



Araştırma Makalesi | Research Article

ANTİK KADIKALESİ TOPLUMUNUN MİTOKONDRIYAL KÖKENLERİNİN BELİRLENMESİ

DETERMINATION OF MITOCHONDRIAL ORIGINS OF ANCIENT KADIKALESİ

Fatih Tepgeç^{1*}, Mehmet Görgülü¹

¹Altınbaş Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, İstanbul, Türkiye.



Öz

Amaç: Sunulan çalışmada, Kadıkalesi Anaia kazılarında elde edilen, 13.- 15. yüzyıllar arasındaki insana ait biyolojik materyallerde aDNA elde edilip, Mitokondriyal DNA'dan maternal kökenlerinin tayin edilmesi planlanmıştır. Bu sayede bölgenin mitokondriyal haplogruplarının ve olası göç yollarının tespitine dair ön bilgilerinin tespiti hedeflenmiştir.

Yöntem: Bu amaçla; 2016-2018 yıllarındaki açmalardan elde edilen ve Bizans dönemine tarihlendirilen 20 bireye ait kalıntılar incelenmiştir. Bireylerde önce antropometrik incelemeler yapılmış, ardından Sanger dizileme ile mitokondriyal HVR1 ve HVR2 bölgeleri incelendi. Elde edilen dizileme verileri online programlar vasıtasıyla değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmanın sonucunda 20 bireyden 12'si yaş, boy ve cinsiyet bakımından kimliklendirilmiştir. İnceleme sonucu 16 bireyin maternal haplogrubuna erişilmiş ve çoğunluğunun Batı Avrasya makrohaplogruplarından oluşmuş olduğu bulunmuştur. Buna ek olarak Sahra-altı haplogrublarına sahip iki birey saptanmıştır. Grubun çoğunda post mortem DNA hasarı gözlemlenmiştir.

Sonuç: Sunulan çalışmada Kadıkalesi Anaia'daki geç bizans dönemi toplumunun yapısı hakkında genetik bilgi elde edilmiştir. Bu sonuçlar bölgede yapılacak diğer kazı alanlarında, dönemin toplum yapısının genetiğini öğrenmek için oldukça önemli bilgiler sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Anaia kazıları, Genetik, antik DNA, mitokondri

ABSTRACT

Objective: In the presented study, it was aimed to examine aDNA from human biological materials between the 13th and 15th centuries, obtained from the Kadıkalesi Anaia excavations, and to determine their maternal origins from Mitochondrial DNA. In this way, it is aimed to determine the mitochondrial haplogroups of the region and the preliminary information about the determination of possible migration routes.

Methods: For this purpose; The remains of 20 individuals from the archeological excavations in 2016-2018 and dated to the Byzantine period were examined. Anthropometric examinations were first performed on individuals, and then Sanger sequencing of mitochondrial HVR1 and HVR2 regions were examined. The obtained sequencing data were evaluated by online programs.

Results: According to the result of the study, 12 out of 20 individuals were identified in terms of age, height and gender. As a result of the examination, the maternal haplogroup of 16 individuals was reached and it was found that the majority of them consisted of West Eurasian macrohaplogroups. In addition, two individuals with sub-Saharan haplogroups were identified. Post mortem DNA damage was observed in most of the group.

Conclusion: In the present study, genetic information was obtained about the structure of the late Byzantine society in Kadıkalesi Anaia. These results will provide very important information to learn the genetics of the social structure of the period in other excavation areas to be made in the region.

Keywords: Anaia excavation, Genetics, Ancient DNA, mitochondria

Giriş

Müzelerdeki kalıntılar ile yapılan ilk çalışmaların üzerinden geçen otuz yıl süresince Antik DNA (aDNA) alanında başta insan olmak üzere birçok tür için çeşitli çalışmalar yapılmıştır.¹⁻² Genetik alanındaki gelişmelerin de katkısıyla; modern genom ile antik genomda oluşan değişimleri (fizyoloji, hastalık gibi) karşılaştırabildiği gibi, antik toplumların sosyal yapıları (eş seçme, yaşam tarzları, gömü teknikleri, diğer canlılarla ilişkileri gibi) hakkında da inceleme olanağı oluşmuştur.³⁻¹⁰

Sunduğu bilgilerin oldukça değerli olmasına rağmen aDNA ile ilişkili çalışmalarda problemlerin başında DNA molekülünün post mortem süreçteki degregasyonu ile değerlendirilecek DNA dizilimlerine ulaşılabilmesi ile ekzojen kontaminasyon sonucunda hedef materyale ait olmayan DNA dizilimlerinin incelenmesi gelmektedir. Yıllar içinde aDNA'ya özgü geliştirilen DNA izolasyon yöntemleriyle incelenebilecek kalitede DNA saptanabilirken, inceleme materyallerine daha bilinçli yaklaşım ve gelişen DNA dizileme teknikleriyle ve biyoinformatik yaklaşımlar ile kontaminasyon kısıtlamasının da önüne geçilmektedir.¹¹ Günümüzde aDNA çalışmalarında en çok mitokondriyal DNA (mtDNA) incelenerek değerlendirilen maternal köken üzerine yapılmaktadır. Enerji ihtiyacına göre bulunduğu hücrelerde sayısı değişkenlik gösteren mitokondriden elde edilen mtDNA, hücre çekirdeğinde yer alan nükleer DNA'ya nazaran daha fazla miktarda bulunması sebebiyle antik biyolojik materyallerden daha fazla ve verimli bir şekilde elde edilebilmektedir.¹² MtDNA ile yapılan çalışmaları; Y kromozomu ve otozomal kromozomlardaki köken analizleri ile hastalıklara ilişkin yapılan çalışmalar takip etmektedir.¹³

İnsan mtDNA'sı; mitokondri içinde yer alıp solunum zinciri ile ilişkili genlerden bir kısmını kodlayan, 16,6 kb'lık halkasal yapıda çift sarmallı bir DNA'dır. Solunum zinciri ile ilişkili genlerin yanı sıra, bu genlerin arasında bulunan iki ribozomal RNA geni (12S ve 16S rRNA) ve 22 transfer RNA geni bulunmaktadır. MtDNA üzerinde bulunan kontrol bölgesi (D-döngüsü) ise, molekülün transkripsiyonunun ve replikasyonunun düzenlenmesinde görev alan 1,1 kb 'lik kodlanmayan bir bölgedir. Bu bölge (HVS; hiperdeğişken bölge); genomun geri kalanıyla karşılaştırıldığında, popülasyon düzeyinde oldukça değişken bir diziyeye sahip HVR1 (16024.-16400. nükleotidler arası), HVR2 (44.-340. nükleotidler arası) ve HVR3 (438.-576. nükleotidler arası) adlı üç kısa bölge içermektedir ve bu bölgelerden bilhassa HVR1 popülasyon genetiği çalışmalarında kullanılmaktadır.¹⁴⁻¹⁵

İnsan mtDNA'sını oluşturan halkasal çift sarmallı yapı; guanin ve sitozin açısından zengin bir ağır zincir ile adenin ve timin açısından zengin bir hafif zincirden oluşmaktadır. Literatürde insan mtDNA'sı ilk olarak 1981 yılında Cambridge grubu tarafından kullanılan, hafif iplik referans alınarak numaralandırılmış ve "Cambridge referans dizisi" (CRS) olarak tanımlanmıştır.¹⁶ Fakat bu tanımlama, kullanılan tekniğe bağlı oluşan bir hata sebebiyle güncellenerek 1999 yılında "Gözden geçirilmiş Cambridge referans dizisi"(rCRS), 2012 yılında ise son

düzeltilmelerle "Yeniden düzenlenmiş Sapiens dizisi"(RSRS) olarak son halini almıştır.¹⁷⁻¹⁸

Bulunduğu coğrafyada tarih boyunca bir köprü görevini üstlenen ve birçok uygarlığa ev sahipliği yapmış Anadolu'da saptanan en eski insansı buluntuları orta Pleistosen'e aittir.¹⁹ Kadim dünyanın merkezi konumunda bulunan Anadolu'daki insana kökenli aDNA çalışmaları çoğunlukla Roma ve Bizans dönemine ait kazılarda bulunan materyallerde yapılmıştır.⁹⁻²⁰⁻²¹

Araştırmalar Anaia bölgesindeki ilk yerleşimlerin Son Kalkolitik Çağ'dan itibaren görüldüğünü belirtmektedir.²² Bölgenin tatlı su kaynaklarına ve denize olan yakınlığının gelişiminde katkısı olduğu düşünülmektedir. M.Ö. 2000 yıllarında bölgenin Hitit-Myken ilişkileri açısından değerli olduğuna dair bulgular bulunmaktadır.²³ Arkeolojik bulgular, bölgeye M.Ö. 1050 tarihlerinden itibaren Helen kolonizasyonunun başladığını göstermektedir.²² M.S. 2. Yüzyılda Anea limanı 2.-3. yüzyıldan itibaren bölgede Roma imparatorluğunun varlığı bilinmektedir.²²

Çalışma da güneybatı Anadolu'da bulunan Anaia kazı alanındaki Geç Bizans dönemi toplumundan (13.-15.yy) örneklerde mtDNA analizi yapılmıştır. Bu çalışma, kullandığı tekniklerin tamamının ülkemizde yapılması sayesinde ardından gelen daha büyük seriler için referans oluşturmasının yanında, pek çok farklı topluma ev sahipliği yapmış bölgede yer alan toplumların içeriğini hakkında tarihsel ve arkeolojik bulgulara katkı sağlanacaktır.

Yöntem

Çalışmaya dahil olan örnekler; alandaki arkeolojik çalışmalar ve bulgulardan elde edilen incelemelere dayanarak 13. yüzyıl ile 15. yüzyıl arasında tarihlenen, 2013-2017 yılları arasında çıkan bireylere ait kemiklerden oluşmaktadır. Örneklerin antropometrik ölçüm için uygun olanlarının değerlendirilmesi işlem öncesi yapılmıştır.¹⁹⁻²¹

Örneklerde aDNA eldesi, Altınbaş Üniversitesi Antik DNA Laboratuvarında yapıldı. Çalışma öncesi alan (DNA izolasyonu, PCR ve Post PCR'ın gerçekleştirildiği bölümler) Sodyum Hipoklorit (cas no: 7681-52-9, Sigma, Almanya) ile dezenfekte edilip, ardından UV (15 WATT, 265 nm dalga boyu) ile 45 dakika süreyle olası kontaminasyonu elimine etmek için steril edildi.²² Tüm işlemler steril laminar akım kabini içinde yapıldı. Çalışmada modern DNA kontaminasyonu ile çapraz kontaminasyonun ekarte edilmesi amacıyla steril pipet uçları, tek kullanımlık steril cerrahi eldiven ve maske kullanıldı.

DNA alınacak bölgedeki kontaminasyonu minimize etmek amacıyla kemiklerin işlem yapılacak bölgesinin üst fazı steril matkap uçlarıyla uzaklaştırıldı. DNA için alınacak kemik tozlarında tek kullanımlık UV ile steril edilmiş matkap uçları kullanıldı. Her ekstraksiyon işleminden sonra steril laminar akım kabini sterilize edildi.²⁸

Örneklerden aDNA ekstraksiyonu; dremel vasıtası ile steril laminar akım kabini içinde gerçekleştirildi (Cat no: 4000-1/45; DREMEL, ABD). İşlem yapılacak bölgede 1-2 mm'lik üst faz uzaklaştırıldıktan sonra, dremel ucu değiştirilerek

kompakt tabakadan 0,04 ile 0,5 gr arası örnek alındı.²⁸ Örneklerden 50 mg'lık toz, 2 ml'lik eppendorf tüp içerisinde, izolasyon kitindeki solüsyonlardan (TanBead Nucleic Acid Extraction Kit;Tissue Total DNA, cat no: M6T2S46; TanBead; Tayvan) 200 µl inkubasyon buffer ve 10 µl Proteinaz K solüsyonu içerisinde 1 saat oda sıcaklığında inkube edildi ardından işleme alındı.

Antik DNA izolasyonunu TanBead izolasyon robotuyla Tissue Total DNA Kitleri kullanarak yapıldı. İzole örnekler 100 µl izolatlar olarak robottan alınıp, işlem yapılanı kadar +4C'de muhafaza edildi.

İzolasyonu takiben DNA örneklerin yoğunlukları (ng/µl) ve absorpsiyon ölçümleri (A260/280) (1,80-1,89) spektrofotometrede ölçülerek kayıt edildi (Cat No: ND-2000, ThermoScientific, ABD).

PCR aşamasında az kopya sayısına ile degrede olmuş bölgelerdeki etkinliği nedeniyle AmpliTaq Gold DNA Polimeraz (Cat No: N8080246, ThermoFisher Scientific, ABD) ve UDG (Urasil-DNA Glikosilaz) (Cat No: 78310100UN, ThermoFisher Scientific, ABD) kullanılmıştır. Her bir PCR reaksiyonu için 1 U UDG, 1 µl 360 GC Enhancer (Cat No: N8080246, ThermoFisher Scientific, ABD), 1X tampon solüsyonu (AmpliTaQ Gold® 360 Buffer) (Cat No: N8080246, ThermoFisher Scientific, ABD), 25 mM MgCl₂ (Cat No: N8080246, ThermoFisher Scientific, ABD), 200 µM dNTP Mix (Cat No: N8080246, ThermoFisher Scientific, ABD), 0,3 µM ileri ve geri primerler ve 0,5 U Gold Taq polimeraz enzimi ve 2 µl DNA alikotları kullanıldı. Karışım, bidistile su (dH₂O) ile 25 µl'ye tamamlanarak hazırlandı. Tüm çalışmalar buz üzerinde gerçekleştirildi. Her PCR çalışmasında amplifiye edilen her bir bölge DNA içermeyen kontrol PCR (negatif kontrol)'i ile birlikte çalışıldı. Kontrol PCR'larından bant görülmesi durumunda PCR işlemi tekrarlandı, problemli örnekler için DNA ekstraksiyon aşaması tekrarlandı.

PCR işlemleri termal döngü cihazında, mtDNA'nın HVR1 ve HVR2 bölgelerine göre tasarlanan primerle uygun program yapıldı (HVR1 bölgesi için 15876F ve 132R, HVR2 bölgesi için 15946F ve 639R primerleri) (Tablo 1).

Tablo 1. PCR işlemi için kullanılan primer dizileri

Primer Adı	Primer Sekansı
15876F	5'-TCAATGGGCTGTCCTTGTAG- 3'
132R	5'- GACAGATACTGCGACATAGG- 3'
15946F	5'- CAAGGACAAATCAGAGAAAA- 3'
639R	5'- GGGTGATGTGAGCCCGTCTA- 3'

37°C 30 dakika ardından 95°C de 10 dk'lık ilk denatürasyon, takiben 30 döngülük 95°C de 30 sn denatürasyon, primerlerin bağlanması için 60°C de kadar 30 sn bağlanma ve 72°C de 120 sn (1 kb / 1 dk) uzama aşaması ve son olarak 72°C de 10 dk'lık uzama süresi). PCR sonrasında ürünlerinden 5 µl alınarak, 50 bp'lik merdiven markırı (Cat No: D3812, Sigma, Almanya) ile birlikte 8 µg/ml etidyum bromür içeren %1,4'lik agaroz (Cat No: 9012-36-6, Sigma, Almanya) jelde, 1X TBE tamponunda, 130 V da, 20-25 dk yürütüldü. Ultraviyole ışık altında elde edilen bantlar görüntüledi ve kayıt edildi.

Jelde saptanan ürünlere enzimatik PCR saflaştırması (Exonuclease-I (Lot:00173016-Thermo Scientific, ABD) ve Rapid Alkaline Fosfataz (Cat No:04898133001, Roche, İsviçre) kullanılarak) yapıldı. Saflaştırılma aşamasından sonra ürünler dizi PCR reaksiyonuna kadar 4°C'de karanlıkta saklandı.

Sanger dizileme işlemi ABI3130 (Cat No: 3130XLR, Thermo Scientific, ABD) cihazında yapılmıştır. Elektroferogram görüntüleri Chromas programında değerlendirilip, dizi sonuçlarıyla elde edilen HVR1 ve HVR2 bölgeleri RSRs'ye göre tanımlanarak haplogrupları saptanmıştır.²⁹ (<https://dna.jameslick.com/mthap/>).

Bulgular

20 buluntuda yapılan antropometrik inceleme sonucu bazı bireylerin cinsiyet, boy ve yaş tayini açısından değerlendirilen kemikler bütünlüklerini korumadıklarından tanımlama yapılmadı. Ölçülebilen bireylerde cinsiyet açısından 9'u erkek, 3'ü kadın olduğu ve hepsinin erişkin olduğu (>20 yaş) saptandı. Örneklerin antropometrik inceleme sonuçları ve genetik inceleme için numune alınan kemikleri tabloda gösterildi (Tablo 2).

Tablo 2. Bireylerin antropometrik ölçümleri ve PCR işlemine alınan kemikleri

Örneklem No	Cinsiyet	Yaş	Boy	Örnek Alınan Doku
C220-1	Erkek	>20	1.74	Sol Tibia
C220-2	Erkek	>20	1.73	Sol Femur
C220-3	N/A	N/A	N/A	Sol Femur
C220-4	Erkek	>20	1.73	Sağ Femur
C220-5	N/A	N/A	N/A	Sağ Femur
C220-6	Kadın	20-25	N/A	Sol Femur
C220-7	N/A	N/A	N/A	Sol Femur
C220-8	Erkek	>20	N/A	Sol Humerus
C220-9	N/A	N/A	N/A	Sağ Femur
C220-10	Erkek	>20	1.69	Sağ Femur
C220-11	N/A	N/A	N/A	Sol Femur
C220-12	N/A	N/A	N/A	Sol Femur
C220-13	Erkek	27-30	1.71	Sağ Femur
C220-14	Erkek	>20	1.72	Sağ Tibia
C220-15	Kadın	>20	1.70	Sol Tibia
C220-16	Kadın	>20	N/A	Sol Tibia
C220-17	Erkek	>30	N/A	Sol Femur
C220-18	N/A	N/A	N/A	Sol Femur
C220-19	N/A	N/A	N/A	Sağ Humerus
C220-20	Erkek	>20	1.66	Sağ Humerus

*N/A: ölçüm yapacak nitelikte materyal yok.

Genetik incelemeye alınan bireylerin 16'sında (%80) mitokondriyal haplogruplar elde edildi. Agaroz jelde bant saptanmayan 3 bireyde reaksiyona giren DNA miktarları arttırdı. Dizileme işlemi sırasında elektroferogram kalitesi değerlendirilmeye alınamayacak durumda olan

11 üründe, PCR sonrası saflaştırılmaya alınan ürün miktarı arttırılmasının ardından tekrar dizileme işlemi yapıldı. PCR işlemleri sırasında oluşan sorunlar ve çalışan örnekler tabloda yer almaktadır (Tablo 3).

Genetik değerlendirmeye alınan bireylerin RSRS açısından değerlendirilmesi sonucunda çoğunun

Avrupa'da çok görülen haplogruplara ait olduğu saptandı (%75). 2 bireyin Güney Asya, 2 bireyin ise Afrika kökenli mitokondriyal haplogruplara sahip olduğu gözlemlendi (Tablo 3).

Tablo 3. Bireylerin genetik sonuçlar

Örnek No:	HVR1	HVR2	DNA hasarı	Tekrar durumu	Haplogrup	Değişim Bölgeleri		Hasar Alanları
						HVR1	HVR2	
C220-1	+	+	+	Dizileme	T (T2i2)	16126C 16362C (16519C)	73G	16126,16223, 16239, 16261, 16294, 16296, 16362
C220-2	+	+	-	Dizileme	R (R6)	16126C 16266T 16362C (16519C)	-	-
C220-3	+	+	+	-	HV (HV0)	16189C (16193.1C) 16298C (16519C)	72C	16189, 16289, 16400, 16519
C220-4	+	-	-	Dizileme	J	16069T 16126C 16187T	-	-
C220-5	+	-	-	-	J (J1)	16069T 16126C 16193T 16318G	-	-
C220-6	+	+	-	Dizileme	T (T2b2b)	16126C 16261T 16294T 16296T (16519C)	73G	-
C220-7	-	-	N/A	PCR, Dizileme	-	-	-	-
C220-8	-	-	N/A	Dizileme	-	-	-	-
C220-9	+	-	+	PCR, Dizileme	HV (HV6)	16172C 16311C (16519C)	-	16067, 16129, 16172, 16223, 16311, 16355, 16391, 16519
C220-10	+	-	-	Dizileme	H (H2)	16224C 16311C (16519C)	-	-
C220-11	+	-	-	PCR, Dizileme	H (H2)	16224C 16311C (16519C)	-	-
C220-12	+	-	-	Dizileme	T (T2b2b)	16126C 16261T 16294T 16296T (16519C)	-	-
C220-13	-	-	N/A	-	-	-	-	-
C220-14	+	+	+	-	R (R1)	16126C 16298C 16311C (16519C)	73G	16126, 16224, 16261, 16266, 16294, 16296, 16298, 16311, 16519
C220-15	+	+	+	-	H (H5)	16126C 16304C 16311C (16519C)	-	16126, 16223, 16261, 16266, 16294, 16296, 16304, 16311
C220-16	+	+	-	-	L (L3'4)	16126C 16223T 16266T 16311C (16519C)	73G	-
C220-17	+	+	-	-	L (L3'4)	16126C 16223T 16266T 16311C (16519C)	73G	-
C220-18	+	+	+	-	H (H6)	16126C 16362C (16519C)	-	16126, 16362, 16390
C220-19	+	+	+	Dizileme	U (U5b2a1a2)	16126C (16519C)	73G	16067, 16069, 16126, 16187, 16261, 16266, 16294, 16296, 16519
C220-20	-	-	N/A	-	-	-	-	-

Tartışma

Kadikalesi; tarihi boyunca pek çok işlevlerde kullanılmış bir karmaşık yapıdır. Bulgular proto-historik bir höyük üzerinde yükselen kıyıya hakim bir liman kalesinden, zamanla Laskarislerin (1204-1261) Anai baş psikoposluğu

olan dini bir yapıya, bir gümrük kapısından, 1261 yılındaki Nymphaion anlaşması sonrası Bizanslı ustaların ürünlerini yapıp, Latin patronlara sattığı bir zanaat merkezine dönüştüğünü göstermektedir. Kilise kompleksinin varlığı beraberinde bulunduğu zaman için önemli şahsiyetlerin "yalancı lahit" tipindeki mezarlarıyla birden fazla

iskeletin bir arada yer aldığı arkasolium mezarlarına kadar farklı tip gömüler ve bireylere ev sahipliği yapmaktadır.¹⁷ Ege kıyılarının, dönemin deniz ticaretinde önemli olmasının yanı sıra, dini bir merkez de olması, sahip olduğu popülasyonun çeşitliliği için önemli bir faktördür. İnsanlarda yapılan aDNA çalışmaları ülkemizdeki çeşitli kazı alanlarında da varlığını göstermektedir ve bunlardan bir kısmı Roma-Bizans dönemi kazı alanları üzerindedir.^{9,20,21}

Otoni ve ark.⁹ çalışmasındaki bulgular 13. yüzyıla ait Sagalassos gömülerinde iki makrohaplogrupta yığılma (X, W ve N1b yi içeren N makrohaplogrubu ile R0a, H, V, HV, U, K, J ve T'yi içeren R makrohaplogrubu) gösterip bu grupların batı Avrasya popülasyonunun karakteristik özelliği olduğunu vurgulamaktadır. Nitekim bu çalışmada Asya/Güney Asya (M) ve Sahra-altı makrohaplogruplarını (L1, L2 ve L3a) içermemektedir. Çalışmamızda Batı Avrasya makrohaplogruplarına rastlanması, bu çalışmayla uyumlu olmakla birlikte Sahra-altı makrohaplogruplara sahip iki bireyin varlığı farklılaşma göstermektedir. Kadıkalesinin konumu açısından bir liman toplumu olması bu grupların görülmesi açıklayabilmektedir. Nitekim bu iki bireye ait kemikler dağınık halde bulduklarından, kale çevresinde yaşayan topluluktan bireylere ait olmaları olasılığını arttırmaktadır.

Otoni ve ark.²¹ çalışmasında Bizans döneminde bölgedeki en yoğun görülen maternal haplogrupların H/HV/RO olduğunu bunları N1, J ve T gruplarının takip ettiğini göstermektedir. Benzer bir şekilde çalışmamızda da H/HV/RO grupları yoğunlukta (7/16) ve bunları J, T ve U grupları izlemekteydi (sırasıyla 2/16, 2/16, 1/16).

ADNA çalışmalarının en büyük dezavantajlarından biri post mortem DNA hasarının çoğaltılan PCR ürünüde oluşturduğu yanlış kodlardır. Çoğaltılan ürünlerdeki bazı bölgelerde görülen bu değişimler "Yanlış kodlama lezyonları" olarak isimlendirilen bu durumun ilk gözlemleri Pääbo³⁰ tarafından bildirilmiştir. Bu mekanizma, PCR işlemlerinde kullanılan enzimlerin düşük oranda gösterdiği kodlama hatalarından kaynaklanmakta olduğu gösterilmekle beraber, daha spesifik enzimlerin kullanılmasıyla pek çoğu giderilebilmektedir.³¹⁻³³ Bu yanlış kodlanan bölgeler büyük sıklıklar G>A dönüşümleri ile C>T dönüşümleridir.³² Bu dönüşümlerin tam tersi değişimler post mortem hasar sonucunda gözükmesi çok zor olmakla beraber, imkansız değildir.^{32,34} Mitokondrinin haploid durumda olması, heteroplazmi durumlarının nadir gözükmesi gibi sebepler sonucunda, HVR1 ve HVR2 bölgelerinde görülen heterozigot bölgeler bu durumda daha rahat deşifre edilebilmektedir. Çalışmamızda bu durumun ekarte edilmesi amacıyla daha spesifik PCR enzimleri kullanılmış olmakla beraber, 7 örnekte literatürde bildirilmiş hasar bölgelerindeki hasarlara rastlanmıştır ve biyoinformatik değerlemede bunlara dikkat edilmiştir.³³

Kazı alanlarında yapılan insandaki genetik incelemeler, göç hareketleri, toplum dokusu, eş seçimi gibi bilgileri ortaya koymakla birlikte, hayvanlardaki incelemeler toplulukların beslenme alışkanlıkları ve evcilleştirmeler başta olmak üzere çeşitli bilgiler sağlayıp, insanlığın

geçmişini oluşturan devasa yap-boz hakkında yerine göre küçük, yerine göre ise oldukça değerli bilgiler vermektedir. Antik DNA'nın, normal DNA çalışmalarına göre yaşadığı zorluklara rağmen, gelişmekte olan DNA teknolojileri bu alanda yeni çalışmaların önünü açmaktadır.

Bu çalışmada kısıtlı örnek ve mitokondriyal HVR1 ve HVR2 bölgelerine odaklanmasıyla sınırlı olsa da kontaminasyon ve DNA hasarlarının giderilmesi ve çoğu yurt dışında yapılan çalışmaların ülkemizde yapılabilmesi gibi özellikleri de bulunmaktadır. Örneklem grubunun genişletilmesi, Y kromozomal STR bölgelerin eklenmesi, otozomal çeşitli belirteçlerin eklenmesiyle birlikte, Kadıkalesi gibi döneminde ticaret ve inanç bakımından önemli bir yerleşiminin temel unsuru olan insanları hakkında daha çok bilgiye ulaşmak mümkün olacaktır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı

Yazarlar eşit katkıya sahiptir.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Kaynaklar

1. Higuchi R, Bowman B, Freiberger M, Ryder OA, Wilson AC. DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature*. 1984;312(5991):282-284. doi:10.1038/312282a0
2. Pääbo S. Preservation of DNA in ancient Egyptian mummies. *Journal of Archaeological Science*. 1985;12(6):411-417. doi:10.1016/0305-4403(85)90002-0
3. Larson G, Albarella U, Dobney K, et al. Ancient DNA, pig domestication, and the spread of the Neolithic into Europe. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104(39):15276-15281. doi:10.1073/pnas.0703411104
4. Lie BA, Dupuy BM, Spurkland A, Fernández-Viña MA, Hagelberg E, Thorsby E. Molecular genetic studies of natives on Easter Island: evidence of an early European and Amerindian contribution to the Polynesian gene pool. *Tissue Antigens*. 2007;69(1):10-18. doi:10.1111/j.1399-0039.2006.00717.x
5. Gaubert P, Zenatello M. Ancient DNA perspective on the failed introduction of mongooses in Italy during the XXth century. *Journal of Zoology*. 2009;279(3):262-269. doi:10.1111/j.1469-7998.2009.00614.x
6. Malmström H, Gilbert MT, Thomas MG, et al. Ancient DNA reveals lack of continuity between neolithic hunter-gatherers and contemporary Scandinavians. *Curr Biol*. 2009;19(20):1758-1762. doi:10.1016/j.cub.2009.09.017
7. Lei CZ, Su R, Bower MA, et al. Multiple maternal origins of native modern and ancient horse populations in China. *Anim Genet*. 2009;40(6):933-944. doi:10.1111/j.1365-2052.2009.01950.x
8. Priskin K, Szabó K, Tömöry G, et al. Mitochondrial sequence variation in ancient horses from the Carpathian Basin and possible modern relatives. *Genetica*. 2010;138(2):211-218. doi:10.1007/s10709-009-9411-x
9. Otoni C, Ricaut FX, Vanderheyden N, Brucato N, Waelkens M, Decorte R. Mitochondrial analysis of a Byzantine

- population reveals the differential impact of multiple historical events in South Anatolia. *Eur J Hum Genet.* 2011;19(5):571-576. doi:10.1038/ejhg.2010.230
10. Kirsanow K, Burger J. Ancient human DNA. *Ann Anat.* 2012;194(1):121-132. doi:10.1016/j.aanat.2011.11.002
 11. Skoglund P, Northoff BH, Shunkov MV, et al. Separating endogenous ancient DNA from modern day contamination in a Siberian Neandertal. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(6):2229-2234. doi:10.1073/pnas.1318934111
 12. Merheb M, Matar R, Hodeify R, et al. Mitochondrial DNA, a Powerful Tool to Decipher Ancient Human Civilization from Domestication to Music, and to Uncover Historical Murder Cases. *Cells.* 2019;8(5):433. Published 2019 May 9. doi:10.3390/cells8050433
 13. Hagelberg E, Hofreiter M, Keyser C. Introduction. Ancient DNA: the first three decades. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2015;370(1660):20130371. doi:10.1098/rstb.2013.0371
 14. Brandstätter A, Niederstätter H, Parson W. Monitoring the inheritance of heteroplasmy by computer-assisted detection of mixed basecalls in the entire human mitochondrial DNA control region. *Int J Legal Med.* 2004;118(1):47-54. doi:10.1007/s00414-003-0418-z
 15. Brandstätter A, Peterson CT, Irwin JA, et al. Mitochondrial DNA control region sequences from Nairobi (Kenya): inferring phylogenetic parameters for the establishment of a forensic database. *Int J Legal Med.* 2004;118(5):294-306. doi:10.1007/s00414-004-0466-z
 16. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature.* 1981;290(5806):457-465. doi:10.1038/290457a0
 17. Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet.* 1999;23(2):147. doi:10.1038/13779
 18. Behar DM, van Oven M, Rosset S, et al. A "Copernican" reassessment of the human mitochondrial DNA tree from its root [published correction appears in *Am J Hum Genet.* 2012 May 4;90(5):936]. *Am J Hum Genet.* 2012;90(4):675-684. doi:10.1016/j.ajhg.2012.03.002
 19. Kappelman J, Alçiçek MC, Kazancı N, Schultz M, Ozkul M, Sen S. First *Homo erectus* from Turkey and implications for migrations into temperate Eurasia. *Am J Phys Anthropol.* 2008;135(1):110-116. doi:10.1002/ajpa.20739
 20. Ottoni C, Rasteiro R, Willet R, et al. Comparing maternal genetic variation across two millennia reveals the demographic history of an ancient human population in southwest Turkey. *R Soc Open Sci.* 2016;3(2):150250. Published 2016 Feb 17. doi:10.1098/rsos.150250
 21. Ingman T, Eisenmann S, Skourtanioti E, et al. Human mobility at Tell Atchana (Alalakh), Hatay, Turkey during the 2nd millennium BC: Integration of isotopic and genomic evidence. *PLoS One.* 2021;16(6):e0241883. Published 2021 Jun 30. doi:10.1371/journal.pone.0241883
 22. Mercangoz Z. From Islamic Lands of Eastern Mediterranean to a Byzantine Castle: The Medieval Islamic Ceramics at Kadıkalesi, Kuşadası. *Türkiye Bilimler Akademisi Kültür Envanteri Dergisi.* 2018;17:93-118. doi:10.22520/tubaked.2018.17.006
 23. Akdeniz, E. 2007. Kadıkalesi Kazısı Miken Buluntuları-Mycenaean Finds from the Excavation. *Arkeoloji Dergisi IX.* 2007;1:35-69.
 24. Mensforth RP, Latimer BM. Hamann-Todd Collection aging studies: osteoporosis fracture syndrome. *Am J Phys Anthropol.* 1989;80(4):461-479. doi:10.1002/ajpa.1330800406
 25. Meindl RS, Russell KF, Lovejoy CO. Reliability of age at death in the Hamann-Todd collection: validity of subselection procedures used in blind tests of the summary age technique. *Am J Phys Anthropol.* 1990;83(3):349-357. doi:10.1002/ajpa.1330830308
 26. İşcan MY. A Comparison Of The Hamann–Todd And Terry Collections. *Anthropologie (1962-).* 1992;30(1):35-40. Accessed May 30, 2022. <https://www.jstor.org/stable/26295719>
 27. Ou CY, Moore JL, Schochetman G. Use of UV irradiation to reduce false positivity in polymerase chain reaction. *Biotechniques.* 1991;10(4):442-446.
 28. Rohland N, Hofreiter M. Ancient DNA extraction from bones and teeth. *Nat Protoc.* 2007;2(7):1756-1762. doi:10.1038/nprot.2007.247
 29. van Oven M, Kayser M. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum Mutat.* 2009;30(2):E386-E394. doi:10.1002/humu.20921
 30. Pääbo S. Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(6):1939-1943. doi:10.1073/pnas.86.6.1939
 31. Hansen A, Willerslev E, Wiuf C, Mourier T, Arctander P. Statistical evidence for miscoding lesions in ancient DNA templates. *Mol Biol Evol.* 2001;18(2):262-265. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a003800
 32. Gilbert MT, Hansen AJ, Willerslev E, et al. Characterization of genetic miscoding lesions caused by postmortem damage. *Am J Hum Genet.* 2003;72(1):48-61. doi:10.1086/345379
 33. Gilbert MT, Willerslev E, Hansen AJ, et al. Distribution patterns of postmortem damage in human mitochondrial DNA [published correction appears in *Am J Hum Genet.* 2003 Mar;72(3):779]. *Am J Hum Genet.* 2003;72(1):32-47. doi:10.1086/345378
 34. Hofreiter M, Jaenicke V, Serre D, von Haeseler A, Pääbo S. DNA sequences from multiple amplifications reveal artifacts induced by cytosine deamination in ancient DNA. *Nucleic Acids Res.* 2001;29(23):4793-4799. doi:10.1093/nar/29.23.4793