

Metodyka badań archeologicznych wobec wymogów analiz genetycznych: prace w krypcie stargardzkiego burmistrza Petera Gröninga i jego małżonki (XVII w.)

Barbara Wąsowicz

Katedra Genetyki i Genomiki, Instytut Biologii, Uniwersytet Szczeciński,
barbara.wasowicz@usz.edu.pl

© <https://orcid.org/0000-0002-8357-4450>

Abstrakt

Analizy genetyczne coraz częściej stanowią nieodzowny element interdyscyplinarnych badań archeologicznych. Największym ograniczeniem w ich stosowaniu jest degradacja kopalnego DNA (aDNA), efektem czego jest jego niewielka ilość w pobranej próbce. Znaczenie krytyczne dla prowadzonych badań ma również zagrożenie kontaminacją tzw. egzogennym DNA, co czyni zanieczyszczone w ten sposób materiały bezużytecznymi. Stopień degradacji aDNA jest czynnikiem obiektywnym i niezależnym od badaczy – przynajmniej do momentu odsłonięcia kontekstu, z którego pobierana jest próbka do analiz genetycznych. Natomiast minimalizacja prawdopodobieństwa zanieczyszczenia źródeł kopalnych współczesnym DNA powinna być ważnym elementem strategii i metodyki badań archeologicznych. Przykładem takiego spójnego oraz całościowego podejścia do planowania oraz realizacji prac wykopaliskowych mogą być badania w XVII-wiecznej krypcie stargardzkiego burmistrza Petera Gröninga i jego małżonki Margarety Friedrichs.

Abstract

Genetic analysis is becoming more and more often an indispensable element of interdisciplinary archaeological studies. The biggest problem with their application is degradation of ancient DNA (aDNA), which results in its scarce quantity in a collected sample. Of critical importance is also a threat of contamination with the so-called exogenous DNA, which often renders material so contaminated useless. The degree of degradation of aDNA is a subjective matter and independent of scholars, at least until the uncovering of the context from which a sample for genetic analysis is collected. Reducing the probability of contamination of ancient material with contemporary DNA to a minimum should be an important element of the strategy and methodology of archaeological studies. Research carried out in the vault of Lord Mayor of Stargard, Peter Gröning, and his wife, Margareta Friedrichs can serve as an example of a consistent and comprehensive approach to planning and carrying out excavation works.

Słowa kluczowe

genetyka, archeologia, badania interdyscyplinarne

Keywords

genetics, archaeology, interdisciplinary studies

Wprowadzenie

Obecnie możliwości poznania historii człowieka przestały być ograniczone wyłącznie do nauk humanistycznych, sięgając przy tym po metody właściwe naukom przyrodniczym i ścisłym. Standardem badań interdyscyplinarnych jest łączenie badań archeologicznych z analizami antropologicznymi, archeobotanicznymi oraz zaawansowanymi badaniami fizykochemicznymi. Coraz częściej korzysta się także z analiz genetycznych, o zastosowaniu których w archeologii do niedawna jeszcze nikt nie myślał. Jednak szybki rozwój metod molekularnych umożliwił wykorzystanie genetyki do badań materiałów pochodzących z wykopalisk archeologicznych.

Początek badaniom starożytnego DNA (aDNA) dały doniesienia o tym, że kwasy nukleinowe mogą zachowywać się w tkankach szczątków ludzkich¹. Potwierdzeniem tych możliwości było odczytanie fragmentu DNA jądrowego pochodzącego z mumii egipskiej liczącej 2400 lat². Niedługo po tym opisano łańcuchową reakcję polimerazy (PCR), która zrewolucjonizowała analizy genetyczne. Okazała się być przełomowym odkryciem zwłaszcza w zakresie badań nad materiałem silnie zdegradowanym, pozwalając na powielenie cząsteczki DNA nawet z pojedynczych komórek. W ten sposób możliwe stało się wykorzystanie jako źródła aDNA materiałów kostnych wydobywanych w trakcie wykopalisk archeologicznych lub dostępnych w zbiorach muzealnych³.

Ogromny potencjał analiz genetycznych doprowadził genetykę do punktu, w którym znajduje się aktualnie – upowszechniania badań całych genomów wymarłych już gatunków z rodzaju *Homo*, ale także zwierząt i roślin⁴. Rozwój metod i technik molekularnych jest tak szybki, że z roku na rok pojawiają się kolejne zaskakujące informacje, jak np. ta, sugerująca, że szczątki *H. neanderthalensis* odkryte w jaskini Stajnia w 2008 r. są najstarsze z dotychczas odkrytych w Europie Środkowej. Dzięki badaniom aDNA przesunięto ich górną granicę wieku z ok. 54 na ok. 116 tys. lat⁵.

Prowadzone dotychczas badania znacznie poszerzyły wiedzę o kopalnym DNA, dzięki czemu ze szczegółami opisano, które z czynników środowiskowych znacząco wpływają na stopień jego degradacji. Opracowano także liczne metody kontroli zanieczyszczeń badanych próbek. Pozwoliło to stworzyć specjalne procedury pracy z aDNA oraz wypracować metody badawcze, umożliwiające rzetelną weryfikację uzyskanych rezultatów⁶. Postęp ten umożliwia dziś wykorzystanie materiałów, które jeszcze niedawno wydawały się być pozbawione wartości naukowej. To, co jeszcze dziesięć lat temu znajdowało się poza horyzontem badań, dzisiaj jest objęte standardowymi procedurami biologii molekularnej.

¹ Jeffreys 1984, 198.

² Pääbo 1985, 644–645.

³ Hagelberg et al. 1989, 485.

⁴ Meyer et al. 2012, 222–226; Park et al. 2015, 234; Di Donato et al. 2018, 441.

⁵ Picin et al. 2020, 14778.

⁶ Kirsanow, Burger 2012, 121–132.

Podstawowe problemy badań aDNA

Największymi przeszkodami z punktu widzenia analizy genetycznej materiałów archeologicznych jest degradacja aDNA oraz potencjalne zanieczyszczenie próbek współczesnym DNA (tzw. kontaminacja). Okoliczności te są kluczowe, gdyż pierwsza z nich może wykluczyć jakiegokolwiek badania genetyczne, zaś druga – pozbawić je wiarygodności bądź nawet zafalszować.

Proces degradacji DNA rozpoczyna się z chwilą śmierci organizmu, jest skutkiem rozpadu organelli komórkowych i uwolnienia enzymów tnących DNA, prowadzących do jego fragmentacji. Na znaczną fragmentację komórkowego DNA wpływają także różnego rodzaju mikroorganizmy znajdujące się w środowisku (bakterie i grzyby), samo środowisko, a przede wszystkim procesy zachodzące samoistnie tj. hydroliza czy oksydacja⁷. Stopień degradacji DNA nie jest w prosty sposób zależny od czasu, który upłynął od śmierci organizmu. Niejednokrotnie udowodniono, że czynnikiem decydującym o stanie zachowania kwasów nukleinowych jest środowisko zalegania⁸. Najlepszym tego przykładem są sukcesy, z jakimi prowadzone są analizy genetyczne zalegających w wiecznej zmarzlinie materiałów sprzed dziesiątek tysięcy lat⁹.

Jednak temperatura nie jest jedynym czynnikiem, który ma wpływ na stan zachowania DNA w materiale kopalnym. Obok niej istotne znaczenie mają także typ gleby i jej pH, obecność substancji humusowych, uszkodzenia fizyczne czy ekspozycja na promieniowanie UV. Wszystkie te czynniki prowadzą do fragmentacji cząsteczek DNA, ich modyfikacji i powstawania tzw. wiązań krzyżowych, które ograniczają możliwości analiz genetycznych. Natomiast niewielka ilość niezwiązanej wody w glebie, jej obojętny odczyn i wysoka zawartość soli mogą ograniczyć degradację aDNA¹⁰.

Zjawisko degradacji DNA nie ogranicza się do etapu zalegania materiału biologicznego w kontekście stratyfikacyjnym. Równie ważny – a może i ważniejszy z racji radykalnej zmiany środowiska – jest „etap poeksploracyjny”, a więc warunki przechowywania wydobytych już z ziemi materiałów biologicznych. Powszechnie zauważa się, że materiały zalegające od lat w muzeach zawierają znacznie mniejsze ilości namnażalnego DNA niż te świeżo wydobyte z ziemi. Jest to efektem magazynowania ich w temperaturze pokojowej, która zwykle jest znacznie wyższa od temperatury ich pierwotnego kontekstu zalegania. Istotny wpływ w tym zakresie posiadają także standardowe w muzeach działania porządkowe, takie jak mycie i odkurzanie, a także zabezpieczanie muzealiów środkami konserwującymi¹¹.

Na tym etapie konieczna wydaje się świadomość potrzeby zabezpieczenia takich materiałów nie tylko dla potrzeb aktualnie prowadzonych i zaplanowanych badań; te – z przyczyn różnych – w danym momencie mogą w ogóle nie być możliwe. Jednak nawet jeśli materiał w danym momencie nie jest odpowiedni do analiz DNA, nie oznacza to,

⁷ Lamers et al. 2009, 40–55.

⁸ Hebsgaard et al. 2005, 212–220; Willerslev, Cooper 2005, 3–16.

⁹ Shapiro, Cooper 2003, 94–100; Gilbert et al. 2008, 8327–8332.

¹⁰ Smith et al. 2003, 203–217.

¹¹ Burrell et al. 2015, 35–44.

że w przyszłości – dzięki rozwojowi nowych metod – to się nie zmieni. Krytycznie ważne jest, aby materiały będące potencjalnym źródłem aDNA przechowywać w niskich temperaturach lub zbliżonych do środowiska, z którego je wydobyto. Im dłuższy czas przechowywania, tym niższą temperaturę się zaleca¹².

Drugą niezwykle istotną przeszkodą w badaniach genetycznych jest zanieczyszczenie materiałów egzogennym DNA. Do kontaminacji może dojść na każdym etapie pracy z materiałem archeologicznym, a więc w trakcie wykopalisk podczas eksploracji, w toku poboru próbek, w trakcie transportu, przechowywania (także w muzeum) oraz podczas prowadzonych analiz laboratoryjnych. Wobec niewielkiej ilości aDNA w materiale kopalnym jego zanieczyszczenie może doprowadzić do sytuacji, w której egzogenny DNA „zamaskuje” aDNA, czyniąc próbkę bezużyteczną. Najczęstszym źródłem niechcianego DNA są archeolodzy i antropolodzy¹³. Aby tego uniknąć w trakcie badań powinni oni bezwzględnie stosować jednorazowe narzędzia, ale przede wszystkim środki ochrony osobistej: rękawiczki, maseczki i kombinezony. Niezwykle krytycznie należy także ocenić stosowane przez antropologów przemycanie materiałów kostnych wodą. Zabieg ten prowadzi do przemieszczania się współczesnego DNA przez pory w kościach i nieodwracalnej kontaminacji. Ponadto, powszechnie wiadomo, że woda może prowadzić do uszkodzeń materiału genetycznego w tkance kostnej¹⁴.

Zagrożenie kontaminacją jest dobrze rozpoznane na płaszczyźnie metodyki badań. Generalnym sposobem jej wykrycia jest pobranie kontrolnych próbek DNA od wszystkich osób, które potencjalnie mogą być źródłem zanieczyszczenia (członków ekspedycji archeologicznej, antropologów, kadry muzealnej, zespołu genetyków wykonujących analizy laboratoryjne). Natomiast zapobieganie kontaminacji aDNA wymaga modyfikacji metodyki badań archeologicznych, i to już na etapie ich planowania.

Czynnością niezależną już od archeologów, ale najistotniejszą dla powodzenia całych badań, jest zachowanie sterylności i odpowiednich zasad w trakcie pracy laboratoryjnej. Związane z tym wymogi obejmują także rozwiązania organizacyjne i strukturalne jednostki naukowej, która takie badania wykonuje. Laboratorium do pracy z aDNA powinno być całkowicie oddzielone od tego, w którym przeprowadza się badania na współczesnym DNA. Ponadto część laboratorium, w której wykonywana jest izolacja, powinna być oddzielona od części, w której przeprowadza się amplifikację DNA. Każde laboratorium do pracy z aDNA powinno posiadać odpowiednie wyposażenie, a zwłaszcza system wentylacji ze specjalnymi filtrami oraz lampy będące źródłem światła UVC, służące do sterylizacji przestrzeni badawczej.

Badania archeogenetyczne stargardzkiej krypty

Dobrym przykładem odpowiednich praktyk metodycznych są badania przeprowadzone przez Muzeum Archeologiczno-Historyczne w Stargardzie w XVII-wiecznej krypcie Petera Gröninga (1561–1631) i jego małżonki Margarety Friedrichs (zm.

¹² Malmström et al. 2007, 998–1004.

¹³ Sampietro et al. 2006, 1801–1807.

¹⁴ Yang, Watt 2005, 331–336.

1628), znajdującej się w Kolegiacie NMP Królowej Świata w Stargardzie. Badania te poprzedzone były dokładnym rozpoznaniem potrzeb w zakresie niezbędnych materiałów i narzędzi, także z punktu widzenia wymaganego reżimu pracy. Każdy z członków ekipy badawczej wyposażony został w jednorazowe kombinezony, okulary, maseczki oraz sterylne rękawiczki używane standardowo do tego typu badań (ryc. 1). Zadbano także, aby narzędzia wykorzystywane do eksploracji pochówków czy do pobierania próbek, jak np. pincety, były sterylne i jednorazowe.



Ryc. 1. Stargard, kolegiata NMP, kaplica Gröninga. Członkowie ekipy badawczej w trakcie eksploracji zasypiska komory grobowej Petera Gröninga. Fot. M. Majewski

Jak wspomniano wcześniej, niebezpieczeństwo kontaminacji materiałów archeologicznych wymaga specjalnych procedur weryfikacyjnych, gdyż w trakcie wykopalisk każda osoba mająca bezpośredni kontakt z materiałem jest potencjalnym źródłem zanieczyszczenia. W związku z tym od wszystkich osób biorących udział w badaniach pobrany został materiał genetyczny służący jako próba referencyjna do ewentualnej identyfikacji zanieczyszczenia¹⁵. Z tego samego powodu dostęp do miejsca wykopalisk także powinien podlegać bezwzględnemu ograniczeniu i kontroli, dlatego miejsce prowadzenia badań zostało odgrodzone od pozostałej części kościoła, uniemożliwiając tym samym wstęp osobom postronnym.

¹⁵ W badaniach brali udział pracownicy Muzeum: dr hab. M. Majewski i M. Burdziej a także archeobotanik dr J. Rennwanz z IAIe PAN i genetyk z Instytutu Biologii US, mgr B. Wąsowicz oraz pracownik techniczny.

Z punktu widzenia jakości poddawanych analizom genetycznym materiałów za najkorzystniejszą sytuację uważa się odkrycie kompletnych szkieletów wraz z czaszkami. Daje to komfort swobodnego wyboru materiału do analiz genetycznych. Potencjalnie najlepsze do badań są zęby, gdyż dzięki obecności szkliwa na powierzchni DNA znajdujące się w ich wnętrzu jest najmniej narażone na ewentualne zanieczyszczenie¹⁶. W przypadku braku zębów do analiz najczęściej wykorzystuje się część skalistą kości skroniowej, natomiast w przypadku niekompletnego szkieletu wykorzystuje się fragmenty kości długich lub żeber.

Krypta Petera Gröninga składała się z dwóch komór grobowych, w których pochowano oddzielnie burmistrza oraz jego małżonkę. W obu komorach odkryto kompletne szkielety, w tym także i zęby. Jednak w przypadku szczątków Margarety Friedrichs zachowała się tylko niewielka liczba zębów i były one dotknięte znacznymi ubytkami. W takiej sytuacji, jak wspomniano wcześniej, ważne jest, aby szkielety nie były myte ani przenoszone, co zapobiega ich ewentualnemu zanieczyszczeniu. Brak sukcesu w przypadku analiz z niekompletnych zębów może w późniejszym terminie zmusić do pobrania fragmentów kości.

Planowanie prac wykopaliskowych w krypcie Petera Gröninga obejmowało nie tylko metodykę prac terenowych, ale i zarządzanie pozyskanymi w ich trakcie źródłami. Wymogiem procedur laboratoryjnych jest, aby materiały pobrane do analiz były odpowiednio zabezpieczone przed działaniem czynników zewnętrznych, a także opisane i przechowywane. Każda z próbek powinna być spakowana i zabezpieczona osobno. Takie procedury pozwalają ochronić je przed tzw. kontaminacją krzyżową, czyli rodzajem zanieczyszczenia, do którego dochodzi pomiędzy pobranymi do badań materiałami. W tym przypadku próbki z krypty zostały pobrane do specjalnych sterylnych woreczków z zamknięciem, umieszczane w dużych probówkach, a te owijane w folię aluminiową lub pakowane do pudełek. Tak zabezpieczone materiały przechowywane są w suchych i chłodnych warunkach aż do momentu podjęcia analiz.

Planowane analizy genetyczne

Dzięki zachowanym źródłom historycznym – takim jak testament samego burmistrza – co do miejsca pochówku Petera Gröninga wraz z małżonką wątpliwości nie ma¹⁷. Badania archeologiczne potwierdziły tam obecność jedynie dwóch szkieletów, zaś w trakcie analiz antropologicznych stwierdzono, że jeden należał do kobiety, a drugi do mężczyzny. Ich ustalony przez antropologa wiek w chwili śmierci również zgadza się z wiekiem, w jakim mieli umrzeć burmistrz i jego małżonka Margareta¹⁸. W takich okolicznościach zakres analiz genetycznych może zostać zredukowany, gdyż nie istnieje potrzeba identyfikacji osobniczej szczątków czy badania ich pokrewieństwa. Zdecydowano więc, że analizy genetyczne ograniczone zostaną do potwierdzenia płci oraz

¹⁶ Green, Speller 2017, 180.

¹⁷ LAG, Rep. 38b Stargard Nr.16.

¹⁸ Nie jest znana data jej urodzin, ale Peter Gröning był jej drugim mężem. Historycy uważają że mogła być nawet nieco starsza od małżonki i zmarła w podeszłym wieku, por. Wehrmann 1930, 33.

uzyskania kilku szczegółowych informacji na temat pochowanych osób. Przy zastosowaniu analiz genomu mitochondrialnego (dziedzicznego wyłącznie w linii żeńskiej) oraz chromosomu Y (posiadanego tylko przez mężczyzn i dziedzicznego wyłącznie w linii męskiej) ustalone zostanie pochodzenie biogeograficzne badanych osób. W miarę możliwości wykonana zostanie także bardziej szczegółowa analiza genomu jądrowego, w tym mutacje genów warunkujących tolerancję laktozy, glutenu czy odporność na wirusa HIV. Jeśli jakość materiału genetycznego na to pozwoli, wykonane zostaną także analizy fenotypowania, czyli predykcji koloru skóry, włosów i oczu, co pomoże w rekonstrukcji wyglądu Petera Gröninga oraz jego małżonki Margarety.

Zaplanowane analizy pozwolą nie tylko uzupełnić oraz zweryfikować naszą wiedzę o Gröningu i jego żonie, ale i wzbogacić pulę danych populacyjnych. Warianty genów odpowiadających za tolerancję laktozy i glutenu są najczęściej poszukiwanymi mutacjami w trakcie analiz archeogenetycznych. Przyczyną tego zainteresowania jest ich bezpośredni wpływ na przyswajanie podstawowych składników pożywienia – mleka zwierzęcego i jego pochodnych oraz przetworów zbożowych. Powszechnie przyjmowano dotąd, że mutacje te pojawiły się w populacji ludzkiej w czasie tzw. rewolucji neolitycznej. Natomiast badania aDNA ujawniły, że tolerancja laktozy nie była powszechna w Europie aż do średniowiecza¹⁹, co prowadzi do sformułowania istotnego pytania, kiedy faktycznie doszło do utrwalenia tej cechy w populacji i co się do tego przyczyniło.

Dane uzyskane w trakcie badań genetycznych szczątków z krypty Gröninga byłyby więc tak elementem opisu dwojga pochowanych tam ludzi, jak i – choć niewielką – składową szerszego obrazu przeszłości.

W analizach uwzględniono również badania genu CCR5, którego jeden z wariantów warunkuje odporność na zainfekowanie wirusem HIV²⁰. W tym przypadku indywidualne znaczenie uzyskanych rezultatów jest mniejsze, jednak z punktu widzenia studiów nad przeszłością człowieka są to dane bardzo ważne. Ustalenie w jakim rejonie świata dana mutacja powstała oraz jak się rozprzestrzeniała i co doprowadziło do jej utrwalenia – choć to typowo medyczne kwestie – mogą nieść wiele informacji o sposobie życia przeszłych populacji, o migracjach i czynnikach środowiskowych, którym podlegały w przeszłości. Wiele kwestii w tym zakresie nadal pozostaje nierozstrzygniętych²¹, zatem konieczne jest przebadanie jak największej próby z materiałów archeologicznych.

Niestety czasem bywa, że pomimo zastosowanych procedur DNA może być już tak silnie zdegradowany, że niemożliwe jest uzyskanie jakichkolwiek informacji. Nie powinno to jednak być przesłanką skłaniającą do rezygnacji z przyjętych reżimów. Priorytetem powinno być utrzymanie jakości pozyskanych próbek z materiałem w stanie nie pogorszonej – choćby dlatego, że rozwój metod analitycznych ciągle poszerza zakres stosowalności analiz genetycznych. W ten sposób materiały dziś klasyfikowane jako mało wartościowe w przyszłości mogą okazać się jedynym źródłem informacji. Ważne jest, aby tak archeolodzy, jak i genetycy mieli tego świadomość. Zachowanie odpowiednich standardów w trakcie wykopalisk umożliwia genetykom uzyskanie – już te-

¹⁹ Krüttli et al. 2014, 9: e86251; Allentoft et al. 2015, 167–172.

²⁰ Hummel et al. 2005, 371–374.

²¹ Zawicki, Witas 2008, 146–151.

raz lub za jakiś czas – wartościowych wyników, zaś kompetentne podejście genetyków do badanego materiału jest wyrazem ich postawy wobec zaangażowania archeologów w pozyskanie próbek, ale i wobec osób zmarłych, jeśli mają do czynienia z tego typu materiałem. Z satysfakcją zatem należy odnotować, że materiały pozyskane w trakcie badań archeologicznych w krypcie Kolegiaty NMP Królowej Świata w Stargardzie taki potencjał zachowały.

Bibliografia

ŹRÓDŁA ARCHIWALNE

Landesarchiv Greifswald (LAG)

Rep. 38b Stargard Nr. 16.

LITERATURA

- Allentoft M.E., Sikora M., Sjögren K.-G., Rasmussen S., Rasmussen M., Stenderup J., Damgaard P.B., Schroeder H., Ahlström T., Vinner L., Malaspinas A.-S., Margaryan A., Higham T., Chivall D., Lynnerup N., Harvig L., Baron J., Della Casa P., Dąbrowski P., Duffy P.R., Ebel A.V., Epimakhov A., Frei K., Furmanek M., Gralak T., Gromov A., Gronkiewicz S., Gruppe G., Hajdu T., Jarysz R., Khartanovich V., Khokhlov A., Kiss V., Kolář J., Kriiska A., Lasak I., Longhi Ch., McGlynn G., Merkevicius A., Merkyte I., Metspalu M., Mkrtchyan R., Moiseyev V., Paja L., Pálfi G., Pokutta D., Pospieszny Ł., Price T.D., Saag L., Sablin M., Shishlina N., Smrčka V., Soenov V.I., Szeverényi V., Tóth G., Trifanova S.V., Varul L., Vicze M., Yepiskoposyan L., Zhitenev V., Orlando L., Sicheritz-Pontén T., Brunak S., Nielsen R., Kristiansen K., Willerslev E. 2015. Population genomics of Bronze Age Eurasia. *Nature* 522, 167–172.
- Burrell A., Disotell T., Bergey C. 2015. The use of museum specimens with high-throughput DNA sequencers. *Journal of Human Evolution* 79, 35–44.
- Di Donato A., Filippone E., Ercolano M., Frusciantè L. 2018. Genome Sequencing of Ancient Plant Remains: Findings, Uses and Potential Applications for the Study and Improvement of Modern Crops. *Frontiers of Plant Science* 17, 9, 441.
- Gilbert M.T.P., Drautz D.I., Lesk A.M., Ho S.Y.W., Qi J., Ratan A., Hsu Ch.-H., Sher A., Dalén L., Götherström A., Tomsho L.P., Rendulic S., Packard M., Campos P., Fyodor Shidlovskiy T.F., Tikhonov A., Willerslev E., Iacumin P., Buigues B., Ericson P.G.P., Germonpré M., Kosintsev P., Nikolaev V., Nowak-Kemp M., Knight J.R., Irzyk G.P., Perbost C.S., Fredrikson K.M., Harkins T.T., Sheridan S., Miller W., Schuster S.C. 2008. Intraspecific phylogenetic analysis of Siberian woolly mammoths using complete mitochondrial genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 24, 8327–8332.

- Green E., Speller C. 2017. Novel Substrates as Sources of Ancient DNA: Prospects and Hurdles. *Genes* 8, 7, 180.
- Hagelberg E., Sykes B., Hedges R. 1989. Ancient bone DNA amplified. *Nature* 342, 485.
- Hebsgaard M.B., Philips M., Willerslev E. 2005. Geologically ancient DNA: fact or artifact? *Trends in Microbiology* 13, 5, 212–220.
- Hummel S., Schmidt D., Kremeyer B., Herrmann B., Oppermann M. 2005. Detection of the CCR5-Δ32 HIV resistance gene in Bronze Age skeletons. *Genes and Immunity* 6, 371–374.
- Jeffreys A.J. 1984. Palaeomolecular biology: raising the dead and buried. *Nature* 312, 198.
- Kirsanow K., Burger J. 2012. Ancient human DNA. *Annals of Anatomy* 194, 1, 121–132.
- Krüttli A., Bouwman A., Akgül G., Della Casa P., Rühli F., Warinner Ch. 2014. Ancient DNA analysis reveals high frequency of European lactase persistence allele (T-13910) in medieval central Europe. *PLOS ONE* 9, 1, e86251.
- Lamers R., Hayter S., Matheson C.D. 2009. Postmortem Miscoding Lesions in Sequence Analysis of Human Ancient Mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution* 68, 1, 40–55.
- Malmström H., Svensson E.M., Gilbert M.T.P., Willerslev E., Götherström A., Holmlund G. 2007. More on contamination: the use of asymmetric molecular behavior to identify authentic ancient human DNA. *Molecular Biology and Evolution* 24, 4, 998–1004.
- Meyer M., Kircher M., Gansauge M.-T., Li H., Racimo F., Mallick S., Schraiber J.G., Jay F., Prüfer K., de Filippo C., Sudmant P.H., Alkan C., Fu Q., Do R., Rohland N., Tandon A., Siebauer M., Green R.E., Bryc K., Briggs A.W., Stenzel U., Dabney J., Shendure J., Kitzman J., Hammer J.F., Shunkov M.V., Derevianko A.P., Patterson N., Andrés A.M., Eichler E.E., Slatkin M., Reich D., Kelso J., Pääbo S. 2012. A high-coverage genome sequence from an archaic Denisovan individual. *Science* 338, 6104, 222–226.
- Pääbo S. 1985. Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA. *Nature* 314, 6012, 644–645.
- Park S.D.E., Magee D.A., McGettigan P.A., Teasdale M.D., Edwards C.J., Lohan A.J., Murphy A., Braud M., Donoghue M.T., Liu Y, Chamberlain A.T., Rue-Albrecht K., Schroeder S., Spillane C., Tai S., Bradley D.G., Sonstegard T.S., Loftus B.J., MacHugh D.E. 2015. Genome sequencing of the extinct Eurasian wild aurochs, *Bos primigenius*, illuminates the phylogeography and evolution of cattle. *Genome Biology* 16, 234.
- Picin A., Hajdinjak M., Nowaczewska W., Benazzi S., Urbanowski M., Marciszak A., Fewlass H., Bosch M.D., Socha P., Stefaniak K., Żarski M., Wiśniewski A., Hublin J.J., Nadachowski A., Talamo S. 2020. New perspectives on Nean-

- derthal dispersal and turnover from Stajnia Cave (Poland). *Scientific Reports* 10, 14778.
- Sampietro M.L., Gilbert M.T., Lao O., Caramelli D., Lari M., Bertranpetit J., Lalueza-Fox C. 2006. Tracking down human contamination in ancient human teeth. *Molecular Biology of Evolution* 23, 9, 1801–1807.
- Shapiro B., Cooper A. 2003. Beringia as an ice age genetic museum. *Quaternary Research* 60, 94–100.
- Smith C.I., Chamberlain A.T., Riley M.S., Stringer C., Collins M.J. 2003. The thermal history of human fossils and the likelihood of successful DNA amplification. *Journal of Human Evolution* 45, 3, 203–217.
- Wehrmann M. 1930. Stargard i. Pom. und sein Bürgermeister Peter Gröning. Ein Beitrag zur Stadtgeschichte in der Zeit von 1550 bis 1635. *Baltische Studien NF* 33, 1–91.
- Willerslev E., Cooper A. 2005. Ancient DNA. *Proceeding of the Royal Society – Biology Science* 272, 3–16.
- Yang D.Y., Watt K. 2005. Contamination controls when preparing archaeological remains for ancient DNA analysis. *Journal of Archaeological Science* 32, 3, 331–336.
- Zawicki P., Witas H. 2008. HIV-1 protecting CCR5-Delta32 allele in medieval Poland. Infection, genetics and evolution. *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 8, 2, 146–51.

Summary

Methodology of archaeological studies in the context of requirements of genetic analysis. An example of works in the vault of Lord Mayor of Stargard, Peter Gröning, and his wife, Margareta Friedrichs (17th century)

Wide interdisciplinarity has become a standard procedure in archaeological research. Genetic analysis, which until recently has not even been considered, is being applied more and more widely. However, unrestrained use of molecular tools requires certain knowledge of such phenomena as aDNA degradation and a potential risk of contaminating samples with contemporary DNA. Such circumstances are key ones considering that the former can exclude any genetic research entirely while the latter can render it unreliable or even false.

Archaeologists should consider that the phenomenon of DNA degradation is by no means limited to the stage of depositing a biological material in a stratification context. Of equal importance – or even of greater importance – should be the ‘post-exploration’ period, that is, the conditions in which the already excavated biological material is

stored. Hence, the awareness of the need to safeguard such material properly, not only for the purpose of currently carried out as well as planned studies is so vital.

A considerable hindrance to genetic studies is also contamination of material with exogenous DNA which can be the case at any stage of work with archaeological material. Considering the scarcity of aDNA in the excavated material, its contamination can result in 'blurring' aDNA by exogenous DNS rendering the sample useless. In order to prevent such a situation from happening, an application of a relevant regime is required, i.e. unconditional use of disposable tools as well as personal protective equipment.

An example of a relevant methodical practice which that can be given here are studies carried out in the 17th century vault of the Lord Mayor of Stargard, Peter Gröning (1561–1631) and his wife, Margareta Friedrichs (d. 1628) in St. Mary's Queen of the World Collegiate Church in Stargard. Said studies were preceded by a thorough investigation into the requirements with regarding to the necessary tools and materials, also from the point of view of the necessary work regime.

Well-known considerations regarding the historic background provided for the reduction of the scope of genetic analysis, as there was no need for personal identification of human remains or research into the degree of kinship. Hence, the decision was taken to limit genetic analysis to confirm the gender and to obtain some detailed information about the buried people. The biogeographical origin of the people subject to studies will be established by using the analysis of mitochondrial genome and chromosome Y. Should the quality of the genetic material permit, phenotype data analysis will also be carried out with a view to reconstructing the appearance of Peter Gröning and his wife Margareta.