用于纳米孔道分析的四通道电化学传感器设计与仿真

钟诚兵^{1,2}, 应佚伦^{2*}, 张维冰^{1*}, 龙亿涛²

1. 华东理工大学化学与分子工程学院, 上海 200237

2. 南京大学化学化工学院, 生命分析化学国家重点实验室, 南京 210023

*通讯作者, E-mail: weibingzhang@ecust.edu.cn; yilunying@nju.edu.cn

收稿日期: 2020-09-17; 接受日期: 2020-10-13; 网络版发表日期: 2020-10-22

国家自然科学基金(编号: 61871183, 21834001)项目资助

摘要 纳米孔道技术是一种基于空间限域的超灵敏的单分子分析技术. 通过研究单个分子限域于纳米孔道中所产生的离子电流的变化, 可在单分子尺度上获取其结构、尺寸、电性及与孔道间弱相互作用的信息. 目前主要应用的纳米孔道测量仪器单次实验仅能测量单个纳米孔道, 其检测通量较低. 本文基于实验室前期自主设计研制的单通道纳米孔道测量仪器Cube-D2上, 比较研究了两种互阻放大器的测量特性, 从而选择了合适的测量电路设计了四通道电化学传感器放大电路. 进一步通过仿真验证了四通道电化学传感器设计方案的可行性, 为阵列化高通量纳米孔道单分子电化学测量仪器的设计提供了理论基础.

关键词 纳米孔道, 单分子界面, 单分子分析, 多通道电化学传感器, 互阻放大器

纳米孔道分析技术作为一种基于纳米孔道限域效应的单分子测量技术^[1-6], 已被用于DNA分析^[7-13]、microRNA识别^[14-17]、蛋白质识别^[18-20]、单分子反应^[21-23]及单颗粒测量^[24-26]研究等. 当单个纳米孔道被置于电解液中时, 纳米孔道成为两侧电解液间唯一的传质通路^[1]. 在电场力的作用下, 当单个分子被纳米孔道捕获时, 其被限域在纳米孔道内部, 从而引起离子流变化. 通过分析每一个离子流电信号的电流变化幅值、时间、信号频率及信号形状, 即可实现在单分子水平上对待测物分子组成, 结构, 构象等分析检测^[2]. 通常, 生物纳米孔道单分子离子流电信号幅值为皮安级(10^{-12} A), 阻断时间在亚毫秒级(10^{-4} s). 而噪音均方

根值(RMS)需低至皮安级.

互阻放大法(Trans-Impedance Amplifier, TIA)是一种常用的信号放大方法. 其输入信号是电流信号, 输出信号是电压信号. 因此利用TIA电路可将电流信号对应放大至电压信号. 目前采用互阻放大法检测纳米孔道信号的仪器有: 德国HEAK公司的EPC-10、Orbit mini(Nanon).

利用互阻放大测量技术, 本课题组开发了Cube-D2纳米孔道微电流测量仪器, 并针对仪器所获取的数据开发了具有数据读取、处理、存储, 在线分析等功能的软件系统^[27-30]. Cube-D2纳米孔道微电流测量仪器具有测量精度高、稳定性好, 抑制噪音能力强的优

引用格式: Zhong C, Ying Y, Zhang W, Long Y. Design and simulation of four-channel electrochemical sensors for nanopore analysis. *Sci Sin Chim*, 2021, 51: 395-400, doi: 10.1360/SSC-2020-0182

点. 但单次实验仅能测量单个纳米孔道信号, 其测量通量低, 限制了纳米孔道的应用范围. 在疾病早期筛查和精准诊断等领域, 需高通量地逐一解析每个分子的特征信息, 这对现有纳米孔道仪器通量化检测提出了严峻的挑战. 为了提升Cube-D2检测仪器的检测通量, 本文设计了四通道纳米孔道测量单分子电化学传感器电路, 并模拟仿真了传感器电路的测量特性, 对其带宽、噪声特性进行探索和优化, 以期实现多个纳米孔道单分子电信号的并行测量.

利用TIA电路测量纳米孔道信号原理如图1(a)所示, 当分子穿过孔道时产生阻断电流信号 I_s , V_{out} 为放大后的信号, R_f 为反馈电阻, C_{para} 为 R_f 的寄生电容, 没有对应的实体元件. A 为运算放大器, 是一种逻辑运算器件, 可以对电压信号, 电流信号等进行逻辑运算, 是测量电路实现的核心元件. 基于TIA电路的测量原理, 本文设计了两种测量电路, 为简单TIA电路和T型TIA电路, 其电路及工作原理如图1(b, c)所示.

如图1(b), 简单的TIA电路中 I_s 为纳米孔道电流信号源, V_{cmd} 为偏置电压, 即为需要在纳米孔道两端作用的电极电压, V_{out} 为输出电压. R_{buf} 、 C_{fil} 和 R_{fil} 构成一个低通滤波器, 防止 V_{cmd} 噪音耦合至输出电压 V_{out} . 而 R_{pore} 和 C_{mem} 对应于纳米孔道的电阻与膜电容. 输出电压 V_{out} 与输入信号 I_s 之间的关系可以由以下公式表述:

$$V_{out} = -R_f \cdot I_s + V_{cmd} \quad (1)$$

因此, 对于纳米孔道pA级电流信号的放大, 选择 $R_f \geq 1 \text{ G}\Omega$ 即可将信号放大为毫伏级电压, 以满足后端采集电路对信号精度的要求.

而图1(c)所示, T型TIA电路中 I_s 为纳米孔道电流信号源, V_{cmd} 为偏置电压, V_{out} 为输出电压. 其测量原理可以由以下公式表述:

$$V_{out} = -R_f \cdot \left(1 + \frac{R_1}{R_2}\right) \cdot I_s + V_{cmd} \quad (2)$$

从式(1)和(2)中可知, 两种电路的信号放大原理在于决定信号放大倍数的电阻不同, 简单TIA电路中仅有 R_f , 而T型TIA电路中决定信号放大倍数的电阻为 R_f 、 R_1 和 R_2 . 互阻放大器的特性决定了在实现相同放大倍数时, T型TIA电路中 R_f 值可以较小, 而简单TIA电路中 R_f 值较大, 由式(3)^[31]可得放大器带宽为:

$$f_{max} = \sqrt{\frac{GBW}{2\pi C_p R_f}} \quad (3)$$

其中, 增益带宽积(GBW)为常数, C_p 和 R_f 分别为寄生电容和反馈电阻, C_p 通常为0.1~0.3 pF. 因此, 具有较小 R_f 值的放大电路带宽较大, 信号失真较小; 而具有较大的 R_f 值的放大电路带宽较小, 信号失真程度较大.

为了比较两种测量方案, 本文利用AD (Analog Device)公司开发的LTspice仿真软件对两种测量方案进行了仿真, 其对应的电路的仿真特性结果如图2. 图2(a)为输入的仿真纳米孔道信号, 其来源是基于aeroly-sin纳米孔道检测poly(dA)₄分子的信号. 图2(b)中简单TIA电路对仿真信号的检测有较大失真, 阻断时间较短的单分子信号其阻断电流被削减, 信号阻断时间被延长. 而T型TIA电路则保持了输入的仿真信号形状, 信号未失真.

图2(c)则显示了两种方案频率响应伯德图. 一般定义当信号幅值响应降低3 dB时的截止频率为电路的测量带宽. 测量超过仪器带宽范围的高频信号将会失真. 从图2(c)中可知, 简单TIA电路的测量带宽约在1 kHz左右, T型TIA电路测量带宽约在130 kHz左右, 简单TIA电路的带宽远小于T型TIA电路. 图2(d)为两种电路的电极电压对比, T型TIA电路的电极电压随信

图1 (a) 互阻放大器应用于纳米孔道测量示意图; (b) 简单TIA电路示意图; (c) T型TIA电路示意图 (网络版彩图)

Figure 1 (a) The trans-impedance amplifier is applied to nanopore measurement; (b) Schematic diagram of TIA circuit; (c) Schematic diagram of type T TIA circuit (color online).

图 2 (a) 单分子纳米孔道仿真信号; (b) T型TIA电路(黑)和简单TIA电路(红)对仿真信号的放大示意图; (c) T型TIA电路和简单TIA电路的伯德图; (d) T型TIA电路(黑)和简单TIA电路(红)的电极电压示意图 (网络版彩图)

Figure 2 (a) Simulated nanopore signal; (b) Simulated signals amplified by T-type circuit (black) and simple TIA circuit (red); (c) Bode diagrams for the T-type TIA and simple TIA circuits; (d) Schematic diagram of electrode voltage for T-type TIA circuit (black) and simple TIA circuit (red) (color online).

号变化较大, 为图中黑色信号, 而简单TIA电极电压基本不变, 为图中红色信号. 尽管T型TIA电路带宽较高, 但在纳米孔道实验中偏置电压应尽量保持不变^[32], 以避免过大的电极电压噪音影响溶液和膜的稳定性, 增加膜的噪音, 因此应选用第一种测量方案构建多通道电化学传感器.

简单TIA电路由于采用过大的反馈电阻而导致其检测信号失真程度较大, 不满足单分子测量需求. 为了解决这一矛盾, 可在测量电路的后端引入基于RC微分补偿的补偿电路^[32], 对由反馈电阻过大引起的带宽下降现象进行带宽补偿, 从而对失真信号校正^[32].

微分补偿电路的原理如图3所示, 图3(a)中由补偿电容 C_{com} , 补偿电阻 R_{com} 以及可变电阻 R_{adj} 以及运放 A_2 构成了微分补偿电路. 其信号补偿原理如图4(b)所示, 黑色信号线所测信号 V_{out} 为简单TIA电路对阶跃信号的响应信号, 响应信号有一定程度的失真. C_{com} 和 R_{com} 构成的RC微分补偿电路对放大后信号的响应为红色信号 I_{com} 所示, 其整个补偿电路将 I_{com} 放大成电压信号后与 V_{out} 进行叠加, 叠加后的信号为 V_{com} . 如蓝色信号线所示, V_{com} 可还原阶跃信号的形状, 校正由反馈电阻和其自身寄生电容引起的带宽下降, 使得简单TIA电

图 3 (a) 增加补偿电路后的检测电路示意图; (b) 各个节点的电流或电压读出: V_{out} (黑)、 I_{com} (红)、 V_{com} (蓝) (网络版彩图)

Figure 3 (a) Schematic diagram of the test circuit after the addition of the compensation circuit; (b) Current or voltage at each node: V_{out} (black), I_{com} (red), V_{com} (blue) (color online).

路对检测信号放大性能提升, 可满足纳米孔道的测量需求.

为了验证阵列化方法的可行性, 本文对基于TIA电路设计的四通道电路进行模拟仿真, 以检验测量电路的噪音以及测量带宽是否满足纳米孔道测量需求. 因此, 基于图3(a)所示电路, 本文设计了四通道测量电路, 其结构如图4(a)所示. 其中的电源电路为理想化设计.

对单个通道TIA电路的仿真如图4所示, 其中图4(b)为单个测量电路对输入的纳米孔道仿真信号的测量, 其较好还原了纳米孔道仿真信号的形状与大小, 且噪音幅值较小. 增加补偿电路后, 测量电路的带宽由约1 kHz提高到约150 kHz. (图4(c)) 若要精准采集纳米孔道信号, 测量带宽应大于10 kHz^[33]. 因此, 增加补偿电路后的测量电路可满足纳米孔道测量的需求.

为验证每一个检测通道的测量能力, 将4组不同的纳米孔道仿真信号输入每个测量通道, 输出结果如图4(d)所示. 其每个通道都能较为准确的输出测量结果, 由此可以证明4通道测量电路设计合理.

测量电路的正常工作需供给稳定的电压源, 而电压源的性质会影响最终信号检测的效果. 具体影响有: (1) 电压源的电压噪音会直接体现在测量信号中, 即电压源噪音变大, 输出信号的噪音会随之变大. (2) 当电

图4 (a) 四通道纳米孔道电化学传感器电路图; (b) 增加补偿电路后对纳米孔道仿真信号测量; (c) 增加补偿电路前(红)与增加补偿电路后(黑)检测带宽对比; (d) 四通道检测电路对四组不同的仿真纳米孔道信号的响应: ch1 (黑)、ch2 (红)、ch3 (蓝)、ch4 (绿) (网络版彩图)

Figure 4 (a) A four-channel nanopore electrochemical sensor; (b) Measurement of simulated nanopore signals after adding compensation circuit; (c) Bode diagrams before (red) and after (black) introducing the compensation circuit; (d) The response of the four-channel detection circuit to four sets of simulated nanopore signals: ch1 (black), ch2 (red), ch3 (blue), ch4 (green) (color online)

压源连接过多运放或工作器件时, 其功率接近稳压芯片最大输出功率时, 电压源的输出电压将减小. 而信号测量范围由测量电路的电压源范围决定, 因此当电压源电压下降时, 信号测量范围将会变窄.

图4(a)电路中涉及两种电压源, 为 ± 2.5 V和 ± 5 V, 使用两种电压源是为了保证TIA电路以及补偿电路工作在合适电流放大区间. 为了更加接近真实情况, 在研究电压源噪音对信号噪音影响时, 本文在两种电源上叠加了相同大小的噪音源. 如图5, 随着电压源的噪音增加, 信号的噪音随之增加. 当电压源RMS噪音从10 μ V (图5中黑色信号线)增加至RMS值为100 μ V (图5中红色信号线)时, 其噪音逐渐增加, 信噪比下降. 这将会影响数据处理软件对信号的识别与分辨. 因此应该选用RMS噪音尽可能低的稳压芯片.

对于四通道测量电路, 其功率是单个测量电路的四倍, 因此为了让功率有足够的裕量, 在设计上采取两组平行的低噪音稳压芯片为测量电路提供电压源, 稳压芯片电压源RMS噪音低于20 μ V.

本文通过对比简单TIA电路和T型TIA电路的测量

图5 电源噪音对信号的影响. 电源RMS噪音20 μ V (黑)、48 μ V (蓝)、100 μ V (红)下测得信号 (网络版彩图)

Figure 5 Influence of power noise on signal. Noise RMS value at 20 μ V (black), 48 μ V (blue), 100 μ V (red) (color online)

特性, 选择了带补偿电路的简单TIA电路作为多通道检测电路的设计基础. 在实验室已研发的纳米孔道仪器Cube-D2的基础上, 设计了更高通量的四通道纳米孔道测量电路. 通过电路仿真, 验证了多通道检测电路的带宽、噪音满足纳米孔道检测需求. 进一步地仿

真了电压源对信号噪音的影响, 选用RMS噪音低的稳压芯片作为测量电路的电源减小电压源对信号噪音的

影响. 四通道电化学传感器的设计为研发更高通量的纳米孔道单分子电化学测量装置提供理论指导.

参考文献

- 1 Kasianowicz JJ, Brandin E, Branton D, Deamer DW. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 13770–13773
- 2 Long YT, Zhang MN. *Sci China Ser B-Chem*, 2009, 52: 731–733
- 3 Ying YL, Long YT. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 15720–15729
- 4 Sha J, Xu B, Chen Y, Yang Y. *Acta Chim Sin*, 2017, 75: 1121–1125 (in Chinese) [沙菁, 徐冰, 陈云飞, 杨颜菁. 化学学报, 2017, 75: 1121–1125]
- 5 Fang F, He YQ, Tian L, Li YY, Wu ZY. *R Soc open sci*, 2018, 5: 171633
- 6 Xi D, Li Z, Liu L, Ai S, Zhang S. *Anal Chem*, 2018, 90: 1029–1034
- 7 Cao C, Ying YL, Hu ZL, Liao DF, Tian H, Long YT. *Nat Nanotech*, 2016, 11: 713–718
- 8 Gao R, Lin Y, Ying YL, Long YT. *Sci China Chem*, 2019, 62: 1576–1587
- 9 Ying YL, Liu SC, Li Q, Long YT, Lin Y. *Sci Sin Chim*, 2017, 47: 1445–1449 (in Chinese) [李巧, 林瑶, 应佚伦, 刘少创, 龙亿涛. 中国科学化学, 2017, 47: 1445–1449]
- 10 Li M, Ying Y, Long YT. *Acta Chim Sin*, 2019, 77: 984–988 (in Chinese) [李孟寅, 应佚伦, 龙亿涛. 化学学报, 2019, 77: 984–988]
- 11 Lu Y, Hu ZL, Ying YL, Long YT. *J Instrum Anal*, 2019, 38: 129–133 (in Chinese) [路瑶, 胡正利, 应佚伦, 龙亿涛. 分析测试学报, 2019, 38: 129–133]
- 12 Niu H, Hu Z, Ying Y, Long YT. *Acta Chim Sin*, 2019, 77: 989–992 (in Chinese) [牛红艳, 胡正利, 应佚伦, 龙亿涛. 化学学报, 2019, 77: 989–992]
- 13 Wu XY, Ying YL, Long YT. *Chem J Chin Univ*, 2019, 40: 1825–1831 (in Chinese) [武雪原, 应佚伦, 龙亿涛. 高等学校化学学报, 2019, 40: 1825–1831]
- 14 Wang Y, Zheng D, Tan Q, Wang MX, Gu LQ. *Nat Nanotech*, 2011, 6: 668–674
- 15 Wanunu M, Dadosh T, Ray V, Jin J, McReynolds L, Drndić M. *Nat Nanotech*, 2010, 5: 807–814
- 16 Xi D, Shang J, Fan E, You J, Zhang S, Wang H. *Anal Chem*, 2016, 88: 10540–10546
- 17 Zhang H, Hiratani M, Nagaoka K, Kawano R. *Nanoscale*, 2017, 9: 16124–16127
- 18 Hu YX, Ying YL, Gu Z, Cao C, Yan BY, Wang HF, Long YT. *Chem Commun*, 2016, 52: 5542–5545
- 19 Wang Y, Montana V, Grubišić V, Stout Jr. RF, Parpura V, Gu LQ. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7: 184–192
- 20 Oukhaled G, Mathé J, Bianca AL, Bacri L, Betton JM, Lairez D, Pelta J, Auvray L. *Phys Rev Lett*, 2007, 98: 158101
- 21 Shin SH, Luchian T, Cheley S, Braha O, Bayley H. *Angew Chem Int Ed*, 2002, 41: 3707–3709
- 22 Zhou B, Wang YQ, Cao C, Li DW, Long YT. *Sci China Chem*, 2018, 61: 1385–1388
- 23 Haugland MM, Borsley S, Cairns-Gibson DF, Elmi A, Cockroft SL. *ACS Nano*, 2019, 13: 4101–4110
- 24 Cui L, Xu S, Liang C, Yu R, Li L, Ying Y, Long Y. *Chin Sci Bull*, 2020, 65: 60–66 (in Chinese) [崔凌飞, 许素文, 梁驰, 于汝佳, 李亮, 应佚伦, 龙亿涛. 科学通报, 2020, 65: 60–66]
- 25 Lin Y, Ying Y, Gao R, Wang H, Long Y. *Acta Chim Sin*, 2017, 75: 675–678 (in Chinese) [林瑶, 应佚伦, 高瑞, 王慧锋, 龙亿涛. 化学学报, 2017, 75: 675–678]
- 26 Xu SW, Ying YL, Long YT. *Chem J Chin Univ*, 2019, 40: 2075–2080 (in Chinese) [许素文, 应佚伦, 龙亿涛. 高等学校化学学报, 2019, 40: 2075–2080]
- 27 Gu Z, Wang H, Ying YL, Long YT. *Sci Bull*, 2017, 62: 1245–1250
- 28 Gu Z, Ying YL, Cao C, He P, Long YT. *Anal Chem*, 2015, 87: 907–913
- 29 Gu Z, Ying YL, Long YT. *Sci China Chem*, 2018, 61: 1483–1485
- 30 Zhang J, Liu X, Ying YL, Gu Z, Meng FN, Long YT. *Nanoscale*, 2017, 9: 3458–3465
- 31 Rajabzadeh M, Djekic D, Haeberle M, Becker J, Anders J, Ortmanns M, Comparison study of integrated potentiostats: resistive-TIA, capacitive-TIA, CT sigma delta modulator. In: *IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS)*. Florence: IEEE eXpress Conference Publishing, 2018. 1–5

32 顾震. 纳米孔道电化学测量系统的研究与应用. 博士学位论文. 上海: 华东理工大学, 2018

33 Fragasso A, Schmid S, Dekker C. *ACS Nano*, 2020, 14: 1338–1349

Design and simulation of four-channel electrochemical sensors for nanopore analysis

Chengbing Zhong^{1,2}, Yilun Ying^{2*}, Weibing Zhang^{1*}, Yitao Long²

¹ School of Chemistry and Molecular Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China

² School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210023, China

*Corresponding authors (email: weibingzhang@ecust.edu.cn; yilunying@nju.edu.cn)

Abstract: Nanopores utilize their confined space for achieving single-molecule detection. Reading the ionic fluctuation induced by a single molecule inside nanopores reveals characteristics of individual molecules such as structures, sizes, electrical properties and interactions. Most of the current commercialized instrumentations for nanopores contains only one recording channel, which acquire the ionic blockages only from a single nanopore in the single experiment. Therefore, the low throughput limits the application of nanopore detection in the real application. In this study, we designed and discussed the appropriate circuit configuration for multi-channel nanopore measurements. Two kinds of trans-impedance amplifiers were compared aiming to improve the throughput of the home-made single-channel electrochemical sensor instrument Cube-D2. Moreover, the bandwidth, noise and bias voltage supply of these circuits are explored and optimized by using circuit simulation softwares, which verifies the feasibility of our design in multi-channel nanopore instrumentations.

Keywords: nanopore, single-biomolecule interface, single-molecule analysis, multi-channel electrochemical sensors, trans-impedance amplifier

doi: [10.1360/SSC-2020-0182](https://doi.org/10.1360/SSC-2020-0182)