



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03142597.6

[43] 公开日 2004 年 1 月 28 日

[11] 公开号 CN 1470651A

[22] 申请日 2003.6.20 [21] 申请号 03142597.6

[30] 优先权

[32] 2002.6.20 [33] AR [31] P 020102319

[71] 申请人 遗传鉴定系统公司

地址 阿根廷科尔多瓦省

[72] 发明人 R·A·西莫内塔 J·C·海梅

J·C·萨巴

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 谭明胜 徐雁漪

权利要求书 3 页 说明书 7 页

[54] 发明名称 由至少一个 DNA 片段组成的待识别
物体的标记物

[57] 摘要

提供了含有至少一个 DNA 片段的牢固标记物，
优选大量微囊包封且与所选检测系统如磁性微球
体；具有电性能的颜料和溶液，和/或对紫外线和/
或对红外线辐射发出荧光结合的微卫星 (STR) 和单
核苷酸多态性 (SNP) 类型的多态性 DNA 片段。

1. 待识别物体的标记物，包括与选自磁性微球体、颜料、具有电性能的液体、对紫外线辐射发出荧光和对红外线辐射发出荧光的至少一个检测系统结合的至少一个 DNA 片段。
- 5 2. 权利要求 1 的标记物，其中所述至少一个 DNA 片段是大量微卫星 (STR) 类型的 DNA 的多态性片段。
3. 权利要求 1 的标记物，其中所述至少一个 DNA 片段是单核苷酸多态性 (SNP)。
4. 权利要求 1 的标记物，其中所述至少一个 DNA 片段是微囊包封的。
- 10 5. 权利要求 1 的标记物，其中所述至少一个 DNA 片段是微囊包封的并掺入到含至少一种对紫外线辐射敏感的物质的溶液中。
6. 权利要求 1 的标记物，其中至少一种对紫外线辐射敏感的物质选自荧光素、tetrametil、若丹明、若丹明 3 和得克萨斯红及其混合物。
- 15 7. 权利要求 1 的标记物，其中所述至少一个 DNA 片段是微囊包封的并掺入到含至少一种对红外线辐射敏感的物质的溶液中。
8. 权利要求 7 的标记物，其中所述至少一种物质是向上转换型磷光体，如与氨基结合的镧系元素离子。
- 20 9. 权利要求 1 的标记物，其中所述至少一个 DNA 片段是微囊包封的并掺入含对紫外线辐射和/或红外线辐射敏感的物质或颜料的溶液中。
10. 权利要求 1 的标记物，其中所述至少一个 DNA 片段是微囊包封的并掺入对红外线辐射和紫外线辐射敏感的物质的混合物的溶液中。
- 25 11. 权利要求 10 的标记物，其中所述溶液含有 0.0001-0.02 重量%，波长在 670 和 720nm 之间的 ftalocianine 和 0.05-0.5 重量%，选自均二苯代乙烯、二氢吡唑、香豆素、carbostirilo 和 pirene 化合物的荧光色团，且所述荧光色团具有 250-380nm 的波长。
- 30 12. 将标记物掺入待识别物体的方法，包括：从所选择的生物中提取含 DNA 的样品；确定和任选校正含提取的 DNA 的溶液的流动性程度和浓度并将溶液加入施用器中；和标记待识别的物体。

13. 权利要求 12 的方法，还包括将 DNA 释放于含 Tris-C1H 10 mM-EDTA 0.1 mM, SDS 至 20% (重量/体积) 和蛋白酶 K 10 mg/ml 的溶液中，用苯酚/氯仿 10/9 (体积/体积) 纯化 DNA；使用聚合酶链式反应进行微卫星和单核苷酸多态性扩增步骤，得到浓度在 6pg-0.05μg 的 DNA 样品，PCR 缓冲液 10×, dNTP 10×，与多态性区域连接的引物，每种 10×，和每毫升 5000 单位 Taq 聚合酶，并将该溶液和 DNA 放置于热循环仪中；超离心浓缩 DNA；将含 DNA 的溶液溶解于溶剂中，聚合物浓度为 0.25-10% 重量/体积，将所得混合物以 1/40 到 4/200 的溶剂/非溶剂比例导入到非溶剂中和微囊包封 DNA，将 DNA 微囊增溶于含对紫外线辐射和/或红外线辐射敏感的物质的溶液中。

14. 权利要求 13 的方法，还包括制备含选自聚 L 赖氨酸和 C1Na 的聚阳离子试剂的微囊，通过将聚合物溶解于有机溶剂，将多态性 DNA 溶解于水中产生第一水相；乳化有机溶剂与第一水相得到第一乳剂；将聚阳离子试剂溶于聚乙烯醇和水产生第二水相；乳化第二水相与第一乳剂形成第二乳剂，和蒸发第二乳剂的有机溶剂并产生含多态性 DNA 的微球体。

15. 权利要求 13 的方法，其中所用的聚合物是生物可降解的且选自乳酸、羟基乙酸和酯。

16. 权利要求 15 的方法，其中所述酯选自聚酐类、聚氨酯、丁酸聚酸、戊酰聚酸及其混合物。

17. 权利要求 13 的方法，其中所用的聚合物是生物不可降解的且选自 vinylidene acetate、丙烯酸聚酸、聚酰胺、共聚物及其混合物。

18. 权利要求 13 的方法，其中所用的聚合物是选自葡聚糖、纤维素、胶原、白蛋白和酪蛋白的天然聚合物。

19. 权利要求 13 的方法，其中 DNA 与磁性微球体或人眼可见或不可见的颜料结合。

20. 权利要求 13 的方法，其中 DNA 与具有电性能和/或对紫外线和/或对红外线辐射发出荧光的液体结合。

21. 权利要求 14 的方法，其中有机溶剂选自氯仿和二氯甲烷，和非溶剂选自己醇和己烷。

22. 权利要求 13 的方法，还包括添加对红外线辐射和紫外线辐射

敏感的物质的混合物，它含有 0.0001-0.02 重量%，波长在 670-720nm 的 ftalocianine 和 0.05-0.5 重量%，选自均二苯代乙烯、二氢吡唑、香豆素、 carbostirilo 和 pirene 化合物的荧光色团，且所述荧光色团具有 250-380nm 的波长。

5 23. 权利要求 13 的方法，其中所述浓缩步骤包括添加 Centricon 100 类型的微型浓缩器。

24. 权利要求 13 的方法，其中所述确定步骤包括提供每 mm² 表面具有浓度在 6pg 和 -10μg 之间的标记物的溶液。

10 25. 权利要求 13 的方法，其中所述掺入步骤包括选自有小口的钢笔、圆珠笔、毡尖笔、过滤器、绘图工具、画笔、印模和自动机器的施用器。

26. 权利要求 13 的方法，其中所述掺入步骤包括向含有标记物的溶液中掺入选自液滴形有机物质、凝胶形式有机物质和无机物质的媒介物。

15 27. 权利要求 13 的方法，其中所述掺入步骤包括加入选自硝酸纤维素、纸、木材、薄纸板、塑料材料、带电尼龙和布料的媒介物。

28. 识别用至少一个 DNA 片段标记的物体的方法，包括检测待识别物体，识别被标记物体中的至少一个 DNA 片段和使用聚合酶链式反应检测侧面连接多态性区域的引物而验证被标记物体。

20 29. 权利要求 28 的方法，其中的检测步骤是借助于使标记物中掺入的至少一种颜料和元件可视化的滤光器实施的。

30. 权利要求 28 的方法，其中的检测步骤是检测具有至少一种辐射敏感物质、磁性颗粒和溶液的导电特性的至少一种辐射类型如波长、磁性和/或导电性实施的。

由至少一个 DNA 片段组成的待识别物体的标记物

技术领域

5 本发明涉及由至少一个 DNA 片段组成的待识别物体的标记物；将该标记物掺入待识别物体的方法和被标记物体的识别方法。

为了理解本发明使得它能容易实施，下列段落将提供优选实施方案的简洁说明。该说明是本发明说明性而不是限制性的实例，其成分可在不背离此处描述的本发明原则的情况下，从不同等价物中选择。

10 背景技术

为通常进行的事物提供更安全的元件、处理和机制的探寻是永久的。从帐单产生的遥远时期直到今天，人们寻找着防止抢劫、欺诈和伪造的方法。完善印刷方法，和掺入安全元件是这种探寻的清楚实例。这种方法已经超越了一般公众处理的技术进展和设备的起初质量。作为

15 对抗待书写和高额现金支付的支票的擦除，开始使用标记的纸张。

纸制钱币和文件的伪造概括地说导致采用特殊纸张和墨水、光学墨水，在纸浆中掺入安全元件，用半透明膜保护等。发明人承认元件如每个人独特的指纹和 DNA 的存在。事实上，每一个体拥有用当今技术可几乎绝对确定识别的特殊生物学踪迹。发明人也承认伪造者很容易开发或使用将人 DNA 掺入物体进行可靠和准确的识别，因为只要成为其拥有者就可以获得人 DNA 的简单样品。从头发、玻璃杯中的唾液、一滴血液，和甚至上皮细胞足以获得待加入伪造物体中所需的 DNA，所以看起来它是真的。据此，发明人考虑到待识别物体将不得不用至少一个特殊 DNA 片段标记，甚至更好的，用这种 DNA 片段的组合标记。

25 尽管伪造者可能能够获得所需的 DNA 并将其掺入物体，但是他们不知道使用百万个存在的或它们可能的组合中哪个或哪些片段来达到他们的目的。这就是为什么，本发明的目的是：由至少一个 DNA 片段组成的待识别物体的标记物，使这种标记物掺入待识别物体的方法，和方法识别用该标记物所标记物体的方法。

30 脱氧核糖核酸 (DNA) 是储存个体遗传信息的巨大分子。一些序列具有特殊功能，例如基因及其调节剂。其它的看来似乎沉默和其功能仍被忽略的，在基因组中非常丰富。一些序列在个体到另一个个体之

间有变化。因为这个原因，这些多态性区域的比较构成了分子识别的基础。多态性区域从双亲到孩子遗传（孟德尔遗传），因此它们允许用比较生物学潜在相关个体的方法来识别人们。允许任何个体识别的 DNA 分类技术的发展已经进入其青春期。从通过研究他或她的 DNA 以及这种 DNA 与他或她亲属的 DNA 进行比较允许准确识别人们的发现开始，已经十五年了。尽管这种识别过程基于的概念方面基本上没有改变，但是方法方面已经历了眩晕的进化。新标记物的检测，一些实验阶段的自动化，以及巨大储存能力和数据分析的电脑化系统的产生已经给人类识别领域标志了永久的趋势。从 1980 年知道人类基因组中存在多形态性位点。首先检测的位点是位于接近一些基因如胰岛素的基因的区域。然而，多变区 (MLP) 的发现使得不限于人种，而包含大量动物和植物物种的个体识别系统发展成为可能。这种对科学知识有巨大贡献，具有无法预料的应用价值的应用，在 1985 年由英国科学家 Alec Jeffreys 和他的合作者实施。这种可变区分散于整个基因组中，允许显示出根据孟德尔遗传定律遗传的个体特殊特性。准确定位于基因组中这些区域的位置的不可能性仅允许获得“分子表型”。这种表型比较使得个体识别成为可能。尽管这种类型比较是客观的，但是其统计学评价基于总体分析，它的使用使具有巨大社会影响的人类识别的第一分子系统得到发展，第一分子系统的广泛使用直到 90 年代才开始。通过使用探针能够产生多基因座模式在人类文库（微生物宿主所含个体的整个遗传信息）中搜索，可能检测前面定位于基因组中的可变位点和可能检测能够定义出现某些基因座的个体的基因型的特定基因座 (SLP) 的标记物。这个方法允许其祖先置换，大大有助于人类识别的分析方法的标准化，特别是美国 FBI 和英国法医科学行政部门面对的那些。这些可靠 (robust) 遗传标记物直到 1995 年末才用作识别工具。稍后，它们逐步被微卫星或短串联重复 (STR) 的使用替代，所述短串联重复由短重复单位的多态性序列组成，它们的分析依赖于聚合酶链式反应 (PCR) 扩增。这些标记物显示出特性如高敏感性，使得它们适合法医分析，因为分析需要极少量 DNA。由于这个敏感性，分析速度，和结果解释简单，使得微卫星或 STRs 成为受人喜爱的法医标记物。尽管此刻 STRs 数量非常高，但是已经选择了已掺入商业试剂盒的标准分析系统的一组有效标记物。该标记物组或试剂盒使高达 16 个多态性

人类标记物被同时分析，其中的十三个组成设计“智能数据库”的基本组。发明人知道大约每千对碱基之一出现单核苷酸多态性（SNP）的事实，在人类基因组中结果总计超过三百万。为了完成伪造者不能复制的物体的标记，发明人将 DNA 多态性片段掺入这种物体，如微卫星（STR）和单核苷酸多态性（SNP）。在本文中，发明人也披露了这些片段掺入待识别物体的方法以及识别被标记物体的方法。文献号 CN1302905 涉及具有高配位能力的可溶金属盐水溶液与 DNA 溶液和乙醇混合得到含明胶、糊精、可溶淀粉水溶液或用于标记的橡胶或印记墨水的可溶于水 M-DNA 的倾析溶液而制备的含 DNA 金属离子的防伪材料。文献号 CN1306266 涉及遗传识别的卡片，这种包括所有者 DNA 的 obtention 的卡片的制备方法，信息处理及其印记。文献号 DE4446042 涉及包括提供大量化学相关的不同物种的识别的实体的卡片，例如使用物质载体如聚苯乙烯、硝酸纤维素、蛋白、多糖或乙醇的方法。这种识别可以是酶、抗体、抗原和 DNA。卡片可以用来识别银行票据、香料、文件等。文献号 US6167518 涉及登记者生物特性；例如，登记者的染色体 DNA 的数字表示法形成的数字证书。这种表示法具有传送给证书本身的个人信息。登记者的身份以远程方法被证实。这些特性可以从证书中提取并被比较。文献号 US6213391 涉及识别开始于有特色的生物统计学特性（例如，声音分析、DNA 等）的识别系统。生物统计学信息用于各种功能如事物处理的控制和安全。提供算法用于产生用作第二识别代码的关键数字。文献号 US6256737 涉及一种使用生物统计学测定方法进行企业来源用户验证的系统、方法和软件。生物学控制决定方法，通过该方法用户可以被该系统验证。其运行包括至少一个生物医学参数的使用。它使用科学方法，通过比较独特特性，如 DNA 识别用户。这种公开的方法储存识别参数。文献号 US6312911 涉及使用 DNA 隐藏编码在微粒中的信息的方法，和使用具有编码信息的标记物识别物体的方法。文献号 WO0068431 涉及隐藏编码在 DNA 中的信息的速记方法。该方法包括隐藏于微粒中的样品 DNA 的使用和感兴趣物体的标记和验证。文献号 WO0165375 涉及一种使用测量验证来源用户的系统、方法和软件。它使用由生物统计学方法获得的独特个体特性并与记忆中储存的那些相比较。这种独特特性，除了别的以外，是手指和手的几何学；面部和视网膜图像分析，声音，DNA 等。

发明内容

本发明涉及待识别物体的标记物，它将至少一个 DNA 片段，特别是，将微卫星 (STR) 和单核苷酸多态性 (SNP) 类型的 DNA 多态性片段掺入待识别物体。本发明也涉及包括下述步骤的方法：第一步，选择要从其任一细胞提取 DNA 的生物；第二步，所得 DNA 的纯化；第三步，微卫星和单核苷酸多态性类型的多态性片段的扩增；第四步，DNA 的浓缩和/或微囊包封；第五步，DNA 微胶囊的增溶；第六步，溶液的流动性程度和浓度的确定和/或校正；和第七步，将该溶液掺入适当的施用器 (applicator) 和标记需要标记的物体。本发明也涉及识别被标记物体的方法。在第一步中，将适当的检测技术用于检测掺入到溶液中的成分和将所标记物体个性化。在第二步中，得到被掺入标记物的关键。在第三步中，实施必要分析完成被标记物体的验证。

具体实施方式

一旦建立了开发出的用来解释其本质的本发明的成分和阶段顺序，随后补充它们的功能和操作关系和提供结果。为了得到构成安全方法保护贵重物品的待识别物体的标记物，本发明提出将标记物掺入这些物体。优选地，发明人已经考虑到这个标记物将不得不被随后被检测的化合物。发明人优先使用脱氧核糖核酸 (DNA) 作为待识别物体的标记物。具体地说，发明人已经考虑到由于大量各种组合，几乎不可能通过将微卫星和单核苷酸多态性类型的 DNA 的多态性片段掺入待识别物体中进行标记复制。这可方便地解释为，当提到 DNA 时，特别提及的对照是它的多态性片段。也就是说，使得地球上所有生物不同的那些。此外，当提及个体多态性片段时，应该理解为这种提及仅涉及短串联重复/微卫星 (STR) 和单核苷酸多态性 (SNP)。在这个阶段，也必须提及例外，即仅 univitelian 双胞胎会存在不允许区别它们的共有多态性片段。然而，用本发明和甚至在 univitelian 双胞胎事件中，将可能得到基于所选个体多态性片段组合的区别标记物。事实上，当使用特殊组合时，知道已经用于物体标记的生物基因组的数千个多态性位点内部确切位点的唯一个人就是它自己。如果需要和一旦这个位点被披露，将可能在世界上任何实验室实施使用 DNA 分型识别人群的对比分析。这个事件具有至高的实用性，主要在其它司法权中需要得到物体识别的情况下，和主要是争取公平。关于包括至

少一个 DNA 片段的牢固标记物掺入待识别物体的步骤，本发明包括很多步骤。在第一步中，选择生物随后提取将要使用的 DNA。发明人提出生物 DNA 的至少一个片段用作标记物。这应该从广泛意义上解释，也就是说，决定进行其物体标记的任何人将可选择他自己或她自己作为 DNA 片段的供体或将可选择任何生物（人、动物或植物）。结果，被伪造者复制标记物的微小可能性降得甚至更低。DNA 提取开始于用常规技术，如颊拭子；血液穿刺；收集上皮细胞、头发滤泡等等提取细胞或身体流体。在第二步中，将所得 DNA 释放于含“TrisC1H 10 mM” - EDTA 0.1 (mM)， SDS 至 20% (重量/体积) 和蛋白酶 K 10 mg/ml 的溶液中。

接着用苯酚/氯仿-10/9 (体积/体积) 进行纯化。在第三步中，使用美国专利 4,683,195; 4,683,202; 和 4,800,159 提出的聚合酶链式反应 (PCR) 扩增 STRs 和/或 SNPs，将这些专利文献引入本文作为参考。置于热循环仪中的混合物含有浓度在 6 pg 和 0.05 μg 之间的 DNA 样品，PCR 缓冲液 10 ×，dNTP 10 ×，与多态性区域连接的引物，每种 10 ×，和每毫升 5000 单位 Taq 聚合酶。在第四步中，为了防止 DNA 降解，该步骤由使用微型浓缩器如 Centricon 100 的超离心浓缩，和通过位相反转技术的微囊包封组成。在这一步中，将待微囊包封的多态性 DNA 溶于溶剂中，然后，在相同溶剂中，将聚合物溶解到终浓度在 0.25 % 和 10% 重量/体积之间。使用的聚合物可以模糊选择那些生物可降解或那些生物不可降解的聚合物。优选的生物可降解的聚合物是那些如乳酸和羟基乙酸和酯如聚酐类，聚氨酯，丁酸聚酸 (butyric polyacid)，戊酰聚酸 (valeric polyacid) 等等。此外，在生物不可降解聚合物中，优选 vinylethylene acetate 和丙烯酸聚酸 (acrylic polyacid)。聚酰胺和共聚物及其混合物的使用也可以接受。所利用的聚合物也可以选自天然聚合物。在这种情况下，优选使用葡聚糖、纤维素、胶原、白蛋白、酪蛋白等等。所得混合物随后以至少 1/40 到 4/200 的溶剂/非溶剂比例导入非溶剂，以达到微胶囊自发形成。在这一步中，溶剂选自氯仿和二氯甲烷的有机溶剂，优选的非溶剂是乙醇和己烷。可供选择地，在第四步中，用聚阳离子试剂如聚 L 赖氨酸和 C1Na 产生微胶囊。在这种情况下，第一个阶段，将从那些已经提及的物质中选择的聚合物溶于有机溶剂如氯仿中。在第四步的第二个阶段，将多态性 DNA 溶于产生第一水相的水中。在第四步的第三个阶段，乳化第一水相与

有机相得到第一乳剂。在第四步的第四个阶段，将 CINa 溶于聚乙烯醇，产生第二水相。在第四步的第五个阶段，乳化第二水相与第一乳剂产生第二乳剂。最后，在第四步的第六个阶段，蒸发第二乳剂的有机溶剂，产生含多态性 DNA 的微胶囊。可供选择地，在第四步中，可使 DNA 与磁性微球体或与人眼可见或不可见的颜料或与具有电性能的液体或颜料和/或对紫外线和/或对红外线辐射发出的荧光结合。另外，为了掩饰所选 DNA 片段和使得伪造标记物甚至更困难，可以使用第四步描述的可供选择的技术组合；和可以掺入与所选不同的其它 DNA 片段。

在第五步中，将 DNA 微球体或微囊包封的 DNA 增溶于含对紫外线辐射敏感的物质，如荧光素、tetrametil、若丹明、若丹明 3、得克萨斯红(texas red)等，和/或对红外线辐射敏感的物质如向上转换型磷光体样(upconverted phosphor like)的硫氧镓(gallium oxysulfur)或与氨基结合的镧系元素离子等的溶液中。对紫外线辐射和对红外线辐射敏感的物质可以游离形式加入或用前述任一技术微囊包封加入。

可替换地，建议将 DNA 微球体或微囊包封的 DNA 增溶于对红外线和紫外线辐射敏感的物质混合物中，例如含有 0.0001-0.02 重量%，波长在 670 和 720nm 之间波动的 ftalocianine 和 0.05-0.5 重量%，选自均二苯代乙烯、二氢吡唑、香豆素、carbostirilo 和 pirene 的波长在 250 和 380nm 之间波动的荧光色团(fluorophor)的混合物。在第六步中，确定应该适合有利于其应用于待标记物体的溶液流动性程度和浓度，并且如果需要，校正之。据信流动性程度应该允许施用器以每 mm² 表面 6pg 和 10μg 之间标记物的浓度沉淀溶液。在第七步中，将标记物掺入可从笔(有小口(nip)的钢笔、圆珠笔或毡尖笔)，不同类型过滤器，绘图工具，画笔，印模(stamp)或一些自动机器如喷墨打印机等等中选择的施用器。可供选择地，含标记物的溶液和待标记物体之间使用媒介物(intermediary)。在这种情况下，媒介物被吸收到溶液中。媒介物可以选自不同物质，如硝酸纤维素，纸张，木材，薄纸板，塑料材料，带电尼龙，布料，液滴或凝胶形式的有机物质，无机物质等等。最后，用所选施用器标记指定的物体。识别用至少一个 DNA 片段标记的物体的方法包括用适当系统检测物体的步骤。为此，所述系统可以是有利于掺入到标记物的颜料或元件可视化的滤光器(filter)或能证实存在一些类型辐射如与敏感物质混合的波长，磁性

颗粒或溶液导电性能的检测器。不同类型的磁性检测以及根据它们的导电性程度检测某些成分的电子证实系统是现有技术已知的。第一步是检测待识别的物体。第二步，得到掺入标记物的关键。第三步是验证被标记物体，然后使用聚合酶链式反应进行 DNA 多态性片段分型所需的分析。第三步仅当被标记物体的所有者披露哪一个是已经置于物体的寡核苷酸片段时才可以实施。由于这个信息是起始点，由此使用聚合酶链式反应技术的世界上任何法医实验室，如所述，可对所需的这种寡核苷酸片段进行扩增并检测 STR/SNP 多态性片段。该片段的检测可以用现有技术通常使用的方法和技术实施。例如，根据 J. M. Robertson (1994) 的凝胶；根据 McCord (1993) 的毛细管电泳；Y. Wang (1995) 提出的多杂交或多毛细现象的检测，使用 Woolley (1996) 陈述的微型芯片；根据 Becker (1997) 的质谱分析法；等。依次，用 Orita 和其他人 (1989) 证实的独特链构象分析的方法可以检测单核苷酸多态性；Landeegren 和其他人 (1988) 指出的特殊等位寡核苷酸；根据 Syvanen 和其他人 (1990) 的引物多延伸或其它技术如芯片，质谱分析法等。同样，在争论事件中，要保证所有各方的权力，因为可能按照所需的次数在世界上任何地方重复有关被标记物体识别的测试，因为，如前所述，标记物 STR 和 SNP 是识别人群的常规步骤。另一方面，应该理解这些标记物是法医遗传学国际联合会推荐的。应用在这里描述的标记物，将可能绝对确定识别无数物体，如画、雕塑、sport inputs、艺术作品、手工艺品、影像磁带、录音机、电视、家庭物体、计算机、打印机、软件、办公室元件和商业设备。同样，将可能鉴定香料、布料、皮夹、公文包、盒子、汽车部件、飞机、自行车、纸币、支票、公证文件、身份卡片、驾驶执照、护照、签证、信用卡、电话卡和类似这种物质如学位证书、存货清单、彩票券和其它靠机会决定的游戏。这样，已经描述了使得本发明具体化的一个可能的阶段顺序及其工作方法。