



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0079044
(43) 공개일자 2023년06월05일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>C12Q 1/6806</i> (2018.01) <i>C12Q 1/6827</i> (2018.01)
 <i>C12Q 1/6869</i> (2018.01) <i>C12Q 1/6886</i> (2018.01)
 <i>G01N 33/543</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>C12Q 1/6806</i> (2018.05)
 <i>C12Q 1/6827</i> (2018.05)</p> <p>(21) 출원번호 10-2023-7009714
 (22) 출원일자(국제) 2021년08월24일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2023년03월21일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2021/047397
 (87) 국제공개번호 WO 2022/046804
 국제공개일자 2022년03월03일
 (30) 우선권주장
 63/070,205 2020년08월25일 미국(US)
 (뒷면에 계속)</p> | <p>(71) 출원인
 시어 인코퍼레이티드
 미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102</p> <p>(72) 발명자
 혼버그 다니엘
 미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내
 피가 마이클
 미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내
 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
 김진희, 김태홍</p> |
|---|--|

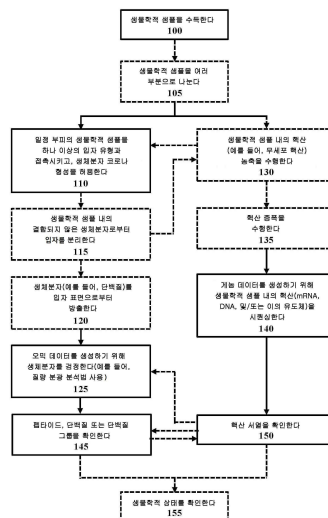
전체 청구항 수 : 총 94 항

(54) 발명의 명칭 단백질 및 핵산 검정을 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

단백질 및 핵산을 병렬로 검정하기 위한 조성물 및 방법이 본원에 개시된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12Q 1/6869 (2018.05)
C12Q 1/6886 (2022.01)
G01N 33/54333 (2013.01)
C12Q 2531/113 (2013.01)
C12Q 2535/122 (2019.08)
C12Q 2537/159 (2013.01)

(72) 발명자

자오 샤오옌

미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내

시디퀴 아심 에스

미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내

마 필립

미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내

김 상태

미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내

파로크자드 오미드 씨

미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내

도노반 마가렛

미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내

블룸 존 이

미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내

플랫 테오도르

미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내

골드버그 마틴

미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내

해리스 다미안

미국 94065 캘리포니아주 레드우드 시티 브릿지 파크웨이 3800 스위트 102 시어 인코퍼레이티드 내

(30) 우선권주장

63/112,071	2020년11월10일	미국(US)
63/143,738	2021년01월29일	미국(US)
63/166,173	2021년03월25일	미국(US)
63/194,612	2021년05월28일	미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

대상체로부터의 생물학적 샘플을 분석하는 방법으로서,

(a) 상기 생물학적 샘플에서 단백질을 확인하여 상기 생물학적 샘플의 단백질체 정보를 얻기 위해 상기 대상체로부터의 상기 생물학적 샘플을 검정하는 단계;

(b) 상기 생물학적 샘플의 유전자형 정보를 확인하기 위해 상기 생물학적 샘플로부터의 핵산 분자를 분석하는 단계; 및

(c) 상기 단백질체 정보 및 상기 유전자형 정보에 기초하여 상기 대상체의 펩타이드 변이체 또는 게놈 변이체를 확인하는 단계

를 포함하며, 상기 펩타이드 변이체 또는 상기 게놈 변이체는 각각 (a) 또는 (b)에서는 달리 확인할 수 없는 것인 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, (a)가 상기 생물학적 샘플을 상기 생물학적 샘플에서 상기 단백질을 확인하는 검정에 적용하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, (a)가 상기 단백질을 상기 생물학적 샘플로부터 입자로 흡착시키기에 충분한 조건 하에서 상기 생물학적 샘플을 상기 입자와 접촉시키는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 단백질이 상기 입자에 대한 압축된 동적 범위를 포함하는 것인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 입자가 상이한 물리화학적 특성을 갖는 복수의 입자를 포함하는 것인 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 복수의 입자가 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아미드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, 트리-아민 작용화된 나노입자, 디-아민 작용화된 나노입자, 또는 모노-아민 작용화된 나노입자 중 적어도 2개를 포함하는 것인 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 복수의 입자가 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아미드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 나노입자, N¹-(3-(트리메톡시실릴)프로필)헥산-1,6-디아민 작용화된 나노입자, 또는 1,6-헥산디아민 작용화된 나노입자 중 적어도 2개를 포함하는 것인 방법.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 복수의 입자 중 제1 입자에 의해 흡착된 상기 단백질 중 단백질의 제1 하위 세트가 상기 복수의 입자 중 제2 입자에 의해 흡착된 상기 단백질 중 단백질의 제2 하위 세트와 공통인 단백질 유형의 최대 80%를 포함하는 것인 방법.

청구항 9

제3항에 있어서, 상기 단백질이 약 50 내지 500가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함하는 것인 방법.

청구항 10

제6항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단백질이 약 250 내지 25000가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함하는 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 하나의 대상체를 포함하는 것인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 복수의 대상체를 포함하는 것인 방법.

청구항 13

제8항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단백질이 상기 생물학적 샘플 내의 상기 단백질 유형의 0.2% 내지 2%를 포함하는 것인 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, (a)가 상기 생물학적 샘플에서 상기 단백질의 풍부도를 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 분자가 무세포 테옥시리보핵산(cfDNA), 무세포 리보핵산(cfRNA) 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, (b)는 상기 핵산 분자가 게놈 DNA, 미토콘드리아 DNA(mtDNA), 순환 종양 DNA(ctDNA) 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것으로 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, (b)는 상기 ctDNA의 세포 유형, 암 유형, 암 병기, 또는 이들의 임의의 조합을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 분자가 엑소솜, 아포토시스체, 종양 세포, 건강한 세포, 비르토솜, 세포의 막 소포, 호중구 세포외 트랩(NET), 또는 이들의 임의의 조합으로부터 유래되는 것인 방법.

청구항 19

대상체로부터의 생물학적 샘플을 분석하는 방법으로서,

- (a) 핵산 분자가 유래되는 세포 유형을 확인하기 위해 상기 대상체로부터의 상기 생물학적 샘플 내의 상기 핵산 분자를 분석하는 단계; 및
- (b) 상기 세포 유형과 관련된 상기 생물학적 샘플 내의 복수의 단백질에 대한 단백질 풍부도를 정량하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 유전자형 정보를 확인하기 위해 상기 핵산 분자의 서열을 얻는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 서열을 얻는 상기 단계가 형광 제자리 혼성화(FISH), 어레이-비교 게놈 혼성화(어레이-CGH), 정량적 형광 PCR(QF-PCR), 나노포어 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.

청구항 22

제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단백질 풍부도를 정량하는 상기 단계가 상기 생물학적 샘플을 입자와 접촉시켜 상기 복수의 단백질을 포함하는 상기 입자 상에 생체분자 코로나를 형성하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 복수의 단백질이 상기 생체분자 코로나 내에 압축된 동적 범위를 포함하는 것인 방법.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서, 상기 생체분자 코로나가 상기 생물학적 샘플의 풍부도보다 감소된 풍부도를 갖는 하나 이상의 고품부도 단백질을 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제22항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 입자가 상이한 물리화학적 특성을 포함하는 복수의 입자를 포함하는 것인 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 복수의 입자가 실리카 코팅된 SPION, PDMAEMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아미드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, 트리-아민 작용화된 나노입자, 디-아민 작용화된 나노입자, 또는 모노-아민 작용화된 나노입자 중 적어도 2개를 포함하는 것인 방법.

청구항 27

제25항에 있어서, 상기 복수의 입자가 실리카 코팅된 SPION, PDMAEMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아미드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 나노입자, N¹-(3-(트리메톡시실릴)프로필)헥산-1,6-디아민 작용화된 나노입자, 또는 1,6-헥산디아민 작용화된 나노입자 중 적어도 2개를 포함하는 것인 방법.

청구항 28

제22항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단백질이 약 50 내지 500가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함하는 것인 방법.

청구항 29

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단백질이 약 250 내지 25000가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함하는 것인 방법.

청구항 30

제19항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 하나의 대상체를 포함하는 것인 방법.

청구항 31

제19항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 복수의 대상체를 포함하는 것인 방법.

청구항 32

제28항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 단백질이 상기 생물학적 샘플 내의 상기 단백질 유형의 적어도 2%를 포함하는 것인 방법.

청구항 33

제19항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단백질 풍부도를 정량하는 상기 단계가 상기 복수의 단백질의 스플라이싱 변이체, 입체 형태, 번역후 변형, 보조인자 회합 또는 기질 회합을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 34

대상체로부터의 생물학적 샘플을 분획화하는 방법으로서,

(a) 상기 생물학적 샘플을 복수의 입자와 접촉시켜 상기 복수의 입자 상에 상기 생물학적 샘플로부터의 단백질 및 핵산 분자를 포함하는 생체분자 코로나를 형성하는 단계; 및

(b) 상기 생물학적 샘플로부터 적어도 상기 생체분자 코로나의 하위 세트를 분리함으로써 상기 생물학적 샘플을 분획화하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 35

대상체로부터의 생물학적 샘플을 분석하는 방법으로서,

(a) 제1 복수의 단백질 또는 단백질 단편에 할당할 수 있는 신호를 확인하기 위해 상기 대상체로부터의 상기 생물학적 샘플 내의 단백질을 검정하는 단계;

(b) 핵산 서열 데이터에 대해 상기 생물학적 샘플 내의 핵산 분자를 검정하여 상기 핵산 서열과 관련된 제2 복수의 단백질 또는 단백질 단편을 확인하는 단계; 및

(c) 상기 제1 복수의 단백질 또는 단백질 단편으로부터, 상기 생물학적 샘플 내의 하나 이상의 단백질을 확인하는 단계

를 포함하며, 여기서 상기 하나 이상의 단백질은 상기 핵산 서열 데이터가 없으면 달리 확인할 수 없는 것인 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 단백질을 검정하는 상기 단계가 상기 단백질을 입자에 흡착시키는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 37

제35항 또는 제36항에 있어서, 상기 입자에 상기 단백질을 흡착시키는 상기 단계가 상기 단백질의 동적 범위를 압축하는 것인 방법.

청구항 38

제35항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산 분자를 검정하는 상기 단계가 시퀀싱을 포함하는 것인 방법.

청구항 39

제35항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 확인이 상기 하나 이상의 단백질과 연관되고 상기 제1 복수의 단백질에 할당될 수 있는 상기 신호들 중 하나의 신호와 중첩되는 신호를 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 40

대상체로부터의 생물학적 샘플을 처리하는 방법으로서,

- (a) 상기 대상체로부터의 상기 생물학적 샘플 내의 핵산 분자를 상기 핵산 분자 또는 이의 단편의 핵산 서열에 대해 검정하는 단계;
- (b) 상기 뉴클레오타이드 서열과 관련된 단백질의 단백질 서열을 포함하는 데이터를 생성하기 위해 상기 핵산 서열을 컴퓨터로 처리하는 단계;
- (c) 적어도 상기 단백질의 하위 세트에 할당할 수 있는 신호에 대해 상기 생물학적 샘플을 검정하는 단계; 및
- (d) 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트로부터, 적어도 부분적으로 (b)에서 생성된 상기 데이터에 기초하여 단백질을 확인하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 (c)의 검정 단계가 상기 생물학적 샘플을 입자와 접촉시켜 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트를 포함하는 상기 입자 상에 생체분자 코로나를 형성하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 42

제40항 또는 제41항에 있어서, 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트에 할당 가능한 상기 신호가 적어도 100,000개의 신호를 포함하는 것인 방법.

청구항 43

제40항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 확인 단계가 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트 중에서 스플라이싱 변이체를 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 스플라이싱 변이체를 확인하는 상기 단계가 복수의 스플라이싱 변이체의 풍부도 비를 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 45

제42항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트에 할당 가능한 상기 신호가 복수의 중첩 신호를 포함하고, 여기서 상기 확인 단계가 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트 중의 한 단백질로부터 상기 복수의 중첩 신호 중의 한 중첩 신호의 강도를 결정하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 46

생물학적 샘플을 검정하는 방법으로서,

- (a) 표면 개질된 입자 및 지지체를 포함하는 건조 조성물을 제공하는 단계로서, 상기 표면 개질된 입자는 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 가변 선택적 흡착을 위한 물리화학적 특성을 갖는 것인 단계;
- (b) 상기 건조 조성물을 액체 내에서 재구성하는 단계; 및
- (c) 상기 생물학적 샘플을 (b)에서 재구성된 상기 건조 조성물과 접촉시켜, 상기 표면 개질된 입자의 표면 상에 상기 생체분자 또는 생체분자 그룹의 적어도 일부를 흡착시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 생체분자 또는 생체분자 그룹이 단백질 또는 단백질 그룹을 포함하는 것인 방법.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 단백질 또는 단백질 그룹이 상기 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 7 자릿수(7 orders of magnitude)인 동적 범위를 갖는 것인 방법.

청구항 49

제47항 또는 제48항에 있어서, 상기 단백질 또는 단백질 그룹이 상기 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 8 자릿수인 동적 범위를 갖는 것인 방법.

청구항 50

제46항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 혈장, 혈청, CSF, 소변, 눈물, 세포 용해물, 조직 용해물, 세포 균질물, 조직 균질물, 마늘 흡인물, 대변 샘플, 활액, 전혈, 타액, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인 방법.

청구항 51

제46항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 건조 조성물이 동결건조된 비드 형태인 방법.

청구항 52

제46항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 건조 조성물이 상기 표면 개질된 입자를 포함하는 복수의 입자를 포함하는 것인 방법.

청구항 53

제46항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, (c) 이후의 상기 표면 개질된 입자가 동결건조 없이 상기 액체에 용해된 동일한 표면 개질된 입자가 상기 생물학적 샘플로부터 흡착할 생체분자의 적어도 90%를 상기 생물학적 샘플에서 흡착하는 것인 방법.

청구항 54

제46항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가변 선택적 흡착이 낮은 결합 친화도, 느린 결합 동역학, 또는 둘 모두를 포함하는 것인 방법.

청구항 55

제46항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가변 선택적 흡착이 단백질-리간드 상호작용이 아닌 상호작용을 포함하는 것인 방법.

청구항 56

생체유체 샘플을 검정하는 방법으로서,

(a) 표면 개질된 입자 및 동결건조된 지지체를 포함하는 건조 조성물을 제공하는 단계로서, 상기 표면 개질된 입자가 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹에 대한 친화도를 갖는 것인 단계; 및

(b) 상기 표면 개질된 입자의 표면 상에 상기 생체분자 또는 생체분자 그룹의 적어도 일부를 흡착시키기 위해 상기 건조 조성물의 재구성 없이 상기 생체유체 샘플을 상기 건조 조성물과 접촉시키는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 57

제56항에 있어서, 상기 생체유체 샘플이 (b) 전에 약 1부의 생체유체 샘플 대 적어도 약 1부의 완충제 용액의 부피비로 완충제 용액으로 희석되는 것인 방법.

청구항 58

제56항 또는 제57항에 있어서, 상기 건조 조성물이 상기 표면 개질된 입자를 포함하는 복수의 입자를 포함하는 것인 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 복수의 입자가 적어도 2개 이상의 별개의 입자 유형을 포함하는 것인 방법.

청구항 60

제59항에 있어서, 상기 복수의 입자가 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아미드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, 트리-아민 작용화된 나노입자, 디-아민 작용화된 나노입자, 또는 모노-아민 작용화된 나노입자 중 적어도 2개를 포함하는 것인 방법.

청구항 61

제59항에 있어서, 상기 복수의 입자가 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아미드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 나노입자, N¹-(3-(트리메톡시실릴)프로필)헥산-1,6-디아민 작용화된 나노입자, 또는 1,6-헥산디아민 작용화된 나노입자 중 적어도 2개를 포함하는 것인 방법.

청구항 62

제56항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표면 개질된 입자가 항체, T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체, 수용체 단백질, 또는 이들의 변이체 또는 단편을 포함하지 않는 것인 방법.

청구항 63

제56항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, (a) 이전에, 상기 표면 개질된 입자 및 상기 지지체를 포함하는 용액 또는 현탁액을 생성하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액을 급속 동결시켜 동결된 조성물을 생성하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 상기 동결된 조성물을 동결건조하여 상기 건조 조성물을 생성하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 66

생물학적 샘플을 검정하기 위한 시스템으로서,

입자 및 지지체를 포함하는 건조 조성물을 포함하는 기관;

생물학적 샘플을 포함하는 샘플 저장 장치;

상기 기관 및 상기 샘플 저장 장치에 작동 가능하게 커플링된 로딩 유닛; 및

기계 실행 가능 코드를 포함하는 컴퓨터 판독 가능 매체

를 포함하고, 상기 컴퓨터 판독 가능 매체는 프로세서에 의해 실행될 때

(a) 상기 샘플 저장 장치로부터 상기 생물학적 샘플 또는 그의 일부를 상기 로딩 유닛을 사용하여 상기 기관에 전달하는 단계; 및

(b) 상기 생물학적 샘플을 상기 건조 조성물과 접촉시켜 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 포함하는 생체분자 코로나를 생성하는 단계

를 포함하는 방법을 실행하는 것인 시스템.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 방법이 용해물을 생성하기 위해 (b) 전에 상기 생물학적 샘플의 종을 용해시키는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.

청구항 68

제67항에 있어서, 상기 방법이 상기 용해물을 환원시키는 단계, 상기 용해물을 여과하는 단계, 상기 용해물을 알킬화하는 단계 중 적어도 하나를 추가로 포함하는 것인 시스템.

청구항 69

제66항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 (b) 후에 상기 생체분자 코로나를 변형시켜 변형된 생체분자 코로나를 생성하는 단계, (b) 후에 상기 생체분자 코로나를 소화하여 소화된 생체분자를 생성하는 단계, (b) 후에 상기 생체분자 코로나를 용출하는 단계, 및 (b) 후에 고체상 추출을 사용하여 분리하는 단계 중 적어도 하나를 추가로 포함하는 것인 시스템.

청구항 70

제66항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 (b) 후에 상기 생체분자 코로나에 대해 질량 분광 분석을 수행하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.

청구항 71

제66항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기판이 플라스틱 제품을 포함하고, 여기서 상기 방법은 적어도 플라스틱 제품 바코드, 입자 바코드 및 시약 바코드를 포함하는 바코드 세트를 제공하는 단계, 및 상기 바코드 세트를 상기 컴퓨터 판독 가능 매체에 전달하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.

청구항 72

제66항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 상기 생물학적 샘플의 적어도 일부로부터 상기 건조 조성물의 적어도 일부를 분리하는 것을 포함하고, 여기서 상기 분리하는 자기 분리를 포함하는 것인 시스템.

청구항 73

건조 입자 제제로서, (i) 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 흡착을 위한 표면 개질을 포함하는 입자 및 (ii) 지지체를 포함하는 건조 조성물을 포함하고, 여기서 상기 건조 조성물은 적어도 3개월 동안 25°C 초과 온도에서 안정한 것인 건조 입자 제제.

청구항 74

제73항에 있어서, 상기 표면 개질이 실리카 코팅, PDMA-PMA-중합체 작용화, 글루코스-6-포스페이트 작용화, 폴리스티렌 카르복실 작용화, 텍스트란 작용화, 아마이드 작용화, 카르복실 작용화, 트리-아민 작용화, 디-아민 작용화, 모노-아민 표면 작용화, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 건조 입자 제제.

청구항 75

제73항에 있어서, 상기 표면 개질이 N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 작용화, 1,6-헥산디아민 작용화, N1-(3-(트리메톡시실릴)프로필)헥산-1,6-디아민, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인 건조 입자 제제.

청구항 76

제73항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표면 개질이 금속 산화물 코팅을 포함하는 것인 건조 입자 제제.

청구항 77

제73항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표면 개질이 적어도 하나의 노출된 1차 아민 기, 2차 아민 기, 3차 아민 기를 포함하는 것인 건조 입자 제제.

청구항 78

제73항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표면 개질이 적어도 하나의 모노사카라이드를 포함하는 것인 건조 입자 제제.

청구항 79

제73항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 지지체가 수크로스, d-만니톨, 트레할로스, 글리세롤, 텍스트란, PEG, 글루코스, 락토스, 폴리소르베이트 또는 아미노산 중 적어도 하나를 포함하는 것인 건조 입자 제제.

청구항 80

제73항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 온도가 25℃ 내지 60℃인 건조 입자 제제.

청구항 81

제73항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 입자가 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 85% 내지 115%인 평균 제타 전위를 갖는 것인 건조 입자 제제.

청구항 82

제73항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 상기 입자가 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 평균 직경의 85% 내지 115%인 평균 직경을 갖는 것인 건조 입자 제제.

청구항 83

제73항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 건조 입자 제제가 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아미드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, 트리-아민 작용화된 나노입자, 디-아민 작용화된 나노입자, 또는 모노-아민 작용화된 나노입자 중 적어도 2개를 포함하는 복수의 입자를 포함하는 것인 건조 입자 제제.

청구항 84

제73항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 건조 입자 제제가 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아미드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 나노입자, N¹-(3-(트리메톡시실릴)프로필)헥산-1,6-디아민 작용화된 나노입자, 또는 1,6-헥산디아민 작용화된 나노입자 중 적어도 2개를 포함하는 복수의 입자를 포함하는 것인 건조 입자 제제.

청구항 85

제73항 내지 제84항 중 어느 한 항의 건조 입자 제제 및 상기 건조 조성물을 수용하고 보유하도록 구성된 기판을 포함하는 키트.

청구항 86

건조 입자 제제로서, 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 흡착을 위해 표면 개질된 입자 및 지지체를 포함하는 건조 조성물을 포함하고, 여기서 상기 건조 조성물은 용매에서 재구성하지 않고 후속적으로 사용하도록 구성되는 것인 건조 입자 제제.

청구항 87

제86항에 있어서, 상기 건조 조성물이 37℃ 초과와 온도에서 적어도 7일 동안 안정한 것인 건조 입자 제제.

청구항 88

제86항에 있어서, 상기 건조 조성물이 37℃에서 적어도 40일 동안 안정한 것인 건조 입자 제제.

청구항 89

제86항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 입자가 동결건조된 입자인 건조 입자 제제.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 동결건조된 입자가 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 크기의 85% 내지 115%인 입자 크기를 갖는 것인 건조 입자 제제.

청구항 91

제89항 또는 제90항에 있어서, 상기 동결건조된 입자가 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 85% 내지 115%인 제타 전위를 갖는 것인 건조 입자 제제.

청구항 92

제86항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 건조 입자 제제가 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아마이드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, 트리-아민 작용화된 나노입자, 디-아민 작용화된 나노입자, 또는 모노-아민 작용화된 나노입자 중 적어도 2개를 포함하는 복수의 입자를 포함하는 것인 건조 입자 제제.

청구항 93

제86항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 건조 입자 제제가 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아마이드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, N-(3-트리메톡시실틸프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 나노입자, N¹-(3-(트리메톡시실틸)프로필)헥산-1,6-디아민 작용화된 나노입자, 또는 1,6-헥산디아민 작용화된 나노입자 중 적어도 2개를 포함하는 복수의 입자를 포함하는 것인 건조 입자 제제.

청구항 94

제86항 내지 제93항 중 어느 한 항의 건조 입자 제제 및 상기 건조 조성물을 수용하고 보유하도록 구성된 기판을 포함하는 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

상호 참조

[0002]

본 출원은 2020년 11월 10일 출원된 미국 특허 가출원 63/112,071, 2021년 1월 29일 출원된 미국 특허 가출원 63/143,738호, 2021년 3월 25일 출원된 미국 특허 가출원 63/166,173, 2021년 5월 28일 출원된 미국 특허 가출원 63/194,612, 및 2020년 8월 25일 출원된 미국 특허 가출원 63/070,205의 이익을 주장하고, 상기 출원들은 각각 그 전체가 본원에 참고로 참조된다.

배경 기술

[0003]

배경

[0004]

생물학적 샘플은 다양한 단백질 및 핵산을 포함한다. 단백질 및 핵산의 존재와 농도뿐만 아니라, 생물학적 상태를 나타낼 수 있는 단백질과 핵산 사이의 상관 관계를 밝히기 위한 조성물 및 방법이 필요하다.

발명의 내용

[0005]

요약

[0006]

일부 측면에서, 본 개시내용은 대상체로부터의 생물학적 샘플을 분석하는 방법을 설명하고, 상기 방법은 (a) 생

물학적 샘플에서 단백질을 확인하여 생물학적 샘플의 단백질체(proteomic) 정보를 얻기 위해 대상체로부터의 생물학적 샘플을 검정하는 단계; (b) 생물학적 샘플의 유전자형 정보를 확인하기 위해 생물학적 샘플의 핵산 분자를 분석하는 단계; 및 (c) 단백질체 정보 및 유전자형 정보에 기초하여 대상체의 펩타이드 변이체 또는 게놈 변이체를 확인하는 단계를 포함하며, 상기 펩타이드 변이체 또는 게놈 변이체는 각각 (a) 또는 (b)에서는 확인할 수 없다.

- [0007] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 전혈, 혈장, 연막층(buffy coat), 혈청, 소변, 뇌척수액, 활액, 눈물, 타액, 진혈, 유즙, 유두 흡인액, 바늘 흡인액, 유관 세척액, 질액, 비강액, 귀액(ear fluid), 위액, 체장액, 섬유주액(trabecular fluid), 폐 세척액, 땀, 열구액(crevicular fluid), 정액, 전립선액, 가래, 분변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체(fluid from swabbing), 기관지 흡인물, 유동화된 고형물, 미세 바늘 흡인 샘플, 조직 균질물, 림프액, 세포 배양 샘플 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0008] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 혈장 또는 혈청을 포함한다.
- [0009] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 5000개 초과 단백질 유형을 포함한다.
- [0010] 일부 실시양태에서, (a)는 생물학적 샘플을 생물학적 샘플에서 복수의 단백질을 확인하는 검정에 적용하는 것을 포함한다.
- [0011] 일부 실시양태에서, (a)는 생물학적 샘플로부터의 단백질이 입자에 흡착하기에 충분한 조건 하에서 생물학적 샘플을 입자와 접촉시키는 것을 포함한다.
- [0012] 일부 실시양태에서, 단백질은 입자 상에 압축된 동적 범위(compressed dynamic range)를 포함한다.
- [0013] 일부 실시양태에서, 입자에 흡착된 단백질은 생물학적 샘플 내의 풍부도보다 낮은 풍부도를 갖는 하나 이상의 단백질을 포함한다.
- [0014] 일부 실시양태에서, 입자의 제곱밀리미터(mm^2) 표면적당 적어도 10^{-9} 밀리그램(mg)의 단백질이 흡착된다.
- [0015] 일부 실시양태에서, 입자는 상이한 물리화학적 특성을 갖는 복수의 입자를 포함한다.
- [0016] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 다음 중 적어도 2개를 포함한다: 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아마이드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, 트리-아민 작용화된 나노입자, 디-아민 작용화된 나노입자, 또는 모노-아민 작용화된 나노입자.
- [0017] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 다음 중 적어도 2개를 포함한다: 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아마이드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 나노입자, N1-(3-(트리메톡시실릴)프로필)헥산-1,6-디아민 작용화된 나노입자, 또는 1,6-헥산디아민 작용화된 나노입자.
- [0018] 일부 실시양태에서, 상이한 물리화학적 특성은 크기, 형상, 표면 작용화, 코어 물질, 밀도, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0019] 일부 실시양태에서, 복수의 입자 중 제1 입자에 의해 흡착된 단백질 중 단백질의 제1 하위 세트는 복수의 입자 중 제2 입자에 의해 흡착된 단백질 중 단백질의 제2 하위 세트와 공통인 단백질 유형의 최대 80%를 포함한다.
- [0020] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 5가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0021] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 200가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0022] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 500가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0023] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 1000가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0024] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 2000가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0025] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 5000가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0026] 일부 실시양태에서, 단백질은 5 내지 1000가지 유형의 단백질을 포함한다.

- [0027] 일부 실시양태에서, 단백질은 20 내지 200가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0028] 일부 실시양태에서, 단백질은 약 50 내지 500가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함한다.
- [0029] 일부 실시양태에서, 단백질은 약 250 내지 25000 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함한다.
- [0030] 일부 실시양태에서, 단백질은 생물학적 샘플 내의 단백질 유형의 적어도 2%를 포함한다.
- [0031] 일부 실시양태에서, 단백질은 생물학적 샘플 내의 단백질 유형의 0.2% 내지 2%를 포함한다.
- [0032] 일부 실시양태에서, (a)는 생물학적 샘플에서 단백질의 풍부도를 확인하는 것을 포함한다.
- [0033] 일부 실시양태에서, (c)는 단백질체 정보 및 유전자형 정보에 기초하여 단백질의 스플라이싱 변이체, 입체 형태 (conformation), 번역후 변형, 보조인자 회합 또는 기질 회합을 확인하는 것을 포함한다.
- [0034] 일부 실시양태에서, 단백질은 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 4 자릿수(4 orders of magnitude)에 이른다.
- [0035] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 유전자형 정보를 확인하기 위해 핵산 분자의 서열을 얻는 단계를 추가로 포함한다.
- [0036] 일부 실시양태에서, 서열을 얻는 단계는 형광 제자리 혼성화(FISH), 어레이-비교 게놈 혼성화(어레이-CGH), 정량적 형광 PCR(QF-PCR), 나노포어(nanopore) 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0037] 일부 실시양태에서, 핵산 분자는 무세포 테옥시리보핵산(cfDNA), 무세포 리보핵산(cfRNA) 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0038] 일부 실시양태에서, 무세포 테옥시리보핵산(cfDNA)은 게놈 DNA, 미토콘드리아 DNA(mtDNA), 순환 종양 DNA(ctDNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0039] 일부 실시양태에서, (b)는 핵산 분자를 게놈 DNA, 미토콘드리아 DNA(mtDNA), 순환 종양 DNA(ctDNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것으로서 확인하는 것을 포함한다.
- [0040] 일부 실시양태에서, (b)는 ctDNA의 세포 유형, 암 유형, 암 병기 또는 이들의 임의의 조합을 확인하는 것을 포함한다.
- [0041] 일부 실시양태에서, (c)의 확인은 ctDNA의 세포 유형, 암 유형 또는 암 병기를 확인하는 것을 포함한다.
- [0042] 일부 실시양태에서, 무세포 리보핵산(cfRNA)은 메신저 RNA(mRNA), 긴 비코딩 RNA, 텔로머라제 RNA, Piwi-상호작용 RNA, 리보솜 RNA(rRNA), 작은 핵 RNA(snRNA), 작은 간섭 RNA(siRNA), YRNA, 마이크로RNA(miRNA), 원형 RNA, 작은 핵 RNA(snRNA), 위유전자(pseudogene) RNA, 운반 RNA(tRNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0043] 일부 실시양태에서, (b)는 핵산 분자를 메신저 RNA(mRNA), 긴 비코딩 RNA, 텔로머라제 RNA, Piwi-상호작용 RNA, 리보솜 RNA(rRNA), 작은 핵 RNA(snRNA), 작은 간섭 RNA(siRNA), YRNA, 마이크로RNA(miRNA), 원형 RNA, 작은 핵 RNA(snRNA), 위유전자 RNA, 운반 RNA(tRNA), 또는 이들의 임의의 조합의 서열을 포함하는 것으로서 확인하는 것을 포함한다.
- [0044] 일부 실시양태에서, 핵산 분자는 엑소솜, 아포토시스체(apoptotic body), 종양 세포, 건강한 세포, 비르토솜(virtosome), 세포외 막 소포, 호중구 세포외 트랩(NET), 또는 이들의 임의의 조합으로부터 유래된다.
- [0045] 일부 실시양태에서, (b)는 핵산 분자가 엑소솜, 아포토시스체, 병에 걸린 세포, 건강한 세포, 비르토솜, 세포외 막 소포, 호중구 세포외 트랩(NET), 또는 이들의 임의의 조합으로부터 유래되었음을 확인하는 것을 포함한다.
- [0046] 일부 실시양태에서, (b)는 샘플이 유래된 유기체에서 건강한 세포 또는 병에 걸린 세포의 아포토시스의 비율 또는 발생률을 확인하는 것을 포함한다.
- [0047] 일부 실시양태에서, (b)는 건강한 세포 또는 병에 걸린 세포의 풍부도를 확인하는 것을 포함한다.
- [0048] 일부 실시양태에서, (b)는 건강한 세포 또는 병에 걸린 세포의 세포 유형을 확인하는 것을 포함한다.
- [0049] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 세포 유형과 관련되거나 세포 유형으로부터 유래된 단백질의 하위 세트를 확인하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0050] 일부 실시양태에서, (c)의 확인하는 단계는 세포 유형과 관련되거나 세포 유형으로부터 유래된 단백질의 하위

세트를 확인하는 단계를 포함한다.

- [0051] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 단백질의 화학적 변형을 확인하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0052] 일부 실시양태에서, 펩타이드 변이체 또는 게놈 변이체는 화학적 변형을 포함한다.
- [0053] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 화학적 변형에 적어도 부분적으로 기초하여 샘플의 생물학적 상태를 확인하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0054] 일부 실시양태에서, 핵산 분자를 분석하는 것은 유전자형 정보를 확인하기 위해 서열 판독을 획득하고 서열 판독을 참조 서열에 대해 정렬하는 것을 포함한다.
- [0055] 일부 실시양태에서, 핵산 분자를 분석하는 단계는 핵산 분자의 화학적 변형을 확인하는 것을 포함한다.
- [0056] 일부 실시양태에서, 펩타이드 변이체 또는 게놈 변이체를 확인하는 단계는 핵산 분자의 화학적 변형을 확인하는 것을 포함한다.
- [0057] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 화학적 변형에 적어도 부분적으로 기초하여 기원 세포의 생물학적 상태를 확인하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0058] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 생물학적 샘플이 단백질체 정보 및 유전자형 정보에 기초하여 생물학적 상태를 가질 확률을 결정하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0059] 일부 실시양태에서, (b)는 생물학적 샘플의 유전자형 정보를 확인하는 분석에 핵산 분자를 적용하는 것을 포함한다.
- [0060] 일부 측면에서, 본 개시내용은 대상체로부터의 생물학적 샘플을 분석하는 방법을 설명하고, 상기 방법은 (a) 핵산 분자가 유래되는 세포 유형을 확인하기 위해 대상체로부터의 생물학적 샘플 내의 핵산 분자를 분석하는 단계; 및 (b) 세포 유형과 관련된 생물학적 샘플 내의 복수의 단백질에 대한 단백질 풍부도를 정량하는 단계를 포함한다.
- [0061] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 전혈, 혈장, 연막층, 혈청, 소변, 뇌척수액, 활액, 눈물, 타액, 전혈, 유즙, 유두 흡인액, 바늘 흡인액, 유관 세척액, 질액, 비강액, 귀액, 위액, 췌장액, 섬유주액, 폐 세척액, 땀, 열구액, 정액, 전립선액, 가래, 분변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체, 기관지 흡인물, 유도화된 고형물, 미세 바늘 흡인 샘플, 조직 균질물, 림프액, 세포 배양 샘플 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0062] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 혈장 또는 혈청을 포함한다.
- [0063] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 1000개 초과 단백질 유형을 포함한다.
- [0064] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 유전자형 정보를 확인하기 위해 핵산 분자의 서열을 얻는 단계를 추가로 포함한다.
- [0065] 일부 실시양태에서, 서열을 얻는 단계는 형광 제자리 혼성화(FISH), 어레이-비교 게놈 혼성화(어레이-CGH), 정량적 형광 PCR(QF-PCR), 나노포어 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0066] 일부 실시양태에서, 핵산 분자를 분석하는 단계는 핵산 분자의 화학적 변형을 확인하는 것을 포함한다.
- [0067] 일부 실시양태에서, 화학적 변형은 메틸화, 탈메틸화, 아민화, 탈아민화, 아세틸화, 산화, 산소화, 환원, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0068] 일부 실시양태에서, 핵산 분자가 유래되는 세포 유형을 확인하는 단계는 적어도 부분적으로 화학적 변형의 확인에 기초한다.
- [0069] 일부 실시양태에서, 분석은 핵산 분자의 비정규 핵염기를 확인한다.
- [0070] 일부 실시양태에서, 비정규 핵염기는 하이포크산틴, 크산틴, 7-메틸구아닌, 5,6-디하이드로우라실, 5-메틸시토신, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0071] 일부 실시양태에서, 핵산 분자가 유래되는 세포 유형을 확인하는 단계는 적어도 부분적으로 비정규 핵염기의 확인에 기초한다.

- [0072] 일부 실시양태에서, 분석은 핵산 분자의 전사후 변형을 확인한다.
- [0073] 일부 실시양태에서, 전사후 변형은 5' 캐핑, 3' 절단, 3' 폴리아데닐화, 스플라이싱 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0074] 일부 실시양태에서, 핵산 분자가 유래되는 세포 유형을 확인하는 단계는 적어도 부분적으로 전사 후 변형의 확인에 기초한다.
- [0075] 일부 실시양태에서, 분석은 핵산의 번역되지 않은 영역을 확인하는 것을 포함한다.
- [0076] 일부 실시양태에서, 핵산 분자가 유래되는 세포 유형을 확인하는 단계는 적어도 부분적으로 번역되지 않은 영역의 확인에 기초한다.
- [0077] 일부 실시양태에서, 단백질 풍부도를 정량하는 단계는 생물학적 샘플을 입자와 접촉시켜 복수의 단백질을 포함하는 입자 상에 생체분자 코로나(biomolecule corona)를 형성하는 것을 포함한다.
- [0078] 일부 실시양태에서, 복수의 단백질은 생체분자 코로나 내에 압축된 동적 범위를 포함한다.
- [0079] 일부 실시양태에서, 생체분자 코로나는 생물학적 샘플의 풍부도보다 감소된 풍부도를 갖는 하나 이상의 고풍부도 단백질을 포함한다.
- [0080] 일부 실시양태에서, 생체분자 코로나는 입자의 mm^2 표면적당 적어도 10^{-9} mg의 복수의 단백질을 포함한다.
- [0081] 일부 실시양태에서, 입자는 상이한 물리화학적 특성을 포함하는 복수의 입자를 포함한다.
- [0082] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 다음 중 적어도 2개를 포함한다: 실리카 코팅된 SPION, 트리-아민 작용화된 나노입자, PDMAEMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 모노-아민 작용화된 나노입자.
- [0083] 일부 실시양태에서, 상이한 물리화학적 특성은 크기, 형상, 표면 작용화, 코어 물질, 밀도 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0084] 일부 실시양태에서, 복수의 입자 중 제1 입자에 의해 흡착된 복수의 단백질 중 단백질의 제1 하위 세트는 복수의 입자 중 제2 입자에 의해 흡착된 복수의 단백질 중 단백질의 제2 하위 세트와 공통인 단백질 유형의 최대 80%를 포함한다.
- [0085] 일부 실시양태에서, 복수의 단백질은 적어도 5가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0086] 일부 실시양태에서, 복수의 단백질은 적어도 200가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0087] 일부 실시양태에서, 복수의 단백질은 적어도 500가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0088] 일부 실시양태에서, 복수의 단백질은 5 내지 1000가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0089] 일부 실시양태에서, 단백질은 20 내지 200가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0090] 일부 실시양태에서, 단백질은 약 50 내지 5000가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함한다.
- [0091] 일부 실시양태에서, 단백질은 약 250 내지 25000가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함한다.
- [0092] 일부 실시양태에서, 복수의 단백질은 생물학적 샘플 내의 단백질 유형의 적어도 2%를 포함한다.
- [0093] 일부 실시양태에서, 복수의 단백질은 생물학적 샘플 내의 단백질 유형의 0.2% 내지 2%를 포함한다.
- [0094] 일부 실시양태에서, 복수의 단백질은 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 4 자릿수에 걸쳐있다.
- [0095] 일부 실시양태에서, 단백질 풍부도를 정량하는 단계는 복수의 단백질의 스플라이싱 변이체, 입체 형태, 번역후 변형, 보조인자 회합 또는 기질 회합을 확인하는 것을 포함한다.
- [0096] 일부 실시양태에서, 단백질 풍부도를 정량하는 단계는 상대적인 스플라이싱 변이체 풍부도를 확인하는 것을 포함한다.
- [0097] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 적어도 부분적으로 단백질 풍부도에 기초하여 혈장 샘플의 생물학적 상태를 확인하는 단계를 추가로 포함한다.

- [0098] 일부 실시양태에서, 핵산 분자는 무세포 핵산을 포함한다.
- [0099] 일부 실시양태에서, 무세포 핵산은 무세포 테옥시리보핵산(cfDNA) 또는 무세포 리보핵산(cfRNA)을 포함한다.
- [0100] 일부 실시양태에서, (a)는 세포 유형을 확인하기 위해 핵산 분자를 분석에 적용하는 것을 포함한다.
- [0101] 일부 실시양태에서, (b)는 생물학적 샘플에서 복수의 단백질에 대한 단백질 풍부도를 정량하는 것을 포함한다.
- [0102] 일부 측면에서, 본 개시내용은 대상체로부터의 생물학적 샘플을 분획화하는 방법을 설명하고, 상기 방법은 (a) 생물학적 샘플을 복수의 입자와 접촉시켜 복수의 입자 상에 생물학적 샘플로부터의 단백질 및 핵산 분자를 포함하는 생체분자 코로나를 형성하는 단계; 및 (b) 생물학적 샘플로부터 적어도 생체분자 코로나의 하위 세트를 분리함으로써 생물학적 샘플을 분획화하는 단계를 포함한다.
- [0103] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 전혈, 혈장, 연막층, 혈청, 소변, 뇌척수액, 활액, 눈물, 타액, 전혈, 유즙, 유두 흡인액, 바늘 흡인액, 유관 세척액, 질액, 비강액, 귀액, 위액, 췌장액, 섬유주액, 폐 세척액, 땀, 열구액, 정액, 전립선액, 가래, 분변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체, 기관지 흡인물, 유동화된 고형물, 미세 바늘 흡인 샘플, 조직 균질물, 림프액, 세포 배양 샘플 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0104] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 다음 중 적어도 2개를 포함한다: 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아마이드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, 트리-아민 작용화된 나노입자, 디-아민 작용화된 나노입자, 또는 모노-아민 작용화된 나노입자.
- [0105] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 다음 중 적어도 2개를 포함한다: 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아마이드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 나노입자, N1-(3-(트리메톡시실릴)프로필)핵산-1,6-디아민 작용화된 나노입자, 또는 1,6-핵산디아민 작용화된 나노입자.
- [0106] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 혈장 또는 혈청을 포함한다.
- [0107] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 엑소솜, 아포토시스체, 세포, 비르토솜, 또는 이들의 임의의 조합을 용해시키는 단계를 추가로 포함한다.
- [0108] 일부 실시양태에서, 생체분자 코로나의 단백질 또는 핵산은 용해로부터 유래된다.
- [0109] 일부 실시양태에서, 핵산 분자는 무세포 핵산을 포함한다.
- [0110] 일부 실시양태에서, 핵산 분자는 무세포 테옥시리보핵산(cfDNA) 또는 무세포 리보핵산(cfRNA)을 포함한다.
- [0111] 일부 실시양태에서, 무세포 테옥시리보핵산(cfDNA)은 게놈 DNA, 미토콘드리아 DNA(mtDNA), 순환 종양 DNA(ctDNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0112] 일부 실시양태에서, 무세포 리보핵산(cfRNA)은 메신저 RNA(mRNA), 긴 비코딩 RNA, 텔로머라제 RNA, Piwi-상호작용 RNA, 리보솜 RNA(rRNA), 작은 핵 RNA(snRNA), 작은 간섭 RNA(siRNA), YRNA, 마이크로RNA(miRNA), 원형 RNA, 작은 핵 RNA(snRNA), 위유전자(pseudogene) RNA, 운반 RNA(tRNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0113] 일부 실시양태에서, 생체분자 코로나의 핵산 분자는 적어도 30개 뉴클레오타이드의 평균 길이를 포함한다.
- [0114] 일부 실시양태에서, 생체분자 코로나의 핵산 분자는 적어도 60개 뉴클레오타이드의 평균 길이를 포함한다.
- [0115] 일부 실시양태에서, 생체분자 코로나의 핵산 분자는 생물학적 샘플의 핵산 분자보다 더 긴 평균 길이를 갖는다.
- [0116] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 5가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0117] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 200가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0118] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 500가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0119] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 1000가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0120] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 2000가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0121] 일부 실시양태에서, 단백질은 적어도 5000가지 유형의 단백질을 포함한다.

- [0122] 일부 실시양태에서, 단백질은 5 내지 1000가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0123] 일부 실시양태에서, 단백질은 20 내지 200가지 유형의 단백질을 포함한다.
- [0124] 일부 실시양태에서, 단백질은 약 50 내지 500가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함한다.
- [0125] 일부 실시양태에서, 단백질은 약 250 내지 25000 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함한다.
- [0126] 일부 실시양태에서, 단백질은 생물학적 샘플 내의 단백질 유형의 적어도 2%를 포함한다.
- [0127] 일부 실시양태에서, 단백질은 생물학적 샘플 내의 단백질 유형의 0.2% 내지 2%를 포함한다.
- [0128] 일부 실시양태에서, 단백질은 생물학적 샘플의 풍부도보다 감소된 풍부도를 갖는 하나 이상의 고품부도 단백질을 포함한다.
- [0129] 일부 실시양태에서, 단백질들 중의 한 단백질은 생물학적 샘플에서 약 100 ng/ml 이하의 농도를 포함한다.
- [0130] 일부 측면에서, 본 개시내용은 대상체로부터의 생물학적 샘플을 분석하는 방법을 설명하고, 상기 방법은 (a) 제 1 복수의 단백질 또는 단백질 단편에 할당할 수 있는 신호를 확인하기 위해 대상체로부터의 생물학적 샘플 내의 단백질을 검정하는 단계; (b) 핵산 서열 데이터에 대해 생물학적 샘플 내의 핵산 분자를 검정하여 핵산 서열과 관련된 제2 복수의 단백질 또는 단백질 단편을 확인하는 단계; 및 (c) 제1 복수의 단백질 또는 단백질 단편으로부터, 생물학적 샘플 내의 하나 이상의 단백질을 확인하는 단계를 포함하며, 여기서 하나 이상의 단백질은 핵산 서열 데이터가 없으면 확인할 수 없다.
- [0131] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 약 500 마이크로리터(μ L) 이하의 부피를 갖는다.
- [0132] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 혈장 또는 혈청을 포함한다.
- [0133] 일부 실시양태에서, 단백질을 검정하는 단계는 단백질을 입자에 흡착시키는 것을 포함한다.
- [0134] 일부 실시양태에서, 단백질을 입자에 흡착시키는 단계는 생물학적 샘플로부터의 고품부도 단백질에 비해 생물학적 샘플로부터의 저풍부도 단백질을 풍부하게 한다.
- [0135] 일부 실시양태에서, 단백질을 입자에 흡착시키는 것은 단백질의 동적 범위를 압축한다.
- [0136] 일부 실시양태에서, 단백질을 검정하는 단계는 질량 분광 분석을 포함한다.
- [0137] 일부 실시양태에서, 단백질을 검정하는 단계는 친화도 포획, 조직학적 방법, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0138] 일부 실시양태에서, 단백질을 검정하는 단계는 단백질을 시퀀싱하는 것을 포함한다.
- [0139] 일부 실시양태에서, 단백질을 검정하는 단계는 번역후 변형을 확인하는 것을 포함한다.
- [0140] 일부 실시양태에서, 번역 후 변형은 아실화, 알킬화, 프레닐화, 플라빈화, 아미드화, 아민화, 탈아민화, 카르복실화, 탈카르복실화, 니트로실화, 포르밀화, 시트룰린화, 글리코실화, 당화, 할로겐화, 하이드록실화, 인산화, 설폰화, 글루타티오닐화, 석시닐화, 카르보닐화, 카브마닐화, 산화, 산소화, 환원, 유비퀴틴화, 수모일화(SUMOylation), 네딜화(neddylation), 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0141] 일부 실시양태에서, 핵산 분자를 검정하는 단계는 형광 제자리 혼성화(FISH), 어레이-비교 게놈 혼성화(어레이-CGH), 정량적 형광 PCR(QF-PCR), 나노포어 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0142] 일부 실시양태에서, 핵산 분자를 검정하는 단계는 시퀀싱을 포함한다.
- [0143] 일부 실시양태에서, 제2 복수의 단백질 또는 단백질 단편을 확인하는 단계는 핵산 분자의 코딩 영역을 시퀀싱하는 것을 포함한다.
- [0144] 일부 실시양태에서, 제2 복수의 단백질 또는 단백질 단편을 확인하는 단계는 핵산 분자의 비코딩 영역을 시퀀싱하는 것을 포함한다.
- [0145] 일부 실시양태에서, 제2 복수의 단백질 또는 단백질 단편을 확인하는 단계는 핵산 분자들 중 한 핵산 분자에 결합하는 단백질 또는 단백질 단편을 확인하는 것을 포함한다.

- [0146] 일부 실시양태에서, (c)의 확인은 하나 이상의 단백질 이소형을 확인하는 것을 포함한다.
- [0147] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 단백질은 생물학적 샘플에서 생물학적 상태 또는 병태의 존재 또는 부재를 나타낸다.
- [0148] 일부 실시양태에서, 생물학적 상태 또는 병태는 암을 포함한다.
- [0149] 일부 실시양태에서, (c)의 확인은 암의 단계를 확인한다.
- [0150] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 단백질은 제1 복수 단백질 중 한 단백질의 이소형을 포함한다.
- [0151] 일부 실시양태에서, 확인은 하나 이상의 단백질과 연관되고 제1 복수의 단백질에 할당될 수 있는 신호들 중 하나의 신호와 중첩되는 신호를 확인하는 것을 포함한다.
- [0152] 일부 측면에서, 본 개시내용은 대상체로부터의 생물학적 샘플을 처리하는 방법을 설명하고, 상기 방법은 (a) 대상체로부터의 생물학적 샘플 내의 핵산 분자를 핵산 분자 또는 이의 단편의 핵산 서열에 대해 검정하는 단계; (b) 뉴클레오타이드 서열과 관련된 단백질의 단백질 서열을 포함하는 데이터를 생성하기 위해 핵산 서열을 컴퓨터로 처리하는 단계; (c) 적어도 단백질의 하위 세트에 할당할 수 있는 신호에 대해 생물학적 샘플을 검정하는 단계; 및 (d) 적어도 단백질의 하위 세트로부터, 적어도 부분적으로 (b)에서 생성된 데이터에 기초하여 단백질을 확인하는 단계를 포함한다.
- [0153] 일부 실시양태에서, 핵산 분자를 검정하는 단계는 형광 제자리 혼성화(FISH), 어레이-비교 게놈 혼성화(어레이-CGH), 정량적 형광 PCR(QF-PCR), 나노포어 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0154] 일부 실시양태에서, 핵산 분자는 무세포 테옥시리보핵산(cfDNA), 무세포 리보핵산(cfRNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0155] 일부 실시양태에서, 핵산 분자를 검정하는 단계는 엑소솜, 아포토시스체, 병에 걸린 세포, 건강한 세포, 비르토솜, 세포의 막 소포, 호중구 세포의 트랩(NET), 또는 이들의 임의의 조합으로부터 적어도 핵산 분자의 하위 세트를 수집하는 것을 포함한다.
- [0156] 일부 실시양태에서, 뉴클레오타이드 서열과 관련된 단백질 서열은 핵산 서열에 의해 코딩되지 않는 단백질을 포함한다.
- [0157] 일부 실시양태에서, (c)의 검정은 생물학적 샘플을 입자와 접촉시켜, 적어도 단백질의 하위 세트를 포함하는 입자 상에 생체분자 코로나를 형성하는 것을 포함한다.
- [0158] 일부 실시양태에서, (c)의 검정은 질량 분광 분석, 펩타이드 시퀀싱, 펩타이드 친화도 포획, 조직학적 방법, 크로마토그래피 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0159] 일부 실시양태에서, 적어도 단백질의 하위 세트는 적어도 20개의 단백질을 포함한다.
- [0160] 일부 실시양태에서, 적어도 단백질의 하위 세트는 적어도 200개의 단백질을 포함한다.
- [0161] 일부 실시양태에서, 적어도 단백질의 하위 세트는 적어도 500개의 단백질을 포함한다.
- [0162] 일부 실시양태에서, 적어도 단백질의 하위 세트에 할당할 수 있는 신호는 적어도 100,000개의 신호를 포함한다.
- [0163] 일부 실시양태에서, 적어도 단백질의 하위 세트에 할당할 수 있는 신호는 적어도 1,000,000개의 신호를 포함한다.
- [0164] 일부 실시양태에서, 확인은 적어도 단백질의 하위 세트 중에서 스플라이싱 변이체를 확인하는 것을 포함한다.
- [0165] 일부 실시양태에서, 스플라이싱 변이체를 확인하는 단계는 복수의 스플라이싱 변이체의 풍부도 비를 확인하는 것을 포함한다.
- [0166] 일부 실시양태에서, 단백질은 생물학적 샘플에서 생물학적 병태 또는 상태와 연관되어 있다.
- [0167] 일부 실시양태에서, 적어도 단백질의 하위 세트에 할당할 수 있는 신호는 복수의 중첩 신호를 포함하고, 여기서 확인 단계는 적어도 단백질의 하위 세트 중의 한 단백질로부터 복수의 중첩 신호 중의 한 중첩 신호의 강도를 결정하는 것을 포함한다.

- [0168] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 적어도 단백질의 하위 세트로부터 제1 단백질 및 제2 단백질의 풍부도 비를 확인하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 제1 단백질 및 제2 단백질은 복수의 중첩 신호의 신호와 연관된다.
- [0169] 일부 실시양태에서, 중첩 신호 중의 한 신호는 질량 분광 분석 신호를 포함한다.
- [0170] 일부 실시양태에서, 질량 분광 분석 신호는 복수의 직렬 질량 분광 분석 신호와 연관되고, 확인은 적어도 부분적으로 (b)의 단백질 서열에 기초하여 직렬 질량 분광 분석 신호를 할당하는 것을 포함한다.
- [0171] 일부 측면에서, 본 개시내용은 생물학적 샘플을 검정하는 방법을 설명하고, 상기 방법은 (a) 표면 개질된 입자 및 지지체를 포함하는 건조 조성물을 제공하는 단계로서, 표면 개질된 입자는 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 가변 선택적 흡착을 위한 물리화학적 특성을 갖는 것인 단계; (b) 건조 조성물을 액체 내에서 재구성하는 단계; 및 (c) 생물학적 샘플을 (b)에서 재구성된 건조 조성물과 접촉시켜, 표면 개질된 입자의 표면 상에 생체분자 또는 생체분자 그룹의 적어도 일부를 흡착시키는 단계를 포함한다.
- [0172] 일부 실시양태에서, 생체분자 또는 생체분자 그룹은 단백질 또는 단백질 그룹을 포함한다.
- [0173] 일부 실시양태에서, 단백질 또는 단백질 그룹은 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 7 자릿수인 동적 범위를 갖는다.
- [0174] 일부 실시양태에서, 단백질 또는 단백질 그룹은 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 8 자릿수인 동적 범위를 갖는다.
- [0175] 일부 실시양태에서, 단백질 또는 단백질 그룹은 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 9 자릿수인 동적 범위를 갖는다.
- [0176] 일부 실시양태에서, 단백질 또는 단백질 그룹은 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 10 자릿수인 동적 범위를 갖는다.
- [0177] 일부 실시양태에서, 액체는 물, 유기 용매, 또는 이들의 조합 또는 혼합물을 포함한다.
- [0178] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 혈장, 혈청, CSF, 소변, 눈물, 세포 용해물, 조직 용해물, 세포 균질물, 조직 균질물, 바늘 흡인물, 대변 샘플, 활액, 전혈, 타액, 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0179] 일부 실시양태에서, 지지체는 부형제를 포함한다.
- [0180] 일부 실시양태에서, 지지체는 부형제이다.
- [0181] 일부 실시양태에서, 부형제는 텍스트란, PEG, 수크로스, 글루코스, 트레할로스, 락토스, 폴리소르베이트, 아미노산, 만니톨, 글리신, 글리세롤, 또는 이들의 임의의 조합 또는 변형을 포함한다.
- [0182] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 동결건조된 비드 형태이다.
- [0183] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 다중 웰 플레이트, 유체 채널, 유체 챔버 또는 튜브의 부피 내에 있다.
- [0184] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 (b)에서 다중 웰 플레이트, 유체 채널, 유체 챔버 또는 튜브의 부피 내에서 재구성된다.
- [0185] 일부 실시양태에서, (c)에서 재구성된 건조 조성물은 다중 웰 플레이트, 유체 채널, 유체 챔버 또는 튜브의 부피 내에서 생물학적 샘플과 접촉된다.
- [0186] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 다중 웰 플레이트, 유체 채널, 유체 챔버 또는 튜브의 부피 내의 동결건조된 비드이다.
- [0187] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 다중 웰 플레이트, 유체 채널, 유체 챔버 또는 튜브의 부피 내의 복수의 동결건조된 비드이다.
- [0188] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 표면 개질된 입자를 포함하는 복수의 입자를 포함한다.
- [0189] 일부 실시양태에서, 복수의 입자의 적어도 하나의 하위 세트의 개별 입자는 상이한 표면을 포함한다.
- [0190] 일부 실시양태에서, 복수의 입자의 적어도 하나의 하위 세트의 개별 입자는 적어도 하나의 물리화학적 특성에서 또 다른 하위 세트와 상이하다.
- [0191] 일부 실시양태에서, 개별 입자는 각각 상이한 세트의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 가변 선택적 흡착을 위한

상이한 물리화학적 특성을 포함한다.

- [0192] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 적어도 2개 이상의 별개의 입자 유형을 포함한다.
- [0193] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 적어도 6개 이상의 별개의 입자 유형을 포함한다.
- [0194] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 적어도 10개 이상의 별개의 입자 유형을 포함한다.
- [0195] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 다음 중 적어도 2개를 포함한다: 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아마이드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, 트리-아민 작용화된 나노입자, 디-아민 작용화된 나노입자, 또는 모노-아민 작용화된 나노입자.
- [0196] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 다음 중 적어도 2개를 포함한다: 실리카 코팅된 SPION, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아마이드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 나노입자, N1-(3-(트리메톡시실릴)프로필)헥산-1,6-디아민 작용화된 나노입자, 또는 1,6-헥산디아민 작용화된 나노입자.
- [0197] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 자성 입자를 포함한다.
- [0198] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 나노입자, 마이크로입자 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0199] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 나노입자 및 마이크로입자를 포함한다.
- [0200] 일부 실시양태에서, 표면 개질된 입자는 항체, T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체, 수용체 단백질, 또는 이들의 변이체 또는 단편을 포함하지 않는다.
- [0201] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (a) 전에, 표면 개질된 입자 및 지지체를 포함하는 용액 또는 현탁액을 생성하는 것을 추가로 포함한다.
- [0202] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 1 마이크로리터(μL) 초과를 갖는다.
- [0203] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 100 μL 미만의 부피를 갖는다.
- [0204] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 2 마이크로리터(μL) 내지 60 μL 의 부피를 갖는다.
- [0205] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 25 μL 내지 45 μL 의 부피를 갖는다.
- [0206] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액 중의 지지체는 50 mg/mL 초과를 갖는다.
- [0207] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액 중의 지지체는 250 mg/mL 미만의 농도를 갖는다.
- [0208] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액 중의 지지체는 100 mg/mL 내지 200 mg/mL의 농도를 갖는다.
- [0209] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 2.5 밀리그램/밀리리터(mg/mL) 초과를 갖는다.
- [0210] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 100 mg/mL 미만의 입자 농도를 갖는다.
- [0211] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 10 mg/mL 내지 100 mg/mL의 입자 농도를 갖는다.
- [0212] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 15 mg/mL 내지 80 mg/mL의 입자 농도를 갖는다.
- [0213] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 비드당 적어도 0.5 mg의 표면 개질된 입자를 포함하는 비드이다.
- [0214] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 비드당 0.5 mg 내지 약 5 mg의 표면 개질된 입자를 포함하는 비드이다.
- [0215] 일부 실시양태에서, (b) 이후의 표면 개질된 입자의 직경은 용액 또는 현탁액 내의 표면 개질된 입자의 직경의 약 90% 내지 약 110%이다.
- [0216] 일부 실시양태에서, (b) 이후의 표면 개질된 입자의 제타 전위는 급속 동결 전의 액체 내의 동일한 표면 개질된 입자의 제타 전위의 약 90% 내지 약 110%이다.
- [0217] 일부 실시양태에서, (c) 이후의 표면 개질된 입자는 동결건조 없이 액체에 용해된 동일한 표면 개질된 입자가 생물학적 샘플로부터 흡착할 생체분자의 적어도 90%를 생물학적 샘플에서 흡착한다.

- [0218] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 동결된 조성물을 생성하기 위해 용액 또는 현탁액을 급속 동결시키는 단계를 추가로 포함하고, 여기서 급속 동결은 액체 질소에서, 냉각 플레이트 상에서, 또는 냉각된 공기에서 이루어진다.
- [0219] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 동결된 조성물을 동결건조하여 건조 조성물을 생성하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0220] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 웰 또는 튜브 내에서 제자리에서 급속 동결을 수행하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0221] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 복수의 웰 또는 복수의 튜브에서 급속 동결을 수행하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0222] 일부 실시양태에서, 재구성은 25℃에서 적어도 0.1 min⁻¹의 속도를 포함한다.
- [0223] 일부 실시양태에서, 재구성은 25℃에서 적어도 0.5 min⁻¹의 속도를 포함한다.
- [0224] 일부 실시양태에서, 재구성은 최대 20분 동안 수행된다.
- [0225] 일부 실시양태에서, 재구성은 초음파 처리, 진탕 또는 혼합을 포함한다.
- [0226] 일부 실시양태에서, 재구성은 물리적 섭동(perturbation)을 포함하지 않는다.
- [0227] 일부 실시양태에서, 재구성 후에, 표면 개질된 입자에는 입자 응집체가 실질적으로 없다.
- [0228] 일부 실시양태에서, 재구성 후에, 액체는 약 5 내지 약 9의 pH를 포함한다.
- [0229] 일부 실시양태에서, 가변 선택적 흡착은 낮은 결합 친화도, 느린 결합 동역학, 또는 둘 모두를 포함한다.
- [0230] 일부 실시양태에서, 가변 선택적 흡착은 단백질-리간드 상호작용이 아닌 상호작용을 포함한다.
- [0231] 일부 실시양태에서, 가변 선택적 흡착은 표면 개질된 입자의 표면과 접촉하는 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 포함하며, 여기서 표면은 작용화된 단백질을 포함하지 않는다.
- [0232] 일부 실시양태에서, 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 가변 선택적 흡착은 생체분자 코로나를 형성한다.
- [0233] 일부 측면에서, 본 개시내용은 생체유체 샘플을 검정하는 방법을 설명하고, 상기 방법은 (a) 표면 개질된 입자 및 동결건조된 지지체를 포함하는 건조 조성물을 제공하는 단계로서, 표면 개질된 입자가 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹에 대한 친화도를 갖는 것인 단계; 및 (b) 표면 개질된 입자의 표면 상에 생체분자 또는 생체분자 그룹의 적어도 일부를 흡착시키기 위해 건조 조성물의 재구성 없이 생체유체 샘플을 건조 조성물과 접촉시키는 단계를 포함한다.
- [0234] 일부 실시양태에서, 생체유체 샘플은 혈장, 혈청, CSF, 소변, 눈물, 세포 용해물, 조직 용해물, 세포 균질물, 조직 균질물, 유두 흡인물, 마늘 흡인물, 대변 샘플, 활액, 전혈, 타액, 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0235] 일부 실시양태에서, 생물유체 샘플은 (b) 이전에 약 1부의 생물유체 샘플 대 적어도 약 1부의 완충제 용액의 부피비로 완충제 용액으로 희석된다.
- [0236] 일부 실시양태에서, 생물유체 샘플은 (b) 이전에 약 1부의 생물유체 샘플 대 적어도 약 2부의 완충제 용액의 부피비로 완충제 용액으로 희석된다.
- [0237] 일부 실시양태에서, 생물유체 샘플은 (b) 이전에 약 1부의 생물유체 샘플 대 적어도 약 5부의 완충제 용액의 부피비로 완충제 용액으로 희석된다.
- [0238] 일부 실시양태에서, 생물유체 샘플은 (b) 이전에 약 1부의 생물유체 샘플 대 적어도 약 10부의 완충제 용액의 부피비로 완충제 용액으로 희석된다.
- [0239] 일부 실시양태에서, 생물유체 샘플은 (b) 이전에 약 1부의 생물유체 샘플 대 적어도 약 20부의 완충제 용액의 부피비로 완충제 용액으로 희석된다.
- [0240] 일부 실시양태에서, 생체분자 또는 생체분자 그룹은 단백질 또는 단백질 그룹을 포함한다.
- [0241] 일부 실시양태에서, 단백질 또는 단백질 그룹은 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 7 자릿수인 동적 범위를 갖는다.

- [0242] 일부 실시양태에서, 단백질 또는 단백질 그룹은 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 8 자릿수인 동적 범위를 갖는다.
- [0243] 일부 실시양태에서, 단백질 또는 단백질 그룹은 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 9 자릿수인 동적 범위를 갖는다.
- [0244] 일부 실시양태에서, 단백질 또는 단백질 그룹은 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 10 자릿수인 동적 범위를 갖는다.
- [0245] 일부 실시양태에서, 지지체는 부형제를 포함한다.
- [0246] 일부 실시양태에서, 지지체는 부형제이다.
- [0247] 일부 실시양태에서, 부형제는 텍스트란, PEG, 수크로스, 글루코스, 트레할로스, 락토스, 폴리소르베이트, 아미노산, 만니톨, 글리신, 글리세롤, 또는 이들의 임의의 조합 또는 변형을 포함한다.
- [0248] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 동결건조된 비드이다.
- [0249] 일부 실시양태에서, 동결건조된 비드는 2 마이크로리터(μL) 내지 60 μL 의 부피를 포함한다.
- [0250] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 다중 웰 플레이트 또는 튜브의 부피 내에 있다.
- [0251] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 다중 웰 플레이트 또는 튜브의 부피 내의 동결건조된 비드이다.
- [0252] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 다중 웰 플레이트 또는 튜브의 부피 내의 복수의 동결건조된 비드이다.
- [0253] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 표면 개질된 입자를 포함하는 복수의 입자를 포함한다.
- [0254] 일부 실시양태에서, (b) 후에 복수의 입자의 적어도 99.9%는 생체유체 샘플에서 응집되지 않는다.
- [0255] 일부 실시양태에서, 복수의 입자의 적어도 하나의 하위 세트의 개별 입자는 적어도 하나의 물리화학적 특성에서 또 다른 하위 세트와 상이하다.
- [0256] 일부 실시양태에서, 개별 입자는 각각 상이한 세트의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 가변 선택적 흡착을 위한 상이한 물리화학적 특성을 포함한다.
- [0257] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 적어도 2개 이상의 별개의 입자 유형을 포함한다.
- [0258] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 적어도 6개 이상의 별개의 입자 유형을 포함한다.
- [0259] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 적어도 10개 이상의 별개의 입자 유형을 포함한다.
- [0260] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 다음 중 적어도 2개를 포함한다: 실리카 코팅된 SPION, PDMPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아마이드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, 트리-아민 작용화된 나노입자, 디-아민 작용화된 나노입자, 또는 모노-아민 작용화된 나노입자.
- [0261] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 다음 중 적어도 2개를 포함한다: 실리카 코팅된 SPION, PDMPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 나노입자, 텍스트란 작용화된 나노입자, 혼합 아마이드 및 카르복실레이트 작용화된 실리카 코팅 나노입자, N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 나노입자, N1-(3-(트리메톡시실릴)프로필)헥산-1,6-디아민 작용화된 나노입자, 또는 1,6-헥산디아민 작용화된 나노입자.
- [0262] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 자성 입자를 포함한다.
- [0263] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 나노입자, 마이크로입자 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0264] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 나노입자 및 마이크로입자를 포함한다.
- [0265] 일부 실시양태에서, 표면 개질된 입자는 항체, T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체, 수용체 단백질, 또는 이의 변이체 또는 단편을 포함하지 않는다.
- [0266] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (a) 이전에, 표면 개질된 입자 및 지지체를 포함하는 용액 또는 현탁액을 생성하는 것을 추가로 포함한다.

- [0267] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 1 마이크로리터(μL) 초과와 부피를 갖는다.
- [0268] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 100 μL 미만의 부피를 갖는다.
- [0269] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 2 마이크로리터(μL) 내지 60 μL 의 부피를 갖는다.
- [0270] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 25 μL 내지 45 μL 의 부피를 갖는다.
- [0271] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액 중의 지지체는 50 mg/mL 초과와 농도를 갖는다.
- [0272] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액 중의 지지체는 250 mg/mL 미만의 농도를 갖는다.
- [0273] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액 중의 지지체는 250 mg/mL 미만의 농도를 갖는다.
- [0274] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액 중의 지지체는 100 mg/mL 내지 200 mg/mL의 농도를 갖는다.
- [0275] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 2.5 밀리그램/밀리리터(mg/mL) 초과와 입자 농도를 갖는다.
- [0276] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 100 mg/mL 미만의 입자 농도를 갖는다.
- [0277] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 10 mg/mL 내지 100 mg/mL의 입자 농도를 갖는다.
- [0278] 일부 실시양태에서, 용액 또는 현탁액은 15 mg/mL 내지 80 mg/mL의 입자 농도를 갖는다.
- [0279] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 동결된 조성물을 생성하기 위해 용액 또는 현탁액을 급속 동결시키는 단계를 추가로 포함한다.
- [0280] 일부 실시양태에서, 급속 동결은 액체 질소에서의 급속 동결을 포함한다.
- [0281] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 동결된 조성물을 동결건조하여 건조 조성물을 생성하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0282] 일부 실시양태에서, (b) 후에 액체 내의 입자 직경은 용액 또는 현탁액 내의 평균 입자 크기의 약 90% 내지 약 110%이다.
- [0283] 일부 실시양태에서, (b) 후에 표면 개질된 입자의 0.1% 미만이 입자 응집체로서 존재한다.
- [0284] 일부 실시양태에서, (b) 후에 액체 내의 표면 개질된 입자는 기준 제타 전위의 약 90% 내지 약 110%의 제타 전위를 포함하고, 여기서 기준 제타 전위는 액체를 급속 동결하기 전에 표면 개질된 입자를 포함하는 용액으로부터 측정 가능하다.
- [0285] 일부 실시양태에서, 동결된 조성물은 웰 또는 튜브에서 형성된다.
- [0286] 일부 실시양태에서, 동결된 조성물은 복수의 웰 또는 복수의 튜브에서 형성된다.
- [0287] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 비드당 적어도 0.5 mg의 표면 개질된 입자를 포함하는 비드이다.
- [0288] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 비드당 약 0.5 mg 내지 약 5 mg의 표면 개질된 입자를 포함하는 비드이다.
- [0289] 일부 측면에서, 본 개시내용은 생물학적 샘플을 검정하기 위한 시스템을 설명하고, 상기 시스템은 입자 및 지지체를 포함하는 건조 조성물을 포함하는 기관; 생물학적 샘플을 포함하는 샘플 저장 장치; 기관 및 샘플 저장 장치에 작동 가능하게 커플링된 로딩 유닛; 및 기계 실행 가능 코드를 포함하는 컴퓨터 판독 가능 매체를 포함하고, 상기 컴퓨터 판독 가능 매체는 프로세서에 의해 실행될 때 (a) 샘플 저장 장치로부터 생물학적 샘플 또는 그의 일부를 로딩 유닛을 사용하여 기관에 전달하는 단계; (b) 생물학적 샘플을 건조 조성물과 접촉시켜 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 포함하는 생체분자 코로나를 생성하는 단계를 포함하는 방법을 실행한다.
- [0290] 일부 실시양태에서, 기관은 다중 웰 플레이트 또는 튜브이다.
- [0291] 일부 실시양태에서, 기관은 건조 조성물을 각각 포함하는 복수의 건조 조성물을 포함한다.
- [0292] 일부 실시양태에서, 복수의 건조 조성물의 개별 건조 조성물에 포함된 입자의 적어도 하나의 하위 세트는 또 다른 하위 세트와 상이하다.
- [0293] 일부 실시양태에서, 입자의 적어도 하나의 하위 세트는 적어도 하나의 물리화학적 특성에서 또 다른 하위 세트와 상이하다.

- [0294] 일부 실시양태에서, 복수의 건조 조성물은 실리카 코팅된 SPION, 트리-아민 작용화된 나노입자, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 모노-아민 작용화된 나노입자, 또는 이들의 조합을 각각 포함하는 적어도 2개의 건조 조성물을 포함한다.
- [0295] 일부 실시양태에서, 다중 웰 플레이트의 각각의 웰은 복수의 건조 조성물의 개별 건조 조성물을 포함한다.
- [0296] 일부 실시양태에서, 샘플 저장 장치는 복수의 상이한 생물학적 샘플을 포함한다.
- [0297] 일부 실시양태에서, (a)의 전달은 복수의 상이한 생물학적 샘플을 각각 다중 웰 플레이트의 상이한 웰로 전달하는 것을 포함한다.
- [0298] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 복수의 일부를 포함한다.
- [0299] 일부 실시양태에서, (a)의 전달은 생물학적 샘플의 복수의 일부 각각을 다중 웰 플레이트의 상이한 웰로 전달하는 것을 포함한다.
- [0300] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플의 복수의 일부의 전달은 실질적으로 동시에 수행된다.
- [0301] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플 또는 그의 일부는 (b) 전에 용매에 적어도 약 2x 부피로 희석된다.
- [0302] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플 또는 그의 일부는 (b) 전에 용매에 적어도 약 10x 부피로 희석된다.
- [0303] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플의 세포막은 (b) 전에 적어도 부분적으로 용해된다.
- [0304] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (b) 전에 건조 조성물을 액체 내에서 재구성하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0305] 일부 실시양태에서, 액체는 적어도 약 3.5 내지 최대 약 7.4의 pH를 갖는다.
- [0306] 일부 실시양태에서, 액체는 적어도 약 4.5 내지 최대 약 5.5의 pH를 갖는다.
- [0307] 일부 실시양태에서, 액체는 최대 약 150 mM의 이온 농도를 갖는다.
- [0308] 일부 실시양태에서, 액체는 최대 약 50 mM의 이온 농도를 갖는다.
- [0309] 일부 실시양태에서, 액체는 최대 약 0.1 mM의 이온 농도를 갖는다.
- [0310] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 (b)에서 적어도 약 10초 동안 건조 조성물과 접촉 상태를 유지한다.
- [0311] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 (b)에서 적어도 약 1분 동안 건조 조성물과 접촉 상태를 유지한다.
- [0312] 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플은 (b)에서 적어도 약 5분 동안 건조 조성물과 접촉 상태를 유지한다.
- [0313] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (b) 후에 생체분자 코로나를 재현탁과 함께 세척하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0314] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 재현탁 없이 (b) 후에 생체분자 코로나를 세척하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0315] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 용해물을 생성하기 위해 (b) 전에 생물학적 샘플의 종을 용해시키는 단계를 추가로 포함한다.
- [0316] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 용해물을 감소시키는 단계를 추가로 포함한다.
- [0317] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 용해물을 여과하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0318] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 용해물을 알킬화하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0319] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (b) 후에 생체분자 코로나를 변성시켜 변성된 생체분자 코로나를 생성하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0320] 일부 실시양태에서, 변성은 단계적 변성이다.
- [0321] 일부 실시양태에서, 변성은 약 50℃ 내지 약 95℃의 온도에서 수행된다.
- [0322] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 소화된 생체분자 코로나를 생성하기 위해 (b) 후에 생체분자 코로나를 소화하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0323] 일부 실시양태에서, 소화는 약 20 마이크로그램/밀리리터($\mu\text{g/mL}$) 내지 약 0.1 그램/리터(g/L) 농도의 트립신을 사용하는 것을 포함한다.

- [0324] 일부 실시양태에서, 소화는 약 20 마이크로그램/밀리리터($\mu\text{g/mL}$) 내지 약 0.1 그램/리터(g/L)의 농도에서 단계적으로 lysC를 사용하는 것을 포함한다.
- [0325] 일부 실시양태에서, 소화는 최대 약 3시간 동안의 소화를 포함한다.
- [0326] 일부 실시양태에서, 소화는 최대 약 1시간 동안의 소화를 포함한다.
- [0327] 일부 실시양태에서, 소화는 평균 질량이 약 1000 달톤 내지 약 4000 달톤(Da)인 펩타이드를 생성한다.
- [0328] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 용액으로 방출하는 것을 추가로 포함한다.
- [0329] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 감소시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0330] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 여과하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0331] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 알킬화하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0332] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (b) 후에 생체분자 코로나를 변성시켜 변성된 생체분자 코로나를 생성하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0333] 일부 실시양태에서, 변성은 단계적 변성이다.
- [0334] 일부 실시양태에서, 변성은 약 50°C 내지 약 95°C의 온도에서 수행된다.
- [0335] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 소화된 생체분자 코로나를 생성하기 위해 (b) 후에 생체분자 코로나를 소화하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0336] 일부 실시양태에서, 소화는 약 20 마이크로그램/밀리리터($\mu\text{g/mL}$) 내지 약 0.1 그램/리터(g/L) 농도의 트립신을 사용하는 것을 포함한다.
- [0337] 일부 실시양태에서, 소화는 약 20 마이크로그램/밀리리터($\mu\text{g/mL}$) 내지 약 0.1 그램/리터(g/L)의 농도에서 단계적으로 lysC를 사용하는 것을 포함한다.
- [0338] 일부 실시양태에서, 소화는 최대 약 3시간 동안의 소화를 포함한다.
- [0339] 일부 실시양태에서, 소화는 최대 약 1시간 동안의 소화를 포함한다.
- [0340] 일부 실시양태에서, 소화는 평균 질량이 약 1000 달톤 내지 약 4000 달톤(Da)인 펩타이드를 생성한다.
- [0341] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (b) 후에 생체분자 코로나를 용출하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0342] 일부 실시양태에서, 용출은 입자로부터 온전한 단백질을 방출하는 것을 포함한다.
- [0343] 일부 실시양태에서, 용출은 용액 부피의 최대 약 2x 부피로 용출하는 것을 포함한다.
- [0344] 일부 실시양태에서, 용출은 용액 부피의 최대 약 8x 부피로 용출하는 것을 포함한다.
- [0345] 일부 실시양태에서, 용출은 최대 약 50 psi의 압력에서 용출하는 것을 포함한다.
- [0346] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (b) 후에 고체상 추출을 추가로 포함한다.
- [0347] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (b) 후에 생체분자 코로나에 대해 질량 분광 분석을 수행하는 것을 추가로 포함한다.
- [0348] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (b) 후에 생체분자 코로나에 대한 액체 크로마토그래피를 수행하는 것을 추가로 포함한다.
- [0349] 일부 실시양태에서, 기관은 플라스틱 제품을 포함하고, 여기서 방법은 적어도 플라스틱 제품 바코드, 입자 바코드 및 시약 바코드를 포함하는 바코드 세트를 제공하고, 바코드 세트를 컴퓨터 판독 가능 매체에 전달하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0350] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 적어도 부분적으로 플라스틱 제품 바코드를 기초로 하여 플라스틱 제품을 플라스틱 제품 저장소로부터 로딩 유닛으로 전달하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0351] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 적어도 부분적으로 입자 바코드를 기초로 하여 건조 조성물을 입자 저장소로 부

터 로딩 유닛으로 전달하는 단계를 추가로 포함한다.

- [0352] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 적어도 부분적으로 시약 바코드를 기초로 하여 시약을 시약 저장소로부터 로딩 유닛으로 전달하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0353] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 생물학적 샘플의 적어도 일부로부터 건조 조성물의 적어도 일부를 분리하는 것을 포함한다.
- [0354] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 생물학적 샘플로부터 생체분자 코로나의 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 적어도 한 하위 세트를 분리하는 것을 포함한다.
- [0355] 일부 실시양태에서, 분리하는 자기 분리를 포함한다.
- [0356] 일부 측면에서, 본 개시내용은 (i) 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 흡착을 위한 표면 개질을 포함하는 입자 및 (ii) 지지체를 포함하는 건조 조성물을 포함하는 건조 입자 제제를 설명하고, 여기서 건조 조성물은 적어도 3개월 동안 25℃ 초과 온도에서 안정하다.
- [0357] 일부 실시양태에서, 표면 개질은 실리카 코팅, PDMA-PMA-중합체 작용화, 글루코스-6-포스페이트 작용화, 폴리스티렌 카르복실 작용화, 텍스트란 작용화, 아마이드 작용화, 카르복실 작용화, 트리-아민 작용화, 디-아민 작용화, 모노-아민 표면 작용화, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0358] 일부 실시양태에서, 표면 개질은 N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 작용화, 1,6-헥산디아민 작용화, N1-(3-(트리메톡시실릴)프로필)헥산-1,6-디아민, 이들의 조합을 포함한다.
- [0359] 일부 실시양태에서, 표면 개질은 금속 산화물 코팅을 포함한다.
- [0360] 일부 실시양태에서, 표면 개질은 적어도 하나의 노출된 1차 아민 기, 2차 아민 기, 3차 아민 기를 포함한다.
- [0361] 일부 실시양태에서, 표면 개질은 적어도 하나의 모노사카라이드를 포함한다.
- [0362] 일부 실시양태에서, 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹은 펩타이드, 핵산, 대사산물, 지질, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0363] 일부 실시양태에서, 지지체는 수크로스, d-만니톨, 트레할로스, 글리세롤, 텍스트란, PEG, 글루코스, 락토스, 폴리소르베이트 또는 아미노산 중 적어도 하나를 포함한다.
- [0364] 일부 실시양태에서, 복수의 입자는 지지체의 존재 하에 동결건조된다.
- [0365] 일부 실시양태에서, 지지체는 건조 조성물의 적어도 약 60 중량%를 차지한다.
- [0366] 일부 실시양태에서, 지지체는 건조 조성물의 적어도 약 70 중량%를 차지한다.
- [0367] 일부 실시양태에서, 지지체는 건조 조성물의 최대 약 80 중량%를 차지한다.
- [0368] 일부 실시양태에서, 지지체는 건조 조성물의 최대 약 90 중량%를 차지한다.
- [0369] 일부 실시양태에서, 온도는 25℃ 내지 60℃이다.
- [0370] 일부 실시양태에서, 온도는 35℃ 내지 40℃이다.
- [0371] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 적어도 7일 동안 37℃ 초과 온도에서 안정하다.
- [0372] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 적어도 40일 동안 37℃에서 안정하다.
- [0373] 일부 실시양태에서, 입자는 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 85% 내지 115%인 평균 제타 전위를 갖는다.
- [0374] 일부 실시양태에서, 입자는 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 90% 내지 110%인 평균 제타 전위를 갖는다.
- [0375] 일부 실시양태에서, 입자는 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 95% 내지 105%인 평균 제타 전위를 갖는다.
- [0376] 일부 실시양태에서, 입자는 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 85% 내지 115%인 평균 제타 전위를 갖는다.

- [0377] 일부 실시양태에서, 입자는 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위 표준 편차의 90% 내지 110%인 평균 제타 전위 표준 편차를 갖는다.
- [0378] 일부 실시양태에서, 입자는 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위 표준 편차의 95% 내지 105%인 평균 제타 전위 표준 편차를 갖는다.
- [0379] 일부 실시양태에서, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 평균 직경의 85% 내지 115%인 평균 직경을 갖는다.
- [0380] 일부 실시양태에서, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 평균 직경의 90% 내지 110%인 평균 직경을 갖는다.
- [0381] 일부 실시양태에서, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 평균 직경의 95% 내지 105%인 평균 직경을 갖는다.
- [0382] 일부 실시양태에서, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 평균 직경의 98% 내지 102%인 평균 직경을 갖는다.
- [0383] 일부 실시양태에서, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 직경 표준 편차의 85% 내지 115%인 직경 표준 편차를 갖는다.
- [0384] 일부 실시양태에서, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 직경 표준 편차의 90% 내지 110%인 직경 표준 편차를 갖는다.
- [0385] 일부 실시양태에서, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 직경 표준 편차의 95% 내지 105%인 직경 표준 편차를 갖는다.
- [0386] 일부 실시양태에서, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 직경 표준 편차의 98% 내지 102%인 직경 표준 편차를 갖는다.
- [0387] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본 명세서에서 개시되는 건조 입자 제제 중 임의의 하나 및 건조 조성물을 수용하고 보유하도록 구성된 기관을 포함하는 키트를 설명한다.
- [0388] 일부 실시양태에서, 기관은 튜브 또는 웰을 포함한다.
- [0389] 일부 실시양태에서, 기관은 96웰 플레이트이다.
- [0390] 일부 실시양태에서, 기관은 미세유체 장치를 포함한다.
- [0391] 일부 실시양태에서, 기관은 제337항 내지 제364항 중 어느 한 항의 건조 조성물을 각각 포함하는 복수의 공간적으로 격리된 위치를 포함한다.
- [0392] 일부 실시양태에서, 복수의 공간적으로 격리된 위치의 개별 위치는 개별적으로 및/또는 독립적으로 주소 지정 가능하다.
- [0393] 일부 측면에서, 본 개시내용은 (a) 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 흡착을 위해 표면 개질된 입자 및 지지체를 포함하는 건조 조성물을 포함하는 건조 입자 제제를 설명하며, 여기서 건조 조성물은 용매에서 재구성하지 않고 후속적으로 사용하도록 구성된다.
- [0394] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 적어도 7일 동안 25℃ 초과 온도에서 안정하다.
- [0395] 일부 실시양태에서, 온도는 25℃ 내지 60℃이다.
- [0396] 일부 실시양태에서, 온도는 35℃ 내지 40℃이다.
- [0397] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 적어도 7일 동안 37℃에서 안정하다.
- [0398] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 적어도 10일 동안 37℃에서 안정하다.
- [0399] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 적어도 7일 동안 37℃ 초과 온도에서 안정하다.
- [0400] 일부 실시양태에서, 건조 조성물은 적어도 40일 동안 37℃에서 안정하다.

- [0401] 일부 실시양태에서, 입자는 동결건조된다.
- [0402] 일부 실시양태에서, 입자는 지지체의 존재 하에 동결건조된다.
- [0403] 일부 실시양태에서, 동결건조된 입자는 건조 조성물의 재구성 시에, 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 크기의 85% 내지 115%인 입자 크기를 갖는다.
- [0404] 일부 실시양태에서, 동결건조된 입자는 건조 조성물의 재구성 시에, 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 크기의 90% 내지 110%인 입자 크기를 갖는다.
- [0405] 일부 실시양태에서, 동결건조된 입자는 건조 조성물의 재구성 시에, 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 크기의 95% 내지 105%인 입자 크기를 갖는다.
- [0406] 일부 실시양태에서, 동결건조된 입자는 건조 조성물의 재구성 시에, 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 크기의 98% 내지 102%인 입자 크기를 갖는다.
- [0407] 일부 실시양태에서, 동결건조된 입자는 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 85% 내지 115%인 제타 전위를 갖는다.
- [0408] 일부 실시양태에서, 동결건조된 입자는 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 90% 내지 110%인 제타 전위를 갖는다.
- [0409] 일부 실시양태에서, 동결건조된 입자는 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 95% 내지 105%인 제타 전위를 갖는다.
- [0410] 일부 실시양태에서, 후속 사용은 샘플과의 접촉 후 생체분자 코로나 형성을 포함한다.
- [0411] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본 명세서에서 개시되는 건조 입자 제제 중 임의의 하나 및 건조 조성물을 수용하고 보유하도록 구성된 기관을 포함하는 키트를 설명한다.
- [0412] 일부 실시양태에서, 기관은 튜브 또는 웰을 포함한다.
- [0413] 일부 실시양태에서, 기관은 96웰 플레이트이다.
- [0414] 일부 실시양태에서, 기관은 건조 조성물을 각각 포함하는 복수의 공간적으로 격리된 위치를 포함한다.
- [0415] 일부 실시양태에서, 복수의 공간적으로 격리된 위치의 개별 위치는 개별적으로 및/또는 독립적으로 주소 지정 가능하다.
- [0416] 참조에 의한 편입
- [0417] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 마치 각각의 개별 간행물, 특허 또는 특허 출원이 구체적이고 개별적으로 참고로 포함되는 것으로 표시된 것과 동일한 정도로 본 명세서에 참조로 포함된다.

도면의 간단한 설명

- [0418] 본 발명의 새로운 특징은 특허 첨부된 청구범위에 제시되어 있다. 본 발명의 특징 및 장점에 대한 더 나은 이해는 본 발명의 원리가 활용되는 예시적인 실시양태를 설명하는 다음의 상세한 설명 및 첨부 도면(또한 본 명세서에서 "도면" 및 "도")을 참조함으로써 얻어질 것이다.
- 도 1은 샘플에서 단백질 및 핵산을 검정하기 위한 예시적인 워크플로우를 보여준다.
- 도 2a는 29개의 개별 샘플로부터 10개 입자 패널에서 수집된 단백질 중에서 확인된 단백질 변이의 수를 요약한 것이다.
- 도 2b는 도 2a에서의 단백질 변이 확인의 예를 제공한다. 샘플에서 글리신 및 아르기닌(동그라미 표시된 아미노산) 펩타이드 변이체를 확인할 수 있는 샘플의 RNA에서 확인된 다중 대립유전자가 표시된다.
- 도 3은 암 환자 및 건강한 환자로부터 유래된 다수의 샘플로부터의 6개의 개별 BMP1 펩타이드(1-6으로 표시된 플롯)에 대한 정규화된 질량 분광 분석 강도를 나타낸 것이다.
- 도 4는 실험에서 건강한, 동반이환(comorbid), 초기 폐암, 및 말기 폐암 환자(X축, 왼쪽에서 오른쪽)에 걸쳐 인산화된 헤파린 보조인자 2와 인산화되지 않은 헤파린 보조인자 2(Y축)의 비를 보여준다.

도 5는 핵산 데이터로부터 단백질 서열 및 예측된 질량 분광 분석 펩타이드 신호의 대상체 특이적 라이브러리를 생성하는 방법을 예시한 것이다.

도 6은 핵산 및 단백질체 데이터를 사용하여 동형접합성 또는 이형접합성을 결정하는 방법의 예를 제공한다.

도 7은 발현 패턴을 결정하기 위해 단백질 질량 분광 분석 데이터를 사용하기 위한 워크플로우를 보여준다.

도 8a는 연구된 각각의 샘플 그룹 내의 대상체의 수를 예시한 것이다. 도 8b는 상이한 백분율의 비소세포폐암(NSCLC) 집단에 대해 일반적으로 확인된 단백질 그룹의 최대 수를 제공한다.

도 9는 입자 상에 수집되고 트립신 소화된 혈장 단백질로부터 확인된 펩타이드 단편의 수를 나타낸 것이다.

도 10은 29명의 대상체에서 확인된 464개의 변이체(어두운 아래쪽 막대) 및 2504명의 대상체에서 확인된 약 10^8 개의 변이체(밝은 위쪽 막대) 중의 대립유전자 빈도 분포를 제공한다.

도 11은 29명의 대상체 집단 중에서 확인된 464개의 대립유전자에 대한 밀도 플롯을 제공한다.

도 12a는 생물학적 상태 관련 단백질 이소형을 확인하기 위한 방법을 개략적으로 나타낸 것이다. 간략하게 설명하면, 단백질의 단편('단백질 X')은 생물학적 상태 의존적 스플라이싱 변이를 갖는 단백질을 확인하기 위해 두 생물학적 상태 사이의 차등적 발현에 대해 조사된다.

12b는 공개 표적(Open Target) 폐 암종 연관성 점수에 따라 16개의 확인된 비소세포 폐암 단백질 바이오마커의 순위를 매긴다.

도 12c는 인간 혈장 단백질체 프로젝트(Human Plasma Proteome Project)의 농도를 사용하여 알려진 혈장 단백질 풍부도에 의해 도 12b로부터 확인된 16개의 NSCLC 단백질 바이오마커를 플로팅한 것이다.

도 13은 말기 비소세포 폐암(NSCLC), 초기 비소세포 폐암, 동반이환, 또는 건강한 상태를 가진 29명의 대상체 각각에서 확인된 단백질 변이체의 수를 제공한다.

도 14는 말기 비소세포폐암(NSCLC), 초기 비소세포폐암, 동반이환, 또는 건강한 상태를 가진 29명의 대상체 각각에서 관찰된 7가지 폐암 관련 후보 단백질의 변이체 형태의 수를 제공한다.

도 15는 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부에 대한 이점을 그래프로 예시한 것이다.

도 16은 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부에 대한 병렬 및 구성 가능한 워크플로우를 개략적으로 예시한 것이다.

도 17은 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부를 실행하는 파이프라인을 개략적으로 예시한 것이다. 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부는 단순화되고 자동화된 취급을 가능하게 할 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부는 유체 취급 및 자기 포획을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부는 액체 취급 기구 검정 실행을 포함할 수 있다.

도 18은 일부 화학 구조로 SPION을 작용화하는 방법을 개략적으로 예시한 것이다.

도 19a-19b는 본 명세서에서 개시되는 일부 입자에 대한 크기 및 조성 데이터를 나타낸 것이다. 본 명세서에서 개시되는 나노입자 중 일부는 크기, 형태 및 조성이 일치한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 특성화는 품질 관리 목적을 위해 사용될 수 있다.

도 20은 단백질 및 단백질 구조 및 작용기의 풍부도를 분석하기 위해 복수의 입자를 사용하는 방법을 예시한 것이다.

도 21은 MS 강도의 데이터베이스, 본 개시내용의 나노입자를 사용하지 않고 고갈된 혈장에서 검출된 MS 강도, 본 개시내용의 5개 나노입자의 패널을 사용하여 고갈된 혈장에서 검출된 복합적인 MS 강도, 및 본 개시내용의 5개 나노입자 중의 하나를 각각 사용하여 고갈된 혈장에서 검출된 5개의 독립적인 MS 강도에 대한 플롯을 보여준다. 141명의 NSCLC가 있는 대상체로부터의 혈장 샘플을 이 연구에 사용하였다. 생물학적 샘플(예를 들어, 혈장) 내의 단백질은 넓은 농도 범위 또는 동적 범위를 포함할 수 있다. 고품부도 단백질의 양이 감소한 샘플(예를 들어, 고갈된 혈장)에서도, 단백질을 깊이 있게(고품부도의 단백질과 저품부도의 단백질 둘 모두를) 광범위하게(특정 단백질에 대한 최소한의 선택 편향(selective bias)으로 다양한 단백질을 검출) 검출하는 것이 어려울 수 있다. 단백질은 데이터베이스에서 MS 강도의 순위에 따라 정렬되었다. 단백질이 적어도 25%의 샘플에 존재하는 경우, 단백질을 플로팅하였다. 복합 플롯에서, 색상 강도는 5개의 개별 나노입자에서 가장 높은 검출 값을 나타

낸 것이다. 복합 플롯은 나노입자가 이용 가능한 혈장 단백질의 전체 스펙트럼을 보다 완벽하게 검출하였음을 보여준다. 한편, 각각의 개별 나노입자는 고갈된 혈장의 직접 MS 분석보다 더 많은 단백질을 검출하였다. 개별 나노입자는 혈장 단백질체의 거의 전체 범위를 분석할 수 있었다. 일부 경우에, 나노입자의 패널은 단백질체의 전체 범위 또는 단백질체의 특정 부분을 커버하도록 최적화될 수 있다. 나노입자를 사용하여 고갈된 혈장에 대한 MS 실험을 통해, 덜 풍부한 단백질을 검출하고/하거나 단백질체를 더 광범위하게 검출할 수 있다.

도 22는 펩타이드 농도의 함수로서 다양한 펩타이드에 대해 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부를 사용하여 검출된 질량 분광 분석(MS) 특징 강도에 대한 실험 데이터를 보여준다. 골드 표준(gold-standard) ELISA에 대해 모델링된 나노입자 코로나의 MS 데이터를 사용한 스पा이크 복구 실험은 내인성 수준의 1X, 2X, 5X, 10X 및 100X의 스पा이크 단백질에서 4개의 나노입자가 있는 4개의 폴리펩타이드에 대한 선형성을 입증한다. 데이터는 나노입자 기반 단백질 검출의 우수한 정확도 및 정밀도를 보여준다. 따라서, 단백질의 상대 농도 또는 절대 농도(보정 포함)는 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부를 사용하여 결정될 수 있다.

도 23a는 본 명세서에서 개시되는 일부 입자를 사용한 실험으로부터의 미가공(raw) MS 특징 강도의 히스토그램을 보여준다. 도 23b는 본 명세서에서 개시되는 일부 입자의 MS 특징 강도의 변동 계수(CV: coefficient of variance)를 나타낸 것이다. 3개의 나노입자(즉, NP1, NP2 및 NP3)에 대해 3개의 반복 실험을 수행하였다. 다양한 단백질에 대한 MS 신호의 분포를 히스토그램으로 표시하였다. 반복 실험 결과는 실험의 재현성을 보여주는 플롯으로 중첩되었다. 입자에 의한 특징 강도의 분포는 실험의 반복 시험을 통해 보존되었다. 변동 계수는 각각의 나노입자에 대해 계산되었다. 결과는 25개의 샘플 및 2000개의 단백질을 측정할 때 단백질 농도의 50% 차이를 검출하는 약 85%의 검정력이 있음을 시사한다. 이 예에서, 검정력은 예상 효과 크기, 샘플 크기 및 측정 정확도가 주어졌을 때 실험에서 특정 결과에 대해 유의미한 차이를 발견할 확률을 나타낸 것이다. 이 예에서, 50%의 차이는 2개의 생물학적 샘플 사이의 단백질 풍부도(예를 들어, 농도로 측정)의 비를 나타낸 것이다.

도 24는 본 명세서에서 개시되는 일부 입자를 사용하여 다양한 단백질에 대해 단백질당 검출된 펩타이드의 수에 대한 실험 데이터를 보여준다. 141명의 건강한 및 초기 NSCLC 대상체로부터 단백질을 검정하였다. 샘플의 적어도 25%에 존재하는 단백질(1992개의 단백질)이 플로팅된다. 단백질당 검출된 펩타이드 수의 중앙값은 약 7-8개이다.

도 25a는 훈련된 머신 러닝 분류기에 대한 수신자 조작 특성(ROC: receiver operating characteristic) 곡선을 나타낸 것이다. 도 25b는 훈련된 머신 러닝 분류기에 대한 입력 특징들의 특징 중요도 순위를 나타낸 것이다. 머신 러닝 분류기는 건강한 대상체와 초기 NSCLC 대상체를 분류하기 위해 다중 교차 검증으로 훈련되었다. 훈련된 머신 러닝 분류기는 AUC가 0.91, 민감도가 59%, 특이도가 98%이다. 특징 중요도 순위는 어떤 나노입자가 대상체를 분류하는 데 중요한 신호인지를 보여준다. 중요도 특징의 대부분은 NSCLC 연구에 유용한 것으로 새롭게 발견되었다. 중요한 특징 중 하나는 파클리탁셀의 표적인 튜불린이다.

도 26은 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부에 따라 나노입자를 사용하여 단백질을 분석하기 위한 예시적인 흐름도를 보여준다.

도 27은 인간 계놈의 다양한 엑손에 대한 양성 샘플 및 대조군 샘플에서의 변형 비의 실험적 측정치를 보여준다. 이 연구에서 검출된 펩타이드 중에서, 6개의 특정 펩타이드는 골 형성 단백질 1(BMP1: Bone Morphogenic Protein 1)의 다양한 부분에서 유래되었다. 짧은 형태의 BMP1 단백질은 주로 암 환자에서 발견되는 반면, 긴 형태의 단백질은 건강한 대조군에서 더 자주 또는 더 높은 수준으로 나타났다. 따라서, 질병에 의한 단백질 이소형의 차등적 발현이 검출될 수 있다.

도 28은 인산화되지 않은 펩타이드와 비교한 인산화 펩타이드(포스포-펩타이드)의 예시를 보여준다.

도 29는 프로테오게놈 정보로부터 단백질 서열 다형성(예를 들어, 단일 뉴클레오타이드 변이 돌연변이)의 실험적 측정을 보여준다. 0.001% 집단 빈도 SNV에 의해 유도된 아미노산 치환이 검출되었다.

도 30은 단백질-단백질 상호작용의 개략도를 보여준다.

도 31은 인간 혈장 상호작용 지도의 예시를 보여준다.

도 32는 276명의 대상체로부터의 샘플에서 검출된 단백질을 사용하여 STRING PPI 데이터베이스로부터 생성된 단백질-단백질 상호작용 지도를 보여준다. 점은 개별 단백질을 나타내며, 음영이 밝을수록 높은 풍부도를 나타낸 것이다. 3개의 원형 클러스터는 건강한 샘플과 병에 걸린 샘플에 걸친 혈장 상호작용의 차등 발현을 보여준다.

- 도 33은 본 명세서에서 설명되는 일부 조성물 및 방법의 다양한 특징을 나열한 표를 보여준다.
- 도 34는 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부를 실행하는 파이프라인을 개략적으로 예시한 것이다.
- 도 35는 본 명세서에서 개시되는 생체분자 코로나를 검정하기 위한 방법 중 일부를 실행하는 파이프라인을 개략적으로 예시한 것이다.
- 도 36은 본 명세서에서 개시되는 일부 입자의 예시 그림, 현미경 이미지, 직경 및 제타 전위 측정치를 보여준다.
- 도 37은 생체분자 코로나를 검정하기 위한 자동화 시스템의 예를 보여준다.
- 도 38은 다중 웰 검정 플레이트의 다이어그램을 보여준다.
- 도 39는 생체분자 코로나를 검정하기 위한 자동화 시스템의 테크 레이아웃에 대한 다이어그램을 보여준다.
- 도 40은 본 명세서에서 개시되는 생체분자 코로나를 검정하는 방법의 예를 개략적으로 도시한 것이다.
- 도 41은 대조군 실험을 위한 웰을 포함하는 다중 웰 검정 플레이트의 다이어그램을 보여준다.
- 도 42는 개별 단백질체 기기를 사용하여 수행된 실험 결과를 보여준다.
- 도 43은 알츠하이머병 연구를 위해 200개의 샘플에 대해 수행된 생체분자 코로나 검정의 결과를 보여준다.
- 도 44는 네이키드 혈장 수(naked plasma count) 실험과 비교하여 생체분자 코로나 검정 실험을 사용한 샘플에 의한 패널 단백질 그룹 수를 보여준다.
- 도 45는 생체분자 코로나 분석 워크플로우를 위한 데이터 구조의 예를 보여준다.
- 도 46은 생체분자 코로나 분석 워크플로우를 위한 데이터 구조의 예를 보여준다.
- 도 47은 생체분자 코로나 분석 워크플로우를 위한 그래픽 사용자 인터페이스(GUI)의 예를 보여준다.
- 도 48은 본 명세서에서 개시되는 일부 분석 도구 및 GUI 요소의 예를 보여준다.
- 도 49는 본 명세서에서 개시되는 일부 분석 도구 및 GUI 요소의 예를 보여준다.
- 도 50은 본 명세서에서 개시되는 일부 기구의 예를 보여준다.
- 도 51은 본 명세서에서 개시되는 일부 입자에 대한 제조 실험의 결과를 보여준다.
- 도 52는 본 명세서에서 개시되는 일부 입자에 대한 현미경 이미지를 보여준다.
- 도 53은 본 명세서에서 개시되는 건조 조성물의 일부 예를 보여준다.
- 도 54a-54b는 본 명세서에서 개시되는 바와 같은 일부 건조 조성물에 대한 안정성 실험 결과를 보여준다.
- 도 55는 DLS에 의해 측정된 본 명세서에서 개시되는 바와 같은 일부 입자 및 이들의 건조 조성물에 대한 직경을 나타낸 것이다.
- 도 56은 본 명세서에서 개시되는 일부 입자 및 그의 건조 조성물에 대한 제타 전위를 나타낸 것이다.
- 도 57은 표준 패널, 사용 전 물로 재구성된 건조 조성물, 재구성 없이 사용된 건조 조성물 및 동결건조 없이 사용된 부형제를 포함하는 대조군 조성물에 대한 펩타이드 수 및 단백질 그룹 수를 보여준다.
- 도 58은 라이브러리 변이체 검출 방법의 개략도를 제공한다.
- 도 59는 변이체 펩타이드 검출 및 분석 방법을 도식화한 것이다.
- 도 60은 본 명세서에서 제공되는 방법을 실행하도록 프로그래밍되거나 구성된 컴퓨터 시스템을 보여준다.
- 도 61은 별도의 대상체로부터의 29개 샘플에서 참조 또는 대체 대립유전자 변이체에 상응하는 이형접합성 및 동형접합성 대립유전자에 상응하는 검출된 유전 변이체의 수를 요약한 것이다.
- 도 62는 29개 샘플에서 검출된 변이체 단백질의 대체 대립유전자 빈도를 요약한 것이다. 패널 A는 1% 대체 대립유전자 빈도 증분으로 비닝된(binned) 변이체가 있는 히스토그램을 제공한다. 패널 B는 대체 대립유전자 빈도에 서 10% 증분에 상응하는 빈이 있는 표를 제공한다.

도 63은 10% 초과 및 10% 미만의 집단 수준 풍부도에 상응하는 이형접합성 및 동형접합성 대립유전자에 상응하는 검출된 유전자 변이체의 수를 요약한 것이다.

도 64a는 29개의 검정 샘플 중 적어도 2개에서 검출된 0.01 미만의 대체 대립유전자 빈도를 갖는 단일 아미노산 다형성 변이체를 열거한 것이다. 도 64b는 29명의 환자 샘플에 걸쳐 검출된 응고 인자 V(F5)의 참조 및 변이체 형태의 상대적인 수를 제공한다. 도 64c는 29명의 환자 샘플에 걸쳐 검출된 알파-1 항트립신(SERPINA1)의 참조 및 변이체 형태의 상대적인 수를 제공한다. 도 64d는 29명의 환자 샘플에 걸쳐 검출된 아포지단백질 H(APOH)의 참조 및 변이체 형태의 상대적인 수를 제공한다. 도 64e는 29명의 환자 샘플에 걸쳐 검출된 아포지단백질 B(APOB)의 참조 및 변이체 형태의 상대적인 수를 제공한다. 도 64f는 29명의 환자 샘플에 걸쳐 검출된 인터-알파-트립신 억제제 중쇄 3(ITIH3: Inter-Alpha-Trypsin Inhibitor Heavy Chain 3)의 참조 및 변이체 형태의 상대적인 수를 제공한다. 도 64g는 29명의 환자 샘플에 걸쳐 검출된 응고 인자 V(F5)의 대체 및 참조 형태에 대한 질량 분광 분석 강도를 제공한다. 도 64h는 29명의 환자 샘플에 걸쳐 검출된 알파-1 항트립신(SERPINA1)의 대체 및 참조 형태에 대한 질량 분광 분석 강도를 제공한다. 도 64i는 29명의 환자 샘플에서 검출된 아포지단백질 H(APOH)의 대체 및 참조 형태에 대한 질량 분광 분석 강도를 제공한다. 도 64j는 29명의 환자 샘플에 걸쳐 검출된 아포지단백질 B(APOB)의 대체 및 참조 형태에 대한 질량 분광 분석 강도를 제공한다. 도 64k는 29명의 환자 샘플에 걸쳐 검출된 인터-알파-트립신 억제제 중쇄 3(ITIH3)의 대체 및 참조 형태에 대한 질량 분석 강도를 제공한다.

도 65a-b는 29개의 샘플에 걸쳐 검출된 이형접합성 대립유전자 사이의 중첩을 나타낸 것이다.

도 66a-b는 0.5 미만의 대체 대립유전자 빈도를 갖는 변이체 펩타이드에 대한, 29개 샘플에 걸쳐 검출된 동형접합성 대립유전자 사이의 중첩을 나타낸 것이다.

도 67a-b는 0.5보다 큰 대체 대립유전자 빈도를 갖는 변이체 펩타이드에 대한, 29개 샘플에 걸쳐 검출된 동형접합성 대립유전자 사이의 중첩을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0419] 상세 설명

[0420] 본 발명의 다양한 실시양태가 본 명세서에서 도시되고 설명되었지만, 그러한 실시양태는 단지 예로서 제공되는 것이 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 본 발명에서 벗어나지 없이, 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게는 다양한 변형, 변경 및 대체가 발생할 수 있다. 본 명세서에서 설명되는 본 발명의 실시양태에 대한 다양한 대안이 채용될 수 있음을 이해해야 한다.

[0421] 생물학적 샘플은 단백질, 핵산, 지질, 폴리사카라이드 등을 포함하는 다양한 생체분자의 복잡한 혼합물이다. 다양한 생체분자의 존재 또는 부재 및 농도뿐만 아니라, 생체분자의 다양한 하위 세트(예를 들어, 단백질 및 핵산) 사이의 상관 관계는 샘플의 생물학적 상태(예를 들어, 건강한 또는 질병 상태)를 나타낼 수 있다. 하나 이상의 샘플에서 시퀀싱(예를 들어, 차세대 시퀀싱(NGS) 기술)을 사용하여 미립자 표면 상의 생체분자 및 핵산(예를 들어, 무세포 핵산)의 코로나 분석을 포함하는 방법을 사용하여 단백질을 분석하기 위한 조성물 및 워크플로우가 본원에 개시되어 있다. 하나 이상의 샘플은 하나 이상의 생물학적 샘플을 포함할 수 있다. 하나 이상의 샘플은 대상체로부터 얻을 수 있다. 하나 이상의 샘플은 복수의 대상체로부터 얻을 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 방법은 단백질과 핵산 사이 또는 본 명세서에서 개시되는 임의의 다양한 생체분자 사이의 관련 패턴을 확인할 수 있으며, 관련 패턴은 하나 이상의 생물학적 상태를 나타낼 수 있다. 경우에 따라, 생물학적 상태는 건강한 생물학적 상태 또는 질병 상태일 수 있다.

[0422] 상기 방법은 특정 질병 상태(예를 들어, 암의 아형 또는 암의 병기) 사이를 추가로 구별할 수 있다.

[0423] 도 1에 도시된 예시적인 워크플로우에서, 점선 및 박스로 도시된 선택적인 단계와 함께 본 개시내용의 프로토타입 방법의 기술된다. 처음에, 생물학적 샘플을 얻는다(100). 생물학적 샘플은 선택적으로 샘플의 제1 부분 및 샘플의 제2 부분을 포함하는 여러 부분으로 나뉜다(105). 샘플의 제1 부분은 센서 요소(예를 들어, 입자)와 접촉할 수 있다. 접촉 시, 샘플의 생체분자(예를 들어, 단백질 또는 단백질 그룹)는 생체분자 코로나를 형성하는 센서 요소 표면에 흡착될 수 있다(110). 입자(들)는 샘플 내의 결합되지 않은 생체분자로부터 분리될 수 있다(115). 선택적으로, 샘플 또는 샘플의 일부는 입자와의 접촉(110) 또는 결합되지 않은 생체분자로부터 입자의 후속 분리(115) 후에 핵산 분석을 거칠 수 있다(예를 들어, 선택적으로 (130), 선택적으로 (135), (140), 및 (150)). 코로나 내의 생체분자는 예를 들어 용출 또는 트립신 처리에 의해 입자 표면으로부터 방출될 수 있다.

(120). 생성된 생체분자 또는 그의 단편(예를 들어, 펩타이드 및/또는 단백질)은 질량 분광 분석법과 같은 많은 정성적 또는 정량적 기술을 사용하여 검정할 수 있다(125). 따라서, 생체분자 코로나 내의 생체분자 코로나의 조성 및 종의 풍부도(예를 들어, 단백질 또는 단백질 그룹(들)의 양)이 확인되어 단백질체 데이터를 생성하다. 샘플 또는 샘플의 제2 부분은 핵산 분석을 거칠 수 있다. 핵산은 예를 들어 증폭 또는 풀-다운(pull-down) 프로브(예를 들어, 용액에서 또는 고체 기판에 부착됨)를 사용하여 선택적으로 농축될 수 있다(130). 선택적으로, 샘플 또는 샘플의 일부는 핵산 농축(130) 후에 생체분자 코로나 분석(예를 들어, (110), 선택적으로 (115), 선택적으로 (120), (125) 및 (145))에 적용될 수 있다. 핵산은 시퀀싱(135, 140)과 같은 핵산 분석을 위한 시약과 접촉하여 서열 정보 또는 게놈 데이터(140)를 생성할 수 있다. 시퀀싱은 생물학적 샘플로부터 핵산 서열을 정량하는 것을 포함할 수 있다. 시퀀싱은 합성에 의한 시퀀싱(NGS)에 의해 수행될 수 있다. 시퀀싱은 전통적인 생어(Sanger) 시퀀싱에 의해 수행될 수 있다. 생성된 단백질체 데이터(125)는 샘플로부터 펩타이드, 단백질 또는 단백질 그룹을 확인(145)하는 데 사용될 수 있고, 게놈 데이터(140)는 샘플 내의 핵산 서열을 확인하는 데 사용될 수 있다. 선택적으로, 핵산 서열은 펩타이드, 단백질, 또는 단백질 그룹 확인, 또는 생체분자 검정에 영향을 미칠 수 있다(예를 들어, 질량 분광 분석 데이터의 데이터 의존적 획득을 알림으로써). 샘플에서 확인된 펩타이드, 단백질 또는 단백질 그룹은 핵산 서열의 확인에도 영향을 미칠 수 있다. 확인된 펩타이드, 단백질, 단백질 그룹 및/또는 핵산 서열은 생물학적 샘플의 생물학적 상태를 확인하기 위해 조합될 수 있다(155).

[0424] 차세대 시퀀싱 방법의 경우, 샘플은 핵산을 짧은 서열 스트레치로 절단하기 위한 시약, 예를 들어 뉴클레아제와 접촉할 수 있다. 무세포 핵산 분자가 분석되는 경우, 무세포 핵산 분자는 이미 짧은 단편으로 존재하는 경향이 있으므로 절단이 필요하지 않을 수 있다. 다음으로, 핵산 분자는 어댑터에 접촉될 수 있다. 어댑터는 핵산 분자에 라이게이션될 수 있다. 어댑터 라이게이션된 핵산은 예를 들어 검출 가능한 표지로 표지된 뉴클레오타이드의 통합과 함께 폴리머라제 연쇄 반응("PCR")에 의해 증폭될 수 있다. 샘플로부터 핵산의 서열을 결정하기 위해 샘플을 영상화할 수 있고, 검출가능한 표지를 영상화에 의해 검출할 수 있다.

[0425] 추가의 예시적인 워크플로우에서, 생물학적 샘플을 얻은 다음, 샘플의 핵산에 결합하는 입자와 접촉할 수 있다. 입자는 핵산 결합 모이어티(예를 들어, DNA 결합 모티프를 갖는 단백질 또는 표적 핵산에 혼성화할 수 있는 단일 가닥 영역을 갖는 올리고뉴클레오타이드)로 작용화될 수 있다. 포획된 뉴클레오타이드는 입자로부터 용출되고, 예를 들어 겔 전기영동, 제자리 혼성화 또는 시퀀싱에 의해 분석될 수 있다. 이러한 워크플로우에서, 별도의 샘플 부피에서, 생물학적 샘플은 핵산 결합 모이어티가 결합된 입자와 접촉하여 생체분자 코로나의 형성을 허용할 수도 있다. 입자-코로나는 샘플로부터 단리될 수 있고, 단백질을 포함하는 생체분자 코로나 내의 다양한 생체분자를 확인 또는 검출하여 생물학적 샘플 내의 다중체 스냅샷(multi-omic snapshot)을 생성하기 위해 검정될 수 있다.

[0426] 본 명세서에서 개시되는 조성물 및 방법은 샘플로부터 저풍부도 생체분자를 포획할 수 있고 센서 요소와 샘플의 인큐베이션 시에 샘플에서 생체분자의 동적 범위를 압축할 수 있는 입자를 제공한다. 본 명세서에서 개시되는 방법은 생체분자 포획이 특히 어려울 수 있는 소량의 샘플에서도 저풍부도의 생체분자를 포획할 수 있다. 본 발명의 방법은 또한 중간 풍부도 또는 고풍부도 생체분자를 포함하는 샘플로부터 저풍부도 생체분자를 포획함으로써, 저풍부도 생체분자를 풍부하게 할 수 있다. 예를 들어, 샘플을 입자와 접촉시킨 후, 단백질은 그것이 수집된 샘플에서보다 생체분자 코로나에서 더 높은 상대적 풍부도로 존재할 수 있다(예를 들어, 단백질이 샘플 내의 10^7 개의 단백질 중 하나 및 생체분자 코로나 내의 10^5 개의 단백질 중 하나를 구성할 때). mg/ml 범위의 단백질(예를 들어, 알부민) 및 pg/ml 범위의 단백질(예를 들어, 특정 사이토카인)을 포함하는 혈액, 혈장 및 혈청 샘플을 분석할 때 저풍부도 생체분자 농축이 유용할 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 방법은 다른 질량 분광 분석 기술(예를 들어, 데이터 독립적 획득, DIA, 125분 주입 구매)과 비교하여 생물학적 샘플로부터 더 많은 수의 단백질 또는 단백질 그룹을 분석하도록 허용할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에서 개시되는 입자 기반 검정 방법은 고갈된(고풍부도 단백질의 감소된 풍부도) 및 고갈되지 않은 혈장 샘플(데이터 독립적 획득, DIA, 125분 주입 구매) 둘 모두에 대해 비입자 기반 접근법보다 혈장 샘플로부터 1.7 내지 4.5배 더 많은 단백질 그룹을 검정할 수 있다.

[0427] 다양한 생물학적 샘플과 함께 인큐베이션될 수 있는 센서 요소(예를 들어, 입자)의 조성물이 본 개시내용에서 제공된다. 일부 측면에서, 조성물은 단백질 코로나를 형성하기 위한 입자 표면에 대한 결합에 기초하여 생물학적 샘플에 존재하는 생체분자(예를 들어, 단백질)를 분석하기 위해 광범위한 생물학적 샘플과 함께 인큐베이션될 수 있는 다양한 입자 유형을 단독으로 또는 조합하여 포함한다. 단일 입자 유형을 사용하여 특정 생물학적 샘플의 단백질을 검정하거나, 여러 입자 유형을 함께 사용하여 생물학적 샘플의 단백질을 검정할 수 있다. 단백질 코로나 분석은 생물학적 샘플(예를 들어, 생체유체)을 복수의 입자와 접촉시키고, 생물학적 샘플을 복수의

입자와 함께 인큐베이션하여 생체분자 코로나(예를 들어, 단백질 코로나)를 형성하고, 생물학적 샘플로부터 입자를 분리하고, 생체분자 코로나의 조성을 결정하기 위해 생체분자 코로나를 분석하는 단계에 의해 생물학적 샘플에 대해 수행할 수 있다. 단백질 코로나 분석 방법은 시퀀싱에 의한 생물학적 샘플 내의 핵산의 병렬 분석과 상용성이다. 일부 방법은 단백질 코로나의 질량 분광 분석을 포함한다. 복수의 입자로 샘플을 조사한 후, 복수의 입자에 형성된 단백질 코로나를 분석하는 것은 본 명세서에서 "단백질 코로나 분석"으로 지칭될 수 있다. 생물학적 샘플은 하나 이상의 입자 유형으로 조사될 수 있다. 각각의 입자 유형의 단백질 코로나는 개별적으로 분석될 수 있다. 또한, 하나 이상의 입자 유형의 단백질 코로나는 조합하여 분석될 수 있다.

[0428] 본 개시내용은 본 명세서에서 개시되는 입자 및 본 명세서에서 제공되는 방법을 사용하여 검정될 수 있는 여러 생물학적 샘플을 제공한다. 이러한 생물학적 샘플은 또한 샘플(들)의 세포 또는 무세포 부분에서 핵산 분자(예를 들어, DNA, RNA, cDNA 등)를 분석하기 위해 핵산 시퀀싱에 의해 검정될 수 있다. 예를 들어, 생물학적 샘플은 생체유체 샘플, 예를 들어 뇌척수액(CSF), 활액(SF), 소변, 혈장, 혈청, 눈물, 열구액, 정액, 전혈, 유즙, 유두 흡인액, 바늘 흡인액, 유관 세척액, 질액, 비강액, 귀액, 위액, 췌장액, 섬유주액, 폐 세척액, 전립선액, 가래, 분변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체, 기관지 흡인물, 땀 또는 타액일 수 있다. 생체유체는 유동화된 고체, 예를 들어 조직 균질물 또는 생물학적 샘플에서 추출한 유체일 수 있다. 생물학적 샘플은 예를 들어 조직 샘플 또는 미세 바늘 흡인(FNA: Fine Needle Aspiration) 샘플일 수 있다. 생물학적 샘플은 세포 배양 샘플일 수 있다. 생체유체는 유동화된 생물학적 샘플일 수 있다. 생체유체는 세포 추출물일 수 있다. 생체유체는 용해물일 수 있다. 예를 들어, 생체유체는 유동화된 세포 배양 추출물일 수 있다.

[0429] 기관

[0430] 본 발명의 조성물 및 방법은 광범위한 구조체, 장치 및 장비(이후 본 명세서에서 기관으로 지칭됨)에서 사용되거나 수행될 수 있다. 기관은 많은 양의 샘플 또는 시약을 보유하기 위한 단일 파티션(예를 들어, 에펜도르프(Eppendorf) 튜브)을 포함하거나, 샘플 또는 시약 부피를 보유하기 위한 복수의 파티션(예를 들어, 16웰 플레이트, 96웰 플레이트, 384웰 플레이트, 마이크로웰 플레이트의 복수의 웰)을 포함할 수 있다. 파티션은 웰, 채널(예를 들어, 미세유체 장치의 미세유체 채널) 또는 구획을 포함할 수 있다. 파티션은 플라스틱 제품(예를 들어, 플라스틱 다중 웰 플레이트), 금속 구조(예를 들어, 금속 다중 웰 플레이트), 탄소 재료 구조(예를 들어, 탄소 복합 재료 다중 웰 플레이트), 젤, 유리 제품 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 기관은 임프린트된 구조를 포함할 수 있다. 기관은 유체 채널 또는 챔버를 포함할 수 있다. 유체 채널 또는 챔버는 미세유체 또는 나노유체 채널 또는 챔버일 수 있다. 기관은 밀봉될 수 있거나(예를 들어, 제거 가능한 플라스틱 슬립 또는 뿔을 수 있는 격막으로) 또는 밀봉 가능하다(예를 들어, 재사용 가능한 캡 또는 뚜껑을 포함할 수 있다).

[0431] 파티션은 적어도 1 내지 10 마이크로리터(μl), 적어도 5 내지 25 μl , 적어도 20 내지 50 μl , 적어도 40 내지 200 μl , 적어도 100 내지 500 μl , 적어도 200 μl 내지 1 ml, 적어도 2 ml, 적어도 3 ml 또는 그 초과와 부피를 보유하도록 구성될 수 있다. 파티션은 약 240 μl , 200 μl , 150 μl , 100 μl , 75 μl , 50 μl , 25 μl , 10 μl , 5 μl , 1 μl 이하보다 작은 부피를 유지하도록 구성될 수 있다. 파티션은 온도 조절이 가능하다. 파티션은 증발을 방지하거나 줄이도록 구성될 수 있다. 파티션은 주변 광의 유입을 최소화하도록 설계될 수 있다.

[0432] 기관은 복수의 파티션을 포함할 수 있으며, 파티션은 도 38에 도시된 바와 같이 입자, 샘플, 대조군 또는 이들의 임의의 조합에 의해 그룹화될 수 있다. 이 예에서, 기관은 5가지 유형의 입자(즉, NP1, NP2, NP3, NP4 및 NP5)와 함께 사용할 수 있는 8행 및 12열을 포함한다. 각각의 나노입자는 두 개의 열을 차지하며, 최대 16개의 생물학적 샘플이 침착될 수 있다. 이 예에서, 각각의 생물학적 샘플은 X16까지 X1, X2, X3 등으로 표지된다. 대조군 실험을 위한 두 개의 열이 있을 수 있으며, 열의 각각의 대조군 웰은 대조군 입자 조성물, 대조군 생물학적 샘플 또는 둘 모두를 수용할 수 있다. 각각의 대조군 웰은 특정 단계에서 또는 실험 단계 사이에서 활용될 수 있고, 따라서 따라야 할 실험 절차의 문제를 해결할 수 있다. 일부 경우에, 파티션에 입자를 채운 다음, 생물학적 샘플을 나중에 추가할 수 있다. 경우에 따라, 생물학적 샘플이 파티션에 채워진 다음, 입자가 나중에 추가될 수 있다.

[0433] 파티션의 모든 하위 세트는 입자별로 그룹화되거나 샘플별로 그룹화될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 파티션은 샘플에 대한 행 및 입자에 대한 열을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 복수의 파티션은 입자의 특정 조성에 의해 그룹화될 수 있다.

[0434] 일부 경우에, 기관은 대조군을 위해 2개의 행 또는 열을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 기관은 대조군을 위해 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 행을 포함할 수 있다.

- [0435] 일부 경우에, 파티션은 단일 생물학적 샘플에 대한 단일 입자를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 파티션은 단일 생물학적 샘플에 대한 복수의 입자를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 파티션은 복수의 생물학적 샘플에 대한 단일 입자를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 파티션은 복수의 생물학적 샘플에 대한 복수의 입자를 포함할 수 있다.
- [0436] 일부 경우에, 기관은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 100개의 행 또는 열을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 기관은 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100개의 행 또는 열을 포함할 수 있다.
- [0437] 샘플은 단일 기관 또는 기관 파티션 내에서 준비 또는 조사될 수 있고, 다중 기관 또는 기관 파티션 사이에 분할될 수 있거나, 다중 기관 또는 기관 파티션 사이에 순차적으로 운반될 수 있다. 예를 들어, 5 ml 샘플은 500개의 파티션 사이에 고르게 분할되어, 분리된 10 μ l의 샘플 부피가 생성될 수 있다. 샘플은 파티션 내에서 시약과 혼합될 수 있다. 샘플은 파티션 내에서 희석(예를 들어, 완충제 사용)을 거칠 수 있다.
- [0438] 기관은 샘플로부터 생체분자를 포획하거나 생체분자와 상호작용하도록 구성된 표면을 포함할 수 있다. 예를 들어, 표면은 샘플의 핵산에 결합할 수 있는 단일 가닥 핵산과 같은 핵산 결합 모이어티로 작용화될 수 있다. 표면은 샘플과 접촉할 때 생체분자 코로나를 형성할 수 있는 센서 요소를 포함할 수 있다. 표면은 웰 플레이트의 웰의 측면과 같은 파티션의 일부를 포함할 수 있다.
- [0439] 기관은 도 40에 도시된 바와 같이 파티션의 내용물에 자기장을 인가하도록 구성될 수 있다. 경우에 따라, 인가된 자기장은 파티션 내에서 자성 물질을 비자성 물질과 분리할 수 있다.
- [0440] 기관은 진동 에너지를 수용하기 위해 기구에 커플링될 수 있다. 일부 경우에, 기관은 도 40에 도시된 바와 같이 기구에 의해 진동되거나, 진동되거나, 초음파 처리될 수 있다.
- [0441] **센서 요소**
- [0442] 본 개시내용의 방법은 샘플 또는 샘플의 일부로부터 생체분자를 수집하기 위해 센서 요소를 활용할 수 있다. 일부 경우에, 센서 요소는 샘플(예를 들어, 생체분자를 포함하는 생물학적 샘플)과 접촉할 때 복수의 생체분자에 결합(예를 들어, 비특이적인) 또는 흡착(예를 들어, 입자의 물리화학적 특성에 따라 가변 선택적인)할 수 있는 요소를 의미할 수 있다. 센서 요소는 가변 선택적 흡착을 통해 생체 샘플로부터 생체분자를 수집할 수 있다. 일부 경우에, 가변 선택적 흡착은 단백질-리간드(아비딘-비오틴 상호작용), 단백질-수용체 또는 단백질-친화도 시약(예를 들어, 에피토프-항체) 상호작용이 아닌 상호작용을 포함한다. 예를 들어, 가변 선택적 흡착은 고정된(예를 들어, 화학적으로 묶인) 단백질, 리간드 또는 친화도 시약을 포함하지 않는 입자의 표면과 접촉하는 복수의 분석물(예를 들어, 생물학적 샘플의 생체분자)을 포함할 수 있다. 센서 요소에 의한 생물학적 샘플로부터의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 가변 선택적 흡착은 센서 요소의 표면 상에 생체분자 또는 생체분자 그룹을 포함하는 생체분자 코로나를 생성할 수 있다. 일부 경우에, 가변 선택적 흡착은 낮은 친화도로 다양한 분석물에 결합하는 것을 의미한다(예시적이지만 비제한적인 예로서, 가변 선택적 흡착은 50 μ M의 최소 해리 상수로 적어도 50개의 분석물에 결합하는 것을 포함할 수 있음). 일부 경우에, 가변 선택적 흡착은 적어도 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400 또는 500 μ M의 최소 해리 상수로 적어도 50개의 분석물에 결합하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 가변 선택적 흡착은 최대 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400 또는 500 μ M의 최소 해리 상수로 적어도 50개의 분석물에 결합하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 가변 선택적 흡착은 느린 결합 동역학(예를 들어, 10 내지 100분의 대략적인 유사 1차 흡착 반감기의)으로 다양한 분석물에 결합하는 것을 의미한다. 일부 경우에, 센서 요소는 한 그룹의 단백질에 대해 더 높은 가변 선택적 흡착 친화도를 갖고 또 다른 그룹의 단백질에 대해 더 낮은 가변 선택적 흡착 친화도를 갖도록 변형될 수 있다. 일부 경우에, 센서 요소는 일부 반대로 하전된 생체분자에 대한 센서 요소의 친화도를 증가시키는 전하를 포함하도록 변형될 수 있다. 일부 경우에, 센서 요소는 펩타이드, 단백질 또는 핵산과 같은 특이적 결합 모이어티를 포함하도록 변형될 수 있다.
- [0443] 센서 요소는 개별 구조(예를 들어, 입자) 또는 구조의 일부(예를 들어, 나노물질의 표면)를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 센서 요소일 수 있거나 센서 요소를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 센서 요소일 수 있거나 이를 포함할 수 있는 나노입자일 수 있다. 일부 경우에, 입자 또는 나노입자를 포함하는 조성물은 센서 요소일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 조성물은 건조 조성물일 수 있다. 건조 조성물은 센서 요소일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 센서 요소는 나노스케일 센서 요소를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 센서 요소는 다공성 구조(예를 들어, 중합체 매트릭스)를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 센서 요소는

단일 구조로부터의 돌출부(예를 들어, 강성 금속 산화물 표면에서 연장되는 유연한 올리고머)를 포함할 수 있다. 많은 경우에, 센서 요소는 적어도 한 방향으로 약 5 나노미터(nm) 내지 약 50000 nm의 길이를 갖는 치수를 포함할 수 있다. 적합한 센서 요소는 예를 들어 적어도 한 방향으로 약 5 nm 내지 약 50,000 nm, 예를 들어 약 5 nm 내지 약 40000 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 약 30000 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 약 20,000 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 약 10,000 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 약 5000 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 약 1000 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 약 500 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 50 nm, 대안적으로 약 10 nm 내지 100 nm, 대안적으로 약 20 nm 내지 200 nm, 대안적으로 약 30 nm 내지 300 nm, 대안적으로 약 40 nm 내지 400 nm, 대안적으로 약 50 nm 내지 500 nm, 대안적으로 약 60 nm 내지 600 nm, 대안적으로 약 70 nm 내지 700 nm, 대안적으로 약 80 nm 내지 800 nm, 대안적으로 약 90 nm 내지 900 nm, 대안적으로 약 100 nm 내지 1000 nm, 대안적으로 약 1000 nm 내지 10000 nm, 대안적으로 약 10000 nm 내지 50000 nm 및 그 사이의 임의의 조합 또는 양(5 nm, 10 nm, 15 nm, 20 nm, 25 nm, 30 nm, 35 nm, 40 nm, 45 nm, 50 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)의 센서 요소를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 경우에 따라, 나노스케일 센서 요소는 적어도 한 방향으로 1 마이크로미터 미만인 센서 요소를 의미할 수 있다. 나노스케일 센서 요소의 범위의 적절한 예는 예를 들어 한 방향으로 약 5 nm 내지 약 1000 nm, 예를 들어 약 5 nm 내지 약 500 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 약 400 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 약 300 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 약 200 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 약 100 nm, 대안적으로 약 5 nm 내지 약 50 nm, 대안적으로 약 10 nm 내지 약 1000 nm, 대안적으로 약 10 nm 내지 약 750 nm, 대안적으로 약 10 nm 내지 약 500 nm, 대안적으로 약 10 nm 내지 약 250 nm, 대안적으로 약 10 nm 내지 약 200 nm, 대안적으로 약 10 nm 내지 약 100 nm, 대안적으로 약 50 nm 내지 약 1000 nm, 대안적으로 약 50 nm 내지 약 500 nm, 대안적으로 약 50 nm 내지 약 250 nm, 대안적으로 약 50 nm 내지 약 200 nm, 대안적으로 약 50 nm 내지 약 100 nm, 및 그 사이의 임의의 조합, 범위 또는 양(5 nm, 10 nm, 15 nm, 20 nm, 25 nm, 30 nm, 35 nm, 40 nm, 45 nm, 50 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)의 요소를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 본 명세서에서 설명되는 센서 요소와 관련하여, 센서 요소라는 용어의 사용은 센서 및 관련 방법에 대한 나노스케일 센서 요소의 사용을 포함한다.

[0444] 센서 요소는 샘플과 접촉 시에 생체분자 코로나를 형성할 수 있다. 경우에 따라, "생체분자 코로나"라는 용어는 센서 요소에 결합된 상이한 생체분자의 구성, 시그니처 또는 패턴을 나타낼 수 있다. 경우에 따라, 생체분자 코로나는 상이한 생체분자를 의미할 뿐만 아니라, 센서 요소에 결합된 하나 이상의 생체분자의 수량, 수준 또는 양의 차이, 센서 요소에 결합된 하나 이상의 생체분자의 전하 또는 입체형태 상태의 차이, 또는 센서 요소에 결합된 하나 이상의 생체분자의 화학적(예를 들어, 산화환원, 전사후 또는 번역후) 상태의 차이를 나타낼 수도 있다. 각각의 센서 요소의 생체분자 코로나는 동일한 생체분자 중 일부를 포함할 수 있고/있거나, 다른 센서 요소와 관련하여 별개의 생체분자를 포함할 수 있고/있거나, 생체분자의 수준 또는 양, 유형 또는 전하 또는 입체형태가 상이할 수 있다고 생각된다. 일부 경우에, 생체분자 코로나는 제공된 생물학적 샘플과 상이한 조성을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 코로나는 제공된 생물학적 샘플보다 더 높은 비율로 제공된 생물학적 샘플에 존재하는 단백질 및/또는 핵산의 하위 세트, 예를 들어 보다 긴 길이 또는 보다 높은 분자량의 단백질 및/또는 핵산을 포함할 수 있다.

[0445] 생체분자 코로나는 센서 요소의 물리화학적 특성에 의존할 수 있을 뿐만 아니라, 샘플의 특성 및 샘플에 대한 노출 기간에도 의존할 수 있다. 이러한 생체분자 코로나를 구성하는 생체분자의 유형, 양 및 범주는 센서 요소의 물리화학적 특성뿐만 아니라, 샘플에 존재하는 상이한 생체분자 사이의 복잡한 상호 작용에 반응할 수 있다. 이러한 상호작용은 각각의 센서 요소에 대한 생체분자 코로나 생성으로 이어질 수 있다.

[0446] 생체분자 코로나는 단백질, 사카라이드, 지질, 대사산물, 핵산(예를 들어, DNA 또는 RNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 생체분자 코로나는 단백질 코로나이다. 또 다른 경우에, 생체분자 코로나는 폴리사카라이드 코로나이다. 또 다른 경우에, 생체분자 코로나는 대사산물 코로나이다. 경우에 따라, 생체분자 코로나는 지질체(lipidomic) 코로나이다. 생체분자 코로나는 복수의 생체분자 층을 포함할 수 있다. 예를 들

어, 생체분자 코로나는 1 내지 50개 초과와 생체분자 층에 상응하는 2 nm 내지 50 nm 초과의 평균 두께를 포함할 수 있다. 생체분자 코로나는 다양한 길이 또는 다양한 분자량의 핵산을 포함할 수 있다. 생체분자 코로나는 다양한 길이 또는 다양한 분자량의 단백질을 포함할 수 있다.

비특이적 결합

입자는 가변 선택적 흡착(예를 들어, 입자를 생체분자 또는 생체분자 그룹을 포함하는 생물학적 샘플에 접촉시킬 때 생체분자 또는 생체분자 그룹의 흡착으로서, 상기 흡착은 예를 들어 입자의 물리화학적 특성을 포함하는 인자에 따라 가변 선택적임) 또는 비특이적 결합을 통해 생체분자 코로나를 형성할 수 있다. 비특이적 결합은 특이적 결합을 배제하는 결합 상호 작용 클래스를 나타낼 수 있다. 특이적 결합의 예는 단백질-리간드 결합 상호작용, 항원-항체 결합 상호작용, 핵산 혼성화, 또는 주형 분자와 표적 분자 사이의 결합 상호작용을 포함할 수 있고, 여기서 주형 분자는 상보성 서열 또는 상보성 3D 구조를 포함하는 표적 분자의 결합에는 유리하고 상보성 서열 또는 상보성 3D 구조를 포함하지 않는 비-표적 분자(들)의 결합에는 유리하지 않은 서열 또는 3D 구조를 제공한다.

비특이적 결합은 매우 다양한 화학적 및 물리적 상호작용 및 효과 중 하나 또는 조합을 포함할 수 있다. 비특이적 결합은 정전기적 상호작용, 런던(London) 분산, 반 데어 발스(Van der Waals) 상호작용, 또는 쌍극자-쌍극자 상호작용(예를 들어, 영구 쌍극자와 유도 쌍극자 사이의)과 같은 전자기력을 포함할 수 있다. 비특이적 결합은 디설파이드 가교와 같은 공유 결합을 통해 매개될 수 있다. 비특이적 결합은 수소 결합을 통해 매개될 수 있다. 비특이적 결합은 소용매성(solvophobic) 효과(예를 들어, 소수성 효과)를 포함할 수 있으며, 여기서 하나의 물체는 용매 환경에 의해 반발되고 또 다른 물체의 표면과 같은 용매의 경계로 밀려난다. 비특이적 결합은 고갈력과 같은 엔트로피 효과, 또는 임계 용액 온도(예를 들어, 더 낮은 임계 용액 온도) 이상으로 열 에너지를 상승시키는 것을 포함할 수 있다. 비특이적 결합은 동역학 효과를 포함할 수 있으며, 여기서 하나의 결합 분자는 다른 결합 분자보다 더 빠른 결합 동역학을 가질 수 있다.

비특이적 결합은 복수의 표적(예를 들어, 단일 입자에 흡착된 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10,000, 20,000, 30,000, 40,000, 50,000개의 상이한 표적)에 대한 비특이적 결합 친화도를 포함할 수 있다. 복수의 표적은 약 1, 2 또는 3 규모(예를 들어, 비특이적 결합 자유 에너지, 평형 상수, 경쟁 흡착 등에 의해 측정될 때) 내인 유사한 비특이적 결합 친화도를 가질 수 있다. 이것은 비-표적 분자보다 주어진 표적 분자에 대해 더 높은 결합 친화도를 포함할 수 있는 특이적 결합과 대조될 수 있다.

생체분자는 다양한 밀도로 표면에 대한 비특이적 결합을 통해 표면에 흡착될 수 있다. 일부 경우에, 생체분자는 제곱 밀리미터(mm^2)당 생체분자의 적어도 약 10^{-9} 밀리그램(mg)의 밀도로 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 단백질은 제곱 밀리미터(mm^2)당 생체분자 적어도 약 10^{-9} 밀리그램(mg)의 밀도로 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 또는 단백질은 적어도 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 fg/mm^2 의 밀도로 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 또는 단백질은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 pg/mm^2 의 밀도로 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 또는 단백질은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 ng/mm^2 의 밀도로 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 또는 단백질은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 의 밀도로 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 또는 단백질은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 mg/mm^2 의 밀도로 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 또는 단백질은 최대 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 fg/mm^2 의 밀도로 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 또는 단백질은 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 pg/mm^2 의 밀도로 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 또는 단백질은 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90,

100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 ng/mm²의 밀도로 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 생체 분자 또는 단백질은 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 μg/mm²의 밀도로 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 또는 단백질은 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 mg/mm²의 밀도로 흡착할 수 있다.

[0452] 흡착된 생체분자는 다양한 유형의 단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 흡착된 단백질은 적어도 5가지 유형의 단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 흡착된 단백질은 적어도 200가지 유형의 단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 흡착된 단백질은 적어도 500가지 유형의 단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 흡착된 단백질은 5 내지 1000가지 유형의 단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 흡착된 단백질은 20 내지 200가지 유형의 단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 흡착된 단백질은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000 또는 10000가지 유형의 단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 흡착된 단백질은 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000 또는 10000가지 유형의 단백질을 포함할 수 있다.

[0453] 일부 경우에, 생물학적 샘플 내의 단백질은 적어도 1 자릿수의 농도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플 내의 단백질은 적어도 2 자릿수의 농도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플 내의 단백질은 적어도 3 자릿수의 농도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플 내의 단백질은 적어도 4 자릿수의 농도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플 내의 단백질은 적어도 5 자릿수의 농도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플 내의 단백질은 적어도 6 자릿수의 농도를 포함할 수 있다.

[0454] 입자 유형

[0455] 센서 요소는 입자이거나 입자를 포함할 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 다양한 유형의 입자는 다양한 물질로 제조될 수 있다. 예를 들어, 입자 물질은 금속, 중합체, 자성 물질, 산화물 및/또는 지질을 포함하는 물질로 만들어질 수 있다. 자기 입자는 산화철 입자일 수 있다. 금속 물질의 예는 금, 은, 구리, 니켈, 코발트, 팔라듐, 백금, 이리듐, 오스뮴, 로듐, 루테튬, 레늄, 바나듐, 크롬, 망간, 니오븀, 몰리브덴, 텅스텐, 탄탈륨, 철 및 카드뮴, 또는 US7749299에 기술된 임의의 기타 물질 중 임의의 하나 또는 임의의 조합을 포함한다. 산화물 물질의 예는 산화마그네슘, 실리카, 산화티타늄, 산화바나듐 또는 산화니켈 중 임의의 하나 또는 임의의 조합을 포함한다. 경우에 따라, 입자 물질은 실리콘으로 만들어질 수 있다. 입자는 자성 입자, 예를 들어 초상자성 산화철 나노입자(SPION)일 수 있다.

[0456] 중합체의 예는 다음 중 임의의 하나 또는 임의의 조합을 포함한다: 폴리에틸렌, 폴리카르보네이트, 다가무수물, 폴리하이드록시산, 폴리프로필푸메레이트, 폴리카프로락톤, 폴리아미드, 폴리아세탈, 폴리에테르, 폴리에스테르, 폴리(오르토에스테르), 폴리시아노아크릴레이트, 폴리비닐 알코올, 폴리우레탄, 폴리포스파젠, 폴리아크릴레이트, 폴리메타크릴레이트, 폴리시아노아크릴레이트, 폴리우레아, 폴리스티렌, 또는 폴리아민, 폴리알킬렌 글리콜(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜(PEG)), 폴리에스테르(예를 들어, 폴리(락타이드-코-글리콜라이드)(PLGA), 폴리락트산 또는 폴리카프로락톤) 또는 2개 이상의 중합체의 공중합체, 예를 들어 폴리알킬렌 글리콜(예를 들어, PEG) 및 폴리에스테르(예를 들어, PLGA)의 공중합체. 중합체는 지질 말단 폴리알킬렌 글리콜 및 폴리에스테르, 또는 US9549901에 개시된 임의의 다른 물질일 수 있다.

[0457] 일부 경우에, 중합체는 선형 토폴로지(topology), 분지형 토폴로지, 별형 토폴로지, 수지상 토폴로지, 과분지형 토폴로지, 바틀브러쉬 토폴로지, 링 토폴로지, 연쇄(catenated) 토폴로지 또는 이들의 임의의 조합을 갖는 중합체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 중합체는 3암형 토폴로지, 4암형 토폴로지, 5암형 토폴로지, 6암형 토폴로지, 7암형 토폴로지, 8암형 토폴로지, 9암형 토폴로지, 또는 10암형 토폴로지를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 중합체는 가교결합체를 포함할 수 있다.

[0458] 일부 경우에, 중합체는 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 30000, 40000, 50000, 60000, 70000, 80000, 90000 또는 100000개의 단량체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 중합체는 최대 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 20000, 30000, 40000, 50000,

60000, 70000, 80000, 90000, 또는 100000개의 단량체를 포함할 수 있다.

[0459]

본 개시내용의 입자를 형성하기 위해 사용될 수 있는 지질의 예는 양이온성, 음이온성 및 중성으로 하전된 지질을 포함한다. 예를 들어, 입자는 다음 중 임의의 하나 또는 임의의 조합으로 이루어질 수 있다: 디올레오일포스파티딜글리세롤(DOPG), 디아실포스파티딜콜린, 디아실포스파티딜에탄올아민, 세라마이드, 스펡고미엘린, 세팔린, 콜레스테롤, 세레브로사이드 및 디아실글리세롤, 디올레오일포스파티딜콜린(DOPC), 디미리스토일포스파티딜콜린(DMPC), 및 디올레오일포스파티딜세린(DOPS), 포스파티딜글리세롤, 카르디오펜, 디아실포스파티딜세린, 디아실포스파티드산, N-도데카노일 포스파티딜에탄올아민, N-석시닐 포스파티딜에탄올아민, N-글루타릴포스파티딜에탄올아민, 라이실포스파티딜글리세롤, 팔미토일올레오일포스파티딜글리세롤(POPG), 레시틴, 리소레시틴, 포스파티딜에탄올아민, 리소포스파티딜에탄올아민, 디올레오일포스파티딜에탄올아민(DOPE), 디팔미토일 포스파티딜 에탄올아민(DPPE), 디미리스토일포스포에탄올아민(DMPE), 디스테아로일-포스파티딜-에탄올아민(DSPE), 팔미토일올레오일-포스파티딜 에탄올아민(POPE), 팔미토일올레오일포스파티딜콜린(POPC), 에그 포스파티딜콜린(EPC), 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 디올레오일포스파티딜콜린(DOPC), 디팔미토일포스파티딜콜린(DPPC), 디올레오일포스파티딜글리세롤(DOPG), 디팔미토일포스파티딜글리세롤(DPPG), 팔미토일올레오일포스파티딜글리세롤(POPG), 16-0-모노메틸 PE, 16-0-디메틸 PE, 18-1-트랜스 PE, 팔미토일올레오일-포스파티딜에탄올아민(POPE), 1-스테아로일-2-올레오일-포스파티딜에탄올아민(SOPE), 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨, 스펡고미엘린, 세팔린, 카르디오펜, 포스파티드산, 세레브로사이드, 디세틸포스페이트, 및 콜레스테롤, 또는 또는 그 전체가 본원에 참조로 포함된 US9445994에 기술된 임의의 기타 물질.

[0460]

본 발명의 입자의 예는 표 1에 제공된다.

표 1 - 본 개시내용의 예시적인 입자

배치 No.	유형	입자 ID	설명
S-001-001	HX-13	SP-001	카르복실레이트 (시트레이트) 초상자성 산화철 NP (SPION)
S-002-001	HX-19	SP-002	페놀-포름알데하이드 코팅된 SPION
S-003-001	HX-20	SP-003	실리카-코팅된 초상자성 산화철 NP (SPION)
S-004-001	HX-31	SP-004	폴리스티렌 코팅된 SPION
S-005-001	HX-38	SP-005	카르복실화폴리(스티렌-co-메타크릴산), P(St-co-MAA) 코팅된 SPION
S-006-001	HX-42	SP-006	N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 SPION
S-007-001	HX-56	SP-007	폴리(N-(3-(디메틸아미노)프로필) 메타크릴아미드) (PDMA-PMA)-코팅된 SPION
S-008-001	HX-57	SP-008	1,2,4,5-벤젠테트라카르복실산 코팅된 SPION
S-009-001	HX-58	SP-009	폴리(비닐벤질트리메틸암모늄 클로라이드) (PVB-TMAC) 코팅된 SPION
S-010-001	HX-59	SP-010	카르복실레이트, PAA 코팅된 SPION
S-011-001	HX-86	SP-011	폴리(올리고(에틸렌 글리콜) 메틸 에테르 메타크릴레이트) (POEGMA)-코팅된 SPION
P-033-001	P33	SP-333	카르복실레이트 마이크로입자, 계면활성제 미함유
P-039-003	P39	SP-339	폴리스티렌 카르복실 기능화
P-041-001	P41	SP-341	카르복실산
P-047-001	P47	SP-365	실리카
P-048-001	P48	SP-348	카르복실산, 150 nm
P-053-001	P53	SP-353	아미노 표면 마이크로입자, 0.4-0.6 μm
P-056-001	P56	SP-356	실리카 아미노 기능화 마이크로입자, 0.1-0.39 μm
P-063-001	P63	SP-363	제파민 표면, 0.1-0.39 μm
P-064-001	P64	SP-364	폴리스티렌 마이크로입자, 2.0-2.9 μm
P-065-001	P65	SP-365	실리카
P-069-001	P69	SP-369	카르복실화된 오리지널 코팅, 50 nm
P-073-001	P73	SP-373	텍스트란 기재 코팅, 0.13 μm
P-074-001	P74	SP-374	저산도의 코팅된 실리카 실란올
-	S-118	-	글루코스 6-포스페이트 기능화 SPION
-	S-128	-	혼합된 아미드, 카르복실레이트 기능화, 실리카-코팅된 SPION
-	S-229	-	N ¹ -(3-(트리메톡시실릴)프로필)헥산-1,6-디아민 기능화, 실리카-코팅된 SPION

[0461]

[0462] 본 개시내용의 입자는 합성된 입자일 수 있다. 입자는 표면 작용화될 수 있다. 본 개시내용의 입자 유형의 예는 다음일 수 있다: 카르복실레이트 (시트레이트) 초상자성 산화철 나노입자(SPION), 페놀-포름알데하이드 코팅된 SPION, 실리카 코팅된 SPION, 폴리스티렌 코팅된 SPION, 카르복실화된 폴리(스티렌-코-메타크릴산) 코팅된 SPION, N-(3-트리메톡시실틸프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 SPION, 폴리(N-(3-(디메틸아미노)프로필)메타크릴아미드)(PDMAEMA)-코팅된 SPION, 1,2,4,5-벤젠테트라카르복실산 코팅된 SPION, 폴리(비닐벤질트리메틸암모늄 클로라이드)(PVBTMAC) 코팅된 SPION, 카르복실레이트, PAA 코팅된 SPION, 폴리(올리고(에틸렌 글리콜) 메틸 에테르 메타크릴레이트)(POEGMA) 코팅된 SPION, 카르복실레이트 미립자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 입자, 카르복실산 코팅된 입자, 실리카 입자, 직경이 약 150 nm인 카르복실산 입자, 직경이 약 0.4-0.6 μm 인 아미노 표면 마이크로입자, 직경이 약 0.1-0.39 μm 인 실리카 아미노 작용화된 마이크로입자, 직경이 약 0.1-0.39 μm 인 제파민 표면 입자, 직경이 약 2.0-2.9 μm 인 폴리스테렌 마이크로입자, 실리카 입자, 직경이 약 50 nm인 오리지널 코팅을 갖는 카르복실화된 입자, 직경이 약 0.13 μm 인 텍스트란 기재 코팅으로 코팅된 입자, 또는 저산도의 실리카 실란올 코팅된 입자. 경우에 따라, 입자는 그 표면에 특이적 결합을 위한 작용화된 단백질이 결합될 수 있다. 일부 경우에, 표면 작용화된 입자는 항체 또는 T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체, 수용체 단백질 또는 이의 변이체 또는 단편을 포함하지 않는다.

[0463] 본 개시내용의 입자는 광범위한 크기의 생체유체에서 인큐베이션한 후에 단백질 코로나를 형성하는 방법에서 만 들어지고 사용될 수 있다. 본 개시내용의 입자는 나노입자일 수 있다. 본 개시내용의 나노입자는 직경이 약 10 nm 내지 약 1000 nm일 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에서 개시되는 나노입자는 직경이 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. 나노입자는 직경이 1000 nm 미만일 수 있다.

[0464] 본 개시내용의 입자는 마이크로입자일 수 있다. 마이크로입자는 직경이 약 1 μm 내지 약 1000 μm 인 입자일 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에서 개시되는 마이크로입자는 직경이 적어도 1 μm , 적어도 10 μm , 적어도 100 μm , 적어도 200 μm , 적어도 300 μm , 적어도 400 μm , 적어도 500 μm , 적어도 600 μm , 적어도 700 μm , 적어도 800 μm , 적어도 900 μm , 10 μm 내지 50 μm , 50 μm 내지 100 μm , 100 μm 내지 150 μm , 150 μm 내지 200 μm , 200 μm 내지 250 μm , 250 μm 내지 300 μm , 300 μm 내지 350 μm , 350 μm 내지 400 μm , 400 μm 내지 450 μm , 450 μm 내지 500 μm , 500 μm 내지 550 μm , 550 μm 내지 600 μm , 600 μm 내지 650 μm , 650 μm 내지 700 μm , 700 μm 내지 750 μm , 750 μm 내지 800 μm , 800 μm 내지 850 μm , 850 μm 내지 900 μm , 100 μm 내지 300 μm , 150 μm 내지 350 μm , 200 μm 내지 400 μm , 250 μm 내지 450 μm , 300 μm 내지 500 μm , 350 μm 내지 550 μm , 400 μm 내지 600 μm , 450 μm 내지 650 μm , 500 μm 내지 700 μm , 550 μm 내지 750 μm , 600 μm 내지 800 μm , 650 μm 내지 850 μm , 700 μm 내지 900 μm , 또는 10 μm 내지 900 μm 일 수 있다. 마이크로입자는 직경이 1000 μm 미만일 수 있다.

[0465] 표면적과 질량 사이의 비는 입자 특성의 결정 요인이 될 수 있다. 예를 들어, 입자가 용액으로부터 흡수하는 생체분자의 수 및 유형은 입자의 표면적 대 질량비에 따라 달라질 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 입자는 3 내지 30 cm^2/mg , 5 내지 50 cm^2/mg , 10 내지 60 cm^2/mg , 15 내지 70 cm^2/mg , 20 내지 80 cm^2/mg , 30 내지 100 cm^2/mg , 35 내지 120 cm^2/mg , 40 내지 130 cm^2/mg , 45 내지 150 cm^2/mg , 50 내지 160 cm^2/mg , 60 내지 180 cm^2/mg , 70 내지 200 cm^2/mg , 80 내지 220 cm^2/mg , 90 내지 240 cm^2/mg , 100 내지 270 cm^2/mg , 120 내지 300 cm^2/mg , 200 내지 500 cm^2/mg , 10 내지 300 cm^2/mg , 1 내지 3000 cm^2/mg , 20 내지 150 cm^2/mg , 25 내지 120 cm^2/mg , 또는 40 내지 85 cm^2/mg 의 표면적 대 질량비를 가질 수 있다. 작은 입자(예를 들어, 50 nm 이하의 직경을 가짐)는 부분적으로는 표면적에 의한 것보다는 질량에 의한 직경에 대한 더 높은 차수의 의존성에서 기인하는, 상당히 더 높은 표면적 대 질량비를 가질 수 있다. 일부 경우(예를 들어, 작은 입자의 경우), 입자는 200 내지 1000 cm^2/mg , 500 내지 2000 cm^2/mg , 1000 내지 4000 cm^2/mg , 2000 내지 8000 cm^2/mg , 또는 4000 내지

10000 cm^2/mg 의 표면적 대 질량비를 가질 수 있다. 일부 경우(예를 들어, 큰 입자의 경우), 입자는 1 내지 3 cm^2/mg , 0.5 내지 2 cm^2/mg , 0.25 내지 1.5 cm^2/mg , 또는 0.1 내지 1 cm^2/mg 의 표면적 대 질량비를 가질 수 있다.

[0466] 일부 경우에, 본 명세서에서 설명되는 방법과 함께 사용되는 복수의 입자(예를 들어, 입자 패넌의)는 일정 범위의 표면적 대 질량비를 가질 수 있다. 일부 경우에, 복수의 입자에 대한 표면적 대 질량비의 범위는 100 cm^2/mg , 80 cm^2/mg , 60 cm^2/mg , 40 cm^2/mg , 20 cm^2/mg , 10 cm^2/mg , 5 cm^2/mg , 또는 2 cm^2/mg 미만일 수 있다. 일부 경우에, 복수의 입자에 대한 표면적 대 질량비는 복수의 입자 사이에서 단지 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 3%, 2% 또는 1%로 변한다. 일부 경우에, 복수의 입자는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 20개 또는 그 초과와 상이한 유형의 입자를 포함할 수 있다.

[0467] 일부 경우에, 복수의 입자(예를 들어, 입자 패넌에서)는 더 넓은 범위의 표면적 대 질량비를 가질 수 있다. 일부 경우에, 복수의 입자에 대한 표면적 대 질량비의 범위는 100 cm^2/mg , 150 cm^2/mg , 200 cm^2/mg , 250 cm^2/mg , 300 cm^2/mg , 400 cm^2/mg , 500 cm^2/mg , 800 cm^2/mg , 1000 cm^2/mg , 1200 cm^2/mg , 1500 cm^2/mg , 2000 cm^2/mg , 3000 cm^2/mg , 5000 cm^2/mg , 7500 cm^2/mg , 10000 cm^2/mg 또는 이보다 큰 값을 초과하는 값이다. 일부 경우에, 복수의 입자(예를 들어, 패넌 내의)에 대한 표면적 대 질량비는 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000%, 10000% 또는 이보다 큰 값을 초과하는 값으로 변할 수 있다. 일부 경우에, 넓은 범위의 표면적 대 질량비를 갖는 복수의 입자는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 20개, 또는 그 초과와 상이한 유형의 입자를 포함한다.

[0468] 입자는 다양한 물리적 특성을 포함할 수 있다. 입자의 물리적 특성은 조성, 크기, 표면 전하, 소수성, 친수성, 양친매성, 표면 작용기, 표면 토포그래피, 표면 곡률, 다공성, 코어 물질, 셸 물질, 형상, 제타 전위 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 입자는 코어-셸 구조를 가질 수 있다. 일부 경우에, 코어 물질은 금속, 중합체, 자성 물질, 산화물 및/또는 지질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 셸 물질은 금속, 중합체, 자성 물질, 산화물 및/또는 지질을 포함할 수 있다.

[0469] 일부 경우에, 표면 토포그래피는 다양한 규모의 거칠기(roughness)를 포함할 수 있으며, 예를 들어 거칠기는 적어도 약 0.1 nm, 0.2 nm, 0.3 nm, 0.4 nm, 0.5 nm, 0.6 nm, 0.7 nm, 0.8 nm, 0.9 nm, 1 nm, 2 nm, 3 nm, 4 nm, 5 nm, 6 nm, 7 nm, 8 nm, 9 nm, 10 nm, 20 nm, 30 nm, 40 nm, 50 nm, 60 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm, 100 nm, 200 nm, 300 nm, 400 nm, 500 nm, 600 nm, 700 nm, 800 nm, 900 nm, 1 μm , 2 μm , 3 μm , 4 μm , 5 μm , 6 μm , 7 μm , 8 μm , 9 μm , 10 μm , 20 μm , 30 μm , 40 μm , 50 μm , 60 μm , 70 μm , 80 μm , 90 μm , 100 μm , 200 μm , 300 μm , 400 μm , 500 μm , 600 μm , 700 μm , 800 μm , 900 μm , 또는 1000 μm 의 표면 측면 치수를 가질 수 있다. 일부 경우에, 거칠기는 최대 약 0.1 nm, 0.2 nm, 0.3 nm, 0.4 nm, 0.5 nm, 0.6 nm, 0.7 nm, 0.8 nm, 0.9 nm, 1 nm, 2 nm, 3 nm, 4 nm, 5 nm, 6 nm, 7 nm, 8 nm, 9 nm, 10 nm, 20 nm, 30 nm, 40 nm, 50 nm, 60 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm, 100 nm, 200 nm, 300 nm, 400 nm, 500 nm, 600 nm, 700 nm, 800 nm, 900 nm, 1 μm , 2 μm , 3 μm , 4 μm , 5 μm , 6 μm , 7 μm , 8 μm , 9 μm , 10 μm , 20 μm , 30 μm , 40 μm , 50 μm , 60 μm , 70 μm , 80 μm , 90 μm , 100 μm , 200 μm , 300 μm , 400 μm , 500 μm , 600 μm , 700 μm , 800 μm , 900 μm , 또는 1000 μm 의 표면 측면 치수를 가질 수 있다.

[0470] 일부 경우에, 거칠기는 적어도 약 0.1 nm, 0.2 nm, 0.3 nm, 0.4 nm, 0.5 nm, 0.6 nm, 0.7 nm, 0.8 nm, 0.9 nm, 1 nm, 2 nm, 3 nm, 4 nm, 5 nm, 6 nm, 7 nm, 8 nm, 9 nm, 10 nm, 20 nm, 30 nm, 40 nm, 50 nm, 60 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm, 100 nm, 200 nm, 300 nm, 400 nm, 500 nm, 600 nm, 700 nm, 800 nm, 900 nm, 1 μm , 2 μm , 3 μm , 4 μm , 5 μm , 6 μm , 7 μm , 8 μm , 9 μm , 10 μm , 20 μm , 30 μm , 40 μm , 50 μm , 60 μm , 70 μm , 80 μm , 90 μm , 100 μm , 200 μm , 300 μm , 400 μm , 500 μm , 600 μm , 700 μm , 800 μm , 900 μm , 또는 1000 μm 의 깊이를 가질 수 있다. 일부 경우에, 거칠기는 최대 약 0.1 nm, 0.2 nm, 0.3 nm, 0.4 nm, 0.5 nm, 0.6 nm, 0.7 nm, 0.8 nm, 0.9 nm, 1 nm, 2 nm, 3 nm, 4 nm, 5 nm, 6 nm, 7 nm, 8 nm, 9 nm, 10 nm, 20 nm, 30 nm, 40 nm, 50 nm, 60 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm, 100 nm, 200 nm, 300 nm, 400 nm, 500 nm, 600 nm, 700 nm, 800 nm, 900 nm, 1 μm , 2 μm , 3 μm , 4 μm , 5 μm , 6 μm , 7 μm , 8 μm , 9 μm , 10 μm , 20 μm , 30 μm , 40 μm , 50 μm , 60 μm , 70 μm , 80 μm , 90 μm , 100 μm , 200 μm , 300 μm , 400 μm , 500 μm , 600 μm , 700 μm , 800 μm , 900 μm , 또는 1000 μm 의 깊이를 가질 수 있다.

[0471] 표면 작용기는 중합 가능 작용기, 양하전 또는 음하전 작용기, 양쪽성 이온성 작용기, 산성 또는 염기성 작용기, 극성 작용기, 비극성 작용기, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 표면 작용기는 카르복실기,

하이드록실기, 티올기, 시아노기, 니트로기, 암모늄기, 알킬기, 이미다졸륨기, 설포늄기, 피리디늄기, 피롤리디늄기, 포스포늄기, 아미노프로필기, 아민기, 보론산기, N-석신이미딜 에스테르기, PEG기, 스트렙타비딘, 메틸 에테르기, 트리에톡실프로필아미노실란기, PCP기, 시트레이트기, 리포산기, BPEI기, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 복수의 입자들로부터의 입자는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있다: 미셀, 리포솜, 산화철 입자, 은 입자, 금입자, 팔라듐 입자, 양자점, 백금 입자, 티타늄 입자, 실리카 입자, 금속 무기 산화물 입자, 합성 중합체 입자, 공중합체 입자, 삼량체(terpolymer) 입자, 금속 코어를 갖는 중합체 입자, 금속 산화물 코어를 갖는 중합체 입자, 폴리스티렌 설프오네이트 입자, 폴리에틸렌 산화물 입자, 폴리옥시에틸렌 글리콜 입자, 폴리에틸렌 이민 입자, 폴리락트산 입자, 폴리카프로락톤 입자, 폴리글리콜산 입자, 폴리(탁타이드-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 겔 입자, 아카시아 겔 입자, 아라비아 겔 입자, 구아 겔 입자, 풀룰란 입자, 아가 입자, 키틴 입자, 키토산 입자, 펙틴 입자, 카라야 톱(karaya gum) 입자, 로커스트 빈 겔 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, 텍스트린 입자, 레반 입자, 엘시난 입자, 글루텐 입자, 콜라겐 입자, 유청 단백질 단량체 입자, 카제인 입자, 우유 단백질 입자, 콩 단백질 입자, 케라틴 입자, 폴리에틸렌 입자, 폴리카르보네이트 입자, 다가무수물 입자, 폴리하이드록시산 입자, 폴리프로필푸마레이트 입자, 폴리카프로락톤 입자, 폴리아민 입자, 폴리아세탈 입자, 폴리에테르 입자, 폴리에스테르 입자, 폴리(오르토에스테르) 입자, 폴리스시아노아크릴레이트 입자, 폴리우레탄 입자, 폴리포스파젠 입자, 폴리아크릴레이트 입자, 폴리메타크릴레이트 입자, 폴리스시아노아크릴레이트 입자, 폴리우레아 입자, 폴리아민 입자, 폴리스티렌 입자, 폴리(리신) 입자, 키토산 입자, 텍스트린 입자, 폴리(아크릴아미드) 입자, 유도체화된 폴리(아크릴아미드) 입자, 젤라틴 입자, 전분 입자, 키토산 입자, 텍스트린 입자, 젤라틴 입자, 전분 입자, 폴리-β-아미노-에스테르 입자, 폴리(아미도 아민) 입자, 폴리 락트산-코-글리콜산 입자, 다가무수물 입자, 생체환원성 중합체 입자, 및 2-(3-아미노프로필아미노)에탄올 입자, 및 이들의 임의의 조합.

[0472] 일부 경우에, 표면 작용기는 1급 아민, 2급 아민, 3급 아민, 아마이드, 알코올, 아세트산, 카르복실산, 피리딘, 피리미딘, 피롤리딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0473] 도 18은 입자에 대한 일부 표면 작용기를 보여준다. 일부 경우에, 표면 작용기는 부탄-1-아민, 프로판-2-아민, 에탄-1,2-디아민, 1,3-페닐렌디메탄아민, 2-아미노에탄-1-올, 2-페닐피롤리딘, 헥산-1-아민, 디에틸아민, (3s,5s,7s)-아다만탄-1-아민, 피리딘-2-일메탄아민, (S)-1,2,3,4-테트라하이드로나프탈렌-1-아민, 페닐메탄아민, tert-부틸 (2-아미노에틸)카르바메이트, 3-아미노페놀, 벤젠-1,4-디아민, 1-(2-아미노에틸)-1H-피롤-2,5-디온, 2,2'-아잔디일디아세트산, (S)-2,3-디하이드로-1H-인텐-1-아민, 6-아미노헥산-1-올, 4,4'-메틸렌비스(사이클로헥산-1-아민), N¹,N¹-디메틸에탄-1,2-디아민, 헥산-1,6-디아민, 0-(2-아미노에틸)폴리에틸렌 글리콜, 실리카, 폴리(N-(3-(디메틸아미노)프로필)메타크릴아미드)(PDMAPEMA), 글루코스-6-포스페이트, N¹-(2-아미노에틸)-N²-부틸에탄-1,2-디아민, 이들의 입체이성질체, 이들의 염, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0474] 표면 작용기는 입자의 생체분자 코로나의 구성에 영향을 줄 수 있다. 일부 경우에, 제1 표면 작용기를 갖는 입자 및 제2 표면 작용기를 갖는 입자는 두 생체분자 코로나에 공통인 단백질 유형의 최대 80%를 포함하는 생체분자 코로나를 형성할 수 있다. 일부 경우에, 상이한 표면 작용기를 갖는 2개의 입자는 일반적으로 생물학적 샘플 내의 단백질 유형의 최대 약 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.1%, 99.2%, 99.3%, 99.4%, 99.5%, 99.6%, 99.7%, 99.8%, 또는 99.9%를 포함할 수 있다.

[0475] 본 개시내용은 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이한 것 중에서 둘 이상의 입자를 포함하는 조성물 및 방법을 포함한다. 이러한 조성물 및 방법은 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이한 복수의 입자 중에서 적어도 2 내지 적어도 20개의 입자를 포함할 수 있다. 이러한 조성물 및 방법은 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이한 복수의 입자 중에서 적어도 3 내지 적어도 6개의 입자를 포함할 수 있다. 이러한 조성물 및 방법은 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이한 복수의 입자 중에서 적어도 4 내지 적어도 8개의 입자를 포함할 수 있다. 이러한 조성물 및 방법은 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이한 복수의 입자 중에서 적어도 4 내지 적어도 10개의

입자를 포함할 수 있다. 이러한 조성물 및 방법은 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이한 복수의 입자 중에서 적어도 5 내지 적어도 12개의 입자를 포함할 수 있다. 이러한 조성물 및 방법은 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이한 복수의 입자 중에서 적어도 6 내지 적어도 14개의 입자를 포함할 수 있다. 이러한 조성물 및 방법은 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이한 복수의 입자 중에서 적어도 8 내지 적어도 15개의 입자를 포함할 수 있다. 이러한 조성물 및 방법은 적어도 하나의 물리화학적 특성이 상이한 복수의 입자 중에서 적어도 10 내지 적어도 20개의 입자를 포함할 수 있다. 이러한 조성물 및 방법은 적어도 2개의 별개의 입자 유형, 적어도 3개의 별개의 입자 유형, 적어도 4개의 별개의 입자 유형, 적어도 5개의 별개의 입자 유형, 적어도 6개의 별개의 입자 유형, 적어도 7개의 별개의 입자 유형, 8개의 별개의 입자 유형, 적어도 9개의 별개의 입자 유형, 적어도 10개의 별개의 입자 유형, 적어도 11개의 별개의 입자 유형, 적어도 12개의 별개의 입자 유형, 적어도 13개의 별개의 입자 유형, 적어도 14개의 별개의 입자 유형, 적어도 15개의 별개의 입자 유형, 적어도 20개의 별개의 입자 유형, 적어도 25개의 별개의 입자 유형, 또는 적어도 30개의 별개의 입자 유형을 포함할 수 있다.

[0476] 본 명세서에서 설명되는 조성물은 하나 또는 하나 초과 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널을 포함한다. 본 명세서에서 설명되는 입자 패 널은 단일 패 널에서 입자 유형의 수 및 입자 유형의 다양성이 다를 수 있다. 예를 들어, 패 널 내의 입자들은 크기, 다분산도, 형상 및 형태, 표면 전하, 표면 화학 및 작용화, 및 기본 물질에 따라 달라질 수 있다. 패 널은 단백질 및 단백질 농도에 대해 분석할 샘플과 함께 인큐베이션될 수 있다. 샘플 내의 단백질은 입자 패 널의 상이한 입자 유형의 표면에 흡착되어 단백질 코로나를 형성한다. 입자 패 널 내의 특정 입자 유형에 흡착되는 정확한 단백질 및 단백질의 농도는 입자 유형의 구성, 크기 및 표면 전하에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 패 널의 각각의 입자 유형은 상이한 단백질 세트 흡착에 의한 상이한 단백질 코로나, 특정 단백질의 상이한 농도 또는 이들의 조합을 가질 수 있다. 패 널 내의 각각의 입자 유형에는 상호 배타적인 단백질 코로나가 있거나, 중첩되는 단백질 코로나가 있을 수 있다. 중첩되는 단백질 코로나는 단백질 종류, 단백질 농도 또는 둘 모두에서 중첩될 수 있다.

[0477] 본 개시내용은 또한 샘플 유형에 따라 패 널에 포함시키기 위한 입자 유형을 선택하는 방법을 제공한다. 패 널에 포함되는 입자 유형은 매우 풍부한 단백질을 제거에 최적화된 입자의 조합일 수 있다. 패 널에 포함되는 입자 유형은 저풍부도 단백질을 흡착하는 데 최적화된 입자의 조합일 수 있다. 또한, 패 널에 포함시키기 위한 입자 유형은 특정 관심 단백질을 흡착하기 위해 선택된 입자 유형이다. 입자는 나노입자를 포함할 수 있다. 입자는 마이크로입자를 포함할 수 있다. 입자는 나노입자와 마이크로입자의 조합을 포함할 수 있다.

[0478] 본 명세서에서 개시되는 입자 패 널은 넓은 동적 범위에 걸쳐 본 명세서에서 개시되는 별개의 단백질 및/또는 본 명세서에서 개시되는 입자의 특정 단백질의 수를 확인하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 별개의 입자 유형을 포함하는 본 명세서에서 개시되는 입자 패 널은 단백질이 샘플(예를 들어, 혈장 샘플)에 존재하는 전체 동적 범위에 걸쳐 생체분자 검정 워크플로우를 사용하여 확인될 수 있는 샘플 내의 단백질을 농축할 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 2의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 3의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 4의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 5의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 6의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 7의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 8의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 9의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 10의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 11의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 12의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 13의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 14의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패 널은 적어도 15의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍

부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 임의의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패널은 적어도 20의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 임의의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패널은 적어도 2 내지 100의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 임의의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패널은 적어도 2 내지 20의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 임의의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패널은 적어도 2 내지 10의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 임의의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패널은 적어도 5 내지 10의 동적 범위에 걸쳐 단백질을 풍부하게 하고, 확인한다.

[0479] 본 명세서에서 개시되는 임의의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패널은 단일 단백질 또는 단백질 그룹을 풍부하게 하고, 확인할 수 있다. 일부 경우에, 단일 단백질 또는 단백질 그룹은 상이한 번역 후 변형을 갖는 단백질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 입자 패널 내의 제1 입자 유형은 제1 번역 후 변형을 갖는 단백질 또는 단백질 그룹을 풍부하게 할 수 있고, 입자 패널 내의 제2 입자 유형은 제2 번역 후 변형을 갖는 동일한 단백질 또는 동일한 단백질 그룹을 풍부하게 할 수 있고, 입자 패널 내의 제3 입자 유형은 번역 후 변형이 없는 동일한 단백질 또는 동일한 단백질 그룹을 풍부하게 할 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 임의의 수의 별개의 입자 유형을 포함하는 입자 패널은 단일 단백질 또는 단백질 그룹의 상이한 도메인, 서열 또는 에피토프를 결합하여 단일 단백질 또는 단백질 그룹을 풍부하게 하고, 확인한다. 예를 들어, 입자 패널 내의 제1 입자 유형은 단백질 또는 단백질 그룹의 제1 도메인에 결합하여 단백질 또는 단백질 그룹을 풍부하게 할 수 있고, 입자 패널 내의 제2 입자 유형은 단백질 또는 단백질 그룹의 제2 도메인에 결합하여 동일한 단백질 또는 동일한 단백질 그룹을 풍부하게 할 수 있다.

[0480] 입자 패널은 입자와 실리카 및 중합체 표면의 조합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 입자 패널은 실리카 박층으로 코팅된 SPION, 폴리(디메틸 아미노프로필 메타크릴아미드)(PDMAAPMA)로 코팅된 SPION, 및 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG)로 코팅된 SPION을 포함할 수 있다. 본 개시내용에 부합하는 입자 패널은 또한 실리카 코팅된 SPION, N-(3-트리메톡시실릴프로필) 디에틸렌트리아민 코팅된 SPION, PDMAAPMA 코팅된 SPION, 카르복실 작용화된 폴리 아크릴산 코팅된 SPION, 아미노 표면 작용화된 SPION, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 SPION, 실리카 입자, 및 텍스트란 코팅된 SPION으로 이루어진 군으로부터 선택된 2개 이상의 입자를 포함할 수 있다. 본 개시내용에 부합하는 입자 패널은 또한 계면활성제 미함유 카르복실레이트 마이크로입자, 카르복실 작용화된 폴리스티렌 입자, 실리카 코팅된 입자, 실리카 입자, 텍스트란 코팅된 입자, 올레산 코팅된 입자, 붕소화 나노분말 코팅된 입자, PDMAAPMA 코팅된 입자, 폴리(글리시딜 메타크릴레이트-벤질아민) 코팅된 입자, 및 폴리(N-[3-(디메틸아미노)프로필]메타크릴아미드-co-[2-(메타크릴로일옥시)에틸]디메틸-(3-설포프로필)암모늄 하이드록사이드, P(DMAAPMA-co-SBMA) 코팅된 입자로 이루어지는 군으로부터 선택되는 2개 이상의 입자를 포함할 수 있다. 본 개시내용에 부합하는 입자 패널은 실리카 코팅된 입자, N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 입자, 폴리(N-(3-(디메틸아미노)프로필)메타크릴아미드)(PDMAAPMA)-코팅된 입자, 포스페이트-당 작용화된 폴리스티렌 입자, 아민 작용화된 폴리스티렌 입자, 폴리스티렌 카르복실 작용화된 입자, 유비퀴틴 작용화된 폴리스티렌 입자, 텍스트란 코팅된 입자, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0481] 본 개시내용의 입자는 생물학적 샘플(예를 들어, 생체유체)과 접촉하여 생체분자 코로나를 형성할 수 있다. 복합 생물학적 샘플과 접촉할 때, 복수의 입자 중 하나 이상의 입자 유형은 100가지 이상의 유형의 단백질을 흡착할 수 있다(예를 들어, 100 pM의 입자 유형을 포함하는 생물학적 샘플의 100 μ l 분취액에서, 주어진 유형의 약 10^{10} 개의 입자는 집합적으로 100가지 이상의 유형의 단백질을 흡착할 수 있다). 입자 및 생체분자 코로나는 예를 들어 원심분리, 자기 분리, 여과 또는 중력 분리에 의해 생물학적 샘플로부터 분리될 수 있다. 입자 유형 및 생체분자 코로나는 다양한 분리 기술을 사용하여 생물학적 샘플로부터 분리될 수 있다. 분리 기술의 비제한적 예는 자기 분리, 컬럼 기반 분리, 여과, 스핀 컬럼 기반 분리, 원심분리, 초원심분리, 밀도 또는 구배 기반 원심 분리, 중력 분리 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 분리된 입자 및 생체분자 코로나에 대해 단백질 코로나 분석을 수행할 수 있다. 단백질 코로나 분석은 예를 들어 질량 분광 분석법에 의해 생체분자 코로나에서 하나 이상의 단백질을 확인하는 것을 포함할 수 있다. 방법은 단일 입자 유형(예를 들어, 표 1에 나열된 유형의 입자)을 생물학적 샘플에 접촉시키는 것을 포함할 수 있다. 방법은 또한 복수의 입자 유형(예를 들어, 표 1에 제공된 복수의 입자 유형)을 생물학적 샘플에 접촉시키는 것을 포함할 수 있다. 복수의 입자 유형은 조합되어 단일 샘플 부피의 생물학적 샘플과 접촉할 수 있다. 복수의 입자 유형은 후속 입자 유형을 생물학적 샘플에 접

측시하기 전에 생물학적 샘플에 순차적으로 접촉되고 생물학적 샘플로부터 분리될 수 있다. 생체분자 코로나의 단백질 코로나 분석은 전체 단백질 분석 방법과 비교하여 분석의 동적 범위를 압축할 수 있다.

[0482] 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 정의된 농도의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 1 pM 내지 100 nM의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 1 pM 내지 500 pM의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 10 pM 내지 1 nM의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 100 pM 내지 10 nM의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 500 pM 내지 100 nM의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 50 µg/ml 내지 300 µg/ml(입자 질량 대 생물학적 샘플 부피)의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 100 µg/ml 내지 500 µg/ml의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 250 µg/ml 내지 750 µg/ml의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 400 µg/ml 내지 1 mg/ml의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 600 µg/ml 내지 1.5 mg/ml의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 800 µg/ml 내지 2 mg/ml의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 1 mg/ml 내지 3 mg/ml의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 2 mg/ml 내지 5 mg/ml의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 5 mg/ml 미만의 입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 5 mg/ml 초과입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 10 mg/ml 초과입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 입자 또는 복수의 입자와 접촉시키는 것은 생물학적 샘플에 15 mg/ml 초과입자를 첨가하는 것을 포함할 수 있다.

[0483] 일부 경우에, 생물학적 샘플은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 20000, 30000, 40000, 50000, 60000, 70000, 80000, 90000, 100000, 200000, 300000, 400000, 또는 500000개 초과입자의 유형의 단백질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 20000, 30000, 40000, 50000, 60000, 70000, 80000, 90000, 100000, 200000, 300000, 400000, 또는 500000개 미만의 유형의 단백질을 포함할 수 있다.

[0484] 복수의 입자 내의 입자는 다양한 정도의 크기 및 형태 균일성을 가질 수 있다. 특정 유형의 입자 집합체에 대한 직경의 표준 편차는 입자 유형에 대한 평균 직경의 20%, 10%, 5% 또는 2% 미만일 수 있다(예를 들어, 평균 직경이 100 nm인 입자에 대해 2 nm 미만). 이것은 복수의 입자를 포함하는 샘플에 대한 2 미만, 1 미만, 0.8 미만, 0.6 미만, 0.5 미만, 0.4 미만, 0.3 미만, 0.2 미만, 0.1 미만 또는 0.05 미만의 낮은 다분산 지수에 상응할 수 있다. 이와 반대로, 복수의 입자는 평균 크기 및 형태의 편차가 클 수 있다. 복수의 입자를 포함하는 샘플에 대한 다분산 지수는 3 초과, 4 초과, 5 초과, 8 초과, 10 초과, 12 초과, 15 초과, 또는 20 초과일 수 있다. 복수의 입자 사이의 크기 및 형태 균일성은 입자에 흡착되는 생체분자의 수 및 유형에 영향을 미칠 수 있다. 일부 방법의 경우, 입자 사이의 크기 균일성(예를 들어, 낮은 다분산 지수)은 특정 생체분자의 더 큰 농축을 가능하게 하고, 풍부한 생체분자 풍부도와 입자 유형 사이의 더 강한 상응성을 가능하게 할 수 있다. 일부 방법의 경우, 낮은 크기 균일성으로 인해 더 많은 유형의 생체분자를 수집할 수 있다.

[0485] 입자는 다양한 직경을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 동적 광산란에 의해 직경을 측정할 수도 있다. 일부 경우에, 입자는 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1000 nm의 직경을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 최대 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 600, 700, 800,

900, 또는 1000 nm의 직경을 포함할 수 있다.

- [0486] 입자는 용매에서 다양한 제타 전위를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 적어도 약 -100 mV 내지 최대 약 100 mV의 제타 전위를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 적어도 약 -50 mV 내지 최대 약 50 mV의 제타 전위를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 적어도 약 -40 mV 내지 최대 약 -20 mV의 제타 전위를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 적어도 약 -20 mV 내지 최대 약 0 mV의 제타 전위를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 적어도 약 0 mV 내지 최대 약 20 mV의 제타 전위를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 적어도 약 20 mV 내지 최대 약 40 mV의 제타 전위를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 -1000, -900, -800, -700, -600, -500, -400, -300, -200, -100, -90, -80, -70, -60, -50, -40, -30, -20, -10, 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 또는 10000 mV 초과와 제타 전위를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자는 -1000, -900, -800, -700, -600, -500, -400, -300, -200, -100, -90, -80, -70, -60, -50, -40, -30, -20, -10, 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 또는 10000 mV 미만의 제타 전위를 포함할 수 있다.
- [0487] 일부 경우에, 용매는 물, 메탄올, 에탄올, 이소프로필 알코올, 아세톤 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 용매는 완충제 용액일 수 있다. 일부 경우에, 용매는 크라우딩제(crowding agent)를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 용매는 계면활성제를 포함할 수 있다.
- [0488] 일부 경우에, 용매는 염을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 염은 LiF, LiCl, LiBr, LiI, Li₂SO₄, BeF₂, BeCl₂, BeBr₂, BeI₂, BeSO₄, NaF, NaCl, NaBr, NaI, Na₂SO₄, MgF₂, MgCl₂, MgBr₂, MgI₂, MgSO₄, KF, KCl, KBr, KI, K₂SO₄, CaF₂, CaCl₂, CaBr₂, CaI₂, KSO₄, NH₄F, NH₄Cl, NH₄Br, NH₄I, (NH₄)₂SO₄, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.
- [0489] 일부 경우에, 용매는 다양한 산 또는 염기를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 산은 염산, 아세트산, 황산, 질산, 시트르산, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 염기는 NaOH, KOH, Ca(OH)₂, NH₄OH, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.
- [0490] 일부 경우에, 용매는 다양한 pH 값을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 용매는 대략 생리학적 pH의 pH를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 용매는 적어도 약 6.9 내지 최대 약 7.0, 적어도 약 7.0 내지 최대 약 7.1, 적어도 약 7.1 내지 최대 약 7.2, 적어도 약 7.2 내지 최대 약 7.3, 적어도 약 7.3 내지 최대 약 7.4, 적어도 약 7.4 내지 최대 약 7.5, 적어도 약 7.5 내지 최대 약 7.6, 적어도 약 7.6 내지 최대 약 7.7, 적어도 약 7.7 내지 최대 약 7.8, 또는 적어도 약 7.9 내지 최대 약 8.0의 pH를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 용매는 적어도 약 1 내지 최대 약 2, 적어도 약 2 내지 최대 약 3, 적어도 약 3 내지 최대 약 4, 적어도 약 4 내지 최대 약 5, 적어도 약 5 내지 최대 약 6, 적어도 약 6 내지 최대 약 7, 적어도 약 7 내지 최대 약 8, 적어도 약 8 내지 최대 약 9, 적어도 약 9 내지 최대 약 10, 적어도 약 10 내지 최대 약 11, 적어도 약 11 내지 최대 약 12, 적어도 약 12 내지 최대 약 13, 또는 적어도 약 13 내지 최대 약 14의 pH를 포함할 수 있다.
- [0491] 일부 경우에, 용매는 멸균 용매를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 멸균 또는 멸균 상태는 특정 실험, 특정 조성물, 특정 방법 등에 허용되는 양 미만의 생물학적 물질을 포함하는 물질을 의미할 수 있다. 멸균으로 간주되도록 허용될 수 있는 양은 실험마다, 조성물마다, 및 방법마다 다를 수 있다. 일부 경우에, 질량 분광 분석에 사용되는 멸균 용매는 약 100 µg/mL, 10 µg/mL, 1 µg/mL, 100 ng/mL, 10 ng/mL, 1 ng/mL, 100 pg/mL, 10 pg/mL, 1 pg/mL, 100 fg/mL, 10 fg/mL, 또는 1 fg/mL 미만의 첨가된 생물학적 물질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 멸균 용매는 검출 가능한 한계보다 적은 양으로 첨가된 생물학적 물질을 포함할 수 있다.
- [0492] 일부 경우에, 입자는 결합 미끼 입자일 수 있다. 경우에 따라, 입자는 기계적 미끼 입자일 수 있다. 일부 경우에, 입자가 고유한 신호를 보낼 수 있다.
- [0493] 일부 경우에, 입자는 선택성을 넓히도록 설계될 수 있다. 경우에 따라, 선택성을 좁히도록 입자를 설계할 수 있다. 경우에 따라, 입자의 표면 화학을 변경하여 선택성을 넓히거나 좁힐 수 있다. 일부 경우에, 입자의 표면 화학을 변경하는 것은 새롭거나 상이한 작용기 부착, 표면의 산화, 표면의 수소화, 표면 조사를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 입자 표면에 특이적인 분자를 배치하여 선택성을 넓히거나 좁힐 수 있다. 경우에 따라, 입자 표면에 단백질을 배치하여 선택성을 넓히거나 좁힐 수 있다. 경우에 따라, 매우 특이적인 단백질을 포획하기 위해 항체 또는 항원을 배치하여 선택성을 넓히거나 좁힐 수 있다.

[0494] 샘플 수집 및 추출 방법

[0495] 본 개시내용의 방법 및 조성물에 따라 다양한 샘플을 검정할 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 샘플은 다양한 유형의 센서 요소로 샘플을 순차적으로 조사한 후에 생체분자 코로나 분석에 의해 분석될 수 있다. 샘플은 단백질 코로나 분석 전에 분류되거나 고갈될 수 있다. 본 개시내용의 방법은 샘플을 하나 이상의 입자 유형과 접촉시키고, 샘플에 대한 생체분자 코로나 분석을 수행하는 것을 포함할 수 있다.

[0496] 샘플은 생물학적 샘플일 수도 있다. 예를 들어, 생물학적 샘플은 생체유체, 예를 들어 뇌척수액(CSF), 활액(SF), 소변, 혈장, 혈청, 눈물, 열구액, 정액, 전혈, 유즙, 유두 흡인액, 바늘 흡인액, 유관 세척액, 질액, 비강액, 귀액, 위액, 채장액, 섬유주액, 폐 세척액, 전립선액, 가래, 분변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체, 기관지 흡인물, 땀 또는 타액일 수 있다. 생체유체는 유동화된 고체, 예를 들어 조직 균질물 또는 생물학적 샘플로부터 추출된 유체일 수 있다. 생물학적 샘플은 예를 들어 조직 샘플 또는 미세 바늘 흡인액(FNA) 샘플일 수 있다. 생물학적 샘플은 세포 배양 샘플일 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에서 개시되는 방법에 사용될 수 있는 샘플은 세포 배양에서 성장하는 세포를 포함하거나 또는 세포 배양액으로부터 채취한 무세포 물질을 포함할 수 있다. 생체유체는 유동화된 생물학적 샘플일 수 있다. 예를 들어, 생체유체는 유동화된 세포 배양 추출물일 수 있다. 샘플은 유체 샘플로부터 추출할 수 있거나, 샘플은 고체 샘플로부터 추출할 수 있다. 예를 들어, 샘플은 유동화된 고체(예를 들어, 휘발성 유기 화합물)로부터 추출된 기체 분자를 포함할 수 있다.

[0497] 본 명세서에서 설명되는 생체분자 코로나 분석 방법은 넓은 동적 범위에 걸쳐 본 개시내용의 샘플에서 단백질을 검정하는 것을 포함할 수 있다. 샘플에서 검정된 생체분자의 동적 범위는 샘플에 포함된 생체분자에 대해 검정 방법(예를 들어, 질량 분광 분석법, 펩타이드 시퀀싱, 펩타이드 친화도 포획, 크로마토그래피, 겔 전기영동, 분광법 또는 면역검정법)에 의해 측정된 생체분자 풍부도의 측정된 신호 범위일 수 있다. 예를 들어, 넓은 동적 범위에 걸쳐 단백질을 검출할 수 있는 검정은 풍부도가 매우 낮은 단백질부터 풍부도가 매우 높은 단백질까지 검출할 수 있다. 검정의 동적 범위는 생체분자 풍부도의 함수로서 검정 신호 강도의 기울기와 직접적으로 관련될 수 있다. 예를 들어, 동적 범위가 낮은 검정은 생체분자 풍부도의 함수로서 검정 신호 강도의 낮은(그러나 양의) 기울기를 가질 수 있고, 예를 들어 높은 풍부도 생체분자에 대해 검출된 신호 대 낮은 풍부도 생체분자에 대해 검출된 신호의 비는 높은 동적 범위를 갖는 검정보다 낮은 동적 범위를 갖는 검정에서 더 낮을 수 있다. 본 명세서에서 설명되는 생체분자 코로나 분석 방법은 검정의 동적 범위를 압축할 수 있다. 검정의 동적 범위는 생체분자 풍부도의 함수로서 검정 신호 강도의 기울기가 다른 검정의 기울기보다 낮은 경우에 또 다른 검정에 비해 압축될 수 있다. 예를 들어, 질량 분광 분석법과 함께 생체분자 코로나 분석을 사용하여 검정된 혈장 샘플은 샘플에서 직접 질량 분광 분석법만을 사용하여 검정된 혈장 샘플과 비교하거나 데이터베이스에서 혈장 단백질에 대해 제공된 풍부도 값(예를 들어, 문헌 [Keshishian et al., Mol. Cell Proteomics 14, 2375-2393 (2015)]에 제공된 데이터베이스, 본 명세서에서 "Carr 데이터베이스"로도 지칭됨)과 비교하여 압축된 동적 범위를 가질 수 있다. 압축된 동적 범위는 질량 분광 분석법을 단독으로 사용하는 것보다 질량 분광 분석법과 함께 생체분자 코로나 분석을 사용하여 혈장 샘플에서 보다 많은 저풍부도 생체분자를 검출할 수 있도록 한다.

[0498] 검정의 동적 범위의 압축은 본 명세서에서 개시되는 방법(예를 들어, 질량 분광 분석법과 같은 단백질 풍부도를 정량하기 위한 검정이 뒤따르는 입자를 사용한 일련의 조사)을 사용하여 저풍부도 생체분자의 검출을 가능하게 할 수 있다. 예를 들어, 검정(예를 들어, 질량 분광 분석법)은 3 자릿수의 동적 범위를 검출할 수 있다. A, B, C, D, E의 5가지 단백질을 각각 1 ng/mL, 10 ng/mL, 100 ng/mL, 1,000 ng/mL, 10,000 ng/mL의 농도로 포함하는 샘플에서, 검정(예를 들어, 질량 분광 분석법)은 단백질 B, C, D 및 E를 검출할 수 있다. 그러나, 샘플을 입자와 인큐베이션하는 본 명세서에서 개시되는 방법을 사용하여, 단백질 A, B, C, D, E는 입자 표면에 대해 상이한 친화도를 가질 수 있고, 입자의 표면에 흡착되어 샘플에 존재하는 것과는 상이한 풍부도로 생체분자 코로나를 형성할 수 있다. 예를 들어, 단백질 A, B, C, D 및 E는 각각 1 ng/mL, 231 ng/mL, 463 ng/mL, 694 ng/mL 및 926 ng/mL의 풍부도로 생체분자 코로나에 존재할 수 있다. 따라서, 샘플을 조사하는 방법에 본 명세서에서 개시되는 입자를 사용하는 것은 동적 범위를 2 자릿수로 압축하는 결과를 낳을 수 있고, 생성 검정(예를 들어, 질량 분광 분석법)은 5개의 단백질 모두를 검출할 수 있다.

[0499] 일부 측면에서, 제1 생체분자 코로나 내의 복수의 생체분자의 동적 범위는 a) 제1 생체분자 코로나 내의 복수의 생체분자 중 보다 고풍부도의 생체분자에 의해 생성된 신호; 및 b) 제1 생체분자 코로나 내의 복수의 생체분자 중 보다 저풍부도의 생체분자에 의해 생성된 신호의 제1 비이다. 일부 측면에서, 제1 생체분자 코로나 내의 복수의 생체분자의 동적 범위는 제1 생체분자 코로나 내의 복수의 단백질 중 풍부도가 가장 높은 생체분자의 농도 대 풍부도가 가장 낮은 생체분자의 농도의 제1 비이다. 일부 측면에서, 제1 생체분자 코로나 내의 복수의 생체분자의 동적 범위는 제1 생체분자 코로나 내의 복수의 단백질 내의 생체분자의 상위 십분위 대 생체분자의 하위

십분위의 제1 비이다. 일부 측면에서, 제1 생체분자 코로나 내의 복수의 생체분자의 동적 범위는 제1 생체분자 코로나 내의 복수의 생체분자 내의 생체분자의 사분위수 범위의 스펠을 포함하는 제1 비이다. 일부 측면에서, 제1 생체분자 코로나 내의 복수의 생체분자의 동적 범위는 제1 생체분자 코로나 내의 복수의 생체분자 내의 생체분자의 모든 농도 대 샘플 내의 동일한 생체분자의 알려진 농도의 플롯에서 피팅된 데이터의 기울기를 포함하는 제1 비이다.

[0500] 일부 측면에서, 전체 생체분자 분석 방법(예를 들어, 전체 단백질 분석 방법)에 의해 측정된 바와 같이, 샘플 내의 복수의 생체분자의 동적 범위는 샘플 내의 복수의 생체분자 내의 생체분자의 사분위수 범위의 스펠을 포함하는 제2 비이다. 일부 측면에서, 전체 생체분자 분석 방법에 의해 측정된 바와 같이, 샘플 내의 복수의 생체분자의 동적 범위는 샘플 내의 복수의 생체분자 내의 생체분자의 모든 농도 대 샘플 내의 동일한 생체분자의 알려진 농도의 플롯에서 피팅된 데이터의 기울기를 포함하는 제2 비이다. 일부 측면에서, 샘플 내의 동일한 생체분자의 알려진 농도는 데이터베이스로부터 얻는다. 일부 측면에서, 동적 범위를 압축하는 것은 제2 비에 비해 감소된 제1 비를 포함한다. 추가의 측면에서, 감소된 제1 비는 제2 비보다 적어도 1.1배, 적어도 1.2배, 적어도 1.3배, 적어도 1.4배, 적어도 1.5배, 적어도 2배, 적어도 2.5배, 적어도 3배, 적어도 3.5배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 100배, 적어도 1000배, 또는 적어도 10,000배 더 작다.

[0501] 관심 생체분자(예를 들어, 저풍부도 단백질)는 처리되지 않은 샘플(예를 들어, 입자를 사용하여 검정되지 않은 샘플)에 비해 생체분자 코로나에 농축될 수 있다. 농축 수준은 처리되지 않은 샘플과 비교하여 생체분자 코로나 내의 생체분자의 총량에 대한 관심 생체분자의 상대적 풍부도의 증가 백분율 또는 증가 배수일 수 있다. 입자와 접촉하지 않은 샘플과 비교하여 생체분자 코로나에서 관심 생체분자의 상대적 풍부도를 증가시킴으로써 관심 생체분자가 생체분자 코로나에 농축될 수 있다. 관심 생체분자는 입자와 접촉하지 않은 샘플과 비교하여 생체분자 코로나에서 고풍부도 생체분자의 상대적 풍부도를 감소시킴으로써 농축될 수 있다. 생체분자 코로나 분석 검정은 생물학적 샘플(예를 들어, 생체유체)에서 저풍부도 생체분자를 신속하게 확인하는 데 사용될 수 있다. 생체분자 코로나 분석 검정은 생물학적 샘플을 입자와 처음 접촉시킨 후 약 8시간 이내에 생물학적 샘플에서 적어도 약 500개의 저풍부도 생체분자를 확인할 수 있다. 생체분자 코로나 분석 검정은 생물학적 샘플을 입자와 처음 접촉시킨 후 약 8시간 이내에 생물학적 샘플에서 적어도 약 1000개의 저풍부도 생체분자를 확인할 수 있다. 생체분자 코로나 분석 검정은 생물학적 샘플을 입자와 처음 접촉시킨 후 약 4시간 이내에 생물학적 샘플에서 적어도 약 500개의 저풍부도 생체분자를 확인할 수 있다. 생체분자 코로나 분석 검정은 생물학적 샘플을 입자와 처음 접촉시킨 후 약 4시간 이내에 생물학적 샘플에서 적어도 약 1000개의 저풍부도 생체분자를 확인할 수 있다.

[0502] 다중 샘플 분석

[0503] 방법은 대상체(예를 들어, 암 환자)의 다중 샘플을 분석하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 다중 샘플에는 핵산 샘플 단백질 샘플이 포함될 수 있다. 핵산 샘플 및 단백질 샘플은 혈액 샘플과 같은 하나 이상의 생물학적 샘플로부터 유래될 수 있다.

[0504] 생체분자 분포는 샘플 유형 및/또는 조직 유형(예를 들어, 조직학) 간에 다르지 않을 수 있다. 많은 생물학적 상태의 경우, 대상체로부터의 상이한 샘플은 별개의 것을 포함할 수 있으며, 일부 경우에는 다양한 바이오마커 세트(예를 들어, 단백질 또는 유전자)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 인간 혈장은 상대적으로 낮은 핵산 함량 및 생물학적 상태에 따라 크게 달라지는 인간 단백질체의 하위 세트를 포함할 수 있는 반면, 조직 균질물은 생물학적 상태에 민감한 게놈 함량을 포함할 수 있지만 광범위한 생물학적 상태에 걸쳐 안정적인 단백질 분포를 포함할 수 있다. 핵산 분석에 유용한 샘플은 단백질 분석에 불량한 샘플일 수 있는 반면, 단백질 분석에 유용한 샘플은 낮은 핵산 함량을 포함할 수 있다. 경우에 따라(예를 들어, 여러 형태의 암에서), 세포 균질액은 생물학적 상태를 반영하는 광범위한 게놈 및 전사체(transcriptome) 정보를 제공하는 동시에, 생물학적 상태 분석에 불충분한 단백질 발현의 작은 변화를 표시할 수 있다. 혈장 단백질 풍부도는 대상체의 생물학적 상태에 민감할 수 있는 반면, 혈장 핵산 농도는 분석을 수행하기에는 엄청나게 낮을 수 있다.

[0505] 방법은 단백질체 및 핵산 검정을 위한 상이한 유형의 샘플을 활용하여 이러한 한계를 극복할 수 있다. 예를 들어, 암이 의심되는 대상체의 경우, 잠재적 암성 조직에 대한 생검이 핵산 분석에 사용될 수 있는 반면, 혈장은 단백질체 분석에 사용될 수 있다. 방법은 또한 단백질 및 핵산 분석을 위해 샘플의 상이한 부분을 활용할 수 있다. 예를 들어, 검정은 핵산 분석을 위해 혈액 샘플의 연막층을, 단백질 분석을 위해 샘플의 혈장 부분을 활용할 수 있다.

[0506] 본 개시내용의 방법은 대상체로부터의 제1 샘플에 대해 핵산 분석을 수행하고, 대상체로부터의 제2 샘플에 대해 단백질 분석을 수행하는 것을 포함할 수 있다. 대상체는 질병 또는 암이 현재 있거나, 있는 것으로 의심될 수

있다. 본 개시내용에 부합하는 방법은 대상체로부터의 다수의 샘플 유형(예를 들어, 협측 면봉 샘플 및 소변)에 대해 핵산 분석 또는 단백질 분석을 수행하는 것을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 방법은 동일한 샘플에 대해 핵산 및 단백질 분석을 수행하는 것을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 방법은 먼저 샘플로부터 단백질을 수집한 다음, 샘플로부터 핵산을 수집하는 것을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 방법은 먼저 샘플로부터 핵산을 수집한 다음, 샘플로부터 단백질을 수집하는 것을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 방법은 샘플로부터 핵산 및 단백질을 동시에 정제하는 것을 포함할 수 있다(예를 들어, 핵산 및 단백질을 별개의 상으로 분리하기 위한 페놀:클로로포름:이소아밀 알코올 추출). 본 개시내용의 방법은 샘플 내의 RNA로부터 DNA를 분리하는 단계, 및 선택적으로 시퀀싱 분석을 위한 역전사에 의해 RNA를 cDNA로 전환하는 것을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 방법은 크기, 전하, 등전점 또는 이들의 임의의 조합에 기초하여 종을 분리하는 단계를 포함할 수 있다. 본 개시내용의 방법은 샘플에 대한 용해를 수행하는 것을 포함할 수 있다. 본 개시내용의 방법은 샘플에 대한 크로마토그래피 분리를 수행하는 것을 포함할 수 있다.

[0507] **생체분자 코로나의 검정**

[0508] 생물학적 샘플을 검정하는 방법은 추가의 분석(예를 들어, 질량 분광 분석)을 위해 생체분자 코로나로부터 분석물을 준비하는 것을 포함할 수 있다. 생체분자 코로나는 상청액을 제거한 다음, 생체분자 코로나로부터 복수의 생체분자를 별개의 용액으로 탈착함으로써 상청액(센서 요소에 결합되지 않은 생물학적 샘플의 부분)으로부터 분리될 수 있다. 일부 방법에서, 생체분자 코로나로부터의 생체분자의 제1 부분은 생체분자 코로나로부터 탈착되어 폐기되고, 생체분자 코로나로부터의 생체분자의 제2 부분은 생체분자 코로나로부터 탈착되어(예를 들어, 분석을 위해) 수집된다. 생체분자 코로나로부터의 생체분자의 여러 부분은 개별적으로 탈착, 수집 및 분석될 수 있다. 별개의 부분은 생체분자의 상이한 조성을 포함할 수 있고, 부분 사이의 차이는 샘플을 핑거프린팅(fingerprinting)하기 위해 사용될 수 있다.

[0509] 일부 경우에, 생물학적 샘플을 검정하는 방법이 신호를 생성할 수 있다. 일부 경우에, 신호는 단백질체 정보, 게놈 정보, 또는 둘 모두를 결정하기 위해 포함되거나, 사용될 수 있다. 일부 경우에, 신호는 화학적 신호, 이온 신호, 형광 신호, 또 다른 형태의 신호 또는 이들의 임의의 조합의 형태로 단백질체 또는 유전자형 정보를 포함하는 공급원으로부터 방출되는 단백질체 또는 유전자형 정보를 지칭할 수 있다. 일부 경우에, 신호는 단백질에 할당될 수 있다. 일부 경우에, 신호는 핵산에 할당될 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플을 검정하는 방법은 단백질, 핵산 분자 또는 이들의 조합과 같은 생체분자에 할당할 수 있는 복수의 신호를 생성할 수 있다. 일부 경우에, 복수의 신호는 적어도 20000, 50000, 100,000, 1,000,000개 또는 그 초과에 구별 가능한 신호를 포함할 수 있다.

[0510] 생체분자 코로나로부터의 생체분자는 변성, 단편화, 화학적 변형, 또는 이들의 조합 처리될 수 있다. 이들 처리는 탈착된 생체분자 또는 생체분자 코로나 내의 생체분자에 대해 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% 초과에 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 초과에 시간을 포함하는 상이한 시간 동안 수행될 수 있다. 일부 경우에, 탈착은 물리적 교반, 예를 들어 진탕 또는 초음파 처리를 포함한다. 생체분자 코로나로부터 탈착된 생체분자의 백분율은 탈착 시간, 생체분자가 탈착되는 용액의 화학적 조성(예를 들어, pH 또는 완충제 유형), 탈착 온도, 적용되는 물리적 교반의 형태 및 강도, 또는 이들의 임의의 조합에 따라 결정될 수 있다. 생체분자 코로나로부터 탈착되는 생체분자의 유형은 두 가지 탈착 조건 또는 방법 사이에서 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 8%, 10%, 12%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60% 또는 그 초과로 상이할 수 있다.

[0511] 생체분자 코로나로부터 수집된 생체분자는 분석 전에 추가의 화학적 처리를 거칠 수 있다. 여기에는 생체분자 코로나, 생체분자 코로나 내의 생체분자의 하위 세트, 또는 생체분자 코로나로부터 탈착된 생체분자를 소화하여 자동화 장치에서 소화된 샘플을 형성하는 것이 포함될 수 있다. 생체분자 처리는 또한 생체분자를 메틸화하거나 환원시키는 것과 같이 생체분자 코로나로부터 생체분자를 화학적으로 변형시키는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자 코로나로부터 생체분자의 분리는 온전한 생체분자 분리를 포함한다. 온전한 생체분자 분리는 후속 처리 및 분석(예를 들어, 질량 분광 분석)에 적용될 수 있는 온전한 생체분자(예를 들어, 단백질)를 생성할 수 있다.

[0512] 방법은 분석을 위해 생체분자 코로나로부터 생체분자를 제조하는 다중 라운드를 포함할 수 있다. 방법은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 그 초과에 제조 라운드를 포함할 수 있으며, 여기서 복수의 라운드는 분석을

위한 별개의 샘플을 생성한다(예를 들어, 탈착된 생체분자는 각각의 라운드 후에 수집되어 질량 분광 분석에 적용될 수 있다). 두 라운드는 또한 상이한 탈착제 용액 부피, 상이한 탈착제 용액 유형(예를 들어, 상이한 완충제 또는 오스몰 농도를 포함하는 탈착제 용액), 상이한 온도, 또는 상이한 유형 및 정도의 물리적 교반과 같은 상이한 탈착 방법 또는 조건을 포함할 수 있다. 단일 생체분자 코로나로부터 2회 이상이 연속적인 제조 라운드(예를 들어, 생체분자 코로나로부터 생체분자의 제1 하위 세트의 탈착 및 수집, 이어서 생체분자 코로나로부터 생체분자의 제2 하위 세트의 탈착 및 수집)는 라운드 간에 탈착 방법이 동일한 경우에도 두 세트의 생체분자를 생성할 수 있다. 이것은 단백질 코로나 내의 생체분자 상호작용의 검출 또는 분석을 알릴 수 있다.

[0513] 방법은 파티션 내에 센서 요소(예를 들어, 입자)를 고정시키는 것을 포함할 수 있다. 고정은 샘플 부피의 일부가 제거될 때 센서 요소가 샘플 부피(예를 들어, 웰 플레이트의 웰)로부터 제거되는 것을 방지할 수 있다. 고정은 화학적으로 수행될 수 있고, 용기 내의 벽과 같은 표면에 직접 또는 간접적으로(예를 들어, 링커를 통해) 센서 요소를 부착하는 것을 포함할 수 있다. 샘플 용기 내에 자기 센서 요소(예를 들어, 자성 입자)를 유지하기 위해 자기장을 인가함으로써 고정을 달성할 수 있다. 고정은 마이크로플레이트 웰의 내부 표면과 같은 표면에 센서 요소를 형성하거나 내장함으로써 달성될 수 있다.

[0514] 센서 요소 고정은 생체분자 코로나가 센서 요소로부터 분리되게 할 수 있다. 이는 센서 요소와 결합된 생체분자 코로나로부터 복수의 생체분자를 탈착하는 단계, 센서 요소를 고정하는 단계, 이어서 생체분자 코로나로부터 복수의 생체분자와 함께 용액을 수집함으로써 생체분자 코로나의 적어도 일부를 센서 요소로부터 분리하는 단계를 포함할 수 있다. 대안적으로, 센서 요소는 그의 생체분자 코로나의 일부가 탈착되기 전에 고정될 수 있다.

[0515] 본 명세서에서 개시되는 방법은 여과 단계를 포함할 수 있다. 여과는 센서 요소 또는 생체분자의 유형(예를 들어, 프로테아제)을 샘플로부터 분리할 수 있다. 예를 들어, 방법은 센서 요소와 결합된 생체분자 코로나로부터 복수의 생체분자를 탈착하는 단계 및 센서 요소가 필터 상에 수집되고 복수의 생체분자가 용액에 남도록 용액을 여과하는 단계를 포함할 수 있다. 여과는 변성(예를 들어, 분해) 후에 수행될 수 있다. 여과는 또한 온전한 단백질(예를 들어, 생물학적 샘플로부터의 소화되지 않은 단백질 또는 단백질을 단편화하기 위해 샘플에 첨가된 프로테아제)과 같은 복수의 생체분자 또는 생물학적 종을 제거할 수 있다.

[0516] 방법은 정제 단계를 포함할 수 있다. 정제 단계는 생물학적 샘플(예를 들어, 생체분자 코로나로부터 용출되고 수집된 생체분자)을 정제 유닛(예를 들어, 크로마토그래피 컬럼) 또는 정제 유닛 내의 파티션으로 옮기는 것을 포함할 수 있다. 정제 유닛은 고상 추출 또는 크로마토그래피 컬럼을 포함할 수 있다. 정제 단계는 수집 후 제조 단계 후에 샘플로부터 시약(예를 들어, 화학 물질 및 효소)을 제거할 수 있다. 정제 후, 생물학적 샘플은 추가의 농축 또는 화학적 처리를 위해 재수집되거나, 분석(예를 들어, 질량 분광 분석)에 적용될 수 있다.

[0517] 총체적으로, 본 개시내용의 방법은 생물학적 샘플에 대한 고도의 프로파일링 깊이를 가능하게 할 수 있다. 본 개시내용의 방법에서 수집된 복수의 생체분자는 복수의 생체분자의 추가의 조작 또는 변형 없이, 생체분자의 하위 세트가 수집되는 생물학적 샘플 내의 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% 초과인 생체분자 유형의 질량 분광 분석 검출을 가능하게 할 수 있다. 복수의 생체분자는 복수의 생체분자의 추가의 조작 또는 변형 없이, 샘플 내의 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% 초과인 단백질 유형의 질량 분광 분석 검출을 가능하게 할 수 있다. 분석을 위해 센서 요소 상에 수집되거나 제조된 복수의 생체분자는 복수의 생체분자의 추가의 조작 또는 변형 없이, 샘플 내의 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 또는 그 초과인 자릿수에 걸쳐 있는 2개의 생체분자(예를 들어, 단백질)의 동시 질량 분광 분석 검출을 가능하게 할 수 있다. 예를 들어, 2개의 생체분자는 6 자릿수 내의 농도로 탈착 및 수집된 후, 질량 분광 분석을 위해 제출될 수 있다.

[0518] 생물학적 샘플의 단백질 코로나 분석

[0519] 본 명세서에서 개시되는 입자 및 그의 사용 방법은 생물학적 샘플(예를 들어, 생체유체) 내의 매우 많은 상이한 단백질 또는 단백질 그룹에 결합할 수 있다. 본 명세서에서 설명되는 단백질 코로나 분석 방법을 사용하여 분석할 수 있는 생물학적 샘플의 비제한적인 예에는 생체유체 샘플(예를 들어, 뇌척수액(CSF), 활액(SF), 소변, 혈장, 혈청, 눈물, 정액, 전혈, 유즙, 유두 흡인액, 바늘 흡인액, 유관 세척액, 질액, 비강액, 귀액, 위액, 췌장액, 섬유주액, 폐 세척액, 전립선액, 가래, 분변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체, 기관지 흡인물, 땀 또는 타액), 유동화된 고형물(예를 들어, 조직 균질물), 또는 세포 배양액으로부터 유래된 샘플이 포함된다. 예를 들어, 본 명세서에서 개시되는 입자는 적어도 40개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 60개의 단백질 또는 단

백질 그룹, 적어도 80개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 100개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 120개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 140개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 160개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 180개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 200개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 220개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 240개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 260개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 280개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 300개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 320개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 340개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 360개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 380개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 400개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 420개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 440개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 460개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 480개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 500개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 520개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 540개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 560개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 580개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 600개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 620개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 640개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 660개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 680개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 700개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 720개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 740개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 760개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 780개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 800개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 820개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 840개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 860개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 880개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 900개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 920개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 940개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 960개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 980개의 단백질 또는 단백질 그룹, 적어도 1000개의 단백질 또는 단백질 그룹, 100 내지 1000개의 단백질 또는 단백질 그룹, 150 내지 950개의 단백질 또는 단백질 그룹, 200 내지 900개의 단백질 또는 단백질 그룹, 250 내지 850개의 단백질 또는 단백질 그룹, 300 내지 800개의 단백질 또는 단백질 그룹, 350 내지 750개의 단백질 또는 단백질 그룹, 400 내지 700개의 단백질 또는 단백질 그룹, 450 내지 650개의 단백질 또는 단백질 그룹, 500 내지 600개의 단백질 또는 단백질 그룹, 200 내지 250개의 단백질 또는 단백질 그룹, 250 내지 300개의 단백질 또는 단백질 그룹, 300 내지 350개의 단백질 또는 단백질 그룹, 350 내지 400개의 단백질 또는 단백질 그룹, 400 내지 450개의 단백질 또는 단백질 그룹, 450 내지 500개의 단백질 또는 단백질 그룹, 500 내지 550개의 단백질 또는 단백질 그룹, 550 내지 600개의 단백질 또는 단백질 그룹, 600 내지 650개의 단백질 또는 단백질 그룹, 650 내지 700개의 단백질 또는 단백질 그룹, 700 내지 750개의 단백질 또는 단백질 그룹, 750 내지 800개의 단백질 또는 단백질 그룹, 800 내지 850개의 단백질 또는 단백질 그룹, 850 내지 900개의 단백질 또는 단백질 그룹, 900 내지 950개의 단백질 또는 단백질 그룹, 950 내지 1000개의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함하는 단백질 코로나를 형성하기 위해 본 명세서에서 개시되는 임의의 생물학적 샘플과 함께 인큐베이션될 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자는 적어도 약 50 내지 500개의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함하는 단백질 코로나를 형성하기 위해 본 명세서에서 개시되는 임의의 생물학적 샘플과 함께 인큐베이션될 수 있다.

[0520] 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자는 생물학적 샘플과 함께 인큐베이션되어 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10,000, 20,000, 30,000, 40,000, 50,000, 60,000, 70,000, 80,000, 90,000, 100,000, 200,000, 300,000, 400,000, 또는 500,000개의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함하는 단백질 코로나를 형성할 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자는 생물학적 샘플과 함께 인큐베이션되어 최대 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10,000, 20,000, 30,000, 40,000, 50,000, 60,000, 70,000, 80,000, 90,000, 100,000, 200,000, 300,000, 400,000, 또는 500,000개의 단백질 또는 단백질 그룹을 포함하는 단백질 코로나를 형성할 수 있다.

[0521] 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자는 단백질 코로나 내에서 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10,000, 20,000, 30,000, 40,000, 50,000, 60,000, 70,000, 80,000, 90,000, 100,000, 200,000, 300,000, 400,000, 또는 500,000개의 단백질 또는 단백질 그룹을 확인할 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자는 단백질 코로나 내에서 최대 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10,000, 20,000, 30,000, 40,000, 50,000, 60,000, 70,000, 80,000, 90,000, 100,000, 200,000, 300,000, 400,000, 또는 500,000개의 단백질 또는 단백질 그룹을 확인할 수 있다.

[0522] 일부 경우에, 검정은 특정 생물학적 샘플에서 많은 수의 단백질 또는 단백질 그룹을 확인하기 위해 개별적으로

또는 조합하여 여러 상이한 유형의 입자를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 생물학적 샘플에서 많은 수의 단백질 또는 단백질 그룹에 결합하고 이를 확인하기 위해 입자를 다중화할 수 있다. 일부 경우에, 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 100개의 입자가 조합하여 사용될 수 있다. 일부 경우에, 조합하여 사용되는 입자는 적어도 약 250 내지 약 25,000개의 단백질 또는 단백질 그룹에 결합하고 이를 확인할 수 있다. 일부 경우에, 조합하여 사용되는 입자는 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 15000, 20000, 25000, 30000, 35000, 40000, 45000, 또는 50000개의 단백질 또는 단백질 그룹에 결합하고 이를 확인할 수 있다. 일부 경우에, 조합하여 사용되는 입자는 최대 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 15000, 20000, 25000, 30000, 35000, 40000, 45000, 또는 50000개의 단백질 또는 단백질 그룹에 결합하고 이를 확인할 수 있다.

[0523] 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자는 단일 대상체 또는 복수의 대상체로부터의 생물학적 샘플과 함께 인큐베이션될 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1000명의 대상체로부터 유래될 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플은 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1000명의 대상체로부터 유래될 수 있다.

[0524] 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자는 약 50 내지 500가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 확인하거나 정량할 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자는 약 5 내지 5000가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 확인하거나 정량할 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자는 적어도 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 또는 5000가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 확인하거나 정량할 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자는 최대 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 또는 5000가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 확인하거나 정량할 수 있다.

[0525] 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 복수의 입자는 약 250 내지 25000가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 확인하거나 정량할 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 복수의 입자는 적어도 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 15000, 20000, 25000, 30000, 40000, 50000, 60000, 70000, 80000, 90000, 또는 100000가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 확인하거나 정량할 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 입자는 최대 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 15000, 20000, 25000, 30000, 40000, 50000, 60000, 70000, 80000, 90000, 또는 100000가지 유형의 단백질 또는 단백질 그룹을 확인하거나 정량할 수 있다.

[0526] 또한, 본 개시내용의 방법은 샘플로부터 농축된 단백질 또는 단백질 그룹의 동시 정량을 가능하게 할 수 있다. 일부 진단 방법의 단점은 개별 바이오마커의 농도(예를 들어, 혈액 내의 IL-10의 농도) 또는 상대적 상태 분포(예를 들어, 인산화된 TrkA 대 인산화되지 않은 TrkA)가 대상체 간에 더 큰 차이를 가지거나 생물학적 상태보다 외부 요인(예를 들어, 대상체가 생물학적 샘플을 기증하기 전에 얼마나 최근에 식사를 했는지의 여부)에 더 크게 의존할 수 있다는 것이다. 그러나, 본 명세서에 추가로 제시되는 바와 같이, 매우 많은 단백질의 풍부도 비는 특정 생물학적 상태에 대해 강력하게 진단적일 수 있고, 심지어 유사한 생물학적 상태(예를 들어, 건강한 대당뇨 전단계, 또는 만성 림프구성 백혈병의 1기 대 2기)를 구별할 수도 있다. 본 개시내용에서 설명되는 방법은 개별 입자 또는 입자 유형으로부터 상대적 또는 절대적 단백질 풍부도를 구별하는 능력을 제공할 수 있다. 2개의 입자 유형이 개별적으로 분석되거나 검정될 수 있고, 따라서 복수의 입자 유형에 걸쳐 매우 많은 단백질(예를 들어, 70가지 유형의 단백질)의 상대적 풍부도를 비교할 수 있다.

[0527] 생체분자 코로나의 단백질 코로나 분석은 전체 단백질 분석 방법에 비해 분석의 동적 범위를 압축할 수 있다. 많은 분석 기술(예를 들어, 질량 분광 분석법)에는 단일 측정에 대한 농도 범위 제한이 있다. 예를 들어, 일부 질량 분석 검출 방법은 6 자릿수 초과와 차이가 나는 농도로 존재하는 두 개의 펩타이드를 동시에 검출하는 능력이 결여될 수 있다. 따라서, 벌크 샘플에 대한 조 분석(crude analysis)은 풍부한 분석물(예를 들어, 혈장 내의 알부민)의 신호를 강조할 수 있지만, 풍부하지 않은 표적(예를 들어, 혈장 내의 인터루킨)으로부터의 신호는 분석하지 않는다. 본 개시내용의 방법은 2, 3, 4, 5, 또는 6 자릿수 내의 농도에 존재하는 단백질 유형의 수를

증가시킬 수 있고, 이것은 샘플로부터 보다 많은 수의 단백질의 병행 검출을 가능하게 할 수 있다.

[0528] 예를 들어, 생체분자 코로나 형성을 포함하는 방법은 그의 농도가 샘플 내의 가장 농축된 생체분자의 6 자릿수 이내인 생체분자의 유형의 수를 적어도 25%, 50%, 100%, 200%, 300%, 500% 또는 1000% 증가시킬 수 있다. 이와 유사하게, 압축된 동적 범위는 그의 농도가 샘플 내의 가장 풍부한 생체분자의 6 자릿수 이내인 단백질의 유형의 수의 증가를 포함할 수 있다. 이 방법은 그의 농도가 샘플 내의 가장 농축된 단백질의 6 자릿수 이내인 단백질의 유형의 수를 적어도 25%, 50%, 100%, 200%, 300%, 500% 또는 1000% 증가시킬 수 있다. 이 방법은 생물학적 샘플로부터 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자 유형의 적어도 10%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 유형의 적어도 30%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 유형의 적어도 40%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 유형의 적어도 50%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 유형의 적어도 60%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 유형의 적어도 70%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질의 유형의 적어도 10%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질의 유형의 적어도 20%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질의 유형의 적어도 30%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질의 유형의 적어도 40%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질의 유형의 적어도 50%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질의 유형의 적어도 60%를 포함할 수 있다. 상기 방법은 생물학적 샘플로부터의 생체분자의 하위 세트를 농축할 수 있고, 생체분자의 하위 세트는 6 자릿수의 농도 범위 내에서 생물학적 샘플로부터의 단백질의 유형의 적어도 70%를 포함할 수 있다.

[0529] 본 개시내용의 방법 및 센서 요소는 생체분자 코로나 조성이 샘플 지질 농도에 대해 불변하도록 조정될 수 있다. 생물학적 샘플에서 지질 농도가 최대 10% 변화하면, 생체분자 코로나 내의 단백질 조성에서 5%, 2%, 1% 또는 0.1% 미만의 변화가 발생할 수 있다. 생물학적 샘플에서 지질 농도가 최대 10% 변화하면, 생체분자 코로나의 단백질의 유형 수에서 5%, 2%, 1% 또는 0.1% 미만의 변화가 발생할 수 있다. 생물학적 샘플에서 지질 농도가 최대 10% 변화하면, 생체분자 코로나의 총 단백질 수에서 5%, 2%, 1% 또는 0.1% 미만의 변화가 발생할 수 있다.

[0530] 일부 경우에, 생물학적 샘플은 혈액, 혈장 또는 혈청을 포함할 수 있고, 생체분자 코로나는 생물학적 샘플보다 더 낮은 비의 알부민 대 비알부민 단백질을 포함할 수 있다. 알부민 대 비알부민 단백질의 비는 단백질이 흡착된 샘플에서보다 생체분자 코로나에서 20%, 30%, 40%, 50%, 60% 또는 70% 더 낮을 수 있다.

[0531] 일부 경우에, 단백질체 정보 또는 데이터는 펩타이드 및/또는 단백질 성분을 포함하는 물질에 대한 정보를 나타낼 수 있다. 일부 경우에, 단백질체 정보는 펩타이드 또는 단백질에 대한 1차 구조 정보, 2차 구조 정보, 3차 구조 정보 또는 4차 구조 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 단백질체 정보는 단백질-리간드 상호작용에 대한 정보를 포함할 수 있으며, 여기서 리간드는 살아있는 유기체에서 발견될 수 있는 다양한 생물학적 분자 및 물질, 예를 들어 뉴클레오타이드, 핵산, 아미노산, 펩타이드, 단백질, 모노사카라이드, 폴리사카라이드, 지질, 인지질, 호르몬, 또는 이들의 임의의 조합 중 임의의 하나를 포함할 수 있다.

[0532] 일부 경우에, 단백질체 정보는 단일 세포, 조직, 기관, 조직 및/또는 기관의 시스템(예를 들어, 심혈관, 호흡기, 소화기 또는 신경계), 또는 전체 다세포 유기체에 대한 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 단백질체 정보는 개체(예를 들어, 개별 인간 또는 개별 박테리아) 또는 개체의 집단(예를 들어, 암으로 진단된 인간들 또

는 박테리아의 콜로니)에 대한 정보를 포함할 수 있다. 단백질체 정보는 고세균, 박테리아, 진핵생물류, 원생동물, 유색조식물(Chromista), 식물계, 진균 또는 동물계의 생명 형태를 포함하여 다양한 생명 형태의 정보를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 단백질체 정보는 바이러스의 정보를 포함할 수 있다.

[0533] 일부 경우에, 단백질체 정보는 생명 코드의 엑손 및 인트론과 관련된 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 단백질체 정보는 펩타이드 및/또는 단백질의 1차 구조의 변이, 2차 구조의 변이, 3차 구조의 변이 또는 4차 구조의 변이에 관한 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 단백질체 정보는 선택적 스플라이싱 변이, 구조적 변이, 또는 둘 모두를 포함하는 엑손 발현의 변이에 관한 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 단백질체 정보는 입체 형태적 정보, 번역 후 변형 정보, 화학적 변형 정보(예를 들어, 인산화), 보조인자(예를 들어, 염 또는 기타 조절 화학물질) 관련 정보, 또는 펩타이드 및/또는 단백질의 기질 결합 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 번역 후 변형은 아실화, 알킬화, 프레닐화, 플라빈화, 아미드화, 아민화, 탈아민화, 카르복실화, 탈카르복실화, 니트로실화, 포르밀화, 시트룰린화, 글리코실화, 당화, 할로겐화, 하이드록실화, 인산화, 설퍼릴화, 글루타티오닐화, 석시닐화, 카르보닐화, 카르바밀화, 산화, 산소화, 환원, 유비퀴틴화, 수모일화, 네틸화, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 단백질체 정보는 건강한 세포 또는 병에 걸린 세포의 아포토시스의 비율 또는 발생률을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 단백질체 정보는 건강한 상태 또는 질병 상태와 같은 세포의 상태를 포함할 수 있다.

[0534] 본 개시내용의 방법 및 조성물은 생물학적 샘플에서 특정 단백질의 확인 및 측정을 제공할 수 있다. 이것은 입자의 표면에 형성된 코로나의 소화를 통한 단백질체 데이터의 처리를 포함할 수 있다. 확인 및 측정할 수 있는 단백질의 예로는 고평부도의 단백질, 중간 풍부도의 단백질 및 저풍부도의 단백질이 있다. 일부 경우에, 저풍부도 단백질은 약 10 ng/mL 이하의 농도로 샘플에 존재할 수 있다. 일부 경우에, 고평부도 단백질은 약 10 µg/mL 이상의 농도로 샘플에 존재할 수 있다. 중간 풍부도의 단백질은 약 10 ng/mL 내지 약 10 µg/mL의 농도로 샘플에 존재할 수 있다. 일부 생물학적 샘플에서 매우 풍부한 단백질일 수 있는 단백질의 예로는 알부민, IgG 및 혈장 내 단백질 질량의 약 95%를 차지하는 풍부한 상위 14개 단백질이 있다. 경우에 따라, 종래의 고갈 컬럼을 사용하여 정제된 단백질은 입자, 입자 패널, 또는 본 명세서에서 개시되는 입자 조성물을 사용하여 샘플에서 직접 검출할 수 있다. 단백질의 예는 발표된 데이터베이스, 예를 들어 문헌 [Keshishian et al. (Mol Cell Proteomics. 2015 Sep;14(9):2375-93. doi: 10.1074/mcp.M114.046813. Epub 2015 Feb 27.)], [Farr et al. (J Proteome Res. 2014 Jan 3;13(1):60-75. doi: 10.1021/pr4010037. Epub 2013 Dec 6.)], 또는 [Pernemalm et al. (Expert Rev Proteomics. 2014 Aug;11(4):431-48. doi: 10.1586/14789450.2014.901157. Epub 2014 Mar 24.)]에 나열된 임의의 단백질일 수 있다.

[0535] 본 명세서에서 개시되는 방법 및 조성물을 사용하여 측정 및 확인될 수 있는 단백질의 예는 알부민, IgG, 리소자임, CEA, HER-2/neu, 방광 종양 항원, 티로글로불린, 알파-태아단백, PSA, CA125, CA19.9, CA 15.3, 랩틴, 프로락틴, 오스테오폰틴, IGF-II, CD98, 파신, sPigR, 14-3-3 에타, 트로포닌 I, B형 나트륨 이노 펩타이드, BRCA1, c-Myc, IL-6, 피브리노겐, EGFR, 가스트린, PH, G-CSF, 데스민, NSE, FSH, VEGF, P21, PCNA, 칼시토닌, PR, CA125, LH, 소마토스타틴, S100, 인슐린, 알파-프로락틴, ACTH, Bcl-2, ER 알파, Ki-67, p53, 카텝신 D, 베타 카테닌, VWF, CD15, k-ras, 카스파제 3, EPN, CD10, FAS, BRCA2, CD30L, CD30, CGA, CRP, 프로트롬빈, CD44, APEX, 트랜스페린, GM-CSF, E-카드헤린, IL-2, Bax, IFN-감마, 베타-2-MG, TNF 알파, c-erbB-2, 트립신, 사이클린 D1, MG B, XBP-1, HG-1, YKL-40, S-감마, NESP-55, 네트린-1, 게미닌, GADD45A, CDK-6, CCL21, BrMS1, 17betaHDI, PDGFRA, Pcaf, CCL5, MMP3, 클라우딘-4 및 클라우딘-3을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 입자 패널을 사용하여 측정 및 확인될 수 있는 단백질의 다른 예는 특정 관심 질병 징후(예를 들어, 전립선암, 폐암 또는 알츠하이머병)에 대한 공개 표적 데이터베이스에 나열된 임의의 단백질 또는 단백질 그룹이다.

[0536] 생물학적 샘플의 단백질체 데이터는 많은 상이한 분석 기술을 사용하여 확인, 측정 및 정량할 수 있다. 예를 들어, 단백질체 데이터는 SDS-PAGE 또는 임의의 겔 기반 분리 기술을 사용하여 분석할 수 있다. 펩타이드 및 단백질은 또한 ELISA와 같은 면역검정법을 사용하여 확인, 측정 및 정량할 수 있다. 대안적으로, 단백질체 데이터는 질량 분광 분석법, 고성능 액체 크로마토그래피, LC-MS/MS, 에드만(Edman) 분해, 면역친화도 기술, 각각 그 전체가 본원에 참조로 포함된 EP3548652, WO2019083856, WO2019133892에 개시된 방법, 및 기타 단백질 분리 기술을 사용하여 확인, 측정 및 정량할 수 있다.

[0537] 일부 경우에, 측정 기술은 단백질 그룹을 확인한다. 단백질을 검출하도록 설계된 측정 기술은 단백질 그룹도 검출할 수 있다. 경우에 따라, 단백질 그룹은 공유된 펩타이드 서열에 의해 확인되는 둘 이상의 단백질을 나타낼 수 있다. 경우에 따라, 단백질 그룹은 공유된 기능에 의해 확인되는 둘 이상의 단백질을 나타낼 수 있다. 일부

경우에, 단백질 그룹은 주어진 단백질의 프로테오폼(proteoform)을 포함한다. 경우에 따라, 단백질 그룹은 동일한 생화학적 경로에 대한 참여에 의해 확인되는 두 개 이상의 단백질을 의미할 수 있다. 경우에 따라, 단백질 그룹은 세포, 조직 또는 기관에서 공유된 위치에 의해 확인되는 두 개 이상의 단백질을 나타낼 수 있다. 일부 경우에, 단백질 그룹은 본 명세서에서 개시되는 입자에 대한 공유된 친화도에 의해 확인되는 2개 이상의 단백질을 지칭할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 단백질 그룹은 확인 서열을 사용하여 확인되는 하나의 단백질을 지칭할 수 있다. 예를 들어, 샘플에서 두 단백질(단백질 1: XYZZX 및 단백질 2: XYZYZ) 사이에 공유되는 펩타이드 서열이 검정되는 경우, 단백질 그룹은 두 구성원(단백질 1 및 단백질 2)을 갖는 "XYZ 단백질 그룹"이 될 수 있다. 대안적으로, 펩타이드 서열이 단일 단백질(단백질 1)에 대한 것이라면, 단백질 그룹은 하나의 구성원(단백질 1)을 갖는 "ZZX" 단백질 그룹일 수 있다. 각각의 단백질 그룹은 하나 초과와 펩타이드 서열에 의해 지지될 수 있다. 본 개시내용에 따라 검출 또는 확인된 단백질은 샘플에서 검출된 별개의 단백질(예를 들어, 질량 분광 분석법을 사용하여 검출된 별개의 상대적인 다른 단백질)을 지칭할 수 있다. 따라서, 입자 패널의 별개의 입자 유형에 해당하는 별개의 코로나에 존재하는 단백질을 분석하면, 매우 많은 수의 특징 강도가 생성된다.

[0538] 단백질 그룹은 유사하거나 구별할 수 없는 질량 분광 지문을 가진 단백질의 그룹일 수 있다. 검정에서 확인된 단백질 그룹의 수는 검출된 단백질의 수와 상관관계가 있을 수 있다. 일부 경우에, 단백질 그룹은 일련의 단백질 이소형을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 단백질 그룹은 여러 단백질 패밀리의 단백질을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 단백질 그룹은 단일 단백질 계열의 단백질로 구성될 수 있다. 일부 경우에, 단백질 그룹은 단일 유형의 단백질을 포함할 수 있다.

[0539] 도 15는 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부에 대한 이점을 그래프로 예시한 것이다. 본 개시내용의 일부 방법은 다형성, 번역후 변형, 펩타이드, 단백질, 단백질 상호작용 및/또는 경로를 연구하는 데 사용될 수 있다. 본 개시내용의 일부 방법은 심층적 분석능(예를 들어, 다형성) 및 높은 맥락(예를 들어, 경로)으로 단백질체학을 연구하는 데 사용될 수 있다. 본 개시내용의 일부 방법은 확장 가능할 수 있다. 본 개시내용의 일부 방법은 편향되지 않을 수 있다.

[0540] 도 16은 본 명세서에서 개시되는 방법 중 일부에 대한 병렬 및 구성 가능한 워크플로우를 개략적으로 예시한 것이다. 고도로 복잡한 종래의 실험실 설정과는 반대로, 본 개시내용의 방법 중 일부는 더 단순하고 더 효율적인 형식으로 실행될 수 있다. 본 개시내용의 방법 중 일부는 병렬 및 구성 가능한 워크플로우로 실행될 수 있다.

[0541] 도 17은 본 개시내용의 방법 중 일부를 실행하는 파이프라인을 개략적으로 예시한 것이다. 본 개시내용의 방법 중 일부는 단순화되고 자동화된 취급을 가능하게 할 수 있고/있거나, 유체 취급 및 자기 포획을 포함할 수 있고/있거나, 액체 취급 기구 검정 실행을 포함할 수 있다.

[0542] 펩타이드 변이체

[0543] 일부 경우에, 검정을 사용하여 펩타이드 변이체를 검출할 수 있다. 일부 경우에, 펩타이드 변이체는 DNA의 코딩 영역의 세트로부터 발현되는 펩타이드를 의미할 수 있으며, 여기서 DNA의 코딩 영역의 동일한 세트 또는 하위 세트는 각각 1차 구조를 포함하는 복수의 펩타이드를 발현할 수 있다. 일부 경우에, DNA의 주어진 코딩 영역의 세트는 예를 들어 구성적 스플라이싱, 엑손 스킵핑, 인트론 보유, 엑손 상호 배제, 선택적 스플라이싱, 선택적 5' 스플라이싱, 선택적 3' 스플라이싱, 가변 프로모터 사용 빈도, 전사 후 변형 또는 이들의 임의의 조합을 통해 다양한 펩타이드를 발현할 수 있다.

[0544] 일부 경우에, 펩타이드 변이체는 단백질체 검정을 사용하여 검출될 수 있고, 여기서 단백질체 검정은 변이체 서열인 것으로 확인될 수 있는 펩타이드 서열을 검출한다.

[0545] 일부 경우에, 펩타이드 변이체는 유전자형 검정을 사용하여 검출될 수 있으며, 여기서 유전자형 검정은 펩타이드 변이체를 코딩하는 변이체 서열인 것으로 확인될 수 있는 서열을 포함하는 mRNA를 검출한다.

[0546] 동적 범위

[0547] 본 명세서에서 설명되는 생체분자 코로나 분석 방법은 넓은 동적 범위에 걸쳐 본 개시내용의 샘플에서 생체분자를 검정하는 단계를 포함할 수 있다. 샘플에서 검정된 생체분자의 동적 범위는 검정(예를 들어, 질량 분광 분석법, 크로마토그래피, 겔 전기영동, 분광 분석법 또는 면역검정법)에서 분해되거나(예를 들어, 정의된 신호 대 노이즈 임계값을 초과하는 신호가 있는 경우) 확인된 생체분자의 농도 범위일 수 있다. 예를 들어, 넓은 동적 범위에 걸쳐 단백질을 검출할 수 있는 검정은 풍부도가 매우 낮은 단백질부터 풍부도가 매우 높은 단백질까지 검출할 수 있다. 검정의 동적 범위는 생체분자 풍부도의 함수로서 검정 신호 강도의 기울기와 직접적으로 관련될 수 있다. 예를 들어, 동적 범위가 낮은 검정은 생체분자 풍부도의 함수로서 검정 신호 강도의 낮은(그러나

양의) 기울기를 가질 수 있고, 예를 들어 높은 풍부도의 생체분자에 대해 검출된 신호의 비 대 낮은 풍부도의 생체분자에 대해 검출된 신호의 비는 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.

[0548] 본 명세서에서 설명되는 생체분자 코로나 분석 방법은 검정의 동적 범위를 압축할 수 있다. 검정의 동적 범위는 생체분자 풍부도의 함수로서 검정 신호 강도의 기울기가 다른 검정의 기울기보다 낮은 경우 또 다른 검정에 비해 압축될 수 있다. 예를 들어, 질량 분광 분석법과 함께 단백질 코로나 분석을 사용하여 검정된 혈장 샘플은 샘플에서 직접 질량 분광 분석법만을 사용하여 검정된 혈장 샘플과 비교하거나 데이터베이스에서 혈장 단백질에 대해 제공된 풍부도 값(예를 들어, 문헌 [Keshishian et al., Mol. Cell Proteomics 14, 2375-2393 (2015)]에 제공된 데이터베이스, 본 명세서에서 "Carr 데이터베이스"로도 지칭됨)과 비교하여 압축된 동적 범위를 가질 수 있다. 압축된 동적 범위는 질량 분광 분석법을 단독으로 사용하는 것보다 질량 분광 분석법과 함께 생체분자 코로나 분석을 사용하여 혈장 샘플에서 보다 많은 저풍부도 생체분자를 검출할 수 있도록 한다.

[0549] 단백질체 분석 검정의 동적 범위는 최고 풍부도의 단백질(예를 들어, 풍부도가 가장 높은 10%의 단백질)에 의해 생성된 신호 대 최저 풍부도의 단백질(예를 들어, 풍부도가 가장 낮은 10%의 단백질)에 의해 생성된 신호의 비율일 수 있다. 단백질체 분석의 동적 범위를 압축하는 것은 제1 단백질체 분석 검정에 대한 최고 풍부도의 단백질에 의해 생성된 신호 대 최저 풍부도의 단백질에 의해 생성된 신호의 비를 제2 단백질체 분석 검정에서의 비와 비교하여 감소시키는 것을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 단백질 코로나 분석 검정은 총 단백질 분석 방법(예를 들어, 질량 분광 분석, 겔 전기영동, 또는 액체 크로마토그래피)의 동적 범위에 비해 동적 범위를 압축할 수 있다.

[0550] 본원에는 고품부도 생체분자에 비해 저풍부도 생체분자의 검출을 용이하게 하기 위해 생체분자 분석 검정의 동적 범위를 압축하기 위한 여러 방법이 제공된다. 예를 들어, 본 개시내용의 입자 유형은 샘플을 순차적으로 조사하기 위해 사용될 수 있다. 샘플에서 입자 유형의 인큐베이션 시에, 생체분자 코로나가 입자 유형의 표면 상에 형성된다. 만약 생체분자가, 예를 들어 샘플의 직접 질량 분광 분석에 의해 상기 입자 유형을 사용하지 않고 샘플에서 직접 검출된다면, 동적 범위는 생체분자가 입자 유형의 표면 상에서 유도되는 경우보다 더 넓은 농도 범위, 또는 더 큰 자릿수에 걸쳐 있을 수 있다. 따라서, 본 명세서에서 개시되는 입자 유형을 사용하는 것은 샘플 중의 생체분자의 동적 범위를 압축하기 위해 사용될 수 있다. 이론에 의해 제한되지는 않지만, 이러한 효과는 입자 유형의 생체분자 코로나의 더 높은 친화도, 더 낮은 풍부도의 생체분자의 더 많은 포획 및 입자 유형의 생체분자 코로나의 더 낮은 친화도, 더 높은 풍부도의 생체분자의 더 적은 포획으로 인해 관찰될 수 있다.

[0551] 단백질체 분석 검정의 동적 범위는 샘플 중의 단백질의 총 풍부도의 함수로서 단백질체 분석 검정에 의해 측정된 단백질 신호의 플롯의 기울기일 수 있다. 동적 범위를 압축하는 것은 샘플 중의 단백질의 총 풍부도의 함수로서 단백질체 분석 검정에 의해 측정된 단백질 신호의 플롯의 기울기를 샘플 중의 단백질의 총 풍부도의 함수로서 제2 단백질체 분석 검정에 의해 측정된 단백질 신호의 플롯의 기울기에 비해 감소시키는 것을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 단백질 코로나 분석 검정은 총 단백질 분석 방법(예를 들어, 질량 분광 분석, 겔 전기영동, 또는 액체 크로마토그래피)의 동적 범위에 비해 동적 범위를 압축할 수 있다.

[0552] 단백질체 분석은 단백질체 분석을 핵산 분석에 커플링함으로써 향상될 수 있다. 이것은 다른 방법으로는 확인할 수 없거나 그러한 커플링된 방법이 없을 때 부정확한 확인이 할당될 수 있는 단백질 및 펩타이드의 정확한 확인을 용이하게 할 수 있다. 핵산 분석은 단백질체 데이터(예를 들어, 펩타이드 단편의 질량 분광 분석 데이터)에서 확인 가능한 펩타이드의 수를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 게놈 또는 종전사체 데이터는 다른 방법으로는 할당할 수 없는 질량 분광 분석 특징의 확인을 가능하게 할 수 있다. 대상체로부터의 핵산 프로파일링은 또한 단백질 그룹 중에서 하위 집단 또는 개별 단백질을 확인할 수 있으며, 또한 단백질 그룹 중에서 단백질의 풍부도 또는 상대적 풍부도를 결정할 수 있다(예를 들어, 단백질 그룹이 99:1의 풍부도 비로 존재하는 두 개의 이소형으로 구성되어 있음을 결정함으로써). 경우에 따라, 단백질 그룹에서 단백질의 상대적 풍부도를 결정하면, 단백질 분석 방법의 검출 한계 미만의 풍부도 또는 농도에서 단백질을 확인할 수 있다. 따라서, 단백질 및 핵산 분석과 단백질 분석의 커플링은 단백질 분석의 민감도를 1 자릿수, 2 자릿수, 3 자릿수, 4 자릿수 또는 그 초과로 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 핵산 및 단백질 분석을 포함하는 방법은 단백질 분석만을 포함하는 방법보다 더 넓은 농도 범위에 걸쳐 단백질 또는 단백질 그룹을 확인할 수 있다.

[0553] 그러한 결정의 예는 다수 프리칼리크레인 형태에 비해 0.01%의 빈도로 프리칼리크레인의 소수 대립유전자의 확인을 요약한 도 2b에 제시되어 있다. 이러한 변이체(예를 들어, 대립유전자 또는 스플라이싱) 빈도의 확인은 단백질 풍부도 데이터(예를 들어, 본 개시내용의 단백질 분석 방법에 의해 획득됨)를 정제하고 단일 단백질 그룹

풍부도를 다중 단백질 또는 단백질 하위 그룹 풍부도로 분할하는 데 사용될 수 있다. 도 2b에서, 질량 분광 분석으로 결정된 프리칼리크레인 풍부도는 총 풍부도의 99.99%로 존재하는 다수 형태 및 총 풍부도의 0.01%로 존재하는 소수 형태로 나눌 수 있다.

[0554] **핵산 분석**

[0555] 본 개시내용은 핵산을 분석(예를 들어, 검출 또는 시퀀싱)하기 위한 다양한 조성물 및 방법을 제공한다. 일부 경우에, 유전자형(또는 게놈) 정보는 본 개시내용의 일부 조성물 및 방법을 사용하여 얻을 수 있다. 일부 경우에, 유전자형 정보는 뉴클레오타이드 및/또는 핵산 성분을 포함하는 물질에 대한 정보를 의미할 수 있다. 경우에 따라, 유전자형 정보는 후생유전학적 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 후생유전학적 정보는 히스톤 변형, DNA 메틸화, 게놈 내의 상이한 영역의 접근성, 이들의 동역학적 변화, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유전자형 정보는 핵산에 대한 1차 구조 정보, 2차 구조 정보, 3차 구조 정보, 또는 4차 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유전자형 정보는 핵산-리간드 상호작용에 대한 정보를 포함할 수 있으며, 여기서 리간드는 뉴클레오타이드, 핵산, 아미노산, 펩타이드, 단백질, 모노사카라이드, 폴리사카라이드, 지질, 인지질, 호르몬 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유전자형 정보는 건강한 세포 또는 병에 걸린 세포의 아포토시스의 비율 또는 발생률을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유전자형 정보는 건강한 상태 또는 질병 상태와 같은 세포의 상태를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유전자형 정보는 핵산 분자의 화학적 변형 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 화학적 변형은 메틸화, 탈메틸화, 아미노화, 탈아미노화, 아세틸화, 산화, 산소화, 환원 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유전자형 정보는 생물학적 샘플이 유래하는 세포 유형에 관한 정보가 포함될 수 있다. 일부 경우에, 유전자형 정보는 핵산의 번역되지 않은 영역에 대한 정보를 포함할 수 있다.

[0556] 일부 경우에, 유전자형 정보는 단일 세포, 조직, 기관, 조직 및/또는 기관의 시스템(예를 들어, 심혈관, 호흡기, 소화기 또는 신경계) 또는 전체 다세포 유기체에 대한 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유전자형 정보는 개체(예를 들어, 개별 인간 또는 개별 박테리아) 또는 개체의 집단(예를 들어, 암으로 진단된 인간 또는 박테리아의 콜로니)에 대한 정보를 포함할 수 있다. 유전자형 정보는 고세균, 박테리아, 진핵생물류, 원생동물, 유색조식물, 식물계, 진균 또는 동물계의 생명 형태를 포함하여 다양한 생명 형태의 정보를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 유전자형 정보는 바이러스의 정보를 포함할 수 있다.

[0557] 일부 경우에, 유전자형 정보는 생명 코드의 엑손 및 인트론과 관련된 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유전자형 정보는 염기 치환, 결실, 삽입 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 핵산의 1차 구조의 변이 또는 돌연변이에 관한 정보를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유전자형 정보는 핵산 내의 비표준 핵염기 포함에 관한 정보를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 유전자형 정보는 후생유전학의 변이 또는 돌연변이에 관한 정보를 포함할 수 있다.

[0558] 일부 경우에, 유전자형 정보는 하나 이상의 핵산이 코딩하는 펩타이드 및/또는 단백질의 1차 구조의 변이, 2차 구조의 변이, 3차 구조의 변이, 또는 4차 구조의 변이에 관한 정보를 포함할 수 있다.

[0559] 이러한 조성물 및 방법은 여러 유형의 생체분자를 표적으로 하는 검정에 적용될 수 있다. 예를 들어, 검정은 단일 샘플로부터의 단백질 핵산을 분석할 수 있다.

[0560] 광범위한 질병 및 질병 진단계 상태는 핵, 세포질 및 무세포 핵산의 검출 가능한 변화에 의해 입증된다. 그러나, 많은 핵산 질환 마커는 특정 생물학적 상태에 대한 지표가 충분하지 않을 수 있으므로, 정확한 진단에 사용할 수 없다. 이것은 부분적으로 당뇨병 및 다낭성 난소 증후군(PCOS)을 포함하는 많은 질병에서 발생할 수 있는 높은 수준의 인슐린 코딩 무세포 DNA(cfDNA)의 경우와 같이 많은 유전적 마커가 여러 질병과 관련이 있다는 사실 때문일 수 있다. 추가로, 질병 상태와 관련된 유전적 마커의 존재가 질병 자체와 항상 상관관계가 있는 것은 아니다. 예를 들어, 암 검출 영역에서, 비종양형성 세포는 동일한 대상체의 상응하는 암 세포보다 더 많은 발암 유전자를 보유하는 것으로 밝혀질 수 있다. 따라서, 핵산 바이오마커는 대상체에 대한 광범위한 정보를 제공할 수 있지만, 해당 정보는 정확한 진단에 활용하기 어려울 수 있다.

[0561] 본 개시내용은 핵산 데이터 및 다른 유형의 생체분자 데이터, 예를 들어 단백질체 데이터로부터 정확한 분석 기술 및 진단을 가능하게 하는 방법을 제공한다. 여러 형태의 생체분자 분석을 핵산 분석과 조합함으로써, 특정 질병 상태와 약한 상관관계가 있거나 상관관계가 없는 것으로 알려진 개별 바이오마커(예를 들어, 유전자 마커)를 매우 정확한 진단을 위해 사용할 수 있다. 또한, 매우 많은 바이오마커를 측정하고 분석함으로써, 대상체 간 변이 및 외부 요인(예를 들어, 스트레스로 인한 유전자 발현의 단기 변화)에서 비롯된 노이즈를 질병 또는

상태에 대한 진양성 결과와 구별할 수 있다.

- [0562] 일부 검정에서, 상이한 유형의 생체분자는 별개의 샘플 파티션에서 농축되거나 분석될 수 있다. 예를 들어, 검정은 제1 샘플 파티션에서 핵산을 분석하고, 제2 샘플 파티션에서 단백질을 분석하고, 선택적으로 제3 샘플 파티션에서 지질 및 대사산물을 분석하는 것을 포함할 수 있다. 일부 검정에서, 여러 유형의 생체분자가 단일 샘플 파티션 내에서 농축되거나 분석될 수 있다(예를 들어, 핵산 및 펩타이드는 단일 부피의 샘플에서 농축될 수 있음).
- [0563] 시퀀싱을 위한 다양한 시약 및 핵산 시퀀싱 방법은 단백질(예를 들어, 코로나 분석 사용) 및 핵산(예를 들어, 시퀀싱 방법 사용)에 대한 병렬 검정의 본 명세서에서 개시되는 조성물 및 방법과 일치한다. 본 명세서에서 개시되는 방법은 샘플로부터 하나 이상의 핵산 분자를 농축하는 것을 포함할 수 있다. 이는 용액의 농축, 센서 요소(예를 들어, 입자)의 농축, 기관(예를 들어, 에펜도르프 튜브의 표면)의 농축, 또는 핵산의 선택적 제거(예를 들어, 서열 특이적 친화도 침전에 의한)를 포함할 수 있다. 농축은 2개 이상의 상이한 표적 핵산의 차등 증폭을 포함하는 증폭을 포함할 수 있다. 차등 증폭은 서열, CG 함량 또는 전사후 변형, 예를 들어 메틸화 상태를 기반으로 할 수 있다. 농축은 또한 풀-다운 방법과 같은 혼성화 방법을 포함할 수 있다. 예를 들어, 기관 파티션은 특정 서열의 핵산에 혼성화할 수 있고 이에 따라 복잡한 생물학적 용액으로부터 특정 핵산을 분리할 수 있는 고정된 핵산을 포함할 수 있다. 혼성화는 다른 핵산 표적 중에서 유전자, 엑손, 인트론, 조절 영역, 스플라이스 부위, 재조합 유전자를 표적으로 할 수 있다. 혼성화는 다수의 개별 서열을 표적으로 하거나 단일 서열을 타일링하도록 설계된 핵산 프로브 풀을 활용할 수 있다.
- [0564] 농축은 혼성화 반응을 포함할 수 있으며, 생물학적 샘플로부터 핵산 분자의 하위 세트를 생성할 수 있다. 혼성화는 용액, 기관 표면(예를 들어, 마이크로웰 플레이트의 웰 벽), 센서 요소 또는 이들의 조합에서 수행될 수 있다. 혼성화 방법은 단일 뉴클레오타이드 다형성에 민감할 수 있다. 예를 들어, 혼성화 방법은 분자 반전 프로브(molecular inversion probe)를 포함할 수 있다.
- [0565] 농축은 또한 증폭을 포함할 수 있다. 적합한 증폭 방법은 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), 고체상 PCR, RT-PCR, qPCR, 다중 PCR, 터치다운(touchdown) PCR, 나노PCR, 네스티드(nested) PCR, 핫 스타트(hot start) PCR, 헬리카제 의존적 증폭, 루프 매개 증폭(LAMP), 자체 지속 서열 복제, 핵산 서열 기반 증폭, 가닥 치환 증폭, 롤링 서클(rolling circle) 증폭, 리가제 연쇄 반응, 및 임의의 다른 적합한 증폭 기술을 포함한다.
- [0566] 시퀀싱은 게놈의 특정 서열 또는 영역을 표적으로 할 수 있다. 시퀀싱은 엑손과 같은 한 유형의 서열을 표적으로 할 수 있다. 일부 경우에, 시퀀싱은 엑손 시퀀싱을 포함한다. 일부 경우에, 시퀀싱은 전체 엑손 시퀀싱을 포함한다. 시퀀싱은 염색질화되거나 염색질화되지 않은 핵산을 표적으로 할 수 있다. 시퀀싱은 서열 비특이적일 수 있다(예를 들어, 표적 서열에 관계없이 판독 결과를 제공할 수 있다). 시퀀싱은 게놈의 폴리머라제 접근 가능 영역을 표적으로 할 수 있다. 시퀀싱은 미토콘드리아 또는 세포질과 같은 세포의 일부에 국한된 핵산을 표적으로 할 수 있다. 시퀀싱은 세포, 조직 또는 기관에 국한된 핵산을 표적으로 할 수 있다. 시퀀싱은 RNA, DNA, 임의의 다른 핵산 또는 이들의 임의의 조합을 표적으로 할 수 있다.
- [0567] '핵산'은 단일, 이중 또는 다중 가닥 형태의 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체 형태를 의미할 수 있다. 핵산은 5-브로모우라실, 펩타이드 핵산, 잠긴 뉴클레오타이드, 글리콜 뉴클레오타이드, 트레오스 뉴클레오타이드, 디데옥시뉴클레오타이드, 3'-데옥시리보뉴클레오타이드, 디데옥시리보뉴클레오타이드, 7-데아자-GTP, 형광단 결합 뉴클레오타이드, 티올 함유 뉴클레오타이드, 비오틴 연결 뉴클레오타이드, 메틸-7-구아노신, 메틸화 뉴클레오타이드, 이노신, 티오우리딘, 슈도우리딘, 디하이드로우리딘, 큐오신 및 와리오신을 비롯한, 리보뉴클레오타이드, 데옥시리보뉴클레오타이드, 및 이들의 천연 및 비천연 유사체의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 핵산은 유전자, 유전자의 일부, 엑손, 인트론, 메신저 RNA(mRNA), 운반 RNA(tRNA), 리보솜 RNA(rRNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA), 짧은 머리핀 RNA(shRNA), 마이크로-RNA(miRNA), 리보자임, cDNA, 재조합 핵산, 분지형 핵산, 플라스미드, 무세포 DNA(cfDNA), 무세포 RNA(cfRNA), 게놈 DNA, 미토콘드리아 DNA(mtDNA), 순환 종양 DNA(ctDNA), 긴 비코딩 RNA, 텔로머라제 RNA, Piwi-상호작용 RNA, 작은 핵 RNA(snRNA), 작은 간섭 RNA, YRNA, 원형 RNA, 작은 핵 RNA 또는 위유전자 RNA를 포함할 수 있다. 핵산은 DNA 또는 RNA 분자를 포함할 수 있다. 핵산은 정의된 3차원 구조를 가질 수도 있다. 일부 경우에, 핵산은 하이포크산틴, 크산틴, 7-메틸구아닌, 5,6-디하이드로우라실, 5-메틸시토신 또는 이들의 임의의 조합과 같은 비표준 핵염기 또는 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 핵산은 또한 비핵산 분자를 포함할 수 있다.
- [0568] 핵산은 다양한 공급원으로부터 유래될 수 있다. 일부 경우에, 핵산은 엑소솜, 아포토시스체, 종양 세포, 건강한 세포, 비르토솜, 세포외 막 소포, 호중구 세포의 트랩(NET), 또는 이들의 임의의 조합으로부터 유래될 수 있다.

- [0569] 핵산은 다양한 길이를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 핵산은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 또는 10000개의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 핵산은 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 또는 10000개의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.
- [0570] 시퀀싱을 위해 다양한 시약을 사용할 수 있다. 일부 경우에, 시약은 프라이머, 올리고뉴클레오타이드, 스위치 올리고뉴클레오타이드, 어댑터, 증폭 어댑터, 폴리머라제, dNTP, 보조인자, 완충제, 효소, 이온 보조인자, 리가제, 역전사효소, 제한 효소, 엔도뉴클레아제, 트랜스포사아제, 프로테아제, 프로테아나제 K, DNase, RNase, 용해제, 리소자임, 아크로모펙티다제, 리소스타핀, 라비아제, 키탈라제, 리티카제, 억제제, 불활성화제, 킬레이팅제, EDTA, 크라우딩제, 환원제, DTT, 계면활성제, 트리톤(Triton)X-100, 트윈(Tween) 20, 소듐 도데실 설페이트, 사르코실, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.
- [0571] 핵산을 시퀀싱하기 위한 다양한 방법이 사용될 수 있다. 일부 경우에, 핵산 시퀀싱 방법은 고처리량 시퀀싱, 차세대 시퀀싱, 유동 시퀀싱, 대규모 병렬 시퀀싱, 샷건 시퀀싱, 단일 분자 실시간 시퀀싱, 이온 반도체 시퀀싱, 전기영동 시퀀싱, 파이로시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 조합 프로브 앵커 합성 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 나노포어 시퀀싱, GenapSys 시퀀싱, 사슬 종결 시퀀싱, 폴로니 시퀀싱, 454 파이로시퀀싱, 가역 종결 화학 시퀀싱, 헬리스크프 단일 분자 시퀀싱, 터널링 전류(tunneling current) DNA 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 클론 단일 분자 어레이 시퀀싱, MS를 사용한 시퀀싱, DNA-seq, RNA-seq, ATAC-seq, 메틸-seq, ChIP-seq 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.
- [0572] 시퀀싱을 위한 시약 및 핵산 시퀀싱 방법은 그 전부가 본원에 참조로 포함되는 W02012050920, W02020023744, W02019108851, W02019084158, W02020023744, US20190177803, 및 US20190316185에 기재된 것을 포함한다.
- [0573] 본 명세서에서 개시되는 바와 같이, 핵산은 다운스트림 적용을 위한 표준 분자 생물학 기술에 의해 처리될 수 있다. 핵산은 본 개시내용의 샘플로부터 단리된 핵산으로부터 제조될 수 있다. 핵산은 이어서 이중 가닥 핵산을 포함할 수 있는 어댑터 폴리뉴클레오타이드 서열에 부착될 수 있다. 핵산은 어댑터 폴리뉴클레오타이드 서열에 부착되기 전에 말단 복구될 수 있다. 어댑터 폴리뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 서열의 한쪽 또는 양쪽 말단에 부착될 수 있다. 동일하거나 상이한 어댑터가 단편의 각각의 말단에 결합되어 "어댑터-핵산-어댑터" 구조물을 생성할 수 있다. 복수의 동일하거나 상이한 어댑터가 단편의 각각의 말단에 결합될 수 있다. 일부 경우에, 어댑터가 핵산의 양쪽 말단에 부착될 때 상이한 어댑터가 핵산의 각각의 말단에 부착될 수 있다. 관심 있는 핵산에 핵산 어댑터를 부착하는 다양한 방법은 표준 분자 클로닝 기술을 사용하는 것을 포함하여 본 명세서에서 개시되는 조성물 및 방법과 일치한다(Sambrook and Russell, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3 edition Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001) - 본원에 참조로 포함됨).
- [0574] 시퀀싱 프라이머에 상보적인 올리고뉴클레오타이드 태그는 표적 핵산에 부착된 어댑터와 통합될 수 있다. 다중 샘플 분석을 위해, 별개의 시퀀싱 프라이머에 상보적인 상이한 올리고뉴클레오타이드 태그가 표적 핵산에 부착된 어댑터와 통합될 수 있다.
- [0575] 또한, 올리고뉴클레오타이드 인덱스 태그가 표적 핵산에 부착된 어댑터와 통합될 수 있다. 결실 산물을 구조(예를 들어, 입자와 같은 센서 요소)에 고정된 핵산에 혼성화하기 전에 복수의 폴리뉴클레오타이드로부터 결실 산물이 생성되는 경우, 관심 있는 상이한 핵산에 상응하는 폴리뉴클레오타이드는 상이한 관심 있는 핵산에 상응하는 후속 생성된 결실 산물이 그룹화되거나 구별될 수 있도록 상이한 올리고뉴클레오타이드 태그에 먼저 부착될 수 있다. 결과적으로, 동일한 관심 있는 핵산으로부터 유래된 결실 산물은 인덱스 태그가 동일한 관심 있는 핵산으로부터 유래된 시퀀싱 판독을 확인하도록 동일한 올리고뉴클레오타이드 인덱스 태그를 가질 수 있다. 이와 비슷하게, 관심 있는 상이한 핵산으로부터 유래된 결실 산물은 예를 들어 센서 요소 상에서 그룹화되거나 구별될 수 있도록 상이한 올리고뉴클레오타이드 인덱스 태그를 가질 것이다. 올리고뉴클레오타이드 인덱스 태그의 길이는 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75 내지 100개의 뉴클레오타이드 또는 염기쌍 또는 그 사이의 임의의 길이 범위일 수 있다.
- [0576] 올리고뉴클레오타이드 인덱스 태그는 별개로 또는 프라이머, 프라이머 결합 부위 또는 다른 성분과 함께 첨가될 수 있다. 이와 반대로, 페어-엔드 판독(pair-end read)이 수행될 수 있는데, 여기서 제1 말단으로부터의 판독은 관심 있는 서열의 일부를 포함할 수 있고, 다른(제2) 말단으로부터의 판독은 제1 판독이 시작되는 단편을 확인

하기 위한 태그로서 이용될 수 있다.

[0577] 시퀀싱 판독은 연장된 포획 프로브 내로의 변형된 뉴클레오타이드의 통합 지점으로부터 개시될 수 있다. 시퀀싱 프라이머는 연장된 포획 프로브 또는 이들의 상보체에 혼성화될 수 있으며, 이는 서열 판독을 개시하기 전에 선택적으로 증폭될 수 있고 천연 뉴클레오타이드의 존재 하에 연장될 수 있다. 시퀀싱 프라이머의 연장은 주형에 통합된 제1 변형된 뉴클레오타이드의 통합 지점에서 멈출 수 있으며, 상보적 변형 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드를 통합할 수 있는 폴리머라제(예를 들어, Taq 폴리머라제)를 사용하여 정지 지점에서 통합될 수 있다. 시퀀싱 판독은 정지 또는 변형된 뉴클레오타이드 통합 지점 이후의 제1 염기에서 시작될 수 있다. 합성에 의한 시퀀싱 방법에서, 시퀀싱 판독은 정지 또는 변형된 뉴클레오타이드 통합 지점 이후의 제1 염기에서 시작될 수 있다.

[0578] 본 개시내용의 측면은 핵산(폴리뉴클레오타이드) 시퀀싱과 관련된 방법 및 조성물을 포함한다. 본 개시내용의 방법은 대상체 또는 샘플에서 핵산의 확인 및 정량을 제공한다. 본 명세서에서 설명되는 일부 방법 및 조성물에서, 표적 핵산 또는 이의 단편의 일부의 뉴클레오타이드 서열은 다양한 방법 및 장치를 사용하여 결정될 수 있다. 시퀀싱 방법의 예로는 전기영동, 합성에 의한 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 단일 분자 시퀀싱 및 실시간 시퀀싱 방법이 있다. 표적 핵산 또는 이의 단편의 뉴클레오타이드 서열을 결정하는 과정은 자동화된 과정일 수 있다. 특정 증폭 반응에서, 포획 프로브는 핵산 샘플의 폴리뉴클레오타이드를 주형으로 사용하여 뉴클레오타이드 합성 반응의 프라이밍을 허용하는 프라이머로 기능할 수 있다. 이를 통해, 어레이에 공급된 폴리뉴클레오타이드의 서열에 관한 정보를 얻을 수 있다. 어레이 상의 포획 프로브에 혼성화된 폴리뉴클레오타이드는 포획 프로브에 결합된 폴리뉴클레오타이드에 혼성화하는 프라이머 및 시퀀싱 시약이 추가로 어레이에 공급된다면 시퀀싱 주형의 역할을 수행할 수 있다. 어레이를 사용하여 시퀀싱하는 방법은 이전에 관련 기술 분야에 설명되어 있다.

[0579] 핵산 분석 방법은 핵산 클러스터에서 페어드 엔드 판독을 생성할 수 있다. 페어드 엔드 리드를 얻기 위한 방법은 WO/07010252 및 WO/07091077에 기술되어 있으며, 이들은 각각 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 상기 방법에서, 핵산 클러스터는 표면과 같은 센서 요소 상에 고정될 수 있다. 페어드 엔드 시퀀싱은 한 번의 페어드 엔드 판독 중에 각각의 클러스터의 정방향 및 역방향 주형 가닥 둘 모두를 쉽게 읽을 수 있다. 일반적으로, 주형 클러스터는 가교 증폭에 의해 기관(예를 들어, 유동 셀)의 표면에서 증폭되고 쌍을 이룬 프라이머에 의해 순차적으로 시퀀싱될 수 있다. 주형 가닥의 증폭 시에, 가교된 이중 가닥 구조가 생성될 수 있다. 이것은 표면으로부터 각각의 이중체의 가닥 중 하나의 일부를 방출하도록 처리될 수 있다. 단일 가닥 핵산은 시퀀싱, 프라이머 혼성화 및 프라이머 연장 주기에 사용할 수 있다. 제1 시퀀싱 실행 후, 제1 단일 가닥 주형의 말단은 초기 클러스터 증폭 절차에서 남아 있는 고정된 프라이머에 혼성화될 수 있다. 고정된 프라이머는 혼성화된 제1 단일 가닥을 주형으로 사용하여 연장되어 원래의 이중 가닥 구조를 재합성할 수 있다. 이중 가닥 구조는 제1 주형 가닥의 적어도 일부를 제거하여 단일 가닥 형태로 고정된 재합성된 가닥을 남기도록 처리될 수 있다. 재합성된 가닥은 단편화 과정에서 얻은 원래의 주형 단편의 반대쪽 말단에서 시작되는 위치인 제2 판독을 결정하기 위해 시퀀싱될 수 있다.

[0580] 핵산 시퀀싱은 단일 분자 시퀀싱 또는 합성에 의한 시퀀싱일 수 있다. 시퀀싱은 대규모 병렬 어레이 시퀀싱(예를 들어, Illumina™ 시퀀싱)일 수 있으며, 이는 유동 셀과 같은 지지체에 고정된 주형 핵산 분자를 사용하여 수행할 수 있다. 고처리량 시퀀싱 방법은 적어도 약 10,000, 100,000, 백만, 천만, 1억, 10억개 또는 그 초과 폴리뉴클레오타이드 분자를 동시에(또는 실질적으로 동시에) 시퀀싱할 수 있다. 시퀀싱 방법은 다음을 포함하지 않지만, 이로 제한되지 않는다: 파이프라인 시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 단일 분자 시퀀싱, 나노포어 시퀀싱, 반도체 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 디지털 유전자 발현(Helicos), 대량 병렬 시퀀싱, 예를 들어 헬리코스(Helicos), 클론 단일 분자 어레이(Clonal Single Molecule Array)(Solexa/Illumina), PacBio, SOLiD, 이온 토렌트(Ion Torrent) 또는 나노포어 플랫폼을 사용한 시퀀싱. 시퀀싱은 막삼-길버트(Maxam-Gilbert) 또는 생어 시퀀싱과 같은 1세대 시퀀싱 방법 또는 고처리량 시퀀싱(예를 들어, 차세대 시퀀싱 또는 NGS) 방법을 포함할 수 있다.

[0581] 본 명세서에서 개시되는 시퀀싱 방법은 전체 게놈 또는 이의 일부를 시퀀싱하는 것을 수반할 수 있다. 시퀀싱은 전체 게놈, 전체 엑솜, 이의 일부(예를 들어, 이의 잠재적 코딩 및 비코딩 영역을 포함하는 유전자의 패널)을 시퀀싱하는 것을 포함할 수 있다. 시퀀싱은 종전사체 또는 이의 일부를 시퀀싱하는 것을 포함할 수 있다. 시퀀싱은 엑솜 또는 이의 일부를 시퀀싱하는 것을 포함할 수 있다. 시퀀싱 적용 범위는 분석 또는 실험 설정 또는 원하는 시퀀싱 풋프린트를 기반으로 최적화될 수 있다.

- [0582] 본 개시내용의 시퀀싱 방법은 생식선 감수성 유전자좌, 체세포 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP), 작은 삽입 및 결실(indel) 돌연변이, 카피 수 변이(CNV) 및 구조적 변이(SV)를 검출할 수 있다.
- [0583] 본 개시내용의 시퀀싱 방법은 RNA의 서열 분석을 수반할 수 있다. RNA 서열 또는 발현 수준은 시퀀싱을 위해 RNA로부터 상보적 DNA(cDNA) 분자를 생성하는 역전사 반응을 사용하거나 발현 수준의 정량을 위해 역전사 폴리머라제 연쇄 반응을 사용하여 분석할 수 있다. 본 개시내용의 시퀀싱 방법은 스플라이싱 변이체 및 구조적 변이체와 같은 RNA 구조적 변이체 및 이소형을 검출할 수 있다. 본 개시내용의 시퀀싱 방법은 RNA 서열 또는 구조적 변이체를 정량할 수 있다.
- [0584] 또한, 본 개시내용의 시퀀싱 방법은 핵산을 정량할 수 있고, 따라서 개별 샘플 내에서 서열 변이를 확인하고 정량하는 것을 허용할 수 있다(예를 들어, 유전자의 제1 백분율은 돌연변이되지 않고, 샘플에 존재하는 유전자의 제2 백분율은 indel을 포함한다).
- [0585] 핵산 분석 방법은 생물학적 샘플로부터 수집된 핵산의 물리적 분석을 포함할 수 있다. 상기 방법은 질량, 전사 후 변형 상태(예를 들어, 캐핑), 히스토닐화, 원형화(예를 들어, 염색체의 원형 DNA 요소를 검출하기 위해) 또는 융점을 기준으로 하여 핵산을 구별할 수 있다. 예를 들어, 검정은 제한 단편 길이 다형성(RFLP) 또는 생물학적 샘플에서 수집된 DNA에 대한 전기영동 분석을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 전사후 변형은 5' 캐핑, 3' 절단, 3' 폴리아데닐화, 스플라이싱 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.
- [0586] 핵산 분석은 또한 서열 특이적 조사를 포함할 수 있다. 서열 특이적 조사를 위한 검정은 생물학적 샘플에서 서열의 존재, 부재 또는 상대적 풍부도를 결정하기 위해 특정 서열을 표적으로 할 수 있다. 예를 들어, 검정은 서던 블롯, qPCR, 형광 제자리 혼성화(FISH), 어레이-비교 게놈 혼성화(어레이-CGH), 정량적 형광 PCR(QF-PCR), 나노포어 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 또는 대상체로부터 수집된 샘플에서 관심 있는 유전자(예를 들어, 종양유전자)의 존재를 결정하기 위한 핵산 결합 모이어티(예를 들어, 단일 가닥 뉴클레오타이드 또는 핵산 결합 단백질)에 의한 포획을 포함할 수 있다. 검정은 또한 서열 특이적 수집을 서열 분석과 커플링할 수 있다. 예를 들어, 검정은 특정 표적 서열을 포함하는 핵산에서 특정 점착성(sticky) 말단 모티프를 생성하는 단계, 특정 점착성 말단 모티프를 갖는 핵산에 어댑터를 라이게이션시키는 단계, 및 관심 있는 유전자 내의 돌연변이의 존재 또는 발생률을 결정하기 위해 어댑터 라이게이션된 핵산을 시퀀싱하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0587] **게놈 변이체**
- [0588] 일부 경우에, 검정을 사용하여 게놈 변이체를 검출할 수 있다. 일부 경우에, 게놈 변이체는 참조 샘플의 DNA 주소(들)에서 유래한 핵산 서열과 상이한 서열을 포함하는, 샘플의 동일한 DNA 주소(들)에서 유래한 핵산 서열을 의미할 수 있다. 일부 경우에, 게놈 변이체는 삽입 돌연변이, 결실 돌연변이, 치환 돌연변이, 카피 수 변이, 전위, 전좌, 역위, 이수성, 부분 이수성, 배수성, 염색체 불안정성, 염색체 구조 변경, 유전자 융합, 염색체 융합, 유전자 말단 절단, 유전자 증폭, 유전자 복제, 염색체 병변, DNA 병변, 핵산 화학적 변형의 비정상적인 변화, 후생유전학적 패턴의 비정상적인 변화, 핵산 메틸화 감염의 비정상적인 변화, 염색체 병변, DNA 병변 또는 이들의 임의의 조합과 같은 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 게놈 변이체의 세트는 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP)을 포함할 수 있다.
- [0589] 일부 경우에, 게놈 변이체는 DNA 또는 그의 카피, 예를 들어 RNA, 또는 DNA 또는 RNA로부터 증폭된 핵산 라이브러리로부터 검출될 수 있다.
- [0590] 일부 경우에, 게놈 변이체는 단백질체 검정을 사용하여 검출될 수 있으며, 여기서 단백질체 검정은 그의 1차 서열에 돌연변이가 있는 것으로 확인될 수 있는 펩타이드 서열을 검출하다.
- [0591] **이중 단백질-핵산 검정**
- [0592] 본 개시내용은 샘플로부터 단백질 및 핵산의 병렬 확인을 위한 방법을 제공한다. 이 두 가지 형태의 분석을 결합하면, 각각의 유형에 내재된 한계를 극복할 수 있다. 특히, 단백질 또는 핵산 분석을 개별적으로 수행하면, 불확실한 게놈 카피수 또는 확정적이지 않은 단백질 이소형 할당과 같은 불확실한 확인이 생성될 수 있다. 많은 경우에, 핵산과 단백질 분석을 적절하게 커플링하면, 이러한 불확실성을 극복할 수 있으며, 단백질 및 핵산 분석이 개별적으로 제공하는 것의 총합보다 높게 진단 통찰력 수준을 높일 수 있다.
- [0593] 일부 방법은 센서 요소(예를 들어, 입자)에서 단백질 및 핵산의 병렬 수집을 포함할 수 있다. 예를 들어, 방법은 센서 요소에 대한 단백질 및 핵산의 동시 흡착, 이어서 핵산 시퀀싱 및 질량 분광 분석법에 의한 단백질 분

석을 포함할 수 있다. 방법은 또한 센서 요소에 대한 단백질 및 핵산의 동시 흡착 및 병렬 단백질 분석(예를 들어, 질량 분광 분석) 및 핵산 시퀀싱을 위해 센서 요소로부터 단백질 및 핵산의 수집을 포함할 수 있다. 이러한 방법은 예를 들어 크로마토그래피, 센서 요소로부터 단백질 및 핵산의 별개의 용출, 차등 침전, 상 분리 또는 친화도 포획에 의해 핵산으로부터 단백질을 분리하는 것을 포함할 수 있다. 대안적으로, 방법은 센서 요소에 단백질을 흡착한 후, 샘플로부터 핵산을 수집하는 것을 포함할 수 있다. 또한, 방법은 단백질(예를 들어, 생체분자 코로나) 및 핵산 분석을 위해 샘플을 별개의 부분으로 나누는 것을 포함할 수 있다.

[0594] 핵산 분석은 단백질(예를 들어, 생체분자 코로나) 분석을 안내하거나 알릴 수 있다. 핵산 분석 결과는 단백질 확인에 기여할 수 있다. 경우에 따라, 단백질 분석을 통해 단백질의 존재 여부를 결정할 수 있으며, 핵산 분석을 통해 단백질의 정확한 서열을 확인할 수 있다. 이것은 질량 분광 분석 데이터가 단백질 또는 펩타이드 서열의 일부만을 확인할 때 발생할 수 있다. 그러한 경우, 샘플 내의 특정 RNA 이소형의 확인과 같은 핵산 데이터를 사용하여 단백질 또는 펩타이드의 정체 또는 전체 서열을 확인할 수 있다. 예를 들어, 단백질 도메인 전위(예를 들어, HRAS 단백질 키나제 도메인 전위는 구성적 활성 및 가능한 암 위험 증가를 유발함)가 펩타이드 단편 소화 패턴을 변경하지 않는 경우는 단백질 분석 단독을 통해 확인하기 어려울 수 있지만, 생체분자 코로나 분석과 게놈 분석의 조합에 의해 규명될 수 있으며, 여기서 생체분자 코로나 분석은 단백질의 존재를 확인할 수 있고, 게놈 분석은 전위 상태를 결정할 수 있다.

[0595] 핵산(예를 들어, 총전사체) 분석은 어떤 단백질 스플라이싱 변이체가 샘플에 존재하는지 결정하기 위해 사용될 수 있다. 단백질 스플라이싱 변이체의 상대적 풍부도를 결정하기 위해 RNA 분석을 추가로 사용할 수 있다. 단백질 분석은 샘플에 존재하는 RNA 변이체(예를 들어, mRNA 스플라이싱 변이체)를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0596] 핵산 분석은 또한 실험적으로 확인된 단백질 그룹 중에서 개별 단백질을 구별할 수 있다. 생체분자 코로나 분석은 복수의 단백질을 포함하는 단백질 그룹을 확인할 수 있다. 그러한 경우에, 게놈 서열, RNA 서열(예를 들어, 특정 RNA 이소형 또는 스플라이싱 변이체) 또는 발현 조절 핵산 변형(예를 들어, 메틸화)과 같은 핵산 정보를 사용하여 단백질 그룹 중에 존재하는 단백질 또는 단백질 세트를 확인할 수 있다. 예를 들어, 생체분자 코로나 분석은 7개의 관련 단백질(예를 들어, 포유동물 세포에서 발견되는 7개의 확인된 14-3-3 단백질 이소형)으로 구성된 단백질 그룹을 확인할 수 있는 반면, 후속 핵산 분석은 7개의 관련 단백질 중 2개를 코딩하는 RNA가 샘플에 존재하는 것을 결정하고, 따라서 샘플에 존재하는 단백질 그룹 중에서 단백질을 결정할 수 있다.

[0597] 이러한 방식으로, 핵산 분석은 단백질 검정에 의해 확인된 단백질 또는 단백질 그룹의 수를 증가시킬 수 있다. 핵산 분석은 확인된 단백질 그룹 내에 존재하는 특정 단백질을 결정할 수 있거나, 또는 단백질 그룹 중에서 단백질 하위 그룹을 확인할 수 있다. 따라서, 핵산 분석과 단백질 분석을 커플링하면, 확인된 단백질 또는 단백질 그룹의 수를 단백질 분석만을 포함하는 검정에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 80%, 또는 적어도 100%까지 증가시킬 수 있다.

[0598] 핵산 분석은 또한 단백질(예를 들어, 단백질 코로나) 및 생체분자 코로나 분석을 안내할 수 있다. 일부 경우에, 질량 분광 분석(및 그에 따른 생체분자 코로나 방법)은 직렬 질량 분광 분석을 위해 다수의 이온(예를 들어, 특정 m/z 비)이 미리 선택되는 데이터 의존적 획득을 포함한다. 데이터 의존 획득의 이온 또는 복수의 이온은 핵산 분석 결과에 기초하여 선택될 수 있다. 예를 들어, 핵산 분석은 질량을 공유하지만 서열이 다른 예측된 펩타이드 단편으로 두 개의 단백질 변이체를 확인하고, 데이터 의존적 획득에서 펩타이드 단편의 질량을 포함하도록 질량 분광 분석 기기에 지시를 제시할 수 있다. 질량 분광 분석은 또한 데이터 독립적 획득을 포함할 수 있고, 여기서 직렬 질량 분광 분석을 위해 질량/전하 범위가 사전에 선택된다. 그러한 경우, 핵산 분석은 분석된 질량/전하 범위를 결정하거나 부분적으로 결정할 수 있다. 핵산 분석은 또한 이온화 방법을 안내할 수 있다. 예를 들어, 핵산 분석 결과는 매트릭스 보조 레이저 탈착/이온화(MALDI) 질량 분광 분석 실험을 위한 레이저 출력을 결정하여, 분석을 위해 생성된 생체분자 조각에 영향을 줄 수 있다.

[0599] **대상체 특이적 라이브러리**

[0600] 핵산 및 단백질 분석은 질량 분광 분석의 깊이 및 정확도를 촉진하고 확대할 수 있는 대상체 특이적(예를 들어, 환자 특이적) 라이브러리를 개발하기 위해 개별적으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 일부 질량 분광 분석은 단백질 할당의 모호성 정도에 의해 제한된다. 일부 경우에, 단백질 서열의 단지 일부만이 질량 분광 분석 신호로 커버될 수 있으므로, 검정은 나머지 시퀀싱되지 않은 부분의 변이에 대해 알 수 없게 된다. 또한, 질량 분광 분석은 특정 전위(예를 들어, 도메인 전위) 및 스플라이싱 변이를 확인할 수 없다. 그러한 결점을 수정하는 것은 비용과 시간이 많이 소요될 수 있다. 예를 들어, 여러 형태의 소화를 포함하도록 질량 분광 검정을 확장하면, 사용자 투입이 증가하는 대신에 서열 커버리지가 증가할 수 있다.

- [0601] 대상체 특이적 라이브러리를 생성하면, 대상체의 질량 분광 분석 데이터를 더 빠르고 심층적으로 분석할 수 있다. 대상체 특이적 라이브러리는 대상체에 존재하는 단백질을 포함할 수 있다. 대상체 특이적 라이브러리는 대상체에 존재하는 핵산(예를 들어, 유전자)을 포함할 수 있다. 대상체 특이적 라이브러리는 대상체로부터 예측된 실험 신호(예를 들어, 펩타이드 단편 또는 DNA 전기영동 밴드에 반응하는 질량 분광 분석 신호)를 포함하는 특정 스펙트럼 라이브러리를 생성하는 데 사용될 수 있다. 대상체 특이적 라이브러리는 단백질체 데이터, 핵산 데이터, 대사체 데이터(예를 들어, 락타아제의 존재를 결정하기 위한 락토스 가수분해의 측정), 지질체 데이터, 또는 이들의 임의의 조합으로 생성될 수 있다.
- [0602] 대상체 특이적 라이브러리는 단백질 또는 핵산 확인의 정확성을 증가시킬 수 있다. 일부 경우에, 가능한 단백질 확인은 대상체의 게놈에서 확인된 잠재적인 단백질 서열로 제한될 수 있다. 예를 들어, 8개의 대립형질 변이체를 포함하는 단백질 그룹은 대상체로부터의 핵산 데이터에 기초하여 특정 형태로 좁혀질 수 있다.
- [0603] 도 5는 대상체 특이적 라이브러리를 생성하고 이용하는 방법을 도시한 것이다. 이 방법은 커플링된 핵산 및 단백질 분석이 어떻게 진단의 깊이 및 정밀도를 높일 수 있는지 보여준다. 대상체 특이적 라이브러리는 핵산 데이터(501)로부터 구축될 수 있다. 데이터는 서열 변이체(502)를 확인하기 위해 처리될 수 있으며(예를 들어, 적어도 참조 서열과의 정렬에 기초하여), 대상체 특이적 핵산 변이체(503)의 라이브러리를 생성한다. 핵산 데이터는 전체 게놈 시퀀싱 또는 게놈 또는 종전사체의 특이적 또는 농축된 부분을 사용하는 표적 시퀀싱으로부터 유래될 수 있다. 또한, 스크리닝은 샘플로부터 스플라이싱 변이체를 확인하기 위한 엑솜 시퀀싱을 포함할 수 있다.
- [0604] 핵산 서열(예를 들어, 유전자 변이체)은 대상체 특이적 단백질 서열 데이터베이스(505)를 생성하기 위해 인-실리코(in-silico)로 번역될 수 있다(504). 데이터베이스는 샘플에 대한 질량 분광 분석 데이터로부터 단백질 또는 단백질 그룹 확인을 도울 수 있는 단백질 서열을 포함할 수 있다. 많은 경우에, 데이터베이스는 단백질 그룹 중 어떤 단백질이 샘플에 존재하는지 결정하기 위해 사용될 수 있다. 데이터베이스는 또한 단백질 서열의 풍부도 또는 상대적 풍부도를 포함할 수 있다. 예를 들어, 데이터베이스는 샘플 내의 단백질의 상이한 이소형의 상대적 풍부도 또는 유전자에 대한 또는 다수의 유전자 사이의 돌연변이율을 포함할 수 있다.
- [0605] 대상체 특이적 단백질 서열 데이터베이스(505)는 (504)에서 생성된 데이터에 부분적으로 기초하여, 대상체의 샘플로부터 예상되거나 추정되는 질량 분광 분석 신호를 포함할 수 있는 대상체 특이적 스펙트럼 라이브러리(507)를 컴퓨터에 의해 생성하는 데 사용될 수 있다(506). 질량 분광 분석 특징의 컴퓨터에 의한 예측은 샘플 정제 및 소화 방법과 같은 실험 변수를 설명할 수 있다. 대상체 특이적 스펙트럼 라이브러리는 질량 분광 분석 특징의 예측된 상대 강도뿐만 아니라 예상된 직렬 질량 분광 분석 특징을 포함할 수 있다. 대상체 특이적 스펙트럼 라이브러리는 또한 경험적으로 유도된 질량 분광 분석 특징을 포함할 수 있다. 예를 들어, 펩타이드 변이체는 데이터 의존적 획득 질량 분광 분석 실험(509)으로부터 확인될 수 있다(508).
- [0606] 대상체 특이적 스펙트럼 라이브러리(507)는 대상체로부터의 샘플로부터 수집된 질량 분광 분석 데이터(예를 들어, 데이터 독립적 획득 질량 분광 분석 데이터(510))를 디컨볼루션하여 샘플(512)에서 특정 게놈 변이체를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 질량 분광 분석 실험의 단점은 표적 단백질의 일부에 대해서만 신호를 얻을 수 있고, 따라서 질량 분광 분석을 통해 단백질 서열의 미해결 부분의 서열 변이를 알 수 없다는 것이다. 본 명세서에서 설명되는 대상체 특이적 스펙트럼 라이브러리(507)는 질량 분광 분석 특징을 공지된 단백질 또는 단백질 변이체와 연관시킴으로써 이러한 제한(존재하는 경우)을 극복할 수 있으며, 일부 경우에, 질량 분광 분석 데이터를 사용하여 부분 또는 전체 단백질 서열을 확인할 수 있게 한다(511). 또한, 대상체 특이적 스펙트럼 라이브러리(507)는 질량 분광 분석 데이터로부터 단백질을 정량(예를 들어, 대상체 샘플의 풍부도를 결정)하는 데 도움을 줄 수 있다. 이는 부분적으로 샘플에서 확인된 여러 단백질 간에 공통 질량 분광 분석 신호(예를 들어, 여러 단백질에 공통적인 m/z)를 할당하는 것을 포함할 수 있다.
- [0607] 대상체 특이적 라이브러리의 유용성은 단백질 분석 단독에 의해서는 구별하기 어려운 그룹(예를 들어, 단백질 그룹)에서 단백질을 구별하고 확인할 수 있다는 것이다. 일부 경우에, 대상체 특이적 라이브러리는 또한 단백질 또는 단백질 세트의 상대적 또는 절대적 정량(예를 들어, 생물학적 샘플 내의 농도)을 가능하게 할 수 있다. 대상체 특이적 라이브러리는 또한 단백질 분석(예를 들어, 질량 분광 분석법)만으로는 검출할 수 없는 점 돌연변이 또는 전위와 같은 돌연변이의 존재를 결정할 수 있다.
- [0608] 이형접합성 쌍은 질량 분광 분석 단독으로는 검출하기가 특히 어려울 수 있다. 경우에 따라, 이형접합성 쌍의 특유한 지점 또는 영역이 단백질 분석 중에 검출되지 않을 수 있다. 예를 들어, 질량 분광 분석은 여러 대립유전자에서 발생하는 단백질 사이에서 상이한 영역(들)을 커버하는 신호를 생성하지 않을 수 있다. 페어링 핵산 분석은 대상체가 특정 유전자에 대해 동형접합성인지 이형접합성인지를 결정할 수 있으며, 존재하는 대립유전자

또는 대립유전자들을 추가로 결정할 수 있다.

[0609] 그러한 방법의 예는 도 6에 제공된다. 대상체의 게놈을 시퀀싱(601)하면, 특정 유전자에 대한 동형접합성 또는 이형접합성이 드러날 수 있다(602). 시퀀싱은 특정 유전자를 표적으로 할 수 있고, 대상체 게놈의 일부 또는 일부를 커버할 수 있거나, 대상체의 게놈 전체를 커버할 수 있다. 대상체에 대해 획득된 핵산 서열은 대상체에 존재하는 예상 단백질 서열을 포함하는 대상체 특이적 단백질 서열 데이터베이스를 구축(603)하기 위해 인-실리코로 번역될 수 있다. 이형접합성 또는 선택적 스플라이싱의 경우와 같이 단일 유전자에 대해 여러 단백질 서열이 예측될 수 있다. 단백질 서열은 대상체 샘플로부터 예측된 질량 분광 분석 신호를 생성(604)하는 데 사용될 수 있다. 이를 통해, 대상체의 단백질 질량 분광 분석 데이터의 분석을 단순화하고, 특이성 및 정확도를 높일 수 있다. 예를 들어, 질량 분광 분석 신호 세트가 샘플에서 단백질 그룹을 확인하는 경우, 직렬 핵산 서열 및 질량 분광 분석 신호는 샘플에 존재하는 특정 단백질 또는 단백질 세트, 예를 들어, 유전자에 대한 두 개의 대립유전자에서 발생하는 단백질의 쌍을 확인할 수 있다.

[0610] 또한, 단백질 데이터는 대상체의 발현 수준을 결정하는 데 사용될 수 있다. 핵산 분석은 대상체에 존재하는 많은 유전자를 확인할 수 있지만, 대상체의 샘플에 대한 단백질 분석은 어떤 유전자가 발현되고 번역되는지 확인할 수 있다. 이 개념은 이형접합성 유전자 쌍으로부터의 하나의 대립유전자가 특정 대상체에서 발현되고 있음을 결정하는 질량 분광 분석 데이터(701)를 보여주는 도 7에 도시되어 있다.

[0611] 질병 검출

[0612] 본 명세서에서 개시되는 조성물 및 방법은 특정 생물학적 샘플에서 다양한 생물학적 상태를 확인하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 생물학적 상태는 특정 단백질 또는 단백질 세트의 상승된 또는 낮은 수준을 나타낼 수 있다. 다른 예에서, 생물학적 상태는 암과 같은 질병을 의미할 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 상태는 건강한 상태일 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 상태의 확인에는 생물학적 샘플에 대해 특정 상태의 확률을 결정하는 것이 포함될 수 있다. 하나 이상의 입자 유형은 단백질 코로나의 형성을 허용하는 샘플(예를 들어, CSF)과 함께 인큐베이션될 수 있다. 그런 다음, 단백질 코로나는 단백질 또는 단백질 그룹의 패턴을 확인하기 위해 겔 전기영동 또는 질량 분광 분석법으로 분석할 수 있다. 단백질 코로나의 분석(예를 들어, 질량 분광 분석 또는 겔 전기영동에 의한)은 코로나 분석이라고 지칭될 수 있다. 단백질 또는 단백질 그룹의 패턴은 대조군 샘플에서 수행된 동일한 방법과 비교할 수 있다. 단백질 또는 단백질 그룹의 패턴을 비교할 때, 제1 샘플이 일부 생물학적 상태(예를 들어, 뇌암)에 상응하는 상승된 수준의 마커를 포함함이 확인될 수 있다. 따라서, 입자 및 이의 사용 방법은 특정 질병 상태를 진단하는 데 사용될 수 있다.

[0613] 본 명세서에서 설명되는 방법은 특정 생물학적(예를 들어, 질병) 상태와 일치하는 생체분자 지문(예를 들어, 샘플 내의 50개 단백질 및 10개 핵산 서열의 상대적 풍부도)을 생성하는 데 사용될 수 있다. 생물학적 상태는 질병, 장애 또는 조직 이상일 수 있다. 질병 상태는 초기, 중기 또는 후기 질병 상태일 수 있다.

[0614] 일부 경우에, 생체분자 지문은 대상체의 질병 상태를 결정하거나, 대상체의 질병을 진단 또는 예측하거나, 질병 상태 또는 질병 또는 장애와 관련된 바이오마커의 패턴을 확인하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 시간 경과(일, 월, 년)에 따른 대상체의 생체분자 지문의 변화는 질병 또는 기타 질병 상태의 초기 단계와 연관될 수 있는 생체분자 지문의 결정에 광범위하게 적용될 수 있는, 대상체의 질병 또는 장애(예를 들어, 질병 상태)를 추적하는 능력을 허용한다. 본 명세서에서 개시되는 바와 같이, 충분히 발생하거나 전이되기 전이라도 질병, 예를 들어 암을 조기에 검출하는 능력은 환자에 대한 긍정적인 결과의 유의한 증가 및 기대 수명을 증가시키고 그 질병과 연관된 사망율을 저하시키는 능력을 허용한다.

[0615] 본 명세서에서 개시되는 방법은 고처리량 방식으로 질병의 전단계 또는 전구체 상태와 관련된 생체분자 지문을 제공할 수 있다. 본 개시내용의 방법은 샘플의 대규모 고속 처리를 가능하게 하여 생체분자 지문을 고도로 병렬화된 방식으로 생성함으로써, 대상체의 질병 상태의 신속한 대규모의 결정, 대상체에서 질병의 진단 또는 예측 또는 많은 대상체에 걸쳐 질병 상태 또는 질병 또는 장애와 관련된 바이오마커의 패턴 확인을 허용한다.

[0616] 질병 또는 장애는 암일 수 있다. 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. 본 개시내용은 암을 진단할 수 있을 뿐만 아니라, 샘플로부터 암이 특정 유형 및 병기를 구분할 수 있는(예를 들어, 대상체가 (a) 암을 가지고 있지 않는지, (b) 전암 발생 단계에 있는지, (c) 암의 초기 단계에 있는지, (d) 암의 후기 단계에 있는지 결정할 수 있는) 조성물 및 방법을 제공한다.

[0617] 본 개시내용의 방법은 추가적으로 다른 암, 예를 들어 다음을 검출하는 데 사용될 수 있다: 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 중추신경계(CNS) 림프종(림프종); 항문암; 맹장암, 위장 카르시노이드; 성상세포종, 아동 뇌암; 비정형 기형종/형문근 종양, 중추신경계 뇌암; 피부의 기저 세포 암종, 피부암; 담관암; 방광암; 아동 방광암; 골암, 유잉(Ewing) 육종 및 골육종, 악성 섬유상 조직구종; 뇌종양; 유방암; 아동 유방암; 기관지 종양, 아동 버킷(Burkitt) 림프종, 버킷 림프종, 비-호지킨 림프종; 위장 카르시노이드, 카르시노이드, 아동 카르시노이드, 미지의 원발성 암종; 아동의 미지의 원발성 암종, 아동 심장 종양, 심장 종양, 중추신경계 종양, 비정형 기형종/형문근 종양, 아동 뇌암, 배아 종양, 생식 세포 종양, 자궁경부암, 아동 자궁경부암, 아동 암, 아동의 특이성 암, 담관암, 담관암, 아동 척색종, 척색종 만성 림프구성 백혈병(PLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 골수증식성 신생물, 결장직장암, 아동 결장직장암, 두개 인두종, 피부 t-세포 림프종, 균상 식육종, 세자리(Sezary) 증후군, 상피내 유관암종(DCIS), 배아 종양, 배아 종양, 자궁내막암, 자궁암, 뇌실막종, 식도암, 아동 식도암, 감각신경모세포종, 두경부암, 유잉 육종, 골암, 아동 두개의 생식 세포 종양, 두개의 생식 세포 종양, 성선의 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 카르시노이드, 위장관 기질 종양(GIST), 연 조직 육종, 아동 위장관 기질 종양, 생식 세포 종양, 아동 중추신경계 생식 세포 종양, 아동 두개의 생식 세포 종양, 성선의 생식 세포 종양, 난소 생식 세포 종양, 고환암, 임신성 영양막 질환, 탈세포 백혈병, 아동 심장 종양, 심장 종양, 간세포(간) 암, 조직구종, 랑게르한스 세포, 호지킨 림프종, 하인두암, 안내 흑색종, 아동 안내 흑색종, 섬세포 종양, 췌장 신경내분비 종양, 카포시 육종, 연조직 육종, 신장(신장 세포)암, 랑게르한스 세포 조직구종, 후두암, 백혈병, 입술 및 구강암, 간암, 폐암 (비소세포 및 소세포), 아동 폐암, 림프종, 남성 유방암, 뼈의 악성 섬유상 조직구종, 골육종, 흑색종, 아동 흑색종, 안내 흑색종, 아동 안내 흑색종, 메르켈(Merkel) 세포 암종, 피부암, 악성의 종피종, 아동 종피종, 전이성 암, 갑갑 원발성 전이성 편평 경부암, nut 유전자 변화가 있는 정중선 암종, 구강암, 다발성 내분비 신생물 증후군, 다발성 골수종/형질 세포 신생물, 균상 식육종, 골수이형성 증후군, 골수 이형성/골수증식성 신생물, 만성 골수성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수증식성 신생물, 비강 및 부비동암, 비인두암, 신경모세포종, 비-호지킨 림프종, 비소세포 폐암, 구강암, 입술 및 구강암, 구강인두암, 골육종, 뼈의 악성 섬유상 조직구종, 난소암, 아동 난소 암, 췌장암, 아동 췌장암, 췌장 신경내분비 종양(섬세포 종양), 아동 후두 유두종증, 유두종증, 부신경절종, 아동 부신경절종, 부비동 및 비강암, 부갑상선암, 음경암, 인두암, 갈색세포종, 아동 갈색세포종, 뇌하수체 종양, 혈장 세포 신생물/다발성 골수종, 흉막폐 모세포종, 임신 및 유방암, 원발성 중추신경계(CNS) 림프종, 원발성 복막암, 전립선암, 직장암, 재발성 암, 신장 세포(신장)암, 망막모세포종, 형문근육종, 아동 연조직 육종, 침샘암, 육종, 아동 형문근육종, 연조직 육종, 아동 혈관 종양, 유잉 육종, 카포시 육종, 골육종, 연조직 육종, 자궁 육종, 세자리 증후군(림프종), 피부암, 아동 피부암, 소세포 폐암, 소장암, 연조직 육종, 피부의 편평 세포 암종, 갑갑 원발성 편평 경부암, 전이성 두경부암, 복부(위)암, 아동 복부(위)암, 피부 T-세포 림프종, T-세포 림프종, 균상 식육종 및 세자리 증후군, 고환암, 아동 고환암, 인후암, 비인두암, 구강인두암, 하인두암, 흉선종 및 흉선 암종, 갑상선암, 신우 및 요관의 이행 세포 암, 미지 원발성 암종, 아동 미지 원발성 암, 아동의 특이암, 요관 및 신우의 이행 세포 암, 요도암, 자궁암, 자궁내막, 자궁 육종, 질암, 아동 질암, 혈관 종양 외음부암, 빌름스(Wilms) 종양 및 기타 아동 신장 종양, 또는 젊은 성인의 암.

[0618] 일부 경우에, 질환 또는 장애는 심혈관 질환일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "심혈관 질환"(CVD) 또는 "심혈관 장애"는 신체의 심장, 심장 판막, 및 혈관구조(예를 들어, 정맥 및 동맥)에 영향을 미치는 많은 병태를 분류하기 위해 사용되며, 다음을 포함하지만 이로 제한되지 않는 질환 또는 병태를 포함한다: 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 관상 동맥 질환(CAD). 추가로, 용어 심혈관 질환은 궁극적으로 심혈관 질환, 예를 들어 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 포함하지만 이로 제한되지 않는 돌연 심장사 또는 급성 관상동맥 증후군에 의해 유발된 대상체에서의 불리한 상태의 표시를 지칭하는 심혈관 사건 또는 심혈관 합병증을 가지는 대상체를 나타낸다.

[0619] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 심혈관 질환, 예를 들어 죽상 동맥 경화증을 검출, 진단 또는 예측하는 능력은 대상체가 심혈관 질환의 진단기에 있는지, 초기, 중등도 또는 중증 형태의 심혈관 질환이 발생하였는지,

또는 하나 이상의 심혈관 사건 또는 심혈관 질환과 관련된 합병증으로 고통받는지를 결정하는 것을 포함할 수 있다.

[0620] 죽상 동맥 경화증(또한 동맥경화성 혈관 질환 또는 ASVD로도 알려져 있음)은 백혈구를 함유한 동맥 플라크의 동맥 벽의 가장 안쪽 층에 대한 침습 및 축적 및 침착의 결과로서 동맥 벽이 두꺼워져서 동맥의 협착 및 경화를 초래하는 심혈관 질환을 지칭할 수 있다. 동맥 플라크는 대식세포 또는 파편의 축적을 지칭할 수 있으며, 지질(콜레스테롤 및 지방산), 칼슘 및 가변적인 양의 섬유상 결합 조직을 함유할 수 있다. 죽상 동맥 경화증과 관련된 질환은 죽상혈전증, 관상동맥 심장 질환, 심부 정맥 혈전증, 경동맥 질환, 협심증, 말초동맥 질환, 만성 신장 질환, 급성 관상동맥 증후군, 혈관 협착증, 심근 경색, 동맥류 또는 뇌졸중을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 본 개시내용의 방법은 대상체의 상이한 정도의 협착증을 포함하지만 이로 제한되지 않는 죽상 동맥 경화증의 상이한 단계를 구별할 수 있다.

[0621] 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 유발되거나, 호르몬 수준에 영향을 미치거나 미치지 않을 수 있는 내분비 시스템의 병변(예를 들어, 결절 또는 종양)의 발생으로 인한 것일 수 있다. 치료될 수 있는 적합한 내분비 질환은 예를 들어 말단비대증, 애디슨(Addison)병, 부신암, 부신 장애, 역형성 갑상선암, 쿠싱(Cushing) 증후군, 드퀘르뱅(De Quervain) 갑상선염, 당뇨병, 여포성 갑상선암, 임신성 당뇨병, 갑상선종, 그레이브스(Graves) 병, 성장 장애, 성장 호르몬 결핍증, 하시모토(Hashimoto) 갑상선염, 휘틀(Hurthle) 세포 갑상선암, 고혈당증, 부갑상선 기능항진증, 갑상선 기능항진증, 저혈당증, 부갑상선 기능저하증, 갑상선 기능저하증, 낮은 테스토스테론, 갑상선 수질암, MEN 1, MEN 2A, MEN 2B, 폐경기, 대사 증후군, 비만, 골다공증, 유두 갑상선암, 부갑상선 질환, 갈색세포종, 뇌하수체 장애, 뇌하수체 종양, 다낭성 난소 증후군, 당뇨병전증, 무증상 갑상선염, 갑상선암, 갑상선 질환, 갑상선 결절, 갑상선염, 터너(Turner) 증후군, 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병 등을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.

[0622] 일부 경우에, 질환 또는 장애는 염증성 질환이다. 본 명세서에서 언급되는 바와 같이, 염증성 질환은 대상체 신체의 제어되지 않은 염증에 의해 유발된 질환을 나타낸다. 염증은 병원체, 괴사된 세포 및 조직, 자극제 등과 같은 외부 또는 내부 요인일 수 있는 해로운 자극에 대한 대상체의 생물학적 반응이다. 그러나, 염증성 반응이 비정상일 때, 그것은 자가 조직 손상을 초래하며, 다양한 질환 및 장애로 이어질 수 있다. 염증성 질환은 천식, 사구체신염, 염증성 장 질환, 류머티스성 관절염, 과민증, 골반 염증성 질환, 자가면역 질환, 관절염, 괴사성 장염(NEC), 위장염, 골반 염증성 질환(PID), 폐기종, 흉막염, 신우염, 인두염, 협심증, 심상성 여드름, 요로 감염, 맹장염, 활액낭염, 결장염, 방광염, 피부염, 정맥염, 비염, 건염, 편도선염, 혈관염, 자가 면역 질환, 체강 질환, 만성 전립선염, 과민증, 재관류 손상, 사르코이드증, 이식 거부, 혈관염, 간질성 방광염, 긴초염, 치주염, 죽상 동맥경화증, 건선, 강직성 척추염, 소아 특발성 관절염, 베체트(Behcet) 병, 척추관절염, 포도막염, 전신성 홍반성 루푸스, 및 암을 포함하지만 이로 제한되지 않는다. 예를 들어, 관절염은 류머티스성 관절염, 건선성 관절염, 골관절염 또는 소아 특발성 관절염 등을 포함한다.

[0623] 질환 또는 장애는 신경계 질환일 수 있다. 신경계 장애 또는 신경계 질환은 교환 가능하게 사용되며, 뇌, 척수 및 이들을 연결하는 신경의 질환을 나타낸다. 신경계 질환은 뇌종양, 간질, 파킨슨병, 알츠하이머병, ALS, 동정맥 기형, 뇌혈관 질환, 뇌 동맥류, 간질, 다발성 경화증, 말초 신경병증, 대상포진후 신경통, 뇌졸중, 전두측두엽 치매, 탈수초성 질환(다발성 경화증, 데빅(Devic) 병(즉, 시신경척수염)), 중추 뇌교 골수용해, 진행성 다초점 백질뇌병증, 백혈이영양증, 길랭-바레(Guillain-Barre) 증후군, 진행성 염증성 신경병증, 샤르코-마리-투스(Charcot-Marie-Tooth) 병, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증, 및 항-MAG 말초 신경병증을 포함하지만 이로 제한되지 않음 등을 포함하지만 이로 제한되지 않는다. 신경계 장애는 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 포함한다. IMND는 탈수초 질환, 신생물말립(paraneoplastic) 신경계 증후군, 면역 매개 뇌척수염, 면역 매개 자율 신경병증, 중증 근무력증, 자가항체 관련 뇌병증, 및 급성 파종성 뇌척수염을 포함하지만 이로 제한되지 않는다.

[0624] 본 개시내용의 방법은 알츠하이머병이 있거나 없는 환자를 정확하게 구별할 수 있다. 또한, 상기 방법은 증상 발현 전단계이며 스크리닝 몇년 후에 알츠하이머병이 발생할 수 있는 환자를 검출할 수 있다. 이것은 매우 초기 단계의 질환, 심지어 질환이 발생하기 전에 질환을 치료할 수 있다는 장점을 제공한다.

[0625] 본 개시내용의 방법은 질환 또는 장애의 전질환 단계를 검출할 수 있다. 전질환 단계는 대상체가 질환의 어떠한

신호 또는 증상도 발생시키지 않은 단계이다. 전암성 단계는 암 또는 종양 또는 암성 세포가 대상체 내에서 확인되지 않은 단계일 것이다. 전신경계 질환 단계는 사람이 신경계 질환의 하나 이상의 증상을 나타내지 않은 단계를 지칭할 수 있다. 질환의 하나 이상의 신호 또는 증상이 나타나기 전에 질환을 진단하는 능력은 대상체의 치밀한 모니터링 및 매우 초기 단계에서 질환을 치료하는 능력을 허용하여, 질환의 진행을 멈추거나 질환을 치유하거나 중증도를 감소시킬 가능성을 증가시킨다.

[0626] 본 개시내용의 방법은 일부 질환 또는 장애의 초기 단계를 검출할 수 있다. 질환의 초기 단계는 질환의 첫 번째 신호 또는 증상이 대상체 내에서 나타날 수 있는 때를 지칭할 수 있다. 질환의 초기 단계는 표면적인 신호 또는 증상이 없는 단계일 수 있다. 예를 들어, 알츠하이머병에서 초기 단계는 현재 증상이 검출되지 않지만 환자는 수개월 또는 수년 후에 알츠하이머를 나타낼 전알츠하이머 단계일 수 있다.

[0627] 전질환 발달에서 또는 초기 상태에서 질환을 확인하는 것은 종종 대상체에 대해 양성 결과를 얻을 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 대체로 전체 종양을 수술로 제거함으로써 치료 가능성이 종종 높다. 1기 암은 대체로 근처 조직으로 심도있게 성장하지 않고 림프절 또는 신체의 다른 부분으로 확산하지 않은 작은 암 또는 종양일 수 있다.

[0628] 본 발명의 방법은 질환의 중간 단계를 검출할 수 있다. 질환의 중간 상태는 제1 징후 및 증상을 지녔고 대상체가 질환의 하나 이상의 증상을 경험하고 있는 질환의 단계를 설명할 수 있다. 예를 들어, 암의 경우, 2기 또는 3기 암은 중간 단계로 여겨지며, 이것은 근처 조직으로 보다 심도있게 성장한 더 큰 암 또는 종양을 나타낸다. 일부 경우에, 2기 또는 3기 암은 또한 림프절로 확산될 수 있지만, 신체의 다른 부분으로는 확산되지 않는다.

[0629] 추가로, 방법은 후기 또는 진행된 단계의 질환을 검출할 수 있다. 후기 또는 진행된 단계의 질환은 또한 "중증" 또는 "진행된"으로 불릴 수 있고, 대체로 대상체가 질환의 다중 증상 및 영향으로 고통받고 있다는 것을 나타낸다. 예를 들어, 중증 단계 암은 4기를 포함하며, 이때 암은 신체의 다른 장기 또는 부분으로 확산되었고 때때로 진행된 또는 전이성 암으로서 언급된다.

[0630] 일부 경우에, 본 개시내용의 방법은 상이한 유형의 질환뿐만 아니라, 질환의 상이한 단계(예를 들어, 암의 초기 단계)를 구별할 수 있다. 이것은 전질환 상태의 대상체로부터 건강한 대상체를 구별하는 것을 포함할 수 있다. 전질환 상태는 0기 또는 1기 암 또는 초기 단계의 신경퇴행성 질환, 치매, 관상동맥 질환, 신장 질환, 심혈관 질환(예를 들어, 관상동맥 질환), 당뇨병, 또는 간 질환일 수 있다. 상이한 단계의 질환을 구별하는 것은 암의 두 단계(예를 들어, 0기 대 1기 또는 1기 대 3기)를 구별하는 것을 포함할 수 있다.

[0631] 질환 검출은 대상체로부터 핵산 및 단백질 데이터를 분석하거나 처리하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 핵산 데이터가 단백질 분석을 안내할 수 있다. 핵산 분석의 일반적인 단점은 유전자 또는 전사체의 존재가 각각 발현 또는 번역을 반드시 의미하지는 않는다는 것이다. 예를 들어, 일부 경우에, 발암성 돌연변이는 질환 또는 심지어 변경된 발현을 유발할 수도 있고, 그렇지 않을 수도 있다. 본 개시내용의 다수의 방법은 대상체로부터 얻은 유전적 및/또는 총전사체 데이터와 관련된 단백질을 적어도 직접적으로 확인함으로써 이를 해결할 수 있다.

[0632] 일부 경우에, 단백질 분석이 핵산 분석을 안내할 수 있다. 전체 게놈, 총전사체 또는 엑솜의 시퀀싱은 시간과 비용이 많이 소요될 수 있지만, 개별 핵산의 시퀀싱 또는 쿼리(querying)는 종종 저렴하고, 빠르며, 정확하다. 따라서, 본 개시내용의 일부 방법은 단백질 분석 및 후속 표적 핵산 분석을 포함한다. 본 개시내용의 일부 방법은 표적 핵산 분석 및 후속 단백질 분석을 포함한다. 본 개시내용의 일부 방법은 표적 핵산 분석 및 단백질 분석을 병렬로 수행하는 것을 포함한다. 예를 들어, 대상체가 초기 단계의 비소세포 폐암(NSCLC)에 걸렸을 수 있음을 나타내는 혈장 단백질체 분석 후에 잠재적 NSCLC 발암유전자를 표적으로 하는 핵산 분석이 뒤따를 수 있다.

[0633] 건조 조성물 및 키트

[0634] 본 명세서에서 개시되는 조성물은 동결건조될 수 있다. 동결건조는 용매를 포함하는 물질을 동결시킨 다음, 감압, 온도 상승 또는 둘 모두에 의해 용매를 승화시켜 용매의 고체상을 기체상으로 전이시키는 방법을 지칭할 수 있다. 동결은 액체 질소와 같은 동결제와 물질을 접촉시키는 것(예를 들어, 물질을 동결제 내에 침지시키는 것)을 포함할 수 있다. 동결은 동결제 냉각 플레이트와 같은 차가운 표면에 물질을 접촉시키는 것을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 특정 예에서, 동결은 한정된 부피의 물질을 동결제에 떨어뜨리고, 이에 의해 한정된 부피를 갖는 동결된 비드를 형성하는 단계를 포함한다. 동결건조된 조성물 또는 건조 조성물은 동결건조된

물질을 지칭할 수 있다.

- [0635] 본 명세서에서 개시되는 다양한 입자 또는 그의 다양한 조성물은 동결건조될 수 있다. 본 명세서에서 개시되는 바와 같은 다양한 용매가 동결건조용 용매로 사용될 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 개시되는 바와 같은 입자 조성물은 물을 용매로 사용하여 동결건조된다. 경우에 따라, 액체는 유기 용매를 포함한다. 액체는 또한 유기 수성 혼합물, 예를 들어 물과 메탄올의 혼합물, 유기 용매, 예를 들어 클로로포름, 또는 유기 용매 혼합물, 예를 들어 디메틸설폭사이드, 아세토니트릴 혼합물일 수 있다. 일부 경우에, 유기 용매는 아세톤, 아세토니트릴, 벤젠, 부탄올, 부탄온, tert-부틸 알코올, 사염화탄소, 클로로벤젠, 클로로포름, 시클로헥산, 1,2-디클로로에탄, 디에틸렌 글리콜, 디에틸 에테르, 1,2-디메톡시-, 에탄(글라임, DME), 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸 설폭사이드(DMSO), 1,4-디옥산, 에탄올, 에틸 아세테이트, 에틸렌 글리콜, 글리세린, 헵탄, 헥사메틸포스포르아미드(HMPA), 헥사메틸포스포러스, 트리아미드(HMPT), 헥산, 메탄올, 메틸 t-부틸, 에테르(MTBE), 메틸렌 클로라이드, N-메틸-2-피롤리돈(NMP), 니트로메탄, 펜탄, 프로판올, 프로판올, 피리딘, 테트라하이드로푸란(THF), 톨루엔, 트리에틸 아민, o-자일렌, m-자일렌, p-자일렌 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0636] 일부 경우에, 물질은 지지체 내에서 동결건조된다. 예를 들어, 물질은 금속 동결되고, 복수의 웰(예를 들어, 웰-플레이트의 웰) 또는 튜브 내에서 용매 승화 조건에 적용될 수 있다. 동결건조된 물질을 함유하는 지지체는 본 명세서에서 추가로 개시되는 바와 같이 나중에 생물학적 샘플 분석에 사용될 수 있다.
- [0637] 조성물을 동결건조하기 위해 다양한 지지체가 사용될 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 부형제를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 부형제는 텍스트란, PEG, 수크로스, 글루코스, 트레할로스, 락토스, 폴리소르베이트, 아미노산, 만니톨, 글리신, 글리세롤, 또는 이들의 조합 또는 변형물을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 염을 포함할 수 있다.
- [0638] 지지체는 동결건조를 위해 다양한 양으로 존재할 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 약 5 mg/mL 미만의 농도를 가질 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 약 50 mg/mL 미만의 농도를 가질 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 약 250 mg/mL 미만의 농도를 가질 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 약 250 mg/mL 초과 농도를 가질 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 약 100 mg/mL 내지 200 mg/mL의 농도를 가질 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1000 mg/mL보다 큰 농도를 가질 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 mg/mL보다 작은 농도를 가질 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 적어도 약 60 중량% 내지 70 중량%의 양으로 존재할 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 적어도 약 75 중량% 내지 85 중량%의 양으로 존재할 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 적어도 약 97.5 중량%의 양으로 존재할 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 적어도 약 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99 중량%의 양으로 존재할 수 있다. 일부 경우에, 지지체는 최대 약 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99 중량%의 양으로 존재할 수 있다.
- [0639] 입자는 동결건조를 위해 다양한 양으로 존재할 수 있다. 일부 경우에, 용액 또는 현탁액의 입자 농도는 약 5 mg/mL 초과일 수 있다. 일부 경우에, 용액 또는 현탁액의 입자 농도는 약 100 mg/mL 미만일 수 있다. 일부 경우에, 용액 또는 현탁액의 입자 농도는 약 10 mg/mL 내지 약 100 mg/mL일 수 있다. 일부 경우에, 용액 또는 현탁액의 입자 농도는 약 15 mg/mL 내지 약 80 mg/mL일 수 있다. 일부 경우에, 용액 또는 현탁액의 입자 농도는 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 mg/mL 초과일 수 있다. 일부 경우에, 용액 또는 현탁액의 입자 농도는 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 mg/mL 미만일 수 있다.
- [0640] 입자는 본 개시내용에 의해 제공되는 것을 비롯한 다양한 표면 개질을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 표면 개질은 실리카 코팅, 트리-아민 작용화, PDMAPMA-중합체 작용화, 글루코스-6-포스페이트 작용화 또는 모노-아민 표면 작용화를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 표면 개질은 금속 산화물 코팅을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 표면 개질은 적어도 하나의 노출된 1차 아민 기, 2차 아민 기, 3차 아민 기를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 표면 개질은 적어도 하나의 모노사카라이드를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 표면 개질은 실리카 코팅, PDMAPMA-중합체 작용화, 글루코스-6-포스페이트 작용화, 폴리스티렌 카르복실 작용화, 텍스트란 작용화, 아미드 작용화, 카르복실 작용화, 트리-아민 작용화, 디-아민 작용화, 모노-아민 표면 작용화, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 표면 개질은 N-(3-트리메톡실릴프로필)디에틸렌트리아민 작용화, 1,6-헥산디아민 작용

화, N1-(3-(트리메톡시실릴)프로필)헥산-1,6-디아민 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

- [0641] 다양한 부피의 용액 또는 현탁액을 동결건조할 수 있다. 예를 들어, 일정 부피의 용액 또는 현탁액을 냉동 용매에 떨어뜨려 용액 또는 현탁액의 동결된 비드를 형성할 수 있으며, 이 비드는 동결 건조되어 원래 부피의 용액의 적어도 일부를 포함하는 동결건조된 비드를 형성할 수 있다. 경우에 따라, 용액 또는 현탁액의 부피는 약 1 μL 초과일 수 있다. 경우에 따라, 용액 또는 현탁액의 부피는 약 100 μL 미만일 수 있다. 경우에 따라, 용액 또는 현탁액의 부피는 2 μL 내지 60 μL 일 수 있다. 일부 경우에, 용액 또는 현탁액의 부피는 25 μL 내지 45 μL 일 수 있다. 일부 경우에, 용액 또는 현탁액의 부피는 적어도 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 또는 10000 μL 일 수 있다. 일부 경우에, 용액 또는 현탁액의 부피는 최대 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 또는 10000 μL 일 수 있다.
- [0642] 동결건조된 조성물은 건조 조성물을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 건조 또는 건조하다는 것은 물 또는 또 다른 용매와 같은 특정 양 미만의 액체상을 포함하는 조성물의 상태를 지칭할 수 있다. 일부 경우에, 건조 조성물은 약 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001, 또는 0.00001 중량% 미만의 용매를 포함하는 조성물을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 건조 조성물은 약 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001 또는 0.00001 부피% 미만의 용매를 포함하는 조성물을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 건조 조성물은 구형, 원통형, 직사각형 또는 임의의 다른 형상을 포함하는 비드를 포함할 수 있다.
- [0643] 일부 경우에, 건조 조성물은 비드당 적어도 약 0.5 mg의 표면 개질된 입자를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 건조 조성물은 비드당 약 0.5 mg 내지 약 5 mg의 표면 개질된 입자를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 건조 조성물은 비드당 적어도 약 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 100 mg의 입자를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 건조 조성물은 비드당 최대 약 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 100 mg의 입자를 포함할 수 있다.
- [0644] 동결건조는 물질에 안정성을 부여할 수 있다. 경우에 따라, 동결건조 형태의 나노입자를 제제화하면, 장기간에 걸쳐 안정적인 물리화학적 특성을 얻을 수 있다. 일부 경우에, 동결건조된 입자는 냉장 온도 또는 실온에서 불활성이거나 안정할 수 있다.
- [0645] 입자는 본 명세서에서 설명되는 일부 조성물에서 안정성을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 안정성 또는 안정적이라는 것은 일정 기간에 걸쳐 물질의 유용성 또는 효능을 유지하면서 임계값 미만으로 변화하는 물질의 특성에 기인할 수 있다. 다양한 물질의 다양한 특성은 유용성 또는 효능의 다양한 척도에 따라 다양한 기간 동안의 안정성에 기인할 수 있다.
- [0646] 동결건조된 조성물은 안전한 다양한 물리화학적 특성을 포함할 수 있다. 물리화학적 특성은 제타 전위를 포함할 수 있다. 물리화학적 특성은 나노입자 조성물에서 제타 전위의 분포를 포함할 수 있다. 물리화학적 특성은 나노입자 조성물에서 평균 제타 전위를 포함할 수 있다. 물리화학적 특성은 나노입자 조성물에서 제타 전위의 표준 편차를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 제타전위는 전기영동, 전기삼투, 유동 전위 측정 또는 침강 전위 측정에 의해 측정된다. 일부 경우에, 물리화학적 특성은 입자 크기를 포함할 수 있다. 물리화학적 특성은 나노입자 조성물에서 입자 크기의 분포를 포함할 수 있다. 물리화학적 특성은 나노입자 조성물의 평균 입자 크기를 포함할 수 있다. 물리화학적 특성은 나노입자 조성물에서 입자 크기의 표준 편차를 포함할 수 있다.
- [0647] 일부 경우에, 동결건조된 입자의 직경은 용액 또는 현탁액에서의 직경의 90% 내지 110%일 수 있다. 일부 경우에, 동결건조된 입자의 직경은 용액 또는 현탁액에서의 직경의 80% 내지 120%일 수 있다. 일부 경우에, 동결건조된 입자의 직경은 용액 또는 현탁액에서의 직경의 95% 내지 105%일 수 있다. 일부 경우에, 동결건조된 입자의 직경은 용액 또는 현탁액에서의 직경의 98% 내지 102%일 수 있다. 일부 경우에, 동결건조된 입자의 직경은 용액 또는 현탁액에서의 직경의 99% 내지 101%일 수 있다.
- [0648] 일부 경우에, 동결건조된 입자의 평균 직경은 용액 또는 현탁액에서의 평균 직경의 90% 내지 110%일 수 있다. 일부 경우에, 동결건조된 입자의 평균 직경은 용액 또는 현탁액에서의 평균 직경의 80% 내지 120%일 수 있다. 일부 경우에, 동결건조된 입자의 평균 직경은 용액 또는 현탁액에서의 평균 직경의 95% 내지 105%일 수 있다.

조성물의 재구성 시에, 입자는 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 입자가 동일한 생물학적 샘플에서 흡착할 생물학적 샘플 내의 생체분자의 적어도 95%를 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 입자가 동일한 생물학적 샘플에서 흡착할 생물학적 샘플 내의 생체분자의 적어도 96%를 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 입자가 동일한 생물학적 샘플에서 흡착할 생물학적 샘플 내의 생체분자의 적어도 97%를 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 입자가 동일한 생물학적 샘플에서 흡착할 생물학적 샘플 내의 생체분자의 적어도 98%를 흡착할 수 있다. 일부 경우에, 용액에서 건조 조성물의 재구성 시에, 입자는 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 입자가 동일한 생물학적 샘플에서 흡착할 생물학적 샘플 내의 생체분자의 적어도 99%를 흡착할 수 있다.

[0654] 동결건조된 조성물은 다양한 기간에 걸쳐 안정한 물리화학적 특성을 가질 수 있다. 일부 경우에, 기간은 적어도 약 12일, 적어도 약 14일, 적어도 약 30일, 적어도 약 40일, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 또는 적어도 약 1년을 포함할 수 있다.

[0655] 동결건조된 조성물은 다양한 온도에서 안정한 물리화학적 특성을 가질 수 있다. 경우에 따라, 온도는 대략 실온일 수 있다. 일부 경우에, 온도는 약 37℃일 수 있다. 일부 경우에, 온도는 약 60℃일 수 있다. 경우에 따라, 온도는 약 -26℃ 내지 약 0℃일 수 있다. 경우에 따라, 온도는 약 -10℃ 내지 약 -5℃일 수 있다. 경우에 따라, 온도는 약 0℃ 내지 20℃일 수 있다. 경우에 따라, 온도는 약 0℃ 내지 약 10℃일 수 있다. 일부 경우에, 온도는 약 25℃ 내지 약 60℃일 수 있다. 일부 경우에, 온도는 약 35℃ 내지 약 40℃일 수 있다. 일부 경우에, 건조 조성물 또는 동결건조 조성물은 약 37℃에서 적어도 40일 동안 안정하다. 일부 경우에, 건조 조성물 또는 동결건조 조성물은 주위 온도에서 적어도 11개월 동안 안정하다.

[0656] 건조 조성물은 다양한 다른 내용물과 함께 키트로 포장될 수 있다. 일부 경우에, 키트는 입자(예를 들어, 표면 개질된 입자) 및 동결건조된 지지체를 포함하는 건조 조성물, 및 건조 조성물을 수용하고 유지하도록 구성된 기판을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 기판은 튜브, 웰, 다중 웰 또는 미세유체 장치의 미세유체 채널 또는 챔버일 수 있다. 일부 경우에, 다중 웰은 12웰 플레이트, 24웰 플레이트, 48웰 플레이트, 72웰 플레이트, 96웰 플레이트, 192웰 플레이트 또는 384웰 플레이트일 수 있다. 일부 경우에, 기판은 각각 건조 조성물을 포함할 수 있는 복수의 공간적으로 격리된 위치(예를 들어, 다중 웰 플레이트의 개별 웰 또는 미세유체 장치의 개별 미세유체 채널)를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개별 위치에 포함된 건조 조성물은 조성물 내의 입자의 적어도 하나의 물리화학적 특성이 서로 상이할 수 있다. 입자는 샘플로부터 상이한 생체분자 또는 생체분자 그룹을 흡착하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 공간적으로 격리된 위치의 개별 위치는 개별적으로 및/또는 독립적으로 위치 지정 가능할 수 있다.

[0657] 도 19a는 각각 주사 전자 현미경(SEM, 이미지의 제2 열), 동적 광산란(DLS, 그래프의 제3 열), 투과 전자 현미경(TEM, 이미지의 제4 열), 고해상도 투과 전자 현미경(HRTEM, 제5 열) 및 X선 광전자 분광법(XPS, 제6 열)에 의해 맨 왼쪽 제1 열(위로부터 아래로 실리콘 코팅된 SPION, 폴리(N-(3-(디메틸아미노)프로필)메타크릴아미드)(PDMAEMA) 코팅된 SPION, 및 폴리(올리고(에틸렌 글리콜)메틸 에테르 메타크릴레이트)(POEGMA) 코팅된 SPION)에 표시된 3개의 초상자성 산화철 나노입자(SPION)의 특성 결정을 보여준다. DLS는 각각의 입자 유형의 3회의 반복 시험을 보여준다. 개별 입자의 표면에서 HRTEM 사진을 기록하였다. 합성될 때, 입자는 크기 또는 조성의 분포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 한 가지 유형의 입자가 특정 크기, 형태, 조성 또는 조성 프로파일로 재현 가능하게 제조될 수 있다. 경우에 따라, 제조된 입자는 품질 관리를 위해 특성 결정될 수 있다.

[0658] **건조 조성물 및 키트의 사용 방법**

[0659] 본 명세서에서 설명되는 건조 조성물은 생물학적 샘플과 접촉하여 표면 개질된 입자의 표면 상에 생체분자 코로나를 생성할 수 있다. 일부 경우에, 건조 조성물은 조성물을 생물학적 샘플과 접촉시키기 전에 먼저 재구성될 수 있다.

[0660] 본 개시내용의 다양한 측면은 생물학적 샘플을 검정하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 입자 및 지지체를 포함하는 건조 조성물을 제공하는 단계; 건조 조성물을 액체 내에서 재구성하여 재구성된 조성물을 형성하는 단계; 및 생물학적 샘플을 재구성된 조성물과 접촉시켜 샘플의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 적어도 일부를 입자에 결합시키는 단계를 포함한다. 일부 경우에, 건조 조성물은 본 개시내용에 따른 동결건조된 비드를 포함한다. 일부 경우에, 건조 조성물은 동결건조된 비드 또는 복수의 동결건조된 비드이다.

- [0661] 일부 경우에, 재구성은 고체를 평균 용매에 용해 또는 현탁시켜 액체 혼합물을 형성하는 것을 의미할 수 있다. 일부 경우에, 혼합물을 생물학적 샘플과 접촉시키기 전에 건조 조성물을 재구성할 수 있다.
- [0662] 일부 경우에, 건조 조성물은 일정 부피의 다중 웰 플레이트, 유체 채널, 유체 챔버, 미세유체 장치 또는 튜브에 제공된다. 이러한 경우, 건조 조성물은 다중 웰 플레이트, 유체 채널, 유체 챔버, 미세유체 장치 또는 튜브의 부피 내에서 재구성될 수 있다. 재구성된 조성물은 또한 다중 웰 플레이트, 유체 채널, 유체 챔버, 미세유체 장치 또는 튜브의 부피 내에서 생물학적 샘플에 접촉될 수 있다. 예를 들어, 방법은 다중 웰 플레이트의 웰 내에서 건조 조성물을 재구성한 다음, 웰에 일정 부피의 생물학적 샘플을 추가하는 것을 포함할 수 있다.
- [0663] 일부 경우에, 입자는 표 1의 표면 개질된 입자와 같은 표면 개질된 입자이다. 입자는 생물학적 샘플로부터 생체 분자의 가변 선택적 결합을 위한 물리화학적 특성을 포함할 수 있다. 예를 들어, 입자는 중성의 비극성 분석물의 흡착에 비해 하전된 분석물의 흡착을 선호하지 않는 지방족 비극성 표면 작용화를 포함할 수 있다. 입자는 복수의 입자를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 복수의 입자 중의 개별 입자는 상이한 표면을 포함한다. 일부 경우에, 복수의 입자의 개별 입자는 상이한 물리화학적 특성을 포함한다. 예를 들어, 입자는 아민 작용화된 입자, 카르복실레이트 작용화된 입자 및 스티렌 작용화된 입자를 포함할 수 있다. 입자의 상이한 물리화학적 특성은 생물학적 샘플로부터의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 가변 선택적 흡착에 영향을 끼칠 수 있다.
- [0664] 건조 조성물을 사용하는 방법은 재구성을 위한 다양한 속도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 재구성은 25℃에서 적어도 0.1 min⁻¹의 속도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 재구성은 25℃에서 적어도 0.5 min⁻¹의 속도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 재구성은 약 25℃에서 적어도 약 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 min⁻¹의 속도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 재구성은 약 37℃에서 적어도 약 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 min⁻¹의 속도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 재구성은 약 25℃에서 최대 약 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 min⁻¹의 속도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 재구성은 약 37℃에서 최대 약 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 min⁻¹의 속도를 포함할 수 있다.
- [0665] 일부 경우에, 재구성은 약 25℃에서 분당 적어도 0.2 mg의 입자의 속도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 재구성은 약 25℃에서 분당 적어도 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 mg의 입자의 속도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 재구성은 약 25℃에서 분당 최대 약 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 mg의 입자의 속도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 재구성은 약 37℃에서 분당 적어도 약 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 mg의 입자의 속도를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 재구성은 약 37℃에서 분당 최대 약 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 mg의 입자의 속도를 포함할 수 있다.
- [0666] 일부 경우에, 재구성은 최대 20분 동안 수행될 수 있다. 경우에 따라, 재구성은 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60분 동안 수행될 수 있다. 상기 시간 후에, 재구성은 적어도 85% 완료, 적어도 90% 완료, 적어도 95% 완료, 적어도 98% 완료, 적어도 99% 완료, 또는 적어도 99.5% 완료될 수 있다.
- [0667] 일부 경우에, 재구성은 재구성 속도를 높이기 위한 물리적 섭동을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 재구성은 초음파 처리, 혼합 또는 진탕을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 재구성은 물리적 섭동을 포함하지 않을 수 있다.
- [0668] 건조 조성물을 재구성하면, 동결건조 전의 입자 조성물의 원래 특성으로 되돌아갈 수 있다. 일부 경우에, 재구성 후에, 표면 개질된 입자에는 입자 응집체가 실질적으로 존재하지 않는다. 일부 경우에, 재구성 후에, 표면 개질된 입자의 약 10% 미만이 입자 응집체로서 존재할 수 있다. 일부 경우에, 재구성 후에, 표면 개질된 입자의 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.9%, 0.8%, 0.7%, 0.6%, 0.5%, 0.4%, 0.3%, 0.2%, 0.1%, 0.09%, 0.08%, 0.07%, 0.06%, 0.05%, 0.04%, 0.03%, 0.02%, 0.01%, 0.009%, 0.008%, 0.007%, 0.006%, 0.005%, 0.004%, 0.003%, 0.002%, 0.001%, 0.0009%, 0.0008%, 0.0007%, 0.0006%, 0.0005%, 0.0004%, 0.0003%, 0.0002%, 또는 0.0001% 미만이 입자 응집체로서 존재할 수 있다.

- [0669] 일부 경우에, 재구성 후에, 액체는 약 5 내지 약 9의 pH를 포함한다. 일부 경우, 재구성 후에, 액체는 약 6 내지 약 8의 pH를 포함한다. 일부 경우에, 재구성 후에, 액체는 약 7 내지 약 8의 pH를 포함한다. 일부 경우에, 재구성 후에 액체는 약 7.2 내지 약 7.7의 pH를 포함한다. 일부 경우에, 재구성 후 액체는 약 7.5의 pH를 포함한다. 일부 경우에, 재구성 후에, 액체는 적어도 5의 pH를 포함한다. 일부 경우, 재구성 후에, 액체는 적어도 6의 pH를 포함한다. 일부 경우에, 재구성 후에, 액체는 최대 9의 pH를 포함한다. 일부 경우에, 재구성 후에, 액체는 최대 8의 pH를 포함한다.
- [0670] 일부 경우에, 재구성 전에, 액체는 최대 약 500 mM, 최대 약 350 mM, 최대 약 250 mM, 최대 약 200 mM, 최대 약 150 mM, 최대 약 100 mM, 최대 약 50 mM, 최대 약 30 mM, 최대 약 10 mM, 최대 약 5 mM, 최대 약 1 mM, 최대 약 0.5 mM, 최대 약 0.1 mM, 또는 최대 약 0.05 mM의 이온 농도를 갖는다. 일부 경우에, 재구성 전에, 액체는 적어도 약 500 mM, 적어도 약 350 mM, 적어도 약 250 mM, 적어도 약 200 mM, 적어도 약 150 mM, 적어도 약 100 mM, 적어도 약 50 mM, 적어도 약 30 mM, 적어도 약 10 mM, 적어도 약 5 mM, 적어도 약 1 mM, 적어도 약 0.5 mM, 적어도 약 0.1 mM, 또는 적어도 약 0.05 mM의 이온 농도를 갖는다. 일부 경우에, 재구성 전에, 액체는 최대 약 500 mM, 최대 약 350 mM, 최대 약 250 mM, 최대 약 200 mM, 최대 약 150 mM, 최대 약 100 mM, 최대 약 50 mM, 최대 약 30 mM, 최대 약 10 mM, 최대 약 5 mM, 최대 약 1 mM, 최대 약 0.5 mM, 최대 약 0.1 mM, 또는 최대 약 0.05 mM의 이온 농도를 갖는다. 일부 경우에, 재구성 전에, 액체는 적어도 약 500 mM, 적어도 약 350 mM, 적어도 약 250 mM, 적어도 약 200 mM, 적어도 약 150 mM, 적어도 약 100 mM, 적어도 약 50 mM, 적어도 약 30 mM, 적어도 약 10 mM, 적어도 약 5 mM, 적어도 약 1 mM, 적어도 약 0.5 mM, 적어도 약 0.1 mM, 또는 적어도 약 0.05 mM의 이온 농도를 갖는다.
- [0671] 일부 경우에, 건조 조성물은 먼저 용매에서 재구성하지 않은 상태로 생물학적 샘플과 접촉할 수 있다. 건조 조성물은 생체유체 샘플 내에서 용해되거나 현탁될 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용과 일치하는 방법은 입자 및 동결건조된 지지체를 포함하는 건조 조성물을 제공하는 단계, 및 건조 조성물의 재구성 없이 생체유체 샘플(예를 들어, 혈장)을 건조 조성물과 접촉시켜 생체유체 샘플로부터의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 입자에 흡착시키는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 건조 조성물은 혈액, 혈장, 혈청, CSF, 소변, 눈물, 세포 용해물, 조직 용해물, 세포 균질물, 조직 균질물, 유두 흡인물, 마늘 흡인물, 대변 샘플, 활액, 전혈, 타액, 또는 이들의 조합과 접촉할 수 있다.
- [0672] 생물학적 샘플은 다양한 양의 용매로 희석될 수 있다. 경우에 따라, 생물학적 샘플은 완충제 용액에 희석될 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플은 약 1부의 생물학적 샘플 대 적어도 약 1부의 완충제 용액의 부피비로 희석될 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플은 약 1부의 생물학적 샘플 대 적어도 약 2부의 완충제 용액의 부피비로 희석될 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플은 약 1부의 생물학적 샘플 대 적어도 약 5부의 완충제 용액의 부피비로 희석될 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플은 약 1부의 생물학적 샘플 대 적어도 약 10부의 완충제 용액의 부피비로 희석될 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플은 약 1부의 생물학적 샘플 대 적어도 약 20부의 완충제 용액의 부피비로 희석될 수 있다.
- [0673] 일부 경우에, 생물학적 샘플과 접촉한 후, 건조 조성물 내의 입자는 생물학적 샘플에서 개별적으로 용매화될 수 있다. 일부 경우에, 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.1%, 99.2%, 99.3%, 99.4%, 99.5%, 99.6%, 99.7%, 99.8%, 99.9%, 99.91%, 99.92%, 99.93%, 99.94%, 99.95%, 99.96%, 99.97%, 99.98%, 또는 99.99%의 입자는 생물학적 샘플에서 개별적으로 용매화될 수 있다.
- [0674] **머신 러닝을 사용한 분류**
- [0675] 질병 또는 장애 및/또는 질병 상태와 관련된 생체분자 세트를 결정하는 방법은 적어도 2개의 샘플의 생체분자 코로나 분석을 포함할 수 있다. 이러한 결정, 분석 또는 통계적 분류는 예를 들어 광범위한 감독 및 비감독 데이터 분석 및 다른 것들 중에서도, 계층적 클러스터 분석(HCA), 주성분 분석(PCA), 부분 최소 제곱 판별 분석(PLS-DA), 랜덤 포레스트(random forest), 로지스틱 회귀, 결정 트리(decision tree), 지원 벡터 머신(SVM), k-최근접 이웃, 나이브 베이즈(naive Bayes), 선형 회귀, 다항식 회귀, 회귀를 위한 SVM, K-평균 클러스터링, 및 히든 마르코프(Markov) 모델과 같은 클러스터링 접근법을 포함하지만 이로 제한되지 않는 방법에 의해 수행될 수 있다. 달리 말하면, 각각의 샘플의 코로나 내의 생체분자는 질병 또는 장애 또는 질병 상태와 관련된 생체분자의 세트를 결정하기 위하여 개별 코로나 사이에 어떤 패턴이 공통적인지를 통계학적 유의성으로 결정하기 위하여 서로 비교/분석된다.
- [0676] 일부 경우에, 머신 러닝 알고리즘은 예를 설명하는 입력 특징에 기초하여 예에 클래스 표지를 정확하게 할당하는 모델을 구축하기 위해 사용될 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에서 설명되는 방법에 대해 머신 러닝 및/또

는 딥 러닝 접근법을 사용하는 것이 유리할 수 있다. 예를 들어, 머신 러닝을 사용하여 생체분자 코로나를 다양한 질병 상태(예를 들어, 질병 없음, 질병의 전조, 질병의 초기 또는 후기 단계 등)와 연관시킬 수 있다. 예를 들어, 일부 경우에, 생체분자 코로나 및 그로부터 유도된 생체분자의 세트에 의해 검출되고 획득된 데이터를 분석하기 위해 본 명세서에서 개시되는 방법과 관련하여 하나 이상의 머신 러닝 알고리즘이 사용될 수 있다. 예를 들어, 머신 러닝은 대상체가 암의 전단계 또는 암을 가지고 있는지 또는 암이 없거나 발생하지 않았는지 여부를 결정하기 위해 및 또한 암의 유형을 구별하기 위해 본 명세서에서 설명되는 방법을 사용하여 얻은 게놈 및 단백질체 정보와 커핑될 수 있다.

[0677] 머신 러닝 알고리즘은 또한 단백질 코로나 분석의 결과와 핵산 시퀀싱 분석의 결과를 연관시키고, 추가로 단백질과 핵산 사이의 임의의 경향 또는 상관관계를 생물학적 상태(예를 들어, 질병 상태, 건강 상태, 질병의 하위 유형, 예를 들어 질병의 단계는 암 하위 유형임)와 연관시키기 위해 사용될 수 있다.

[0678] 머신 러닝은 복수의 입자를 사용하여 검출된 단백질을 클러스터링하는 데 사용될 수 있다. 도 20은 단백질 및 단백질 구조 및 기능 그룹의 풍부도를 분석하기 위해 복수의 입자를 사용하는 방법을 예시한 것이다. 일부 경우에, 입자 라이브러리를 사용하여 하나 이상의 생물학적 샘플에서 단백질을 검정할 수 있다. 경우에 따라, 입자 라이브러리 내의 입자는 다양한 물리화학적 특성을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 입자 라이브러리에 의해 검출된 단백질은 클러스터링 알고리즘을 사용하여 클러스터링될 수 있다. 일부 경우에, 입자 라이브러리에 의해 검출된 단백질은 검출된 단백질 신호의 강도, 입자의 화학적 특성, 단백질 구조 및/또는 작용기, 또는 이들의 임의의 조합에 적어도 부분적으로 기초하여 클러스터링될 수 있다.

[0679] 입자 라이브러리는 임의의 개수의 입자를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자 라이브러리는 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000개의 입자를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 입자 라이브러리는 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000개의 입자를 포함할 수 있다.

[0680] 입자의 물리화학적 특성은 본 명세서에서 개시되는 다양한 특성을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 물리화학적 특성은 전하, 소수성, 친수성, 양친매성, 배위, 반응 등급, 표면 자유 에너지, 다양한 작용기/변형(예를 들어, 당, 중합체, 아민, 아미드, 에폭시, 가교결합체, 하이드록실, 방향족, 또는 인산기)을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 반응 등급은 입자에 작용화를 제공하는 반응의 유형(예를 들어, 스토버(Stober) 프로세스)을 나타낼 수 있다. 경우에 따라, 특정 반응 등급은 등급별 반응 효율을 가질 수 있으며, 입자 특성에 영향을 미치는 하나 이상의 부산물을 생성할 수 있다.

[0681] 일부 경우에, 클러스터링 알고리즘은 일부 유사성 척도로 데이터세트에서 샘플을 그룹화하는 방법을 의미할 수 있다. 경우에 따라, 샘플을 세트 공간에 그룹화할 수 있고, 예를 들어 요소 'a'는 세트 'A'에 있다. 경우에 따라, 샘플을 연속 공간에 그룹화할 수 있고, 예를 들어, 요소 'a'는 클러스터 'A'를 구성하는 요소의 중심에서 거리가 '1'인 유클리드 공간의 한 지점이다. 경우에 따라, 샘플을 그래프 공간에 그룹화할 수 있고, 예를 들어 요소 'a'는 클러스터 'A'를 구성하는 요소와 밀접하게 연결되어 있다. 일부 경우에, 클러스터링은 일부 유사성 척도를 기반으로 일부 수학적 공간에서 복수의 요소를 그룹으로 구성하는 원리를 나타낼 수 있다.

[0682] 일부 경우에, 클러스터링은 유사성의 임의의 정량적 척도에 의해 데이터세트에서 임의의 개수의 단백질을 그룹화하는 것을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 클러스터링은 K-평균 클러스터링을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 클러스터링은 계층적 클러스터링을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 클러스터링은 랜덤 포레스트 모델을 사용하는 것을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 클러스터링은 부스트된 트리(tree) 모델을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 클러스터링은 지원 벡터 머신을 사용하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 클러스터링은 데이터세트를 클러스터로 분할하는 N차원 공간에서 하나 이상의 N-1 차원 표면을 계산하는 것을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 클러스터링은 배포 기반 클러스터링을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 클러스터링은 N차원 공간에 분포된 데이터에 대한 복수의 사전 분포를 맞추는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 클러스터링은 밀도 기반 클러스터링을 사용하는 것을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 클러스터링은 퍼지 클러스터링을 사용하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 클러스터링은 클러스터에 속하는 데이터 포인트의 확률 값을 계산하는 것을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 클러스터링은 제약 조건을 사용하는 것을 포함할 수 있다. 경우에 따라, 클러스터링은 감독 학습을 사용하는 것을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 클러스터링은 비감독 학습을 사용하는 것을 포함할 수 있다.

[0683] 일부 경우에, 클러스터링은 유사성에 기초하여 단백질을 그룹화하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 클러스터링은 정량적 유사성을 기반으로 단백질을 그룹화하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 클러스터링은 각각

의 단백질의 하나 이상의 특징에 기초하여 단백질을 그룹화하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 클러스터링은 각각의 단백질의 하나 이상의 표지를 기반으로 단백질을 그룹화하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 클러스터링은 단백질의 수치적 표현에서 유클리드 좌표를 기반으로 단백질을 그룹화하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 클러스터링은 단백질 구조 그룹 또는 기능 그룹(예를 들어, 단백질 데이터뱅크 또는 CATH 단백질 구조 분류 데이터베이스와 같은 단백질 데이터베이스로부터의 단백질 구조, 하위 구조 또는 기능 그룹)에 기초하여 단백질을 그룹화하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 단백질 구조 그룹 또는 기능 그룹은 단백질 1차 구조, 2차 구조, 3차 구조 또는 4차 구조를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 단백질 구조 그룹 또는 기능 그룹은 적어도 부분적으로는 알파 나선, 베타 시트, 상이한 특성(예를 들어, 지방족, 방향족, 친수성, 산성, 염기성 등)을 갖는 아미노산의 상대적 분포, 구조적 패밀리를(예를 들어, TIM 배럴 및 베타 배럴 폴드), 단백질 도메인(예를 들어, 죽음 이펙터(Death effector) 도메인)에 기반할 수 있다. 일부 경우에, 단백질 구조 그룹 또는 기능 그룹은 적어도 부분적으로 기능적 또는 공간적 특성(예를 들어, 기능 그룹 - 면역 글로불린, 사이토카인, 세포골격 단백질 그룹 등)에 기반할 수 있다.

[0684] 자동화 시스템

[0685] 본 개시내용의 일부 방법 및 조성물은 자동화 시스템과 통합될 수 있다. 조성물 및 방법을 자동화 시스템에 통합하는 이점은 실험이 간소화되어 사용자 시간을 절약하고, 연구, 임상 또는 응용 환경에서 효율성을 향상시킬 수 있다는 것이다. 자동화 시스템은 실험의 반복성, 더 빠른 전환, 및 자동화 시스템을 사용하여 따를 수 있는 유용한 프로토콜을 공유하는 연구원과 임상 사이의 보다 나은 커뮤니케이션을 제공할 수 있다. 자동화 시스템은 많은 실험을 병렬로 실행하도록 설계될 수 있고, 고처리량 방식을 가능하게 할 수 있으며, 본 개시내용에서 설명되는 일부 머신 러닝 방법에 대한 데이터를 생성하는 데 사용될 수 있다.

[0686] 생물학적 샘플을 검정하기 위한 자동화 시스템은 입자 및 지지체를 포함하는 건조 조성물을 포함하는 기관; 생물학적 샘플을 포함하는 샘플 저장 장치; 상기 기관 및 상기 샘플 저장 장치에 작동 가능하게 커플링되는 로딩 유닛; 및 기계 실행 가능 코드를 포함하는 컴퓨터 판독 가능 매체를 포함할 수 있고, 상기 컴퓨터 판독 가능 매체는 프로세서에 의해 실행될 때 (a) 샘플 저장 장치로부터 생물학적 샘플 또는 그의 일부를 로딩 유닛을 사용하여 기관에 운반하는 단계; (b) 생물학적 샘플을 건조 조성물과 접촉시켜 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 포함하는 생체분자 코로나를 생성하는 단계를 포함하는 방법을 실행한다.

[0687] 기관은 본 개시내용에서 설명되는 다양한 기관 중 어느 하나를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 기관은 단일 웰, 다중 웰 플레이트, 튜브, 다중 튜브 장치 또는 미세유체 장치이다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 복수의 다중 웰 플레이트를 포함할 수 있다.

[0688] 기관은 본 개시내용에서 설명되는 임의의 다양한 조성물 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 기관은 복수의 건조 조성물을 포함하며, 여기서 복수의 건조 조성물의 개별 건조 조성물에 포함된 입자의 적어도 하나의 하위 세트는 또 다른 하위 세트와 상이할 수 있다. 일부 경우에, 입자의 적어도 하나의 하위 세트는 적어도 하나의 물리화학적 특성에서 또 다른 하위 세트와 상이할 수 있다. 일부 경우에, 복수의 건조 조성물은 각각 실리카 코팅된 SPION, 트리-아민 작용화된 나노입자, PDMAEMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 모노-아민 작용화된 나노입자, 또는 이들의 조합을 포함하는 적어도 2개의 건조 조성물을 포함한다. 일부 경우에, 다중 웰 플레이트내의 각각의 웰은 개별 건조 조성물을 포함한다.

[0689] 자동화 시스템은 한 번에 상이한 생물학적 샘플을 사용하여 실험을 실행할 수 있다. 일부 경우에, 샘플 저장 장치는 복수의 상이한 생물학적 샘플을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플의 전달은 복수의 상이한 생물학적 샘플을 각각 다중 웰 플레이트의 상이한 웰에 전달하는 것을 포함할 수 있다.

[0690] 자동화 시스템은 생물학적 샘플의 상이한 부분으로 실험을 진행할 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플은 복수의 부분으로 구성된다. 예를 들어, 한 부분은 분별된 생물학적 샘플의 일부일 수 있다. 일부 경우에, 한 부분은 조직 샘플의 하위 섹션 또는 전혈 샘플의 일부(예를 들어, 연막층의 일부)일 수 있다. 일부 경우에, 한 부분은 생물학적 샘플 용해물의 상정액일 수 있다. 생물학적 샘플의 일부를 웰로 운반될 수 있다. 생물학적 샘플의 일부는 희석될 수 있다(예를 들어, pH 6의 포스페이트 완충제와 같은 수성 완충제로). 생물학적 샘플은 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 6배, 적어도 8배, 적어도 10배, 적어도 15배 또는 적어도 20배 희석될 수 있다. 일부 경우에, 운반은 자동화 시스템에 의해 동시에 수행될 수 있다.

[0691] 다양한 시간 동안 생물학적 샘플을 입자 조성물과 접촉시키도록 자동화 시스템을 구성할 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플은 적어도 약 10초 동안 입자 조성물과 접촉한 상태를 유지할 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플

플은 적어도 약 10초의 기간 동안 건조 조성물과 접촉한 상태를 유지할 수 있다. 경우에 따라, 시간은 적어도 약 1분이다. 일부 경우에, 시간은 적어도 약 5분이다.

[0692]

단계를 추가하거나 다양한 실험 단계를 제거하도록 자동화 시스템을 구성할 수 있다. 다양한 실험 단계를 재배열하도록 자동화 시스템을 구성할 수 있다. 일부 경우에, 세척 단계를 실행하도록 자동화 시스템을 구성할 수 있다. 예를 들어, 자동화 시스템은 재현탁으로 생체분자 코로나를 세척하도록 구성될 수 있다. 경우에 따라, 자동화 시스템은 재현탁 없이 생체분자 코로나를 세척하는 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 경우에 따라, 자동화 시스템은 용해물 생산 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 자동화 시스템은 생물학적 샘플에 존재하는 엑소솜을 용해시키기 위해 초음파 처리하거나 전기장을 인가할 수 있다. 경우에 따라, 용해물을 줄이기 위한 단계를 실행하도록 자동화 시스템을 구성할 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 용해물을 여과하는 단계를 실행하도록 구성할 수 있다. 경우에 따라, 자동화 시스템은 용해물을 알킬화하는 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 경우에 따라, 자동화 시스템은 생체분자 코로나를 변성시키는 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 단계적 변성 프로세스로 생체분자 코로나를 변성시키는 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 경우에 따라, 생체분자 코로나를 소화하는 단계를 실행하도록 자동화 시스템을 구성할 수 있다. 소화 단계는 프로테아제, 예를 들어 트립신, 키모트립신, 엔도프로테이나제 Asp-N, 엔도프로테이나제 Arg-C, 엔도프로테이나제 Lys-C, 펩신, 썬모리신, 엘라스타제, 파파인, 프로테이나제 K, 서브틸리신, 클로스트리파인, 카르복시펩티다제, 카텝신 C 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 소화 단계는 브롬화시아노젠과 같은 화학적 펩타이드 절단제를 포함할 수 있다. 자동화 시스템은 상이한 조건, 프로테아제 또는 화학적 절단제를 포함할 수 있는 일련의 소화 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 소화 단계는 최대 50 ng/mL, 최대 100 ng/mL, 최대 200 ng/mL, 최대 500 ng/mL, 최대 1 µg/mL, 최대 2 µg/mL, 최대 5 µg/mL, 최대 10 µg/mL, 최대 25 µg/mL, 최대 50 µg/mL, 최대 100 µg/mL, 최대 200 µg/mL, 또는 최대 500 µg/mL의 프로테아제를 사용할 수 있다. 소화 단계는 적어도 500 µg/mL, 적어도 200 µg/mL, 적어도 100 µg/mL, 적어도 50 µg/mL, 적어도 25 µg/mL, 적어도 10 µg/mL, 적어도 5 µg/mL, 적어도 2 µg/mL, 적어도 1 µg/mL, 적어도 500 ng/mL, 적어도 200 ng/mL, 적어도 100 ng/mL 또는 적어도 50 ng/mL의 프로테아제를 이용할 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 적어도 약 200 ng/mL 내지 약 200 µg/mL 농도의 트립신으로 생체분자 코로나를 소화하는 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 적어도 약 100 µg/mL 내지 약 0.1 g/L 농도의 트립신으로 생체분자 코로나를 소화하는 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 적어도 약 200 ng/mL 내지 약 200 µg/mL 농도의 LysC로 생체분자 코로나를 소화하는 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 적어도 약 20 µg/mL 내지 약 0.02 g/L 농도의 LysC로 생체분자 코로나를 소화하는 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 경우에 따라, 소화 단계는 최대 3시간 동안 수행된다. 경우에 따라, 소화 단계는 최대 1시간 동안 수행된다. 경우에 따라, 소화 단계는 최대 30분 동안 수행된다. 일부 경우에, 소화 단계는 평균 질량이 적어도 1000 Da, 적어도 2000 Da, 적어도 3000 Da, 적어도 4000 Da, 적어도 5000 Da, 적어도 6000 Da, 적어도 8000 Da, 또는 적어도 10000 Da인 펩타이드를 생성한다. 일부 경우에, 소화 단계는 평균 질량이 최대 10000 Da, 최대 8000 Da, 최대 6000 Da, 최대 5000 Da, 최대 4000 Da, 최대 3000 Da, 최대 2000 Da, 또는 최대 1000 Da인 펩타이드를 생성한다. 일부 경우에, 소화 단계는 평균 질량이 약 1000 Da 내지 약 4000 Da인 펩타이드를 생성한다. 일부 경우에, 소화 단계 전에, 예를 들어 생체분자 또는 생체분자 그룹이 용액에서 소화되도록 생체분자 코로나로부터의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 적어도 하위 세트의 용출이 선행된다. 용출은 희석, 가열, 물리적 섭동, 화학적 작용제(예를 들어, 약한 카오트로픽제(chaotropic agent))의 첨가, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0693]

일부 경우에, 자동화 시스템은 생체분자 코로나 또는 생체분자 코로나의 일부를 용출하도록 구성될 수 있다(예를 들어, 생체분자 코로나의 경질 부분은 입자에 흡착된 채로 남겨두면서 생체분자 코로나의 연질 부분을 입자로부터 선택적으로 용출한다). 경우에 따라, 생체분자 코로나에 대해 액체 크로마토그래피를 수행하도록 자동화 시스템을 구성할 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 생물학적 샘플의 일부로부터 건조 조성물의 일부를 분리하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 자기장을 사용하여 생물학적 샘플의 일부로부터 건조 조성물의 일부를 분리하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 단백질체 실험을 실행하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 계층 실험을 실행하도록 구성될 수 있다. 경우에 따라, 자동화 시스템은 프로테오믹스 실험을 실행하도록 구성될 수 있다. 경우에 따라, 자동화 시스템은 질량 분광 분석 실험을 실행하도록 구성될 수 있다. 경우에 따라, 자동화 시스템은 시퀀싱 실험을 실행하도록 구성될 수 있다.

[0694]

자동화 시스템은 다양한 온도에서 다양한 실험 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 경우에 따라, 자동화 시스템은 약 -20, -19, -18, -17, -16, -15, -14, -13, -12, -11, -10, -9, -8, -7, -6, -5, -4, -3, -2, -1, 0, 1, 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, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 또는 100℃에서 실험 단계를 실행하도록 구성될 수 있다.

[0695] 자동화 시스템은 다양한 시간 동안 다양한 실험 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50 또는 60분 동안 실험 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10시간 동안 실험 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 경우에 따라, 자동화 시스템은 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50 또는 60분 동안 실험 단계를 실행하도록 구성될 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 최대 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10시간 동안 실험 단계를 실행하도록 구성될 수 있다.

[0696] 일부 경우에, 용출 단계는 용액 부피의 최대 약 2x로 용출하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 용출 단계는 용액 부피의 최대 약 4x로 용출하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 용출 단계는 용액 부피의 최대 약 8x로 용출하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 용출 단계는 용액 부피의 최대 약 16x로 용출하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 용출은 희석을 포함한다. 희석은 20배 이하, 10배 이하, 8배 이하, 5배 이하, 2배 이하 또는 1.5배 이하의 희석일 수 있다. 용출은 물리적 섭동, 예를 들어 가열, 조음과 처리, 진탕 또는 교반을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 용출은 입자로부터 온전한 생체분자(예를 들어, 온전한 단백질)를 방출하는 것을 포함한다.

[0697] 일부 경우에, 자동화 장치는 고체상 추출을 수행할 수 있다. 고체상 추출은 시약(예를 들어, 프로테아제), 생체 거대분자 및 초분자 생물학적 구조(예를 들어, 리보솜 및 세포벽의 일부), 및 다운스트림 분석에 적합하지 않은 종(예를 들어, 액체 크로마토그래피 컬럼과 비상용성인 분석물)로부터 분석물(예를 들어, 생체분자 코로나 단백질로부터 소화된 펩타이드)을 분리할 수 있다. 경우에 따라, 고체상 추출은 TF, iST 또는 C18을 포함하는 고체상 추출 플레이트를 사용한다. 고체상 추출은 대기압 초고에서 수행될 수 있다. 압력은 적어도 25 파운드/제곱 인치(psi), 적어도 약 50 psi, 적어도 약 100 psi, 적어도 약 200 psi, 적어도 약 300 psi, 적어도 약 400 psi, 또는 적어도 약 500 psi일 수 있다. 일부 경우에, 고체상 추출 단계는 최대 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100 psi로 고체상 추출 플레이트로부터 용출하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 고체상 추출 단계는 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 100 psi로 고체상 추출 플레이트로부터 용출하는 것을 포함할 수 있다.

[0698] 자동화 시스템은 바코드 세트를 사용하여 생물학적 샘플, 건조 조성물, 실험 단계, 기관, 기관(예를 들어, 플라스틱 제품 기관) 내의 파티션 또는 부피, 또는 시약을 확인하는 것을 포함할 수 있다. 자동화 시스템은 적어도 부분적으로 기관(예를 들어, 접시 제품) 바코드에 기초하여 기관을 전달하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 자동화 시스템은 다중 웰 플레이트의 부피에 포함된 자성 입자를 고정시키기 위해 다중 웰 플레이트를 히터로부터 자석 어레이로 전달할 수 있다. 적어도 부분적으로 건조 조성물 바코드에 기초하여 건조 조성물을 전달하도록 자동화 시스템이 구성될 수 있다. 자동화 시스템은 적어도 부분적으로 생물학적 샘플 바코드에 기초하여 생물학적 샘플을 전달하도록 구성될 수 있다. 자동화 시스템은 기관의 파티션 또는 부피 사이에서 샘플 및/또는 시약을 전달하도록 구성될 수 있다. 자동화 시스템은 적어도 부분적으로 시약 바코드에 기초하여 시약을 전달하도록 구성될 수 있다. 자동화 시스템은 적어도 부분적으로 실험 단계 바코드에 기초하여 실험 단계를 설정하도록 구성될 수 있다.

[0699] 일부 경우에, 바코드는 플라스틱 제품, 입자, 시약, 키트, 재고 관리 시스템, 자동화 시스템, 플레이트 레이아웃 또는 이들의 임의의 조합에 대한 정보를 포함할 수 있다.

[0700] 일부 경우에, 자동화 시스템은 고객 실험실 정보 관리 시스템(LIMS), 재고 관리 시스템, MS 기계, 개인용 컴퓨터, 클라우드, 인터넷 또는 이들의 임의의 조합과 통신할 수 있다.

[0701] 일부 경우에, 자동화 시스템은 바코드, 바코드 정보, 플레이트 레이아웃, 실험 로그, MS 파일, 생물학적 샘플 정보, 단백질체 또는 게놈 검정의 분석 결과 또는 이들의 임의의 조합과 통신할 수 있다.

[0702] 컴퓨터 시스템

[0703] 본 개시내용은 본 개시내용의 방법을 실행하도록 프로그래밍된 컴퓨터 시스템을 제공한다. 도 60은 예를 들어 하나 이상의 생물학적 샘플을 하나 이상의 입자와 접촉시켜 하나 이상의 생체분자 코로나를 형성하고 하나 이상의 생체분자 코로나를 단백질체 방법, 게놈 방법 또는 둘 모두에 의해 분석하도록 프로그래밍되거나 구성된 컴

퓨터 시스템(6001)을 보여준다.

- [0704] 컴퓨터 시스템(6001)은 예를 들어 하나 이상의 생물학적 샘플을 하나 이상의 입자와 접촉시켜 하나 이상의 생체 분자 코로나를 형성하고 하나 이상의 생체분자 코로나를 단백질체 방법, 계층 방법 또는 둘 모두에 의해 분석하는 것과 같은 본 개시내용의 분석, 계산 및 생성의 다양한 측면을 조절할 수 있다. 컴퓨터 시스템(6001)은 사용자의 전자 장치 또는 전자 장치에 대해 원격으로 위치한 컴퓨터 시스템일 수 있다. 전자 장치는 모바일 전자 장치일 수 있다. 전자 장치는 무선 키보드 및 마우스를 포함할 수 있다. 전자 장치는 디스플레이 마운트(예를 들어, 해밀턴 아암(Hamilton arm))를 포함할 수 있다.
- [0705] 컴퓨터 시스템(6001)은 중앙 처리 장치(CPU, 본 명세서에서 "프로세서" 및 "컴퓨터 프로세서"라고도 함)(6005)를 포함하며, 이는 단일 코어 또는 멀티 코어 프로세서 또는 병렬 처리를 위한 복수의 프로세서일 수 있다. 컴퓨터 시스템(6001)은 또한 메모리 또는 메모리 위치(6010)(예를 들어, 랜덤 액세스 메모리, 관독 전용 메모리, 플래시 메모리), 전자 저장 장치(6015)(예를 들어, 하드 디스크), 하나 이상의 다른 시스템과의 통신을 위한 통신 인터페이스(6020)(예를 들어, 네트워크 어댑터), 및 주변 장치(6025), 예를 들어 캐시, 다른 메모리, 데이터 저장 장치 및/또는 전자 디스플레이 어댑터를 포함한다. 메모리(6010), 저장 장치(6015), 인터페이스(6020) 및 주변 장치(6025)는 마더보드와 같은 통신 버스(실선)를 통해 CPU(6005)와 통신한다. 저장 장치(6015)는 데이터를 저장하는 데이터 저장 장치(또는 데이터 저장소)일 수 있다. 컴퓨터 시스템(6001)은 통신 인터페이스(6020)의 도움으로 컴퓨터 네트워크("네트워크")(6030)에 작동 가능하게 커플링될 수 있다. 네트워크(6030)는 인터넷, 인트라넷 및/또는 엑스트라넷, 또는 인터넷과 통신 중인 인트라넷 및/또는 엑스트라넷일 수 있다.
- [0706] 일부 경우에, 네트워크(6030)는 통신 및/또는 데이터 네트워크이다. 네트워크(6030)는 클라우드 컴퓨팅과 같은 분산 컴퓨팅을 가능하게 할 수 있는 하나 이상의 컴퓨터 서버를 포함할 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 생물학적 샘플을 하나 이상의 입자와 접촉시켜 하나 이상의 생체분자 코로나를 형성하고 하나 이상의 생체분자 코로나를 단백질체 방법, 계층 방법 또는 둘 모두를 사용하여 분석하는 것과 같은 본 개시내용의 분석, 계산 및 생성의 다양한 측면을 수행하기 위해, 예를 들어 하나 이상의 컴퓨터 서버가 네트워크(6030)에서 클라우드 컴퓨팅("클라우드")을 가능하게 할 수 있다. 이러한 클라우드 컴퓨팅은 예를 들어 아마존 웹 서비스(Amazon Web Services(AWS)), 마이크로소프트 애저(Microsoft Azure), 구글 클라우드 플랫폼(Google Cloud Platform) 및 IBM 클라우드와 같은 클라우드 컴퓨팅 플랫폼에 의해 제공될 수 있다. 네트워크(6030)는 일부 경우에, 컴퓨터 시스템(6001)의 도움으로 컴퓨터 시스템(6001)에 커플링된 장치가 클라이언트 또는 서버로서 작동할 수 있도록 하는 피어 투 피어(peer-to-peer) 네트워크를 실행할 수 있다.
- [0707] CPU(6005)는 하나 이상의 컴퓨터 프로세서 및/또는 하나 이상의 그래픽 처리 장치(GPU)를 포함할 수 있다. CPU(6005)는 프로그램 또는 소프트웨어로 실행될 수 있는 일련의 기계 판독 가능 명령을 실행할 수 있다. 명령어는 메모리(6010)와 같은 메모리 위치에 저장될 수 있다. 명령어는 CPU(6005)로 보내질 수 있으며, 본 개시내용의 방법을 실행하기 위해 CPU(6005)를 후속적으로 프로그래밍하거나 구성할 수 있다. CPU(6005)에 의해 수행되는 명령의 예는 페치(fetch), 디코드(decode), 실행(execute) 및 라이트백(writeback)을 포함할 수 있다.
- [0708] CPU(6005)는 집적 회로와 같은 회로의 일부일 수 있다. 시스템(6001)의 하나 이상의 다른 구성요소가 회로에 포함될 수 있다. 경우에 따라, 회로는 특정 용도용 집적 회로(ASIC)이다.
- [0709] 저장 장치(6015)는 드라이버, 라이브러리, 저장된 프로그램 등의 파일을 저장할 수 있다. 저장 장치(6015)는 사용자 데이터, 예를 들어, 사용자 선호도 및 사용자 프로그램을 저장할 수 있다. 일부 경우에, 컴퓨터 시스템(6001)은 인트라넷 또는 인터넷을 통해 컴퓨터 시스템(6001)과 통신하는 원격 서버에 위치하는 것과 같이 컴퓨터 시스템(6001) 외부에 있는 하나 이상의 추가의 데이터 저장 장치를 포함할 수 있다.
- [0710] 컴퓨터 시스템(6001)은 네트워크(6030)를 통해 하나 이상의 원격 컴퓨터 시스템과 통신할 수 있다. 예를 들어, 컴퓨터 시스템(6001)은 사용자의 원격 컴퓨터 시스템과 통신할 수 있다. 원격 컴퓨터 시스템의 예에는 개인용 컴퓨터(예를 들어, 휴대용 PC), 슬레이트 또는 태블릿 PC(예를 들어, 애플(Apple)® 아이패드(iPad), 삼성(Samsung)® 갤럭시 탭(Galaxy Tab)), 전화기, 스마트폰(예를 들어, 애플® 아이폰(iPhone), 안드로이드(Android) 지원 장치, 블랙베리(Blackberry)®) 또는 개인 정보 단말기(personal digital assistant)가 포함된다. 사용자는 네트워크(6030)를 통해 컴퓨터 시스템(6001)에 접속할 수 있다.
- [0711] 본 개시내용에서 설명되는 방법은 예를 들어 메모리(6010) 또는 전자 저장 장치(6015)와 같은 컴퓨터 시스템(6001)의 전자 저장 위치에 저장된 기계(예를 들어, 컴퓨터 프로세서) 실행 가능 코드를 통해 실행될 수 있다. 기계 실행 가능하거나 기계 판독 가능한 코드는 소프트웨어의 형태로 제공될 수 있다. 사용 동안, 코드는 프로

세서(6005)에 의해 실행될 수 있다. 일부 경우에, 코드는 저장 장치(6015)에서 검색되어 프로세서(6005)에 의한 액세스 준비를 위해 메모리(6010)에 저장될 수 있다. 일부 상황에서, 전자 저장 장치(6015)는 제외될 수 있으며, 기계 실행 가능 명령은 메모리(6010)에 저장된다.

[0712] 코드는 코드를 실행하도록 적용된 프로세서를 갖는 기계와 함께 사용하기 위해 미리 컴파일링되고 구성될 수 있거나, 런타임 동안 컴파일링될 수 있다. 코드는 프리-컴파일링된(pre-compiled) 방식 또는 애즈-컴파일링된(as-compiled) 방식으로 코드를 실행할 수 있도록 선택될 수 있는 프로그래밍 언어로 제공될 수 있다.

[0713] 컴퓨터 시스템(6001)과 같이 본 개시내용에서 제공되는 시스템 및 방법의 측면은 프로그래밍으로 구현될 수 있다. 기술의 다양한 측면은 일반적으로 기계(또는 프로세서) 실행 가능 코드 및/또는 기계 판독 가능 매체 유형에 포함되거나 구현되는 관련 데이터의 형태인 "제품" 또는 "제조품"으로 간주될 수 있다. 기계 실행 가능 코드는 메모리(예를 들어, 읽기 전용 메모리, 랜덤 액세스 메모리, 플래시 메모리) 또는 하드 디스크와 같은 전자 저장 장치에 저장될 수 있다. "저장"형 매체로는 컴퓨터의 임의의 또는 모든 유형의 메모리, 프로세서 등, 또는 그것과 관련된 모듈, 예를 들어 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, 예를 들어 유선 또는 무선 링크, 광학 링크 등을 전달하는 물리적 요소는 또한 소프트웨어를 포함하는 매체로서 여겨질 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 비-일시적 유형의 "저장" 매체로 제한되지 않는 한, 컴퓨터 또는 기계 "판독 가능한 매체"와 같은 용어는 실행을 위해 프로세서에 명령을 제공하는데 참여하는 임의의 매체를 나타낼 수 있다.

[0714] 따라서, 컴퓨터 실행 가능 코드와 같은 기계 판독 가능 매체는 유형의 저장 매체, 반송파 매체 또는 물리적 전송 매체를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 형태를 취할 수 있다. 비휘발성 저장 매체는 예를 들어 도면에 도시된 데이터베이스 등을 실행하는 데 사용될 수 있는 임의의 컴퓨터(들) 등에 있는 임의의 저장 장치와 같은 광학 또는 자기 디스크를 포함한다. 휘발성 저장 매체에는 컴퓨터 플랫폼의 메인 메모리와 같은 동적 메모리가 포함된다. 유형의 전송 매체로는 동축 케이블; 컴퓨터 시스템 내에서 버스를 포함하는 와이어를 비롯한 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 가능 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 명령어를 전송하는 반송파, 그러한 반송파를 전송하는 케이블 또는 링크, 또는 컴퓨터가 프로그래밍 코드 및/또는 데이터를 판독할 수 있는 임의의 다른 매체를 들 수 있다. 이들 형태의 컴퓨터 판독 가능한 매체 중 많은 것이 하나 이상의 시퀀스의 하나 이상의 명령을 실행을 위해 프로세서에 전송하는 데 관여할 수 있다.

[0715] 컴퓨터 시스템(6001)은 예를 들어 하나 이상의 생물학적 샘플을 하나 이상의 입자와 접촉시켜 하나 이상의 생체 분자 코로나를 형성하고 하나 이상의 생체 분자 코로나를 단백질체 방법, 계층 방법 또는 둘 모두를 사용하여 분석하기 위한 사용자 인터페이스(UI)(6040)를 포함하는 전자 디스플레이(6035)를 포함하거나 이와 통신할 수 있다. UI의 예는 그래픽 사용자 인터페이스(GUI) 및 웹 기반 사용자 인터페이스를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0716] 본 개시내용의 방법 및 시스템은 하나 이상의 알고리즘을 통해 실행될 수 있다. 알고리즘은 중앙 처리 장치(6005)에 의해 실행될 때 소프트웨어를 통해 실행될 수 있다. 알고리즘은 예를 들어 하나 이상의 생물학적 샘플을 하나 이상의 입자와 접촉시켜 하나 이상의 생체 분자 코로나를 형성하고 하나 이상의 생체 분자 코로나를 단백질체 방법, 계층 방법 또는 둘 모두를 사용하여 분석할 수 있다.

[0717] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태 "a", "an" 및 "the"는 문맥상 명백하게 달리 지시하지 않는 한, 복수 참조대상을 포함한다. 본 명세

서에서 "또는"에 대한 모든 언급은 달리 언급되지 않는 한, "및/또는"을 포함하는 것으로 의도된다.

[0718] 용어 "적어도", "보다 큰" 또는 "보다 크거나 같은"이 2 이상의 일련의 수치값에서 처음 수치값 앞에 올 때마다, 용어 "적어도", "보다 큰" 또는 "보다 크거나 같은"은 일련의 수치값 내의 각각의 수치값에 적용된다. 예를 들어, 1, 2 또는 3보다 크거나 같은은 1보다 크거나 같은, 2보다 크거나 같은 또는 3보다 크거나 같은이다.

[0719] 용어 "이하", "미만", "보다 작거나 같은" 또는 "최대"가 2 이상의 일련의 수치값에서 처음 수치값에 올 때마다, 용어 "이하", "미만", "작거나 같은" 또는 "최대"는 일련의 수치값 내의 각각의 수치값에 적용된다. 예를 들어, 3, 2 또는 1보다 작거나 같은은 3보다 작거나 같은, 2보다 작거나 같은 또는 1보다 작거나 같은이다.

[0720] 값이 범위로 기술되는 경우, 그러한 개시내용은 그 범위 내의 모든 가능한 하위 범위의 개시내용뿐만 아니라 특정 수치값 또는 특정 하위 범위가 명시적으로 언급되어 있는지의 여부와 관계없이 그 범위 내에 속하는 특정 수치값을 포함하는 것으로 이해될 것이다.

[0721] **실시예**

[0722] 다음 실시예는 설명을 위한 것이며, 본 명세서에서 설명되는 장치, 방법, 시스템 및 키트의 범위를 제한하지 않는다.

[0723] **실시예 1**

[0724] **단백질 및 핵산의 병렬 분석**

[0725] 이 실시예는 단백질 및 핵산의 병렬 분석을 설명한다. 생물학적 샘플을 얻는다. 선택적으로, 생물학적 샘플을 두 부분으로 분할한다. 샘플의 일부가 입자와 접촉한다. 입자는 샘플로부터 단백질(및 기타 생체분자)을 그의 표면에 흡착하여 생체분자 코로나를 형성한다. 입자를 샘플로부터 분리한다. 생체분자를 트립신으로 처리한다. 트립신으로 처리된 펩타이드는 질량 분광 분석법으로 분석하고, 펩타이드 종류 및 농도를 확인한다.

[0726] 이와 병행하여, 샘플의 또 다른 부분은 어댑터, 표지된 뉴클레오타이드(광학적으로 검출 가능한 표지로 표지된), 프라이머, 폴리머라제를 포함하는 시퀀싱을 위한 시약과 접촉된다. 접촉은 시퀀싱을 위해 기관 상에서 일어날 수 있다. 샘플의 핵산은 예를 들어 PCR 증폭에 의해 증폭된다. 시퀀싱을 위한 샘플 또는 기관을 이미지화하고, 샘플 내의 핵산의 서열을 결정한다.

[0727] 단백질 코로나 분석에 의해 결정된 샘플 내의 단백질의 조성 및 농도는 시퀀싱에 의해 결정된 샘플 내의 핵산의 조성 및 농도와 비교된다. 이러한 비교는 대조군 공급원(예를 들어, 건강한 생물학적 상태)으로부터의 샘플 및 알려진 실험 공급원(예를 들어, 질병 생물학적 상태)의 샘플과 상관관계가 있다. 샘플에 존재하는 단백질 및 핵산을 기반으로 샘플의 생물학적 상태를 분류하기 위해 훈련된 분류기 및 머신 러닝 알고리즘이 사용된다. 검정된 샘플의 생물학적 상태는 샘플에 존재하는 단백질(코로나 분석에 의해 결정됨) 및 샘플에 존재하는 핵산(시퀀싱에 의해 결정됨)을 기반으로 하여 결정된다.

[0728] **실시예 2**

[0729] **단백질 및 핵산의 병렬 분석**

[0730] 이 실시예는 초기 및 말기 비소세포 폐 암종(NSCLC)을 앓고 있는 대상체로부터의 샘플에 대한 프로테오게놈 분석을 설명한다. 단백질 변이체(예를 들어, 이소형)를 확인하는 것은 단백질체 분석에서 주요 과제가 될 수 있다. 종종, 단백질을 확인할 수 있는 방법은 단일 아미노산 치환과 같은 사소한 서열 변이를 확인하지 못한다.

[0731] 본 실시예에서, 엑손 기반 시퀀싱 및 단백질체 분석은 초기 및 말기 NSCLC를 앓고 있는 대상체로부터의 29개의 혈장 샘플에 대해 병렬로 수행되었다. 단백질체 분석을 위해, 혈장 샘플을 할당하고, 표 2에 표시되고 크기(동적 광 산란('DLS'))에 의해 결정됨), 다분산 지수('PDI', DLS에 의해 결정됨) 및 평균 제타 전위)가 상이한 10개의 상이한 유형의 SPION과 별개로 접촉되었다. 입자 함유 샘플을 다수회의 세척 사이클에 적용한 후, 입자에 결합된 단백질을 용출하기에 적합한 조건에 노출시켰다. 용출된 단백질을 소화하고, 질량 분광 분석을 위해 제출하여 단백질체 데이터를 생성하였다.

표 2 - NSCLC 샘플 분석에 사용된 입자

배치 No.	설명	DLS 크기 (nm)	DLS PDI	평균 제타 전위 (mV)
SP-007	폴리(디메틸 아미노프로필 메타크릴아미드) (디메틸아민) 코팅된	283	0.09	25.8
SP-047	아민-에폭시 화학에 기반한 혼합된 화학	1255	0.54	18.1
SP-064	폴리양쪽성 이온 코팅된 (폴리(N-[3-(디메틸아미노)프로필]메타크릴아미드-co-[2-(메타크릴로일옥시)에틸]디메틸-(3-설포프로필)암모늄 하이드록사이드, P(DMAPMA-co-SBMA))	302	0.25	27.7
SP-333	카르복실레이트 마이크로입자	1348	0.66	-28.5
SP-339	카르복실화 폴리스티렌	410	0.03	-31.4
SP-347	실리카 코팅된	281	0.18	-21.8
SP-365	강산성 실리카 표면	231	0.02	-39
SP-373	텍스트란-기재 코팅	169	0.07	-0.6
SP-390	올레산- 친수성 / 소수성 표면	98	0.1	-38
SP-406	붕소화 표면	491	0.45	-40.7

[0732]

[0733]

총 1189개의 단백질이 10개의 샘플에 걸쳐 확인되었다. 또한, 펩타이드 변이(단일 아미노산 치환 포함)가 각각의 샘플에서 확인되었다. 도 2a는 각각의 샘플에서 확인된 단백질 변이의 수를 요약한 것이다. 평균 약 70개의 펩타이드 변이가 29개의 혈장 샘플에서 확인되었으며, 개별 샘플에서의 수는 50개 바로 위의 수치 내지 125개 바로 아래의 수치 범위에 있다.

[0734]

도 2 패널 B는 게놈 및 단백질체 데이터를 기반으로 한 단백질 변이체 확인의 예를 제공한다. 한 샘플에서, 게놈 분석은 단백질 프리칼리크레인을 코딩하는 KLKB1 유전자에 대한 이형접합성을 확인하였다. 샘플은 KLKB1에 대한 참조 대립유전자 및 글리신에서 아르기닌으로의 치환을 코딩하는 소수 대립유전자를 포함하였으며, 이는 도 2 패널 B에 동그라미로 제시된 빨간색 아미노산으로 표시된다. 엑손 시퀀싱이 0.01%의 소수 대립유전자 빈도를 확인하였지만, 단백질체 분석은 참조 및 소수 대립유전자에 상응하는 프리칼리크레인의 형태를 확인하였고, 이것은 게놈 프로파일링을 통해 복잡한 샘플에서 단백질 변이체를 확인할 수 있음을 보여준다.

[0735]

실시예 3

[0736]

단백질 및 핵산의 병렬 분석

[0737]

본 실시예에서, 건강한 환자 및 암 환자로부터의 샘플에서 골 형성 단백질 1(BMP1) 변이체의 존재를 결정하기 위해 게놈 및 단백질체 분석이 사용되었다. 선택적 스플라이싱은 RNA 수준에서 7개의 BMP1 변이체 및 단백질 수준에서 4개의 변이체를 책임진다. 이러한 단백질 변이체 중에서, 두 개는 BMP1 단백질의 긴 형태이고, 두 개는 짧은 형태이다. 동시 게놈 및 단백질체 분석을 통해 4개의 BMP1 단백질 변이체를 80명의 건강한 환자 및 61명의 초기 비소세포암 환자에서 정량할 수 있었다.

[0738]

각각의 샘플을 입자 패널과 접촉시키고, 입자 상에 수집된 단백질을 소화하고, 생성된 펩타이드 단편을 질량 분광 분석법으로 분석함으로써 단백질체 분석을 수행하였다. 141명의 대상체로부터 얻은 혈장 샘플은 상이한 물리화학적 특성을 가진 5개의 SPIONS 패널로 조사되었다(표 3에 요약됨). 각각의 대상체의 혈장 샘플을 TE 완충제에 희석하고, 5개의 SPION 패널의 각각의 입자 2.5-15 mg/ml와 1:1로 혼합한 다음, 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하여 혈장 단백질 코로나를 형성하였다. 입자 수집 및 세척 단계 후에, 단백질 코로나는 LC-MS/MS 분석을 위해 입자에서 소화되었다.

표 3 -초기 NSCLC 및 건강한 샘플 분석에 사용된 입자

배치 No.	설명
SP-003	실리카-코팅된 초상자성 산화철 NP (SPION)
SP-006	N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 SPION
SP-007	폴리(N-(3-(디메틸아미노)프로필) 메타크릴아미드) (PDMAEMA)-코팅된 SPION
SP-333	카르복실레이트 마이크로입자
SP-339	카르복실화 폴리스티렌

[0739]

[0740]

총 7개의 펩타이드 단편이 BMP1에 대해 확인되었다. 펩타이드는 대상체로부터의 코딩 전사체로 확인된 4개의 이소형에 매핑되었고, 4개의 이소형 각각의 부분적 커버리지를 제공하였다. 도 3a는 4개의 확인된 BMP1 이소형에 대한 엑손-인트론 구조를 제공한다. 가장 긴 이소형인 BMP-202(도 3a, 상단)는 7개의 검출된 BMP1 펩타이드 단편 모두를 함유하였다. 다음으로 긴 이소형인 BMP-201(도 3a, 위에서부터 두 번째)은 7개의 단편 중 6개를 함유하였다. 2개의 더 짧은 이소형인 BMP-204 및 BMP-203(도 3a, 하단 2개의 열)은 펩타이드 단편 1 및 2만을 함유하였다. 도 3b는 건강한 및 초기 NSCLC 혈장 샘플에서 7개의 BMP1 펩타이드 단편에 대한 정규화된 질량 분광 분석 강도를 제공하며, 그 중 2개는 NSCLC에서 더 풍부하고, 5개는 건강한 대조군에서 더 풍부하다.

[0741]

이 실시예는 조합된 핵산(예를 들어, 총전사체 확인) 및 단백질(예를 들어, 펩타이드 풍부도) 분석이 조합되어 샘플에 존재하는 펩타이드 이소형을 확인하고 정량할 수 있음을 입증한다.

[0742]

실시예 4

[0743]

단백질 및 핵산의 병렬 분석

[0744]

이 실시예는 건강한 및 암 환자로부터의 샘플에서 번역후 변형의 확인을 다룬다. 번역후 변형은 단백질 활성, 신호전달 및 항상성에 주요한 변화를 줄 수 있다. 따라서, 번역후 활성을 확인하지 않고 단백질 서열을 특성화하는 기술은 생물학적 상태를 확인하는 데 필요한 중요한 정보를 놓칠 수 있다. 예를 들어, 해파린 보조인자 2의 과다발현이 암 발달에 역할을 할 수 있지만, 그의 인산화 상태도 많은 질병의 존재 및 단계를 나타낼 수 있다.

[0745]

본 실시예에서, 인산화 해파린 보조 인자 2 대 비인산화 해파린 보조 인자 2의 비는 초기 및 말기 폐암 환자, 건강한 환자 및 동반이환 대조군으로부터 수집된 14개의 샘플에 걸쳐 측정되었다. 도 4는 4가지 샘플 유형에 걸쳐 인산화된 인자 대 인산화되지 않은 인자의 비(도 4의 '변형 비')를 나타낸 것이다. 도면에서 알 수 있는 바와 같이, 해파린 보조 인자 2 인산화는 폐암 환자보다 건강한 환자에서 더 높다. 그러나, 가장 현저한 차이는 초기 폐암 환자와 말기 폐암 환자 사이에 나타나며, 말기 폐암 샘플은 수배 더 낮은 해파린 보조 인자 2 인산화를 포함한다. 이 결과는 조합된 단백질 및 번역후 변형 분석이 질병 상태 및 질병 단계 진단을 가능하게 할 수 있음을 보여준다.

[0746]

실시예 5

[0747]

입자 기반 단백질체 분석에서 펩타이드 신호 다중도

[0748]

이 실시예는 입자 기반 단백질체 분석에서 신호 다중도 및 재현성을 다룬다. 단백질체 방법의 진단 능력은 종종 표적 단백질당 얻은 신호의 수와 상관관계가 있다. 이것은 부분적으로는 이질적인 단백질 패밀리에 걸쳐 보존된 서열 모티프 때문이며, 이는 분석 동안 유사하지 않은 단백질이 유사한 신호를 생성하도록 할 수 있다. 따라서, 특정 단백질에 대해 얻은 신호의 일부만이 단백질을 확인하는 데 유용할 수 있다. 또한, 단일 단백질에 대해 얻은 신호의 수를 증가시키면, 해당 단백질에 대한 서열 커버리지의 정도를 증가시킬 수 있다. 따라서, 표적 단백질에 대해 보다 많은 신호를 생성하는 방법은 해당 단백질 내에서 서열 변이를 확인할 가능성이 더 높으며, 이질적인 환자 샘플에 걸쳐 더 높은 수준의 반복성을 제공할 수 있다.

[0749]

본 실시예는 다양한 환자 세트(예를 들어, 상이한 건강 프로파일을 가진 환자의 집단)에 걸쳐 수천 개의 단백질을 반복적으로 확인할 수 있는 프로테오믹스 검정을 제공하여, 광범위한 질병 및 병태에 대한 정확한 진단을 가능하게 한다. 건강한 및 초기 비소세포암(NSCLC) 환자 집단의 141개 혈장 샘플의 단백질 함량을 5개 입자 패널 및 질량 분광 분석법을 사용하여 개별적으로 분석하였다. 도 8a는 61명의 초기 단계 NSCLC 환자 및 80명의 건강한 환자의 대상체 분포를 요약한 것이다. 혈장 샘플을 먼저 10 mM 트리스, 1 mM 이나트륨 에틸렌디아민테트

라아세트산(EDTA), 150 mM 염화칼륨 및 0.05% 3-((3-콜라미도프로필)디메틸암모니오)-1-프로판설포네이트(CHAPS)로 이루어진 완충제 내에서 1:5로 희석하였다. 건조된 분말 형태로 제공된 5개의 입자를 포함하는 나노입자 혼합물을 초음파 처리 및 탈이온수에서의 와동에 의해 재구성하고, 희석된 혈장 샘플과 1:1(부피 대 부피)로 혼합하였다. 그 다음, 혼합물을 밀봉하고, 300 rpm 진탕 하에 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 입자를 상청액으로부터 자기적으로 분리하였다. 나노입자에 결합된 단백질을 트립신으로 소화하고, 생성된 펩타이드 단편을 LC-MS/MS에 의해 분석하였다.

[0750] 총 2499개의 단백질 그룹이 모든 대상체에 걸쳐 검출되었으며, 1992개의 단백질 그룹이 적어도 25%의 대상체에서 검출되었다. 도 8b는 연구에서 대상체의 다양한 백분율에 걸쳐 검출된 단백질 그룹의 수를 요약한 것이다. 검출된 단백질의 약 50%는 대상체 집단의 70%에 걸쳐 공통적으로 확인될 수 있는 반면, 검출된 단백질의 약 80%는 집단의 약 25%에 걸쳐 공통적으로 검출되었다. 따라서, 연구된 집단 중에서 선택된 2명의 NSCLC 환자는 1000개 초과와 확인된 단백질 그룹을 공유할 가능성이 높았다. 약 500개의 단백질(연구에서 확인된 단백질 그룹의 20%)이 모든 환자에서 공통적으로 확인되었다.

[0751] 도 9는 확인되고 각각의 확인된 단백질과 상관관계가 있는 펩타이드 단편의 수를 나타낸 것이다. 검정에서 확인된 단백질에 대해 1개에서 30개 초과와 펩타이드 범위에 이르는 가우스(Gaussian) 유사 분포가 확인되었으며, 평균 약 12개의 펩타이드 단편이 샘플에서 확인된 각각의 단백질에 대해 확인되었다. 대부분의 단백질은 10개 이하의 펩타이드에 기초하여 확인되었으며, 많은 단백질은 5개 이하의 확인된 펩타이드에 해당한다.

[0752] 이러한 결과는 샘플로부터 단백질에 대해 확인된 각각의 단백질에 대해 확인된 펩타이드의 수가 종종 통계적 분포를 따른다는 것을 나타낸다. 일부 단백질은 검정에 의해 철저히 커버되는 반면, 다른 단백질은 적은 수(예를 들어, 3개 이하)의 펩타이드에 기초하여 확인되었다. 특정 단백질 또는 단백질 그룹에 대해 확인된 펩타이드의 수는 단백질 분해에 사용되는 프로테아제, 프로테아제 또는 화학 물질과 같은 검정 방법에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 관심 있는 특정 단백질에 대해 높은 펩타이드 수를 얻기 위해 방법을 조정할 수 있다.

[0753] **실시예 6**

[0754] **입자 기반 단백질체 분석에서 펩타이드 신호 다중도**

[0755] 이 실시예는 환자 집단에 걸친 대립유전자 검출 및 빈도를 다룬다. 엑손 시퀀싱을 사용하여 29명의 대상체에 대한 개인화된 질량 분광 분석 검색 라이브러리를 생성하였다. 대상체 집단에 걸쳐 총 464개의 아미노산 변이체가 검출되었다. 이러한 변이체를 포함하는 단백질의 분석은 적어도 178개의 개별 유전자에서 추정되는 대립유전자의 특이적 존재를 시사하였다.

[0756] 도 10은 연구된 29명의 대상체에서 확인된 464개의 단백질 변이체(어두운 선, 1010)에 걸친 대체 대립유전자 빈도 수(y-축) 및 2504명의 개체의 전체 게놈 시퀀싱에 의해 확인된 10⁸개 초과와 변이체(밝은 선, 1020)에 대한 대립유전자 빈도를 제공한다. 두 데이터세트의 빈도 분포 간의 일치 정도는 현재 방법의 편향되지 않은 특성을 확인한다.

[0757] 도 11은 연구에서 확인된 464개의 대립유전자에 대한 밀도 플롯(1110) 및 대립유전자 특이적 발현을 나타내는 것으로 확인된 변이체에 대한 밀도 플롯(1120)을 제공하며, 이는 해당 유전자형을 가진 모든 대상체에서 하나 이상의 펩타이드가 참조에만 또는 대체 대립유전자에만 매핑되지만, 둘 모두에는 매핑되지 않는 경우를 나타낸다. 플롯에서 볼 수 있는 바와 같이, 대립유전자 특이적 발현은 저빈도 대립유전자에 대한 증가된 발생률을 나타내며, 이는 이러한 유전자형 특이적 대립유전자에 대한 잠재적인 기능을 시사한다.

[0758] **실시예 7**

[0759] **입자 기반 단백질체 분석에서 펩타이드 신호 다중도**

[0760] 이 실시예는 단백질 이소형 확인을 다룬다. 80명의 건강한 대상체 및 61명의 초기 단계 비소세포 폐암 대상체로부터의 혈장 샘플을 표 3에 요약된 5개 입자 패널을 사용하여 조사하였다. 간략하게 설명하면, 환자로부터의 혈장 샘플을 1 mM Na₂(EDTA), 150 mM KCl 및 0.05% CHAPS를 함유하는 10 mM 트리스 완충제에 1:5로 희석하였다. 100개의 나노입자(입자 유형당 약 2.5-15 mg/ml)를 희석된 생물학적 샘플과 1:1로 혼합하고, 밀봉하고, 300 rpm으로 진탕하면서 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 입자를 상청액으로부터 자기적으로 분리하고, 세척한 다음, 입자상 단백질 소화를 위한 트립신 처리 조건에 적용하였다. 용출된 펩타이드를 20분 LC-구배로 LC-MS/MS에 의해 분석하였다.

[0761] 141개 샘플에 걸쳐 확인된 1992개의 확인된 단백질을 여과하여 건강한 또는 초기 사례로부터의 대상체의 적어도 50%에 존재하는 단백질을 선택하고, 대조군과 암 사이에 차등 풍부도를 갖는 펩타이드를 검색하였다($p < 0.05$; 벤자민-호치버그 교정(Benjamini-Hochberg corrected)). NSCLC 관련 단백질 이소형을 확인하기 위해, 1992개의 확인된 단백질을 스크리닝하여, 건강한 혈장 풍부도가 상당히 낮은 적어도 하나의 펩타이드 및 건강한 혈장 풍부도가 상당히 높은 적어도 하나의 펩타이드(초기 NSCLC 풍부도에 비해)를 갖는 단백질을 구별하였다. 이 방법은 도 12a에 요약되어 있고, 이 도면은 LC-MS/MS 분석으로부터 7개의 검출된 펩타이드 단편을 갖는 가상의 단백질을 묘사한다. 4개의 펩타이드 단편의 혈장 농도는 건강한 및 초기 단계 NSCLC 그룹에 걸쳐 변하지 않는 반면, 3개의 펩타이드(점선 상자 안에 있고 ***로 표시됨)는 건강한 또는 초기 단계 NSCLC 샘플에서 더 널리 발견되고, 이것은 이들이 초기 단계의 NSCLC에서 발현이 강화되거나 억제되는 이소형에 속한다는 것을 시사한다.

[0762] 초기 단계 NSCLC 이소형의 차등 발현을 갖는 총 16개의 단백질(표 4에 요약됨)이 확인되었다. 도 12b는 공개 표적 폐 암종 연관성 점수에 의해 단백질 적중(hit)을 순위화한다. 단백질 중 7개(표 4 '높음')는 0.3 초과와 공개 표적 점수를 가지며, 따라서 폐 암종과의 연관성이 알려진 반면, 단백질 중 9개는 0.1 미만의 낮은 공개 표적 점수를 가지며, 이는 폐 암종과의 알려진 연관성이 거의 또는 전혀 없음을 나타낸다. 이들 9개의 단백질(표 4 '낮음')은 차등 이소형 분석을 통해 발견된 새로운 폐 암종 바이오마커를 구성한다.

표 4 - 차등 NSCLC 이소형 풍부도를 갖는 단백질

단백질	약어	연관된 공개 표적 폐 암종 점수
아포지단백질 B	APOB	0.80
Ras-관련 단백질 Rap-1b	RAP1B	0.77
빈쿨린	VCL	0.76
탈린-1	TLN1	0.76
필라민-A	FLNA	0.75
골 형성 단백질 1	BMP1	0.36
콜라겐 알파-3(VI) 사슬	COL6A3	0.36
프로테오글리칸 4	PRG4	0.05
락테이트 데하이드로게나제 B	LDHB	0.03
레티쿨론 4	RTN4	0.03
페르미틴 패밀리 구성원 3	FERMT3	0.02
하이드록시아실-CoA 데하이드로게나제 삼중기능성 다효소 복합체 서브유닛 알파	HADHA	0.01
트롬보스폰딘-3	THBS3	0.01
인터-알파-트립신 억제제 중쇄 1	ITIH1	-
보체 C4-A	C4A	-
보체 C1r	C1R	-

[0763]

[0764] 도 12c는 인간 혈장 단백질체 프로젝트로부터의 농도를 사용하여 알려진 혈장 단백질 풍부도에 의해 16개의 확인된 NSCLC 단백질을 풀링한 것이다. 확인된 16개의 단백질 중 15개는 알려진 혈장 풍부도를 가지고 있으며, 인간 혈장 농도의 대략 5 자릿수에 걸쳐있고, 보체 C4-A(POCOL4) 및 아포지단백질 B(APOB)는 거의 100 $\mu\text{g/ml}$ 로 가장 높은 농도를 나타내고, 골 형성 단백질 1은 약 1 ng/ml 의 가장 낮은 농도를 갖는다(혈장 농도가 알부민보다 7 자릿수 초과로 더 낮음). 따라서, 본 개시내용의 방법은 생물학적 샘플로부터의 희귀 단백질에 대해서도 단백질 이소형을 구별할 수 있다. 본 실시예는 또한 이들 방법이 총 단백질 발현 수준에 상관없이 차등 이소형 발현에 기초하여 바이오마커를 확인하는데 사용될 수 있음을 입증한다.

[0765] 실시예 8

[0766] 입자 기반 단백질체 분석에서 펩타이드 신호 다중도

[0767] 이 실시예는 단일 샘플 수준에서 단백질 변이체 검출을 설명한다. 단백질체 데이터의 복잡성은 단일 단백질의 변이체 형태와 같은 유사한 종을 구별할 때 그의 유용성을 제한할 수 있다. 따라서, 데이터 의존적 획득 질량 분광 분석(DDA-MS: Data-dependent Acquisition Mass Spectrometry)과 같은 많은 고처리량 기술은 종종 복잡한 샘플 분석에 적합하지 않은 것으로 간주된다. 입자 기반 샘플 분획과 핵산 분석을 조합하면, 여러 각도에서 상기 문제를 해결하여 이러한 노력에서 데이터와 데이터 분석을 모두 단순화할 수 있다.

- [0768] 건강한 환자, 동반이환 환자, 초기 단계 비소세포 폐암(NSCLC) 환자 및 말기 비소세포 폐암 환자로부터의 혈장 샘플의 조합된 단백질 및 핵산 분석으로 464개의 펩타이드 변이체가 밝혀졌다. 4명의 건강한 환자, 11명의 동반이환 환자, 5명의 초기 NSCLC 환자 및 9명의 말기 NSCLC 환자로부터 샘플을 얻었다. 각각의 대상체로부터의 혈장 샘플을 입자 패널(예를 들어, 실시예 7에 요약된 바와 같은 표 3의 5-입자 패널)로 분류하고, DDA-MS로 조사하였다. 번역된 환자 게놈으로부터 생성된 환자 특이적 단백질체 라이브러리는 DDA-MS 데이터로부터 유도된 펩타이드 변이체 확인을 가이드하였다.
- [0769] 도 13은 29명의 대상체 각각에서 확인된 단백질 변이체의 총 수를 요약한 것이다. 이 도면에서, 각각의 막대는 단일 대상체에서 검출된 단백질 변이체의 수를 나타낸다. 총 464개의 펩타이드 변이체가 대상체 집단 전체에서 확인되었으며, 변이체의 수는 대상체당 약 50개 내지 약 150개 범위였다. 464개의 변이체는 표 4에 요약된 16개의 폐암 관련 후보 단백질 중 7개, 즉 APOB, COL6A3, FERMT3, FLNA, ITIH1, PRG4, 및 TLN1에 매핑되었다.
- [0770] 도 14는 7개의 폐암 관련 후보 단백질에 대해 각각의 대상체에서 확인된 변이체 단백질의 수를 제공한다. 각각의 막대는 주어진 폐암 관련 후보 단백질에 대해 단일 대상체에서 확인된 변이체의 수를 나타낸다. 그 결과는 조합된 핵산 및 생체분자 코로나 분석이 인구 규모(population-scale) 단백질체 연구에 충분한 규모로 혈장에 존재하는 단백질 변이체 및 펩타이드를 확인할 수 있는 편향되지 않은 심층 혈장 단백질체 프로파일을 생성할 수 있음을 보여준다.
- [0771] **실시예 9**
- [0772] **동결건조된 비드의 형성**
- [0773] 이 실시예는 입자를 포함하는 제제의 동결건조된 비드로의 동결건조를 설명한다. 입자 및 부형제를 포함하는 제제의 고정 부피 액적을 액체 질소에서 급속 동결시킨 후, 동결건조하였다. 제제 내의 입자 농도는 18.75 mg/mL 내지 75 mg/mL 범위이었다. 액적의 부피는 30 μ L 내지 40 μ L 범위이었다. 액적의 부피는 제제에 대해 유해한 영향을 미치지 않으면서 2 μ L만큼 낮거나 60 μ L만큼 높게 변경될 수 있다. 수크로스, d-만니톨, 트레할로스 및 이들의 조합을 포함하는 다양한 부형제가 사용되었다. 부형제의 농도는 약 100 mg/mL 내지 160 mg/mL 범위이었다. 75 mg/mL의 입자 농도 및 40 μ L의 액적 부피는 액적당 약 3 mg의 입자에 상응한다. 입자의 농도는 제제에 대해 유해한 영향을 미치지 않으면서 18.75 mg/mL 미만으로 또는 75 mg/mL 초과로 변경될 수 있다. 동결건조된 비드는 향후 사용을 위해 건조제와 함께 PCR 스트라이프에 개별적으로 포장되었다. 적절한 수의 비드를 튜브에 사전 로딩할 수 있다.
- [0774] 안정성을 평가하기 위해 동결건조된 비드에 대해 실험을 수행하였다. 도 54a-54b는 로트 S-003-121에 대한 입자 크기 및 입자 평균 제타 전위의 안정성에 대한 실험적 측정치를 보여준다. 동결건조된 비드의 하위 세트는 동결건조 후 최대 12일 동안 37°C에서 유지되었고, 동결건조된 비드의 다른 하위 세트는 동결건조 후 최대 12일 동안 60°C에서 유지되었다. 1일, 2일, 5일, 6일 및 12일 후에, 입자를 물에서 재구성하고, 동적 광산란(DLS)으로 직경을 측정하고, 맬버른 제타사이저(Malvern ZetaSizer) NanoZS로 평균 제타 전위를 측정하였다. 도 55 및 도 56은 다음과 같은 다양한 제제에 대한 크기 측정 및 평균 제타 전위 측정을 각각 보여준다: S-118-103, S-118-104, S-118-109, S-128-064, S-128-066, S-229-055, S-229-056, 및 S-229-057. 로트 번호 및 상응하는 제제는 아래 제시된 표 5에 나열되어 있다.

표 5. 동결건조된 제제

로트	도핑 공급물 완충제 / 계면활성제	부형제	NP 농도 mg/mL	NP mg/mL, 제제	uL/ 비드	mg NP / 비드
S-003-111		수크로스	40	30	30	0.900
S-003-111		d-만니톨	40	30	30	0.900
S-003-111		트레할로스	40	30	30	0.900
S-007-020		수크로스	33.8	25.35	30	0.761
S-007-020		d-만니톨	33.8	25.35	30	0.761
S-007-020		트레할로스	33.8	25.35	30	0.761
S-106-039		수크로스	40	30	30	0.900
S-106-039		d-만니톨	40	30	30	0.900
S-106-039		트레할로스	40	30	30	0.900
S-006-020		수크로스	40	30	30	0.900
S-006-020		d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-020		트레할로스	40	30	30	0.900
S-006-019		d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-016		d-만니톨	40	30	30	0.900
P-073-010		d-만니톨	25	18.75	30	0.563
S-118-023		d-만니톨	40	30	30	0.900
S-118-024		d-만니톨	40	30	30	0.900
S-145-018		d-만니톨	40	30	30	0.900
S-145-019		d-만니톨	40	30	30	0.900

[0775]

로트	도핑 공급물 완충제 / 계면활성제	부형제	NP 농도 mg/mL	NP mg/mL, 제제	uL/ 비드	mg NP / 비드
S-106-092		d-만니톨	40	30	30	0.900
S-106-102		d-만니톨	40	30	30	0.900
S-010-022		d-만니톨	40	30	30	0.900
S-010-023		d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-028	대조군 (아세트레이트 미함유)	d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-028	80mM 아세트레이트 pH3.6	d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-028	40mM 아세트레이트 pH3.6	d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-028	20mM 아세트레이트 pH3.6	d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-023	40mM 아세트레이트 pH3.6	d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-028	50mM HCl pH NA	d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-028	40mM 아세트레이트 pH3.6, 이어서 3xDIwash	d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-028	50mM HCl, 3xDIwash	d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-024	40mM	d-만니톨	40	30	30	0.900

[0776]

로트	도핑 공급물 완충제 / 계면활성제	부형제	NP 농도 mg/mL	NP mg/mL, 제제	uL/ 비드	mg NP / 비드
	아세트레이트 pH3.6					
S-006-025	40mM 아세트레이트 pH3.6	d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-028	0.01% CTAB	d-만니톨	40	30	30	0.900
S-006-025	20mM 아세트레이트 pH3.6	d-만니톨	40	30	30	0.900
S-128-008		d-만니톨	42	31.5	30	0.945
S-128-009		d-만니톨	44	33	30	0.990
S-240-001		d-만니톨	42	31.5	30	0.945
S-229-002		d-만니톨	38	28.5	30	0.855
S-118-061		d-만니톨	32	24	30	0.720
P-073-011		d-만니톨	25	18.75	30	0.563
P-039-010		d-만니톨	25	18.75	30	0.563
S-003-121		d-만니톨	99	74.25	40	2.970
S-006-032	40mM 아세트레이트 pH 3.6	d-만니톨	99	74.25	40	2.970
S-007-032		d-만니톨	104	78	40	3.120
S-118-069		d-만니톨	50	37.5	40	1.500
S-118-069		수크로스	50	37.5	40	1.500
S-118-069		d-만니톨	100	75	40	3.000
S-118-069		수크로스	100	75	40	3.000
S-128-055		d-만니톨	50	37.5	40	1.500
S-128-055		트레할로스	50	37.5	40	1.500

[0777]

로트	도핑 공급물 완충제 / 계면활성제	부형제	NP 농도 mg/mL	NP mg/mL, 제제	uL/ 비드	mg NP / 비드
S-128-055		d-만니톨	100	75	40	3.000
S-128-055		트레할로스	100	75	40	3.000
S-229-052		d-만니톨	50	37.5	40	1.500
S-229-052		트레할로스	50	37.5	40	1.500
S-229-052		d-만니톨	100	75	40	3.000
S-229-052		트레할로스	100	75	40	3.000
S-118-103		수크로스	100	75	40	3.000
S-118-104		수크로스	100	75	40	3.000
S-118-109		수크로스	100	75	40	3.000
S-128-064		트레할로스	100	75	40	3.000
S-128-065		트레할로스	100	75	40	3.000
S-128-066		트레할로스	100	75	40	3.000
S-229-055		d-만니톨	100	75	40	3.000
S-229-056		d-만니톨	100	75	40	3.000
S-229-057		d-만니톨	100	75	40	3.000

[0778]

[0779]

동결건조된 비드의 하위 세트를 재구성하고, 단백질 그룹 수 및 펩타이드 수를 측정하기 위해 이를 사용하여 검정을 수행하였다. 도 57은 4가지 상이한 조건에 대한 결과를 보여준다. 표준 패널의 경우, 입자의 액체 패널을 표준 농도에서 사용하였다. 조건 12의 경우, 동결건조된 비드를 40 μ L의 물과 조합하여 각각의 입자에 대한 나노입자 농도를 생성한 다음, 40 μ L의 혈장과 접촉시켰다. 액체 Lyo 대조군의 경우, 동결건조된 비드를 생성하는 데 사용된 동일한 조성의 액체 물질(즉, 동결건조되지 않음)을 40 μ L의 혈장과 접촉시켰다. 조건 4에서는 물을 첨가하지 않고 동결건조된 건조 비드에 혈장 40 μ L를 직접 첨가하였다. 각각의 MS 분석은 표준 MS 주입 농도(4 μ L 완충제에 약 500 ng 펩타이드)를 일치시키면서 수행되었다. 실험 결과는 다양한 조건에서 일관성을 보여준다. 액체 Lyo 대상체 및 조건 12(재구성에 사용되는 동결건조된 비드)는 표준 패널과 통계적으로 동등하게 수행하였다. 조건 4(재구성 없는 동결건조된 비드, 혈장과 직접 접촉)는 표준 패널과 통계적으로 동등한 수의 펩타이드 그룹을 검출하지만, 표준 패널에 비해 보다 많은 펩타이드(통계적 유의성, $n = 10$)를 또한 검출한다.

[0780]

실시예 10

[0781]

자동화 시스템

[0782]

이 실시예는 프로테오믹스 방법을 위한 자동화 시스템(기기)의 사용을 설명한다. 도 34는 다양한 소모성 물질(예를 들어, 나노입자 제제, 용매, 시약 등)을 제공하고, 검정을 수행하기 위해 자동화 시스템을 사용하고, 검정 결과를 생성하기 위해 질량 분광 분석계를 사용한 후, 결과를 분석하고 결과를 사용자에게 표시하기 위해 데이터 분석 소프트웨어를 사용하는 것을 포함하는 파이프라인을 보여준다.

[0783]

다음은 기계 실행 가능 코드를 포함하는 컴퓨터 판독 가능 매체를 포함하는 자동화 시스템에서 실행되는 예시적인 방법을 설명한다. (1) 사용자(즉, 조작자)는 샘플(예를 들어, 냉동 샘플의 해동), 시약(예를 들어, 희석의 시약) 및 입자(예를 들어, 동결건조된 비드의 재구성)를 준비한다. 준비된 샘플, 시약 및 입자를 자동화 시스템에 로딩한다. 그런 다음, 자동화 시스템은 이 시점부터 다음을 포함한 실험 단계를 자동으로 수행한다: (2) 5분 이내에 실행되는 장치 초기화(새시, MPE², Hamilton Heater Shaker(HHS), Inheco CPAC), (3) 5분 이내에 실행되는 검정 플레이트에 대한 샘플의 피펫팅, (4) 15분 이내에 실행되는 검정 플레이트에 대한 입자의 피펫팅, (5) 60분 이내에 실행되는 37°C에서의 인큐베이션, (6) 30분 이내에 실행되는 검정 플레이트의 세척, (7) 10분 이내에 실행되는 검정 플레이트에 대한 용해, 환원 및 알킬화 완충제 용액의 첨가, (8) 10분 이내에 HHS에서 실행되는 95°C에서의 인큐베이션, (9) 20분 이내에 실행되는 실온에서 검정 플레이트의 냉각, (10) 8분 이내에 실행되는 트립신/LysC 효소의 첨가, (11) 180분 이내에 실행되는 HHS를 사용한 37°C에서의 인큐베이션, (12) 3분 이내에 실행되는 정지 용액의 첨가, (13) 5분 이내에 실행되는 입자의 풀 다운(pull down), (14) 8분 이내에 실행되는

행되는 MPE²에서 SPE 플레이트를 사용한 샘플의 처리, (15) 8분 이내에 실행되는 MPE²에서 SPE 플레이트를 사용하여 Wash A로 샘플의 처리, (16) 8분 이내에 실행되는 MPE²에서 SPE 플레이트를 사용하여 Wash B-1로 샘플의 처리, (17) 8분 이내에 실행되는 MPE²에서 SPE 플레이트를 사용하여 Wash B-2로 샘플의 처리, 및 (18) 5분 이내에 실행되는 MPE²에서 SPE 플레이트를 사용한 샘플의 용출. (19) 사용자는 실험 종료 후에 자동화 시스템을 정리할 수 있다. 총 실험 시간은 약 7시간이다.

[0784] 이전에 설명한 일련의 실험 단계는 추가의 단계를 포함할 수 있고, 일부 단계를 제외할 수 있거나, 각각의 단계에서 변형을 가질 수 있다. 도 40은 변형된 자동화 시스템에서 실행될 수 있는 방법의 예를 도시한 것이다. 이러한 변형은 사용자가 어떤 변형이 사용될지 선택할 수 있도록 실행될 수 있다. 예를 들어, 사용자가 샘플(예를 들어, 원래 부피의 최대 20배까지 혈장 샘플)을 희석하거나, 검정을 위해 상이한 부피(예를 들어, 40 μ L에서 100 μ L 중 임의의 부피)를 선택하거나, 샘플을 특정 온도(예를 들어, 실온 또는 4℃)로 해동하거나, 나노입자를 단일 수용하거나 다중 수용하거나(예를 들어, 파티션당 2, 3, 4, 5 또는 임의의 수의 나노입자), 또는 샘플에 대한 간접 단계(예를 들어, 용혈/지질 농축)를 수행한다. 일부 경우에, 단백질 이외의 다른 생체분자의 배경은 입자의 물리화학적 특성에 따라 단백질을 코로나를 변경할 수 있다. 일부 경우에, 생체분자의 배경이 또한 생체분자 코로나의 일부를 형성할 수도 있다. 일부 경우에, 간접 단계는 상이한 농도에서 특정 생체분자(예를 들어, 지질)의 상이한 농도를 적정하는 것을 포함할 수 있다.

[0785] 임의의 인큐베이션 단계에 변형이 있을 수 있으며, 여기서 인큐베이션 시간은 다양할 수 있고(예를 들어, 5분 또는 밤새), 인큐베이션되는 용액의 pH는 다양할 수 있고(예를 들어, pH 3.8, 5.0 또는 7.4), 인큐베이션되는 용액의 이온강도는 다양할 수 있으며(예를 들어, 0, 50 또는 150 mM), 인큐베이션되는 용액이 진탕되는 속도는 다양할 수 있다(예를 들어, 0, 150, 또는 300 RPM).

[0786] 임의의 세척 단계에는 변형이 있을 수 있으며, 여기서 용액의 구성 성분 중 일부 또는 전부는 재현탁되거나 재현탁되지 않을 수 있다. 예를 들어, 자성 입자를 포획하기 위해 자기장을 인가함으로써 용액의 구성 성분 중 일부 또는 전부를 분리할 수 있다.

[0787] 용해, 환원 또는 알킬화 단계에는 변형이 있을 수 있으며, 단계적 변성이 발생할 수 있다. 용액의 온도는 다양할 수 있다(예를 들어, 50℃ 또는 95℃). 예를 들어, 다양한 시간 동안(예를 들어, 3시간 또는 밤새) 다양한 농도(표준량의 트립신의 1X, 2X 농도)에서 트립신을 사용함으로써 단백질 또는 펩타이드가 소화되는 단계가 있을 수 있다. 경우에 따라, 트립신의 표준량은 단백질의 질량에 비해 약 1/10 내지 약 1/100의 트립신 질량일 수 있다. 단백질 또는 펩타이드는 예를 들어 트립신/LysC를 사용하여 단계적 방식으로 소화될 수 있다.

[0788] 용출 단계에 변형이 있을 수 있다. 용출 부피는 다양할 수 있으며(예를 들어, 75, 150 또는 300 μ L), 깨끗한 건조 공기(CDA) 또는 질소를 다양한 압력(0 내지 50 psi 중 임의의 값)에서 공급할 수 있으며, 상이한 유형의 고체상 추출(SPE) 플레이트를 사용할 수 있다(예를 들어, Thermal Fisher SPE 플레이트, iST, C18 또는 기타 기관).

[0789] 도 38은 자동화 시스템과 함께 사용될 수 있는 플레이트 레이아웃을 보여준다. 검정 플레이트는 2개의 열로 구성되어 있으며, 각각의 열은 샘플당 5개의 나노입자에 상응하고, 대조군을 위한 추가의 열이 존재한다. 검정 플레이트는 8개의 행으로 구성되며, 각각의 행은 샘플로 채워질 수 있다. 도 39는 자동화 시스템을 위한 데크 레이아웃을 보여준다. 데크는 많은 모듈로 구성되어 있으며, 각각의 모듈은 특정 기능을 제공하거나 수행한다. 상이한 모듈의 목록 및 해당 설명은 아래 표 6에 나열되어 있다.

[0790] 일부 경우에, 자동화 시스템은 제어 실험을 실행하도록 구성될 수 있다. 도 41은 일부 파티션이 대조군 실험을 수행하도록 지정된 플레이트의 레이아웃을 보여준다. 본 개시내용에서 설명되는 방법 중 일부는 여러 개의 개별 단계를 포함하기 때문에, 대조군 실험은 단계 또는 단계의 그룹의 성공/실패를 나타내도록 설계될 수 있다. 대조군 실험은 공정 대조군 실험(PC3 + S-003, AC로 표시됨), 소화 대조군 실험(PC3 (1:5 희석), DC로 표시됨), MPE² 대조군 실험(펩타이드 믹스, CC로 표시됨), 및 질량 분광 분석 대조군 실험(펩타이드 믹스, MC로 표시됨)을 포함할 수 있다. 이러한 대조군 실험은 도 40에 도시된 바와 같이 실험의 특정 단계에서 또는 특정 단계 사이에서 실행되도록 구성될 수 있다. MPE²는 필터 플레이트에 정압을 가하기 위해 사용될 수 있는 자동화 시스템의 구성 요소일 수 있다. 경우에 따라, MPE²는 모니터링되는 다중 유동 정압 증발 추출 모듈(Monitored Multi-Flow Positive Pressure Evaporative Extraction module)(Hamilton)을 참조할 수 있다.

표 6. 자동화 시스템용 모듈

번호	설명	번호	설명
1	CO-RE 96 프로브 헤드	15	플레이트 캐리어 위치
2	MPE ² 필터	16	플레이트 캐리어 위치
3	자석 위치	17	다중-프로브 헤드 (MPH)용 NTR(Nested Tip Rack) 스택 모듈
4	HHS	18	MPH 용 NTR 스택 모듈
5	자석 위치	19	MPH 용 NTR 스택 모듈
6	나노입자 & 혈장 샘플 튜브	20	MPH 용 NTR 스택 모듈
7	플레이트-스택 모듈	21	MPH 용 NTR 스택 모듈
8	TE 완충제 저장소	22	채널용 NTR 스택 모듈
9	습윤 시약 (100% 메탄올) 저장소	23	채널용 NTR 스택 모듈
10	컨디션 시약 (H ₂ O)	24	Inheco 냉각 플레이트 공기 냉각 (CPAC)
11	플레이트 스택 모듈	25	팁 폐기물
12	NTR 모듈	26	압축된 O-링 팽창 (CO-RE) 패들
13	리드 파크(Lid Park) 위치	27	자동 로딩
14	리드 파크 위치	28	STARlet 새시

[0791]

[0792]

일부 경우에, 자동화 시스템은 한 번에 8 내지 16개의 샘플을 실행하도록 구성될 수 있다. 생물학적 샘플(즉, 생체유체) 내의 생체분자는 샘플당 5가지 접근 방식으로 측정할 수 있다. 혈장, 세포 추출물 및 용해물을 포함한 여러 생체유체에서 측정을 수행할 수 있다. 측정은 자동으로 수행될 수 있으며, 검출을 위해 액체 크로마토그래피(LC) 또는 MS에 펩타이드를 주입할 준비가 된 상태에서 7-8시간 내에 완료될 수 있다. 편향되지 않은 측정을 통해 LC/MS 시간을 줄일 수 있으며, 이러한 측정은 예를 들어 다음과 같은 LC/MS 검출기 또는 접근 방식에 구애받지 않을 수 있다: Sciex 6600+에서 DIA SWATH(데이터 독립적 획득) 접근 방식을 사용한 분획당 30분 이하의 기울기 길이(샘플 대 샘플), 및/또는 써모 오비트랩 루모스(Thermo Orbitrap Lumos)에서 1시간 이하의 기울기 길이 DDA(데이터 의존적 획득) 접근 방식. DIA SWATH(데이터 독립적 획득) 및 DDA(데이터 의존적 획득)는 MS 용 모드이며, 펩타이드가 분석되는 방식 및 단백질이 MS 미가공 데이터를 기반으로 컴퓨터에 의해 재구성되는 방식이 다르다. 손상되지 않은 단백질에 대해 측정을 수행할 수 있기 때문에, 측정은 실험 데이터에서 단백질-단백질 상호 작용을 나타낼 수 있다.

[0793]

일부 경우에, 자동화 시스템은 5개의 나노입자 조사를 통해 최대 16개의 샘플을 수용할 수 있는 96웰 플레이트를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 필요한 샘플 부피는 240 μ L 또는 40 μ L보다 작거나 같을 수 있다. 경우에 따라, 시약은 4°C에서 9개월 초과 동안 또는 실온에서 6개월 초과 동안 안정성을 유지하면서 보관할 수 있다. 일부 경우에, 검정은 7시간 이내에 실행될 수 있다. 경우에 따라, MS 실험 실행 시간은 120분 이내일 수 있다. 경우에 따라, MS 실험은 ScanningSWATH로 실행할 수 있다. 경우에 따라, ScanningSWATH는 몇 분까지 짧은 기울기에 대한 신속한 MS 획득 모드를 지칭할 수 있다. 경우에 따라, ScanningSWATH는 스캐닝 사중극자를 사용하는 신속한 MS 획득 모드를 지칭할 수 있다. 경우에 따라, ScanningSWATH는 Sciex timTOF 신속 IMS-IMS를 사용할 수 있고, 이것은 이온 이동성 분리를 포함할 수 있으며 전하/쌍극자 및 형상 특성을 기반으로 한 이온의 사전 분리를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 자동화 시스템은 클라우드 기반 컴퓨팅 시스템에 통합될 수 있는 시각화(예를 들어, 그룹 분석, PCA) 도구 또는 품질 관리 도구를 포함하는 분석 도구를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 자동화 시스템에서 실행되는 단백질 검출 방법은 얇은 혈장 방법보다 5배 우월성(즉, 검출된 단백질 그룹 수의 우월성)을, 고갈 혈장 방법보다 3배 우월성을 나타낼 수 있다. 경우에 따라, 자동화 시스템에서 실행되는 단백질 검출 방법은 공개된 데이터세트에 비해 5% 향상된 정밀도(낮은 CV)를 가질 수 있다(예를 들어, 문헌 [Geyer et al. *Mol. Syst. Biol.* **13**, 942 (2017)] 참조).

[0794] 자동화 시스템으로 검정 통과율을 측정하기 위한 연구를 수행하였다. 도 41에 도시된 기관을 사용하여 400개 생물학적 샘플의 세트에 대해 실험을 수행하였다. 각각의 생물학적 샘플을 별도의 웰(총 2000개의 웰)에서 5개의 입자 조성물과 접촉시켰다.

[0795] 도 42는 3개의 자동화 시스템의 실험 결과를 보여준다. 3개의 자동화 시스템 각각에 대해 동일한 세트의 실험이 수행되었으며, 그 결과는 동일하였다. 펩타이드 그룹의 수 및 펩타이드의 수는 통계적으로 동등하였다(n=10). 데이터베이스 강도에 의해 순위가 매겨진 혈장 단백질의 함수로서 혈장의 깊이는 각각의 자동화 시스템에 대해 거의 동일한 결과를 생성하였다.

[0796] 도 43은 여러 플레이트에서 두 개의 상이한 자동화 시스템(시스템-1 및 시스템-2)으로 수행된 대조군 실험 세트(즉, 공정 대조군, 소화 대조군, MPE² 대조군 및 질량 분광 분석 대조군)의 결과를 보여준다. 웰 통과율/수율은 허용 가능한 수의 펩타이드가 검출된 웰의 총 수를 기준으로 계산하였다. 검정 통과율/수율은 입자 조성물이 상이한 5개 웰 모두에 대해 허용 가능한 수의 펩타이드가 검출된 생물학적 샘플의 총 수를 기준으로 계산되었다. 실험의 약 99.9%(웰 통과율/수율, 즉, 웰에 의해 계산된 백분율) 및 실험의 약 99.5%(검정 통과율/수율, 즉, 샘플에 의해 계산된 백분율)가 성공적으로 수행되었으며, 시스템-1과 시스템-2 사이의 결과는 거의 동일하였다. 작은 백분율의 성공하지 못한(즉, 이상치) 실험에서 실패의 근본 원인은 해당 사례에서 시약 캐리어 위치 때문인 것으로 확인되었다.

[0797] 도 44는 자동화 시스템으로 NSCLC 연구로부터의 샘플로 수행된 실험의 결과를 보여준다. 상이한 질병 등급, 부위 및 특성에 걸친 14개의 샘플이 있었다. 샘플에 대한 실험은 자동화 시스템으로 처리된 플레이트를 사용하여 ThermoFischer(TF) Lumos MS(DDA)에서 실행되었다. 1810개의 단백질 그룹이 14개의 샘플 중 25%에서 관찰(확인)되었으며, 2334개의 총 단백질 그룹이 14개의 샘플 중 임의의 샘플에 걸쳐 존재하였다. 2334개의 단백질 그룹은 소화된 순수 혈장 기준선에서 발견된 양보다 6.1x 더 많았다. 혈장 단백을 사용하여 수행한 실험은 나노입자 패널을 사용하여 수행한 실험보다 더 적은 수의 단백질 그룹을 일관되게 검출하였다. 샘플에 따라, 나노입자 패널을 이용한 실험은 혈장 단백을 사용하여 수행한 실험보다 2.74배 내지 6.65배 더 많은 수준까지 검출하였다. 아래 표 7에는 각각의 샘플 및 그에 대한 설명이 나열되어 있다.

표 7. NSCLC 연구를 위한 샘플 설명

샘플 명칭	설명	샘플 명칭	설명
021-0004	NSCLC_초기	001-0044	건강한
PC3-미니풀	30 명의 건강한 개체로부터의 혈장 풀	007-0025	NSCLC_초기
008-0014	동반이환	009-0006	건강한
020-0091	건강한	005-0032	NSCLC_초기
022-0016	NSCLC_후기	14-LC-풀	NSCLC 연구에 사용된 14 개의 샘플로부터의 풀
002-0081	동반이환	023-0003	NSCLC_후기
014-0066	건강한	029-0005	NSCLC_초기
008-0009	동반이환	018-0004	NSCLC_후기

[0798]

[0799] 실시예 11

[0800] 데이터 아키텍처

[0801] 도 45 및 도 46은 플랫폼을 관리하기 위한 데이터 아키텍처를 개략적으로 도시한 것이다. 데이터 아키텍처는 사용자가 본 개시내용에서 개시되는 플랫폼의 플레이트를 사용하는 자동화 시스템 및 다양한 기기(MS 기기 포함)에 의해 생성된 데이터를 여러 플랫폼의 데이터와 통합할 수 있도록 한다. 통합된 데이터는 도 45에 도시된 바와 같이 데이터 아키텍처에 자동으로 로딩되고, 여기서 컴퓨팅 장치, 플랫폼 및 기기(예를 들어, MS) 사이에 적

절한 정보를 전달하기 위해 데이터를 저장하고 조작한다.

[0802] 데이터 아키텍처는 바코드를 사용하여 실험 프로세스 및 데이터 관리 프로세스를 용이하게 한다. 데이터 아키텍처는 생물학적 샘플을 포함하는 키트(4501)로부터 바코드(4502)를 수신하며, 이는 키트 내의 샘플을 사용하여 실험할 때 따라야 하는 특정 방법에 관한 정보를 전달한다. 바코드(4502)는 실험 결과를 분석할 때 수행할 특정 분석을 전달한다. 바코드(4502)는 플레이트 레이아웃(4506) 정보를 고객 실험실 정보 시스템(LIMS, 4508)으로 전달한다. 바코드(4502)는 물질이 사용될 재고 관리 시스템(4503)에 정보를 전달한다.

[0803] 데이터 아키텍처는 본 개시내용에서 개시되는 방법 중 일부를 수행하기 위해 다양한 기기 및 시스템을 조정한다. 메타데이터(예를 들어, 키트 수령 일자, 수령한 사람, 및 실험 로그 파일) 및 출력 데이터(예를 들어, 실험 결과)는 시스템 및 장치(예를 들어, 단백질 분석 플랫폼(4504), MS(4509), 개인용 컴퓨터(4512), 고객 LIMS(4508))와 적절한 채널을 통해 통신한다. 데이터 아키텍처는 디지털 통신 채널을 통해 실험 및 분석을 조정할 수 있다. 질량 분광 분석(4509) 결과(4510)를 클라우드(4513)로 전달할 수 있다. 데이터 아키텍처는 사용자가 여러 기기(4504)로부터의 데이터를 본 개시내용의 플라스틱 제품을 실행함으로써 생성된 데이터와 통합할 수 있도록 한다. 실험 결과, 이력, 및 기타 메타데이터를 포함하는 로그 파일(4505)은 클라우드(4513)로 전송된다. 실험 결과는 클라우드(4513)에서 분석되어, 고객 LIMS(4508)와 통신하는 게놈 또는 단백질체 정보(4511)를 생성한다.

[0804] 또 다른 예에서, 도 46에 도시된 바와 같이, 키트(4601)의 바코드는 플라스틱 제품(4602), 나노입자(4603), 시약(4604), 키트(4605)와 같은 다양한 물품과 연관되어 있다. 바코드는 재고 관리 시스템(4606)을 통해 이들 물품의 재고를 추적하는 데 사용할 수 있다. 바코드는 또한 본 개시내용에서 개시되는 임의의 다양한 방법의 품질 관리 및/또는 문제 해결에 사용될 수 있다. 분석을 조정하기 위해 바코드는 자동화 시스템(4607)과 통신할 수 있다.

[0805] 자동화 시스템(4607)은 또한 고객 LIMS(4612)로부터 샘플 바코드(4614)를 수신하고, 플레이트 레이아웃(4611)을 고객 LIMS로 전달한다. 자동화 시스템은 또한 로그 시스템이 로그 파일을 저장(4610)하는 인터넷(4609)에 로그 파일(실험 이력, 결과 등을 캡처할 수 있음)을 전달한다. 고객 LIMS(4613)는 고객 LIMS(4613)로 다시 수신되는 데이터를 생성하기 위해 실험 정보를 LC-MS 기계(4613)로 전달할 수 있다. 고객 LIMS는 MS 파일(4616), MS 파일 명칭 및 플레이트 레이아웃(4615)을 클라우드(4618)로 전달한다. 고객 LIMS는 또한 샘플 정보(4617)를 클라우드(4618)로 전달한다.

[0806] **실시예 12**

[0807] **분석 및 GUI**

[0808] 이 실시예는 분석 방법을 수행하거나 그 결과를 표시하기 위한 다양한 분석 방법 및 그래픽 요소를 설명한다.

[0809] 도 47은 사용자가 상호 작용할 수 있는 버튼 세트를 포함하는 그래픽 사용자 인터페이스(GUI)를 도시한 것이다. 도 47에 도시된 바와 같은 GUI는 노트북, 스마트폰 또는 자동화 시스템에 설치된 컴퓨터를 통해 액세스할 수 있다.

[0810] 도 48 및 도 49는 본 개시내용에서 설명되는 바와 같이 파이프라인에 통합될 수 있는 다양한 분석 도구를 예시한 것이다. 분석 도구는 실험 목록(예를 들어, 사용된 샘플, 샘플 부피, 사용된 입자, 기기, MS 프로토콜에 대한 열)을 나열하기 위한 데이터 화면(4801), 특정 샘플 및 조건에 대해 2개의 입자에 대한 단백질 그룹 수 및 펩타이드 강도 분포를 보여주는 플롯(4802), 상이한 조건 및 조건의 하위 세트에서 발견된 단백질 그룹의 중첩을 보여주는 업셋 플롯(4803), 참조 풍부도에 대해 매핑된 발견된 단백질 플롯(4804), 상이한 조건 하에서 2개의 입자에 대해 펩타이드의 양에 대한 결과를 보여주는 플롯(4805), 제어 모니터(4901) 및 클러스터링 알고리즘 및 시각화(4902)를 포함한다. 경우에 따라, 분석 도구는 GUI에 하나 이상의 그래픽 요소를 표시할 수 있다. 일부 경우에, 분석 도구는 번역후 변형, 서열 변이체, 차등 엑손, 단백질-단백질 상호작용 또는 이들의 임의의 조합을 분석하기 위한 도구를 포함할 수 있다.

[0811] **실시예 13**

[0812] **미가공 질량 분광 분석 데이터로부터 생체분자 풍부도의 결정**

[0813] 질량 분광 분석 신호 강도는 종종 분석물 구조, 샘플 조건 및 방법(예를 들어, 이온화 방법, 크로마토그래피 구배의 길이)을 포함하는 다수의 인자에 의존한다. 따라서, 단일 샘플로부터 유래된 두 가지 분석물(예를 들어, 단일 단백질의 단편)은 종종 "비행 가능성(flyability)"이라고 하는 현상인 상이한 질량 분광 분석 신호 강도를

생성할 수 있다. 이 내재된 신호 변동은 종종 신호 강도 비교 및 분석물 풍부도 결정을 시간 및 리소스 집약적 스파이크-인(spike-in), 교정 시리즈 또는 태깅 실험 없이는 실현 불가능하게 만든다.

[0814] 이 실시예는 여러 샘플에 걸쳐 신호 강도를 비교하여 비행 가능성 값을 결정한 다음, 이러한 비행 가능성 값을 사용하여 샘플 내의 생체분자에 대한 절대 풍부도를 결정하는 방법을 제공한다. 앞의 실시예는 두 가지 생체분자(예를 들어, 두 가지 단백질 변이체)에 관한 것이지만, 이 방법은 생체분자가 (1) 공통 신호를 공유하고 (2) 각각 고유한 신호를 포함(즉, 다른 종으로부터의 신호와 겹치지 않음)하는 한, 임의의 수의 생체분자로 확장될 수 있다. 예를 들어, 이 방법은 공통 신호를 공유하고 각각 고유한 신호를 갖는 6개 시알산의 풍부도를 결정하는 데 사용될 수 있다. 또한, 이 방법은 공통 서열을 공유하는 단백질의 다중 이소형 또는 클래스를 포함하는 대립유전자와 같은 생체분자 그룹으로 확장될 수 있다.

[0815] 이 실시예에서, 대립유전자 ' A_{ref} ' 및 대립유전자 ' A_{alt} '와 공통의 이형접합성 대립유전자 ' A '를 공유하는 3명의 개체는 질량 분광 분석을 위해 혈장 샘플을 제공한다. 두 대립유전자는 공통 신호를 공유하고, 각각 고유한 신호를 가진다. 각각의 신호의 비행 가능성이 선형이라고 가정하면, 각각의 대립유전자(A_{alt} 및 A_{ref})의 풍부도 및 이형접합성 대립유전자 A 의 총 풍부도는 비행 가능성과 관련 신호 강도의 곱으로서 표현될 수 있다. 예를 들어, A_{alt} 가 펩타이드 P_1 및 P_2 에 해당하는 신호 S_1 및 S_2 와 연관되고 A_{ref} 가 펩타이드 P_1 및 P_3 에 해당하는 신호 S_1 및 S_3 와 연관되는 경우, A_{alt} 의 풍부도는 S_2 강도와 P_2 비행 가능성의 곱으로서 표현될 수 있고, A_{ref} 의 풍부도는 S_3 강도와 P_3 비행 가능성의 곱으로서 표현될 수 있고, A_{alt} 와 A_{ref} 의 조합 풍부도(이형접합성 대립유전자 A 의 총 풍부도)는 S_1 강도와 P_1 비행 가능성의 곱으로서 표현될 수 있다.

[0816] 비행 가능성은 3개의 샘플에 걸쳐 일정하다고 가정할 수 있다. 따라서, A_{alt} , A_{ref} 및 A 와 관련된 신호의 강도가 3개의 샘플 간에 상이한 경우, 각각의 신호에 대한 비행 가능성 값이 고유하게 결정될 수 있다. A , A_{alt} 및 A_{ref} 의 풍부도는 비행 가능성과 신호 강도의 곱이므로 A , A_{alt} 및 A_{ref} 의 풍부도는 추가의 샘플 조작 또는 보정 데이터 없이 질량 분광 분석 데이터만으로 결정할 수 있다.

[0817] **실시예 14**

[0818] **입자를 사용한 심층적이고 광범위한 단백질체 커버리지**

[0819] 생물학적 샘플(예를 들어, 혈장) 내의 단백질은 넓은 농도 범위 또는 동적 범위를 포함할 수 있다. 고품부도 단백질의 양이 감소한 샘플(예를 들어, 고갈된 혈장)에서도, 단백질을 심층적으로(고품부도 단백질과 저품부도 단백질 둘 모두) 광범위하게(특정 단백질에 대한 선택 편향을 최소화하면서 매우 다양한 단백질을 검출) 검출하는 것이 과제가 될 수 있다. 이 실시예는 단백질체에 대한 심층적이고 광범위한 커버리지를 제공하는 입자 기반 단백질체 검정의 능력을 보여준다.

[0820] 도 21은 MS 강도, 본 개시내용의 나노입자를 사용하지 않고 고갈된 혈장에서 검출된 MS 강도, 본 개시내용의 5개 나노입자의 패널을 사용하여 고갈된 혈장에서 검출된 복합(예를 들어, 조합된) MS 강도 및 각각 본 개시내용의 5개의 나노입자 중 하나를 사용하여 고갈된 혈장에서 검출된 5개의 독립적인 MS 강도의 데이터베이스에 대한 플롯을 보여준다. NSCLC를 앓고 있는 141명의 대상체로부터의 혈장 샘플을 이 연구에 사용하였다. 단백질은 데이터베이스에서 MS 강도의 순위에 따라 정렬되었다. 단백질이 샘플의 적어도 25%에 존재하는 경우 단백질을 플로팅하였다. 복합 플롯에서, 색상 강도는 5개의 개별 나노입자에서 가장 높은 검출 값을 나타낸다. 복합 플롯은 나노입자가 이용 가능한 혈장 단백질의 전체 스펙트럼을 보다 완벽하게 검출했음을 보여준다. 한편, 각각의 개별 나노입자는 또한 고갈된 혈장의 직접 MS 분석보다 더 많은 단백질을 검출하였다. 개별 나노입자는 혈장 단백질체의 거의 전체 범위를 검정할 수 있었다. 일부 경우에, 나노입자의 패널은 단백질체의 전체 범위 또는 단백질체의 특정 부분을 커버하도록 최적화될 수 있다. 나노입자를 사용하는 고갈된 혈장에 대한 MS 실험은 덜 풍부한 단백질을 검출하고/하거나, 단백질체를 보다 완벽하게 검출할 수 있다.

[0821] **실시예 15**

[0822] **대상체 샘플에 걸친 대립유전자 분포**

[0823] 이 실시예는 질량 분광 분석법을 사용한 변이체 단백질 검출을 다룬다. 질량 분광 분석 생체분자 코로나 분석은 아래 표 8에 요약된 10개 입자 패널을 사용하여 개별 대상체의 29개 샘플에 대해 수행되었다. 총 464개의 펩타이드 변이체가 29명의 대상체로부터의 개인화된 질량 분광 분석 검색 라이브러리를 사용하여 검출되었다. 이어

서, 464개의 펩타이드 변이체 내에서 포획된 유전적 변이체는 변이체가 이형접합성인지 동형접합성인지(참조 또는 대체 대립유전자에 대해)에 기초하여 분류되었다.

표 8-엑솜 검색 라이브러리 안내 분석을 위한 입자 패널

배치 No.	설명
S-003	실리카-코팅된 초상자성 산화철 NP (SPION)
S-006	N-(3-트리메톡시실릴프로필)디에틸렌트리아민 코팅된 SPION
S-007	폴리(N-(3-(디메틸아미노)프로필) 메타크릴아미드) (PDMAAPMA)-코팅된 SPION
S-010	카르복실레이트, PAA 코팅된 SPION
P-033	카르복실레이트 마이크로입자, 계면활성제 미함유
P-039	폴리스티렌 카르복실 기능화
P-047	실리카
P-053	아미노 표면 마이크로입자, 0.4-0.6 μm
P-065	실리카
P-073	텍스트란 기재 코팅, 0.13 μm

[0824]

[0825]

도 61은 참조(각각의 플롯의 오른쪽 막대, 'ref') 또는 대체(각각의 플롯의 왼쪽 막대, 'alt') 대립유전자 변이체에 해당하는 이형접합성(각각의 플롯의 중앙 막대, 'het') 및 동형접합성 대립유전자에 해당하는 검출된 유전적 변이의 수를 요약한 것이다. 각각의 플롯은 고유한 샘플에 해당하며, 플롯은 집합적으로 29개의 샘플 각각을 포함한다. 플롯에서 알 수 있는 바와 같이, 조합된 계층 및 단백질체 검출 방법은 동형접합성 및 이형접합성 대립유전자 발현을 관찰하고 구별할 수 있었다. 대부분의 샘플은 동형접합성 대립유전자보다 이형접합성 대립유전자가 더 풍부하게 나타났다.

[0826]

도 62 패널 A는 29개 샘플에 걸쳐 관찰된 464개 펩타이드에 대한, gnomAD 인간 참조 계층 컨소시엄에 기초한 대체 대립유전자 빈도의 히스토그램을 제공한다. 도 62 패널 B는 10% 증분에 걸친 빈도로 그룹화된 대체 대립유전자 빈도를 요약한 것이다. 대부분의 대체 대립유전자는 빈도에 따라 적절하게 주석을 달지만, 관찰된 펩타이드 중 89개는 '참조' 대립유전자 빈도보다 '대체' 대립유전자 빈도가 더 높은 대립유전자에 해당하였다. 변이체를 공통성에 의해 계층화하는 것을 목표로, 도 63은 0.1보다 큰 상대 빈도를 갖는 주요 형태(각각의 플롯의 중앙 열, '>') 및 0.1 이하의 상대 빈도를 갖는 소수 형태(각각의 플롯에서 가장 왼쪽 열, ('<='))로서 동형접합성 대립유전자를 재주석함으로써 이러한 불일치를 수정한다. 이들 플롯에서 알 수 있는 바와 같이, 엑솜 서열 안내 단백질체 분석은 저빈도 및 고빈도 동형접합성 대립유전자를 구분하였다.

[0827]

도 64는 0.01 미만의 대체 대립유전자 빈도를 갖는 검출된 단일 아미노산 다형성 변이체를 요약한 것이다. 도 64a는 5개의 검출된 변이체를 나열하는 표를 제공하는데, 여기서 열 2는 검출된 돌연변이를 제공하고, 열 3은 변이체가 검출된 대상체의 수를 나타내고, 열 4는 각각의 변이에 대한 유전자 명칭을 제공한다. 도 64 b-f는 29개의 샘플에서 '참조'(상단) 및 '대체'(하단) 형태의 상대적인 수를 제공한다. 도 64g-k는 29개 샘플에서 '참조'(오른쪽) 및 '대체'(왼쪽) 변이체 형태에 대한 상대 질량 분광 분석 강도를 제공한다. 이 플롯에서 알 수 있는 바와 같이, 대립유전자 풍부도는 변이체 형태에 따라 상이할 수 있다. 예를 들어, SERPINA1(도 64c 및 h에 제시된 데이터)에 대해, 대립유전자의 '대체' 형태는 대립유전자 발현이 검출된 샘플에서 '참조' 형태보다 거의 1 자릿수 더 풍부하다. 이와 반대로, APOB(도 64e 및 j에 제시된 데이터)의 경우, '참조' 형태는 대립유전자 발현이 검출된 샘플에서 '대체' 형태보다 약 1 자릿수 더 큰 풍부도를 갖는다.

[0828]

도 65a-b는 29개 샘플에서 검출된 이형접합성 대립유전자 사이의 중첩을 나타낸다. 도 65a는 개수별로 정렬된 펩타이드의 세트를 제공한다. 플롯에서 알 수 있는 바와 같이, 높은 수 그룹의 대부분은 단일 샘플에 해당하며, 이는 각각의 샘플에 대해 고유한 이형접합성 대립유전자가 검출되었음을 나타낸다. 도 65b는 중첩 정도에 의해 순위가 매겨진 펩타이드의 세트를 제공한다. 이 플롯에서 볼 수 있는 바와 같이, 29개 샘플 중 7개 초과 샘플에서 두 개의 펩타이드의 세트가 검출되지 않았다.

[0829]

도 66a-b는 0.5 미만의 대체 대립유전자 빈도를 갖는 변이체 펩타이드에 대한, 29개 샘플에 걸쳐 검출된 동형접합성 대립유전자 사이의 중첩을 나타낸다. 도 67a-b는 0.5보다 큰 대체 대립유전자 빈도를 갖는 변이체 펩타이드에 대한, 29개 샘플에 걸쳐 검출된 동형접합성 대립유전자 사이의 중첩을 나타낸다. 플롯에서 알 수 있는 바와 같이, 많은 변이체 펩타이드는 각각의 대상체에게 고유한 반면, 소수의 변이체 펩타이드는 많은 대상체에 걸쳐 공유된다.

- [0830] 본 개시내용의 바람직한 실시양태가 여기에서 제시되고 설명되었지만, 그러한 실시양태는 단지 예로서 제공된다는 것이 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 이제 본 개시내용을 벗어나지 않고 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 수많은 변형, 변경 및 대체가 가능할 것이다. 본 명세서에서 설명되는 본 개시내용의 실시양태에 대한 다양한 대안이 본 개시내용을 실시하는데 사용될 수 있음을 이해하여야 한다. 하기 청구범위는 본 개시내용의 범위를 정의하고 이들 청구범위 및 그의 균등물 내의 방법 및 구조를 포함하도록 의도된다.
- [0831] **번호가 매겨진 실시양태**
- [0832] 여기에서 고려되는 실시양태는 실시양태 1 내지 390을 포함한다.
- [0833] 실시양태 1. 대상체로부터의 생물학적 샘플을 분석하는 방법으로서, (a) 상기 생물학적 샘플에서 단백질을 확인하여 상기 생물학적 샘플의 단백질체 정보를 얻기 위해 상기 대상체로부터의 상기 생물학적 샘플을 검정하는 단계; (b) 상기 생물학적 샘플의 유전자형 정보를 확인하기 위해 상기 생물학적 샘플로부터의 핵산 분자를 분석하는 단계; 및 (c) 상기 단백질체 정보 및 상기 유전자형 정보에 기초하여 대상체의 펩타이드 변이체 또는 게놈 변이체를 확인하는 단계를 포함하며, 상기 펩타이드 변이체 또는 상기 게놈 변이체는 각각 (a) 또는 (b)에서는 확인할 수 없는 것인 방법.
- [0834] 실시양태 2. 실시양태 1에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 전혈, 혈장, 연막층, 혈청, 소변, 뇌척수액, 활액, 눈물, 타액, 전혈, 유즙, 유두 흡인액, 바늘 흡인액, 유관 세척액, 질액, 비강액, 귀액, 위액, 췌장액, 섬유주액, 폐 세척액, 땀, 열구액, 정액, 전립선액, 가래, 분변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체, 기관지 흡인물, 유도화된 고형물, 미세 바늘 흡인 샘플, 조직 균질물, 림프액, 세포 배양 샘플 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0835] 실시양태 3. 실시양태 1 또는 2에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 혈장 또는 혈청을 포함하는 것인 방법.
- [0836] 실시양태 4. 실시양태 1 내지 3 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 5000개 초과 단백질 유형을 포함하는 것인 방법.
- [0837] 실시양태 5. 실시양태 1 내지 4 중 어느 한 실시양태에 있어서, (a)가 상기 생물학적 샘플을 상기 생물학적 샘플에서 상기 복수의 단백질을 확인하는 검정에 적용하는 단계를 포함하는 것인 방법.
- [0838] 실시양태 6. 실시양태 1 내지 5 중 어느 한 실시양태에 있어서, (a)가 상기 단백질을 상기 생물학적 샘플로부터 상기 입자로 흡착시키기에 충분한 조건 하에서 상기 생물학적 샘플을 입자와 접촉시키는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0839] 실시양태 7. 실시양태 6에 있어서, 상기 단백질이 상기 입자에 대한 압축된 동적 범위를 포함하는 것인 방법.
- [0840] 실시양태 8. 실시양태 6 또는 7에 있어서, 상기 입자에 흡착된 상기 단백질이 상기 생물학적 샘플에서의 풍부도보다 더 낮은 풍부도를 갖는 하나 이상의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0841] 실시양태 9. 실시양태 6 내지 8 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 입자의 제곱밀리미터(mm²) 표면적당 적어도 10⁻⁹ 밀리그램(mg)의 상기 단백질이 흡착되는 것인 방법.
- [0842] 실시양태 10. 실시양태 6 내지 9 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 입자가 상이한 물리화학적 특성을 갖는 복수의 입자를 포함하는 것인 방법.
- [0843] 실시양태 11. 실시양태 10에 있어서, 상기 상이한 물리화학적 특성이 크기, 형상, 표면 작용화, 코어 물질, 밀도, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0844] 실시양태 12. 실시양태 10 또는 11에 있어서, 상기 복수의 입자 중 제1 입자에 의해 흡착된 상기 복수의 단백질 중 단백질의 제1 하위 세트가 상기 복수의 입자 중 제2 입자에 의해 흡착된 상기 복수의 단백질 중 단백질의 제2 하위 세트와 공통인 단백질 유형의 최대 80%를 포함하는 것인 방법.
- [0845] 실시양태 13. 실시양태 1 내지 12 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 5가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0846] 실시양태 14. 실시양태 1 내지 13 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 200가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0847] 실시양태 15. 실시양태 1 내지 14 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 500가지 유형의 단백질

을 포함하는 것인 방법.

- [0848] 실시양태 16. 실시양태 1 내지 15 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 1000가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0849] 실시양태 17. 실시양태 1 내지 16 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 2000가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0850] 실시양태 18. 실시양태 1 내지 17 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 5000가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0851] 실시양태 19. 실시양태 1 내지 13 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 5 내지 1000가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0852] 실시양태 20. 실시양태 1 내지 13 및 19 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 20 내지 200가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0853] 실시양태 21. 실시양태 1 내지 20 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 상기 생물학적 샘플 내의 상기 단백질 유형의 적어도 2%를 포함하는 것인 방법.
- [0854] 실시양태 22. 실시양태 1 내지 20 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 상기 생물학적 샘플 내의 상기 단백질 유형의 0.2% 내지 2%를 포함하는 것인 방법.
- [0855] 실시양태 23. 실시양태 1 내지 22 중 어느 한 실시양태에 있어서, (a)가 상기 생물학적 샘플에서 상기 단백질의 풍부도를 확인하는 단계를 포함하는 것인 방법.
- [0856] 실시양태 24. 실시양태 1 내지 23 중 어느 한 실시양태에 있어서, (c)가 상기 단백질체 정보 및 상기 유전자형 정보에 기초하여 상기 단백질의 스플라이싱 변이체, 입체 형태, 번역후 변형, 보조인자 회합 또는 기질 회합을 확인하는 단계를 포함하는 것인 방법.
- [0857] 실시양태 25. 실시양태 1 내지 24 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 상기 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 4 자릿수에 걸쳐있는 것인 방법.
- [0858] 실시양태 26. 실시양태 1 내지 25 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 유전자형 정보를 확인하기 위해 상기 핵산 분자의 서열을 얻는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [0859] 실시양태 27. 실시양태 26에 있어서, 상기 서열을 수득하는 단계가 형광 제자리 혼성화(FISH), 어레이-비교 게놈 혼성화(어레이-CGH), 정량적 형광 PCR(QF-PCR), 나노포어 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0860] 실시양태 28. 실시양태 1 내지 27 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 핵산 분자가 무세포 테옥시리보핵산(cfDNA), 무세포 리보핵산(cfrNA) 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0861] 실시양태 29. 실시양태 28에 있어서, 상기 무세포 테옥시리보핵산(cfDNA)이 게놈 DNA, 미토콘드리아 DNA(mtDNA), 순환 종양 DNA(ctDNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0862] 실시양태 30. 실시양태 28 또는 29에 있어서, (b)가 상기 핵산 분자를 게놈 DNA, 미토콘드리아 DNA(mtDNA), 순환 종양 DNA(ctDNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것으로서 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0863] 실시양태 31. 실시양태 30에 있어서, (b)가 상기 ctDNA의 세포 유형, 암 유형, 암 병기, 또는 이들의 임의의 조합을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0864] 실시양태 32. 실시양태 31에 있어서, (c)의 상기 확인이 상기 ctDNA의 상기 세포 유형, 상기 암 유형 또는 상기 암 병기를 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0865] 실시양태 33. 실시양태 28에 있어서, 상기 무세포 리보핵산(cfrNA)이 메신저 RNA(mRNA), 긴 비코딩 RNA, 텔로머라제 RNA, Piwi-상호작용 RNA, 리보솜 RNA(rRNA), 작은 핵 RNA(snRNA), 작은 간섭 RNA(siRNA), YRNA, 마이크로 RNA(miRNA), 원형 RNA, 작은 핵 RNA(snRNA), 위유전자 RNA, 운반 RNA(tRNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0866] 실시양태 34. 실시양태 33에 있어서, (b)가 상기 핵산 분자를 메신저 RNA(mRNA), 긴 비코딩 RNA, 텔로머라제 RNA, Piwi-상호작용 RNA, 리보솜 RNA(rRNA), 작은 핵 RNA(snRNA), 작은 간섭 RNA(siRNA), YRNA, 마이크로

RNA(miRNA), 원형 RNA, 작은 핵 RNA(snRNA), 위유전자 RNA, 운반 RNA(tRNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것으로서 확인하는 것인 방법.

- [0867] 실시양태 35. 실시양태 1 내지 34 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 핵산 분자가 엑소솜, 아포토시스체, 종양 세포, 건강한 세포, 비르토솜, 세포외 막 소포, 호중구 세포의 트랩(NET), 또는 이들의 임의의 조합으로부터 유래되는 것인 방법.
- [0868] 실시양태 36. 실시양태 35에 있어서, (b)가 상기 핵산 분자를 엑소솜, 아포토시스체, 병에 걸린 세포, 건강한 세포, 비르토솜, 세포외 막 소포, 호중구 세포의 트랩(NET), 또는 이들의 임의의 조합으로부터 유래되었음을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0869] 실시양태 37. 실시양태 36에 있어서, (b)가 상기 샘플이 유래된 유기체에서 건강한 세포 또는 병에 걸린 세포의 아포토시스의 비율 또는 발생률을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0870] 실시양태 38. 실시양태 36 또는 37에 있어서, (b)가 상기 건강한 세포 또는 상기 병에 걸린 세포의 풍부도를 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0871] 실시양태 39. 실시양태 36 내지 38 중 어느 한 실시양태에 있어서, (b)가 상기 건강한 세포 또는 상기 병에 걸린 세포의 세포 유형을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0872] 실시양태 40. 실시양태 39에 있어서, 상기 세포 유형과 연관되거나 상기 세포 유형으로부터 유래된 단백질의 하위 세트를 확인하는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0873] 실시양태 41. 실시양태 40에 있어서, 상기 (c)의 확인 단계가 상기 세포 유형과 연관되거나 상기 세포 유형으로부터 유래된 단백질의 상기 하위 세트를 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0874] 실시양태 42. 실시양태 1 내지 41 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질의 화학적 변형을 확인하는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0875] 실시양태 43. 실시양태 42에 있어서, 상기 펩타이드 변이체 또는 상기 게놈 변이체가 상기 화학적 변형을 포함하는 것인 방법.
- [0876] 실시양태 44. 실시양태 42 또는 43에 있어서, 적어도 부분적으로 상기 화학적 변형에 기초하여 상기 샘플의 생물학적 상태를 확인하는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.
- [0877] 실시양태 45. 실시양태 1 내지 44 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 핵산 분자를 분석하는 단계가 상기 유전자형 정보를 확인하기 위해 서열 판독을 획득하고 상기 서열 판독을 참조 서열에 대해 정렬하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0878] 실시양태 46. 실시양태 1 내지 45 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 핵산 분자를 분석하는 단계가 상기 핵산 분자의 화학적 변형을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0879] 실시양태 47. 실시양태 46에 있어서, 상기 펩타이드 변이체 또는 상기 게놈 변이체를 확인하는 단계가 상기 핵산 분자의 상기 화학적 변형을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0880] 실시양태 48. 실시양태 46 또는 47에 있어서, 적어도 부분적으로 상기 화학적 변형에 기초하여 상기 기원 세포의 생물학적 상태를 확인하는 것을 추가로 포함하는 방법.
- [0881] 실시양태 49. 실시양태 1 내지 48 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 단백질체 정보 및 상기 유전자형 정보에 기초하여 생물학적 상태를 가질 확률을 결정하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [0882] 실시양태 50. 실시양태 1 내지 49 중 어느 한 실시양태에 있어서, (b)가 상기 핵산 분자를 상기 생물학적 샘플의 상기 유전자형 정보를 확인하는 분석에 적용하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0883] 실시양태 51. 대상체로부터의 생물학적 샘플을 분석하기 위한 방법으로서, (a) 핵산 분자가 유래되는 세포 유형을 확인하기 위해 상기 대상체로부터의 상기 생물학적 샘플 내의 상기 핵산 분자를 분석하는 단계; 및 (b) 상기 세포 유형과 관련된 상기 생물학적 샘플 내의 복수의 단백질에 대한 단백질 풍부도를 정량하는 단계를 포함하는 방법.
- [0884] 실시양태 52. 실시양태 51에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 전혈, 혈장, 연막층, 혈청, 소변, 뇌척수액, 활액, 눈물, 타액, 전혈, 유즙, 유두 흡인액, 바늘 흡인액, 유관 세척액, 질액, 비강액, 귀액, 위액, 체장액, 섬유주

액, 폐 세척액, 땀, 열구액, 정액, 전립선액, 가래, 분변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체, 기관지 흡인물, 유동화된 고형물, 미세 바늘 흡인 샘플, 조직 균질물, 림프액, 세포 배양 샘플 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.

- [0885] 실시양태 53. 실시양태 51 또는 52에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 혈장 또는 혈청을 포함하는 것인 방법.
- [0886] 실시양태 54. 실시양태 51 내지 53 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 1000개 초과 단백질 유형을 포함하는 것인 방법.
- [0887] 실시양태 55. 실시양태 51 내지 54 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 유전자형 정보를 확인하기 위해 상기 핵산 분자의 서열을 얻는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [0888] 실시양태 56. 실시양태 55에 있어서, 상기 서열을 얻는 상기 단계가 형광 제자리 혼성화(FISH), 어레이-비교 게놈 혼성화(어레이-CGH), 정량적 형광 PCR(QF-PCR), 나노포어 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0889] 실시양태 57. 실시양태 50 내지 56 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 핵산 분자를 분석하는 상기 단계가 상기 핵산 분자의 화학적 변형을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0890] 실시양태 58. 실시양태 57에 있어서, 상기 화학적 변형이 메틸화, 탈메틸화, 아민화, 탈아민화, 아세틸화, 산화, 산소화, 환원, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0891] 실시양태 59. 실시양태 57 또는 58에 있어서, 상기 핵산 분자가 유래되는 상기 세포 유형을 확인하는 상기 단계가 적어도 부분적으로 상기 화학적 변형의 확인에 기초하는 것인 방법.
- [0892] 실시양태 60. 실시양태 51 내지 59 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 분석 단계가 상기 핵산 분자의 비정규 핵염기를 확인하는 것인 방법.
- [0893] 실시양태 61. 실시양태 60에 있어서, 상기 비정규 핵염기가 하이포크산틴, 크산틴, 7-메틸구아닌, 5,6-디하이드로우라실, 5-메틸시토신, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0894] 실시양태 62. 실시양태 60 또는 61에 있어서, 상기 핵산 분자가 유래되는 상기 세포 유형을 확인하는 상기 단계가 적어도 부분적으로 상기 비정규 핵염기의 상기 확인에 기초하는 것인 방법.
- [0895] 실시양태 63. 실시양태 51 내지 62 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 분석단계가 상기 핵산 분자의 전사후 변형을 확인하는 것인 방법.
- [0896] 실시양태 64. 실시양태 63에 있어서, 상기 전사후 변형이 5' 캐핑, 3' 절단, 3' 폴리아데닐화, 스플라이싱 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0897] 실시양태 65. 실시양태 63 또는 64에 있어서, 상기 핵산 분자가 유래되는 상기 세포 유형을 확인하는 상기 단계가 적어도 부분적으로 상기 전사후 변형의 상기 확인에 기초하는 것인 방법.
- [0898] 실시양태 66. 실시양태 51 내지 65 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 분석 단계가 상기 핵산의 번역되지 않은 영역을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0899] 실시양태 67. 실시양태 66에 있어서, 상기 핵산 분자가 유래되는 상기 세포 유형을 확인하는 단계가 적어도 부분적으로 상기 번역되지 않는 영역의 상기 확인에 기초하는 것인 방법.
- [0900] 실시양태 68. 실시양태 61 내지 67 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질 풍부도를 정량하는 단계가 상기 생물학적 샘플을 입자와 접촉시켜 상기 복수의 단백질을 포함하는 상기 입자 상에 생체분자 코로나를 형성하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0901] 실시양태 69. 실시양태 68에 있어서, 상기 복수의 단백질이 상기 생체분자 코로나 내에 압축된 동적 범위를 포함하는 것인 방법.
- [0902] 실시양태 70. 실시양태 68 또는 69에 있어서, 상기 생체분자 코로나가 상기 생물학적 샘플의 풍부도보다 감소된 풍부도를 갖는 하나 이상의 고풍부도 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0903] 실시양태 71. 실시양태 68 내지 70 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생체분자 코로나가 상기 입자의 mm^2 표면적당 적어도 10^{-9} mg의 상기 복수의 단백질을 포함하는 것인 방법.

- [0904] 실시양태 72. 실시양태 68 내지 71 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 입자가 상이한 물리화학적 특성을 포함하는 복수의 입자를 포함하는 것인 방법.
- [0905] 실시양태 73. 실시양태 72에 있어서, 상기 상이한 물리화학적 특성이 크기, 형상, 표면 작용화, 코어 물질, 밀도, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0906] 실시양태 74. 실시양태 72 또는 73에 있어서, 상기 복수의 입자 중 제1 입자에 의해 흡착된 상기 복수의 단백질 중 단백질의 제1 하위 세트가 상기 복수의 입자 중 제2 입자에 의해 흡착된 상기 복수의 단백질 중 단백질의 제2 하위 세트와 공통인 단백질 유형의 최대 80%를 포함하는 것인 방법.
- [0907] 실시양태 75. 실시양태 51 내지 74 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 단백질이 적어도 5가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0908] 실시양태 76. 실시양태 51 내지 75 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 단백질이 적어도 200가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0909] 실시양태 77. 실시양태 51 내지 76 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 단백질이 적어도 500가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0910] 실시양태 78. 실시양태 1 내지 75 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 단백질이 5 내지 1000가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0911] 실시양태 79. 실시양태 1 내지 75 및 78 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 20 내지 200가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0912] 실시양태 80. 실시양태 51 내지 79 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 단백질이 상기 생물학적 샘플 내의 상기 단백질 유형의 적어도 2%를 포함하는 것인 방법.
- [0913] 실시양태 81. 실시양태 51 내지 79 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 단백질이 상기 생물학적 샘플 내의 상기 유형의 단백질의 0.2% 내지 2%를 포함하는 것인 방법.
- [0914] 실시양태 82. 실시양태 51 내지 81 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 단백질의 상기 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 4 자릿수에 걸쳐있는 것인 방법.
- [0915] 실시양태 83. 실시양태 51 내지 82 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질 풍부도를 정량하는 상기 단계가 상기 복수의 단백질의 스플라이싱 변이체, 입체 형태, 번역후 변형, 보조인자 회합 또는 기질 회합을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0916] 실시양태 84. 실시양태 83에 있어서, 상기 단백질 풍부도를 정량하는 상기 단계가 상대적인 스플라이싱 변이체 풍부도를 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0917] 실시양태 85. 실시양태 51 내지 84 중 어느 한 실시양태에 있어서, 적어도 부분적으로 상기 단백질 풍부도에 기초하여 상기 혈장 샘플의 생물학적 상태를 확인하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [0918] 실시양태 86. 실시양태 51 내지 85 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 핵산 분자가 무세포 핵산을 포함하는 것인 방법.
- [0919] 실시양태 87. 실시양태 86에 있어서, 상기 무세포 핵산이 무세포 데옥시리보핵산(cfDNA) 또는 무세포 리보핵산(cfRNA)을 포함하는 것인 방법.
- [0920] 실시양태 88. 실시양태 51 내지 87 중 어느 한 실시양태에 있어서, (a)가 상기 세포 유형을 확인하기 위해 상기 핵산 분자를 분석에 적용하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0921] 실시양태 89. 실시양태 51 내지 88 중 어느 한 실시양태에 있어서, (b)가 상기 생물학적 샘플에서 상기 복수의 단백질에 대한 상기 단백질 풍부도를 정량하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0922] 실시예 90. 대상체로부터의 생물학적 샘플을 분획화하는 방법으로서, (a) 상기 생물학적 샘플을 복수의 입자와 접촉시켜 상기 복수의 입자 상에 상기 생물학적 샘플로부터의 단백질 및 핵산 분자를 포함하는 생체분자 코로나를 형성하는 단계; 및 (b) 상기 생물학적 샘플로부터 적어도 상기 생체분자 코로나의 하위 세트를 분리함으로써 생물학적 샘플을 분획화하는 단계를 포함하는 방법.
- [0923] 실시양태 91. 실시양태 90에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 전혈, 혈장, 연막층, 혈청, 소변, 뇌척수액, 활액,

눈물, 타액, 전혈, 유즙, 유두 흡인액, 바늘 흡인액, 유관 세척액, 질액, 비강액, 귀액, 위액, 췌장액, 섬유주액, 폐 세척액, 땀, 열구액, 정액, 전립선액, 가래, 분변, 기관지 세척액, 면봉으로 닦아낸 유체, 기관지 흡인물, 유동화된 고형물, 미세 바늘 흡인 샘플, 조직 균질물, 림프액, 세포 배양 샘플 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.

- [0924] 실시양태 92. 실시양태 90 또는 91에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 혈장 또는 혈청을 포함하는 것인 방법.
- [0925] 실시양태 93. 실시양태 90 내지 92 중 어느 한 실시양태에 있어서, 엑소솜, 아포토시스체, 세포, 비르토솜, 또는 이들의 임의의 조합을 용해시키는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [0926] 실시양태 94. 실시양태 93에 있어서, 상기 생체분자 코로나의 단백질 또는 핵산이 상기 용해로부터 유래되는 것인 방법.
- [0927] 실시양태 95. 실시양태 90 내지 94 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 핵산 분자가 무세포 핵산을 포함하는 것인 방법.
- [0928] 실시양태 96. 실시양태 95에 있어서, 상기 핵산 분자가 무세포 데옥시리보핵산(cfDNA) 또는 무세포 리보핵산(cfRNA)을 포함하는 것인 방법.
- [0929] 실시양태 97. 실시양태 96에 있어서, 상기 무세포 데옥시리보핵산(cfDNA)이 게놈 DNA, 미토콘드리아 DNA(mtDNA), 순환 종양 DNA(ctDNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0930] 실시양태 98. 실시양태 96 또는 97에 있어서, 상기 무세포 리보핵산(cfRNA)이 메신저 RNA(mRNA), 긴 비코딩 RNA, 텔로머라제 RNA, Piwi-상호작용 RNA, 리보솜 RNA(rRNA), 작은 핵 RNA(snRNA), 작은 간섭 RNA(siRNA), YRNA, 마이크로RNA(miRNA), 원형 RNA, 작은 핵 RNA(snRNA), 위유전자 RNA, 운반 RNA(tRNA), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0931] 실시양태 99. 실시양태 90 내지 98 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생체분자 코로나의 상기 핵산 분자가 적어도 30개 뉴클레오타이드의 평균 길이를 포함하는 것인 방법.
- [0932] 실시양태 100. 실시양태 90 내지 99 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생체분자 코로나의 상기 핵산 분자가 적어도 60개 뉴클레오타이드의 평균 길이를 포함하는 것인 방법.
- [0933] 실시양태 101. 실시양태 90 내지 100 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생체분자 코로나의 상기 핵산 분자가 상기 생물학적 샘플의 핵산 분자보다 더 큰 평균 길이를 갖는 것인 방법.
- [0934] 실시양태 102. 실시양태 90 내지 101 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 5가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0935] 실시양태 103. 실시양태 90 내지 102 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 200가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0936] 실시양태 104. 실시양태 90 내지 103 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 500가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0937] 실시양태 105. 실시양태 90 내지 104 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 1000가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0938] 실시양태 106. 실시양태 90 내지 105 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 2000가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0939] 실시양태 107. 실시양태 90 내지 106 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 적어도 5000가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0940] 실시양태 108. 실시양태 90 내지 105 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 5 내지 1000가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0941] 실시양태 109. 실시양태 90 내지 102 및 108 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 20 내지 200가지 유형의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0942] 실시양태 110. 실시양태 90 내지 109 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 상기 생물학적 샘플 내의 단백질 유형의 적어도 2%를 포함하는 것인 방법.

- [0943] 실시양태 111. 실시양태 90 내지 109 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 상기 생물학적 샘플 내의 단백질 유형의 0.2% 내지 2%를 포함하는 것인 방법.
- [0944] 실시양태 112. 실시양태 90 내지 111 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 상기 생물학적 샘플의 풍부도에 비해 감소된 풍부도를 갖는 하나 이상의 고품부도 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0945] 실시양태 113. 실시양태 90 내지 112 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질로부터의 단백질이 상기 생물학적 샘플에서 약 100 ng/ml 이하의 농도를 포함하는 것인 방법.
- [0946] 실시양태 114. 대상체로부터의 생물학적 샘플을 분석하는 방법으로서, (a) 제1 복수의 단백질 또는 단백질 단편에 할당할 수 있는 신호를 확인하기 위해 상기 대상체로부터의 상기 생물학적 샘플 내의 단백질을 검정하는 단계; (b) 핵산 서열 데이터에 대해 상기 생물학적 샘플 내의 핵산 분자를 검정하여 상기 핵산 서열과 관련된 제2 복수의 단백질 또는 단백질 단편을 확인하는 단계; 및 (c) 상기 제1 복수의 단백질 또는 단백질 단편으로부터, 상기 생물학적 샘플 내의 하나 이상의 단백질을 확인하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 하나 이상의 단백질은 상기 핵산 서열 데이터가 없으면 확인할 수 없는 것인 방법.
- [0947] 실시양태 115. 실시양태 114에 있어서, 상기 생물학적 샘플의 부피가 약 500 마이크로리터(μ L) 이하인 방법.
- [0948] 실시양태 116. 실시양태 114 또는 115에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 혈장 또는 혈청을 포함하는 것인 방법.
- [0949] 실시양태 117. 실시양태 114 내지 116 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질을 검정하는 단계가 상기 단백질을 입자에 흡착시키는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0950] 실시양태 118. 실시양태 117에 있어서, 상기 입자에 상기 단백질을 흡착시키는 상기 단계가 상기 생물학적 샘플로부터의 고품부도 단백질에 비해 상기 생물학적 샘플로부터의 저품부도 단백질을 풍부하게 하는 것인 방법.
- [0951] 실시양태 119. 실시양태 117 또는 118에 있어서, 상기 단백질을 상기 입자에 흡착시키는 상기 단계가 상기 단백질의 동적 범위를 압축하는 것인 방법.
- [0952] 실시양태 120. 실시양태 114 내지 119 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질을 검정하는 상기 단계가 질량 분광 분석을 포함하는 것인 방법.
- [0953] 실시양태 121. 실시양태 114 내지 120 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질을 검정하는 상기 단계가 친화도 포획, 조직학적 방법, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0954] 실시양태 122. 실시양태 114 내지 121 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질을 검정하는 상기 단계가 상기 단백질을 시퀀싱하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0955] 실시양태 123. 실시양태 114 내지 122 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질을 검정하는 상기 단계가 번역후 변형을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0956] 실시양태 124. 실시양태 123에 있어서, 상기 번역후 변형이 아실화, 알킬화, 프레닐화, 플라빈화, 아미드화, 아민화, 탈아민화, 카르복실화, 탈카르복실화, 니트로실화, 포르밀화, 시트룰린화, 글리코실화, 당화, 할로젠화, 하이드록실화, 인산화, 설퍼릴화, 글루타티오닐화, 석시닐화, 카르보닐화, 카르바밀화, 산화, 산소화, 환원, 유비퀴틴화, 수모일화, 네틸화, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0957] 실시양태 125. 실시양태 114 내지 124 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 핵산 분자를 검정하는 상기 단계가 형광 제자리 혼성화(FISH), 어레이-비교 게놈 혼성화(어레이-CGH), 정량적 형광 PCR(QF-PCR), 나노포어 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0958] 실시양태 126. 실시양태 114 내지 125 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 핵산 분자를 검정하는 상기 단계가 시퀀싱을 포함하는 것인 방법.
- [0959] 실시양태 127. 실시양태 126에 있어서, 상기 제2 복수의 단백질 또는 단백질 단편을 확인하는 상기 단계가 상기 핵산 분자의 코딩 영역을 시퀀싱하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0960] 실시양태 128. 실시양태 126 또는 127에 있어서, 상기 제2 복수의 단백질 또는 상기 단백질 단편을 확인하는 상기 단계가 상기 핵산 분자의 비코딩 영역을 시퀀싱하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0961] 실시양태 129. 실시양태 114 내지 128 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 제2 복수의 단백질 또는 상기 단백

질 단편을 확인하는 상기 단계가 상기 핵산 분자들 중 한 핵산 분자에 결합하는 단백질 또는 단백질 단편을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.

- [0962] 실시양태 130. 실시양태 114 내지 129 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 (c)의 확인이 하나 이상의 단백질 이소형을 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0963] 실시양태 131. 실시양태 114 내지 130 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 하나 이상의 단백질이 상기 생물학적 샘플에서 생물학적 상태 또는 병태의 존재 또는 부재를 나타내는 것인 방법.
- [0964] 실시양태 132. 실시양태 131에 있어서, 상기 생물학적 상태 또는 병태가 암을 포함하는 것인 방법.
- [0965] 실시양태 133. 실시양태 132에 있어서, 상기 (c)의 확인이 상기 암의 병기를 확인하는 것인 방법.
- [0966] 실시양태 134. 실시양태 114 내지 133 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 하나 이상의 단백질이 상기 제1 복수의 단백질들 중 한 단백질의 이소형을 포함하는 것인 방법.
- [0967] 실시양태 135. 실시양태 114 내지 134 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 확인이 상기 하나 이상의 단백질과 연관되고 상기 제1 복수의 단백질에 할당될 수 있는 상기 신호들 중 하나의 신호와 중첩되는 신호를 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0968] 실시양태 136. 대상체로부터의 생물학적 샘플을 처리하는 방법으로서, (a) 상기 대상체로부터의 상기 생물학적 샘플 내의 핵산 분자를 상기 핵산 분자 또는 이의 단편의 핵산 서열에 대해 검정하는 단계; (b) 상기 뉴클레오타이드 서열과 관련된 단백질의 단백질 서열을 포함하는 데이터를 생성하기 위해 상기 핵산 서열을 컴퓨터로 처리하는 단계; (c) 적어도 상기 단백질의 하위 세트에 할당할 수 있는 신호에 대해 상기 생물학적 샘플을 검정하는 단계; 및 (d) 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트로부터, 적어도 부분적으로 (b)에서 생성된 상기 데이터에 기초하여 단백질을 확인하는 단계를 포함하는 것인 방법.
- [0969] 실시양태 137. 실시양태 136에 있어서, 상기 핵산 분자를 검정하는 상기 단계가 형광 제자리 혼성화(FISH), 어레이-비교 게놈 혼성화(어레이-CGH), 정량적 형광 PCR(QF-PCR), 나노포어 시퀀싱, 혼성화에 의한 시퀀싱, 합성에 의한 시퀀싱, 라이게이션에 의한 시퀀싱, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0970] 실시양태 138. 실시양태 136 또는 137에 있어서, 상기 핵산 분자가 무세포 테옥시리보핵산(cfDNA), 무세포 리보핵산(cfRNA) 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0971] 실시양태 139. 실시양태 136 내지 138 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 핵산 분자를 검정하는 상기 단계가 엑소솜, 아포토시솜, 병에 걸린 세포, 건강한 세포, 비르토솜, 세포외 막 소포, 호중구 세포외 트랩(NET), 또는 이들의 임의의 조합으로부터 적어도 상기 핵산 분자의 하위 세트를 수집하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0972] 실시양태 140. 실시양태 136 내지 139 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 뉴클레오타이드 서열과 관련된 단백질 서열이 상기 핵산 서열에 의해 코딩되지 않는 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0973] 실시양태 141. 실시양태 136 내지 140 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 (c)의 검정이 상기 생물학적 샘플을 입자와 접촉시켜, 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트를 포함하는 상기 입자 상에 생체분자 코로나를 형성하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0974] 실시양태 142. 실시양태 136 내지 141 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 (c)의 검정이 질량 분광 분석, 펩타이드 시퀀싱, 펩타이드 친화도 포획, 조직학적 방법, 크로마토그래피 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0975] 실시양태 143. 실시양태 136 내지 142 중 어느 한 실시양태에 있어서, 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트가 적어도 20개의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0976] 실시양태 144. 실시양태 136 내지 143 중 어느 한 실시양태에 있어서, 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트가 적어도 200개의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0977] 실시양태 145. 실시양태 136 내지 144 중 어느 한 실시양태에 있어서, 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트가 적어도 500개의 단백질을 포함하는 것인 방법.
- [0978] 실시양태 146. 실시양태 136 내지 145 중 어느 한 실시양태에 있어서, 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트에 할당 가능한 상기 신호가 적어도 100,000개의 신호를 포함하는 것인 방법.

- [0979] 실시양태 147. 실시양태 136 내지 146 중 어느 한 실시양태에 있어서, 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트에 할당 가능한 상기 신호가 적어도 1,000,000개의 신호를 포함하는 것인 방법.
- [0980] 실시양태 148. 실시양태 136 내지 147 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 확인하는 단계가 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트 중에서 스플라이싱 변이체를 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0981] 실시양태 149. 실시양태 148에 있어서, 상기 스플라이싱 변이체를 확인하는 상기 단계가 복수의 스플라이싱 변이체의 풍부도 비를 확인하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0982] 실시양태 150. 실시양태 136 내지 149 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질이 상기 생물학적 샘플에서 생물학적 병태 또는 상태와 연관되어 있는 것인 방법.
- [0983] 실시양태 151. 실시양태 136 내지 150 중 어느 한 실시양태에 있어서, 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트에 할당 가능한 상기 신호가 복수의 중첩 신호를 포함하고, 여기서 상기 확인 단계가 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트 중의 한 단백질로부터 상기 복수의 중첩 신호 중의 한 중첩 신호의 강도를 결정하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0984] 실시양태 152. 실시양태 151에 있어서, 적어도 상기 단백질의 상기 하위 세트로부터 제1 단백질 및 제2 단백질의 풍부도 비를 확인하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 상기 제1 단백질 및 상기 제2 단백질은 상기 복수의 중첩 신호의 신호와 연관되는 것인 방법.
- [0985] 실시예 153. 실시예 151 또는 152에 있어서, 상기 중첩 신호의 신호가 질량 분광 분석 신호를 포함하는 것인 방법.
- [0986] 실시양태 154. 실시양태 153에 있어서, 상기 질량 분광 분석 신호가 복수의 직렬 질량 분광 분석 신호와 연관되고, 상기 확인은 적어도 부분적으로 (b)의 상기 단백질 서열에 기초하여 상기 직렬 질량 분광 분석 신호를 할당하는 것을 포함하는 것인 방법.
- [0987] 실시양태 155. 생물학적 샘플을 검정하는 방법으로서, (a) 표면 개질된 입자 및 지지체를 포함하는 건조 조성물을 제공하는 단계로서, 상기 표면 개질된 입자는 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 가변 선택적 흡착을 위한 물리화학적 특성을 갖는 것인 단계; (b) 상기 건조 조성물을 액체 내에서 재구성하는 단계; 및 (c) 상기 생물학적 샘플을 (b)에서 재구성된 상기 건조 조성물과 접촉시켜, 상기 표면 개질된 입자의 표면 상에 상기 생체분자 또는 생체분자 그룹의 적어도 일부를 흡착시키는 단계를 포함하는 방법.
- [0988] 실시양태 156. 실시양태 155에 있어서, 상기 생체분자 또는 생체분자 그룹이 단백질 또는 단백질 그룹을 포함하는 것인 방법.
- [0989] 실시양태 157. 실시양태 156에 있어서, 상기 단백질 또는 단백질 그룹이 상기 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 7 자릿수인 동적 범위를 갖는 것인 방법.
- [0990] 실시양태 158. 실시양태 156 또는 157에 있어서, 상기 단백질 또는 단백질 그룹이 상기 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 8 자릿수인 동적 범위를 갖는 것인 방법.
- [0991] 실시양태 159. 실시양태 156 내지 158 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질 또는 단백질 그룹이 상기 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 9 자릿수인 동적 범위를 갖는 것인 방법.
- [0992] 실시양태 160. 실시양태 156 내지 159 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질 또는 단백질 그룹이 상기 생물학적 샘플 내의 농도가 적어도 10 자릿수인 동적 범위를 갖는 것인 방법.
- [0993] 실시양태 161. 실시양태 155 내지 160 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 액체가 물, 유기 용매, 또는 이들의 조합 또는 혼합물을 포함하는 것인 방법.
- [0994] 실시양태 162. 실시양태 155 내지 161 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 혈장, 혈청, CSF, 소변, 눈물, 세포 용해물, 조직 용해물, 세포 균질물, 조직 균질물, 바늘 흡인물, 대변 샘플, 활액, 전혈, 타액, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [0995] 실시양태 163. 실시양태 155 내지 162 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 지지체가 부형제를 포함하는 것인 방법.
- [0996] 실시양태 164. 실시양태 163에 있어서, 상기 지지체가 부형제인 방법.

- [0997] 실시양태 165. 실시양태 163 또는 164에 있어서, 상기 부형제가 텍스트란, PEG, 수크로스, 글루코스, 트레할로스, 락토스, 폴리소르베이트, 아미노산, 만니톨, 글리신, 글리세롤, 또는 이들의 임의의 조합 또는 변형을 포함하는 것인 방법.
- [0998] 실시양태 166. 실시양태 155 내지 165 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 동결건조된 비드 형태인 방법.
- [0999] 실시양태 167. 실시양태 155 내지 166 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 다중 웰 플레이트, 유체 채널, 유체 챔버 또는 튜브의 부피 내에 있는 것인 방법.
- [1000] 실시양태 168. 실시양태 167에 있어서, 상기 건조 조성물이 (b)에서 상기 다중 웰 플레이트, 상기 유체 채널, 상기 유체 챔버 또는 상기 튜브의 부피 내에서 재구성되는 것인 방법.
- [1001] 실시양태 169. 실시양태 168에 있어서, (c)에서 상기 재구성된 건조 조성물이 상기 다중 웰 플레이트, 상기 유체 채널, 상기 유체 챔버 또는 상기 튜브의 상기 부피 내에서 상기 생물학적 샘플과 접촉되는 것인 방법.
- [1002] 실시양태 170. 실시양태 167 내지 169 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 상기 다중 웰 플레이트, 상기 유체 채널, 상기 유체 챔버 또는 상기 튜브의 상기 부피 내의 동결건조된 비드인 방법.
- [1003] 실시양태 171. 실시양태 167 내지 171 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 상기 다중 웰 플레이트, 상기 유체 채널, 상기 유체 챔버 또는 상기 튜브의 상기 부피 내의 복수의 동결건조된 비드인 방법.
- [1004] 실시양태 172. 실시양태 155 내지 171 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 상기 표면 개질된 입자를 포함하는 복수의 입자를 포함하는 것인 방법.
- [1005] 실시양태 173. 실시양태 172에 있어서, 상기 복수의 입자의 적어도 하나의 하위 세트의 개별 입자가 상이한 표면을 포함하는 것인 방법.
- [1006] 실시양태 174. 실시양태 172 또는 173에 있어서, 상기 복수의 입자의 적어도 하나의 하위 세트의 개별 입자가 적어도 하나의 물리화학적 특성에서 또 다른 하위 세트와 상이한 것인 방법.
- [1007] 실시양태 175. 실시양태 174에 있어서, 상기 개별 입자가 각각 상이한 세트의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 가변 선택적 흡착을 위한 상이한 물리화학적 특성을 포함하는 것인 방법.
- [1008] 실시양태 176. 실시양태 172 내지 175 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 입자가 적어도 2개 이상의 별개의 입자 유형을 포함하는 것인 방법.
- [1009] 실시양태 177. 실시양태 172 내지 176 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 입자가 적어도 6개 이상의 별개의 입자 유형을 포함하는 것인 방법.
- [1010] 실시양태 178. 실시양태 172 내지 177 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 입자가 적어도 10개 이상의 별개의 입자 유형을 포함하는 것인 방법.
- [1011] 실시양태 179. 실시양태 172 내지 178 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 입자가 자성 입자를 포함하는 것인 방법.
- [1012] 실시양태 180. 실시양태 172 내지 179 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 입자가 나노입자, 마이크로입자 또는 이들의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [1013] 실시양태 181. 실시양태 180에 있어서, 상기 복수의 입자가 나노입자 및 마이크로입자를 포함하는 것인 방법.
- [1014] 실시양태 182. 실시양태 155 내지 181 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 표면 개질된 입자가 항체, T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체, 수용체 단백질, 또는 이들의 변이체 또는 단편을 포함하지 않는 것인 방법.
- [1015] 실시양태 183. 실시양태 155 내지 182 중 어느 한 실시양태에 있어서, (a) 전에, 상기 표면 개질된 입자 및 상기 지지체를 포함하는 용액 또는 현탁액을 생성하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [1016] 실시양태 184. 실시양태 183에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 1 마이크로리터(μL) 초과 부피를 갖는 것인 방법.
- [1017] 실시양태 185. 실시양태 183 또는 184에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 100 μL 미만의 부피를 갖는 것인 방법.

- [1018] 실시양태 186. 실시양태 183 내지 185 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 2 마이크로리터 (μL) 내지 60 μL 의 부피를 갖는 것인 방법.
- [1019] 실시양태 187. 실시양태 183 내지 186 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 25 μL 내지 45 μL 의 부피를 갖는 것인 방법.
- [1020] 실시양태 188. 실시양태 183 내지 187 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액 중의 상기 지지제의 농도가 50 mg/mL 초과인 방법.
- [1021] 실시양태 189. 실시양태 183 내지 188 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액 중의 상기 지지제의 농도가 250 mg/mL 미만인 방법.
- [1022] 실시양태 190. 실시양태 183 내지 189 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액 중의 상기 지지제의 농도가 100 mg/mL 내지 200 mg/mL인 방법.
- [1023] 실시양태 191. 실시양태 183 내지 190 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 2.5 밀리그램/밀리리터(mg/mL) 초과인 입자 농도를 갖는 것인 방법.
- [1024] 실시양태 192. 실시양태 183 내지 191 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 100 mg/mL 미만의 입자 농도를 갖는 것인 방법.
- [1025] 실시양태 193. 실시양태 183 내지 192 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 10 mg/mL 내지 100 mg/mL의 입자 농도를 갖는 것인 방법.
- [1026] 실시양태 194. 실시양태 183 내지 192 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 15 mg/mL 내지 80 mg/mL의 입자 농도를 갖는 것인 방법.
- [1027] 실시양태 195. 실시양태 155 내지 194 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 비드당 적어도 0.5 mg의 상기 표면 개질된 입자를 포함하는 비드인 방법.
- [1028] 실시양태 196. 실시양태 155 내지 195 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 비드당 0.5 mg 내지 약 5 mg의 상기 표면 개질된 입자를 포함하는 비드인 방법.
- [1029] 실시양태 197. 실시양태 183 내지 196 중 어느 한 실시양태에 있어서, (b) 이후의 상기 표면 개질된 입자의 직경이 상기 용액 또는 현탁액 내의 상기 표면 개질된 입자의 직경의 약 90% 내지 약 110%인 방법.
- [1030] 실시양태 198. 실시양태 183 내지 197 중 어느 한 실시양태에 있어서, (b) 이후의 상기 표면 개질된 입자의 제타 전위가 상기 급속 동결 전의 상기 액체 내의 동일한 표면 개질된 입자의 제타 전위의 약 90% 내지 약 110%인 방법.
- [1031] 실시양태 199. 실시양태 183 내지 198 중 어느 한 실시양태에 있어서, (c) 이후의 상기 표면 개질된 입자가, 동결건조 없이 상기 액체에 용해된 동일한 표면 개질된 입자가 상기 생물학적 샘플로부터 흡착할 생체분자의 적어도 90%를 상기 생물학적 샘플에서 흡착하는 것인 방법.
- [1032] 실시양태 200. 실시양태 183 내지 198 중 어느 한 실시양태에 있어서, 동결된 조성물을 생성하기 위해 상기 용액 또는 현탁액을 급속 동결시키는 단계를 추가로 포함하고, 여기서 상기 급속 동결은 액체 질소에서, 냉각 플레이트 상에서, 또는 냉각된 공기에서 이루어지는 것인 방법.
- [1033] 실시양태 201. 실시양태 199 또는 200에 있어서, 상기 동결된 조성물을 동결건조하여 상기 건조 조성물을 생성하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [1034] 실시양태 202. 실시양태 199 내지 201 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 웰 또는 튜브에서 현장에서 상기 급속 동결을 수행하는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.
- [1035] 실시양태 203. 실시양태 199 내지 202 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 복수의 웰 또는 복수의 튜브에서 상기 급속 동결을 수행하는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.
- [1036] 실시양태 204. 실시양태 155 내지 203 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 재구성이 25°C에서 적어도 0.1 min⁻¹의 속도를 포함하는 것인 방법.
- [1037] 실시양태 205. 실시양태 155 내지 204 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 재구성이 25°C에서 적어도 0.5 min⁻¹

1의 속도를 포함하는 것인 방법.

- [1038] 실시양태 206. 실시양태 155 내지 205 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 재구성이 최대 20분 동안 수행되는 방법.
- [1039] 실시양태 207. 실시양태 155 내지 206 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 재구성이 초음파 처리, 진탕 또는 혼합을 포함하는 것인 방법.
- [1040] 실시양태 208. 실시양태 155 내지 206 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 재구성이 물리적 섭동을 포함하지 않는 것인 방법.
- [1041] 실시양태 209. 실시양태 155 내지 208 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 재구성 후에, 상기 표면 개질된 입자에 입자 응집체가 실질적으로 없는 것인 방법.
- [1042] 실시양태 210. 실시양태 155 내지 209 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 재구성 후에, 상기 액체가 약 5 내지 약 9의 pH를 포함하는 것인 방법.
- [1043] 실시양태 211. 실시양태 155 내지 210 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 가변 선택적 흡착이 낮은 결합 친화도, 느린 결합 동역학, 또는 둘 모두를 포함하는 것인 방법.
- [1044] 실시양태 212. 실시양태 155 내지 211 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 가변 선택적 흡착이 단백질-리간드 상호작용이 아닌 상호작용을 포함하는 것인 방법.
- [1045] 실시양태 213. 실시양태 155 내지 212 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 가변 선택적 흡착이 상기 표면 개질된 입자의 표면과 접촉하는 상기 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 포함하며, 여기서 상기 표면은 작용화된 단백질을 포함하지 않는 것인 방법.
- [1046] 실시양태 214. 실시양태 155 내지 213 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 상기 가변 선택적 흡착이 생체분자 코로나를 형성하는 것인 방법.
- [1047] 실시양태 215. 생체유체 샘플을 검정하는 방법으로서, (a) 표면 개질된 입자 및 동결건조된 지지체를 포함하는 건조 조성물을 제공하는 단계로서, 상기 표면 개질된 입자가 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹에 대한 친화도를 갖는 것인 단계; 및 (b) 상기 표면 개질된 입자의 표면 상에 상기 생체분자 또는 생체분자 그룹의 적어도 일부를 흡착시키기 위해 상기 건조 조성물의 재구성 없이 상기 생체유체 샘플을 상기 건조 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는 방법.
- [1048] 실시양태 216. 실시양태 215에 있어서, 상기 생체유체 샘플이 혈장, 혈청, CSF, 소변, 눈물, 세포 용해물, 조직 용해물, 세포 균질물, 조직 균질물, 유두 흡인액, 마늘 흡인물, 대변 샘플, 활액, 전혈, 타액, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [1049] 실시양태 217. 실시양태 215 또는 216에 있어서, 상기 생체유체 샘플이 (b) 이전에 약 1부의 생물유체 샘플 대 적어도 약 1부의 완충제 용액의 부피비로 완충제 용액으로 희석되는 것인 방법.
- [1050] 실시양태 218. 실시양태 215 내지 217 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생체유체 샘플이 (b) 이전에 약 1부의 생물유체 샘플 대 적어도 약 2부의 완충제 용액의 부피비로 완충제 용액으로 희석되는 것인 방법.
- [1051] 실시양태 219. 실시양태 215 내지 218 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생체유체 샘플이 (b) 이전에 약 1부의 생물유체 샘플 대 적어도 약 5부의 완충제 용액의 부피비로 완충제 용액으로 희석되는 것인 방법.
- [1052] 실시양태 220. 실시양태 215 내지 219 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생체유체 샘플이 (b) 이전에 약 1부의 생물유체 샘플 대 적어도 약 10부의 완충제 용액의 부피비로 완충제 용액으로 희석되는 것인 방법.
- [1053] 실시양태 221. 실시양태 215 내지 220 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생체유체 샘플이 (b) 이전에 약 1부의 생물유체 샘플 대 적어도 약 20부의 완충제 용액의 부피비로 완충제 용액으로 희석되는 것인 방법.
- [1054] 실시양태 222. 실시양태 215 내지 221 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생체분자 또는 생체분자 그룹이 단백질 또는 단백질 그룹을 포함하는 것인 방법.
- [1055] 실시양태 223. 실시양태 222에 있어서, 상기 단백질 또는 단백질 그룹이 상기 생물유체 샘플 내의 농도가 적어도 7 자릿수인 동적 범위를 갖는 것인 방법.
- [1056] 실시양태 224. 실시양태 222 또는 223에 있어서, 상기 단백질 또는 단백질 그룹이 상기 생체유체 샘플 내의 농

도가 적어도 8 자릿수의 동적 범위를 갖는 것인 방법.

- [1057] 실시양태 225. 실시양태 222 내지 224 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질 또는 단백질 그룹이 상기 생체유체 샘플 내의 농도가 적어도 9 자릿수의 동적 범위를 갖는 것인 방법.
- [1058] 실시양태 226. 실시양태 222 내지 225 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 단백질 또는 단백질 그룹이 상기 생체유체 샘플 내의 농도가 적어도 10 자릿수의 동적 범위를 갖는 것인 방법.
- [1059] 실시양태 227. 실시양태 215 내지 226 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 지지체가 부형체를 포함하는 것인 방법.
- [1060] 실시양태 228. 실시양태 227에 있어서, 상기 지지체가 부형체인 방법.
- [1061] 실시양태 229. 실시양태 227 또는 228에 있어서, 상기 부형체가 텍스트란, PEG, 수크로스, 글루코스, 트레할로스, 락토스, 폴리소르베이트, 아미노산, 만니톨, 글리신, 글리세롤, 또는 이들의 임의의 조합 또는 변형을 포함하는 것인 방법.
- [1062] 실시양태 230. 실시양태 215 내지 229 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 동결건조된 비드인 방법.
- [1063] 실시양태 231. 실시양태 230에 있어서, 상기 동결건조된 비드가 2 마이크로리터(μL) 내지 60 μL 의 부피를 포함하는 것인 방법.
- [1064] 실시양태 232. 실시양태 215 내지 231 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 다중 웰 플레이트 또는 튜브의 부피 내에 있는 것인 방법.
- [1065] 실시양태 233. 실시양태 232에 있어서, 상기 건조 조성물이 상기 다중 웰 플레이트 또는 상기 튜브의 상기 부피 내의 동결건조된 비드인 방법.
- [1066] 실시양태 234. 실시양태 232 또는 233에 있어서, 상기 건조 조성물이 상기 다중 웰 플레이트 또는 상기 튜브의 상기 부피 내에 있는 복수의 동결건조된 비드인 방법.
- [1067] 실시양태 235. 실시양태 215 내지 234 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 상기 표면 개질된 입자를 포함하는 복수의 입자를 포함하는 것인 방법.
- [1068] 실시양태 236. 실시양태 235에 있어서, (b) 후에 상기 복수의 입자의 적어도 99.9%가 상기 생체유체 샘플에서 응집되지 않는 것인 방법.
- [1069] 실시양태 237. 실시양태 235 또는 236에 있어서, 상기 복수의 입자의 적어도 하나의 하위 세트의 개별 입자가 적어도 하나의 물리화학적 특성에서 또 다른 하위 세트와 상이한 것인 방법.
- [1070] 실시양태 238. 실시양태 237에 있어서, 상기 개별 입자가 각각 상이한 세트의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 가변 선택적 흡착을 위한 상이한 물리화학적 특성을 포함하는 것인 방법.
- [1071] 실시양태 239. 실시양태 236 내지 238 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 입자가 적어도 2개 이상의 별개의 입자 유형을 포함하는 것인 방법.
- [1072] 실시양태 240. 실시양태 235 내지 239 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 입자가 적어도 6개 이상의 별개의 입자 유형을 포함하는 것인 방법.
- [1073] 실시양태 241. 실시양태 235 내지 240 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 입자가 적어도 10개 이상의 별개의 입자 유형을 포함하는 것인 방법.
- [1074] 실시양태 242. 실시양태 235 내지 241 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 입자가 자성 입자를 포함하는 것인 방법.
- [1075] 실시양태 243. 실시양태 235 내지 242 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 입자가 나노입자, 마이크로입자 또는 이들의 조합을 포함하는 것인 방법.
- [1076] 실시양태 244. 실시양태 243에 있어서, 상기 복수의 입자가 나노입자 및 마이크로입자를 포함하는 것인 방법.
- [1077] 실시양태 245. 실시양태 215 내지 244 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 표면 개질된 입자가 항체, T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체, 수용체 단백질, 또는 이들의 변이체 또는 단편을 포함하지 않는 것인 방법.

- [1078] 실시양태 246. 실시양태 215 내지 245 중 어느 한 실시양태에 있어서, (a) 이전에, 상기 표면 개질된 입자 및 상기 지지제를 포함하는 용액 또는 현탁액을 생성하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [1079] 실시양태 247. 실시양태 246에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 1 마이크로리터(μL) 초과인 부피를 갖는 것인 방법.
- [1080] 실시양태 248. 실시양태 246 또는 247에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 100 μL 미만의 부피를 갖는 것인 방법.
- [1081] 실시양태 249. 실시양태 246 내지 248 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 2 마이크로리터(μL) 내지 60 μL 의 부피를 갖는 것인 방법.
- [1082] 실시양태 250. 실시양태 246 내지 249 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 25 μL 내지 45 μL 의 부피를 갖는 것인 방법.
- [1083] 실시양태 251. 실시양태 246 내지 250 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액 중의 상기 지지제가 50 mg/mL 초과인 농도를 갖는 것인 방법.
- [1084] 실시양태 252. 실시양태 246 내지 251 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액 중의 상기 지지제가 250 mg/mL 미만의 농도를 갖는 것인 방법.
- [1085] 실시양태 253. 실시양태 246 내지 252 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액 중의 상기 지지제가 250 mg/mL 미만의 농도를 갖는 것인 방법.
- [1086] 실시양태 254. 실시양태 246 내지 253 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액 중의 상기 지지제가 100 mg/mL 내지 200 mg/mL의 농도를 갖는 것인 방법.
- [1087] 실시양태 255. 실시양태 246 내지 254 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 2.5 밀리그램/밀리리터(mg/mL) 초과인 입자 농도를 갖는 것인 방법.
- [1088] 실시양태 256. 실시양태 246 내지 255 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 100 mg/mL 미만의 입자 농도를 갖는 것인 방법.
- [1089] 실시양태 257. 실시양태 246 내지 256 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 10 mg/mL 내지 100 mg/mL의 입자 농도를 갖는 것인 방법.
- [1090] 실시양태 258. 실시양태 246 내지 257 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액이 15 mg/mL 내지 80 mg/mL의 입자 농도를 갖는 것인 방법.
- [1091] 실시양태 259. 실시양태 246 내지 258 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용액 또는 현탁액을 급속 동결시켜 동결된 조성물을 생성하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [1092] 실시양태 260. 실시양태 259에 있어서, 상기 급속 동결이 액체 질소에서의 급속 동결을 포함하는 것인 방법.
- [1093] 실시양태 261. 실시양태 259 또는 260에 있어서, 상기 동결된 조성물을 동결건조하여 상기 건조 조성물을 생성하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [1094] 실시양태 262. 실시양태 246 내지 261 중 어느 한 실시양태에 있어서, (b) 후에 상기 액체 내의 입자 직경이 상기 용액 또는 현탁액 내의 평균 입자 크기의 약 90% 내지 약 110%인 방법.
- [1095] 실시양태 263. 실시양태 246 내지 262 중 어느 한 실시양태에 있어서, (b) 후에 상기 표면 개질된 입자의 0.1% 미만이 입자 응집체로 존재하는 것인 방법.
- [1096] 실시양태 264. 실시양태 259 내지 263 중 어느 한 실시양태에 있어서, (b) 후에 상기 액체 내의 상기 표면 개질된 입자가 기준 제타 전위의 약 90% 내지 약 110%의 제타 전위를 포함하고, 여기서 상기 기준 제타 전위는 상기 액체를 상기 급속 동결하기 전에 상기 표면 개질된 입자를 포함하는 용액으로부터 측정 가능한 것인 방법.
- [1097] 실시양태 265. 실시양태 259 내지 264 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 동결된 조성물이 웰 또는 튜브에서 형성되는 것인 방법.
- [1098] 실시양태 266. 실시양태 259 내지 265 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 동결된 조성물이 복수의 웰 또는 복수의 튜브에서 형성되는 것인 방법.

- [1099] 실시양태 267. 실시양태 215 내지 266 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 비드당 적어도 0.5 mg의 상기 표면 개질된 입자를 포함하는 비드인 방법.
- [1100] 실시양태 268. 실시양태 215 내지 267 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 비드당 약 0.5 mg 내지 약 5 mg의 상기 표면 개질된 입자를 포함하는 비드인 방법.
- [1101] 실시양태 269. 생물학적 샘플을 검정하기 위한 시스템으로서, 입자 및 지지체를 포함하는 건조 조성물을 포함하는 기관; 생물학적 샘플을 포함하는 샘플 저장 장치; 상기 기관 및 상기 샘플 저장 장치에 작동 가능하게 커플링된 로딩 유닛; 및 기계 실행 가능 코드를 포함하는 컴퓨터 판독 가능 매체를 포함하고, 상기 컴퓨터 판독 가능 매체는 프로세서에 의해 실행될 때 (a) 상기 샘플 저장 장치로부터 상기 생물학적 샘플 또는 그의 일부를 상기 로딩 유닛을 사용하여 상기 기관에 전달하는 단계; 및 (b) 상기 생물학적 샘플을 상기 건조 조성물과 접촉시켜 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 포함하는 생체분자 코로나를 생성하는 단계를 포함하는 방법을 실행하는 것인 시스템.
- [1102] 실시양태 270. 실시양태 269에 있어서, 상기 기관이 다중 웰 플레이트 또는 튜브인 시스템.
- [1103] 실시양태 271. 실시양태 269 또는 270에 있어서, 상기 기관이 각각 상기 건조 조성물을 포함하는 복수의 건조 조성물을 포함하는 것인 시스템.
- [1104] 실시양태 272. 실시양태 271에 있어서, 상기 복수의 건조 조성물의 개별 건조 조성물에 포함된 입자의 적어도 하나의 하위 세트가 또 다른 하위 세트와 상이한 것인 시스템.
- [1105] 실시양태 273. 실시양태 272에 있어서, 상기 입자의 적어도 하나의 하위 세트가 적어도 하나의 물리화학적 특성에서 상기 또 다른 하위 세트와 상이한 것인 시스템.
- [1106] 실시양태 274. 실시양태 271 내지 273 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 건조 조성물이 실리카 코팅된 SPION, 트리-아민 작용화된 나노입자, PDMAPMA-중합체 작용화된 나노입자, 글루코스-6-포스페이트 작용화된 나노입자, 모노-아민 작용화된 나노입자, 또는 이들의 조합을 각각 포함하는 적어도 2개의 건조 조성물을 포함하는 것인 시스템.
- [1107] 실시양태 275. 실시양태 271 내지 274 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 다중 웰 플레이트의 각각의 웰이 상기 복수의 건조 조성물의 개별 건조 조성물을 포함하는 것인 시스템.
- [1108] 실시양태 276. 실시양태 269 내지 275 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 샘플 저장 장치가 복수의 상이한 생물학적 샘플을 포함하는 것인 시스템.
- [1109] 실시양태 277. 실시양태 276에 있어서, 상기 (a)의 전달이 상기 복수의 상이한 생물학적 샘플을 각각 상기 다중 웰 플레이트의 상이한 웰로 전달하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1110] 실시양태 278. 실시양태 269 내지 277 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 복수의 부분을 포함하는 것인 시스템.
- [1111] 실시양태 279. 실시양태 278에 있어서, 상기 (a)의 전달이 상기 생물학적 샘플의 상기 복수의 일부를 각각 상기 다중 웰 플레이트의 상이한 웰로 전달하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1112] 실시양태 280. 실시양태 279에 있어서, 상기 생물학적 샘플의 상기 복수의 일부의 상기 전달이 실질적으로 병렬로 수행되는 것인 시스템.
- [1113] 실시양태 281. 실시양태 269 내지 280 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생물학적 샘플 또는 상기 그의 일부가 (b) 전에 용매에서 적어도 약 2x 부피로 희석되는 것인 시스템.
- [1114] 실시양태 282. 실시양태 269 내지 281 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생물학적 샘플 또는 상기 그의 일부가 (b) 전에 용매에서 적어도 약 10x 부피로 희석되는 것인 시스템.
- [1115] 실시양태 283. 실시양태 269 내지 282 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생물학적 샘플의 세포막이 (b) 전에 적어도 부분적으로 용해되는 것인 시스템.
- [1116] 실시양태 284. 실시양태 269 내지 283 중 어느 한 실시양태에 있어서, (b) 전에 상기 건조 조성물을 액체 내에서 재구성하는 단계를 추가로 포함하는 시스템.
- [1117] 실시양태 285. 실시양태 284에 있어서, 상기 액체의 pH가 적어도 약 3.5 내지 최대 약 7.4인 시스템.

- [1118] 실시양태 286. 실시양태 284 또는 285에 있어서, 상기 액체의 pH가 적어도 약 4.5 내지 최대 약 5.5인 시스템.
- [1119] 실시양태 287. 실시양태 284 내지 286 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 액체가 최대 약 150 mM의 이온 농도를 갖는 것인 시스템.
- [1120] 실시양태 288. 실시양태 284 내지 287 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 액체가 최대 약 50 mM의 이온 농도를 갖는 것인 시스템.
- [1121] 실시양태 289. 실시양태 284 내지 288 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 액체가 최대 약 0.1 mM의 이온 농도를 갖는 것인 시스템.
- [1122] 실시양태 290. 실시양태 269 내지 289 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 (b)에서 적어도 약 10초 동안 상기 건조 조성물과 접촉 상태를 유지하는 것인 시스템.
- [1123] 실시양태 291. 실시양태 269 내지 290 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 (b)에서 적어도 약 1분 동안 상기 건조 조성물과 접촉 상태를 유지하는 것인 시스템.
- [1124] 실시양태 292. 실시양태 269 내지 291 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 생물학적 샘플이 (b)에서 적어도 약 5분 동안 상기 건조 조성물과 접촉 상태를 유지하는 것인 시스템.
- [1125] 실시양태 293. 실시양태 269 내지 292 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 (b) 후에 재현탁과 함께 상기 생체분자 코로나를 세척하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1126] 실시양태 294. 실시양태 269 내지 292 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 재현탁 없이 (b) 후에 상기 생체분자 코로나를 세척하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1127] 실시양태 295. 실시양태 269 내지 294 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 (b) 전에 상기 생물학적 샘플의 종을 용해하여 용해물을 생성하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1128] 실시양태 296. 실시양태 295에 있어서, 상기 방법이 상기 용해물을 환원시키는 단계를 추가로 포함하는 시스템.
- [1129] 실시양태 297. 실시양태 295 또는 296에 있어서, 상기 방법이 상기 용해물을 여과하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1130] 실시양태 298. 실시양태 295 내지 297 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 상기 용해물을 알킬화하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1131] 실시양태 299. 실시양태 269 내지 298 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 (b) 후에 상기 생체분자 코로나를 변성시켜 변성된 생체분자 코로나를 생성하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1132] 실시양태 300. 실시양태 299에 있어서, 상기 변성이 단계적 변성인 시스템.
- [1133] 실시양태 301. 실시양태 299 또는 300에 있어서, 상기 변성이 약 50℃ 내지 약 95℃의 온도에서 수행되는 것인 시스템.
- [1134] 실시양태 302. 실시양태 269 내지 301 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 소화된 생체분자 코로나를 생성하기 위해 (b) 후에 상기 생체분자 코로나를 소화하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1135] 실시양태 303. 실시양태 302에 있어서, 상기 소화가 약 20 마이크로그램/밀리리터($\mu\text{g/mL}$) 내지 약 0.1 그램/리터(g/L) 농도의 트립신을 사용하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1136] 실시양태 304. 실시양태 302 또는 303에 있어서, 상기 소화가 약 20 마이크로그램/밀리리터($\mu\text{g/mL}$) 내지 약 0.1 그램/리터(g/L)의 농도에서 단계적으로 lysC를 사용하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1137] 실시양태 305. 실시양태 302 내지 304 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 소화가 최대 약 3시간 동안의 소화를 포함하는 것인 시스템.
- [1138] 실시양태 306. 실시양태 302 내지 305 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 소화가 최대 약 1시간 동안의 소화를 포함하는 것인 시스템.
- [1139] 실시양태 307. 실시양태 302 내지 306 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 소화가 평균 질량이 약 1000 달톤 내지 약 4000 달톤(Da)인 펩타이드를 생성하는 것인 시스템.

- [1140] 실시양태 308. 실시양태 269 내지 294 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 상기 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 용액으로 방출하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1141] 실시양태 309. 실시양태 308에 있어서, 상기 방법이 상기 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 환원시키는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1142] 실시양태 310. 실시양태 308 또는 309에 있어서, 상기 방법이 상기 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 여과하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1143] 실시양태 311. 실시양태 308 내지 310 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 상기 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹을 알킬화하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1144] 실시양태 312. 실시양태 308 내지 311 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 (b) 후에 상기 생체분자 코로나를 변성시켜 변성된 생체분자 코로나를 생성하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1145] 실시양태 313. 실시양태 312에 있어서, 상기 변성이 단계적 변성인 시스템.
- [1146] 실시양태 314. 실시양태 312 또는 313에 있어서, 상기 변성이 약 50℃ 내지 약 95℃의 온도에서 수행되는 것인 시스템.
- [1147] 실시양태 315. 실시양태 308 내지 314 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 소화된 생체분자 코로나를 생성하기 위해 (b) 후에 상기 생체분자 코로나를 소화하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1148] 실시양태 316. 실시양태 315에 있어서, 상기 소화가 약 20 마이크로그램/밀리리터($\mu\text{g/mL}$) 내지 약 0.1 그램/리터(g/L) 농도의 트립신을 사용하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1149] 실시양태 317. 실시양태 315 또는 316에 있어서, 상기 소화가 약 20 마이크로그램/밀리리터($\mu\text{g/mL}$) 내지 약 0.1 그램/리터(g/L)의 농도에서 단계적으로 lysC를 사용하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1150] 실시양태 318. 실시양태 315 내지 317 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 소화가 최대 약 3시간 동안의 소화를 포함하는 것인 시스템.
- [1151] 실시양태 319. 실시양태 315 내지 318 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 소화가 최대 약 1시간 동안의 소화를 포함하는 것인 시스템.
- [1152] 실시양태 320. 실시양태 315 내지 319 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 소화가 평균 질량이 약 1000 달톤 내지 약 4000 달톤(Da)인 펩타이드를 생성하는 것인 시스템.
- [1153] 실시양태 321. 실시양태 269 내지 307 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 (b) 후에 상기 생체분자 코로나를 용출하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1154] 실시양태 322. 실시양태 321에 있어서, 상기 용출이 상기 입자로부터 온전한 단백질을 방출하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1155] 실시양태 323. 실시양태 321 또는 322에 있어서, 상기 용출이 용액 부피의 최대 약 2x 부피로 용출하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1156] 실시양태 324. 실시양태 321 내지 323 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용출이 용액 부피의 최대 약 8x 부피로 용출하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1157] 실시양태 325. 실시양태 321 내지 324 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 용출이 최대 약 50 psi의 압력에서 용출하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1158] 실시양태 326. 실시양태 269 내지 325 중 어느 한 실시양태에 있어서, (b) 후에 고체상 추출을 추가로 포함하는 시스템.
- [1159] 실시양태 327. 실시양태 269 내지 326 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 (b) 후에 상기 생체분자 코로나에 대해 질량 분광 분석을 수행하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1160] 실시양태 328. 실시양태 269 내지 327 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 (b) 후에 상기 생체분자 코로나에 대해 액체 크로마토그래피를 수행하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1161] 실시양태 329. 실시양태 269 내지 328 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 기관이 플라스틱 제품을 포함하고,

여기서 상기 방법은 적어도 플라스틱 제품 바코드, 입자 바코드 및 시약 바코드를 포함하는 바코드 세트를 제공하는 단계, 및 상기 바코드 세트를 상기 컴퓨터 판독 가능 매체에 전달하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.

- [1162] 실시양태 330. 실시양태 329에 있어서, 상기 방법이 적어도 부분적으로 상기 플라스틱 제품 바코드를 기초로 하여 플라스틱 제품을 플라스틱 제품 저장소로부터 상기 로딩 유닛으로 전달하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1163] 실시양태 331. 실시양태 329 또는 330에 있어서, 상기 방법이 적어도 부분적으로 상기 입자 바코드에 기초하여 상기 건조 조성물을 입자 저장소로부터 상기 로딩 유닛으로 전달하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1164] 실시양태 332. 실시양태 329 내지 331 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 적어도 부분적으로 상기 시약 바코드에 기초하여 시약을 시약 저장소로부터 상기 로딩 유닛으로 전달하는 단계를 추가로 포함하는 것인 시스템.
- [1165] 실시양태 333. 실시양태 269 내지 332 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 상기 생물학적 샘플의 적어도 일부로부터 상기 건조 조성물의 적어도 일부를 분리하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1166] 실시양태 334. 실시양태 269 내지 333 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 방법이 상기 생물학적 샘플로부터 상기 생체분자 코로나의 상기 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 적어도 하위 세트를 분리하는 것을 포함하는 것인 시스템.
- [1167] 실시양태 335. 실시양태 333 또는 334에 있어서, 상기 분리가 자기 분리를 포함하는 것인 시스템.
- [1168] 실시양태 336. 건조 입자 제제로서, (i) 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 흡착을 위한 표면 개질을 포함하는 입자 및 (ii) 지지체를 포함하는 건조 조성물을 포함하고, 여기서 상기 건조 조성물은 적어도 3개월 동안 25°C 초과 온도에서 안정한 것인 건조 입자 제제.
- [1169] 실시양태 337. 실시양태 336에 있어서, 상기 표면 개질이 실리카 코팅, 트리-아민 작용화, PDMA-PMA-중합체 작용화, 글루코스-6-포스페이트 작용화 또는 모노-아민 표면 작용화를 포함하는 것인 건조 입자 제제.
- [1170] 실시양태 338. 실시양태 336 또는 337에 있어서, 상기 표면 개질이 금속 산화물 코팅을 포함하는 것인 건조 입자 제제.
- [1171] 실시양태 339. 실시양태 336 내지 338 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 표면 개질이 적어도 하나의 노출된 1차 아민 기, 2차 아민 기, 3차 아민 기를 포함하는 것인 건조 입자 제제.
- [1172] 실시양태 340. 실시양태 336 내지 339 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 표면 개질이 적어도 하나의 모노사카라이드를 포함하는 것인 건조 입자 제제.
- [1173] 실시양태 341. 실시양태 336 내지 340 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹이 펩타이드, 핵산, 대사산물, 지질 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 건조 입자 제제.
- [1174] 실시양태 342. 실시양태 336 내지 341 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 지지체가 수크로스, d-만니톨, 트레할로스, 글리세롤, 텍스트란, PEG, 글루코스, 락토스, 폴리소르베이트 또는 아미노산 중 적어도 하나를 포함하는 것인 건조 입자 제제.
- [1175] 실시양태 343. 실시양태 336 내지 342 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 복수의 입자가 상기 지지체의 존재 하에 동결건조되는 것인 건조 입자 제제.
- [1176] 실시양태 344. 실시양태 336 내지 343 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 지지체가 상기 건조 조성물의 적어도 약 60 중량%를 차지하는 것인 건조 입자 제제.
- [1177] 실시양태 345. 실시양태 336 내지 344 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 지지체가 상기 건조 조성물의 적어도 약 70 중량%를 차지하는 것인 건조 입자 제제.
- [1178] 실시양태 346. 실시양태 336 내지 345 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 지지체가 상기 건조 조성물의 최대 약 80 중량%를 차지하는 것인 건조 입자 제제.
- [1179] 실시양태 347. 실시양태 336 내지 346 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 지지체가 상기 건조 조성물의 최대 약 90 중량%를 차지하는 것인 건조 입자 제제.

- [1180] 실시양태 348. 실시양태 336 내지 347 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 온도가 25℃ 내지 60℃인 건조 입자 제제.
- [1181] 실시양태 349. 실시양태 336 내지 348 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 온도가 35℃ 내지 40℃인 건조 입자 제제.
- [1182] 실시양태 350. 실시양태 336 내지 349 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 입자가 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 85% 내지 115%인 평균 제타 전위를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1183] 실시양태 351. 실시양태 336 내지 350 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 입자가 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 90% 내지 110%인 평균 제타 전위를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1184] 실시양태 352. 실시양태 336 내지 351 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 입자가 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 95% 내지 105%인 평균 제타 전위를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1185] 실시양태 353. 실시양태 336 내지 352 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 입자가 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위 표준 편차의 85% 내지 115%인 평균 제타 전위 표준 편차를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1186] 실시양태 354. 실시양태 336 내지 353 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 입자가 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위 표준 편차의 90% 내지 110%인 평균 제타 전위 표준 편차를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1187] 실시양태 355. 실시양태 336 내지 354 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 입자가 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위 표준 편차의 95% 내지 105%인 평균 제타 전위 표준 편차를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1188] 실시양태 356. 실시양태 336 내지 355 중 어느 한 실시양태에 있어서, 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 상기 입자가 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 평균 직경의 85% 내지 115%인 평균 직경을 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1189] 실시양태 357. 실시양태 336 내지 356 중 어느 한 실시양태에 있어서, 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 상기 입자가 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 평균 직경의 90% 내지 110%인 평균 직경을 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1190] 실시양태 358. 실시양태 336 내지 357 중 어느 한 실시양태에 있어서, 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 상기 입자가 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 평균 직경의 95% 내지 105%인 평균 직경을 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1191] 실시양태 359. 실시양태 336 내지 358 중 어느 한 실시양태에 있어서, 용액에서 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 상기 입자가 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 평균 직경의 98% 내지 102%인 평균 직경을 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1192] 실시양태 360. 실시양태 336 내지 359 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 상기 입자가 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 직경 표준 편차의 85% 내지 115%인 직경 표준 편차를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1193] 실시양태 361. 실시양태 336 내지 360 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 상기 입자가 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 직경 표준 편차의 90% 내지 110%인 직경 표준 편차를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1194] 실시양태 362. 실시양태 336 내지 361 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 상기 입자가 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 동일한 용액에 용해된 동일한 입자의 직경 표준 편차의 95% 내지 105%인 직경 표준 편차를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1195] 실시양태 363. 실시양태 336 내지 362 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 상기

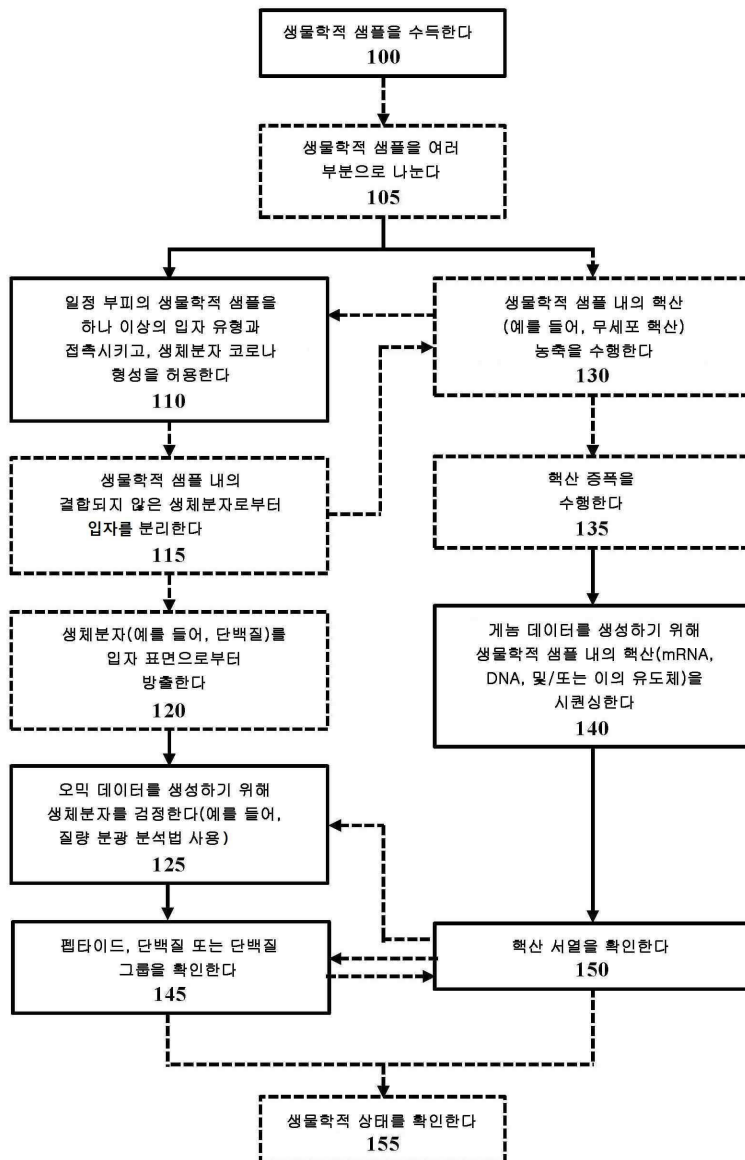
입자가 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 직경 표준 편차의 98% 내지 102%인 직경 표준 편차를 갖는 것인 건조 입자 제제.

- [1196] 실시양태 364. 실시양태 336 내지 363 중 어느 한 실시양태의 건조 입자 제제 및 상기 건조 조성물을 수용하고 보유하도록 구성된 기판을 포함하는 키트.
- [1197] 실시양태 365. 실시양태 364에 있어서, 상기 기판이 튜브 또는 웰을 포함하는 것인 키트.
- [1198] 실시양태 366. 실시양태 364 또는 365에 있어서, 상기 기판이 96웰 플레이트인 키트.
- [1199] 실시양태 367. 실시양태 364 내지 366 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 기판이 미세유체 장치를 포함하는 것인 키트.
- [1200] 실시양태 368. 실시양태 364 내지 367 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 기판이 실시양태 337 내지 364 중 어느 한 실시양태의 건조 조성물을 각각 포함하는 복수의 공간적으로 격리된 위치를 포함하는 것인 키트.
- [1201] 실시양태 369. 실시양태 368에 있어서, 상기 복수의 공간적으로 격리된 위치의 개별 위치가 개별적으로 및/또는 독립적으로 주소 지정 가능한 것인 키트.
- [1202] 실시양태 370. 건조 입자 제제로서, 복수의 생체분자 또는 생체분자 그룹의 흡착을 위해 표면 개질된 입자 및 지지체를 포함하는 건조 조성물을 포함하고, 여기서 상기 건조 조성물은 용매에서 재구성하지 않고 후속적으로 사용하도록 구성되는 것인 건조 입자 제제.
- [1203] 실시양태 371. 실시양태 370에 있어서, 상기 건조 조성물이 25℃ 초과와 온도에서 적어도 7일 동안 안정한 것인 건조 입자 제제.
- [1204] 실시양태 372. 실시양태 370 또는 371에 있어서, 상기 온도가 25℃ 내지 60℃인 건조 입자 제제.
- [1205] 실시양태 373. 실시양태 370 내지 372 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 온도가 35℃ 내지 40℃인 건조 입자 제제.
- [1206] 실시양태 374. 실시양태 370 내지 373 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 37℃에서 적어도 7일 동안 안정한 것인 건조 입자 제제.
- [1207] 실시양태 375. 실시양태 370 내지 374 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 건조 조성물이 37℃에서 적어도 10일 동안 안정한 것인 건조 입자 제제.
- [1208] 실시양태 376. 실시양태 370 내지 375 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 입자가 동결건조되는 것인 건조 입자 제제.
- [1209] 실시양태 377. 실시양태 370 내지 376 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 입자가 상기 지지체의 존재 하에 동결건조되는 것인 건조 입자 제제.
- [1210] 실시양태 378. 실시양태 370 내지 377 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 동결건조된 입자가 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 동적 광산란(DLS)에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 크기의 85% 내지 115%인 입자 크기를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1211] 실시양태 379. 실시양태 370 내지 378 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 동결건조된 입자가 상기 건조 조성물의 재구성 시에, DLS에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 크기의 90% 내지 110%인 입자 크기를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1212] 실시양태 380. 실시양태 370 내지 379 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 동결건조된 입자가 상기 건조 조성물의 재구성 시에, DLS에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 크기의 95% 내지 105%인 입자 크기를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1213] 실시양태 381. 실시양태 370 내지 380 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 동결건조된 입자가 상기 건조 조성물의 재구성 시에, DLS에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 크기의 98% 내지 102%인 입자 크기를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1214] 실시양태 382. 실시양태 370 내지 381 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 동결건조된 입자가 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 85% 내지 115%인 제타 전위를 갖는 것인 건조 입자 제제.

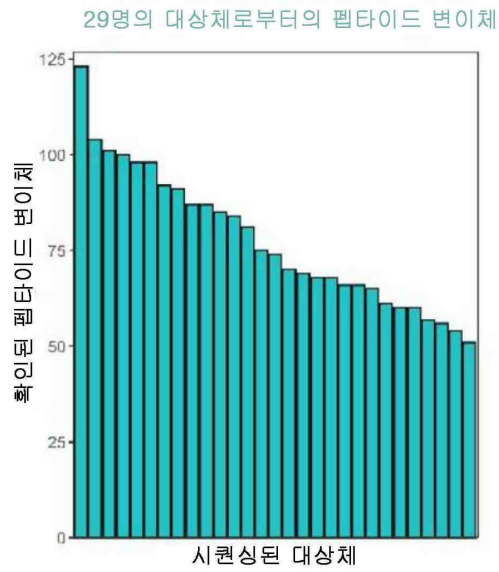
- [1215] 실시양태 383. 실시양태 370 내지 382 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 동결건조된 입자가 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 90% 내지 110%인 제타 전위를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1216] 실시양태 384. 실시양태 370 내지 383 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 동결건조된 입자가 상기 건조 조성물의 재구성 시에, 제타 전위 측정에 의해 결정될 때 동결건조 부재 하에 용액에 용해된 동일한 입자의 제타 전위의 95% 내지 105%인 제타 전위를 갖는 것인 건조 입자 제제.
- [1217] 실시양태 385. 실시양태 370 내지 384 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 후속 사용이 샘플과의 접촉 후 생체 분자 코로나 형성을 포함하는 것인 건조 입자 제제.
- [1218] 실시양태 386. 실시양태 370 내지 385 중 어느 한 실시양태의 건조 입자 제제 및 상기 건조 조성물을 수용하고 보유하도록 구성된 기관을 포함하는 키트.
- [1219] 실시양태 387. 실시양태 386에 있어서, 상기 기관이 튜브 또는 웰을 포함하는 것인 키트.
- [1220] 실시양태 388. 실시양태 386 또는 387에 있어서, 상기 기관이 96웰 플레이트인 키트.
- [1221] 실시양태 389. 실시양태 386 내지 388 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 기관이 건조 조성물을 각각 포함하는 복수의 공간적으로 격리된 위치를 포함하는 것인 키트.
- [1222] 실시양태 390. 실시양태 389에 있어서, 상기 복수의 공간적으로 격리된 위치의 개별 위치가 개별적으로 및/또는 독립적으로 주소 지정 가능한 것인 키트.

도면

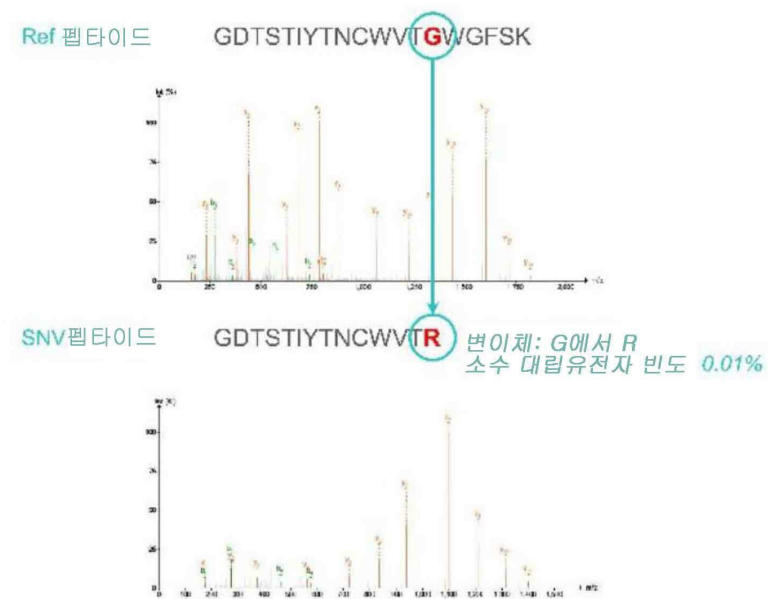
도면1



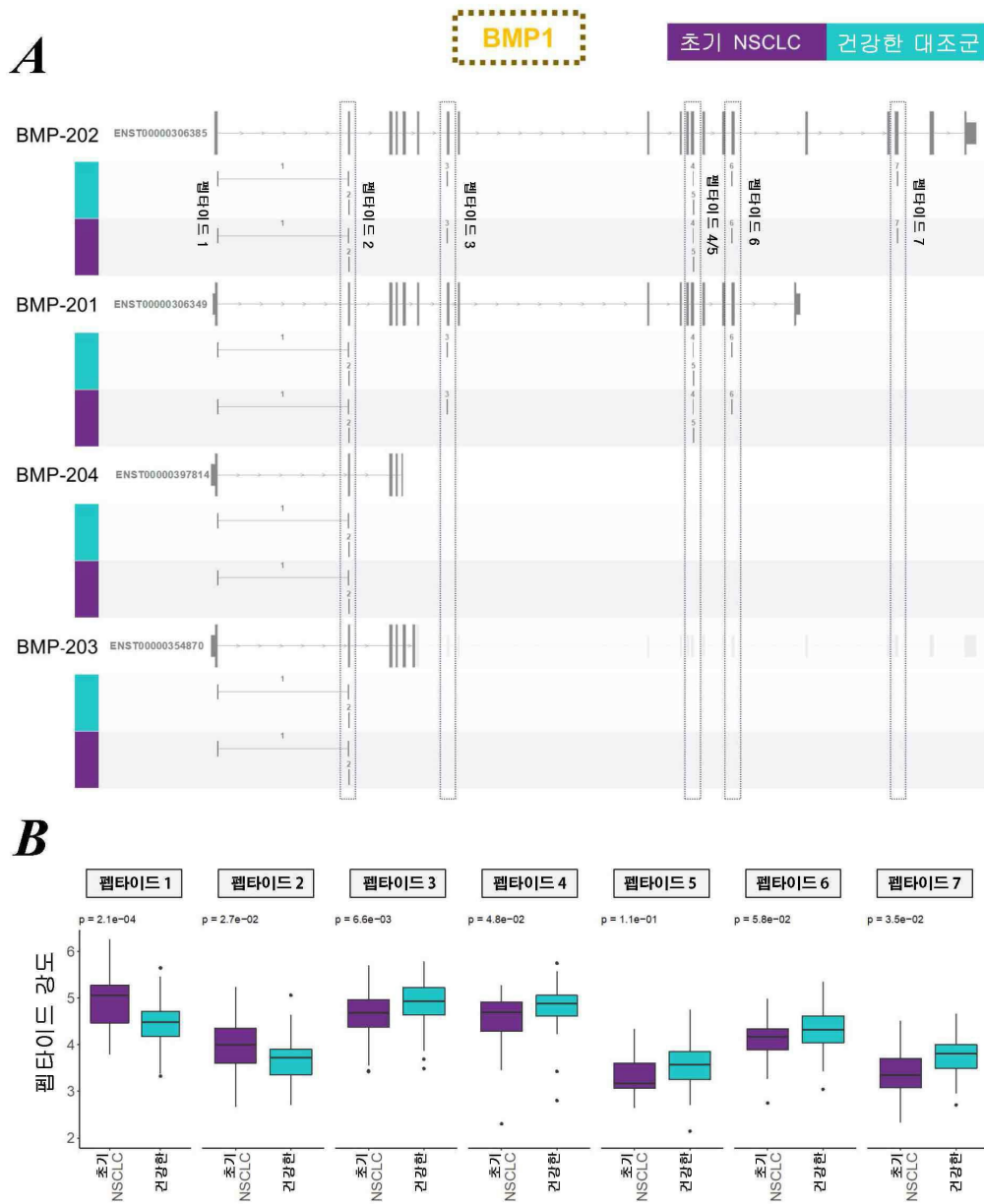
도면2a



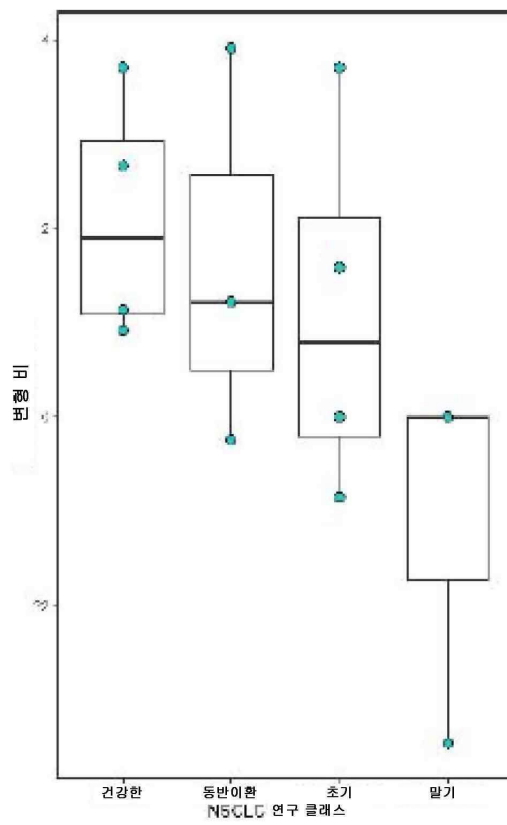
도면2b



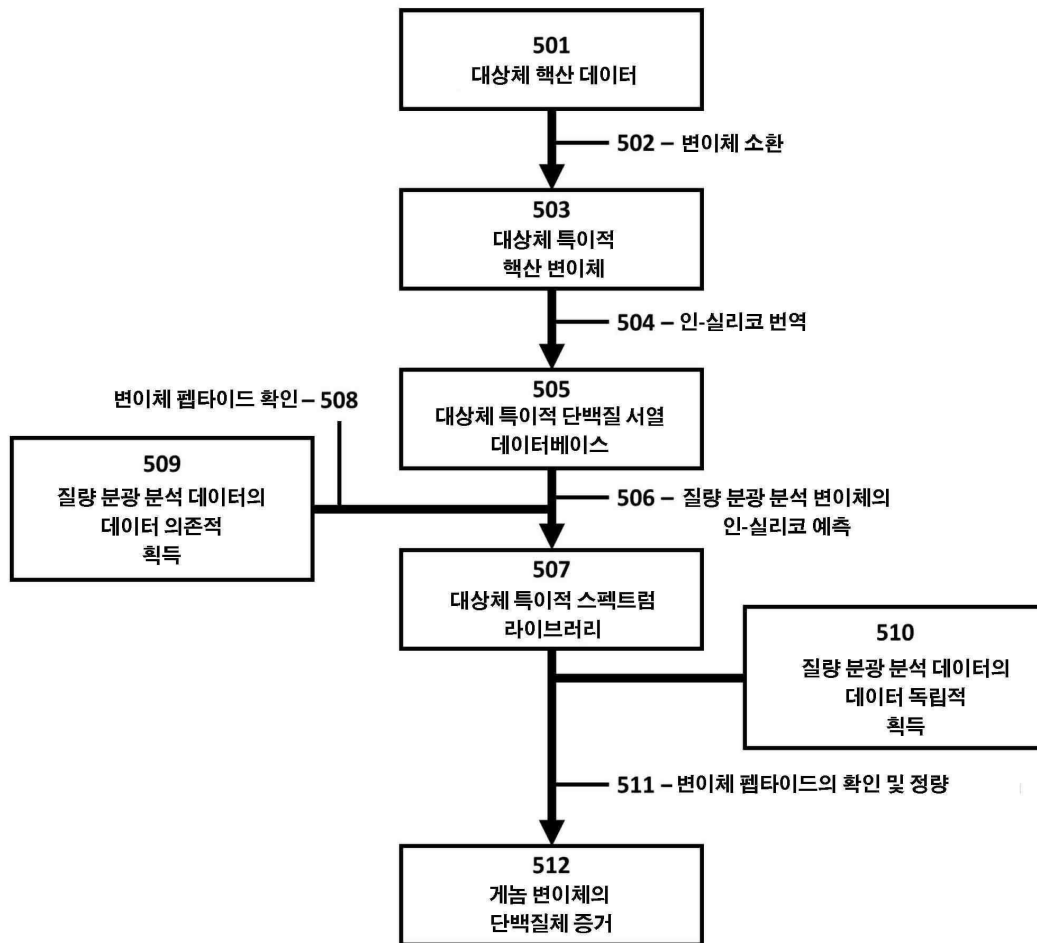
도면3



도면4

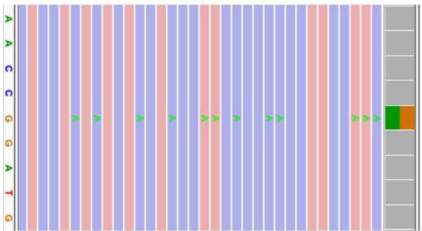


도면5



601

환자 DNA 시퀀싱
데이터



602

환자 특이적
DNA 변이체

chr4:186256063
G->A (이형접합성)

603

환자 특이적 단백질 서열
데이터베이스

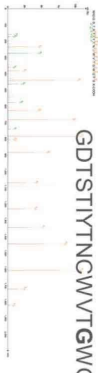
>NP_000883.2 혈장 칼리크레인 이소형 1
...PSKGDSTIYTNCWVTGWGFSKEKG...

>NP_000883.2 혈장 칼리크레인 이소형 1
모리모단백질|SNP=G186256063A|SAAP=G521R
...PSKGDSTIYTNCWVTGWGFSKEKG...
환자 특이적 단백질 부가



환자 특이적 스펙트럼 라이브러리

GDSTIYTNCWVTGWGFSK



GDSTIYTNCWVTR

변이체 펩타이드 부가체의 환자 특이적 스펙트럼

604

도면6

환자 특이적 단백질로부터 유래된 "이론적 스펙트럼" 또는 서열 라이브러리의 스펙트럼에 대해 실험 질량 스펙트럼을 매치시킴.

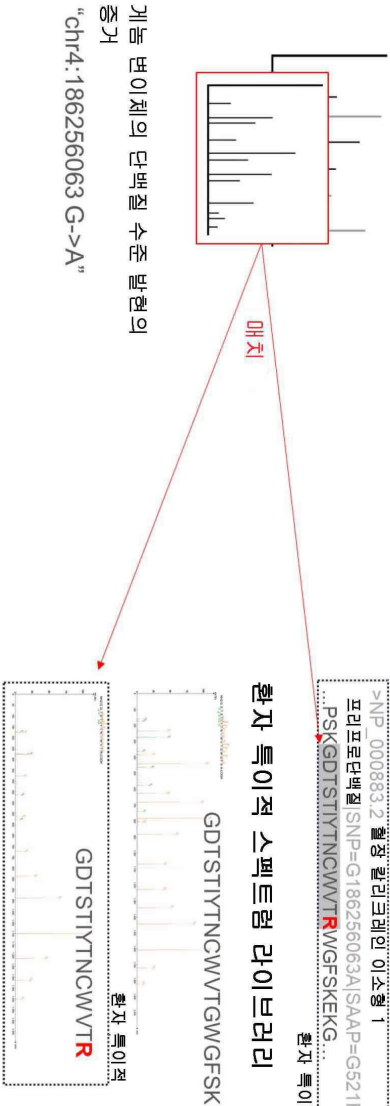
환자 특이적 서열 또는 스펙트럼 라이브러리에 대해 실험 질량 스펙트럼을 매치시킴.

환자 특이적 단백질
서열 라이브러리

>NP_000883.2 혈장 칼리크레인 이소형 1
...PSKGDSTIYTNQWVTGWGFSKEKG...

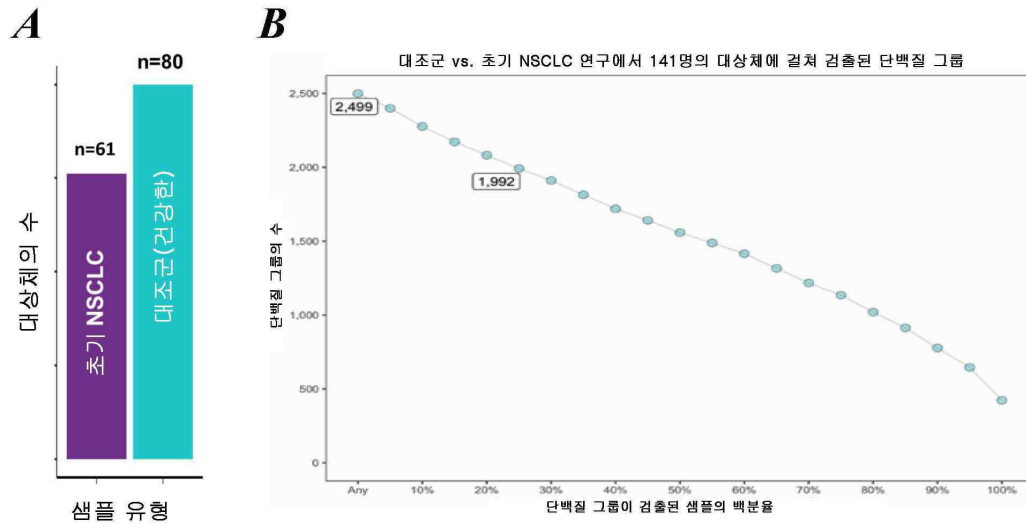
>NP_000883.2 혈장 칼리크레인 이소형 1
프린트 단백질(SNP=G186256063A)SAP=G521R
...PSKGDSTIYTNQWVTGWGFSKEKG...
환자 특이적

환자 특이적 스펙트럼 라이브러리

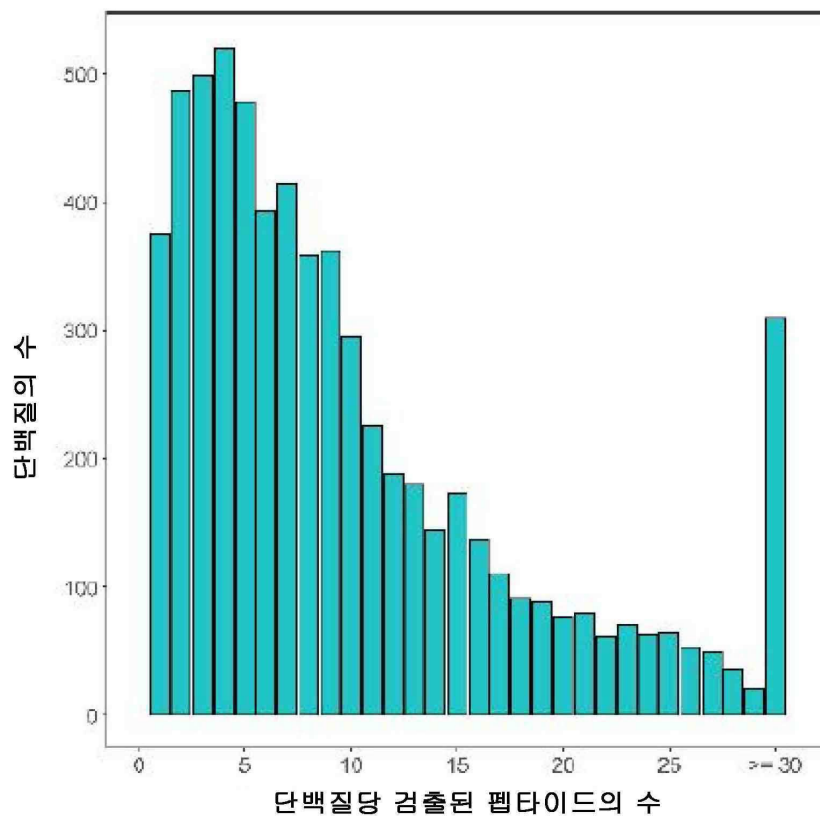


도면7

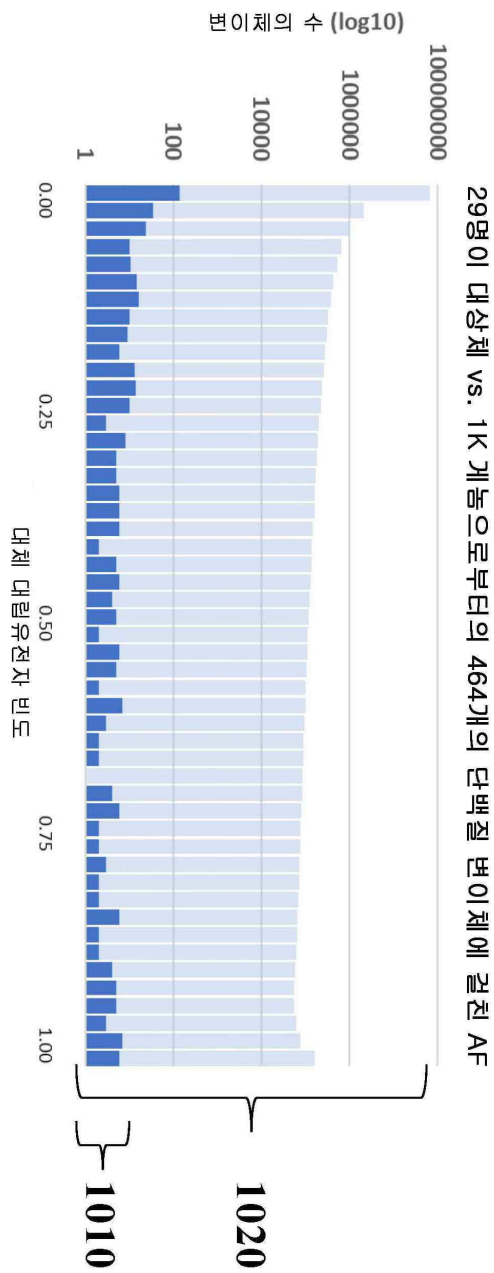
도면8



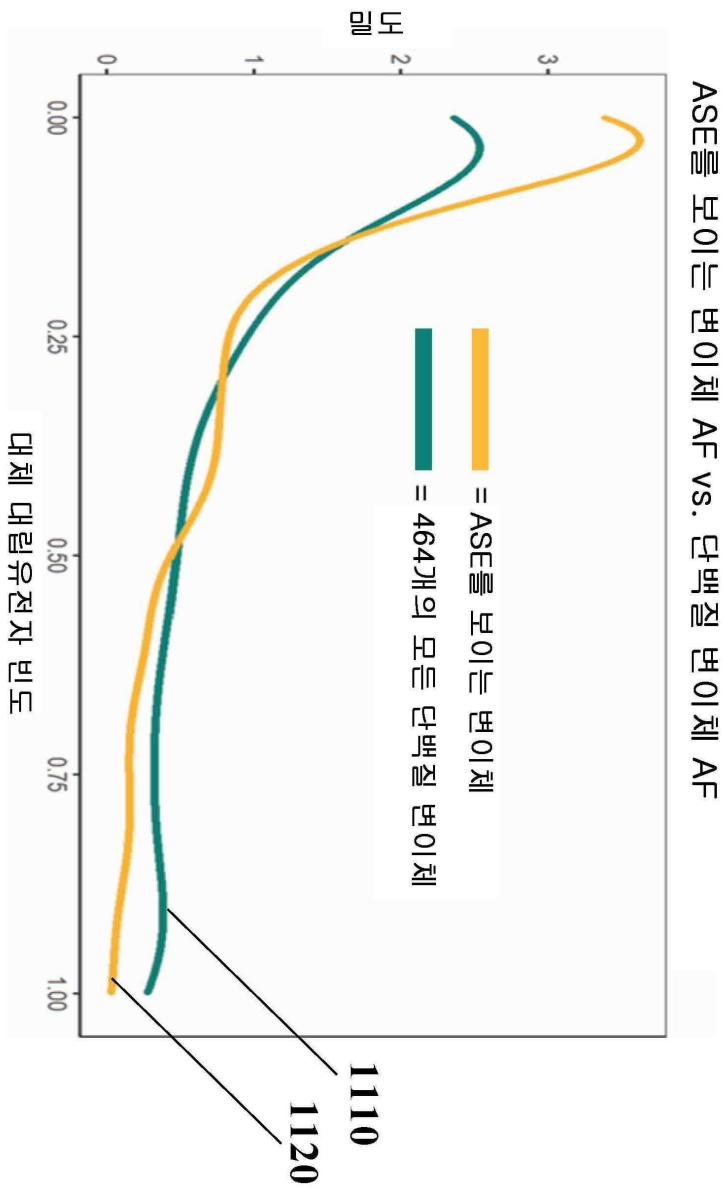
도면9



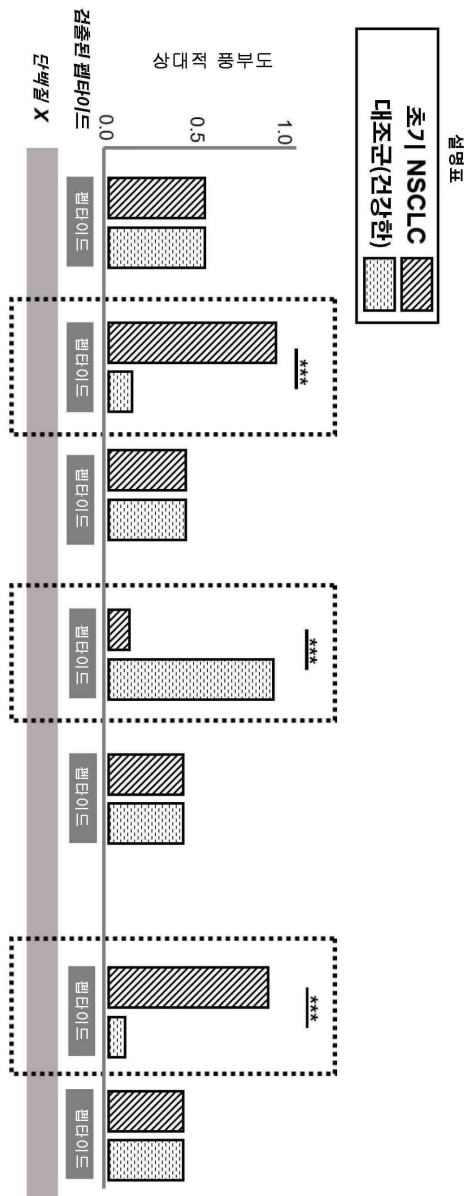
도면10



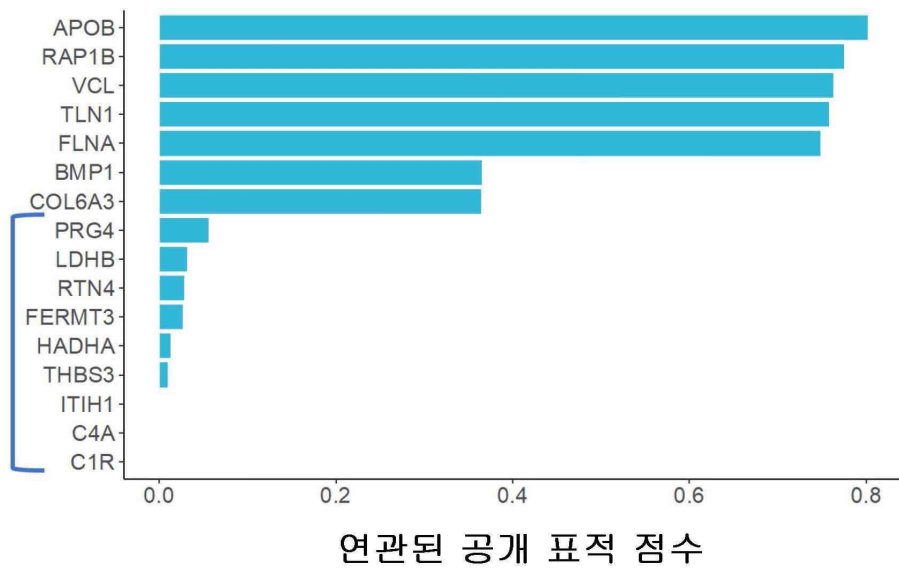
도면11



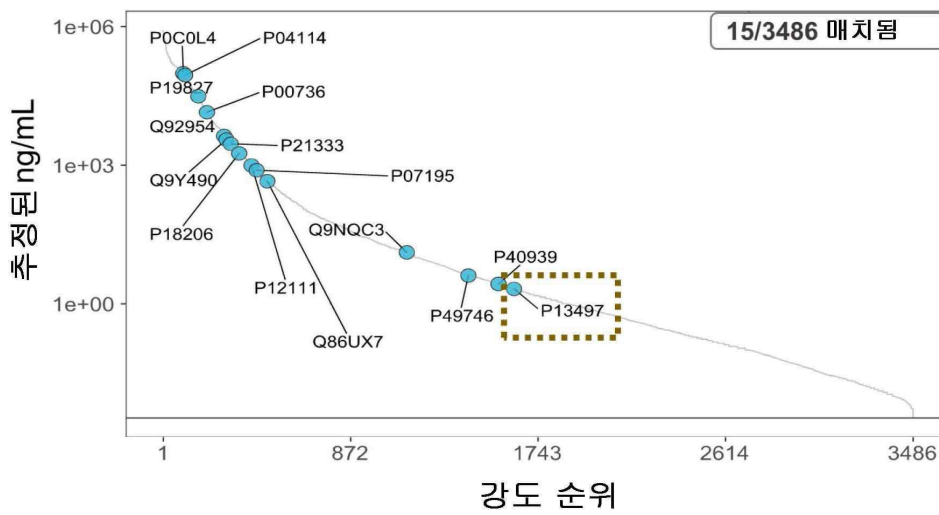
도면 12a



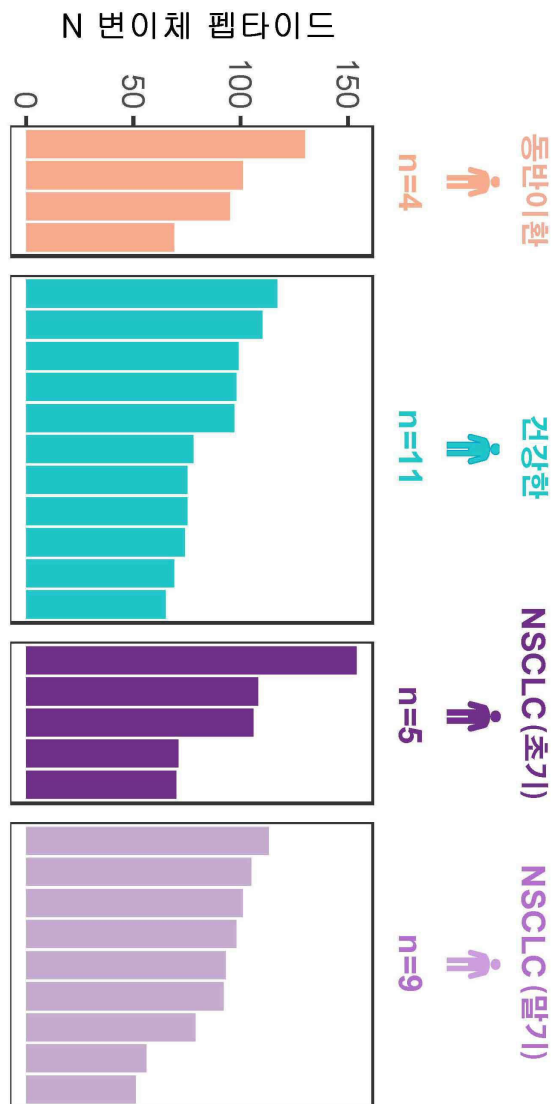
도면12b



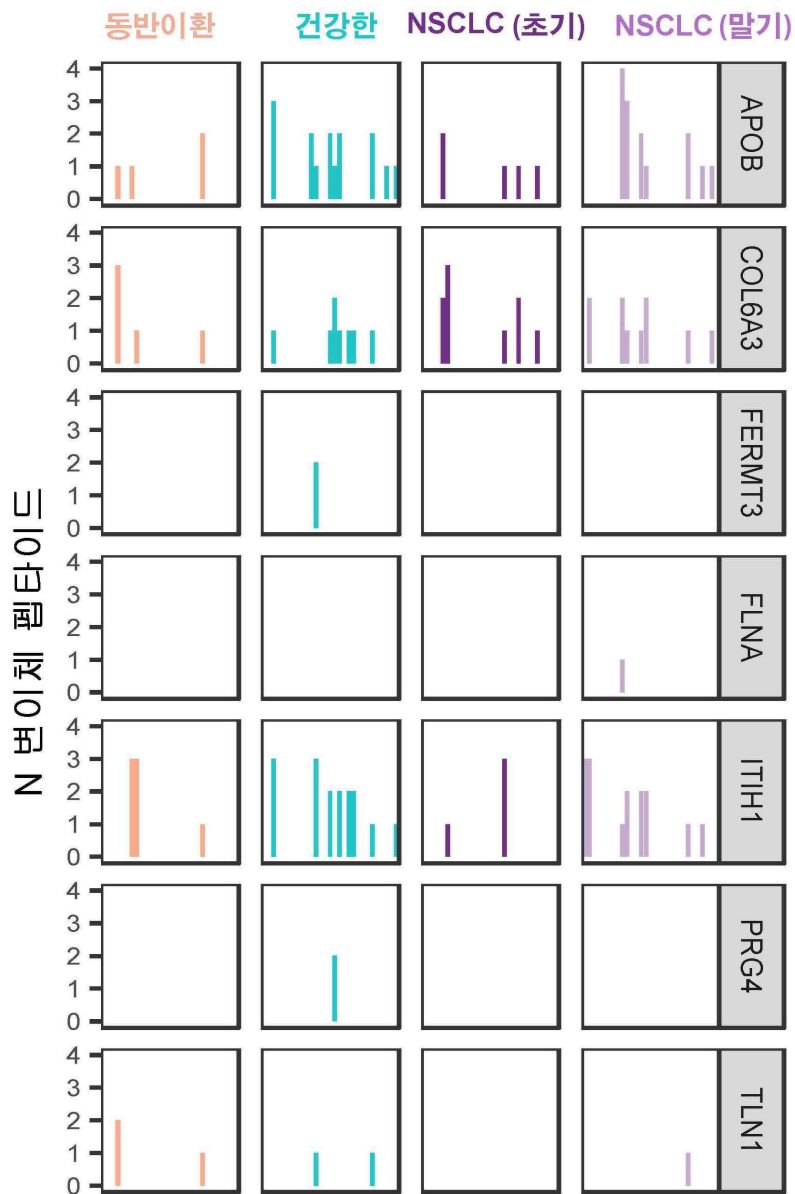
도면12c



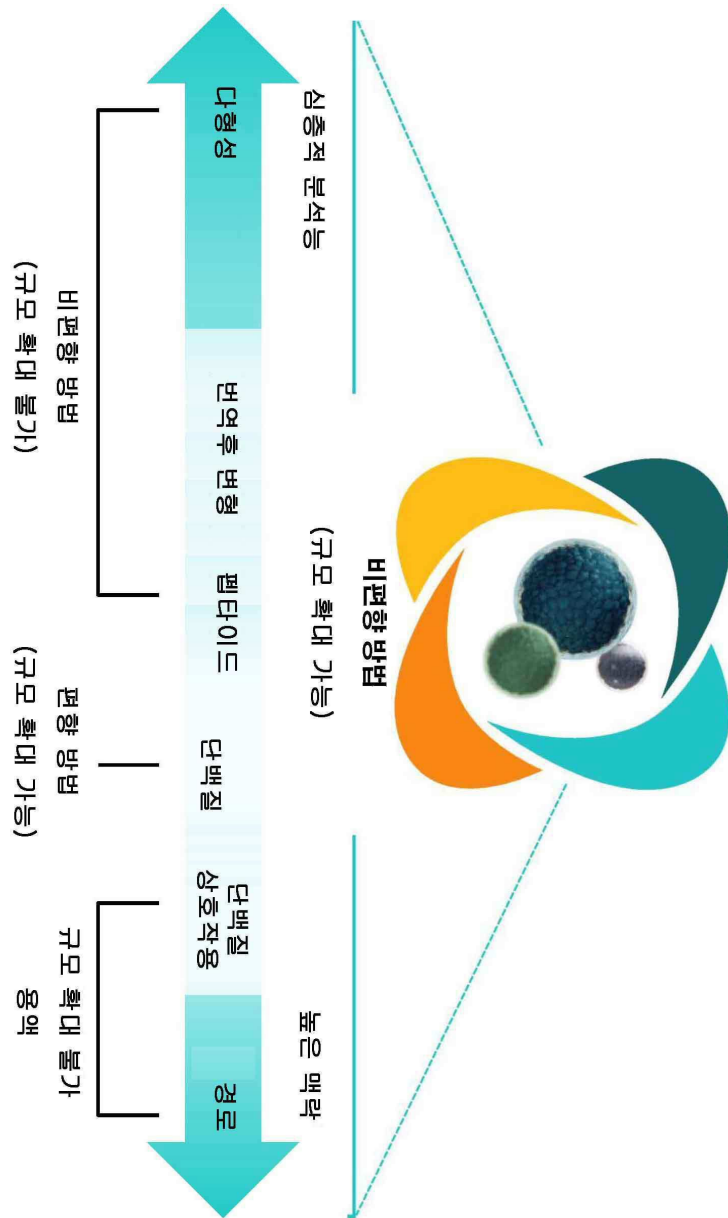
도면13



도면14



도면15

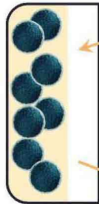
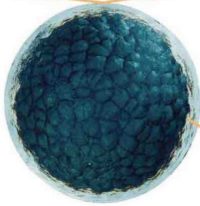


도면16

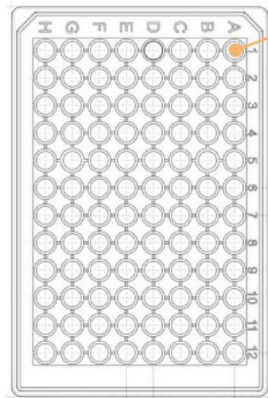
고도로 복잡한 맞춤형 실험실



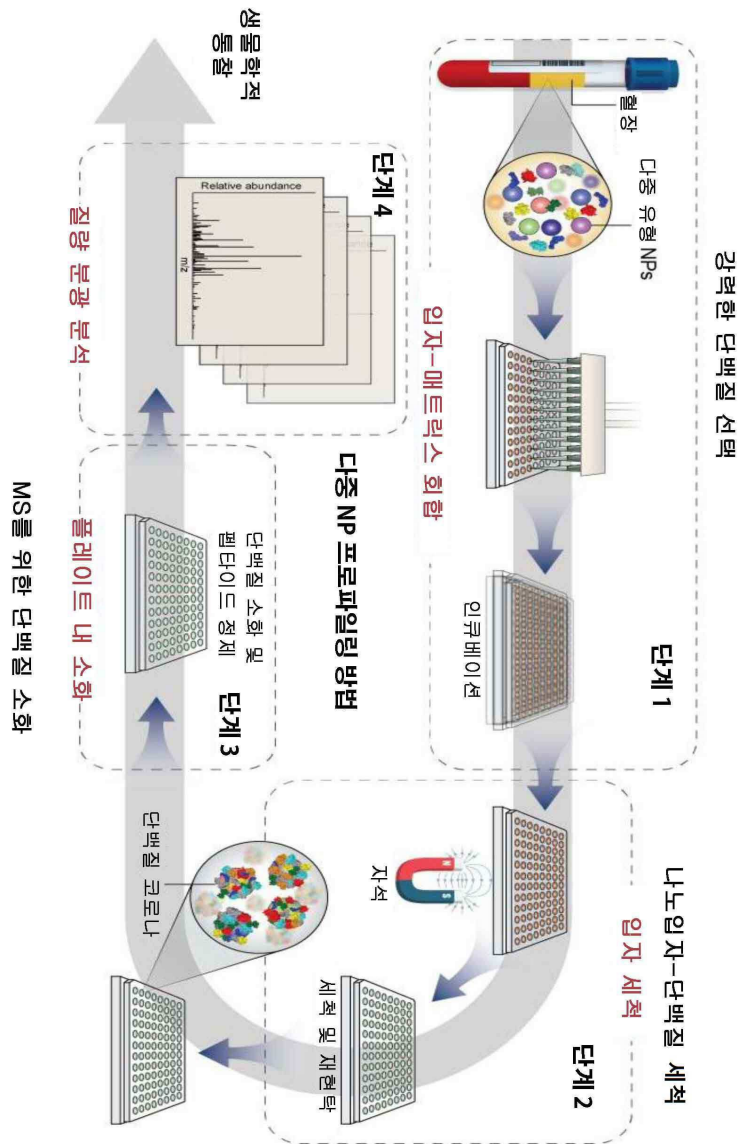
나노 규모 실험실



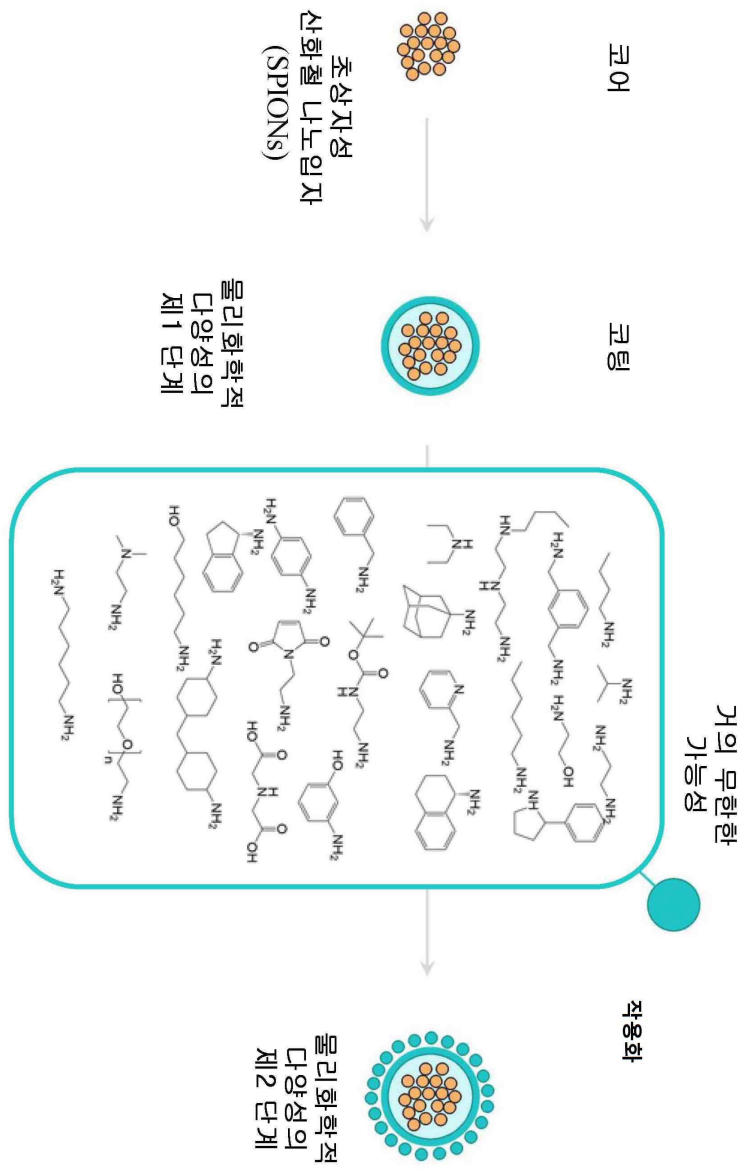
병렬 구성 가능한 워크플로우



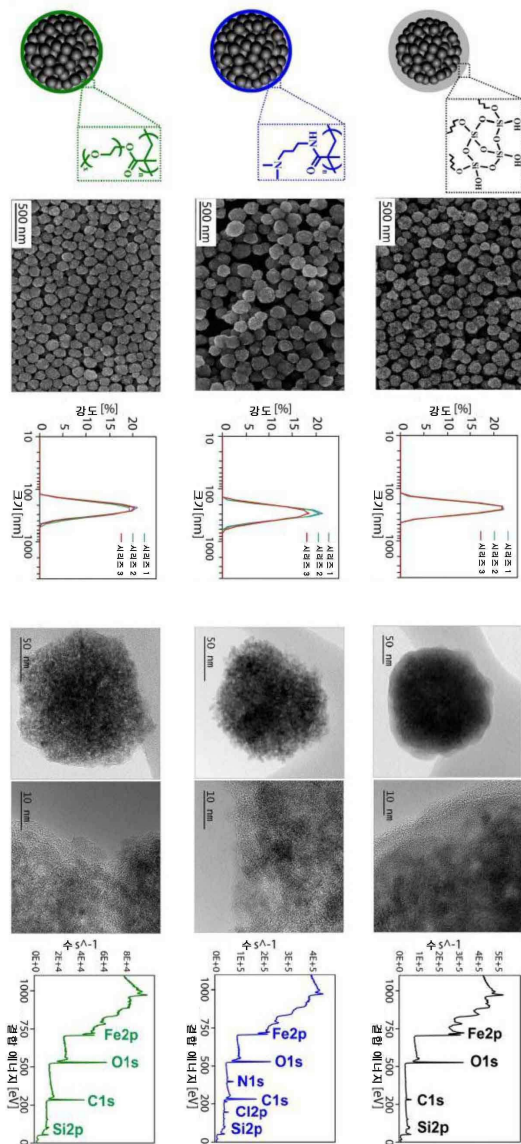
도면17



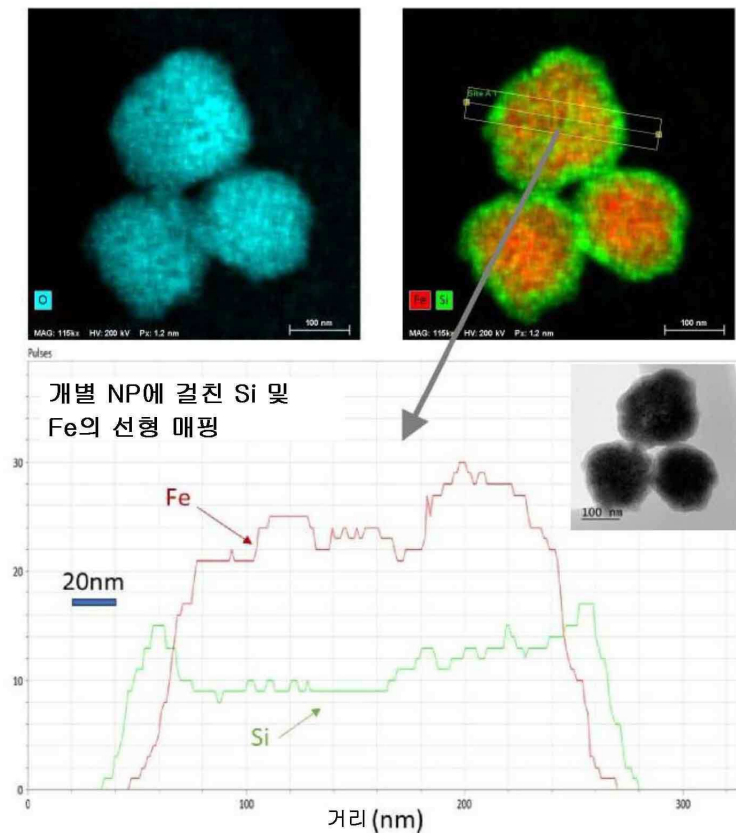
도면18



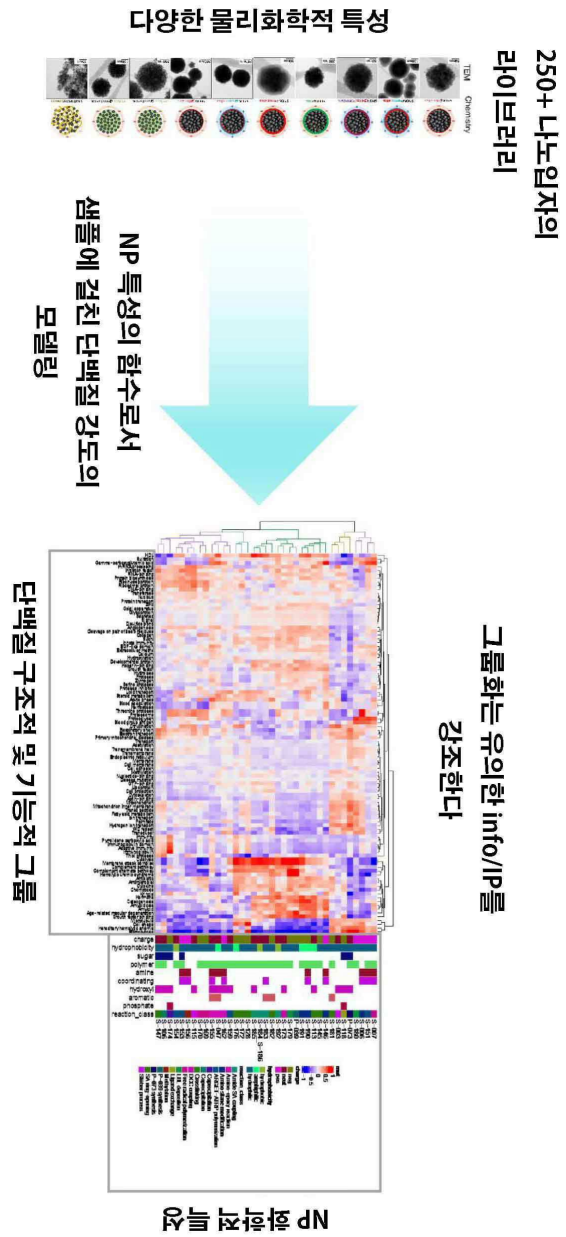
도면19a



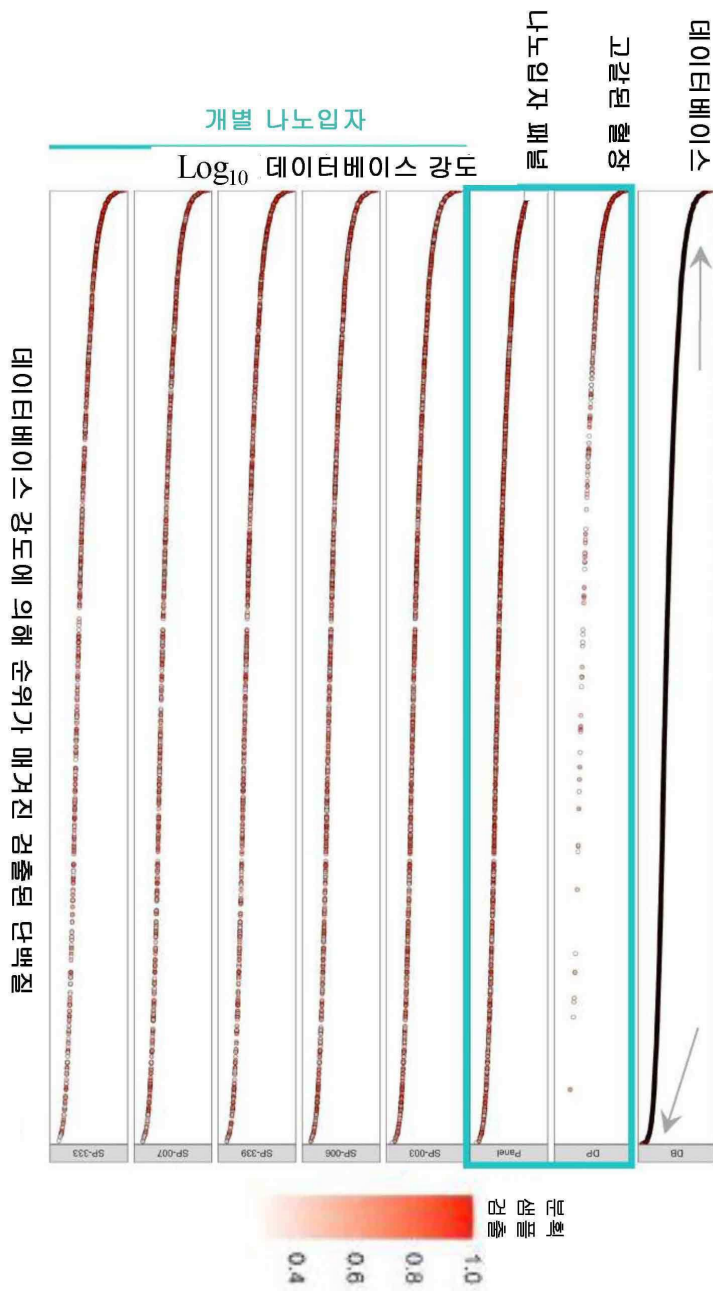
도면19b



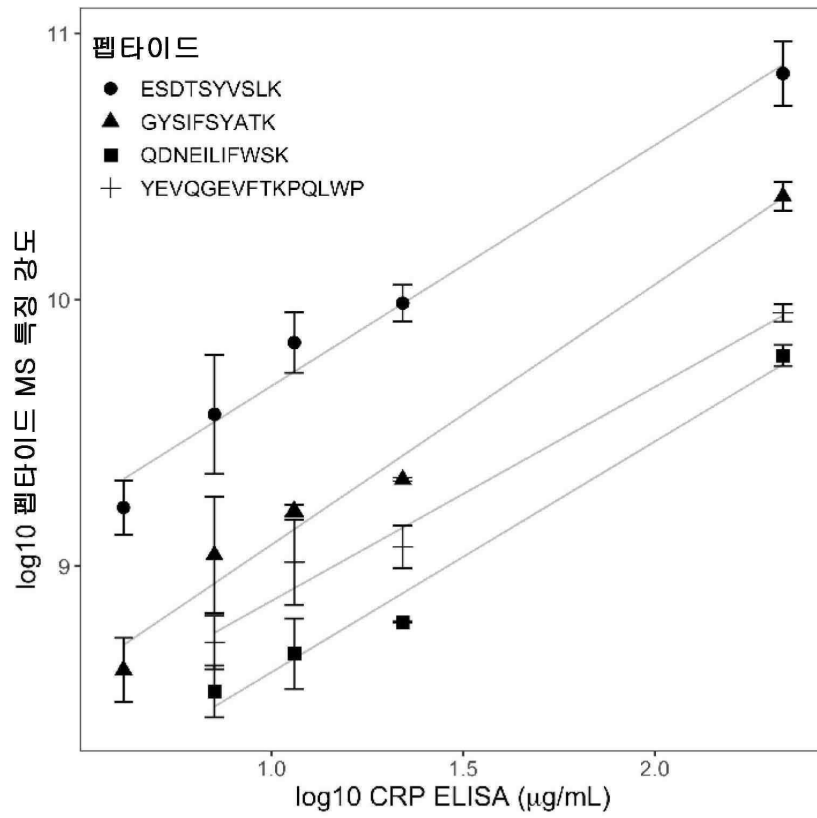
도면20



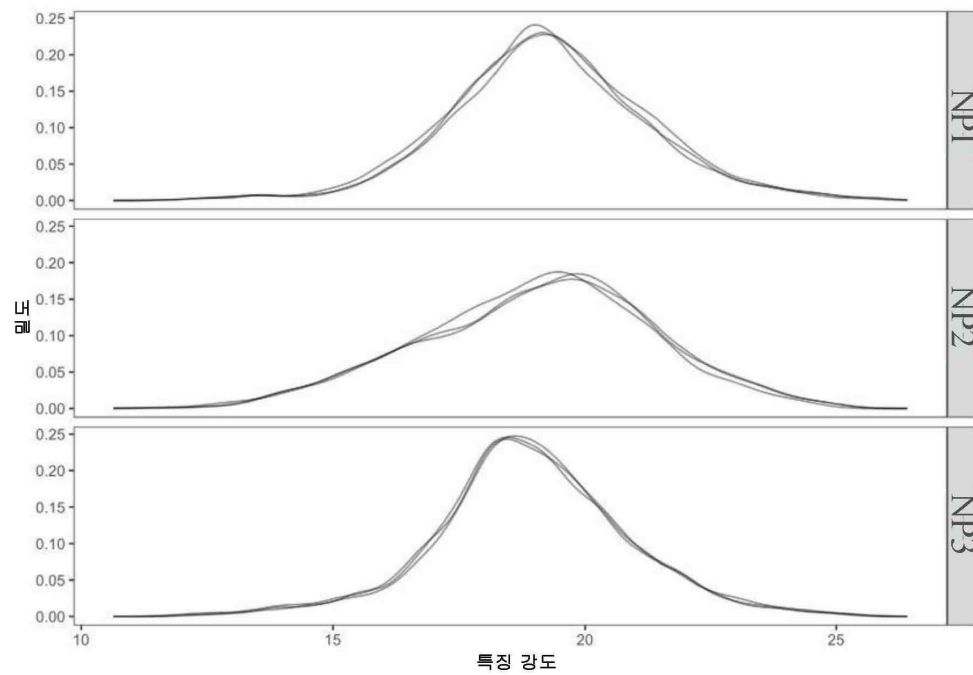
도면21



도면22



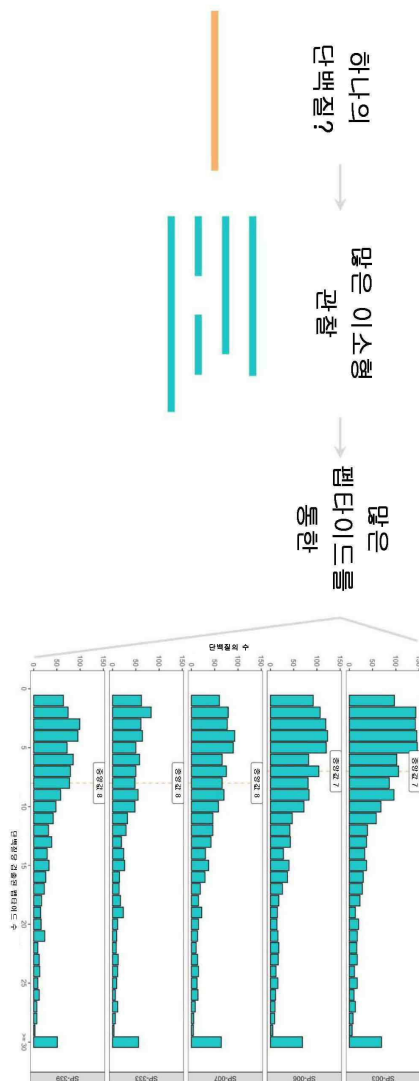
도면23a



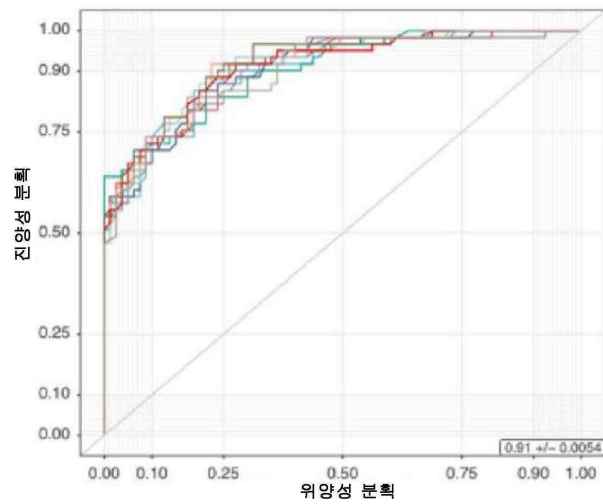
도면23b

나노입자	CV%
NP1	19.6
NP2	30.3
NP3	17
평균	22

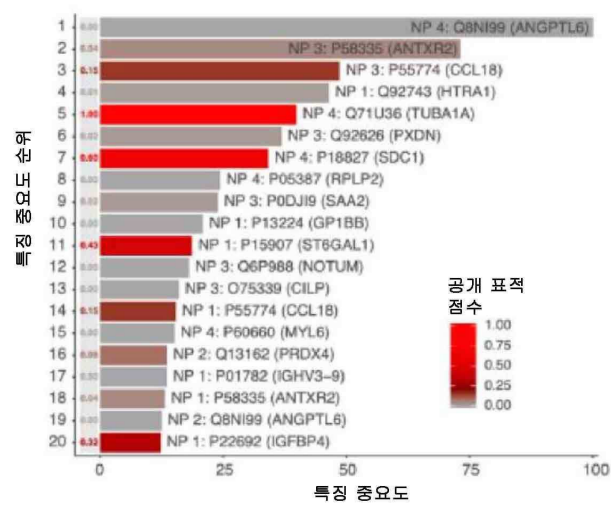
도면24



도면25a



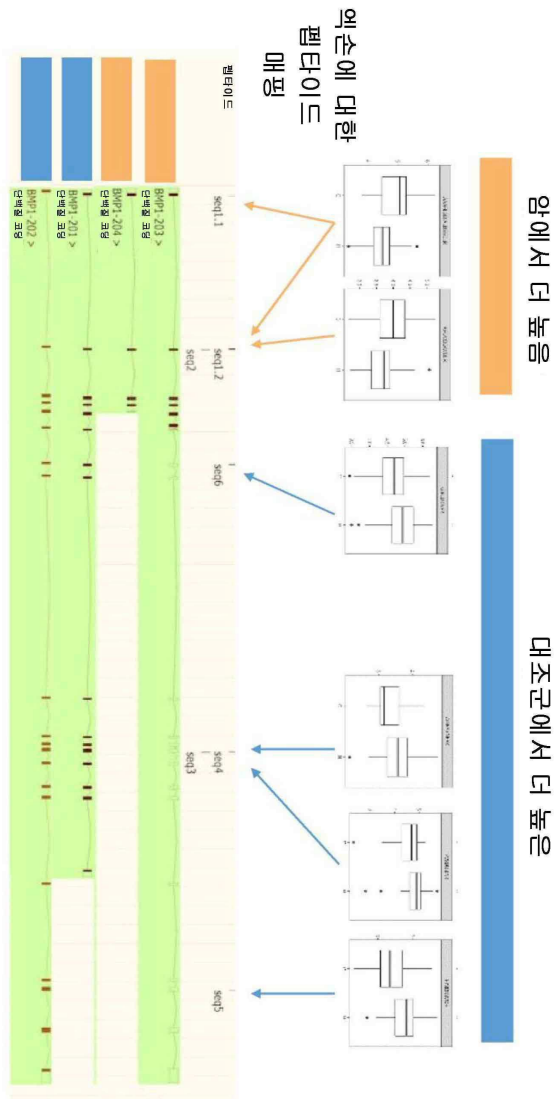
도면25b



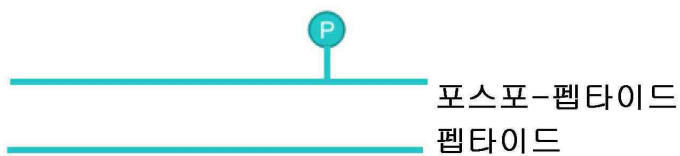
도면26



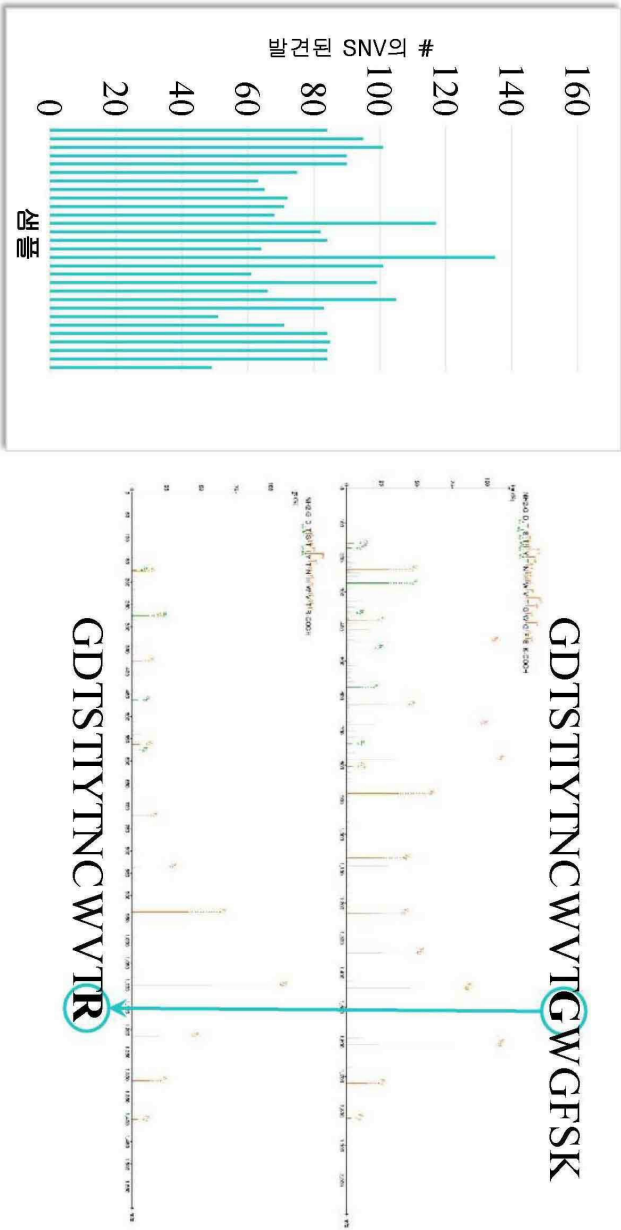
도면27



도면28

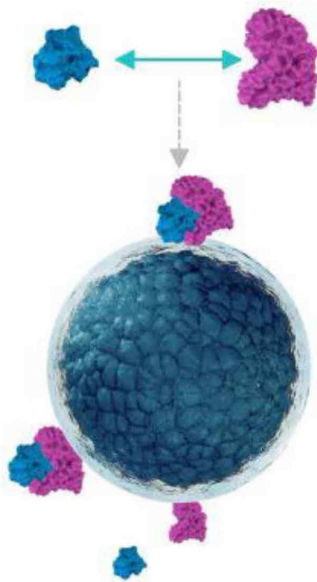


도면29

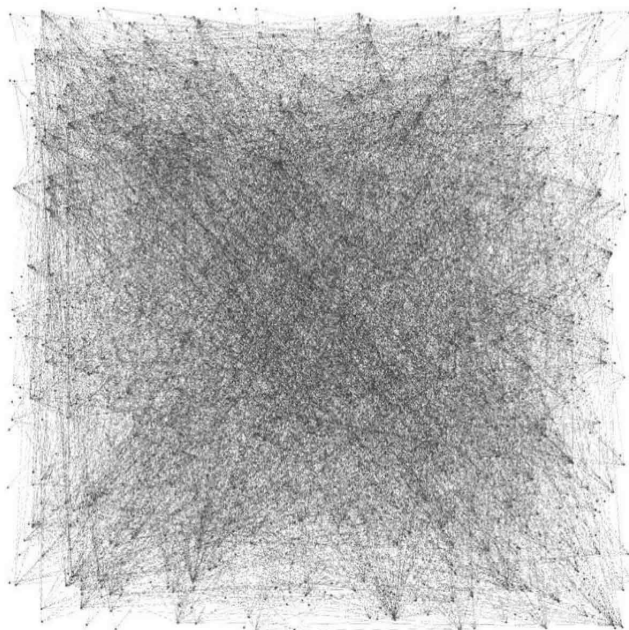


도면30

단백질-단백질
상호작용

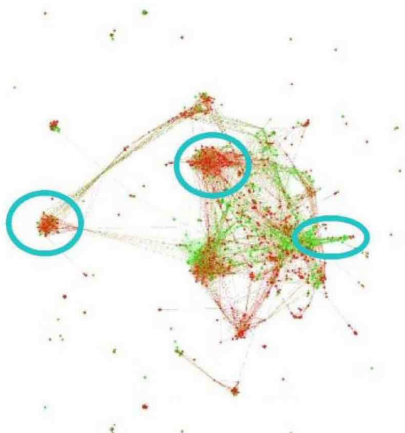


도면31

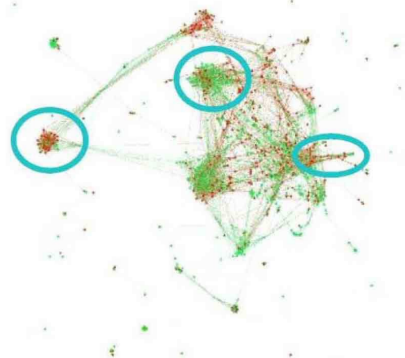


도면32

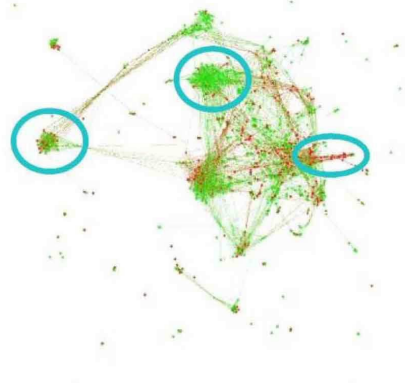
건강한



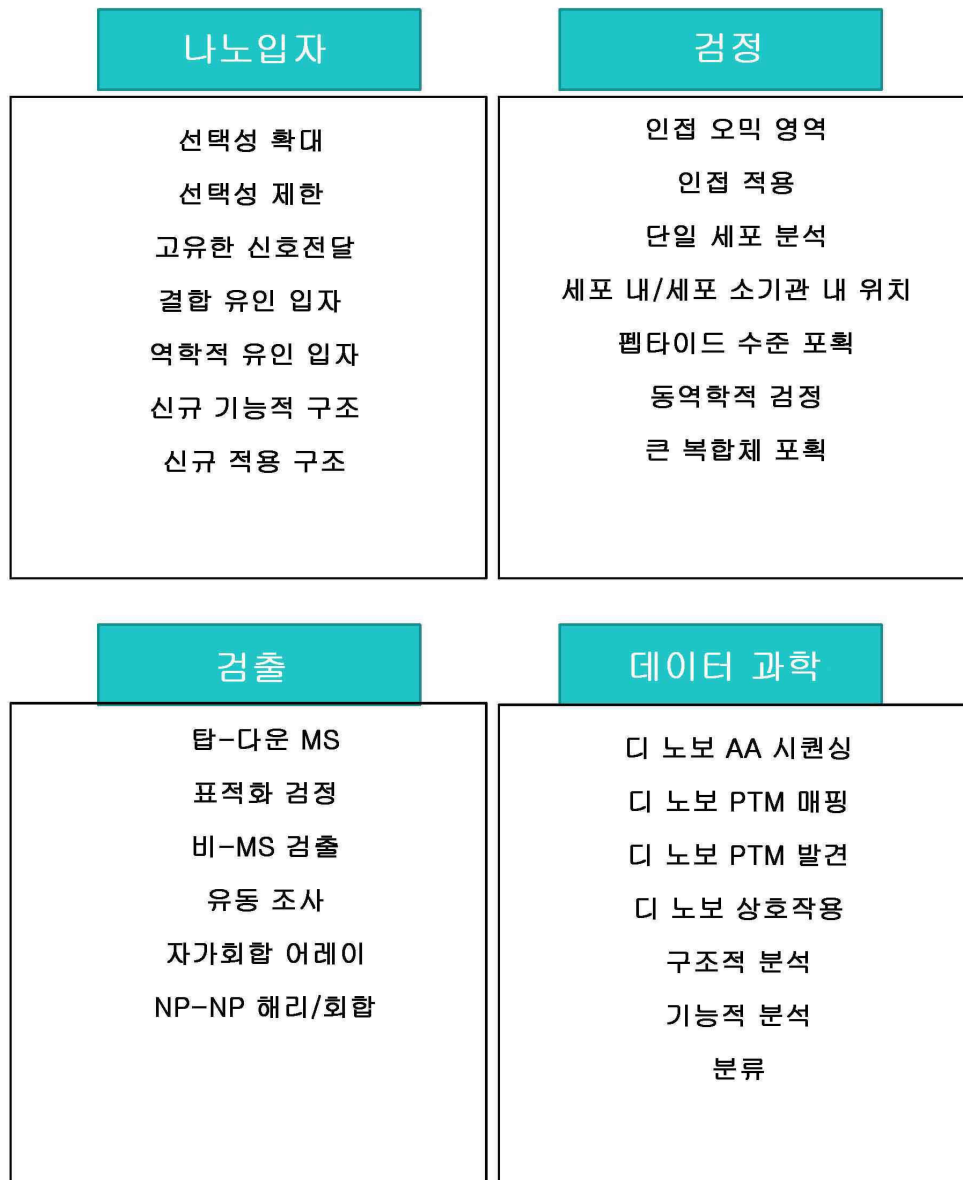
초기 NSCLC



말기 NSCLC



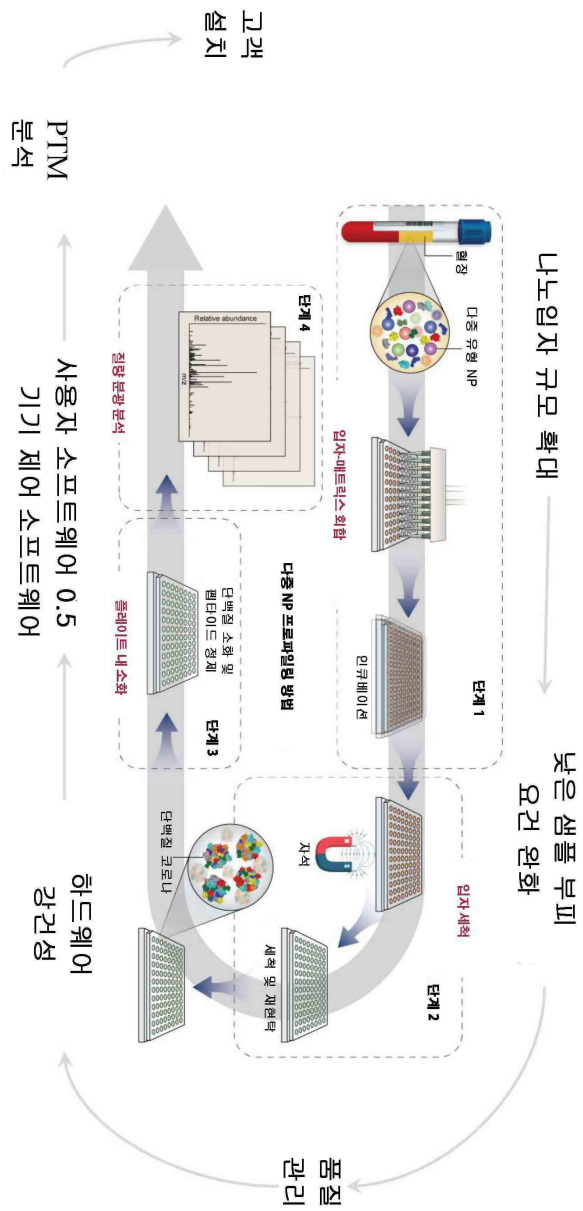
도면33



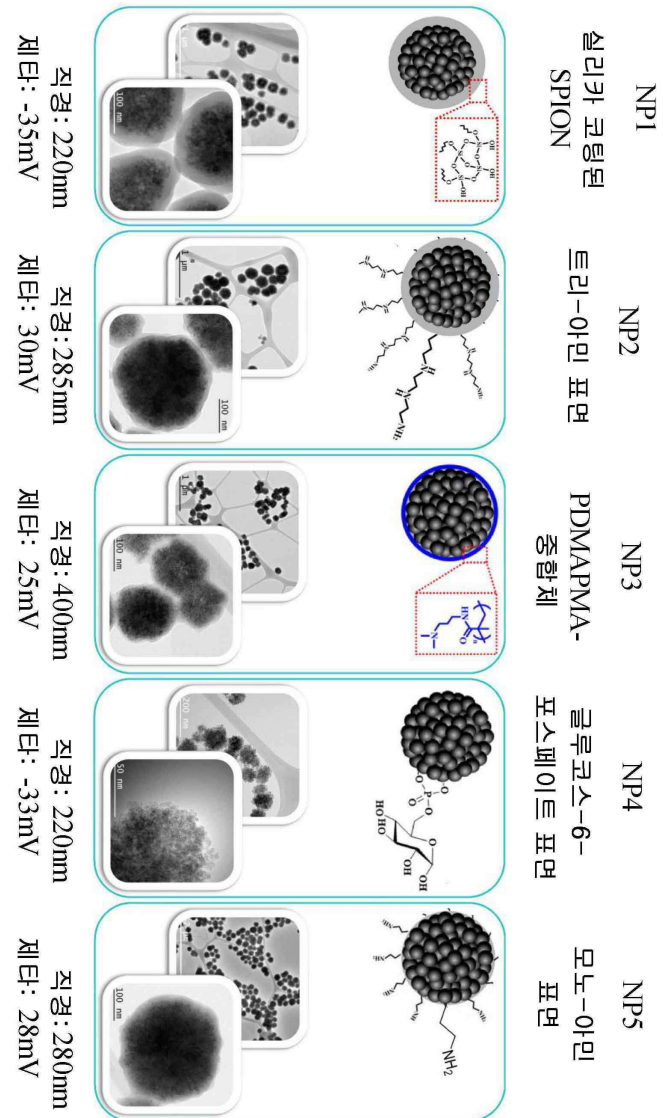
도면34



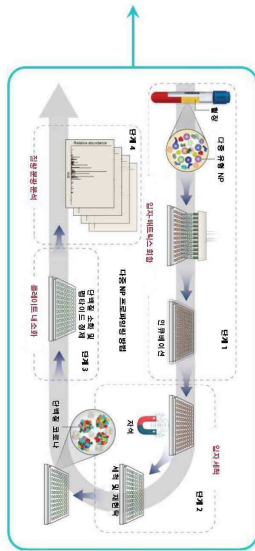
도면35



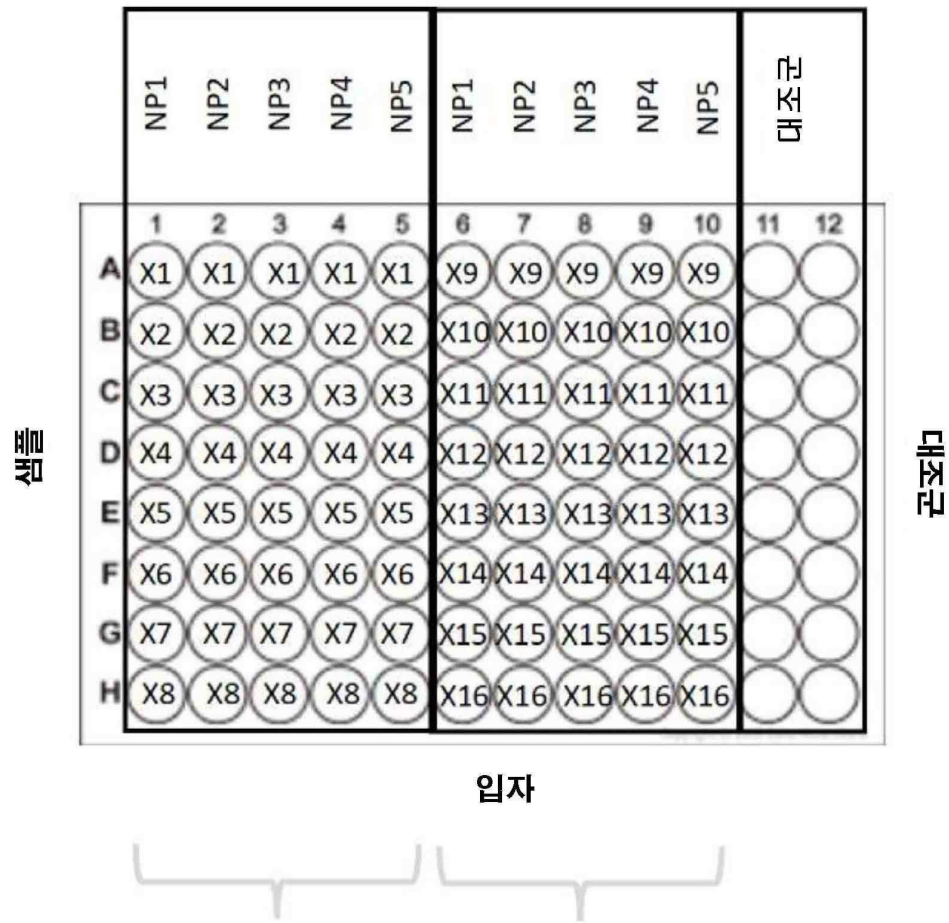
도면36



도면37



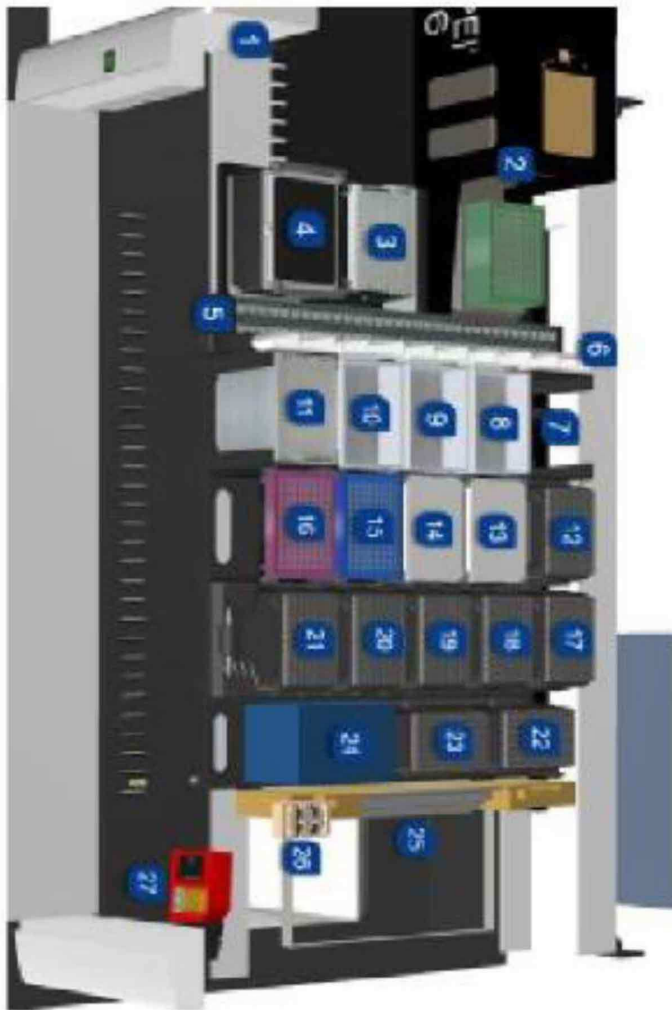
도면38



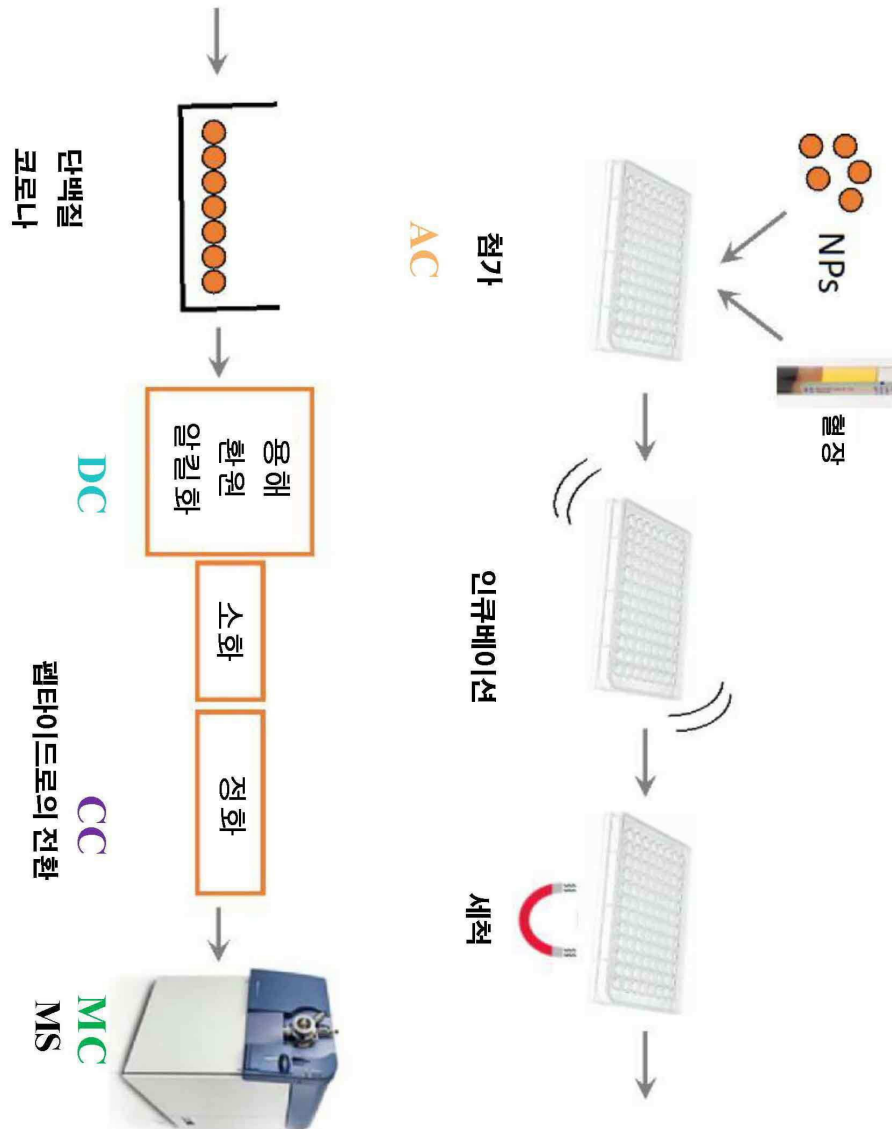
각각 샘플 당 5개의 NP가 존재하는 8개의 샘플의 2개의 열

도면39

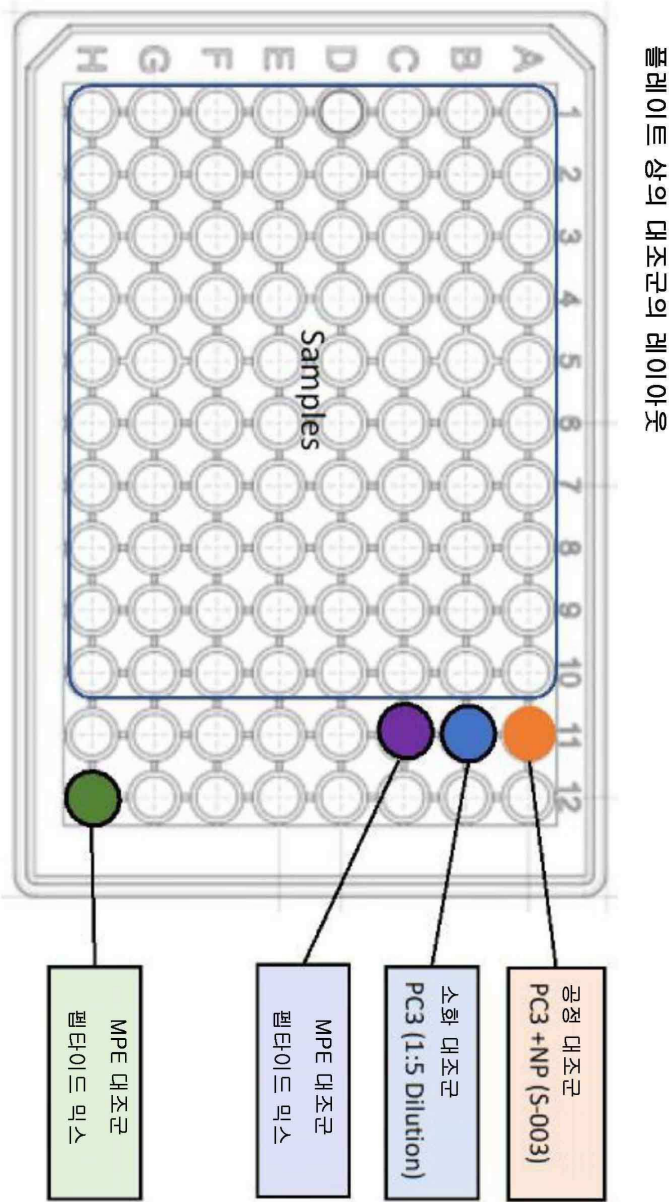
주요 성분
MPE 필터
냉각 플레이트
히터



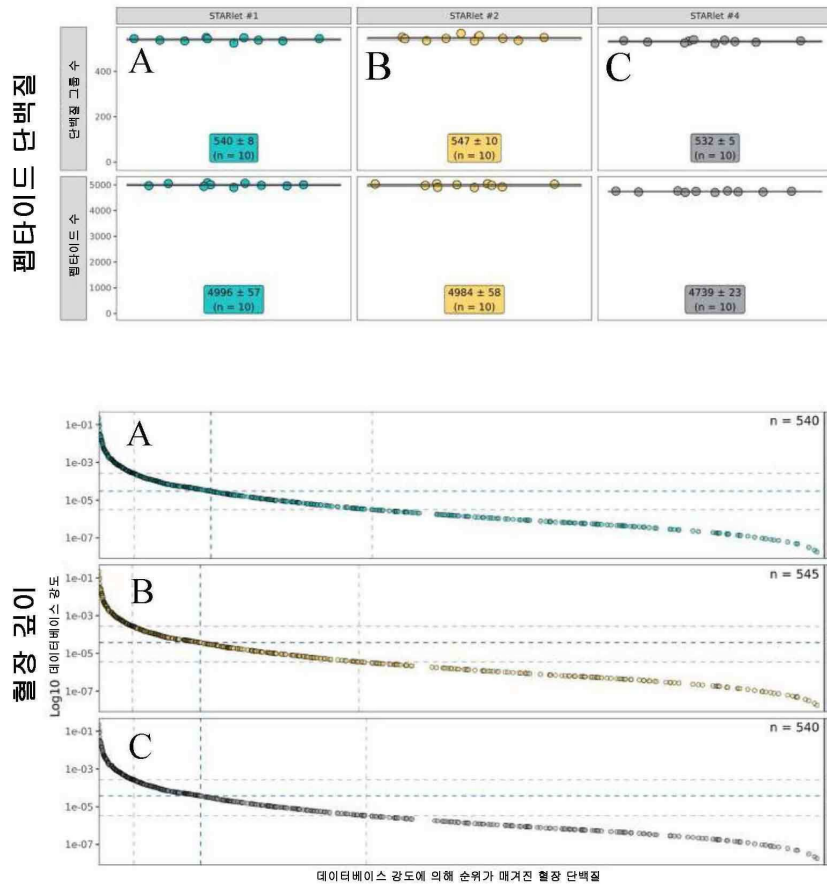
도면40



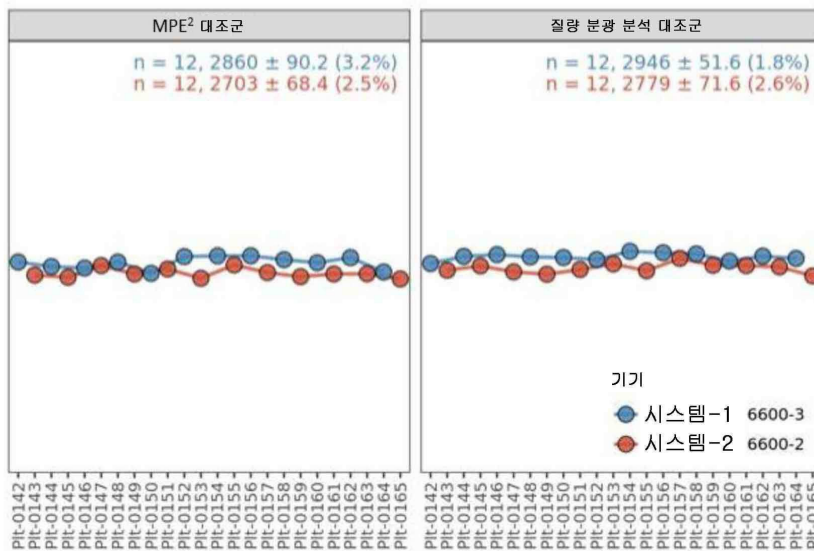
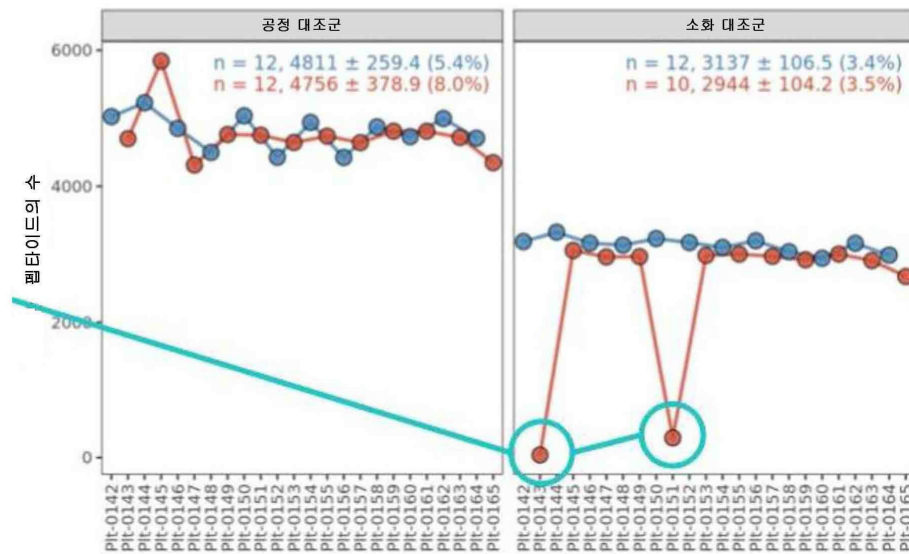
도면41



도면42



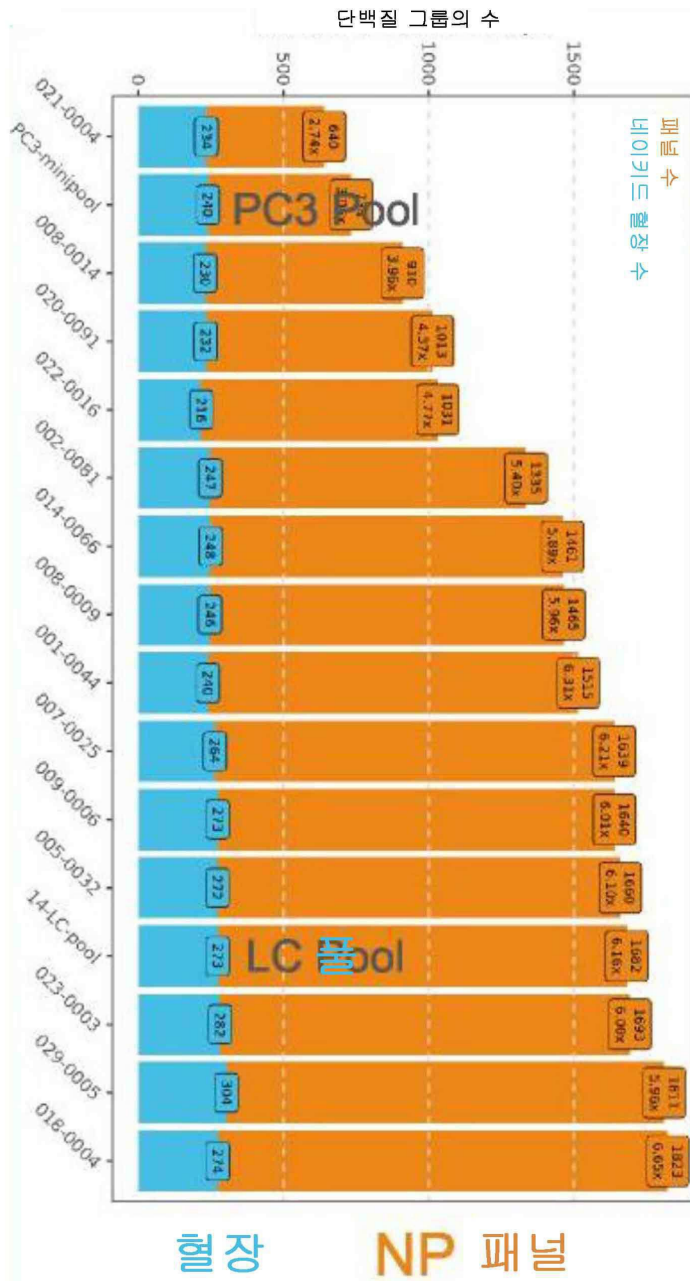
도면43



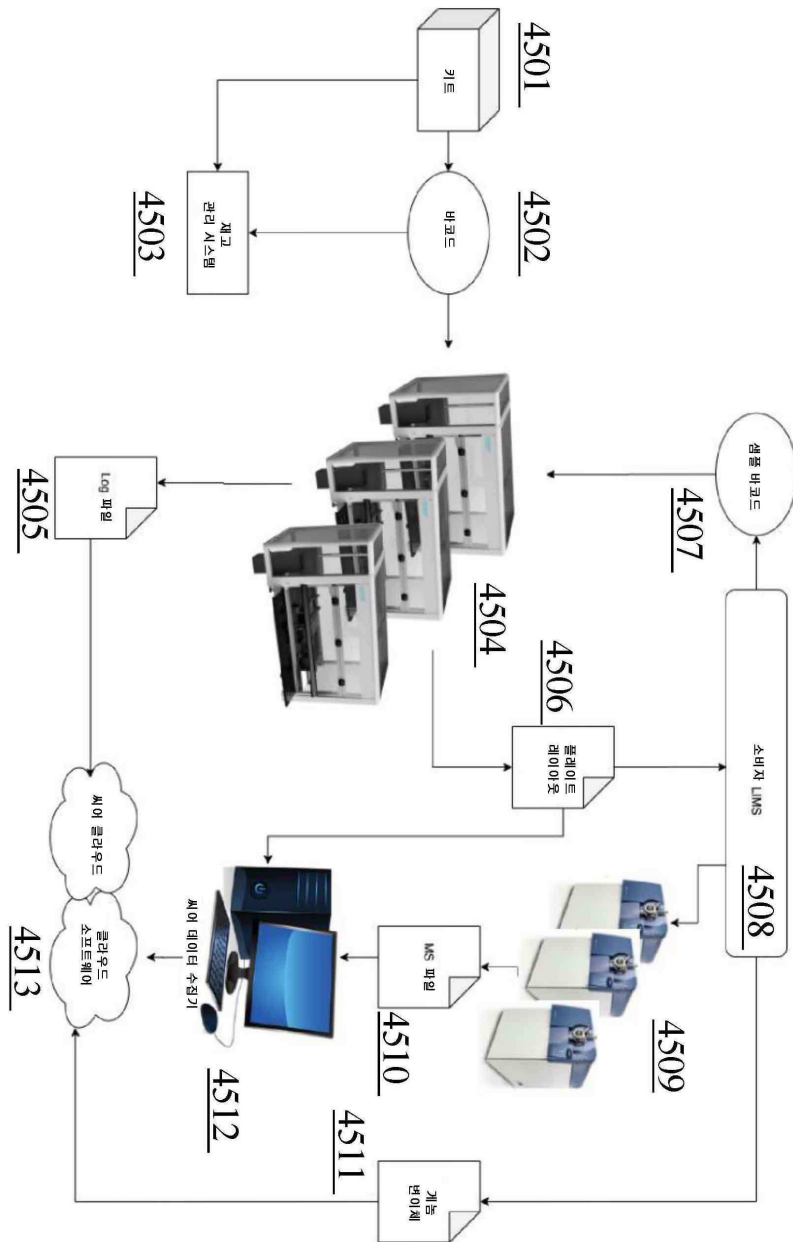
시스템-1
시스템-2

플레이트

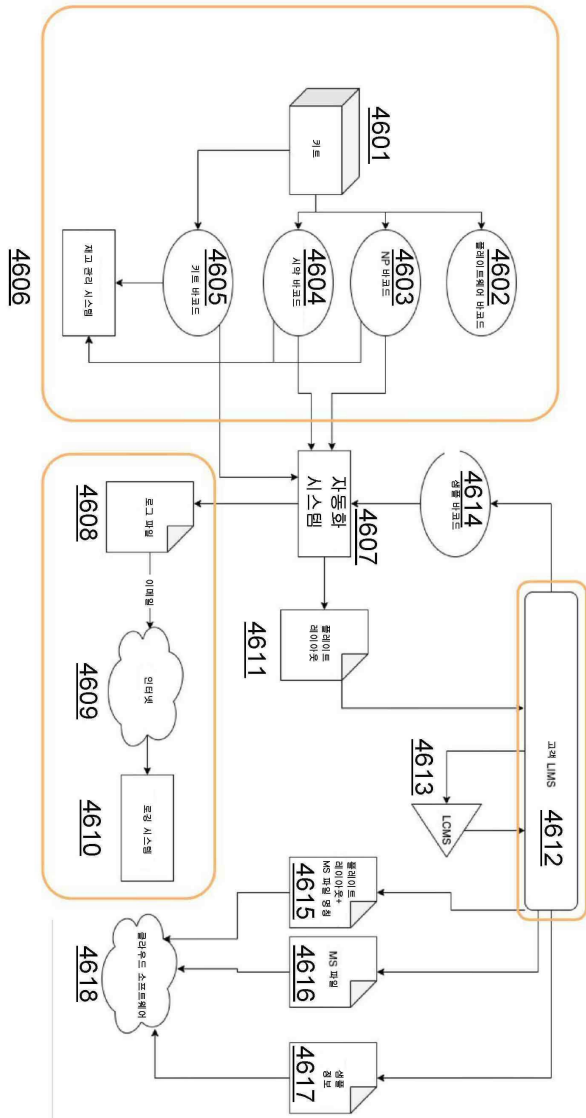
도면44



도면45



도면46



도면47



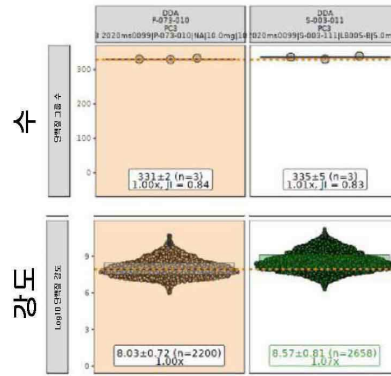
도면48

실험 (MS 주입)

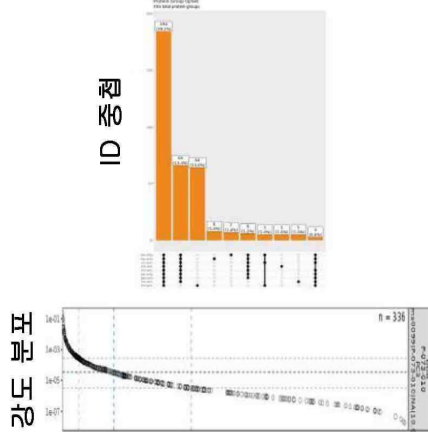
4801

Item Selection											
Item	Group	Location	Area	Area	Area	Area	Area	Area	Area	Area	Area
4801	4801	4801	4801	4801	4801	4801	4801	4801	4801	4801	4801
4802	4802	4802	4802	4802	4802	4802	4802	4802	4802	4802	4802
4803	4803	4803	4803	4803	4803	4803	4803	4803	4803	4803	4803
4804	4804	4804	4804	4804	4804	4804	4804	4804	4804	4804	4804
4805	4805	4805	4805	4805	4805	4805	4805	4805	4805	4805	4805

4802

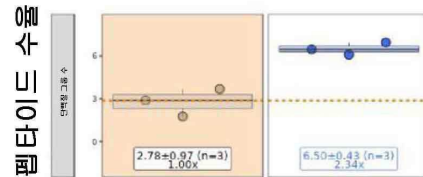


4803



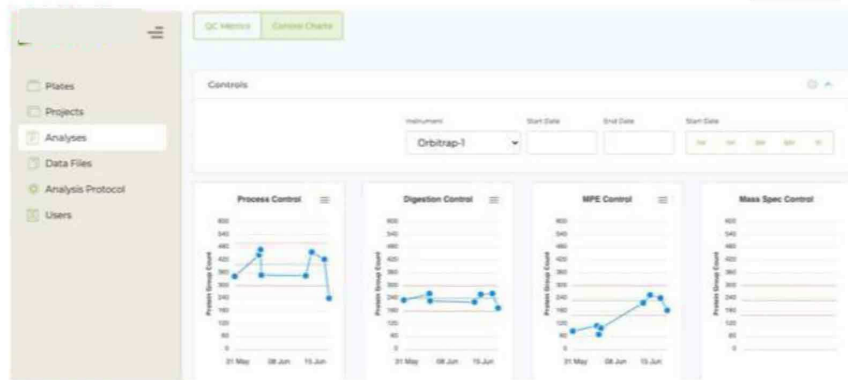
4804

4805

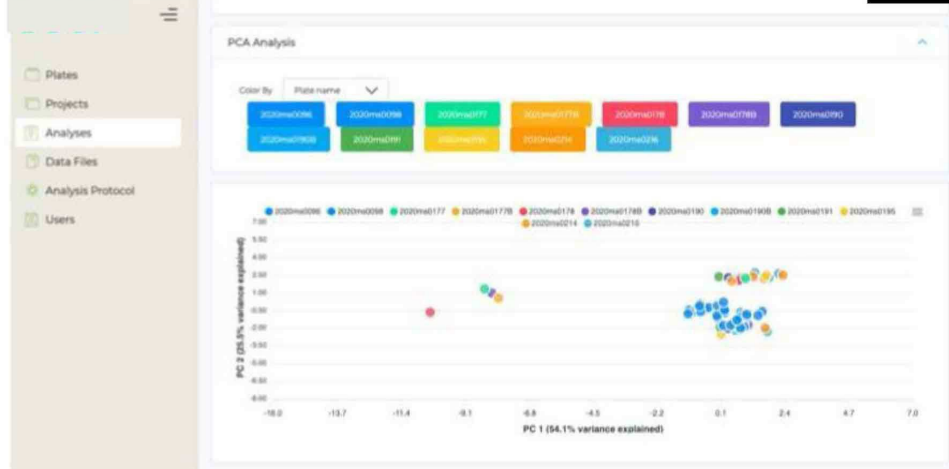


도면49

4901



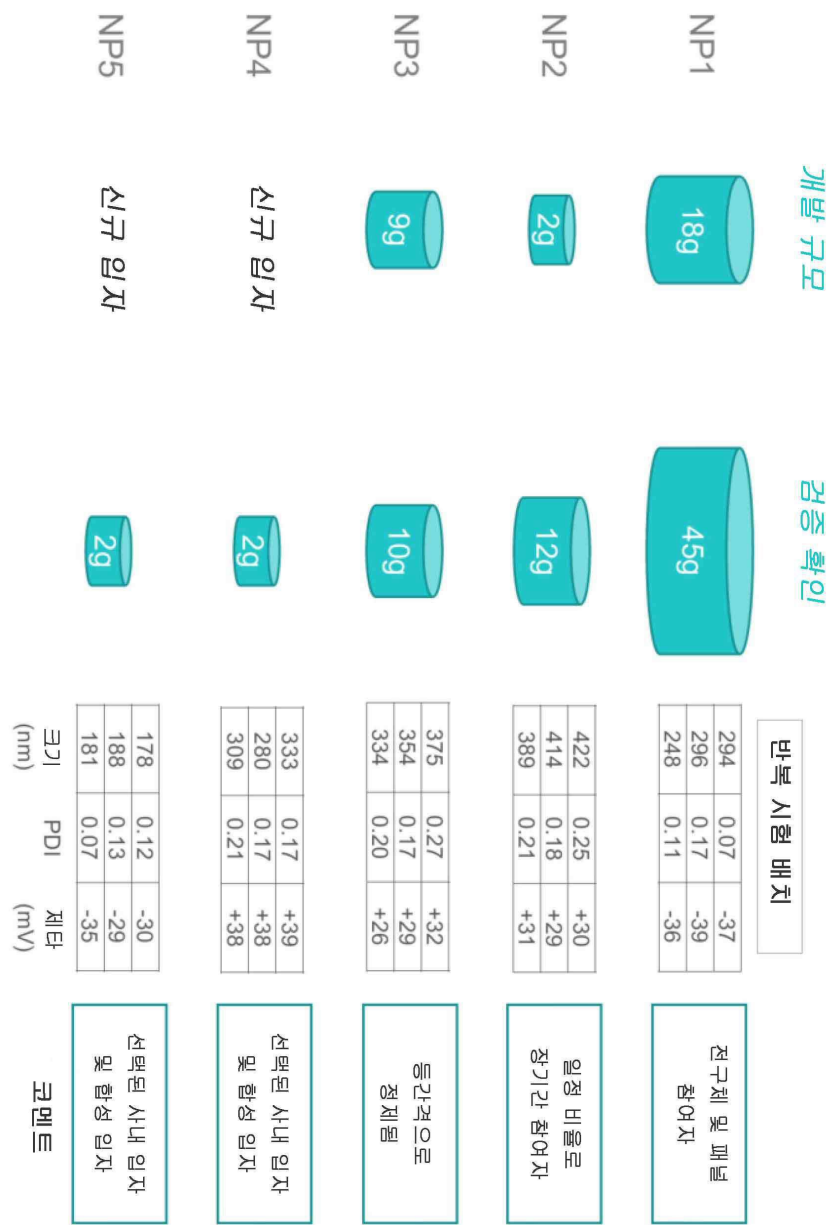
4902



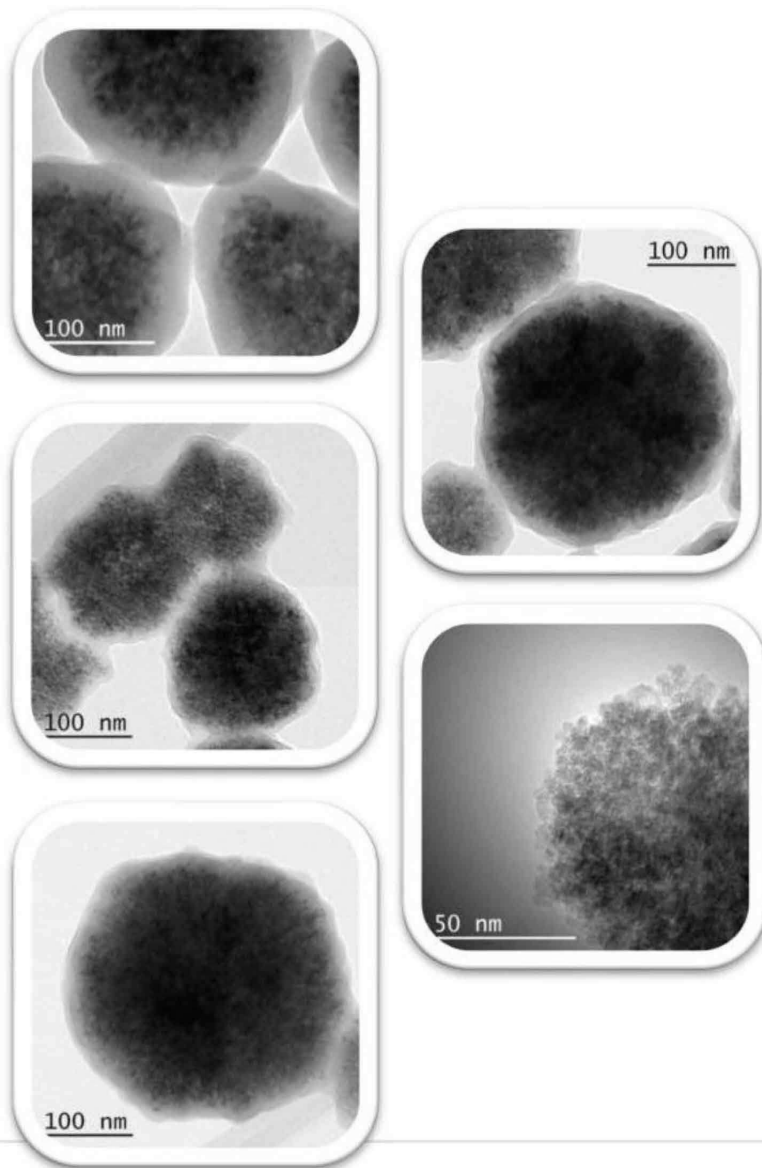
도면50



도면51



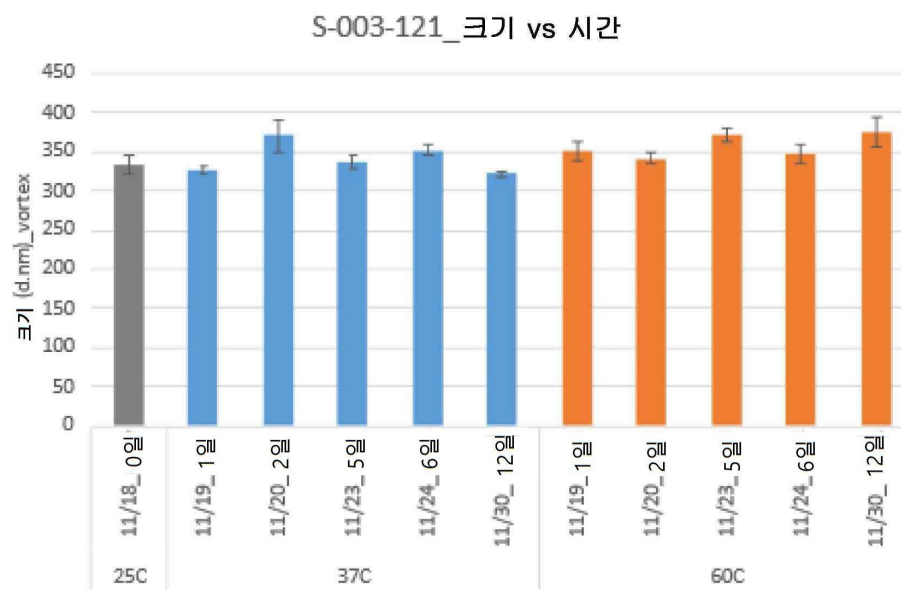
도면52



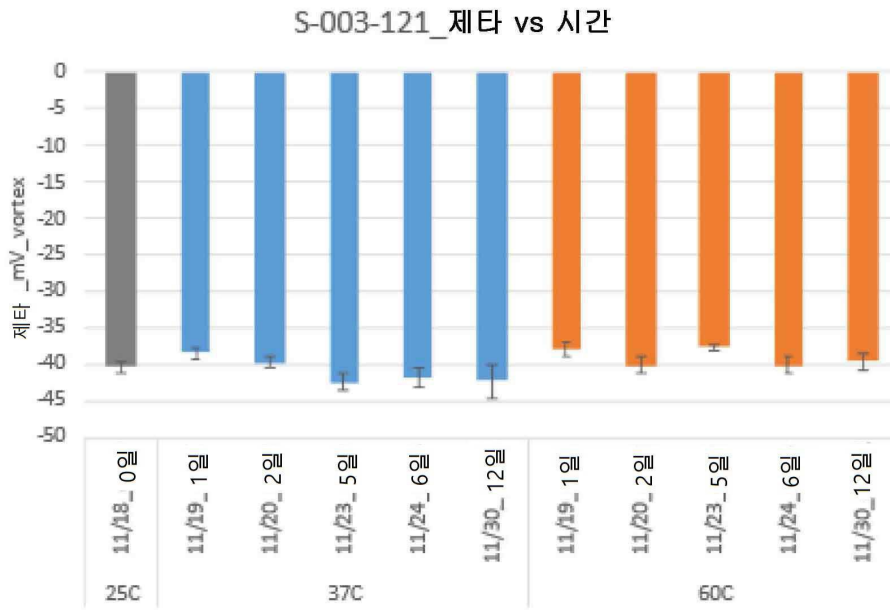
도면53



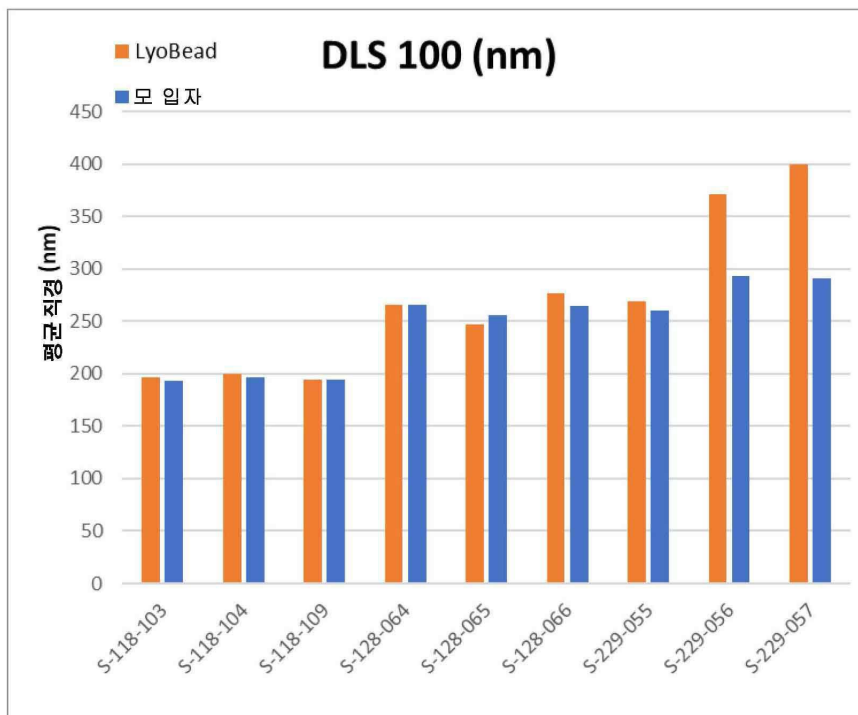
도면54a



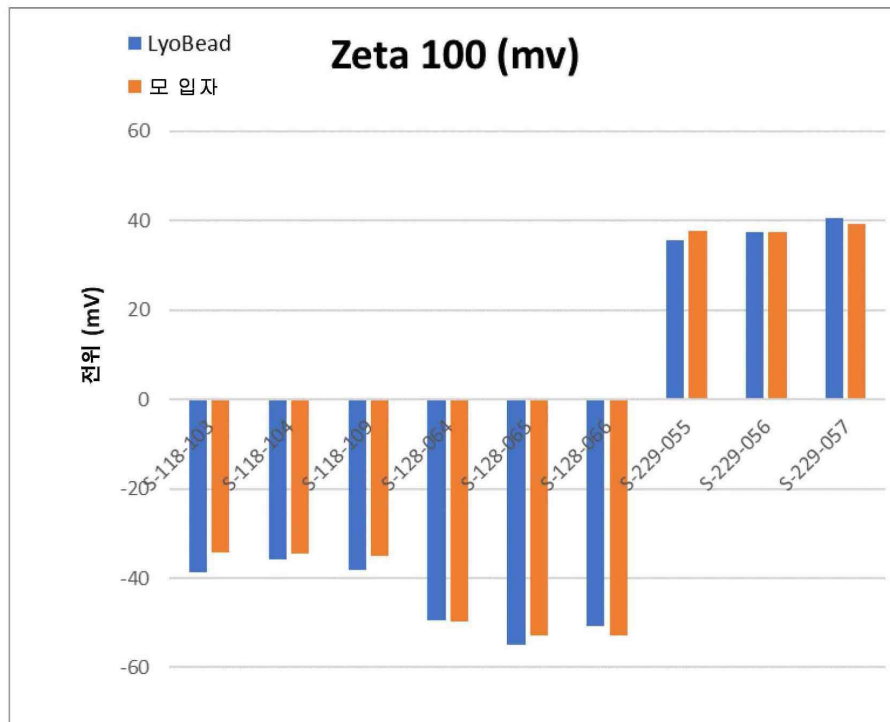
도면54b



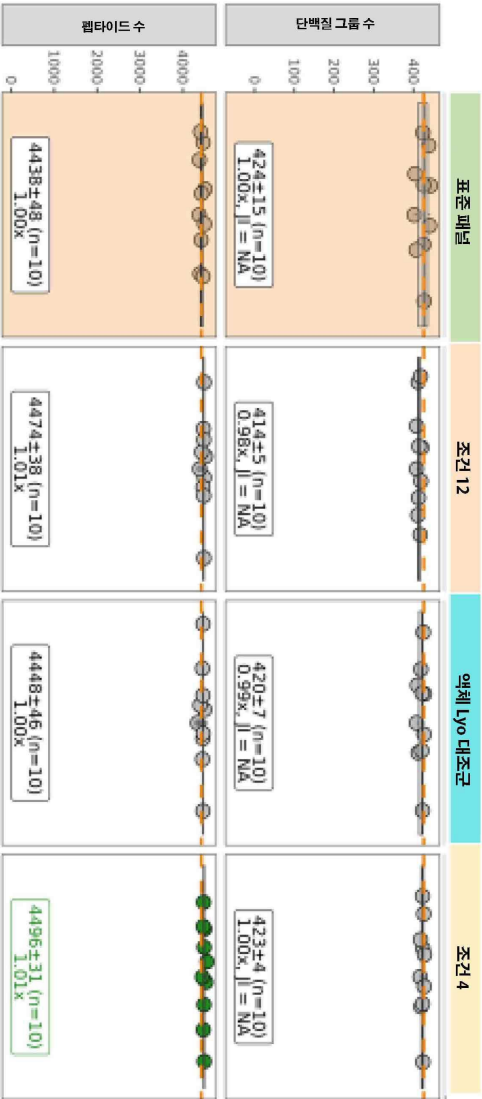
도면55



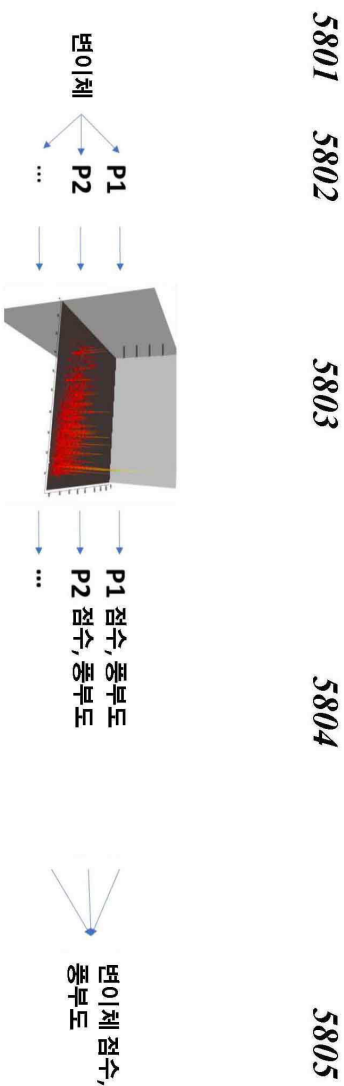
도면56



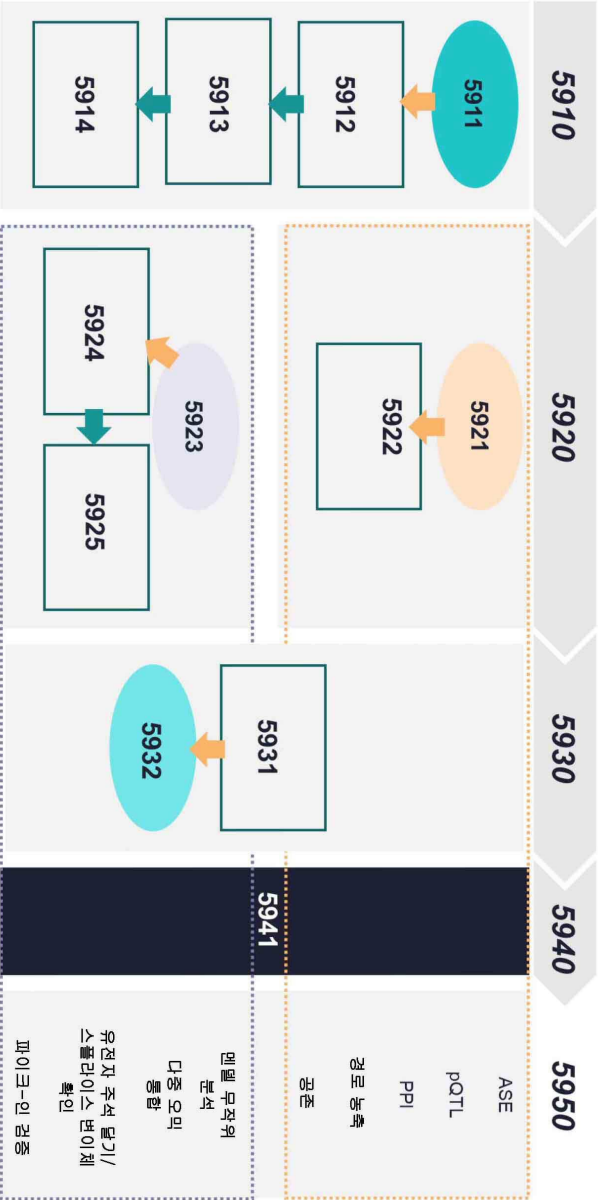
도면57



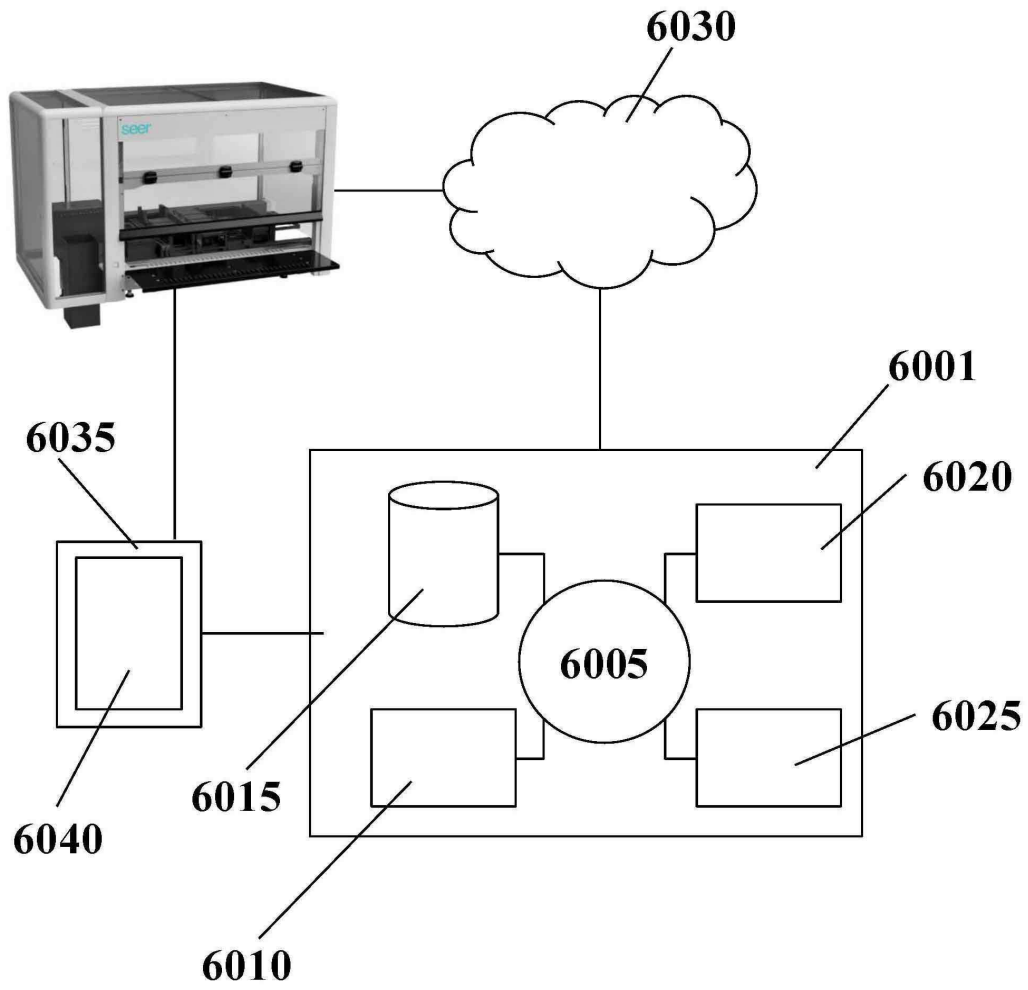
도면58



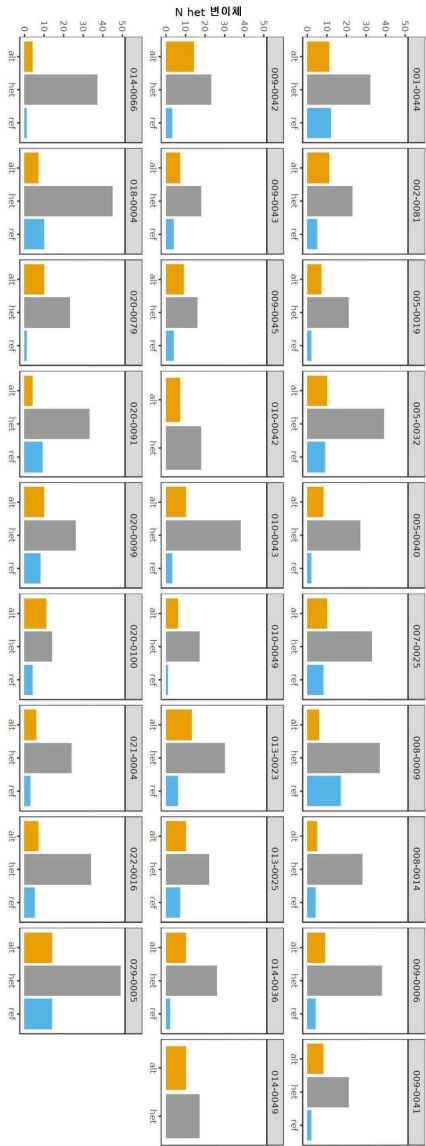
도면59



도면60



도면61



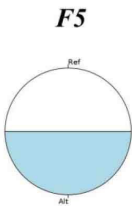
도면63



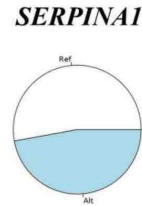
도면64a

변이체	SAAP	N 발현된 대상체	유전자
1-169542347-T-A	T915S	3	F5
14-94380925-T-A	E288V	3	SERPINA1
17-66212167-C-G	W335S	4	APOH
2-21026844-C-T	V730I	3	APOB
3-52799865-C-T	T340M	4	ITIH3

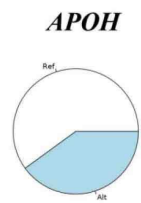
도면64b



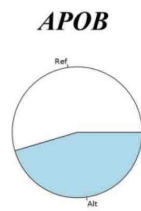
도면64c



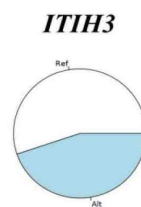
도면64d



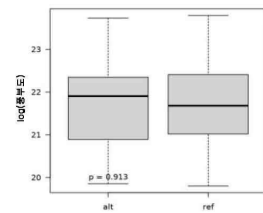
도면64e



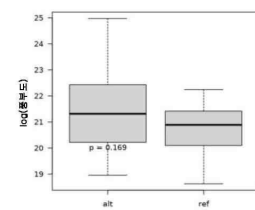
도면64f



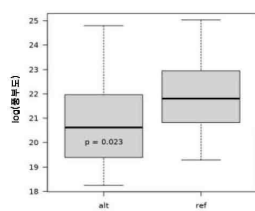
도면64g



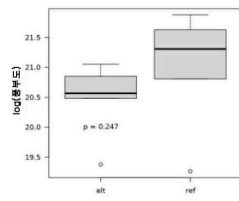
도면64h



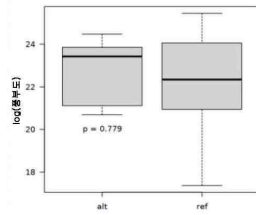
도면64i



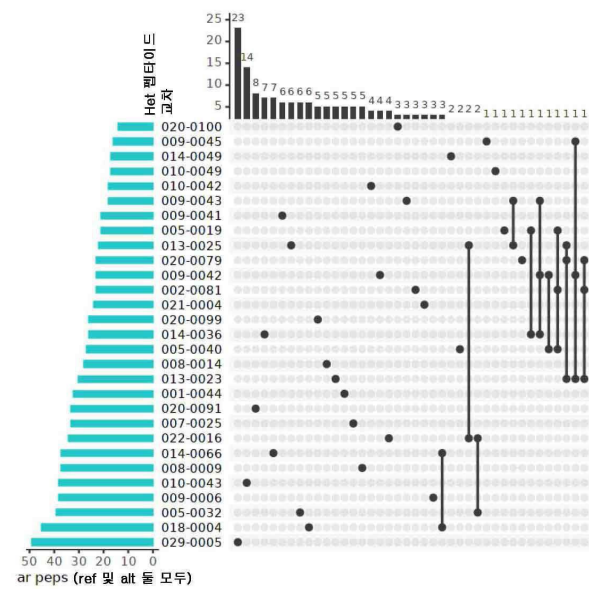
도면64j



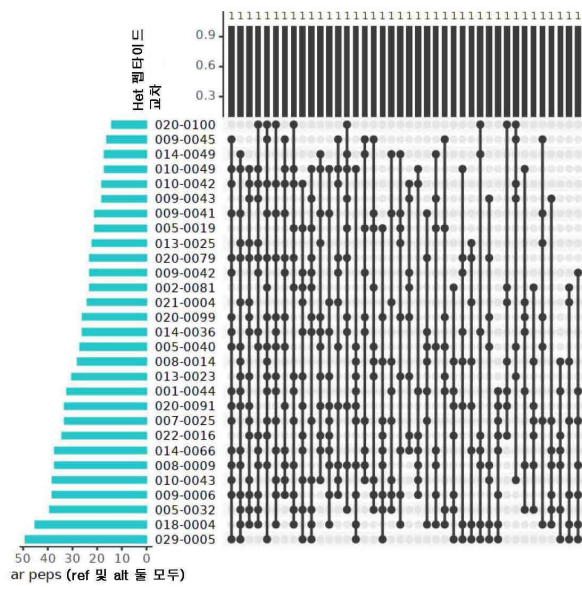
도면64k



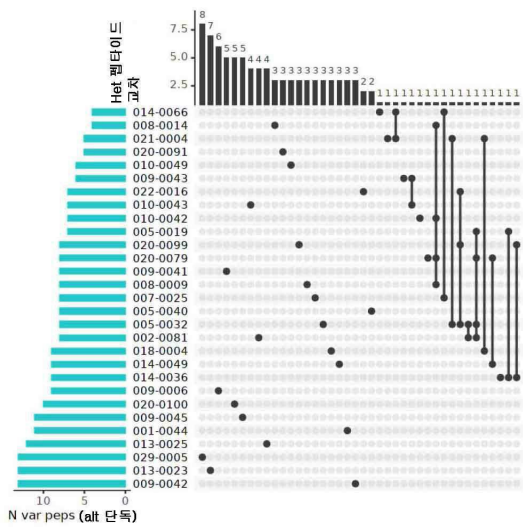
도면65a



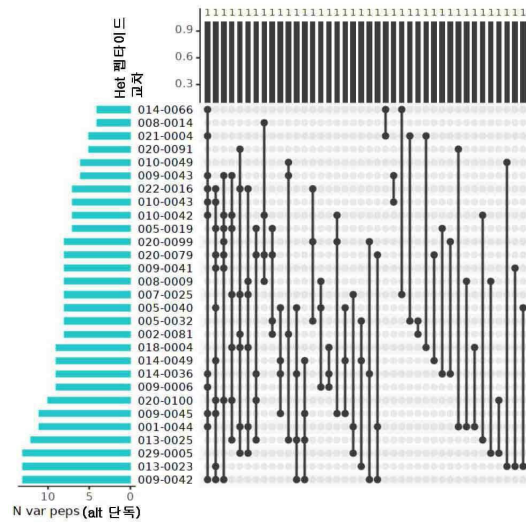
도면65b



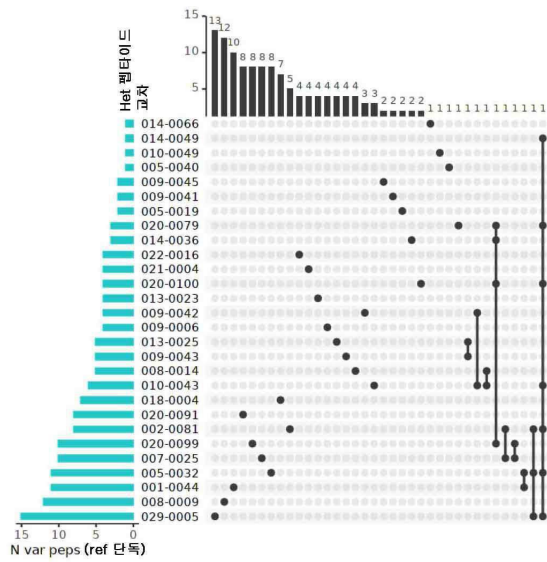
도면66a



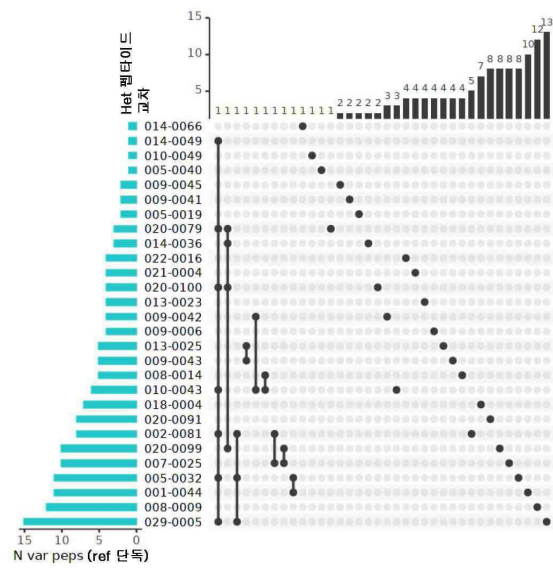
도면66b



도면67a



도면67b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> SEER, INC.

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR ASSAYING PROTEINS AND NUCLEIC ACIDS

<130> 53344-726.601

<140> PCT/US2021/047397

<141> 2021-08-24

<150> 63/194,612

<151> 2021-05-28

<150> 63/166,173

<151> 2021-03-25

<150> 63/143,738

<151> 2021-01-29

<150> 63/112,071

<151> 2020-11-10

<150> 63/070,205

<151> 2020-08-25

<160> 8

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Gly Asp Thr Ser Thr Ile Tyr Thr Asn Cys Trp Val Thr Gly Trp Gly

1 5 10 15

Phe Ser Lys

<210> 2

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 2

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

1 5 10

<210> 3

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Pro Ser Lys Gly Asp Thr Ser Thr Ile Tyr Thr Asn Cys Trp Val Thr

1 5 10 15

Gly Trp Gly Phe Ser Lys Glu Lys Gly

20 25

<210> 4

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 4

Pro Ser Lys Gly Asp Thr Ser Thr Ile Tyr Thr Asn Cys Trp Val Thr

1 5 10 15

Arg Trp Gly Phe Ser Lys Glu Lys Gly

20

25

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

corona peptide sequence

<400> 5

Glu Ser Asp Thr Ser Tyr Val Ser Leu Lys

1

5

10

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

corona peptide sequence

<400> 6

Gly Tyr Ser Ile Phe Ser Tyr Ala Thr Lys

1

5

10

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

corona peptide sequence

<400> 7

Gln Asp Asn Glu Ile Leu Ile Phe Trp Ser Lys

1

5

10

<210> 8

<211> 15

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

corona peptide sequence

<400> 8

Tyr Glu Val Gln Gly Glu Val Phe Thr Lys Pro Gln Leu Trp Pro

1 5 10 15