

Nachweis von Drogenmissbrauch durch Nanopartikel-verstärktes Fluoreszenz-Imaging von latenten Fingerabdrücken

Otto S. Wolfbeis*

Drogennachweis · Fluoreszenz · Imaging-Substanzen ·
Immunassays · Nanopartikel

Der vordere Bereich menschlicher Finger hat eine einzigartige Struktur, die sich beim Berühren fester Gegenstände in einem sehr charakteristischen Fingerabdruck niederschlägt.^[1] Schweiß wird bekanntlich durch die Poren der Haut ausgeschieden und auf der Hautoberfläche gespeichert. Von dort wird er auf andere Oberflächen übertragen, wo er ein typisches Muster, eben einen Fingerabdruck, hinterlässt. Man bezeichnet diesen Abdruck als latenten Fingerabdruck (LFA). Dessen Detektion und Identifizierung ist ein unverzichtbares Werkzeug der Forensik.^[1,2] LFAs können durch konventionelle Methoden nachgewiesen werden, aber auch unter Verwendung verschiedener Nano- und Mikropartikel^[3] oder durch Visualisierung mithilfe chromogener oder fluorescenzgener Reagentien.^[4] LFAs haben auch eine intrinsische Fluoreszenz, hauptsächlich im UV-Bereich,^[5] die aus dem Vorhandensein fluoreszierender Biomoleküle im Schweiß resultiert.

Diagnostische Bestimmungsverfahren werden an unterschiedlichsten Körperflüssigkeiten durchgeführt. Dazu zählen Blut, Serum, Urin, Speichel, Gewebsflüssigkeiten, Gehirnflüssigkeit und sogar Proben, die durch die Kondensation von Atem erhalten werden. Interessanterweise wurden diagnostische Methoden bisher jedoch kaum zur Analyse von Schweiß (oder von LFAs) angewendet. Dies ist einigermaßen überraschend, da bekannt ist, dass Schweiß vielzählige Metaboliten von klinischer Bedeutung enthält. Zudem sind LFAs ideale Proben für den Nachweis illegaler Drogen oder Explosivstoffe. Schweiß kann sowohl oral eingenommene Drogen als auch deren Metaboliten enthalten. Zum Nachweis entsprechender Spezies wurden z.B. Fluoreszenz- und Raman-Spektroskopie angewendet.^[6] Nun ist aber der Nachweis einer illegalen Droge in einem LFA nicht unbedingt ein positiver Nachweis für deren Konsum, da nie ausgeschlossen werden kann, dass sie nicht erst nach der Bildung des Fingerabdrucks auf den LFA aufgebracht wurde.

Eine elegante Lösung für dieses Problem wurde kürzlich in zwei Artikeln von Russell et al. beschrieben.^[7] Die Autoren

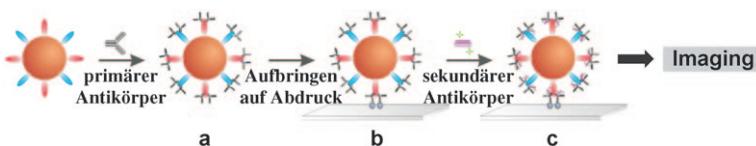
kombinierten dabei drei Arten von Hochtechnologien, nämlich a) magnetische Nanopartikel, b) Fluoreszenz-Imaging und c) einen Immunassay. Die Methode ist äußerst vielversprechend für den Nachweis verschiedenster Drogen, aber auch anderer Chemikalien, z.B. Produkte von Explosionen.

In ihrem ersten Beitrag^[7a] wurden modifizierte Gold-Nanopartikel (Gold-NPs) eingesetzt, um Cotinin, einen Metaboliten des Nikotins, immunologisch nachzuweisen. Die Antikörper gegen Cotinin wurden mit Gold-NPs funktionaliert, wodurch es zu erheblicher Signal- und Kontrastverstärkung beim Nachweis der spezifischen Wechselwirkung zwischen Antikörper und Cotinin auf dem LFA kam. Die Gold-NPs wurden zuerst auf ihrer Oberfläche mit Protein A belegt, die als Linker für die Immobilisierung des Antikörpers fungieren, wie in Schema 1 dargestellt (wo dann allerdings magnetische NPs eingesetzt werden). Das Protein A wurde in diesem Fall gewählt, da es die Ausrichtung der Antikörper unterstützt, wenn diese an das Protein binden. Für den Nachweis wurde eine Lösung von Nanopartikeln mit Anti-Cotinin-Antikörper auf den Fingerabdruck eines Rauchers pipettiert und der Abdruck 10 min lang inkubiert. Danach wurden die ungebundenen Nanopartikel durch einen Waschschritt entfernt. Im zweiten Schritt wurde nun ein fluoreszenzmarkiertes Fragment eines zweiten Antikörpers auf den Fingerabdruck platziert. Der zweite Antikörper bindet nur an Stellen, an denen Anti-Cotinin vorhanden ist. Nach Entfernen des überschüssigen zweiten Reagens konnten die LFAs visualisiert und mit den entsprechenden Aufnahmen von Nichtrauchern verglichen werden. Die Gegenwart von Cotinin war in allen Fällen eindeutig nachweisbar. Wenn dieselben Experimente mit Antikörpern durchgeführt wurden, die nicht an Gold-NPs gebunden waren, blieb die Qualität der Bilder relativ schlecht und ermöglichte keine eindeutige Identifizierung der Person, die die Fingerabdrücke hinterlassen hatte.

Im zweiten – und praktikableren – Ansatz (Schema 1)^[7b] wurden magnetische NPs anstelle von Gold-NPs eingesetzt. Auch hier wurden primäre Antikörper gegen verschiedene Drogenmetabolite mit magnetischen NPs konjugiert, die in diesem Fall zuvor mit einem rekombinanten A/G-Fusionsprotein belegt worden waren. Die magnetischen Partikel wurden anschließend auf den LFA aufgebracht, um diesen zu inkubieren, mit einer magnetischen Bürste entfernt (natür-

[*] Prof. O. S. Wolfbeis

Institut für Analytische Chemie, Chemo- und Biosensorik
Universität Regensburg, 93040 Regensburg (Deutschland)
E-Mail: Otto.Wolfbeis@chemie.uni-r.de
Homepage: <http://www.wolfbeis.de>



Schema 1. Nachweisverfahren für Drogen und deren Metaboliten mithilfe magnetischer NPs mit immobilisierten Antikörpern. a) Im ersten Schritt wird ein primärer Antikörper an Protein-A/G-bedeckte NPs konjugiert. b) Danach wird der auf einem Mikroskopglas befindliche LFA mit den Antigen-NP-Konjugaten inkubiert. Überflüssige magnetische NPs werden mithilfe eines Magneten entfernt. c) Danach wird der LFA nochmals mit einem zweiten Antikörper, der mit einem rot fluoreszierenden Farbstoff markiert ist, inkubiert. Nach einem weiteren Waschschritt wird vom LFA mithilfe eines Stereomikroskops ein Fluoreszenzbild aufgenommen.

gemäß mit Ausnahme jener Partikel, die an das Antigen gebunden vorlagen), mit einem fluoreszenzmarkierten zweiten Antikörperfragment behandelt und nochmals 30 min inkubiert. Nach einem letzten Waschschritt wurde der LFA durch Fluoreszenz-Imaging charakterisiert.

In einem typischen Beispiel wurde ein LFA, der Benzoylecgonin (BzECG), den Hauptmetaboliten von Kokain enthielt, wie oben beschrieben behandelt. Bilder, die auf diese Weise erhalten wurden, sind in Abbildung 1 gezeigt.

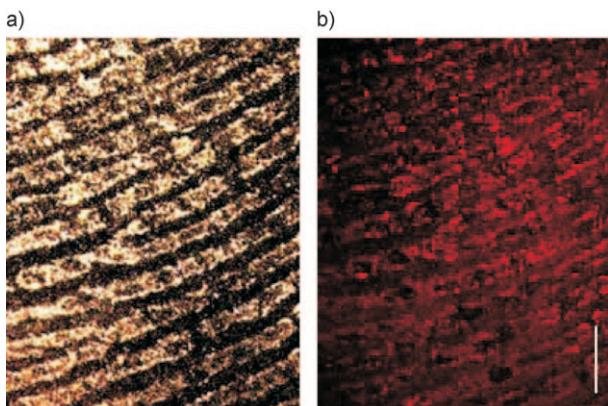


Abbildung 1. Detektion von Benzoylecgonin in einem Fingerabdruck. a) Weißlicht- und b) Fluoreszenzaufnahme eines Ausschnitts eines latenten Fingerabdrucks nach Inkubation von Anti-Benzoylecgonin-Antikörper-funktionalisierten magnetischen Partikeln und einem sekundären Antikörper mit roter Fluoreszenz. Maßstabsbalken: 1 mm.

(Abbildung 1a: konventionelle (weißlichtmikroskopische) Aufnahme; Abbildung 1b: fluoreszenzmikroskopische Aufnahme). Die rote Fluoreszenz der Magnetpartikel, die mit einem fluoreszierenden zweiten Antikörper markiert sind, ist deutlich besser erkennbar als bei Aufnahmen, die ohne Verwendung von Nanopartikeln erhalten wurden. Dies deckt sich mit früheren Berichten über die besondere Eignung von Nanopartikeln zur Verstärkung von Fluoreszenzsignalen.^[8] Die Bilder zeigen die Fingerabdrücke auch in einer deutlich verbesserten Detailstruktur, was aber in diesem Zusammenhang nicht diskutiert werden soll. Keine rote Fluoreszenz wurde hingegen beobachtet, wenn die Fingerabdrücke von Testpersonen untersucht wurden, die keine Drogen zu sich genommen hatten. Das hier gezeigte Beispiel macht das Potenzial der Methode besonders deutlich, da BzECG nur eine

relativ kurze Verweildauer im Schweiß hat. Verbindungen mit längerer Verweildauer, z.B. Tetrahydronannabinol (Marihuana), Methadon (ein synthetisches Opioid) und einer von dessen Metaboliten, lieferten deutlich bessere Bilder.

Die vorgestellte Methode ist relativ einfach und hat ein großes Potenzial, da sich mit ihr nicht nur Metaboliten des Nikotins und illegaler Drogen nachweisen lassen, sondern mit hoher Wahrscheinlichkeit auch chemische Produkte von Explosionen oder metabolische (organische) Spezies, die als diagnostische Marker fungieren können. Dazu zählen Tumormarker, Glucose, vielleicht auch Hormone, sodass in Zukunft der

Besuch in einem Fitness-Studio auch mit einem Gesundheits- oder Schwangerschaftstest kombiniert werden mag. Die Methode könnte bei Einsatz von zusätzlichen Techniken wie dem Short Tandem Repeat (STR) Typing vielleicht auch auf RNA oder DNA angewendet werden.^[9] Auch bei der Instrumentierung sind Erweiterungen denkbar, z.B. eine Multiplex-Detektion (eine Farbe, und/oder eine Fluoreszenzabklingzeit für jeden Analyten) unter Verwendung von Nanopartikeln.^[10] Schlussendlich scheint dieser Ansatz nicht auf Fingerabdrücke begrenzt zu sein: Über 1000 organische Spezies wurden im menschlichen Atem bislang nachgewiesen. Manche von diesen könnten, wenn sie in richtiger Weise auf einem festen Träger oder einer Matrix kondensiert werden und wenn entsprechende Antikörper verfügbar sind, mit demselben Verfahren nachgewiesen werden.

Online veröffentlicht am 4. Februar 2009

- [1] a) R. Saferstein, *Criminalistics: An Introduction to Forensic Science*, Prentice Hall, London, 2001; b) M. J. Choi, A. M. McDonagh, P. Maynard, C. Roux, *Forensic Sci. Int.* **2008**, 179, 87–97; c) H. C. Lee, R. E. Gaenslen, *Advances in Fingerprint Technology*, CRC, Boca Raton, FL, 2004; d) *Encyclopedia of Analytical Chemistry* (Hrsg.: R. A. Meyers), Wiley, New York, 2001.
- [2] K. K. Bouldin, Dissertation; Texas Tech University, Lubbock, Texas, USA, 2003; <http://etd.lib.ttu.edu/theses/available/etd-06272008-31295017090514/unrestricted/31295017090514.pdf> (enthält einen hervorragenden Überblick über das Gebiet).
- [3] a) M. Sametband, I. Shweky, U. Banin, D. Mandler; J. Almog, *Chem. Commun.* **2007**, 1142–1144; J. Almog, *Chem. Commun.* **2007**, 1142–1144; b) M. J. Choi, K. E. McBean, P. H. R. Ng, A. M. McDonagh, P. J. Maynard, C. Lennard, C. Roux, *J. Mater. Sci.* **2008**, 43, 732–737; c) E. R. Menzel, S. M. Savoy, S. J. Ulwick, K. H. Cheng, R. H. Murdoch, M. R. Sudduth, *J. Forensic Sci.* **2000**, 45, 545–551; d) B. J. Theaker, K. E. Hudson, F. J. Rowell, *Forensic Sci. Int.* **2008**, 174, 26–34; e) M. J. Choi, T. Smoother, A. A. Martin, A. M. McDonagh, P. J. Maynard, C. Lennard, C. Roux, *Forensic Sci. Int.* **2007**, 173, 154–160.
- [4] a) L. K. Seah, U. S. Dinish, S. K. Ong, Z. X. Chao, V. M. Murukeshan, *Opt. Laser Technol.* **2004**, 36, 371–376; b) U. S. Dinish, Z. X. Chao, L. K. Seah, V. M. Murukeshan, *Int. J. Nanosci.* **2005**, 4, 695–700; c) N. Saitoh, N. Akiba, *TheScientificWorld* **2005**, 5, 355–366; d) R. D. Roorda, A. C. Ribes, S. Damaskinos, A. E. Dixon, E. R. Menzel, *J. Forensic Sci.* **2000**, 45, 563–567.
- [5] a) D. B. Hansen, M. M. Joullié, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 34, 408–417; b) I. Alaoui, E. R. Menzel, M. Farag, K. Cheng, R. Murdoch, *Forensic Sci. Int.* **2005**, 152, 215–219; c) J. Almog, G. Le-

- vinton-Shamulov, Y. Cohen, M. Azoury, *J. Forensic Sci.* **2007**, *52*, 330–334.
- [6] a) J. S. Day, H. G. M. Edwards, S. A. Dobrowski, A. M. Voice, *Spectrochim. Acta Part A* **2004**, *60*, 1725–1730; b) R. Leggett, E. E. Lee-Smith, S. M. Jickells, D. A. Russell, *Spectrochim. Acta Part A* **2004**, *60*, 563–568; c) M. J. West, M. J. Went, *Spectrochim. Acta Part A* **2009**, *71*, 1984–1988; d) M. J. West, M. J. Went, *Forensic Sci. Int.* **2008**, *174*, 1–5.
- [7] a) R. Leggett, E. E. Lee-Smith, S. M. Jickells, D. A. Russell, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 4178–4181; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4100–4103; b) P. Hazarika, S. M. Jickells, K. Wolff, D. A. Russell, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 10321–10324; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 10167–10170.
- [8] S. Nagl, M. Schaeferling, O. Wolfbeis, *Microchim. Acta* **2005**, *151*, 1–21.
- [9] a) P. H. Yu, M. M. Wallace, *Forensic Sci. Int.* **2007**, *168*, 112–118; b) C. J. Fregeau, O. Germain, R. M. Fourney, *J. Forensic Sci.* **2000**, *45*, 26; c) M. K. Balogh, J. Burger, K. Bender, P. M. Schneider, K. W. Alt, *Forensic Sci. Int.* **2003**, *137*, 188–195.
- [10] J. M. Kürner, I. Klimant, Ch. Krause, E. Pringsheim, O. S. Wolfbeis, *Anal. Biochem.* **2001**, *297*, 32–41.

Berichte zur
WISSENSCHAFTS-
GESCHICHTE
Organ der Gesellschaft für Wissenschaftsgeschichte

www.bwg.wiley-vch.de

WILEY-VCH

4 issues per year
ISSN 0170-6233 print
ISSN 1522-2365 electronic

History of Science Reports

The official periodical of the German Society for the History of Science

The special issue “The Cultural Alchemy of the Exact Sciences: Revisiting the Forman Thesis” is devoted to Paul Forman and his seminal works in the history of science. His essay on “Weimar Culture” always inspired as much critique as assent.

The Forman thesis changed the disciplinary landscape of History and Philosophy of Science and still raises critical questions for the ongoing debates over cultural approaches to the history of science.

Subscribe Now! Please send an e-mail to:
cs-journals@wiley.com (North and South America)
service@wiley-vch.de (Germany/Austria/Switzerland)
cs-journals@wiley.co.uk (all other areas)

46150812_gu

WILEY-VCH

www.bwg.wiley-vch.de