光电器件

DOI：10.16818/j.issn1001－5868.2021.04.006

应用于光遗传的双光通道32记录点植入式光电极

荆彦锋[1,2]，李亚民[2,3]，杨晓伟[2]，裴为华[2,3]*

（1. 长治医学院 物理教研室，山西 长治 046000；2. 中国科学院半导体研究所集成光电子学国家重点实验室，北京 100083；3. 中国科学院大学，北京 100083）

摘　要： 光遗传（Optogenetics）结合光学和遗传学手段，可以精确地控制特定神经元的活动，为神经科学的研究提供了强有力的手段。光电极在光遗传研究中起着关键的作用，它可以将光导入到动物体内，并通过电极记录神经元在光调控下的活动。为了减小体积、增加功能，依托高密度集成硅微电极和裸光纤，设计并制备了一种植入部分横截面尺寸不超过0.1 mm^2、包含2个平行的给光通道和32个记录点的光电极器件。与传统的单光通道电极相比，两个通道可以更灵活地配置不同的激发波长，对不同位点的神经元同时进行激活或抑制。32通道的硅电极与传统的金属丝电极相比，集成度更高，能够以更高的空间分辨率记录神经元在激发前后的活动情况。

关键词： 光遗传；光电极；硅微电极；光纤；微电子机械系统

中图分类号： O441.3　**文章编号：** 1001－5868(2021)04－0479－04

Implantable Optrode with Dual Optical Channel and 32 Recording Sites for Optogenetics

JING Yanfeng[1,2], LI Yamin[2,3], YANG Xiaowei[2], PEI Weihua[2,3]

(1. Department of Physics, Changzhi Medical College, Changzhi 046000, CHN; 2. State Key Laboratory of Integrated Optoelectronics, Institute of Semiconductors of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100083, CHN; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100083, CHN)

Abstract: Combining optical and genetic methods, optogenetics can precisely control the activity of specific neurons, which provides a powerful means for neuroscience research. The optrode can introduce light into animals and record the activity of neurons under the control of light through the electrode. In order to reduce its volume and improve its function, a kind of implant optrode with the cross-section size less than 0.1 mm^2 was designed and fabricated based on high-density integrated silicon microelectrode and bare optical fiber. Compared with the traditional single-channel electrode, the designed optrode is composed of two optical channel and 32 recording sites. The two channels can configure different excitation wavelengths more flexibly to activate or inhibit neurons at different sites at the same time. Compared with the traditional wire electrode, the 32-channel silicon electrode has higher integration and higher spatial resolution to record the activity of neurons before and after stimulation.

Key words: optogenetics; optrode; silicon microelectrode; optical fiber; MEMS

收稿日期：2021－03－23.

基金项目：国家重点研发计划项目（2017YFA0205903，2017YFA0701100）；国家自然科学基金项目（61634006，62071447）；中国科学院战略性先导科技专项资助项目（XDB32030100，XDB32040200）.

* **通信作者：**裴为华

0 引言

光遗传学利用遗传学的方法[1]，根据不同神经元的DNA特征，将指定类型的神经元上原本的非光敏的离子通道改造成光敏离子通道。这样原本对光不敏感、需要用电刺激的神经元可以通过光照进行刺激，根据光遗传所改造神经通道类型的不同，刺激后神经元可通过不同波长的光产生抑制和激活两种反应[2-3]。这样，一方面，可以很容易地消除光刺激对电记录的干扰，从而实现刺激和记录的同步进行。另一方面，由于光遗传的改造是针对特定神经进行的，只有经过改造的神经元才会被光激活或抑制。这种调控神经元活动的方法具有操作简单、非接触、时空分辨率高、可定量重复等优势，已被初步用于神经可塑性、神经信息整合、神经网络结构、神经病理学及动物行为学等神经科学的研究中[4]。根据光遗传学的原理和实验动物的类型、实验靶点在组织中的分布特点以及实验目的，需要有专门设计的器件来完成这些操作，这些器件就是光电极器件。

最早的光遗传刺激器件就是一根光纤，一端植入需要刺激的部位，一端连接在对应波长的光源上，通过对光源的控制来调整刺激的时间和强度，这种仅有光通道的刺激缺乏记录反馈。很快就有研究机构在传统的金属丝记录电极上增加一根光纤制备成光电极，这样，通过记录光刺激前后神经元的活动情况，可以实时反馈和评估刺激的效果。随着光遗传技术的推广，光电极器件也发展出一系列适合不同组织和应用需求的形式。主要可以分为植入式波导和植入式微型光源两大类。以波导的形式将光通道集成在电极上或将电极制备在光波导上进行光电极研究的有美国的密西根大学[5]、日本的Euisik Yoon[6]、Buzsaki[7]，以及中科院半导体所等多个团队[8-9]。波导类光电极是无源器件，使用时需要外加光源和光纤，把光耦合到波导中。植入式微型光源光电极是指将微型发光二极管(Micro Light-emitting Diode，μLED)或激光二极管(Laser Diode，LD)等小尺寸光源集成在植入式电极的印制电路板(Printed Circuit Board，PCB)尾端上，或通过微电子机械加工(MEMS)工艺直接将μLED和电极制备在同一个衬底上制成的一种集成度较高的有源光电极器件，光激发直接由体外电驱动产生，光直接照射在体内[10]。Wu等[11]利用硅基片上的GaN外延片，将蓝光μLED与电极单片集成；Reddy等[12]将μLED芯片从衬底上剥离，转移到柔性电极上，并与温度传感器、光探测等其他器件集成在一起，做成柔性的多功能光电极器件[13]。尽管这些光电极器件集成度高、尺寸小，对于动物试验记录，尤其是需要佩戴在活体动物身上的慢性记录来说具有一定的优势[14-15]，但这些基于微加工的器件加工周期长、制备工艺复杂，实际的动物实验场景对光电极需求也不尽相同，往往根据特殊应用场景设计和制备的电极的使用数量只有个位数，这使得微加工低成本的优势无法体现。将裸光纤改造的波导与硅电极阵列集成，制备成多通道的光电极器件，可根据试验动物的大小、植入部位以及刺激与记录的实际需求灵活地选择适当长短和数量的光纤，结合记录需求，选择适当记录通道数和记录点排布的硅基电极，通过我们开发的组装工具和设计的装配板，快速制备出满足应用需求的光电极器件[16]。本文通过一组双光纤、32记录点光电极的设计和制备，介绍了一种光纤与硅基多通道微电极相结合的多通道光电极阵列器件的制备方法。与只包含一个光通道的光电极相比，包含两个光通道的光电极可以同时给两个神经元集群施加不同波长的光，其对神经环路的调控功能将更为丰富。

1 器件设计和制备

硅基多通道微电极是一种利用MEMS技术在硅薄膜上加工的植入式神经记录器件，为了减小植入损伤，植入部分的硅薄膜，通常称之为硅针，厚度一般只有数十微米，宽度根据分布在其上的记录点数量不同而不同，一般在100 μm左右。记录电极密排在一根或数根硅针上。本文所采用的硅基微电极是一个由2个针体组成、每个针体上各有16个通道的32通道电极。硅基电极的实物如图1所示。可植入部分的针体长度为10 mm，宽度为130 μm，针体厚度为30 μm，两个针体之间的中心距为300 μm，针体上的电极记录点大小为30 μm，每个针体上的记录点与记录点之间的中心距为100 μm。

基于硅电极的光纤电极的整体设计思路是将光纤通过适当的方式与硅基多通道电极组装在一起，尽量提高植入部分的集成度，减小植入损伤；同时集成后的器件要有适合多通道电连接接口及光耦合端口，以方便光遗传实验时的光导入和电记录时将电极与多通道放大器相连。为此我们设计了一个专用的PCB板，硅基多通道微电极可以通过金丝压焊的

方式与 PCB 板的一端连接，继而通过与焊接在 PCB 板另一端的高密度连接器 Omnetics 接口与多通道放大器进行电连接。为了减小光纤植入部分的体积，选用剥去涂覆保护层、外径为 220 μm 的多模光纤作为光电极的光通道，利用精度为微米量级的三维定位调节支架，将光纤平行放置在硅电极上，并通过调节支架，如图 2 所示，精准调节光纤端面与硅基微电极最上面一个记录点之间的相对位置。为了使光纤能够紧贴硅电极，减小植入损伤，在设计 PCB 和硅电极时，特意将压焊区域设置在电极针体外侧，内侧空间留给光纤通过。光纤与压焊在定制 PCB 板上的硅电极通过定位支架调整好相对位置后，利用紫外胶将光纤临时固定在 PCB 板上。光纤的另一端连接在一个直径为 1 mm 的陶瓷插芯上，通过与陶瓷插芯配合的法兰盘，可以将光纤耦合到光源上。为了使光纤插拔与电插头插拔互不影响，在 PCB 板上设置了不同高度来安放光接口和电接口。

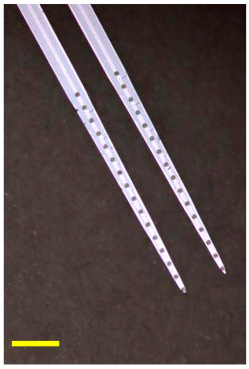


图 1　32 通道硅电极(标尺长度为 200 μm)

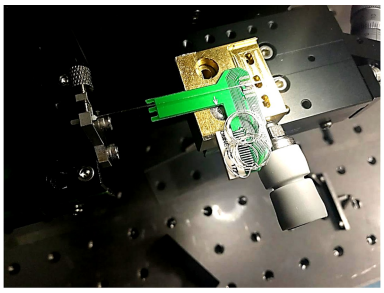
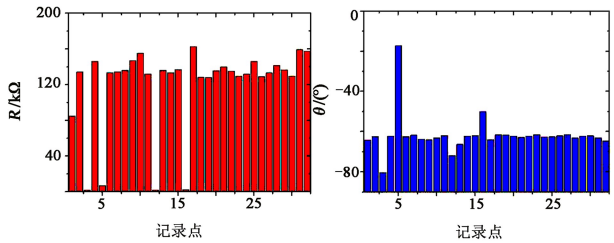


图 2　三维位移台

为了能在相距不过 250 μm 的距离上组装两根光纤，同时让光纤紧贴硅电极，减小植入部分的横截面，植入部分的两根光纤与硅基微电极针体平行且尽量重合放置。在光纤后端，为方便将陶瓷插芯外接陶瓷法兰与外部光源连接，中心距仅为 250 μm 的光纤要分别弯曲以留出耦合插拔的空间，为了尽量减小弯曲损耗，在定制 PCB 板上设置了加长的尾纤加固部分。因此双通道光纤-硅光电极器件与单个光电极器件相比，长度有所增加。

2　测试结果和讨论

为了评估光电极的特性，对光电极进行了离体阻抗测试和光通道耦合测试。阻抗测试仪器采用上海辰华仪器生产的电化学工作站，在 0.1 M 的磷酸缓冲溶液中搭建三电极体系，以银/氯化银电极作为参考电极，边长为 5 mm 的铂电极作为对电极，测试信号为峰值幅度为 5 mV 的正弦交流信号，频率设置在 1 kHz。32 通道电极在 1 kHz 附近的交流阻抗和相位分布如图 3 所示，由于电极记录点上修饰了 Ir/IrO_x，32 通道电极的平均阻抗在 130 kΩ，平均相位约为 65°。同时对 3 个光电极的 96 个记录点的阻抗进行了统计，阻抗分布在 400 kΩ 以下的记录点为 69 个，600 kΩ 以下的为 94 个，只有 2 个在 1.2 MΩ 以上。一般认为阻抗在 1 MΩ 以下能很好地记录神经元的活动，这个测试结果反应了光电极的记录部分具有良好的阻抗和阻抗一致性。



(a)　阻抗分布　　(b)　相位分布

图 3　32 通道电极记录点的阻抗和相位分布图

分别选用波长为 470 nm 的蓝光和波长为 650 nm 的红光半导体激光器作为光源。光源输出的光通过一根直径为 250 μm 的多模光纤跳线连接到光电极的陶瓷插芯端，跳线与光纤电极的陶瓷插芯通过一个匹配的法兰同轴自对准，通过测量跳线端输出光功率与光电极输出端输出光功率的比值，可以得到光电极与以跳线为输出的光源之间的耦合效率。为了测量陶瓷插芯或法兰器件之间的不同轴引起的耦合波动，测试耦合效率时，在跳线沿轴为 0°时，分别转动 90°，180°和 270°各做一次测试。图 4 展示了双光纤通道同时耦合红光及绿光时的场景。耦合效率测试得到的结果表明，从植入端输出的红光和蓝光的平均光功率分别为从光纤跳线输出平均功率的 92%和 90%，旋转引起的耦合效率波动不超过 1%。说明陶瓷插芯配合陶瓷法兰耦合方案具有

很好的耦合效率。这样,使用一台额定输出功率为10 W的半导体激光器,可以保证导入体内的光功率完全满足光遗传的要求。稳定的耦合效率使得使用者通过测量跳线端的功率,就可以准确计算输入体内的光功率,为评估光照范围和防止热损伤提供依据。

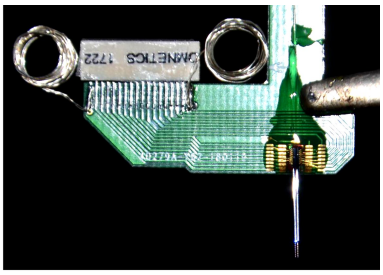


图4 双光通道同时耦合蓝红光时的光电极器件

3 结论

基于多通道硅电极和带陶瓷插芯的裸光纤两种分立器件,利用金丝引线键合的小尺寸封装工艺,结合高密度的电互联接口和小尺寸的陶瓷插芯光耦合器件,设计并实现了一种由32通道硅记录电极和2个光纤组装成的光电极器件。利用这种设计方法,可以根据光遗传的需要,灵活选用硅电极或所需的光纤数量,快速制备高质量且满足应用需求的光电极器件。实验结果表明,这种光电极在光遗传实验中具有实用性,为脑科学研究提供了一种便捷的光遗传工具。

参考文献:

[1] Alt M T, Fiedler E, Rudmann L, et al. Let there be light-optoprobes for neural implants[J]. Proc. of the IEEE, 2017, 105(1): 101-138.

[2] Cao Hung, Ling Gu, Mohanty S K, et al. An integrated MULED optrode for optogenetic stimulation and electrical recording[J]. IEEE Trans. Biomed. Engin., 2013, 60(1): 225-229.

[3] Park S I, Shin G, McCall J G, et al. Stretchable multichannel antennas in soft wireless optoelectronic implants for optogenetics[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2016, 113(50): E8169-E8177.

[4] Ji Z G, Wang H. Optogenetic control of astrocytes: is it possible to treat astrocyte-related epilepsy? [J]. Brain Res. Bull., 2015, 110: 20-25.

[5] Wang J, Wagner F, Borton D A, et al. Integrated device for combined optical neuromodulation and electrical recording for chronic in vivo applications[J]. J. of Neural Engineering, 2012, 9(1): 14.

[6] Cho I J, Baac H W, Yoon E. A 16-site neural probe integrated with a waveguide for optical stimulation[C]// Technical Digest of 23rd IEEE Inter. Conf. on Micro Electro Mechanical Systems, 2010: 995-998.

[7] Royer S, Zemelman B V, Barbic M, et al. Multi-array silicon probes with integrated optical fibers: light-assisted perturbation and recording of local neural circuits in the behaving animal[J]. European J. of Neuroscience, 2010, 31(12): 2279-2291.

[8] Chen Sanyuan, Pei Weihua, Gui Qiang, et al. A fiber-based implantable multi-optrode array with contiguous optical and electrical sites[J]. J. of Neural Engineering, 2013, 10(4): 046020.

[9] Wang Fei, Guo Dongmei, Xie Yuxing, et al. An implantable optrode composed of fiber and flexible thin-film electrode[J]. Optoelectron. Lett., 2018, 14(4): 271-275.

[10] Kim K, English D, McKenzie S, et al. GaN-on-Si MULED optoelectrodes for high-spatio temporal-accuracy optogenetics in freely behaving animals[C]// 2016 IEEE Inter. Electron Devices Meeting, New York, 2016.

[11] Wu F, Stark E, Ku P C, et al. Monolithically integrated MULEDs on silicon neural probes for high-resolution optogenetic studies in behaving animals[J]. Neuron, 2015, 88(6): 1136-1148.

[12] Reddy J W, Kimukin I, Stewart L T, et al. High density, double-sided, flexible optoelectronic neural probes with embedded MULEDs[J]. Frontiers in Neuroscience, 2019, 13: 745.

[13] Kim T I, McCall J G, Jung Y H, et al. Injectable, cellular-scale optoelectronics with applications for wireless optogenetics[J]. Science, 2013, 340(6129): 211-216.

[14] Jeon S, Kim J H, Lee H, et al. Multi-wavelength light emitting diode-based disposable optrode array for in vivo optogenetic modulation[J]. J. Biophotonics, 2019, 12(5): e201800343.

[15] Fekete Z, Pongracz A. Multifunctional soft implants to monitor and control neural activity in the central and peripheral nervous system: A review[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2017, 243: 1214-1223.

[16] Kampasi K, English D F, Seymour J, et al. Dual color optogenetic control of neural populations using low-noise, multishank optoelectrodes [J]. Microsystems & Nanoengineering, 2018, 4: 16.

作者简介:

荆彦锋(1974—),男,硕士,讲师,研究方向为医学物理学。