

<표지>

(옆면)

(앞면)

116125-3

보안 과제(), 일반 과제(○) / 공개(), 비공개()발간등록번호(○)

11-1543000-003008-01

조류
인플루엔
자 현장
현시
진단용
초고감도
TD-NMR
(Time-
Domain
핵자기공
명) Kit
개발 및
상용화

**조류 인플루엔자 현장 현시 진단용
초고감도 TD-NMR (Time-Domain
핵자기공명) Kit 개발 및 상용화
최종보고서**

2020. 1. 10.

주관연구기관 / (주)에치엠알
참여연구기관 / 충남대학교

최
종
보
고
서

2020

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

**농림축산식품부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원**

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “조류 인플루엔자 현장 현시 진단용 초고감도 TD-NMR(Time-Domain 핵자기공명) Kit 개발 및 상용화”(개발기간 : 2016.11.29 ~ 2019.11.28)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 1. 10.

주관연구기관명 : (주)에치엠알 홍 명 수
참여기관명 : 충남대학교 이 영 석



주관연구책임자 : 조 정 혁
참여기관책임자 : 서 상 희

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<요약문>

<p style="text-align: center;">연구의 목적 및 내용</p>	<p>고위험 감염성 바이러스 진단 초고감도 Time-Domain NMR 키트 개발 및 상용화</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Virus : 고병원성 H5 혈청형 Avian Influenza (H5N1,H5N8) ● 검출 민감도 : 10 viral particles in 10 μL sample ● 검출소요시간 : 샘플 전처리를 포함하여 30분 이내 ● 신뢰성 : 민감도 및 특이도 95% 이상 ● 소형화 : 자석 무게 < 1 Kg <p>- 주관연구기관((주)에치엠알) :</p> <ul style="list-style-type: none"> o magnetic nanoparticle 개발 o magnetic nanoparticle 과virus-surface-specific antibody 의 conjugation o Magnet : miniature 자석 자력선 simulation, AutoCAD 드로잉 o Probe 개발 o 분광기(relaxometer) 개발 - microfluidics- micro-coil for RF & measurement- NMR electronics sample mixing 및 data 획득 board 도출 Shim 시스템 o Magnet : magnet 시험 및 relaxometer 와 연결 시험 o Shim 시스템 : solenoidal coil simulation 및 전류 드라이버 개발 o 온도 controller : simulation, 시제품 제조 o Software 개발 o 분광기 (relaxometer) : RF tranceiver IC, on-chip coil, preamplifier 개발 o Magnet : 제조 및 성능 검사 o Shim 시스템 : 제조 및 성능 검사 o 온도 controller: 제조 및 성능 검사 o 분광기(Relaxometer): 제조 및 성능 검사 o Software : 소프트웨어 개발 o 시제품 제작 및 시험 o 사용자 요구에 따른 최종 시험 o 각종 Certification (TÜV)획득, Web-Site Index(Google, Bing) 등재 o 검역원 진단 기기 허가 획득 <p>-협동연구기관(충남대 수의학과)</p> <ul style="list-style-type: none"> o 대부분 H5 혈청형을 감지 할 수 있는 H5 다가 (polyclonal) 항체를 이용한 신속 진단법을 개발 o H5 혈청형 생산을 위한 항원 단백질 준비: <ol style="list-style-type: none"> 1. H5 혈청형 단백질항원을 분리 위한 바이러스 제작 2. 바이러스 정제 3. H5 단백질 순수 정제 o H5 항원 단백질을 이용한 SPF 토끼를 이용한 H5 특이 항체 생성 및 정제 o H5 항체의 검증 o H5 항체 부착된 장치의 특이성 및 민감도 및 고병원성 H5N8 및 H5N1 감염된 닭에서 검증 o H5 항체 부착된 Time-domain NMR 키트의 특이성 검증 및 민감도 측정 o H5 항체 부착된 Time-domain NMR 키트의 고병원성 H5N8 및 H5N1 감염된 오리에서 검증 										
<p>연구개발성과</p>	<p>국내외 논문 발표 1건, 학술 발표 3건, 특허 출원 4건</p>										
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 33%;">(개발종료 후 1년): 내수 판매 20억원</td> <td style="width: 33%;">고용 창출 10인 계획</td> </tr> <tr> <td>(개발종료 후 2년): 내수 판매 40억원</td> <td>고용 창출 20인 계획</td> </tr> <tr> <td>(개발종료 후 3년): 내수 판매 100억원 수출 10억원</td> <td>고용 창출 30인 계획</td> </tr> </table>					(개발종료 후 1년): 내수 판매 20억원	고용 창출 10인 계획	(개발종료 후 2년): 내수 판매 40억원	고용 창출 20인 계획	(개발종료 후 3년): 내수 판매 100억원 수출 10억원	고용 창출 30인 계획
(개발종료 후 1년): 내수 판매 20억원	고용 창출 10인 계획										
(개발종료 후 2년): 내수 판매 40억원	고용 창출 20인 계획										
(개발종료 후 3년): 내수 판매 100억원 수출 10억원	고용 창출 30인 계획										
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>H5 조류인플루엔자</p>	<p>영구 자석</p>	<p>분광기</p>	<p>검출</p>	<p>상업화</p>						
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>											

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	4
1-1. 연구개발 목적	4
1-2. 연구개발의 필요성	4
1-3. 연구개발 범위	9
2. 연구수행 내용 및 결과	19
2-1. 1차년도	19
2-2. 2차년도	43
2-3. 3차년도	69
2-4. 연구수행 결과	114
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	115
3-1. 목표	115
3-2. 목표 달성여부	116
3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차우대책	119
4. 연구결과의 활용 계획 등	120
4-1. 연구개발 결과의 활용방안	120
4-2. 기대성과 및 파급효과	122
붙임. 참고 문헌	125

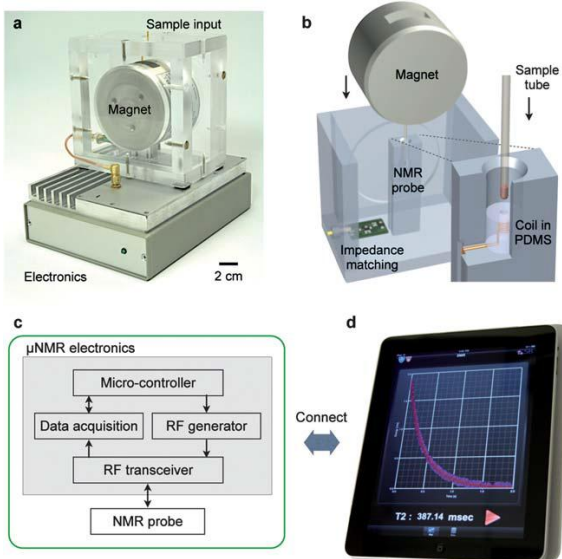
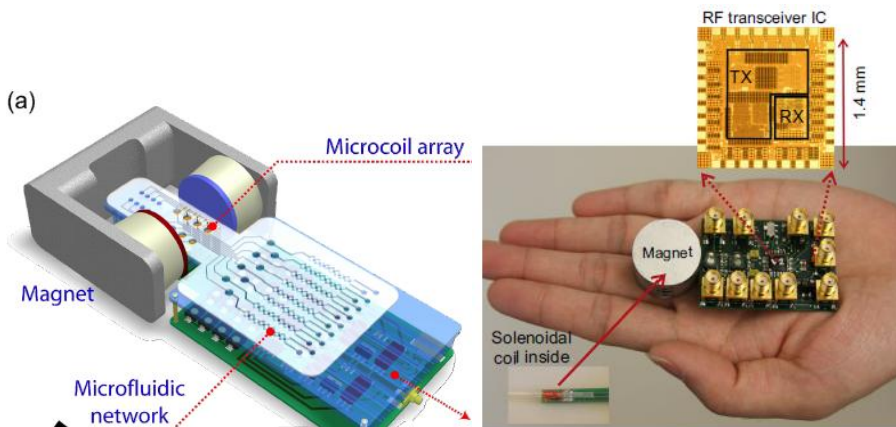
1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

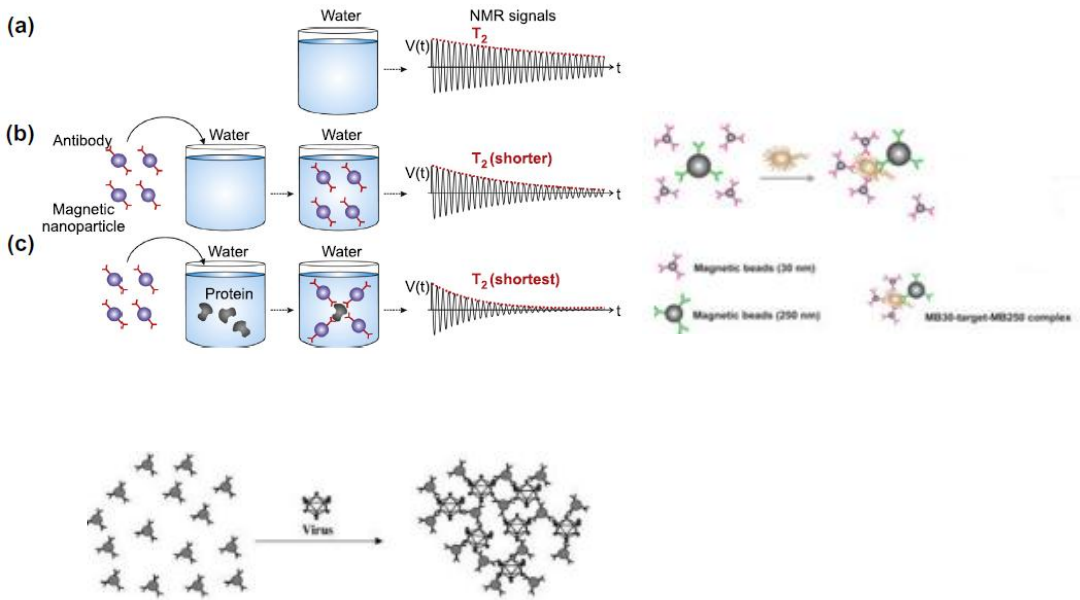
고병원성 H5 혈청형 조류인플루엔자(Highly Pathogenic Avian Influenza, HPAI) 측정용 초고감도 Time-Domain NMR 키트 개발 및 상용화
 검출 민감도 : 10 viral particle in 10 μ L sample

1-2. 연구개발의 필요성

- ◆ 본 과제는 고병원성 H5 혈청형 조류인플루엔자(Highly Pathogenic Avian Influenza, HPAI)바이러스를 효과적으로 신속하게, Point-of-Care (현장 현시 검사-대한임상병리학회 POCT위원회에서는 현장검사를 가까이에서 원심분리 등 검체 전 처치 없이 신속하게 시행하여 진단 및 치료에 이용할 수 있는 검사라고 정의함) 진단 할 수 있는 소형 (miniature) TD-NMR Kit의 개발과 상용화에 관한 것임
- ◆ 소형 (miniature) TD-NMR system 은 아래 그림과 같이 소형 자석과 미세한 전자회로를 구축한 NMR 분광기임



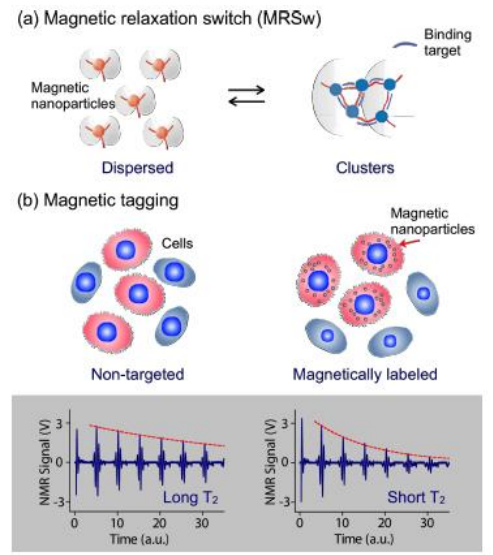
가. 본 기술의 원리 및 내용 및 원리



◆ 측정 대상 Virus-Surface-Specific antibody로 magnetic nanoparticle 를 coating

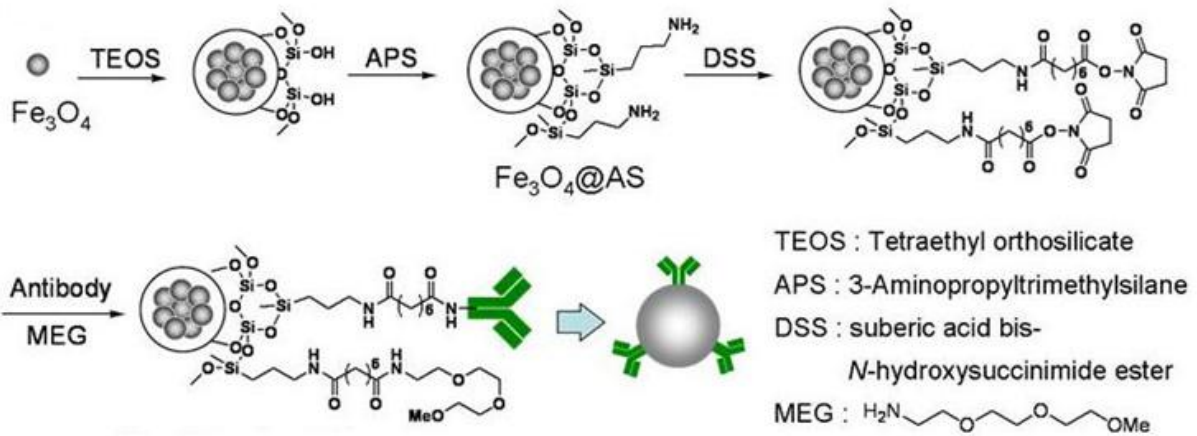
◆ target virus 가 없는 경우는 magnetic particle이 monodispersed (b)

◆ target virus 와 결합된 경우는 magnetic particle이 cluster를 생성하여 물 분자 proton간의 spin-spin 상호작용 증가로 T_2 (spin-spin relaxation time) 시간이 매우 짧게 감소 함(c)

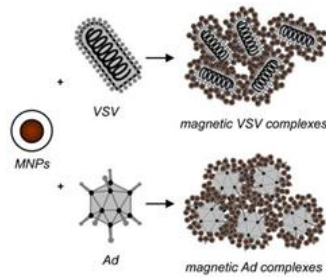


나. 기술 내용

- ◆ 상기 원리를 이용하여, 시료를 본기술인 바이러스 진단용 Time-Domain NMR System에 주입
- ◆ 혼합 회로에서 바이러스 성분과 magnetic particle을 반응시켜 결합
- ◆ 결합 수용액을 소형 자석사이에서 자장과 RF tranceiver에서 송출되는 RF pulse 를 가하여 NMR(핵자기공명) 생성
- ◆ 방출되는 NMR 시그널을 micro-coil 로 수신하여 증폭 등의 전자기 회로를 통해 FID (Free Induction Decay) 시그널을 획득
- ◆ FID 로부터 T_2 (spin-spin relaxation Time)를 얻어 바이러스 혹은 biomarker의 농도의 신속한 측정을 통해 Point-of-Care 바이러스 진단

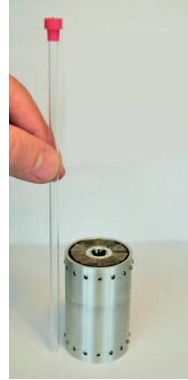
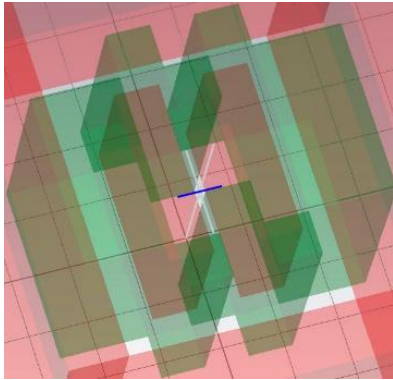


Magnetic Nanoparticle Virus Complexes

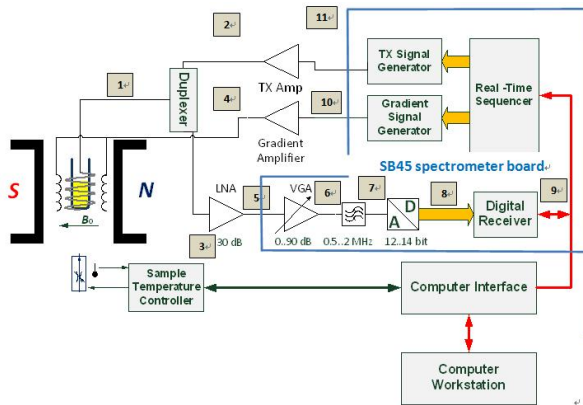


다. 개발 대상 제품의 기본 개념도

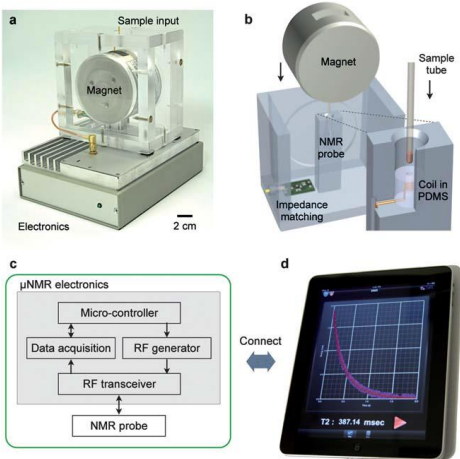
- 온도 안정도 우수한 영구 자석



- 신뢰성 높은 펄스 및 데이터 획득 Electronics Part



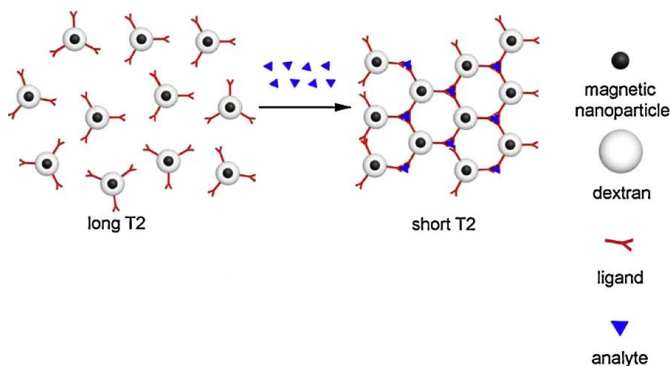
◆ Compact (miniaturized) NMR System



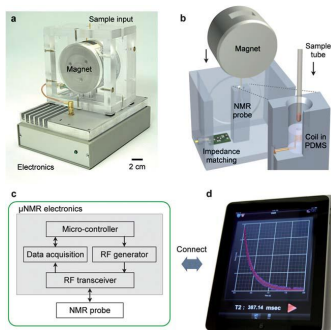
라. 개발 대상 제품:

바이러스 진단용 소형 Miniature TD(Time Domain)-NMR(핵자기공명) System 개요

- ◆ 온도 안정도 우수한 NdFeB 소형 영구(Permanent) 자석 : 무게 < 1 Kg
diameter<80 mm, height <55 mm
자력 세기 0.5 Tesla(5,000 Gauss) 내외
- ◆ solenoidal microcoil(excitation),RF matching network (read-out NMR signal)
- ◆ solenoid coil wrapping fine copper wire around a polyethylene tube
immersing into polymer (PDMS), thin-wall(25 μ m) polyimide tube
- ◆ thermally insulating polymer(PMMA) housing, sample volume 1-100 μ L
- ◆ magnetic relaxation switch 구성: iron oxide core coated with dextran
virus-surface-specific antibody attached



- ◆ dextran 과 virus-surface-specific antibody 의 결합은 protein-G coupling 법
N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)propionate (SPDP) 이용
- ◆ magnetic nanoparticle : overall size는 50 nm 내외
- ◆ Point-of-Care Measurement : 현장에서 측정 결과 신속 도출



1-3. 연구개발 범위

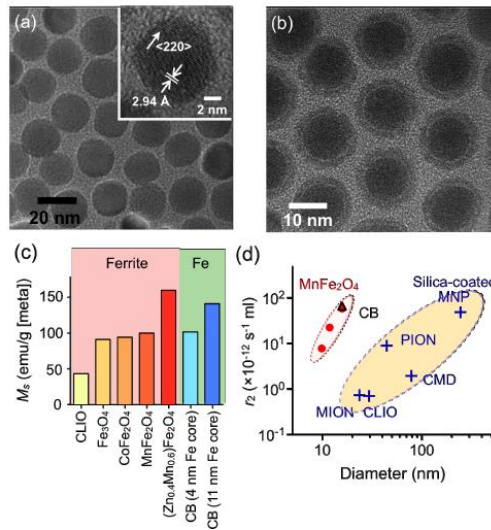
가. 1차년도

(1) 개발 목표

- 주관연구기관((주)에치엠알) :
 - o magnetic nanoparticle 개발: 자성 입자는 합성 과정에서 온도와 원료 조정방법으로 균일한 입자 크기(5,10,20 nm)로 제조됨
 - o 자성 결합물질 장애 추후 검사
 - o magnetic nanoparticle과 virus-surface-specific antibody의 conjugation
 - o Magnet : miniature 자석 자력선 simulation, AutoCAD 드로잉
 - o Probe 개발
 - o 분광기 (Relaxometer) 개발 - microfluidics - micro-coil for RF & measurement- NMR electronics sample mixing 및 data 획득 board 도출 Shim 시스템
- 참여연구기관(충남대학교): H5 혈청형 항체 생산

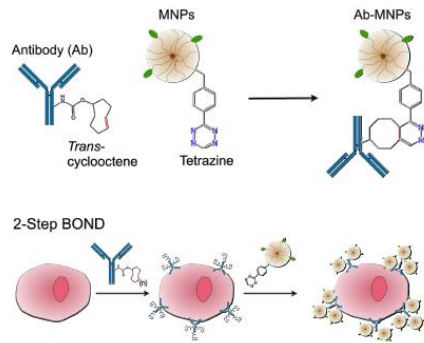
(2) 개발 내용 및 범위 (시스템 구성도, 구조 등을 그림으로 구체적 표현)

- 주관연구기관((주)에치엠알) :
 - o magnetic nanoparticle 합성 : • Iron oxide • $MnFe_2O_4(+Ni)$ • 수종의 후보 magnetic nanoparticle 구조 중 최선 선택



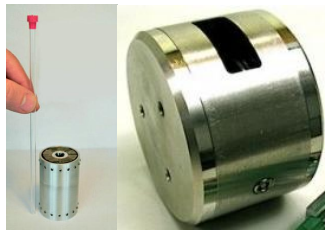
- o magnetic nanoparticle 과 virus-surface-specific antibody 의 conjugation
 - tetrazine method
 - dextran method

BOND (bioorthogonal nanoparticle detection)



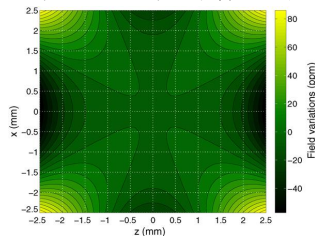
o miniaturized Magnet 개발

- 영구 자석 제조
- 수종의 후보 magnet 중 최선 선택



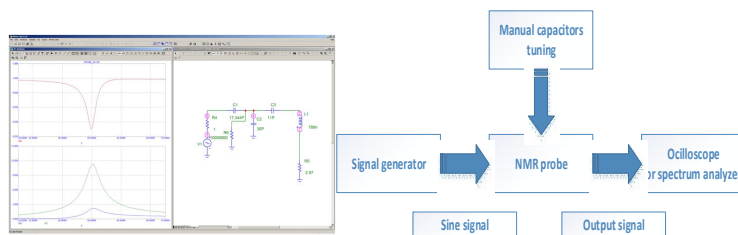
o Field Simulation

- 시뮬레이션 Software 선택
- 스펙 적합을 위한 자장 모델링



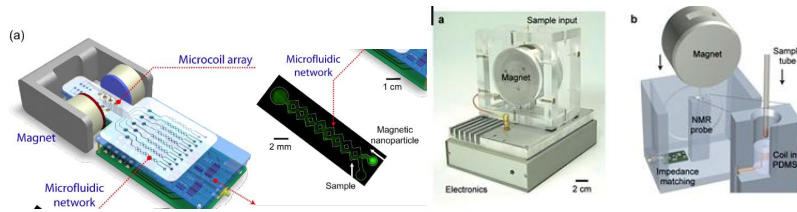
o Probe 개발

- probe 케이스 개발
- resonance 회로 시뮬레이션
- 적절한 capacitor 선택
- 간편한 resonance 튜닝시스템 개발

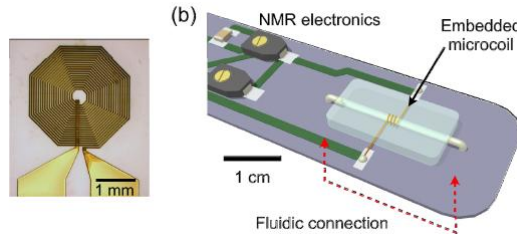


•분광기 (Relaxometer) 개발

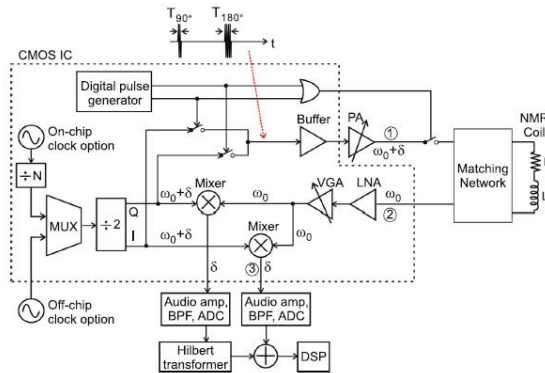
- microfluidics
- micro-coil for RF & measurement
- NMR electronics
- sample mixing 및 data 획득 board 도출 Shim 시스템
- microfluidics 개발 : sample handling과 magnetic nanoparticle이 conjugation 된 antibody와의 mixing을 위한 microfluidic networks



- micro-coil for RF radio-frequency (RF) excitation와 NMR signal detection을 위한 micro-coil



- NMR electronics - RF transceiver IC



- 협동연구기관(충남대 수의학과) :

- 국내에는 5차례 고병원성 조류인플루엔자가 발생하였으며, 모두 H5 혈청형 조류인플루엔자에 의해 발생하였음

[농림축산부 자료]

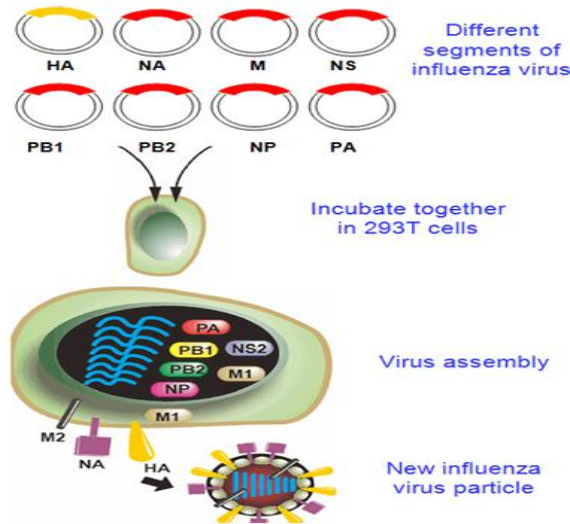
'03/'04년	06/'07년	'08년	'10/'11년	'14/'15년
H5N1형	H5N1형	H5N1형	H5N1형	H5N8형
874억원 (정부지원액)	339억원 (정부지원액)	1,817억원 (정부지원액)	807억원 (정부지원액)	1,585억원 (정부지원액)

-대부분 H5 혈청형을 감지할 수 있는 H5 다가 (polyclonal) 항체를 이용한 신속 진단법을 개발하고자 함.

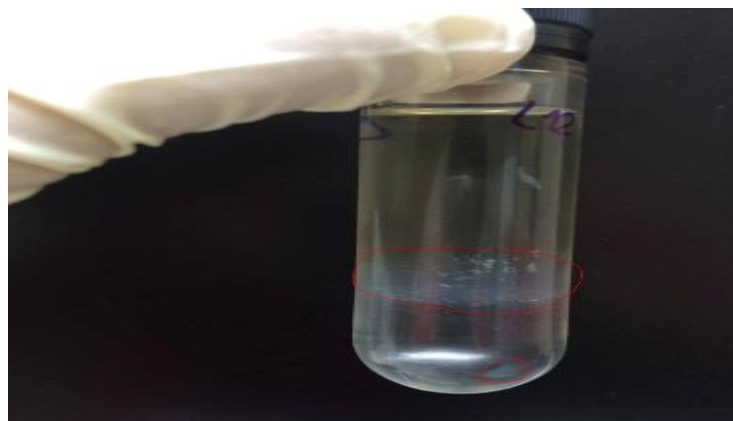
o H5 혈청형 생산을 위한 항원 단백질 준비:

- H5 혈청형 단백항원을 분리 위한 바이러스 제작: H5 혈청형 polyclonal 항체를 유도하기 위한 항원을 획득하기 위해서 참여기관이 기 확보하고 있는 2015년 국내 발생 고병원성 H5N8 (A/waterfowl/Korea/S005/2014)의 HA 유전자의 분절 부위에 고병원성 유전자를 제거 후

역전사유전자 기법 벡터 (pHW2000)에 크로닝하고 나머지 7개 유전자 (PB2, PB1, PA, NP, NA, M, NS)는 A/PR/8/34 (H1N1) 유래 벡터에 삽입된 유전자들을 세포 (293-T)에 주입하여 약독화된 H5N1 바이러스를 구조 (rescue) 함.

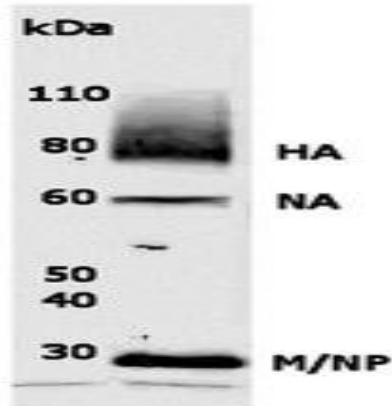


- 바이러스 정제: 약독화된 H5N1 바이러스를 10일령의 유정란에 접종하고 요수액을 수득하여 sucrose-gradients를 이용하여 순수 정제하여 바이러스를 획득함.

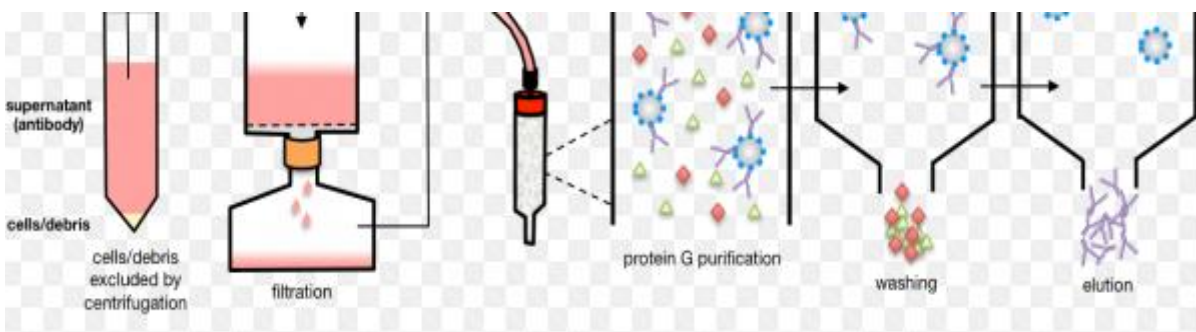


- H5 단백질을 순수 정제: 정제된 바이러스를 SDS-PAGE 하여 Gel에서 약 80 kDa 위치의 agar 조각을 자른 후 elution buffer 를 이용하여 H5 단백질을 순수 정제함.

o H5 항원 단백질을 이용한 SPF 토끼를 이용한 H5 특이 항체 생성 및 정제: 토끼에 정제된 H5 단백질을 15ug을 complete Freund's adjuvant 첨가하여 접종 후 4주 후

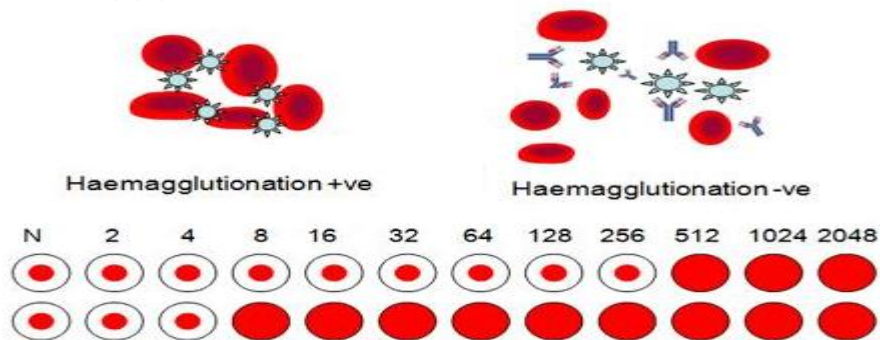


H5 단백질 15ug을 incomplete Freud's adjuvant로 1 주 간격으로 2번 boosting후 6주째 혈청을 수득하여 Protein A 또는 G kit를 이용하여 IgG 항체를 순수 정제함.



o H5 항체의 검증: 정제한 H5 특이 항체를 보유한 H1-H15형 조류인플루엔자를 이용한 혈구응집억제 반응 (HI)을 수행하여 교차 반응 없음을 검증함.

Antigenic analysis: Haemagglutination-inhibition test.



나. 2차년도

(1) 개발 목표

- 주관연구기관((주)에치엠알) :

- o Magnet : magnet 시험 및 Relaxometer 와 연결 시험
- o Shim 시스템 : solenoidal coil simulation 및 전류 드라이버 개발
- o 온도 controller : simulation, 시제품 제조
- o 분광기 (relaxometer) : RF tranceiver IC , on-chip coil, preamplifier 개발

o Software 개발

- 협동연구기관(충남대 수의학과) :

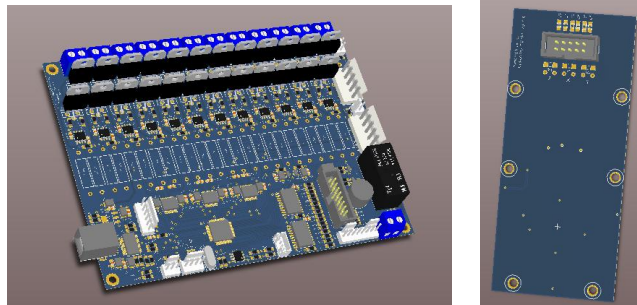
H5 항체 부착된 장치의 특이성 및 민감도 및 고병원성 H5N8 및 H5N1 감염된 닭에서 검증

(2) 개발 내용 및 범위

- 주관연구기관((주)에치엠알) :

o shim system 개발

코일 시뮬레이션 •시뮬레이션 Software 선택 •시험 자석의 자장 불균형 수정과 Spec적합을 위한 자장 모델링 •수종의 코일 배열 중 최상 선택



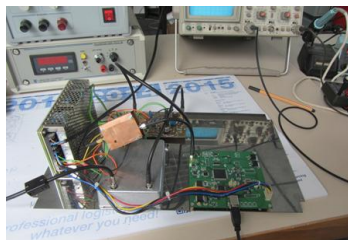
전류 Driver 개발 • DAC(디지털-아날로그 회로) 모델링 및 개발

• 전류 feed-back 기능 Output driver 개발

o Preamplifier 개발

•최저 noise 형태의 1 차 트랜지스터 선택 •동일한 base 와 동일한 방출기를 갖는 두 종류의 회로 시뮬레이션을 통한 최적 성능 선택

•schematics 개발 •PCB(Printed Circuit Board) 개발 •shielding 케이스 개발



o Software 개발

산업용 TD-NMR 용으로 개발된 Software를 update 하는 방법으로 개발

•data array 의 capacity 상향 조정 •GUI디자인 update-

이완시간(relaxation time) 특수화 모듈을 제거하고, 소형화에 맞게 update

•appodization option 추가 •자동 base 보정 option 추가

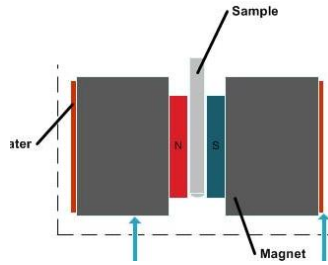
•시그널 peak 선택 option 추가

o 온도 Controller Simulation

•자석 시스템의 열 capacity 및 전도도 모델 도출 •자석 insulation 연구

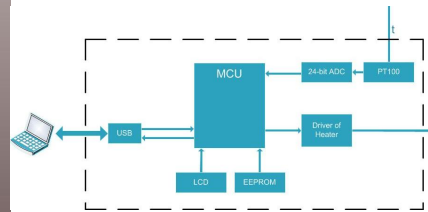
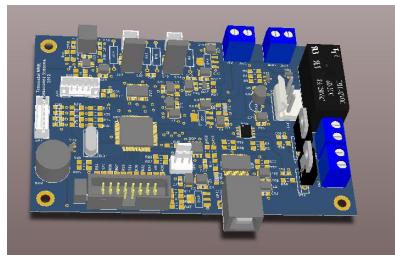
•heater와 열 센서 위치 및 개수 계산

•PID 혹은 이중 PID controller 알고리즘 시뮬레이션



o 온도 Controller

- 구조 Circuit 개발 •전자 schematics 개발 •PCB(Printed Circuit Board) 개발
- mechanical 파트 개발 •BOM(Bill of material) 개발 •Software 개발
- 온도 Controller 제작 착수



- 협동연구기관(충남대 수의학과) :

o H5 항체 부착된 Time-domain NMR 키트의 특이성 및 민감도:

1. 특이성 검증: 참여기관이 기 보유한 H1-H15형 철형 조류인플루엔자에 대한 반응 여부를 조사하여 H5형 조류인플루엔자에 특이성을 검증함.
2. 민감도: 참여기관이 기 확보하고 있는 H5N8 조류인플루엔자 1, 10, 100,1000 바이러스 particle 수를 사용하여 개발된 진단 장비의 민감도를 측정함.
바이러스 particle 수는 plaque assay를 실시하여 측정하여 사용함.



o H5 항체 부착된 Time-domain NMR 키트의 고병원성 H5N8 및 H5N1 감염된 닭에서 검증:

3-4주령 닭을 A/waterfowl/Korea/S005/2014 (H5N8) 또는 A/Vietnam/HN31244/07 (H5N1) 고병원성 조류인플루엔자를 호흡기로 감염 후 1일-7일 까지 인후 두 및 총 배설강을 swab하여 샘플을 채취하여 개발된 Time-domain NMR 키트의 효능을 검증함.

Real-time PCR 진단법을 양성 대조군으로 사용하여 비교함. 각 실험 당 10마리의 닭을 사용하며, 3번 반복함. 대조군은 감염하지 않은 닭에서 채취한 샘플을 사용함.



다. 3차년도

(1) 개발 목표

- 주관연구기관((주)에치엠알) :

- o Magnet : 제조 및 성능 검사
- o Shim 시스템 : 제조 및 성능 검사
- o 온도 controller : 제조 및 성능 검사
- o 분광기 (Relaxometer) : 제조 및 성능 검사
- o Software : 소프트웨어 개발
- o 시제품 제작 및 시험 o 사용자 요구에 따른 최종 시험
- o 각종 Certification (TÜV)획득, Web-Site Index(Google, Bing) 등재
- o 검역원 진단 기기 허가 획득

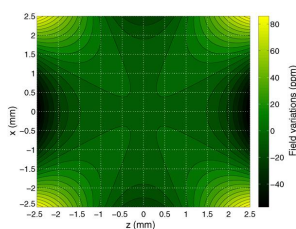
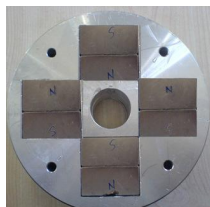
- 협동연구기관(충남대 수의학과) :

- o H5 항체 부착된 Time-domain NMR 키트의 고병원성 H5N8 및 H5N1 감염된 오리에서 검증

(2) 개발 내용 및 범위 (시스템 구성도, 구조 등을 그림으로 구체적 표현)

- 주관연구기관((주)에치엠알) :

- o Magnet : 제조 및 성능 검사
1,2차년도에서 개발된 magnet system을 Relaxometer와 연결하여
자장의 세기 및 균일도를 시험하고 fine tuning 한다



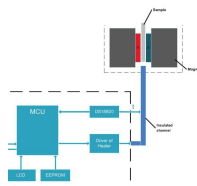
o Shim 시스템 : 제조 및 성능 검사

1,2차년도에서 개발된 시제품 shim system을 Relaxometer와 연결하여 자장의 균일도를 시험하고 재조정 한다



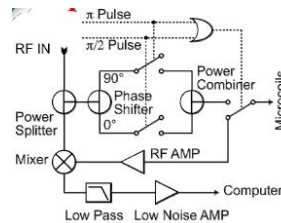
o 온도 controller : 제조 및 성능 검사

1,2차년도에서 개발된 시제품 온도 controller을 magnet와 연결하여 자장의 균일도를 시험하고 최상조건 도출 한다



o 분광기 (Relaxometer) : 제조 및 성능 검사

1,2차년도에서 개발된 시제품 preamplifier 을 분광기와 연결하여 성능을 시험하고 fine tuning



o Software : 소프트웨어 개발

개발된 시제품 Software 을 smartphone 혹은 PC와 연결하여 FID 와 필요에 따라 스펙트럼을 구현하고 Networking 성능검사

o 시제품 제작 및 시험 o 사용자 요구에 따른 최종 시험

바이러스 진단용 TD-NMR System 개발 완제품 제작 및 성능 시험

o 각종 Certification (TÜV)획득, Web-Site Index(Google, Bing) 등재

국제 인증을 위한 각종 Certification 획득및 국내외 학회에 판촉 홍보

o 검역원 진단 기기 허가 획득

- 협동연구기관(충남대 수의학과) :

H5 항체 부착된 Time-domain NMR 키트의 고병원성 H5N8 및 H5N1 감염된 오리에서 검증:

3-4주령 오리를 A/waterfowl/Korea/S005/2014 (H5N8) 또는 A/Vietnam/HN31244/07 (H5N1) 고병원성 조류인플루엔자를 호흡기로 감염 후 1일-10일 까지 인후 두 및 총 배설강을 swab하여 샘플을 채취하여 개발된 Time-domain NMR 키트의 효능을 검증함.

Real-time PCR 진단법을 양성 대조군으로 사용하여 비교함. 각 실험 당 10마리의 오리를 사용하며, 3번 반복함. 대조군은 감염하지 않은 오리에서 채취한 샘플을 사용함.



2. 연구수행 내용 및 결과

2-1. 1차년도

가. NMR system

(1) Magnet 개발

(가) 자석 디자인 및 시뮬레이션

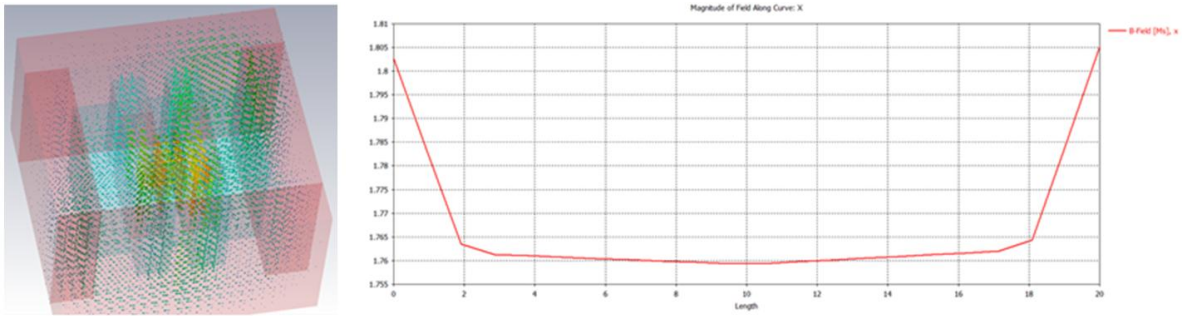


그림. 8개 Array 자석 디자인과 시뮬레이션

8개의 자석으로 Halbach Array에 가까운 디자인, 약 1.7 Tesla의 자장이 얻음
 조립자석은 66MHz의 공명주파수에 해당하는 1.55 Tesla의 자장을 획득

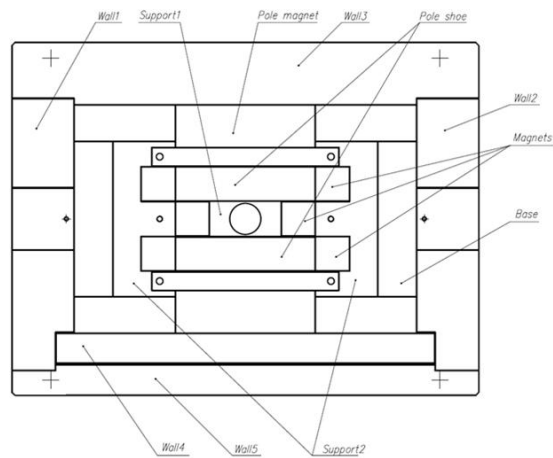


그림. 자석 (Magnet)의 최종 디자인 도면

(나) 자석 조립

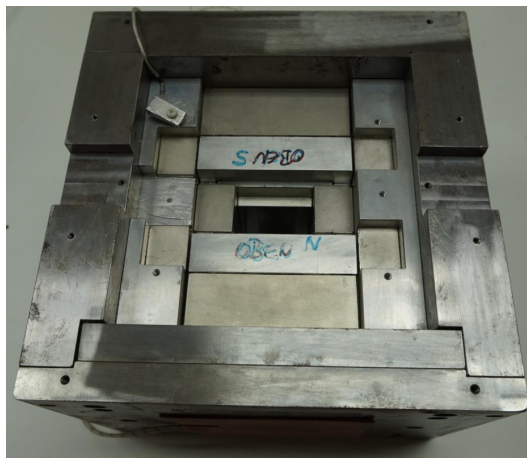


그림. 최종 조립된 1.55 Tesla modified Halbach Magnet, 1H Proton @ 66MHz

(다) Specification

크기(가로×세로×높이) : 255×250×200 (mm)

무게 : 50 (Kg)

자장 : 1.55 (Tesla)

(2) Probe 개발

(가) Probe의 설계

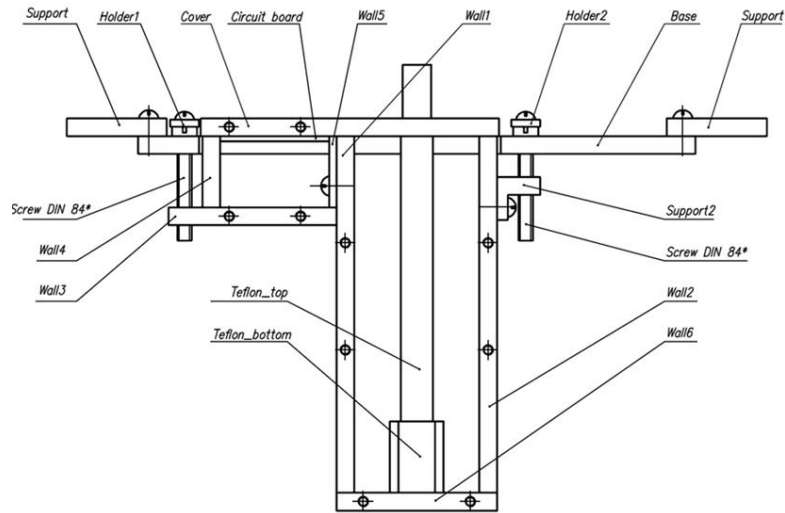


그림. 핵자기공명기 탐침 (NMR Probe)의 최종 디자인

- Probe는 20 mm 자석 극간 (Pole Gap)에 설치 되어 5 mm 시료 튜브를 사용하도록 설계
Probe의 제작

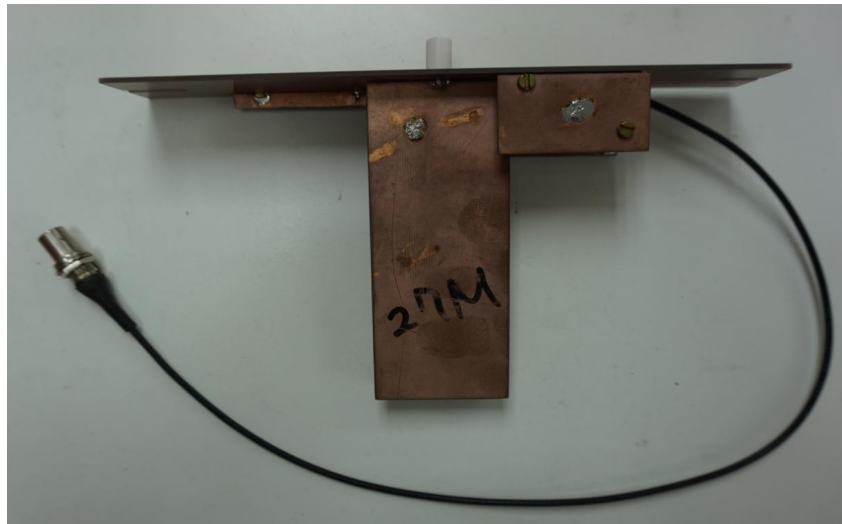


그림. 완성된 NMR Probe

(나) Probe의 Tune and Matching

조립된 Probe는 Vector Network Analyzer (keysight사의 모델 N9912A)로 공명주파수에 대해 Tune & Matching (아래 그림)

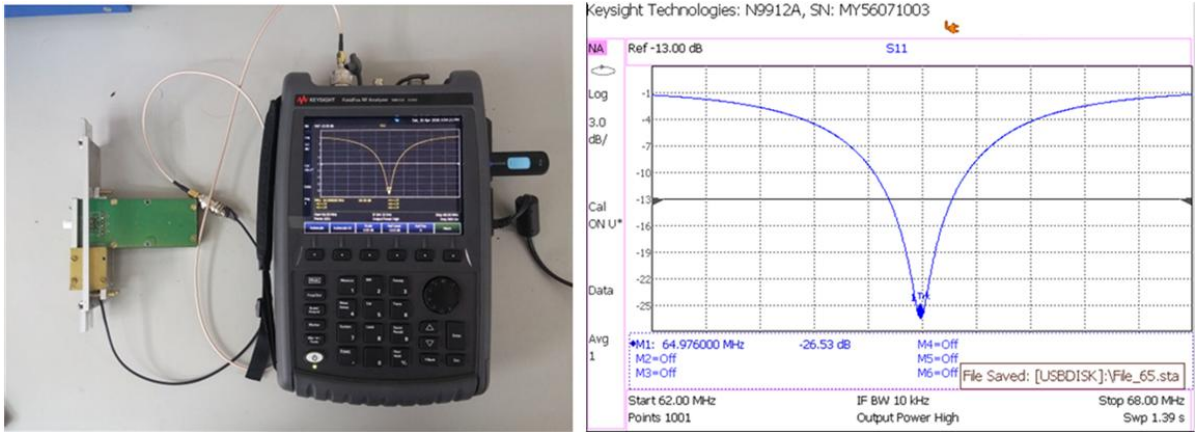


그림. 66 MHz에 Tune / Matching 된 Probe; $f_0=65.0\text{MHz}$, $\Delta f = 1.95\text{MHz}$, $Q = 33.3$

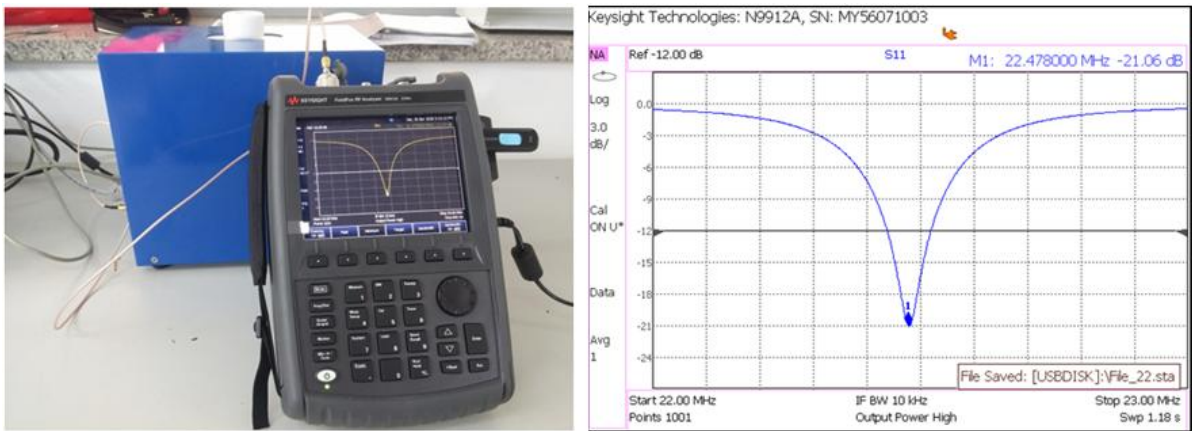


그림. 22 MHz에 Tune / Matching 된 Probe; $f_0=22.48\text{MHz}$, $\Delta f = 196\text{kHz}$, $Q = 114$

(3) 분광기(Relaxometer) 개발

(가) 분광기 (Relaxometer) 디자인 및 artwork

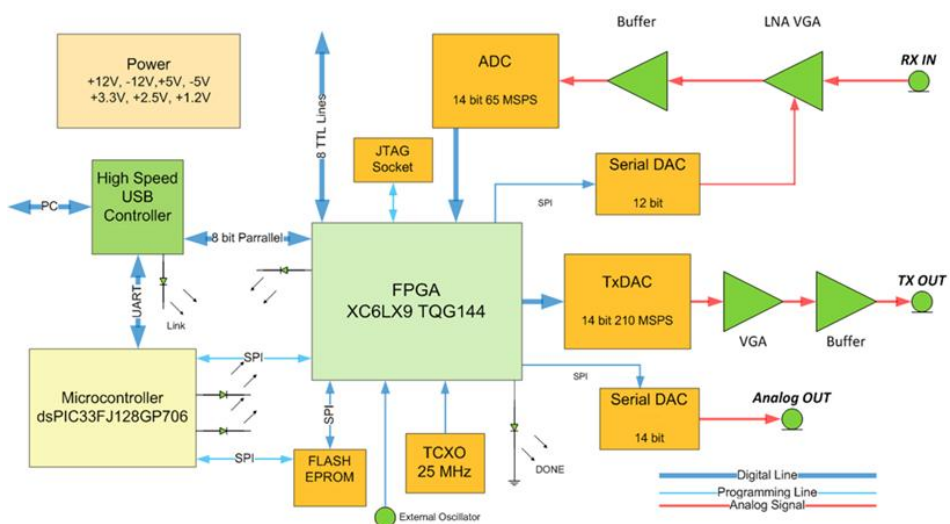


그림. 분광기 Block Diagram

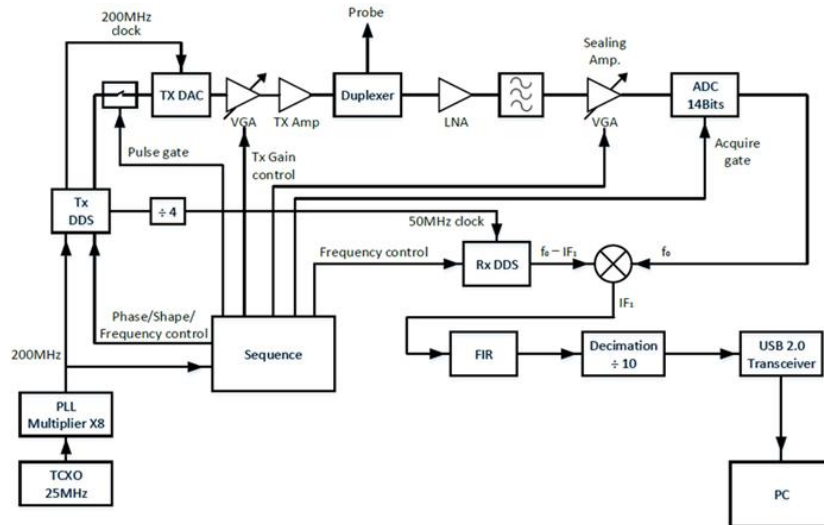


그림. FPGA 내부 Block Diagram

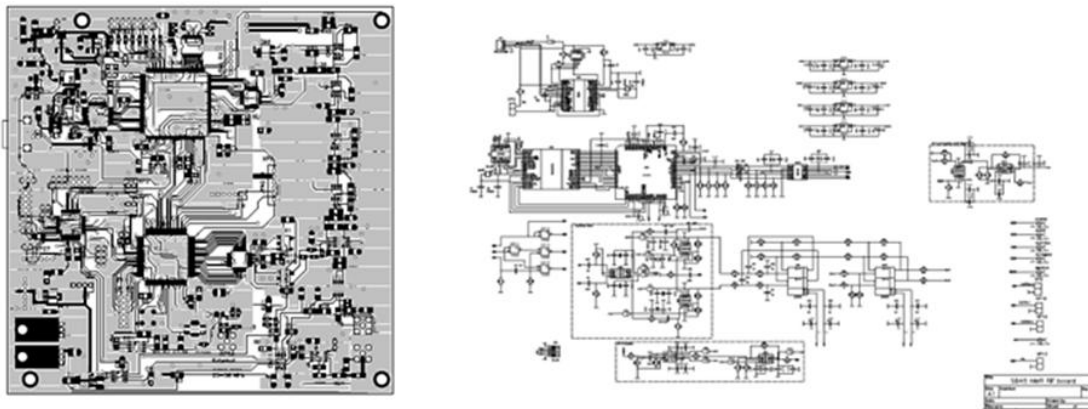


그림. 분광기 PCB 및 Schematic

(나) Specification

- 주파수 범위: 1 ~ 80 MHz
- 주파수 정확도: 0.1 Hz
- 출력 전압 범위: 1~4 V
- 입출력 임피던스: 50 Ω
- Tx 이득 setting 범위: 30 dB
- Rx 이득 범위: -11~31 dB
- TxDAC 샘플링 주파수: 200MHz
- ADC 샘플링 주파수: 50 MSPS
- ADC 분해능: 14 bits
- Sequencer에서 프로그램 된 최대 홀수: 4095
- Sequencer timing 분해능: 50 ns
- 프로그램 가능한 LVTTTL 채널 수: 16 up to 32
- PC connection: USB
- 구동 전압: -12, -5, 5, 12 VDC

(4) 신호 검출을 위한 RF(Radio Frequency) 모듈 개발

- RF 모듈은 Spectrometer로부터 PA(Power Amplifier)에서 보내준 신호를 Probe를 통과하여 들어오는 미세 신호를 검출하는 부분
- RFI의 시스템 구성은 아래 그림과 같이 구성
- 신호를 보내는 부분은 고출력 PA가 담당
- Probe를 통과한 미세 신호는 Noise를 동반한 신호로 Noise는 낮추고 원신호를 높이기 위해 Preamplifier가 초단에 연결되고 이후 외부 간섭을 없애기 위해 Filter를 사용
- Filter를 통과한 신호는 Spectrometer의 초단인 ADC(Analog to Digital Converter)를 통해 Digital 신호로 변환되어 표출

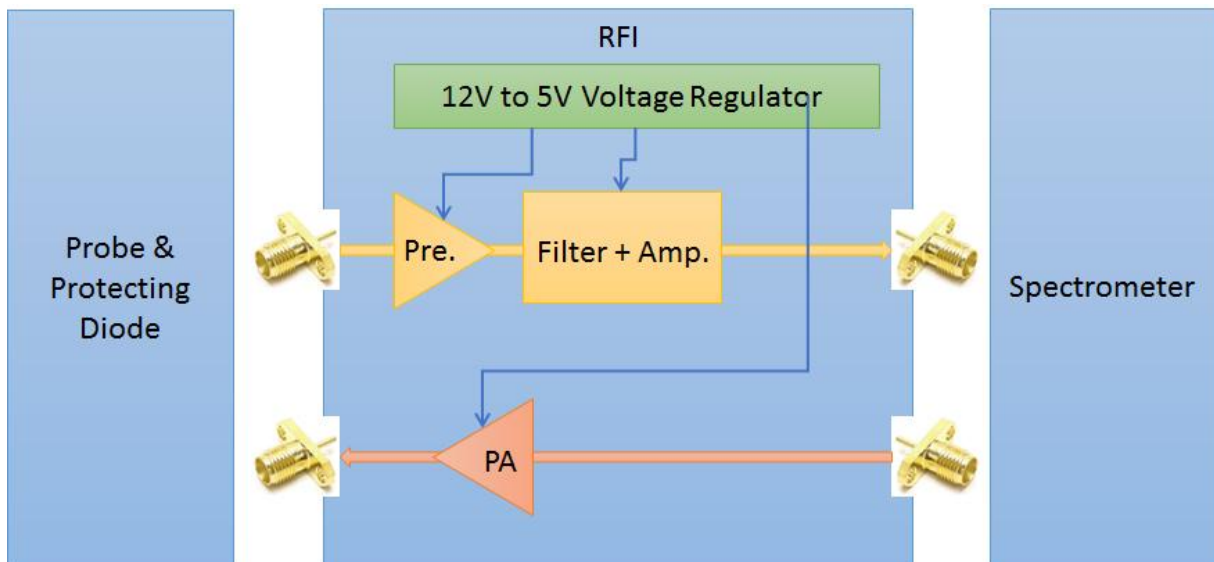


그림. RFI 시스템 Block Diagram

(가) Preamplifier

- Preamplifier는 수신되는 신호의 초단에 연결되어 Noise는 낮추고 높은 이득을 갖기 위한 Amp로서 1-stage version과 2-stage version으로 구성함.

① Preamplifier 설계 및 제작

- 1-stage preamplifier는 Prewell 社의 PW111 Amp를 사용하여 설계함
- 5~1000MHz 주파수 대역에서 사용 가능
- Gain 25.8dB@10~100MHz
- P1dB 18dBm@10~100MHz
- OIP3 35dBm@10~100MHz
- NF 1.8dB@10~100MHz
- 4.74V/69mA 소모 전류
- Surface Mounted plastic SOT-23 Package.
- 2-stage Preamplifier는 Prewell 社의 PS103-63 Amp를 사용하여 설계함
- 5~3000MHz 주파수 대역에서 사용 가능
- Gain 22.6dB@10~100MHz

- P1dB 9.3dBm@10~100MHz
- OIP3 22.4dBm@10~100MHz
- NF 2.1dB@10~100MHz
- 3.35V/21mA 소모 전류
- low cost Surface Mounted plastic SOT-363 Package.

② 회로설계

- 아래 그림에 1-stage 회로도 및 Artwork, 표에 BOM(Bill of Material)을 나타냄

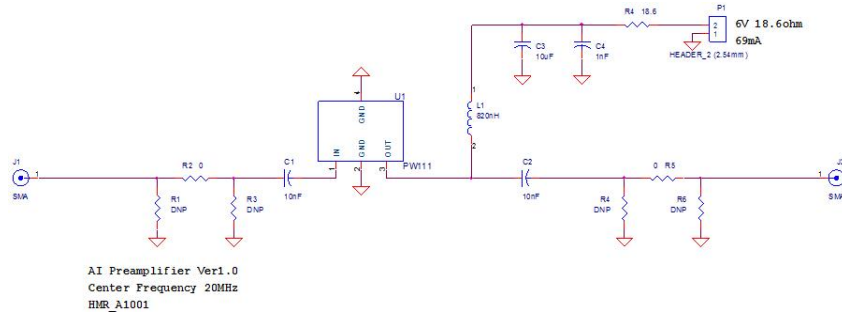


그림. 1-Stage Preamplifier 회로도

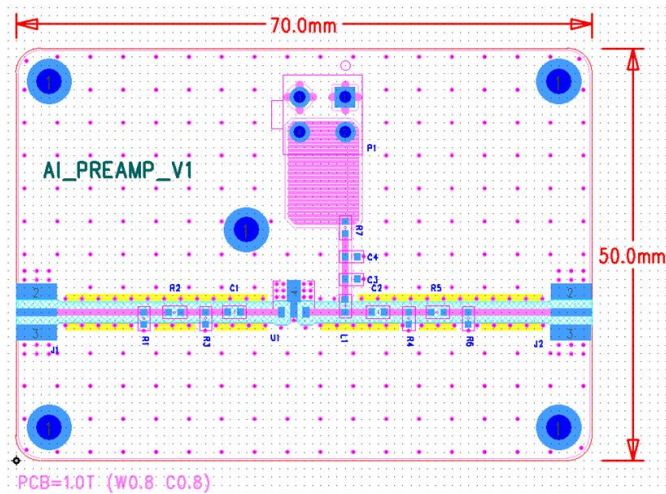


그림. 1-stage Preamplifier Artwork

Item	Quantity	Reference	Part
1	2	C1,C2	10nF
2	1	C3	10uF
3	1	C4	1nF
4	2	J1,J2	SMA
5	1	L1	820nH
6	1	P1	HEADER_2 (2.54mm)
7	4	R1,R3,R4,R6	DNP
8	2	R2,R5	0
9	1	R4	18.6
10	1	U1	PW111

표. 1-stage Preamplifier BOM

- 아래 그림에 2-stage 회로도 및 Artwork을, 표 BOM(Bill of Material)을 나타냄

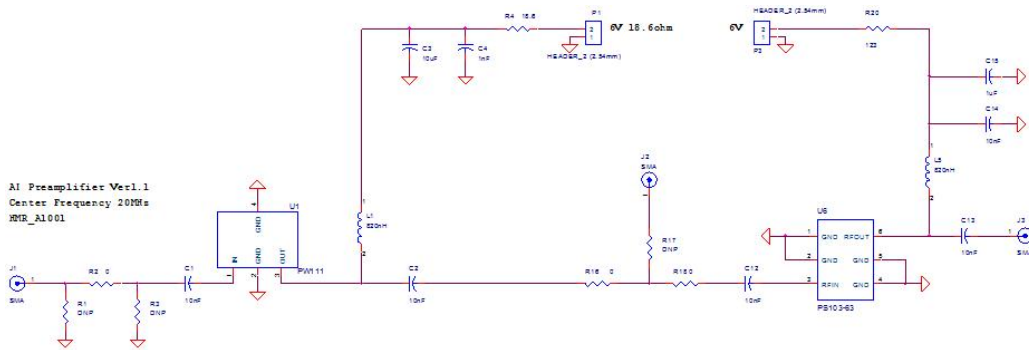


그림. 2-Stage Preamplifier 회로도

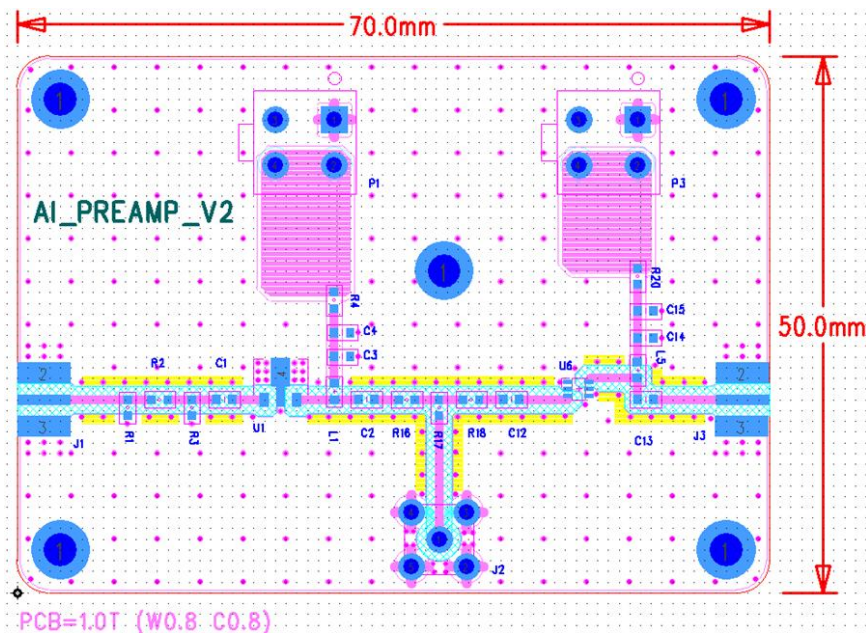


그림. 2-Stage Preamplifier artwork

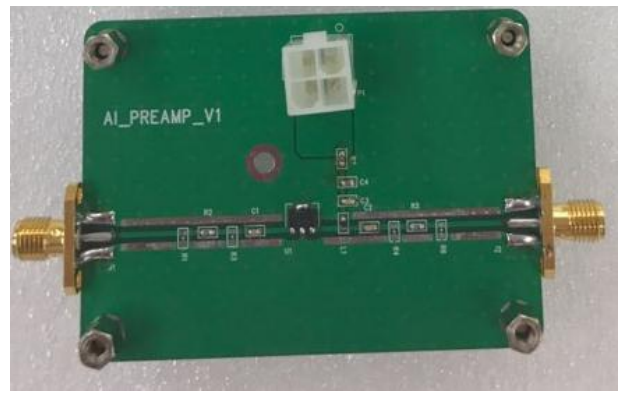
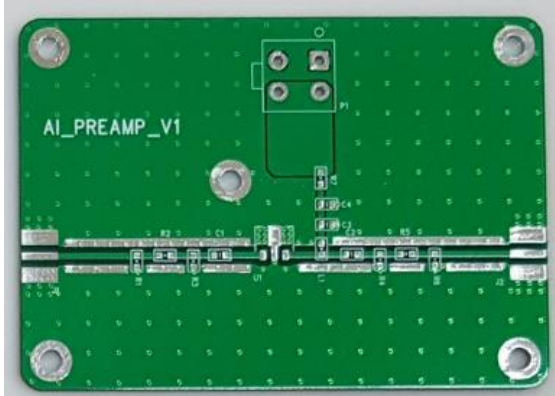
Item	Quantity	Reference	Part
1	5	C1,C2,C12,C13,C14	10nF
2	1	C3	10uF
3	1	C4	1nF
4	1	C15	1uF
5	3	J1,J2,J3	SMA
6	2	L1,L5	820nH
7	2	P1,P3	HEADER_2 (2.54mm)
8	3	R1,R3,R17	DNP
9	3	R2,R16,R18	0
10	1	R4	18.6
11	1	R20	123
12	1	U1	PW111
13	1	U6	PS103-63

표. 2-Stage Preamplifier BOM

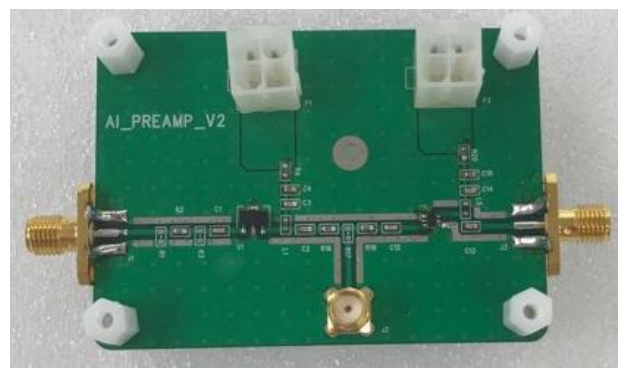
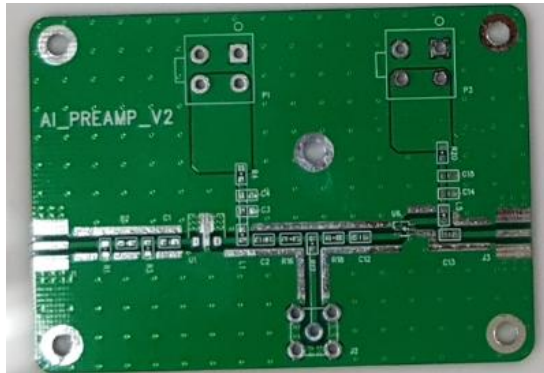
③ 제작 및 SMT

- 설계 및 Artwork 완료 후 PCB 제작 및 SMT 진행

제작 및 SMT 완료한 1-stage Preamplifier



제작 및 SMT 완료한 2-stage Preamplifier



④ 성능 검증을 위한 측정

- 1st Stage Preamplifier 측정

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit	목표
Supply Voltage			5		V	5
Frequency		10		100	MHz	10~100
S21	Gain	24.5		26	dB	25.5
S11	Input Return Loss	-7		-20	dB	N/A
S22	output Return Loss	-7		-30	dB	N/A
P1dB		16		20	dBm	N/A
OIP3			35		dBm	30
Noise Figure		1.5		2	dB	1.7
Power Consumption		62		70	mA	N/A

표. 1st Stage Preamplifier 측정 결과

- 2nd Stage Preamplifier 측정

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit	목표
Supply Voltage			5		V	5
Frequency		10		100	MHz	10~100
S21	Gain	46		50	dB	47.5
S11	Input Return Loss	-7		-20	dB	N/A
S22	output Return Loss	-7		-30	dB	N/A
P1dB		16		20	dBm	N/A
OIP3			35		dBm	30
Noise Figure		1.5		2	dB	1.7
Power Consumption		80		100	mA	N/A

표. 2nd Stage Preamplifier 측정 결과

(나) Filter

- Filter 소재는 Cut-off 특성이 높은 SAW(Surface Acoustic Wave) Band Pass Filter로 구성
- 뒷단에 Amp를 연결하여 Loss를 보완
- 뒷단에 사용한 Amp.는 Prewell 社사의 PNW254 및 PS103-63을 사용하여 2가지 타입으로 설계를 진행

① 회로 설계

- 아래 그림에서 First type Filter의 회로도 및 Artwork, 표 BOM을 나타냄

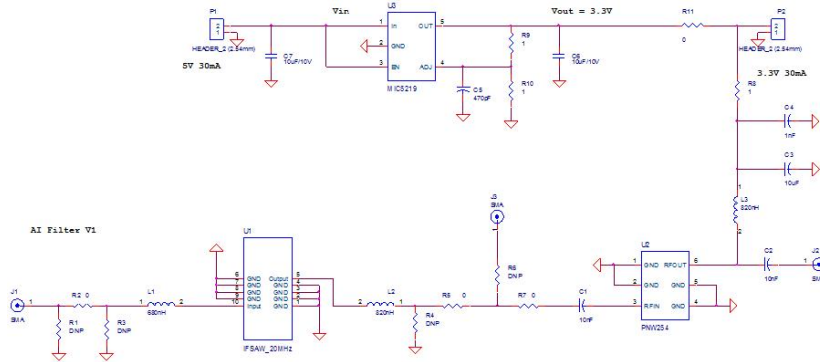


그림. 1st type SAW Band Pass Filter 회로도

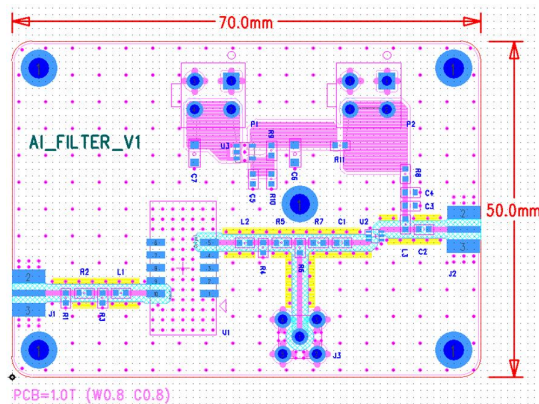


그림. 1st type SAW Band Pass Filter Artwork

Item	Quantity	Reference	Part
1	2	C1,C2	10nF
2	1	C3	10uF
3	1	C4	1nF
4	1	C5	470pF
5	2	C6,C7	10uF/10V
6	3	J1,J2,J3	SMA
7	1	L1	680nH
8	2	L2,L3	820nH
9	2	P1,P2	HEADER_2 (2.54mm)
10	4	R1,R3,R4,R6	DNP
11	4	R2,R5,R7,R11	0
12	3	R8,R9,R10	1
13	1	U1	IFSAW_20MHz
14	1	U2	PNW254
15	1	U3	MIC5219

표. 1st type SAW Band Pass Filter BOM

- 아래 그림에서 Second type Filter의 회로도 및 Artwork, 표에 BOM을 나타내었다.

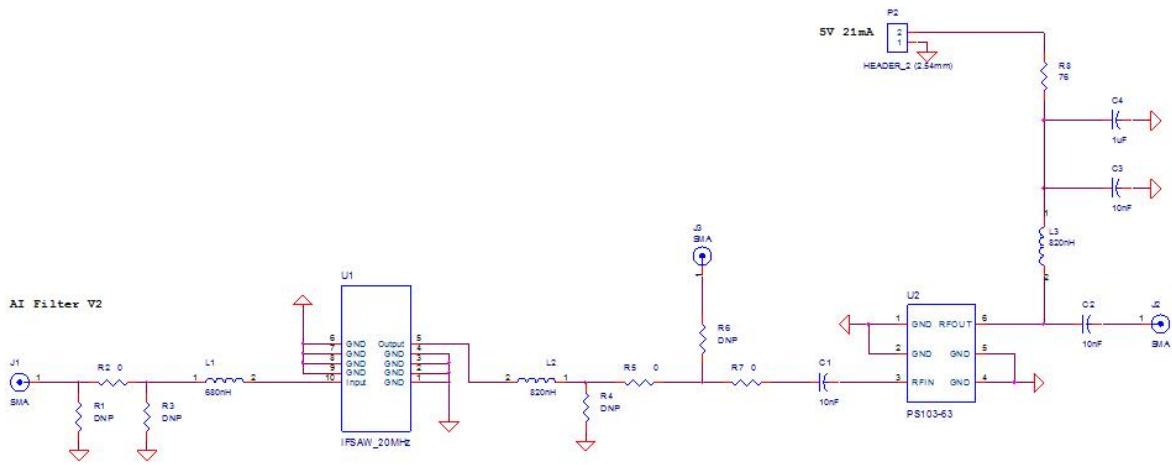


그림. 2nd type SAW Band Pass Filter 회로도

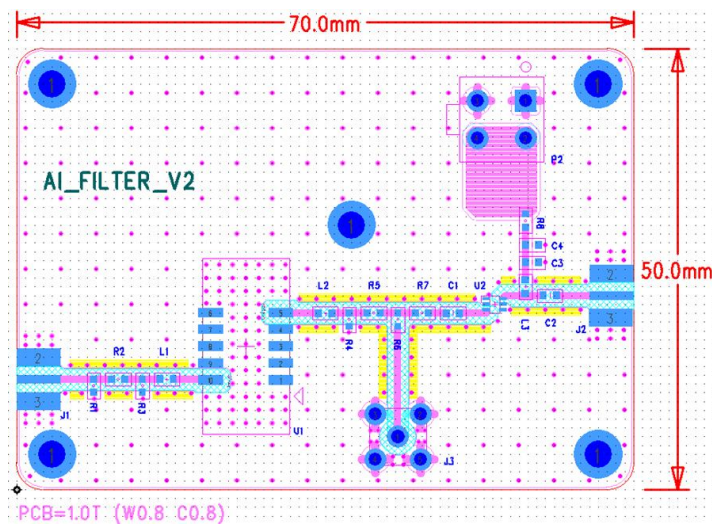


그림. 2nd type SAW Band Pass Filter Artwork

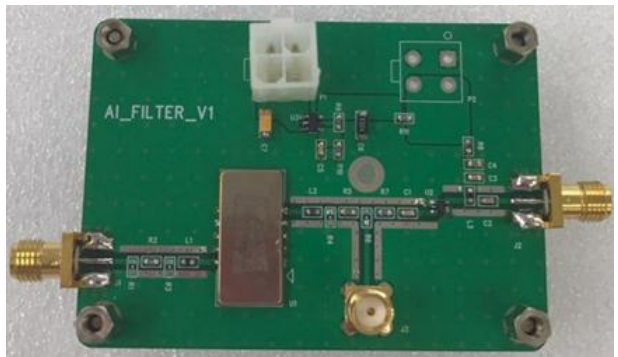
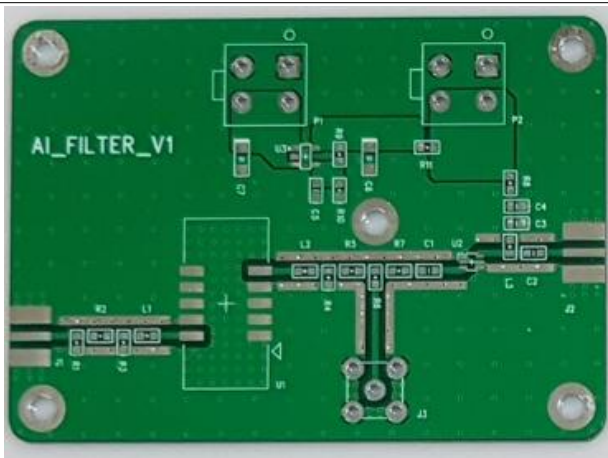
Item	Quantity	Reference	Part
1	3	C1,C2,C3	10nF
2	1	C4	1uF
3	3	J1,J2,J3	SMA
4	1	L1	680nH
5	2	L2,L3	820nH
6	1	P2	HEADER_2 (2.54mm)
7	4	R1,R3,R4,R6	DNP
8	3	R2,R5,R7	0
9	1	R8	76
10	1	U1	IFSAW_20MHz
11	1	U2	PS103-63

표. 2nd type SAW Band Pass Filter BOM

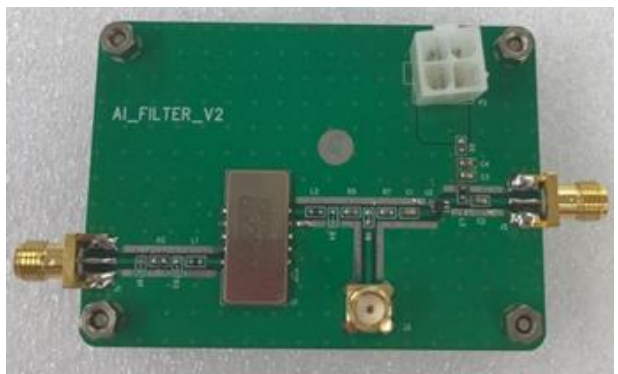
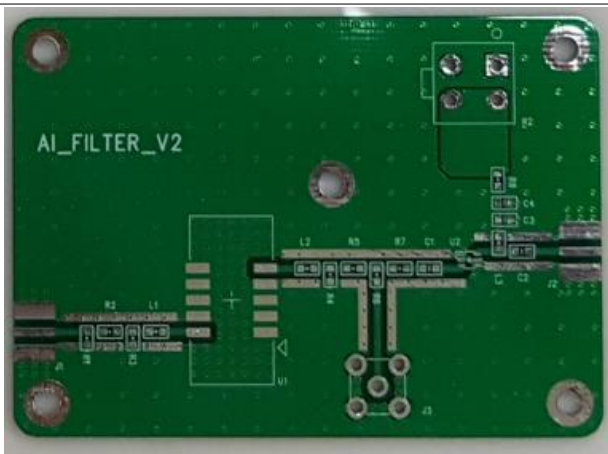
② 제작 및 SMT

- 설계 및 Artwork 완료 후 PCB 제작 및 SMT 진행

제작 및 SMT 완료한 1-stage Preamplifier



제작 및 SMT 완료한 2-stage Preamplifier



③ 성능 검증을 위한 측정

- 1st Type Filter 측정

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit	목표
Supply Voltage			5		V	5
Center Frequency			21.4		MHz	10~100
Bandwidth		2.8		3.2	MHz	N/A
S21	Gain	10		14	dB	0
S11	Input Return Loss	-4		-15	dB	N/A
S22	output Return Loss	-4		-15	dB	N/A
Power Consumption		28		35	mA	N/A

표. 1st type Filter 측정결과

- 2nd Type Filter 측정

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit	목표
Supply Voltage			5		V	5
Center Frequency			21.4		MHz	10~100
Bandwidth		2.8		3.2	MHz	N/A
S21	Gain	10		12	dB	0
S11	Input Return Loss	-4		-15	dB	N/A
S22	output Return Loss	-4		-15	dB	N/A
Power Consumption		18		25	mA	N/A

표. 2nd type Filter 측정결과

(다) RFI Receiver 성능 검증

① 1st Preamplifier + Filter 성능 검증

- 측정 결과

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit	목표
Supply Voltage			5		V	5
Center Frequency			21.4		MHz	10~100
Bandwidth		2.8		3.2	MHz	N/A
S21	Gain	37		40	dB	0
S11	Input Return Loss	-8		-15	dB	N/A
S22	output Return Loss	-7		-15	dB	N/A
Power Consumption		95		105	mA	N/A

표. 1st Preamplifier + Filter 측정결과

② 2nd Preamplifier + Filter 성능 검증

- 측정 결과

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit	목표
Supply Voltage			5		V	5
Center Frequency			21.4		MHz	10~100
Bandwidth		2.8		3.2	MHz	N/A
S21	Gain	53		56	dB	0
S11	Input Return Loss	-8		-15	dB	N/A
S22	output Return Loss	-7		-15	dB	N/A
Power Consumption		120		135	mA	N/A

표. 2nd Preamplifier + Filter 측정결과

(라) Power Supply 설계 및 제작

- RFI 의 각 Part 및 Spectrometer 구동을 위한 Power Supply 설계 및 제작

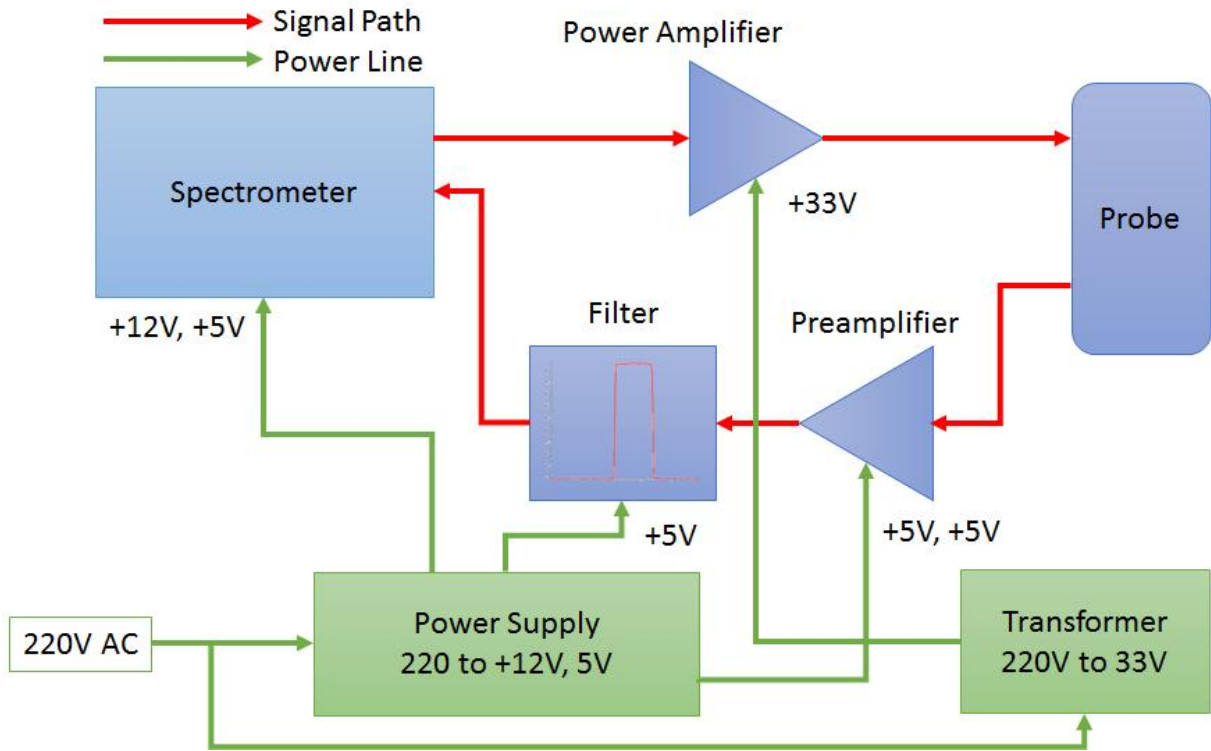


그림. RFI 및 Power Supply 신호 및 전원 Block Diagram

- Preamplifier 및 Filter, Spectrometer의 5V 전원을 주기 위한 Power 설계
- 12V에서 5V로 하향 변환 회로 설계

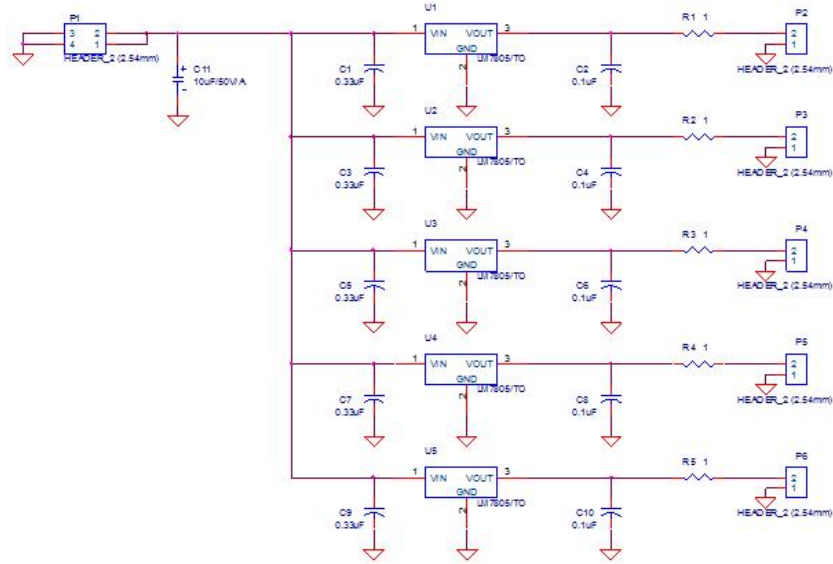


그림. Regulator를 이용한 12V to 5V 하향 변환 회로

Quantity	Reference	Part
5	C1,C3,C5,C7,C9	0.33uF
5	C2,C4,C6,C8,C10	0.1uF
1	C11	10uF/50V/A
6	P1,P2,P3,P4,P5,P6	HEADER_2 (2.54mm)
5	R1,R2,R3,R4,R5	1
5	U1,U2,U3,U4,U5	LM7805/TO

표. Power Supply BOM

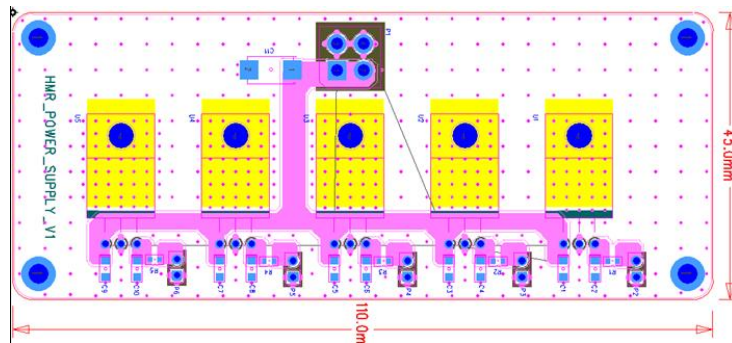


그림. Regulator를 이용한 12V to 5V 하향 변환 회로 Artwork



그림. Regulator를 이용한 12V to 5V 하향 변환 회로 제작

(마) Power Amplifier 설계 및 제작

- Power Amplifier는 Spectrometer에서 나오는 입력신호를 받아 신호를 최대한 증폭시켜 Probe에 신호를 보내는 역할을 하는 부분
- System의 경량화를 위해 출력 신호는 낮지만 낮은 전류와 소형 Power Amplifier 선택.
- Output power : 10 W
- Gain : 30 dB
- Input/Output impedance : 50 Ohm
- Linear response output voltage : 15 ~ 40 V
- Powering : 12 VDC @ 1.2A

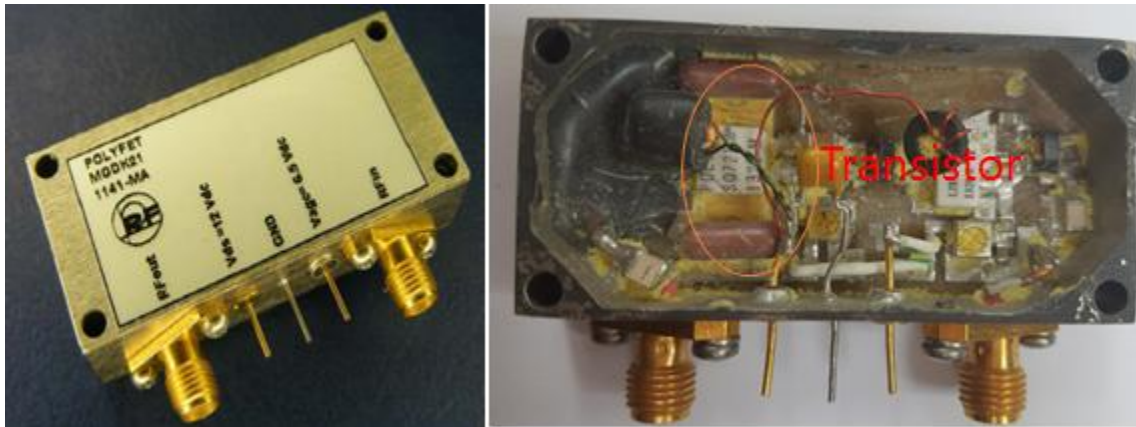


그림. Power Amplifier 및 내부 구성도

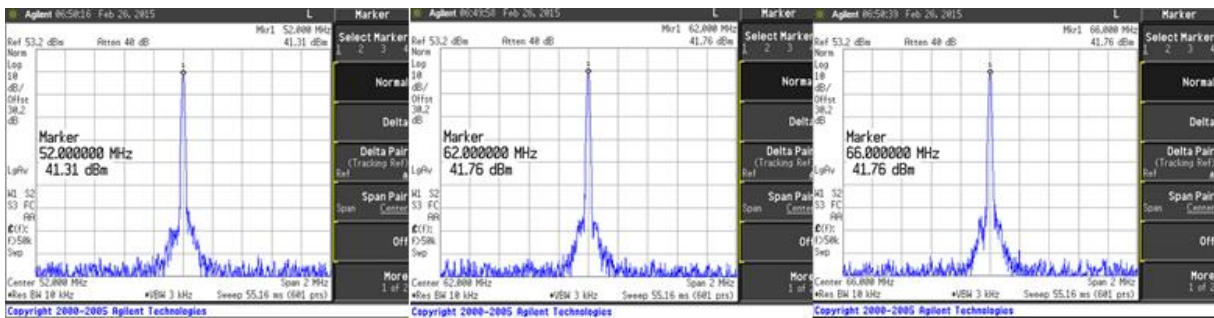


그림. 주파수별 Power Amplifier 측정 결과

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit
Frequency Range	50 ohm Load	10		90	MHz
Output Power	Pin 10dBm	10			W
Power Gain	Pout 10W	30			dB
Vagc Voltage		6		7	V
Vdc Voltage		11		17	V
Current		1.2			A

표. Power Amplifier 측정결과

(바) RFI 제작

- Preamplifier, Filter, Power Amplifier, Power Supply, 220V Converter를 이용한 RFI 구성
- 2가지 형태로 구성이 가능하며 저전력 설계
- 전원 Noise 최소화
- Power Amplifier의 방열판 부착으로 인한 안정적인 신호 공급

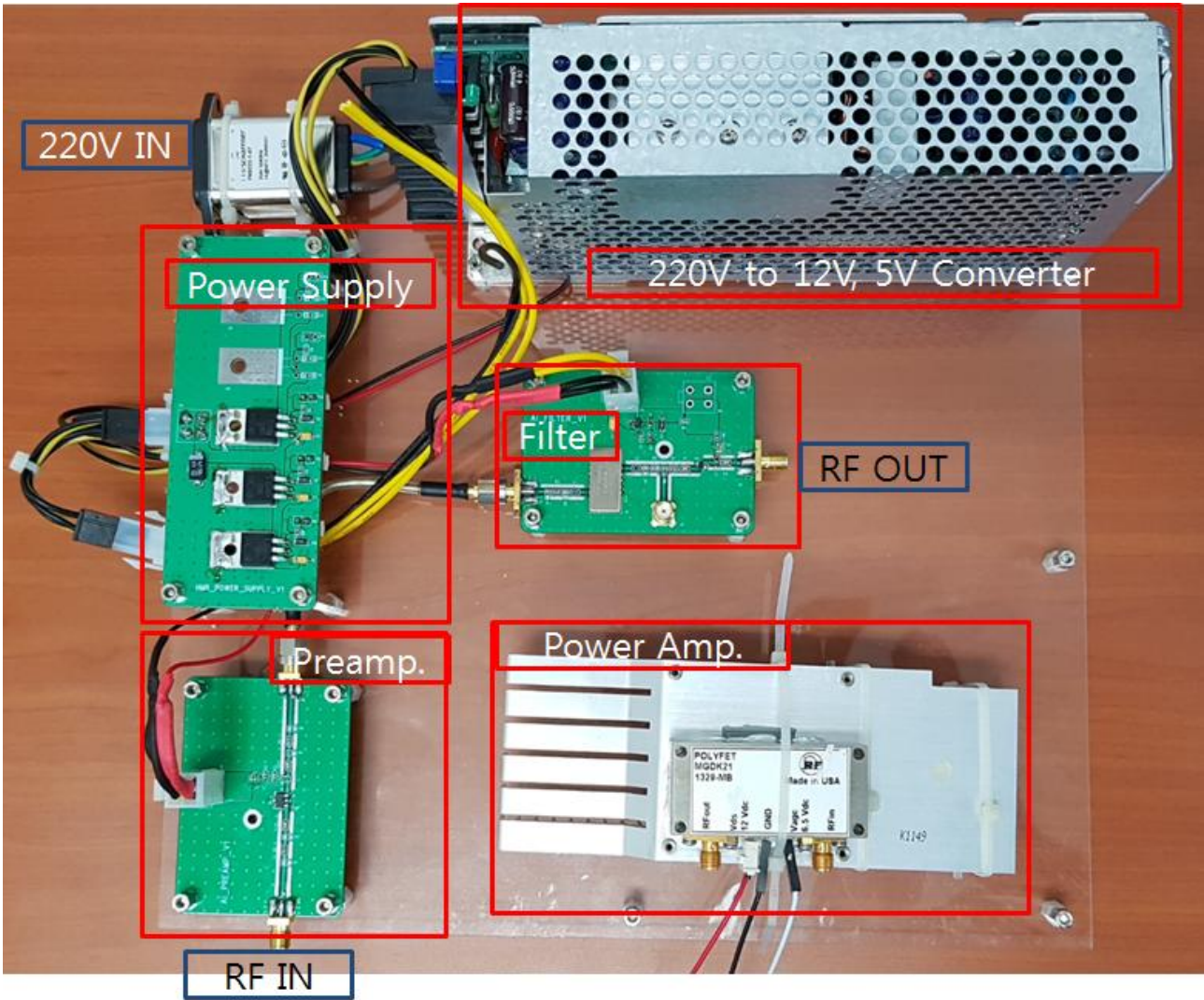
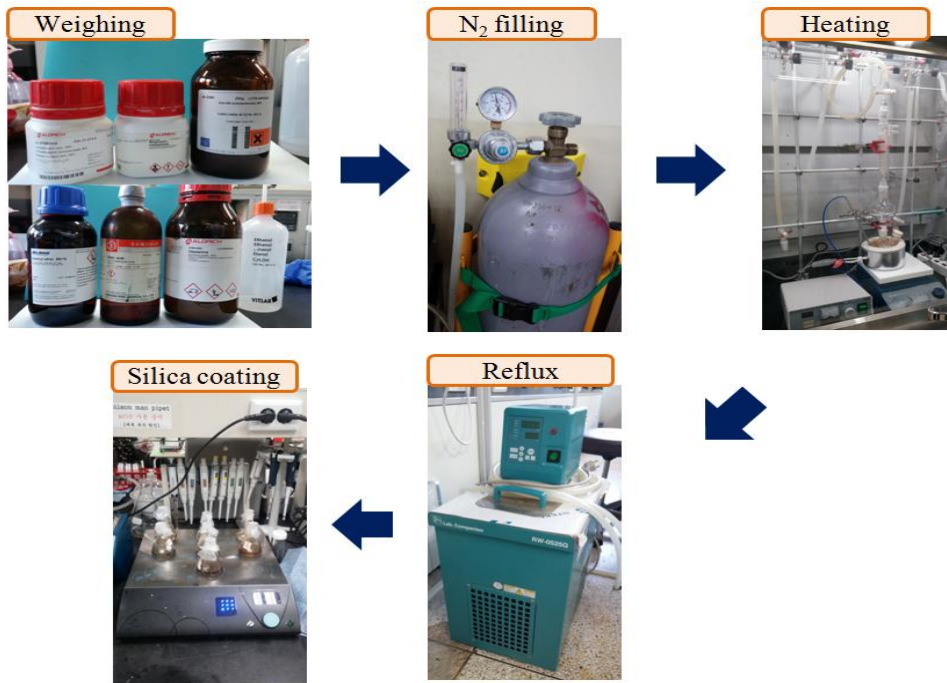


그림. RFI 구성

나. Magnetic nanoparticle 개발 및 virus antibody conjugation

(1) magnetic nanoparticle 개발



정확한 화학양론적 조성을 칭량한 후 1시간 이하로 진공을 잡은 상태에서 질소 분위기로 바꿀 경우 $MnFe_2O_4$ 의 모양이 불규칙함을 알 수 있다. 따라서 균일한 모양을 얻기 위해서는 질소로 치환하기 전에 완벽하게 진공상태로 만들어 주어야 한다.

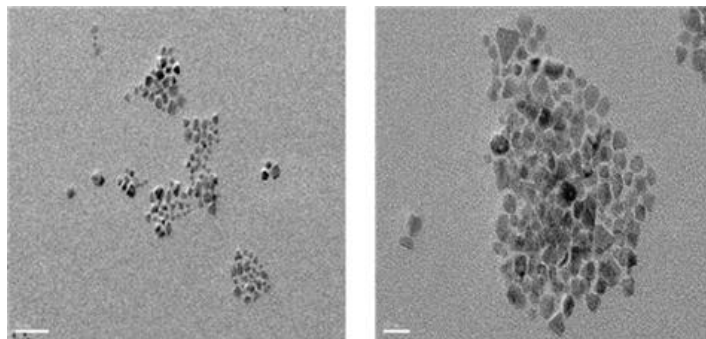


그림47. 1시간 이하로 진공을 잡았을 때의 $MnFe_2O_4$

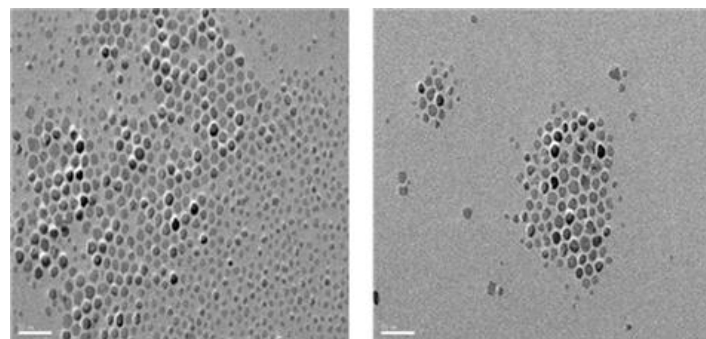


그림48. 1시간 이상 진공을 잡았을 때의 $MnFe_2O_4$

(2) magnetic nanoparticle 개발 연구 결과

MnFe₂O₄의 TEM 이미지이다. 그림 (a)의 scale bar는 50nm이고, 그림 (b)의 scale bar는 20nm이다. 아래의 그림은 MnFe₂O₄의 합성을 고순도 질소 분위기에서 하기 위해, 2구 원형 플라스크 내부를 1시간 이상 진공을 잡아준 후에 실험을 진행하였다. 그 결과를 TEM을 이용하여 확인하였다. 그림 1을 통하여 MnFe₂O₄의 입자 크기는 약 5nm~20nm가 나왔으며, MnFe₂O₄의 입자가 골고루 분산되어 있음을 확인할 수 있다.

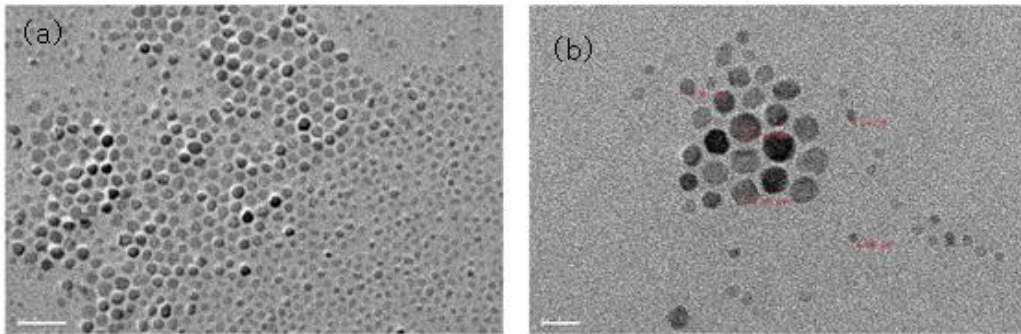


그림. MnFe₂O₄ TEM 이미지 (a)x50k, scale bar=50nm (b)x100k, scale bar=20nm

(3) magnetic nanoparticle 과 virus-surface-specific antibody의 conjugation

magnetic nanoparticle 과 virus-surface-specific antibody의 conjugation을 하기 위해서 YS Cho, Cancer letters 299 (2010) 63-71을 참고 하였다.

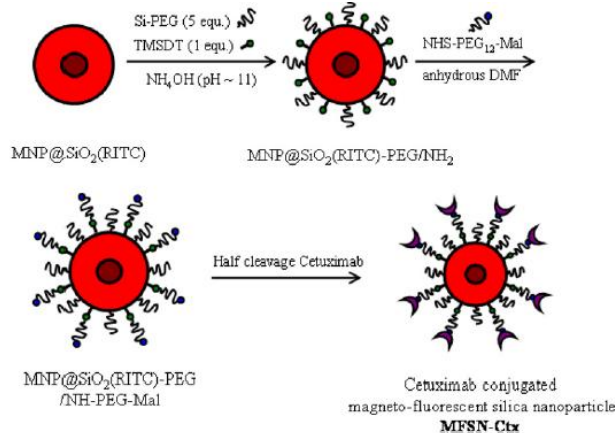


Fig. 1. The synthetic scheme for cetuximab-conjugated magneto-fluorescent nanoparticles (MFSN-Ctx) is outlined.

(가) MnFe₂O₄의 농도에 따른 SiO₂의 코팅

MnFe₂O₄에 silica를 코팅하는 방법은 다음과 같다. Cyclohexan 30ml에 300ul를 넣고 stirring을 하면서 혼합한다. 계면활성제인 Triton x-100 562ul와, 암모니아수 76.4ul 넣으면 용액이 뿌옇게 됨을 확인할 수 있다. 그 후 1-otanol을 용액이 다시 맑아질 때까지 주입한다. 마지막으로 TEOS(Tetraethyl orthosilicate) 100ul를 넣고 72시간동안 stirring 시켜준 후 원심분리기를 통하여 계면활성제와 같은 부유물을 제거한다.

MnFe₂O₄의 양에 따른 silica 코팅정도를 알아보기 위하여 다른 공정의 변화없이 진행하였다. 아래 이미지는 MnFe₂O₄의 농도에 따른 SiO₂의 코팅정도이다. MnFe₂O₄ 300ul에 SiO₂를 코팅할 경우 두께는 대략 20nm이나 농도를 높인 MnFe₂O₄ 500ul에 SiO₂를 코팅하면 두께는 대략

10nm가 된다. $MnFe_2O_4$ 의 농도가 증가할수록 SiO_2 가 더 얇게 코팅되지만 necking 현상이 두드러지게 발생한다.

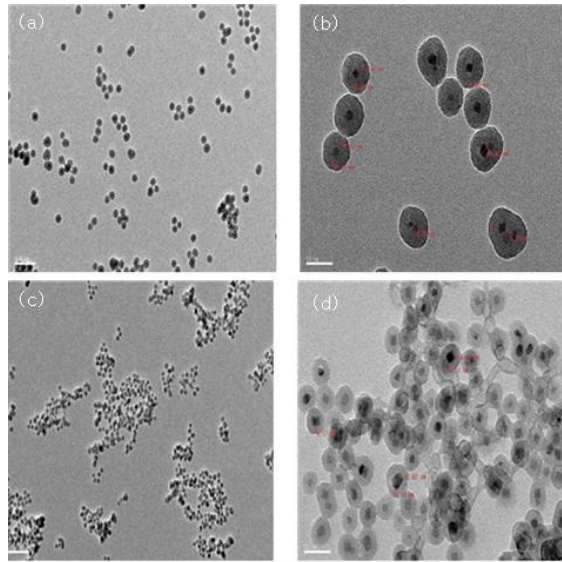


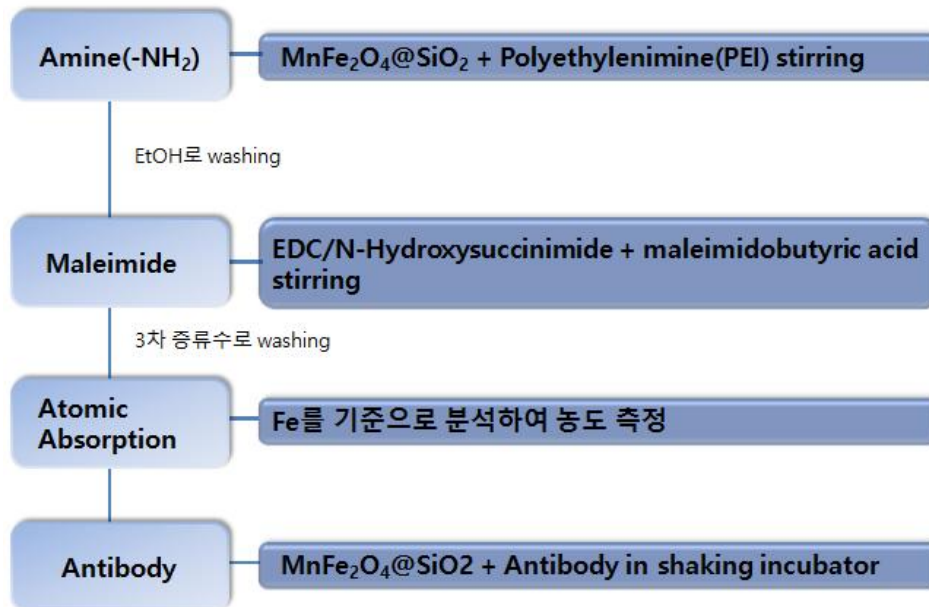
그림. $MnFe_2O_4$ 를 SiO_2 로 코팅했을 때의 TEM 이미지 (a-b) $MnFe_2O_4$ 를 300ul 넣었을 경우 (c-d) $MnFe_2O_4$ 를 500ul 넣었을 경우

(나) SiO_2 코팅된 $MnFe_2O_4$ 와 Antibody 결합

- 연구수행방법(이론적·실험적 접근방법)

reduced antibody와 conjugation하기 위해 코팅층의 수산기(-OH)를 아민기(-NH₂)로 치환한다. 그 후 EDC/NHS 반응을 통하여 maleimide를 결합시킨다. antibody와 $MnFe_2O_4/SiO_2/PEI/maleimide$ 의 정확한 비율로 반응시키기 위하여 Atomic Absorption analysis를 한다. Fe를 기준으로 $MnFe_2O_4/SiO_2/PEI/maleimide$ 의 농도(ppm)를 측정하였다. $MnFe_2O_4/SiO_2/PEI/maleimide(50ppm)$ 5ml과 reduced antibody 410ug을 혼합하여 37°C shaking incubation에서 반응시킨다.

반응 시간의 변화에 따른 결과를 알아보기 위하여 다른 공정의 변수 없이 3시간, 6시간 반응시켰다. TEM을 통하여 반응 시간에 따른 차이점을 확인해보았으나 용액의 안정성을 위해 shaking incubator를 사용하여 눈으로 명확하게 확인할 수 없었다. TEM 이미지나 외관상으로 관측하였을 때는 반응 시간의 변화에 용액의 안정성은 큰 차이를 보이지 않음을 확인할 수 있었다.



(4) magnetic nanoparticle 과 virus-surface-specific antibody의 conjugation 연구 결과 $MnFe_2O_4/SiO_2/PEI/Maleimide$ 와 reduced antibody의 thiol(-SH)기를 통해 결합한다.(그림2) 두 시료를 vial에 일정한 농도로 혼합한 다음 37°C incubator, 37°C 200rpm shaking incubator에서 각각 반응시켰다. TEM을 통해 shaking 유무에 따른 차이를 확인할 수 있다. shaking을 하지 않은 경우 많은 antibody가 불규칙적으로 magnetic nanoparticle에 결합하여 뭉쳐져 있어 용액의 안정성을 떨어뜨린다. 그러나 합성 중 shaking을 해주었을 경우 antibody와 magnetic nanoparticle이 골고루 분산되어 있어 용액의 안정성을 잘 유지할 수 있게 해준다.

일반적으로 전 처리에서 항원에 대한 항체는 바인딩 능력이 극대화 되게 설계 제조 되어 있어, incubation 만으로 바인딩이 가능하다. 그러나 본 연구에서는 T2 측정 시 샘플의 안정성을 높이기 위하여 안정제(0.05% agar, 2% milk, 0.1% xanthan, 0.5% sodium carboxy methyl cellulose 중 선택)를 첨가할 예정이다. 안정제와 함께 배양된 magnetic nanoparticle/antibodies의 바인딩이 능력이 더 향상되어 T2 측정 시 분산도가 유지될 것으로 예측한다.

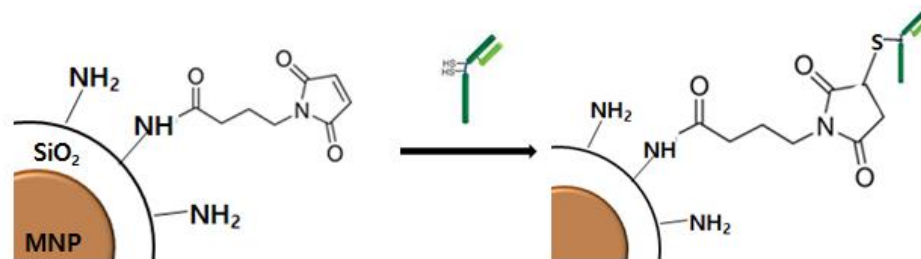


그림. $MnFe_2O_4/SiO_2/PEI/maleimide$ 와 환원된(reduced) antibody의 conjugation

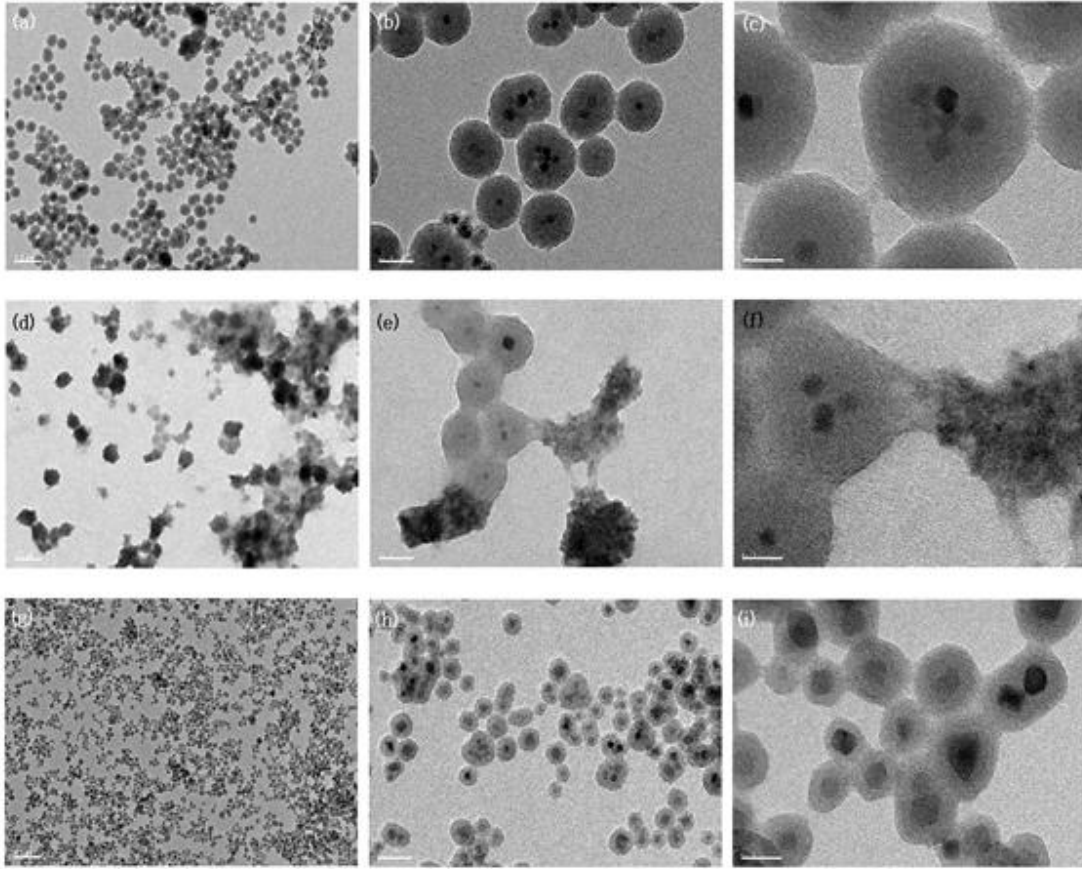


그림. 다양한 조건에서 $\text{MnFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 의 TEM 이미지 (a-c) Antibody와 결합하기 전 $\text{MnFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ (d-f) 37°C incubator에서 antibody와 반응시킨 $\text{MnFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ (g-i) 37°C shaking incubator에서 antibody와 반응시킨 $\text{MnFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$

TEM을 통해 shaking incubation 한 경우 antibody를 명확히 확인할 수 없어 T2를 이용하여 분석하였다. T2 측정조건은 상온에서 자기장 : 0.35 T, ^1H NMR Freq. : = 14.9 MHz, 90 pulse width = 5 us, 180 pulse width = 10 us, Pulse Sequence = CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill), tau = 5 ~ 20 ms 이다. 그림은 (a)증류수, (b) $\text{MnFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{PEI}/\text{maleimide}$, (c) $\text{MnFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ + Antibody 6시간 반응, (d) $\text{MnFe}_2\text{O}_4@\text{SiO}_2$ + Antibody 3시간 반응한 sample을 측정된 그래프이다. 예상한 바와 같이 증류수의 T2가 1.2s로 가장 길게 측정되었으며, MnFe_2O_4 와 Antibody를 3시간 반응시킨 sample이 11.4ms로 가장 짧게 측정되었다. MnFe_2O_4 와 Antibody를 6시간 반응시킨 sample보다 3시간 반응시킨 sample의 T2가 짧은 것을 통해 MnFe_2O_4 와 Antibody의 반응 시간은 3시간이 적합함을 알 수 있다.

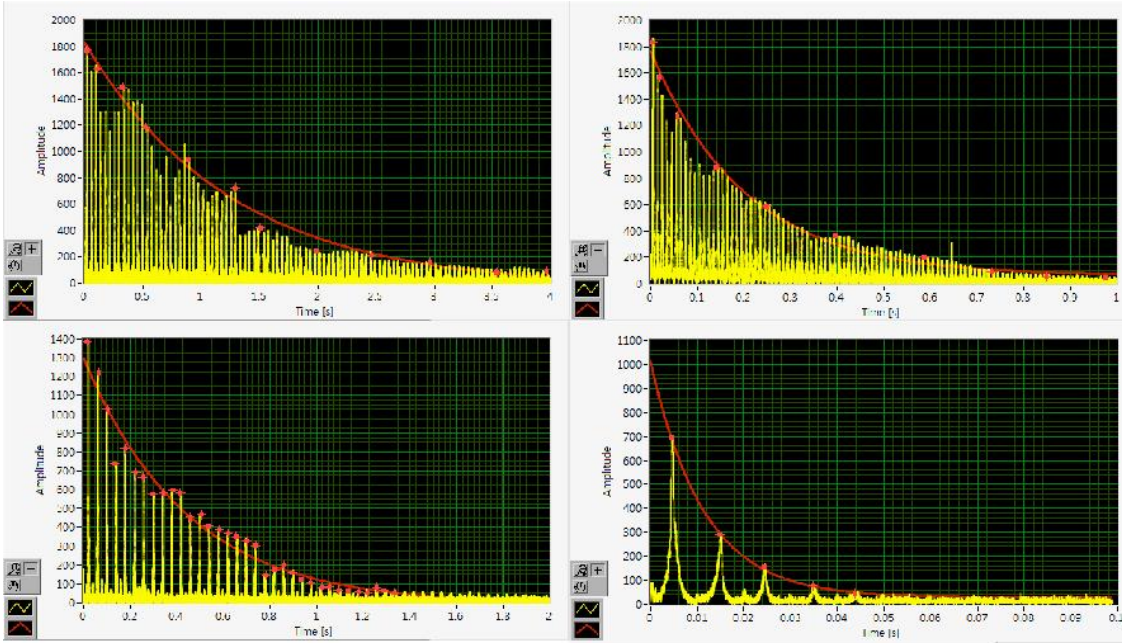


그림. T2 측정 그래프 (a)증류수_1.2s, (b) $MnFe_2O_4/SiO_2/PEI/maleimide$ _200ms, (c) $MnFe_2O_4@SiO_2$ + Antibody 6시간 반응_44ms, (d) $MnFe_2O_4@SiO_2$ + Antibody 3시간 반응_11.4ms

다. 조류 인플루엔자 Virus Antibody

(1) H5 혈청형 생산을 위한 항원 단백질 준비

(가) H5 혈청형 단백항원을 분리 위한 바이러스 제작: 고병원성 H5N8

- (A/waterfowl/Korea/S005/2014)의 HA 유전자의 분절 부위에 고병원성 유전자를 제거 후 역전사유전자 기법 벡터 (pHW2000)에 크로닝 및 N8 또는 N1 (A/Vietnam/1203/2004:H5N1) 유전자를 증폭하여 pHW2000에 클로닝하고 나머지 6개 유전자 (PB2, PB1, PA, NP, NA, M, NS)는 A/PR/8/34 (H1N1) 유래 벡터에 삽입된 유전자들을 세포 (293-T)에 주입하여 약독화된 H5N1 및 H5N8 바이러스를 구조 (rescue) 한 후 유정란에 접종 후 HA 역가를 측정하였음. 두 백신 주는 211의 높은 바이러스 역가를 보여 줌



(나) 바이러스 정제: 약독화된 H5N1 바이러스를 10일령의 유정란에 접종하고 요수액을 수득하여 sucrose-gradients (75%/25%)를 이용하여 순수 정제하여 바이러스를 획득

(2) H5 및 NA (N1 및 N8) 단백질 순수 정제

- 정제된 바이러스를 SDS-PAGE 하여 Gel에서 약 elution buffer를 이용하여 H5, NA (N1 및 N8) 단백질을 순수 정제

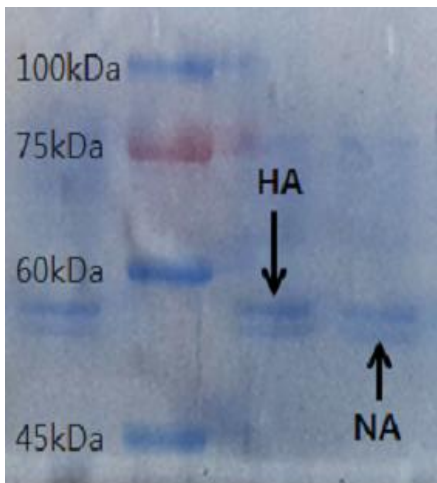


그림 (H5N1)

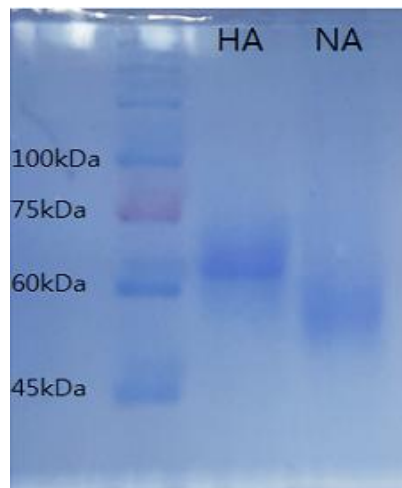


그림 (H5N8)

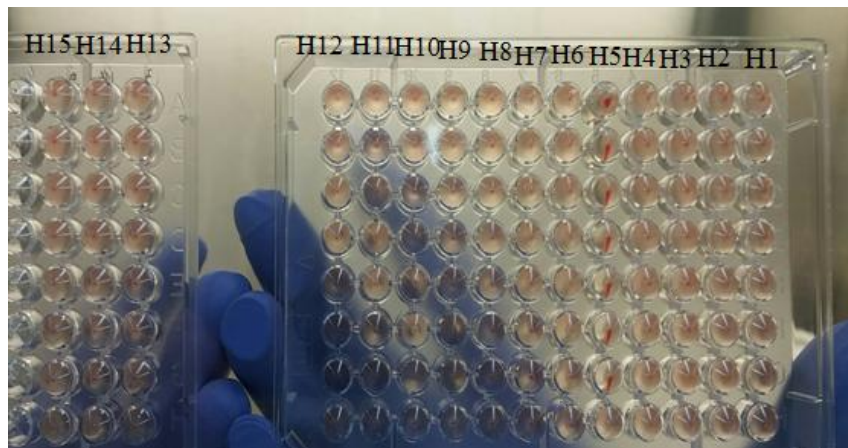
(3) H5 , N1 및 N8 항원 단백질을 이용한 SPF 토끼를 이용한 H5, N1 및 N8 특이 항체 생성 및 정제

- 토끼에 정제된 H5, N1 및 N8 단백질 15ug을 complete Freund's adjuvant 첨가하여 접종 후 4주 후 H5 단백질 15ug을 incomplete Freud's adjuvant로 1주 간격으로 2번 boosting후 6주째 혈청을 수득하여 Protein A kit (Rabid antibody purification kit)를 이용하여 IgG 항체를 순수 정제하였음.

Bradford 방법으로 항체양 측정결과: HA (4.0-6.2mg/mL); NA (3.0-4.3mg/mL)

(4) H5 항체의 검증

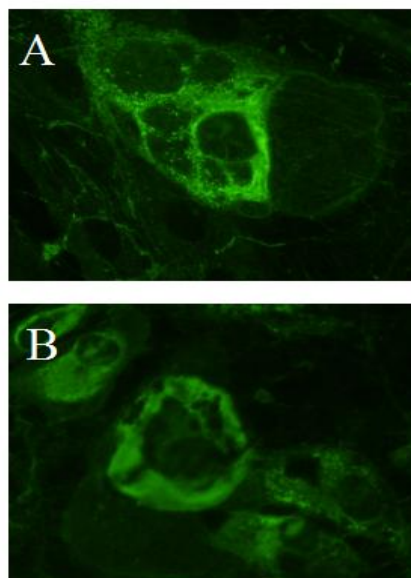
- 정제한 H5 특이 항체를 보유한 H1-H15형 조류인플루엔자를 이용한 혈구응집억제 반응 (HI)을 수행하여 특이성을 확인하였음



(5) N1 및 N8 항체 검증

- MDCK 세포에 H5N1 또는 H5N8 바이러스 감염 후 형광항체법을 이용하여 N1 및 N8 항체 특이성을 검증하였음 (그림 46)

(그림. A (N1 항체); B (N8 항체))

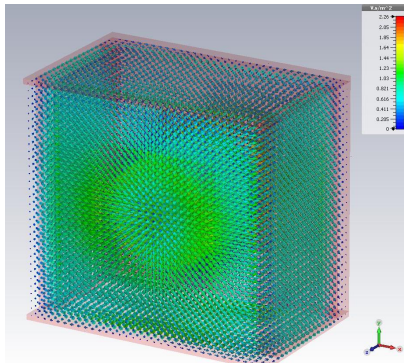


2-2. 2차년도

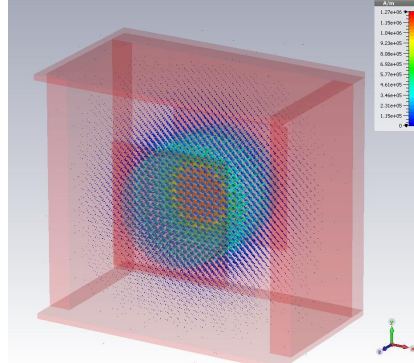
가. NMR system

(1) Magnet

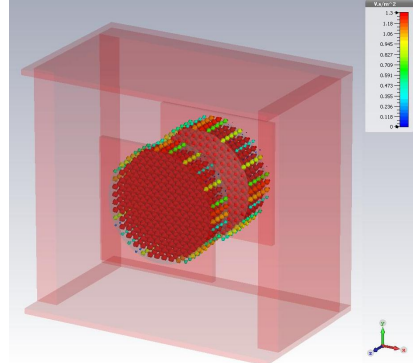
(가) Magnet simulation



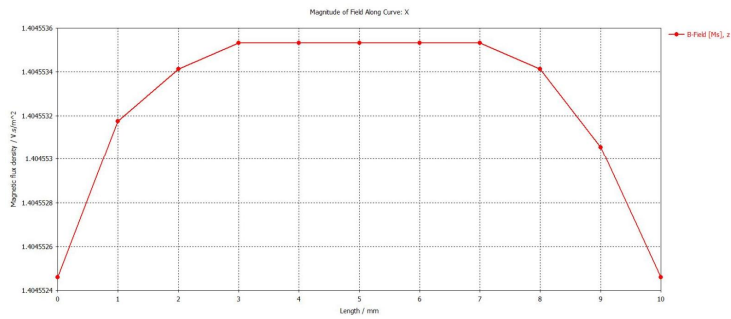
B field simulation



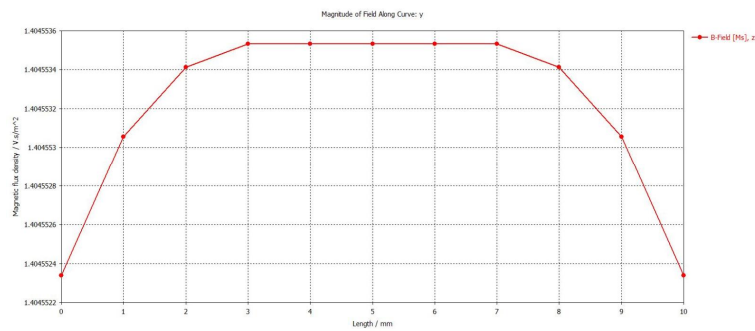
H field simulation



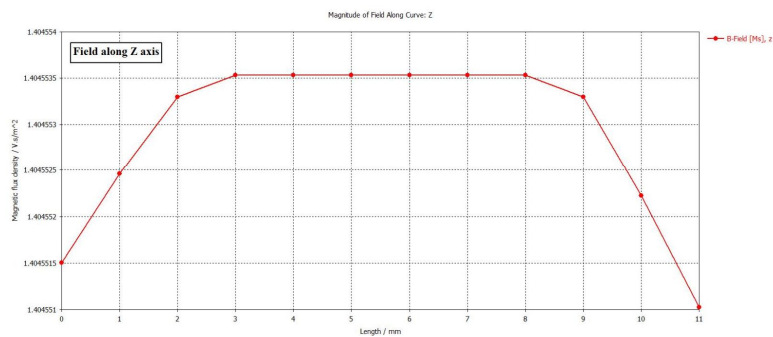
Permanent flux simulation



X축 magnetic field simulation

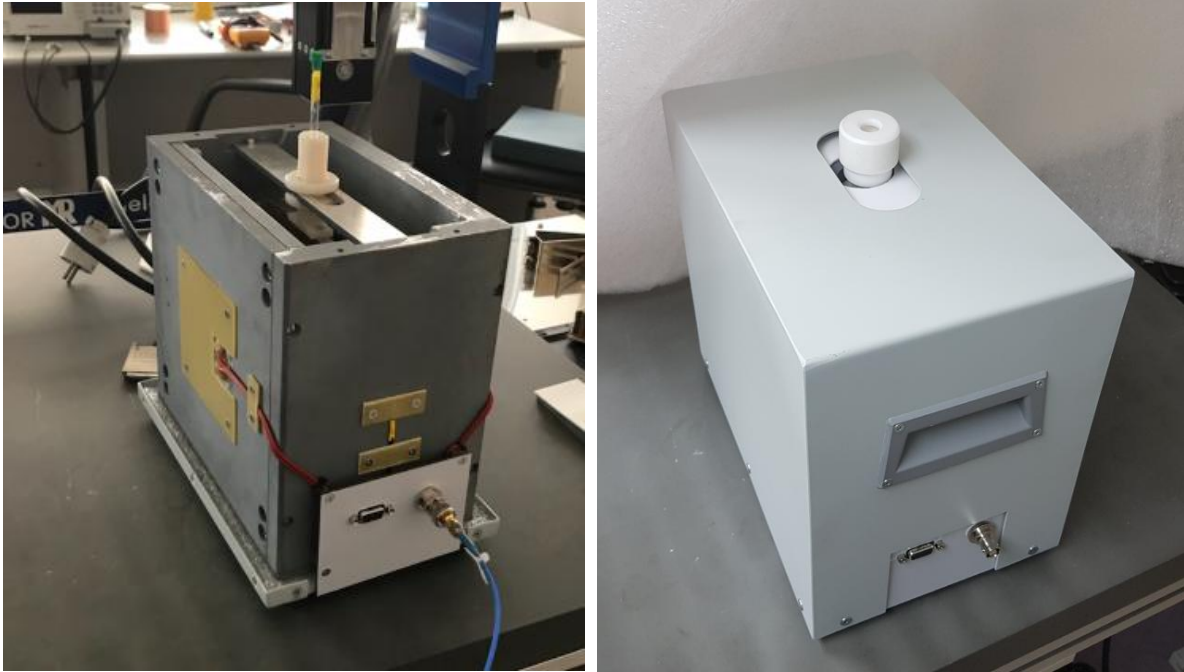


Y축 magnetic field simulation



Z축 magnetic field simulation

(나) 조립된 자석

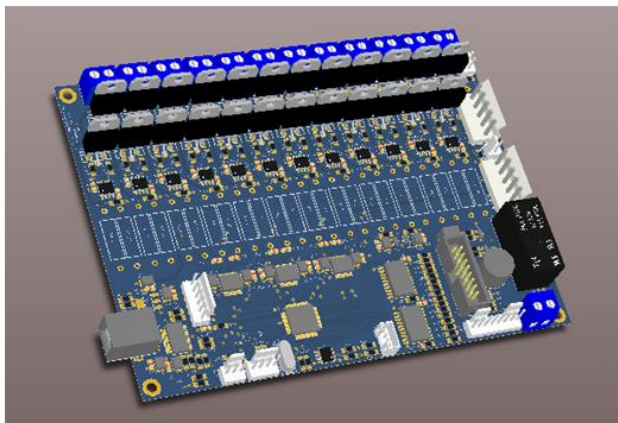


조립된 자석의 casing 이전(왼쪽) 및 이후(오른쪽)

- 자석 세기 : 1.14 Tesla
- 자석 gap : 10 mm
- 자석 dimension : 237 × 146 × 215 mm
- Case dimension : 270 × 175 × 240 mm

(2) Shim 컨트롤러

(가) Shim 컨트롤러 및 Shim Power Supply (Multi Chanel)



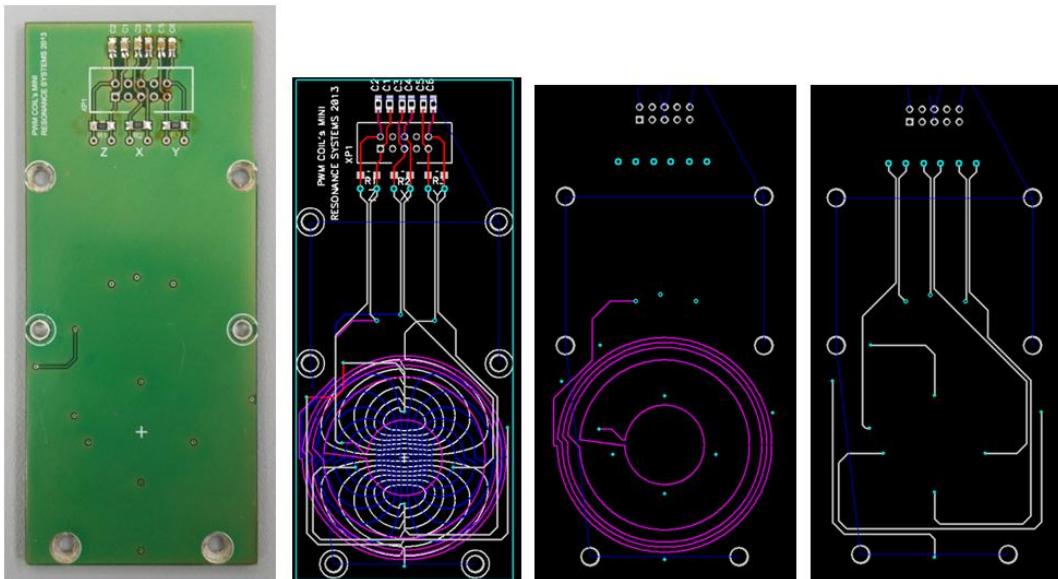
12-channel shim 컨트롤러 및 shim power supply : Design(왼쪽), 완성품(오른쪽)

(나) Shim Control의 성능

- Amount of channels: 12
- Voltage range per channel: -1.6~+1.6 V
- DAC resolution: 12 bits
- Overall current for all channels: 25 A
- Overall output power: 60 W
- Shimming coil impedance: 0.5 Ohm
- External power supply: 110~240 V AC

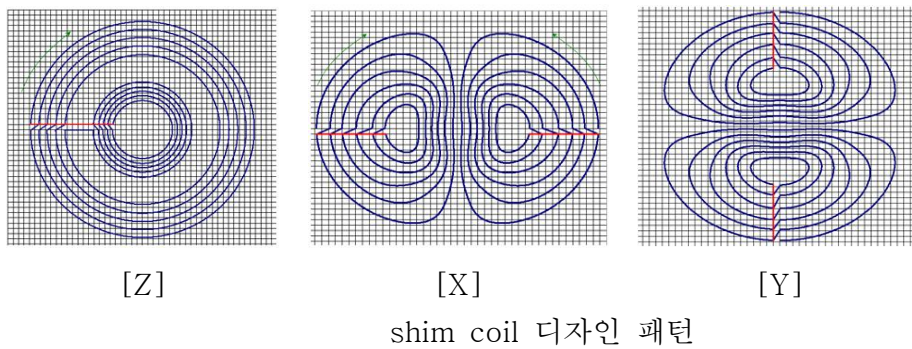
(다) Shim Coil

- 아래 그림에 Shim Coil과 그 디자인 패턴 (전류 패턴).
- 각 전류패턴과 패턴대로 PCB에 각층 별로 제작된 Shim Coil은 자장의 Bessel 함수 전개에
각 항에 해당

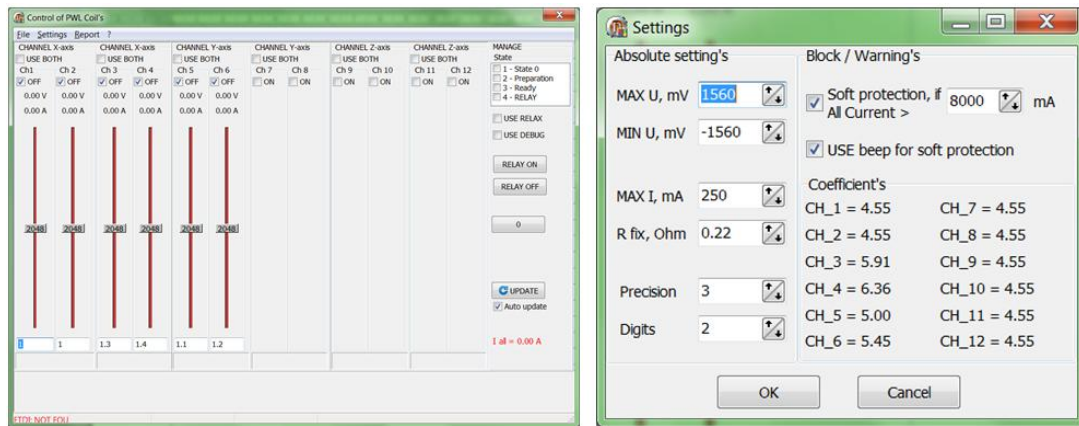


PCB에 구현된 Shim Coil

- 다층기판 (multilayer PCB)의 각 층별로 다른 패턴의 자장 코일로 구성
- 패턴은 아래와 같이 그 전류 요소를 Target Field Method로 구현



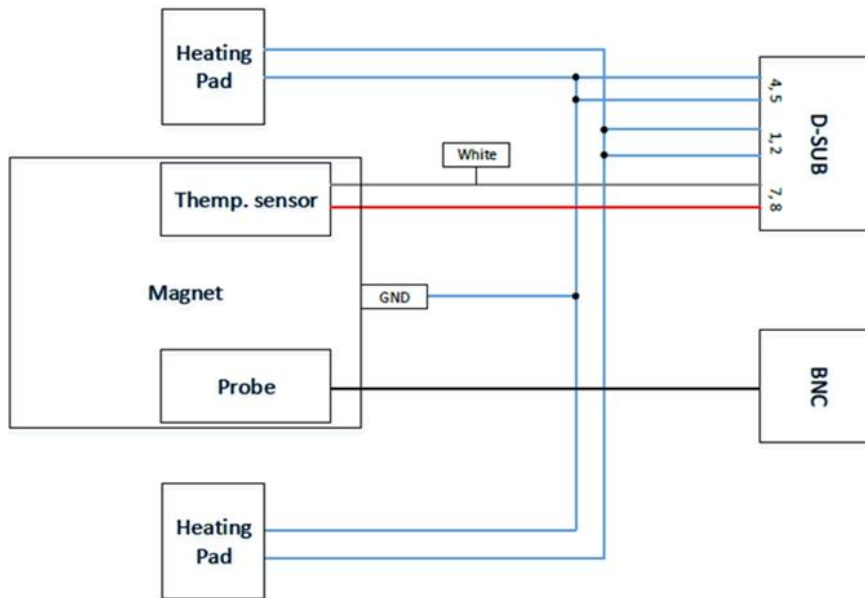
(라) GUI



각 채널의 전류를 조절하는 PC GUI

- 자장 균질도를 높이기 위해서 자장균질도의 정밀조정이 필요하며, 자석 양극 사이에 여러 종류의 코일에 정밀 조정된 전류로 각종 자장을 만드는 active Shim의 방법 사용

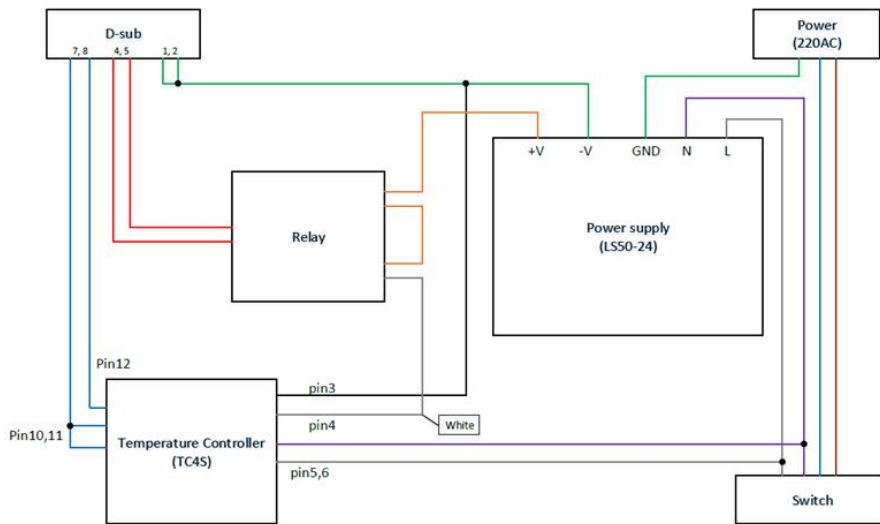
(3) 온도조절 장치



온도조절 장치의 구성도

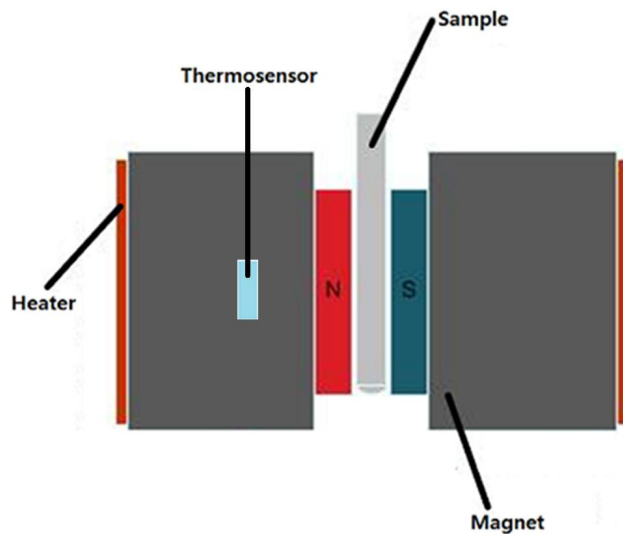
- 자석은 온도에 따른 자장 변화를 보이므로 일정 자장을 유지하기 위해 온도 조절
- 자석의 온도는 온도센서로 감지하고, PID 제어로 목표 온도로 피드백 제어

Temperature Controller



온도조절 장치의 배선도

- 히터의 전력공급은 Relay의 on/off 를 통해 조절



Heater 및 온도 센서의 위치

- 온도 센서는 자석의 길면에 위치하여, 자석의 온도를 측정

(4) RFI System 개발

(가) Preamplifier

: 낮은 Noise 특성 및 높은 이득 구현을 위해 2-stage로 구성

① First Stage Amplifier

- Preamplifier는 RFI 초단에 위치하여 미세한 신호를 Noise는 낮추면서 신호의 크기를 증폭하여 다음 Stage로 전달하는 역할
- 높은 이득과 Dynamic Range를 갖기 위한 2-stage Preamplifier 설계
- 1-stage의 Amp의 경우 높은 입력 OIP3와 낮은 Noise Figure 특성을 갖는 소자 선택

- 1-stage Amplifier의 성능

Parameter	Units	PW111
S21(Gain)	dB	25.8@65MHz
S11(Input Return Loss)	dB	-15
S22(Output Return Loss)	dB	-18
P1dB(Input Max. Power)	dBm	18.9
OIP3(Output Max. Power)	dBm	35.1
Noise Figure	dB	1.7
Voltage / Current	V/mA	4.74/69
Rth	°C/W	63

② Second Stage Amplifier

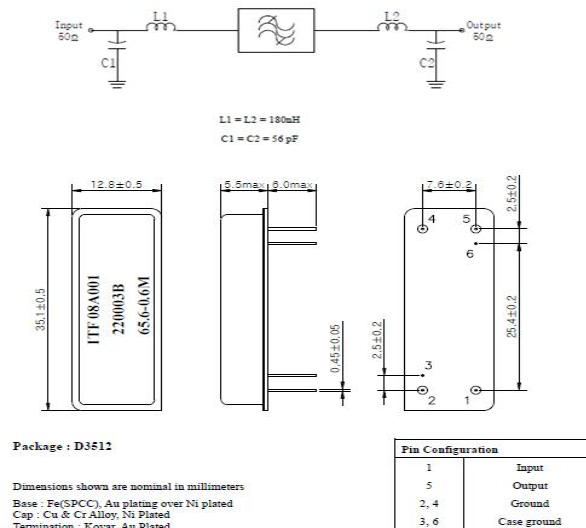
- 두 번째 Amplifier는 높은 이득 및 OIP를 구현 가능한 소자를 사용하여 구성

Parameter	Units	PNW254
S21(Gain)	dB	23.7@65MHz
S11(Input Return Loss)	dB	-11
S22(Output Return Loss)	dB	-26
P1dB(Input Max. Power)	dBm	20.2
OIP3(Output Max. Power)	dBm	29
Noise Figure	dB	2.5
Voltage / Current	V/mA	3.3/30
Rth	°C/W	40

- 1port 전압을 사용하기 위해 Regulator를 이용하여 전원부를 설계
- 전원 Noise를 줄이기 위한 Noise Cancellation Filter 추가

(나) Filter

- Filter 소재는 cut-off 특성이 높은SAW(Surface Acoustic Wave) Band Pass Filter로 구성
- 뒷단에 Amp를 연결 하여 Loss를 보완



SAW(표면 탄성파) Filter 회로도 및 Dimension

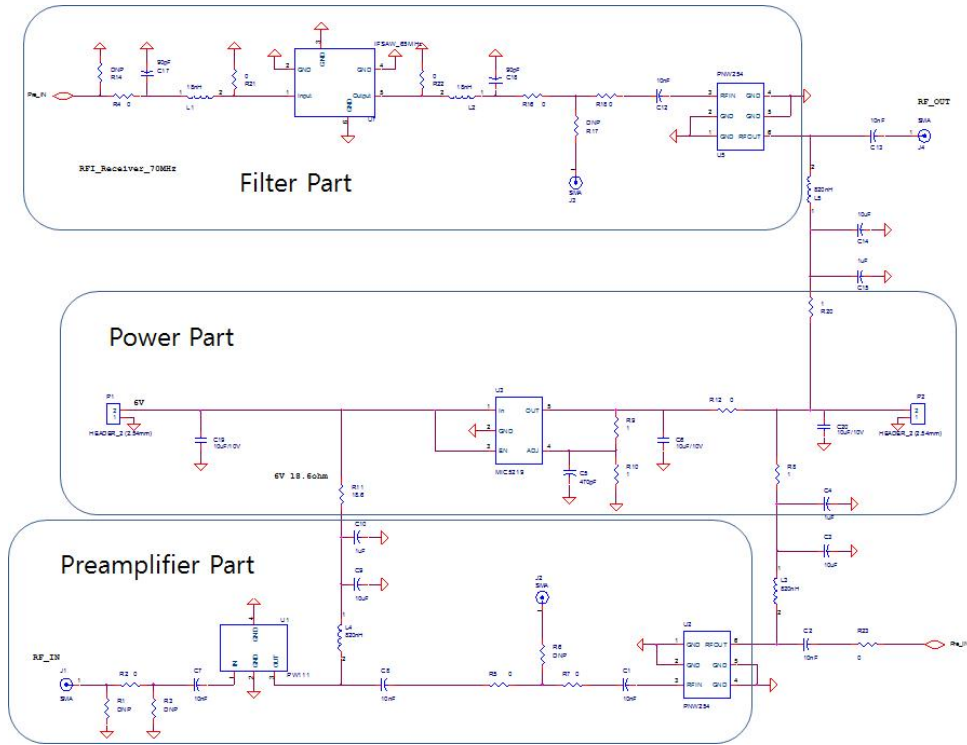
- SAW Band Pass Filter는 ITF社의 iA21A4 01을 사용
- Typical 1dB Bandwidth 2.65MHz
- Low-Loss Filter
- Single Ended Operation
- Ceramic Surface Mount Device(SMD) Package
- Center Frequency 21.4MHz
- Insertion Loss 14dB
- 3dB Band Width 3.08MHz
- Rejection 13.9MHz~19.15MHz 40dB, 23.65~28.9MHz 35dB
- Operating Temperature -40°C ~ +85°C
- 뒷단에 사용된 PNW254 Amp의 Specification은 아래와 같다.
- PS103-63 Amp의 Specification은 2-stage Preamplifier에 사용된 Amp를 사용
- 5~3000MHz 주파수 대역에서 사용 가능
- Gain 23.7dB@10~100MHz
- P1dB 20.3dBm@10~100MHz
- OIP3 30.5dBm@10~100MHz
- NF 2.5dB@10~100MHz
- 3.3V/30mA 소모 전류
- Surface Mounted plastic SOT-363 Package.

Parameter	Units	Min.	Typ.	Max.
Center Frequency	MHz		21.4	
Insertion Loss	dB		14	16.5
1dB Bandwidth	MHz	2.1	2.65	
3dB Bandwidth	MHz		3.08	
30dB Bandwidth	MHz		4.15	
40dB Bandwidth	MHz		4.5	5.5
Amplifier Ripple($f_o \mp 1.92\text{MHz}$)	dB		0.55	1.0
Group Delay Variation($f_o \mp 1.92\text{MHz}$)	nsec		100	150
Absolute Delay	usec		2.17	
Ultimate Rejection	dB			
13.9MHz ~ 19.15MHz		35	40	
23.65MHz ~ 28.9MHz		30	35	
Temperature Coefficient of Frequency	ppm/°C		-86	

(다) RFI System 회로설계

① 회로 설계

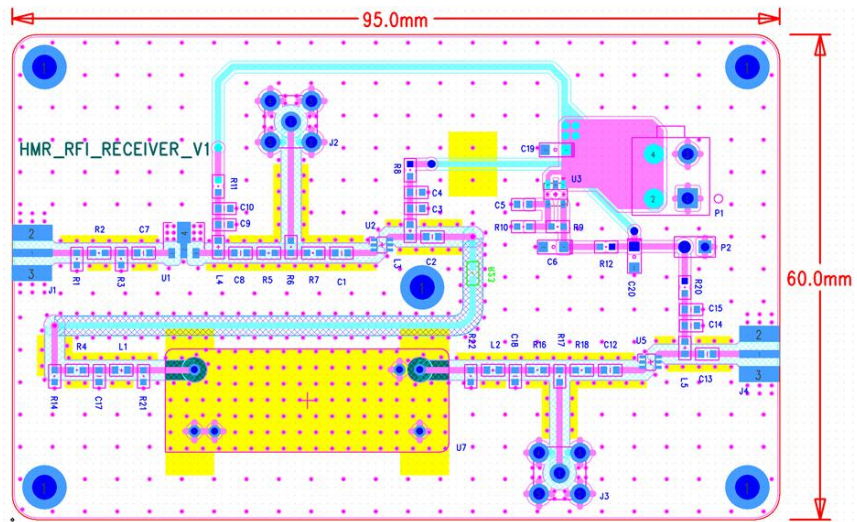
- OrCAD를 이용하여 회로 설계



- 회로 설계를 통한 SMT Bill of Material

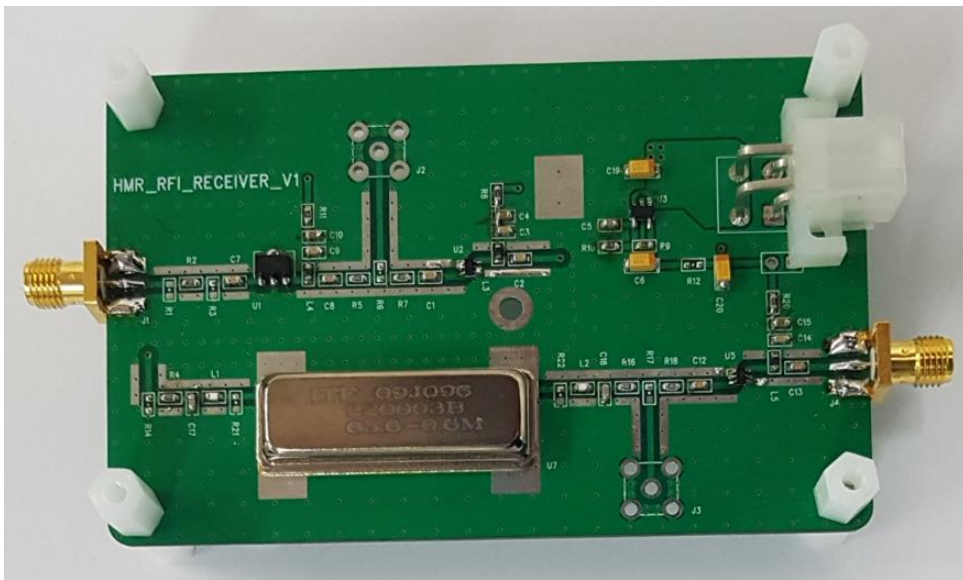
수량	Reference	Value
7	C1,C2,C7,C8,C12,C13,C14	10nF
2	C3,C9	10uF
2	C4,C10	1nF
1	C5	470pF
3	C6,C11,C16	10uF/10V
1	C15	1uF
2	C17,C18	56pF
4	J1,J3,J4,J6	SMA
2	L1,L2	180nH
3	L3,L4,L5	820nH
2	P1,P2	HEADER_2 (2.54mm)
6	R1,R3,R6,R14,R15,R17	DNP
10	R2,R4,R5,R7,R12,R16,R18,R21,R22,R23	0
3	R8,R9,R10	1
1	R11	18.6
1	R20	123
1	U1	PW111
1	U2	PNW254
1	U3	MIC5219
1	U4	IFSAW_70MHz
1	U6	PS103-63

- 회로 설계 후 PCB Artwork 진행

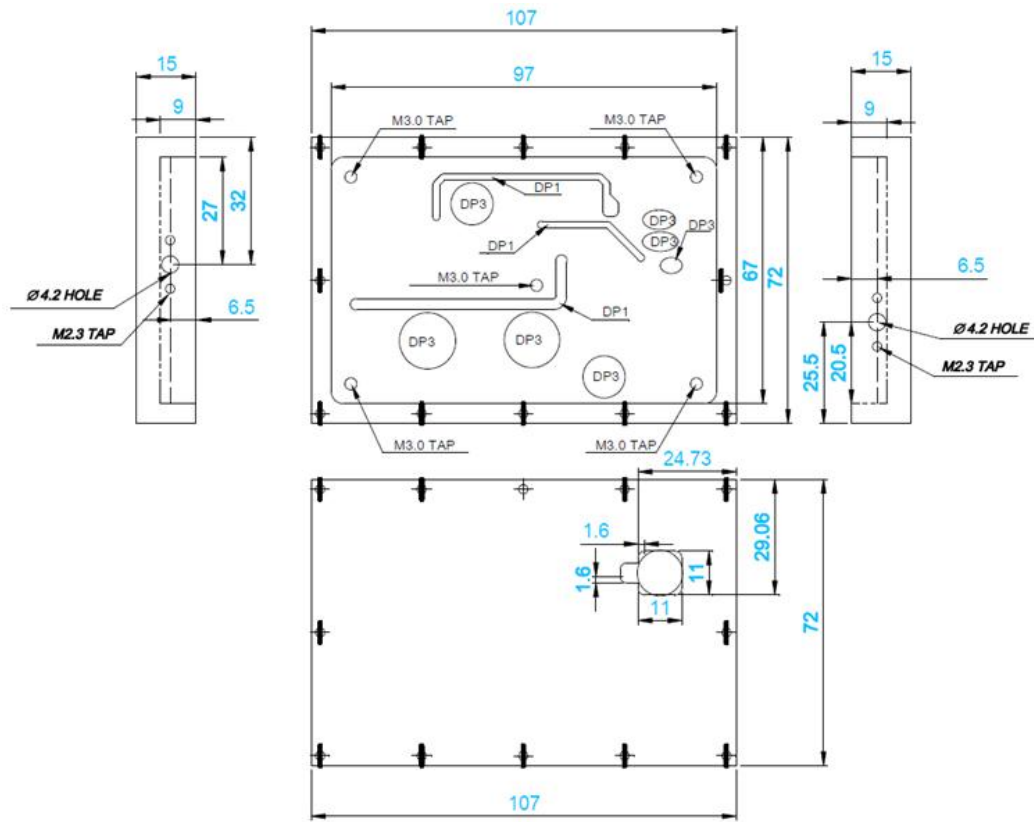


- 4층 1.0T FR4(유진올 4.5)를 이용한 PCB 제작

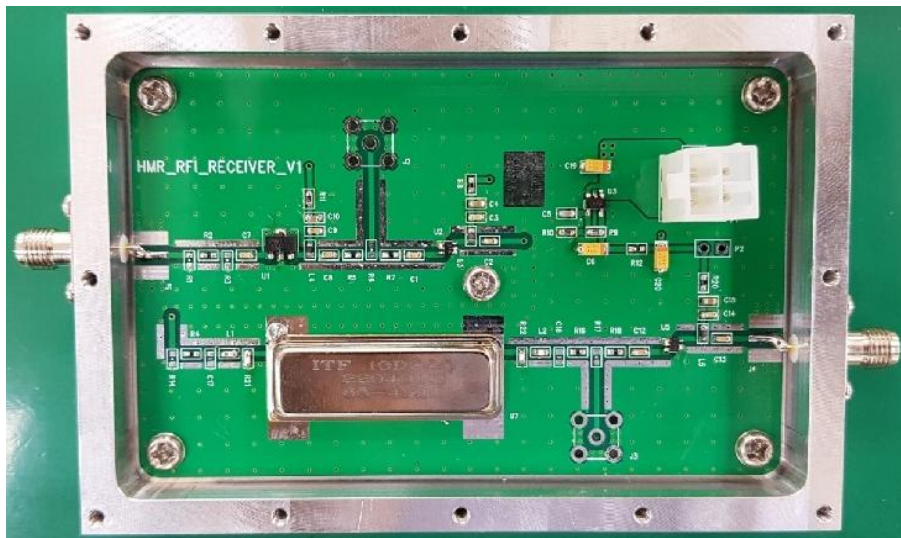
- PCB 제작 후 SMT(Surface Mount Technology) 진행



- PCB Board Shielding Case 설계 및 제작



Shielding Case 설계 도면



Shielding Case를 장착한 RFI System

(라) 성능 검증

① Preamplifier 측정

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit	목표
Supply Voltage			5		V	5
Frequency		10		100	MHz	10~100
S21	Gain	24.5		26	dB	25.5
S11	Input Return Loss	-7		-20	dB	N/A
S22	output Return Loss	-7		-30	dB	N/A
P1dB		16		20	dBm	N/A
OIP3			35		dBm	30
Noise Figure		1.5		2	dB	1.7
Power Consumption		62		70	mA	N/A

표 1st Stage Preamplifier 측정결과

② SAW Filter 측정

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit	목표
Supply Voltage			5		V	5
Center Frequency			21.4		MHz	10~100
Bandwidth		2.8		3.2	MHz	N/A
S21	Gain	-15			dB	0
S11	Input Return Loss	-4		-15	dB	N/A
S22	output Return Loss	-4		-15	dB	N/A

SAW Filter 측정결과

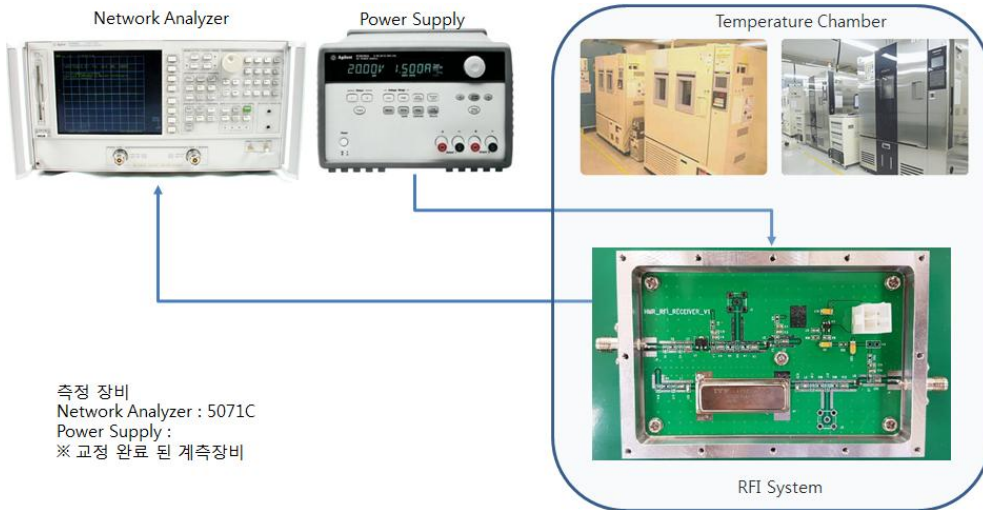
Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit	목표
Supply Voltage			5		V	5
Center Frequency			21.4		MHz	10~100
Bandwidth		2.8		3.2	MHz	N/A
S21	Gain	10		12	dB	0
S11	Input Return Loss	-4		-15	dB	N/A
S22	output Return Loss	-4		-15	dB	N/A
Power Consumption		18		25	mA	N/A

Filter + 보상 Amp 측정결과

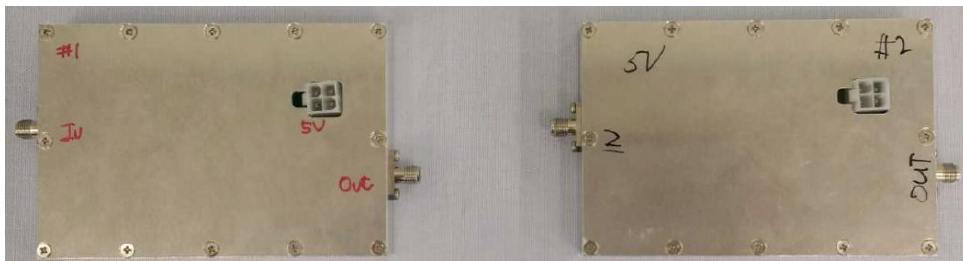
Parameter	Units	Min.	Typ.	Max.
Center Frequency	MHz		21.4	
Gain	dB		55.55	
3dB Bandwidth	MHz		3.45	
40dB Bandwidth	MHz	4.5		5.5
S11	dB	-7		-12
S22	dB	-7		-12
Power Consumption	mA	125		145
Temperature Operating	°C	-40		85

(마) 신뢰성 및 내구성 Test

- RFI System의 신뢰성 및 내구성 Test를 위한 Set-up
- RFI Systemt 성능 검증 프로세스
- 온도 조건 : -45°C, 25°C, 85°C
- 시험 시간 : 각 온도에서 30분 온도 안정화 및 2시간 방치
- 시험품의 상태 : 전원 인가 상태

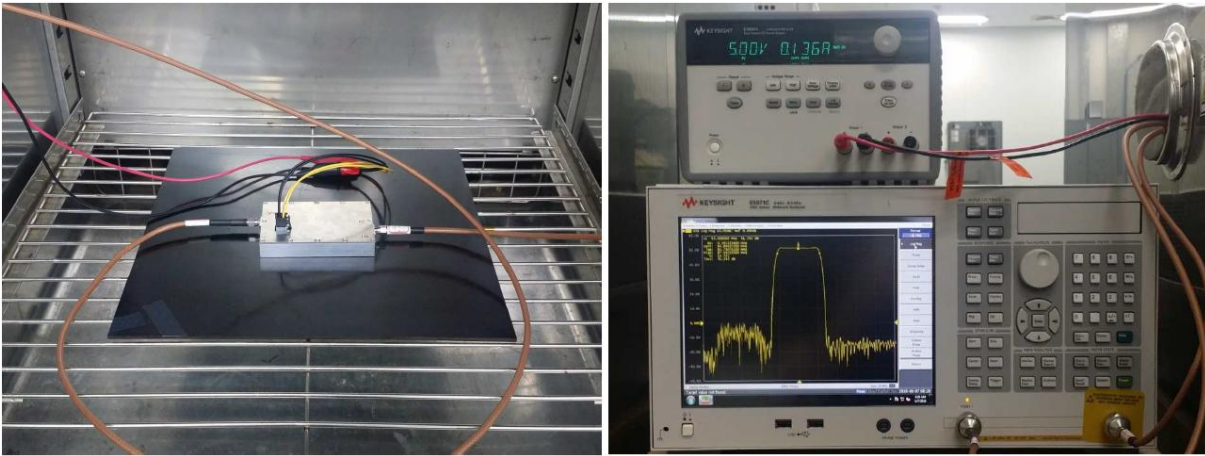


신뢰성 및 내구성 테스트 장비



Test Module

설정 항목	설정 값
인가 전압	DC 5.0V
Center Frequency	21MHz
Span	20MHz
Scale	10dB / div
Number of Points	401
Sweep Time	400 ms
Format	Log Mag
Input Power	-40 dBm
Measure Direction	S21



Chamber 삽입 및 계측

시험품	측정 항목	온도 조건 별 측정 결과			
		-45°C	25°C	85°C	Unit
#1	3dB Bandwidth	3.05	3.08	3.10	MHz
	Gain(S21)	58.4	55.5	51.8	dB
#2	3dB Bandwidth	3.04	3.08	3.10	MHz
	Gain(S21)	58.9	55.2	51.5	dB

(라) Power Amplifier 설계 및 제작

- Power Amplifier는 Spectrometer에서 나오는 입력신호를 받아 신호를 최대한 증폭시켜 Probe에 신호를 보내는 역할을 하는 부분
- System의 경량화를 위해 출력 신호는 낮지만 낮은 전류와 소형 Power Amplifier 선택.
- Output power : 10 W
- Gain : 30 dB
- Input/Output impedance : 50 Ohm
- Linear response output voltage : 15 ~ 40 V
- Powering : 12 VDC @ 1.2A



10W급 전력 증폭기 및 시험 환경

Aging Test

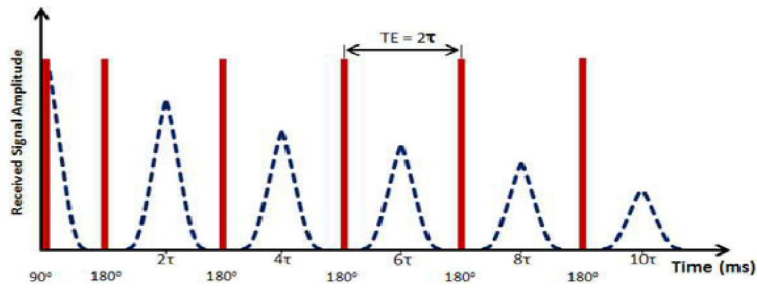
Frequency	21MHz	측정온도		Aging Time
		열화상카메라	온도센서	
Pout	40.0dBm	75°C	75°C	1Hour



Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit
Frequency Range	50 ohm Load	10		90	MHz
Output Power	Pin 10dBm	10			W
Power Gain	Pout 10W	30			dB
V _{gc} Voltage		6		7	V
V _{dc} Voltage		11		17	V
Current		1.2			A

Power Amplifier 측정결과

(5) Software
 (가) CPMG



CPMG의 펄스 순서

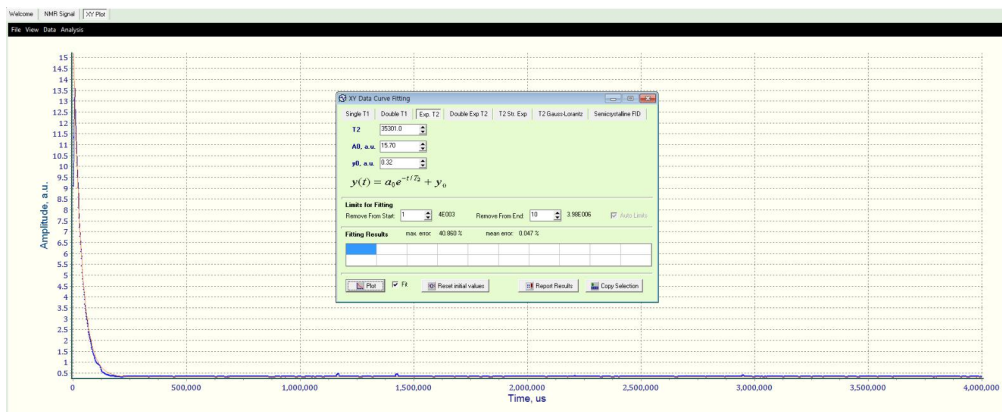
- T2를 측정하기 위해서는 CPMG sequence가 필요
- 90도 펄스 이후 연속적인 180도 펄스를 인가하여 나타나는 echo 신호의 최대값들을 구하여 T2를 측정

```

1 Program MeasureT2;
2
3 procedure CPMG2;
4   var i, n      : integer;
5       AT, ET   : real;
6 begin
7   AT:=5;
8   AT:=GET_CPMG_ACQUIRE_TIME; // setup - Standard applications - Echo sequences - Acquire Time, us
9   ET:=GET_EchoTime;          // setup - Standard applications - Echo sequences - Echo time, us
10  n:=GET_NECH;                // setup - Standard applications - Echo sequences - Number of Echo
11  CPMG_Enable(true);
12  Amplitude_Detector(true);
13  // Bypass_DDC(true);
14  Sequence;
15    Pulse(0(p_90));           // 90 degree pulse
16    Silence(ET/2-p_90/2-p_180/2);
17    Cycle(n);                 // n(number of echo) times repeat
18    Pulse(270(p_180));        // 180 degree pulse
19    Silence(ET/2-p_180/2-AT/2);
20    ADC(AT);                  // show received data during acquire time
21    Silence(ET/2-p_180/2-AT/2);
22  EndCycle;
23  Silence(8);
24  Silence(5);
25  EndSequence;
26  Sequence_Null(p_90);
27  Scale_Signal(-50, 50);
28
29 run;
30
31 Amplitude_Detector(true);
32
33 CPMG_Enable(false);
34 Bypass_DDC(false);
35
36
37
38 end;
39
    
```

T2를 측정하기 위해 python으로 구현한 CPMG code

(나) T2 측정



CPMG sequence를 통하여 얻은 그래프

- 그래프는 exponential 함수의 형태를 띠며 해당 함수의 식을 curve fitting을 통하여 구함
- Exponential 함수의 y 값이 y절편의 1/e(약 37%)로 떨어질 때의 x 값을 구하며 이 값이 T2 값이 됨

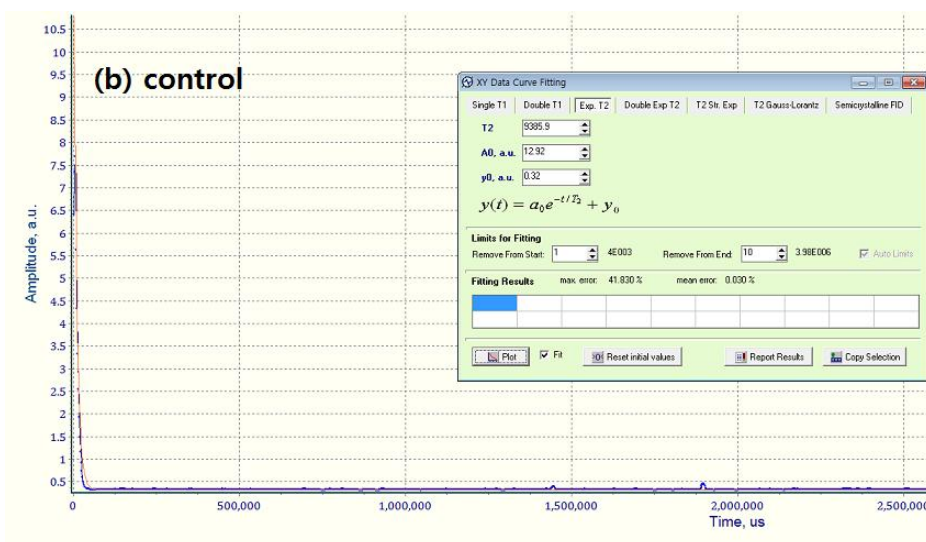
나. Magnetic nanoparticle과 antibody conjugation

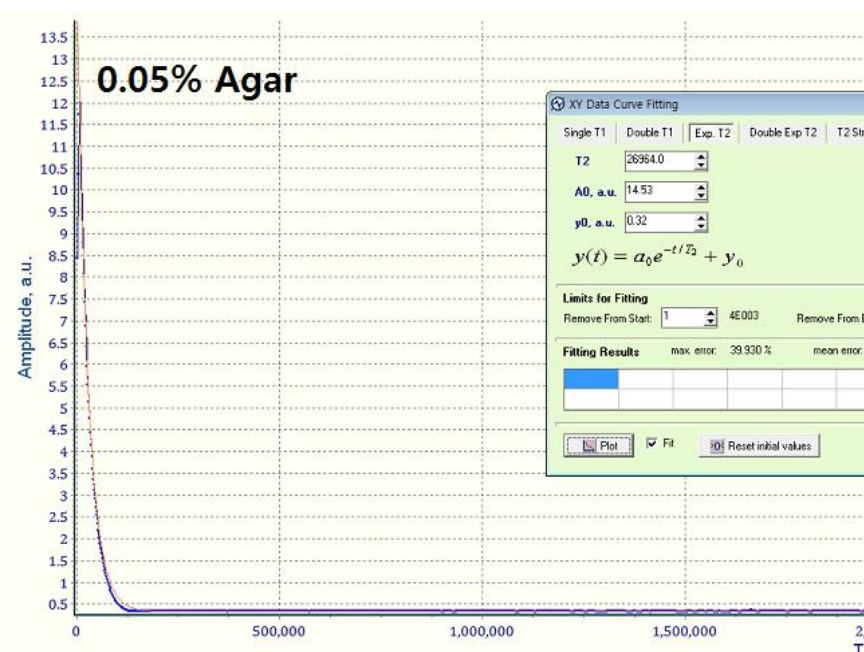
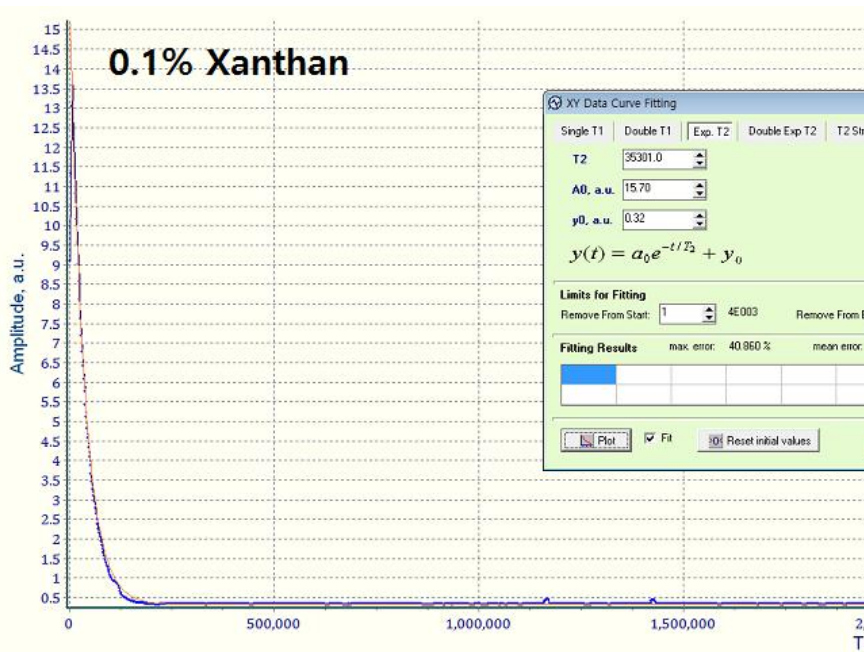
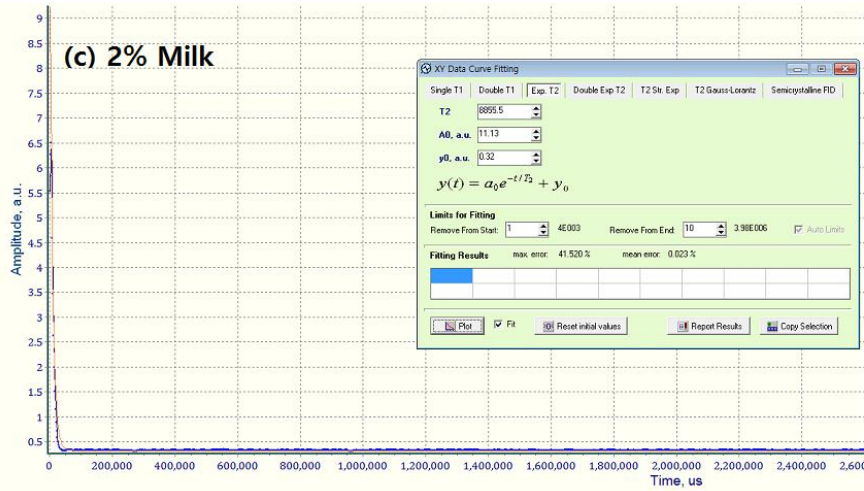
(1) 안정제:

1차년도 결과 보고서를 통해 항원 항체의 바인딩 능력을 증가시키기 위해 새로운 방법의 도입이나 간편한 방법의 도입이 필요하다는 평가 결과를 받았다.

그래서 본 연구에는 T_2 측정 시 샘플의 안정성을 높이기 위하여 안정제 (0.05% agar, 2% milk, 0.1% xanthan) 를 첨가하는 방법을 추가하였다. 안정제와 함께 배양된 magnetic nanoparticle/antibodies 의 바인딩이 능력이 더 향상되어 T_2 측정 시 분산도가 유지될 것으로 예측하였다.

그러나 예상과 달리 안정제를 넣었을 때 T_2 측정 시 거의 차이가 없거나 0.1% Xanthan의 경우 aggregation이 발생하여 오히려 T_2 값이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.





바인딩 능력을 향상시키기 위하여 $MnFe_2O_4$ 와 항체를 결합할 때 안정제를 첨가 (a) 3가지(2% Milk, 0.1% Xanthan, 0.05% Agar) 안정제를 첨가하였을 때의 샘플 (b) control의 T_2 값, 9.39 ms (c) 3가지 안정제의 T_2 값 (2% Milk-8.86 ms, 0.1% Xanthan-35.30 ms, 0.05% Agar-26.94 ms)

그러므로, antibody와 magnetic nanoparticle의 conjugation 방법 자체에 변화를 주는 방법을 모색하였다. Magnetic nanoparticle에 많은 물질이 코팅되어 있어 분산력이 약해질 수도 있다고 판단하여 말레이미드(Maleimide)를 사용하지 않기로 하였다.

말레이미드(Maleimide)를 사용하지 않으면 항체의 환원 과정 또한 생략 가능하다. 일반적으로 항체 Fc에는 카르복실기(-COOH)기가 존재하기 때문에 아민기(-NH₂)와 반응하면 H₂O를 제거(탈수)함으로써 펩타이드 결합이 생성된다. 용매인 PBS(Phosphate buffer saline) 많은 이온들이 존재한다. 이 이온들이 방해인자로 작용하여 분산력에 영향을 줄 수 있다고 판단하여 용매를 에탄올로 변경하여 진행하였다.

- Conjugation 방법 간소화

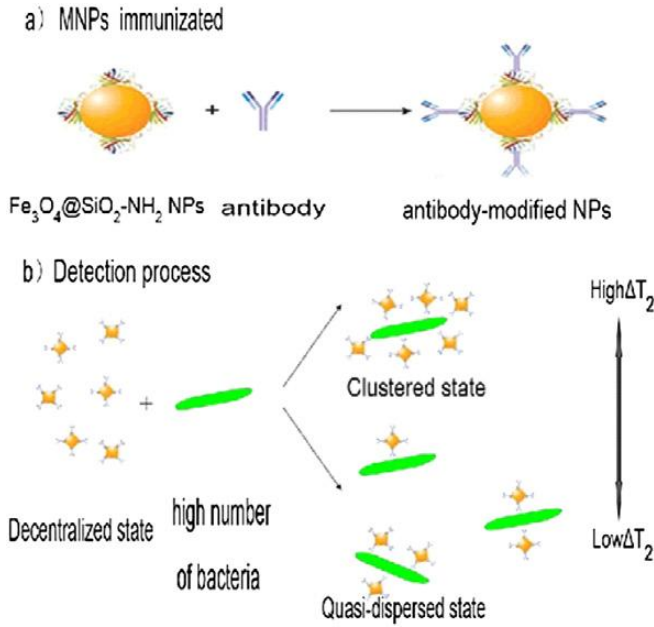
실험 방법을 간소화하기 위하여 항체와 $MnFe_2O_4$ 의 결합할 때 항체의 티올기 (-SH)를 사용하지 않고 항체 Fc의 카르복실기(-COOH)를 사용하였다.



(2) magnetic nanoparticle 과 virus-surface-specific antibody 의 conjugation
magnetic nanoparticle 과 virus-surface-specific antibody 의 conjugation하기 위해서 *Food Control 34 (2013) 436e443* 을 참고

(가) Manganese nanoparticles 의 합성

Iron(III) acetylacetonate 99% 2 mmol, Manganese(II) acetylacetonate 1 mmol, 1,2-Hexadecandiol 90% 10 mmol을 정량하여 고무 섞이게 잘 혼합한다. 정량되어 잘 혼합된 분말에 Dibenzyl ether 98+% 20ml, Oleic acid 6 mmol, Oleylamine 6 mmol 을 넣고 질소로 치환해준다. 합성온도는 110 °C에서 1시간, 210 °C 2시간 유지한 후 295 °C에서 1시간동안 reflux 시켜준다. 정확한 화학양론적 조성을 칭량한 후 열처리하기 전에 내부를 1시간 이상 진공상태로 만들어 준 후 질소로 치환한다.



(나) $\text{MnFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NH}_2$

MnFe_2O_4 에 silica를 코팅하는 방법은 다음과 같다. Cyclohexan 30ml에 300ul를 넣고 stirring을 하면서 혼합한다. 계면활성제인 Triton x-100 562ul와, 암모니아수 76.4ul 넣으면 용액이 뿌옇게 됨을 확인할 수 있다. 그 후 1-otanol을 용액이 다시 맑아질 때까지 주입한다. 마지막으로 TEOS(Tetraethyl orthosilicate) 100ul를 넣고 72시간동안 stirring 시켜준 후 원심분리기를 통하여 계면활성제와 같은 부유물을 제거한다.

reduced antibody와 conjugation하기 위해 코팅층의 수산기(-OH)를 아민기(-NH₂)로 치환해야한다. 아민기로 치환하기 위해 PEI(polyethyleneimine)를 과량 넣은 후 3시간동안 stirring 시켜주었다. antibody와 $\text{MnFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{PEI}/\text{maleimide}$ 의 정확한 비율로 반응시키기 위하여 Atomic Absorption analysis를 한다. Fe를 기준으로 $\text{MnFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NH}_2$ 의 농도(ppm)를 측정하였다.

(다) Manganese nanoparticles 과 항체의 conjugation

$\text{MnFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NH}_2$ 을 사용하여 항체와 결합하였다. 항체의 카복실기(-COOH)를 활성화시키기 위하여, 1-p-3-ethylcarbodiimide HCL (EDC·HCL) 과 N-hydroxysuccinimide (NHS)를 항체(80 ug/ml) 1ml 와 섞은 후 4°C에서 2시간동안 incubation 시켰다. 활성화된 antibody 1 ml (80 ug/ml) 과 $\text{MnFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{NH}_2$ (50ppm) 5ml을 혼합하여 4°C shaking incubation에서 3시간 반응시킨다.

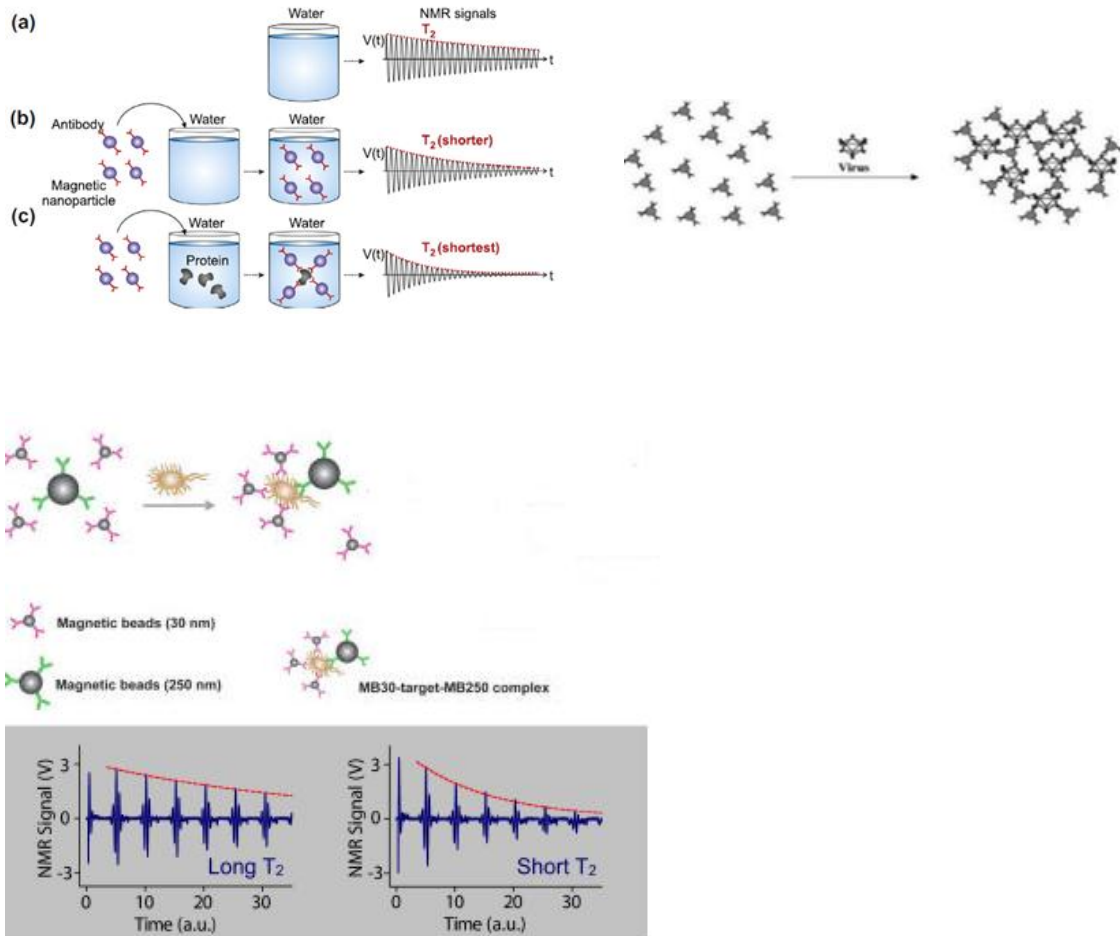
다. 조류 인플루엔자 검증

(1) H5항체 표식(융합) 된 자성 나노 입자(magnetic nanoparticle)를 활용한

Time-domain NMR 키트의 특이성 및 민감도 검증:

(가) 특이성 : 본 과제는 AI 표면 항원인 H5, N1, N8 polyclonal 항체의 특이성을 이용한 다. 다양한 조류인플루엔자 바이러스를 본 과제에서 개발된 H5 항체표식(융합) 된 자성 나노입자(magnetic nanoparticle)과 반응 시켰을 때, H5 바이러스만이 특이적으로 반응하는지 알아보려고 한다. 이를 알아보기 위해 조류인플루엔자 H1-H15 바이러스 약 10,000개와 H5 항체표식(융합) 된 자성 나노입자(magnetic nanoparticle)를 30분 반응 후 Time-domain NMR 키트에서 T_2 스핀-스핀 이완 시간 (ms)을 측정하였음. 총 15개의 바이러스 중에서 H5형 조류인플루엔자에서만 특이적 반응이 나타남을 확인할 수 있었다.

(바이러스와 H5 항체 표식(융합) 된 자성 나노 입자(magnetic nanoparticle)MnFe₂O₄와의 결합(cluster 형성)에 비례하여 T_2 스핀-스핀 이완 시간이 감소함



Virus type	T ₂ 값
H1N2	11.7
H2N2	12.2
H3N2	12.3
H4N6	12.1
H5N8	6.21
H6N1	12.3
H7N9	12.5
H8N4	12.7
H9N2	12.4
H10N4	12.3
H11N9	12.4
H12N1	12.5
H13N5	12.5
H14N9	12.8
H15N4	12.7
PBS control	12.9

(나) 민감도 : 본 과제에서 개발된 H5 항체 표식(융합) 된 자성 나노 입자(magnetic nanoparticle) MnFe₂O₄ 를 H5N8바이러스와 반응시킨 후, Time-domain NMR 키트에서 T₂ 스핀-스핀 이완 시간(ms)을 측정하는 방법을 통해 바이러스 농도에 비례하여 T₂ 값이 감소하는지 확인해보았다.

H5N8바이러스를 PBS로 희석하고 (희석 배수 1,000,000, 100,000, 10,000, 1000, 100, 1) 이것을 H5 항체 표식(융합) 된 자성 나노 입자(magnetic nanoparticle) MnFe₂O₄를 H5N8바이러스와 반응시킨 후, Time-domain NMR 키트에서 T₂ 스핀-스핀 이완 시간 (ms)을 측정하였다. 대조군으로는 PBS를 사용하였다.

그 결과 바이러스 양이 증가함에 따라 T₂ 스핀-스핀 이완 시간(ms)이 감소함을 확인할 수 있었다.

virus 양	T2 값
1,000,000	2.01
100,000	4.21
10,000	6.33
1000	10.7
100	11.7
1	12.7
PBS control	12.8

(2) H5항체표식(융합) 된 자성 나노입자(magnetic nanoparticle)를 활용한 Time-domain NMR 키트의 고병원성 H5N8 및 H5N1 감염된 닭에서 검증:

3주령 닭을 고병원성 인플루엔자바이러스 A/Waterfowl/Korea/S005/2014 (H5N8) 또는 A/Vietnam/HN31244/07 (H5N1)를 호흡기로 감염시켰다. 그 후 살아있는 닭의 인후두 및 배설강을 swab하여 샘플을 채취하였다. 채취한 샘플을 PBS로 희석시킨 후 H5항체표식(융합) 된 자성 나노입자(magnetic nanoparticle) 와 30분 반응 후 Time-domain NMR 키트에서 T₂ 스핀-스핀 이완 시간 (ms)을 측정스핀 이완 시간 (ms)을 측정하였다.

(Real-time PCR 진단법을 양성 대조군으로 사용하여 비교함)

- H5N8 조류인플루엔자 감염된 닭의 인후두 및 총배설강: H5N8 감염된 닭은 3일차까지 4마리가 생존하고 모두 폐사하였다.

A/Waterfowl/Korea/S005/2014(H5N8) swab샘플의 T₂ 값

DAY	닭 번호	T-1	T-2	T-3	C-1	C-2	C-3
1일차	1	4.1	4.2	4.26	9.85	9.91	9.96
	2	4.19	4.28	4.28	4.15	4.16	4.15
	3	9.35	9.38	9.34	4.21	4.24	4.26
	4	9.38	9.56	9.67	9.57	9.75	9.94
	5	9.37	9.3	9.58	9.85	9.96	9.88
	6	4.29	4.31	4.4	3.85	3.92	3.95
	7	9.54	9.63	9.63	10	10.1	10.2
	8	4.49	4.59	4.62	3.69	3.69	3.73
	9	4.58	4.64	4.69	3.79	3.87	3.9
	10	9.82	9.73	10	10.3	10.3	10.4
2일차	1	3.51	3.6	3.61	3.89	3.96	4.03
	2	3.65	3.69	3.76	3.17	3.28	3.31
	3	3.85	3.84	3.91	3.33	3.4	3.42
	4	3.95	4.01	3.38	3.4	3.46	3.52
	5	3.43	3.47	3.53	3.6	3.64	3.68
	6	3.59	3.68	3.72	3.68	3.75	3.68
	7	3.74	3.83	3.37	3.85	3.12	3.24
	8	3.48	3.55	3.62	3.31	3.33	3.35
	9	3.67	3.68	3.72	3.44	3.43	3.5
	10	3.76	3.8	3.87	3.53	3.54	3.61
3일차	1	3.3	3.44	3.51	3.94	3.2	3.23
	2	3.55	3.58	3.64	3.28	3.34	3.39
	3	3.7	3.78	3.8	3.43	3.49	3.53
	4	3.81	3.9	3.91	3.56	3.46	3.57

- T-1, 2, 3 : 인후두 swab sample
- C-1, 2, 3 : 총배설강 swab sample
- 1일차 : 1, 2, 3, 6, 8, 9번 닭 양성 (real-time PCR: 1-10모두 양성)
- 2일차 : 1~10번 닭 모두 양성 (real-time PCR: 1-10 모두 양성)

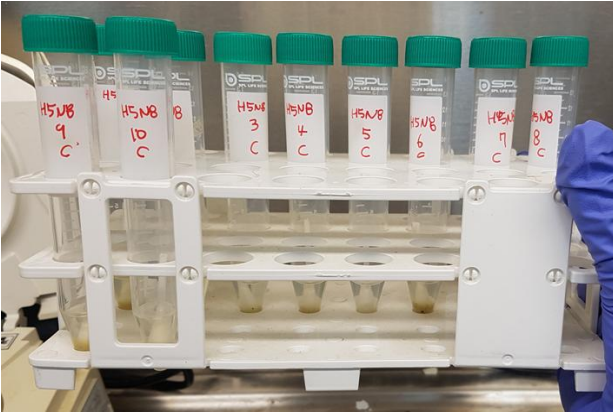
- 3일차 : 1~4번 닭 모두 양성 (real-time PCR: 1-4 모두 양성)
- 감염하지 않은 닭 샘플은 모두 >12.0 이상.

- H5N1 조류인플루엔자 감염된 닭의 인후두 및 총배설강: H5N1 감염된 닭은 3일차까지 3마리가 생존하고 모두 폐사하였다.

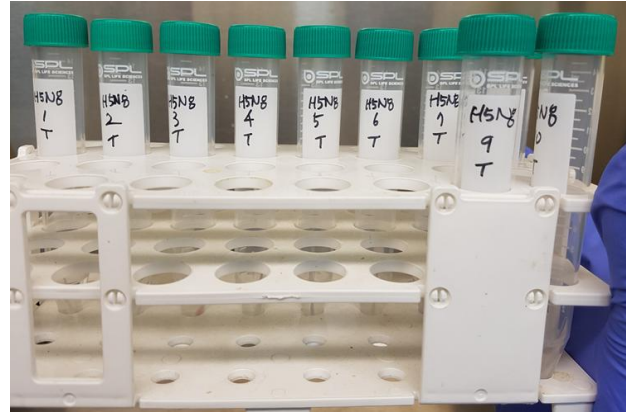
A/Vietnam/HN31244/07(H5N1) swab샘플의 T2값

DAY	닭 번호	T-1	T-2	T-3	C-1	C-2	C-3
1일차	1	3.68	3.74	3.77	3.7	3.75	3.83
	2	9.85	9.94	10	10.3	10.6	10.6
	3	10.1	10.2	10.3	3.65	3.68	3.71
	4	10.4	10.3	10.2	10.4	10.8	10.8
	5	3.66	3.79	3.75	3.7	3.77	3.75
	6	3.74	3.8	3.79	10.8	10.8	11
	7	9.95	10.1	9.95	11.1	11	11
	8	10.2	10.3	10.3	11	11.1	11
	9	10.3	10.5	10.3	11.2	11.2	11.1
	10	3.66	3.65	3.73	3.74	3.72	3.73
2일차	1	3.65	3.79	3.79	3.46	3.58	3.61
	2	3.9	3.94	3.95	3.64	3.67	3.72
	3	4.04	3.19	3.25	3.83	3.84	3.89
	4	3.29	3.31	3.35	3.93	3.16	3.21
	5	3.37	3.4	3.45	3.11	3.27	3.31
	6	3.5	3.55	3.64	3.38	3.42	3.47
	7	3.7	3.75	3.79	3.47	3.56	3.56
	8	3.84	3.88	3.19	3.63	3.71	3.74
	9	3.26	3.3	3.33	3.79	3.9	3.93
	10	3.33	3.39	3.45	3.07	3.15	3.17
3일차	1	3.66	3.82	3.82	3.18	3.37	3.34
	2	3.86	3.88	3.9	3.39	3.42	3.53
	3	3.99	3.09	3.18	3.54	3.6	3.65

- T-1, 2, 3 : 인후두 swab sample
- C-1, 2, 3 : 총배설강 swab sample
- 1일차 : 1, 2, 5, 6, 10번 닭 양성 (Real-time PCR:1-10 모두 양성)
- 2일차 : 1~10번 닭 모두 양성 (Real-time PCR:1-10 모두 양성)
- 3일차 : 1~3번 닭 모두 양성 (Real-time PCR:1-3 모두 양성)
- 감염하지 않은 닭 샘플은 모두 >12.0 이상.



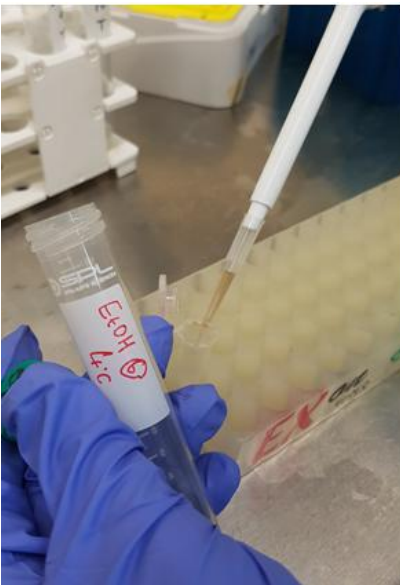
H5N8 감염된 닭의 배설강 swab sample



H5N8 감염된 닭의 인후 두 swab sample

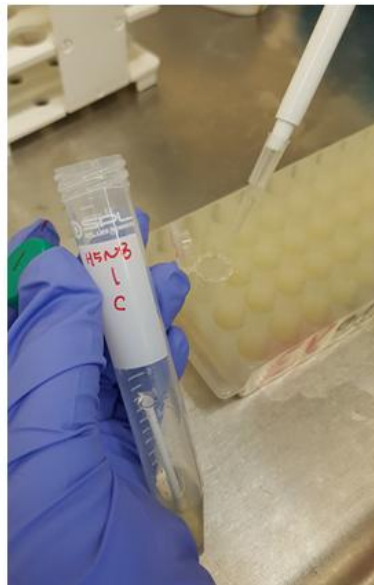
측정방법

1. Antibody-particle과 배설강 또는 인후 두 swab sample을 100ul씩 혼합



Antibody-particle

+

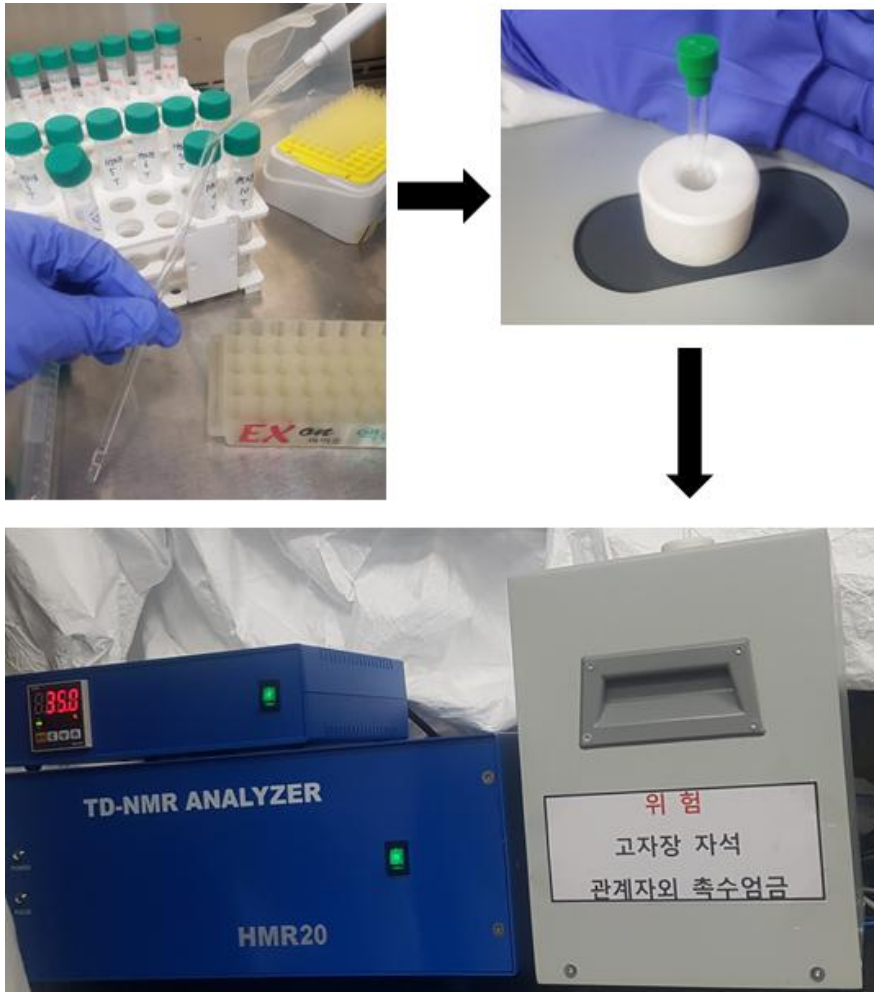


배설강 swab sample

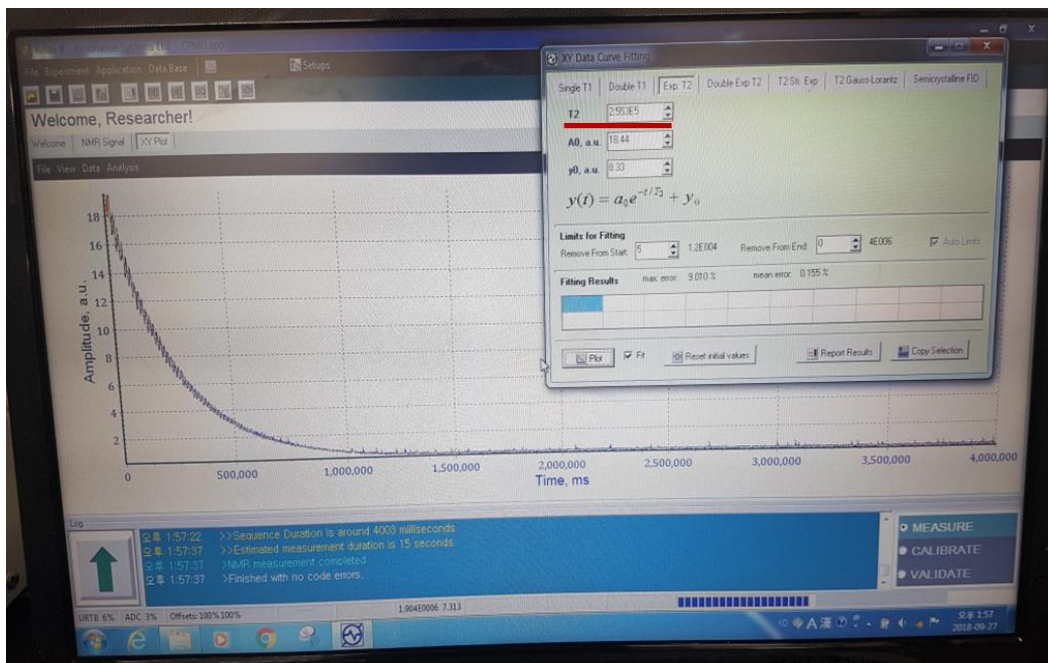


인후 두 swab sample

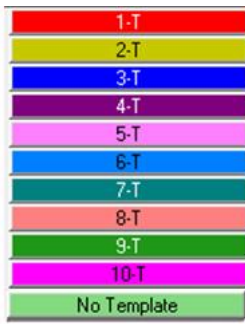
2. 혼합액 200ul를 5 mm NMR tube에 넣은 후 측정



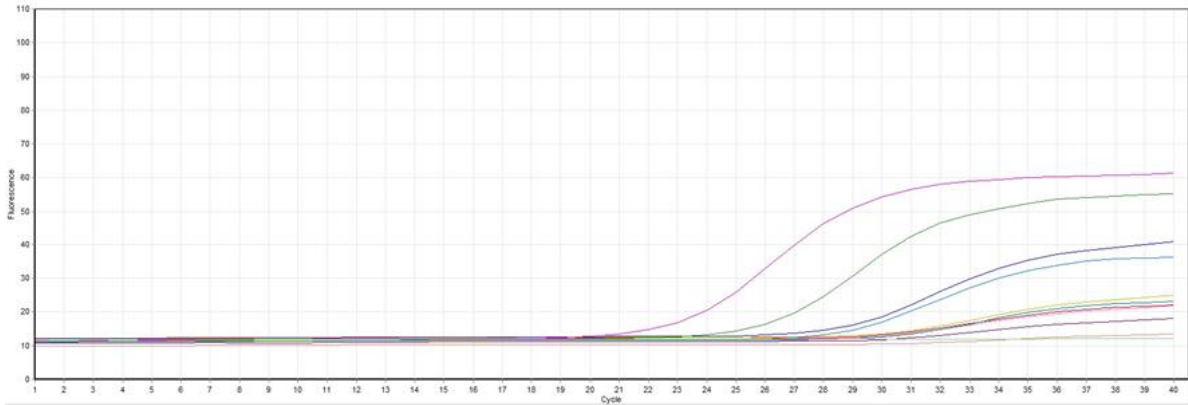
3. Software를 통하여 측정된 T2 값을 확인



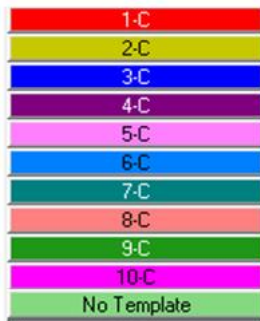
인후 두 swab sample RT-qPCR 결과



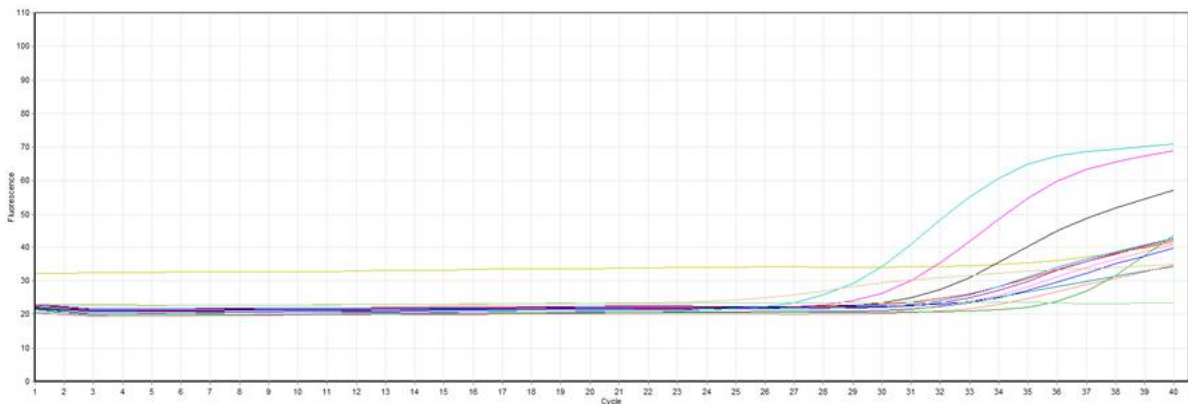
No.	Name	Type	Ct
1	1-T	Unknown	29.89
2	2-T	Unknown	29.56
3	3-T	Unknown	26.45
4	4-T	Unknown	30.76
5	5-T	Unknown	29.52
6	6-T	Unknown	26.60
7	7-T	Unknown	29.72
8	8-T	Unknown	33.63
9	9-T	Unknown	22.75
10	10-T	Unknown	19.67
14	No Template	Unknown	



배설장 swab sample RT-qPCR 결과



No.	Name	Type	Ct
1	1-C	Unknown	31.49
2	2-C	Unknown	36.93
3	3-C	Unknown	32.98
4	4-C	Unknown	31.68
5	5-C	Unknown	31.54
6	6-C	Unknown	31.10
7	7-C	Unknown	32.30
8	8-C	Unknown	32.92
9	9-C	Unknown	34.25
10	10-C	Unknown	27.71
14	No Template	Unknown	

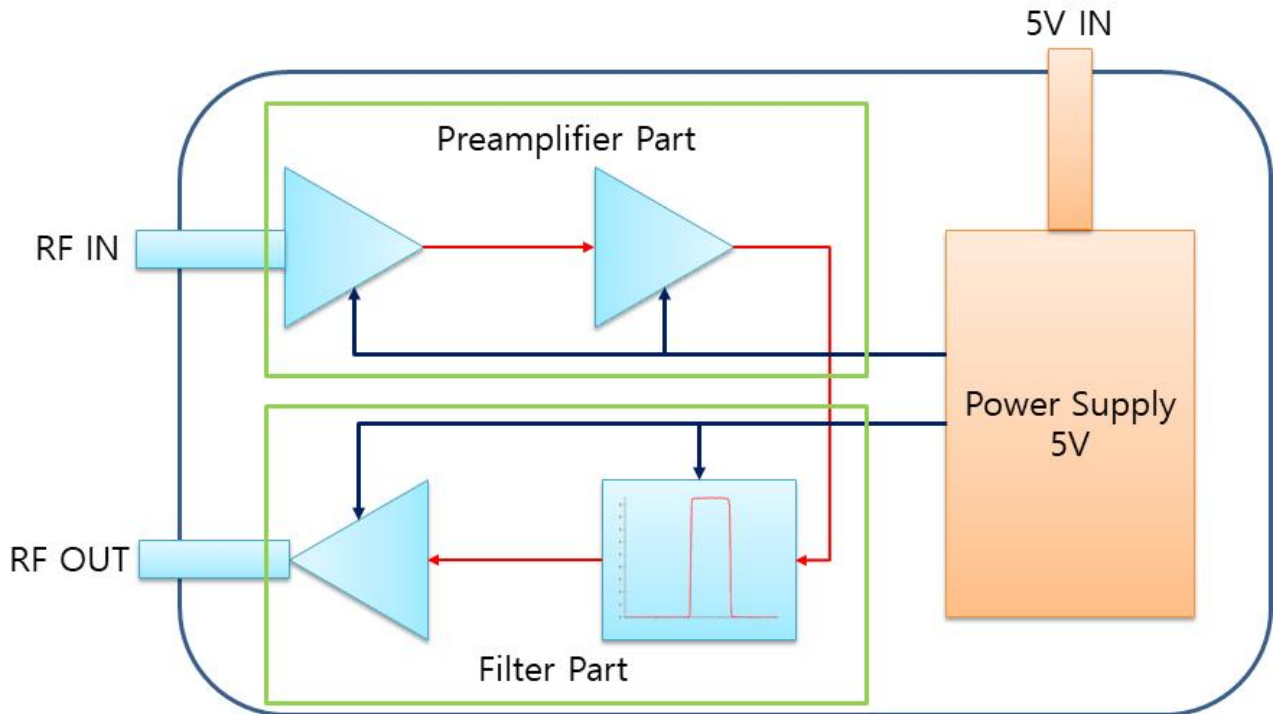


2-3. 3차년도

가. NMR system

(1) 신호검출을 위한 RFI System

: RFI System은 Probe를 통해 검출되는 신호의 검출을 위한 Part로서 Low Noise Amplifier 및 Filter, Gain Block 등으로 구성되어 있다.



RFI System Block Diagram

(가) Pre-amplifier

: 낮은 Noise 특성 및 높은 이득 구현을 위해 2-stage로 구성

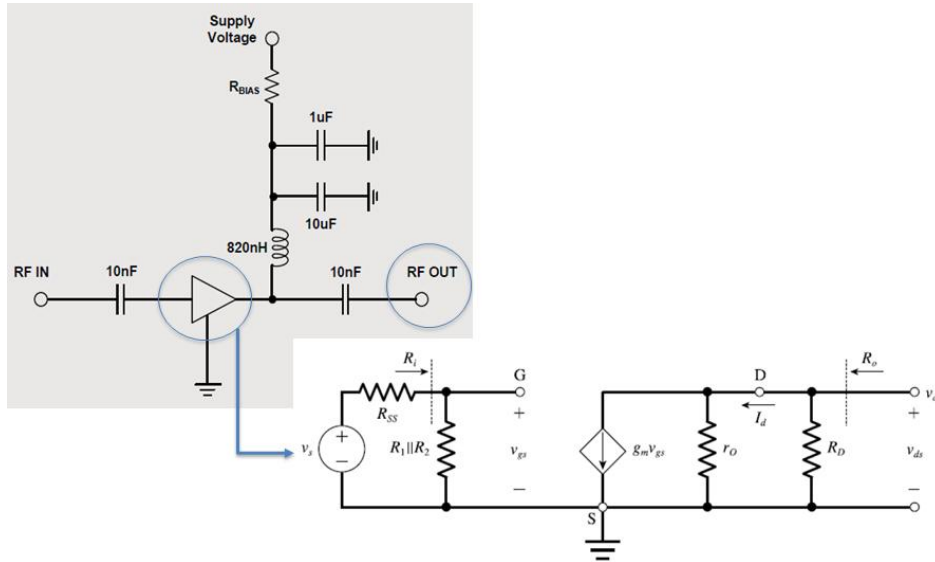
① First Stage Amplifier

- Pre-amplifier는 RFI 초단에 위치하여 미세한 신호를 Noise는 낮추면서 신호의 크기를 증폭하여 신호의 품질 향상을 만들어 낸다.
- 높은 이득과 넓은 Dynamic Range를 갖기 위한 2-stage Pre-amplifier 설계
- 1-stage의 Amp의 경우 높은 입력 IP3와 낮은 Noise Figure 특성을 갖는 소자 선택
- 높은 노이즈특성을 구현하기 위해 GaAs p-HEMT 계열의 소자를 사용한 Amp 설계
- Wide Band 구현을 위한 소자 선택
- Amplifier는 Common Source 구조를 사용하여 설계 하였고 Noise Cancellation 회로를 추가하여 입력 noise를 최소화 시킴.
- 그림은 1-stage Amp. 및 Amp Core의 소신호 등가 모델을 나타내었다.
- 소신호 등가 모델을 통한 Amplifier의 이득은 아래와 같다.

$$v_{gs} = \left(\frac{R_i}{R_{SS} + R_i} \right) v_s \quad v_o = -g_m v_{gs} (r_o \parallel R_D)$$

$$A_v \equiv \frac{v_o}{v_s} = -g_m (r_o \parallel R_D) \times \left(\frac{R_i}{R_{SS} + R_i} \right) \xrightarrow{R_o = R_D \parallel r_o \quad R_i \gg R_{SS}} A_v \approx -g_m R_o$$

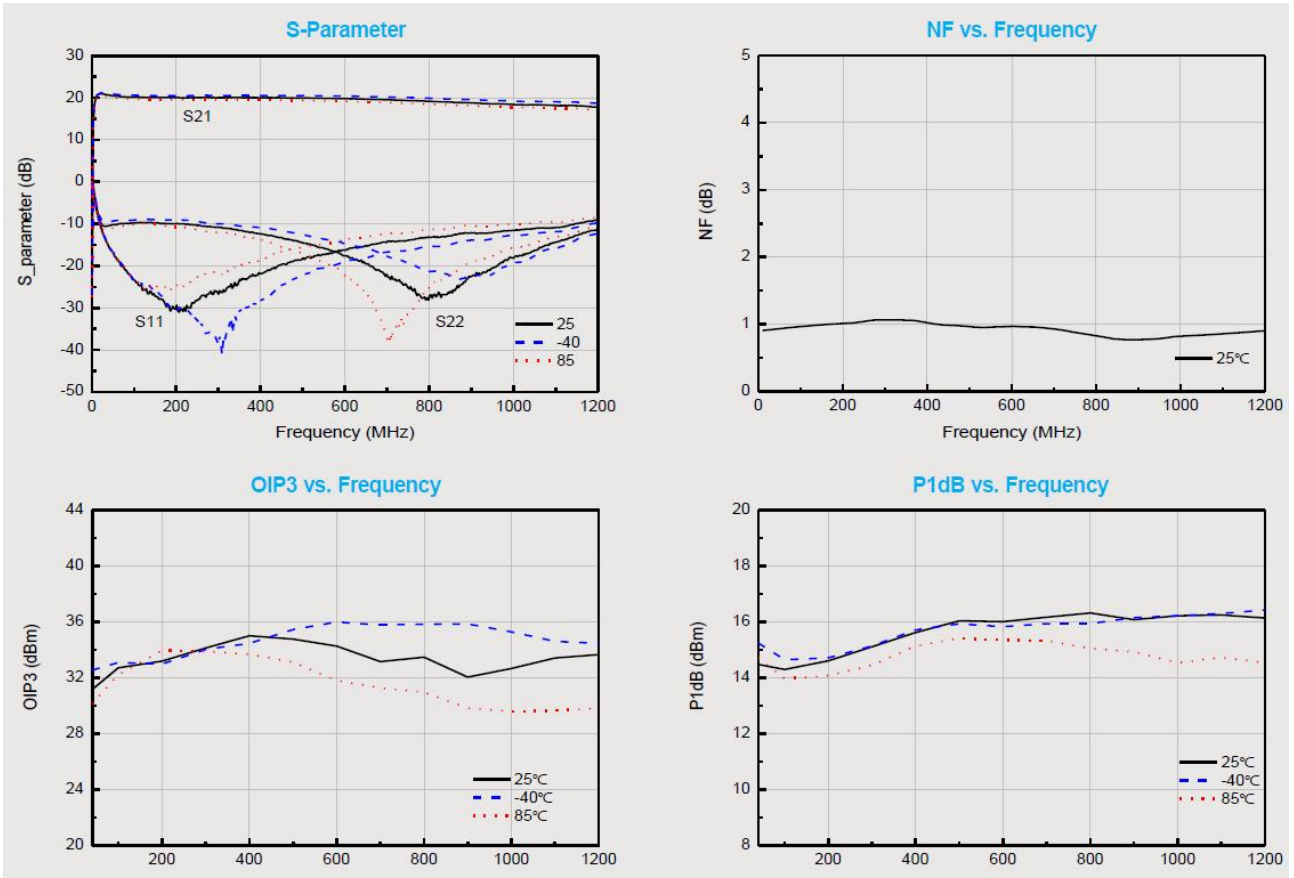
Common Source Amplifier의 이득



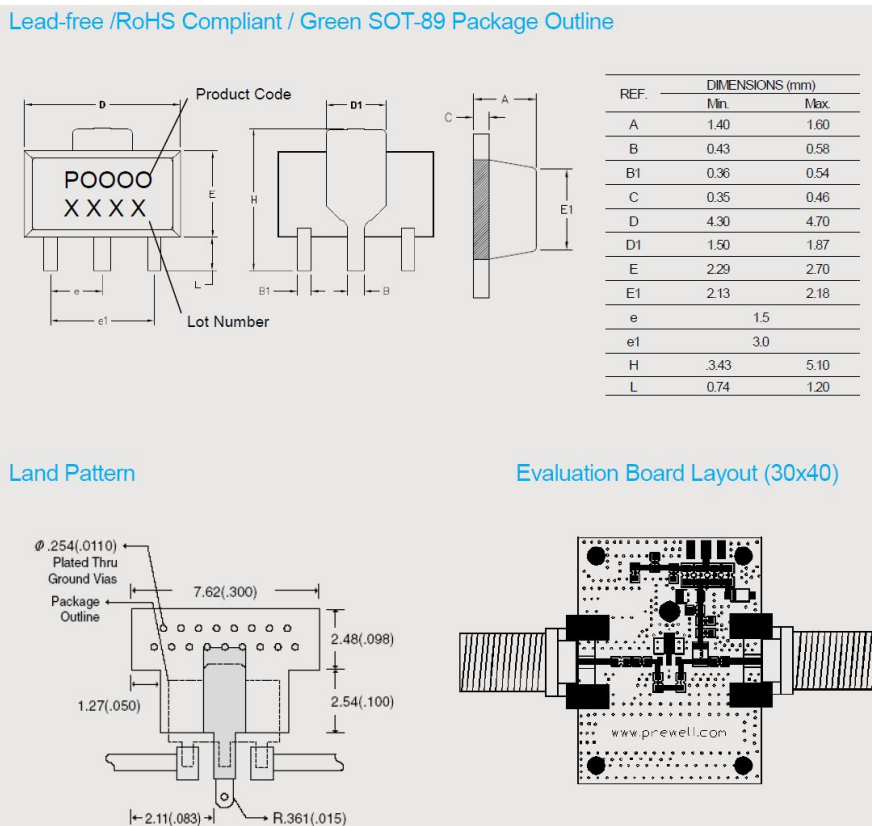
1-stage Amplifier 및 Core의 소신호 등가 모델

Parameter	Units	PL09A
S21(Gain)	dB	20@50MHz
S11(Input Return Loss)	dB	-23
S22(Output Return Loss)	dB	-17
P1dB(Input Max. Power)	dBm	16
OIP3(Output Max. Power)	dBm	34.5
Noise Figure	dB	0.9
Voltage / Current	V/mA	3/48
Rth	°C/W	63

- 1-stage Amplifier의 성능
- Wide Band 구현에 따라 높은 Gain Band Width를 가짐
- 입출력 Return Loss는 -15dB이상의 값을 가짐
- 높은 노이즈 특성으로 NF 1dB 이하의 값을 가짐



1-stage amp 측정결과



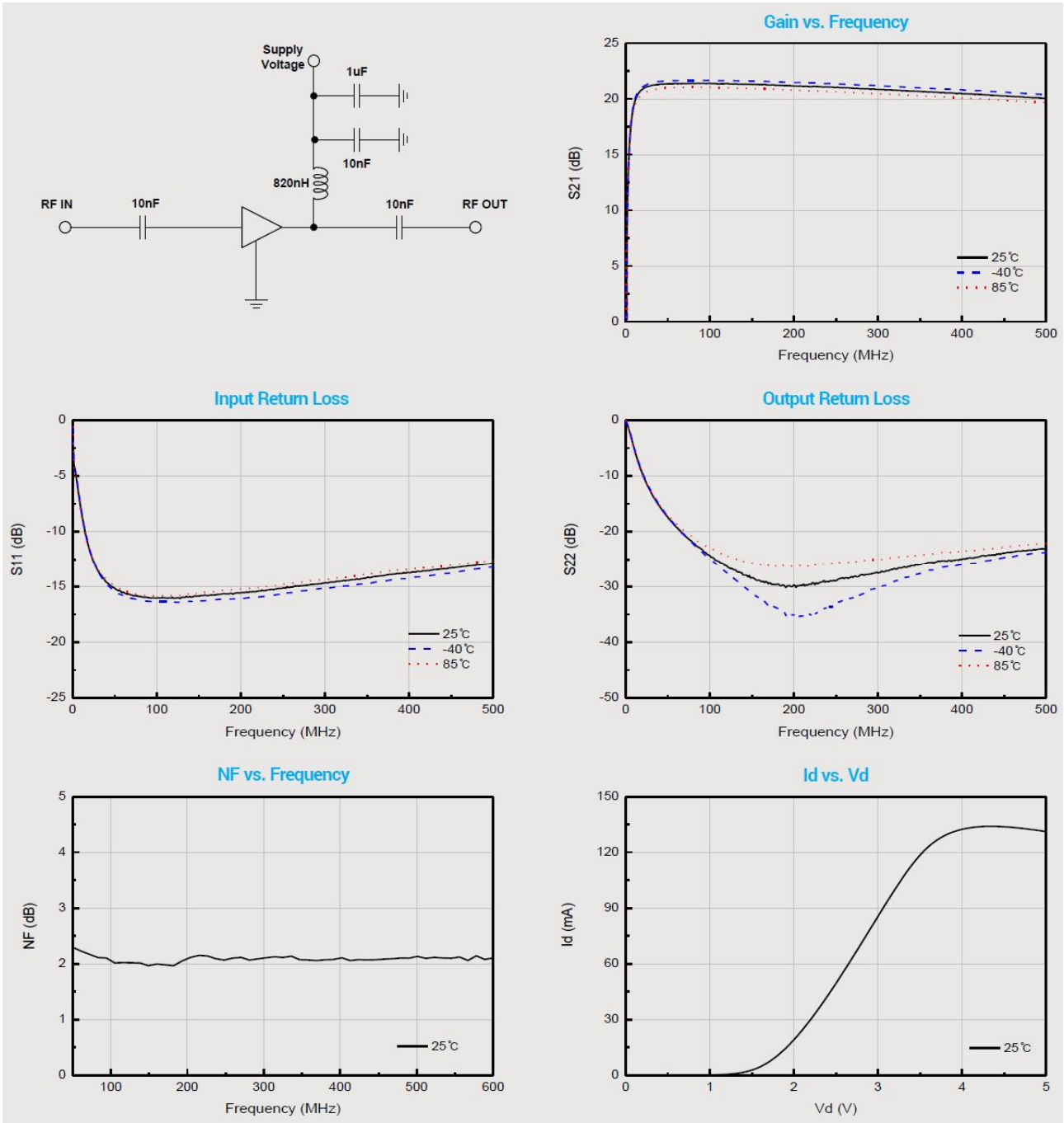
1-stage amp Design Pattern

② Second Stage Amplifier

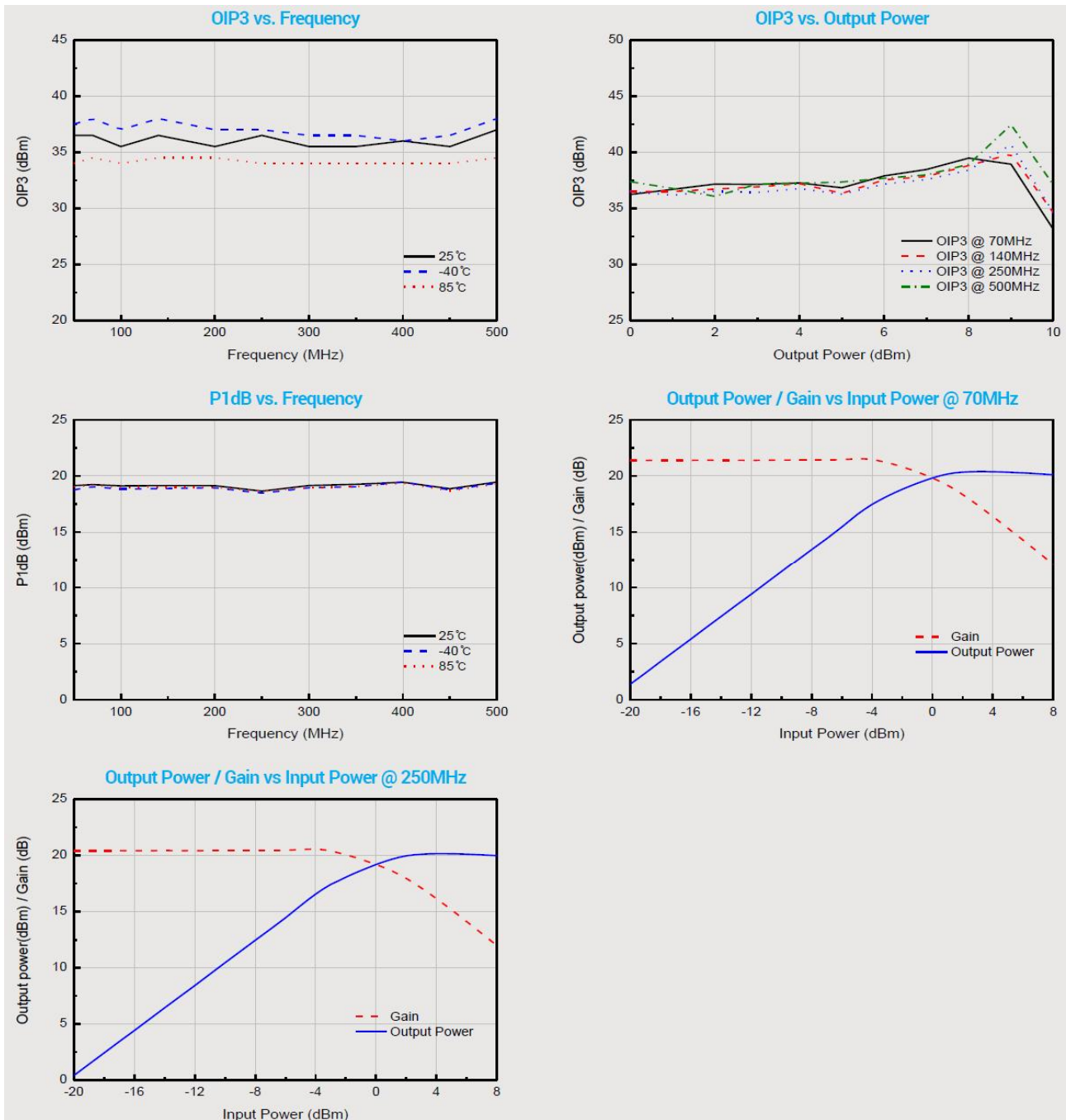
- 두 번째 Amplifier는 높은 이득 및 OIP를 구현 가능한 소자를 사용하여 구성
- 표에 PNW566성능을 나타내었다.

Parameter	Units	PNW566
S21(Gain)	dB	21.3Hz@50MHz
S11(Input Return Loss)	dB	-15
S22(Output Return Loss)	dB	-23
P1dB(Input Max. Power)	dBm	18.5
OIP3(Output Max. Power)	dBm	36
Noise Figure	dB	2.1
Voltage / Current	V/mA	3/85
Rth	°C/W	22

- 1port 전압을 사용하기 위해 Regulator를 이용하여 전원부를 설계함.
- 전원 Noise를 줄이기 위한 Noise Cancellation Filter 추가함.
- Amplifier 의 구성은 1-stage와 같이 Common Source 구조로 설계
- GaAs p-HEMT 계열의 소자를 이용
- 높은 선형성을 가지는 Amp 구성
- 3V 소자를 활용한 저전력 설계

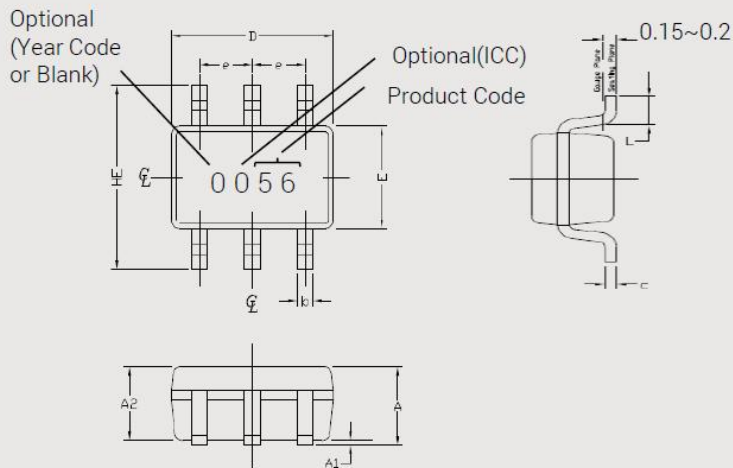


2-stage amp 측정결과



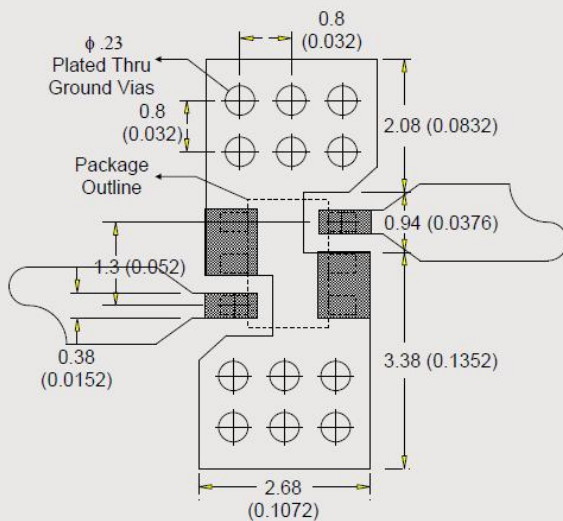
2-stage amp 측정결과

Lead-free /RoHS Compliant / Green SOT-363 Package Outline

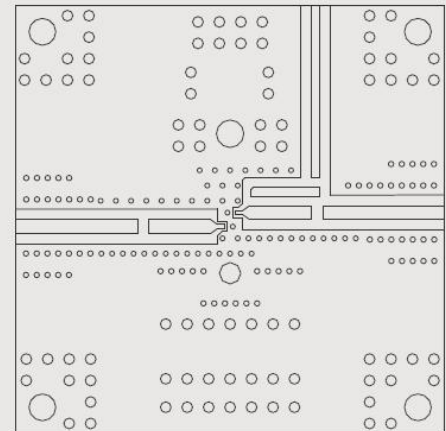


SYMBOL	MIN	MAX
E	1.15	1.35
D	1.85	2.25
HE	1.95	2.30
A	0.80	1.10
A2	0.70	1.00
A1	0.00	0.10
e	0.65BSC	
b	0.15	0.40
c	0.08	0.25
L	0.21	0.26

Land Pattern



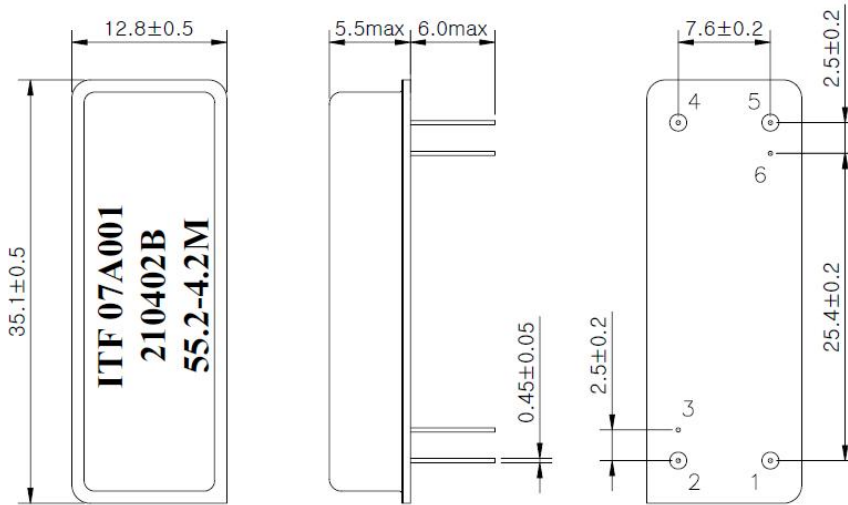
Evaluation Board Layout (40x40)



2-stage amp Design Pattern

(나) Filter

- Filter는 Preamplifier로부터 나오는 신호 외에 불필요한 신호를 걸러 주는 역할을 하는 소자로서 높은 Cut-off 특성이 요구된다.
- 일반적으로 높은 Cut-off 특성을 내기 위해서는 SAW(Surface Acoustic Wave) 소재를 이용한 Band Pass Filter를 설계 하여 적용하였다.
- Filter의 입출력 매칭을 통해 높은 성능을 구현한다.
- SAW(표면탄성파) 필터는 Cut-off 특성이 우수하지만 Loss가 많아 뒷단에 Amp를 연결 하여 Loss를 보완 함.



Package : D3512

Dimensions shown are nominal in millimeters
 Base : Fe(SPCC), Au plating over Ni plated
 Cap : Cu & Cr Alloy, Ni Plated
 Termination : Kovar, Au Plated

Pin Configuration	
1	Input
5	Output
2, 4	Ground
3, 6	Case ground

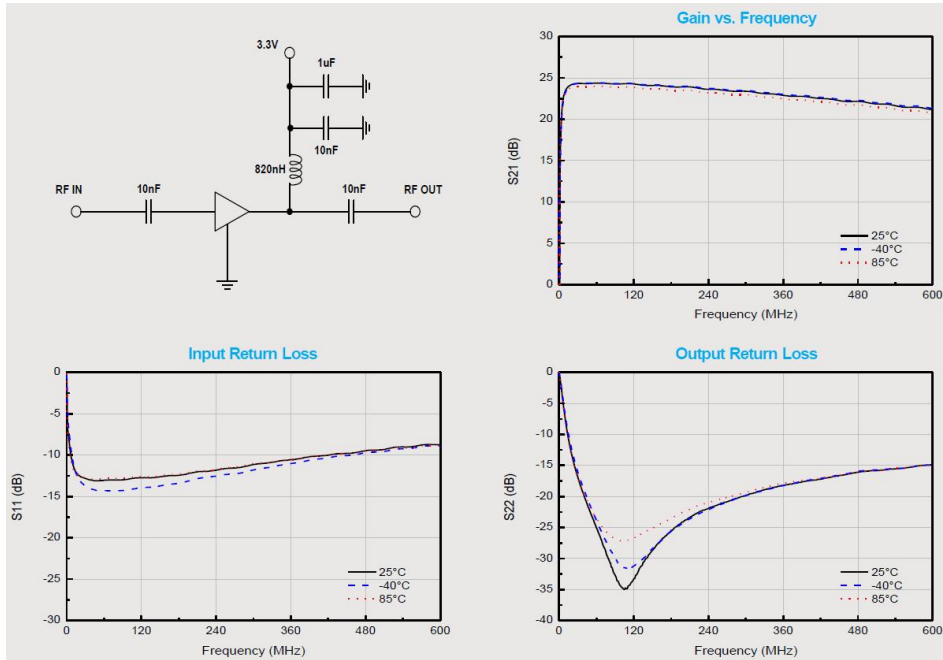
SAW Filter Package Type

① SAW Band Pass Filter는 ITF社의 210402B을 사용함.

- Typical 1dB Bandwidth 4.21MHz
- Single Ended Operation
- DIP Package
- Center Frequency 55.2MHz
- Insertion Loss 23.5
- 3dB Band Width 4.46
- Operating Temperature -40°C ~ +85°C
- 뒷단에 사용된 PNW255 Amp의 Specification은 아래와 같다.

② PNW255 Amp의 Specification은 2-stage Preamp에 사용된 Amp를 사용함.

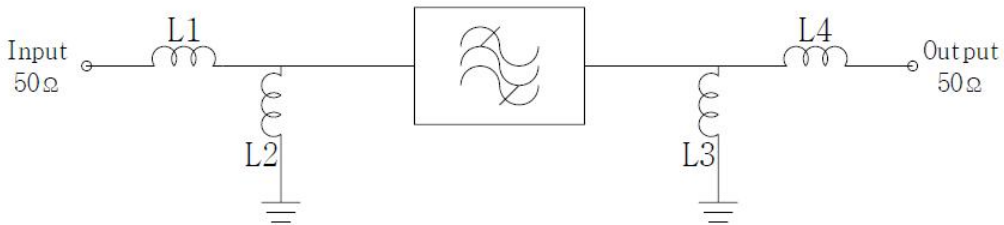
- 5~3000MHz 주파수 대역에서 사용 가능
- Gain 24.1dB@10~100MHz
- P1dB 20.5dBm@10~100MHz
- OIP3 31.2dBm@10~100MHz
- NF 2.6dB@10~100MHz
- 3.3V/37mA 소모 전류
- Surface Mounted plastic SOT-363 Package.



AMP 회로도 및 측정결과

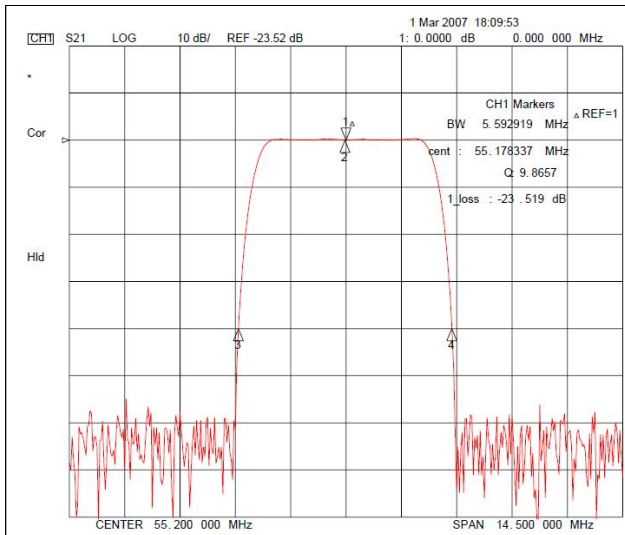
Parameter	Units	Min.	Typ.	Max.
Center Frequency	MHz		55.2	
Insertion Loss	dB		23.5	25
1dB Bandwidth	MHz	4.1	4.21	
3dB Bandwidth	MHz		4.46	
40dB Bandwidth	MHz		5.6	
Amplifier Ripple($f_0 \pm 1.92\text{MHz}$)	dB		0.4	1.0
Group Delay Variation($f_0 \pm 1.92\text{MHz}$)	nsec		90	120
Absolute Delay	usec		3.71	
Ultimate Rejection	dB	50	55	
Temperature Coefficient of Frequency	ppm/ $^{\circ}\text{C}$		-18	

- SAW Filter Measurement

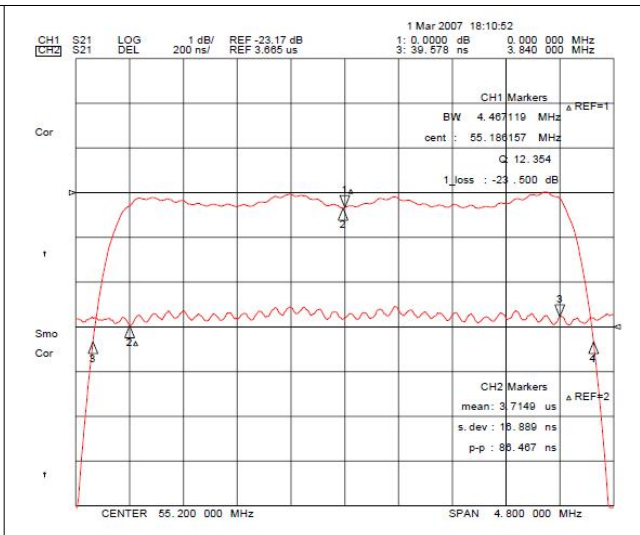


L1=180H, L2=270nH, L3=220nH, L4=180nH

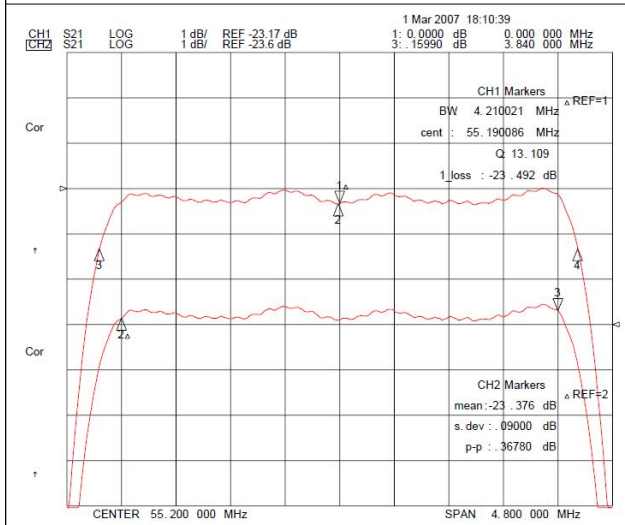
SAW Filter 회로도 및 매칭 네트워크



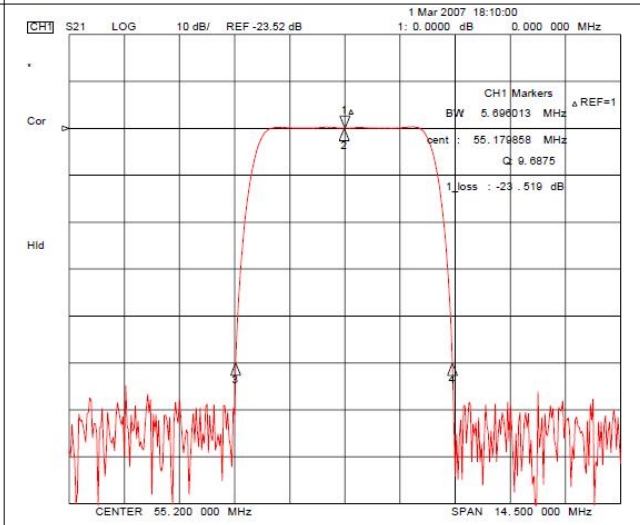
Bandwidth & Ripple



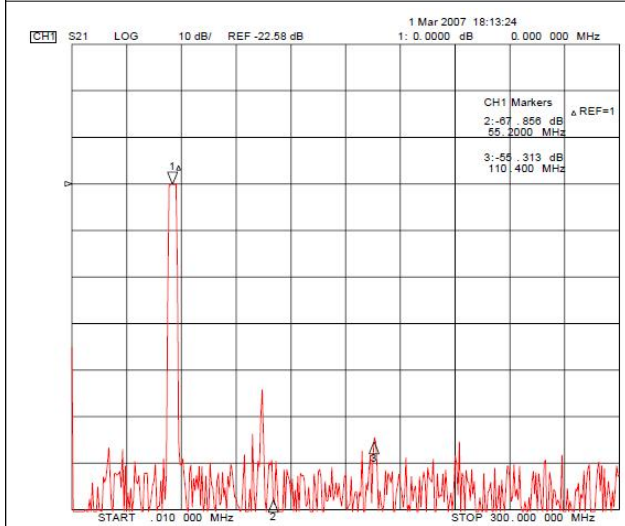
Ripple & Bandwidth



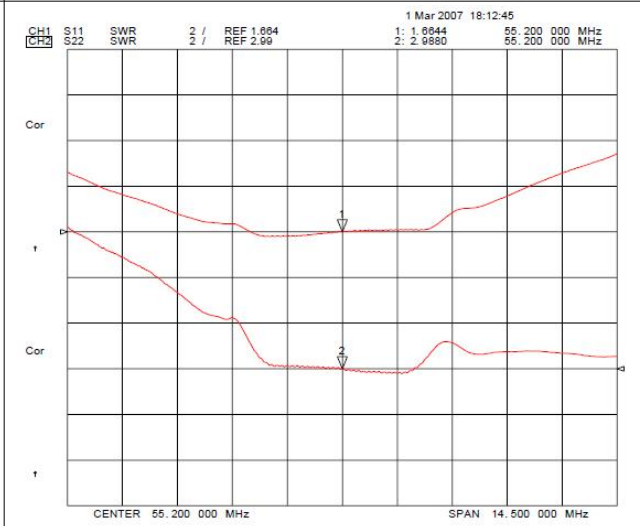
Center Frequency & Loss



S21



Wide Band Properties

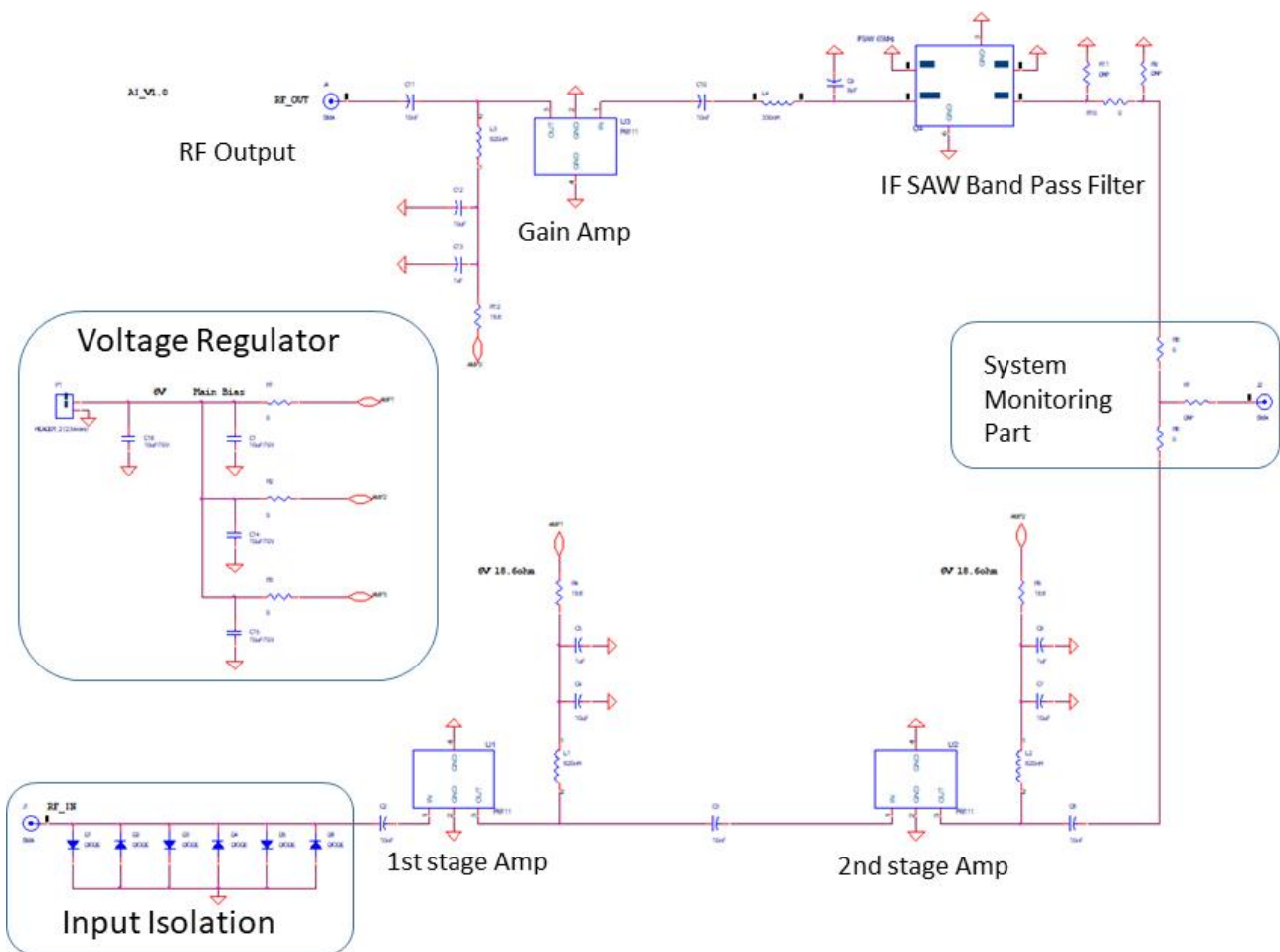


SWR (S11 & S22)

(다) RFI System 회로설계

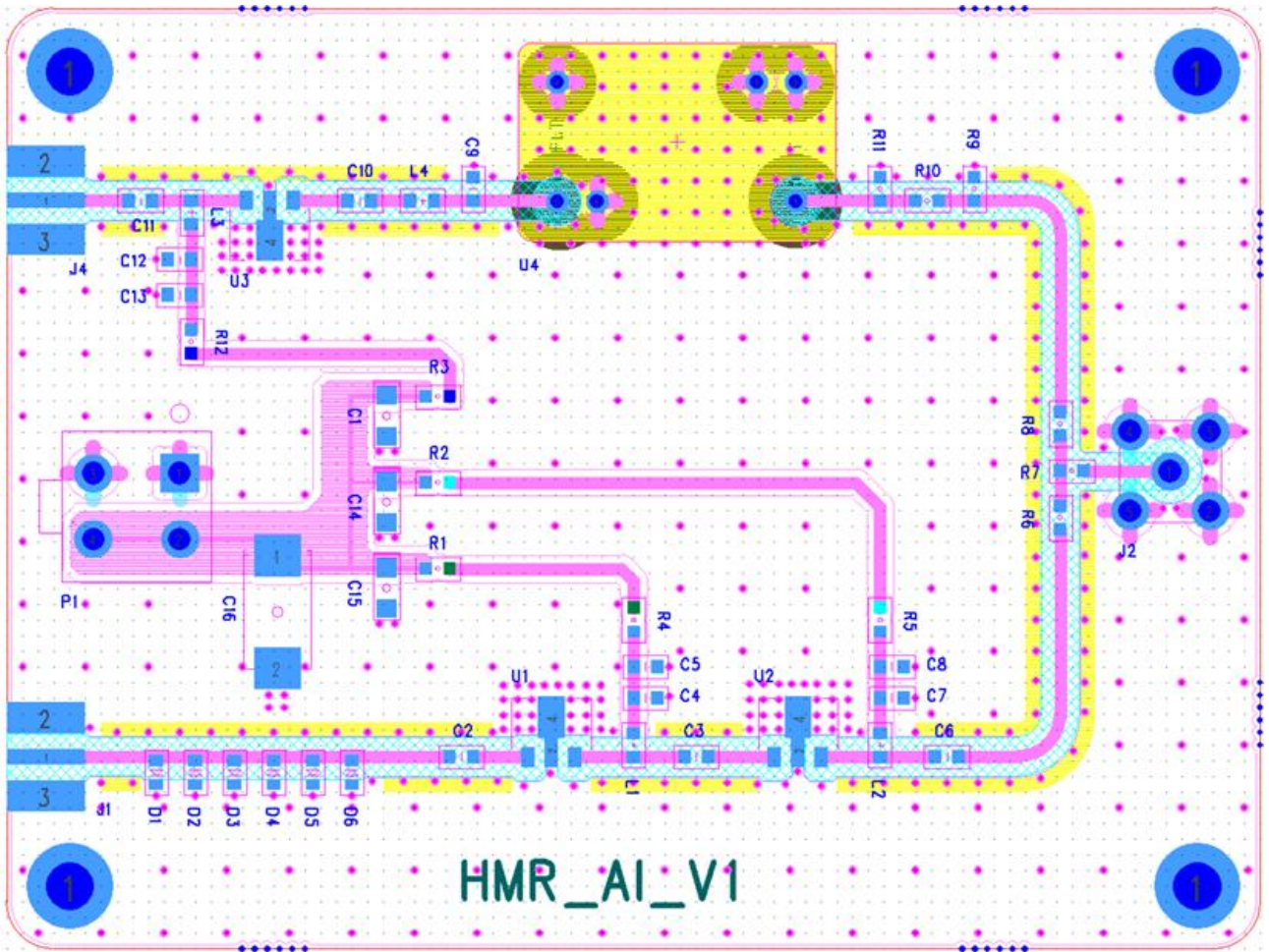
① 회로 설계

- OrCAD를 이용하여 회로 설계
- 안정적인 전원 공급을 위한 Voltage Regulator 부분 추가
- RF Input단에 Probe로부터 들어오는 신호를 막기 위한 Isolation 부분 추가
- SAW의 Loss를 보상해주기 위한 Gain Amp 단 추가를 통한 높은 이득 구현
- Spectrometer까지의 안정적인 신호 전달을 위한 Gain 구성
- 최소 사이즈 구현을 위해 선로 간 최적 설계
- System Monitoring Pin을 통한 실시간 체크 가능
- 각 단별 매칭단을 구성하여 개별 매칭을 통한 성능 향상 가능
- 전원부의 바이어스 조절을 통한 소모 전류 최적화



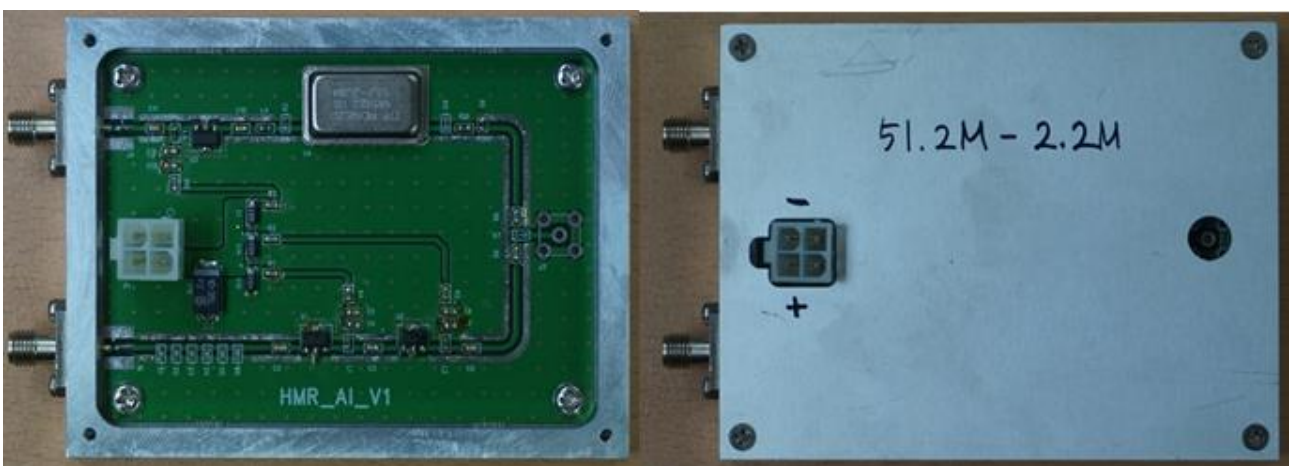
RFI System 회로도

- 회로 설계 후 PCB Artwork 진행



RFI System PCB Artwork

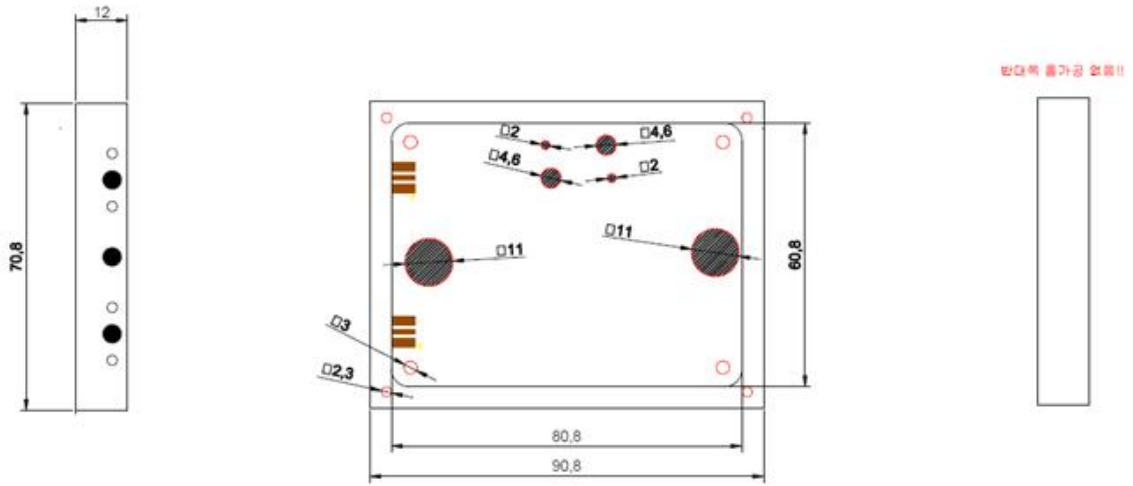
- 4층 1.0T FR4(유전율 4.5)를 이용한 PCB 제작
- PCB 제작 후 SMT(Surface Mount Technology) 진행



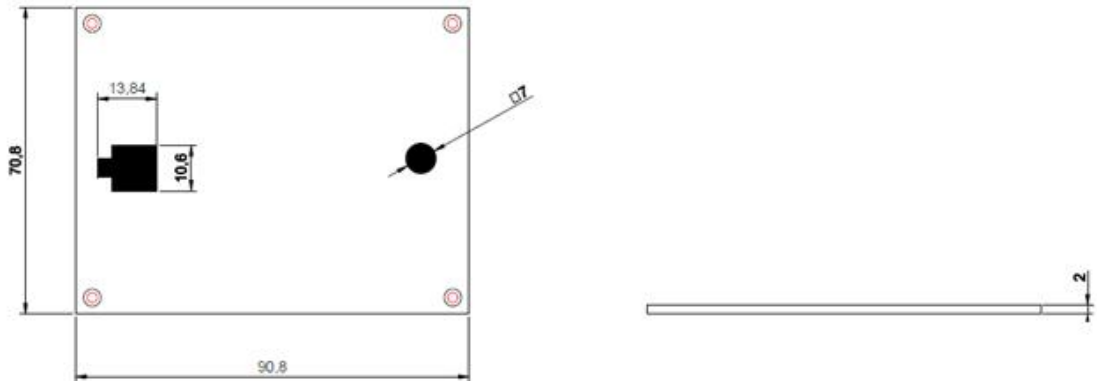
RFI System PCB SMT 및 케이스

- PCB Board Shielding Case 설계 및 제작

Base



Cover

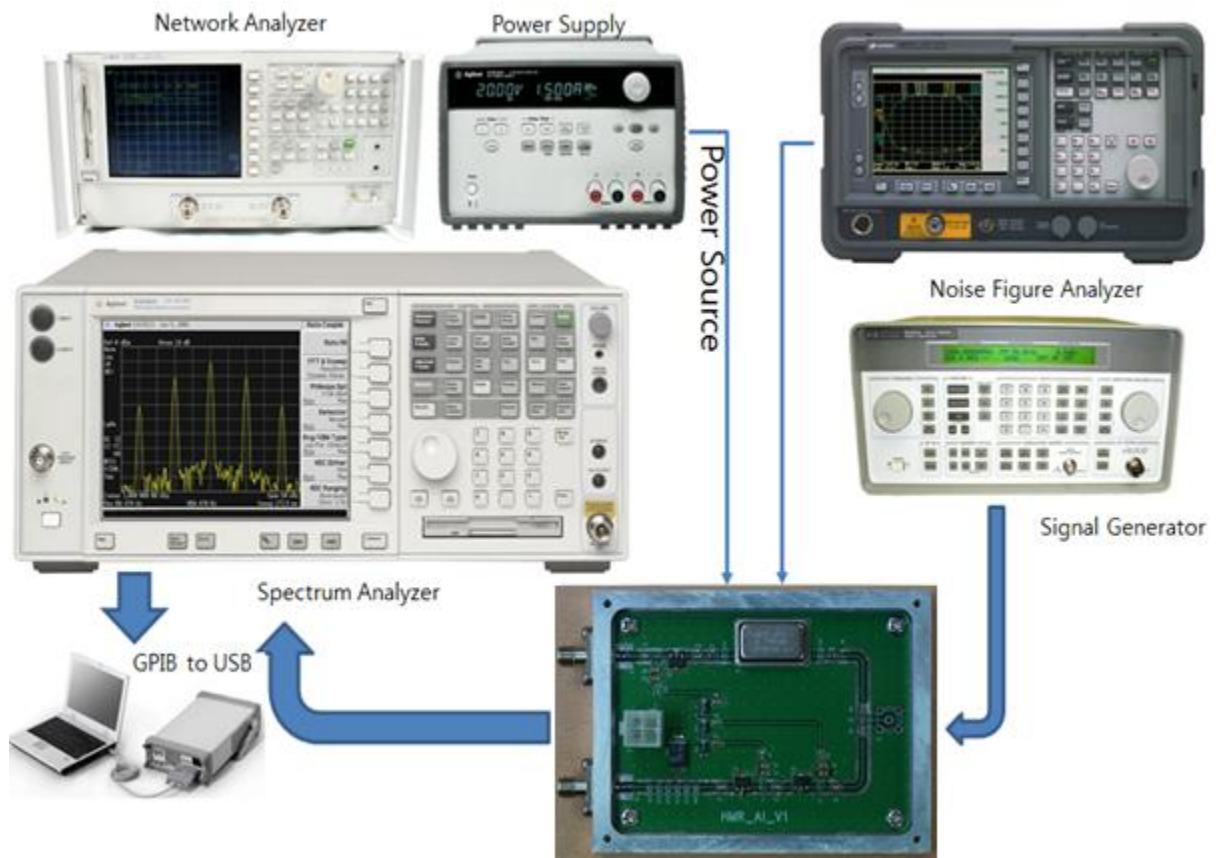


RFI System PCB 케이스 도면

(라) 성능 검증을 위한 측정

① 성능 검증을 위한 환경 구축

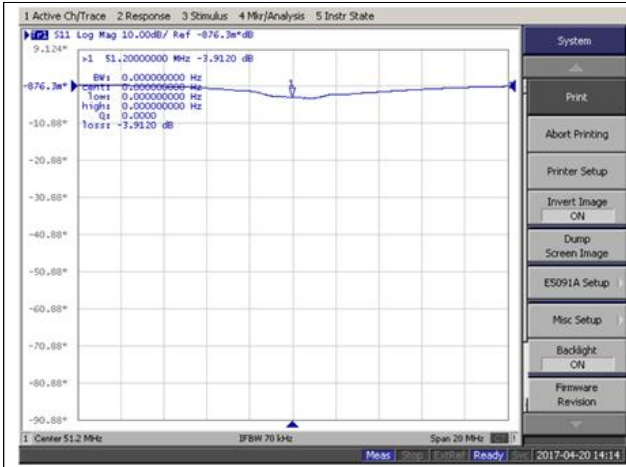
- 설계 및 Artwork 완료 후 PCB 제작 및 SMT 진행
- 계측 장비를 활용하여 성능 측정
- Power Supply : Amp의 전원 및 전류 확인
- Spectrum Analyzer 1대 : 출력 Power의 Spectrum 신호 측정
- Network Analyzer 1대 : 입·출력 매칭 및 Gain 측정
- Power meter 1대 : 출력 Power 측정
- Signal Generator 1대 : Frequency 및 power source 구성
- Noise Figure Analyzer 1대 : Amp의 NF 측정



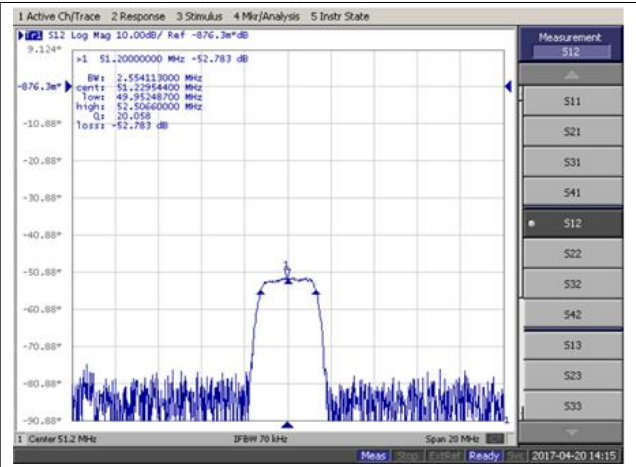
RFI System 측정 시스템

② Preamplifier 측정

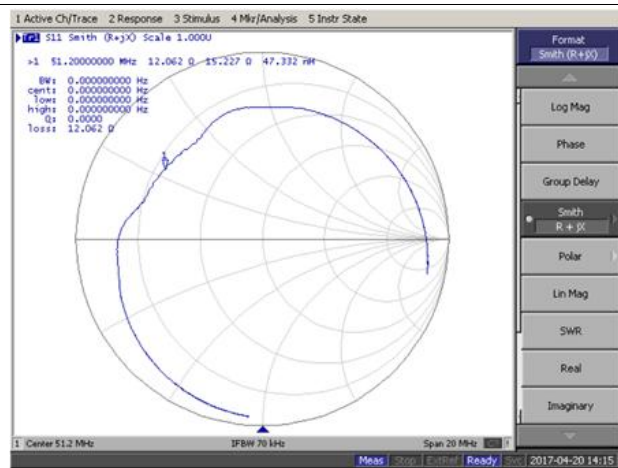
- 주파수 특성에 따른 Power Gain 및 Return loss, 출력 power 측정
- In/Output Return loss 측정을 통한 Wideband Maximum Matching
- Noise Figure Analyzer를 활용한 NF 측정
- 측정 결과를 표에 정리함.



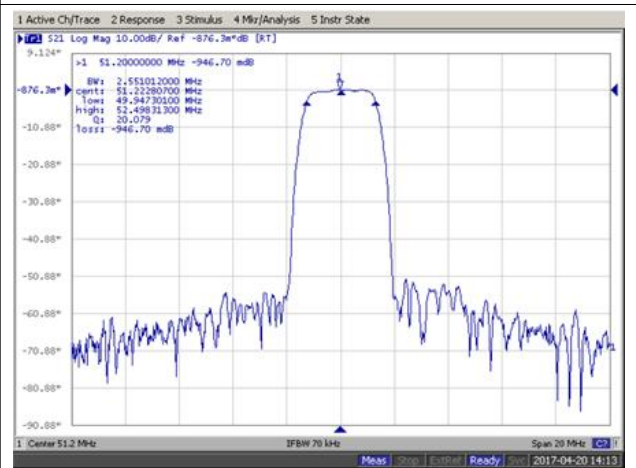
S21(input -60dB)



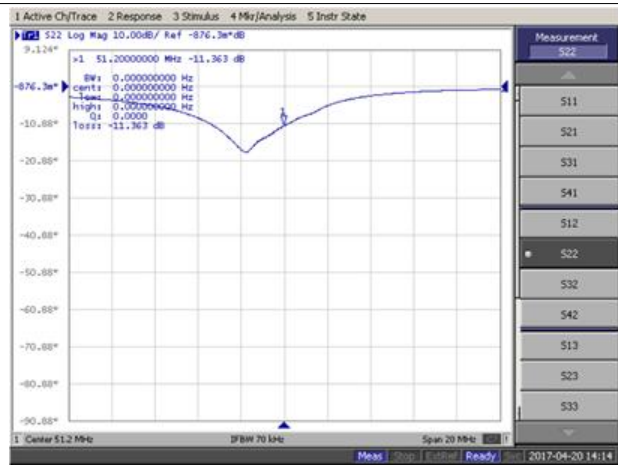
S21 loss check



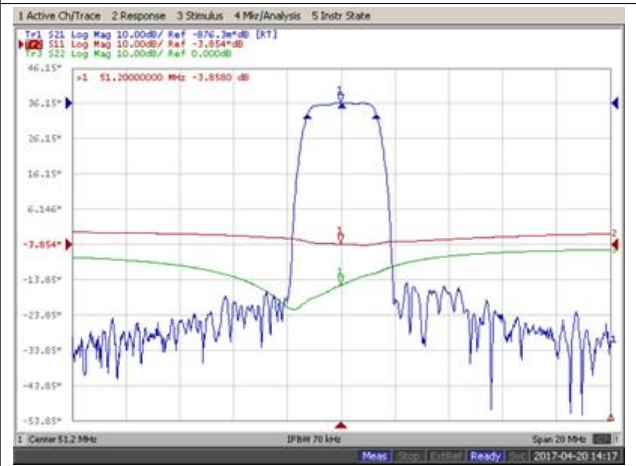
smith chart



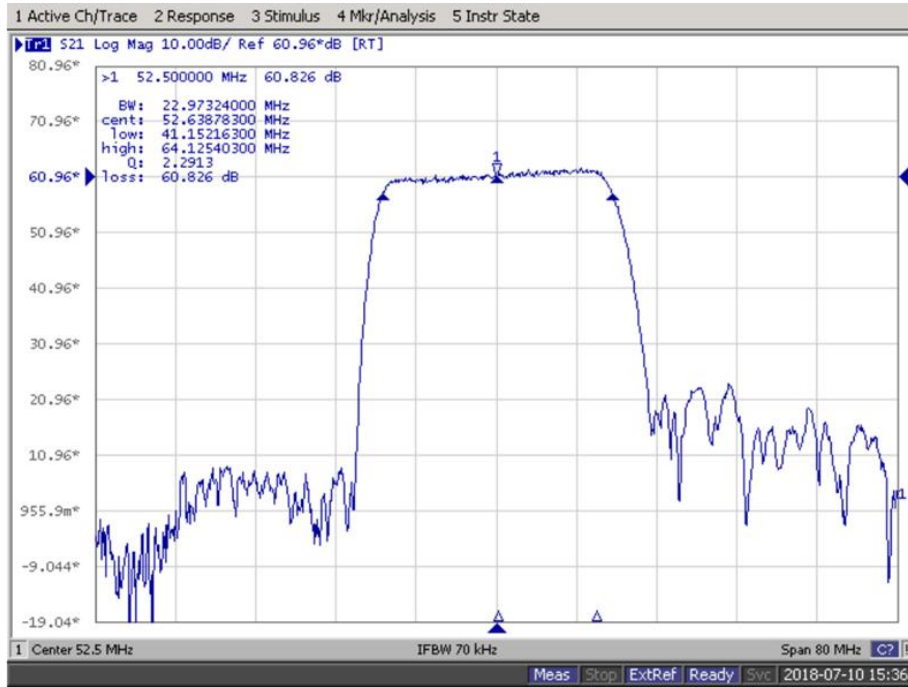
S21 Gain



S11



S-parameter total



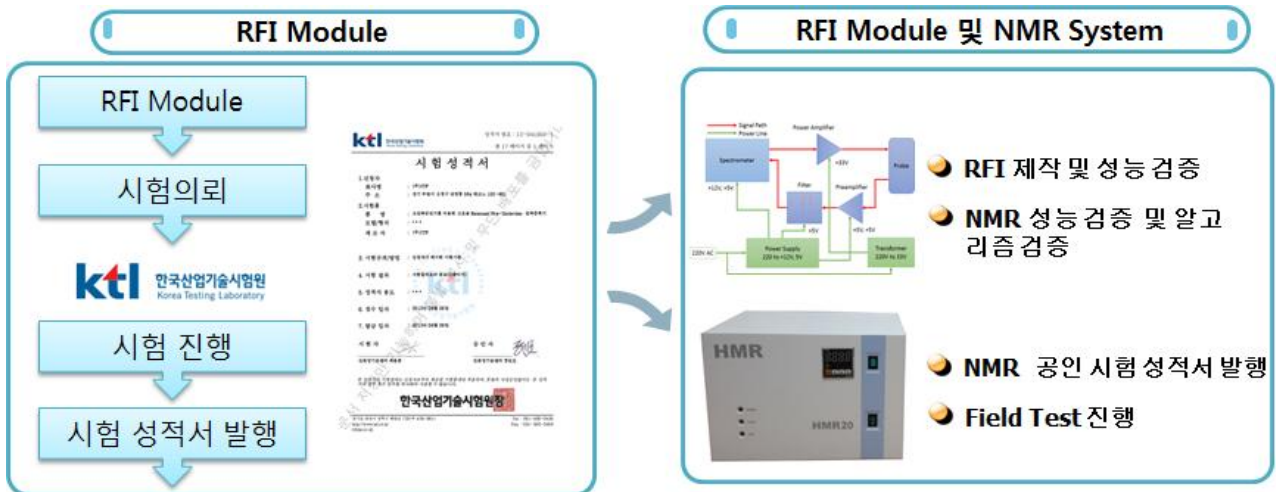
RFI System 측정결과

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit	목표
Supply Voltage			5		V	5
Frequency		10		100	MHz	10~100
S21	Gain	49		65	dB	50
S11	Input Return Loss	-7		-20	dB	N/A
S22	output Return Loss	-7		-30	dB	N/A
P1dB		16		20	dBm	N/A
OIP3			35		dBm	30
Noise Figure		1.5		3	dB	1.7
Power Consumption		100		250	mA	N/A

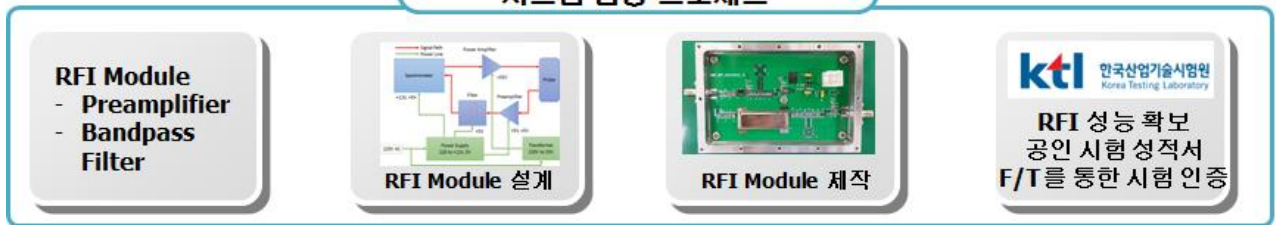
RFI System 측정결과

(마) 신뢰성 및 내구성 Test

- RFI System의 신뢰성 및 내구성 Test를 위한 Set-up
- RFI Systemt 성능 검증 프로세스
- 온도 조건 : -45°C, 25°C, 85°C
- 시험 시간 : 각 온도에서 30분 온도 안정화 및 2시간 방치
- 시험품의 상태 : 전원 인가 상태

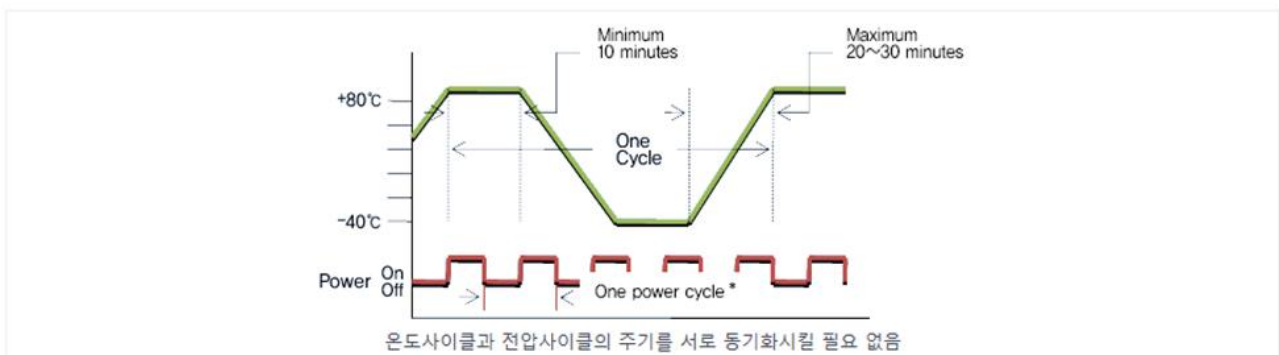


시스템 검증 프로세스

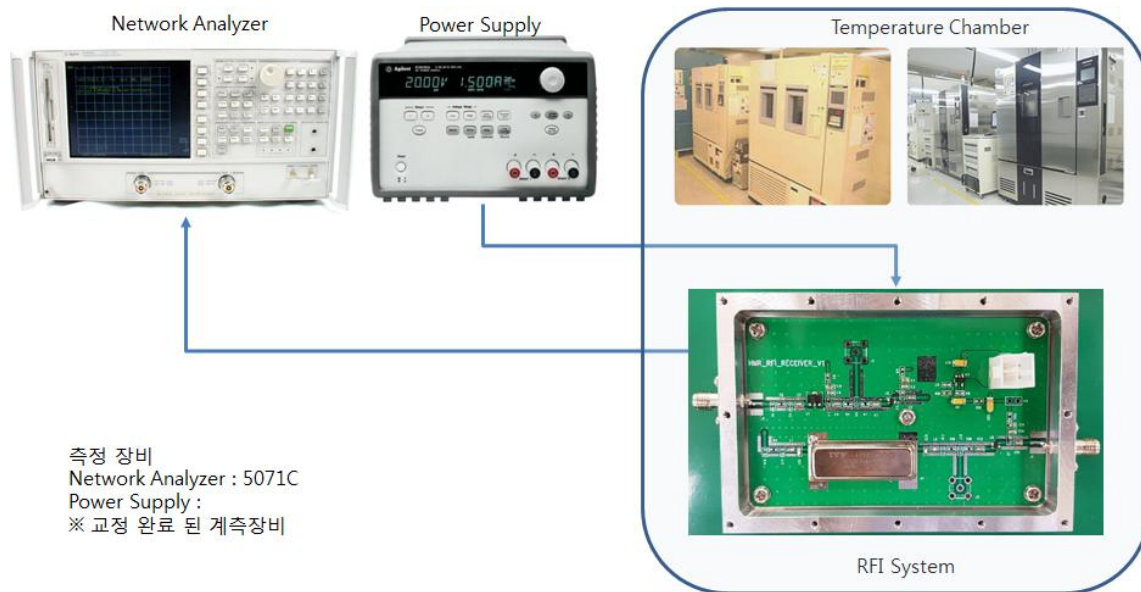


성능평가 프로세스

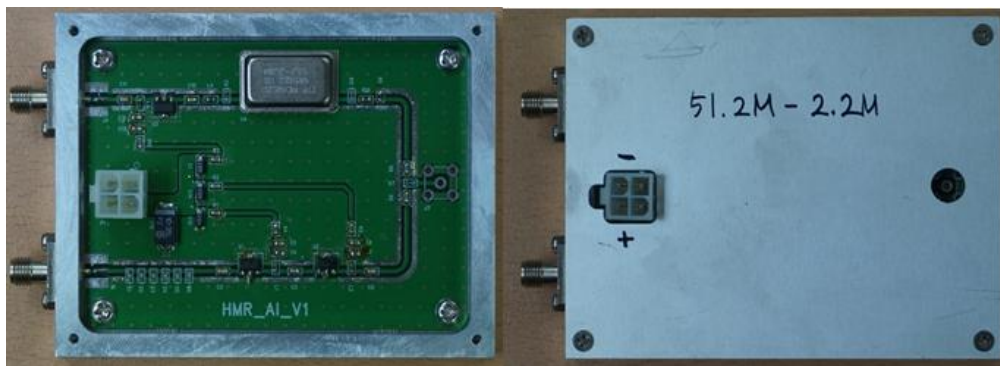
Test Condition	Temperature Extremes Degrees C.	Transition Time Between Temp Extreme, Max.	Dwell Time at Each Temp Extreme, Min.
A	-40 (+0, -10) to +85 (+10,-0)	20 minutes	10 minutes
B	-40 (+0, -10) to + 125 (+10, -0)	30 minutes	10 minutes



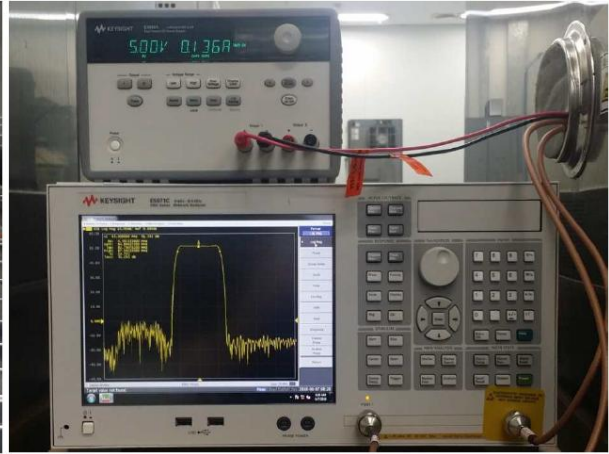
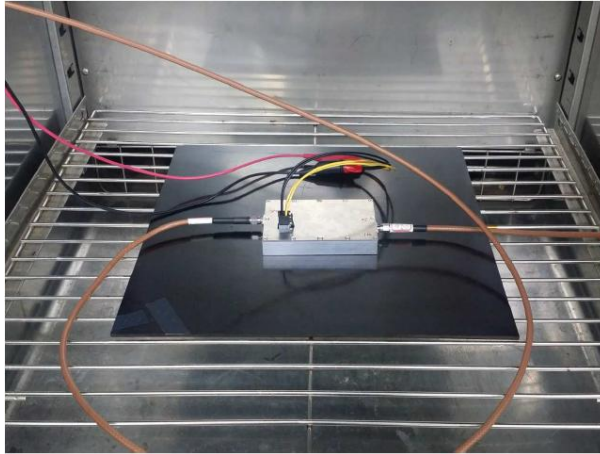
신뢰성 및 내구성 테스트 Cycle



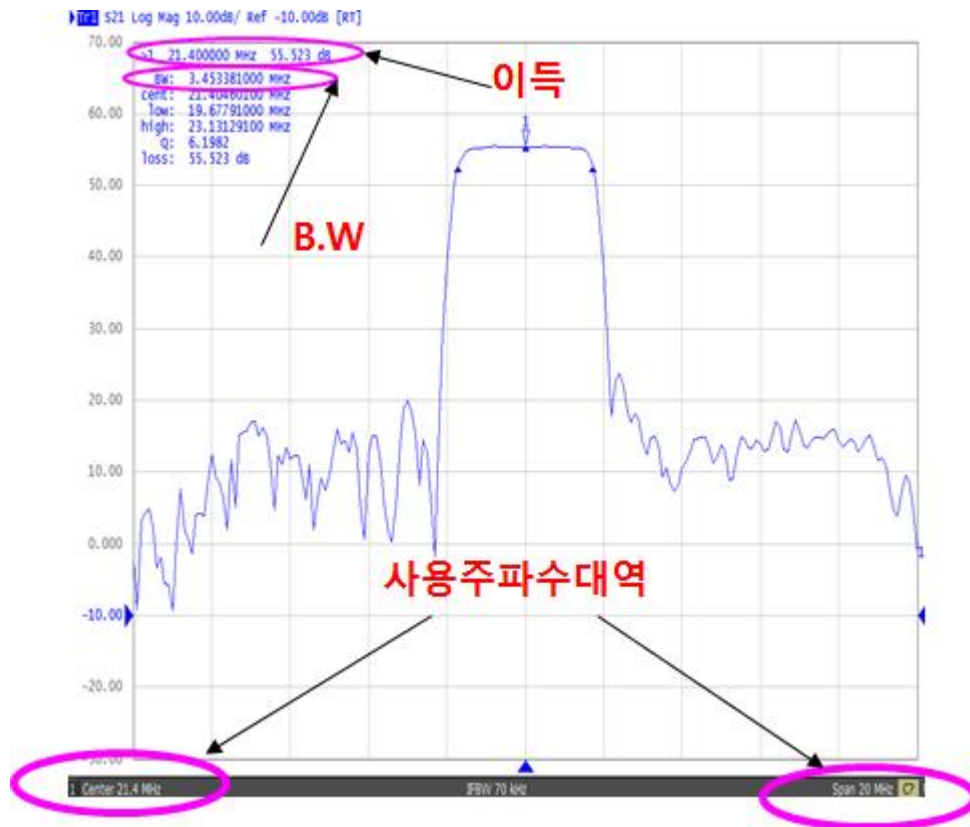
신뢰성 및 내구성 테스트 장비



설정 항목	설정 값
인가 전압	DC 5.0V
Center Frequency	51MHz
Span	20MHz
Scale	10dB / div
Number of Points	401
Sweep Time	400 ms
Format	Log Mag
Input Power	-40 dBm
Measure Direction	S21



Chamber 삽입 및 계측



시험품	측정 항목	온도 조건 별 측정 결과			Unit
		-45°C	25°C	85°C	
#1	3dB Bandwidth	4.05	4.08	4.10	MHz
	Gain(S21)	58.4	55.5	51.8	dB
#2	3dB Bandwidth	4.04	4.08	4.10	MHz
	Gain(S21)	58.9	55.2	51.5	dB

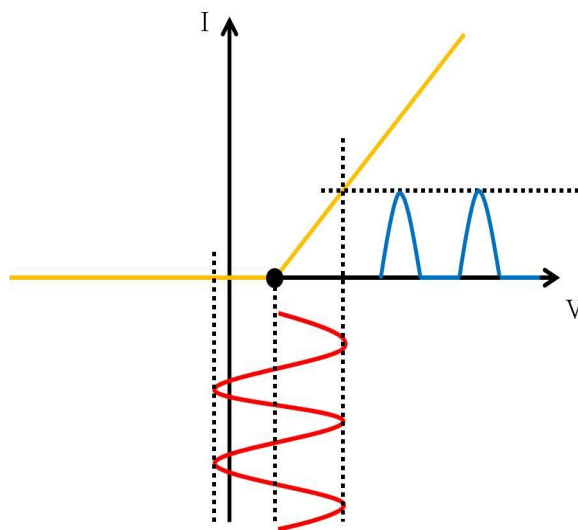
(바) Power Amplifier 설계 및 제작

- Power Amplifier는 Spectrometer에서 나오는 입력신호를 받아 신호를 최대한 증폭시켜 Probe에 신호를 보내는 역할을 하는 부분
- System의 경량화를 위해 출력 신호는 낮지만 낮은 전류와 소형 Power Amplifier 선택.
- Output power : 100 W
- Gain : 45 dB
- Input/Output impedance : 50 Ohm
- Linear response output voltage : 15 ~ 40 V
- Powering : 12 VDC @ 1.2A

① 증폭기의 분류

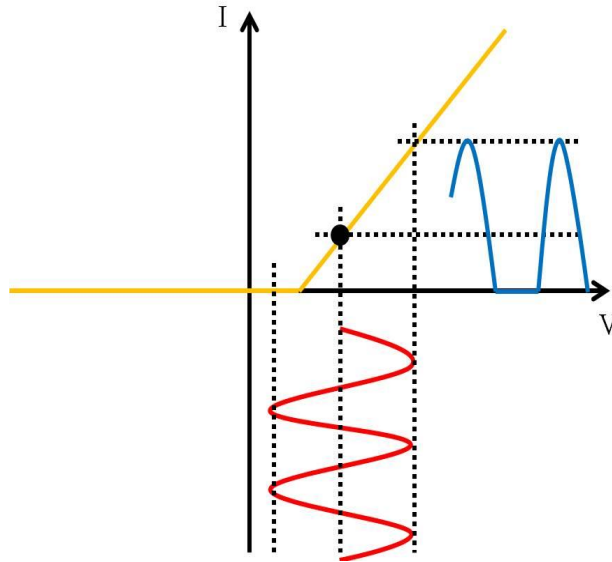
전력 증폭기는 바이어스 조건과 입출력 파형에 의해 Class A, B, AB, C로 불리는 선형 증폭기와 Class D, E로 불리는 비선형 증폭기로 분류

㉞ Class A, B, AB, C



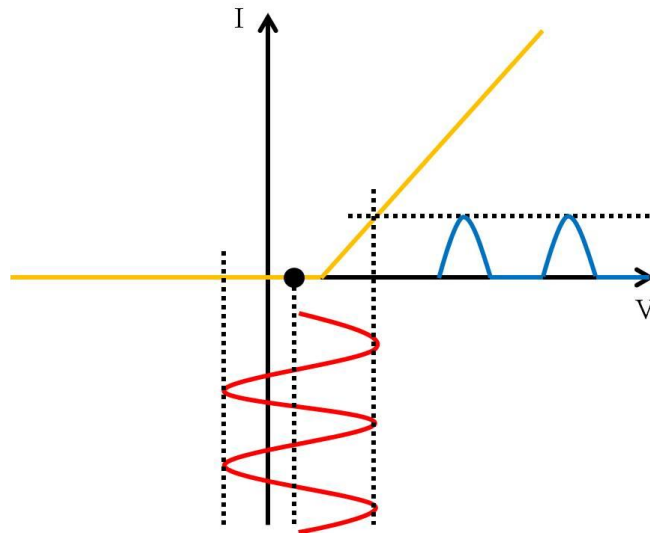
Class B 증폭기 동작 곡선

Class B 증폭기는 Drain 전류 조절을 위해 Gate 바이어스가 Cutoff 동작을 하기 때문에 Class A에 비해 최대효율 78%로 높은 편이다. 하지만 입력신호 레벨이 낮을 경우 신호 왜곡 현상이 발생.



Class AB 증폭기의 동작 곡선

Class AB 증폭기는 Class A의 고선형 동작과 Class B의 높은 효율을 합친 증폭기이다. 동작점이 차단 영역보다 위쪽에 있어 반주기 동안 Drain 전류를 흘린다. 실제로는 Class A의 선형 동작 특성을 확보했지만 Class B의 효율보다 낮음

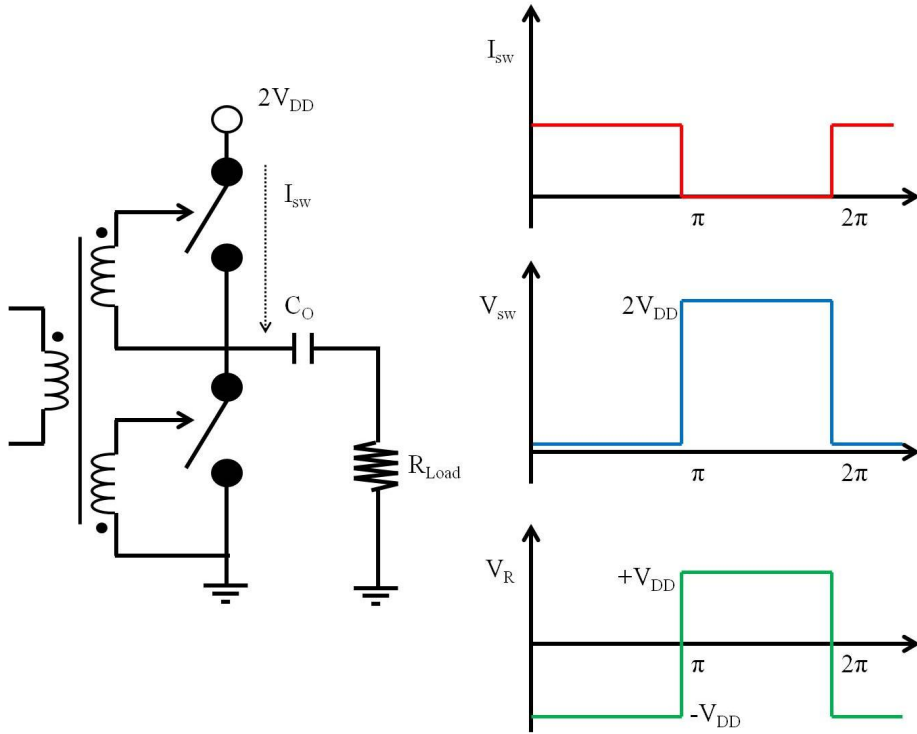


Class C 증폭기의 동작 곡선

Class C 증폭기는 다른 선형 증폭기들에 비해 선형성이 떨어지지만 최대 효율이 90% 이상

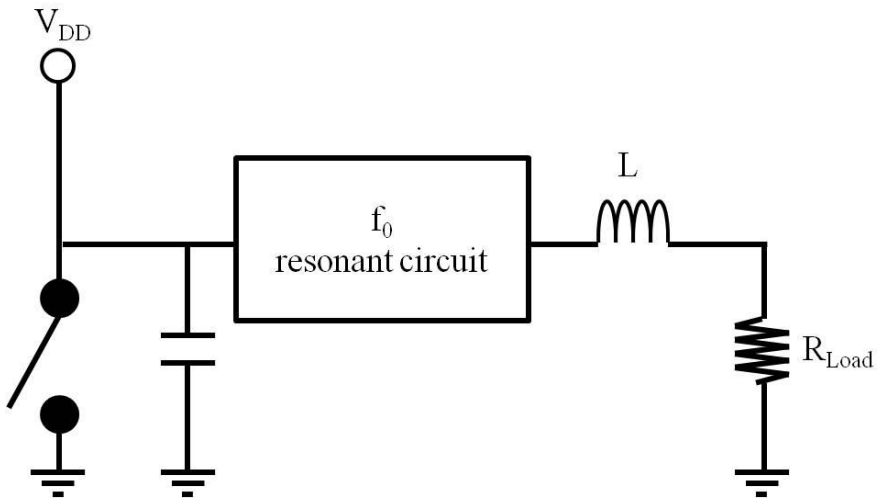
Ⓛ Class D, E

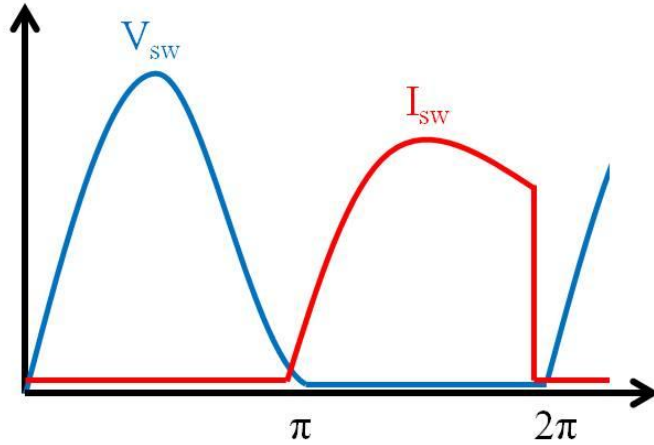
앞선 Class A, B, AB, C 와 달리 Class D, E는 사용되는 트랜지스터가 스위치 동작을 하기 때문에 스위칭 모드 전력증폭기라고 불린다. 스위칭 모드 전력증폭기는 트랜지스터의 스위치 동작을 통해 이론적으로 100%의 효율



Class D 증폭기의 회로도 및 이상적인 동작특성

Class D는 Push-Pull 동작을 통해 부하의 임피던스가 효율에 영향을 미치지 않는다는 장점이 있으나, 출력 커패시터에서 충·방전시 소모되는 전력이 높아 비교적 낮은 동작 주파수에서 사용



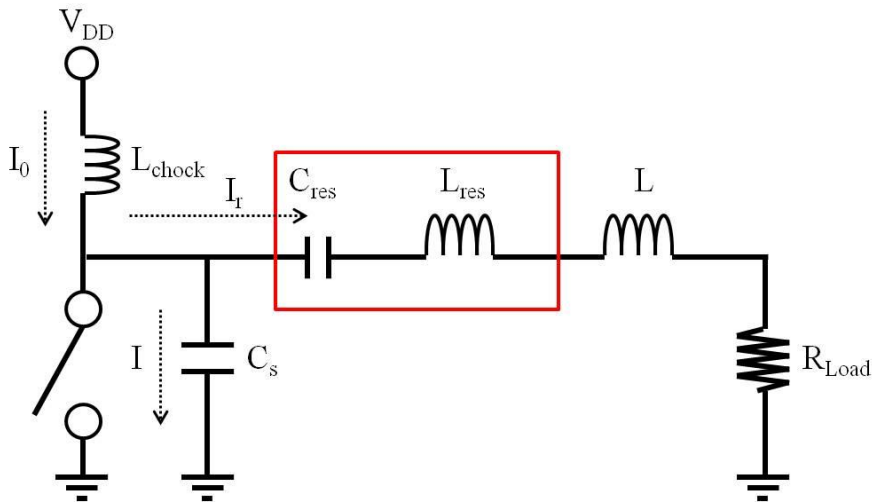


Class E 증폭기의 회로도 및 이상적인 동작특성

Class E는 트랜지스터에 병렬로 연결된 커패시터와 LC공진기로 구성되어있다. LC공진기를 통해 원하는 중심주파수 신호만 통과하여 출력을 얻을 수 있다. Class E는 회로 구성이 쉽고 Class D와 다르게 높은 동작주파수에서 이용 가능하다. 다음과 같은 이유로 본 논문에서는 Class E 전력증폭기 제작을 목표로 하였다.

㉔ Class-E 전력증폭기 설계

본 논문에서는 A4WP 표준 동작주파수인 6.78MHz에서 10W이상의 출력을 갖는 고효율 전력증폭기 설계를 목표로 하였다.

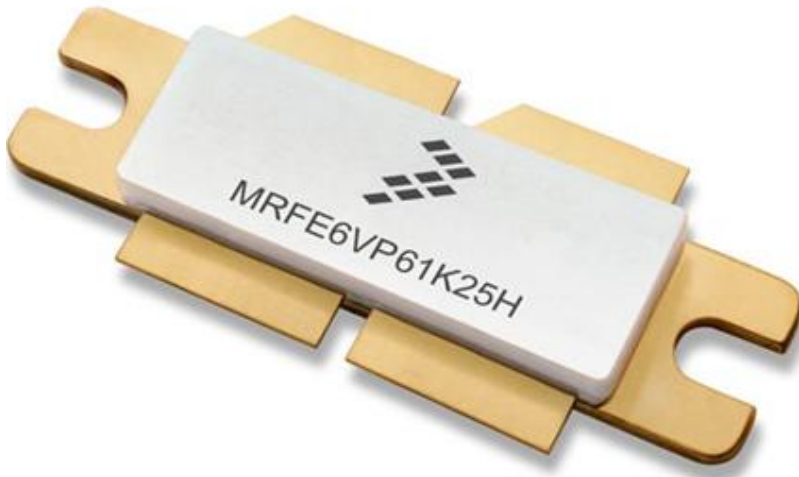


Class E 전력증폭기의 기본 회로도 및 설계 변수

Class E 전력증폭기 설계에는 설계 변수가 있으며 해석을 쉽게 하기 위해서 사용되는 트랜지스터는 완벽한 무손실 스위칭 동작을 하는 것으로 두고 설계

② 전력증폭기 설계

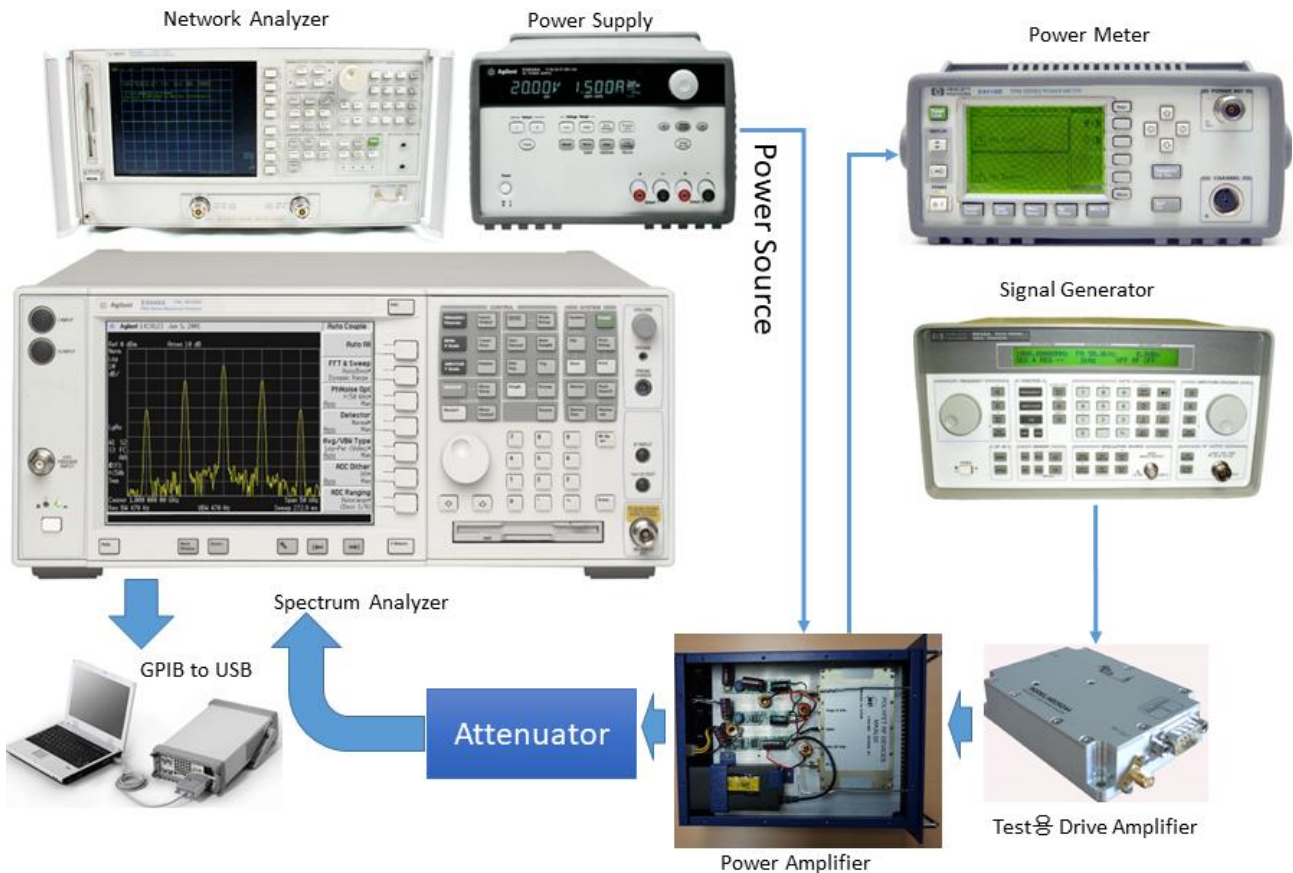
전력증폭기 설계에 사용된 소자는 21.4MHz에서 동작이 가능하고 10W 이상의 출력을 발생 시킬 수 있는 Freescale사의 MRFE6VS25N를 사용하였다. 설계는 고주파 회로 해석 시뮬레이터 ADS(Advanced Design System)를 이용하였다.



Key Parametrics

Product Specifications	
Frequency Min (Min) (MHz)	1.8
Frequency Max (Max) (MHz)	600
Supply Voltage (Typ) (V)	50
P1dB (Typ) (dBm)	61
P1dB (Typ) (W)	1250
Output Power (Typ) (W) @ Intermodulation Level at Test Signal	1250 @ CW
Test Signal	1-Tone
Power Gain (Typ) (dB) @ f (MHz)	22.9 @ 230
Efficiency (Typ) (%)	74.6
Thermal Resistance (Spec)(°C/W)	0.15
Matching	Unmatched
Class	AB
Die Technology	LDMOS

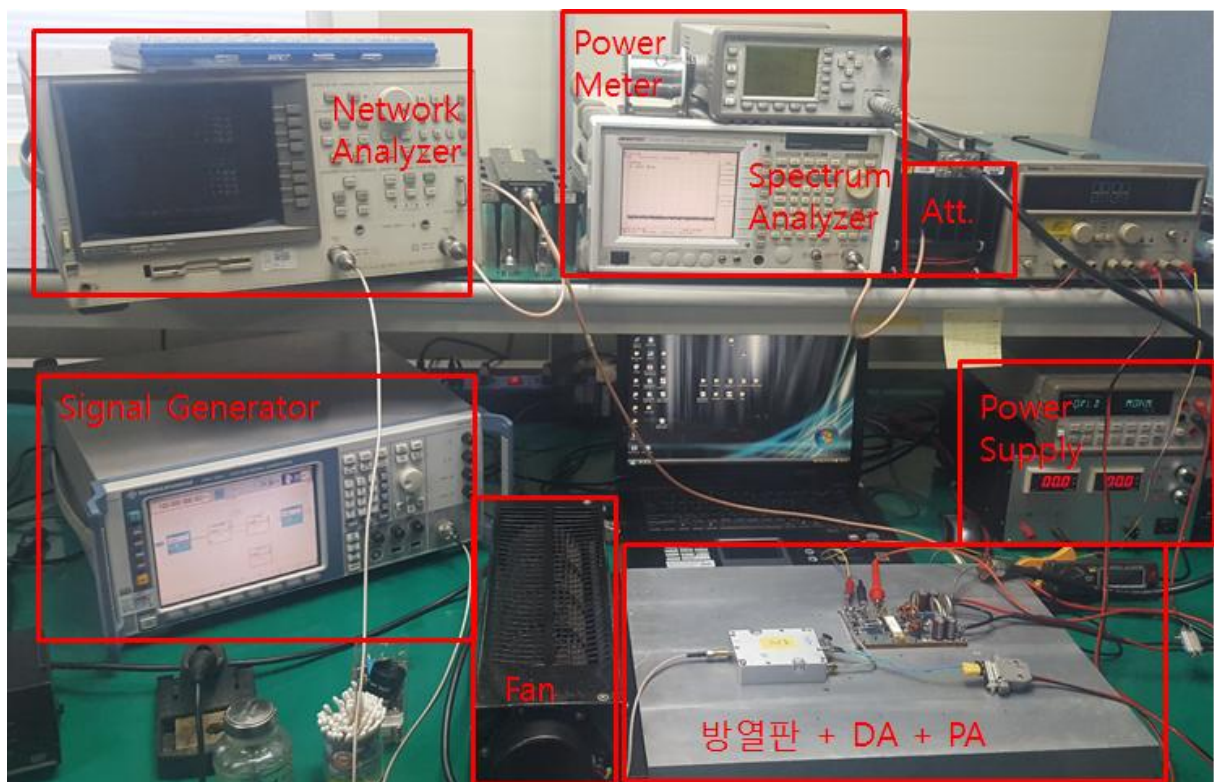
Power Amp Transistor



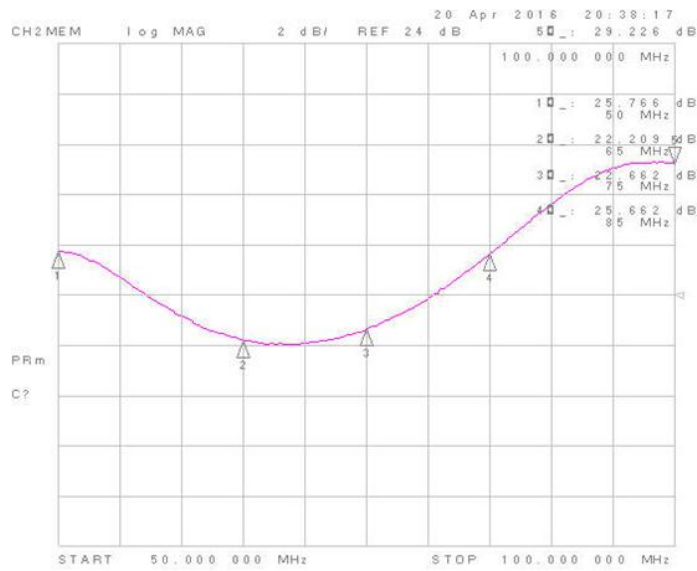
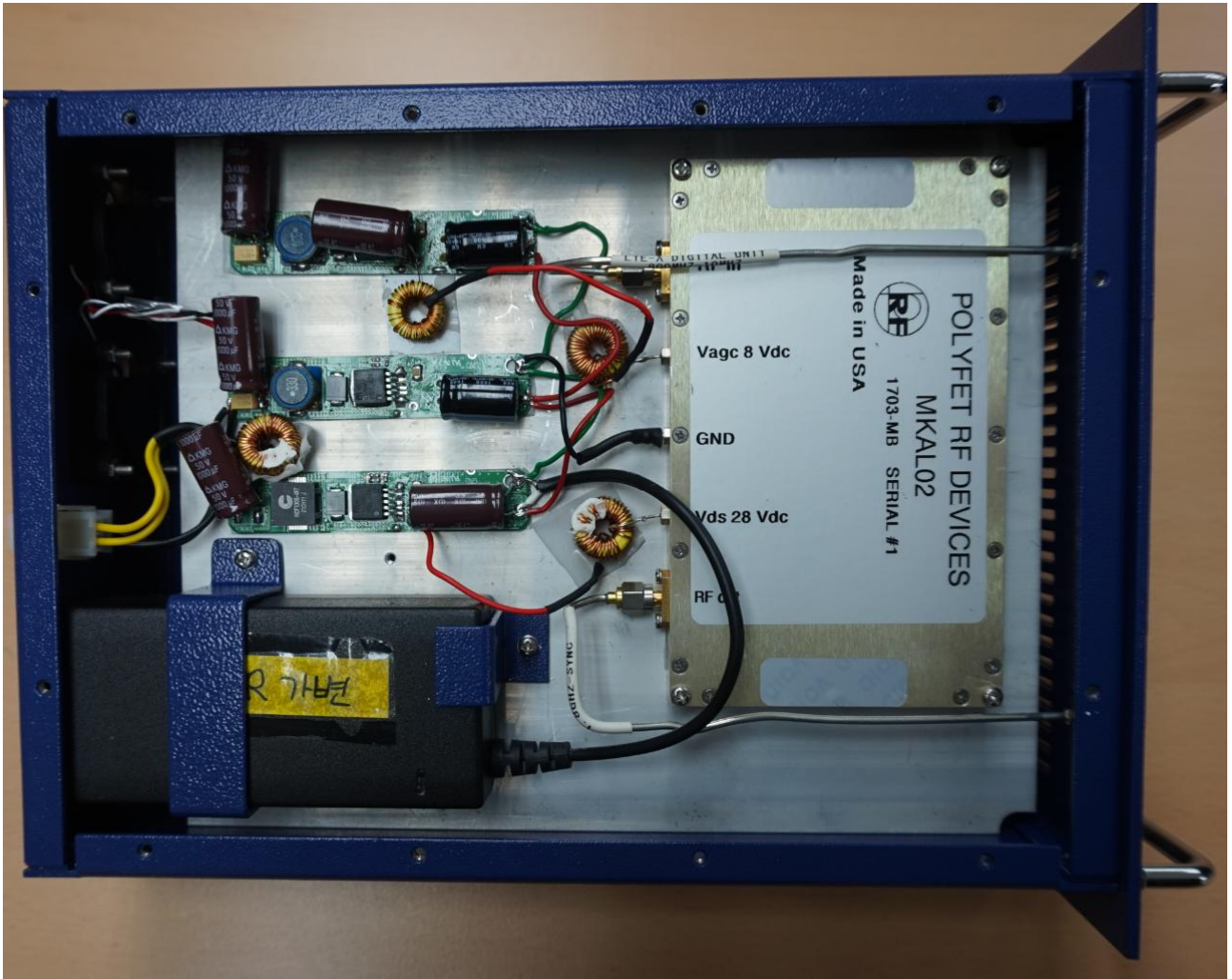
① 성능 검증

㉔ 성능 검증을 위한 환경 구축

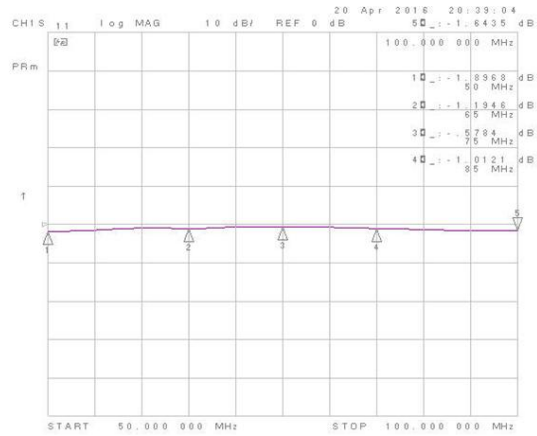
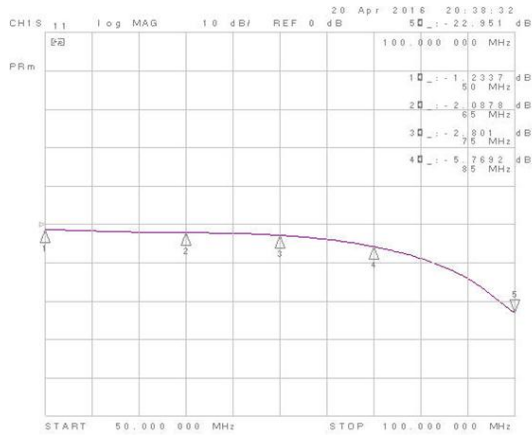
- 계측장비를 활용하여 성능 측정
- Power Supply : PA 및 Driver Amp의 전원
- Spectrum Analyzer 1대 : 출력 Power Spectrum 측정
- Network Analyzer 1대 : 입 출력 매칭 및 Gain 측정
- Power meter 1대 : 출력 Power 측정
- Signal Generator 1대 : 입력 Frequency 및 power
- Drive Amplifier : PA의 충분한 입력 power를 전달하기 위해 사용
- Attenuator : 높은 PA 출력으로부터 계측장비를 보호하기 위한 Atten.



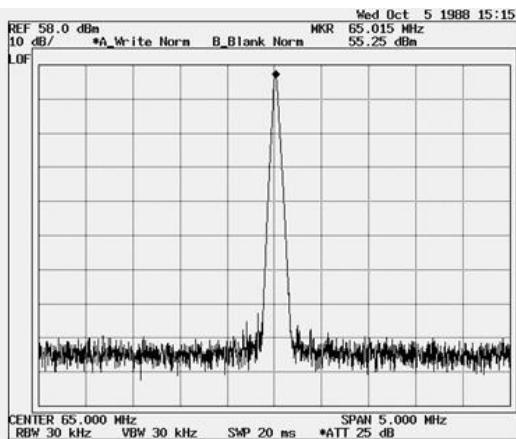
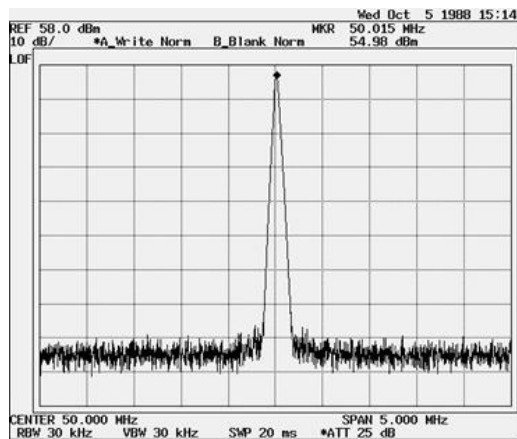
고출력 Power Amplifier 측정 환경



Power Amplifier Gain 측정



Power amplifier In/Output Return Loss 측정



Power Amplifier 주파수별 출력 Power 측정 (50~65MHz)]

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit
Frequency Range	50 ohm Load	30		88	MHz
Output Power	Pin 10	100			dBm
Power Gain	Pout 10W	30			dB
Total Efficiency			40		%
2nd Harmonics			-35		dBc
Load Mismatch Tolerance	VSWR	10:1			dBc
Vdc Voltage				50	V
Current		1.2		2	A

Power Amplifier Specification

Ⓜ Aging Test

Frequency	50MHz	측정온도		Aging Time
		열화상카메라	온도센서	
Pout	50dBm	75°C	75°C	1Hour



Power Amplifier Aging 테스트 환경

Parameter	Condition	Min	Typ.	Max	Unit
Frequency Range	50 ohm Load	10		90	MHz
Output Power	Pin 10dBm	100			W
Power Gain	Pout 10W	30		50	dB
V _{gdc} Voltage		6		7	V
V _{dc} Voltage		25		50	V
Current		1.2		2	A

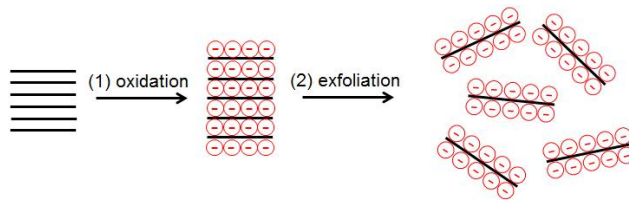
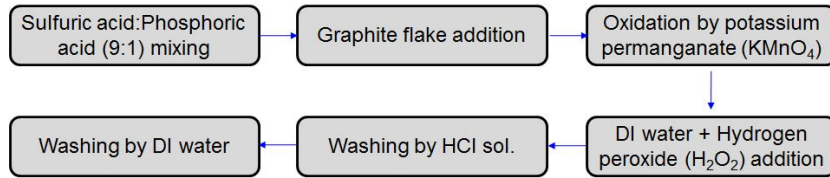
Power Amplifier Aging 테스트 결과

나. Magnetic nanoparticle 및 antibody conjugation

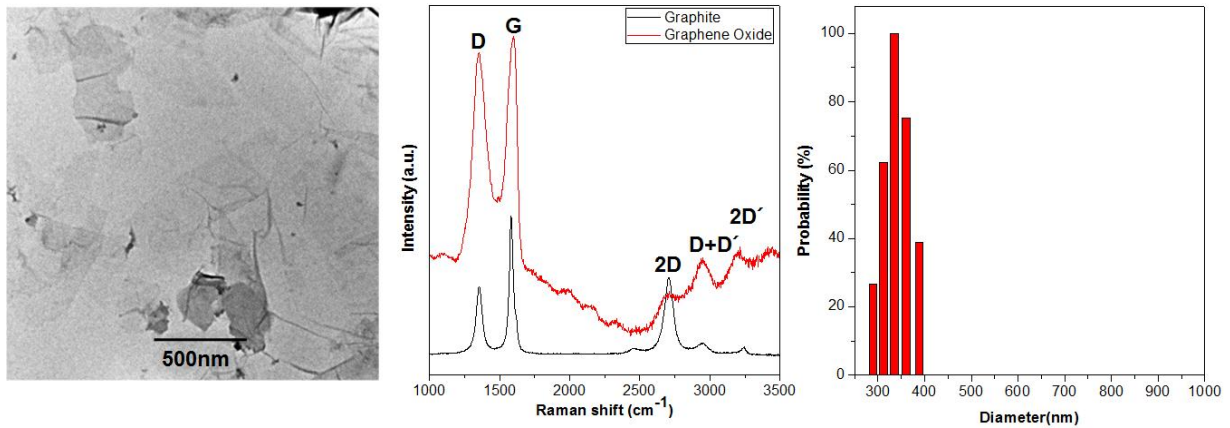
(1) MnFe₂O₄ 나노입자가 결합된 Graphene oxide(GO) 합성

(가) Graphene oxide(GO) 합성 :

GO는 아래 그림과 Modified Hummers method를 사용하여 합성하였다. (참고문헌: D. C. Marcano et al., *ACS Nano*, 2010, 4, 4806-4814).



Graphene oxide 합성방법

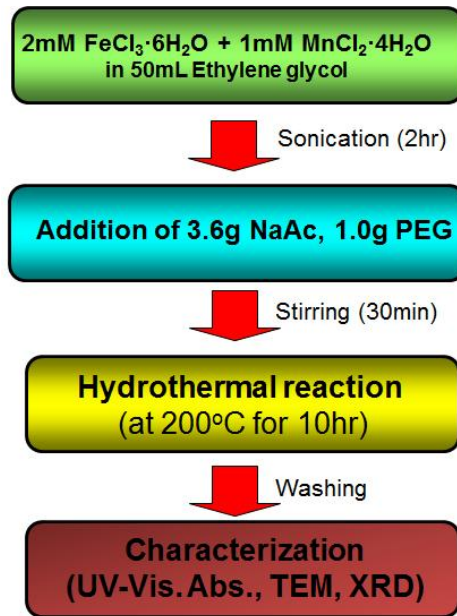


합성된 Graphene oxide의 TEM, Raman spectrum, 및 입도분석 결과

위의 그림은 합성된 GO의 TEM 사진, Raman 스펙트럼 및 입도분석 결과를 보여주고 있다. Raman 스펙트럼 결과에서 나타나듯이 Graphite가 Exfoliation되어 Graphene oxide가 되면서 D-band가 크게 증가하였으며 2D-band가 Low-shift되었음을 알 수 있다. 합성된 GO의 입자 크기는 약 350nm로 매우 균일함을 확인 할 수 있었다.

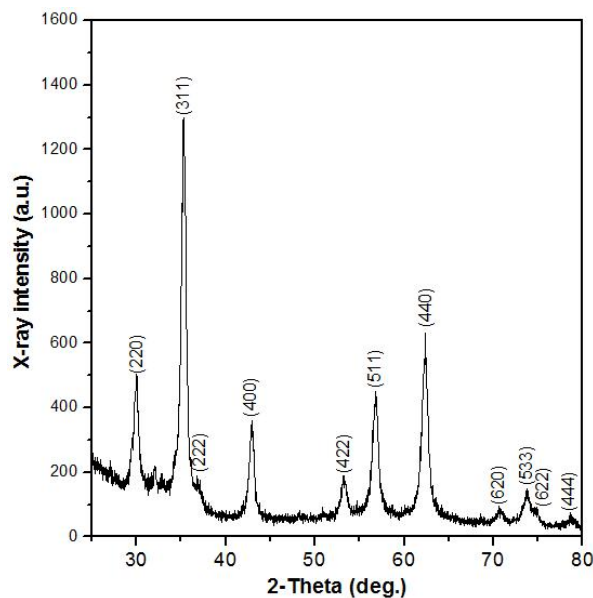
(나) Mn ferrite (MF) 나노입자 합성 :

MF 나노입자는 아래 그림과 같이 Solvothermal 방법을 이용하여 합성하였다 (참고문헌: S. Bai et al., *Carbon*, 2012, 50, 2337-2346).



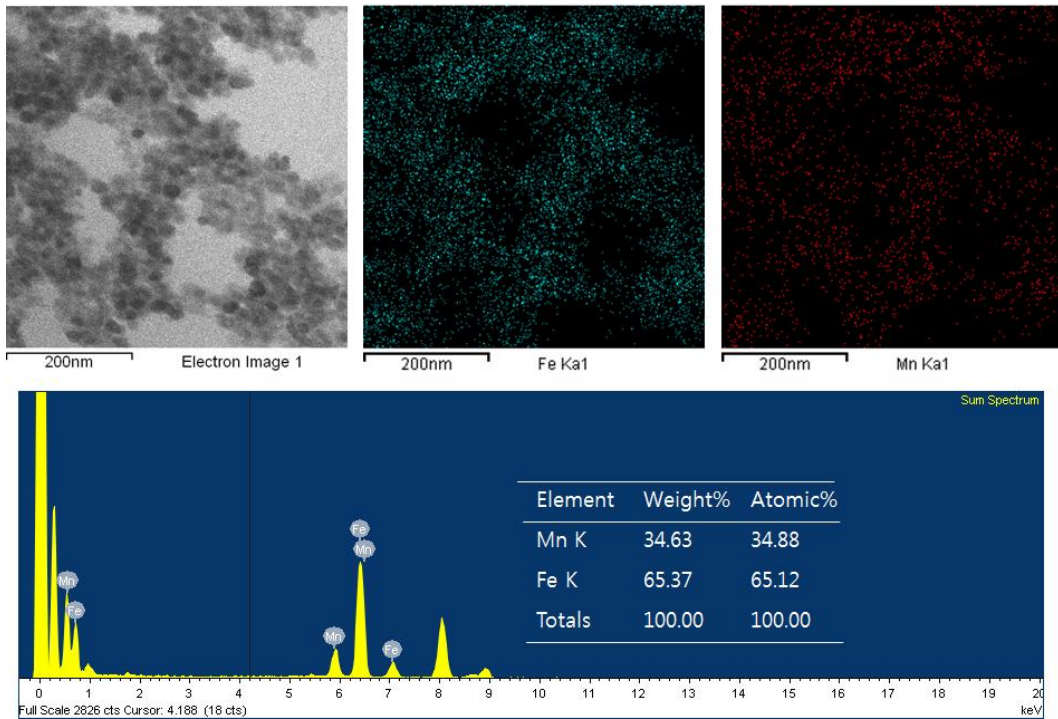
Mn ferrite 합성방법

아래 그림은 합성된 MF 나노입자의 XRD pattern을 보여주고 있으며 Spinel manganese ferrite의 XRD indexing (JCPDS card no. 38-0430)과 잘 일치함을 알 수 있다.



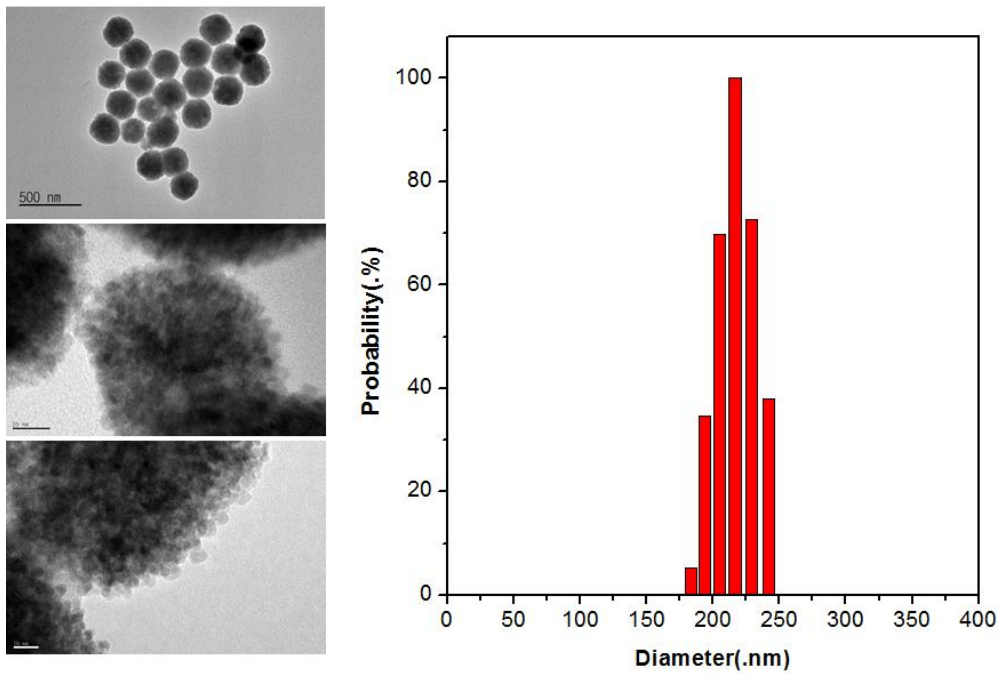
MF 나노입자의 XRD pattern.

그러나 $\text{Mn-Fe}_2\text{O}_4$ 와 Fe_3O_4 는 동일한 Inverse-spinel structure를 갖기 때문에 XRD로는 Mn-ferrite가 합성되었는지 확인하기 어렵다. 따라서 Mn-ferrite에 존재하는 Mn:Fe의 원자비를 확인하기 위하여 [그림 5]와 같이 MF 나노입자의 STEM-EDS (Scanning transmission electron microscope-Energy dispersive X-ray spectroscopy) 측정을 수행하였다. Mn과 Fe원자들은 MF나노입자 전체에 걸쳐 고르게 분포하고 있었으며 Mn-K α 1 peak과 Fe-K α 1 peak을 통해 분석한 결과 MF 나노입자에 존재하는 Mn:Fe의 비는 약 1:3으로 이론적인 Mn-ferrite의 Mn:Fe의 비와 일치함을 확인할 수 있다.



MF 나노입자의 STEM-EDS 측정결과

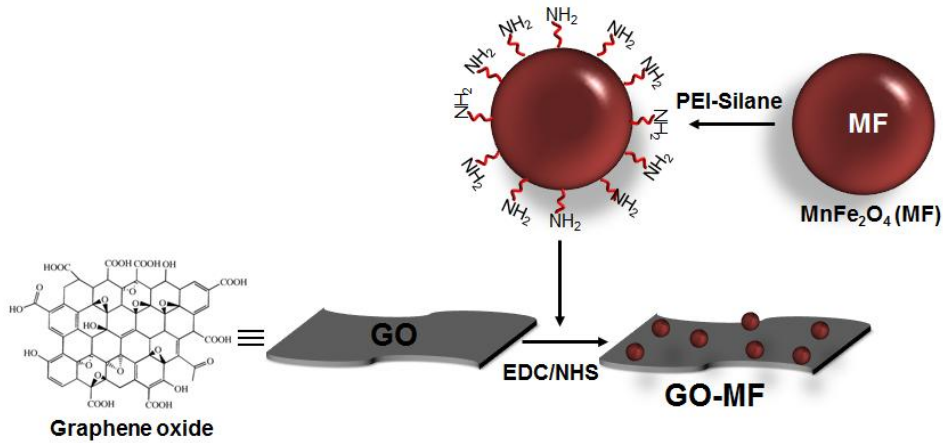
아래 그림은 합성된 MF 나노입자의 TEM 사진 및 입도분석 결과를 보여주고 있다. TEM 관찰 결과에서 알 수 있듯이 약 10nm의 Primary nanoparticles로 구성된 약 200nm 크기의 균일한 입자 사이즈를 갖는 MF assembly가 잘 만들어졌음을 확인할 수 있다.



MF 나노입자의 TEM 사진 및 입도분석 결과

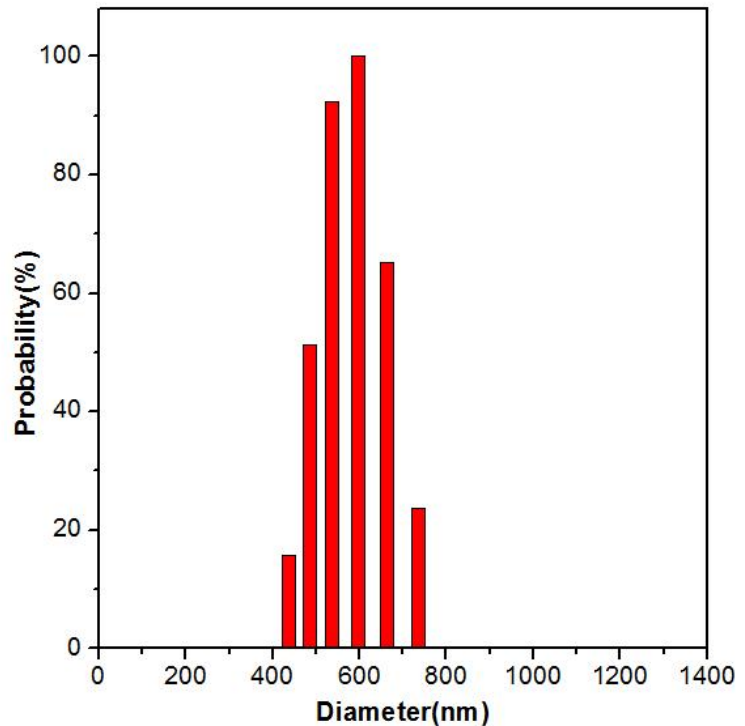
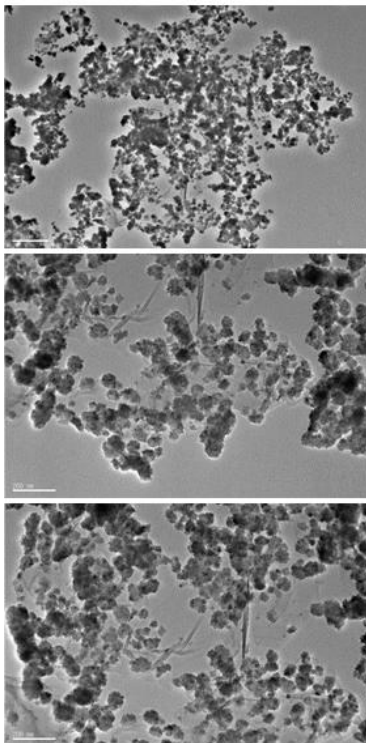
(다) Graphene oxide-Mn ferrite (GO-MF) nanocomposites 개발

GO-MF nanocomposites은 아래 그림과 같이 PEI-silane을 이용해 Amine (NH_2) functional group으로 표면개질한 MF nanoparticle과 GO 표면의 Carboxyl group을 EDC/NHS 반응을 이용하여 공유결합 시킴으로써 합성하였다.



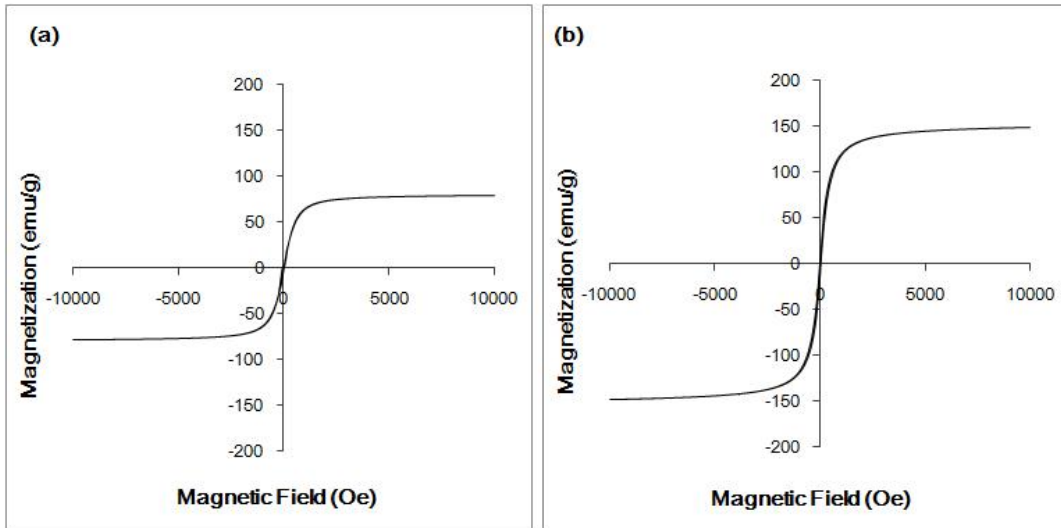
GO-MF 나노복합체의 합성방법에 대한 모식도

아래 그림은 위와 같이 합성된 GO-MF 자성 나노복합체의 TEM 사진 및 입도 분석 결과를 보여주고 있다. GO 표면에 많은 양의 MF 나노입자들이 결합되어 있음을 확인 할 수 있었으며 균일한 입자 크기의 GO 및 MF 나노입자로 인해 합성된 GO-MF 자성 나노복합체의 입자 크기도 약 600nm로 균일함을 확인 할 수 있었다.

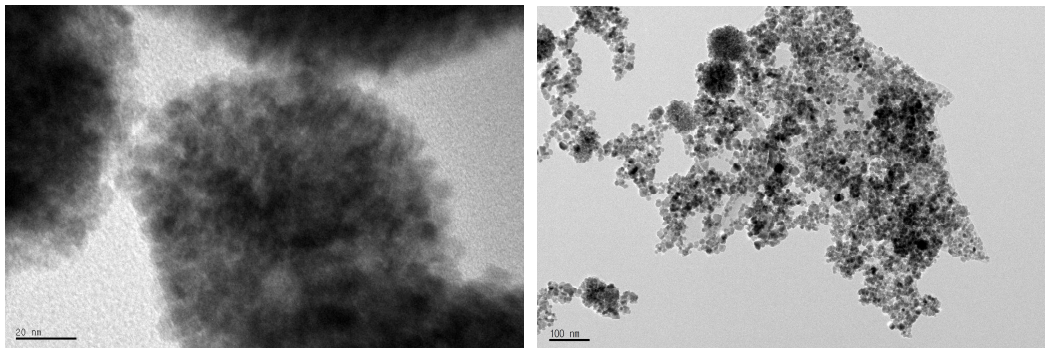


GO-MF 나노복합체의 TEM 사진 및 입도분석 결과

아래 그림은 VSM (Vibrational Sample Magnetometer)을 이용하여 MF 나노입자 및 GO-MF의 자화율을 측정된 결과이며 두 자성 복합체 모두 Superparamagnetic한 자성특성을 나타냈으며 MF의 경우 약 60 emu/g의 자화율을 보이는 반면에 GO-MF는 약 163 emu/g의 강한 자성 특성을 갖는다는 것을 확인 할 수 있었다. 이러한 높은 자화율은 단위면적당 MF의 양이 증가되었기 때문인 것으로 판단된다.



(a)MF와 (b)GO-MF의 VSM 측정결과와 TEM image

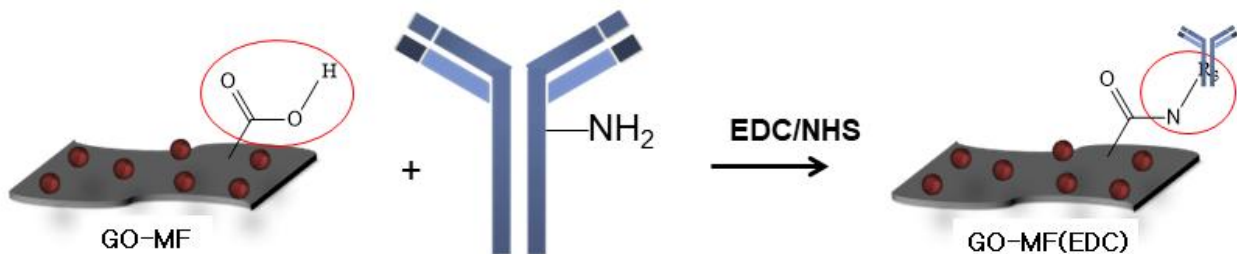


< MF >

< GO-MF >

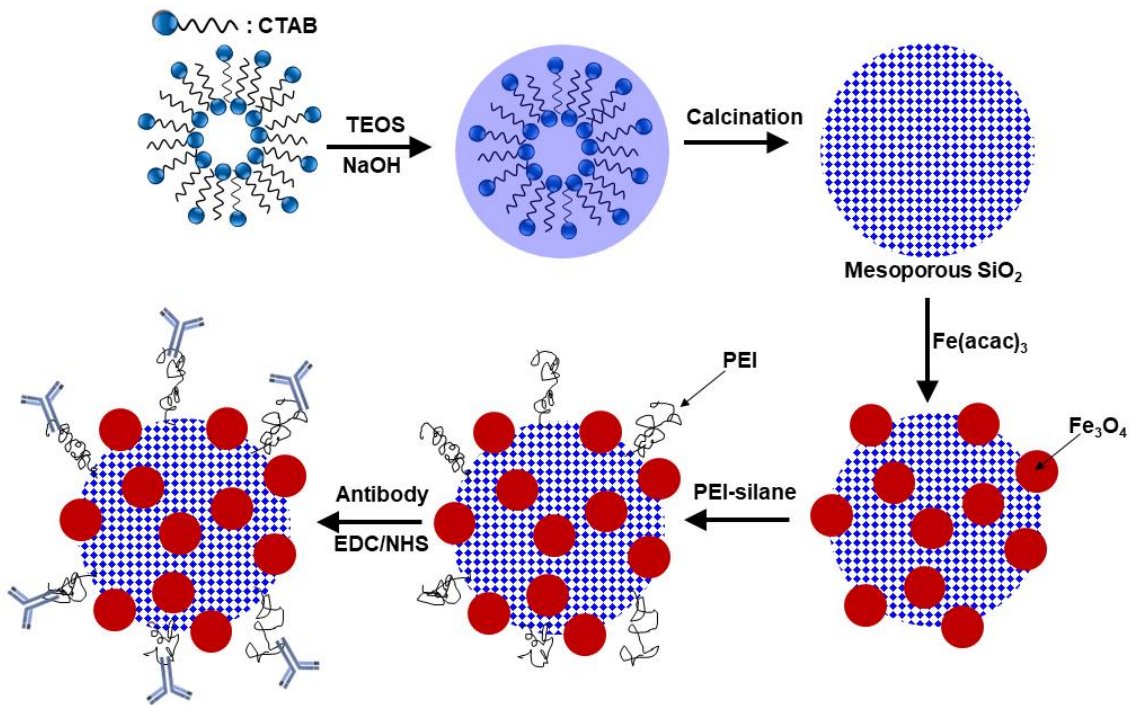
(라) 조류독감 항체가 결합된 GO-MF 합성

GO-MF 나노복합체 표면에는 다량의 Carboxyl group들이 존재하며 이를 조류독감 항체의 Amine group과 EDC 반응을 통해 결합시켰다.



조류독감 항체가 결합된 GO-MF의 합성에 관한 모식도

(2) Mesoporous silica nanoparticles 및 Fe₃O₄ decorated mesoporous silica nanoparticle 합성



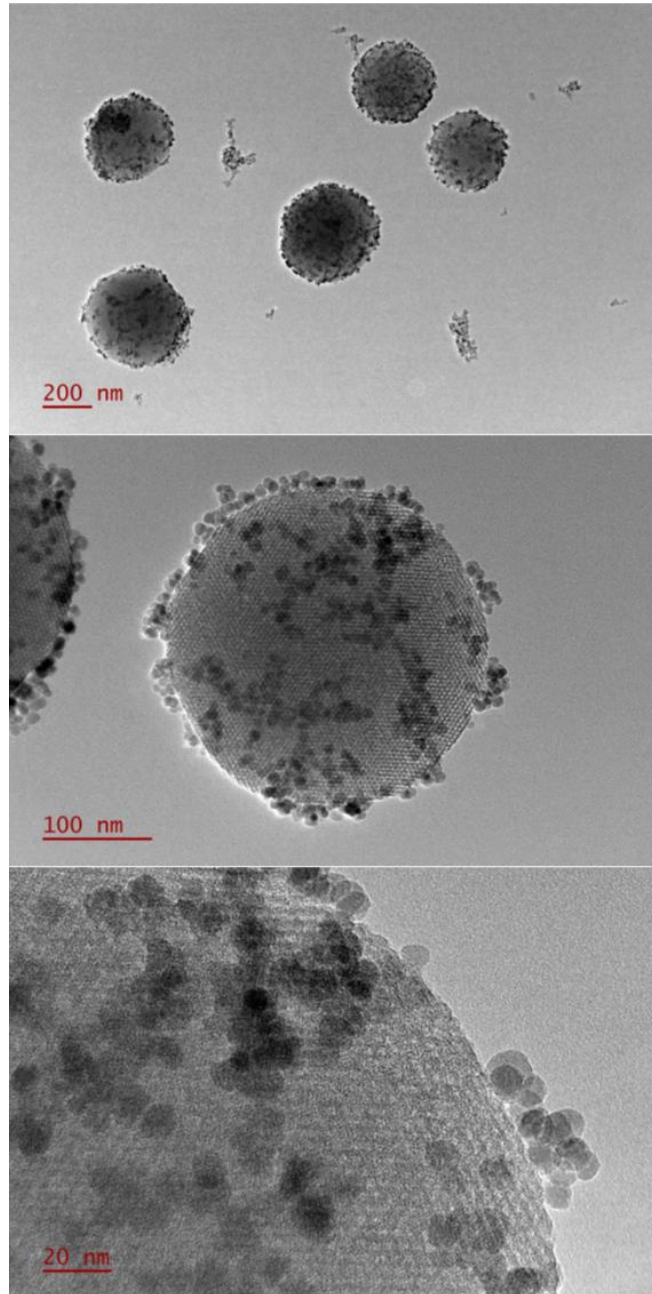
Mesoporous silica nanoparticles 및 Fe₃O₄ decorated mesoporous silica nanoparticle 합성 방법에 관한 모식도

(가) Mesoporous silica 나노입자를 합성 :

Cetyltrimethylammonium bromide(CTAB) 계면활성제를 Template로 사용하였다. 물에 분산된 CTAB 분자들은 임계농도 이상에서 Micelle을 형성하게 되며 Silica 원료인 TEOS를 강염기 조건에서 반응시키면 TEOS micelle을 포함한 Silica 나노입자가 형성되며 이를 Calcination을 통해 CTAB을 제거해 주면 Mesoporous silica가 형성된다.

(나) Fe₃O₄ decorated mesoporous silica 나노입자 합성 :

CTAB이 제거된 Mesoporous silica을 Triethylene glycol(TEG)에 분산 시킨 후 Fe(acac)₃를 첨가하고 약 300 °C에서 반응시키면 Fe₃O₄ 나노입자가 결합된 Mesoporous silica를 합성할 수 있다. 이와 같이 합성된 나노복합체는 다음 TEM 사진과 같이 약 ~ 500 nm의 Mesoporous silica 나노입자 표면에 약 ~ 10 nm의 Fe₃O₄ 나노입자들이 다량으로 붙어 있는 것을 확인 할 수 있다.

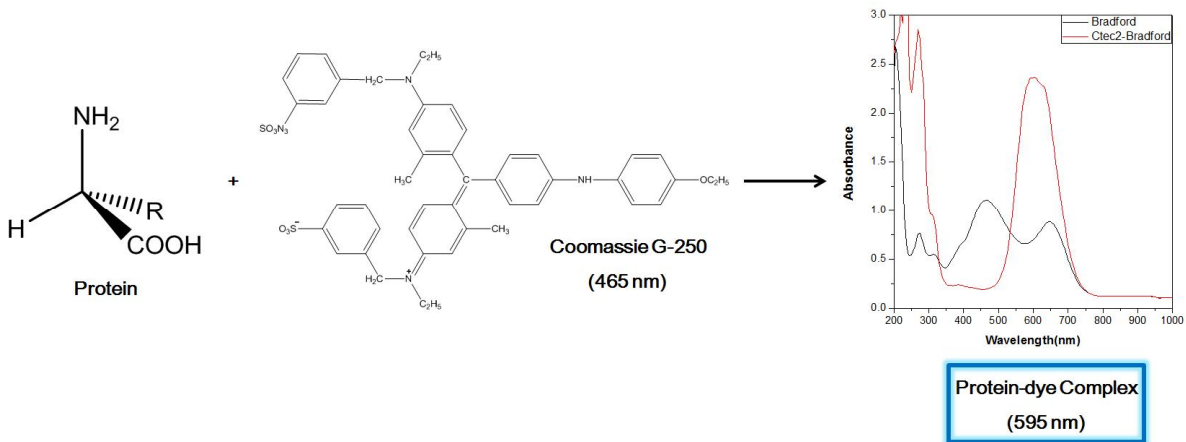


Fe₃O₄ 나노입자가 결합된 Mesoporous silica 나노복합체의 TEM 사진

(다) 조류독감 항체가 결합된 Fe₃O₄ decorated mesoporous silica (Fe₃O₄-mSiO₂) 나노입자 합성 :

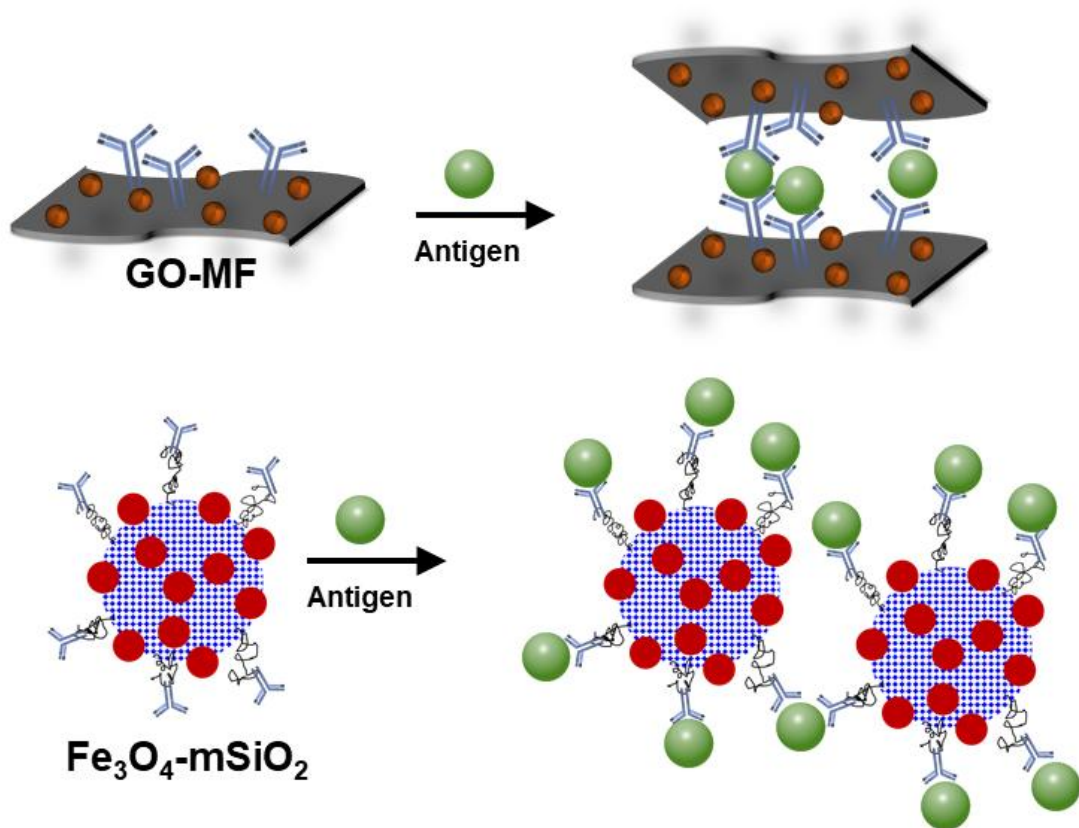
Polyethylene imine(PEI)-silane을 이용하여 Fe₃O₄-mSiO₂ 나노입자 표면에 Amine group을 도입한 후 조류독감 항체의 Carboxyl group과 EDC/NHS 반응을 통해 공유결합을 유도하였다. 항체의 결합 유무는 Bradford assay를 통해 확인하였다.

Bradford assay는 산성 조건에서 Coomassie Brilliant Blue G-250이 단백질과 결합하게 되면 흡수 파장이 595nm로 나타나며 이를 정량하면 단백질의 농도를 결정할 수 있다 ([그림 K-8]).



Bradford Assay의 원리 및 흡광도 변화

(3) GO-MF 및 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-mSiO}_2$ 나노복합체를 이용한 조류독감 항원검출
 항체가 결합된 GO-MF 및 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-mSiO}_2$ 나노복합체에 항원이 결합하면 [그림 14]와 같이 항원을 중심으로 나노복합체들의 응집이 발생하게 되면 이로 인해 자성 나노복합체 표면 가까이 존재하는 물 분자는 더 강한 외부자기장을 경험하게 됨으로써 항원과 결합하기 전과 비교하여 더 큰 T2 감쇠가 발생한다.



GO-MF 및 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-mSiO}_2$ 나노복합체를 이용한 조류독감 항원검출에 대한 모식도

다. 조류 인플루엔자 검증 (오리에서의 검증)

- 3-4주령 오리에 고병원성 조류인플루엔자 [A/waterfowl/Korea/S005/2014 (H5N8) (10^6 EID₅₀/ml)] 를 호흡기로 감염 후 인후두, 총배설강, 조직 (폐, 장) 샘플 을 채취하여 Time-domain NMR 키트의 효능을 검증하였음.

(1) 인후두 샘플 결과

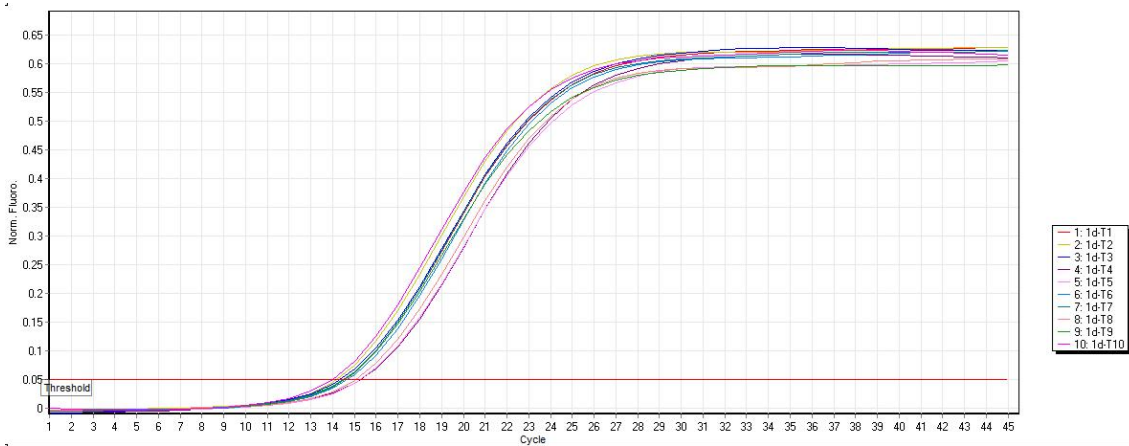
(가) Real-time PCR : H5 특이 TaqMan real-time PCR로 검증 결과 H5N8 고병원성 조류인플루엔자 감염된 오리 (n=10) 에서 1일부터 4일까지 채취한 모든 인후두 샘플에서 바이러스 양성 반응을 보였음. 감염 5일째 인후두 샘플 10개 중 6개가 양성 반응을 보였고, 감염 6일째 인후두 샘플 10개 중 3개가 바이러스 양성이었음. 감염 7일째 모든 인후두 샘플은 바이러스 음성이었음.

(나) Time-domain NMR 키트 : NMR 키트로 검증 시 감염된 오리 (n=10) 에서 1일부터 4일까지 채취한 모든 인후두 샘플은 양성 반응을 보였고, 감염 5일째 채취한 인후두 샘플은 10개 중 6개가 양성 반응을 보였고, 감염 6일째 인후두 샘플에서는 10개 중 2개가 양성 반응을 보였음. 감염 7일째 모든 인후두 샘플은 음성을 보였음.

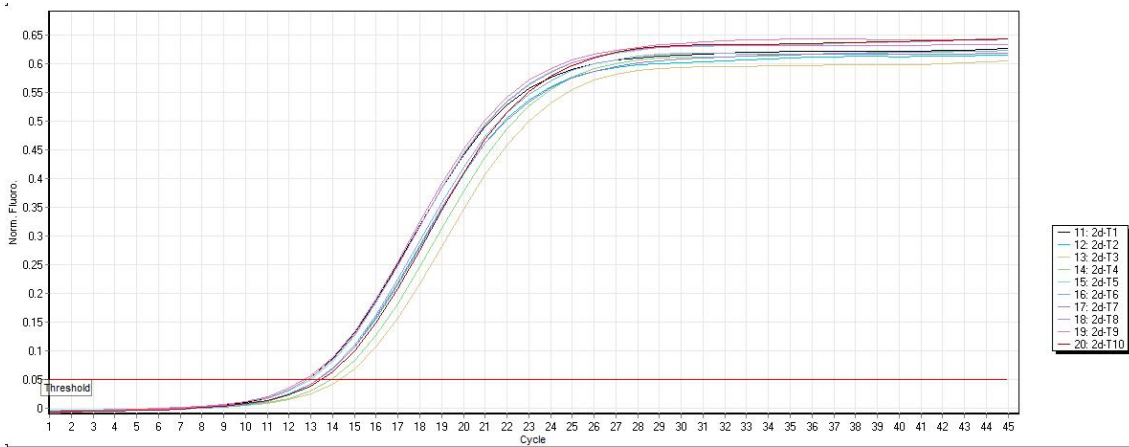
오리 인후두 swab (H5 TaqMan real-time PCR) (ct 값)

Days post infection Sample number	1day	2day	3day	4day	5day	6day	7day
1	14.56	12.87	15.07	15.5	15.54	18.47	-
2	14.22	13.36	13.26	16.45	15.72	-	-
3	14.36	14.38	13.34	16.17	-	-	-
4	15.34	13.98	13.77	15.83	16.49	-	-
5	15.31	12.99	13.44	15.71	15.71	18.08	-
6	14.71	13.35	13.5	15.27	-	-	-
7	14.51	13.4	13.82	15.58	15.69	-	-
8	15.09	12.91	14.05	15.6	15.59	18.32	-
9	14.58	12.78	15.59	15.42	-	-	-
10	13.99	13.52	14.29	15.35	-	-	-

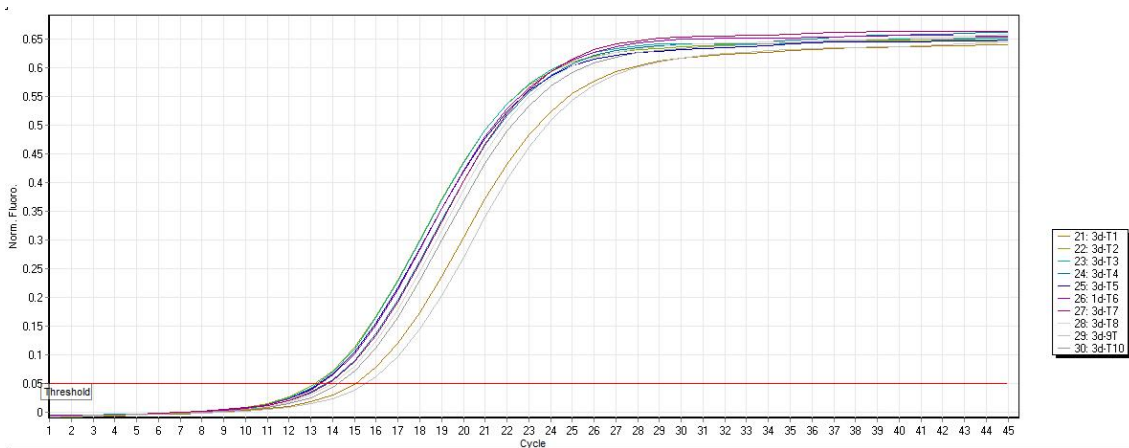
오리 인후두 sample Day1



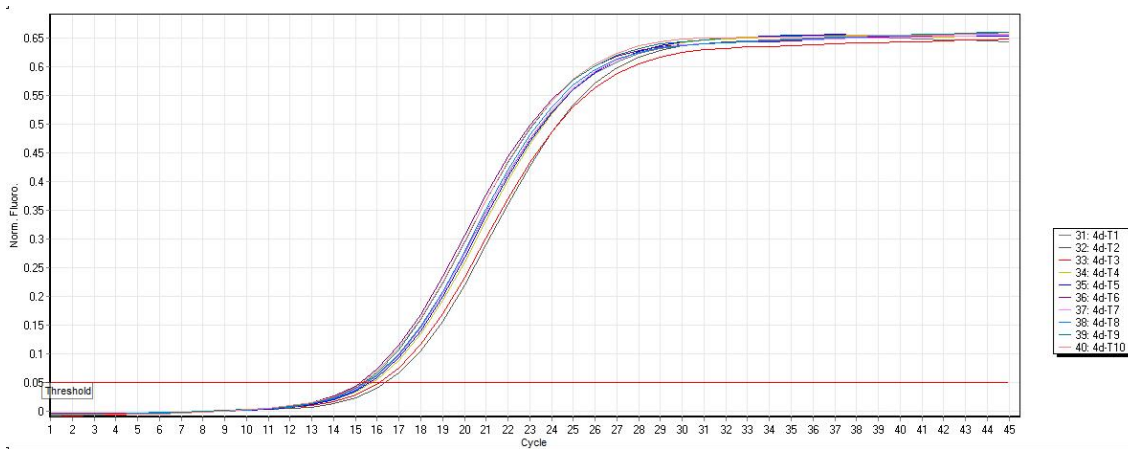
오리 인후두 sample Day2



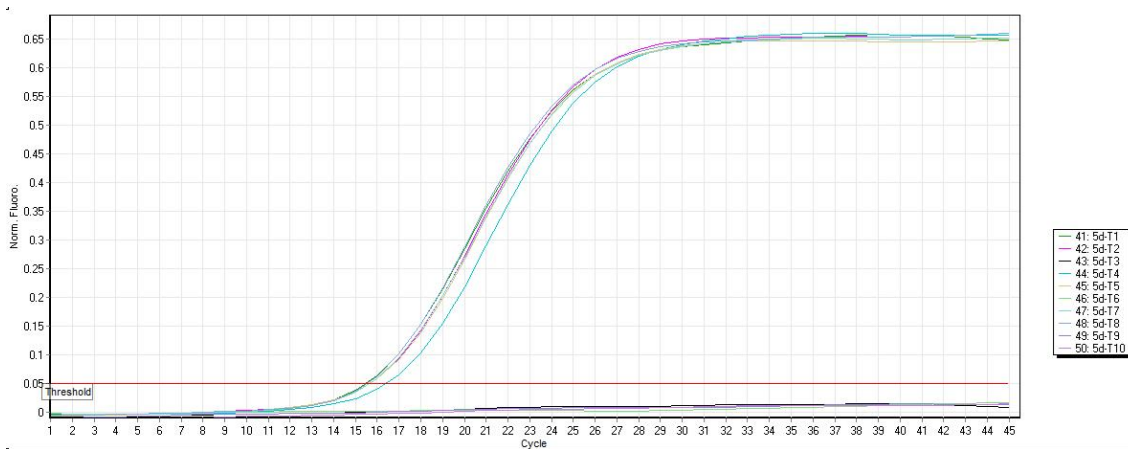
오리 인후두 sample Day3



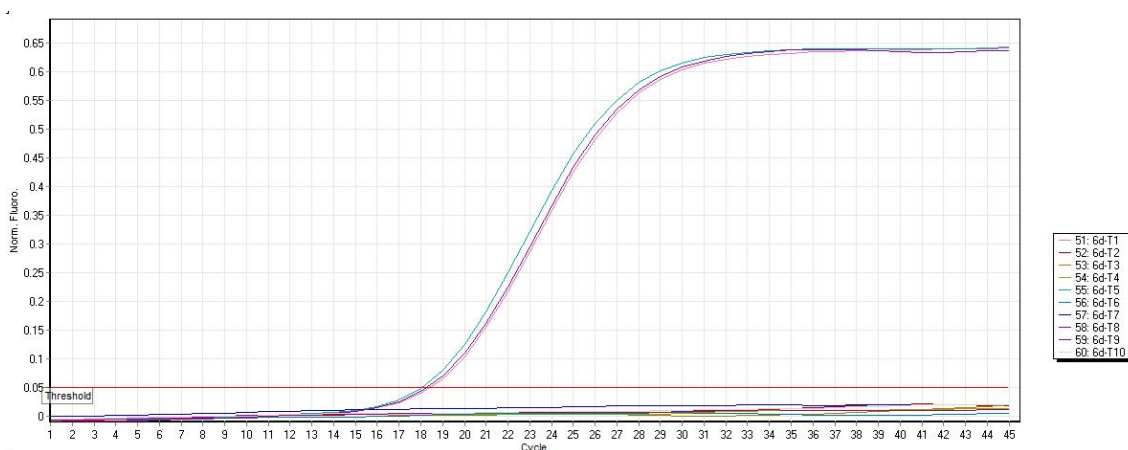
오리 인후두 sample Day4



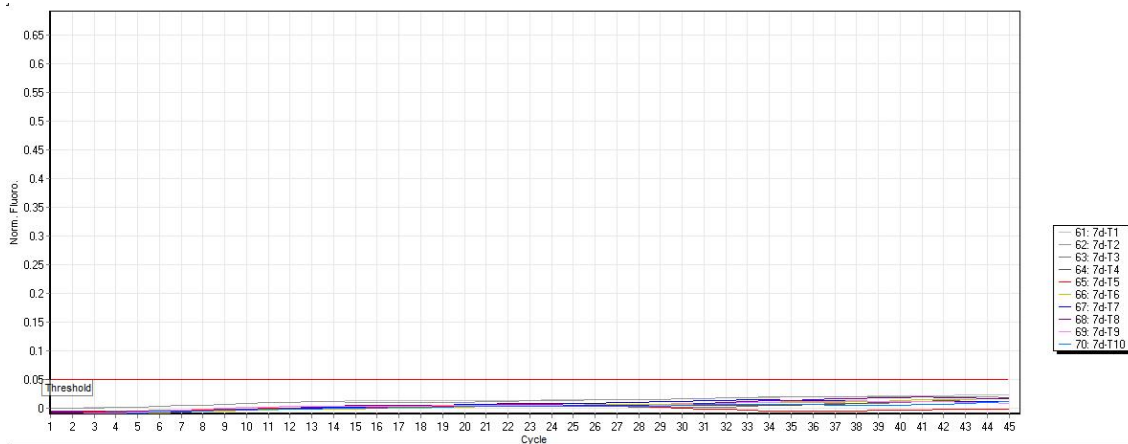
오리 인후두 sample Day5



오리 인후두 sample Day6



오리 인후두 sample Day7



오리 인후두 swab (T2 값)

Days post infection Sample number	1day	2day	3day	4day	5day	6day	7day
1	6.42	4.95	5.63	6.21	7.03	7.15	10.43
2	6.10	5.03	5.28	6.05	7.25	10.1	10.23
3	6.23	5.12	5.49	6.25	10.23	10.00	10.36
4	6.42	5.26	5.37	6.14	7.49	10.20	10.25
5	6.35	5.32	5.39	6.25	7.82	7.28	10.17
6	6.48	5.33	5.67	6.35	10.37	10.12	10.05
7	6.72	5.38	5.73	6.59	7.62	10.03	10.08
8	6.39	5.42	5.79	6.58	7.63	9.93	10.23
9	6.54	5.29	5.62	6.36	10.19	10.32	10.17
10	6.84	5.43	5.82	6.27	10.47	10.02	10.27

(2) 총배설장 샘플 결과

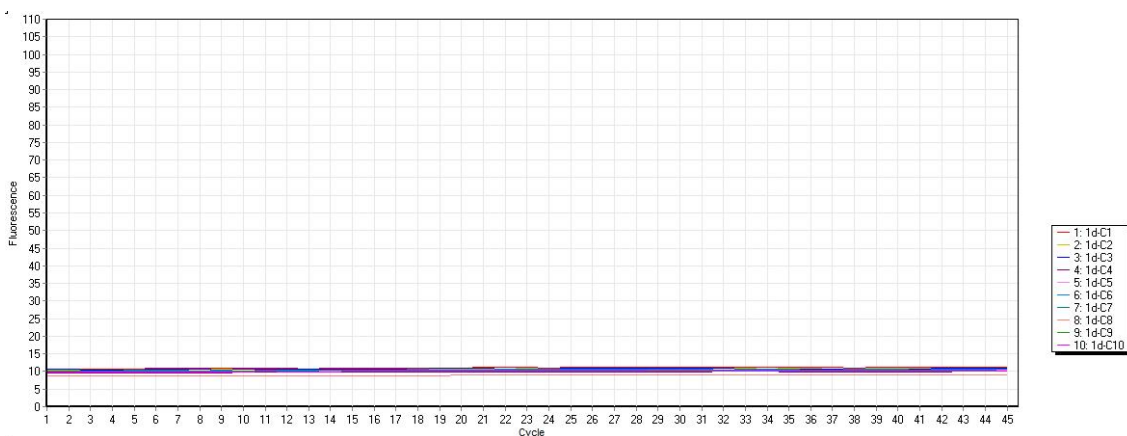
(가) Real-time PCR : H5 특이 TaqMan real-time PCR로 검증 결과 H5N8 고병원성 조류인플루엔자 감염된 오리 (n=10) 에서 3일부터 5일까지 채취한 모든 총배설장 샘플에서 바이러스 양성 반응을 보였음. 감염 6일째 총배설장 샘플 10개 중 6개가 바이러스 양성이었음. 감염 1일, 2일 및 7일째 총배설장 모든 샘플은 음성이었음.

(나) Time-domain NMR 키트 : NMR 키트로 검증 시 감염된 오리 (n=10) 에서 3일부터 5일까지 채취한 모든 총배설장 샘플은 양성 반응을 보였고, 감염 6일째 채취한 총배설장 샘플은 10개 중 5개가 양성 반응을 보였고, 감염 1일, 2일 및 7일째 모든 총배설장 샘플은 음성이었음.

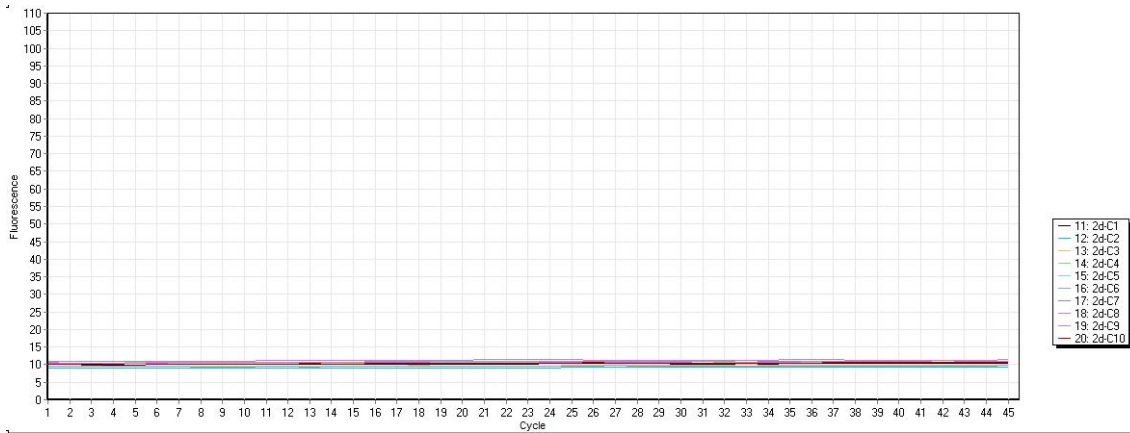
오리 총 배설장 swab (H5 TaqMan real-time PCR) (ct 값)

Days post infection Sample number	1day	2day	3day	4day	5day	6day	7day
1	-	-	14.78	14.18	16.17		-
2	-	-	14.39	14.3	15.78	18.18	-
3	-	-	14.05	14.02	16.21	18.78	-
4	-	-	14.33	14.13	15.43	17.84	-
5	-	-	14.79	13.94	15.25		-
6	-	-	14.98	14.16	14.69	17.98	-
7	-	-	14.87	13.73	15.22	17.67	-
8	-	-	14.9	13.69	15.38	17.76	-
9	-	-	14.66	14.3	14.75		-
10	-	-	14.59	14.2	15.22		-

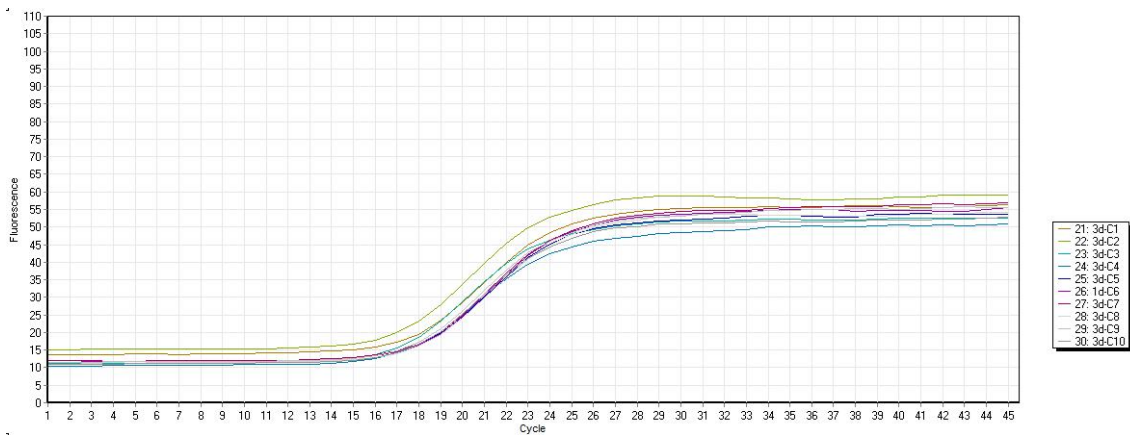
오리 총 배설장 sample Day1



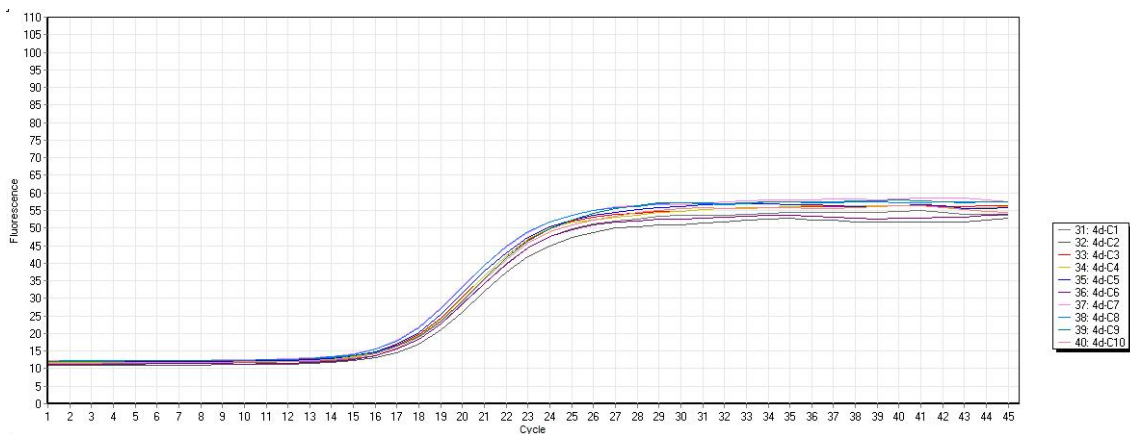
오리 총 배설강 sample Day2



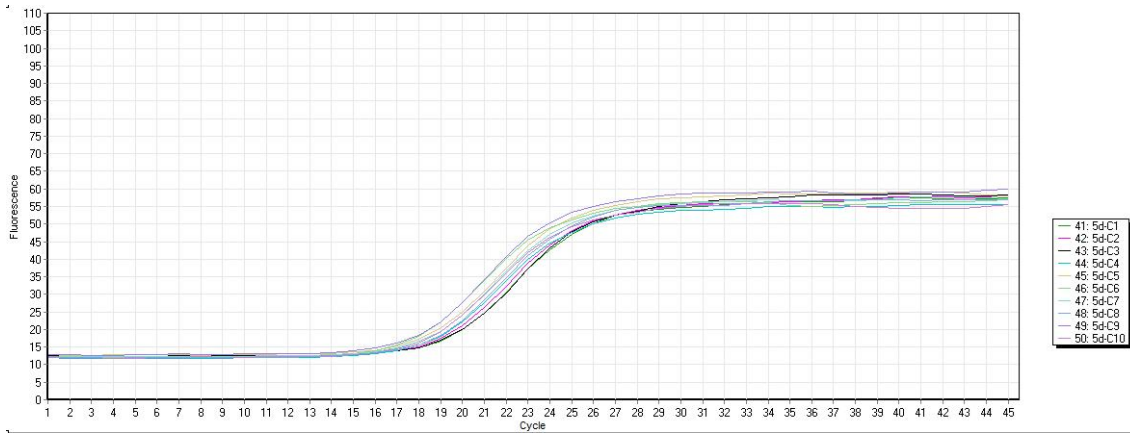
오리 총배설강 sample Day3



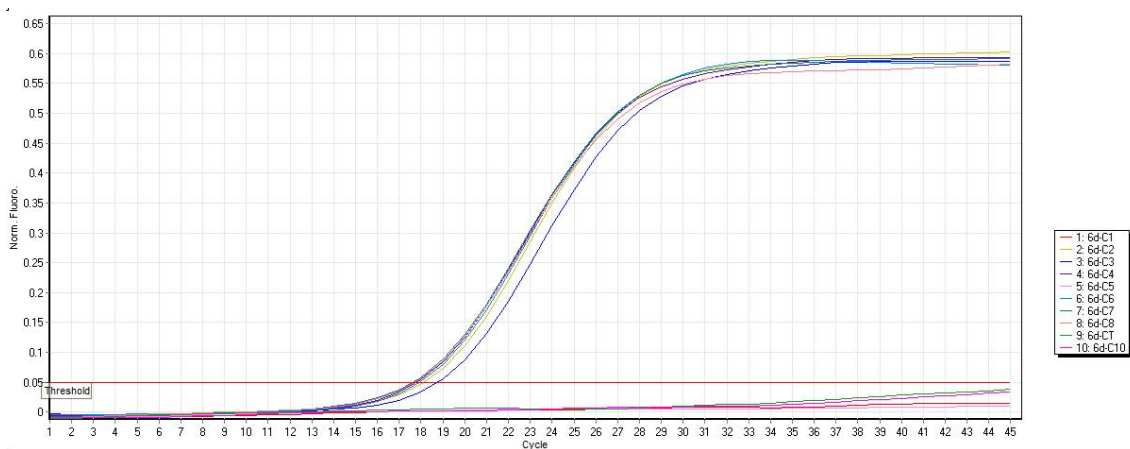
오리 총배설강 sample Day4



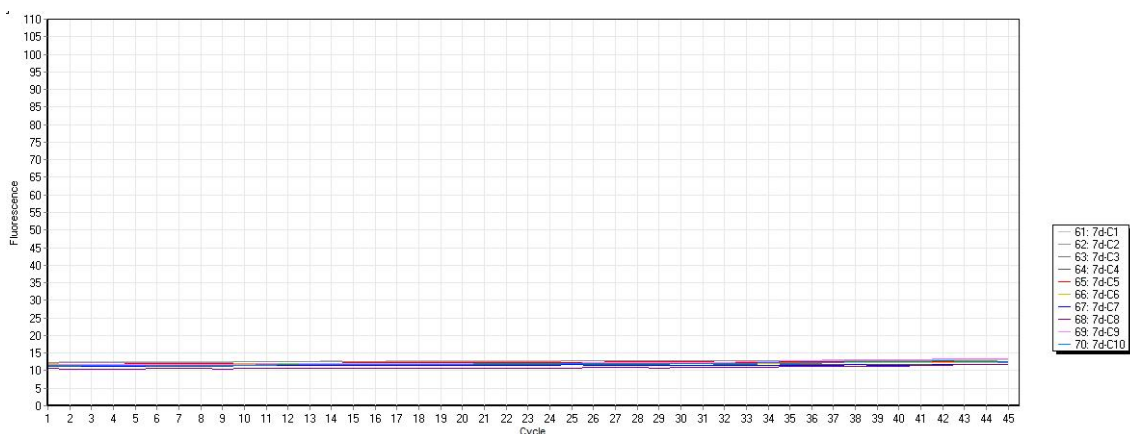
오리 총배설강 sample Day5



오리 총배설강 sample Day6



오리 총배설강 sample Day7



오리 총배설강 swab (T₂ 값)

Days post infection Sample number	1day	2day	3day	4day	5day	6day	7day
1	10.08	10.23	6.21	6.18	6.77	10.29	10.07
2	10.17	10.19	6.13	6.28	6.84	7.35	10.12
3	10.24	10.25	6.18	6.32	6.94	7.21	10.14
4	10.47	10.15	6.35	6.25	6.87	7.18	10.17
5	10.29	10.28	6.07	6.14	6.72	10.35	10.27
6	10.14	10.24	6.36	6.23	6.88	7.34	10.48
7	10.12	10.18	6.27	6.39	6.75	7.25	10.46
8	10.16	10.26	6.05	6.27	6.78	9.83	10.58
9	10.15	10.27	6.38	6.19	6.87	10.32	10.18
10	10.18	10.30	6.18	6.24	6.73	10.27	10.35

(3) 조직 (폐 및 직장) 샘플 결과

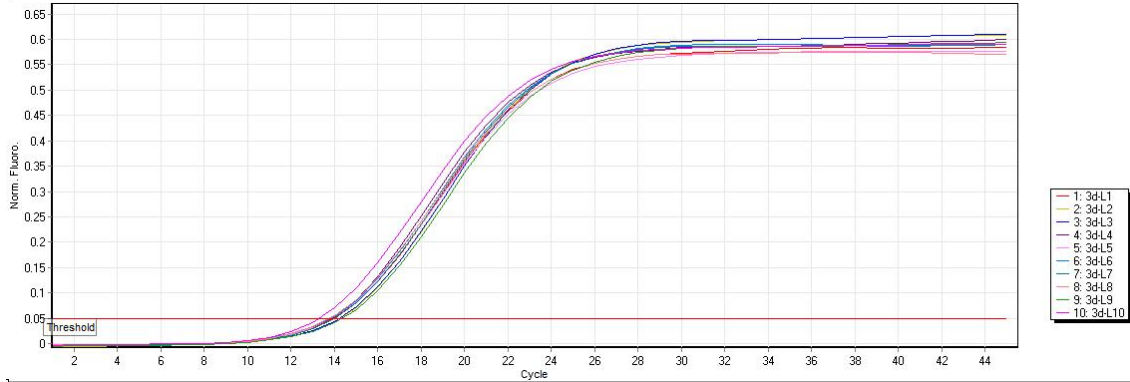
(가) Real-time PCR : H5 특이 TaqMan real-time PCR로 검증 결과 H5N8 고병원성 조류인플루엔자 감염된 오리 (n=10) 에서 3일째 채취한 폐 및 직장 샘플 전체가 바이러스 양성 반응을 보였음.

(나) Time-domain NMR 키트 : NMR 키트로 검증 시 감염된 오리 (n=10)에서 3일째 채취한 모든 폐 및 직장 샘플은 양성 반응을 보였음.

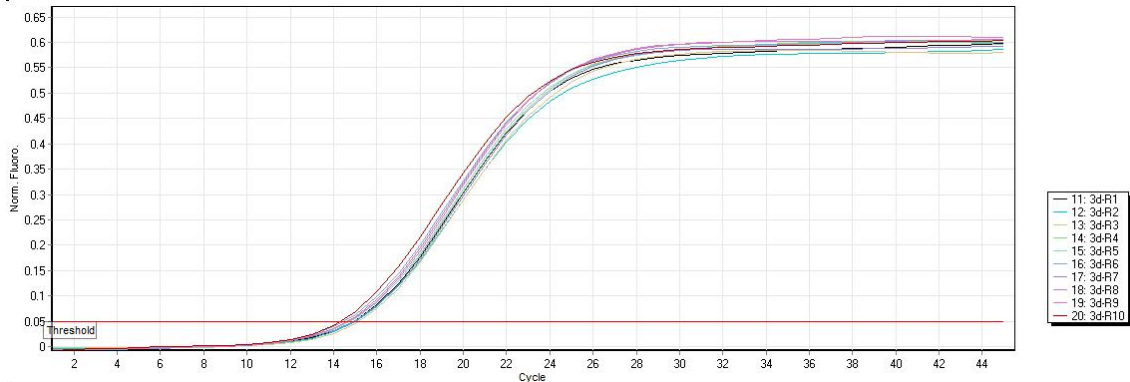
오리 폐 및 결장 조직 (H5 TaqMan real-time PCR) (ct 값) (3 days p.i)

Sample number	조직	폐	직장
1		13.96	14.97
2		14.28	15.03
3		14.24	15.19
4		13.87	14.73
5		13.89	14.82
6		13.84	14.5
7		14.01	14.92
8		13.82	14.68
9		14.35	14.73
10		13.31	14.32

오리 폐 sample day3



오리 직장 sample day3

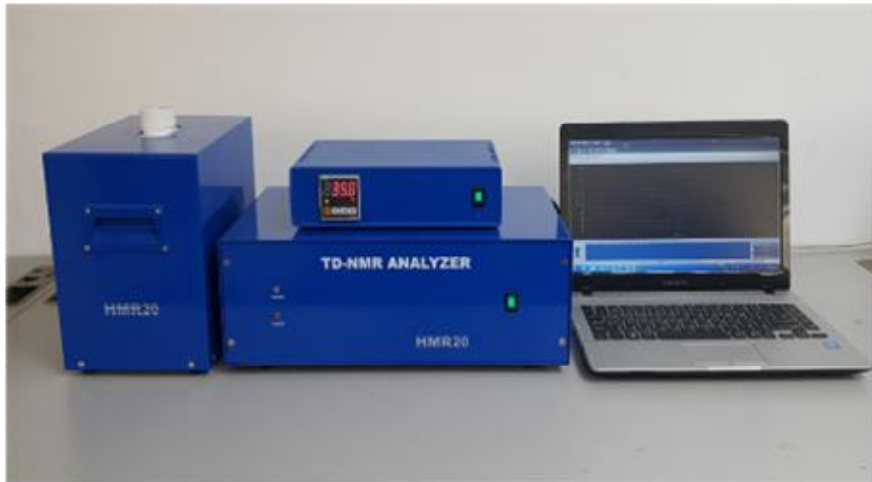


오리 폐 및 결장 조직 (T2 값) (3 days p.i)

Sample number	조직	폐	직장
1		4.85	5.21
2		5.13	5.76
3		5.35	5.89
4		4.67	5.35
5		4.72	5.54
6		4.65	5.63
7		5.21	5.67
8		5.05	5.54
9		5.32	5.59
10		4.95	5.87

2-4. 연구수행 결과

가. 시제품



- 자석, 본체(electric part), 온도 컨트롤러, PC로 구성
- Specification

구동전압	220 VAC
Sample tube	5 mm NMR tube
예열시간	1시간
동작온도	0℃ ~ 40℃ (35℃ 권장)
분석시간	30분 이내
LOD	T2 ≤ 8.0 ms 10 ³ EID50 (신속 면역크로마토그래프(기존) LOD : 10 ⁴ EID50)
LOQ	해당없음
Specificity	H5 항원
Sensitivity	1000 ~ 10000 viral particles/μl
Precision & Accuracy	≥ 95 %

- 기존 진단방법과의 비교

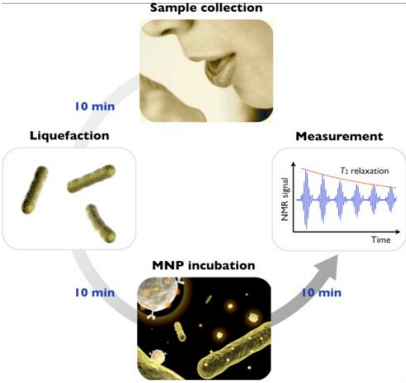
구분	PCR 법(기존 기술)	TD-NMR(개발기술)
진단 검사 시간	6시간 이상	30분 이내
전처리	여과, 원심분리 등 필수	없음
방해 요인	미생물, 세포 등 생화학 물질 전체	없음
민감도	100 viral particle/μl	100 viral particle/μl
검사장소	미생물, 생화학 Lab	현장에서 가능
검사 인원	숙련된 연구원만 가능	제한 없음
가격	대당 수억원	대당 수천만원
응용성	없음	메르스, 코로나19, 돼지열병 등에 응용 가능

- 본 과제를 통하여 시제품 단계까지 완성하였으며 추후 인증 및 제품화 단계 진행 예정

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

가. 기술개발 목표

구분	내용
최종목표	<p>고위험 감염성 바이러스 진단 초고감도 Time-Domain NMR 키트 개발 및 상용화</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Virus : 고병원성 H5 혈청형 Avian Influenza (H5N1,H5N8) ● 검출 민감도 : 10 viral particle in 10 μL sample ● 검출소요시간 : 샘플 전처리를 포함하여 30분 이내 ● 신뢰성 : 민감도 및 특이도 95% 이상 ● 소형화 : 자석 무게 < 1 Kg 
세부목표	<ul style="list-style-type: none"> ○ 주요 기능(또는 규격) <ul style="list-style-type: none"> - 현장 현시(Point-of-Care) 30분 이내 바이러스 detection - 영구 자석 포함 시스템(키트) 무게 1 Kg 이내 , potable Hand-held - smatphone 과 networking ○ 주요 성능치 <ul style="list-style-type: none"> - 검출 민감도 : 10 viral particle in 10 μL sample - 신뢰성 : 민감도 및 특이도 95% 이상 ○ 핵심 기술 <ul style="list-style-type: none"> - 초소형 영구 자석 - micro-fluidics, microcoil for RF and measurement - H5 혈청형 항체 생산 ○ 적용 범위(또는 서비스) <ul style="list-style-type: none"> - 조류 인플루엔자 바이러스 detection, 기타 MERS, 지카 바이러스 진단

나. 성과 목표

성과목표	사업화지표										연구기반지표							
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인 증	학술성과		교육 지 도	인 력 양 성	정책 활용 홍 보		기 타 (타 연 구 활 용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문				학 술 발 표	정 책 활 용	
											SC I	비 SC I						
최종목표	6	6				1						3		3				
1차년도	2													1				
2차년도	2											1		1				
3차년도	2	2										1		1				
소 계	6	2				1						2		3				
종료 1차년도		2										1						
종료 2차년도		2																
종료 3차년도																		
소 계		4										1						
합 계	6	6				1						3		3				

3-2. 목표 달성여부

가. 기술개발 목표

세부연구목표	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
Virus:고병원성 H5형 Avian Influenza(H5N1,H5N8) 확인	25	100	특이성은 H5형 조류인플루엔자에서만 특이적 반응이 나타남을 확인
검출 민감도 : 10 Viral particle in 10 µL sample	25	60	검출 민감도 : 100 Viral particle in 10 µL sample
검출 소요시간 : 샘플 전처리를 포함하여 30분 이내	25	100	검출소요시간 3분 이내로 정확성 90%이상 확인
신뢰성 : 민감도 및 특이도 95% 이상	20	100	PCR법과 TD-NMR법의 비교시 동일성 확인
소형화:자석무게 < 1Kg	5	50	자석무게의 소형화는 가능하지만 소형화시 자석의 균질도,감도가 현저히 떨어져 조류독감바이러스 진단 어려움
합계	100	87.5	

(1) 특이도

Virus type	T ₂ 값 (ms)
H1N2	11.7
H2N2	12.2
H3N2	12.3
H4N6	12.1
H5N8	6.21
H6N1	12.3
H7N9	12.5
H8N4	12.7
H9N2	12.4
H10N4	12.3
H11N9	12.4
H12N1	12.5
H13N5	12.5
H14N9	12.8
H15N4	12.7
PBS control	12.9

- 조류 인플루엔자 H1-H15 바이러스 약 10,000개와 H5 항체표식(융합) 된 자성 나노입자 (magnetic nanoparticle)를 30분 반응 후 T2 측정결과 **H5형 조류 인플루엔자에서만 특이적 반응이 나타남**을 확인

(2) 민감도

virus 양	T2 값 (ms)
1,000,000	2.01
100,000	4.21
10,000	6.33
1000	10.7
100	11.7
1	12.7
PBS control	12.8

- H5N8 바이러스를 PBS로 희석하고(희석배수 1,000,000, 100,000, 10,000, 1,000, 100, 1) H5 항체표식(융합) 된 자성 나노입자(magnetic nanoparticle)를 H5N8 바이러스와 반응시킨 후 T2 측정결과 바이러스 양이 증가함에 따라 T2 시간이 감소함을 확인할 수 있음
- PBS의 T2 값과 비교하여 **검출 민감도 100 viral particle in 10 µL sample** 확인
- 일반적으로 조류로부터 샘플 채취 시 바이러스의 양이 수천에서 수만에 이르므로 상용화를 위한 민감도는 충분함

(3) 신뢰성(정밀도)

오리 인후두 swab, PCR/TD-NMR 양성 유무 (p.105, 108 참고)

Days post infection Sample number	1day	2day	3day	4day	5day	6day	7day
1	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×
2	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×	× / ×
3	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×	× / ×	× / ×
4	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×	× / ×
5	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×
6	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×	× / ×	× / ×
7	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×	× / ×
8	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ×	× / ×
9	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×	× / ×	× / ×
10	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×	× / ×	× / ×

오리 총 배설장 swab ,PCR/TD-NMR 양성 유무 (p.109, 112 참고)

Days post infection Sample number	1day	2day	3day	4day	5day	6day	7day
1	× / ×	× / ×	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×	× / ×
2	× / ×	× / ×	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×
3	× / ×	× / ×	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×
4	× / ×	× / ×	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×
5	× / ×	× / ×	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×	× / ×
6	× / ×	× / ×	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×
7	× / ×	× / ×	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×
8	× / ×	× / ×	○ / ○	○ / ○	○ / ○	○ / ×	× / ×
9	× / ×	× / ×	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×	× / ×
10	× / ×	× / ×	○ / ○	○ / ○	○ / ○	× / ×	× / ×

오리 폐 및 결장 조직, PCR/TD-NMR 양성 유무 (3 days p.i)(p.112, 113 참고)

Sample number	조직	폐	직장
1		○ / ○	○ / ○
2		○ / ○	○ / ○
3		○ / ○	○ / ○
4		○ / ○	○ / ○
5		○ / ○	○ / ○
6		○ / ○	○ / ○
7		○ / ○	○ / ○
8		○ / ○	○ / ○
9		○ / ○	○ / ○
10		○ / ○	○ / ○

- Real-time PCR과 비교하여 거의 모든 샘플에 대하여 95% 이상 동일한 결과가 나타남
(인후두 swab 6day No.8, 총배설장 swab 6day No.8 제외)

나. 성과 목표

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인 증	학술성과			교육 지 도	인 력 양 성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기술 료	제품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SCI	비 SCI						
단위	건	건	건	건	백만 원	백만 원	백만 원	백만 원	명	백만 원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치	0.25	0.25				0.4							0.1						
최종목표	6	2				1						2		3					
연구기간내 달성실적	4					1			3			1		3					
달성율(%)	66					100						50		100					

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- 본 과제는 기존의 면역크로마토그래프 kit와 달리 본과제는 T2 값으로 진단하는 관계로 현재 검역본부에 고시가 없어 관계자와 허가 시 민감도 및 특이도를 상의하여 추진이 필요함
- 조류독감 바이러스 진단용 초고감도 TD-NMR (Time-Domain 핵자기공명) 자석의 소형화를 시도하였으나 소형화시 자석의 Homogeneity, Sensitivity, Resolution 등 자석의 성능 저하를 초래하여 조류독감 바이러스 진단 여부에 사용하기는 다소 미흡. 이에 향후 연구개발을 통해 Halbach array 및 소형초전도자석 등 조류독감 바이러스 진단이 가능한 성능 좋은 소형자석의 개발이 필요함
- 현재 구동전압은 220 VAC, 차량을 이용한 운반 후 사용이 가능하도록 12 VDC에 동작하도록 개발 가능

4. 연구결과의 활용 계획 등

4-1. 연구개발 결과의 활용방안

가. 국내외 시장현황

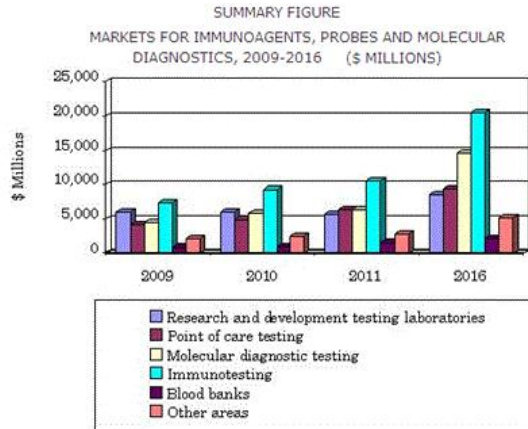
전세계 분자진단 시장 규모는 2021년 44조원에 이를 것으로 예측되고 있으며, 그 중 에이즈(HIV-1) 분자진단키트는 단일품목으로는 헌혈 스크리닝 검사를 제외하고 가장 큰 품목으로 2016년 시장규모가 1.7조로 추정되고 있다.

분자진단 영역별 시장 규모는 아래와 같다 (백만달러)

	2007	2008	2009	2014	CAGR% 2009-2014
Pharmaceutical/biotech companies	5,000	5,730	6,500	14,130	16.8
Diagnostic companies	3,240	3,850	4,430	8,520	14.0
Healthcare centers	900	1,020	1,170	2,200	13.5
Equipment manufacturers	1,260	1,430	1,580	2,870	12.7
Special technology providers	570	660	720	1,480	15.5
Total	10,970	12,690	14,400	29,200	15.2

Source: BCC Research

- ◆ (주)글로벌인포메이션 "면역측정 및 유전자 프로브용 표지약제와 결합약제" 보고서에서는 세계 체내진단 의약품 및 체외진단 의약품 응용 시장 규모가 2009년 253억 달러에서 2010년 296억 달러로 확대되었다고 분석했다
- ◆ 또 이 시장 규모는 2011년 335억 달러에서 연평균 성장률(CAGR) 12.5%로 확대되어 2016년 603억 달러에 도달할 것으로 전망된다.
- ◆ 면역제, 프로브(Probe), 분자진단 시장은 6개 부문으로 분류된다. 그 중 3개 부문이 체외진단 의약품 관련 부문으로, 연구개발 실험실, Point of Care(POC), 분자진단검사 부문이다. 나머지 3개 부문은 체내진단 의약품 관련 부문으로, 면역검사, 혈액은행, 기타 부문이다. 각 부문의 2011-2106년 시장 규모 예측은 다음과 같다.
 - 연구개발 실험실 부문은 2011년 57억 달러 규모에 도달하고, 이후 연평균 성장률(CAGR) 8.4%로 성장해 2016년 86억 달러를 기록할 것
 - Point of Care(POC) 부문은 2011년 64억 달러 규모에 도달하고, 이후 연평균 성장률(CAGR) 8.1%로 성장해 2016년 약 94억 달러를 기록할 것
 - 분자진단검사 부문은 2011년 64억 달러 규모에 도달하고, 이후 연평균 성장률(CAGR) 17.8%로 성장해 2016년 약 146억 달러를 기록할 것
 - 면역검사 부문은 2011년 106억 달러 규모에 도달하고, 이후 연평균 성장률(CAGR) 14.1%로 성장해 2016년 204억 달러를 기록할 것
 - 혈액은행 부문은 2011년 16억 달러 규모에 도달하고, 이후 연평균 성장률(CAGE) 5.9%로 성장해 2016년 21억 달러를 기록할 것
 - 마지막으로 기타 부문은 2011년 29억 달러 규모에 도달하고, 이후 연평균 성장률(CAGR) 12.7%로 성장해 2016년 52억 달러를 기록할 것으로 예측된다.



나. 국내의 시장 창출

o 본 기술 제품은 바이러스 진단 분야에서, 기존의 PCR을 활용한 RNA 검사법과는 매우 차별화된 제품으로서 하기 순서 단계로 시장을 창출

- 1 단계: 검역원에 진단 키트로 허가 등록
- 2 단계: 국외 수의 연구 기관 성능 시험 계약
- 3 단계: 성능 인정 후, 국내외 Certification 등록
- 4 단계: 국내외 수의 연구 기관 및 수의과 대학에 각각 Demonstration 기기 제공
- 5 단계: 나라 장터 및 민간 수요처에 판매 공급 개시

o 국내 외 관련 전시회 (Pittcon, Achema, Analytica 등), 관련 학회 (International Chemical Society, International Magnetic Resonance Society), 웹 사이트 (Google, Alibaba, Direct Industry)등을 통한 홍보

o 각종 Certification (TÜV)획득, Web-Site Index(Google,Bing) 등재

- 대한 수의학회 ,의학회 산하 대한 감염 학회 등 홍보 보급
- 대한 화학회 (KCS) 국산기기 인증제 활용 전국 생화학 연구실 보급
- 생화학 분자 생물학회 홍보 전국 생물 관련 연구실 보급
- 한국 화학 관련 학회 연합회 홍보 (대한화학회,화학학회,고분자학회,공업화학회,세라믹학회)

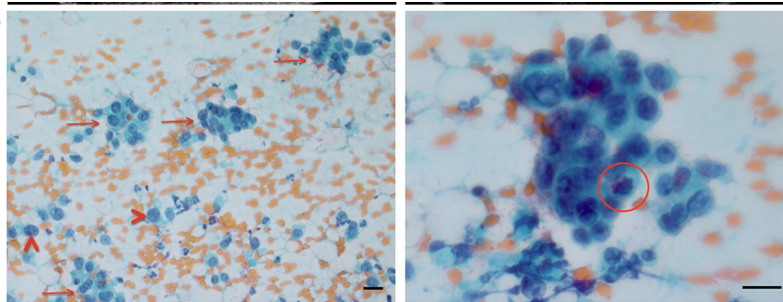
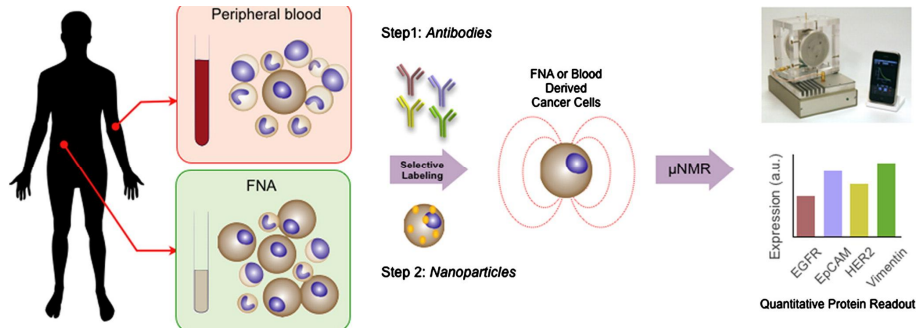
다. 사업화 계획 및 기대효과

- 제품 가격(예상) : 2,500 만원
- 가금류 농장(주하림, (주)참프레 등 제휴 농장) 및 검역기관으로의 판매

구 분	사업화 년도		
	기기 등록인증 후 1년	기기 등록인증 후 2년	기기 등록인증 후 3년
사업화 제품	바이러스진단용 Kit (System)	바이러스진단용 Kit (System)	바이러스진단용 Kit (System)
투자계획(백만원)	2,000	2,800	6,250
판매 계획 (백만원)	내 수	2,000 (80대)	4,000 (160대)
	수 출		1,000 (40대)
	계	2,000	4,000
고용 창출(명)	10	20	30

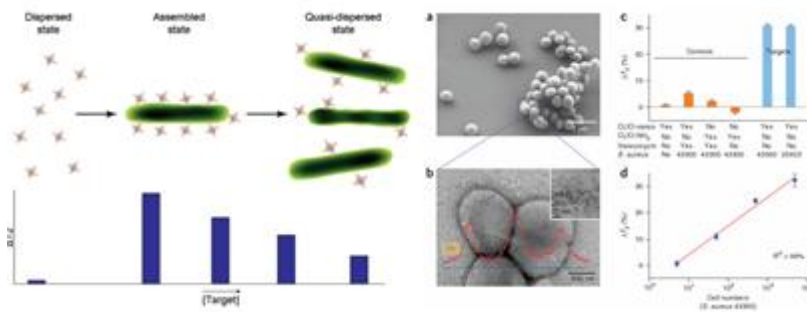
4-2. 기대성과 및 파급효과
가. 기술적 측면

◆ 암진단

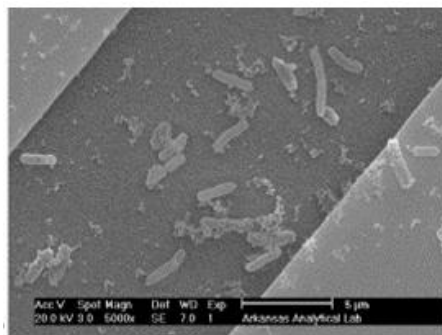


magnetic nanoparticle 과 결합되어 cluster를 형성한 암 세포 사진

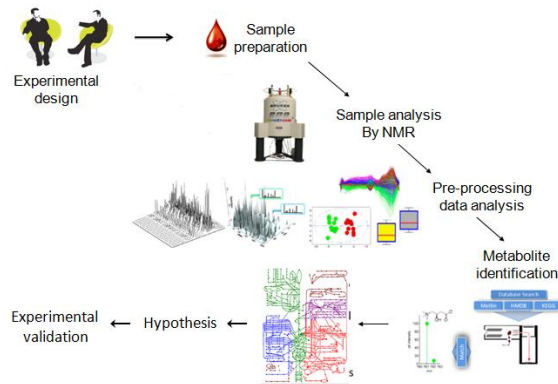
◆ 박테리아 진단



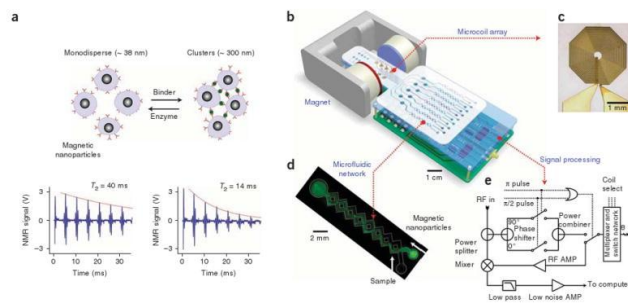
◆ Food sample 에서의 E.Coli(대장균) 검색



◆ metabolomics 연구

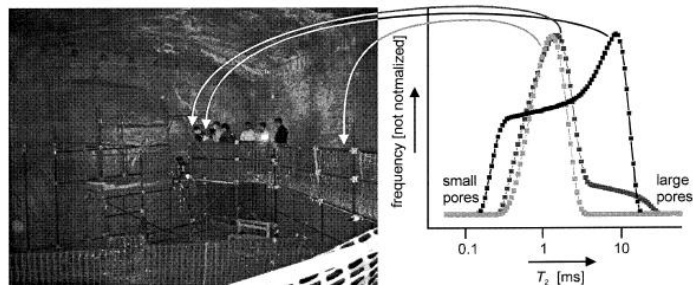


◆ 세포의 molecular analysis

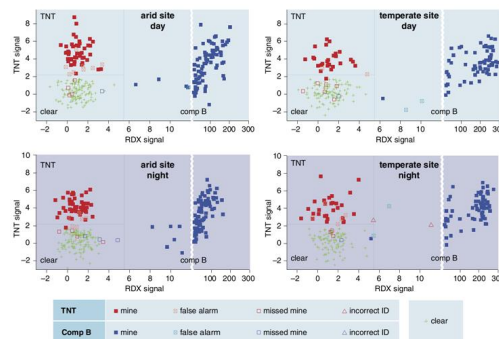


◆ 건축재 등과 같은 재료 분석 연구

Analysis of historical porous building materials by the NMR-MOUSE



◆ Nuclear Quadrupole Resonance Detection of Explosives



나. 경제적·산업적 측면

분자 진단 세계 시장 규모는 2015년 약 71.5억 달러에서 연 평균 12.6% 성장률을 보이고 있으며 2017년에는 약 90억 달러에 이를 것으로 전망, 국내 시장은 2015년 약 826억 원에서 2017년 1,000억 원에 이를 것으로 전망됨

(출처 : Frost & Sullivan, Analysis of global in vitro diagnostics market, 2014)

붙임. 참고문헌

N. Sun et al. / Solid-State Electronics 84 (2013) 13 - 21

J. AM. CHEM. SOC. 9 VOL. 125, NO. 34, 2003

L. Zheng et al. Biosensors and Bioelectronics 91 (2017) 46 - 52

Angew. Chem. Int. Ed. 2008, 47, 4119 - 4121

Nature biotechnology 2002, 20, 816 - 820

S.Y. Yang et al. / Journal of Virological Methods 164 (2010) 14 - 18

MIN ET AL. ACS Nano, VOL. 6 ' NO. 8 ' 6821 - 6828 ' 2012

Z.-X. Luo et al. / Trends in Analytical Chemistry 83 (2016) 94 - 102

Charalambos Kaittanis, Nano Lett., Vol. 7, No. 2, 2007, 380 - 383