

Circuito de acondicionamiento CMOS para la monitorización de cultivos celulares

Alejandro Márquez¹, Nicolás Medrano¹, Belén Calvo¹, Alberto Yúfera²

¹ Grupo de Diseño Electrónico (GDE)

Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A)

Universidad de Zaragoza, Mariano Esquillor s/n, 50018, Zaragoza, Spain.

Tel. +34-976762707, e-mail: amarquez@unizar.es

² Instituto de Microelectrónica de Sevilla (IMSE-CNM)

Resumen

Este trabajo presenta la etapa de lectura de un *front-end* analógico para la monitorización del crecimiento de un cultivo celular mediante la medida de su impedancia. Basado en tecnología CMOS, su consumo es de $4.8 \mu\text{W}$, proporcionando errores en recuperación del 1.7 % en magnitud y 3.7 % en fase.

Impedancia de un cultivo celular

El desarrollo de aplicaciones relacionadas con la biotecnología ha experimentado en los últimos años un gran impulso debido al creciente interés en diferentes campos como medicina, alimentación o medioambiente, entre otros. Una técnica empleada habitualmente es el cultivo celular, en el que una muestra biológica es sometida a las condiciones ambientales adecuadas para su desarrollo y posterior estudio, lo que requiere una precisa monitorización de su velocidad de crecimiento que puede obtenerse a partir de la medida de su impedancia con gran precisión sin alterar sus características, a diferencia de otras técnicas basadas en la aplicación de marcadores (*targets*).

La medida de bioimpedancia se fundamenta en la modelización de una muestra biológica como una impedancia Z (Figura 1), en cuyo valor quedan representados todos los elementos implicados en ese cultivo. Para su caracterización, se aplica una tensión o corriente de frecuencia variable en el rango de interés (aquel en el que la impedancia característica cambia en función del parámetro bajo seguimiento) y de muy bajo valor eficaz, de forma que no altere ni la integridad física ni las propiedades del cultivo. La Figura 2 muestra el modelo eléctrico obtenido para el cultivo celular [1], donde R_{gap} está relacionado con los electrodos de excitación y lectura de la señal, R_s con la conductividad de la disolución que soporta el cultivo y R_{ct} y C_l son parámetros celulares. El factor de llenado (*fill factor*, ff) está relacionado con la cantidad de células que hay en la placa de medición,

desde la ausencia de muestra ($ff = 0$) hasta que el cultivo ha crecido ($ff = 1$).

En este trabajo se presenta la etapa de lectura de señal de un front-end analógico (*analog front-end*, AFE) desarrollado en tecnología CMOS para su aplicación en la monitorización de cultivos celulares en sistemas portátiles y multimuestra. El sistema desarrollado (Figura 3, recuadro rojo), procesa la señal diferencial V_z procedente del cultivo, generada por la corriente i_o proporcionada por la etapa de excitación diferencial g_m al pasar por la muestra bajo estudio. La etapa desarrollada forma parte de un sistema de detección sensible a fase (*phase sensitive detection*, PSD), y consta de un amplificador de instrumentación (IA, Figura 3) y un sistema de rectificación síncrona (SW, Figura 3) de la señal de salida diferencial, controlado por sendas señales de control (V_I , en fase con la señal de excitación V_{IN} y V_Q , en cuadratura). Las señales de salida del sistema son posteriormente demoduladas por dos filtros de paso bajo con entrada diferencial y salida única, que proporcionan las tensiones $\langle V_{OX} \rangle$ y $\langle V_{OY} \rangle$ a partir de las cuales se recuperan la magnitud y la fase de la impedancia del cultivo [2].

El amplificador de instrumentación está basado en un amplificador operacional de transconductancia (OTA) de ganancia capacitiva de 40 dB, con un consumo de $4.8 \mu\text{W}$ para un ancho de banda de 100 kHz. La rectificación síncrona se realiza mediante puertas de transmisión CMOS de dimensiones mínimas en la tecnología empleada (UMC 1.8 V y 180 nm), lo que reduce las capacidades parásitas y el área de silicio ocupada.

Las Figuras 4a y 4b muestran los resultados de simulación de la medida de impedancia para el cultivo celular modelado en la Figura 2 (en magnitud y fase), para factores de llenado entre 0.1 y 0.9, empleando el módulo propuesto. Para determinar la frecuencia de excitación en la que la sensibilidad del sistema de medida en la monitorización del crecimiento del cultivo es máxima, se ha realizado un barrido en la frecuencia

de excitación entre 100 Hz y 100 kHz. En este caso la máxima sensibilidad se encuentra para frecuencias alrededor de 20 kHz. La Figura 4c muestra el error relativo obtenido en la recuperación de la magnitud y fase de la impedancia del cultivo celular, para factores de llenado mínimo y máximo en el rango de 3 kHz a 100 kHz, comparado con los valores experimentales obtenidos empleando un analizador de espectros HP8591A.

Conclusiones

En este trabajo se presenta una etapa de lectura diferencial basada en tecnología CMOS para monitorizar el crecimiento de un cultivo celular. Comparado con los resultados experimentales obtenidos con un instrumento analizador de espectros HP8591A, las simulaciones proporcionan resultados con un error relativo máximo inferior al 1.7% en recuperación de la magnitud de la impedancia, e inferior al 3.7% para la fase, con un consumo de potencia de 4.8 μ W y un área activa de 0.0208 mm², de la que el 98 % (0.0204 mm²) es ocupada por los condensadores C_1 , C_2 y C_L , que conforman el IA. Las características de la etapa propuesta permiten el diseño de dispositivos portátiles y escalables para el desarrollo de dispositivos Lab-on-a-Chip. Además, la programabilidad del rango de frecuencia de trabajo del sistema permite su aplicación en la medida de impedancias en otros ámbitos de la biotecnología como detección de bacterias o control de calidad de alimentos, o en otros como la caracterización de materiales (microestructuras o materiales dieléctricos), entre otros.

REFERENCIAS

- [1]. PÉREZ, P., HUERTAS, G., MALDONADO-JACOBI, A., MARTÍN, M., SERRANO, J.A., OLMO, A., DAZA, P., YÚFERA, A. Sensing Cell-Culture Assays with Low-Cost Circuitry. *Scientific Reports*. 2018, 8, 8841-8851. Available from: doi:10.1038/s41598-018-27295-3.
- [2]. GARCÍA-ROMEO, D., VALERO, M.R., MEDRANO, N., CALVO, B., CELMA, S. A High Performance LIA-Based Interface for Battery Powered Sensing Devices. *Sensors*. 2015, 15(10), 25260-25276. Available from: doi:10.3390/s151025260.

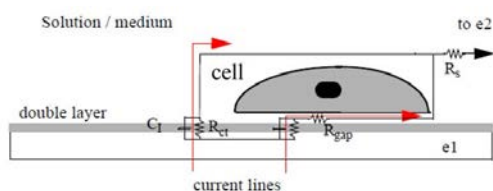


Figura 1. Modelo genérico de bioimpedancia [1].

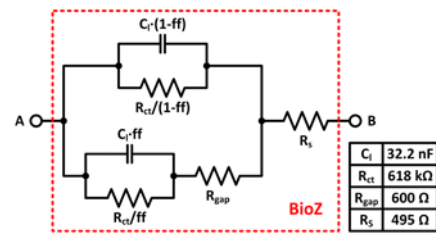


Figura 2. Modelo eléctrico del cultivo celular [1].

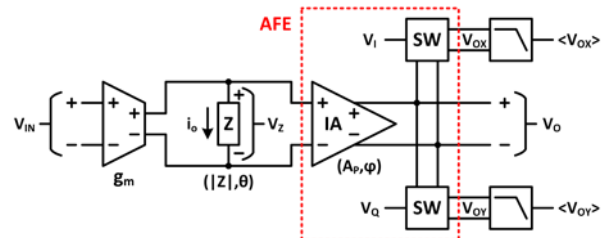


Figura 3. Sistema de lectura en modo diferencial.

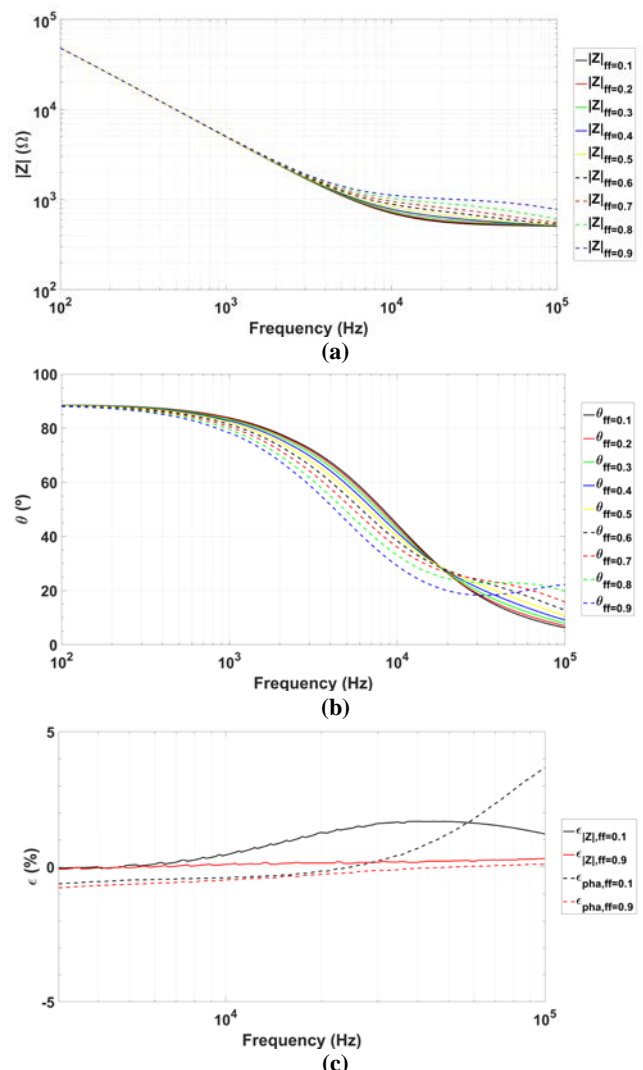


Figura 4. Valores de bioimpedancia recuperados por simulación en magnitud (a) y fase (b). Errores relativos máximos obtenidos en el rango de 3 kHz - 100 kHz (c).