

膜片钳放大器的低噪声设计

康国新, 邹寿彬, 陈良怡, 杨岳峰, 康华光

(华中科技大学生物物理与生物化学研究所, 武汉 430074)

摘 要: 本文论述用于测量细胞膜离子通道电流的放大器的电路方案. 因被测电流在 1pA 到 nA 级的范围内, 而输出电压要求达到计算机便于处理的数值. 故需采用多级放大电路. 被测电流属极微弱的信号, 噪声问题是设计中的关键. 对于多级放大器来说, 前置放大级(探头电路)的低噪声设计至关重要. 文中分析放大电路中的主要元、器件的背景噪声, 用噪声电流和噪声电压的功率密度谱(PDS) $S_I(f)$ 和 $S_V(f)$ 来表征其特性. 给出了所设计的 PC- 型膜片钳放大器的主要性能参数和记录的电流波形.

关键词: 膜片钳; 电流-电压变换器; 背景噪声; 低噪声设计

中图分类号: TN722.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0372-2112 (2000) 09-0042-04

Low Noise Design of Patch Clamp Amplifier

KANG Guo-xin, ZOU Shou-bin, CHEN Liang-yi, YANG Yue-feng, KANG Hua-guang

(Inst. of Biophys. & Biochem., Huazhong Univ. of Sci. & Tech., Wuhan 430074, China)

Abstract: The configuration of the amplifier for recording the ionic channel current of the cell is described here. The measured currents vary from 1pA to nanoampers, and the output voltage is required to be processed by the computer. Therefore, the amplifier must be constructed in multistages. The key point for designing this amplifier is the low noise technique, especially for the headstage. The background noise of the main components and devices are particularly analyzed with power density spectrum $S_I(f)$ and $S_V(f)$ to characterize their characteristics. The test results of the designed patch clamp amplifier model PC- satisfy the practical requirement and the experimental data are given.

Key words: patch clamp; current-voltage converter; background noise; low noise design

1 引言

在科学和工程实践中, 往往需要测量微弱的电流信号, 例如, 在细胞电生理研究中, 离子通道电流的值处在 1pA 到 nA 的数量范围之内. 这样微弱的电流信号, 往往首先要将它变为电压以便于用示波器观察或被计算机进行采样、处理和分析. 本文着重讨论电流-电压(I/V)变换器的结构和工作原理. 针对微弱电流信号的特点, 对其测量用放大器需作噪声分析与低噪声设计; 在多级放大器中, 降低前置级的噪声水平至关重要. 根据这一思路, 即使使用现有的先进的 BiFET 型集成运放, 也很难胜任此低噪声的要求. 对电路结构进行设计, 分析电路元件和放大电路的本底噪声, 是设计低噪声放大器的前提. 在离子通道电流的记录中, 除了电子仪器噪声外, 尚有封接噪声和电极噪声等^[1]. 本文只限于讨论膜片钳放大器的低噪声设计.

2 膜片钳放大器的原理

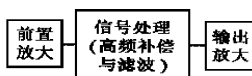
2.1 膜片钳定义

在细胞电生理研究中, 为了测量细胞膜离子通道电流, 需

用一尖端直径约为 $1\mu\text{m}$ 的玻璃微电极与细胞膜紧密封接, 封接的微区叫做膜片(patch), 钳所指的是钳位(clamp)的意思, 二者总称为膜片钳(patch clamp), 这是为了准确测量离子通道电流的新技术.

2.2 膜片钳放大器

图1表示膜片钳放大器的组成框图, 它由前置放大电路, 信号处理



电路(含二级高频补偿、两级滤波电路)和输出放大电路. 作为极微弱电流信号的放大, 噪声问题至关重要; 在多级放大电路中, 前置放大电路的分析与低噪声设计, 是本文所要讨论的关键.

2.3 前置放大电路的两种方案

这里所指的前置放大电路即膜片钳放大器的探头电路. 在仪器设计与工程实践中, 目前存在两种方案, 即电阻反馈式 I/V 变换器和电容反馈式 I/V 变换器, 现分别介绍如下:

2.3.1 电阻反馈式 I/V 变换器(RIV)

图2表示电阻反馈式 I/V 变换器的原理电路. 玻璃微电

极的尖端与细胞膜封接,电极引线接至集成运放 A_1 的反相输入端,同相端接命令电压 V_{cmd} . 运放 A_1 及电阻 R_f 组成负反馈放大器,

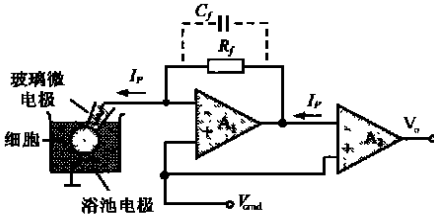


图 2 电阻反馈式 I/V 变换器

由于 A_1 的开环电压增益很高,导致它的两输入端之间形成虚短和虚断的现象。对照膜片钳的定义,利用图 2 的电路将命令电压 V_{cmd} 间接地通过微电极作用于细胞膜上,产生电极电流 I_p 。换言之,细胞膜的电位被 V_{cmd} 所钳制,从而对膜片钳一词作了具体的解释。

电极电流 I_p 与流过 R_f 的电流相等。 I_p 在 R_f 上所产生的电压降被单位增益差分放大电路 A_2 所检测,故有

$$V_o = I_p R_f \quad (1)$$

由此可见,RIV 的输出电压与反馈电阻 R_f 成比例。即电路的增益 $A_R = V_o / I_p = R_f$ 。可以推知,为了提高测量灵敏度,必须运用高阻值的反馈电阻 R_f ,例如阻值可达数百 M 至数十 G。但是, R_f 的值愈大,热噪声愈严重,而且电阻的分布电容也必将影响到放大器的频响或带宽。下面要讨论的电容反馈式 I/V 变换器,噪声问题将得到改善。

2.3.2 电容反馈式 I/V 变换器(CIV)

CIV 的简化原理电路如图 3(a) 所示。与 RIV 相比,其差别在于用反馈电容 C_f 代替了反馈电阻 R_f 。此时变换器工作于积分方式,换言之,若输入的电极电流 I_p 是恒定值,其输出电压 V_1 为斜坡电压,此电压的斜率正比于电极电流 I_p 。在积分电路之后接一微分电路(A_2)即可反映 I_p 的波形。 A_3 为单位增益差分电路,随后连接由 S_h 和 C_h 组成的采样保持电路,以便于计算机处理。图 3(b) 示出了一组信号波形。

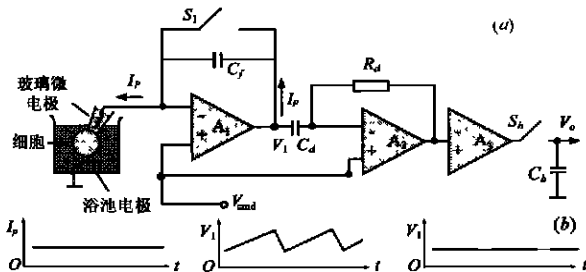


图 3 (a) 电容反馈式 I/V 变换器; (b) 信号波形

在 CIV 电路中,电压 V_1 与电极电流 I_p 的关系为 $dV_1/dt = I_p/C_f$ (设此时 V_{cmd} 为常数)。它表明 V_1 为电极电流的时间积分。电路的最后输出电压 V_o 可表示如下:

$$V_o = R_d C_d I_p / C_f \quad (2)$$

由此可知,电路的电阻增益 $A_R = R_d (C_d / C_f)$ 。式(2)是选取电路参数的根据。 V_o 的值以 10V 为极限; C_f 一般选用 1~2pF,太小时将使充放电频繁; R_d 的值受热噪声的限制,可取 150k 左右;至于 C_d 的值,可以令 A_R 为某一恰当的数值,例如 100M 时来算出,详见(Finkel, 1991)。

CIV 具有较低的噪声、较宽的频带和较大的动态范围和线性度。CIV 虽有上述优点,但在实践中不可避免地会遇到两方面的困难。首先,当被测的电流含有直流成分时,其积分输出电压将受到 A_1 进入饱和状态的限制,因而 CIV 必须具备有复位电路,周期性地使 C_f 放电,使积分输出电压回复到零值。在 C_f 放电期间,开关 S_1 闭合, A_3 的输出电压不反映输入电流的大小。此时,利用第二个开关 S_h 与保持电容 C_h 共同作用将输出电压加以冻结。放电过程很快(微秒级)。开关 S_1 常采用 CMOS 模拟开关。其次,在设计这种 CIV 时,要注意由于 C_f 的快速放电所产生的瞬态电压对电路的输入和输出端的影响。即在 S_1 接通之前的 t 内,让 S_h 断开, t 的长短由实验测定。优选 C_f 和 C_d 对保证电路正常地工作也很重要。

3 I/V 变换器的背景噪声

前已提及,膜片钳系统包括电子仪器噪声、封接噪声和电极噪声等组成部分。这里所讨论的背景噪声是指膜片钳放大器中的主要元、器件及其电路的噪声。

3.1 反馈电阻的噪声

在 RIV 中, R_f 的热噪声是重要的噪声源之一。任一无源二端网络,例如电阻,在平衡状态下,当二端被短接时其噪声电流的功率密度谱(Power density spectrum, PDS)用下式表示

$$S_I(f) = 4kT \operatorname{Re}\{Y(f)\} \quad (3)$$

式中 k 为玻耳兹曼常数 (1.38×10^{-23} J/K, T 为热力学温度(K), $\operatorname{Re}\{Y(f)\}$ 为元件导纳的实部。对于一个纯电阻,例如不考虑分布电容 C_f 对 R_f 的旁路作用 $Y = 1/R$,因而, $S_I(f)$ 与电阻成反比。

另一方面,对于阻抗 Z ($Z = 1/Y$) 而言,其开路电压噪声的 PDS 则可表示为

$$S_V(f) = 4kT \operatorname{Re}\{Z(f)\} \quad (4)$$

上式表明,高阻值的微电极作离子通道电流记录时会引入噪声电压。

一般地说,式(3)和式(4)均可用来表征 RIV 的噪声。若将注意力集中到输出噪声上,则式(4)较合适,因为运放的输出电压正是反馈电阻 R_f 上的压降,输出电压中的噪声由式(4)确定,当 R_f 愈大时,电压噪声亦愈大。

另一方面,输出电压噪声与 I/V 变换器的输入电流噪声之间的关系,可借助线性网络(如放大器,阻抗等)的输出噪声与输入噪声之间的关系来求解^[3]

$$S_o(f) = S_i(f) |H(2ff)|^2 \quad (5)$$

就是说,网络输出噪声的 PDS 等于输入噪声谱与网络传递函数的幅值平方的乘积。在所讨论的情况下,输入电流与输出电压之间传递函数为 $H = R_f$,因而输入电流噪声的 PDS 可表示为

$$S_I(f) = S_V(f) / R_f^2 = 4kT / R_f \quad (6)$$

即使 S_V 随着 R_f 的增加而增加,但是有效电流噪声却随着 R_f 的增加而减小。在一般情况下,反馈电阻具有分布的杂散电容,前面的式(3)是电流噪声的 PDS S_I 的一种简化表达式。

由于在计算 rms 背景噪声 n (标准偏差)时要用到有效电

流噪声的 PDS S_I , 因而求出它的表达式是必要的. 一个测量系统输出的噪声水平取决于它的整体频响. 设系统由各个放大级和滤波器所组成, 并令其传递函数为 $H(f)$, 于是噪声方差

$$\sigma_n^2 = \int_0^\infty |H(f)|^2 S_I(f) df \quad (7)$$

考虑一种特殊情况, 设在低频时 $H(f) = 1$ 并在 f_c 时具有锐截止的特性. 同时, 若 S_I 与频率无关, 则 $\sigma_n^2 = f_c S_I$; 对于一个纯电阻, 借助式 (6) 可求得 rms 噪声电流

$$i_n = (4kTf_c/R_f)^{1/2} \quad (8)$$

由此可知, rms 噪声随 f_c 平方根而增加, 但与 R_f 的平方根成反比. 这样, 对于低噪声电流, R_f 值大些为好.

表 1 列出了在不同的 R_f 值时的 PDS S_I 和标准偏差值 i_n .

表 1 反馈电阻 R_f 的热电流噪声 *

R_f ()	S_I (A^2/Hz)	$S_I^{1/2}$ ($f_A/Hz^{1/2}$)	i_n (pA; $f_c = 1kHz$)
10M	1.6×10^{-27}	40	1.3
100M	1.6×10^{-28}	13	0.4
1G	1.6×10^{-29}	4	0.13
10G	1.6×10^{-30}	1.3	0.04

* 噪声幅度用 PDS S_I 、 $S_I^{1/2}$ 和 rms 电流噪声 i_n 表示.

3.2 放大电路中的噪声

除了上述反馈电阻的热噪声以外, I/V 变换器中尚有其他噪声源. 这主要考虑运放本身. 集成运放一般由多级电路所组成. 如果前置级的增益很高, 那么后续各级所产生的噪声, 对于输入端来说可以忽略不计. 用于 I/V 变换器的集成运放的噪声源主要来自前置级的 JFET.

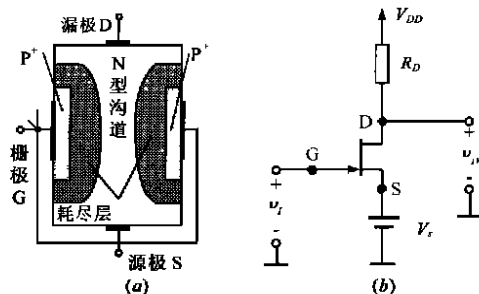


图 4 (a) JFET 的结构示意图; (b) JFET 的基本放大电路

图 4 (a) 表示 JFET 的结构示意图. 从漏极 D 到源极 S 为 N 型沟道, 两侧 P 型半导体的引线连接到一起称为栅极 G. 通常在栅、源两极之间加负压, 使两个 PN 结处于反向偏置, 改变 $|v_{GS}|$, 即可控制 i_D , 从而具有放大作用.

图 4 (b) 为 JFET 的基本放大电路. 源极电路里的 V_S 是用来设置器件的工作点. JFET 的重要参数之一为互导 g_m , 当电路参数 (如负载电阻 R_D) 为已知时, 其电压增益为

$$A_v = -R_D g_m \quad (9)$$

JFET 放大电路的主要噪声来源之一是栅极电流 I_G 的散粒噪声和沟道电阻的热噪声. 前者的 PDS 为

$$S_I = 2 I_G q^* \quad (10)$$

式中 q^* 为载流子的有效电荷, 其值近似与电子电荷相等.

至于沟道热噪声, 它与电阻值等于 $1/g_m$ 的噪声相似, 其 PDS 近似为

$$S_{Id} = 4kTg_m \quad (11)$$

骚动性的漏极电流, 相当于在输入端有一噪声电压, 此噪声电压的 PDS 可将 S_{Id} 除以 g_m^2 而得到, 即

$$S_{vg} = 4kT/g_m \quad (12)$$

通常在电子器件的数据手册中给出噪声电压 $e_n = S_{vg}^{1/2}$, 并用 $nV/Hz^{1/2}$ 作单位, 此输入噪声电压很小, 只有几个 $nV/Hz^{1/2}$, 可以忽略不计. 它的重要意义在于, 由于输入杂散电容 C_{gs} 、 C_{gd} 等的存在, 通过这些电容的电流形成输入端的电流噪声, 此时由输入噪声电压引起的噪声电流的 PDS 为

$$S_I(f) = (2fC_i)^2 S_{vg} \quad (13)$$

式中 C_i 为总的输入电容. 在高频情况下, 这是 I/V 变换器的主要噪声源.

表 2 列出了二种常用的 JFET 对管与噪声有关的参数.

表 2 两种常用的 JFET 的参数

	I_G (pA)	g_m (mS)	e_n (nV/Hz ^{1/2})	C_{gs} (pF)	I_D (mA)	V_{DS} (V)	外壳封装
U401	0.3	2	3	10	2.0	5	T0-71
U430	1.0	8	2	13	3.0	3	T0-99

* I_D 、 V_{DS} 为典型值; e_n 为在 $f = 1kHz$ 时所测得.

4 低噪声放大器设计举例

综合前面所讨论的 RIV 和 CIV 两种变换器, 它们各有优缺点, 现以 RIV 为例, 来设计低噪声放大器.

从放大电路的结构和低噪声的要求来看, 最好先用 JFET 组成的差分电路作为输入级的高增益集成运放, 这类产品有多种, 但从噪声的要求来看, 往往不易满足要求. 例如 LF356 的 $e_n = 15nV/Hz^{1/2}$, 显然偏大. 对照表 2 中的 U430 对管, 其 e_n 只有 $2nV/Hz^{1/2}$, 比 LF356 小得多. 如再考虑放大器应具有一定的频率带宽, 因而可以采用带恒流源的共源-共基串接放大电路, 并与差分电路相结合, 如图 5 所示.

电路的噪声水平, 其关键取决于所使用的元器件. 电路中的恒流源由 BJT T_1 (2N4401, Motorola), R_1 、 R_2 和 R_3 组成, 在所示参数情况下, 恒流源 $I_{C1} = 6mA$.

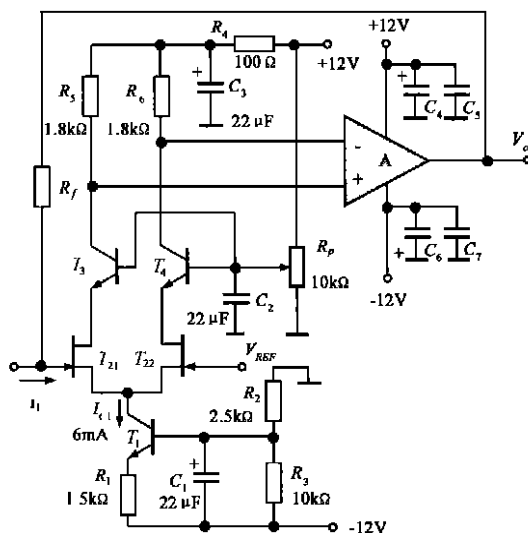


图 5 PC-型膜片钳放大器的探头电路

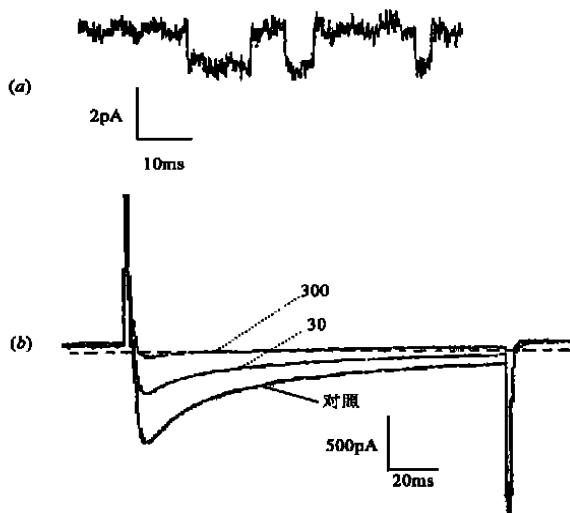


图 6 豚鼠心肌细胞的钙通道电流。(a)单通道电流记录(钳制电位: -10mV);(b)粉防已碱(Tet)对全细胞钙电流的浓度依赖性阻滞作用(Tet: $30, 300\mu\text{mol L}^{-1}$)。

共源电路由 JFET T_{21} 、 T_{22} 对管(U430, Siliconix)组成,它的参数如表 2 所示。当 $I_{D1} = I_{D2} = I_{C1}/2 = 3\text{mA}$ 时,它既可限制电路中的噪声电压,也可兼顾电路的增益。 T_3 、 T_4 为低噪声硅 BJT(2N 4401),它们组成共基电路。当 $I_{C3} = I_{C4} = 3\text{mA}$ 时,噪声电压 $e_n < 1\text{nV}/\text{Hz}^{1/2}$ 。该电路既可扩展频带,同时又将共源电路与负载电阻 R_5 、 R_6 隔离,不致使 R_5 、 R_6 所产生的热噪声电压 $e_{Rn} = 6\text{nV}/\text{Hz}^{1/2}$ 经 C_{gd} 耦合到输入端。共源-共基电路的另一特点是,通过电位器 R_p 调整 T_3 、 T_4 的基极电位,从而使 T_{21} 、 T_{22} 和 T_3 、 T_4 具有合适的工作点,以达到最佳噪声性能; C_1 是滤除 -12V 电源的干扰电压, C_2 是滤除电位器 R_p 的热噪声电压和 $+12\text{V}$ 电源干扰电压; C_3 、 R_4 为去耦电路,防止低频自激。 $C_4 \sim C_7$ 是为了减小电源干扰。运放 A 的型号为 LF356,接成差分放大级,它与共源-共基组态组成复合电路,具有较好的噪声性能,并与反馈电阻 R_f 构成了 RIV。 R_f 分 10G 、 0.5G 两档,由模拟开关切换。 R_f 的阻值较高,电流噪声较小;但热噪声电压和分布电容也大,故采用 Kobra (K&M, Electronics) 的合成膜精密电阻。

对于低噪声放大,除了合理地设计电路结构和优选元器件外,还须特别注意制作工艺。

用 PSPICE 软件对图 5 所示电路(设 $R_f = 10\text{G}$)进行仿真,得到两个极点频率,最低的一个为 159Hz ,其带宽很窄。故需附加高额补偿电路和滤波电路,使其频响达到实用要求。此外,为了消除电极电容和膜电容的瞬态影响,尚需设计阻容补偿电路等,限于篇幅,此处从略。

放大器整机经过测试,其噪声性能参数如下:等效输入噪声: $0 \sim 1\text{kHz}$: 0.08pA RMS ; $0 \sim 3\text{kHz}$: 0.15pA RMS ; $0 \sim 10\text{kHz}$: 0.4pA RMS ;图 6 显示用 PC- 型膜片钳放大器的实验结果。

5 结论与展望

本文对极微弱电流信号的 I/V 变换器方案进行了讨论和评价,对放大电路的主要元器件的背景噪声进行了分析,为膜片钳放大器的低噪声设计提供依据。所设计的 PC- 型膜片钳放大器经实验测试,主要性能指标先进,已形成小批量生产,在全国各高校研究所和医院推广应用,效果良好,进一步的工作在于改进探头设计,例如采用混合集成电路,将探头电路集成于同一芯片上以降低噪声水平。

参考文献:

- [1] F.J. Sigworth. Electronic Design of the Patch Clamp, in Single-channel Recording [M]. 2nd ed., edited by Bert Sakmann and Erwin Neher, Plenum Press, New York, 1995.
- [2] O. P. Hamill, A. Marty, E. Neher, B. Sakmann, F. J. Sigworth. Improved Patch-clamp Techniques for High-resolution Current Recording from Cells and Cell-free Membrane Patches [M]. *pnf ügers Arch*, 1981, 39: 85 - 100.
- [3] A. S. Finkel. Progress in Instrumentation Technology for Recording from Single Channels and Small Cells [M]. in: *Cellular Neurobiology: A Practical Approach* (V. Chad and H. Wheal, eds), PP. 3 - 25. Oxford University Press, New York, 1991.
- [4] 蒋焕文,冯锡生编. 放大电路的噪声分析 [M]. 高等教育出版社, 1987.
- [5] 周专,康华光. 膜片钳系统的噪声分析 [J]. 中国生物医学工程学报, 1992, 11 (2): 128 - 137.
- [6] 康华光主编. 电子技术基础 [M]. (模拟部分) 第四版, 高等教育出版社, 1999.

作者简介:



康国新 1960 年生, 华中科技大学讲师。1988 年、2000 年分别获华中科技大学生物医学工程专业硕士和博士学位。主要研究兴趣包括: 生物医学信号处理和分析; 用膜电容测量和安培测量法监测肾上腺嗜铬细胞的分泌活动; 胰腺细胞分泌胰岛素的检测技术及其钙调控的机制等。



邹寿彬 1946 年出生。现任华中科技大学生物物理与生物化学研究所教授。主要的研究兴趣包括: 生物医学信号的检测与分析; 细胞分泌机制; 胞内钙自稳平衡的作用及钙信号研究等。