

摘 要

生物醫學傳感技術是獲取生物生理和病理信息的關鍵技術，這一領域的研究已經深入到細胞和分子層次。目前，以活體細胞作為研究對象或敏感元件的細胞傳感器得到了廣泛關注和發展。將活體細胞與電極或其他信號傳感元件組合，可以定性定量地檢測細胞的基本功能信息和被分析物質的性質。

可興奮細胞，如神經細胞、肌肉細胞和腺體細胞等，均能產生動作電位響應外界刺激（如光、電、藥物等）。因此，監測可興奮細胞的電活動，在藥物篩選、病理學和神經學等研究中有重要意義。目前，體外測量可興奮細胞膜電位已得到廣泛認同。這種方法能夠實現無損測量，因此適合用於長期測量細胞。標準 CMOS 技術與細胞體外測量技術的結合，為細胞體外測量技術提供了更廣闊的發展空間。標準 CMOS 工藝不但有利於提高陣列密度，而且可以實現傳感陣列與後端信號處理電路的單片化集成，提高測量的效率和精度，滿足細胞研究的需要。因此，本文重點研究基於標準 CMOS 工藝的細胞體外電信號傳感技術，設計並實現了陣列式 CMOS 生物電信號傳感芯片，通過測試驗證了芯片功能。

本論文的主要內容和貢獻可歸納為以下幾點：

1. 全面深入地研究了 CMOS 細胞傳感器的發展情況，對國際上各主要科研小組的最新研究進展作了概況總結，提出課題研究的方向。

2. 基於 $0.6\mu\text{m}$ 標準 CMOS 工藝設計了陣列式傳感芯片。該芯片片上集成了 6×6 單元有源傳感陣列、模擬多路選擇器、輸出緩沖器、參考源和數字控制電路。有源傳感單元面積為 $65\mu\text{m}\times 80\mu\text{m}$ ，包含 $15\mu\text{m}\times 15\mu\text{m}$ 的傳感電極和預處理電路，能夠線性放大幅值範圍 $100\mu\text{V}-25\text{mV}$ 的微小信號，並採用相關二次採樣工作模式降低固定模式噪聲，提高傳感器的精度。

3. 在完成標準 CMOS 工藝基礎上，設計了傳感電極的後續加工工藝。採用

lift-off 和无电浸镀两种方法改善电极的生物兼容性。并且设计了特殊的芯片封装工艺，提高芯片在溶液环境中的稳定性。

关键词：互补金属氧化物半导体集成电路，生物传感器，细胞传感器，阵列，细胞外测量，可兴奋细胞，电生理活动

Abstract

Biomedical sensor technology is crucial in acquiring physiological and pathological information, and the research in this area has reached the cellular level and molecular level. Recently, Cell-based biosensor is increasingly becoming the hot-point. By coupling the living cell to electrodes and other devices, the essential functional information of cell biology and targeted substance could be detected.

Electrogenic cells, such as neural tissues, cardiac muscle cells and adenoid cells, could response the exoteric stimulations (such as light, electricity and medicine) by generating the action potentials. Detecting the bioelectrical activity of in-vitro electrogenic cells is a basic approach in the research of cell biology, pharmacology and toxicology. At present, extracellular recording is widely accepted as an effective methodology because of its non-invasive nature which allows long-term (up to several months) monitoring and stimulating the electrophysiological activity. Further developments have been achieved since the CMOS (complementary metal oxide silicon) technology is applied to the field of extracellular recording. By virtue of advanced CMOS process, high-density sensor array could be fabricated and the quality of the sensor could be improved by integrating multi-functional circuits within each sensor cell. Therefore, this thesis focuses on the design of CMOS-based biosensor for detecting and recording bioelectrical activity of in-vitro electrogenic cells.

The major contents and contributions of this thesis could be summarized as follows:

1. The development of CMOS Cell-based technology is widely researched in this thesis and a plenty of cutting-edged research achievements are reported.

2. A new CMOS biosensor chip designed for recording electrophysiological activities of in-vitro cultured cells is reported. It is designed and fabricated in a standard 0.6 μm CMOS process, consisting of 6 \times 6 active sensor array, analog

multiplexer, output buffers, reference sources and digital controlling circuit. Each sensor cell is $65\mu\text{m}\times 80\mu\text{m}$ in the dimension, including a $15\mu\text{m}\times 15\mu\text{m}$ electrode and a pre-processing circuit which could linearly amplify signals with peak-to-peak values from $100\mu\text{V}$ to 25mV . The correlated double sampling circuit is utilized to remove the common-mode noise.

3. Post-CMOS processes including electroless gold plating and lift-off technique are utilized to improve the biocompatibility of the electrodes, and special package technique are implemented to enhance the stability of the biosensor in the solution environment.

Key words: CMOS, Biosensor, Cell-based sensor, Array, Extracellular detection, Electrogenic cells, Bioelectrical activity

衷心感谢

国家自然科学基金会对本项目的资助

(NSFC ID: 60576050)

第一章 绪 论

本章提要:

1.1 介绍了生物医学传感技术的发展现状和趋势; 1.2 和1.3 分别介绍了基于细胞的传感技术(*cell-based sensor*)和基于 CMOS 的生物医学传感技术(*CMOS-based sensor*)两大热门的研究领域; 1.4 介绍了论文的主要内容

传感器技术是一项迅速发展、应用广泛的高新技术, 在现代科技领域有相当重要地位。在信息系统中, 信息的采集利用传感器技术, 信息的传输是利用通信技术, 信息的处理利用计算机技术。因此, 传感与控制技术、通信技术、计算机技术构成现代信息技术的三大支柱。它们分别相当于现代信息技术系统的“感官”、“神经”和“大脑”。传感器技术在新材料、新结构、新工艺的推动下朝着多功能集成化、低功耗智能化、微精细化、高精度、高稳定、高可靠以及向着测量的极限值方向发展。

生物医学传感技术是获取生物生理和病理信息的关键技术, 在生命科学技术高速发展的 21 世纪, 生物传感技术正进入全面深入研究开发时期, 各种微型化、集成化、智能化、实用化的传感器与系统越来越多。

1.1 生物医学传感技术研究

1.1.1 概况

生物医学传感技术的目标是利用传感器将各种被观测的生物非电学量转换为易观察的电学量, 扩大人的感观功能, 是构成各种医学分析和诊断设备的核心部分。

生物传感技术中常用的传感器按被观测的量分为以下几种:

- (1) 物理传感器: 用于测量和监护生物体的血压、呼吸、脉搏、体温、心电、血液的黏度、流速等物理量的检测。
- (2) 化学传感器: 用于生物体中气味分子, 体液中的 pH 值、氧和二氧化碳含量、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 以及重金属离子等化学量的检测。
- (3) 生物传感器: 用于生物体中组织、细胞、酶、抗原、抗体、激素, DNA、RNA 以及蛋白质等生物量的检测。

国际上生物医学传感技术的研究是同步或超前于生物医学发展的, 其重大前沿

课题都是围绕如何提高诊疗技术与深化生物医学研究展开的。众多生物医学和物理、化学、电子和材料上发明和发现都很快在生物传感器领域获得重要的应用，如微结构和集成生物医学传感器、生物芯片、纳米传感器等。

1.1.2 生物医学传感技术的发展趋势

(1) 在体监测

在体监测可以实时、定点、动态、长期地观测体内所发生的生理病理过程，在体监测所提供地信息都是无与伦比的。目前已出现了多种在体监测技术，如：植入式传感器可将体内的信息发射或传送至体外；导管式传感器可以连续传感血管内或心脏内的血液和离子等。在体监测目前存在的主要问题是改进传感器与组织的相容性。

(2) 无损监测

无损监测是病人最容易接受的监测方式，是当前生物医学传感技术中受到普遍关注的实际问题。目前取得的进展有：经皮血气传感器无损监测血气，利用非抽血测量（即通过抽负压使血液中的低分子渗出）传感血糖、尿素等。

(3) 细胞内监测

细胞是人的基本单位，人体的主要生理生化过程是在细胞内进行的，监测细胞内离子和分子事件，已成为当前生命科学中的热点课题。监测离子事件的离子选择性微电极（ Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 等）技术已成熟，监测分子事件的分子选择性微电极正在开发之中。

(4) 仿生传感器

目前已研制出多种受体传感器、神经元传感器、仿神经元传感器。目前直接采用生物做生物传感器存在的主要问题是，脱离固有的微环境后，活性物质易失活，解决的主要途径是利用仿生化学人工修饰或合成敏感材料。

(5) 基因探测

基因探测是当代生命科学的核心技术之一，目前研究使用的生化方法和基因探针的缺点是操作繁复、效率低，而研制 DNA、RNA 传感器是解决这些问题的有效途径，这些方面的研究正在进行。

(6) 纳米技术在生物医学传感技术中的应用

纳米生物技术是国际生物技术领域的前沿和热点问题，在生物传感器及生物检

测领域中有着广泛的应用和明确的产业化前景，特别是纳米生物传感器、微型智能化医疗器械以及纳米药物载体等，将在疾病诊断、治疗和卫生保健方面发挥重要作用。

此外，还有床边监测、生物分析器、智能分子系统和智能人工脏器研究发展趋势。

未来的生物医学传感器将具有以下特点：

功能多样化：未来的生物医学传感器将进一步涉及医疗保健、疾病诊断、监测等各个领域。目前，生物医学传感器研究中的重要内容之一就是研究能代替生物视觉、听觉和触觉等感觉器官的生物传感器，即仿生传感器。

微型化：随着微加工技术和纳米技术的进步，生物医学传感器将不断地微型化，各种便携式生物传感器的出现使人们在家中进行治疗，使直接检测成为可能。

智能化与集成化：未来的生物医学传感器必定与计算机紧密结合，自动采集数据、处理数据，更科学、更准确地提供结果，实现采样、进样、结果一条龙，形成检测的自动化系统。同时，芯片技术将越来越多地进入传感器领域，实现检测系统的集成化、一体化。

低成本、高灵敏度、高稳定性和高寿命：生物医学传感器技术的不断进步，必然要求不断降低产品成本，提高灵敏度、稳定性和延长寿命。这些特性的改善也会加速传感器市场化、商品化的进程。

基于细胞的传感器 (cell-based sensor) 和与 CMOS 技术结合的传感器 (CMOS-based sensor) 是目前生物医学传感技术的热点，它们的研究情况在 1.2 和 1.3 及第二章中作详细介绍。

1.2 基于细胞的传感技术(Cell-based Sensor)

1.2.1 概况

细胞是人体和其他生物体的基本结构单元。体内所有的生理功能和生化反应，都是在细胞及其产物的物质基础上进行的。细胞生理学和分子生物学的实验技术和理论，已经迅速向基础医学和临床医学渗透。随着人类基因组计划 (human genome project, HGP) 的完成，分子水平上的基因和蛋白质研究已不能满足人类对生命科学的原位探索，而细胞水平研究的核心优势在于实现原位检测，即不破坏细胞形态结构的情况下，用生化的和物理的技术对细胞的生活状态做定性定量分析，研究其动



测领域中有广泛的应用和明确的产业化前景，特别是纳米生物传感器、微型智能化医疗器械以及纳米药物载体等，将在疾病诊断、治疗和卫生保健方面发挥重要作用。

此外，还有床边监测、生物分析器、智能分子系统和智能人工脏器研究发展趋势。

未来的生物医学传感器将具有以下特点：

功能多样化：未来的生物医学传感器将进一步涉及医疗保健、疾病诊断、监测等各个领域。目前，生物医学传感器研究中的重要内容之一就是研究能代替生物视觉、听觉和触觉等感觉器官的生物传感器，即仿生传感器。

微型化：随着微加工技术和纳米技术的进步，生物医学传感器将不断地微型化，各种便携式生物传感器的出现使人们在家中进行疾病诊断，使直接检测成为可能。

智能化与集成化：未来的生物医学传感器必定与计算机紧密结合，自动采集数据、处理数据，更科学、更准确地提供结果，实现采样、进样、结果一条龙，形成检测的自动化系统。同时，芯片技术将越来越多地进入传感器领域，实现检测系统的集成化、一体化。

低成本、高灵敏度、高稳定性和高寿命：生物医学传感器技术的不断进步，必然要求不断降低产品成本，提高灵敏度、稳定性和延长寿命。这些特性的改善也会加速传感器市场化、商品化的进程。

基于细胞的传感器 (cell-based sensor) 和与 CMOS 技术结合的传感器 (CMOS-based sensor) 是目前生物医学传感技术的热点，它们的研究情况在 1.2 和 1.3 及第二章中作详细介绍。

1.2 基于细胞的传感技术(Cell-based Sensor)

1.2.1 概况

细胞是人体和其他生物体的基本结构单元。体内所有的生理功能和生化反应，都是在细胞及其产物的物质基础上进行的。细胞生理学和分子生物学的实验技术和理论，已经迅速向基础医学和临床医学渗透。随着人类基因组计划 (human genome project, HGP) 的完成，分子水平上的基因和蛋白质研究已不能满足人类对生命科学的原位探索，而细胞水平研究的核心优势在于实现原位检测，即不破坏细胞形态结构的情况下，用生化的和物理的技术对细胞的生活状态做定性定量分析，研究其动

测领域中有着广泛的应用和明确的产业化前景，特别是纳米生物传感器、微型智能化医疗器械以及纳米药物载体等，将在疾病诊断、治疗和卫生保健方面发挥重要作用。

此外，还有床边监测、生物分析器、智能分子系统和智能人工脏器等研究发展趋势。

未来的生物医学传感器将具有以下特点：

功能多样化：未来的生物医学传感器将进一步涉及医疗保健、疾病诊断、监测等各个领域。目前，生物医学传感器研究中的重要内容之一就是研究能代替生物视觉、听觉和触觉等感觉器官的生物传感器，即仿生传感器。

微型化：随着微加工技术和纳米技术的进步，生物医学传感器将不断地微型化，各种便携式生物传感器的出现使人们在家中进行疾病诊断，使直接检测成为可能。

智能化与集成化：未来的生物医学传感器必定与计算机紧密结合，自动采集数据、处理数据，更科学、更准确地提供结果，实现采样、进样、结果一条龙，形成检测的自动化系统。同时，芯片技术将越来越多地进入传感器领域，实现检测系统的集成化、一体化。

低成本、高灵敏度、高稳定性和高寿命：生物医学传感器技术的不断进步，必然要求不断降低产品成本，提高灵敏度、稳定性和延长寿命。这些特性的改善也会加速传感器市场化、商品化的进程。

基于细胞的传感器 (cell-based sensor) 和与 CMOS 技术结合的传感器 (CMOS-based sensor) 是目前生物医学传感技术的热点，它们的研究情况在 1.2 和 1.3 及第二章中作详细介绍。

1.2 基于细胞的传感技术(Cell-based Sensor)

1.2.1 概况

细胞是人体和其他生物体的基本结构单元。体内所有的生理功能和生化反应，都是在细胞及其产物的物质基础上进行的。细胞生理学和分子生物学的实验技术和理论，已经迅速向基础医学和临床医学渗透。随着人类基因组计划 (human genome project, HGP) 的完成，分子水平上的基因和蛋白质研究已不能满足人类对生命科学的原位探索，而细胞水平研究的核心优势在于实现原位检测，即不破坏细胞形态结构的情况下，用生化的和物理的技术对细胞的生活状态做定性定量分析，研究其动

态变化,了解细胞代谢过程中各种状态的变化,对细胞的组分和细胞外的产物,在其原位和活的情况下进行定量化学分析,因此细胞水平的研究必将成为后基因时代生命科学的核心内容。

近年来细胞传感器 (Cell-based Biosensor) 与芯片(Cell-based Biochip)的研究日益成为细胞研究领域的热点和前沿。它们利用活细胞作为研究对象或敏感元件,使之与电极或其他信号传感元件组合,定性定量地检测细胞的基本功能信息和被分析物的性质。如细胞传感器可以监测单个活细胞的生理功能,从而解决与功能性信息相关的问题。细胞传感器还可以确定被分析物的存在与否及浓度大小,细胞的呼吸代谢产生电子,这些电子直接在阳极上放电,也可通过电子传递媒介间接在电极上放电,产生可被测量的电信号或电流的大小与被测物的浓度呈线性关系,因此,可以通过测量电信号实现检测待测物的目的。细胞芯片则可以检测细胞内部基因和蛋白质表达的变化,如在芯片上通过培养吸收了已知cDNA,利用生物芯片探针杂交检测原理,使可检测激动剂或抑制剂对细胞内部基因表达的影响。

总之,在生物医学、环境监测和药物开发等领域,细胞传感器与芯片均能实时、持续和快速地进行分析检测,具有十分广阔的应用前景。

1.2.2 分类

根据测量机理的不同,可以将细胞传感器分为三类[3]:通过测量传导率来测量细胞之间以及细胞与衬底间的力学接触的传感系统;测量细胞的代谢产物的传感系统;直接测量可兴奋细胞(神经细胞、心肌细胞等)电信号响应的传感系统。第三类传感器是本课题的研究重点,它的测量机理将在第二章作详细阐述。

下面介绍前两类传感器的测量机理。

(1) 测量细胞和细胞及细胞和衬底的接触

大多数细胞都具有黏附性,贴壁生长在电极上的细胞形状和运动状态的变化。都会引起贴壁界面阻抗的变化。Giaever 等[4]根据这一特性,设计了能实时、连续、定量跟踪哺乳动物细胞变化的细胞传感器ECIS (electric cell-substrate interaction impedance sensor) — 细胞与电极基底之间的阻抗传感器[5],这个系统可以检测细胞的运动、延展、凋亡等变化的量化信息,更重要的是可以定量检测细胞对药物的响应(图1.1)。系统的核心部分是一个在培养皿底部的金电极,因此电极就浸在组织培

养液中，大多数哺乳动物细胞在培养过程中沉降并在电极上附着延展时，电极的阻抗会发生变化，阻抗的改变揭示了关于细胞变化的重要动力学信息。这个系统可以在纳米水平上定量地检测细胞的微运动[6]。

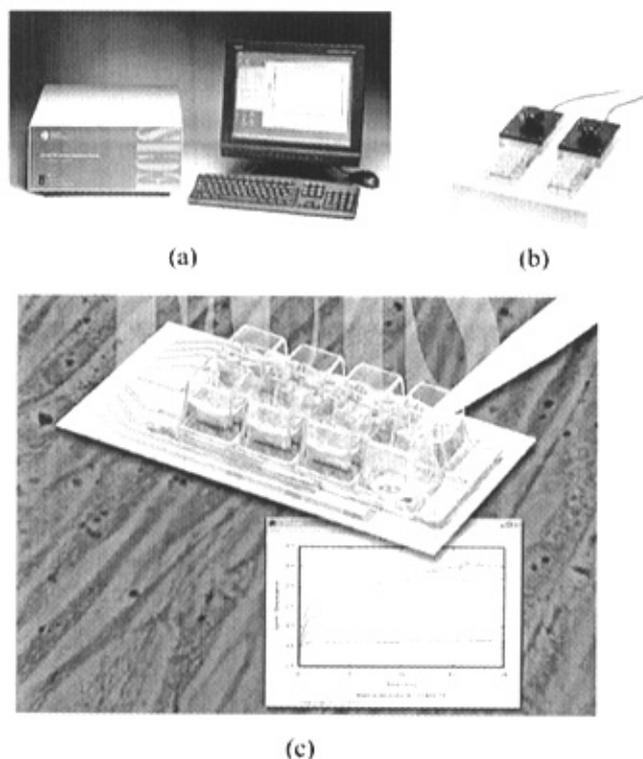


图1.1 (a) Model 1600R ECIS 全套设备 (b) (c) 细胞培养容器和测试仪器 [7]

牛津大学医学部应用金电极测量活细胞阻抗或电位变化的细胞传感器进行抗癌药物的筛选[8]，筛选出阿霉素（Adriamycin）、卡铂（Cisplatin）等对卵巢癌和乳腺癌等细胞有响应的药物，以及紫杉萜（Taxotere）等无效的药物，这些结果已经证实与扫描电镜和MTT比色分析法的测试结果一致。

加利福尼亚大学Yong等[9]对利用阻抗的变化反映细胞膜完整性的细胞传感器芯片进行了研究。用不同浓度的Triton X-100试剂检测人类前列腺癌细胞系的细胞膜完整性损坏情况，通过细胞传感器检测整个实验的动力学过程。细胞膜的生理完整性是细胞死亡的一个重要指标，因此，此类细胞传感器结合比色度和荧光染色可以跟踪检测细胞的发育情况。也为细胞凋亡的基础研究提供了有力的工具。

(2) 测量细胞的代谢产物

实时活体监测细胞是全面了解细胞生理性能及其机制的重要基础，这就要求能够定量测量和分析细胞的内外微环境。测定细胞内自由离子浓度的较好方法是采用离子敏感微电极(ISME)，组合不同的ISME 可以并行测量细胞内多种离子，如 NH_4^+ ， Cl^- ， Na^+ 和 Mg^{2+} 等。此外，荧光成像也是细胞内微环境监测的一种有用的工具，可测量与细胞信号传递有关的离子浓度蛋白表达的变化。细胞内生理状态的改变会引起细胞外代谢物(如离子生物大分子等)的相应变化。因此，测量细胞代谢后胞外微环境的相关参数，可以间接监测细胞的生理变化。20 世纪90 年代，美国分子器件公司(Molecular Device Corporation)把芯片技术引入生物学领域[10]，开发出了一种细胞微生理计(Microphysiometer)。由于细胞能量代谢产生酸性物质，使外环境酸化，可以利用光寻址电位传感器(LAPS)[11]可以测量细胞外微环境的pH值变化(图 1.4)，定量计算细胞 H^+ 排出速率，从而可以分析细胞的代谢率。这种方法对糖酵解和呼吸作用的代谢过程都适用。

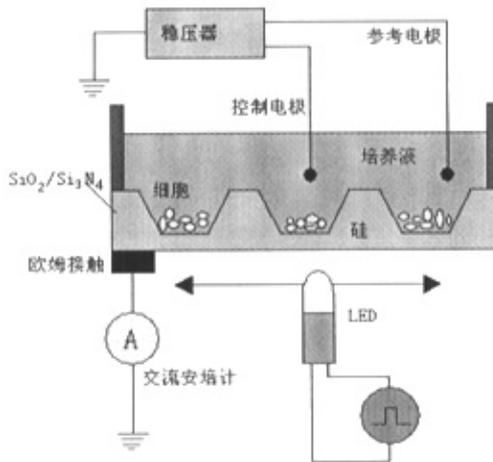


图 1.2 LAPS 测试细胞微环境原理图

除了利用LAPS 测量酸化率，也用 H^+ 敏场效应管 (ISFET) 来测量胞外代谢率 [12]。大量的配体-受体结合实验表明，功能受体与激动剂相结合会引起细胞酸化率上升。根据酸化率这一指标，细胞微生理计就可以测量化疗药物对肿瘤细胞的药效 [13]，实现高通量的药物评价和筛选[14]

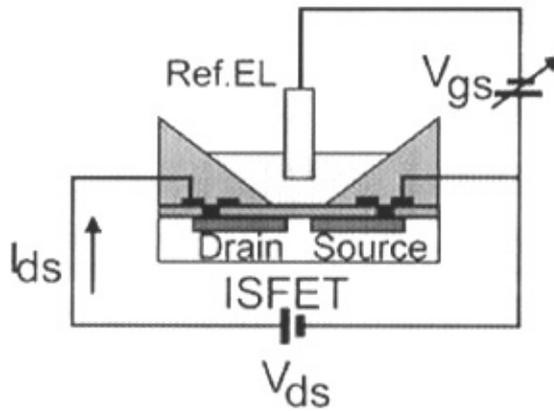


图1.3 ISFET 测试原理图，Ref. EL 为溶液中的参考电极

1.3 CMOS-based 生物传感技术

CMOS 工艺和技术与传统生物传感技术的结合，为生物传感技术提供了更广阔的发展空间。采用 CMOS 技术中先进的光刻和掩膜工艺不仅可以制造高密度的传感阵列，而且可以实现阵列与后端信号处理电路的单片化集成，提高测量的效率和精度，满足生物传感的需要。目前 CMOS 技术已广泛应用于检测基因和体外培养 (in-vitro cultured) 细胞。这一领域的研究正在不断发展和深化之中。

1.3.1 CMOS DNA 微阵列芯片

DNA 微阵列芯片的目的是平行检测特殊的 DNA 序列。DNA 传感器包含了 DNA 探针的生物识别过程和与之相适应的生物亲和力反应的换能器。基本过程为：不同的单链 DNA 受体分子固定于某特定位置，固定之后就被认为不同的位置已有不同的探针分子。之后，芯片用含有靶分子的样品冲洗。靶分子与探针分子匹配时即发生杂交；若失配，则杂交不会发生。完成杂交后的双链 DNA 和未发生杂交单链 DNA 都保持在原位。通过对这些分子状态的检测识别，即可以判断出样品的组成成分。

F.Hofmann 等人在 CMOS DNA 芯片方面取得很多研究成果[15][16][17]。CMOS DNA 芯片进行电学测试的原理基于氧化还原反应，如图 1.5。探针分子固定于金电极表面，靶分子由酶（碱基磷酸盐）标记。经过杂交和冲洗阶段后，将超越氨苯磷酸盐（para-Aminophenylphosphate）应用于芯片，在杂交的位置就会产生电化学活性的超越氨基酸（para-Aminophenol）。在传感器电极上加上电势，相对于参

考电极, V_{gen} 上加上+300mV, V_{col} 上加上-100mV。超越氨基酸在一个电极上氧化为醌亚胺 (Quinoneimine), 在另一电极上醌亚胺还原为超越氨基酸。这一电化学反应转化为电极上的电流 (I_{gen} 和 I_{col})。在这一过程中, 一部分粒子进入电解液中, 需要采用了一个调节环路来维持溶液电势的恒定。

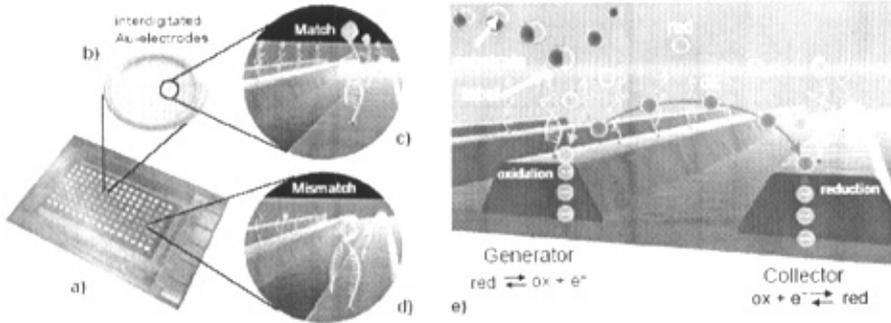


图 1.4 (a) 包含 Au 工作电极的传感阵列 (b)Au 电极 (c) DNA 单链匹配时发生杂交反应 (d) DNA 单链不匹配 (e) 在冲洗过程后电极上的氧化还原过程。

制作 CMOS DNA 芯片, 要在标准 CMOS 工艺基础上, 淀积 Ti/Pt/Au (50nm/50nm/300-500nm) 的金属层, 用 lift-off 工艺制作电极图形。制作完毕的一个 16×8DNA 阵列芯片的照片如图 1.5 所示。每个传感单元中都有 A/D 转换电路。

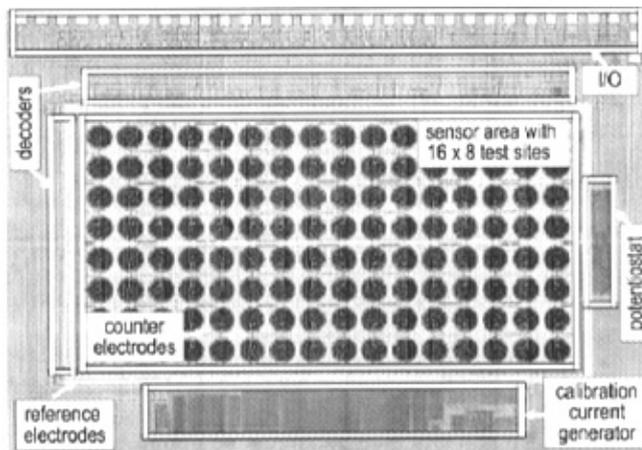


图 1.5 16×8DNA 芯片照片

电路的基本原理如图 1.6 所示。

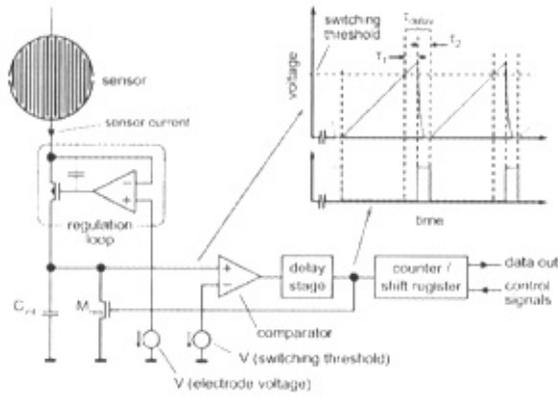


图 1.6 DNA 传感阵列内部电路原理

电极的电势通过一个包含运算放大器和晶体管跟随器来调节控制。在 A/D 转换中，采用了 current-to-frequency 转换生成锯齿波的概念。集成电容 C_{int} 被传感器电流充电，当达到比较器的开关值时，产生一个置位信号，电容通过 M_{res} 放电。置位信号的产生数目由加法器记录。记录的频率大约是

$$f = I_{\text{electrode}} / (V_{\text{refcomp}} \times C), \quad I_{\text{electrode}} \text{ 是电极的电流, } V_{\text{refcomp}} \text{ 是比较器开关值,}$$

$$C = C_{\text{int}} + C_{\text{parasitic}}$$

在测试中，选择 V_{refcomp} 为 1V， C 为 140fF，所以当电流为 10^{-12}A 到 10^{-7}A 时，得到的频率为 7Hz 到 700kHz。置位信号用一个 24 阶加法器计数。

进行生物实测时，两列传感单元安装不同的 DNA 片断。测试结果如图 1.7 所示，

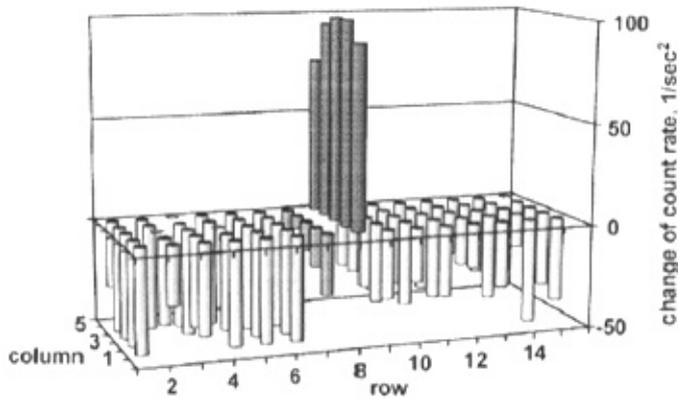


图 1.7 DNA 实测实验结果。Row8 为匹配的探针位置情况，Row7 为不匹配探针位置情况。其他的位置没有功能化。

在此研究基础上，他们又进行了更深入的研究，制作了数字型的 CMOS DNA 芯片。[18]

1.3.2 CMOS 生物光学传感技术

利用标准 CMOS 技术制作用于生物光学探测的传感器也是目前研究的热点。美国 Stanford, Columbia, Tennessee, 台湾交通大学等研究小组在这一领域的研究中都取得了一定成果。

(1) Stanford 大学 K. Salama 采用了 $0.18\mu\text{m}$ CMOS 工艺制作了生物光学传感芯片，用于探测蛋白质、核酸等[19][20]。芯片包含 8×16 像素阵列，每一列中包含 13bit、2 阶的 ADC 电路， DSP 和 SRAM 存储器。电路结构如图 1.8。

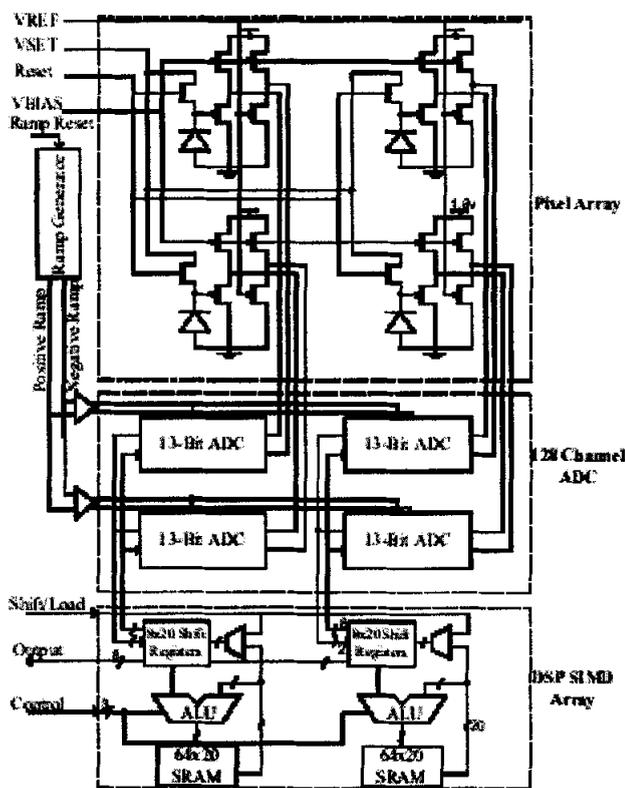


图 1.8 芯片电路结构图

像素单元由 P+/N/P-sub 结构的光电管，NMOS 置位开关和 PMOS 源级跟随器组成。电路的主要性能如表 1.1 所示。



Chip	
Technology	1P4M modified 0.18 μ m CMOS
Die Size	5mm \times 5mm
Number of Transistors	492,000
Output Readout Rate	8 bit @ 40MHz
Pixel Array	
Array size	8 \times 16
Pixel size	230 μ m \times 230 μ m
Photodiode type/size	P+N/Parb/150 μ m \times 150 μ m
Dark signal	2.6 mVs
QE	0.35
Sensitivity	139V/lux-sec (before VGA gain)
Dynamic Range	61 dB
Voltage Range	0.2-0.7V
Static Power	4.6mW
Ramp	
Swing	2V
Linearity	10 Bits
Noise	<150 μ V (RMS)
VGA	
Gain	2-30
Resistor sizes	6 \times 500 k Ω , 2 \times 30 k Ω
Linearity	>10 bits
BW	3.5 MHz
Amplifier DC (open loop gain)	109.5 dB
Noise	23 μ V (RMS)
ADC	
Input range	1 V
Speed	7.1 Msamples/sec
INL	0.39 LSB (9-bit Fine step)
DNL	0.8 LSB (9-bit Fine step)
Energy per 128 channels/128 digitizations	150 μ J
SIMD DSP Array	
Operations	Add, subtract, shift, accumulate, read, write
Speed	40 MHz
Memory size	64 \times 20 SRAM per column
Energy consumed per 128 digitizations	2 μ J

(2) Columbia 大学 K.L. Shepard 教授的研究小组研制出测量荧光反应的传感芯片[21]，能够传感光子密度在 1.15×10^8 photons/cm² 水平的荧光信号，动态范围为 74dB。时间处理速度为亚纳秒级，并通过亚采样和均值处理等方法改进传感的精度和敏感度。芯片照片如图 1.9。

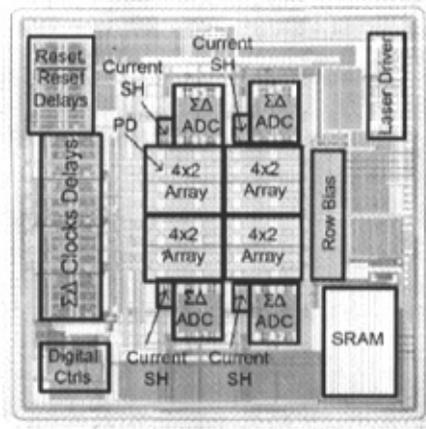


图 1.9 芯片照片

芯片面积为 $5\text{mm} \times 5\text{mm}$ ，采用 $0.25\mu\text{m}$ 标准混合信号 CMOS 工艺制作。片上集成了 8×4 像素阵列，4 路 $\Sigma\Delta\text{ADC}$ 和片上 SRAM 存储器。像素单元电路结构和简化的顶层系统如图 1.10 所示。电路的主要参数和性能在表 1.2 中列出。

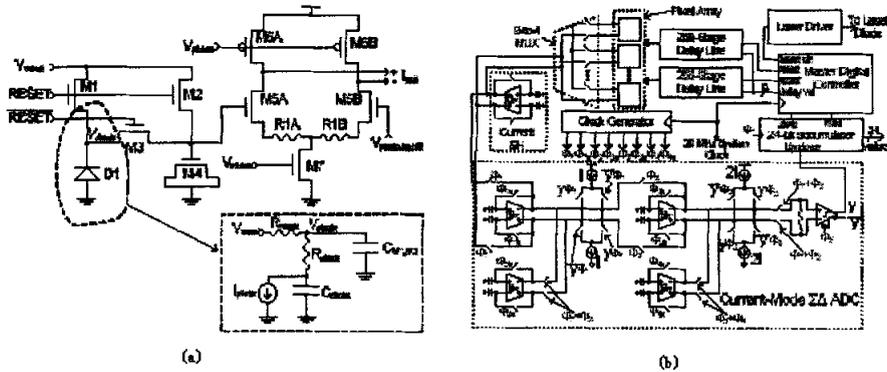


图 1.10 (a) 像素单元电路结构 (b) 系统结构图

表 1.3

Item	Value
Chip Technology	TSMC $0.25\mu\text{m}$ Mixed-Signal CMOS
Die Size	$5\text{mm} \times 5\text{mm}$
Clock Speed	20 MHz
SRAM Size	2048x24-bits
Sensitivity	$1.15 \times 10^6 \text{ photons/cm}^2$
Linearity	9 bits (w/o calibration)
Pixel array	
Array size	8×4
Quantum efficiency (at 635 nm)	0.45
Pixel size	$160 \times 215 \mu\text{m}^2$
Photodiode size	$100 \times 100 \mu\text{m}^2$
Transconductor gain	0.22 mS
Dark signal	$10.4 \mu\text{A/s}$
ADC	
Architecture	Current Mode $\Sigma\Delta$
Order	2
DAC	1-bit Differential
Cycle Time	$8\mu\text{s}$ (>12-bit settling)
Cycles per Sample	4096 (adjustable)
Input full scale	$\pm 10\mu\text{A}$

(3) 台湾交大的研究小组采用 $0.25\mu\text{m}$ CMOS 工艺制作了传感芯片，用于生化反应的发光现象[22]。传感单元中制作了 N+/P well 结构光电管，并利用电流镜电路将光电流放大 10^6 倍后读出，电路结构如图 1.11。封装后芯片和芯片版图设计如图 1.12。

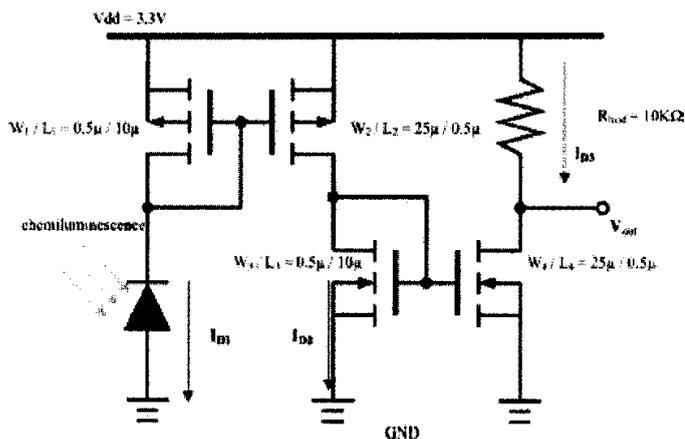


图 1.11 光电流放大的电路结构及器件参数。

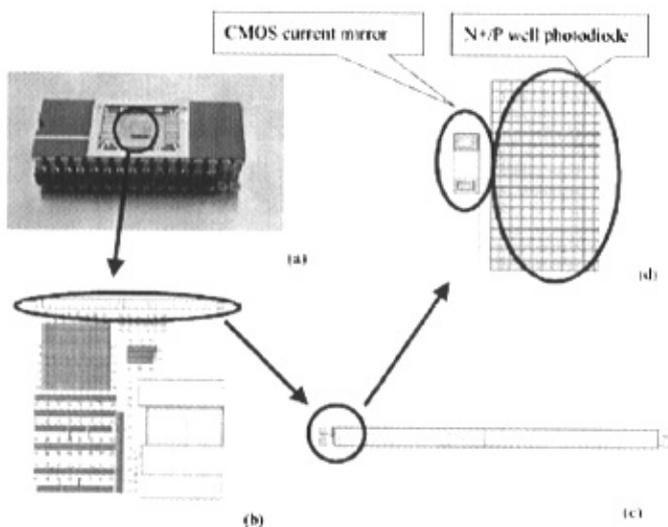


图 1.12 封装后芯片照片及芯片版图图形。

山葵过氧化物酶(horseradish peroxidase (HRP)), 氨发光酶化物(substrate luminol) 和 H_2O_2 反应系统是最常规的化学发光酶化物反应系统。这个反应经常用来衡量产生 H_2O_2 的反应。完成制作的传感芯片对其进行了测量。实验结果表明当传感到的光电流在 30 – 240pA 范围, 电路能够线性放大所得光电流信号。

1.3.3 CMOS 生物化学传感器技术

(1) 英国 Danish Ali 等人采用标准 $0.6\mu m$ CMOS 工艺制作了 pH 值传感芯片[23]。

芯片照片和各电路模块分布如图 1.13 所示。

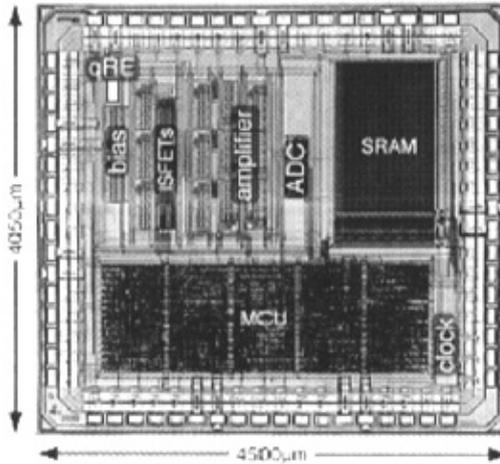


图 1.13 芯片照片

芯片采用差分测量的方法，结构如图 1.14。并采用紫外照射的方法来消除参考场效应管 REFET 和传感场效应管 ISFET 之间阈值电压的差异。溶液测试结果表明，传感器的灵敏度达到了 400mV/pH。

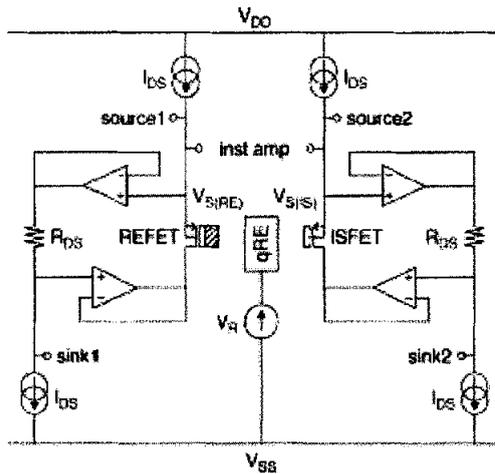


图 1.14 传感原理图

(2) 低噪声电化学生物传感阵列读出电路。[24][25]

美国 Michigan 州立大学 Mason 教授的研究小组制作了低噪的电化学传感界面电路，满足基于蛋白质生物传感阵列等的需要。芯片的系统如图 1.15，主要模块包含了恒压源电路，高灵敏度的电流读出放大电路。

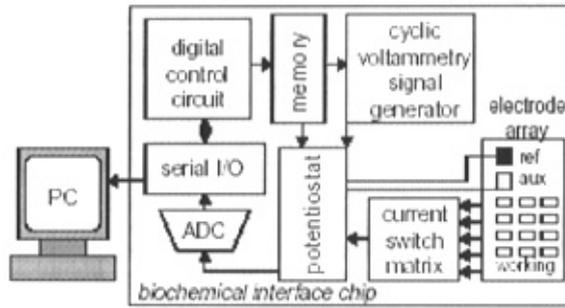


图 1.15 芯片系统结构图

电化学测量中的三电极系统由工作电极(WE)，参考电极(RE)和辅助电极(AE)组成。恒压源电路与三电极的连接关系如图 1.16 所示。

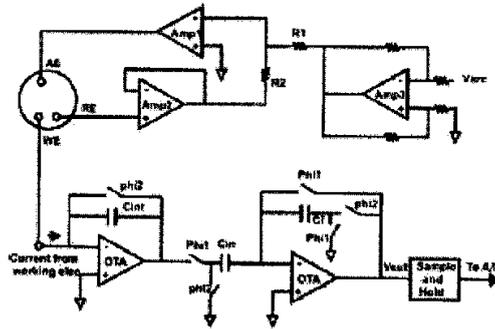


图 1.16 恒压源电路与三电极的连接关系

这一电路工作在两个工作相位：相位 1，集成的电容被从工作电极流入的电荷充电。在相位 1 结束的时候，电容上的电压到达可编程放大器，然后到采样保持电路中。

在芯片完成标准 CMOS 工艺后还进行了后续加工，制作片上集成的三电极系统，如图 1.17 所示。三电极材料为 WE (Ti/Au)，AE (Ti/Au)和固态 RE (Ti/Au/Ag/AgCl)。Nafion 层起到保护 RE 的作用。

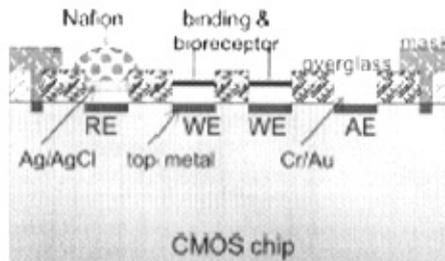


图 1.17 芯片电极工艺剖面图

1.3.4 基于 CMOS 工艺的细胞传感器 (CMOS Cell-based Sensor)

Cell-based sensor 是目前国际上生物医学传感技术研究的热点之一。研究者们将 CMOS 技术的先进制作工艺和电路技术与传统的传感技术融合，取得众多研究成果。其中，CMOS 细胞电信号传感器是本文研究的重点，它们的测量机理和研究情况将在第二章中详细展开。在这部分中先介绍其他几种 CMOS 细胞传感技术。

(1) 实现细胞与 CMOS 传感器表面结合技术

细胞传感器中，如何使细胞和传感器表面形成良好的接触是目前面临的难点。在之前的研究中，研究者采用了机械手或吸管搬运的方法，将细胞安置在传感区域；或者采用让细胞在传感芯片表面随意生长，通过制作大规模传感阵列的方法来提高细胞和传感区域有效结合的概率。这些方法都存在一定不足，研究者们探求更为有效的方法，实现细胞与传感电极的结合。

意大利 N. Manaresi 等人利用电泳 (dielectrophoretic forces) 原理，不仅能够在不触碰细胞膜的情况下移动甚至旋转单个细胞。如图 1.18 (a) 所示。因为细胞膜内外介电常数存在差异，不均匀的 (Inhomogeneous) 的低频电场对细胞产生不断作用。在 [26] 中电场由固定的 cage 产生，在 [27] 中，电场由平面金属电极产生，电极排列成 320×320 的阵列。平面电极阵列采用保准 $0.35 \mu\text{m}$ CMOS 工艺制作，无需其他工艺。每一传感单元的面积为 $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$ ，内部包含选择电路。

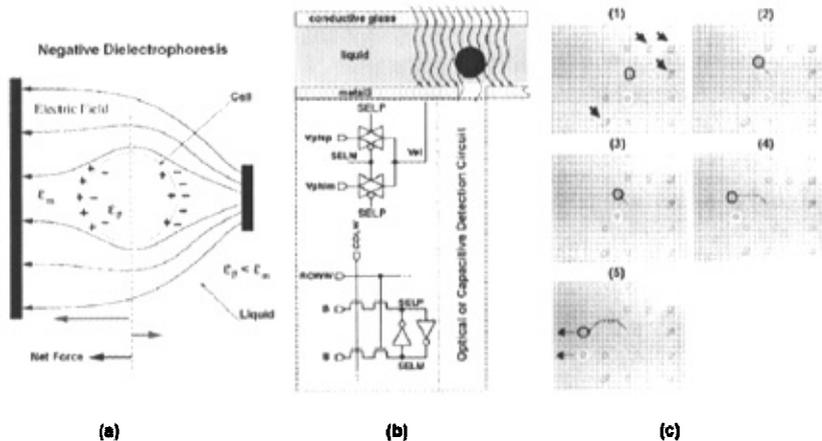


图 1.18 通过 negative dielectrophoresis (NDEP) 方法实现对单个细胞的操纵。(a) 将非均匀的电场作用于细胞。(b) CMOS 阵列中单元电路结构。(c) 独立控制不同的细胞。

瑞士 W.Franks 等人通过改造 CMOS 芯片的表面，引导细胞在芯片表面的生长 [28]。芯片采用 $0.6\mu\text{m}$ CMOS 工艺制作(3Metal, 2Poly)。芯片面积为 $6.5\text{mm}\times 6.5\text{mm}$ ，包含电极阵列和信号预处理电路，ADC 和 DAC 电路，以及温度传感电路等。在完成 CMOS 工艺后，还采用两道工序使电极具有生物兼容性。首先在表面溅射生长一层 TiW 层($\sim 50\text{nm}$) 然后生长 Pt 层 ($\sim 270\text{nm}$)。通过 lift-off 工艺制作图形。然后使用等离子加强化学气相沉积(PECVD)的方法制作 Si_3N_4 和 SiO_2 层。然后用离子刻蚀的方法来定义和形成最终电极的图形。

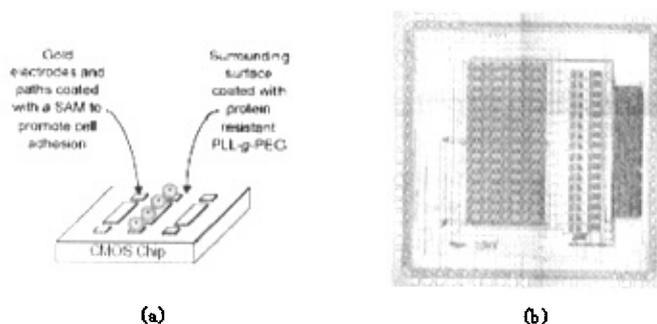


图 1.19 (a) CMOS 芯片表面提高生物亲和力的改造 (b) 芯片照片

之后进行 CMOS 芯片表面的生物改造，使金电极表面覆盖 amine-terminated SAM, 芯片表面 SiO_2 部分覆盖 PLL-g-PEG, 引导细胞生长在金电极表面。细胞生长情况如图 1.20(a), (b)为记录到的细胞信号。

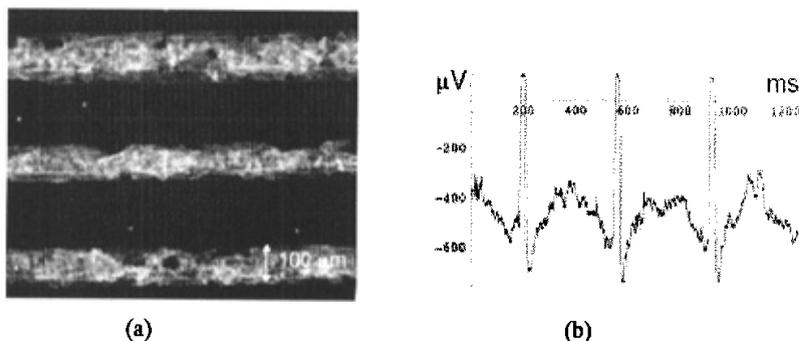


图 1.20 (a)细胞生长图形 (b) 电极记录的细胞信号，细胞跳到的频率为 180beats/s。

(2) 细胞接触特征传感技术

美国马里兰大学的研究 P. Abshire 小组在细胞传感器方面的研究取得了新

成果。他们利用有源图像传感阵列的原理，制作了细胞接触图像传感芯片[29]。芯片面积为 $1.5\text{mm}\times 1.5\text{mm}$ ，采用 $0.5\mu\text{m}$ CMOS 工艺制作，包含有 96×96 有源像素阵列，控制信号发生电路和读出电路。芯片测试的原理为：当细胞接触像素单元时，会阻碍像素单元光的接收，像素单元的输出信号与没有细胞接触的单元有明显区别。

有源像素阵列周期为 $8.4\mu\text{m}$ ，单元结构如图 1.21(a), (b)为版图。像素单元的控制和信号输出电路如图 1.22。

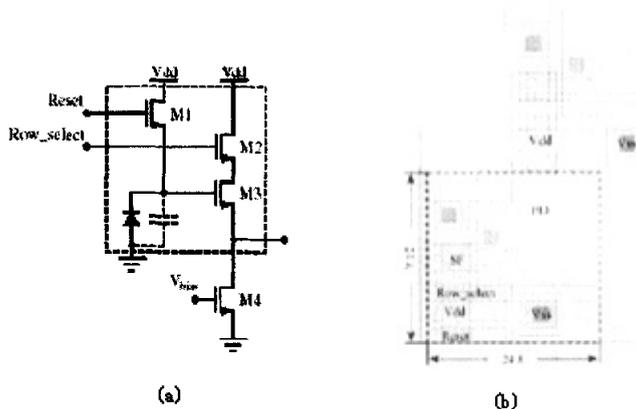


图 1.21 (a) 像素单元电路结构图 (b) 像素单元版图

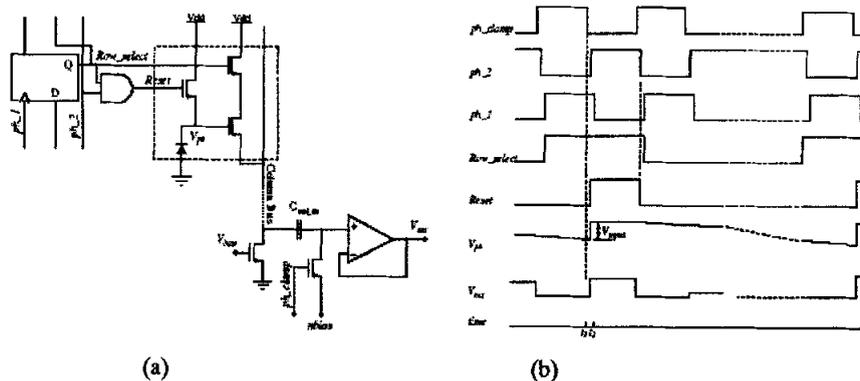


图 1.22 (a) 像素单元的控制电路 (b) 控制逻辑信号及输出信号

制作的芯片采用标准 40 管脚 DIP 封装，并对芯片表面进行了保护。图 1.23 显示了细胞实测的结果，实验结果与相机拍摄结果进行了对比，验证了芯片功能。

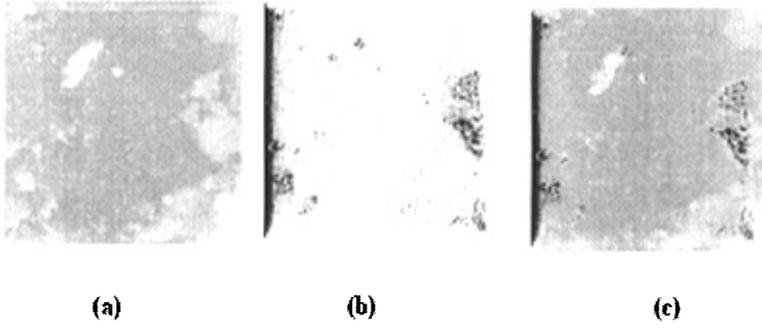


图 1.23 芯片测试结果 (a)为相机拍摄的图像 (b)为接触图像芯片得到的结果 (c)为两者结果进行重叠处理后的照片。

P. Abshire 等人还研制了电容式细胞接触特征传感器[30]，原理如图 1.24

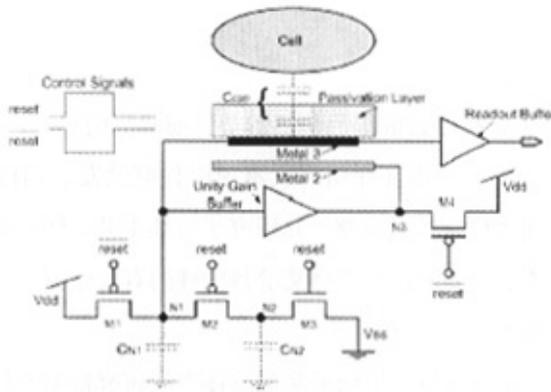


图 1.24 电容式细胞传感器原理图。C_{N1} 和 C_{N2} 是寄生电容，电路的工作状态由 M1, M2 和 M3 控制，分为两个工作阶段。在置位阶段，开关 M1 和 M3 导通，开关 M2 关断。C_{N1} 充电至 V_{dd}，C_{N2} 充电至 V_{ss}；在测量阶段，M1 和 M3 关断，M2 导通，C_{N1} 和 C_{N2} 上电荷重新分布。

结点电压 V_N 的表达式为

$$V_N = \frac{(C_{N1} + C_{N2})V_{dd} + C_{N2}V_{ss}}{C_{N1} + C_{N2} + C_{cell}}$$

芯片采用 0.5 μm 标准 CMOS 工艺制作，电容上下极板分别采用 Metal3 和 Metal2 制作。如图 1.25，传感器电容极板的大小为 20 \times 20 μm^2 ，30 \times 30 μm^2 和 40 \times 40 μm^2 。

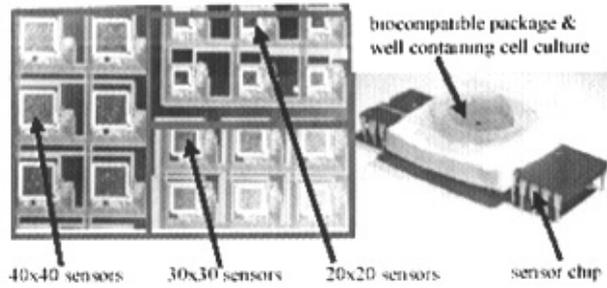


图 1.25 左图为不同面积的电容极板。右图为封装后的芯片。

细胞实测结果表明，传感器的探测距离为3nm，对电容变化的敏感度是135aF。测试结果证明传感器能对细胞电容在sub-fF至fF的范围中进行探测，不同面积的传感单元探测范围有所不同。

1.4 论文主要内容提要

与标准 CMOS 工艺相结合的细胞传感器是目前研究的热点，是未来生物传感技术的重要发展趋势之一。本文在研究大量国内外研究发展的情况下，运用标准 CMOS 工艺设计阵列式传感集成电路，并研究了后续工艺，使传感器能满足测试的需要。本课题是在微电子和生物技术交叉学科领域的有益尝试，为在这一领域的进一步研究打下良好基础。

在本章中，已经详细介绍了生物医学传感技术的研究情况和趋势。并介绍了目前国际上的研究热点细胞传感器(Cell-based Sensor) 和基于 CMOS 技术的生物医学传感器。它们的理论基础和研究成果将在后面的章节中再作详细介绍。

第二章将介绍生物电信号传感技术的理论基础和研究情况。介绍了生物电信号产生的机理和基本的测量技术。重点介绍了近年来，CMOS 技术和传统测量方法结合取得的研究成果。

第三章介绍了本课题研究中阵列式生物电信号传感芯片的设计。包括芯片系统设计和各电路模块设计。另外还简单介绍了芯片版图实现过程的若干考虑。最后给出电路特性的仿真结果。

第四章主要介绍芯片后续工艺的设计和实现情况，包括芯片电极的加工工艺和特殊的封装工艺。电极改进工艺中采用了无氰无电浸镀工艺。芯片封装中采用了标准 40 DIP 套磁封装和自行设计的 PCB 封装两种。

第五章主要阐述了芯片的测试情况。包括测试平台的设计和构建；各模块电学特性的测试结果；溶液中仿生小信号的测试情况。

第六章主要总结了课题的研究内容，提出部分改进方案，并对课题进行了展望。

1.5 本章参考文献

- [1] 王平, 叶学松, 现代生物医学传感技术 (第二版), 2005, 浙江大学出版社,
- [2] 许改霞, 吴一聪等, 细胞传感器的研究进展, 科学通报, 第 47 卷, 第 15 期, 1126-1132, 2002
- [3] Christiane Ziegler, Cell-based biosensor, *Fresenius J Anal Chem* (2000) 366: 552-559
- [4] Keese C.R., Giacver I, etc. Real-time impedance assay to follow the invasive activities of metastatic cells in culture. *Biotechniques*, 2002, 33 (4): 842~850
- [5] Luong J.H., Habibi R. M., etc.. Monitoring motility, spreading, and mortality of adherent insect cells using an impedance sensor. *Anal Chem*, 2001, 73 (8): 1844 ~ 1848
- [6] Wolley D. E., Tetlow L. C., etc., Electrochemical monitoring of cell behavior in vitro: a new technology. *Biotechnol Bioeng*, 2002, 77 (7): 725 ~ 733
- [7] www.nepagene.jp/E/Ecatalogue/Emorpho.htm
- [8] Wolley D. E., Tetlow L. C., etc., Electrochemical monitoring of Anticancer Compounds on the Human Ovarian Carcinoma Cell Line A2780 and Its Adriamycin and Cisplatin-Resistant Variants. *Experimental Cell Research*. 2002. 273: 65 ~ 72
- [9] Yong H, Navcep S. S., etc., Instantaneous, quantitative single-cell viability assessment by electrical evaluation of cell membrane integrity with microfabricated devices. *Sensors and Actuators A*, 2003, 105 (1): 31 ~ 39
- [10] McConnell H M, Owicki J C, et al. The cytosensor microphysiometer: biological application of silicon technology. *Science*, 1992, 257: 1906 ~ 1912
- [11] Ito Y. High-spatial resolution LAP. *Sensor and Actuators B*, 1998, 52: 107 ~ 111
- [12] Mirko L, Werner B, et al. Non-invasive measurement of cell membrane associated proton gradients by ion-sensitive field effect transistor arrays for microphysiological and bioelectrical applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 2000, 15: 117 ~ 124
- [13] Wolf B, Kraus M, et al. Biofunctional hybrid structures cell-silicon hybrids for applications in biomedicine and bioinformatics. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 1998, 46: 215 ~ 225
- [14] Bousse L. Whole cell biosensor. *Sensors and Actuators B*, 1996, 34: 270 ~ 275
- [15] Thewes R, et al. Sensor Arrays for Full Electronic DNA Detection on CMOS, *Tech Dig. ISSCC*, Feb. 2002, p350
- [16] Hofmann F. et al., Fully Electronic DNA Detection on a CMOS Chip: Devise and Process Issues, *Tech Dig. IEDM*, 2002, p488
- [17] Schienle M., et al., A fully electronic DNA sensor with 128 positions and in-pixel A/D conversion, *Tech Dig. ISSCC*, Feb. 2004, 220 ~ 221
- [18] Frey A, Schienle M, et al. A Digital CMOS DNA Chip, *IEEE*, 2005, 2915 ~ 2918
- [19] H. Eltoukhy, K. Salama, et al., A 0.18 μm CMOS 10-6lux Bioluminescence Detection System-on-Chip, 2004 *IEEE*

International Solid-State Circuits Conference

- [20] Khaled Salama, Helmy Eltoukhy, Modeling and stimulation of luminescence detection platform, *Biosensor and Bioelectronics* 19, 2004, 1377-1386
- [21] George Patounakis, K.L.Shepard, et al., Active CMOS Biochip for Time-Resolved Fluorescence Detection, 2005 Symposium on VLSI Circuits Digest of Technical Papers
- [22] Ude Lu, Ben D. -P. Hu, et al., The design of a novel complementary metal oxide semiconductor detection system for biochemical luminescence *Biosensors and Bioelectronics* 19, 2004, 1185 – 1191
- [23] Paul A. Hammond, Danish Ali, et al., Design of a single chip pH sensor using a conventional 0.6 μm CMOS process *IEEE Sensors Journal*, Vol.4., No.6, 2004, 706 - 712
- [24] Jichun Zhang, Andrew Mason, et al., A low noise readout circuit for integrated electrochemical biosensor arrays, 2004 IEEE 36-39
- [25] Brian Hassler, R.Mark Woden, and et al., Biomimetic interface for a multifunctional biosensor array microsystem, 2004 IEEE, 991-994
- [26] N. Manaresi, A. Romani, G Medoro, L. Altomare, A. Leonardi, M. Tartagni, and R. Guerrieri, A CMOS chip for individual cell manipulation and detection,” *IEEE J. Solid-State Circuits*, vol. 38, pp. 2297–2305, Dec. 2003.
- [27] A. Romani, N. Manaresi, L. Marzocchi, G. Medoro, A. Leonardi, L. Altomare, M. Tartagni, and R. Guerrieri, “Capacitive sensor array for localization of bioparticles in CMOS lab-on-a-chip,” in *IEEE ISSCC Dig.Tech. Papers*, 2004, pp. 224–225.
- [28] W. Franks, F. Heer, and et al., CMOS biosensor with guided cell growth, 2004 IEEE, 1014-1017
- [29] Honghao Ji, Pamela A. Abshire, et al, CMOS contact imager for monitoring cultured cells, 2005 IEEE 3491-3494
- [30] Somashekar Bangalore Prakash, Pamela Abshire, et al., A CMOS Capacitance Sensor for Cell Adhesion Characterization, 2005 IEEE 3495-3498

第二章 生物电信号传感技术研究介绍

本章摘要:

2.1 介绍细胞电信号测量的基本理论; 2.2 介绍了细胞电信号的测量技术; 2.3 重点介绍了结合 CMOS 技术的测量方法和研究成果。

2.1 细胞电信号测量的基本理论

2.1.1 测量细胞电信号的意义

细胞是动物和人体的基本组成单元, 是生命活动的基础。细胞外围有一层薄膜, 细胞间彼此分离又互相联系。细胞间和细胞内的通信, 是依靠细胞膜上的离子通道进行的, 离子和离子通道是细胞兴奋性的基础, 即产生生物电信号的基础。

离子通道是活体细胞上最基本的可激活单元, 胞膜上又许多种类型的离子通道, 允许不同的离子通过 (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- 等), 且由不同的机制决定其开启。由于外界刺激, 包括药物、声、光、电等, 离子通道发生改变, 可通过观测细胞的电信号的改变来实现, 这样就使得细胞成为传感器的最佳选择。

细胞拥有很多受体, 可以将化学信号转换为电信号, 如果将细胞有效地与电子读出器件耦合, 则细胞可以作为有效的生物传感器应用在很多领域。

2.1.2 细胞电信号基本理论

人体和动物中的电信号是由若干种游离的离子 (如 Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- 等) 所运载, 这些离子运载着正、负电荷, 从活体的一处流动到另一处。在可兴奋细胞上, 离子的跨膜运动导致跨膜电位的变化, 这些电位的变化就是原始的电信号。

生物系统中的离子分布是不均匀的。如多数动物细胞的 K^+ 浓度较之胞外高很多, 这种离子分布的差异在生物系统中会引起浓度梯度 (concentration gradient) 或化学梯度 (chemical gradient) 的变化。根据热力学原理, 离子将从高浓度区向低浓度区流动, 这种现象称为扩散 (diffusion)。由于游离的离子运载着电荷, 因而它们的运动不仅要受到浓度梯度的影响, 而且也要受电场 (电位梯度) 的影响。在活体的大部分, 生物分子的剩余电荷为零, 换言之, 在一定的容积内, 正电荷数等于负

电荷数，即空间电荷呈电中性。但在单个细胞的膜内，这种中性的空间电荷属例外，因为多数细胞膜对某些离子可以通透，但对另外一些离子则不能通透，细胞膜起到隔离电荷的作用。这种离子隔离导致在细胞膜上产生跨膜电场，带正电荷的离子将顺着电场方向流动，这种现象称为漂移（drift）。扩散与漂移将影响通过膜上的蛋白质孔道或离子通道的离子运动。

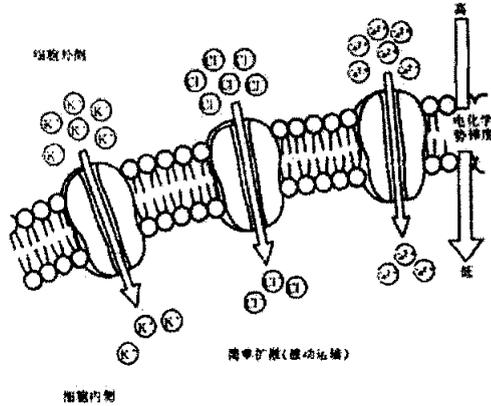


图 2.1 细胞膜上离子通道示意图

(1) 静息电位

静息状态下，细胞膜对不同离子的通透率是不同的。细胞内的有机离子，如蛋白质，不能通透到膜外， K^+ 的有效直径甚小，其浓度梯度也大，易于顺着浓度梯度流向膜外。尽管膜外 Na^+ > 膜内 Na^+ ，但不及 K^+ 那么通透，而且当 Na^+ 被泵出时，同时有 K^+ 通透到细胞内作为交换。 Cl^- 虽然也存在一定的浓度梯度，但当它向膜内透入时，将受到膜内阴离子的排斥。这样，在静息状态下，细胞膜的通透性主要体现在 K^+ 的外流。总的效果是，细胞膜的外侧聚集较多的阳离子（带正电），膜的内侧则相反，有较多阴离子（带负电），这就形成了跨膜两侧的电位差，膜外为正，膜内为负。这就是细胞膜上的静息电位。在实际情况下，膜外通过溶液电极接地（零电位），故静息电位为负值。

(2) 动作电位

所有可兴奋细胞，如神经细胞、肌肉细胞、内分泌细胞等，其膜上均含有电压门控型阳离子通道，它们均能响应外界刺激信号以产生动作电位。动作电位是由膜的去极化所产生，即膜电位向较小的负值方向移动。体内很多细胞具有执行瞬间去极化和复极化的功能，这可以由细胞膜外刺激诱发，也可以是细胞膜内自发的。

心肌细胞和神经细胞的动作电位有所不同。首先体现在持续时间不同，心肌细胞动作电位持续时间约 200-400ms，神经细胞动作电位典型持续时间是 1ms。其次，两种细胞中 Ca^{2+} 在去极化过程中所起的作用也不同：神经细胞动作电位的去极化主要由 Na^+ 通道的开放引起，同时也是非自律性细胞去极化的原因；心肌细胞的自律性细胞中， Ca^{2+} 也参与动作电位的去极化，而在非自律性细胞中， Ca^{2+} 的内流，延长了动作电位的持续时间并产生了一个明显的平台期。

图 2.2 是以神经细胞为例，在外加脉冲电流的刺激下，膜上产生动作电位的过程。整个过程可分为以下几个阶段：(a)静息时，由于细胞膜外液存在着各种离子的浓度差，而膜对这些离子的通透性不同，使得轴突膜内外维持着 -70mV 左右的静息电位。(b)当轴突膜受到电刺激时，膜产生去极化，使得膜对 Na^+ 、 K^+ 通透性发生变化。首先是 Na^+ 的电控门通道活化，膜对 Na^+ 的通透性大大增强，允许 Na^+ 大量涌进，使膜内电位变正，更加速了膜的去极化。这种再生式的正反馈，产生很大的内向电流 I_{Na} ，使得膜爆发式地去极化，构成动作电位的上升相。(c)紧接着 Na^+ 通道失活化，使内向电流 I_{Na} 下降。(d) Na^+ 通道失去活性的同时， K^+ 通道活化， K^+ 电导大大增加， K^+ 外流形成很大的外向电流 I_{K} ，构成动作电位的下降相。由于 K^+ 电导的变化没有失活化现象，只是在膜电位逐步恢复的过程中逐渐降低，因此延长时间较长，产生了正后电位。(e)依靠膜上的 Na^+ 泵来完成排 Na^+ 摄 K^+ 的任务，维持膜内外离子浓度差，从而恢复静息电位。

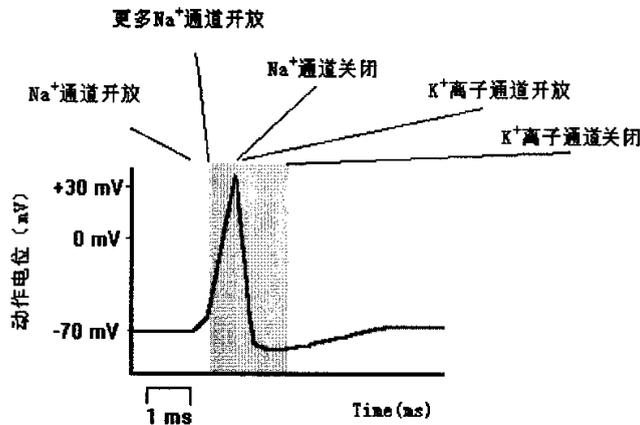


图 2.2 神经细胞受电刺激产生动作电位的过程 ([1])。

2.2 细胞外测量细胞电信号的方法

(1) 膜片钳技术

膜片钳技术(Patch Clamp Technique ,PC)是从一小片(约几平方微米)膜获取电子学方面信息的技术,即保持跨膜电压恒定—电压钳位,从而测量通过膜离子电流大小的技术。 [2][3]

进行膜片钳测量时,将经过抛光的、尖端直径为 $1-2\mu\text{m}$ 的玻璃微吸管压在经酶清洁的膜表面,形成高阻封接,电阻可达 $10-100\text{GO}$ 。由于电性能完全绝缘,微吸管阻抗相对较低,背景噪音降低,在微吸管内充灌适当盐溶液,同时施加电压,对膜片进行电压钳位,此时,通过膜片离子通道的电流便流入微吸管,再由银电极将该电流引入测量电路,再经过放大处理,便得到离子通道的离子流,从而能了解通过膜离子通道的离子运输、信号传递等信息。

膜片钳技术(图 2.3)是原西德马普所 Erwin Neher 和 Bert Sakmann 于 1976 年发明的,他们首先将此技术应用于神经细胞的乙酰胆碱受体通道的研究,由于他们对这一技术及其在医学研究中的应用作出了杰出贡献,而荣获 1991 年诺贝尔医学奖。



图 2.3 膜片钳技术 (Patch Clamp Technique)

膜片钳技术是以微弱电流信号测量为基础的,利用玻璃微电极与细胞膜封接,可以测量多种膜通道电流,其值可小到 $\text{pA}(10^{-12}\text{A})$ 量级,是一种典型的低噪声测量技术。膜片钳技术发展至今,已成为现代细胞生理研究的常规方法,并在许多领域取得了丰硕的成果。但这种方法机理复杂,无法并行输出多个细胞的测量结果。在需要大规模实时分析的情况下,无法满足需要。

(2) 微电极阵列测量 (MEA)

1972 年, Thomas 等人第一次应用微电极阵列来记录体外培养的细胞的胞外动作电位。他们在玻璃基底上沉积金和镍作电极, 光刻胶作钝化层, 用蜂蜡将玻璃圈固定在阵列上形成培养腔, 腔内基底面包含了一定数量的微电极阵列, 同时, 通过镀铂黑来降低电极的阻抗。鸡胚胎心脏细胞在此培养腔中培养, 心肌细胞有节律的电活动被多个电极记录下来。这种平行、无损的记录体外培养细胞群的方法成为之后几十年中的重要方法。

自从 Thomas 研究微电极阵列结构和技术后, 很多研究者开始使用微电极阵列来检测各种细胞在不同情况下产生的响应。Gross 等人研制了微电极阵列来记录体外移植神经组织的胞外电响应 [4]。Pine 等人结合应用胞内外测量方法, 用一玻璃吸管电极记录胞内信号, 同时用金属微电极记录胞外情况。这个实验对证明胞外信号记录非常重要。[5]

Gross 小组进一步研究, 1982 年将实验拓展到研究老鼠脊髓分离的神经元。并使用金属氧化物透明电极 ITO (indium-tin oxide) 来制备微电极阵列[6]。1993 年, 他们用 ITO 电极结构刺激单层培养好的神经网络, 获得满意的结果 [7]。

近年来, 研究者开始扩展普通平面电极阵列系统的功能。1984 年开始, 一些研究者通过将鸡胚胎心肌细胞培养在平面微电极阵列上, 成功刺激并记录了细胞动作电位变化情况。(Israel, et al., 1984; Connolly, et al., 1990) [8][9]。1990 年开始, Jimbo 和 Kavana 从心肌细胞研究向神经细胞研究发展, 通过刺激神经突触来测量神经元 (老鼠和鸡的背根神经元) 胞体的选择兴奋性 (Jimbo, et al., 1990; Jimbo, et al., 1992) [10] [11]。实验中通过 PMMA 钝化层的微通道引导神经突生长在刺激位点 (ITO 电极对), 神经突诱发得到的响应由刺激电极记录, 神经元胞体的响应应用标准全细胞膜片模式的微吸管电极记录。这是第一次对树突刺激和神经网络的研究。

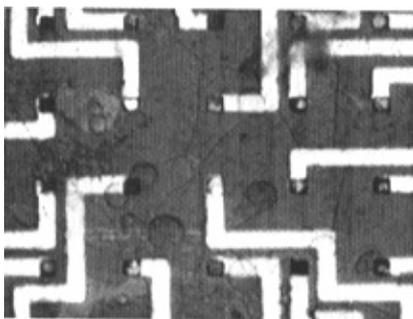


图 2.4 MEA 阵列测量细胞电信号

在利用 MEA 进行神经元和神经网络的研究中，更多研究者都取得了成功。(Keefe, 2001; Tscheter et al., 2001) [12][13]。研究者们还利用 MEA 研究神经组织，继而研究一系列神经活动。(Egert et al., 1998; Thiebaud et al., 1999) [14][15]。Shahaf 和 Marom 的研究证实了 MEA 在研究体外培养的脑皮层神经网络的有效性。(Shahaf and Marom, 2001; Marom and Shahaf, 2002) [16][17]

与膜片钳技术相比，MEA 的最大优点，是可以对细胞间的信号耦联和传导进行长期、实时、无损的测量。但传统 MEA 是在传感区域制作密度较高的电极阵列，依靠片外电路处理电极上感应的信号。这种方法可以实现高密度传感阵列，但电极引线间信号串扰以及长距离走线引起信号损耗，都影响测量精度。目前，MEA 得到进一步发展，存在的问题也得到了改进，这些内容将在本章后面部分作详细介绍。

(3) 场效应晶体管 (FET)

1991 年，Fromherz 等人用弱栅场效应管作为敏感元件 (Fromherz, et al., 1991) [18]，如图 2.5 将单个细胞耦合在栅上，用体视显微镜和一个玻璃微吸管将细胞吸到晶体管位置，玻璃微电极插入到细胞膜内，用来刺激细胞并记录细胞内的电压。裸栅场效应管作为基本传感单元是将细胞电信号作为栅电压调制场效应管的漏电流，利用后续处理电路将电流信号转化为电压信号。这是最早将 FET 应用于细胞体外电信号测量的研究。

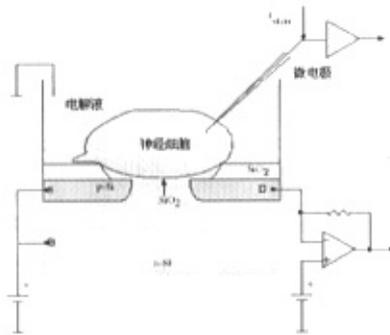


图 2.5 FET 进行细胞外测量原理图

Andreas 等人 (Offenhauer, et al., 1997) [19] 使用膜片钳对细胞进行电刺激，将细胞培养在 FET 的裸栅区域上，可观察细胞在接受电刺激后动作电位的变化情况。测量时固定工作点电压 V_{ES} (电解液和硅基底之间) 和 V_{DS} (源漏极间)，然后在培养腔内的电解液中加载一个小的交流信号来检测源极电流来标定每个器件。将

细胞养在栅极区域上，通过检测 I_{DS} 的变化，来判断细胞动作电位的变化。图 2.6 是离体的神经细胞培养在 FET 3 - 4 天后，固定工作点 ($V_{GS} = -2V$, $V_{DS} = -2V$) 后，通过膜片钳给细胞一个电刺激来观察 I_{DS} 的变化，从而反映神经细胞动作电位变化情况。

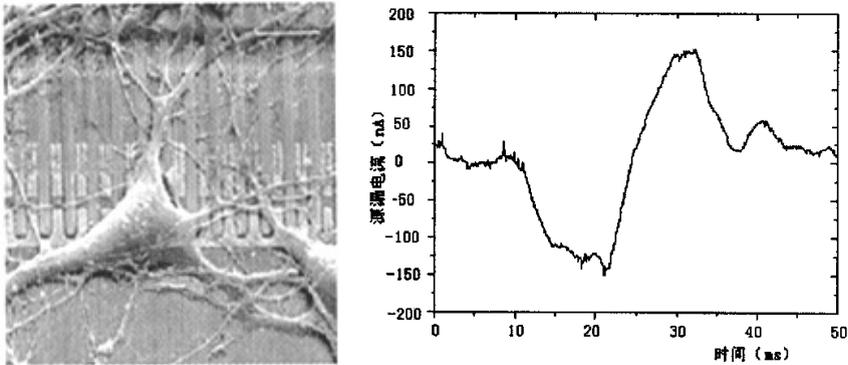


图 2.6 FET 测量神经元的电位测试结果。

除了进行电刺激研究，FET 细胞传感器还可以记录药物刺激下细胞的电活动。Yeung 等人将心肌细胞培养在 FET 阵列上，然后加兴奋性药物（例如肾上腺素）或抑止性药物（例如卡巴胆碱等）到细胞培养腔中，在药物作用下，心肌细胞自身的节律性会发生改变。（Yeung, et al., 2001）[20]。

利用裸栅 FET 能实现细胞电信号的原位放大，减少后续电路带来的影响，提高测量精度。但受工艺限制，传统的 FETs 无法实现高密度的二维传感阵列结构。

2.3 标准 CMOS 技术和细胞外电信号测量的结合

可兴奋细胞研究的发展，对测量技术提出了更高的要求。特别在神经网络研究中，需要测量突破时间和空间上的限制。标准 CMOS 技术与细胞外测量技术的结合，为细胞外测量技术提供了更广阔的发展空间。标准 CMOS 工艺不仅有利于提高阵列密度，而且可以实现阵列与后端信号处理电路的单片化集成，提高测量的效率和精度，满足细胞研究的需要。目前，国际上有不少研究者致力于这个领域的研究，取得很多成果。

主要研究组研究内容和成果介绍

(1) 德国 Fromherz, Eversmann 等人的研究内容和成果。[21][22]

Fromherz 的研究小组在细胞外电信号测量的研究中取得了很多成果，他们不仅

是最早应用 FET 器件测量细胞外电信号，在细胞膜与传感器接触界面建模的研究中也很有成就。在 2003 年，他们与 infineon 公司一起推出了新型的神经细胞外电信号测量的传感芯片。

(A) 芯片结构

采用 0.5um CMOS (2 metal) 工艺制作，集成了 128x128 传感单元阵列，片上和片外系统构成图 2.7 所示。芯片面积为 6.5mmx5.2mm。片上信号通路如图 2.8 所示。

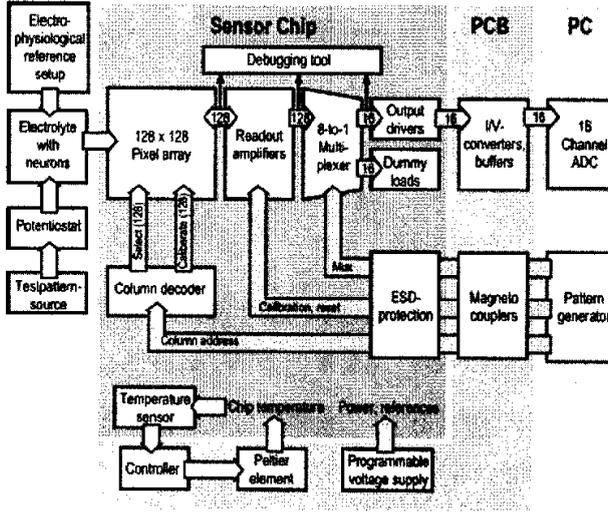


图 2.7 芯片系统框图。

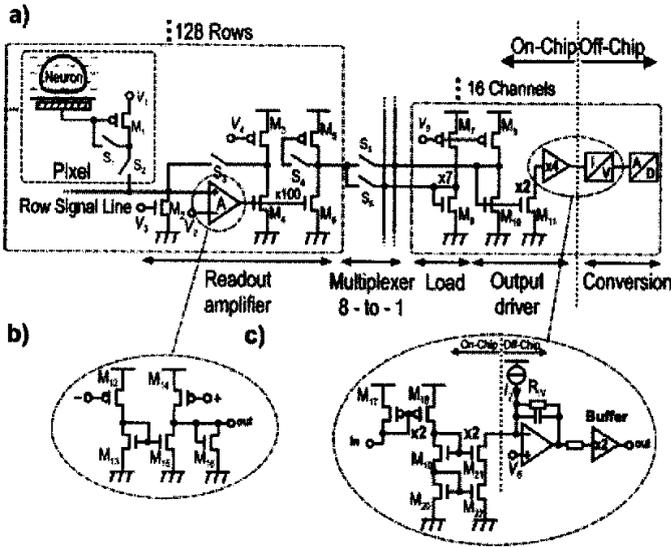


图 2.8 (a) 信号通路电路构成 (b) 差分输出级电路 (c) 输出驱动及 I/V 转换

传感单元面积为 $7.8\mu\text{m}\times 7.8\mu\text{m}$ ，敏感区域直径约为 $4.5\mu\text{m}$ 。高密度的传感单元，是细胞培养的随意性增加，并且可以捕捉细胞群信号传递的过程，这对研究神经网络的行为有极其重要的意义。

B) 芯片工艺

用 Al 制作的电极生物兼容性很差，所以要进行电极的后续加工。工艺步骤如图 2.9 所示。

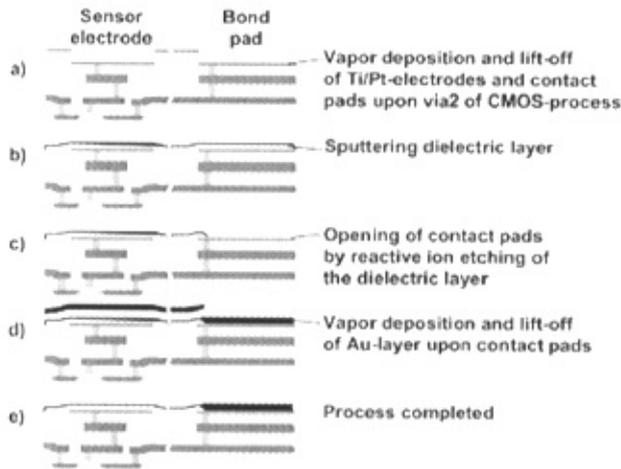


图 2.9 Post-CMOS 工艺流程

在标准工艺之后，用气相沉积的方法在 Via2 上制作 Ti/Pt (50nm)层，用 lift-off 工艺制作电极图形。芯片表面的钝化层工艺是通过溅射生成 40nm TiO_2 、 5nm ZrO_2 、 10nm TiO_2 、 5nm ZrO_2 、 10nm TiO_2 。最后气相沉积金层作为顶层电极，用 lift-off 工艺制作图形。芯片采用标准陶瓷封装，完成的传感器如图 2.10

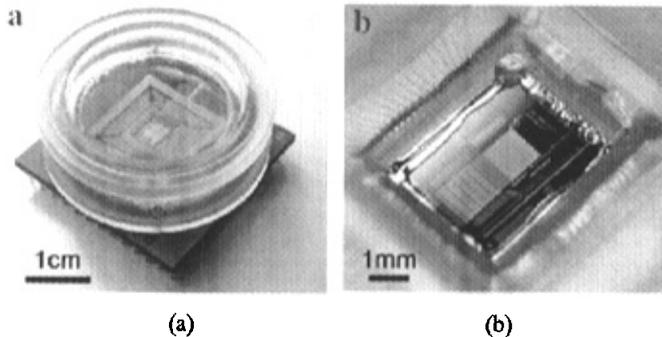


图 2.10(a)封装后器件照片 (b)封装后芯片局部放大照片

C) 测量结果

芯片表面的电解质用 $5mV_{pp}$, $f=200Hz$ 的正弦信号调制, 图 2.11 是 12 个同一列中随机选择的传感单元的输出。可见失配、噪声、非线性等非理想因素的干扰还在允许的范围, 传感的精度能够得到保证。

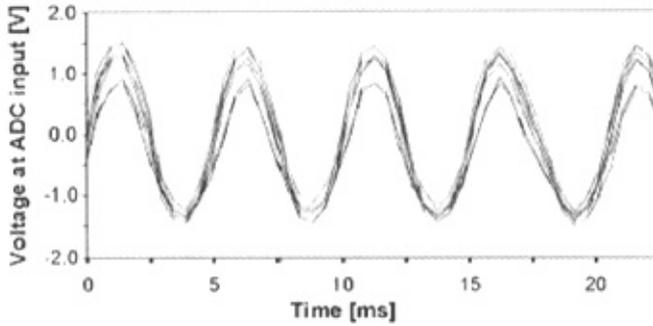


图 2.11 传感单元电测试结果。

生物实测中, 所用神经细胞是从蛇中枢神经中分离出来, 在芯片上培养一天时间。测量的结果如图 2.12 样品测试中也观测到了小神经网络的电活动的传递过程, 证明传感芯片的有效性。

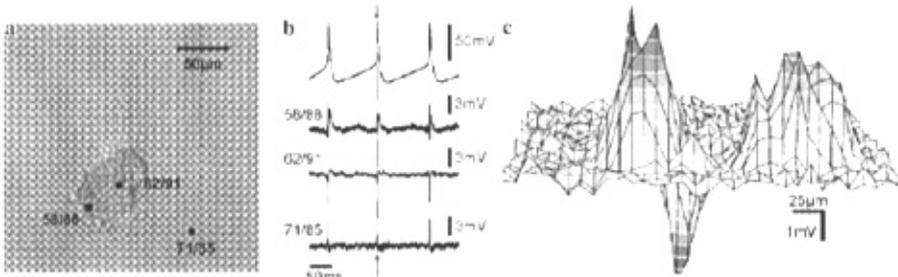


图 2.12 芯片生物实测结果。(a) 为传感单元与神经细胞的相对位置(b)(c)各单元的测试结果。

D) 研究特色

Fromherz 等的研究中设计了具有高密度传感单元的芯片, 利用制作钝化层和 Au 电极制作改善芯片的生物兼容性, 取得丰富的神经网络细胞实测结果, 验证了芯片功能。

(2) 德国 F. Heer, W. Franks 研究小组[23][24]

F. Heer, W. Franks 的研究小组进行了 CMOS MEA 芯片的研究。

A) 芯片结构

芯片采用标准 0.6 μm CMOS 工艺 (2poly, 3metal) 设计制作, 芯片面积为 4.4mm \times 4.4mm, 包含 4 \times 4 电极传感阵列, 阵列周期为 250 μm 。每个传感单元包括 40 $\mu\text{m}\times$ 40 μm 的电极和由缓冲器、信号控制开关、带通滤波器和读出缓冲器组成的信号处理电路。芯片上还集成了四路模数转换器和一路数模转换器。此外, 片上还集成了数字控制单元控制, 进行传感阵列的扫描, 同时还集成了温度传感电路。芯片照片及其电路模块图如图 2.13。传感单元内带通滤波器的角频率是 100Hz 和 50kHz, 增益为 1000。激励电压从 8 比特的数字信号转换而来, 然后转换为以频率 120kHz 转换成模拟信号。

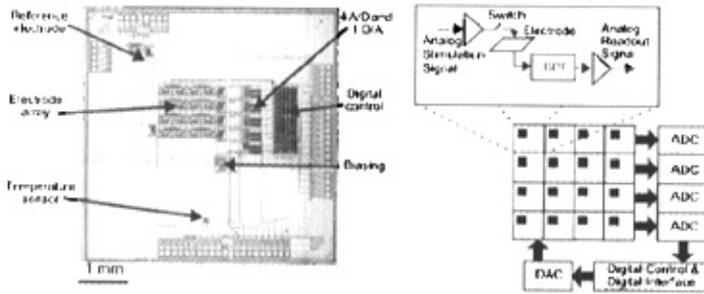


图 2.13 左图为芯片照片。右图为片上电路系统结构图。

B) 电极设计和封装设计

标准 CMOS 制作的 Al 电极对生物具有毒性, 必需通过后续工艺改进。Heer 等人通过特殊工艺避免 Al 电极和细胞直接接触, 采用 lift-off 工艺制作了结构为 Pt/粘合层/TiW(270nm/50nm) 的电极。采用等离子增强化学气相沉积(PECVD)制作 Si₃N₄/SiO₂ 钝化层, 总厚度为 1.6 μm 。完成后的电极如图 2.14

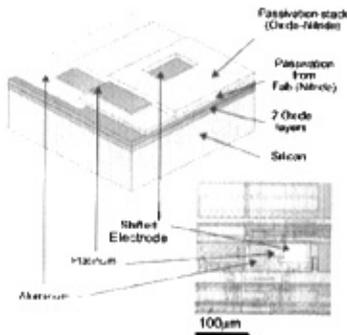


图 2.14 电极结构剖面图。

C) Electrode-electrolyte interface 特性分析

研究人员对分别使用 Pt, Pt black 和 TiN 制作的电极和溶液界面的特性进行了测试, 发现电极特性都符合图 2.15 所示的模型。

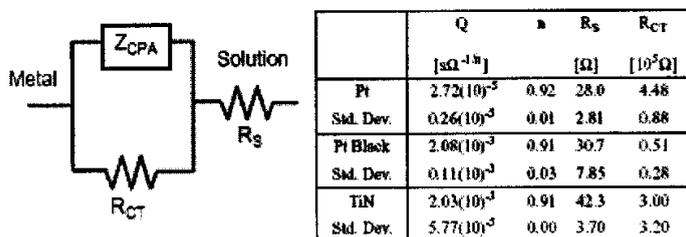


图 2.15 左图为电极和溶液的等效电路模型。右表为测试结果。

Z_{CPA} 是恒定阻抗, R_{CT} 是传输电阻, R_S 是溶液电阻。 Z_{CPA} 是由界面电容或极化电容形成。感应电流充电形成 R_{CT} 。这些参数间的关系如式 2.1 所示。

$$Z_{CPA}(\omega) = \frac{1}{(j\omega Q)^n} \quad (\text{式 2.1})$$

Q 是 Z_{CPA} 的峰值, n 是常数。

采用一种环氧树脂 (Materbond 42HT-T, Masterbond Inc., USA) 加固芯片压焊点和封装。采用聚二甲基硅氧烷橡胶 (PDMS) 形成一个培养细胞的腔体, 然后将一玻璃圈粘贴在芯片表面, 形成陈放细胞培养液的容器。封装后的芯片如 2.16

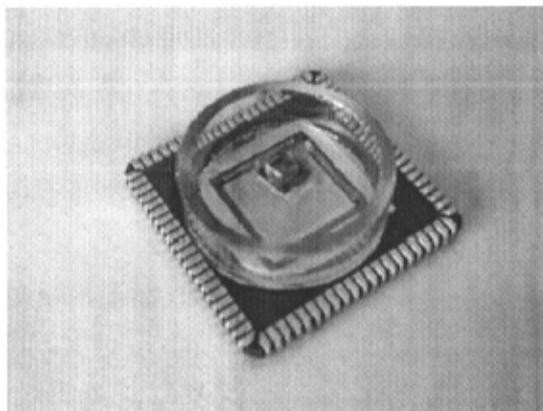


图 2.16 封装后芯片照片

D) 测试结果

带通滤波器的频率特性的测试结果如图 2.17(a)。测得滤波器的角频率为 $95 \pm 5\text{Hz}$ 和 $72 \pm 10\text{kHz}$ 。增益为 $59.2 \pm 0.3\text{dB}$ 。第一次测试是体外培养鸡胚胎心肌细胞，这些细胞从培养了 10 天的胚胎上分离直接转移到电极上。测得的典型刺波图形如图 2.17(b)。

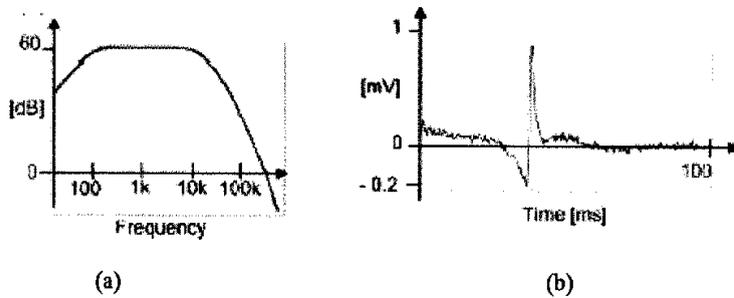


图 2.17(a)传感器内滤波器的频率特性 (b)测得的鸡胚胎细胞的典型刺波图形。

C) 研究特色和方向

F. Heer, W. Franks 设计的传感芯片集成了功能复杂的有源预处理电路，制作了特殊结构的传感电极，提高了生物兼容性。同时他们也研究了电极和溶液界面的特性，提出并测量验证了等效电路模型。在生物实测中成功记录了鸡胚胎心肌细胞的电信号。

(3) 瑞士 Berdondini L 研究组[25][26][27]

Berdondini L. 等对高密度 CMOS 有源 MEA 传感阵列芯片进行了研究。

A) 芯片结构

采用了 $0.5\mu\text{m}$ 标准 CMOS (5Metal) 工艺，在 $2.5\text{mm} \times 2.5\text{mm}$ 芯片面积上制作了 64×64 传感单元阵列，每一单元都含有有源预处理电路和 $20\mu\text{m} \times 20\mu\text{m}$ 的电极。另外设计了逻辑控制电路控制扫描传感阵列。传感单元结构如图 2.18

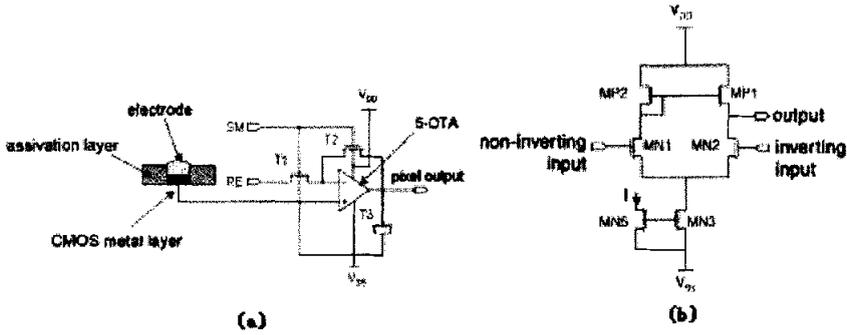


图 2.18 (a) 传感单元电路结构 (b) 传感单元内部放大器电路结构

B) 电极处理工艺

完成器件封装后，用环氧树脂保护压焊点及压焊线。在暴露的有源探测区域，通过两步完成电极的后续处理，实验温度为 25℃。先用 Atomex(Engelhard)溶液对芯片表面进行处理,在铝电极表面形成初始的金层。然后用碱性氰化物溶液 Catagold 2A($\text{KAu}(\text{CN})_2$ 3.75g/L)处理，通过氧化还原反应，形成比较致密的金层。处理前后电极的照片如图 2.19

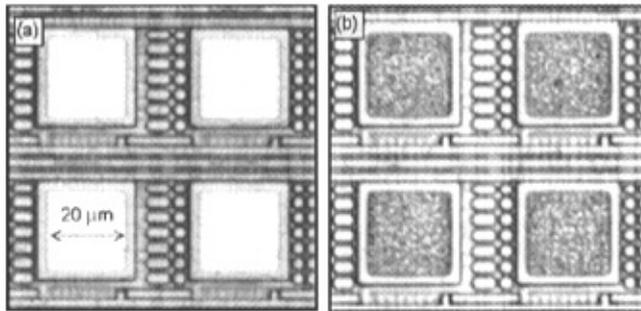


图 2.19 电极处理前后对比照片。

C) 测试结果

传感单元工作的闭环模式下的放大特性如图 2.20。在传感单元上培养两天的乳鼠心肌细胞，对其电活动进行测量，得到的结果如图 2.21。

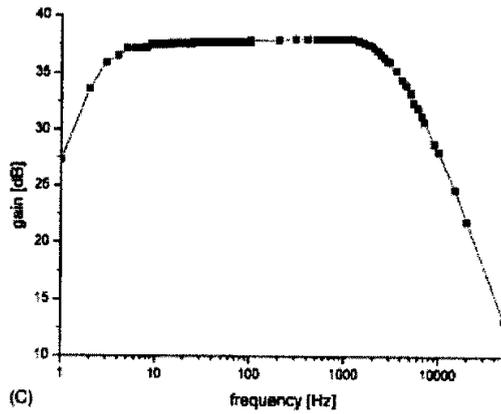


图 2.20 传感单元内放大电路频率特性

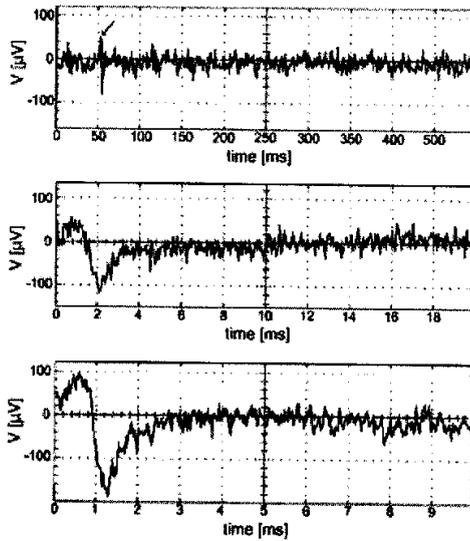


图 2.21 乳鼠心肌细胞测量结果。自上而下分别为用 1kS/s、25 kS/s 和 50 kS/s 的扫描频率进行测量得到的结果。

D) 研究特色

Berdondini L. 等采用有源像素的概念设计传感单元预处理电路，具有较高的传感单元密度，并应用含氰金盐溶液进行电极的后续加工。他们成功测得 130 μ V—300 μ V 的乳鼠心肌细胞胞外电信号。

(4) 美国马里兰大学 Abshire P 研究组[28][29]

Abshire 等在研究 Low-power, Low-noise CMOS 神经放大器方面及 Biosensor

System 方面取得了很多成果。

(A) 芯片结构及工艺

他们通过 MEMS 技术（图 2.22）制作了可以装入单个细胞的小瓶，制作的过程如下：在氧化硅的晶片上淀积 Cr/Au；蒸发并制作 Au 层结构，形成电极、铰链(hinges)和盖子(lids)；选择性地淀积 PPy(plypyrrole)材料；SU-8 材料制作盖子、小瓶和走线的绝缘层；刻蚀 Au 层，使铰链释放。最后将制作的 MEMs 启军安集成道 CMOS 芯片表面（图 2.23）

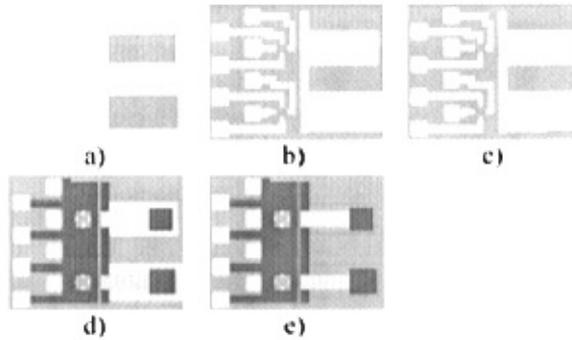


图 2.22 MEMS 工艺流程

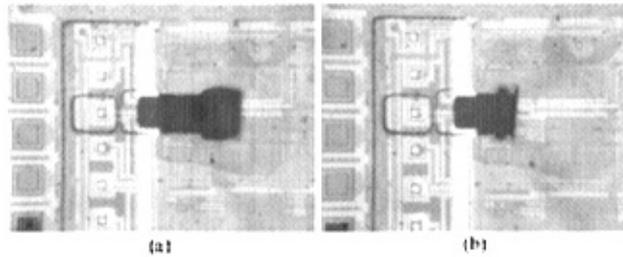


图 2.23 MEMS 结构与放大器芯片完成组合后的照片。

CMOS 传感芯片由 0.5um 3Metal, 2poly 工艺制作，传感电极的大小为 25um×25um、50um×50um 两种。传感放大器结构为图 2.24

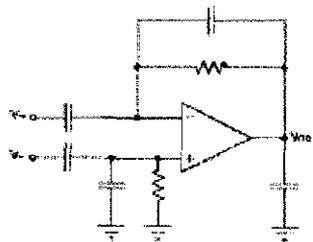


图 2.24 放大器电路结构

放大器的中频增益为 100，供电电源为 $\pm 1.5V$ 。在完成 CMOS 电路加工后，采用无电浸镀的方法改善 Au 电极，然后进行 DIP40 的封装。完成的器件及电极如图 2.25

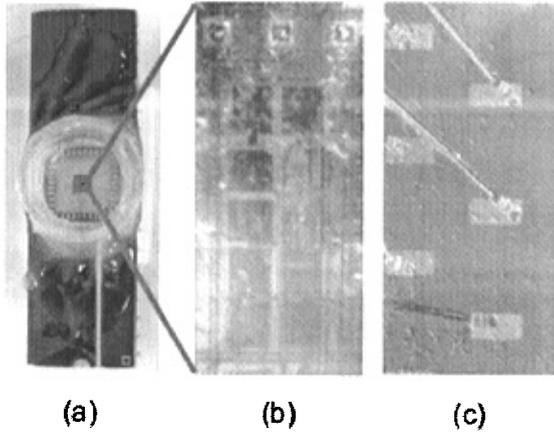


图 2.25 (a) 40 脚 DIP 芯片封装外观图 (b) 放大器信号输入段有 Au 层覆盖的电极 (c) 被细胞覆盖的 Au/Cr 电极

B) 测试结果

对牛的大动脉平滑肌细胞进行测量。细胞在衬底上粘合达到 12 小时以上。测试得到的结果如图 2.26

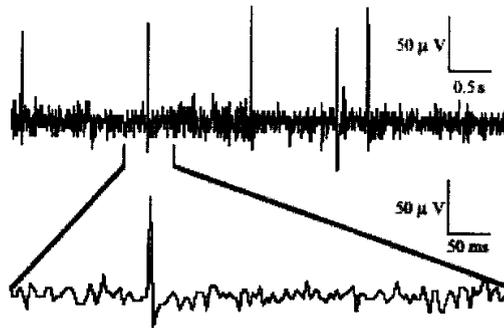


图 2.26 牛的大动脉平滑肌细胞(BAOSMC) 测试结果

C) 研究特色

Abshire 等采用了 MEMS 和 VLSI 技术制作了 biosensor System，为实现更复杂的片上实验室 (biolab-on-a-chip) 提供了很好的基础。

(5) 以色列 Cohen 等人的研究成果[30]

Cohen 等人在使用 FET 作为传感器件方面有新的研究成果。他们的设计中采用了 Floating Gate (FG) 结构，采用调整过的 0.5um CMOS 工艺实现了耗尽型的 PMOS 管。制作的器件结构如图 2.27

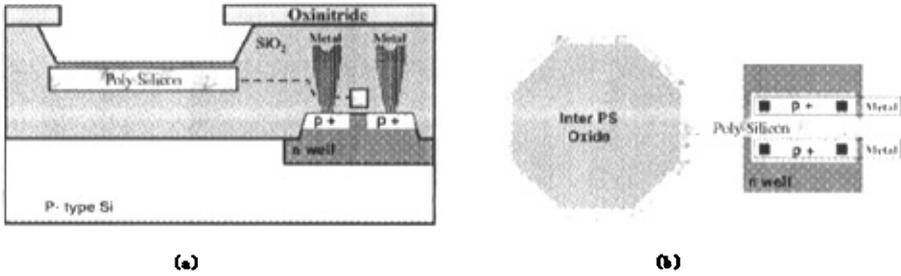


图 2.27 (a) FG 器件的剖面图 (b) FG 器件的顶视图

B) post-CMOS 工艺

器件制作过程中,在完成标准 CMOS 工艺之后,还需通过以下三个步骤来制作器件:

- i) 制作保护芯片焊点的掩膜
- ii) 用缓冲 HF 溶液除去上层多晶硅层上多余的氧化物层。
- iii) 用 KOH 湿法刻蚀使 420Å 的上层多晶硅氧化层, 用来使下层多晶硅层和细胞培养电解质之间的隔离。

C) 测试结果

从动物身上分离得到的中枢神经细胞在热氧化层上培养两周后, 细胞生长如图 2.28

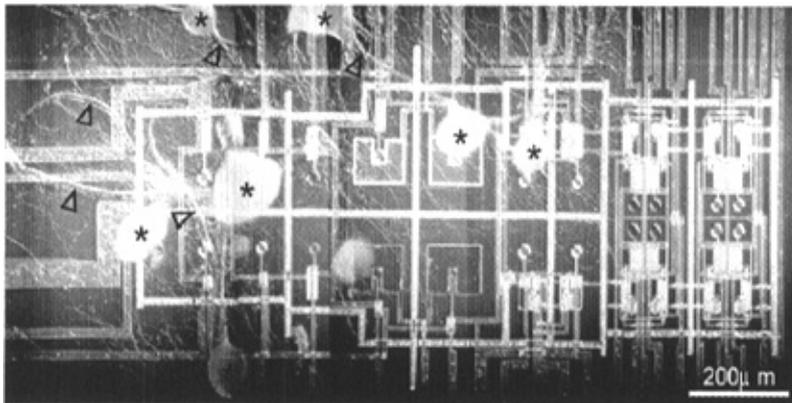


图 2.28 培养的 Aplysia 神经细胞在器件上的生长情况。

细胞培养三天后, FG 器件记录的信号如图 2.29

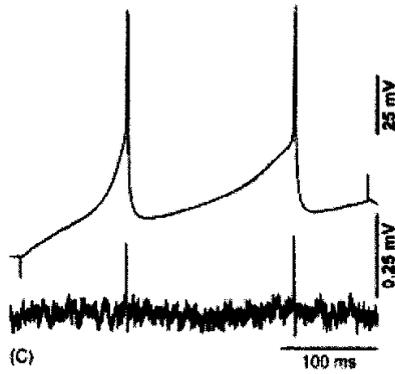


图 2.29 测量结果。上部的信号为细胞内测量得到的信号，下部为 FG 器件记录的信号。

D) 研究特色

Cohen 等采用的 FG 的器件结构，使传感区域和器件沟道区域分离，可以减少溶液对器件的破坏。采用标准 CMOS 工艺可以使先进的信号处理电路直接兼容在传感器件的周围。

2.4 本章小结

细胞间和细胞内的通信，是依靠细胞膜上的离子通道进行的，离子和离子通道是细胞兴奋性的基础，即产生生物电信号的基础。通过多年研究发展，开发出膜片钳技术 (Patch clamp)、微电极阵列(MEAs)和场效应晶体管(FET) 等测量细胞电信号的方法。在近十年中，研究们将标准 CMOS 芯片技术和传统的测量方法相结合，制作了新型的传感芯片，并在生物实测中验证了芯片的功能。目前此类芯片常用的工艺为 0.5 或 0.6 μm 标准 CMOS 工艺，制作的传感阵列最大规模为 128×128 ，最小传感单元面积为 $7.8 \mu\text{m} \times 7.8 \mu\text{m}$ ，能探测最小为 $\sim 50 \mu\text{V}$ 幅值的小信号。部分芯片在传感单元内部设计了预放大器和滤波器等电路，同时片上集成了模数转换电路和逻辑控制电路，提高芯片性能。在标准 CMOS 工艺基础上，研究者们还利用薄膜生长技术和化学镀技术对芯片表面进行了改造，提高生物兼容性。

目前，CMOS 细胞传感器领域的研究方兴未艾，将有更多成果不断出现。本课程的研究也定位在这一微电子和生物技术的交叉学科方向，进行有益的探索和尝试。



2.5 本章参考文献

- [1] 许改霞, 细胞传感器及其再药物分析中应用的研究, 2004, 浙江大学博士学位论文。
- [2] Hamill O P, Marty A, Neher E, et al. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch.*, 1981; vol. 391: 85-100.
- [3] Fromherz P, Müller C O, Weis R. Neuron-transistor: electrical transfer function measured by the patch-clamp technique. *Phys. Rev. Lett.* 1993; vol. 71: 4079-4082.
- [4] Gross G W, Rieske E, et al. A new fixed-array multi-microelectrode systems designed for long-term monitoring of extracellular single unit neuronal activity in vitro. *Neuroscience Letter*, 6, 101-105
- [5] Pine J, et al. Recording action potentials from cultured neurons with extracellular microcircuit electrodes. 1980, *J. Neuroscience Methods*, 2, 19-31
- [6] Gross G W, Wen W Y, et al., Transparent indium-tin oxide electrode patterns for extracellular multisite recording in neuronal cultures. 1982, *J. Neuroscience Methods*, 15, 243-252
- [7] Gross G W, Rhoades B K, et al., Stimulation so monolayer networks in culture through thin-film indium-tin oxide recording electrodes. *J. Neuroscience Methods*, 50, 131-143
- [8] Israel D A, Barry W H, et al., An array of microelectrode to stimulate and record from cardiac cells in culture. *American Journal of Physiology*, 1984, 247: H669-H674
- [9] Connolly P, Clark P, et al. An extracellular microelectrode array for monitoring electrogenic cells in culture. *Biosensor and Bioelectronics*, 1990, 5:223-234
- [10] Jimbo Y, Kawana A, Electrical stimulation of culture neural cells by planar electrode array. *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 1992, 12: 1741-1742
- [11] Jimbo Y, Kawana A, Electrical stimulation and recording from cultured neurons using a planar electrode array. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 1990, 29, 193-204
- [12] Keefer, E.W., Gramowski, A., Stenger, D.A., Pancrazio, J.J., Gross, G.W., Characterization of acute neurotoxic effects of trimethylolpropane phosphate via neuronal network biosensors. *Biosensor and Bioelectronics*. 2001b.16 (7-8), 513-525.
- [13] Tschertner A., Heuschkel M.O., Renaud, P., Streit, J., Spatiotemporal characterization of rhythmic activity in rat spinal cord slice cultures. *Eur. J. Neurosci.* 2001.14 (2), 179-190.
- [14] Egert, U., Schlosshauer, B., Fennrich, S., et al., A novel organotypic long-term culture of the rat hippocampus on substrate-integrated multielectrode arrays. *Brain Res. Protoc.* 1998, 2 (4), 229-242.

- [15] Thiebaud P., Beuret C., Koudelka-Hep M., et al., An array of Pt-tip microelectrodes for extracellular monitoring of activity of brain slices. *Biosensors and Bioelectronics*, 1999, 14 (1), 61–65.
- [16] Marom, S., Shahaf, G., Development, learning and memory in large random networks of cortical neurons: lessons beyond anatomy, *Q. Rev. Biophys.*, 2002, 35 (1), 63–87.
- [17] Shahaf, G., Marom, S., Learning in networks of cortical neurons. *J. Neurosci.* 2001. 21 (22), 8782–8788.
- [18] Fromherz P, Offenhäusser A, et al. A neuron-silicon junction: a retzius-cell of the leech on an insulated-gate field-effect transistor. *Science*, 1991; vol. 252: 1290–1293.
- [19] Offenhausser A, Sprossler C, et al. Field-effect transistor array for monitoring electrical activity from mammalian neurons in culture. *Biosensors and Bioelectronics*. 1997, 12: 819-826
- [20] Yeung C K, Ingebrantdt S, et al., Validation of the use of field effect transistors for extracellular signal recording in pharmacological bioassays. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 2001, 45: 207-214
- [21] Eversmann B, Jenkner M, Hofmann F, et al. A 128×128 CMOS biosensor array for extracellular recording of neural activity. *IEEE J. Solid-State Circuits*, 2003; vol. 38: 2306–2317.
- [22] Lambacher A, Jenkner M, Fromherz P, et al. Electrical imaging of neuronal activity by multi-transistor-array (MEA) recording at 7.8 um resolution. *App. Phys. A*, 2004, 79, 1607-1611
- [23] Franks W, Heer F, et al., MOS monolithic microelectrode array for the monitoring of electrogenic cells. *IEEE international conference on solid state sensor*, 2003, 963-966
- [24] Heer F, Franks W, et al., CMOS microelectrode array for the monitoring of electrogenic cells, *Biosensor & Bioelectronics*, 2004, Vol. 20:358-366
- [25] Berdondini L, Overstolz T, et al. High resolution electrophysiological activity imaging of in-vitro neuronal networks. *IEEE EMBS*, 2002, 241-244
- [26] Berdondini L, van der Wal P D, Guenat O, High-density electrode array for imaging in vitro electrophysiological activity, *Biosensors and Bioelectronics*, 2005, Vol.21, Issue 1, 167-174
- [27] Berdondini L, van der Wal P D, et al. Development of an electroless post-processing technique for depositing gold as electrode material on CMOS devices. *Sensors and Actuators B*, 2004, 99, 505-510
- [28] Horiuchi T., Swindell T., Abshire P, et al. A low-power CMOS neural amplifier with amplitude measurements for spike sorting. *IEEE ISCAS*, 2004, IV-29-IV-32
- [29] Reeves, N., Liu, Abshire P, et al., Integrated MEMS structures and CMOS circuits for bioelectronic interface with single cells. *Proceedings of the 2004 International Symposium on Circuits and System*, 2004, Vol.3: III - 673-676



- [30] Ariel Cohen, Micha E S, et al., Depletion type floating gate p-channel MOS transistor for recording action potentials generated by cultured neurons. *Biosensors and Bioelectronics*, 2004, 19, 1703-1709

第三章 阵列式 CMOS 生物电信号传感芯片 电路和版图设计

本章摘要:

3.1 介绍了传感芯片的基本原理; 3.2 芯片系统设计; 3.3 各节详细介绍了芯片各部分电路设计, 包括传感单元电路、电流镜电路、输出电路和控制电路。3.4 芯片版图实现中的设计考虑。

3.1 传感芯片的基本原理

采用细胞外测量的方法, 可以实现对细胞电信号的无损测量。(图 3.1)。

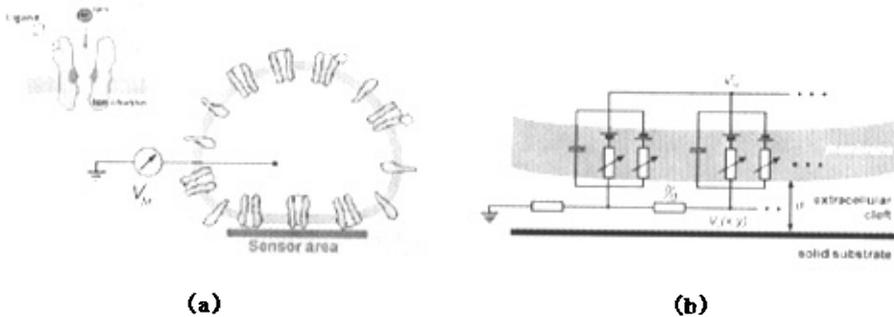


图 3.1 (a) 平面传感阵列探测细胞电势示意图 (b) 细胞外测量的接触模型 ([1])

如 3.1(b) 所示, 细胞外电势 V_M 可以表现为细胞膜和衬底之间缝隙 Cleft 中的电势 V_J 。 V_J 的大小由很多因素决定, 包括接触细胞膜非线性的、复杂的阻抗, 电解液电阻率 ρ 以及 Cleft 的宽度 d 决定。离子通道可以等效为压控电阻, 而细胞膜可以等效为电容。细胞膜内外环境中的离子浓度差可以等效为电压源。 [2]

为实现细胞外测量技术和标准 CMOS 工艺兼容, 本课题设计的芯片利用微电极感应细胞电位, 完成生物电信号与片上电路的耦合。

采用 CSMC 0.6 μm 标准 CMOS 工艺实现的细胞电信号传感器原理如图 3.2 所示。根据 Huxley 和 Hodgkin 的理论[3], 细胞离子电流 I_M 、细胞膜内电位 V_M 和膜外电位 V_J 之间关系可由等式 (3.1) 表示

$$I_M = C_M [d(V_M - V_J) / dt] + \sum_i I_{JM}^i \quad (\text{式 3.1})$$

C_M 为细胞膜等效电容, $\sum_i I_{JM}^i$ 代表 Na^+, K^+, Ca^{2+} 各种离子电流的总和。

在细胞和电极耦合机制中, R_c 为间隙电阻, R_{seal} 为细胞与器件耦合层密封电阻。电极特性 $Z_{electrode}$ 受溶液分布电阻、电极与溶液界面状态以及电极本身电阻的调制, 可等效为并联可变电容和可变电阻[4]。 Z_{in} 为电极后续电路的输入阻抗, C_{para} 为寄生电容, 包括钝化层电容以及衬底的寄生电容。由等效模型可得, 要测量细胞电信号, 要求电极后续电路具备高输入阻抗 Z_{in} , 补偿电极特性和溶液界面态带来的影响。本设计将电极直接与 MOS 管的栅极相连, 满足高输入阻抗的要

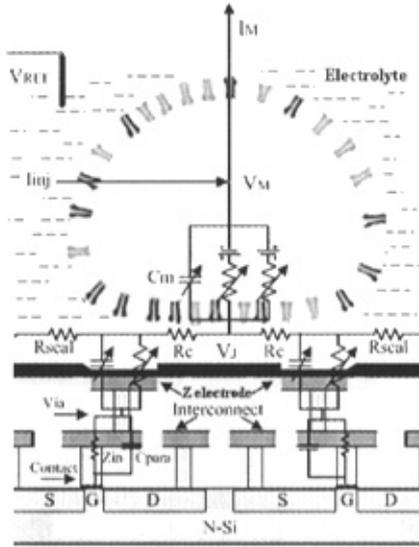


图 3.2 本课题设计的传感器原理图

神经细胞跨膜电压的幅值大约为 $70mV_{pp}$, 动作电位引起的缝隙电位 (cleft voltage) 幅值约为 $100\mu V_{pp}$ 到 $5mV_{pp}$ 。小鼠神经细胞的直径为 $10\mu m$, 细胞外电信号在缝隙 Cleft 中产生信号的幅值为 $100\mu V_{pp}$, 带宽为 $10Hz-1kHz$ 。蜗牛细胞的直径大约 $50\mu m$, 信号的幅值为 $3mV_{pp}$, 带宽在 $10Hz$ 至 $1kHz$ 。可见所研究的可兴奋细胞活动时的电信号比较微弱, 需要一定的放大, 才能被普通性能的记录仪器记录; 且信号集中在低频范围。选择电路要从电路放大功能, 频率范围和噪声水平几方面来考虑。

3.2 芯片系统设计

芯片的片上和片外系统如图 3.3 所示。芯片片上系统可分为传感电路，参考源电路，逻辑控制电路以及输出缓冲电路等几个部分。其中传感电路部分是系统的核心，它由 36 个传感单元电路组成，采用了 6×6 的排列方式。同时这一阵列又被划分为 9 个功能模块，每个模块中的 4 个单元电路能同时读取信号并输出。这种阵列式加模块化的设计，旨在提高传感器并行处理的能力，并使传感器能够提取局部范围测试对象表面电信号的细节，提高传感器的精度和效率。控制电路能够完成传感单元的行列扫描和工作模式控制。输出缓冲电路旨在提高输出驱动能力，并且减少后续电路对传感系统的干扰。芯片片外系统还包括数字控制电路、精确电源、输出转换和 PC 显示等部分。

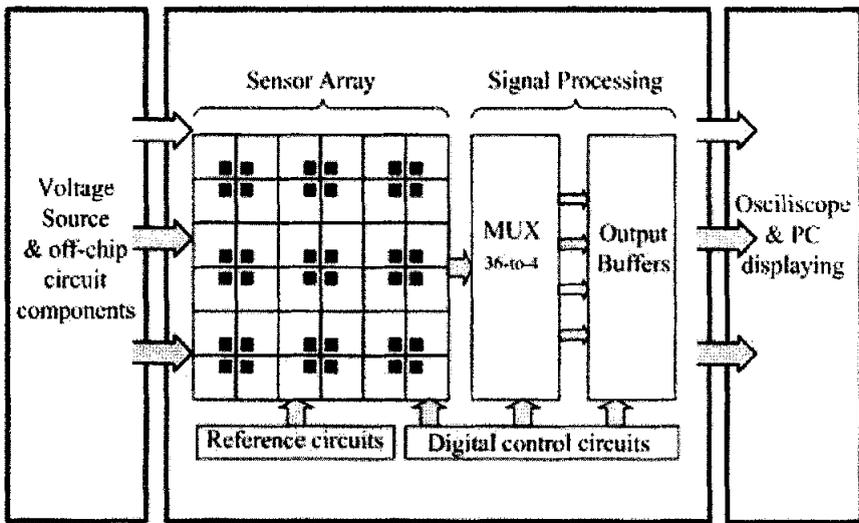


图 3.3 芯片系统构成示意图

3.3 各电路模块设计

3.3.1 传感单元电路设计

传感单元电路是芯片的核心部分。设计中采用了有源传感单元的概念，在传感单元内部设计了信号预处理电路，对传感信号进行放大。并且单元电路采用相关二次采样的工作模式，减少固定模式噪声干扰。传感单元电路结构如图 3.4 所示。

预处理电路

预处理电路的差分放大器由 M1-M6 组成。直流工作电平 V_{ref} 由参考源电路提供。

正相输入端读取电极上信号时，工作电平由溶液中的参考电极提供。预处理电路的工作电流由片上电流镜提供。

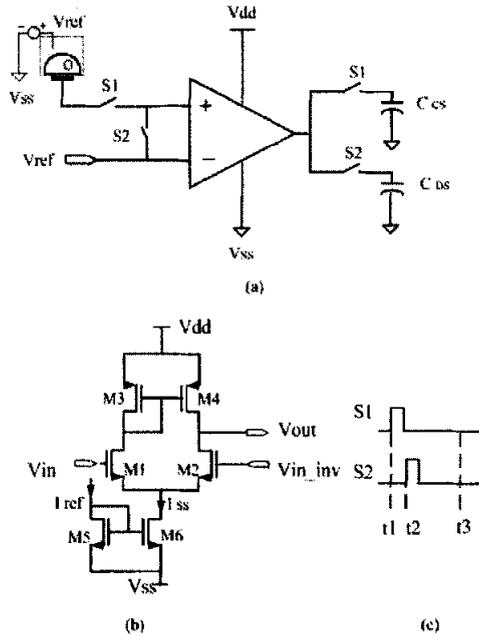


图 3.4 (a) 单元电路结构 (b) 传感单元内放大器电路 (c) 单元电路控制信号时序关系。t1 时刻共模输入并采样，t2 时刻读入电极上小信号并采样，t3 时刻后续电路处理两次采样信号。

由电路结构可得，预处理电路的电压增益为

$$\frac{V_{out}}{V_{in}} = g_{m1,2} (r_{O1,2} \parallel r_{O3,4})$$

$$g_{m1,2} = \left(\frac{K_1 I_{SS} W_{1,2}}{4L_{1,2}} \right)^{1/2}$$

相关二次采样工作模式

预处理电路受信号 S1、S2 控制处于相关二次采样工作模式（开关由高电平控制导通）如图 3.5 所示。当 S1 为高电平，差分放大器处于共模输入状态，电容 C_{CS} 采样共模输出电压 V_{CMout}；当 S2 为高电平，反相输入端保持 Vref，正向输入端读入电极上信号 Vref + v_{bs}（v_{bs} 位细胞膜外等效电位），C_{DS} 采样输出 V_{CMout} + A·v_{bs}（A 为差分放大器增益）。

C_{CS} 、 C_{DS} 上采样的信号可经后续差分电路去除共模输出信号，得到与生物电信号相关的信号量 $A \cdot v_{bs}$ 。最重要的是，在差分处理过程中，由工艺偏差引起的固定模式噪声 (FPN) 及部分环境噪声也将作为共模信号被抑制，起到提高传感器精度的作用。

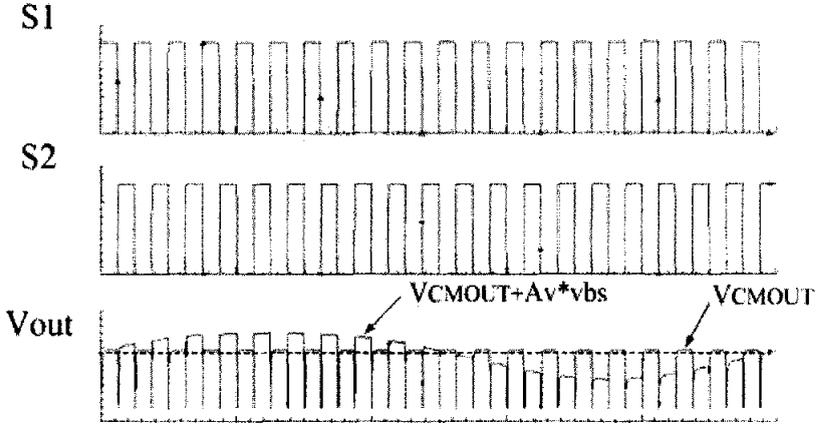


图 3.5 相关二次采样工作模式。S1, S2 为开关控制信号, Vout 为传感单元输出电压。

3.3.2 电流镜电路设计

电流镜电路结构如图 3.6 所示

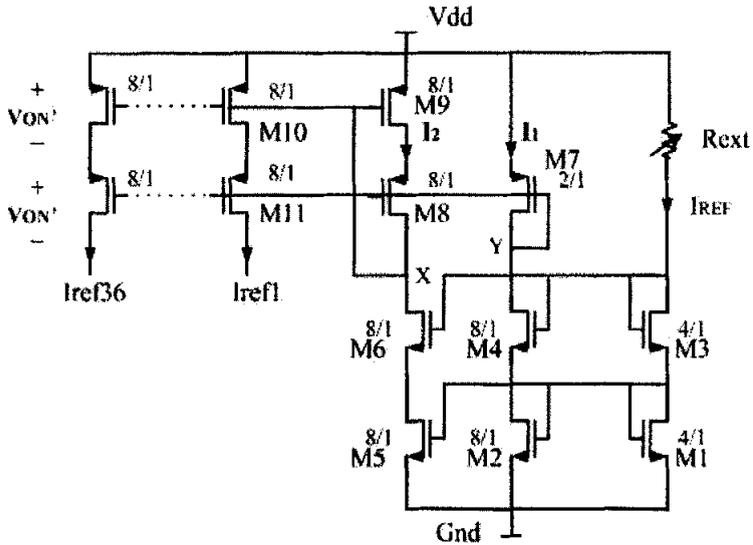


图 3.6 电流镜电路

电路的基本思想是通过电流镜来产生一个精确电流源，避免工艺和温度对电路



精度的影响。设计中主要考虑了以下几点：

- 电流镜中所有晶体管都采用相同的栅长，以减小由于源漏区边缘扩散LD所产生的误差。晶体管栅长没有使用最小尺寸0.6um，是为了减少短沟器件沟道调制效应的影响。
- 晶体管W之间的比例关系，都是通过multiply方式实现，能进一步提高器件的复制精度。
- 采用 cascode current mirror 结构，进一步抑制沟道调制效应，也增大电流镜输出电阻，使电流受输出电压波动的影响小。为了减少带来的电压余度，输出端采用了改进型 cascode 结构，能够增加输出端电压的摆幅。电路中， $I_{ref1}=I_{ref2}=\dots=I_{ref6}=2I_{REF}$ 。电路原理如下：

当 MOS 管工作在饱和区，

$$V_{DS(SAT)} = V_{ON} = V_{GS} - V_T$$

V_{ON} 为过驱动电压，表征使器件保持在饱和区需要的最小要满足 MOS 管工作饱和区的最小 V_{DS} 。由电流电压关系可得，

$$i_D = \frac{K'W}{2L}(V_{ON})^2$$

因为由电路关系可得， $I_1=I_2$

$$\text{则可得 } \frac{K_8'W_8}{2L_8}(V_{ON8})^2 = \frac{K_7'W_7}{2L_7}(V_{ON7})^2$$

M7 和 M8 均为 PMOS 管，可得

$$\frac{\left(\frac{W_7}{L_7}\right)}{\left(\frac{W_8}{L_8}\right)} = \frac{(V_{ON8})^2}{(V_{ON7})^2} \Rightarrow \frac{V_{ON8}}{V_{ON7}} = \frac{1}{2}$$

设 $V_{ON}' = V_{ON8}$

$$V_X = V_{DD} - (V_T + V_{ON}')$$

$$V_Y = V_{DD} - (V_T + 2V_{ON}')$$

可得电流镜输出端最大输出电压为 $V_{DD} - 2V_{ON}'$ ，输出范围得到了改进。

R_{ext} 为片外电阻，调节它可以调节电流镜输入电流 I_{REF} 的大小，从而控制电流

镜输出电路 I_{ref} 的大小。

3.3.3 输出缓冲驱动电路设计

为增强芯片输出的驱动能力，减少后级干扰，芯片上设计了输出缓冲电路。基本结构是单位增益接发的差分放大器。采用的放大器电路结构如图 3.7 所示。

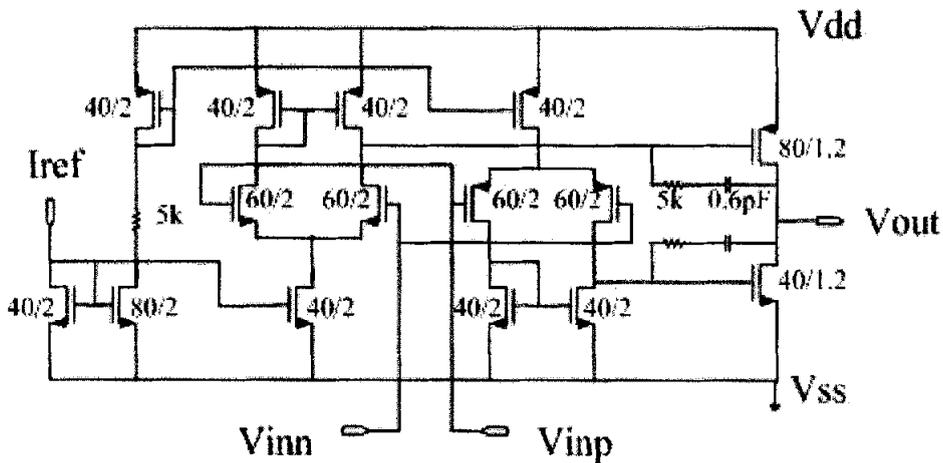


图 3.7 输出缓冲器电路所用的差分放大器结构

在单位增益缓冲应用中，输入的摆幅几乎等于输出摆幅。电压摆幅的限制由输入差分对决定，而不是由输出差分对决定的。扩展输入共模范围的一种简单方法就是混合使用 NMOS 和 PMOS 差分对。设计思想为：

把具有 NMOS 和 PMOS 输入差动对的二个折叠运放结合起来。这样，当输入 CM 接近地电平时，NMOS 差动对的跨导下降，最终为零。尽管如此，PMOS 差分对还在正常工作。相反，如果输入 CM 电平接近 VDD，则 PMOS 差分对开始关断，但 NMOS 差分对正常工作。

在一般放大器设计中，如果运用这种互补差分对技术扩展输入范围，还会遇到输入 CM 不同，两个差分对总跨导变化的问题。因为缓冲器电路的结构特点，这一因素不必考虑。

直流仿真结果

对输入进行 0 - 5V 直流扫描。输入输出如图 3.8 所示。

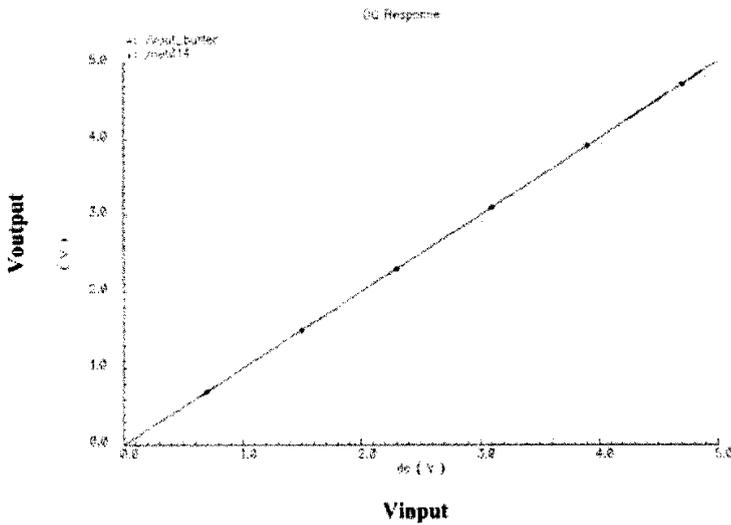


图 3.8 输出缓冲器电路直流扫描结果

由仿真结果可得，输入输出曲线完全重合，电路完成了单位增益缓冲功能，同时输入输出范围在 0-5V。

瞬态分析

在缓冲器输入端假如 $V_{dc}=3.64V$ ， $V_{pp}=2V$ ，频率为 1kHz 的正弦信号。观察输入输出情况如图 3.9

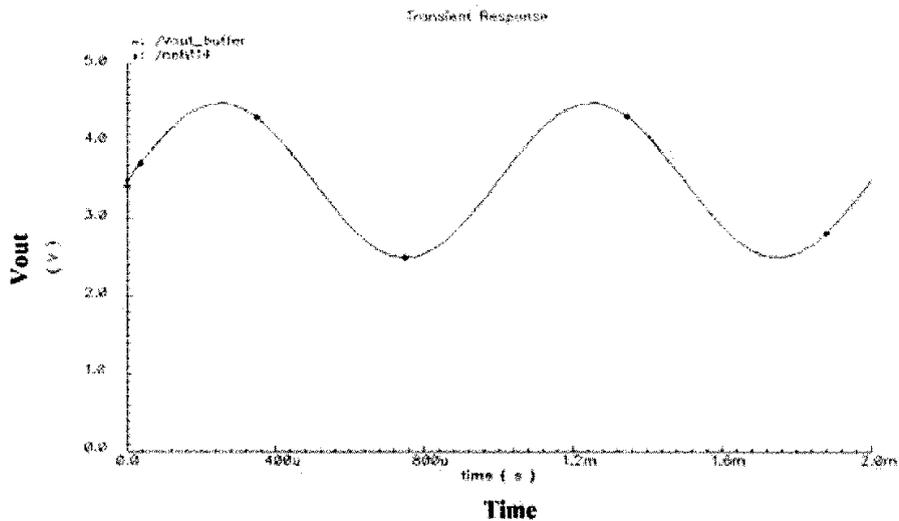


图 3.9 缓冲器电路瞬态仿真结果

图中看到，输入输出曲线完全重合，电路很好完成了单位增益缓冲器的功能。

3.3.4 控制电路设计

控制电路由逻辑电路和模拟选择器构成。逻辑电路产生控制信号控制模拟选择器开关阵列的开关，从而控制各传感单元的输出。为减少电路的复杂度对可靠性的影响，采用的比较简单的行列选通控制，分别有3个行选信号和3个列选信号经逻辑与门对9个工作模块进行选通。

3.4 版图设计

3.4.1 工艺介绍

电路流片的工艺选用华润上华科技（无锡）有限公司的6S06DPDM-CT02标准CMOS工艺，该工艺是0.6 μm 线宽，两层多晶硅两层金属的双阱工艺，工作电压为5V。工艺线采用P型<100>晶向的硅单晶作衬底，硅单晶的方块电阻为15~25 $\Omega\cdot\text{cm}$ 。完成整个工艺流程需要16块掩模板，其中13块需要刻线对准，工艺用到的掩模板的顺序如表3.1所示。

版图绘制和验证应用Cadence环境下Virtuoso Editing工具完成，进行了设计好版图的设计规则检查(DRC: Design Rule Check)，器件参数和寄生参数的提取(Extract)，以及对电路和版图连线的互查(LVS: Layout Versus Schematics)。

表3.1上华6S06DPDM-CT02工艺中所需的掩模板

掩模板名称	工艺流程对应层	备注
TB	N-Well	P沟器件的衬底
PT	P-Well	N沟器件的衬底和N沟的停止注入
TO	Active	有源区和沟道区
GT	Poly1	晶体管的栅和互连线
PC	Poly2	多晶硅电容的上极板和高阻的多晶硅电阻
IM	High Res.	高阻多晶硅电阻的覆盖层，防止多晶硅的低阻离子注入
SN	N+	NMOS管的源漏注入
SP	P+	PMOS管的源漏注入
W1	Contact	A1和半导体层连接的接触孔
A1	Metal1	第一层金属互连线
W2	Via	连接A1和A2的通孔
A2	Metal2	第二层金属互连线
CP	Pad	晶圆块的开孔

3.4.2 版图设计基本器件结构选择

(1) 晶体管

CSMC6S06DPDM-CT1000 采用的是普通结构 MOS 管，此处不赘述。

(2) 电容

本设计中电容结构采用双多晶硅电容。多晶硅 1 为下极板，多晶硅 2 为上极板。

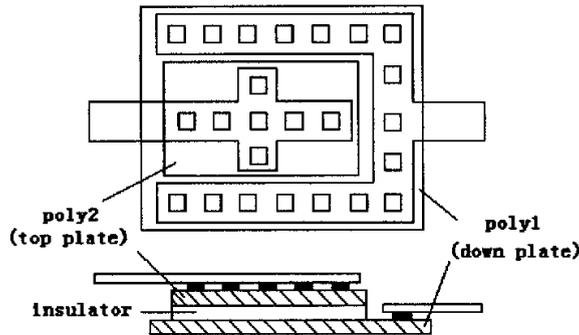


图 3.10 多晶硅电容结构示意图

CSMC6S06DPDM-CT1000 工艺提高的 CAPS P2/P1 为 $0.7Ff/um^2$ 。

(3) 电阻

由于多晶硅 2（高阻）的相对精度高，方块电阻值大小合适，以及温度、电压对电阻值的影响也最小，所以一般都会选用它来实现设计中的电阻。其具体结构如图 3.11 所示。图中，high resistor 层是用来阻挡对多晶硅 2 层的离子注入（调整方块电阻，使之减小），从而实现高阻的多晶硅 2 电阻。

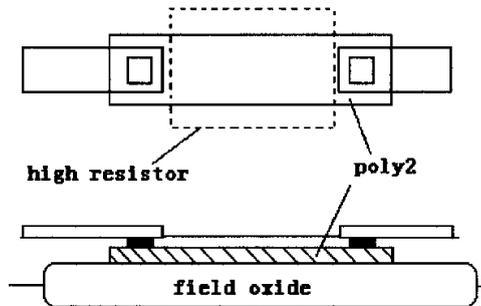


图 3.11 多晶硅 2 电阻（高阻）结构示意图

CSMC6S06DPDM-CT1000 工艺提供的 HPOLY2 SHEER RES 为 $1000OHM/SQ$

3.4.3 版图的设计中主要注意点

(1) 匹配的考虑

根据电路结构对器件匹配精度的要求，依据不同匹配等级进行版图设计。

- 即便在匹配精度要求最低的情况下，晶体管要匹配，都必须有相同的栅长。大尺寸的晶体管被分为多个宽长完全相同的 fingers。
- 晶体管呈同一方向平行放置，减少应力以及倾斜引入的迁移率的变化。
- 需要匹配的晶体管必须紧密放置在一起，如果匹配精度要求很高，就需要采用中心对称的画法。
- 匹配度要求较高时，用金属线连接 finger 栅，如果使用 poly 走线会引入一定误差。匹配精度要求不高时，可以使用 poly 连接，减少走线的复杂度。
- 适当添加 dummy 管，提高匹配度。
- 对称放置需要匹配的信号走线。

(2) 减少噪声

- 如果面积允许，合理放置足够的保护环吸收噪声。
- 在源和地之间合理放置电容，将电源引入的噪声耦合到地线中。
- 用接地的金属线包围一些摆幅较大的信号线，吸收噪声。
- 平行相邻放置由同一信号源发出的走线，过程中引入相同的噪声可以在差分过程中滤除。

(3) 其他考虑

- 考察电路金属走线中实际承载的电流密度，合理选择宽度。
- 合理放置 contact 和 via 的个数，为工艺成功率留有余量，同时尽量减少引入的电阻。

3.4.4 传感区域版图设计

(1) 传感单元电路

传感单元是整个芯片最为重要的部分，需要折衷考虑版图面积和精度要求。电路中对匹配的要求比较多，包括差分输入管、有源负载及本地镜像源的匹配。为提

高电路精度，同时又减小单元电路面积，电路中对需要匹配的管子采用了叉指画法，减少工艺偏差引入的误差。同时添加 dummy 管，提高匹配度。

单元电路是传感器读取和放大信号的部分，容易受到噪声干扰。所以在版图中添加了 N 和 P 两层保护环。并且在 RESET 开关管的周围也添加了保护环，尽量减少开关信号对差分放大部分模拟信号的影响。添加保护环同时也将抑制输出管的栓锁效应，防止电路发热损坏。

单元电路中读取小信号的电极采用 metal2，并采用 PAD 窗口工序在 metal2 上制作窗口。为保证差分处理电路的精度，适当调整了电极的位置，不覆盖处理电路。同时为避免天线效应，与电极相连的 metal1 没有采用大面积。传感单元版图如图 3.12 所示。面积为 $65\mu\text{m}\times 80\mu\text{m}$

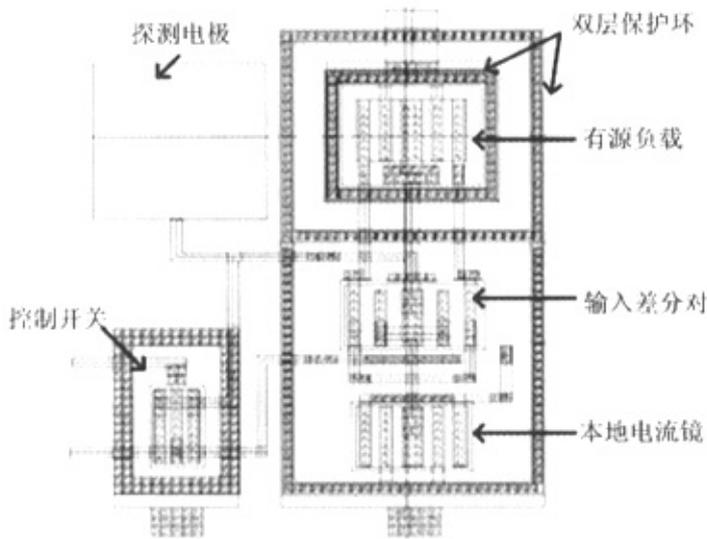


图 3.12 传感单元电路版图

(2) 传感区域功能模块

每一功能模块由四个单元电路组成，这四个单元的版图结构上完全相同，在组合的时候，采用了图 3.13 中的排列方式。这四个单元将共用电源线，节约了版图面积，同时共用 RESET 信号线和共模输入电平走线。这两条走线都较宽，减少走线上的压降。

集中排列的电极间距离为 $20\mu\text{m}$ ，电极大小 $25\mu\text{m}\times 25\mu\text{m}$ ，除去 metal2 overlap

Pad 的面积，有效电极面积为 $15\mu\text{m}\times 15\mu\text{m}$ 。功能模块的面积为 $150\mu\text{m}\times 160\mu\text{m}$

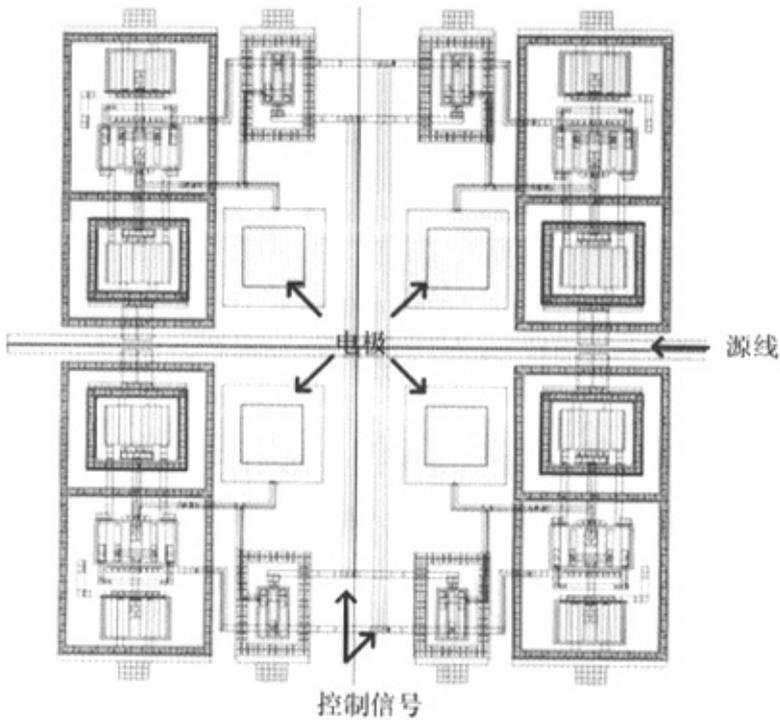


图 3.13 传感区域功能模块版图，每一模块包含四个传感单元电路。

(3) 传感阵列

阵列整体版图如图 3.14 所示。传感部分版图面积为 $550\mu\text{m}\times 550\mu\text{m}$ 。其中每一单元电路的输出都有独立走线，输出也由独立开关控制，这样每个单元电路功能相对独立，方便每个单元的测试分析。

为保证电源地的均匀分布，电源和地线包围传感阵列部分。同时考虑减少源线对信号的干扰，采用地线在内、源线在外的布线方式。

控制信号和共模输入电平由各功能模块引出，在传感区域外走总线到 PAD 上。为减少压降，走线都采用较宽的金属线。

3.4.5 电流镜版图设计

电流镜共有 36 个输出，为阵列中的提供参考电流。电流镜输出端数目较多，在版图设计中也充分考虑各输出端之间的匹配。版图如图 3.14

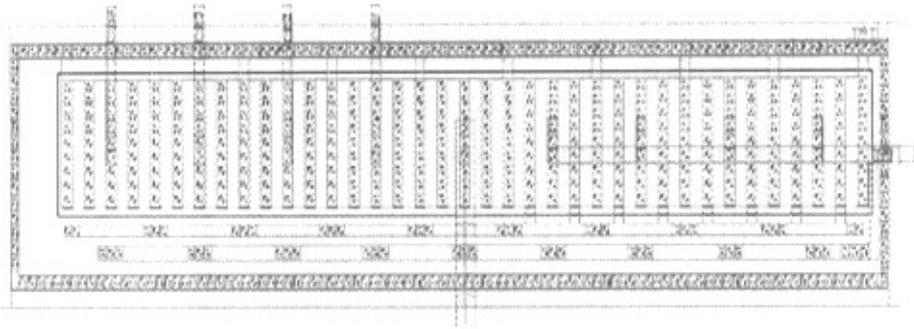


图 3.14 电流镜版图（部分）

3.4.6 输出缓冲电路版图设计

缓冲器电路中也涉及很多需要匹配的输出和输出器件，版图中也充分考虑它们的匹配。另外也采用了保护环电路减少噪声和栓锁效应的影响。缓冲器电路版图如图 3.15。

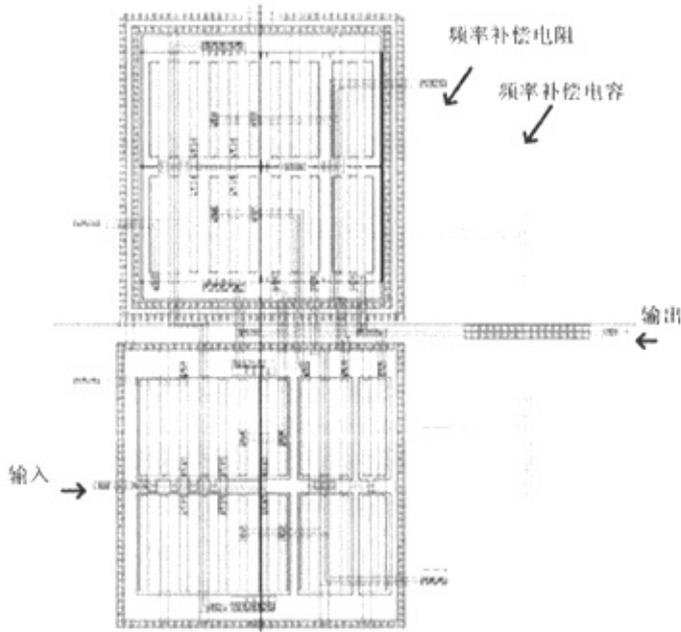


图 3.15 输出缓冲电路版图

3.4.7 可测性设计

为了验证电路功能和保证测试方案的可行性，除系统设计外，芯片还包含有大

量的测试性电路。同时为了应对工艺可能带来的影响，部分关键电路添加了由外部输入控制电压或电流的电路结构。

(1) 测试性模块

测试模块主要是用于检测单元电路及功能模块工作是否正常，这一部分由两种不同结构的传感单元电路构成，并且有独立的电源线和地线，尽可能降低其他模块造成的噪声干扰。

NMOS 输入型测试模块

基本结构同阵列内部功能模块的结构。在设计时考虑将部分电极与 PAD 直接相连，则电极上小信号可通过 PAD 直接添加，便于电路测试。为了减少输出信号相互间干扰，信号走线之间都有地线间隔。

PMOS 输入型模块

在 P 管输入型传感模块中，放大器电路结构采用图 3.16(a) 所示电路。当放大器的共模输入为 0V 时，放大器电路可以正常工作。这样的条件给测试带方便。测试时可以将输入的信号的直流偏置设定在 0V，无需在添加直流偏置源。P 管测试的线路和版图如图 3.16 所示。

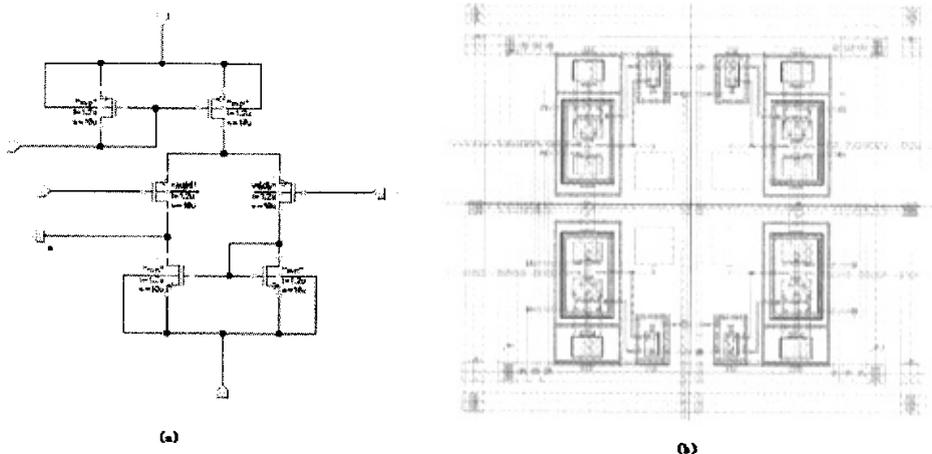


图 3.16 (a) P 管输入型传感单元电路模块单元电路 (b) P 管输入型测试单元版图

(2) 其它可测性考虑

整体版图中有两套电源地线。分别为传感系统和测试模块供电。

电流镜为单元电路提供工作电流，为了确保这一功能的实现，在测试单元中添加了输入偏置电压提供尾电流的方案。虽然这种方案的精度不高，但是当电流镜无法正常工作时，启用这一方案能够方便测试。另外这个逻辑控制信号的输入 PAD 采用的是模拟 Inout 口，也可监测电流镜偏置电压。

传感阵列的逻辑控制电路本身已比较简单，但为保证测试，也添加了由外部直接提供控制信号的方式。与前面提到的情况相同，输入信号用的模拟 Inout PAD，可以检测逻辑电路功能是否正常。

3.4.8 版图验证和后模拟

版图设计必须遵从工艺厂商提供的设计规则，器件的尺寸、线条的大小、层与层之间的距离都必须严格按照设计规则去设计，设计的版图满足了设计规则就意味着工艺厂能够流片生产出和版图设计的一模一样的芯片来。

单单满足了设计规则还是不够的，设计的版图和设计的电路一定要完全一样才能保证电路的功能正确，为此我们还需要从版图中提取出相应的器件网表和设计好的电路网表进行比较，只有完全一样才能说明版图设计是正确的。但是，由于实际的芯片制造工艺中，存在着各种各样的寄生参数，这些参数都直接影响着设计电路的功能和性能。所以，当我们设计的版图和电路图网表完全相同的时候，还需要把版图对应芯片可能存在的寄生参数都考虑到电路网表中进行模拟，即后模拟，这样得到的电路仿真结果才是最接近于实际情况的结果。

由此，我们可以得到版图验证的全过程为：

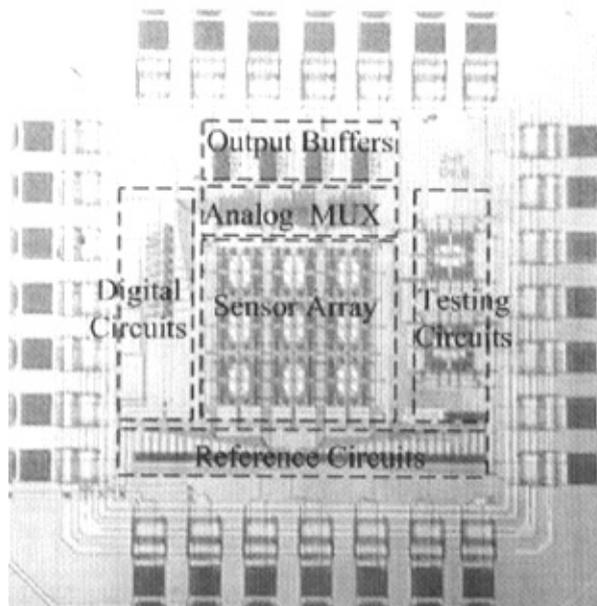
- **DRC** 检查，可以边设计版图边进行检查。
- **Extract**。这一步骤能够将版图中设计的器件和工艺制造过程中引入的寄生的器件以及它们的参数提取出来，并形成网表文件。
- **LVS**。将提取出来的版图网表和设计的电路网表进行比较，检查二者是否存在不一样的地方。值得注意的是，在器件提取时，寄生器件的提取可以由提取文件定义为寄生和网表考虑器件两种，前者在LVS 时是不会考虑在版图网表中的，但后者则会被算在网表里。也就是说，在LVS 时，版图的网表中，提取出的寄生器件要么以寄生的身份出现，要么就不要提取出来，这样LVS 的结果才会正确反应版图和电路之间的对应关系。

·后模拟。后模拟需要将把器件参数和寄生参数同时提出的网表映射到电路图中，然后进行和前模拟相同的仿真，这样得到的仿真结果是流片出的芯片最可能出现的测试结果。后模拟的另外一个作用就是重新检验设计的版图在特定工艺条件下的可行性如何。如果后模拟结果和设计目标一致，则表明电路设计成功的希望很大；如果二者相差比较大，那也就不指望流片出来的芯片能够实现预期的功能和指标。

流片前电路的版图都严格按照上述4个步骤完成的，由于本次设计的电路使用的时钟频率较低，版图设计较为合理，后模拟结果和前模拟的结果基本一致，符合设计目标的要求，因此这里就不再单独给出流片电路的后模拟结果。

3.5 本章小结

本章介绍了传感芯片各电路模块的设计，并介绍了基于华润上华科技（无锡）有限公司的6S06DPDM-CT02工艺的版图设计和验证。设计的版图都通过的DRC、Extract 和LVS 验证通过，在后模拟中也达到了预期的设计目的。本芯片参加了ICC MPW项目流片，完成的芯片照片如图3.17。





3.6 本章参考文献

- [1] Jenkner M , Tartagni M, et al. Cell-based CMOS Sensor and Actuator Arrays. *J. of Solid-state Circuits*. 2004, Vol 39 (12), 2431- 2437
- [2] Fromherz P, Müller C O, et al. Neuron-transistor: electrical transfer function measured by the patch-clamp technique. *Phys. Rev. Lett.*, 1993. vol. 71, 4079–4082
- [3] Hodgkin L, Huxley A F. A quantitative description of membrane current and its applications to conduction and excitation in nerve. *J. physiol.*, 1952; vol. 117: 500-544,
- [4] Massimo Grattarola, Sergio Martinoia, Modeling the neuron-microtransducer junction: from extracellular to patch recording. *IEEE Transaction on biomedical engineering*. 1993; vol. 40(1): 35- 41
- [5] Behzad Razavi, *Design of Analog CMOS Integrated Circuits*
- [6] Philip E. Allen, *CMOS Analog Circuit Design (Second Edition)*
- [7] Alan Hastings, *The art of Analog layout*

第四章 CMOS 扩展工艺

本章摘要:

4.1 和 4.2 分别介绍了 CMOS 传感器中常用的扩展工艺流程, 包括 lift-off 工艺和无氰无电浸镀金工艺。4.3 介绍了芯片特殊封装方法

在进行生物实测前, 需要对传感器表面进行无菌化处理, 并保证芯片与生物接触的材料稳定、无损、无毒。本课题中设计的 CMOS 生物信号传感芯片采用了无锡上华 (CSMC) 的 $0.6\mu\text{m}$ 双层金属双层多晶硅 N 阱 CMOS 工艺制造。因为采用标准集成电路工艺制作, 制作的电极的为 Al 电极。为了提高电极的生物兼容性, 并增强其在电解液环境中抗腐蚀的能力并提高其生物兼容性, 需要对电极进行加工。本课题研究中尝试性地采用 lift-off 工艺和无氰无电浸镀金的方法对 Al 电极进行加工。本章将介绍这两种方法的工艺流程。

为提高芯片在电解液环境中的稳定性, 需要充分保护芯片电路和管脚部分。所以完成电极后续加工后, 还需要在芯片进行特殊封装, 使其适合溶液中测量的要求。另外还需在芯片表面固定容器, 作为细胞培养的腔体。本章将介绍芯片封装方法的设计和实现。

4.1 lift-off 电极加工工艺

电极加工采用 lift-off 工艺, 步骤如图 3.1。先在芯片表面涂覆正性光刻胶, 光刻, 使电极部分暴露。蒸镀 30nm 厚度的 Cr 层作为黏附层, 之后蒸镀 Au 层作为电极顶层金属。最后通过丙酮超声除去多余金属, 完成电极加工。为提高芯片在溶液环境中的抗蚀能力, 最后利用光敏聚酰亚胺制作保护层。

实验的情况表面, 采用 lift-off 进行工艺进行电极的加工, 需要光刻工艺。因为芯片表面与普通硅片表面的情况有所不同。光刻过程中匀胶难度较大, 致使显影和去胶的成功率较低, 成品率较差。

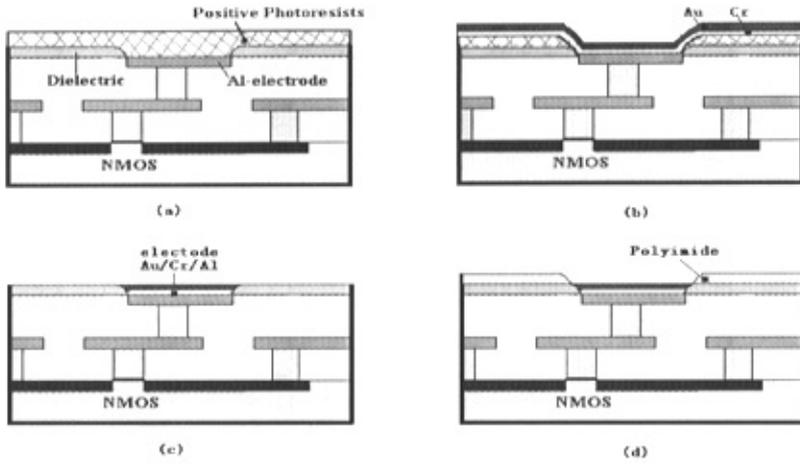


图 4.1 电极加工工艺 (a) 涂覆正性光刻胶 (b) 热蒸镀 Cr、Au 层 (c) lift-off 制作电极图形 (d) 制作聚酰亚胺保护层

4.2 无氰无电浸镀电极加工工艺

采用 lift-off 的方法进行电极加工，要经历光刻等工艺过程，难度较大。所以研究者们不断尝试开发新的工艺方法完成电极的改进工艺。新的工艺必需与 CMOS 工艺能兼容，并且相对简单易操作。目前 Berdondini L., Abshire P 等的研究小组都成功应用无电浸镀的方法实现了在 Al 电极上覆盖 Au 层。[2][3]

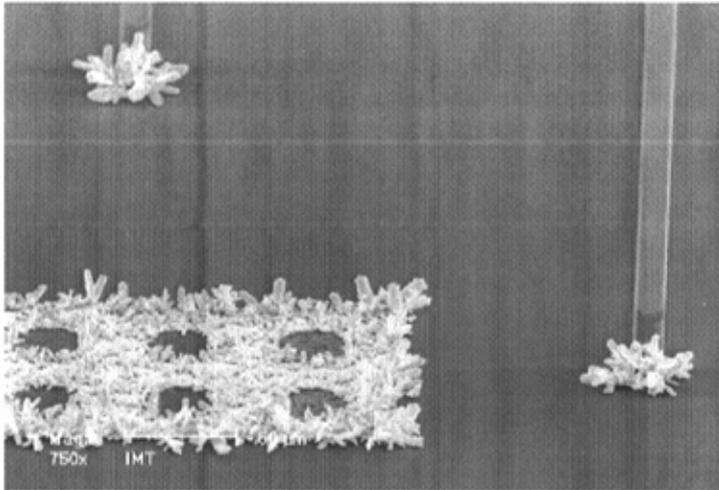


图 4.2 Al 电极上浸镀 Au 的电镜照片

本课题中也进行了无电浸镀的实验，并且与其他研究者不同的是，实验中采用了是无氰镀金盐，镀液存放方便，无毒无害。

4.2.1 原理

浸镀是一种化学镀方法，镀金层具有光泽性、易焊性和耐蚀性等优良性能，得到广泛的应用。像半导体器件和印刷板（PCB）等具有电学上不连续的孤立导体，由于无法采用电镀法，而只有采用化学镀金法，其中就包括了浸镀金工艺。传统地化学镀金溶液中含有极毒的氰化物，存在镀液配置、存放安全和环境污染问题。现在已经有很多的无氰浸镀金工艺，可以应用在 PCB 板等的浸镀金工艺中。[4]

无氰浸镀金溶液是由非氰金源、亚硫酸盐和添加剂等组成。适宜的非氰金源有 KAuBr 、 NaAuI_4 、 HAuCl_4 、 $(\text{NH}_4)\text{Au}(\text{SO}_3)_3$ 、 $\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2$ 、 $\text{K}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2$ 。以 Au 离子计的浓度约为 0.5g/L 以上，最好是 1-10g/L，因为如果金源浓度过低，则会降低置换反应的速度；如果金源浓度过高，则会因镀件漂洗损失而不经济。镀液中加入亚硫酸盐的目的在于提高 Au 络合物离子的稳定性。适宜的亚硫酸盐有 Na_2SO_3 、 K_2SO_3 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_3$ 等、其浓度约为 7-150g/L。如果亚硫酸盐浓度低于 7g/L，镀液稳定性差；如果亚硫酸盐浓度高于 150g/L，则会显著地抑制置换反应速度，而且也不经济。

镀液中加入添加剂，主要目的在于络合浸镀反应过程中由于置换而溶解进入镀液中的基材金属离子，提高镀液的稳定性，改善金层的外观。适宜的添加剂有羧酸类、羟基羧酸类合有机磷酸类化合物等。添加剂的浓度约为 0.5 - 100g/L，如果添加剂的浓度低于 0.5g/L，镀金层光泽性差；镀金层与镀件基材的附着性差。如果添加剂的浓度高于 100g/L，则会丧失金色光泽，镀层呈现茶褐色。

镀液的 pH 值约为 5 - 12，最好为 6 - 11。如果 $\text{pH} < 5$ ，镀液呈酸性，与 H^+ 反应生成挥发性的 H_2SO_3 有毒气体；如果 $\text{pH} > 12$ ，因镀液呈强碱性，会溶解镀件表面的镀层。一般可以采用 NaOH 、 KOH 或 HCl 和 H_2SO_4 等酸碱来调节镀液的 pH。镀液温度约为 30 - 95，最好为 60 - 85

无氰亚硫酸盐镀金大致以钠、钾、氨三种亚硫酸盐为主，其中 $\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2$ 最好。优点如下：

- a) 可作为各种无氰镀金的金盐使用；
- b) 金盐最稳定，可存放 0.5~1 年；



- c) 产品无毒、无臭、不腐蚀、微碱性(pH8.5~9.0)、不燃、不爆, 运输、携带、使用均为无毒化学品;
- d) 可在 Cu、Ni 等基体上直接镀金, 结合牢固。

常用 $\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2$ 作为镀金盐的常用配方如下:

(a) 采用羧酸类添加剂的配方:

$\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2(\text{III})$, 以 Au 计	2.5g/L
Na_2SO_3	13g/L
乙二酸钠	0.1mol/L
pH(NaOH 或 HCl)	7.0
温度	85°C
时间	30min

若用羟基羧酸类添加剂的配方:

$\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2(\text{III})$, 以 Au 计	2.5g/L
Na_2SO_3	13g/L
柠檬酸钠	0.1mol/L
pH (NaOH 或 HCl)	7.0
温度	85°C
时间	30min

采用有机磷酸类添加剂的配方:

$\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2(\text{III})$, 以 Au 计	2.5g/L
Na_2SO_3	13g/L
乙二胺四亚甲基磷酸	0.1mol/L
pH (NaOH 或 HCl)	7.0
温度	85°C
时间	30min



4.2.2 镀金实验

本课题的实验中希望实现传统无电浸镀金工艺与 CMOS 传感阵列电极修饰的结合，减少电极加工过程中的光刻工艺。

(1) 实验器具和仪器

1ml 注射器，小号表面皿，小号广口瓶，100ml 量筒，小、中号烧杯，分析天平，水浴加热箱，滴定管，pH 试纸

(2) 化学试剂

镀金液组成： $\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2(\text{III})$ 、 Na_2SO_3 和甲醛。

实验中选择 $\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2(\text{III})$ 作为镀金盐，采用 $\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2(\text{III})$ 水溶液(常州化工研究所有限公司)，试剂特性为无色液体，Au 含量 49.5-50.5g/L，pH 值 8.5-9.0。

加入无水 Na_2SO_3 提高 Au 络合物离子的稳定性。使用甲醛作为还原添加剂。

其他试剂：盐酸

(3) 实验过程

镀金液组成: (25ml 配置方法)

$\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2$ (Au 含量 49.5-50.5g/L)	0.8-0.9ml
无水 Na_2SO_3	0.4g
甲醛	1.5ml
pH (盐酸中和)	7

镀液配置过程:

将 0.4g 无水 Na_2SO_3 用 25ml 去离子水(蒸馏水)溶液，加入 $\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2$ 0.8 - 0.9ml，再加入 1.5ml 甲醛。镀液可以放在玻璃容器中。

(4) 实验结果

经过多组实验得出，实验温度为 40 - 45℃，芯片样品放入镀液反应 5 分钟后，Al 层表面没有明显的金层出现；反应 10 分钟后，Al 层表面已有 Au 出现；20 分钟，Al 层表面已有光亮 Au 层。芯片传感单元镀金前后照片如图 4.3 所示。根据无电电镀的原理，芯片表面除有 Al 层暴露的位置（在芯片封装前包括 Al 电极和芯片压焊

点位置；芯片压焊并保护压焊点后只有 Al 电极部分），其他钝化层保护的位置均不会与镀液反应，因而不会有镀层沉积。

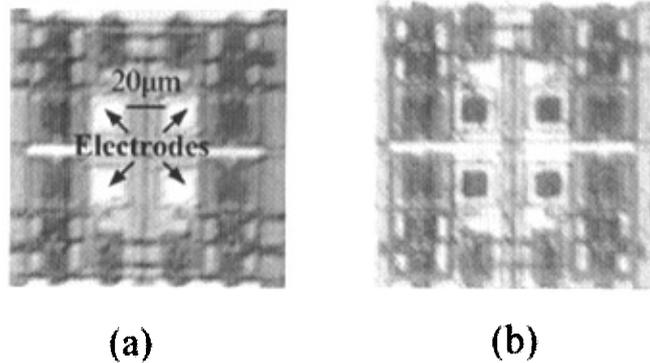


图 4.3 传感阵列镀金前 (a) 后(b)的照片。

(5) 实验中若干问题讨论

- 因为配置的镀液在中和前呈强碱性(>12)，会严重腐蚀 Al 层。所以在使用前需要用盐酸中和至中性。
- 实验温度不能过高，时间不能过长。因为实验过程中，Al 与 Au^{3+} 反应以及甲醛还原作用下，都会有 Au 在镀液中析出，使镀液混浊，在一定程度上沾污芯片表面。所以要注意控制反应时的温度，使反应缓和进行。实验中要注意观察镀液的变化情况。
- 浸镀过程中不易控制 Au 层的横行生长。芯片实验的同时，也对声表面波器件 Al 叉指条镀金进行实验。实验结果表面当叉指条间距为 $10\mu m$ 时，金层的横向生长比较明显，叉指条有粘连情况。所以浸镀工艺还无法适应制作线宽较小图形的要求。

4.3 芯片封装

封装完成的芯片将在溶液中进行测试，并且需要安装容器，所以标准的封装方法无法适应这些需要。本课题研究中设计了特殊的 PCB 板，用于芯片的封装。设计的 PCB 板图形如图 4.4。面积为 $3.3mm \times 3.3$ 毫米。因为芯片采用 Au 线压焊，所以制作的 PCB 板为镀金板。

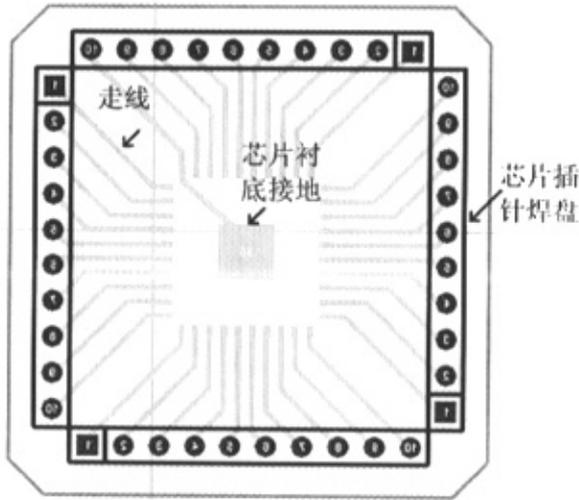


图 4.4 封装 PCB 设计

芯片采用 Au 线压焊。然后在芯片表面，除传感区域外的部分，涂上环氧树脂，起到保护芯片管脚的作用。然后将玻璃容器(直径 2cm，底部有 1mm 微孔) 粘合在芯片表面。整个封装的制作流程图为 4.5

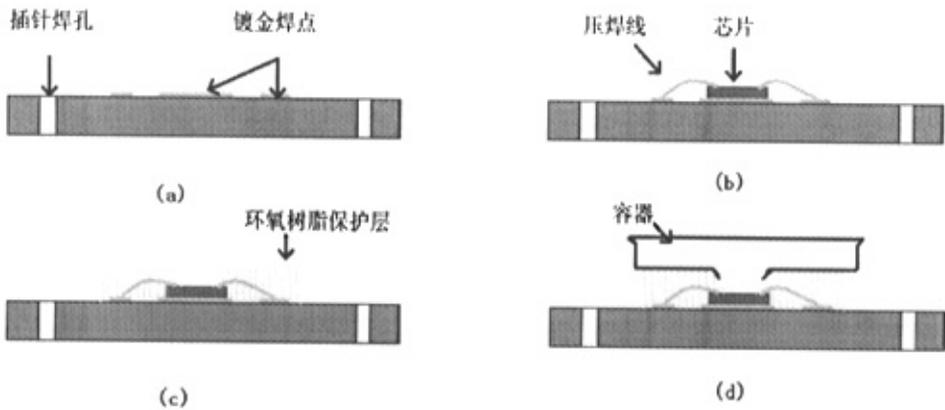


图 4.5 芯片封装流程图(a) PCB 板 (b) 芯片压焊 (c) 制作环氧树脂保护层 (d) 粘合玻璃容器

4.4 本章小结

根据芯片测试环境的需要，设计了 lift-off 和无电浸镀的方法对 Al 传感电极进行后续加工。本章详细介绍了工艺流程及实验过程。同时设计了特殊的芯片封装方法满足生物测量的需要。图 4.6 是完成封装后的外观图

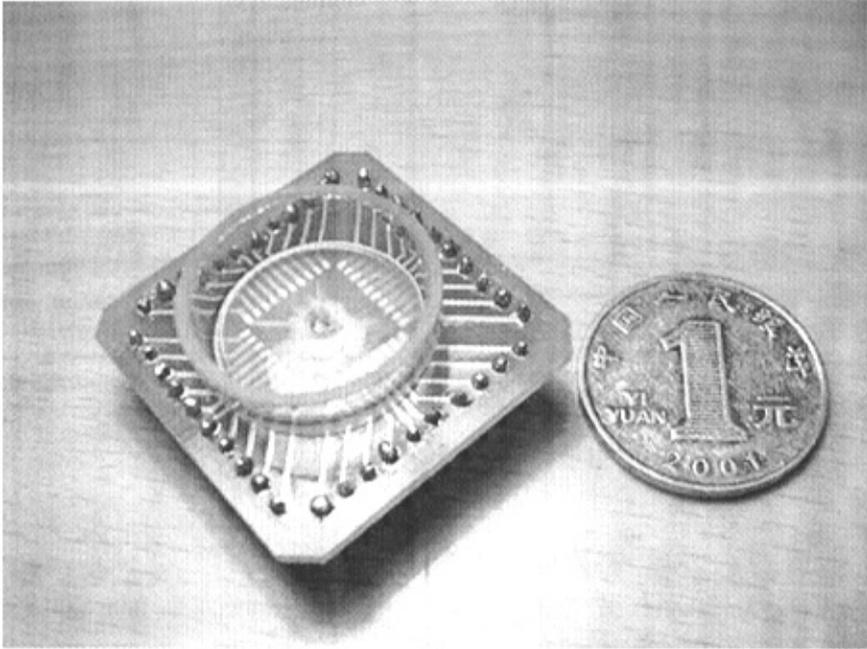


图 4.6 封装后芯片外观照片

4.5 本章参考文献

- [1] 格雷戈里 TA 科瓦奇, 微传感器与微执行器全书, 科学出版社
- [2] Berdondini L, van der Wal P D, et al. Development of an electroless post-processing technique for depositing gold as electrode material on CMOS devices. *Sensors and Actuators B*, 2004, 99, 505-510
- [3] Reeves, N., Liu, Abshire P, et al., Integrated MEMS structures and CMOS circuits for bioelectronic interface with single cells. *Proceedings of the 2004 International Symposium on Circuits and System*, 2004, Vol.3: III - 673-676
- [4] 李宁, 化学镀实用技术, 化学工业出版社, 2004
- [5] 覃奇贤, 电镀原理与工艺, 天津科学技术出版社, 1993

第五章 芯片测试结果及分析

本章摘要：

5.1 介绍了芯片封装各管脚定义 5.2 介绍了测试平台平台的设计、制作，以及测试准备。5.3 介绍了芯片的测试结果，包括电学测试和溶液中仿生测试结果。

5.1 芯片封装的管脚介绍

芯片管脚分布

流片完成的裸片经特殊封装，封装芯片的管脚分布及其定义如图5.1，表5.1。

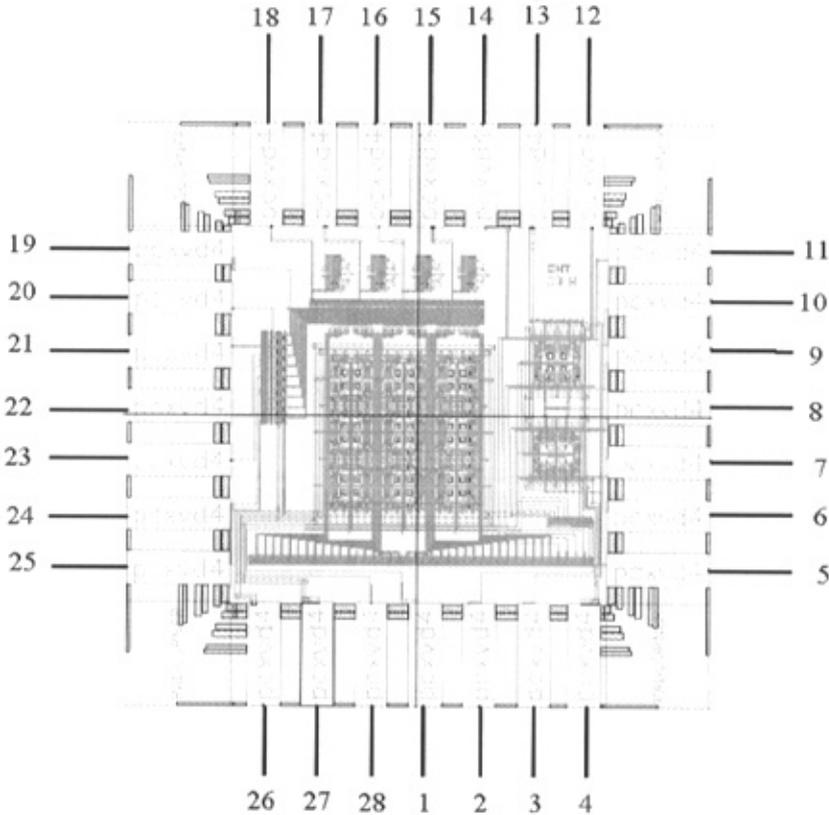


图 5.1 芯片封装管脚排序

表 5.1 各管脚定义

编号	名称	定义
1	RESET	传感单元工作状态控制信号
2	IREF	电流镜参考电流输入
3	Vin_n	NMOS 输入型测试模块信号输入端
4	VDD	电源
5	Vp4	PMOS 输入型测试第四单元输出
6	Vp3	PMOS 输入型测试第三单元输出
7	Vp2	PMOS 输入型测试第二单元输出
8	Vp1	PMOS 输入型测试第一单元输出
9	Vn4	NMOS 输入型测试第四单元输出
10	Vn3	NMOS 输入型测试第三单元输出
11	Vn2	NMOS 输入型测试第二单元输出
12	Vn1	NMOS 输入型测试第一单元输出
13	GND	地
14	VREF	参考电压输入端
15	Vout1	传感阵列一号输出端
16	Vout2	传感阵列二号输出端
17	Vout3	传感阵列三号输出端
18	Vout4	传感阵列四号输出端
19	D_in	逻辑控制电路可测性 Inout
20	C3	列控制信号 3
21	C2	列控制信号 2
22	C1	列控制信号 1
23	R3	行控制信号 3
24	R2	行控制信号 2
25	R1	行控制信号 1

26	GND	地
27	VDD	电源
28	Vin_p	PMOS 输入型测试模块信号输入端

5.2 测试准备

芯片测试平台设计

设计芯片测试的外围电路主要是为芯片提供稳定的电源，制作电流镜的片外部分以及控制的电路的辅助电路。完成的测试平台如图 5.2 所示。

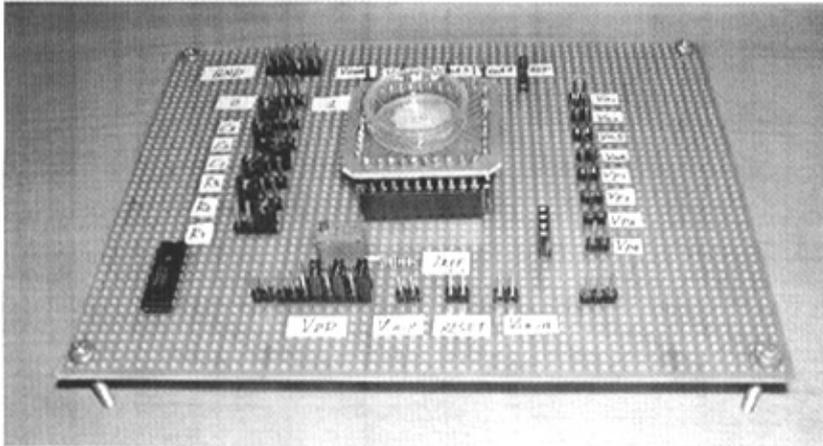


图 5.2 芯片测试平台

测试仪器

电路工作在低频下，以模拟电路为主，需测试的信号都是模拟电压信号或逻辑电平信号，数字电路中，也没有特别要求时序的部分，因此只需要常规的实验测试仪器就可以完成芯片测试。

测试中用到的仪器设备为：

- 直流稳压电源：HY1503D DC POWER SUPPLY
- 低频信号发生器：DF1643 FUNCTION GENERATOR
- 数字万用表一只
- 数字示波器：Tektronix TDS3003
- 带 RJ45 网络传输电缆的 PC 一台

5.3 芯片电学性能测试结果

5.3.1 传感单元电学测试

(1) NMOS 输入型传感单元

电路结构如图 5.3 所示。

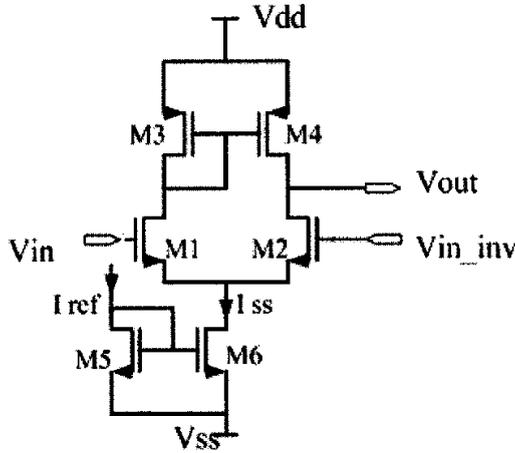


图 5.3

当放大器工作电流为 $10\mu\text{A}$ ，分别选择放大器直流共模输入电平 $V_{in_{cm}}$ 为 1.5V、2V 和 2.5V。当输入小信号的幅值在 $0\sim 20\text{mV}$ ，输入和输出的关系图如图 5.3，表明输入共模电平为 2V 时，直流输入特性对称性比较好。

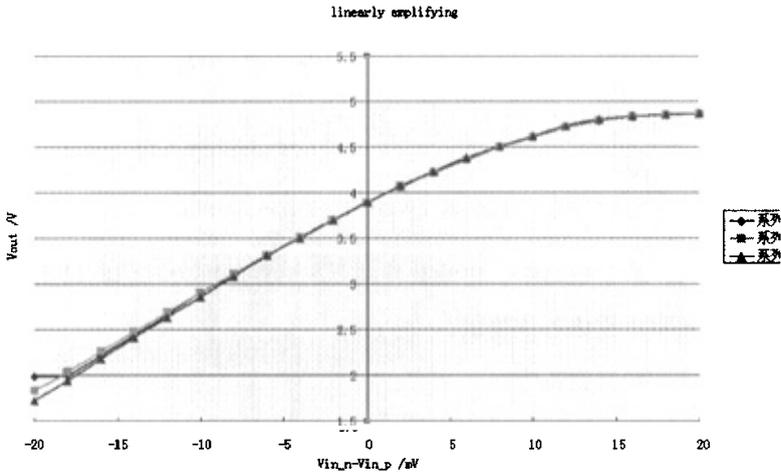


图 5.4 NMOS 输入型单元电路直流特性图。系列一： $V_{in_{cm}}=2\text{V}$ ；系列二： $V_{in_{cm}}=2.5\text{V}$ ；系列三： $V_{in_{cm}}=1.5\text{V}$ ($I_{ss}=10\mu\text{A}$)

当选择共模输入电平为 2V，在不同工作电流下，放大器的频率特性如图 5.4

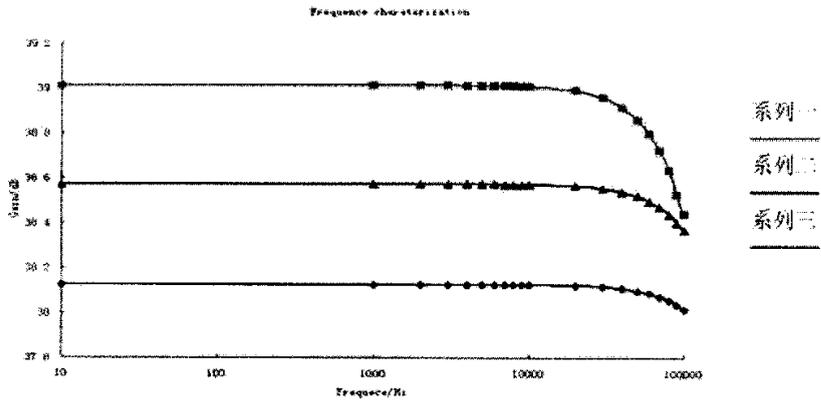
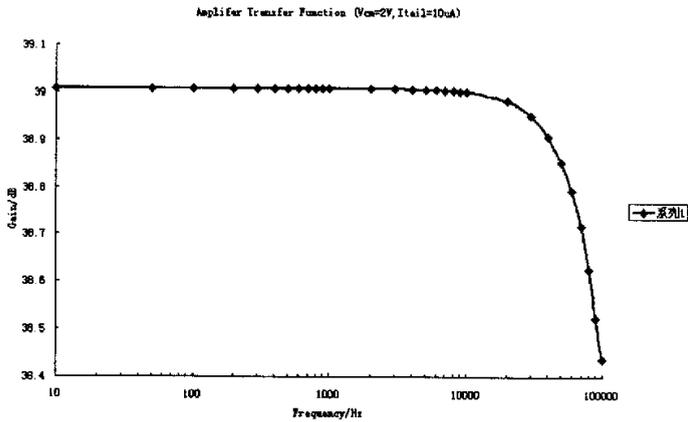
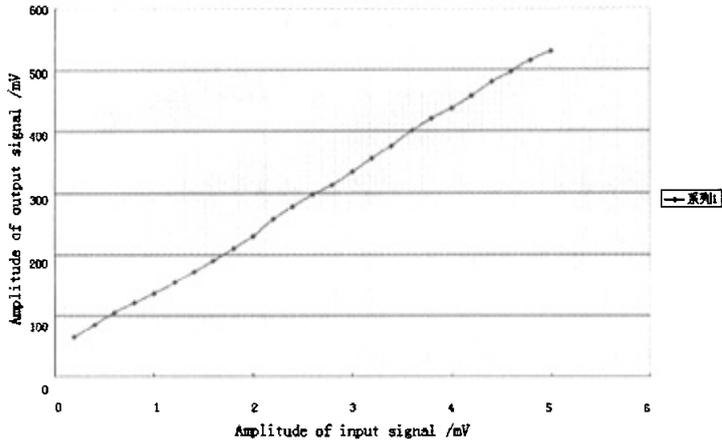


图 5.5 不同工作电流下放大器的频率特性。系列一: $I_{SS}=10\mu A$; 系列二: $I_{SS}=20\mu A$; 系列三: $I_{SS}=30\mu A$ ($V_{inCM}=2V$)

由以上的测试结果可得，当直流工作点取 $V_{inCM}=2V$ ， $I_{SS}=10\mu A$ ，NMOS 输入型传感单元特性较好，频率和输入线性放大特性如图 5.5 所示。



(a) 频率特性



(b) 线性放大区

图 5.6 NMOS 输入型传感单元，工作电流 $I_{ss}=10\mu A$ ，放大器共模输入 $V_{inCM}=2V$ 的特性。

(2) PMOS 输入型传感单元模块特性。

电路结构如图 5.7 所示。

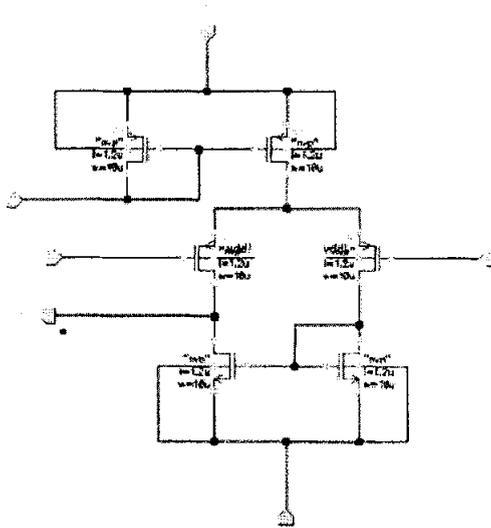


图 5.7

图 5.8 为在不同共模输入时，放大器电路的特性。结果表明，当共模电压为 0V，直流输入特性对称性比较好。

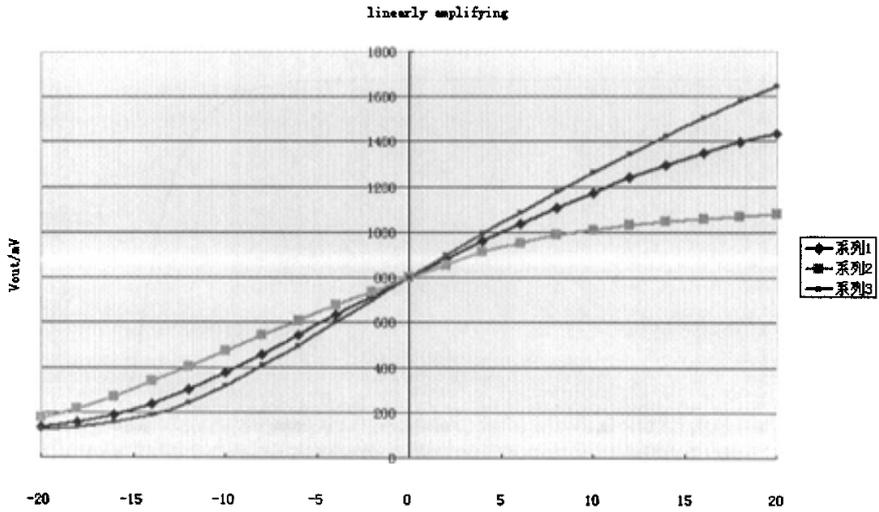


图 5.8 PMOS 输入型传感单元直流特性图。系列一： $V_{cm}=0V$ ；系列二： $V_{cm}=-0.5V$ ；系列三： $V_{cm}=0.5V$

当共模输入电平为 $0V$ ，在不同工作电流条件下，单元电路的频率特性如图 5.7。

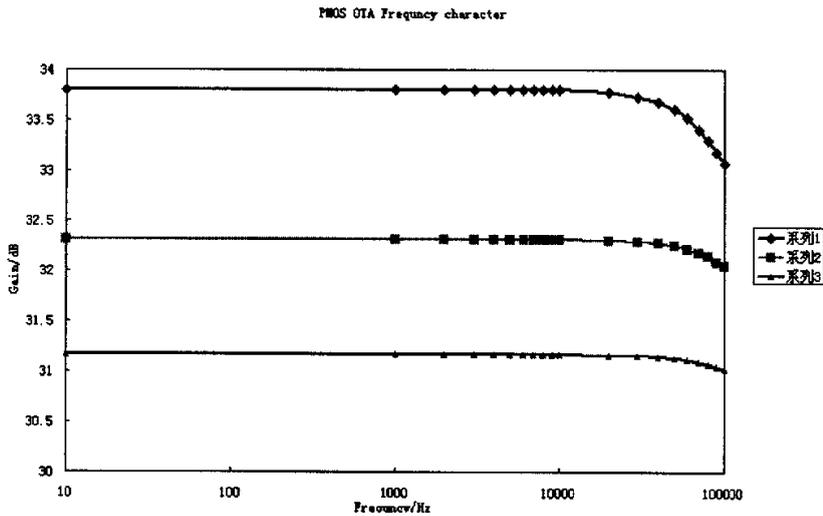
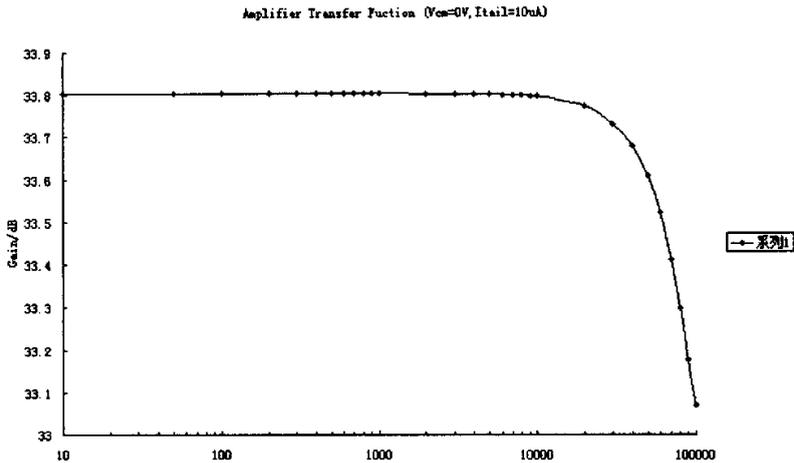
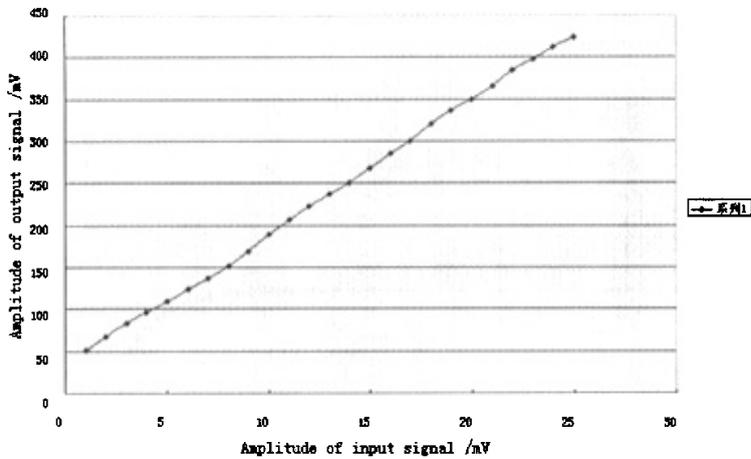


图 5.9 不同工作电流下电路的频率特性。系列一： $I_{ss}=10\mu A$ ；系列二： $I_{ss}=20\mu A$ ；系列三： $I_{ss}=30\mu A$

选择传感单元的共模输入电平 $V_{in_{cm}}=2V$ ，工作电流 $I_{tail}=10\mu A$ 时，得到传感单元电路的特性如图 5.10



(a) 频率特性



(b) 线性放大区特性

图 5.10 $V_{inCM}=2V$, 工作电流 $I_{SS}=10\mu A$ 条件下, 传感单元电路的特性。

5.3.2 溶液中电学测试

测试溶液的选择:

生理盐水是常用的生理溶液。在实验中选择生理盐水作为测试环境, 可以为进一步的生物实测打下基础。根据生理溶液实际的需要, 配制的生理盐水浓度为 $NaCl$ ($0.15M/L$)。将配制完成的溶液注入芯片容器中。

电极：使用铂丝作为工作电极，为传感阵列提供参考电平。

5.3.2.1 NMOS 差分输入单元电路特性测试

· 共模输出电平

NMOS 差分输入的共模电平设为 2V。电路的反相输入端接直流电平 2V，正相输入端电平由溶液中的参考电极提供。溶液中电学特性测试结果如下

溶液中电学特性测试结果为 3.9V，输出波形如下。

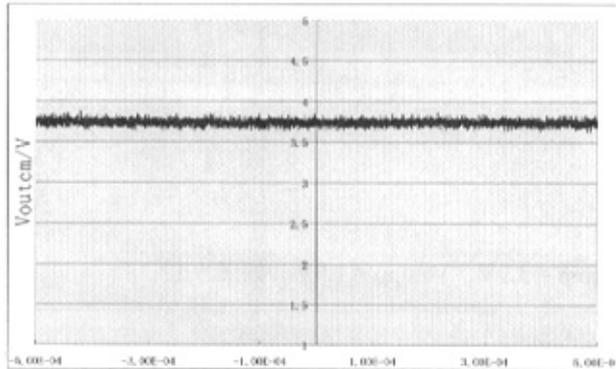


图 5.11 共模输出电平值输出。

线性放大特性的测量

电路的反相输入端接直流电平 2V，正相输入端电平由溶液中的参考电极提供。参考电极上加入信号为 DC 2V，AC 1kHz，Vpp 1mV-50mV 的小信号。

I. Vpp = 1mV

输出信号为 $V_{outcm} = 3.9V$, $V_{outpp} = 100mV$ ，波形如图 5.10

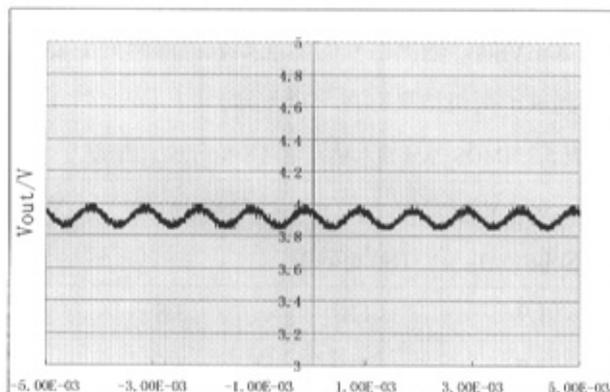


图 5.12

II. $V_{pp}=2mV$

输出信号为 $V_{outcom}=3.9V$, $V_{outpp}= 200mV$, 如图 5.11

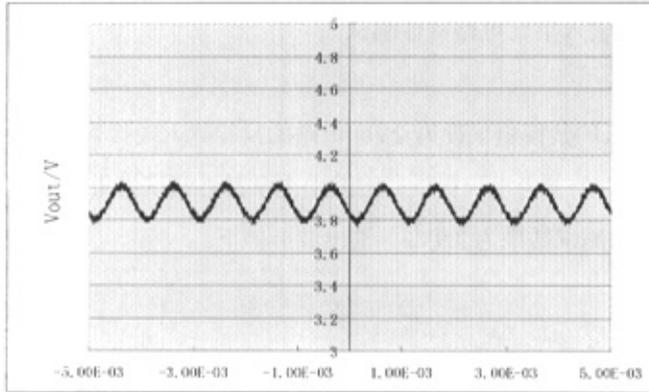


图 5.13

III. $V_{pp}=20mV$

输出信号为 $V_{outcom}=3.9V$, $V_{outpp}=1.9V$ 。如图 5.12

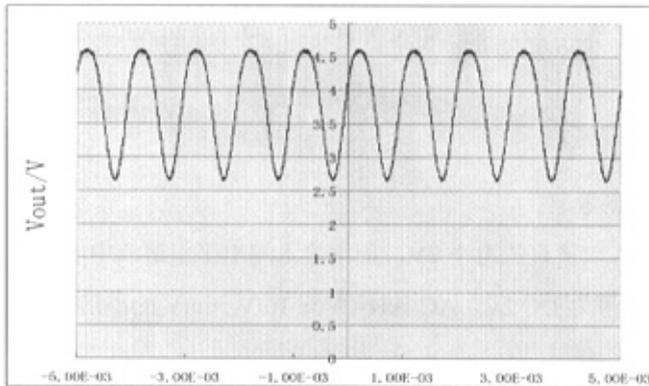


图 5.14

从测试结果看，阵列中的预处理电路线性放大特性良好。

当 $V_{inpp}=1mV-20mV$ 间，输出信号的情况如表：前两列主要是溶液中特性；后两列为直接电性能测试。两组结果存在一定差异。

表 5.2 NMOS 差分输入单元电路小信号放大测试

V_{inpp} (mV)	V_{outcm} (V) (Solution)	V_{outpp} (mV) (Solution)	V_{outcm} (V)	V_{outpp} (mV)
1	3.9	120	3.8	140
2	3.9	210	3.8	240

3	3.9	320	3.8	360
4	3.9	400	3.8	450
5	3.9	500	3.8	530
10	3.9	1000	3.8	1100
20	3.9	1900	3.8	2050

· 输入端对称性测试

将输入共模电平固定，差分小信号分别从正相输入端和反相输入端加入，得到的电学特性作如表 5.3。当差分小信号从正相输入端加入时，信号通过溶液中的铂电极加入；当从反相输入端加入时，信号直接通过芯片引脚输入到放大器的反相输入端。

表 5.3 输入对称性测试

Vinpp (mV)	Voutcm (V) (Solution)	Voutpp (mV) (Solution)	Voutcm (V)	Voutpp (mV)
1	3.9	120	3.9	130
2	3.9	210	3.9	200
3	3.9	320	3.9	310
4	3.9	400	3.9	420
5	3.9	500	3.9	520
10	3.9	1000	3.9	1050
20	3.9	1900	3.9	2000

5.3.2.2 PMOS 差分输入放大特性测试

PMOS 差分输入对结构可以在共模输入直流电平为 0V 时放大器工作在放大区，从而简化了偏置条件。更重要的是，相对 NMOS 差分输入对的结构，这种结构避免了直流偏置可能引入的溶液电离现象，减少对电路的侵蚀。

实验中，在传感器有源区加入 NaCl 溶液 (0.15M/L)，采用电极将溶液接地，同时放大器的反相输入端也接地。在参考电极上加入信号 $V_{dc} = 0$ ，1kHz, $V_{pp} = 1\text{mV} - 20\text{mV}$ 的正弦小信号。



共模输出电平

当 $V_{in_p}=V_{in_n}=0V$ 时, 输出波形如图 5.15

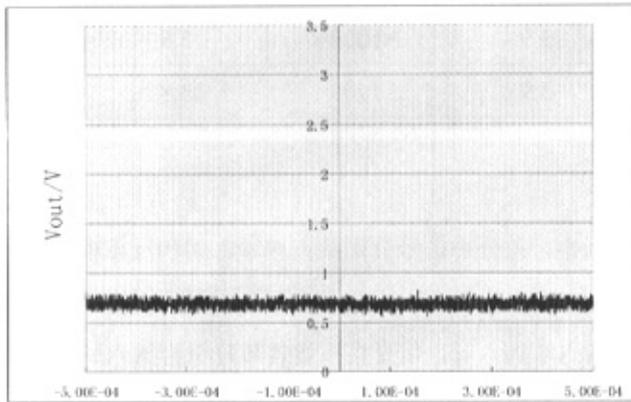


图 5.15

· 线性放大特性的测量

I. $V_{in_npp}=1mV, V_{in_p}=0V$, 输出波形为图 5.16

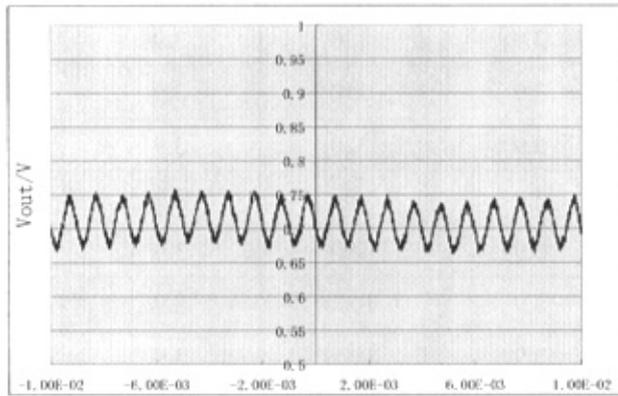


图 5.16

II. $V_{in_npp}=2mV, V_{in_p}=0V$, 输出波形为

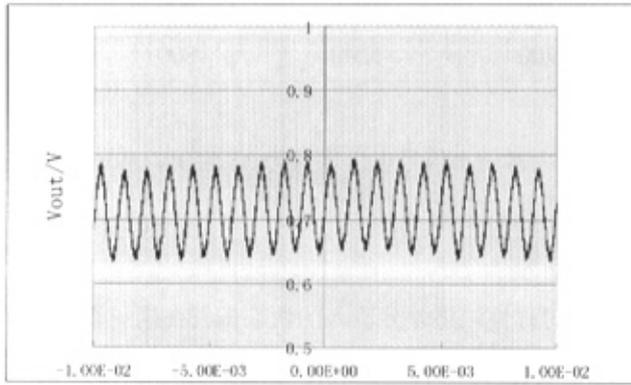


图 5.17

III. $V_{in_npp}=20mV$, $V_{in_p}=0V$, 输出波形为

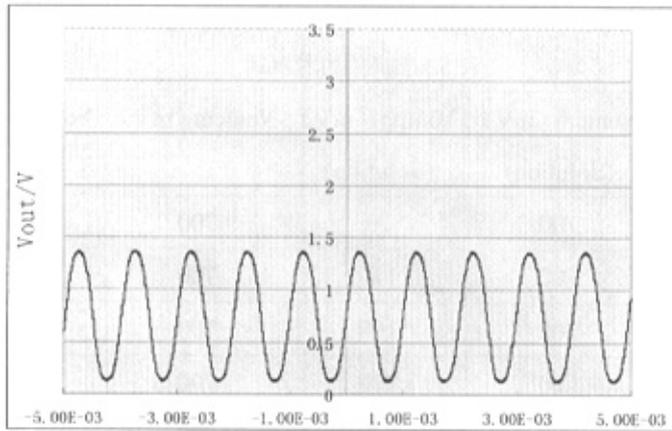


图 5.18

当 $V_{inpp}=1mV-20mV$ 间, 输出信号的情况如表 5.4。表中第二第三列是溶液中的测试结果。第四第五列为普通电学测试结果。

表 5.4 PMOS 差分输入单元电路小信号放大测试

V_{inpp} (mV)	V_{outcm} (mV) (Solution)	V_{outpp} (mV) (Solution)	V_{outcm} (mV)	V_{outpp} (mV)
1	700	70	800	80
2	700	140	800	170
3	700	190	800	220
4	700	270	800	300
5	700	350	800	400

10	700	610	800	780
20	700	1200	800	1500

PMOS 差分输入结构放大器的小信号电压增益为 36.9dB, $V_{cmout} = 700mV$

· 输入端对称性的分析

测试电路输入端的对称性。将差分输入的两端偏置在同一直流电平，正相输入端的电平通过参考电极添加，反相输入端直接接直流电平。

差分信号从正相输入端或反相输入端添加，添加情况和 NMOS 输入单元的情况相同。输入结果如表 5.5 所示。

PMOS 差分输入单元

表 5.5 输入对称性测试

Vinpp (mV)	Voutcm (mV) (Solution)	Voutpp (mV) (Solution)	Voutcm (mV)	Voutpp (mV)
1	700	70	700	80
2	700	140	700	150
3	700	190	700	200
4	700	270	700	290
5	700	350	700	390
10	700	610	700	700
20	700	1200	700	1400

5.3.2.3 传感阵列特性测试

阵列中的传感单元均为 NMOS 差分输入型。由于各种原因，芯片制作完成后，传感阵列中部分单元无法正常工作。对有效的几个通道进行测量，在参考电极上加入信号 $V_{dc}=2V$, $V_{pp}1mV-10mV$ ，输入输出关系如表格所示。（Pab 为传感单元所在位置标记，a 代表行号，b 代表列号）

· 当输入 $V_{in}=1mV$ 、 $2mV$ ，输出结果如下表。

表 5.6 $V_{in}=1mV$ 、 $2mV$ 时各传感单元输出电压。

	V_{in} (V)		V_{out} (V)		V_{in} (V)		V_{out} (V)	
	Vdc (V)	Vpp (mV)	Vdc (V)	Vpp (mV)	Vdc (V)	Vpp (mV)	Vdc (V)	Vpp (mV)
P12	2	1	3.4	75	2	2	3.4	150
P13	2	1	3.5	75	2	2	3.5	150
P14	2	1	3.5	75	2	2	3.5	150
P15	2	1	3.5	80	2	2	3.5	160
P16	2	1	3.5	90	2	2	3.5	180
P21	2	1	3.5	85	2	2	3.5	170
P23	2	1	3.5	85	2	2	3.5	170
P25	2	1	3.5	90	2	2	3.5	180
P31	2	1	3.6	80	2	2	3.6	160
P32	2	1	3.5	85	2	2	3.5	170
P34	2	1	3.5	90	2	2	3.5	180
P35	2	1	3.6	100	2	2	3.6	200
P36	2	1	3.6	100	2	2	3.6	200
P41	2	1	3.6	85	2	2	3.6	170
P43	2	1	3.6	90	2	2	3.6	180
P45	2	1	3.5	100	2	2	3.5	200
P51	2	1	3.7	85	2	2	3.7	170
P52	2	1	3.7	90	2	2	3.7	180
P53	2	1	3.7	90	2	2	3.7	180
P54	2	1	3.7	100	2	2	3.7	200
P56	2	1	3.8	100	2	2	3.8	200
P61	2	1	3.7	85	2	2	3.7	170
P63	2	1	3.7	90	2	2	3.7	180
P65	2	1	3.9	100	2	2	3.9	200

表 5.7 当 $V_{in}=3mV$ 、 $4mV$ 时各传感单元输出结果

	V_{in} (V)		V_{out} (V)		V_{in} (V)		V_{out} (V)	
	Vdc (V)	Vpp (mV)	Vdc (V)	Vpp (mV)	Vdc (V)	Vpp (mV)	Vdc (V)	Vpp (mV)
P12	2	3	3.4	220	2	4	3.4	300
P13	2	3	3.5	215	2	4	3.5	280
P14	2	3	3.5	215	2	4	3.5	300
P15	2	3	3.5	250	2	4	3.5	320
P16	2	3	3.5	260	2	4	3.5	350
P21	2	3	3.5	250	2	4	3.5	350
P23	2	3	3.5	250	2	4	3.5	350
P25	2	3	3.5	270	2	4	3.5	360
P31	2	3	3.6	240	2	4	3.6	320
P32	2	3	3.5	250	2	4	3.5	330
P34	2	3	3.5	270	2	4	3.5	360
P35	2	3	3.6	300	2	4	3.6	400
P36	2	3	3.6	300	2	4	3.6	400
P41	2	3	3.6	250	2	4	3.6	350
P43	2	3	3.6	260	2	4	3.6	360
P45	2	3	3.5	300	2	4	3.5	400
P51	2	3	3.7	250	2	4	3.7	340
P52	2	3	3.7	270	2	4	3.7	360
P53	2	3	3.7	270	2	4	3.7	360
P54	2	3	3.7	300	2	4	3.7	390
P56	2	3	3.8	300	2	4	3.8	400
P61	2	3	3.7	250	2	4	3.7	350
P63	2	3	3.7	270	2	4	3.7	360
P65	2	3	3.9	290	2	4	3.9	400

表 5.8 当 $V_{in}=5mV$ 、 $10mV$ ，各传感单元输出结果

	V_{in} (V)		V_{out} (V)		V_{in} (V)		V_{out} (V)	
	Vdc (V)	Vpp (mV)	Vdc (V)	Vpp (mV)	Vdc (V)	Vpp (mV)	Vdc (V)	Vpp (mV)
P12	2	5	3.4	375	2	10	3.4	730
P13	2	5	3.5	370	2	10	3.5	750
P14	2	5	3.5	375	2	10	3.5	750
P15	2	5	3.5	390	2	10	3.5	800
P16	2	5	3.5	450	2	10	3.5	900
P21	2	5	3.5	420	2	10	3.5	850
P23	2	5	3.5	430	2	10	3.5	850
P25	2	5	3.5	450	2	10	3.5	880
P31	2	5	3.6	400	2	10	3.6	860
P32	2	5	3.5	420	2	10	3.5	900
P34	2	5	3.5	425	2	10	3.5	1000
P35	2	5	3.6	450	2	10	3.6	1000
P36	2	5	3.6	500	2	10	3.6	850
P41	2	5	3.6	480	2	10	3.6	900
P43	2	5	3.6	430	2	10	3.6	1000
P45	2	5	3.5	450	2	10	3.5	850
P51	2	5	3.7	500	2	10	3.7	900
P52	2	5	3.7	420	2	10	3.7	880
P53	2	5	3.7	450	2	10	3.7	900
P54	2	5	3.7	450	2	10	3.7	1000
P56	2	5	3.8	480	2	10	3.8	850
P61	2	5	3.7	420	2	10	3.7	850
P63	2	5	3.7	450	2	10	3.7	900
P65	2	5	3.9	500	2	10	3.9	1000

测试结果分析:

结果的差异主要表现在共模输出点以及放大特性上细微的差别。各个单元在工作中共模输出点比较稳定，也保持较好的线性放大特性。

表 5.9 各模块直流输出点及放大增益

Pixel	Vcm (V)	Av (dB)	Pixel	Vcm (V)	Av (dB)
P12	3.4	37.50	P36	3.6	40.00
P13	3.5	37.50	P41	3.6	38.60
P14	3.5	37.50	P43	3.6	39.10
P15	3.5	38.10	P45	3.5	40.00
P16	3.5	39.10	P51	3.7	38.60
P21	3.5	38.60	P52	3.7	39.10
P23	3.5	38.60	P53	3.7	39.10
P25	3.5	39.10	P54	3.7	40.00
P31	3.6	38.10	P56	3.8	40.00
P32	3.5	38.60	P61	3.7	38.60
P34	3.5	39.10	P63	3.7	39.10
P35	3.6	40.00	P65	3.9	40.00

· 结果讨论:

各模块直流输出电平差异的均方根为 0.024

小信号放大增益的均方根为 0.162

传感阵列中各单元特性差异较小，能够满足测试的需要。

5.3.2.4 模拟生物小信号的测量

芯片上设计了小信号输入电极，用于输入小信号模拟细胞表面电势的情况。测试时通过参考电极将电路偏置在 2V。在仿真信号输入电极加入 1kHz，Vpp1mV-100mV 的正弦小信号。受仿真信号输入电极位置及表面形态的限制，其小信号幅值在溶液中传递时衰减比较明显。在小信号峰峰值<5mV 时，阵列耦合小信号的情况欠佳。

I. 输入小信号 $V_{pp}=5mV$ ，各有效通道输出信号幅值为
 P61 输出波形为图 5.19

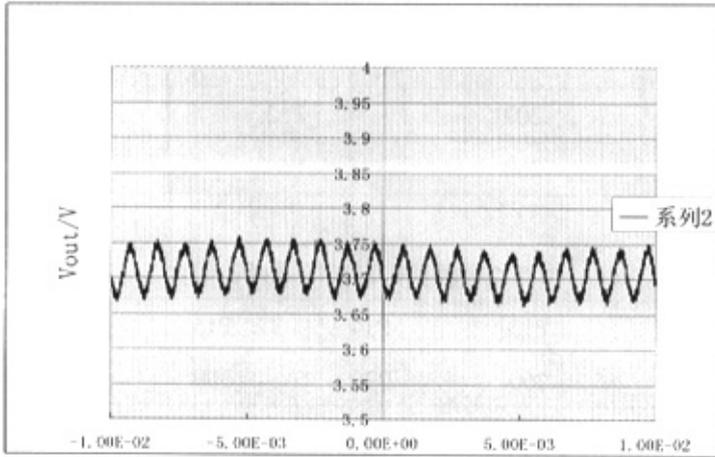


图 5.19

V16 输出波形为

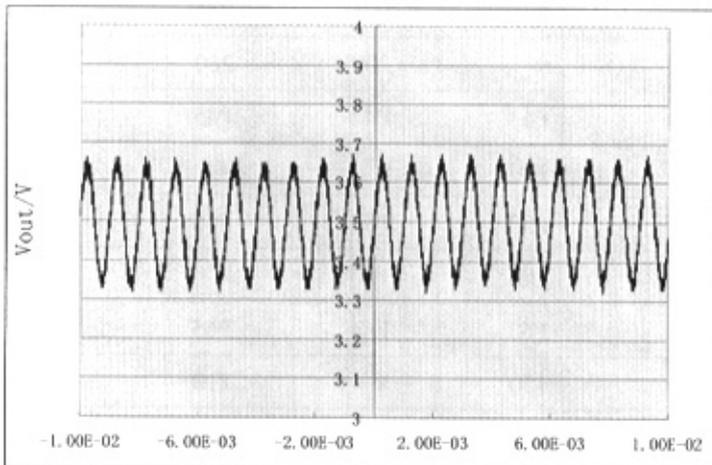


图 5.20

表 5.9 各通道输出信号峰峰值

	Voutpp (mV)		Voutpp (mV)
P12	230	P36	270
P13	260	P41	150
P14	270	P43	180
P15	300	P45	250
P16	310	P51	90
P21	210	P52	100

P23	220	P53	150
P25	300	P54	160
P31	160	P56	230
P32	170	P61	80
P34	200	P63	150
P35	260	P65	210

表 5.10 根据阵列方位整理数据

P11	P12	P13	P14	P15	P16
×	230	260	270	300	310
P21	P22	P23	P24	P25	P26
210	×	220	×	300	×
P31	P32	P33	P34	P35	P36
160	170	×	200	260	270
P41	P42	P43	P44	P45	P46
150	×	180	×	×	×
P51	P52	P53	P54	P55	P56
90	100	150	160	×	230
P61	P62	P63	P64	P65	P66
80	×	150	×	210	×

II. 输入小信号 $V_{pp}=10\text{mV}$ ，各有效通道输出信号幅值为 P61 的输出波形如图 5.21

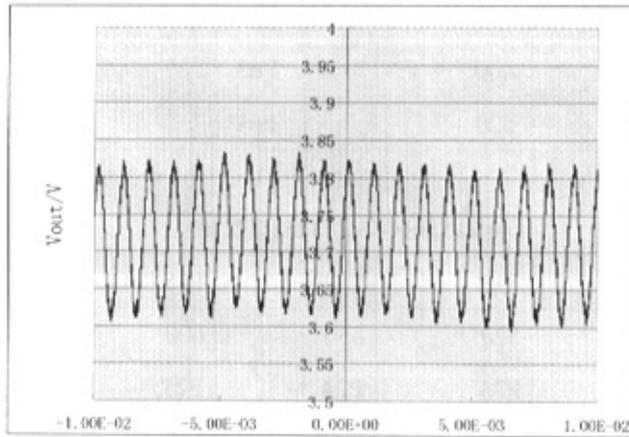


图 5.21

P16 的输出波形如

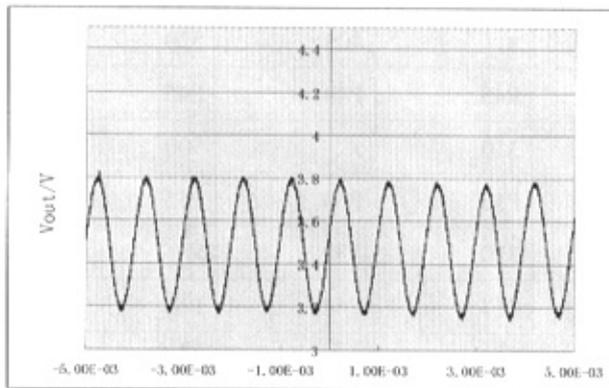


图 5.22

表 5.11 各通道输出信号峰峰值

	Voutpp (mV)		Voutpp (mV)
P12	480	P36	550
P13	520	P41	300
P14	550	P43	350
P15	600	P45	500
P16	620	P51	190
P21	420	P52	200
P23	450	P53	310
P25	600	P54	330
P31	320	P56	480

P32	330	P61	180
P34	400	P63	300
P35	520	P65	450

表 5.12 根据阵列方位整理数据

P11	P12	P13	P14	P15	P16
×	480	520	550	600	620
P21	P22	P23	P24	P25	P26
420	×	450	×	600	×
P31	P32	P33	P34	P35	P36
320	330	×	400	520	550
P41	P42	P43	P44	P45	P46
300	×	350	×	500	×
P51	P52	P53	P54	P55	P56
190	200	310	330	×	480
P61	P62	P63	P64	P65	P66
180	×	300	×	450	×

III. 输入小信号 $V_{pp}=20\text{mV}$

P61 的输出波形如图 5.21

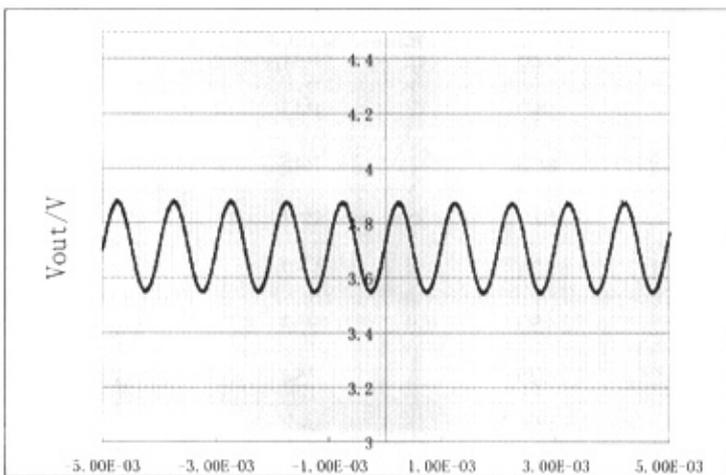


图 5.23

P16 的输出波形如

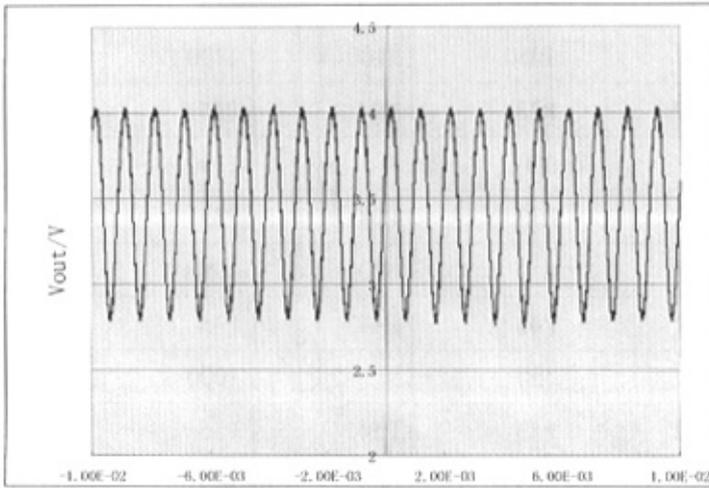


图 5.24

表 5.13 各有效通道输出信号幅值

	Voutpp (mV)		Voutpp (mV)
P12	950	P36	1100
P13	1050	P41	600
P14	1100	P43	750
P15	1200	P45	1000
P16	1250	P51	380
P21	850	P52	400
P23	900	P53	620
P25	1200	P54	660
P31	650	P56	950
P32	670	P61	350
P34	820	P63	600
P35	1050	P65	850

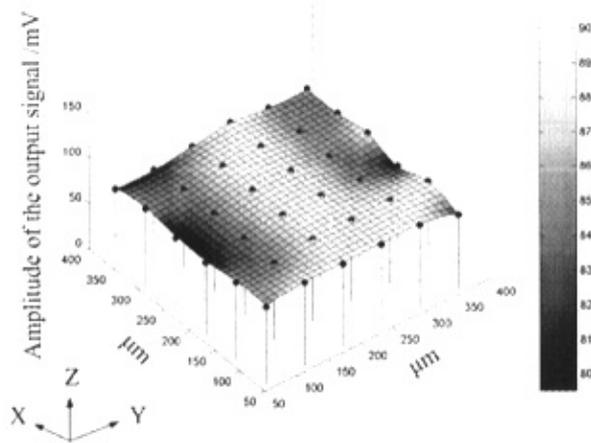
传感阵列各单元保持较好的线性放大特性，共模输出电平也较稳定。

表 5.14 根据阵列方位整理数据

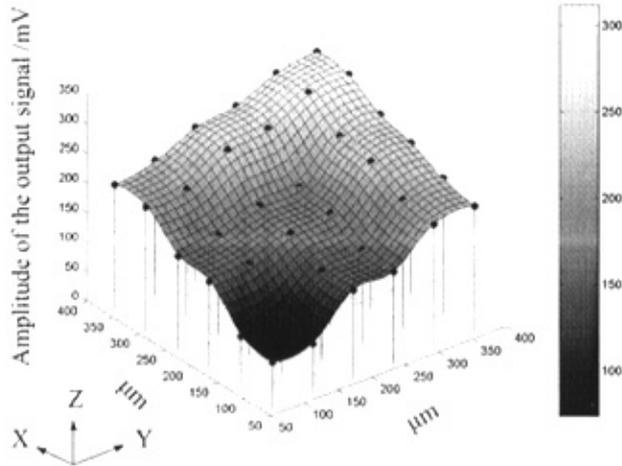
P11	P12	P13	P14	P15	P16
×	950	1050	1100	1200	1250
P21	P22	P23	P24	P25	P26
850	×	900	×	1200	×
P31	P32	P33	P34	P35	P36
650	670	×	820	1050	1100
P41	P42	P43	P44	P45	P46
600	×	750	×	1000	×
P51	P52	P53	P54	P55	P56
380	400	620	660	×	950
P61	P62	P63	P64	P65	P66
350	×	600	×	850	×

溶液测试结果小结:

在溶液测试中, 仿生小信号通过铂电极加入或片上电极加入, 典型的实验结果如图 5.25。



(a) $V_{mpp}=1mV$, $f=1kHz$ 的小信号通过铂电极添加时, 各传感单元的输出



(b) $V_{mpp}=5mV$, $f=1kHz$ 的小信号通过片上电极添加时, 各传感单元的输出

图 5.25 溶液测试中不同方式添加小信号的结果比较。图中蓝色实心点表明传感单元中心位置。

实验结果图由 Matlab 生成, 部分功能失效传感单元的实验结果通过插值法产生。实验结果分析: 由于片上电极表面积小, 并且与传感电极无正对面积, 所以信号衰减明显。而铂电极与传感电极针对面积大, 并且浸入溶液的电极表面积也较大。所以信号衰减不明显。实验结果表明传感电极能够有效探测其传感电极附近小信号, 实现了设计目标。

5.4 本章小结

本章主要介绍了芯片的测试, 包括测试平台的设计与制作, 测试仪器的准备以及测试结果。测试结果表明, 芯片的传感单元实现了一定幅值内小信号线性放大的功能。芯片上其他电路模块工作正常, 传感阵列实现基本功能, 并且特性均一性良好。芯片主要特性参数如表 5.15。

表 5.15 芯片的主要参数

芯片工艺	CSMC 0.6 μ m CMOS Process (2 Poly, 2 Metal)
芯片面积	2cm \times 2cm
芯片管脚数	28
传感阵列数目	6 \times 6 (划分为 9 个工作模块)



传感器输出方式	同一模块中 4 单元信号并行输出
传感区域面积	550 μm \times 550 μm
传感单元面积	65 μm \times 80 μm
传感有效电极面积	15 μm \times 15 μm
传感器正常工作电压	5V
传感单元预处理电路电压增益	39dB
传感单元电路线性放大最小输入信号	100 μV peak-to-peak
传感单元电路线性放大最大输入信号	20mVpeak-to-peak

第六章 论文总结与展望

6.1 论文总结

本论文主要研究基于 $0.6\mu\text{m}$ 标准 CMOS 工艺的阵列式生物电信号传感芯片。设计的芯片能够在传感单元电路实现线性放大信号，完成信号的预处理。并且采用相关二次采样工作模式，采样信号可通过后续电路进行差分处理，降低固定模式噪声的干扰，提高传感器电路的性能。在完成芯片设计、流片工作的基础上，本课题中还研究了 CMOS 后续加工工艺，包括 AI 电极改进工艺和特殊的芯片封装工艺，使芯片满足溶液测试环境中的稳定性及生物兼容性的需要。对封装后的芯片进行了电学测试和溶液中仿生信号的测试。实验结果表明，芯片设计实现了预期的目标。

本论文的主要内容和贡献可归纳为以下几点：

1. 全面深入地研究 CMOS 细胞传感器的发展情况，对国际上各主要科研小组的最新研究进展作了概况总结，提出课题研究的方向。

2. 基于 $0.6\mu\text{m}$ 标准 CMOS 工艺设计了阵列式传感芯片。芯片设计采用有源传感单元概念，在单元电路内部设计了具有预处理功能的电路，在传感单元内部实现信号的传感和预处理功能。并且采用相关二次采样工作模式，采样信号可通过后续电路进行差分处理，降低固定模式噪声的干扰，提高传感器电路的性能。同时片上设计了参考源电路、输出缓冲器电路和控制电路，完成系统功能。

3. 在完成标准 CMOS 工艺基础上，设计并实现了传感电极的后续加工工艺。采用 lift-off 和无电浸镀两种方法改善电极的生物兼容性。并且设计了特殊的芯片封装工艺，提高芯片在溶液环境中的稳定性。

表 6.1 为芯片主要特性参数。

表 6.1 芯片的主要特性参数

芯片工艺	CSMC 0.6 CMOS Process (2 Poly, 2 Metal)
芯片面积	2cm×2cm
芯片管脚数	28
传感阵列数目	6×6 (划分为 9 个工作模块)
传感器输出方式	同一模块中 4 单元信号并行输出
传感区域面积	550μm×550μm
传感单元面积	65μm×80μm
传感有效电极面积	15μm×15μm
传感器正常工作电压	5V
传感单元预处理电路电压增益	39dB
传感单元电路线性放大最小输入信号	100μVpeak-to-peak
传感单元电路线性放大最大输入信号	20mVpeak-to-peak

6.2 课题改进方案

在课题完成过程，根据存在的问题，提出以下改进和优化方案。

6.2.1 传感单元改进设计

本芯片设计中单元电路采用开环放大模式，这种放大模式下电路结构比较简单，但存在稳定性较差的问题。并且由于差分放大器的两个输入端由于极化程度不同，容易直流工作点存在一定误差，所以需要进行改进，提高电路性能。

可以采用如图 6.1 中的电路结构作为前端放大器。

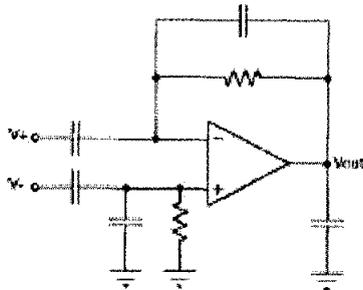


图 6.1 传感单元电路差分放大器的改设计

改进后的电路采用闭环放大模式，并且输入端设计了滤波器电路，提高了电路

性能。可以通过调整电容和电感的值来调整滤波器的角频率。并调整晶体管尺寸进一步改善传感电路的 SNR。

6.2.2 片上集成差分采样电路设计

传感单元电路具有相关二次采样的工作模式。两次采样得到的信号可通过差分处理，去除固定模式噪声，提高传感器的精度。这一功能可以通过设计片上开关电容网络来实现，完成采样保持和差分处理功能。

(1) 开关电容网络设计[1]

片上集成的开关电容网络的电路结构可如图6.2 所示。电路主要由开关电容和差分放大器构成。

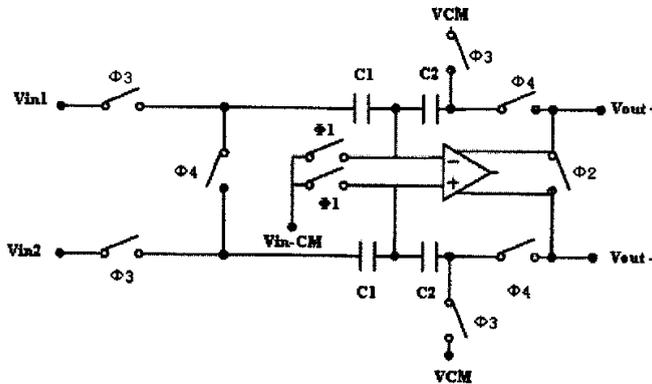


图6.2 片上集成的开关电容网络设计

电路采用了全差动的工作模式。开关受时钟信号 Φ_1 、 Φ_2 、 Φ_3 和 Φ_4 控制，信号为高电平时开关导通。 V_{in_CM} 是放大器内部电路产生的共模输入电压值。 V_{CM} 为由外部电路供给。

电路工作分为两个时钟相位，工作状态如下：

- a) 在相位1， Φ_1 、 Φ_2 、 Φ_3 为高电平， Φ_4 为低电平。 V_{CM} 为外加电压，值为理想共模输出电压值。电路的连接情况如图6.3，此时电路为采样模式。

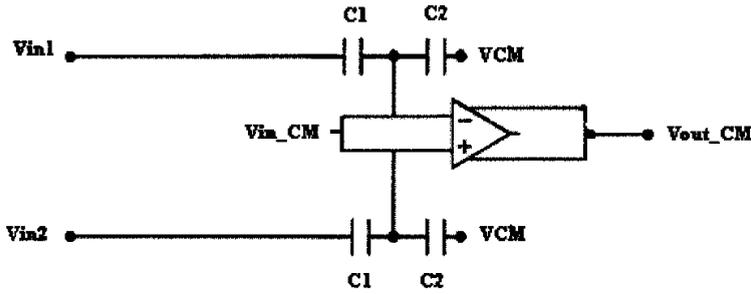


图6.3 时钟相位1下，电容网络的状态。

其中放大器的输入端同时接共模输入电压 V_{in_CM} ，得到共模输出电压 V_{out_CM} 。C1 充电为 $(V_{in} - V_{in_CM})$ ，C2 充电为 $(V_{in_CM} - V_{CM})$ 。

b) 在相位2， Φ_1 、 Φ_2 、 Φ_3 为低电平， Φ_4 为高电平。电路的连接情况如图6.4。电路工作在放大模式。

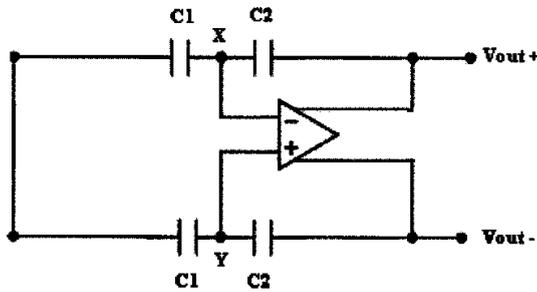


图6.4 时钟相位2时开关电容网络的工作模式。

此时，图6.4中可以看到，C1左极板相连，电势相等。但在相位1时，电容C1采样完成后，左极板保持的电位不同，差为 $(V_{in1} - V_{in2})$ 。由于电容两端电势不能突变，这个电势差必然需要C1右极板X和Y点电势的差异来体现。但由理想运放特性可知，X和Y点电势虚短。则电势差异进一步转移给C2，最后表现C2右极板电势差异 $(V_{out+} - V_{out-})$ 。原理上可得

$$V_{out+} - V_{out-} = \frac{C_1}{C_2} (V_{in1} - V_{in2})$$

为了减少电路受工艺波动性的影响，一般取 $C_1 = C_2$ ，所以电路实际为单位增益采样器。由以上工作原理的分析可得，电路中使用的运放要求其性能尽量接近理想

运放，并且输入电容要尽量小，才能满足需要。同时通过合理设置开关时序，减少开关引起的电荷注入效应对采样精度的影响。时钟相位1时， $\Phi 1$ 相应开关的电荷注入在输入端表现为共模干扰，可以通过电路的差分运算完全消除。输出端短接主要是为共模反馈电路提供输出共模电压值。（具体分析见下一部分分析） $\Phi 1$ 控制开关闭合后， $\Phi 3$ 变为高电平。开关引起的电荷注入同样为共模干扰，通过电路本身消除。当然采样工作模式结束时， $\Phi 3$ 先变为低电平，之后是 $\Phi 2$ ， $\Phi 1$ 变为低电平。这样才能避免开关电荷注入的影响。

(2) 开关电容的共模反馈

全差动电路相对于单端类似电路有许多优点。除了具有更大的输出摆幅外，差动运放还避免了镜像极点，达到了很高的闭环速度。但是高增益差动电路需要共模反馈（CMFB）。在高增益运放中，输出共模电平对器件地特性和失配相当敏感，而且不能通过差动反馈来达到稳定。需要增加共模反馈网络来检测二个输出端的共模电平值，并有根据地调节放大器的一个偏差电流。而通过电阻检测输出共模电压会显著地降低电路的差动电压增益，运用MOSFETs作为源级跟随器和可变电阻的检测技术会限制线性范围。在开关电路共模反馈网络提供了可以避免这些困难的方法。输出是由电容而不是电阻检测的。工作原理如图6.5。

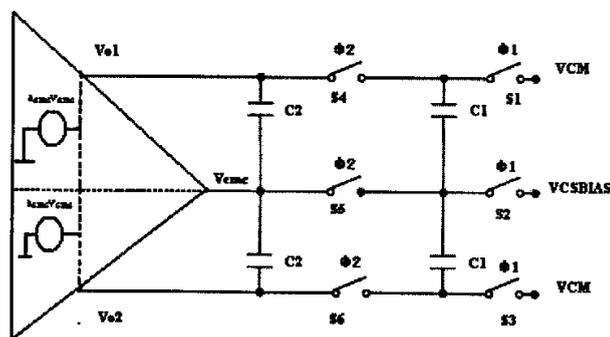


图6.5 带共模反馈的开关电容网络

整个网络是由开关S1-S6电容C1和C2组成。 V_{CSBIAS} 是直流偏置电压。假设所有的开关都在高电平时打开，在低电平时关断。开关由两相不重叠的时钟信号F1、F2控制。

这个CMFB电路是线性、平衡和离散时间电路。对差分信号来说，所有以虚线

为对称轴上的点都是对交流接地条件下工作。因为运放输入CMC也是沿轴对称的， V_{cmc} 只有共模分量而无差模交流分量。 V_{cmc} 是根据共模输出电压实际和理论值的差异确定的。对CMFB半电路进行分析，C2连接在 V_{cmc} 和 V_{oc} 之间。如果SC电路中运放的基本结构如图6.6。

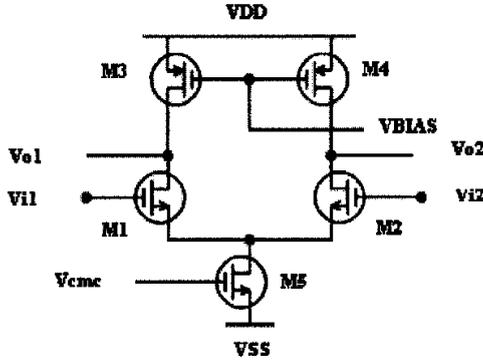


图6.6 差分放大器结构图

V_{cmc} 是M5的栅电压。当F1为高电平时，C1充电为 $V_{CM} - V_{CSBIAS}$ 。当F2为高电平时，C1连接在 V_{oc} 和 V_{CMC} 之间。在稳定的状态下， V_{oc} 为一常数。这是因为 V_{CM} 和 V_{CSBIAS} 电压都为直流电平，SC电路也工作在负反馈状态下。当F2为高电平， V_{oc} 稳定之后，C1就不再向C2充电。这一情况在F1或F2为高电平时，C1充电情况相同的条件下即可满足。即为以下表达式

$$Q(\phi1) = C1(V_{CM} - V_{CSBIAS}) = Q(\phi2) = C1(V_{oc} - V_{cmc})$$

简化为

$$V_{CM} - V_{CSBIAS} = V_{oc} - V_{cmc}$$

如果 V_{CSBIAS} 与CMC输入时名义上的偏置电压值相等，同时还有 $acmc \gg 1$ ，可以得到 $V_{cmc} \approx V_{CSBIAS}$ 。所以

可简化为 $V_{CM} \approx V_{oc}$ 。这一结果表明实现了CMFB电路的预定目标。

V_{CSBIAS} 电压的产生电路可以如图6.7所示，

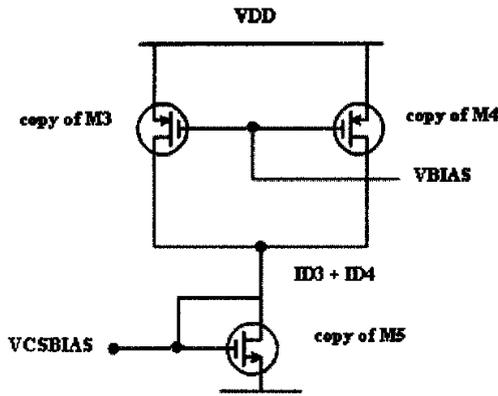


图6.7 V_{CSBIAS} 电压产生电路

V_{BIAS} 与运放中M3和M4的栅偏置相连。 V_{CSBIAS} 即为运放中M5的栅压。当然以上讨论都是假设开关为理想开关展开的。实际电路中，开关MOS管，要有大的W/L,减少导通电阻。但是开关闭合时，会对C1充电，在电路中引入误差。且转移的电荷量随开关管W的增大而增大。所以减少导通电阻与减少电荷转移之间存在一个trade-off。另外增加C1，可以减少电荷转移对Voc的影响。但是C1增加会导致F2为高电平时，会增加运放输出端的容性负载。

所以要提高电路的精度，应综合考虑各方面因素。综合这一部分分析结果，开关电路的设计重点为高增益运放的设计，开关控制信号的时序，共模反馈电路的搭建。这一部分电路有较高的精度要求。

6.2.3 片上集成带隙基准源设计

传感器电路中需要使用参考电平，通过片上集成可以为各传感单元提供参考电平，保证电平的误差小，并且受外界的影响小。在本课题的改进设计中，设计带隙基准源电路给传感电路提供基准电压。

带隙基准电路以其较简单的电路结构，高精度的输出结果获得了非常广泛的应用。带隙基准源电路的原理如图 6.8 所示。

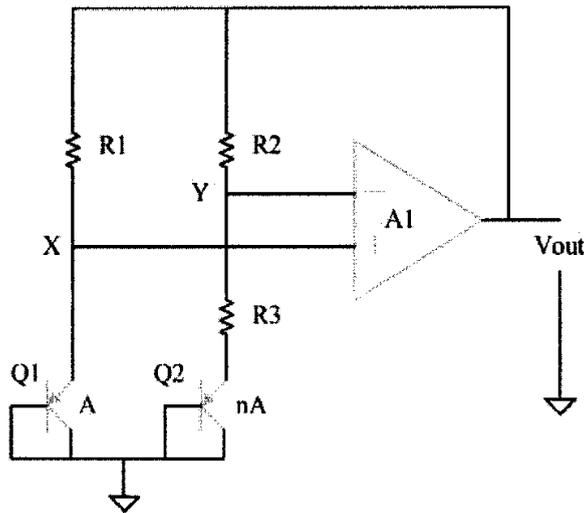


图 6.8 带隙基准源的功能原理图

带隙基准源的基本原理是利用正温度系数（PTC）和负温度系数（NTC）的两个电压源相加，使他们的温度系数互相抵消从而得到一个温度系数基本为零的电压源。

在图 6.8 中，X 和 Y 点的电位可以认为相等。左边 Q_1 管的面积为 A，右面 Q_2 管的面积为 nA。 Q_1 和 Q_2 采用的都是二极管接法的衬底 PNP 三极管，这样保证了该电路适用于上华的工艺。设计 $R_1 = R_2$ ，那么流过 Q_1 和 Q_2 的电流就相等，假设为 I_0 ，那么它们的电流密度分别为 $\frac{I_0}{A}$ 和 $\frac{I_0}{nA}$ 。由于 X 和 Y 点的电位相同，那么 R_3 上的电压为：

$$\begin{aligned} \Delta V_{be} &= V_{be1} - V_{be2} \\ \Delta V_{be} &= V_T \ln \frac{I_0}{AI_s} - V_T \ln \frac{I_0}{nAI_s} \\ \Delta V_{be} &= V_T \ln n \end{aligned}$$

将 ΔV_{be} 对温度 T 求导：

$$\frac{\partial \Delta V_{be}}{\partial T} = \frac{k}{q} \ln n$$

$$\frac{\partial \Delta V_{be}}{\partial T} \approx (+0.087 \times \ln n) \text{ mV/K}$$

可以看见 ΔV_{be} 具有正的温度系数。

下面来看一下 V_{be} 的温度系数：

$$V_{be} = V_T \ln \frac{I_0}{I_S}$$

$$\frac{\partial V_{be}}{\partial T} = \frac{\partial V_T}{\partial T} \ln \frac{I_0}{I_S} - \frac{V_T}{I_S} \frac{\partial I_S}{\partial T}$$

另外从 I_S 的表达式可以得到：

$$\frac{V_T}{I_S} \frac{\partial I_S}{\partial T} = (4+m) \frac{V_T}{T} + \frac{E_g}{kT^2} V_T$$

其中的 m 为与工艺相关的一个参数，对于确定的工艺，它是一个常数。 E_g 则是硅的带隙电压，也是一个常数。根据上两式可以得到：

$$\frac{\partial V_{be}}{\partial T} = \frac{V_T}{T} \ln \frac{I_0}{I_S} - (4+m) \frac{V_T}{T} - \frac{E_g}{kT^2} V_T$$

$$\frac{\partial V_{be}}{\partial T} = \frac{V_{be} - (4+m)V_T - \frac{E_g}{q}}{T}$$

$$\frac{\partial V_{be}}{\partial T} \approx -1.5 \text{ mV/K}$$

这样就得到了负的温度系数。

可以得出 V_{out} ：

$$V_{out} = V_{be1} + I_0 R_1$$

$$V_{out} = V_{be1} + \frac{\Delta V_{be}}{R_3} R_1$$

可以看见 V_{out} 是由具有正和负的温度系数的电压源相加，只要能够设定合适的系数，就应该能够得到一个基本上与温度无关的电压源。

带隙基准源电路的电路设计[2]

图 6.9 所示的是实际可以采用的带隙基准源电路图。 M_1, M_2, M_{16} 和 M_{17} 共同构成了图 6.8 中的运放。 Q_2 的面积为 Q_0 的 4 倍，它们所产生的 ΔV_{be} 被加到了 R_1 上产生了整个电路的偏置电流。 M_7, M_8, M_{10} 和 M_{11} 共同组成了一个共源共栅的电流镜 (cascode current mirror)，使得 Q_2 和 Q_0 上的电流保证一定的比例。通过电流镜 (M_7, M_8, M_3 和 M_4) 的作用， $V_{R0} = \frac{R_0}{R_1} \Delta V_{be}$ ，而 V_{be} 则由 Q_1 来提供。

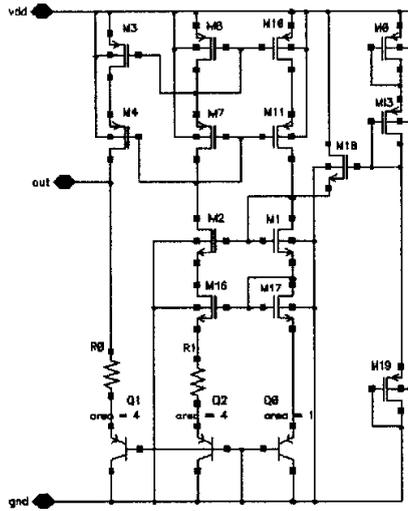


图 6.9 实际带隙基准源电路图

图 6.9 中的 M_{19}, M_{18}, M_{13} 和 M_0 构成了该电路的启动电路。这是因为带隙基准电路存在两个稳定的工作点：一个工作点为晶体管全截止（此时输出为 0）；另外一个工作点则可以输出所希望得到的带隙电压。在加了电源以后 M_{19}, M_{13} 和 M_0 就开始无条件导通。它们通过 M_{18} 向基准电路施加一个启动电压，当基准电路正常工作后 M_{18} 源极的电压将大于栅极的电压，这样 M_{18} 截止，就将启动电路和基准电路相隔离开。

6.2.4 片上集成三电极工艺

目前的参考电极采用片外铂电极。因为实验中电极与传感单元相对位置的变化

会对测试结果有所影响,造成实验可重复性差,所以希望能够实现片上集成参考电极。在完成 CMOS 工艺之后,还需通过一定工艺镀铂。可采用电镀的方法制作铂黑电极。典型的配方[3]为

氯铂酸 H_2PtCl_6 (无水)	2g
乙酸铅 $\text{Pb}(\text{CH}_2\text{COOH})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	16mg
水	58ml
电流密度为	$30\text{mA}/\text{cm}^2$

6.3 课题展望

在生物技术和微电子技术交叉学科领域,各种研究成果层出不穷。研究者们将微电子技术与传统生物测量技术相结合,实现了多种结构独特并且有效的传感器和传感芯片。他们的研究成果为我们的研究拓宽了思路。目前本课题研究取得阶段性成果,希望今后在以下几个方面进行更为深入的研究:

1. 高性能 CMOS 集成电路设计在生物传感芯片中的应用。CMOS 集成电路技术高速发展过程中,大量电路结构得到广泛深入的研究。如果能结合生物测量技术的特点,在传感芯片设计中引入切实有效的电路新结构,将不断提高传感器的性能。同时结合数字电路设计, DSP 和存储器等技术,不断加强传感系统信号存储和处理功能。
2. 构建芯片实验室。芯片实验室能对多种生物参量进行实时检测,能满足实际测量的需要。构建芯片实验室是研究者们共同追求的目标。虽然目前在同一芯片上集成多种结构和功能的传感器件,并且将 MEMS 技术和集成电路技术有效结合等方面仍有很多的难点,但这方向的研究具有很高的实用价值,是值得努力的方向。
3. CMOS 工艺与生物兼容性改进工艺的融合。标准 CMOS 工艺虽然具备很多优点,但也存在一定的局限性,在材料和工艺过程方面都缺少一定的自由



度。所以，如何在标准工艺的基础上进行芯片后续加工工艺，使其适合生物测量的需要，仍是研究者面临的重大问题。目前，薄膜工艺和化学镀等工艺都在生物传感芯片研究得到了应用，但工艺的稳定性还需要不断加强。

非常高兴课题组的研究已经得到国家自然科学基金的大力支持。本课题的工作为基金项目作了一定基础工作，相信在此基础之上，课题组的研究一定会取得更大进展。

6.5 本章参考文献:

- [1] Paul T. Gray, Paul J. Hurst, Analysis and design of analog integrated circuits (Fourth Edition.)
- [2] 谢俊杰, 一种新型低功耗智能漏电保护器芯片的设计, 浙江大学硕士毕业论文, 2004
- [3] 李宁, 化学镀实用技术, 化学工业出版社, 2004

致 谢

在即将完成研究生阶段学习之际，衷心感谢在学习和生活中给予我关心和帮助的人们。

首先要向导师朱大中教授致以最诚挚的谢意。朱教授严谨的治学态度和勇于探索、创新的精神激励我不断进步。在研究工作中，他思路开阔，身体力行，善于实践；在生活中，他积极面对新事物，紧跟时代步伐。朱教授的言传身教是我受用一生的宝贵财富，谨向他致以衷心的感谢！

感谢我的父亲母亲。是他们的全力支持，为我创造了良好的生活条件，让我得以顺利完成学业。感谢他们多年来的辛勤付出！

感谢微电子研究所的韩雁老师、郭维老师、沈相国老师、何杞鑫老师、陈忠景老师、孙颖老师、丁扣宝老师、李贡社老师。他们不仅教授给我专业知识，在我完成课题的过程中也给予了热情的指导和帮助。

感谢周鑫、王光峰、姚韵若、郭清师兄，俞宏师姐。与周师兄在芯片设计和实验技术方面的交流，让我受益匪浅。在芯片设计和测试阶段，师兄师姐们也给予了热情帮助，在此向他们表示感谢。

感谢施朝霞、施敏文同学。与施朝霞在项目中合作，为芯片测试工作共同努力，为申请国家项目奠定了基础。施敏文同学在流片文件准备阶段给予了很多帮助。

感谢生物医学工程王平老师、叶学松老师、李蓉老师，徐莹、秦利锋等同学的热情帮助。与他们的讨论加强了我在生物医学传感技术方面的知识。他们提供精密的测量仪器和设备，使我的测试工作得以顺利进行。

感谢国家自然科学基金会对本项目的支持。感谢绍兴华越芯装公司提供芯片压焊服务。感谢上海 ICC 提供多项目晶圆服务。

再次真诚感谢各位老师和同学！



论文发表情况

- 《阵列式 CMOS 细胞电信号传感芯片》
固体电子学研究与进展, 2005, Vol.25, No.4, 507-512, EI 索引
- 《用于细胞外电信号测量的 CMOS 集成生物传感芯片的研究》 (English)
传感技术学报, 已录用