

세포의 기록용 차동증폭기

이 강 준, 김 현 택

고려대학교 심리학과

단단위 활동(single unit activity: SUA) 및 다단위 활동(multiple unit activity: MUA)을 기록할 수 있는 증폭기를 소개한다. 증폭기는 최첨단 증폭기와 후단 증폭기로 분리되어 있으며 두 부분 모두에서 높은 동상신호 제거비를 얻기 위해 차동증폭회로가 사용되었다. 높은 입력임피던스를 얻기 위해 접합형 전계효과 트랜지스터가 사용되었다. 후단 증폭기에는 또한 여파기와 완충증폭기를 삽입하여 원하는 주파수대의 뉴런활동을 선별할 수 있도록 하였다. 본 증폭기는 고입력 임피던스, 저잡음, 광대역 증폭 특성을 지닌 기기로서, 급속 전극을 사용한 다단위 기록과 미세유리관 전극을 사용한 단단위 기록에서 만족한 성능을 보였다.

신경계를 구성하고 있는 주된 대표적 단위인 뉴런은 그 전기적 특성상 미세한 발전기에 해당하며, 신경계란 이 발전기들이 망을 이루어서 서로간에 전기화학적 영향을 주고받고 있는 것이라 하겠다. 이 발전은 미량의 이온유통에 의한 것이므로 발전용량이 대단히 작아서 세포외에서 그 전기적 활동을 기록(extracellular recording)할 경우 그 측정전압은 수십 μV 정도인, 내부저항이 대단히 높은 발전기라 할 수 있다. 이 단위들의 활동을 기록하는 기법인 단단위 활동(single unit activity : SUA) 기록법과 다단위 활동(multiple unit activity : MUA) 기록법은 실험동물의 신경계내에서 일어나는 전기생리학적인 사건을 탐지하는 직접적이면서도 예민한 방법으로서 감각반응의 연구, 학습에 따른 뉴런의 가소성(plasticity)연구(김현택·최준식·김기식, 1991), 각성과 수면의 연구, 호르몬 및 각종 약물효과의 연구에서 널리 사용되어 왔다.

과거 수십년동안 여러 연구자들은 단위활동의 기록을 위해서 다양한 전극을 사용하였다. 단단위 기록

에는 절연된 전극의 침단 노출부분이 대단히 작은(약 1~2 μm) 높은 임피던스(impedance : 1~30M Ω)를 가진 전극이 사용되었고, 다단위의 기록을 위해서는 전극침단의 노출부분이 상대적으로 큰(수십 μm) 낮은 임피던스(수십K Ω ~1M Ω)를 가진 전극이 사용되었다. 전극의 재료는 미세유리관 전극과 급속침형 전극이 주종을 이루고 있다(De Valois & Pease, 1973).

이러한 전극을 통하여 공급되는 신호원은 최대 전달효율을 얻기위해서 증폭기의 입력과 임피던스 정합(matching)을 이루어야 하므로 단위활동의 기록을 위한 증폭기는 우선 높은 입력 임피던스를 가지는 것이 필수적이다. 두번째로, 미세한 신호를 증폭하기 위해서 증폭기는 입력신호와 함께 들어오는 다양한 전자기적 잡음을 제거해야할 필요가 있다. 단위활동은 그 전압이 전술한 대로 대단히 작으므로 전자기적 잡음은 그것의 수십배나 클 수도 있어서, 예를 들어 가정용 전등선에서 유도된 잡음은 단위활동의 기록에 심각한 악영향을 미친다. 이러한 잡음들을 제거하기 위해서는, 증폭기의 입력이 차동증폭기

(differential amplifier)로 설계되는 것이 바람직하다. 세째로, 단위활동 증폭기는 미소한 단위활동 전압을 분석에 충분한 정도의 크기로 증폭시켜야 하므로 높은 증폭도와 신호대 잡음비(signal-to-noise ratio)를 가져야 한다. 네째로, 뉴런의 활동은 넓은 주파수대에 걸쳐 있으므로 증폭기는 직류영역의 증폭을 포함하는 광대역 증폭기가 바람직하다. 다섯째로, 적절한 고역여파기(high-pass filter)와 저역여파기(low-pass filter)를 사용하여 원하는 주파수대역을 선정하여 관찰하는 것이 필요하다. 마지막으로, 실험실 전원을 사용하므로써 생길 수 있는 60Hz잡음의 영향을 배제하기 위해서 건전지로 동작하는 회로가 요구되는데, 이를 위해서는 성능에 지장이 없는 한도 내에서 가장 최소한의 부품사용과 회로구성 그리고 저소비전력의 부품사용이 필수적이다. 또한 충전회로가 부가되어있는 것이 바람직하겠다.

실제 실험상황에서, 동물은 만성적으로 삽입된 미세전극(chronically implanted microelectrode)을 머리에 부착한 채 자유로이 움직일 경우도 있다. 그런 경우에 신경활동을 기록하기 위해서는 그 동물의 뇌의 기록부위에 심어 놓은 미세전극과 증폭기의 입력 단자 사이를 긴 전선으로 연결하여야만 한다. 하지만 신호를 전달하는 전선의 길이가 길어지면 그것이 안테나의 역할을 하여서 공중에 분포하는 전자기적 잡음이 유도되며 또한 전선 자체의 움직임에 의한 전기적 잡음발생으로 신경활동만의 기록이 어렵게 된다. 더우기 그 전선이 차폐케이블(shielded cable)인 경우에는 선이 길어지면 안쪽 신호선과 바깥쪽 차폐선 사이의 정전용량(capacitance)때문에 단위활동 주파수대의 고역특성이 저하하게 된다.

전술한 제반 문제점을 해결하기 위해서는 최첨단 증폭기(headstage amplifier)는 따로 분리하여 가능한 한 전극 가까이에 위치시키거나 또는 기록부위가 뇌일 경우에는 두개골 위에 장착시키는 것이 바람직하다. 그리하여 미세전극에서 가장 가까운 곳에 둔 최첨단 증폭기에서 우선 단위활동 신호를 수십배 증폭시킨 후에 증폭된 신호가 전선을 타고 후단 증폭기에 공급되도록 하여야 한다. 한편, 차폐케이블의 정전용

량 문제는 음성용량피먹이(negative capacity feedback)기법으로 해결할 수 있다(Brown, Maxfield & Moraff, 1973).

본 연구의 목적은 이와 같은 요구조건을 만족시키는 다단위 활동 및 단단위 활동 기록용 증폭기를 경제적으로 제작하는 것이다. 그러기 위해서, 모든 부품은 국내에서 흔히 구할 수 있는 것 중에서 적합한 것을 선택하였다.

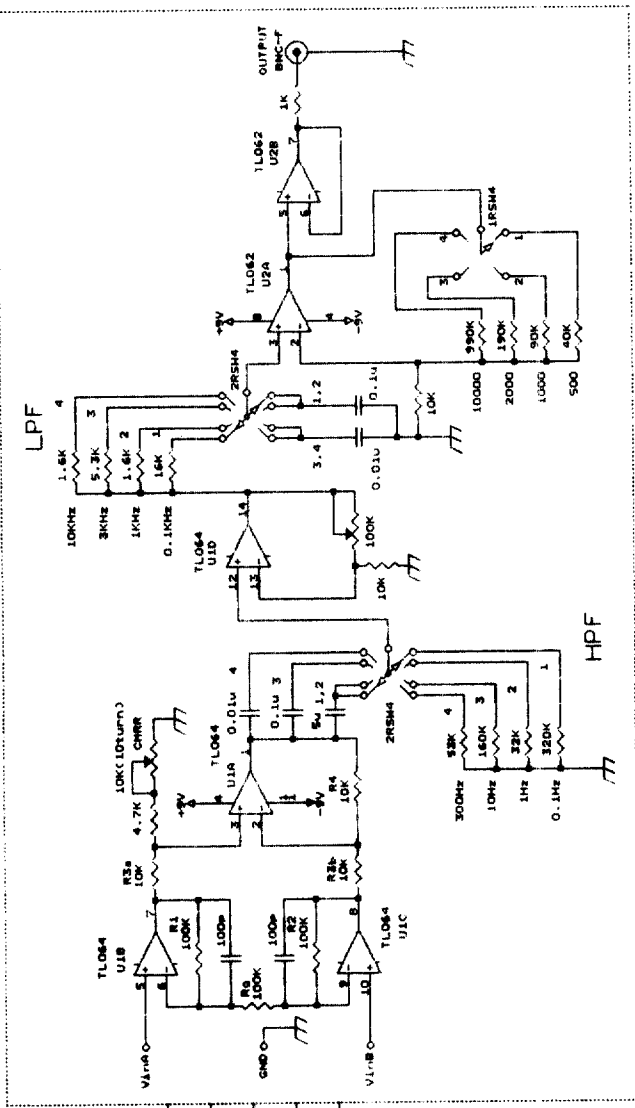
방법

본 증폭기는 크게 초단의 최첨단 증폭기와 후단 증폭기(postamplifier) 및 전원부로 나뉜다. 최첨단 증폭기는 전술한대로 신호원과 가장 가까이 있도록 하기 위해서 소형 금속상자에 별도로 구성되어 있으며 후단 증폭기는 차동입력증폭부, 여파기부, 출력증폭부로 구성되어 있다. 전원부는 건전지를 사용하거나 Ni-Cad충전전지를 사용하도록 하는 충전부와 방전경고부로 구성되어 있다.

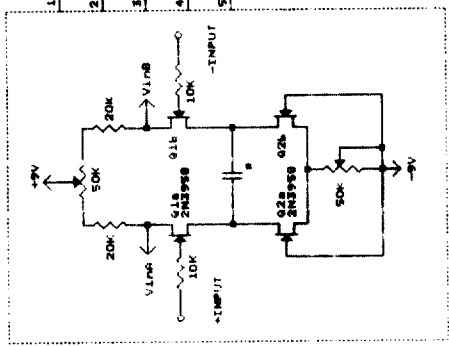
1) 최첨단 증폭기

최첨단 증폭기부는 <그림1>의 왼쪽 부분으로서, 높은 입력저항과 낮은 입력 오프셋 전류(input offset current)와 출력 오프셋 전압을 가지도록 하기 위해서 이중 전계효과 트랜지스터(dual field effect transistor : dual FET)인 2N3958(Q1)을 사용하였다. 이것은 N채널의 접합형 FET가 쌍으로 한 금속캔에 들어있는 것으로서 게이트(gate)누설전류가 40pA이하이므로 본 회로의 전원전압을 고려하여 계산하면 게이트 직류저항이 $10^{12}\Omega$ 이상이다. 이는 단위활동측정에서 요구되는 고입력저항을 충분히 만족시키는 값이다. 또한 이 FET는 저잡음, 소신호 증폭용이다. 한편 증폭특성의 안정성을 얻기위해 동일한 FET(Q2)로써 전류원 바이어스(current-source bias)를 취하였는데, 드레인(drain)전류를 150 μA 로 일정하게 하였다. 한편 상호콘덕턴스(gm)를 참조하여 계산해 본 결과, 본 회로의 Q1드레인저항으로서 최소

후단 증폭기



취침단 증폭기



충전 및 방전 경고부

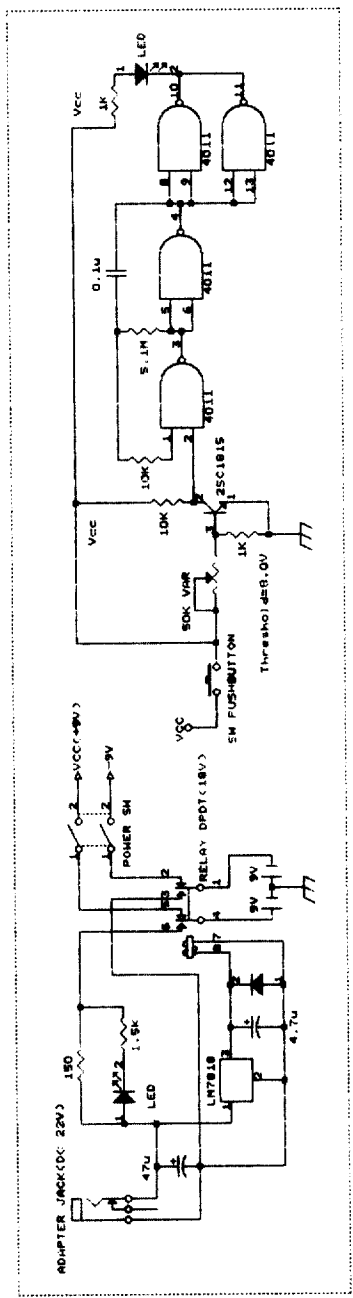


그림 1. 본 증폭기의 전체 회로도(*의 값은 사용목적에 따라 적절히 조정)

20배의 무부하 전압증폭도를 얻을 수 있었다.

본 회로는 차동증폭회로를 채택하고 있어서 정밀히 조정된 경우 대단히 우수한 동상신호 제거비(common mode rejection ratio : CMRR ; 70dB이상)를 얻을 수 있으며, Q1 드레인에서의 평형출력은 후단 증폭기로 공급된다.

2) 후단 증폭기

최첨단 증폭기의 평형출력은 후단증폭기 입력단의 제2차 차동증폭 회로에 공급된다. 이 증폭부는 연산증폭기(operational amplifier)를 사용한 전형적인 계측용 증폭기(instrumentation amplifier)로서

U1A의 10KΩ 반고정 저항을 정밀하게 조정하면 다시 한번 높은 CMRR을 얻을 수 있다(제조회사가 권장한 TL 064를 사용한 계측용 증폭기 회로는 계산상의 CMRR이 84dB이나 본 증폭회로에서는 62dB의 실측치를 얻었음). 이 차동증폭부의 증폭도는 $U1A, U1B, U1C$ 를 한꺼번에 고려할 때 $(R_g + R_1 + R_2 / R_g) R_3 * V_{in(diff)} / R_3$)로서 3배의 증폭도를 갖는다. TL064(U1)는 입력단이 P채널의 FET로 구성된 저소비전력 4회로 연산증폭기로서 전원을 건전지로 사용할 경우 장시간 사용을 가능케 할 목적으로 선택하였다. 여파부는 고역여파기와 저역여파기로 구성되어 있고 그 사이에는 역시 JFET입력의 연산 증폭기(U1D)를 사용하여 두 여파기가 상호간섭받지 않도록 완충증폭을 하고 있다. 각 여파기는 CR형여파기이며 3dB의 감쇠 특성을 갖고 있다. 두 여파기의 범위를 조합하여 대역폭 통과여파기(band-pass filter)로 사용하도록 구성하였다.

여파기를 통과한 신호는 비반전(non-inverting) 증폭기(U2A)를 통해 최종 증폭된 후 맨 끝단의 완충기(buffer:U2B)를 통해 출력된다. 전압증폭도는 최첨단 증폭기에서부터 계산하고, 모의 뉴런을 통해서 실측하여 500배, 1000배, 2000배, 10000배가 되게 하였다. 완충기는 출력단에서의 부하효과 제거용으로 삽입하였다. 증폭기는 역시 JFET입력의 저소비전력용인 TL062 를 사용하였다.

3) 전원부

우선 충전부는 Ni-Cad전지를 12시간정도 충전시켜서 완전히 충전되도록 구성하였는데, 충전시는 증폭기로 공급되는 모든 전원이 차단되도록 하여서 누전에 의한 실험동물의 상해 가능성을 완전히 배제하였다. 방전 경고부는 편전원전압이 8V보다 낮을때 2SC1815의 바이어스(bias) 전압이 변하도록하여 CMOS IC 4011로 구성된 발진회로(oscillator)를 구동시켜 발광다이오드(LED)가 점등되도록 하였다.

결과 및 논의

뉴런의 신경활동을 기록하는 증폭기는 신호원이 미소전압과 극히 높은 신호원임피던스를 가지므로 높은 증폭도, 저잡음, 광대역증폭 특성을 가져야 한다. 이러한 목적을 달성하기 위해서 여러 연구자들은 진공관 증폭기를 사용할 때부터 반도체 증폭기를 사용하는 현재까지 정교한 회로를 고안해 왔는데 그런 것에는 교류신호 입력임피던스를 높이기 위한 부트스트랩핑(boot - strap), 동상잡음을 제거하기

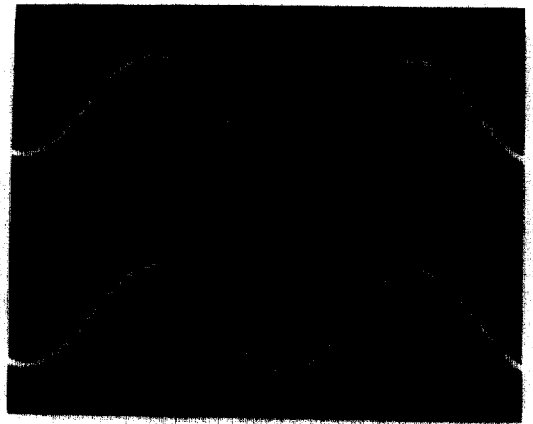


그림 2. 1KHz 정현파 입력파형(위)과 본 증폭기를 거쳐 증폭된 출력 파형(아래)과의 비교(입력 : 10mV, 출력 : 10V, 증폭률 : 1000배 time sweep : 0.5msec)

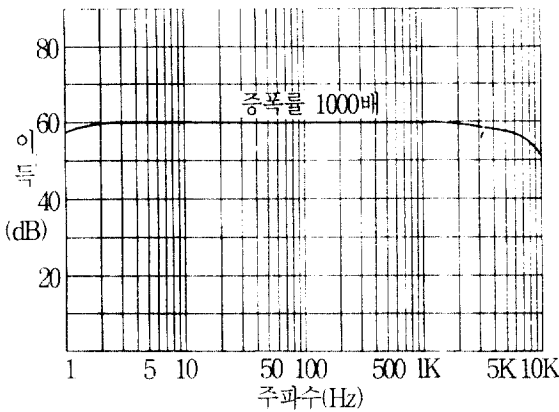


그림 3 : 본 증폭기와 주파수 특성곡선

위한 차동증폭, 원하는 신호만을 통과시키기 위한 각종 여파기, 60Hz제거필터(notch filter)등이 있다. 바이폴라 트랜지스터(bipolar transistor)에 비해 JFET는 높은 입력임피던스를 가지는 저잡음특성의 우수한 소자로서, 위의 요구사항을 모두 충족시킬 수 있다(Horowitz & Hill, 1990). 하지만 보고된 대부분의 FET 사용 증폭기는 소스 포로워(source follower)방식을 취하고 있으므로 동상잡음에 취약하며 또한 1 이하의 증폭도를 가진다는 단점이 있어 실측상 문제가 많다(Brakel, Babb, Mahnke & Verzeano, 1971). 본 최첨단 증폭기의 차동증폭 방식과 공통소스(common-source)방식은 이러한 단점을 해결한 실용성있는 회로이다.

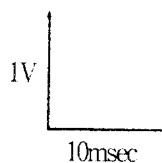
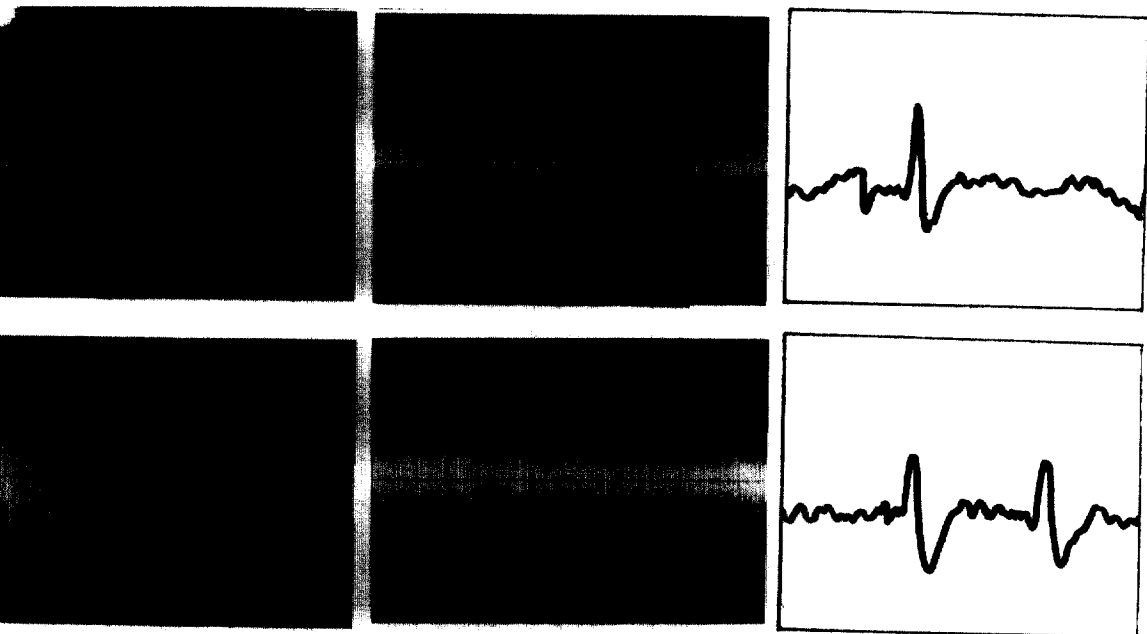
본 증폭기는 특히 저전력 소비에 주안점을 두어서 설계 되었는데 동작시 소비전류를 측정하여 본 결과 1.5mA를 넘지 않았다. 그러므로, 소형의 건전지(9V, FC-1)를 사용하여 매일 10시간씩 동작시켜도 1개월 이상을 충분히 사용할 수 있다. 증폭기는 고역여파기의 입력부를 제외하고는 모든 부분이 직렬되어 있으며 사용된 연산증폭기는 높은 슬루율(slew rate)을 가지고 있어서 1KHz 정현파 입력에서 컷오프(distortion)는 없었다(그림 2). 최첨단 증폭기를 포함한 전체적인 잡음수준은 1 μ V 이하였고(측정 결과 0.8 μ V), 주파수 특성은 그림 3에 나타난 바와 같다. 한편 차폐케이블에서 생길 수 있는 고역저하현상은

본 신호원의 주파수 대에서는 문제가 되지 않았기 때문에 음성용량 되먹이는 사용하지 않았다. 사실 과대한 되먹이는 링킹(ringing)을 일으켜서 파(wave)의 왜곡을 불러올 수도 있다.

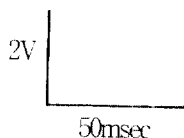
단위활동 측정용으로 널리 사용되는 W사의 증폭기와 본 증폭기를 비교 사용해 본 결과 유사한 제반 결과를 얻었다. 그림4의 윗부분은 소뇌피질의 단단위 활동을 스테인레스 스틸 전극을 사용하여 기록한 것이고 아래부분은 고양이 연수(modulla)의 호흡관련 뉴런을 미세유리 전극을 사용하여 단단위 활동을 기록한 것이다. 두 경우 모두 좋은 기록특성이 얻어졌다. 또한 가재의 신경삭에서도 명확한 기록을 얻었다(이선희와의 개인적 대화). 본 증폭기는 염가로 제작할 수 있으면서도 신뢰로운 동작특성을 보이므로 기록연구를 하는 많은 실험자에게 유용한 도구가 될 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

- 김현택·최준식·김기석(1991). 순막조건화에서의 적행과 소뇌 중간핵의 기능. **한국 심리학회지:생물 및 생리**, 3, 65-82.
- Brakel, S., Babb, T., Mahnke, J., & Verzeano, M. (1971). A compact amplifier for extracellular recording. *Physiology and Behavior*, 6, 731-733.
- Brown, P.B., Maxfield, B.W., & Moraff, H. (1973). *Electronics for Neurobiologists*. Cambridge, MIT Press.
- De Valois, R. L. & Pease, P. L. (1973). Extracellular unit recording. In R. F. Thompson & M. M. Patterson (eds.), *Bioelectric Recording Technique* (pp.95-136). New York and London: Academic Press.
- Horowitz, P. & Hill, W. (1990). *The Art of Electronics*. Cambridge, Cambridge University Press.



(a)



(b)



(c)

그림 4. W사 증폭기와의 파형 비교 (a) 토끼 소뇌피질의 다단위 활동을 기록한 그림으로 위의 것이 본 증폭기에서 나온 파형이고 아래의 것이 W사의 증폭기에서 나온 파형 (b) 고양이 연수의 호흡관련 단단위 활동을 기록한 그림. (c) 단일의 단단위 활동을 sweep time을 빨리하여 측정한 그림.

사 의

본 연구를 위해 협조해 주신 동국대학교 의과대학 생리학 교실의 이 선희 교수와 고려대학교 의과

대학 생리학 교실의 이 두현 박사 그리고 회로의 아이디어를 제공해 주신 한림의대 신 형철 교수에게 감사의 뜻을 표한다.

A Differential Amplifier for Extracellular Recording

Kang-Joon Lee and Hyun-Taek Kim

Korea University

An amplifier was designed for extracellular recording of unit activity. It consists of a head stage amplifier and a postamplifier. The head stage amplifier and the postamplifier have differential input circuits. The amplifier had a high common mode rejection ratio(CMRR), well-defined gains, a low noise character, and a wide dynamic range. Multiple unit activity(MUA) and single unit activity(SUA) could be recorded satisfactorily in animals with the chronically implanted metal electrode and with the acute micropipette electrode in the brain.