

Objetivos

D

Los objetivos planteados pueden dividirse en dos grupos: *objetivos metodológicos* y *objetivos filogenéticos y poblacionales*. El primero de ellos hace referencia a todos aquellos procedimientos técnicos conforme a los cuales se extrae el DNA antiguo, se cuantifica, se genotipa y se garantiza su autenticidad. El segundo incluye el análisis genético-poblacional de los resultados obtenidos entre las diferentes poblaciones antiguas estudiadas y entre éstas y un conjunto representativo de poblaciones humanas actuales.

Los objetivos considerados son los siguientes:

D10

- 1 Adecuación de los protocolos de extracción, amplificación y secuenciación de DNA antiguo desarrollados con anterioridad en nuestro equipo de investigación a las muestras objeto de estudio.
- 2 Extracción de DNA, amplificación y secuenciación de un segmento de mtDNA de un número representativo de individuos de época neolítica de Próximo Oriente y de época neolítica y post-neolítica de la Península Ibérica.
- 3 Evaluación del estado de preservación general de las muestras objeto de estudio mediante la aplicación de diversas técnicas:
 - Estima de la cantidad total de aminoácidos y de la tasa de racemización del ácido aspártico.
 - Cuantificación de secuencias específicas de mtDNA mediante *Real Time PCR*.
- 4 Evaluación de la influencia de ciertas variables en la obtención de resultados:
 - Características del diseño experimental (*Taq* polimerasa, cebadores...)
 - Tipo de tejido
 - Procedencia geográfica de la muestra

- Antigüedad de la muestra
- 5 Autenticación de los resultados obtenidos mediante diversos criterios:
- Identificación de las fuentes de contaminación más probables: investigadores, arqueólogos y *carry over*.
 - Clonación de las secuencias obtenidas para detectar cantidades traza de DNA contaminante y posible daño molecular.
 - Estima de la cantidad total de aminoácidos y de la tasa de racemización del ácido aspártico.
 - Cuantificación de secuencias específicas de mtDNA mediante *Real Time PCR*.



- 6 Comparación mediante métodos estadísticos y filogenéticos de la población antigua entre sí y con otras poblaciones actuales.
- 7 Caracterización a nivel de haplogrupo de las secuencias de mtDNA antiguas obtenidas y comparación de sus distribuciones y frecuencias con las de las diferentes poblaciones actuales
- 8 Determinación de qué modelo de difusión del Neolítico, de expansión démica o de difusión cultural, resulta compatible con los resultados obtenidos.
- 9 Determinación de si los resultados obtenidos apoyan la hipótesis de un origen de la diversidad mitocondrial durante el Paleolítico Superior.
- 10 Evaluación de la posible contribución de los Neandertales al acervo genético humano moderno mediante la detección de secuencias neandertalenses de mtDNA en las muestras antiguas estudiadas