

Introducció

El desenvolupament de les tècniques de la biologia molecular a final de la dècada dels anys vuitanta del segle XX va permetre recuperar material genètic de restes del passat, incloent poblacions humanes prehistòriques i espècies extingides, de fins a diverses desenes de milers d'anys d'antiguitat. Aquest camp científic ha sigut conegut com ADN antic, o més recentment, paleo-genètica o arqueogenètica, i constitueix un dels

ADN I ARQUEOLOGIA

CARLES LALUEZA FOX
Institut de Biologia Evolutiva (CSIC-UPF)

exemples multidisciplinaris més notables en l'estudi del passat.

La potencialitat de les dades genètiques va fer pensar als arqueòlegs en la possibilitat de disposar de fonts d'informació noves, independents i objectives, que els permeten contrastar hipòtesis detallades sobre processos migratoris passats, afinitats poblacionals, sexe d'espècimens i fins i tot relacions de parentiu entre individus excavats en una necròpolis determinada. Al cap de vint-i-cinc anys d'iniciar-se aquestes tècniques, els resultats han estat espectaculars en el camp de la biologia evolutiva (on recentment s'han aconseguit seqüències de genomes sencers d'espècies extingides, com els neandertals i els mamuts) i de l'antropologia forense (especialment en treballs que podríem denominar d'anàlisi forense històric, on s'ha

treballat amb mostres de més antiguitat que les normalment emprades en ciències forenses, com les restes del tsar Nicolau II de Rússia i la seua família, assassinats el 1918). No obstant això, l'èxit d'aquestes tècniques ha resultat en certa manera menys satisfactori per a les aspiracions de la reconstrucció arqueològica del passat humà. Açò es pot deure tant a factors intrínsecs de la informació genètica mateixa i del seu desconeixement per part del col·lectiu d'arqueòlegs, com a problemàtiques metodològiques pròpies i internes d'aquest camp científic, algunes de les quals, no obstant això, són abordables amb aproximacions tècniques molt acurades que just ara comencem a desenvolupar. La falta de ponts de comunicació entre biòlegs moleculars i arqueòlegs pot explicar en part la confusió existent sobre les possibilitats reals de les tècniques paleogenètiques, així com el fet que els problemes que interessen als arqueòlegs moltes vegades no són els mateixos que interessen als biòlegs moleculars. Els primers centren sovint les seues hipòtesis a nivell individual, mentre que els segons treballen sempre a nivell poblacional.

La intenció d'aquest article és explicar tant les expectatives reals com les problemàtiques actuals de les anàlisis d'ADN sobre restes antigues, a fi d'aclarir quins problemes científics es poden realitzar i com s'han de plantejar des d'un punt de vista metodològic.

Degradació *postmortem*

Per a entendre la problemàtica de la paleogenètica, cal conèixer prèviament els processos de degradació del material genètic. El fet de poder recuperar en alguns

casos especials ADN de fa uns cent mil anys o fins i tot més, ens fa creure que es tracta d'una molècula molt estable i duradora. En realitat, es tracta d'una molècula química molt fràgil la qual, des de la mort d'un individu viu, experimenta ràpidament diversos processos de degradació (Hofreiter et al., 2001). Únicament es conserva en casos excepcionals i en condicions ambientals favorables. És a dir, poder recuperar material genètic d'un resta òssia és molt menys probable que la seua degradació completa. En el cas dels neandertals, per exemple, l'ADN mitocondrial dels quals és clarament distint i per tant distingible del dels humans moderns, s'han analitzat més d'un centenar d'espècimens datats entre fa uns 38.000 i uns 100.000 anys, i únicament ens ha estat possible recuperar l'ADN de tretze, la qual cosa dóna una eficiència al voltant d'un 10% (Lalueza-Fox et al., 2006; Krause et al., 2007a).

L'ADN és atacat en primer lloc pels propis enzims de l'organisme, que són alliberats dels seus compartiments cel·lulars, i posteriorment per tots els microorganismes implicats en la descomposició del cos. Així mateix, factors externs com la calor, l'acidesa del sòl o la humitat contribueixen posteriorment a la seua degradació. El missatge genètic està constituït per un codi basat en combinacions de quatre nucleòtids, que són els enllaços químics bàsics de la molècula d'ADN. Aquests nucleòtids, formats per un sucre, un grup fosfòric i una base nitrogenada, són: adenina (abreviada A), guanina (G), citosina (C) i timina (T). Els processos de degradació comporten la ruptura de l'enllaç fosfòric, la qual cosa fragmenta la cadena de l'ADN, la pèrdua de bases nitrogenades, que deixen un buit en la

cadena de l'ADN (especialment la guanina i l'adenina) i la pèrdua del grup amí de la citosina (la qual cosa comporta la seua degradació a uracil, un procés en el qual les reaccions de laboratori poden incorporar falses timines en compte d'algunes citosines originals) (Hofreiter et al., 2001). Una degradació continuada de l'ADN conduirà a fragments cada vegada més menuts i eventualment a la seua desaparició total. Si una mostra no conserva ADN, en el futur serà impossible obtenir-la per cap millora tècnica. És a dir, no sabem fins a quina antiguitat serà possible recuperar repetidament ADN, però mai no arribarem a milions d'anys, senzillament perquè en aquesta escala temporal no hi haurà res que recuperar.

La fragmentació de l'ADN significa que ens veiem obligats a treballar amb fragments molt més curts que quan s'analitza una mostra d'ADN modern. Per exemple, la ultraseqüenciació massiva de mostres òssies en el *Projecte Genoma Neandertal*, que ha obtingut enguany el primer esbrossament genòmic d'un neandertal, ha posat de manifest que els fragments d'ADN tenen una longitud mitjana d'uns 60 nucleòtids únicament (alguns fragments arriben a cent i uns pocs fins i tot a dos-cents nucleòtids). En la pràctica, això significa que si intentem recuperar fragments majors, els resultats seran lògicament negatius. Inclús si intentem recuperar en una reacció de laboratori un fragment curt, de només 60 nucleòtids, els resultats podran ser igualment negatius, senzillament perquè la cobertura genòmica de les mostres antigues és molt baixa i tal vegada no encertarem a donar amb la cadena buscada en aquella reacció en particular. Com és lògic, aquests fac-

tors limiten la informació que pot ser recuperada. Normalment busquem mutacions concretes, que representen un canvi d'un únic nucleòtid (els denominats SNPs o *single nucleotide polymorphisms*), o regions curtes molt variables (com la regió hipervariable de l'ADN mitocondrial), algunes de les quals es poden recuperar mitjançant una superposició prou laboriosa de molts fragments més curts. Les zones repetitives altament variables estan generalment fora del nostre abast, com els microsatèl·lits o STRs, que són molt utilitzats en antropologia forense per a la identificació individual, però molt problemàtics en paleogenètica.

La contaminació

L'escull principal dels estudis paleogenètics en humans encara és la contaminació de les mostres amb ADN humà modern, un procés complex i encara poc estudiat. Atès que les tècniques emprades en el laboratori són extremadament sensibles (fins al punt que poden iniciar-se a partir d'una única cadena d'ADN) i l'ADN original, com hem vist, poden presentar degradacions químiques que el faran menys eficient a aquestes tècniques i el resultat serà la recuperació d'ADN contaminant en compte de l'endogen que es pretenia analitzar.

Açò és irrellevant quan es treballa, per exemple, amb una espècie extingida, com el mamut. És impossible que la mostra estiga contaminada amb ADN modern d'elefant abans d'arribar al laboratori i fins i tot allí, si mai no s'ha treballat amb proboscídids. No obstant això, quan es treballa amb mostres humanes, el



Figura 1. Protocol d'extracció anticontaminació en el jaciment neandertal d'El Sidrón (Astúries). Les mostres s'extrauen amb roba estèril de laboratori, guants, màscara facial i material d'excavació estèril. Són congelades immediatament i traslladades al laboratori de biologia molecular.

problema de la contaminació és greu, simplement perquè no pot distingir-se *a posteriori* i perquè és difícil saber si les mesures anticontaminació, que es prenen *a priori*, són realment efectives. Entre aquestes destaca el genotip de les persones implicades en l'excavació, així com l'adopció de mesures preventives, com ara l'ús de roba de laboratori, guants estèrils i màscares facials, en l'excavació mateixa. Aquestes mesures són algunes de les adoptades de forma pionera en l'excavació del jaciment neandertal d'El Sidrón, a Astúries, on les mostres no sols s'extrauen amb mesures anticontaminació, sinó que són immediatament congelades i enviades al laboratori de genètica (Fortea et al., 2008). En seqüències d'ADN mitocondrial de mostres d'El Sidrón, s'ha pogut comprovar que el percentatge d'ADN contaminant, abans i després d'adoptar el pro-

tol d'anticontaminació, ha passat de ser un 95% a ser menys del 5% (Fortea et al., 2008), i en alguns casos menys del 0,3% (Fig.1 i 2).

En un estudi dut a terme amb restes neolítiques del jaciment del Camí de Can Grau, a Granollers (Barcelona), decidírem dur a terme una aproximació nova per a controlar la contaminació. Com que es tractava d'una excavació antiga, realitzada el 1994, no podíem adoptar les mesures anticontaminació que apliquem en El Sidrón. Però sí que sabíem qui era la persona que havia excavat, netejat i estudiat les restes, que des de llavors romanien guardades en caixes en una dependència del museu local. Analitzàrem 23 dents d'altres tants individus i obtinguérem 572 seqüències de l'ADN mitocondrial, algunes replicades en dos laboratoris de forma independent (Sampietro et al., 2006). Després, vam seqüenciar l'ADN de totes les persones, arqueòlegs, antropòlegs i biòlegs moleculars implicats en l'estudi. De manera un tant sorprenent, tots tenien seqüències distintes en la regió hipervariable de l'ADN mitocondrial, la qual cosa significa que poguérem distingir exactament a qui pertanyia cada seqüència contaminant i també distingir-les de les autèntiques, que eren clarament majoritàries i variaven d'una mostra a una altra (Sampietro et al., 2007). Els arqueòlegs, que lògicament havien manipulat sense precaucions les restes i les havien netejat amb aigua, havien deixat les seues seqüències en totes les mostres, les quals representen un 33% del total. L'antropòloga, que probablement havia manipulat molt més les restes, però quan aquestes es trobaven ja seques (l'aigua contribueix a transportar a l'interior

dels ossos els contaminants externs), havia deixat el seu ADN en menor proporció (un 7% del total). Els investigadors del laboratori havien contaminat un poc menys que els arqueòlegs (al voltant d'un 10% del total) (Sampietro et al., 2006). Cal recordar que les restes havien estat excavades feia més de deu anys; és a dir, que els processos de contaminació provoquen problemes de llarga duració en les mostres antigues. Altres estudis semblants van mostrar que els fragments contaminants, quan són recents, formen seqüències d'ADN de major longitud que l'ADN endogen, el qual es troba més fragmentat (Malmström et al., 2007). Òbviament, si s'intenta recuperar fragments que superen la longitud de l'ADN endogen, és probable que únicament recuperem l'ADN contaminant.

Així mateix, s'ha demostrat també que la conservació de les restes a la temperatura ambient d'un museu perjudica l'ADN de forma irreparable en poques dècades. Açò es va poder demostrar a partir de l'anàlisi de bòvids prehistòrics d'un jaciment francès, el qual s'havia excavat parcialment feia vint anys. Els ossos de les noves campanyes presentaven fins a deu vegades més ADN que els que havien estat emmagatzemats en les vitrines d'un museu durant aquell període (Pruvost et al., 2007). Per tant, potser és una bona idea congelar algunes mostres que poden ser interessants per a estudis paleogenètics, encara que no es realitzen en un futur immediat. El cost de conservar, per exemple, algunes dents a menys vint graus, és molt menor que la destrucció irreversible d'un material conservat a temperatura ambient.



Figura 2. Treball de laboratori.

Informació genòmica

Durant els primers vint anys d'existència de l'ADN antic, les seues possibilitats quedaren restringides a la recuperació de xicotetes regions genètiques, normalment la regió hipervariable de l'ADN mitocondrial (Hofreiter et al., 2001). Açò és conseqüència de les limitacions tècniques existents i al fet que l'ADN mitocondrial es troba representat entre quatre-centes i mil vegades més que el genoma nuclear en qualsevol mostra antiga. És a dir, hi ha moltes més possibilitats que una mostra continga ADN mitocondrial que no nuclear. El genoma mitocondrial és un marcador genètic molt utilitzat en filogènies i en estudis de diversitat intraespecífica, perquè acumula la variació més ràpidament que una regió mitjana del genoma nuclear i perquè, pel fet d'actuar com un marcador neutre, la variació esmentada és bàsicament una funció del temps. Ho direm d'una altra manera, com més diferents són dues seqüències de mitocondrial, més temps farà que han divergit. L'estudi de l'ADN mitocondrial humà va permetre, per exemple, establir a Àfrica l'origen recent de tota la humanitat actual, la qual cosa es coneix com a teoria d'«Eva mitocondrial» o «Eva africana».

No obstant això, des de la finalització del projecte del genoma humà l'any 2001, s'ha conegut la funció de molts gens en aspectes fisiològics, immunitaris, neurològics, fenotípics i fins i tot conductius dels éssers humans. La informació present en els 3.200 milions de nucleòtids que formen un genoma humà, per contraposició als 16.500 d'un genoma mitocondrial, és enorme. Coneixem fins i tot gens implicats en aspectes físics externs que no trobem mai conservats, com el color del pèl, de la pell o dels ulls, el grup sanguini o les capacitats cognitives, i podem recuperar-los en espècies extingides (Römpler et al., 2006; Lalueza-Fox et al., 2007; Krause et al., 2007b; Lalueza-Fox et al., 2008). No només açò, estudis recents realitzats sobre milers d'individus de poblacions europees i milers de SNPs repartits per tot el genoma, han demostrat que hi ha suficient estructura geogràfica com per a poder atribuir cada individu al seu país d'origen amb una elevada certesa (Novembre et al.,

2008). Malgrat l'homogeneïtat de les poblacions europees, l'anàlisi en profunditat del genoma permet reconstruir processos migradors molt més subtils del que es creia fins ara.

En definitiva, si poguérem resoldre els problemes metodològics relacionats amb la conservació de l'ADN i la contaminació de les mostres, tot un univers d'informació sobre el passat seria accessible (Fig. 3).

El futur: les noves tècniques d'ultraseqüenciació

L'any 2005, va aparèixer una nova tècnica de les denominades d'ultraseqüenciació (producció massiva de seqüències d'ADN), que s'havia desenvolupat per la companyia tecnològica Life Sciences (Margulies et al., 2005): la piroseqüenciació 454 (Fig. 4). Fins a aquell moment, la paleogenètica s'havia basat en la denominada «reacció en cadena de la polimerasa» o PCR. La PCR és una aproximació específica, en la qual nosaltres planifiquem quina regió genètica

Aproximació específica: Reacció en cadena de la polimerasa (PCR)

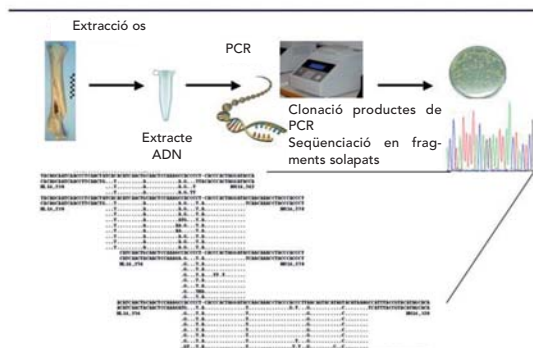


Figura 3. Procediment tècnic de recuperació específica de regions d'ADN per mitjà de la reacció en cadena de la polimerasa o PCR. Es dissenyen sondes per a intentar recuperar el fragment genètic d'interès; posteriorment, el producte de la reacció es clona en bacteris i s'obtenen les seqüències. Si volem obtenir un fragment llarg, necessitarem treballar amb fragments xicotets solapats.

Aproximació inespecífica: ultraseqüenciació metagenòmica

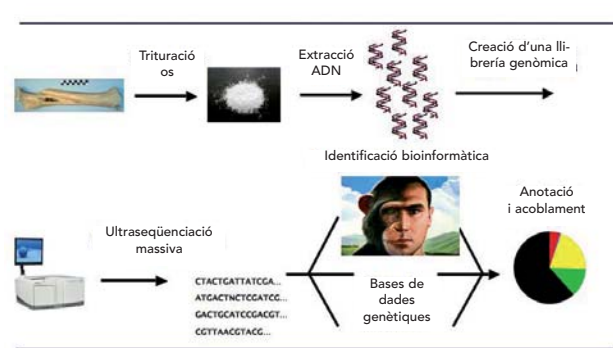


Figura 4. Procediment tècnic de les noves plataformes d'ultraseqüenciació metagenòmica. S'obté un extracte d'ADN de l'os que es vol analitzar. Es generen milions de seqüències inespecífiques de l'extracte citat, i posteriorment s'identifiquen informàticament mitjançant comparació amb les bases de dades actuals i se seleccionen aquelles que corresponen a l'organisme estudiat.

volem estudiar i dissenyem unes sondes específiques (denominades carabassetes) destinades a la «pesca» de les seqüències investigades en un extracte de material antic on trobem bilions de fragments d'ADN endogen i ambiental. L'èxit o el fracàs d'aquest tipus d'aproximació dependrà de la quantitat d'ADN endogen present en l'extracte i també del disseny d'aquestes sondes, però tot el procés és molt artesanal i per tant lent.

Els nous projectes genòmics, entre els quals està el genoma neandertal (Green et al., 2006; Green et al., 2008), són de tipus inespecífic o metagenòmic. S'entén per metagenòmica el fet de seqüenciar una mostra en la qual no ha estat possible aïllar els diferents organismes que la componen. Açò requereix identificar posteriorment cada seqüència obtinguda per mitjà d'alineaments informàtics amb les bases de dades genètiques disponibles. Les mostres òssies antigues no sols contenen l'ADN de l'individu quan era viu, atrapat en vidres de la matriu d'hidroxiapatita de l'os, sinó que també contenen grans quantitats d'ADN de bacteris del sòl, fongs, etc., que viuen en el sediment o han colonitzat l'os. Les noves tècniques d'ultraseqüenciació (hi ha disponibles unes quantes plataformes tecnològiques que les duen a terme, no sols la piroseqüenciació 454 de *Life Sciences*, sinó també la plataforma de Solexa Illumina o la plataforma Solid, d'Applied Biosystems) simplement generen quantitats massives de seqüències d'un determinat extracte antic, sense seleccionar-les *a priori*. Algunes d'aquestes poden obtenir fins a milions de seqüències en poques hores. En general, el procés és extraordinàriament ineficient, amb percen-

tatges de recuperació de l'1 al 4% en mostres de latituds temperades i de fins al 40-50% en mostres conservades en sòl gelat com el de la Sibèria. No obstant això, aquesta obtenció massiva de dades genètiques fa que acaben per mostrar-se parts significatives de qual-sevol genoma.

El desenvolupament d'una tècnica d'enriquiment per a regions cromosòmiques específiques o per al genoma mitocondrial sencer per mitjà de la utilització de sondes específiques, prèviament a la reacció d'ultraseqüenciació 454, ha representat una revolució tecnològica posterior, que ha ajudat a superar les limitacions inicials. Bàsicament, aquesta tècnica combina l'especificitat de la PCR amb la producció massiva de dades pròpies de la ultraseqüenciació. En el futur, quan els preus seran més assequibles, serà possible analitzar mostres arqueològiques més recents amb aquestes tecnologies i d'aquesta manera generar quantitats enormes d'informació genètica. Atés que la contaminació afecta de forma semblant mostres diferents d'un mateix jaciment, amb aquestes aproximacions genòmiques hauria de ser possible distingir aquest patró de contaminants idèntics al de les seqüències endògenes, que tindrien patrons variables entre individus i que haurien de ser coherents en un mateix individu. Per tant, preguntes que sempre han interessat als arqueòlegs, com les afinitats poblacionals, el parentiu o el sexe d'alguns individus, podrien quedar per fi al nostre abast, almenys en jaciments que compliren els requisits exposats anteriorment de bona conservació i d'excavació controlada. El futur dels estudis genètics en restes antigues dependrà

d'una major col·laboració entre els biòlegs moleculars i els arqueòlegs, així com de l'establiment de laboratoris de qualitat científica reconeguda, de protocols consensuats d'obtenció de mostres (Hublin et al., 2008) i de fonts de finançament destinades a projectes multidisciplinaris.

Bibliografia

- FORTEA, J.; RASILLA, M.; GARCÍA-TABERNERO, A.; GIGLI, E.; ROSAS, A., I LALUEZA-FOX, C. (2008): «Excavation protocol of bone remains for Neandertal DNA analysis in El Sidrón cave» (Asturias, Spain). *Journal of Human Evolution* 55 (2), p. 353-357.
- GREEN, R.E.; KRAUSE, J.; PTAK, S.E.; BRIGGS, A.W.; RONAN, M.T.; SIMONS, J.F.; DU, L.; EGHOLM, M.; ROTHBERG, J.M.; PAUNOVIC, M., I PÄÄBO, S. (2006): «Analysis of one million base pairs of Neanderthal DNA». *Nature* 444, p. 330-336.
- GREEN, R.E.; MALASPINAS, A.S.; KRAUSE, J.; BRIGGS, A.; JOHNSON, P.L.F.; UHLER, C.; MEYER, M.; GOOD, J.M.; MARICIC, T.; STENZEL, U.; PRÜFER, K.; SIEBAUER, M.; BURBANO, H.A.; RONAN, M.; ROTHBERG, J.M.; EGHOLM, M.; RUDAN, P.; BRAJKOVIC, D.; KUCAN, Z.; GU?IC, I.; WIKSTRÖM, M.; LAKKONEN, L.; KELSO, J.; SLATKIN, M., I PÄÄBO, S. (2008): «A complete Neandertal mitochondrial genome sequence determined by high-throughput sequencing». *Cell* 134, p. 416-426.
- HOFREITER, M.; SERRE, D.; POINAR, H.N.; KUCH, M. I PÄÄBO, S. (2001): «Ancient DNA». *Nature Reviews* 2, p. 353-359.
- HUBLIN, J.J.; PÄÄBO, S.; DEREVIANKO, A.P.; DORONICHEV, V.B.; GOLOVANOVA, L.V.; FRIESS, M.; FROMENT, A.; HOFFMANN, A.; JILLANI, KACHACHE, N.E.; KULLMER, O.; LORDKIPANIDZE, D.; MONCEL, M.H.; POTTS, R.; RADOVIC, J.; RAK, I.Z.; RICHARDS, M.; MÉNDEZ, J.R.; ROSAS, A.; SCHMAUDER, M.; SCHMITZ, R.W.; SEMAL, P.; SMITH, T.; TAFURI, M.A.; TATTERSALL, I.; TOURNÉPICHE, J.F.; TOUSSAINT, M.; VASSILIEV, S.; VIALET, A.; WHITE, T., I ZIEGLER, R. (2008): «Suggested guidelines for invasive sampling of hominid remains». *Journal of Human Evolution* 55(4), p. 756-757.
- KRAUSE, J.; SERRE, D.; VIOLA, B.; PRÜFER, K.; RICHARDS, M.P.; HUBLIN, J.J.; DEREVIANKO, A.P., I PÄÄBO, S. (2007a): «Neandertals in Central Asia and Siberia». *Nature* 444, p. 902-904.
- KRAUSE, J.; LALUEZA-FOX, C.; ORLAND, L.; ENARD, W.; GREEN, R.E.; BURBANO, H.A.; HUBLIN, J.-J.; BERTRANPETIT, J.; HÄNNI, C.; DE LA RASILLA, M.; FORTEA, J.; ROSAS, A., I PÄÄBO, S. (2007b): «The derived FOXP2 variant of modern humans was shared with Neanderthals». *Current Biology* 17 (21), p.1908-1912.
- LALUEZA-FOX, C.; KRAUSE, J.; CARAMELLI, D.; CATALANO, G.; MILANI, L.; SAMPIETRO, L.; CALAFELL, F.; MARTÍNEZ-MAZA, C.; BASTIR, M.; GARCÍA-TABERNERO, A.; DE LA RASILLA, M.; FORTEA, J.; PÄÄBO, S.; BERTRANPETIT, J., I ROSAS, A. (2006): «Mitochondrial DNA of an Iberian Neandertal suggests a population affinity with other European Neandertals». *Current Biology* 16 (16), p. R629-R630.
- LALUEZA-FOX, C.; RÖMPLER, H.; CARAMELLI, D.; STÄUBERT, C.; CATALANO, G.; HUGHES, D.; ROHLAND, N.; PILLI, E.; LONGO, L.; CONDEMI, S.; DE LA RASILLA, M.; FORTEA, J.; ROSAS, A.; STONEKING, M.; SCHÖNEBERG, T.; BERTRANPETIT, J., I HOFREITER, M. (2007): «A melanocortin 1 receptor allele suggests varying pigmentation among Neanderthals». *Science* 318, p. 1453-1455.
- LALUEZA-FOX, C.; GIGLI, E.; DE LA RASILLA, M.; FORTEA, J.; ROSAS, A.; BERTRANPETIT, J., I KRAUSE, J. (2008): «Neandertal paleogenomics in the ABO blood group gene». *BMC Evolutionary Biology* 8, p. 342.
- MALMSTRÖM, H.; SVENSSON, E.M.; GILBERT, M.T.; WILLERSLEV, E.; GÖTHERSTRÖM, A., I HOLMLUND, G. (2007): «More on contamination: the use of asymmetric molecular behavior to identify authentic ancient human DNA». *Molecular Biology and Evolution* 24 (4), p. 998-1004.
- MARGULIES, M.; EGHOLM, M.; ALTMAN, W.E.; ATTIYA, S.; BADER, J.S.; BEMBEN, L.A.; BERKA, J.; BRAVERMAN, M.S.; CHEN, Y.J.; CHEN, Z.; et al. (2005): «Genome Sequencing In Microfabricated High-Density Picolitre Reactors». *Nature* 437(7057), p. 376-380.
- NOVEMBRE, J.; JOHNSON, T.; BRYC, K.; KUTALIK, Z.; BOYKO, A.R.; AUTON, A.; INDAP, A.; KING, K.S.; BERGMANN, S.; NELSON, M.R.; STEPHENS, M., I BUSTAMANTE, C.D. (2008): «Genes mirror geography within Europe». *Nature* 456, p. 98-101.
- PRUVOST, M.; SCHWARZ, R.; CORREIA, V.B.; CHAMPLLOT, S.; BRAGUIER, S.; MOREL, N.; FERNÁNDEZ-JALVO, Y.; GRANGE, T., I GEIGL, E.M. (2007): «Freshly excavated fossil bones are best for amplification of ancient DNA». *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 104, p. 739-744.
- RÖMPLER, H.; ROHLAND, N.; LALUEZA-FOX, C.; WILLERSLEV, E.; KUZNETSOVA, T.; RABEDER, G.; BERTRANPETIT, J.; SCHÖNEBERG, T., I HOFREITER, M. (2006): «Nuclear gene indicates coat-color polymorphism in mammoths». *Science* 313(5783), p. 62.
- SAMPIETRO, M.L.; GILBERT, M.T.P.; LAO, O.; CARAMELLI, D.; LARI, M.; BERTRANPETIT, J., I LALUEZA-FOX, C. (2006): «Tracking down human contamination in ancient human teeth». *Molecular Biology and Evolution* 23(9), p.1801-1807.
- SAMPIETRO, M.L.; LAO, O.; CARAMELLI, D.; LARI, M.; POU, R.; MARTÍ, M.; BERTRANPETIT, J., I LALUEZA-FOX, C. (2007): «Paleogenetic evidence supports a dual model of Neolithic spreading into Europe». *Proceedings of the Royal Society of London (Biological Series)* 274, p. 2161-2167.