

MATERIAL GENÉTICO DE RESTOS ÓSEOS HUMANOS

Rocío Vargas Sanders*
Rosalba Sánchez Alcalá*

INTRODUCCIÓN

La evolución molecular se puede describir como un proceso diacrónico de cambios genéticos que son resultado de eventos estocásticos y de selección natural.

El estudio de la evolución a nivel molecular ha experimentado dos periodos de gran desarrollo en las últimas dos décadas. El primero abarca desde el inicio de los sesenta hasta los últimos diez años, cuando fueron introducidas las técnicas de secuenciación de aminoácidos y de electroforesis de proteínas en estudios de evolución. En este lapso fue descubierta la constancia aproximada con la que se lleva a cabo la sustitución de aminoácidos, así como el extenso polimorfismo proteico que se presenta en las poblaciones naturales. El segundo periodo surge en los últimos diez años, etapa que se inicia con la introducción de nuevas técnicas bioquímicas: secuenciación de ADN y ARN, ADN recombinante y digestión con enzimas de restricción. Estas técnicas han puesto al descubierto la evolución de los genes y una serie de propiedades (exones, intrones, regiones flanqueadoras, ADN repetido, pseudogenes, familias génicas, transposones, etcétera).

La comparación de secuencia de nucleótidos de diversos organismos indica que la tasa de cambio en la evolución varía en forma considerable según la región de ADN considerada. La variabilidad gené-

*Escuela Nacional de Antropología e Historia, INAH, México.

AGRADECIMIENTOS: Al biólogo Ernesto Guerrero por las preparaciones y tinciones histológicas. Al doctor Fernando Montiel por facilitarnos la sonda del gen humano de la betaglobina, así como por sus valiosos comentarios críticos a este trabajo, y a los alumnos de la especialidad de antropología física Eduardo Rosales, Omar Priego y Lilian Sánchez por su colaboración al inicio de este trabajo. Asimismo al Departamento de Salvamento Arqueológico por facilitarnos el material de estudio. También agradecemos al maestro en ciencias Gabriel Nava por facilitarnos el ADN de células humanas.

tica que se puede detectar es mayor que la obtenida con electroforesis de proteínas. Con todo este avance se ha descrito un catálogo de alrededor de cuatro mil condiciones mendelianas (McKusick 1986). De ahí que se pueda decir que el sistema humano está equipado con un fenotipo asombrosamente amplio de mutantes caracterizados; miles de genes humanos han sido identificados en virtud del fenotipo que se les confiere cuando está heredado de forma mutante. El límite de las mutaciones va desde deficiencias de enzimas, que son importantes en rutas metabólicas básicas, hasta alteraciones tan sutiles como las que afectan la psicología. Sin embargo, estos estudios han sido realizados en poblaciones actuales, por lo que las evidencias de estudio de evolución molecular son circunstanciales e indirectas.

De todo esto nos planteamos las siguientes preguntas: ¿por qué no estudiar a los genes de poblaciones antiguas?, ¿cómo se podría llevar a cabo dicha investigación?

Una de las principales fuentes para investigar la evolución biológica de la especie humana ha sido el estudio de los diferentes tipos de restos encontrados. Entre los más notables podemos mencionar material óseo, tejido momificado, tejido congelado, etcétera, tanto humanos como de plantas y de animales.

Actualmente, con el avance y desarrollo de las técnicas de microscopía electrónica, bioquímica y biología molecular, se han encontrado datos importantes. Ejemplos representativos de estos descubrimientos se resumen en el cuadro 1, en el que se observan representantes de plantas antiguas y recientes, así como grandes saurios y mamíferos ya extintos. Los estudios abarcan desde histología y composición química hasta rutas metabólicas y aislamiento de material genético.

Con respecto a restos humanos, las investigaciones han sido realizadas en tejido momificado y en cerebro de 8 000 años de antigüedad. En el primer caso se ha descrito aislamiento, caracterización y clonación de ADN; en el segundo ha sido posible estudiar aspectos anatómicos, histológicos e, incluso, moleculares (véase cuadro 2).

En tejido óseo los estudios moleculares han sido mínimos; en éstos se incluyen intentos por identificar algunos grupos sanguíneos, análisis de aminoácidos y detección inmunológica de hemoglobina (véase cuadro 2).

Todas estas investigaciones demuestran que la conservación de material genético bajo condiciones ambientales diversas es un fenómeno factible, por lo que estudios a nivel molecular abren nuevas perspectivas en áreas como paleontología, arqueología, evolución biológica, antropología biológica, ciencia forense, entre otras.

Cuadro 1. Estudios moleculares en tejidos antiguos

<i>Origen</i>	<i>Tejido</i>	<i>Antigüedad (años)</i>	<i>Tipo de estudio</i>	<i>Referencia</i>
Maíz	Semillas	.980 x 10 ³	Aislamiento y amplificación de ADN	Rollo <i>et al.</i> 1988
Gramíneas	Hojas	.022-118 x 10 ³	Extracción de ADN	Rogers y Bendich 1985
Cactáceas Solanáceas Asteráceas	Semillas y embriones	.5-44.6 x 10 ³		Rogers y Bendich 1985
Dinosaurio	Hueso fósil	80 x 10 ⁶	Composición química	Pawlicki 1972 Nowicki <i>et al.</i> 1972 Miller y Wickoff 1972
			Histología	Nowicki <i>et al.</i> 1972 Pawlicki 1976
			Rutas metabólicas	Pawlicki 1985
Mamuts (<i>Mammuths primigenius</i>)	Muscular (Desecado y congelado)	10-53 x 10 ³	Aislamiento y caracterización del ADN	Johnson <i>et al.</i> 1985
Quaga (<i>Equus quagga</i>)	Muscular (Desecado)	140 x 10 ³	Clonación del ADN mitocondrial	Higuchi <i>et al.</i> 1984

Con estos antecedentes nos planteamos como objetivo de trabajo aislar y caracterizar ADN de restos óseos humanos de varios cientos de años de antigüedad. De lograrlo se podría plantear en el futuro un estudio sistemático a nivel poblacional.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los restos óseos humanos fueron obtenidos de un ejemplar perteneciente al entierro 1 del Peñón del Marqués, Iztapalapa, D. F., con una antigüedad de 650 a 750 años (informe del DAF 1984).

CUADRO 2. Estudios moleculares en restos humanos

<i>Tejido</i>	<i>Antigüedad (años)</i>	<i>Tipo de estudio</i>	<i>Referencia</i>
Cerebro	8.0×10^3	Anatómico, histológico e identificación de ADN mitocondrial	Doran <i>et al.</i> 1986
Piel ^a		Grupos sanguíneos	Wyaman y Boyd 1973 Boyd y Matoon 1938, Candela 1939
Hígado ^a	2.0×10^3	Aislamiento e identificación de ácidos nucleicos	Wang y Lu 1981
Piel ^a	2.4×10^3	Aislamiento de ADN	Pääbo 1984
		Caracterización y clonación de ADN en bacteria	Pääbo 1985a
		Clonación de ADN en plásmido	Pääbo 1985b
Visceras y piel ^a	$0.1-5.7 \times 10^3$	Aislamiento y caracterización de ADN	Pääbo 1986
Óseo	$11-12 \times 10^3$	Identificación de grupos sanguíneos	De Terra <i>et al.</i> 1949
Óseo		Identificación de grupos sanguíneos	Candela 1935, Wyaman y Boyd 1937, Salazar-Mallén 1951, Toral 1949
Óseo	1.1×10^3	Análisis de aminoácidos	Von Endt y Ortner 1982
Óseo	4.5×10^3	Detec. inmunológ. de Hb.	Ascenzi <i>et al.</i> 1985

^aTejido momificado

Aislamiento de ADN. Se utilizaron dos métodos. El primero fue una modificación de Maniatis *et al.* (1982): un gramo de tejido se tritura en un mortero con 2.2 volúmenes de SSC IX (NaCl 0.15 M), citrato de sodio 0.015M y EDTA 0.005 M, se lleva a un 0.5% final con SDS o Sarcosil. Se extrae con fenol saturado en Tris-HCl pH 8.0. Se hacen dos extracciones con cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) y se precipita con etanol; la prueba se recupera por centrifugación a $15\ 000 \times g$, durante 30' a 4°C, y se resuspende en agua. Se guarda a -20°C hasta su uso.

El segundo método fue de Krieg *et al.* 1983: un gramo de tejido se tritura en nitrógeno líquido, se extrae con fenol saturado en agua y acetato de potasio 0.3 M; se hacen dos extracciones con cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), se precipita con isopropanol o con etanol; la muestra se recupera por centrifugación a 15 000 x g, durante 30 minutos a 4°C, y se resuspende en agua. Se guarda a -20°C hasta su uso.

Espectroscopía. El espectro de ultravioleta (uv) fue medido en un espectrofotómetro Zeizz PMQII.

Electroforesis en geles de agarosa. Las muestras de ADN fueron analizadas por electroforesis en agarosa. Se corrieron geles de agarosa (tipo 1 Sigma Chemical Co.) al 1% a 80 voltios durante una hora en Tris 0.089M; ácido bórico 0.089 M y EDTA 0.002 M (TBEIX). Las bandas fueron visualizadas por tinción con bromuro de etidio (1 µg/ml) durante veinte minutos; se fotografiaron utilizando película Kodak Royal X (Maniatis *et al.* 1982).

Digestión con endonucleasas de restricción. Se utilizaron las endonucleasas Bam HI, TaqI, HpaI y EcoRI de Bethesda Research Laboratories (BRL, Catálogo 1987), bajo las condiciones indicadas por el fabricante. Se agrega 1U/µg de ADN.

Hibridación tipo Southern. Las muestras a hibridar se corrieron por electroforesis en un gel de agarosa y amortiguador de corrida TBE 1X (Southern 1979). La transferencia del ADN a los filtros de nitrocelulosa fue realizada por el método de Southern (1979).

El plásmido Hβ1 fue construido por inserción de un fragmento de 4.4 kilobases (Kb) de ADN humano, que contiene el gen humano de la betaglobina, al único sitio Pst₁ en el plásmido p.Br 322 (Hulter *et al.* 1979). Este plásmido fue utilizado como sonda y marcado con nucleótidos radioactivos con ³²PP32. Dicho marcaje se realizó usando los juegos para "Nick translation" (BRL, Catálogo no. 8239SA) y Amersham (International 1984).

Tratamiento con desoxirribonucleasa. DNAasa a 20 µl de la muestra se agrega desoxirribonucleasa (1 mg/ml) de Sigma Chemical Co.; se incuba a 37°C durante 30 minutos; posteriormente se incuba 3 horas a 4°C (Maniatis *et al.* 1982).

Tratamiento con ribonucleasa. A 20 µl de la muestra se agrega ribonucleasa

(400 μ /ml) de Sigma Chemical Co. y se incuba durante una hora a 37°C (Maniatis *et al.* 1982).

Cuantificación de ADN. El ADN se cuantifica con el método de difenilamina (Burton 1968).

Cuantificación de ARN. Para cuantificar el ARN se utiliza el método de Orcinol (Scheneider 1957).

Preparaciones histológicas. El tejido se descalcifica en ácido fórmico y se fija en formalina neutra durante 24 horas; se baña en parafina y se hacen cortes de 5 μ m en el microtomo manual (American Optical), después se desparafina y se lava para concluir con la tinción de los cortes con May Gruenwald-Giemsa.

RESULTADOS

Observaciones histológicas

Al hacer la tinción de los cortes histológicos de cadera y vértebra de 650 a 750 años de antigüedad (figura 1) se observa claramente material celular y núcleos, tanto de tejido sanguíneo como de óseo. Esto también ha sido descrito en tejido momificado (Pääbo 1985a, Pääbo 1986) y en cerebro de 8 000 años de antigüedad, donde se ha visualizado el neural (Doran *et al.* 1986). Todos estos resultados indican que algunas células y sus componentes pueden ser preservados en restos humanos que se han mantenido bajo diferentes condiciones ecológicas.

Observaciones bioquímicas y de biología molecular

Aislamiento y caracterización de ácidos nucleicos. Se utilizaron los métodos descritos en el apartado precedente.

La recuperación y calidad de los ácidos nucleicos obtenidos por ambos métodos pueden resumirse en el cuadro 3. La cantidad de nucleicos es de 153 a 156 μ g/g de tejido. Esto significa que el porcentaje de recuperación con respecto a tejido fresco oscila entre 30 y 47 por ciento, el cual es ocho veces mayor al que ha logrado Pääbo (1985b) en tejido momificado. Sin embargo, de esta proporción alrededor de 2.75

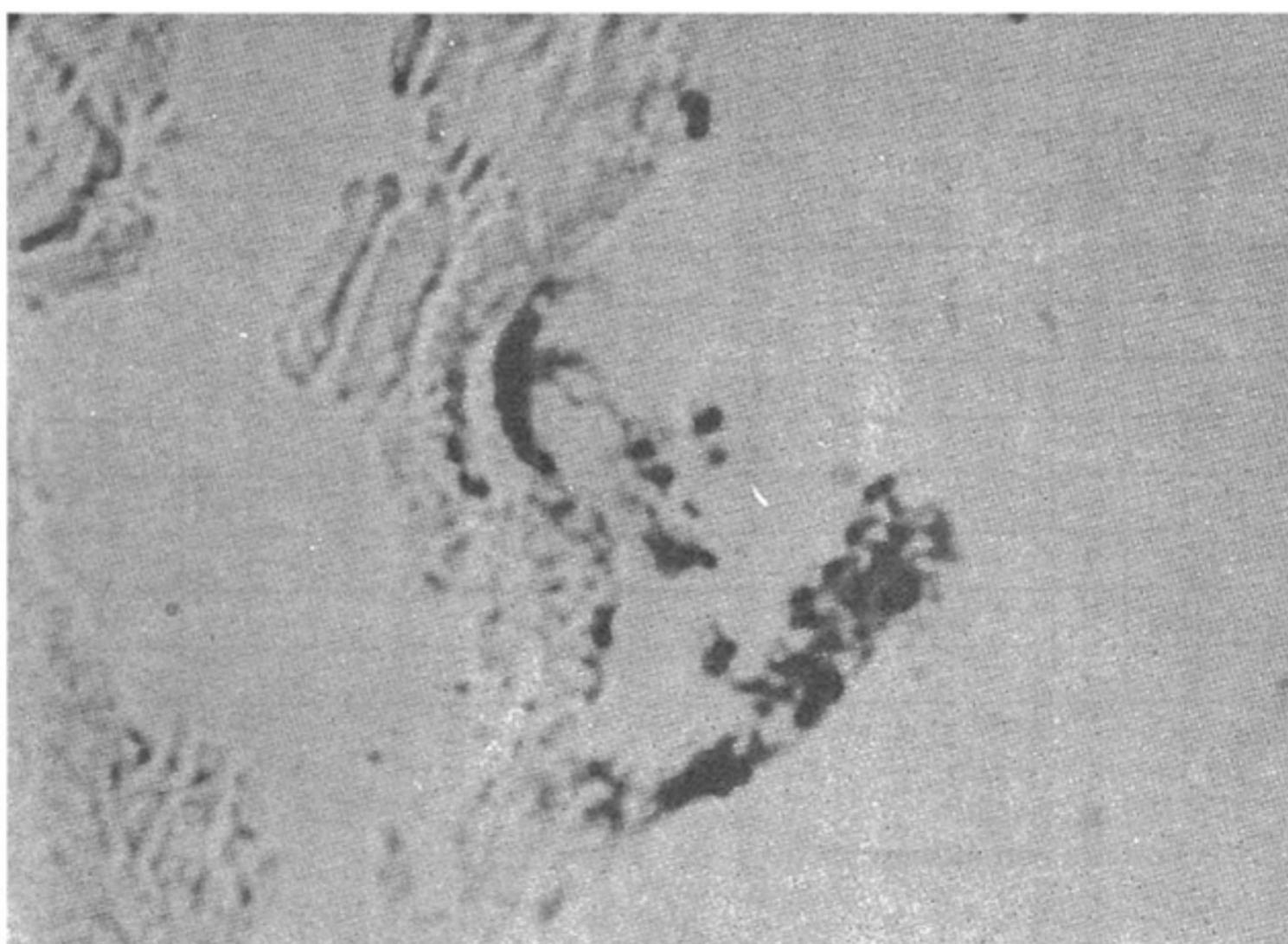
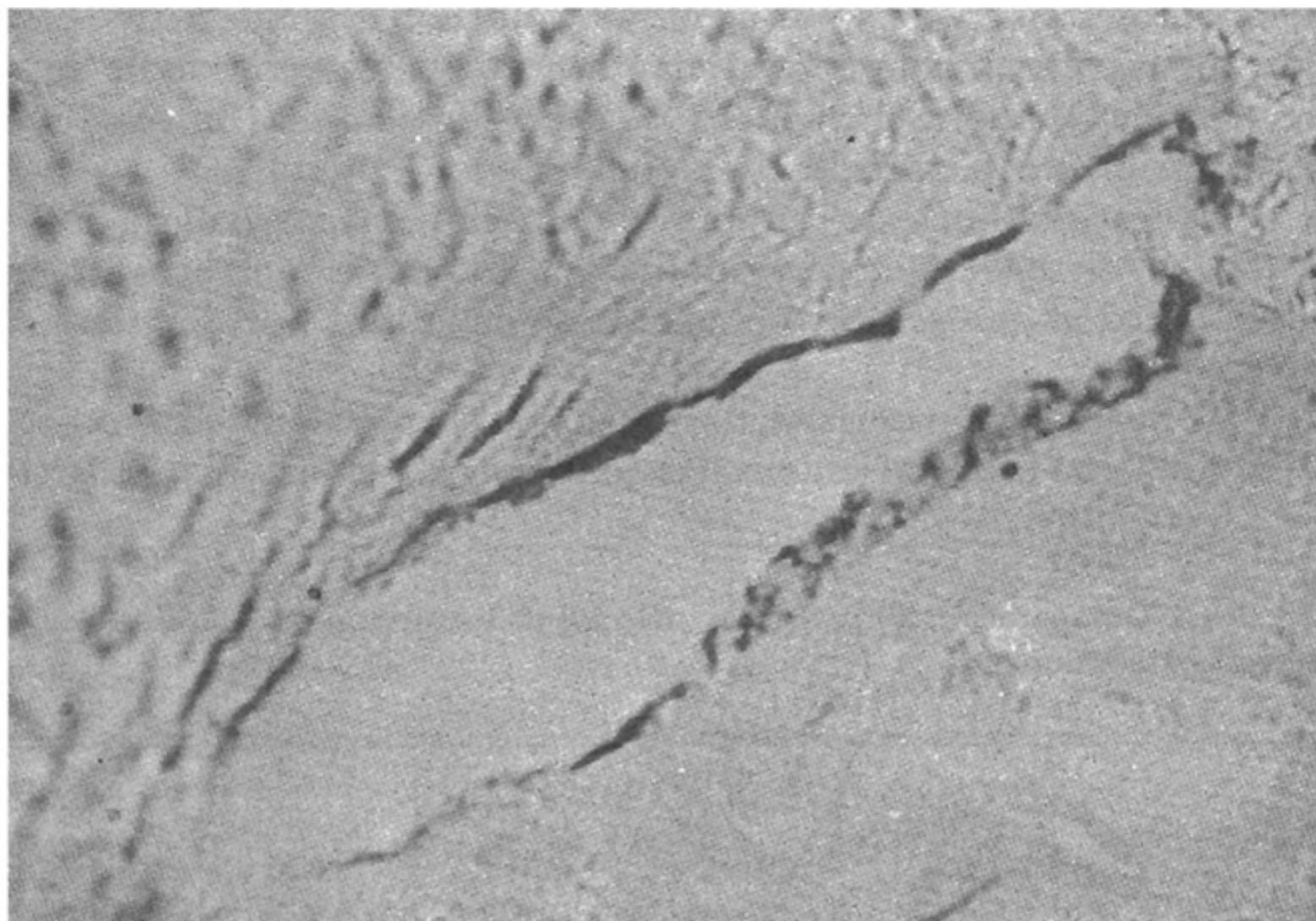


Figura 1. Secciones de tejido óseo provenientes de cadera (foto superior) y de vértebra (foto inferior) de 650-750 años de antigüedad. Se observan claramente restos celulares y núcleos. Tinción con May-Gruenwald-Giemsa. Aumentos de 400 X y 260 X, respectivamente.

por ciento es ADN y el 35 por ciento restante corresponde a ARN; estos porcentajes fueron obtenidos al cuantificar ARN y ADN por medio de los métodos de Orcinol (Scheneider 1957) y de difenilamina (Burton 1968), respectivamente (cuadro 3).

Al usar ribonucleasa durante la extracción, la cantidad de ADN es de 9 $\mu\text{g/g}$ de tejido, que corresponde a un 2.5 por ciento; este porcentaje es igual al que se obtiene cuando se cuantifica por difenilamina (cuadro 3).

La pureza del material determinada por la relación de las lecturas a 260 y 280 nm fue semejante en las dos técnicas. Los valores oscilan de 1 a 1.86 (cuadro 3).

CUADRO 3. Comparación entre los dos métodos de extracción de ácidos nucleicos en tejido óseo humano

<i>Técnica</i>		<i>Recuperación ($\mu\text{g/g}$ tejido)</i>	<i>Recuperación con respecto a tejido fresco (porcentaje)</i>	<i>Pureza (260/280 nm)</i>	<i>Difenilamina ($\mu\text{g/g}$ tejido)</i>	<i>Orcinol ($\mu\text{g/g}$ tejido)</i>
I						
	1	123	30.0	1.23		
Extracción	2	196	49.0	1.092		
	3	150	37.5	1.8		
		9 ^a	34.5			138
			2.75		11	
			2.5	1.86		
II						
	1	143	35.75	1.73		
Extracción	2	188	47.0	1.09		
	3	129	32.0	1.0		

I = 156 $\mu\text{g/g}$ tejido

II = 153 $\mu\text{g/g}$ tejido

a = Tratado con ARNasa

Para comprobar que el material aislado corresponde a ácidos nucleicos se utilizaron los siguientes criterios:

a) Espectro de absorción en ultravioleta (UV). Se hizo la compara-

ción entre los espectros de UV del ADN humano obtenido de cultivos celulares (figura 2, curva A) y del ADN purificado de tejido óseo antiguo (figura 2, curvas B y C). El caso del óseo mostró coloración café amarillenta, lo que posiblemente modificó el espectro típico de ácidos nucleicos (figura 2, curva B). Para eliminar dicha coloración, las muestras fueron sometidas a una cromatografía en gel de Sephadex G-10 (Doran *et al.* 1986). La calidad del espectro después de la cromatografía mejoró y dio como resultado un espectro característico de ácidos nucleicos (figura 2, curva C).

Este tipo de coloración también ha sido observado en otros restos humanos (Doran *et al.* 1986; Pääbo 1986) y de animales (Johnson *et al.* 1985).

b] Electroforesis en geles de agarosa. Otro procedimiento utilizado para identificar el material genético fue mediante la electroforesis en geles de agarosa. En la figura 3 se muestra el patrón obtenido después de teñir el gel con bromuro de etidio, el cual revela ADN de alto peso

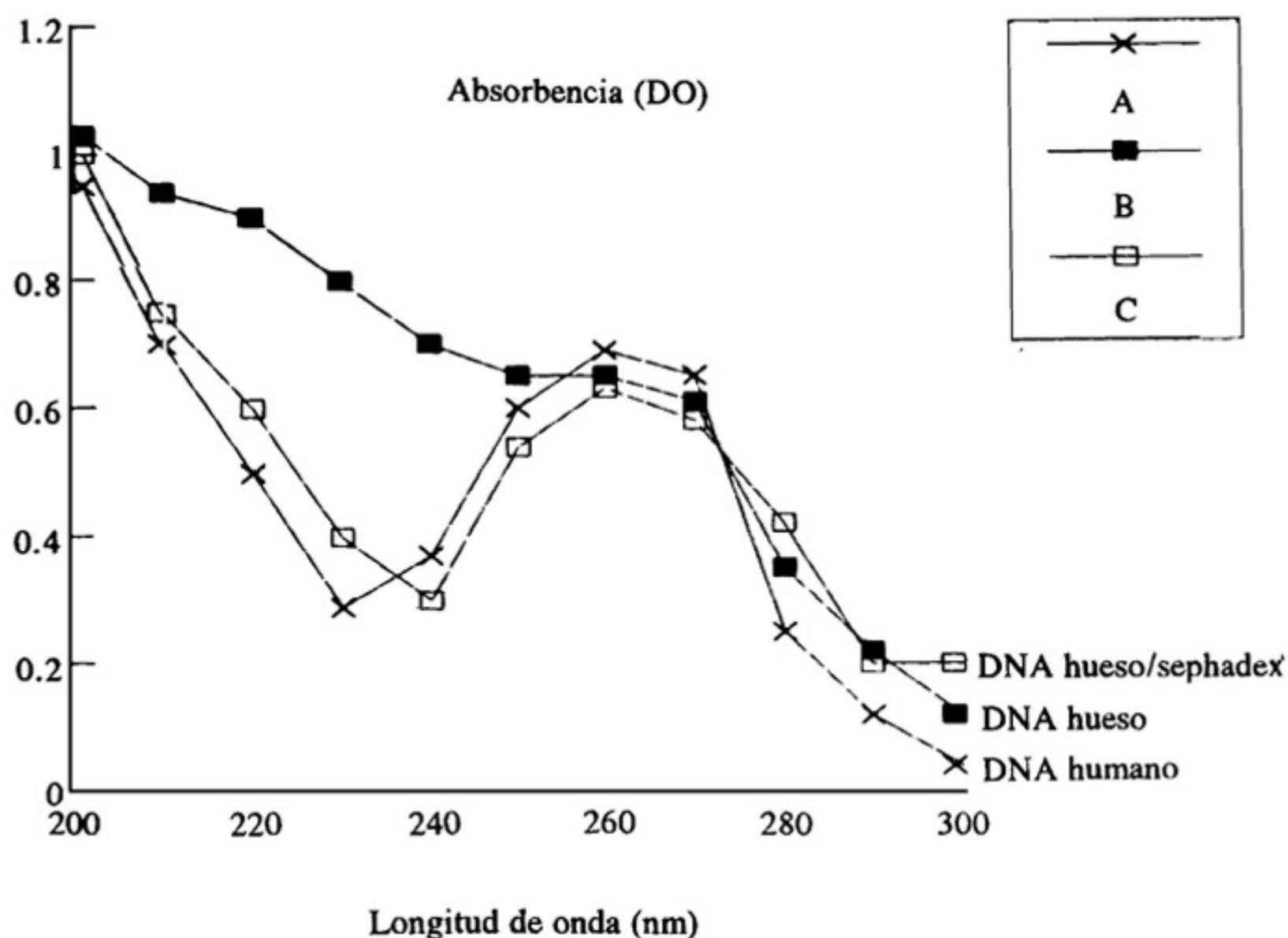


Figura 2. Espectro de ultravioleta. Se tomaron alícuotas de 20 μ l de muestra y se hizo el espectro de absorción en ultravioleta. La curva A corresponde a ADN humano de células en cultivo; la curva B al ADN de hueso sin pasarlo por Sephadex G-10, y la curva C a ADN de hueso sometido a cromatografía en Sephadex G-10 (dos veces).

molecular y degradado. El peso molecular que manifiesta se localiza entre 0.125-23.1 Kb, a diferencia del obtenido en otros restos humanos, cuyo límite se encuentra entre 0.5 y 9.4 Kb (Doran *et al.* 1986; Pääbo 1986). Por otro lado, la cantidad de material genético que se aisló de las diferentes piezas óseas fue variable (figura 3). La mayor fue en costilla y cadera (carriles A y B); en cambio fue menor en vértebra, fémur y tibia (carriles C, D y E). Cabe señalar que en todos los casos mencionados el peso molecular se mantuvo en el rango descrito líneas arriba.

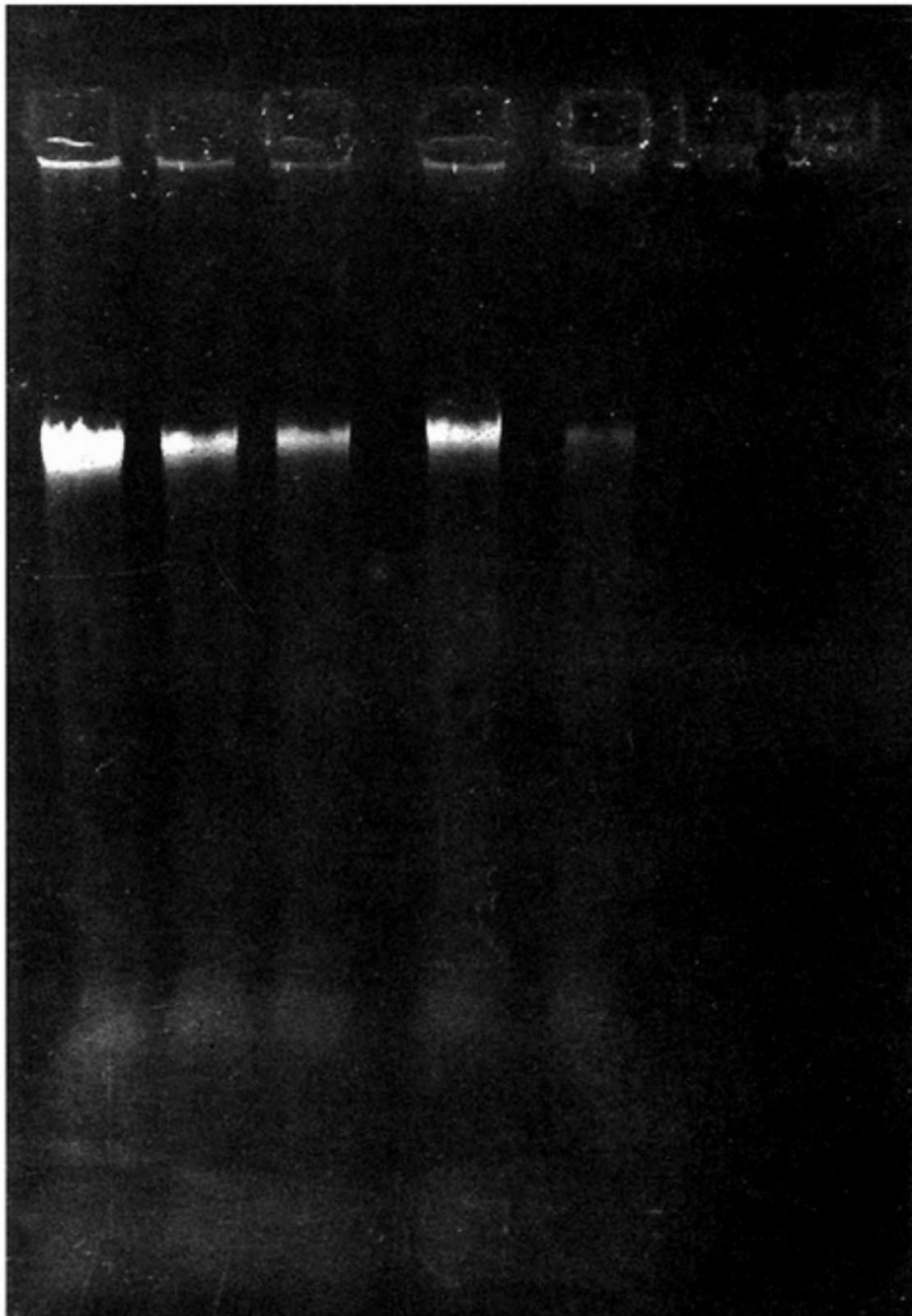


Figura 3. Electroforesis en geles de agarosa. Se tomaron alícuotas de 10 μ l del material extraído (como se describe en métodos) de diferentes piezas óseas: costilla (carril A), cadera (carril B), vértebra (carril C), fémur (carril D) y tibia (carril E), y se las sometió a electroforesis en geles de agarosa.

c] Tratamiento con desoxirribonucleasa (ADNasa) y ribonucleasa (ARNasa). Una de las formas más directas de demostrar la presencia de ADN es su sensibilidad a la ADNasa y su resistencia a la ARNasa. En la figura 4 se observa el efecto de la ADNasa sobre el ADN de timo de ternera (carril 6) y de ADN de costilla y cadera (carriles 7 y 8); la sensibilidad manifestada demuestra que el material es ADN; además, la resistencia a la ARNasa se hizo patente en la zona donde se identifica el ARN (figura 5, carriles 3 y 4), pero en la zona donde se localiza el ARN se puede observar su sensibilidad a dicha enzima. Este resultado, aunado a la determinación de ARN por el método de Orcinol, comprueba la presencia de ARN en restos humanos.

De todos estos resultado inferimos que el material aislado es ADN y ARN.



Figura 4. Efecto de la DNAasa sobre el ADN de material óseo prehispánico. A 10 μg del ADN de costilla y cadera tratado con RNAasa durante la purificación como se describe en material y métodos, se digiere con DNAasa. En ausencia de DNAasa: ADN de timo de ternera, Carril 1; ADN de costilla, carril 2; ADN de cadera, carril 3. En presencia de DNAasa: ADN de timo de ternera, carril 5; ADN de costilla, carril 6 y ADN de cadera, carril 7.

Demostración de su origen humano. El siguiente paso fue la demostración de que las preparaciones de ADN tienen un origen humano. Las pruebas se basan en los estudios obtenidos al emplear la técnica de hibridación con el gen humano de la betaglobina.

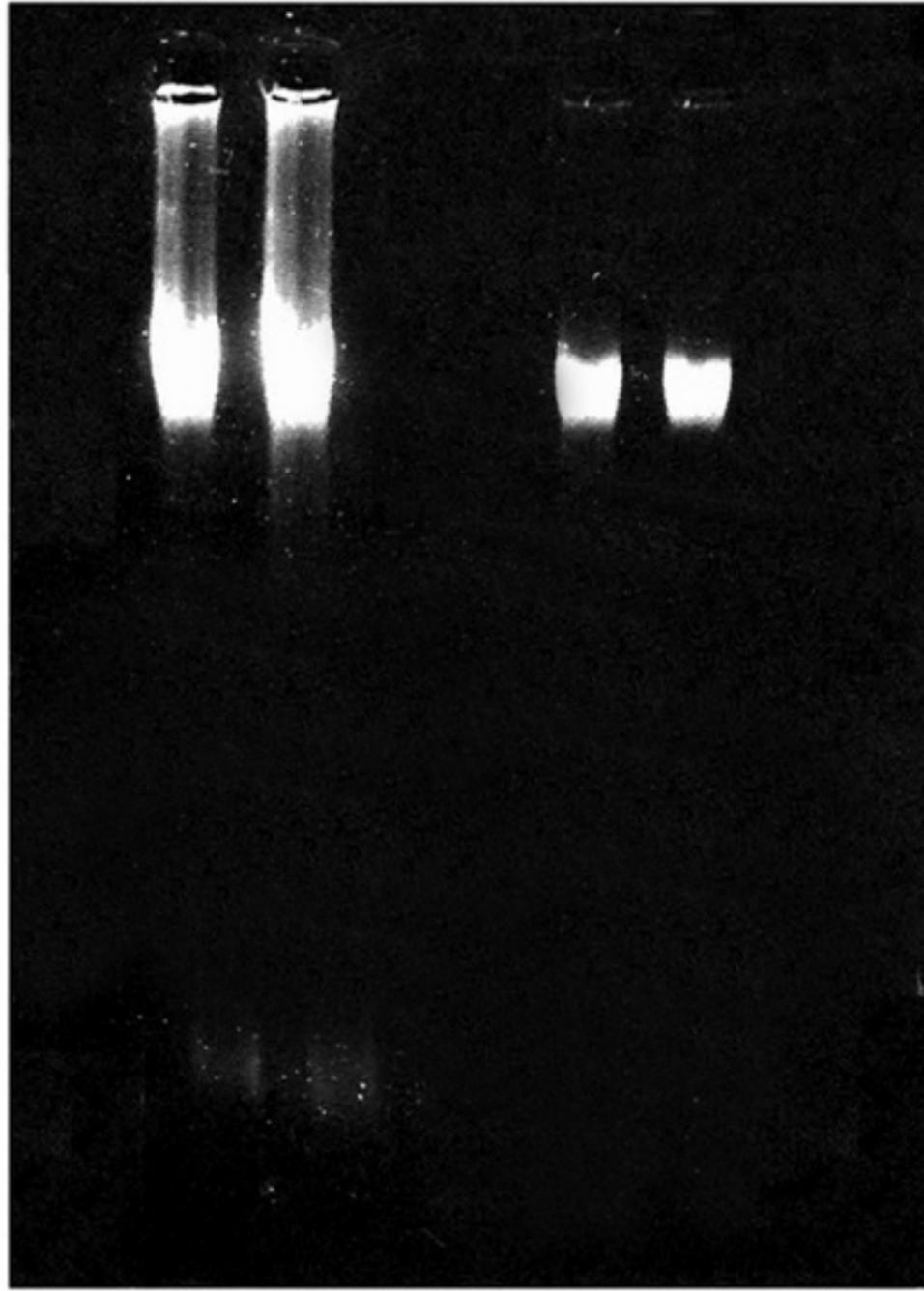


Figura 5. Tratamiento con Ribonucleasa (RNAasa). El ADN de costilla e isquion se digirió con RNAasa, como se describe en métodos: carriles 2 y 3 ausencia de RNAasa y carriles 6 y 7 presencia de RNAasa.

La autorradiografía de la hibridación del gen humano de la beta-globina con el ADN de restos óseos se muestra en el esquema de la figura 6. Al ADN se le trató con enzimas de restricción y, como consecuencia, algunos productos hibridaron con el gen humano.

Durante la hibridación del gen humano, en el caso de Bam HI y Tag I, en ambas, se mostraron dos bandas de alto peso molecular, de 13 a 9.46 Kb. En el caso de HpaI también se manifiestan dos bandas, pero de menor tamaño, de 6 y 13 Kb. Para el ADN, que no fue digerido, se mostró una banda de hibridación de 23.1 Kb.

El ADN aislado de tejido óseo fue reconocido por el gen humano de la betaglobina, lo que sugiere la presencia de ADN de origen humano.

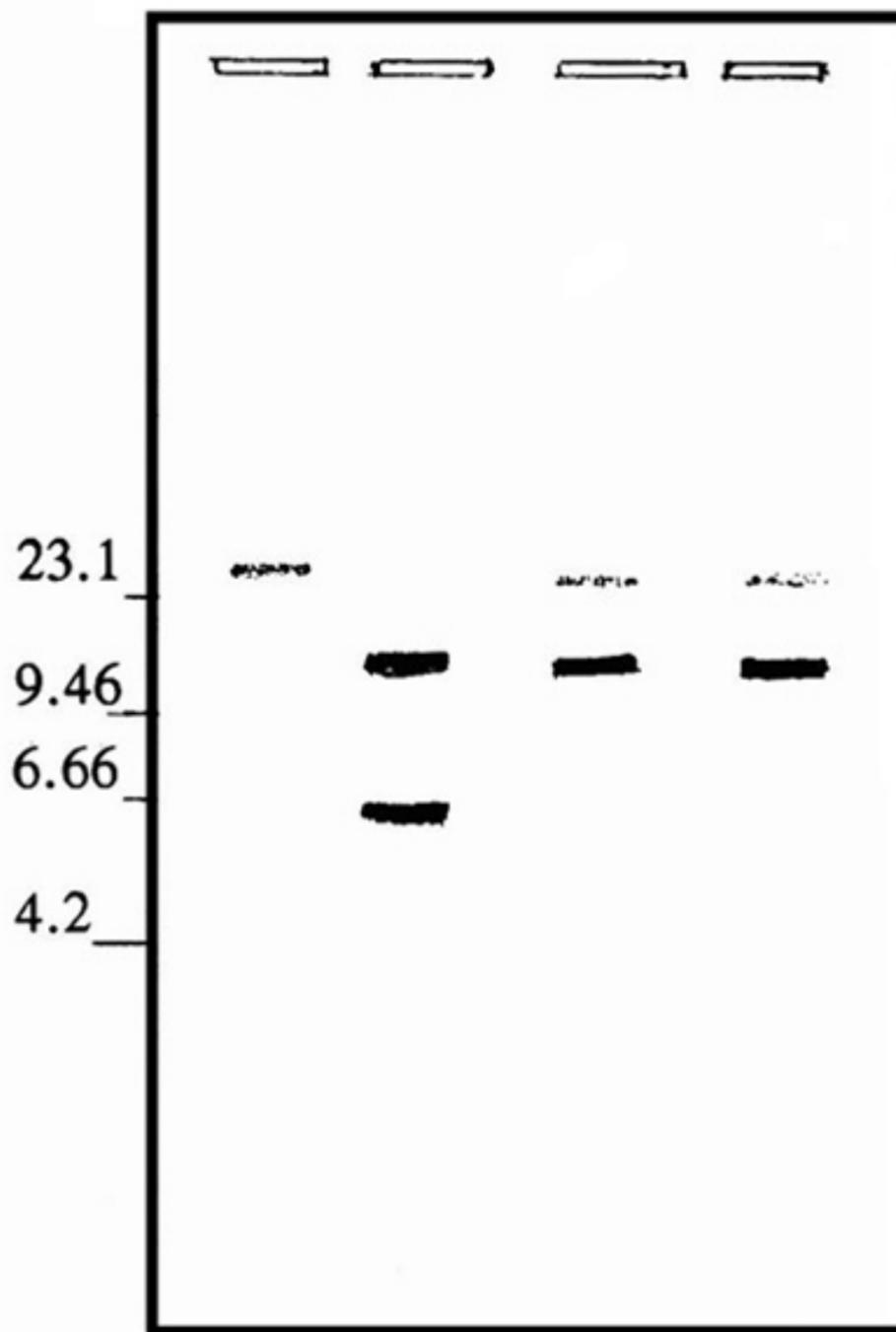


Figura 6. Esquema de la hibridación tipo Southern de ADN de restos óseos humanos de 650-750 años de antigüedad. Se tomaron aproximadamente 10 μ g de ADN de costilla (carril 1) sin digerir con enzima de restricción y 10 μ g de ADN de costilla digerido con HpaI (carril 2), Taq (carril 3) y Bam HI (carril 4). El gel fue transferido e hibridado con la sonda que contiene al gen humano de la betaglobina (como se menciona en materiales y métodos). Los marcadores de peso molecular se indican en número de pares de bases.

DISCUSIÓN

El examen histológico demuestra que en el tejido óseo con una antigüedad de 650-750 años se conserva material celular, incluyendo algunos osteocitos y restos de epitelio de vasos sanguíneos (figura 1). También se observan los núcleos, cuya nitidez fue mayor al emplear una tinción específica para ácidos nucleicos, en contraste con la resolución obtenida con la tinción hematoxilinaeosina (resultados no mostrados). Este hecho es indicativo de la presencia de ácidos nucleicos, como también ha sido identificado en otros tejidos humanos antiguos (Pääbo 1985b, 1986; Doran *et al.* 1986).

Los dos métodos utilizados para la purificación de ácidos nucleicos de tejido óseo mostraron semejanzas en la pureza y recuperación. El primero, que tiene como base la relación de las lecturas a 260 y 280 nanómetros (nm), es de 1.0 a 1.86 en ambos métodos. En el segundo, la cantidad de ácidos nucleicos totales es de 153 a 156 $\mu\text{g/g}$ de tejido. Sin embargo, únicamente 11 $\mu\text{g/g}$ de tejido corresponden a ADN y el resto a ARN (véase cuadro 3). Esta cantidad de ADN es la misma que se obtiene en tejido humano momificado (Pääbo 1985a, 1986) y en restos de otros animales (Johnson *et al.* 1986), pero con respecto al cerebro antiguo (Doran *et al.* 1986) es 11 veces mayor. Incluso, si durante la extracción se elimina el ARN, la recuperación de ADN es de 9 $\mu\text{g/g}$ de tejido. Esto significa que el rendimiento de este último en restos óseos humanos se encuentra dentro de los valores correspondientes a otros tejidos antiguos.

La presencia de un colorante café amarillento que coprecipita con los ácidos nucleicos modifica el espectro de ultravioleta de los mismos (figura 3, curva B). La cromatografía en Sephadex G-10 elimina el pigmento, aunque se pierde aproximadamente 25 por ciento de material genético. De manera semejante, si la muestra se dializa o se electroeluye, el colorante se descarta de la preparación pero la pérdida del ADN aumenta a un 60 por ciento (resultados no mostrados). No obstante, el patrón obtenido después de la cromatografía lo identifica como un espectro característico de ácidos nucleicos (figura 3, curva C).

Por otra parte, este pigmento no sólo se encuentra en restos óseos, también ha sido observado en otros tejidos antiguos (Doran *et al.* 1986; Pääbo 1986). Si bien no ha sido identificado químicamente, su presencia es independiente del tipo de conservación a la que los diferentes restos han estado sujetos.

Los resultados de la figura 2 muestran la presencia de ADN en las diferentes piezas óseas investigadas. En este material se encuentran dos poblaciones: una de alto peso molecular, otra de ADN degradado a bajo peso molecular. Es notorio que la primera presenta un peso molecular de 23.1 Kb, ya que en otros restos humanos, aun cuando hayan sido preservados bajo condiciones de anaerobiosis extrema, el ADN tiene un peso molecular de 9.4 Kb (Pääbo 1986; Doran 1986); incluso, hasta hace poco sólo se había aislado ADN de alto peso molecular de gotas de sangre de más de cuatro años (Gill *et al.* 1985). Esto indica que es posible purificar ADN de alto peso molecular de restos óseos humanos con una antigüedad de 650 a 750 años. Actualmente se están realizando estos estudios en restos más antiguos.

Por otro lado, la población de ADN degradado parece común en la

mayoría de los restos. Se desconoce la causa de dicha degradación, que podría atribuirse a procesos dependientes del tiempo, como el efecto de radiactividad ambiental, procesos autolíticos *post-mortem* o de oxidación (oxidación de deoxirribosa), o también a modificaciones de bases nitrogenadas; ejemplo de estos últimos son las alteraciones de las pirimidinas en tejido momificado (Pääbo 1986). Este último dato es consistente con el hecho de que el efecto oxidativo sobre las pirimidinas es mayor que sobre las purinas (Sholer *et al.* 1960).

Por tanto, se puede obtener no sólo ADN de bajo peso molecular sino de alto peso molecular. Además, éste se puede purificar a partir de diferentes elementos.

La prueba más directa de la presencia de ADN en la muestra es su sensibilidad a la DNAasa; esto se muestra claramente en la figura 4.

Asimismo, la hibridación del ADN de tejido óseo antiguo con el gen humano de la betaglobina señala su origen humano. No se excluye que parte de este ADN tuviera procedencia de hongos y/o bacterias, ya que dadas las condiciones de conservación esto podría cambiar algunas características del ADN de tejido antiguo (Johnson *et al.* 1985). Sin embargo, la presencia de ciertos microorganismos podría significar la coevolución de algunos parásitos humanos, dado que éstos presentan cortos periodos de generación y formas de replicación de ADN características. La demostración del virus del papiloma en una momia chilena (Horne y Kawasaki 1984), así como la presencia de viruela en momias egipcias (Sandison 1980) abren la posibilidad de hacer dichas investigaciones.

Un aspecto de singular importancia es la presencia de ARN (cuadro 3 y figura 5), que hasta la fecha no ha sido reportado como hallazgo en ningún otro resto. Del ARN total de los restos del Peñón del Marqués sólo se ha diferenciado, hasta la elaboración de este trabajo, al ARN de transferencia. Investigaciones encaminadas a la identificación de los otros tipos de ARN están en marcha.

Estos resultados preliminares han sido exitosos pues demuestran que es posible aislar y caracterizar ADN y ARN de origen humano, a partir de restos óseos de la zona del Peñón del Marqués, Iztapalapa, D. F., así como su futuro estudio sistemático a nivel poblacional.

Este hecho abre un nuevo panorama de estudio en el campo de la antropología física. En primer término, es posible fundamentar y desarrollar nuevas líneas de investigación con restos óseos humanos, como el análisis de las propiedades, estructura, organización y evolución de genes humanos.

Asimismo, se podrán conocer e identificar polimorfismos y varia-

bilidad genética (analizados hasta ahora en poblaciones vivientes) con el objetivo de determinar enfermedades genéticas, parentescos, patrones de migración y su relación con algunos grupos étnicos actuales (véase figura 7).

Finalmente, será posible realizar estudios en el área de la antropología forense.

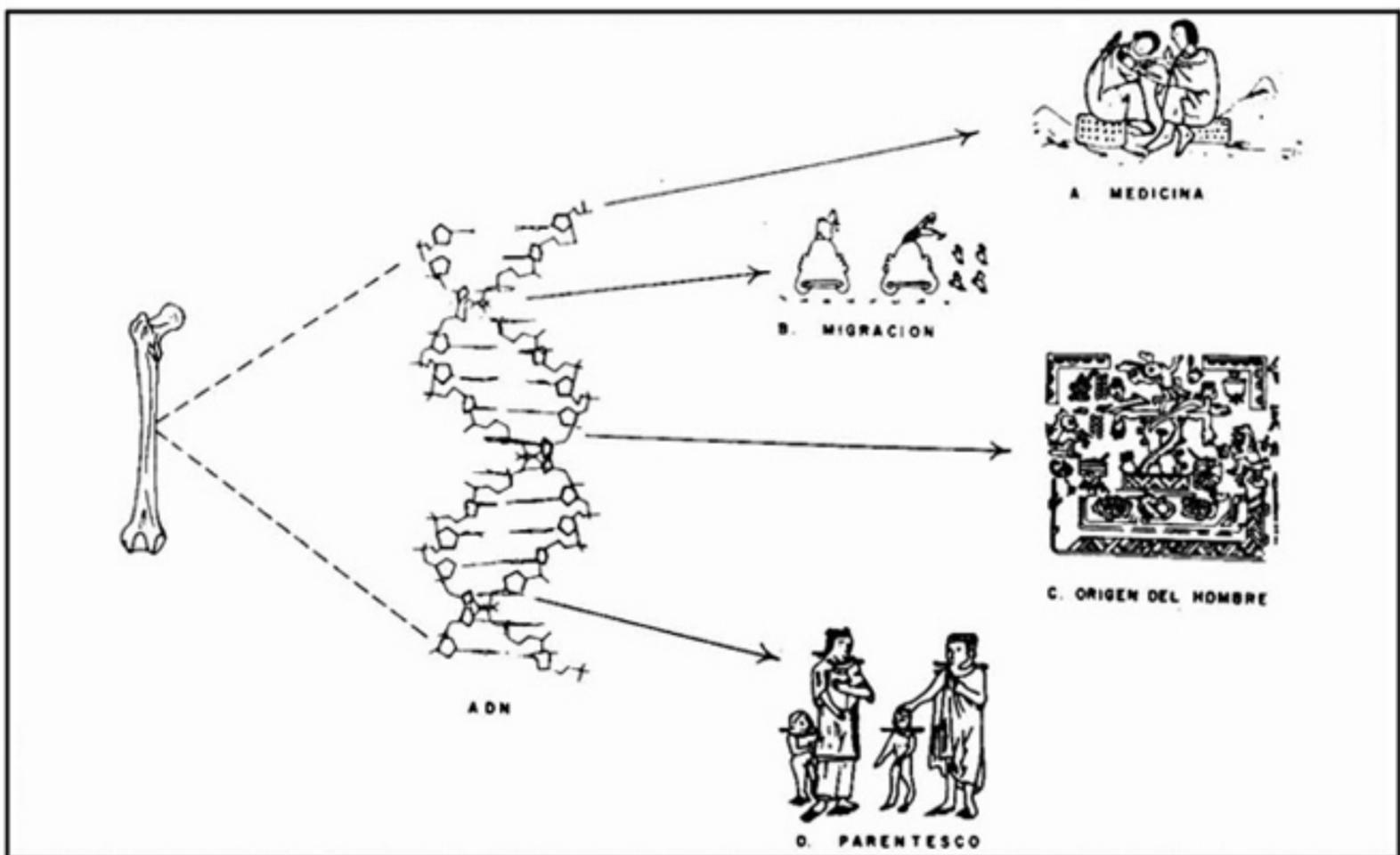


Figura 7. La posibilidad de aislar ADN de restos óseos antiguos permite realizar diversos estudios; A. Enfermedades genéticas y parasitarias (Enfermedades, *Códice florentino*); B. Migración (*Tira de la Peregrinación*, conocida también como *Tira del Museo* o *Códice Boturini*); C. Origen del hombre (origen mitológico del hombre. *Códice Sedden*); D. Parentesco (familia de esclavos, *Códice florentino*).

REFERENCIAS

- ASCENZI, A., M. BRUMONI, G. CITRO Y R. ZITO
 1985 "Immunological detection of hemoglobin in bones of ancient Roman times and of Iron and Neolithic ages", *Proceedings of the National Academy of Sciences* 82: 7170.
- BOYD, W. C. Y W. MATOON
 1943 *Blood groups and transfusions*, Springfield, C. C. Thomas.
- BURTON, K.
 1968 "Determination of DNA concentration with diphenilamine", en B. L. Grossman y M. K. Moldave, comps., *Methods in enzymology* XII, parte B, Nueva York, Academic Press.
- CANDELA, P. B.
 1936 "Blood group reactions in ancient human skeletons", *American Journal of Physical Anthropology* 21: 429.
- COMAS, J.
 1976 *Manual de antropología física*, México, Instituto de Investigaciones Antropológicas.
- DE TERRA, H., J. ROMERO Y T. D. STEWARD
 1949 *Tepexpan man*, Vicking Fund Publications in Anthropology 9, Nueva York.
- DORAN, G. H., D. N. DICKEL, W. E. BALLINGER, JR., O. F. AGEE, P. J. LAIPIS Y W. W. HANWITH
 1986 "Anatomical, cellular and molecular analysis of 8,000 year-old human brain tissue from the Windover archaeological site", *Nature* 323: 803.
- GENOVÉS, S.
 1962 *Introducción al diagnóstico de la edad y del sexo en restos óseos prehistóricos*, México, Instituto de Historia.
 1966 *La proporcionalidad de los huesos largos y su relación con la estatura en restos mesoamericanos*, México, Instituto de Investigaciones Antropológicas, Serie Antropológicas 19.
- GILL, P., A. J. JEFFREYS Y D. J. WERRET
 1985 "Forensic applications of DNA fingerprints", *Nature* 318: 577.
- HIGUCHI, R., B. BOWMAN, M. FREIGBER, O. A. RYDER Y A. C. WILSON
 1984 "DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family", *Nature* 315: 282.
- HORNE, P. R. T. Y Q. KAWASAKI
 1984 "The prince of the plomo: A paleopathological study", *Bulletin of the Academy of Medicine* 60: 925.
- HULTER, K. M., G. A. SCANGOS Y F. H. RUDDLE
 1979 "DNA-mediated gene transfer of a circular plasmid into murine cells", *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76: 5820.
 1984 Informe interno del Departamento de Salvamento Arqueológico del INAH sobre el Peñón del Marqués.

- JAEN, M. L. y S. LÓPEZ ALONSO
 1974 "Algunas características físicas de la población prehispánica de México", *México. Panorama histórico y cultural. Antropología física. Época prehispánica*, México, SEP-INAH, p. 113.
- JAEN, M. L. y CARLOS SERRANO
 1974 "Osteopatología", *México. Panorama histórico y cultural. Antropología física. Época prehispánica*, México, SEP-INAH, p. 158.
- JOHNSON, P. H., C. B. OLSON y M. GOODMAN
 1985 "Isolation and characterization of desoxirribonucleic acid from tissue of woolly mammoth *Mammutus primigenius*", *Biochemical Physiology* 81 (B): 1045.
- KRIEG P., E. AMTMANN y G. SAUER
 1983 "The simultaneous extraction of high molecular weight DNA and RNA from solid tumors", *Analytical Biochemistry*, 134: 288.
- MANIATIS, T., E. F. FRISCH y J. SAMBROOK
 1982 *Molecular cloning*, Nueva York, Cold Spring Harbor Laboratory.
- MC KUSICK, V. A.
 1986 "The gene map of *Homo sapiens*. Status and perspectives", *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 51: 15.
- MILLER, M. F. y R. W. G. WICKOFF
 1972 "Protein in dinosaurs bones", *Proceedings of the National Academy of Sciences* 122: 10.
- MORFÍN, M. L.
 1984 *Sociedad colonial y enfermedad*, México, INAH, Colección Científica 133.
- NOWICKI, Z., M. ZARNEKA-KELLER, R. PAWLICKI, H. KUBIACK y A. KORBEL
 1972 "Morphological and chemical analysis of the structure of the fossil dinosaur bone", *Anat. Anz.* 132: 10.
- PÄÄBO, S.
 1984 "Über der Nachweiss von DNA in altagyptische Mummien", *Das Altertum* 30: 314.
 1985a "Preservation of DNA in ancient Egyptian mummies", *Journal of Archaeological Science* 12: 411.
 1985b "Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA", *Nature* 314: 644.
 1986 "Molecular genetic investigations of ancient human remains", *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 51: 441.
- PAWLICKI, R.
 1984 "Metabolic pathways of the fossil bones. Part. II. Vascular canal in the communication system", *Folia Histochemica* 22: 33.
 1976 "Preparation of fossil bones specimenes for scanning electron microscopy", *Stain Technology* 51: 147.
- ROGERS, S. O. y A. J. BENDICH
 1985 "Extraction of DNA for milligram amounts of fresh herbarium and mummified plant tissue", *Plant Molecular Biology* 5:69

ROLLO, F. A. AMICI Y R. SALVI

1988 "Short but faithful pieces of ancient DNA", *Nature* 35: 774.

SALAZAR-MALLÉN, M.

1951 "Estudio inmunológico de restos óseos antiguos", *Gaceta Médica de México* 81: 12.

SANDISON, A. T.

1980 "Diseases in Ancient Egypt", en A. Cockum y E. Cockum, comps., *Mummies disease and ancient*, Cambridge, Cambridge University Press.

SCHENEIDER, W. C.

1957 "Determination of nucleic acids in tissue by pentose analysis", en P. S. Colowick y N. O. Kaplan, comps., *Methods in enzymology* III, Nueva York, Academic Press.

SCHOLER, G., J. F. WARD Y J. J. WEISS

1960 "Mechanisms of the radiation-induced degradation of nucleic acids", *Journal Molecular Biology* 2: 379.

SOUTHERN, E.

1975 "Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis", *Journal Molecular Biology* 98: 503.

1979 "Gel electrophoresis of restriction fragments", en R. Wu, comp., *Methods in enzymology*, Nueva York, Academic Press.

TORAL, R. E.

1949 Estudio inmunológico de restos óseos recogidos en la zona arqueológica de Monte Albán, tesis, Escuela Nacional de Ciencias Químicas, México.

VON ENDT, D. W. Y D. J. ORTNER

1986 "Aminoacid analysis of bone from a possible case of prehistoric iron deficiency anemia from the American Southwest", *American Journal of Physical Anthropology* 59: 377.

WANG, G. H. Y C. C. LU

1981 "Isolation and identification of nucleic acid of liver of corpse from Chang-sha Han tomb", *Sheu Wu Hua Hsueh yu Sheng Wu Li Chin Chan* 39: 70.

WYAMAN, L. R. Y W. C. BOYD

1937 "Blood group determination of American Indians", *American Anthropologist* 39: 583.

