

16 通道神经信息双模检测分析仪的研制与应用

林楠森^{1,2} 宋轶琳^{1,2} 刘春秀¹ 蔡新霞^{* 1,2}

¹(中国科学院电子学研究所传感技术联合国家重点实验室,北京 100190)

²(中国科学院研究生院,北京 100190)

摘 要 研制了一种可检测分析神经电生理信号和递质化学信号的 16 通道双模检测分析仪。仪器由硬件和软件系统组成,其电流和电压分辨率分别为 10 pA 和 0.6 μ V,具备实时峰电位分离、数字 IIR 滤波、计时电流法、循环伏安法等常用电生理和电化学检测分析方法。为验证仪器的性能分别进行了电生理信号和电化学信号的检测实验。在 SD 大鼠脑部电生理信号检测实验中,利用钨丝电极获得信噪比 $S/N=9.7$ 的神经动作电位。在多巴胺溶液的电化学信号检测中,以 Pt 微电极为工作电极,在 0.1 ~ 378.5 μ mol/L 浓度范围内,电流响应的线性相关系数为 0.9958。实验表明,本检测分析仪可用于神经电生理信号和电化学信号的检测,分辨率高,可实现对微弱信号的高精度检测。

关键词 神经电化学;神经电生理;双模检测;神经递质;多巴胺

1 引 言

神经系统是生物体内结构和功能最复杂的系统,对其了解相当程度上依赖于神经电生理信号的检测。神经递质在神经系统活动中同样发挥着重要作用。神经递质是指神经末梢释放的特殊化学物质,它能作用于支配的神经元或效应细胞膜上的受体,从而完成信息传递功能。常见的神经递质有谷氨酸(Glu)、氨基丁酸(GABA)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)等。神经细胞正是依靠电生理信号和递质化学信号这两种模式的信号,完成各种复杂的信息传递与整合功能。对这两类信号加以全面、准确、实时、同步的检测,有望进一步揭示神经信号传递、编码与解码的本质^[1-3]。

采用电化学方法对神经递质进行检测不仅有很高的检测灵敏度,更为重要的是具有较高的时空分辨率,能够反映递质浓度的实时变化情况^[4]。目前,双模神经信息检测的研究还处于起步阶段,相关的仪器功能较为单一,不能满足检测双模式信号的需求,给实验操作和数据分析造成一定困难。基于神经信息检测的现状,本研究制备了神经信息双模检测分析仪,可对神经元的电生理信号和递质信号进行实时同步检测,为进一步分析这两类信号在神经系统中所起的作用及相互关系提供保障。此仪器采用微弱信号提取技术,其电流和电压分辨率分别为 10 pA 和 0.6 μ V。同时,系统采用 USB2.0 接口和计算机相连,计算机处理软件支持常用的电生理和电化学检测方法。

2 实验部分

2.1 仪器组成

仪器的工作系统分为检测硬件系统和数据处理分析软件系统。硬件系统采用模块化设计,其结构框图如图 1 所示,主要由神经电化学检测模块、神经电生理检测模块、主控制单元和数据采集卡组成,采用 USB2.0 接口和计算机相连,整套仪器体积为 15 cm \times 12 cm \times 4 cm (长 \times 宽 \times 高)。

2.1.1 神经电化学检测模块 痕量神经递质(nmol/L 或 μ mol/L 级)是作用于神经元上的受体后导致离子通道开放,从而产生兴奋或抑制的化学物质。采用电化学的方法对其进行检测具有灵敏度和时间分辨率高的优点。神经电化学检测模块包括恒电位器和电流/电压转换与放大。恒电位器主要是利用运算放大器的“虚短”、“虚断”特性设计成电压跟随器,为电化学电极提供一个受程序控制而不受电化

2010-09-13 收稿;2010-11-24 接受

本文系国家重大科学研究计划(No. 2011CB933202)、国家自然科学基金项目(Nos. 61027001, 60801032)、中科院仪器装备项目和中科院创新项目(Nos. KGCX2-YW-916, YOSQCX-9251)资助

* Email: xxcai@mail. ie. ac. cn

学电流影响的工作电位。由于痕量神经递质的电化学电流非常微弱($\text{pA} \sim \text{nA}$ 级),因而必须将微弱的电流信号转化为易测量的电压信号才能检测出来。本研究采用 T 型反馈网络微电流放大技术实现微弱电流信号的检测,并保证模块噪声保持在较低的水平^[5,6]。

2.1.2 神经电生理检测模块

神经元的放电幅度一般在 $10^{-5} \sim 10^{-4} \text{ V}$, 容易被生物体自身或外

界的噪声信号干扰和淹没,因而检测模块必须有较高的放大增益、低的输入噪声及较强的抗干扰能力。本模块采用仪表运算放大器 AD620 作为前置放大器,后接 $0.1 \sim 3000 \text{ Hz}$ 带通滤波器,整个模块的通道数为 16,放大增益为 60 dB,共模抑制比为 90 dB,输入噪声小于 $2 \mu\text{V}/\text{ms}$ 。

2.1.3 主控制单元 主控制单元选用内含 24 位高精度模/数转换器的微控制器 AD μ C834,可以满足对痕量神经递质的电化学检测,电流检测精度可达到 10 pA ,检测范围为 $10 \text{ pA} \sim 80 \mu\text{A}$ 。

2.1.4 数据采集卡 数据采集卡负责神经电生理信号的高速采集,神经信号的频带范围 $0.1 \sim 3000 \text{ Hz}$ 。因此,其采样率应大于 10 kHz 。根据模块的通道数可选用不同通道的数据采集卡,本检测系统选用北京阿尔泰公司的 32 通道数据采集卡 USB2080,具有 14 bit 的分辨率和 400 kHz 的采样率。

2.1.5 数据处理分析软件 从软件的可靠和灵活性考虑,本系统采用以 Windows XP 操作系统和 Visual C++ 作为编程开发平台。为保证双模神经信号的实时处理,采用多线程、多级缓存队列等技术完成了系统的软件设计,具备实时峰电位分离、数字 IIR 滤波、计时电流法、循环伏安法等常用电生理和电化学检测分析方法。系统外观及软件界面如图 2 所示。

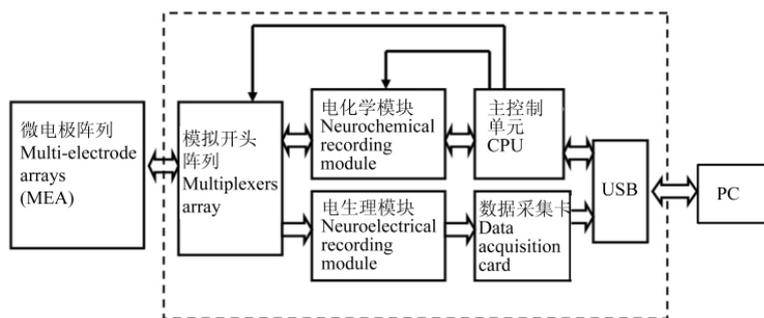


图 1 神经信息双模检测分析仪硬件结构框图

Fig. 1 Hardware block schematic of two mode recording system for neurochemical and neuroelectrical signals

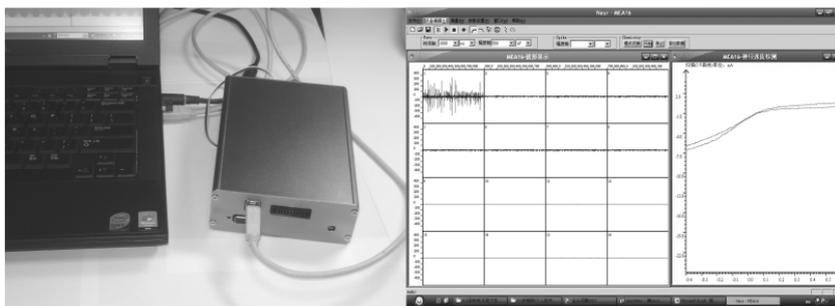


图 2 16 通道神经信息双模检测分析仪外观图(a) 和计算机软件界面图(b)

Fig. 2 Two mode recording system for neural information(a) and graphical user interface(b)

2.2 材料与试剂

电生理信号记录用钨丝微电极(电极阻抗 $1 \sim 3 \text{ M}\Omega$, Frederick Haer & Co. 公司),电化学信号记录用实验室自制圆形平面微电极作工作电极,材料为 Pt。铂丝电极为对电极, Ag/AgCl (饱和 KCl) 电极为参比电极。90-2 型磁力搅拌器(上海亚荣公司)。

Sprague-Dawley 大鼠,体重约 $180 \sim 220 \text{ g}$,由北京大学医学部实验动物中心提供;多巴胺, PBS (10 mmol/L , $\text{pH} 7.4$, Sigma 公司),其它试剂均为分析纯。实验用水为去离子水。

2.3 实验方法

2.3.1 神经电生理信号检测实验 将 SD 大鼠麻醉,置于脑立体定位仪上,用耳棒和牙钩固定其头部,然后用手术剪剪开头皮,开颅后将钨丝电极在脑立体定位仪的引导下,匀速缓慢地植入大鼠中脑腹侧被盖区(VTA)。在植入过程中利用本仪器对神经电生理信号进行实时检测。为了屏蔽外界的干扰信号,

所用仪器和大鼠头皮统一接地。

2.3.2 递质化学信号检测实验 在 25 mL 烧杯中,加入 20 mL 磷酸盐缓冲液(pH 7.4),放置搅拌磁子,插入电极后开启搅拌器并调至恒速。每次向烧杯中分阶段加入不同浓度的多巴胺溶液,改变整个溶液的多巴胺浓度,每次搅拌 20 s 后停止,利用本仪器检测响应电流。仪器选择循环伏安法(CV)和计时电流法($i-t$)对不同浓度的多巴胺溶液进行检测,实验温度为 25 °C。

3 结果与讨论

3.1 神经电生理信号检测实验

神经元电生理信号是神经系统信息交互的主要方式,由神经细胞的电化学反应所产生。目前,检测手段主要有膜片钳记录和细胞外记录。在膜片钳记录中,其电极可以和细胞膜之间形成 10 ~ 100 G Ω 的封接电阻,故记录到的信号信噪较高,其操作繁琐、检测通道数少、不适于长期和在体的检测。随着微电极阵列的出现,多通道的胞外记录发挥越来越重要的作用。尽管存在着信号幅度较小的缺点,但在检测的通道数、样本种类、持续时间、灵活性等方面已经表现出巨大优势^[7~10]。

本仪器的电生理检测模块采用多通道的胞外记录技术,可实现 16 个通道的电生理信号同步检测。用其对 SD 大鼠的脑部神经元电生理信号进行在体检测,将钨丝电极植入到大鼠中脑腹侧被盖区(VTA)。电生理检测模块的电压放大倍数为 1000 倍,数据采集卡采样率设为 20000 Hz,软件的 IIR 高通滤波设为 200 Hz,得到放电幅度约 10⁻⁴ V 的神经细胞自发动作电位(图 3a),单个动作电位的持续时间为 2 ~ 3 ms(图 3b)。所检测到的信号特征符合大鼠在体脑神经胞外记录的信号特点,信噪比 $S/N=9.7$ 。

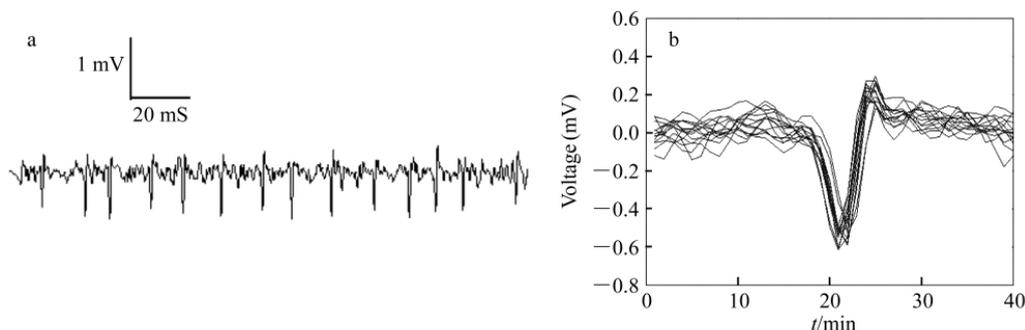


图 3 (a) 在大鼠中脑腹侧被盖区(VTA)记录到神经细胞动作电位发放和(b)动作电位叠加

Fig.3 (a) Extracellular action potentials in ventral tegmental area(VTA) region and (b) overlapping of action potentials

3.2 递质化学信号检测实验

以 Pt 微电极为工作电极,参比电极为 Ag/AgCl,对电极为 Pt,仪器的扫描速度为 100 mV/s。图 4 显示多巴胺浓度分别为 0, 0.1, 5.5, 58.5 和 378.5 $\mu\text{mol/L}$ 时的循环伏安图。在 0.3 ~ 0.5 V 之间能够较好分辨不同浓度多巴胺,故工作电压选择为 0.5 V。

本仪器检测了不同浓度多巴胺溶液 $i-t$ 电流响应曲线(图 5)。其中,曲线 1 ~ 13 对应的多巴胺浓度分别为 0, 0.1, 0.2, 0.4, 1.5, 4.5, 18.5, 28.5, 48.5, 68.5, 178.5, 278.5 和 378.5 $\mu\text{mol/L}$,工作电压 0.5 V。随着多巴胺浓度的增加,微电极的电流响应也逐渐增大,电流值与多巴胺浓度呈线性关系。在 0.1 ~ 378.5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内,线性校正方程为

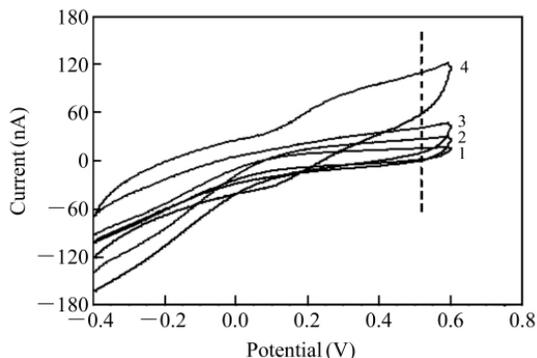


图 4 微电极在多巴胺溶液中的循环伏安曲线

Fig.4 Cyclic voltammetric curves (CVs) of micro-electrode with different dopamine concentration

1. PBS; 2. 100 nmol/L; 3. 58.5 $\mu\text{mol/L}$; 4. 378.5 $\mu\text{mol/L}$.

Scan rate: 100 mV/s

(nA) = 3.4299 + 0.1414C (μmol/L) 相关系数 $R^2 = 0.9958$ 。结果表明, 电化学模块可以准确检测神经递质信号。

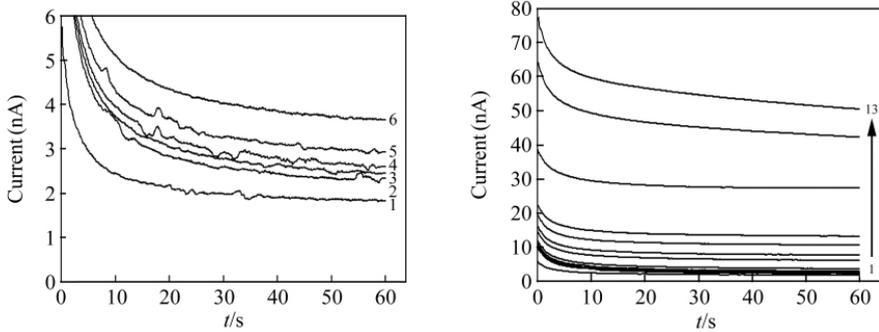


图 5 微电极在多巴胺溶液中的时间电流 ($i-t$) 曲线

Fig. 5 $i-t$ curves of micro-electrode with different dopamine concentration

Concentration of dopamine (1-13 μmol/L): 0, 0.10, 0.20, 0.40, 1.5, 4.5, 18.5, 28.5, 48.5, 68.5, 178.5, 278.5, 378.5.

本仪器对 10 支微电极在 100 nmol/L 多巴胺溶液中的响应电流见表 1, 其中微电极的直径为 25 μm, 得到的平均响应电流为 403 pA, 标准偏差为 59 pA。表明电化学模块的电流检测精度较高。

表 1 对 10 支微电极在 100 nmol/L 多巴胺溶液中的响应电流的检测结果

Table 1 Current response of 10 micro-electrodes to 100 nmol/L dopamine solution

电极编号 Electrode No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均电流 Mean	标准偏差 SD
响应电流 Response current (pA)	330	470	350	430	320	450	440	390	480	370	403	59

4 结 论

本研究报道了一种 16 通道神经信息双模检测分析仪, 系统集成的电化学模块和电生理模块可对神经电生理信号和神经递质信号进行检测。其电流和电压分辨率分别为 10 pA 和 0.6 μV, 可以满足微弱神经信号的检测需求。利用本系统开展了动物在体电生理信号检测实验和不同浓度神经递质多巴胺的检测, 并在电生理信号测试中获得了信噪比为 9.7 的神经动作电位发放, 在多巴胺浓度测试中电流响应的线性相关系数为 0.9958 (浓度 0.1 ~ 378.5 μmol/L), 为神经双模信号的检测研究奠定了基础。目前, 随着微电极阵列 (MEA) 集成度的提高, 越来越需要可同时检测几十甚至上百个电极位点的检测系统; 同时基于多个神经元的多维度、多尺度信息处理又对系统的相关数据处理能力提出了更高的要求。本研究组将针对以上神经信息双模检测的新特点, 对仪器的硬件和软件系统进行相应的改进。

References

- Windhorst U, Johansson H. Translated by ZHAO Zhi-Qi, CHEN Jun(赵志奇, 陈军). *Modern Techniques in Neuroscience Research*(现代神经科学研究技术). Beijing(北京): Science Press(科学出版社), 2006: 1045 ~ 1091
- Strong T D, Cantor H C, Brown R B. *Sensors and Acurators*, 2001, 91(3): 357 ~ 362
- Johnson M D, Franklin R K, Gibson M D, Brown R B, Kipke D R. *Journal of Neuroscience Methods*, 2008, 174(1): 62 ~ 70
- LIN Xiang-Qin, KANG Guang-Feng, CHAI Ying(林祥钦, 康广凤, 柴颖). *Chinese J. Anal. Chem.*(分析化学), 2008, 36(2): 157 ~ 161
- TONG Shi-Bai, HUA Cheng-Ying(童诗白, 华成英). *Fundamentals of Analog Electronics*(模拟电子技术基础). Beijing(北京): Higher Education Press(高等教育出版社), 2001: 313 ~ 315
- YANG Qing-De, LIU Hong-Min(杨庆德, 刘红敏). *Chinese Journal of Sensors and Acurators*(传感技术学报), 2008, 21(3): 393 ~ 396

- 7 Taketani M , Baudry M. *Advances in Network Electrophysiology: Using Multi-Electrode Arrays*. New York: Springer , **2006**: 127 ~ 155
- 8 Johnstone A F M , Gross G W , Weiss D G , Schroeder O H U , Gramowski A , Shafer T J. *Neuro Toxicology* , **2010** , 31(4) : 331 ~ 350
- 9 Xiang G X , Pan L B , Huang L H , Yu Z Y , Song X D , Cheng J , Xing W L , Zhou Y X. *Biosensors and Bioelectronics* , **2007** , 22(11) : 2478 ~ 2484
- 10 van Bergen A , Papanikolaou T , Schuker A , Möller A , Schlosshauer B. *Brain Research Protocols* , **2003** , 11(2) : 123 ~ 133

Development and Application of 16-Channel Two Mode Recording System for Neurochemical and Neuroelectrical Signals

LIN Nan-Sen^{1 2} , SONG Yi-Lin^{1 2} , LIU Chun-Xiu¹ , CAI Xin-Xia^{* 1 2}

¹(State Key Laboratory of Transducer Technology , Institute of Electronics , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100190)

²(Graduate School of Chinese Academy of Sciences , Beijing 100190)

Abstract A 16-channel two mode recording system used for detection of neurochemical and neuroelectrical signals was developed. The instrument system consists of hardware and software components whose current and voltage resolution are 10 pA and 0.6 μ V , respectively. The software adopted multi-thread , multi-cache and other techniques to achieve real-time detection , spike separation , IIR filter , chronoamperometry , cyclic voltammetry , etc. The performance of the system was demonstrated in electrophysiological recording and dopamine concentration measurement. The signal to noise ratio (S/N) recorded from ventral tegmental area(VTA) of SD rat was 9.7. The current response increased linearly with the concentration of dopamine in the range of 0.1 ~ 378.5 μ mol/L , with a correlation coefficient of 0.9958. The results indicated that the recording system has high resolution and can be used for neural electrophysiological signals and the electrochemical signal detection.

Keywords Neurochemical; Neuroelectrical; Two mode recording; Neurotransmitter; Dopamine

(Received 13 September 2010; accepted 24 November 2010)

《工业用水及污水水质分析》

该书在介绍工业锅炉用水、循环冷却用水及污水水质分析方法的同时,对操作过程中可能遇到的各种问题提出了具体的解决办法,并汇入到各方法的“注意事项”中。对共性问题,在书后附“注意事项”索引,以方便查找。各分析方法中对试剂配制都作了详细描述。书中所涉及的分析仪器和设备,绝大部分是一般化验室有能力配备的。该书可供从事水质分析的人员参考使用,也可供相关领域管理人员、生产技术人员参考。

该书(ISBN 978-7-422-08130-8) 由王忠尧编,化学工业出版社出版,定价 58.0 元。