

# ANTİK DNA ÇALIŞMALARI VE KARŞILAŞILAN SORUNLAR

H. Merve İYRAS<sup>1</sup>, Yeşim DOĞAN<sup>2</sup>

## Özet

İleri derecede zarar görmüş ve DNA eldesi için özel koşullarda saklanmamış biyolojik örneklerden DNA elde edilerek gerçekleştirilen moleküler genetik çalışmaları “antik DNA çalışmaları” olarak adlandırılır. Moleküler biyoloji alanında ortaya konulan gelişmeler paralelinde pek çok bilimsel soruna ışık tutacak olan antik DNA çalışmaları, uygulamada standart moleküler genetik çalışmalarına kıyasla farklı hassasiyetler gerektirmektedir. Örneklerin elde edilmesinden laboratuvarında gerçekleştirilen birçok aşamaya kadar pek çok farklı bilim dalından insanın ortak çalışmasını gerektiren bu araştırmalar, sonunda evrimsel ve antropolojik sorulara çözüm sunacak güçtedir. Bu makalede antik DNA çalışmalarının önemi ve çalışma süresince karşılaşılan sorunlar ve çözüm önerileri üzerinde durulacaktır.

**Anahtar kelimeler:** antik DNA, degradasyon, kontaminasyon.

## Ancient Dna

### Summary

DNA studies from highly degraded biological samples that are not preserved in suitable conditions for DNA analyses are called “ancient DNA analyses” Ancient DNA studies may shed light on many scientific issues in parallel with the improvements of the field of molecular biology, however it requires a higher level of sensitivity during applications when compared to

---

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü, Ankara.

<sup>2</sup> Doç. Dr., Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Tandoğan Yerleşkesi, Beşevler /Ankara.

*standard molecular genetic studies. These researches raises the need for a collaborative work of scientists from different disciplines to carry out several explorative stages; initiating from sample collection to laboratory analyses which finally provides solutions on the evolutionary and anthropological hypothesis. The aim of this article is to focus on the importance of ancient DNA studies, discuss the problems encountered during these studies and provide solution proposals to overcome these problems.*

**Key words:** *ancient DNA, degradation, contamination.*

## **GİRİŞ**

### **Antik DNA nedir?**

İleri derece hasar görmüş ve DNA eldesi için özel koşullarda tutulmamış biyolojik örnekler üzerinde yapılan DNA elde etme ve analiz çalışmaları genel olarak antik DNA çalışmaları olarak tanımlamaktadır (Hummel, 2007). Bu alanda yapılan çalışmaların tarihçesi 1980'lere kadar uzanmaktadır. Literatüre geçen ilk antik DNA çalışmaları, 1984 yılında Higuchi ve arkadaşları tarafından quagga (günümüz eşek türünün atası olarak kabul edilen tür) örnekleri üzerinde yapılan çalışma ile 1985 yılında Paabo ve arkadaşlarının bir mısır mumyası üzerinde yaptıkları çalışmalarıdır (Higuchi, 1984; Paabo, 1985). Bu çalışmaların sonrasında moleküler genetik alanında gerçekleşmiş olan yenilikler ile beraber antik DNA araştırmalarında büyük yol katedilmiştir. Son yıllarda fosil örnekler üzerinde yapılan çalışmalarla DNA materyalinin uzun yıllar korunabildiği bilim adamları tarafından ispatlanmıştır. (Germonpre ve ark; 2009; Halle ve ark; 2009).

### **Antik DNA çalışmalarının amaçları ve hedefleri**

Antik DNA çalışmaları insanların diğer hominin türleri ile ilişkilerinin belirlenmesi ve evrim basamakları arasındaki boşlukların doldurulmasında büyük önem taşımaktadır. Bunun yanı sıra diğer türlerin de zamanla geçirdikleri değişim, geleceğe yönelik olarak projeksiyon oluşumunda anahtar rol üstlenmektedir (Schubert ve ark., 2012) Bu doğrultuda antropolojik kazı alanlarından elde edilen biyolojik kalıntılar üzerinde yapılacak çalışmalar; popülasyon araştırmalarından, kazının gerçekleştiği döneme dair yaşam tarzının belirlenmesine, bitki türlerinin genetik alt yapılarında gerçekleşen değişimlerin gün yüzüne çıkarılmasına ve nesli tükenen canlıların tespit edilmesine kadar pek çok önemli çalışmada yol

gösterecektir (Kirsanow ve Burger, 2012). Günümüz modern dünyasında karşılaşılan gerek bakteriyel gerekse viral pek çok enfeksiyon hastalığının kökenlerinin daha önceki yıllarda karşılaşılan patojenlerden kaynaklandığı bazı uzmanlar tarafından kabul edilmektedir. Antropolojik/arkeolojik alanlardan elde edilen patojenik örnekler üzerinde yapılacak olan çalışmalar ile ihtiyaç duyulan köken bilgisine ulaşılabilecektir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda oluşturacak bir harita ile patojenlerin evrimsel süreçleri öngörülebilir ve bu alanda uygun tedavi yöntemleri geliştirilebilecektir. Ancak daha önce karşılaşılan bu patojenlerin genetik dizilimleri ile ilgili olarak yapılan çalışmaların kısıtlı sayıda olması bu sonuçların desteklenmesi ile ilgili sıkıntılar ortaya çıkarmaktadır.

Tüm bu bilgilerin ışığında antik DNA çalışmalarında elde edilecek bilgilerin günümüzü anlamada ve daha önce yaşanan dönemleri yeniden canlandırmada ne denli önemli olduğu görülmektedir. Ancak bu çalışmalar uzun ve oldukça güçtür. Kazı alanlarının elverişsiz olması, pek çok tarihi alanın hazine avcılığı gibi yasadışı amaçlarla zarar görmüş olması gibi bazı etmenler bu kıymetli materyallerin hasar görmesine sebep olmaktadır. Hasar görmüş örnekler üzerinden cinsiyet, yaşayış biçimleri veya olası patolojik durumların incelenmesi bir yana birey sayısının belirlenmesi noktasında bile sıkıntılar ortaya çıkmaktadır. Özellikle toplu gömüler gibi, inceleme sonuçlarının adli önem içerdiği noktalarda sonuçların güvenilirliği oldukça önemlidir. Bunun yanında insan ve hayvan iskelet parçaları üzerinde bireye özgü ya da türe özgü bilgilerin elde edilmesi, uzman kişilerin bir araya gelmesi sonucunda yapılacak olan osteolojik incelemeler neticesinde olabilmektedir. Ancak daha öncede bahsettiğimiz kazı alanları ile ilgili sorunlar gerekse bu alanda çalışan uzman sayısının yetersizliği bu çalışmaların uzamasına neden olmaktadır. Bu alanda yapılacak osteolojik incelemelerden örneğin cinsiyet belirlenebilmesi için gerekli olan kemik örneklerinin her alanda bulunamıyor olması yapılacak incelemeleri çıkmaza sokmaktadır. Bu durumlarda yapılan antik DNA çalışmalarından elde edilen veriler ışığında popülasyonlarla ilgili pek çok sorun kesin bir şekilde aydınlatılabilir.

### **Antik DNA çalışmalarında karşılaşılan sorunlar ve çözüm önerileri?**

Antik DNA çalışmalarında kullanılan biyolojik materyaller çeşitlilik göstermekle birlikte en uygun örneğin diş ve kemik örnekleri olduğu bilinmektedir. Bu örneklerin kazı sahasından çıkarılması ve analizin yapılacağı laboratuvara sevk edilmesi ve analizi sırasında pek çok sorunla

karşılaşılmaktadır. Bu sorunlar genel anlamda üç başlık altında toplanabilir; kontaminasyon, PCR inhibitörleri ve DNA'nın degradasyonu (Bouwman ve ark., 2006; Yang ve Watt, 2005).

Kazı alanlarından çıkarılan antik örnekler üzerlerinde hali hazırda DNA çalışmalarını olumsuz etkileyecek birçok etken bir arada yer alır. Örneklerin farklı DNA molekülleri içeren diğer türler ile aynı ortamda bulunması, yıllarca DNA çalışmalarının anahtar aşamalarını inhibe edecek kimyasal maddeler ile temas halinde durmuş olması bunlar arasında sayılabilir. Bunun ötesinde örnekler buldukları koşullardan çıkartılırken ve sonrasında yapılan uygulamalar da DNA analizleri için olumsuz olan bu koşulları daha çetin hale getirmektedir. Bu nedenle örneklerin tespit edildikleri andan DNA analizlerinin yapılacağı laboratuvar koşullarına getirilinceye kadar büyük bir titizlikle ele alınması gerekmektedir.

Unutulmaması gereken en önemli nokta aslında örneklerin günümüze kadar varlıklarını koruyabildikleri koşullardan çıkartıldıkları gibi daha şiddetli bir yıkımla karşılaşacaklarıdır. Bu nedenle kazı alanlarında çalışan antropolog ve arkeologların bulunan biyolojik materyallerden DNA analizi gerçekleştirilme olasılığını her zaman akıllarında bulundurmaları ve bu örnekler için alınacak önlemler açısından antik DNA uzmanları ile koordine olmaları hayati önem taşır. Örneğin, iyi niyetle örneklerin dış kontaminantlardan temizlenmesi için yapılacak uygulamalar, antik DNA çalışmalarını içinden çıkılmaz problemlerle karşı karşıya getirebilir (Yang ve Watt, 2005). Antik DNA çalışmalarında en iyi sonuç veren örneklerin amber gibi çevresel etkilerden korunmuş olarak saklanan örneklerden elde edildiği görülmektedir. Bu da bize örneğin korunduğu koşulların ve elde edildikten sonra da o koşullarda tutuluyor olmasının ne denli önemli olduğunu göstermektedir.

Kazı alanından belirlendikleri andan itibaren DNA analizi yapılacak örnekler ile antropologlar mümkün olduğunca teması azaltmalı ve bunu sağlayacak ekipmanlar kullanılmalıdır. Örneklerle temas sonucu oluşacak modern DNA kontaminasyonu örneğin az miktarda ve zarar görmüş olan DNA'sının analizini olanaksız hale getirecek ya da sonuç alınsa dahi örneklerden alınacak sonuçların güvenilirliğini etkileyecektir. Bu nedenle örnekler ile temas mümkün olduğunca engellenmeli, kazıda görev yapan ve daha sonra antropoloji laboratuvarlarında örnekleri inceleyen uzmanlar çıplak elle örneklerle dokunmamalıdır.

DNA çalışmaları yapılırken sonuç alınmasını engelleyen en önemli sorunlardan birisi de DNA'nın ileri derecede degrade olmasıdır. DNA

degradasyonu dokunun bozulma sürecinin normal bir parçasıdır. Ancak kazılardan elde edilen örnekler bir dereceye kadar bu dokuların bozulmasına neden olan koşullardan korunaklı bir ortamda kaldıkları için günümüze kadar varlıklarını koruyabilmişlerdir. Onları kazı ile ortaya çıkartmak var oldukları olumlu koşullardan da çıkartmak anlamına gelir. Bu açıdan DNA eldesi için kullanılacak bir örnek kazıda kendisi için ideal şartlardan çıkartıldığı zaman herhangi bir uygulama yapılmaksızın DNA bozulmasını engelleyecek soğuk ve kuru bir ortamda tutulabilir ise bu DNA degradasyonu nispeten önlenir. Oysa günümüzde kazılardan elde edilmiş ve yıllarca laboratuvar ya da müze koşullarında bekletilmiş örneklerden DNA elde edilmeye çalışılmakta ve haliyle sonuç alma yüzdesi düşmektedir.

Tarihi biyolojik örneklerden DNA analizini en çok etkileyen faktörlerden bir tanesi de örneklerin içlerinde buldukları ortamdaki kaynaklı olarak PCR reaksiyonunu inhibe eden kimyasallar taşıyor olmasıdır. Toprak içerisinde bulundurduğu mineraller nedeni ile PCR inhibitörleri açısından olumsuz koşullar içermektedir. DNA elde edilmek istenilen örneğin bu olumsuz koşullarda kalma süresi de kuşkusuz elde edilecek sonucu önemli ölçüde etkiler. Bu nedenle daha eski tarihlere ait kazılardan DNA eldesi veriminin daha yeni tarihli kazılardan DNA eldesi veriminden düşük olması beklenebilir. Ancak her kazı bölgesinin farklı iklimsel koşullar barındırdığı ve toprak yapısının farklılık gösterdiği unutulmamalıdır. Bu farklı bileşenler hangi kazıdan ne kalitede DNA elde edileceğinin öngörülmesini imkânsız hale getirmektedir.

Olumsuz koşullara dayanma açısından farklı biyolojik materyallerin farklı özellikler gösterdikleri de bilinmektedir. Daha önce yapılan pek çok çalışma diş örneklerinin diğer biyolojik kalıntılara göre daha iyi kalitede DNA içerdiğini göstermektedir (Meyer, 2000; Rohland ve Hofreiter, 2007; Alakoç ve Aka, 2009; Alakoç ve ark., 2010; Higgins, 2013). Ancak dişlerden elde edilen DNA'nın kalitesi her ne kadar kemiklerden elde edilenden daha yüksek olsa da miktar olarak çok azdır. Örnek tipine göre alınacak önlemler ve yapılacak analizlerin çeşitleri de bu nedenle değişiklik göstermektedir (Von Wurmb-Schwark ve Harbeck, 2003; Proust ve ark. 2007).

## SONUÇ

Antik DNA alanında yapılacak çalışmalar sadece DNA uzmanlarının değil antropologların, biyologların, diş hekimlerinin, çevre bilimcilerinin ve diğer pek çok bilim dalının bir arada bulunması gereken bir ekip tarafından

yapılması gerekmektedir. Örnekler ile ilk karşılaştığı andan itibaren üzerinde farklı çalışmaların yapılabileceği düşünülerek örneğe uygun yaklaşılması büyük önem taşımaktadır. Bu doğrultuda özellikle kazı alanlarında antropologların ve arkeologların karşılaştıkları örnekler sonrasında DNA incelemesi yapılacağı düşünülerek gerekli hassasiyeti göstermeleri ve bu konuda bir çalışma grubu kurularak disiplinler arasında çalışma prensipleri ile ilgili eğitimler ve çalışmalar yapılması büyük önem taşımaktadır.

#### KAYNAKÇA

- Alakoc YD., Aka PS. (2009) "Orthograde Entrance Technique To Recover DNA From Ancient Teeth Preserving The Physical Structure." *Forensic Sci Int*. 2009 Jul 1;188(1-3):96-8.
- Alakoc, Y. D., Aka P. S., Eğin Y, Akar N. (2010). " V Leiden in an Urartian, dating Back to 1000 BC". *Journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/ Hemostasis (Clin Appl. Tromb Hemost)* 16 (6):679-83.
- Bouwman, A. S., Chilvers E. R., Brown K. A., Brown T. A. (2006). "Brief communication: identification of the authentic ancient DNA sequence in a human bone contaminated with modern DNA." *Am J Phys Anthropol* 131(3): 428-31.
- Germonpore M., Sablin M.V. et al. (2009)." Fossil dogs wolves from Palaolithic sites in Belgium, the Ukraine and Russia: osteometry, ancient DNA and stable isotopes" *Journal od Archaeological Science* 36:473-490.
- Halle J., Froese GG, et al (2009). "Ancient DNA reveals late survival of mammoth and horse in interior Alaska" *PNAS* 106 (52): 22352-57.
- Higgins D., Austin J. (2013). "Teeth as a source of DNA for forensic identification of human remains". *Science and Justice*. 53:413-441.
- Higuchi, R., B. Bowman, et al. (1984). "DNA Squences from quagga, an extinct member of the horse family." *Nature* 312: 282-284.
- Hummel S. (2007). "Ancient DNA" . *Handbook of Paleoantropology*. Springer: 643-671.
- Kirsanow K. ve Burger J. (2012). "Ancient human DNA" *Annals of Anatomy* 194: 121-132.
- Meyer, E., M. Wiese, et al. (2000). "Extraction and amplification of authentic DNA from ancient human remains." *Forensic Sci Int* 113(1-3): 87-90.
- Pääbo S. (1985). "Molecular Colning of ancient Egyptian mummy DNA" *Nature*. 314: 644-645.

- Pruvost, M., R. Schwarz, et al. (2007). "Freshly excavated fossil bones are best for amplification of ancient DNA." *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(3): 739-44.
- Rohland, N. and M. Hofreiter (2007). "Ancient DNA extraction from bones and teeth." *Nat Protoc* 2(7): 1756-62.
- Schubert, M., Ginolhac A., Thompson J., Al- Rashid K., Willerslev E., Krogh A. and Orlando L. (2012) "Improving ancient DNA read mapping against modern genomes". *BMC Genomics*: 13:178.
- Von Wurmb-Schwark, N., M. Harbeck, et al. (2003). "Extraction and amplification of nuclear and mitochondrial DNA from ancient and artificially aged bones." *Leg Med (Tokyo)* 5 Suppl 1: S169-72.
- Yang, DY. ve Watt, K. (2005). "Contamination controls when preparing archaeological remains for ancient DNA analysis." *Journal of Archaeological Science* 32: 331-336.

