

Journal of Electrochemistry

Volume 17

Issue 3 *Special Issue of Chemo/Biosensing Technology*(Editor: Professor ZHANG Zong-rang)

2011-08-28

Electrochemical Analysis based on Molecular Recognition of Nucleic Acids and its Applications

Dian-ming ZHOU

Jian-hui JIANG

Guo-li SHEN

Ru-qin YU

Recommended Citation

Dian-ming ZHOU, Jian-hui JIANG, Guo-li SHEN, Ru-qin YU. Electrochemical Analysis based on Molecular Recognition of Nucleic Acids and its Applications[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2011 , 17(3): Article 5.

DOI: 10.61558/2993-074X.2838

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol17/iss3/5>

This Review is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

基于核酸分子识别的电化学分析方法与应用

周殿明, 蒋健晖*, 沈国励, 俞汝勤

(湖南大学 化学生物传感与计量学国家重点实验室, 化学化工学院, 湖南 长沙 410082)

摘要: 核酸作为生物体遗传信息的载体以及分子生物学和生物分析化学中重要的功能分子,近年来在电化学分析中受到了越来越多的重视. 本文以作者所在研究组的工作为实例,对核酸分子识别的电化学分析方法作简要评述,内容涉及核酸序列和基因变异的电化学分析以及核酸作为功能分子进行识别检测的电化学分析等等.

关键词: 电化学分析; 核酸; 分子识别

中图分类号: O657

文献标识码: A

核酸普遍存在于动植物细胞、微生物、病毒及噬菌体内,是生物体遗传信息的载体. 核酸编码、传递和表达各种遗传信息,对生物的生长、遗传、变异等现象起着重要的决定作用. 因此,核酸分析是现代分析科学中一个非常重要的命题,是理解物种起源与进化、诠释核酸分子功能、探究疾病的分子机制的基础,同时也是后基因组学这一科学前沿的主题之一. 核酸分析也是疾病诊断、公共与食品卫生安全、药物筛选研制开发、环境监测、法医检验鉴定等许多重要应用领域的主要技术依据. 本文即以作者所在实验室的工作为实例,对核酸特定序列的定量检测和基因变异识别的电化学分析的现状和进展作简略评述.

现代分子生物学研究发现,除了作为遗传信息的载体外,核酸还可作为分子识别元件来识别和结合有机和无机的小分子以及靶蛋白. 核酸分子具有特殊的化学结构且可通过折叠形成各种特殊的空间构象. 这些特殊的结构和构象可以与特定的目标分子结构匹配,从而特异性地识别并结合目标分子. 这种特殊的识别功能也成为现代生物分析化学的重要工具之一. 此外,核酸因其自身的分子生物学性质和功能,作为生物分析化学的信号源也得到了广泛的应用. 作者所在实验室近年来对此也作了一些探索.

1 目标序列及基因变异的电化学检测

1.1 目标序列的电化学检测

1) 单分子电活性标记用于目标序列的电化学检测

核酸探针与目标序列杂交会引起所标记的电活性分子与电极表面距离的改变,从而引起检测电流的变化. 测出的电流变化与目标序列含量相关. 一般而言,杂交所引起的检测电流变化缘于下列3种情况:

i. 杂交引起核酸构象变化. 分子信标是一种含有茎环结构的发卡形核酸探针,探针的末端分别附有荧光基团和猝灭基团标记. 当拟检测的目标序列不存在时,分子信标分子内折叠成发卡结构,从而使存在于探针末端的荧光基团和猝灭基团靠近,发生荧光共振能量转移,此时的荧光基团发出的荧光受到抑制. 当体系中存在拟检测的目标序列时,目标与分子信标发生杂交反应,发卡结构被打开而出现刚性的双链结构,导致标记在分子信标末端的荧光基团和猝灭基团分开,荧光抑制得以恢复. Heeger 研究组^[1]利用该原理发展了一种电化学检测目标序列的方法. 该方法设计的电化学检测探针由一个类似分子信标的茎环发卡

结构组成,一端标记巯基,可以经分子自组装连接到金电极表面,另一端标记有电活性分子二茂铁. 自由状态下的电活性分子组装到电极表面时,电子转移效率高,电流信号相对较大;当探针与目标核酸杂交时,发生类似分子信标的构象变化,使电活性分子远离电极表面,电子转移效率下降,电流信号减小,其减小量是定量分析的依据. 与光学检测方法比较,该方法无需昂贵的检测仪器,可以实现 $10\text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的检测下限.

ii. 杂交引起链置换. 虽然上述基于构象变化的电化学检测方法可以实现相对灵敏的核酸检测,但这仅是一种借助于信号降低的检测方法,容易产生由探针降解等原因而出现的背景信号. 基于此, Xiao 等^[2] 根据目标杂交诱导链置换的原理设计了一种信号增强型无标记电化学 DNA 传感器. 该方法将捕获探针的 5 端固定于金电极表面,而信号探针的 5 端标记有亚甲基蓝电活性分子,捕获探针和信号探针分别在两端形成了互补区. 在无目标序列的情况下,信号探针与捕获探针的杂交增强了探针的刚性,使电活性分子远离电极表面,氧化还原电流受到抑制. 而当目标序列存在时,目标与捕获探针的 3 端杂交,把信号探针的 5 端置换成为柔性的单链,此刻,电活性分子可以接近电极表面,产生的电流最多可增加 7 倍,检测限可达 $400\text{ fmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

iii. 表面邻近杂交效应. 所谓的邻近效应是指目标核酸序列与检测探针相邻近而使探针局部浓度增加,从而改变探针与探针之间或者探针与目标之间结合稳定性的效应. 图 1 示出作者所在研究组 Zhang 等^[3] 基于邻近效应的原理设计了一种具有较高电子转移效率变化、较高信背比、较高灵敏度以及较好错配区分能力的电化学传感器. 在目标不存在的情况下,由于互补碱基数少,设计的以电活性分子标记的检测探针不能与捕获探针杂交. 但当目标存在时,检测探针可与目标核酸稳定地杂交,因而在目标核酸序列与检测探针的两侧形成一对相邻且与捕获探针互补的区域. 由于邻近效应的存在而使整体的熔链温度升高,该区域可与固定在电极表面的捕获序列杂交,使电活性分子被拉近到电极表面并产生电化学测量信号.

2) 信号放大电活性标记用于目标序列的电化学检测

除了单分子电活性标记的电化学检测方法

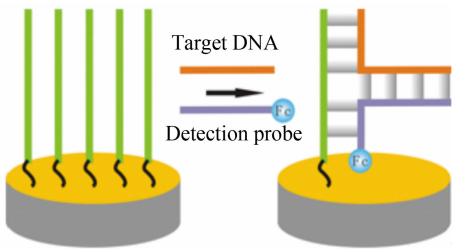


图 1 基于表面邻近杂交效应的电化学生物传感方法
Fig. 1 Electrochemical biosensing based on proximity-dependent surface hybridization assay

外,也可通过引入电活性分子吸附或者标记纳米粒子^[4]、催化酶^[5]等方式实现信号放大,以提高分析检测的灵敏度. 作者所在研究组 Mao 等^[6] 发展了一种基于分子信标探针和酶联放大的新型电化学 DNA 传感器(见图 2). 分子信标 5 端修饰有巯基,3 端修饰有生物素. 该结构被组装到电极表面以后,折叠成发卡结构,使 3 端的生物素靠近电极表面,由于空间位阻而不能够被亲和素识别结合. 当目标存在时,杂交破坏了发卡结构,使生物素离开电极表面,可与酶标亲和素结合,同时催化底物发生氧化还原反应,产生电化学信号.

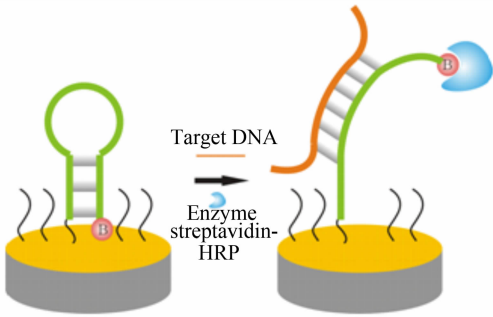


图 2 基于目标诱导构象变化与酶联检测的电化学生物传感方法
Fig. 2 Electrochemical biosensing based on target-dependent conformational switch with enzymatic detection

1.2 基因变异的电化学检测

人类基因组变异包括很多种方式,诸如长片段基因的缺失和复制(拷贝数变异, CNV), 基因倒位, 动态突变以及单碱基多态性等等. 其中单碱基多态性被认为是主导的变异形式, 同时也是最为普遍存在的基因变异. 人类基因组每 1000 个碱基就有 1 个位点存在单碱基多态性. 据报道, 人类基因组中大约含有 10^7 个单碱基变异的位点(碱基变

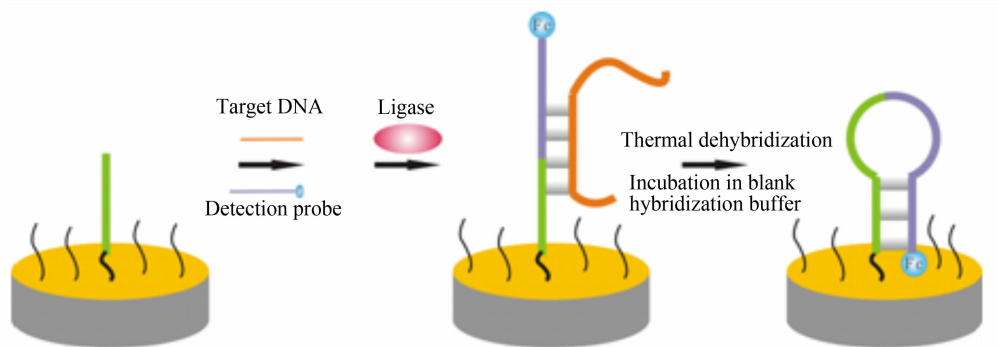


图3 基于连接酶的突变检测的电化学生物传感方法

Fig. 3 Electrochemical biosensing for ligase-based mutation detection

异的频率 $> 1\%$)^[7-9]. 单碱基多态性的检测分析非常有意义,除了作为遗传标记外,很多疾病(例如肿瘤和一些遗传病)都与单碱基多态性有关. 单碱基多态性对核酸杂交以及许多核酸工具酶的反应均有明显的影响. 有鉴于此,近年来大量文献报道了与此相关的检测方法. 第1类是基于连接酶等位特异性连接的原理. 湖南大学 Wu 等^[10]利用 DNA 连接酶的错配区分效应建立了一种高灵敏的点突变检测技术(如图3). 在目标序列存在的情况下,5端磷酸化及3端电话活性分子二茂铁标记的检测探针可以和固定于电极表面的捕获探针三者构成含有切刻的双链结构. 如果目标核酸序列和2个探针完全匹配,在连接酶的作用下捕获探针和检测探针被连接在一起,热变性去掉目标以后,分子内折叠成类似分子信标的发卡结构,使电话活性分子靠近电极表面产生电流信号. 若目标序列与探针不匹配,存在突变位点,则两探针不能连接,也无法检测到电流信号. 此外,由于连接酶之出色的碱基错配区分能力,现代生物分析化学据此发展了多种依赖于连接酶的核酸点突变检测的电化学分析方法. 其中某些方法甚至可在 10^6 倍野生型基因中检测突变体^[11-12]. 这种高特异性对于实体瘤的分子诊断具有重要的意义.

第2类方法则基于聚合酶等位特异性延伸的原理. 等位特异性延伸是利用 DNA 聚合酶的特性. 引物末端碱基与模板不匹配时,聚合酶不能够发生聚合延伸反应. Feng 等^[13]将该原理与碱性磷酸酯酶催化银沉积结合发展了一种高灵敏及高特异性的检测方法,实现了 β 地中海贫血-28 位点突变的检测分析. 除了前面两类外,作者所在研究组还报道了多种基因变异的电化学分析方法,例如等

位特异性杂交^[14],错配修复蛋白的特异性识别^[15]等.

2 功能核酸分子用于电化学分析检测

2.1 核酸适配体用于电化学识别分析

核酸适配体(Aptamer)是一类从人工合成的随机核酸序列文库中筛选得到的单链寡核苷酸,能够高亲合性和高特异地与靶标分子结合,包括脱氧核糖核酸和核糖核酸2种. 核酸适配体可由指数富集配体系统进化法(Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment, SELEX)筛选获得^[16-17]. 与抗体相比,由于核酸适配体具有较高的化学合成与储存稳定性,并且具备高亲和力和特异性,因此逐渐成为生物分析化学研究的热点,为开发新的分子识别技术提供了一个有力的平台. 与核酸序列的识别分析类似,在电化学分析中,根据核酸适体与目标的识别原理不同,可以将各种基于适体的分析技术大致分为以下几类:

1) 基于构象互变的识别原理. 由于在自由状态下和与目标结合后,核酸适体的二级和三级空间构象均会发生变化. 这种构象变化可以改变电话活性分子与电极表面的距离^[18-20],还可以产生各种核酸酶识别结构^[21-22]. 近年来依据这种变化发展了很多相关检测技术,实现了对靶分子的检测. 例如,图4为 Zhang 等^[21]以腺苷为模型体系,建立一种基于构象互变的电化学检测技术的示意. 该技术首先设计了一个含有腺苷适体的探针,探针同时还引入了内切酶的识别序列. 探针的一端固定于电极表面,另一端标记电话活性分子. 当没有腺苷的时候,由探针折叠成的二级结构中含有内切

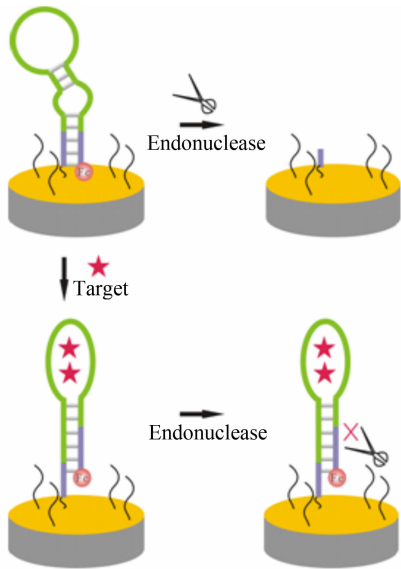


图 4 基于构象变化与内切酶抑制的电化学核酸适配体传感方法
Fig. 4 Electrochemical aptamer sensing based on conformational change and endonuclease inhibition

酶识别的双链序列区被酶切割后,电活性分子离开电极表面.当腺苷与适体区结合后,诱发构象变化,破坏了内切酶识别的双链区,不能被内切酶剪切,因而可以检测到电化学信号,实现腺苷的定量检测.

2) 基于链置换的识别原理. 湖南大学的 Wu 等^[23]利用核酸适体与靶分子结合引起链置换反应的原理设计了一种具有高稳定性和高再生能力的电化学传感器. 该传感器将捕获探针固定于电极表面,含有腺苷适体的检测探针一端标记电活性分子,另一端与捕获探针杂交. 由于适体与腺苷具有较强的结合自由能,致使检测探针从电极表面被置换解离,降低了氧化还原电流信号,实现了腺苷的定量分析.

3) 基于表面邻近杂交效应的识别原理. 与核酸序列的检测类似,适体与靶分子结合的邻近效应是指适体与靶分子的结合而使不同或者相同的适体间移近,造成适体局部浓度增加,从而改变适体与探针之间结合稳定性的效应. 血小板衍生生长因子 BB 是一种同源二聚体蛋白质分子,可以同时结合两个核酸适配体. Zhang 等^[24]利用 BB 的特点,设计了一种基于邻近表面杂交的电化学传感器(见图 5). 当 2 个以相同的电活性分子标记的核酸适配体同时与同一个血小板衍生生长因子的分子结合时,由于邻近效应,而使两核酸适配体局部

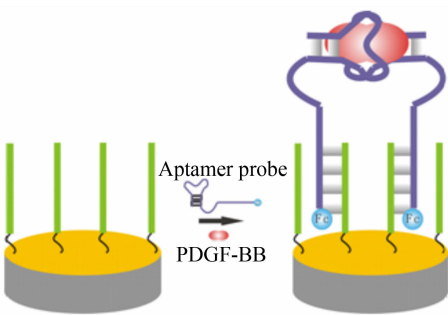


图 5 基于表面邻近杂交分析的核酸适配体传感方法
Fig. 5 Electrochemical aptamer sensing based on proximity-dependent surface hybridization assay

浓度增加,增强了与电极界面固定的一对核酸捕获探针的杂交稳定性,从而产生电流信号. 但是,该方法只适用于具有 2 个或者 2 个以上适体结合位点的分子,因此几乎所有的小分子和大多数蛋白质都不能得以应用.

此外,对于存在多个适体结合位点或者核酸适体和抗体不同结合位点的靶分子或靶分子聚集体,还可以设计夹心式核酸适体电化学分析方法. 湖南大学 Zhou 等^[25]将抗体固定于电极表面以捕获蛋白目标,然后加入含有核酸适体序列和引物序列的探针,该引物可以介导滚环复制反应,通过滚环复制产物耦联酶催化银沉积放大,实现超灵敏的蛋白质分析.

2.2 碱基识别功能用于电化学分析检测

现代分析化学研究发现,某些金属离子可以和碱基螯合,比如胞嘧啶和银离子形成 C-Ag⁺-C 结构^[26-27],胸腺嘧啶和汞离子形成 T-Hg²⁺-T 结构^[28-29]等等. 这种识别方式也成为电化学分析中一个重要的工具,用于金属离子的定量分析. Liu

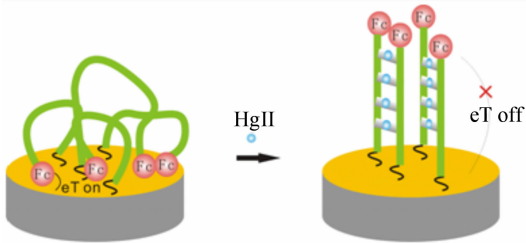


图 6 基于链间协同配位诱导构象变化的电化学生物传感方法
Fig. 6 Electrochemical biosensing based on Conformational Switch Mediated by Interstrand Cooperative Coordination

等^[30]将一端含有巯基,另一端含有电活性分子二茂铁的聚 T 探针固定于电极表面(如图 6)。汞离子不存在时,探针呈随机柔性单链状态,电活性分子可以靠近电极表面,检测到电化学信号。当溶液中含有汞离子时,由于配位作用,探针发生构象变化,彼此邻近的探针形成 $\text{T-Hg}^{2+}\text{-T}$ 复合结构。导致探针呈刚性双链状态,电活性分子远离电极表面,降低了电化学信号,从而实现了汞离子的定量分析检测。当然,除了构象变化外,金属离子的识别检测分析,类似于核酸适体的识别方式,可以产生链置换^[31],也可引入纳米粒子^[32]和催化酶^[33]的信号放大等识别分析方法。

2.3 核酸作为电化学分析检测的信号来源

核酸分子因其自身序列多变和易于编码,以及化学合成简单稳定和易于修饰,并且容易被工具酶处理及实现扩增和信号放大等优势,以此作为信号来源的探索也受到分析化学家的重视。作者所在研究组 Wu 等^[34]利用核酸与化学小分子偶联,可以为有机小分子文库的核酸进行编码,从而为建立高通量与高效率的小分子药物电化学筛选提供依据,也有望成为蛋白质的高通量检测和研究蛋白质与小分子相互作用的新途径。

3 结论与展望

基于核酸分子识别的电化学分析方法是当前分析化学研究中极为活跃的领域之一。虽然核酸的电化学分析具有简便、快速、灵敏、成本低廉和不需要大型仪器等优点,但是电化学核酸分析仍然存在着某些局限,例如通量不足等。此外,从核酸作为功能分子的角度,作者很高兴地看到癌细胞核酸适体的筛选使癌细胞的电化学分析成为可能,为肿瘤的早期诊断提供了新的技术平台。但是,癌细胞与核酸适体较低的结合常数限制了高灵敏以及单细胞水平的检测分析。因此这一领域也成为当前电化学分析的重要课题和所面临的挑战。

参考文献(References):

- [1] Fan C H, Plaxco K W, Heeger A J. Electrochemical interrogation of conformational changes as a reagentless method for the sequence-specific detection of DNA[J]. PNAS, 2003, 100: 9134-9137.
- [2] Xiao Y, Lubin A A, Baker B R, et al. Single-step elec-

tronic detection of femtomolar DNA by target-induced strand displacement in an electrode-bound duplex[J]. PNAS, 2006, 103(45): 16677-16680.

- [3] Zhang Y L, Wang Y, Wang H B, et al. Electrochemical DNA biosensor based on the proximity-dependent surface hybridization assay [J]. Anal Chem, 2009, 81: 1982-1987.
- [4] Zhang J, Song S P, Zhang L Y, et al. Sequence-specific detection of femtomolar DNA via a chronocoulometric DNA sensor (CDS): effects of nanoparticle-mediated amplification and nanoscale control of DNA assembly at electrodes[J]. J Am Chem Soc, 2006, 128: 8575-8580.
- [5] Patolsky F, Lichtenstein A, Willner I. Highly sensitive amplified electronic detection of DNA by biocatalyzed precipitation of an insoluble production to electrodes [J]. Chem Eur J, 2003, 9: 1137-1145.
- [6] Mao X, Jiang J H, Xu X M, et al. Enzymatic amplification detection of DNA based on "molecular beacon" biosensors [J]. Biosens Bioelectron, 2008, 23: 1555-1561.
- [7] Kruglyak L, Nickerson D A. Variation is the spice of life [J]. Nat Genet, 2001, 27: 234-236.
- [8] Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt S C, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms [J]. Nature, 2001, 409: 928-933.
- [9] Venter J C, Adams M D, Myers E W, et al. The sequence of the human genome [J]. Science, 2001, 291: 1304-1351.
- [10] Wu Z S, Jiang J H, Shen G L, et al. Highly sensitive DNA detection and point mutation identification: an electrochemical approach based on the combined use of ligase and reverse molecular beacon [J]. Hum Mutat, 2007, 28: 630-637.
- [11] Huang Y, Zhang Y L, Xu X M, et al. Highly specific and sensitive electrochemical genotyping via gap ligation reaction and surface hybridization detection [J]. J Am Chem Soc, 2009, 131: 2478-2480.
- [12] Zhang S B, Wu Z S, Shen G L, et al. A label-free strategy for SNP detection with high fidelity and sensitivity based on ligation-rolling circle amplification and intercalating of methylene blue [J]. Biosens Bioelectron, 2009, 24: 3201-3207.
- [13] Feng K J, Zhao J J, Wu Z S, et al. High-sensitive electrochemical detection of point mutation based on polymerization-induced enzymatic amplification [J]. Bio-

- sens Bioelectron, 2011, 26: 3187-3191.
- [14] Hu R, Wu Z S, Zhang S B, et al. Robust electrochemical system for screening single nucleotide polymorphisms[J]. Chem Commun, 2011, 47: 1294-1296.
- [15] Chen H, Liu X J, Liu Y L, et al. Electro-chemical scanning of DNA point mutations via MutS protein-mediated mismatch recognition[J]. Biosens Bioelectron, 2009, 24: 1955-1961.
- [16] Ellington A D, Szostak J W. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands[J]. Nature, 1990, 346: 818-822.
- [17] Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase[J]. Science, 1990, 249: 505-510.
- [18] Xiao Y, Lubin A A, Heeger A J, et al. Label-free electronic detection of thrombin in blood serum by using an aptamer-based sensor[J]. Angew Chem Int Ed, 2005, 44: 5456-5459.
- [19] Wu Z S, Zheng F, Shen G L, et al. A hairpin aptamer-based electrochemical biosensing platform for the sensitive detection of proteins[J]. Biomaterials, 2009, 30: 2950-2955.
- [20] Wu Z S, Chen C R, Shen G L, et al. Reversible electronic nanoswitch based on DNA G-quadruplex conformation: a platform for single-step, reagentless potassium detection[J]. Biomaterials, 2008, 29: 2689-2696.
- [21] Zhang S B, Hu R, Hu P, et al. Blank peak current-suppressed electrochemical aptameric sensing platform for highly sensitive signal-on detection of small molecule[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38: e185.
- [22] He J L, Yang Y F, Shen G L, et al. Electrochemical aptameric sensor based on the Klenow fragment polymerase reaction for cocaine detection[J]. Biosens Bioelectron, 2011, 26: 4222-4226.
- [23] Wu Z S, Guo M M, Zhang S B, et al. Reusable electrochemical sensing platform for highly sensitive detection of small molecules based on structure-switching signaling aptamers[J]. Anal Chem, 2007, 79: 2933-2939.
- [24] Zhang Y L, Huang Y, Jiang J H, et al. Electrochemical aptasensor based on proximity-dependent surface hybridization assay for single-step, reusable, sensitive protein detection[J]. J Am Chem Soc, 2007, 129: 15448-15449.
- [25] Zhou L, Ou L J, Chu X, et al. Aptamer-based rolling circle amplification: a platform for electrochemical detection of protein[J]. Anal Chem, 2007, 79: 7492-7500.
- [26] Gong H, Li X H. Y-type, C-rich DNA probe for electrochemical detection of silver ion and cysteine[J]. Analyst, 2011, 136: 2242-2246.
- [27] Ono A, Cao S Q, Togashi H, et al. Specific interactions between silver(I) ions and cytosine-cytosine pairs in DNA duplexes[J]. Chem Commun, 2008: 4825-4827.
- [28] Miyake Y, Togashi H, Tashiro M, et al. Mercury(II)-mediated formation of thymine Hg(II) thymine base pairs in DNA duplexes[J]. J Am Chem Soc, 2006, 128: 2172-2173.
- [29] Tanaka Y, Oda S, Yamaguchi H, et al. ^{15}N - ^{15}N J-coupling across Hg(II): direct observation of Hg(II)-mediated T-T base pairs in a DNA duplex[J]. J Am Chem Soc, 2007, 129: 244-245.
- [30] Liu S J, Nie H G, Jiang J H, et al. Electrochemical sensor for mercury (II) based on conformational switch mediated by interstrand cooperative coordination[J]. Anal Chem, 2009, 81: 5724-5730.
- [31] Wu D H, Zhang Q, Chu X, et al. Ultrasensitive electrochemical sensor for mercury (II) based on target-induced structure-switching DNA[J]. Biosens Bioelectron, 2010, 25: 1025-1031.
- [32] Kong R M, Zhang X B, Zhang L L, et al. An ultrasensitive electrochemical "turn-on" label-free biosensor for Hg^{2+} with AuNP-functionalized reporter DNA as a signal amplifier[J]. Chem Commun, 2009: 5633-5635.
- [33] Zhang Z P, Tang A M, Liao S Z, et al. Oligonucleotide probes applied for sensitive enzyme-amplified electrochemical assay of mercury(II) ions[J]. Biosens Bioelectron, 2011, 26: 3320-3324.
- [34] Wu Z, Zhen Z, Jiang J H, et al. Terminal protection of small-molecule-linked DNA for sensitive electrochemical detection of protein binding via selective carbon nanotube assembly[J]. J Am Chem Soc, 2009, 131: 12325-12332.

Electrochemical Analysis based on Molecular Recognition of Nucleic Acids and its Applications

ZHOU Dian-ming, JIANG Jian-hui^{*}, SHEN Guo-li, YU Ru-qin

(*State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, College of Chemistry and Chemical Engineering,
Hunan University, Changsha 410082, China*)

Abstract: Nucleic acid as the carrier of genetic information and the functional molecules for molecular biology and bioanalytical chemistry has attracted increasing interest in electrochemical analysis. This review presents a brief outline of some electrochemical analytical assays based on molecular recognition of nucleic acids. Most of these methods are focused on the detection of nucleic acid sequence, genetic mutation and nucleic acids as functional molecules.

Key words: electrochemical analysis; nucleic acids; molecular recognition