

LAB-ON-A-CHIP FOR CELLULAR ANALYSIS BY DIELECTRIC SPECTROSCOPY BASED ON INJECTION LOCKED OSCILLATORS

M. Babay¹, C. Dalmay¹, B. Barelaud¹, E.C. Dumaz³, C. Baristiran Kaynak³, M. Kaynak³, D. Cordeau², A. Pothier¹

¹ Univ. Limoges, CNRS, XLIM, UMR 7252, Limoges, France

² Université de Poitiers – CNRS-XLIM, UMR 7252, Angoulême, France

³IHP – Leibniz-Institut für innovative Mikroelektronik, 15236 Frankfurt (Oder), Germany

Abstract: This paper presents the development of a lab-on-a-chip for cellular analysis with the implementation of RF biosensors based on injection-locked oscillators. The proposed circuit can evaluate the dielectric response of suspended cells circulating in a microfluidic channel. Under these conditions, a detection accuracy of a few attoF is necessary to discriminate differences between cells. For oscillators operating in free running frequency, it would generate variations of the oscillation frequency of the order of 10 kHz near 5 GHz, which is very complex or almost impossible to detect. We propose here a relevant approach.

Keywords: RF biosensor, BiCMOS, Biological cells, Injection locked oscillators

1. INTRODUCTION

De nos jours, de nombreuses problématiques de santé publique ont montré un intérêt certain pour l'utilisation de nouvelles technologies comme les dernières générations de biocapteurs capables de réaliser des analyses rapides, précises, fiables et à faible coût à partir d'échantillons biologiques tels que des biomolécules ou des cellules. D'importants progrès ont été réalisés dans le domaine biomédical grâce au développement de nouveaux systèmes hyperfréquences qui apportent de nouvelles possibilités et perspectives notamment en termes de diagnostic [1]. En particulier, le recours à des biocapteurs pourrait être prometteur à l'avenir dans le domaine de l'oncologie afin, par exemple, de détecter la présence de cellules cancéreuses ou d'évaluer leur potentiel invasif [2]. De récents travaux ont montré les potentialités de la technologie CMOS pour l'intégration de dispositifs de caractérisation RF par spectroscopie diélectrique [3,4]. Cette méthode de caractérisation consiste à mesurer les propriétés diélectriques intracellulaires d'échantillons biologiques et peut permettre, sous conditions d'une sensibilité de détection suffisante, de mesurer l'influence de différences de nature physiologique, pathologique ou encore morphologique entre différentes cellules. Pour atteindre les seuils de sensibilité requis, les architectures actives, notamment celles basées sur des oscillateurs, semblent particulièrement attractives. Plusieurs approches peuvent être envisagées, que ce soit au moyen de techniques de comptage de fréquence [5], de PLL (Phase Locked Loop) [6] ou d'oscillateurs verrouillés par injection [7]. Pour ces applications de bio-détection, l'utilisation de capteurs à base d'oscillateurs exige une très grande stabilité de fréquence des oscillateurs implémentés, car il est nécessaire de pouvoir détecter de faibles décalages de fréquence, synonyme de forte résolution de détection.

Dans cet article, nous avons choisi de présenter la conception et l'implémentation d'un système de détection à base d'oscillateurs verrouillés par injection ayant les potentialités d'atteindre le fort niveau de sensibilité requis pour détecter les différences de permittivité complexe pouvant apparaître entre différentes cellules biologiques mises en suspension.

2. CONCEPTION ET IMPLEMENTATION DU SYSTEME DE DETECTION

2.1 Conception du système de détection

Ce système de détection vise à évaluer la permittivité des cellules biologiques à caractériser en mesurant un déphasage induit entre deux oscillateurs LC identiques et verrouillés sur la même fréquence d'injection. Les deux oscillateurs sont implémentés au fond du même canal microfluidique. Ainsi, lorsqu'une cellule biologique passe au voisinage du capteur capacitif de l'oscillateur de détection, sa fréquence d'oscillation libre sera amenée à varier par rapport à celle du deuxième oscillateur qui sera utilisé ici comme référence. En effet, à ce moment-là, la cellule en question n'influence pas la capacité de détection de ce dernier. Comme l'illustre la Figure 1, cette approche de mesure différentielle devrait garantir une meilleure précision de mesure en autocorrigant de potentiels écarts de fréquence induits par des perturbations environnementales.

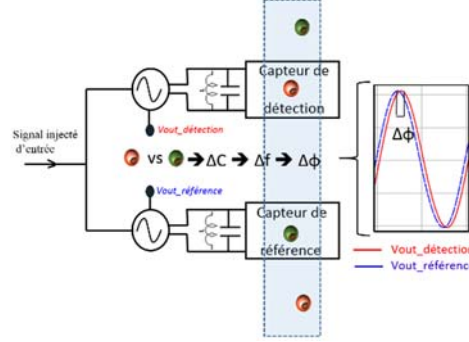


Fig.1. Schéma de principe du système de détection

Le système de détection proposé repose donc sur l'utilisation de deux oscillateurs verrouillés par injection. Ce concept a été introduit par Adler [8]. Le principe de l'injection repose sur le fait qu'un oscillateur maître (idéalement une source spectralement pure) impose, sous certaines conditions, sa fréquence à un oscillateur esclave, générant ainsi un déphasage entre les signaux de sortie des deux oscillateurs. Ce déphasage va être amené à varier en fonction de la différence de fréquence d'oscillation libre entre l'esclave et le maître [8, 9]. L'équation d'Adler (1) peut modéliser le comportement de l'oscillateur verrouillé par injection :

$$\omega_{\text{dét}} - \omega_{\text{inj}} = \frac{\omega_{\text{dét}}}{2Q} \cdot \frac{A_{\text{inj}}}{A_{\text{osc}}} \cdot \sin(\phi_{\text{dét}} - \phi_{\text{inj}}) \quad (1)$$

où ω_{inj} , ϕ_{inj} et A_{inj} sont respectivement la pulsation, la phase et l'amplitude du signal d'injection et $\omega_{\text{dét}}$, $\phi_{\text{dét}}$ et A_{osc} la pulsation, la phase et l'amplitude du signal de sortie de l'oscillateur esclave.

Le circuit proposé est constitué de deux oscillateurs différentiels (Détection et Référence) verrouillés par injection. Chaque oscillateur est basé sur l'architecture à paire croisée NMOS comme illustrée sur la Fig. 2. Dans cette architecture, les transistors RF_NMOS, de dimension égale à $W = 14 \mu\text{m}$ / $L = 0,25 \mu\text{m}$, fournissent la résistance négative permettant de compenser les pertes associées au circuit résonant. Le résonateur est constitué d'une inductance différentielle (L_{Diff}), d'une capacité (C_{MIM}) et d'une capacité de détection interdigitée (C_{Sens}) immergée dans la solution de suspension cellulaire; tous associés en parallèle. Un amplificateur différentiel suivi d'un étage tampon a été implémenté, à la sortie de l'oscillateur, afin de combiner la sortie différentielle en une seule sortie adaptée sur 50Ω .

Ainsi, lorsqu'une cellule passe à proximité de la zone de détection, elle va générer une faible variation de la capacité de détection du résonateur de l'oscillateur de détection. En conséquence, la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur de détection devrait varier dans des proportions similaires, sans aucune influence sur l'oscillateur de référence ni sur sa fréquence d'oscillation libre. Lorsque le système est sous injection, cette variation de capacité se traduit par l'apparition d'un déphasage entre les deux signaux de sortie de l'oscillateur de détection et de l'oscillateur de référence. La valeur de ce déphasage dépend de l'amplitude du signal injecté « A_{inj} » mais également de la différence de propriétés diélectriques des cellules étudiées par rapport à leur milieu de suspension.

L'élément de détection choisi est basé sur un capteur capacitif. Il s'agit d'une capacité interdigitée immergée au fond d'un canal microfluidique, comme le montre la Fig. 2. Un modèle électrique équivalent a été réalisé à l'aide

du logiciel de simulation 3D HFSS (Fig. 2) qui permet de prédire avec précision les effets de variations des propriétés diélectriques auxquelles nous pouvons nous attendre pour différentes cellules considérées.

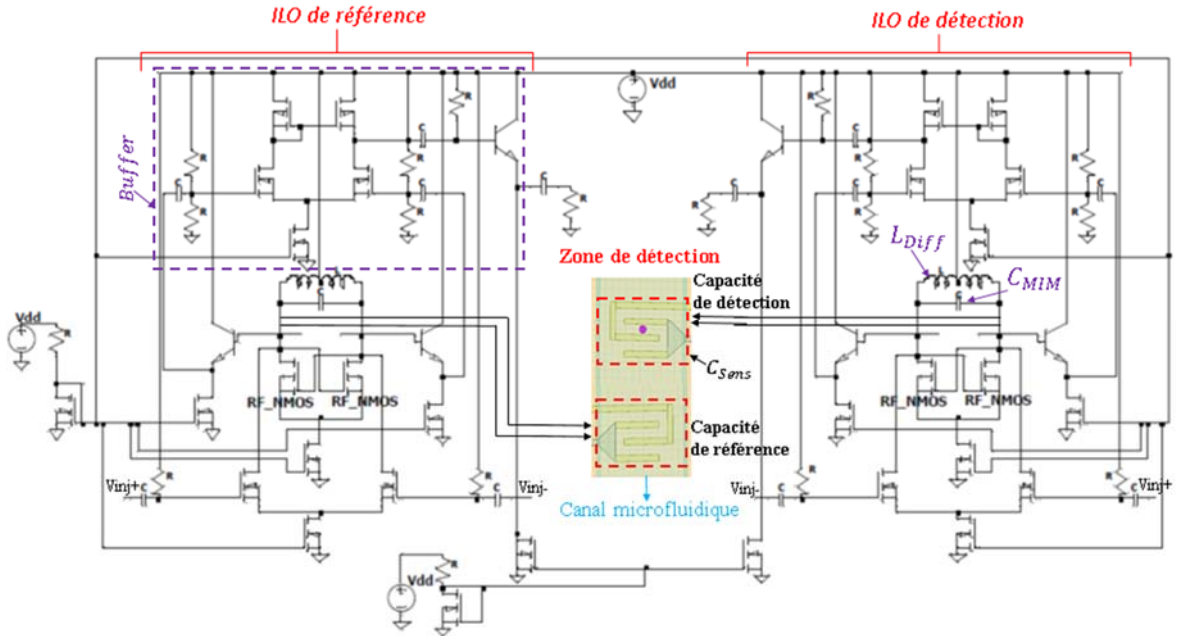


Fig.2. Architecture globale du biocapteur

2.2 Implémentation du système de détection

Le circuit proposé a été implémenté sur la technologie SG25H4 SiGe: C BiCMOS 0,25 μm d'IHP. Le dessin des masques de la puce est illustré sur la Fig.3 (a). La dimension de la puce complète est de 2*7 mm². La puce présente deux systèmes de détection identiques (1 & 2), implémentés face à face vis-à-vis du canal microfluidique. L'idée est ici de pouvoir effectuer une seconde mesure (de confirmation) des propriétés diélectriques de chaque cellule circulant dans le canal microfluidique. La figure 3 (b) montre l'architecture du cœur de la fonction électronique du système de détection implémenté avec ses principales sous fonctions.

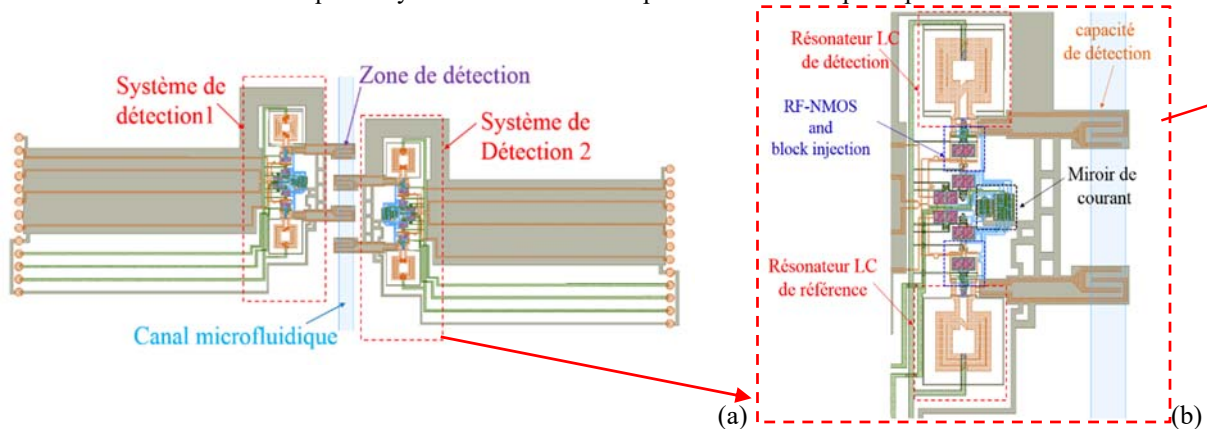


Fig.3. Dessin des masques de la puce montrant les 2 biocapteurs de détection avec leurs références implémentées sur la même puce microfluidique (a), Structure du système de détection (b)

3. RÉSULTATS DE SIMULATION

La figure 4 (a) montre l'impact de la variation de la fréquence d'oscillation libre (f_{det}) sur la différence de phase obtenue entre le signal de sortie de l'oscillateur de détection et le signal maître (f_{inj}). En considérant des simulations électriques du circuit représenté sur la figure 2, on démontre, d'après la figure 4, qu'avec une conception appropriée et une injection de l'ordre de quelques mV (10 mV), une variation de fréquence comprise entre -240 et +240 kHz autour de 5 GHz peut entraîner une plage de déphasage comprise entre -30 ° et +30 °.

Considérons un cas où deux cellules consécutives circulent dans le canal et présentent une légère différence de propriétés diélectriques intracellulaires, typiquement ici une différence de permittivité relative globale de 1. Les simulations HFSS prédisent, dans ce cas, une variation de la capacité de détection de l'ordre de 2 attoF. Comme le montre la figure 4 (b), le circuit proposé devrait être capable de détecter cette petite variation capacitive, générant un déphasage égal à 2,5 ° lorsque le système est verrouillé par injection. Ces résultats de simulation de circuit prouvent que l'architecture du système de détection proposé est extrêmement sensible et peut répondre à nos attentes.

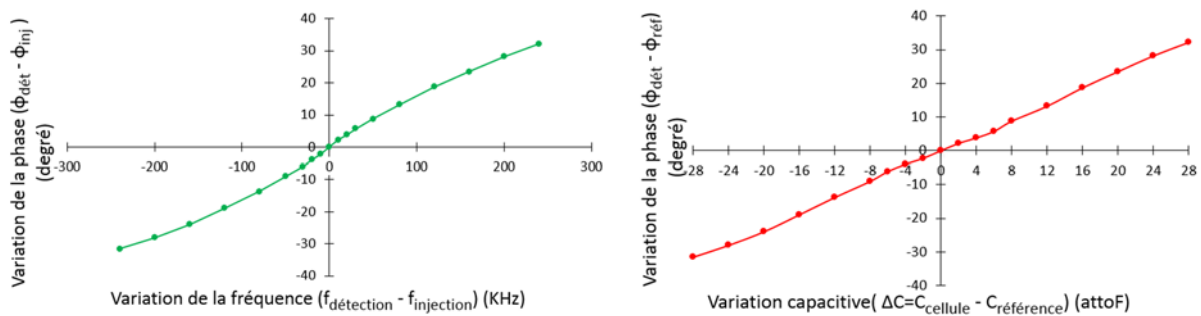


Fig.4. Variation du déphasage en fonction de la variation de fréquence (a), Déphasage entre les 2 oscillateurs en fonction de la variation de la capacité de détection (b)

4. CONCLUSION

Un système de détection à haute sensibilité basé sur deux oscillateurs verrouillés par injection fonctionnant à 5 GHz et intégré sur un process BiCMOS SiGe: C 0,25 μm est présenté. Les simulations montrent qu'un tel dispositif devrait bien être à même de détecter le passage de cellules biologiques dans un canal microfluidique et pourrait également permettre de mesurer les différences de propriétés diélectriques existantes entre ces cellules avec une résolution de mesure à l'état de l'art.

Cette étude a bénéficié du support de l'Union Européenne au travers de son programme Future and Emergent Technologies Horizon 2020 FET et du projet SUMCASTEC (Grant Agreement N° 737164).

RÉFÉRENCES

- [1] K. Grenier et al., "Recent Advances in Microwave-Based Dielectric Spectroscopy at the Cellular Level for Cancer Investigations", IEEE Transaction on MTT, Vol. 61, no. 5, pp. 2023-2030, May 2013
- [2] L.Y Zhang et al., "Discrimination of Colorectal Cancer Cell Lines using Microwave Biosensors", Sensors and Actuators A: physical, Vol. 216, pp. 405-416, 2014.
- [3] M. Kaynak et al, "BiCMOS integrated microfluidic platform for Bio-MEMS applications", IEEE IMS 2014.
- [4] A.Manickam et al, "A CMOS Electrochemical Impedance Spectroscopy Biosensor Array for Label-Free Biomolecular Detection", IEEE International Solid-State Circuits Conference, 2010.
- [5] Hua Wang, "Phase Noise and Fundamental Sensitivity of Oscillator-Based Reactance Sensors", IEEE Transactions on MTT, vol. 61, no. 5, May 2013
- [6] Yunseog Hong et al, "A Label-Free Biosensing Platform Using a PLL", IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems, vol. 9, no. 3, Jun 2015.
- [7] J.-C. Chien et al, "Oscillator-Based Reactance Sensors With Injection Locking for High-Throughput Flow Cytometry using microwave dielectric spectroscopy", IEEE Journal of Solid-State Circuits, vol. 51, no. 2, Feb 2016
- [8] R. Adler et al, "A study of locking phenomena in oscillators," Proc. IRE, vol. 34, pp. 351–357, Jun. 1946.
- [9] B. Razavi et al, "A study of injection locking and pulling in oscillators," IEEE J. Solid-State Circuits, vol. 39, no. 9, pp. 1415–1424, Sep. 2004.