Bluetooth-low-energy 技術を用いたマウス脳用無線計測システム

井戸川 植之介 1,山下 幸司 2,三田 理央毅 2,沼野 利佳 3.4, 鯉田 孝和 4.5.河野 剛士 2

Wireless neuronal recording system for mice brain using Bluetooth-low-energy technology

Shinnosuke Idogawa¹, Koji Yamashita², Rioki Sanda², Rika Numano^{3,4}, Kowa Koida^{4,5}, Takeshi Kawano²

Abstract: Recording of neuronal activity with high spatiotemporal resolution and high signal-to-noise ratio is essential in electrophysiology. In recent advances in the recording technology, wireless systems have been developed; however, conventional systems are large and heavy, that are not suitable for the application to small animal species such as mice. To solve these issues, here we designed and fabricated a compactness and lightweight Bluetooth-low-energy-based wireless system. The system shows the recording capability using mice, confirming the high signal quality compared to a wired recording.

Key words : Neural recording, Bluetooth, High versatility, Mouse, Acute and chronic recording

1. 概要

脳神経科学,生体工学,さらには BMI (Brain-machine interface)の分野において、高い時空間分解能、高い信号対 雑音比(S/N 比)における'質の高い'ニューロン計測技術が 求められている. さらに, 長期埋め込み計測を可能とする小 型でかつ低侵襲なデバイス技術が必要である.私たちは、こ れまでに上記の要求を実現するデバイスとして,直径5μm の半導体シリコンニードルによる電極技術を開発してきた [1]. しかし, 計測時にはこれらの電極デバイスは, 増幅器等 の測定器とケーブルを介して接続されるため、ケーブルの 振動に伴うノイズが発生し、これによる S/N 比の劣化、さ らに自由行動下における動物行動の阻害等の問題があっ た.これらの問題は、無線計測技術で解決できるが、従来の 無線計測システムはそのサイズが大きく(例えば > 22 × 3 0 mm² [2]) かつ重量 (> 12 g [2]) においてもマウス等の 小型動物種への応用には向かなかった.また,通信方式も独 自のものを使用しているため汎用性が低い問題があった. そこで本研究ではこれらの問題を解決する無線計測システ ムを提案した.提案する無線計測システムは、マウス頭部へ

1 釧路工業高等専門学校
2 豊橋技術科学大学 電気・電子情報工学系
3 豊橋技術科学大学 応用化学・生命工学系
4 エレクトロニクス先端総合研究所
5 豊橋技術科学大学 情報・知能工学系

の搭載を目標とし、また、高汎用性として通信方式には、B LE (Bluetooth Low Energy)を用いた.今回、この提案す るデバイスを設計、製作し、さらにマウスを用いた電気生理 実験を通して従来の有線計測システムとの比較から提案デ バイスの有用性を確認した.[3]

2. はじめに

従来の神経計測では、測定電極と測定器をケーブルで接続するのが一般的である.しかし、神経信号、特に細胞外電位は数+ μ Vオーダーと非常に微小な信号のため、外来からのノイズの影響を受けることで神経信号測定が困難になってしまう.特にケーブルが振動した際に発生するノイズは、mVオーダーであり神経信号の測定が不可能になってしまう.慢性的に電極を埋め込んだ動物個体において測定する際には、このケーブルの振動は避けらない.また、自由行動下の実験においては、測定用ケーブルが動物の動きを妨げてしまう恐れがあるため、ケーブルの振動を最小に抑えるか、測定用ケーブルを用いずに電極と測定器を接続するのが望ましく、振動を最小に抑えるためには、電極と測定器ま

での配線を最短にすることで解決をすることができる.しかし,配線を短くする手法では,急性実験でのみ可能であり 慢性実験などの長期計測時や自由行動下での計測時などで は行動範囲を狭めてしまうため現実的ではない.

そこで,測定対象の動物へ電極を埋めた後,その直上へ無 線計測システムを装着し、ケーブルを用いずに測定するこ とでノイズを最小限に抑えることができる.しかし,頭部に 固定するためには、測定対象の動物頭部と同等または、小さ くしなければならない.また、バッテリーを含めた重量も同 様に測定対象動物の体重よりも十分に軽くしなければなら ない.現在,発表または市販されている無線計測システム [2], [4]-[10]は、複数あり、通信方式は Wi-Fi, Bluetooth, Radio Frequency などを用いたものが多い. 一方でこれら のシステムは、ラットなどの比較的大きい動物種向けが多 く, 重量も数十gと重く, マウスなどの小型動物種向けシス テムはほぼ皆無である.特に現在研究されているシステム は、 増幅器などは ASIC (Application specific integrated circuit) になっているものがほとんどで, 通信規格も独自の ものが多く汎用性が低い. そこで本研究では, 小型動物種で あるマウスを対象とした軽量でかつ, ASIC を使わず, 統一 規格である Bluetooth を用いた軽量, 高汎用性を持った無 線計測システムの設計,作製,評価を行った.

3. デバイス設計

神経信号をワイヤレスで測定するために必須なものは, 増幅器,コントローラー, A/D 変換器,トランスミッター, スティミュレーター,バッテリーである.

増幅器には、神経電極よりも大きな入力インピーダンス、 電極で発生するドリフトの除去, 増幅率はμVオーダーの信 号を mV に増幅するため最低でも 60dB 程度は必要である. また、増幅された信号は A/D 変換器に入力されるが、エイ リアシングを防ぐためのアンチエイリアシングフィルター も必要である. A/D 変換器は, 増幅器で増幅された信号を十 分に検出できる分解能でなくてはならない. ただ, 高分解能 にしてしまうと転送データが増えてしまいトランスミッタ ーに負担を掛けてしまう.分解能としては電源電圧にもよ るが 10bit 以上は必要である. また, A/D 変換器自体の変換 速度は、神経信号の spike 信号は約数 kHz であるので、サ ンプリング定理を考慮して 10 ksps (sample per sec) ほど 必要である. トランスミッターは, Bluetooth を用いるが, できる限り消費電力の小さいほうがよく、バッテリーの小 型化が図れるため Bluetooth-Low-Energy に対応したトラ ンスミッターを用いる. また, 古いバージョンの Bluetooth 規格では転送速度が 650 kbps の速度しか出ないため、2 Mbps の速度がでる ver5.0 以上を使用する. また, トラン スミッターのサイズは、マウスに搭載するために、マウスの 頭と同サイズの15mm×15mm,重さはマウスへの行動へ 阻害が出ない体重の10%~20%程度[2],連続測定時間は、 1回の測定が概ね1時間程度であるため余裕を持って2時 間程度を目指して設計を行う.

まず,増幅器の設計である.電極インピーダンス1MQ[1] として,電極ドリフトを除去する HPF (High-Pass-Filter) のカットオフ周波数は,電極ドリフトの主成分である DC 成 分(1 Hz 以下)の信号を除去する.しかし,低周波域の脳信号 は,生活リズムに関与している δ 波が 1 Hz ~ 3 Hz 付近に 存在しているため,できる限り減衰させないようにカット オフ周波数を低く設定する.また,HPF はできる限り面積 を小さくするために 1 次 RC 型フィルターとする.カット オフ周波数は,式(1)に記載する.抵抗 R = 10 MΩ, コンデ ンサ C = 100 nF で計算した結果 f_e = 0.1 Hz となった.こ れは低周波域の脳信号を減衰させず電極ドリフトを除去す るには十分である.

$$f_c = \frac{1}{2\pi RC} \dots (1)$$

増幅器は、高インピーダンスな電極で測定した微小な信 号を mV オーダーまで増幅するため、初段は高入力インピ ーダンスの計装アンプにより、できる限り大きく増幅する. また,後段で A/D 変換のレベルまで再度増幅を行う.初段 の増幅器のインピーダンスは差動入力インピーダンス 200 GQの AD8422 を用いて、増幅率を 60dB に設定し、mV オ ーダーまで増幅を行う.初段で増幅された信号は、後段の増 幅器に入力される前に、A/D 変換の折り返しノイズを防ぐ ためにカットオフ周波数3kHzの2次のLPF(Low-Pass-Filter)を通して、オフセットを除去するため、1次のHPF を通過させる. 後段の増幅器は, 受動フィルターを通過し減 衰した信号を A/D 変換器でフルスケール検出できるよう 21.7dBで増幅する. また, A/D 変換器は正入力であるので レベルシフター回路を通して正負信号から正信号へ変換す る. 次に電源回路とバッテリーであるが,正負信号の両方 を扱うため、3.7 V-30 mA のリチウムイオン電池を使用し、 インダクターレスチャージポンプ回路(LM27762)を使用 して低ノイズな±3V電源を供給する.トランスミッターは, Bluetooth-LE 規格に対応した(Raytac 社 MDBT42V-内部 チップは Nordic 社 nrf52832) モジュールを用いる. このチ ップはコントローラー内に 12bit-SARADC (successive approximation register ADC) を搭載し、またデジタルポー ト, チップアンテナも搭載しており, 小型であるため使用す る.また、日本国内での技術基準適合(工事設計認証)を取 得しているため簡単に実験を行うことができる.動物の各 種刺激は、デジタルポートを利用し刺激タイミングを出力 し、トランジスタを用いて電流増幅を行い、ひげ刺激装置 (エレクトリックバイブレーター), 視覚刺激装置(LED) を駆動する.

図1に作製した無線計測システム,図2にトランスミッ ターユニット,増幅器ユニット,電源ユニットの写真,図3 に無線計測デバイス全体のブロック図を示す.



図1. 作製した無線計測システムの全体像



図 2. 無線計測システムを構成する各ユニットの全体像:(a) トランスミッターユニット,(b)増幅器ユニット,(c)電源ユ ニット



4. 実験結果

〈4.1〉電気的特性評価

マウスを用いた生理実験に使用するマイクロプローブ電 極(プローブ長さ 400 µm, 1×1 mm², 厚さ 525 µm)のイ ンピーダンス特性を図 4 に記載する.これより神経細胞の 活動電位の周波数である 1 kHz において,インピーダンス は 11.2±8.0 MQ (n=3)であった.この値は神経応答を測 定するには高い値であるため,実効表面積を広げインピー ダンスを減少させるナノポーラス材料の Platinum black を 電気めっきにより電極先端部へ堆積を行った.再度インピ ーダンス計測を行った結果 690±86 kQ(n=3)となり,神経 信号を測定するために十分なインピーダンスであることが 確認できた.図 5 に無線計測システムの増幅率の周波数特 性,図 6 に無線計測システムの入力換算ノイズを示す.増 幅率を見ると,1 Hz~10 kHz で測定されたゲインは,53.1 ~73.8 dB (1 kHz で 72.6 dB)であった.カットオフ周波 数 > 3 kHz により,局所集合電位 (Local field potential, LFP)の広帯域信号 (<100 Hz)だけでなく,単一ニューロ ンに由来する spikeの狭帯域信号 (>100 Hz)も計測する ことがきる.また,細胞外電位計測によるニューロンの細胞 外活動電位は,約 50 μ V 程度の小さな振幅であるが,ゲイ ン測定の結果より,A/D 変換をフルスケール使用できる十 分な電圧レベルまで増幅が可能である.入力換算ノイズに おいては,50 Hz ~ 10 kHzの周波数範囲で1 μ V 未満のノ イズレベルは細胞外計測時のバックグラウンドノイズレベ ル (>20 μ V)と比べると十分に小さく,またニューロンの 細胞外活動電位は,約 50 μ V であるため,神経信号計測に は十分なノイズレベルである.



〈4.2〉マウスを用いた急性ワイヤレス計測

前節ではワイヤレスレコーディングシステムの電気的測 定を行った.本節では、実際にマウスを用いた生理実験を行 い神経信号の取得ができるか確認を行うため、急性実験を 行った.この実験は豊橋技術科学大学の動物実験委員会に よって承認された実験手順と動物の取り扱いによっておこ なわれている.

マウス(体重 31.4~33.2g, n=7)にウレタン溶液(0.5% クロルプロチキセン[0.10 mL/10g],ウレタン[0.05mL / 10 g])を腹腔内に注射し麻酔をかけ、マウスを固定装置を用い て固定し、頭蓋骨と硬膜の一部を除去してから、マイクロニ ードル電極を大脳皮質一次体性感覚野(S1B)に刺入した. 参照電極として、左半球の視覚野(V1)の頭蓋骨にステン レス鋼のネジを固定した.信号計測中,電気パルス(1ms) で駆動された電磁バイブレーターを使用して、左体側ひげ を物理的に刺激し、S1Bでのニューロン活動を測定した. ひげ刺激の制御はワイヤレスレコーディングシステムから 行った.

図7に、マウスのS1Bからのワイヤレスレコーディング の急性実験の概略図を示す. 図 7(d1)は、測定した LFP を 示している. LFP は、刺激から約 20 ms 後にひげ刺激に応 答する波形が確認でき振幅は約360 μV であった. 図7(d2) は, 計測した spike 信号を示している. 図 7(d3)はラスター プロットを示し,図 7(d4)は 100 試行のヒストグラム (PSTH) による発火頻度を示している. Spike 信号は、刺 激開始前の 0.01~0.3 s の平均信号の標準偏差(4o) のしき い値のトリガーに基づいて検出した.計測した LFP および ユニット活動の波形は、従来のタングステン電極およびマ イクロ/ナノスケール電極デバイスによって記録された信号 波形と類似している[11][12].また、これらの体性感覚応答 は他の電極と同様に、ひげ刺激から約20ms後に観測され たことより、ワイヤレスレコーディングシステムを介して 測定した神経信号は、ひげ刺激によって誘発された神経生 理学的反応であることがわかる.

図 8 に有線計測システムを用いて、電極刺入位置を変更 せず、配線のみを変更した状態で神経信号測定を行った結 果を示す. 同様に刺激から約 20 ms 後に刺激に対する LFP ならびに Spike 応答が確認でき、LFP の振幅も約 420 µV とワイヤレスレコーディングとも大差なく、また PSTH に おいても同等の発火頻度となった. このことからマウスを 用いた急性実験によって、ワイヤレスレコーディングシス テムの神経信号測定性能を確認することが出来た.

〈4.3〉マウスを用いた慢性ワイヤレス計測

マウスを用いた急性実験において,無線計測システムを 介して神経信号の測定が行え,記録性能が実証されたため, 次にマウスを用いた慢性実験を行うことにした.マウス(体 重 31.8~33.2 g, n=2)をイソフルランで麻酔を行い,マ イクロニードル電極を大脳皮質視覚野(V1)へ刺入した. 歯科用レジンを用いて,マイクロニードル電極と参照電極



図 7. 作製したワイヤレス計測システムを用いた急性実 験:(a)測定の概略図,(b)電極刺入時の写真,(c)電極の刺入 位置,(d1)測定した信号に対し 80~200 Hz の LPF をかけ た LFP 信号,(d2)測定した信号に対し 500~2000 Hz で BPF をかけた spike 信号,(d3)電圧閾値(ノイズレベルの 40)を越えて検出された点をプロットしたラスタープロッ トの図,(d4) ヒストグラム密度推定(PSTH)の図



図 8. 有線計測システムを用いた急性実験: (a1)測定した信号に対し 80 ~ 200 Hz の LPF をかけた LFP 信号, (a2) 測定した信号に対し 500 ~ 2000 Hz で BPF をかけた spike 信号, (a3) 電圧閾値 (ノイズレベルの 4 σ)を越えて検出された点をプロットしたラスタープロットの図, (a4) ヒストグラム密度推定 (PSTH)の図

を頭蓋に固定し, 脳表面の感染を防ぐため, ゼラチンスポン ジをマイクロニードル電極の周りに配置した. 白色 LED を 使用してマウスの視覚に 0.5 s 間光刺激をし, 視覚応答を無 計測システムを使用し測定した. また, 有線, 無線計測の信 号の質を評価するために, 両システムで記録された信号の ノイズと SNR を比較した. SNR は, 刺激開始後 0.005~ 0.05 s の平均波形のピーク間電圧振幅を, 刺激開始前の 0~ 0.05 s の二乗平均平方根信号で割ったものとして定義した.



図 9. 作製した無線計測システムと有線計測システムを用いた慢性実験:(a)測定の概略図、(b)有線計測システムを用いた 神経計測:(b1)測定した信号に対し 80・200 Hz の LPF をかけた LFP 信号、(b2) 測定した信号に対し 500 ~ 2000 Hz で BPF をかけた spike 信号、(b3) 電圧閾値(ノイズレベルの 4o) を越えて検出された点をプロットしたラスタープロット の図、(b4) ヒストグラム密度推定(PSTH)の図、(c)無線計測システムを用いた神経計測:(c1)測定した信号に対し 80 ~ 200 Hz の LPF をかけた LFP 信号、(c2) 測定した信号に対し 500 ~ 2000 Hz で BPF をかけた spike 信号、(c3) 電圧閾 値(ノイズレベルの 4o)を越えて検出された点をプロットしたラスタープロットの図、(c4) ヒストグラム密度推定(PSTH) の図(d) 有線計測システムと無線計測システムの入力換算ノイズの比較、(e) 有線計測システムと無線計測システムの SNR の比較

図 9(a)にマウスの V1 からの無線計測システムの計測概 略図,図 9(b)に有線計測システムを用いて測定した神経信 号,そして図 9(c)に無線計測システムを用いて測定した神経 信号をそれぞれ示す.また図 9(b1),(c1)は,計測した LFP をそれぞれ示している.LFPは、刺激から約 40 ms 後に視 覚刺激に応答した波形が測定でき,振幅は 100 試行で両計 測とも約 220 µV であった.図 9(b2),(c2)に,計測した spike 信号を示している.また図 9(b3),(c3)ならびに図 9(b4),(c4) に,それぞれ 100 試行のラスタープロットと PSTH を示し ている.Spike 信号は、刺激開始前の 0.01~0.3 s 間の平均 信号の 4o に対する同じしきい値のトリガーに基づいて検出 した.また,LFP と spike 信号の波形は、同一個体でケー ブル接続を変更することにより、有線計測システムと無線 計測システムにより測定を行った.

神経計測の結果,無線計測システムは,20 Hz 未満の周波 数範囲で有線計測と比較して低い PSD (Power Spectrum density)の値が得られた(図9(d)).この結果は、マイクロ ニードル電極と増幅器の初段までのケーブルの長さが短い (約6 cm)ためであると考えられ、また図9(b3)ならびに図 9(c3)を見比べてもケーブルが振動することで現れる横方向 の線が無線計測システムの方が少ないことからもケーブル が短いことによる低ノイズ性が確認できる.図9(e)は,慢性 的な無線計測および有線計測の測定結果から,計算された SNRの比較を示している.無線計測のSNRは14.3±2.1dB であり,有線計測の11.9±5.9 dBと比較して高く,これは有 線計測と比較して短いケーブルによるノイズが減少したた めである.また,無線計測によりSNRの標準偏差の減少も 確認した.これは,無線計測システムにより,慢性下での神 経計測時の信号品質が改善されたことを示している.

〈4.4〉自由行動下マウスワイヤレス計測

急性および慢性神経信号計測を行ったワイヤレス計測シ ステムを用いて,自由に動くマウスでの神経信号計測を行 った.マウスの大脳皮質視覚野(V1)に電極を埋め込み,自 発的活動を阻害するクロルプロチキセンは使用せず,LED での視覚刺激により,神経信号計測を行った.図10(a)に, ヘッドマウントシステムを備えたマウスでの神経信号計測 のマウスの写真を示す.図10(b)は,記録された神経信号 (LFP, spike 信号,ラスタープロットならびにヒストグラ ム)である.測定結果より,LFP は視覚刺激から約40 ms後 に刺激に対する応答波形が観測された.振幅は,100 試行で 約 180 μV であった.また,spike 信号においても慢性計測 時と同様のタイミングで PSTH にピークが見受けられるた め刺激に対する神経応答であると考えられる.また,計測中 ワイヤレス計測システムに関連するマウスの行動に支障は 見られなかった.PSTH について詳しく見ると 0.2 s 以降 でノイズが増加している.これは,マウスの震え (EMG), 光刺激によって誘発されたすくみ行動などの一連の反応に よって引き起こされた信号であると考えられる.これらの 信号は,クロルプロチキセンを注射する慢性計測では観測 されず,本実験のみで観測される事象である.これら事象を 解決するためには,Bluetoothの利点である,汎用的双方向 通信を行い測定データを PC へ送信し,PC 上で解析を行い 次回の刺激強度を Bluetooth を用いて送信することで測定 信号の質が向上でき,問題解決を行うことができる.



図 10. 作製したワイヤレス計測システムを用いた自由行動 下の実験:(a)ワイヤレス計測システムを装着したマウスの 写真,(b1)測定した信号に対し 80-200 Hz の LPF をかけた LFP 信号,(b2)測定した信号に対し 500-2000 Hz で BPF をかけた spike 信号,(b3)電圧閾値(ノイズレベルの 40) を越えて検出された点をプロットしたラスタープロットの 図,(b4) ヒストグラム密度推定(PSTH)の図,(c)検出した spike 信号について ISI (Inter spike interval)解析を行っ た結果

5. まとめ

マウスに搭載可能な重さ 3.9 g, 15×15×12 mm³の Bluetooth 技術による無線神経信号計測システムの設計お よび作製を行なった.作製したシステムの電気的特性の評 価ならびに,マウスを用いた急性,慢性,自由行動下の計測 実験を行い,*in vivo*での神経信号取得能力の確認を行った. また従来の有線計測システムとの比較を行い,提案する無 線計測システムによるノイズの低減やその高い汎用性を確 認した.また,小型かつ軽量なシステムのため,マウスだけ でなくラットやサル等の実験動物にも適用できると考えら れ,特に電気生理学研究の拡大に繋がると期待できる.一方 で今回のシステム構成では,その記録電極が 1 チャネルに 留まっている. Bluetooth モジュールの ADC は6 チャネル 用もあり,各チャネルは>10ksps (最大サンプリングレート は各チャネル 30ksps) で信号取得ができるため今後は多チ ャンネル化も可能である.また,増幅器とマルチプレクサが 一体となった IC も販売されており,このようなシステムを 用いることで,今後は既存のワイヤレス計測システムより も小型,軽量かつ高機能なシステムを構築することが可能 である.

謝辞

本研究は、文部科学省費(補助金,基盤研究(A,B),若 手研究(A), NEDO(次世代人工知能・ロボット中核技術 開発)、公益財団法人 永井科学技術財団および豊橋技術科 学大学イノベーション協働研究プロジェクトの助成によっ て実施されたものであり、ここに記して謝意します.

文 献

- H. Sawahata et al., "Single 5 µm Diameter Needle-electrode Block Modules for Unit Recordings in vivo", Scientific Reports, Vol. 6, 35806(2016)
- [2] A. Zhou et al., "A wireless and artefact-free 128-channel neuromodulation device for closed-loop stimulation and recording in non-human primates", Nature Biomedical Engineering, Vol. 3, 15-26(2019)
- [3] S. Idogawa et al., "A Lightweight, Wireless Bluetooth-low-energy Neuronal Recording System for Mice," Sensors and Actuators B, Vol. 331, 129423(2021)
- [4] R. R. Harrison et al., "Wireless neural recording with single low-power integrated circuit," IEEE Trans. Neural Syst. Rehabil. Eng., vol. 17, no. 4, pp. 322–329(2009)
- [5] T. A. Szuts et al., "A wireless multi-channel neural amplifier for freely moving animals," Nat. Neurosci., vol. 14, no. 2, pp. 263–270(2011)
- [6] D. Fan et al., "A wireless multi-channel recording system for freely behaving mice and rats," PLoS One, vol. 6, no. 7(2011)
- [7] R. R. Harrison et al., "Wireless neural/EMG telemetry systems for small freely moving animals," IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst., vol. 5, no. 2, pp. 103–111(2011)
- [8] K. Abdelhalim, H. M. Jafari, L. Kokarovtseva, J. L. P. Velazquez, and R. Genov, "64-Channel uwb wireless neural vector analyzer soc with a closed-loop phase synchrony-triggered neurostimulator," IEEE J. Solid-State Circuits, vol. 48, no. 10, pp. 2494–2510(2013)
- [9] M. Yin et al., "Wireless neurosensor for full-spectrum electrophysiology recordings during free behavior," Neuron, vol. 84, no. 6, pp. 1170– 1182(2014)
- [10] X. Liu, B. Subei, M. Zhang, A. G. Richardson, T. H. Lucas, and J. Van Der Spiegel, "The PennBMBI: A general purpose wireless Brain-Machine-Brain Interface system for unrestrained animals," Proc. - IEEE Int. Symp. Circuits Syst., no. June, pp. 650–653(2014)
- [11] A. Fujishiro, H. Kaneko, T. Kawashima, M. Ishida, and T. Kawano, "In vivo neuronal action potential recordings via three-dimensional microscale needle-electrode arrays," Sci. Rep., vol. 4, pp. 1–9(2014)
- [12] Y. Kubota et al., "Nanoscale-Tipped High-Aspect-Ratio Vertical Microneedle Electrodes for Intracellular Recordings," Small, vol. 12, no. 21, pp. 2846–2853,(2016)