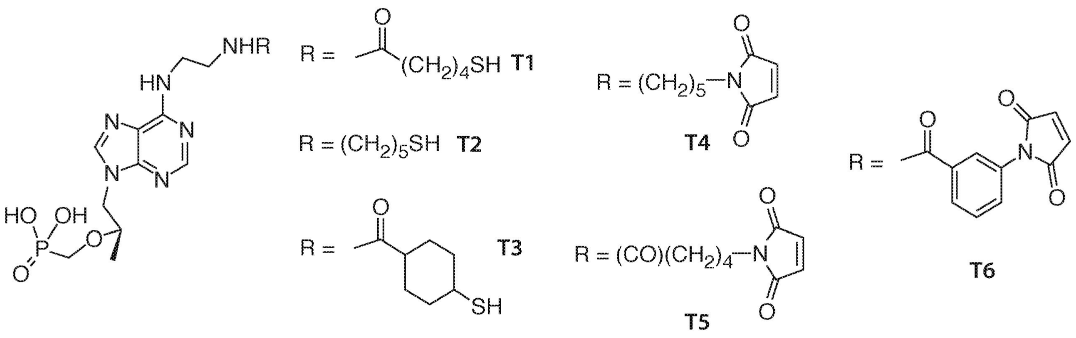
전체 청구항 수 : 총 104 항

(54) 발명의 명칭 **뉴클레오시드 리버스 트랜스크립타제 억제제 요법에 대한 준수를 모니터링하기 위한 생성물 및 방법**

(57) 요 약

본 발명은 생물학적 샘플에서 NRTI와 관련된 대사물을 검출하기 위한 신규한 화합물, 시약, 시스템, 및 방법, 및 노출전 예방 또는 항-레트로바이러스 치료에 대한 준수를 모니터링하는 데 있어서의 그의 용도를 제공한다. 이러한 시약은 항체-기재 방법, 예컨대 측면 유동 면역검정 및 다른 치료 시점 장치에 유용한 NRTI 유도체, 유사체, NRTI 유도체 접합체를 그에 관한 항체와 함께 포함한다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
G01N 33/54386 (2013.01)
G01N 33/558 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

이뮤노글로불린 중쇄 및 이뮤노글로불린 경쇄를 포함하며,

상기 경쇄의 가변 영역이

(i) 서열식별번호 (SEQ ID NO): 17, 19, 21, 및 23으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역;

(ii) 서열식별번호: 25, 27, 29, 및 31로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 영역; 및/또는

(iii) 서열식별번호: 33, 35, 37, 및 39로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 영역

을 포함하는 것인, 테노포비르에 특이적으로 결합하는 항체.

청구항 2

이뮤노글로불린 중쇄 및 이뮤노글로불린 경쇄를 포함하며,

상기 중쇄의 가변 영역이

(i) 서열식별번호: 18, 20, 22, 및 24로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역;

(ii) 서열식별번호: 26, 28, 30, 및 32로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 영역; 및/또는

(iii) 서열식별번호: 34, 36, 38, 및 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 영역

을 포함하는 것인, 테노포비르에 특이적으로 결합하는 항체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 12, 14, 16, 또는 42에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 서열식별번호: 11, 13, 15, 또는 41에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 항체 제제.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 제제가 모노클로날 항체 제제인 항체 제제.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 중쇄 또는 경쇄를 코딩하는 단리된 핵산 분자.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 핵산이 클로닝 벡터, 발현 벡터, 이종 재조합 벡터 및 바이러스 통합 벡터로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 단리된 핵산.

청구항 9

제7항 또는 제8항의 핵산으로 형질전환된 세포.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 세포가 포유동물 세포인 세포.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 세포가 토끼, 햄스터, 마우스, 래트, 닭, 염소, 원숭이, 양, 돼지, 말, 소, 및 인간으로 이루어진 군으로부터 선택되는 세포인 세포.

청구항 12

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 항체를 대상체로부터의 생물학적 유체 샘플과 접촉시키는 것을 포함하는, 대상체의 생물학적 유체 샘플에서 테노포비르를 검출하는 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 대상체가 NRTI가 처방되거나 투여된 것인 방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 생물학적 유체 샘플이 소변인 방법.

청구항 15

(a) 유체 샘플을 샘플 패드에 적용하고;

(b) 상기 샘플이 접합된 표지 패드로 샘플 패드를 따라 측면으로 유동하도록 하고 - 여기서, 상기 접합된 표지 패드는 검출가능한 표지에 접합된 제1 시약을 포함하고, 접합된 표지 패드의 부분 및 샘플 패드의 부분은 제1 계면을 형성함;

(c) 상기 샘플이 막으로 접합된 표지 패드를 따라 측면으로 유동하도록 하고 - 여기서, 막의 부분 및 접합된 표지 패드의 부분은 제2 계면을 형성하고; 상기 막은 시험 라인을 형성하는 막에 결합된 적어도 1종의 제2 시약을 포함함;

(d) 제1 시약을 제2 시약에 결합시켜 시험 라인에서 제2 시약-제1 시약 복합체를 형성하고, 검출가능한 표지가 시험 라인에서 검출가능한 신호를 형성하도록 하고,

(e) 환자를 검출가능한 신호의 존재 하에서 치료 또는 예방적 처방에 대해 비-준수하거나; 검출가능한 신호의 부재 하에서 치료 또는 예방적 처방에 대해 준수하는 것으로 진단하는 것

을 포함하는, NRTI가 처방되거나 투여된 환자의 유체 샘플에서 대사물을 검출하는 검정을 수행하는 방법.

청구항 16

(a) 유체 샘플을 접촉시키기 위한 샘플 패드;

(b) 검출가능한 표지에 접합된 제1 시약을 갖는 접합된 표지 패드 - 접합된 표지 패드의 부분 및 샘플 패드의 부분은 제1 계면을 형성함;

(c) 막을 포함하는 검정 - 막의 부분 및 접합된 표지 패드의 부분은 제2 계면을 형성함; 및

(d) 시험 라인을 형성하는 막에 결합된 적어도 1종의 제2 시약 - 제1 계면은 유체가 샘플 패드로부터 접합된 표지 패드로 유동하고, 검출가능한 표지에 접촉하도록 하고, 제2 계면은 유체가 접합된 표지 패드로부터 막으로 유동하고, 적어도 1종의 막-결합된 제2 시약에 접촉하여 제2 시약-제1 시약 복합체를 형성하고, 검출가능한 표지가 시험 라인에서 검출가능한 신호를 형성하도록 함

을 포함하며,

검출가능한 신호의 존재가 환자에서 치료 또는 예방적 처방에 대한 비-준수를 지시하고, 검출가능한 신호의 부

재가 환자에서 치료 또는 예방적 처방에 대한 준수를 지시하는 것인,

NRTI가 처방되거나 투여된 환자의 유체 샘플에서 대사물을 검출하는 검정을 수행하기 위한 장치.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, 검출가능한 신호가 검출가능한 신호의 존재가 환자에서 치료 또는 예방적 처방에 대한 준수를 지시하는 것을 제공하도록 조정되는 것인 방법 또는 장치.

청구항 18

제15항 또는 제16항에 있어서, 측면 유동 검정인 방법 또는 장치.

청구항 19

제15항 또는 제16항에 있어서, 측면 유동 면역검정인 방법 또는 장치.

청구항 20

제15항 또는 제16항에 있어서, 제1 시약이 제70항 내지 제93항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 그의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 21

제15항 또는 제16항에 있어서, 제1 시약이 제88항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 22

제15항 또는 제16항에 있어서, 제1 시약이 제92항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 23

제15항 또는 제16항에 있어서, 제1 시약이 제90항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 24

제15항 또는 제16항에 있어서, 제1 시약이 제93항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 25

제15항 또는 제16항에 있어서, 제1 시약이 제89항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 26

제15항 또는 제16항에 있어서, 제1 시약이 제91항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 27

제15항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 접합된 유도체가 HRP-접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 28

제15항 또는 제16항에 있어서, 제2 시약이 제1항 내지 제4항 및 제99항 내지 제103항 중 어느 한 항의 항체인 방법 또는 장치.

청구항 29

제28항에 있어서, 항체가 검출가능한 표지에 접합된 것인 방법 또는 장치.

청구항 30

제15항 또는 제16항에 있어서, 제1 시약이 제1항 내지 제4항 및 제99항 내지 제103항 중 어느 한 항의 항체인 방법 또는 장치.

청구항 31

제30항에 있어서, 항체가 검출가능한 표지에 접합된 것인 방법 또는 장치.

청구항 32

제15항 또는 제16항에 있어서, 제2 시약이 제70항 내지 제93항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 그의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 33

제15항 또는 제16항에 있어서, 제2 시약이 제88항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 34

제15항 또는 제16항에 있어서, 제2 시약이 제92항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 35

제15항 또는 제16항에 있어서, 제2 시약이 제90항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 36

제15항 또는 제16항에 있어서, 제2 시약이 제93항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 37

제15항 또는 제16항에 있어서, 제2 시약이 제89항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 38

제15항 또는 제16항에 있어서, 제2 시약이 제91항의 화합물의 접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 39

제32항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 접합된 유도체가 HRP-접합된 유도체인 방법 또는 장치.

청구항 40

제15항 또는 제16항에 있어서, 막의 하류에 흡수 패드를 더 포함하는 방법 또는 장치.

청구항 41

제15항 또는 제16항에 있어서, 막이 니트로셀룰로스인 방법 또는 장치.

청구항 42

제16항에 있어서, 하우징에 제공되는 장치.

청구항 43

제42항에 있어서, 하우징이 검출가능한 신호를 판독하기 위한 개구를 더 포함하는 것인 장치.

청구항 44

제15항 또는 제16항에 있어서, 항체가 폴리클로날 항체인 방법 또는 장치.

청구항 45

제15항 또는 제16항에 있어서, 항체가 모노클로날 항체인 방법 또는 장치.

청구항 46

제15항 또는 제16항에 있어서, 항체가 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 항체인 방법 또는 장치.

청구항 47

제15항 또는 제16항에 있어서, 대사물이 TFV인 방법 또는 장치.

청구항 48

제15항 또는 제16항에 있어서, 막이 대조군 라인을 형성하기 위해 시험 라인의 하류 또는 상류의 막에 결합된 제3 시약을 더 포함하는 것인 방법 또는 장치.

청구항 49

제48항에 있어서, 제3 시약이 제1 시약에 결합하여 대조군 라인에서 검출가능한 신호를 유발하고, 대조군 라인에서 검출가능한 신호의 존재가 측면-유동 검정의 적절한 성능을 지시하는 것인 방법 또는 장치.

청구항 50

제48항 또는 제49항에 있어서, 제3 시약이 항-HRP 항체인 방법 또는 장치.

청구항 51

제48항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 제3 시약이 항-토끼 IgG 항체인 방법 또는 장치.

청구항 52

제48항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 제3 시약이 항-마우스 IgG 항체인 방법 또는 장치.

청구항 53

제15항 또는 제16항에 있어서, 치료 시점 시험인 방법 또는 장치.

청구항 54

제16항에 있어서, 카트리지인 장치.

청구항 55

제15항 또는 제16항에 있어서, 유체 샘플이 소변인 방법 또는 장치.

청구항 56

제15항 또는 제16항에 있어서, 예방적 처방이 NRTI에 대한 PrEP인 방법 또는 장치.

청구항 57

제15항 또는 제16항에 있어서, NRTI가 TDF, FTC, 및 TAF, 또는 그의 유도체 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법 또는 장치.

청구항 58

제57항에 있어서, NRTI가 TAF인 방법 또는 장치.

청구항 59

제57항에 있어서, NRTI가 TDF인 방법 또는 장치.

청구항 60

제57항에 있어서, NRTI가 FTC인 방법 또는 장치.

청구항 61

제57항에 있어서, NRTI가 TDF/FTC의 조합인 방법 또는 장치.

청구항 62

제57항에 있어서, NRTI가 TAF/FTC의 조합인 방법 또는 장치.

청구항 63

(a) 생물학적 샘플을 수용하기 위한 샘플 수집 용기; 및

(b) 생물학적 샘플을 검정하기 위한 제16항의 장치

를 포함하는 키트.

청구항 64

제63항에 있어서, 사용을 위한 지시서를 더 포함하는 키트.

청구항 65

제63항에 있어서, 핸드 헬드 장치를 더 포함하는 키트.

청구항 66

제65항에 있어서, 핸드 헬드 장치가 판독기인 키트.

청구항 67

제66항에 있어서, 판독기가 제35항의 장치를 수용하도록 적합화된 것인 키트.

청구항 68

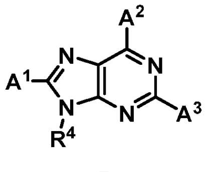
제67항에 있어서, 판독기가 반사율 판독기인 키트.

청구항 69

제69항에 있어서, 생물학적 샘플이 소변인 키트.

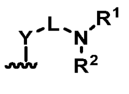
청구항 70

화학식 (I)에 따른 구조를 갖는 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.



(I)

상기 식에서,

A^1, A^2, 또는 A^3 중 1개는 

이고;

A^1, A^2, 및 A^3 중 2개는 수소 또는 NH_2이고;

Y는 결합, NR^3, O, 또는 S이고;

L은 C_1-C_{12}-알킬렌, C_3-C_7-시클로알킬렌, C_3-C_7-헤테로시클렌, 아릴렌, 또는 헤테로아릴렌이고, 이들의 각각은 =O, -OH, -SH, -NO_2, -CN, -C_1-C_4-알킬, -C_1-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로아릴, -OR^5, -NR^6R^7, 또는 -C(O)X^1로부터 선택되는 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환될 수 있고;

R^1, R^2, R^3, 및 R^4는 각각 독립적으로 수소, C_1-C_6-알킬, C_1-C_6-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 헤테로아르알킬이고, C_1-C_6-알킬, C_1-C_6-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 헤테로아르알킬의 각각은 할로겐 =O, -OH, -SH, $-NO_2$, -CN, $-C_1$-C_4-알킬, $-C_1$-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로아릴, $-OR^5$, $-NR^6R^7$, 또는 $-C(O)X^2$로부터 선택되는 1개 이상의 치환기로 임의로 치환될 수 있고;

R^5, R^8, 및 R^{11}은 각각 독립적으로 C_1-C_6-알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, C_0-C_4-알킬-$P(O)(OH)_2$, 또는 $-C(O)X^4$이고;

R^6, R^7, R^9, R^{10}, R^{12}, 및 R^{13}은 각각 독립적으로 수소, C_1-C_6-알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 또는 $-C(O)X^5$이거나;

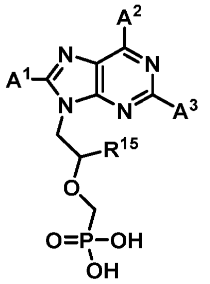
R^6 및 R^7, R^9 및 R^{10}, 및 R^{12} 및 R^{13}은 그들이 부착된 원자와 함께 독립적으로 3- 내지 7-원 고리를 형성하고, 이는 할로겐 =O, -OH, -SH, $-NO_2$, -CN, $-C_1$-C_4-알킬, $-C_1$-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로아릴, $-OR^{11}$, $-NR^{12}R^{13}$, 또는 $-C(O)X^6$으로부터 선택되는 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환될 수 있고;

X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, 및 X^6은 각각 독립적으로 수소, C_1-C_6-알킬, C_1-C_6-할로알킬, C_2-C_6-알케닐, C_2-C_6-알키닐, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로아릴이고;

임의적 치환기의 각각은 독립적으로 =O, -OH, -SH, $-NO_2$, -CN, $-C_1$-C_4-알킬, $-C_1$-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로아릴, $-OR^8$, $-NR^9R^{10}$, 및 $-C(O)X^3$으로부터 선택되는 1개 이상의 치환기에 의해 더 치환될 수 있다.

청구항 71

제1항에 있어서, 화학식 (II)에 따른 구조를 갖는 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.



(II)

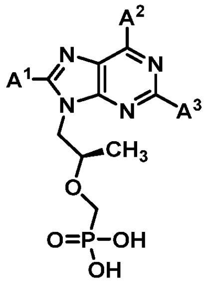
상기 식에서, R^{15}는 C_1-C_4-알킬이다.

청구항 72

제71항에 있어서, R^{15}가 메틸인 화합물.

청구항 73

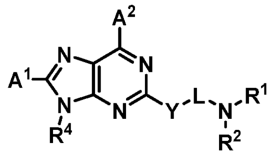
제70항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (IIa)에 따른 구조를 갖는 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.



(IIa)

청구항 74

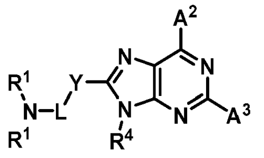
제70항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (III)에 따른 구조를 갖는 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.



(III)

청구항 75

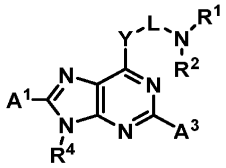
제70항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (IV)에 따른 구조를 갖는 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.



(IV)

청구항 76

제70항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (V)에 따른 구조를 갖는 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.



(V)

청구항 77

제70항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, Y가 NR^3인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 78

제77항에 있어서, R^3이 수소인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 79

제70항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, L이 $(CH_2)_n$이고, n이 1 내지 6인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 80

제79항에 있어서, n이 2인 화합물.

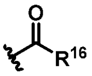
청구항 81

제70항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, R^1이 할로겐 =O, -OH, -SH, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 및 헤테로아릴로부터 선택되는 1개 이상의 치환기로 임의로 치환된 C_1-C_6-알킬인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 82

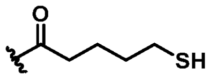
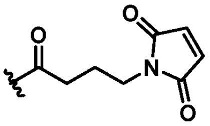
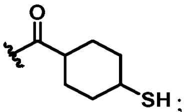
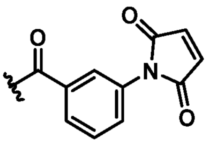
제81항에 있어서, 임의적 치환기의 각각이 독립적으로 -OH, -SH, -C_1-C_4-알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 및 헤테로아릴로부터 선택되는 1개 이상의 치환기에 의해 더 치환될 수 있는 것인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 83

제70항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, R^1이  이고, R^{16}이 C_1-C_6-알킬, C_3-C_7-시클로알킬, 또는 아릴이고, 이들의 각각이 -SH, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 또는 헤테로아릴에 의해 임의로 치환될 수 있는 것인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

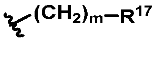
청구항 84

제70항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, R^1이

 ;  ;  ; 또는 

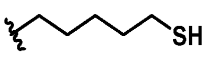
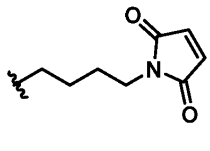
인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 85

제70항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, R^1이  이고, m이 1 내지 6이고; R^{17}이 C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 또는 헤테로아릴인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

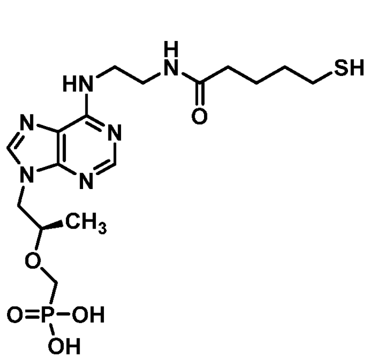
청구항 86

제70항 내지 제82항 및 제85항 중 어느 한 항에 있어서, R^1이

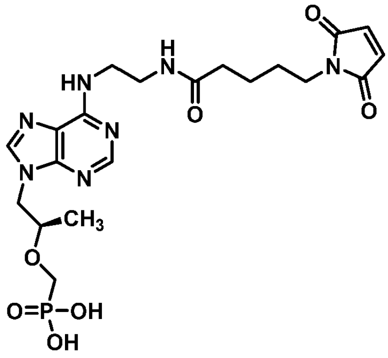
 또는 

인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

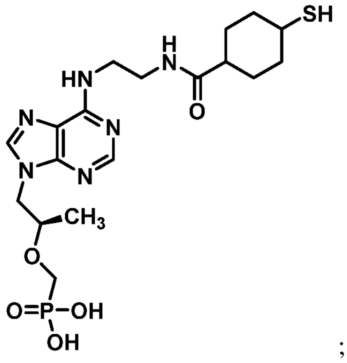
청구항 87



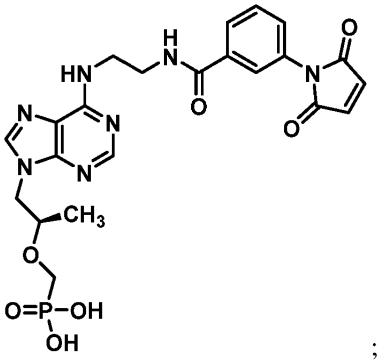
;



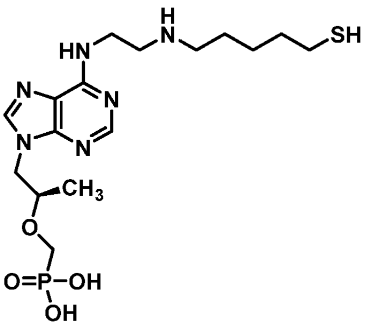
;



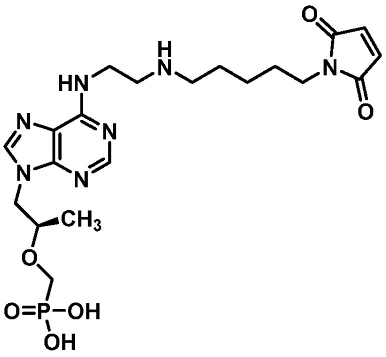
;



;



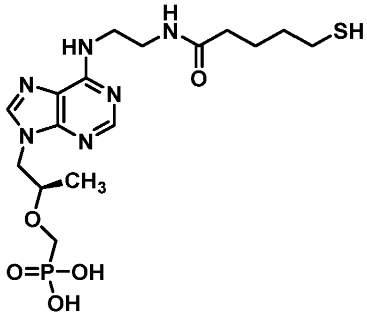
; 및



로부터 선택되는 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 88

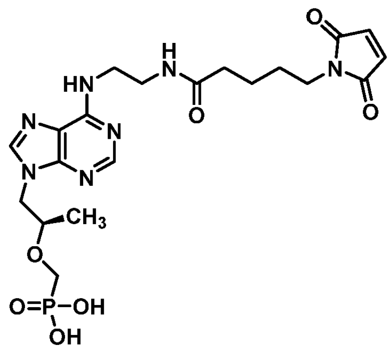
제87항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 89

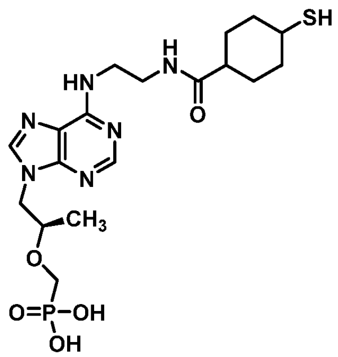
제87항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 90

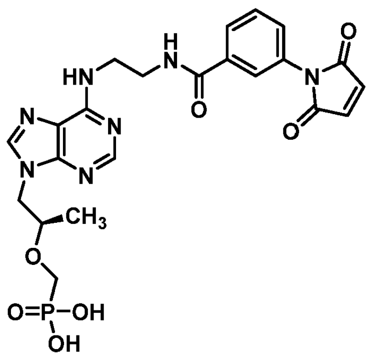
제87항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 91

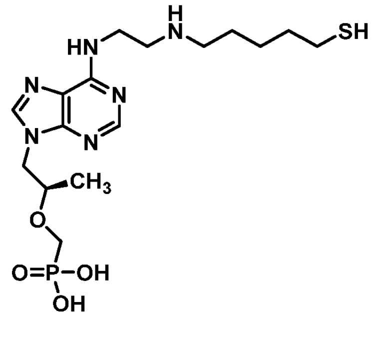
제87항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 92

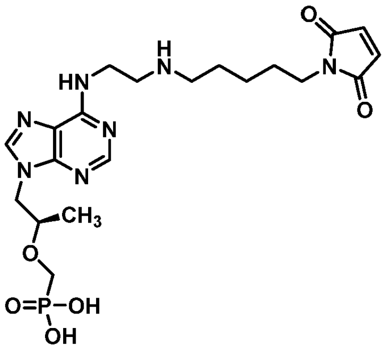
제87항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 93

제87항에 있어서, 화합물이



인 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 94

링커를 통해 (b) 운반체 단백질에 접합된 (a) 제70항 내지 제93항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 95

제94항에 있어서, 링커가 운반체 단백질 상의 활성 잔기 (예를 들어, 시스테인 또는 리신)를 화합물과 공유적으로 결합시키는 것인 면역원성 조성물.

청구항 96

제94항에 있어서, 운반체 단백질이 파상풍 톡소이드 (TT), 디프테리아 톡소이드 (DT), 디프테리아 독소 교차-반응 물질 197 (CRM197), TT의 단편 C, 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH), 소 혈청 알부민 (BSA), 단백질 D, 외막 단백질 (OMP), 및 뉴몰리신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 면역원성 조성물.

청구항 97

제96항에 있어서, 운반체 단백질이 KLH인 면역원성 조성물.

청구항 98

제96항에 있어서, 운반체 단백질이 BSA인 면역원성 조성물.

청구항 99

제94항 내지 제98항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물에 대해 발생된 폴리클로날 항체.

청구항 100

제94항 내지 제98항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물에 대해 발생된 모노클로날 항체.

청구항 101

제100항에 있어서, 항체가 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 항체인 모노클로날 항체.

청구항 102

제70항 내지 제93항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 제94항 내지 제98항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물에 선택적으로 결합하는 폴리클로날 항체.

청구항 103

제70항 내지 제93항 중 어느 한 항의 화합물, 또는 제94항 내지 제98항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물에 선택적으로 결합하는 모노클로날 항체.

청구항 104

제103항에 있어서, 항체가 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 항체인 모노클로날 항체.

발명의 설명

기 술 분 야

배 경 기 술

[0001] 미국에 HIV 감염의 높은 위험이 있는 120만명의 사람들 및 전세계적으로 1000만명이 있다. 미국에서, 추정상 40,000명의 사람들이 HIV에 걸릴 것이고, 14,000명이 다음 해에 사망할 것이며; 200만명 초과가 감염될 것이고, 120만명이 전세계적으로 사망할 것이다 (1-4). 미국은 HIV 치료에 연간 약 $250억을 지출하고 있으며, 이는 HIV 치료의 개선이 기대 수명을 증가시키기 때문에 극적으로 증가할 것이다 (5).

[0002] 테노포비르 (비리어드 (VIREAD)®, 길리어드 사이언시스, 인크. (Gilead Sciences, Inc.), 미국 캘리포니아주 포스터 시티) 및 엠트리시타빈 (엠트리바 (EMTRIVA)®, 길리어드 사이언시스, 인크., 미국 캘리포니아주 포스터 시티)의 조합으로의 노출전 예방 (PrEP)은 HIV 감염을 효과적으로 예방한다. 2010년에, 한 임상 시험은 "남성과 성교한 남성" (MSM) 및 PrEP를 받은 2,499명이 위약을 받은 사람들에 비해 HIV 획득의 44% 감소를 가졌음을 보였다. 그 감소는 매일 PrEP를 받은 사람들에서 99%였다 (6,7). PrEP는 혈액에서 17시간의 반감기를 가지며, 완전한 유효성은 매일 투여를 요구한다 (8).

[0003] 자기-보고된 준수 및 약국 리필 데이터 단독은 실제 PrEP 준수와 밀접하게 상관되지 않는다 (9). 남성과 성교한 유색의 젊은 남성 (yMSMc)에서, 검출가능한 혈장 테노포비르 수준의 비율은 높은 자기-보고된 준수에도 불구하고 PrEP를 시작한 후 제24주에 20%로 떨어졌다 (10). 유사한 결과는 여성으로의 시험, 예컨대 Fem-PrEP 시험에서 발견되었다 (11,12).

[0004] PrEP 준수를 모니터링하기 위한 시험, 예컨대 혈장, 건조된 혈액 반점, 또는 모발 분석은 환자에게 허용되지 않을 수 있는 침습적 수집 절차를 요구하고, 시기적절한 개입의 실행을 방해하는 보고에 있어서의 지연을 갖고, 최근 PrEP 사용을 반영하지 않을 수 있는 준수 정보를 제공할 수 있다.

[0005] 따라서, 동시에 발생하는 상담을 제공하고, 준수를 개선시키기 위해 임상 방문 동안 얻어질 수 있는 비침습적이고, 통증이 없고, 정량적이고, 감당가능하고, 신속한 결과를 제공하는 PrEP 준수를 모니터링하기 위한 치료 시점 (POC) 시험에 대한 큰 필요가 있다.

발명의 내용

[0006] 요약

[0007] 본 발명은, 부분적으로, 임상 환경 또는 다른 POC에서 PreP 요법 또는 항-레트로바이러스 치료 (ART)에 대한 준수를 신속하게 시험하기 위한 새로운 생성물 및 방법의 개발에 의존한다. 또한, 개시된 생성물 및 방법은 상승된 바이러스 로드가 비-준수 또는 저항성으로 인한 것인지 여부를 측정하고/거나, 약물이 실제 테노포비르를 함유하는지 (예를 들어, 거짓이 아닌지) 여부를 측정하고/거나, B형 간염 치료 준수를 시험하기 위해 사용될 수 있다. 방법은 면역원으로서 새로운 테노포비르 유도체를 사용하여 테노포비르에 대해 개발된 새로운 항체의 용도를 포함한다. 이들 항체는 소변 샘플을 비롯한 환자 샘플에서 테노포비르의 존재를 검출하는, 측면 유동 면역진단 검정을 비롯한 면역진단 검정에 채용될 수 있다.

[0008] 따라서, 한 측면에서, 본 발명은 테노포비르 또는 테노포비르 유도체의 테노포비르 모이어티에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항체는 이뮤노글로불린 중쇄 및 이뮤노글로불린 경쇄를 갖는다. 일부 실시양태에서, 항체는 단일-쇄 항체, 중쇄 단독 항체, Fv 단편, Fab 단편, $F(ab)_2$ 단편 등이다.

[0009] 일부 실시양태에서, 경쇄는 서열식별번호 (SEQ ID NO): 17, 19, 21, 및 30으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역; 서열식별번호: 25, 27, 29, 및 31로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 영역; 및/또는 서열식별번호: 33, 35, 37, 및 32로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 영역을 갖는다.

[0010] 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 11, 13, 15, 또는 41에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0011] 일부 실시양태에서, 중쇄는 서열식별번호: 18, 20, 22, 및 23으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역; 서열식별번호: 26, 28, 30, 및 31로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 영역; 및/또는 서열식별번호: 34, 36, 38, 및 39로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 영역을 포함한다.

[0012] 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 12, 14, 16, 또는 42에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함한다.

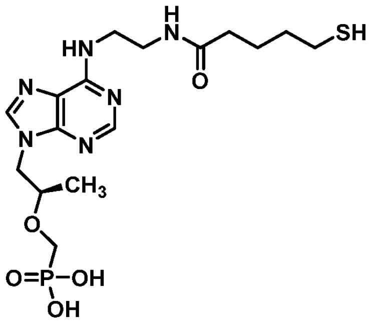
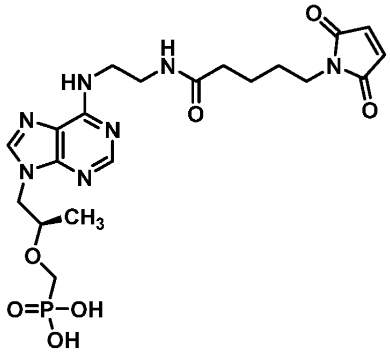
[0013] 또한, 본원에 개시된 항체 중 임의의 1종 이상을 포함하는 항체 제제가 개시된다. 일부 실시양태에서, 제제는 모노클로날 항체 제제이다.

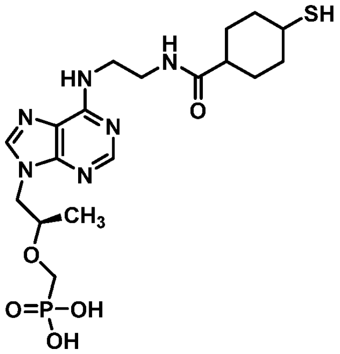
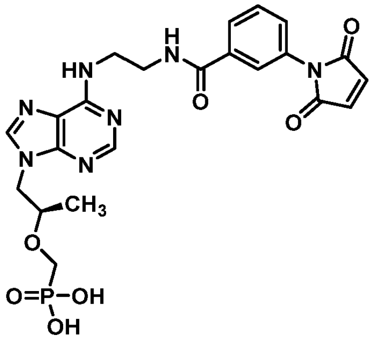
[0014] 또한, 본원에 개시된 항체 중 임의의 것의 중쇄 또는 경쇄를 코딩하는 단리된 핵산 분자가 제공된다. 일부 실시양태에서, 핵산은 클로닝 벡터, 발현 벡터, 이종 재조합 벡터 및 바이러스 통합 벡터로 이루어진 군으로부터 선택된다.

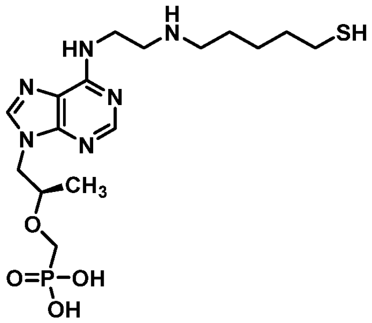
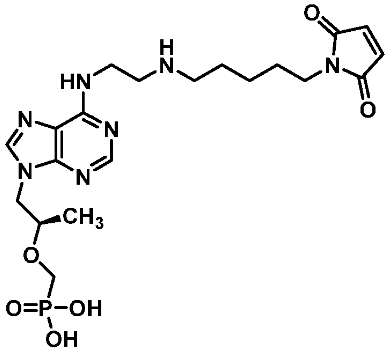
[0015] 또한, 본원에 제공된 핵산 중 임의의 것으로 형질전환된 세포가 개시된다. 일부 실시양태에서, 세포는 포유동물 세포이다. 포유동물 세포의 일부 비-제한적 예로는 토끼, 햄스터, 마우스, 래트, 닭, 염소, 원숭이, 양, 돼지, 말, 소, 또는 인간 세포를 들 수 있다.

[0016] 또다른 측면에서, 본 발명은 테노포비르 또는 테노포비르 유도체, 또는 다른 뉴클레오시드 리버스 트랜스크립타제 억제제 ("NRTI") 또는 NRTI-유도체에 특이적으로 결합하는 항체를 생산하기 위한 면역원 및 면역원성 제제를 제공한다.

[0017] 일부 실시양태에서, 면역원은 테노포비르 또는 테노포비르 유도체에 특이적으로 결합하는 항체를 생산하는 데 유용하다. 일부 실시양태에서, 면역원은

 ;  ;

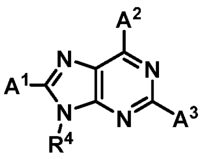
 ;  ;

 ;및 

[0018]

[0019] 또는 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택된다.

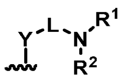
[0020] 일부 실시양태에서, 면역원은 화학식 (I)에 따른 구조를 갖는 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염으로부터 선택된다.



(I)

[0021]

[0022] 상기 식에서,

[0023] A^1, A^2, 또는 A^3 중 1개는  이고;

[0024] A^1, A^2, 및 A^3 중 2개는 수소 또는 NH_2이고;

[0025] Y는 결합, NR^3, O, 또는 S이고;

[0026] L은 C_1-C_{12}-알킬렌, C_3-C_7-시클로알킬렌, C_3-C_7-헤테로시클렌, 아릴렌, 또는 헤테로아릴렌이고, 이들의 각각은 =O, -OH, -SH, -NO_2, -CN, -C_1-C_4-알킬, -C_1-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로아릴, -OR^5, -NR^6R^7, 또는 -C(O)X^1로부터 선택되는 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환될 수 있고;

[0027] R^1, R^2, R^3, 및 R^4는 각각 독립적으로 수소, C_1-C_6-알킬, C_1-C_6-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 헤테로아르알킬이고, C_1-C_6-알킬, C_1-C_6-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 헤테로아르알킬의 각각은 할로겐 =O, -OH, -SH, -NO_2, -CN, -C_1-C_4-알킬, -C_1-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로아릴, -OR^5, -NR^6R^7, 또는 -C(O)X^2로부터 선택되는 1개 이상의 치환기로 임의로 치환될 수 있고;

[0028] R^5, R^8, 및 R^{11}은 각각 독립적으로 C_1-C_6-알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, C_0-C_4-알킬-P(O)$(OH)_2$, 또는 -C(O)X^4이고;

[0029] R^6, R^7, R^9, R^{10}, R^{12}, 및 R^{13}은 각각 독립적으로 수소, C_1-C_6-알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 또는 -C(O)X^5이거나;

[0030] R^6 및 R^7, R^9 및 R^{10}, 및 R^{12} 및 R^{13}은 그들이 부착된 원자와 함께 독립적으로 3- 내지 7-원 고리를 형성하고, 이는 할로겐 =O, -OH, -SH, -NO_2, -CN, -C_1-C_4-알킬, -C_1-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로아릴, -OR^{11}, -$NR^{12}R^{13}$, 또는 -C(O)X^6으로부터 선택되는 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환될 수 있고;

[0031] X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, 및 X^6은 각각 독립적으로 수소, C_1-C_6-알킬, C_1-C_6-할로알킬, C_2-C_6-알케닐, C_2-C_6-알키닐, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로아릴이고;

[0032] 임의적 치환기의 각각은 독립적으로 =O, -OH, -SH, -NO_2, -CN, -C_1-C_4-알킬, -C_1-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로아릴, -OR^8, -NR^9R^{10}, 및 -C(O)X^3으로부터 선택되는 1개 이상의 치환기에 의해 더 치환될 수 있다.

[0033] 일부 실시양태에서, 본 발명은 링커를 통해 (b) 운반체 단백질에 접합된 (a) 상기 언급된 화합물 중 임의의 것을 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다.

[0034] 면역원성 조성물의 특정 실시양태에서, 링커는 운반체 단백질 상의 활성 잔기 (예를 들어, 시스테인 또는 리신)를 화합물과 공유적으로 결합시킨다.

[0035] 면역원성 조성물의 특정 실시양태에서, 운반체 단백질은 파상풍 톡소이드 (TT), 디프테리아 톡소이드 (DT), 디프테리아 독소 교차-반응 물질 197 (CRM197), TT의 단편 C, 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH), 소 혈청 알부민 (BSA), 단백질 D, 외막 단백질 (OMP), 및 뉴몰리신으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0036] 면역원성 조성물의 특정 실시양태에서, 운반체 단백질은 KLH이다.

[0037] 면역원성 조성물의 특정 실시양태에서, 운반체 단백질은 BSA이다.

[0038] 또다른 측면에서, 본 발명은 상기 언급된 면역원성 조성물 중 임의의 것에 대해 발생되고, 상기 언급된 면역원성 조성물 중 임의의 것에 선택적으로 결합하는, 모노클로날 및 폴리클로날 항체를 비롯한 항체를 제조하는 방법을 제공한다.

[0039] 또다른 측면에서, 본 발명은 대상체로부터의 생물학적 샘플에서 NRTI 또는 NRTI의 대사물 (예를 들어, 테노포비르 또는 테노포비르 대사물)의 존재 및/또는 수준을 검출함으로써 NRTI 요법 (예를 들어, 테노포비르 또는 테노포비르 유도체 요법)에 대한 대상체에 의한 준수를 모니터링하기 위한 방법 또는 검정을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은

[0040] (a) 유체 샘플을 샘플 패드에 적용하고;

[0041] (b) 상기 샘플이 접합된 표지 패드로 샘플 패드를 따라 측면으로 유동하도록 하고 - 여기서, 상기 접합된 표지 패드는 검출가능한 표지에 접합된 제1 시약을 포함하고, 접합된 표지 패드의 부분 및 샘플 패드의 부분은 제1 계면을 형성함;

[0042] (c) 상기 샘플이 막으로 접합된 표지 패드를 따라 측면으로 유동하도록 하고 - 여기서, 막의 부분 및 접합된 표지 패드의 부분은 제2 계면을 형성하고; 상기 막은 시험 라인을 형성하는 막에 결합된 적어도 1종의 제2 시약을 포함함;

[0043] (d) 제1 시약을 제2 시약에 결합시켜 시험 라인에서 제2 시약-제1 시약 복합체를 형성하고, 검출가능한 표지가 시험 라인에서 검출가능한 신호를 형성하도록 하고,

[0044] (e) 환자를 검출가능한 신호의 존재 하에서 치료 또는 예방적 처방에 대해 비-준수하거나; 검출가능한 신호의 부재 하에서 치료 또는 예방적 처방에 대해 준수하는 것으로 진단하는 것

[0045] 을 포함하는, NRTI가 처방되거나 투여된 환자로부터의 유체 샘플에서 NRTI 또는 NRTI 대사물을 검출하는 검정을 수행하는 방법을 제공한다.

[0046] 또다른 측면에서, 본 발명은 대상체로부터의 생물학적 샘플에서 NRTI 또는 NRTI의 대사물 (예를 들어, 테노포비르 또는 테노포비르 대사물)의 존재 및/또는 수준을 검출함으로써 NRTI 요법 (예를 들어, 테노포비르 또는 테노포비르 유도체 요법)에 대한 대상체에 의한 준수를 모니터링하기 위한 진단 시스템 및/또는 장치를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은

[0047] (a) 유체 샘플을 접촉시키기 위한 샘플 패드;

[0048] (b) 검출가능한 표지에 접합된 제1 시약을 갖는 접합된 표지 패드 - 접합된 표지 패드의 부분 및 샘플 패드의 부분은 제1 계면을 형성함;

[0049] (c) 막을 포함하는 검정 - 막의 부분 및 접합된 표지 패드의 부분은 제2 계면을 형성함; 및

[0050] (d) 시험 라인을 형성하는 막에 결합된 적어도 1종의 제2 시약 - 제1 계면은 유체가 샘플 패드로부터 접합된 표지 패드로 유동하고, 검출가능한 표지에 접촉하도록 하고, 제2 계면은 유체가 접합된 표지 패드로부터 막으로 유동하고, 적어도 1종의 막-결합된 제2 시약에 접촉하여 제2 시약-제1 시약 복합체를 형성하고, 검출가능한 표지가 시험 라인에서 검출가능한 신호를 형성하도록 함

[0051] 을 포함하며,

[0052] 검출가능한 신호의 존재가 환자에서 치료 또는 예방적 처방에 대한 비-준수를 지시하고, 검출가능한 신호의 부재가 환자에서 치료 또는 예방적 처방에 대한 준수를 지시하는 것인, NRTI가 처방되거나 투여된 환자의 유체 샘플에서 NRTI 또는 NRTI 대사물을 검출하는 검정을 수행하기 위한 장치를 제공한다.

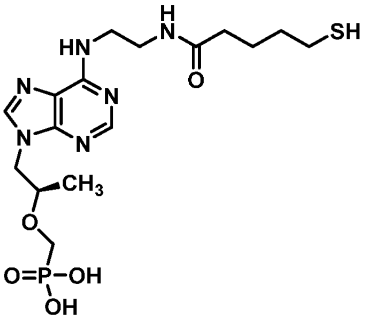
[0053] 일부 실시양태에서, 장치는 2개 이상의 별개의 시험 라인을 가질 수 있다. 예를 들어, 장치는 상이한 분석물 농도에서의 검정 컷오프에 상응하는 시험 라인을 가질 수 있다. 비-제한적 예로는 10 ug/ml, 1 ug/ml, 100ng/ml, 10 ng/ml, 1ng/ml를 들 수 있다.

[0054] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 검출가능한 신호는 검출가능한 신호의 존재가 환자에서 치료 또는 예방적 처방에 대한 준수를 지시하는 것을 제공하도록 조정된다.

[0055] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 방법 또는 장치는 측면 유동 검정, 예컨대 측면 유동 면역검정이다.

[0056] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제1 시약은 상기 언급된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합된 유도체이다.

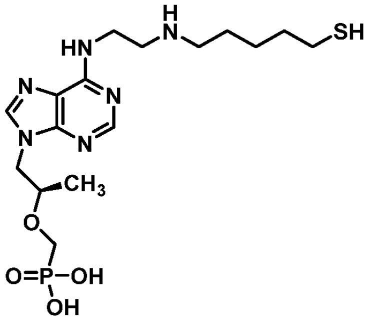
[0057] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제1 시약은 화합물



[0058]

[0059] 의 접합된 유도체이다.

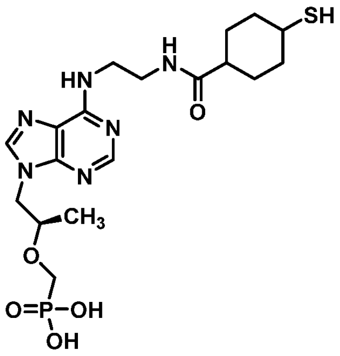
[0060] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제1 시약은 화합물



[0061]

[0062] 의 접합된 유도체이다.

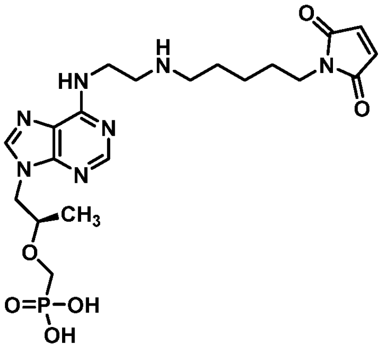
[0063] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제1 시약은 화합물



[0064]

[0065] 의 접합된 유도체이다.

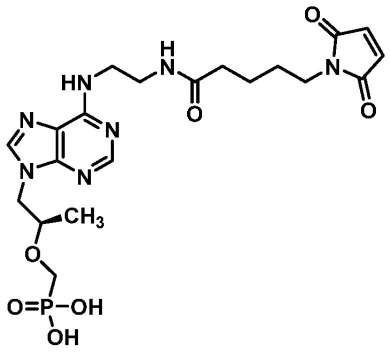
[0066] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제1 시약은 화합물



[0067]

[0068] 의 접합된 유도체이다.

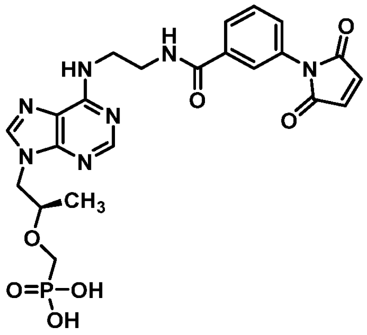
[0069] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제1 시약은 화합물



[0070]

[0071] 의 접합된 유도체이다.

[0072] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제1 시약은



[0073]

[0074] 의 화합물의 접합된 유도체이다.

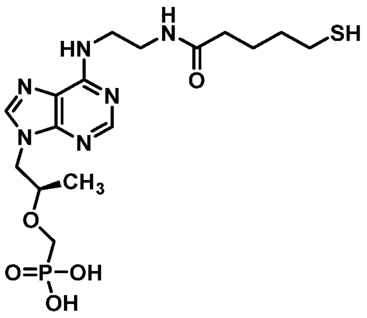
[0075] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 접합된 유도체는 HRP-접합된 유도체이다.

[0076] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제2 시약은 상기 언급된 항체 중 임의의 것이다. 특정 실시양태에서, 제2 시약 항체는 검출가능한 표지에 접합된다.

[0077] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제1 시약은 상기 언급된 항체 중 임의의 것이다. 특정 실시양태에서, 제1 시약 항체는 검출가능한 표지에 접합된다.

[0078] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제2 시약은 상기 언급된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합된 유도체이다.

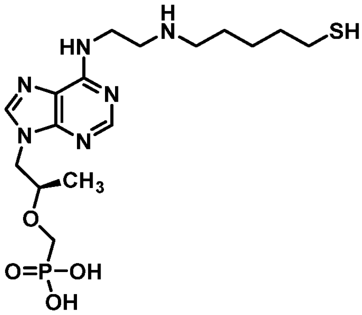
[0079] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제2 시약은 화합물



[0080]

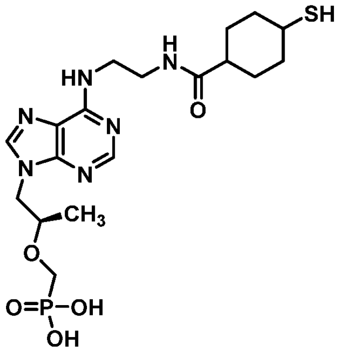
[0081] 의 접합된 유도체이다.

[0082] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제2 시약은 화합물

[0083] 

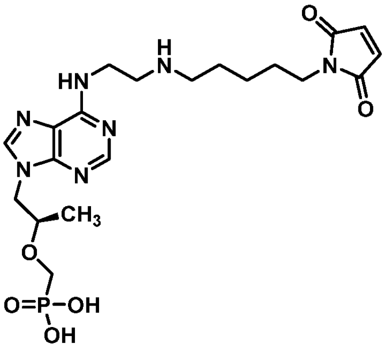
[0084] 의 접합된 유도체이다.

[0085] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제2 시약은 화합물

[0086] 

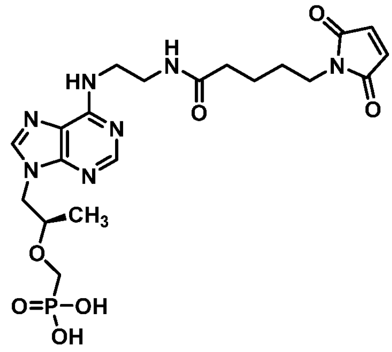
[0087] 의 접합된 유도체이다.

[0088] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제2 시약은 화합물

[0089] 

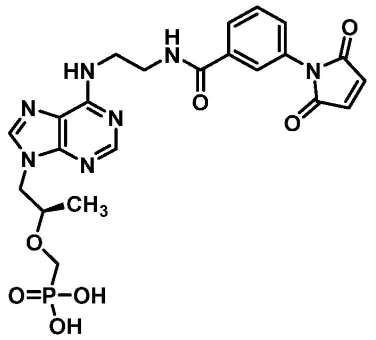
[0090] 의 접합된 유도체이다.

[0091] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제2 시약은 화합물

[0092] 

[0093] 의 접합된 유도체이다.

[0094] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제2 시약은

[0095] 

[0096] 의 화합물의 접합된 유도체이다.

[0097] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 접합된 유도체는 HRP-접합된 유도체이다.

[0098] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 방법 또는 장치는 막의 하류에 흡수 패드를 더 포함한다.

[0099] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 막은 니트로셀룰로스이다.

[0100] 특정 실시양태에서, 장치는 하우징에 제공된다.

[0101] 특정 실시양태에서, 하우징은 검출가능한 신호를 판독하기 위한 개구를 더 포함한다.

[0102] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 항체는 폴리클로날 항체이다.

[0103] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 항체는 모노클로날 항체이다. 일부 실시양태에서, 모노클로날 항체는 본원에 개시된 모노클로날 항체 중 1종 이상이다.

[0104] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 대사물은 TFV이다.

[0105] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 막은 대조군 라인을 형성하기 위해 시험 라인의 하류 또는 상류의 막에 결합된 제3 시약을 더 포함한다.

[0106] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제3 시약은 제1 시약에 결합하여 대조군 라인에서 검출가능한 신호를 유발하고, 대조군 라인에서 검출가능한 신호의 존재는 측면-유동 검정의 적절한 성능을 지시한다. 일부 실시양태에서, 1개 초과의 시험 라인을 갖는 장치에서, 대조군 라인은 각각의 시험 라인에 대해 제공될 수 있다.

[0107] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제3 시약은 항-HRP 항체이다.

[0108] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제3 시약은 항-토끼 IgG 항체이다.

[0109] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 제3 시약은 항-마우스 IgG 항체이다.

[0110] 특정 실시양태에서, 제3 시약은 항-염소, 항-래트, 항-양, 항-라마, 또는 임의의 다른 항-IgG 항체이며,

여기서, IgG는 인간 IgG가 아니다.

[0111] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 방법 또는 장치는 치료 시점 시험이다.

[0112] 특정 실시양태에서, 장치는 카트리지이다.

[0113] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 유체 샘플은 소변이다.

[0114] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, 예방적 처방은 NRTI에 대한 PrEP이다.

[0115] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, NRTI는 TDF, FTC, 및 TAF, 또는 그의 유도체 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0116] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, NRTI는 TAF이다.

[0117] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, NRTI는 TDF이다.

[0118] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, NRTI는 FTC이다.

[0119] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, NRTI는 TDF/FTC의 조합이다.

[0120] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, NRTI는 TAF/FTC의 조합이다.

[0121] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, NRTI는 TAF/FTC/TAF의 조합이다.

[0122] 방법 또는 장치의 특정 실시양태에서, NRTI는 TAF, FTC, TAF 및 임의의 다른 NRTI의 조합이다.

[0123] 또다른 측면에서, 본 발명은

[0124] (a) 생물학적 샘플을 수용하기 위한 샘플 수집 용기; 및

[0125] (b) 생물학적 샘플을 검정하기 위한 본 발명의 장치

[0126] 를 포함하는 키트를 제공한다.

[0127] 특정 실시양태에서, 키트는 사용을 위한 지시서를 더 포함한다.

[0128] 특정 실시양태에서, 키트는 핸드 헬드 장치를 더 포함한다.

[0129] 일부 실시양태에서, 키트는 샘플을 스트립 상에 정치하기 위한 수단을 제공하는 드로퍼를 더 포함한다. 일부 실시양태에서, 스트립은 딥스틱으로서 기능한다. 일부 실시양태에서, 스트립은 플라스틱 카세트에 있을 수 있다.

[0130] 특정 실시양태에서, 전자 신호 판독기는 상기 언급된 장치 중 임의의 것을 수용하고, 대사물의 존재 또는 부재에 의해 유발된 반사율 또는 분광광도법적 신호를 측정하거나 검출하도록 적합화된다.

[0131] 특정 실시양태에서, 판독기는 반사율 판독기이다.

[0132] 특정 실시양태에서, 생물학적 샘플은 소변이다.

[0133] 본 발명의 다른 목적, 특색 및 이점은 하기 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 그러나, 본 발명의 바람직한 실시양태를 지시하고 있는 상세한 설명 및 구체적인 실시예는, 본 발명의 정신 및 범위 내에서 다양한 변화 및 변형이 이 상세한 설명으로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이기 때문에, 단지 예시로 주어짐이 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0134] 도 1은 TDF 및/또는 TAF 및/또는 TFV를 검출하는 데 사용될 수 있는 PrEP 및 ART를 위한 POC 검정을 위한 항체를 개발하는 데 유용한 테노포비르 유도체를 나타낸다. 측쇄 T1 내지 T6은 다른 것들 중에서도 기저 분자 (좌측)에 대해 합성된다.

도 2는 표적 1 또는 T1로 지정된, 본 발명의 테노포비르 유도체의 합성 경로를 나타낸다.

도 3은 항-TFV 유도체 접합체 폴리클로날 항체를 사용한 경쟁 ELISA 검정을 도시한다. 이 검정에서, 항-TFV 유도체 접합체 폴리클로날 항체 "312" 및 "313"을 마이크로플레이트 상에 코팅하고, TFV 표준물을 HRP-TFV 접합체와 혼합하고, 플레이트 상에서 항체에 대해 자유롭게 경쟁하도록 하였다. 용액을 TMB 기질을 이용하여 검출하

고, 이어서 반응을 산으로 정지시켰다. 흡광도를 450 nm에서 측정하고, 약물 농도를 TFV 표준 곡선과 비교하여 색상 강도에 의해 측정하였다. 항체 312 및 313은 허용가능한 보정 곡선을 생성할 수 있었으며, 1,000 ng/ml의 컷-오프 주위의 해상도를 허용하였다. 항체 313에 대해 500 내지 1,000 ng/ml (CV = 12.0%)의 7.54 표준 편차 분리 및 1,000 내지 2,000 ng/ml (CV = 4.4%)의 6.28 표준 편차가 있었다. 이는 항체 312 및 313이 테노포비르에 대한 충분한 민감도를 가짐을 지시한다.

도 4는 TAF를 취한 HIV+ 환자 (코호트 1)에서의 소변 및 혈장 TFV 농도 사이의 관계를 나타낸다.

도 5는 FTC/TDF의 1개의 단일 용량이 주어진 대상체의 과거 코호트에 비해, 10명의 HIV-음성 대상체에서의 FTC/TAF의 단일 용량 후의 소변/혈장 TFV 농도를 나타낸다.

도 6은 10명의 HIV-음성 대상체 (코호트 3)에서의 FTC/TAF의 7개의 연속적 용량 후의 소변 TAF 농도를 나타낸다.

하기 발명의 바람직한 실시양태의 상세한 설명은 첨부된 도면과 함께 읽을 때 더 잘 이해될 것이다. 본 발명을 예시하는 목적으로, 현재 바람직한 실시양태가 도면에 나타나 있다. 그러나, 본 발명은 도면에 나타내어진 실시양태의 정확한 배열 및 수단에 제한되지 않음이 이해되어야 한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0135] 상세한 설명

[0136] <u>일반적 정의</u>

[0137] 본원에 사용된 모든 과학 및 기술 용어는, 하기에 달리 정의되지 않는다면, 본 발명이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는 것으로 의도된다. 임의의 충돌의 경우, 정의를 비롯한 본 명세서가 지배할 것이다. 본원에 채용된 기법에 대한 언급은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 그들 기법에 대한 변형 또는 등가물 또는 나중에 개발된 기법의 치환을 비롯한, 관련 기술분야에 통상적으로 이해되는 바와 같은 기법을 지칭하는 것으로 의도된다. 본 발명인 요지를 보다 명백하고 간결하게 기재하기 위해, 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용된 특정 용어에 대해 하기 정의가 제공된다.

[0138] 단수형태는 문법적 대상의 1개 또는 1개 초과 (즉, 적어도 1개)를 지칭하기 위해 본원에서 사용된다. 예로서, "요소"는 1개의 요소 또는 1개 초과의 요소를 의미한다.

[0139] 측정가능한 값, 예컨대 양, 시간적 기간 등을 지칭하는 경우 본원에 사용된 바와 같은 "약"은 이러한 변동이 개시된 방법을 수행하는 데 적절하기 때문에, 특정된 값으로부터 ±20%의 변동 또는 일부 예에서 ±10%, 또는 일부 예에서 ±5%, 또는 일부 예에서 ±1%, 또는 일부 예에서 ±0.1%를 포함하는 것으로 의미된다.

[0140] 유기체, 조직, 세포 또는 그의 성분의 맥락에서 사용되는 경우 용어 "비정상적인"은 "정상적인" (예상된) 각각의 특징을 나타내는 그들 유기체, 조직, 세포 또는 그의 성분으로부터 적어도 하나의 관찰가능한 또는 검출가능한 특징 (예를 들어, 연령, 치료, 날의 시간 등)에 있어서 상이한 그들 유기체, 조직, 세포 또는 그의 성분을 지칭한다. 하나의, 세포 또는 조직 유형에 대해 정상이거나 예상된 특징은 상이한 세포 또는 조직 유형에 대해 비정상적일 수 있다.

[0141] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "항체"는 항원 (예를 들어, 대사물, 대사물 유도체, 또는 그의 접합체)과 특이적으로 결합하는 이뮤노글로불린 분자를 지칭한다. 항체는 천연 공급원으로부터 또는 재조합 공급원으로부터 유래된 무손상 이뮤노글로불린일 수 있으며, 무손상 이뮤노글로불린의 면역반응성 부분일 수 있다. 항체는 전형적으로 이뮤노글로불린 분자의 사량체이다. 본 발명에서 항체는 예를 들어, 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체, Fv, Fab 및 $F(ab)_2$, 뿐만 아니라 단일 쇄 항체 및 인간화 항체를 비롯한 다양한 형태로 존재할 수 있다 (Harlow *et al.*, 1999, In: Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY; Harlow *et al.*, 1989, In: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York; Houston *et al.*, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Bird *et al.*, 1988, Science 242:423-426). 일반적으로, 무손상 또는 전장 항체는 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 포함한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (VH) 및 제1, 제2 및 제3 불변 영역 (CH1, CH2 및 CH3)을 함유한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (VL) 및 불변 영역 (CL)을 함유한다. 본원에 사용된 바와 같은 "항체 중쇄"는 그들의 천연 발생 형태로 모든 포유동물 항체 분자에 존재하는 2가지 유형의 폴리펩티드 쇄 중 보다 큰 것을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같은 "항체 경쇄"는 그들의 천연 발생 형태로 모든 포유동물 항체 분자에 존재하는 2가지 유형의 폴리펩티드 쇄 중 보다 작은 것

을 지칭한다. κ 및 λ 경쇄는 2가지 주요한 항체 경쇄 이소형을 지칭한다. 그의 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 이뮤노글로불린은 상이한 부류에 할당될 수 있다. 이뮤노글로불린의 5가지 주요한 부류가 있으며: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM, 이들 중 몇몇은 하위부류 (이소형), 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 더 나누어질 수 있다. 이뮤노글로불린의 상이한 부류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마, 및 뮤로 지칭된다. 이뮤노글로불린의 상이한 부류의 서브유닛 구조 및 3차원 배열은 널리 공지되어 있다. 본 발명의 목적상, 항체는 임의의 특정 부류 또는 임의의 특정 기원의 종의 것일 필요는 없다. 용어 "항체"는 본원에 사용된 바와 같은 "합성 항체"를 포괄한다.

[0142] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "합성 항체"란, 재조합 DNA 기술을 사용하여 생성된 항체, 예컨대, 예를 들어, 박테리오파지에 의해 발현된 항체를 의미한다. 상기 용어는 또한 관련 기술분야에서 이용가능하고 널리 공지된 합성 DNA 또는 아미노산 서열 기술을 사용하여 항체 단백질을 생산하기 위한 항체를 코딩하는 DNA 분자의 합성 및 재조합 DNA의 발현에 의해 생성된 임의의 항체를 의미하는 것으로 해석되어야 한다.

[0143] 항체 (예를 들어, 항-NRTI 유도체 접합체 항체, 예컨대 항-TFV 항체)에 관하여 본원에 사용된 바와 같은 용어 "특이적으로 결합하다"란, 특이적 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체 또는 접합체)를 인식하지만, 샘플에서 다른 분자를 실질적으로 인식하거나 그에 결합하지 않는 항체를 의미한다. 예를 들어, 하나의 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체 또는 접합체)에 특이적으로 결합하는 항체는 또한 또다른 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체 또는 접합체)에 결합할 수 있다. 그러나, 이러한 교차-종 반응성은 그 자체가 특이적인 바와 같은 항체의 분류를 변경시키지 않는다. 일부 예에서, 용어 "특이적 결합" 또는 "특이적으로 결합하는"은 상호작용이 화학 종 상의 특정 구조 (예를 들어, 항원 결정자 또는 에피토프)의 존재에 의존하는 것을 의미하기 위해, 항체, 단백질, 또는 펩티드와 제2 화학 종의 상호작용에 관하여 사용될 수 있으며; 예를 들어, 항체는 특이적 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체 또는 접합체)를 인식하고 그에 결합한다. 항체가 대사물 (예를 들어, NRTI)에 대해 특이적인 경우, 표지된 NRTI 유도체 및 항체를 함유하는 반응에서의 대사물 (예를 들어, NRTI)의 존재는 항체에 결합된 표지된 NRTI 유도체의 양을 감소시킬 것이다.

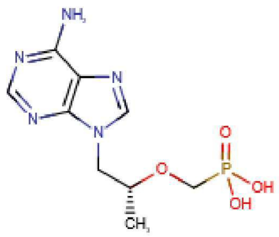
[0144] 용어가 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "어플리케이터"란, 본 발명의 조성물을 대상체에게 투여하기 위한, 피하 시린지, 피펫, 이온이동법 장치, 패치 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 장치를 의미한다.

[0145] 본 발명의 맥락에서 본원에 사용된 바와 같은 "대사물" 또는 "NRTI"는 제한 없이, 분해 생성물, 단백질-리간드 복합체, 원소, 관련된 대사물, 및 다른 소분자 또는 샘플-유래된 수단과 함께, 소분자 (예를 들어, NRTI 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 및 그의 유도체 또는 접합체)를 포괄한다.

[0146] 용어 "NRTI와 관련된 대사물" 및 "NRTI"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 따라서, "NRTI"에 대한 언급은 "NRTI"와 구체적으로 연관된 임의의 대사물과 관련된 것으로서 읽혀져야 함이 이해되어야 한다. 비-제한적 예로서, 테노포비르 (TFV)는 NRTI 테노포비르 디소프록실 푸마레이트 (TDF) 및 테노포비르 알라펜아미드 (TAF)와 관련된 활성 대사물이다.

[0147] 용어 "NRTI 유도체" 또는 "NRTI 유사체"는 화학식 I, 화학식 II, 및 화학식 III의 화합물의 유도체를 기재하기 위해 상호교환가능하게 사용된다. 특정 실시양태에서, NRTI 유도체 또는 NRTI 유사체는 "TFV 유도체" 또는 "TFV 유사체"이다. 특정 실시양태에서, NRTI 유도체 또는 NRTI 유사체는 "TAF 유도체" 또는 "TAF 유사체"이다. 특정 실시양태에서, NRTI 유도체 또는 NRTI 유사체는 "FTC 유도체" 또는 "FTC 유사체"이다. 특정 실시양태에서, NRTI 유도체 또는 NRTI 유사체는 "TDF 유도체" 또는 "TDF 유사체"이다.

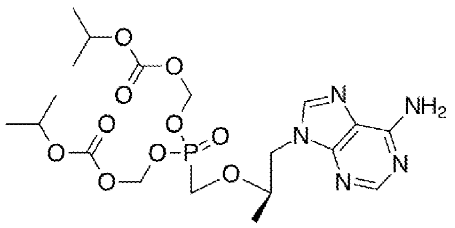
[0148] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "테노포비르" 및 약어 "TFV"는 조성물



[0149]

[0150] 을 지칭한다.

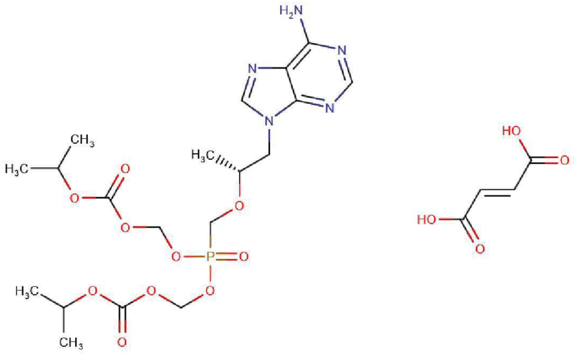
[0151] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "테노포비르 디소프록실" 및 약어 "TD"는 조성물



[0152]

[0153] 을 지칭한다.

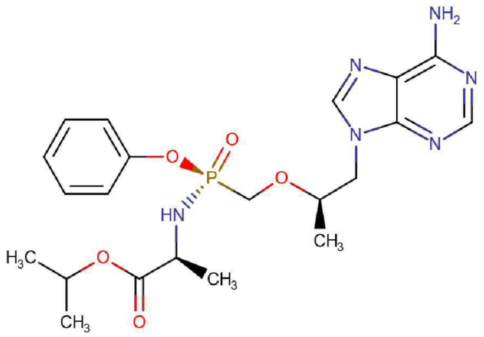
[0154] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "테노포비르 디소프록실 푸마레이트" 및 약어 "TDF"는 조성물



[0155]

[0156] 을 지칭한다.

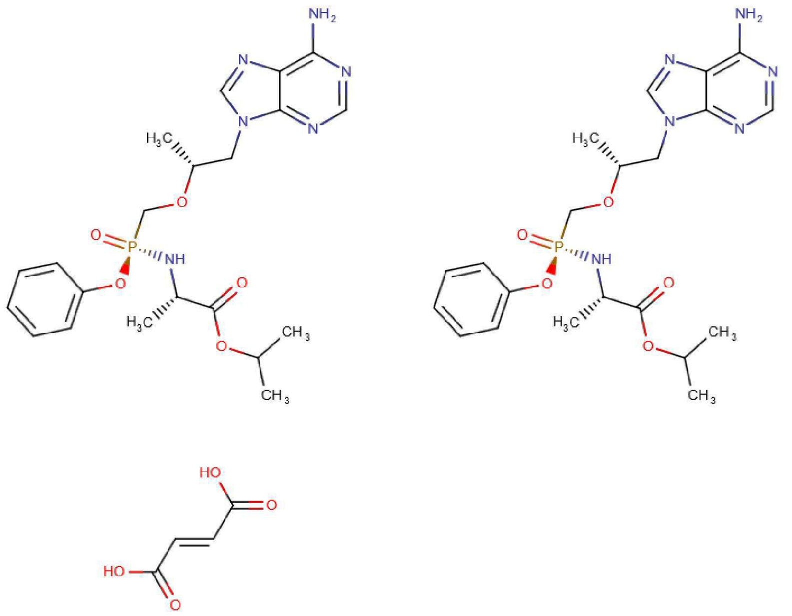
[0157] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "테노포비르 알라펜아미드" 및 약어 "TA"는 조성물



[0158]

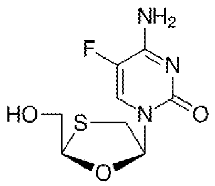
[0159] 을 지칭한다.

[0160] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "테노포비르 알라펜아미드 푸마레이트" 및 약어 "TAF"는 조성물

[0161] 

[0162] 을 지칭한다.

[0163] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "엠트리시타빈" 및 약어 "FTC"는 조성물

[0164] 

[0165] 을 지칭한다.

[0166] 용어 "NRTI-유도체 접합체" 또는 "NRTI-유사체 접합체"는 본원에 기재된 면역원성 조성물을 생성하기 위한 운반체 단백질 (예컨대 KLH, BSA 등)에 접합된 NRTI 유도체를 기재하기 위해 상호교환가능하게 사용된다. 특정 실시양태에서, NRTI-유도체 접합체는 "TFV-유도체 접합체"이다. 특정 실시양태에서, NRTI-유도체 접합체는 "TAF-유도체 접합체"이다. 특정 실시양태에서, NRTI-유도체 접합체는 "TDF-유도체 접합체"이다. 특정 실시양태에서, NRTI-유도체 접합체는 "FTC-유도체 접합체"이다. 특정 실시양태에서, "NRTI-유도체 접합체"는 본원에 기재된 면역검정 중 임의의 것에 사용하기 위한 HRP에 접합된 NRTI 유도체를 포함하는 "HRP-NRTI 유도체"를 기재한다.

[0167] 용어 "항-NRTI-유도체 접합체 항체" 또는 "항-NRTI-유사체 접합체 항체"는 NRTI-유도체 접합체에 대해 발생된 항체 (예를 들어, 폴리클로날, 모노클로날 등)를 지칭한다. 이러한 "항-NRTI-유도체 접합체 항체"는 NRTI-유도체, 및/또는 그의 접합체에 높은 특이성으로 특이적으로 결합할 수 있다. 특정 실시양태에서, "항-NRTI-유도체 접합체 항체"는 "항-TFV-유도체 접합체 항체" (또는 짧은 형태로 "항-TFV 항체")이다. 특정 실시양태에서, "항-NRTI-유도체 접합체 항체"는 "항-TAF-유도체 접합체 항체" (또는 짧은 형태로 "항-TAF 항체")이다. 특정 실시양태에서, "항-NRTI-유도체 접합체 항체"는 "항-TDF-유도체 접합체 항체" (또는 짧은 형태로 "항-TAF 항체")이다. 특정 실시양태에서, "항-NRTI-유도체 접합체 항체"는 "항-FTC-유도체 접합체 항체" (또는 짧은 형태로 "항-FTC 항체")이다.

[0168] 본원에 사용된 바와 같은 "바이오센서"는 샘플에서 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)의 검출을 위한 분석 장치이다. 바이오센서는 특이적 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)를 인식하거나 포획할 수 있는 인식 부재, 및 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)의 존재 또는 부재를 검출가능한 신호로 전송하는 변환기를 포함할 수 있다.

[0169] 1종 이상의 대사물에 관하여 본원에 사용된 바와 같은 용어 "데이터", 또는 용어 "대사물 데이터"는 일반적으로 샘플에서의 대사물의 생성물의 절대 및/또는 상대 풍부도 (수준)를 반영하는 데이터를 지칭한다. 1종 이상의 대사물에 관하여 본원에 사용된 바와 같은 용어 "데이터세트"는 대상체의 참조 집단에서 대사물의 패널의 1종 이상의 대사물 생성물의 각각의 수준을 나타내는 데이터의 세트를 지칭한다. 데이터세트는 본 발명의 화학식/분류자를 생성하는 데 사용될 수 있다. 한 실시양태에 따르면, 데이터세트는 참조 집단의 각각의 개체의 패널의 각각의 대사물 생성물에 대한 데이터를 포함할 필요는 없다. 예를 들어, 화학식에 적용되는 데이터세트의 맥락에서 사용되는 경우 "데이터세트"는 1개 이상의 집단에서의 각각의 개체에 대한 각각의 대사물의 수준을 나타내는 데이터를 지칭할 수 있지만, 이해될 것인 바와 같이, 또한 상기 1개 이상의 집단의 각각에서의 개체의 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70% 이하에 대한 각각의 대사물의 수준을 나타내는 데이터를 지칭할 수 있으며, 화학식에 적용하기 위한 목적에 여전히 유용할 수 있다.

[0170] 용어 "대조군" 또는 "참조 표준물"은, 대조군 또는 참조 표준물이 샘플이 비교될 수 있는 비교자로서 기능할 수 있도록, 본 발명의 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합체 또는 유도체) 중 1종 이상이 없거나, 또는 정상, 낮은, 또는 높은 수준을 포함하는 물질을 기재한다.

[0171] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "검출 시약"은 샘플에서 검출되는 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것) 또는 다른 표적화된 분자에 특이적으로 결합하는 친화성 모이어티를 포함하는 작용제를 지칭한다. 검출 시약은 예를 들어, 검출가능한 모이어티, 예컨대 방사성동위원소, 형광 표지, 자성 표지, 및 효소, 또는 화학 모이어티, 예컨대 비오틴 또는 디곡시게닌을 포함할 수 있다. 검출가능한 모이어티는 직접적으로, 또는 검출가능한 모이어티의 표지된 특이적 결합 상대의 사용에 의해 간접적으로 검출될 수 있다. 대안적으로, 검출가능한 모이어티의 특이적 결합 상대는 검출가능한 생성물을 생성하는 효소 시스템에 커플링될 수 있다.

[0172] 본원에 사용된 바와 같은 "검출제 분자"는 관심의 화합물을 검출하는 데 사용될 수 있는 분자이다. 검출제 분자의 비-제한적 예는 관심의 화합물에 특이적으로 결합하는 분자, 예컨대 항체, 동족체 수용체, 및 소분자이지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0173] 어구 "소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합체 또는 유도체) 농도의 수준을 측정하는"이란, 임의의 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합체 또는 유도체)의 충분한 부분을 검출하기 위해 통상의 기술자에게 이용가능한 기술을 사용한 샘플에서의 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합체 또는 유도체)의 양의 평가를 의미한다.

[0174] "질환"은 동물이 항상성을 유지할 수 없고, 질환이 개선되지 않는 경우 동물의 건강이 계속 악화되는 동물의 건강의 상태이다.

[0175] 본원에 사용된 바와 같은 "면역검정"은 그의 동족체 항원에 대한 항체의 반응, 예를 들어 소분자 (예를 들어, NRTI, 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체, 접합체, 및 유사체)에의 항체의 특이적 결합을 사용하여, 샘플, 예컨대 생물학적 샘플에서 물질의 존재 또는 농도를 측정하는 생화학적 시험을 지칭한다. 존재하는 소분자 (예를 들어, NRTI, 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체, 접합체, 및 유사체)의 존재 또는 소분자 (예를 들어, NRTI, 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체, 접합체, 및 유사체)의 양 둘 다가 측정될 수 있다.

[0176] 본원에 사용된 바와 같은 "지시 물질"은 본원에 개시된 대사물을 검출하기 위한 키트에서 본 발명의 성분의 유용성을 전달하는 데 사용될 수 있는 간행물, 기록물, 도표, 또는 임의의 다른 표현의 매체를 포함한다. 본 발명의 키트의 지시 물질은 예를 들어, 본 발명의 성분을 함유하는 용기에 부착되거나, 성분을 함유하는 용기와 함께 수송될 수 있다. 대안적으로, 지시 물질은 지시 물질 및 성분이 수용자에 의해 협력하여 사용되는 의도로 용기로부터 별개로 수송될 수 있다.

[0177] 본원에 사용되는 경우 용어 "표지"는 "표지된" 프로브를 생성하기 위해 직접적으로 또는 간접적으로 프로브에 접합된 검출가능한 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 표지는 그것만으로 검출가능할 수 있거나 (예를 들어, 방사성동위원소 표지 또는 형광 표지), 효소적 표지의 경우, 검출가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변경을 촉매할 수 있다 (예를 들어, 아비딘-비오틴). 일부 예에서, 프라이머는 PCR 생성물을 검출하기 위해 표지될 수 있다. 일부 실시양태에서, 표지는 HRP이다.

[0178] 1종 이상의 대사물의 "수준"은 샘플에서의 대사물의 절대 또는 상대 양 또는 농도를 의미한다.

[0179] "측정하는" 또는 "측정", 또는 대안적으로 "검출하는" 또는 "검출"은 이러한 물질의 정성적 또는 정량적 농도 수준의 유도를 비롯한, 임상 또는 대상체-유래된 샘플 내의 주어진 물질 중 어느 하나의 존재, 부재, 양(quantity) 또는 양 (amount) (유효량일 수 있음)을 평가하는 것, 또는 다르게는 대상체의 임상 파라미터의 값 또는 범주화를 평가하는 것을 의미한다.

[0180] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "준수를 모니터링하는"은 처방된 치료의 과정으로의 환자의 순응도를 측정하는 것을 지칭한다. 준수는 처방된 치료의 과정의 투여량 양 및 빈도를 비롯한 측면으로의 순응도를 포괄한다.

[0181] 용어 "환자", "대상체", "개체" 등은 본원에서 상호교환가능하게 사용되며, 본원에 기재된 방법으로 처리가능한, 시험관내이든 계내이든 임의의 동물, 또는 그의 세포를 지칭한다. 특정 비-제한적 실시양태에서, 환자, 대상체 또는 개체는 인간이다.

[0182] 본원에 사용된 바와 같은 "폴리펩티드"는 단량체가 아미드 결합을 통해 함께 연결된 아미노산 잔기인 중합체를 지칭한다. 아미노산이 알파-아미노산인 경우, L-광학 이성질체 또는 D-광학 이성질체 중 어느 하나가 사용될 수 있으며, L-이성질체가 바람직하다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "폴리펩티드" 또는 "단백질" 또는 "펩티드"는 임의의 아미노산 서열을 포함하며, 변형된 서열을 포함하는 것으로 의도된다. 용어 "폴리펩티드" 또는 "단백질" 또는 "펩티드"는 천연 발생 단백질, 뿐만 아니라 재조합적으로 또는 합성적으로 생성된 것들을 커버하는 것으로 구체적으로 의도된다. 용어 "폴리펩티드" 또는 "단백질"은 단백질의 천연 발생 변형된 형태 또는 글리코실레이트 형태를 포함함을 유념해야 한다.

[0183] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "예측을 제공하는"은 중증도, 기간, 회복의 기회 등의 예측을 비롯한, 질환, 장애 또는 상태의 가능한 과정 및 결과의 예측을 제공하는 것을 지칭한다. 방법은 또한 예를 들어, 상태가 여전히 초기 단계에 있는지 여부 또는 상태가 공격적 요법이 비유효할 상태로 진행되었는지를 지시함으로써, 적합한 치료 계획을 고안하는 데 사용될 수 있다.

[0184] 대사물의 "참조 수준"은 약물의 치료 수준의 지표인 대사물의 수준을 의미한다.

[0185] 본 발명에 따른 용어 "위험"은 HIV로 현재 진단되지 않은 특정 환자가 현재 HIV로 진단된 개체로부터의 체액에 노출되거나, 다르게는 HIV에 노출될 수 있는 결과를 포함한다.

[0186] 본원에 사용된 바와 같은 "샘플", "시편" 또는 "생물학적 샘플"은 개체로부터 단리된 생물학적 물질을 의미한다. 생물학적 샘플은 바람직한 대사물을 검출하기에 적합한 임의의 생물학적 물질을 함유할 수 있으며, 개체로부터 얻어진 세포성 및/또는 비-세포성 물질을 포함할 수 있다.

[0187] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "고체 지지체", "지지체", 및 "기재"는 상호교환가능하게 사용되며, 강성 또는 반-강성 표면 또는 표면들을 갖는 물질 또는 물질의 군을 지칭한다. 한 실시양태에서, 고체 지지체의 적어도 1개의 표면은 실질적으로 평평할 것이지만, 일부 실시양태에서 예를 들어, 웰, 상승된 영역, 핀, 에칭된 트렌치 등을 갖는 상이한 화합물에 대한 합성 영역을 물리적으로 분리하는 것이 바람직할 수 있다. 다른 실시양태에 따르면, 고체 지지체(들)는 비드, 수지, 겔, 미소구, 또는 다른 기하학적 배열의 형태를 취할 것이다. 예시적인 기재에 대해서는 미국 특허 제5,744,305호를 참조한다.

[0188] "치료 농도" 또는 "치료 수준"은 치료 유익이 얻어지는 물질의 농도이다. 본 발명의 NRTI, 예를 들어 실시예에 예시된 것들에 대해, 치료 농도는 약 1,000 ng/mL 이상이다. 본 발명은 다른 NRTI에 적용되고, 그 약물에 대해 적절한 바와 같은 1,000 ng/mL 초과 또는 미만일 수 있는 적절한 치료 역치를 다루도록 설계될 수 있다.

[0189] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "치료 처방" 또는 "의학적 처방"은 적어도 질환 또는 상태의 치료 또는 예방을 위해 개체에 의해 취해지는 임의의 제약 작용제의 빈도 및 투여량에 관한 것이다.

[0190] <u>화학적 정의</u>

[0191] 용어 "제약상 허용되는 염"은 본 발명의 화합물의 무기 및 유기 산 부가 염을 지칭한다. 이들 염은 화합물(들)의 최종 단리 및 정제 동안 계내에서, 또는 그의 유리 염 형태의 정제된 화합물(들)을 적합한 유기 또는 무기 산과 별개로 반응시키고, 이렇게 형성된 염을 단리함으로써 제조될 수 있다. 대표적인 염으로는 히드로브로마이드, 히드로클로라이드, 술페이트, 비술페이트, 포스페이트, 니트레이트, 아세테이트, 발레레이트, 올레에이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 라우레이트, 벤조에이트, 락테이트, 포스페이트, 토실레이트, 시트레이트, 말레에이트, 푸마레이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 나프틸레이트, 메실레이트, 글루코헵토네이트, 락토비오네이트, 및 라우릴술포네이트 염 등을 들 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Berge *et al.* (1977),

"Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci.* 66:1-19]을 참조한다.

[0192] 다른 경우, 본 발명의 방법에 유용한 화합물은 1개 이상의 산성 관능기를 함유할 수 있으며, 따라서, 제약상 허용되는 염기와 제약상 허용되는 염을 형성할 수 있다. 이들 예에서 용어 "제약상 허용되는 염"은 본 발명의 화합물의 무기 및 유기 염기 부가 염을 지칭한다. 이들 염은 마찬가지로 화합물(들)의 최종 단리 및 정제 동안 계내에서, 또는 그의 유리 산 형태의 정제된 화합물(들)을 적합한 염기, 예컨대 제약상 허용되는 금속 양이온의 히드록시드, 카르보네이트, 또는 비카르보네이트와, 암모니아와, 또는 제약상 허용되는 유기 1차, 2차, 또는 3차 아민과 별개로 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 대표적인 알칼리 또는 알칼리 토류 염으로는 리튬, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 및 알루미늄 염 등을 들 수 있다. 염기 부가 염의 형성에 유용한 대표적인 유기 아민으로는 에틸아민, 디에틸아민, 에틸렌디아민, 에탄올아민, 디에탄올아민, 피페라진 등을 들 수 있다 (예를 들어, Berge *et al.*, 상기 문헌 참조).

[0193] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 그 화합물의 반응을 본 발명의 접합체를 제조하는 목적으로 보다 편리하게 만들기 위해 바람직한 화합물에 대한 화학적 변형을 생성할 수 있다.

[0194] 본 발명의 특정 화합물은 특정 기하 또는 입체 이성질체 형태로 존재할 수 있다. 본 발명은 본 발명의 범위 내에 해당하는 바와 같은 시스- 및 트랜스-이성질체, *R*- 및 *S*-거울상이성질체, 부분입체이성질체, (d)-이성질체, (l)-이성질체, 이들의 라세미 혼합물, 및 이들의 다른 혼합물을 비롯한 모든 이러한 화합물을 고려한다. 추가의 비대칭 탄소 원자는 치환기, 예컨대 알킬 기에 존재할 수 있다. 모든 이러한 이성질체, 뿐만 아니라 이들의 혼합물은 본 발명에 포함되는 것으로 의도된다.

[0195] 예를 들어, 본 발명의 화합물의 특정 거울상이성질체가 바람직한 경우, 이는 비대칭 합성에 의해 또는 키랄 보조물로의 유도체화에 의해 제조될 수 있으며, 여기서, 생성된 부분입체이성질체 혼합물을 분리하고, 보조 기를 절단하여 순수한 바람직한 거울상이성질체를 제공한다. 대안적으로, 분자가 염기성 관능기, 예컨대 아미노, 또는 산성 관능기, 예컨대 카르복실을 함유하는 경우, 부분입체이성질체 염은 적절한 광학 활성 산 또는 염기로 형성되고, 관련 기술분야에 널리 공지된 분별 결정 또는 크로마토그래피 수단에 의해 이렇게 형성된 부분입체이성질체의 분할, 및 순수한 거울상이성질체의 후속 회수가 이어진다.

[0196] "알킬"은 특정된 탄소 원자의 수, 또는 특정되지 않는 경우 30개 이하의 탄소 원자를 갖는 완전히 포화된 시클릭 또는 아시클릭, 분지형 또는 비분지형 탄소 쇄 모이어티를 지칭한다. 예를 들어, 1 내지 8개의 탄소 원자의 알킬은 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 및 옥틸과 같은 모이어티, 및 이들 모이어티의 위치 이성질체인 모이어티를 지칭한다. 10 내지 30개의 탄소 원자의 알킬로는 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 헵타데실, 옥타데실, 노나데실, 에이코실, 헨에이코실, 도코실, 트리코실 및 테트라코실을 들 수 있다. 특정 실시양태에서, 직쇄 또는 분지쇄 알킬은 그의 백본에 30개 이하의 탄소 원자 (예를 들어, 직쇄에 대해 C_1-C_{30}, 분지쇄에 대해 C_3-C_{30}), 및 보다 바람직하게는 20개 이하를 갖는다.

[0197] "시클로알킬"은 각각 3 내지 12개의 탄소 원자를 갖는, 모노- 또는 비시클릭 또는 분지형 포화 카르보시클릭 고리를 의미한다. 마찬가지로, 바람직한 시클로알킬은 그들의 고리 구조에 5 내지 12개의 탄소 원자를 가지며, 보다 바람직하게는 고리 구조에 6 내지 10개의 탄소를 갖는다.

[0198] 탄소의 수가 달리 특정되지 않는다면, 본원에 사용된 바와 같은 "저급 알킬"은 상기 정의된 바와 같지만, 그의 백본 구조에 1 내지 10개의 탄소, 보다 바람직하게는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알킬 기, 예컨대 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, 및 tert-부틸을 의미한다. 마찬가지로, "저급 알케닐" 및 "저급 알키닐"은 유사한 쇄 길이를 갖는다. 본 출원 전반에 걸쳐, 바람직한 알킬 기는 저급 알킬이다. 특정 실시양태에서, 본원에 알킬로서 지정된 치환기는 저급 알킬이다.

[0199] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "아릴"은 고리의 각각의 원자가 탄소이거나 (즉, 카르보시클릭 아릴), 1개 이상의 원자가 헤테로원자인 (즉, 헤테로아릴) 3- 내지 12-원 치환되거나 비치환된 단일-고리 방향족 기를 포함한다. 바람직하게는, 아릴 기는 5- 내지 12-원 고리, 보다 바람직하게는 6- 내지 10-원 고리를 포함한다. 특정 실시양태에서, 아릴은 (C_6-C_{10})아릴을 포함한다. 용어 "아릴"은 또한 2개 이상의 탄소가 2개의 인접한 고리에 공통적이고, 고리 중 적어도 하나가 방향족이고, 예를 들어, 다른 시클릭 고리는 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 및/또는 헤테로시클릴일 수 있는 2개 이상의 시클릭 고리를 갖는 폴리시클릭 고리 계를 포함한다. 카르보시클릭 아릴 기로는 벤젠, 나프탈렌, 페난트렌, 페놀, 아닐린 등을 들 수 있다. 헤테로아릴 기는 그의 고리 구조가 1 내지 4개의 헤테로원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 방향족 3- 내지 12-원 고리 구조, 보다 바람직하게는 5- 내지 12-원 고리, 보다 바람직하게는 6- 내지 10-원 고리를 포함

한다. 특정 실시양태에서, 헤테로아릴은 (C_2-C_9)헤테로아릴을 포함한다. 헤테로아릴 기로는 예를 들어, 피롤, 푸란, 티오펜, 이미다졸, 옥사졸, 티아졸, 트리아졸, 피라졸, 피리딘, 피라진, 피리다진 및 피리미딘 등을 들 수 있다.

[0200] 용어 "아르알킬"은 관련 기술분야에 인식되어 있으며, 아릴 기로 치환된 알킬 기를 지칭한다.

[0201] 용어 "헤테로원자"는 관련 기술분야에 인식되어 있으며, 탄소 또는 수소 이외의 임의의 원소의 원자를 지칭한다. 예시적인 헤테로원자로는 붕소, 질소, 산소, 인, 황 및 셀레늄을 들 수 있다.

[0202] 용어 "헤테로시클릴" 또는 "헤테로시클릭 기"는 그의 고리 구조가 1 내지 4개의 헤테로원자를 포함하는 3- 내지 12-원 고리 구조, 보다 바람직하게는 5- 내지 12-원 고리, 보다 바람직하게는 6- 내지 10-원 고리를 지칭한다. 헤테로사이클은 또한 폴리사이클일 수 있다. 특정 실시양태에서, 헤테로시클릴은 (C_2-C_9)헤테로시클릴을 포함한다. 헤테로시클릴 기로는 예를 들어, 티오펜, 티안트렌, 푸란, 피란, 이소벤조푸란, 크로멘, 크산텐, 페녹사티인, 피롤, 이미다졸, 피라졸, 이소티아졸, 이소옥사졸, 피리딘, 피라진, 피리미딘, 피리다진, 인돌리진, 이소인돌, 인돌, 인다졸, 퓨린, 퀴놀리진, 이소퀴놀린, 퀴놀린, 프탈라진, 나프티리딘, 퀴녹살린, 퀴나졸린, 신놀린, 프테리딘, 카르바졸, 카르볼린, 페난트리딘, 아크리딘, 피리미딘, 페난트롤린, 페나진, 페나르사진, 페노티아진, 푸라잔, 페녹사진, 피롤리딘, 옥솔란, 티올란, 옥사졸, 피페리딘, 피페라진, 모르폴린, 락톤, 락탐, 예컨대 아제티디논 및 피롤리디논, 술탐, 술톤 등을 들 수 있다. 헤테로시클릭 고리는 1개 이상의 위치에서 예를 들어, 할로겐, 알킬, 아르알킬, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 히드록실, 아미노, 니트로, 술프히드릴, 이미노, 아미도, 포스페이트, 포스포네이트, 포스피네이트, 카르보닐, 카르복실, 실릴, 술파모일, 술피닐, 에테르, 알킬티오, 술포닐, 케톤, 알데히드, 에스테르, 헤테로시클릴, 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티, $-CF_3$, -CN 등과 같은 상기 기재된 바와 같은 치환기로 치환될 수 있다.

[0203] 용어 "헤테로아릴"은 그의 고리 구조가 적어도 1개의 헤테로원자, 바람직하게는 1 내지 4개의 헤테로원자, 보다 바람직하게는 1 또는 2개의 헤테로원자를 포함하는 치환되거나 비치환된 방향족 단일 고리 구조, 바람직하게는 5- 내지 7-원 고리, 보다 바람직하게는 5- 내지 6-원 고리를 포함한다. 용어 "헤테로아릴" 및 "헤트아릴"은 또한 2개 이상의 탄소가 2개의 인접한 고리에 공통적이고, 고리 중 적어도 하나가 헤테로방향족이고, 예를 들어, 다른 시클릭 고리는 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 및/또는 헤테로시클릴일 수 있는 2개 이상의 시클릭 고리를 갖는 폴리시클릭 고리 계를 포함한다. 헤테로아릴 기로는 예를 들어, 피롤, 푸란, 티오펜, 이미다졸, 옥사졸, 티아졸, 피라졸, 피리딘, 피라진, 피리다진, 및 피리미딘 등을 들 수 있다.

[0204] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "치환된"은 유기 화합물의 모든 허용가능한 치환기를 포함하는 것으로 고려된다. 넓은 측면에서, 허용가능한 치환기는 유기 화합물의 아시클릭 및 시클릭, 분지형 및 비분지형, 카르보시클릭 및 헤테로시클릭, 방향족 및 비방향족 치환기를 포함한다. 예시적인 치환기로는 예를 들어, 상기 본원에 기재된 것들을 들 수 있다. 허용가능한 치환기는 1개 이상이고, 적절한 유기 화합물에 대해 동일하거나 상이할 수 있다. 본 발명의 목적상, 헤테로원자, 예컨대 질소는 수소 치환기 및/또는 헤테로원자의 원자가를 충족시키는 본원에 기재된 유기 화합물의 임의의 허용가능한 치환기를 가질 수 있다. 본 발명은 유기 화합물의 허용가능한 치환기에 의해 어떤 식으로도 제한되는 것으로 의도되지 않는다. "치환" 또는 "로 치환된"은 이러한 치환이 치환된 원자 및 치환기의 허용되는 원자가에 따르고, 치환이 예를 들어, 재배열, 고리화, 제거 등에 의해서와 같은 변형을 자발적으로 겪지 않는 적합한 화합물을 초래한다는 암묵적인 단서를 포함함이 이해될 것이다.

[0205] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "할로겐"은 -F, -Cl, -Br, 또는 -I를 지칭한다.

[0206] 용어 "할로알킬"은 본원에 정의된 바와 같은 알킬 기를 통해 모 분자 모이어티에 부착된, 본원에 정의된 바와 같은 적어도 1개의 할로겐을 의미한다. 할로알킬의 대표적인 예로는 클로로메틸, 2-플루오로에틸, 트리플루오로메틸, 펜타플루오로에틸, 및 2-클로로-3-플루오로펜틸을 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0207] 본원에 사용된 바와 같이, 각각의 표현, 예를 들어, 알킬, m, n 등의 정의는, 그것이 임의의 구조에서 1회 초과 발생하는 경우, 동일한 구조에서 다른 곳에서의 그의 정의에 독립적인 것으로 의도된다.

[0208] <u>본 발명의 원리</u>

[0209] 본 발명은, 부분적으로, 임상 환경, 다른 POC, 또는 가정에서 PreP 요법에 대한 준수를 신속하게 시험하기 위한 새로운 생성물 및 방법의 개발에 의존한다. 방법은 면역원으로서 새로운 테노포비르 유도체를 사용하여 테노포비르에 대해 개발된 새로운 항체의 사용을 포함한다. 이들 항체는 소변 샘플을 비롯한 환자 샘플에서 테노포비르의 존재를 검출하기 위한, 측면 유동 면역진단 검정을 비롯한 면역진단 검정에 채용될 수 있다.

[0210] 보다 일반적으로, 본 발명은 생물학적 유체 샘플에서 NRTI의 존재 또는 부재를 편리하게 모니터링하기 위한 시약 (항체 및 면역원을 포함하나 이에 제한되지는 않음) 및 방법에 관한 것이다. 이러한 시약은 WO2017147186A1 (PCT/US17/018945) (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같은 시스템, 장치, 키트, 및 방법 중 임의의 것과 함께 사용될 수 있다.

[0211] 일부 실시양태에서, 본 발명은 NRTI가 처방된 환자에 대한 처방된 치료 계획에 대한 준수의 수준을 평가하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 개체가 HIV에 걸릴 위험이 있는 에피소드 전에 NRTI를 이전에 취한 개체로부터의 생물학적 유체 샘플에서 NRTI 수준을 평가하는 데 사용될 수 있다. 바람직하게는, 샘플은 소변이고, 환자의 소변에서의 NRTI는 환자가 처방된 NRTI를 취했다는 지시자이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 전혈, 혈장, 혈청 또는 타액이다. 따라서, 본 발명의 방법은 특정 치료에 대한 준수 및 반응을 모니터링하기 위한 새로운 시약 (예를 들어, NRTI 유도체, 및 그의 접합체 및 항체)을 제공한다.

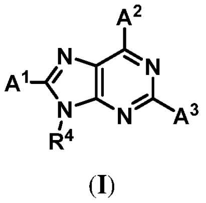
[0212] 새로운 시약을 사용하여, 본 발명은 소변에서 NRTI를 검출하기 위한 방법 및 시스템을 제공하며, 여기서, 시스템은 또한 시험 샘플이 정말 소변임을 보장하기 위해 대조군을 포함한다. NRTI 및 소변에 대한 대조군은 임의의 적합한 검정에 의해 확인될 수 있다. 적합한 검정은 효소 검정, 면역검정, 질량 분석법, 크로마토그래피, 전기영동, 바이오센서, 항체 마이크로어레이, 또는 이들의 임의의 조합 중 1종 이상을 포함할 수 있다. 면역검정이 사용되는 경우, 이는 효소-결합 면역흡착 면역검정 (ELISA), 경쟁적 검정, 방사성면역검정 (RIA), 측면 유동 면역검정, 웨스턴 블롯, 바이오센서를 사용한 면역검정, 면역침전 검정, 응집 검정, 혼탁도 검정 또는 혼탁측정 검정일 수 있다. 바람직한 방법은 신속한 면역검정 플랫폼, 예컨대 측면 유동을 이용하는 면역검정이다.

[0213] 따라서, 본 발명은 생물학적 샘플, 예컨대 소변에서 NRTI를 검출하기 위한 임의의 플랫폼을 포함한다. 한 실시양태에서, 시스템은 가정에서 또는 임상 환경에서 NRTI의 존재 또는 부재를 신속하게 검출할 수 있는 편리한 POC 장치를 제공한다. 치료 시점 장치의 한 비-제한적 예는 측면 유동 면역검정이다.

[0214] NRTI-유도체 면역원

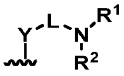
[0215] 한 측면에서, 본 발명은 면역검정에 이용하기 위한, 관심의 NRTI 또는 NRTI 대사물, 또는 그의 접합체에 대한 높은 특이성을 갖는 항체 또는 결합 상대의 제조를 제공한다. 항체는 약물 투여의 순응도의 모니터링을 허용하는 면역검정의 설계를 허용하기 위해 표적 NRTI 또는 NRTI 대사물에 대한 높은 특이성을 가져야 한다. 항체의 제조는 동물을 면역화하는 데 이용될 수 있는 유도체 (예를 들어, NRTI 유도체 접합체, 예컨대 TFV 유도체 접합체)의 합성을 요구한다. 유도체는 샘플에 존재할 수 있는 다른 물질에 대한 최소 교차 반응성을 갖는 표적 분자의 인식을 최대화하는 방식으로 설계된다. 유도체는 면역 인식을 향상시키고, 항체의 생산을 허용하는 운반체 단백질에 연결된다.

[0216] 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명은 화학식 (I)에 따른 구조를 갖는 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 NRTI-유도체 면역원을 제공한다.



[0217] (I)

[0218] 상기 식에서,

[0219] A^1, A^2, 또는 A^3 중 1개는  이고;

[0220] A^1, A^2, 및 A^3 중 2개는 수소 또는 NH_2이고;

[0221] Y는 결합, NR^3, O, 또는 S이고;

[0222] L은 C_1-C_{12}-알킬렌, C_3-C_7-시클로알킬렌, C_3-C_7-헤테로시클렌, 아릴렌, 또는 헤테로아릴렌이고, 이들의 각각은 =O, -OH, -SH, $-NO_2$, -CN, $-C_1$-C_4-알킬, $-C_1$-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로

아릴, $-OR^5$, $-NR^6R^7$, 또는 $-C(O)X^1$로부터 선택되는 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환될 수 있고;

[0223] R^1, R^2, R^3, 및 R^4는 각각 독립적으로 수소, C_1-C_6-알킬, C_1-C_6-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 헤테로아르알킬이고, C_1-C_6-알킬, C_1-C_6-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 헤테로아르알킬의 각각은 할로겐 =O, -OH, -SH, $-NO_2$, -CN, $-C_1$-C_4-알킬, $-C_1$-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로아릴, $-OR^5$, $-NR^6R^7$, 또는 $-C(O)X^2$로부터 선택되는 1개 이상의 치환기로 임의로 치환될 수 있고;

[0224] R^5, R^8, 및 R^{11}은 각각 독립적으로 C_1-C_6-알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, C_0-C_4-알킬-$P(O)(OH)_2$, 또는 $-C(O)X^4$이고;

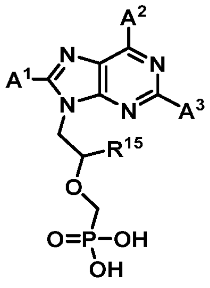
[0225] R^6, R^7, R^9, R^{10}, R^{12}, 및 R^{13}은 각각 독립적으로 수소, C_1-C_6-알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 또는 $-C(O)X^5$이거나;

[0226] R^6 및 R^7, R^9 및 R^{10}, 및 R^{12} 및 R^{13}은 그들이 부착된 원자와 함께 독립적으로 3- 내지 7-원 고리를 형성하고, 이는 할로겐 =O, -OH, -SH, $-NO_2$, -CN, $-C_1$-C_4-알킬, $-C_1$-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로아릴, $-OR^{11}$, $-NR^{12}R^{13}$, 또는 $-C(O)X^6$으로부터 선택되는 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환될 수 있고;

[0227] X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, 및 X^6은 각각 독립적으로 수소, C_1-C_6-알킬, C_1-C_6-할로알킬, C_2-C_6-알케닐, C_2-C_6-알키닐, 아릴, 아르알킬, 또는 헤테로아릴이고;

[0228] 임의적 치환기의 각각은 독립적으로 =O, -OH, -SH, $-NO_2$, -CN, $-C_1$-C_4-알킬, $-C_1$-C_4-할로알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 헤테로아릴, $-OR^8$, $-NR^9R^{10}$, 및 $-C(O)X^3$으로부터 선택되는 1개 이상의 치환기에 의해 더 치환될 수 있다.

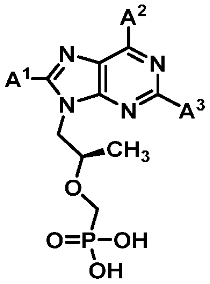
[0229] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)의 화합물은 화학식 (II)에 따른 구조, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 갖는다.



[0230] (II)

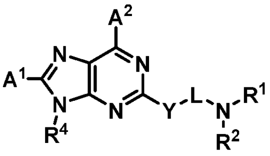
[0231] 상기 식에서, R^{15}는 C_1-C_4-알킬이다. 바람직하게는, R^{15}는 메틸이다.

[0232] 일부 실시양태에서, 화학식 (I) 또는 (II)의 화합물은 화학식 (IIa)에 따른 구조, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 갖는다.



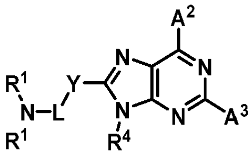
[0233] (IIa)

[0234] 일부 실시양태에서, 화학식 (I), (II), 또는 (IIa)의 화합물은 화학식 (III)에 따른 구조, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 갖는다. 바람직하게는, A^1 및 A^2는 수소이다.



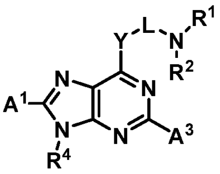
[0235] (III)

[0236] 일부 실시양태에서, 화학식 (I), (II), 또는 (IIa)의 화합물은 화학식 (IV)에 따른 구조, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 갖는다. 바람직하게는, A^2 및 A^3은 수소이다.



[0237] (IV)

[0238] 일부 실시양태에서, 화학식 (I), (II), 또는 (IIa)의 화합물은 화학식 (V)에 따른 구조, 또는 그의 제약상 허용되는 염을 갖는다. 바람직하게는, A^1 및 A^3은 수소이다.

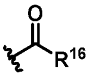


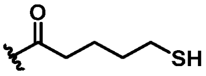
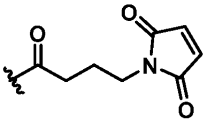
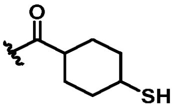
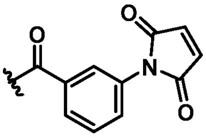
[0239] (V)

[0240] 일부 실시양태에서, Y가 NR^3인 화학식 (I), (II), (IIa), (III), (IV), 또는 (V)의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염이 본원에서 제공된다. 바람직하게는, R^3은 수소이다.

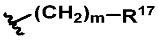
[0241] 다른 실시양태에서, L이 $(CH_2)_n$이고, n이 1 내지 6인 화학식 (I), (II), (IIa), (III), (IV), 또는 (V)의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염이 본원에서 제공된다. 바람직하게는, n은 2이다.

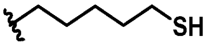
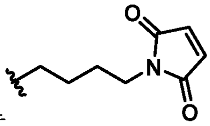
[0242] 특정 실시양태에서, R^1이 할로겐 =O, -OH, -SH, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 및 헤테로아릴로부터 선택되는 1개 이상의 치환기로 임의로 치환된 C_1-C_6-알킬인 화학식 (I), (II), (IIa), (III), (IV), 또는 (V)의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염이 본원에서 제공된다. 일부 이러한 실시양태에서, 임의적 치환기의 각각은 독립적으로 -OH, -SH, -C_1-C_4-알킬, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 및 헤테로아릴로부터 선택되는 1개 이상의 치환기에 의해 더 치환될 수 있다.

[0243] 특정 다른 실시양태에서, R^1이  이고, R^{16}이 C_1-C_6-알킬, C_3-C_7-시클로알킬, 또는 아릴이고, 이들의 각각은 -SH, C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 또는 헤테로아릴에 의해 임의로 치환될 수 있는 것인 화학식 (I), (II), (IIa), (III), (IV), 또는 (V)의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염이 본원에서 제공된다. 일부 이러한 실시양태에서, R^1은

[0244] ; ; ; 또는 

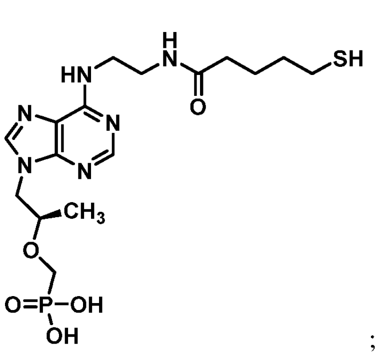
[0245] 이다.

[0246] 대안적 실시양태에서, R^1이  이고, m이 1 내지 6이고; R^{17}이 C_3-C_7-시클로알킬, C_3-C_7-헤테로시클릴, 아릴, 또는 헤테로아릴인 화학식 (I), (II), (IIa), (III), (IV), 또는 (V)의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염이 본원에서 제공된다. 일부 이러한 실시양태에서, R^1은

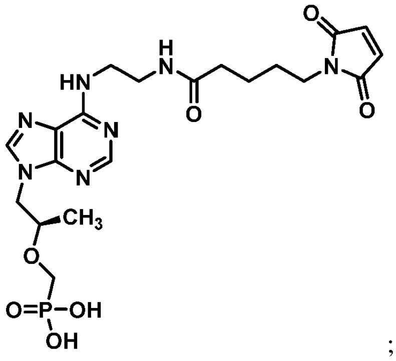
 또는  이다.

[0247] 특정 실시양태에서, NRTI는 테노포비르 유도체이고, 면역원은

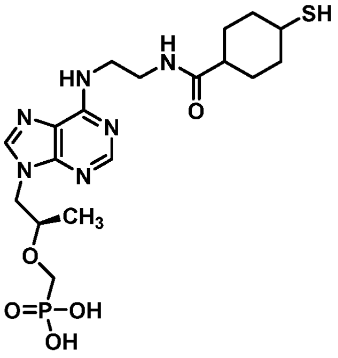
[0248]



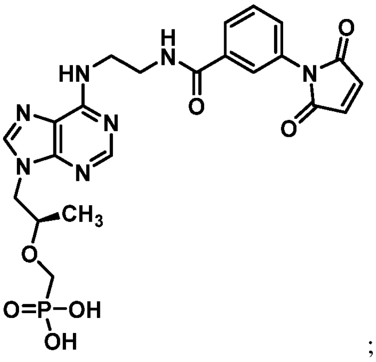
;



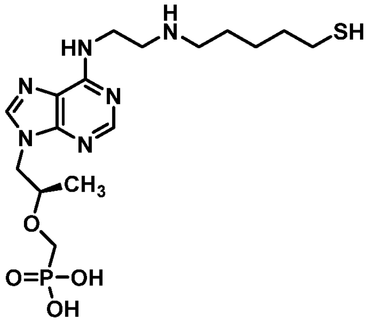
;



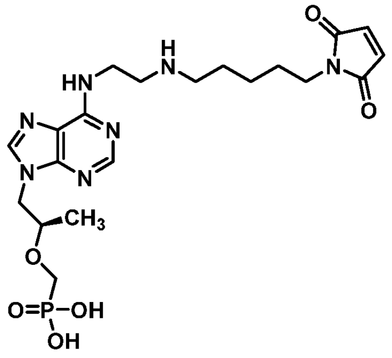
;



;



;및



[0249] 로부터 선택되는 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다.

[0250] 본원에 기재된 대사물 중 임의의 것은 대사물 유도체를 생성하는 데 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, TFV 대사물 (또는 TFV 유사체)이 생성된다. 특정 실시양태에서, TAF 대사물 (또는 TAF 유사체)이 생성된다. 특정 실시양태에서, TDF 대사물 (또는 TDF 유사체)이 생성된다. 특정 실시양태에서, FTC 대사물 (또는 TFV 유사체)이 생성된다.

[0251] <u>항체 제조를 위한 면역원성 접합체</u>

[0252] 상기 언급된 화합물 중 임의의 것 (예를 들어, NRTI 유도체)은 항체 제조를 위한 적합한 면역원을 생성하기 위해 면역원성 조성물에 접합될 수 있다. 이러한 면역원은 운반체 단백질을 포함할 수 있다. 운반체는 단백질, 지질, 지질화된 단백질, 바이러스, 펩티드, 또는 글리코펩티드의 덴드리머일 수 있다.

[0253] 운반체 단백질의 예는 파상풍 톡소이드 (TT), 디프테리아 톡소이드 (DT), 디프테리아 독소 교차-반응 물질 197 (CRM197), TT의 단편 C. 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH), 소 혈청 알부민 (BSA), 단백질 D, 외막 단백질 (OMP) 및 뉴몰리신, 디프테리아 독소 교차-반응 물질 197 (CRM197) 또는 다른 DT 점 돌연변이체, 예컨대 CRM176, CRM228, CRM45 (Uchida et al. *J. Biol. Chem.* 218; 3838-3844, 1973), CRM 9, CRM 45, CRM102, CRM 103, 및 CRM107 및 관련 기술분야에 기재된 다른 돌연변이이다.

[0254] 특정 실시양태에서, 운반체 단백질은 KLH이다. 특정 실시양태에서, 운반체 단백질은 BSA이다.

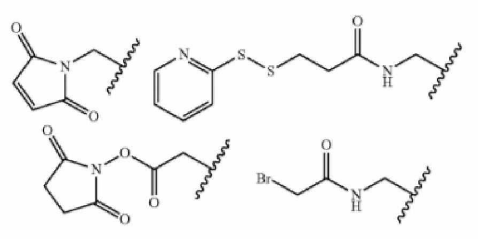
[0255] 다수의 링커 화합물은 본 발명의 화합물을 운반체 단백질에 접합시키는 데 사용될 수 있다. 링커는 단지 운반

체 단백질 상의 반응성 잔기 (예를 들어, 시스테인 또는 리신) 및 선택된 화합물과 공유적으로 결합할 필요가 있다. 따라서, 운반체 단백질 잔기와 반응하고, 본 발명의 상대적으로 안정한 접합체 (부위-특이적 또는 다른 것)를 제공하는 데 사용될 수 있는 임의의 링커는 본원의 교시내용과 부합한다.

[0256] 다수의 부합하는 링커는 유리하게는 친핵성인 환원된 시스테인 및 리신에 결합할 수 있다. 환원된 시스테인 및 리신을 포함하는 접합 반응으로는 티올-말레이미드, 티올-할로게노 (아실 할라이드), 티올-엔, 티올-인, 티올-비닐술폰, 티올-비술폰, 티올-티오술포네이트, 티올-피리딜 디술피드 및 티올-파라플루오로 반응을 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 본원에 추가로 논의된 바와 같이, 티올-말레이미드 생물접합은 그의 빠른 반응 속도 및 온건한 접합 상태로 인해 가장 폭넓게 사용되는 접근법 중 하나이다.

[0257] 본 발명의 링커는 유리 시스테인을 비롯한 시스테인 상의 반응성 티올 친핵체에 연결될 수 있다. 이 목적으로, 시스테인은 본원에 제시된 바와 같은 다양한 환원제, 예컨대 DTT 또는 TCEP 또는 온건한 환원제로의 처리에 의해 링커 시약과의 접합에 대해 반응성으로 만들어질 수 있다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 링커는 리신에 연결될 수 있다.

[0258] 일부 실시양태에서, 링커는 운반체 단백질 상의 친핵성 관능기와의 반응을 위한 친전자성 관능기를 함유한다. 운반체 단백질 상의 친핵성 기로는 (i) N-말단 아민 기, (ii) 측쇄 아민 기, 예를 들어, 리신, (iii) 측쇄 티올 기, 예를 들어, 시스테인, 및 (iv) 운반체 단백질이 글리코실화되는 경우 당 히드록실 또는 아미노 기를 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 아민, 티올, 및 히드록실 기는 친핵성이며, (i) 말레이미드 기 (ii) 활성화된 디술피드, (iii) 활성 에스테르, 예컨대 NHS (N-히드록시숙신이미드) 에스테르, HOBt (N-히드록시벤조트리아졸) 에스테르, 할로포르메이트, 및 산 할라이드; (iv) 알킬 및 벤질 할라이드, 예컨대 할로아세트아미드; 및 (v) 알데히드, 케톤, 카르복실 (및 이들의 일부는 하기와 같이 예시됨)을 비롯한 링커 모이어티 및 링커 시약 상의 친전자성 기와 고유 결합을 형성하도록 반응할 수 있다.

[0259] 

[0260] <u>본 발명의 항체</u>

[0261] 본원에 기재된 NRTI 유도체, 또는 그의 접합체 중 어느 하나와 반응성인 (예를 들어, 그에 대해 발생된 및/또는 그에 특이적으로 결합하는) 항체가 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것 (예를 들어, NRTI 유도체), 및/또는 그의 면역원성 접합체에 결합할 수 있다. 항체는 폴리클로날, 키메라, 인간화, 또는 모노클로날일 수 있으며, 용어 항체는 폴리클로날, 키메라, 인간화, 및 모노클로날 항체, 및 그의 기능적 단편을 포괄하는 것으로 의도된다. 용어 폴리클로날 및 모노클로날은 항체 제제의 균질성의 정도를 지칭하며, 특정한 제조 방법에 제한되는 것으로 의도되지 않는다.

[0262] 항-NRTI 유도체 접합체 항체는 적절한 면역원, 예컨대 본 발명의 면역원 화합물, 그의 유사체 또는 유도체, 및 그의 접합체에 대해 발생될 수 있다.

[0263] 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것 (예를 들어, NRTI 유도체, 또는 유사체)을 포함하는 면역원성 조성물은 전형적으로 적합한 대상체 (예를 들어, 토끼, 염소, 마우스 또는 다른 포유동물)를 면역원으로 면역화함으로써 항체를 제조하는 데 사용된다. 적절한 면역원성 제제는 예를 들어, 운반체 단백질에 접합된 화학적으로 합성된 NRTI 유도체를 함유할 수 있다. 제제는 아주반트, 예컨대 프로인트 완전 또는 불완전 아주반트, 또는 유사한 면역자극제를 더 포함할 수 있다. 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것 (예를 들어, NRTI 유도체, 또는 유사체)을 포함하는 면역원성 조성물로의 적합한 대상체의 면역화는 폴리클로날 항-NRTI 유도체 접합체 항체 반응을 유도한다.

[0264] 본 발명의 또다른 측면은 항-NRTI 유도체 접합체 항체의 용도에 관한 것이다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "항체"는 이뮤노글로불린 분자 및 이뮤노글로불린 분자의 면역학적 활성 부분, 즉, NRTI 유도체, 또는 그의 접합체에 특이적으로 결합하는 (그와 면역작용하는) 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 지칭한다. 이뮤노글로불린 분자의 면역학적 활성 부분의 예로는 항체를 효소, 예컨대 펩신으로 처리함으로써 생성될 수 있는 F(ab) 및

$F(ab')_2$ 단편을 들 수 있다. 본 발명은 NRTI 유도체, 또는 그의 접합체에 결합하는 폴리클로날 및 모노클로날 항체를 제공한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "모노클로날 항체" 또는 "모노클로날 항체 조성물"은 NRTI 유도체, 또는 그의 접합체의 특정 화학기와 면역반응할 수 있는 항원 결합 부위의 단지 1개의 종을 함유하는 항체 분자의 집단을 지칭할 수 있다. 따라서, 모노클로날 항체 조성물은 전형적으로 그것이 면역반응하는 특정 NRTI 유도체, 또는 그의 접합체에 대해 단일 결합 친화성을 나타낸다.

[0265] 폴리클로날 항-NRTI 유도체 접합체 항체는 적합한 대상체를 NRTI 유도체 접합체를 포함하는 면역원성 조성물로 면역화함으로써 상기 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. NRTI 유도체 접합체에 대해 지정된 항체 분자는 포유동물로부터 (예를 들어, 혈액으로부터) 단리되고, 널리 공지된 기법, 예컨대 단백질 A 크로마토그래피에 의해 추가로 정제되어 IgG 분획을 얻을 수 있다. 면역화 후 적절한 시간에, 즉, 항-NRTI 유도체 접합체 항체 역가가 최고인 때에, 항체-생산 세포는 대상체로부터 얻어지고, 표준 기법, 예컨대 원래 문헌 [Kohler and Milstein (1975) *Nature* 256:495-497)]에 의해 기재된 하이브리도마 기법 (또한, 문헌 [Brown *et al.* (1981) *J. Immunol.* 127:539-46]; [Brown *et al.* (1980) *J. Biol. Chem.* 255:4980-83]; [Yeh *et al.* (1976) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76:2927-31]; 및 [Yeh *et al.* (1982) *Int. J. Cancer* 29:269-75] 참조), 보다 최근의 인간 B 세포 하이브리도마 기법 (Kozbor *et al.* (1983) *Immunol. Today* 4:72), EBV-하이브리도마 기법 (Cole *et al.* (1985), *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96) 또는 트리오마 기법에 의해 모노클로날 항체를 제조하는 데 사용될 수 있다. 모노클로날 항체 하이브리도마를 제조하기 위한 기술은 널리 공지되어 있다 (일반적으로 문헌 [R. H. Kenneth, in *Monoclonal Antibodies: A New Dimension In Biological Analyses*, Plenum Publishing Corp., New York, New York (1980)]; [E. A. Lerner (1981) *Yale J. Biol. Med.*, 54:387-402]; [M. L. Gefter *et al.* (1977) *Somatic Cell Genet.* 3:231-36] 참조). 간략하게, 불멸 세포주 (전형적으로 골수종)를 상기 기재된 바와 같은 면역원성 조성물로 면역화된 포유동물로부터의 림프구 (전형적으로 비장세포)에 융합시키고, 생성된 하이브리도마 세포의 배양 상청액을 스크리닝하여 NRTI 유도체, 또는 그의 접합체가 결합하는 모노클로날 항체를 생산하는 하이브리도마를 확인한다.

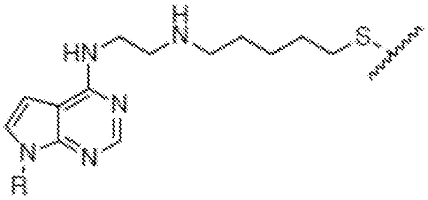
[0266] 림프구 및 불멸화된 세포주를 융합시키는 데 사용되는 많은 널리 공지된 프로토콜 중 임의의 것은 항-NRTI 유도체 접합체 모노클로날 항체를 생성하는 목적을 위해 적용될 수 있다 (즉, 문헌 [G. Galfre *et al.* (1977) *Nature* 266:550-52]; [Gefter *et al. Somatic Cell Genet.*, 상기 인용됨]; [Lerner, *Yale J. Biol. Med.*, 상기 인용됨]; [Kenneth, *Monoclonal Antibodies*, 상기 인용됨] 참조). 더욱이, 통상의 기술자는 또한 유용할 이러한 방법의 많은 변형이 있음을 인정할 것이다. 전형적으로, 불멸 세포주 (예를 들어, 골수종 세포주)는 림프구와 동일한 포유동물 종으로부터 유래된다. 예를 들어, 뮤린 하이브리도마는 본 발명의 면역원성 제제로 면역화된 마우스로부터의 림프구를 불멸화된 마우스 세포주와 융합시킴으로써 제조될 수 있다. 바람직한 불멸 세포주는 히포크산틴, 아미노프테린 및 티미딘을 함유하는 배양 배지 ("HAT 배지")에 민감성인 마우스 골수종 세포주이다. 다수의 골수종 세포주 중 임의의 것, 즉, P3-NS1/1-Ag4-1, P3-x63-Ag8.653 또는 Sp2/O-Ag14 골수종 주는 표준 기법에 따른 융합 상대로서 사용될 수 있다. 이들 골수종 주는 ATCC로부터 이용가능하다. 전형적으로, HAT-민감성 마우스 골수종 세포는 폴리에틸렌 글리콜 ("PEG")을 사용하여 마우스 비장세포에 융합된다. 그 후, 융합으로부터 초래된 하이브리도마 세포는 비융합된 및 비생산적으로 융합된 골수종 세포를 살해하는 HAT 배지를 사용하여 선택된다 (비융합된 비장세포는 이들이 형질전환되지 않기 때문에 수 일 후에 죽음). 본 발명의 모노클로날 항체를 생산하는 하이브리도마 세포는 하이브리도마 배양 상청액을 NRTI 유도체, 또는 그의 접합체에 결합하는 항체에 대해 스크리닝함으로써, 즉, 본원에 기재된 바와 같은 ELISA 검정을 사용함으로써 검출된다.

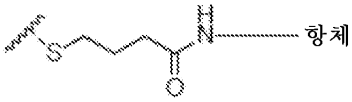
[0267] 모노클로날 항체-분비 하이브리도마를 제조하기 위한 대안으로서, 모노클로날 항-NRTI 유도체 접합체 항체는 NRTI 유도체 접합체를 갖는 재조합 조합적 이뮤노글로불린 라이브러리 (예를 들어, 항체 파지 제시 라이브러리)를 스크리닝하고, 그에 의해 NRTI 유도체, 또는 그의 접합체에 결합하는 이뮤노글로불린 라이브러리 구성원을 단리함으로써 확인되고 단리될 수 있다. 파지 제시 라이브러리를 생성하고 스크리닝하기 위한 키트는 시판된다 (예를 들어, 파마시아 (Pharmacia) *재조합 파지 항체 시스템 (Recombinant Phage Antibody System)*, 카탈로그 번호 27-9400-01; 및 스트라타진 (Stratagene) *SurfZAP™ 파지 제시 키트 (Phage Display Kit)*, 카탈로그 번호 240612). 추가적으로, 항체 제시 라이브러리를 생성하고 스크리닝하는 데 사용하기에 특히 적합한 방법 및 시약의 예는 예를 들어, 랜더 (Ladner) 등 미국 특허 제5,223,409호; 강 (Kang) 등 PCT 국제 공개 제WO 92/18619호; 도워 (Dower) 등 PCT 국제 공개 제WO 91/17271호; 윈터 (Winter) 등 PCT 국제 공개 WO 92/20791; 마클랜드 (Markland) 등 PCT 국제 공개 제WO 92/15679호; 브라이틀링 (Breitling) 등 PCT 국제 공개 WO 93/01288; 맥카퍼티 (McCafferty) 등 PCT 국제 공개 제WO 92/01047호; 개러드 (Garrard) 등 PCT 국제 공개 제

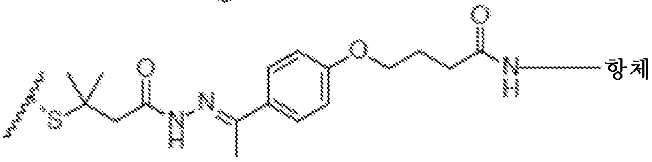
WO 92/09690호; 랜더 등 PCT 국제 공개 제WO 90/02809호; 문헌 [Fuchs *et al.* (1991) *Bio/Technology* 9:1369-1372]; [Hay *et al.* (1992) *Hum. Antibod. Hybridomas* 3:81-85]; [Huse *et al.* (1989) *Science* 246:1275-1281]; [Griffiths *et al.* (1993) *EMBO J.* 12:725-734]; [Hawkins *et al.* (1992) *J. Mol. Biol.* 226:889-896]; [Clackson *et al.* (1991) *Nature* 352:624-628]; [Gram *et al.* (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:3576-3580]; [Garrard *et al.* (1991) *Bio/Technology* 9:1373-1377]; [Hoogenboom *et al.* (1991) *Nucleic Acids Res.* 19:4133-4137]; [Barbas *et al.* (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7978-7982]; 및 [McCafferty *et al. Nature* (1990) 348:552-554]에서 발견될 수 있다.

[0268] 추가적으로, 표준 재조합 DNA 기법을 사용하여 제조될 수 있는 인간 및 비-인간 부분 둘 다를 포함하는 재조합 항-NRTI 유도체 접합체 항체, 예컨대 키메라 및 인간화 모노클로날 항체는 본 발명의 범위 내이다. 이러한 키메라 및 인간화 모노클로날 항체는 관련 기술분야에 공지된 재조합 DNA 기법에 의해, 예를 들어 로빈슨 (Robinson) 등 국제 출원 제PCT/US86/02269호; 아키라 (Akira) 등 유럽 특허 출원 184,187; 타니구치, 엠 (Taniguchi, M.), 유럽 특허 출원 171,496; 모리슨 (Morrison) 등 유럽 특허 출원 173,494; 뉴버거 (Neuberger) 등 PCT 국제 공개 제WO 86/01533호; 카빌리 (Cabilly) 등 미국 특허 제4,816,567호; 카빌리 등 유럽 특허 출원 125,023; 문헌 [Better *et al.* (1988) *Science* 240:1041-1043]; [Liu *et al.* (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439-3443]; [Liu *et al.* (1987) *J. Immunol.* 139:3521-3526]; [Sun *et al.* (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:214-218]; [Nishimura *et al.* (1987) *Canc. Res.* 47:999-1005]; [Wood *et al.* (1985) *Nature* 314:446-449]; 및 [Shaw *et al.* (1988) *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-1559)]; [Morrison, S. L. (1985) *Science* 229:1202-1207]; [Oi *et al.* (1986) *BioTechniques* 4:214]; 윈터 미국 특허 5,225,539; 문헌 [Jones *et al.* (1986) *Nature* 321:552-525]; [Verhoeyan *et al.* (1988) *Science* 239:1534]; 및 [Beidler *et al.* (1988) *J. Immunol.* 141:4053-4060]에 기재된 방법을 사용하여 제조될 수 있다.

[0269] 상기 언급된 항체 중 임의의 것, 또는 그의 접합체는 표준 약물-항체 링커, 예컨대 디술피드 링커를 사용하여 연결될 수 있다 (하기 특정 실시양태 참조).







[0270]

[0271] 또다른 측면에서, 본 발명은 테노포비르 또는 테노포비르 유도체의 테노포비르 모이어티에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 항체는 이뮤노글로불린 중쇄 및 이뮤노글로불린 경쇄를 갖는다. 일부 실시양태에서, 항체는 단일-쇄 항체, 중쇄 단독 항체, Fv 단편, Fab 단편, $F(ab)_2$ 단편 등이다. 일부 실시양태에서, 항체는 폴리클로날 또는 바람직하게는, 모노클로날 항체이다. 항체의 설계 및 제조는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있다.

[0272] 하기 실시예에 기재된 바와 같이, 폴리클로날 및 모노클로날 항체는 테노포비르-유도체 NRTI의 대사물을 검출하기 위해 개발되었다. 모노클로날 항체는 하기 아미노산 서열을 포함한다:

[0273] <표 1>

[0274] 항체 서열

항체	전장 서열	가변 영역	CDR1	CDR2	CDR3
237L	MDMRAPTQLLGLLLLWLPGARCADIVMTQTPSSVSAAVGGTVTINCQASQSIGNYCSWYQQKPGQPPKLLIYLASNLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDLECADAATYYCQSNYWTTSVNYGPFGGGTEVVVEGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 1)	ASQSIGNYCSWYQQKPGQPPKLLIYLASNLASGVPSRFKGSGSGTQFTLTISDLECADAATYYCQSNYWTTSVNYGP (SEQ ID NO: 11)	QASQSIGNYCS (SEQ ID NO: 17)	LASNLAS (SEQ ID NO: 25)	QSNYWTTSVNYGP (SEQ ID NO: 33)
237H	METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLNRYSVGWVRQAPGEGLEWIGYIYRTGTTWYANWVKGRFTISKTSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARTGTSIATDIWGPGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPT	IDLNRYSVGWVRQAPGEGLEWIGYIYRTGTTWYANWVKGRFTISKTSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARTGTSIATDI (SEQ ID NO: 12)	IDLNRYSVG (SEQ ID NO: 18)	YIYRTGTTWYANWV (SEQ ID NO: 26)	TGTSIATDI (SEQ ID NO: 34)

[0275]

	CPPPELLGRSSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQDDPEVQFTWYINNEQVRTARPPLREQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPTVLDSDGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO: 2)				
145L	MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQTPSSVSAAVGGTVTINCQSSQNVYKDNYLAWYQQKPGQPPKRLIYYASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCAGAYDCRSGDCRAFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTIVCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYNSHKEYTCKVTQGTTSVVQSFNRGDC (SEQ ID NO: 3)	SSQNVYKDNYLAWYQQKPGQPPKRLIYYASTLASGVPSRFSGSGSGTQFTLTISDVQCDDAATYYCAGAYDCRSGDCRA (SEQ ID NO: 13)	QSSQNVYKDNYLA (SEQ ID NO: 19)	YASTLAS (SEQ ID NO: 27)	AGAYDCRSGDCRA (SEQ ID NO: 35)
145H	METGLRWLLLVAVLKGVQCQSVEESGGRLVTPGGSLTLTCTASGFSLSSYNMQWVRQAPGKGLEYIGYIFSTGFTYYASWAKGRFTISKTSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGSTAKGDRDIWGPGTLVTVSLGQPKAPSVFPLAPCCGDTPSSTVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSSQPVTCNVAHPATNTKVDKTVAPSTCSKPTCPPPELLGRSSVFIFPPKPKDTLMISRTPEVT	FSLSSYNMQWVRQAPGKGLEYIGYIFSTGFTYYASWAKGRFTISKTSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGSTAKGDRDI (SEQ ID NO: 14)	FSLSSYNMQ (SEQ ID NO: 20)	YIFSTGFTYYASWA (SEQ ID NO: 28)	GSTAKGDRDI (SEQ ID NO: 36)

[0276]

	CVVVDVSQDDPEVQFT WYINNEQVRTARPPLR EQQFNSTIRVVSTLPIAH QDWLRGKEFKCKVHNK ALPAPIEKTISKARGQPL EPKVYTMGPPREELSSR SVSLTCMINGFYPSDISV EWEKNGKAEDNYKTTP TVLDSDGSYFLYSKLSVP TSEWQRGDVFTCSVM HEALHNHYTQKSISRSP GK (SEQ ID NO: 4)				
33L	MDTRAPTQLLGLLLLWL PGARCAEVVMTQTPAS VEAAVGDTVTIKCQAS QSISSYLNWYQQKPGQ PPKLLIYRASNLRSGVPS RFKGSGSGTQFTLTISDL ECADAATYYCQSNYYSR STNYVVPFGGGTEVVV KGDPVAPTVLIFPPSAD LVATGTVTIVCVANKYF PDVTVTWEVDGTTQTT GIENSKTPQNSADCTYN LSSTLTLTSTQYNSHKEY TCKVTQGTTSVVQSFN RGDC (SEQ ID NO: 5)	ASQSISSYLNWYQ QKPGQPPKLLIYR ASNLRSGVPSRFK GSGSGTQFTLTIS DLECADAATYYC QSNYYSRSTNYVV P (SEQ ID NO: 15)	QASQSISSY LN (SEQ ID NO: 21)	RASNLRS (SEQ ID NO: 29)	QSNYYSRST NYVVP (SEQ ID NO: 37)
33H	METGLRWLLLVAVLKG VQCQSLEESGGRLVTPG TPLTLTCTVSGFSLSSSS MGWVRQAPGKGLEWI GYIYAGSGSRYYASWA NGRFTISKTSTTVDLKIT SPTTEDTATYFCGRVTS NGDNNIWGPGTLVTVS SGQPKAPSVFPLAPCCG DTPSSTVTLGCLVKGYL PEPVTVTWNSGTLTNG VRTFPSVRQSSGLYSLSS VVSVTSSSQPVTCNVAH PATNTKVDKTVAPSTCS KPTCPPPELLGRSSVFIF PPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQDDPEVQFT WYINNEQVRTARPPLR	FSLSSSSMGWVR QAPGKGLEWIGYI YAGSGSRYYASW ANGRFTISKTSTTV DLKITSPTTEDTAT YFCGRVTSNGDN NI (SEQ ID NO: 16)	FSLSSSSMG (SEQ ID NO: 22)	YIYAGSGSR YYASWAN G (SEQ ID NO: 30)	VTSNGDNN I (SEQ ID NO: 38)

[0277]

	EQQFNSTIRVVSTLPIAHQDWLRGKEFKCKVHNKALPAPIEKTISKARGQPLEPKVYTMGPPREELSSRSVSLTCMINGFYPSDISVEWEKNGKAEDNYKTTPTVLDSDGSYFLYSKLSVPTSEWQRGDVFTCSVMHEALHNHYTQKSISRSPGK (SEQ ID NO: 6)				
MHC 2900LC	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQGTHVPLTFGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (SEQ ID NO: 7)	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQGTHVPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 41)	RSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO: 23)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 31)	SQGTHVPLT (SEQ ID NO: 39)

[0278]

MHC 2900HC	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFTDYYMSWVRQPPGKALEWLGLIRNKAKGYTTEYSASVKGRFTISRDNSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCAREALPYWGQGTLVTVSAAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK (SEQ ID NO: 9)	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFTDYYMSWVRQPPGKALEWLGLIRNKAKGYTTEYSASVKGRFTISRDNSQSILYLQMNTLRAEDSATYYCAREALPYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 42)	GFTFTDY (SEQ ID NO: 24)	RNKAKGYT (SEQ ID NO: 32)	EALPY (SEQ ID NO: 40)

[0279]

[0280] 일부 실시양태에서, 경쇄는 서열식별번호: 17, 19, 21, 및 30으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역; 서열식별번호: 25, 27, 29, 및 31로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포

함하는 CDR2 영역; 및/또는 서열식별번호: 33, 35, 37, 및 32로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 영역을 갖는다.

[0281] 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 11, 13, 15, 또는 41에 제시된 바와 같은 가변 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0282] 일부 실시양태에서, 중쇄는 서열식별번호: 18, 20, 22, 및 23으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 영역; 서열식별번호: 26, 28, 30, 및 31로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 영역; 및/또는 서열식별번호: 34, 36, 38, 및 39로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 영역을 포함한다.

[0283] 일부 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 12, 14, 16, 또는 42에 제시된 바와 같은 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0284] 또한, 본원에 개시된 항체 중 임의의 1종 이상을 포함하는 항체 제제가 개시된다. 일부 실시양태에서, 제제는 모노클로날 항체 제제이다.

[0285] 또한, 본원에 개시된 항체 중 임의의 것의 중쇄 또는 경쇄를 코딩하는 단리된 핵산 분자가 제공된다. 일부 실시양태에서, 핵산은 클로닝 벡터, 발현 벡터, 이종 재조합 벡터 및 바이러스 통합 벡터로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0286] 또한, 본원에 제공된 핵산 중 임의의 것으로 형질전환된 세포가 개시된다. 일부 실시양태에서, 세포는 포유동물 세포이다. 포유동물 세포의 일부 비-제한적 예로는 토끼, 햄스터, 마우스, 래트, 닭, 염소, 원숭이, 양, 돼지, 말, 소, 또는 인간 세포를 들 수 있다.

[0287] 항체에 대해 상기 논의된 표적 에피토프에 대한 결합 특이성을 갖는 올리고뉴클레오티드 또는 펩티드 (즉, 압타머)는 또한 본원에 기재된 항체에 사용될 수 있다.

[0288] <u>측면 유동 면역검정</u>

[0289] 측면 유동 면역검정은 시약 (예를 들어, 항-NRTI 유도체 접합체 항체, 예컨대 항-TFV 유도체 접합체 또는 항-TFV 항체)의 라인이 적용될 수 있는 면역검정을 위한 고체 지지체로서 막, 바람직하게는 셀룰로스 막, 예컨대 니트로셀룰로스의 스트립을 이용한다. 다수의 소분자 (예를 들어, NRTI, 예컨대 TFV, TAF, 또는 TDF)는 시약의 적용 영역의 위치를 공간적으로 분리함으로써 검정될 수 있다. 추가의 시약 패드는 다른 중요 시약 및 샘플 컨디셔닝 물질을 위한 시험 라인(들) 아래서 사용될 수 있다. 샘플이 시험 장치에 첨가되는 경우, 용액은 시험 라인 아래의 패드에 걸쳐 유동하고, 샘플 컨디셔닝 화합물 및 검정을 위한 중요 시약 (예를 들어, 검출 표지, 예컨대 본원에 개시된 항체에 커플링된 NRTI 유도체 접합체, 예컨대 HRP-NRTI 유도체 또는 HRP-TFV 유도체, 또는 이러한 NRTI 유도체에 대한 항체)을 재수화한 후, 특이적 시험 라인에 걸쳐 통과하고, 시각적 지시일 수 있는 검출 표지 (콜로이드성 금, 색상화된 라텍스 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다른 표지) 또는 신호 (형광, 화학발광)를 측정하는 기기를 요구하는 표지를 침착시킬 것이다. 추가의 물질은 시험 라인에 의해 통과하는 유체를 흡수하기 위해 시험 라인 위에 첨가될 수 있다.

[0290] 최종 결과는 대조군 라인과 비교될 수 있는 색상화된 라인 또는 스팟의 출현 또는 부재이다. 일부 예에서, 대조군 라인은 시험되는 샘플이 정말 소변인 것을 보장하기 위한 소변의 마커의 검출에 유용하다. 바람직하게는, 소변의 마커는 시험되는 샘플이 소변임을 입증하기 위해 다른 통상적인 매트릭스 (즉, 혈액)에서의 양에 비해 소변에서 유의하게 상이한 농도로 존재한다.

[0291] 한 실시양태에서, 시스템은 베이스 또는 지지체 층 및 액체 샘플이 힘에 의해 또는 모세관 작용에 의해 유동 경로를 따라 유동할 수 있는 적어도 1개의 흡수 층을 포함하는 흡수 매트릭스를 포함할 수 있다. 베이스 층은 또한 흡수성일 수 있으며, 액체 샘플의 유동 경로가 흡수 매트릭스 및 베이스 층 둘 다를 통해 통과하도록, 흡수 매트릭스와 유체 연통될 수 있다. 유동 경로는 적어도 2개의 영역을 포함하며, 제1 영역은 샘플 적용 영역이고, 제2 영역은 검출 영역이다.

[0292] 보다 작은 분자는 단지 1종의 항체 또는 결합 상대가 관심의 약물을 검출하는 데 이용되는 경쟁적 포맷을 사용하여 검출될 수 있다. 검정은 약물이 존재하는 경우 라인이 나타나는 양성 리드, 또는 약물이 존재하는 경우 라인이 사라지는 음성 리드를 제공하는 방법으로 구성될 수 있다.

[0293] 본 발명의 한 실시양태에서, 시험 장치는 단일 약물 물질을 측정하는 음성 판독을 갖는 측면 유동 포맷을 이용

한 경쟁적 면역검정이다. 측면 유동 스트립은 완충 및 샘플 처리 물질을 함유하는 샘플 패드를 갖는다. 샘플 패드는 약물 물질의 유도체에 연결된 표지를 함유하는 접합체 패드와 접촉된다. 접합체 패드는 고체 지지체, 예컨대 니트로셀룰로스와 접촉되며, 이는 그 상으로 스트립된 항체를 갖고, 또한 표적 약물의 존재 및 부재 둘 다 하에서 접합체에 결합할 항체 또는 결합 상대를 갖는 대조군 라인을 갖는다. 시험 장치는 장치를 통한 유동을 용이하게 하기 위해 시험 구역으로부터 하류에 흡수 패드를 가질 수 있다. 장치는 스트립을 함유하고, 장치에의 샘플의 첨가를 위한 개구를 생성하는 장치 하우징을 임의로 가질 수 있다. 시험 구역 및 대조군 구역에서의 라인의 존재는 대상체가 표적 약물을 통상적으로 취하지 않고 있었음을 지시할 것이고, 라인의 부재는 이들이 약물을 취하고 있었음을 지시할 것이다.

[0294] 본 발명의 한 실시양태에서, 시험 장치는 단일 약물 물질을 측정하는 음성 판독을 갖는 측면 유동 포맷을 이용한 경쟁적 면역검정이다. 측면 유동 스트립은 완충 및 샘플 처리 물질을 함유하는 샘플 패드를 갖는다. 샘플 패드는 약물 물질로 제조된 항체에 연결된 표지를 함유하는 접합체 패드와 접촉된다. 접합체 패드는 고체 지지체, 예컨대 니트로셀룰로스와 접촉되며, 이는 그 상으로 스트립된 표적 약물의 유도체를 갖고, 또한 표적 약물의 존재 및 부재 둘 다 하에서 접합체에 결합할 항체 또는 결합 상대를 갖는 대조군 라인을 갖는다. 시험 장치는 장치를 통한 유동을 용이하게 하기 위해 시험 구역으로부터 하류에 흡수 패드를 가질 수 있다. 장치는 스트립을 함유하고, 장치에의 샘플의 첨가를 위한 개구를 생성하는 장치 하우징을 임의로 가질 수 있다. 시험 구역 및 대조군 구역에서의 라인의 존재는 대상체가 표적 약물을 통상적으로 취하지 않고 있었음을 지시할 것이고, 라인의 부재는 이들이 약물을 취하고 있었음을 지시할 것이다.

[0295] 본 발명의 한 실시양태에서, 시험 장치는 단일 약물 물질을 측정하는 양성 판독을 갖는 측면 유동 포맷을 이용한 경쟁적 면역검정이다. 측면 유동 스트립은 완충 및 샘플 처리 물질을 함유하는 샘플 패드를 갖는다. 샘플 패드는 약물 물질로 제조된 항체에 연결된 표지를 함유하는 접합체 패드와 접촉된다. 접합체 패드는 고체 지지체, 예컨대 니트로셀룰로스와 접촉되며, 이는 사용자에게 가시적이지 않은 위치에 그 상으로 스트립된 표적 약물의 유도체 및 시험 라인에서 약물과 관련되지 않은 접합체에 대한 결합 상대 (예를 들어 아비딘/비오틴)를 갖는다. 고체 지지체는 또한 장치가 구동되었음을 지시하는 2차 접합체에 결합될 항체 또는 결합 상대를 갖는 대조군 라인을 갖는다. 시험 장치는 장치를 통한 유동을 용이하게 하기 위해 시험 구역으로부터 하류에 흡수 패드를 가질 수 있다. 장치는 스트립을 함유하고, 장치에의 샘플의 첨가를 위한 개구를 생성하는 장치 하우징을 임의로 가질 수 있다. 시험 구역 및 대조군 구역에서의 라인의 존재는 대상체가 표적 약물을 통상적으로 취하고 있었음을 지시할 것이고, 라인의 부재는 이들이 약물을 취하지 않고 있었음을 지시할 것이다.

[0296] 본 발명의 한 실시양태에서, 시험 장치는 약물 물질의 조합을 측정하는 음성 판독을 갖는 측면 유동 포맷을 이용한 경쟁적 면역검정이다. 측면 유동 스트립은 완충 및 샘플 처리 물질을 함유하는 샘플 패드를 갖는다. 샘플 패드는 약물 물질의 2종 이상의 유도체에 연결된 표지를 함유하는 접합체 패드와 접촉된다. 접합체 패드는 고체 지지체, 예컨대 니트로셀룰로스와 접촉되며, 이는 2개 이상의 시험 위치에 그 상으로 스트립된 항체를 갖고, 또한 표적 약물의 존재 및 부재 둘 다 하에서 접합체에 결합할 항체 또는 결합 상대를 갖는 대조군 라인을 갖는다. 시험 장치는 장치를 통한 유동을 용이하게 하기 위해 시험 구역으로부터 하류에 흡수 패드를 가질 수 있다. 장치는 스트립을 함유하고, 장치에의 샘플의 첨가를 위한 개구를 생성하는 장치 하우징을 임의로 가질 수 있다. 이 실시양태에서, 2종 이상의 약물의 반응성의 패턴은 약물에 대한 권고된 투여에 대한 준수를 지시할 수 있다. 한 잠재적 결과에서, 2개의 양성 시험 라인 또는 스팟의 측면 유동 시험 판독은 샘플을 제공하는 개체가 처방된 투여량 스케줄에 따라 NRTI를 취하고 있었음을 지시할 수 있는 반면, 1개의 양성 시험 라인 또는 스팟의 측면 유동 시험 판독은 샘플을 제공하는 개체가 NRTI를 취하고 있지만 처방된 투여량 스케줄에 따르지 않았음을 지시할 수 있고, 0개의 양성 시험 라인 또는 스팟의 측면 유동 시험 판독은 샘플을 제공하는 개체가 NRTI를 취하지 않고 있었음을 지시할 수 있다.

[0297] 한 실시양태에서, 본 발명의 NRTI는 실험실 시험의 형태, 예를 들어 넘버링된 웰 플레이트 (예를 들어, 96 웰 플레이트)의 유형을 취하는 시스템에서 검출될 수 있다. 한 실시양태에서, 측면 유동 장치는 기계에 의해 판독될 수 있는 카트리지의 형태일 수 있다. 바람직하게는, 기계는 자동화된다.

[0298] 한 실시양태에서, 본 발명의 시스템은 (i) POCT 및 (ii) 디지털 장치를 포함한다. 한 실시양태에서, 디지털 장치는 POCT와 상호작용한다. 한 실시양태에서, 디지털 장치는 POCT로부터의 결과를 분석한다. 한 실시양태에서, 디지털 장치는 POCT로부터의 결과를 기록한다. 한 실시양태에서, 디지털 장치는 POCT로부터의 결과를 보고한다. 한 실시양태에서, 디지털 장치는 다수의 POCT로부터의 결과를 분석하고/거나, 기록하고/거나, 보고한다.

[0299] 일부 실시양태에서, 디지털 장치는 카메라가 구비된 스마트폰 또는 태블릿이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 시스템의 사용은 스마트폰 카메라 및 앱을 포함한다. 예를 들어, 사람은 측면 유동 시험에 걸쳐 스마트폰 카메라를 유지하고, 카메라는 라인의 강도에 기초하여 소변에서의 약물의 수준을 정량화한다. 그 후, 그 수는 전자 의학 기록, 다른 앱과 공유되거나, 데이터베이스에 호스팅될 수 있다. 일부 실시양태에서, 시험은 면역검정 플랫폼 상에서 관리될 수 있다. 비-제한적 예로는 알레어 (Alere) 판독기 (etc.http://www.clpmag.com/2017/04/fda-clears-alere-immunoassay-analyzer) 또는 애보트 I-스타트 (Abbott I-Stat) (https://www.pointofcare.abbott/us/en/offerings/istat)를 들 수 있다.

[0300] 개시된 본 발명은 NRTI 농도를 측정하기 위해 선택된 플랫폼에 제한되지 않는다. 신속한 시험은 널리 공지되어 있으며, 측면 유동, 통과 유동, 모세관, 바이오센서 및 다수의 다른 포맷으로 구성될 수 있다.

[0301] 생물학적 샘플

[0302] 본 발명을 사용하여 분석되는 생물학적 샘플은 NRTI를 함유하는 임의의 생물학적 조직 또는 유체의 것일 수 있다. 빈번하게, 샘플은 환자로부터 유래된 샘플인 "임상 샘플"일 것이다. 분석을 위한 전형적인 샘플로는 생물학적 유체 샘플, 예컨대 가래 (타액으로도 공지됨), 혈액, 혈장, 유액, 정액 및 소변을 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0303] 환자로부터의 생물학적 유체의 수집을 위한 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 한 실시양태에서, 측면 유동 신속 시각적 NRTI 시험에 사용하기 위한 생물학적 유체의 수집은 샘플 컵 또는 다른 용기를 사용해서이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 측면 유동 장치는 생물학적 유체 시편을 함유하는 샘플 컵 또는 다른 용기 내로 삽입된다. 본 발명과 함께 사용하기 위한 생물학적 유체 샘플을 수집하는 데 사용하기에 적절한 용기는 반드시 제한되지는 않으며, 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 한 실시양태에서, 환자는 본 발명의 측면 유동 장치의 흡수 심지를 그들의 소변 흐름 내로 정치하여 분석을 위한 생물학적 유체를 수집한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 측면 유동 장치는 구강 내로 삽입되고, 구강 점막과 접촉하여 분석을 위한 생물학적 유체를 수집한다.

[0304] 한 실시양태에서, 생물학적 샘플 또는 생물학적 샘플의 분취액은 실험실 기재 시험을 사용한 분석을 위해 실험실로 수송된다. 한 실시양태에서, 생물학적 샘플 또는 생물학적 샘플의 분취액은 실험실 기재 시험을 사용한 분석을 위한 실험실로의 수송을 위해 동결된다.

[0305] 시험 결과

[0306] 일부 실시양태에서, 측면 유동 장치는 1 내지 40분 내에 결과를 제공한다. 일부 실시양태에서, 측면 유동 장치는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30 또는 40분 내에 결과를 제공한다. 이들 실시양태에서, 결과는 환자 또는 제공자에 의해 판독되고, 해석될 수 있다. 한 실시양태에서, 환자 샘플은 실험실 기재 시험을 사용하여 분석되고, 결과는 비밀 전자 기록에 의해 또는 비밀 팩스에 의해 환자 또는 제공자에게 다시 전송된다. 결과를 제공자 및 환자에게 제공하는 다른 방법은 널리 공지되어 있다.

[0307] 한 실시양태에서, 결과는 처방된 투여 스케줄에 대한 환자의 준수를 모니터링하기 위해 제공자에 의해 사용된다. 한 실시양태에서, 시험 결과는 제공자에 의해 해석되고, 대인적으로 또는 전화, 이메일, 텍스트 메시지, 또는 다른 소통 매체에 의해 상담 전략을 환자에게 통지하는 데 사용된다. 이는 환자와의 논의, 치료 계획을 공식화하는 것, 보험 커버리지를 조정하는 것, 의약 준수에 대한 장벽을 다루는 것, 개체를 순응도에 대해 점검하기 위해 할당하는 것, 디지털 솔루션, 예컨대 준수를 개선시키기 위한 텍스트 메시징, 또는 기계적 솔루션, 예컨대 환제 소비에 대한 데이터를 기록하고/거나 전송하는 환제 디스펜서를 사용하는 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 추가적으로, 제공자는 소변 검사가 이들이 그들의 가장 최근 소변 TFV 수준에 기초하여 HIV 획득으로부터 보호되지 않거나 (예를 들어, LC-MS/MS 기재 검정을 사용하는 경우, < 10 ng/mL의 소변 TFV 농도), 불완전하게 보호됨 (예를 들어, LC-MS/MS 기재 검정을 사용하는 경우, 10 내지 1000 ng/mL의 소변 TFV 농도)을 나타낸 환자를 표시하기 위해 이 정보를 사용할 수 있다.

[0308] 면역검정 중 임의의 것 (예를 들어, 측면 유동 검정)을 사용한 TFV에 대한 추가의 컷-오프는 문헌 [Koenig *et al. HIV Med.* 2017 Jul;18(6):412-418]에 기재된 바와 같은 절차를 사용하여 측정될 수 있다. 마찬가지로, 본원에 기재된 검정 중 임의의 것 (예를 들어, 측면 유동 검정)에서 다른 대사물, 예컨대 TAF에 대한 컷-오프는 문헌 [Koenig *et al. HIV Med.* 2017 Jul;18(6):412-418]에 기재된 방법론을 사용하여 측정될 수 있다.

[0309] 한 실시양태에서, 환자는 임상 환경의 외부에서 시스템을 사용할 수 있다. 한 실시양태에서, 환자는 제공자의

지시로 시스템을 사용할 수 있다. 한 실시양태에서, 환자는 그들의 제공자에게 그들의 결과를 통지할 수 있다. 이는 전화, 메시징, 또는 디지털 앱을 통해 각각의 개별적 시험 후에 제공자에게 통지하거나, 다수의 시험을 수행하고, 결과를 간헐적 방문에서 제공자에게 제공하는 것을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0310] 대안적 실시양태에서, 환자는 제공자 감독에 독립적으로 시스템을 사용할 수 있다. 이 실시양태에서, 결과는 이들이 HIV에 걸릴 위험에 맞닥뜨리기 전에 NRTI의 존재를 확인하기 위해 환자에 의해 사용될 수 있다.

[0311] 한 실시양태에서, 시험은 매일 수행될 수 있다. 한 실시양태에서, 시험은 환자가 HIV에 감염될 위험에 높은-위험으로 맞닥뜨리기 전에 수행될 수 있다. 한 실시양태에서, 시험은 제공자 또는 연구 책임자에 의해 결정된 빈도로 수행될 수 있다.

[0312] 한 실시양태에서, 본 발명의 치료 시점 시험 (POCT)은 핸드헬드 장치와 함께 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 POCT와 함께 사용하기 위한 핸드헬드 장치는 POCT의 결과를 분석한다. 한 실시양태에서, 분석은 핸드헬드 장치 내로 혼입된 전자 검출 방법을 사용하여 수행된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 핸드헬드 장치는 컴퓨터 프로그램과 접속된다. 한 실시양태에서, 컴퓨터 프로그램은 애플리케이션 또는 웹-기재 평가 도구이다. 한 실시양태에서, 사용자는 컴퓨터 프로그램에 접속하여 시험 결과를 분석하거나, 추적하거나, 가시화한다. 한 실시양태에서, POCT로부터의 시험 결과를 분석하거나, 추적하거나, 가시화하기 위한 컴퓨터 프로그램은 또한 시험 결과를 의사 또는 상대방에게 보고하는 기능을 한다.

[0313] <u>대사물</u>

[0314] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 시스템은 제약과 연관된 1종 이상의 대사물의 검출을 위한 시스템에의 시험 샘플로부터 얻어진 생물학적 유체의 적용을 포함한다. 한 실시양태에서, 제약은 질환을 치료하는 데 사용된다. 한 실시양태에서, 제약은 예방적 조치로서 사용된다. 이러한 대사물로는 소분자, 대사 생성물, 분해 생성물, 또는 1종 이상의 NRTI의 관련된 대사물 (예를 들어, TFV, TAF, TDF, FTC)을 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0315] 일부 실시양태에서, 제약은 1종 이상의 NRTI로 구성된다. 한 실시양태에서, 제약은 HIV 감염을 치료하는 데 사용된다. 한 실시양태에서, 제약은 HIV 감염을 예방하는 데 사용된다. 일부 실시양태에서, 제약은 B형 간염 감염을 치료하거나 예방하는 데 사용된다. 이러한 대사물로는 소분자, 대사 생성물, 분해 생성물, 또는 1종 이상의 NRTI의 관련된 대사물 (예를 들어, TFV, TAF, TDF, FTC)을 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0316] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 시험 샘플에서 관심의 적어도 1종의 NRTI를 평가하기 (예를 들어, 검출하거나 정량화하기) 위한 면역검정에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 TFV를 검출하기 위한 면역검정에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 FTC를 검출하기 위한 면역검정에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 TFV 및 FTC 둘 다를 검출하기 위한 면역검정에 관한 것이다.

[0317] NRTI의 존재 또는 부재 또는 NRTI의 농도에 관한 대조군은 시험되는 샘플에 풍부한 대사물에 대한 것일 수 있다. 한 실시양태에서, 대조군은 소변, 타액, 혈액 또는 혈장 중 적어도 하나에 풍부한 마커에 대한 것일 수 있다. 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같이, 시험되는 NRTI의 시험 패턴과 대조군의 그것들의 비교는 NRTI의 존재를 확인하는 데 사용될 수 있다. 이 맥락에서, 대조군 또는 대조군 군은 본 발명의 시스템 및 검정의 적절한 사용 및 기능을 확립하기 위한 목적으로 사용된다. 따라서, 대조군과의 비교의 요구 없이 단지 본 발명의 NRTI의 검출은 NRTI의 존재를 확인하는 데 사용될 수 있다. 이러한 방식으로, 본 발명에 따른 시스템은 정성적, 반-정량적 또는 정량적 해답을 위해 사용될 수 있다.

[0318] 소변에서의 NRTI의 농도 또는 수준은 NRTI의 혈장 농도 수준과 연관된다. 따라서, 소변에서의 NRTI의 농도 수준은 NRTI에 의해 제공되는 노출 시 HIV에 걸릴 증가되거나 감소된 위험에 대한 지표로서 기능한다. 예를 들어 LC-MS/MS 기재 검정을 사용하여, < 10 ng/mL의 소변 TFV 농도는 환자가 노출 사건 시 HIV에 걸릴 높은 위험이 있음을 지시할 수 있는 반면, 10 내지 1000 ng/mL의 소변 TFV 농도는 환자가 노출 사건 시 HIV에 걸릴 다소의 위험이 있음을 지시할 수 있고, > 1000 ng/mL의 소변 TFV 농도는 환자가 노출 사건 시 HIV에 걸릴 낮은 위험이 있음을 지시할 수 있다.

[0319] 면역검정 중 임의의 것 (예를 들어, 측면 유동 검정)을 사용한 TFV에 대한 추가의 컷-오프는 문헌 [Koenig *et al. HIV Med.* 2017 Jul;18(6):412-418]에 기재된 바와 같은 절차를 사용하여 측정될 수 있다. 마찬가지로, 본원에 기재된 검정 중 임의의 것 (예를 들어, 측면 유동 검정)에서 다른 대사물, 예컨대 TAF에 대한 컷-오프는 문헌 [Koenig *et al. HIV Med.* 2017 Jul;18(6):412-418]에 기재된 방법론을 사용하여 측정될 수 있다.

[0320] 소분자의 검출

[0321] 샘플에서의 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체 또는 접합체)의 농도는 임의의 적합한 검정에 의해 측정될 수 있다. 적합한 검정으로는 하기 방법, 즉, 효소 검정, 면역검정, 질량 분석법, 크로마토그래피, 전기영동 또는 항체 마이크로어레이, 또는 이들의 임의의 조합 중 1종 이상을 들 수 있다. 따라서, 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해될 것인 바와 같이, 본 발명의 시스템 및 방법은 샘플에서 대사물을 검출하기 위한 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법을 포함할 수 있다.

[0322] 한 실시양태에서, 본 발명의 샘플은 생물학적 샘플이다. 생물학적 샘플은 고체 또는 유체 샘플로부터 기원할 수 있다. 바람직하게는 샘플은 유체 샘플이다. 본 발명의 샘플은 소변, 전혈, 혈액 혈청, 혈액 혈장, 땀, 점액, 타액, 유액, 정액 등을 포함할 수 있다.

[0323] 면역검정

[0324] 한 실시양태에서, 본 발명의 시스템 및 방법은 관련 기술분야에 널리 공지된 다양한 면역검정 포맷의 형태로 수행될 수 있다. 면역검정은, 그들의 가장 단순하고 직접적인 의미에서, 항체 및 항원 사이의 결합을 포함하는 결합 검정이다. 면역검정의 많은 유형 및 포맷은 공지되어 있으며, 모두 개시된 대사물을 검출하는 데 적합하다. 면역검정의 예는 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA), 효소 결합 면역스팟 검정 (ELISPOT), 방사성면역검정 (RIA), 방사성면역 침전 검정 (RIPA), 면역비드 포획 검정, 웨스턴 블롯팅, 도트 블롯팅, 겔-이동 검정, 유동 세포계측법, 단백질 어레이, 다중화 비드 어레이, 자기 포획, 생체내 영상화, 형광 공명 에너지 전달 (FRET), 광퇴색 후 형광 회수/국재화 (FRAP/FLAP), 경쟁적 검정, 바이오센서를 사용한 면역검정, 면역침전 검정, 응집 검정, 혼탁도 검정, 혼탁 검정 등이다.

[0325] 일반적으로, 면역검정은 경우에 따라, 면역복합체의 형성을 허용하는 데 유효한 조건 하에서, 관심의 분자 (예컨대 개시된 대사물)를 함유하는 것으로 의심되는 샘플을 관심의 분자에 대한 항체와 접촉시키거나, 관심의 분자에 대한 항체 (예를 들어, 본원에 기재된 항-NRTI 유도체 접합체 항체)를 항체에 의해 결합될 수 있는 분자와 접촉시키는 것을 포함한다. 면역 복합체 (1차 면역 복합체)의 형성을 허용하는 데 유효한 조건 하에서 및 그에 충분한 기간 동안 샘플을 관심의 분자에 대한 항체와 또는 관심의 분자에 대한 항체에 의해 결합될 수 있는 분자와 접촉시키는 것은 일반적으로 분자 또는 항체 및 샘플을 간단히 접촉시키고, 항체가, 항체가 결합할 수 있는 존재하는 임의의 분자 (예를 들어, 대사물)와 면역 복합체를 형성하는, 즉, 그에 결합하는 데 충분한 길이의 기간 동안 혼합물을 인큐베이션하는 것의 문제이다. 면역검정의 많은 형태에서, 샘플-항체 조성물, 예컨대 조직 섹션, ELISA 플레이트, 도트 블롯 또는 웨스턴 블롯을 그 후 세척하여 임의의 비-특이적으로 결합된 항체 종을 제거하여, 단지 1차 면역 복합체 내에 특이적으로 결합된 항체가 검출되는 것을 허용할 수 있다.

[0326] 면역검정은 샘플에서 관심의 분자 (예컨대 개시된 대사물 또는 그들의 항체)를 검출하거나 그의 양을 정량화하는 방법을 포함할 수 있으며, 방법은 일반적으로 결합 프로세스 동안 형성된 임의의 면역 복합체의 검출 또는 정량을 포함한다. 일반적으로, 면역복합체 형성의 검출은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며, 다수의 접근법의 적용을 통해 달성될 수 있다. 이들 방법은 일반적으로, 표지, 예컨대 임의의 방사성, 형광, 생물학적 또는 효소적 태그 또는 임의의 다른 공지된 표지의 검출에 기초한다. 예를 들어, 미국 특허 제3,817,837호; 제3,850,752호; 제3,939,350호; 제3,996,345호; 제4,277,437호; 제4,275,149호 및 제4,366,241호를 참조하며, 이들의 각각은 그 전문이 및 구체적으로 면역검출 방법 및 표지에 관한 교시내용에 대해 본원에 참조로 포함된다.

[0327] 본원에 사용된 바와 같은 표지는 예컨대 색상화된 기질 또는 형광을 생성함으로써 검출될 수 있는 분자와 특이적으로 상호작용할 수 있는 형광 염료, 결합 쌍의 구성원, 예컨대 비오틴/스트렙타비딘, 금속 (예를 들어, 금), 또는 에피토프 태그를 포함할 수 있다. 항체, 또는 NRTI 유도체, 또는 그의 접합체 및 유도체를 검출가능하게 표지하는 데 적합한 물질은 형광 염료 (또한 본원에서 형광색소 및 형광단으로 공지됨) 및 비색 기질과 반응하는 효소 (예를 들어, 서양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP))를 포함한다. 형광 염료의 사용은 일반적으로 이들이 매우 낮은 양에서 검출될 수 있기 때문에 본 발명의 실시에 바람직하다. 더욱이, 다수의 소분자 (예를 들어, 대사물 또는 NRTI)가 단일 어레이와 반응하는 경우, 각각의 소분자 (예를 들어, 대사물 또는 NRTI)는 동시 검출을 위해 별개의 형광 화합물로 표지될 수 있다. 어레이 상의 표지된 스팟은 형광계를 사용하여 검출되며, 신호의 존재는 특이적 항체에 결합된 표지된 소분자 (예를 들어, 대사물 또는 NRTI)를 지시한다.

[0328] 형광단은 발광하는 화합물 또는 분자이다. 전형적으로 형광단은 한 파장에서 전자기 에너지를 흡수하고, 제2 파장에서 전자기 에너지를 방출한다.

[0329] 면역검정의 2가지 주요 유형, 즉, 균일 및 불균일이 있다. 균일 면역검정에서, 항원 및 항체 사이의 면역학적

반응 및 검출 둘 다는 균일 반응에서 수행된다. 불균일 면역검정은 비반응된 시약으로부터의 반응 생성물의 구별을 허용하는 적어도 하나의 단계를 포함한다. 다양한 면역검정은 개시된 (예를 들어, NRTI, 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체, 접합체, 및 유사체) 또는 본원에 참조로 포함된 소분자 중 1종 이상을 검출하는 데 사용될 수 있다.

[0330] ELISA는 본원에 개시된 방법에 사용될 수 있는 불균일 면역검정이다. 검정은 다양한 포맷으로 검출하는 데 사용될 수 있다.

[0331] ELISA는 또한 경쟁적 검정으로서 사용될 수 있다. 경쟁적 검정 포맷에서, 측정되는 항원 (예를 들어, 대사물, 예컨대 TFV)을 함유하는 시험 시편은 정확한 양의 효소-표지된 항원 (예를 들어, HRP-TFV 또는 HRP-TFV 유도체)과 혼합되고, 둘 다는 고체 표면에 부착된 항-항원 항체 (예를 들어, 항-NRTI 유도체 접합체 항체)에의 결합에 대해 경쟁한다. 과량의 유리 효소-표지된 항원을 세척한 후, 효소에 대한 기질을 첨가한다. 효소-기질 상호작용으로부터 초래되는 색상 강도의 양은 시험되는 샘플에서의 항원의 양의 척도이다. 불균일 면역검정, 예컨대 ELISA는 개시된 (예를 들어, NRTI, 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체, 접합체, 및 유사체) 또는 본원에 참조로 포함된 소분자 중 임의의 것을 검출하는 데 사용될 수 있다.

[0332] 균일 면역검정은 예를 들어, 효소 다중화 면역검정 기법 (EMIT)을 포함하며, 이는 전형적으로 측정되는 대사물을 포함하는 생물학적 샘플, 측정되는 대사물의 효소-표지된 분자, 측정되는 대사물에 결합하는 특이적 항체 또는 항체들, 및 특이적 효소 발색 기질을 포함한다. 전형적인 EMIT에서, 과량의 특이적 항체는 생물학적 샘플에 첨가된다. 생물학적 샘플이 검출되는 소분자 (예를 들어, 대사물 또는 NRTI)를 함유하는 경우, 이러한 소분자 (예를 들어, 대사물 또는 NRTI)는 항체에 결합한다. 그 후, 상응하는 효소-표지된 소분자 (예를 들어, 대사물- 또는 NRTI-접합체 유도체)의 측정된 양은 혼합물에 첨가된다. 샘플에서 이러한 소분자 (예를 들어, 대사물 또는 NRTI)에 의해 점유되지 않는 항체 결합 부위는 첨가된 효소-표지된 소분자 (예를 들어, 대사물- 또는 NRTI-접합체 유도체)의 분자로 점유된다. 샘플에서의 검출되는 소분자 (예를 들어, 대사물 또는 NRTI)의 높은 농도는 보다 낮은 흡광도 판독을 유발한다. 샘플에서의 보다 적은 소분자 (예를 들어, 대사물 또는 NRTI)는 보다 많은 효소 활성 및 결과적으로 보다 높은 흡광도 판독을 초래한다. 균일 면역검정, 예컨대 EMIT는 개시된 또는 본원에 참조로 포함된 소분자 중 임의의 것 (예를 들어, 대사물 또는 NRTI)을 검출하는 데 사용될 수 있다.

[0333] 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 많은 면역검정에서, 항원의 검출은 검출제 분자로서 항원 특이적 항체의 사용으로 이루어진다. 그러나, 본 발명의 면역검정 및 시스템 및 방법은 검출제 분자로서 항체의 사용에 제한되지는 않는다. 주어진 샘플 내에서 항원에 결합하거나 이를 포획할 수 있는 임의의 물질이 사용될 수 있다. 항체 외에도, 또한 검출제 분자로서 사용될 수 있는 적합한 물질로는 효소, 펩티드, 단백질, 및 핵산을 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 포획된 항원이 검출될 수 있는 관련 기술분야에 공지된 많은 검출 방법이 있다. 일부 검정에서, 효소-결합된 항체는 색상 변화를 생성한다. 다른 검정에서, 포획된 항원의 검출은 형광, 발광, 화학발광, 또는 방사성 신호를 검출하는 것을 통해 이루어진다. 본 발명의 시스템 및 방법은 면역검정에서 생성된 검출가능한 신호의 특정 유형에 제한되지는 않는다.

[0334] 면역검정 키트는 또한 본 발명에 포함된다. 이들 키트는 별개의 용기에 본 발명의 화합물, 또는 유사체 또는 유도체에 대한 결합 특이성을 갖는 모노클로날 또는 폴리클로날 항체를 포함한다. 이 면역검정 키트는 본원에 제공된 다양한 방법의 실시에 이용될 수 있다. 모노클로날 항체 및 항-항체 이뮤노글로불린은 약 0.001 mg 내지 100 그램, 및 보다 바람직하게는 약 0.01 mg 내지 1 그램의 양으로 제공될 수 있다. 항-항체 이뮤노글로불린은 폴리클로날 이뮤노글로불린, 단백질 A 또는 단백질 G 또는 그의 기능적 단편일 수 있으며, 이는 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해 사용 전에 표지될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 면역검정 키트는 본원에 개시되거나 포함된 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)에 특이적으로 결합하는 항체 중 2종, 3종 또는 4종을 포함한다.

[0335] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역검정 키트는 (a) 샘플 패드, (b) 검출가능한 표지를 갖는 접합된 표지 패드 (접합된 표지 패드의 부분 및 샘플 패드의 부분은 제1 계면을 형성함) (c) 막을 포함하는 측면-유동 검정 (막의 부분 및 접합된 표지 패드의 부분은 제2 계면을 형성함), 및 (d) 막에 결합된 적어도 1종의 항체를 포함할 수 있으며, 제1 계면은 유체가 샘플 패드로부터 접합된 표지 패드로 유동하고, 검출가능한 표지에 접촉하도록 하고, 샘플에 존재하는 대사물은 대사물-접합된 표지 복합체를 형성하고, 제2 계면은 유체가 접합된 표지 패드로부터 막으로 유동하고, 적어도 1종의 막-결합된 항체와 접촉하여 대사물-항체 복합체를 형성하고, 검출가능한 표지가 검출가능한 신호를 형성하도록 한다.

[0336] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역검정 키트는 지시 물질 및 샘플 수집 용기 중 1종 이상을 포함하나 이에 제한

되지는 않는 추가의 성분을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 키트는 단일 면역검정 시스템을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 키트는 1개 초과의 면역검정 시스템을 포함한다.

[0337] 한 실시양태에서, 본 발명의 키트는 핸드헬드 장치를 포함한다. 한 실시양태에서, 키트는 본 발명의 POCT의 결과를 분석하고/거나, 기록하고/거나, 모니터링하고/거나, 추적하고/거나, 보고하기 위한 시스템 또는 이를 위한 컴퓨터 소프트웨어에 대한 엑세스를 포함한다.

[0338] 사용 시점 장치

[0339] 사용 시점 분석 시험은 다양한 생물학적 샘플 (예컨대 소변, 혈청, 혈장, 혈액, 타액)을 사용한 건강-관련된 상태 (예컨대 임신, 암, 내분비 장애, 감염성 질환 또는 약물 남용)의 통상적인 확인 또는 모니터링을 위해 개발되었다. 사용 시점 검정의 일부는 특이적 결합 쌍, 예컨대 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체 및 접합체)/항체, 항원/항체, 합텐/항체, 렉틴/탄수화물, 아포단백질/보조인자 및 비오틴/(스트렙트)아비딘 사이의 매우 특이적인 상호작용에 기초한다. 일부 사용 시점 장치에서, 검정은 특이적 결합 쌍 구성원이 가동 물질 (예컨대 라텍스 또는 유리로 제조된 금속 졸 또는 비드) 또는 부동 기질 (예컨대 유리 섬유, 셀룰로스 스트립 또는 니트로셀룰로스 막)에 부착되는 시험 스트립으로 수행된다. 다른 사용 시점 장치는 광학 바이오센서, 측광 바이오센서, 전기화학 바이오센서, 또는 다른 유형의 바이오센서를 포함할 수 있다. 본 발명의 방법을 수행하기 위한 사용 시점 장치에서의 적합한 바이오센서는 광학 또는 음향 판독기를 갖는 "카드" 또는 "칩"을 포함한다. 바이오센서는 수집된 데이터가 해석을 위해 의사에게 전자적으로 전송되는 것을 허용하도록 구성될 수 있으며, 따라서 진단 및 모니터링이 환자가 의사 또는 클리닉에서 가까울 필요 없이 수행될 수 있는 e-의료를 위한 기초를 형성할 수 있다.

[0340] 샘플에서의 대사물의 검출은 1종 이상의 대사물, 예컨대 본원에 기재된 것들의 검출을 허용하는 샘플 포획 장치, 예컨대 측면 유동 장치 (예를 들어 측면 유동 시험 스트립)를 사용하여 수행될 수 있다.

[0341] 본 발명의 시험 스트립은 상류 샘플 적용 영역으로부터 시험 부위로의 유동 경로를 포함한다. 예를 들어, 유동 경로는 샘플 적용 영역으로부터 가동화 구역을 통해 포획 구역으로일 수 있다. 가동화 구역은 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)와 상호작용하는 가동 항체를 함유할 수 있으며, 포획 구역은 샘플에서 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)의 존재 (또는 부재)를 검출하기 위한 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)에 결합하는 시약을 함유한다.

[0342] 본원에 개시된 시험 스트립은 NRTI 준수 모니터링에 제한되지 않지만, 단일 측면 유동 스트립 또는 면역검정 카트리지에서의 다른 시험과 조합될 수 있다. 비-제한적 예에서, 본원에 개시된 시험 스트립은 TFV 준수를 측정하고, 임상적 관련성, 예컨대 HIV 감염 상태의 또다른 시험을 실행하는 둘 다를 위해 단일 측면 유동 스트립 또는 면역검정 카트리지에서의 다른 시험과 조합될 수 있다.

[0343] 색상화된 표지에 부착된 시약을 그들 내로 통상적으로 혼입함으로써 추가의 물질의 첨가 없이 검정 결과의 가시적 검출을 허용하는 이동 검정 장치의 예는 예를 들어, 미국 특허 제4,770,853호 (본원에 참조로 포함됨)에서 발견된다. 다중 구역 측면 유동 시험 스트립은 미국 특허 제5,451,504호, 제5,451,507호, 및 미국 특허 제5,798,273호 (본원에 참조로 포함됨)에 개시되어 있다. 미국 특허 제6,656,744호 (참조로 포함됨)는 표지가 스트렙타비딘-비오틴 상호작용을 통해 항체에 결합하는 측면 유동 시험 스트립을 개시하고 있다.

[0344] 유동-통과 유형 검정 장치는, 부분적으로, 딥스틱 검정과 연관된 인큐베이션 및 세척 단계에 대한 필요를 제거하도록 설계되었다. 유동-통과 면역검정 장치는 액체 샘플이 첨가되는 다공성 막 또는 필터에 결합된 포획 시약 (예컨대 1종 이상의 항체)을 포함한다. 액체가 막을 통해 유동함에 따라, 표적 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)은 포획 시약에 결합한다. 샘플의 첨가에 이어 검출제 시약, 예컨대 표지된 항체 (예를 들어, 금-접합된 또는 색상화된 라텍스 입자-접합된 항체)의 첨가가 이어진다 (또는 그와 공동으로 이루어진다). 대안적으로, 검출제 시약은 검출제가 샘플과 혼합되는 것을 허용함으로써 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)를 표지하는 방식으로 막 상에 정치될 수 있다. 검출제 시약의 시각적 검출은 샘플에서의 표적 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)의 부재의 지시를 제공한다. 대표적인 유동-통과 검정 장치는 미국 특허 제4,246,339호; 제4,277,560호; 제4,632,901호; 제4,812,293호; 제4,920,046호; 및 제5,279,935호; 미국 특허 출원 공개 제20030049857호 및 제20040241876호; 및 WO 08/030,546에 기재되어 있다. 이동 검정 장치는 통상적으로 색상화된 표지에 부착된 시약을 그들 내에 혼입함으로써, 추가의 물질의 첨가 없이 검정 결과의 가시

적 검출을 허용한다. 예를 들어, 미국 특허 제4,770,853호; PCT 공개 제WO 88/08534호를 참조한다.

[0345] 본원에 기재된 장치는 일반적으로 흡수 물질 (예컨대 미세다공성 막)의 스트립을 포함하며, 이는 일부 예에서, 인접하고/거나 중첩될 수 있는 구역에서 다른 것에 각각 결합된 상이한 물질로 제조될 수 있다. 일부 예에서, 흡수 스트립은 예를 들어, 스트립에 증가된 강성을 제공하기 위해, 지지하는 비-상호작용성 물질 (예컨대 부직 폴리에스테르) 상에 고정될 수 있다. 각각의 스트립 내의 구역은 예를 들어, 본원에 개시된 1종 이상의 소분자 (예를 들어, 대사물 또는 NRTI)에 대해 시험되고 있는 특정 소분자 (예를 들어, 대사물 또는 NRTI)의 검출 및/또는 정량화에 요구되는 특이적 결합 상대(들) 및/또는 다른 시약을 차등적으로 함유할 수 있다. 따라서, 이들 구역은 시험 장치 내의 기능적 섹터 또는 기능적 영역으로서 보여질 수 있다.

[0346] 일반적으로, 유체 샘플은 예를 들어 디핑 또는 스포팅에 의해 스트립의 근위 말단에서 스트립에 도입된다. 샘플은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 방법을 사용하여 수집되거나 얻어진다. 검출되는 특정 대사물 또는 NRTI를 함유하는 샘플은 임의의 생물학적 공급원으로부터 얻어질 수 있다. 특정 예에서, 생물학적 공급원은 소변이다. 샘플은 면역검정 결과를 최적화하기 위해 검정 전에 희석되거나, 정제되거나, 농축되거나, 여과되거나, 용해되거나, 현탁되거나, 다르게는 조작될 수 있다. 유체는 스트립의 모든 기능적 영역을 통해 말단으로 이동한다. 개별적 기능적 영역에서의 유체의 최종 분포는 사용되는 물질의 흡착 능력 및 치수에 의존한다.

[0347] 일부 실시양태에서, 본원의 다른 곳에 기재된 다공성 고체 지지체, 예컨대 니트로셀룰로스는 바람직하게는 쉬트 또는 스트립의 형태이다. 이러한 쉬트 또는 스트립의 두께는 폭넓은 제한 내에서 다양할 수 있으며, 예를 들어, 약 0.01 내지 0.5 mm, 약 0.02 내지 0.45 mm, 약 0.05 내지 0.3 mm, 약 0.075 내지 0.25 mm, 약 0.1 내지 0.2 mm, 또는 약 0.11 내지 0.15 mm일 수 있다. 이러한 쉬트 또는 스트립의 기공 크기는 유사하게 폭넓은 제한 내에서 다양할 수 있으며, 예를 들어 약 0.025 내지 15 마이크로미터, 또는 보다 구체적으로 약 0.1 내지 3 마이크로미터일 수 있지만, 기공 크기는 고체 지지체의 선택에 있어서 제한적 인자인 것으로 의도되지 않는다. 고체 지지체의 유속은, 적용가능한 경우, 또한 폭넓은 제한 내에서 다양할 수 있으며, 예를 들어 약 12.5 내지 90 초/cm (즉, 50 내지 300 초/4 cm), 약 22.5 내지 62.5 초/cm (즉, 90 내지 250 초/4 cm), 약 25 내지 62.5 초/cm (즉, 100 내지 250 초/4 cm), 약 37.5 내지 62.5 초/cm (즉, 150 내지 250 초/4 cm), 또는 약 50 내지 62.5 초/cm (즉, 200 내지 250 초/4 cm)일 수 있다.

[0348] 검정 장치의 사용에서 고려되어야 할 또다른 통상적인 특색은 소분자 (예컨대 1종 이상의 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물) 및 포획 시약 (예컨대 1종 이상의 항체) 사이의 복합체의 형성을 검출하는 수단이다. 검출제 (검출제 시약으로도 지칭됨)는 이 목적으로 기능한다. 검출제는 검정 장치 내로 통합될 수 있거나 (예를 들어 접합체 패드에 포함함), 외부 공급원으로부터의 장치에 적용될 수 있다.

[0349] 검출제는 집합적으로 검출 목적으로 기능하는 단일 시약 또는 일련의 시약일 수 있다. 일부 예에서, 검출제 시약은 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)에 특이적인 표지된 결합 상대 (예컨대 관심의 특정 대사물, 또는 NRTI에 대한 금-접합된 항체)이다.

[0350] 다른 예에서, 검출제 시약은 집합적으로 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)에 특이적인 비표지된 제1 결합 상대 및 제1 결합 상대에 특이적인 표지된 제2 결합 상대 등을 포함한다. 따라서, 검출제는 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)에 특이적인 표지된 항체일 수 있다. 검출제는 또한 관심의 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)에 특이적인 비표지된 제1 항체 및 비표지된 제1 항체에 특이적으로 결합하는 표지된 제2 항체일 수 있다. 각각의 예에서, 검출제 시약은 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)-포획 시약 복합체의 결합된 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)를 특이적으로 검출하며, 따라서, 검출제 시약은 바람직하게는 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체) 포획 영역에 국재화된 포획 시약 또는 다른 성분에 실질적으로 결합하거나 그와 반응하지 않는다. 검출제의 이러한 비-특이적 결합 또는 반응은 거짓 양성 결과를 제공할 수 있다. 임의로, 검출제 시약은 2차 포획 영역에 존재하는 양성 대조군 분자 (예컨대 표지된 단백질 A 검출제, 또는 표지된 단백질 G 검출제, 또는 표지된 항-인간 Ab(Fc)에 대한 비-특이적 인간 IgG)를 특이적으로 인식할 수 있다.

[0351] <u>유동-통과 장치 구축 및 설계</u>

[0352] 유동-통과 장치는 고체 지지체, 전형적으로, 미세역가 플레이트 또는 막 (예컨대, 니트로셀룰로스, 나일론, 또

는 PVDF) 상에 부동화된 포획 시약 (예컨대 1종 이상의 항체)을 포함한다. 간단한 대표적인 포맷에서, 유동-통과 장치의 막은 유체 샘플을 막을 통해 끌어당기는 저장소로서 작용하는 흡수 층과 기능적 또는 물리적으로 접촉하여 정치된다. 임의로, 포획 시약의 부동화 후, 막 상의 임의의 잔류하는 소분자- (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것) 결합 부위는 비특이적 상호작용을 최소화하기 위해 차단될 수 있다 (샘플 투여 전에 또는 그와 공동으로).

[0353] 유동-통과 장치의 작동에서, 유체 샘플은 막과 접촉하여 정치된다. 전형적으로, 유동-통과 장치는 또한 바람직한 부피의 유체 샘플을 수용하고 일시적으로 보유하는 샘플 적용 영역 (또는 저장소)을 포함한다. 샘플은 막 매트릭스를 통해 통과한다. 이 프로세스에서, 샘플에서의 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)는 부동화된 포획 시약 (예컨대 1종 이상의 항체)에 특이적으로 결합할 수 있다. 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)-포획 시약 복합체의 검출이 바람직한 경우, 검출제 시약 (예컨대 1종 이상의 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)에 특이적으로 결합하는 표지된 항체)은 샘플과 함께 첨가될 수 있거나, 검출제 시약을 함유하는 용액은 샘플의 적용에 이어서 첨가될 수 있다. 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)가 포획 시약에 의해 특이적으로 결합되는 경우, 특정 검출제 시약에 기인하는 특징은 막의 표면 상에 관찰될 수 있다. 임의적 세척 단계는 프로세스의 임의의 시간에, 예를 들어, 샘플의 적용 후에, 및/또는 검출제 시약의 적용 후에 첨가될 수 있다.

[0354] <u>측면 유동 장치 구축 및 설계</u>

[0355] 측면 유동 장치는 관련 기술분야에 통상적으로 공지되어 있다. 간략하게, 측면 유동 장치는 그의 필수요소로서 관심의 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)를 함유하는 것으로 의심되는 시험 샘플 유체를 유동시키는 시험 스트립을 갖는 분석 장치이다. 시험 유체 및 임의의 현탁된 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)는 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체) (존재하는 경우)가 포획제 및 검출제와 상호작용하여 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물, 또는 그의 접합체 또는 유도체)의 존재, 부재, 및/또는 양을 지시하는 검출 구역으로 스트립을 따라 유동할 수 있다.

[0356] 다수의 측면 유동 분석 장치는 개시되었고, 미국 특허 제4,313,734호; 제4,435,504호; 제4,775,636호; 제4,703,017호; 제4,740,468호; 제4,806,311호; 제4,806,312호; 제4,861,711호; 제4,855,240호; 제4,857,453호; 제4,943,522호; 제4,945,042호; 제4,496,654호; 제5,001,049호; 제5,075,078호; 제5,126,241호; 제5,451,504호; 제5,424,193호; 제5,712,172호; 제6,555,390호; 제6,258,548호; 제6,699,722호; 제6,368,876호 및 제7,517,699호에 나타내어진 것들을 들 수 있으며, 이들의 각각은 참조로 포함된다.

[0357] 많은 측면 유동 장치는 생물학적 유체가 해면성 스트립 (비-해면성 물질이 사용될 수 있지만, 예를 들어, 계면활성제를 물질에 적용함으로써 해면성이 될 수 있음) 상의 샘플 영역에 정치되고, 액체가 액체에서 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)와 상호작용하는 특이적 결합 상대 (예컨대 항체)와 접촉할 때까지 스트립을 따라 이동하도록 허용되는 1-단계 측면 유동 검정이다. 표지된 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)가 결합 상대와 상호작용하면, 신호 (예컨대 형광 또는 다르게는 가시적 염료)는 상호작용이 일어났음을 지시한다. 다수의 별개의 결합 상대 (예컨대 항체)는 액체에서 다수의 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)를 검출하기 위해 스트립 상에 (예를 들어 평행 라인에) 정치될 수 있다. 시험 스트립은 또한 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)의 존재 (또는 부재)를 지시하는 양성 신호가 스트립 상에 나타나지 않는 경우에도, 시험이 적당하게 수행되었다는 신호를 제공하는 대조군 지시자를 혼입할 수 있다.

[0358] 측면 유동 장치는 관련 기술분야에 동등하게 널리 공지된 폭넓게 다양한 물리적 포맷을 갖는다. 적절한 기능 관계에 있는 측면 유동 장치의 기본적 성분을 지지하고/거나 하우징하는 임의의 물리적 포맷은 이 개시내용에 의해 고려된다.

[0359] 측면 유동 장치의 특정 실시양태의 기본적 성분 샘플 패드, 접합체 패드, 이동 막, 및 흡수 패드.

[0360] 샘플 패드는 샘플을 초기에 수용하는 측면 유동 장치의 성분이며, 샘플로부터 미립자를 제거하는 기능을 할 수 있다. 샘플 패드를 구축하는 데 사용될 수 있는 다양한 물질 (예컨대 유리 섬유, 직조 섬유, 스크린, 부직 섬유, 셀룰로스 섬유 또는 종이) 중에서, 또는 셀룰로스 샘플 패드는 큰 층 부피가 특정 적용에서 인자인 경우 유익할 수 있다. 샘플 패드는 1종 이상의 이형제, 예컨대 완충제, 염, 단백질, 세정제, 및 계면활성제로 처리될

수 있다. 이러한 이형제는 예를 들어, 접합체-패드 구성요소의 재용해를 촉진시키고, 측면 유동 장치의 다른 성분, 예컨대 니트로셀룰로스 막에서의 비-특이적 결합 부위를 차단하는 데 유용할 수 있다. 대표적인 이형제로는 예를 들어, 트레할로스 또는 글루코스 (1% 내지 5%), PVP 또는 PVA (0.5% 내지 2%), 트윈 (Tween) 20 또는 트리톤 (Triton) X-100 (0.1% 내지 1%), 카세인 (1% 내지 2%), SDS (0.02% 내지 5%), 및 PEG (0.02% 내지 5%)를 들 수 있다.

[0361] 이동 막에 관하여, 측면 유동 장치에 유용한 막의 유형으로는 니트로셀룰로스 (순수한 니트로셀룰로스 및 변형된 니트로셀룰로스를 포함함) 및 폴리에스테르 지지체, 폴리비닐리덴 플루오라이드, 또는 나일론) 상의 니트로셀룰로스 직접 캐스트를 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0362] 접합체 패드는, 다른 것들 중에서도, 검출제 시약을 보유하는 기능을 한다. 접합체 패드를 위한 적합한 물질로는 유리 섬유, 폴리에스테르, 종이, 또는 표면 변형된 폴리프로필렌을 들 수 있다.

[0363] 접합체 패드에 함유된 검출제 시약(들)은 전형적으로 시험 샘플의 적용 시 용액 내로 방출된다. 접합체 패드는 용액 내로의 검출제 시약의 방출에 영향을 미치는 다양한 물질로 처리될 수 있다. 예를 들어, 접합체 패드는 PVA 또는 PVP (0.5% 내지 2%) 및/또는 트리톤 X-100 (0.5%)으로 처리될 수 있다. 다른 이형제로는 제한 없이, 히드록시프로필메틸 셀룰로스, SDS, 브리지 (Brij) 및 β-락토스를 들 수 있다. 2종 이상의 이형제의 혼합물은 임의의 주어진 적용에 사용될 수 있다.

[0364] 흡수 패드에 관하여, 패드는 장치에 들어가는 샘플의 총 부피를 증가시키는 작용을 한다. 이 증가된 부피는 예를 들어, 비결합된 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합체 또는 유도체)를 막으로부터 세척하는 데 유용할 수 있다. 임의의 다양한 물질, 예를 들어, 셀룰로스 필터 또는 종이는 흡수 패드를 제조하는 데 유용하다. 일부 장치 실시양태에서, 흡수 패드는 종이 (즉, 셀룰로스 섬유)일 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 예를 들어, 그의 두께, 압축성, 제조성, 및 층 부피의 균일성에 기초하여 종이 흡수 패드를 선택할 수 있다. 제조된 흡수제의 부피 흡수는 흡수 패드의 치수 (통상적으로 길이)를 변화시킴으로써 조정될 수 있다.

[0365] 측면 유동 장치의 특정 실시양태의 작동에서, 관심의 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것), 예컨대 본원에 기재된 1종 이상의 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)를 함유하는 유체 샘플은 샘플 패드에 적용된다. 일부 예에서, 샘플은 샘플 패드를 함유하는 장치를 샘플 (예컨대 소변) 내로 디핑함으로써 또는 샘플을 샘플 패드 상으로 직접적으로 적용함으로써 적용될 수 있다.

[0366] 샘플 패드로부터, 샘플은 예를 들어 모세관 작용에 의해 접합체 패드로 통과한다. 접합체 패드에서, 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)는 가동화된 또는 가동 검출제 시약, 예컨대 항체 (예컨대 본원에 기재된 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것) 중 1종 이상을 인식하는 항체)에 결합할 (또는 그에 의해 결합될) 수 있다. 예를 들어, 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)는 접합체 패드에 함유된 표지된 (예를 들어, 금-접합된 또는 색상화된 라텍스 입자-접합된) 항체에 결합할 수 있다. 검출제 시약과 복합체화된 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)는 이어서 시험 라인으로 유동할 수 있으며, 여기서, 복합체는 근위 시험 라인에 부동화된 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)-특이적 결합 상대 (예컨대 특정 단백질, 항-합텐 항체, 또는 스트렙타비딘에 결합하는 항체)와 추가로 상호작용할 수 있다. 일부 예에서, 검출제 시약 (예컨대 금-접합된 항체)과 복합체화된 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)는 근위 시험 라인에 부동화된 비표지된 산화된 항체에 추가로 결합할 수 있다. 근위 시험 라인의 국재화된 영역에서의 표지 (예를 들어, 금 또는 색상화된 라텍스)의 축적으로부터 초래되는 복합체의 형성이 검출된다. 대조군 라인은 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)의 존재 또는 부재 하에서 검출제 시약에 결합할 수 있는 부동화된 검출제-시약-특이적 결합 상대를 함유할 수 있다. 대조군 라인에서의 이러한 결합은, 심지어 관심의 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)의 부재 하에서도, 시험의 적절한 성능을 지시한다.

[0367] 한 실시양태에서, 대조군 라인은 소변의 IgG, IgD, IgA 또는 또다른 구성요소 중 1종의 존재를 검출한다. 한 실시양태에서, 대조군 라인은 당단백질, 분비성 IgA, 락토페린, 리소자임 및 퍼옥시다제 중 1종, 또는 타액의 또다른 구성요소의 존재를 검출한다.

[0368] 시험 결과는 직접적으로 가시화될 수 있거나, 판독기 (예컨대 스캐너)를 사용하여 측정될 수 있다. 판독기 장

치는 판독 영역 (예를 들어, 시험 라인 및/또는 대조군 라인)으로부터의 표지된 시약으로부터 유래된 색상, 형광, 발광, 방사능, 또는 임의의 다른 검출가능한 마커를 검출할 수 있다.

[0369] 측면 유동 장치의 또다른 실시양태에서, 시험 결과에서 시험 라인에 평행하거나 수직으로 (또는 임의의 다른 공간적 관계로) 위치된 제2 (또는 제3, 제4 이상의) 시험 라인이 있을 수 있다. 이 특정 실시양태의 작동은 (i) 제2 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)에 특이적인 제2 검출제 시약, 예컨대 또다른 항체가 또한 접합체 패드에 함유될 수 있고, (ii) 제2 시험 라인이 샘플에서 제2 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것), 예컨대 제2 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)에 대한 친화성을 갖는 제2 특이적 결합 상대를 함유할 것이라는 추가의 고려사항과 함께 본원의 다른 곳에 기재된 것과 유사하다. 유사하게, 제3 (이상의) 시험 라인이 포함되는 경우, 시험 라인은 제3 (이상의) 소분자 (예컨대 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것)에 대한 친화성을 갖는 제3 (이상의) 특이적 결합 상대를 함유할 것이다.

[0370] 한 실시양태에서, 대조군 라인의 시험 라인과의 비교는 본 발명의 진단 시스템으로부터의 시험 결과를 생성한다. 일부 예에서, 유효한 결과는 대조군 라인이 시험 라인보다 더 높은 강도 수준에서 검출되는 경우 발생한다. 예를 들어, 유효한 결과는 대조군 라인이 시험 라인보다 적어도 5% 이상, 예를 들어, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 이상 더 어두운 경우 발생한다. 일부 예에서, 유효한 결과는 대조군 라인이 시험 라인보다 적어도 0.5배 이상, 예를 들어, 1배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배 이상 더 어두운 경우 발생한다.

[0371] <u>치료 시점 진단 및 위험 평가 시스템</u>

[0372] 본 발명의 시스템은 치료 시점 시나리오에 적용될 수 있다. 미국 특허 제6,267,722호, 제6,394,952호 및 제6,867,051호는 특정 의학적 위험을 진단하고 평가하기 위한 시스템을 개시하고 기재하고 있으며, 그의 내용은 본원에 포함된다. 시스템은 환자가 검사되고 시험되는 치료 시점에서 사이트에 대한 사용을 위해, 뿐만 아니라 사이트로부터 먼 작업을 위해 설계된다. 시스템은 생화학적 시험 데이터, 물리적 시험 데이터, 과거 데이터 및 다른 이러한 데이터를 포함하나 이에 제한되지는 않는 환자 데이터의 형태로 입력을 수용하고, 정보, 예컨대 의학적 진단 또는 질환 위험 지시자에 관한 데이터를 프로세싱하고 출력하도록 설계된다. 환자 데이터, 예컨대 의학적 기록 또는 내력은 시스템 내에 함유될 수 있거나, 의학적 시험 또는 절차, 예를 들어, 면역검정 시험 데이터, 혈압 판독, 초음파, X-선 또는 MRI로부터의 신호 또는 영상으로서 입력되거나, 임의의 다른 형태로 도입될 수 있다. 구체적인 시험 데이터는 디지털화되고, 프로세싱되고, 의학적 진단 전문가 시스템 내로 입력될 수 있으며, 여기서, 이는 다른 환자 정보와 통합될 수 있다. 시스템으로부터의 출력은 질환 위험 지수 또는 의학적 진단이다.

[0373] 치료 시점 시험은 생성된 시험이 이 시스템을 채용하지 않는 비교가능한 시험보다 더 빨리 수행되도록 신속한 시간 프레임으로 수행될 수 있는 실시간 진단 시험을 지칭한다. 예를 들어, 본원에 개시되고 기재된 예시된 면역검정은 상응하는 ELISA 검정보다 유의하게 더 적은 시간에, 예를 들어 반 시간 미만에 수행될 수 있다. 또한, 치료 시점 시험은 신속하게 및 사이트 상에서, 예컨대 특히 신속하고 정확한 결과가 요구되는 의사의 사무실에서, 침상 옆에서, 통계 실험실, 응급실 또는 다른 이러한 현장에서 수행될 수 있는 시험을 지칭한다.

[0374] 예시적인 실시양태에서, 치료 시점 진단 및 위험 평가 시스템은 환자 데이터를 판독하기 위한 판독기, 판독기에서 판독되도록 설계된 시험 장치, 및 데이터의 분석을 위한 소프트웨어를 포함한다. 플라스틱 하우징 내의 시험 스트립 장치는 임의로 기호, 예컨대 글자숫자 문자 바 코드 또는 다른 기계-판독가능한 코드를 포함하는 판독기로의 사용을 위해 설계되며, 시험 스트립으로부터 생성된 데이터의 분석을 위해 설계된 소프트웨어가 또한 제공된다.

[0375] 한 실시양태에서, 판독기는 예컨대 시험 스트립 상의 데이터를 검출하고/거나 정량화하기 위한 기기를 지칭한다. 데이터는 맨눈으로 볼 수 있지만, 시각화될 필요는 없다. 이러한 판독기는 상기-포함된 미국 특허 제6,267,722호, 제6,394,952호 및 제6,867,051호에 개시되고 기재되어 있다. 반사율 판독기는 형광, 또는 임의의 파장의 전자기 방사선을 비롯한 반사된 광을 사용하여 시험 스트립을 판독하도록 적합화된 기기를 지칭한다. 반사율은 광검출제 또는 다른 검출제, 예컨대 전하 결합 다이오드 (CCD)를 사용하여 검출될 수 있다. 예시적인 반사율 판독기로는 시험-스트립, 발광 다이오드, 광학 섬유, 시험 스트립을 따라 센싱 헤드를 위치화시키기 위한 수단을 비롯한 센싱 헤드, 광검출제 출력을 판독하고 발광 다이오드의 온 및 오프 작동을 제어하는 제어 회로, 원 및/또는 프로세싱된 데이터를 저장하기 위한 메모리 회로, 및 광검출제, 예컨대 규소 광다이오드 검출제를 수용하도록 적합화된 카세트 슬롯을 들 수 있다. 색상 변화는 색상의 강도 또는 색조의 변화를 지칭하거나,

색상이 존재하지 않는 경우 색상의 출현 또는 색상의 사라짐일 수 있음이 인정될 것이다.

[0376] 한 실시양태에서, 샘플은 진단 면역검정 시험 스트립에 적용되며, 색상화되거나 어두운 밴드가 생성된다. 시험 스트립의 시험 영역 (또는 검출 구역)에서 색상화된 표지에 의해 반사된 색상의 강도는, 관심의 농도 범위에 대해, 시험되고 있는 샘플에 존재하는 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합체 또는 유도체)의 양과 정비례하거나, 다르게는 상관된다. 생성된 색상 강도는, 본 실시양태에 따르면, 시험 스트립을 판독하도록 적합화된 판독기 장치, 예를 들어, 반사율 판독기를 사용하여 판독된다. 시험 스트립의 시험 영역 (또는 검출 구역)에서 색상화된 표지에 의해 반사된 색상의 강도시험되고 있는 샘플에 존재하는 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합체 또는 유도체)의 양에 정비례한다. 다시 말해서, 시험 영역에서의 보다 어두운 색상화된 라인은 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합체 또는 유도체)의 보다 적은 양을 지시하는 반면, 시험 영역에서의 보다 밝은 색상화된 라인은 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합체 또는 유도체)의 보다 많은 양을 지시한다. 생성된 색상 강도, 즉, 색상화된 라인의 어두움 또는 밝음은 육안으로 또는 시험 스트립을 판독하도록 적합화된 판독기 장치, 예를 들어, 반사율 판독기를 사용하여 판독된다.

[0377] 판독기 장치에 의해 얻어진 반사율 측정은 샘플에 존재하는 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합체 또는 유도체)의 존재, 부재, 및/또는 양과 상관된다. 판독기는 스트립을 따라 복수의 판독을 취하며, 샘플에 존재하는 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 접합체 또는 유도체)의 존재, 부재, 및/또는 양의 지시인 결과를 생성하는 데 사용되는 데이터를 얻는다. 시스템은 이러한 데이터를 장애, 상태, 또는 그의 위험의 존재와 상관시킬 수 있다.

[0378] 본원의 다른 곳에 언급된 바와 같이, 시험 스트립을 판독하는 것 외에도, 판독기는 (임의로) 시험 스트립 또는 하우징 상에 존재하고, 시험 스트립 장치 및/또는 시험 결과 및/또는 환자, 및/또는 시약에 관한 정보 또는 다른 바람직한 정보를 코딩하는 기호, 예컨대 바 코드를 판독하도록 적합화될 수 있다. 전형적으로 연관된 정보는 원격 컴퓨터 데이터베이스에 저장되지만, 수동으로 저장될 수 있다. 더욱이, 기호는 장치가 사용되는 경우 인쇄될 수 있으며, 정보가 그 안에 코딩된다.

[0379] <u>건강 프로파일</u>

[0380] 한 실시양태에서, 본 발명은 대상체에 대한 건강 프로파일을 생성하기 위한 1종 이상의 의학적 처방에 대한 준수를 포함하는 인자의 확인에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 의학적 처방은 예방적 처방이다. 따라서, 본 발명은 1종 이상의 예방적 의약이 인자의 검출에 의해 처방된 상태(들)를 발달시킬 위험이 있는 대상체를 확인하고, 본원에 개시된 건강 프로파일을 평가하는 방법을 특색으로 한다. 이들 인자 또는 다르게는 건강 프로파일은 또한 치료 및 요법을 겪고 있는 대상체를 모니터링하는 데, 및 요법 및 치료를 허용가능한 대안이 이용가능한 경우 낮은 비율의 준수를 갖는 대상체에서 효과적일 것인 대안으로 변형시키는 데 유용하다.

[0381] HIV를 발달시킬 위험은 본원에 기재된 인자 중 1종 이상을 측정하고, 인자의 존재 및 값을 참조 또는 지수 값과 비교함으로써 평가될 수 있다. 이러한 비교는 다수의 개별적 인자 및 다른 파라미터의 결과로부터의 정보를 단일 측정 또는 지수로 조합하기 위해 수학적 알고리듬 또는 식으로 착수될 수 있다. HIV의 증가된 위험을 갖는 것으로 확인된 대상체는 임의로 상담, 증가된 빈도의 모니터링, 또는 치료 처방, 예컨대 치료 화합물의 투여를 받도록 선택될 수 있다. HIV를 갖는 대상체는 임의로 그들의 개별적 건강 프로파일에 대한 상담 또는 증가된 빈도의 모니터링을 받도록 선택될 수 있다.

[0382] 따라서, 본 발명의 인자는 (i) HIV를 갖지 않거나 발달시킬 것으로 예상되지 않는 및/또는 (ii) HIV를 갖거나 발달시킬 것으로 예상되는 대상체의 건강 프로파일 또는 특징을 생성하는 데 사용될 수 있다. 대상체의 건강 프로파일은 HIV를 발달시킬 위험이 있는 대상체를 진단하거나 확인하고, 예방적 처방에 대한 준수를 모니터링하고, NRTI 또는 다른 예방적 제약의 유효성을 모니터링하기 위해 미리 결정된 또는 참조 프로파일과 비교될 수 있다. 본 발명의 인자에 관한 데이터는 또한 다른 데이터 또는 시험 결과, 예컨대, 제한 없이, HIV에 대한 임상 파라미터 또는 다른 알고리듬의 측정과 조합되거나 상관될 수 있다.

[0383] 본원에 기재된 본 발명의 방법으로부터 얻어진 정보는 단독으로, 또는 대상체로부터의 또는 대상체로부터 얻어진 생물학적 샘플로부터의 다른 정보 (예를 들어, 연령, 인종, 성적 지향, 활력 징후, 혈액 화학 등)와 조합으로 사용될 수 있다.

[0384] 본 발명의 다양한 실시양태는 다수의 시점에서 개체에서의 예방적 제약의 수준을 모니터링하고, 추적하고, 보고하도록 구성된 메커니즘을 기재한다. 한 실시양태에서, 시스템은 개체로부터의 다수의 샘플로부터의 예방적 치료 처방과 연관된 대사물의 존재에 대한 데이터의 수집을 허용한다. 시스템은 예방적 제약과 연관된 대사물의 수준의 변화 (즉, 증가 또는 감소)가 단일 개체로부터의 후속 샘플에서 검출되는 경우, 예방약이 처방된 장애 또는 상태를 발달시킬 위험의 가능성에 관해 사용자/평가자에게 통지할 수 있다. 예를 들어, 일부 실행에서, 시스템은 예방적 제약을 취한 후 제1일, 제2일, 제3일 및 제4일에 사용자/평가자에 의해 시스템 내로 입력되거나 시스템에 의해 자동적으로 기록된 대사물의 존재를 기록하고, 개체가 추가의 예방약의 개입 투여의 부재 하에서 장애에 걸릴 높은 위험이 있는 날을 예측하는 패턴을 인식하기 위한 알고리듬을 적용한다. 알고리듬 분석은 예를 들어, 중앙 (예를 들어, 클라우드-기재) 시스템에서 수행될 수 있다. 클라우드에 업로드된 데이터는 학습 알고리듬이 모든 환자의 집합적 데이터 세트에 기초한 분석을 개량하도록 보관되고 수집될 수 있다. 일부 실행에서, 시스템은 수집된 데이터에 기초하여 객관적으로, 조기에, 및 적어도 반-자동적으로 위험을 진단하는 것을 보조하기 위해 정량화된 임상적 특색 및 생리학을 조합한다.

[0385] 일부 실시양태에서, 시스템은 개인 용도 및 개별적 대상체에 의한 추적을 위한 것이다. 일부 실시양태에서, 시스템으로부터의 데이터는 중앙 시스템에 업로드되고, 제공자는 데이터를 평가하고, 진단 또는 권고를 한다. 제공자는, 일부 실행에서, POCT 시스템 및 원격 평가자 컴퓨팅 시스템 사이의 실시간 데이터 공급을 통해 라이브 분석을 수행할 수 있다.

[0386] 시스템은 몇몇 이점을 갖는다. 시스템은 전자 장치, 예컨대 전자 핸드 헬드 장치 또는 심지어 편리를 위해 착용가능한 데이터 수집 장치의 맥락에서 키트 또는 어플리케이션의 형태일 수 있다. 시스템은 또한 제공자에게 유익하다. 제공자는 가정으로부터, 통근 동안, 또는 다르게는 사무실로부터 멀리 떨어져 치료 처방에 대한 준수를 평가할 수 있다. 또한, 제공자는 개체가 처방된 처방에 준수하는 한, 사무실 방문 없이 예방약의 계속된 사용을 승인할 수 있다. 제공자 또는 개체 자신은 또한 개체가 증가된 위험이 있을 수 있음을 시사할 치료 준수에서의 일시적 과실에 대해 시스템에 의해 변경될 수 있다.

[0387] 일부 실행에서, 시스템은 개체의 진행중인 진행을 추적하는 데 사용된다. 이러한 진행중인 평가를 가능하게 하기 위해, 일부 실시양태에서, 평가에 대한 적용은 네트워크-접근가능한 콘텐츠 스토어 다른 콘텐츠 저장소, 또는 다른 콘텐츠 콜렉션을 통해 착용가능한 데이터 수집 장치에 다운로드 또는 스트리밍에 이용가능하게 될 수 있다. 콘텐츠는 성질상 간단한 텍스트, 화상, 또는 비디오 콘텐츠 등에서부터 완전히 정교한 소프트웨어 애플리케이션 ("앱") 또는 앱 스위트까지의 범위일 수 있다. 콘텐츠는 자유롭게 이용가능하거나 가입 기재일 수 있다. 콘텐츠는 독립형일 수 있거나, 콘텐츠를 플레이하는 그의 기존의 능력 (예컨대 텍스트, 화상, 비디오, 앱 등을 디스플레이하거나, 데이터를 수집하는 내재적 능력)에 기초하여 착용가능한 데이터-수집 장치 상에 플레이 가능할 수 있거나, 콘텐츠 제공자로부터의 콘텐츠를 혼입하도록 설계된 콘텐츠-가능화 프레임워크 또는 플랫폼 애플리케이션 내에서 플레이되거나 활용될 수 있다. 더욱이, 콘텐츠 소비자는 HIV에 걸릴 위험이 있는 개체 또는 그들의 가족 뿐만 아니라 시스템 모듈을 그들의 전문적 실행 내로 혼입하기 원하는 임상의, 의사, 및/또는 교육자를 포함할 수 있다.

[0388] 한 실시양태에서, 본 발명의 HIV에 걸릴 위험을 평가하기 위한 시스템은 휴대 전화, 태블릿 컴퓨터, 데스크 톱 컴퓨터 등 상에서 실행될 수 있다. 일부 실행에서, 평가 외에도, 시스템의 1개 이상의 모듈은 HIV 및 그의 특징으로의 개체의 대응을 지지하기 위한 훈련 메커니즘, 예컨대, 일부 예에서, HIV를 갖는 개체에게 응급 처치를 받거나 제공하는 경우 취하는 행동을 보조하기 위한 훈련 메커니즘을 제공한다.

[0389] 한 실시양태에서, 본 발명의 시스템은 데이터가 경보를 촉발하도록 지정되는 경우 통지가 자동적으로 발생하도록, 전자 의학적 기록 데이터베이스/소프트웨어에서 은연중에 자동적으로 작동하는 매체에 있을 수 있다.

[0390] 또다른 실시양태에서, 본 발명의 시스템은 "기계 학습"을 포괄하는 포맷일 수 있으며, 따라서 프로세스 및 비교자는 보다 많은 정보가 입력되고, 새로운 유사체가 개발됨에 따라 업데이트되고 개선된다.

[0391] 일부 실시양태에서, 본 발명은 B형 간염 바이러스의 치료 또는 예방을 위한 TFV를 함유하는 처방으로의 환자 순응도를 평가하는 데 적용될 수 있다.

[0392] <u>질환</u>

[0393] 한 실시양태에서, HIV로 진단된 사람은 HIV의 치료를 위한 1종 이상의 NRTI를 포함하는 제약이 처방될 수 있다. 한 실시양태에서, HIV에 걸릴 위험이 있는 개체는 노출 사건으로부터 HIV에 걸릴 위험을 감소시키기 위한 예방적 조치로서 매일 취해지는 1종 이상의 NRTI를 포함하는 제약이 처방될 수 있다. 이러한 개체는 HIV로 진단된

개체의 친척일 수 있다. 이러한 개체는 HIV로 진단된 개체를 위한 장기 치료 제공자일 수 있다. 이러한 개체는 HIV로 진단된 개체를 위한 단기 치료 제공자일 수 있다. 이러한 개체는 HIV로 진단된 개체의 거주 또는 비-거주 파트너일 수 있다. 특정 경우, 이러한 개체는 HIV 또는 HIV의 치료 또는 예방을 위한 제약을 포함하는 연구에 참가할 수 있다. 일부 실시양태에서, 사람은 B형 간염 바이러스로 진단되고, HIV에 대해 상기 주어진 것들과 유사한 이유로 NRTI가 처방될 수 있다.

[0394] 한 실시양태에서, 본 발명은 개체가 최근 (예를 들어, 1주 내에) NRTI를 취했는지 여부를 신속하게 측정하기 위한 시스템을 제공한다. 한 실시양태에서, 시험 결과는 개체가 제공자 또는 조사 연구 관리자에 의해 처방된 바와 같은 1종 이상의 NRTI를 포함하는 제약을 취했는지 여부를 측정하는 데 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 시험 결과는 개체가 노출 사건 시 HIV에 걸릴 높은 위험이 있는지 여부를 측정하는 데 사용될 수 있다.

[0395] 한 측면에서, 본 발명은 처방된 예방 또는 치료 계획으로의 순응도의 개체의 수준의 측정이 개체에 대한 장래의 치료 계획에 대해 의사에게 통지할 수 있기 때문에 유용하다. 한 측면에서, 본 발명은 조사 연구로의 순응도의 개체의 수준의 측정이 새로운 NRTI 제약의 효능에 대해 모아진 데이터의 타당성에 대해 조사자에게 통지할 수 있기 때문에 유용하다. 예를 들어, 새로운 NRTI를 시험하는 조사 연구에 참가하는 개체가 본 발명을 사용하고, 시험 결과가 사람이 처방된 바와 같은 NRTI를 취했음을 지시하는 경우, 조사 연구 결과에 대해 신뢰가 제공된다. 대안적으로, 시험 결과가 개체가 처방된 바와 같은 NRTI를 취하지 않았음을 지시하는 경우, 조사자는 개체가 진행중인 연구로부터 제거되어야 함을 결정할 수 있다.

[0396] 한 실시양태에서, 인센티브 방법은 처방 계획에 대한 준수를 개선시키기 위해 제공될 수 있으며, 여기서, 개체는 NRTI를 포함하는 제약을 취하기 위해 임의의 방식으로 장려되고, 본 발명은 처방 계획에 대한 준수를 모니터링하는 데 사용된다. 인센티브 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며, 금전적 보상 및 게임화를 들 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0397] 한 실시양태에서, 본 발명은 궁극적으로 예방적 또는 PrEP 작용제로서 사용되는 다른 의약을 비롯한 다른 의약에 대한 소변 검정에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 궁극적으로 예방적 또는 PrEP 작용제로서 사용되는 다른 의약을 비롯한 다른 의약에 대한 치료 시점 검정에 관한 것이다.

[0398] <u>투여</u>

[0399] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 검정 또는 시스템은 예방을 취하는 환자에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 검정 또는 시스템은 노출전 예방을 취하는 환자에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 검정 또는 시스템은 NRTI, 예컨대 TDF 및/또는 FTC를 취하는 환자에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 검정 또는 시스템은 NRTI, 예컨대 TAF 및/또는 FTC를 취하는 환자에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 검정 또는 시스템은 트루바다 (Truvada)™, 또는 TDF 및/또는 TAF를 함유하도록 제형화된 임의의 다른 약물 생성물을 취하는 환자에게 투여된다.

[0400] 일부 실시양태에서, 본 발명의 검정 또는 시스템은 건강관리 제공자 또는 시설에의 방문 동안 임상 환경에서 제공자에 의해 환자에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 검정 또는 시스템은 임상 환경 외부의 환자에 의해 사용된다. 일부 실시양태에서, 임상 환경 외부에서 검정 또는 시스템을 사용하는 환자는 의사에게 결과를 통지한다. 일부 실시양태에서, 임상 환경 외부에서 검정 또는 시스템을 사용하는 환자는 결과를 의사에게 보고하는 것과 독립적으로 그렇게 한다.

[0401] **실험 실시예**

[0402] 본 발명은 또한 하기 실험 실시예를 참조로 상세하게 기재된다. 이들 실시예는 단지 예시의 목적으로 제공되며, 달리 특정되지 않는다면 제한적인 것으로 의도되지 않는다. 따라서, 본 발명은 어떤 식으로도 하기 실시예에 제한되는 것으로 해석되지 않아야 하며, 오히려, 본원에 제공된 교시내용의 결과로서 명백하게 되는 임의의 및 모든 변형을 포괄하는 것으로 해석되어야 한다.

[0403] 추가의 설명 없이, 관련 기술분야의 통상의 기술자는, 선행하는 설명 및 하기 예시적인 실시예를 사용하여, 본 발명의 화합물을 제조하고 이용하며, 청구된 방법을 실시할 수 있다고 믿어진다. 따라서, 하기 작업 실시예는 본 발명의 바람직한 실시양태를 구체적으로 지적하며, 본 개시내용의 나머지를 어떤 식으로도 제한하는 것으로서 해석되지 않아야 한다.

[0404] <u>실시예 1</u>

[0405] TFV 유도체 (또는 TFV 유사체)

[0406] TFV 유도체 T1을 오르가닉스, 인크. (Organix, Inc.) (미국 매사추세츠주 우번)에 의해 합성하였으며, 이는 **도 1**에 나타내어진 TFV 유도체에 대한 합성 경로를 입증한다.

[0407] 유사체 합성은 이전에 기재되었다 (27,29). **T1**에 대한 합성 경로를 **도 2**에 나타낸다. 화합물 **1.1**, (*R*)-2-((디이소프로폭시포스포릴)메톡시)프로필 4-메틸벤젠-술포네이트 화합물을 공개된 문헌 절차 (27,28)에 따라 5 단계로 합성하였다. **1.1**과 6-클로로-9*H*-퓨린의 축합, 이어서 에틸렌 디아민으로의 처리로 아민 유도체 **1.3**을 우수한 수율 (72%)로 생성하였다. 중간체 **1.3**에서의 아미노 모이어티와 산 유도체 **1.4b**의 커플링으로 상응하는 아미드 유도체 **1.5**를 90% 수율로 생성하였다. 중간체 **1.5**에서의 이소프로필 및 트리틸 보호기의 탈보호로 바람직한 표적 T1을 생성하였다.

[0408] 이 일반적 합성 경로는 또한 입증되었으며, 표적 **T2 내지 T6**을 합성하는 데 사용된다. 각각의 TFV 유도체는 대략 >50 mg 생성되었으며, ^{1}H-NMR, LC-MS/MS, 및 원소 분석에 의해 분석적으로 확인하여 그들의 구조 및 분자량이 TFV 유도체와 일치함을 확인하였다. 각각의 TFV 유도체는 생물학적 평가 및 면역원으로서 후속의 사용 전에 ≥ 95% 순도를 생성하였다.

[0409] 실시예 2

[0410] 항체를 생성하기 위한 TFV 유도체 (또는 TFV 유사체)의 접합체

[0411] 실시예 1에 기재된 바와 같은 TFV 유도체를 토끼 면역화 및 검출제 접합체의 제조를 위해 운반체 단백질에 접합시켰다. 마우스, 래트, 기니아 피그, 닭, 및 염소를 포함하나 이에 제한되지는 않는 면역화 및 항체 생성에 적합한 다른 동물은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며, 시판된다.

[0412] 면역원을 제조하기 위해, TFV 유도체를 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH)에 접합시켰다. KLH 및 BSA는 소분자 Ab 제조를 위한 운반체 단백질이며, 공개된 방법 (30,31)을 사용하여 생성된다. 다른 적합한 운반체 단백질은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며, 시판된다.

[0413] TFV 유도체는 또한 ELISA 용도를 위해 HRP 접합체를 제조하는 데 사용되었다. 단백질 (합텐 및 HRP 접합체) 및 약물 유도체를 표준 티올/말레이미드 커플링 화학을 사용하여 연결하였다. HRP를 유도체를 말레이미드 표지된 HRP에 연결시킴으로써 생성하였다. 접합체를 널리 확립된 절차 (32)를 이용하여 제조하였다.

[0414] 항혈청 제조를 위해, TFV 유도체를 합성하고, KLH에 접합시키자 마자, 이들로 토끼를 이어서 면역화하였다. 모든 TFV 유도체의 성능을 생성된 항체와의 HRP 접합체로서 평가하였다.

[0415] 실시예 3

[0416] TFV 유도체 접합체에 대해 발생된 폴리클로날 항체의 제조 및 스크리닝

[0417] 실시예 2로부터의 TFV-유도체 접합체의 면역원성 조성물을 폴리클로날 항체 (pAb)를 개발하는 데 사용하였다. pAb의 제조 및 스크리닝을 칼리코 바이오랩스 (Calico BioLabs) (미국 캘리포니아주 플리샌톤)에 의해 수행하였다. 이들 pAb 및 ELISA를 추가로 개발하여 원료를 정량화하고, 모노클로날 항체 (mAb) 제조에 사용될 토끼를 선택하였다.

[0418] 토끼 항체는 임상적 검정에 적합하며, 일반적으로 특이성, 친화도, 및 안전성에 있어서 그들의 설치류 대응물을 능가한다 (33 내지 36). 보다 큰 동물, 예컨대 양, 염소 및 당나귀는 이들이 pAb 제조를 위한 보다 큰 혈액 부피를 제공하기 때문에 때때로 바람직하지만, 토끼 mAb의 특이성은 일반적으로 다른 종의 그것보다 더 높다. 토끼 mAb는 신속하게 및 비용-효과적으로 생성될 수 있으며, 새로운 기술은 이들 절차를 간소화하고 개선시키는 데 사용되고 있다. 마우스 mAb는 전형적으로 nm 범위 (10^{-9} M)의 친화도를 갖지만, 토끼 mAb는 통상적으로 마우스 mAb보다 10 내지 >1000배 더 높은, pm 범위의 10^{-10} M 또는 심지어 10^{-12} M의 친화도로 생성될 수 있다. 토끼는 폴리클로날 및 모노클로날 검정 시약 둘 다를 제조하기 위한 우수한 선택의 종이며, 현재 산업 표준이다.

[0419] 2마리의 토끼를 TFV 유도체 접합체를 포함하는 2종의 면역원의 각각에 대해 면역화하였다. 토끼를 표준 프로토콜을 사용하여 부스팅하고, 항혈청을 각각의 토끼로부터 수집하였다. pAb를 주사후 12-일 간격으로 토끼로부터 수확하였다. 1:16,000 희석에서 약 4배 신호-대-잡음 비의 허용가능한 역가를 이용하였다. 일반적으로, 95% 초과의 표적 소분자 (예를 들어, 대사물, NRTI, 또는 본원에 기재된 화합물 중 임의의 것, 또는 그의 유도체 및

접합체)에 대한 특이성을 갖는 pAb가 발생되었다.

[0420] pAb를 아가로스 비드에의 TFV 유도체의 접합의 표준 절차를 사용한 친화도 정제, 이어서 컬럼 크로마토그래피에 의해 혈청으로부터 단리하였다. 대략 50 mg의 친화성-정제된 pAb를 2마리의 토끼로부터 제조하였다. 단리된 pAb를 "312" 및 "313"으로 지정하였다.

[0421] pAb를 하기 기재된 ELISA 검정에서 시험하였다. 최종 pAb는 표적 컷-오프 농도 주위의 +/-25%의 분리를 허용하는 적당한 기울기를 갖는 검정 곡선을 가졌다. 허용가능한 PAb는 또한 표적 컷-오프 주위의 +/-50%의 분리를 갖는다.

[0422] <u>실시예 4</u>

[0423] <u>폴리클로날 항체의 입증 및 ELISA 검정</u>

[0424] 실시예 3에서 생성된 pAb를 입증하기 위해, 실시예 3으로부터의 정제된 pAb를 원형 검정 개발에 사용하였다. 항체 특이성 및 친화도를 위한 초기 출혈을 실시예 2에서 제조된 HRP 시약 및 대조군으로서 순수한 TFV를 사용하여 스크리닝하고 평가하였다. 곡선을 생성하고, 컷-오프의 1%에서 검출의 한계 (TFV의 보호 수준에 대한 컷-오프가 LC-MS/MS에 의해 1000 ng/mL인 것으로 측정되었기 때문에 10 ng/mL)를 갖는 항체를 확인하였다.

[0425] <u>생물학적 샘플</u>

[0426] 50개의 공지된 TFV-양성 샘플 및 PrEP를 취하지 않은 개체로부터의 50개의 음성 샘플을 포함하는 소변 샘플을 수집하고, 탈-식별화하였다. 탈-식별화된 샘플을 CHOP LC-MS/MS 기계 상에서 TFV 수준에 대해 정량화하였다 (17). 양성 샘플에 대한 컷-오프는 >1000 ng/mL의 TFV 수준이었다. 133개의 나머지 소변 샘플을 3-개월 기간에 걸쳐 수집하였다. TFV를 취하지 않은 것으로 공지된 환자로부터의 소변 샘플을 소변에서 임의의 성분에 대한 항체 교차-반응성을 평가하기 위한 음성 대조군으로서 사용하였다.

[0427] <u>경쟁 ELISA 검정</u>

[0428] 폴리클로날 항체를 시험하기 위해, 경쟁 검정을 하기 검정 프로토콜을 사용하여 수행하였다. 이 검정에서, 약물 농도는 생성된 신호에 반비례하였다. 미세역가 플레이트를 항-TFV 항체로 코팅하고, TFV 표준물 또는 환자 샘플 (약물이 있거나 없음), 또는 TFV-양성 소변을 HRP-TFV 유도체 접합체와 혼합하고, 플레이트 상에서 항체에 대해 자유롭게 경쟁하게 하였다. 용액을 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 (TMB) 기질을 이용하여 검출하고, 이어서 산으로 반응을 정지시켰다. 흡광도를 450 nm에서 측정하고, 약물 농도를 TFV 표준 곡선과 비교하여 색상 강도에 의해 측정하였다.

[0429] 검정은 경쟁적 포맷을 사용하기 때문에, 샌드위치 검정으로 나타난 무작위 배경 결합은 문제가 되지 않는다. 주요 문제는 명백한 구조적 유사성을 갖지 않는 물질로부터 발생할 수 있는 교차-반응성이다. ELISA의 특이성은 소변 뱅크에서 임상 샘플로 평가하였으며, 이는 기준선 특이성 성능을 확립하기 위한 TFV-음성인 것으로 확인되었다. 교차 반응성 또는 매트릭스 간섭에 관한 문제를 확인하고, "문제의" 샘플 뱅크를 생성하였다. 이 뱅크를 추가로 생성된 일련의 mAb 클론으로부터 선택하기 위한 최종 기준의 일부로서 사용하였다. 검정의 민감도를 TFV에 대해 양성인 것으로 공지된 100개의 샘플을 시험함으로써 평가하였다: 컷-오프 농도의 50%에서 정제된 TVF로 스파이킹된 50개의 TVF-음성 혈청 샘플, 및 컷-오프의 150%에서 스파이킹된 50개의 샘플. 중간 성능을 폴리클로날 검정에 대해 확립하여 mAb의 성능의 개선을 판단하기 위한 기준선을 제공하였다.

[0430] 경쟁적 ELISA를 추가로 소변 TFV 질량 분석법 시험에 대해 확인하였으며, 이는 1000 ng/mL의 이전에 확인된 컷-오프를 갖는다. MS 시험은 100개의 고유한 스파이킹된 샘플 외에도 TFV에 대해 양성인 50개의 뱅킹된 임상 샘플 및 50개의 뱅킹된 음성 샘플로 본 발명자들의 민감도 및 특이성 목표를 위한 충분한 검정력을 생성하는 표준으로서 기능할 수 있다.

[0431] ELISA는 >90%의 민감도 및 >90%의 특이성으로 공지된 농도를 갖는 소변 뱅크 샘플에서 TFV를 검출할 수 있다. 이 ELISA는 mAb를 평가하고 정량화하기 위한 대조군 시스템으로서 사용될 수 있다.

[0432] <u>검정 프로토콜 및 절차</u>

[0433] <u>A. 접합체 HRP</u>

[0434] <u>접합체:</u>

[0435] 1. 5mg의 EZ-링크 말레이미드 활성화된 HRP 분말을 5 ml의 PBS에 재구성한다 => 1mg/mL

[0436] 2. 1mg의 HRP를 첨가한다 => 에펜도르프 튜브에 1mL

[0437] 3. 1mg의 유도체를 첨가한다 => 튜브에 50 uL

[0438] 4. 실온에서 3시간 동안 인큐베이션한다

[0439] <u>중력 필터- PD10 컬럼:</u>

[0440] 5. 상부 캡을 제거하고, 컬럼 저장물을 붓는다

[0441] 6. 컬럼 노치의 밀봉된 말단을 커팅한다

[0442] 7. 컬럼을 평형 완충제로 충전한다 - 5 mL

[0443] 8. 완충제가 패킹된 층에 완전히 들어가게 한다

[0444] 9. 4회 반복한다

[0445] 10. 샘플을 첨가하고, 평형 완충제를 총 2.5mL로 첨가한다

[0446] 11. 샘플을 층에 완전히 들어가게 하고, 수집 튜브에서 유동 통과 수집한다

[0447] 12. 수집 튜브를 장치 아래에 정치하고 용리한다

[0448] 13. 3.5 mL의 완충제로 용리한다

[0449] 14. 용리액을 수집하고 4C에서 저장한다

[0450] 15. 스타빌자임 (StabilZyme) HRP 접합체로 적절한 농도로 희석한다 => 1:1,000

[0451] <u>B. 테노포비르 (TFV) 표준물 계열</u>

[0452] 테노포비르 - 시그마 알드리치 (Sigma Aldrich) #SML1795

[0453] 1. 10mg의 분말을 15mL 원뿔형 튜브 내로 측정한다

[0454] 2. 10mL의 물을 첨가한다 => 1mg/mL의 농도

[0455] 3. PBS 중 적절한 희석액을 제조한다

[0456] - 2,000 ng/mL 표준물

[0457] - 1,000 ng/mL 표준물

[0458] - 500 ng/mL 표준물

[0459] - 10ng/mL 표준물

[0460] <u>C. ELISA 프로토콜 - 항체 코팅된 플레이트 포맷</u>

[0461] 1. .5ug/웰의 항체를 갖는 고트 그라이너 바이오-원 (Coat Greiner Bio-one) 폴리스티렌 96 웰 플레이트

[0462] - 50μl/웰의 PBS 중 1:100 항체 313 희석액

[0463] 2. 실온에서 2시간 동안 또는 4℃에서 밤새 인큐베이션한다

[0464] 3. 플레이트를 아쿠아맥스 (AquaMax) 2000 플레이트 세척기로 TBST(.1% 트윈20/TBS)에서 200 μl/웰 4X 세척한다

[0465] 4. 200μl/웰의 TBST 중 2%BSA로 실온에서 1시간 동안 차단한다

[0466] 5. 차단 완충제를 웰로부터 흡인한다

[0467] 6. 50μl의 TFV 표준물 또는 샘플을 웰에 첨가한다

[0468] - 각각의 샘플 또는 표준물을 중복으로 플레이팅한다

[0469] 7. 실온에서 30분 인큐베이션한다

[0470] 8. 50 μl의 HRP 접합체를 1:1,000의 농도에서 첨가한다

[0471] 9. 잘 혼합하고, 실온에서 1시간 인큐베이션한다

[0472] 10. 웰로부터 부피를 흡인한다

[0473] 11. 플레이트를 아쿠아맥스 2000 플레이트 세척기로 TBST(.1% 트윈20/TBS)에서 200 μl/웰 4X 세척한다

[0474] 12. 50 μl의 TMB를 첨가한다

[0475] 13. 실온에서 5분 인큐베이션한다

[0476] 14. 50μl의 정지 용액 (.25M 황산)을 첨가한다

[0477] 15. 플레이트를 450 nm에서 스펙트라맥스 (SpectraMax) I3X로 판독한다

[0478] 결과

[0479] ELISA 결과를 표 2 및 도 3에 나타낸다. 표 2에서의 데이터는 지정된 농도에서 PBS에 희석된 유리 약물 (테노포비르)의 표준 곡선을 나타낸다. 항체 "312" 및 "313"은 허용가능한 보정 곡선을 생성할 수 있었으며, 1,000 ng/ml의 컷-오프 주위의 해상도를 허용하였다. 항체 313에 대해 500 내지 1,000 ng/ml (CV = 12.0%)의 7.54 표준 편차 분리 및 1,000 내지 2,000 ng/ml (CV = 4.4%)의 6.28 표준 편차가 있었다. 이는 항체 312 및 313이 테노포비르에 대해 충분한 민감도를 가짐을 지시한다.

[0480] <표 2>

[0481] ELISA 결과

[0482]

표준물	pAb 312	pAb 313
10	1.18	1.306
500	0.749	0.642
1,000	0.493	0.463
2,000	0.286	0.328

[0483] 실시예 5

[0484] 테노포비르에 대한 폴리클로날 항체의 특이성

[0485] 표 3에서의 데이터는 테노포비르에 대해 양성인 50개의 임상 소변 샘플 (입증된 LC-MS 상에서 > 1,000 ng/mL의 소변 TFV 수준) 및 테노포비르에 대해 음성인 50개의 임상 소변 샘플 (입증된 LC-MS 상에서 < 10 ng/mL의 소변 TFV 수준)에 기초하여 각각의 항체의 특이성을 비교한다. 폴리클로날 항체 312 및 313 둘 다는 TFV 양성으로서 50개의 샘플 중 50개를 정확하게 확인하였다. TFV 음성 샘플에 대해, 항체 312는 50개 중 27개의 샘플과 교차 반응성인 반면, 항체 313은 50개 중 24개의 샘플과 교차 반응성이었다. 이는 pAb 313이 pAb 312보다 약간 더 적은 교차 반응성을 가짐을 지시한다.

[0486] <표 3>

[0487] 항체 312 및 313 특이성의 비교

[0488]

항체 312 (+)	LC-MS(+)	LC-MS(-)
(+)	50	27
(-)	0	23
항체 313 (+)		
(+)	50	24
(-)	0	26

[0489] 어느 화합물이 교차 반응성을 유발하고 있는지를 확인하기 위해, 잠재적으로 교차 반응성 화합물 (TFV와 유사한 화학 구조를 갖는 화합물)을 완충제에 스파이킹하고, pAb로 그것을 시험하였다. 본 발명자들은 11가지 화합물을 시험하였으며, 그들의 퍼센트 교차 반응성을 각각의 항체에 대해 표 3에서 각각의 물질에 대해 계산하였다. pAb 312에서 3가지에 비해 pAb 313과 교차 반응성의 일부 측정을 나타낸 4가지 화합물이 확인되었다. 본원에

기재된 재조합 및 서브클론 모노클로날 항체는 이들 화합물에 대해 스크리닝될 수 있기 때문에, 이 데이터는 pAb 312에 비해 pAb 313으로 mAb 개발을 진행하기 위한 추가의 정당성을 제공하였다.

[0490] <표 4>

[0491] pAb 313 및 312의 교차 반응성

[0492]

교차 반응성 화합물 뱅크		
화합물	**313의 교차 반응성 (대 TFV 표준물)**	**312의 교차 반응성 (대 TFV 표준물)**
아데포비르	약간 교차 반응성 (0.1%)	약간 교차 반응성 (0.1%)
아데노신	약간 교차 반응성 (0.1%)	없음
아데노신 3' 모노포스페이트	약간 교차 반응성 (0.1%)	약간 교차 반응성 (0.1%)
아데노신 5' 모노포스페이트 모노히드레이트	없음	없음
아데노신 5' 트리포스페이트 디나트륨	없음	없음
시도포비르 히드레이트	중간 교차 반응성 (5%)	없음
구아노신 5' 모노포스페이트 디나트륨	없음	없음
N6 메틸아데노신 5'모노포스페이트	없음	약간 교차 반응성 (0.1%)
N6 메틸아데노신	없음	없음
2' 데옥시아데노신 5' 트리포스페이트	없음	없음
2'데옥시구아노신 5'트리포스페이트	없음	없음

[0493] <u>결론:</u>

[0494] 이들 입증 연구의 결과에 기초하여, 본원에 기재된 유도체 접합체에 의해 생성된 항체는 유리 TFV 및 소변의 임상 샘플에서의 TFV 둘 다에 대해 민감성인 것으로 확인되었다. 추가의 pAb "313"은 필요에 따라 pAb "312"로 복귀시키는 옵션으로, mAb를 제조하기 위한 후보로서 선택되었다.

[0495] <u>실시예 6</u>

[0496] <u>테노포비르 알라펜아미드를 취한 환자에서 테노포비르 수준을 측정하기 위한 소변 검정의 입증</u>

[0497] 혈액 및 소변 샘플을 환자의 3개의 코호트로부터 수집하였다: (1) TAF-기재 처방에 대한 억제된 바이러스를 갖는 10명의 HIV 양성 참가자, (2) FTC/TAF의 1개의 용량이 투여되고, 이어서 투여후 1 내지 3시간에 시작하여 7일 동안 소변 및 혈장 샘플링된 10명의 HIV- 참가자, 및 (3) FTC/TAF의 7개의 매일 용량이 투여되고, 이어서 마지막 용량 후 1 내지 3시간에 시작하여 10일 동안 소변 및 혈장 샘플링된 10명의 HIV- 참가자. 샘플을 TFV에 대한 높은 민감도 및 특이성을 갖는 액체 크로마토그래피-탠덤 질량 분석법(LC-MS/MS)을 사용하여 분석하였다. 코호트 2로부터의 샘플을 FTC/TDF의 1개의 용량이 투여된 과거 코호트와 비교하였다.

[0498] HIV 양성 참가자는 90% 남성, 40% 아프리카계 미국인, 및 10% 히스패닉 (중위 연령=53.5세; 범위=51 내지 79세)이었다. HIV 치료 처방은 TAF에 더하여 하기 중 하나를 포함하였다: 돌루테그라비르 (3), 부스팅된 엘비테그라비르 (3), 부스팅된 다루나비르 (2), 랄테그라비르 (1), 또는 릴피비린 (1). HIV 음성 참가자는 55% 남성 및 70% 백인 (중위 연령=30.5세; 범위=23 내지 47세)이었다. HIV-양성 참가자로부터의 소변 샘플은 혈장보다 소변에서 2 로그 더 높은 TFV 농도를 입증하였다 (각각 1000ng/mL 대 10ng/mL) (도 4). HIV- 대상체에서 FTC/TAF의 단일 용량 후의 소변 샘플은 투여후 1 내지 3시간에 100 내지 1000ng/mL 범위의 TFV 농도를 생성하였으며, TFV 농도는 10명의 참가자 중 8명에서 6일 동안 >100ng/mL 잔류하였다. 이들 농도는 FTC/TDF가 투여된 과거 코호트로부터의 그것과 필적하였지만, 소변 TFV 농도는 FTC/TDF를 받은 대상체에서의 의약 섭취 후 보다 급속하게 상승하였고, 평균적으로, FTC/TAF를 받은 사람들에 비해 의약의 중단 후 최초 4일 동안 더 높았다 (도

5). FTC/TAF의 7개의 연속적 용량 후에 수집된 소변 샘플은 투여의 중단 후 1 내지 3시간에 >1000ng/mL의 TFV 농도를 생성하였으며, TFV 수준은 10명의 참가자 중 8명에서 중단 후 7일까지 >100ng/mL이었다 (도 6). 혈장 TFV 농도는 모든 시점에서 둘 다의 HIV-음성 코호트에서 낮았다 (≤10ng/mL).

[0499] TFV는 FTC/TAF를 취한 환자에서 크게 비검출가능한 혈장 수준에도 불구하고 적어도 7일 동안 검출가능한 농도에서 소변에 존속하며, 소변 TFV 농도는 FTC/TDF를 취한 환자와 필적한다. 이 연구는 이 연구에서 단일 용량 대 정상 상태 TFV 농도 패턴의 차이를 고려하여 "화이트-코트" 준수에 대한 감소된 기회를 갖는 TAF 준수를 평가하기 위해 소변 TFV 검정을 사용하는 것의 실행가능성을 입증한다. 추가의 연구는 TDF- 및 TAF-기재 처방 사이의 소변 TFV 클리어런스율 패턴의 차이를 다루어야 한다.

[0500] <u>참고문헌</u>

1. HIV Surveillance Report, 2014 [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention.; 2016 Nov [cited 2017 Aug 12].

2. FACT SHEET JULY 2017 [Internet]. UNAIDS; 2017 Jul.

3. Number of Deaths Due to HIV/AIDS. [Internet]. World Health Organization Global Health Observatory; 2016 Apr.

4. Smith DK *et al*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2015 Nov 27;64(46):1291–5.

5. U.S. Federal Funding for HIV/AIDS: The President’s FY 2016 Budget Request. Kaiser Family Foundation; 2016 Apr.

6. Kearney BP *et al*. *Clin Pharmacokinet*. 2004;43(9):595–612.

7. Prejean J *et al*. *EPloS One*. 2011;6(8):e17502.

8. Grant RM *et al*. *N Engl J Med*. 2010 Dec 30;363(27):2587–99.

9. Amico KR *et al*. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 2014 Aug 15;66(5):530–7.

10. Hosek SG *et al*. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 2013 Apr 1;62(4):447–56.

11. Amico KR *et al*. *AIDS Behav*. 2013 Jul;17(6):2143–55.

[0501]

12. Van Damme L *et al. N Engl J Med*. 2012 Aug 2;367(5):411–22.
13. Golin CE *et al. J Gen Intern Med*. 2002 Oct;17(10):756–65.
14. Hawkins T *et al. J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 2005 Aug 1;39(4):406–11.
15. Koenig HC *et al. HIV Med*. 2017 Jul;18(6):412–8.
16. Bush S *et al*. Significant uptake of truvada for pre-exposure prophylaxis (PrEP) utilization in the US in late 2014–1Q 2015. [Internet]. IAPAC Treatment, Prevention, and Adherence Conference; 2015 Jun 28; Miami, FL.
17. Preexposure prophylaxis for the prevention of HIV infection in the united states – 2014 clinical practice guideline. [Internet]. The Centers for Disease Control and Prevention.; 2016 Apr.
18. World Health Organization. Guidance on Pre-Exposure Oral Prophylaxis (PrEP) for Serodiscordant Couples, Men and Transgender Women Who Have Sex with Men at High Risk of HIV: recommendations for Use in the Context of Demonstration Projects. Geneva: World Health Organization; 2012.
19. Gilead Sciences (GILD) Q2 2017 Results - Earnings Call Transcript [Internet]. 2017 Jul [cited 2017 Aug 8].
20. Hiemke C. *Eur J Clin Pharmacol*. 2008 Feb;64(2):159–66.
21. Brünen S *et al*. Medication adherence determined by therapeutic drug monitoring in psychiatric outpatients with co-morbid substance abuse disorders. Pharmacopsychiatry [Internet]. 2011 Sep [cited 2017 Sep 1];44(6).
22. Brinker S *et al. J Am Coll Cardiol*. 2014 Mar 4;63(8):834–5.
23. Koenig H. URINE TENOFOVIR TESTING TO MEASURE PREP ADHERENCE AMONG YOUTH IN A REAL WORLD SETTING. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2017 Mar 5; Boston, MA.
24. Clevenbergh P *et al. AIDS Lond Engl*. 2002 Nov 22;16(17):2311–5.
25. Nettles RE *et al. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2006 Apr 15;42(8):1189–96.
26. Wertheimer BZ *et al. HIV Clin Trials*. 2006 Apr;7(2):59–69.
27. Liu AY *et al. PloS One*. 2014;9(1):e83736.
28. Delahunty T *et al. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2006 Jan 2;830(1):6–12.

[0502]

29. Nirogi R *et al. Biomed Chromatogr BMC*. 2009 Apr;23(4):371–81.
30. Cesnek M *et al. Bioorg Med Chem*. 2008 Jan 15;16(2):965–80.
31. Holý A *et al. Collect Czechoslov Chem Commun*. 1995;60(8):1390–409.
32. Lalley-Cherczko L *et al*. HIV Research for Prevention; 2016 Oct 18; Chicago, IL.

[0503]

[0504] <u>참조로 포함됨</u>

[0505] 이 출원 전반에 걸쳐 인용된 모든 참고문헌, 특허 출원, 특허, 및 공개된 특허 출원, 뿐만 아니라 도면 및 서열 목록의 내용은 각각의 개별적 간행물 또는 특허가 구체적으로 및 개별적으로 참조로 포함된 것처럼 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 충돌의 경우, 본원의 임의의 정의를 비롯한 본 출원이 지배할 수 있다.

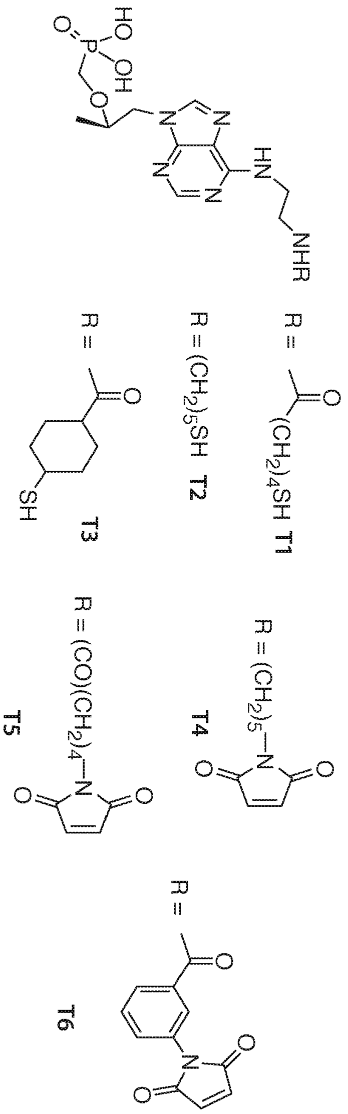
[0506] <u>등가물</u>

[0507] 형태 및 상세사항의 다양한 변화가 첨부된 청구범위에 제시된 바와 같은 본 발명의 정신 및 범위로부터 벗어나지 않고 그에 이루어질 수 있음은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다. 관련 기술분야의 통

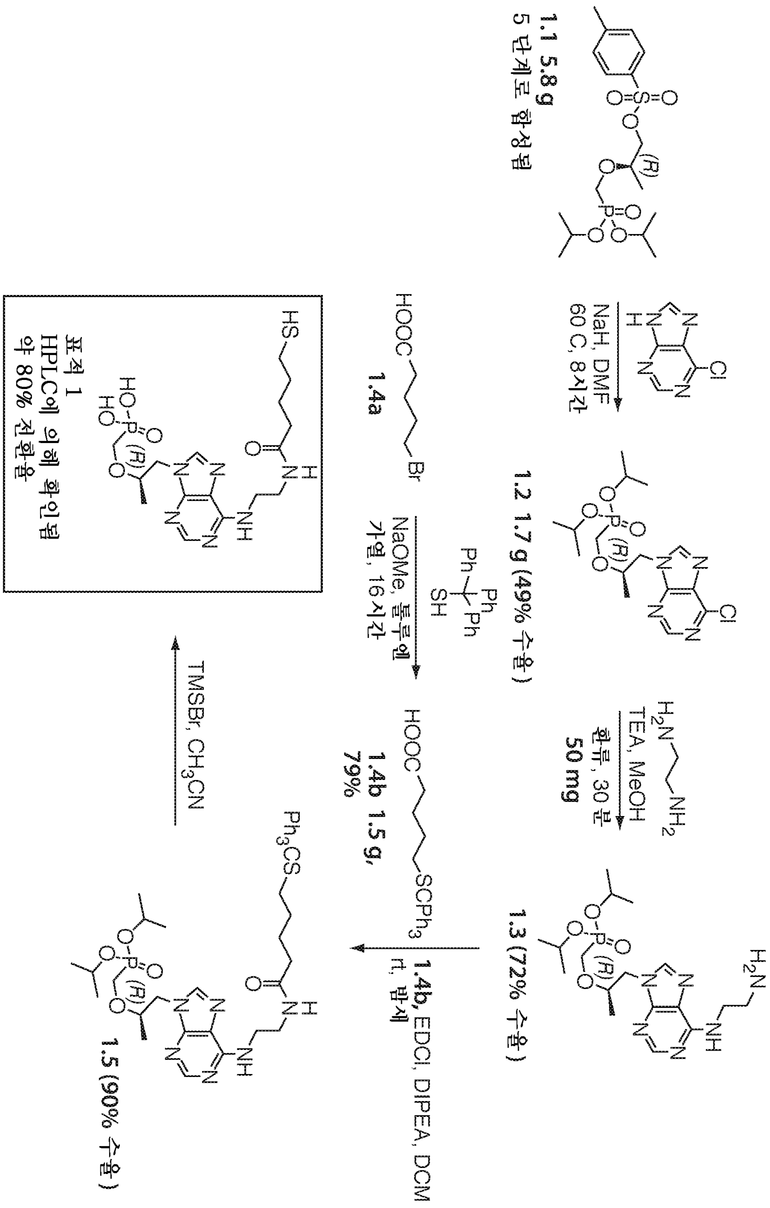
상의 기술자는 통상적인 실험 이하를 사용하여, 본원에 기재된 본 발명의 구체적인 실시양태에 대한 많은 등가물을 인식하거나, 확인할 수 있을 것이다. 본 발명의 구체적인 실시양태가 논의되었지만, 상기 명세서는 예시적이며, 제한적인 것이 아니다. 본 발명의 많은 변형은 이 명세서의 검토 시 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백하게 될 수 있다. 본 발명의 완전한 범위는 등가물의 그들의 충분한 범위와 함께 청구범위, 및 이러한 변형과 함께 명세서를 참조로 결정되어야 한다. 이러한 등가물은 하기 청구범위에 의해 포함되는 것으로 의도된다.

도면

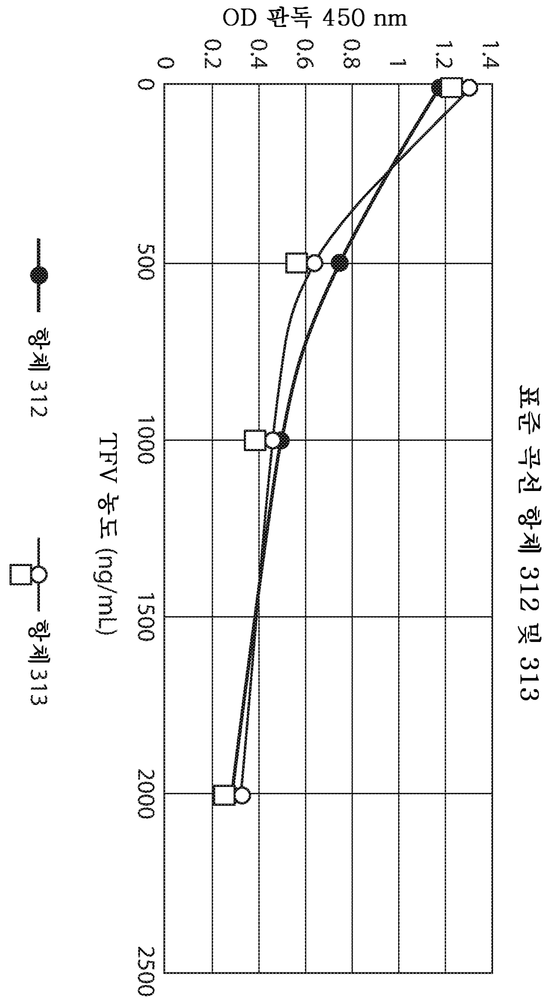
도면1



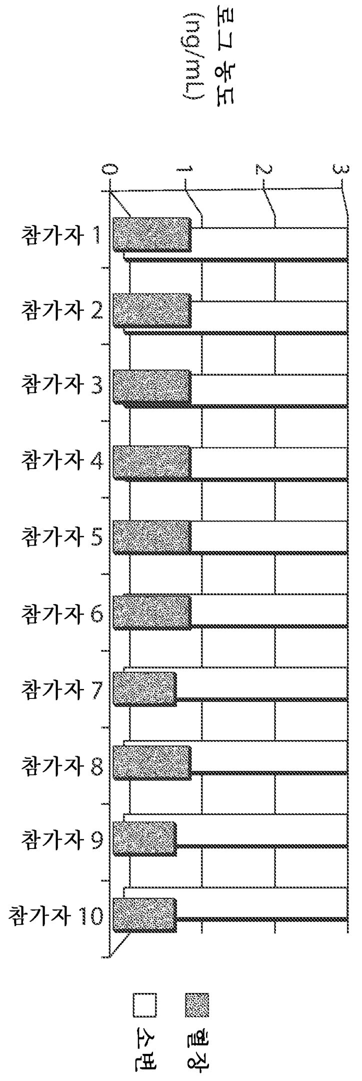
도면2


1.1 5.8 g
5 단계로 합성됨
NaH, DMF
60 C, 8시간
1.2 1.7 g (49% 수율)
TEA, MeOH
환류, 30 분
50 mg
1.3 (72% 수율)
1.4a
NaOMe, 톨루엔
가열, 16시간
1.4b 1.5 g,
79%
1.4b, EDCI, DIPEA, DCM
rt, 밤새
1.5 (90% 수율)
TMSBr, CH3CN
표적 1
HPLC에 의해 확인됨
약 80% 전환율

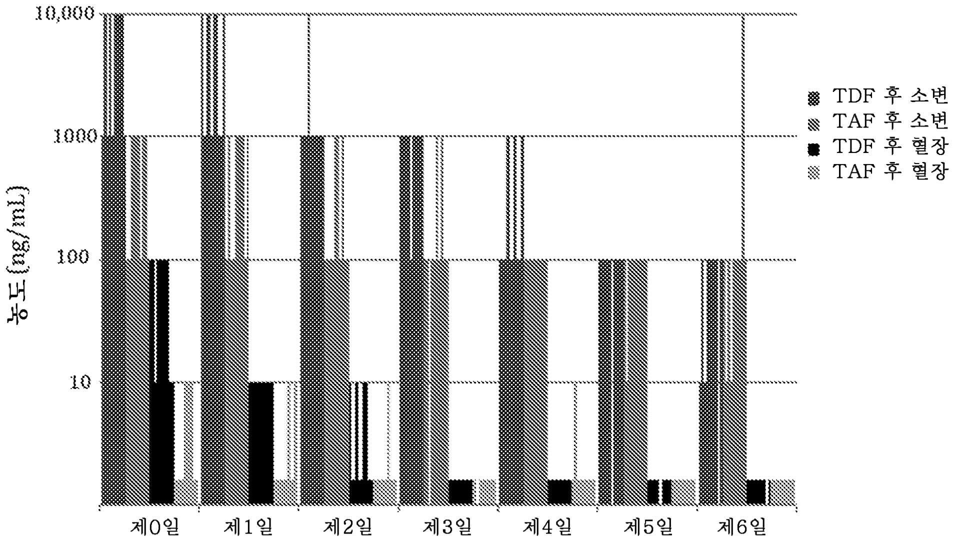
도면3


표준 곡선 항체 312 및 313
OD 판독 450 nm
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
1.4
0
500
1000
1500
2000
2500
TFV 농도 (ng/mL)
항체 312
항체313

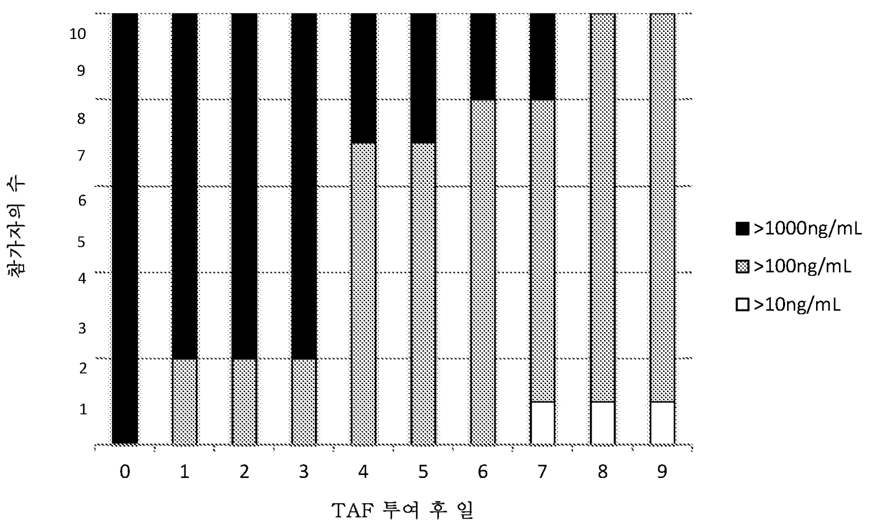
도면4


로그 농도
(ng/mL)
0
1
2
3
참가자 1
참가자 2
참가자 3
참가자 4
참가자 5
참가자 6
참가자 7
참가자 8
참가자 9
참가자 10
혈장
소변

도면5


10,000
1000
100
10
농도(ng/mL)
제0일
제1일
제2일
제3일
제4일
제5일
제6일
TDF 후 소변
TAF 후 소변
TDF 후 혈장
TAF 후 혈장

도면6



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> UrSure, Inc.

<120> REAGENTS, METHODS, AND SYSTEMS FOR DETECTING THERAPEUTIC AGENTS TO MONITOR ADHERENCE TO NUCLEOSIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS

<130> U1214.70003WO00

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> US 62/572,126

<151> 2017-10-13

<160> 42

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 1

Met Asp Met Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Ser
20 25 30
Ser Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala
35 40 45
Ser Gln Ser Ile Gly Asn Tyr Cys Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
50 55 60

Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly
65 70 75 80
Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu
85 90 95
Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
100 105 110
Ser Asn Tyr Trp Thr Thr Ser Val Asn Tyr Gly Pro Phe Gly Gly Gly
115 120 125

Thr Glu Val Val Val Glu Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile
130 135 140
Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val
145 150 155 160
Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val
165 170 175
Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln
180 185 190

Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr
195 200 205
Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln
210 215 220
Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
225 230 235

<210> 2

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 2

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro

20 25 30

Gly Thr Pro Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Asn

35 40 45

Arg Tyr Ser Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu

50 55 60

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Arg Thr Gly Thr Thr Trp Tyr Ala Asn Trp

65 70 75 80

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu

85 90 95

Lys Met Thr Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

100 105 110

Arg Thr Gly Thr Ser Ile Ala Thr Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu

115 120 125

Val Thr Val Ser Ser Gly Gln Pro Lys Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu

130 135 140

Ala Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys

145 150 155 160

Leu Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser

165 170 175

Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln Ser

180 185 190

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser

195 200 205

Gln Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val

210 215 220

Asp Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Cys Pro Pro

225 230 235 240

Pro Glu Leu Leu Gly Arg Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro

245 250 255

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

260 265 270

Val Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Thr Trp Tyr Ile

275 280 285

Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg Glu Gln Gln

290 295 300

Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Ala His Gln

305 310 315 320

Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Lys Ala

325 330 335

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Pro

340 345 350

Leu Glu Pro Lys Val Tyr Thr Met Gly Pro Pro Arg Glu Glu Leu Ser

355 360 365

Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr Pro Ser

370 375 380

Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Lys Asn Gly Lys Ala Glu Asp Asn Tyr

385 390 395 400

Lys Thr Thr Pro Thr Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr

405 410 415

Ser Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp Gln Arg Gly Asp Val Phe

420 425 430

Thr Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

435 440 445

Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 3

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 3

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Thr Phe Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Ser

20 25 30

Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser

35 40 45

Gln Asn Val Tyr Lys Asp Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

50 55 60

Gly Gln Pro Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser

65 70 75 80

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr

85 90 95

Leu Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys

100 105 110

Ala Gly Ala Tyr Asp Cys Arg Ser Gly Asp Cys Arg Ala Phe Gly Gly

115 120 125

Gly Thr Glu Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu

130 135 140

Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile

145 150 155 160

Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu

165 170 175

Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro

180 185 190

Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu

195 200 205

Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr

210 215 220

Gln Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys

225 230 235

<210> 4

<211> 457

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 4

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro

20 25 30

Gly Gly Ser Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser

35 40 45

Ser Tyr Asn Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

50 55 60

Tyr Ile Gly Tyr Ile Phe Ser Thr Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp

65 70 75 80

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu

85 90 95

Lys Met Thr Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

100 105 110

Arg Gly Ser Thr Ala Lys Gly Asp Arg Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr

115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Leu Gly Gln Pro Lys Ala Pro Ser Val Phe Pro

130 135 140

Leu Ala Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly

145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn

165 170 175

Ser Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln

180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser
195 200 205

Ser Gln Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys
210 215 220

Val Asp Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Cys Pro
225 230 235 240

Pro Pro Glu Leu Leu Gly Arg Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
245 250 255

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
260 265 270

Val Val Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Thr Trp Tyr
275 280 285

Ile Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg Glu Gln
290 295 300

Gln Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Ala His
305 310 315 320

Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Lys
325 330 335

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln
340 345 350

Pro Leu Glu Pro Lys Val Tyr Thr Met Gly Pro Pro Arg Glu Glu Leu
355 360 365

Ser Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr Pro
370 375 380

Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Lys Asn Gly Lys Ala Glu Asp Asn
385 390 395 400

Tyr Lys Thr Thr Pro Thr Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Leu
405 410 415

Tyr Ser Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp Gln Arg Gly Asp Val
420 425 430

Phe Thr Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

435 440 445

Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 5

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 5

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Glu Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala

20 25 30

Ser Val Glu Ala Ala Val Gly Asp Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala

35 40 45

Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly

50 55 60

Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Arg Ser Gly

65 70 75 80

Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu

85 90 95

Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln

100 105 110

Ser Asn Tyr Tyr Ser Arg Ser Thr Asn Tyr Val Val Pro Phe Gly Gly

115 120 125

Gly Thr Glu Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu

130 135 140

Ile Phe Pro Pro Ser Ala Asp Leu Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile

145 150 155 160

Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu

165 170 175

Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro

180 185 190

Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu

195 200 205

Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr

210 215 220

Gln Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys

225 230 235

<210> 6

<211> 457

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 6

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro

20 25 30

Gly Thr Pro Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser

35 40 45

Ser Ser Ser Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

50 55 60

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Ala Gly Ser Gly Ser Arg Tyr Tyr Ala Ser

65 70 75 80

Trp Ala Asn Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp

85 90 95

Leu Lys Ile Thr Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

100 105 110

Gly Arg Val Thr Ser Asn Gly Asp Asn Asn Ile Trp Gly Pro Gly Thr

115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gln Pro Lys Ala Pro Ser Val Phe Pro

130 135 140

Leu Ala Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly

145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn

165 170 175

Ser Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln

180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser

195 200 205

Ser Gln Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys

210 215 220

Val Asp Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Cys Pro

225 230 235 240

Pro Pro Glu Leu Leu Gly Arg Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys

245 250 255

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

260 265 270

Val Val Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Thr Trp Tyr

275 280 285

Ile Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg Glu Gln

290 295 300

Gln Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Ala His

305 310 315 320

Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Lys

325 330 335

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln

340 345 350

Pro Leu Glu Pro Lys Val Tyr Thr Met Gly Pro Pro Arg Glu Glu Leu

355 360 365

Ser Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr Pro

370 375 380

Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Lys Asn Gly Lys Ala Glu Asp Asn

385 390 395 400

Tyr Lys Thr Thr Pro Thr Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Leu

405 410 415

Tyr Ser Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp Gln Arg Gly Asp Val

420 425 430

Phe Thr Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

435 440 445

Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 7

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 7

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Gly

85 90 95

Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

100 105 110

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu

115 120 125

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg

145 150 155 160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu

180 185 190

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser

195 200 205

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210 215

<210> 8

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 8

gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaggtac acatgttccg 300

ctcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaacggg ctgatgctgc accaactgta 360

tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc 420

ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtgga agattgatgg cagtgaacga 480

caaaatggcg tcctgaacag ttggactgat caggacagca aagacagcac ctacagcatg 540

agcagcaccc tcacgttgac caaggacgag tatgaacgac ataacagcta tacctgtgag 600

gccactcaca agacatcaac ttcacccatt gtcaagagct tcaacaggaa tgagtgttag 660

<210> 9

<211> 440

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 9

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Gln Ser Ile

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Leu Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp

165 170 175

Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro

180 185 190

Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys

195 200 205

Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile

210 215 220

Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro

225 230 235 240

Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val

245 250 255

Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val

260 265 270

Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln

275 280 285

Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln

290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala

305 310 315 320

Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro

325 330 335

Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala

340 345 350

Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu

355 360 365

Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr

370 375 380

Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr

385 390 395 400

Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe

405 410 415

Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys

420 425 430

Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys

435 440

<210> 10

<211> 1323

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polynucleotide

<400> 10

gaggtgaagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtacagc ctgggggttc tctgagactc 60

tcctgtgcaa cttctgggtt caccttcact gattactaca tgagctgggt ccgccagcct 120

ccaggaaagg cacttgagtg gttgggtctt attagaaaca aagctaaagg ttacacaaca 180

gagtacagtg catctgtgaa gggtcggttc accatctcca gagataattc ccaaagcatc 240

ctctatcttc aaatgaacac cctgagagct gaggacagtg ccacttatta ctgtgcaaga 300

gaggccctac cttactgggg ccaagggact ctggtcactg tctctgcagc caaaacgaca 360

cccccatctg tctatccact ggcccctgga tctgctgccc aaactaactc catggtgacc 420

ctgggatgcc tggtcaaggg ctatttccct gagccagtga cagtgacctg gaactctgga 480

tccctgtcca gcggtgtgca caccttccca gctgtcctgc agtctgacct ctacactctg 540

agcagctcag tgactgtccc ctccagcacc tggcccagcg agaccgtcac ctgcaacgtt 600

gcccacccgg ccagcagcac caaggtggac aagaaaattg tgcccaggga ttgtggttgt 660

aagccttgca tatgtacagt cccagaagta tcatctgtct tcatcttccc cccaaagccc 720

aaggatgtgc tcaccattac tctgactcct aaggtcacgt gtgttgtggt agacatcagc 780

aaggatgatc ccgaggtcca gttcagctgg tttgtagatg atgtggaggt gcacacagct 840

cagacgcaac ccgggagga gcagttcaac agcactttcc gctcagtcag tgaacttccc 900

atcatgcacc aggactggct caatggcaag gagttcaaat gcagggtcaa cagtgcagct 960

ttccctgccc ccatcgagaa aaccatctcc aaaaccaaag gcagaccgaa ggctccacag 1020

gtgtacacca ttccacctcc caaggagcag atggccaagg ataaagtcag tctgacctgc 1080

atgataacag acttcttccc tgaagacatt actgtggagt ggcagtggaa tgggcagcca 1140

gcggagaact acaagaacac tcagcccatc atggacacag atggctctta cttcgtctac 1200

agcaagctca atgtgcagaa gagcaactgg gaggcaggaa atactttcac ctgctctgtg 1260

ttacatgagg gcctgcacaa ccaccatact gagaagagcc tctcccactc tcctggtaaa 1320

tga 1323

<210> 11

<211> 77

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 11

Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Tyr Cys Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

1 5 10 15

Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Ala Ser

20 25 30

Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr

35 40 45

Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys

50 55 60

Gln Ser Asn Tyr Trp Thr Thr Ser Val Asn Tyr Gly Pro

65 70 75

<210> 12

<211> 78

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 12

Ile Asp Leu Asn Arg Tyr Ser Val Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

1 5 10 15

Glu Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Arg Thr Gly Thr Thr Trp

20 25 30

Tyr Ala Asn Trp Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr

35 40 45

Thr Val Asp Leu Lys Met Thr Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr

50 55 60

Tyr Phe Cys Ala Arg Thr Gly Thr Ser Ile Ala Thr Asp Ile

65 70 75

<210> 13

<211> 79

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 13

Ser Ser Gln Asn Val Tyr Lys Asp Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
1 5 10 15
Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Leu
20 25 30
Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln
35 40 45

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Val Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr
50 55 60
Tyr Cys Ala Gly Ala Tyr Asp Cys Arg Ser Gly Asp Cys Arg Ala
65 70 75

<210> 14
<211> 79
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 14

Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Asn Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
1 5 10 15
Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly Tyr Ile Phe Ser Thr Gly Phe Thr Tyr

20 25 30
Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr
35 40 45
Thr Val Asp Leu Lys Met Thr Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr
50 55 60
Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Ser Thr Ala Lys Gly Asp Arg Asp Ile
65 70 75

<210> 15
<211> 78
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 15

Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

1 5 10 15

Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Arg Ser

20 25 30

Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr

35 40 45

Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys

50 55 60

Gln Ser Asn Tyr Tyr Ser Arg Ser Thr Asn Tyr Val Val Pro

65 70 75

<210> 16

<211> 79

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 16

Phe Ser Leu Ser Ser Ser Ser Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

1 5 10 15

Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Ala Gly Ser Gly Ser Arg

20 25 30

Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Asn Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser

35 40 45

Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala

50 55 60

Thr Tyr Phe Cys Gly Arg Val Thr Ser Asn Gly Asp Asn Asn Ile

65 70 75

<210> 17

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 17

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Tyr Cys Ser

1 5 10

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 18

Ile Asp Leu Asn Arg Tyr Ser Val Gly

1 5

<210> 19

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 19

Gln Ser Ser Gln Asn Val Tyr Lys Asp Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 20

Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Asn Met Gln

1 5

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 21

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 22

Phe Ser Leu Ser Ser Ser Ser Met Gly

1 5

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 23

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 24

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr

1 5

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 25

Leu Ala Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 26

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 26

Tyr Ile Tyr Arg Thr Gly Thr Thr Trp Tyr Ala Asn Trp Val

1 5 10

<210> 27

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 27

Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 28

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 28

Tyr Ile Phe Ser Thr Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala

1 5 10

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 29

Arg Ala Ser Asn Leu Arg Ser

1 5

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 30

Tyr Ile Tyr Ala Gly Ser Gly Ser Arg Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Asn

1 5 10 15

Gly

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 31

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 32

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 32

Arg Asn Lys Ala Lys Gly Tyr Thr

1 5

<210> 33

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 33

Gln Ser Asn Tyr Trp Thr Thr Ser Val Asn Tyr Gly Pro

1 5 10

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 34

Thr Gly Thr Ser Ile Ala Thr Asp Ile

1 5

<210> 35

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 35

Ala Gly Ala Tyr Asp Cys Arg Ser Gly Asp Cys Arg Ala

1 5 10

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 36

Gly Ser Thr Ala Lys Gly Asp Arg Asp Ile

1 5 10

<210> 37

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 37

Gln Ser Asn Tyr Tyr Ser Arg Ser Thr Asn Tyr Val Val Pro

1 5 10

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 38

Val Thr Ser Asn Gly Asp Asn Asn Ile

1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 39

Ser Gln Gly Thr His Val Pro Leu Thr

1 5

<210> 40

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 40

Glu Ala Leu Pro Tyr

1 5

<210> 41

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Synthetic polypeptide

<400> 41

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Gly
85 90 95

Thr His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 42

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 42

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Lys Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Thr Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Leu Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ala
115