

(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

(71) 27599 - 4100. 308

(72)

(74)

(54)

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 (Schena, 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 , Weetall (5,066,372)
 4,945,045, Higgins 4,545,382 Gratzel 5,378,628 Hill

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

DNA

가

(parent application)

가

， 가

(wide - bandgap)

(high - area nanocrystalline)

($\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ (hexaphosphonation) pH (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 - ITO $E_{1/2} = 1.05V$ (vs Ag/AgCl) $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ 가 ,
 - 가 . , 1,12 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+/3+}$ 가 ,

(straightforward)

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) (Lukes, I. , 1994,

가 K
ayyem, j. , PCT/US97/20014) (Gao, W. , 1996, Langmu
ir, 12, 6429) 가 -
Gardner, T.J. , 1995, J. Am. Chem. Soc., 117, 6927 .
가 - . DNA가
, 가 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

74

가 -

가

ITO

가 -

가 -

, 가 -

가

가

가

가

가

(, , , , ,)
가 -

가

가 -

ITO 가 - (C, N O).

가 - ITO
ITO

가

S, TiO₂, GaAs; ITO가 ITO pH (TiO), Si, Ge, ZnO, Cd

가 가 가 ITO

(11 - 가) (12 - 2)

12 -

가

2 - 14

가 -

3 -

가 가

3 -

가

2

(1)

; (2)

; (3)

()

가

가 -

가

가 -

(zwitterionic)

/

)

가

(,

, ,

,

,

,

/

() .

가

;

가 -

,

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

, 가 -

가

가 -

4

6 80 100
가 .

8 30

(internucleotid)

가

가)

P. Nielsen 1991, *Science* 254, 1497

가

- 1500

가

(

1

가 -

가

가

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

, 5' -

(, 5' -

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

가

가

가

가 -

(

Pt

가)

Ag/AgCl

(i)

, ()

가

가

가 -

chronoamperometry),
 (chronocoulometry),
 (square - wave voltammetry)

가

가

ITO

가 -

가

(0 - 800mV)

(1300 - 2000mV)

, 10mV/s 5000V/s).

0mV

1600mV

20V/s

(

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

(0mV

(0mV - 800mV)

(100 - 1600mV)

(50 μ s 30s)

100mV

500ms

1

가 -

(

a)

, (b)

, (c)

, (d)

10
 50 100

5,87

1,918 " " ,
10, 50, 100 가 " " ,

가 , ,
()

가 , $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ (, A, T, C)
/ , 가 DNA RNA 가 ,
,

가 , 가 ,
) 가 , , 가 가
(,
) 가 ,
(,
) ,
10³

, ,
,

(a); (b); (c);
(d)

A] (, $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$) , $= k[\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}][\text{DNA}]$, k , [DN
(DNA - RNA) . k $[\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}]$ 가 ,
가 ,
(,) , M. Holodniy , 19
95, J. Virol. 69, 3510 - 3516; J. Mellors , 1996, Science 272, 1167 - 1170

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

1a 1b (pmol) 가 -
 ; (g)

2 가 -
 ; (h) 20V/s
 100 μ M $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ C_{12}

3 12 -
 ; (i) 20V/s 100 μ M $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$

4
 ; (j) 20V/s 100 μ M $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$

5 4 20V/s 100 μ M $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$

1

DNA

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

2

C - 12

, , 2 - (Sigma Aldrich)
가 11 - (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

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

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

3

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

(,)

가 -

2 - 5mM

0.1 - 20mM . 가 - 3 20 , 30
- ITO
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
 0 3 .

5

DNA

3' - 5' -

6 μL 1M NaCl/0.25M NaHCO₃, pH 9 20 100 μM (20
 (25) 30 0.1M pH7 , 1.0M NaCl
³²P-

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
³² P - 가
 가

7

TO
20V/s 50mV/s - 5000V/s
0 V 1.3 1.8V
Ag/AgCl ITO IT
50mM (pH 7.0) 100 μM Ru(bpy)₃²⁺ 200 μL
NaCl 1M
Ru(bpy)₃²⁺

8

가

20V/s 100 μ M $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 가 pmol () μ A
 가 , 가 ,
 .7 (3).

9

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

5 4 μA . , μA . , pmol)

10

가 - 3' - 5' -
 가 - 0.005 - 1mM (EDC) 0.05M N - (NHS) 100 - 200 μ l 20 μ M 25 6 -
 8 ,
 (20 μ l) ITO 2 - 4 25 , 0.1M NaH_2PO_4 , pH 7.0, 1.0M NaCl

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

(57)

1.

(a) ;

(b) 가 -
 R₁
 가

2.

1 , R₂ 가 R₁

3.

2 , R₂ (CH₂)₁₁

4.

1 , -

5.

4 , - 11 -

6.

1 , ITO

7.

1 , R₁ 가 -

8.

1 , (probe)

9.

1 , -

10.

9 , -

11.

1 , R₁ (coupling agent)

12.

11 , -

13.

1 , -

14.

(a) ;

(b) ;

, R₁ ; 가

가 - ;

(c)

15.

14 , 가

16.

14 , -

17.

R₁
가 -

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 -
- 24.
- 17 , 가 -
- 25.
- 17 , 가 -
- 26.
- 25 , -
- 27.
- 17 , R_1 가
- 28.
- 27 , 가 -
- 29.

17

가 -

30.

(a)

R₁

가

가 -

,

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

-

31.

30

Ru(bpy)₃²⁺

32.

30

R₂R₁

33.

32

R₂ (CH₂)₁₁

34.

30

11 -

35.

34

-

;

-

;

-

;

-

;

-

;

-

-

37.

30

ITO

38.

30

39.

38

40.

39

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

41.

30

42.

30

43.

42

44.

30

45.

30

46.

(a)

R_1
가

R_1 가

가 -

(b) R_1 가

R_1

R₁

(c)

가 -

(d)

;

(e)

;

(f)

,

47.

46

,

 $\gamma \text{t Ru(bpy)}_3^{2+}$

48.

46

,

 $R_2 \gamma t$ R_1

49.

48

,

 $R_2 \gamma t (CH_2)_{11}$

50.

46

,

51.

50

,

11 -

52.

46

,

,

53.

46

,

ITO

54.

46

,

 γt

55.

54

,

 γt

56.

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

57.

46 ,

58.

46 , 가 -

59.

58 , -

60.

46 ,

61.

46 , , , , ,

62.

(a) ;

(b) 가 - ;
 R₁ ;

(c) 가 - ,
 가 - ,

63.

62 , R₂ R₁

64.

63 , R₂ (CH₂)₁₁

65.

62 ,

66.

65 , - 11 -

67.

62 , ITO

68.

62 , R_1 11 -

69.

62 ,

70.

62 , -

71.

70 , -

72.

62 , R_1

73.

72 ,

74.

(a) ;

(b) , 11 - ,
, R_1 ;(c) R_1 ;

(d) 11 -

75.

$$74 \quad , \quad R_2 \quad R_1$$

76.

75 , R₂ (CH₂)₁₁

77.

74 , 가

78.

77 , - 11 -

79

77 , ITO

80.

74 , R₁ 가 -

81

74

82

74

83

82

84

74

85

(a)

기

가 -

가.

(c)

;

(d)

- ;

(e)

- ;

86.

85 , $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 가

87.

85 , R_2 R1

88.

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

89.

85 , -

90.

89 , - 11 -

91.

85 , ITO

92.

85 , R_1 가 -

93.

85 , 가 -

94.

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

95.

103.

96 , ITO

104.

105.

(a)

가 -

(b)

가 -

(c)

(d)

(e)

106.

105 ,

107.

105 ,

108.

105 , R₂

R₁

109.

108 , R₂ (CH₂)₁₁

110.

105 ,

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 ,

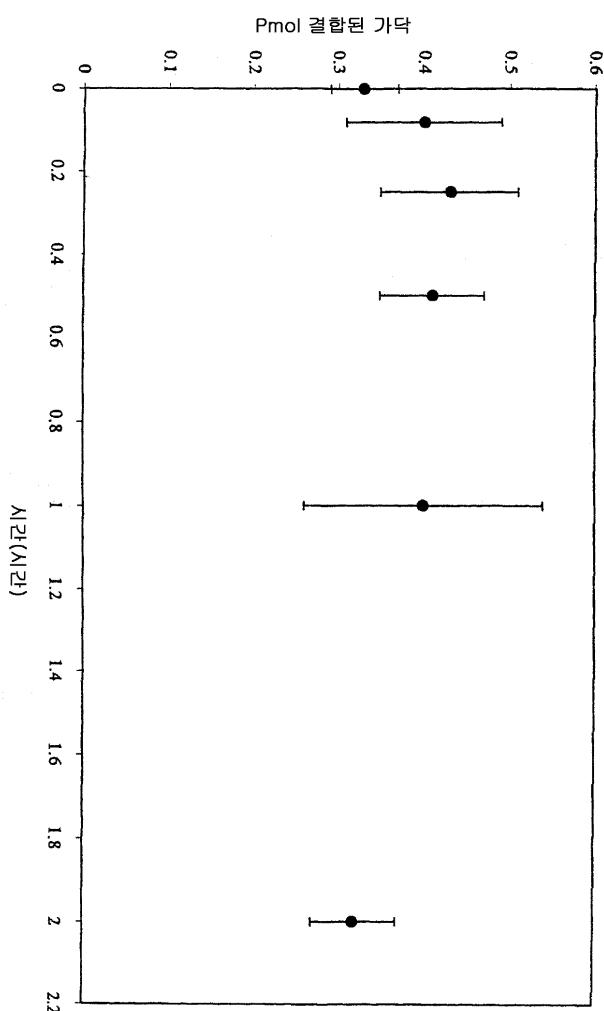
119.

113 , -

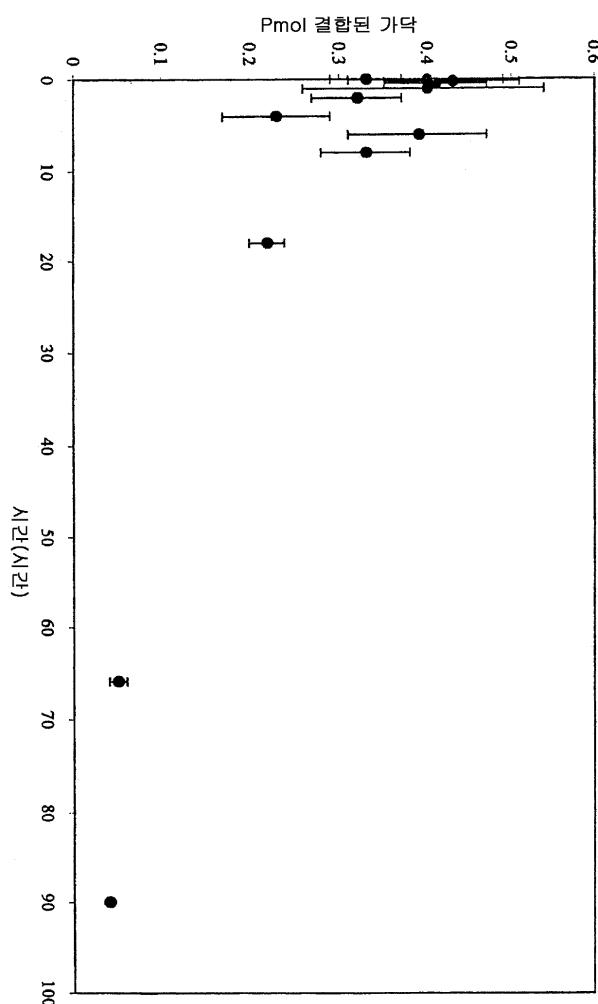
120.

119 , -

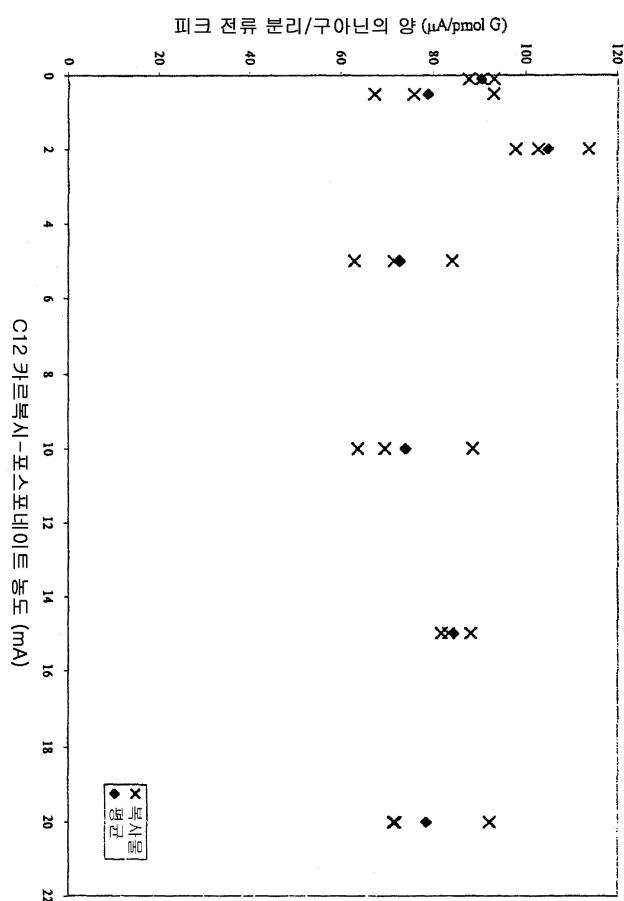
1a



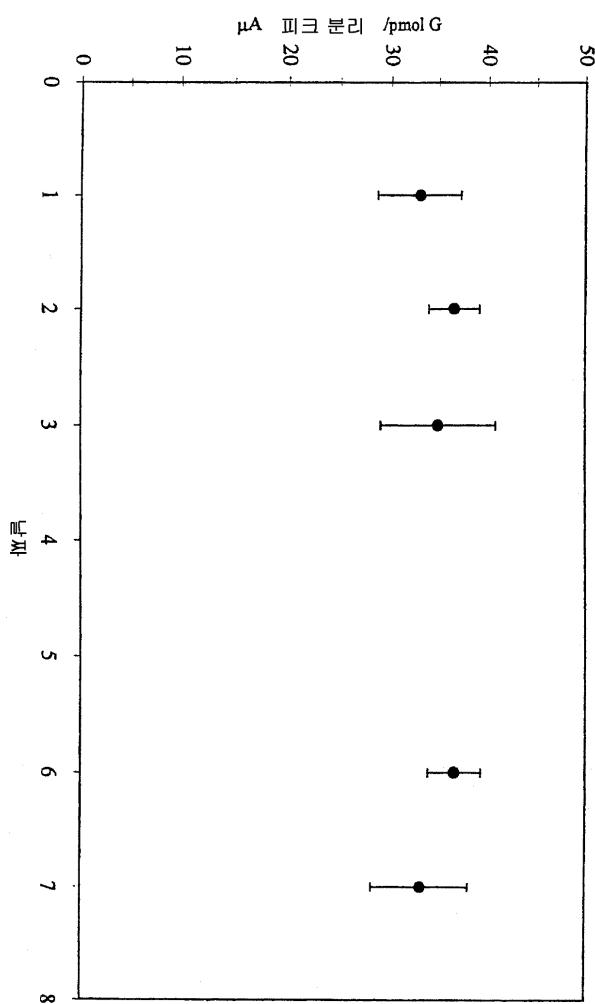
1b



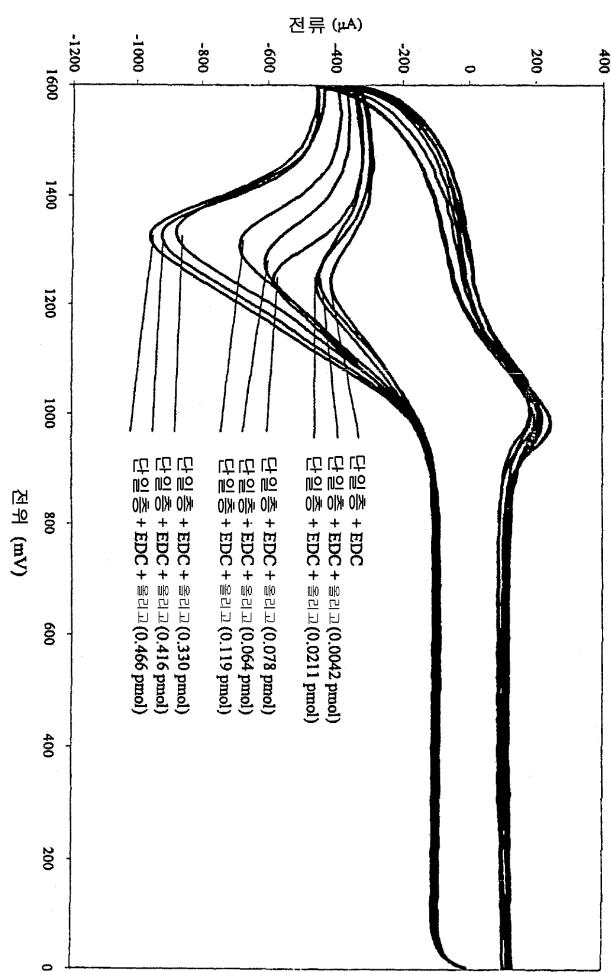
2



3



4



5

