

(19) 日本国特許庁(JP)

## 再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02006/025180

発行日 平成20年7月31日(2008.7.31)

(43) 国際公開日 平成18年3月9日(2006.3.9)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 27/414 (2006.01)</b>	GO 1 N 27/30 3 O 1 K	4 B O 2 9
<b>C 1 2 M 1/00 (2006.01)</b>	C 1 2 M 1/00 A	5 F 1 4 0
<b>HO 1 L 29/78 (2006.01)</b>	HO 1 L 29/78 3 O 1 U	
	GO 1 N 27/30 3 O 1 X	
	GO 1 N 27/30 3 O 1 Y	

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 22 頁) 最終頁に続く

出願番号 特願2006-531534 (P2006-531534)	(71) 出願人 503360115 独立行政法人科学技術振興機構 埼玉県川口市本町4丁目1番8号
(21) 国際出願番号 PCT/JP2005/014283	
(22) 国際出願日 平成17年8月4日(2005.8.4)	
(31) 優先権主張番号 特願2004-250303 (P2004-250303)	(74) 代理人 100089635 弁理士 清水 守
(32) 優先日 平成16年8月30日(2004.8.30)	(72) 発明者 川原田 洋 日本国神奈川県横浜市都筑区中川二丁目9番8号405
(33) 優先権主張国 日本国(JP)	Fターム(参考) 4B029 AA07 AA21 AA23 BB20 CC03 CC08 FA15 5F140 AA37 AC01 AC37 DA10

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 DNAセンサー

## (57) 【要約】

ハイブリダイゼーションの検出感度を向上させ、未知のDNAの同定を行うことができるDNAセンサーを提供する。

液体電解質からなるゲート8と、少なくとも水素終端表面およびアミノ基またはアミノ基のある分子で終端された表面が混在するダイヤモンド表面2をpチャネル5とを有するpチャネル電界効果トランジスタと、前記ダイヤモンド表面2にリンカーによって直接固定される塩基配列が既知の1本鎖DNAからなるプローブDNA11と、前記ダイヤモンド表面2に滴下される未知の1本鎖DNAからなるターゲットDNAとをセットし、前記ターゲットDNAが前記プローブDNA11と相補的な関係にある場合に、前記1本鎖DNAからなるプローブDNA11及びターゲットDNAのハイブリダイゼーションにより生成される2本鎖DNAのリン酸基の負の電荷が2倍となり、正孔が誘起され、前記pチャネル電界効果トランジスタの閾値電圧の正方向へシフトすることを利用し、その閾値電圧の正方向へのシフトを検出することにより前記ターゲットDNAが前記プローブDNA11と相補的な関係にあるか否かを同定する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

(a) 液体電解質からなるゲートと、少なくとも水素終端表面およびアミノ終端としてのアミノ基またはアミノ基のある分子で終端された表面が混合されたダイヤモンド表面をチャンネルとする p チャンネル電界効果トランジスタと、

(b) 前記ダイヤモンド表面のアミノ終端にリンカーによって直接固定される塩基配列が既知の 1 本鎖 DNA からなるプローブ DNA と、

(c) 前記ダイヤモンド表面に滴下される未知の 1 本鎖 DNA からなるターゲット DNA とをセットし、

(d) 前記ターゲット DNA が前記プローブ DNA と相補的な関係にある場合に、前記 1 本鎖 DNA からなるプローブ DNA 及びターゲット DNA のハイブリダイゼーションにより生成される 2 本鎖 DNA のリン酸基の負の電荷が 2 倍となり、正孔が誘起され、前記 p チャンネル電界効果トランジスタの閾値電圧が正方向へシフトすることを利用し、該閾値電圧の正方向へシフトを検出することにより、前記ターゲット DNA が前記プローブ DNA と相補的な関係にあるか否かを同定することを特徴とする DNA センサー。

10

## 【請求項 2】

請求項 1 記載の DNA センサーにおいて、前記ダイヤモンド表面に酸素終端表面を含むことを特徴とする DNA センサー。

## 【請求項 3】

請求項 1 又は 2 記載の DNA センサーにおいて、前記リンカーが 2 乃至 3 価のカルボン酸であることを特徴とする DNA センサー。

20

## 【請求項 4】

請求項 1 又は 2 記載の DNA センサーにおいて、前記リンカーが 2 乃至 3 価のアルデヒドであることを特徴とする DNA センサー。

## 【請求項 5】

請求項 1、2、3 又は 4 記載の DNA センサーにおいて、前記プローブ DNA の密度が  $10^{10} \text{ cm}^{-2}$  以上、前記ターゲット DNA の濃度が  $10^{-12} \text{ M}$  から  $10^{-6} \text{ M}$  であることを特徴とする DNA センサー。

## 【請求項 6】

請求項 1、2、3 又は 4 記載の DNA センサーにおいて、前記閾値電圧の正方向へのシフト差を一定ドレイン電流条件下でのゲート電圧変化として検出することを特徴とする DNA センサー。

30

## 【請求項 7】

請求項 1、2、3 又は 4 記載の DNA センサーにおいて、前記閾値電圧の正方向へのシフト差を一定ゲート電圧条件下でのドレイン電流変化として検出することを特徴とする DNA センサー。

## 【請求項 8】

請求項 1、2、3 又は 4 記載の DNA センサーにおいて、前記閾値電圧の正方向へのシフト差を一定ドレイン電圧条件下でのドレイン電流変化として検出することを特徴とする DNA センサー。

40

## 【請求項 9】

請求項 1 記載の DNA センサーにおいて、前記ハイブリダイゼーションにおける前記液体電解質からなるバッファ溶液温度を最適な温度である  $59^\circ\text{C}$  にすることを特徴とする DNA センサー。

## 【請求項 10】

請求項 2 記載の DNA センサーにおいて、前記ハイブリダイゼーションにおける前記液体電解質からなるバッファ溶液温度を最適な温度である  $59^\circ\text{C}$  にすることを特徴とする DNA センサー。

## 【請求項 11】

請求項 1 記載の DNA センサーにおいて、前記バッファ溶液の  $\text{NaCl}$  濃度が  $0.3 \text{ M}$

50

- 0.01 M、デバイ距離が 0.56 nm - 3.04 nmであることを特徴とする DNA センサー。

【請求項 12】

請求項 2 記載の DNA センサーにおいて、前記バッファ溶液の NaCl 濃度が 0.3 M - 0.01 M、デバイ距離が 0.56 nm - 3.04 nmであることを特徴とする DNA センサー。

【請求項 13】

請求項 9 又は 10 記載の DNA センサーにおいて、前記バッファ溶液温度を 59 から 40、さらに 25 に下げて、1 塩基及び 3 塩基ミスマッチ・ターゲット DNA の分離検出を可能にすることを特徴とする DNA センサー。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、バイオセンサーに係り、特に、pチャネル電界効果トランジスタを有する DNA (デオキシリボ核酸) センサー (DNA チップ) に関するものである。

【背景技術】

【0002】

従来、このような分野の技術としては、以下のようなものがある。

【0003】

(1) 蛍光検出方式

この蛍光検出方式とは、塩基配列がわかった 1 本鎖 DNA (プローブ DNA) をガラス基板、シリコン、ダイヤモンド等に固定し、未知の 1 本鎖 DNA (ターゲット DNA) とのハイブリダイゼーション (互いに相補的な 1 本鎖 DNA 同士が結合して 2 本鎖 DNA になる現象) を、ターゲット DNA に固定した蛍光物質で検出するものである。しかしながらこの方式では、蛍光の有無によりハイブリダイゼーションを検出するため、装置が大規模になるという問題があった。また、観測手段が蛍光顕微鏡であるため高密度化には限界がある。

20

【0004】

(2) 電荷検出方式

この電荷検出方式とは、シリコンの ISFET (イオン感応性電界効果トランジスタ) を基本とする。しかしながら、DNA のハイブリダイゼーションによる電荷の増倍を検知するには、シリコン ISFET は感度が低い。

30

【0005】

(3) 本願発明者が提案した、オゾン処理による高い閾値電圧を有する特性の良好な pチャネル電界効果トランジスタ

このトランジスタは、液体電解質をゲートとして使用し、オゾン処理により水素終端表面を酸化し、水素終端と酸素終端が混在したダイヤモンド表面をチャンネルとしてなる pチャネル電界効果トランジスタである〔下記特許文献 1 参照〕。

【特許文献 1】特開 2004 - 109020 号公報

【発明の開示】

40

【0006】

本発明は、上記した (2) の電荷検出方式 (電荷検出型 DNA チップ) を更に発展させたものであり、液体電解質からなるゲートと、水素終端表面、酸素終端表面およびアミノ終端としてのアミノ基またはアミノ基のある分子で終端された表面が混在するダイヤモンド表面をチャンネルとする pチャネル電界効果トランジスタのダイヤモンド表面に、DNA を直接固定することにより、ハイブリダイゼーションの検出感度を向上させ、未知の DNA の同定を行うことができる DNA センサーを提供することを目的とする。

【0007】

本発明は、上記目的を達成するために、

(1) DNA センサーにおいて、液体電解質からなるゲートと、少なくとも水素終端表

50

面およびアミノ終端としてのアミノ基またはアミノ基のある分子で終端された表面が混在するダイヤモンド表面をチャンネルとする p チャンネル電界効果トランジスタと、前記ダイヤモンド表面のアミノ終端にリンカーによって直接固定される塩基配列が既知の 1 本鎖 DNA からなるプローブ DNA と、前記ダイヤモンド表面に滴下される未知の 1 本鎖 DNA からなるターゲット DNA とをセットし、前記ターゲット DNA が前記プローブ DNA と相補的な関係にある場合に、前記 1 本鎖 DNA からなるプローブ DNA 及びターゲット DNA のハイブリダイゼーションにより生成される 2 本鎖 DNA のリン酸基の負の電荷が 2 倍となり、正孔が誘起され、前記 p チャンネル電界効果トランジスタの閾値電圧が正方向へシフトすることを利用し、この閾値電圧の正方向へのシフトを検出することにより、前記ターゲット DNA が前記プローブ DNA と相補的な関係にあるか否かを同定することを特徴とする。

10

【0008】

〔2〕上記〔1〕記載の DNA センサーにおいて、前記ダイヤモンド表面に酸素終端表面を含むことを特徴とする。

【0009】

〔3〕上記〔1〕又は〔2〕記載の DNA センサーにおいて、前記リンカーが 2 乃至 3 価のカルボン酸であることを特徴とする。

【0010】

〔4〕上記〔1〕又は〔2〕記載の DNA センサーにおいて、前記リンカーが 2 乃至 3 価のアルデヒドであることを特徴とする。

20

【0011】

〔5〕上記〔1〕、〔2〕、〔3〕又は〔4〕記載の DNA センサーにおいて、前記プローブ DNA の密度が  $10^{10} \text{ cm}^{-2}$  以上、前記ターゲット DNA の濃度が  $10^{-12} \text{ M}$  から  $10^{-6} \text{ M}$  であることを特徴とする。

【0012】

〔6〕上記〔1〕、〔2〕、〔3〕又は〔4〕記載の DNA センサーにおいて、前記閾値電圧の正方向へのシフト差を一定ドレイン電流条件下でのゲート電圧変化として検出することを特徴とする。

【0013】

〔7〕上記〔1〕、〔2〕、〔3〕又は〔4〕記載の DNA センサーにおいて、前記閾値電圧の正方向へのシフト差を一定ゲート電圧条件下でのドレイン電流変化として検出することを特徴とする。

30

【0014】

〔8〕上記〔1〕、〔2〕、〔3〕又は〔4〕記載の DNA センサーにおいて、前記閾値電圧の正方向へのシフト差を一定ドレイン電圧条件下でのドレイン電流変化として検出することを特徴とする。

【0015】

〔9〕上記〔1〕記載の DNA センサーにおいて、前記ハイブリダイゼーションにおける前記液体電解質からなるバッファ溶液温度を最適な温度である 59 にすることを特徴とする。

40

【0016】

〔10〕上記〔2〕記載の DNA センサーにおいて、前記ハイブリダイゼーションにおける前記液体電解質からなるバッファ溶液温度を最適な温度である 59 にすることを特徴とする。

【0017】

〔11〕上記〔1〕記載の DNA センサーにおいて、前記バッファ溶液の NaCl 濃度が 0.3 M - 0.01 M、デバイ距離が 0.56 nm - 3.04 nm であることを特徴とする。

【0018】

〔12〕上記〔2〕記載の DNA センサーにおいて、前記バッファ溶液の NaCl 濃度

50

が 0.3 M - 0.01 M、デバイ距離が 0.56 nm - 3.04 nmであることを特徴とする。

【0019】

〔13〕上記〔9〕又は〔10〕記載のDNAセンサーにおいて、前記バッファ溶液温度を59 から40、さらに25 に下げて、1塩基及び3塩基ミスマッチ・ターゲットDNAの分離検出を可能にすることを特徴とする。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】本発明にかかるSGFETの断面図である。

【図2】本発明の実施例を示す1本鎖DNAによる負電荷の発生状態を示すチャンネル部の模式図である。

【図3】本発明の実施例を示す2本鎖DNAによる負電荷の発生状態を示すチャンネル部の模式図である。

【図4】本発明の実施例を示すSGFET特性の変化(その1)を示す図である。

【図5】本発明の実施例を示すSGFET特性の変化(その2)を示す図である。

【図6】本発明の実施例を示すDNAハイブリダイゼーションによるSGFETのゲート電圧の時間変化を示す図である。

【図7】本発明の実施例を示すターゲットDNAの量を変化させた場合の閾値電圧(ゲート電圧)の特性図である。

【図8】本発明の実施例を示すバッファ溶液濃度の最適化を図るための実験によるデバイ距離を示す図である。

【図9】本発明の実施例を示すバッファ溶液の温度調節によるゲート電位のシフト量の変化を示す図である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0021】

DNAセンサーにおいて、液体電解質(バッファ溶液)からなるゲートと、少なくとも水素終端表面およびアミノ終端としてのアミノ基またはアミノ基のある分子で終端された表面が混在するダイヤモンド表面をチャンネルとするpチャンネル電界効果トランジスタ(SGFET:電解質ゲートダイヤモンド電界効果トランジスタ)と、前記ダイヤモンド表面のアミノ終端にリンカーによって直接固定される塩基配列が既知の1本鎖DNAからなるプローブDNAと、前記ダイヤモンド表面に未知の1本鎖DNAからなるターゲットDNAとをセットし、前記ターゲットDNAが前記プローブDNAと相補的な関係にある場合、前記1本鎖DNAからなるプローブDNAとターゲットDNAのハイブリダイゼーションにより生成される2本鎖DNAのリン酸基の電荷(負)が2倍となり、正孔が誘起され、pチャンネル電界効果トランジスタの閾値電圧が正方向へシフトすることを利用し、その閾値電圧の正方向へのシフトを検出することにより、前記ターゲットDNAが前記プローブDNAと相補的な関係にあるか否かを同定することを特徴とする。よって、迅速、かつ的確なDNAの同定が可能である。

【0022】

以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。

【0023】

DNAはリン酸基に由来する負電荷を持っているが、ハイブリダイゼーションを行うことによりその負電荷は約2倍になる。本発明は、その負電荷の顕著な変化を、SGFETのダイヤモンドチャンネル表面にDNAを固定することにより、チャンネル表面に励起される正孔の数が増加する度合を検出して、DNAの同定を可能にする。

【0024】

以下、本発明のDNAセンサーについて説明する。

【0025】

図1は本発明にかかるSGFETの断面図、図2は本発明の実施例を示す1本鎖DNAによる負電荷の発生状態を示すチャンネル部の模式図、図3は本発明の実施例を示す2本鎖

10

20

30

40

50

DNAによる負電荷の発生状態を示すチャネル部の模式図、図4はSGFET特性の変化(その1)を示す図、図5はそのSGFET特性の変化(その2)を示す図である。

【0026】

(1) 図1に示すように、アンドープ多結晶ダイヤモンド層1の、水素終端、酸素終端およびアミノ終端が混在するダイヤモンド表面2にソース電極3とドレイン電極4によって挟まれるようにダイヤモンド表面2からなるpチャネル5を形成し、ソース電極3及びドレイン電極4上にはそれぞれポリイミド樹脂からなる絶縁膜6,7を形成する。このpチャネル5上には液体電解質からなるゲート8を形成する。9はゲートとしての液体電解質8に配置される参照電極である。なお、基板としては、多結晶ダイヤモンド層に限定されるものではなく、単結晶ダイヤモンド層を用いてもよい。

10

【0027】

このように、液体電解質からなるゲート8と、水素終端、酸素終端およびアミノ終端が混在するダイヤモンド表面2からなるpチャネル5とを有するpチャネル電界効果トランジスタを用意する。ここで、pHセンシングという観点からすると、pHはプロトン濃度( $H^+$ 濃度)を測定することになり、アミノ終端では $NH_2$ (アミノ基)ではpH9以下で水素終端でのプロトンと結合し、 $NH_3$ となり、酸素終端では $O^-$ はpH4.5以下でプロトンと結合し、 $OH$ となる。このように、pH変化でのプロトン吸着による電荷の変化により、広い範囲のプロトン濃度( $H^+$ 濃度)の測定が可能となるとともに、電界効果トランジスタの高いpH感性を得ることができる。

20

【0028】

(2) 次に、図2に示すように、上記したダイヤモンド表面2のpチャネル5上のアミノ終端に、塩基配列が既知の1本鎖DNAからなるプローブDNA11を、リンカー〔例えば、2乃至3価のカルボン酸(コハク酸、フタル酸)や2乃至3価のアルデヒド(グルタルアルデヒド)〕を介して架橋作用により共有結合的に直接固定する。このとき、プローブDNA11は、 $10^{10} cm^{-2}$ 以上の高密度で固定する。

【0029】

なお、実施例においてアミノ終端という場合は、ダイヤモンド表面2に直接アミノ基がついている場合のみでなく、ダイヤモンド表面上についた分子の端にアミノ基がついている場合も含まれている。その意味で、アミノ基またはアミノ基のある分子で終端された表面と言い換えることができる。

30

【0030】

また、上記したリンカーとしては、例えば、酸又は酸の化合物を用いるが、2乃至3価のカルボン酸( $COOH$ 基がある)や2乃至3価のアルデヒド( $CHO$ 基)が好適である。

【0031】

(3) 次いで、プローブDNA11を固定したpチャネル5に塩基配列が未知のターゲットDNA(濃度 $10^{-12} M \sim 10^{-6} M$ )を滴下する。ここで、プローブDNA11と滴下したターゲットDNAが相補的な関係にある場合には、ハイブリダイゼーションにより、プローブDNA11は図3に示すように、2本鎖DNA12となる。このとき、リン酸基の数が2倍となるためその負の電荷も2倍となり、これにより正孔が誘起され、SGFETの閾値電圧が正方向にシフトする。

40

【0032】

そこで、このSGFETの閾値電圧の差を、図4に示す一定ドレイン電流(ドレイン・ソース間電流) $I_{DS}$ 条件(図4の横軸を基準とする)下でのゲート電圧(ゲート・ソース間電圧) $V_{GS}$ 変化(正方向へのシフト)、あるいは一定ゲート電圧 $V_{GS}$ 条件(図4の縦軸を基準とする)下でのドレイン電流 $I_{DS}$ 変化(負方向へのシフト)、または図5に示す一定ドレイン電圧(ドレイン・ソース間電圧) $V_{DS}$ 条件(図5の縦軸を基準とする)下でのドレイン電流 $I_{DS}$ 変化(負方向へのシフト)として検出することができる。

【0033】

図4はそのSGFET特性図(その1)である(ここでは、 $V_{DS}(V)$ 〔ドレイン電圧

50

を  $-0.1$  V に設定している)。この図において、曲線 a は、この 1 本鎖 DNA からなるプローブ DNA 1 1 のみがダイヤモンド表面 2 に固定されている場合の S G F E T の  $V_{GS}$  (V) [ゲート電圧] と  $I_{DS}$  ( $\mu$ A) [ドレイン電流] との特性を示しており、曲線 b はハイブリダイゼーションが起こって 2 本鎖 DNA 1 2 になった場合の S G F E T の  $V_{GS}$  (V) [ゲート電圧] と  $I_{DS}$  ( $\mu$ A) [ドレイン電流] との特性を示している。ターゲット DNA (21 塩基対) 濃度が  $0.1$  nM、バルク溶液の pH = 7 の場合である。

【0034】

図 5 はその S G F E T 特性図 (その 2) である (ここでは、 $V_{GS}$  (V) [ゲート電圧] を  $-0.7$  V に設定している)。この図において、曲線 c は、1 本鎖 DNA からなるプローブ DNA 1 1 がダイヤモンド表面 2 に固定されている場合の S G F E T の  $V_{DS}$  (V) [ドレイン電圧] と  $I_{DS}$  ( $\mu$ A) [ドレイン電流] との特性を示しており、曲線 d はハイブリダイゼーションが生じて 2 本鎖 DNA 1 2 になった場合の S G F E T の  $V_{DS}$  (V) [ドレイン電圧] と  $I_{DS}$  ( $\mu$ A) [ドレイン電流] との特性を示している。ターゲット DNA (21 塩基対) 濃度が  $0.1$  nM、バルク溶液の pH = 7 の場合である。

【0035】

これらの図より明らかなように、一定ドレイン電流  $I_{DS}$  に対してのゲート電圧  $V_{GS}$  の変化を見ると、曲線 a と比べて曲線 b が正方向へシフトしている。また、同様に、一定ゲート電圧  $V_{GS}$  に対してのドレイン電流  $I_{DS}$  の変化を見ると、曲線 a と比べて曲線 b が負方向へシフトしている。

【0036】

このようにして、p チャンネル電界効果トランジスタの閾値電圧の正方向へのシフトの有無を検出することにより、ハイブリダイゼーションの有無、すなわち、未知のターゲット DNA が前記プローブ DNA と相補的な関係にあるか否かが同定できる。

【0037】

なお、前記未知のターゲット DNA が前記プローブ DNA 1 1 と相補的な関係にない場合には、ハイブリダイゼーションがほとんど生じないため、S G F E T の閾値電圧の正方向のシフトがないか、シフトがあっても相補的な場合に比べ少ない。

【0038】

図 6 は本発明の実施例を示す DNA ハイブリダイゼーションによる S G F E T のゲート電圧の時間変化を示す図である。ここで、S G F E T の  $V_{DS}$  (V) [ドレイン電圧] は  $-0.4$  V、 $I_{DS}$  ( $\mu$ A) [ドレイン電流] は  $-10$   $\mu$ A である。

【0039】

この図により、ダイヤモンド表面のゲート電圧が、プローブ DNA に相補的なターゲット DNA を滴下した時に正方向へシフトしていることが確認できる。これは DNA のハイブリダイゼーションにより負電荷を持つリン酸基の数が 2 倍となり、チャンネルに誘起される正孔密度が上昇したことが原因と考えられる。非相補的なターゲット DNA ではこのような閾値電圧の変化は観察されない。この方法は、従来 DNA チップでは困難だったリアルタイムにおけるハイブリダイゼーションのラベルフリー検出であり、ダイヤモンドの生体適合性とあいまって広範な臨床応用が実現可能なセンサーとして期待される。

【0040】

図 7 は本発明の実施例を示すターゲット DNA の量を変化させた場合の閾値電圧 (ゲート電圧) の特性図である。

【0041】

図 7 は、プローブ DNA と相補的な関係にある 1 本鎖 DNA をターゲット DNA として、滴下した時点 (60 秒) から一定ドレイン電流を維持した場合のゲート電圧の時間変化を示しており、ハイブリダイゼーションによって生じるゲート電圧の正方向のシフト量を G (V) としている。滴下したターゲット DNA の量が  $1$   $\mu$ M、 $100$  nM、 $10$  nM の場合、それぞれ正方向に  $38$  mV、 $25$  mV、 $4$  mV シフトしている。

【0042】

以下、具体的な実施例について説明する。

10

20

30

40

50

## 【0043】

液体電解質（バッファ溶液）をゲートとして使用し、水素終端、酸素終端およびアミノ終端が混在する多結晶または単結晶ダイヤモンド表面をチャンネルとしたpチャンネル電界効果トランジスタ（SGFET）を用意し、塩基配列が既知のプロブDNAを $10^{10} \text{ cm}^{-2}$ 以上の密度でグルタルアルデヒド（2価のアルデヒド）を介して、ダイヤモンド表面に架橋結合により直接固定した。このプロブDNAに対して相補的なターゲットDNAおよび非相補的なターゲットDNAを $10^{-12} \text{ M}$ から $10^{-6} \text{ M}$ の濃度でプロブDNAが固定された上記のSGFET上に滴下した。ドレイン電流一定の条件で、ゲート電圧のハイブリダイゼーションによる実時間測定の結果、相補的なターゲットDNAにおいて、ターゲットDNA濃度 $10 \text{ nM}$ でゲート電圧 $4 \text{ mV}$ 、 $100 \text{ nM}$ で $25 \text{ mV}$ 、 $1 \mu\text{M}$ で $38 \text{ mV}$ 、それぞれ正方向へのシフトを観測できた。非相補的なターゲットDNAではこれらのシフトは全く検出されなかった。

10

## 【0044】

上記したように、本発明のDNAセンサーは、DNAのリアルタイム検出に好適であり、ダイヤモンドチャンネル表面の持つ生体適合性を利用して臨床応用が実現可能なデバイスとして期待される。

## 【0045】

次に、バッファ（NaCl）溶液濃度の最適化について実験を行った。

図8は、本発明の実施例を示すバッファ溶液濃度の最適化を図るための実験によるデバイ距離（デバイの遮蔽距離）を示す図である。横軸はダイヤモンド表面からの距離、縦軸はダイヤモンド表面電位を示している。

20

## 【0046】

ハイブリダイゼーション効率とリン酸（DNA）の負電荷検出効率は二律背反（トレードオフ）の関係にある。つまり、ハイブリダイゼーション効率は、バッファ（NaCl）溶液の濃度が濃い程負電荷同士の反発を遮蔽でき、効率が大きくなる。これに対して、リン酸（DNA）の負電荷検出効率は、バッファ濃度が薄く、デバイ距離が長い程大であり、負電荷検出効率は大きくなる。

## 【0047】

図8において、21はダイヤモンド表面、22はDNA（ $\sim 20$ 塩基： $\sim 6 \text{ nm}$ ）、バッファ溶液なNaCl溶液であり、デバイ距離 $d^{-1} [\text{nm}]$ は、

30

$$d^{-1} = 0.304 / ( [\text{NaCl}] )$$

ここで、バッファ溶液中のイオン種はNaClであり、NaCl濃度によるDNA検出可能距離を表1に示す。

## 【表1】

	バッファ溶液	[NaCl] (M)	デバイ距離 (nm)
(1)	20×ssc	3	0.18
(2)	2×ssc	0.3	0.56
(3)	1×ssc	0.15	0.78
(4)	10mM PBS	0.01	3.04

40

## 【0048】

(1) バッファ溶液が20sscの場合、NaCl濃度が3M、デバイ距離は0.18nm、(2) バッファ溶液が2ssc〔上記(1)のバッファ溶液の $1/10$ 〕の場合、NaCl濃度が0.3M、デバイ距離は0.56nm、(3) バッファ溶液が1ssc〔上記(1)のバッファ溶液の $1/20$ 〕の場合、NaCl濃度が0.15M、デバイ距離は0.78nm、(4) 10mMの燐酸バッファ溶液（phosphate buffer solution；PBS）の場合、NaCl濃度が0.01M、デバイ距離は3.04nmとなる。

## 【0049】

50



このことから明らかなように、上記(2)のバッファ溶液が2 s s cの場合、NaCl濃度が0.3 M、デバイ距離は0.56 nmであり、DNAハイブリダイゼーションの最適化が図られているが、デバイ距離が短い。上記(3)のバッファ溶液の場合は、デバイ距離が少し長くなり、ハイブリダイゼーション効率は依然高いのでリアルタイム測定に適している。上記(4)のバッファ溶液の場合は静特性(FET特性)測定の場合に使用している。

#### 【0050】

なお、ここでは、リンカーを短くし、グルタルアルデヒド(GA)を使用した。短いリンカーは、デバイ長内にDNAのリン酸基を多く収めるのに有利である。また、ハイブリダイゼーションはバッファ溶液温度に敏感であり、59が最適温度である。しかし、ここではバッファ溶液温度を40に設定し、ハイブリダイゼーションの効率を下げることで、1塩基及び3塩基ミスマッチ・ターゲットDNAを分離検出した。さらに、バッファ溶液温度を25まで低下させることで、3塩基ミスマッチと1塩基ミスマッチは図9に示すように分離される。

なお、図9において、 $I_{DS}$ (ドレイン-ソース間電流)は $-10\mu A$ 、 $V_{DS}$ (ドレイン-ソース間電圧)は $-0.1V$ 、ターゲット固定時間は1時間であり、横軸は温度〔 〕、縦軸はゲートとソース間の $V$ (シフト電位)〔mV〕を示している。

#### 【0051】

以上から、本発明と従来技術との性能比較をすると、バッファ溶液の設定温度をハイブリダイゼーションに最適な59から40、さらに25に下げ、ハイブリダイゼーション効率を下げることで、1塩基及び3塩基ミスマッチ・ターゲットDNAの誤った(不完全な)ハイブリダイゼーションを抑制し、1塩基及び3塩基ミスマッチの分離検出に成功した。従来のSiISFET系ではここまで高感度での測定例はない。

#### 【0052】

また、本発明は、大量生産による素子の低価格化により、大量消費型センサーとして、医療分野にとどまらず食品検査、環境計測等としての用途も広がると期待される。したがって、経済的、社会的影響力の極めて高いものである。

#### 【0053】

なお、本発明は上記実施例に限定されるものではなく、本発明の趣旨に基づき種々の変形が可能であり、これらを本発明の範囲から排除するものではない。

#### 【0054】

本発明によれば、以下のような効果を奏することができる。

#### 【0055】

(1) DNAセンサーにおいて、ハイブリダイゼーションの検出感度を向上させ、未知のDNAの同定を行うことができる。

#### 【0056】

(2) 迅速、かつ的確なDNAのリアルタイム検出が可能である。

#### 【0057】

より詳細には、本発明は、ダイヤモンドにおいて可能となりつつある高感度DNA固定化技術およびSGFETの微細化により、従来型の半導体バイオセンサーや蛍光標識による光検出型バイオセンサーよりも高感度検出が期待されるものである。このDNAセンサーを用いることで、測定試料の微量化が可能なることから、臨床検査室における日常検査ならびに緊急検査に使用することができる。さらに他の機能も含めた集積化ナノデバイスシステムに適した電荷・電位検出型デバイスを実現可能である。

#### 【産業上の利用可能性】

#### 【0058】

本発明のDNAセンサーは、DNAのリアルタイム検出に好適であり、ダイヤモンドチャンネル表面の持つ生体適合性を利用して臨床応用が実現可能なデバイスとして利用可能である。

#### 【0059】

10

20

30

40

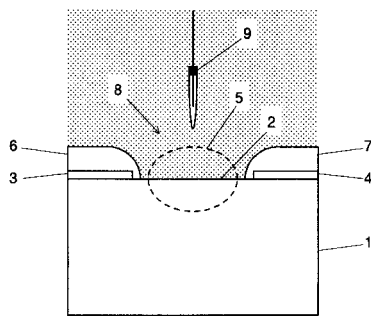
50

また、大量生産による素子の低価格化により、大量消費型センサーとして、医療分野にとどまらず食品検査、環境計測等としての用途も広がると期待される。したがって、経済的、社会的影響力の極めて高いものである。

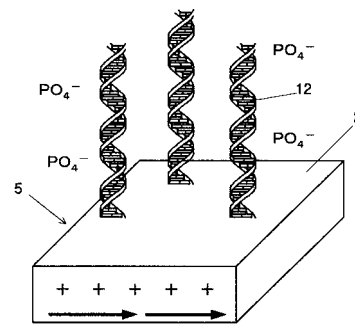
【 0 0 6 0 】

さらに、将来的には炭素の生体適合性から、体内埋め込みセンサーとしての応用も可能である。

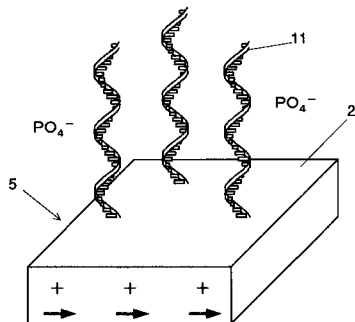
【 図 1 】



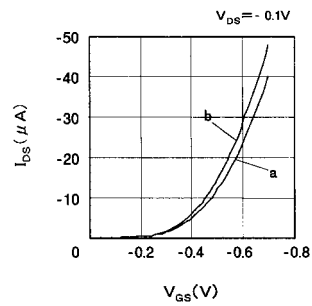
【 図 3 】



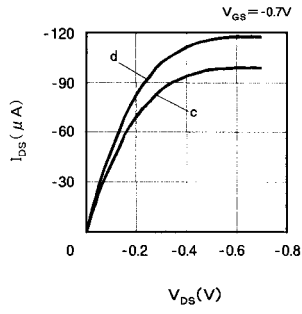
【 図 2 】



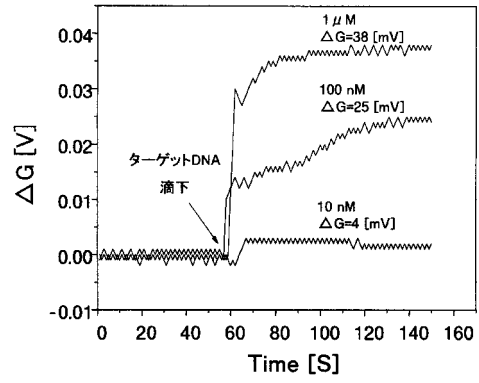
【 図 4 】



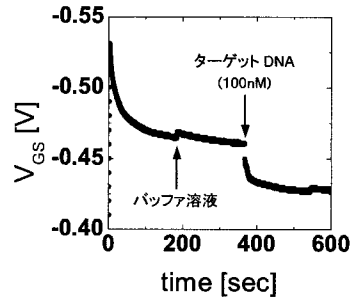
【 図 5 】



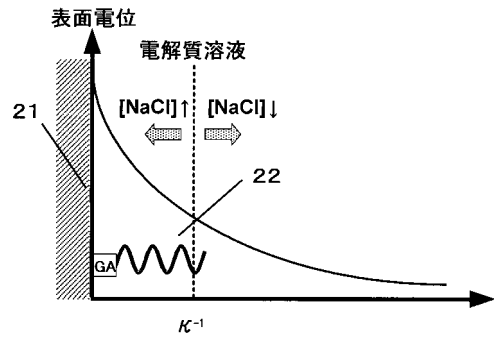
【 図 7 】



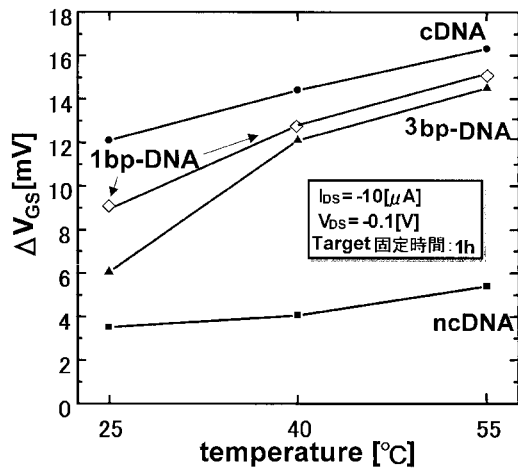
【 図 6 】



【 図 8 】



【 図 9 】



## 【手続補正書】

【提出日】平成18年3月2日(2006.3.2)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【書類名】請求の範囲

【請求項1】

(a) 液体電解質からなるゲートと、少なくとも水素終端表面およびアミノ終端としてのアミノ基またはアミノ基のある分子で終端された表面が混合されたダイヤモンド表面をチャンネルとするpチャンネル電界効果トランジスタと、

(b) 前記ダイヤモンド表面のアミノ終端にリンカーによって直接固定される塩基配列が既知の1本鎖DNAからなるプローブDNAと、

(c) 前記ダイヤモンド表面に滴下される未知の1本鎖DNAからなるターゲットDNAとをセットし、

(d) 前記ターゲットDNAが前記プローブDNAと相補的な関係にある場合に、前記1本鎖DNAからなるプローブDNA及びターゲットDNAのハイブリダイゼーションにより生成される2本鎖DNAに起因して、前記pチャンネル電界効果トランジスタの閾値電圧の正方向へシフトを検出することにより、前記ターゲットDNAが前記プローブDNAと相補的な関係にあるか否かを同定することを特徴とするDNAセンサー。

【請求項2】請求項1記載のDNAセンサーにおいて、前記ダイヤモンド表面に酸素終端表面を含むことを特徴とするDNAセンサー。

【請求項3】請求項1又は2記載のDNAセンサーにおいて、前記リンカーが2乃至3個のカルボン酸であることを特徴とするDNAセンサー。

【請求項4】請求項1又は2記載のDNAセンサーにおいて、前記リンカーが2乃至3個のアルデヒドであることを特徴とするDNAセンサー。

【請求項5】請求項1、2、3又は4記載のDNAセンサーにおいて、前記プローブDNAの密度が $10^{10} \text{ cm}^{-2}$ 以上、前記ターゲットDNAの濃度が $10^{-12} \text{ M}$ から $10^{-6} \text{ M}$ であることを特徴とするDNAセンサー。

【請求項6】請求項1、2、3又は4記載のDNAセンサーにおいて、前記閾値電圧の正方向へのシフト差を一定ドレイン電流条件下でのゲート電圧変化として検出することを特徴とするDNAセンサー。

【請求項7】請求項1、2、3又は4記載のDNAセンサーにおいて、前記閾値電圧の正方向へのシフト差を一定ゲート電圧条件下でのドレイン電流変化として検出することを特徴とするDNAセンサー。

【請求項8】請求項1、2、3又は4記載のDNAセンサーにおいて、前記閾値電圧の正方向へのシフト差を一定ドレイン電圧条件下でのドレイン電流変化として検出することを特徴とするDNAセンサー。

【請求項9】

(a) 液体電解質からなるゲートと、少なくとも水素終端表面およびアミノ終端としてのアミノ基またはアミノ基のある分子で終端された表面が混在するダイヤモンド表面をチャンネルとするpチャンネル電界効果トランジスタと、

(b) 前記ダイヤモンド表面のアミノ終端にリンカーによって直接固定される塩基配列が既知の1本鎖DNAからなるプローブDNAと、

(c) 前記ダイヤモンド表面に滴下される未知の1本鎖DNAからなるターゲットDNAとをセットし、

(d) 前記ターゲットDNAが前記プローブDNAと相補的な関係にある場合に、前記1本鎖DNAからなるプローブDNA及びターゲットDNAのハイブリダイゼーションにより生成される2本鎖DNAに起因して、前記pチャンネル電界効果トランジスタの閾値電圧

の正方向へのシフトを検出することにより、前記ターゲットDNAが前記プローブDNAと相補的な関係にあるか否かを同定することを特徴とするDNAセンサーを用いた測定方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】発明の名称

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の名称】DNAセンサーおよびそれを用いた測定方法

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0001

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0001】

【技術分野】

[0001] 本発明は、バイオセンサーに係り、特に、pチャネル電界効果トランジスタを有するDNA（デオキシリボ核酸）センサー（DNAチップ）およびそれを用いた測定方法に関するものである。

【背景技術】

[0002] 従来、このような分野の技術としては、以下のようなものがある。

[0003] (1) 蛍光検出方式

この蛍光検出方式とは、塩基配列がわかった1本鎖DNA（プローブDNA）をガラス基板、シリコン、ダイヤモンド等に固定し、未知の1本鎖DNA（ターゲットDNA）とのハイブリダイゼーション（互いに相補的な1本鎖DNA同士が結合して2本鎖DNAになる現象）を、ターゲットDNAに固定した蛍光物質で検出するものである。しかしながらこの方式では、蛍光の有無によりハイブリダイゼーションを検出するため、装置が大規模になるという問題があった。また、観測手段が蛍光顕微鏡であるため高密度化には限界がある。

[0004] (2) 電荷検出方式

この電荷検出方式とは、シリコンのISFET（イオン感応性電界効果トランジスタ）を基本とする。しかしながら、DNAのハイブリダイゼーションによる電荷の増倍を検知するには、シリコンISFETは感度が低い。

[0005] (3) 本願発明者が提案した、オゾン処理による高い閾値電圧を有する特性の良好なpチャネル電界効果トランジスタ

このトランジスタは、液体電解質をゲートとして使用し、オゾン処理により水素終端表面を酸化し、水素終端と酸素終端が混在したダイヤモンド表面をチャネルとしてなるpチャネル電界効果トランジスタである〔下記特許文献1参照〕。

【特許文献1】特開2004-109020号公報

【発明の開示】

[0006] 本発明は、上記した(2)の電荷検出方式（電荷検出型DNAチップ）を更に発展さ

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0002

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0002】

せたものであり、液体電解質からなるゲートと、水素終端表面およびアミノ終端としてのアミノ基またはアミノ基のある分子で終端された表面が混在するダイヤモンド表面をチャ

ネルとする p チャンネル電界効果トランジスタのダイヤモンド表面に、DNA を直接固定することにより、ハイブリダイゼーションの検出感度を向上させ、未知の DNA の同定を行うことができる DNA センサーおよびそれを用いた測定方法を提供することを目的とする。

[ 0 0 0 7 ] 本発明は、上記目的を達成するために、

[ 1 ] DNA センサーにおいて、液体電解質からなるゲートと、少なくとも水素終端表面およびアミノ終端としてのアミノ基またはアミノ基のある分子で終端された表面が混在するダイヤモンド表面をチャンネルとする p チャンネル電界効果トランジスタと、前記ダイヤモンド表面のアミノ終端にリンカーによって直接固定される塩基配列が既知の 1 本鎖 DNA からなるプローブ DNA と、前記ダイヤモンド表面に滴下される未知の 1 本鎖 DNA からなるターゲット DNA とをセットし、前記ターゲット DNA が前記プローブ DNA と相補的な関係にある場合に、前記 1 本鎖 DNA からなるプローブ DNA 及びターゲット DNA のハイブリダイゼーションにより生成される 2 本鎖 DNA に起因して、前記 p チャンネル電界効果トランジスタの閾値電圧の正方向へのシフトを検出することにより、前記ターゲット DNA が前記プローブ DNA と相補的な関係にあるか否かを同定することを特徴とする。

[ 0 0 0 8 ] [ 2 ] 上記 [ 1 ] 記載の DNA センサーにおいて、前記ダイヤモンド表面に酸素終端表面を含むことを特徴とする。

[ 0 0 0 9 ] [ 3 ] 上記 [ 1 ] 又は [ 2 ] 記載の DNA センサーにおいて、前記リンカーが 2 乃至 3 価のカルボン酸であることを特徴とする。

[ 0 0 1 0 ] [ 4 ] 上記 [ 1 ] 又は [ 2 ] 記載の DNA センサーにおいて、前記リンカーが 2 乃至 3 価のアルデヒドであることを特徴とする。

[ 0 0 1 1 ] [ 5 ] 上記 [ 1 ]、[ 2 ]、[ 3 ] 又は [ 4 ] 記載の DNA センサーにおいて、前記プローブ DNA の密度が  $10^{10} \text{ cm}^{-2}$  以上、前ターゲット DNA の濃度が  $10^{-12} \text{ M}$  から  $10^{-6} \text{ M}$  であることを特徴とする。

[ 0 0 1 2 ] [ 6 ] 上記 [ 1 ]、[ 2 ]、[ 3 ] 又は [ 4 ] 記載の DNA センサーにおいて、前記閾値電圧の

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0003

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0003】

正方向へのシフト差を一定ドレイン条件下でのゲート電圧変化として検出することを特徴とする。

[ 0 0 1 3 ] [ 7 ] 上記 [ 1 ]、[ 2 ]、[ 3 ] 又は [ 4 ] 記載の DNA センサーにおいて、前記閾値電圧の正方向へのシフト差を一定ゲート電圧条件下でのドレイン電流変化として検出することを特徴とする。

[ 0 0 1 4 ] [ 8 ] 上記 [ 1 ]、[ 2 ]、[ 3 ] 又は [ 4 ] 記載の DNA センサーにおいて、前記閾値電圧の正方向へのシフト差を一定ドレイン電圧条件下でのドレイン電流変化として検出することを特徴とする。

[ 0 0 1 5 ] [ 9 ] DNA センサーを用いた測定方法において、液体電解質からなるゲートと、少なくとも水素終端表面およびアミノ終端としてのアミノ基またはアミノ基のある分子で終端された表面が混在するダイヤモンド表面をチャンネルとする p チャンネル電界効果トランジスタと、前記ダイヤモンド表面のアミノ終端にリンカーによって直接固定される塩基配列が既知の 1 本鎖 DNA からなるプローブ DNA と、前記ダイヤモンド表面に滴下される未知の 1 本鎖 DNA からなるターゲット DNA とをセットし、前記ターゲット DNA が前記プローブ DNA と相補的な関係にある場合に、前記 1 本鎖 DNA からなるプローブ DNA 及びターゲット DNA のハイブリダイゼーションにより生成される 2 本鎖 DNA に起因して、前記 p チャンネル電界効果トランジスタの閾値電圧の正方向へのシフトを検

出することにより、前記ターゲットDNAが前記プローブDNAと相補的な関係にあるか否かを同定することを特徴とする。

[ 0 0 1 6 ]

[ 0 0 1 7 ]

[ 0 0 1 8 ]

[ 0 0 1 9 ]

【図面の簡単な説明】

[ 0 0 2 0 ] [ 図 1 ] 本発明にかかるSGFETの断面図である。

[ 図 2 ] 本発明の実施例を示す1本鎖DNAによる負電荷の発生状態を示すチャンネル部の模式図である。

[ 図 3 ] 本発明の実施例を示す2本鎖DNAによる負電荷の発生状態を示すチャンネル部の模式図である。

[ 図 4 ] 本発明の実施例を示すSGFET特性の変化(その1)を示す図である。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0005】

[ 0 0 2 4 ] 以下、本発明のDNAセンサーについて説明する。

[ 0 0 2 5 ] 図1は本発明にかかるSGFETの断面図、図2は本発明の実施例を示す1本鎖DNAによる負電荷の発生状態を示すチャンネル部の模式図、図3は本発明の実施例を示す2本鎖DNAによる負電荷の発生状態を示すチャンネル部の模式図、図4はSGFET特性の変化(その1)を示す図、図5はそのSGFET特性の変化(その2)を示す図である。

[ 0 0 2 6 ] (1) 図1に示すように、アンドープ多結晶ダイヤモンド層1の、水素終端およびアミノ終端が混在するダイヤモンド表面2にソース電極3とドレイン電極4によって挟まれるようにダイヤモンド表面2からなるpチャンネル5を形成し、ソース電極3及びドレイン電極4上にはそれぞれポリイミド樹脂からなる絶縁膜6, 7を形成する。このpチャンネル5上には液体電解質からなるゲート8を形成する。9はゲートとしての液体電解質8に配置される参照電極である。なお、基板としては、多結晶ダイヤモンド層に限定されるものではなく、単結晶ダイヤモンド層を用いてもよい。

[ 0 0 2 7 ] このように、液体電解質からなるゲート8と、水素終端およびアミノ終端が混在するダイヤモンド表面2からなるpチャンネル5とを有するpチャンネル電界効果トランジスタを用意する。

[ 0 0 2 8 ] (2) 次に、図2に示すように、上記したダイヤモンド表面2のpチャンネル5上のアミノ終端に、塩基配列が既知の1本鎖DNAからなるプローブDNA11を、リンカー〔例えば、2乃至3価のカルボン酸(コハク酸、フタル酸)や2乃至3価のアルデヒド(グルタルアルデヒド)〕を介して架橋作用により共有結合的に直接固定する。このとき、プローブDNA11は、 $10^{10} \text{ cm}^{-2}$ 以上の高密度で固定する。

[ 0 0 2 9 ] なお、実施例においてアミノ終端という場合は、ダイヤモンド表面2に直接アミノ基がついている場合のみでなく、ダイヤモンド表面上についた分子の端にアミノ基がつ

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

を示しており、ハイブリダイゼーションによって生じるゲート電圧の正方向のシフト量を

G (V)としている。滴下したターゲットDNAの量が1  $\mu$ M、100 nM、10 nMの場合、それぞれ正方向に38 mV、25 mV、4 mVシフトしている。

[0042] 以下、具体的な実施例について説明する。

[0043] 液体電解質(バッファ溶液)をゲートとして使用し、水素終端およびアミノ終端が混在する多結晶または単結晶ダイヤモンド表面をチャンネルとしたpチャンネル電界効果トランジスタ(SGFET)を用意し、塩基配列が既知のプロブDNAを $10^{10}$  cm<sup>-2</sup>以上の密度でグルタルアルデヒド(2価のアルデヒド)を介して、ダイヤモンド表面に架橋結合により直接固定した。このプロブDNAに対して相補的なターゲットDNAおよび非相補的ターゲットDNAを $10^{-12}$  Mから $10^{-6}$  M濃度でプロブDNAが固定された上記のSGFET上に滴下した。ドレイン電流一定の条件で、ゲート電圧のハイブリダイゼーションによる実時間測定の結果、相補的なターゲットDNAにおいて、ターゲットDNA濃度10 nMでゲート電圧4 mV、100 nMで25 mV、1  $\mu$ Mで38 mV、それぞれ正方向へのシフトを観測できた。非相補的ターゲットDNAではこれらのシフトは全く検出されなかった。

[0044] 上記したように、本発明のDNAセンサーは、DNAのリアルタイム検出に好適であり、ダイヤモンドチャンネル表面の持つ生体適合性を利用して臨床応用が実現可能なデバイスとして期待される。

[0045] 次に、バッファ(NaCl)溶液濃度の最適化について実験を行った。

図8は、本発明の実施例を示すバッファ溶液濃度の最適化を図るための実験によるデバイ距離(デバイの遮蔽距離)を示す図である。横軸はダイヤモンド表面からの距離、縦軸はダイヤモンド表面電位を示している。

[0046] ハイブリダイゼーション効率とリン酸(DNA)の負電荷検出効率は二律背反(トレードオフ)の関係にある。つまり、ハイブリダイゼーション効率は、バッファ(NaCl)溶液の濃度が濃い程負電荷同士の反発を遮蔽でき、効率が大きくなる。これに対して、リン酸(DNA)の負電荷検出効率は、バッファ濃度が薄く、デバイ距離が長い程大であり、負電荷検出効率は大きくなる。

[0047] 図8において、21はダイヤモンド表面、22はDNA(~20塩基:~6 nm)、バッファ

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

なお、図9において、 $I_{DS}$ (ドレイン-ソース間電流)は-10  $\mu$ A、 $V_{DS}$ (ドレイン-ソース間電圧)は-0.1 V、ターゲット固定時間は1時間であり、横軸は温度〔 〕、縦軸はゲートとソース間の  $V$ (シフト電位)〔mV〕を示している。

[0051] 以上から、本発明と従来技術との性能比較をすると、バッファ溶液の設定温度をハイブリダイゼーションに最適な59 から40、さらに25 に下げ、ハイブリダイゼーション効率を下げることで、1塩基及び3塩基ミスマッチ・ターゲットDNAの誤った(不完全な)ハイブリダイゼーションを抑制し、1塩基及び3塩基ミスマッチの分離検出に成功した。従来のSiISFET系ではここまで高感度での測定例はない。

[0062] また、本発明は、大量生産による素子の低価格化により、大量消費型センサーとして、医療分野にとどまらず食品検査、環境計測等としての用途も広がると期待される。したがって、経済的、社会的影響力の極めて高いものである。

[0053] なお、本発明は上記実施例に限定されるものではなく、本発明の趣旨に基づき種々の変形が可能であり、これらを本発明の範囲から排除するものではない。

[0054] 本発明によれば、以下のような効果を奏することができる。

[0056] (1) DNAセンサーにおいて、ハイブリダイゼーションの検出感度を向上させ、未知のDNAの同定を行うことができる。



[ 0 0 5 6 ] ( 2 ) 迅速、かつ的確なDNAのリアルタイム検出が可能である。

[ 0 0 5 7 ] より詳細には、本発明は、ダイヤモンドにおいて可能となりつつある高感度DNA固定化技術およびSGFETの微細化により、従来型の半導体バイオセンサーや蛍光標識による光検出型バイオセンサーよりも高感度検出が期待されるものである。このDNAセンサーを用いることで、測定試料の微量化が可能なることから、臨床検査室における日常検査ならびに緊急検査に使用することができる。さらに他の機能も含めた集積化ナノデバイスシステムに適した電荷・電位検出型デバイスを実現可能である。

以上ではダイヤモンド表面は、水素終端、アミノ終端が混在する表面としてきたが、酸素終端表面がDNAセンサーとしての機能を損なわない限りの占有率で同表面に混在しても構わない。

【産業上の利用可能性】

[ 0 0 5 8 ] 本発明のDNAセンサーは、DNAのリアルタイム検出に好適であり、ダイヤモンドチャネル表面の持つ生体適合性を利用して臨床応用が実現可能なデバイスとして利用可能である。

[ 0 0 5 9 ] また、大量生産による素子の低価格化により、大量消費型センサーとして、医療分

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2005/014283
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl <sup>7</sup> G01N27/414, H01L29/78, C12M1/00, C12N15/09  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl <sup>7</sup> G01N27/414, H01L29/78, C12M1/00, C12N15/09  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2005 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2005 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2005  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus (JOIS)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2004-109020 A (Japan Science and Technology Corp.), 08 April, 2004 (08.04.04), Full text; all drawings (Family: none)	1-13
A	Hideo HATA, "Diamond Hyomen eno DNA no Kotei Oyobi Hibridization", Dai 50 Kai Oyo Butsurigaku Kankei Rengo Koenkai Koen Yokoshu separate Vol.2, page 617, 27 March, 2003 (27.03.03)	1-13
A	JP 2003-90815 A (Japan Science and Technology Corp.), 28 March, 2003 (28.03.03), Full text; all drawings (Family: none)	1-13
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 19 August, 2005 (19.08.05)		Date of mailing of the international search report 13 September, 2005 (13.09.05)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/014283

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2001-272372 A (Japan Science and Technology Corp.), 05 October, 2001 (05.10.01), Full text; all drawings & US 2002/157949 A1 & EP 1186885 A1 & WO 01/73421 A1	1-13
A	JP 2002-286692 A (Japan Science and Technology Corp.), 03 October, 2002 (03.10.02), Full text; all drawings & WO 02/77632 A1	1-13
A	Hiroshi KAWAHARADA, "Kinosei Diamond Hyomen eno Seitai Bunshi Kotei Oyobi Biosensor Oyo", Waseda Daigaku COE 'Bunshi Nano Kogaku' Kenkyu Kyoten, 'Nano Kozo Hairetsu o Kiban tosuru Bunshi Nano Kogaku no Kochiku to Microfilm System eno Tenkai' Jikken Hokokusho, 2004.03, 161-162	1-13

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2005/014283									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. <sup>7</sup> G01N27/414, H01L29/78, C12M1/00, C12N15/09											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. <sup>7</sup> G01N27/414, H01L29/78, C12M1/00, C12N15/09											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2005年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2005年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2005年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2005年	日本国実用新案登録公報	1996-2005年	日本国登録実用新案公報	1994-2005年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2005年										
日本国実用新案登録公報	1996-2005年										
日本国登録実用新案公報	1994-2005年										
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus (JOIS)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号									
A	JP 2004-109020 A (科学技術振興事業団) 2004.04.08, 全文、全図 (ファミリーなし)	1-13									
A	畑英夫, ダイヤモンド表面へのDNAの固定及びハイブリダイゼーション, 第50回応用物理学関係連合講演会講演予稿集第2分冊, p. 617, 2003.03.27	1-13									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献									
国際調査を完了した日 19.08.2005		国際調査報告の発送日 13.9.2005									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 黒田 浩一	2J 9218								
		電話番号 03-3581-1101 内線 3252									

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2005/014283
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2003-90815 A (科学技術振興事業団) 2003.03.28, 全文、全図 (ファミリーなし)	1-13
A	JP 2001-272372 A (科学技術振興事業団) 2001.10.05, 全文、全図 & US 2002/157949 A1 & EP 1186885 A1 & WO 01/73421 A1	1-13
A	JP 2002-286692 A (科学技術振興事業団) 2002.10.03, 全文、全図 & WO 02/77632 A1	1-13
A	川原田洋, 機能性ダイヤモンド表面への生体分子固定およびバイオ センサ応用, 早稲田大学COE「分子ナノ工学」研究拠点、「ナノ構 造配列を基盤とする分子ナノ工学の構築とマイクロフィルムシステ ムへの展開」実験報告書, 2004.03, 161-162	1-13

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I テーマコード(参考)  
G 0 1 N 27/30 3 0 1 V

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。