

(19)
(12)

(KR)
(A)

(51) 。 Int. Cl. ⁷
C12Q 1/68

(11)
(43)

2002 - 0008157
2002 01 29

(21)	10 - 2001 - 7013429
(22)	2001 10 20
	2001 10 20
(86)	PCT/US2000/02976
(86)	2000 02 04

(87)	WO 2000/65099
(87)	2000 11 02

(81)

: 가 ,

, 가 ,

, 가 ,

, 가 ,

, 가 ,

, 가 ,

가 ,

AP ARIPO : , 가 ,

EA :

EP :

OAPI : , 가 ,

(30)	09/296,929	1999 04 22	(US)
------	------------	------------	------

(71)

, 27599 - 4100, , 308

(72)

.

.

.

.

(74)

:

(54) -

, 가-

, 가-

.

-

, -

-

.

1a

	1998 10 27	09/179,665	1998 10 27
	09/179,665 1996 6 20		5,871,918 08/6
67,338	, 1995 6 27 ()	08/495,817	1997 10 14
	08/950,503	08/950,503	1996 6
20	5,871,918	08/667,338	.

(binding pair)

-

, ,

.

(Spargo, C.A. , 1993, Molecular and Cellular Probes 7, 395 - 404; Martin, W.J., 1994, Infectious Disease, In The Polymerase Chain Reaction (K.B. Mullis, F. Ferre and R.A. Gibbs, eds), pp. 406 - 417, Berkhauser, Boston), mR
NA (Skena, M., 1995, Science 270, 467 - 470), " " DNA
(resequencing) (Chee, M., , 1996, Science 274, 610 - 613)

DNA

(Sandwich assays)

가

가

(Spargo, C.A. , 1993, Molecular and Cellular Probes 7, 395 - 404).

(Holodniy, M. , 1995, J. Virology 69,

3510 - 3516).

가

(reporter)

(intercalation)가

- 가

(Hashimoto ,

5,776,672).

Heller

(

5,532,129; 5,565,322; 5,605,662; 5,632,957)

가

Chrisey

(

5,688,642)

,

가

가

;

가

,

가
가

가

-

, Weetall

(

5,066,372)

. Hill

4,945,045, Higgins

4,545,382

Gratzel

5,378,628

Wang

(Wang , 1997, Anal. Chem. 69, 4056 - 4059)

DNA

가

,

.

(parent application)

가

가

가 -

(analyte),

가

가 -

5'

DNA

DNA

. DNA

DNA

(Levicky, R. , 1998, J. Amer. Chem. Soc., 120, 9787).

가 -

, Hall , PCT/GB93/00631 .

(wide - bandgap)

(high - area nanocrystalline)

TiO₂

()

pH

Ru(bpy)₃²⁺

(hexaphosphonation)

(Yan, S.G. , 1996, J. Physical Chem., 100,

6867).

가 -

가

가 -

(Folkers, J.P. , 1995, Langmuir, 11, 813

Laibinis, P.E. , 1989, Science, 2

45, 845)

가 -

(Tarlov, M.J. Bowden, E.

F., 1991, J. Am. Chem. Soc., 113, 1847).

(ITO)

1,12 -

(DDCA)

DNA

(Napier, M. , 1997, Langmuir, 13, 6342).

DNA

Ru(bpy)₃³⁺

- ITO

E_{1/2} = 1.05V (vs Ag/AgCl)

Ru(bpy)₃^{2+/3+}

가

가 , 1,12

가

(straightforward)

DNA

가 -

가

가 -

가

(가

C₃

C₃

).

(Lukes, I., 1994, J. Am. Chem. Soc., 116, 1737), (, in Hong, H - G, , 1991, Langmuir, 7, 2362, in Yang, H.C., 1993, J. Am. Chem. Soc. 115, 11855) (K ayyem, j., PCT/US97/20014) (Gao, W., 1996, Langmuir, 12, 6429) 가 - Gardner, T.J., 1995, J. Am. Chem. Soc., 117, 6927 . DNA가 . DNA가 DNA DNA (Xu, X - H, 1994, J. Am. Chem. Soc., 116, 8386).

SiO₂
(Boxer, PCT/US97/21835)
(Harding, PCT/Au97/00316);
가
(Ribi(EP 0 492 917B1);
(Maley, 5,711,868,
).
ITO
가

가- , ITO 가- .
가- .
가- , 가- .
가- , -
가 - .
가 가 .
가 , - .
가 , 가- .
가 ,
가 ,
가 .

(, , , , ,)
가-

가

가-

, " "
ITO 가- " " " "
().
C, N O

가-

ITO
ITO

, R₁ 가, R
1 () R₂
- (R₁ = - CO₂ H, R₂ = - (CH₂)_n -)
가 11 - (R₁ = - CO₂ H R₂ = - (CH₂)
11 -) " " 가
가

가

S, TiO₂, GaAs

. ITO가

ITO

pH

(TIO),
Si, Ge, ZnO, Cd

(11 - 가 - 12 - - 2) .

12 - 가 , 2 - 14 가 -
3 - , 12 - -
3 - 가 가 가 .

2 - (1)
; (2)
; (3)
() -
가 .

가- (zwittterionic) 가-

가 -

(SN 09/179,665 SN08/950,503)

, 가 -

가 . , 가-

4

6 80 100 , 8 30

가 .

5 - (,) , 2' - O - , 5 - 8 - - , 6 - , 4 - ,

7 - , N6 - , 1 - , 1 - , 1 - , 1 - , 1 - , 2 ,

2 - , 2 - , 2 - , 3 - , 5 - , N6 - , 7 -

5 - , 5 - , 5 - - 2 - , D - , 5 -

5 - , 2 - - N6 - , N - ((9 - - D - - 2 -

- 6 -)) , N - ((9 - - D - - 6 -) N - -) , - 5 -

5 - , 2 - , 5 - , N - ((9 - - D - , 2 - , 5 - - 2 -

- 5 - , 2' - O - , 3 - (3 - - 3 -) , 2' - O - , 2' -

- O - , " " . DNA, RNA,

2'

(internucleotid)

가 , , 가)

(, , P. Nielsen 1991, Science 254, 1497

- 1500 " " 가

가

(,

),

가-

가

가

5' - , 5' - (, 5' -

5' -)가 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

6 - , 8 - , 2 - , 6 - , 6 - , 2 - - 6 - , 2 -

2 - , 6 - , 2 - - 6 - , 6 - - 2 - , 2 - , 8 -

- 6 - , 2 - , 2 - , 6 - - 2 - - , 2 - , 8 -

8 - , 8 - - , 8 - - , 6 -

8 - - 6 -

가

가

가

가

$^{2+}$ (2,2' -)₃ (" Ru(bpy)₃²⁺ "), $^{2+}$ (4,4' - - 2,2' -)₃ (Ru(Me₂ - bpy)
 $^{2+}$ "), $^{2+}$ (5,6 - - 1,10 -)₃ (" Ru(Me₂ -)₃²⁺), Fe²⁺ (2,2' -)₃ (" Fe(bpy)₃
 $^{2+}$ "), Fe²⁺ (5 -)₃ (" Fe(5 - Cl -)₃²⁺ "), $^{2+}$ (2,2' -)₃ (" Os(bpy)₃²⁺ "),
 $^{2+}$ (5 -)₃ (" Os(5 - Cl -)₃²⁺ "), $^{1+}$ (" ReO₂ (p
y)₄¹⁺ ")가
y)₂²⁻
(SO₃)₂ - bpy²⁻ 4,4' - - 2,2' - (CQ)₂ - bpy²⁻ 4,4' - - 2,2' -
가
4 - , 4 - , 4 - , 4 - , 4,4' -
- 2,2' - , 5,5' - 2,2' - , 6,6' - - 2,2' - , 4,4' - - 2,2' -
, 5,5' - - 2,2' - , 6,6' - - 2,2' - , 4,4' - - 2,2' -
, 5,5' - - 2,2' - , 6,6' - - 2,2' - , 4,4',4" - - 2,2',2" -
, 4,4',4" - - 2,2',2" - , 4,4',4" - - 2,2',2" - , 4,4',4" -
- 2,2',2" - , 4,4',4" - - 2,2',2" - , 4,7 - - 1,10 - , 3,8 -
- 1,10 - , 4,7 - - 1,10 - , 3,8 - - 1,10 - , 4,7 -
- 1,10 - , 3,8 - - 1,10 - , 4,7 - - 1,10 - , 3,8 -
- 1,10 - , 4,7 - - 1,10 - , 3,8 - - 1,10 - , 4,7 - - 1,10 -
, 3,8 - - 1,10 - , [3,2 - a:2',2' - c] , 6,6' - - 2,2' - ,

가

가 -

(가)

Ag/AgCl

Pt

(i)

, ()

, ()

가

/

가

가-

(chronoamperometry),

(chronocoulometry),

(square - wave voltammetry)

가

ITO

가-

가

(0 - 800mV)

(1300 - 2000mV)

(

, 10mV/s 5000V/s).

1600mV 0mV 20V/s

(0mV

- 800mV) (1000mV - 1600mV)
(50 μ s 30s), 가

(0mV - 800mV)

(100 - 1600mV)

(50 μ s 30s)

500ms

1

100mV

가-

(

a)

, (b)

, (c)

, (d)

10
50 100

1,918 " " , 5,87
 . 10, 50, 100 가 " " ,
 .
 , 가 .
 () .
 , 가 , Ru(bpy)₃²⁺ 가 (, A, T, C)
 / ,
 , 가 DNA RNA가 가 ,
 , 가 가- ()
 가 , 가 , 가가 .
 (, (duplex)
), 가 가
) 가 (10³
 ,
 ,
 (a) ; (b) -
 ; (c) - ;
 (d) -
 .
 (, Ru(bpy)₃²⁺)
 , =k[Ru(bpy)₃²⁺][DNA] , k
 , [Ru(bpy)₃²⁺]
 A] (DNA - RNA) . k [Ru(bpy)₃²⁺]가 ,
 , 가
 (,) . M. Holodniy , 19
 95, J. Virol. 69, 3510 - 3516; J. Mellors , 1996, Science 272, 1167 - 1170 .

가 -

가

(a) 가 - ; (b)

2 ; (c)

2 ; (d)

2 ; (e)

2 ; (f)

1a 1b - (pmol) 가 -

가 -

2 가 -

가 - C_{12} . 20V/s

100 μ M $Ru(bpy)_3^{2+}$

3 12 - . 20V/s

100 μ M $Ru(bpy)_3^{2+}$

4 - . 20V/s

100 μ M $Ru(bpy)_3^{2+}$

5 4 . 20V/s

100 μ M $Ru(bpy)_3^{2+}$

1

DNA

Sigma Chemicals(St. Louis, MO) Aldrich(Milwaukee, WI) ; 2
 - 3 - (3 -) (EDC), N - (NHS) (Sigma A
 ldrich); [- 32 P] (ATP)(Pharmacia Biotech, Inc., Piscataway, NJ); (Millipore M
 illi - Q , Bedford, MA); (Oligos Etc., Inc., Wilsonville, OR); 1 -
 (bromododecanoic acid), N,N' - (Sigma);
 , , Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, NaCl HCl(F
 isher, Pittsburgh, PA).

2

C - 12

가 , , 11 - 2 - (Sigma Aldrich)
 가 (C - 12) 가

C - 12 : 1.12g(4mmoles) 50mL
 10mL . (2M, 2ml) 가 ,
 100 μ l N,N' - (DMF) 가 , 1,2 , 가 DMF 10
 0 μ L 가 . 15 , 8mL 가 15

10mL (350 μ L) (835 μ L) 가 . pH , pH 7 8 .
 10mL , 10mL (phase)

100mL (1.5mL) 가 ,
 . 1.5 1.5mL 가 가
 4.5 . 50 HCl 13.2mL 가 . 16
 5mL 가 ,
 12 - . , .

3

15mm \times 15mm 10ohms/square 가 , 2000 SiO₂
 1400 - 1600 ITO ITO (Delta Technolo
 gies, Stillwater, MN)

(,) -
 가 -

2 - 5mM , -

0.1 - 20mM 가 - ITO 3 20 , 30
가 , ,

/ITO ,

4

3 ITO 1 - - 3 - (3 -) (EDC) N -
(NHS) 4:1 / . EDC 20 - 400mM
, NHS 5 - 100mM . 400mM EDC 100mM NHS . EDC/NHS
30 μ l ITO / , 30 EDC/NHS IT
O 3 .

5

DNA

3' - 5' -
6 3 , 3 12 , 가
1M NaCl/0.25M NaHCO₃, pH 9 20 100 μ M (20
 μ L) (25) 30
0.1M pH7 , 1.0M NaCl
가 32 P -

25 20 0.1M 3

, pH, , 가

6

. , 23 (0.8M NaCl
 0.05M NaH₂PO₄, pH 7.0, 20 μl) / 25
 0.1M pH7.0 NaH₂PO₄, 1.0M NaCl,
 가 가
³²P - 가
 가
 7
 ,
 ,
 TO ,
 20V/s , DNA 50mV/s - 5000V/s , 가 , 가
 0 V , 1.3 1.8V
 : Ag/AgCl , , ITO , IT
 O , 50mM (pH 7.0) 100 μM Ru(bpy)₃²⁺ 200 μL
 NaCl (1M
 가
 Ru(bpy)₃²⁺), ,
 8
 가
 1a 1b (pmol)
 가 - 1a 2 가 , 1b 90
 가 10 가 가
 가 - 20 , 3 10
 가
 2 - 가 - 가 pmol (가 2
 20V/s 100 μM Ru(bpy)₃²⁺
 pmol
 μA 가 - 12 -
 0.1 20mM .
 가 가 - 가 .0 ITO
 가 - . 60%
 . 1, 2, 3, 6 7 , (2 , 3
 가) .

20V/s, 100 μ M Ru(bpy)₃²⁺ 가 가 pmol () μ A
 7 (3).

9

4 가 - 0.008 0.466pmol
 M 가 Ru(bpy)₃²⁺ 가 23 34 - mer . 20V/s 100 μ
 ()

5 4 μ A 가 pmo
 (μ A) (pmol)

10

가 - 가 -
 0.005 - 1mM (EDC) 0.05M N - (NHS) , 0.2M 1 - 3' - 5' -
 100 - 200 μ l 20 μ M 가 25 6 -
 8

(20 μ l) ITO

2 - 4 25
 , 0.1M NaH₂PO₄, pH 7.0, 1.0M NaCl

ITO
 가

가

가 5'

3' -

ITO 85 - 100% 가 5 μ M - 5mM , 2 - , 0.1M
 (20 μ l) ITO
 4 25 , pH7.0, 1.0M NaCl,

, , , 가 가 ,

(57)

1.

(a) ;

(b) 가 - R_1 ,
 가

2.

1 , R_2 가 R_1 .

3.

2 , R_2 (CH₂)₁₁ .

4.

1 , - .

5.

4 , - 11 - .

6.

1 , ITO .

7.

1 , R_1 가 -

8.

1 , (probe) .

9.

1 , - .

10.

9 , - .

11.

1 , R_1 (coupling agent) .

12.

11 , .

13.

1 , .

14.

(a) ;

(b) ;
 , R_1 , 가
 가 - ;

(c) .

15.

14 , 가 .

16.

14 , - .

17.

가- R_1 .

18.

- 17 , R_2 가 R_1 가 -
.
- 19.
- 18 , R_2 가 $(CH_2)_{11}$ 가 - .
- 20.
- 17 , 가 - 가 -
.
- 21.
- 20 , - 가 11 - 가 -
.
- 22.
- 17 , ITO 가 - .
- 23.
- 17 , R_1 가 가 - 가 -
.
- 24.
- 17 , 가 가 - .
- 25.
- 17 , 가 - 가 - .
- 26.
- 25 , - 가 - .
- 27.
- 17 , R_1 가 가 -
.
- 28.
- 27 , 가 가 - .
- 29.

17 , 가 -
.

30.

(a) , 가 R_1 가 -
- - ;

(b) - - ;

(c) - ;

(d) - , -
.

31.

30 , $Ru(bpy)_3^{2+}$ -
.

32.

30 , R_2 R_1 .

33.

32 , R_2 $(CH_2)_{11}$.

34.

30 , - .

35.

34 , - 11 - .

36.

30 , - ,
.

37.

30 , ITO .

38.

(d) - - ;

(e) - ;

(f) - , - .

47.

46 , 가 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ - .

48.

46 , R_2 가 R_1 .

49.

48 , R_2 가 $(\text{CH}_2)_{11}$.

50.

46 , - .

51.

50 , - 11 - .

52.

46 , - , .

53.

46 , ITO .

54.

46 , - .

55.

54 , 가 - .

56.

55 , , 가 (strand displacement amplification),
(ligase chain reaction), - (nucleic acid sequence - based amplification)

57.

46 , .

58.

46 , 가 - .

59.

58 , - .

60.

46 , .

61.

62.

(a) _____ ;

(b) 가 - 가 ,
R₁ ;

(c) 가 - ,

63.

62, R_2 , R_1 .

64.

63, $R_2 = (CH_2)_{11}$.

65.

62

66.

65 , - 11 - .

67.

62 , ITO .

68.

62 , R_1 가 - .

69.

62 , .

70.

62 , - .

71.

70 , - .

72.

62 , R_1 .

73.

72 , .

74.

(a) ;

(b) , 가 - , R_1 , 가 ;

(c) R_1 ;

(d) 가 - .

75.

74 , R_2 R_1 .

76.

75 , R_2 $(CH_2)_{11}$.

77.

74 , 가 - .

78.

77 , - 11 - .

79.

77 , ITO .

80.

74 , R_1 가 - .

81.

74 , .

82.

74 , - .

83.

82 , - .

84.

74 , .

85.

(a) , R_1 , 가 , -
가 - ;

(b) 가 - -
 ,
 ;

(c) -
;

(d) - ;

(e) -
.

86.

85 , $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 가 .

87.

85 , R_2 R_1 .

88.

87 , R_2 $(\text{CH}_2)_{11}$.

89.

85 , - .

90.

89 , - 11 - .

91.

85 , ITO .

92.

85 , R_1 가 - .

93.

85 , 가 -
.

94.

93 , , 가 (strand displacement amplification),
(ligase chain reaction), - (nucleic acid sequence - based amplificatio
n) .

95.

85

96.

- (a) R_1 가 -
- (b) 가 -
- (c) 2 -
- (d) -
- (e) -
- (f) -

97.

96

98.

96

99.

96

 R_2 R_1

100.

99

 R_2 $(CH_2)_{11}$

101.

96

102.

101

11 -

111.

110 , - 11 - .

112.

105 , ITO .

113.

R_1 .

114.

113 , R_2 R_1 .

115.

114 , R_2 $(CH_2)_{11}$.

116.

113 , - .

117.

116 , - 11 - .

118.

113 , .

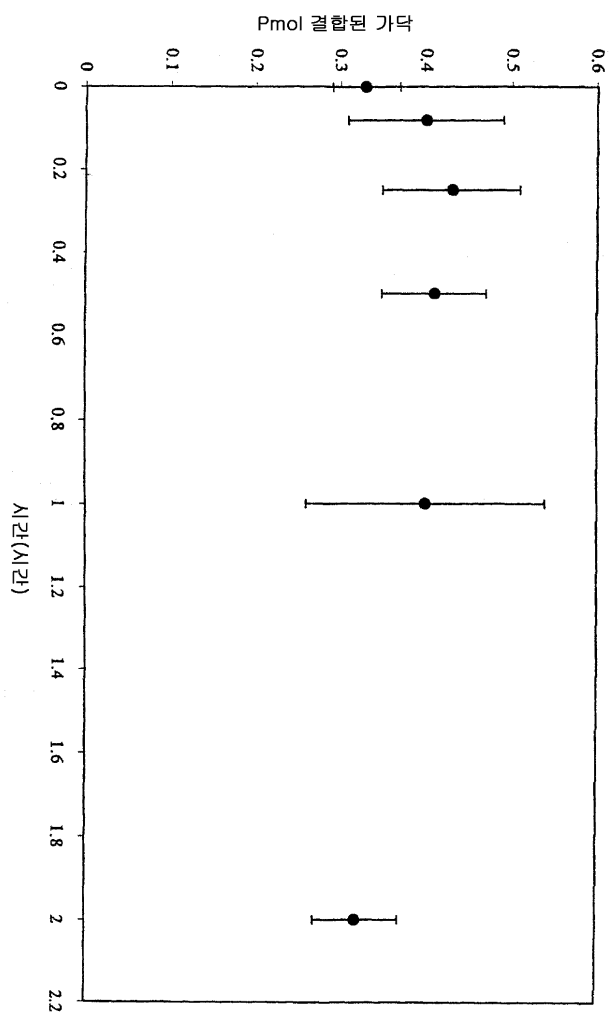
119.

113 , - .

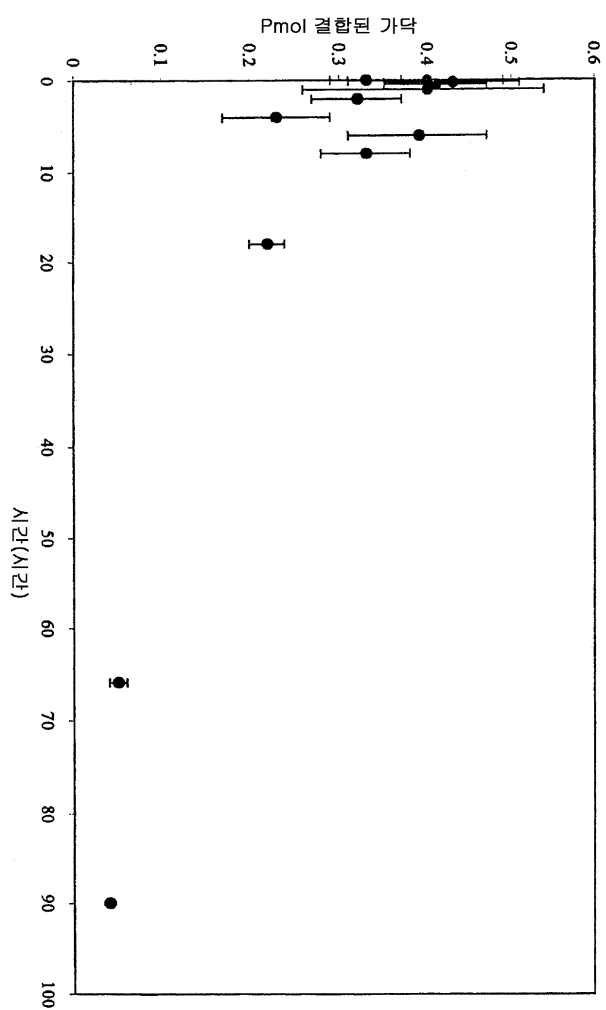
120.

119 , - .

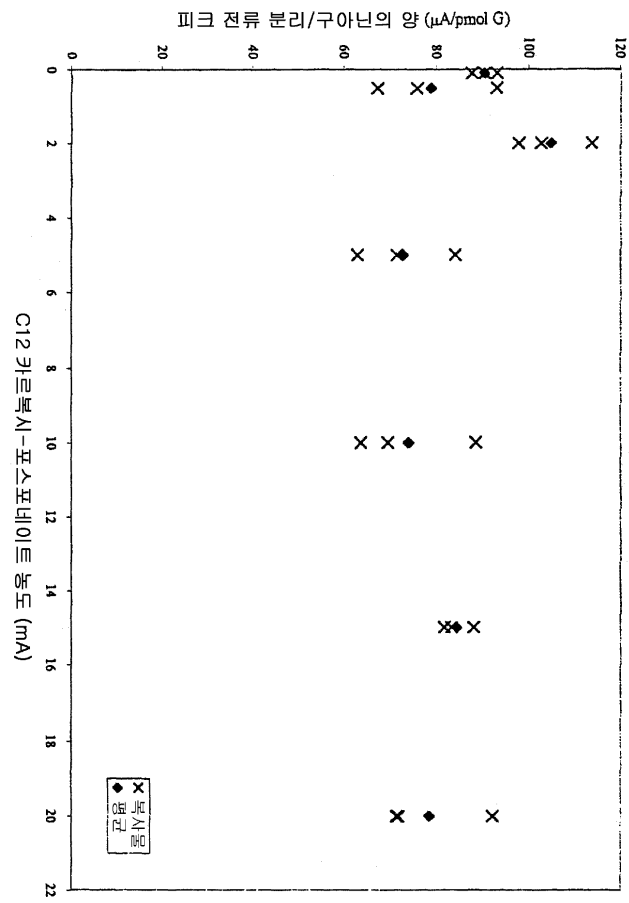
1a



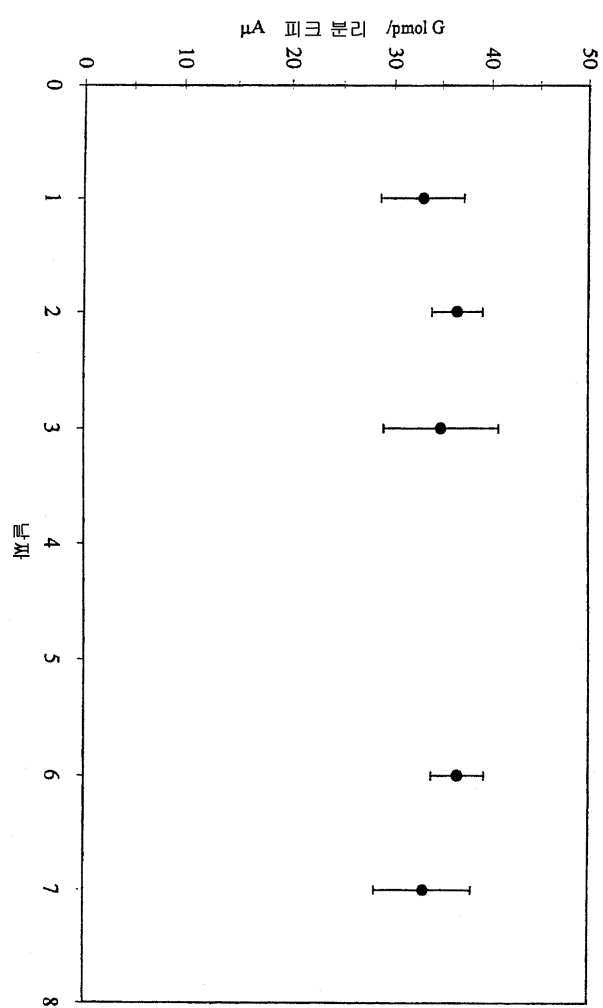
1b



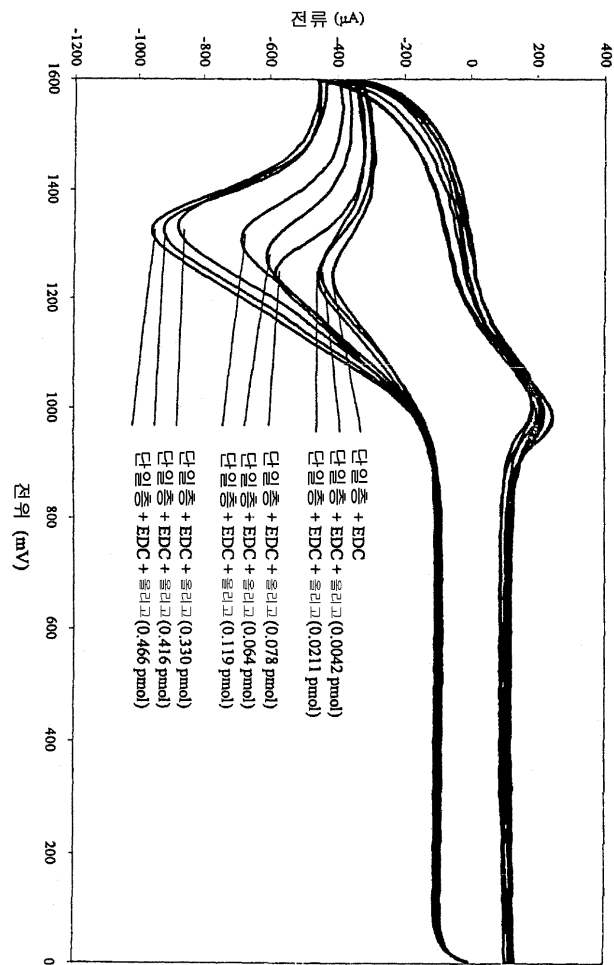
2



3



4



5

