

DOI: 10.13382/j.jemi.B2407845

# 细胞成像电学双模探测系统设计\*

邓煜豪<sup>1,2</sup> 许新宇<sup>1,2</sup> 陈 念<sup>3</sup> 李卓航<sup>1,2</sup> 徐子然<sup>1,2</sup> 余时沧<sup>2,3</sup> 张丽敏<sup>1,2</sup>

(1. 南京大学电子科学与工程学院 南京 210033; 2. 南京大学(镇江)生命健康产业研究院 镇江 212009;

3. 陆军军医大学第一附属医院 重庆 400038)

**摘要:**细胞的形态学和电生理学特征是生命科学研究的重点,然而传统的单模态探测系统因只能测量单一参数,难以全面揭示细胞复杂的生理反应。多模态探测技术因其同时检测多种参数的能力逐渐受到重视,但现有系统在多模态、大视场和高分辨率之间面临权衡难题,且难以实现实时探测。为解决这些问题,开发了一种新型的成像电学双模态监测技术,通过创新设计的成像电学双模芯片,实现对细胞的实时成像和电学信号探测。具体技术包括通过“异质封装”整合无透镜显微成像芯片与微电极阵列的成像电学双模芯片设计,芯片视场占整个芯片面积的90%以上;集成基于现场可编程门阵列的成像控制系统以及多功能电学信号处理系统的探测系统构建。实验验证显示,该系统能够有效监测C57小鼠胎鼠皮层神经元和胶质瘤GL261细胞的共培养体系,展示了良好的实时性和综合探测能力。这项技术为细胞的综合生理监测提供了创新解决方案,有望在生命科学研究和临床应用中发挥重要作用。

**关键词:** 多模态探测技术;实时成像;电学信号探测;成像电学双模芯片

**中图分类号:** TN98

**文献标识码:** A

**国家标准学科分类代码:** 510.1010

## Design of dual-mode detection system for cellular imaging and electrical measurements

Deng Yuhao<sup>1,2</sup> Xu Xinyu<sup>1,2</sup> Chen Nian<sup>3</sup> Li Zhuohang<sup>1,2</sup> Xu Ziran<sup>1,2</sup> Yu Shicang<sup>2,3</sup> Zhang Limin<sup>1,2</sup>

(1. School of Electronic Science and Engineering, Nanjing University, Nanjing 210033, China; 2. Nanjing University (Zhenjiang)

Life and Health Industry Research Institute, Zhenjiang 212009, China; 3. The First Affiliated Hospital of the

Army Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract:** The morphological and electrophysiological characteristics of cells are a key focus in life science research. However, traditional single-modal detection systems, which can only measure a single parameter, struggle to fully reveal the complex physiological responses of cells. Multi-modal detection technology, which has the capability to simultaneously measure multiple parameters, is gaining attention. Yet, existing systems face challenges in balancing multi-modality, large field of view, and high resolution, while also finding it difficult to achieve real-time detection. To address these issues, this study developed a novel dual-modal imaging and electrical monitoring technology. Through an innovatively designed imaging-electrical dual-modal chip, it enables real-time imaging and electrical signal detection of cells. The specific technology includes the design of a dual-modal imaging-electrical chip that integrates lensless microscopy imaging chips with microelectrode arrays through “heterogeneous packaging,” with the chip’s field of view covering more than 90% of the chip area. Additionally, a detection system was constructed, integrating an imaging control system based on field-programmable gate arrays and a multifunctional electrical signal processing system. Experimental validation showed that this system effectively monitors co-cultures of cortical neurons from C57 mouse embryos and glioma GL261 cells, demonstrating good real-time performance and comprehensive detection capabilities. This technology provides an innovative solution for comprehensive physiological monitoring of cells and holds promising potential for application in life science research and clinical practice.

**Keywords:** multimodal detection technology; real-time imaging; electrical signal detection; imaging-electrical dual-modality chip

收稿日期: 2024-09-21 Received Date: 2024-09-21

\* 基金项目: 国家重点研发计划(2023YFF1205802)、国家自然科学基金重点项目(92059204)、国家自然科学基金项目重大项目(22090054)资助

## 0 引言

细胞研究在揭示生命本质、理解疾病机制和促进药物研发中起着重要作用<sup>[1-3]</sup>。深入探究神经细胞和肿瘤细胞的结构和功能,有助于理解神经系统运作和癌症发展。通过膜片钳和微电极阵列技术检测电生理参数,以及显微镜技术观察形态学特征,可以提升研究的精度。

电生理特性,如细胞膜电位变化、离子通道活动和动作电位传播,通常通过微电极阵列技术进行测量。1972 年,Thomas 等<sup>[4]</sup>提出了微电极阵列技术,这一创新标志着细胞电生理研究的新时代,相比传统的膜片钳技术,微电极阵列技术具有不损伤细胞且实时监测胞外电位的优势。随着集成电路工艺的发展,基于 CMOS 工艺的微电极阵列芯片成为主流工具,例如,2006 年 Heer 等<sup>[5]</sup>设计的 128 电极微电极阵列,2008 年 Eversmann 等<sup>[6]</sup>设计的 128×128 pixels 阵列,2010 年 Frey 等<sup>[7]</sup>设计的 11011 电极微电极阵列,及 2022 年浙江大学胡宁教授团队<sup>[8]</sup>的纳米阱微电极阵列。在细胞形态学研究方面,传统方法包括光学显微镜和电子显微镜。17 世纪初,列文虎克通过自制显微镜观察到微生物,1931 年,卢斯卡发明电子显微镜,提供了更高分辨率。然而,无透镜显微成像技术因其体积小、成本低,备受关注。例如,2008 年 Seo 等<sup>[9]</sup>实现了无透镜片上检测,2011 年 Lee 等<sup>[10]</sup>结合微流控技术和 CMOS 图像传感器实现高分辨率片上光流控显微镜,上海交通大学吴继刚教授课题组<sup>[11-13]</sup>提出了一系列提高无透镜显微成像分辨率的方法。

尽管单模态探测系统不断演进,但其局限性逐渐显现,无法满足复杂生理活动监测的需求,特别是在新药开发过程中。得益于 CMOS 集成电路工艺的进步,多模态探测系统逐渐兴起,能够同时检测细胞的多种参数。例如,2018 年 Lopez 等<sup>[14]</sup>提出了一种具有 16 384 个电极的多模态微电极阵列,具有胞内外信号记录,电流电压刺激,阻抗测量 3 种模态,2021 年 Yuan 等<sup>[15]</sup>提出具有 19 584 个电极的双模微电极阵列,可同时进行胞外电位采集和对细胞进行电流刺激的功能。2015 年,复旦大学吴东平教授课题组<sup>[16]</sup>将 CMOS 图像传感器与离子敏感场效应晶体管结合,提出一种双模探测芯片,可同时用于 DNA 链的光学成像和 pH 检测,该芯片具有 1 024 个像素位点,单像素面积为 10×10  $\mu\text{m}^2$ ,芯片的视场(field-of-view, FoV)占芯片面积比约为 3.28%;佐治亚理工学院王华教授团队<sup>[17-19]</sup>在 2018 年提出具有 4 096 个光学像素位点的四模探测芯片,可以进行细胞阻抗表征、光学检测、胞外电位记录和双相电流刺激等探测,具有 4 096 个光学像素位点,其中 1 024 个像素可用于多模态探测,单个像素面积为 58×50  $\mu\text{m}^2$ ,FoV 占芯片面积比约为 54%;在 2021

年展示了一种三模态集成 CMOS 细胞传感器芯片,可同时支持细胞电位记录、光学点阻抗传感和双相电流刺激 3 种功能;具有 21 952 个像素位点,单个像素面积为 16×16  $\mu\text{m}^2$ ,FoV 约占整个芯片的 12%;在 2022 年他们研究团队提出了一种四模探测细胞传感器芯片,具有电压记录、明暗场检测、阻抗传感和双相电流刺激的 4 种功能,该芯片具有 21 952 个像素位点,单个像素面积为 13×13  $\mu\text{m}^2$ ,FoV 约占整个芯片的 7%。多模态探测系统具有巨大的应用潜力,但也面临一些挑战与问题。高度集成化的设计使得芯片难以灵活调整功能和模态,限制其在生物科学研究、药物筛选和临床诊断等领域的广泛应用。此外,多模态生物传感器芯片需要对不同模态进行整体优化和协调,增加了研发成本和周期。现有多模态系统往往无法实现实时多模态探测,降低了实际应用价值。

本文针对当前国际成像电学双模探测系统面临的模态增加,芯片视场占比不高,且双模态不能灵活调整占比的不足,提出了一种细胞成像电学双模探测芯片异质封装的方法,通过设计和搭建新型双模探测系统,有效提高了芯片的视场占比,实现了针对细胞的实时双模探测。实验验证了系统对 C57 小鼠胎鼠皮层神经元和胶质瘤 GL261 细胞的双模探测性能,展示了系统的创新性、可靠性和实用价值,为未来多模探测系统的发展提供了新的技术路线和理论支持。

## 1 双模探测芯片设计

本文中的双模探测芯片集成了无透镜成像技术的光学模态以及微电极阵列的电学模态。

### 1.1 微电极阵列的设计

为了实现对胞外电位的高信噪比检测,本设计对微电极阵列的布局、基底、结构和电极参数进行了优化。选择高硼硅玻璃 BF33 作为基底材料,其具有良好的生物兼容性、高透明度和表面平整度,适合细胞培养。电极材质选用金(Au),因其具备高导电率、高化学稳定性和良好的生物兼容性<sup>[20]</sup>。针对 C57 小鼠胎鼠皮层神经元的研究,电极设计为边长 70  $\mu\text{m}$  的方形 Au 电极,电极中心间距为 65  $\mu\text{m}$ ,使用 200  $\mu\text{m}$  厚的 BF33 衬底,其示意图如图 1 所示,工艺步骤如下:

- 1) 使用丙酮和异丙醇在超声机中清洗 BF33 基底,去离子水冲洗并氮气吹干,如图 1(a)所示;

- 2) 磁控溅射沉积 10 nm 的钛(Ti)粘附层和 100 nm 的金(Au)电极层,如图 1(b)所示;

- 3) 旋涂光刻胶并进行前烘,如图 1(c)所示;

- 4) 光刻显影,洗净烘干,如图 1(d)所示;

- 5) IBE 刻蚀去除光刻图案外的 Ti 和 Au 层,如图 1(e)所示;

- 6) 丙酮清洗去除残余光刻胶,如图 1(f) 所示;
- 7) 等离子体增强化学气相沉积 200 nm 厚的  $\text{SiO}_2$  绝缘层,如图 1(g) 所示;
- 8) 光刻显影后,RIE 刻蚀去除电极图案上的  $\text{SiO}_2$ ,去胶、洗净、切割,如图 1(h) 所示。

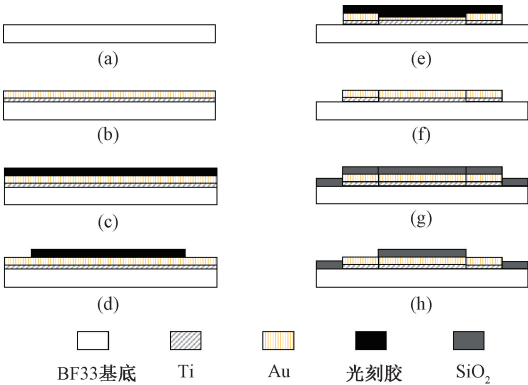


图 1 微电极阵列制作工艺流程图

Fig. 1 Microelectrode array fabrication process flow diagram

如图 2 所示,制成的微电极阵列具有较高透光性,每个阵列包含 69 个方形金电极,通过金连线引出到边缘,便于与显微成像芯片结合和封装。

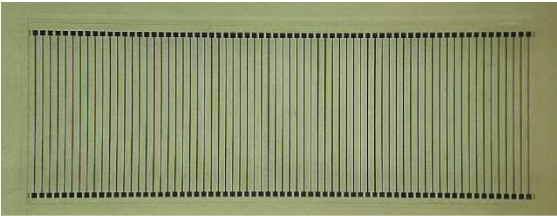


图 2 微电极阵列实物

Fig. 2 Microelectrode array real image

1.2 细胞成像技术

本设计中采用了课题组自主研发的一款超大规模、超小像元尺寸的显微成像芯片。该芯片利用无透镜成像技术,基于 SMIC 65 nm 工艺设计和制造,具有超过 1 亿的像素,单像素尺寸为 500 nm,成像区域大于 10 mm × 10 mm,其主要性能指标如表 1 所示。

表 1 双模芯片光学相关参数指标

Table 1 Optics-related parameters of dual-mode chips

相关指标	测试值
单像素尺寸/nm	500
有效探测面积/mm <sup>2</sup>	100
峰值量子效率/%	35
信噪比/dB	45.5

1.3 成像电学双模探测芯片的集成设计

为了实现细胞成像与电学双模探测,本文提出了一

种基于“异质封装”技术的新方案,该方案将无透镜显微成像芯片与微电极阵列集成在一起。如图 3 所示,成像芯片被粘附在封装管壳的基底上,管壳上方预留有开口。在 1.1 节中制备的微电极阵列(由高硼硅玻璃基底承载)被放置在成像芯片的 4 个边缘,而芯片的中央区域保持镂空,未被高硼硅玻璃基底覆盖。微电极阵列与芯片的指定位置精确对齐后,将它们的触点连接到封装管壳的引脚上。使用环氧树脂包裹引线以隔绝外部环境,同时保留芯片上方的空间。待环氧树脂固化后,去除多余的胶体并切除不必要的连接。成像区域被划分为高清成像区域(A)和超高清成像区域(B)。芯片中央未被微电极阵列覆盖的区域为超高清成像区域(B),而微电极阵列覆盖的区域由于微电极的透明性,仍可成像,但成像质量略低于中央区域,这部分为高清成像区域(A)。其实物如图 4 所示。

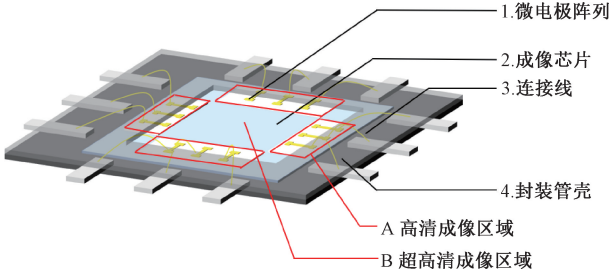


图 3 成像电学双模探测芯片示意图

Fig. 3 Diagram of an imaging and electrical dual-mode detection chip

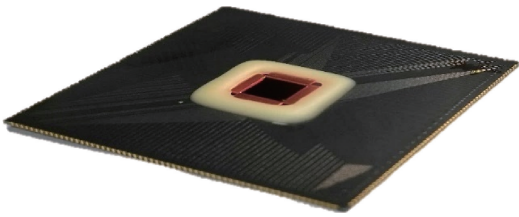


图 4 成像电学双模探测芯片实物

Fig. 4 Real image of an imaging and electrical dual-mode detection chip

由于微电极阵列的设计与成像芯片设计并非强绑定,微电极阵列的位置和尺寸具有一定的灵活性。在本文设计中,微电极阵列被放置在成像芯片的 4 个边缘,使得双模探测芯片能够灵活调整视场占比,并可根据需求重新布置微电极阵列的位置。该方案不仅适用于本研究,还可推广至多模态探测芯片的设计,从而简化设计流程、降低成本并提高系统的灵活性。



2 光电一体化系统设计

整个系统的基本架构如图 5 所示,由双模探测芯片、控制模块(现场可编程门阵列(FPGA))、电学信号处理模块和上位机 4 个部分组成。双模探测芯片负责探测电信号和光信号。电信号通过电学信号处理模块处理后传递至控制模块,而光信号直接传递给控制模块。最后,控制模块将处理后的数据传输至上位机,进行实时存储和显示。

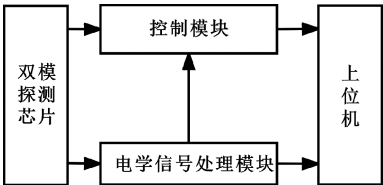


图 5 成像电学双模探测系统架构  
Fig. 5 Architecture of imaging and electrical dual-mode detection system

2.1 控制模块

控制模块由 XC7Z045 和 XC7A75T 两块 FPGA 实现,其中 XC7A75T 负责成像芯片读出接口时序与流程控制以及电学模块数据读取,数据通过 Serdes 发送至 XC7Z045,并缓存至 DDR 中后通过 10GE 光接口发送至上位机显示。光源部分依赖高发光效率的 LZ4-00MA00 LED,为成像芯片提供红、绿、蓝 3 种波长光,受 FPGA 时序控制。

2.2 电学信号处理模块

电学信号处理系统包括前端采集、电压抬升、低通滤波、多路复用、ADC、上位机等模块,其信号链图如图 6 所示。系统通过 12 V 直流电压供电,并通过一系列开关电源芯片和 LDO 芯片将其转换成多种稳定性高、输出纹波小的直流电压,为各部分供电。

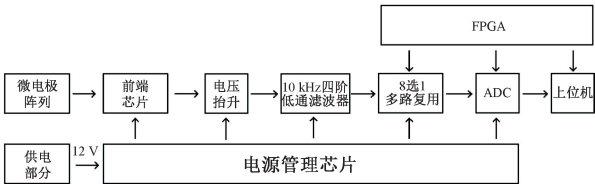


图 6 电学信号处理模块信号链  
Fig. 6 Signal chain diagram of the electrical signal processing system

胞外电位通过成像电学双模芯片上的微电极阵列采集,前端转接板将微电极阵列上的 64 个电极通过 FPC 排线引出,并通过跳线帽或杜邦线选择 8 个电极与前端接

口相连。信号经过前端芯片放大,再通过电压跟随器缓冲和电压抬升模块处理。后级接入四阶低通滤波器,采用 Sallen-Key 结构,低频截止点设置为 10 kHz。多路复用模块采用 3 片 4 选 1 开关实现 8 选 1 功能,通过 FPGA 控制切换。ADC 部分选用 ADS9817 芯片,最高可实现 64 通道数据的同时读出,数据通过 FPGA 和 GT 接口传输至上位机进行解码与实时显示。系统布局布线设计考虑了各部分之间的干扰和信号延时,确保了高精度和低噪声性能。

对电学部分进行测试,结果显示:低频增益为 48 dB,各通道的 -3 dB 带宽均超过 7 kHz,噪声均低于 5  $\mu\text{V}$ ,如图 7 和表 2 所示。

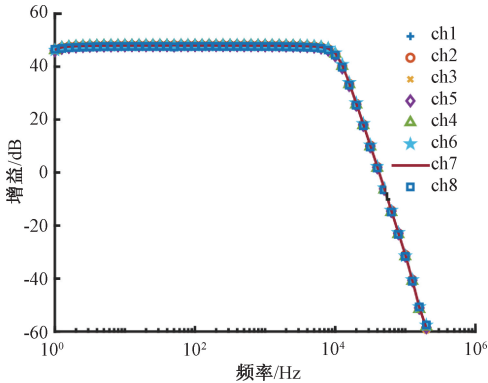


图 7 系统带宽测试  
Fig. 7 System bandwidth test chart

表 2 系统带宽及噪声测试结果

Table 2 System bandwidth and noise test results			
通道	-3 dB 带宽/kHz	带内噪声/ $\mu\text{V}$	1 kHz 内噪声/ $\mu\text{V}$
ch1	10. 10	2. 54	1. 06
ch2	9. 70	2. 55	1. 08
ch3	9. 60	1. 02	1. 02
ch4	9. 40	2. 59	1. 15
ch5	9. 90	2. 53	0. 92
ch6	10. 20	2. 42	0. 94
ch7	10. 10	2. 53	0. 97
ch8	9. 50	2. 45	0. 96

2.3 成像与电学检测的集成

结合 2.1 和 2.2 两节中的控制模块与电学信号处理模块,以及 1.3 节中设计的成像电学双模探测芯片,最终形成了整体的成像电学双模探测系统,如图 8 所示。系统各部分功能如下:光源部分通过 (flexible printed circuit, FPC) 排线与供电部分相连,并由电脑端上位机和 FPGA 控制,用于双模探测芯片的曝光;成像电学双模探测芯片集成了微电极阵列和超高分辨率成像芯片,通过 FPC 排线与供电部分和电学信号处理系统相连,进行电位探测和成像显示;供电部分提供各模块所需电源,并



将成像控制系统数据传输至上位机;供电部分,电学信号处理模块与时序与控制部分,通过 ( quick security handler, QSH)接口进行连接;电学信号处理系统放大、滤波、抬升、数模转换双模探测芯片探测到的微弱细胞信号,并传输数据至成像控制系统;成像控制系统负责光学和电学部分的时序控制逻辑、数据打包、存储与传输。系统通过 FPGA 实现成像芯片与 ADC 芯片的读出接口时序与流程控制,将数据重组并缓存至 DDR,随后通过 10GE 光模块发送至上位机。图 9 所示为上位机界面,左侧为成像部分控制与实时成像,右侧为电学部分控制与实时电位显示,中间控制按钮用于双模探测控制。

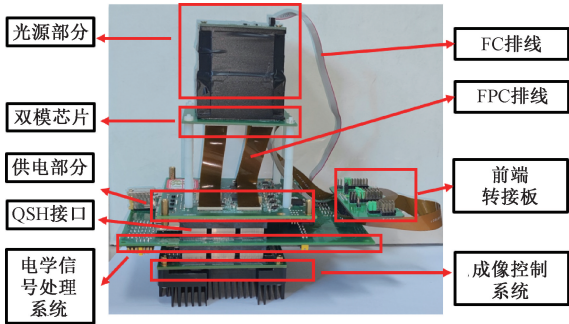


图 8 成像电学双模探测系统实物

Fig. 8 Real image of the imaging and electrical dual-mode detection system

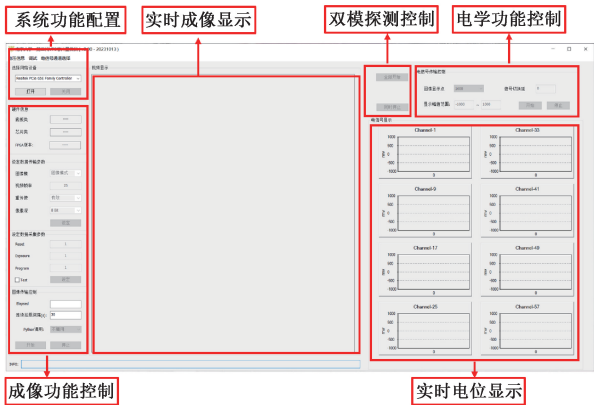


图 9 上位机界面

Fig. 9 Upper computer interface

系统用于成像电学双模芯片性能测试,如图 10 所示,结果显示高清和超高清成像区域,线宽 500 nm,展现了优异的成像能力。

3 实验测试

系统搭建完成后,将 C57 小鼠胎鼠皮层神经元接种在成像电学双模探测芯片上。具体步骤如下:用

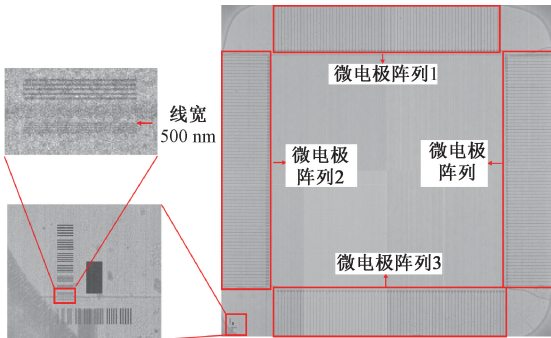


图 10 成像电学双模系统成像性能测试结果

Fig. 10 Imaging performance test results of the imaging and electrical dual-mode system

1 mg/mL 的多聚赖氨酸溶液预处理芯片过夜以促进细胞黏附;用超纯水洗涤 3 次并静置 1.5 h 后,以  $2\times 10^6$  个/mL 的密度接种细胞。在细胞接种第 9~12 d 进行实验测试,实验环境如图 11 所示,双模探测系统置于电磁屏蔽盒内,使用 12 V 电源适配器供电,数据通过网线传输至 PC 端上位机进行控制与数据采集。该成像电学双模探测芯片具有  $4\times 69$  个探测电极,取 8 个电极与电学信号处理系统连接。在细胞接种第 9 d,使用本文系统与显微镜分别观察细胞状态(图 12(a)和(b))。结果表明,神经元细胞均匀分布在微电极阵列与双模芯片上方,并形成突触连接。

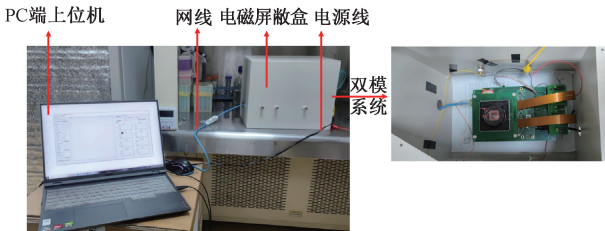
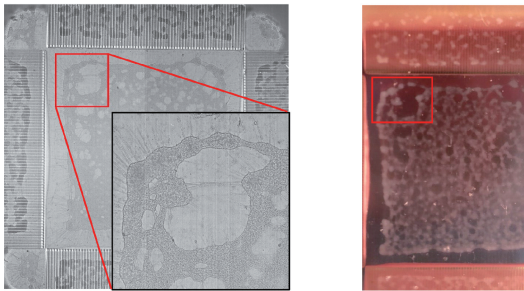


图 11 实验环境

Fig. 11 Experimental environment



(a) 使用双模系统观测结果  
(a) Observation Results Using Dual-Mode System

(b) 显微镜观测结果  
(b) Microscopic Observation Results

图 12 对神经元细胞的局部观测结果

Fig. 12 Localized observation results of neuron cells

### 3.1 电学模块测试

河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)是一种选择性极高的快速可逆钠离子通道阻断剂,可以阻止钠离子进入细胞,从而影响细胞膜动作电位的产生。研究表明,使用 TTX 处理神经元细胞后,神经元放电频率显著下降;在 TTX 洗脱之后,放电频率逐渐回升,并略高于初始状态。本文实验以空白培养基溶液作为对照组,并用接种 C57 小鼠胎鼠皮层神经元细胞的芯片设置 3 个实验组:正常培养的神经元为实验组 1;加入  $1\text{ }\mu\text{mol}$  的 TTX 处理约 0.5 h 为实验组 2;随后洗脱为实验组 3。

实验结果如图 13 和 14 所示。图 13 为每个对照组和实验组单个通道的 10 s 数据。神经元的放电尖峰通过阈值法标定,并用红色星号标记。结果表明,溶液对照组的噪声基线低于  $15\text{ }\mu\text{V}$ ,实验组 1 中存在自发的神经元放电,加入 TTX 后的实验组 2 中放电频率显著降低,洗脱后的实验组 3 中自发活动频率恢复至原始水平并略有上升。图 14 对 8 个通道的所有数据进行了统计分析,并排除了个别异常实验组,进一步全面验证了上述结论。神经元放电具有典型的钠离子内流和钾离子外流引起的去极化与复极化波形,电位幅值在  $20\sim 100\text{ }\mu\text{V}$ ,持续时间在  $1\sim 100\text{ ms}$ 。由图 14(a)看出加入 TTX 后倒波数量显著减少,频率变缓,洗脱后逐渐恢复至原先水平,部分通道略有上升。图 14(c)显示倒波间隔在加入 TTX 后显著增加,洗脱后逐渐恢复至原先水平。由图 14(b)和(d)看出各组检测的倒波幅度与持续时间基本不变。这些结果验证了系统进行胞外电位探测的有效性。

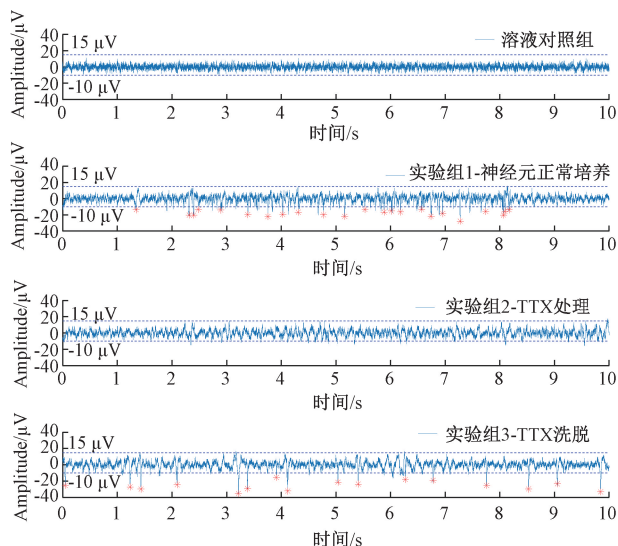


图 13 对照组与 3 组实验组电位对比测试结果

Fig. 13 Comparison of membrane potential test results between control group and three experimental groups

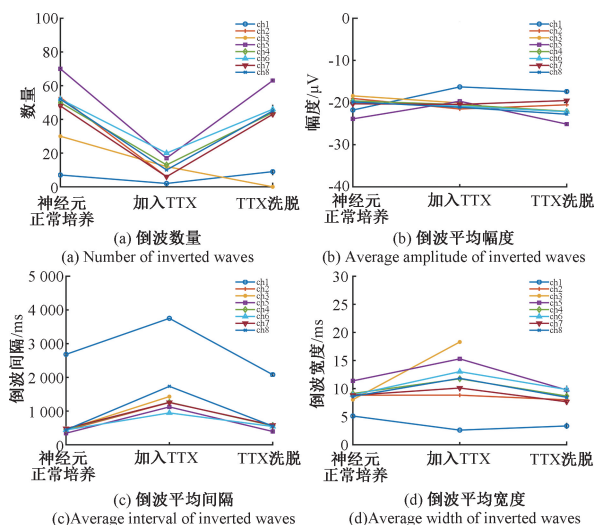


图 14 3 组实验组统计参数变化趋势

Fig. 14 Trends in statistical parameters for the three experimental groups

### 3.2 成像模块测试

为了验证系统的成像性能,使用另一组细胞进行成像实验。首先,使用系统记录芯片的亮场与暗场图像。在神经元细胞接种的第 8 d,观察细胞形态并记录作为对照组。然后向神经元细胞中加入胶质瘤 GL261 细胞,5 h 后再次记录细胞形态,作为实验组。放大其中  $2\ 500\times 2\ 500\text{ pixels}$  的局部图像,对照结果如图 15 所示。

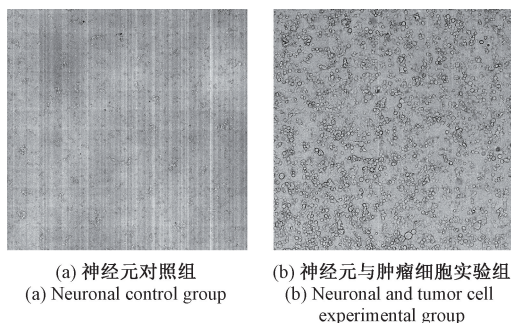


图 15 实验组图像采集结果

Fig. 15 The results of image acquisition in the experimental group

从图 15 可以看出,对照组的神经元细胞体清晰可见,此时细胞间尚未形成突触连接。实验组加入胶质瘤 GL261 细胞 5 h 后,图像显示细胞体显著增多,形成了胶质瘤细胞与皮层神经元细胞的共培养体系。通过该对照实验,可以验证系统进行成像探测的可靠性。

### 3.3 光电一体测试

在神经元细胞中加入胶质瘤 GL261 细胞约 11 h 后,对共培养体系进行成像和电学双模探测。实验流程如图



16所示,系统连续记录10 min 电位变化,同时每分钟采集一次成像数据。图17所示为从0~10 min 共11个时间点的成像结果。图18所示为10 min 内的电位探测数据,其中成像时的电位数据置0。为进一步分析细胞动态变化,图19对第0、3、6和10 min 的成像结果进行了局部放大处理,虽然10 min 的观察时间不足以捕捉到显著的细胞形态学改变,但仍可观察到胶质瘤细胞向神经元缓慢迁移的趋势。

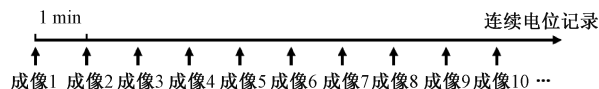


图16 双模探测实验流程

Fig. 16 Dual-mode detection experimental process

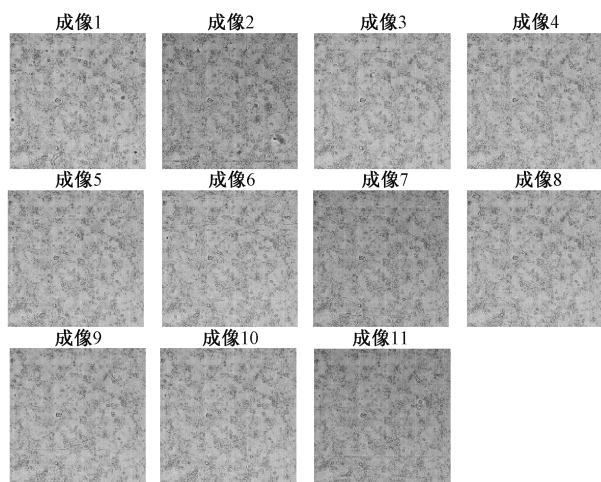


图17 双模探测实验连续成像结果

Fig. 17 Continuous imaging results of dual-mode detection experiment

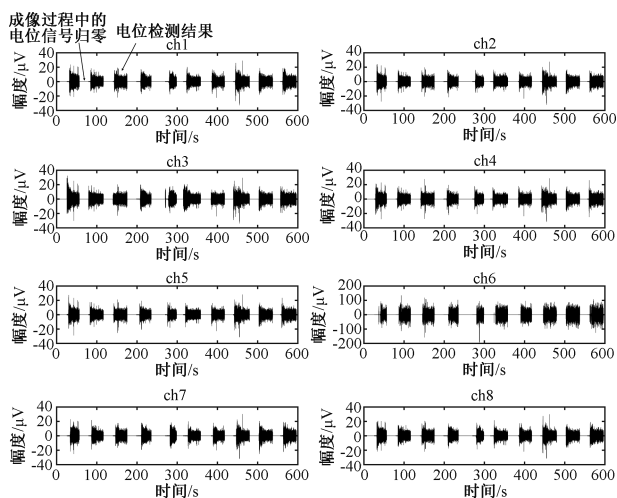


图18 双模探测实验电位探测结果

Fig. 18 Potential detection results of dual-mode detection experiment

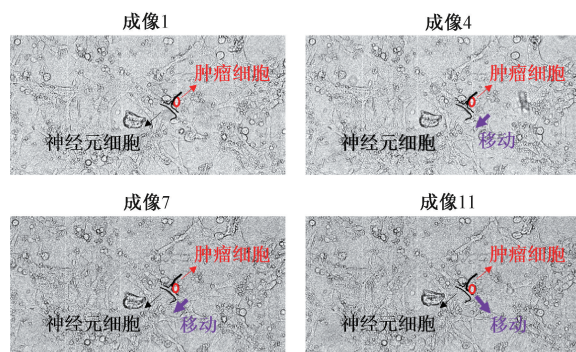


图19 成像局部放大图

Fig. 19 Partial enlarged view of imaging

图20所示为通道3的电位数据及其局部放大结果,与图13的电位信号相比,加入肿瘤细胞后电位信号呈现更复杂的特征,表现为正负向交替的细胞放电现象,同时仍可识别出自发放电波形。上述结果表明系统具备良好的双模探测能力。

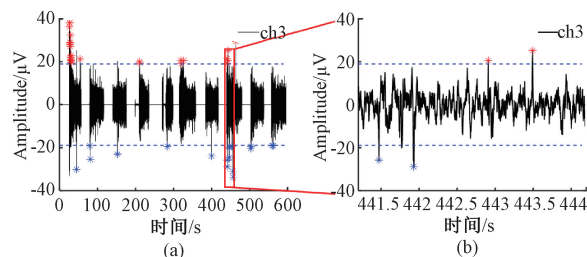


图20 通道3电位检测结果(a)及其局部放大图(b)

Fig. 20 Channel 3 potential detection results (a) and their local enlargement (b)

## 4 结论

针对细胞电生理学特性、形态学及其他特征的单模态探测系统研究的现状,研究者越来越重视对细胞多种特征参数的同时探测,以监测细胞高度复杂和未知的生理反应。本文针对当前成像电学双模探测芯片视场占比不高,且双模态不能灵活调整占比的不足,提出了一种成像电学双模探测芯片,通过异质封装无透镜显微成像芯片与微电极阵列实现,可灵活布放微电极阵列的位置,可有效提高芯片视场占比至90%以上。基于该芯片搭建了双模探测系统,并完成了对C57小鼠胎鼠皮层神经元和胶质瘤GL261细胞的实时双模探测实验。具体工作包括设计制作微电极阵列;提出并设计成像电学双模探测芯片,通过“异质封装”方法将微电极阵列与成像芯片结合;设计成像控制系统、电学信号处理系统并进行测试,验证整个系统具备良好的双模探测能力。



本文设计的细胞成像电学双模探测系统已经初步具备了实时双模探测的功能,但距离成熟的商业产品仍有改进空间。下一步研究计划包括进一步提高系统电位探测的空间分辨率,根据阵列读出芯片设计更大规模电极阵列,实现更准确的细胞电位定位;使用该系统进行长期的生物监测,通过长期观察与反复对比实验揭示细胞行为的内在机制,研究细胞形态学与电生理学的联系,以及各类刺激物对神经元作用效果的研究。

## 参考文献

- [1] ALBERTS B, BRAY D, HOPKIN K, et al. Essential Cell Biology[M]. Garland Science, 2015.
- [2] MANDENIUS C F, BJÖRKMAN M. Biomechatronic Design in Biotechnology: A Methodology for Development of Biotechnological Products [M]. John Wiley & Sons, 2011.
- [3] 郝丽俊, 单纯玉, 白宝丹. 基于方波恒流源细胞电阻测量系统的设计实现[J]. 国外电子测量技术, 2015, 34(3): 77.  
HAO L J, DAN CH Y, BAI B D. Design and implementation of cell resistance measurement system based on square wave constant current source [J]. Foreign Electronic Measurement Technology, 2015, 34(3): 77.
- [4] THOMAS C A JR, SPRINGER P A, LOEB G E, et al. A miniature microelectrode array to monitor the bioelectric activity of cultured cells [J]. Experimental cell research, 1972, 74(1): 61-66.
- [5] HEER F, HAFIZOVIC S, FRANKS W, et al. CMOS microelectrode array for bidirectional interaction with neuronal networks [J]. IEEE Journal of Solid-State Circuits, 2006, 41(7): 1620-1629.
- [6] EVERSMANN B, JENKNER M, HOFMANN F, et al. A  $128 \times 128$  CMOS biosensor array for extracellular recording of neural activity [J]. IEEE Journal of Solid-State Circuits, 2003, 38(12): 2306-2317.
- [7] FREY U, SEDIVY J, HEER F, et al. Switch-matrix-based high-density microelectrode array in CMOS technology [J]. IEEE Journal of Solid-State Circuits, 2010, 45(2): 467-482.
- [8] XIANG Y, LIU H, YANG W, et al. A biosensing system employing nanowell microelectrode arrays to record the intracellular potential of a single cardiomyocyte [J]. Microsystems & Nanoengineering, 2022, 8(1): 70.
- [9] SEO S, SU T W, TSENG D K, et al. Lensfree holographic imaging for on-chip cytometry and diagnostics [J]. Lab on a Chip, 2009, 9(6): 777-787.
- [10] LEE S A, LEITAO R, ZHENG G, et al. Color capable sub-pixel resolving optofluidic microscope and its application to blood cell imaging for malaria diagnosis [J]. PloS one, 2011, 6(10): e26127.
- [11] FENG S, WANG M, WU J. Enhanced resolution in lensless in-line holographic microscope by data interpolation and iterative reconstruction [J]. Optics Communications, 2017, 402: 104-108.
- [12] FENG S, WANG M, WU J. Lensless in-line holographic microscope with Talbot grating illumination [J]. Optics Letters, 2016, 41(14): 3157-3160.
- [13] WU J, FENG S. Lensless inline holographic microscope with insufficient spatial and temporal coherence [C]. 2018 IEEE Photonics Conference (IPC). IEEE, 2018: 1-2.
- [14] LOPEZ C M, CHUN H S, WANG S, et al. A multimodal CMOS MEA for high-throughput intracellular action potential measurements and impedance spectroscopy in drug-screening applications [J]. IEEE Journal of Solid-State Circuits, 2018, 53(11): 3076-3086.
- [15] YUAN X, HIERLEMANN A, FREY U. Extracellular recording of entire neural networks using a dual-mode microelectrode array with 19 584 electrodes and high SNR [J]. IEEE Journal of Solid-State Circuits, 2021, 56(8): 2466-2475.
- [16] HUANG X, YU H, LIU X, et al. A dual-mode large-arrayed CMOS ISFET sensor for accurate and high-throughput pH sensing in biomedical diagnosis [J]. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 2015, 62(9): 2224-2233.
- [17] PARK J S, GRIJALVA S I, AZIZ M K, et al. Multi-parametric cell profiling with a CMOS quad-modality cellular interfacing array for label-free fully automated drug screening [J]. Lab on a Chip, 2018, 18(19): 3037-3050.
- [18] JUNG D, JUNEK G V, PARK J S, et al. A CMOS 21 952-pixel multi-modal cell-based biosensor with four-point impedance sensing for holistic cellular characterization [J]. IEEE Journal of Solid-State Circuits, 2021, 56(8): 2438-2451.
- [19] WANG A Y, SHENG Y, LI W, et al. A multimodal and

multifunctional CMOS cellular interfacing array for digital physiology and pathology featuring an ultra-dense pixel array and reconfigurable sampling rate [J]. IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems, 2022, 16(6): 1057-1074.

[20] 张峰, 杨文阳. 微电极材料极化特性研究[J]. 电子测量与仪器学报, 2022, 35(3): 187-196.  
ZHANG F, YANG W Y. Study on polarization characteristics of micro-electrode materials [J]. Journal of Electronic Measurement and Instrumentation, 2022, 35(3): 187-196.

作者简介



**邓煜豪**, 2023 年于南京大学获得学士学位, 现为南京大学硕士研究生, 主要研究方向为模拟 IC 设计。  
E-mail: dengyuhao1931@163.com  
**Deng Yuhao** received his B. Sc. degree from Nanjing University in 2023. Now he is a M. Sc. candidate at Nanjing University. His main research interest includes analog IC design.



**张丽敏**(通信作者), 2000 年和 2003 年分别获得南京航空航天大学学士学位和硕士学位。2012 年获得南京大学博士学位。2012 年至 2013 年, 于西澳大利亚大学担任访问学者, 随后在南京大学电子科学与工程学院开展研究工作, 并于 2019 年晋升为教授。主要研究方向为模拟集成电路设计及其在低频电场检测、目标识别、电容式生物电位和电流测量、主动噪声控制等方面的应用。  
E-mail: lmzhang@nju.edu.cn  
**Zhang Limin** (Corresponding author) received the B. Sc. and M. Sc. from Nanjing University of Aeronautics and Astronautics in 2000 and 2003. She obtained her Ph. D. degree from Nanjing University in 2012. After working as a Visiting Scholar in the University of Western Australia in 2012-2013, she started her independent work in the School of Electronic Science and Engineering, Nanjing University, and appointed as a full Professor in 2019. Her main research interests include analog integrated circuit design and their applications for low-frequency electric field detection, target recognition, capacitive bio-potential and current measurement, and active noise control.