

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102156119 A

(43) 申请公布日 2011.08.17

(21) 申请号 201110117719.X

(22) 申请日 2011.05.06

(71) 申请人 东北师范大学

地址 130024 吉林省长春市人民大街 5268 号

(72) 发明人 苏忠民 柴芳 王春刚 罗顺睿
王婷婷 李鹿

(74) 专利代理机构 长春市东师专利事务所
22202

代理人 李荣武 刘延军

(51) Int. Cl.

G01N 21/65 (2006.01)

G01N 33/531 (2006.01)

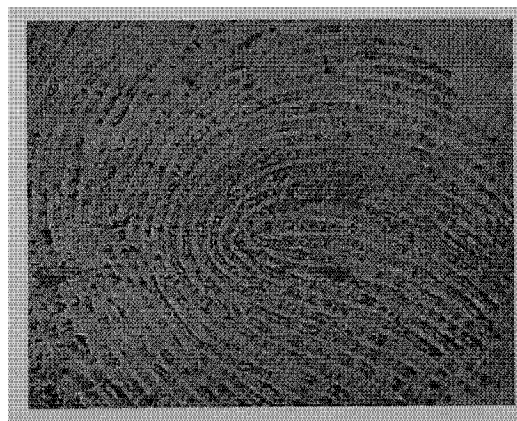
权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 1 页

(54) 发明名称

利用拉曼光谱检测指纹中潜在信息的方法

(57) 摘要

本发明属于检测技术领域,具体涉及显现潜指纹并利用拉曼光谱检测指纹的潜在信息的方法。本发明是在显现汗液潜指纹的同时,用抗体特异性识别技术结合拉曼光谱法分析检测显现后的指纹代谢物中的特异性蛋白等潜在信息。首先选择需要检测的目标代谢物的抗体,和具有特征拉曼信号的分子修饰金纳米颗粒,制成检测探针,将该探针与待测的指纹作用,使抗体通过特异性作用与被测指纹中的目标代谢物相结合发生免疫反应,然后利用银染法将银在指纹表面被还原,将样品测试拉曼光谱。该方法能够准确检测指纹中汗液某种特征代谢物的存在,灵敏高、快速、易操作具备特异性。



1. 利用拉曼光谱检测指纹中潜在信息的方法,其特征是:

1)、探针的制备:

首先利用柠檬酸钠作还原剂制备 15nm 的金纳米颗粒,然后将可天宁的抗体即抗可天宁与拉曼信号分子对巯基苯胺或对巯基苯甲酸分别修饰在金纳米颗粒上,制备成可天宁的检测探针,具体步骤如下:

100mL 的 1mM/L 氯金酸溶液加热煮沸后,边搅拌边加入 10mL 的 38.8mM/L 柠檬酸钠溶液,继续加热 15 分钟后,搅拌至溶液温度降至室温,所得溶液为红色的金纳米颗粒溶液,尺寸为 15nm,取 4-5mL 金纳米颗粒与 20-50 μ L 的 10^{-4} - 10^{-6} M/L 抗可天宁溶液垂直混合 10-24 小时后,离心弃去未反应的抗体重新分散到等量的超纯水中即得到抗可天宁标记的金纳米颗粒,然后将对巯基苯胺、或对巯基苯甲酸 20-50 μ L 的 0.1mM/L 加入继续垂直混合 10-24 小时,然后离心弃去未反应的拉曼分子对巯基苯胺或对巯基苯甲酸,重新分散到超纯水中,得到由抗可天宁和对巯基苯胺或对巯基苯甲酸标记的金纳米探针,即特异性标识的检测探针;

2)、检测指纹代谢物:

将上述制备的金纳米探针滴在待测的指纹样品上,静置 5-20 分钟,使金纳米探针表面的抗体与指纹的残留汗液代谢物中的可天宁充分反应,将金纳米探针通过特异性的作用固定在指纹表面,然后用大量的水冲洗指纹样品 5-10 分钟,将未反应的金纳米探针冲洗掉,接着将指纹样品放入由 0.02 克硝酸,0.5 克对苯二酚,5mL pH 为 3.8 的柠檬酸缓冲溶液和 15mL 水混合后配制而成的银染溶液中 5-15 分钟,使银在指纹中固定存留的金探针的催化作用下被还原并沉积在金纳米探针的表面,取出指纹样品后再用大量水冲洗,然后测试指纹样品的激光波段在 488nm 或 514nm 拉曼光谱,若得到标记拉曼分子的特征峰则表明指纹样品中有尼古丁的代谢物 - 可天宁的存在,证明提供指纹者吸烟,否则说明指纹样品中没有可天宁的存在,证明提供指纹者不吸烟,该方法还适用于大麻酚、美沙酮、可卡因、吗啡的药物的代谢物的检测,只需在制备探针时选择相应的代谢物的抗体,其它步骤相同。

利用拉曼光谱检测指纹中潜在信息的方法

技术领域

[0001] 本发明属于检测技术领域,具体涉及显现潜指纹并利用拉曼光谱检测潜指纹携带的潜在信息的方法。

背景技术

[0002] 指纹鉴定是进行个人识别的最可靠的方法之一,指纹在法庭科学和刑事诉讼过程中,起着重要的证据作用。指纹不仅可以鉴别人的身份,最近,英国的科学家却又发现,一个人的年龄甚至生活方式,比如经常吃什么药,用什么化妆品,吸烟状况,平时的生活区域等,都可以通过指纹反映出来 (R. Leggett, E. E. Lee-Smith, S. M. Jickells, D. A. Russell, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, 46, 4100-4103.)。因此,通过指纹除了可以鉴定出个体的身份,还可以通过对指纹汗液中的代谢物进行分析,进一步检测出个体的其它潜在的信息例如是否吸烟、吸毒等,这样获得更多有价值的个体特征信息,能够在犯罪调查中发现有关留下指纹者生活方式的信息,以便缩小嫌疑人的范围 (P. Hazarika, S. M. Jickells, K. Wolff, D. A. Russell, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2008, 47, 10167-10170)。例如可以借助指纹揭示嫌疑人是否吸毒、吸烟、服用药物以及他所吃过的食物等等,同时也可以确诊某些疾病,有利于在案件中判断和分析案情及识别罪犯等。

[0003] 人的指纹中的汗液成分是相同的,98%是水,剩下的是皮脂等腺体,成分是一些有机物质,如氨基酸、尿素等,还有一些无机物质,如一些金属阳离子、阴离子等,它们大多和人的饮食有关,这些都是正常生活中人体正常代谢的产物。如果吸食毒品其代谢后的有机产物也可以留在指纹的汗腺里,自然也可以随汗液通过汗孔成为指纹鉴定的信息之一。拉曼光谱是提供快速、简单、可重复、且更重要的是无损伤的定性定量分析,它无需样品准备,样品可直接通过光纤探头或者通过玻璃、石英和光纤测量,利用表面增强拉曼技术就可以大大加强拉曼光谱的灵敏度。表面增强拉曼光谱学 (SERS) 已成为分析检测研究中活跃的一个领域。利用特异性抗体与具有拉曼信号的分子标记检测探针,通过特异性抗体的识别作用结合灵敏的拉曼信号,能够准确灵敏地检测目标蛋白质,是一种集多种优点于一体的检测方法。利用该方法将潜指纹通过特异性抗体和拉曼和分子标记的探针显现并检测,得到结果不但提供指纹图像,而且提供指纹提供者的个体代谢信息,有利于在案件中判断和识别罪犯等。

[0004] 此外,目前,吸毒检测在对涉嫌吸毒的人员进行生物学检测时,检测样本为采集的被检测人员的尿液、血液或者毛发等生物样本,研发更简单易操作的检测方法和扩大检测样本范围,简化操作过程,必将为公安机关认定吸毒行为提供科学依据且提高工作效率。

[0005] 本发明实现了在显现汗液潜指纹的同时,用抗体标记结合拉曼光谱法分析检测显现后的指纹代谢物中的特异性蛋白等潜在信息。

发明内容

[0006] 本发明的目的是在显现汗液潜指纹的同时,用抗体特异性识别技术结合拉曼光谱

法分析检测显现后的指纹代谢物中的特异性蛋白等潜在信息。

[0007] 首先选择需要检测的目标代谢物的抗体（如检测尼古丁的代谢物——可天宁，需要用抗可天宁的抗体），用该目标抗体和具有特征拉曼信号的分子（如对巯基苯胺、对巯基苯甲酸等）修饰金纳米颗粒，制成检测探针，然后该探针与待测的指纹作用，使抗体通过特异性作用与被测指纹中的目标代谢物相结合发生免疫反应，然后用大量水冲洗掉未发生反应的金纳米颗粒探针，如果指纹中存在目标代谢物，金纳米颗粒由于抗体与之结合的原因留在指纹中，若不存目标代谢物，则金纳米颗粒会被从指纹样品上洗掉，然后利用银染法将银在指纹表面被还原，生成的银覆盖在指纹的汗液残留部分，将此样品测试拉曼光谱，若能得到特征的拉曼信号，则证明指纹样品中存在目标代谢物，若得不到特征的拉曼信号，则证明指纹样品中不存在目标代谢物。该方法能够准确检测指纹中汗液某种特征代谢物的存在，灵敏高，具备特异性。

[0008] 以检测个体指纹中尼古丁的代谢物——可天宁的方法为例：

[0009] 1、探针的制备：

[0010] 首先利用柠檬酸钠作还原剂制备 15nm 的金纳米颗粒，然后将可天宁的抗体即抗可天宁与拉曼信号分子（对巯基苯胺、对巯基苯甲酸）分别修饰在金纳米颗粒上，制备成可天宁的检测探针，具体步骤如下：

[0011] 100mL 的 1mM/L 氯金酸溶液加热煮沸后，边搅拌边加入 10mL 的 38.8mM/L 柠檬酸钠溶液，继续加热 15 分钟后，搅拌至溶液温度降至室温，所得溶液为红色的金纳米颗粒溶液，尺寸为 15nm。取 4-5mL 金纳米颗粒与 20-50 μ L 的 10^{-4} - 10^{-6} M/L 抗可天宁溶液垂直混合 10-24 小时后，离心弃去未反应的抗体重新分散到等量的超纯水中即得到抗可天宁标记的金纳米颗粒，然后将对巯基苯胺（或对巯基苯甲酸）20-50 μ L 的 0.1mM/L 加入继续垂直混合 10-24 小时，然后离心弃去未反应的拉曼分子对巯基苯胺（或对巯基苯甲酸），重新分散到超纯水中，得到由抗可天宁和对巯基苯胺（或对巯基苯甲酸）标记的金纳米探针，即特异性标识的检测探针。

[0012] 2、检测指纹代谢物

[0013] 将上述制备的金纳米探针滴在待测的指纹样品上，静置 5-20 分钟，使金纳米探针表面的抗体与指纹的残留汗液代谢物中的可天宁充分反应，将金纳米探针通过特异性的作用固定在指纹表面，然后用大量的水冲洗指纹样品 5-10 分钟，将未反应的金纳米探针冲洗掉，接着将指纹样品放入新配制的银染溶液中 5-15 分钟，使银在指纹中固定存留的金探针的催化作用下被还原并沉积在金纳米探针的表面，从而增强了指纹的信号表达，取出指纹样品后再用大量水冲洗，然后测试指纹样品的拉曼光谱（激光波段在 488nm 或 514nm），若得到标记拉曼分子的特征峰则表明指纹样品中有尼古丁的代谢物——可天宁的存在，证明提供指纹者吸烟，否则说明指纹样品中没有可天宁的存在，证明提供指纹者不吸烟。（银染溶液由 0.02 克硝酸，0.5 克对苯二酚，5mL pH 为 3.8 的柠檬酸缓冲溶液和 15mL 水混合后配制而成。）

[0014] 3、上述方法以可天宁为例，该方法还可适用于药物的代谢物的检测，如：大麻酚、美沙酮、可卡因、吗啡等，只需在制备探针时选择相应的代谢物的抗体，其它步骤相同。

[0015] 本发明具有如下优点：

[0016] 1、灵敏高、快速、易操作。

[0017] 2、不需要大型仪器,便于现场实时快速检测。

附图说明

[0018] 附图 1 为玻璃表面吸烟者潜指纹的显现图像;

[0019] 附图 2 为拉曼光谱 (a. 吸烟者指纹 b. 无烟指纹)。

具体实施方式

[0020] 实施例 1 :通过指纹检测尼古丁代谢物——可天宁

[0021] (1) 探针的制备:

[0022] 首先利用柠檬酸钠作还原剂制备 15nm 的金纳米颗粒,然后将可天宁的抗体——抗可天宁与拉曼分子(对巯基苯胺、对巯基苯甲酸)修饰在金纳米颗粒上,具体步骤如下:

[0023] 100mL 的 1mM/L 氯金酸溶液加热煮沸后,边搅拌边加入 10mL 的 38.8mM/L 柠檬酸钠溶液,继续加热 15 分钟后,搅拌至溶液温度降至室温,所得溶液为红色的金纳米颗粒溶液。取 4mL 金纳米颗粒与 20 μ L 10^{-5} M/L 的抗可天宁溶液垂直混合 12 小时后,离心弃去未反应的抗体重新分散到等量的超纯水中即得到抗可天宁标记的金纳米颗粒,然后将 20 μ L 的 0.1mM/L 对巯基苯胺溶液加入继续垂直混合 12 小时,然后离心弃去未反应的对巯基苯胺,重新分散到超纯水中,即得到由抗可天宁和对巯基苯胺标记的金纳米探针,即特异性标识的检测探针。

[0024] (2) 检测指纹代谢物

[0025] 将上述制备的金纳米探针滴在待测的指纹样品上,静置 10 分钟,使金纳米探针表面的抗体与指纹的残留汗液代谢物中的可天宁充分反应,将金纳米探针通过特异性的作用固定在指纹表面,然后用大量的水冲洗指纹样品 5 分钟,将未反应的金纳米探针冲洗掉,接着将指纹样品放入新配制的银染溶液中 10 分钟,使银在指纹中固定存留的金探针的催化作用下被还原并沉积在金纳米探针的表面,从而增强了指纹的信号表达,取出指纹样品后再用大量水冲洗,然后测试指纹样品的拉曼光谱,测试激光波段为 488nm,得到标记拉曼分子的特征峰则表明指纹样品中有尼古丁的代谢物——可天宁的存在,证明提供指纹者吸烟,否则说明指纹样品中没有可天宁的存在,证明提供指纹者不吸烟。(银染溶液由 0.02 克硝酸,0.5 克对苯二酚,5mL pH 为 3.8 的柠檬酸缓冲溶液和 15mL 水混合后配制而成。)

[0026] 实施例 2 :通过指纹检测麻醉药物吗啡

[0027] (1) 探针的制备:

[0028] 首先利用柠檬酸钠作还原剂制备 15nm 的金纳米颗粒,然后将抗吗啡的抗体——抗吗啡与拉曼分子(对巯基苯胺、对巯基苯甲酸)修饰在金纳米颗粒上,具体步骤如下:

[0029] 100mL 的 1mM/L 氯金酸溶液加热煮沸后,边搅拌边加入 10mL 的 38.8mM/L 柠檬酸钠溶液,继续加热 15 分钟后,搅拌至溶液温度降至室温,所得溶液为红色的金纳米颗粒溶液。取 4mL 金纳米颗粒与 20 μ L 10^{-5} M/L 的抗吗啡溶液垂直混合 12 小时后,离心弃去未反应的抗体重新分散到等量的超纯水中即得到抗吗啡标记的金纳米颗粒,然后将 20 μ L 的 0.1mM/L 对巯基苯胺溶液加入继续垂直混合 12 小时,然后离心弃去未反应的对巯基苯胺,重新分散到超纯水中,即得到由抗吗啡和对巯基苯胺标记的金纳米探针,即特异性标识的检测探针。

[0030] (2) 检测指纹代谢物

[0031] 将上述制备的金纳米探针滴在待测的指纹样品上,静置 10 分钟,使金纳米探针表面的抗体与指纹的残留汗液代谢物中的吗啡充分反应,将金纳米探针通过特异性的作用固定在指纹表面,然后用大量的水冲洗指纹样品 5 分钟,将未反应的金纳米探针冲洗掉,接着将指纹样品放入新配制的银染溶液中 10 分钟,使银在指纹中固定存留的金探针的催化作用下被还原并沉积在金纳米探针的表面,从而增强了指纹的信号表达,取出指纹样品后再用大量水冲洗,然后测试指纹样品的拉曼光谱,测试激光波段为 488nm,得到标记拉曼分子的特征峰则表明指纹样品中有吗啡的存在,证明提供指纹者服用过吗啡,否则说明指纹样品中没有吗啡的存在,证明提供指纹者未服用过吗啡。(银染溶液由 0.02 克硝酸,0.5 克对苯二酚,5mLpH 为 3.8 的柠檬酸缓冲溶液和 15mL 水混合后配制而成。)



图 1

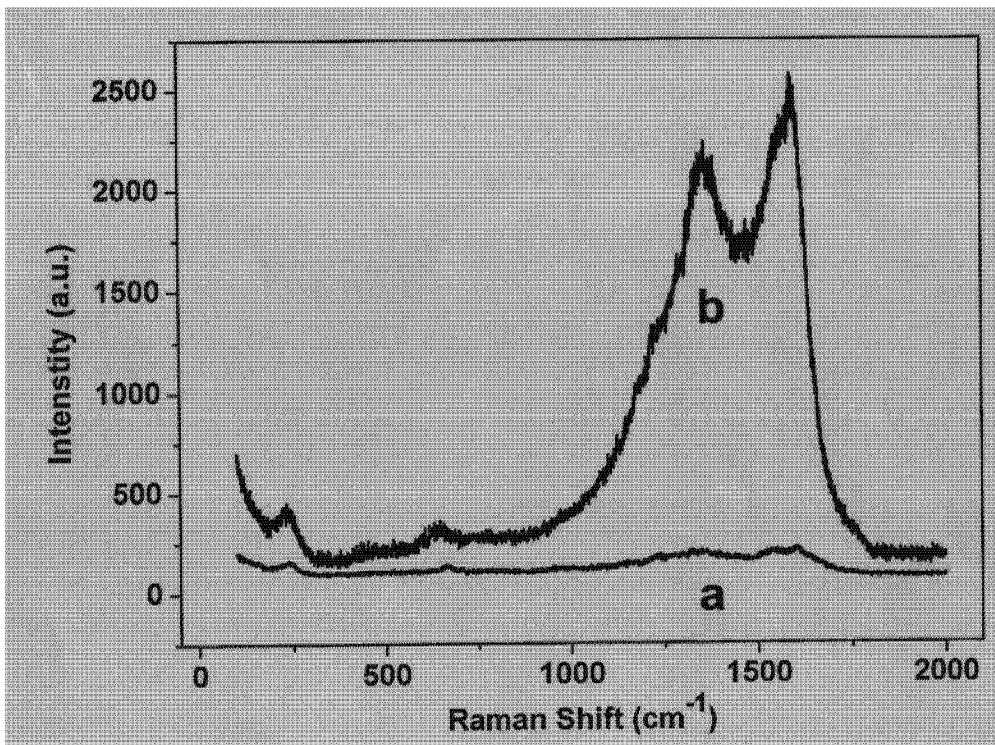


图 2

专利名称(译)	利用拉曼光谱检测指纹中潜在信息的方法		
公开(公告)号	CN102156119A	公开(公告)日	2011-08-17
申请号	CN201110117719.X	申请日	2011-05-06
[标]申请(专利权)人(译)	东北师范大学		
申请(专利权)人(译)	东北师范大学		
当前申请(专利权)人(译)	东北师范大学		
[标]发明人	苏忠民 柴芳 王春刚 罗顺睿 王婷婷 李鹿		
发明人	苏忠民 柴芳 王春刚 罗顺睿 王婷婷 李鹿		
IPC分类号	G01N21/65 G01N33/531		
代理人(译)	李荣武 刘延军		
其他公开文献	CN102156119B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于检测技术领域，具体涉及显现潜指纹并利用拉曼光谱检测指纹的潜在信息的方法。本发明是在显现汗液潜指纹的同时，用抗体特异性识别技术结合拉曼光谱法分析检测显现后的指纹代谢物中的特异性蛋白等潜在信息。首先选择需要检测的目标代谢物的抗体，和具有特征拉曼信号的分子修饰金纳米颗粒，制成检测探针，将该探针与待测的指纹作用，使抗体通过特异性作用与被测指纹中的目标代谢物相结合发生免疫反应，然后利用银染法将银在指纹表面被还原，将样品测试拉曼光谱。该方法能够准确检测指纹中汗液某种特征代谢物的存在，灵敏高、快速、易操作具备特异性。

