

***Integrated Front End electronics
for Cellular Signal Recording Systems Based
on Diamond Microelectrode Arrays***

Relatore: Prof. Diego Gamba

Co-relatore: Dott. Angelo Rivetti

Candidato: Thanushan Kugathasan

Introduzione

Obiettivo

Studiare la fattibilità di un'elettronica integrata di Front End per amplificare e filtrare i segnali elettrici cellulari letti da microelettrodi in diamante.

Motivazione

Attualmente i microelettrodi sono opachi e quindi non permettono la registrazione simultanea di segnali bioottici e bioelettrici.

È in fase di studio un microelettrodo di diamante reso conduttore tramite il drogaggio con idrogeno.

Le proprietà più importanti sono:

- Biocompatibilità
- Trasparenza
- Alta rugosità superficiale che permette un migliore accoppiamento cellula – elettrodo introducendo un basso rumore.

Quindi è necessario un'elettronica di lettura che introduca nella fase di amplificazione un basso rumore.

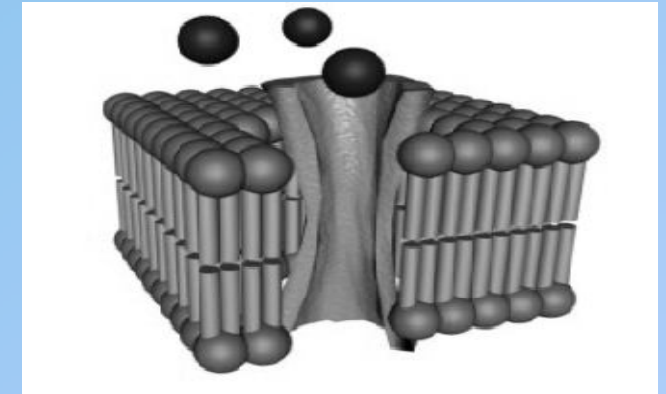
Fasi del lavoro

- 1 - Studio della generazione e misurazione dei segnali elettrici
- 2 - Analisi delle architetture di Front End esistenti
- 3 - Progettazione di una nuova architettura

Membrana cellulare e modello elettrico

La membrana cellulare è formata da un doppio strato fosfolipidico di uno spessore di ~ 7 nm.

Le proteine immerse in questo doppio strato creano dei canali selettivi per il passaggio delle varie specie ioniche.

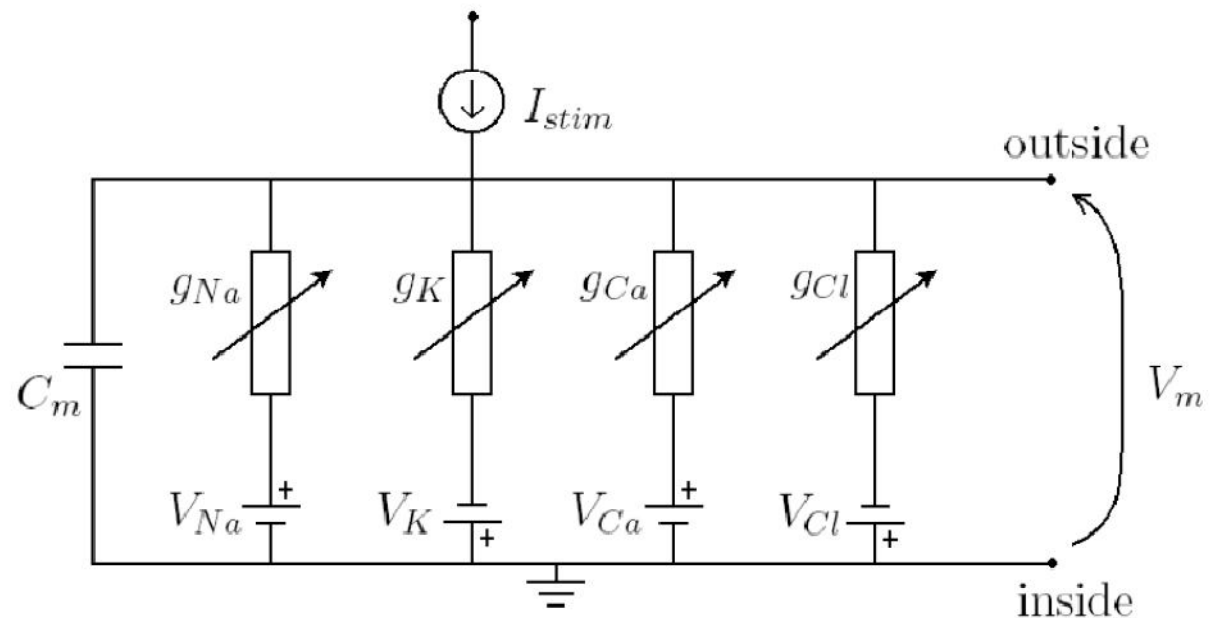


Modello elettrico equivalente

La membrana cellulare è modellizzata da una capacità

Canali ionici modellizzati da conduttanze variabili

I generatori di tensione modellizzano i potenziali di riposo

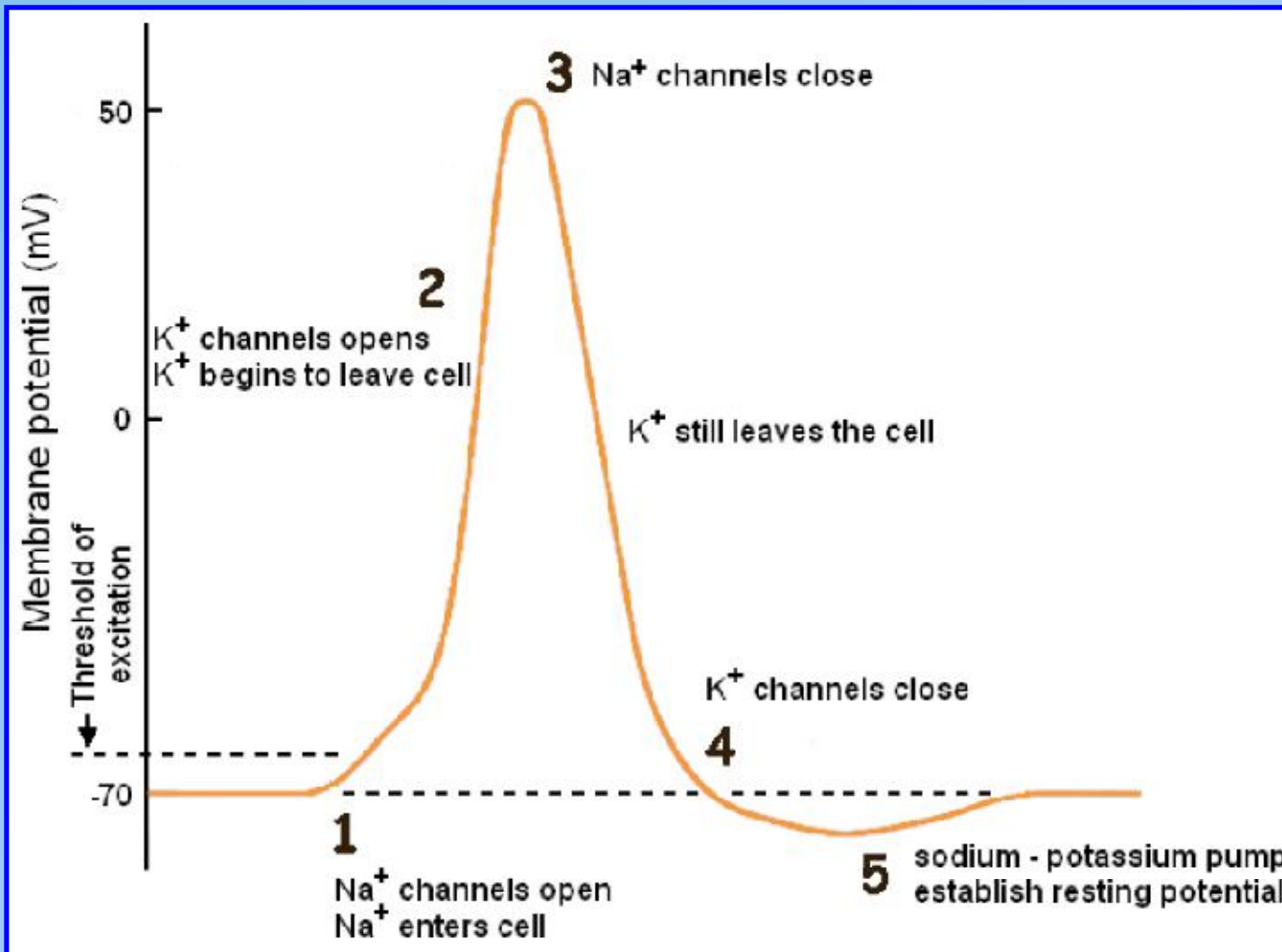


$$C_m \frac{dV_m}{dt} = I_{stim} - [g_{Na}(V_m - V_{Na}) + g_K(V_m - V_K) + g_{Ca}(V_m - V_{Ca}) + g_{Cl}(V_m - V_{Cl})]$$

Potenziale d'Azione

Il potenziale d'azione è una rapida variazione della differenza di potenziale tra l'interno e l'esterno della membrana cellulare.

Il potenziale d'azione permette la trasmissione di informazioni tra cellule.

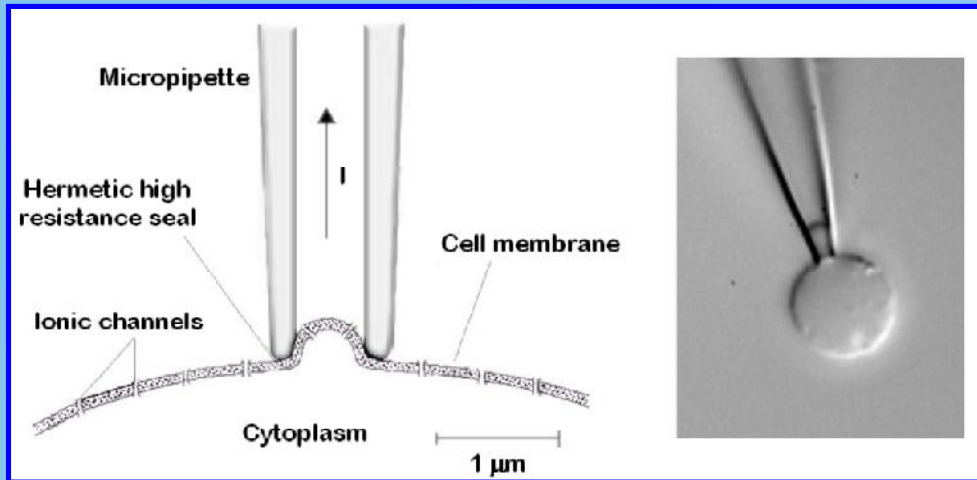


Le specie ioniche che influiscono maggiormente sono il K⁺ e Na⁺.

Ampiezza: -70mV - +50mV
Durata temporale: ~ 2 ms

Metodi di misurazione a confronto

Patch clamping



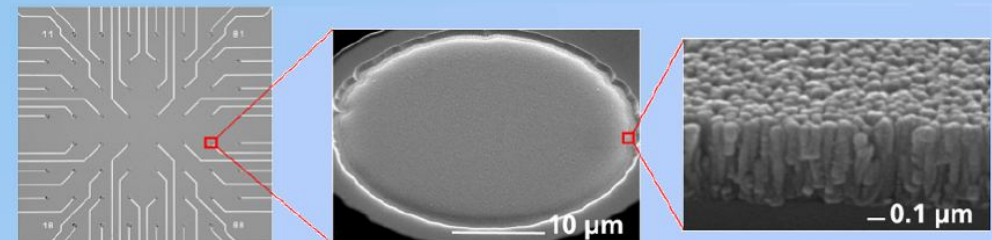
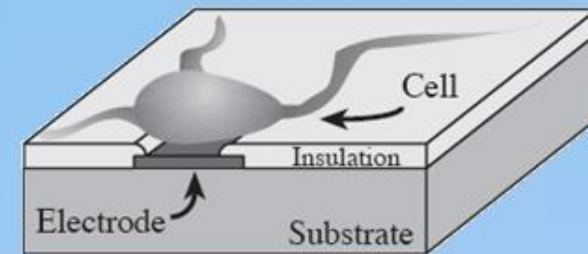
Metodo invasivo con contatto diretto

Segnale in corrente da cui si riesce a risalire al potenziale d'azione

Basso rumore

Non è possibile effettuare lunghe misurazioni

Microelettrodo



Metodo non invasivo con distanza di ~ 100 nm

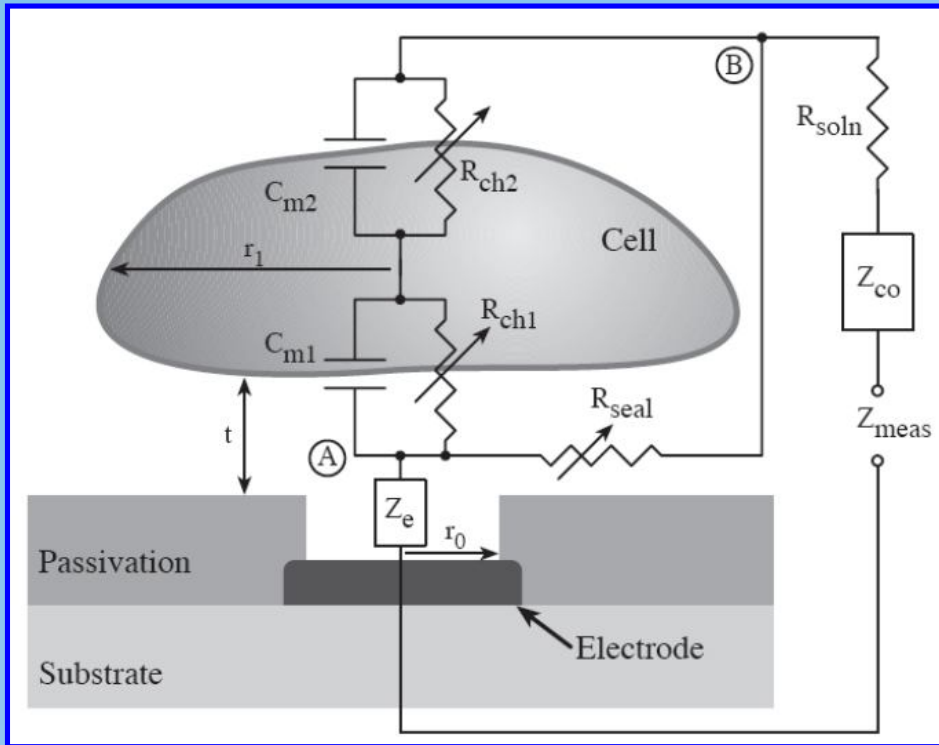
Segnale in tensione dell'ordine dei 100 μV dipendente dall'accoppiamento elettrodo cellula

Alto rumore ~ 10 μV

Possibilità di implementare matrici di elettrodi per creare biosensori

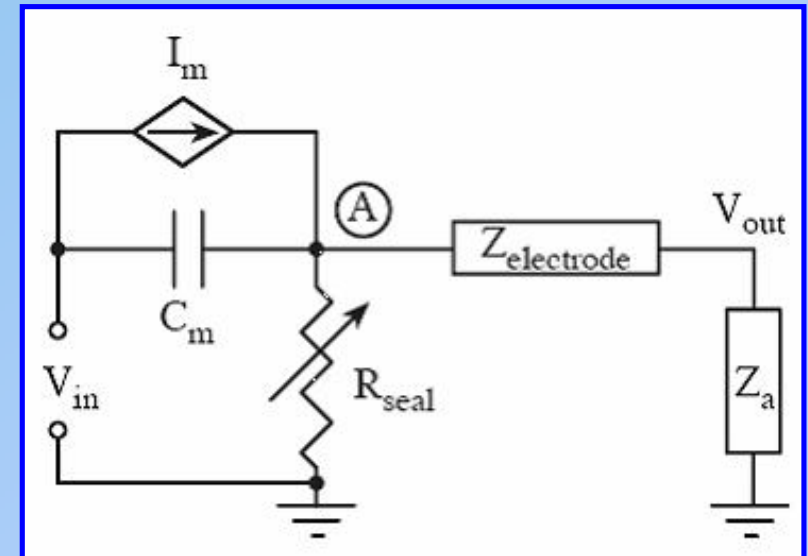
Modello cellula - elettrodo

Modello passivo



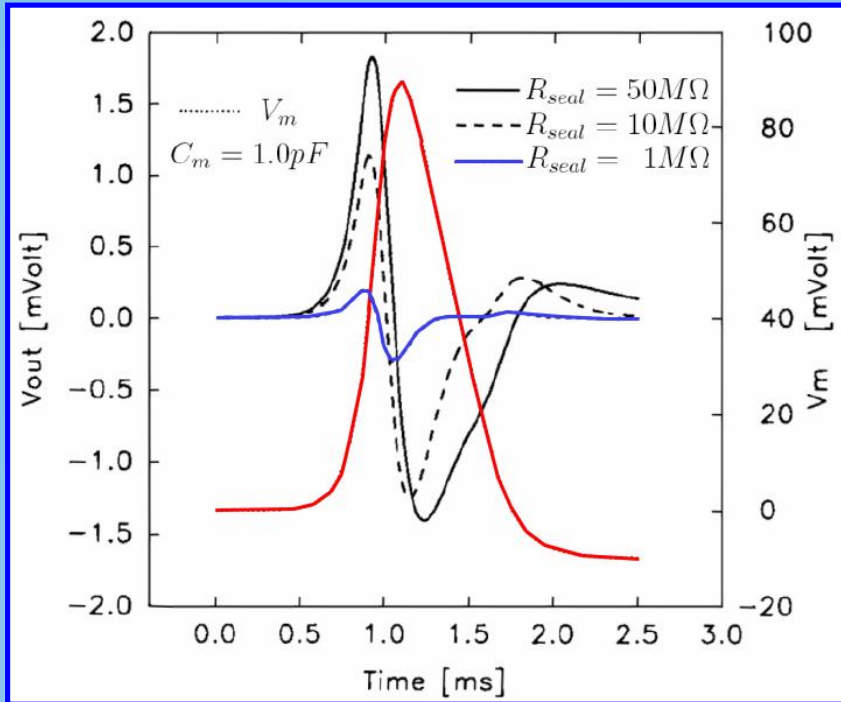
Modello semplificato

Il segnale cellulare passa tramite un filtro RC passa alto



- V_{in} è la differenza di potenziale intracellulare
- I_m rappresenta la corrente dovuta al flusso nei canali ionici
- C_m è la capacità della zona della membrana a contatto con l'elettrodo
- $Z_{electrode}$ è l'impedenza dell'elettrodo
- R_{seal} è la resistenza che si ha nel contatto cellula - elettrodo
- Z_a è la resistenza di ingresso dell'amplificatore, e deve essere molto grande.

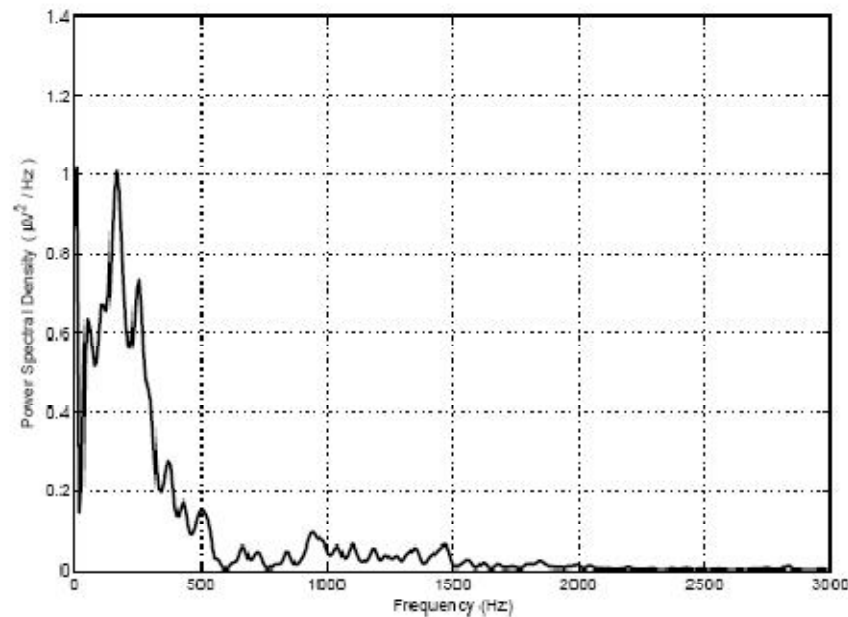
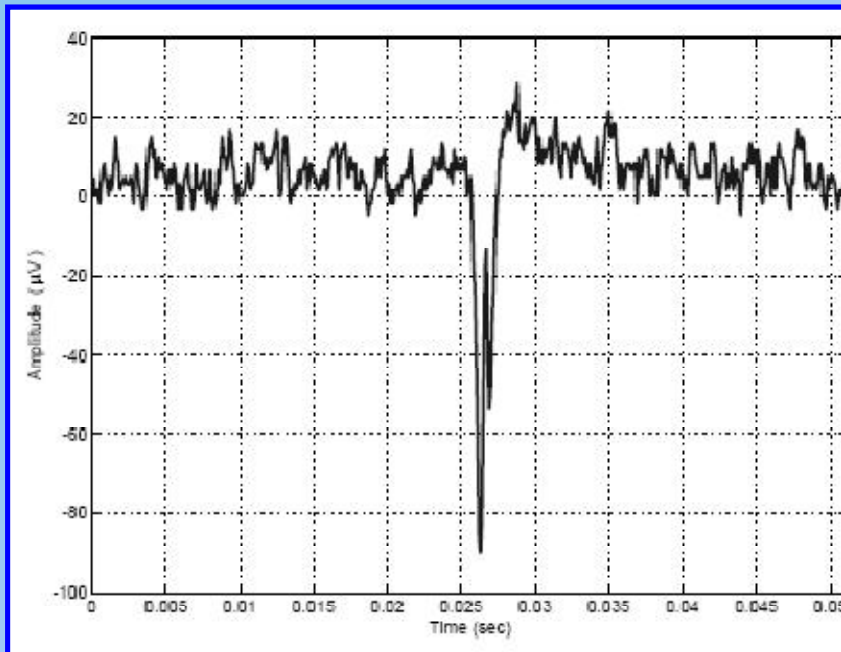
Segnale microelettrodo



Simulazioni effettuate usando il modello semplificato dell'accoppiamento cellula - elettrodo

Segnale misurato dal microelettrodo:

- Ampiezza: 50 – 150 μV
- Frequenza: 10 – 3k Hz
- Noise biologico: 5 – 10 μV
- Componente DC: ± 50 mV

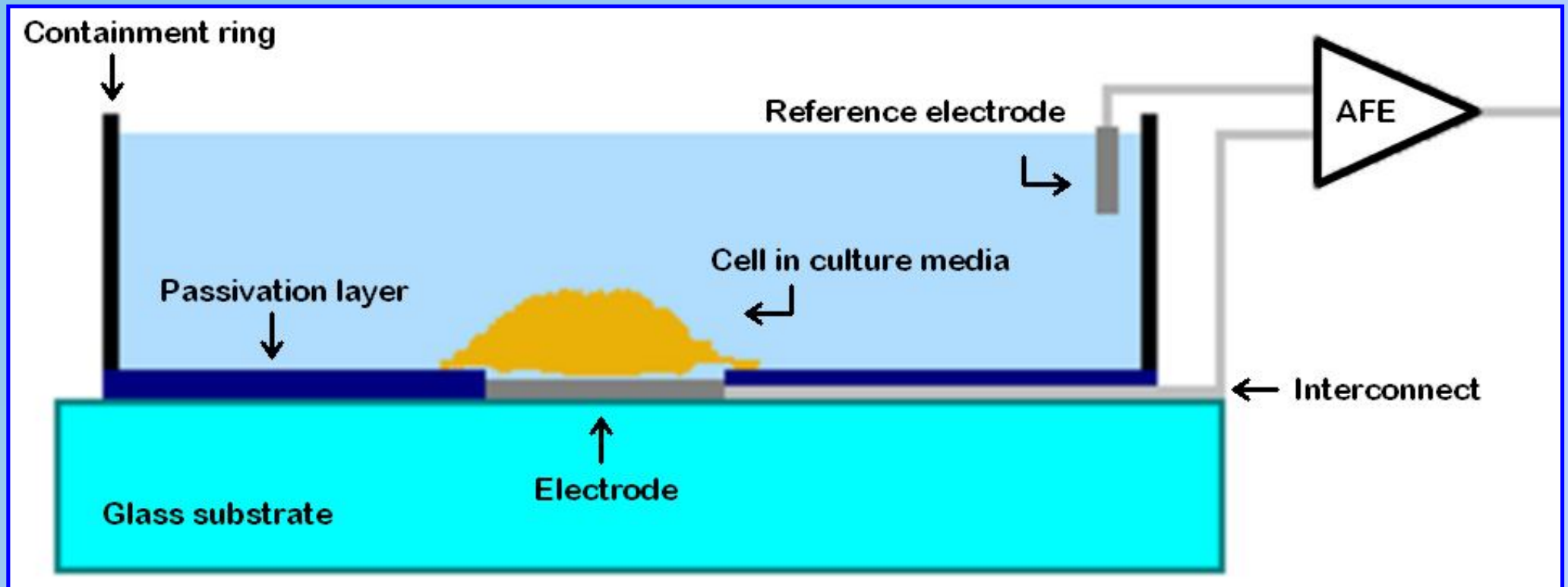


Biosensore

Utilizzando i microelettrodi è possibile implementare un Biosensore, ovvero un sensore che utilizza le culture di cellule come trasduttori.

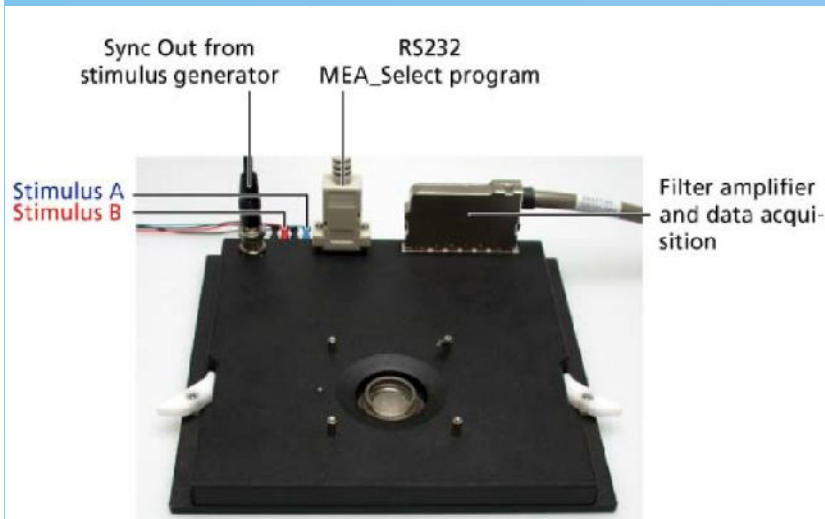
Ad esempio è possibile effettuare esami farmaceutici e monitoraggio di agenti biochimici di lunga durata temporale.

Agenti biochimici → variazione delle concentrazioni ioniche → effetti sull'attività elettrica

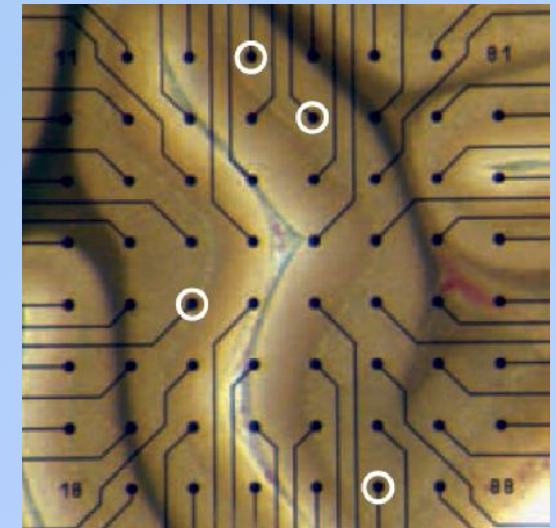
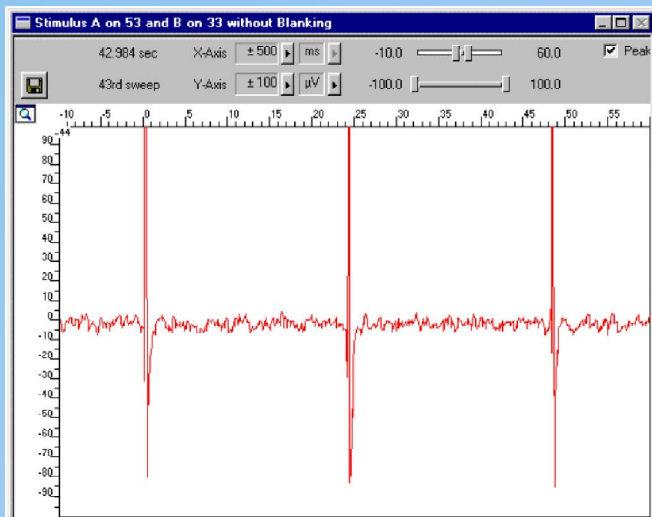
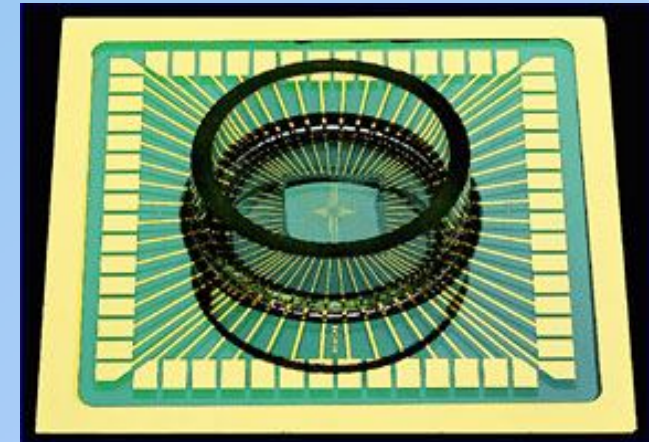


Sistemi commerciali

Multichannel System MEA 1060



I sistemi commerciali attualmente in uso sono composti da componenti elettronici discreti. Sviluppando l'elettronica con componenti integrati è possibile ridurre le dimensioni dei chip e il rumore introdotto

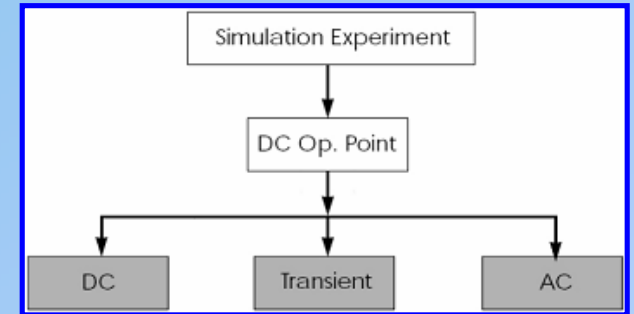


Ambiente di simulazione

Lo studio è stato realizzato utilizzando il software Cadence come tool grafico e Analog Artist per lanciare le simulazioni con Spectre. Si sono utilizzate le librerie AMS035.

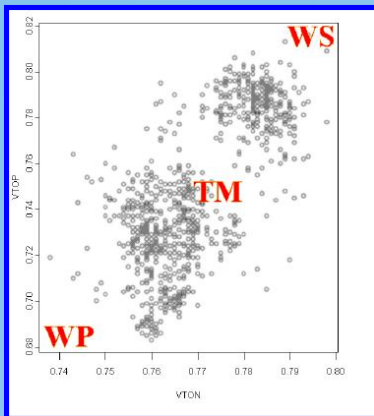
Tipi di analisi:

- **DC** (Direct Current), simulazione stazionaria del circuito
- **AC** (Alternate Current), simulazione nel dominio della frequenza
- **Transient**, simulazione nel dominio del tempo.



Variazioni di processo

Possono esserci delle variazioni dei parametri elettrici dovuti a variazioni di processo tra una produzione e l'altra. Le simulazioni solitamente vengono fatte nel caso "Typical Mean (TM)" in cui viene usato il modello del processo standard, ma il processo può variare secondo quanto descritto nei modelli "Worst Power (WP)" e "Worst Speed (WS)".



Mismatch

Per un processo dato, ci possono essere delle discordanze tra transistor progettati in modo da funzionare allo stesso modo. Per esempio i transistor possono essere riprodotti con dimensioni leggermente diverse oppure a causa dei gradienti dei parametri fisici nel wafer di silicio possono avere caratteristiche diverse.

$$\sigma_{\Delta P}^2 = \frac{A_P^2}{WL} + S_P^2 D^2$$

Process fluctuation	{	Corner Analysis
		Monte Carlo - Process Only
Component mismatch	{	Monte Carlo - Process & Mismatch
		Monte Carlo - Mismatch Only

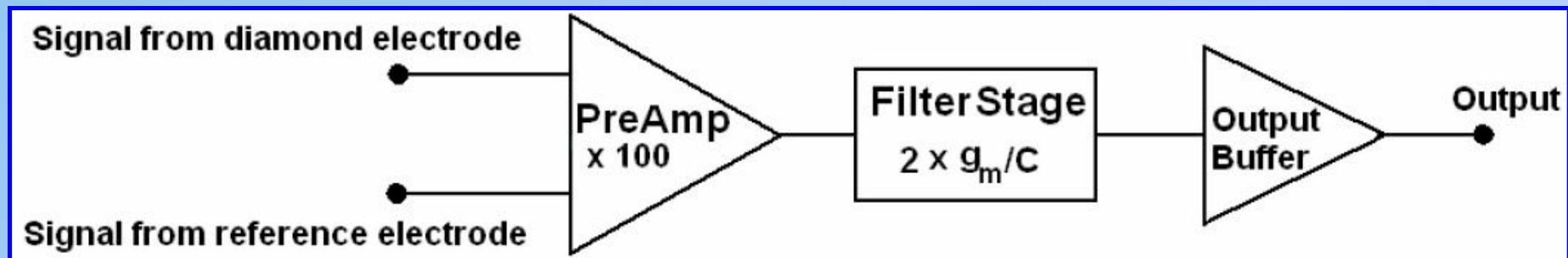
Descrizione progetto

I chip commerciali non utilizzano un'elettronica integrata, e sono progettati per l'utilizzo coi microelettrodi metallici.

Per sfruttare a pieno le potenzialità dei microelettrodi a diamante è necessario ridurre il livello di rumore introdotto dall'elettronica.

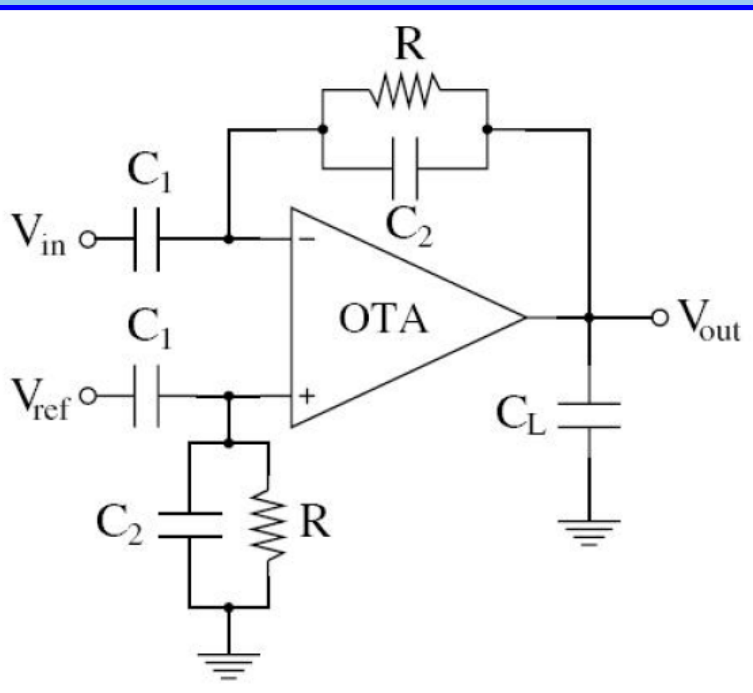
Con componenti integrati è possibile ridurre le dimensioni dei chip e poter utilizzare delle matrici con tanti microelettrodi in modo da avere più punti di misurazione della cultura cellulare.

- L'Analog Front End interfaccia il sensore alla strumentazione di analisi/lettura segnale.
- Il primo stadio dell'AFE è il preamplificatore, poi vengono messi dei filtri in cascata per amplificare ulteriormente il segnale solo nella banda di frequenza interessata, lo stadio di uscita è un output buffer.



Architettura Pre-Amplificatore

- Banda passante: $f_L \approx 10$ Hz; $f_H \approx 10$ kHz. Taglio della componente DC
- Ingresso differenziale, con alta impedenza in modo che la resistenza del microelettrodo (20 – 400 k Ω) sia trascurabile
- Basso rumore (< 5 μ V)
- Alto guadagno in modo che i contributi di rumore degli stadi successivi siano trascurabili
- Potenza dissipata minima ($\approx \mu$ W) in modo da non alterare la temperatura delle cellule
- Con componenti integrati in modo da occupare poco spazio (≈ 0.10 mm²)



$$A_{vM}^{ideal} = \lim_{A_{v0}^{OTA} \rightarrow \infty} A_{vM} = \lim_{A_{v0}^{OTA} \rightarrow \infty} \frac{A_{v0}^{OTA}(sC_1R)}{(A_{v0}^{OTA} + 1)(sC_2R + 1) + sC_1R} = \frac{C_1}{C_2}$$

$$A_v \approx C_1/C_2 = \frac{20pF}{200fF} = 100$$

$$f_H \approx \frac{1}{2\pi r_{inc} C_2} = \frac{1}{2\pi 1.97 \cdot 10^{12} \Omega \cdot 200fF} = 398mHz$$

$$f_L \approx \frac{g_m^{OTA}}{2\pi A_v C_L} = \frac{78.95\mu S}{2\pi 100 \cdot 10pF} = 12.5kHz$$

Preamplificatore - OTA

Nell'intervallo di frequenza che ci interessa domina il flicker noise, per questo motivo lo stadio di input viene fatto coi PMOS (Kfn/Kfp ~ 10)

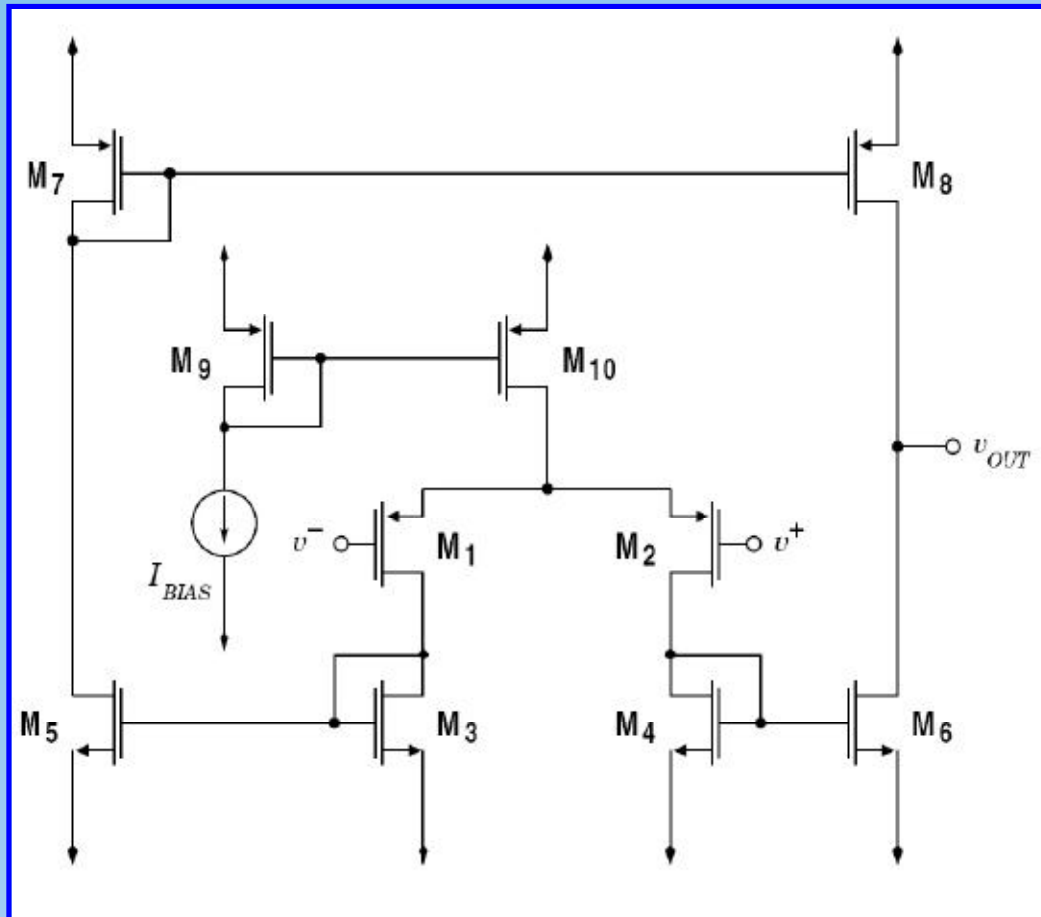
$$V_n^2 = \frac{K_f}{WLC_{ox}} \frac{1}{f}$$

Anche se il noise termico è di secondaria importanza, non può essere trascurato, per questo motivo viene scelto un grande rapporto W/L e una grande corrente di Drain nel MOS di input

$$V_{irn,thermal}^2 = \left[\frac{16k_bT}{3g_{m1}} \left(1 + 2\frac{g_{m3}}{g_{m1}} + \frac{g_{m7}}{g_{m1}} \right) \right] \Delta f$$



$$g_{m1} \gg g_{m3} \text{ and } g_{m1} \gg g_{m7}$$



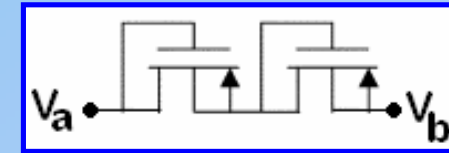
$$V_{irn}^2 = 2V_{n1}^2 + \frac{2V_{n3}^2 + 2V_{n6}^2 + 2V_{n8}^2}{g_{m1}^2 r_{0,I}^2}$$

MOS	W/L
M1	1000μm/2μm
M2	1000μm/2μm
M3	2μm/20μm
M4	2μm/20μm
M5	2μm/20μm
M6	2μm/20μm
M7	6μm/20μm
M8	6μm/20μm
M9	20μm/20μm
M10	20μm/20μm
I_{Bias}	16μA

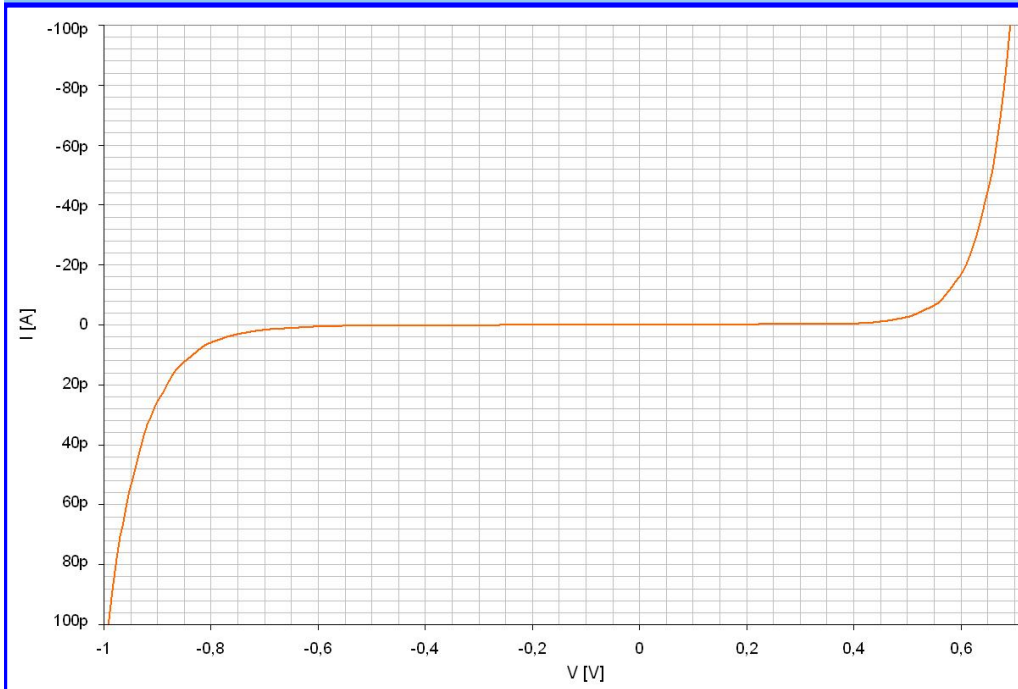
Componenti dimensionati in modo da ridurre il noise

Preamplificatore - Pseudoresistenza

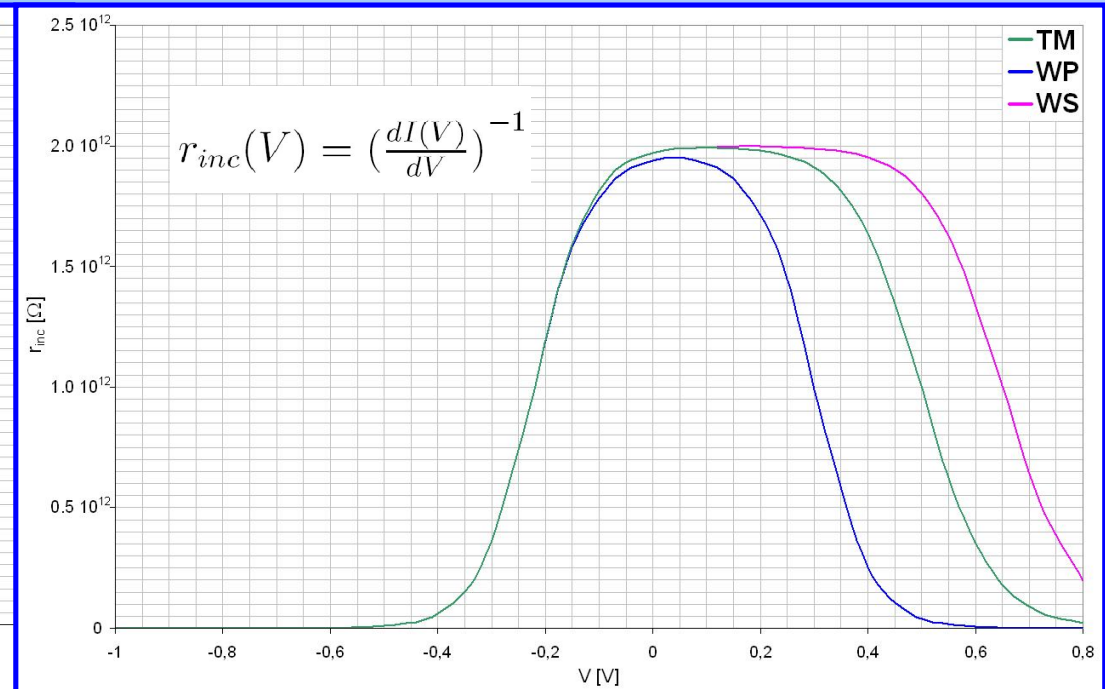
In un filtro con feedback RC la frequenza di taglio è data da: $f_L = 1/2\pi RC_2$
Per avere frequenze di taglio basse (≈ 10 Hz) serve un prodotto $RC \approx 10^{-2}$, nei circuiti integrati le capacità arrivano al massimo all'ordine di qualche decina di pF e quindi servirebbe una $R \approx 10^9 \Omega$, un valore impossibile da implementare in tecnologia integrata.
Collegando in serie 2 PMOS e cortocircuitando il Drain col gate si ottiene una struttura ad altissima resistenza ($\sim 2 \cdot 10^{12} \Omega$)



Relazione Corrente - Tensione

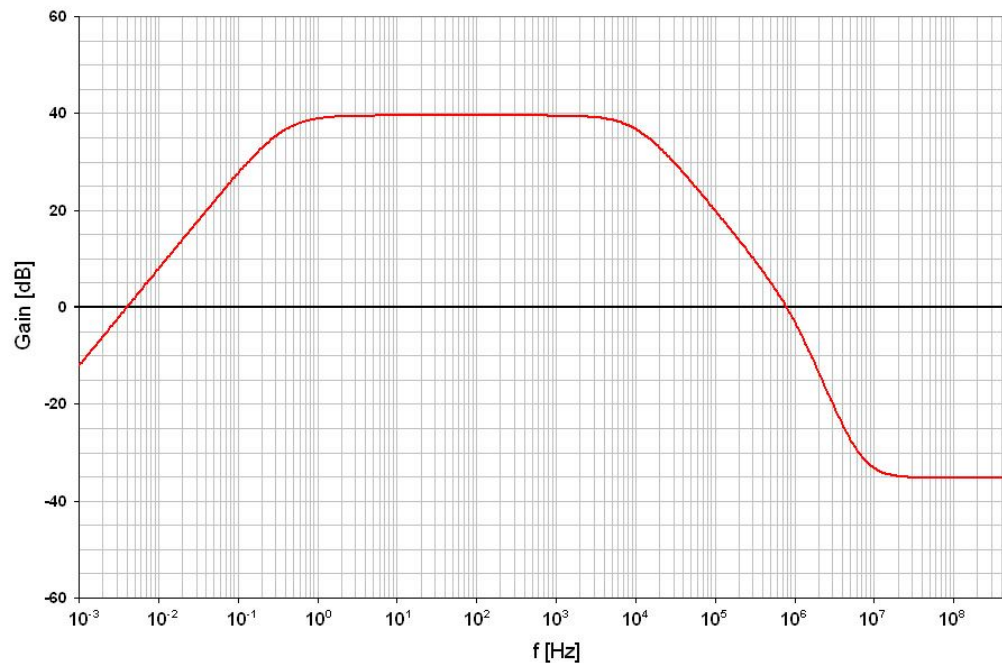


Relazione Resistenza - Tensione

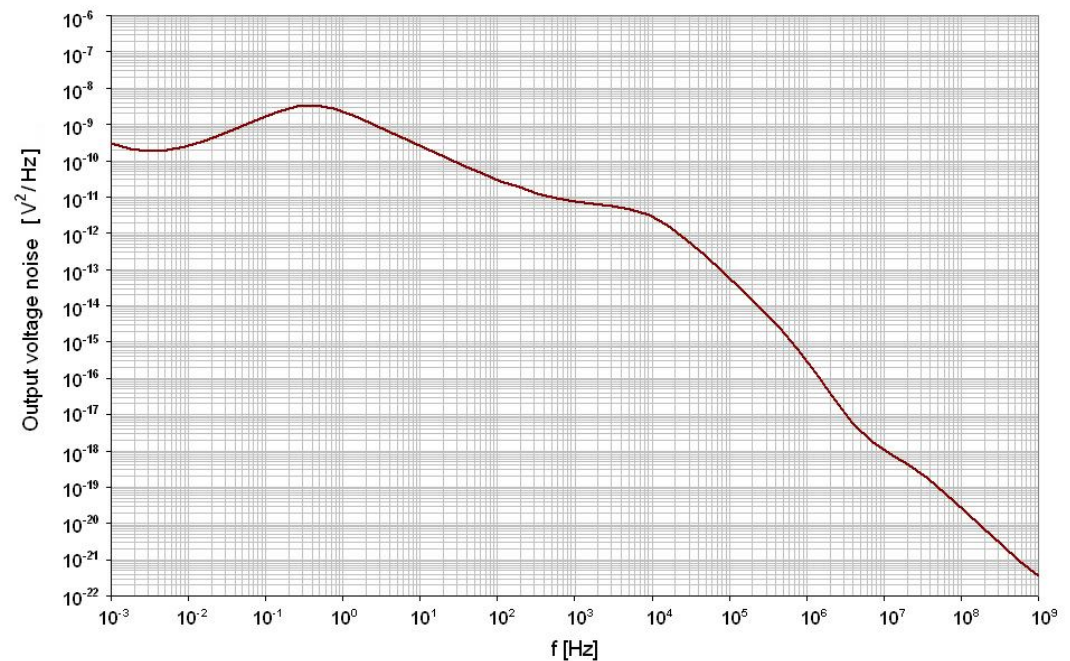


Preamplificatore - Risultati

Funzione di trasferimento



Spettro del rumore in uscita



Il preamplificatore guadagna 100
nell'intervallo di frequenza tra i
380mHz e 10kHz

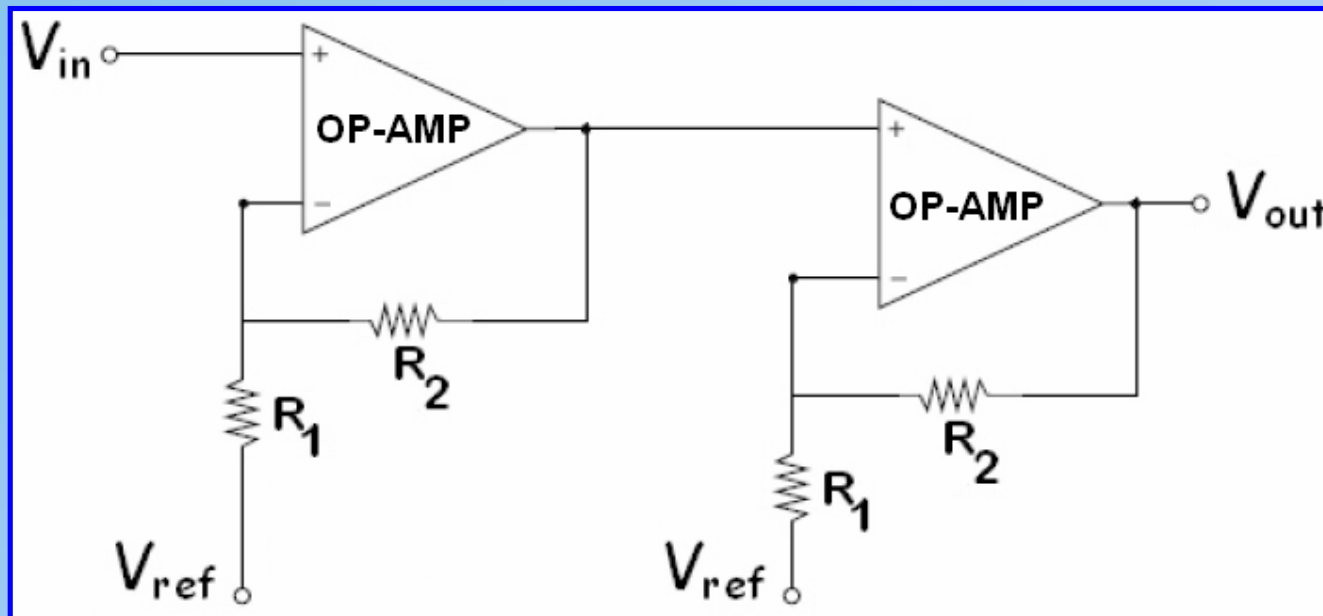
$$V_{irn} = \frac{1}{A_v} \sqrt{\int_{f_1}^{f_2} V_n^2(f) df}$$

Rumore riferito all'ingresso

$$V_{irn} = 2.8 \mu\text{V}$$

Architettura Filtro

- Passa basso con $f_L \approx 10$ kHz, con guadagno 5.
- Risposta lineare per segnali inferiori ai 15 mV.
- Lo studio degli effetti di mismatch è importante perché influiscono sul valore in DC in uscita. Se si hanno valori di DC troppo alti o bassi (da $V_{ref}=1.65V$) si rischia di mandare fuori saturazione i transistor influenzando negativamente sulla linearità
- Con due filtri in cascata si raddoppia il guadagno con un taglio delle alte frequenze più netto



$$A_v^{close\ loop} = \frac{A_v^{OL}}{1 + A_v^{OL} \frac{R_1}{R_1 - R_2}}$$
$$\lim_{A_v^{OL} \rightarrow \infty} A_v^{close\ loop} = 1 + \frac{R_2}{R_1}$$

$$R_1 = 100k\Omega \text{ and } R_2 = 400k\Omega$$

Implementazione OpAmp

L'OP-AMP è costituito da 2 stadi con compensazione di Miller.

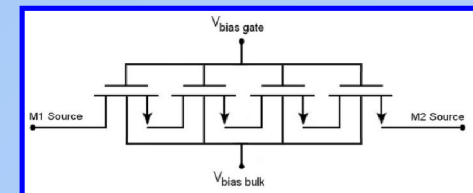
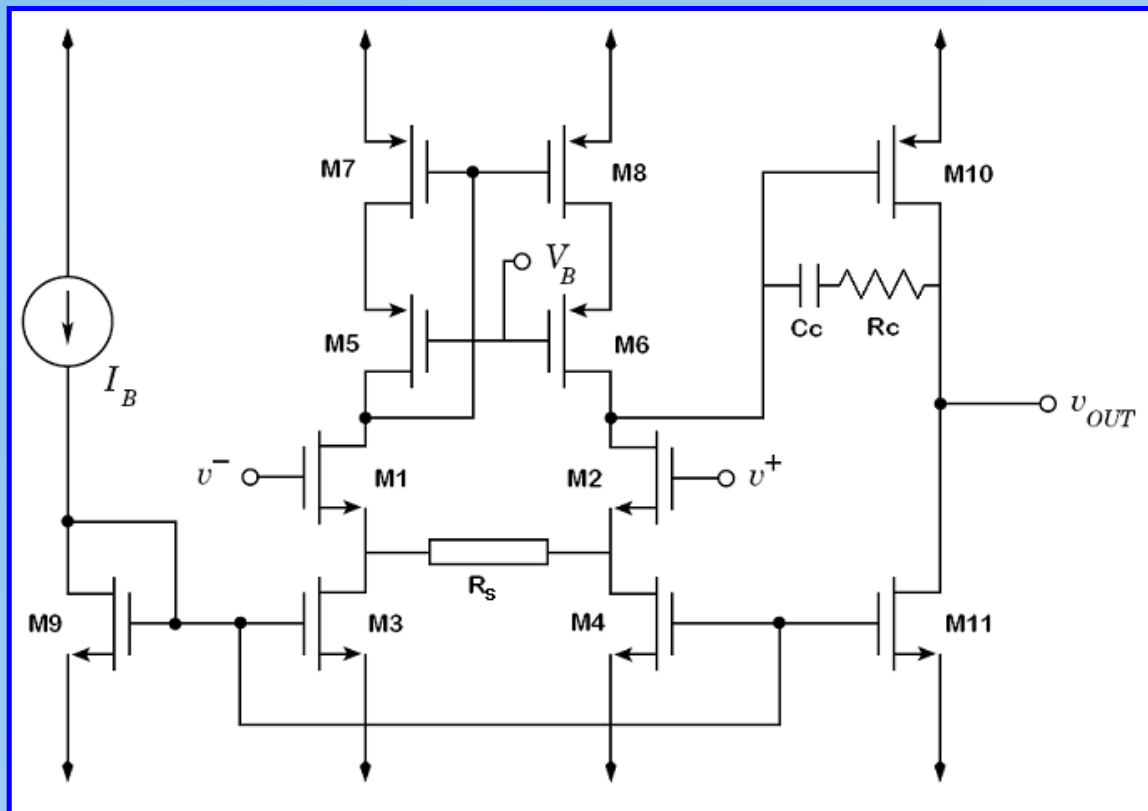
L'ingresso è uno stadio differenziale che utilizza un carico cascodato per migliorare il bilanciamento tra i due rami. Il secondo stadio è in configurazione a Source comune.

Tramite la capacità di compensazione si regola la frequenza di guadagno unitario.

$$G_{meq} = \frac{g_{m2}}{1 - (g_{m2} + g_{mb2}) \frac{R_s}{2}} = 1.76 \mu S$$

$$f_{UG} = \frac{G_{meq}}{2\pi C_c} = 56.2 kHz$$

La resistenza R_s è realizzata con 4 NMOS in serie con la stessa tensione di gate. Variando questa tensione è possibile variare la resistenza di canale. R_s influisce sul valore della frequenza di taglio.

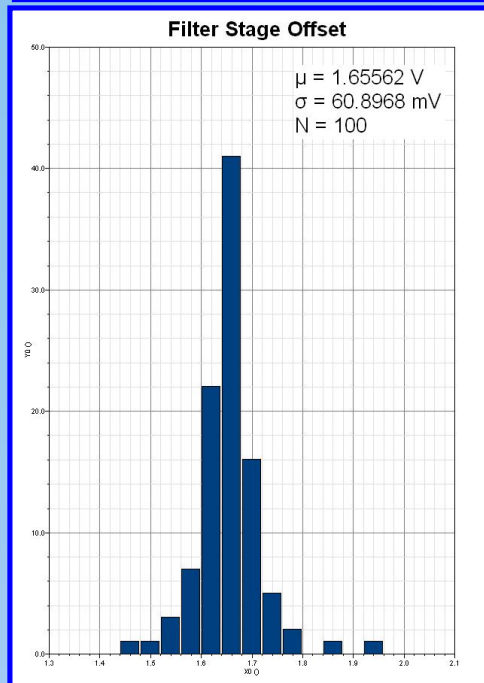
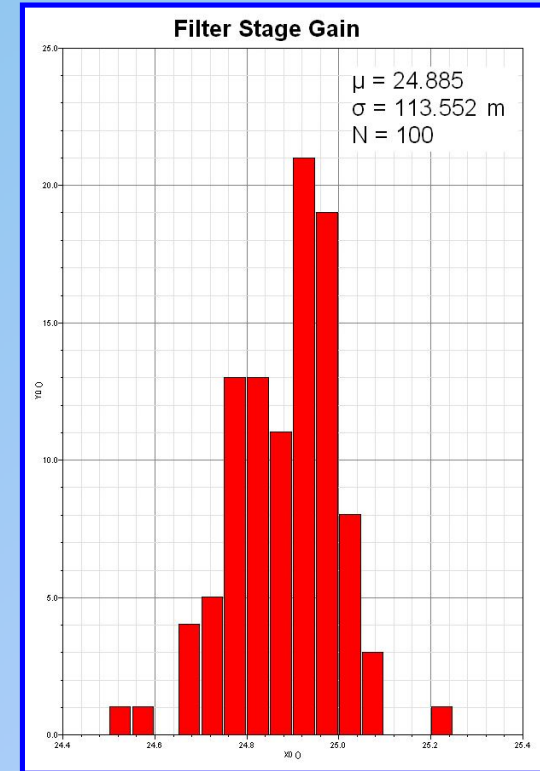
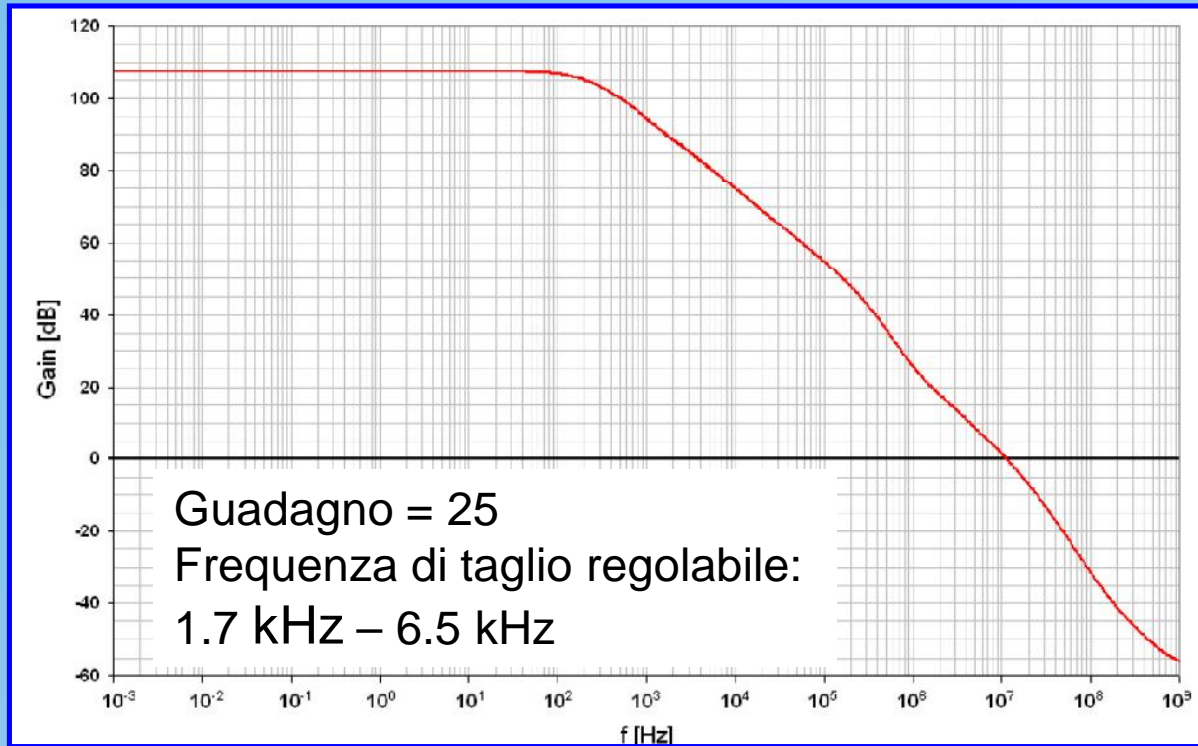


MOS	W/L
M1	100/4
M2	100/4
M3	40/20
M4	40/20
M5	20/0.5
M6	20/0.5
M7	20/15
M8	20/15
M9	40/20
M10	20/15
M11	40/20

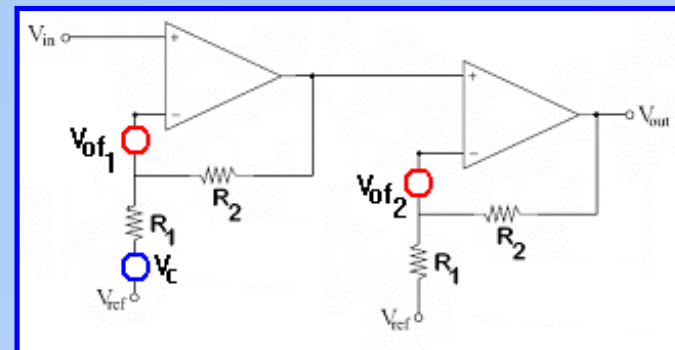
Componenti regolati in modo da ridurre gli effetti di mismatch

I_{Bias}	$5 \mu A$
C_c	$5 pF$
R_c	$40 k\Omega$

Filter Stage - Risultati



I generatori V_{of1} e V_{of2} rappresentano l'offset dovuto agli effetti di mismatch e variazioni di processo, il loro valore segue la distribuzione trovata con le simulazioni montecarlo nel caso a guadagno unitario $\sigma \approx 2 \text{ mV}$.
Un modo per controllare l'offset è aggiungere il generatore V_c che regolato in modo opportuno riesce impostare il livello di tensione DC in uscita desiderato.

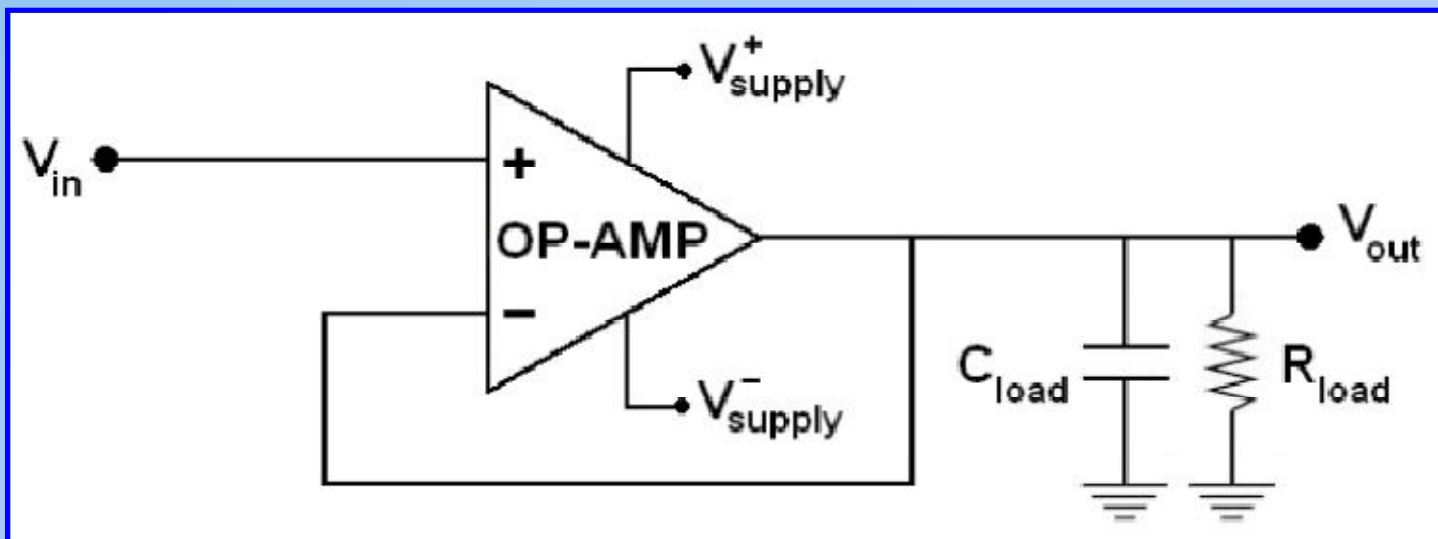


Output buffer

Ha guadagno unitario, in quanto non è necessaria un'ulteriore amplificazione. Deve avere una frequenza di taglio superiore ai 10kHz.

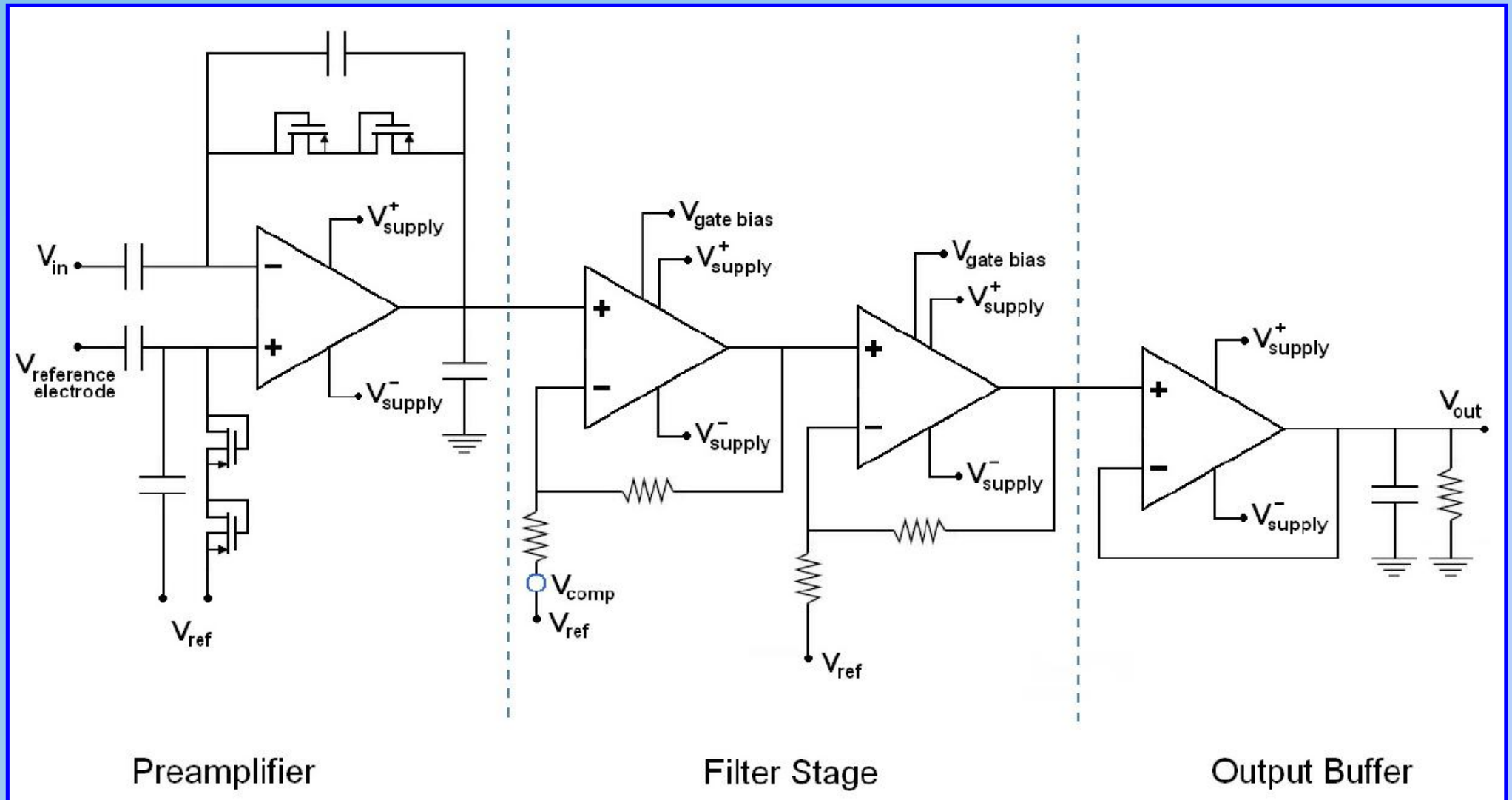
Ultimo stadio della catena, serve ad isolare elettricamente gli stadi precedenti dall'uscita. È progettato in modo da esser collegato ad un oscilloscopio, e ha 2 configurazioni possibili.

Setting			Open Loop			Buffer configuration		
V_{supply}^+	V_{supply}^-	R_{load}	Gain	f_L	PM	Gain	Gain $\frac{V}{V}$	f_L
3.3V	0V	1M Ω	114.42dB	6.5Hz	60deg	-1.09mdB	0.9998	8MHz
1.65V	-1.65V	50 Ω	38.58dB	1.5kHz	90deg	-158.94mdB	0.9818	400kHz



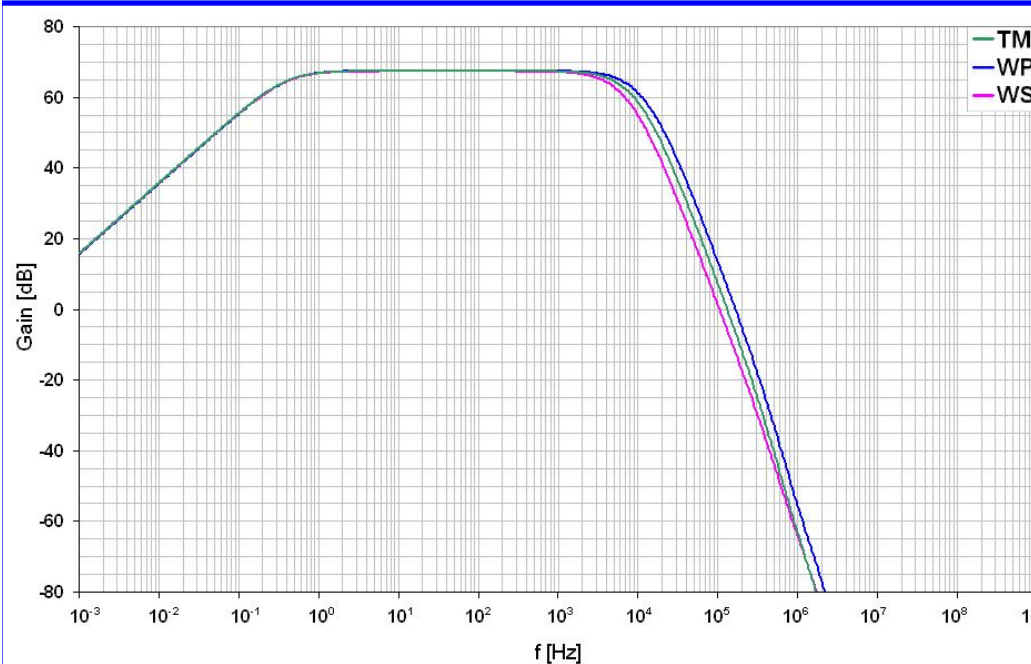
Schema AFE

Catena completa: Preamplificatore + Stadio filtro + Output Buffer

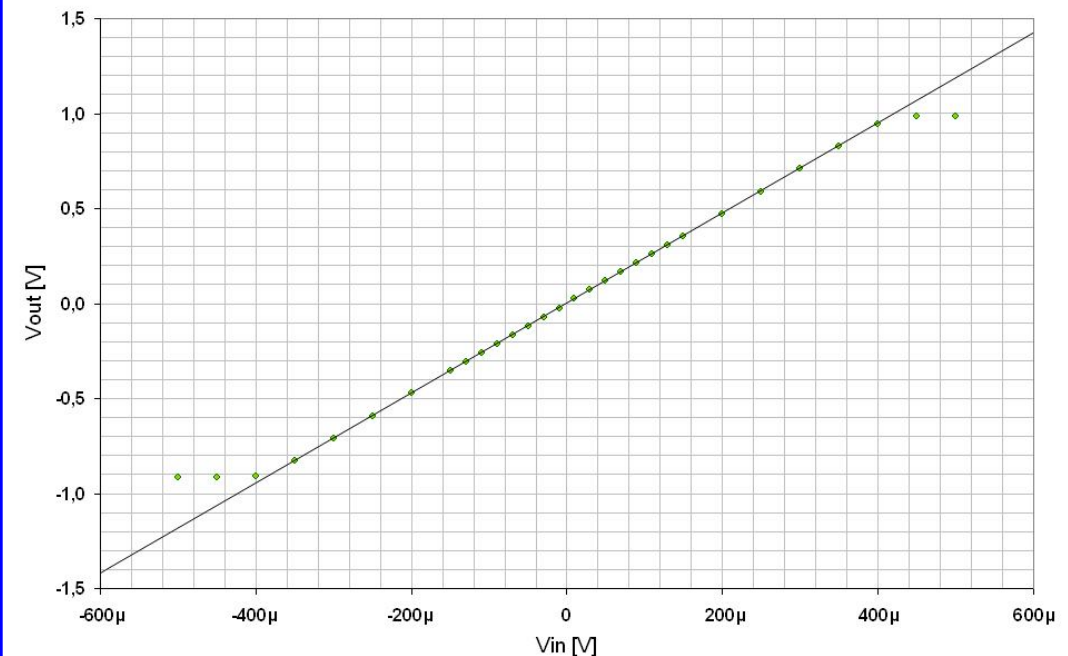


AFE Funzione di trasferimento - Linearità

Funzione di trasferimento



Linearità

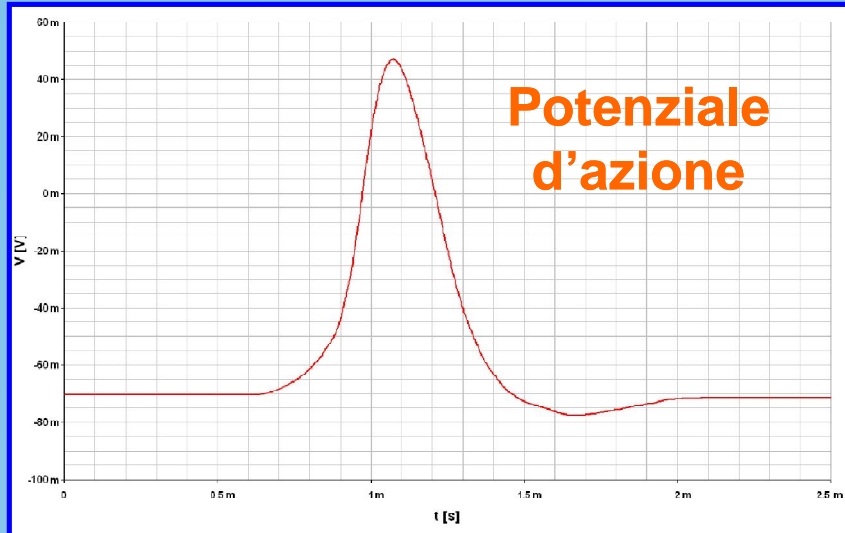


Guadagno: ~ 2500
Banda: 380 mHz – 5.5 kHz (variabile)

Input linear range:
 $-350 \mu\text{V} - 400 \mu\text{V}$

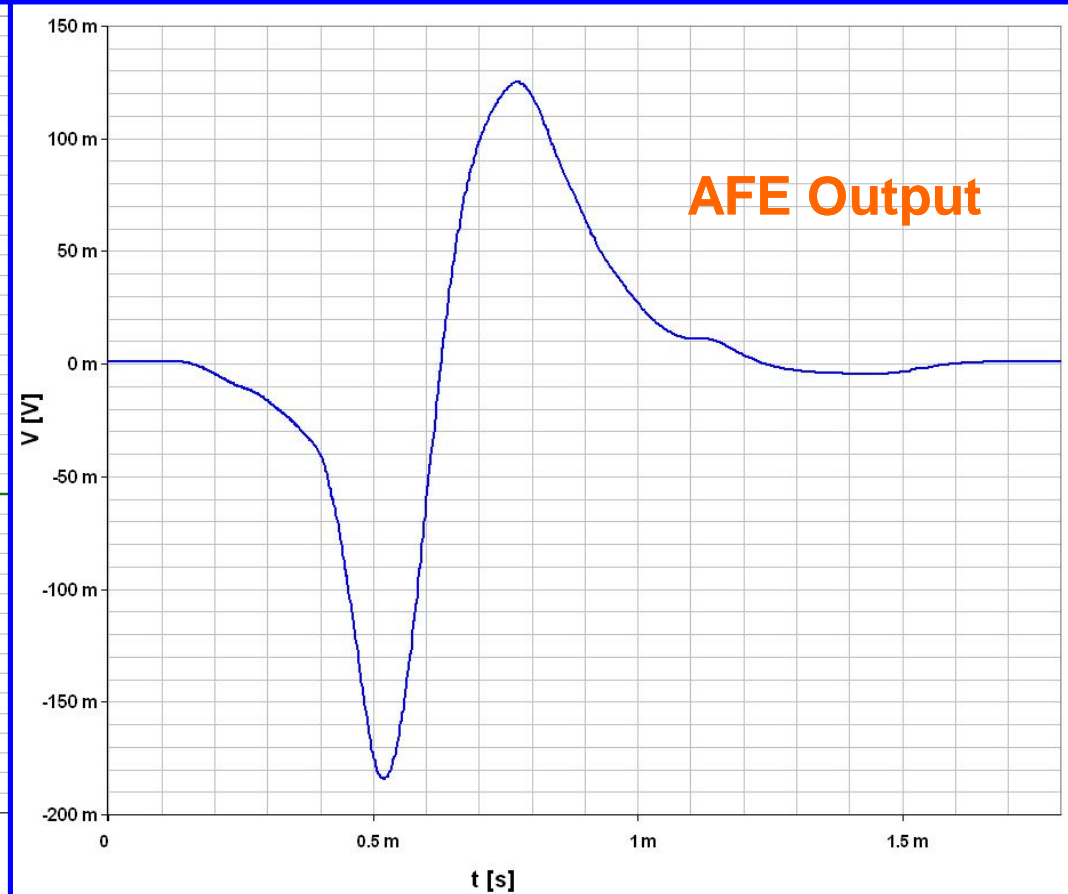
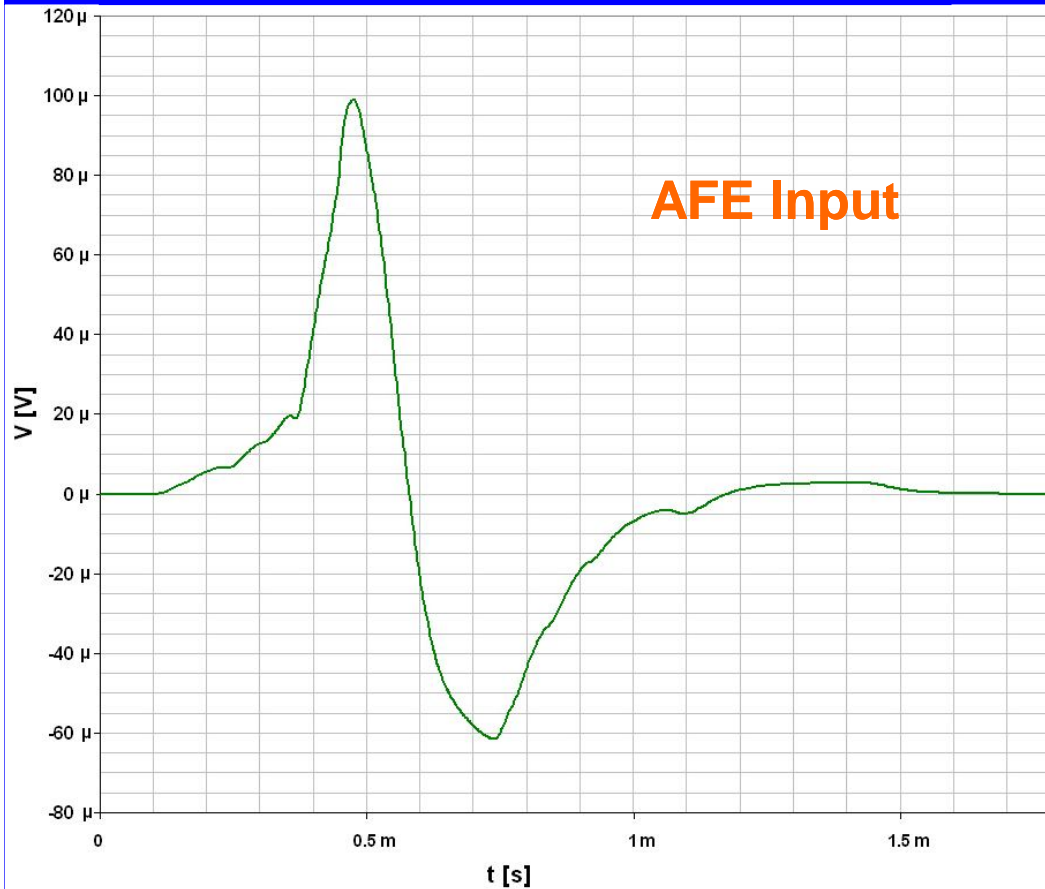
L'analisi di linearità del segnale ci assicura che il segnale non venga distorto
Gli effetti dovuti alle variazioni di processo possono essere ricompensati
tramite la variazione della frequenza di taglio superiore

Analisi segnale con catena completa



Potenziale d'azione campionato da un evento standard.

Amplificazione del segnale cellulare



Conclusioni

In questo lavoro è stato progettato e simulato a livello schematico l'intero AFE.

Il rumore equivalente in ingresso è di $2.34 \mu\text{V}$.

Per il preamplificatore la potenza dissipata è di $50 \mu\text{W}$.

I requisiti di spazio sono soddisfatti.

Le seguenti simulazioni hanno riportato risultati ottimali:

- Linearità
- Stabilità
- Influenza della temperatura
- Disturbi sulla linea di alimentazione

Lavoro futuro

Apportare miglioramenti, ad esempio implementare la possibilità di avere un guadagno impostabile.

Disegnare layout per mandare in produzione il chip.

Testare il chip col microelettrodo in diamante.