

微流控芯片电泳及其法医学应用*

韩俊萍¹⁾ 孙敬^{2, 3)} 庄斌⁴⁾ 刘鹏⁴⁾ 赵兴春^{2, 3)} 李万水^{2, 3)}
季安全^{2, 3)} 叶健^{2, 3)} 刘耀^{1, 2, 3)**} 李彩霞^{2, 3)**}

(¹⁾ 中国人民公安大学, 北京 100038; (²⁾ 公安部物证鉴定中心北京市现场物证检验工程技术研究中心, 北京 100038;

(³⁾ 公安部物证鉴定中心法医遗传学公安部重点实验室, 北京 100038; (⁴⁾ 清华大学医学系统生物学研究中心, 北京 100084)

摘要 在光学性能良好的 Brofloat 玻璃电泳芯片上, 利用自行搭建的共聚焦激光诱导荧光检测系统, 通过对芯片管道表面修饰、筛分介质、分离电场强度、进样方式、电泳温度、进样时间等条件的优化, 对含 15 个 STR 基因座的法医 DNA 样品进行电泳分离测试实验. 通过对芯片电泳条件优化获得了本电泳系统的最佳条件, 成功实现 8 min 内完成 DNA 样品片段的分离, 表明该微流控芯片电泳系统在法医 DNA 快速分析方面具有良好的应用前景.

关键词 微流控芯片电泳, 法医 DNA 分型, 快速分析

学科分类号 R89, D919.2

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0184

短串联重复序列(short tandem repeats, STRs), 也称微卫星 DNA(microsatellites), 是由 2~6 个核苷酸为重复单位构成并广泛存在于人类基因组中的串联重复序列. STR 作为一类重要的遗传标记, 由于具有种类多、分布广、高度多态性、在人群中世代相传等特点, 已被广泛用于人类遗传图谱构建、遗传病基因诊断、法医学个体识别及亲权鉴定等领域^[1]. 目前, PCR-STR 分型技术已经成为第二代法医 DNA 分型技术的核心, 即含有长度多态性 STR 等位基因的 DNA 样本, 首先通过多重复合 PCR 扩增, 然后扩增产物经毛细管电泳分离检测, 最后结果与已知等位基因分型标准物进行比对确定样本分型^[2].

“微全分析系统”(miniaturized total analytical system, μ TAS)又称微流控芯片, 最早由瑞士 CibaGeigy 分析实验室的 Manz 和 Widmer 等^[3]于 1990 年提出, 是一种通过微细加工方法, 在一块几平方厘米的芯片上制作出微通道网络结构和各种功能单元, 并辅以一定检测控制装置, 实现样品的快速分离与检测的技术平台. 芯片毛细管电泳(microchip capillary electrophoresis, MCE)作为 μ TAS 发展中的一个重要分支, 其制作工艺发展迅

速, 具有体积小、易于自动化、样品与试剂消耗量小等优点, 在生物学、化学等领域的快速分析方面有诸多应用^[4], 尤其为以小片段 DNA(< 400 bp)分析为主的法医 DNA 检验提供了一种新思路. 早在 1997 年, Schmalzing 等^[5]在熔融硅晶片电泳芯片上于 2 min 内完成了对 CSF1PO、TPOX、THO1、vWA 4 个基因座的快速分析. 2006 年, Yeung 等^[6]研究出具有 96 通道的高通量阵列毛细管电泳芯片, 实现了 30 min 内对 96 个 STR 样品的同时检测. Liu 等^[7]在自行搭建的微流控现场检验装置上, 实现了 2.5 h 内完成 9 个 STR 位点的 PCR 与电泳检测, 并对其灵敏度、准确性等进行了研究. 目前, 芯片毛细管电泳已从实验研究阶段逐步向产业化方向发展, 已上市的仪器如美国安捷伦公司的 5100 Automated Lab-on-a-chip Platform、Caliper 公司的 LabChip 90 Electrophoresis System、日本岛津公司

* 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金计划(2015JB005)和公安部技术研究计划(2014JSYJA011)资助项目.

** 通讯联系人.

刘耀. Tel: 010-66269492, E-mail: liuyaol123@yahoo.cn

李彩霞. Tel: 010-66262392, E-mail: licaixia@tsinghua.org.cn

收稿日期: 2015-06-19, 接受日期: 2015-11-20

的 MCE-2010 型等^[8].

μ TAS 的一个最重要优点是具有全集成的能力, 因此, 将 DNA 分析全流程集成于一体, 实现快速高效、全自动化检验已成为大势所趋. 一些研究者已尝试将各种步骤与芯片毛细管电泳相结合并用于法医 DNA 分析^[9-12]. 例如 Roux 等^[11]构建了用于法医 STR 快速分析的自动进行 PCR 扩增和芯片电泳的系统, 该系统采用一次性使用的塑料芯片, 以非接触式红外加热方式 45 min 完成扩增, 在长度为 7 cm 的电泳芯片上 15 min 完成 18 个基因座的分离, 在此基础上, 该研究小组又将样品制备集成于扩增 - 电泳系统, 最终实现“样品进 - 结果出”的整合目标^[12]. 最近, 一些公司已陆续推出商业化的全自动 DNA 分型检测仪器^[13-16], 为法医 DNA 现场快速分析提供了可能.

本文首先对 Brofloat 玻璃芯片的管道表面修饰和筛分介质等条件进行优化, 提高其对 DNA 片段的分辨率, 然后对本实验室前期建立的 17 个 STR 位点快速扩增体系进行了电泳分析检测, 验证其在快速 STR 分离检测方面的可行性.

1 材料与方法

1.1 实验样本

人类基因组 DNA 标准品 9947A, 由本实验室保存. 从案件检材血斑中提取得到的 DNA 样本, 由公安部物证鉴定中心提供.

1.2 主要试剂与仪器

FastStart Taq DNA Polymerase, dNTPack 试剂盒(Roche 公司, 瑞士); QIAamp DNA Blood Midi 试剂盒(QIAGEN 公司, 德国); GenomeLab™ SEPARATION GEL-LPA I (BECKMAN COULTER 公司, 美国); MegaBACE Long Read Matrix (Gel company 公司, 美国); NanoDrop 2000c Spectrophotometer(Thermo 公司, 美国); 引物(生工公司, 中国); 丙烯酰胺, 尿素, 过硫酸铵和四甲基乙二胺(Sigma 公司, 美国).

1.3 Brofloat 玻璃芯片加工

芯片采用光刻, 湿法刻蚀, 热键合等工艺由清华大学生物芯片实验室加工成型, 如图 1 所示, 芯片采用十字交叉型设计, 厚度为 3 mm, 4 根微管道(宽 200 μ m, 深 40 μ m)末端均连接有直径为 1.5 mm 的储液池, 有效分离长度为 7 cm. 图 1 为电泳芯片的实物照片, 图 2 为电泳芯片的结构示意图.

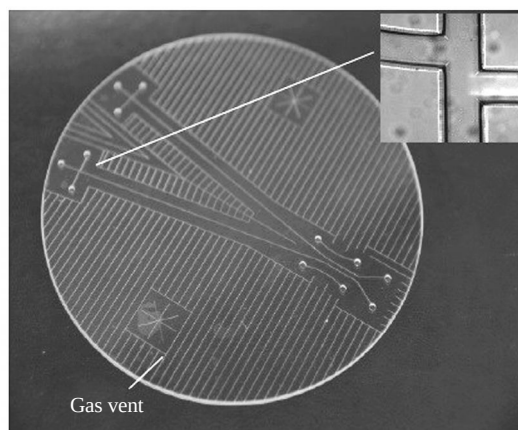


Fig. 1 Physical map of electrophoresis chip

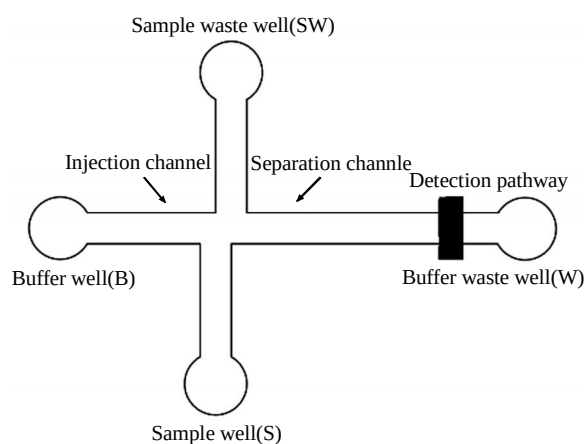


Fig. 2 Schematic diagram of electrophoresis chip

1.4 筛分介质

参照文献^[17]制作筛分介质, 首先在室温下用含 7 mol/L 尿素的 1×TTE 缓冲液配制 10 ml 4.5% 丙烯酰胺溶液, 并在高纯氩气中静置 2~3 h 去除氧气. 然后在 0℃ 条件下, 加入 5 μ l 10% 过硫酸铵和 5 μ l 20% 四甲基乙二胺触发聚合反应, 同时持续通入氩气并静置过夜, 以使丙烯酰胺充分聚合形成线性聚丙烯酰胺溶液. 按照上述方法分别合成含 7 mol/L 尿素的浓度为 3.5%、4.5%、5.5% 线性聚丙烯酰胺溶液(linear acrylamide solution, LPA). 同时选择两款商品化的筛分介质 GenomeLab™ SEPARATION GEL-LPA I 和 MegaBACE Long Read Matrix 与上述自制筛分介质进行分离效果的比较.

1.5 管道表面修饰

1.5.1 动态涂覆

参考文献^[16]方法对芯片管道表面进行动态涂

覆, 即先注入甲醇冲洗管道, 再注入涂布液 (coating fluid, 甲醇与 DEH-100 按 1:1 混合), 等待 1 min 后用离子水冲洗, 抽干, 填充筛分介质后备用.

1.5.2 静态涂覆

参考文献[18]方法对芯片管道表面进行静态涂覆, 即先注入 1 mol/L NaOH 充满管道处理 1 h, 同时制作 5 ml 3% 丙烯酰胺溶液. 待抽干 NaOH, 加入 0.1% 醋酸溶液冲洗管道, 抽干后加入 0.6% R 溶液 (6 μ l 硅烷化试剂与 300 μ l 甲醇混合后, 再加 700 μ l 醋酸溶液混匀后立即使用) 处理管道 1 h. 再将 3% 丙烯酰胺溶液中加入 5 μ l 四甲基乙二胺, 25 μ l 10% 过硫酸铵混匀, 立即注入经 R 溶液处理后的管道内, 停留 5~10 min, 最后水洗管道, 吸干备用.

1.6 芯片毛细管电泳

芯片毛细管电泳实验采用悬浮进样方式^[19-20], 进样时, 施加 200 V/cm 的进样场强于样品池(S)和样品废液池(SW)之间, 同时缓冲液池(B)与废液池(W)处于悬浮状态, 防止进样时样品扩散到分离管道中. 分离时, 施加 200 V/cm 的分离场强于缓冲液池和废液池之间, 同时分别对样品池和样品废液池施加 180 V/cm 的回流场强, 防止进样管道中的多余样品泄漏至分离管道中. 电泳检测采用自行搭建的共聚焦激光诱导荧光检测系统, 同时进行四通道采集 (488 nm 激发; FAM 通道: 517 nm 采集; JOE 通道: 549 nm 采集; TAMRA 通道: 576 nm 采集; ROX 通道: 605 nm 采集). 电泳过程所需电压由高压电源模块提供, 软件通过 LabView 语言

编写, 能够输出信号数据, 并实时显示电泳图谱. 采用单因素法对电泳分离时管道表面修饰、筛分介质、分离电场强度、电泳温度、进样时间等参数进行优化. 在选定的最佳电泳条件下, 分别对 PCR 产物和等位基因分型标准物 (Allelic Ladder) 进行电泳检测.

1.7 电泳样品制备

分别将 9947A 标准品和血斑 DNA 样本稀释至 1 mg/L, 利用前期建立的 15 重快速 STR 复合扩增体系进行 PCR 扩增. 将 1 μ l PCR 产物 (或 Allelic Ladder) 与 2 μ l 内标 Typer 500、4 μ l 去离子甲酰胺混合, 取 2 μ l 混合液加入芯片样品池备用.

2 结果与讨论

2.1 Brofloat 玻璃芯片的基本特性

检测限: 4 个荧光通道分别采用 FAM、HEX、TAMRA、ROX 进行检测, 将 100 nmol/L 各荧光素梯度稀释至 10、5、3、1、0.1 nmol/L, 分别测定各自通道的荧光信号值. 结果显示, FAM、JOE、TAMRA、ROX 通道在 100 nmol/L 时荧光信号均饱和, 当信噪比大于 3 时认为此浓度可以检测到, 各通道的实际检测限分别为 1、1、1、3 nmol/L.

重复性: 取同一 9947A PCR 扩增产物加入电泳管道, 按相同电泳条件及操作流程重复测试 6 次, 统计各个基因座的峰高值 (相对荧光强度, RFU 值), 绘制散点图. 结果显示, 除 D2S1338 和 D7S820 基因座峰高值有 2 次偏差较大, 其余基因座 6 次电泳峰高值差异较小 (图 3), 说明 Brofloat 玻璃芯片电泳对同一样本检测的重复性良好. 由于

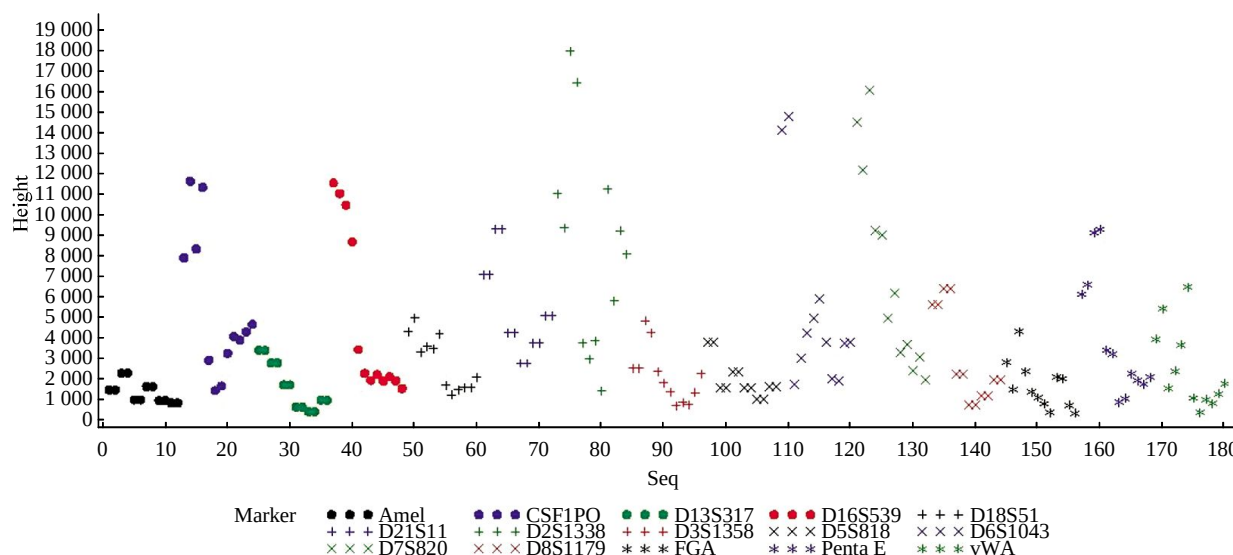


Fig. 3 Reproducibility of microchip electrophoresis with the same amplicon

自行搭建电泳检测装置的电极还未机械固定, 每次需要手动固定, 可能导致进样量有差异, 同时移动台往复扫描检测时也可能使芯片的位置变化, 最终导致重复性受到一定程度的影响。

2.2 芯片电泳条件优化

表面修饰: 分别采用动态涂覆和静态涂覆两种方法处理芯片管道内壁, 其余电泳条件和参数未变, 以同一 9947A PCR 扩增产物进行芯片电泳, 收集试验数据并参考文献[21]计算二者的分离度和扩散程度。结果(表 1)显示, 动态涂覆的分离度(用 R 值表示)大于静态涂覆, 而扩散程度小于静态涂覆。通常, 对毛细管内壁进行涂层是为了控制电渗流, 抑制分析物与管壁相互作用, 减少吸附^[22-23]。静态涂覆虽然稳定但操作过程繁琐, 动态涂覆操作简单, 只需分析前冲洗管道, 灵活可变, 故最终选定动态涂覆来进行管道表面修饰。

筛分介质: 分别采用实验室自制不同浓度的 LPA 胶、两种商品化 GenomeLab™SEPARATION

Table 1 Comparison of different surface modification methods

Modification methods	R	Degree of diffusion
DEH coating	2.3	1.75
Hjerten coating	1.53	1.86

GEL-LPA I 和 MegaBACE Long Read Matrix 对同一 9947A PCR 扩增产物进行芯片毛细管电泳, 其余电泳参数及条件均相同, 结果显示, 实验室自制 LPA 胶的分离效果好于商品化的筛分介质, 并且分离度随着浓度增高而增大(表 2)。通常而言, 筛分胶液的浓度越高, 小片段 DNA 的分辨率越高, 但浓度升高则筛分胶液黏稠度也相应增加, 不仅延长分离时间而且增加填充微管道的难度^[24], 所以综合考虑分辨率和易操作性的需求, 最后选择 4.5% LPA(含 7 mol/L 尿素)作为填充管道的筛分介质。

Table 2 Comparison of different sieving matrix

	Sieving matrix		3.5% LPA	4.5% LPA	5.5% LPA
	GenomeLab™ SEPARATION GEL-LPA I	MegaBACE Long Read Matrix			
R	1.56	1.64	2.06	2.3	2.7

分离电场强度: 调节高压电源, 将施加在分离管道两端的电场强度分别设置为 100 V/cm, 160 V/cm, 200 V/cm, 在荧光显微镜下观察样品分离情况。结果显示, 在 200 V/cm 场强作用下, 样品泳动速度过快, 可能导致 DNA 片段重叠而不能够分离开, 当场强为 100 V/cm 时出现分离谱带展宽, 拖尾现象严重, 而 160 V/cm 场强作用下能够抑制拖尾, 改善区带形状, 分离效果好于其他二者(图 4)。

进样方式: 分别在荧光显微镜下观察两种进样过程。悬浮进样, B 端和 W 端的电极悬空; 收缩进样, B 端和 W 端施加一定电压。结果表明, 悬浮进样方式下交叉口处的区带在进样期间向分离管道中有扩散, 而收缩进样方式能够迫使区带回缩, 以抑制区带展宽(图 4)。进样方式的优劣对于分离性能、结果的重复性和可靠性有着比较重要的影响^[25], 因此, 为了提高分离效果, 改善峰形, 选择收缩进样方式。

电泳温度: 分别将电泳温度设置为 26(室温)、40、50、60、65、70、80℃, 采用同一 9947A PCR 扩增产物进行芯片电泳, 收集试验数据并计算分离度(R 值)。结果显示, R 值呈现先增大后减小的趋势, 在 60℃~65℃ 获得最佳分离效果。不加热(室温 26℃)或温度过低(如 40℃), DNA 双链未解开或未完全解链, 迁移速度较慢, 分离时间延长; 而温度过高(如 80℃), 筛分介质结构被破坏导致黏度下降, DNA 片段迁移速度加快, 分离时间缩短, 但分离效果变差, 分离度降低。因此, 芯片电泳的最佳操作温度选为 60℃~65℃(表 3)。

进样时间: 分别将进样时间设置为 50、70、90、110 s, 以同一 9947A PCR 扩增产物进行芯片电泳。结果表明, 进样时间太短(50 s), DNA 大片段由于迁移速度慢, 进入分离管道量少导致分离时其峰高较低, 而进样时间太长(110 s), 容易导致进样区带扩散, 同时出现小片段峰低而大片段峰高的明显不均衡现象。

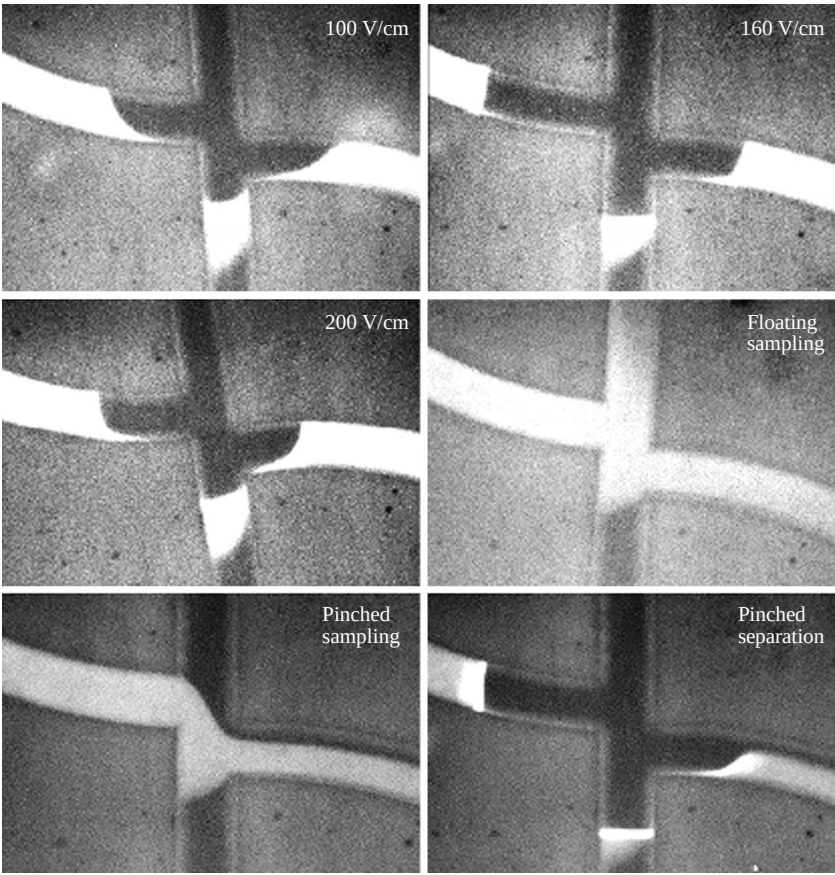


Fig. 4 Fluorescence images of different injection and separation

Table 3 Comparision of different electrophoresis temperature

	<i>t</i> /°C						
	26	40	50	60	65	70	80
<i>R</i>	2.0	2.1	2.21	2.6	3.3	1.3	0.87

2.3 STR 分型检测

按照上述实验确定的电泳最佳条件，分别对血斑样本的 PCR 扩增产物和 Allelic Ladder 进行芯片电泳，并与 3130XL 遗传分析仪检测结果进行比对(图 5~8). 结果显示，本电泳系统可于 8 min 内完成 DNA 片段长度在 100~400 bp，重复单位为 4 或 5 bp 的 PCR 产物电泳检测，经过软件分析后能够得到 15 个 STR 的完整分型，且分型结果与常规 3130XL 电泳检测结果一致(图 5, 6)，表明芯片毛细管电泳能够对实际检材进行分离. 但是，Allelic Ladder 在芯片上的电泳结果较差，黄色荧光通道的信号较弱且存在等位基因丢失. 对于碱基相差 1 bp 的两个等位基因，如图 7 箭头所示，30.3 和 31 尚未分离开，其原因可能是分离管道的长度不

够，导致分辨率达不到 1 bp；筛分介质 LPA 胶液为实验室自己制备，由于操作等原因导致质量和性能无法达到单碱基分辨率的要求. Liu 等^[26]报道采用长度为 7 cm 的玻璃管道和 5% 的 LPA 胶，能够将 TH01 基因座上碱基相差 1 bp 的两等位基因(9.3 和 10)分离开，分辨率达 0.45. Yeung 等^[27]报道采用长度为 15.9 cm 的蛇形电泳管道，以一种商品化的聚丙烯酰胺凝胶为筛分介质实现了相差 1 bp 的等位基因分离，分辨率为 0.76. 通常，增加分离管道长度可以提高电泳分辨率，但是以延长分离时间为代价，故需要权衡分离时间与分辨率二者关系. 本文的芯片电泳虽然能够在短时间内完成 DNA 片段的分离检测，但分辨率和分离度还需进一步提高.

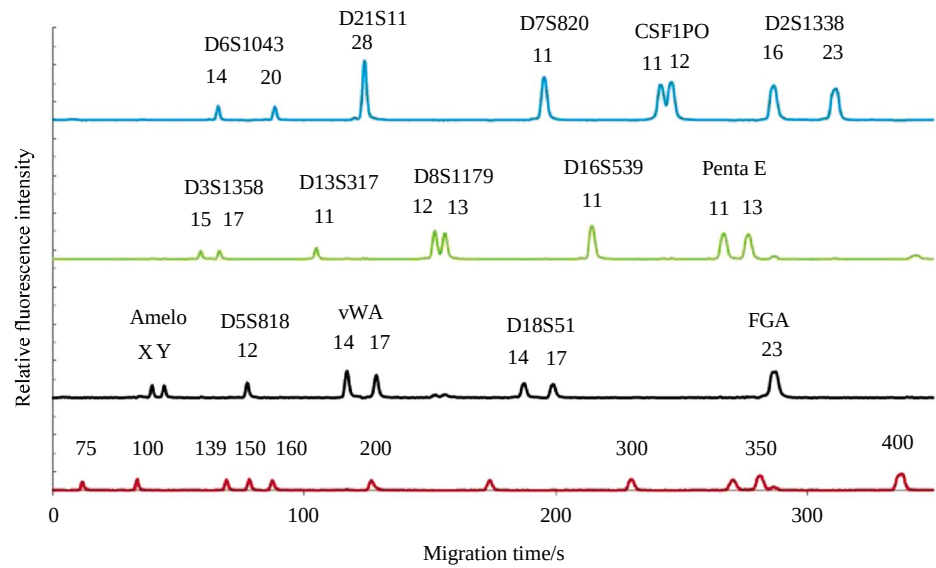


Fig. 5 Electropherograms of amplicon on chip

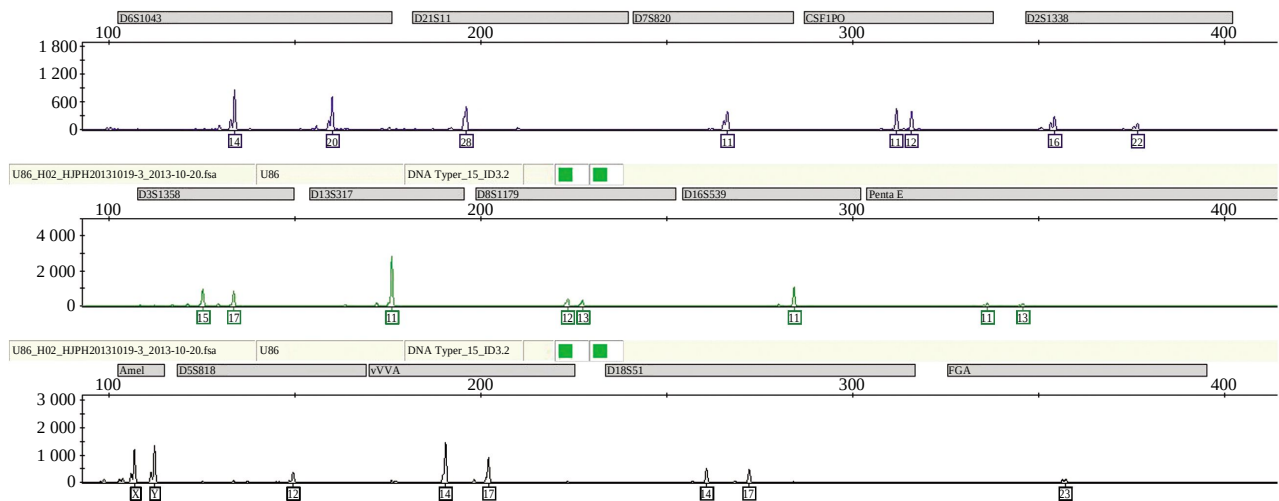


Fig. 6 Electropherograms of amplicon on 3130XL Genetic Analyzer

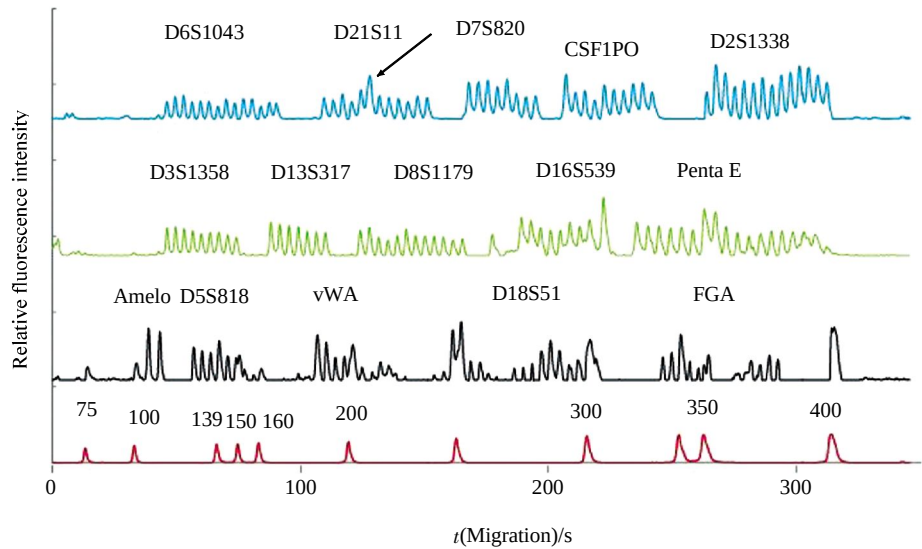


Fig. 7 Electropherograms of allelic ladder on chip

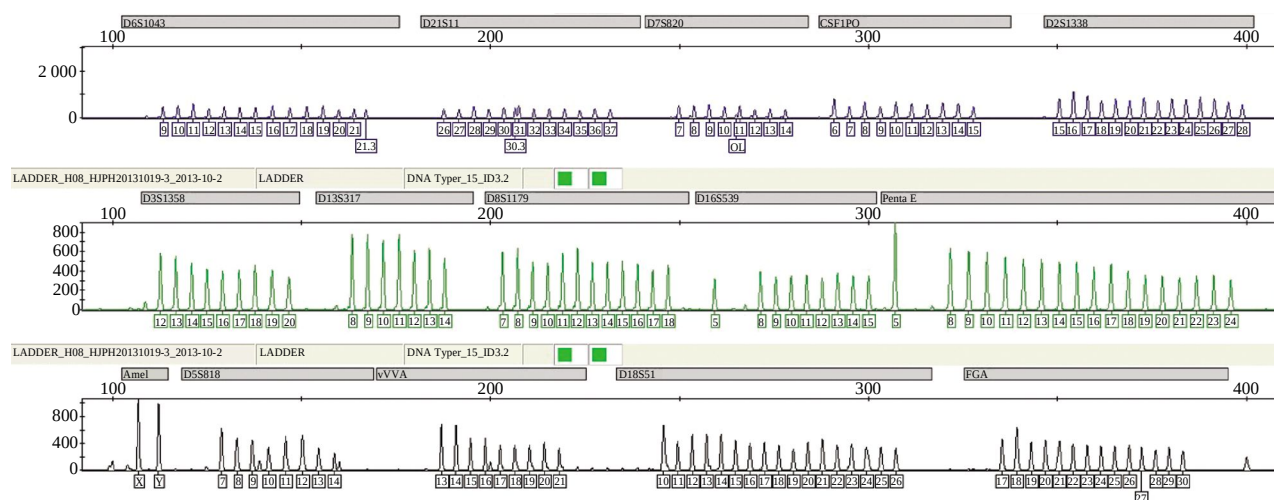


Fig. 8 Electropherograms of allelic ladder on 3130XL genetic analyzer

综上所述, 本文通过对管道表面修饰、筛分介质、分离电场强度、电泳温度、进样时间等参数进行优化, 在 8 min 内成功实现了对 15 重 STR 扩增产物的电泳分离, 分离速度快、分型准确。下一步将尝试提高筛分介质性能、改善进样方式等方法以期在较短时间内实现单碱基分辨率的目标。

参 考 文 献

- [1] Ruitberg C M, Reeder D J, Butler J M. STRBase: a short tandem repeat DNA database for the human identity testing community. *Nucleic Acids Res*, 2001, **29**(1): 320–322
- [2] Butler J M. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. *BioTechniques*, 2007, **43**(4): Sii–Sv
- [3] Manz A, Graber N, Widmer H M. Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensor. *Sens Actuators B*, 1990, **1**(1–6): 244–248
- [4] 靳 艳, 林炳承. 毛细管电泳中聚合物溶液筛分脱氧核糖核酸. *分析化学评述与进展*, 2000, **28**(1): 111–117
Jin Y, Ling B C. *Chin J Anal Chem*, 2000, **28**(1): 111–117
- [5] Schmalzing D, Koutny L, Adourian A, *et al.* DNA typing in thirty seconds with a microfabricated device. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**(19):10273–10278
- [6] Yeung S H, Greenspoon S A, McGuckian A, *et al.* Rapid and high-throughput forensic short tandem repeat typing using a 96-lane microfabricated capillary array electrophoresis microdevice. *J Forensic Sci*, 2006, **51**(4):740–747
- [7] Liu P, Seo T S, Beyor N, *et al.* Integrated portable polymerase chain reaction-capillary electrophoresis microsystem for rapid forensic short tandem repeat typing. *Anal Chem*, 2007, **79**(5): 1881–1889
- [8] 李冠男. 基于 UV-LIGA 技术的毛细管电泳芯片设计与制备[D]. 湖北: 华中科技大学, 2006
Li G N. *The Design and Fabrication of Chip-based Capillary Electrophoresis by UV-LIGA Technology*. Hubei: Huazhong University of Science and Technology, 2006
- [9] Njoroge S K, Chen H W, Witek M A, *et al.* Integrated microfluidic systems for DNA analysis. *Top Curr Chem*, 2011, **304**: 203–260
- [10] Hurth C, Smith S D, Nordquist A R, *et al.* An automated instrument for human STR identification: design characterization, and experimental validation. *Electrophoresis*, 2010, **31**(21):3510–3517
- [11] Le Roux D, Root B E, Reedy C R, *et al.* DNA analysis using an integrated microchip for multiplex PCR amplification and electrophoresis for reference samples. *Anal Chem*, 2014, **86**(16): 8192–8199
- [12] Le Roux D, Root B E, Hickey J A, *et al.* An integrated sample-in-answer-out microfluidic chip for rapid human identification by STR analysis. *Lab Chip*, 2014, **14**(22): 4415–4425
- [13] Tan E, Turingan R S, Hogan C, *et al.* Fully integrated, fully automated generation of short tandem repeat profiles. *Investig Genet*, 2013, **4**(1):16
- [14] LaRue B L, Moore A, King J L, *et al.* An evaluation of the RapidHIT[®] system for reliably genotyping reference samples. *Forensic Sci Int Genet*, 2014, **13**: 104–111
- [15] Holland M, Wendt F. Evaluation of the RapidHITTM 200, an automated human identification system for STR analysis of single source samples. *Forensic Sci Int Genet*, 2015, **14**: 76–85
- [16] Ball G, Dawnay N, Stafford-Allen B, *et al.* Concordance study between the ParaDNA[®] Intelligence Test, a rapid DNA profiling assay, and a conventional STR typing kit (AmpFISTR[®] SGM Plus[®]). *Forensic Sci Int Genet*, 2015, **16**: 48–51
- [17] Eriecha. Mathies: SievingMatrices. OPENWETWARE [EB/OL] (2009-07-22).http://openwetware.org/wiki/Mathies:Sieving_Matrices
- [18] Hjerten S. High-performance electrophoresis: Elimination of electroendosmosis and solute adsorption. *J Chromatogr A*, 1985, **347**: 191–198
- [19] Shi Y, Simpson P C, Scherer J R, *et al.* Radial capillary array electrophoresis microplate and scanner for high- performance

- nucleic acid analysis. *Anal Chem*, 1999, **71**(23): 5354–5361
- [20] Legally E T, Simpson P C, Mathies R A. Monolithic integrated microfluidic DNA amplification and capillary electrophoresis analysis system. *Sens Actuators: B*, 2000, **63**(3): 138–146
- [21] Greenspoon S A, Yeung S H, Johnson K R, *et al.* A forensic laboratory tests the Berkeley microfabricated capillary array electrophoresis device. *J Forensic Sci*, 2008, **53**(4): 828–837
- [22] Belder D, Husmann H, Warnke J. Directed control of electroosmotic flow in nonaqueous electrolytes using poly(ethylene glycol) coated capillaries. *Electrophoresis*, 2001, **22**(4): 666–672
- [23] Verzola B, Gelfi C, Righetti P G. Protein adsorption to the bare silica wall in capillary electrophoresis quantitative study on the chemical composition of the background electrolyte for minimising the phenomenon. *J. Chromatogr A*, 2000, **868**(1): 85–99
- [24] 杨茜, 熊强, 姜成涛, 等. 基于可弃型低成本 PMMA 电泳芯片的微型 DNA 分析系统. *生物化学与生物物理进展*, 2009, **36**(4): 506–511
- Yang Q, Xiong Q, Jiang C T, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2009, **36**(4): 506–511
- [25] 金亚, 罗国安, 汤扬华, 等. 集成毛细管电泳芯片系统的制作、测试及应用. *分析科学学报*, 2001, **17**(2): 148–152
- Jin Y, Luo G A, Tang Y H, *et al.* *J Anal Sci*, 2001, **17**(2): 148–152
- [26] Liu P, Yeung S H, Crenshaw K A, *et al.* Real-time forensic DNA analysis at a crime scene using a portable microchip analyzer. *Forensic Sci Int Genet*, 2008, **2**(4): 301–309
- [27] Yeung S H I, Greenspoon S A, McGuckian A, *et al.* Rapid and high-throughput forensic short tandem repeat typing using a 96-lane microfabricated capillary array electrophoresis microdevice. *J Forensic Sci*, 2006, **51**(4): 740–747

The Electrophoresis on Microfluidic Chips and Its Application in Forensic Science*

HAN Jun-Ping¹⁾, SUN Jing^{2,3)}, ZHUANG Bin⁴⁾, LIU Peng⁴⁾, ZHAO Xing-Chun^{2,3)},

LI Wan-Shui^{2,3)}, JI An-Quan^{2,3)}, YE Jian^{2,3)}, LIU Yao^{1,2,3)**}, LI Cai-Xia^{2,3)**}

⁽¹⁾ Chinese People's Public Security University, Beijing 100038, China;

⁽²⁾ Beijing Engineering Research Center of Crime Scene Evidence Examination, Institute of Forensic Science, Beijing 100038, China;

⁽³⁾ Key Laboratory of Forensic Genetics, Institute of Forensic Science, Ministry of Public Security, Beijing 100038, China;

⁽⁴⁾ Medical System Biology Research Center, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract After optimizing the conditions of surface modification, sieving matrix, electric field strength of separation, injection mode, electrophoresis temperature, injection time and so on, forensic DNA samples included 15 STR loci can be separated on Brofloat glass electrophoresis chip, using electrophoresis apparatus equipped with confocal laser induced fluorescence detection system. The optimized electrophoresis system conditions were obtained and DNA samples were successfully separated within 8min. The microchip electrophoresis system has good prospects in the rapidly forensic DNA analysis.

Key words electrophoresis on microfluidic chips, forensic DNA typing, rapid analysis

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0184

*This work was supported by grants from Special Program of Basic Research for the Central Public Welfare Research Institutes(2015JB005), Research Project of Ministry of Public Security (2014JSYJA011).

**Corresponding author.

Liu Yao. Tel: 86-10-66269492, E-mail: liuyao123@yahoo.cn

Li Cai-Xia. Tel: 86-10-66262392, E-mail: licaixia@tsinghua.org.cn

Received: June 19, 2015 Accepted: November 20, 2015