



# Guide de prélèvement de matériel biologique pour les études d'ADN ancien

---

Le choix et le traitement des prélèvements biologiques constituent une étape importante dans la réussite des analyses paléogénétiques. Ce guide est destiné aux personnes présentes sur le site de fouille et impliquées dans le prélèvement des échantillons biologiques. Il a pour but de présenter une méthodologie de prélèvement adaptée lorsque des études paléogénétiques sont envisagées.

## I L'ADN ANCIEN

L'ADN étant soumis à des processus de **dégradation post-mortem**, sa durée de vie est limitée et peu de molécules parviennent à subsister dans les restes anciens. De plus ces molécules d'ADN présentent des caractéristiques qui rendent leur étude particulièrement délicate.

L'analyse de l'ADN ancien nécessite **des locaux et des compétences spécifiques** ainsi qu'une **approche méthodologique adaptée**.

## II OBJECTIFS DES ANALYSES GENETIQUES

Les analyses mises en œuvre permettent :

- la détermination du **sex** moléculaire et du **profil génétique** des spécimens anciens étudiés
- l'étude des **liens de parenté** au sein d'ensembles funéraires du passé
- la caractérisation des **lignées paternelles et maternelles** des individus
- l'estimation de **l'origine biogéographique**
- la détermination de **caractéristiques phénotypiques**

## III LES SOURCES POTENTIELLES D'ADN ANCIEN

Tous les vestiges humains ne sont pas source de matériel génétique et, s'il est possible d'extraire de l'ADN à partir de tissus mous momifiés, l'essentiel des analyses paléogénétiques porte sur des **tissus durs tels que les os et les dents**.

Si ces substrats sont les plus résistants, ils ne sont néanmoins pas insensibles aux **contaminations** par de l'ADN exogène. Cette contamination de l'ADN ancien par de l'ADN moderne peut avoir des sources variées et intervenir à différents niveaux puisque de nombreuses personnes peuvent avoir accès aux prélèvements à partir de sa découverte jusqu'à son traitement au laboratoire. Ainsi plus le nombre de personnes manipulant les restes anciens est important plus les contaminations seront difficiles à contrôler. Il est important de noter que le contact direct avec le prélèvement n'est pas la seule source de contaminations. En effet, des postillons, de la sueur ou encore quelques cheveux déposés peuvent suffire à contaminer l'échantillon. Cet ADN moderne, de bonne qualité, sera lors des analyses préférentiellement amplifié par rapport à l'ADN ancien présentant lui des dégradations.

Ainsi, afin de limiter la survenue de ces contaminants, il est nécessaire de respecter des bonnes pratiques lors du prélèvement et du stockage des échantillons anciens.

**Le traitement et le choix des prélèvements constituent donc une étape importante dans la réussite des analyses paléogénétiques.**

### IV.1 COMMENT S'ÉQUIPER ?

Tout d'abord il est préférable qu'un **nombre très restreint de personnes** soient impliquées dans les prélèvements génétiques. Le contrôle des contaminations en sera ainsi facilité.

La principale précaution à prendre est de ne **JAMAIS toucher les prélèvements à mains nues**.

Lors du prélèvement, la personne en charge doit porter au minimum **un masque** ainsi qu'**une paire de gants propres** ! Ces gants doivent toucher uniquement le matériel à prélever (ne surtout pas toucher sa peau, ses cheveux ou encore ses vêtements avec les gants). Il est également recommandé de se couvrir les cheveux avec **une charlotte**.

### IV.2 COMMENT PROCÉDER ?

**S'équiper d'une charlotte, d'un masque et d'une première paire de gants**. A partir de ce moment faire très attention à ne pas toucher autre chose que le matériel à prélever. **Mettre une seconde paire de gants**, en évitant de toucher les doigts des gants avec la première paire.

Procéder au **prélèvement du matériel biologique**. Si des outils sont utilisés pour extraire le prélèvement il est nécessaire de les stériliser dans une solution diluée d'eau de javel (10%) avant leur utilisation. Ce procédé permettra de réduire les risques de contaminations par de l'ADN humain moderne mais également entre les échantillons.

**Ne surtout pas laver les prélèvements**. L'ADN contaminant présent dans l'eau ou le matériel utilisé pour le nettoyage pourrait pénétrer et contaminer tout le matériel biologique. L'eau est également une source de dégradation pour l'ADN. Si le prélèvement est recouvert de terre ou si les dents présentent du tartre ne pas l'enlever.

Les prélèvements doivent être placés **rapidement** (le risque de contaminations augmente lorsque le prélèvement est exposé) et de **façon séparée** dans **un contenant stérile ou au moins propre** (enveloppe kraft, grip, tube). Ne pas toucher l'intérieur du contenant à main nue. **L'identification du matériel doit être annotée sur l'extérieur de l'emballage**.

**La seconde paire de gants doit être changée entre chaque prélèvement**.

Si le matériel biologique doit être stocké (plus le temps de stockage est court mieux c'est), il est nécessaire **d'éviter l'humidité, les fortes chaleurs ainsi que des variations répétées de températures**.

### IV.3 QUELS PRÉLEVEMENTS CHOISIR ?

#### LES DENTS

Les dents constituent **un matériel de choix** du fait de leur **résistance** ainsi que de leur **facilité de prélèvement et de stockage**. Les dents ne sont pas totalement résistantes aux contaminations mais l'émail dentaire, du fait de sa faible porosité, est une bonne barrière protectrice contre d'éventuelles dégradations (UV, moisissures, microbes...).

Si cela est possible, prélever une dent toujours incluse dans la mandibule ou le maxillaire afin d'assurer la protection des racines. **Ne pas prélever de dents fissurées, cariées, ou avec des racines ouvertes** puisque cela

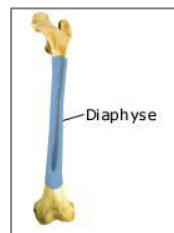
constitue des portes d'entrée aux contaminants. Si plusieurs dents sont disponibles, **l'état de conservation macroscopique doit être le critère de choix**. Si toutes les dents sont intactes les molaires ou prémolaires seront alors préférées puisque leur taille permettra de récupérer une plus grande quantité d'ADN par comparaison aux incisives ou canines. Si la dent ne s'extrait pas facilement (surtout dans le cas des dents pluriradiculées), ne pas forcer au risque de créer des lésions ou de la casser. Il est dans ce cas préférable d'envoyer le prélèvement entier. La dent sera extraite avec du matériel stérile au laboratoire.

*NB : afin de réaliser les analyses génétiques la dent sera broyée, il ne sera donc pas possible de récupérer le prélèvement à la suite des analyses. Il ne pourra donc y avoir restitution de matériel.*

## LES OS

Les os sont également des sources de qualité pour les analyses ADN. Néanmoins, la quantité d'ADN conservée dans les différents types d'os est très variable.

**Les os longs sont principalement utilisés.** Afin d'optimiser les chances de retrouver de l'ADN il est important, si cela est possible, de choisir un **os dense** présentant un bon état de conservation macroscopique avec une **surface intacte et une corticale épaisse**. Il est préférable d'éviter les os friables, fissurés et très légers, signes d'une importante dégradation. Si le prélèvement ne peut pas être envoyé dans sa totalité réaliser alors une section de l'os au niveau de sa diaphyse.



*NB : Les contaminants pouvant s'infiltrer jusqu'à 1 à 2 mm de profondeur dans l'os, il sera nécessaire d'abriter sur quelques millimètres d'épaisseur une partie de sa surface. Le segment nettoyé sera ensuite réduit en poudre.*

**Ne pas prélever les os plats.**

L'**os pétreux** est également une source de très bonne qualité pour les analyses ADN. Pour ce prélèvement localisé au niveau du crâne des informations supplémentaires pourront être fournies afin de réaliser un prélèvement correct.

## IV.4 COMBIEN DE PRELEVEMENTS EFFECTUER ?

Quand cela est possible, un minimum de deux prélèvements doivent être réalisés pour chaque individu. Cela peut correspondre à deux fois le même type de prélèvements (deux dents par exemple) ou idéalement à **deux types de prélèvements différents** (os et dents). Ces deux prélèvements permettront d'une part d'assurer la reproductibilité des analyses et d'autre part, d'augmenter les chances de réussite des analyses. En effet, il arrive parfois que l'ADN soit un peu mieux préservé dans un prélèvement par rapport à un autre sans signe macroscopique évident.

Il est préférable, si cela est possible, d'envoyer les prélèvements entiers et l'échantillonnage sera réalisé au laboratoire dans des conditions adaptées au traitement de matériel ancien.

## GUIDE RAPIDE DE PRELEVEMENT POUR LES ANALYSES D'ADN ANCIEN

1. S'équiper d'un masque et d'une charlotte
2. Mettre une première paire de gants en évitant de toucher les doigts du gant à mains nues
3. Mettre une seconde paire de gants (avec laquelle on ne touche rien d'autre que le prélèvement)
4. Choisir le prélèvement approprié
  - Dent : incluse dans l'os (si possible) mais surtout non fissurée, non cassée, non cariée et avec des racines fermées. Si les dents sont en très mauvais état prélever un os.
  - Os long : os lourd, lisse et avec une corticale épaisse. Ne pas prélever d'os friable, fissuré et trop léger. Une section de l'os peut être réalisée, dans ce cas préférer une coupe dans la diaphyse.
  - Os pétreux
  - Autres : talus, rotule.

Remarque : Pour les enfants les dents ont souvent des racines ouvertes. Prélever plutôt une section d'os long.

5. Réaliser le prélèvement (si des outils sont nécessaires, ils doivent être décontaminés)
6. Placer immédiatement le prélèvement dans un contenant stérile ou « propre » (grip, tube, enveloppe). Ne surtout pas laver le prélèvement.
7. Refermer de façon hermétique le contenant
8. Identifier le prélèvement sur l'extérieur du contenant
9. Changer la seconde paire de gants
10. Procéder au prélèvement suivant

Remarque : **Réaliser, si possible, au moins deux prélèvements par individu**

11. Stocker les prélèvements dans un lieu sec, pas trop chaud et éviter les fortes variations de températures