

助成研究者 9937

## 二重鎖DNA-Redox分子積層膜修飾電極を用いるクラスA金属イオンセンサ

助成研究者：中野 幸二（九州大学大学院工学研究院応用化学部門）

アルカリ金属イオンによる浸透圧の維持と電荷担体としての作用をはじめ、金属タンパク質による酸素輸送や電子移動、カルシウム結合タンパク質にみられる高次構造の変化とカップリングした細胞内情報伝達や機能制御など、金属イオンは生命現象のさまざまな曲面で本質的な役割を担っている。

申請者らは、二重鎖 DNA がさまざまなバイオアフィニティー反応に関与することに着目し、これを化学センサに応用する研究を行ってきた。そのなかで、1) DNA 末端を含硫黄化合物で修飾し、金属-硫黄配位結合をアンカーとして固定化する方法を実現するとともに、2) 測定系に添加したマーカージオンの電極反応を指標に DNA のアフィニティー反応を検出する手法を適用し、DNA 二重らせんを感応物質とするバイオセンサを世界に先がけて開発した。さらに、各種の金属イオンが DNA と相互作用することを利用し、高感度な ( $10^{-7}$  M レベル) マグネシウムイオンセンサを実現した。しかし、ここで用いた検出法は高感度な測定が可能である反面、簡便性に劣る欠点があった。

本研究では、二重鎖 DNA および redox 活性分子からの積層構造とした表面修飾を行い、マーカージオンの利用なしに、単体での利用が可能な DNA バイオセンサの構築を行った。具体的には、金蒸着ガラス基板を 11-メルカプトアミノウンデカンからの自己組織化単分子膜で修飾し、1,1'-フェロセンジカルボン酸を固定化する。次いで、表面に残存するカルボキシル基を利用し 5'-アミノ化オリゴヌクレオチドを反応させる。この電極を、相補鎖 DNA 水溶液で処理することで *in-situ* にてハイブリダイズさせ、二本鎖 DNA 修飾電極を得た。

このような表面修飾法について、まず、*ir* スペクトル測定により所定の表面修飾層の形成を確認した。修飾電極の電気化学特性について各種の検討を加えた結果、まず、一本鎖 DNA 固定化電極について、相補鎖 DNA とのハイブリダイゼーションにより酸化還元活性が著しく変化することを見出した。この現象は、遺伝子センサへの応用という観点から興味深いものと考えられた。さらに二重鎖 DNA 修飾電極については、タンパク質（抗 DNA 抗体）の結合に伴い、酸化還元活性が著しく変化することがわかった。抗 DNA 抗体は深刻な遺伝病のひとつである全身性エリテマトーゼスの指標物質であることから、医療診断への応用という点で意義深いものと考えられた。

しかしながら、当初の目標であったクラス A 金属イオンセンサについては、研究期間との関係から、実際に検討するには至らなかった。既に述べたように、申請者らは、DNA 修飾電極を利用したマグネシウムイオンセンサを実現している。これとの関連から本系も充分適用が可能と考えられ、今後詳細に検討する予定である。



助成研究者 9937

二重鎖DNA-Redox分子積層膜修飾電極を用いるクラスA金属イオンセンサ

助成研究者：中野 幸二 (九州大学大学院工学研究院応用化学部門)

## 1. 研究目的

生物学は一般に有機化学と関連しているが、無機元素もまた、生命過程にとって必須である。アルカリ金属イオンによる浸透圧の維持と電荷担体としての作用はもとより、酸素輸送や電子移動といった金属タンパク質の機能は、活性中心を形成する金属イオンの特異的な性質によるものである。他方、金属イオンは生体分子の特異な構造形成にも関与している。例えば、遺伝子発現を制御するいくつかのタンパク質群は亜鉛イオンを含有しているが、それらのタンパク質では、金属イオンにより安定化されたドメインがDNAに対する結合サイトとして作用している。一方、細胞内における情報伝達や機能制御では、タンパク質の高次構造の変化とカップリングしたプロセスが数多く知られている。カルシウム結合タンパク質(カルモジュリン)はその端的な例である。

金属イオンは直接、DNA および RNA とも相互作用する。例えば、ナトリウムイオンおよびマグネシウムイオンは、核酸と結合しその構造を安定化する。これは、リン酸基由来の負電荷を遮蔽し、核酸同士の静電反発を低減するためであるが、最近になって、より特異的な結合の例が発見された。例えばRNA酵素では、マグネシウムイオンが活性発現のための補因子として作用している。これは核酸とマグネシウムイオンの結合が独特な高次構造を誘起するとともに、酵素としての触媒作用はこのドメインが担っているためである。また、カリウムイオンが、テロメア構造(染色体末端において二重らせんを終始させるユニット)の形成を促進する例も興味深い。

申請者らは、二重鎖DNAがさまざまなバイオフィニティー反応に関与することに着目し、これを感応物質に利用した化学センサの研究に着手した<sup>1-5)</sup>。まず、必要とされる基礎技術として、DNA末端を含硫黄化合物で化学的に修飾し、金属-硫黄配位結合をアンカーとして固定化する方法を独自に開発した。これにより、DNA二重らせんを認識成分としたバイオセンサを世界に先駆けて実現した(図1)。さらに、DNAと金属イオンとの結合反応を利用して、高感度な( $10^7$  Mレベル)マグネシウムイオンセンサを実現している。図1に示すように、本センサは、測定系に添加したマーカージオンの電極反応を指標に、DNA修飾電極表面で起こるバイオフィニティー反応の検出を行うものである。これは、高感度な測定が可能である反面、やや簡便性に劣る欠点があった。そこで本研究では、二重鎖

DNA および Redox 活性分子からの積層構造とした表面修飾を行い、マーカージオンの併用なしに、単体での利用が可能な DNA バイオセンサの構築を行った。ここでは、修飾電極の特性に関する基礎検討、遺伝子センサ、および抗 DNA 抗体センサへの応用について報告する。

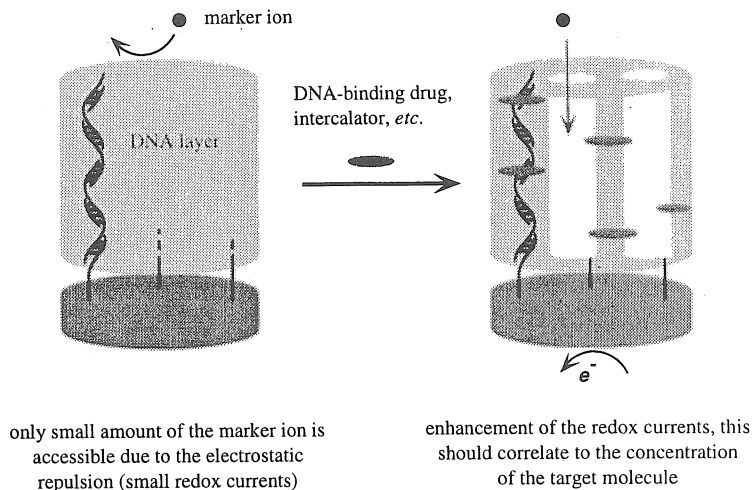


Fig. 1 Schematic illustration of the DNA biosensor

## 2. 研究方法

### 2.1 基本となる考え方

電極表面への固定化と並んで、DNA をセンサ感応物質に用いるうえで解決すべき障害がある。二重鎖 DNA は一定の選択性を持って各種分子との結合反応を起こすものの、多くの場合、表面修飾層の電気化学的な物性の変化を伴わない。また酵素反応のように、電気化学測定と組み合わせて容易に検出できる低分子化合物を生成することもない。したがってこのままでは、ポテンシオメトリーやアンペロメトリーと組み合わせてセンサ系を構成することができない。このような系では、測定系に添加したマーカージオンの電極反応を指標に、電極界面でのアフィニティー反応を検出する手法が比較的良く用いられており<sup>6)</sup>、申請者らもこれを適用して検討してきた。この場合、高感度な測定が可能である反面、やや簡便性に劣る欠点があった。そこで本研究では、図 2 に示すような表面修飾法について検討し、修飾電極単体での利用が可能な系の確立を目ざした。

具体的には、電極表面の修飾層を感応物質として作用する DNA 層、および電気化学検出のための酸化還元活性層との二層構造とする。酸化還元は電子の移動反応である。このとき、電気的中性を満たすために必ず対イオンの移動が伴う。この現象は、均一系における反応では意識されることが少ない。しかし修飾電極系では、対イオンの供給が不十分な場合、総括の反応速度(電流値)が低下する場合が殆どである。申請者らがこれまで報告してきたように、電極表面に固定化した DNA のアフィニティー反応はイオンの透過性を著しく変

化させる。これは、上記の表面修飾を施すことで、アフィニティー反応と電流値とをシンクロさせた化学計測が可能であることを示唆する。

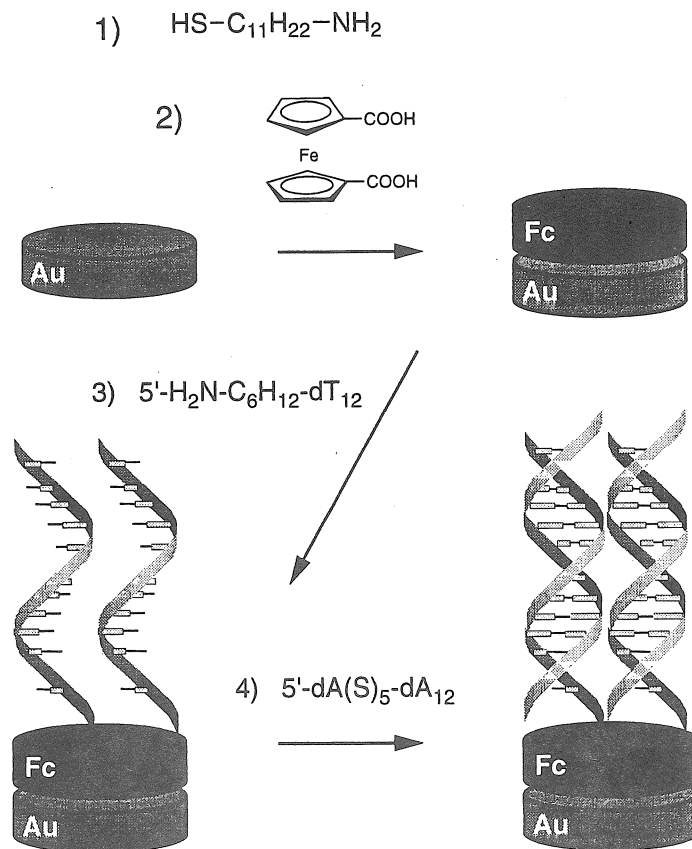


Fig. 2 Stepwise modification of electrode surface with DNA/redox-molecule bilayer structure. The Au electrodes were first modified with the SAMs from 11-mercaptoaminoundecane then 1,1'-ferrocene dicarboxylic acid was reacted. After activation of the carboxylic group remained, 5'-amino oligonucleotides were immobilized. Finally, *in-situ* hybridization with the complementary stands gave the surface structure intended.

## 2.2 二重鎖 DNA — redox 分子積層膜修飾電極の調製

電極には金蒸着ガラス基板を用いた。これを電気化学的に前処理したのち、11-メルカプトアミノウンデカン ( $\text{HS-C}_{11}\text{H}_{22}\text{-NH}_2$ , MAUD) のエタノール溶液 (10 mM) に浸漬し、表面に自己組織化単分子膜 (SAM) を形成させた (5 °C, 24 h)。電極をエタノールで良く洗浄したのち、1,1'-フェロセンジカルボン酸、およびシクロヘキシル-3- (2-メルホリノエチル) カルボジイミド (CMC) のジオキサン溶液 (100 mM) に浸漬し (5 °C, 24 h)、SAM 表面にフェロセンを固定化した。電極をジオキサンで良く洗浄したのち、CMC のジオキサン溶

液（100 mM）に浸漬し（5 °C, 3 min）、表面に残存するカルボキシル基を活性化した。これを、5'-アミノ化オリゴヌクレオチドと反応させ（dT12, 20 μM 水溶液, 5 °C, 30 min）、一本鎖 DNA 修飾電極を得た。調製した一本鎖 DNA 修飾電極は、相補鎖 DNA 水溶液（dA12, 20 μM）で処理し *in-situ* にてハイブリダイズ（5 °C, 24 h）させることで二本鎖 DNA 修飾電極とした。

## 2.3 修飾電極の *ir* スペクトル測定

上記の手法による表面修飾層の形成を確認するために、*ir* スペクトル測定を行った。ここでは、1) フェロセン固定化電極、2) *in-situ* でのハイブリダイゼーション処理を行った二重鎖 DNA 修飾電極の二つの試料について測定した。分光光度計としては日本分光 Herschel FT/IR-620V 型を用い、高感度反射法により試料の *ir* スペクトル測定を得た。なお、試料の吸収強度は極端に小さいため測定環境は真空とした。試料への赤外光の入射角は 80°、分解能 4 cm<sup>-1</sup>、スペクトルの積算回数は 256 回とした。

## 2.4 電気化学測定

測定にはセイコー EG&G PAR263 型ポテンシオスタットを用いた。作用極は、上述の金蒸着ガラス基板であり、セルに装着した状態での面積は 0.37 cm<sup>2</sup> である。対極には白金ワイヤ、参照極には銀-塩化銀電極（飽和 KCl）をそれぞれ用いた。抗体応答の測定では、測定溶液に所定濃度の抗体を添加し、これに伴う電極反応特性の変化を測定した。

# 3. 研究結果

## 3.1 *ir* スペクトルによる表面構造の確認

図 3 に、基板の *ir* スペクトルを示す。まずフェロセン修飾金基板 (*Fc/Au*) では、やや微弱ながら 1500 - 2000 cm<sup>-1</sup> にいくつかのピークが見られる。これらは、SAM 中のアミノ基とフェロセンカルボン酸との縮合反応により生成するアミド、未反応のカルボキシル基、およびフェロセンの芳香族骨格に由来する特性吸収帯と考えられる。一方、二重鎖 DNA 修飾電極 (*DNA/Fc/Au*) では、DNA 由来の明確な吸収ピークが確認できる。例えば、1076 cm<sup>-1</sup> に見られる糖リンカーの吸収、1200 cm<sup>-1</sup> 付近に見られるリン酸基由来の複数のピークなどである。

以上の結果から、本法により、申請者の意図した表面修飾が行われていることが確認できた。なお *DNA/Fc/Au* のスペクトルにおいて、1653 cm<sup>-1</sup> に見られる強い吸収は、核酸塩

基に含まれるカルボニル基に由来するものである。このピークは、一般には  $1700\text{ cm}^{-1}$  ~  $1640\text{ cm}^{-1}$  に現れ、タンパク質のカルボニル基と同様、DNA の立体構造に依存して吸収の波数に変化する。本系での吸収波数はごく低いことから、表面に固定化された二重鎖 DNA は安定な立体構造をとっているものと推論される。

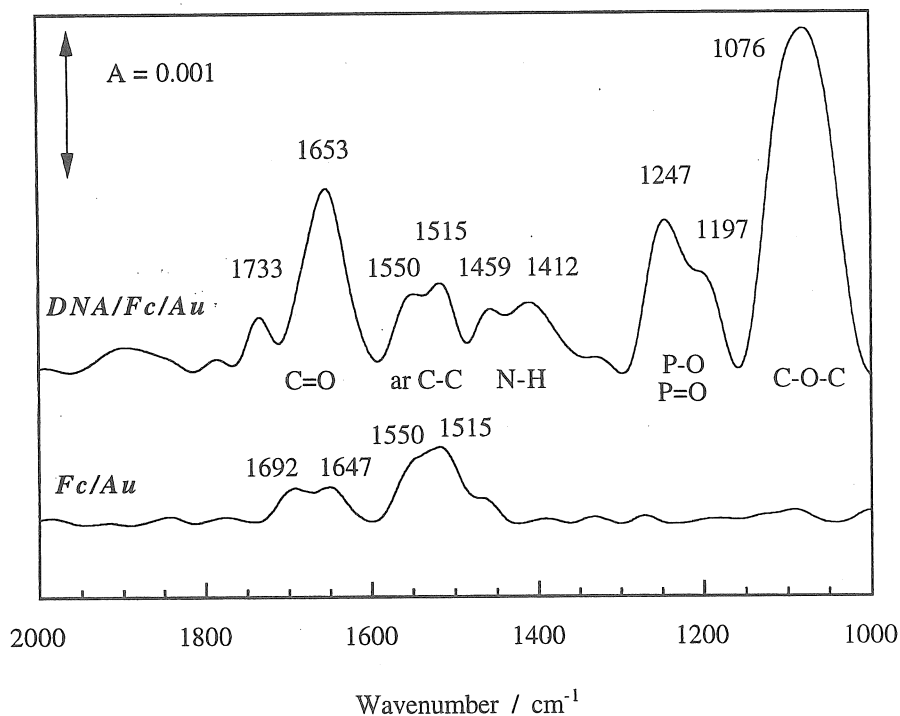


Fig. 3 IR spectra for the Au substrated with ferrocene-MAUD SAM-Au (Fc/Au) and ds DNA-ferrocene-MAUD SAM-Au (DNA/Fc/Au) structures.

Conditions: incident angle  $80^\circ$ , resolution  $4\text{ cm}^{-1}$ , 256 scans.

### 3.2 修飾電極の酸化還元特性

図 4 に修飾電極のサイクリックボルタモグラムを示す。フェロセンを修飾電極 (Fc/Au) では、 $+500\text{ mV}$  付近に明確な酸化ピークが認められた。図には示していないが、MAUD からの SAM 修飾電極では容量性電流しか観測されなかったことから、このピークは、電極表面に固定化したフェロセンに由来するものと考えられる。また、酸化反応に伴う電荷量から、電極表面へのフェロセンの固定化量は  $0.10\text{ nmol cm}^{-2}$  と見積もられた。金表面におけるアルカンチオールの SAM 形成では、一般に、 $0.76\text{ nmol cm}^{-2}$  の理論吸着量が受け入れられている<sup>7)</sup>。両者を比較すると、フェロセンはアルカンチオールの 7 分の 1 の表面被覆

率となるが、これは、フェロセン分子のかさ高さから考えて妥当な結果と判断される。

なお、ボルタモグラムにおける還元ピークはブロードであり、やや不明瞭となっている。これは、個々の反応サイト（フェロセン）が異なった電子移動反応速度を持つ系に特徴的な挙動である（電子移動速度が一定の分布を持つような系）。なお、反応の電荷量は自体は酸化ピークとほぼ同一であった。現時点では詳細は不明であるが、酸化反応により生成したフェロセニウムイオンが電極表面で安定化され、このため還元反応が起こりにくくなっているものと考えられる。

フェロセン修飾電極に一本鎖 DNA を固定化すると、ピーク電流値は半分程度に低下した (*ss-DNA/Fc/Au*)。図に示す結果は、同一の電極について得たものであるが、一本鎖 DNA の固定化前と比較して、ピーク電流値が 50 % に低下していることがわかる。当初の予測どおり、電極に固定化した DNA が、下地の酸化還元活性層の電極反応について、総括の電極反応速度（電流値）を低下させたためと考えている。ただし、DNA の固定化はごく温和な条件で行っているものの、この表面処理に伴い、一部フェロセンが失活した可能性も否定できない。この点については、今後の検討が必要と考えている。

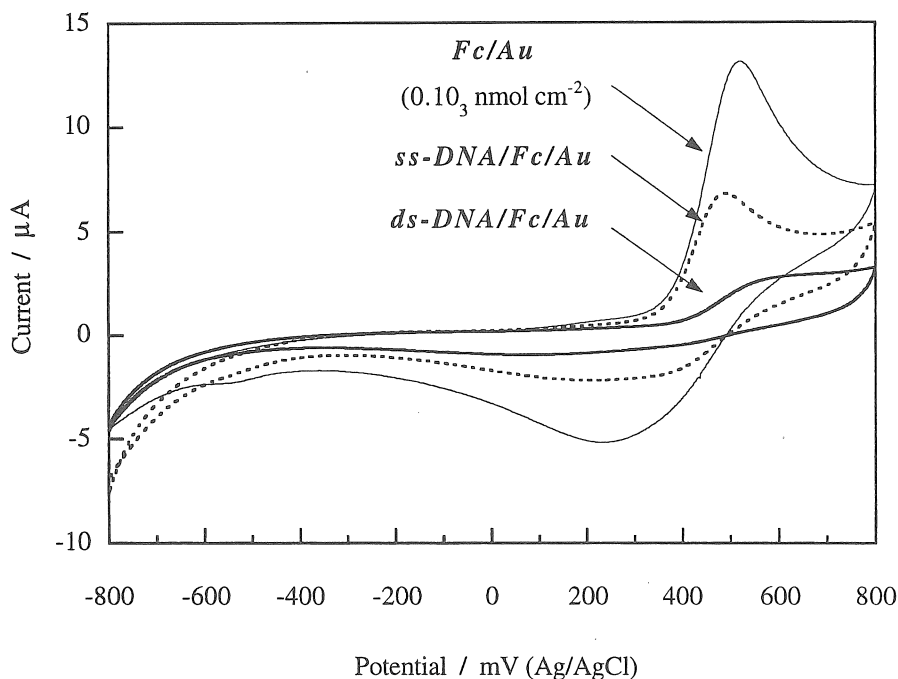


Fig. 4 Cyclic voltammograms for the Au electrode with ferrocene-MAUD SAM-Au (Fc/Au), ssDNA-ferrocene-MAUD SAM-Au (ss-DNA/Fc/Au), and dsDNA-ferrocene-MAUD SAM-Au (dsDNA/Fc/Au) structures. Electrode area  $0.37 \text{ cm}^2$  ( $R = 1.6$ ), electrolyte solution 100 mM KCl, scan rate  $25 \text{ mVs}^{-1}$ , RT.



### 3.3 遺伝子計測に関する基礎検討

これまでの結果から、SAM を介してフェロセン分子を固定化した場合でも電子移動反応を観測することができ、さらに、その外側に、一本鎖 DNA を固定化すると、フェロセン修飾層の電極反応が阻害されることがわかった。ここで、フェロセンの電極反応と DNA のハイブリダイゼーションとの関連に興味を持たれる。両者のあいだで明らかな差を伴えば、これは、直ちに遺伝子センサに応用することが可能といえる。

図 4 に、ハイブリダイゼーションの効果を示している。比較のために、同一の電極について、一連の表面処理に伴う CV の変化を示している。試料となる *ss-DNA/Fc/Au* 電極を相補鎖 DNA で処理した結果、フェロセンの酸化反応に由来するピーク電流値は 3 分の 1 程度と、さらに低下することがわかった。一本鎖 DNA と二本鎖とのあいだでは、下地となる酸化還元活性層の電極反応の阻害の程度は大幅に異なるものと考えられる。なお図には示していないが、作用極の電位をより正側まで掃引すると、+1250 mV 付近に不可逆な酸化ピークが観測される。これは、DNA 鎖中のプリン塩基の酸化反応に由来するとされており<sup>8)</sup>、反応の電荷量から計算して、DNA 結合量は 34 pmol cm<sup>2</sup> と見積もられた。これは、フェロセンの固定化量の 3 分の 1 となっている。

ここで強調するが、本研究により電気化学測定と組み合わせた遺伝子センサの可能性を示すことができた。これまで報告されてきた遺伝子センサは、全て、酸化還元活性を持つ DNA 結合性分子を検出に利用するものであり<sup>9-11)</sup>、本研究のような、スタンドアロンなタイプのものは他に類例がない。今後、種々の検討を加えていきたいと考えている。

### 3.4 DNA 結合タンパク質センサへの応用—抗 DNA 抗体を例とした検討

以上のように、本研究では二重鎖 DNA と redox 分子からの積層膜で電極表面を修飾できる操作を確立した。本修飾電極系はそれ自体で酸化還元活性を有しているので、これまでのタイプのセンサとは異なり、マーカージオンの併用なしにセンサ系を構成できるものと考えられる。研究のスタートとして、ここでは、DNA 結合性タンパク質を例にとり検討した。

用いたタンパク質は、抗 DNA 抗体 (マウス由来、モノクローナル IgM 抗体、分子量 90 万) である。この抗体は、深刻な遺伝病のひとつである全身性エリトマトーゼスの指標物質として注目されている。抗 DNA 抗体は、現在のところ酵素免疫測定法により分析されているが、これに代わる、迅速かつ簡便な計測法を確立することの意義は大きい。

図 5 に、抗 DNA 抗体に対する電極応答を示す。添加した抗体の濃度増加に伴い、ボルタモグラムの電流値が増加することがわかる。図 6 は、ピークの電流値の抗体濃度依存性を示したものであり、nM オーダーの抗体に対して、直線的な電流応答が得られることがわか

る。センサの応答感度は、一般的は免疫センサとほぼ同等である。なお、応答の選択性については、現在、種々の抗体を用いた検討を行っているところである。

最後に、本センサの応答機構に関する考察を述べる。電極表面の二重鎖 DNA と抗体分子との結合に付随して、フェロセンの電極反応は 1) 静電的な効果、2) 立体的な効果という二種の影響を受けると考えられる。ここで、電極表面でフェロセンの酸化反応が起こる場合、生じた正電荷を補償するために、反応サイト近傍に対アニオンが供給される必要がある。DNA はポリアニオンであるので、対アニオンの拡散を阻害し、これが総括の電極反応速度の低下になって現れるものと考えられる。抗体に対するセンサ応答については、IgM 抗体の等電点は、通常、弱酸性であり、本研究では中性条件で実験を行っているので、静電的な寄与は少ないものと予想される。一方、立体的な効果については、今回の測定結果にはやや不明な点が伴う。つまり、抗体の結合に伴って電流値が増大しており、単純に、抗体分子のかさ高さに起因するよもとは結論づけられない。抗体の結合に伴う DNA のコンホメーション変化、具体的には、電極面に対して水平に配向した状態から鉛直方法への転移が関与するものと考えている。いずれにせよ、この点については今後の検討が必要であり、機会を改めて報告させて頂きたい。

#### 4. 今後の課題

本研究では二重鎖 DNA と redox 分子からの積層膜で電極表面を修飾できる操作を確立した。修飾電極の電気化学特性について検討し、まず、遺伝子センサとしての利用が可能であることを明らかにした。次に、申請者らがこれまで検討してきた DNA バイオセンサの発展型として、本修飾電極がスタンドアローン型のセンサ素子として用い得ること示した。ここで取り上げた対象物質は抗 DNA 抗体であり、この抗体は全身性エリトマトーゼスの指標物質となり得ることから、本研究で開発した免疫センサはの意義は大きいものと考えられる。

しかしながら今回は、当初の目標であったクラス A 金属イオンセンサについては、研究期間との関係から、実際に検討するには至らなかった。既に述べたように、申請者らは、DNA とクラス A 金属イオンとの親和性を利用し、高感度なマグネシウムイオンセンサを実現している<sup>4)</sup>。この意味で、本系も充分適用が可能と考えている。

クラス A 金属イオンは、例えばリチウムが顕著な抗うつ病効果を示すこと、アルツハイマー痴呆症とアルミニウムとの関連など、生体に対して意外な効果を持つものが多い。高性能なイオンセンサの開発が、このような分野に光をあてることは想像に難くない。今後は、クラス A 金属イオンセンサとしての利用について、詳細かつ系統的に検討していきたいと考えている。

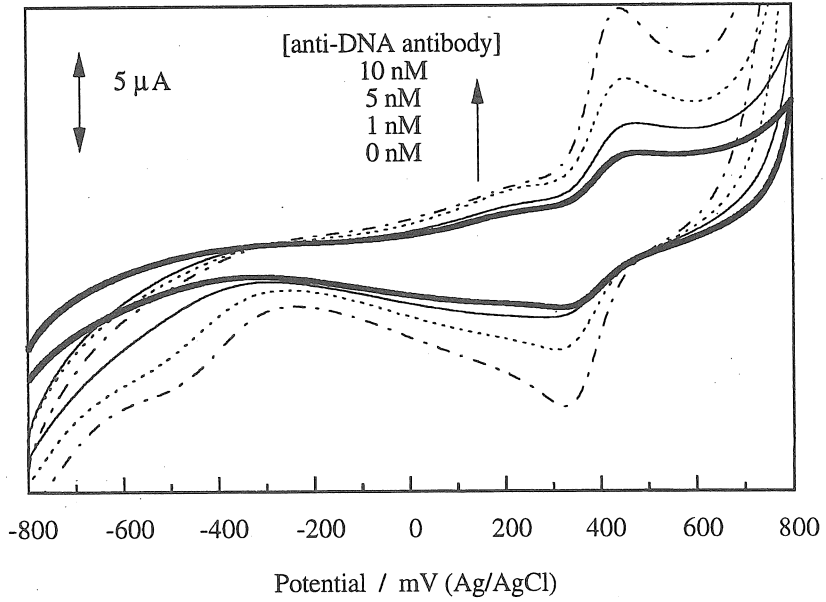


Fig. 5 Electrode response to anti-DNA antibody.

Antibody, monoclonal IgM (mouse,  $M_w 9 \times 10^5$ ); Electrode, Au ( $0.37 \text{ cm}^2$ ,  $R = 1.6$ );  
Sweep Rate,  $50 \text{ mV s}^{-1}$ ; Electrolyte, 1 M KCl

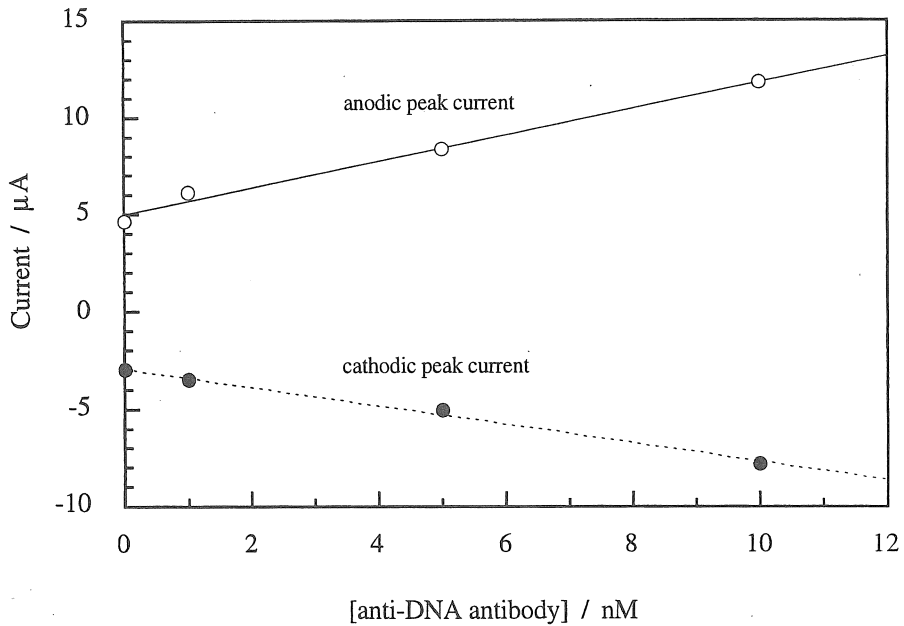


Fig. 6 Plots of the magnitude of the peak current vs. the antibody concentration.  
Conditions are the same as those in Fig.5.

5. 参考文献

- 1) M. Maeda, Y. Mitsuhashi, K. Nakano, M. Takagi, *Anal. Sci.* 8, 83 (1992).
- 2) K. Nakano, S. Uchida, M. Maeda, M. Takagi, In: F. A. Schultz, I. Taniguchi, ed. *Proceedings Volume 93-11 Redox Mechanisms and Interfacial Properties of Molecules of Biological Importance*. Pennington: The Electrochemical Society, 1993, pp 423-434.
- 3) K. Nakano, S. Uchida, Y. Mitsuhashi, Y. Fujita, H. Taira, M. Maeda, M. Takagi, In: N. Akmal, A. M. Usmani ed. *ACS Symposium Series 690 Polymers in Sensors. Theory and Practice*. Washington DC: American Chemical Society 1996, pp 34-45.
- 4) M. Maeda, K. Nakano, S. Uchida, M. Takagi, *Chem. Lett.*, 1994, 1805.
- 5) Y. Katayama, M. Nakayama, H. Irie, K. Nakano, M. Takagi, *Chem. Lett.*, 1998, 1181.
- 6) M. Sugawara, K. Kojima, H. Sazawa, Y. Umezawa, *Anal. Chem.*, 59, 2842 (1987).
- 7) J. B. Schelenoff, M. Li, H. Ly, *J. Am. Chem. Soc.*, 117, 12528 (1995).
- 8) G. Dryhurst, *Electrochemistry of Biological Molecules*. New York: Academic Press, 1977, pp 71, pp 186.
- 9) K. Hashimoto, K. Miwa, M. Goto, Y. Ishimori, *Supramol. Chem.*, 2, 265 (1993).
- 10) K. M Millan, S. R. Mikkelsen, *Anal. Chem.*, 65, 2317 (1993).
- 11) J. Wang, G. Rivas, X. Cai, N. Dontha, H. Shiraishi, D. Luo, F. S. Valera, *Anal. Chim. Acta*, 337, 41 (1997).

## DNA-Modified Electrode: Electrode Modification with DNA/Redox-Molecule Bilayer Structure and Ion Sensor Applications for Class A Metals

Koji NAKANO

*Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyushu University*

Metal ions play a central role in many biological processes, *e.g.*, the ionic homeostasis and the intercellular signalling of cells. This also applies to the biosynthesis of nucleic acids; all enzyme-catalyzed reactions with 5'-ATP, including those involving DNA and RNA polymerases, need divalent ions. We have been investigating a biosensor which comprises double-stranded (ds) DNAs as molecular recognition elements. As one of the key technologies, we have developed a new immobilization method for ds DNAs which is taking advantage of self-assembling chemistry by an organosulfur functional group on gold surfaces. By adopting the redox-molecule mediated, artificial ion-channel principle, we have successfully developed an electrochemical sensor for DNA-binding molecules and ions.

That is, ds DNAs which are immobilized on an gold electrode surface block the access of the redox-active ion (marker ion) to the vicinity of the electrode surface while the affinity reaction between the ds DNA and the DNA-binding substrate defuses that effect leading to the enhancement of current density of the electrode reaction of the marker ion. The sensory principle used here is featured by a high sensitivity of detection, however, it seems to be too sophisticated in practical uses. In the present study, we have developed a new immobilization method which enables the indicator-free detection of the molecular recognition event.

First, the gold electrode surface was modified by the self-assembling monolayer (SAM) form 11-mercaptoaminoundecane, then, 1,1'-ferrocenedicarboxylic acid (Fc) was reacted with the amino groups in the SAM in the presence of water-soluble, carbodiimide reagent. Finally, oligonucleotide (dT12) with 5'-amino function was immobilized by the coupling reaction with the carboxy group of Fc. The present immobilization chemistry was characterized by *ir* spectroscopy and the formation of DNA/Fc surface structure was confirmed. Electrochemical characterization of the modified electrodes were then made and we found that the redox activity of the modified electrode with DNA/Fc structure was reduced to *ca.* 50 % by the attachment of DNA. When we treated the DNA-modified electrode with the complementary strand, the redox activity was almost diminished. We think this observation is important from the viewpoint of gene sensor applications.

We have also started to explore biosensor applications of the modified electrode system. We studied the electrode response to anti-DNA antibody and found that the redox currents reappeared in the presence of the antibody. The peak currents were increased with the increasing concentration of the antibody in the range of 1 nM — 10 nM. The anti-DNA antibody is well-known to be a marker molecule for systemic Lupus Erythematosus (SLE) which is a severe autoimmune disease. Thus, the present system is important from the standpoint of diagnosis of SLE.