



Antik DNA Çalışmaları ve Türkiye

Ancient DNA Studies and Turkey

Iraz AKIŞ

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı 34320 Avcılar, İstanbul, Turkey.

(author for correspondence; irazakis@gmail.com)

Received: 19 December 2013; Accepted: 27 June 2014

Abstract

The studies on ancient DNA (aDNA) from archaeological and paleontological remains make it possible to get genetic data from the past. aDNA data provide new insights in many research areas like phylogeny, population genetics and origins of domestication. Despite the technological advances in the last decade, contamination and DNA degradation still remain as two main problems in the field. Turkey and Near East are important aDNA resources as principal domestication centres of livestock animal. But the climatic conditions of this region are disadvantageous for preservation of ancient samples and aDNA molecules. The comparison of the samples from Europe and Near East indicate the impact of the environment on aDNA data. By means of the new methods of isolation, amplification and sequencing improved in recent years, the negative effects of the problems on results can be decreased and high amounts of data can be obtained. The progress of aDNA studies in Turkey would make an important contribution to the knowledge of evolutionary biology and origins of domestication.

Keywords: aDNA, molecular damage, contamination, Turkey, Near East

Özet

Arkeolojik ve paleontolojik kalıntılardan elde edilen antik DNA (aDNA) üzerinde yapılan araştırmalar sayesinde geçmişe ait genetik bilgilere doğrudan ulaşılabilmektedir. aDNA verileri; filogeni araştırmaları, popülasyon genetiği, evcilleştirmenin kökenlerinin araştırılması gibi birçok araştırma alanında kullanılmaktadır. Son on yılda gerçekleşen teknik ilerlemelere rağmen, eski örneklerdeki kontaminasyona ve DNA degradasyonuna bağlı sorunlar varlıklarını sürdürmektedir. Çiftlik hayvanlarının başlıca evcilleştirilme merkezi olan Türkiye ve içinde bulunduğu Yakın Doğu bölgesi aDNA çalışmaları açısından önemli bir kaynak olarak görülmektedir. Ancak bu bölgedeki iklim koşulları, eski örneklerin ve içerdikleri aDNA moleküllerinin korunmasında dezavantaj oluşturmaktadır. Avrupa ve Yakın Doğu'den elde edilen örneklerin karşılaştırıldığı çalışmalar çevre koşullarının aDNA verileri üzerindeki etkisini göstermektedir. Son yıllarda geliştirilen yeni izolasyon, amplifikasyon ve dizileme yöntemleri sayesinde karşılaşılan sorunların sonuçları üzerindeki etkileri azaltılabilmekte ve yüksek miktarda veriye ulaşılabilmektedir. aDNA çalışmalarının Türkiye'deki örnekler üzerinde de yaygınlaşmaya başlaması evrimsel biyoloji ve evcilleştirmenin kökenleri ile ilgili önemli katkılar sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: aDNA, moleküler hasar, kontaminasyon, Türkiye, Yakın Doğu

Giriş

Günümüzde antik DNA (aDNA) araştırmaları sayesinde geçmişe ait genetik bilgilere doğrudan ulaşılabilmektedir (Willerslev ve Cooper, 2005). Bu alanda yaklaşık 30 yıl önce başlayan çalışmalar, son on yılda geliştirilen yeni teknikler ile büyük

ilerlemeler kaydetmiştir. aDNA izolasyonu ve nükleotid dizilerinin belirlenmesi; filogeni araştırmaları, popülasyon genetiği, evcilleştirmenin kökenlerinin araştırılması gibi birçok araştırma alanında kullanılmaktadır (Hofreiter, 2009). Türkiye'nin de içinde bulunduğu Yakın Doğu

bölgesi evcil hayvanların kökenleri açısından büyük bir öneme sahiptir (Zeder, 2011). Sığır, koyun, keçi ve domuz Türkiye'nin doğu ve güneydoğu bölgelerini de içeren Bereketli Hilal bölgesinde evcilleştirilmiştir (Gupta, 2004). Yakın Doğu ve Türkiye, aDNA çalışmaları için zengin kaynaklar sunmakla birlikte, yüksek sıcaklık ve nem oranları nedeniyle veri elde edilmesinde bir dizi sorunla karşılaşmaktadır (Bollongino ve ark., 2008).

Bu derlemede aDNA çalışmalarının geçmişi, DNA degradasyonu, dış kaynaklı kontaminasyon gibi alana özgü problemler, Türkiye'nin coğrafi ve tarihi özellikleri nedeniyle aDNA çalışmalarındaki yeri ve bu alandaki yeni yaklaşımlar hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Tarihçe

aDNA araştırmalarının ilk örnekleri; 1984 yılında yayımlanan, soyu tükenmiş bir canlı türü olan yaklaşık 150 yıllık bir quagga (zebranın bir alt türü)'ya ait mitokondrial DNA (mtDNA) dizileri (Higuchi ve ark., 1984) ve hemen ardından yayımlanan 2400 yaşındaki bir insan mumyasından elde edilen nükleer DNA dizileridir (Pääbo ve ark., 1985). Polimeraz zincir reaksiyonunun (PZR) bulunmasıyla araştırmalar hız kazanmıştır fakat bu gelişme dış kaynaklı kontaminasyon riskini de beraberinde getirmiştir. Eski örnekler bulaşmış olan modern DNA örnekleri PZR ile kolayca çoğalabilirken, ortamda bulunan daha önce çoğaltılmış olan PZR ürünleri de ciddi bir kontaminasyon kaynağı olmaktadır (Willerslev ve Cooper, 2005; Hofreiter, 2009). aDNA molekülündeki bozunma ve parçalanma nedeniyle, ortamdaki modern DNA molekülleri çoğalmaya daha elverişli olmaktadır (Pääbo, 1989; Lindahl, 1993). Kontaminasyon kaynaklı yanlış pozitif sonuçlar ve DNA molekülündeki hasarlardan kaynaklanan dizileme hataları içeren kimi araştırma sonuçları yayımlanmalarını takiben geçersiz hale gelmiştir (Willerslev ve Cooper, 2005; Hofreiter, 2009). Bu çalışmalarda elde edilen aDNA dizilerinin bazılarının insan ve mikroorganizma kaynaklı olduğu (Zischler ve ark., 1995; Gutierrez ve Martin, 1998) belirlenmiştir. PZR ile hedeflenen bölgelerin çoğaltılması ve çoğaltma işleminin tekrarlanabilmesi sonucunda daha önce yayımlanan dizilerin artefakt içerdiği de belirlenmiştir. Örneğin ilk belirlenen quagga dizilerindeki C/T ve G/A değişikliklerinin post-mortem DNA hasarına bağlı olduğu kabul edilmiştir (Pääbo ve Wilson, 1988). Kontaminasyon, post-mortem DNA hasarı ve PZR

hassasiyeti gibi başlıca risk faktörlerinin anlaşılmasıyla birlikte, aDNA çalışmalarının güvenilirliğini sağlamak amacıyla çeşitli kriterler geliştirilmiştir (Cooper ve Poinar, 2000). DNA molekülünde görülen hasarlar, örneklerin kontaminasyonu ve biyokimyasal diagenesis ile ilgili elde edilen bilgi birikimi standartların yükselmesini ve gerekli önlemlerin alınmasını sağlamıştır (Gilbert ve ark., 2005; Willerslev ve Cooper, 2005; Hofreiter, 2009) ve birçok türe ait güvenilir aDNA verileri elde edilebilmiştir.

aDNA ANALİZLERİNDE TEMEL SORUNLAR

Moleküler Hasar

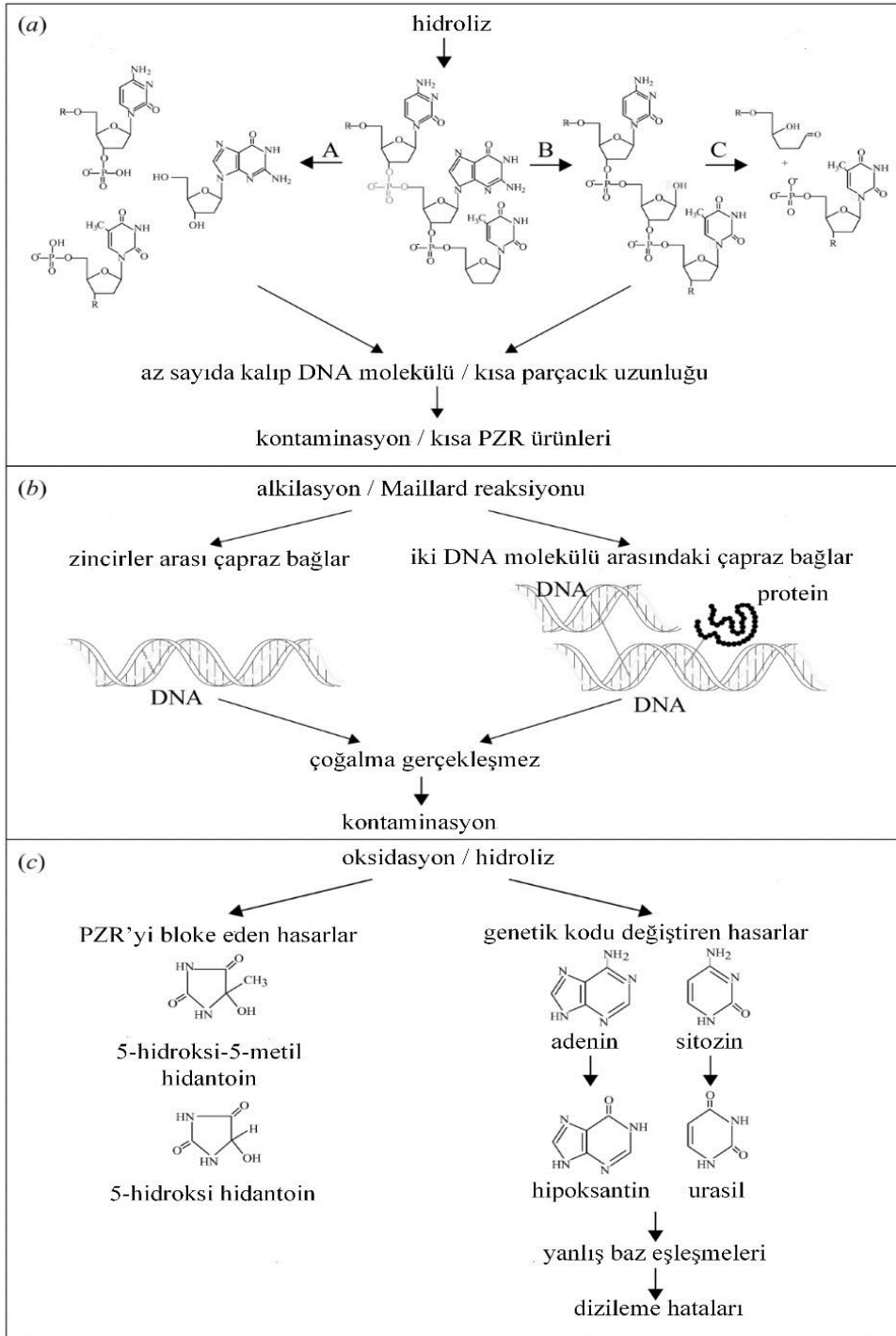
DNA molekülünde görülen post-mortem yıkımlanma, aDNA çalışmalarının başlıca problemlerinden biri olarak görülmektedir. Organizmanın ölümüyle birlikte, hücrelerdeki katabolik enzimler serbest hale geçerek DNA molekülünü degrade etmeye başlar. Enzimlerin yol açtığı hidroliz ve oksidasyon dışında, makromolekülleri parçalayan bakteri ve mantarlar da DNA molekülünü degrade ederler. Post-mortem DNA yıkımlanması sırasında oluşan hasarlar; zincir kırılmaları, oksidatif hasarlar, hidrolitik hasarlar ve zincirler arası çapraz bağlar olarak sıralanabilir (Hofreiter ve ark., 2001; Pääbo, 2004) (Şekil 1).

1. Zincir Kırılmaları

Mikroorganizmaların yol açtığı degradasyonlar, ölüm sonrası serbest hale geçen nükleazların etkileri ve diğer biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda oluşan zincir kırılmaları, toplam DNA miktarında azalma ve DNA parçalarının boyutlarının küçülmesi ile sonuçlanmaktadır. Boyut küçülmesi hem enzimatik reaksiyonlardan, hem de fosfodiester bağlarının enzimatik olmayan hidrolizinden kaynaklanmaktadır (Lindahl, 1993).

2. Oksidatif Hasarlar

Peroksit radikalleri, hidrojen peroksit ve hidroksi radikalleri gibi serbest radikaller DNA molekülünde oksidatif hasarlara yol açmaktadır. Azotlu bazlar ve deoksiribozda meydana gelen oksidatif lezyonların sonucunda, pürin ve pirimidin bazlarının parçalanması, deoksiriboz parçalanması ve nükleotidlerde değişiklikler oluşabilmektedir (Lindahl, 1993). Oksitlenmiş pirimidin içeren aDNA örnekleri, bu maddeye spesifik olan endonükleaz III enzimine de duyarlı hale gelmektedir (Pääbo, 1989).



Şekil 1. aDNA molekülünde görülen hasarlar (Willerslev ve Cooper, 2005). a) Zincir kırılmalarının oluşumu (A) depürinasyon (B) deoksiriboz-fosfat omurgasında kırılma (C) kısa parçacıkların oluşumu ve DNA kaybı b) Çapraz bağların oluşumu, c) Bazların oksidatif ve hidrolitik modifikasyonu

4 İraz AKIŞ

Yüksek miktarlarda 5-hidroksi-5-metilhidantoin (5-OH-5-MeHyd) ve 5-hidroksihidantoin (5-OH-Hyd) içeren örneklerde amplifikasyon gerçekleşmemektedir. Bu iki okside pirimidin kalıntısı *Taq* DNA polimeraz enzimini bloke etmektedir (Pääbo ve ark., 2004).

3. Hidrolitik Hasarlar

Hidroliz sonucunda azotlu bazlarda meydana gelen değişiklikler nedeniyle DNA dizisindeki genetik kod değişebilmektedir. Azotlu baz ile deoksiriboz arasındaki glikozidik bağın hidrolitik olarak ayrılması ile amino gruplarının kaybı ortaya çıkmaktadır (Lindahl ve Nyberg, 1972; Lindahl ve Karlstro, 1973). Bu değişimlere örnek olarak; adeninin hipoksantine, sitozinin urasile, 5-metilsitozinin timine ve guaninin ksantine dönüşümü verilebilir (Friedberg ve ark., 1995). Sitozin, 5-metilsitozin ve adenin bazlarına ait deaminasyon ürünleri, aDNA amplifikasyonu sırasında yanlış bazların diziyeye eklenmesine neden olacağından (A yerine G ve C yerine T) özellikle önem taşımaktadır (Pääbo ve ark., 2004).

4. Çapraz Bağlar

Taq DNA polimeraz enzimini bloke eden bir başka hasar tipi de çapraz bağlardır (Pääbo, 1989). DNA molekülünün bir başka DNA molekülü veya farklı moleküllerle reaksiyona girmesi sonucu DNA polimeraz enzimini bloke eden Maillard reaksiyonu ürünleri şekillenebilmektedir (Vasan ve ark., 1996).

Dış Kaynaklı DNA ile Kontaminasyon

Örneklerin hazırlandığı, DNA ekstraksiyonunun yapıldığı ve PZR hazırlıklarının yapıldığı laboratuarlarda daha önce, PZR sonrası işlemler yapılmamış olmalıdır. PZR ürünleri kolaylıkla ve hızlıca laboratuarlardaki çalışma yüzeylerine, cihazlara ve hatta koridorlara yayılabilmektedir (Cooper ve ark., 2001). Laboratuvarların modern DNA laboratuvarlarından belli bir mesafede olması önemlidir. Çalışma sırasında mutlaka önlük ve eldiven kullanılmalı ve çalışma alanı düzenli aralıklarla temizlenmelidir (Rohland ve Hofreiter, 2007).

Laboratuvarda kullanılan kimyasal ve sarf malzemelerin de ultrafiltrasyon, UV uygulaması,

asit ve sodyum kloridle muamele gibi yöntemlerle uygun dekontaminasyon işlemlerine tabi tutulması gerekmektedir (Willerslev ve Cooper, 2005).

Arkeolojik örneklerle, laboratuara ulaşmadan önce, kazı sırasında birçok farklı kişi tarafından temas edilmekte ve örnekler yıkanmaktadır (Cooper, 1997; Serre ve ark., 2004). Eldivensiz temas insan kaynaklı kontaminasyona yol açarken, musluk suyu da önemli bir kontaminasyon kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır (Bollongino ve ark., 2008). Örnekler buldukları toprak tarafından da kontamine edilebilmektedir. Bollongino ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada, kemik örneklerinin elde edildiği mağaralarda keçi ve sığırların birlikte barındırılması sonucunda sığır kemiklerinin keçi DNA'sı ile bulaşık olduğu görülmüştür.

Araştırmacılar aDNA analizlerindeki temel iki sorun olan DNA molekülündeki hasar ve kontaminasyon karşısında, sonuçların güvenilirliğini sağlamak için çeşitli kriterler ortaya konmuştur. Tablo 1'de Cooper ve Poinar (2000) tarafından derlenmiş ve ardından eklemeler ile genişletilmiş olan kriterler görülmektedir (Poinar, 2003; Willerslev ve Cooper, 2005).

aDNA Analizlerini etkileyen çevresel faktörler

aDNA çalışmaları sırasında laboratuvar koşullarının uygun hale getirilmesi dışında laboratuvar öncesi koşullar da sonuçlar üzerinde etkili olmaktadır. aDNA analizini sınırlayan birincil faktör DNA'nın korunması olarak karşımıza çıkmaktadır. aDNA'yı barındıran kemik örneklerinin iyi korunmuş olması çeşitli etkenlere bağlıdır (Bollongino ve ark., 2008).

Su

DNA degradasyonundaki temel etkenlerden biri sudur. Sulu ortamlar kemik apatitinin erimesine, mikroorganizmaların çoğalmasına ve DNA'da hidrolitik ve oksidatif hasarların oluşmasına neden olmaktadır. Bakteri ve mantar gibi mikroorganizmalar kemikte bulunan kollajen ve DNA gibi organik bileşenleri parçalamaktadır (Hedges ve Millard, 1995).

Tablo 1. aDNA analizinde sonuçların güvenilirliği için gerekli kriterler

1. Çalışma alanlarının ayrılması	PZR öncesi ve sonrası işlemlerin yapıldığı laboratuvarlar ayrı olmalıdır.
2. Negatif kontrol kullanımı	Ekstraksiyon ve PZR işlemleri sırasında negatif kontroller dahil edilmelidir.
3. Tekrarlanabilirlik	Ekstraksiyon ve PZR işlemleri en az iki kere tekrarlanmalıdır.
4. Farklı bir laboratuvarda sonuçların teyid edilmesi	Laboratuvar içi kontaminasyonu elimine etmek için aynı örneklerle başka bir laboratuvarda çalışılmalıdır.
5. PZR ürünlerinin klonlanması	Dizileme hatalarını önlemek amacıyla PZR ürünleri klonlanarak, farklı klonların dizileri karşılaştırılmalıdır.
6. Biyokimyasal korunma	Örneklerdeki DNA molekülünün korunma düzeyini gösteren farklı biyomoleküllerin biyokimyasal durumları belirlenmelidir (amino asit rasemizasyonu ve kollajen miktarı).
7. aDNA miktarının belirlenmesi	Ekstraktlardaki aDNA miktarı Real-Time PZR ile belirlenmelidir.

Isı

Yüksek ısı kimyasal parçalanmayı ve mikrobiyal üremeyi hızlandıran bir etkidir. Ayrıca güneş ışığı içerdiği UV ışınları nedeniyle DNA oksidasyonuna yol açan serbest radikallerin miktarını artırmaktadır (Nielsen-Marsh ve Hedges, 2000a). Avrupa ve Yakın Doğu'dan elde edilen kemiklerdeki aDNA örneklerinin karşılaştırıldığı çalışmada kuzeyden güneye ilerledikçe DNA'nın daha az korunduğu görülmektedir. Orta Avrupa örneklerinden DNA ekstraksiyonu başarısı % 67 iken, Yakın Doğu'da bu oran % 7'ye düşmüştür (Bollongino ve ark., 2008). Mağaralardan elde edilen örneklerde DNA molekülünün iyi korunduğu gözlemlenmektedir (Hardy ve ark., 1995). Bu durumda mağaraların genellikle yıl boyunca sabit düşük ısıya sahip olmasının da etkisi bulunmaktadır. Bu sayede mikrobiyal faaliyet ve kemik apatitinin çözünürlüğü de azalmaktadır (Nielsen-Marsh ve Hedges, 2000a).

Toprak tipi

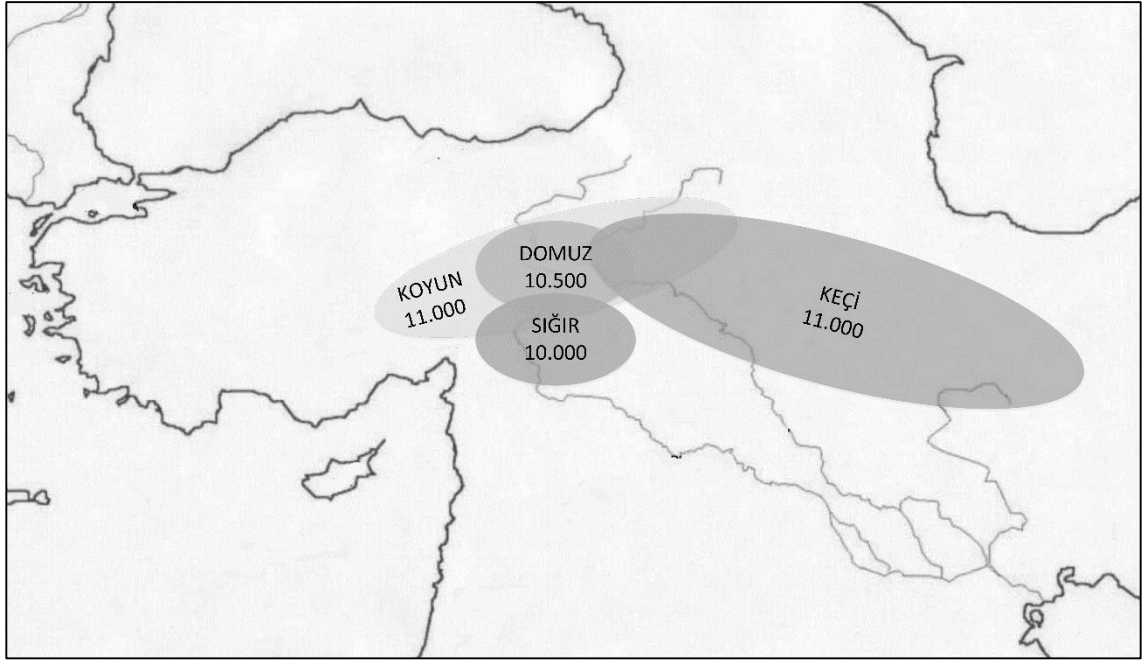
Toprağın pH derecesi, kemik örnekleri üzerinde etkili olmaktadır. Asidik topraklar kemiğin yapısındaki kalsiyum fosfatı çözererek, kemik apatitine zarar vermektedir. Alkali özelliğe sahip kalkerli topraklar, karst oluşumları ve kireçtaşı içeren topraklar ise asitlerin bozucu özelliklerini nötralize ederek kemik örneklerinin yapılarını korumasını sağlarlar. Kemikteki hidroksi apatitin sağlamlığı açısından en uygun pH 7.8'dir (Nielsen-Marsh ve Hedges, 2000a; Nielsen-Marsh ve Hedges, 2000b). Avrupa'daki bölgelerin toprak tiplerine göre karşılaştırıldığı bir çalışmada kalkerli topraklardan çıkarılan örneklerde aDNA ekstraksiyonundaki başarı % 80 düzeyinde iken, düşük pH derecesine sahip bölgelerden aDNA elde edilemediği gözlemlenmiştir. Kalkerli bir içeriğe sahip bölgelerin çoğunun mağara olması da ekstraksiyon başarısını artıran bir faktör olmaktadır (Bollongino ve ark., 2008).

Bütün bu etkenler göz önünde bulundurulduğunda DNA molekülünün en iyi şekilde serin, kuru, karanlık ve anaerobik şartlarda korunduğu görülmektedir. DNA'yı barındıran kemiklerin sağlamlığı kontaminasyon açısından da önem taşımaktadır. İklim koşulları nedeniyle yoğunluğunu kaybeden kemikler kontaminasyona da daha duyarlı hale gelmektedir. (Bollongino ve ark., 2008).

Yakın Doğu ve Türkiye'de aDNA çalışmaları

Arkeolojik ve genetik çalışmalar, çiftlik hayvanlarının günümüzden yaklaşık 10-11 bin yıl

önce Yakın Doğu'da yer alan Bereketli Hilal bölgesinde evcilleştirdiklerini göstermektedir (Şekil 2). Neolitik devrim olarak da nitelendirilen bu gelişmeyi takiben, evcilleştirilen canlılar insan göçleriyle birlikte Türkiye üzerinden Akdeniz havzasına yayılmışlardır. Modern ve antik örnekler üzerinde yapılan genetik çalışmalar da bu yayılımı destekler niteliktedir (Zeder, 2008). Türkiye'nin de içinde bulunduğu bu bölgenin coğrafi ve tarihsel önemi, bu bölgeyi aDNA çalışmaları açısından da zengin bir kaynak haline getirmektedir (Baca ve Molak, 2008).



Şekil 2. Yakın Doğu'da çiftlik hayvanlarının evcilleştirilmesi (Zeder, 2008). Sayılar hayvan türlerinin günümüzden kaç yıl önce evcilleştirildiğini göstermektedir.

Yakın Doğu barındırdığı örnekler açısından büyük bir öneme sahipken, bu bölgedeki çevre ve iklim koşulları ise aDNA çalışmaları açısından ciddi dezavantajlar doğurmaktadır. Yüksek ısı ve nem oranları kemiklerdeki diagenesi hızlandırmakta ve DNA molekülünün korunmasını engellemektedir (Bollongino ve ark., 2008). Bollongino ve ark. (2008) tarafından Avrupa, Yakın Doğu ve Kuzey Afrika'daki 291 adet tarih öncesi sığır kemiği üzerinde yapılan mtDNA analizi sonuçları, iklim koşullarının örnekler üzerindeki etkisini göstermektedir. Kıbrıs,

Gürcistan, İsrail, Suriye ve Türkiye'den kemik örneklerinin dahil edildiği çalışmada adı geçen beş ülkeden toplam 55 kemik örneğinin 4 tanesinden tekrarlanabilir sonuçlar veren aDNA elde edebilmiştir. Örneklerin 6 tanesindeki pozitif sonuçların tekrarı mümkün olmazken, 45 örnekte aDNA çoğaltılamamıştır.

Türkiye'deki çiftlik hayvanlarına ait aDNA verileri ise henüz çok az sayıdadır. Hem bu alanda yapılan çalışmaların yetersizliği hem de örneklerden çoğaltılabilir DNA elde edilememesi başlıca iki neden olarak sayılabilir. Yukarıda

bahsedilen çalışmada analizi yapılan örneklerin 19 tanesi Türkiye'deki Çatalhöyük, Çayönü, Fikirtepe ve Mezraa Teleilat kazılarında çıkarılmıştır ve tekrarlanabilir sonuç veren sadece tek bir aDNA örneği izole edilebilmiştir (Bollongino ve ark., 2008).

Çatalhöyük'ten çıkarılan, yaklaşık 9.000 yıllık 23 adet tarih öncesi sığır kemiğinden sonuç veren 9 adet örnek bulunmaktadır ancak bu örneklerden sadece bir tanesinden izole edilen aDNA örneğinin amplifikasyonu tekrarlanabilmiştir (Edwards ve ark., 2004).

Akiş ve ark. (2013; yayımlanmamış veri) tarafından yapılan bir çalışmada Van-Yoncatepe Kalesi'nden çıkarılan yaklaşık 2.500 yaşında olan 17 adet keçi kemiğinin 9 tanesinden çoğaltılabilir aDNA izole edilmiştir (yayımlanmamış veri). Sonuçlardaki görece yüksek başarı oranının nedeni, örneklerin bulunduğu bölgenin Türkiye'deki en yüksek kazı alanı olması (Belli ve Onar, 2003) ve buna bağlı olarak düşük ısıların görülmesi olabilir. Örneklerin görece yakın tarihli olmasının da başarı oranını arttırdığı düşünülmektedir.

Sığır örnekleri üzerine yapılan bir başka çalışmada ise Türkiye'deki dört farklı bölgeden - Aşağı Pınar, Çayönü, Fikirtepe, Hoca Çeşme-kemik örnekleri çıkarılmıştır. Toplam 10 adet sığır kemiğinden, sadece Aşağı Pınar bölgesinden çıkarılan ve yaklaşık 5.000 yaşında olan kemik örneklerinden aDNA izolasyonu yapılabilmektedir (Bollongino ve ark. 2006).

Türkiye'deki örneklerden de yararlanılan iki adet, domuzların evcilleştirilmesi üzerine çalışma bulunmaktadır. Larson ve ark. (2007), Mersin ve İzmir'den elde edilmiş iki yaban domuzuna ait müze örneğinden aDNA izole etmişlerdir. Ottoni ve ark. (2013) ise yaptıkları çalışmada Anadolu'daki 48 arkeolojik alandan çıkarılan 393 domuz kemiğinin 192 tanesinden aDNA elde etmiştir. Örneklerin yaşı 12.000 ila 600 yıl arasında değişmektedir. Örneklerin yaşları küçüldükçe izolasyondaki başarı oranının arttığı gözlemlenmiştir.

Örnek seçiminde ve yöntemlerde yeni yaklaşımlar

Yakın Doğu gibi sıcak iklimlere sahip bölgelerdeki iklim koşullarının DNA molekülü üzerindeki olumsuz etkilerinin sonuçlara yansımaları; örneklerin seçimi, örneklerin tabii tutulduğu muamele ve laboratuvar analizlerinde tercih edilecek yöntemler aracılığıyla azaltılabilmektedir (Baca ve Molak, 2008; Bollongino ve ark., 2008).

aDNA izolasyonu yapılacak kemiklerin sert, ağır ve yoğun bir yapıya sahip olması korunmayı arttırmaktadır (Bollongino ve ark., 2008). Uzun süre saklanacak olan örneklerin serin, kuru ve karanlık bir yerde muhafaza edilmesi kazı sonrası oluşabilecek degradasyonu azaltacaktır (Pruvost ve ark., 2007).

Araştırmacılar aDNA çalışmalarında uygulanan yöntemler üzerinde çalışmaya ve daha verimli izolasyon, amplifikasyon ve dizileme metodları geliştirmeye çalışmaktadır (Baca ve Molak, 2008; Rizzi ve ark., 2012). Düşük kaliteli örneklerden yüksek konsantrasyonda aDNA izolasyonu sağlayan ekstraksiyon yöntemleri (Rohland ve Hofreiter, 2007; Rohland ve ark., 2010) ve tek bir reaksiyon sırasında aynı anda çok sayıda hedef bölgenin çoğaltılmasını sağlayan multipleks PZR (Krause ve ark., 2006; Römpfer ve ark., 2006; Stiller ve Fulton, 2012) sayesinde çok sayıda örnekte aDNA elde edilebilmekte ve dizileme için çoğaltılabilmektedir. Yeni nesil dizileme teknolojisi de elde edilen yüksek miktarlardaki PZR ürünlerinin daha etkin ve kısa zaman içinde dizilenmesine olanak verdiği için aDNA alanında yeni olanaklar yaratmıştır (Milar ve ark., 2008).

Sonuç

Arkeolojik kalıntılardan ve müze örneklerinden elde edilen aDNA moleküllerinin analizi sayesinde evcilleştirmenin kökenleri, popülasyonların geçmişteki dinamikleri ve barındırdıkları genetik çeşitlilik, türler arası genetik ilişkiler daha ayrıntılı bir şekilde incelenebilmektedir. Türkiye içinde bulunduğu coğrafya nedeniyle çiftlik hayvanlarının başlıca evcilleştirilme merkezlerinden biri olarak öne çıkmaktadır. Ancak bu bölgedeki iklim koşulları, eski örneklerin dayanıklılığı ve DNA molekülünün degradasyonu açısından elverişsiz bir ortam sunmaktadır. Bu koşulların dikkate alınması, uygun örneklerin seçilmesi ve yeni tekniklerin uygulanmasıyla elde edilen verilerin artırılacağı görülmektedir. aDNA analizlerindeki gelişmeler sayesinde Yakın Doğu ve Türkiye'den daha sağlıklı verilere ulaşılabilmesi, hem evrimsel biyoloji hem de evcilleştirme tarihi için büyük önem taşımaktadır.

Kaynaklar

- Baca M, Molak M. Research on ancient DNA in the Near East. *Bioarchaeology of the Near East*. 2: 39-61, 2008.
- Belli O, Onar V. Yoncatepe: Iron Age. *ArkeoAtlas*. 2: 148-149, 2003.

- Bollongino R, Edwards CJ, Alt KW, Burger J, Bradley DG. Early history of European domestic cattle as revealed by ancient DNA. *Biology Lett.* 2 (1): 155-159, 2006.
- Bollongino R, Tresset A, Vigne J-D. Environment and excavation: Pre-lab impacts on ancient DNA analyses. *CR Palevol.* 7: 91-98, 2008.
- Cooper A. Ancient DNA: how do you really know when you have it? *Am J Hum Genet.* 60: 1001-1002, 1997.
- Cooper A, Lalueza-Fox C, Anderson S, Rambaut A, Austin J, Ward R. Complete mitochondrial genome sequences of two extinct moas clarify ratite evolution. *Nature.* 409: 704-707, 2001.
- Cooper A, Poinar H. Ancient DNA: do it right or not at all. *Science.* 289: 1139, 2000.
- Edwards CJ, MacHugh DE, Dobney KM, Martin L, Russell N, Horwitz LK, McIntosh SK, MacDonald KC, Helmer D, Tresset A, Vigne J-D, Bradley DG. Ancient DNA analysis of 101 cattle remains: limits and prospects. *J Archaeol Sci.* 31 (6): 695-710, 2004.
- Friedberg EC, Walker GC, Siede W. *DNA Repair and Mutagenesis.* ASM Press, Washington D.C., 1995.
- Gilbert MTP, Bandelt H-J, Hofreiter M, Barnes I. Assessing ancient DNA studies. *Trends Ecol Evol.* 20(10): 541-544, 2005.
- Gupta AK. Origin of agriculture and domestication of plants and animals linked to early Holocene climate amelioration. *Curr Sci.* 87: 54-59, 2004.
- Gutiérrez G, Marín A. The most ancient DNA recovered from an amber-preserved specimen may not be as ancient as it seems. *Mol Biol Evol.* 15: 926-929, 1998.
- Hardy C, Callou C, Vigne J-D, Casane D, Dennebouy N, Mounolou C, Monnerot M. Rabbit mitochondrial DNA diversity from prehistoric to modern time. *J Mol Evol.* 40: 227-237, 1995.
- Hedges EM, Millard AR. Bones and groundwater: Towards the modelling of diagenetic processes. *J Archaeol Sci.* 22(2): 155-164, 1995.
- Higuchi R, Bowman B, Freiberger M, Ryder OA, Wilson AC. DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature.* 312: 282-284, 1984.
- Hofreiter M. Spurensuche in alter DNA. *Biologie in unserer Zeit.* 39(3): 176-184, 2009.
- Hofreiter M, Serre D, Poinar HN, Kuch M, Pääbo S. Ancient DNA. *Nat Rev Genet.* 2: 353-359, 2001.
- Krause J, Dear PH, Pollack JL, Slatkin M, Spriggs H, Barnes I, Lister AM, Ebersberger I, Pääbo S, Hofreiter M. Multiplex amplification of the mammoth mitochondrial genome and the evolution of Elephantidae. *Nature.* 439: 724-727, 2006.
- Larson G, Albarella U, Dobney K, Rowley-Conwy P, Schibler J, Tresset A, Vigne J-D, Edwards CJ, Schlumbaum A, Dinu A, Balacescu A, Dolman G, Tagliacozzo A, Manaseryan N, Miracle P, Van Wijngaarden-Bakker L, Masseti M, Bradley DG, Cooper A. Ancient DNA, pig domestication, and the spread of the Neolithic into Europe. *P Natl Acad Sci USA.* 104: 15276-15281, 2007.
- Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature.* 362: 709-715, 1993.
- Lindahl T, Karlstro O. Heat-induced depyrimidination of deoxyribonucleic acid in neutral solution. *Biochemistry.* 12: 5151-5154, 1973.
- Lindahl T, Nyberg B. Rate of depurination of native deoxyribonucleic acid. *Biochemistry.* 11: 3610, 1972.
- Millar CD, Huynen L, Subramanian S, Mohandesan E, Lambert DM. New developments in ancient genomics. *Trends Ecol Evol.* 23: 386-393, 2008.
- Nielsen-Marsh C, Hedges R. Patterns of Bone Diagenesis in Bone I: The effect of Site Environments. *J Archaeol Sci.* 27: 1139-1150, 2000a.

- Nielsen-Marsh C, Hedges, R. Patterns of Bone Diagenesis in Bone II: The effect of Acetic Acid Treatment and the Removal of Diagenetic CO₃²⁻. *J Archaeol. Sci.* 27: 1151-1159, 2000b.
- Ottoni C, Flink LG, Evin A, Geörg C, De Cupere B, Van Neer W, Bartosiewicz L, Linderholm A, Barnett R, Peters J, Decorte R, Waelkens M, Vanderheyden N, Ricaut FX, Cakirlar C, Cevik O, Hoelzel AR, Mashkour M, Karimlu AF, Seno SS, Daujat J, Brock F, Pinhasi R, Hongo H, Perez-Enciso M, Rasmussen M, Frantz L, Megens HJ, Crooijmans R, Groenen M, Arbuckle B, Benecke N, Vidarsdottir US, Burger J, Cucchi T, Dobney K, Larson G. Pig Domestication and Human-Mediated Dispersal in Western Eurasia Revealed through Ancient DNA and Geometric Morphometrics. *Mol Biol Evol.* 30 (4): 824-832, 2013.
- Pääbo S. Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA. *Nature.* 314: 644-645, 1985.
- Pääbo S. Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning and enzymatic amplification. *P Natl Acad Sci USA.* 86: 1939-1943, 1989.
- Pääbo S, Poinar H, Serre D, Jaenicke-Despres V, Hebler J, Rohland N, Kuch M, Krause J, Vigilant L, Hofreiter M. Genetic analyses from ancient DNA. *Annu Rev Genet.* 38: 645-679, 2004.
- Pääbo S, Wilson A.C. Polymerase chain reaction reveals cloning artefacts. *Nature.* 334: 387-388, 1988.
- Poinar HN. The Top Ten List: Criteria of Authenticity for DNA from Ancient and Forensic Samples. *International Congress Series.* 1239: 575-579, 2003.
- Pruvost M, Schwarz R, Bessa Correia V, Champlot S, Braguier S, Morel N, Fernandez-Jalvo Y, Grange T, Geigl EM. Freshly excavated fossil bones are best for amplification of ancient DNA. *P Natl Acad Sci USA.* 104(3): 739-744, 2007.
- Rizzi E, Lari M, Gigli E, De Bellis G, Caramelli D. Ancient DNA studies: new perspectives on old samples. *Genet Sel Evol.* 44 (1): 21, 2012.
- Rohland N, Hofreiter M. Ancient DNA extraction from bones and teeth. *Nat Protoc.* 2: 1756 – 1762, 2007.
- Rohland N, Siedel H, Hofreiter M. A rapid column-based ancient DNA extraction method for increased sample throughput. *Mol Ecol Resour.* 10: 677-683, 2010.
- Römpler H, Dear PH, Krause J, Meyer M, Rohland N, Schöneberg T, Spriggs H, Stiller M, Hofreiter M. Multiplex amplification of ancient DNA. *Nat Protoc.* 1: 720 – 728, 2006.
- Serre D, Langaney A, Chech M, Teschler-Nicola M, Paunovic M, Menecier P, Hofreiter M, Possnert G, Pääbo S. No evidence of Neandertal mtDNA contribution to early modern humans. *PLOS Biology.* 2: 313-317, 2004.
- Stiller M, Fulton TL. Multiplex PCR Amplification of Ancient DNA. *Method Mol Biol.* 840: 133-141, 2012.
- Vasan S, Zhang X, Kapurniotu A, Bernhagen J, Teichberg S, Basgen J, Wagle D, Shih D, Terlecky I, Bucala R, Cerami A, Egan J, Ulrich P. An agent cleaving glucose-derived protein crosslinks *in vitro* and *in vivo*. *Nature.* 382: 275-278, 1996.
- Willerslev E, Cooper A. Ancient DNA. *P Roy Soc.* 272: 3-16, 2005.
- Zeder MA. The origins of agriculture in Near East. *Curr Anthropol.* 53(4): 221-235, 2011.
- Zeder MA. Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: origins, diffusion, and impact. *P Natl Acad Sci USA.* 105: 11597-11604, 2008.
- Zischler H, Höss M, Handt O, Von Haeseler A, Van der Kuyl AC, Goudsmit J, Pääbo S. Detecting dinosaur DNA. *Science.* 268: 1192-1193, 1995.