

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580001920.4

[51] Int. Cl.

G01N 33/533 (2006.01)

G01N 33/58 (2006.01)

G01N 33/92 (2006.01)

[43] 公开日 2007年1月31日

[11] 公开号 CN 1906487A

[22] 申请日 2005.1.7

[21] 申请号 200580001920.4

[30] 优先权

[32] 2004.1.7 [33] GB [31] 0400235.8

[86] 国际申请 PCT/GB2005/000038 2005.1.7

[87] 国际公布 WO2005/066632 英 2005.7.21

[85] 进入国家阶段日期 2006.7.4

[71] 申请人 桑德兰大学

地址 英国桑德兰

[72] 发明人 弗雷德里克·约翰·罗韦尔

布伦登·约翰·泰阿克

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任  
公司

代理人 刘 慧 杨 青

权利要求书 3 页 说明书 4 页 附图 1 页

[54] 发明名称

作为指纹成像剂的纳米粒子

[57] 摘要

本发明涉及用于检测印迹例如指纹的新的分析法，并涉及适于实施这种方法的纳米粒子。

1. 纳米粒子, 该粒子封装了荧光物质。
2. 权利要求 1 的纳米粒子, 特征在于纳米粒子是溶胶凝胶由来的。
3. 权利要求 1 的纳米粒子, 特征在于纳米粒子固有地发荧光。
4. 权利要求 1 的纳米粒子, 特征在于纳米粒子捕获报道分子的蛋白质共轭物。
5. 权利要求 3 的纳米粒子, 特征在于报道分子共价结合于大分子。
6. 权利要求 3 的纳米粒子, 特征在于纳米粒子得自任选掺杂有稀土原子的硫化镉和硒化镉。
7. 权利要求 6 的纳米粒子, 特征在于稀土原子为铈 III 盐。
8. 权利要求 1 的纳米粒子, 特征在于纳米粒子基本上是球状的并且直径为 30 到 500 纳米。
9. 权利要求 1 的纳米粒子, 特征在于纳米粒子包括基于在纳米粒子内截留蛋白质-染料共轭物或 DNA -染料共轭物的荧光染料。
10. 权利要求 9 的纳米粒子, 特征在于染料选自德克萨斯红标记的明胶、猪甲状腺球蛋白, 和荧光素标记的牛血清白蛋白或者明胶。
11. 权利要求 1 的纳米粒子, 特征在于粒子的表面经过改性使得它们能够具有表面涂层。

12. 权利要求 11 的纳米粒子，特征在于粒子能够通过被动吸附或通过共价结合用疏水性分子覆盖粒子表面而进行改性。

13. 权利要求 12 的纳米粒子，特征在于疏水性分子选自磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺。

14. 权利要求 2 的纳米粒子，特性在于溶胶凝胶由来的纳米粒子包括包埋在粒子内部的德克萨斯红-猪甲状腺球蛋白共轭物。

15. 权利要求 1 的纳米粒子，特性在于粒子包括高荧光强度。

16. 权利要求 1 的纳米粒子，特性在于表面涂层是亲脂性的。

17. 权利要求 1 的纳米粒子，特性在于粒子适于结合于皮脂由来的组分。

18. 权利要求 17 的纳米粒子，特性在于皮脂由来的组分选自蜡、胆固醇和角鲨烯。

19. 权利要求 16 的纳米粒子，特征在于亲脂性涂层选自磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺。

20. 权利要求 11 的纳米粒子，特性在于涂层以被动方式直接吸附到溶胶凝胶粒子上。

21. 权利要求 1 的纳米粒子，特性在于粒子由 TEMOS(四甲氧基硅烷)形成。

22. 权利要求 21 的纳米粒子，特性在于粒子包括氨基丙基氧基硅烷由来的溶胶凝胶。

23. 权利要求 22 的纳米粒子，特性在于粒子的制备包括戊二醛处理。

24. 权利要求 23 的纳米粒子，特性在于戊二醛处理之后是氰基硼氢化物还原。

25. 权利要求 24 的纳米粒子，特性在于氰基硼氢化物还原之后是乙醇胺洗涤。

26. 权利要求 1 的纳米粒子，特性在于粒子是未覆层纳米粒子并且携带净的负电荷或者净的正电荷。

27. 权利要求 1 的纳米粒子，特性在于粒子具有亲水性涂层。

28. 权利要求 27 的纳米粒子，特性在于粒子携带净的负电荷或者净的正电荷。

29. 权利要求 27 的纳米粒子，特性在于亲水性涂层包括聚赖氨酸。

30. 检测印迹（如指纹）的方法，包括使用权利要求 1 的纳米粒子。

31. 权利要求 30 的方法，包括确定指纹亚结构的细节。

32. 权利要求 1 的方法，特性在于扫描在 595 纳米的激发波长进行。

33. 基本上如关于随附的实施例的描述的纳米粒子或者方法。

---

### 作为指纹成像剂的纳米粒子

本发明涉及新的分析法并涉及适于实施这种方法的纳米粒子。

可以在各种环境下形成指纹。首先包括将诸如血液或者涂剂的材料从手指表面转移到一表面上。或者，手指表面自身可在诸如血液或者涂剂的湿表面上形成印痕，或在诸如油灰的塑性或韧性表面内留下压痕。在这些及其它例子中，通常形成清晰的印迹而无需增强印记或使印记显影。

在另外的环境中，手指与表面的接触可能在表面上留下残余物，这是由于从皮肤自然分泌的化学品的转移所致。这种印迹称作潜指纹，并且它们通常需要处理以便使它们变得可见。化学实体源自于从外分泌和顶分泌的汗腺和皮脂腺的分泌物。通常，主要贡献来自于手掌上的外分泌腺和来自于皮肤其他区域的皮脂腺。得自外分泌腺的分泌物的主要组分为水(最初为 98 - 99%，但是通过蒸发迅速丧失)，阴离子(包括氯离子)，阳离子，氨基酸、蛋白质胨，乳酸和葡萄糖，和得自皮脂腺的脂肪酸、甘油三酯、胆固醇、角鲨烯、胆甾醇酯和蜡酯。

迄今为止，已经使用了各种策略用来增强潜指纹的可见度。这些策略包括使用针对指纹内组分的特定方法，采用物理特性而不是特异性化学相互作用的一般方法。前一种方法的例子包括使用硝酸银形成具有氯离子的黑色沉淀物，使用与氨基酸反应的水合茚三酮形成紫色染料，附着于蛋白质的酰胺黑，碘，龙胆紫和与脂肪酸反应的苏丹黑。非特异性试剂的例子包括强力胶(super glue)和隔离剂(dusting powder)，它们附着到指纹的皮脂由来的疏水性组分。

US 专利 6,485,981 描述了用于指纹成像和记录的方法和仪器。与

潜指印的脂类残余物密切接触的荧光染料当暴露于光能下时发荧光。得到的发荧光的图像可用照片进行记录。

还有各种基于金属、碳和石松子(*lycopodium*)的细粉状隔离剂。例子包括发荧光的潜在指纹粉，其包括不同的荧光染料并且还具有可使它们有磁性以便于应用的组分。

使用这些试剂通常得到指纹，这些指纹可容易地通过它们的隆起图案和它们的不规则图案进行识别，以便可使用综合特性辨识指纹的“拥有者”。这在多孔表面上淀积指纹或当仅仅存在痕量指纹时出现问题。

我们目前开发了新型的潜指纹显影剂。这些新型试剂包括荧光纳米粒子，在荧光染料衍生物的存在下通常形成为溶胶凝胶粒子，以便生成荧光纳米粒子。

因此，本发明的第一方面提供荧光纳米粒子。

本发明的纳米粒子(溶胶凝胶由来的纳米粒子)优选可以通过用各种荧光报道分子捕获被标记的生物高分子而发荧光。这种组合的例子包括用于蛋白质的德克萨斯红(Texas Red)和荧光素和用于DNA的溴化3,8-二氨基-5-乙基-6-苯基菲啶鎓。前种染料共价结合在高分子上，而后种染料分子插入DNA中。或者，可使用任何具有固有荧光的纳米粒子，如得自硫化镉和硒化镉的那些(和掺杂有稀土原子如镧 III 盐)。

然而，纳米粒子的尺寸可以改变，优选纳米粒子可基本上是球状的，且直径可为30到500纳米。

已经基于在纳米粒子的制备中在纳米粒子内截留蛋白质-染料共轭物而使用各种荧光染料。染料的例子包括德克萨斯红标记的明胶和

猪甲状腺球蛋白，以及荧光素标记的牛血清白蛋白和明胶。

溶胶凝胶过程通常包括通过溶胶凝胶转变形成充满溶剂的固体聚合物基质骨架的双相材料。当除去溶剂时，凝胶转变成干凝胶。溶胶凝胶已经在各种分析系统中被广泛用作基质，包括用于封装生物高分子如蛋白质和酶乃至整个细胞。

在生物应用中，溶胶凝胶过程包括制备不溶性骨架或笼状物，在不溶性骨架或笼状物中捕获或封装了生物实体。

可通过被动吸附或者通过共价连接，用促进这种粒子与来自表面上的潜指纹的疏水性沉淀物结合的疏水性分子覆盖粒子表面而对这种粒子进行改性。疏水性分子的例子包括磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺，尽管理论上可使用任何疏水性分子。

其中包埋有德克萨斯红-猪甲状腺球蛋白共轭物的溶胶凝胶由来的纳米粒子已经通过德克萨斯红染料的荧光表明与表面上的潜指纹结合。

因为纳米粒子比目前用于定位被动指纹的金属粒子小得多，所以有可能辨别指纹亚结构的更多细节并使用这种新的细节以更大的准确度辨别指纹的拥有者，即使使用不完全的指纹。还可能使用表面上粒子的高荧光强度以增强这种指纹的检测灵敏性。

我们已经改进了这些粒子的表面，以便我们可以对其附着各种表面涂层。对于指纹显影，最终涂层为亲脂性的（“憎水的”）生物相容性化学品，其优选与皮脂由来的组分如蜡、胆固醇和角鲨烯结合。这种亲脂性化学品的例子包括磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺。为了实现该涂层，我们通过库伦相互作用被动地直接吸附化学品到由 TEMOS（四甲氧基硅烷）形成的溶胶凝胶粒子上，或者使用氨基丙基氧基硅

烷由来的溶胶凝胶使化学品共价结合到粒子上。在后种情况中，结合可经由戊二醛处理、然后用氰基硼氢化物(cyanoborohydride)还原，然后用乙醇胺洗涤以减少非特异性结合。

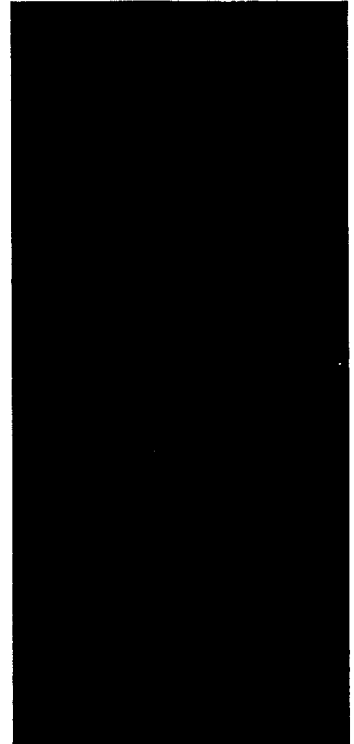
我们还制备了其它溶胶凝胶由来的纳米粒子，它们涂有亲水性（“喜水的”）的携带净的负电荷或者静的正电荷的化学品。前者的粒子包括未覆层的纳米粒子，后者的粒子包括涂有聚赖氨酸的纳米粒子。当我们施用这些亲水性粒子到指纹上并扫描表面上由包埋在粒子内的荧光染料发出的荧光时，看见了一些荧光，但是未观察到特征图案的显影（图 1a）。使用德克萨斯红染料时，在 595 纳米的激发波长进行扫描，使用 612 纳米的发射波长。相比之下，当使用亲水性覆层粒子时，不规则图案清楚可见，表明选择性结合到表面上的皮脂由来的组分(图 1b)。当没有附加纳米粒子时，未看见荧光(图 1c)。



**a**



**b**

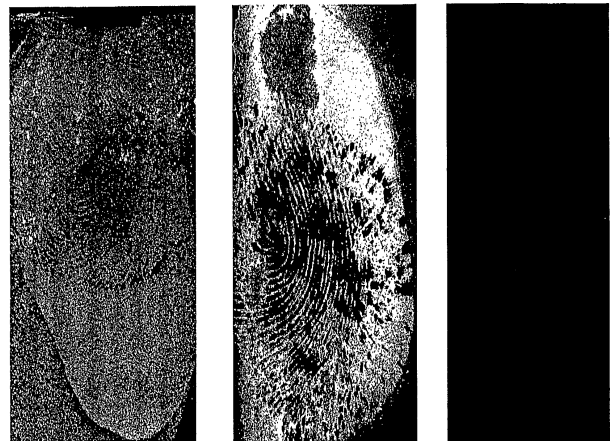


**c**

专利名称(译)	作为指纹成像剂的纳米粒子		
公开(公告)号	<a href="#">CN1906487A</a>	公开(公告)日	2007-01-31
申请号	CN200580001920.4	申请日	2005-01-07
[标]发明人	弗雷德里克·约翰·罗韦尔 布伦登·约翰·泰阿克		
发明人	弗雷德里克·约翰·罗韦尔 布伦登·约翰·泰阿克		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/58 G01N33/92		
CPC分类号	G01N33/92 G01N33/533 B82Y15/00 G01N33/588 Y10T428/2982 Y10T428/2991		
代理人(译)	刘慧 杨青		
优先权	2004000235 2004-01-07 GB		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及用于检测印迹例如指纹的新的分析法，并涉及适于实施这种方法的纳米粒子。



a

b

c