

Aus dem <sup>1</sup>Institut für Signalverarbeitung und Prozessrechenstechnik, Universität zu Lübeck, (Direktor Prof. Dr.-Ing. T. Aach) dem <sup>2</sup>Center for Sensory-Motor-Interaction, Aalborg University, Dänemark, und <sup>3</sup>ACREO AB, Elektrum, Kista, Schweden

## Silizium Vielfach-Mikrosonden für die Neurowissenschaften

U. G. Hofmann<sup>1</sup>, W. Jensen<sup>2</sup>, K. Yoshida<sup>2</sup>, M. Kindlundh<sup>3</sup>, P. Norlin<sup>3</sup>

### Zusammenfassung

Informationsverarbeitung im Gehirn höherer Lebewesen basiert auf komplexen Verschaltungen und Netzwerken einer großen Zahl von Neuronen. Diese Verschaltungen zu entschlüsseln und damit die Funktion des Gehirns zu verstehen, hat sich die Elektrophysiologie zur Aufgabe gemacht. Dabei mangelte es bisher an einfach nutzbaren Methoden, diese funktionellen Netzwerke auf zellulärer Ebene im Detail zu analysieren.

Das EU-Konsortium VSAMUEL ist nun angetreten, um mittels neu entwickelter Vielfachmikroelektroden-Sonden der elektrophysiologischen Hirnforschung ein neues, mächtiges Instrument an die Hand zu geben: Massenfabrizierte Silizium-Sonden, die bei gleich bleibender Präparation ein Vielfaches mehr an Ableitpunkten im Gehirn ermöglichen, als es bisher üblich war.

Wir beschreiben hier die Resultate der mikrostrukturtechnischen Fabrikation von gabelförmigen 32- und 64-Kanal-Sonden, die in akuten Ableitungsexperimenten ihre Verwendung finden. Die Sonden wurden in einem mehrstufigen Trockenätzprozess aus einem Silizium-Wafer mit verdeckter Oxid-Schicht hergestellt.

Erfolgreiche Ableitungen fanden *in vitro* am entorhinalen Kortex des Meerschweinchens und *in vivo* am visuellen und am zerebellaren Kortex der Ratte statt.

### Summary

Information processing in the brains of higher beings is strongly dependent on extremely complex connections and networks of a huge number of cells. Modern electrophysiology is bound to illuminate such structures and to shed light on functional networks on a cellular level. However, current methods do not foster such network research due to difficulties in handling of multiple standard microelectrodes.

The European Union financed consortium VSAMUEL announces a new, powerful technology ready to hand over to neuroscience research: Batch fabricated silicon

probes to record from a multiplicity of spots in the brain.

We describe the results of our micromachining efforts to fabricate fork-like probes with 32 or 64 recording sites. They are made with an all-dry etched fabrication process from a silicon wafer with a buried insulating oxide layer.

Successful recordings have been published from the entorhinal cortex of the guinea pig and the visual and cerebellar cortex of the rat.

### Einleitung

Unser gegenwärtiges Verständnis von der Funktionsweise des Gehirns und damit das von unseren ureigsten Triebfedern basiert ganz wesentlich auf der makroskopischen Beobachtung von Verhaltensweisen, Veränderungen und Signalen von Versuchspersonen und Patienten. Ebenso existiert aber eine schier unüberschaubare Menge an Informationen zum Verhalten und der Funktionsweise seiner einzelnen zellulären Bestandteile, der Neuronen. Leider ist jedoch das Gehirn eines der wenigen Organe im menschlichen Körper, das sich nicht einfach durch genauere Kenntnis der zellulären Konstituenten besser verstehen lässt, so dass sich eine deutliche Erkenntnislücke zwischen Mikro- und Makrowelt ergibt [21]. Der Grund dafür liegt in der hochkomplexen und parallelisierten Verarbeitung von Informationen durch dynamisch eingerichtete, stark zergliederte Netzwerke von Neuronen (z. B. [33]). Mithin liegt der einzige Weg, diese offenkundige Lücke zumindest zu verkleinern, in einer deutlichen Verbesserung der üblichen Beobachtungsmethoden. Leider stoßen die erfolgreichen makroskopischen Methoden, z. B. der Bildgebung und des EEG, aber bei der Verbesserung ihrer Auflösung an physikalische Grenzen. Die derzeit eingesetzten Methoden der Elektrophysiologie mit Glas-Mikroelektroden dagegen verweigern sich einer Skalierung auf Netzwerke durch praktische Probleme der Handhabbarkeit und der experimentellen Prozeduren [31].

Vor diesem Hintergrund haben wir das EU-geförderte Projekt VSAMUEL initiiert, welches das Ziel hat, die mikroskopische Elektrophysiologie auf Dutzende oder gar Hunderte von Neuronen zu erweitern, ohne dass dabei eine übermäßige Traumatisierung des beobachteten Gehirngewebes erfolgt und auch die experimentellen Prozeduren handhabbar bleiben. Die konkrete Aufgabe dieses Projektes bestand entsprechend darin, ein komplettes, global nutzbares Experimentalsystem zu entwerfen und aufzubauen, das auf möglichst unkomplizierte Weise die Ableitung von möglichst vielen Zellen aus einer Zielregion des Gehirns eines anästhesierten Versuchstieres ermöglicht.

Im Folgenden wollen wir von jenem Teilaspekt des Projektes berichten, der darauf abzielt, gabelförmige Sonden zu erzeugen, auf deren Schäften sich jeweils bis zu sechzehn einzelner mikroskopischer Ableitpunkte befinden. Da diese Sonden im realen Einsatz riesige Datensätze produzieren können, haben wir weiterhin eine realistische Simulation eines kleinen Netzwerkes hippocampaler Neuronen entwickelt, durch das wir in der Lage sind, kontrollierte, synthetische elektrophysiologische Daten zu erzeugen [27-29]. Diese Daten dienen dann der Validierung und Fortentwicklung unserer vielkanaligen Hochleistungs-Datenaufnahme, von der wir aber an anderer Stelle berichten [12, 13, 17].

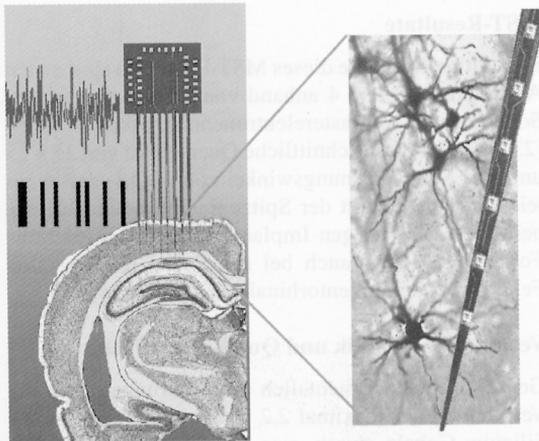


Abb. 1: (links) Schematische Darstellung des Projektes VSAMUEL: Gabelförmige Vielfachelektroden-Mikrosonden werden in das Gehirn eines anästhesierten Versuchstieres implantiert. Nach geeigneter Konditionierung können breitbandige, analoge Neuronensignale aufgezeichnet werden (obere Spur), die mit fortschrittlicher Signalverarbeitung in Züge von Aktionspotentialen zerlegt werden. (rechts) Maßstabgetreue Darstellung von sechs mikroskopischen Ableitpunkten in unmittelbarer Nähe kortikaler Pyramidenzellen.

## Vielfach-Mikroelektroden

### Entwurfsüberlegungen

Die Anordnung der Ableitpunkte wird von ihrem jeweiligen gewünschten Einsatzort und der dort vorliegenden Neuroarchitektur bestimmt. Insgesamt sollen die gewünschten Elektrodenpositionen einerseits den horizontalen, oberflächlich erkennbaren Strukturen folgen, aber zugleich müssen sie der vertikalen Schichtung der Zielzellen und ihrer Dendriten gerecht werden. Entsprechend ist eine Anordnung der Elektroden in Form eines Gitters senkrecht zur Hirnoberfläche (z. B. parallel oder coaxial zu den Parallelfasern eines Kleinhirn-Foliums) erforderlich. Im Sinne der Minimierung von Schäden bei der Implantation sollten die vertikalen „Spalten“ der Matrix jeweils auf einem einzelnen, möglichst dünnen Träger liegen. Daraus resultiert der bekannte gabelförmige Aufbau der Sondenträger aus mehreren Schäften an einer gemeinsamen Basis [30, 37].

Die Mikroelektroden müssen im Gewebe eine optimale Ankopplung bei minimaler Toxizität gewährleisten und gleichzeitig in einem Massenverfahren günstig herstellbar sein [2, 22]. Als Träger wird folglich Silizium in Betracht gezogen, da es kompatibel mit üblichen Halbleiterprozessen ist und nach dem Herstellungsprozess durch eine native Oxid-Schicht passiviert wird [7, 24, 30]. Durch die gewünschte Herstellung in einem halbleitertauglichen Prozess stehen als mögliche Elektrodenmaterialien nur Edelmetalle wie Platin, Rhodium, Iridium oder Gold (oder Kombinationen davon) zur Verfügung [5, 9, 38]. Da diese Materialien aber leider keine perfekt polarisierbaren Grenzflächen zum umgebenden elektrolitischen Medium ermöglichen [6, 8], muss eine frequenzabhängige Übergangsimpedanz in Kauf genommen werden. Im Anbetracht der geringen Signalstärken ist es in der Elektrophysiologie gewünscht, Übergangsimpedanzen der Mikroelektroden von wenigen Megaohm ( $1-4 \text{ M}\Omega$ ) bei Anregungsfrequenzen um  $1 \text{ kHz}$  zu erreichen [39].

Die Kontakte der fertigen Mikroelektrodenenden sollen außerdem in einem Mikrolötprozess, dem sog. „wire bonding“, über makroskopische Verbindungen und handelsübliche Steckverbinder zur Vorverstärkung und Weiterverarbeitung geführt werden. Diese Verbindungskabel müssen den implantierten und damit immobilisierten Mikroelektroden und dem umgebenden experimentellen Aufbau flexibel angepasst werden und zeitweise dem aggressiven physiologischen Salzmedium widerstehen können.

### Herstellungsprozess

Unser eingesetzter Prozess aus der Mikrostrukturtechnik (MST) basiert auf besonderen Silizium-Wafern

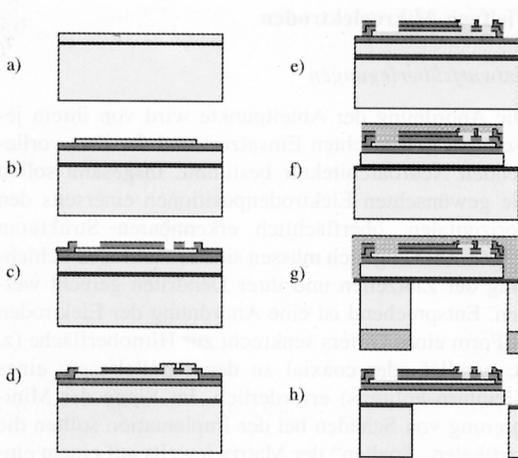


Abb. 2: Schema des eingesetzten Halbleiterprozesses. Erklärung siehe Text.

[19]: Eine  $2\ \mu\text{m}$  dicke Silizium-Oxid-Schicht liegt  $25\ \mu\text{m}$  tief unter der hochpolierten Si-Oberfläche „begraben“ (Abb. 2a). Die Oberfläche dieses „silicon-on-insulator“ Wafers (SOI) wird, wie im CMOS-Verfahren üblich, durch die sog. „lift-off“-Technik mittels 4 Masken (Abb. 2 b - e), Photolack (siehe Abb. 2) und zugspannungsarmer Dünnschichtaufdampfung strukturiert. Die Anforderungen an die Strukturgrößen sind mit  $1\text{-}3\ \mu\text{m}$  dabei aber im Gegensatz zu heutigen Mikrochips (routinemäßig  $0,2\ \mu\text{m}$ ) recht moderat. Die Verbindungslinien werden durch das Aufdampfen einer dünnen Schicht Titan als Haftvermittler, gefolgt von Gold als Leiterbahn, erzeugt (Abb. 2 b). Als nächste Schicht und Isolation folgt eine Lage besonders zugspannungsarmen Siliziumnitrids (SiN) (Abb. 2 c), erzeugt in einem Doppelfrequenz-Plasmaverfahren (PECVD, „plasma enhanced chemical vapor deposition“) [35]. Nach einem Ätzschritt, der der Durchkontaktierung im nächsten Depositionsschritt dient, werden mittels Titan/Iridium oder Platin die Mikroelektroden erzeugt (Abb. 2 d) und wieder mit SiN isoliert (Abb. 2 e). Die Besonderheit unserer eingesetzten Mikrostrukturtechnik besteht im Trockenätzprozess und kommt mit den Masken 5 (Rückseite, Abb. 2 f) und 6 (Vorderseite, Abb. 2 g) zum Tragen: Das tiefe, reaktive Ionen-Ätzen („deep reactive ion etching“, DRIE, auch genannt Bosch-Prozess) bringt zwar ein grundsätzlich isotrop ätzendes Ionen-Plasma zum Einsatz, jedoch schlagen sich beigefügte organische Bestandteile auf den freigelegten Seitenflächen des Siliziums nieder und schützen es vor weiterem Abtrag. Daraus resultiert ein quasi anisotroper Ätzprozess, der besonders hohe Ansichtsverhältnisse bei geringem Unterschnitt erlaubt. Nacheinander auf die Rück- und Frontseite des Wafers angewandt und jeweils am begrabenen Silizi-

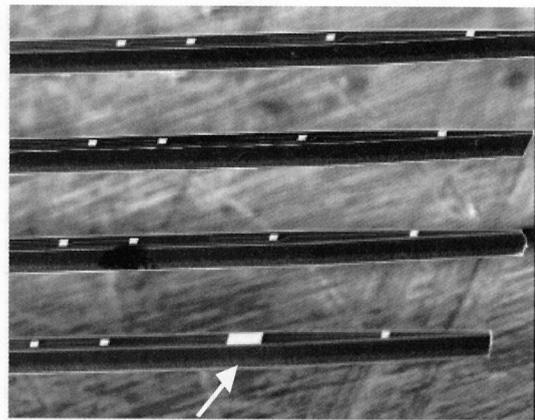


Abb. 3: REM Ergebnisse des 32-Kanal MST-Prozesses am Beispiel der Sonde E2. Deutlich erkennbar sind die Ableitelektroden ( $10 \times 10\ \mu\text{m}^2$ ), sowie eine Läsionselektrode (Pfeil, ca.  $1000\ \mu\text{m}^2$ ) [23].

um-Oxid in  $25\ \mu\text{m}$  stoppend, ermöglicht der letzte Ätzschritt dieses Oxids (Abb. 2 g) die Freilegung der extrem langen,  $25\ \mu\text{m}$  breiten Sonden. Durch geeignete Masken für die Rückseite des Wafers können wir die volle Wafer-Dicke an der  $2,2 \times 1,9\ \text{mm}$  Basis erhalten. Letzteres ermöglicht es im Prinzip, die fertigen Sonden auch vor Ort mit einer gewöhnlichen Pinzette zu ergreifen.

### MST-Resultate

Endgültige Resultate dieses MST-Prozesses sind in den Abbildungen 3 und 4 anhand von Aufnahmen zweier Sonden durch ein Rasterelektronenmikroskop zu sehen [23, 32]. Der durchschnittliche Querschnitt von  $25 \times 25\ \mu\text{m}^2$ , der Spitzenöffnungswinkel von  $4^\circ$  [18] sowie ein leichter Unterschnitt der Spitzenregion helfen bei der besonders schwierigen Implantation in ein Kleinhirn-Folium [11], aber auch bei der Suche nach lokalen Feldpotenzialen im entorhinalen Kortex [3, 4].

### Verbindungstechnik und Qualitätskontrolle

Gemäß der experimentellen Anforderungen soll die Verbindung der maximal  $2,2 \times 15 \times 0,5\ \text{mm}$  großen Silizium-Gabeln durch eine möglichst flexible Anschlussmöglichkeit erfolgen. Im Gegensatz zu existierenden Sonden der University of Michigan werden unsere Sonden folglich nicht auf einer starren Leiterplatte montiert, sondern per „wire-bonding“ wie ein Computerchip mit einer flexiblen, insgesamt  $125\ \mu\text{m}$  dicken,  $12\ \text{cm}$  langen Polyimid-Folie verbunden. Die Leiterbahnen darauf bestehen aus  $5\ \mu\text{m}$  dickem Kupfer und werden ebenso photolithographisch erzeugt wie übliche kupferkaschierte Elektronikplatten [1, 34]. Die  $25\ \mu\text{m}$  breiten Leitungen sind hierbei durch  $50\ \mu\text{m}$  brei-

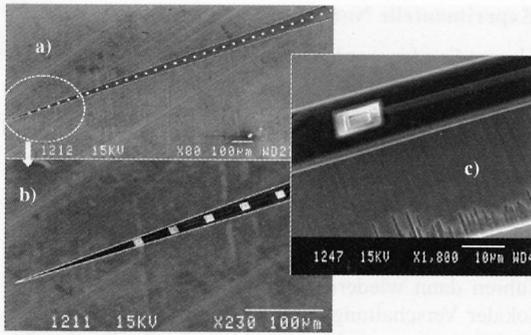


Abb. 4: REM Ergebnisse des 32-Kanal MST-Prozesses am Beispiel der Sonde M1. Hier weitet sich der Schaft zwar durch die wachsende Zahl der Leiterbahnen (a), aber der geringe Spitzenöffnungswinkel (b) und die Größe der Ableitelektroden (c) bleibt konstant [32].



Abb. 5: Das speziell angefertigte Polyimid-Verbindungskabel zwischen einer Sonde U1 (Pfeil) und einem ZIF-Adapter der Firma Molex (Pfeil mit Doppellinie). Die schwedische Krone dient als Maßstab.

te Lücken voneinander getrennt. Das breitere Ende ist entsprechend den Designanforderungen eines handelsüblichen, 32-kanaligen „zero-insertion-force“ (ZIF) Flachbandsteckers der Firma Molex, Japan, entworfen (52559 ZIF FPC). Flexible Polyimid-Kabel (Flex-Board) dieser Art sind in handelsüblicher Miniatur-elektronik wie Mobiltelefonen, oder Laptops zu finden. Der Kontaktbereich wird zum Schutz der dünnen Kontaktdrähte mittels einer Kunststoffverstärkung versteift und durch eine Epoxidharz-Perle elektrisch isoliert. Abbildung 5 zeigt diese Verbindung komplett mit einer Sonde (fetter Pfeil) auf einer schwedischen Krone als Maßstab.

Derart kontaktierte Sonden konnten damit auf ihre wunschgemäßen elektrischen Eigenschaften hin über-

prüft werden. Dazu wurde zunächst in 2-Punkt-, später in 3-Punkt-Messungen die Übergangsimpedanz der Elektroden in Kochsalzlösung gemessen [38-40]. Abbildung 6 zeigt graphisch das Spektrum (links) und rechts Ergebnisse dieser Messungen. Es wird dadurch deutlich, dass unsere  $10^*10\text{-}\mu\text{m}$ -Sonden mit einer Ir-Schicht durchaus Impedanzen um die  $1,4\text{ M}\Omega$  bei einer Anregungsfrequenz von 1 kHz haben können. Die nicht ganz zufrieden stellende Streuung der Messungen, eine mechanische Instabilität (Abplatzen) und weitere produktionstechnische Gründe haben uns aber veranlasst, letztlich als Elektrodenmaterial Platin zu verwenden. Dieses Material hat zwar doppelt so hohe Übergangsimpedanzen um 3-5  $\text{M}\Omega$ , erweist sich in der experimentellen Praxis aber als durchaus ebenbürtig.

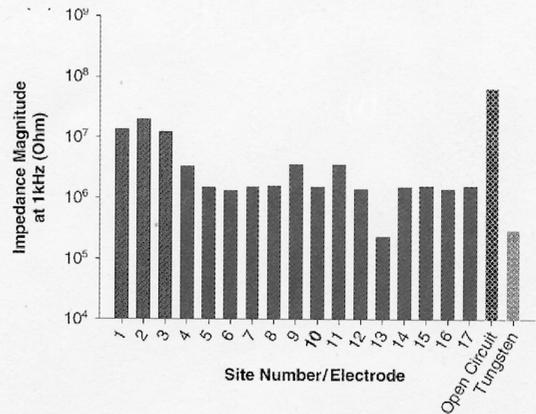
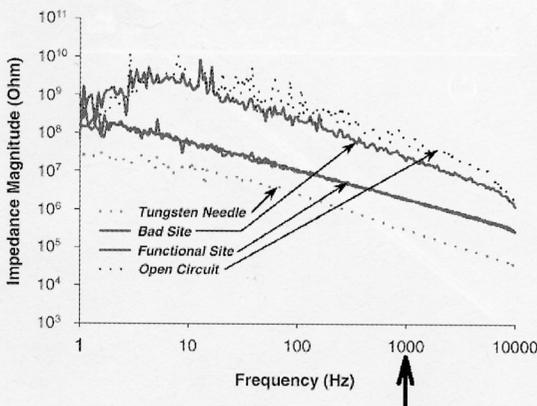


Abb. 6: links: Typische Impedanzspektren zweier Ir-Elektroden („Functional Site“) im Vergleich mit einem Kontaktierungsfehler („Bad Site“), einer kommerziellen Wolfram-Mikroelektrode und dem oberen Mess-Limit. Rechts: Impedanz-Werte bei 1 kHz Anregungsfrequenz. Elektroden Nr.1-3 zeigen den Kontaktierungsfehler, Nr. 4-17 zeigen einen Wert um die  $1,5\text{ M}\Omega$ , wobei der Ausreisser-Wert von Elektrode 13 durch ihre um den Faktor 10 größere Fläche zustandekommt (Lösungselektrode!)

## Fortentwicklung für 64 Ableitpunkte

Der Herstellungsprozess für 64 Ableitpunkte unterscheidet sich nicht von den 32-kanaligen Sonden, jedoch wurde die lithographische Auflösung um den Faktor 2 verbessert. Strukturgrößen liegen damit um 1-1,5  $\mu\text{m}$ . Der Hauptunterschied beider Entwürfe besteht darin, dass im neueren jede einzelne Elektrode durch zwei ersetzt wurde, die nur 30  $\mu\text{m}$  Mittenabstand aufweisen. Wir machen uns damit bei gleichbleibender Gewebetraumatisierung die elektrophysiologischen Vorteile des sog. Stereotrodeneffektes zunutze [15, 26]: Zwei Elektroden in kleinem, aber bekannten Abstand voneinander (Stereotroden) zeichnen das Aktionspotenzial ein und derselben Zelle mit unterschiedlichen Amplituden, aber zeitgleich auf. Damit erhält man zusätzliche Informationen, die das spätere Klassifikationsproblem erleichtern [16, 20, 25]. Die logische Verbesserung zu Tetraden (4 Elektroden nahe beieinander) wird in unserem Fall durch die harte Voraussetzung der minimalen Schaftgröße verhindert, ist aber prinzipiell möglich [14, 18].

Die technischen Resultate unserer Anstrengungen für 64-kanalige Sonden werden im folgenden Bild 7 vorgestellt.

## Experimentelle Nutzung

Unsere Sonden werden derzeit in mehreren Laboratorien weltweit evaluiert und konnten dabei bereits eine deutliche Überlegenheit gegenüber verfügbaren Alternativen zeigen:

Am Istituto Nazionale Neurologico „Carlo Besta“ in Mailand werden sie eingesetzt, um lokale Feldpotenziale im entorhinalen Kortex und Hippocampus von Meerschweinchen zu bestimmen. Diese Messungen führen dann wiederum zur funktionellen Aufklärung lokaler Verschaltungen und Netzwerke im Kortex [3, 4]. Wir konnten dadurch anatomische Studien bestätigen, die mittels einer Markierungstechnik zeigten, dass die Reizweiterleitung im entorhinalen Kortex weitgehend durch Fasern der obersten Schichten durchgeführt wird, mit nur geringen Beiträgen der tiefen Schichten [10]. Abbildung 8 zeigt eine vergleichende Implantation dreier verschiedener Mikrosondentypen in ein Ganzhirnpräparat vom Meerschweinchen.

Am Institut für Theoretische Neurobiologie der Universität von Antwerpen ist es jüngst erstmals gelungen, mit Siliziumsonden neuronale Vielfachableitungen aus dem Kleinhirn einer anästhesierten Ratte durchzuführen [11]. Dieses Zielorgan war mit Vielfachsonden

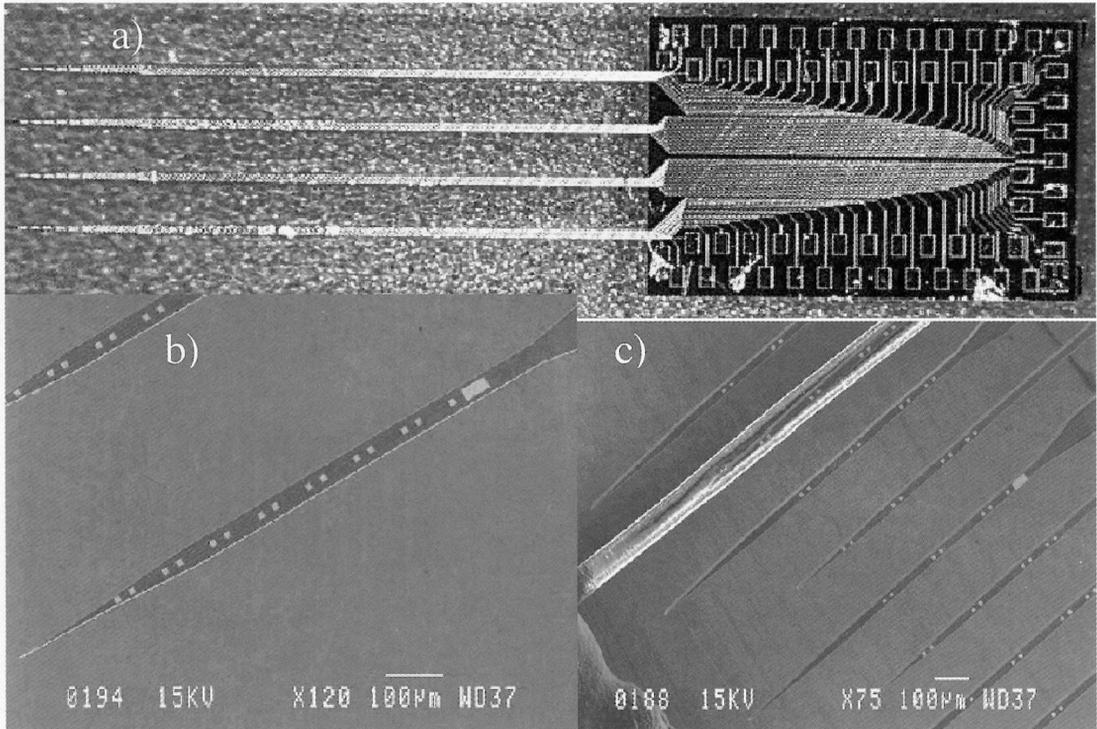


Abb. 7: a) Mikrosonde mit 64 Ableitpunkten aus dem jüngsten Produktionslauf; b) REM-Aufnahme der sensitiven Region mit deutlich erkennbaren Stereotroden und der überdimensionierten Läsionselektrode; c) alternative Schaftanordnung. Man beachte die 25  $\mu\text{m}$  Breite der Schäfte im Vergleich zu einem menschlichen Haar.

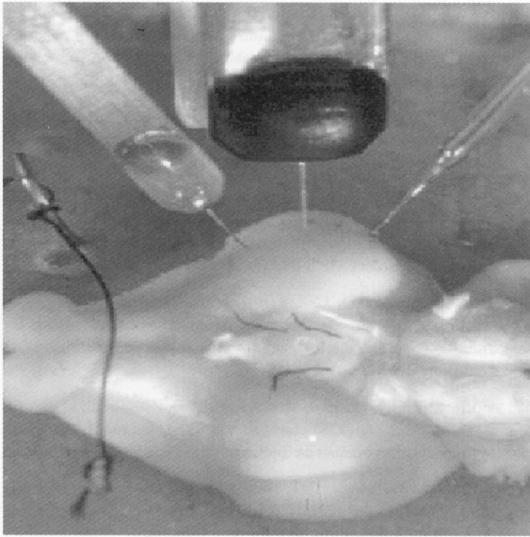


Abb. 8: Vergleichende Illustration dreier Sonden im entorhinalen Kortex (ERC): links eine 16 Kanal Michigan-Sonde, mitte eine 32 Kanal-Sonde unserer Herstellung und rechts eine Glaselektrode [4].

bisher nicht erreichbar, da existierende Sonden bei der Implantation durch Kompression des empfindlichen Gewebes irreversible Schäden hervorriefen (siehe Abb. 9 und [18, 22]). In der Folge ist es nun möglich, den Informationsfluss im Kleinhirn hochaufgelöst und mit unerreicht vielen Messstellen zu untersuchen und dem Abgleich realistischer Simulationen zuzuführen [36].

Auch am visuellen Kortex der Ratte, Region 17, konnten Sonden unserer Herstellung erfolgreich zur simultanen Ableitung richtungs- und orientierungsabhängiger neuronaler Antworten von vielen Zellen eingesetzt werden. Die Resultate der gesamten Population konnten dadurch zur Schätzung und Rekonstruktion der Stimuli eingesetzt werden [14]. Dabei zeigte sich, dass der Fehler in der Schätzung durch eine steigende Anzahl Neuronen minimiert werden kann, bei gleichbleibender Verarbeitungszeit. Entsprechend kann jetzt untersucht werden, inwieweit neuronale Populationskodierung die Ungenauigkeiten kompensiert, die kürzere Verarbeitungszeiten im Gehirn mit sich bringen.

### Schlussfolgerungen

Die neuen Vielfachmikroelektroden des Konsortiums VSAMUEL aus der Mikrofabrikation der ACREO AB wurden in der experimentellen Elektrophysiologie überaus positiv aufgenommen. Sie erwiesen sich im täglichen Gebrauch als überraschend stabil (für eine starre Struktur dünner als ein Haar) und wieder verwendbar. Sie ermöglichen es zur Zeit 64 Ableitpunkte in einem einzelnen Präparationsschritt in das Gehirn von Versuchstieren zu implantieren und erfolgreich bioelektrische Signale von 2 bis 5 Neuronen pro Messpunkt zu detektieren. Die kleinen Abmessungen, besonders der Zuleitungen, ermöglichen es im Prinzip, mehrere Sonden gleichzeitig zu implantieren und damit deutlich die von uns anvisierten Hunderte von Neuronen abzuleiten.

Über den unmittelbaren Fortschritt für die Elektrophysiologie hinaus erbrachte der Entwurf und die Ferti-

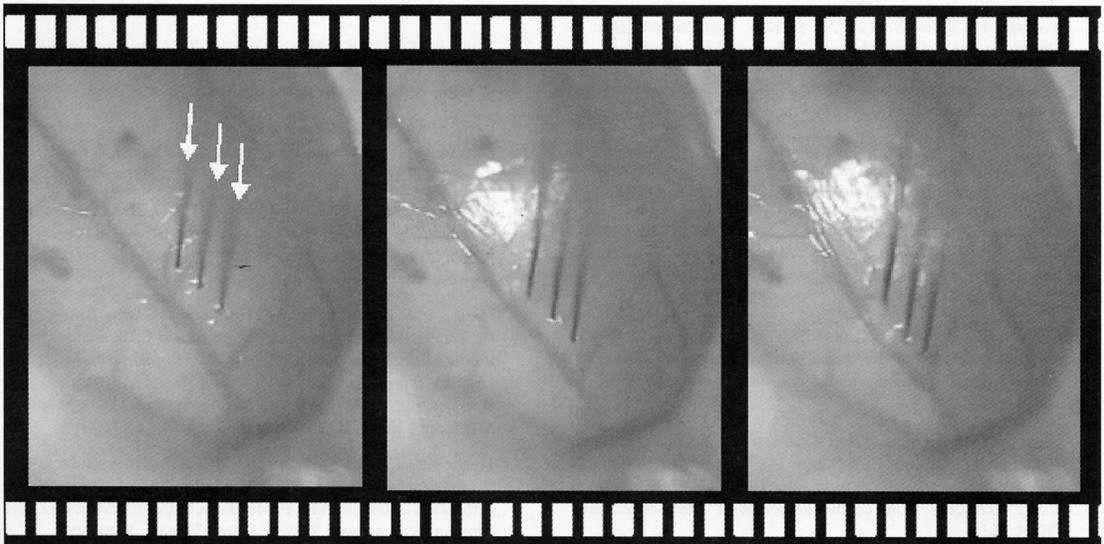


Abb. 9: v.l. Deutlich am Beleuchtungsreflex erkennbare Kompression und Eindellung des Kleinhirns einer Ratte bei der absichtlichen Implantation nicht-optimierter Siliziumsonden.

gung unserer Siliziumsonden unschätzbare Erfahrungen, die nun in die Weiterentwicklung und Nutzung von Vielfachableitungen für die Human-Medizin, genauer für die stereotaktische Hirnchirurgie, einfließen können.

## Danksagung

Dieses Projekt wurde finanziert durch die Europäische Union IST-1999-10073. Wir bedanken uns herzlich bei allen Mitgliedern des Konsortiums VSAMUEL für die fruchtbare Zusammenarbeit. Ganz besonders bei Dr. Volny-Luraghi, Antwerpen, für die Videoaufnahmen, die zu Abb. 9 führten und bei Drs. de Curtis und Biella, Mailand, für Abb. 8.

## Literatur

1. All-Flex-Inc, Flex Design Guide. 2000
2. Anderson DJ, Najafi K, Tanghe SJ, Evans DA, Levy KL, Hetke JF, Xue X, Zappia JJ, Wise KD. (1989) Batch-fabricated thin-film electrodes for stimulation of the central auditory system. IEEE Transact on Biomed Engineering, 36: 693-704
3. Biella GR, Uva L, Hofmann UG, de Curtis M, (2002) Associative interactions within the superficial layers of the entorhinal cortex of the guinea pig. J. Neurophysiol,88(3): p. 1159-1165
4. Biella GR, Uva L, Hofmann UG, de Curtis M. (2002) Intrinsic and associative synaptic circuit in the temporal neocortex, perirhinal and entorhinal cortex: an intra- and extracellular electrophysiological study. Forum of European Neurosciences – Abstracts, Paris.
5. Blum N, Carkhuff B, Charles H, Edwards R, Meyer R. (1991) Multisite microprobes for neural recordings. IEEE Trans Biomed Eng., 38: 68-74
6. Bockris J, Khan S. (1993) Surface Electrochemistry: A Molecular Level Approach. 1st ed. Plenum Press, New York
7. Bousse L, (1982) Single electrode potentials related to flat-band voltage measurements on EOS and MOS structures. J Chem Phys, 76: 5128-5133
8. Brett CMA Brett AMO, (1993) Electrochemistry. 1. ed. Oxford Science Publications. Oxford University Press, Oxford
9. Connolly P, Moores G, Monaghan W, Shen J, Britland S, Clark P, (1992) Microelectronic and nanoelectronic interfacing techniques for biological systems. Sensors and Actuators B – Chemical 6: (113-121)
10. Dickson CT, Biella G, de Curtis M, (2000) Evidence for spatial modules mediated by temporal synchronization of carbachol-induced gamma rhythm in medial entorhinal cortex. J Neurosci., 20: 7846-7854
11. Fagerstedt P, Volny-Luraghi A, Kindlundh M, Norlin P, Hofmann U, DeSchutter E. (2002) A new type of silicon probes with multisite microelectrodes for single unit and local field potential (LFP) recordings from cerebellar cortex of anesthetized rats. FENS. Paris.
12. Folkers A Hofmann U. (2001) A multichannel data acquisition and analysis system based on off-the-shelf DSP boards. ECMCS 2001. Budapest

13. Folkers A, Mösch F, Malina T, Hofmann U. (2002) Realtime bioelectrical data acquisition and processing from 128 channels utilizing the Wavelet-Transformation. CNS\*02 for subsequent publication in Neurocomputing: Elsevier, Chicago
14. Freiwald W, Stemman H, et al. (2002) Stimulus representation in rat primary visual cortex: multi-electrode recordings and estimation theory. Neurocomputing 44-46: 407-416
15. Gray C, Maldonado P, Wilson M, McNaughton B (1995) Tetrodes markedly improve the reliability and yield of multiple single-unit isolation from multi-unit recordings in cat striate cortex. J. Neurosci Meth 63: 43-54
16. Harris K, Henze D, Csicsvari J, Hirase H, Buzsaki G (2000) Accuracy of tetrode spike separation as determined by simultaneous intracellular end extracellular measurements. J Neurophysiol 84: 401-414.
17. Hofmann UG, Folkers A, Mösch F, Höhl D, Kindlundh M, Norlin P (2002) „A 64(128)-channel multisite neuronal recording system“. Biomedizinische Technik 47(E 1): 194-197
18. Hofmann UG, Kewley DT, Bower JM (1998). Factors affecting brain dimpling during microelectrode insertion. Soc. Neurosci. Abstr., Los Angeles, Society for Neuroscience.
19. Hofmann UG, De Schutter E, de Curtis M, Yoshida K, Thomas U, Norlin P.(2000) On the design of multi-site microelectrodes for neuronal recordings. MICRO.tec 2000. VDE Verlag, Hannover
20. Jog M, Connolly C, Kubota Y, Iyengar D, Garrido L, Harlan R, Graybiel A, (2002) Tetrode technology: advances in implantable hardware, neuroimaging, and data analysis techniques. J Neurosci Methods 117: 141-152
21. Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM (1991), Principles of neural science. 3rd ed. Prentice-Hall, London
22. Kewley DT, Hills MD, Borkholder DA, Opris IE, Maluf NI, Stormont CW, Bower JM, Kovacs GTA (1997), Plasma-etched neural probes. Sensors and Actuators A, 58: 27-35
23. Kindlundh M, Norlin P, Hofmann U. (2002) Development of multisite microelectrodes for neuroscience. Proceedings of the Micro Structure Workshop MSW'02. Aronsborg, Bålsta, Sweden
24. Kovacs GTA (1998), Micromachined Transducers Sourcebook. McGraw-Hill Series in Electrical and Computer Engineering, S W Director WCB/MacGraw-Hill, 1998, Boston
25. Lewicki M (1998), A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neuronal potentials. Comp Neural Syst 9: R53-R78
26. McNaughton B, O,Keefe J, Barnes C (1983), The stereotrode: A new techniques for simultaneous isolation of several single units in the central nervous system from multiple unit recording. J Neurosci Methods 8: 391-397
27. Menne K, Malina T, Folkers A, Hofmann U (2002), Biologically realistic simulation of a part of hippocampal CA3: Generation of testdata for the evaluation of spike detection algorithms. In: 5th German Workshop on Artificial Life - Abstracting and Synthesizing the Principles of Living Systems, JKD Polani, T Martinetz Lübeck, IOS Press Infinix, 17-25
28. Menne KLM, Maex R, Hofmann UG(2001). Extracellular potential data generated in a network simulation. In The Neurosciences at the Turn of the Century; Proceedings of the 4th Meeting of the German Neuroscience Society. Georg Thieme, Stuttgart
29. Menne KML, Folkers A, Maex R, Malina T, Hofmann UG(2002), Test of spike sorting algorithms on the basis of simulated data. Neurocomputing 44-46: 1119-1126

30. Najafi K, Wise K, Mochizuki T (1985), A high-yield IC-compatible multichannel recording array. *IEEE Trans Electron Devices* 32: 1206-1211
31. Nicolelis M (1999), *Methods for Neural Ensemble Recordings*. 1st ed. CRC Methods in Neuroscience, S Simon M Nicolelis. CRC Press: Boca Raton, FL, 257
32. Norlin P, Kindlundh M, Mouroux A, Yoshida K, Hofmann UG(2002), A 32-site neural recording probe fabricated by DRIE of SOI substrates. *J Micromechanics Microelectronics* 12: 414-419.
33. Singer W, Gray C, Engel A, König P, Artola A, Bröcher S (1990), Formation of cortical cell assemblies. *Symp, Quant, Biol LV*: 939-952
34. Stearns T (1995), *Flexible Printed Circuitry*. MacGraw Hill
35. Sze S (2001), *Semiconductor Devices: Physics and Technology*. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York
36. Volny-Luraghi A, Maex R, Vos B, De Schutter E (2002), Peripheral stimuli excite coronal beams of Golgi cells in rat cerebellar cortex. *Neuroscience*, 113: 363-373
37. Wise K et al. (1970), An integrated circuit approach to extracellular microelectrodes. *IEEE Trans Biomed Eng, BME-17*: 238-247.
38. Yoshida K, Inmann A, Haugland MK (1999) Measurement of complex impedance spectra of implanted electrodes. In: 4th Ann Conf of the Int Functional Electrical Stimulation Society. Sendai, Japan
39. Yoshida K, Jensen W, Norlin P, Kindlundh M and Hofmann UG.(2001) „Characterization of silicon microelectrodes from the EU VSAMUEL project“. In: *Biomedizinsche Technik* 46 E1: 446-447
40. Yoshida K, Jovanovic K, Stein RB (2000), Application of intrafascicular electrodes to the mudpuppy preparation. *J Neurosci Meth* 96: 47-55