



Doctoral Thesis

Towards monolithic CMOS cell-based biosensors

Author(s):

Franks, Wendy A.; Baltes, Henry

Publication Date:

2005

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005047536> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH No. 15990

Towards Monolithic CMOS Cell-based Biosensors

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH
for the degree of
DOCTOR OF NATURAL SCIENCES
presented by

Wendy A. Franks
M. Sc., University of Waterloo
Born September 4th, 1974
Citizen of Canada

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. A. Hierlemann, examiner
Prof. Dr. M. Textor, co-examiner
Prof. Dr. H. Baltes, co-examiner

2005

Copyright © 2004 by Wendy Franks, Physical Electronics Laboratory

ABSTRACT

This thesis reports on the design, characterization and integration of a cell-based biosensor system. At the heart of the system is a CMOS chip capable of stimulating and recording activity from electrogenic cells, such as heart muscle cells and neurons. The CMOS chip comprises an array of metal microelectrodes, as well as analog and digital circuitry. Cells are cultured on top of the CMOS-chip in direct contact with the array. The chip is packaged to protect the electrical connections from the liquid cell-culture environment and to form the cell-culture bath. This system finds a multitude of applications in not only chemical- and biological-toxin biosensing, but also in the fields of cardiology, drug development/pharmacology, and neuroscience.

Signal transduction is based upon an array of metal microelectrodes. Critical to the transducer design is a low electrode-electrolyte impedance. A model describing the physical processes contributing to the electrode-electrolyte interface impedance has been validated. This model was extended to: (1) quantify the effect of adhesion mediators typically used in such a system; (2) quantify the effect of incubation time; and (3) to evaluate a new nanostructured gold electrode material.

Post-processing is required for biocompatibility and chip stability. The electrodes of the CMOS chip, as received from the foundry, are aluminum, a neurotoxicant that easily corrodes in the presence of the electrolytic culture medium. A shifted-electrode design was therefore used to define the material, size and shape of the transducing electrodes, and to protect the underlying aluminum. Using this configuration, the chip circuitry was found to be stable for 200 days in vitro (DIV). Where necessary, the dendritically structured black platinum was electrochemically deposited on the bright platinum transducers to reduce the electrode impedance.

As an extension to the system, a technique for patterned cell adhesion, based on the selective molecular assembly patterning (SMAP) process was developed. In comparison to other patterning techniques, the SMAP process has several advantages: it is self-aligning according to the chip's heterogeneous surface composition, it is based on a simple dip-and-rinse process and it results in high-contrast

cell adhesion. Cell cultures of neonatal rat cardiomyocytes (NRC) and neural/glia cells were guided for up to 5 and 21 DIV respectively, at which point the experiments were terminated. Immunofluorescence staining of the NRCs showed that the engineered surfaces did not disrupt myofibrillogenesis, the formation of the muscle microstructure.

Finally, electrophysiological recordings were performed with organ (heart) and cell (cardiomyocyte and neural) cultures. Recordings from neonatal rat cardiomyocytes at 5 DIV had an amplitude of 1.8 mV and a duration of approximately 2.5 ms. Recordings from chicken neurons, made at 56 DIV, had an amplitude of 0.5 - 0.6 mV and a spike duration of 3 - 4 ms. This demonstrates system's biocompatibility and its ability to withstand the harsh culture environment.

ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Dissertation befasst sich mit der Entwicklung, Charakterisierung und Integration von zellbasierten Biosensorsystemen. Das Herzstück des Systems ist ein CMOS-Chip, der elektrogene Zellen wie z.B. Herzmuskelzellen und Neuronen stimuliert und ihre Aktivität aufzeichnet. Der CMOS-Chip besteht aus einer Anordnung von mehreren, nahe beieinander liegenden Metallmikroelektroden so wie analogen und digitalen Schaltungskomponenten. Die Zellen werden auf dem CMOS-Chip im direkten Kontakt mit den Elektroden kultiviert. Der Chip wird verkapselt, um einerseits die elektrischen Verbindungen vor der flüssigen Nährlösung zu schützen und andererseits ein Bad für die Zellkultur zur Verfügung zu stellen. Das System hat ein breites Anwendungsfeld nicht nur für chemisch-, biologisch-toxikologische Biosensormessungen, sondern auch im Bereich der Kardiologie, Medikamentenentwicklung/Pharmakologie und Neurowissenschaften.

Die elektrischen Signale der Zellen werden durch Metallelektroden aufgenommen, wobei unter Berücksichtigung, dass der Kontakt zwischen den Elektroden und der Elektrolytlösung eine möglichst niedrige Impedanz aufweist. Diese Impedanz ist kritisch für die Transducer-Ausführung. Ein Modell, welches die physikalischen Prozesse der Grenzflächenimpedanz beschreibt wurde aufgestellt und mit durchgeführten Messungen verglichen. Dieses Modell wurde erweitert auf: (1) eine quantitative Beschreibung des Einflusses von Adhäsionsvermittlern wie sie typischerweise in solchen Systemen benutzt werden, (2) eine quantitative Beschreibung des Einflusses der Inkubationszeit, und (3) die Einwirkung eines neuen, nanostrukturierten Goldelektroden-Materials.

Die Nachprozessierung der CMOS-Chips ist notwendig, um Biokompatibilität und Stabilität des Chips zu gewährleisten. Die ursprünglichen CMOS-Elektroden bestanden aus Aluminium und sind somit für die direkte Anwendung ungeeignet. Aluminium korodiert schnell in der Elektrolytlösung und wirkt ausserdem neurotoxisch. Deshalb wurde eine Prozess entwickelt, der es ermöglicht, auf die CMOS-Elektroden neue Elektroden aufzubringen und deren Material, Form und Grösse zu variieren. Durch das Prinzip des versetzten Aufbringens dieser Elektroden ('shifted-electrode design') wird zudem die darunterliegende Aluminium Elektrode geschützt. In dieser Konfiguration funktionierten die integrierten

Schaltkreise noch nach 200 Tagen in vitro (DIV). Wenn nötig, wurde mittels elektrochemisch abgeschiedenem, dendritischem, schwarzem Platin die Grenzflächenimpedanz der Elektroden verringert.

Zur Erweiterung des Systems wurde eine Technik zur strukturierten Zelladhäsion basierend auf dem "selective molecular assembly patterning" (SMAP) Prozess entwickelt. Im Vergleich zu anderen, aufwendigeren Strukturierungstechniken hat der SMAP Prozess mehrere Vorteile: Er ist ein selbstausrichtender Prozess und basiert auf einem einfachen "Eintauch-und-Abspül" Prozess. Mit dieser Methode wurde eine gute Strukturierung des Zellwachstums von neonatalen Ratten-Kardiomyozyten (NRC) und Neural/Glia Zellen auf der Chipoberfläche über einen Zeitraum von mehr als 5, bzw. 21, Tagen in vitro erreicht. Immunofluoreszenz der NCR zeigte, dass die Oberflächenbehandlung nicht die Myofibrillogenese (Formation der Muskelmikrostrukturen) stört.

Abschließend wurden elektrophysiologische Aufnahmen von Organ- (Herz) und Zellkulturen (Kardiomyozyten) durchgeführt. Die Messungen der elektronischen Signale an neonatalen Ratten-Kardiomyozyten am fünften Tag in vitro zeigten eine Amplitude von 1.8 mV und eine Dauer von circa 3 bis 4 ms. Dies demonstriert, dass dieses zellbasierte Biosensorsystem biokompatibel ist und den harten Bedingungen der Zellkultivierung standhält.