(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년09월09일
(11) 등록번호 10-2704078
(24) 등록일자 2024년09월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) *B01L 3/00* (2023.01)
G01N 33/543 (2006.01) *G01N 33/574* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/6842 (2013.01)
B01L 3/5085 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7006510
(22) 출원일자(국제) 2020년08월04일
심사청구일자 2023년08월04일
(85) 번역문제출일자 2022년02월25일
(65) 공개번호 10-2022-0078560
(43) 공개일자 2022년06월10일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/044908
(87) 국제공개번호 WO 2021/026172
국제공개일자 2021년02월11일
(30) 우선권주장
62/883,107 2019년08월05일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
JP2012172981 A
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
시어 인코퍼레이티드
미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102
(72) 발명자
매닝 윌리엄
미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102
김 영
미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인와이에스장

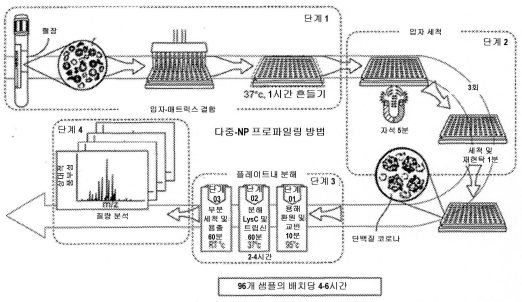
전체 청구항 수 : 총 22 항 심사관 : 차명훈

(54) 발명의 명칭 **샘플 제조, 데이터 생성, 및 단백질 코로나 분석을 위한 시스템 및 방법**

(57) 요 약

단백질 코로나의 자동화된 샘플 제조 및 처리를 위한 시스템 및 방법, 뿐만 아니라 진전된 진단 도구뿐만 아니라 치료제의 발견에서의 그것들의 적용이 본원에 기술된다.

대 표 도



도 9

(52) CPC특허분류
G01N 33/54326 (2013.01)
G01N 33/54346 (2013.01)
G01N 33/57488 (2013.01)
G01N 33/6848 (2013.01)
B01L 2200/0631 (2013.01)
B01L 2400/043 (2013.01)
G01N 2333/165 (2013.01)

(72) 발명자
관-렁 브랜든
미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 브릿지 파크 웨이 3800 스위트 102
리우 호프
미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 브릿지 파크 웨이 3800 스위트 102
자오 샤오얀
미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 브릿지 파크 웨이 3800 스위트 102
혼버그 다니엘
미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 브릿지 파크 웨이 3800 스위트 102
골드버그 마틴
미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 브릿지 파크 웨이 3800 스위트 102

(56) 선행기술조사문헌
JP2012529268 A
JP2017512988 A
US20120196304 A1
US20170010283 A1
US20190033327 A1
WO2018046542 A1
WO2018067872 A1

명 세 서

청구범위

청구항 1

상이한 물리화학적 특성을 가진 표면을 가지는 복수의 자성 입자를 사용하여 생물학적 샘플의 상태를 식별하기 위한 자동화 시스템으로서,

(a) 시스템 내에서 유닛 간에 유체를 전달하기 위한 다중채널 유체 전달 기기를 포함하는 유체 전달 유닛;

(b) 복수의 생물학적 샘플을 보관하기 위한 지지체를 포함하는 샘플 보관 유닛;

(c) 지지체 및 자성 센서 어레이를 포함하는 감지 유닛, 여기서 자성 센서 어레이는 지지체에 제거 가능하게 결합되고 생물학적 샘플 내의 분석물 집단에 결합하기 위한 상이한 물리화학적 특성을 가진 표면을 가지는 복수의 자성 입자를 포함하는 파티션을 포함하며, 복수의 자성 입자는 적어도 300개의 상이한 단백질에 결합하도록 구성되는 것인 감지 유닛;

(d) 복수의 시약을 보관하기 위한 지지체를 포함하는 시약 보관 유닛;

(e) 폐기될 시약을 보관하기 위한 지지체를 포함하는 폐기물 유닛;

(f) 다중채널 유체 전달 기기에 의해 사용하기 위한 소모품을 보관하기 위한 지지체를 포함하는 소모품 보관 유닛;

(g) 자화된 지지체, 여기서 하나 이상의 프로세서가 자성 센서 어레이를 자화된 지지체로 전달하도록 추가로 프로그래밍되어 있는 것인 자화된 지지체; 및

(h) 제어 유닛으로서,

i. 생물학적 샘플을 자성 센서 어레이의 파티션과 접촉시키는 단계;

ii. 생물학적 샘플을 자성 센서 어레이의 복수의 자성 입자와 함께 인큐베이션하는 단계;

iii. 복수의 자성 입자 및 복수의 자성 입자와 상호작용하는 분석물 집단을 제외한 구성요소를 파티션으로부터 제거하는 단계;

iv. 분석물 집단이 복수의 자성 입자로부터 탈착되도록 용액을 파티션에 첨가하는 단계; 및

v. 질량 분석을 위해 적어도 300개의 상이한 단백질을 포함하는 탈착된 분석물 집단을 준비하는 단계

를 포함하는 단계들을 수행하도록 프로그래밍된 하나 이상의 프로세서를 포함하는 제어 유닛

을 포함하는, 자동화 시스템.

청구항 2

제1항에 있어서, 유체 전달 유닛은 피펫팅 기능을 수행하는 능력을 가지는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 3

제1항에 있어서, 샘플 보관 유닛 또는 감지 유닛의 지지체는 다중 웰 플레이트에 대한 지지체를 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 4

제1항에 있어서, 자성 센서 어레이는 다중 웰 플레이트를 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 5

제1항에 있어서, 샘플 보관 유닛 또는 감지 유닛은 지지체 및 복수의 생물학적 샘플의 온도를 조절할 수 있는 열 유닛을 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 6

제1항에 있어서, 샘플 보관 유닛 또는 감지 유닛은 샘플을 물리적으로 교반 또는 혼합할 수 있는 회전 유닛을 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 7

제1항에 있어서, 복수의 자성 입자는 파티션의 표면에 고정되는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 8

제1항에 있어서, 복수의 입자는 복수의 자성 나노입자를 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 9

제1항에 있어서, (i) 생물학적 샘플을 자성 센서 어레이의 명시된 파티션과 접촉시키는 단계는 생물학적 샘플의 명시된 부피를 자성 센서 어레이의 특정 파티션에 피펫팅하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 10

제1항에 있어서, (i) 생물학적 샘플을 자성 센서 어레이의 명시된 파티션과 접촉시키는 단계는 용액 중의 복수의 자성 입자 대 생물학적 샘플의 적어도 1:20 비율에 상응하는 부피를 피펫팅하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 11

제1항에 있어서, (i) 생물학적 샘플을 자성 센서 어레이의 명시된 파티션과 접촉시키는 단계는 적어도 10 마이크로리터 부피의 생물학적 샘플을 자성 센서 어레이의 특정 파티션에 피펫팅하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 12

제1항에 있어서, (ii) 생물학적 샘플을 자성 센서 어레이의 파티션 내에 함유된 복수의 자성 입자와 함께 인큐베이션하는 단계는 4℃ 내지 40℃의 온도에서 적어도 30분의 인큐베이션 시간을 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 13

제1항에 있어서, 질량 분석을 위한 샘플을 준비하기 위한 시약을 추가로 포함하며, 시약은 시약 보관 유닛에 보관되는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 14

제1항에 있어서, 복수의 자성 입자 중에서 적어도 2개의 자성 입자는 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이하며, 물리화학적 특성은 표면 전하 또는 소수성인 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 15

제1항에 있어서, 하나 이상의 컴퓨터 프로세서 및, 코드 실행시 질량 분석에 의해 생성된 데이터를 분석하는 기계-실행 가능한 코드를 포함하는 컴퓨터 판독 가능한 매체를 포함하는 컴퓨터를 추가로 포함하며, 데이터는 탈착된 분석물 집단으로부터 유래된 정보를 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 16

제15항에 있어서, 질량 분석에 의해 생성된 데이터를 분석하는 것은 생물학적 지문을 생성하고 생체분자 지문을 토대로 생물학적 상태를 할당하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 17

제1항에 있어서, 파티션은 상이한 물리화학적 특성을 가진 표면을 가지는 3 내지 8개 유형의 자성 입자를 포함

하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 18

제1항에 있어서, 복수의 자성 입자는 적어도 600개의 상이한 단백질에 결합하도록 구성되는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 19

제1항에 있어서, 복수의 자성 입자는 자성 센서 어레이 상의 상이한 파티션에 위치하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 20

제1항에 있어서, 질량 분석을 위해 탈착된 분석물 집단을 준비하는 단계는 알킬화 및 프로테아제 소화를 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 21

제1항에 있어서, 변성 용액을 포함하는 유닛을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 자동화 시스템.

청구항 22

자동화 시스템으로서,

(a) 시스템 내에서 유닛 간에 유체를 전달하기 위한 다중채널 유체 전달 기기를 포함하는 유체 전달 유닛;

(b) 복수의 생물학적 샘플을 보관하기 위한 지지체를 포함하는 샘플 보관 유닛;

(c) 지지체 및 자성 센서 어레이를 포함하는 감지 유닛, 여기서 자성 센서 어레이는 지지체에 제거 가능하게 결합되고 복수의 나노입자를 포함하는 파티션을 포함하며, 복수의 나노입자는 생물학적 샘플 내의 단백질 집단에 결합하기 위해 상이한 표면 전하 및/또는 소수성을 가진 표면을 가지는 3 내지 8개 유형의 자성 나노입자를 포함하고, 복수의 나노입자는 적어도 600개의 상이한 단백질에 결합하도록 구성되는 것인 감지 유닛;

(d) 복수의 시약을 보관하기 위한 지지체를 포함하는 시약 보관 유닛;

(e) 폐기될 시약을 보관하기 위한 지지체를 포함하는 폐기물 유닛;

(f) 다중채널 유체 전달 기기에 의해 사용하기 위한 소모품을 보관하기 위한 지지체를 포함하는 소모품 보관 유닛;

(g) 자화된 지지체, 여기서 하나 이상의 프로세서가 자성 센서 어레이를 자화된 지지체로 전달하도록 추가로 프로그래밍되어 있는 것인 자화된 지지체; 및

(h) 제어 유닛으로서,

i. 생물학적 샘플을 자성 센서 어레이의 파티션과 접촉시키는 단계;

ii. 생물학적 샘플을 자성 센서 어레이의 복수의 자성 입자와 함께 인큐베이션하는 단계로, 생물학적 샘플을 자성 센서 어레이의 파티션 내에 함유된 복수의 나노입자와 함께 인큐베이션하는 것은 4℃ 내지 40℃의 온도에서 적어도 30분의 인큐베이션 시간을 포함하는 것인 단계;

iii. 복수의 자성 입자 및 복수의 나노입자와 상호작용하는 분석물 집단을 제외한 구성요소를 파티션으로부터 제거하는 단계;

iv. 분석물 집단이 복수의 나노입자로부터 탈착되도록 용액을 파티션에 첨가하는 단계; 및

v. 질량 분석을 위해 적어도 600개의 상이한 단백질을 포함하는 탈착된 분석물 집단을 준비하는 단계로, 질량 분석을 위해 탈착된 분석물 집단을 준비하는 것은 알킬화 및 소화를 포함하는 것인 단계

를 포함하는 단계들을 수행하도록 프로그래밍된 하나 이상의 프로세서를 포함하는 제어 유닛

을 포함하는, 자동화 시스템.

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

삭제

청구항 131

삭제

청구항 132

삭제

청구항 133

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

청구항 150

삭제

청구항 151

삭제

청구항 152

삭제

청구항 153

삭제

청구항 154

삭제

청구항 155

삭제

청구항 156

삭제

청구항 157

삭제

청구항 158

삭제

청구항 159

삭제

청구항 160

삭제

청구항 161

삭제

청구항 162

삭제

청구항 163

삭제

청구항 164

삭제

청구항 165

삭제

청구항 166

삭제

청구항 167

삭제

청구항 168

삭제

청구항 169

삭제

청구항 170

삭제

청구항 171

삭제

청구항 172

삭제

청구항 173

삭제

청구항 174

삭제

청구항 175

삭제

청구항 176

삭제

청구항 177

삭제

청구항 178

삭제

청구항 179

삭제

청구항 180

삭제

청구항 181

삭제

청구항 182

삭제

청구항 183

삭제

청구항 184

삭제

청구항 185

삭제

청구항 186

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련된 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2019년 8월 5일에 출원된 미국 가출원 번호 62/883,107로부터의 우선권 및 유익을 주장하며, 그 출원의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

배 경 기 술

[0003] 과학 및 의학에서 단백체 정보의 광범위한 실행은 그러한 분석의 확장성을 제한하는 복잡한 작업흐름을 필요로 하는 단백질 분자 자체에 내재된 복잡성으로 인해 유전체학에 크게 뒤쳐져 있다. 본원에는 신속하고 자동화된 샘플 제조, 단백체 데이터의 처리 및 질환 상태와 관련된 핵심 바이오마커의 확인을 위한 시스템, 방법 및 키트가 개시된다.

발명의 내용

[0004] 개요

[0005] 본 개시는 단백질 코로나 제조 및 분석을 위한 자동화 시스템, 방법 및 키트를 제공한다. 일부 측면으로, 본 개시는 복잡한 생물학적 샘플로부터 생체분자의 하위세트를 생성하기 위한 자동화 장치를 제공하며, 자동화 장치는: (i) 복수의 입자를 포함하는 복수의 파티션을 포함하는 기판; (ii) 복잡한 생물학적 샘플을 포함하는 샘플 보관 유닛; 및 (iii) 적어도 기판을 가로질러 움직일 수 있는 로딩 유닛을 포함하고, 여기서 로딩 유닛은 샘플 보관 유닛 중의 하나 이상의 부피의 복잡한 생물학적 샘플을 기판 상의 복수의 파티션에 전달함으로써, 복수의 파티션의 복수의 입자를 복잡한 생물학적 샘플의 생체분자와 접촉시켜서 생체분자 코로나가 형성되게 하여, 그로써 복잡한 생물학적 샘플의 생체분자의 하위세트를 생성시키며, 생체분자의 하위세트의 동적 범위는 복잡한 생물학적 샘플에 존재하는 생체분자의 동적 범위에 비해 압축된다. 일부 구체예에서, 기판은 다층 웰 플레이트이다. 일부 구체예에서, 생체분자의 하위세트는 6배 크기의 농도 범위 내에서 복잡한 생물학적 샘플로부터의 생체분자 유형의 적어도 20% 내지 적어도 60%를 포함한다. 일부 구체예에서, 생체분자의 하위세트는 6배 크기의 농도 범위 내에서 복잡한 생물학적 샘플로부터의 단백질 유형의 적어도 20% 내지 적어도 60%를 포함한다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 7시간 이내에 복잡한 생물학적 샘플로부터 생체분자의 하위세트를 생성한다.

[0006] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 복수의 파티션에서 복잡한 생물학적 샘플의 부피 내에서 복수의 입자의 부피를 교반하거나 가열하는 인큐베이션 요소를 포함한다. 일부 구체예에서, 인큐베이션 요소는 흔들기, 혼합, 교반, 회전, 진동하도록, 정적이도록, 또는 이것들의 조합이 되도록 구성된다. 일부 구체예에서, 인큐베이션 요소는 기판을 약 20℃ 내지 약 100℃의 온도로 가열 및/또는 인큐베이션하도록 구성된다.

[0007] 일부 구체예에서, 복수의 파티션은 적어도 부분적으로 덮이거나 밀봉된다. 일부 구체예에서, 복수의 파티션 중에서 한 파티션이 덮이거나 밀봉된다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 기판 상에서 뚜껑을 부가하거나 제거하는 능력을 포함하며, 여기서 뚜껑은 복수의 파티션 중에서 적어도 하나의 파티션을 덮는다.

[0008] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 재현탁 용액을 포함하는 유닛을 포함한다. 일부 구체예에서, 재현탁 용액은

Tris EDTA 150 mM KCl 0.05% CHAPS 완충액을 포함한다. 일부 구체예에서, 재현탁 용액은 10 mM Tris HCl pH 7.4, 1 mM EDTA를 포함한다.

[0009] 일부 구체예에서, 장치는 변성 용액을 포함하는 유닛을 포함한다. 일부 구체예에서, 변성 용액은 프로테아제를 포함한다. 일부 구체예에서, 변성 용액은 환원제, 메틸화제, 구아니딘, 우레아, 데옥시콜산 나트륨, 아세토니트릴, 또는 그것들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 구체예에서, 변성 용액은 4600 달톤 미만의 질량을 가지는 평균 펩타이드 단편을 생성한다.

[0010] 일부 구체예에서, 로딩 유닛은 복수의 피펫을 포함한다. 일부 구체예에서, 로딩 유닛은 10 uL 내지 400 uL의 용액을 복수의 파티션의 하나 이상의 파티션에 분배하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 로딩 유닛은 5 uL 내지 150 uL의 용액을 복수의 파티션의 하나 이상의 파티션에 분배하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 로딩 유닛은 35 uL 내지 80 uL의 용액을 복수의 파티션의 하나 이상의 파티션에 분배하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 용액은 세척 용액, 재현탁 용액, 변성 용액, 완충액 및 시약으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 로딩 유닛은 10 uL 내지 400 uL의 복잡한 생물학적 샘플을 복수의 파티션의 하나 이상의 파티션에 분배하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 로딩 유닛은 5 uL 내지 150 uL의 복잡한 생물학적 샘플을 복수의 파티션의 하나 이상의 파티션에 분배하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 로딩 유닛은 35 uL 내지 80 uL의 복잡한 생물학적 샘플을 복수의 파티션의 하나 이상의 파티션에 분배하도록 구성된다.

[0011] 일부 구체예에서, 복잡한 생물학적 샘플은 대상체로부터의 생체유체를 포함한다. 일부 구체예에서, 복잡한 생물학적 샘플은 혈장, 혈청, 소변, 뇌척수액, 활액, 눈물, 타액, 전혈, 우유, 니플 흡입물, 도관 세척물, 질액, 비강액, 귀액(ear fluid), 위액, 췌장액, 섬유주액(trabecular fluid), 폐 세척액, 땀, 구의액(crevicular fluid), 정액, 전립선액, 가래, 대변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체, 기관지 흡인물, 유동화된 고체, 미세 바늘 흡인 샘플, 조직 균등물, 림프액, 세포 배양 샘플, 또는 그것들의 임의의 조합을 포함한다.

[0012] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 자석을 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 복수의 입자 중 하나 이상의 입자는 자성 입자이며, 기판 및 자석은 하나 이상의 자성 입자가 기판 상에서 고정되도록 가까이 있다.

[0013] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 하우징을 추가로 포함하며, 기판과 로딩 유닛은 하우징에 위치하고, 하우징은 적어도 부분적으로 둘러싸여 있다.

[0014] 일부 구체예에서, 압축된 동적 범위는 농도가 샘플 중의 가장 풍부한 생체분자의 6배 크기 내에 있는 생체분자 유형의 수의 증가를 포함한다. 일부 구체예에서, 압축된 동적 범위는 농도가 샘플 중의 가장 풍부한 생체분자의 5배 크기 내에 있는 생체분자 유형의 수의 증가를 포함한다. 일부 구체예에서, 압축된 동적 범위는 농도가 샘플 중의 가장 풍부한 생체분자의 4배 크기 내에 있는 생체분자 유형의 수의 증가를 포함한다. 일부 구체예에서, 압축된 동적 범위는 농도가 샘플 중의 가장 풍부한 단백질의 6배 크기 내에 있는 단백질 유형의 수의 증가를 포함한다. 일부 구체예에서, 농도가 샘플 중의 가장 농축된 생체분자의 6배 크기 내에 있는 생체분자 유형의 수의 증가는 적어도 25%, 50%, 100%, 200%, 300%, 500%, 또는 1000%이다. 일부 구체예에서, 압축된 동적 범위는 농도가 샘플 중의 가장 풍부한 단백질의 6배 크기 내에 있는 단백질 유형의 수의 증가를 포함한다. 일부 구체예에서, 농도가 샘플 중의 가장 농축된 단백질의 6배 크기 내에 있는 단백질 유형의 수의 증가는 적어도 25%, 50%, 100%, 200%, 300%, 500%, 또는 1000%이다.

[0015] 일부 구체예에서, 생체분자 코로나의 생체분자의 동적 범위는 복수의 생체분자 코로나 중의 생체분자의 상위 십분위 대 생체분자의 하위 십분위의 제1 비율이다. 일부 구체예에서, 생체분자 코로나의 생체분자의 동적 범위는 복수의 생체분자 코로나에서 생체분자의 사분위수 범위의 범위를 포함하는 제1 비율이다.

[0016] 일부 구체예에서, 생성 단계는 복잡한 생물학적 샘플로부터의 저풍부성 생체분자를 풍부화한다. 일부 구체예에서, 저풍부성 생체분자는 복잡한 생물학적 샘플 중의 10 ng/mL 이하의 농도의 생체분자이다. 일부 구체예에서, 복잡한 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트는 단백질을 포함한다.

[0017] 일부 구체예에서, 복잡한 생물학적 샘플의 지질 농도의 최대 10 mg/mL의 변화는 복잡한 생물학적 샘플로부터 생성된 생체분자의 하위세트의 단백질의 조성엣서 10%, 5%, 2%, 또는 1% 미만의 변화를 초래한다.

[0018] 일부 구체예에서, 복수의 입자 중 적어도 2개의 입자는 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이하다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 물리화학적 특성은: 조성, 크기, 표면 전하, 소수성, 친수성, 표면 기능성, 표면 토포그래피, 표면 곡률, 다공도, 코어 물질, 쉘 물질, 형상, 및 그것들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 표면 기능성은 아미노프로필 기능화, 아민 기능화, 붕소산 기능화, 카르복실산 기능화, 메틸 기능화, N-석신이미딜 에스테르 기능화, PEG 기능화, 스트렙트아비딘 기능화, 메틸 에테르 기능화, 트

라이에톡시프로필아미노실란 기능화, 티올 기능화, PCP 기능화, 시트레이트 기능화, 리포산 기능화, BPEI 기능화를 포함한다. 일부 구체예에서, 복수의 입자 중에서 입자는: 미셀, 리포솜, 산화철 입자, 은 입자, 금 입자, 팔라듐 입자, 양자점(quantum dot), 백금 입자, 티타늄 입자, 실리카 입자, 금속 또는 무기 산화물 입자, 합성 중합체 입자, 공중합체 입자, 3원 중합체 입자, 금속 코어를 가진 중합체 입자, 금속 산화물 코어를 가진 중합체 입자, 폴리스티렌 설포네이트 입자, 산화 폴리에틸렌 입자, 폴리옥시에틸렌 글리콜 입자, 폴리에틸렌 이민 입자, 폴리락트산 입자, 폴리카프로락톤 입자, 폴리글리콜산 입자, 폴리(락타이드-코-글리콜라이드) 중합체 입자, 셀룰로스 에테르 중합체 입자, 폴리비닐피롤리돈 입자, 폴리비닐 아세테이트 입자, 폴리비닐피롤리돈-비닐 아세테이트 공중합체 입자, 폴리비닐 알코올 입자, 아크릴레이트 입자, 폴리아크릴산 입자, 크로톤산 공중합체 입자, 폴리에틸렌 포스포네이트 입자, 폴리알킬렌 입자, 카르복시 비닐 중합체 입자, 알긴산 나트륨 입자, 카라기난 입자, 크산탄 검 입자, 아카시아 검 입자, 아라비아 검 입자, 구아르 검 입자, 풀룰란 입자, 아가 입자, 키틴 입자, 키토산 입자, 펙틴 입자, 카라야 툼 입자(karaya tum), 로커스트 빈 검 입자, 말토덱스트린 입자, 아밀로스 입자, 옥수수 전분 입자, 감자 전분 입자, 쌀 전분 입자, 타피오카 전분 입자, 완두콩 전분 입자, 고구마 전분 입자, 보리 전분 입자, 밀 전분 입자, 하이드록시프로필화된 고아밀로스 전분 입자, 덱스트린 입자, 레반 입자, 엘시난 입자, 글루텐 입자, 콜라겐 입자, 유청 단백질 분리물 입자, 카세인 입자, 우유 단백질 입자, 콩 단백질 입자, 케라틴 입자, 폴리에틸렌 입자, 폴리카보네이트 입자, 다가무수물 입자, 폴리하이드록시산 입자, 폴리프로필푸마레이트 입자, 폴리카프로락톤 입자, 폴리아민 입자, 폴리아세탈 입자, 폴리에테르 입자, 폴리에스테르 입자, 폴리(오르토에스테르) 입자, 폴리시아노아크릴레이트 입자, 폴리우레탄 입자, 폴리포스파젠 입자, 폴리아크릴레이트 입자, 폴리메타크릴레이트 입자, 폴리시아노아크릴레이트 입자, 폴리우레아 입자, 폴리아민 입자, 폴리스티렌 입자, 폴리(리신) 입자, 키토산 입자, 덱스트란 입자, 폴리(아크릴아미드) 입자, 유도체화된 폴리(아크릴아미드) 입자, 젤라틴 입자, 전분 입자, 키토산 입자, 덱스트란 입자, 젤라틴 입자, 전분 입자, 폴리-β-아미노-에스테르 입자, 폴리(아미도 아민) 입자, 폴리 락틱-코-글리콜산 입자, 다가무수물 입자, 생체환원성 중합체 입자, 및 2-(3-아미노프로필아미노)에탄올 입자, 및 그것들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 복수의 입자 중 하나 이상의 입자는 복잡한 생물학적 샘플과 접촉시 적어도 100개 유형의 단백질을 흡착한다. 일부 구체예에서, 복수의 입자는 적어도 2개의 구별되는 입자 유형, 적어도 3개의 구별되는 입자 유형, 적어도 4개의 구별되는 입자 유형, 적어도 5개의 구별되는 입자 유형, 적어도 6개의 구별되는 입자 유형, 적어도 7개의 구별되는 입자 유형, 적어도 8개의 구별되는 입자 유형, 적어도 9개의 구별되는 입자 유형, 적어도 10개의 구별되는 입자 유형, 적어도 11개의 구별되는 입자 유형, 적어도 12개의 구별되는 입자 유형, 적어도 13개의 구별되는 입자 유형, 적어도 14개의 구별되는 입자 유형, 적어도 15개의 구별되는 입자 유형, 적어도 20개의 구별되는 입자 유형, 적어도 25개의 입자 유형, 또는 적어도 30개의 구별되는 입자 유형을 포함한다.

[0019] 일부 구체예에서, 생체분자 코로나의 생체분자는 많은 단백질 그룹을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질 그룹의 수는 1 내지 20,000개의 단백질 그룹을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질 그룹의 수는 100 내지 10,000개의 단백질 그룹을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질 그룹의 수는 100 내지 5000개의 단백질 그룹을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질 그룹의 수는 300 내지 2,200개의 단백질 그룹을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질 그룹의 수는 1,200 내지 2,200개의 단백질 그룹을 포함한다.

[0020] 일부 구체예에서, 복수의 파티션 중 적어도 2개의 파티션은 상이한 완충액을 포함한다. 일부 구체예에서, 상이한 완충액은 pH, 염도, 오스몰 농도, 점도, 유전 상수, 또는 그것들의 임의의 조합이 상이하다. 일부 구체예에서, 복수의 파티션 중 적어도 2개의 파티션은 상이한 비율의 완충액 및 복잡한 생물학적 샘플을 포함한다. 일부 구체예에서, 복수의 파티션 중 하나 이상의 파티션은 1 pM 내지 100 nM 나노입자를 포함한다. 일부 구체예에서, 복수의 파티션 중 적어도 2개의 파티션은 상이한 농도의 나노입자를 포함한다.

[0021] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 정제 유닛을 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 정제 유닛은 고상(solid phase) 추출 (SPE) 플레이트를 포함한다.

[0022] 본 개시의 다양한 측면은: (i) 생물학적 샘플로부터 생체분자의 하위세트를 분리하도록 구성된 자동화 장치; (ii) 생체분자의 하위세트를 수용하고 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 신호를 포함하는 데이터를 생성하도록 구성된 질량 분석기; 및 (iii) 하나 이상의 컴퓨터 프로세서 및 하나 이상의 컴퓨터 프로세서에 의해 실행될 때 생체분자 지문을 생성하는 단계 및 생체분자 지문을 토대로 생물학적 상태를 할당하는 단계를 포함하는 방법을 실시하는 기계-실행 가능한 코드를 포함하는 컴퓨터 판독 가능한 매체를 포함하는 컴퓨터를 포함하는 자동화 시스템을 제공한다.

[0023] 일부 구체예에서, 생체분자 지문은 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처(코로나 시그니처)를 포함한다.

일부 구체예에서, 생체분자 지문은 적어도 5, 10, 20, 40, 또는 80, 150 또는 200개의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처를 포함한다. 일부 구체예에서, 컴퓨터는 펩타이드의 강도, APEX, 스펙트럼 카운트 또는 수, 또는 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처 사이의 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 신호의 이온 이동성 거동을 포함하는 데이터를 처리하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 컴퓨터는 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처 사이의 100 내지 2000개의 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 신호로부터의 데이터를 처리하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 컴퓨터는 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처 사이의 10,000 내지 5,000,000개의 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 신호의 강도를 포함하는 데이터를 처리하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 생체분자 지문은 단일 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 작동으로부터의 데이터로부터 생성된다. 일부 구체예에서, 단일 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 작동은 1시간 미만 내에 수행된다. 일부 구체예에서, 컴퓨터는 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 신호 및 또는 이온 이동성 및 크로마토그래피 거동을 토대로 생체분자를 확인하거나 미확인 분자 특징을 특성화하도록 구성되며, 컴퓨터는 특징을 확인하거나 미확인 특징을 특성화하기 위하여 적어도 95%의 확실성 한계값(certainty threshold)을 제공한다. 일부 구체예에서, 자동화 시스템은 약 10시간 미만 내에 복잡한 생물학적 샘플로부터 생체분자 지문을 생성하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 측정 단계는 농도가 복잡한 생물학적 샘플에서 적어도 7 내지 적어도 12배 크기에 걸쳐 있는 2개의 생체분자의 풍부성을 비교하는 것을 포함한다.

[0024] 일부 구체예에서, 컴퓨터는 10%, 5%, 2%, 또는 1% 미만으로 차이가 있는 생체분자 지문과 관련된 둘 이상의 생물학적 상태 사이를 구별할 수 있다. 일부 구체예에서, 생물학적 상태는 질환, 장애, 또는 조직 비정상이다. 일부 구체예에서, 질환은 초기 단계 또는 중간 단계 질환 상태이다. 일부 구체예에서, 질환은 암이다. 일부 구체예에서, 암은 0기 또는 1기 암이다. 일부 구체예에서, 암은: 폐암, 췌장암, 골수종, 골수성 백혈병, 수막종, 교모세포종, 유방암, 식도 편평 세포 암종, 위 선암종, 전립선암, 방광암, 난소암, 갑상선암, 신경내분비암, 결장암종, 난소암, 두경부암, 호지킨병, 비-호지킨 림프종, 직장암, 비뇨기암, 자궁암, 구강암, 피부암, 위암, 뇌암, 간암, 후두암, 식도암, 유방 종양, 섬유 육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 척색종, 혈관육종, 내피육종, 유잉 육종, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두암종, 유두 선암종, 낭샘 암종, 수질 암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종, 간종양, 담관 암종, 융모막 암종, 정액종, 배아 암종, 빌름 종양, 자궁경부암, 고환 종양, 자궁내막암, 폐 암종, 소세포 폐 암종, 방광 암종, 상피세포 암종, 교모세포종, 신경종, 두개인두종, 신경초종, 신경교종, 성상세포종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종, 망막모세포종, 백혈병 및 림프종, 급성 골수구성 백혈병 및 급성 골수구성 진성적혈구 증가증, 다발성 골수종, 발덴스트롬 거대글로불린혈증, 및 중쇄 질환, 급성 비림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 소아-무효 급성 림프성 백혈병 (ALL), 흉선 ALL, B 세포 ALL, 급성 거핵아구성 백혈병, 버킷 림프종, 및 T 세포 백혈병, 작은 및 큰 비-소세포 폐 암종, 급성 과립구성 백혈병, 생식 세포 종양, 자궁내막암, 위암, 털세포 백혈병, 갑상선암 및 기술분야에 알려져 있는 기타 암으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 생물학적 상태는 질환전 상태이다.

[0025] 본 개시의 다양한 측면은 복잡한 생물학적 샘플의 생물학적 상태를 구별하는 방법을 제공하며, 방법은: 복잡한 생물학적 샘플을 자동화 장치에 제공하여 생체분자의 하위세트를 생성하는 단계; 생체분자의 하위세트를 검정하여 생체분자 지문을 생성하는 단계; 및 생체분자 지문으로 복잡한 생물학적 샘플의 생물학적 상태를 구별하는 단계를 포함한다.

[0026] 일부 구체예에서, 생체분자 지문은 단백질을 포함한다. 일부 구체예에서, 복잡한 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트는 복잡한 생물학적 샘플보다 낮은 알부민 대 비알부민 펩타이드 비율을 포함한다. 일부 구체예에서, 생체분자의 하위세트는 복잡한 생물학적 샘플의 농도 범위의 적어도 6 내지 적어도 12배 크기의 범위인 생체분자를 포함한다. 일부 구체예에서, 생체분자의 하위세트는 복잡한 생물학적 샘플의 농도 범위의 적어도 6 내지 적어도 12배 크기의 범위인 단백질을 포함한다. 일부 구체예에서, 생체분자 지문은 1 내지 74,000개의 단백질 그룹을 포함한다.

[0027] 일부 구체예에서, 검정 단계는 복수의 생체분자 코로나 중에서 생체분자 코로나로부터 복수의 생체분자를 탈착시키는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 복수의 탈착된 생체분자 중에서 생체분자를 화학적으로 변형시키는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 복수의 탈착된 생체분자 중에서 생체분자를 단편화하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 단편화는 프로테아제 분해(digestion)를 포함한다. 일부 구체예에서, 단편화는 화학적 펩타이드 절단을 포함한다.

[0028] 일부 구체예에서, 검정 단계는 복수의 탈착된 생체분자를 수집하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 수집된 복수의 탈착된 생체분자를 정제하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 정제는 고상 추출을 포함한다.

일부 구체예에서, 정제는 수집된 복수의 탈착된 생체분자로부터 비-단백질 생체분자를 고갈시킨다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 복수의 탈착된 생체분자를 버리는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 복수의 생체분자 코로나 중에서 생체분자로부터 제1 생체분자의 하위세트 및 제2 생체분자 세트를 탈착시키고, 제1 생체분자의 하위세트 중에서 생체분자를 분석하며, 제2 생체분자의 하위세트 중에서 생체분자를 분석하는 것을 포함한다.

[0029] 일부 구체예에서, 검정 단계는 질량 분석, 탠덤 질량 분석, 질량 세포 측정법, 질량 세포 측정법, 전위차법, 형광 측정법, 흡광도 분광법, 라만 분광법, 크로마토그래피, 전기영동, 면역조직화학, PCR, 차세대 서열분석(NGS), 또는 그것들의 임의의 조합으로 복수의 생체분자 코로나 중에서 생체분자를 분석하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석을 포함한다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 생체분자의 하위세트 중에서 단백질의 형태적 상태를 확인하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 생체분자의 하위세트 중에서 단백질 상의 번역 후 변형을 확인하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 구별은 생체분자의 하위세트로부터 적어도 200 내지 적어도 1000개의 생체분자의 상대적 풍부성을 비교하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 복잡한 생물학적 샘플 중의 10 ng/mL 미만의 농도의 생체분자를 확인한다.

[0030] 본 개시의 다양한 측면은 복잡한 생물학적 샘플로부터 생체분자의 하위세트를 생성하기 위한 자동화 장치를 제공하며, 자동화 장치는 복수의 입자 및 복잡한 생물학적 샘플을 포함하고, 여기서 자동화 장치는 복수의 입자를 복잡한 생물학적 샘플과 접촉시켜서 생체분자의 하위세트를 포함하는 복수의 생체분자 코로나를 형성시킴으로써 생체분자의 하위세트를 생성하도록 구성되며, 생체분자의 하위세트의 동적 범위는 복잡한 생물학적 샘플에 존재하는 생체분자의 동적 범위에 비해 압축된다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 기판을 포함한다. 일부 구체예에서, 기판은 다중 웰 플레이트를 포함한다. 일부 구체예에서, 기판은 다중 웰 플레이트이다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 7시간 미만 내에 복잡한 생물학적 샘플로부터 생체분자의 하위세트를 생성한다.

[0031] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 인큐베이션 요소를 포함한다. 일부 구체예에서, 인큐베이션 요소는 복수의 입자 및 복잡한 생물학적 샘플을 4℃ 내지 40℃의 온도로 가열 및/또는 인큐베이션하도록 구성된다.

[0032] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 세척 용액, 재현탁 용액, 변성 용액, 완충액 및 시약으로 이루어지는 군으로부터 선택된 적어도 하나의 용액을 포함한다. 일부 구체예에서, 재현탁 용액은 Tris EDTA 완충액, 포스페이트 완충액, 및/또는 물을 포함한다. 일부 구체예에서, 변성 용액은 프로테아제를 포함한다. 일부 구체예에서, 변성 용액은 펩타이드 절단을 수행할 수 있는 소분자를 포함한다.

[0033] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 복수의 피펫을 포함하는 로딩 유닛을 포함한다. 일부 구체예에서, 복수의 피펫 중 각각의 피펫은 약 5 uL - 150 uL의 용액, 복잡한 생물학적 샘플, 및/또는 복수의 입자를 분배하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 복잡한 생물학적 샘플은 혈장, 혈청, 소변, 뇌척수액, 활액, 눈물, 타액, 전혈, 우유, 니플 흡입물, 도관 세척물, 질액, 비강액, 귀액, 위액, 췌장액, 섬유주액, 폐 세척액, 땀, 구의액, 정액, 전립선액, 가래, 대변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체, 기관지 흡인물, 유동화된 고체, 미세 바늘 흡인 샘플, 조직 균등물, 림프액, 세포 배양 샘플, 또는 그것들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 자석을 포함한다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 필터를 포함한다.

[0034] 일부 구체예에서, 압축된 동적 범위는 그것의 농도가 샘플 중의 가장 풍부한 생체분자의 4 내지 6배 크기 내에 있는 생체분자 유형의 수의 증가를 포함한다. 일부 구체예에서, 생체분자의 유형은 단백질을 포함한다. 일부 구체예에서, 생체분자 코로나의 생체분자의 동적 범위는 복수의 생체분자 코로나 중의 생체분자의 상위 십분위 대 생체분자의 하위 십분위의 제1 비율이다. 일부 구체예에서, 생성은 복잡한 생물학적 샘플로부터의 저풍부성 생체분자를 풍부화한다. 일부 구체예에서, 저풍부성 생체분자는 복잡한 생물학적 샘플 중의 10 ng/mL 이하의 농도의 생체분자이다.

[0035] 일부 구체예에서, 복수의 입자 중에서 적어도 2개의 입자는 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이하다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 물리화학적 특성은: 조성, 크기, 표면 전하, 소수성, 친수성, 표면 기능성, 표면 토포그래피, 표면 곡률, 다공도, 코어 물질, 쉘 물질, 형상, 및 그것들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 복수의 입자 중 입자는: 미셀, 리포솜, 산화철 입자, 은 입자, 금 입자, 팔라듐 입자, 양자점, 백금 입자, 티타늄 입자, 실리카 입자, 금속 또는 무기 산화물 입자, 합성 중합체 입자, 공중합체 입자, 3원 중합체 입자, 금속 코어를 가진 중합체 입자, 금속 산화물 코어를 가진 중합체 입자, 폴리스티렌 설포네이트 입자, 산화 폴리에틸렌 입자, 폴리옥시에틸렌 글리콜 입자, 폴리에틸렌 이민 입자, 폴리락트산 입자, 폴리카프로락톤 입자, 폴리글리콜산 입자, 폴리(락타이드-코-글리콜라이드) 중합체 입자, 셀룰로스 에테르 중합체 입자, 폴리비닐피롤리돈 입자, 폴리비닐 아세테이트 입자, 폴리비닐피롤리돈-비닐 아세테이트 공중합체

입자, 폴리비닐 알코올 입자, 아크릴레이트 입자, 폴리아크릴산 입자, 크로톤산 공중합체 입자, 폴리에틸렌 포스포네이트 입자, 폴리알킬렌 입자, 카르복시 비닐 중합체 입자, 알긴산 나트륨 입자, 카라기난 입자, 크산탄 검 입자, 아카시아 검 입자, 아라비아 검 입자, 구아르 검 입자, 풀룰란 입자, 아가 입자, 키틴 입자, 키토산 입자, 펙틴 입자, 카라야 툼 입자, 로커스트 빈 검 입자, 말토덱스트린 입자, 아밀로스 입자, 옥수수 전분 입자, 감자 전분 입자, 쌀 전분 입자, 타피오카 전분 입자, 완두콩 전분 입자, 고구마 전분 입자, 보리 전분 입자, 밀 전분 입자, 하이드록시프로필화된 고아밀로스 전분 입자, 덱스트린 입자, 레반 입자, 엘시난 입자, 글루텐 입자, 콜라겐 입자, 유청 단백질 분리물 입자, 카세인 입자, 우유 단백질 입자, 콩 단백질 입자, 케라틴 입자, 폴리에틸렌 입자, 폴리카보네이트 입자, 다가무수물 입자, 폴리하이드록시산 입자, 폴리프로필푸마레이트 입자, 폴리카프로락톤 입자, 폴리아민 입자, 폴리아세탈 입자, 폴리에테르 입자, 폴리에스테르 입자, 폴리(오르토에스테르) 입자, 폴리시아노아크릴레이트 입자, 폴리우레탄 입자, 폴리포스파젠 입자, 폴리아크릴레이트 입자, 폴리메타크릴레이트 입자, 폴리시아노아크릴레이트 입자, 폴리우레아 입자, 폴리아민 입자, 폴리스티렌 입자, 폴리(리신) 입자, 키토산 입자, 덱스트란 입자, 폴리(아크릴아미드) 입자, 유도체화된 폴리(아크릴아미드) 입자, 젤라틴 입자, 전분 입자, 키토산 입자, 덱스트란 입자, 젤라틴 입자, 전분 입자, 폴리-β-아미노-에스테르 입자, 폴리(아미도 아민) 입자, 폴리 락틱-코-글리콜산 입자, 다가무수물 입자, 생체환원성 중합체 입자, 및 2-(3-아미노프로필아미노)에탄올 입자, 및 그것들의 임의의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0036] 일부 구체예에서, 생체분자 코로나의 생체분자는 많은 단백질 그룹을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질 그룹의 수는 1 내지 20,000개의 단백질 그룹을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질 그룹의 수는 100 내지 10,000개의 단백질 그룹을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질 그룹의 수는 100 내지 5000개의 단백질 그룹을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질 그룹의 수는 300 내지 2,200개의 단백질 그룹을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질 그룹의 수는 1,200 내지 2,200개의 단백질 그룹을 포함한다.

[0037] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 정제 유닛을 포함한다. 일부 구체예에서, 정제 유닛은 고상 추출 (SPE) 플레이트를 포함한다.

[0038] 본 개시의 다양한 측면은 복잡한 생물학적 샘플로부터 생체분자의 하위세트를 생성하는 방법을 제공하며, 방법은 복잡한 생물학적 샘플을 자동화 장치에 제공하는 단계를 포함하고, 여기서 자동화 장치는 복잡한 생물학적 샘플을 복수의 입자와 접촉시켜서 생체분자 코로나를 생성하며, 자동화 장치는 생체분자 코로나를 처리하여 생체분자의 하위세트를 생성하고, 생체분자의 하위세트의 동적 범위는 복잡한 생물학적 샘플에 존재하는 생체분자의 동적 범위에 비해 압축된다.

[0039] 일부 구체예에서, 방법은 생체분자의 하위세트를 검정하여 생체분자 지문을 생성하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 복잡한 생물학적 샘플 중의 10 ng/mL 미만의 농도의 생체분자를 확인한다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 질량 분석, 탠덤 질량 분석, 질량 세포 측정법, 질량 세포 측정법, 전위차법, 형광 측정법, 흡광도 분광법, 라만 분광법, 크로마토그래피, 전기영동, 면역조직화학, 또는 그것들의 임의의 조합으로 복수의 생체분자 코로나를 분석하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 검정 단계는 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석을 포함한다.

[0040] 일부 구체예에서, 방법은 복잡한 생물학적 샘플의 생물학적 상태를 생체분자 지문으로 구별하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 생체분자 지문은 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처를 포함한다. 일부 구체예에서, 생체분자 지문은 적어도 5, 10, 20, 40, 또는 80, 150 또는 200개의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처를 포함한다. 일부 구체예에서, 생물학적 상태는 질환, 장애, 또는 조직 비정상이다. 일부 구체예에서, 질환은 초기 단계 또는 중간 단계 질환 상태이다. 일부 구체예에서, 질환은 암이다. 일부 구체예에서, 암은 0기 암 또는 1기 암이다. 일부 구체예에서, 암은: 폐암, 췌장암, 골수종, 골수성 백혈병, 수막종, 교모세포종, 유방암, 식도 편평 세포 암종, 위 선암종, 전립선암, 방광암, 난소암, 갑상선암, 신경내분비암, 결장 암종, 난소암, 두경부암, 호지킨병, 비-호지킨 림프종, 직장암, 비뇨기암, 자궁암, 구강암, 피부암, 위암, 뇌암, 간암, 후두암, 식도암, 유방 종양, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 척색종, 혈관육종, 내피육종, 유잉 육종, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭샘 암종, 수질 암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종, 간종양, 담관 암종, 융모막 암종, 정액종, 배아 암종, 빌름 종양, 자궁경부암, 고환 종양, 자궁내막암, 폐 암종, 소세포 폐 암종, 방광 암종, 상피세포 암종, 교모세포종, 신경종, 두개인두종, 신경초종, 신경교종, 성상세포종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종, 망막모세포종, 백혈병 및 림프종, 급성 골수구성 백혈병 및 급성 골수구성 진성적혈구 증가증, 다발성 골수종, 발덴스트롬 거대글로불린혈증, 및 중쇄 질환, 급성 비림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 소아-무효 급성 림

프성 백혈병 (ALL), 흉선 ALL, B 세포 ALL, 급성 거핵아구성 백혈병, 버킷 림프종, 및 T 세포 백혈병, 작은 및 큰 비-소세포 폐 암종, 급성 과립구성 백혈병, 생식 세포 종양, 자궁내막암, 위암, 털세포 백혈병, 또는 갑상선암으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 생물학적 상태는 질환전 상태이다.

[0041] 본 개시의 다양한 측면은 생물학적 샘플 중의 단백질을 확인하기 위한 자동화 장치를 제공하며, 자동화 장치는: 샘플 제조 유닛; 복수의 채널을 포함하는 기판; 복수의 피펫; 복수의 용액, 복수의 나노입자를 포함하고, 자동화 장치는 단백질 코로나를 형성하고 단백질 코로나를 분해하도록 구성된다.

[0042] 본 개시의 다양한 측면은 생물학적 샘플 중의 단백질을 확인하기 위한 자동화 장치를 제공하며, 자동화 장치는: 샘플 제조 유닛; 복수의 채널을 포함하는 기판; 복수의 피펫; 복수의 용액, 복수의 나노입자를 포함하고, 자동화 장치는 단백질 코로나를 형성하고 단백질 코로나를 분해하도록 구성되며, 적어도 하나의 용액은 TE 150 mM KCl 0.05% CHAPS 완충액이다.

[0043] 일부 측면으로, 샘플 제조 유닛은 복수의 나노입자를 복수의 피펫으로 기판에 첨가하도록 구성된다. 일부 측면으로, 샘플 제조 유닛은 생물학적 샘플을 복수의 피펫으로 기판에 첨가하도록 구성된다. 일부 측면으로, 샘플 제조 유닛은 복수의 나노입자 및 생물학적 샘플을 인큐베이션하여 단백질 코로나를 형성하도록 구성된다. 일부 측면으로, 샘플 제조 유닛은 단백질 코로나를 상층액으로부터 분리하여 단백질 코로나 펠릿을 형성하도록 구성된다. 일부 측면으로, 샘플 제조 유닛은 단백질 코로나 펠릿을 TE 150 mM KCl 0.05% CHAPS 완충액으로 재구성하도록 구성된다.

[0044] 일부 측면으로, 자동화 장치는 자성 공급원을 포함한다. 일부 측면으로, 자동화 장치는 단백질 코로나의 BCA, 겔, 또는 트립신 분해를 위해 구성된다. 일부 측면으로, 자동화 장치는 둘러싸여진다. 일부 측면으로, 자동화 장치는 사용 전에 멸균된다. 일부 측면으로, 자동화 장치는 질량 분석하도록 구성된다. 일부 측면으로, 자동화 장치는 온도 제어된다.

[0045] 본 개시의 다양한 측면은 생물학적 샘플 중의 단백질을 확인하는 방법을 제공하며, 방법은: 생물학적 샘플을 자동화 장치에 첨가하는 단계; 자동화 장치로부터 단백체 데이터를 생성하는 단계; 및 단백체 데이터를 정량화하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 방법은 복수의 나노입자를 자동화 장치에서 생물학적 샘플과 인큐베이션하여 단백질 코로나를 형성하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 방법은 자동화 장치에서 상층액으로부터 단백질 코로나를 분리하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 방법은 자동화 장치에서 단백질 코로나를 분해시켜서 분해된 샘플을 형성하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 방법은 자동화 장치에서 분해된 샘플을 세척하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 단백체 데이터를 정량화하는 단계는 단백체 데이터를 질량 분석기에 제공하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 생물학적 샘플은 생체유체이다. 일부 구체예에서, 생체유체는 혈청 또는 혈장이다.

[0046] 일부 측면으로, 본 개시는 상이한 물리화학적 특성을 가진 표면을 가지는 복수의 입자를 사용하여 복잡한 생물학적 샘플의 상태를 식별하는 데 차등화된 기능을 가진 유닛의 네트워크를 포함하는 자동화 시스템을 제공하며, 여기서: 제1 유닛은 시스템 내 유닛 간에 유체를 전달하기 위한 다중채널 유체 전달 기기를 포함하고; 제2 유닛은 복수의 생물학적 샘플을 보관하기 위한 지지체를 포함하며; 제3 유닛은 복잡한 생물학적 샘플 내의 분석물 집단에 결합하기 위해 상이한 물리화학적 특성을 가진 표면을 가지는 복수의 입자를 포함하는 파티션을 가지는 센서 어레이 플레이트를 위한 지지체를 포함하고; 제4 유닛은 복수의 시약을 보관하기 위한 지지체를 포함하며; 제5 유닛은 폐기될 시약을 보관하기 위한 지지체를 포함하고; 제6 유닛은 다중채널 유체 전달 기기에 의해 사용된 소모품을 보관하기 위한 지지체를 포함하며; 시스템은 복잡한 생물학적 샘플을 센서 어레이의 명시된 파티션과 접촉시키는 단계; 복잡한 생물학적 샘플을 센서 어레이 플레이트의 파티션 내에 함유된 복수의 입자와 함께 인큐베이션하는 단계; 복수의 입자 및 입자와 상호작용하는 분석물 집단을 제외하고 모든 구성요소를 파티션으로부터 제거하는 단계; 및 질량 분석을 위해 샘플을 준비하는 단계를 포함하는 일련의 단계를 수행하도록 프로그래밍된다.

[0047] 일부 구체예에서, 제1 유닛은 시스템 내의 모든 다른 유닛에 액세스하는 것을 가능하게 하는 정도의 이동성을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 유닛은 피펫팅 기능을 수행하는 능력을 포함한다.

[0048] 일부 구체예에서, 제2 및/또는 제3 유닛의 지지체는 단일 플레이트, 6 웰 플레이트, 12 웰 플레이트, 96 웰 플레이트, 또는 마이크로튜브 랙에 대한 지지체를 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 및/또는 제3 유닛은 상기 지지체 및 샘플의 온도를 조절할 수 있는 열 유닛을 포함한다. 일부 구체예에서, 제2 및/또는 제3 유닛은 샘플을 물리적으로 교반 및/또는 혼합할 수 있는 회전 유닛을 포함한다.

[0049] 일부 구체예에서, 복잡한 생물학적 샘플 내의 분석물 집단에 결합하기 위해 상이한 물리화학적 특성을 가진 표면을 가지는 복수의 입자는 센서 어레이의 파티션 내에서 표면에 고정된다. 일부 구체예에서, 복수의 입자는 복잡한 생물학적 샘플 내의 분석물 집단에 결합하기 위해 상이한 물리화학적 특성을 가진 복수의 자성 나노입자를 포함한다. 일부 구체예에서, 시스템은 센서 어레이 플레이트가 자화된(magnetized) 지지체 및 상기 지지체 및 샘플의 온도를 조절할 수 있는 열 유닛을 포함하는 추가의 제7 유닛에 전달되어 추가의 시간 동안 인큐베이션되는 단계를 포함한다.

[0050] 일부 구체예에서, 제4 유닛은: 센서 어레이 플레이트를 생성하고; 미결합 샘플을 세척하며; 및/또는 질량 분석을 위한 샘플을 준비하기 위한 시약 세트를 포함한다. 일부 구체예에서, 생물학적 샘플을 센서 어레이의 명시된 파티션과 접촉시키는 단계는 생물학적 샘플의 명시된 부피를 센서 어레이의 특정 파티션에 피펫팅하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 생물학적 샘플을 센서 어레이의 명시된 파티션과 접촉시키는 단계는 용액 중의 복수의 입자 대 생물학적 샘플의 1:1, 1:2: 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:15, 또는 1:20 비율에 상응하는 부피를 피펫팅하는 것을 포함한다.

[0051] 일부 구체예에서, 생물학적 샘플을 센서 어레이의 명시된 파티션과 접촉시키는 단계는 적어도 10 마이크로리터, 적어도 50 마이크로리터, 적어도 100 마이크로리터, 적어도 250 마이크로리터, 적어도 500 마이크로리터, 또는 적어도 1000 마이크로리터 부피의 생물학적 샘플을 센서 어레이의 특정 파티션에 피펫팅하는 것을 포함한다.

[0052] 일부 구체예에서, 생물학적 샘플을 센서 어레이 플레이트의 파티션 내에 함유된 복수의 입자와 함께 인큐베이션하는 단계는 적어도 약 10초, 적어도 약 15초, 적어도 약 20초, 적어도 약 25초, 적어도 약 30초, 적어도 약 40초, 적어도 약 50초, 적어도 약 60초, 적어도 약 90초, 적어도 약 2분, 적어도 약 3분, 적어도 약 4분, 적어도 약 5분, 적어도 약 6분, 적어도 약 7분, 적어도 약 8분, 적어도 약 9분, 적어도 약 10분, 적어도 약 15분, 적어도 약 20분, 적어도 약 25분, 적어도 약 30분, 적어도 약 45분, 적어도 약 50분, 적어도 약 60분, 적어도 약 90분, 적어도 약 2시간, 적어도 약 3시간, 적어도 약 4시간, 적어도 약 5시간, 적어도 약 6시간, 적어도 약 7시간, 적어도 약 8시간, 적어도 약 9시간, 적어도 약 10시간, 적어도 약 12시간, 적어도 약 14시간, 적어도 약 15시간, 적어도 약 16시간, 적어도 약 17시간, 적어도 약 18시간, 적어도 약 19시간, 적어도 약 20시간, 또는 적어도 약 24시간의 인큐베이션 시간을 포함한다.

[0053] 일부 구체예에서, 생물학적 샘플을 기판의 파티션 내에 함유된 복수의 입자와 함께 인큐베이션하는 단계는 약 4℃ 내지 약 40℃의 인큐베이션 온도를 포함한다. 생물학적 샘플을 기판의 파티션 내에 함유된 복수의 입자와 함께 인큐베이션하는 단계는 약 4℃ 내지 약 37℃의 인큐베이션 온도를 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 기판의 파티션 내에 함유된 복수의 입자와 함께 인큐베이션하는 단계는 약 4℃ 내지 약 100℃의 인큐베이션 온도를 포함할 수 있다.

[0054] 일부 구체예에서, 복수의 입자 및 입자와 상호작용하는 분석물 집단을 제외한 모든 구성요소를 파티션으로부터 제거하는 단계는 일련의 세척 단계를 포함한다.

[0055] 일부 구체예에서, 제2 유닛은 질량 분석을 위해 샘플을 질량 분석 유닛에 전달하는 것을 용이하게 할 수 있다.

[0056] 일부 측면으로, 본 개시는 생물학적 샘플 중의 단백질을 확인하기 위한 자동화 장치를 제공하며, 자동화 장치는 샘플 제조 유닛; 복수의 채널을 포함하는 기판; 복수의 피펫; 복수의 용액, 복수의 나노입자를 포함하고, 자동화 장치는 단백질 코로나를 형성하고 단백질 코로나를 분해하도록 구성된다.

[0057] 일부 측면으로, 본 개시는 생물학적 샘플 중의 단백질을 확인하기 위한 자동화 장치를 제공하며, 자동화 장치는 샘플 제조 유닛; 복수의 채널을 포함하는 기판; 복수의 피펫; 복수의 용액, 복수의 나노입자를 포함하고, 자동화 장치는 단백질 코로나를 형성하고 단백질 코로나를 분해하도록 구성되며, 적어도 하나의 용액은 TE 150 mM KCl 0.05% CHAPS 완충액이다.

[0058] 일부 구체예에서, 샘플 제조 유닛은 복수의 나노입자를 복수의 피펫으로 기판에 첨가하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 샘플 제조 유닛은 생물학적 샘플을 복수의 피펫으로 기판에 첨가하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 샘플 제조 유닛은 복수의 나노입자 및 생물학적 샘플을 인큐베이션하여 단백질 코로나를 형성하도록 구성된다.

[0059] 일부 구체예에서, 샘플 제조 유닛은 단백질 코로나 펠릿을 형성하기 위하여 상층액으로부터 단백질 코로나를 분리하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 샘플 제조 유닛은 단백질 코로나 펠릿을 TE 150 mM KCl 0.05% CHAPS 완충액으로 재구성하도록 구성된다.

[0060] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 자성 공급원을 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 단백질 코로

나의 BCA, 겔, 또는 트립신 분해를 위해 구성된다.

[0061] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 둘러싸여진다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 사용 전에 멸균된다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 질량 분석하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 온도 제어된다.

[0062] 일부 측면으로, 본 개시는 생물학적 샘플 중의 단백질을 확인하는 방법을 제공하며, 방법은 생물학적 샘플을 본원에 개시된 자동화 장치에 부가하는 단계; 자동화 장치로부터 단백체 데이터를 생성하는 단계; 및 단백체 데이터를 정량화하는 단계를 포함한다.

[0063] 일부 구체예에서, 방법은 복수의 나노입자를 자동화 장치에서 생물학적 샘플과 함께 인큐베이션하여 단백질 코로나를 형성하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 방법은 자동화 장치에서 상층액으로부터 단백질 코로나를 분리하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 방법은 자동화 장치에서 단백질 코로나를 분해시켜서 분해된 샘플을 형성하는 단계를 추가로 포함한다.

[0064] 일부 구체예에서, 방법은 자동화 장치에서 분해된 샘플을 세척하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 단백체 데이터를 정량화하는 단계는 단백체 데이터를 질량 분석기에 제공하는 것을 포함한다.

[0065] 일부 구체예에서, 생물학적 샘플은 생체유체이다. 일부 구체예에서, 생체유체는 혈청 또는 혈장이다.

[0066] 본 개시의 또 다른 측면은 하나 이상의 컴퓨터 프로세서에 의해 실행될 때, 상기 또는 본원의 다른 곳에서의 방법 중 임의의 방법을 실시하는 기계 실행 가능 코드를 포함하는 비-일시적 컴퓨터 판독 가능한 매체를 제공한다.

[0067] 본 개시의 또 다른 측면은 하나 이상의 컴퓨터 프로세서 및 그것에 결합된 컴퓨터 메모리를 포함하는 시스템을 제공한다. 컴퓨터 메모리는 하나 이상의 컴퓨터 프로세서에 의해 실행될 때, 상기 또는 본원의 다른 곳에서의 방법 중 임의의 방법을 실시하는 기계 실행 가능 코드를 포함한다.

[0068] 본 개시의 추가의 측면 및 장점은 본 개시의 예시적인 구체예만이 제시되고 기술되는 다음의 상세한 설명으로부터 본 기술분야에 숙련된 사람들에게 쉽게 분명해질 것이다. 실현되는 것과 같이, 본 개시는 다른 및 상이한 구체예가 가능하며, 그것의 여러 상세한 부분은, 전부 개시로부터 벗어나지 않으면서, 다양한 분명한 관점에서 변형될 수 있다. 따라서, 도면 및 설명은 본질상 예시적인 것이며, 제한하는 것이 아닌 것으로 간주되어야 한다.

[0069] 참조에 의한 포함

[0070] 본 명세서에서 언급된 모든 출판물, 특허, 및 특허 출원은 각각의 개별적인 출판물, 특허, 또는 특허 출원이 구체적으로 및 개별적으로 참조에 의해 포함되는 것으로 표시된 것과 동일한 정도로 참조에 의해 본원에 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0071] 발명의 신규한 특징은 첨부된 청구범위에 구체적으로 제시된다. 본 발명의 특징 및 장점에 대한 더 나은 이해는 발명의 원리가 활용되는 예시적인 구체예를 제시하는 다음의 상세한 설명, 및 첨부되는 도면 (또한 본원의 "도면" 및 "도")을 참조하여 얻어질 것이다:

도 1은 나노입자 또는 단백질 코로나 방법을 사용하여 데이터를 생성하기 위한 단계의 개략도를 도시한다.

도 2는 나노입자 또는 단백질 코로나 방법을 사용하여 데이터를 생성하기 위한 단계 및 그런 단계가 일어날 수 있는 자동화 시스템의 유닛의 예시적인 예를 도시한다.

도 3은 시스템의 레이아웃 및 고처리량 적용을 위한 연속 MS에 대한 결합의 예시적인 예를 도시한다.

도 4는 센서 어레이 분석물 포획 방법의 예시적인 예를 도시한다.

도 5는 자성 센서 어레이 입자에 대한 자동화된 샘플 처리의 단계식 예시를 도시한다.

도 6은 고정된 센서 어레이 입자에 대한 자동화된 샘플 처리의 단계식 예시를 도시한다.

도 7은 자성 나노입자 센서 어레이에 대한 표면 화학을 도시한다.

도 8은 암 환자의 질환 바이오마커를 검출하기 위한 단백질 코로나-기반 방법의 예 (US20180172694A1 참조 (그 전문이 본원에 참조로 포함됨))를 도시한다.

도 9는 단백질 분석 과정을 도시한다. 과정은 몇 시간 내에 작동되고 병렬로 다중 샘플을 가로지를 수 있는 고

처리량 및 자동화에 대해 조정된다. 과정은 입자-매트릭스 결합, 입자 세척 (3회), 단백질 코로나의 형성, 플레이트내 분해, 및 질량 분석을 포함한다. 과정을 사용하면, 96개 샘플의 배치당 4 내지 6시간만이 걸릴 수 있다. 한 번에 한 나노입자, 또는 그 이상이 샘플과 인큐베이션될 수 있다.

도 10은 1가지 입자 유형 내지 12가지 입자 유형을 포함하는 복수의 입자 상에 수집된 단백질 카운트 (코로나 분석으로부터 확인된 단백질 수)를 도시한다. 복수의 입자 중의 각각의 입자는 독특한 물질, 표면 기능화, 및/또는 물리적 특성 (예컨대, 크기 또는 형상)을 포함할 수 있다. 건강한 대상체 그룹으로부터 모아진 혈장이 사용되었다. 카운트는 복수의 입자로부터 수집되고 약 2시간의 질량 분석 (MS) 작동에서 관찰된 독특한 단백질의 수이다. 1318개의 단백질이 12가지 입자 유형을 포함하는 복수의 입자와 접촉된 샘플로부터 확인되었다.

도 11은 56-샘플 NSCLC 비교 연구에 대해 존재-여과된, 클러스터 품질-여과된, 중앙값-표준화된 MS 특징 강도의 분포를 도시한다. 각각의 라인은 질환에 걸린 샘플 또는 대조군 샘플에 대한 $\log_2$ 특징 강도의 밀도를 나타낸다. 밀도는 y-축에서 0.00으로부터 0.15까지 플롯화되고, $\log_2$ 특징은 x-축에서 15로부터 35까지 플롯화된다. 약 0.13 내지 약 0.17 범위의 밀도를 가진 약 28의 $\log_2$ 특징 강도 가까이 위치한 최고 피크에서, 두 최고 흔적은 대조군 샘플에 상응하는 한편, 최저 흔적은 질환에 걸린 샘플에 상응한다. 나머지 대조군 및 질환이 있는 흔적은 최고 흔적과 최저 흔적 사이에 분포된다. 약 20 $\log_2$ 특징 강도 및 약 23 $\log_2$ 특징 강도에서 발생하는 2개의 어깨 피크에서, 최고의 2개 흔적은 대조군 흔적이며 최저의 2개 흔적은 20 $\log_2$ 특징 강도 피크에서의 대조군 흔적이고, 최고 흔적은 23 $\log_2$ 특징 강도에서의 질환이 있는 흔적이다.

도 12는 폴리(N-(3-(다이메틸아미노)프로필)메타크릴아미드) (PDMAPMA)-코팅된 SPION 입자를 사용하는 비-소세포 폐암 (NSCLC) 파일럿 연구의 변경된 특징을 도시한다. 4기 NSCLC (관련된 동반 질환 및 치료 효과와 함께)를 가진 28명의 대상체와 28세 및 성별-매칭된, 외관상 건강한 대상체 사이에서 7개의 MS 특징이 통계학적으로, 상당히 상이한 것으로서 확인되었다. 하부의 표는 상당히 상이한 7개 단백질의 목록이다. 이것은 5개의 공지된 단백질 및 2개의 미지 단백질을 포함한다. 만약 펩타이드-스펙트럼 매칭이 특징과 관련된 MS2 데이터에 대해 이루어졌다면, 그 펩타이드 서열 (및 전하)뿐만 아니라 잠재적인 모 단백질이 표시되고; 만약 MS2 매칭이 특징과 관련되지 않았다면, 두 펩타이드 및 단백질은 "미지의 것"으로 표시된다.

도 13은 코로나 단백질 및 혈장 단백질 입자의 최대 강도의 동일한 단백질의 공개된 농도에 대한 연관성을 도시한다. 청색 점선은 데이터에 대한 선형 회귀 모델이고 음영 영역은 모델 핏의 표준 오차를 나타낸다. 입자 ("S-003", "S-007", 및 "S-011", 표 1에 상세히 설명됨)로 검정된 샘플의 동적 범위는, 선형 핏의 기울기의 감소에 의해 나타난 것과 같이, 입자로 검정되지 않은 혈장 샘플 ("혈장")과 비교하여 압축된 동적 범위를 나타냈다. 각 플롯의 기울기는 입자가 없는 혈장, S-003 입자를 포함한 혈장, S-007 입자를 포함한 혈장, 및 S-011 입자를 포함한 혈장에 대해 각각 0.47, 0.19, 0.22, 및 0.18이다.

도 14는 입자 코로나 형성이 없는 질량 분석과 비교된 질량 분석을 사용한 단백질 코로나 분석 검정의 동적 범위 압축을 도시한다.도 13에서 검정된 혈장 샘플 중의 입자 코로나에서 확인된 통상적인 단백질의 단백질 강도 ("강도의 나노입자 MS")는 입자가 없는 혈장의 질량 분석에 의해 확인된 단백질 강도 ("강도의 혈장 MS")에 대해 플롯화된다. 가장 밝은 점선은 1의 기울기를 나타내며, 입자가 없는 질량 분석의 동적 범위를 가리킨다. 단백질 강도에 대한 선형 핏의 기울기는 S-003, S-007, 및 S-011 입자에 대해 각각 0.12, 0.36, 및 0.093이었다. 회색 영역은 회귀 핏의 표준 오차 영역을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0072] 발명의 다양한 구체예가 본원에서 제시되고 기술되었지만, 기술분야에 통상의 지식을 가진 사람들에게는 그러한 구체예가 단지 실시예에 의해 제공된 것이 자명할 것이다. 수많은 변화, 변경, 및 치환이 발명으로부터 벗어나지 않으면서 기술분야에 통상의 지식을 가진 사람들에게 일어날 수 있다. 본원에 기술된 발명의 구체예에 대한 다양한 대안이 사용될 수 있는 것이 이해되어야 한다.

[0073] 용어 "적어도", "보다 큰", 또는 "의 이상"이 연속적으로 둘 이상의 수치에서 첫 번째 수치 앞에 있을 때는 언제나, 용어 "적어도", "보다 큰" 또는 "의 이상"은 그 연속되는 수치의 각각의 수치에 적용된다. 예를 들어, 1, 2, 또는 3 이상은 1 이상, 2 이상, 또는 3 이상과 같다.

[0074] 용어 "보다 작은", "미만", 또는 "이하의"가 연속적으로 둘 이상의 수치에서 첫 번째 수치 앞에 있을 때는 언제나, 용어 "보다 작은", "미만", 또는 "이하의"는 그 연속되는 수치의 각각의 수치에 적용된다. 예를 들어, 3,

2, 또는 1 이하는 3 이하, 2 이하, 또는 1 이하와 같다.

[0075] 본원에서 사용되는 바, 질량 분석에 의해 확인된 "특징"은 체류 시간 및 m/z (질량 대 전하 비율)의 특정 조합에서의 신호를 포함하며, 여기서 각각의 특징은 관련된 강도를 가진다. 일부 특징은 확인을 위해 제2 질량 분석법 분석 (MS2)으로 추가로 단편화된다.

[0076] 본원에서 사용되는 바, 용어 "센서 요소"는 샘플과 접촉될 때 복수의 생체분자에 결합할 수 있는 요소를 나타내며 용어 "나노규모 센서 요소"를 포함한다. 센서 요소는 입자, 예컨대 나노입자, 또는 마이크로입자일 수 있다. 센서 요소는 기판 또는 기판의 일부일 수 있다. 센서 요소는 입자 또는 복수의 입자를 포함할 수 있다. 센서 요소는 생체분자를 흡착하거나 그것에 결합할 수 있는 복수의 표면을 포함할 수 있다. 센서 요소는 다공성 물질, 예컨대 생체분자가 끼어들 수 있는 물질을 포함할 수 있다.

[0077] 본원에서 사용되는 바, "센서 어레이"는 복수의 센서 요소 (예컨대, 입자)가 다중 유형의 센서 요소를 포함하는 복수의 센서 요소를 포함할 수 있다. 센서 요소는 적어도 하나의 물리화학적 특성이 서로 상이한 상이한 유형일 수 있다. 센서 어레이는 복수의 센서 요소 (예컨대, 입자)를 함유하는 복수의 파티션을 가진 기판일 수 있다. 예를 들어, 센서 어레이는 복수의 웰 사이에 분포된 복수의 입자를 가진 다중 웰 플레이트를 포함할 수 있다. 센서 어레이는 복수의 파티션을 포함하는 기판일 수 있고, 여기서 복수의 파티션은 복수의 입자를 포함한다. 일부 구체예에서, 각각의 센서 요소 또는 입자는 샘플에서 샘플 중의 복수의 생체분자에 결합하여 생체분자 코로나 시그니처를 생성할 수 있다. 일부 구체예에서, 각각의 센서 요소 (예컨대, 입자 유형)는 구별되는 생체분자 코로나 시그니처를 가진다.

[0078] 본원에서 사용되는 바, 용어 "생체분자 코로나"는 센서 요소에 결합하는 복수의 상이한 생체분자를 나타낸다. 용어 "생체분자 코로나"는 생물학적 샘플 또는 생물학적 시스템에 접촉하게 될 때 입자 (예컨대, 나노입자)에 결합하는 단백질, 지질 및 다른 혈장을 나타낼 수 있다. 본원에서 사용하기 위해, 용어 "생체분자 코로나"는 또한 문헌에서 언급된 것과 같이 연질 및 경질 단백질 코로나를 모두 포함한다: Milani et al. "Reversible versus Irreversible Binding of Transferring to Polystyrene Nanoparticles: Soft and Hard Corona" ACS NANO, 2012, 6(3), pp. 2532-2541; Mirshafiee et al. "Impact of protein pre-coating on the protein corona composition and nanoparticle cellular uptake" Biomaterials vol. 75, January 2016 pp. 295-304, Mahmoudi et al. "Emerging understanding of the protein corona at the nano-bio interfaces" Nanotoday 11(6) December 2016, pp. 817-832, 및 Mahmoudi et al. "Protein-Nanoparticle Interactions: Opportunities and Challenges" Chem. Rev., 2011, 111(9), pp. 5610-5637 (이것들의 내용은 그 전문이 참조로 포함됨). 문헌에서 기술된 것과 같이, 흡착 곡선은 최대 단층 포화 지점 (기하학적으로 규정된 단백질 대 NP 비율에서의)까지 강력하게 결합된 단층의 축적을 보여줄 수 있고, 그 이상에서는 이차의 약하게 결합된 층이 형성된다. 제1 층이 비가역적으로 결합하는 한편 (경질 코로나), 이차 층 (연질 코로나)은 동적 교환을 나타낼 수 있다. 고친화도로 흡착하는 단백질은 쉽게 탈착될 수 없는 단단하게 결합된 단백질을 포함하는 "경질" 코로나를 형성할 수 있고, 낮은 친화도로 흡착하는 단백질은 느슨하게 결합된 단백질을 포함하는 "연질" 코로나를 형성할 수 있다. 연질 및 경질 코로나는 또한 그것의 교환 시간을 토대로 특성화될 수 있다. 경질 코로나는 수 시간 단위의 훨씬 더 큰 교환 시간을 보일 수 있다. 예컨대, M. Rahman et al. Protein-Nanoparticle Interactions, Spring Series in Biophysics 15, 2013 (그 전문이 참조로 포함됨) 참고.

[0079] 용어 "생체분자"는 한정하는 것은 아니지만, 예를 들어, 단백질, 폴리펩타이드, 다당류, 당, 지질, 리포단백질, 대사산물, 올리고뉴클레오타이드, 대사체(metabolome) 또는 그것들의 조합을 포함한, 코로나 형성에 관여할 수 있는 생물학적 구성요소를 나타낸다. 구별되는 입자의 생체분자 코로나는 동일한 생체분자의 일부를 함유할 수 있고, 다른 센서 요소와 관련하여 구별되는 생체분자를 함유할 수 있으며, 및/또는 각각의 센서 요소에 결합하는 생체분자의 수준 또는 양, 유형 또는 형태가 상이할 수 있는 것으로 고려된다. 한 구체예에서, 생체분자는 단백질, 핵산, 지질, 및 대사체의 군으로부터 선택된다.

[0080] 용어 "생체분자 코로나 시그니처"는 입자 또는 별도의 센서 요소의 각각의 유형에 결합되는 상이한 생체분자의 조성, 시그니처 또는 패턴을 나타낸다. 시그니처는 상이한 생체분자뿐만 아니라 센서 요소에 결합된 생체분자의 양, 수준 또는 양의 차이, 또는 입자 또는 센서 요소에 결합되는 생체분자의 형태상의 상태의 차이를 나타낼 수 있다. 센서 요소의 각각의 구별되는 유형의 생체분자 코로나 시그니처는 동일한 생체분자의 일부를 함유할 수 있고, 다른 센서 요소와 관련하여 구별되는 생체분자를 함유할 수 있으며, 및/또는 다양한 생체분자의 수준 또는 양, 유형 또는 형태가 상이할 수 있는 것으로 고려된다. 생체분자 코로나 시그니처는 센서 요소 (예컨대, 입자)의 물리화학적 특성뿐만 아니라, 샘플의 본질 및 생물학적 샘플에 노출되는 기간에 따라 달라질 수 있다.

[0081] 본원에는 다중체학(multi-omics) 분석을 위한 조성물 및 방법이 개시된다. "다중체학(Multi-omic(s) 또는 multiomic(s))"은 대규모로 생체분자를 분석하기 위한 분석적 접근법을 나타낼 수 있으며, 데이터 세트는 단백질체(proteome), 게놈(genome), 전사체(transcriptome), 지질체(lipidome), 및 대사체(metabolome)와 같은 다중 옴(omes)이다. 다중체학 데이터의 비제한적인 예로는 단백체 데이터, 게놈 데이터, 지질체 데이터, 글리코믹 데이터, 전사체 데이터, 또는 대사체 데이터를 들 수 있다.

[0082] "생체분자 코로나"에서 "생체분자"는 생물학적 유기체에 의해 생성될 수 있거나, 생물학적 유기체에 존재하는 임의의 분자 또는 생물학적 구성요소를 나타낼 수 있다. 생체분자의 비제한적인 예로는 단백질 (단백질 코로나), 폴리펩타이드, 올리고펩타이드, 폴리케타이드, 다당류, 당, 지질, 리포단백질, 대사산물, 올리고뉴클레오타이드, 핵산 (DNA, RNA, 마이크로 RNA, 플라스미드, 단일 가닥 핵산, 이중 가닥 핵산), 대사체, 뿐만 아니라 일차 대사산물, 이차 대사산물, 및 다른 천연 생성물, 또는 그것들의 임의의 조합을 들 수 있다. 일부 구체예에서, 생체분자는 단백질, 핵산, 지질, 및 대사체의 군으로부터 선택된다.

[0083] 현재, 임상적 진단을 위해 현재 사용되는 단백질-기반 바이오마커가 소수 있으며, 마커의 팽창을 위해 혈장 단백체를 분석하려는 광범위한 노력에도 불구하고, 상대적으로 소수의 새로운 후보가 임상적으로 유용한 지표로서 허용되었다. 혈장 단백체는 10,000개를 넘는 단백질 및 잠재적으로 10배 이상의 (mg/mL 내지 pg/mL) 농도 범위를 가진 배수의 더 많은 단백질 동형 (isoform)을 함유한다. 이들 속성은 단백체 분석을 위한 편리한 분자 도구의 결핍과 함께, 혈장 단백체의 포괄적인연구를 예외적으로 어렵게 만든다. 생물학적 샘플 중의 단백질의 넓은 동적 범위를 극복하기 위한 접근법은 수천개의 독특한 단백질 및 심지어 더 많은 단백질 변이체라는 배경에 대해 확인 및 정량화할 수 있어야 한다. 그러나, 검증 및 복제에 대한 강력한 전망과 함께 적절한 크기의 규모를 허용하기에 충분한 산출량 및 실제적인 비용 프로파일을 가진 방식으로 전체 혈장 농도 범위에 걸쳐 단백질을 동시에 측정할 수 있는 기존의 기술은 없다. 이들 도전은 신규한 질환 바이오마커의 발견을 제한할뿐만 아니라, 게놈 변이체의 단백질유전체학 및 단백질 주석의 채택에 대한 병목현상이었다. 개선된 데이터 분석의 개발과 함께 질량 분석 (MS)에서의 진전은 심층적이고 광범위한 단백체 분석에 대한 도구를 제공하였다. 저풍부성 단백질의 검출, 예컨대 고도로 풍부한 단백질의 고갈, 혈장 분획화, 및 펩타이드 분획화의 검출을 실질적으로 개선하기 위한 몇몇 시도가 이루어졌다. 이제 혈장에서 4,500개 이상의 단백질을 확인하는 것이 가능하다. 그러나, 현재의 접근법은 꽤 복잡하고 시간 소모적 (수일 내지 수주)이어서, 단백질 포함범위의 깊이와 샘플 처리량 사이에 절충안을 필요로 한다. 결과적으로, 단백체에서 활용할 수 있는 정보의 실체를 포괄적이고 신속하게 분석하기 위한 간단하고 강력한 전략이 충족되지 못한 요구사항으로 남아 있다.

[0084] 추가적으로, 질환이 보다 조기에 진단될수록, 질환이 치유되거나 성공적으로 관리되어서 환자에 대한 더 나은 예후로 이어질 수 있는 가능성이 더 많다. 질환이 초기에 치료되는 경우, 질환으로부터의 문제를 예방하거나 지연시키는 것이 가능할 수 있고 환자의 수명을 연장하거나 및/또는 삶의 질을 포함하여, 환자에 대한 결과를 개선할 수 있다.

[0085] 많은 유형의 암이 초기 단계에서 성공적으로 치료될 수 있기 때문에, 암의 조기 진단은 중요하다. 예를 들어, 유방암, 난소암, 및 폐암의 조기 진단 및 치료 후 5년 생존율은, 질환이 가장 진전된 단계에서 진단된 환자에 대해 각각 15%, 5%, 및 10%인 것에 비해 각각 90%, 905, 및 70%이다. 암세포가 그것이 기원하는 조직을 이탈한 후에는, 활용 가능한 확립된 치료법을 사용한 성공적인 치료는 매우 가능성이 낮아진다. 비록 암의 경고 신호를 인식하고 즉각적인 조치를 취하는 것이 조기 진단으로 이어질 수 있긴 하지만, 암의 대부분 (예컨대, 폐암)이 암세포가 이미 주변 조직을 침습하고 신체를 통해 전이된 후에서야 증상을 나타낸다. 예를 들어, 유방암, 폐암, 결장암, 및 난소암을 가진 환자의 60% 이상이 그들의 암이 검출될 때까지 은폐되거나 심지어 전이성 콜로니 상태였다. 그러므로, 암의 조기 검출을 위해 효과적인 접근법의 개발에 대한 긴박한 필요성이 있다. 그러한 접근법은 다양한 단계의 암을 확인하는 민감성 및 테스트되는 사람이 암이 없을 때 음성 결과를 제공하는 특이성이 있어야 한다. 암의 조기 검출을 위한 방법을 개발하고자 하는 광범위한 노력이 있었다; 엄청난 수의 위험 요인 및 바이오마커가 도입되었지만, 광범위한 암의 조기 검출을 위한 광범위하게 관련된 플랫폼은 여전히 찾기 힘들다.

[0086] 다양한 유형의 암이 혈액 혈장의 조성을 변화시킬 수 있기 때문에 - 암의 초기 단계에서조차- 조기 검출을 위한 한 가지 유망한 접근법은 바이오마커에 대한 분자 혈액 분석이다. 비록 이 전략이 이미 몇몇 암에 대해 실시되었지만 (전립선암에 대해 PSA와 같이), 대부분의 암의 조기 검출에 대해 특이적인 바이오마커는 아직 없다. 그러한 암 (예컨대, 폐암)의 경우, 정의된 후보 순환 바이오마커 중 어느 것도 임상적으로 검증되지 않았고, 매우 소수만이 후기 단계 임상 개달에 도달하였다. 그러므로, 매우 초기 단계에 암뿐만 아니라 다른 질환을 검출할

수 있는 본 출원인의 능력을 개선하기 위한 신규한 접근법에 대한 긴박한 필요성이 있다.

[0087] **자동화된 샘플 제조**

[0088] 본 개시는 자동화된 샘플 제조, 데이터 생성, 단백질 코로나 분석을 위한 시스템 및 방법을 제공한다. **도 1**에서 도시된 것과 같이, 시스템 및 방법은 (1) 샘플을 센서 어레이, 기판, 플레이트 상의, 또는 전술한 것들 중 어느 것의 파티션 내에서 입자 (예컨대, 입자 혼합물 중의)와 접촉시키는 단계, (2) 샘플 중의 생체분자가 입자에 결합하는 것을 허용하는 단계, (3) 입자로부터 미결합 샘플을 제거하는 단계, 및 (4) 분석 (예컨대, 질량 분석 ("MS")을 사용함)을 위한 샘플을 제조하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, (1)에서, 본 개시의 방법은 생물학적 샘플을 복수의 입자와 접촉시키는 것을 포함할 수 있다. (2)에서, 샘플은 입자에 대한 생체분자의 흡착을 촉진하기 위하여 복수의 입자와 함께 인큐베이션될 수 있다. (3)에서, 미결합 샘플은 제거되는 한편 입자 및 입자에 흡착된 생체분자는 유지될 수 있다. (4)에서 흡착된 생체분자는 입자로부터 탈착되고 예시의 데이터를 생성할 수 있는 질량 분석적 분석을 위해 준비될 수 있다.

[0089] 본 개시는 생체분자 코로나 제조 및 분석을 위한 자동화 시스템, 방법 및 키트를 제공한다. 자동화 장치는 **도 2**에서 예시된 다양한 유닛을 사용하여 적어도 **도 1**에서 개략적으로 도시된 상기 언급된 데이터 생성 단계를 수행할 수 있다. 자동화 장치는 센서 요소 (205) 및 생물학적 샘플 (210)을 함유한 복수의 파티션을 가진 기판을 함유할 수 있다. 장치 상의 로딩 유닛 (215)은 생물학적 샘플 (210)의 일부를 기판 (205) 상의 파티션으로 전달할 수 있어서, 생물학적 샘플로부터의 생체분자가 기판 상의 파티션의 센서 요소로 흡착될 수 있다. 자동화 장치는 그런 후 파티션으로부터 미결합 생체분자를 제거할 수 있고, 선택적으로 미결합 샘플을 폐기통(220)에 전달할 수 있다. 나머지 생체분자 (예컨대, 센서 요소에 흡착된 생체분자)는 탈착되고, 수집되고, 질량 분석적 분석을 위해 준비될 수 있다. 시약 (225)은 완충액, 예컨대 생체분자 코로나로부터의 생체분자를 탈착시킬 수 있는 재현탁 완충액 또는 생체분자를 변성 또는 단편화할 수 있는 변성 완충액을 포함할 수 있다. 시약 (예컨대, 완충액 또는 프로테아제)(225)은 또한 전술한 것들 중 어느 것을 용이하게 하기 위해 로딩 유닛 (215)을 사용하여 로딩될 수 있다.

[0090] 일부 측면으로, 본 개시는 상이한 물리화학적 특성을 가진 표면을 가지는 복수의 입자를 사용하여 복잡한 생물학적 샘플의 상태를 식별하는 데 차등화된 기능을 가진 유닛의 네트워크를 포함하는 자동화 시스템을 제공하며, 여기서: 제1 유닛은 시스템 내 유닛 간에 유체를 전달하기 위한 다중채널 유체 전달 기기를 포함하고; 제2 유닛은 복수의 생물학적 샘플을 보관하기 위한 지지체를 포함하며; 제3 유닛은 복잡한 생물학적 샘플 내의 분석물 집단과 복수의 입자 사이의 결합 상호작용을 검출하기 위해 상이한 물리화학적 특성을 가진 표면을 가지는 복수의 입자를 포함하는 파티션을 가지는 센서 어레이 플레이트 (예컨대, 센서 요소를 포함하는 복수의 파티션을 포함하는 기판, 예컨대 나노입자를 함유한 96 웰 플레이트)를 위한 지지체를 포함하고; 제4 유닛은 복수의 시약을 보관하기 위한 지지체를 포함하며; 제5 유닛은 폐기될 시약을 보관하기 위한 지지체를 포함하고; 제6 유닛은 다중채널 유체 전달 기기에 의해 사용된 소모품을 보관하기 위한 지지체를 포함하며; 시스템은 생물학적 샘플을 센서 어레이의 명시된 파티션과 접촉시키는 단계; 생물학적 샘플을 센서 어레이 플레이트의 파티션 내에 함유된 복수의 입자와 함께 인큐베이션하는 단계; 복수의 입자 및 입자와 상호작용하는 분석물 집단을 제외하고 모든 구성요소를 파티션으로부터 제거하는 단계; 및 질량 분석을 위해 샘플을 준비하는 단계를 포함하는 일련의 단계를 수행하도록 프로그래밍된다.

[0091] 그러한 장치의 예는 **도 3**에 제공된다. 장치는 생물학적 보관 유닛, 복수의 센서 요소를 포함하는 복수의 파티션을 포함하는 기판, 폐기물 수집 유닛, 변성 용액을 포함하는 유닛, 및 재현탁 용액을 포함하는 유닛 사이에 부피를 전달할 수 있는 자동화된 피펫을 포함한다. 자동화 장치는 센서 요소를 포함하는 기판 내의 파티션에 생물학적 샘플의 일부를 전달하는 단계, 샘플의 일부를 센서 요소와 함께 인큐베이션하여 생물학적 샘플로부터의 생체분자가 센서 요소에 결합하는 것을 허용하는 단계, 생체분자를 포함하는 파티션으로부터 센서 요소에 결합되지 않은 내용물을 제거하는 단계, 및 그런 후 질량 분석 (MS) 분석 (예컨대, LC-MS)을 위해 파티션 내에 남아 있는 생체분자를 준비하는 단계를 포함하는 생체분자 코로나 검정을 수행할 수 있다.

[0092] 로딩은 시스템 내의 모든 다른 유닛에 접근할 수 있게 하는 정도의 이동성을 포함할 수 있다. 로딩은 피펫팅 기능을 수행하는 능력을 포함할 수 있다.

[0093] 본 개시의 시스템 또는 장치는 단일 플레이트, 6 웰 플레이트, 12 웰 플레이트, 96 웰 플레이트, 192 웰 플레이트, 384 웰 플레이트, 또는 마이크로튜브 랙을 위한 지지체를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 본 개시의 시스템 또는 장치는 상기 지지체 및 샘플의 온도를 조절할 수 있는 열 유닛을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 본 개시의 시스템 또는 장치는 샘플을 물리적으로 교반 및/또는 혼합할 수 있는 회전 유닛을 포함할 수 있다.

[0094] 일부 구체예에서, 복수의 입자는 복잡한 생물학적 샘플 내의 분석물 집단 사이의 결합 상호작용을 검출하기 위해 상이한 물리화학적 특성을 가진 표면을 포함하고 복수의 입자는 센서 어레이의 파티션을 가진 표면에 고정된다. 일부 구체예에서, 복수의 입자는 복잡한 생물학적 샘플 내의 분석물 집단과 복수의 입자 사이의 결합 상호작용을 검출하기 위해 상이한 물리화학적 특성을 가진 복수의 자성 나노입자를 용액에 포함한다. 일부 구체예에서, 시스템은 센서 어레이 플레이트가 자화된 지지체 및 상기 지지체와 샘플의 온도를 조절할 수 있는 열 유닛을 포함하는 추가의 제7 유닛에 전달되고 추가 시간 동안 인큐베이션되는 단계를 포함한다.

[0095] 일부 구체예에서, 제4 유닛은 센서 어레이 플레이트를 생성하고; 미결합 샘플을 세척하고; 및/또는 질량 분석을 위한 샘플을 준비하기 위한 시약 세트를 포함한다. 일부 구체예에서, 생물학적 샘플을 센서 어레이의 명시된 파티션과 접촉시키는 단계는 명시된 부피의 생물학적 샘플을 센서 어레이의 특정 파티션에 피펫팅하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 생물학적 샘플을 센서 어레이의 명시된 파티션과 접촉시키는 단계는 용액 중의 복수의 입자 대 생물학적 샘플의 1:1, 1:2: 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:15, 또는 1:20 비율에 상응하는 부피를 피펫팅하는 것을 포함한다.

[0096] 일부 구체예에서, 생물학적 샘플을 센서 어레이의 명시된 파티션과 접촉시키는 단계는 적어도 10 마이크로리터, 적어도 50 마이크로리터, 적어도 100 마이크로리터, 적어도 (250 마이크로리터, 적어도 500 마이크로리터, 또는 적어도 1000 마이크로리터 부피의 생물학적 샘플을 센서 어레이의 특정 파티션에 피펫팅하는 것을 포함한다.

[0097] **자동화 장치**

[0098] 일부 측면으로, 본 개시는 생물학적 샘플로부터 생체분자의 하위세트를 생성하기 위한 자동화 장치를 제공하며, 장치는: 복수의 파티션을 포함하는 기판, 생물학적 샘플을 포함하는 제1 유닛, 및 기판을 가로질러 이동할 수 있고 장치의 상이한 유닛 사이에 부피 (예컨대, 완충액의 부피)를 전달할 수 있는 로딩 유닛을 포함한다. 일부 경우에, 기판은 다중 웰 플레이트이다.

[0099] 복수의 파티션은 복수의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 센서 요소는 입자를 포함할 수 있다. 복수의 센서 요소는 입자 (예컨대, 나노입자 또는 마이크로입자)일 수 있다.

[0100] 복수의 파티션 중의 파티션은 1 내지 100개 유형의 센서 요소 (예컨대, 구별되는 입자 유형)를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 2 내지 50개 유형의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 2 내지 5개 유형의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 3 내지 8개 유형의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 4 내지 10개 유형의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 5 내지 12개 유형의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 6 내지 15개 유형의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 8 내지 20개 유형의 센서 요소를 포함할 수 있다.

[0101] 복수의 파티션 중 둘 이상의 파티션은 상이한 양의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중 둘 이상의 파티션은 상이한 유형의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중 파티션은 복수의 다른 파티션과 상이한 유형 및/또는 양의 센서 요소(들)의 조합을 포함할 수 있다. 복수의 파티션의 파티션의 하위세트는 각각 복수의 다른 파티션과 구별되는 구별되는 센서 요소의 조합을 함유할 수 있다.

[0102] 센서 요소는 파티션 내부에 또는 내에 건식 형태로 보관될 수 있다. 건조한 센서 요소는 사용 전에 재구성되거나 재수화될 수 있다. 센서 요소는 또한 용액 내에 보관될 수 있다. 예를 들어, 기판 파티션은 고농도의 입자를 포함하는 용액을 포함할 수 있다.

[0103] 복수의 파티션 중의 파티션은 상이한 농도 또는 양 (예컨대, 단위 부피의 샘플당 질량/몰량 기준)의 센서 요소를 포함한다. 복수의 파티션 중의 파티션은 1 pM 내지 100 nM의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 1 pM 내지 500 pM의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 10 pM 내지 1 nM의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 100 pM 내지 10 nM의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 500 pM 내지 100 nM의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 50 μg/ml 내지 300 μg/ml의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 100 μg/ml 내지 500 μg/ml의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 250 μg/ml 내지 750 μg/ml의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 400 μg/ml 내지 1 mg/ml의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 600 μg/ml 내지 1.5 mg/ml의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 800 μg/ml 내지 2 mg/ml의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 1 mg/ml 내지 3 mg/ml의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 2 mg/ml 내지 5 mg/ml의 센서 요소를 포함

할 수 있다. 복수의 파티션 중의 파티션은 5 mg/ml 이상의 센서 요소를 포함할 수 있다.

[0104] 로딩 유닛은 장치 내의 임의의 유닛, 구획, 또는 파티션 사이를 이동하고 부피 (예컨대, 용액 또는 분말의 부피)를 전달하도록 구성될 수 있다. 로딩 유닛은 정밀한 부피 (예컨대, 명시된 부피의 0.1%, 0.01%, 0.001% 내에서)를 이동시키도록 구성될 수 있다. 로딩 유닛은 기판 또는 구획 또는 기판 내의 파티션으로부터 부피를 수집하고, 부피를 다시 기판 또는 구획 또는 기판 내의 파티션으로 분배하거나, 또는 상이한 유닛, 구획, 또는 파티션으로 부피 또는 부피의 일부를 분배하도록 구성될 수 있다. 로딩 유닛은 동시에 다중 부피, 예컨대 2 내지 400개의 별도의 부피를 이동시키도록 구성될 수 있다. 로딩 유닛은 복수의 피펫 팁을 포함할 수 있다.

[0105] 로딩 유닛은 액체의 부피를 이동시키도록 구성될 수 있다. 부피는 약 0.1 μl, 0.2 μl, 0.3 μl, 0.4 μl, 0.5 μl, 0.6 μl, 0.7 μl, 0.8 μl, 0.9 μl, 1 μl, 2 μl, 3 μl, 4 μl, 5 μl, 6 μl, 7 μl, 8 μl, 9 μl, 10 μl, 12 μl, 15 μl, 20 μl, 25 μl, 30 μl, 40 μl, 50 μl, 60 μl, 70 μl, 80 μl, 90 μl, 100 μl, 120 μl, 150 μl, 180 μl, 200 μl, 250 μl, 300 μl, 400 μl, 500 μl, 600 μl, 800 μl, 1 ml, 또는 1 ml 이상일 수 있다. 액체는 생물학적 샘플 또는 용액일 수 있다.

[0106] 일부 경우에, 용액은 세척 용액, 재현탁 용액, 변성 용액, 완충액, 시약 (예컨대, 환원 시약), 또는 그것들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 경우에, 용액은 생물학적 샘플을 포함한다.

[0107] 부분적으로 이들 기능성으로 인해, 로딩 유닛은 샘플을 분할할 수 있다. 일부 구체예에서, 이것은 샘플을 많은 파티션으로 분할하는 것을 포함한다. 샘플은 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 150, 180, 200, 250, 300, 350, 400, 500개, 또는 그 이상의 파티션으로 나누어질 수 있다. 샘플은 96, 192, 또는 384개의 파티션으로 나누어질 수 있다. 자동화 장치는 파티션을 포함하는 다중 기판을 포함할 수 있다. 자동화 장치는 파티션을 포함하는 1, 2, 3, 4, 5개, 또는 그 이상의 기판을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 로딩 유닛은 상이한 부피의 생물학적 샘플을 상이한 파티션에 로딩한다. 일부 경우에, 로딩 유닛은 둘 이상의 파티션에 동일한 부피를 로딩한다. 파티션에 로딩된 생물학적 샘플의 부피는 약 0.1 μl, 0.2 μl, 0.3 μl, 0.4 μl, 0.5 μl, 0.6 μl, 0.7 μl, 0.8 μl, 0.9 μl, 1 μl, 2 μl, 3 μl, 4 μl, 5 μl, 6 μl, 7 μl, 8 μl, 9 μl, 10 μl, 12 μl, 15 μl, 20 μl, 25 μl, 30 μl, 40 μl, 50 μl, 60 μl, 70 μl, 80 μl, 90 μl, 100 μl, 120 μl, 150 μl, 180 μl, 200 μl, 250 μl, 300 μl, 400 μl, 500 μl, 600 μl, 800 μl, 1 ml, 또는 1 ml 이상일 수 있다. 파티션에 로딩된 생물학적 샘플의 부피는 약 10 μl 내지 400 μl일 수 있다. 파티션에 로딩된 생물학적 샘플의 부피는 약 5 μl 내지 150 μl일 수 있다. 파티션에 로딩된 생물학적 샘플의 부피는 약 35 μl 내지 80 μl일 수 있다. 일부 경우에, 로딩 유닛은 둘 이상의 생물학적 샘플을 나눌 수 있다. 예를 들어, 샘플 보관 유닛은 시스템이 한 웰 플레이트로 나누어지는 2개의 생물학적 샘플을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 로딩 유닛은 질향 분석을 위한 샘플의 질량 분석 유닛으로의 전달을 용이하게 할 수 있다.

[0108] 시스템은 샘플 또는 샘플 파티션에 대해 희석을 수행하도록 구성될 수 있다. 샘플 또는 샘플 파티션은 완충액, 물 (예컨대, 정제수), 비-수성 용매, 또는 그것들의 임의의 조합으로 희석될 수 있다. 희석제는 기판 파티션에 분배되기 전에 자동화 장치에 보관될 수 있다. 자동화 장치는 pH, 염도, 오스몰 농도, 점도, 유전 상수, 또는 그것들의 임의의 조합이 상이한 복수의 희석제를 보관할 수 있다. 희석제는 샘플 또는 샘플 파티션의 화학적 특성을 조정하기 위해 사용될 수 있다. 자동화 장치는 샘플 또는 샘플 파티션을 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 8배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 75배, 100배, 150배, 200배, 300배, 400배, 500배 또는 그 이상으로 희석할 수 있다. 자동화 장치는 2개의 샘플 또는 샘플 파티션에 대해 상이한 희석을 수행할 수 있다. 시스템은 복수의 파티션 중에서 각각의 파티션에 대해 상이한 희석을 수행할 수 있다. 예를 들어, 시스템은 96 웰 플레이트에서 96개 샘플 파션의 각각에 대해 상이한 희석을 수행할 수 있다. 일부 경우에, 상이한 희석은 상이한 정도의 희석 (예컨대 2배 대비 4배)을 포함한다. 일부 경우에, 상이한 희석은 상이한 용액 (예컨대 상이한 완충액)으로의 희석을 포함한다. 일부 경우에, 2개의 샘플 파티션은 하나 이상의 화학적 특성, 예컨대 pH, 염도, 또는 점도가 상이하게 만들어질 수 있다.

[0109] 일부 경우에, 시스템은 샘플 또는 샘플 파티션의 화학적 조성을 변형시킬 수 있다. 시스템은 샘플 또는 샘플 파티션에 대한 pH, 염도, 오스몰 농도, 유전 상수, 점도, 완충액 유형, 염 유형, 당 유형, 계면활성제 유형, 또는 그것들의 임의의 조합을 변형 또는 조정할 수 있다. 그러한 변형 또는 조정은 제4 유닛으로부터의 시약과 샘플 또는 샘플 파티션을 혼합하는 것을 포함할 수 있다. 시스템은 2 샘플 또는 샘플 파티션의 화학적 조성을 차등을 두어 변형시킬 수 있다.

[0110] 본 개시의 시스템 또는 자동화 장치는 또한 인큐베이션 요소를 포함할 수 있다. 인큐베이션 요소는 자동화 장치

의 또 다른 구성요소 (예컨대, 기판 또는 유닛)를 접촉, 지지, 또는 유지시킬 수 있다. 인큐베이션 유닛은 자동화 장치의 다중 구성요소를 접촉, 지지, 또는 유지시킬 수 있다. 인큐베이션 요소는 인큐베이션 요소와 기판 사이의 열 전달을 용이하게 하기 위해 기판과 접촉할 수 있다. 인큐베이션 유닛은 자동화 장치의 하나 이상의 구성요소의 온도를, 예컨대 가열 또는 냉각에 의해 제어하도록 구성될 수 있다. 인큐베이션 요소는 장치의 구성요소를 20℃에서 1℃로 냉각시킬 수 있다. 인큐베이션 요소는 장치의 구성요소를 25℃에서 100℃로 가열시킬 수 있다. 인큐베이션 요소는 장치의 구성요소의 온도를 4℃에서 37℃까지 설정할 수 있다. 인큐베이션 요소는 자동화 장치의 구성요소의 상이한 부분을 상이한 온도로 가열 또는 냉각하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 인큐베이션 요소는 30℃의 기판에 제1 파티션 및 35℃의 기판에 제2 파티션을 보유할 수 있다. 인큐베이션 요소는 샘플 또는 오디션의 온도를 제어할 수 있다. 인큐베이션 요소는 파티션 또는 용기 내의 온도를 검출하기 위한 온도 센서 (예컨대, 열전대)를 포함할 수 있다. 인큐베이션 요소는 온도 센서로부터의 판독값에 대해 그것의 가열 또는 냉각을 보정할 수 있다.

[0111] 인큐베이션 요소는 자동화 장치의 구성요소를 교반하도록 구성될 수 있다. 교반은 흔들기 또는 회전, 진동, 락킹, 초음파처리, 또는 그것들의 임의의 조합의 형태일 수 있다. 인큐베이션 요소는 다중 교반 강도 및/또는 빈도를 제공할 수 있다. 예를 들어, 인큐베이션 요소는 상이한 빈도 및 진폭으로 흔들기를 위한 다중 세팅을 포함할 수 있다. 인큐베이션 요소는 또한 부피 (예컨대, 생물학적 샘플의 일부)를 교반 및 또는 혼합할 수 있다.

[0112] 자동화 장치는 재현탁 용액을 포함하는 유닛을 포함할 수 있다. 로딩 유닛은 기판의 복수의 파티션 중의 파티션에 재현탁 용액의 부피를 전달할 수 있다. 일부 경우에, 이것은 파티션 내에 존재하는 샘플의 희석을 초래하며 추가로 파티션 내의 센서 요소 상에 배치된 생체분자 코로나로부터의 복수의 생체분자의 탈착을 초래할 수 있다. 생체분자 코로나로부터 탈착된 생체분자의 양은 파티션에 첨가된 재현탁 용액의 부피, 파티션의 온도, 재현탁 용액의 조성 (예컨대, 염도, 오스몰 농도, 점도, 유전 상수, 또는 pH), 파티션 내 생물학적 샘플의 부피, 및 센서 요소 유형 및 생체분자 코로나의 생체분자의 조성에 따라 달라질 수 있다. 재현탁 용액의 부피의 파티션으로의 전달은 생체분자 코로나로부터 생체분자의 5% 미만의 탈착을 초래할 수 있다. 재현탁 용액의 부피의 파티션으로의 전달은 생체분자 코로나로부터 생체분자의 10% 내지 20%의 탈착을 초래할 수 있다. 재현탁 용액의 부피의 파티션으로의 전달은 생체분자 코로나로부터 생체분자의 20% 내지 30%의 탈착을 초래할 수 있다. 재현탁 용액의 부피의 파티션으로의 전달은 생체분자 코로나로부터 생체분자의 30% 내지 40%의 탈착을 초래할 수 있다. 재현탁 용액의 부피의 파티션으로의 전달은 생체분자 코로나로부터 생체분자의 40% 내지 50%의 탈착을 초래할 수 있다. 재현탁 용액의 부피의 파티션으로의 전달은 생체분자 코로나로부터 생체분자의 50% 내지 60%의 탈착을 초래할 수 있다. 재현탁 용액의 부피의 파티션으로의 전달은 생체분자 코로나로부터 생체분자의 60% 내지 70%의 탈착을 초래할 수 있다. 재현탁 용액의 부피의 파티션으로의 전달은 생체분자 코로나로부터 생체분자의 70% 내지 80%의 탈착을 초래할 수 있다. 재현탁 용액의 부피의 파티션으로의 전달은 생체분자 코로나로부터 생체분자의 80% 내지 90%의 탈착을 초래할 수 있다. 재현탁 용액의 부피의 파티션으로의 전달은 생체분자 코로나로부터 생체분자의 90% 이상의 탈착을 초래할 수 있다.

[0113] 일부 경우에, 다중 회기의 탈착이 수행된다. 각각의 회기에서, 탈착된 생체분자가 포함된 상층액이 수집되거나, 분석되거나, 또는 버려진다. 상층액 중의 생체분자의 유형 및 풍부성은 탈착 회기마다 상이할 수 있다. 자동화 장치는 1회 이상의 탈착 및 폐기 사이클 (즉, 세척)을 수행할 수 있고, 이어서 샘플 수집 및/또는 분석을 포함하는 1회 이상의 탈착 사이클을 수행할 수 있다.

[0114] 재현탁 용액은 특정 바이오마커의 풍부화를 최적화하기 위하여 맞춤화될 수 있다. 재현탁 용액은 완충액, 예컨대 Tris-EDTA (TE), CHAPS, PBS, 시트레이트, HEPES, MES, CHES, 또는 또 다른 바이오 완충액을 포함할 수 있다. 재현탁 용액은 Tris EDTA (TE) 150mM KCl 0.05% CHAPS 완충액을 포함할 수 있다. 재현탁 용액은 10 mM TrisHCl pH 7.4, 1 mM EDTA를 포함할 수 있다. 재현탁 용액은 또한 정제수를 포함하거나 고도의 정제수일 수 있다 (예컨대, 증류수 또는 탈이온수). 생체분자 탈착은 가열에 의해 또는 인큐베이션 요소에 의한 교반에 의해 증대될 수 있다. 상층액은 탈착 후에 새로운 파티션으로 전달될 수 있다. 재현탁 용액은 샘플을 희석하기 위해 사용될 수 있다.

[0115] 자동화 장치는 변성 용액을 포함하는 유닛을 포함할 수 있다. 변성 용액은 프로테아제를 포함할 수 있다. 변성 용액은 펩타이드 절단을 수행할 수 있는 화학물질 (예컨대, 시아노겐 브로마이드, 포름산, 또는 하이드록실아민, 2-니트로-5-티오시아나토벤조산)을 포함할 수 있다. 변성 용액은 구아니딘, 우레아, 데옥시콜산 나트륨, 아세토니트릴, 트라이크롤로아세트산, 아세트산, 설포살리실산, 중탄산 나트륨, 에탄올, 과염소산염, 도데실 설페이트, 또는 그것들의 임의의 조합과 같은 화학적 변성제를 포함할 수 있다. 변성 용액은 환원제, 예컨대 2-머캡토에탄올, 다이티오트레이톨, 또는 트리스(2-카르복시에틸)포스핀을 포함할 수 있다.

프로테아제는 트립신일 수 있다. 변성 용액은 탈착 후에 파티션에 첨가될 수 있다. 변성 용액은 생체분자 코로나를 포함하는 파티션에 첨가될 수 있다.

[0116] 자동화 장치는 자석 또는 자석 어레이를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 자석 또는 자석 어레이 위로 또는 밖으로 기판을 움직일 수 있다. 자석 어레이는 자석 어레이로부터의 복수의 자석이 기판으로부터의 복수의 파티션 바로 아래에 놓일 수 있도록 구조화될 수 있다. 자석은 기판 상의 파티션 내에 자성 센서 요소 (예컨대, 코팅된 또는 코팅되지 않은 초상자성 산화철 나노입자와 같은 자성 입자)를 고정시킬 수 있다. 예를 들어, 자석은 자성 나노입자가 세척 단계 중에 파티션으로부터 제거되는 것을 방지할 수 있다. 자석은 또한 자성 입자 집합으로부터 펠릿을 생성할 수 있다. 자석은 10분 미만 내에 입자 펠릿을 생성할 수 있다. 자석은 5분 미만 내에 입자 펠릿을 생성할 수 있다. 입자 펠릿은 생체분자 코로나를 가진 입자를 포함할 수 있다.

[0117] 자동화 장치는 정제 유닛을 포함할 수 있다. 정제 유닛은 흡착제 또는 수지를 포함하는 복수의 파티션을 포함할 수 있다. 정제 유닛은 고상 추출 어레이 또는 플레이트를 포함할 수 있다. 고상 추출 어레이 또는 플레이트는 극성 고정상 물질을 포함할 수 있다. 고상 추출 어레이 또는 플레이트는 비극성 고정상 물질을 포함할 수 있다. 고상 추출 어레이 또는 플레이트는 C18 고정상 물질 (예컨대, 옥타데실기 실리카겔)을 포함할 수 있다. 자동화 장치는 정제 유닛을 위한 조건화 용액 (예컨대, 고상 추출 물질을 위한 조건화 용액)을 가진 유닛을 포함할 수 있다. 자동화 장치는 정제 유닛으로부터 생체분자를 제거하기 위한 용출 용액을 가진 유닛을 포함할 수 있다.

[0118] 일부 구체예에서, 구성요소는 복수의 센서 요소 및 복수의 센서 요소와 상호작용하는 분석물 집단을 제외하고 파티션으로부터 제거된다 (즉, 세척 단계). 일부 경우에, 자동화 장치는 일련의 세척 단계를 수행할 수 있다. 세척 단계는 파티션 내 센서 요소에 결합되지 않은 생체분자를 제거할 수 있다. 세척 단계는 파티션 내 센서 요소에 결합된 생체분자의 하위세트를 탈착시킬 수 있다. 예를 들어, 세척 단계는 센서 요소에 결합된 대부분의 경질 코로나 분석물질은 남겨두면서, 연질 코로나 분석물질의 하위세트의 탈착 및 제거를 초래할 수 있다.

[0119] 일부 측면으로, 본 개시는 생물학적 샘플 중의 단백질을 확인하기 위해 자동화 장치를 제공하며, 자동화 장치는: 샘플 제조 유닛; 복수의 채널을 포함하는 기판; 복수의 피펫; 복수의 용액, 복수의 입자를 포함하고, 자동화 장치는 단백질 코로나를 형성하고 단백질 코로나를 분해하도록 구성된다.

[0120] 일부 측면으로, 본 개시는 생물학적 샘플 중의 단백질을 확인하기 위해 자동화 장치를 제공하며, 자동화 장치는: 샘플 제조 유닛; 복수의 채널을 포함하는 기판; 복수의 피펫; 복수의 용액, 복수의 나노입자를 포함하고, 자동화 장치는 단백질 코로나를 형성하고 단백질 코로나를 분해하도록 구성되며, 용액 중 적어도 하나는 TE 150mM KCl 0.05% CHAPS 완충액이다.

[0121] 일부 구체예에서, 샘플 제조 유닛은 복수의 나노입자를 복수의 피펫으로 기판에 첨가하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 샘플 제조 유닛은 생물학적 샘플을 복수의 피펫으로 기판에 첨가하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 샘플 제조 유닛은 복수의 나노입자 및 생물학적 샘플을 인큐베이션하여 단백질 코로나를 형성하도록 구성된다.

[0122] 일부 구체예에서, 샘플 제조 유닛은 상층액으로부터 단백질 코로나를 분리하여 단백질 코로나 펠릿을 형성하도록 구성된다. 일부 구체예에서, 샘플 제조 유닛은 단백질 코로나 펠릿을 TE 150mM KCl 0.05% CHAPS 완충액으로 재구성하도록 구성된다.

[0123] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 추가로 자성 공급원을 포함한다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 단백질 코로나의 BCA, 겔, 또는 트립신 분해를 위해 구성된다.

[0124] 일부 구체예에서, 자동화 장치는 둘러싸인다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 사용 전에 멸균된다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 질량 분석되도록 구성된다. 일부 구체예에서, 자동화 장치는 온도 제어된다.

[0125] **검정 방법**

[0126] 일부 측면으로, 본 개시는 생물학적 샘플 중의 단백질을 확인하는 방법을 제공한다. 일부 경우에 방법은: 생물학적 샘플을 본원에 개시된 자동화 장치에 첨가하는 단계; 자동화 장치로부터 단백체 데이터를 생성하는 단계; 및 단백체 데이터를 정량화하는 단계를 포함한다.

[0127] 일부 구체예에서, 방법은 자동화 장치에서 복수의 생체분자를 생물학적 샘플과 함께 인큐베이션하여 생체분자 코로나를 형성하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 생물학적 샘플을 기판의 파티션 내에 함유된 복수의 센서 요소 (예컨대, 입자)와 인큐베이션하는 단계는 적어도 약 10초, 적어도 약 15초, 적어도 약 20초, 적어도 약 25초, 적어도 약 30초, 적어도 약 40초, 적어도 약 50초, 적어도 약 60초, 적어도 약 90초, 적어도 약 2분, 적어도 약 3분, 적어도 약 4분, 적어도 약 5분, 적어도 약 6분, 적어도 약 7분, 적어도 약 8분, 적어도 약 9분, 적

어도 약 10분, 적어도 약 15분, 적어도 약 20분, 적어도 약 25분, 적어도 약 30분, 적어도 약 45분, 적어도 약 50분, 적어도 약 60분, 적어도 약 90분, 적어도 약 2시간, 적어도 약 3시간, 적어도 약 4시간, 적어도 약 5시간, 적어도 약 6시간, 적어도 약 7시간, 적어도 약 8시간, 적어도 약 9시간, 적어도 약 10시간, 적어도 약 12시간, 적어도 약 14시간, 적어도 약 15시간, 적어도 약 16시간, 적어도 약 17시간, 적어도 약 18시간, 적어도 약 19시간, 적어도 약 20시간, 또는 적어도 약 24시간의 인큐베이션 시간을 포함한다. 일부 경우에, 2개의 웰은 상이한 인큐베이션 시간을 가질 것이다. 일부 구체예에서, 생물학적 샘플을 기판의 파티션 내에 함유된 복수의 입자와 함께 인큐베이션하는 단계는 약 4℃ 내지 약 37℃의 인큐베이션 온도를 포함한다. 일부 구체예에서, 생물학적 샘플을 기판의 파티션 내에 함유된 복수의 입자와 함께 인큐베이션하는 단계는 약 4℃ 내지 약 100℃의 인큐베이션 온도를 포함한다.

[0128] 본 개시의 방법, 시스템, 및 장치는 기판 상의 파티션을 덮거나 밀봉하는 것을 포함할 수 있다. 이것은 뚜껑 또는 밀봉으로 장치 표면을 덮는 것을 포함할 수 있다. 뚜껑 또는 밀봉은 용액 또는 종이 파티션을 이탈하는 것을 방지할 수 있다 (예컨대, 파티션으로부터의 증발). 자동화 장치는 뚜껑 또는 밀봉을 배치 및/또는 제거하도록 구성될 수 있다. 뚜껑 또는 밀봉은 관통할 수 있는 것이어서 (예컨대, 격막을 포함할 수 있음), 그로써 주사기나 바늘이 뚜껑 또는 밀봉을 제거하지 않고 기판 파티션에 들어가는 것이 허용된다.

[0129] 일부 경우에, 본 개시의 시스템, 장치 및 방법은 분석을 위해 생체분자 코로나로부터 분석물을 제조하는 단계를 추가로 포함한다 (예컨대, 질량 분석적 분석). 이것은 자동화 장치의 상층액으로부터 생체분자 코로나를 분리하는 것을 포함할 수 있다. 생체분자 코로나는 상층액을 제거한 후 생체분자 코로나로부터의 복수의 단백질을 탈착 용액 (예컨대, 재현탁 용액)에 탈착시킴으로써 상층액으로부터 분리될 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 코로나로부터의 생체분자의 제1 부분은 생체분자 코로나로부터 탈착되어 버려지고, 생체분자 코로나로부터의 생체분자의 제2 부분은 생체분자 코로나로부터 탈착되어 수집된다 (예컨대, 분석을 위해). 생체분자 코로나로부터의 생체분자의 다중 부분은 별도로 탈착되고, 수집되고, 분석될 수 있다.

[0130] 일부 경우에, 생체분자 코로나 내의 생체분자는 변성되거나, 단편화되거나, 화학적으로 변형되거나, 또는 그것들이 임의로 조합된다. 이들 처리는 탈착된 생체분자 상에서 또는 생체분자 코로나 상에서 수행될 수 있다. 생체분자 코로나로부터 탈착된 복수의 생체분자는 생체분자 코로나로부터 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 8%, 10%, 12%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 또는 99% 이상의 생체분자를 포함할 수 있다. 탈착은 5초, 15초, 30초, 1분, 2분, 3분, 4분, 5분, 6분, 8분, 10분, 12분, 15분, 20분, 30분, 40분, 50분, 1시간, 1.5시간, 2시간, 3시간 , 4시간, 5시간, 6시간, 8시간, 12시간, 또는 그 이상의 시간을 포함한, 다양한 시간 동안 수행될 수 있다. 일부 경우에, 탈착은 흔들기 또는 초음파처리와 같은, 물리적 교반을 포함한다. 입자 코로나로부터 탈착된 단백질의 퍼센트는 탈착 시간, 단백질이 탈착되는 탈착 용액의 화학적 조성 (예컨대, pH 또는 완충액-유형), 탈착 온도, 적용된 물리적 교반의 형태 및 강도, 또는 그것들의 임의의 조합에 다라 달라질 수 있다. 추가적으로, 단백질 코로나로부터 탈착된 단백질의 유형은 탈착 조건 및 방법에 반응할 수 있다. 단백질 코로나로부터 탈착된 단백질의 유형은 2가지 탈착 조건 또는 방법 사이에서 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 8%, 10%, 12%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 또는 그 이상 다를 수 있다.

[0131] 일부 경우에, 분석을 위해 생체분자 코로나로부터 분석물을 제조하는 단계는 자동화 장치에서 생체분자 코로나, 단백질 코로나 내의 생체분자의 하위세트, 또는 생체분자 코로나로부터 탈착된 생체분자를 분해하여 분해된 샘플을 형성하는 것을 포함한다. 분석을 위해 생체분자 코로나로부터 분석물을 제조하는 단계는 또한 생체분자 코로나로부터 생체분자를 화학적으로 변형시키는 것, 예컨대 생체분자의 메틸화 또는 환원을 포함할 수 있다.

[0132] 탈착된 생체분자는 추가로 분석 (예컨대, 질량 분석적 분석)을 위해 수집될 수 있다. 자동화 장치는 예를 들어 생체분자 코로나로부터 탈착된 생체분자를 포함하는 기판 파티션으로부터 샘플을 부피를 수집함으로써 수집을 수행할 수 있다. 방법은 파티션을 배치하는 것을 포함하거나 복수의 파티션 (예컨대, 웰 플레이트)이 상기 분석을 수행하기 위해 기기 내에 직접 배치될 수 있다.

[0133] 방법은 분석을 위해 생체분자 코로나로부터 분석물을 제조하는 다중 회기를 포함할 수 있다. 방법은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회기, 또는 그 이상의 제조 회기를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 각각의 회기는 분석을 위한 별도의 샘플을 생성한다 (예컨대, 탈착된 생체분자는 각각의 회기 후에 수집되어 질량 분석으로 분석될 수 있음). 2 회기는 생체분자 코로나로부터 상이한 복수의 단백질을 탈착하는 것을 포함할 수 있다. 2 회기는 또한 상이한 탈착 방법 또는 조건, 예컨대 상이한 탈착 용액 부피, 상이한 탈착 용액 유형 (예컨대, 상이한 완충액 또는 오스몰 농도를 포함하는 탈착 용액), 상이한 온도, 또는 물리적 교반의 상이한 유형 또는 정도를 포함할 수 있다. 단일 생체분자 코로나로부터 둘 이상의 연속적인 제조 회기 (예컨대, 생체분자 코로나로부터의 제1 생

체분자의 하위세트의 탈착 및 수집과 이어서 생체분자 코로나로부터의 제2 생체분자의 하위세트의 탈착 및 수집)는 2 세트의 생체분자를 생성할 수 있다. 이것은 단백질 코로나 내에서 생체분자 상호작용의 검출 또는 분석에 대한 정보를 제공할 수 있다. 그로써, 단일 생체분자 코로나로부터의 다중 제조 회기는 센서의 파티션 또는 유형의 수를 초과하는 많은 생체분자 하위세트를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 96 파티션을 가진 기판 (예컨대, 96 웰 플레이트)을 활용하는 방법은 각각의 파티션이 입자 및 용액 조건의 독특한 조합을 포함하고, 각각의 파티션 상에서 10 회기의 분석물 제조가 수행된다면 960개 정도의 많은 독특한 생체분자 하위세트가 생성될 수 있다.

[0134] 상이한 수의 분석물 제조 회기가 별도의 파티션에서 수행될 수 있다. 파티션은 또한 상이한 분석물 제조 조건이 적용될 수 있다. 더 많은 회기의 분석물 제조를 수행하는 것은 분석을 위해 수집된 단백질의 수 또는 단백질의 유형을 증가시킬 수 있다 (예컨대, 동시 질량 분석적 검출을 위해 접근 가능한 농도 범위 내에 속하는 더 많은 단백질을 생성함). 다중 회기의 분석물 제조가 수행될 때 검출되는 단백질의 수 또는 단백질의 유형은 단일 회기의 분석물 제조가 수행되었을 경우보다 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, 또는 200% 이상더 높을 수 있다.

[0135] 일부 경우에, 방법은 파티션 내에 센서 요소를 고정시키는 단계를 포함한다. 고정화는 부피가 파티션으로부터 제거될 때 (예컨대, 로딩 유닛은 파티션으로부터 95%의 용액을 제거함) 센서 요소가 파티션으로부터 제거되는 것을 방지할 수 있다. 고정화는 예를 들어, 화학적으로 (예컨대, 기판에 대한 공유 또는 비공유 결합) 수행될 수 있다. 화학적 고정화는 센서 요소를 파티션 표면과 반응시키는 것을 포함할 수 있다. 화학적 고정화는 또한 센서 요소를 파티션 표면과 비공유적으로 회합시키는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 센서 요소는 파티션 표면에 결합된 스트렙트아비딘에 결합하는 비오틴 모이어티를 포함할 수 있다. 고정화는 파티션 내에 자성 센서 요소를 유지하기 위해 자기장을 적용함으로써 이루어질 수 있다. 예를 들어, 복수의 센서 요소는 복수의 자성 입자를 포함할 수 있고, 기판과 자석은 하나 이상의 자성 입자가 기판의 파티션 내에 고정되도록 가까이에 있을 수 있다. 고정화는 기판에 기판 상의 파티션 내에서 형성된 또는 내장된 센서 요소를 제공함으로써 이루어질 수 있다. 예를 들어, 센서 요소는 기판 내 파티션 표면 상에 형성된 반-입자일 수 있다.

[0136] 일부 경우에, 센서 요소 고정화는 생체분자 코로나가 센서 요소로부터 분리되는 것을 허용한다. 이것은 센소 요소와 결합된 생체분자 코로나로부터 복수의 생체분자를 탈착시키는 단계, 파티션 내에 센서 요소를 고정시키는 단계, 및 그런 후 생체분자 코로나로부터 복수의 생체분자를 가진 용액을 수집함으로써, 센서 요소로부터 생체분자 코로나의 적으로 일부를 분리하는 단계를 포함할 수 있다.

[0137] **도 4**는 본 개시의 자동화 장치에 의해 수행될 수 있는, 센서 요소의 고정화를 포함하는 방법의 예를 예시한다. 이들 방법은 샘플 중의 생체분자의 하위세트(**403** 및 **404**)를 포획하기 위하여 입자(**402** 및 **411**)를 활용한다.

[0138] 패널(**400**)은 입자(**402**) 및 생체분자를 함유한 파티션(**401**)을 보여준다. 입자는 파티션 내에 부유하며, 샘플로부터 생체분자(**403**)를 흡착함으로써, 생체분자 코로나를 형성한다. 많은 생체분자(**404**)가 입자에 흡착될 수 없으며, 대신 파티션 내에 부유될 것이다. 패널(**410**)은 파티션 표면 상에 형성되는 입자(**411**)를 포함하는, 대체 방법을 보여준다.

[0139] 패널(**420** 및 **430**)은 입자를 고정시키기 위한 두 가지 방법을 보여준다. 패널(**420**)에서, 입자는 자석(**421**)에 의해 파티션 바닥에 수집된다. 패널(**430**)에서, 입자는 링커(**431**)를 통해 파티션에 교차결합된다. 두 방법 모두 입자가 파티션에 고정되는 것을 초래한다. 고정화 과정을 통하여, 입자-흡착된 생체분자(**403**)는 입자에 흡착된 채로 유지되는 한편, 미결합 생체분자(**404**)는 입자로부터 결합되지 못한 채로 남아 있다.

[0140] 패널(**440**)은 패널(**410**, **420**, 및 **430**)로부터 파티션 상에서의 세척 단계의 결과를 보여준다. 전부 3가지 경우에, 세척은 파티션으로부터 미결합 생체분자를 제거하는 한편, 고정된 입자 및 그것에 흡착된 생체분자는 남겨둔다. 패널(**450**)은 그런 후 생체분자 코로나의 탈착을 보여주는데, 제1 복수의 생체분자(**451**)는 입자로부터 용출되고, 제2 복수의 생체분자(**403**)는 입차에 흡착된 채로 남는다. 용출된 생체분자 대 흡착된 생체분자의 비율 및 입자로부터 용출된 생체분자의 유형은 용출 조건 (예컨대, 온도, 물리적 교반의 정도 및 유형, pH와 같은 용액 조건)에 따라 달라진다. 용출된 생체분자는 추가의 처리 (예컨대, 단편화) 또는 직접 분석을 위해 (예컨대, 로딩 유닛에 의해) 수집될 수 있다.

[0141] **도 5**는 본 개시의 자동화 장치에 의해 수행될 수 있는 샘플 제조 방법의 예를 도시한다. 이 방법은 생물학적 샘플(**502**)로부터 생체분자의 하위세트를 생성하기 위하여 센서 요소(**512**)를 활용한다. 샘플 용기(**501**)에 분류된 생물학적 샘플 (패널(**500**)에 제시됨)은 많은 생체분자를 포함한다. 샘플의 부피는 선택적으로 처리될 수 있고

(504) (예컨대, 샘플 태의 세포는 용해될 수 있고, 핵산 및 단백질은 단편화될 수 있으며, 샘플은 여과되어 대부분의 생체분자가 제거되는 등), 그런 후 센서 요소(512)를 포함한 파티션(511)에 첨가될 수 있다. 패널(520)에서 제시된 것과 같이, 생체분자(521)의 일부는 센서 요소에 결합하여, 센서 요소에 결합하지 않은 생체분자의 일부(522)로부터 그것을 분리시킬 수 있다. 패널(530)에서 제시된 것과 같이, 그런 후 센서 요소는 파티션을 자석(531)과 접촉시켜 가교시킴으로써 파티션 내에 고정될 수 있다. 그런 후 파티션은 세척 사이클이 적용되어 (예컨대, 완충액에 파티션에 첨가된 후 파티션으로부터 샘플이 제거됨), 센서 요소 (패널(540)에 제시됨)에 결합되지 않은 생체분자(522)의 일부가 제거되는 결과를 초래한다. 결합된 생체분자(521)는 센서 요소로부터 용출되어 추가 처리 또는 분석을 위해 수집될 수 있다.

[0142] **도 6**은 본 개시의 자동화 장치에 의해 수행될 수 있는 샘플 제조 방법을 도시한다. 이 방법은 샘플(502)로부터 생체분자(503)를 수집하기 위하여 기판 파티션(511)의 표면 상에 형성되는 센서 요소(512)를 활용한다. 생물학적 샘플은 샘플 보유 유닛(501)으로부터 기판 파티션(511)으로 전달된다(504). 패널(520)에서 제시된 것과 같이, 센서 요소는 샘플(521)로부터의 생체분자의 제1 부분을 흡착하는 한편, 제2 부분(522)은 결합되지 않은 채로 유지될 것이다. 패널(530)은 파티션 내에 센서 요소(512) 및 센서 요소-결합 생체분자(521)를 남겨둔 채로, 미결합 갱체분자의 제거를 도시한다. 이들 생체분자는 계속해서 센서 요소로부터 탈착되고 추가의 처리 또는 분석을 위해 수집될 수 있다 (예컨대, 로딩 유닛에 의해).

[0143] 본원에 개시된 방법은 용액으로부터 센서 요소를 여과하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 방법은 센서 요소와 결합된 생체분자 코로나로부터 복수의 생체분자를 탈착하는 단계, 및 센서 요소가 필터 상에 수집되고 복수의 생체분자가 용액에 남아 있도록 용액을 여과하는 단계를 포함할 수 있다. 여과는 변성 (예컨대, 분해) 후에 수행될 수 있다. 여과는 또한 복수의 생체분자 또는 온전한 단백질 (예컨대, 생물학적 샘플로부터의 분해되지 않은 단백질 또는 프로테아제)과 같은 생물학적 종을 제거할 수 있다.

[0144] 일부 경우에, 방법은 정제 단계를 포함한다. 정제 단계는 생체분자 코로나로부터 분석물의 제조에 선행되거나 이어질 수 있다. 정제 단계는 생물학적 샘플 (예컨대, 생체분자 코로나로부터 용출되고 수집된 생체분자)을 정제 유닛 (예컨대, 크로마토그래피 칼럼)으로 또는 정제 유닛 내의 파티션으로 전달하는 것을 포함할 수 있다. 정제는 복수의 샘플 파티션을 기판으로부터 정제 유닛의 별도의 파티션으로 전달하는 것을 포함할 수 있다. 정제 유닛은 고상 추출 플레이트를 포함할 수 있다. 정제 단계는 변성 용액으로부터 시약 (예컨대, 화학물질 및 효소)을 제거할 수 있다. 정제 후에, 생물학적 샘플은 추가로 기판 또는 정제 유닛 내에서의 풍부화 또는 화학적 처리를 위해 수집되거나, 또는 직접 분석 (예컨대, 질량 분석적 분석)을 위해 수집될 수 있다.

[0145] 종합적으로, 본 개시의 방법은 생물학적 샘플에 대한 고도의 프로파일링 깊이를 가능하게 한다. 본 개시의 방법으로 수집된 생체분자의 하위세트는, 상기 생체분자의 하위세트의 추가 조작 또는 변형 없이, 생체분자의 하위세트가 수집되는 생물학적 샘플 중의 적어도 2%, 적어도 3%, 적어도 4%, 적어도 5%, 적어도 6%, 적어도 7%, 적어도 8%, 적어도 9%, 적어도 10%, 적어도 12%, 적어도 15 %, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 또는 60% 이상의 생체분자의 유형의 질량 분석적 검출을 가능하게 할 수 있다. 생체분자의 하위세트는, 상기 생체분자의 하위세트의 추가 조작 또는 변형 없이, 샘플 중의 단백질 유형의 적어도 2%, 적어도 3%, 적어도 4%, 적어도 5%, 적어도 6%, 적어도 7%, 적어도 8%, 적어도 9%, 적어도 10%, 적어도 12%, 적어도 15 %, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 또는 50% 이상의 질량 분석적 검출을 가능하게 할 수 있다. 센서 요소 상에 수집된 또는 분석을 위해 제조된 생체분자의 하위세트는, 상기 생체분자의 하위세트의 추가 조작 또는 변형 없이, 샘플에서 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 또는 그 이상의 배수 크기에 걸쳐 2가지 생체분자 (예컨대, 단백질)의 동시 질량 분석적 검출을 가능하게 할 수 있다. 예를 들어, 2가지 생체분자는 단일 샘플 내의 6배 크기 내의 농도에서 탈착 및 수집되고, 단편화된 후, 질량 분석적 분석을 위해 제출될 수 있다.

[0146] 일부 경우에, 유형의 센서 요소 (예컨대, 단일 샘플과 접촉하게 되는 주어진 유형의 모든 센서 요소)는 생물학적 샘플과 접촉시 적어도 100 내지 적어도 300 유형의 단백질을 흡착한다. 센서 요소의 유형은 생물학적 샘플과 접촉시 적어도 200 내지 적어도 500 유형의 단백질을 흡착할 수 있다. 센서 요소의 유형은 생물학적 샘플과 접촉시 적어도 300 내지 적어도 800 유형의 단백질을 흡착할 수 있다. 센서 요소의 유형은 생물학적 샘플과 접촉시 적어도 400 내지 적어도 1000 유형의 단백질을 흡착할 수 있다. 센서 요소의 유형은 생물학적 샘플과 접촉시 적어도 500 내지 적어도 1200 유형의 단백질을 흡착할 수 있다.

[0147] 일부 경우에, 복수의 센서 요소로부터 수집된 단백질은 단백질 그룹의 수준에서 확인될 것이다. 파티션의 센서 요소 상에 수집된 복수의 단백질 그룹은 1 내지 20,000개의 단백질 그룹을 포함할 수 있다. 파티션의 센서 요소

상에 수집된 복수의 단백질 그룹은 100 내지 10,000개의 단백질 그룹을 포함할 수 있다. 파티션의 센서 요소 상에 수집된 복수의 단백질 그룹은 100 내지 5,000개의 단백질 그룹을 포함할 수 있다. 파티션의 센서 요소 상에 수집된 복수의 단백질 그룹은 300 내지 2,200개의 단백질 그룹을 포함할 수 있다. 파티션의 센서 요소 상에 수집된 복수의 단백질 그룹은 1,200 내지 2,200개의 단백질 그룹을 포함할 수 있다. 파티션의 센서 요소 상에 수집된 복수의 단백질 그룹은 20,000 내지 25,000개의 단백질 그룹을 포함할 수 있다. 파티션의 센서 요소 상에 수집된 복수의 단백질 그룹은 25,000 내지 30,000개의 단백질 그룹을 포함할 수 있다. 파티션의 센서 요소 상에 수집된 복수의 단백질 그룹은 30,000 내지 50,000개의 단백질 그룹을 포함할 수 있다.

[0148] 본 개시의 방법은 는 생물학적 샘플로부터 저풍부성 생체분자 (예컨대, 단백질)의 풍부화를 초래할 수 있다. 저풍부성 생체분자는 생물학적 샘플 중의 10 ng/mL 이하의 농도의 생체분자일 수 있다.

[0149] 본 개시의 방법은 동일한 샘플에서 동일한 유형의 가장 풍부한 생체분자의 농도보다 적어도 6배 더 낮은 크기의 농도로 존재하는 생체분자 (예컨대, 단백질)의 풍부화를 초래할 수 있다 (예컨대, 저풍부성 단백질은 샘플 중의 가장 풍부한 단백질보다 적어도 6배 더 낮은 농도를 가지는 단백질일 수 있다). 데이터베이스, 예컨대 혈장 단백체를 특성화하는 Carr 데이터베이스 (Keshishian et al., Mol. Cell Proteomics 14, 2375-2393 (2015), Plasma Proteome Database (plasmaproteomedatabase.org))는 당업자가 검출된 단백질 또는 생체분자 중 어느 것이 혈장 샘플에 존재하는 다른 생체분자(들)에 비해 풍부해지는지를 확인할 수 있도록 비교의 기초를 제공할 수 있다. 유사한 데이터베이스가 다른 유형의 생물학적 샘플에 사용될 수 있다.

[0150] 특정한 경우에, 생물학적 샘플은 혈액, 혈장, 또는 혈청을 포함하며, 생체분자 코로나는 생물학적 샘플보다 낮은 비율의 알부민 대 비-알부민 단백질을 포함한다. 알부민 대 비-알부민 단백질 비율은 단백질이 흡착된 샘플 중에서보다 생체분자 코로나에서 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 또는 70% 더 낮을 수 있다.

[0151] 복수의 생체분자의 농도 범위는 생체분자 코로나의 형성시 압축될 수 있다. 예를 들어, 자동화 장치는 그것의 농도가 샘플 중의 가장 농축된 생체분자의 6배 크기 내에 있는 생체분자의 유형의 수를 적어도 25%, 50%, 100%, 200%, 300%, 500%, 또는 1000% 증가시킬 수 있다. 유사하게, 압축된 동적 범위는 그것의 농도가 샘플 중의 가장 풍부한 생체분자의 6배 크기 내에 있는 단백질의 유형의 수의 증가를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 그것의 농도가 샘플 중의 가장 농축된 단백질의 6배 크기 내에 있는 단백질의 유형의 수를 적어도 25%, 50%, 100%, 200%, 300%, 500%, 또는 1000% 증가시킬 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자 유형의 적어도 10%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자 유형의 적어도 20%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자 유형의 적어도 30%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자 유형의 적어도 40%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자 유형의 적어도 50%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자 유형의 적어도 60%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자 유형의 적어도 70%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질 유형의 적어도 10%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질 유형의 적어도 20%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질 유형의 적어도 30%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질 유형의 적어도 40%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질 유형의 적어도 50%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질 유형의 적어도 60%를 포함할 수 있다. 자동화 장치는 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위세트를 풍부화할 수 있고, 생체분자의 하위세트는 6배의 농도 범위

내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질 유형의 적어도 70%를 포함할 수 있다.

[0152] 본 개시의 방법 및 센서 요소는 생체분자 코로나 조성이 샘플 지질 농도와 관련하여 변하지 않도록 맞춰질 수 있다. 생물학적 샘플 중의 지질 농도의 최대 10%의 변화는 생체분자 코로나의 단백질의 조성의 5%, 2%, 1%, 또는 0.1% 미만의 변화를 초래할 수 있다. 생물학적 샘플 중의 지질 농도의 최대 10%의 변화는 생체분자 코로나의 단백질의 유형의 수의 5%, 2%, 1%, 또는 0.1% 미만의 변화를 초래할 수 있다. 생물학적 샘플 중의 지질 농도의 최대 10%의 변화는 생체분자 코로나의 단백질의 총 수의 5%, 2%, 1%, 또는 0.1% 미만의 변화를 초래할 수 있다.

[0153] 일부 구체예에서, 방법은 추가로 자동화 장치에서 분해된 샘플을 세척하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 단백체 데이터를 정량화하는 것은 단백체 데이터를 질량 분석기에 제공하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 생물학적 샘플은 생체유체이다. 일부 구체예에서, 생체유체는 혈청 또는 혈장이다.

[0154] 일부 경우에, 단일 샘플, 예컨대 모아진 혈장 샘플로부터 전체 검정 시간은, 샘플 제조 및 LC-MS를 포함하여, 약 8시간일 수 있다. 단일 샘플, 예컨대 모아진 혈장 샘플로부터 전체 검정 시간은, 샘플 제조 및 LC-MS를 포함하여, 약 적어도 1시간, 적어도 2시간, 적어도 3시간, 적어도 4시간, 적어도 5시간, 적어도 6시간, 적어도 7시간, 적어도 8시간, 적어도 9시간, 적어도 10시간, 20시간 미만, 19시간 미만, 18시간 미만, 17시간 미만, 16시간 미만, 15시간 미만, 14시간 미만, 13시간 미만, 12시간 미만, 11시간 미만, 10시간 미만, 9시간 미만, 8시간 미만, 7시간 미만, 6시간 미만, 5시간 미만, 4시간 미만, 3시간 미만, 2시간 미만, 1시간 미만, 적어도 5분 내지 10분, 적어도 10분 내지 20분, 적어도 20분 내지 30분, 적어도 30분 내지 40분, 적어도 40분 내지 50분, 적어도 50분 내지 60분, 적어도 1시간 내지 1.5시간, 적어도 1.5시간 내지 2시간, 적어도 2시간 내지 2.5시간, 적어도 2.5시간 내지 3시간, 적어도 3시간 내지 3.5시간, 적어도 3.5시간 내지 4시간, 적어도 4시간 내지 4.5시간, 적어도 4.5시간 내지 5시간, 적어도 5시간 내지 5.5시간, 적어도 5.5시간 내지 6시간, 적어도 6시간 내지 6.5시간, 적어도 6.5시간 내지 7시간, 적어도 7시간 내지 7.5시간, 적어도 7.5시간 내지 8시간, 적어도 8시간 내지 8.5시간, 적어도 8.5시간 내지 9시간, 적어도 9시간 내지 9.5시간, 또는 적어도 9.5시간 내지 10시간일 수 있다.

[0155] **동적 범위**

[0156] 본원에 기술된 생체분자 코로나 분석 방법은 넓은 동적 범위에 걸쳐 본 개시의 샘플에서 생체분자를 검정하는 단계를 포함할 수 있다. 샘플에서 검정된 생체분자의 동적 범위는 샘플 내에 함유된 생체분자에 대한 검정 방법(예컨대, 질량 분석, 크로마토그래피, 겔 전기영동, 분광학, 또는 면역검정)에 의해 측정되는 바 생체분자 풍부성의 측정된 신호의 범위일 수 있다. 예를 들어, 넓은 동적 범위에 걸쳐 단백질을 검출할 수 있는 검정은 매우 낮은 풍부성의 단백질부터 매우 높은 풍부성의 단백질까지 검출할 수 있다. 검정의 동적 범위는 생체분자 풍부성의 함수로서 검정 신호 강도의 기울기와 직접적으로 관련이 있을 수 있다. 예를 들어, 낮은 동적 범위를 가진 검정은 생체분자 풍부성의 함수로서 검정 신호 강도의 낮은 (그러나 양성인) 기울기를 가질 수 있고, 예컨대, 높은 풍부성 생체분자에 대해 검출된 신호의 비율 대 저풍부성 생체분자에 대해 검출된 신호의 비율은 높은 동적 범위를 가진 검정보다 낮은 동적 범위를 가진 검정에 대해 더 낮을 수 있다. 특정 경우에, 동적 범위는 샘플 또는 검정 방법 내에서 단백질의 동적 범위를 나타낼 수 있다.

[0157] 본원에 기술된 생체분자 코로나 분석 방법은 검정의 동적 범위를 포함할 수 있다. 검정의 동적 범위는 생체분자 풍부성의 함수로서의 검정 신호 강도의 기울기가 다른 검정의 그것보다 더 낮다면 또 다른 검정에 비해 압축될 수 있다. 예를 들어, 질량 분석을 포함한 단백질 코로나 분석을 사용하여 검정된 혈장 샘플은, **도 13** 및 **도 14**에서 제시된 것과 같이, 샘플에 대해 직접적으로 질량 분석만을 사용하여 검정된 혈장 샘플에 비해 또는 데이터베이스 (예컨대, Keshishian et al., Mol. Cell Proteomics 14, 2375-2393 (2015)에서 제공된 데이터베이스, 본원에서 "Carr 데이터베이스"로도 언급됨)에서 혈장 단백질에 대해 제공된 풍부성 값에 비해 압축된 동적 범위를 가질 수 있다. 압축된 동적 범위는 질량 분석만을 사용하는 것보다 질량 분석을 포함한 단백질 코로나 분석을 사용하여 생물학적 샘플에서 더 많은 저풍부성 생체분자를 검출할 수 있게 한다.

[0158] 일부 구체예에서, 단백체 분석 검정의 동적 범위는 최고 풍부성 단백질 (예컨대, 풍부성이 최고로 높은 10%의 단백질)에 의해 생성된 신호 대 최저 풍부성 단백질 (예컨대, 풍부성이 최고로 낮은 10%의 단백질)에 의해 생성된 신호의 비율일 수 있다. 단백체 분석의 동적 범위를 비교하는 것은 제1 단백체 분석 검정에 대한 최고 풍부성 단백질에 의해 생성된 신호 대 최저 풍부성 단백질에 의해 생성된 신호의 비율을 제2 단백체 분석 검정에 비교하여 감소시키는 것을 포함할 수 있다. 본원에 개시된 단백질 코로나 분석 검정은 총 단백질 분석 방법 (예컨대, 질량 분석, 겔 전기영동, 또는 액체 크로마토그래피)의 동적 범위에 비해 동적 범위를 압축할 수 있다.

[0159] 본원에는 고풍부성 생체분자에 비해 저풍부성 생체분자의 검출을 용이하게 하기 위해 생체분자 분석 검정의 동적 범위를 압축하기 위한 여러 방법이 제공된다. 예를 들어, 본 개시의 입자 유형은 샘플에 연속적으로 질문을 던지기 위해 사용될 수 있다. 샘플에서 입자 유형의 인큐베이션시, 포함하는 생체분자 코로나가 입자 유형의 표면 상에 형성된다. 만약 생체분자가, 예를 들어 샘플의 직접 질량 분석적 분석에 의해 상기 입자 유형을 사용하지 않고 샘플에서 직접 검출된다면, 동적 범위는 생체분자가 입자 유형의 표면 상에서 지시되는 경우보다 더 넓은 농도 범위, 또는 더 큰 배수에 걸쳐 있을 수 있다. 그러므로, 본원에 개시된 입자 유형을 사용하는 것은 샘플 중의 생체분자의 동적 범위를 압축하기 위해 사용될 수 있다. 이론에 의해 제한되지는 않지만, 이 효과는 입자 유형의 생체분자 코로나의 더 높은 친화도, 더 낮은 풍부성 생체분자의 더 많은 포획 및 입자 유형의 생체분자 코로나의 더 낮은 친화도, 더 높은 풍부성 생체분자의 더 적은 포획으로 인해 관찰될 수 있다.

[0160] 단백체 분석 검정의 동적 범위는 샘플 중의 단백질의 총 풍부성의 함수로서 단백체 분석 검정에 의해 측정된 단백질 신호의 플롯의 기울기일 수 있다. 동적 범위를 압축하는 것은 샘플 중의 총 풍부성의 함수로서 단백체 분석 검정에 의해 측정된 단백질 신호의 플롯의 기울기를 샘플 중의 단백질의 총 풍부성의 함수로서 제2 단백체 분석 검정에 의해 측정된 단백질 신호의 플롯의 기울기에 비해 감소시키는 것을 포함할 수 있다. 본원에 개시된 단백질 코로나 분석 검정은 총 단백질 분석 방법 (예컨대, 질량 분석, 겔 전기영동, 또는 액체 크로마토그래피의 동적 범위에 비해 동적 범위를 압축할 수 있다.

[0161] **자동화 시스템**

[0162] 본 개시의 다양한 측면은 생물학적 샘플로부터 생체분자의 하위세트를 분리하도록 구성된 자동화 장치, 질량 분석기 및 탠덤 질량 분석기를 포함하는, 생체분자의 하위세트를 수용하여 데이터를 생성하도록 구성된 질량 분석기, 및 하나 이상의 컴퓨터 프로세서 및 코드의 실행시, 생물학적 지문을 생성하고 생물학적 지문을 토대로 생물학적 상태를 할당하는 기계 실행 가능한 코드를 포함하는 컴퓨터 판독 가능한 매체를 포함하는 컴퓨터를 포함하는 자동화 시스템을 제공한다.

[0163] 많은 경우에, 자동화 장치는 생물학적 용액으로부터 생체분자를 흡착함으로써 생체분자 코로나를 형성하는 센서 요소 또는 복수의 센서 요소를 포함한다. 이들 생체분자 코로나를 구성하는 생체분자의 유형, 양, 및 범주는 센서 요소 자체의 물리화학적 특성 및 상이한 생체분자 자체와 센서 요소 사이의 복잡한 상호작용과 밀접한 관련이 있다. 이들 상호작용은 각각의 센서 요소에 대한 독특한 생체분자 코로나의 생성으로 이어진다. 달리 말하면, 어떤 생체분자가 센서 요소와 상호작용하는지에 따라 생체분자 코로나의 구성에 영향을 미칠뿐만 아니라 또한 그 특정 센서 요소와 상호작용할 수 있는 어떤 다른 상이한 생체분자를 변경시킬 수 있다.

[0164] 자신만의 생체분자 코로나 시그니처를 가진 상이한 센서 요소는 각각 샘플과 접촉하여 그 샘플에 대한 독특한 생체분자 지문을 생성할 수 있다. 이런 지문은 그런 후 대상체의 질환 상태를 측정하기 위해 사용될 수 있다. 복수의 센서 요소는 샘플 중의 복수의 생체분자에 결합하여 생체분자 코로나 시그니처를 생성할 수 있다. 복수의 센서 요소는 구별되는 생체분자 코로나 시그니처를 가질 수 있다. 특정 경우에, 각 유형의 센서 요소는 구별되는 생체분자 코로나 시그니처를 가진다. 예를 들어, 5 pM의 각각 5개 유형의 입자를 포함하는 복수의 입자는 각각의 입자 유형에 대해 하나의 생체분자 코로나 시그니처를 가질 수 있었다.

[0165] 복수의 센서 요소는 샘플과 접촉할 때 함께 생체분자 지문을 형성하는 복수의 생체분자 코로나 시그니처를 생성한다. "생체분자 지문"은 복수의 센서 요소에 대한 적어도 2개의 생체분자 코로나 시그니처의 생체분자의 조합된 조성 또는 패턴이다. 생체분자 지문은 적어도 5, 10, 20, 40, 80, 150, 또는 200개의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처를 포함할 수 있다.

[0166] 일부 경우에, 자동화 시스템은 생체분자 코로나가 각각의 센서 요소에 대해 별도로 검정될 수 있도록 구성되어서 생체분자 코로나 시그니처가 각 요소에 대해 측정되도록 한다. 보다 폭넓게, 자동화 시스템은 각각의 샘플 파티션 (예컨대, 기판의 각 웰)이 별도로 검정될 수 있어서, 조합된 세트의 생체분자 코로나 시그니처가 각 파티션에 대해 측정될 수 있도록 구성될 수 있다.

[0167] 유사하게, 컴퓨터는 다중 생체분자 코로나 시그니처, 파티션, 또는 개별 파티션으로부터 수집된 (예컨대, 다중 회기의 탈착을 통해) 생체분자의 별도의 하위세트로부터의 데이터를 비교하도록 구성될 수 있다. 이것은 종래 방법으로는 가능하지 않았던 프로파일링 민감성을 제공할 수 있다. 많은 생물학적 상태 (예컨대 많은 질환정 상태)가 종종 바이오마커 분석만으로 식별할 수 없는 환자의 생물학적 샘플 (예컨대, 혈액, 소변, 등)에서의 미세한 변화를 생성한다. 본 장치, 시스템, 방법, 및 센서 요소의 동력은 부분적으로, 생체분자 코로나 조성에 대한 센서 요소 특징 및 생물학적 샘플 조성의 상호의존성으로부터 비롯되므로, 집단, 화학적 상태 (예컨대, 번역 후

변형 상태), 또는 심지어 드물게 채워진 생체분자의 형태의 작은 변화가 특정 센서 요소에 대한 생체분자 코로나 시그니처에 대해 주요 영향을 미칠 수 있다. 나아가, 단일 세트의 데이터로부터 분명하지 않을 수 있는 생물학적 상태는 다중 생체분자 코로나 시그니처 또는 샘플 파티션 측정을 가로지르는 이질적인 생체분자 풍부성 사이의 상관관계에 의해 분명하게 설명될 수 있다. 그러므로, 거의 동일한 생체분자 코로나 시그니처의 조합은 고도의 정확성으로 암에 걸린 대상체로부터 건강한 대상체를 구별할 수 있다.

[0168] 일부 경우에, 컴퓨터는 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처 사이의 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 신호의 강도, APEX, 스펙트럼 카운트 또는 펩타이드의 수, 이온 이동성 거동을 포함하는 데이터를 처리하도록 구성된다. 컴퓨터는 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처 또는 샘플 파티션 사이의 5,000 내지 5,000,000개 신호를 처리하도록 구성될 수 있다. 컴퓨터는 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처 또는 샘플 파티션 사이의 10,000 내지 5,000,000개 신호를 처리하도록 구성될 수 있다. 컴퓨터는 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처 또는 샘플 파티션 사이의 20,000 내지 200,000개 신호를 처리하도록 구성될 수 있다. 컴퓨터는 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처 또는 샘플 파티션 사이의 400,000 내지 1,000,000개 신호를 처리하도록 구성될 수 있다. 컴퓨터는 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처 또는 샘플 파티션 사이의 600,000 내지 2,000,000개 신호를 처리하도록 구성될 수 있다. 컴퓨터는 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처 또는 샘플 파티션 사이의 1,000,000 내지 5,000,000개 신호를 처리하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 신호는 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 신호를 포함한다.

[0169] 본 개시의 측면은 질량 분석 데이터, 탠덤 질량 분석 데이터, 크로마토그래피 데이터, 이온 이동성 데이터, 또는 그것들의 임의의 조합이 하나 이상의 세트로부터 생체분자 지문을 생성하기 위한 방법을 제공한다. 일부 경우에, 질량 분석 데이터, 탠덤 질량 분석 데이터, 크로마토그래피 데이터, 또는 이온 이동성 데이터는 생물학적 샘플로부터 생체분자의 농도를 측정하기 위해 사용될 수 있다. 복수의 샘플 파티션은 별도의 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 작동이 시행될 수 있다. 복수의 샘플 파티션은 또한 모아져서 단일 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 작동으로 종합적으로 분석될 수 있다. 다중 질량 분석 작동은 다수의 상이한 크로마토그래피 방법 (예컨대, 상이한 칼럼, 완충액, 또는 구배)와 결합될 수 있다. 단일 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 작동은 2시간 미만, 1시간 미만, 또는 30분 미만 내에 수행된다.

[0170] 본 개시의 측면은 고도의 확실성 및 정확성으로 생물학적 상태 및 생체분자를 확인하기 위한 방법을 제공한다. 컴퓨터는 생체분자를 확인하거나 미확인된 분자 특징을 질량 분석 또는 탠덤 질량 분석 신호 및 또는 이온 이동성 및 크로마토그래피 상의 거동을 토대로 적어도 95%의 확률 또는 확실성 한계값으로 특성화하도록 구성될 수 있다. 컴퓨터는 생체분자 지문을 적어도 70% 정확도, 적어도 75% 정확도, 적어도 80% 정확도, 적어도 85% 정확도, 적어도 90% 정확도, 적어도 92% 정확도, 적어도 95% 정확도, 적어도 96% 정확도, 적어도 97% 정확도, 적어도 98% 정확도, 적어도 99% 정확도, 또는 100 % 정확도로 생물학적 상태와 결부시킬 수 있다. 컴퓨터는 생체분자 지문을 적어도 70% 민감성, 적어도 75% 민감성, 적어도 80% 민감성, 적어도 85% 민감성, 적어도 90% 민감성, 적어도 92% 민감성, 적어도 95% 민감성, 적어도 96% 민감성, 적어도 97% 민감성, 적어도 98% 민감성, 적어도 99% 민감성, 또는 100 % 민감성으로 생물학적 상태와 결부시킬 수 있다. 컴퓨터는 20%, 15%, 10%, 또는 8%, 5%, 3%, 2%, 또는 1% 미만으로 상이한 생물학적 지문과 관련된 두 생물학적 상태 사이를 식별할 수 있다. 일부 측면으로, 생체분자 확인은 만약 진단 신호의 한계값 수준이 검출된다면 검증된다. 예를 들어, 만약 3개의 독특하게 할당이 가능한 펩타이드 단편 신호의 한계값 수가 질량 분석 검정에서 단백질 그룹 확인을 위해 제공된다면, 특정 단백질 그룹에 상응하는 2개의 펩타이드 단편 신호는 계수되지 않을 것이다.

[0171] **센서 요소**

[0172] 본원에서 사용되는 바, 용어 "센서 요소"는 샘플과 접촉할 때 복수의 생체분자에 결합할 수 있는 요소를 나타내며 용어 "입자"를 포함한다. 센서 요소는 적어도 한 방향으로 약 5 나노미터 (nm) 내지 약 50000 nm인 요소일 수 있다. 적합한 센서 요소로는, 예를 들어, 한정하는 것은 아니지만, 적어도 한 방향으로, 약 5 nm 내지 약 40000 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 약 30000 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 약 20,000 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 약 10,000 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 약 5000 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 약 1000 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 약 500 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 50 nm, 대안으로 약 10 nm 내지 100 nm, 대안으로 약 20 nm 내지 200 nm, 대안으로 약 30 nm 내지 300 nm, 대안으로 약 40 nm 내지 400 nm, 대안으로 약 50 nm 내지 500 nm, 대안으로 약 60 nm 내지 600 nm, 대안으로 약 70 nm 내지 700 nm, 대안으로 약 80 nm 내지 800 nm, 대안으로 약 90 nm 내지 900 nm, 대안으로 약 100 nm 내지 1000 nm, 대안으로 약 1000 nm 내지 10000 nm, 대안으로 약 10000 nm 내지 50000 nm 및 그 사이의 임의의 조합 또는 양 (예컨대 5 nm, 10 nm, 15 nm, 20 nm, 25 nm, 30 nm, 35 nm, 40 nm, 45 nm, S0 nm, 55 nm, 60 nm, 65 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm, 100 nm, 125 nm, 150 nm, 175 nm, 200 nm,

225 nm, 250 nm, 275 nm, 300 nm, 350 nm, 400 nm, 450 nm, 500 nm, 550 nm, 600 nm, 650 nm, 700 nm, 750 nm, 800 nm, 850 nm, 900 nm, 1000 nm, 1200 nm, 1300 nm, 1400 nm, 1500 nm, 1600 nm, 1700 nm, 1800 nm, 1900 nm, 2000 nm, 2500 nm, 3000 nm, 3500 nm, 4000 nm, 4500 nm, 5000 nm, 5500 nm, 6000 nm, 6500 nm, 7000 nm, 7500 nm, 8000 nm, 8500 nm, 9000 nm, 10000 nm, 11000 nm, 12000 nm, 13000 nm, 14000 nm, 15000 nm, 16000 nm, 17000 nm, 18000 nm, 19000 nm, 20000 nm, 25000 nm, 30000 nm, 35000 nm, 40000 nm, 45000 nm, 50000 nm 및 그 사이의 임의의 수)을 포함하여, 약 5 nm 내지 약 50,000 nm의 센서 요소를 들 수 있다. 나노규모 센서 요소는 적어도 한 방향으로 1 마이크론 미만인 센서 요소를 나타낸다. 나노규모 센서 요소의 범위의 적합한 예로는, 한정하는 것은 아니지만, 예를 들어, 약 5 nm 내지 약 500 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 약 400 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 약 300 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 약 200 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 약 100 nm, 대안으로 약 5 nm 내지 약 50 nm, 대안으로 약 10 nm 내지 약 1000 nm, 대안으로 약 10 nm 내지 약 750 nm, 대안으로 약 10 nm 내지 약 500 nm, 대안으로 약 10 nm 내지 약 250 nm, 대안으로 약 10 nm 내지 약 200 nm, 대안으로 약 10 nm 내지 약 100 nm, 대안으로 약 S0 nm 내지 약 1000 nm, 대안으로 약 50 nm 내지 약 500 nm, 대안으로 약 50 nm 내지 약 250 nm, 대안으로 약 50 nm 내지 약 200 nm, 대안으로 약 50 nm 내지 약 100 nm, 및 그 사이의 임의의 조합, 범위 또는 양 (예컨대 5 nm, 10 nm, 15 nm, 20 nm, 25 nm, 30 nm, 35 nm, 40 nm, 45 nm, S0 nm, 55 nm, 60 nm, 65 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm, 100 nm, 125 nm, 150 nm, 175 nm, 200 nm, 225 nm, 250 nm, 275 nm, 300 nm, 350 nm, 400 nm, 450 nm, 500 nm, 550 nm, 600 nm, 650 nm, 700 nm, 750 nm, 800 nm, 850 nm, 900 nm, 1000 nm, 등)을 포함하여, 한 방향으로 약 5 nm 내지 약 1000 nm인 요소를 들 수 있다. 본원에 기술된 센서 어레이를 참고하여, 용어 센서 요소의 사용은 센서 요소 및 관련된 방법에 대해 나노규모 센서 요소의 사용을 포함한다.

[0173] 용어 "복수의 센서 요소"는 하나 이상, 예를 들어, 적어도 2개의 센서 요소를 나타낸다. 일부 구체예에서, 복수의 센서 요소는 적어도 2개의 센서 요소 내지 적어도 10^{15}개의 센서 요소를 포함한다. 일부 구체예에서, 복수의 센서 요소는 10^{6}-10^{7}, 10^{6}-10^{8}, 10^{6}-10^{9}, 10^{6}-10^{10}, 10^{6}-10^{11}, 10^{6}-10^{12}, 10^{6}-10^{13}, 10^{6}-10^{14}, 10^{6}-10^{15}, 10^{7}-10^{8}, 10^{7}-10^{9}, 10^{7}-10^{10}, 10^{7}-10^{11}, 10^{7}-10^{12}, 10^{7}-10^{13}, 10^{7}-10^{14}, 10^{7}-10^{15}, 10^{8}-10^{9}, 10^{8}-10^{10}, 10^{8}-10^{11}, 10^{8}-10^{12}, 10^{8}-10^{13}, 10^{8}-10^{14}, 10^{8}-10^{15}, 10^{9}-10^{10}, 10^{9}-10^{11}, 10^{9}-10^{12}, 10^{9}-10^{13}, 10^{9}-10^{14}, 10^{9}-10^{15}, 10^{10}-10^{11}, 10^{10}-10^{12}, 10^{10}-10^{13}, 10^{10}-10^{14}, 10^{10}-10^{15}, 10^{11}-10^{12}, 10^{11}-10^{13}, 10^{11}-10^{14}, 10^{11}-10^{15}, 10^{12}-10^{13}, 10^{12}-10^{14}, 10^{12}-10^{15}, 10^{13}-10^{14}, 10^{13}-10^{15}, 또는 10^{14}-10^{15}개의 상이한 센서 요소를 포함한다.

[0174] 일부 구체예에서, 복수의 센서 요소는 복수의 유형의 센서 요소를 포함한다. 복수의 센서 요소는 적어도 2 내지 적어도 1000개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 2 내지 적어도 50개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 2 내지 30개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 2 내지 20개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 2 내지 10개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 3 내지 적어도 50개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 3 내지 적어도 30개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 3 내지 적어도 20개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 3 내지 적어도 10개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 4 내지 적어도 50개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 4 내지 적어도 30개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 4 내지 적어도 20개 유형의 센서 요소, 대안으로 적어도 4 내지 적어도 10개 유형의 센서 요소, 및 그 사이에서 고려되는 임의의 수 (예컨대, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 225, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800개, 등)의 유형의 센서 요소를 포함할 수 있다. 복수의 센서 요소는 적어도 6개 유형의 센서 요소 내지 적어도 20개 유형의 센서 요소, 또는 대안으로 적어도 6개 유형의 센서 요소 내지 적어도 10개 유형의 센서 요소를 포함할 수 있다.

[0175] 일부 경우에, 센서 요소의 수를 증가시키는 것은 주어진 샘플에서 확인될 수 있는 생체분자 (예컨대, 단백질)의 수를 증가시키는 방법일 수 있다. 패널 사이즈를 증가시키는 것이 확인된 단백질의 수를 증가시킬 수 있는 방법의 예는 도 10에서 제시된다. 이 도면은 1 내지 12개 유형의 입자를 가진 패널을 활용하는 검정에서 코로나 분석으로부터 확인된 단백질의 수를 보여준다. 이들 검정에서, 구별되는 단백질이, 단백질 그룹과는 대조적으로, 질량 분석적 분석을 통해 확인되었다. 한 입자 유형이 단백질을 수집하기 위해 사용되었을 때 확인된 419개의 독특한 단백질로부터 12개 유형의 입자가 단백질을 수집하기 위해 사용된 경우 1318개의 독특한 확인된 단백질까지, 확인된 단백질의 유형의 수는 입자 유형의 증가하는 수와 함께 증가되었다.

[0176] 센서 요소는 광범위한 물리화학적 특성을 갖도록 기능화될 수 있다. 센서 요소를 기능화하는 적합한 방법은 기술분야에 알려져 있고 센서 요소의 조성 (예컨대, 금, 산화철, 실리카, 은, 등)에 따라 달라지며, 한정하는 것은 아니지만, 예를 들어 기능화된 아미노프로필, 기능화된 아민, 기능화된 붕소산, 기능화된 카르복실산, 기능화된 메틸, 기능화된 석신이미딜 에스테르, 기능화된 PEG, 기능화된 스트렙트아비딘, 기능화된 메틸 에테르, 기능화된 트라이에톡시프로필아미노실란, 기능화된 티올, 기능화된 PCP, 기능화된 시트레이트, 기능화된 리포산, 기능화된 BPEI, 기능화된 카르복실, 기능화된 하이드록실, 등을 예로 들 수 있다. 한 구체예에서, 센서 요소는 아민 기 ($-NH_2$) 또는 카르복실기(COOH)로 기능화될 수 있다. 일부 구체예에서, 나노규모 센서 요소는 극성 작용기로 기능화된다. 극성 작용기의 비제한적인 예는 카르복실기, 하이드록실기, 티올기, 시아노기, 니트로기, 암모늄기, 이미다졸리움기, 설포늄기, 피리디늄기, 피롤리디늄기, 포스포늄기 또는 그것들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 구체예에서, 작용기는 산성 작용기 (예컨대, 설폰산기, 카르복실기, 등), 염기성 작용기 (예컨대, 아미노기, 고리형 이차 아미노기 (예컨대 피롤리딜기 및 피페리딜기), 피리딜기, 이미다졸기, 구아니딘기, 등), 카바모일기, 하이드록실기, 알데하이드기 등이다. 일부 구체예에서, 극성 작용기는 이온성 작용기이다. 이온성 작용기의 비제한적인 예는 암모늄기, 이미다졸리움기, 설포늄기, 피리디늄기, 피롤리디늄기, 포스포늄기를 포함한다. 일부 구체예에서, 센서 요소는 중합 가능한 작용기로 기능화된다. 중합 가능한 작용기의 비제한적인 예로는 비닐기 및 (메트)아크릴기를 들 수 있다. 일부 구체예에서, 작용기는 피롤리딜 아크릴레이트, 아크릴산, 메타크릴상, 아크릴아미드, 2-(다이메틸아미노)에틸 메타크릴레이트, 하이드록시에틸 메타크릴레이트 등이다.

[0177] 센서 요소의 물리화학적 특성은 표면 전하의 변형에 의해 변형될 수 있다. 예를 들어, 표면은 순 중성 전하, 순 양성 표면 전하, 순 음성 표면 전하, 또는 쯔비터이온성 전하를 제공하도록 변형될 수 있다. 표면의 전하는 요소의 합성 중에 또는 표면 기능화를 통한 전하의 합성 후 변형에 의해 제어될 수 있다. 중합체 센서 요소 (예컨대, 중합체 입자)의 경우, 전하의 차이는 합성 중에 상이한 합성 과정, 상이한 대전된 공단량체를 사용함으로써, 및 혼합된 산화 상태를 가짐으로써 무기 물질에서 얻어질 수 있다.

[0178] 복수의 센서 요소의 비제한적인 예로는, 한정하는 것은 아니지만, 다른 것들 중에서도 (a) 동일한 물질이지만 물리화학적 특성이 상이한 물질로 만들어진 복수의 센서 요소, (b) 하나 이상의 센서 요소가 동일하거나 상이한 물리화학적 특성을 가진 상이한 물질로 만들어진 복수의 센서 요소, (c) 크기가 다른 동일한 물질로 만들어진 복수의 센서 요소, (d) 상대적으로 동일한 크기의 상이한 물질로 만들어진 복수의 센서 요소; (e) 상이한 물질로 만들어지고 상이한 크기로 만들어진 복수의 센서 요소, (f) 각각의 요소가 상이한 물질로 만들어진 복수의 센서 요소, (g) 상이한 전하를 가지는 복수의 센서 요소를 들 수 있다. 복수의 센서 요소는 각각의 센서 요소가 독특한 생체분자 코로나 시그니처를 제공하는 둘 이상의 센서 요소의 임의의 적합한 조합일 수 있다. 예를 들어, 복수의 센서 요소는 하나 이상의 리포솜 및 본원에 기술된 하나 이상의 입자를 포함할 수 있다. 한 구체예에서, 복수의 센서 요소는 지질 함량이 다르거나 및/또는 전하가 다른 (양이온성/음이온성/중성) 복수의 리포솜일 수 있다. 또 다른 구체예에서, 복수의 센서는 동일한 물질로 만들어졌지만 크기 및 물리화학적 특성이 다르게 만들어진 하나 이상의 나노입자를 함유할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 복수의 센서는 유사하거나 다른 크기 및/또는 물리화학적 특성 (예컨대, 변형, 예를 들어, $-NH_2$, -COOH 기능화)을 가진 상이한 물질 (예컨대 실리카 및 폴리스티렌)로 만들어진 하나 이상의 입자를 함유할 수 있다.

[0179] 센서 요소는 입자, 예컨대 나노입자 또는 마이크로입자를 포함할 수 있다. 센서 요소는 입자, 예컨대 나노입자 또는 마이크로입자일 수 있다. 센서 요소는 물질의 표면 또는 표면의 일부를 포함할 수 있다. 센서 요소는 생체분자가 그 안에 끼워질 수 있는 다공성 물질 (예컨대, 중합체 매트릭스)을 포함할 수 있다. 센서 요소는 돌출부가 있는 물질, 예컨대 중합체, 올리고머, 또는 금속 수지상을 포함할 수 있다. 센서 요소는 입자의 응집체, 예컨대 나노웜(nanoworm)을 포함할 수 있다.

[0180] **입자 물질**

[0181] 본원에 개시된 복수의 입자는 다양한 상이한 물질로 만들어질 수 있다. 복수의 입자는 샘플 중의 광범위한 단백질을 확인하기 위하여, 또는 특정 단백질 또는 관심의 단백질 세트에 대해 선택적으로 검정하기 위하여 특정 유형의 나노입자를 포함할 수 있다.

[0182] 복수의 입자는 적어도 1개의 구별되는 입자 유형, 적어도 2개의 구별되는 입자 유형, 적어도 3개의 구별되는 입자 유형, 적어도 4개의 구별되는 입자 유형, 적어도 5개의 구별되는 입자 유형, 적어도 6개의 구별되는 입자 유형, 적어도 7개의 구별되는 입자 유형, 적어도 8개의 구별되는 입자 유형, 적어도 9개의 구별되는 입자 유형, 적어도 10개의 구별되는 입자 유형, 적어도 11개의 구별되는 입자 유형, 적어도 12개의 구별되는 입자 유형, 적어도 13개의 구별되는 입자 유형, 적어도 14개의 구별되는 입자 유형, 적어도 15개의 구별되는 입자 유형, 적어

도 16개의 구별되는 입자 유형, 적어도 17개의 구별되는 입자 유형, 적어도 18개의 구별되는 입자 유형, 적어도 19개의 구별되는 입자 유형, 적어도 20개의 구별되는 입자 유형, 적어도 25개의 구별되는 입자 유형, 적어도 30개의 구별되는 입자 유형, 적어도 35개의 구별되는 입자 유형, 적어도 40개의 구별되는 입자 유형, 적어도 45개의 구별되는 입자 유형, 적어도 50개의 구별되는 입자 유형, 적어도 55개의 구별되는 입자 유형, 적어도 60개의 구별되는 입자 유형, 적어도 65개의 구별되는 입자 유형, 적어도 70개의 구별되는 입자 유형, 적어도 75개의 구별되는 입자 유형, 적어도 80개의 구별되는 입자 유형, 적어도 85개의 구별되는 입자 유형, 적어도 90개의 구별되는 입자 유형, 적어도 95개의 구별되는 입자 유형, 적어도 100개의 구별되는 입자 유형, 1 내지 5개의 구별되는 입자 유형, 5 내지 10개의 구별되는 입자 유형, 10 내지 15개의 구별되는 입자 유형, 15 내지 20개의 구별되는 입자 유형, 20 내지 25개의 구별되는 입자 유형, 25 내지 30개의 구별되는 입자 유형, 30 내지 35개의 구별되는 입자 유형, 35 내지 40개의 구별되는 입자 유형, 40 내지 45개의 구별되는 입자 유형, 45 내지 50개의 구별되는 입자 유형, 50 내지 55개의 구별되는 입자 유형, 55 내지 60개의 구별되는 입자 유형, 60 내지 65개의 구별되는 입자 유형, 65 내지 70개의 구별되는 입자 유형, 70 내지 75개의 구별되는 입자 유형, 75 내지 80개의 구별되는 입자 유형, 80 내지 85개의 구별되는 입자 유형, 85 내지 90개의 구별되는 입자 유형, 90 내지 95개의 구별되는 입자 유형, 95 내지 100개의 구별되는 입자 유형, 1 내지 100개의 구별되는 입자 유형, 20 내지 40개의 구별되는 입자 유형, 5 내지 10개의 구별되는 입자 유형, 3 내지 7개의 구별되는 입자 유형, 2 내지 10개의 구별되는 입자 유형, 6 내지 15개의 구별되는 입자 유형, 또는 10 내지 20개의 구별되는 입자 유형을 포함할 수 있다. 복수의 입자는 3 내지 10개의 입자 유형을 포함할 수 있다. 복수의 입자는 4 내지 11개의 구별되는 입자 유형을 포함할 수 있다. 복수의 입자는 5 내지 15개의 구별되는 입자 유형을 포함할 수 있다. 복수의 입자는 5 내지 15개의 구별되는 입자 유형을 포함할 수 있다. 복수의 입자는 8 내지 12개의 구별되는 입자 유형을 포함할 수 있다. 복수의 입자는 9 내지 13개의 구별되는 입자 유형을 포함할 수 있다. 복수의 입자는 10개의 구별되는 입자 유형을 포함할 수 있다. 입자 유형은 나노입자를 포함할 수 있다.

[0183] 예를 들어, 본 개시는 적어도 2개의 구별되는 입자 유형, 적어도 3개의 상이한 표면 화학, 적어도 4개의 상이한 표면 화학, 적어도 5개의 상이한 표면 화학, 적어도 6개의 상이한 표면 화학, 적어도 7개의 상이한 표면 화학, 적어도 8개의 상이한 표면 화학, 적어도 9개의 상이한 표면 화학, 적어도 10개의 상이한 표면 화학, 적어도 11개의 상이한 표면 화학, 적어도 12개의 상이한 표면 화학, 적어도 13개의 상이한 표면 화학, 적어도 14개의 상이한 표면 화학, 적어도 15개의 상이한 표면 화학, 적어도 20개의 상이한 표면 화학, 적어도 25개의 상이한 표면 화학, 적어도 30개의 상이한 표면 화학, 적어도 35개의 상이한 표면 화학, 적어도 40개의 상이한 표면 화학, 적어도 45개의 상이한 표면 화학, 적어도 50개의 상이한 표면 화학, 적어도 100개의 상이한 표면 화학, 적어도 150개의 상이한 표면 화학, 적어도 200개의 상이한 표면 화학, 적어도 250개의 상이한 표면 화학, 적어도 300개의 상이한 표면 화학, 적어도 350개의 상이한 표면 화학, 적어도 400개의 상이한 표면 화학, 적어도 450개의 상이한 표면 화학, 적어도 500개의 상이한 표면 화학, 2 내지 500개의 상이한 표면 화학, 2 내지 5개의 상이한 표면 화학, 5 내지 10개의 상이한 표면 화학, 10 내지 15개의 상이한 표면 화학, 15 내지 20개의 상이한 표면 화학, 20 내지 40개의 상이한 표면 화학, 40 내지 60개의 상이한 표면 화학, 60 내지 80개의 상이한 표면 화학, 80 내지 100개의 상이한 표면 화학, 100 내지 500개의 상이한 표면 화학, 4 내지 15개의 상이한 표면 화학, 또는 2 내지 20개의 상이한 표면 화학을 가지는 복수의 입자를 제공한다.

[0184] 본 개시는 적어도 2개의 상이한 물리적 특성, 적어도 3개의 상이한 물리적 특성, 적어도 4개의 상이한 물리적 특성, 적어도 5개의 상이한 물리적 특성, 적어도 6개의 상이한 물리적 특성, 적어도 7개의 상이한 물리적 특성, 적어도 8개의 상이한 물리적 특성, 적어도 9개의 상이한 물리적 특성, 적어도 10개의 상이한 물리적 특성, 적어도 1 1개의 상이한 물리적 특성, 적어도 12개의 상이한 물리적 특성, 적어도 13개의 상이한 물리적 특성, 적어도 14개의 상이한 물리적 특성, 적어도 15개의 상이한 물리적 특성, 적어도 20개의 상이한 물리적 특성, 적어도 25개의 상이한 물리적 특성, 적어도 30개의 상이한 물리적 특성, 적어도 35개의 상이한 물리적 특성, 적어도 40개의 상이한 물리적 특성, 적어도 45개의 상이한 물리적 특성, 적어도 50개의 상이한 물리적 특성, 적어도 100개의 상이한 물리적 특성, 적어도 150개의 상이한 물리적 특성, 적어도 200개의 상이한 물리적 특성, 적어도 250개의 상이한 물리적 특성, 적어도 300개의 상이한 물리적 특성, 적어도 350개의 상이한 물리적 특성, 적어도 400개의 상이한 물리적 특성, 적어도 450개의 상이한 물리적 특성, 적어도 500개의 상이한 물리적 특성, 2 내지 500개의 상이한 물리적 특성, 2 내지 5개의 상이한 물리적 특성, 5 내지 10개의 상이한 물리적 특성, 10 내지 15개의 상이한 물리적 특성, 15 내지 20개의 상이한 물리적 특성, 20 내지 40개의 상이한 물리적 특성, 40 내지 60개의 상이한 물리적 특성, 60 내지 80개의 상이한 물리적 특성, 80 내지 100개의 상이한 물리적 특성, 100 내지 500개의 상이한 물리적 특성, 4 내지 15개의 상이한 물리적 특성, 또는 2 내지 20개의 상이한 물리적 특성을 가지는 복수의 입자를 제공한다.

[0185] 입자는 다양한 물질로부터 만들어질 수 있다. 예를 들어, 본 개시와 일치하는 나노입자 물질로는 금속, 중합체, 자성 물질, 및 지질을 들 수 있다. 자성 나노입자는 산화철 나노입자일 수 있다. 금속 물질의 예로는 금, 은, 구리, 니켈, 코발트, 팔라듐, 백금, 이리듐, 오스뮴, 로듐, 루테늄, 레늄, 바나듐, 크로뮴, 망간, 니오븀, 몰리브덴, 텅스텐, 탄탈룸, 철 및 카드뮴, 또는 US7749299에 기술된 임의의 다른 물질 중 어느 하나 또는 임의의 조합을 들 수 있다.

[0186] 중합체의 예로는 폴리에틸렌, 폴리카보네이트, 다가무수물, 폴리하이드록시산, 폴리프로필푸마레이트, 폴리카프로락톤, 폴리아미드, 폴리아세탈, 폴리에테르, 폴리에스테르, 폴리(오르토에스테르), 폴리시아노아크릴레이트, 폴리비닐 알코올, 폴리우레탄, 폴리포스파젠, 폴리아크릴레이트, 폴리메타크릴레이트, 폴리시아노아크릴레이트, 폴리우레아, 폴리스티렌, 또는 폴리아민, 폴리알킬렌 글리콜 (예컨대, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)), 폴리에스테르 (예컨대, 폴리(락타이드-코-글리콜라이드) (PLGA), 폴리락트산, 또는 폴리카프로락톤), 또는 둘 이상의 중합체의 공중합체, 예컨대 폴리알킬렌 글리콜 (예컨대, PEG)과 폴리에스테르 (예컨대, PLGA)의 공중합체 중 어느 하나 또는 임의의 조합을 들 수 있다. 일부 구체예에서, 중합체는 지질-종결된 폴리알킬렌 글리콜 및 폴리에스테르, 또는 US9549901에 개시된 임의의 다른 물질이다. 중합체는 또한 리포솜일 수 있다.

[0187] 본 개시의 나노입자를 형성하기 위해 사용될 수 있는 지질의 예로는 양이온, 음이온, 및 중성으로 대전된 지질을 들 수 있다. 예를 들어, 나노입자는 다이올레오일포스파티딜글리세롤 (DOPG), 다이아실포스파티딜콜린, 다이아실포스파티딜에탄올아민, 세라미드, 스핑고미엘린, 세팔린, 콜레스테롤, 세레브로시드 및 다이아실글리세롤, 다이올레오일포스파티딜콜린 (DOPC), 다이미리스토일포스파티딜콜린 (DMPC), 및 다이올레오일포스파티딜세린 (DOPS), 포스파티딜글리세롤, 카디올리핀, 다이아실포스파티딜세린, 다이아실포스파티드산, N-도데카노일 포스파티딜에탄올아민, N-석시닐 포스파티딜에탄올아민, N-글루타릴포스파티딜에탄올아민, 리실포스파티딜글리세롤, 팔미토일올레오일포스파티딜글리세롤 (POPG), 레시틴, 리소레시틴, 포스파티딜에탄올아민, 리소포스파티딜에탄올아민, 다이올레오일포스파티딜에탄올아민 (DOPE), 다이팔미토일 포스파티딜 에탄올아민 (DPPE), 다이미리스토일포스포에탄올아민 (DMPE), 다이스테아로일-포스파티딜-에탄올아민 (DSPE), 팔미토일올레오일-포스파티딜에탄올아민 (POPE) 팔미토일올레오일포스파티딜콜린 (POPC), 난 포스파티딜콜린 (EPC), 다이스테아로일포스파티딜콜린 (DSPC), 다이올레오일포스파티딜콜린 (DOPC), 다이팔미토일포스파티딜콜린 (DPPC), 다이올레오일포스파티딜글리세롤 (DOPG), 다이팔미토일포스파티딜글리세롤 (DPPG), 팔미토일올레오일포스파티딜글리세롤 (POPG), 16-O-모노메틸 PE, 16-O-다이메틸 PE, 18-1-트랜스 PE, 팔미토일올레오일-포스파티딜에탄올아민 (POPE), 1-스테아로일-2-올레오일-포스파티딜에탄올아민 (SOPE), 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨, 스핑고미엘린, 세팔린, 카디올리핀, 포스파티드산, 세레브로시드, 다이세틸포스페이트, 및 콜레스테롤, 또는 US9445994에 열거된 임의의 다른 물질 중 어느 하나 또는 임의의 조합으로 만들어질 수 있다.

[0188] 다양한 경우에, 나노입자의 코어는 유기 입자, 무기 입자, 또는 유기 및 무기 물질을 다 포함하는 입자를 포함할 수 있다. 예를 들어, 입자는 금속 입자, 양자점 입자, 금속 산화물 입자, 또는 코어-쉘 입자이거나 그것을 포함하는 코어 구조를 가질 수 있다. 예를 들어, 코어 구조는 중합체 입자 또는 지질-기반 입자이거나 그것을 포함할 수 있고, 링커는 지질, 계면활성제, 중합체, 탄화수소 사슬, 또는 양친매성 중합체를 포함할 수 있다. 예를 들어, 링커는 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리알킬렌 글리콜을 포함할 수 있고, 예컨대, 링커의 제1 단부는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)에 결합된 지질을 포함할 수 있으며 제2 단부는 PEG에 결합된 작용기를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 제1 물질 또는 합성물을 포함하는 코어 및 상이한 물질 또는 합성물을 포함하는 복수의 쉘을 가진다. 일부 경우에, 입자는 비-자성 또는 복수의 비-자성 쉘에 의해 둘러싸인 자성 코어를 가진다. 예를 들어, 입자는 비-자성 중합체 쉘에 의해 둘러싸인 자성 산화철 코어를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 자성 코어는 10 nm 내지 500 nm 직경을 가지며, 쉘은 5 nm 내지 100 nm 두께를 가진다.

[0189] 본 개시와 일치하는 입자 유형의 예가 하기 표 1에 제시된다. 입자의 추가의 예, 예컨대 자성 코어 나노입자 (MNP) 및 상응하는 표면 화학은 도 7에 도시된다.

표 1

[0190] **입자 유형**

P#	설명	판매처
HX-13 또는 S-001	카르복실레이트 (시트레이트)	Seer
HX-19 또는 S-002	페놀-포름알데하이드 코팅됨	Seer
HX-31 또는 S-004	폴리스티렌 코팅됨	Seer
HX-38 또는 S-005	폴리스티렌/카르복실레이트 코팅됨	Seer

HX-42 또는 S-006	실리카 코팅됨, 아민	Seer
HX-57 또는 S-008	벤조산	Seer
HX-58 또는 S-009	PVBTMAC 코팅됨 (비닐벤질트라이메틸암모늄 클로라이드)	Seer
HX-59 또는 S-010	카르복실레이트, PAA 코팅됨	Seer
P-033	카르복실레이트	Polysciences
P-039	폴리스티렌 카르복실	Micro Particles
P-041	카르복실산	OceanNanoTech
P-047	실리카	OceanNanoTech
P-048	카르복실산	OceanNanoTech
P-053	아미노	Spherotech
P-056	실리카 아미노	Spherotech
P-063	제파민	Spherotech
P-064	폴리스티렌	Spherotech
P-065	실리카	Spherotech
P-069	원래의 코팅	OceanNanoTech
P-073	덱스트란 기반	Kisker Biotech
P-074	실리카 실란올	Kisker Biotech
HX-20 또는 S-003	실리카-코팅된 초상자성 산화철 NP (SPION)	Seer
HX-56 또는 S-007	폴리(N-(3-(다이메틸아미노)프로필) 메타크릴아미드) (PDMAPMA)-코팅된 SPION	Seer
HX-86 또는 S-011	폴리(올리고(에틸렌 글리콜) 메틸 에테르 메타크릴레이트) (POEGMA)-코팅된 SPION	Seer

[0191] **입자의 특성**

[0192] 본 개시와 일치하는 나노입자는 광범위한 크기로 만들어지고 생체유체에서 인큐베이션된 후에 단백질 코로나를 형성하는 방법에 사용될 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 나노입자는 적어도 10 nm, 적어도 100 nm, 적어도 200 nm, 적어도 300 nm, 적어도 400 nm, 적어도 500 nm, 적어도 600 nm, 적어도 700 nm, 적어도 800 nm, 적어도 900 nm, 10 nm 내지 50 nm, 50 nm 내지 100 nm, 100 nm 내지 150 nm, 150 nm 내지 200 nm, 200 nm 내지 250 nm, 250 nm 내지 300 nm, 300 nm 내지 350 nm, 350 nm 내지 400 nm, 400 nm 내지 450 nm, 450 nm 내지 500 nm, 500 nm 내지 550 nm, 550 nm 내지 600 nm, 600 nm 내지 650 nm, 650 nm 내지 700 nm, 700 nm 내지 750 nm, 750 nm 내지 800 nm, 800 nm 내지 850 nm, 850 nm 내지 900 nm, 100 nm 내지 300 nm, 150 nm 내지 350 nm, 200 nm 내지 400 nm, 250 nm 내지 450 nm, 300 nm 내지 500 nm, 350 nm 내지 550 nm, 400 nm 내지 600 nm, 450 nm 내지 650 nm, 500 nm 내지 700 nm, 550 nm 내지 750 nm, 600 nm 내지 800 nm, 650 nm 내지 850 nm, 700 nm 내지 900 nm, 또는 10 nm 내지 900 nm일 수 있다.

[0193] 추가적으로, 입자는 균일한 크기 분포 또는 불균일한 크기 분포를 가질 수 있다. 동적 광산란과 같은 기법에 의해 측정될 수 있는 다분산도 지수 (PDI)는 크기 분포의 척도이다. 낮은 PDI는 보다 균일한 크기 분포를 나타내며 더 높은 PDI는 더 불균일한 크기 분포를 나타낸다. 일부 경우에, 복수의 입자는 0.01 내지 0.1, 0.1 내지 0.5, 0.5 내지 1, 1 내지 5, 5 내지 20, 또는 20 이상의 PDI를 가진다.

[0194] 본원에 개시된 입자는 상이한 표면 전하 범위를 가질 수 있다. 입자는 음전하이거나, 양전하이거나, 또는 전하가 중성일 수 있다. 일부 구체예에서, 입자는 -500 mV 내지 -450 mV, -450 mV 내지 -400 mV, -400 mV 내지 -350 mV, -350 mV 내지 -300 mV, -300 mV 내지 -250 mV, -250 mV 내지 -200 mV, -200 mV 내지 -150 mV, -150 mV 내지 -100 mV, -100 mV 내지 -90 mV, -90 mV 내지 -80 mV, -80 mV 내지 -70 mV, -70 mV 내지 -60 mV, -60 mV 내지 -50 mV, -50 mV 내지 -40 mV, -40 mV 내지 -30 mV, -30 mV 내지 -20 mV, -20 mV 내지 -10 mV, -10 mV 내지 0 mV, 0 mV 내지 10 mV, 10 mV 내지 20 mV, 20 mV 내지 30 mV, 30 mV 내지 40 mV, 40 mV 내지 50 mV, 50 mV 내지 60 mV, 60 mV 내지 70 mV, 70 mV 내지 80 mV, 80 mV 내지 90 mV, 90 mV 내지 100 mV, 100 mV 내지 110 mV, 110 mV 내지 120 mV, 120 mV 내지 130 mV, 130 mV 내지 140 mV, 140 mV 내지 150 mV, 150 mV 내지 200 mV, 200 mV 내지 250 mV, 250 mV 내지 300 mV, 300 mV 내지 350 mV, 350 mV 내지 400 mV, 400 mV 내지 450 mV, 450 mV 내지 500 mV, -500 mv 내지 -400 mV, -400 mv 내지 -300 mV, -300 mv 내지 -200 mV, -200 mv 내지 -100 mV, -100 mv 내지 0 mV, 0 mv 내지 100 mV, 100 mv 내지 200 mV, 200 mv 내지 300 mV, 300 mv 내지 400 mV, 또는 400 mv 내지 500 mV의 표면 전하를 가진다.

[0195] 다양한 입자 형태가 본 개시의 패널의 입자 유형과 일치한다. 예를 들어, 입자는 구형, 콜로이드형, 사각형, 막

대형, 와이어형, 원추형, 피라미드형, 또는 직사각형일 수 있다.

[0196] **생체분자 코로나**

[0197] 본원에는 적어도 하나의 물리화학적 특성이 서로 상이한 복수의 센서 요소를 포함하는, 또는 본질적으로 그것으로 이루어지는 또는 그것으로 이루어지는 생체분자 코로나를 생성할 수 있는 자동화 장치, 시스템, 방법, 및 센서 요소가 제공된다. 복수의 센서 요소는 복수의 입자 (예컨대, 나노입자)를 포함할 수 있다. 복수의 센서 요소는 복수의 입자일 수 있다. 복수의 센서 요소는 복잡한 생물학적 샘플 중의 복수의 생체분자에 결합하여 생체분자 코로나 시그니처를 생성할 수 있다. 복수의 센서 요소는 복수의 구별되는 생체분자 코로나 시그니처를 포함할 수 있다.

[0198] 관심의 생체분자 (예컨대, 저풍부성 단백질)은 미처리된 샘플 (예컨대, 입자를 사용하여 검정되지 않은 샘플)에 비교하여 생체분자 코로나가 풍부할 수 있다. 관심의 생체분자는 단백질일 수 있다. 생체분자 코로나는 단백질 코로나일 수 있다. 풍부화 수준은 생체분자 코로나가 수집되지 않은 생물학적 샘플과 비교하여 생체분자 코로나에서의 관심의 생체분자의 상대적인 풍부성의 퍼센트 증가 또는 배수 증가일 수 있다 (예컨대, 관심의 생체분자의 복사물의 수 대비 생체분자의 총 수). 관심의 생체분자는 센서 요소와 접촉되지 않은 샘플과 비교하여 생체분자 코로나에서의 관심의 생체분자의 풍부성을 증가시킴으로써 생체분자 코로나가 풍부해질 수 있다. 관심의 생체분자는 고풍부성 생물학적 샘플인 생체분자의 풍부성을 감소시킴으로써 풍부해질 수 있다.

[0199] 생체분자 코로나 분석 검정은 생물학적 샘플 (예컨대, 생체유체)에서 저풍부성 생체분자를 신속하게 확인하기 위해 사용될 수 있다. 생체분자 코로나 분석은 생물학적 샘플과 센서 요소 (예컨대, 입자)와의 첫 번째 접촉으로부터 약 8시간 이하 내에 생물학적 샘플 중의 적어도 약 500개의 저풍부성 생체분자를 확인하기 위해 사용될 수 있다. 생체분자 코로나 분석은 생물학적 샘플과 센서 요소와의 첫 번째 접촉으로부터 약 8시간 이하 내에 생물학적 샘플 중의 적어도 약 1000개의 저풍부성 생체분자를 확인하기 위해 사용될 수 있다. 생체분자 코로나 분석은 생물학적 샘플과 센서 요소와의 첫 번째 접촉으로부터 약 4시간 이하 내에 생물학적 샘플 중의 적어도 약 500개의 저풍부성 생체분자를 확인하기 위해 사용될 수 있다. 생체분자 코로나 분석은 생물학적 샘플과 센서 요소와의 첫 번째 접촉으로부터 약 4시간 이하 내에 생물학적 샘플 중의 적어도 약 1000개의 저풍부성 생체분자를 확인하기 위해 사용될 수 있다.

[0200] 생체분자 코로나 시그니처는 단백질, 펩타이드, 다당, 올리고당, 단당, 대사산물, 지질, 핵산, 또는 그것들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 생체분자 코로나 시그니처는 단백질 코로나 시그니처일 수 있다. 생체분자 코로나 시그니처는 다당 코로나 시그니처일 수 있다. 생체분자 코로나 시그니처는 대사산물 코로나 시그니처일 수 있다. 생체분자 코로나 시그니처는 지질 코로나 시그니처일 수 있다. 생체분자 코로나 시그니처는 연질 코로나 및 경질 코로나에서 발견된 생체분자를 포함할 수 있다. 연질 코로나는 연질 단백질 코로나일 수 있다. 경질 코로나는 경질 단백질 코로나일 수 있다.

[0201] 생체분자 코로나 시그니처는 각각의 별도의 센서 요소 또는 각각의 나노입자에 결합되는 상이한 생체분자의 조성, 시그니처 또는 패턴을 말한다. 일부 경우에, 생체분자 코로나 시그니처는 단백질 코로나 시그니처이다. 또 다른 경우에, 생체분자 코로나 시그니처는 다당 코로나 시그니처이다. 또 다른 경우에, 생체분자 코로나 시그니처는 대사산물 코로나 시그니처이다. 일부 경우에, 생체분자 코로나 시그니처는 지질 코로나 시그니처이다. 시그니처는 상이한 생체분자를 나타낼 수 있다. 그것은 또한 상이한 생체분자를 나타낼 수 있다. 또한 그것은 센서 요소 또는 나노입자에 결합된 생체분자의 양, 수준 또는 양의 차이, 또는 센서 요소 또는 입자에 결합된 생체분자의 형태적 상태의 차이를 나타낼 수 있다. 각각의 센서 요소의 생체분자 코로나 시그니처는 동일한 생체분자의 일부를 함유하거나, 다른 센서 요소 또는 나노입자와 관련하여 구별되는 생체분자를 함유하거나, 및/또는 생체분자의 수준 또는 양, 유형 또는 형태가 상이할 수 있는 것으로 고려된다. 생체분자 코로나 시그니처는 센서 요소 또는 입자의 물리화학적 특성뿐만 아니라, 샘플의 본질 및 노출 기간에 따라 달라질 수 있다. 일부 구체예에서, 생체분자 코로나 시그니처는 연질 코로나 및 경질 코로나에서 발견되는 생체분자를 포함한다.

[0202] 일부 구체예에서, 복수의 센서 요소는 센서 어레이가 복잡한 생물학적 샘플과 접촉할 때 제1 생체분자 코로나 시그니처를 생성하는 제1 센서 요소 및 적어도 하나의 제2 생체분자 코로나 시그니처를 생성하는 적어도 하나의 제2 센서 요소 (예컨대, 적어도 하나의 나노입자)를 포함한다. 일부 경우에, 복수의 센서 요소 중에서 각각의 유형의 센서 요소는 상이한 생체분자 코로나 시그니처를 생성한다.

[0203] 복수의 센서 요소는 샘플과 접촉될 때 함께 생체분자 지문을 형성할 수 있는 복수의 생체분자 코로나 시그니처를 생성한다. "생체분자 지문"은 복수의 센서 요소에 대한 적어도 2개의 생체분자 코로나 시그니처의 생체분자

의 조합된 조성 또는 패턴을 말한다. 생체분자 지문은 많은 상이한 생체분자 시그니처, 예컨대 적어도 1000개의 상이한 생체분자 코로나 시그니처가 검정되기 때문에 적어도 2개의 생체분자 코로나 시그니처로부터 만들어질 수 있는 것으로 고려된다. 생체분자 코로나는 각각의 센서 요소 (예컨대, 각각의 나노입자 또는 각각의 리포솜)에 대한 생체분자 코로나 시그니처를 측정하기 위하여 각 센서 요소에 대해 별도로 검정되고 조합되어 생체분자 지문을 형성할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 지문은 동시에 둘 이상의 생체분자 코로나를 검정함으로써 개발될 수 있다.

[0204] **확인된 단백질**

[0205] 본원에 개시된 자동화 장치, 시스템, 방법, 및 센서 요소 (예컨대, 입자)는 많은 생체분자, 단백질, 펩타이드, 또는 단백질 그룹을 확인하기 위해 사용될 수 있다. 본원에서 개시되는 특징 강도는 분석적 측정으로부터의 신호의 강도, 예를 들어 샘플의 질량 분석 작동으로부터의 질량 대 전하 비율의 강도를 나타낸다. 본원에 기술된 분석 방법을 사용하면, 펩타이드 및 펩타이드 단편의 특징 강도는 단백질 그룹으로 분류될 수 있다. 단백질 그룹은 공유된 펩타이드 서열에 의해 확인되는 둘 이상의 단백질을 말한다. 대안으로, 단백질 그룹은 독특한 확인 서열을 사용하여 확인되는 한 단백질을 말할 수 있다. 예를 들어, 만약 샘플에서, 두 단백질 사에에 공유되는 펩타이드 서열이 검정된다면 (단백질 1: XYZZX 및 단백질 2: XYZYZ), 단백질 그룹은 두 구성요소 (단백질 1 및 단백질 2)를 가지는 "XYZ 단백질 그룹"일 수 있을 것이다. 대안으로, 만약 펩타이드 서열이 단일 단백질 (단백질 1)에 독특한 것이라면, 단백질 그룹은 한 구성원 (단백질 1)을 가지는 "ZZX" 단백질 그룹일 수 있을 것이다. 각각의 단백질 그룹은 하나 이상의 펩타이드 서열에 의해 지지될 수 있다. 본 개시에 따라 검출되거나 확인된 단백질은 샘플에서 검출된 구별되는 단백질 (예컨대, 질량 분석을 사용하여 검출된 구별되는 상대적인 다른 단백질)을 나타낼 수 있다. 그러므로, 구별되는 센서 요소 유형에 상응하는 구별되는 코로나에 존재하는 단백질의 분석으로 높은 수의 특징 강도가 산출된다. 이 숫자는 특징 강도가 구별되는 펩타이드로 처리됨에 따라 감소하며, 구별되는 펩타이드가 구별되는 단백질로 처리됨에 따라 추가로 감소하고, 펩타이드가 단백질 그룹 (구별되는 펩타이드 서열을 공유하는 둘 이상의 단백질)으로 그룹화됨에 따라 추가로 감소한다.

[0206] 본원에 개시된 자동화 장치, 시스템, 방법, 및 센서 요소 (예컨대, 입자)는 적어도 100개의 단백질 그룹, 적어도 200개의 단백질 그룹, 적어도 300개의 단백질 그룹, 적어도 400개의 단백질 그룹, 적어도 500개의 단백질 그룹, 적어도 600개의 단백질 그룹, 적어도 700개의 단백질 그룹, 적어도 800개의 단백질 그룹, 적어도 900개의 단백질 그룹, 적어도 1000개의 단백질 그룹, 적어도 1100개의 단백질 그룹, 적어도 1200개의 단백질 그룹, 적어도 1300개의 단백질 그룹, 적어도 1400개의 단백질 그룹, 적어도 1500개의 단백질 그룹, 적어도 1600개의 단백질 그룹, 적어도 1700개의 단백질 그룹, 적어도 1800개의 단백질 그룹, 적어도 1900개의 단백질 그룹, 적어도 2000개의 단백질 그룹, 적어도 2100개의 단백질 그룹, 적어도 2200개의 단백질 그룹, 적어도 2300개의 단백질 그룹, 적어도 2400개의 단백질 그룹, 적어도 2500개의 단백질 그룹, 적어도 2600개의 단백질 그룹, 적어도 2700개의 단백질 그룹, 적어도 2800개의 단백질 그룹, 적어도 2900개의 단백질 그룹, 적어도 3000개의 단백질 그룹, 적어도 3100개의 단백질 그룹, 적어도 3200개의 단백질 그룹, 적어도 3300개의 단백질 그룹, 적어도 3400개의 단백질 그룹, 적어도 3500개의 단백질 그룹, 적어도 3600개의 단백질 그룹, 적어도 3700개의 단백질 그룹, 적어도 3800개의 단백질 그룹, 적어도 3900개의 단백질 그룹, 적어도 4000개의 단백질 그룹, 적어도 4100개의 단백질 그룹, 적어도 4200개의 단백질 그룹, 적어도 4300개의 단백질 그룹, 적어도 4400개의 단백질 그룹, 적어도 4500개의 단백질 그룹, 적어도 4600개의 단백질 그룹, 적어도 4700개의 단백질 그룹, 적어도 4800개의 단백질 그룹, 적어도 4900개의 단백질 그룹, 적어도 5000개의 단백질 그룹, 적어도 10000개의 단백질 그룹, 적어도 20000개의 단백질 그룹, 적어도 100000개의 단백질 그룹, 100 내지 5000개의 단백질 그룹, 200 내지 4700개의 단백질 그룹, 300 내지 4400개의 단백질 그룹, 400 내지 4100개의 단백질 그룹, 500 내지 3800개의 단백질 그룹, 600 내지 3500개의 단백질 그룹, 700 내지 3200개의 단백질 그룹, 800 내지 2900개의 단백질 그룹, 900 내지 2600개의 단백질 그룹, 1000 내지 2300개의 단백질 그룹, 1000 내지 3000개의 단백질 그룹, 3000 내지 4000개의 단백질 그룹, 4000 내지 5000개의 단백질 그룹, 5000 내지 6000개의 단백질 그룹, 6000 내지 7000개의 단백질 그룹, 7000 내지 8000개의 단백질 그룹, 8000 내지 9000개의 단백질 그룹, 9000 내지 10000개의 단백질 그룹, 10000 내지 11000개의 단백질 그룹, 11000 내지 12000개의 단백질 그룹, 12000 내지 13000개의 단백질 그룹, 13000 내지 14000개의 단백질 그룹, 14000 내지 15000개의 단백질 그룹, 15000 내지 16000개의 단백질 그룹, 16000 내지 17000개의 단백질 그룹, 17000 내지 18000개의 단백질 그룹, 18000 내지 19000개의 단백질 그룹, 19000 내지 20000개의 단백질 그룹, 20000 내지 25000개의 단백질 그룹, 25000 내지 30000개의 단백질 그룹, 10000 내지 20000개의 단백질 그룹, 10000 내지 50000개의 단백질 그룹, 20000 내지 100000개의 단백질 그룹, 2000 내지 20000개의 단백질 그룹, 1800 내지 20000개의 단백질 그룹, 또는 10000 내지 100000개의

단백질 그룹을 확인하기 위해 사용될 수 있다.

[0207] 본원에 개시된 자동화 장치, 시스템, 방법, 및 센서 요소 (예컨대, 입자)는 적어도 100개의 단백질, 적어도 200개의 단백질, 적어도 300개의 단백질, 적어도 400개의 단백질, 적어도 500개의 단백질, 적어도 600개의 단백질, 적어도 700개의 단백질, 적어도 800개의 단백질, 적어도 900개의 단백질, 적어도 1000개의 단백질, 적어도 1100개의 단백질, 적어도 1200개의 단백질, 적어도 1300개의 단백질, 적어도 1400개의 단백질, 적어도 1500개의 단백질, 적어도 1600개의 단백질, 적어도 1700개의 단백질, 적어도 1800개의 단백질, 적어도 1900개의 단백질, 적어도 2000개의 단백질, 적어도 2100개의 단백질, 적어도 2200개의 단백질, 적어도 2300개의 단백질, 적어도 2400개의 단백질, 적어도 2500개의 단백질, 적어도 2600개의 단백질, 적어도 2700개의 단백질, 적어도 2800개의 단백질, 적어도 2900개의 단백질, 적어도 3000개의 단백질, 적어도 3100개의 단백질, 적어도 3200개의 단백질, 적어도 3300개의 단백질, 적어도 3400개의 단백질, 적어도 3500개의 단백질, 적어도 3600개의 단백질, 적어도 3700개의 단백질, 적어도 3800개의 단백질, 적어도 3900개의 단백질, 적어도 4000개의 단백질, 적어도 4100개의 단백질, 적어도 4200개의 단백질, 적어도 4300개의 단백질, 적어도 4400개의 단백질, 적어도 4500개의 단백질, 적어도 4600개의 단백질, 적어도 4700개의 단백질, 적어도 4800개의 단백질, 적어도 4900개의 단백질, 적어도 5000개의 단백질, 100 내지 5000개의 단백질, 200 내지 4700개의 단백질, 300 내지 4400개의 단백질, 400 내지 4100개의 단백질, 500 내지 3800개의 단백질, 600 내지 3500개의 단백질, 700 내지 3200개의 단백질, 800 내지 2900개의 단백질, 900 내지 2600개의 단백질, 1000 내지 2300개의 단백질, 1000 내지 3000개의 단백질, 3000 내지 4000개의 단백질, 4000 내지 5000개의 단백질, 5000 내지 6000개의 단백질, 6000 내지 7000개의 단백질, 7000 내지 8000개의 단백질, 8000 내지 9000개의 단백질, 9000 내지 10000개의 단백질, 10000 내지 11000개의 단백질, 11000 내지 12000개의 단백질, 12000 내지 13000개의 단백질, 13000 내지 14000개의 단백질, 14000 내지 15000개의 단백질, 15000 내지 16000개의 단백질, 16000 내지 17000개의 단백질, 17000 내지 18000개의 단백질, 18000 내지 19000개의 단백질, 19000 내지 20000개의 단백질, 20000 내지 25000개의 단백질, 25000 내지 30000개의 단백질, 또는 10000 내지 20000개의 단백질을 확인하기 위해 사용될 수 있다.

[0208] 본원에 개시된 센서 요소는 광범위한 동적 범위에 걸쳐 본원에 개시된 구별되는 단백질, 및/또는 본원에 개시된 임의의 특정 단백질의 수를 확인하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 구별되는 입자 유형을 포함하는 본원에 개시된 복수의 입자는 샘플 중의 단백질을 풍부화할 수 있고, 그것은 단백질이 샘플 (예컨대, 혈장 샘플)에 존재하는 전체 동적 범위에 걸쳐 본 개시의 방법을 사용하여 확인될 수 있다. 입자 패널은 본원에 개시된 임의의 수의 구별되는 입자 유형을 포함할 수 있고, 샘플에서 적어도 2 내지 적어도 12배의 크기의 농도 범위에 걸쳐 생체분자를 풍부화하고 확인할 수 있다.

[0209] **질환 검출**

[0210] 본원에 개시된 시스템 및 방법은 특정 생물학적 (예컨대, 질환) 상태와 일치하는 대상체로부터의 샘플 중의 마커의 검출을 위해 사용될 수 있다. 생물학적 상태는 질환, 장애, 또는 조직 비정상일 수 있다. 질환 상태는 초기 단계 또는 중간 단계 질환 상태일 수 있다.

[0211] 본 개시의 시스템 및 방법은 주어진 샘플에서의 광범위한 질환 상태를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 개시의 시스템 및 방법은 암을 검출하기 위해 사용될 수 있다. 암은 뇌암, 폐암, 췌장암, 교모세포종, 수막종, 골수종, 또는 췌장암일 수 있다.

[0212] 일부 경우에, 생체분자 지문이 대상체의 질환 상태를 측정하거나, 대상체의 질환을 진단 또는 예측하거나 또는 질환 상태 또는 질환 또는 장애와 관련된 바이오마커의 독특한 패턴을 확인하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 대상체에서 시간 (일, 개월, 년)이 경과함에 따라 생체분자 지문의 변화는 질환의 초기 단계 또는 임의의 다른 질환 상태와 관련될 수 있는 생체분자 지문의 측정에 광범위하게 적용될 수 있는 대상체에서의 질환 또는 장애 (예컨대 질환 상태)를 추적하는 능력을 허용한다. 본원에서 개시된 바와 같이, 질환, 예를 들어 암을, 심지어 그것이 완전히 발달하거나 전이하기 전에 초기에 검출하는 능력은 그런 환자에 대한 양성 결과의 상당한 증가 및 그 질환과 관련된 기대 수명을 증가시키고 사망률을 저하시키는 능력을 허용한다.

[0213] 본원에 개시된 자동화 장치, 시스템, 방법, 및 센서 요소 (예컨대, 입자)는 고처리량 방식으로 질환의 전단계 또는 전구체 상태(precursor states)와 관련된 생체분자 지문을 발달시킬 수 있는 독특한 기회를 제공할 수 있다. 본 개시는 고처리량 방식으로 생체분자 지문을 생성하기 위한 샘플의 대규모, 신속한 처리를 제공함으로써, 많은 대상체에 걸쳐 대상체의 질환 상태의 대규모 측정, 대상체에서의 질환의 진단 또는 예측 또는 질환 상태 또는 질환 또는 장애와 관련된 바이오마커의 독특한 패턴의 확인을 허용한다.

[0214] 일부 구체예에서, 대상체에서 질환 또는 장애를 검출하는 방법이 제공된다. 방법은 (a) 대상체로부터 샘플을 얻는 단계; (b) 샘플을 본원에 기술된 센서 어레이와 접촉시키는 단계, 및 (c) 샘플과 관련된 생체분자 지문을 측정하는 단계를 포함하며, 생체분자 지문은 질환 상태, 예를 들어 질환 또는 장애가 없는, 질환 또는 장애의 전구체가 있는, 및 질환 또는 장애가 있는, 대상체의 건강을 구별한다.

[0215] 생체분자 지문이 샘플과 관련되었는지를 측정하는 것은 적어도 2개의 센서 요소에 대한 생체분자 코로나 시그니처를 검출하는 것을 포함할 수 있으며, 여기서 적어도 2개의 생체분자 코로나 시그니처의 조합은 생체분자 지문을 생성한다. 일부 구체예에서, 적어도 2개의 센서 요소의 생체분자 코로나 시그니처는 별도로 검정되며, 결과는 생체분자 지문을 측정하기 위해 조합된다. 일부 구체예에서 적어도 2개의 요소의 생체분자 코로나 시그니처는 동시에 또는 동일한 샘플에서 검정된다.

[0216] 본원에 기술된 자동화 장치, 시스템, 센서 어레이, 및 방법은 질환 상태를 측정하거나, 및/또는 질환 또는 장애를 예측 또는 진단하기 위해 사용될 수 있다. 고려되는 질환 또는 장애로는, 한정하는 것은 아니지만, 예를 들어, 암, 심혈관 질환, 내분비 질환, 염증성 질환, 신경계 질환 등을 들 수 있다.

[0217] 한 구체예에서, 질환 또는 장애는 암이다. 용어 "암"은 종양 및 양성 성장을 포함하는, 세포의 비정상적 성장을 특징으로 하는 임의의 암, 신생물 및 전암성 질환을 포함하는 것을 의미한다. 암은, 예를 들어, 폐암, 췌장암, 또는 피부암일 수 있다. 적합한 구체예에서, 본원에 기술된 자동화 장치, 시스템, 센서 어레이, 및 방법은 암을 진단할 수 있을뿐만 아니라 (예컨대 대상체가 (a) 암을 가지고 있지 않는지, (b) 전암 발생 단계에 있는지, (c) 암의 초기 단계에 있는지, (d) 암의 후기 단계에 있는지 측정함) 일부 구체예에서는 암 유형을 측정할 수 있다. 하기 실시예에서 입증되는 바, 6개의 센서 요소를 포함하는 센서 어레이는 암의 존재 또는 부재의 질환 상태를 정확하게 측정할 수 있었다. 추가적으로, 실시예는 6개의 센서 요소를 포함하는 센서 어레이가 상이한 암 유형 (예컨대 폐암, 교모세포종, 수막종, 골수종 및 췌장암) 사이를 구별할 수 있었음을 입증한다.

[0218] 본 개시의 자동화 장치, 시스템, 센서 어레이, 및 방법은 추가적으로 다른 암, 예컨대 급성 림프모세포성 백혈병 (ALL); 급성 골수성 백혈병 (AML); 청소년 암; 부신피질 암종; 아동기 부신피질 암종; 아동기 특이암; AIDS-관련 암; 카포시 육종 (연조직 육종); AIDS-관련 림프종 (림프종); 원발성 CNS 림프종 (림프종); 항문암; 맹장암 - 위장 유암종 참조; 성상세포종, 아동 (뇌암); 비정형 기형/횡문근 종양, 아동, 중추신경계 (뇌암); 피부의 기저 세포 암종 - 피부암 참조; 담관암; 방광암; 아동 방광암; 골암 (유잉 육종 및 골육종 및 악성 섬유상 조직구종 포함); 뇌종양; 유방암; 아동 유방암; 기관지 종양, 아동; 버킷 림프종 - 비-호지킨 림프종 참조; 유암종 (위장); 아동 유암종; 미지의 원발성 암종; 아동 미지의 원발성 암종; 심장 (심장) 종양, 아동; 중추신경계; 비정형 기형/횡문근 종양, 아동 (뇌암); 배아 종양, 아동 (뇌암); 생식 세포 종양, 아동 (뇌암); 원발성 CNS 림프종; 자궁경부암; 아동 자궁경부암; 아동 암; 아동의 암, 특이성; 담관암 - 담도암 참조; 척색종, 아동; 만성 림프구성 백혈병 (CLL); 만성 골수성 백혈병 (CML); 만성 골수증식성 신생물; 대장암; 아동 대장암; 두개인두종 (craniopharyngioma), 아동 (뇌암); 피부 t-세포 림프종 - 림프종 (균상 식육종 및 세자리 증후군) 참조; 상피내 유관암종 (DCIS) - 유방암 참조; 배아 종양, 중추신경계, 아동 (뇌암); 자궁내막암 (자궁암); 뇌실막종, 아동 (뇌암); 식도암; 아동 식도암; 감각신경모세포종 (두경부암); 유잉 육종 (골암); 두개외 생식 세포 종양, 아동; 두개외 생식 세포 종양; 안암; 아동 안내 흑색종; 안내 흑색종; 망막모세포종; 나팔관암; 뼈의 섬유상 조직구종, 악성, 및 골육종; 담낭암; 복부 (위)암; 아동 복부 (위)암; 위장관 유암종; 위장관 기질 종양 (GIST) (연조직 육종); 아동 위장관 기질 종양; 생식 세포 종양; 아동 중추신경계 생식 세포 종양 (뇌암); 아동 두개 외 생식 세포 종양; 생식기 외 생식 세포 종양; 난소 생식 세포 종양; 고환암; 임신성 영양막 질환; 털세포 백혈병; 두경부암; 심장 종양, 아동; 간세포 (간)암; 조직구증, 랑게르한스 세포; 호지킨 림프종; 인두암 (두경부암); 안내 흑색종; 아동 안내 흑색종; 샘세포 종양, 췌장 신경내분비 종양; 카포시 육종 (연조직 육종); 신장 (신장 세포)암; 랑게르한스 세포 조직구증; 후두암 (두경부암); 백혈병; 입술 및 구강암 (두경부암); 간암; 폐암 (비-소세포 및 소세포); 아동 폐암; 림프종; 남성 유방암; 뼈의 악성 섬유상 조직구종 및 골육종; 아동 흑색종; 흑색종, 안내 (눈); 아동 안내 흑색종; 머클 세포 암종 (피부암); 중피종, 악성; 아동 중피종; 전이성 암; 잠복 원발성 전이성 편평 경부암 (두경부암); 견과류 유전자 변화가 있는 정중선 암종; 구강암 (두경부암); 다발성 내분비 신생물 증후군; 다발성 골수종/형질 세포 신생물; 균상 식육종 (림프종); 골수이형성 증후군, 골수이형성/골수증식성 신생물; 골수성 백혈병, 만성 (cml); 골수성 백혈병, 급성 (aml); 골수증식성 신생물, 만성; 비강 및 부비동암 (두경부암); 비인두암 (두경부암); 신경모세포종; 비-호지킨 림프종; 비-소세포 폐암; 구강암, 입술 및 구강암 및 구강인두암 (두경부암); 골육종 및 뼈의 악성 섬유상 조직구종; 난소암; 아동 난소암; 췌장암; 아동 췌장암; 췌장 신경내분비 종양 (샘세포 종양); 유두종증 (아동 후두); 부신경절종; 아동 부신경절종; 부비동 및 비강암 (두경부암); 부갑상선암; 음경암; 인두암 (두경부암); 갈색세포종; 아동 갈색세포종;

뇌하수체 종양; 혈장 세포 신생물/다발성 골수종; 흉막폐모세포종; 임신 및 유방암; 원발성 중추신경계 (CNS) 림프종; 원발성 복막암; 전립선암; 직장암; 재발성 암; 신장 세포 (신장)암; 망막모세포종; 횡문근육종, 아동 (연조직 육종); 침샘 암 (두경부암); 육종; 아동 횡문근육종 (연조직 육종); 아동 혈관 종양 (연조직 육종); 유잉 육종 (골암); 카포시 육종 (연조직 육종); 골육종 (골암); 연조직 육종; 자궁 육종; 세자리 증후군 (림프종); 피부암; 아동 피부암; 소세포 폐암; 소장암; 연조직 육종; 피부의 편평 세포 암종 - 피부암 참조; 잠복 원발성 편평 경부암, 전이성 (두경부암); 복부 (위)암; 아동 복부 (위)암; t-세포 림프종, 피부 - 림프종 (균상식육종 및 세자리 증후군) 참조; 고환암; 아동 고환암; 인후암 (두경부암); 비인두암; 구강인두암; 하인두암; 흉선종 및 흉선 암종; 갑상선암; 신우 및 요관의 이행 세포 암 (신장 (신장 세포)암); 미지 원발성 암종; 아동 미지 원발성 암; 아동의 특이암; 요관 및 신우, 이행 세포 암 (신장 (신장 세포)암); 요도암; 자궁암, 자궁내막; 자궁 육종; 질암; 아동 질암; 혈관 종양 (연조직 육종); 외음부암; 빌름 종양 및 기타 아동 신장 종양; 또는 젊은 성인의 암을 검출하는 데 사용될 수 있다.

[0219] 일부 경우에, 질환 또는 장애는 심혈관 질환이다. 본원에서 사용되는 바, 용어 "심혈관 질환" (CVD) 또는 "심혈관 장애"는 신체의 심장, 심장 판막, 및 혈관구조 (예컨대, 정맥 및 동맥)에 영향을 미치는 수많은 상태를 분류하기 위해 사용되며, 한정하는 것은 아니지만, 죽상 동맥 경화증, 심근 경색, 급성 관상동맥 증후군, 협심증, 울혈성 심부전, 대동맥류, 대동맥 박리, 장골 또는 대퇴 동맥류, 폐색전증, 심방세동, 뇌졸중, 일과성 허혈 발작, 수축기 기능 장애, 이완기 기능 장애, 심근염, 심방 빈맥, 심실 세동, 심내막염, 말초 혈관 질환 및 관상동맥 질환 (CAD)을 포함한 질환 및 상태를 포함한다. 추가로, 용어 심혈관 질환은 궁극적으로 심혈관 질환, 예컨대, 한정하는 것은 아니지만, 심근 경색, 불안정형 협심증, 동맥류, 뇌졸중, 심장 마비, 비치명적 심근 경색, 뇌졸중, 협심증, 일과성 허혈 발작, 대동맥류, 대동맥 박리, 심근병증, 비정상적인 심장 도관 삽입, 비정상적인 심장 영상, 스텐트 또는 이식편 재혈관화, 비정상적인 스트레스 테스트를 경험할 위험, 비정상적인 심근 관류를 경험할 위험 및 사망을 포함한 돌연 심장사 또는 급성 관상동맥 증후군에 의해 유발된 대상체에서의 불리한 상태의 표현을 나타내는 심혈관 사건 또는 심혈관 합병증을 가지는 대상체를 나타낸다.

[0220] 본원에서 사용되는 바, 심혈관 질환, 예를 들어, 죽상 동맥 경화증을 검출, 진단 또는 예측하는 능력은 심혈관 질환의 전단계에 있는 환자가 초기, 중증 또는 심각한 형태의 심혈관 질환을 발생시켰는지, 또는 하나 이상의 심혈관 사건 또는 심혈관 질환과 관련된 합병증에 걸렸는지를 측정하는 것을 포함할 수 있다.

[0221] 죽상 동맥 경화증 (또한 동맥경화성 혈관 질환 또는 ASVD로도 알려져 있음)은 백혈구를 함유한 동맥 플라크의 침습 및 동맥 벽의 가장 안쪽 층에 축적 및 침착의 결과로서 동맥 벽이 두꺼워져서 동맥의 협착 및 경화를 초래하는 심혈관 질환이다. 동맥 플라크는 대식세포 또는 파편의 축적이며 지질 (콜레스테롤 및 지방산), 칼슘 및 가변적 양의 섬유상 결합 조직을 함유한다. 죽상 동맥 경화증과 관련된 질환으로는, 한정하는 것은 아니지만, 죽상혈전증, 관상동맥 심장 질환, 심부정맥 혈전증, 경동맥 질환, 협심증, 말초동맥 질환, 만성 신장 질환, 급성 관상동맥 증후군, 혈관 협착증, 심근 경색, 동맥류 또는 뇌졸중을 들 수 있다. 한 구체예에서 본 개시의 자동화 장치, 조성물, 및 방법은 한정하는 것은 아니지만, 대상체의 상이한 정도의 협착증을 포함한, 죽상 동맥 경화증의 상이한 단계를 구별할 수 있다.

[0222] 일부 경우에, 질환 또는 장애는 내분비 질환이다. 용어 "내분비 질환"은 대상체의 내분비 시스템의 조절장애와 관련된 장애를 나타내기 위해 사용된다. 내분비 질환은 호르몬 불균형을 유발하는 너무 많거나 너무 적은 내분비 호르몬을 생성하는 선(gland)으로부터 유발하거나, 호르몬 수준에 영향을 미치거나 미치지 않을 수 있는 내분비 시스템의 병변 (예컨대 결절 또는 종양)의 발생으로 인한 것일 수 있다. 치료될 수 있는 적합한 내분비 질환으로는, 한정하는 것은 아니지만, 예컨대, 말단비대증, 애디슨병, 부신암, 부신 장애, 육형성 갑상선암, 쿠싱 증후군, 드퀘르뱅 갑상선염, 당뇨병, 여포성 갑상선암, 임신성 당뇨병, 갑상선종, 그레이브즈병, 성장 장애, 성장 호르몬 결핍증, 하시모토 갑상선염, 휘틀 세포 갑상선암, 고혈당증, 부갑상선 기능항진증, 갑상선 기능항진증, 저혈당증, 부갑상선 기능저하증, 갑상선 기능저하증, 낮은 테스토스테론, 갑상선 수질암, MEN 1, MEN 2A, MEN 2B, 갱년기, 대사 증후군, 비만, 골다공증, 유두 갑상선암, 부갑상선 질환, 갈색세포종, 뇌하수체 장애, 뇌하수체 종양, 다낭성 난소 증후군, 당뇨병전증, 침묵, 갑상선염, 갑상선암, 갑상선 질환, 갑상선 결절, 갑상선염, 터너 증후군, 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 등을 들 수 있다.

[0223] 일부 경우에, 질환 또는 장애는 염증성 질환이다. 본원에서 언급되는 바, 염증성 질환은 대상체 신체의 제어되지 않은 염증에 의해 유발된 질환을 나타낸다. 염증은 병원체, 괴사된 세포 및 조직, 자극제와 같은 외부 또는 내부적일 수 있는 해로운 자극에 대한 대상체의 생물학적 반응이다. 그러나, 염증성 반응이 비정상이 될 때, 그것은 자가 조직 손상을 초래하며 다양한 질환 및 장애로 이어질 수 있다. 염증성 질환으로는, 한정하는 것은 아니지만, 천식, 사구체신염, 염증성 장 질환, 류머티스성 관절염, 과민증, 골반 염증성 질환, 자가면역 질환, 관

절염; 괴사성 장염 (NEC), 위장염, 골반 염증성 질환 (PID), 폐기종, 흉막염, 신우염, 인두염, 협심증, 심상성 여드름, 요로 감염, 맹장염, 활액낭염, 대장염, 방광염, 피부염, 정맥염, 비염, 건염, 편도선염, 혈관염, 자가면역 질환; 체강 질환; 만성 전립선염, 과민증, 재관류 손상; 사르코이드증, 이식 거부, 혈관염, 간질성 방광염, 건초열, 치주염, 죽상 동맥경화증, 건선, 강직성 척추염, 소아 특발성 관절염, 베체트병, 척추관절염, 포도막염, 전신성 홍반성 루푸스, 및 암을 들 수 있다. 예를 들어, 관절염은 류머티스성 관절염, 건선성 관절염, 골관절염 또는 소아 특발성 관절염, 등을 포함한다.

[0224] 질환 또는 장애는 신경계 질환일 수 있다. 신경계 장애 또는 신경계 질환은 상호교환적으로 사용되며 뇌, 척수 및 그것들을 연결시키는 신경의 질환을 나타낸다. 신경계 질환으로는, 한정하는 것은 아니지만, 뇌종양, 간질, 파킨슨병, 알츠하이머병, ALS, 동정맥 기형, 뇌혈관 질환, 뇌 동맥류, 간질, 다발성 경화증, 말초 신경병증, 대상포진후 신경통, 뇌졸중, 전두측두엽 치매, 탈수초성 질환 (한정하는 것은 아니지만, 다발성 경화증, 데빅병 (즉 시신경척수염), 중추 뇌교 골수용해, 진행성 다초점 백질뇌병증, 백혈이영양증, 길랭-바레 증후군, 진행성 염증성 신경병증, 샤르코-마리-투스병, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증, 및 항-MAG 말초 신경병증) 등을 들 수 있다. 신경계 장애로 또한 중추 또는 말초 신경계에 존재하는 숙주 단백질에 대해 반응하여 질환 병리에 기여하는 면역 체계의 적어도 하나의 구성요소가 있는 질환을 포함하는 면역-매개 신경계 장애 (IMND)를 들 수 있다. IMND로는, 한정하는 것은 아니지만, 탈수초 질환, 신생물딸림(paraneoplastic) 신경계 증후군, 면역-매개 뇌척수염, 면역-매개 자율 신경병증, 중증 근무력증, 자가항체-관련 뇌병증, 및 급성 파종성 뇌척수염을 들 수 있다.

[0225] 본 개시의 방법, 시스템, 및/또는 장치는 알츠하이머병이 있거나 없는 환자를 정확하게 구별할 수 있다. 이들은 또한 전-증후군이며 스크리닝 후 몇년 후에 알츠하이머병이 발생할 수 있는 환자를 검출할 수 있다. 이것은 매우 초기 단계의, 심지어 질환이 발생하기 전에 질환을 치료할 수 있는 장점을 제공한다.

[0226] 본 개시의 시스템, 방법, 및 장치는 질환 또는 장애의 전질환 단계를 검출할 수 있다. 전질환 단계는 환자가 어떠한 질환의 신호 또는 증상을 발생시키지 않은 단계이다. 전암 단계는 암 또는 종양 또는 암성 세포가 대상체 내에서 확인되지 않은 단계일 것이다. 전-신경계 질환 단계는 사람이 신경계 질환의 하나 이상의 증상을 나타내지 않은 단계일 것이다. 질환의 하나 이상의 신호 또는 증상이 존재하기 전에 질환을 진단하는 능력은 대상체의 치밀한 모니터링 및 매우 초기 단계에 질환을 치료하는 능력을 허용하여서, 질환의 진행을 멈추거나 중증도를 감소시킬 가능성을 증가시킨다.

[0227] 본 개시의 자동화 장치, 시스템, 센서 어레이, 및 방법은 일부 구체예에서 질환 또는 장애의 초기 단계를 검출할 수 있다. 질환의 초기 단계는 질환의 첫 번째 신호 또는 증상이 대상체 내에서 나타날 수 있는 때를 말할 수 있다. 질환의 초기 단계는 표면적인 신호 또는 증상이 없는 단계일 수 있다. 예를 들어, 알츠하이머병에서 초기 단계는 증상이 검출되지 않는 전알츠하이머 단계일 수 있지만 환자는 수개월 또는 수년 후에 알츠하이머를 나타낼 것이다.

[0228] 전질환 발달에서 또는 초기 상태에서 질환을 확인하는 것은 자주 환자에 대해 양성 결과에 대한 더 높은 가능성으로 이어질 수 있다. 예를 들어, 초기 단계 (0기 또는 1기)에서 암을 진단하는 것은 생존 가능성을 80% 넘게 증가시킬 수 있다. 0기 암은 그것이 근처 조직으로 확산하기 시작하기 전의 암을 설명할 수 있다. 이 단계의 암은 자주, 보통 전체 종양을 수술로 제거함으로써 치료 가능성이 높다. 1기 암은 보통 근처 조직으로 심도있게 성장하지 않았고 림프절 또는 신체의 다른 부분으로 확산되지 않은 작은 암 또는 종양일 수 있다.

[0229] 도 8은 본 개시의 자동화 장치를 사용하여 수행될 수 있는 암 검출 방법의 개략도를 도시한다. 전혈 샘플은 건강한 환자 및 상이한 유형 및 단계의 암을 가진 환자를 포함한, 다양한 환자로부터 수집될 수 있다. 전혈은 혈장 샘플로 분획화된 후, 양전하 입자, 음전하 입자, 및 중성 입자를 포함한 복수 유형의 입자와 접촉될 수 있다. 각각의 입자 유형은 혈장 샘플로부터 상이한 유형의 단백질을 수집하여 각각의 환자가 독특한 생체분자 지문을 가지도록 한다. 생체분자 지문은 각각의 입자 유형 상의 단백질의 상대적인 풍부성뿐만 아니라 입자 유형 전체의 단백질의 상대적인 풍부성을 포함한다. 예를 들어, 제1 입자 유형 상의 피브로넥틴의 풍부성의 증가는 보체 구성요소 4의 풍부성이 제2 입자 유형 상에서 낮을 때에만 관련된 지표일 수 있다. 생체분자 지문은 환자가 암을 가졌는지를 측정할뿐만 아니라, 암의 단계 및 유형을 측정하기 위해서도 사용될 수 있다.

[0230] 일부 구체예에서, 자동화 장치, 시스템, 센서 어레이, 및 방법은 질환의 중간 단계를 검출할 수 있다. 질환의 중간 단계는 첫 번째 징후 및 증상을 지났고 환자가 질환의 하나 이상의 증상을 경험하고 있는 질환의 단계를 설명한다. 예를 들어, 암의 경우, 2기 또는 3기 암은 중간 단계로 여겨지며, 근처 조직으로 보다 심도있게 성장한 더 큰 암 또는 종양을 나타낸다. 일부 경우에, 2기 또는 3기 암은 또한 신체의 다른 부분이 아닌 림프절로

확산될 수 있다.

[0231] 추가로, 자동화 장치, 시스템, 센서 어레이, 및 방법은 후기 또는 진행된 단계의 질환을 검출할 수 있다. 후기 또는 진행된 단계의 질환은 또한 "중증" 또는 "진행된"으로 불릴 수 있고 보통 대상체가 질환의 다중 증상 및 효과로 고생하는 것을 나타낸다. 예를 들어, 중증 단계 암은 4기를 포함하며, 이때에는 암은 다른 장기 또는 부분으로 확산되었고 때때로 진행된 또는 전이성 암으로서 언급된다.

[0232] 본 개시의 방법은 복수의 질환 및/또는 복수의 질환 상태와 관련된 생체분자 지문의 집합에 대해 샘플의 생체분자 지문을 처리하여 샘플이 질환 및/또는 질환 상태를 나타내는지를 측정하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 샘플은 시간 경과에 따라 대상체 집단으로부터 수집될 수 있다. 대상체가 질환 또는 장애를 나타낸 후에는, 본 개시는 질병이 발병하기 전의 동일한 대상체로부터의 샘플의 생체 분자 지문을 질병이 발병한 후 대상체의 생체분자 지문으로 컴퓨터에 의해 분석함으로써 대상체에서 시간 경과에 다라 생체분자 지문의 변화를 특성화하고 검출하는 능력을 허용한다. 샘플은 또한 전부 동일한 질환이 발병한 환자 집단으로부터 취할 수 있어서, 이들 환자에 대해 상이한 단계 (예컨대 전질환으로부터 질환 상태까지)의 질환과 관련된 생체분자 지문의 분석 및 특성화를 허용한다.

[0233] 일부 경우에, 본 개시의 장치, 시스템, 조성물, 및 방법은 상이한 유형의 질환 사이뿐만 아니라, 질환의 상이한 단계 (예컨대 암의 초기 단계) 사이를 구별할 수 있다. 이것은 전질한 상태 대상체로부터 건강한 대상체를 구별하는 것을 포함할 수 있다. 전질환 상태는 0기 또는 1기 암, 신경퇴행성 질환, 치매, 관상 동맥 질환, 신장 질환, 심혈관 질환 (예컨대, 관상동맥 질환), 당뇨병, 또는 간 질환일 수 있다. 상이한 단계의 질환을 구별하는 것은 두 단계 사이의 암 (예컨대, 0기 대비 1기 또는 1기 대비 3기)을 구별하는 것을 포함할 수 있다.

[0234] **샘플**

[0235] 본 개시의 패널은 단백질 코로나로부터 단백체 데이터를 생성하고 계속해서 본원에 기술된 임의의 생물학적 상태와 관련짓는데 사용될 수 있다. 본 개시와 일치하는 샘플로는 대상체로부터의 생물학적 샘플을 들 수 있다. 대상체는 인간 또는 비인간 동물일 수 있다. 생물학적 샘플은 생체유체일 수 있다. 예를 들어, 생체유체는 혈장, 혈청, CSF, 소변, 눈물, 또는 타액일 수 있다. 상기 생물학적 샘플은 복수의 단백질 또는 단백체 데이터를 함유할 수 있고, 그것은 패널의 다양한 센서 요소 (예컨대, 입자) 유형의 표면에 단백질이 흡착되고 계속해서 단백질 코로나가 분해된 후 분석될 수 있다. 단백체 데이터는 핵산, 펩타이드, 또는 단백질을 포함할 수 있다.

[0236] 광범위한 생물학적 샘플이 본 개시의 자동화 장치 내에서 사용하기에 적합하다. 생물학적 샘플은 혈장, 혈청, 소변, 뇌척수액, 활액, 눈물, 타액, 전혈, 우유, 니플 흡입물, 도관 세척물, 질액, 비강액, 귀액, 위액, 췌장액, 섬유주액, 폐 세척액, 땀, 구의액, 정액, 전립선액, 가래, 대변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체, 기관지 흡인물, 유동화된 고체, 미세 바늘 흡인 샘플, 조직 균등물, 림프액, 세포 배양 샘플, 또는 그것들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플은 다중 생물학적 샘플 (예컨대, 다중 대상체로부터 모아진 혈장, 또는 단일 대상체로부터의 다중 조직 샘플)을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플은 단일 공급원으로부터의 생체유체 또는 생체물질의 단일 유형을 포함할 수 있다.

[0237] 생물학적 샘플은 희석되거나 전처리될 수 있다. 생물학적 샘플은 자동화 장치 내에서 사용되기 전에 고갈이 진행될 수 있다 (예컨대, 생물학적 샘플은 혈청을 포함함). 생물학적 샘플은 또한 자동화 장치 내에서 사용되기 전에 물리적 (예컨대, 균등화 또는 초음파처리) 또는 화학적 처리가 진행될 수 있다. 생물학적 샘플은 자동화 장치 내에서 사용되기 전에 희석될 수 있다. 희석 매질은 완충액 또는 염을 포함하거나, 정제수 (예컨대, 증류수)일 수 있다. 생물학적 샘플의 상이한 파티션이 상이한 정도의 희석이 진행될 수 있다. 생물학적 샘플 또는 샘플 파티션은 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 8배, 10배, 12배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 75배, 100배, 200배, 500배, 또는 1000배 희석이 진행될 수 있다.

[0238] 일부 구체예에서, 본 개시의 패널은 센서 요소 상에 형성된 코로나의 분해를 통해 단백체 데이터를 처리함으로써 생물학적 샘플 중의 특정 단백질의 확인 및 측정을 제공한다. 확인되고 측정될 수 있는 단백질의 예로는 고도로 풍부한 단백질, 중간 풍부성의 단백질, 및 저풍부성의 단백질을 들 수 있다. 고도로 풍부한 단백질의 예로는 알부민 및 IgG를 들 수 있다.

[0239] 일부 구체예에서, 측정되고 확인될 수 있는 단백질의 예로는 알부민, 면역글로불린 G (IgG), 리소자임, 암배아 항원 (CEA), 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-2 (HER-2/neu), 방광 종양 항원, 티로글로불린, 알파-피토단백질, 전립선 ㅌ특이 항원 (PSA), 뮤신 16 (CA125), 탄수화물 항원 19-9 (CA19.9), 암종 항원 15-3 (CA15.3), 렙

틴, 프롤락틴, 오스테오폰틴, 인슐린-유사 성장 인자 2 (IGF-II), 4F2 세포-표면 항원 중쇄 (CD98), 패신 (fascin), sPigR, 14-3-3 eta, 트로포닌 I, B-형 나트륨 이뇨 펩타이드, 유방암 1형 감수성 단백질 (BRCA1), c-Myc 원-종양유전자 단백질 (c-Myc), 인터류킨-6 (IL-6), 피브리노겐, 표피 성장 인자 수용체 (EGFR), 가스트린, PH, 과립구 코로니-자극 인자 (G CSF), 데스민, 에놀라제 1 (NSE), 여포 자극 호르몬 (FSH), 혈관 내피 성장 인자 (VEGF), P21, 증식 세포 핵 항원 (PCNA), 칼시토닌, 병인-관련 단백질 (PR), 황체 형성 호르몬 (LH), 소마토스타틴. S100, 인슐린. 알파-프로락틴, 부신피질 자극 호르몬 (ACTH), B 세포 림프종 2 (Bcl 2), 에스트로겐 수용체 알파 (ER 알파), 항원 k (Ki-67), 종양 단백질 (p53), 카텝신 D, 베타 카테닌, 폰 빌리브란트 인자 (VWF), CD15, k-ras, 카스페이스(caspase) 3, ENTH 도메인-함유 단백질 (EPN), CD10, FAS, 유방암 2형 감수성 단백질 (BRCA2), CD30L, CD30, CGA, CRP, 프로트롬빈, CD44, APEX, 트란스페린, GM-CSF, E-캐드헤린, 인터류킨-2 (IL-2), Bax, IFN-감마, 베타-2-MG, 종양 괴사 인자 알파 (TNF 알파), 분화 클러스터 340, 트립신, 사이클린 D1, MG B, XBP-1, HG-1, YKL-40, S-감마, NESP-55, 네트린-1, 제미닌(geminin), GADD45A, CDK-6, CCL21, 유방암 전이 억제자 1 (BrMS1), 17베타HDI, 혈소판-유도 성장 인자 수용체 A (PDGRFA), P300/CBP-관련 인자 (Pcaf), 케모카인 리간드 5 (CCL5), 매트릭스 메탈로프로테이나제-3 (MMP3), 클라우딘-4, 및 클라우딘-3을 들 수 있다.

[0240] **분석 방법**

[0241] 샘플의 단백체 데이터는 많은 상이한 분석 기법을 사용하여 확인되고, 측정되고, 정량화될 수 있다. 예를 들어, 단백체 데이터는 황산 도데실 나트륨 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 (SDS-PAGE) 또는 임의의 젤-기반 분리 기법을 사용하여 분석될 수 있다. 펩타이드 및 단백질은 또한 면역검정, 예컨대 효소-결합 면역흡착 검정 (ELISA)을 사용하여 확인되고, 측정되고, 정량화될 수 있다. 대안으로, 단백체 데이터는 질량 분석, 고성능 액체 크로마토그래피, LC-MS/MS, 및 기타 단백질 분리 기법을 사용하여 확인되고, 측정되고, 정량화될 수 있다.

[0242] 일부 경우에, 생체분자 지문을 측정하는 방법은 적어도 2개의 센서 요소의 생체분자 코로나 시그니처를 검출하고 측정하는 단계를 포함한다. 이 단계는 각각의 센서 요소에 부착된 복수의 생체분자를 분리하고 (예컨대 센서 요소로부터 생체분자 코로나를 분리시킴) 복수의 생체분자를 검정하여 복수의 생체분자 코로나의 조성을 측정하여 생체분자 지문을 측정함으로써 실시될 수 있다. 일부 경우에, 각각의 센서 요소의 각각의 생체분자 코로나 시그니처의 조성이 독립적으로 검정되고, 그 결과가 조합되어 생체분자 지문이 생성된다 (예컨대 각각의 센서 요소는 별도의 채널 또는 구획에 있고 그곳에서 그 특정 센서 요소에 대한 생체분자 코로나의 특정 조성이 별도로 분석될 수 있다 (예컨대 생체분자를 탈착시키고 질량 분석 및/또는 크로마토그래피에 의해 검정함으로써 또는 여전히 센서 요소에 부착된 복수의 생체분자를 형광, 발광 또는 기타 수단에 의해 검출함으로써)). 적어도 2개의 센서 요소가 또한 동일한 파티션에 있을 수 있고 두 센서 요소로부터의 생체분자 코로나를 한 용액으로 분리하고 그 용액을 검정하여 생체분자 시그니처를 측정함으로써 적어도 2개의 센서 요소에 대한 생체분자 코로나의 조성이 동시에 검정된다.

[0243] 생체분자 코로나 시그니처 또는 생체분자 지문을 구성하는 복수의 생체분자를 검정하는 방법으로는, 한정하는 것은 아니지만, 예를 들어, 겔-전기영동, 액체 크로마토그래피, 질량 분석, 핵 자기 공명 분광학 (NMR), 푸리에 변환 적외선 분광학 (FTIR), 원편광 이색성, 라만 분광학, 및 그것들의 조합을 들 수 있다. 일부 경우에, 검정 단계는 분석물 특이적 확인 기법, 예컨대 ELISA, 면역염색, 또는 혼성화에 의한 핵산 포획을 포함한다. 바람직한 구체예에서, 검정 단계는 액체 크로마토그래피, 질량 분석 또는 그것들의 조합을 포함한다.

[0244] 본원에서 개시되는 바, 핵산은 하류 적용을 위한 표준 분자 생물학 기법에 의해 처리될 수 있다. 본원에 개시된 방법 및 조성물의 구체예는 핵산 (폴리뉴클레오타이드) 서열분석에 관한 것이다. 본원에 기술된 일부 방법 및 조성물에서, 표적 핵산의 일부 또는 그것의 단편의 뉴클레오타이드 서열은 다양한 방법 및 장치를 사용하여 측정될 수 있다. 서열분석 방법의 예로는 전기영동, 합성에 의한 서열분석, 결찰에 의한 서열분석, 혼성화에 의한 서열분석, 단일 분자 서열분석, 및 실시간 서열분석 방법을 들 수 있다. 일부 구체예에서, 표적 핵산 또는 그것의 단편의 뉴클레오타이드 서열을 측정하기 위한 과정은 자동화 과정일 수 있다. 일부 구체예에서, 포획 프로브는 주형으로서 핵산 샘플로부터의 폴리뉴클레오타이드를 사용하여 뉴클레오타이드 합성 반응의 프라이밍을 허용하는 프라이머로서 기능할 수 있다. 이런 방식으로, 어레이에 공급된 폴리뉴클레오타이드의 서열에 관한 정보가 얻어질 수 있다. 일부 구체예에서, 어레이 상의 포획 프로브에 혼성화된 폴리뉴클레오타이드는 만약 폴리뉴클레오타이드에 혼성화하는 프라이머가 포획 프로브에 결합되고 서열화 시약이 어레이에 추가로 공급된다면 서열분석 주형으로서 작용할 수 있다. 어레이를 사용하는 서열분석 방법은 기술분야에서 이전에 기술되었다.

[0245] 어레이와 같은 기판 상에서의 서열분석을 포함하는 일부 구체예에서, 쌍을 이룬 단부 판독이 핵산 클러스터에

대해 얻어질 수 있다. 쌍을 이룬 단부 판독을 얻기 위한 방법은 WO/07010252 및 WO/07091077에서 기술되며, 이들 각각은 그 전문이 참조로 본원에 포함된다. 쌍을 이룬 단부 서열분석은 하나의 쌍을 이룬 단부 판독 중에 각각의 클러스터의 전방향 및 역방향 주형 가닥 둘 다를 판독하는 것을 용이하게 해준다. 일반적으로, 주형 클러스터는 가교 증폭에 의해 기판 (예컨대 플로우-셀(flow-cell)) 표면 상에서 증폭될 수 있고 쌍을 이룬 프라이머에 의해 순차적으로 서열분석될 수 있다. 주형 가닥의 증폭시, 가교된 이중 가닥 구조가 생성될 수 있다. 이것은 표면으로부터 각각의 듀플렉스의 가닥 중 하나의 일부를 방출시키기 위해 처리될 수 있다. 단일 가닥 핵산은 서열분석, 프라이머 혼성화 및 프라이머 연장의 사이클에 활용될 수 있다. 제1 서열분석 실시 후, 제1 단일 가닥 주형의 단부는 초기 클러스터 증폭 과정으로부터 남아 있는 고정된 프라이머에 혼성화될 수 있다. 고정된 프라이머는 원래의 이중 가닥 구조를 재합성하기 위하여 혼성화된 제1 단일 가닥을 주형으로서 사용하여 연장될 수 있다. 이중 가닥 구조는 재합성된 가닥을 단일 가닥 형태로 고정되도록 남기기 위해 제1 주형 가닥의 적어도 일부를 제거하기 위해 처리될 수 있다. 재합성된 가닥은 그것의 위치가 단편화 과정으로부터 얻어진 원래의 주형 단편의 반대쪽 단부로부터 기원하는 제2 판독을 측정하기 위해 서열분석될 수 있다.

[0246] 핵산 서열분석은 단일 분자 서열분석 또는 합성에 의한 서열분석일 수 있다. 서열분석은 대규모 병렬 어레이 서열분석 (예컨대, Illumina™ 서열분석)일 수 있고, 그것은 지지체, 예컨대 플로우 셀 상에 고정된 주형 핵산 분자를 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 서열분석은 제1 세대 서열분석 방법, 예컨대 Maxam-Gilbert 또는 Sanger 서열분석, 또는 고처리량 서열분석 (예컨대, 차세대 서열분석 또는 NGS) 방법을 포함할 수 있다. 고처리량 서열분석 방법은 적어도 약 10,000, 100,000, 1백만, 1천만, 1억, 10억개, 또는 더 많은 폴리뉴클레오타이드 분자를 동시에 (또는 실질적으로 동시에) 서열분석할 수 있다. 서열분석 방법으로는, 한정하는 것은 아니지만: 파이로서열분석, 합성에 의한 서열분석, 단일 분자 서열분석, 나노포어 서열분석, 반도체 서열분석, 결찰에 의한 서열분석, 혼성화에 의한 서열분석, 디지털 유전자 발현 (Helicos), 대량 병렬 서열분석, 예컨대, Helicos, 클론 단일 분자 어레이 (Clonal Single Molecule Array, Solexa/Illumina), PacBio, SOLiD, Ion Torrent, 또는 나노포어 플랫폼을 사용하는 서열분석을 들 수 있다.

[0247] 센서 요소는 제1 구성요소 및 중합체 형광단 또는 제1 구성요소에 화학적으로 보완하는 다른 퀀처(quencher) 구성요소와의 합성체를 포함할 수 있고, 그러한 합성체는 초기 배경 또는 참조 형광을 가진다. 제1 구성요소가 생체분자 (예컨대, 생체분자 코로나의 형성시)와 접촉하게 되면, 그것은 형광단의 퀀칭에 영향을 미칠 수 있고 형광의 이런 변화가 측정될 수 있다. 센서가 조사되거나 및/또는 레이저로 여기된 후에, 각각의 센서 요소에 대한 효과 및/또는 형광의 변화는 측정될 수 있고 배경 형광에 대해 비교되거나 처리되어 생체분자 지문이 생성될 수 있다.

[0248] **컴퓨터 시스템**

[0249] 본 개시는 개시의 방법을 실행하기 위해 프로그래밍된 컴퓨터 제어 시스템을 제공한다. 이런 측정, 분석 또는 통계적 분류는, 한정하는 것은 아니지만, 예를 들어, 광범위한 감독 및 비감독 데이터 분석 및 다른 것들 중에서도, 계층적 클러스터 분석 (HCA), 원칙적 구성요소 분석 (PCA), 부분 최소 제곱 판별 분석 (PLSDA), 기계 학습 (또한 랜덤 포레스트로도 알려져 있음), 로지스틱 회귀, 결정 나무, 지원 벡터 머신 (SVM), k-최근접 이웃, 나이브 베이즈, 선형 회귀, 다항식 회귀, 회귀를 위한 SVM, K-평균 클러스터링, 및 히든 마르코프(Markov) 모델과 같은 클러스터링 접근법을 포함한, 기술분야에 알려져 있는 방법에 의해 실시된다. 컴퓨터 시스템은 본 개시의 단백질 세트 또는 단백질 코로나를 분석하는 다양한 측면, 예컨대, 예를 들어, 생물학적 상태와 관련된 단백질 세트를 측정하기 위하여 개별 생체분자 코로나 사이에 어떤 패턴이 공통적인지를 통계학적 유의성으로 측정하기 위하여 여러 샘플의 생체분자 코로나를 비교/분석하는 것을 수행할 수 있다. 컴퓨터 시스템은 상이한 단백질 세트 또는 단백질 코로나 (예컨대, 단백질 코로나의 조성에 특징적인)를 검출 및 판별하기 위한 분류기를 개발하기 위해 사용될 수 있다. 현재 개시된 센서 어레이로부터 수집된 데이터는 기계 학습 알고리즘, 특히 환자로부터의 어레이 측정을 수용하여 각각의 환자로부터의 특정 생체분자 코로나 조성을 출력하는 알고리즘을 훈련하기 위해 사용될 수 있다. 알고리즘을 훈련하기 전에, 어레이로부터의 미가공 데이터는 먼저 개별 변수의 가변성을 감소시키기 위해 제거될 수 있다.

[0250] 기계 학습은 학습 데이터 세트를 경험한 후에 새로운, 보이지 않는 예/과제에 대해 정확하게 수행하는 학습 기계의 능력으로서 일반화될 수 있다. 기계 학습은 다음의 개념 및 방법을 포함할 수 있다. 감독 학습 개념으로는 AODE; 인공 신경망, 예컨대 역전파(Backpropagation), 자동 인코더(Autoencoders), 홉필드 네트워크(Hopfield networks), 볼츠만 머신(Boltzmann machines), 제한된 볼츠만 머신, 및 스파이크 신경망(Spiking neural networks); 베이지안 통계(Bayesian statistics), 예컨대 베이지안 네트워크 및 베이지안 지식 베이스; 사례-기

반 추론; 유전자 발현 프로그래밍; 데이터 처리의 그룹 방법 (GMDH); 유도 논리 프로그래밍; 인스턴스-기반 학습; 게으른 학습(Lazy learning);

[0251] 학습 오토마타(Learning Automata); 학습 벡터 양자화(Learning Vector Quantization); 논리 모델 나무; 최소 메시지 길이 (결정 나무, 결정 그래프, 등), 예컨대 최근접 이웃 알고리즘 및 유추 모델링; 아마도 대략적으로 정확한 학습 (PAC) 학습; 리플 다운 규칙, 지식 획득 방법; 상징적 기계 학습 알고리즘; 지원 벡터 머신; 랜덤 포레스트; 분류기 앙상블, 예컨대 부트스트랩 집계 (배깅) 및 부스팅 (메타 알고리즘); 서수 분류; 정보 퍼지 네트워크 (IFN); 조건부 랜덤 필드; ANOVA; 선형 분류기, 예컨대 피셔 선형 판별기, 선형 회귀, 로지스틱 회귀, 다항식 로지스틱 회귀, 나이브 베이즈 분류기, 퍼셉트론(Perceptron), 지원 벡터 머신; 2차 분류기; k-최근접 이웃; 부스팅; 결정 나무, 예컨대 C4.5, 랜덤 포레스트, ID3, CART, SLIQ SPRINT; 베이지안 네트워크, 예컨대 나이브 베이즈; 및 히든 마르코프 모델을 들 수 있다. 비감독 학습 개념으로는 기대치-최대화 알고리즘; 벡터 양자화; 생성 지형도; 정보 병목현상 방법; 인공 신경망, 예컨대 자기 조직화 지도; 연관 규칙 학습, 예컨대 아프리오리 알고리즘, Eclat 알고리즘, 및 FPgrowth 알고리즘; 계층적 클러스터링, 예컨대 단일 연결 클러스터링 및 개념적 클러스터링; 클러스터 분석, 예컨대, K-평균 알고리즘, 퍼지 클러스터링, DBSCAN, 및 OPTICS 알고리즘; 및 이상치 탐지(Outlier Detection), 예컨대 국소 이상치 요인을 예로 들 수 있다. 반감독 학습 개념으로는 생성 모델; 저밀도 분리; 그래프-기반 방법; 및 공동 훈련을 들 수 있다.

[0252] 강화 학습 개념으로는 시차 학습; Q-러닝; 학습 오토마타; 및 SARSA를 들 수 있다. 심층 학습 개념으로는 심층 믿음 네트워크; 심층 볼츠만 기계; 심층 컨볼루션 신경망; 심층 순환 신경망; 및 계층적 시간 기억을 들 수 있다. 컴퓨터 시스템은 본원에 기술된 방법을 실행하기 위해 적응될 수 있다. 시스템은 본원에 기술된 방법을 실행하도록 프로그래밍된 중앙 컴퓨터 서버를 포함한다. 서버는 단일 코어 프로세서, 다중 코어 프로세서, 또는 병렬 프로세싱을 위한 복수의 프로세서일 수 있는 중앙 처리 장치 (CPU, 또한 "프로세서")를 포함한다. 서버는 또한 메모리 (예컨대, 랜덤 액세스 메모리, 판독-전용 메모리, 플래시 메모리); 전자 저장 장치 (예컨대 하드 디스크); 하나 이상의 다른 시스템과 통신하기 위한 통신 인터페이스 (예컨대, 네트워크 어댑터); 및 캐시, 다른 메모리, 데이터 저장, 및/또는 전자 디스플레이 어댑터를 포함할 수 있는 주변 장치를 포함한다. 메모리, 저장 장치, 인터페이스, 및 주변 장치는 통신 버스 (실선), 예컨대 마더보드를 통해 프로세서와 통신된다. 저장 장치는 데이터를 저장하기 위한 데이터 저장 장치일 수 있다. 서버는 통신 인터페이스의 도움을 받아 컴퓨터 네트워크 ("네트워크")에 작동 가능하게 연결된다. 네트워크는 인터넷, 인트라넷 및/또는 엑스트라넷, 인터넷과 통신되는 인트라넷 및/또는 엑스트라넷, 전기통신 또는 데이터 네트워크일 수 있다. 일부 경우에 네트워크는, 서버의 도움으로, 피어 투 피어 네트워크(peer-to-peer network)를 실행할 수 있고, 이것은 서버에 연결된 장치가 클라이언트 또는 서버로서 작동하게 할 수 있다.

[0253] 저장 장치는 파일, 예컨대 대상체 보고서, 및/또는 개체에 관한 데이터와의 커뮤니케이션, 또는 본 개시와 관련된 데이터의 임의의 측면을 저장할 수 있다.

[0254] 컴퓨터 서버는 네트워크를 통해 하나 이상의 원격 컴퓨터 시스템과 통신할 수 있다. 하나 이상의 원격 컴퓨터 시스템은, 예를 들어, 개인용 컴퓨터, 휴대용 컴퓨터, 태블릿, 전화기, 스마트폰, 또는 개인용 디지털 보조기일 수 있다.

[0255] 일부 적용에서 컴퓨터 시스템은 단일 서버를 포함한다. 다른 상황에서, 시스템은 인트라넷, 엑스트라넷 및/또는 인터넷을 통해 서로 소통하는 다중 서버를 포함한다.

[0256] 서버는 본원에 제공된 측정 데이터 또는 데이터베이스, 대상체로부터의 환자 정보, 예컨대, 예를 들어, 병력, 가족력, 인구통계학적 데이터 및/또는 특정 적용에 잠재적으로 관련된 기타 임상 또는 개인 정보를 저장하기 위해 적응될 수 있다. 그러한 정보는 저장 장치 또는 서버에 저장될 수 있고 그러한 데이터는 네트워크를 통해 전송될 수 있다.

[0257] 본원에 기술된 방법은 서버의 전자 저장 위치 상에, 예컨대, 예를 들어 메모리, 또는 전자 저장 장치 상에 저장된 기계 (또는 컴퓨터 프로세서) 실행 가능 코드 (또는 소프트웨어)에 의해 실행될 수 있다. 사용 중에, 코드는 프로세서에 의해 실행될 수 있다. 일부 경우에, 코드는 저장 장치로부터 회수되어 프로세서에 의한 준비 액세스를 위해 메모리 상에 저장될 수 있다. 일부 상황에서, 전자 저장 장치가 배제될 수 있고, 기계 실행 가능 지시는 메모리 상에 저장된다.

[0258] 대안으로, 코드는 제2 컴퓨터 시스템 상에서 실행될 수 있다.

[0259] 본원에 기술된 시스템 및 방법의 측면, 예컨대 서버는 프로그래밍에서 구현될 수 있다. 다양한 측면의 기술이

전형적으로 기계 (또는 프로세서) 실행 가능 코드 및/또는 기계 판독 가능한 매체의 형태로 포함되거나 구현되는 관련 데이터의 형태의 "생성물" 또는 "제조 물품"으로서 여겨질 수 있다. 기계-실행 가능 코드는 전자 저장 장치, 예컨대 메모리 (예컨대, 판독-전용 메모리, 무작위 액세스 메모리, 플래시 메모리) 또는 하드 디스크 상에 저장될 수 있다. "저장"형 매체로는 컴퓨터의 임의의 또는 모든 유형 메모리, 프로세서 등, 또는 그것과 관련된 모듈, 예컨대 다양한 반도체 메모리, 테이프 드라이브, 디스크 드라이브 등을 들 수 있고, 그것들은 소프트웨어 프로그래밍을 위해 언제든지 비-일시적 저장을 제공할 수 있다. 모든 또는 일부의 소프트웨어는 때때로 인터넷 또는 다양한 다른 전기통신 네트워크를 통해 통신될 수 있다. 그러한 통신은, 예를 들어, 한 컴퓨터 또는 프로세서로부터 또 다른 것으로, 예를 들어, 관리 서버 또는 호스트 컴퓨터로부터 응용 서버의 컴퓨터 플랫폼으로 소프트웨어의 로딩을 가능하게 할 수 있다. 그러므로, 소프트웨어 요소를 포함할 수 있는 또 다른 유형의 매체로는, 예컨대 유선 및 광학 유선 네트워크를 통해 및 다양한 공중 링크 상의 로컬 장치 사이의 물리적 인터페이스를 가로질러 사용된 광학, 전기, 및 전자기파를 들 수 있다. 그러한 파동, 예컨대 유선 또는 무선 등, 광학 링크, 등을 전달하는 물리적 요소는 또한 소프트웨어를 포함하는 매체로서 여겨질 수 있다. 본원에서 사용되는 바, 비-일시적, 유형의 "저장" 매체로 제한되지 않는 한, 컴퓨터 또는 기계 "판독 가능한 매체"와 같은 용어는 실행을 위해 프로세서에 지시를 제공하는데 참여하는 임의의 매체를 나타낼 수 있다.

[0260] 본원에 기술된 컴퓨터 시스템은 본원에 기술된 임의의 알고리즘 또는 알고리즘-기반 방법을 수행하기 위한 컴퓨터-실행 가능 코드를 포함할 수 있다. 일부 적용에서 본원에 기술된 알고리즘은 적어도 하나의 데이터베이스로 구성되는 메모리를 사용할 것이다.

[0261] 본 개시와 관련된 데이터는 수신자에 의한 수신 및/또는 검토를 위해 네트워크 또는 연결을 통해 전송될 수 있다. 수신자는 한정하는 것은 아니지만 보고서와 관련된 대상체; 또는 그것의 간병인, 예컨대, 건강 관리 제공자, 매니저, 다른 건강 관리 전문가, 또는 다른 돌봄 제공자; 분석을 수행하거나 및/또는 지시하는 사람 또는 실체일 수 있다. 수신자는 또한 그러한 보고서를 저장하기 위한 로컬 또는 원격 시스템 (예컨대 "클라우드 컴퓨팅" 아키텍처의 서버 또는 다른 시스템)일 수 있다. 한 구체예에서, 컴퓨터-판독 가능 매체는 본원에 기술된 방법을 사용하여 생물학적 샘플의 분석 결과의 전송에 적합한 매체를 포함한다.

[0262] 본원에 제공된 시스템 및 방법의 측면은 프로그래밍에서 구현될 수 있다. 다양한 측면의 기술이 전형적으로 기계 (또는 프로세서) 실행 가능 코드 및/또는 기계 판독 가능한 매체의 형태로 포함되거나 구현되는 관련 데이터의 형태의 "생성물" 또는 "제조 물품"으로서 여겨질 수 있다. 기계-실행 가능 코드는 전자 저장 장치, 예컨대 메모리 (예컨대, 판독-전용 메모리, 무작위 액세스 메모리, 플래시 메모리) 또는 하드 디스크 상에 저장될 수 있다. "저장"형 매체로는 컴퓨터의 임의의 또는 모든 유형 메모리, 프로세서 등, 또는 그것과 관련된 모듈, 예컨대 다양한 반도체 메모리, 테이프 드라이브, 디스크 드라이브 등을 들 수 있고, 그것들은 소프트웨어 프로그래밍을 위해 언제든지 비-일시적 저장을 제공할 수 있다. 모든 또는 일부의 소프트웨어는 때때로 인터넷 또는 다양한 다른 전기통신 네트워크를 통해 통신될 수 있다. 그러한 통신은, 예를 들어, 한 컴퓨터 또는 프로세서로부터 또 다른 것으로, 예를 들어, 관리 서버 또는 호스트 컴퓨터로부터 응용 서버의 컴퓨터 플랫폼으로 소프트웨어의 로딩을 가능하게 할 수 있다. 그러므로, 소프트웨어 요소를 포함할 수 있는 또 다른 유형의 매체로는, 예컨대 유선 및 광학 유선 네트워크를 통해 및 다양한 공중 링크 상의 로컬 장치 사이의 물리적 인터페이스를 가로질러 사용된 광학, 전기, 및 전자기파를 들 수 있다. 그러한 파동, 예컨대 유선 또는 무선 등, 광학 링크 등을 전달하는 물리적 요소는 또한 소프트웨어를 포함하는 매체로서 여겨질 수 있다. 본원에서 사용되는 바, 비-일시적, 유형의 "저장" 매체로 제한되지 않는 한, 컴퓨터 또는 기계 "판독 가능한 매체"와 같은 용어는 실행을 위해 프로세서에 지시를 제공하는데 참여하는 임의의 매체를 나타낸다.

[0263] 그러므로, 기계 판독 가능한 매체, 예컨대 컴퓨터-실행 가능 코드는, 한정하는 것은 아니지만, 유형의 저장 매체, 반송파 매체 또는 물리적 전송 매체를 포함한, 많은 형태를 취할 수 있다. 비휘발성 저장 매체로는, 예를 들어, 광학 또는 자성 디스크, 예컨대 도면에서 도시된 데이터베이스를 실행하기 위해 사용될 수 있는 예컨대 임의의 컴퓨터(들)의 임의의 저장 장치 등을 들 수 있다. 휘발성 저장 매체로는 동적 메모리, 예컨대 그러한 컴퓨터 플랫폼의 메인 메모리를 들 수 있다. 유형 전송 매체로는 동축 케이블; 컴퓨터 시스템 내에서 버스를 포함하는 와이어를 포함한, 구리 와이어 및 광섬유를 들 수 있다. 반송파 전송 매체는 무선 주파수 (RF) 및 적외선 (IR) 데이터 통신 중에 생성되는 것들과 같은 전기 또는 전자기 신호, 또는 음향 또는 광파의 형태를 취할 수 있다. 그러므로 컴퓨터-판독 가능한 매체의 일반적인 형태로는 예를 들어: 플러피 디스크, 가요성 디스크, 하드 디스크, 자성 테이프, 임의의 다른 자성 매체, CD-ROM, DVD 또는 DVD-ROM, 임의의 다른 광학 매체, 펀치 카드 페이퍼 테이프, 구멍 패턴을 가진 임의의 다른 물리적 저장 매체, RAM, ROM, PROM 및 EPROM, FLASH-EPROM, 임의의 다른 메모리 칩 또는 카트리지, 데이터 또는 지시를 전송하는 반송파, 그러한 반송파를 전송하는 케이블

또는 링크, 또는 컴퓨터가 프로그래밍 코드 및/또는 데이터를 판독할 수 있는 임의의 다른 매체를 들 수있다. 이들 형태의 컴퓨터 판독 가능한 매체 중 많은 것이 실행을 위해 프로세서에 하나 이상의 시퀀스의 하나 이상의 지시를 반송하는 데 관여할 수 있다.

[0264] **실시예**

[0265] 다음의 실시예는 본 개시의 일부 측면을 추가로 설명하기 위해 포함되며 개시의 범주를 제한하기 위해 사용되지 않아야 한다.

[0266] **실시예 1: 전체 재현탁으로 자성 나노입자 및 생체유체를 가진 단백질 코로나의 형성**

[0267] 이 예시 과정을 나노입자의 전체 재현탁으로 자성 나노입자의 패널을 사용하여 생체유체 샘플에서 수동으로 단백질 코로나를 생성하기 위해 적용한다. 본 개시의 시스템 및 방법은 본원에 기술된 과정을 적용할 수 있다.

[0268] ***물질***:

[0269] 단백질 코로나를 생성하는 데 사용한 물질을 **표 2**에 제시한다.

표 2

[0270] **단백질 코로나를 생성하는 데 사용한 장비 및 시약**

장비 및 시약	공급처	부품 번호 또는 모델 번호
시약 등급 물	TEKNOVA	W1210 또는 동등물
시약 등급 물	Corning	46-002-LF 또는 동등물
마이크로플레이트 F자형 바닥	Greiner	655901
알루미늄 접착 플레이트 실러	VWR	29445-080 또는 동등물
마이크로플레이트 쉐이커	VWR	12620-926 또는 동등물
볼텍서	VWR	33570 또는 동등물
분석 저울	Mettler Toledo	XP205
단일 채널 피펫 (100-1000 µL)	Rainin	L-1000 또는 동등물
단일 채널 피펫(20-200 µL)	Rainin	L-200 또는 동등물
다중 채널 피펫 (100-1200 µL)	Rainin	E12-1200 또는 동등물
피펫 팁 (1000 µL)	Rainin	GPS-L1000 또는 동등물
피펫 팁 (20-200 µL)	Rainin	GPS-L250 또는 동등물
50 mL 시약 저장고	VWR	82026-355 또는 동등물
1x TE pH7.4	Quality Biological	351-010-131
CHAPS	Fisher	BP571-5
염화 칼륨 (KCl)	J.T. Baker	4001-01
Corning 1 L 병	Corning	430518
Nalgene 급속 흐름 1000 mL 0.1 µm 또는 0.2 µm 필터 세트	Nalgene	567-0010 또는 567-0020

[0271] ***보관 및 처리***:

[0272] 다음의 시약을 **표 3**에서 제시한 것과 같이 실온에서 보관하였다.

표 3

[0273] **실온에서 보관한 시약**

시약	공급처	부품 번호
1x TE pH 7.4	Quality Biological	351-010-131
CHAPS	Fisher	BP571-5
염화 칼륨 (KCl)	J.T. Baker	4001-01
시약 등급 물	TEKNOVA	W1210
시약 등급 물	Corning	46-002-LF
TE 150 mM KCl 0.05% CHAPS	Seer Inc.	SOP003

[0274] 다음의 시약을 **표 4**에서 제시한 것과 같이 약 2-8℃에서 보관하였다.

표 4

[0275] **2-8℃에서 보관한 시약**

시약	공급처	부품 번호
TE 150 mM KCl 0.05% CHAPS	Seer Inc.	SOP003

[0276] ***준비***:

[0277] 생체유체 샘플을 냉동고에서 꺼내어 완전히 해동시켰다. 나노입자를 사용 전 약 10분 전에 초음파처리하고 볼텍싱하였다. TE 150 mM KCl 0.05% CHAPS 완충액을 검정을 시작하기 전에 제조하였다.

[0278] *TE 150 mM KCl 0.05% CHAPS 완충액 제조*. 11.18 g의 염화 칼륨 및 500 mg의 CHAPS를 Corning 1 L 병에 첨가하였다. 998.3 g의 1X TE pH 7.4 완충액을 첨가하였다. 하우스 진공을 사용하여, 완충액을 0.1 μm 또는 0.2 μm 1000 mL 필터 세트로 여과하였다. 완충액을 실온에서 (약 1시간 동안) 또는 2-8℃에서 (1개월 이상 동안) 보관할 수 있다. 완충액을 사용 전에 잘 혼합하였다.

[0279] *나노입자 제조*. 나노입자 (수성)를 적절한 지정 농도로 시약 등급 물에 희석하였다. 건식 분말 나노입자의 경우, 건식 분말 나노입자를 필요한 농도를 만들기 위해 적절한 부피의 물을 첨가하기 전에 축척대로 측정하였다.

[0280] *샘플 제조*. 샘플을 냉동고에서 꺼내었다. 샘플을 완전히 해동하고, 샘플을 16,000 G에서 약 2분 동안 원심분리하였다. 샘플을 TE 150 mM KCl 0.05% CHAPS 완충액 (1:5)으로 희석하거나 그 상태로 유지하였다.

[0281] **도 9**는 본 개시와 일치하는 샘플 제조 방법을 도시한다. 이 방법은 생물학적 샘플로부터 생체분자의 하위세트를 생성하고 그런 후 생체분자 지문을 생성하기 위해 생체분자의 하위세트를 사용하는 4개 단계를 포함한다. 제1 단계는 혈장 샘플을 복수의 센서 요소 (예컨대, 자성 나노입자)를 포함하는 복수의 파티션 (예컨대, 웰 플레이트 내의 웰)에 전달하는 것을 포함한다. 샘플을 파티션 내에서 1시간 동안 37℃에서 흔들어주면서 인큐베이션함으로써, 센서 요소 상에 생체분자 코로나를 생성하였다. 복수의 파티션을 그런 후 복수의 파티션 내에서 센서 요소를 고정시키기에 충분히 강력한 자기장에 적용하였다. 그런 후 복수의 파티션에 3회의 세척 (예컨대, 재현탁 완충액의 순차적인 첨가 및 제거)을 적용하여 센서 요소에 흡착하지 않은 생체분자를 제거하였다. 세 번째 세척 후, 입자를 완충액에 재현탁하여, 생체분자 코로나로부터 생체분자 하위세트가 탈착되도록 하였다. 그런 후 생체분자의 하위세트에 95℃로의 가열, 환원 및 알킬환, 프로테아제 분해, 및 추가 세척을 포함하는, 변성 및 화학적 처리 단계 세트를 적용하였다. 그런 후 생체분자의 하위세트를 질량 분석적 분석을 하여, 샘플에 대한 생체분자 지문을 생성한다.

[0282] ***과정***:

[0283] 시약 및 장비를 이전 단락에서 기술한 것과 같이 준비하였다 ("준비" 참조). 100 μL의 희석된 나노입자를 다중채널 피펫을 사용하여 각 웰에 로딩하였다. 나노입자 웰당 100 μL의 희석된 샘플을 피펫을 사용하여 첨가하였다. 웰을 피펫으로 약 10회 흡인함으로써 혼합하였다. 플레이트를 접착 플레이트 실러로 덮고 약 1시간 동안 37℃에서 300 rpm으로 설정한 플레이트 쉐이커 상에서 인큐베이션하였다. 약 1시간 인큐베이션 후, 접착 플레이트 실러를 제거하고, 플레이트를 자석 위에 약 5분 동안 두어 웰 바닥에 나노입자 코로나 펠릿을 형성시켰다. 세척을 위해, 상층액을 다중채널 피펫으로 제거하였다. 약 200 μL의 TE 150 mM KCl 0.05% CHAPS 완충액을 피펫을 사용하여 첨가하고 나노입자를 완전히 재현탁하였다. 용액을 다시 자석 위에 약 5분 동안 두었다. 세척 단계를 3회 반복하였다. 나노입자 펠릿을 BCA, 젤 또는 트립신 분해에 적절한 시약에 재현탁하였다.

[0284] **실시예 2: 트립신 금 분해**

[0285] ***물질***:

[0286] 트립신 금 분해에 사용한 물질을 **표 5**에 제시한다.

표 5

[0287] **트립신 금 분해에 사용한 시약**

시약	공급처	부품 번호
Seppro 중탄산 암모늄	Sigma	52454-200mL
우레아	Fisher	BP169-500
DL-다이티오트레이톨 (DTT)	Sigma	4381-5G
요오도아세트아미드 (IAA)	GBiosciences	786-078
트립신 금	Promega	V5280
아세트산	VWR	BDH3096-2.5LPC

[0288] ***준비***:

[0289] *50 mM ABC (중탄산 암모늄)*. 0.25 ml의 2 M ABC를 9.75 ml의 물에 첨가하여 10 ml의 50 mM ABC를 만들었다. 용액을 볼텍싱하고 최대 1주일 동안 4℃에서 보관하였다.

[0290] *8 M 우레아*. 4.8 g의 우레아의 무게를 측정하고 50 mM의 ABC를 약 10 mL 표시에 가깝게 될 때까지 첨가하였다. 용액을 볼텍싱하고 37℃ 인큐베이터에서 가끔식 휘저어 용해를 도왔다. 50 mM ABC를 10 mL 표시까지 첨가하고 볼텍싱하였다.

[0291] *200 mM DTT*. 0.031 g의 DTT를 무게를 측정하고 1 mL 50 mM ABC를 첨가하였다. 용액을 볼텍싱하고 빛을 차단하여 4℃에서 보관하였다.

[0292] *200 mM IAA*. 400 uL의 50 mM ABC를 0.015 g의 사전 측정된 IAA에 첨가하였다. 용액을 볼텍싱하고 4℃에서 보관하였다. 용액을 사용 직전에 만들었다.

[0293] *트립신 금 재구성*. 용액을 제조 PI 지시대로 제조하였다. 100 uL의 50 mM 아세트산을 100 ug의 트립신에 첨가하고, 볼텍싱하였다. 최종 농도는 1 ug/uL 트립신이었다.

[0294] **샘플/트립신 제조**

[0295] 40 uL의 8 M 우레아를 각 샘플에 첨가하였다. 용액을 볼텍싱하고 약 1분 동안 초음파 처리하였다.

[0296] 2 uL의 200 mM DTT를 각 샘플에 첨가하고, 볼텍싱하였다. 용액을 실온에서 약 30분 동안 어두운 곳에서 인큐베이션하였다. 8 uL의 200 mM IAA를 각 샘플에 첨가하고 볼텍싱하였다. 용액을 실온에서 약 30분 동안 어두운 곳에서 인큐베이션하였다. 8 uL의 200 mM DTT를 각 샘플에 첨가하고, 볼텍싱하였다. 용액을 실온에서 약 30분 동안 어두운 곳에서 인큐베이션하였다. 첨가된 우레아가 2 M 미만이 되도록 50 mM ABC를 첨가하였다. 110 uL의 50 mM ABC를 58 uL의 샘플에 첨가하였다. 적절한 양의 트립신을 샘플에 첨가하였다. 3 uL의 재구성된 트립신을 각 튜브에 첨가하였다. 단백질:트립신의 비율 = 약 30 ug 단백질:1 ug 트립신. 용액을 37℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 17 uL의 10% FA를 첨가하여 분해를 중단시켰다.

[0297] **실시예 3: NSCLC 샘플 및 건강한 대조군의 단백체 분석**

[0298] 이 실시예는 NSCLC 샘플 및 건강한 대조군의 단백체 분석을 기술한다. 코로나 분석 플랫폼의 활용성을 입증하기 위하여, 플랫폼의 능력을 단일 입자 유형, 폴리(N-(3-(다이메틸아미노)프로필) 메타크릴아미드) (PDMAPMA)-코팅된 SPION, 및 56명의 대상체 (4기 NSCLC를 가진 28명 및 28명의 나이- 및 성별-매칭된 대조군)로부터의 혈청 샘플을 사용하여 평가하여 그룹간 차이를 관찰하였다. 선택된 대상체 샘플은 그룹간에 상이한 잠재적 MS 특징을 확인하기 위하여 합리적으로 균형잡인 연구를 나타냈다. 질환 상태 및 동반 질환을 포함한 대상체 주석에 대한 전체 데이터를 표 5에 정리한다.

【표 5】

혈청 샘플을 얻은 환자에 대한 성별 및 연령 정보.

부류	성별	연령 평균(표준 편차)	수
건강한 (대조군)	여성	71.1(7.7)	19
	남성	72.4(11.1)	9
비 소세포 폐암 (질환)	여성	70.7(7.5)	19
	남성	75.6(13.6)	9

[0299]

[0300] MS1 특징의 수집 및 여과와 이어서 그것들의 강도의 log2 변환 후에, 데이터세트를 부류와 관계없이 중앙 규모로 조정하였다. **도 11**은 전부 56개의 대상체 데이터세트에 대한 표준화된 강도 분포를 보여준다. NSCLC 대비 대조군 연구로부터의 전부 56개의 샘플 MS 미가공 데이터 파일을 OpenMS 파이프라인 스크립트에 의해 처리하여 MS1 특징 및 그것의 강도를 추출하고 그것들을 명시된 허용도 내에서 중복하는 mz 및 RT 값을 토대로 특징 그룹으로 모았다. 1) 적어도 하나의 비교 팔로부터 그룹의 특징이 적어도 50% 존재하며 2) 특징 그룹 클러스터 품질이 25번 째 백분위수 이상에 있는 특징 그룹만을 유지하였다. 유지된 특징은 부류와 관계 없이 중앙값으로 표준화하였고 후속 단일변량 분석 비교에 사용하였다. 분포 검사에 의해 이상치는 없었고 모든 데이터세트를 단일변량 분석을 위해 유지하였다.

[0301] 검사에 의해 어떠한 이상치 데이터세트로 나타나는 것은 없었다. 부류간 특징 그룹 강도의 단일변량 비교를 비-매개변수, 윌콕슨 테스트 (양측)로 수행하였다. 비교에 대해 결과적으로 얻어진 p-값을 Benjamini-Hochberg 방법을 사용하여 다중 시험에 대해 교정하였다. 0.05의 조정된 p-값 컷오프를 사용하여, **도 12**에 요약한 것과 같이 총 7개의 특징 그룹이 통계적 유의성을 입증하였다.

[0302] NSCLC-질환 및 대조군 그룹 사이에서 차등적으로 풍부한 것으로 확인된 단백질 중 전부 5개가 실제로 NSCLC 자체가 아니라면 이전에 암에 연루되었다. PON1, 또는 파라옥사나제-1은 위험 인자로서 상대적으로 공통된 미소한 대립유전자 변이체 (Q192R)의 포함을 포함하여 폐암에서 복잡한 패턴을 가진다. 단백질 수준에서, PON1은 폐 선암종에서 적당하게 감소된다. SAA1은 MS-관련 연구에서 NSCLC에서 과다발현되는 것으로 나타난 급성 단계 단백질이며, 확인된 펩타이드는 질환에 걸린 대상체에서 5.4배로 증가한 것으로 나타났다. 매트리솜(matrisome) 인자 테나신 C (TENA)는 정상 조직과 비교하여 원발성 폐 종양 및 관련된 림프절 전이에서 증가된 것으로 나타났고, 관련된 MS 특징은 이 연구에서 2배까지 증가된 것으로 나타났다. 신경 세포 접착 분자 1 (NCAM1)은 폐 신경내분비 종양을 진단하기 위한 마커로서 작용한다. FIBA 펩타이드를 폐암의 진행성 진행과 상관이 있는 증가된 수준으로 MS 분석에 의해 확인하였다. 특히 2개의 미지의 특징, 그룹2 및 그룹7이 주지되며, 그것들은 대조군과 질환에 걸린 대상체 사이에 차이를 보인다. 그룹2는 56명 대상체 중 54명에게서 발견되었고 질환에 걸린 대상체에서 적당히 33% 감소를 보였다. 대조적으로, 그룹7은 질환에 걸린 대상체 (부류의 28명 구성원 중 14명)에서만 발견되었다. 이들 결과는 상이한 질환 상태에 대한 알려진 및 미지의 마커를 확인하는 것을 보조하는 입자 코로나에 대한 잠재적 활용성을 입증하였다.

[0303] **실시예 4: 단백질 코로나 분석을 사용하는 혈장의 동적 범위 압축**

[0304] 이 실시예는 혈장 샘플로부터 단백질을 수집하기 위하여 입자를 사용하는 동적 범위 압축을 설명한다.

[0305] 측정된 동적 범위를 압축하는 입자의 능력을 평가하기 위하여, 측정되고 확인된 단백질 특징 강도를 동일한 단백질의 농도에 대한 공개된 값과 비교하였다. 먼저, 각 단백질에 대해 결과적으로 얻어진 펩타이드 특징을 단백질에 대한 모든 가능한 특징의 최대 MS-측정된 강도로 선택한 후 (단일동위원소 피크 값을 추출하기 위해 OpenMS MS 데이터 처리 도구를 사용함), 강도를 그런 동일한 단백질에 대한 공개된 풍부성 수준에 대해 모델화하였다. **도 13**은 동일한 단백질의 공개된 농도에 대한 입자 코로나 단백질 및 혈장 단백질의 최대 강도의 상관관계를 도시한다. 청색으로 표시된 선은 데이터에 대한 선형 회귀 모델이며 음영 영역은 모델 핏의 표준 오차를 나타낸다. 입자로 검정된 샘플 (표 1에서 상세하게 설명된 "S-003", "S-007", 및 "S-011")의 동적 범위는 입자로 검정되지 않은 혈장 샘플 ("혈장")과 비교하여, 선형 핏의 기울기의 감소에 의해 나타나는 바, 압축된 동적 범위를 나타냈다. 각 플롯의 기울기는 입자가 없는 혈장, S-003 입자가 있는 혈장, S-007 입자가 있는 혈장, 및 S-011 입자가 있는 혈장에 대해 각각 0.47, 0.19, 0.22, 및 0.18이다. **도 14**는 입자 코로나 형성이 없는 질량 분석과 비교한 질량 분석이 있는 단백질 코로나 분석 검정의 동적 범위 압축을 도시한다. **도 13**에서 검정된 혈장 샘플에서 입자 코로나에서 확인된 공통 단백질의 단백질 강도 ("나노입자 MS, 강도")는 입자가 없는 혈장의

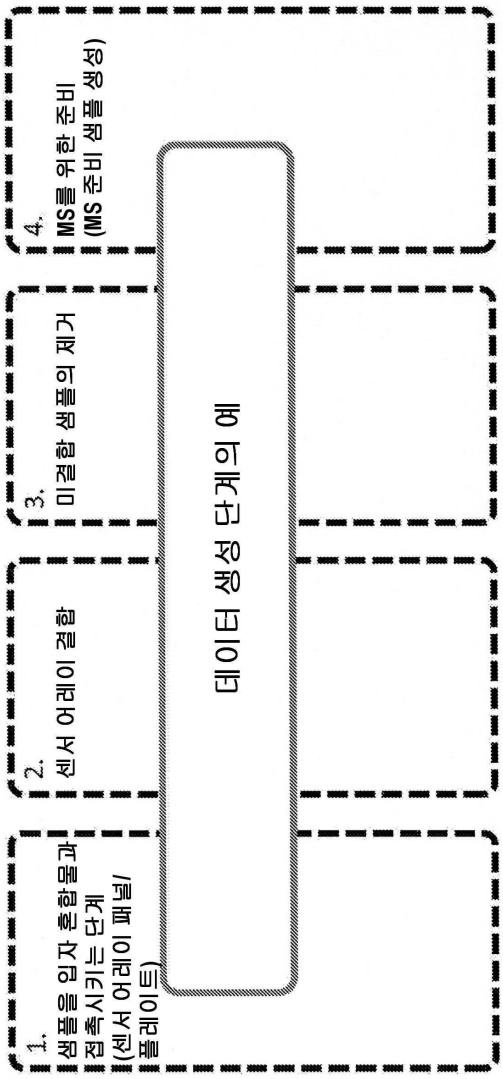
질량 분석에 의해 확인된 단백질 강도 ("혈장 MS, 강도")에 대해 도표화된다. 가장 밝은 점선은 1의 기울기를 보이며, 입자가 없는 질량 분석의 동적 범위를 나타낸다. 단백질 강도에 대한 선형 핏의 기울기는 S-003, S-007, 및 S-011 입자에 대해 각각 0.12, 0.36, 및 0.093이었다. 회색 영역은 회귀 핏의 표준 오차 영역을 나타낸다.

[0306] 휘귀 모델 기울기와 측정된 데이터의 강도 스팬을 비교함으로써, 생체분자 코로나는 혈장보다 더 낮은 풍부성에서 (측정된 또는 보고된) 더 많은 단백질을 함유한다. 그렇게 측정된 값의 동적 범위를 혈장 측정과 비교하여 입자 측정에 대해 압축하였다 (회귀 모델의 기울기는 감소됨). 이것은 단백질의 절대 농도, 그것의 입자에 대한 결합 친화도, 및 인접한 단백질과의 상호작용의 조합이 원인일 수 있을, 혈장에서의 원래 동적 범위와 비교하여 결과적으로 얻어진 코로나에서의 풍부성에 대해 측정된 동적 범위를 입자가 효과적으로 압축할 수 있다는 이전의 관찰과 일치하였다. 결과는 생체분자 코로나 전략이 혈장 단백질, 특히 종래의 단백체 기법에 의한 신속한 검출의 경우 문제가 되는 저풍부성의 단백질의 광범위한 스펙트럼의 확인을 용이하게 해준 것을 나타냈다.

[0307] 본 발명의 바람직한 구체예가 본원에서 제시되고 기술되었지만, 그러한 구체예는 단지 예시에 의해 제공된 것이 기술분야에 숙련된 사람들에게 명백할 것이다. 수많은 변화, 변경, 및 치환이 이제 발명으로부터 벗어나지 않으면서 기술분야에 숙련된 사람들에게 일어날 것이다. 본원에 기술된 발명의 구체예에 대한 다양한 대안이 발명의 실시예 사용될 수 있는 것이 이해되어야 한다. 다음의 청구범위는 발명의 범주를 규정하며 이들 청구범위 및 그것의 동등물의 범주 내에 있는 방법 및 구조가 그로 인해 포함되는 것으로 의도된다.

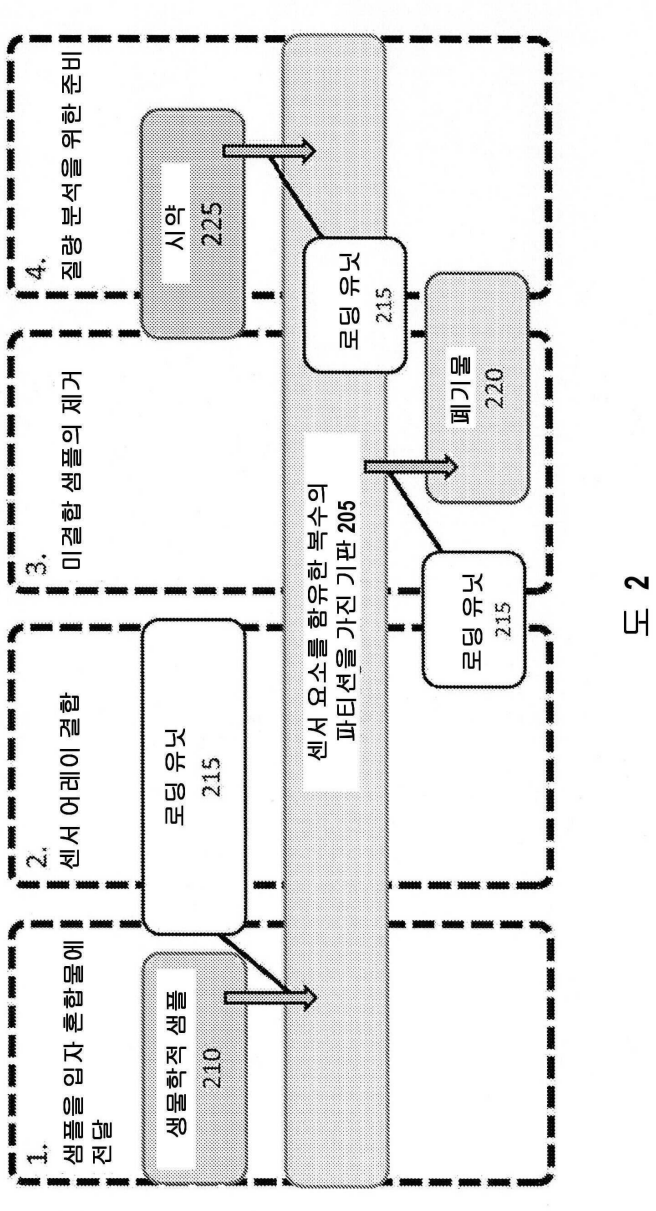
도면

도면1


데이터 생성 단계의 예
1. 샘플을 입자 혼합물과 접촉시키는 단계 (센서 어레이 패널/플레이트)
2. 센서 어레이 결합
3. 미결합 샘플의 제거
4. MS를 위한 준비 (MS 준비 샘플 생성)

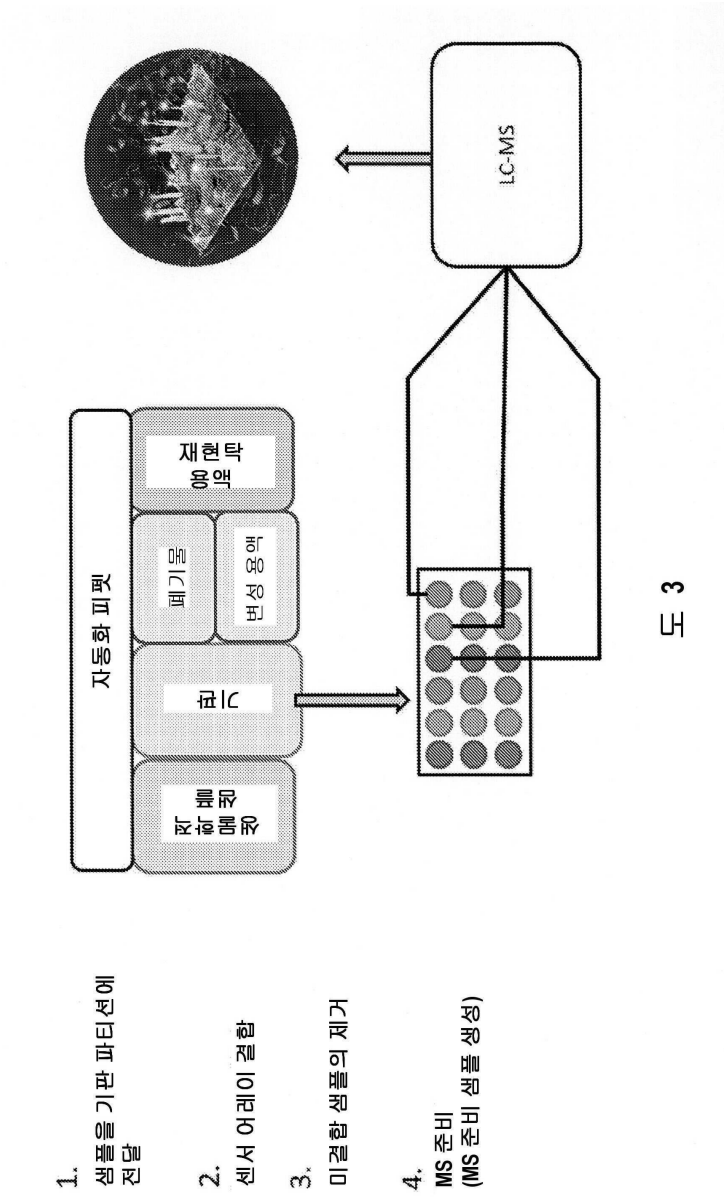
도 1

도면2


1.
샘플을 입자 혼합물에 전달
2.
센서 어레이 결합
3.
미결합 샘플의 제거
4.
질량 분석을 위한 준비
생물학적 샘플
210
로딩 유닛
215
센서 요소를 함유한 복수의
파티션을 가진 기판 205
로딩 유닛
215
폐기물
220
로딩 유닛
215
시약
225

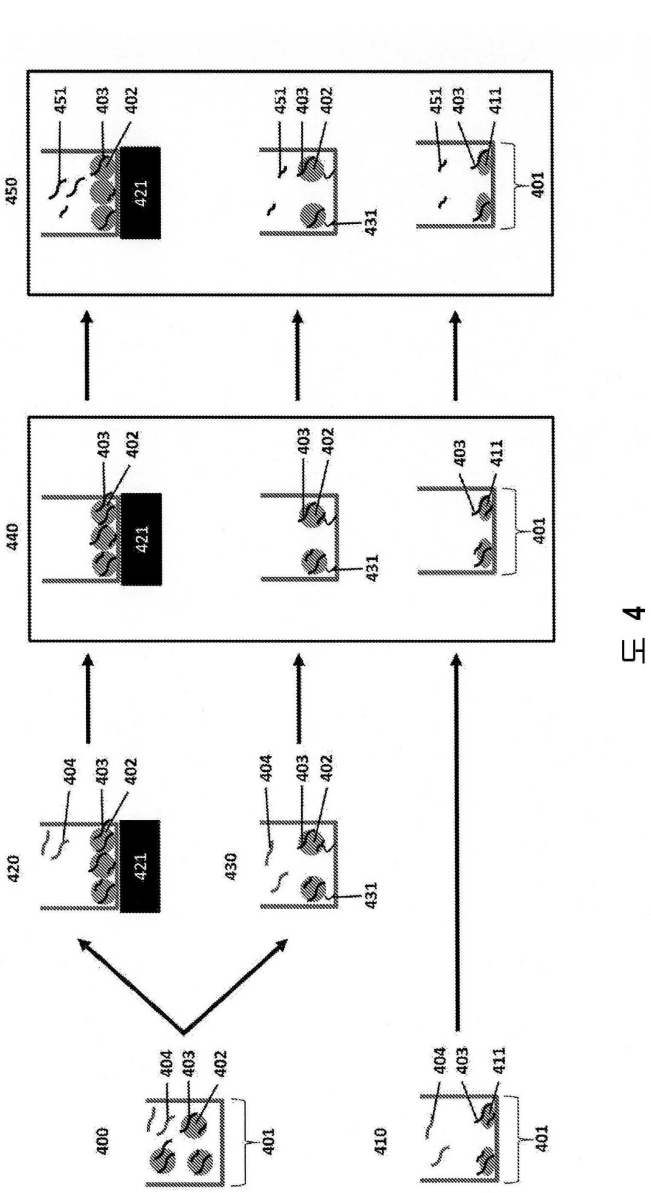
도 2

도면3


LC-MS
재현탁 용액
폐기물
변성 용액
기판
생물학적 샘플
자동화 피펫
1. 샘플을 기판 파티션에 전달
2. 센서 어레이 결합
3. 미결합 샘플의 제거
4. MS 준비 (MS 준비 샘플 생성)

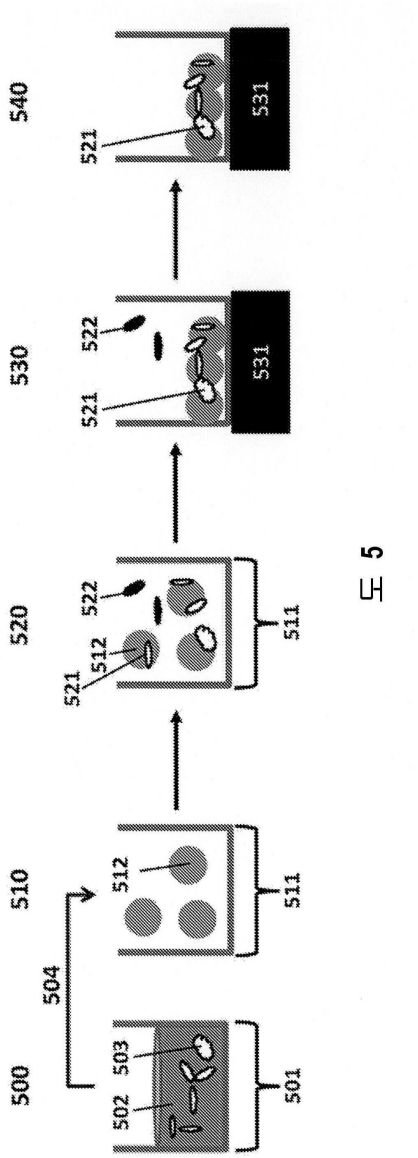
도 3

도면4



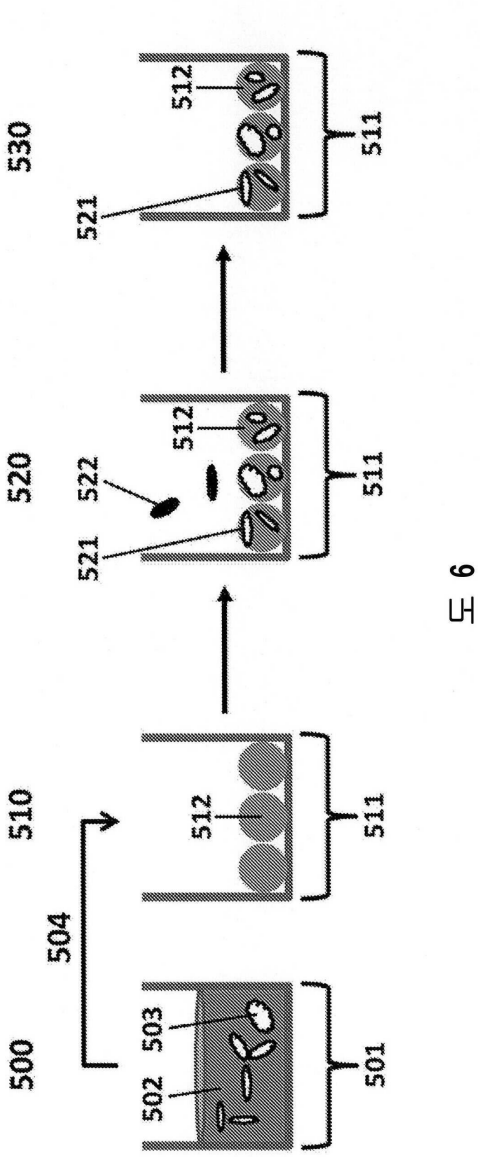
도 4

도면5



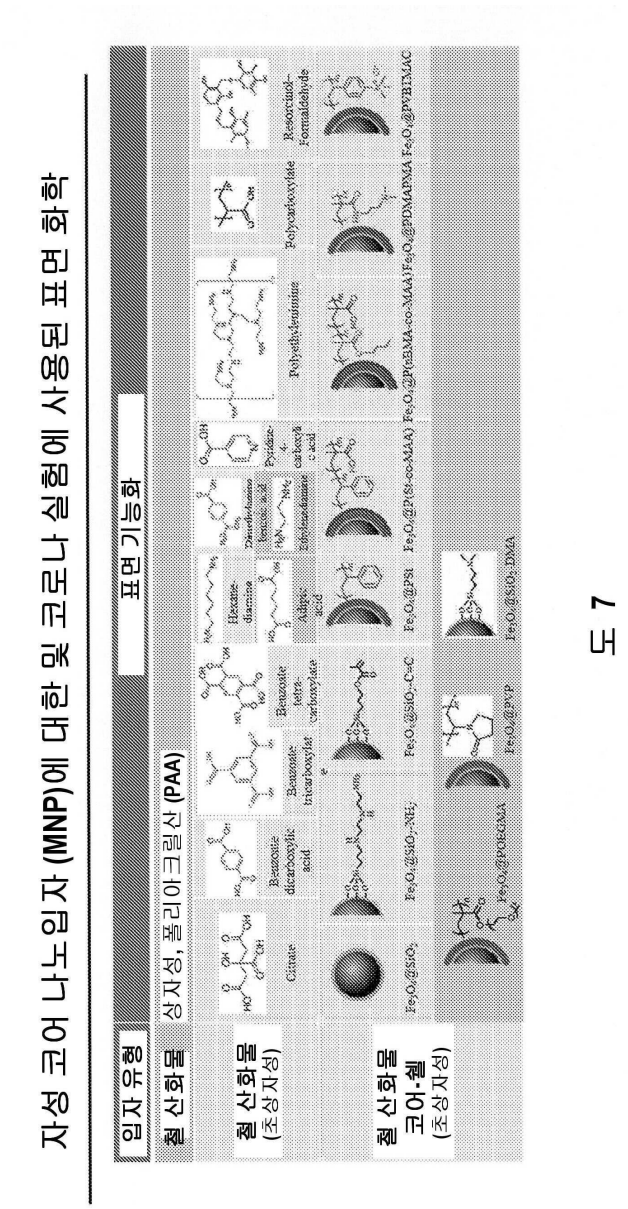
도 5

도면6



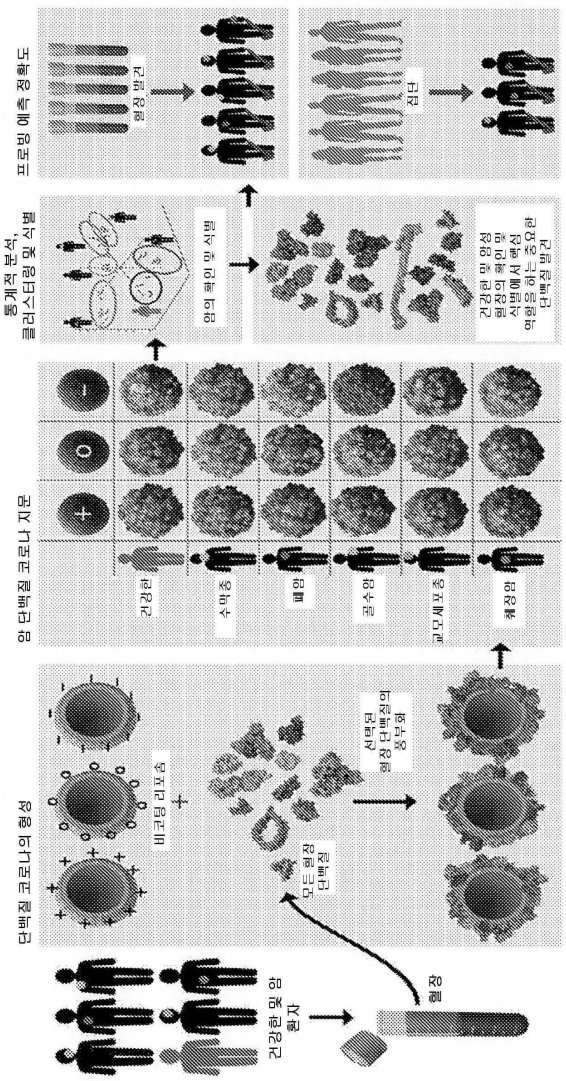
도 6

도면7


자성 코어 나노입자 (MNP)에 대한 및 코로나 실험에 사용된 표면 화학
입자 유형
표면 기능화
철 산화물
상자성, 폴리아크릴산 (PAA)
철 산화물
(초상자성)
철 산화물
코어-쉘
(초상자성)
Citrate
Benzoic dicarboxylic acid
Benzoic tricarboxylic acid
Benzoic tetra carboxylate
Hexane-diamine
Adipic acid
Dendrobenzoic acid
Ethylenediamine
Pyridine-4-carboxylic acid
Polyethylenimine
Polyacrylate
Resorcinol-Formaldehyde
Fe3O4@SiO2
Fe3O4@SiO2-NH2
Fe3O4@SiO2-C=C
Fe3O4@PAA
Fe3O4@P(St-co-MAA)
Fe3O4@P(MMA-co-MAA)
Fe3O4@PDMAPMA
Fe3O4@PVBTMAC
Fe3O4@PEGMA
Fe3O4@PVP
Fe3O4@SiO2-DMA

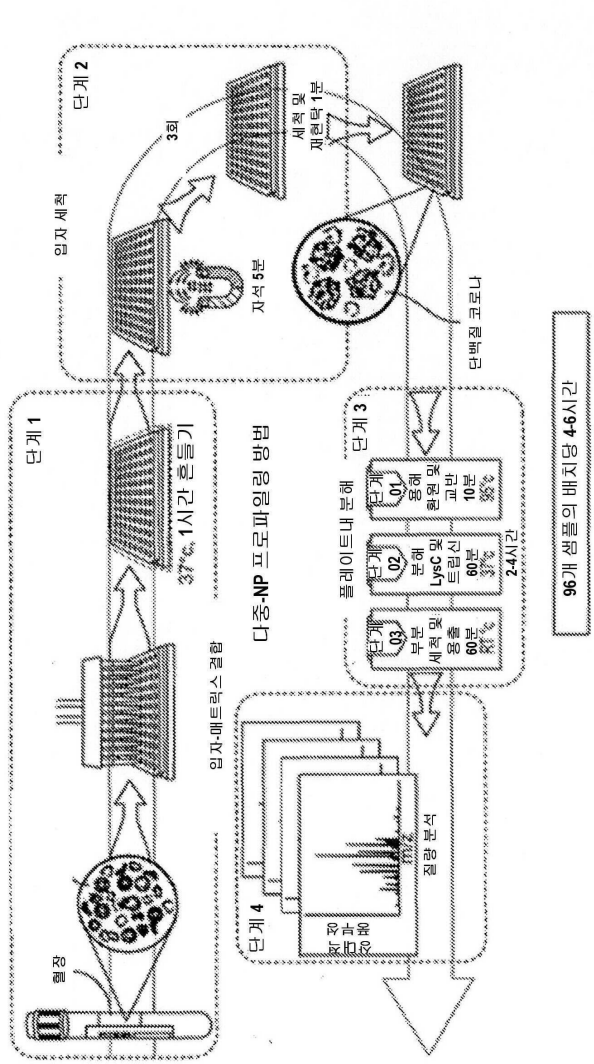
도 7

도면8


단백질 코로나의 형성
건강한 및 암 환자
혈장
모든 혈장 단백질
비코팅 리포솜
선택된 혈장 단백질의 공부화
암 단백질 코로나 지문
건강한
수막종
뼈암
골수암
교모세포종
췌장암
통계적 분석, 클러스터링 및 식별
암의 확인 및 식별
건강한 및 암성 혈장의 확인 및 식별에서 핵심 역할을 하는 중요한 단백질 발견
프로빙 예측 정확도
혈장 발견
집단

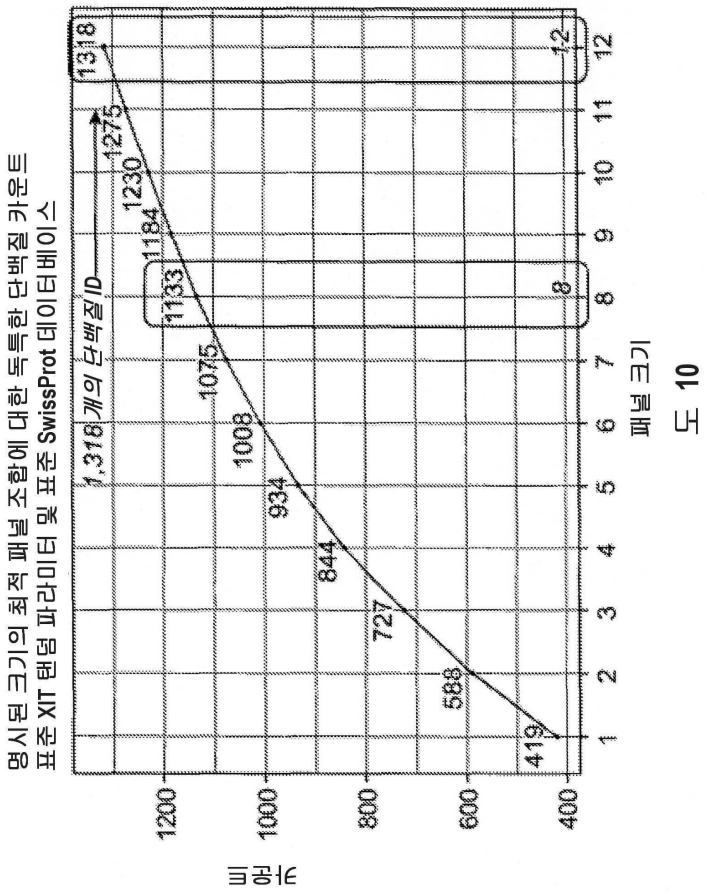
도 8

도면9


단계 1
단계 2
단계 3
단계 4
입자 세척
3회
세척 및 재현탁 1분
자석 5분
단백질 코로나
37°c, 1시간 흔들기
다중-NP 프로파일링 방법
입자-매트릭스 결합
플레이트내 분해
단계 01 용해 환원 및 교반 10분 95°c
단계 02 분해 LysC 및 트립신 60분 37°c
단계 03 부분 세척 및 용출 60분 37°c
2-4시간
96개 샘플의 배치당 4-6시간
질량 분석
혈장

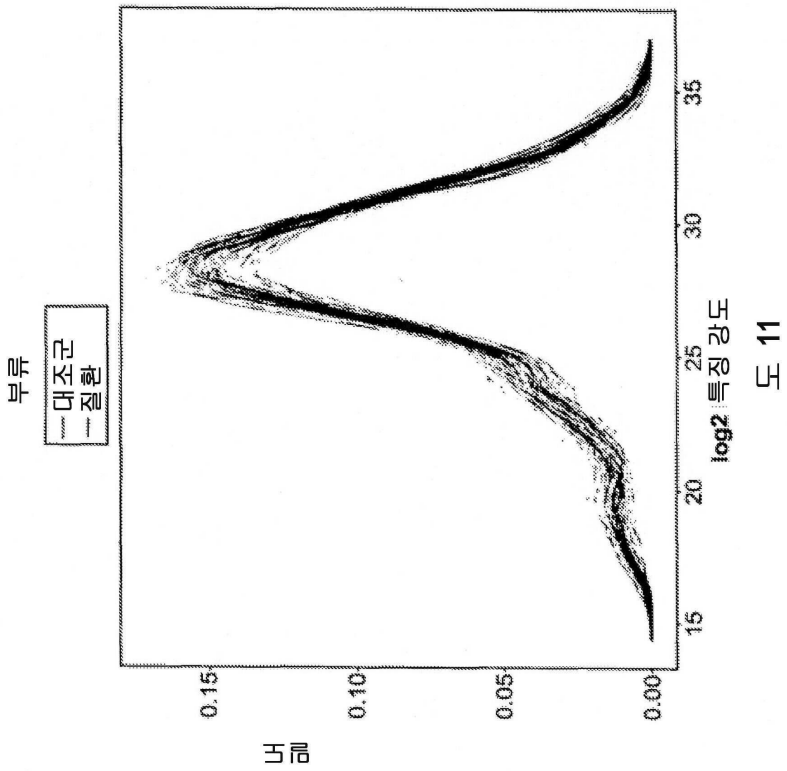
도 9

도면10


명시된 크기의 최적 패널 조합에 대한 독특한 단백질 카운트
표준 XIT 랜덤 파라미터 및 표준 SwissProt 데이터베이스
1,318개의 단백질ID
1318
1275
1230
1184
1133
1075
1008
934
844
727
588
419
12
8
1200
1000
800
600
400
카운트
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
패널 크기

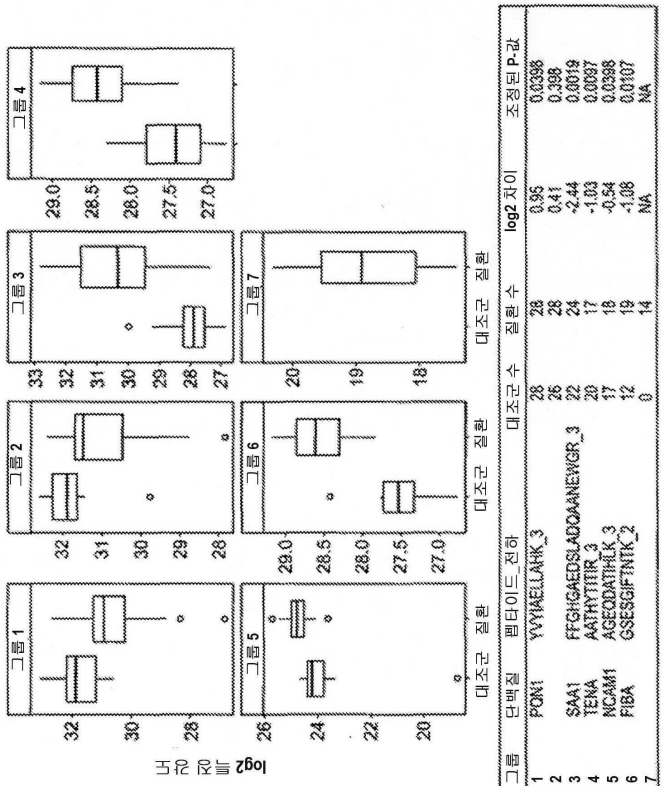
도 10

도면11



도 11

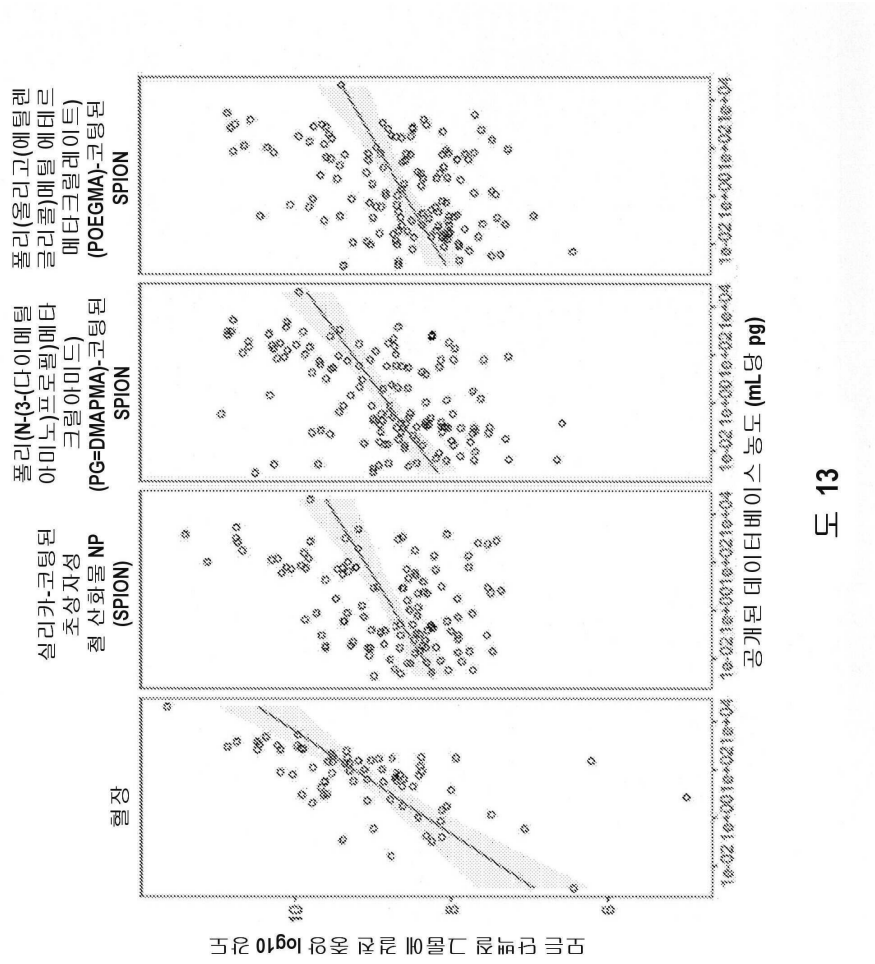
도면12



특징 그룹	단백질	펩타이드 전하	대조군 수	질환 수	log2 차이	조정된 P-값
그룹 1	PON1	YVYIAELAHK_3	28	28	0.96	0.0398
그룹 2			26	26	0.41	0.399
그룹 3	SAA1	FFGHGAEDSLADQAANEWGR_3	22	24	-2.44	0.0019
그룹 4	TENA	AATHYTTFR_3	20	17	-1.03	0.0097
그룹 5	NCAM1	AGEQDATHLK_3	17	18	-0.54	0.0398
그룹 6	F1BA	GSESGIFTNTK_2	12	19	-1.08	0.0107
그룹 7			0	14	NA	NA

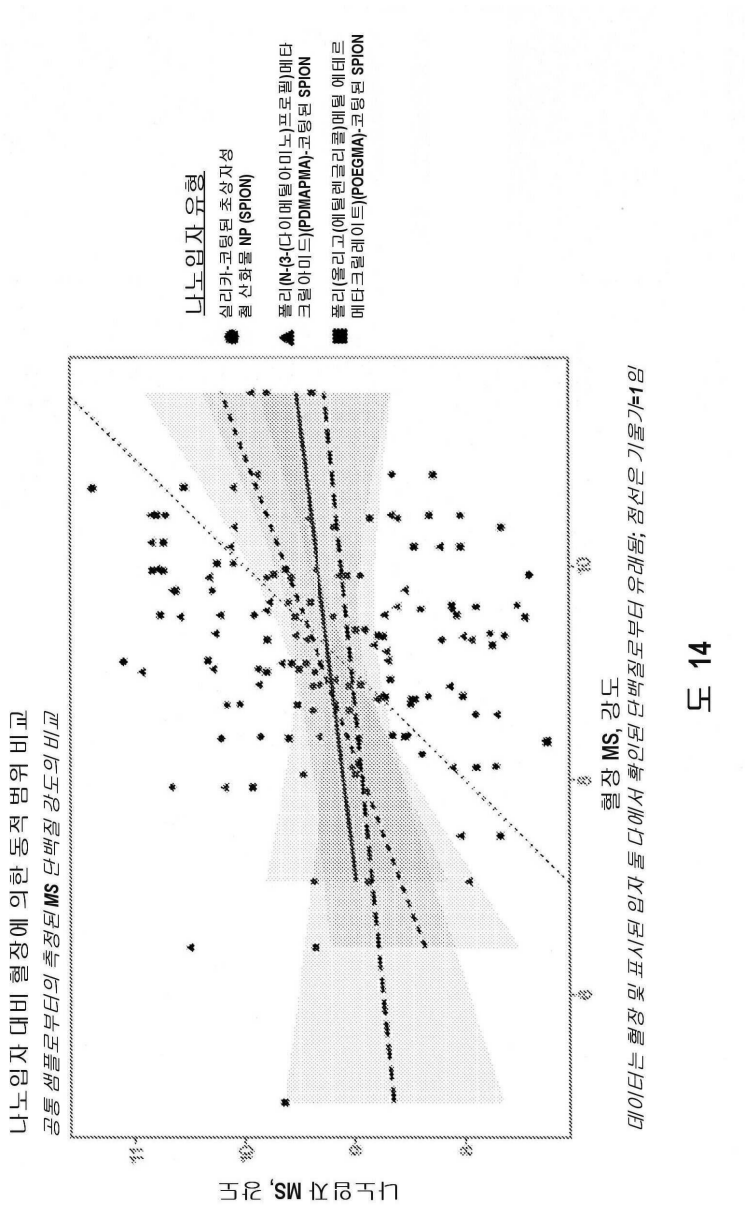
도 12

도면13


혈장
실리카-코팅된 초상자성 철 산화물 NP (SPION)
폴리(N-(3-(다이메틸 아미노)프로필)메타 크릴아미드) (PG=DMAPMA)-코팅된 SPION
폴리(올리고(에틸렌 글리콜)메틸 에테르 메타크릴레이트) (POEGMA)-코팅된 SPION
모든 단백질 그룹에 걸친 중앙 log10 강도
공개된 데이터베이스 농도 (mL당 pg)

도 13

도면14


나노입자 대비 혈장에 의한 동적 범위 비교
공통 샘플로부터의 측정된 MS 단백질 강도의 비교
나노입자 유형
실리카-코팅된 초상자성 철 산화물 NP (SPION)
폴리(N-(3-(다이메틸아미노)프로필)메타크릴아미드)(PDMAPMA)-코팅된 SPION
폴리(올리고(에틸렌글리콜)메틸 에테르 메타크릴레이트)(POEGMA)-코팅된 SPION
나노입자 MS, 강도
혈장 MS, 강도
데이터는 혈장 및 표시된 입자 둘 다에서 확인된 단백질로부터 유래됨; 점선은 기울기=1임

도 14