

احراز هویت به وسیله ترکیبات آنتی ژنیک در بقایای پنهان اثر انگشت

محمد پور اسدی عضو هیات علمی دانشگاه علوم انتظامی

مهدی خسروی مهد کارشناس ارشد شیمی آلی

تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۴ تاریخ پذیرش: ۸۸/۶/۲۵

چکیده:

تجزیه و تحلیل بقایای اثر انگشت به وسیله ژل الکتروفورز سدیم دودسیل سولفات پلی اکریل آمید (SDS-PAGE) و بکارگیری تکنیک لکه گذاری بانقره آین امکان را مهیا می‌سازد تا پروتئین‌های مختلف موجود در اثر انگشت شناسایی شوند. این تکنیک شامل حرکت پروتئین‌های حل شده بر روی غشا پلیمری است که در آن حرکت پروتئین‌ها بر روی این غشاء به وسیله جریان برق صورت می‌گیرد. در نهایت با توجه به وزن مولکولی پروتئین‌ها، نوارهایی بر روی غشاء رویت می‌شود که شناسایی آنها را ممکن می‌سازد. با این روش چهار باند پروتئینی شناسایی می‌شوند که دو باند اصلی، به ترتیب پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ۵۶ و ۶۴ کیلو دالتون هستند. دو باند دیگر نیز، پروتئین‌هایی با وزن‌های مولکولی ۴۸ و ۵۲ کیلو دالتون هستند که در مجاورت آنها باندهایی با وزن مولکولی پایینتر نیز قابل مشاهده است. مکانیزم شناسایی پروتئین‌ها (آنتی ژن‌ها) به این صورت است که با کمک تکنیک وس‌ترن

احراز هویت به وسیله ترکیبات آنتی ژنیک...

کارگاه

- 1 -Sodium-Dodecyl-Sulfate PolyAcrylamide Gel Electrophoresis
- 2 -Silver Staining

۱۳۶
دوره دوم
سال دوم
تابستان ۸۸
شماره ۷

بلا ت^۱ (تکنیک آشکار سازی پروتئین در یک نمونه بافت) می توان سه آنتی بادی خاص را که به طور مستقیم در تعامل با پروتئین های به جای مانده از اثر انگشت هستند، شناسایی کرد. این سه آنتی بادی به ترتیب آنتی کراتین^۲ (۱ و ۱۰)، آنتی کاتپسین-D^۳ و آنتی درمسیدین^۴ هستند. آنتی ژن های کراتین و کاتپسین در لایه ای از پوست که از پوسته شدن (فلس شدگی)^۵ رو بافت^۶ حاصل می شود، حضور دارند و آنتی درمسیدین و آنتی کاتپسین نیز در غدد عرقی وجود دارند. دو باند اصلی شناسایی شده روی غشای وسترن بلا ت کراتین ۱ و ۱۰ هستند و دو باند دیگر نیز مربوط به کاتپسین -D است که از خود فعالیت های ترمیمی را نشان می دهد. در ضمن آنتی ژن درمسیدین بر روی وسترن بلا ت رویت نمی شود. این آنتی بادی ها بر روی غشای پلی وینیلیدین فلوراید^۷ (PVDF) و کاغذ سفید و کدر^۸ نیز شناسایی می شوند. نکته مهم در این بخش شناسایی هر سه آنتی بادی بر روی این غشاها است.

کلید واژه:

اثر انگشت (Fingerprints)، آنتی بادی (Antibodies)، لایه رو پوستی (Stratum corneum) غده عرقی (Eccrin sweat)، کراتین (Keratin)، کازپسین (Cathepsin-)، درمسیدین (Dermcidin)

نشانی مسئول: بالاتر از میدان ونک، خیابان عطار نیشابوری، میدان عطار ستاد فرماندهی

ناجا، پلیس پیشگیری تلفن ۸۱۸۲۶۲۱۳

- 1 - Western blots
- 2 - Anti-Keratin
- 3 - Anti-Cathepsin-D
- 4 - Anti-Dermcidin
- 5 - Desquamation
- 6 - Stratum Corneum
- 7- Polyvinylidene fluorid
- 8 -Whitened and non-whitened paper

مقدمه

اثر انگشت پیامد انتقال ترکیبات تعریقی و پوستی در تماس با یک سطح است. شناسایی این ترکیبات بجای مانده از اثر انگشت، آزمایشات فراوانی صورت گرفته است. این ترکیبات کمپلکسی از تعداد فراوانی اسیدچرب، ترکیبات معدنی، آمینواسیدها و بیش از ۴۰۰ ترکیب پلی پپتیدی هستند [۳-۱]. همانطور که مشخص است روشهای آشکار سازی اثر انگشت بر اساس واکنش های اسیدهای آمینه صورت می گیرد. این روشها عبارتند از: نین هیدرین و ۱،۲- ایندانیون که بسیار محدود و همراه با مشکلات اساسی در شناسائی پروتئین ها هستند. بنابراین در این زمان نیاز به توسعه و بهبود روش های آشکار سازی فعلی و کشف روشهای جدید به منظور فائق آمدن بر این مشکلات احساس می شود. روش جدیدی که مطرح شده است آشکار سازی بر مبنای آنتی بادی ها است که آشکار سازی پروتئین را در مقیاس ۱ نانوگرم تا ۱۰ پیکوگرم ممکن می سازد [۴]. این تکنیک گامی بلند و اساسی در راستای بهبود شرایط فعلی برداشته است.

آنتی بادی در اثر تحریک آنتی ژن ها در بدن تولید می شود و این تکنیک که در این مقاله حاضر به صورت اختصاصی به آن خواهیم پرداخت، عملکرد آنتی ژن های تولید کننده این نوع آنتی بادی ها را مورد ارزیابی قرار می دهد. در حال حاضر افزایش حساسیت این سیستم به وسیله همراه شدن با یک کاوشگر فلورسانسی یکی از موفقیت های بزرگ محسوب می شود. مهمترین جزء به جا مانده در آثار پنهان انگشت در غده های تعریقی و فلس شدگی لایه بیرونی پوست وجود دارد. ترکیبات آنتی ژنی که به عنوان اولین گروه مورد بررسی قرار می گیرند بر اساس تحقیقات گذشته گروهی هستند که در پدیده فلس شدگی پوست، بیشترین مقدار پروتئین را از دست می دهند و نقش اصلی را در بازرویش پوست بازی می کنند. بنابراین اولین گروه مورد بررسی کراتین های ۱ و ۱۰ بودند. این ترکیبات در لایه رویی پوست قرار دارند و نگهدارنده سلول ها در کنار یکدیگر و تأمین کننده قدرت الاستیکی موجود در پوست هستند [۵-۶]. کاتپسین-D نیز به عنوان یکی از گزینه های مورد بررسی به دلیل آزاد سازی سلولهای مرده در طول دوره فلس شدگی (لایه لایه شدن پوست) انتخاب شد. این ترکیب

باعث شکستن پپتیدها و پروتئین‌ها می‌شود [۷-۹]. کاتپسین - D در غدد عرق نیز وجود دارد و نقش آن تنظیم ایمنی طبیعی به وسیله فعالیت‌های حفاظتی براساس یک نوع پپتید آنتی میکروبیال است. دیگر پپتید موجود در سطح پوست درمسدین است که نقش آنتی باکتریال دارد و به عنوان سومین آنتی ژن برای آزمایش‌های اثر انگشت انتخاب شد [۱۱-۱۲]. در این تحقیق به آشکارسازی ترکیبات آنتی ژنی فوق در آثار به جای مانده از اثر انگشت به کمک آشکارسازی ایمن^۱ با تکنیک وسترن بلات می‌پردازیم. همچنین برای تکمیل پروژه آنتی بادی‌ها به روی غشای PVDF و کاغذهای سفید و تیره مورد بررسی قرار می‌گیرد. PVDF یا پلی وینیلیدین فلوراید پلیمری با خاصیت انعطاف پذیری بالاست، این ماده پلاستیکی ویژه از خانواده پلیمرهای فلوردار محسوب می‌شود و معمولاً در تکنیک‌های جداسازی پروتئین‌ها برای دستیابی به خلوص، مقاومت و استحکام بالا به کار می‌رود.

اصول نظری تحقیق

روش‌های شناسایی

دو مرد و دو زن به عنوان داوطلب مورد بررسی قرار گرفتند. بقایای اثر انگشت آن‌ها توسط کشیدن چوب پنبه کتان خشک^۲ روی انگشتان و کف دست‌هایشان جمع‌آوری شد. مخلوطی از هر دو ماده (چربی پوستی^۳ و ترشحات پنهانی^۴) و عرق^۵ به عنوان اولین بخش در نظر گرفته شد. کار با جمع‌آوری چربی پوستی آغاز شد، بدین گونه که به داوطلبان توصیه شد از شستن دست‌ها به مدت یک ساعت خودداری کرده و انگشتان را بر روی پیشانی و بینی بمالند. این عمل به منظور دست‌یابی به چربی پوستی صورت گرفت. جمع‌آوری ترکیب عرقی داوطلبان بدین صورت بود که از آن‌ها تقاضا شد دست‌هایشان را شسته و خشک کنند. سپس دست‌هایشان را

- 1 - Immunodetection
- 2 - Dry cotton swab
- 3 - Sebaceous
- 4 - Eccrine secretions
- 5 - Eccrine

به مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه در پاکت پلاستیکی قرار دهند. پس از آن دست‌ها را بر کلاف کتانی بکشند. سپس کلاف کتانی را برش داده و در ظرفی به حجم ۱/۵ ml قرار دادند و با اضافه کردن ۱ ml ۵-۰ آب به آن ظرف و قرار دادن درون یک ورتکس (چرخاب) در بالاترین سرعت و به مدت ۳۰ ثانیه فرآیند ادامه یافت. برای جلوگیری از ورود آلودگی از دستگاه و تجهیزات آزمایشگاه به سیستم، چوب پنبه کتانی خشک را برش داده و در ظرفی به حجم ۱/۵ ml قرار دادند و با اضافه کردن ۱ ml ۵-۰ آب به آن مجدداً در چرخاب قرار دادند و هیچ نوع آلودگی مشاهده نشد. برای بخش دوم کار، اثر انگشت تازه را (مطابق با شرایطی که در بالا توضیح داده شد) بر روی غشاء PVDF یا کاغذ (سفید یا تیره) کشیده و برای مدت ۲۴ ساعت به آنها فرصت می‌دهیم تا خشک شود.

PAGE SDS - و وسترن بلات (SDS-PAGE and western blot)

PAGE SDS - تکنیکی با کاربرد وسیع است که پروتئین‌ها را بر اساس وزن مولکولی جدا می‌کند. در این پروژه اساس کار با الکتروفورز و مطابق با روش لاملی^۱ است [۱۳]. قبل از اعمال نمونه بر روی ژل باید غلظت پروتئین‌ها را به وسیله آزمایش سنجش پروتئین برادفورد^۲ تعیین شود. از آنجا که مقدار پروتئین در نمونه اندک بود به کمک روش بنسادلون - وینستین با تکتیک DOC/TCA^۳ از آنها رسوبگیری به عمل آمد [۱۴].

پروتئین‌های تغلیظ شده در بافر لاملی حل شد. پس از آن نمونه به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد و سپس بر روی ژل PAGE SDS قرار داده شد. عمل مهاجرت در یک تانک کوچک در مدت ۴۵ دقیقه با ولتاژ ۲۰۰ ولت و حضور بافر Glycine SDS-Tris - به عنوان عامل حرکت دهنده صورت گرفت. برای مشاهده پروتئین‌ها، ژل مورد استفاده به مدت ۳۰ دقیقه با رنگ کوماسی بلو (R-۲۵۰^۴ به نسبت ۱ درصد حجمی/وزنی، ۴۰ درصد حجمی/حجمی

1 - Laemmli

2

3

4 - Coomassie Brilliant Blue

متانول و ۱۰ درصد حجمی/حجمی استیک اسید، رنگ آمیزی شد. به منظور کنتراست بیشتر، ژل در مخلوطی از ۵ درصد حجمی/حجمی متانول و ۷ درصد حجمی/حجمی استیک اسید به مدت یک شب نگهداری شد [۱۵]. روش کار با سیستم وسترن بلات به این صورت است که غشای پلیمری PVDF را خیساندن، مدت کوتاهی در متانول ۱۰۰ درصد قرار دادیم. پس از خارج کردن از متانول به مدت ۵ دقیقه درون آب قرار دادیم. سپس به منظور متعادل شدن و یکنواختی ژل، آن را ۱۵ دقیقه در بافر انتقال فاز (SDS – Tris – Glycine) قرار می‌دهیم. مهاجرت زمانی اتفاق می‌افتد که این صفحه با ژل الکتروفورز در یک سیستم انتقال لکه، به مدت ۱ ساعت و ولتاژ ۱۰۰ قرار داشته باشد. قابل ذکر است که صفحه PVDF باید آغشته به آنتی بادی مورد نظر شود تا تکنیک کامل گردد.

SDS-PAGE + وسترن بلات (SDS-PAGE + western blot)

لکه‌های ایجاد شده بر روی SDS-PAGE که از بقایای اثر انگشت و کف دست بدست آمده بود دو باند پروتئینی مهم اطراف ناحیه‌ای با وزن مولکولی ۶۴-۵۶ کیلو دالتون نشان داد. برخی باندهای پروتئینی روشن نیز اطراف وزن مولکولی ۴۸-۵۲ کیلو دالتون وجود داشت. پس از انتقال نمونه‌ای از ژل بر روی غشای PVDF تمامی پروتئین‌ها، رنگ آمیزی می‌شود. اگر انتقال پروتئین از ژل به غشاء به خوبی صورت گیرد، پیوندها به وضوح قابل رؤیت می‌شوند. کراتین ۱ و ۱۰ یا استفاده از آنتی بادی بر روی غشاء به خوبی شناسایی می‌شوند. این شکل دو باند پروتئینی مهم که در SDS-PAGE نیز دیده می‌شد را نشان داد. این تصاویر از چوب پنبه کتانی که به انگشتان و کف دست کشیده شده است بدست آمد. فاصله نسبی دو باند از یکدیگر و از باندهای استاندارد، امکان تعیین وزن مولکول‌های آنها را می‌داد. با توجه به این روش وزن مولکولی تخمین زده برای این دو باند ۵۶ و ۶۴ کیلو دالتون بود. وزن مولکولی بدست آمده برای کراتین ۱ و ۱۰ به درستی با آنچه در سایر نشریات پیرامون این موضوع شرح داده شده است مطابقت داشت [۸-۶-۵-۱۶]. کاتپسین-D نیز بوسیله آشکارسازی با استفاده از آنتی بادی ویژه آن از ۲ باند با وزن مولکولی پایین تر شناسایی شد. وزن مولکولی

تعیین شده برای آنها به ترتیب ۴۸ و ۵۲ کیلو دالتون بود. این پروتئین‌ها به ترتیب به عنوان جانشین و فعال کننده آنزیمی در انحلال پروتئین‌ها نقش دارند [۹-۷-۱۸-۲۰]. درمسدین را نمی‌توان با وس‌ترن بلات آشکار ساخت، ممکن است تصور شود این موضوع به دلیل وزن مولکولی پایین این پپتید (یعنی ۷ کیلو دالتون) است، اما چنین نیست، زیرا به کمک تکنیک آشکار سازی نقطه ای که پس از عمل SDS-PAGE بر روی عرق انسانی صورت گرفت این آنتی بادی پپتیدی آشکار شد [۱۲-۱۹]. به احتمال قوی حقیقت این است که این پپتید در بقایای بجا مانده از اثر انگشت و کف دست بکار رفته روی SDS-PAGE حضور ندارد، یعنی آنرا نمی‌توان با روش رسوب گیری DOC/TCA بیرون کشید. به این منظور، در یک آزمایش بطور مستقیم اثر انگشت را بروی غشای PVDF و کاغذها مورد بررسی قرار گرفت. کنترل معکوس عصاره‌های استخراج شده بوسیله چوب پنبه خشک کتانی که همه فرآیندها را بجز لمس توسط دست داوطلبان متحمل شده بود، صورت پذیرفت. با بررسی انجام شده هیچگونه باندی از سه نوع آنتی بادی بر روی ژل وس‌ترن بلات مشاهده نشد، یعنی اینکه هیچگونه آلودگی از تجهیزات وارد سیستم نشده است. در کنار باندهای اصلی شناسایی شده توسط آنتی بادی ها، زنجیرهایی با پیوند ضعیف و جرم مولکولی پایین نیز دیده شد. این گونه پیوندها بوسیله آنتی بادی‌ها بر روی وس‌ترن بلات قابل شناسایی هستند و طبق پیشنهاد وودکوک - میچل^۱ احتمالاً در نتیجه تخریب پروتئین‌ها در هنگام آشکار سازی پدید آمده اند [۶-۱۸]. فلس شدگی در نتیجه انحلال شیمیایی پروتئین‌ها توسط یک کاتالیزور ایجاد می‌شود و این تخریب به پروتئین‌ها اجازه می‌دهد تا سلول‌های مرده را رها کنند. بیشترین تخریب در پروتئین‌هایی صورت می‌گیرد که مسئول کشسانی پوست هستند. نگهداری سلولها در کنار یکدیگر به کمک شبکه‌های میکروفیلامنتی توضیح کامل این نقش است. کراتین و سلولهای که نقش دیواره را برای پوست ایفا می‌کنند از این قبیل هستند [۱۷-۹-۱۳-۱۵-۱۱-۷-۱۴].

جدول ۱: مقدار پروتئین موجود در هر دست و در یک اثر انگشت

دو دست (g)		اثر انگشت (μg)	
میانگین	بیشترین/کمترین	میانگین	بیشترین/کمترین
۱۰,۹	۱۰/۱۶	۱۳۳	۱۲۸/۱۹۰
۳۱,۴	۲۰/۴۴	۳۸۴	۲۴۳/۵۴۲

اثر انگشت روی غشای PVDF

واکنش صورت گرفته بین آنتی ژن - آنتی بادی حاصل از عرق و مخلوط اثر انگشت چهار داوطلب بر روی غشای PVDF قابل مشاهده بود. درمسیدین در مخلوط اثر انگشت به نسبت عرق دست به شکل بهتری قابل شناسایی بود و این امر به دلیل بارگذاری بقایای مترشحه از غدد تولیدکننده چربی و همچنین پروتئین‌ها از سطح مورد نظر است. این مهم بوسیله تستر تعیین غلظت پروتئین برادفورد در نمونه محرز شد. در شکل شماره (۱) شما به اختلاف شیاربندی‌ها را مشاهده می‌کنید که برآمدگی لبه شیارها با وضوح بسیار مشخص شده اند بخصوص وقتی از آنتی بادی آنتی کراتین ۱ و ۱۰ و آنتی بادی آنتی کاتپسین -D استفاده می‌شود، این وضوح بیشتر است. آنتی بادی آنتی کاتپسین -D نقاط سیاهی را بر روی شیارهای انگشت مطابق با حفره‌هایی که از آن عرق خارج می‌شود نشان می‌دهد. آنتی بادی آنتی درمسیدین الگوی نقطه چین ضعیفی را روی برآمدگی‌های انگشت مطابق با حفره‌های عرق ریز نمایش می‌دهد. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد کراتین از پوسته شدن پوست و کاتپسین -D از پوسته پوسته شدن پوست و خارج شدن عرق از حفره‌های عرقی روی پوست بدست می‌آیند. درمسیدین نیز پیتیدی تعرقی است که از حفره‌های مترشحه عرق خارج می‌شود.

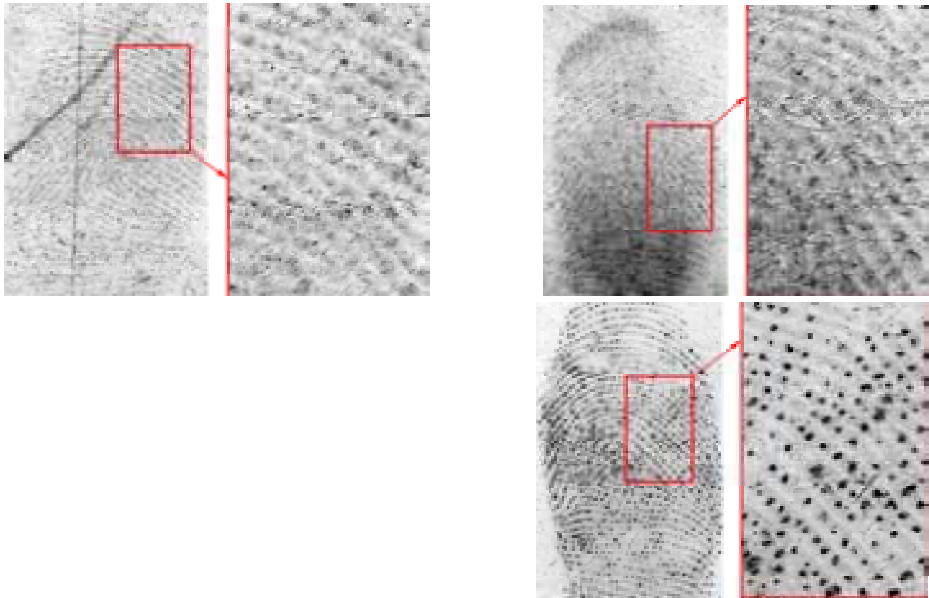


(شکل شماره ۱- اثر انگشت بررسی شده بر روی غشای PVDF از چپ به راست:
آنتی کراتین- آنتی کاتپسین- آنتی درمسیدین)

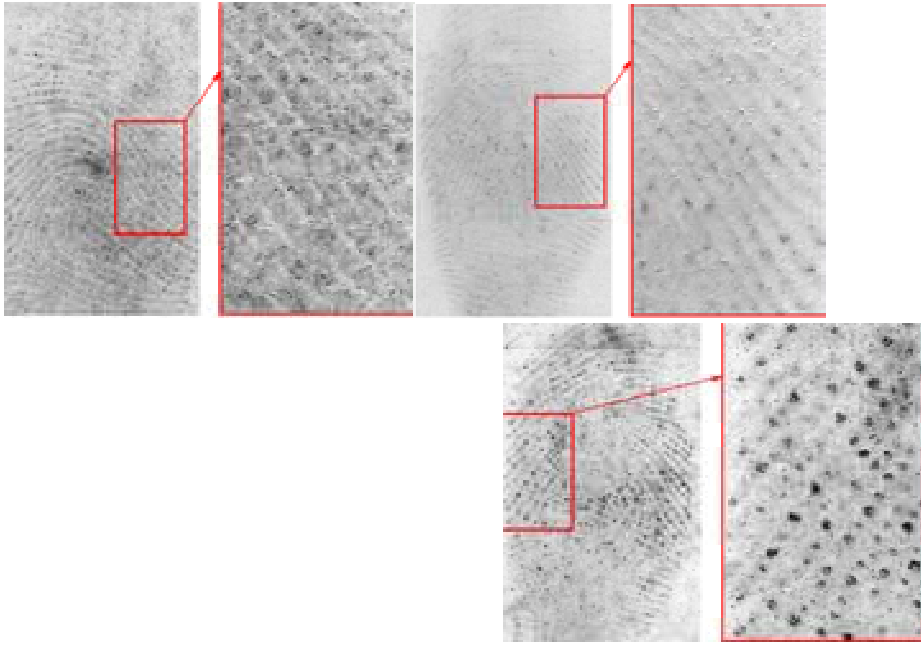
اثر انگشت روی کاغذ

هر سه آنتی ژن موجود در اثر انگشت پنهان بر روی کاغذ سفید و کدر با موفقیت آشکار می شوند. به دلیل نفوذ بقایای اثر انگشت درون ساختار کاغذ و نیز جنس کاغذ، کیفیت اجزاء و اختلاف شیاربندی ها در کاغذ به نسبت PVDF پایینتر است (شکل ۲ و ۳). مشاهده PVDF در (کراتین ۱ و ۱۰) و (آنتی بادی آنتی کازپسین - D) برآمدگی لبه شیارها را به خوبی نشان می دهد و در (آنتی بادی آنتی درمسیدین) حفره های عرقی بسیار مشخص هستند. روش آشکارسازی را که در غشای PVDF مورد استفاده قرار می گیرد، می توان بهینه کرد و برای کاغذ نیز مورد استفاده قرار داد. استفاده از برچسب های مختلف بر روی آنتی بادی در آشکارسازی ایمن، کنتراست بالایی را نمایان می سازد. بنابراین با استفاده از برچسب ها، رنگدانه های مرئی، فلوئورفورهای آلی یا ذرات نانو (طلا، ذرات ریز) می توان کنتراست را با

مزدوج شدن این مواد با آنتی بادی نوع دوم افزایش داد. کاربرد این روش بر روی زیر لایه‌های سطحی (سطوح باخلل و فرج و بدون خلل و فرج) در اثر انگشت بجا مانده در صحنه جرم در حال بررسی و بهینه سازی است.



(شکل شماره ۲-۲- اثر انگشت بررسی شده بر روی کاغذ کدر از چپ به راست: آنتی کراتین- آنتی کاتپسین- آنتی درمسیدین)



(شکل شماره ۳- اثر انگشت بررسی شده بر روی کاغذ سفید از چپ به راست: آنتی کراتین - آنتی کاتپسین - آنتی درمسیدین)

نتیجه گیری و پیشنهادها

از ۴۰۰ پروتئین و پلی پپتید موجود در عرق انسان، ۲ پروتئین به وسیله وسترن بلات و SDS-PAGE شناسایی می شوند. این پروتئین ها کراتین (۱-۱۰) و کاتپسین-D هستند که هر دو از مرحله پوست شدن حاصل می شوند، البته کاتپسین-D را می توان از عرق دست نیز بدست آورد. درمسیدین به وسیله روش وسترن بلات شناسایی نمی شود و این به دلیل وزن مولکولی پایین آن است. وزن مولکولی پایین سبب می شود از رسوب این پروتئین که با روش DOC/TCA (تلغیظ بقایای عرق به جا مانده از انگشت و کف دست) بدست آمده جلوگیری شود. درمسیدین را می توان بر روی غشای PVDF آشکار نمود. بنابراین حضور آنتی بادی آنتی درمسیدین در بقایای به جا مانده از اثر انگشت به کمک غشای PVDF اثبات

اگر از هویت به وسیله ترکیبات آنتی ژنیک...

می‌شود. نوع شیار بندی‌ها در غشای PVDF بین آنتی بادی‌ها متفاوت است. این اختلاف به علت نوع آنتی ژن‌هایی موجود در بقایای حاصله است. آنتی ژن‌های که از پوسته شدن بدست آیند برآمدگی شیارها در آنها بسیار واضح و روشن است (کراتین و کاتپسین)، آنتی ژن‌هایی که نتیجه عرق هستند الگوی نقطه چینی مطابق با حفره‌های عرق پوست در آنها مشاهده می‌شود (کاتپسین -D و درمستدین). آثار انگشت بر روی کاغذها نیز قابل رویت بودند. جزئیات شیارها و شفافیت در کاغذها به نسبت غشاها کمتر است و این به دلیل نفوذ ذرات موجود در بقایای انگشت به درون کاغذ است. بهینه سازی این روش‌ها باید در زمینه آشکارسازی بر روی سطوح گوناگون و افزایش سیگنال آشکارسازی ایمن صورت گیرد. با توجه به موارد مطروحه و کاربرد میدانی این روش‌ها پیشنهاد می‌شود:

- ۱- بکارگیری روش‌های فوق در نیروی انتظامی جمهوری اسلامی ایران به خصوص بخش پلیس جنایی به کار گرفته شود.
- ۲- برای بهبود روش‌های مذکور و اجرایی تر کردن پروژه از مراکز علمی و دانشگاهی بهره‌گیری شود.

Reference:

- 1- A.M. Knowles, Aspects of physicochemical methods for detection of latent fingerprints, Journal of Physics E-Scientific Instruments 11 (8) (1978) 713-721.
- 2- G.C. Goode, J.R. Morris, Latent Fingerprints: A Review of Their Origin, Composition and Methods for Detection, Atomic Weapons Research Establishment Aldermaston, Berks, Great Britain, 1983, p. 137.

- 3- R.S. Ramotowski, Composition of latent print residue, in: H.C. Lee, R.E. Gaensslen (Eds.), *Advances in Fingerprint Technology*, CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., 2001, pp. 63–104.
- 4- E. Harlow, D. Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, New York, USA, 1988.
- 5- E. Fuchs, Epidermal differentiation—the bare essentials, *Journal of Cell Biology* 111 (6) (1990) 2807–2814.
- 6- J. Woodcock-Mitchell, R. Eichner, W.G. Nelson, T.-T. Sun, Immunolocalization of Keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies, *The Journal of Cell Biology* 95 (1982) 580–588.
- 7- F. Egberts, M. Heinrich, J.M. Jensen, S. Winoto-Morbach, S. Pfeiffer, M. Wickel, M. Schunck, J. Steude, P. Saftig, E. Proksch, S. Schutze, Cathepsin, D is involved in the regulation of transglutaminase 1 and epidermal differentiation, *Journal of Cell Science* 117 (11) (2004) 2295–2307.
- 8- T. Horikoshi, S.-H. Chen, S. Rajaraman, H. Brysk, M.M. Brysk, Involvement of cathepsin D in the desquamation of human stratum corneum, *ESDR/JSID I SID*

Abstracts (0451) (1998) S76.

9- C. Champod, C. Lennard, P. Margot, M. Stoilovic, Fingerprints and other ridge skin

impressions, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2004.

10- D.J. Tobin, Biochemistry of human skin—our brain on the outside, Chemical Society Reviews 35 (1) (2006) 52–67.

11- P.L.J.M. Zeeuwen, Epidermal differentiation: the role of proteases and their inhibitors, European Journal of Cell Biology 83 (11) (2004) 761–773.

12- T. Horikoshi, M. Matsumoto, A. Usuki, S. Igarashi, R. Hikima, H. Uchiwa, S. Hayashi,

M.M. Brysk, M. Ichihashi, Y. Funasaka, Effects of glycolic acid on desquamationregulating

proteinases in human stratum corneum, Experimental Dermatology

14 (1) (2005) 34–40.

13- A. Bensadoun, D. Weinstein, Assay of proteins in presence of interfering materials,

Analytical Biochemistry 70 (1) (1976) 241–250.

14- U.K. Laemmli, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of

bacteriophage T4, Nature 227 (1970) 680–685.

15- A. Bensadoun, D. Weinstein, Assay of proteins in presence of interfering materials,

Analytical Biochemistry 70 (1) (1976) 241–250.

16- R. Moll, W.W. Franke, D.L. Schiller, B. Geiger, R. Krepler, The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithe-

lia, tumors and cultured cells, Cell 31 (1) (1982) 11–24.

17- L. Liu, S.K. Gill, Y. Gao, L.J. Hopeweeks, K.H. Cheng, Exploration of the use of novel

SiO₂ nanocomposites doped with fluorescent Eu³⁺/sensitizer complex for latent fingerprint detection, *Forensic Sci. Int.* 176 (2008) 163–172.

18- N.J. Crane, E.G. Bartick, R.S. Perlman, S. Huffman, Infrared spectroscopic imaging for noninvasive detection of latent fingerprints, *J. Forensic Sci.* 52 (2007) 48–53.

19- B.J. Theaker, K.E. Hudson, F.J. Rowell, Doped hydrophilic silica nanoand micro- particles as novel agents for developing latent fingerprints, *Forensic Sci. Int.* 174 (1) (2008) 26–34.

20- V. Drapel, A. Becue, C. Champod, P. Margot, Identification of promising antigenic components in latent fingermark residues, *Forensic Sci. Int.* 184 (2009) 47–53.

– Bradford protein assay