

کاربردهای استخراج DNA در باستان شناسی

● ندا گلچین

کارشناسی ارشد زیست شناسی گرایش
بیوشیمی، کلینیک ژنتیک



● دکتر داریوش فرهود

متخصص ژنتیک، کلینیک ژنتیک، دانشکده
بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه
علوم پایه / اخلاق، فرهنگستان علوم پزشکی
ایران، تهران، ایران



● فرشته خلیل زاده

کارشناس ارشد سلولی مولکولی
کلینیک ژنتیک



● پرینان نادری

دانشجوی کارشناسی زیست سلولی و مولکولی،
کلینیک ژنتیک



بسیار مهم است. پیشرفت‌های اخیر در تجزیه و تحلیل DNA، این فناوری را قابل دسترس کرده و به باستان شناسان، انسان شناسان و متخصصان پزشکی قانونی این امکان را داده است که داده‌های ژنتیکی قابل اعتماد را از بقایای باستانی استخراج کنند. **نتیجه‌گیری:** هدف این مقاله بررسی کاربرد روش‌های آزمایشگاهی استخراج DNA در باستان شناسی است. پیشرفت‌های تکنولوژیک و استفاده از کیت‌های تجاری، استخراج DNA از بقایای باستانی را تسهیل کرده و نقش مهمی در تحقیقات باستان شناسی و سایر علوم مرتبط ایفا می‌کند. **کلید واژه:** استخراج، DNA، باستان، نسب، استخوان، PCR

□ مقدمه

با گسترش دانش ژنتیک و علوم آزمایشگاهی، شناخت ماده حیاتی سلول-DNA و ساختار شگرف آن که در واقع یک بارکد طبیعی و منحصر به فرد حامل اطلاعات وراثتی افراد است، امکان‌پذیر شد. امروزه، استفاده از دستاوردهای مهندسی ژنتیک و روش‌هایی مانند DNA Typing یا انگشت نگاری ژنتیکی جهت تشخیص هویت افراد، کشف حقایق باستان شناسی، تعیین جنسیت و به ویژه بررسی رابطه نسبی بین افراد به لحاظ کشف واقعیت، امری مسلم و غیرقابل انکار است (۱-۳).

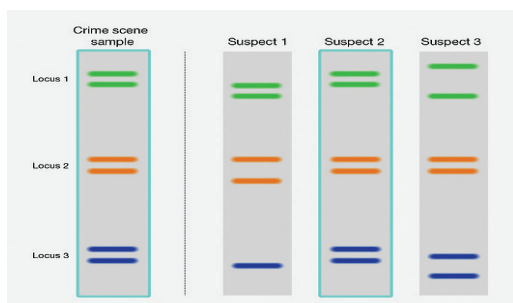
□ چکیده

زمینه: مرحله نخست در آزمایش‌های ژنتیکی، معمولاً استخراج DNA با کیفیت بالا است. Friedrich Miescher در سال ۱۸۶۹ میلادی طی مطالعه‌ای که روی ترکیب سلولی انجام داد، DNA را کشف و آن را از لکوسیت‌ها جدا کرد و نام آن را «نوکلئین» گذاشت Mazelson و Stahl یک روش استاندارد استخراج DNA را در سال ۱۹۵۸ میلادی با استفاده از سانتیفریوژ گرادیان چگالی نمک بر روی نمونه‌های E. coli معرفی کردند. متعاقباً، تکنیک‌های استخراج DNA برای منابع مختلف بیولوژیکی اصلاح شدند.

روش کار: روش‌های استخراج DNA به دو دسته فیزیکی و شیمیایی تقسیم می‌شوند. روش‌های فیزیکی شامل خرد کردن نمونه است، در حالی که روش‌های شیمیایی با استفاده از موادی نظیر سلول‌های کشت بافت، نمونه‌ها را به راحتی لیز می‌کنند. همچنین، کیت‌های تجاری فرآیند استخراج DNA از منابعی مانند گلبول‌های سفید، مو، استخوان، بزاق، ناخن، پوست و سایر سلول‌های هسته دار را ساده کرده و باعث افزایش سرعت و دقت در انجام این فرآیند شده‌اند.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل DNA برای تعیین ویژگی‌های جمعیت شناختی و ژنتیکی و همچنین شناسایی افراد ناشناس





تصویر ۱: انگشت نگاری DNA روشی است که در آزمایشگاه‌ها برای شناسایی افراد بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی منحصر به فرد در DNA آن‌ها استفاده می‌شود. معمولاً در تحقیقات جنایی، پزشکی قانونی و آزمایش پدری برای مطابقت با نمونه‌های DNA افراد شناخته شده و ناشناس استفاده می‌شود (۱۳).

آزمایش DNA بر مبنای تعیین و مقایسه توالی‌های اجزای تشکیل دهنده مناطق تکرار شونده از طریق روش‌های بررسی مولکولی مانند StR، چند ریختی طول قطعه بریده شده^۴ و تفاوت در تعداد قطعات پشت سر هم^۵ به تعیین رابطه نسبی بین افراد می‌پردازد. معیار این بررسی، تشخیص تجانس بین پدر احتمالی و فرزند از طریق مقایسه تکرار توالی‌های بازها در DNA دو فرد است (۱۲).

تاریخچه مطالعه DNA باستانی

اصطلاح DNA باستانی برای اولین بار در مطالعات یافته‌های باستانی در سال ۱۹۸۰ مطرح شد، (۱۴) و از زمان کشف آن در سال ۱۹۸۹، بر روی مولکول‌های استخوانی و یا مولکول‌های حفظ شده در بافت‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. به طور کلی، DNA باستانی تأثیر به‌سزایی بر باستان‌شناسی نگذاشت. این مساله شاید به دلیل اقدام‌های پیشگیرانه دقیقی بود که باید برای جلوگیری از آلودگی انسانی نمونه‌ها با DNA مدرن انجام می‌شد و تا سال ۱۹۹۵، درک دقیقی از آن حاصل نشد (۱۵).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز^۱ یکی از مهم‌ترین روش‌های تشخیصی مولکولی مدرن است که ما را قادر می‌سازد تا به بررسی ابعاد مختلف مولکولی یک یاخته بپردازیم. این روش با استفاده از تکثیر بخش‌های اختصاصی ژنوم پروکاریوتی و یوکاریوتی، امکان تعیین گونه، نژاد و تاریخچه یاخته را فراهم می‌آورد (۴-۵).

توالی ژنومی یا همان DNA در فرآیند تشخیص با این روش اهمیت ویژه‌ای دارد، به نحوی که وجود هرگونه مهارکننده به همراه DNA، کیفیت پایین DNA استخراج شده با توجه به شکنندگی DNA باستانی، عدم رعایت دمای استخراج و یا شرایط pH استخراج DNA نقش بسیار مهمی در موفقیت آزمون ایفا می‌کند. اغلب روش‌های موجود برای استخراج DNA از نمونه‌های بافت طبیعی و یا DNA به هم پیوسته با وزن مولکولی بالا طراحی شده‌اند، در حالی که نمونه‌های باستانی غالباً حاوی DNA شکسته با وزن مولکولی پایین و به مقدار بسیار کم و همچنین انواع مختلفی از مهارکننده‌های آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز هستند (۶-۹). لذا، روش استخراج مناسب برای این نوع DNA باید به دور از انواع محلول‌های شوینده قوی، تغییرات دمایی بسیار زیاد باشد (۱۰ و ۱۱).

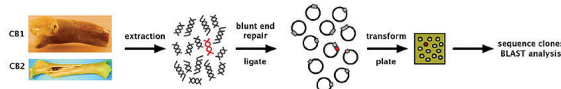
نقش استخراج DNA در اثبات نسب

بررسی مولکول DNA، که به انگشت نگاری ژنتیک نیز معروف است، برای نخستین بار در سال ۱۹۸۵ میلادی توسط دکتر آلیستر جفرسون^۲ به منظور استفاده در تشخیص هویت مطرح شد و پس از آن به طور گسترده‌ای در تحقیقات قانونی مورد استفاده قرار گرفت. (تصویر ۱) در حقیقت، جفرسون مشخص کرد که در زنجیره DNA، هزاران توالی یکسان وجود دارد که طول، نوع باز و تعداد تکرار این توالی‌ها در هر فرد متفاوت و منحصر به فرد است. بنابراین، شناسایی و نشان دادن توالی نوکلئوتیدها در سلول، اساس شناسایی DNA است. در واقع، روش تعیین توالی اجزای تشکیل دهنده مناطق تکرار شونده کوتاه^۳، مبنای آزمایش DNA است که به آن DNA Typing نیز گفته می‌شود (۱۲).

- 1- Polymerase chain Reaction(PCR)
- 2- Alec Jeffreys
- 3- Short Tandem Repeat(StR)
- 4- RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)
- 5- VNTR(Variable Number Tandem Repeats)

گزارش‌های منتشر شده در زمینه باستان‌شناسی و دیرینه‌شناسی به دلیل عدم اطمینان از فرآیندهای استخراج نمونه‌های باستانی، نمی‌توانستند سندی معتبر از آزمایش‌های باستانی آن زمان باشند. (تصویر ۲)

در حال حاضر، چالش بر سر سهولت این روندهاست، به‌گونه‌ای که بتوان آن‌ها را از آزمایشگاه‌های زیست‌شناسی مولکولی بیرون آورده و در محیط باستان‌شناسی و دست‌دانشمندان باستان‌شناس قرار داد. (۱۶)



تصویر ۲: تصویر شماتیک از فرآیند استخراج DNA باستانی و ساخت کتابخانه. عصاره‌های تهیه شده از استخوان خرس غار حاوی DNA خرس غار (قرمز) و مخلوطی از DNA های موجودات دیگر (خاکستری) است (۱۷).

عوامل مؤثر در انتخاب DNA باستانی

بررسی یافته‌های گیاهی، دانه‌ها و گرده‌های گیاهی: مطالعه روی یافته‌های گیاهی که از یک کاوش باستانی به دست می‌آید، می‌تواند در مطالعات زیست‌محیطی و شناسایی گونه‌های فصلی گیاهان آن منطقه کمک‌کننده باشد. به علاوه، مطالعات گیاهی در یک کاوش باستانی اطلاعات مفیدی در مورد قدمت آن منطقه ارائه می‌دهد.

بررسی یافته‌های جانوری: بررسی DNA باستانی در زمینه مطالعه استخوان‌های جانوری در باستان‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد و باعث حل مسائل تکاملی، زیست‌محیطی و دیرینه‌جغرافیایی مناطق می‌شود.

بررسی آسیب‌ها و علت مرگ در گورهای دسته‌جمعی: برای درک بهتر نوع و علت مرگ و مطالعه روی بیماری‌های باستانی، بررسی آسیب‌ها و علت مرگ در گورهای دسته‌جمعی بسیار سودمند است.

بررسی‌های پزشکی قانونی: بررسی و مطالعات پزشکی قانونی می‌تواند شامل قربانیان جنگ ویتنام یا قربانیان بلایای طبیعی باشد. این مطالعات در زمینه‌های مختلف بسیار مفید واقع شده‌اند. بررسی‌های انسان‌شناسی: بررسی DNA باستانی می‌تواند

در مطالعه بقایای اسکلتی یافت شده از مناطق باستانی مورد استفاده قرار گیرد. به طور کلی، مطالعه DNA در بررسی‌های یک محوطه تاریخی یا یک گور دسته‌جمعی در زمینه روابط خویشاوندی، قومیت‌ها و اجداد مشترک اطلاعات سودمندی فراهم می‌آورد (۱۸).

استخراج DNA در باستانی

ژنتیک جمعیت: با تحلیل DNA باستانی، پژوهشگران می‌توانند تنوع‌های ژنتیکی را ردیابی کرده و الگوهای مهاجرت، نژاد و تعاملات بین جمعیت‌های باستانی را درک کنند.

سلامت و بیماری: تحلیل DNA می‌تواند به درک سلامت و بیماری‌های جمعیت‌های باستانی کمک کند. برای مثال، شناسایی نشانگرهای ژنتیکی مرتبط با بیماری‌های خاص می‌تواند به محققان کمک کند تا شیوع این شرایط را در جوامع باستانی درک کنند و تأثیرات آن‌ها بر زندگی مردم آن زمان را بررسی نمایند. از شناسایی افراد در گورهای دسته‌جمعی گرفته تا تأیید اصالت آثار تاریخی، تحلیل ژنتیکی می‌تواند شواهد مهمی را فراهم کند و به روشن شدن حقایق تاریخی و فرهنگی کمک کند. (تصویر ۳)

به طور کلی، مطالعات DNA در بررسی یک محوطه تاریخی یا گور دسته‌جمعی می‌تواند اطلاعات مفیدی در زمینه‌های مختلفی از جمله روابط خویشاوندی، بررسی قومیت‌ها و شناسایی اجداد مشترک ارائه دهد. این اطلاعات به درک بهتر از ساختار اجتماعی، فرهنگی و ژنتیکی جوامع باستانی کمک می‌کند. (۱۹)

تفاوت میان DNA باستانی و DNA مدرن

DNA یک مولکول پایدار نیست و در صورت عدم وجود سیستم‌های ترمیم، آسیب دیدگی‌های ناشی از عوامل شیمیایی و فیزیکی می‌تواند به طور جدی به این مولکول آسیب برساند. یکی از مخرب‌ترین عوامل فیزیکی برای DNA، حرارت است. تأثیر حرارت بر مولکول‌های آب، که از پیوندهای اساسی ساختار DNA می‌باشد، منجر به تحریک پیوندهای کووالانسی می‌شود. این پیوندها اجزای اساسی نوکلئوتیدها را به بقیه ساختار DNA متصل می‌کنند. در نتیجه، آسیب حرارتی باعث ناپایداری و تجزیه DNA می‌شود و رشته DNA در نواحی آسیب دیده شکسته می‌شود. روزانه حدود ده هزار مورد از این آسیب‌ها در DNA هر سلول انسانی رخ می‌دهد، اما در سلول‌های زنده، حداقل نه هزار



و نهصد و نود و نه مورد از این آسیب‌ها قبل از شکستن رشته‌ها ترمیم می‌شوند. پس از مرگ، فرآیندهای ترمیم متوقف شده و شکستگی‌های رشته‌های DNA بدون کنترل ادامه می‌یابد. شکستگی رشته‌ها در نمونه‌های مرطوب سریع‌تر از نمونه‌های خشک رخ می‌دهد (۱۹). واضح است که مولکول‌های DNA باستانی بسیار کوتاه‌تر از هم‌تایان مدرن خود هستند. این کوتاهی مولکول‌های DNA باستانی به خودی خود مشکل جدی به شمار نمی‌آید چرا که اطلاعات کافی برای شناسایی ویژگی‌های زیستی مانند جنسیت، تعیین خویشاوندی و قرابت معمولاً از مولکول‌هایی به طول ۱۰۰ تا ۱۵۰ جفت باز قابل استخراج است. حتی اگر تعداد مولکول‌های با این طول در حال حاضر بسیار کم باشد، می‌توان با تولید نسخه‌های متعدد از آن‌ها به روش PCR مورد بررسی قرار داد.

□ پوسیدگی DNA پس از مرگ و چالش‌های مرتبط با مطالعه DNA باستانی

در بهترین شرایط عوامل محیطی از جمله تغییرات ناگهانی دمای، غلظت‌های نمک و یا خشک بودن اقلیم هوایی در محیط که جزء کمترین آسیب‌های محیطی به حساب می‌آید سبب شده نوکلئازها از بین بروند و یا قبل از تغییر اسید نوکلئیک به مونونوکلوئید غیرفعال تبدیل شوند. به علاوه دامیناسیون، دپورینه شدن و دیگر فرآیندهای هیدرولیتیک باعث بی‌ثباتی و شکست مولکول‌های DNA می‌شوند. اطلاعات ژنتیکی که از DNA استخوان‌های انسانی به دست می‌آیند می‌توانند به مطالعه ارتباطات موجود بین اقوام و در ابعاد کوچک‌تر، گروه‌ها و افراد مدفون در یک گورستان کمک کنند؛ به علاوه می‌تواند در تعیین جنسیت اسکلت‌ها مفید باشد. (۲۱) در مطالعه پالئوپاتولوژی روی نمونه‌های استخوانی می‌توان به بیماری‌های ارثی و همچنین بیماری‌های عفونی که سبب آلودگی DNA موجود در استخوان‌ها شده‌اند پی برد. امروزه تکثیر مولکول‌های DNA بالای یک میلیون سال پیش، بیش از حد خوش بینانه است. (۲۲)

□ ساختار و ماهیت یک مجموعه استخوانی باستانی

راه‌های مختلفی که برای تدفین به طور معمول گروه‌های مختلف مردم در نقاط مختلف جهان به کار می‌رود، به طور معمول شامل رها کردن جسد در رودخانه‌ها، قرار دادن اجساد روی درخت‌ها و یا نقاط بلند و یا رها کردن اجساد برای خورده شدن توسط حیوانات وحشی هستند. این روش‌ها بقایای کمی را برای ثبت در مطالعات باستان شناسی به جا می‌گذارند. تنها در مواردی که آیین‌های تدفین منجر به قرار دادن بقایای انسانی در زیر خاک یا داخل معابد شده باشد، می‌توان آن‌ها را پس از گذشت قرن‌ها یافت و توسط باستان شناسان مورد بررسی قرار داد. در بسیاری از موارد، عمل تدفین شامل دفن کامل جسد است؛ لذا هنگامی که توسط باستان شناسان مورد کاوش قرار می‌گیرد، یک اسکلت کامل پیدا خواهد شد. در سایر موارد ممکن است دستکاری‌هایی قبل از دفن روی جسد صورت گرفته باشد. یافته‌های باستان شناسی استخوان‌های سوخته انسانی، نشان می‌دهند که سوزاندن اجساد نیز یکی از روش‌هایی بوده که از ادوار باستانی تا کنون مورد استفاده قرار می‌گرفته است (۲۳).

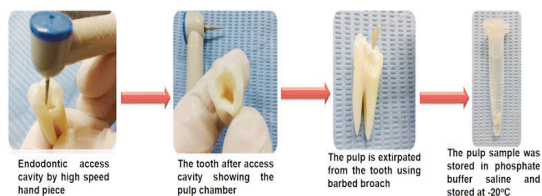
□ فعالیت‌های میکروارگانیسم‌های ساکن در خاک

به دلیل ویژگی‌هایی مانند تعداد زیاد کپی‌ها و ثبات نسبی، DNA میتوکندریایی^۶ به طور خاص در مطالعات باستان شناسی برای شناسایی روابط خانوادگی و بررسی تنوع‌های ژنتیکی استفاده می‌شود. (۲۴) تعداد زیاد نسخه‌ها در هر سلول، mtDNA به تعداد زیادی وجود دارد (تقریباً ۱۰۰۰ نسخه یا بیشتر)، که این امر به بقا و مطالعه آن کمک می‌کند. این ویژگی باعث می‌شود که mtDNA برای ردیابی خطوط ژنتیکی و مطالعه نیاکان مادری بسیار مفید باشد. (۲۵) به این ترتیب، mtDNA ابزار قدرتمندی برای بررسی روابط تکاملی و شجره نامه‌های ژنتیکی فراهم می‌آورد و به دلیل ویژگی‌های خاص خود، در مطالعات باستان شناسی و تکاملی کاربرد زیادی دارد. mtDNA مقایسه با DNA هسته‌ای کمتر دچار آسیب و تخریب در طول زمان می‌شود؛ بنابراین، می‌توان از آن در مطالعات

6- Mitochondrial DNA



قرار می‌گیرد. پالپ دندان به طور طبیعی حاوی مقادیر بالایی از DNA است و با استفاده از تکنیک‌های شیمیایی و آنزیمی، DNA استخراج می‌شود. (۲۹) (تصویر ۴)



تصویر ۴: استخراج بافت پالپ دندان با دسترسی استاندارد ریشه و ذخیره پالپ (۳۰)

استخراج DNA از مو

استخراج DNA از تارهای مو می‌تواند شواهد مهمی در پزشکی قانونی برای شناسایی افراد باشد و همچنین در باستان شناسی، موهای باستانی معمولاً از مکان‌های حفاری (خاک و مقبره‌ها) یا بقایای انسانی جمع‌آوری می‌شوند. در حال حاضر برای کارهای جرم شناسی، باستان شناسی، تست والدین و مطالعات حیوانات وحشی و اهلی از DNA استخراج شده از مو استفاده می‌شود. در تحقیقات پزشکی قانونی، موی انسانی که به صورت ریزش یافته است، یکی از رایج‌ترین انواع شواهد زیستی محسوب می‌شود. موهای ریزش یافته معمولاً در مرحله تلوزن قرار دارند که حاوی مقدار کمی DNA هسته‌ای هستند. اما در هر سلول تعداد زیادی mtDNA وجود دارد که امکان تحلیل تارهای موی تک را فراهم می‌کند. معمولاً از روش‌های مختلفی برای استخراج DNA از تارهای مو استفاده می‌کنند. (تصویر ۵) این تکنیک‌ها به منظور حداکثر کردن بازیابی mtDNA، به ویژه از نمونه‌های تخریب شده که در آن‌ها روش‌های استخراج DNA هسته‌ای سنتی ممکن است ناکام بمانند، طراحی شده‌اند. به طور کلی، استخراج و تحلیل mtDNA از موی انسانی ریزش یافته، ابزاری حیاتی در علم پزشکی قانونی و باستان شناسی به شمار می‌آید که به محققان این امکان را می‌دهد تا ارتباطات بین مظنونان و صحنه‌های جرم را حتی زمانی که سایر اشکال شواهد در دسترس نیستند، برقرار کنند. پس از استخراج DNA، از تکنیک‌های مختلفی برای تحلیل آن استفاده می‌کنند. یکی

باستان شناسی بهره برد. به علت فراوان بودن میتوکندری درون سلول‌ها، حتی اگر نمونه‌های زیستی به شدت تخریب شده باشند، باز هم mtDNA به اندازه کافی موجود است که بتوان توالی نوکلئوتید آن را به دست آورد. (۲۶)

استخراج DNA از استخوان

استخراج DNA از استخوان‌های باستانی یکی از فرآیندهای پیچیده و چالش برانگیز در علم ژنتیک است. یکی از اصلی‌ترین چالش‌ها، تخریب شدید DNA در طول هزاران سال است که ناشی از عواملی مانند تغییرات دمایی، رطوبت، فعالیت‌های میکروبی و شیمی خاک می‌باشد. این تخریب به ویژه در استخوان‌ها و دندان‌ها بسیار قابل توجه است و همین امر استخراج و تحلیل DNA را دشوار می‌سازد. (۲۷) استخوان‌ها یکی از منابع اصلی استخراج DNA از بقایای باستانی به شمار می‌آیند، زیرا نسبت به دیگر بافت‌ها مانند پوست یا عضلات، در برابر تخریب محیطی مقاوم‌ترند. استخوان‌ها به دلیل ساختار معدنی خود (کلسیم و فسفات) معمولاً نسبت به سایر بافت‌ها بهتر از تخریب‌های محیطی محافظت می‌شوند و به همین دلیل استخراج DNA از آن‌ها می‌تواند اطلاعات ژنتیکی بیشتری فراهم کند.

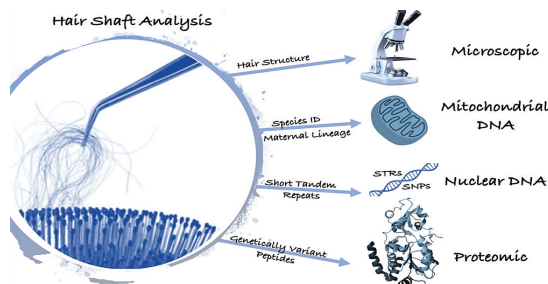
این تحقیقات همچنین به شناسایی نشانگرهای ژنتیکی مرتبط با برخی بیماری‌ها و اختلالات ژنتیکی کمک کرده است که می‌تواند به ویژه در زمینه‌های پزشکی و ژنتیک مفید باشد. علاوه بر این، استخراج DNA از استخوان‌های باستانی می‌تواند اطلاعات ارزشمندی درباره ارتباطات بین گونه‌های مختلف انسانی مانند نئاندرتال‌ها و انسان‌های مدرن فراهم کند و تاریخ تکامل بشر را روشن‌تر کند. (۲۸)

استخراج DNA از دندان

استخراج DNA از دندان، یک ابزار قدرتمند در علوم باستان شناسی، پزشکی قانونی و ژنتیک است. این تکنیک‌ها به ویژه در مواردی که نمونه‌های بیولوژیکی دیگر قابل دسترس نیستند، کاربرد دارند. دندان و استخوان‌ها به دلیل ساختار معدنی خود، می‌توانند مقادیر زیادی DNA را در شرایط مناسب حفظ کنند. برای استخراج DNA از دندان، معمولاً پالپ دندان (بافت نرم درون دندان) هدف



از رایج‌ترین روش‌ها، تحلیل mtDNA است که به دلیل وجود تنوع زیاد در توالی‌های آن، امکان شناسایی افراد را فراهم می‌کند. این تنوع می‌تواند به محققان کمک کند تا ارتباطات خانوادگی و نژادی را بررسی کنند. (۳۱)



تصویر ۵: شماتیک از روش‌های استخراج

DNA از نمونه مو (۳۲)

روش‌های استخراج DNA از پارچه‌ها و لباس‌های باستانی

تجزیه و تحلیل نمونه‌های باستانی: استخراج DNA از نمونه‌های باستانی نیازمند دقت و تکنیک‌های خاص است. اولین مرحله، تجزیه و تحلیل نمونه‌ها است که شامل شناسایی و جمع‌آوری بافت‌های قابل استفاده است. پارچه‌ها و لباس‌های باستانی معمولاً تحت تأثیر عواملی مانند رطوبت، دما و مواد شیمیایی قرار گرفته‌اند که می‌تواند بر کیفیت DNA تأثیر بگذارد. برای استخراج موفق DNA از این نمونه‌ها، لازم است که پارچه‌های باستانی با احتیاط تمیز شوند تا از آلودگی‌های احتمالی محیطی دور نگه داشته شوند. این فرآیند ممکن است شامل استفاده از ابزارهای غیرآلوده و محیط‌های استریل باشد. همچنین برای این کار، بافت‌های مناسب از پارچه انتخاب شده و به روش‌های مخصوصی مانند آسیاب کردن یا خرد کردن تبدیل به پودر می‌شوند. سپس DNA از این پودر با استفاده از روش‌های شیمیایی خاص استخراج می‌شود. DNA استخراج شده باید تحت تکنیک‌های پیشرفته مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و توالی‌یابی قرار گیرد تا اطمینان حاصل شود که کیفیت و مقدار DNA به اندازه کافی برای تحلیل‌های بعدی مناسب است. استخراج DNA از پارچه‌های تاریخی به علت قدیمی بودن و گاهی اوقات فرسایش، با مشکلات خاصی مواجه است، مانند آلودگی با مواد خارجی و زیستی و کمبود DNA. (۳۳)

استخراج DNA از خاک

استخراج DNA از خاک می‌تواند به شناسایی هویت انسان‌های باستانی و تعیین تبار آن‌ها کمک کند. خاک می‌تواند شامل مواد آلی و غیرآلی باشد که DNA انسانی در آن به دلیل فعالیت‌های انسانی، نظیر دفن یا رهاسازی مواد بیولوژیکی، وجود دارد. با این حال، استخراج DNA از خاک فرسوده به دلیل وجود آلودگی‌های میکروبی و مواد شیمیایی چالش برانگیز است. استخراج DNA از خاک فرسوده چالش‌های زیادی دارد مثل آلودگی میکروبی و تنوع ژنتیکی، خاک حاوی میکروارگانیسم‌ها و DNA سایر موجودات زنده است که می‌تواند بر نتایج استخراج اثر داشته باشد. همچنین به دلیل رطوبت و برخی شرایط محیطی خاک، احتمال تجزیه DNA موجود در آن وجود دارد. با وجود چالش‌های فراوان در استخراج DNA از خاک، این روش کاربردهای زیادی در تحقیقات جنایی و باستان‌شناسی دارد. روش‌های مختلفی برای استخراج DNA از خاک فرسوده موجود است که به سه دسته فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی تقسیم می‌شوند. در روش شیمیایی، خاک ابتدا با محلول لیزکننده (مانند بافر تریس و EDTA) مخلوط می‌شود تا سلول‌ها تخریب و DNA آزاد شود. سپس با استفاده از محلول‌های شیمیایی مانند فنول و کلروفرم، DNA از سایر مواد جدا می‌شود. در روش فیزیکی، خاک به طور مکانیکی تجزیه می‌شود تا DNA آزاد شود. برای این کار از تکنیک‌های مکانیکی مانند سانتریفیوژ و هموژنیزاسیون استفاده می‌شود. در روش بیولوژیکی با استفاده از آنزیم‌ها مانند پروتئیناز K برای تجزیه پروتئین‌ها و آزادسازی DNA پرداخته می‌شود. این آنزیم‌ها می‌توانند به تجزیه بافت‌های سلولی کمک کنند و DNA را از آلودگی‌ها جدا کنند. (۳۴)

نتیجه‌گیری

در حال حاضر این منصفانه نیست که از فناوری زیستی در توسعه میراث فرهنگی استفاده نشود، زیرا به کار بردن آن در شناخت فرهنگ اقوام ایرانی می‌تواند جایگاه‌های شاخص موجود در تاریخ ایران را برای ما نمایان سازد. استفاده از ژنتیک در تشخیص نمونه‌ها، خطاها و کمبودهایی که در روش مورفومتریک وجود دارد را مرتفع می‌کند و در نتیجه، در زمینه روند تکاملی بشر و بررسی زیستگاه و شرایط زندگی در دوره‌های مختلف می‌تواند مفید باشد. همچنین علم ژنتیک

اصلی مورد نیاز برای این گروه از مطالعات وجود ژنوم DNA می‌باشد تا بتوانیم با بررسی بخش‌های مختلف آن پی به پیشینه ژنتیکی موجودات ببریم. این امر می‌تواند به دلیل از میان رفتن اکثریت ژنوم موجود زنده بر اثر فرسایش و یا وجود مهارکننده‌های متعدد واکنش زنجیره‌ای پلیمرز باشد لذا پروتکل بهینه استخراج ژنومی از اهمیت بالایی برخوردار است تا بتوان به طبع آن ابعاد مختلف ژنومی نمونه مورد مطالعه را بررسی نمود. (۳۶)

در باستان شناسی می‌تواند در زمینه فرهنگ، عقاید دینی، کشاورزی، آداب و رسوم، مراسم‌های تدفین، بیماری‌ها و غیره استفاده شود. روش‌های مبتنی بر DNA امروزه بهترین روش برای تمایز بین موجودات نزدیک به هم است. (۳۵) در این میان PCR یک روش بسیار حساس و مناسب جهت شناسایی ژنتیکی و ترسیم گذشته و حال و حتی آینده می‌باشد. این روش با استفاده از حتی یک تار مو، قادر به شناسایی پیشینه ژنتیکی موجودات می‌باشد. اما در این میان ماده اولیه و

References:

- 1- Thompson M. *Scientific Advances in Forensic Archeology and Anthropology: A Review*. Arch & Anthropol Open Acc. 2023;5(1):718-21.
- 2- Pileh A, Ghazvini SA, Razei A. Role of DNA In Confirm of Lineage. *Journal of Family Research*. 2014;9(3):381-97.
- 3- Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 1988;239(4839):487-91.
- 4- Noonan JP, Coop G, Kudaravalli S, Smith D, Krause J, Alessi J, et al. Sequencing and analysis of Neanderthal genomic DNA. *science*. 2006;314(5802):1113-8.
- 5- Green RE, Krause J, Ptak SE, Briggs AW, Ronan MT, Simons JF, et al. Analysis of one million base pairs of Neanderthal DNA. *Nature*. 2006;444(7117):330-6.
- 6- Geigl EM. On the circumstances surrounding the preservation and analysis of very old DNA. *Archaeometry*. 2002;44(3):337-42.
- 7- JS M. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*. 2005;437(7057):376380.
- 8- Poinar HN, Schwarz C, Qi J, Shapiro B, MacPhee RD, Buigues B, et al. Metagenomics to paleogenomics: large-scale sequencing of mammoth DNA. *science*. 2006;311(5759):392-4.
- 9- Roganov EI, Moliaka YK, Malyarchuk BA, Kondrashov FA, Derenko MV, Chumakov I, et al. Complete mitochondrial genome and phylogeny of Pleistocene mammoth *Mammuthus primigenius*. *PLoS Biology*. 2006;4(3):e73.
- 10- Höss M, Dilling A, Currant A, Pääbo S. Molecular phylogeny of the extinct ground sloth *Myiodon darwini*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996;93(1):181-5.
- 11- Pääbo S. Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1989;86(6):1939-43.
- 12- Thomas RH, Schaffner W, Wilson AC, Pääbo S. DNA phylogeny of the extinct marsupial wolf. *Nature*. 1989;340(6233):465-7.
- 13- <https://www.genome.gov/genetics-glossary/DNA-Fingerprinting>
- 14- Pollard AM, Armitage RA, Makarewicz CA. *Handbook of archaeological sciences: John Wiley & Sons*; 2023.
- 15- Drohojowska J, Szewdo J, Müller P, Burckhardt D. New fossil from mid-Cretaceous Burmese amber confirms monophyly of Liadopsyllidae (Hemiptera: Psylloidea). *Scientific Reports*. 2020;10(1):17607.
- 16- Khezai A, Khazaei A, Qasenpouri SK, Seyed-Shojaii M. Optimization of DNA extraction from museum and ancient animal samples including skin and bone of mammals using modified phenol-chloroform method (Case study: Caspian seal). *Arid Environ Journal*. 2020;14(1):1-9. doi: 10.22034/AEJ.2020.122652
- 17- Mata R, Merheb MM. Paleogeneticist view of leather: The role of mitochondrial DNA to uncover the mysteries of fake leather and its products. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016;9:6-1
- 18- Noonan JP, Hofreiter M, Smith D, Priest JR, Rohland N, Rabeder G, Krause J, Dettler JC, Paabo S, Rubin EM. Genomic sequencing of Pleistocene cave bears. *Science*. 2005 Jul 22;309(5734):597-9.
- 19- Morozova I, Flegontov P, Mikheyev AS, et al. Toward high-resolution population genomics using archaeological samples. *DNA Res*. 2016; 23:295-310
- 20- Berens AJ, Cooper TL, Lachance J. The genomic health of ancient hominins. *Hum Biol*. 2017; 89:7 19
- 21- Marta Z, Mario C, Barbara B, Paolo V, Maria S, Maria C. Mitochondrial D-loop sequence variation among Italian horse breeds. 2004.
- 22- Fulton TL, Shapiro B. Setting up an ancient DNA laboratory. *Ancient DNA: methods and protocols*. 2019:1-13.
- 23- Krause J. From genes to genomes: what is new in ancient DNA? *Mitteilungen der Gesellschaft für Urgeschichte*. 2010;19:11-34.
- 24- Newmaster SG, Grguric M, Shanmughanandhan D, Ramalingam S, Ragupathy S. DNA barcoding detects contamination and substitution in North American herbal products. *BMC medicine*. 2013;11:1-13.
- 25- Ghovvati S, Nassiri M, Mirhoseini S, Moussavi AH, Javadmanesh A. Fraud identification in industrial meat products by multiplex PCR assay. *Food control*. 2009;20(8):696-9.
- 26- Hodgson JA, Disotell TR. Anthropological genetics: Inferring the history of our species through the analysis of DNA. *Evolution: Education and Outreach*. 2010;3:387-98.
- 27- Pääbo S, et al. The challenges of ancient DNA extraction and analysis. *Trends in Genetics*. 2017;33(12):801-808.
- 28- Gamba C, et al. The state of ancient DNA research and the challenges in current ancient DNA sequencing and analysis. *Trends in Genetics*. 2020;36(8):689-701.
- 29- Slatkin M, Racimo F. Ancient DNA and human history: a review. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016;113(23):6767-6773
- 30- Green RE, Krause J, Briggs AW, Maricic T, Stenzel U, Kircher M, et al. A draft sequence of the Neanderthal genome. *science*. 2010;328(5979):710-22.
- 31- Asamura H, Ota M, Takayanagi K, Saito S, Tsukada K, Fukushima H. Molecular genetic analysis of the Am phenotype of the ABO blood group system. *Vox sanguinis*. 2002;83(3):263-7.
- 32- Willerslev E, Cooper A. Ancient dna. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2005;272(1558):3-16.
- 33- <https://www.ishnews.com/no-nuclear-dna-in-rootless-hair-myth-or-fact/>
- 34- Kholief M, El Shanawany S, Gomaa R. Sex determination from dental pulp DNA among Egyptians. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*. 2017 Dec;7:1-7.
- 35- Orlando L, Allaby R, Skoglund P, Der Sarkissian C, Stockhammer PW, Ávila-Arcos MC, et al. Ancient DNA analysis. *Nature reviews methods primers*. 2021;1(1):14.
- 36- Schmerer WM. Extraction of Human DNA from Soil: Protocol Adaptations. *arXiv preprint arXiv:240512422*. 2024.

