

日本財団補助金による

1997年度日中医学協力事業助成報告書

—在留中国人研究者研究助成—

1998年3月10日

財団法人 日中医学協会  
理事長 中島章殿

I. 研究者氏名 林 子清  
研究機関 金沢大学医学部法医学教室 研究指導者 大島 徹 職名 主任教授  
所在地 〒920-0934 金沢市宝町13-1 電話 076-233-0261 内線

II. 過去の研究歴

1984年から1997年までに、中国医科大学修士課程学生、助手、金沢大学大学院研究生、大学院博士課程学生及び金沢大学助手を経て、皮膚紋理の遺伝、骨格の性差、法医実務試料の性別及びABO式血液型判定、ミイラの性別とABO式血液型の検査、並びに人獣鑑別について幅広く研究を行いました。

III. 過去の研究実績

1984年から1997年までに、国際誌、中国及び日本の雑誌にて26篇の論文を発表し、国際及び中国と日本の国内の学会で7回の口頭発表を行いました。

IV. 本年度の研究業績

(1) 学会、研究会等における口頭発表 (学会名・内容)

日本生化学会第15回北陸地方会 (金沢、1997年5月31日) にて、DNA分析の方法を用いたヒトとヒト以外の霊長類動物の鑑別について口頭発表を行いました。

(2) 学会誌等に発表した論文 無・有 (雑誌名・論文名)

1. Int. J. Legal Med., 110: 254-259, 1997. Species identification based on the point mutations of histo-blood group ABO genes by PCR-RFLP and direct sequencing.

2. Jpn. J. Legal Med., 51: 231-234. An autopsy case of suicidal strangulation with four looped rubber bands.

V. 今後の研究計画及び希望

今後も引き続き、増幅できるSTR Locusを探し、ミトコンドリアDNAについても検査して、これらミイラの人種及び血縁関係を解明するよう検討します。

VI. 研 究 報 告 (日本語、又は英語で書いて下さい。4,000字以上で記載して下さい。別紙可)

別紙参照.



VII. 指導教官の意見

これまで林子清博士は私と共に中国・新疆で発見された9体のミイラの性別とABO式血液型の遺伝子型判定を中心に、様々な種類の法医学的試料について、DNAレベルでの研究を行ってきました。本研究では、近年注目されているSTR多型についてミイラ試料を対象に検討し、DNAの抽出法及びポリメラーゼ連鎖反応(PCR)阻止因子の除去法について、独自の方法で工夫したところ、1300年以上経過したミイラ試料のSTR HUMTH01 locusの増幅に成功しました。この成果は、極めて古い考古学試料についてもSTR多型の検査が可能であることを示すもので、今後、STR多型が個人識別や親子鑑定等の法医学実務のみならず、考古学や人類遺伝学などの関連分野においても有用であることを実証しています。

## 研 究 報 告

—PCR法を用いた約1300年前のミイラに対するSTR増幅の試み—

林 子清

金沢大学医学部法医学教室 協力研究員

中国医科大学法医学系 法医人類学教室 講師

テキスト9枚, 写真説明1枚, 写真2枚, 表1枚, 計13枚

連絡先: 林 子清

中国医科大学法医学系 法医人類学教室

〒110001 中国遼寧省瀋陽市和平区北二馬路92号

Tel: 86-24-3863731, 内線: 法医人類学教室

又は, 金沢大学医学部法医学教室

〒920-8640 金沢市宝町13-1

Tel: 076-265-2223 Fax: 076-234-4234

## 目 的

1985年, Jeffreysらは, ヒトDNAにおいて33塩基対を基本単位とする繰り返し配列, いわゆるミニサテライトを発見し, その後も, 彼らは, ミニサテライトより基本単位の塩基数が少ないマイクロサテライトを発見した. これら遺伝マーカーは極めて高度の多型を示し, しかもメンデルの法則に従って安定に遺伝するので, 現在, DNAフィンガープリントやシングルローカスプローブとして, 人類学, 遺伝学及び法医学などの幅広い分野で利用されている. しかしながら, これらの検出には少なくとも数 $\mu$ gの高分子DNAが必要とされるため, 回収されるDNAの絶対量が少なかったり, あるいは断片化している可能性が高い古代の試料では, ミニサテライトの検出も困難である場合が多い.

近年, ミニサテライトよりも短い, 2-5塩基を基本単位とした反復配列であるSTR (short tandem repeat) が急速に注目されている. すなわち, STRはミニサテライトやマイクロサテライトと同様に, 繰り返し配列の回数が個人によって異なる上, この個人差がメンデル法則に従って安定に遺伝し, しかもalleleの長さは通常百から数百塩基対 (bp) と比較的短く, 微量かつ低分子化したDNA試料からでも型検出が可能である. また型判定の方法も比較的簡単であるため, 法医実務においても広く応用されて来ている.

我々は今までに, 日本の大谷光瑞探険隊が中国・新疆で発見した9体のヒトのミイラ (現在, 中国遼寧省旅順博物館に所蔵されてい

る) についてDNA検査を行い, 性別とABO式血液型を判定し, 報告してきた. しかし, これら9体のミイラの血縁関係については, 発掘当時の状況や同時に発見された副葬品等からは判定できずにいるため, 今回, これらミイラの人種や血縁関係の判定を試みて, 9体のミイラのうち8体のSTR多型について検討した.

## 研究材料および方法

### 1. ミイラ

ミイラは中国・新疆ウイグル自治区の砂漠地帯であるトルファンで発見されたもので, 発掘された古墳は中国唐代(紀元7世紀)の高昌国のものであると考古学的に鑑定されている. したがってミイラは今から約1300年前の高昌国のヒトであると考えられる.

今回対象とした8体のミイラは外表所見に基づき成人と判定される(Fig.1). 8体中, 6体の性別は外表上の形態的特徴により推定可能であり, 残り2体の性別は外表所見からは推定できなかったが, 2体とも男性であること(性染色体がXY)が我々のこれまでの研究から明らかである. また, 既にDNA検査及び血清学的方法を用いて, 各ミイラのABO式血液型の遺伝子型も判定している. 今回, 各成人ミイラからは毛髪, 骨格筋及び皮膚を採取し, 研究試料とした.

### 2. DNA抽出および精製

各ミイラから採取した毛髪約10本, 骨格筋約100mg, 或いは皮

膚約0.5cm<sup>2</sup>を，1.5mlのエッペンドルフチューブに入れ，1.0mlの滅菌生理的食塩水（0.85%のNaClを含む滅菌蒸留水）を加え，室温で24時間（途中で滅菌生理的食塩水を2回交換），緩徐に振盪した後，生理的食塩水を除去し，1.0mlの1%SDSを含むTNE緩衝液（10mM Tris-HCl, pH8.0, 50mM NaCl, 10mM EDTA）で30分間振盪しながら，十分に洗浄した．同様な洗浄を3回繰り返した後，2.0% SDS, 0.04M DTTと200 $\mu$ gのプロテナーゼ Kを含むTNE緩衝液1.0mlを加えて，50 $^{\circ}$ Cで20時間反応させた．チューブ中の試料が完全に分解されたことを肉眼的に確認した後，水飽和の中性フェノールを2回，フェノール/クロロホルム（24:1）を2回，クロロホルムを1回加えて除蛋白した．除蛋白後の水溶液をn-ブタノールで200 $\mu$ lに濃縮し，続いて6M NaI, 0.5% N-ラウロイルサルコシナトリウムと10mM Tris-HCl (pH8.0)を含む水溶液200 $\mu$ lをチューブに加え，45 $^{\circ}$ Cで15分間反応後，12,000rpm/minで5分間遠心し，沈殿物を15 $\mu$ lのTE緩衝液（10mM Tris-HCl, pH8.0, 1mM EDTA）に溶解した．TE緩衝液に溶解したDNA溶液が褐色或いは黒色を呈する場合は，さらにスピンカラム（吉井ら，日法医誌，47，323-329，1993）を用い，十分にDNA溶液中に含まれるPCR阻止因子を除去した．

### 3. PCR反応

HUMTH01 及びHUMVWAの増幅に用いたプライマーは，Edwardsら（Edwards et al, Genomics, 12, 241-253,

1992)とMöllerら(Möller et al, Int J Legal Med, 106, 183-189, 1994)の報告に従った(表1). 反応液は全量を50 $\mu$ lとし, 各プライマーを1.0 $\mu$ M, Taq DNAポリメラーゼ(宝酒造)を5.0単位, dNTPを200 $\mu$ M, 付属の10倍濃度の緩衝液(500mM KCl, 15mM MgCl<sub>2</sub>, 100mM Tris-HCl pH8.0)を5 $\mu$ l, ウシ血清アルブミン(BSA)を20 $\mu$ g, 並びに, 抽出したDNA溶液5 $\mu$ lを加えた. PCR反応は表1に示した条件で行った.

#### 4. 結果判定

PCR反応後の溶液をエタノールで沈殿させ, 5 $\mu$ lのホルムアミド一色素混合液(0.1%キシレンシアノール, 0.1%ブロモフェノールブルー, 20mMEDTA, ホルムアミド100ml)に溶解した後, 7Mの尿素を含む6%ポリアクリルアミドゲル(135 $\times$ 135 $\times$ 0.3mm)を用いて, 150Vの定電圧で3時間, 電気泳動を行い, Budowleらの方法(Am J Hum Genet, 48, 137-144, 1991)に従って銀染色を施し, 各増幅産物のバンドパターンを観察した.

### 成 績

#### 1. 抽出DNAの性状とPCR法による増幅

抽出されたDNA溶液が褐色または黒色に着色していた場合は, そのままの状態でもPCR反応液に加えて増幅反応を試みても, HUMTH01とHUMVWAのいずれも増幅されなかった. しかし, スピンカラムでこのDNA抽出液中の不純物を除去すると, DNA溶

液は無色ないし薄茶色になり，このDNA溶液を用いてPCR反応を行うとHUMTH01は増幅された．しかし，HUMVWAについては，依然，増幅されなかった．

また，スピンカラムによる精製後，なおHUMTH01とHUMVWAの両方が増幅されなかったDNA溶液については，PCR阻止因子の作用を抑える目的でPCR反応液中に，段階的に濃度を変えたウシ血清アルブミン（BSA）を加えたところ，総量50 $\mu$ lの反応液中にBSAを20 $\mu$ g加えることでHUMTH01が特異的に増幅された．しかしながらHUMVWAはBSAの濃度とは関係なく，いずれも増幅されなかった．

## 2. HUMTH01の検査

HUMTH01については，Fig.2に示したように，8体の成人ミイラのうち6体（No.1, 3, 4, 6, 7と8）は2本のバンドを示したが，No.2とNo.5は1本のみを示した．また，このNo.2とNo.5のバンドは，他の6体のミイラが示した2本のバンドのうちの短いバンドと同一位置に検出された．

## 3. HUMVWAの検査

8体のHUMVWAを検査したところ，いずれの試料を用いても目的としたDNAバンドが増幅されなかった．

## 考 察

1984年カリフォルニア大学のHiguchiらは，南アフリカの絶滅



動物「クアツガ」の剥製標本から抽出したDNAの塩基配列を決定し、クアツガの系統的位置付けを行った。その後、スウェーデン・ウプサラ大学のPääboらによって、約7000年前のアメリカ原住民の脳をもとに、ミトコンドリアDNA断片のクローニングと、その塩基配列が決定されるなど、PCR法の開発により、考古学や人類学研究は目覚ましく進歩している。現在では、約4万年前のマンモスや約1億3千万年前の琥珀中の昆虫化石からのDNAの増幅及び塩基配列決定の成功をはじめ、ヒトを含めた数多くの生物について、化石などの古代生物が残した様々な試料を用いて、遺伝子レベルでの研究が進んでいる。たとえば、これらの研究成果によって絶滅生物を含む生物の起源や進化が解明されつつある。

しかし考古学試料については、発掘ないしは発見されるまでの期間放置された環境の影響により、DNAが低分子化したり、また、生物体内の糖や蛋白質などが変性したことによって、PCR反応に対する阻害物質が多量に形成される場合には、古代試料のDNA検査は一般的に困難である。特にSTRのような単一コピーのlocusでは、DNA低分子化の過程でそのlocusが断裂することにより、PCRによる増幅が不可能となるため、STR多型の検査がミトコンドリアDNAやDYZ3のようなコピー数の多いlocusに比べて、さらに困難になると考えられる。

本研究では、まず極めて乾燥した試料を生理食塩水の中に入れて、組織や細胞にできる限り水分を浸透させ、プロテナーゼKが反応し

やすい状態にまで回復し，出来る限り多量の蛋白質が分解されるように工夫した．また，除蛋白も通常のフェノール／クロロホルム法以外にNaI法も加え，最大限にDNAが抽出できるように工夫し，しかもPCR阻止因子を可能な限り除去した．その上，BSAとスピソカラムを用いて，PCR阻止因子の作用を最小限に抑えた結果，1300年以上も経過した古いミイラ試料についてもHUMTH01 locusを増幅することに成功した．

1996年Zierdtらは，1957年に発掘した紀元5-8世紀位の古墳にあったヒトの骨と歯牙を試料とし，二重PCR法を行ったところ，90サイクルの増幅によりHUMVWA locusの型判定ができたと報告したが，本研究ではHUMVWA locusは増幅されなかった．その原因については，①増幅回数がまだ少ない，②Zierdtらが骨と歯牙のような硬組織を試料としたが，我々は一般的に硬組織より保存性の低い皮膚や筋肉などの軟組織を用いた，③発掘されるまで或いは発掘された後の保存状態が十分でなく，本研究に用いた試料のDNAの低分子化がさらに進んでいる，などが考えられる．今後，ミイラの骨や歯牙などの硬組織を採取し，PCR増幅回数をさらに増やして，HUMVWA locusや他のlocusを検討する必要がある．

また本研究では，同一DNA抽出液を用いてHUMTH01 と HUMVWAを同時に増幅して，HUMTH01は増幅されるが HUMVWAが増幅されない場合があった．その原因としては，プライマーがテンプレートDNAとアニーリングしたり，目的とする

領域のテンプレートDNAの立体構造の違いにより増幅しえなかった可能性が考えられる。

本研究結果において、これらミイラのSTR HUMTH01 locus のalleleの確定はできないが、同時に泳動したDNAのサイズマーカとの位置関係から考察すると、短い方のバンドは、現代人のallele 7 (191 bp)に相当し、より長い方のバンドは現代人のallele 9 (199 bp)或いはallele 8 (195 bp)に相当するものと考えられる。現代の中国漢民族におけるallele 7の頻度は約0.26、allele 9は約0.57で、allele 8は約0.04であるので(Meyer et al, Int J Legal Med, 107, 314-322, 1995)、この結果は、対象としたミイラが中国・唐の時代の漢民族である可能性を示唆していると考えられるが、さらに今後の検討が必要である。

8体のミイラの血縁関係については、6体のミイラは2本のバンドを有し、しかもいずれも同様なバンドパターンであった。また、No.2とNo.5の2体は他の6体と異なり、1本のバンドのみを示したが、2体のバンドが同じ長さで、しかもそのバンドは、他の6体が有する2本のバンドのうち、短い方のバンドと同一位置に検出された。このように、8体のミイラは1本の共通のバンドを有しているので、各ミイラ間の血縁関係については、現段階では否定されなかった。

## 結 論

1. PCR法を用いることにより，1300年以上を経過した古いミイラ試料についてSTR(HUMTH01)の増幅に成功した．

2. 8体のミイラの血縁関係については，増幅されたHUMTH01の電気泳動のバンドパターンより，現段階では血縁関係の存在の可能性を否定できなかった．

## 謝 辞

本稿を終えるにあたり，日中医学協会から「在留中国人研究者助成」を頂いたことに対し，深く感謝致します．また，研究の御指導と報告書の御校閲を賜りました恩師，金沢大学医学部法医学教室大島徹教授に深甚なる謝意を表します．なお，多大なご協力を賜りました金沢大学医学部法医学教室近藤稔和講師及び教室員の皆様に深謝致します．

## 研究発表

Ampification of Human Short Tandem Repeats on  
Mummies Discovered at Taklamakan Desert. 6th.  
Indo-Pacific Congress on Legal Medicine and  
Forensic Sciences, July, 1998, Kobe(発表予定).

## Legends of Figures

- Fig. 1 One of the mummies (No.3) discovered at Taklamakan desert in Turfan in Hsinchiang Uyghur, China, in 1912.
- Fig. 2 This photograph shows the band patterns after silver staining of the HUMTH01 locus amplified by PCR. In the photograph, lanes 1-8 correspond to No. 1-8 of the mummies, lane 9 shows negative control, lane 10 reveals the product amplified with a modern human DNA as a positive control, four lanes M are DNA size markers.



Fig. 1

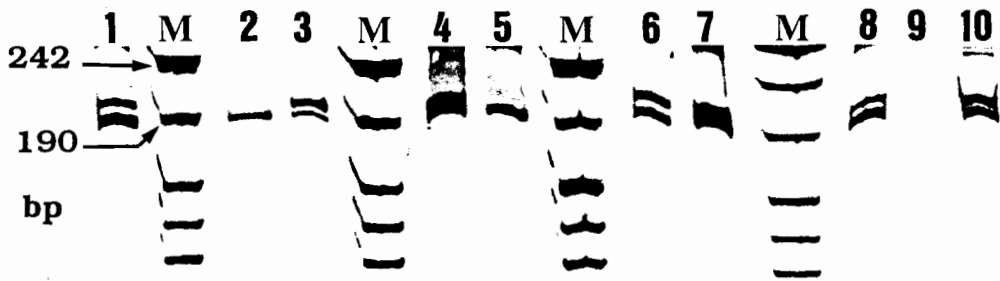


Fig. 2

Table 1. Primers and their indication in the PCR

Locus	Repeat	PCR primer sequence (5'-3')	Denaturation	Annealing	Extension	Cycles
HUMTH01	AATG	GTGGGCTGAAAAAGTCCCGATTAT	94°C, 1min	64°C, 1min	70°C, 2min	10
		ATTCAAAGGGTATCTGGGCTCTGG	90°C, 1min	64°C, 1min	70°C, 2min	30
HUMVWA	TCTA	CCCTAGTGGATGATAAAGAAATAATC GGACAGATGATAAATACATAGGATGGATGG	94°C, 1min	50°C, 1min	72°C, 1.5min	40



**6th INPALMS**  
**Abstract Submission Form**  
**Deadline: December 31, 1997**

Amplification of Human Short Tandem Repeats on Mummies discovered at Taklamakan Desert

Lin, Z.Q.<sup>1</sup>, Ohshima, T.<sup>2</sup>, Kondo, T.<sup>2</sup>, Takayasu, T.<sup>2</sup>, Minamino, T.<sup>2</sup>, Sun, E.Y.<sup>3</sup> and Liu, G.T.<sup>4</sup>

Dept. of Forensic Anthropology, China Medical Univ. Faculty of Med., Shenyang, China<sup>1</sup>, Dept. of Legal Med., Kanazawa Univ. Faculty of Med., Kanazawa, Japan<sup>2</sup>, Dept. of Anatomy, Dailen Medical Univ., Dailen, China<sup>3</sup>, and Lüshun Museum, Dailen, China<sup>4</sup>

**Introduction:** The authors have already reported successful sex determination and ABO genotyping on human mummies using polymerase chain reaction (PCR). In the present study, the amplification of the human short tandem repeats (STR) was also attempted.

**Materials and methods:** Eight adult mummies and one child one were discovered at Taklamakan desert in 1912. Archaeologically, these mummies were estimated to be the humans that have lived in Gao Chang in the terminal Tang age (7th century A.D.) . The amplification of TH01 locus was carried out on the 8 adult mummies. Hair, skin and/or muscle samples were then collected from each mummy. DNA was extracted as shown in the previous report ( Jpn J Legal Med, 50, 336, 1996) and purified using a spin column devised by Yoshii (Jpn J Legal Med, 47, 323, 1993). A pair of primers (5'-GTGGGCTGAAAAGCTCCCGATTAT-3' and 5'-ATTCAAAGGGTATC-TGGGCTCTGG-3' and PCR reaction mixture were prepared according to the report by Edward (Genomics, 12, 241, 1992). At first, PCR was performed for 10 cycles (denaturation: 94 °C, 1 min.; annealing: 64 °C, 1 min; extension: 70 °C, 2 min), and, continuously, second PCR was conducted for 25 cycles (denaturation: 90 °C, 1 min; annealing: 64 °C, 1 min; extension: 70 °C, 2 min). The PCR products were then electrophorezed and visualized by silver staining.

**Results:** In all of the 8 mummies, TH01 locus was successfully amplified. In two mummies of them, only a single band, meaning "homotype", was found. The other six mummies showed the common band pattern; that is, two different bands, meaning "heterotype", were observed. The band length of the "homotype" was electrophoretically consistent with that of the shorter band of the "heterotype".

**Conclusion:** These results represented a possibility of STR typing for the specimens of ancient human remains as well as those of medico-legal case work.

Please fill out or check the appropriate items below.

Deadline for Abstract Submission: December 31, 1997

**Preferred Type of Presentation:**

Oral       Poster       Either

Please note that the type of presentation will be ultimately decided at the discretion of the Scientific Program Committee.

**Category:**

Indicate the one abstract category that most closely describes the subject material. Choose from the categories listed under Instructions for Preparing Abstracts.

Category \_\_\_\_\_

**Author:**

Title (used for mailing address):  Prof.  Dr.  Mr.  Ms.  Mrs.

Name: Ziqing \_\_\_\_\_ Lin \_\_\_\_\_  
Given Middle Family

**Institution:**

Mailing Address (including the name of institution, if applicable):

Nanjing street 5-3, Heping district, Shenyang, china.  
China Medical University \_\_\_\_\_ 110001 China  
Postal (Zip) Code Country

Phone: 86-24-3863731 Fax: \_\_\_\_\_

Date: Jan. 7, 1998 Author's Signature Ziqing Lin

Office Use Only

Date	
Reg. No.	
Abstract No.	

**6th INPALMS  
Abstract Submission Form  
Deadline: December 31, 1997**

Amplification of Human Short Tandem Repeats on Mummies discovered at Taklamakan Desert

Lin, Z.Q.<sup>1</sup>, Ohshima, T.<sup>2</sup>, Kondo, T.<sup>2</sup>, Takayasu, T.<sup>2</sup>, Minamino, T.<sup>2</sup>, Sun, E.Y.<sup>3</sup> and Liu, G.T.<sup>3</sup>

Dept. of Forensic Anthropology, China Medical Univ. Faculty of Med., Shenyang, China<sup>1</sup>, Dept. of Legal Med., Kanazawa Univ. Faculty of Med., Kanazawa, Japan<sup>2</sup>, Dept. of Anatomy, Dailen Medical Univ., Dailen, China<sup>3</sup>, and Lüshun Museum, Dailen, China<sup>4</sup>

**Introduction:** The authors have already reported successful sex determination and ABO genotyping on human mummies using polymerase chain reaction (PCR). In the present study, the amplification of the human short tandem repeats (STR) was also attempted.

**Materials and methods:** Eight adult mummies and one child one were discovered at Taklamakan desert in 1912. Archaeologically, these mummies were estimated to be the humans that have lived in Gao Chang in the terminal Tang age (7th century A.D.). The amplification of TH01 locus was carried out on the 8 adult mummies. Hair, skin and/or muscle samples were then collected from each mummy. DNA was extracted as shown in the previous report (Jpn J Legal Med, 50, 336, 1996) and purified using a spin column devised by Yoshii (Jpn J Legal Med, 47, 323, 1993). A pair of primers (5'-GTGGGCTGAAAAGCTCCCGATTAT-3' and 5'-ATTCAAAGGGTATCTGGGCTCTGG-3' and PCR reaction mixture were prepared according to the report by Edward (Genomics, 12, 241, 1992). At first, PCR was performed for 10 cycles (denaturation: 94 °C, 1 min; annealing: 64 °C, 1 min; extension: 70 °C, 2 min), and, continuously, second PCR was conducted for 25 cycles (denaturation: 90 °C, 1 min; annealing: 64 °C, 1 min; extension: 70 °C, 2 min). The PCR products were then electrophoresed and visualized by silver staining.

**Results:** In all of the 8 mummies, TH01 locus was successfully amplified. In two mummies of them, only a single band, meaning "homotype", was found. The other six mummies showed the common band pattern; that is, two different bands, meaning "heterotype", were observed. The band length of the "homotype" was electrophoretically consistent with that of the shorter band of the "heterotype".

**Conclusion:** These results represented a possibility of STR typing for the specimens of ancient human remains as well as those of medico-legal case work.

Please fill out or check the appropriate items below.  
Deadline for Abstract Submission: December 31, 1997

**Preferred Type of Presentation:**

Oral       Poster       Either

Please note that the type of presentation will be ultimately decided at the discretion of the Scientific Program Committee.

**Category:**

Indicate the one abstract category that most closely describes the subject material. Choose from the categories listed under Instructions for Preparing Abstracts.

Category \_\_\_\_\_

**Author:**

Title (used for mailing address):  Prof.  Dr.  Mr.  Ms.  Mrs.

Name: Ziqing \_\_\_\_\_ Lin \_\_\_\_\_  
Given Middle Family

**Institution:**

Mailing Address (including the name of institution, if applicable):

Nanjing street 5-3, Heping district, Shenyang, china.  
China Medical University 110001 china  
Postal (Zip) Code Country

Phone: 86-24-3863731 Fax: \_\_\_\_\_

Date: Jan. 7, 1998 Author's Signature Ziqing Lin

Office Use Only

Date	
Reg. No.	
Abstract No.	

**6th INPALMS**  
**Abstract Submission Form**  
**Deadline: December 31, 1997**

Amplification of Human Short Tandem Repeats on Mummies discovered at Taklamakan Desert

Lin, Z.Q.<sup>1</sup>, Ohshima, T.<sup>2</sup>, Kondo, T.<sup>2</sup>, Takayasu, T.<sup>2</sup>, Minamino, T.<sup>2</sup>, Sun, E.Y.<sup>3</sup> and Liu, G.T.<sup>4</sup>

Dept. of Forensic Anthropology, China Medical Univ. Faculty of Med., Shenyang, China<sup>1</sup>, Dept. of Legal Med., Kanazawa Univ. Faculty of Med., Kanazawa, Japan<sup>2</sup>, Dept. of Anatomy, Dailen Medical Univ., Dailen, China<sup>3</sup>, and Lüshun Museum, Dailen, China<sup>4</sup>

**Introduction:** The authors have already reported successful sex determination and ABO genotyping on human mummies using polymerase chain reaction (PCR). In the present study, the amplification of the human short tandem repeats (STR) was also attempted.

**Materials and methods:** Eight adult mummies and one child one were discovered at Taklamakan desert in 1912. Archaeologically, these mummies were estimated to be the humans that have lived in Gao Chang in the terminal Tang age (7th century A.D.) . The amplification of TH01 locus was carried out on the 8 adult mummies. Hair, skin and/or muscle samples were then collected from each mummy. DNA was extracted as shown in the previous report ( Jpn J Legal Med, 50, 336, 1996) and purified using a spin column devised by Yoshii (Jpn J Legal Med, 47, 323, 1993). A pair of primers (5'-GTGGGCTGAAAAGCTCCCGATTAT-3' and 5'-ATTCAAAGGGTATC-TGGGCTCTGG-3' and PCR reaction mixture were prepared according to the report by Edward (Genomics, 12, 241, 1992). At first, PCR was performed for 10 cycles (denaturation: 94 °C, 1 min.; annealing: 64 °C, 1 min; extension: 70 °C, 2 min), and, continuously, second PCR was conducted for 25 cycles (denaturation: 90 °C, 1 min; annealing: 64 °C, 1 min; extension: 70 °C, 2 min). The PCR products were then electrophoresed and visualized by silver staining.

**Results:** In all of the 8 mummies, TH01 locus was successfully amplified. In two mummies of them, only a single band, meaning "homotype", was found. The other six mummies showed the common band pattern; that is, two different bands, meaning "heterotype", were observed. The band length of the "homotype" was electrophoretically consistent with that of the shorter band of the "heterotype".

**Conclusion:** These results represented a possibility of STR typing for the specimens of ancient human remains as well as those of medico-legal case work.

Please fill out or check the appropriate items below.

Deadline for Abstract Submission: December 31, 1997

**Preferred Type of Presentation:**

Oral       Poster       Either

Please note that the type of presentation will be ultimately decided at the discretion of the Scientific Program Committee.

**Category:**

Indicate the one abstract category that most closely describes the subject material. Choose from the categories listed under Instructions for Preparing Abstracts.

Category \_\_\_\_\_

**Author:**

**Title (used for mailing address):**  Prof.  Dr.  Mr.  Ms.  Mrs.

**Name:** Ziqing Lin  
Given Middle Family

**Institution:**

**Mailing Address** ( including the name of institution, if applicable):

Nanjing street 5-3, Heping district, shenyang, china.  
China Medical University 110001 china  
Postal (Zip) Code Country

**Phone:** 86-24-3863731 **Fax:** \_\_\_\_\_

**Date:** Jan. 7, 1998 **Author's Signature** Ziqing Lin

Office Use Only

Date	
Reg. No.	
Abstract No.	