

Sensores Biológicos Basados en la Medición Eléctrica de Nanocables

Pablo D. Pareja Obregón, Pedro M. Julián,
Pablo S. Mandolesi, Martín Di Federico
Dpto de Ing. Eléctrica y de Computadoras
Universidad Nacional del Sur
Bahía Blanca (8000), Argentina
pablopereja@ieee.org

Maximiliano S. Perez, Betiana Lerner,
Alberto Lamagna
Grupo MEMS, Comisión Nacional de Energía Atómica
Buenos Aires, Argentina

Resumen—El presente trabajo consiste en una serie de amplificadores y terminales diseñados para hacer de interfaz con los *Sensores de Nanocables*, sistema desarrollado en conjunto por el Grupo de Investigación en Sistemas Electrónicos y Electromecatrónicos (GISEE) de la Universidad Nacional del Sur y la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA).¹

En el mismo, se tratarán la concepción, el diseño, hasta llegar al producto terminado. En el diseño en particular, se abordaron distintas metodologías para realizar la medición, las cuales serán abordadas en detalle.

I. INTRODUCCIÓN

Una de las áreas tecnológicas que mayor auge han tenido en los últimos años es la nanotecnología. La posibilidad de crear interfaces entre el mundo microscópico y el mundo microscópico abre nuevas puertas a investigaciones y aplicaciones que unos años atrás no hubieran sido posibles. Como no podría haber sido de otra forma, la biología y en particular la medicina es uno de los campos en los que estas nuevas aplicaciones conllevan cambios revolucionarios.

Las interfaces entre nanosistemas y biosistemas no pueden ser posibles sin el trabajo conjunto de diversas especialidades necesarias para lograr un resultado final, entre las cuales podemos mencionar, biología, física, química, y muchas áreas de ingeniería, biotecnología y medicina [1]. Estos avances, entre otras cosas, permiten cambiar la forma en que percibimos y estudiamos diversas patologías y enfermedades. Así, mientras que antiguamente el control de glucosa en pacientes con diabetes requería de la extracción de sangre y un análisis clínico, hoy día esto se realiza mediante un dispositivo portátil que puede llevar el paciente consigo y realizarlo en cualquier momento.

De manera similar, estudios que podrían llevar semanas, están siendo posibles en cuestión de minutos mediante dispositivos que permiten el monitoreo en tiempo real de mues-

tras biológicas [2]. El uso de nanocables para permitir la detección ultrasensible de muestras biológicas y químicas es una metodología que surgió el último par de años. Estos sensores permiten realizar una lectura rápida, precisa y usando directamente variables eléctricas, lo que facilita su interacción con circuitos integrados dentro de sistemas más complejos [3].

En la literatura se pueden encontrar diversos ejemplos donde estos sensores han sido utilizados de manera exitosa en la detección de muestras biológicas y químicas [1][4][5]. Entre ellos podemos encontrar desde proteínas y ADN, hasta moléculas de drogas y virus.

Más aún, la posibilidad de integrar estos dispositivos en la micro y nanoescala, permitiría detectar de manera simultánea un gran número de partículas distintas, permitiendo realizar análisis completos sobre una única muestra [6].

A. Definición y Usos

Los nanocables son sensores de 20 micrómetros de longitud por 3 nanómetros de diámetro a los que se adosan anticuerpos sobre su superficie.

Una aproximación prometedora para la detección eléctrica de macromoléculas biológicas utiliza estos nanocables semiconductores o nanotubos de carbon configurados como transistores de efecto de campo [1]. La idea es lograr un cambio en la conductancia del nanocable en el momento en que una macromolécula cargada se adhiere a los receptores o anticuerpos que han sido previamente pegados.

Cuando el sensor reconoce una molécula relacionada con la enfermedad a detectar produce una señal eléctrica que, mediante la electrónica adecuada y un programa de software, se traduce en un diagnóstico claro y simple que puede ser leído en la pantalla de una computadora.

A diferencia de los métodos actuales, que emplean señales químicas u ópticas y que requieren más tiempo y más cantidad de muestras, el biosensor basado en señales eléctricas es más rápido, obteniendo los resultados en el momento y teniendo muy bajo costo.

Entre las causas más conocidas de enfermedades humanas, se encuentran diversos tipos de virus. Lograr una detección rápida, selectiva y precisa de dichos virus es crucial para poder realizar los tratamientos adecuados de manera eficiente

¹El presente trabajo fue sustentado parcialmente por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Proyecto PICT 14628, y por la UNS, Proyecto PGI 24/ZK12.

P. Julián es miembro del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET, Av. Rivadavia 1517, Buenos Aires, Argentina.

P. Mandolesi es miembro de CIC (Comisión de Investigaciones Científicas), Pcia. Bs. As, La Plata, Argentina.

P. Pareja Obregón es becario del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET, Av. Rivadavia 1517, Buenos Aires, Argentina.

[7]. Los biosensores podrían servir para detectar el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), el Chagas o el Cáncer, entre otras enfermedades.

B. Síntesis de Nanocables

The nanotubes used in this study have been obtained by the catalytic CoMoCAT [8], which employs a silica-supported Co-Mo powder to catalyze the selective growth of single-walled carbon nanotubes by disproportionation of CO. The nanotubes used in this study have an average diameter of 0.8 nm and have majority of (6,5) among the semiconducting nanotubes present in the sample [9]. The SWCNTs grown by this method were purified by SWeNT (Southwest Nanotechnologies). The resulting nanotube material has an excellent quality, as verified by TEM, SEM (Fig. 1), and the D/G band ratio in the Raman spectra obtained at laser excitations of 633, 514, and 488 nm, as well as very low impurity content as determined by XPS analysis.

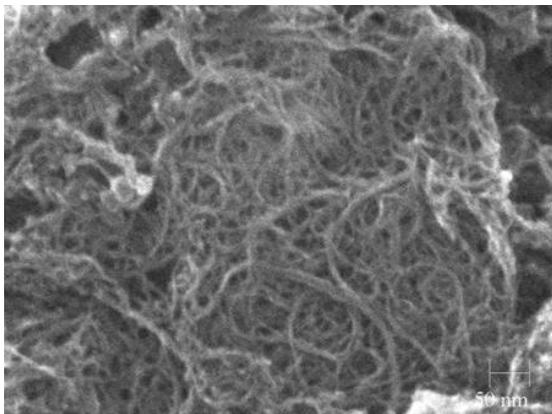


Figura 1. SEM micrography of SWCNTs

II. DESCRIPCIÓN

El diseño del circuito integrado que sirve como interfaz a los nanocables consistió en dos etapas. En un primer lugar se investigaron y desarrollaron modelos que ajustaran de manera razonable a las curvas teóricas de nanocables obtenidas a partir de la bibliografía existente. Dicho modelo es de crucial importancia a la hora de poder calcular las amplificaciones y elegir las especificaciones necesarias para el diseño de la interfaz analógica del circuito integrado. Por otra parte, durante la segunda etapa, se analizaron diferentes topologías adecuadas a la medición con la que se estaba tratando. Finalmente se eligieron tres topologías para implementar, las cuales se describen a continuación.

Físicamente, el *Sensor de Nanocables* está compuesto por cuatro arreglos de terminales, tres de los cuales están asociados a distintos tipos de amplificadores y uno libre. Los mismos se pueden observar en la Fig. 2. Los terminales, junto con sus amplificadores asociados se denominan dominios. Cada arreglo de terminales cuenta a su vez con diez terminales cada uno, conectados mediante un drain común y con los sources unidos mediante metal 1. En el caso del arreglo de terminales

libres, se encuentran todos los terminales independientes y disponibles mediante pads.

En la Fig. 3 se pueden apreciar las dimensiones de cada uno de estos terminales. Por otra parte, se cuenta además con un terminal o *gate flotante* común a todos los arreglos de terminales, el cual tiene la finalidad de servir como referencia de tensión.



Figura 2. Terminales del sistema

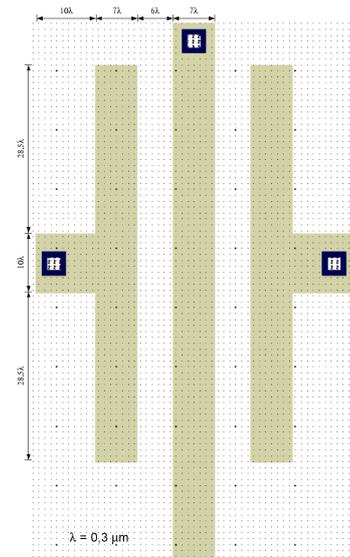


Figura 3. Dimensiones de un terminal

Finalmente en la Fig. 4 se puede apreciar el sistema completo, incluyendo los terminales y los amplificadores anteriormente mencionados.

A. Dominio 1

La interfaz entre los nanocables y la señal de salida está compuesta por un circuito microelectrónico encargado de manejar las señales inherentes a la medición, así como generar la amplificación necesaria para obtener una señal de salida con un bajo nivel de ruido. La amplificación en cuestión

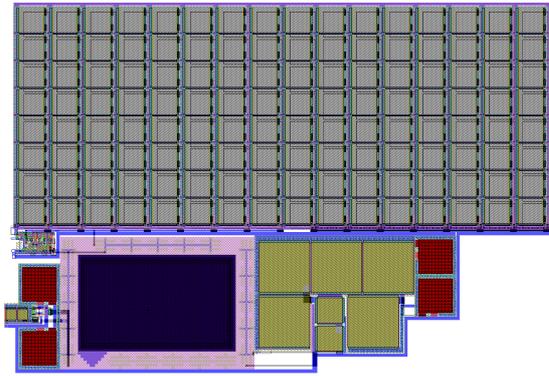


Figura 4. Sistema Completo

del dominio 1 es realizada mediante un circuito amplificador de transresistencia. El circuito amplificador básicamente está compuesto por un espejo de corriente, que refleja la corriente de entrada de uno de los pads sobre los nanocables para generar una tensión de salida. Esta tensión de salida es a su vez la entrada a un amplificador operacional en configuración de ganancia unitaria cuya finalidad es actuar como buffer y evitar que la salida de tensión del nanocable sea cargada o afectada por cualquier circuito externo al die.

De esta manera, contamos con un amplificador cuya salida es proporcional a la tensión entre bornes de los nanocables. Como la corriente que circula por los nanocables es constante, al variar la conductancia de los nanocables, se detecta en la salida un cambio de tensión.

En la Fig. 5 se puede apreciar el esquemático del amplificador.

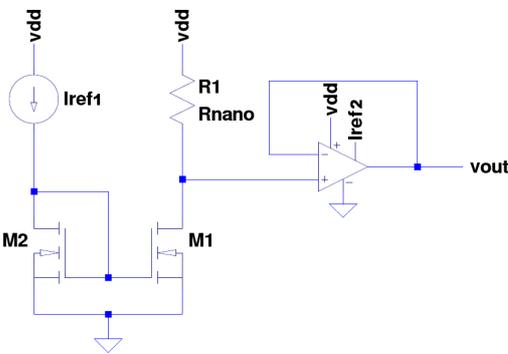


Figura 5. Esquemático del Dominio 1

B. Dominio 2

El segundo amplificador, perteneciente al dominio 2, se trata de un oscilador variable cuya frecuencia de oscilación es dependiente del valor de conductancia de los nanocables. Su esquemático se presenta en la Fig. 6. El circuito amplificador en este caso está compuesto por un espejo de corriente, que refleja la corriente de entrada de uno de los pads sobre un capacitor. A medida que este capacitor se carga, se genera una tensión que ingresa a un par de compuertas inversoras

conectadas en serie. De esta manera, superada la tensión V_m de las compuertas inversoras se genera un cambio de tensión que servirá para activar una llave analógica que desconecta las fuentes de corriente y conecta los nanocables. Los nanocables, a su vez, descargan el capacitor con una constante de tiempo $\tau = RC$ que dependerá del valor de resistencia de los mismos. Una vez que el valor de tensión cae por debajo del valor V_m mencionado anteriormente, vuelve a cambiar la salida de las compuertas inversoras y el ciclo comienza nuevamente.

De esta manera se logra generar una frecuencia proporcional al valor de resistencia de los nanocables. Al presentar variaciones la sustancia a la que se encuentran sometidos los nanocables, cambia la resistencia que estos presentan al oscilador, y en consecuencia su frecuencia de oscilación.

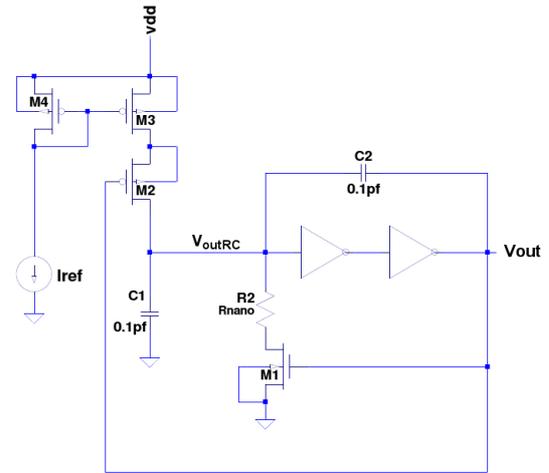


Figura 6. Esquemático del Dominio 2

C. Dominio 3

El tercer y último dominio consiste en un amplificador basado en un generador de corriente de *bias*. En este caso, el circuito amplificador está compuesto por una fuente de corriente cuyo valor de tensión de referencia es fijado por el valor de resistencia de los nanocables y la corriente que circula por ellos. Esta corriente es a su vez realimentada por un espejo de corriente. Finalmente una fuente de corriente espejo refleja la corriente a la salida del circuito, la cual puede ser medida mediante la tensión sobre una resistencia externa al circuito integrado.

De esta manera, logramos un generador de corriente de *bias* cuya corriente de salida depende del valor de resistencia de los nanocables. Al variar dicha resistencia, se puede observar un cambio en la corriente de polarización de la salida.

En la Fig. 7 se puede apreciar el esquemático del circuito del dominio 3.

D. Terminales libres

El circuito integrado, además de contar con diversos amplificadores, cuenta con terminales libres para conectar nanocables cuyas salidas se encuentran directamente conectadas con los

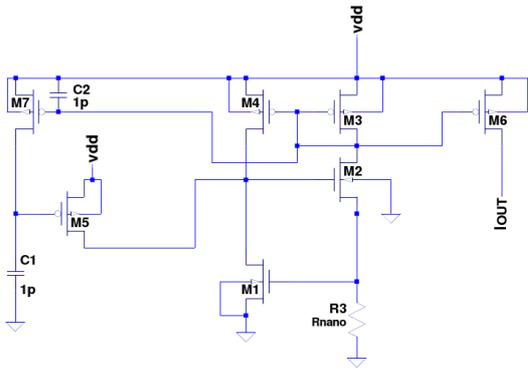


Figura 7. Esquema del Dominio 3

pads de salida. Los mismos se incluyeron de forma tal de contar con una serie de pines para poder contrastar las medidas realizadas con los amplificadores. En total se cuenta con 11 salidas de terminales libres. Dichas salidas se corresponden con las 10 salidas individuales de los sources(drains), más 1 salida correspondiente al drain(source) común.

III. DISEÑO Y SIMULACIONES

Como el dispositivo a considerar se trata de un sensor para el cual no se contaban con modelos de simulación, en primer lugar se debió realizar una caracterización de los nanocables con modelos teóricos y a partir de datos existentes en la bibliografía, para crear un modelo válido para su utilización en el trabajo. De esta manera, teniendo en cuenta el modelo para la región nodedegenerada en saturación fuerte presentada en [10], la ecuación que describe el comportamiento del sistema para los valores de tensiones en los que estamos trabajando es

$$I_d = \alpha \times (V_{gs} - V_t) \times \frac{1 - e^{\beta V_{ds}}}{1 + e^{\beta V_{ds}}} \quad (1)$$

A partir de la ecuación 1 obtenemos curvas como las mostradas en las Fig. 8 y 9.

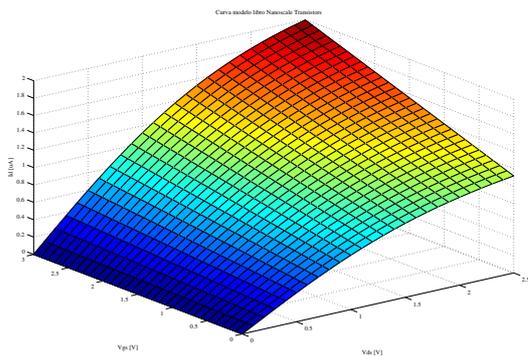


Figura 8. $I_d(V_{ds}, V_{gs})$

Una vez que se contaba con un modelo a partir del cual se podía comenzar el diseño, se procedió a utilizar una aproximación lineal del modelo dentro de la zona de trabajo

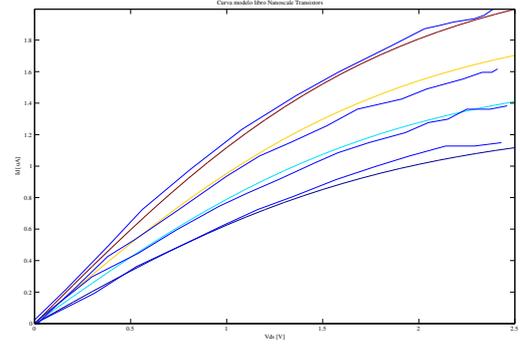


Figura 9. $I_d(V_{ds})$ parametrizado en V_{gs} vs datos experimentales

del dispositivo. De esta manera, en las simulaciones realizadas se podía reemplazar el nanocable por una resistencia de un valor igual a esa aproximación lineal.

Durante el diseño, una de las restricciones que tuvieron mayor influencia sobre la decisión de la topología utilizada y las características de los amplificadores, fue el hecho que las variaciones que se debían detectar eran muy chicas en comparación a la magnitud absoluta del valor de medida. Esto es, se esperaban medir cambios de resistencia de unos cuantos $k\Omega$ en un par de $M\Omega$. Teniendo en cuenta esto, el circuito utilizado en el dominio 2 es especialmente sensible, aumentando su sensibilidad simplemente variando la ventana de tiempo durante la cual se realiza la medición. Por otra parte, los dominios 1 y 3 fueron especialmente ajustados para trabajar en dichas zonas. En la Fig. 10 se puede observar para el dominio 1 la salida de tensión en función del valor de resistencia del nanocable.

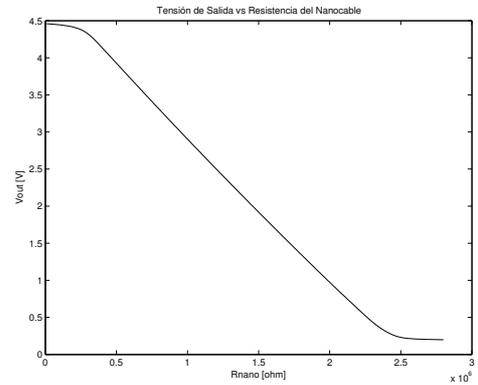


Figura 10. R_{nano} vs V_{out} simulado a partir de datos experimentales

IV. TECNOLOGÍA

El circuito integrado fue fabricado por MOSIS en el proceso estándar AMIS 0.50 con un tamaño mínimo $\lambda = 0,3\mu m$. El diseño de layout fue realizado con la suite de programas provistos por Tanner, en particular usando L-Edit.

Para poder medir las señales fuera del circuito integrado se cuenta con 24 pads analógicos, entre los que se encuentran el pad de tierra y el de alimentación del resto de los pads. En la Fig. 11 se muestra el diagrama de bondeado, esto es cada uno de los pines del circuito y a qué pads están conectados. En la tabla I se resumen los pads disponibles del circuito, y las funciones que cumplen cada uno de ellos.

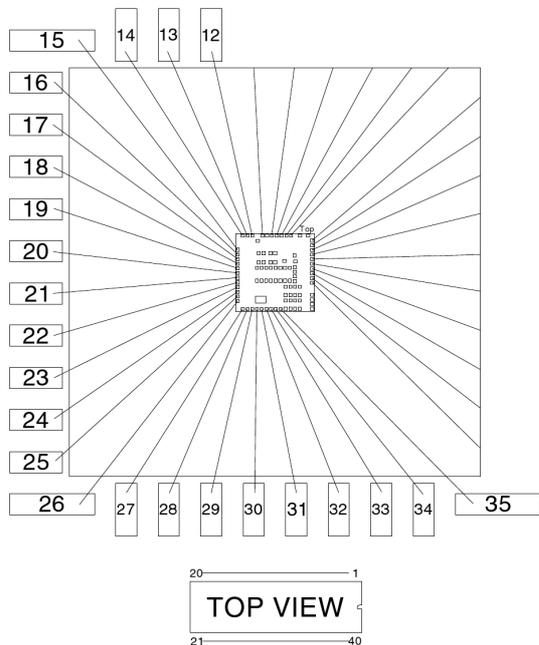


Figura 11. Diagrama de bondeado del circuito

Las dimensiones de los pads disponibles en el circuito se pueden apreciar en la Fig. 12. Los mismos son cuadrados y la apertura en el óxido o *glass overcut*, es decir la zona disponible para bondear, se corresponde con el cuadrado interior.

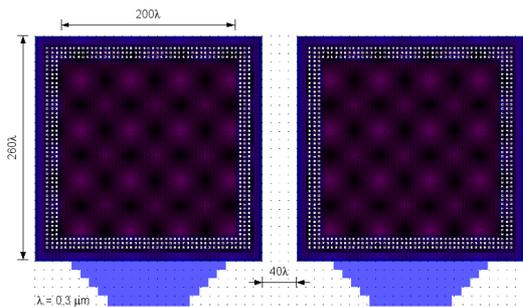


Figura 12. Dimensiones de los pads

V. TESTEO Y RESULTADOS

El circuito integrado se encuentra en etapa de testeo, estando disponibles los primeros resultados. Actualmente se están caracterizando los nanocables ante diversas condiciones ambientales a mencionar, temperatura, humedad y otras variables de

TABLA I
RESUMEN DE PADS Y CONEXIONES

Pin	Función	Dominio
12	S/D10	
13	S/D9	
14	S/D8	
15	GND	
16	I_{out}	D3
17	I_{ref1}	D1
18	I_{ref2} (Opamp)	D1
19	V_{dd}	D1
20	V_{out}	D1
21	V_{dd}	D3
22	V_{dd}	D2
23	V_{out}	D2
24	I_{ref}	D2
25	V_{outRC}	D2
26	V_{dd} Pad	
27	Floating Gate	
28	D/S Común	
29	S/D7	
30	S/D6	
31	S/D5	
32	S/D4	
33	S/D3	
34	S/D2	
35	S/D1	

laboratorio. En la Fig. 13 se puede apreciar el comportamiento de los nanocables para diferentes humedades, obtenido a partir de datos experimentales del dominio 1.

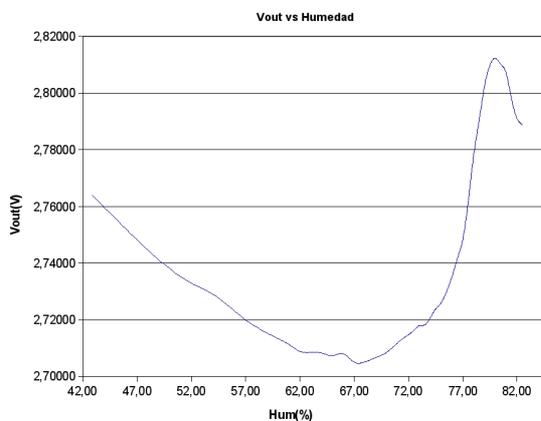


Figura 13. V_{out} vs Humedades obtenida a partir de datos experimentales

El plan de testeo consiste básicamente en pegar los nanocables a los terminales de los diferentes amplificadores y caracterizar la respuesta de salida ante las diversas variaciones del entorno.

En un principio, la vinculación entre los arreglos de terminales y los nanocables no era del todo satisfactoria. Esto producía saturación en las variables de salida, imposibilitando las mediciones. Dicho problema fue solucionado modificando la composición de los nanocables que se pegaron sobre los terminales.

VI. CONCLUSIONES

El proyecto tratado en este trabajo consiste en una serie de sensores de nanocables para la detección selectiva de virus y mutaciones de adn. En particular, el die implementa los amplificadores analógicos y los circuitos de acondicionamiento de señal.

Tres tipos de amplificadores o dominios fueron diseñados, más un arreglo de terminales libres para propósitos de testeo. El primer dominio es un amplificador basado en la variación de tensión debido a cambios en la conductancia presentes en un nanocable con corriente constante. El segundo dominio es un oscilador variable cuya frecuencia es dependiente de la conductancia de los nanocables en su entrada. Por último, el tercer dominio es un generador de corriente de referencia, cuya referencia está compuesta en parte por los nanocables.

El plan de testeo consiste en pegar los sensores de nanocables en los diferentes arreglos de terminales disponibles y caracterizar la respuesta de salida de los amplificadores a diferentes agentes biológicos de entrada.

Aunque el diseño electrónico se comporta de la manera esperada, la vinculación entre los arreglos de terminales y los sensores de nanocables no fue del todo satisfactoria. Nuevos sensores de testeo y métodos para realizar la interfaz entre las partes electrónicas y biológicas del sistema están siendo diseñados. La causa más importante de fallo en los circuitos se puede atribuir al pobre contacto o interfaz entre los sensores de nanocables y los terminales que sirven como entrada a los diferentes amplificadores.

Finalmente, en la Fig. 14 se muestra una fotografía del chip completo mandado a fabricar, mientras que en la Fig. 15 se puede apreciar el die sobre una moneda para su comparación en tamaños.

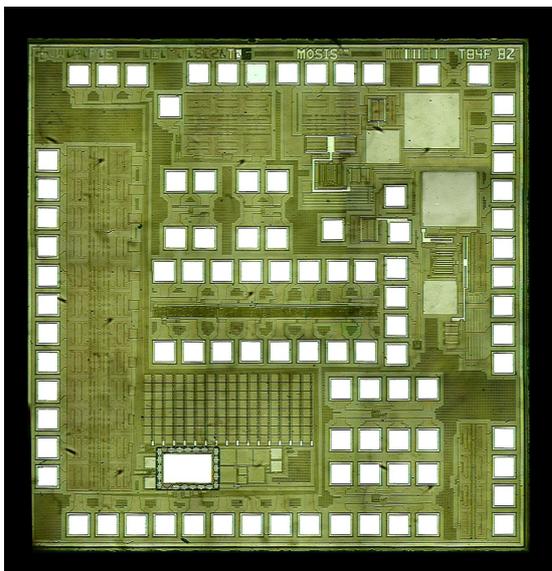


Figura 14. Fotografía del chip completo

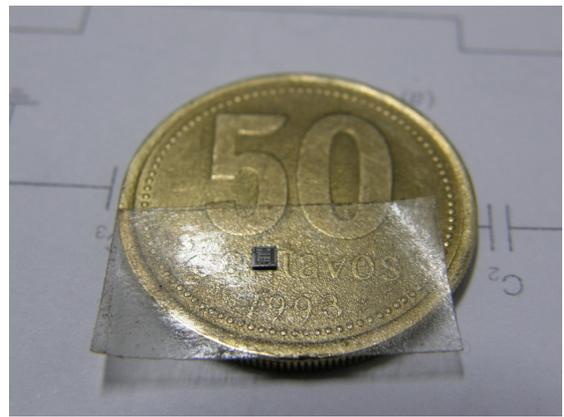


Figura 15. Fotografía del chip sobre una moneda

REFERENCIAS

- [1] F. Patolsky, G. Zheng, and C. M. Lieber, "Nanowire sensors for medicine and the life sciences," *Nanomedicine (London, England)*, vol. 1, pp. 51–65, Jun. 2006.
- [2] —, "Fabrication of silicon nanowire devices for ultrasensitive, label-free, real-time detection of biological and chemical species," *Nature Protocols*, vol. 1, pp. 1711–1724, Nov. 2006.
- [3] R. J. Chen, S. Bangsaruntip, K. A. Drouvalakis, N. W. S. Kam, M. Shim, Y. Li, W. Kim, P. J. Utz, and H. Dai, "Noncovalent functionalization of carbon nanotubes for highly specific electronic biosensors," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 100, p. 4984, 2003.
- [4] A. Star, E. Tu, J. Niemann, J.-C. P. Gabriel, C. S. Joiner, and C. Valcke, "Label-free detection of dna hybridization using carbon nanotube network field-effect transistors," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 103, pp. 921–926, 2006.
- [5] Y. Cui, Q. Wei, H. Park, and C. M. Lieber, "Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species," *Science*, vol. 293, pp. 1289–1292, Aug. 2001. [Online]. Available: <http://www.sciencemag.org/cgi/content/abstract/293/5533/1289>
- [6] G. Zheng, F. Patolsky, Y. Cui, W. U. Wang, and C. M. Lieber, "Multiplexed electrical detection of cancer markers with nanowire sensor arrays," *Nat Biotech*, vol. 23, pp. 1294–1301, Oct. 2005. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1038/nbt1138>
- [7] F. Patolsky, G. Zheng, O. Hayden, M. Lakadamyali, X. Zhuang, and C. M. Lieber, "Electrical detection of single viruses," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, pp. 14017–14022, Sep. 2004.
- [8] D. E. Resasco, W. E. Alvarez, F. Pompeo, L. Balzano, J. E. Herrera, B. Kitiyanan, and A. Borgna, "A scalable process for production of single-walled carbon nanotubes (swnts) by catalytic disproportionation of co on a solid catalyst," *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 4, pp. 131–136, 2002.
- [9] S. M. Bachilo, L. Balzano, J. E. Herrera, F. Pompeo, D. E. Resasco, and R. B. Weisman, "Narrow (n, m)-distribution of single-walled carbon nanotubes grown using a solid supported catalyst," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 125, pp. 11186–11187, 2003.
- [10] M. Lundstrom and J. Guo, *Nanoscale Transistors: Device Physics, Modeling and Simulation*, 1st ed. Springer, Dec. 2005.