



PREMIERS RESULTATS D'ANALYSES AU 05/07/2017

**DATATIONS
C14 ADN**

SYNTHÈSE DES ANALYSES C14

Âge en année / Estimation moyenne

		USA - Floride Beta Analytics INC	Mexique Universidad Nacional Autónoma de México
	Maria	1 740 - pages 5-6	1 770 - page 15
	Maria 2^{de} mesure	1 750 - page 9	
	Main	7 000 - page 11	1 200 - page 15
	Cerveau		1 050 - page 15
	Victoria		800 - page 15

ANALYSE ADN PALEO-DNA LAKEHEAD UNIVERSITY CANADA

Matière extraite d'une tête & Main



100% Homo Sapiens
Sexe male
page 27

DATATION C14 "MARIA"
Laboratoire Floride - Beta Analytic
INC





Consistent accuracy
delivered on time

Beta Analytic Inc.
4985 S.W. 74 Court
Miami, Florida 33155 USA
PH: 305-667-5167
FAX: 305-663-0964
beta@radiocarbon.com
www.radiocarbon.com

Darden Hood
President

Ronald Hatfield
Christopher Patrick
Deputy Directors

June 23, 2017

Mrs. Kiersten Medvedich
Gaia
833 S Boulder Road
Louisville, CO 80027
United States

RE: Radiocarbon Dating Results

Dear Mrs. Medvedich,

Enclosed is the radiocarbon dating result for one sample recently sent to us. As usual, specifics of the analysis are listed on the report with the result and calibration data is provided where applicable. The Conventional Radiocarbon Age has been corrected for total fractionation effects and where applicable, calibration was performed using 2013 calibration databases (cited on the graph pages).

The web directory containing the table of results and PDF download also contains pictures, a cvs spreadsheet download option and a quality assurance report containing expected vs. measured values for 3-5 working standards analyzed simultaneously with your samples.

The reported result is accredited to ISO/IEC 17025:2005 Testing Accreditation PJLA #59423 standards and all pretreatments and chemistry were performed here in our laboratories and counted in our own accelerators here in Miami. Since Beta is not a teaching laboratory, only graduates trained to strict protocols of the ISO/IEC 17025:2005 Testing Accreditation PJLA #59423 program participated in the analysis.

As always Conventional Radiocarbon Ages and sigmas are rounded to the nearest 10 years per the conventions of the 1977 International Radiocarbon Conference. When counting statistics produce sigmas lower than ± 30 years, a conservative ± 30 BP is cited for the result. The reported $\delta^{13}C$ was measured separately in an IRMS (isotope ratio mass spectrometer). It is NOT the AMS $\delta^{13}C$ which would include fractionation effects from natural, chemistry and AMS induced sources.

When interpreting the result, please consider any communications you may have had with us regarding the sample. As always, your inquiries are most welcome. If you have any questions or would like further details of the analysis, please do not hesitate to contact us.

The cost of the analysis was charged to the American Express card provided. Thank you. As always, if you have any questions or would like to discuss the results, don't hesitate to contact us.

Sincerely ,



Digital signature on file



REPORT OF RADIOCARBON DATING ANALYSES

Mrs. Kiersten Medvedich

Report Date: June 23, 2017

Gaia

Material Received: June 20, 2017

Sample Information and Data

Sample Code Number

Conventional Radiocarbon Age (BP) or
Percent Modern Carbon (pMC) & Stable Isotopes

Calendar Calibrated Results: 95.4 % Probability
High Probability Density Range Method (HPD)

Beta - 467660

BTM2

1740 +/- 30 BP

IRMS $\delta^{13}C$: -18.0 o/oo

Submitter Material: Tissue

(60.2%) 320 - 411 cal AD

(1630 - 1539 cal BP)

Analyzed Material: Tissue

(35.2%) 249 - 308 cal AD

(1701 - 1642 cal BP)

Pretreatment: (tissue) acid/alkali/acid

Analysis Service: AMS-TIMEGUIDE delivery

Percent Modern Carbon: 80.52 +/- 0.30 pMC

Fraction Modern Carbon: 0.8052 +/- 0.0030

$\delta^{14}C$: -194.75 +/- 3.01 o/oo

$\Delta^{14}C$: -201.25 +/- 3.01 o/oo(1950:2017)

Measured Radiocarbon Age: (without $\delta^{13}C$ correction): 1630 +/- 30 BP

Calibration: BetaCal3.21: HPD method: SHCAL13

Results are ISO/IEC-17025:2005 accredited. No sub-contracting or student labor was used in the analyses. All work was done at Beta in 4 in-house NEC accelerator mass spectrometers and 4 Thermo IRMSs. The "Conventional Radiocarbon Age" was calculated using the Libby half-life (5568 years), is corrected for total isotopic fraction and was used for calendar calibration where applicable. The Age is rounded to the nearest 10 years and is reported as radiocarbon years before present (BP), "present" = AD 1950. Results greater than the modern reference are reported as percent modern carbon (pMC). The modern reference standard was 95% the ^{14}C signature of NIST SRM-4990C (oxalic acid). Quoted errors are 1 sigma counting statistics. Calculated sigmas less than 30 BP on the Conventional Radiocarbon Age are conservatively rounded up to 30. $\delta^{13}C$ values are on the material itself (not the AMS $\delta^{13}C$). $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values are relative to VPDB-1. References for calendar calibrations are cited at the bottom of calibration graph pages.

Calibration of Radiocarbon Age to Calendar Years

(High Probability Density Range Method (HPD): SHCAL13)

(Variables: $\delta^{13}\text{C} = -18.0$ o/oo)

Laboratory number **Beta-467660**

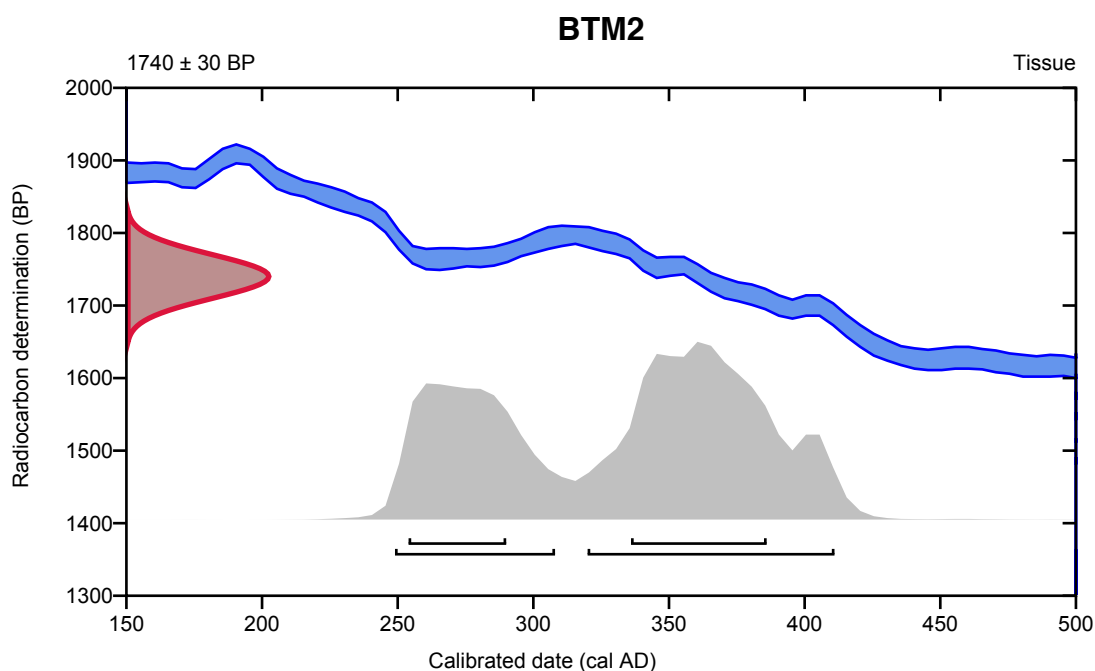
Conventional radiocarbon age **1740 $\pm$ 30 BP**

95.4% probability

(60.2%)	320 - 411 cal AD	(1630 - 1539 cal BP)
(35.2%)	249 - 308 cal AD	(1701 - 1642 cal BP)

68.2% probability

(42.7%)	336 - 386 cal AD	(1614 - 1564 cal BP)
(25.5%)	254 - 290 cal AD	(1696 - 1660 cal BP)



Database used
SHCAL13

References

References to Probability Method

Bronk Ramsey, C. (2009). Bayesian analysis of radiocarbon dates. Radiocarbon, 51(1), 337-360.

References to Database SHCAL13

Hogg, et.al., 2013, Radiocarbon 55(4).



Radiocarbon Dating

*Consistent Accuracy
Delivered On-Time*

Beta Analytic Inc.
4985 SW 74 Court
Miami, Florida 33155 USA
Tel: 305-667-5167
Fax: 305-663-0964
info@betalabservices.com
www.betalabservices.com

Mr. Darden Hood
President

Mr. Ronald Hatfield
Mr. Christopher Patrick
Deputy Directors

The Radiocarbon Laboratory Accredited to ISO/IEC 17025:2005 Testing Accreditation PJLA #59423

Quality Assurance Report

This report provides the results of reference materials used to validate radiocarbon analyses prior to reporting. Known-value reference materials were analyzed quasi-simultaneously with the unknowns. Results are reported as expected values vs measured values. Reported values are calculated relative to NIST SRM-4990B and corrected for isotopic fractionation. Results are reported using the direct analytical measure percent modern carbon (pMC) with one relative standard deviation. Agreement between expected and measured values is taken as being within 2 sigma agreement (error x 2) to account for total laboratory error.

Report Date: June 23, 2017
Submitter: Mrs. Kiersten Medvedich

QA MEASUREMENTS

Reference 1

Expected Value: 129.41 +/- 0.06 pMC

Measured Value: 129.44 +/- 0.37 pMC

Agreement: Accepted

Reference 2

Expected Value: 0.44 +/- 0.10 pMC

Measured Value: 0.44 +/- 0.03 pMC

Agreement: Accepted

Reference 3

Expected Value: 41.14 +/- 0.10 pMC

Measured Value: 41.40 +/- 0.16 pMC

Agreement: Accepted

COMMENT: All measurements passed acceptance tests.

Validation:

Date: June 23, 2017

SECONDE ANALYSE C14 MARIA
Laboratoire Floride
Beta Analytic INC



CALIBRATION OF RADIOCARBON AGE TO CALENDAR YEARS

MARIA

(Variables: C13/C12 = -19.3 o/oo : lab. mult = 1)

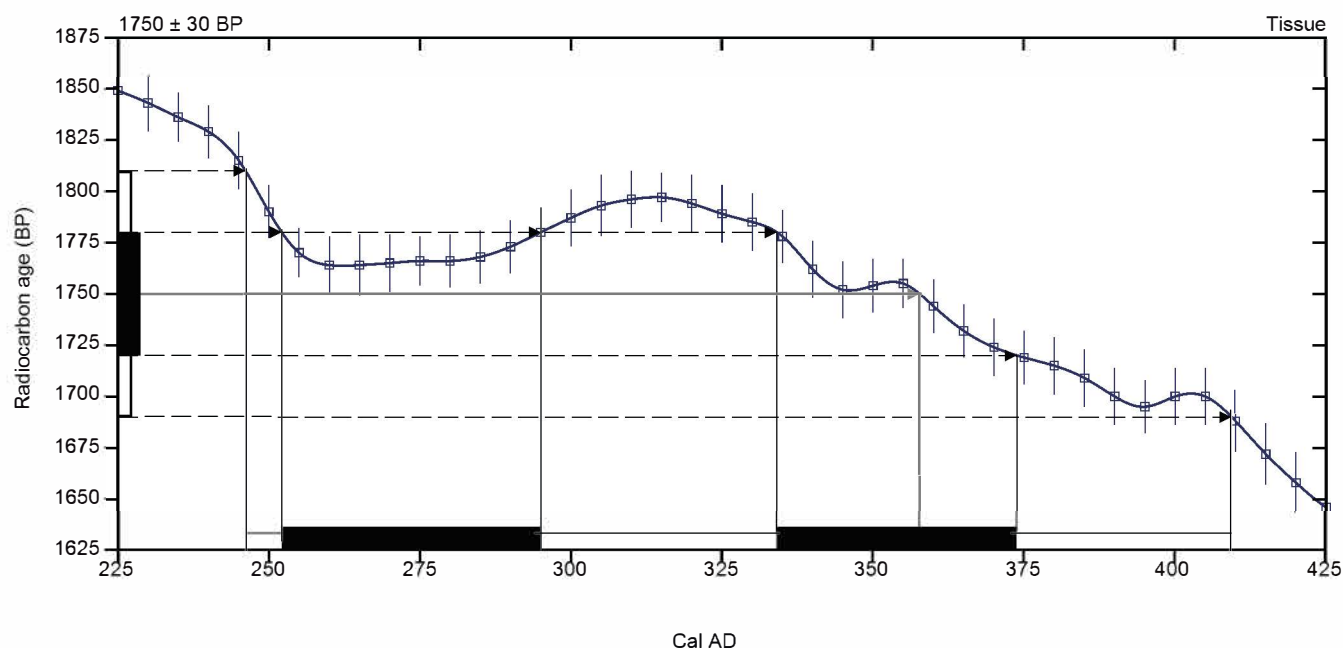
Laboratory number **Beta-464741 : BTM**

Conventional radiocarbon age **1750 ± 30 BP**

Calibrated Result (95% Probability) **Cal AD 245 to 410 (Cal BP 1705 to 1540)**

Intercept of radiocarbon age with calibration curve
curve Cal AD 360 (Cal BP 1590)

Calibrated Result (68% Probability) Cal AD 250 to 295 (Cal BP 1700 to 1655)
Cal AD 335 to 375 (Cal BP 1615 to 1575)



Database used
SHCAL13

References

Mathematics used for calibration scenario

A Simplified Approach to Calibrating C14 Dates, Talma, A. S., Vogel, J. C., 1993, Radiocarbon 35(2):317-322

References to SHCAL13 database

Hogg AG, Hua Q, Blackwell PG, Niu M, Buck CE, Guilderson TP, Heaton TJ, Palmer JG, Reimer PJ, Reimer RW, Turney CSM, Zimmerman SRH. 2013. SHCal13 Southern Hemisphere calibration, 0–50,000 years cal BP. Radiocarbon 55(4):1889–1903.

Beta Analytic Radiocarbon Dating Laboratory

4985 S.W. 74th Court, Miami, Florida 33155 • Tel: (305)667-5167 • Fax: (305)663-0964 • Email: beta@radiocarbon.com

DATATION C14 DE LA MAIN
Laboratoire Floride
Beta Analytic INC



CALIBRATION OF RADIOCARBON AGE TO CALENDAR YEARS

HANDS

(Variables: C13/C12 = -29.1 o/oo : lab. mult = 1)

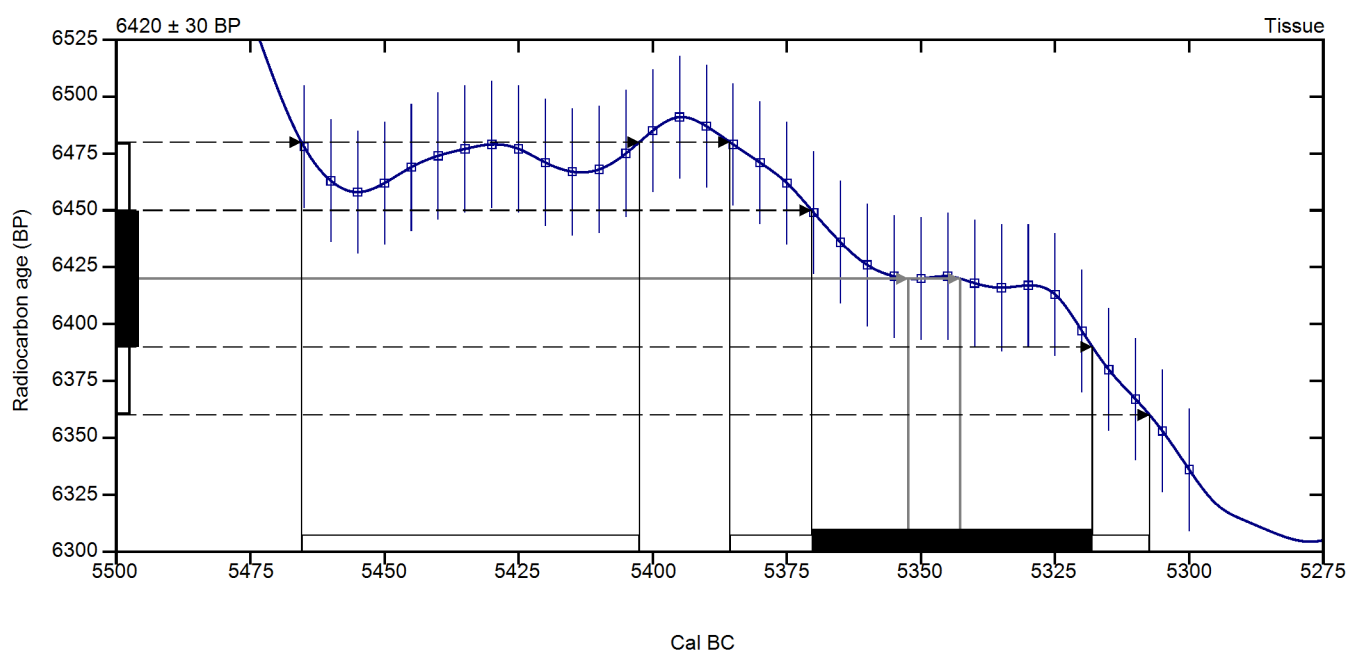
Laboratory number **Beta-464742 : BON**

Conventional radiocarbon age **6420 ± 30 BP**

Calibrated Result (95% Probability) **Cal BC 5465 to 5400 (Cal BP 7415 to 7350)**
Cal BC 5385 to 5305 (Cal BP 7335 to 7255)

Intercept of radiocarbon age with calibration
curve Cal BC 5350 (Cal BP 7300)
Cal BC 5345 (Cal BP 7295)

Calibrated Result (68% Probability) Cal BC 5370 to 5320 (Cal BP 7320 to 7270)



Database used
SHCAL13

References

Mathematics used for calibration scenario

A Simplified Approach to Calibrating C14 Dates, Talma, A. S., Vogel, J. C., 1993, Radiocarbon 35(2):317-322

References to SHCAL13 database

Hogg AG, Hua Q, Blackwell PG, Niu M, Buck CE, Guilderson TP, Heaton TJ, Palmer JG, Reimer PJ, Reimer RW, Turney CSM, Zimmerman SRH. 2013. SHCal13 Southern Hemisphere calibration, 0–50,000 years cal BP. Radiocarbon 55(4):1889–1903.

Beta Analytic Radiocarbon Dating Laboratory

4985 S.W. 74th Court, Miami, Florida 33155 • Tel: (305)667-5167 • Fax: (305)663-0964 • Email: beta@radiocarbon.com

DATATION C14
CERVEAU MAIN MARIA VICTORIA
Laboratoire Mexique
Universidad Nacional Autónoma de
México





Instituto de Física Sistema de Gestión de la Calidad



REPORTE DE DATACIÓN DE MUESTRAS CON ^{14}C

Clave: IFUNAM-
LEMA-FPS05-01

Fecha de
emisión

2016-12-01

Versión:

2

Sección
(Norma):9001
17025

Sección 6.1b
5.4.1, 5.4.4

Página 1 de 9

USUARIO: JOSÉ JAIME MAUSSAN FLOTA

SITIO: PERÚ

ELABORÓ: DRA. MARÍA RODRÍGUEZ CEJA

OPERADOR DEL SISTEMA EMA: FÍS. ARCADIO HUERTA HERNÁNDEZ

REVISÓ Y APROBÓ: DRA. CORINA SOLÍS ROSALES

NÚM. REPORTE: 17

FECHA DE REPORTE: 23/6/2017

FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS 24/5/2017

I INTRODUCCIÓN

Se recibieron tres muestras de piel y una de cerebro de momia, para fechar con ^{14}C por espectrometría de masas con aceleradores (Tabla 1).

Tabla 1. Relación de muestras recibidas

Clave laboratorio	Clave usuario	Material
LEMA 880	Cerebro	Cerebro
LEMA 894	Mano 001	Piel
LEMA 895	María bottom	Piel
LEMA 897	Hip medium scated 00-12 Victoria	Piel

II METODOLOGÍA

2.1 Preparación

a) Piel: extracción de queratina

Las muestras se sometieron a una limpieza en baño ultrasónico con agua ultrapura, para eliminar sales y otros contaminantes adheridos. A continuación se siguió un protocolo de limpieza química ABA (ácido-base-ácido: HCl-NaOH-HCl). Enseguida se realizó la extracción, utilizando una solución a base de ditiotreitól (DTT), dodecilsulfato de sodio (SDS) y Trizma (Tris). Finalmente la queratina fue precipitada, con una solución de ácido tricloroacético (TCA) y deoxicolato de sodio (DCO).



REPORTE DE DATACIÓN DE MUESTRAS CON ^{14}C

b) Cerebro

La muestra se sometió a una limpieza en baño ultrasónico con agua ultrapura, para eliminar sales y otros contaminantes adheridos. A continuación se siguió un protocolo de limpieza química ABA (ácido-base-ácido: HCl-NaOH-HCl).

2.2 Grafitización

Las muestras fueron procesadas en un Equipo de Grafitización Automatizado AGEIII de Ion Plus, para transformar su contenido de carbono en CO_2 y luego éste en grafito puro.

2.3 Análisis por Espectrometría de Masas con Aceleradores

Se realizó el análisis de ^{14}C , ^{13}C y ^{12}C del grafito obtenido mediante espectrometría de masas con aceleradores. Se utilizó un equipo Tandetrón de High Voltage Europe Engineering (HVEE), con un acelerador de 1 MV de energía.

A partir de los valores obtenidos, se calculó la *Edad Radiocarbono o Convencional* (^{14}C), dada en años antes del presente (a.P.), es decir, antes de 1950. La *Edad Radiocarbono* fue corregida por fraccionamiento por $\delta^{13}\text{C}$ a partir del cociente de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ en la muestra. $\delta^{13}\text{C}$ es un valor medido en grafito y podría haber sufrido un fraccionamiento adicional.

2.4 Calibración

La *Edad Radiocarbono* fue corregida por las variaciones del contenido de ^{14}C en la atmósfera, con el programa OxCal v4.2.4 (<https://c14.arch.ox.ac.uk/oxcal/OxCal.html>; Bronk Ramsey, 2013), utilizando la curva de calibración SHCal13 (Hogg et al, 2013).

Se obtuvieron las *Edades Calibradas* dadas en años después de Cristo (d.C.). Para cada una de ellas se calcularon los intervalos más probables, con los niveles de confianza del 68% (1σ) y del 95% (2σ).

III RESULTADOS

En la Tabla 2 se presentan los resultados de las muestras fechadas. Adicionalmente se analizaron estándares de edades conocidas, para verificar su reproducibilidad en nuestro laboratorio (Tabla 3).



Instituto de Física
Sistema de Gestión de la Calidad



Clave: IFUNAM-
LEMA-FPS05-01

Fecha de
emisión

2016-12-01

Versión:

2

Sección
(Norma):9001
17025

Sección 6.1b
5.4.1, 5.4.4

Página 3 de 9

REPORTE DE DATACIÓN DE MUESTRAS CON ^{14}C

Tabla 2. Resultados

Clave LEMA	Fracción fecha	$\delta^{13}\text{C}$	Edad ^{14}C Años (a.P. $\pm 1\sigma$)	Edad calibrada Nivel de confianza	
				1 σ (68%)	2 σ (95%)
LEMA 880.1.1	Cerebro	-21	1052 $\pm$ 30	991 d.C.- 1106 d.C.	987 d.C. - 1145 d.C.
LEMA 894.1.1	Queratina	-12	1205 $\pm$ 30	791 d.C.- 968 d.C.	773 d.C. - 980 d.C.
LEMA 895.1.1	Queratina	-19	1771 $\pm$ 30	250 d.C.- 357 d.C.	240 d.C. - 383 d.C.
LEMA 897.1.1	Queratina	-18	791 $\pm$ 30	1231 d.C.- 1287 d.C.	1220 d.C. - 1295 d.C.

Tabla 3. Estándares de referencia

Muestra	Material	Edad certificada (años a.P.)	Edad Medida (años a.P.)
VIRI F	colágeno	2513 $\pm$ 40	2494 $\pm$ 35
VIRI H	colágeno	9528 $\pm$ 200	9558 $\pm$ 45



Clave: IFUNAM-
LEMA-FPS05-01

Fecha de
emisión

2016-12-01

Versión:

2

Sección
(Norma):9001
17025

Sección 6.1b
5.4.1, 5.4.4

Página 4 de 9

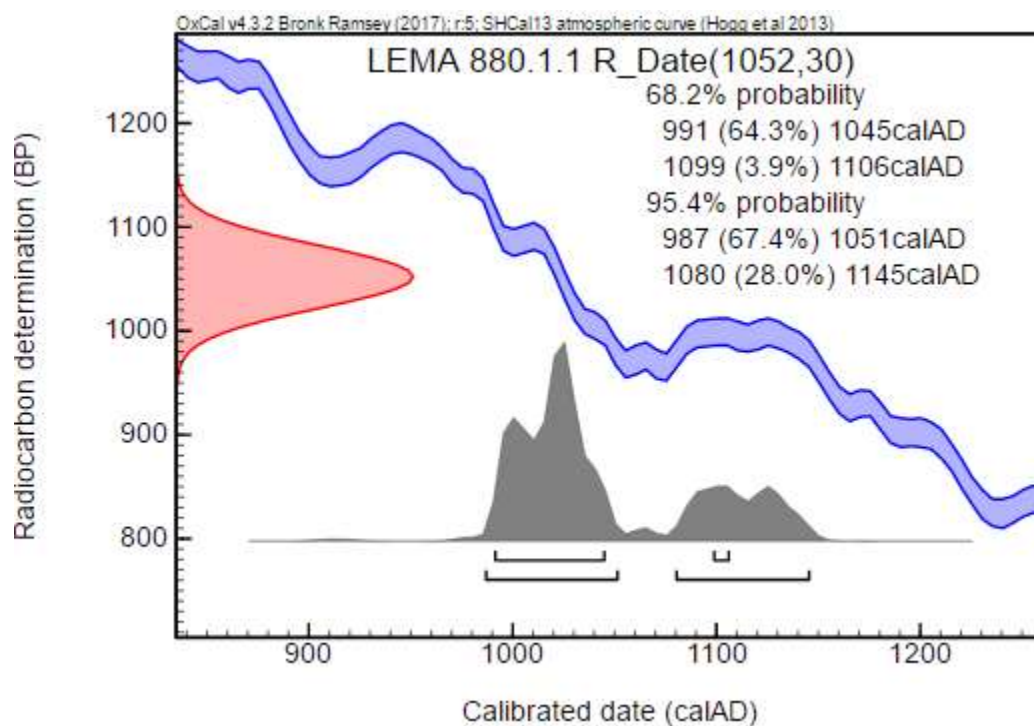
REPORTE DE DATACIÓN DE MUESTRAS CON ^{14}C

CALIBRACIÓN

1.- LEMA 880.1.1

Edad: 1052 ± 30 a.P.

Name	Unmodelled (BC/AD)						Select	Page break
Show all Show structure	from	to	%	from	to	%	All Visible	
R_Date LEMA 880.1.1	991	1106	68.2	987	1145	95.4	☒ 2	☐





Instituto de Física Sistema de Gestión de la Calidad



REPORTE DE DATACIÓN DE MUESTRAS CON ^{14}C

Clave: IFUNAM-
LEMA-FPS05-01

Fecha de
emisión

2016-12-01

Versión:

2

Sección
(Norma):9001
17025

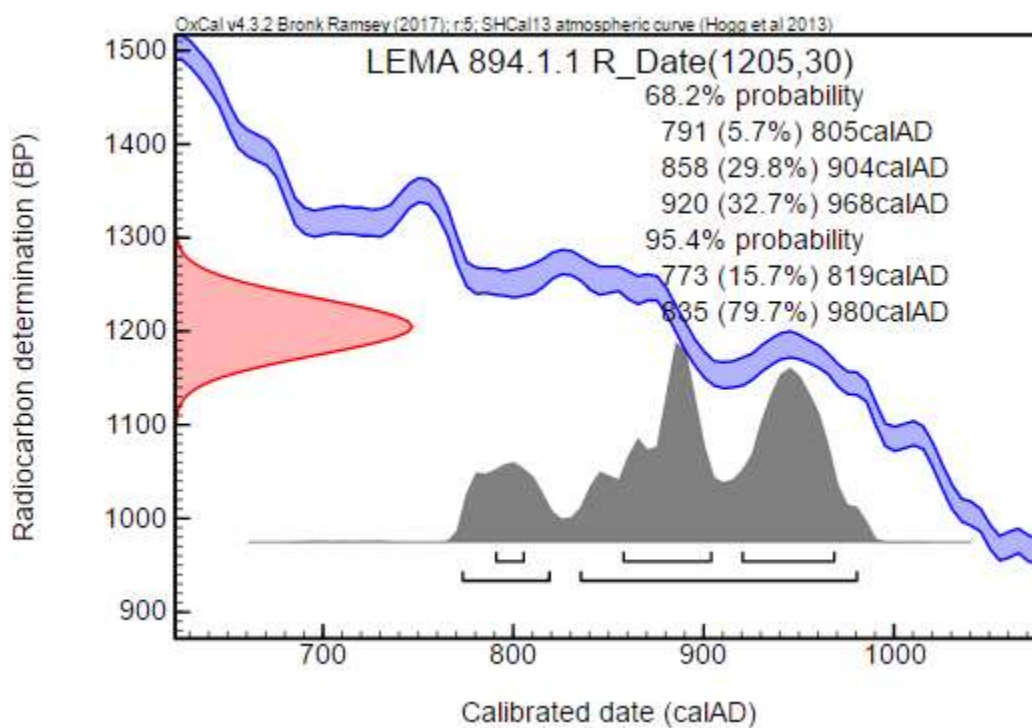
Sección 6.1b
5.4.1, 5.4.4

Página 5 de 9

2.- LEMA 894.1.1

Edad: 1205 ± 30 a.P.

Name	Unmodelled (BC/AD)						Select	Page break
Show all Show structure	from to		%	from to		%	All Visible	
R_Date LEMA 894.1.1	791	968	68.2	773	980	95.4	☒ 2	☐





REPORTE DE DATACIÓN DE MUESTRAS CON ^{14}C

Clave: IFUNAM-
LEMA-FPS05-01

Fecha de
emisión

2016-12-01

Versión:

2

Sección
(Norma):9001
17025

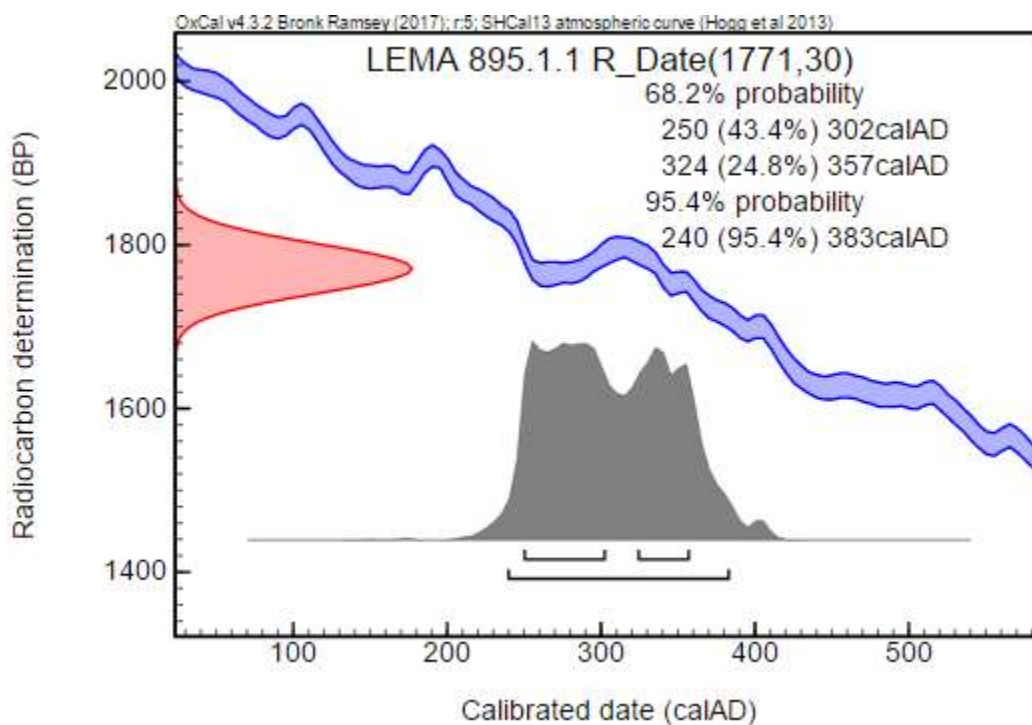
Sección 6.1b
5.4.1, 5.4.4

Página 6 de 9

3.- LEMA 895.1.1

Edad: 1771 ± 30 a.P.

Name	Unmodelled (BC/AD)						Select	Page break
Show all Show structure	from to		%	from to		%	All Visible	
R_Date LEMA 895.1.1	250	357	68.2	240	383	95.4	☒ 2	☐





REPORTE DE DATACIÓN DE MUESTRAS CON ^{14}C

Clave: IFUNAM-
LEMA-FPS05-01

Fecha de
emisión

2016-12-01

Versión:

2

Sección
(Norma):9001
17025

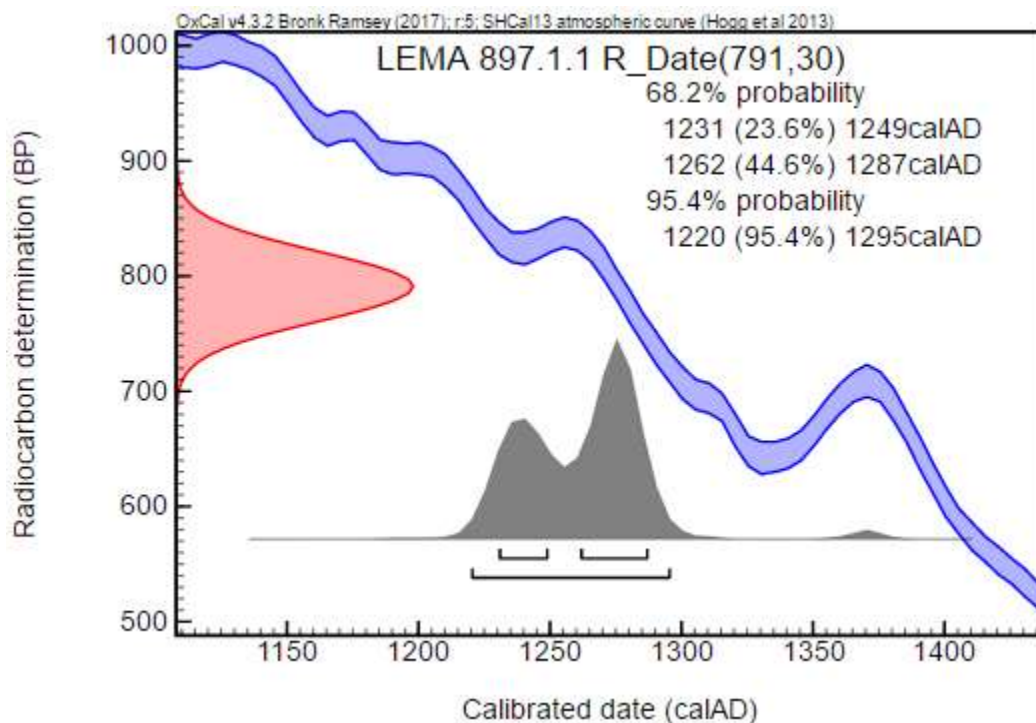
Sección 6.1b
5.4.1, 5.4.4

Página 7 de 9

4.- LEMA 897.1.1

Edad: 791 ± 30 a.P.

Name	Unmodelled (BC/AD)						Select	Page break
Show all							All	
Show structure							Visible	
R_Date LEMA 897.1.1	1231	1287	68.2	1220	1295	95.4	☒ 2	☐





Clave: IFUNAM-
LEMA-FPS05-01

Fecha de
emisión

2016-12-01

Versión:

2

Sección
(Norma):9001
17025

Sección 6.1b
5.4.1, 5.4.4

Página 8 de 9

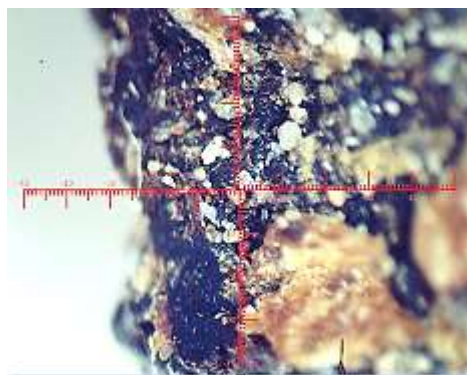
REPORTE DE DATACIÓN DE MUESTRAS CON ^{14}C

IV ANEXO: FOTOGRAFÍAS

LEMA 880



a) Sin aumento

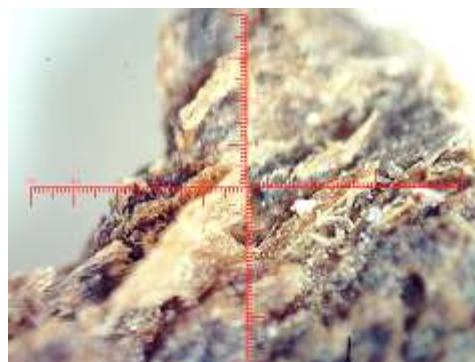


b) Con aumento máximo de 45X

LEMA 894



a) Sin aumento



b) Con aumento máximo de 45X



REPORTE DE DATACIÓN DE MUESTRAS CON ^{14}C

Clave: IFUNAM-
LEMA-FPS05-01

Fecha de
emisión

2016-12-01

Versión:

2

Sección
(Norma):9001
17025

Sección 6.1b
5.4.1, 5.4.4

Página 9 de 9

LEMA 895



a) Sin aumento



b) Con aumento máximo de 45X

LEMA 897



a) Sin aumento



b) Con aumento máximo de 45X

V REFERENCIAS

Reporte de edades de radiocarbono: Stuiver y Polach (1977).

1. Bronk Ramsey, C., & Lee, S. (2013). Recent and Planned Developments of the Program OxCal. *Radiocarbon*, 55(2-3), 720-730.
2. Hogg A., Hua Q., Blackwell P., Niu M., Buck C., Guilderson T., Heaton T., Palmer J., Reimer P., Reimer R., Turney C., Zimmerman S. 2013., Shcal13 Southern Hemisphere Calibration, 0–50,000 Years Cal Bp. *Radiocarbon*, Vol 55, N. 4, 2013, p 1889–1903.
3. Stuiver, M. y Polach, H.A. 1977. Discussion: Reporting of ^{14}C data. *Radiocarbon* 19; 355-63.

Laboratorio de Espectrometría de Masas con Aceleradores, Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México.
Contacto: (55) 56-22-51-59; 56-22-50-70; 56-22-50-00, ext. 2126 y 2175. corina@fisica.unam.mx; chavez@fisica.unam.mx

ANALYSE ADN CERVEAU ET MARIA
INSTITUTO DE CIENCIA Y MEDECINA GENÓMICA
MEXIQUE



ORDEN: 322.

PACIENTE: CEREBRO Y MARÍA

EMPRESA: JAIME MAUSSAN.

Torreón, Coah., a 22 de mayo de 2017.

Estudio solicitado: Huella Genética de Autosomas (ADN).

Persona sometida al estudio: Muestra: Cerebro y María.

Procedimiento:

La muestra perteneciente a: cerebro y María, fueron procesadas de manera independiente para el aislamiento del ADN. Se utilizó la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para amplificar los fragmentos genéticos de trece sistemas microsatélites (STR's/Short Tandem Repeats) con el kit "IDplex Plus (Qiagen)". Los fragmentos resultantes fueron sometidos a electroforesis en condiciones desnaturizantes y analizados en un secuenciador ABI Prism 310 Genetic Analyzer. Se anexan electroferogramas.

Resultados:

<u>Sistema genético</u>	<u>Cerebro</u>	<u>María</u>
Amel	XY	XY
HUMTH01	5, 6, 6.3, 7.3, 8.3, 9, 9.1	6
D3S1358	14, 16, 17	15, 18
VWA	12(14), 19(21), 22(24)	N.A
D21S11	29.3, 32.2, 33.3, 34.2, 35, 36, 37	N.A
TPOX	9, 10, 11, 12, 13	9, 12
D7S820	9, 10, 11, 12	9, 11, 12
D19S433	12.2, 15.2	9, 16
D5S818	12, 14	7, 8, 13
D2S441	18, 22, 23, 28	18
D16S539	11, 12, 13	10, 11, 12, 13, 14
CSF1P0	11, 12, 13	11, 12, 13
D13S317	12, 15, 16	8, 14
FGA	13, 17, 21, 23, 25, 27, 29	N.A
D18S51	13.2, 16, 16.2, 19, 20, 22	13.2, 15, 16.2, 18.2
D8S1179	8, 9, 13, 14, 17	N.A
N.A: No Amplifica.		



Dr. Rafael Argüello Astorga
Inmunología y Biología Molecular
Ced. Prof. 1363094

ORDEN: 322.

PACIENTE: CEREBRO Y MARÍA

EMPRESA: JAIME MAUSSAN.

Torreón, Coah., a 22 de mayo de 2017.

Estudio solicitado: Huella Genética de Autosomas (ADN).

Persona sometida al estudio: Muestra: Cerebro y María.

Procedimiento:

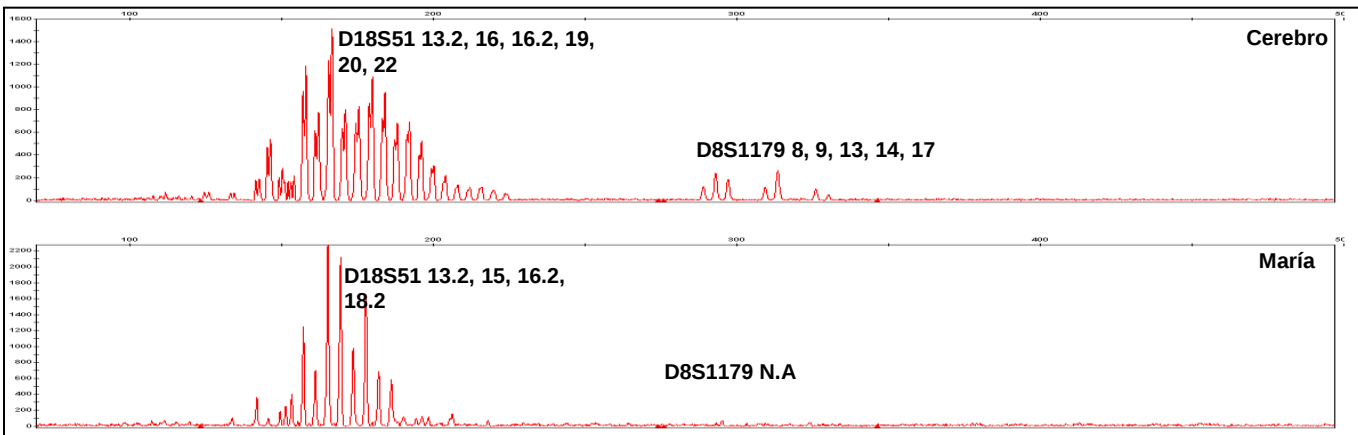
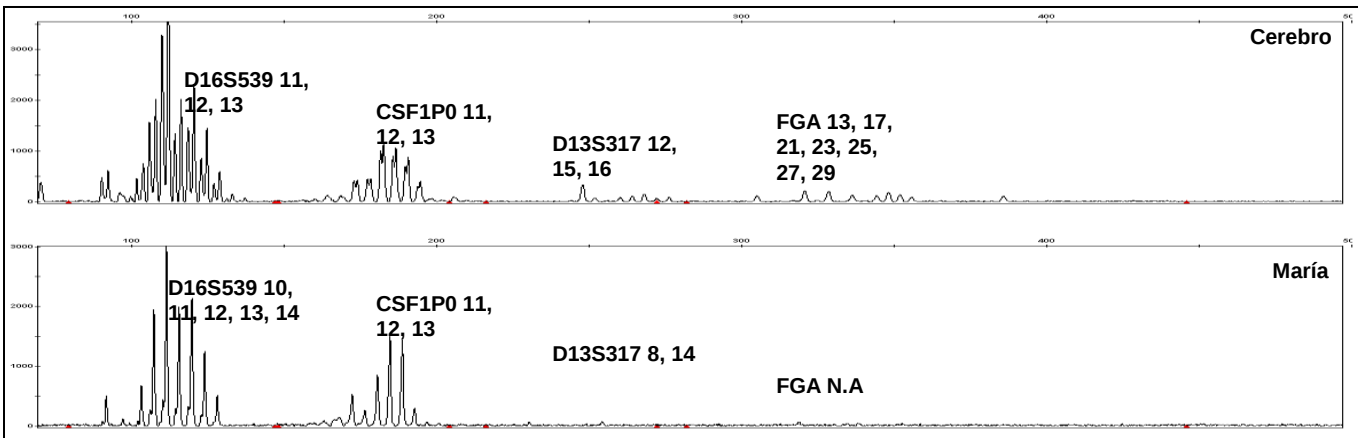
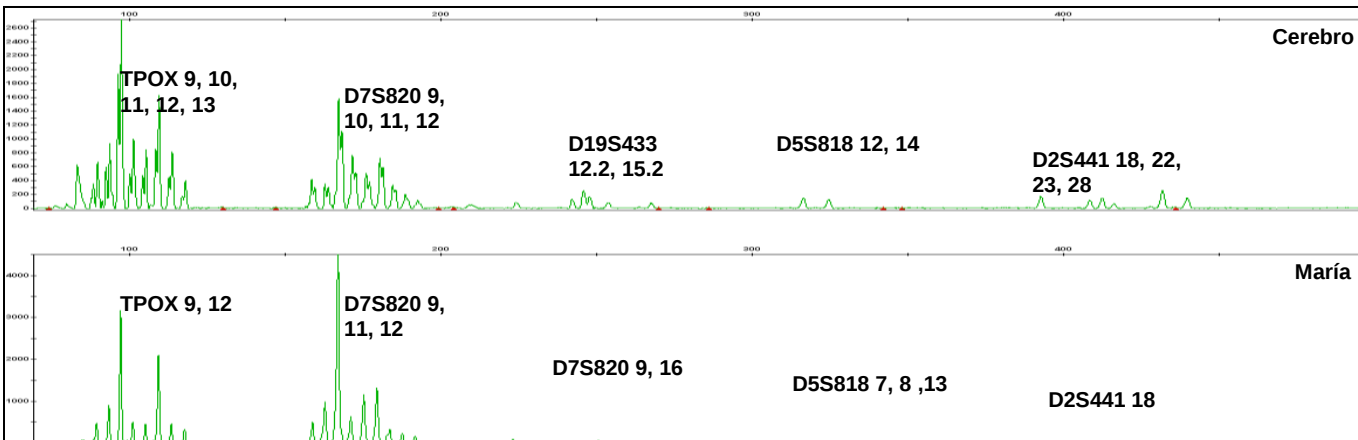
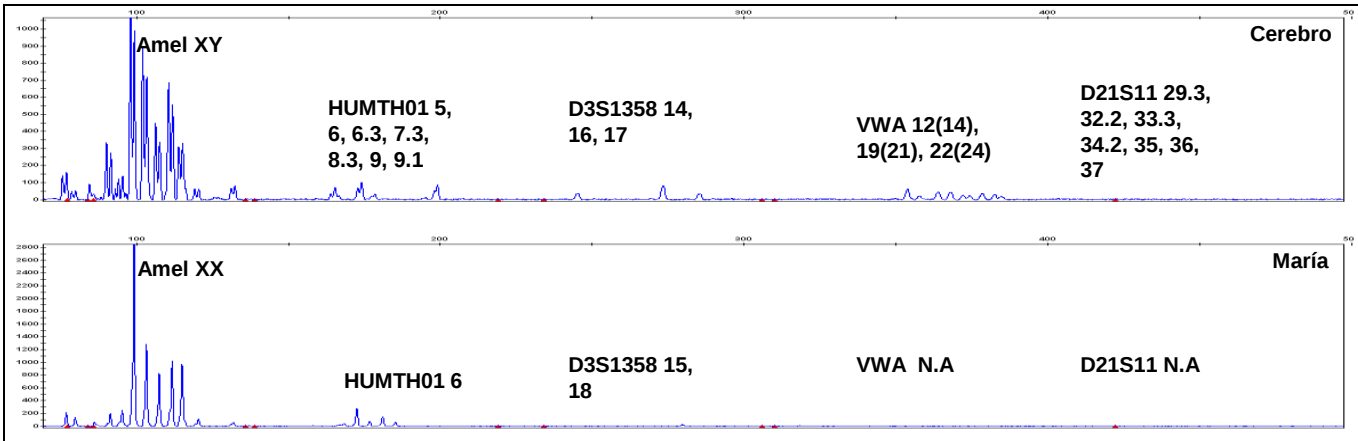
La muestra perteneciente a: cerebro y María, fueron procesadas de manera independiente para el aislamiento del ADN. Se utilizó la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para amplificar los fragmentos genéticos de trece sistemas microsatélites (STR's/Short Tandem Repeats) con el kit "IDplex Plus (Qiagen)". Los fragmentos resultantes fueron sometidos a electroforesis en condiciones desnaturizantes y analizados en un secuenciador ABI Prism 310 Genetic Analyzer. Se anexan electroferogramas.

Resultados:

<u>Sistema genético</u>	<u>Cerebro</u>	<u>María</u>
Amel	XY	XY
HUMTH01	5, 6, 6.3, 7.3, 8.3, 9, 9.1	6
D3S1358	14, 16, 17	15, 18
VWA	12(14), 19(21), 22(24)	N.A
D21S11	29.3, 32.2, 33.3, 34.2, 35, 36, 37	N.A
TPOX	9, 10, 11, 12, 13	9, 12
D7S820	9, 10, 11, 12	9, 11, 12
D19S433	12.2, 15.2	9, 16
D5S818	12, 14	7, 8, 13
D2S441	18, 22, 23, 28	18
D16S539	11, 12, 13	10, 11, 12, 13, 14
CSF1P0	11, 12, 13	11, 12, 13
D13S317	12, 15, 16	8, 14
FGA	13, 17, 21, 23, 25, 27, 29	N.A
D18S51	13.2, 16, 16.2, 19, 20, 22	13.2, 15, 16.2, 18.2
D8S1179	8, 9, 13, 14, 17	N.A
N.A: No Amplifica.		



Dr. Rafael Argüello Astorga
Inmunología y Biología Molecular
Ced. Prof. 1363094



**ANALYSE ADN MATIERE EXTRAITE DE
CERVEAUX ET MAIN**

**PALEO-DNA LAKEHEAD UNIVERSITY
CANADA**



SER029-17 Final Report**File #:** SER029-17**Date:** 04 May 2017**Report of Expert**

Expert's Name: Stephen Fratpietro, M.Sc., B.Ed.
Title: Technical Manager, Paleo-DNA Laboratory

I, the undersigned, as requested by Thierry Jamin, Instituto Inkari-Cusco, submit my professional opinion in reference to the following matter: This examination of exhibits is connected to an ancient DNA analysis.

ITEMS EXAMINED:

The following items (see Table 1) were submitted for genetic analysis by Thierry Jamin, Instituto Inkari-Cusco. These samples were designated the following case and sample number by the Paleo-DNA Laboratory (PDL):

PDL Case Designation	PDL Sample Designation	Sample Type	Comments
SER029-17	1	Unknown tissue	Sample of possibly biological material from a cranial brain
SER029-17	2	Bone and Tissue	Sample of bone extracted from a hand (possibly non-human)

Table1. Samples submitted to the Paleo-DNA Laboratory.

EXAMINATION REQUESTED: Ancient DNA Analysis: extraction of DNA, mitochondrial and nuclear DNA feasibility test, universal Identification, and sex identification.

REQUIREMENTS REQUESTED: Determine if any genetic information could be extracted from the sample. Unless otherwise discussed, the industry standard extraction, purification and amplification protocols were to be used and attempted in this case.

The Paleo-DNA Laboratory agreed to work on the project in accordance with high scientific and professional standards, but as we had not been involved with the collection and storage of the sample, nor have we inspected the sample, nor have we assessed the condition of the sample, the Paleo-DNA Laboratory did not promise success in achieving any desired result. The Paleo-DNA Laboratory undertook this project giving no warranty of fitness for a particular purpose, or any other warranty, expressed or implied, on the results of your project or the tests carried out pursuant to

SER029-17 Final Report

your project. This includes no guarantee or warranty that the recommended protocol will achieve your desired results.

EXAMINATION METHODOLOGY:

All aDNA samples are prepared pre-amplification in a room dedicated specifically to limited quantity DNA samples. This environment is monitored quarterly for the presence of DNA. This lab has restricted access and requires protective gear to be worn at all times: tyvek suit covering head and feet, gloves, hairnet, facemask. All persons entering this lab have their DNA profiled and kept for future comparison.

Sample Preparation

All aDNA samples are surface sterilized with two washes of sterile water and one wash of 70% ethanol. Each sample is separately milled into a fine powder using a mixer mill.

DNA Extraction

Total Demineralization [Loreille et al, 2007]:

Approximately 1-2g of sample powder is mixed with 9.0mL 0.5M EDTA, 150uL 20% Lauryl Sarcosinate, and 100uL Proteinase K (20mg/mL) in a sterile 15.0mL tube. This reaction is incubated overnight at 56°C with gentle agitation. The resulting supernatant is transferred to next step.

Silica Bead Purification [modified Boom et al, 1990]:

The supernatant is mixed with 18mL 4M Guanidinium Thiocyanate and 15uL silica. This is allowed to sit for 4 hours at 4°C [to allow DNA to bind to silica] after which the supernatant is removed and the remaining silica washed with Working Wash Buffer (10mM Tris-HCl, 50mM NaCl, 1mM EDTA, anhydrous ethanol) and 100% ethanol, then allowed to dry. The silica is resuspended in 55uL sterile water and incubated for 1 hour at 56°C to allow DNA to unbind from silica and dissolve in the water. The resulting supernatant is transferred to the next step.

Size Exclusion Column Purification [Matheson et al, 2009]:

The purified DNA extract is further filtered using Biorad Micro Bio-Spin P30 Chromatography Columns as per manufacturer's instructions.

SER029-17 Final Report

****It is important to note that an extraction control (negative) is carried through this entire process as a quality control measure.****

PCR Amplification

DNA is amplified in 25uL reactions using Quanta Biosciences™ AccuStart™ II PCR Supermix (2X) with 12.5uL of AccuStart II PCR Supermix (2X), 0.25uL of 10uM each primer, 3uL template. Cycling parameters: hot start of 94° for 2 min, and 50 cycles of 94°C for 30s, 60°C for 1 min., 72°C for 2 min.

The amplicon sizes vary in length and are distinguishable from each other. Primers used amplify regions 16s, mt16191-16420, and 12s of the mitochondrial DNA.

Primer Information:

16s6	5'-TTTCGGTTGGGGCGACCTCGGAG-3'	Poinar et al. 2001. PNAS. 98(8): 4317-4322
16sB	5'-CTCCGGTTTGAAGTCAATC-3'	Xiong and Kocher 1991. Genome 34: 306-311
16191F	5'-CCC ATG CTT ACA AGC AAG TA-3'	Kolman et al. 2000. Am. J. Phys. Anthropol. 111(1): 5-23
16420R	5'-TGA TTT CAC GGA GGA TGG TG-3'	Vigilant et al. 1989. PNAS. 86: 9350-9354
12sF	5'-ACTGGGATTAGATACCCCACTATG-3'	Melton T, Holland C. 2007 J. Forensic Sci. 52, 1305-1307
12sO	5'-GTCGATTA AGGACAGGTTCTCTA-3'	Poinar et al. 1998. Science 281(5375): 402-6

Amplicons and Length for aDNA analysis.

16s6 – 16sB = 270bp
16191F – 16420R = 229bp
12sF – 12sO = 150bp

Each PCR reaction batch includes a positive and negative PCR control as well as the negative extraction control. Each amplicon is amplified at least twice for replication.

Quantification

Nuclear DNA is targeted using Life Technologies Quantifiler™ Human DNA Quantification kit as per manufacturer's instructions run on the Cepheid Smart Cycler® II.

SER029-17 Final Report

GEL Electrophoresis

PCR products are mixed with a dye and loaded onto a 6% Polyacrylamide Gel (PAGE) that uses electricity to separate any DNA products produced by the PCR reaction. The gel is stained with ethidium bromide that binds to the DNA in the gel and fluoresces under ultra violet light. A picture is taken for visual verification of amplification products present within the PCR reaction. Each primer region will produce a DNA band of a specific size if DNA is present.

Successful PCR products are purified by mixing 20uL of PCR product with 2uL *Exo I* nuclease [Lucigen] and 4uL of Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) [Thermo Fisher]. The mixture is incubated at 37°C for 15 minutes, then the enzymes are deactivated at 80°C for 15 minutes.

Sequencing

Purified PCR products are direct sequenced with the Life Technologies Big Dye Terminator Ready Reaction Kit v3.1 in both the forward and reverse direction. 0.5uL Big Dye Terminator Ready Reaction Mix v3.1, 0.25uL 10uM primer, 2uL 5x Big Dye Terminator Sequencing Buffer, 4.2uL of sterile water, and 3uL purified PCR Product. Cycling parameters: Hot Start of 96°C for 60s; 15 cycles of 96°C for 10s, 50°C for 5s, 60°C for 75s; 5 cycles of 96°C for 10s, 50°C for 5s, 60°C for 90s; and 5 cycles of 96°C for 10s, 50°C for 5s, 60°C for 2 min. Sequencing products are purified with a sodium acetate/ethanol precipitation as per Applied Biosystems Automated DNA Sequencing Chemistry Guide. Sequencing products are resuspended in 15uL Hi-Di Formamide and run on the ABI 3130xl for sequencing analysis.

The DNA sequence is compared to the BLAST (basic local alignment search tool) database for a closest match. The BLAST database is an extensive collection of various DNA sequences. A 100% match means that 100% of the sequence acquired for that sample was a complete match to the one identified in the database. A 95% match means that only 95% of the sequence acquired for that sample was a match to the one identified in the database and that was the closest match that could be found within the database. Where more than one Family or Genus could be a match it means that the sequence acquired for that sample was a match to all identified Families/Genera equally (same confidence level) and that was the closest match that could be found within the database. There is an equal chance that it could belong to any one of these Families/Genera.

SER029-17 Final Report

Mitochondrial sequencing data is edited and aligned to the Revised Cambridge Reference Sequence using Gene Codes Sequencher™ Software v4.10.1

Fragment Analysis

The amelogenin (sexing) region is amplified in 25uL reactions using Quanta Biosciences™ AccuStart™ II PCR Supermix (2X) with 12.5uL of AccuStart II PCR Supermix (2X), 0.25uL of 10uM each primer, 3uL template. Cycling parameters: hot start of 94° for 2 min, and 40 cycles of 94°C for 30s, 60°C for 1 min., 72°C for 2 min, and a final 72°C for 80 min. This PCR reaction batch includes a male positive, female positive and negative PCR control. Each locus is amplified at least twice for replication.

Primer Information: Sullivan et al. 1993. Biotechniques. 15(4): 636-641

Amel 1 F 5'-(6FAM) CCC TGG GCT CTG TAA AGA ATA GTG-3'
Amel 1 R 5'-ATC AGA GCT TAA ACT GGG AAG CTG-3'

RESULTS: The results below relate only to the items tested.

Universal ID – 12s Region

A DNA sequence could not be produced for the universal 12S mitochondrial region from both samples.

Universal ID – 16s Region

A DNA sequence was produced from the biological material from the cranial brain (1).

TACGTAGGACTTTAATCGTTGAACAAACGAACCTTTAATAGCGGCTGCACCATCGGGATGTC
CTGATCCAACATCGAGGTCGTAAACCCTATTGTTGATATGGACTCTAGAATAGGATTGCGCT
GTTATCCCTAGGGTAACTTGTTCCGTTGGTCAAGTTATTGGATCAATTGAGTATAGTAGTTTCG
CTTTGACTGGTGAAGTCTTAGCATGTACTGCTCGGAGGTTGGGTTCTG

SER029-17 Final Report

The closest match of readable 16S sequence, using a genetic database (National Center for Biotechnology Information (NCBI) BLAST, Basic Local Alignment Search Tool, nucleotide database) was identified as a 100% match to *Homo sapiens* (human).

A DNA sequence was produced from the bone extracted from the hand (2).

```
ACGTAGGACTTTAATCGTTGAACAAACGAACCTTTAATAGCGGCTGCACCATTGGGATGTCC
TGATCCAACATCGAGGTCGTAAACCCTATTGTTGATATGGACTCTAGAATAGGATTGCGCTG
TTATCCCTAGGGTAACTTGTTCCGTTGGTCAAGTTATTGGATCAATTGAGTATAGTAGTTCGC
TTTGACTGGTGAAGTCTTAGCATGTACTGCTCGGAGGTTGGGTTCTG
```

The closest match of readable 16S sequence, using a genetic database (National Center for Biotechnology Information (NCBI) BLAST, Basic Local Alignment Search Tool, nucleotide database) was identified as a 100% match to *Homo sapiens* (human).

Universal ID – mt16191-16420

A DNA sequence was produced from the biological material from the cranial brain (1).

```
ACAGCAANCAACCCTCAACTATCACACATCAACTGCAACTCCAAAGCCACCCCTCACCCACT
AGGATACCAACAAACCTACCCACCCTTAACAGTACATAGTACATAAAGCCATTTACCGTACAT
AGCACATTACAGTCAAATCCCTTCTCGTCCCCATGGATGACCCCCCTCAGATAGGNGTCCCT
TGAC
```

This sequence did contain DNA damage. The closest match of readable sequence, using a genetic database (National Center for Biotechnology Information (NCBI) BLAST, Basic Local Alignment Search Tool, nucleotide database) was identified as a 99% match to *Homo sapiens* (human). The 1% difference is due to DNA damage causing a mismatch.

A DNA sequence was produced for the bone extracted from the hand (2).

```
TACAGCAATCAACCTTCAACTATCACACATCANCTGCAACTCCAAAGCCACCCCTCACCCAC
TAGGATACCAACAAACCTACCCACCCTTAANAGTACATAGTACATAAAGCCATTTACCGTACA
TAGCATNACAGTCAAATCCCTTCTCGNCCCCATGGATGACCCCCCTCAGATAGGGGTCC
CTTGA
```

This sequence did contain DNA damage. The closest match of readable sequence, using a genetic database (National Center for Biotechnology

SER029-17 Final Report

Information (NCBI) BLAST, Basic Local Alignment Search Tool, nucleotide database) was identified as a 99% match to *Homo sapiens* (human). The 1% difference is due to DNA damage causing a mismatch.

From this data, the evidence suggests the source of DNA from the biological material from the cranial brain (1) and the bone extracted from the hand (2) belongs to *Homo sapiens* (humans).

The results for the human nuclear DNA feasibility test were positive. There was sufficient nuclear DNA detected to perform further testing.

Sex Identification

The amelogenin test for sex identification found:

- The biological material from the cranial brain (1) belongs to a **male** individual.
- The bone extracted from a hand (2) belongs to a **male** individual.

The combination of replication, fragment sizes obtained, procedures in place for laboratory sterilization and elimination of Paleo-DNA Laboratory DNA profiles suggest the results are authentic and not contamination. However, no modern comparison samples were submitted with this batch from the archaeologists or any other individual who may have handled the sample and potentially contaminated it. Therefore, we cannot guarantee that these profiles are authentic and not a previous handler.

SER029-17 Final Report

NOTES:

Controls were run at every step of the analysis and gave expected results. This analysis complies with the requirements requested by the client. Details of the experimental procedures and analysis of this case are found in the case file of the Paleo-DNA laboratory, case number SER029-17. Your feedback is important to us! Please fill out our customer survey at <http://lucas.lakeheadu.ca/customer-survey>.

Technical Manager: 
Stephen Fratpietro

Date: 11 May 2017

Rapport Final : SER029-17

Dossier : #: SER029-17

Date : 04 mai 2017

Rapport des Experts

Noms des experts : Stephen Fratpietro, M.Sc., B.Ed.

Titre : Directeur Technique de , Paleo-DNA Laboratory

Je, soussigné, mandaté par Thierry Jamin, Président de l'Institut Inkari-Cusco, soumettre mon opinion professionnelle en référence à la question suivante : Examen des pièces justificatives pour une analyse de l'ADN (ancien). Acide désoxyribonucléique

Points examinés : Les éléments suivants (voir tableau 1) ont été soumis par Thierry Jamin, de l'Institut Inkari-Cusco pour une analyse génétique. Ces échantillons ont été désignés le cas suivant et le numéro de l'échantillon par le laboratoire Paleo-DNA (PDL) :

PDL Désignation	PDL Désignation de l'échantillon	Types d échantillons	Commentaires
SER029-17	1	Tissu inconnu	Échantillon éventuel de biomatériaux de l'encéphale crânienne
SER029-17	2	Os et tissus	Échantillons d'os extraits d'une main (éventuellement non humaine)

Tableau 1. Echantillons soumis au laboratoire Paleo-DNA.

Examen demandé : Analyse de l'ADN ancien : extraction de l'ADN, test de faisabilité de l'ADN mitochondrial et nucléaire, universel d'Identification et l'identification du sexe.

Exigences demandées : Déterminer si toute information génétique pouvait être extraite de l'échantillon. Sauf si autrement indiqué, l'extraction de standard de l'industrie, les protocoles de purification et d'amplification devaient être utilisées et tentées dans ce cas. Le laboratoire Paleo-DNA a convenu de travailler sur le projet conformément à des normes scientifiques et professionnelles élevées, mais comme ils n'ont pas été impliqués dans la collecte et le stockage de l'échantillon, l'inspection de l'échantillon, ni l'évaluation de l'état de l'échantillon, le laboratoire Paleo-DNA n'a pas réussi à atteindre le résultat souhaité.

Le laboratoire Paleo-DNA a entrepris ce projet sans donner de garantie d'ADEQUATION à un usage particulier, ou toute autre garantie, expresse ou implicite, sur les résultats de votre projet ou les essais effectués conformément à votre projet. Cela n'inclut aucune garantie ni ne garantit que le protocole recommandé atteindra les résultats désirés.

MÉTHODE D'EXAMEN :

Tous les échantillons d'ADN sont préparés pré-amplifiés dans une salle dédiée spécifiquement aux échantillons d'ADN en quantité limitée. Cet environnement est surveillé tous les trimestres spécifiquement pour la présence d'ADN. Il a un accès restreint et nécessite un équipement de protection devant être porté en tout temps : combinaison Tyvek couvrant la tête et pieds, gants, filet à cheveux, un masque. Toutes les personnes entrant dans ce laboratoire ont leur ADN enregistré et gardé pour les comparer ultérieurement.

Préparation des échantillons : Tous les échantillons d'ADN sont stérilisés avec deux lavages d'eau stérile et un lavage de l'éthanol à 70 %. Chaque échantillon est séparément broyé en une fine poudre à l'aide d'un broyeur mélangeur.

Extraction de l'ADN :

Déminéralisation totale (Loreille et al, 2007)

Approximativement 1-2 g d'échantillon de poudre a été mélangé avec 9.0 ML EDTA, 150 uL 20% Lauryl Sarcosinate, and 100 uL Proteinase K (20mg/mL) dans un tube stérile 15.0mL. Cette réaction a incubé une nuit à 56° C avec agitation douce. Le surnageant qui en résulte est transféré à l'étape suivante.

Purification de perles de silice [mis à jour Boom en 1990] :

Le surnageant est mélangé avec de la silice Thiocyanate et 15uL Guanidinium de 4M 18mL. Repos de la solution pendant 4 heures à 4° C pour permettre à l'ADN de se lier à la silice], après quoi le surnageant est supprimé et le reste de la silice lavé avec un tampon de lavage (10mM Tris-HCl, 50mM NaCl, 1mM EDTA, éthanol anhydre) et 100 % d'éthanol, puis laisser pour sécher. La silice est remise en suspension dans l'eau stérile 55uL et incubé pendant 1 heure à 56° C afin de permettre à l'ADN de supprimer la liaison de silice et de se dissoudre dans l'eau. Le surnageant qui en résulte est transféré à l'étape suivante.

Taille Exclusion de la colonne de Purification [Matheson et al., 2009] :

L'extrait d'ADN purifié est filtré à l'aide de colonnes chromatographiques de Biorad Micro Bio-Spin P30 selon les instructions du fabricant.

Rapport Final : SER029-17

**** Il est important de noter qu'un contrôle d'extraction (négatif) se fait par le biais de ce processus tout entier comme un contrôle de la qualité mesure.* ***

Amplification par PCR

L'ADN est amplifié dans les réactions de 25uL à l'aide de Quanta Biosciences™ AccuStart™ II PCR Supermix (2 X) avec 12.5uL de AccuStart II PCR Supermix (2 X), 0.25uL de 10uM chaque amorce, 3uL modèle. Paramètres : démarrage à chaud de 94° pendant 2 minutes et 50 cycles de 94° C pendant 30 s, 60° C pendant 1 min., 72° C pendant 2 min.

La taille de l'amplicon varie en longueur et se distingue les uns des autres. Les amorces utilisées amplifient les régions 16 s, mt16191-16420 et 12 s de l'ADN mitochondrial.

Première information :

16s6	5'-TTTCGGTTGGGGCGACCTCGGAG-3'	Poinar et al. 2001. PNAS. 98(8): 4317-4322
16sB	5'-CTCCGGTTTGAAGTCAGATC-3'	Xiong and Kocher 1991. Genome 34: 306-311
16191F	5'-CCC ATG CTT ACA AGC AAG TA-3'	Kolman et al. 2000. Am. J. Phys. Anthropol. 111(1): 5-23
16420R	5'-TGA TTT CAC GGA GGA TGG TG-3'	Vigilant et al. 1989. PNAS. 86: 9350-9354
12sF	5'-ACTGGGATTAGATACCCCACTATG-3'	Melton T, Holland C. 2007 J. Forensic Sci. 52, 1305–1307
12sO	5'-GTCGATTA AGGACAGGTTCTCTA-3'	Poinar et al. 1998. Science 281(5375): 402-6

Amplicons et longueur pour l'analyse de l'ADN.

16s6 – 16sB = 270bp

16191F – 16420R = 229bp

12sF – 12sO = 150bp

Chaque lot de réaction PCR inclut un contrôle PCR positif et négatif ainsi que le contrôle négatif d'extraction. Chaque amplicon est amplifié au moins deux fois pour la réplication.

Quantification

L'ADN nucléaire est obtenue à l'aide du kit de Quantification de l'ADN humain Technologies Quantifiler™ selon les instructions du fabricant et fonctionne sur les Céphéides Smart Cycloer® II.

Électrophorèse sur GEL

Les produits PCR sont mélangés avec un colorant et chargés sur un 6 % Gel de Polyacrylamide (PAGE) qui utilise l'électricité pour séparer des produits d'ADN produites par la réaction de PCR. Le gel est coloré avec du bromure d'éthidium qui se lie à l'ADN contenu dans le gel et produit une fluorescence sous la lumière ultraviolette. Une photo est prise pour une vérification visuelle des produits d'amplification présents pendant la réaction PCR. Chaque région apprêt produira une bande d'ADN d'une taille spécifique si l'ADN est présent.

Les Produits PCR réussis sont purifiés par 20uL mélange du produit PCR avec 2uL Exo je nucléase [Lucigen] et 4uL de crevettes alcaline Phosphatase (SAP) [Thermo Fisher]. Le mélange est incubé à 37 ° c pendant 15 minutes, puis les enzymes sont désactivées à 80 ° c pendant 15 minutes.

Séquençage

Les produits PCR purifiés sont directement séquencés avec la v3.1 Life Technologies Big Dye Terminator Ready dans le Kit de réaction d'avant en arrière. 0.5µl big Ready Mélange de réaction Dye Terminator v3.1, 0.25uL 10uM amorce, 2uL 5 x grand Dye Terminator séquençage tampon, 4.2uL d'eau stérile et 3uL de produit de PCR purifié.

Paramètres :

Départ à chaud 96° C pendant 60 s ; 15 cycles de 96° C pendant 10 secondes, 50° C pendant 5 secondes, 60° C pendant 75 ans ; 5 cycles de 96° C pendant 10 secondes, 50° C pendant 5 secondes, 60° C pendant 90 s ; et 5 cycles de 96° C pendant 10 secondes, 50° C pendant 5 secondes, 60° C pendant 2 min.

Les produits de séquençage sont purifiés avec une précipitation d'acétate/éthanol de sodium selon Applied Biosystems automatisé ADN séquençage chimie-Guide pédagogique. Les produits de séquençage sont ensuite resuspendues dans 15uL Hi-Di Formamide et placés sur le 3130xl ABI pour analyse de la séquence.

La séquence d'ADN est comparée à la base de données Jet (outil de recherche de base alignement local) pour une correspondance la plus proche. La base de données Jet est une vaste collection de différentes séquences de l'ADN. Un bonus de 100 % signifie que 100 % de la séquence acquise pour qu'un échantillon obtienne une correspondance complète à celui identifié dans la base de données.

Un résultat de 95 % signifie que seulement 95 % de la séquence acquise pour cet échantillon a obtenu la correspondance la plus proche identifiée dans la base de données). Lorsque plus d'une famille ou d'un genre présentent des correspondances, cela signifie que la séquence acquise pour l'échantillon a obtenu des correspondances pour toutes les familles identifiées (familles/genres) même niveau de confiance et qui a obtenu la correspondance la plus proche qui a pu être trouvée dans la base de données. Il y a une chance égale que cela puisse appartenir à l'une de ces familles/genres.

Rapport Final : SER029-17

Les données de séquençage mitochondriales sont éditées et alignées sur la séquence de référence révisée de Cambridge en utilisant les codes de gène setrempier™ Software v 4.10.1

Analyses de fragments

La région de l'amélogénine (sexage) est amplifiée dans les réactions de 25uL à l'aide de Quanta Biosciences™ AccuStart™ II PCR Supermix (2 X) avec 12.5uL de AccuStart II PCR Supermix (2 X), 0.25uL de 10uM chaque amorce, 3uL modèle.

Paramètres : démarrage à chaud de 94° pendant 2 min et 40 cycles de 94° C pendant 30 s, 60° C pendant 1 min., 72° C pendant 2 min et une finale 72° C pendant 80 minutes. Ce lot de réaction PCR comprend un masculin positif, les témoins féminins positifs et négatifs PCR. Chaque locus est amplifié au moins deux fois pour la réplication.

Primer Information : Sullivan et al. 1993. Biotechniques. 15(4): 636-641

Amel 1 F 5'-(6FAM) CCC TGG GCT CTG TAA AGA ATA GTG-3'

Amel 1 R 5'-ATC AGA GCT TAA ACT GGG AAG CTG-3

RÉSULTATS : Les résultats ci-dessous ne concernent que les éléments mis à l'essai.

ID universelle – de région 12

Une séquence d'ADN a été produite à partir du matériel biologique du cerveau crânial (1)

TACGTAGGACTTTAATCGTTGAACAAACGAACCTTTAATAGCGGCTGCACCATCGGGATGTC
CTGATCCAACATCGAGGTCGTAAACCCTATTGTTGATATGGACTCTAGAATAGGATTGCGCT
GTTATCCCTAGGGTAACTTGTTCCGTTGGTCAAGTTATTGGATCAATTGAGTATAGTAGTTCCG
CTTGACTGGTGAAGTCTTAGCATGTACTGCTCGGAGGTTGGGTTCTG

La branche la plus proche de la séquence 16 s lisible, utilisant une base de données génétique (Centre national d'information de biotechnologie (NCBI) Blast, outil de base de recherche d'alignement local, base de données de nucléotides) a été identifiée comme une branche de 100% à l'Homo sapiens (humain).

Une séquence d'ADN a été produite à partir de l'OS extrait à la main (2).

ACGTAGGACTTTAATCGTTGAACAAACGAACCTTTAATAGCGGCTGCACCATGGGATGTCC
TGATCCAACATCGAGGTCGTAAACCCTATTGTTGATATGGACTCTAGAATAGGATTGCGCTG
TTATCCCTAGGGTAACTTGTTCCGTTGGTCAAGTTATTGGATCAATTGAGTATAGTAGTTCCG
TTTGACTGGTGAAGTCTTAGCATGTACTGCTCGGAGGTTGGGTTCTG

La branche la plus proche de la séquence 16 s lisible, utilisant une base de données génétique (Centre national d'information de biotechnologie (NCBI) Blast, outil de base de recherche d'alignement local, base de données de nucléotides) a été identifiée comme une branche de 100% à l'Homo sapiens (humain).

ID universelle – mt16191-16420

Une séquence d'ADN a été produite à partir du matériel biologique du cerveau crânial (1).

ACAGCAANCAACCCTCAACTATCACACATCAACTGCAACTCCAAAGCCACCCCTCACCCACT
AGGATACCAACAAACCTACCCACCCTTAACAGTACATAGTACATAAAGCCATTTACCGTACAT
AGCACATTACAGTCAAATCCCTTCTCGTCCCCATGGATGACCCCCCTCAGATAGGNGTCCCT TGAC

Cette séquence contenait des dommages sur l'ADN. La correspondance la plus proche de séquence lisible, en utilisant une base de données génétique (National Center for Biotechnology Information (NCBI) BLAST, base Local Alignment Search Tool, nucléotides de base de données) a été identifiée avec une correspondance de 99 % à l'Homo sapiens (humains). La différence de 1 % est due à des lésions de l'ADN entraînant une incompatibilité.

Une séquence d'ADN a été produite pour l'OS extrait à la main (2).

TACAGCAATCAACCTTCAACTATCACACATCANCTGCAACTCCAAAGCCACCCCTCACCCAC
TAGGATACCAACAAACCTACCCACCCTTAANAGTACATAGTACATAAAGCCATTTACCGTACA
TAGCACATNACAGTCAAATCCCTTCTCGNCCCCATGGATGACCCCCCTCAGATAGGGGTCC CTTGA

Cette séquence contenait des dommages sur l'ADN. La correspondance la plus proche de séquence lisible, en utilisant une base de données génétique (National Center for Biotechnology Information (NCBI) BLAST, base Local Alignment Search Tool, nucléotides de base de données) a été identifiée avec une correspondance de 99 % à l'Homo sapiens (humains). La différence de 1 % est due à des lésions de l'ADN entraînant une incompatibilité.

D'après les résultats, la preuve indique que la source ADN de la matière biologique du cerveau crânial (1) et l'OS extrait à la main (2) appartient à l'Homo sapiens (humain).

.....
Les résultats de l'essai de faisabilité de l'ADN nucléaire humain ont été positifs. Il y avait suffisamment d'ADN nucléaire détecté pour effectuer d'autres essais.

Identification Sexes

Le test amélogénine pour l'identification du sexe a trouvé :

- Le matériel biologique du cerveau crânien (1) appartient à un individu mâle.
- L'os extrait d'une main (2) appartient à un individu mâle.

Rapport Final : SER029-17

La combinaison de la réplication, des tailles de fragments obtenues, des procédures en place pour la stérilisation en laboratoire et l'élimination des profils d'ADN de laboratoire paléo-ADN suggèrent que les résultats sont authentiques et non pas de contamination. Toutefois, aucun échantillon de comparaison moderne n'a été présenté avec ce lot auprès des archéologues ou de tout autre individu qui aurait pu manipuler l'échantillon et potentiellement l'avoir contaminé. Par conséquent, nous ne pouvons pas garantir que ces profils sont authentiques et non pas un gestionnaire précédent.

Notes: les contrôles ont été exécutés à chaque étape de l'analyse et ont donné les résultats escomptés. Cette analyse est conforme aux exigences demandées par le client. Les détails des procédures expérimentales et l'analyse de cette affaire se trouvent dans le dossier du laboratoire paléo-DNA, numéro de cas SER029-17. Vos commentaires sont importants pour nous! Veuillez remplir notre sondage auprès des clients à <http://Lucas.lakeheadu.ca/customersurvey>.