

반도체 미세전극을 이용한 말초 신경에서의 신경 신호 기록

황은정, 김성준, 조하원*, 오우택*
서울 대학교 공과대학 전기공학부, 서울 대학교 약학대학 약학과*

Neural Recordings Obtained from Peripheral Nerves Using Semiconductor Microelectrode

E. J. Hwang, S. J. Kim, H. W. Cho*, and W. T. Oh*
School of Electrical Engineering, Seoul National University
Department of Pharmacology*, Seoul National University

ABSTRACT

A semiconductor microelectrode array has been successfully used in obtaining single unit recordings from medial giant nerve of cray fish, rat saphenous nerve and abdominal ganglia of aplysia. The recording device fabricated using silicon microfabrication techniques is a depth-probe type and, previously, has been mostly used to record from central nerve system of vertebrates. From invertebrates, and also from peripheral nerves of vertebrates, however, the quality of the recorded signal depends heavily on the recording conditions, such as the proximity of the electrode site to the nerve cells and the size of the neuron. We have modeled the signal to noise ratio as functions of these parameters and compared the experimental data with the calculated values thus obtained.

I. 서론

단일 유닛의 신경 신호를 얻는 방법으로는 세포막 내 측정법과 막외 측정법이 있다. 세포막내 측정은 주위의 다른 신경세포들과의 절연을 통해 되어 완벽한 단일 유닛의 활동전위 측정이 가능하다. 그러나 막내 삽입시 유리 피펫이 잘 깨지고, 삽입을 통한 세포막의 손상으로 장기간 측정이 어렵다 [1]. 따라서 대부분의 신경 신호 연구에서는 막외 측정 후 신호의 진폭 및 전도 속도에 의한 분류, 신경회로망을 이용한 패턴 인식, 적응 필터링 등의 신호 처리 기술을 이용하여 다중 유닛에서 단일 유닛 신호를 추출한다 [2][3][4]. 그런데 막외에서 얻은 신호들은 대부분 막내 신호보다 훨씬 작은 신호대 잡음비를 가지고 있어 이러한 신호 처리 기술 적용에 어려움이 있다. 막외 신호 측정에서 SNR을 높이기

위해서는 측정 대상 세포이외의 주변 세포로부터의 절연이 필요하다. 이러한 절연을 위해서는 패치 클램핑을 이용해 기계적으로 주위 세포와의 체액 흐름을 차단시키거나 [5], 세포체 크기 정도의 미세전극을 사용하는 방법이 있다. 반도체 미세전극은 1 μ m 범위의 오차로 전극 사이트의 크기 및 형태를 조정 가능하고, 높은 수율과 재현성을 갖고 있으며, 실리콘 기판에 제작되므로, 활동 전위증폭, 증폭된 신호 처리용 및 원격 생체 신호 전달 회로와의 집적화를 실현할 수 있다는 장점을 갖고 있다 [6][7]. 이러한 반도체 전극은 대부분 중추 신경에 적용하도록 고안된 depth-probe type으로, 척추 동물의 중추 신경에서 성공적으로 단위 유닛 신호 기록을 수행했다 [8]. 본 연구에서는 미시간 대학에서 제작된 depth-probe type 반도체 미세전극을 무척추 동물인 aplysia와 cray fish 및 척추 동물 rat의 신경 구조에 적용하여 자발적인 활동전위 신호를 기록하고 측정 데이터를 바탕으로 기록 환경에 따른 신호 대 잡음 특성의 변화를 분석하였다.

II. 반도체 미세전극

신경 신호 측정 실험에서 사용한 반도체 미세전극은 그림1(a)와 같은 depth-probe type 구조로서 신경 조직에 삽입하기 쉽도록 끝이 뾰족하게 마이크로 머시닝되었다. 그림 1(b)는 이 전극의 단면이다. 이 전극의 패턴 및 두께는 deep boron diffusion에 의해 결정된다. Ethylenediamine-pyrocatechol-water (EDP)는 deep boron diffusion 영역의 경계선에서 식각을 멈추므로 boron diffusion으로 패턴을 형성하면 웨이퍼를 EDP에 담궈 원하는 패턴의 전극만을 떼어낼 수 있고 boron diffusion의 온도나 시간에 의해 전극의 두께를 조절할 수 있다 [7]. 이 전극 사이트에 사용된 금속은 이리듐으로 charge capacity가 뛰어나 특히 자극용 전극으로 사용할 때 유리하다. 이 전극의 사이트 크기는 75 μ m²이고 1kHz에서 2-3M Ω 의 임피던스를 갖는다. 미시간 대

학에서는 이 반도체 미세 전극을 이용하여 장시간 동안 생체액에서 안정된 임피던스로 척추동물의 신경 신호를 성공적으로 기록하였다 [8].

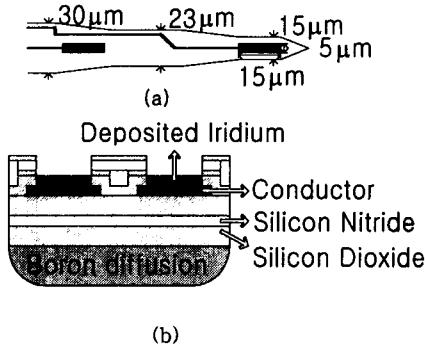


그림 1 (a) 전극을 위해서 바라본 그림
(b) 전극의 단면

III. 동물 실험

A. Aplysia Abdominal Ganglia로부터의 신경 신호 기록

Aplysia의 abdominal ganglia는 직경 100µm 내외의 말초 신경 뉴런들의 세포체의 집합체이다. 0.8M KCl로 마취 한 aplysia를 해부한 후, 내장 기관이 마르지 않도록 체액과 같은 조성의 인공 바닷물을 공급하며 abdominal ganglia에서의 신경 신호를 측정했다. 반도체 전극은 마이크로 포지셔너에 부착하여 전극의 위치를 미세하게 조정하며 ganglia에 삽입하였다. 전극이 위치한 ganglia주위의 체액을 제거하여 전극을 전기적으로 고립시킬 때 진폭이 더 큰 신호들을 얻었다. 그림 2(a)는 ganglia에서 얻은 자발적인 활동 전위이다. 그림에서 화살표가 가리키는 피크들은 신호 크기와 파형을 비교했을 때 동일한 단일 유닛으로 판단되는 신호들이다.

B. Cray Fish Medial Giant Nerve로부터의 신경 신호 기록

Cray Fish의 Medial Giant Nerve는 말초신경의 감각뉴런 및 운동뉴런들의 axon 다발로서, 그 직경은 약 200-450µm 이다. Cray fish는 냉동실에 약 1분간 두어 마취를 시킨 후 해부하여 nerve를 둘러싸고 있는 connective tissue들을 제거하고 앞에서 사용하였던 반도체 전극을 nerve 다발에 삽입하였다. 가는 Nerve fiber구조는 넓고 깊게 구상으로 분포하는 ganglia보다 삽입할 때 더 많은 주의가 필요하고 깊게 삽입하기 힘들어 전극과 axon사이의 밀착이 이루어지지 않았다. 그림2(b)는 반도체 전극으로 기록한 medial giant nerve에서의 단일 유닛 신호이다. Medial nerve에서 측정한 신호들은 ganglia에서 얻은 신호들에 비해 평균적으로 6dB이상 작은 진폭을 보인다. 그 이유는 depth-probe type이 구조상 가는 fiber구조에는 밀착하기 힘들어

뉴런과 전극사이의 거리가 멀어서 신호 감쇄가 크기 때문으로 예상할 수 있다.

C. Rat Saphenous Nerve로부터의 신경 신호 기록
Rat의 saphenous nerve는 말초의 감각 신경 다발로 각 axon의 직경은 수십 µm 이다. Phenobarbital로 마취한 rat.으로부터 허벅다리 부분을 떼어내어 연결 조직들을 제거한 후 saphenous nerve에 전극을 삽입하였다. Rat의 saphenous nerve는 cray fish의 giant nerve보다도 가는 fiber로 전극을 삽입할 때 전극이 미끄러지거나 휘는 등의 어려움이 있었으며, 뉴런과의 밀착정도는 더욱 나빴다. 그림 2(c)는 rat의 saphenous nerve에서 얻은 자발적인 신호이다.

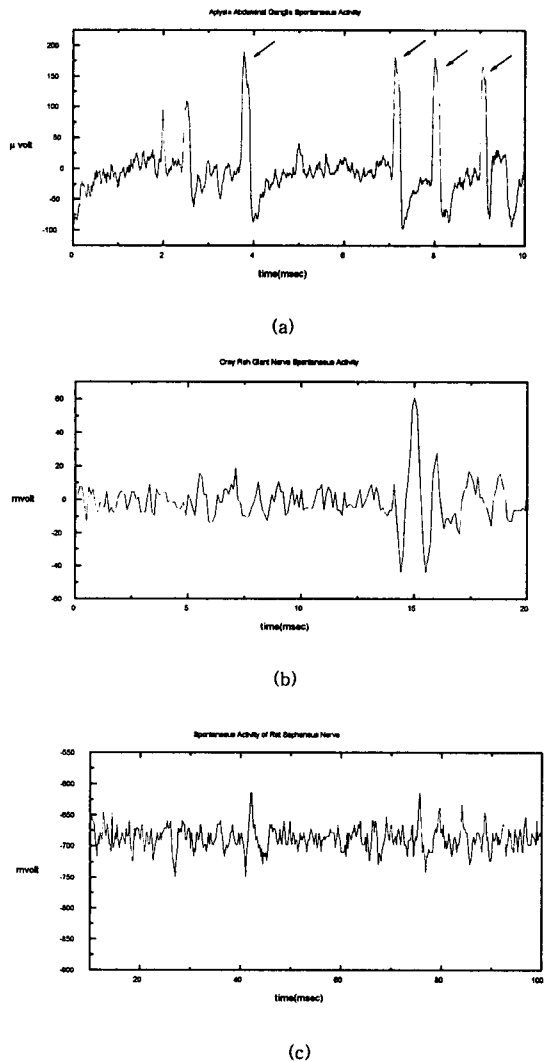


그림 2 (a)반도체 전극으로 기록한 aplysia abdominal ganglia에서의 얻은 자발적인 활동 전위 (b) rat saphenous nerve에서 얻은 자발적인 활동 전위(c) cray fish giant medial nerve에서의 자발적인 활동 전위

IV. 결과 분석

Depth-probe type 전극을 aplysia의 abdominal ganglia에 적용했을 때 더 큰 진폭과 높은 신호 대 잡음비를 갖는 신호를 얻었다. 이는 두 동물의 신경구조와 전극사이의 환경 조건이 서로 다르기 때문으로 추정된다. 따라서 신경구조와 전극 사이의 전기적 등가 모델을 도입하여 전극과 뉴런 사이의 거리 및 전극의 뉴런에 대한 상대적 크기 등 두 가지 환경 조건에 따라 등가 모델의 파라미터를 바꾸며 신호의 특성을 신호 대 잡음비 측면에서 살펴보았다.

A. 임피던스 등가모델

세포막과 체액, 전극 사이의 임피던스 등가모델을 단순화하기 위해 신경 세포를 반경 a일 완전구이고, 세포막 전체의 전류밀도는 균일하며, 체액의 전기적 성질은 균일하다는 가정을 했다.

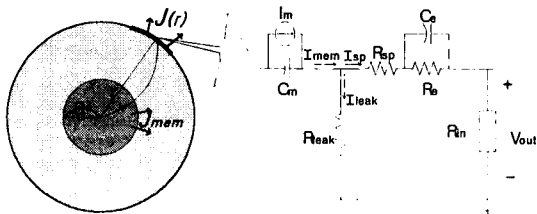


그림 3 전극과 뉴런 사이의 전기적 등가모델

그림3(a)에서와 같이 신경 세포막을 통해 전류밀도 J_{mem} 이 균일하게 흐른다면, 전하량 보존의 법칙에 의해 거리 r에서의 전류밀도는 다음과 같다.

$$J(r) = \frac{a^2}{r^2} J_{mem} \quad \text{식(1)}$$

거리가 r인 지점에서 면적이 A인 체액 면을 통해 흐르는 전류 I_{sp} 와 A 외로 누설되는 전류 I_{leak} 는 식(4)과 같이 나타낼 수 있다.

$$I_{sp}(r) = A \cdot J(r) = \frac{A}{4\pi r^2} I_{mem} \quad \text{식(2)}$$

$$I_{leak} = I_{mem} - I_{sp} = \left(1 - \frac{A}{4\pi r^2}\right) I_{mem} \quad \text{식(3)}$$

이것은 저항값 비가 식(4),(5)과 같은 인 두 저항 R_{sp} 와 R_{leak} 이 병렬로 연결되어있을 때 I_{mem} 이 나누어 흐르는 것과 같다.

$$R_{sp} = k \left(1 - \frac{A}{4\pi r^2}\right) \quad \text{식(4)}$$

$$R_{leak} = k \frac{A}{4\pi r^2} \quad \text{식(5)}$$

따라서 거리 r에 A인 전극 사이트가 놓이면 세포와 전극 사이의 전체 등가 회로는 그림3(b)이다. 그

림에서 전류원과 커패시터는 Hodgkin-Huxley 모델에 의한 세포막의 전기적 등가 모델이다. R_e 와 C_e 는 체액과 전극간의 등가 임피던스이며, R_{in} 은 증폭기의 입력저항이다.

B. 신경신호의 잡음 특성 시뮬레이션

① 세포막과 전극 사이의 거리에 대한 SNR 변화

대부분의 신경조직은 3차원적인 matrix를 이루고 있으므로, 신호 측정 대상 뉴런 주위에는 다른 원치 않는 신호를 내는 뉴런들이 분포하여 단일 유닛 측정을 어렵게 한다. 이러한 상황을 시뮬레이션하기 위해 그림5(a)와 같이 다중 유닛의 신경구조를 1차원적인 배열로 단순화하였다. 각 유닛은 독립된 신경 세포 한 개씩을 나타낸다. 따라서 각 유닛은 각각의 독립된 전류원과 커패시터로 모델링되고, 유닛마다 전극까지의 거리가 다르므로, 서로 다른 스프레딩 저항과 누설 저항으로 전극과 연결되어있다. 이 가상 신경구조의 전기적 등가모델은 그림이다. 뉴런과 전극 사이의 거리 및 뉴런 직경의 변화에 따른 신경 신호의 잡음 특성을 관찰하기 위해, 거리나 면적이 변할 때마다 모든 누설저항과 스프레딩 저항값을 계산하여 위 등가회로에 적용하고 spice를 이용하여 회로 시뮬레이션을 했다. 그리고 등가 회로의 모든 저항에 열잡음 전류원 $\sqrt{4kTR\Delta f}$ 을 병렬로 연결하여 출력단에서 등가 노이즈 파워를 계산후, 각 뉴런 크기와 거리에 대하여 위의 두 출력전압을 얻어 신호 대 잡음비를 계산하였다.

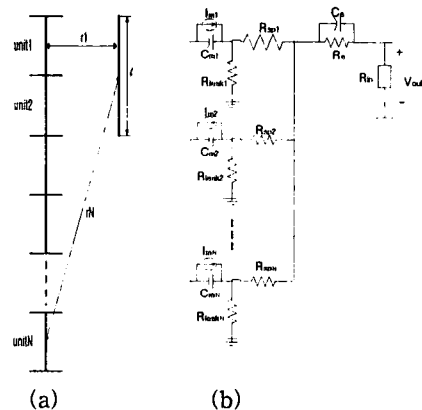


그림 4 (a)신경 구조의 일차원적 단순화 (b)신경 구조(a)의 전기적 등가모델

그림5는 세포 직경이 100 μm , 20 μm , 10 μm 일 때의 거리 변화에 대한 신호 대 잡음비를 계산한 결과이다. 세 경우 모두 거리가 멀어질수록 SNR이 감소하는 추이를 보인다. 전극의 뉴런으로부터의 거리가 같더라도, 뉴런의 직경이 다르다면, 거리 직경비가 달라지므로, 단위 세포가 큰 신경 조직에서는 거리 대 직경비가 작은 부분의 SNR값을 갖

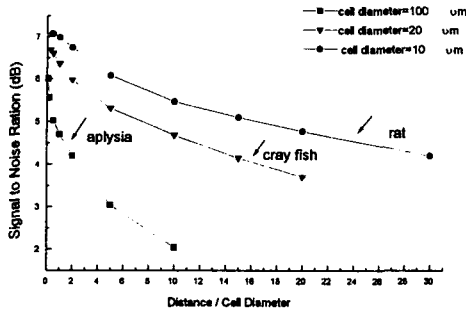


그림 5 세포체 직경이 각 100 μ m(aplysia), 20 μ m(cray fish), 10 μ m(rat) 경우, 측정 거리에 대한 SNR

고, 단위 세포가 작은 신경 조직에서는 거리 대 직경비가 큰 부분의 SNR값을 갖게 된다.

② 동물 실험 결과와 비교

우리 실험에 사용된 반도체 미세 전극은 사이트 크기가 5 μ m \times 15 μ m이다. Aplysia abdominal ganglia의 뉴런은 세포체의 직경이 약 100 μ m이고 cray fish medial giant nerve의 axon은 직경은 약 20 μ m, rat의 saphenous nerve의 axon 직경은 약 10 μ m이다. 뉴런과 전극 사이의 실제 거리는 기록 환경에서 측정하기 어렵지만 연결 조직의 두께와 전극의 삽입정도 등을 고려하였을 때 각각 거리 대 직경비를 0.1, 15, 30 정도로 추정할 수 있다. ①에서 얻은 그래프에서 이에 해당하는 SNR값을 구해보면 각각 약 8 dB, 4 dB, 4 dB정도이고, 실제 측정된 SNR은 10 dB, 6 dB, 6 dB이다. 측정치와 이론치 사이의 오차는 전극과 뉴런 사이 거리의 추정값 사용, 시플레이션에 사용한 신경 신호와 실제 신경 신호와의 차이, 1/f, shot noise 등 열잡음 등의 잡음원을 고려하지 않은 점, 등가 모델에서 각 파라미터의 추정값 사용 등에서 기인하는 것으로 짐작된다.

V. 결론

반도체 미세전극을 이용하여 무척추 동물 신경의 단일 유닛 활동 전위의 성공적인 측정이 가능하다. Depth-probe type의 반도체 전극은 특히 세포체가 모인 신경 구조에서는 뉴런과의 밀착이 가능하여 높은 신호 대 잡음비의 신호 측정이 가능하며, 뉴런에 대한 전극의 상대적 면적이 작아 단일 유닛에 대한 선별도가 높다. 본 연구는 높은 수율과 재현성 및 능동 회로와의 집적화가 가능한 반도체 전극을 이용하여 무척추 동물 신경 신호 기록에 성공함으로써 세포막 외 신경 신호 기록에서의 반도체 전극 사용의 가능성 및 점진적 연구 필요성을 보인다.

Acknowledgement

The authors wish to thank Center for Neural Communication Technology which is funded by the NIH National Center for Research Resources, University of Michigan for supplying the semiconductor microelectrode array. The aplysia animal experiments are due to Dr. B. K. Kang. The assistances of M. J. Kim, T. H. Yoon and K. H. Kim in animal testing and instrumentation are also very much appreciated.

참고문헌

[1] M. Saburi, M. Yamada, and Y. Shigematsu, "A Multimicroelectrode System Composed of Independent Glass Micropipettes with an Eccentric Tip Structure for Simultaneous Intracellular Recording", *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 39, pp.656-658, 1992

[2] E. V. Goodall and K. W. Horch, "Separation of Action Potentials in Multiunit Intrafascicular Recordings", *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 39, pp.289-295, 1992

[3] S. N. Gozani and John P. Miller "Optimal Discrimination and Classification of Neuronal Action Potential Waveforms from Multiunit, Multichannel Recordings Using Software-Based Linear Filters", *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 41, pp.358-372, 1994

[4] K. Mirfakhraei and K. Horch, "Classification of Action Potentials in Multiunit Intrafascicular Recordings Using Neural Network Pattern-Recognition techniques", *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 41, pp.89-91, 1994

[5] W. G. Regehr, J. Pine, and D. B. Rutledge, "A Long-Term In Vitro Silicon-Based Microelectrode-Neuron Connection", *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 35, pp.1023-1032, 1988

[6] K. Najafi, K. D. Wise, and T. Mochizuki, "A High-Yield IC-Compatible Multichannel Recording Array", *IEEE Trans. Electron Devices*, vol. 32, pp.1206-1211, 1985

[7] K. Najafi, J. Ji, and K. D. Wise, "Scaling Limitations of Silicon Multichannel Recording Probes", *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 37, pp.1-10, 1990

[8] K. L. Drake, K. D. Wise, J. Farraye, D. J. Anderson, and S. L. Bement, "Performance of Planar Multisite Microprobes in Recording Extracellular Single-Unit Intracortical Activity", *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 35, pp.719-732, 1988