A16
备案号：37260-2012

WW

中华人民共和国文物保护行业标准

WW/T 0036 — 2012

田野考古出土人类遗骸DNA获取技术规范

Technical specification for DNA extraction from archaeological human remains

2012-07-31发布　　2012-08-01实施

中华人民共和国国家文物局　　发 布

中华人民共和国文物保护行业标准
田野考古出土人类遗骸DNA获取技术规范
Technical specification for DNA extraction from archaeological human remains
WW/T 0036—2012
*
中华人民共和国国家文物局主编
文物出版社出版发行
（北京市东城区东直门内北小街2号楼）
http://www.wenwu.com
E-mail:web@wenwu.com
北京达利天成印刷公司印刷
新　华　书　店　经　销
*
开本：880毫米×1230毫米　1/16
印张：1
2012年12月第1版　2012年12月第1次印刷
统一书号：115010·1802　定价：10.00元

目　　次

前言 III
1　范围　1
2　术语和定义　1
3　样本采集、运输和保存　1
　3.1　样本采集 1
　3.2　样本运输 2
　3.3　样本保存 2
4　样本评估　2
5　DNA提取　3
　5.1　基本要求 3
　5.2　古DNA实验室基本设置 3
　5.3　样本处理 3
　5.4　DNA提取原理 4
　5.5　硅粒法 4
　5.6　硅离心柱法a　5
　5.7　硅离心柱法b　6
　5.8　DNA提取液质量鉴定 7
6　真实性验证　8
　6.1　实验室内部真实性验证 8
　6.2　克隆测序 8
　6.3　其他实验室重复验证 8
附录A（规范性附录）样本采集记录格式 9
附录B（规范性附录）样本保存现状记录格式　10
附录C（资料性附录）样本检测记录格式　11
参考文献 12

前　　言

本标准依据 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国国家文物局提出。

本标准由全国文物保护标准化技术委员会（SAC/TC 289）归口。

本标准负责起草单位：吉林大学。

本标准主要起草人：周慧、朱泓、蔡大伟、张全超、崔银秋、许月。

田野考古出土人类遗骸DNA获取技术规范

1 范围

本标准规定了田野考古出土人类遗骸DNA获取的基本操作技术及要求。

本标准适用于田野考古出土人类遗骸DNA的获取。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

脱氧核糖核酸 DNA deoxyribonucleic acid

由脱氧核糖核苷酸构成的高分子聚合物。互补的双链呈双螺旋形，它是绝大多数生物的遗传物质。

2.2

聚合酶链反应 PCR polymerase chain reaction

一种体外扩增DNA的方法，可在混合的DNA中特异地扩增靶序列。

2.3

外源DNA exogenous DNA

样本之外的DNA，例如考古发掘者、样本采集者、样本研究者以及DNA提取相关实验人员的DNA。

3 样本采集、运输和保存

3.1 样本采集

3.1.1 采集工具

骨骼样本采集工具：毛刷、小型电锯、小型电钻等。

牙齿样本采集工具：毛刷、拔牙钳、牙钻等。

软组织样本采集工具：手术刀、医用剪刀、镊子等。

3.1.2 基本要求

在考古发掘过程中，对需要进行采集的样本，应减少人员直接接触，并避免阳光直射或雨淋，尤其是不能用水清洗。对于特别潮湿的样本，应先置于阴凉处晾干。

采集者应戴一次性无菌的头套、口罩、手套，使用无菌采集工具。

为了避免样本间的交叉污染，每采集完一个样本后，均需更换新的无菌采集工具。对于不便更换的采集工具应用5%次氯酸溶液清洗干净后再使用。

对于接触样本的人员，宜用口腔拭子采集口腔黏膜细胞，或拔取数根带有毛囊的头发，以备后续的真实性验证。

3.1.3 采集方法

3.1.3.1 骨骼

宜选择表面完整无破损且光滑致密的样本，放入一次性塑封袋中，并贴上样本标签（见图1）。

对于特别珍贵的样本，可在骨骼局部位置用小型电锯切下一小块骨片（约2g），或用小型电钻钻取适量骨粉（约2g）。切割骨片或者钻取骨粉前，应先用毛刷清理骨骼表面的泥土或其他沉积物，并

用5%次氯酸溶液擦拭骨骼表面，以除去骨骼表面的外源DNA污染。

样本标签

出土遗址：_____

出土编号：_____

采集时间：_____年___月___日

采集者：_____

备注：

图1　样本标签

3.1.3.2　牙齿

用拔牙钳将牙齿从上颌骨或下颌骨中拔出，放入一次性塑封袋中，并贴上样本标签。

对于特别珍贵的样本，可用牙钻在牙根部分钻取适量牙粉。钻取牙粉前，应先将牙齿置于5%次氯酸中浸泡15min，以除去牙齿表面的外源DNA污染。

3.1.3.3　软组织

采集毛发样本时，如果有毛囊应连同毛囊一起拔取数根，放入一次性塑封袋中，并贴上样本标签。

采集肌肉、皮肤以及脑和内脏等器官样本时，应用手术刀切取或医用剪子剪取部分样本，用镊子夹取放入一次性塑封袋中，并贴上样本标签。

3.1.4　采集记录

填写样本采集表，见附录A中的表A.1。

3.2　样本运输

样本装箱时宜用泡沫塑料分隔固定，以避免在运输过程中样本颠簸受损。

样本运输时，宜采用冷冻或冷藏运输方式。

3.3　样本保存

样本入库时，样本库管理者应立即对样本进行照相，并保存电子文档和纸质文档。

样本库管理者填写样本保存现状表，参见附录B中的表B.1。

骨骼和牙齿等硬组织样本宜置于-20℃、软组织样本宜置于-80℃冰箱中保存。

4　样本评估

实验前，研究人员要从多方面评估样本，以确定样本是否适合用于DNA提取,包括以下方面：

a）样本的埋藏情况，包括有无墓室/棺椁、土壤特性、酸碱度、湿度等；

b）样本的保存现状，包括入库时间，保存温度、湿度等；

c）样本的外观形态特征，包括样本的质地、颜色、表面风化及破损情况等；

d）样本的保存状态测试评估，宜对样本进行DNA定量、天冬氨酸（Asp）外消旋反应速率、骨质结构及成分分析等检测分析，参见附录C中的表C.1。

5 DNA提取

5.1 基本要求

DNA提取的基本要求如下：

a）所有实验操作均应在专门的古DNA实验室中完成；

b）实验操作者应穿着无菌的实验服，戴一次性无菌头套、口罩和手套；

c）在实验中应使用不含外源DNA的实验试剂；

d）在实验中应使用一次性实验耗材，并经过高压蒸汽灭菌（0.1MPa，121℃，20min）；

e）在实验中需多次重复使用的器具，应先进行超声清洗，接着用5%次氯酸溶液浸泡15min，最后高压蒸汽灭菌；

f ）在进行实验前，应用5%次氯酸溶液擦拭超净操作台，并紫外线照射30min；

g）在进行样本处理时，每处理完一个样本，应及时更换新的无菌牙钻钻头或电锯锯片；

h）在进行实验过程中应设置空白对照，用来监测实验过程中的外源DNA污染。

5.2 古DNA实验室基本设置

5.2.1 古DNA实验室功能分区及仪器设备如下：

——样本处理区：牙钻、小型电锯、冷冻研磨机、超净工作台等；

——DNA提取区：恒温摇床、高速冷冻离心机、超净工作台、微量移液器等；

——PCR加样区：小型高速离心机、冰箱、超净工作台、微量移液器等；

——PCR扩增区：PCR仪；

——DNA检测区：凝胶成像仪、电泳仪、紫外分光光度计、天平、冰箱、微波炉、微量移液器等。

5.2.2 样本处理区、DNA提取区和PCR加样区应配备独立的空气过滤系统。

5.2.3 DNA检测区应设在与其他工作区不同的楼层或不同的建筑物里面，以避免PCR扩增产物对其他工作区的污染。

5.2.4 实验室应配备带紫外灯和正压气流的超净工作台。

5.3 样本处理

5.3.1 骨骼的处理

首先用毛刷清理骨骼表面的泥土或其他沉积物，并用5%次氯酸溶液擦拭骨骼表面，以除去骨骼表面的外源DNA。接着用电锯切下一小片骨片（约2g），用牙钻钻头打磨骨片表面（重复3遍，约打磨掉1mm～2mm厚），进一步除去骨表面的污垢和杂质。将打磨好的骨片置于5%次氯酸溶液中浸泡15min。然后依次用超纯水、无水乙醇洗涤，此过程重复3遍，紫外线照射30min，晾干。最后将骨片放入冷冻研磨机中，液氮冷却，打磨成骨粉，分装成500mg/管，-20℃冷冻保存。

在样本采集过程中，切割获取的骨片可参考上述处理方法。

在样本采集过程中，钻取的骨粉应先用5%次氯酸溶液中浸泡5min。然后依次用超纯水、无水乙醇洗涤，此过程重复3遍，直接用于DNA提取。

5.3.2 牙齿的处理

首先用毛刷清理牙齿表面的泥土或其他沉积物，将清理后的牙齿置于5%次氯酸溶液中浸泡

15min。然后依次用超纯水、无水乙醇洗涤，此过程重复3遍，紫外线照射30min，晾干。最后将牙齿放入冷冻研磨机中，液氮冷却，打磨成牙粉，分装成500mg/管，-20℃冷冻保存。

在样本采集过程中钻取的牙粉，应先用5%次氯酸溶液中浸泡5min。然后依次用超纯水、无水乙醇洗涤，此过程重复3遍，直接用于DNA提取。

5.3.3　软组织的处理

采集的毛发样本，依次用超纯水、无水乙醇洗涤，此过程重复3遍，直接用于DNA提取。

采集的皮肤、肌肉、脑和内脏样本，应先用无水乙醇擦拭表面，再用剪刀将其剪碎后，置于5%次氯酸溶液中浸泡15min。然后依次用超纯水、无水乙醇洗涤，此过程重复3遍，直接用于DNA提取。

5.4　DNA提取原理

本标准推荐三种基于硅法的DNA提取方法：硅粒法、硅离心柱法a、硅离心柱法b，其原理是：在高盐溶液中，DNA可与二氧化硅结合，并能够被低盐溶液或水洗脱，通过简单的结合—清洗—洗脱步骤即可获得纯DNA。

——硅粒法：利用二氧化硅微粒与DNA结合。

——硅离心柱法：利用离心柱中的硅胶膜与DNA结合。

5.5　硅粒法

5.5.1　试剂

除非另有规定,硅粒法所需试剂。

5.5.1.1　二氧化硅微粒Silicon dioxide （SiO_2）。

5.5.1.2　异硫氰酸胍Guandine thiocyanate （GuSCN）。

5.5.1.3　乙二胺四乙酸Ethylene diamine tetraacetic acid（EDTA）。

5.5.1.4　蛋白酶K　Proteinase K。

5.5.1.5　三羟甲基氨基甲烷Tris hydroxymethyl aminomethane（Tris）。

5.5.1.6　氯化钠Sodium chloride（NaCl）。

5.5.1.7　盐酸Hydrochloric acid（HCl，37%）。

5.5.1.8　无水乙醇 Ethanol（100%，EtOH）。

5.5.2　缓冲液

利用5.5.1中的试剂配制下列缓冲液。

5.5.2.1　裂解缓冲液（0.45mol/L EDTA，0.25mg/mL蛋白酶K，pH 8.0）。

5.5.2.2　DNA结合缓冲液（5mol/L GuSCN，25mmol/L NaCl，50mmol/L Tris），室温避光保存。

5.5.2.3　DNA清洗缓冲液（50% EtOH，125mmol/L NaCl, 10mmol/L Tris，1mmol/L EDTA，pH 8.0）。

5.5.2.4　DNA洗脱缓冲液（10mmol/L Tris，1mmol/L EDTA，pH 8.0）。

5.5.3　二氧化硅微粒悬浮液[1)]

二氧化硅微粒悬浮液的配制步骤如下：

a）称量4.8g二氧化硅微粒，置于50mL离心管中，加入超纯水至40mL刻度线，涡旋振荡后，室温静置1h；

b）吸取39mL上清液到一个新的50mL离心管，涡旋振荡后，室温静置4h；

c）移除35mL上清液，加入39μL HCl, 涡旋振荡混匀，室温避光保存。

5.5.4　DNA提取步骤

1）　BIO 101公司的Ancinet DNA GLASSMILK 或QIAGEN公司的QIAEX II Suspension是适合的市售产品的实例。给出这一信息是为了方便本标准的使用者，并不表示对这些产品的认可。

5.5.4.1 DNA释放

在裂解缓冲液的作用下，DNA从样本组织细胞中释放出来，具体步骤如下：

a）在装有500mg样本的15mL离心管中加入10mL裂解缓冲液，同时设置空白对照；

b）用封口膜封好盖子，放入摇床，37℃、150r/min振荡16h-24h。

5.5.4.2 DNA与二氧化硅微粒结合

DNA释放后，需将DNA与二氧化硅微粒结合，具体步骤如下：

a）将上述样本及空白对照6000×g离心2min，转移上清液至新的50mL离心管中；

b）加入40mL DNA结合缓冲液和100μL 二氧化硅悬浮液，用浓盐酸调节pH值至4.0；

c）用封口膜封好盖子，放入摇床，37℃、150r/min振荡3h；

d）6000×g离心2min，移除上清液，加入1mL DNA结合缓冲液，重新悬浮沉淀，将其转移至新的1.5mL离心管中。

5.5.4.3 DNA清洗

DNA与二氧化硅微粒结合后，应对二氧化硅微粒进行清洗，除去杂质，具体步骤如下：

a）12000×g离心1min，移除上清液，加入1mL DNA清洗缓冲液，重新悬浮沉淀；

b）重复步骤 a）两次；

c）12000×g离心1min，移除上清液，室温开盖干燥二氧化硅微粒，大约15min。

5.5.4.4 DNA洗脱

清洗完毕后，需将DNA从二氧化硅微粒上洗脱下来，具体步骤如下：

a）加入80μL DNA洗脱缓冲液到干燥的二氧化硅微粒上，使其重新悬浮，56℃孵育10min；

b）12000×g离心4min，吸取上清液（不能吸到二氧化硅微粒）到新的1.5mL离心管中，-20℃或-80℃保存。

注：可以重复步骤a）-b）进行第二次洗脱，增加溶液中的DNA总量，但DNA浓度会降低。

5.6 硅离心柱法a

5.6.1 试剂和材料

除非另有规定,硅离心柱法a所需试剂和材料。

5.6.1.1 硅离心柱[2]。

5.6.1.2 超滤浓缩管。

5.6.1.3 DNA结合缓冲液[2]。

5.6.1.4 DNA清洗缓冲液[2]。

5.6.1.5 蛋白酶K Proteinase K。

5.6.1.6 十二烷基硫酸钠Sodium dodecyl sulfate （SDS）。

5.6.1.7 三羟甲基氨基甲烷Tris hydroxymethyl aminomethane（Tris）。

5.6.1.8 盐酸Hydrochloric acid（HCl，37%）。

5.6.2 缓冲液

利用5.6.1中的试剂配制下列缓冲液。

5.6.2.1 裂解缓冲液（0.45mol/L EDTA，0.5% SDS，0.25mg/mL蛋白酶K，pH 8.0）。

5.6.2.2 DNA洗脱缓冲液（10mmol/L Tris-HCl，pH 8.5）。

~~5.6.3 DNA提取步骤~~

2） QIAGEN公司的QIAquick spin column（硅离心柱）、Buffer PB（DNA结合缓冲液）、Buffer PE（DNA清洗缓冲液）是适合的市售产品的实例。给出这一信息是为了方便本标准的使用者，并不表示对这些产品的认可。

5.6.3.1　DNA释放

在裂解缓冲液的作用下，DNA从样本组织细胞中释放出来，具体步骤如下：

a）在装有500mg样本的15mL离心管中加入3mL裂解缓冲液，同时设置空白对照；

b）用封口膜封好盖子，放入摇床，50℃、220r/min振荡16h~24h。

5.6.3.2　DNA与硅胶膜结合

DNA释放后，需将DNA结合到硅胶膜上，具体步骤如下：

a）将上述样本及空白对照6000×g离心20min。转移上清液至超滤浓缩管中，离心使溶液浓缩到100μL（离心时间随样品不同而不同）；

b）加入500μL DNA结合缓冲液，用枪头反复抽吸混匀，将混合液转移到硅离心柱中；

c）12000×g离心1min，丢弃滤液。

5.6.3.3　DNA清洗

DNA与硅胶膜结合后，应对硅胶膜进行清洗，除去杂质，具体步骤如下：

a）加入500μL DNA清洗缓冲液到硅离心柱中，用枪头反复抽吸混匀；

b）12000×g离心1min，丢弃滤液；

c）重复步骤a）-b）一次；

d）12000×g离心3min，丢弃滤液。

5.6.3.4　DNA洗脱

清洗完毕后，需要将DNA从硅胶膜上洗脱下来，具体步骤如下：

a）将硅离心柱放在一个新的1.5mL的离心管上；

b）加入80μL DNA洗脱缓冲液到硅胶膜的中心，50℃孵育15min；

c）12000×g离心1min，收集滤液，-20℃或-80℃保存。

5.7　硅离心柱法b

5.7.1　试剂和材料

除非另有规定,硅离心柱法b所需试剂和材料。

5.7.1.1　硅离心柱[3]。

5.7.1.2　组织裂解液[3]。

5.7.1.3　DNA结合缓冲液[3]。

5.7.1.4　DNA清洗缓冲液a[3]。

5.7.1.5　DNA清洗缓冲液b[3]。

5.7.1.6　蛋白酶K Proteinase K。

5.7.1.7　三羟甲基氨基甲烷Tris hydroxymethyl aminomethane（Tris）。

5.7.1.8　盐酸Hydrochloric acid（HCl，37%）。

5.7.1.9　DNA洗脱缓冲液（10mmol/L Tris-HCl，0.5mmol/L EDTA, pH 9.0）。

5.7.2　DNA提取步骤

5.7.2.1　DNA释放

在裂解缓冲液的作用下，DNA从样本组织细胞中释放出来，具体步骤如下：

a）在装有500mg样本的5mL离心管中加入1mL组织裂解液（含0.25mg/mL蛋白酶K），同时设置空白对照；

3）　QIAGEN公司的QIAamp spin column（硅离心柱）、Buffer ATL（组织裂解液）、Buffer AL（DNA结合缓冲液）、Buffer AW1（DNA清洗缓冲液a）、Buffer AW2（DNA清洗缓冲液b）是适合的市售产品的实例。给出这一信息是为了方便本标准的使用者，并不表示对这些产品的认可。

b）用封口膜密封盖子，放入摇床，50℃、130r/min振荡16h-24h。

5.7.2.2　DNA与硅胶膜结合

DNA释放后，需将DNA与硅胶膜结合，具体步骤如下：

a）将上述样本及空白对照6000×g离心8min，转移700μL上清液到新的5mL离心管中；

b）加入700μL DNA结合缓冲液，涡旋15s，70℃孵育10min；

c）加入700μL无水乙醇，涡旋15s；

d）将700μL混合液加入到硅离心柱中，6000×g离心1min，丢弃滤液；

e）重复步骤d）两次；

f ）将硅离心柱放到新的1.5mL离心管上。

5.7.2.3　DNA清洗

DNA与硅胶膜结合后，应对硅胶膜进行清洗，除去杂质，具体步骤如下：

a）加入500μL DNA清洗缓冲液a 到硅离心柱中，6000×g离心1min，丢弃滤液；

b）加入500μL DNA清洗缓冲液b 到硅离心柱中，6000×g离心1min，丢弃滤液；

c）12000×g离心3min，丢弃滤液。

5.7.2.4　DNA洗脱

清洗完毕后，需要将DNA从硅胶膜上洗脱下来，具体步骤如下：

a）将硅离心柱转移到新的1.5mL离心管上；

b）加入80μL DNA洗脱缓冲液到硅胶膜的中心；37℃孵育15min；

c）6000×g离心1min，收集滤液，-20℃或-80℃保存。

5.8　DNA提取液质量鉴定

5.8.1　原理

通过对DNA提取液进行PCR扩增，利用2%琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增的产物，来判断是否成功提取古DNA。

5.8.2　试剂

除非另有规定,所需试剂。

5.8.2.1　PCR反应试剂：10×PCR缓冲液、$MgCl_2$溶液（25mmol/L）、dNTPs混合液（10mmol/L）、Taq酶（5U/μL）。

5.8.2.2　正向引物、反向引物：浓度25μmol/L，可根据需要自行设计引物，扩增长度宜在300bp以内。

5.8.2.3　牛血清白蛋白：　Bovine Serum Albumin（BSA, 20mg/mL）。

5.8.2.4　凝胶电泳试剂：琼脂糖、6×\u20957X胶载样缓冲液（0.25%溴酚蓝，0.25%二甲苯氰FF，30%甘油水溶液）、溴化乙锭EB（10mg/mL），1×TAE电泳缓冲液（40mmol/L Tris-HAc，1mmol/L EDTA）。

5.8.3　PCR加样

在PCR加样室内，利用微量移液器依次将超纯水、PCR缓冲液、$MgCl_2$溶液、BSA溶液、dNTPs混合液、正向引物、反向引物、Taq酶和DNA提取液加入到离心管中混合，各成分的加入量参考表1，同时设置空白对照。

5.8.4　PCR扩增

在PCR扩增室，将加样后的离心管放置于PCR仪中，进行PCR扩增。

PCR扩增条件：95℃ 5min；36个循环（94℃ 30s，45℃～60℃ 40s，72℃ 45s）；最后72℃ 10min。

由于样本的保存状况千差万别，应根据样本的实际情况调整PCR反应条件和扩增条件。

表1　标准PCR反应体系（25μL）

成分	加入量（μL）	终浓度
超纯水	14	-
PCR缓冲液	2.5	1X
Mg^{2+}	2.5	2.5 mmol/L
BSA	1.5	1.2mg/mL
dNTPs	0.5	200μmol/L
正向引物	0.4	0.4μmol/L
反向引物	0.4	0.4μmol/L
Taq酶	0.2	1U/25μL
DNA提取液	3	-

5.8.5　PCR扩增产物检测

PCR扩增完毕后，取5μL PCR扩增产物，至DNA检测室，利用琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增的结果，操作步骤如下：

a）用天平称取1.2g琼脂糖，放入锥形瓶中，加入60mL 1×TAE电泳缓冲液，微波炉高火加热，待琼脂糖完全溶解，室温冷却至50℃-60℃ （未形成凝胶状），加入3μL溴化乙锭，充分混匀；

b）将凝胶倒入凝胶托盘，插入合适的梳子形成加样孔，室温下放置10min-20 min；

c）待凝胶完全凝结，小心拔出梳子，取出凝胶，放到电泳槽内；

d）加入1×TAE电泳缓冲液，刚好没过凝胶1mm；

e）混合PCR扩增产物和1μL 6×\u20957X胶载样缓冲液，用微量移液器加至凝胶的加样孔内；

f ）关上电泳槽盖，接好电极插头，设置电场强度5 V/cm, 时间20min-30min；

g）取出凝胶，使用凝胶成像仪进行观察、分析、记录。

6　真实性验证

6.1　实验室内部真实性验证

每个样本至少需进行两次独立的DNA提取，对每次提取的DNA分别进行PCR扩增，并对PCR扩增产物进行正反向测序。

对接触样本的人员进行DNA测序，与所获得的古DNA序列进行比对分析。

6.2　克隆测序

为了避免古DNA碱基损伤所造成的PCR错配对真实性的影响，应随机选取20%的样本进行克隆测序，每个样本挑取10个克隆测序，观察位点损伤情况。

6.3　其他实验室重复验证

随机选取20%的样本送至其他实验室进行验证。

附　录　A
（规范性附录）
样本采集记录格式

表 A.1提供了田野考古出土人类遗骸DNA提取样本采集记录表的格式。

表 A.1　样本采集表

遗址名称：_____　遗址经纬度：_____　遗址时代：
遗址土壤酸碱度：_____　遗址土壤湿度：_____　遗址年平均气温：

序号	出土编号	有无墓室/棺椁	出土时间	样本年代	样本部位	样本数量	样本性别	样本年龄	接触样本人员姓名

样本提供者：_____　_____　_____　_____　年　月　日。
样本采集者：_____　_____　_____　_____　年　月　日。
样本库管理者：　年　月　日。

附　录　B
（规范性附录）
样本保存现状记录格式

表 B.1提供了田野考古出土人类遗骸DNA提取样本保存现状记录表的格式。

表 B.1　样本保存现状表

序号	出土编号	样本部位	样本表面风化破损程度	样本颜色	样本质地	磨损情况（牙）	入库时间	入库后保存条件（温度、湿度）	入库后接触样本的人员姓名

样本库管理者：_____ _____ _____ _____　　年　　月　　日。

附　录　C
（资料性附录）
样本检测记录格式

表 C.1提供了田野考古出土人类遗骸DNA提取样本检测记录表的格式。

表 C.1　样本检测表

序号	出土编号	DNA测定	骨组织中天冬氨酸（Asp）外消旋反应速率	骨质结构电镜结果	骨胶原蛋白含量测定	羟基磷灰石含量测定

研究人员：_____ _____ _____ _____　　年　　月　　日。

参 考 文 献

[1] Rohland N, Hofreiter M. （2007） Ancient DNA extraction from bones and teeth, Nature Protocols，2 （7）:1756 -1762.

[2] Yang DY，Eng B, Waye JS, Dudar JC, Saunders SR. （1998） Technical Note: Improved DNA Extraction from Ancient Bones Using Silica-Based Spin Columns，American Journal of Physical Anthropology, 105:539-543.

[3] Bouwman AS, Brown TA. （2002） Comparison between silica-based methods for the extraction of DNA from human bones from 18th to Mid-19th century London, Ancient Biomolecules, 4（4）:173-178.

[4] Rohland N, Hofreiter M. （2007） Comparison and optimization of ancient DNA extraction, Biotechniques, 42（3）:343-52.

WW/T 0036—2012

统一书号：115010·1802
定价：10.00元