


Mini Review Paper

The Importance of Paleoproteomics as a Bio Archive of the Artworks, Archeological, and Paleontological Remains

Zohreh Chahardoli^{1*} 

1. Department of Chemistry, Art Diagnosis Laboratory by Microchemistry and Microscopy, University of Bologna, Italy.

* Correspondence: zohreh.chahardoli2@unibo.it



Abstract

Heritage science is a broad and interdisciplinary scientific field that focuses on the characterization of materials, techniques, deterioration processes, and the preservation of cultural assets. This field encompasses a wide array of subjects and places particular emphasis on the investigation of complex and heterogeneous materials—such as textiles, paintings, architectural structures, as well as human and fossil remains—all of which contribute collectively to the reconstruction of the past and the deepening of our historical understanding through time. Over time, all materials are influenced by environmental factors, and their interactions with surrounding conditions can lead to alterations driven by chemical, physical, and biological processes. Among these materials, organic components—particularly proteinaceous compounds—play a pivotal role. In prehistoric archaeology and geological contexts, proteins provide valuable insights into ancient diets, health status, and even evolutionary adaptations. In the context of artworks, the analysis of proteins can reveal important information regarding production techniques, fabrication processes, and restoration strategies. Furthermore, protein studies offer clues that help improve our understanding of past cultural practices. Due to their low abundance, interaction with mineral matrices, and continuous degradation, the development of analytical methods that both aid in sample preservation and enhance our understanding of degradation mechanisms is essential. Such research forms the foundation of advancements in cultural heritage conservation science and is crucial for ensuring the longevity and structural integrity of historical objects. The aim of this study is to provide a concise overview of the importance of investigating historical proteinaceous materials and to explore recent approaches in their recovery, identification, and analysis. This work seeks to highlight the role of proteins as valuable informational resources in the fields of archaeology, art conservation, and biogeo-heritage.

Keywords: Organic Materials, Paleo-Proteins, Fossils, Archaeometry, Biogeoheritage.

Introduction

Over the past few decades, the study of ancient biomolecules has revolutionized our understanding of the evolutionary history of life on Earth. Previously, evolutionary insights were largely based on molecular analyses of living organisms and the observation of phenotypic traits in fossil records, which offered only indirect evidence of the forces and mechanisms behind present-day biodiversity. In contrast, ancient biomolecules provide a direct glimpse into the biological past, enabling researchers to trace evolutionary processes as they occurred in real time. The categories

of ancient molecules that have arguably made the biggest contribution to elucidating evolutionary history to date are nucleic acids, proteins, and lipids (Cappellini et al., 2018).

Proteins are long-lived biomolecules capable of surviving over millions of years. Proteins are remarkably durable biomolecules, capable of withstanding the passage of millions of years (Warinner et al., 2022). Proteins, as bioarchives, can be extracted from a wide variety of art, archaeological, and paleontological materials, highlighting the versatility of proteomic analysis. These sources of recovery including painting binders (Haghighi et al.,

Received: 2025/4/8

Revised: 2025/6/16

Accepted: 2025/6/25

Published: 2025/6/30

Copyright: ©2025 by the Authors. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution Noncommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license)

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



2024, Gatti et al., 2021), textiles (Cucina et al., 2024), bone (Figueiredo et al., 2012, Collins et al., 2002, Buckley & Wadsworth, 2014, Biancolillo et al., 2019, Prieto-Bonete et al., 2019, Bertoglio et al., 2021, Loy et al., 2023, Díaz-Cortés et al., 2024), teeth (Açil et al., 2005, Gibson, 2011, Adler et al., 2011, Cappellini et al., 2019, Gil-Bona & Bidlack, 2020, Rancourt et al., 2023), eggshell (Demarchi et al., 2022) and marine shell (Demarchi et al., 2011, Baldreki et al., 2024), in the fossil records, parchment (Fiddymment et al., 2019), and ceramics (Hendy et al. 2018a, Chowdhury et al., 2021). The ability to retrieve and study protein sequences from such diverse materials underscores the broad applicability of proteomics across different fields, providing invaluable insights into both biological and cultural history.

Ancient proteins are inherently complex mixtures, and the term paleoproteomics is used to describe the study of these proteomes from the past (Warinner et al., 2022). Indeed, ancient protein analysis, can be defined as the identification and study of proteins from archeological, historical, and paleontological remains and materials (Hendy, 2012).

Significance of the Study

While deoxyribonucleic acids (DNA) can dissect evolutionary processes with the highest resolution, proteins and lipids are important on longer temporal scales and in geographic areas that are less favorable to DNA preservation. For the first time, in 1984, aDNA from a museum specimen of quagga, an equid species that went extinct in the nineteenth century, was successfully sequenced (Cappellini et al., 2018). Over the past decade, ancient protein sequences have gained recognition as a valuable resource for reconstructing phylogenetic relationships across deep time (Paterson et al., 2024). These sequences provide critical insights into the evolutionary history of species, offering a complementary approach to ancient DNA for understanding lineage divergence and ancestral connections that extend far beyond the reach of traditional genetic studies (Haynes et al., 2002, Baker et al., 2024). They frequently outlast even the most ancient surviving DNA, though their true lifespan remains uncertain. While proteins do not persist in the geological record as long as lipids, their vast sequence diversity provides greater insight into biological history. This diversity makes proteins one of the most valuable bio archives for studying the ancient past, offering a wealth of information about long-extinct organisms and the environments they once inhabited. Their role as a historical record is unparalleled, given their resilience and informational richness (Hendy et al., 2018b, Warinner et al., 2022). The extraction of genomic data from specimens that are thousands of years old has greatly enhanced our understanding of prehistoric population dynamics, ancient hybridization events, and the demographic patterns of extinct species (Van der Valk et al., 2021).

Stable isotope analysis involves measuring the ratios of non-radioactive isotopes - most commonly carbon ($\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$), nitrogen ($\delta^{15}\text{N}/\delta^{14}\text{N}$), oxygen ($\delta^{18}\text{O}/\delta^{16}\text{O}$), and sulfur ($\delta^{34}\text{S}/\delta^{32}\text{S}$)—

within biological molecules to infer past environmental conditions, diets, and physiological processes. In the context of ancient protein analysis, stable isotope ratios embedded within preserved proteins such as collagen provide critical insights into the trophic level, dietary habits, and migration patterns of ancient organisms. Unlike bulk isotope analysis of whole tissues, compound-specific isotope analysis (CSIA) targets individual amino acids derived from proteins, offering a more refined resolution of dietary sources and metabolic pathways (Lüdecke et al., 2018, Lüdecke et al., 2022, Leichliter et al., 2023).

The integration of stable isotope data with proteomic results enhances our understanding of archaeological samples by linking molecular identity (species or tissue type identified via proteins) with ecological and environmental information provided by isotopes. For example, analyzing carbon and nitrogen isotope ratios in collagen peptides can reveal whether an ancient animal consumed primarily terrestrial plants or marine resources, or if a human population had a diet rich in protein from specific ecological niches. Additionally, oxygen and sulfur isotopes can track water sources and geographic origins, complementing taxonomic identification from protein sequences. This multidisciplinary approach significantly strengthens reconstructions of ancient lifeways, subsistence strategies, and biogeographical patterns, making stable isotope analysis an invaluable adjunct to palaeoproteomics (Eriksson et al., 2008, Tutken et al., 2013, Linderholm et al., 2014, Lugli et al., 2019).

Ancient protein

Protein degradation is primarily driven by bacteria through enzymatic digestion, a process that occurs relatively rapidly. Only a small fraction of the total proteins is expected to survive in the archaeological record, indeed, those that tend to be mineralized, highly abundant, or possess unusual properties. Due to the diverse characteristics of proteins—including differences in composition, chemical properties, size, shape, function, and whether they are incorporated into mineralized tissues—the taphonomic factors that influence post-mortem protein degradation and decay are highly variable. Type I collagen (COL1) is the most enduring protein in bone, comprising over 80% of the bone proteome and making up roughly 20–30% of the total mass of fresh bone. Its remarkable durability stems from its heavy mineralization and its unique structure—a highly stable triple helix (Warinner et al., 2022). Proteins undergo a stepwise decomposition process, breaking down first into peptides, then into free amino acids, and eventually into smaller molecules such as aliphatic acids and hydrocarbons. This sequence reflects the progressive cleavage of the protein's structure, where peptides fragment into individual amino acids, which are then further degraded into simpler organic compounds biominerals (Warinner et al., 2022, Demarchi, 2020).

Conclusion

Based on all the scientific evidence available to date, and through a brief review of the related literature and expert opinions,

it is clear that the study of organic residues in historical and geological artifacts holds an unparalleled place in reconstructing the past and deepening our understanding of various ancient periods and natural history. In the fields of archaeology, archaeometry, and geology, such studies provide powerful tools that allow us to travel deep into history—even millions of years back—and access a vast repository of meticulously analyzed data that spans environmental conservation, human health, and the wellbeing of other living organisms. By studying and applying the data derived from these ancient remains, we can reconstruct environmental conditions, evolutionary processes, and extinct ecosystems, offering a more comprehensive and accurate view of Earth's history and the development of both natural and human landscapes.

Author Contributions: This article has a single author, who performed all roles, including conceptualization, research and review, methodology, project management, sourcing, writing the main draft, and reviewing and editing.

Funding: This research received no external funding.

Data Availability Statement: The datasets described and/or analyzed during this study are accessible and traceable in the Resources and References section.

Acknowledgments: Not applicable.

Conflicts of Interest: The author declares no conflicts of interest.

اهمیت مطالعه بقایای پروتئینی به‌عنوان یک منبع زیستی در آثار هنری، تاریخی و زمین‌شناسی

زهرا چهاردولی^{۱*}

۱. دکتری شیمی تجزیه برای مطالعه آثار تاریخی و طبیعی، دانشکده شیمی، آزمایشگاه تشخیص هنر توسط میکرو شیمی و میکروسکوپی، دانشگاه بلونیا، ایتالیا.

* مسئول مکاتبات: zohreh.chahardoli2@unibo.it

چکیده

مطالعه میراث فرهنگی، علمی با حوزه‌ای گسترده و میان‌رشته‌ای است که به مطالعه و شناخت مواد، روش‌ها، آسیب‌ها و حفظ و نگهداری میراث فرهنگی اختصاص دارد. این حوزه، طیف گسترده‌ای از موضوعات را دربر می‌گیرد و بر بررسی مواد پیچیده و ناهمگن تمرکز دارد—از جمله منسوجات، نقاشی‌ها، بناها و نیز بقایای انسانی و فسیلی—که همگی در کنار هم به بازسازی گذشته کمک کرده و درک ما را از تاریخ تا ژرفای زمان گسترش می‌دهند. در حقیقت، تمامی مواد در گذر زمان تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند و برهم‌کنش آن‌ها با محیط می‌تواند باعث تغییراتی ناشی از فرآیندهای شیمیایی، فیزیکی و زیستی شود. در این میان، مواد آلی موجود در این آثار—به‌ویژه ترکیبات پروتئینی—نقشی کلیدی ایفا می‌کنند. در باستان‌شناسی پیش از تاریخ و دوران زمین‌شناسی، پروتئین‌ها اطلاعات ارزشمندی درباره رژیم‌های غذایی گذشته، وضعیت سلامتی و حتی سازگاری‌های تکاملی ارائه می‌دهند. در زمینه آثار هنری، مطالعه پروتئین‌ها می‌تواند دیدگاه‌های ارزشمندی درباره تولید و ساخت و بازسازی آثار تاریخی ارائه دهد. به‌علاوه، توانایی آن را دارد که سرنخ‌هایی در اختیار بگذارد تا به درک بهتر شیوه‌های فرهنگی گذشته کمک کند. با توجه به غلظت پایین این ترکیبات، تعامل آن‌ها با بخش‌های معدنی و همچنین فرآیندهای تخریب مداوم، توسعه روش‌هایی که هم به حفظ بهتر نمونه‌ها کمک کند و از طرفی دیگر درک عمیق‌تری از سازوکارهای تخریب ارائه دهد، امری ضروری است. چنین مطالعه‌هایی، پایه‌ای برای پیشرفت علم حفاظت میراث فرهنگی به‌شمار می‌روند و نقش مهمی در تضمین طول عمر و حفظ یکپارچگی آثار باستانی ایفا می‌کنند. هدف این پژوهش، ارائه مروری مختصر بر ضرورت مطالعه مواد پروتئینی تاریخی و بررسی رویکردهای نوین در بازیابی، شناسایی و تحلیل این ترکیبات است. این مطالعه می‌کوشد جایگاه پروتئین‌ها را به‌عنوان منابع اطلاعاتی ارزشمند در حوزه‌های باستان‌شناسی، هنر و زیست‌میراث (زمین‌شناسی) برجسته سازد.

واژگان کلیدی: آثار تاریخی، پروتئین تاریخی، فسیل، باستان‌سنجی، میراث فرهنگی و زیستی

۱. مقدمه

مطالعه آثار بازمانده از گذشته تنها محدود به دست ساخته‌های بشر نیست بلکه آثار حیات بر روی کره زمین نیز به‌نوعی میراث زیستی بشمار می‌آید و در مطالعه و تحلیل دنیای امروز، دارای اهمیت بالایی است. مطالعه ساختار شیمیایی مولکول‌های باستانی با منشأ بیولوژیکی در چند دهه گذشته تحولی بنیادین در درک ما از تاریخ تکامل حیات روی زمین ایجاد کرده

است. پیش از ظهور این علم، دانش ما از فرآیندهای تکاملی عمدتاً مبتنی بر آنالیز مولکولی موجودات زنده امروزی و بررسی ویژگی‌های ظاهری سوابق فسیلی بود. داده‌هایی که اغلب تنها شواهدی غیرمستقیم از مکانیسم‌های تنوع زیستی کنونی را ارائه می‌کردند. در واقع این مولکول‌های باستانی نمای مستقیم و ملموس از گذشته زیستی فراهم می‌آورند و امکان مطالعه و بازسازی فرآیندهای تکاملی را همان‌گونه که در زمان وقوع‌شان رخ داده‌اند، برای پژوهشگران فراهم می‌کنند. در میان انواع مختلف مولکول‌های ذکر

شده، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و لیپیدها مهم‌ترین منابع اطلاعاتی بوده‌اند و به کمک آن‌ها می‌توان تاریخ تکامل را با دقت بیشتری روشن ساخت. برای اولین بار، در سال ۱۹۸۴، DNA باستانی (aDNA) از یک نمونه موزه‌ای از کواگا (Quagga)، یک گونه اسب‌سان که در قرن نوزدهم منقرض شده بود، به‌طور موفقیت‌آمیز توالی‌یابی شد (Cappellini et al., 2018) و این سرآغازی برای باز شدن فصلی جدید برای مطالعات مواد آلی و فراهم آمدن بینشی در ژرفای تاریخ بود.

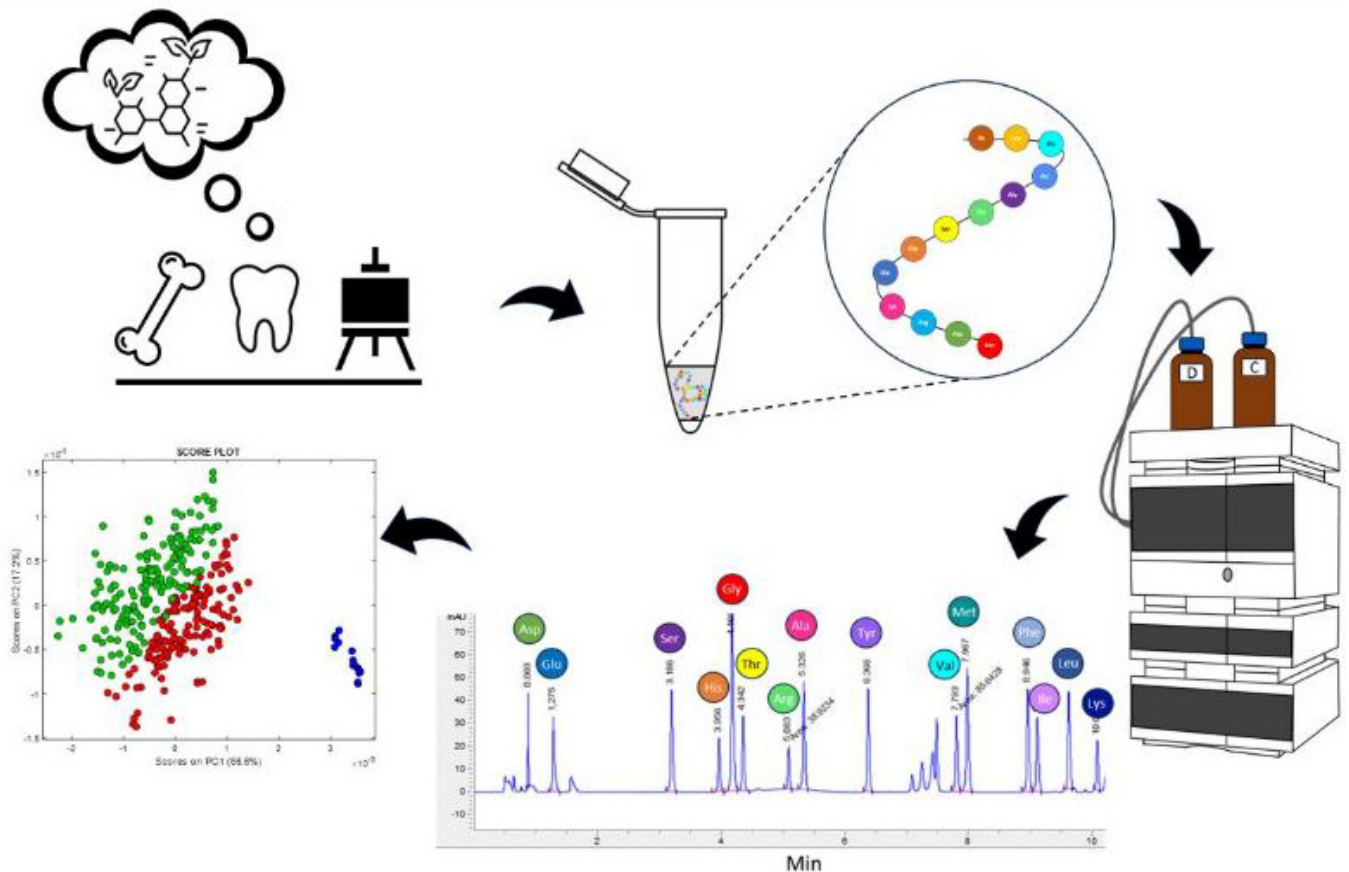
تحقیقات در زمینه پروتئین‌های باستانی (Paleoproteomic) در تمام دنیا به‌سرعت در حال پیشرفت است و کاربردهای آن به تحلیل نمونه‌های مختلف باستان‌شناسی و زمین‌شناسی گسترش یافته است. اولین تلاش‌ها برای مطالعه پروتئین‌های تاریخی به دهه‌های ۱۹۵۰-۱۹۷۰ برمی‌گردد، اما این تحقیقات به علت احتمال تداخل با پروتئین‌های مدرن اغلب بحث برانگیز بود. در سال ۲۰۰۷ میلادی، یکی از اولین و موفق‌ترین نمونه مطالعات در این زمینه منتشر شد که به بازیابی پپتیدهای کلاژن از بقایای فسیلی یک حیوان منقرض شده با سن تقریبی ۶۸ میلیون سال می‌پرداخت (Asara et al., 2007). به این ترتیب، این حوزه علمی امروزه توجه زیادی را به خود جلب کرده است، زیرا پتانسیل زیادی برای ارائه دیدگاه‌های ارزشمند در مورد گذشته‌های دور دارد. این ویژگی باعث می‌شود که پروتئین‌ها یکی از ارزشمندترین ذخایر زیستی برای مطالعه تاریخ باشند و اطلاعات زیادی در مورد موجودات منقرض‌شده و محیط‌هایی که زمانی در آن‌ها زندگی می‌کردند، ارائه دهند.

همان‌گونه که شواهد علمی اثبات کرده است، پروتئین‌ها مولکول‌هایی با ساختار شیمیایی فوق‌العاده مقاوم هستند و قادر هستند برای میلیون‌ها سال باقی بمانند (Warinner et al., 2022). آن‌ها به‌عنوان بانک اطلاعات زیستی، می‌توانند از انواع مختلفی از مواد هنری، باستانی و فسیلی استخراج شوند. مطالعه‌ی پروتئین‌ها در آثار تاریخی و هنری، امکان شناسایی دقیق منشأ این ترکیبات را فراهم می‌کند. به‌عنوان مثال، موادی مانند چسب‌های حیوانی، ژلاتین، سفیده تخم‌مرغ، شیر و سایر افزودنی‌های پروتئینی، در نقاشی‌ها، نسخه‌های خطی، رنگرزی الیاف و دیگر آثار تاریخی و هنری مورد استفاده قرار گرفته‌اند. همچنین در دیگر موارد، پروتئین‌ها به‌صورت الیاف طبیعی مانند ابریشم، پشم و کرک در ساخت پارچه‌ها، زیراندازها، آثار چرمی و اشیای ساخته‌شده از پوست حیوانات استفاده شده‌اند.

تا کنون تحقیقات گسترده‌ای درباره منابع بازیابی پروتئین‌های باستانی انجام شده است. از جمله منابع بازیابی مواد پروتئینی باستانی به بست‌های

استفاده شده در نقاشی (Gatti et al., 2021, Haghghi et al., 2024)، منسوجات (Cucina et al., 2024)، استخوان‌ها (Figueiredo et al., 2012)، Buckley & Collins et al., 2002، Díaz-Cortés et al., 2024، Loy et al., 2023، Bertoglio et al., 2021، Wadsworth, 2014، Adler Biancolillo et al., 2019، Prieto-Bonete et al., 2019)، دندان‌ها (Adler et al., 2011)، Rancourt et al., 2023، Gil-Bona & Bidlack, 2020، Cappellini et al., 2019، Gibson, 2011، Açil et al., 2005)، پوسته تخم حیوانات (Demarchi et al., 2022)، انواع صدف و مرجان‌های دریایی (Demarchi et al., 2011، Baldreki et al., 2024)، Fiddymment et al., 2019) و سرامیک (Chowdhury et al., 2021)، می‌توان اشاره کرد. توانایی بازیابی و مطالعه پروتئین از چنین مواد متنوعی نشان‌دهنده کاربرد وسیع مطالعه پروتئین‌ها در زمینه‌های مختلف است و قادر است دیدگاه‌های ارزشمندی در تاریخ زیستی و فرهنگی فراهم کند. (شکل ۱)

در دهه گذشته، توالی‌های پروتئین تاریخی به‌عنوان یک منبع ارزشمند برای بازسازی روابط تبارشناسی در طول تاریخ نیز شناخته شده است (Paterson et al., 2024). این توالی‌ها دیدگاه‌هایی حیاتی در مورد تاریخ تکاملی گونه‌ها فراهم می‌کنند و رویکردی تکمیلی به DNA تاریخی برای درک واگرایی نسل‌ها و ارتباطات اجدادی ارائه می‌دهند که فراتر از دامنه مطالعات ژنتیکی صورت گرفته تا زمان حاضر است (Haynes et al., 2002، Baker et al., 2024). اگرچه طول عمر واقعی پروتئین‌ها هنوز مشخص نیست، اما مطالعات نشان داده است که پروتئین‌ها به اندازه لیپیدها در سوابق زمین‌شناسی باقی نمی‌مانند. به این معنا که لیپیدها می‌توانند پا را فراتر نهاده و مرزهای دانسته‌های ما را به دوره‌های دورتری از تاریخ زیستی گسترش دهند. نقش این نوع از مواد آلی به‌عنوان یک مستندنگاری از گذشته دور بسیار بی‌نظیر است و با توجه به تاب‌آوری و غنای اطلاعاتی‌شان، مطالعه آن‌ها بسیار مهم و مفید است (Warinner et al., 2022، Hendy et al., 2018b). استخراج اطلاعات از نمونه‌هایی که نه تنها هزاران سال بلکه میلیون‌ها سال قدمت دارند، به‌طور قابل توجهی درک ما از پویای جمعیتی گذشته، رویدادهای آمیزشی باستانی و الگوهای جمعیتی گونه‌های منقرض‌شده را افزایش می‌دهند (Van der Valk et al., 2021) نوشته شوند. برای جزئیات بیشتر در مورد مراجع به انتهای این قالب مراجعه کنید.



شکل ۱. توصیف تصویری مطالعه پروتئین تاریخی (Chahardoli, 2025)

Figure 1. Graphical design of ancient protein analysis (Chahardoli, 2025)

۲. ضرورت و اهمیت مطالعه

بازیابی داده‌های بیومولکولی، محدودیت‌های DNA باستانی را پوشش می‌دهد (Warinner et al., 2022).

از دیگر حوزه‌های نوظهور و با پتانسیل در مطالعات پروتئین‌های باستانی، استفاده از این داده‌ها برای بازسازی روابط تبارشناختی بین گونه‌هاست. از آنجا که برخی پروتئین‌ها دارای ویژگی‌های مولکولی پایدار و گونه-اختصاصی هستند، مطالعه آن‌ها می‌تواند به شناسایی پیوندهای خویشاوندی میان گونه‌های منقرض شده و گونه‌های زنده امروزی کمک کند. این رویکرد، به‌ویژه در مواردی که DNA قابل استفاده نباشد، می‌تواند به‌عنوان جایگزینی قدرتمند برای بازسازی درخت‌های تکاملی به کار رود و تصویری دقیق‌تر از تاریخچه فرگشتی موجودات زنده ارائه دهد (Buonasera et al., 2024).

برای توصیف بهتر مزایای کلیدی تحلیل پروتئین‌های باستانی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: (۱) پایداری بالای ساختار شیمیایی: همان‌گونه که پیش‌تر هم گفته شد پروتئین‌ها نسبت به DNA از مقاومت بیشتری در برابر عوامل مخرب مانند زمان، رطوبت، دما و pH برخوردارند. (۲) در مواردی که DNA به‌طور کامل تخریب شده یا قابل مطالعه نیست، پروتئین‌ها همچنان اطلاعات ارزشمندی در اختیار می‌گذارند. (۳) قدرت شناسایی بالا: برخی

یکی از دلایل کلیدی که اهمیت مطالعه پروتئین‌های باستانی را نشان می‌دهد، فرآیندهای تکاملی است؛ در واقع، این علم امکان مطالعه روابط تکاملی بین گونه‌های منقرض شده و موجود را فراهم می‌کند. اغلب مطالعه پروتئین‌های باستانی با شاخه‌خاهر آن یعنی مطالعه DNA باستانی - پالئوژنومیک (Paleogenomic) - مقایسه می‌شود. اگرچه DNA می‌تواند فرآیندهای تکاملی را با بالاترین وضوح تجزیه و تحلیل کند، اما ساختار شیمیایی پروتئین‌ها از DNA پایدارتر است، به این معنی که می‌توانند برای مدت زمان طولانی‌تری در نمونه‌های باستانی سالم باقی بمانند. این پایداری آن را به منبعی قابل اعتمادتر برای مطالعه حیات باستانی تبدیل می‌کند (Cappellini et al., 2020, Warinner et al., 2022). تاکنون هیچ داده‌ای از DNA باستانی که بیش از ۰.۴ تا ۰.۷ میلیون سال پیش منقرض شده باشند، تولید نشده است. مطالعه پروتئین‌ها در مناطق جغرافیایی که برای حفظ DNA مناسب نیستند، اهمیت بیشتری دارند؛ اما تاکنون مطالعه پروتئین‌های باستانی به اندازه مطالعه DNA باستانی توسعه نیافته است و شاخه علمی نوپاتری محسوب می‌شود. با این حال اثبات شده است که در

پروتئین‌ها دارای ویژگی‌های گونه-اختصاصی هستند و قادرند حتی تفاوت‌های بسیار ظریف میان گونه‌های نزدیک را نیز آشکار سازند. (۴) امکان بررسی شرایط زیستی و بیماری‌ها: بسیاری از پروتئین‌ها به وضعیت فیزیولوژیکی، نوع تغذیه، بیماری‌ها و استرس‌های زیستی مرتبطند و از این رو اطلاعاتی دقیق و کاربردی در اختیار پژوهشگران می‌گذارند. علاوه بر این، از آنجایی که تحلیل‌های پروتئومی اغلب به حجم کمتری از نمونه نسبت به روش‌های دیگر مانند تحلیل DNA باستانی، تحلیل ایزوتوپ‌های پایدار (Stable Isotopes) و تاریخ‌گذاری رادیوکربن نیاز دارند، استخراج پروتئین‌ها اغلب می‌تواند از مواد باقی‌مانده یا فرآورده‌های جانبی این آزمایش‌ها انجام شود (Warinner et al., 2022).

مطالعه‌ی پروتئین‌های باستانی اصول بر پایه‌ی نمونه‌های استخراج‌شده از بقایای باستان‌شناسی و فسیلی استوار است، با این هدف که بتوان پروتئین‌هایی را شناسایی کرد که در معرض تخریب‌های ناشی از عوامل محیطی و گذر زمان قرار گرفته‌اند. این رویکرد امکان دستیابی به اطلاعات زیستی ارزشمندی را فراهم می‌سازد؛ اطلاعاتی که درباره‌ی بافت‌ها یا موجوداتی هستند که امروزه دیگر زنده یا در دسترس نیستند و همچنین از طریق روش‌های مورفولوژیکی یا ساختارشناسی نیز قابل دستیابی نمی‌باشند (Warinner et al., 2022). کاربردهای اصلی این شاخه از مطالعات تاکنون شامل موارد متعددی بوده است. از جمله می‌توان به شناسایی گونه‌ها از طریق تحلیل استخوان‌های ناشناخته اشاره کرد (Buckley, 2018, Richter et al., 2022). همچنین، از این روش برای تعیین جنسیت نمونه‌های انسانی یا جانوری استفاده شده است (Stewart et al., 2017, Parker et al., 2019). از دیگر کاربردهای مهم، تحلیل پروتئین‌های حفظ‌شده در لایه‌ی جرم دندانی است که به‌طور مؤثری در بازسازی و مطالعه‌ی رژیم‌های غذایی جوامع باستانی به کار رفته‌اند (Charlton et al., 2019, Hendy et al., 2018, Jersie-Christensen et al., 2018). در ادامه، این پروتئین‌ها همچنین قادر هستند اطلاعات ارزشمندی درباره‌ی سن‌گذاری نمونه‌ها ارائه دهند. این امر از طریق به‌کارگیری روش‌هایی مانند تاریخ‌گذاری رادیوکربن (C^{14}) و فرآیند ناگردانش شدن (Racemization) اسیدهای آمینه امکان‌پذیر است (Demarchi et al., 2011, Dickinson et al., 2019).

از سوی دیگر آنالیز ایزوتوپ‌های پایدار و ارتباط آن با پروتئین‌های تاریخی را نمی‌توان نادیده گرفت. تحلیل ایزوتوپ‌های پایدار شامل اندازه‌گیری نسبت ایزوتوپ‌های غیررادیواکتیو مانند کربن ($\delta^{13}C / \delta^{12}C$)، نیتروژن ($\delta^{15}N / \delta^{14}N$)، اکسیژن ($\delta^{18}O / \delta^{16}O$) و گوگرد ($\delta^{34}S / \delta^{32}S$) در مولکول‌های زیستی است که برای بازسازی شرایط محیطی گذشته، رژیم غذایی و فرآیندهای فیزیولوژیکی به کار می‌رود. در مطالعات پروتئین‌های تاریخی، نسبت‌های ایزوتوپی موجود در پروتئین‌های پایدار مانند کلاژن،

اطلاعات ارزشمندی درباره سطح تروفیکی، الگوهای تغذیه‌ای و مهاجرت موجودات باستانی فراهم می‌کند. برخلاف تحلیل ایزوتوپ کل نمونه، تحلیل ایزوتوپ ترکیبات خاص (Compound-specific isotope analysis (CSIA)) که اسیدهای آمینه منفرد استخراج شده از پروتئین‌ها را هدف می‌گیرد، تفکیک‌پذیری بالاتری برای شناسایی منابع غذایی و مسیرهای متابولیکی ارائه می‌دهد. ترکیب ایزوتوپی نیتروژن موجود در مواد آلی پیوند یافته با ساختارهای معدنی در اسکلت‌های فسیلی (مانند مرجان‌ها، مینای دندان و غیره) به‌عنوان منبعی قابل اعتماد از الگوی ایزوتوپی اولیه ارگانسیم‌ها شناخته شده است؛ چراکه این ساختارها توانایی مقاومت در برابر تجزیه و تغییرات محیطی را برای هزاران تا میلیون‌ها سال دارند (Lüdecke et al., 2018, Lüdecke et al., 2022, Leichliter et al., 2023).

به‌طور مثال، بررسی نسبت‌های کربن و نیتروژن در پیتیدهای کلاژن می‌تواند نشان دهد که آیا حیوان باستانی بیشتر از منابع گیاهی زمینی یا منابع دریایی تغذیه کرده است، یا اینکه جمعیت انسانی رژیم غذایی غنی از پروتئین را در زیست‌بوم‌های خاص داشته‌اند. همچنین، ایزوتوپ‌های اکسیژن و گوگرد می‌توانند منشأ آب مصرفی و موقعیت جغرافیایی نمونه‌ها را مشخص کنند، اطلاعاتی که مکمل شناسایی گونه‌ها از طریق توالی پروتئین‌ها به شمار می‌رود (Eriksson et al., 2008, Tutken et al., 2013, Linderholm et al., 2014, Lugli et al., 2019).

این رویکرد چند رشته‌ای به‌طور چشمگیری در بازسازی شیوه‌های زندگی، استراتژی‌های معیشتی و الگوهای زیست‌جغرافیایی گذشته مؤثر است و تحلیل ایزوتوپ‌های پایدار را به ابزاری ضروری در کنار آنالیز پروتئین‌های تاریخی تبدیل کرده است. با پیشرفت مداوم فناوری آنالیزی، این روش‌ها به‌طور فزاینده‌ای دقیق‌تر شده‌اند و چشم‌اندازهای تازه‌ای را برای درک تاریخچه زیست‌محیطی، تکامل انسان و جانوران گشوده‌اند.

۳. پروتئین‌های تاریخی

پروتئین‌ها در ریبوزوم‌ها سنتز می‌شوند و شامل پیتیدها هستند که با متراکم شدن گروه‌های آمینو و کربوکسیل از دو اسید آمینه مختلف و حذف مولکول آب و تشکیل پیوند آمیدی ($-CO-NH-$) می‌شود که به آن پیوند پپتیدی گفته می‌شود که منجر به از دست رفتن یک مولکول آب می‌شود (Demarchi, 2020). از میان مجموعه وسیعی از اسیدهای آمینه طبیعی، گروه خاصی از ۲۰ اسید آمینه به‌عنوان اجزای اصلی و مسئول ساخت پروتئین‌ها در نظر گرفته می‌شوند. در واقع، ۲۰ اسید آمینه اصلی که بلوک‌های سازنده پروتئین‌ها را تشکیل می‌دهند، ساختار مشخصی دارند که هرکدام شامل یک گروه آمینو اولیه (NH_2)، یک گروه کربوکسیل ($COOH$) و یک اتم کربن آلفا (α -carbon) هستند (Demarchi, 2020). این ۲۰ اسید آمینه عبارتند از: آلانین (Ala)، آرژنین (Arg)، آسپاراژین

(Asn)، اسید آسپارتیک (Asp)، سیستین (Cys)، اسید گلوتامیک (Glu)، گلوتامین (Gln)، گلیسین (Gly)، هیستیدین (His)، ایزولوسین (Ile)، لوسین (Leu)، لایسین (Lys)، متیونین (Met)، فنیل آلانین (Phe)، پرولین (Pro)، سرین (Ser)، ترئونین (Thr)، تریپتوفان (Trp)، تایروسین (Tyr)، والین (Val). این اسیدهای آمینه به عنوان بلوک‌های سازنده اصلی برای ساخت مجموعه‌ای از پروتئین‌های مختلف که برای عملکردها و فرآیندهای بیولوژیکی در موجودات زنده ضروری هستند، خدمت می‌کنند. ترتیب و چینش این اسیدهای آمینه در زنجیره پروتئین ساختار و عملکرد آن را تعیین می‌کند و در نهایت نقش خاص آن را در فعالیت‌های سلولی تعیین می‌کند. به جز گلیسین، تمام این اسیدهای آمینه خواص دست‌سازنی (Chirality) دارند، به این معنی که در دو فرم آینه‌ای به نام‌های ایزوفورم‌های D و L وجود دارند (Hendy et al., 2012, Dickinson et al., 2019). به طور کلی، پپتیدها معمولاً بین دو تا بیست اسید آمینه طول دارند (Demarchi, 2020).

پروتئین‌های باستانی به چند گروه تقسیم می‌شوند (الف) کلاژن‌ها: استخوان، دندان، شاخ، عاج، پاپیروس، چرم و غیره؛ (ب) کراتین‌ها و بتا پروتئین‌ها: پشم، مو، پر، استخوان نهنگ و پوسته لاک‌پشت؛ (ج) فیبروئین: ابریشم؛ (د) آملوژنین: طبقه‌بندی جنسیتی انسان‌ها و سایر پستانداران. این کاربردها، انعطاف‌پذیری تحلیل پروتئومیک در کشف اطلاعات ارزشمند از مواد باستانی و منابع بیولوژیکی مختلف را نشان می‌دهند (Warinner et al., 2022).

کلاژن نوع یک (COL1) پایدارترین پروتئین در استخوان است که بیش از ۸۰٪ پروتئوم استخوان و تقریباً ۲۰-۳۰٪ از کل جرم استخوان تازه را تشکیل می‌دهد. دوام بسیار زیاد آن ناشی از ترکیب با مواد معدنی سنگین و ساختار منحصر به فرد آن—یک ترکیب پیچیده سه‌گانه پایدار است (Warinner et al., 2022). آنچه بیش از هر چیز این مولکول‌ها را حائز اهمیت می‌کند نحوه قرارگیری آن‌ها در ساختار بلوری است. در واقع آن‌ها به دو شکل وجود دارند؛ پروتئین‌های درون‌بلوری (Intra-crystalline) که این پروتئین‌ها در طی فرآیند زیست‌معدنی‌سازی (Biomineralization) درون شبکه بلوری مواد معدنی محبوس می‌شوند؛ و توسط ساختار بلوری اطراف خود به خوبی محافظت می‌شوند. این نوع از حفاظت، نرخ تجزیه پایین‌تر و قابل پیش‌بینی‌تری دارند و برای مطالعات تاریخ‌گذاری مانند راسمیزه شدن اسیدهای آمینه و آنالیز پروتئین‌های باستانی بسیار مناسب‌اند؛ زیرا تغییرات شیمیایی تنها ناشی از فرآیندهای درونی هستند، نه از آلودگی یا نفوذ مواد بیرونی. پروتئین‌های درون‌بلوری معمولاً مانند سیستم بسته (Closed-System) رفتار می‌کنند، به این صورت که در این سیستم هیچ‌گونه تبادل بین ماده و محیط خارجی رخ نمی‌دهد. وضعیت دوم پروتئین‌های

میان‌بلوری (Inter-crystalline) هستند. این پروتئین‌ها در سطح یا فضای بین بلورها قرار دارند و در ساختار بلوری داخلی محبوس نیستند. این پدیده که به سیستم باز (Open-System) معروف است، تبادل مواد با محیط بیرونی امکان‌پذیر است. به آسانی در معرض عوامل محیطی مانند رطوبت، دما و فعالیت‌های میکروبی قرار دارند. سریع‌تر تجزیه می‌شوند و ممکن است پروتئین‌ها دچار آلودگی شوند. در نهایت برای مطالعات بلندمدت یا تاریخ‌گذاری کمتر قابل اعتماد هستند (Warinner et al., 2022, Demarchi, 2020).

تجزیه پروتئین‌ها عمدتاً توسط باکتری‌ها از طریق هضم آنزیمی انجام می‌شود، فرایندی که نسبتاً سریع رخ می‌دهد. تنها بخش کوچکی از آن در سوابق باستان‌شناسی پیش‌بینی می‌شود که باقی بماند، در واقع، آن‌هایی که معمولاً با مواد معدنی ترکیب شده و یا آن دسته از پروتئین‌ها که دارای ویژگی‌های خاصی هستند، شانس دوام آوردن دارند. به دلیل ویژگی‌های متنوع پروتئین‌ها - از جمله تفاوت‌ها در ترکیب، خواص شیمیایی، اندازه، شکل، عملکرد و اینکه آیا در بافت‌های معدنی شده گنجانده شده‌اند یا خیر - عوامل دفن که بر تجزیه پروتئین‌ها پس از مرگ و فساد آن‌ها تأثیر می‌گذارند، بسیار متغیر هستند. پروتئین‌ها از یک فرایند تجزیه گام به گام عبور می‌کنند، ابتدا به پپتیدها، سپس به اسیدهای آمینه آزاد و در نهایت به مولکول‌های کوچک‌تر مانند اسیدهای آلیفاتیک و هیدروکربن‌ها تجزیه می‌شوند. این توالی منعکس‌کننده شکست تدریجی ساختار پروتئین است، جایی که پپتیدها به اسیدهای آمینه تجزیه می‌شوند که سپس به ترکیبات آلی ساده‌تر تبدیل می‌شوند (Warinner et al., 2022, Demarchi, 2020).

۴. روش‌های آزمایشگاهی برای مطالعه و تحلیل

در سال‌های اخیر، آنالیز پروتئین‌های تاریخی به یکی از روش‌های پیشرفته و قابل اعتماد در مطالعات باستان‌شناسی و زیست‌باستان‌شناسی تبدیل شده است و مطالعه پروتئین‌های تاریخی به عنوان شاخه‌ای نوظهور از زیست‌باستان‌شناسی رشد چشمگیری داشته است. مهم‌ترین کاربرد تعریف شده برای آن تا به امروز، شناسایی دقیق گونه‌های جانوری و انسانی در نمونه‌هایی است که DNA آن‌ها تخریب شده یا به سطحی رسیده که بازبازی آن ممکن نیست. امروزه گسترده‌ترین کاربردهای طیف‌سنجی جرم (Mass Spectrometry) پروتئین‌ها در باستان‌شناسی شامل دو روش اصلی هستند: یکی از اصلی‌ترین روش‌های مورد استفاده در این حوزه، طیف‌سنجی جرمی است، به‌ویژه با بهره‌گیری از روش‌هایی مانند کروماتوگرافی مایع - طیف‌سنجی جرمی تاندم (LC-MS/MS) که امکان شناسایی دقیق توالی پپتیدها را فراهم می‌کند. این روش برای شناسایی طیف گسترده‌ای از پروتئین‌ها با مقادیر بسیار کم در ترکیبات پیچیده بهره می‌برد. در این روش، نمونه‌هایی همچون استخوان، دندان، پوست، یا بقایای غذایی ابتدا استخراج

و آماده‌سازی شده و سپس پپتیدهای حاصل از طریق طیف‌سنجی مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرند. از جمله کاربردهای شاخص این روش در مطالعات می‌توان به بازسازی توالی پروتئین‌های فرگشتی، شناسایی گونه‌های جانوری در نمونه‌های باستانی و حتی تعیین جنسیت انسان‌های نئاندرتال اشاره کرد (Demarchi, 2020, Warinner et al., 2022).

افزون بر کروماتوگرافی مایع — طیف‌سنجی جرمی تاندم، روش‌هایی مانند جانور باستان‌شناسی با استفاده از طیف‌سنجی جرمی (Zooarcheology by Mass Spectrometry (ZooMS)) نیز توسعه یافته‌اند. در این روش با بهره‌گیری از روش طیف‌سنجی پرواز زمانی با یونش/زدایش لیزری با کمک ماتریکس (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF)) گونه‌های جانوری را بر اساس الگوهای جرمی پپتیدهای کلاژن شناسایی می‌کند و به‌ویژه در تحلیل استخوان‌های فاقد ویژگی‌های متمایز ریخت‌شناسی کاربرد دارد. این روش بیشتر برای اثر انگشت جرمی پپتیدها در کلاژن‌ها، کراتین‌ها و سایر پروتئین‌های با فراوانی بالا استفاده می‌شود. همچنین، روش‌هایی مانند الایزا (ELISA) که بر پایه اتصال آنتی‌بادی‌ها به پروتئین‌ها عمل می‌کنند، در برخی مطالعات به‌کار گرفته شده‌اند؛ اگرچه از نظر حساسیت، در مقایسه با روش‌های طیف‌سنجی محدودیت‌هایی دارند. تحلیل‌های مکملی مانند آنالیز آمینواسیدها و بررسی راسمیزه شدن اسید آمینه‌ها نیز برای ارزیابی میزان حفاظت پروتئین‌ها و تخمین نسبی سن نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Gibson, 2011, Demarchi et al., 2011, Hندی et al., 2012, Dickinson et al., 2019).

۵. نتیجه‌گیری

با استناد به تمامی شواهد علمی موجود و با مروری مختصر بر مقالات و دیدگاه‌های ثبت‌شده تاکنون، می‌توان به روشنی اذعان داشت که مطالعه‌ی مواد آلی باقی‌مانده در آثار برجای مانده از تاریخ، جایگاهی بی‌بدیل در بازسازی گذشته و تعمیق درک ما از دوره‌های گوناگون باستانی و تاریخ طبیعی دارد. این پژوهش‌ها، در عرصه‌های باستان‌شناسی، باستان‌سنجی و زمین‌شناسی،

ابزارهایی قدرتمند در اختیار ما قرار داده‌اند تا بتوانیم به اعماق تاریخ، حتی تا میلیون‌ها سال پیش، سفر کنیم و از این رهگذر، به گنجینه‌ای گسترده از اطلاعات دست یابیم. این اطلاعات نه تنها ابعاد زیست‌محیطی، بلکه حوزه‌های سلامت انسان و دیگر موجودات زنده را نیز در بر می‌گیرند. مطالعه‌ی این بقایای آلی، به ما امکان می‌دهند تا شرایط محیطی، فرآیندهای تکاملی و زیست‌بوم‌های گذشته را بازسازی کرده و نگاهی جامع‌تر و دقیق‌تر به تاریخ و تحولات مناظر طبیعی و انسانی بیفکنیم. این رویکرد پژوهشی، راهی نوین برای دسترسی به اطلاعات مولکولی در نمونه‌های بسیار قدیمی یا آسیب‌دیده فراهم کرده و به‌عنوان ابزاری کلیدی در بازسازی دقیق‌تر تاریخ تکامل، الگوهای تغذیه، بیماری‌ها، فناوری‌های باستانی و تعاملات انسان با محیط طبیعی شناخته می‌شود. ترکیب ویژگی‌هایی چون پایداری مولکولی و دقت بالا، تحلیل پروتئین‌ها را به پیش‌قراول مطالعات زیست باستان‌شناسی در قرن بیست‌ویک بدل ساخته است. به‌طور خلاصه، آنالیز پروتئین‌های تاریخی نه تنها موجب تعمیق فهم ما از گذشته شده، بلکه این درک را به شکلی دقیق‌تر، مستندتر و علمی‌تر ارائه داده است. در حالی که بیشتر تحقیقات انجام‌شده در زمینه‌ی پروتئین‌های باستانی طی دو دهه‌ی اخیر ماهیتی اکتشافی داشته‌اند، اما داده‌های حاصل از آن‌ها بستری ارزشمند برای طرح پرسش‌های بزرگ‌تر و هدفمندتر در آینده فراهم آورده‌اند. با توجه به این اهمیت، می‌توان امیدوار بود که این گرایش علمی در مجامع پژوهشی ایران نیز گسترش بیشتری یابد و زمینه‌ساز ایجاد بانک‌های اطلاعاتی گسترده‌تری در شناخت هنر و فرهنگ، زیست‌بوم‌ها و جوامع انسانی گذشته گردد.

مشارکت نویسندگان: این مقاله تنها یک نویسنده دارد و تمامی نقش‌ها اعم از مفهوم‌سازی، تحقیق و بررسی، روش‌شناسی، مدیریت پروژه، منابع، نوشتن پیش‌نویس اصلی، بررسی و ویرایش توسط این نویسنده انجام شده است.
تضاد منافع: نویسنده هیچ‌گونه تضاد منافع را اعلام نمی‌کند.
تأمین مالی: این مقاله دارای هیچ‌گونه حمایت مالی نیست.
دسترسی به داده‌ها و مواد: مجموعه داده‌های توصیف شده و/یا تحلیل شده در طول پژوهش حاضر در بخش منابع و ماخذ قابل دسترسی و پیگیری هستند.

References

- Açil, Y., Mobasser, A. E., Warnke, P. H., Terheyden, H., Wiltfang, J., & Springer, I. (2005). Detection of mature collagen in human dental enamel. *Calcified Tissue International*, 76(2), 121–126. <https://doi.org/10.1007/s00223-004-0122-0>
- Adler, C. J., Haak, W., Donlon, D., & Cooper, A. (2011). Survival and recovery of DNA from ancient teeth and bones. *Journal of Archaeological Science*, 38(5), 956–964. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.11.010>
- Asara, J. M., Schweitzer, M. H., Freimark, L. M., Phillips, M., & Cantley, L. C. (2007). Protein sequences from mastodon and *Tyrannosaurus rex* revealed by mass spectrometry. *Science*, 316(5822), 280–285. <https://doi.org/10.1126/science.1137614>
- Baker, K. H., Gray, H. W. I., Lister, A. M., Spassov, N., Welch, A. J., Trantalidou, K., De Cupere, B., Bonillas, E., De Jong, M., Çakırlar, C., Sykes, N., & Hoelzel, A. R. (2024). Ancient and modern DNA track temporal and spatial population dynamics

- in the European fallow deer since the Eemian interglacial. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48112-6>
- Baldreki, C., Burnham, A., Conti, M., Wheeler, L., Simms, M. J., Barham, L., White, T. S., & Penkman, K. (2024). Investigating the potential of African land snail shells (Gastropoda: Achatininae) for amino acid geochronology. *Quaternary Geochronology*, 79, 101473. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2023.101473>
- Bertoglio, B., Messina, C., Cappella, A., Maderna, E., Mazzarelli, D., Lucheschi, S., Sardaneli, F., Sconfienza, L. M., Sforza, C., & Cattaneo, C. (2021). Bone tissue preservation in seawater environment: a preliminary comparative analysis of bones with different post-mortem histories through anthropological and radiological perspectives. *International Journal of Legal Medicine*, 135(6), 2581–2594. <https://doi.org/10.1007/s00414-021-02636-6>
- Biancolillo, A., Tomassetti, M., Bucci, R., Izzo, S., Candilio, F., & Marini, F. (2019). Ancient human bones studied and compared by near infrared spectroscopy, thermogravimetry and chemometrics. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 27(1), 6–14. <https://doi.org/10.1177/0967033518819417>
- Buckley, M. (2014). Proteome degradation in ancient bone: Diagenesis and phylogenetic potential. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 416, 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2014.06.026>
- Buckley, M. (2018). Zooarchaeology by mass spectrometry (ZooMS) collagen fingerprinting for the species identification of archaeological bone fragments. In C. Giovas & M. LeFebvre (Eds.), *Zooarchaeology in Practice* (pp. 209–224). Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-64763-0-12>
- Buonassera, T., Eerkens, J., Malarchik, D., Panich, L. M., Canzonieri, C., Zimmer, C., Clough, C., Ostrander, T., Sutton, A., Salemi, M., & Parker, G. (2024). Immune proteins recovered in tooth enamel as a biochemical record of health in past populations: Paleoproteomic analysis of Mission Period Native Californians. *Journal of Archaeological Science*, 171, 106069. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2024.106069>
- Cappellini, E., Prohaska, A., Racimo, F., Welker, F., Pedersen, M. W., Allentoft, M. E., De Barros Damgaard, P., Gutenbrunner, P., Dunne, J., Hammann, S., Roffet-Salque, M., Ilardo, M., Víctor Moreno-Mayar, J., Wang, Y., Sikora, M., Vinner, L., Urgan Cox, J., Evershed, R. P., & Willerslev, E. (2018). Ancient biomolecules and evolutionary inference. *Annual Review of Biochemistry*, 87, 913–942. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-062917-012224>
- Cappellini, E., Welker, F., Pandolfi, L., Ramos-Madrigal, J., Samodova, D., Rütger, P. L., Fotakis, A. K., Lyon, D., Moreno-Mayar, J. V., Bukhsianidze, M., Rakownikow, J., Christensen, R., Mackie, M., Ginolhac, A., Ferring, R., Tappen, M., Palkopoulou, E., Dickinson, M. R., Stafford, T. W., Chan, Y. L., ... Willerslev, E. (2019). Early Pleistocene enamel proteome from Dmanisi resolves *Stephanorhinus* phylogeny. *Nature*, 574(7776), 103–107. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1555-y>
- Chahardoli, Z. (2025). *Development of New Analytical Methods for Characterization of Organic Components in Art and Archeological Samples* [Doctoral dissertation, University of Bologna]. Department of Chemistry.
- Chowdhury, M. P., Campbell, S., & Buckley, M. (2021). Proteomic analysis of archaeological ceramics from Tell Khaiber, southern Iraq. *Journal of Archaeological Science*, 132, 105414. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2021.105414>
- Collins, M. J., Nielsen-Marsh, C. M., Hiller, J., Smith, C. I., Roberts, J. P., Prigodich, R. V., Wess, T. J., Csapò, J., Millard, A. R., & Turner-Walker, G. (2002). The survival of organic matter in bone: A review. *Archaeometry*, 44(3), 383–394. <https://doi.org/10.1111/1475-4754.t01-1-00071>
- Cucina, A., Schmidt, A. L., Di Gianvincenzo, F., Mackie, M., Dove, C., Jakobsen, A. R., Grønnow, B., Appelt, M., & Cappellini, E. (2024). Paleoproteomic identification of the species used in fourteenth century gut-skin garments from the archaeological site of Nuullit, Greenland. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63243-0>
- Demarchi, B. (2020). *Amino Acids and Proteins in Fossil Biominerals: An Introduction for Archaeologists and Palaeontologists*. Wiley.
- Demarchi, B., Rogers, K., Fa, D. A., Finlayson, C. J., Milner, N., & Penkman, K. E. H. (2013). Intra-crystalline protein diagenesis (IcPD) in *Patella vulgata*. Part I: Isolation and testing of the closed system. *Quaternary Geochronology*, 16, 144–157. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2012.03.016>
- Demarchi, B., Stiller, J., Grealy, A., Mackie, M., Deng, Y., Gilbert, T., Clarke, J., Legendre, L. J., Boano, R., Slicherz-Pontén, T., Magee, J., Zhang, G., Bunce, M., Collins, M. J., Miller, G., & Dolores Piperno, M. R. (2022). Ancient proteins resolve controversy over the identity of *Genyornis* eggshell. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(7), e2109326119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2109326119>
- Demarchi, B., Williams, M. G., Milner, N., Russell, N., Bailey, G., & Penkman, K. (2011). Amino acid racemization dating of marine shells: A mound of possibilities. *Quaternary International*, 239(1–2), 114–124. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2010.05.029>
- Díaz-Cortés, A., Del Valle, H., López-Polín, L., Otero, J., Cáceres, I., Valtierra, N., Pineda, A., Saladié, P., & Vallverdú, J. (2024). Diagnosis of archaeological bones: Analyzing the state of conservation of lower Pleistocene bones through diagenesis methods. *Microchemical Journal*, 206, 111353. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.111353>
- Dickinson, M. R., Lister, A. M., & Penkman, K. E. H. (2019). A new method for enamel amino acid racemization dating: A closed system approach. *Quaternary Geochronology*, 50, 29–46. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2018.11.005>
- Dickinson, M. R., Scott, K., Adams, N. F., Lister, A. M., & Penkman, K. E. H. (2024). Amino acid dating of pleistocene mammalian enamel from the river thames terrace sequence: A multi-taxon approach. *Quaternary Geochronology*, 82, 101543. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2024.101543>
- Eriksson, G., Linderholm, A., Fornander, E., Kanstrup, M., Schoultz, P., Olofsson, H., & Lidén, K. (2008). Same island, different diet: cultural evolution of food practice on Öland, Sweden, from the Mesolithic to the Roman Period. *Journal of Anthropological Archaeology*, 27(4), 520–543. <https://doi.org/10.1016/j.jaa.2008.08.004>
- Fiddymont, S., Teasdale, M. D., Vnouček, J., Lévêque, É., Binois, A., & Collins, M. J. (2019). So you want to do biocodicology? A field guide to the biological analysis of parchment. *Heritage Science*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s40494-019-0278-6>
- Figueiredo, M. M., Gamelas, J. A. F., & Martins, A. G. (2012). Characterization of bone and bone-based graft materials using FTIR spectroscopy. In *Bone Grafting* (pp. 143–162). InTech. <https://doi.org/10.5772/36379>
- Gatti, L., Troiano, F., Vacchini, V., Cappitelli, F., & Balloi, A. (2021). An *in vitro* evaluation of the biocidal effect of oregano

- and cloves' volatile compounds against microorganisms colonizing an oil painting—a pioneer study. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(1), 78. <https://doi.org/10.3390/app11010078>
- Gibson, C. W. (2011). The amelogenin proteins and enamel development in humans and mice. *Journal of Oral Biosciences*, 53(3), 248–256. <https://doi.org/10.2330/joralbiosci.53.248>
- Gil-Bona, A., & Bidlack, F. B. (2020). Tooth enamel and its dynamic protein matrix. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(12), 4458. <https://doi.org/10.3390/ijms21124458>
- Haghighi, Z., Mackie, M., Apalnes Ørnhoi, A., Ramsøe, A., Olstad, T. M., Armitage, S. J., Henshilwood, C. S., & Cappellini, E. (2024). Palaeoproteomic identification of the original binder and modern contaminants in distemper paints from Uvdal stave church, Norway. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63455-4>
- Haynes, S., Searle, J. B., Bretman, A., & Dobney, K. M. (2002). Bone preservation and ancient DNA: The application of screening methods for predicting DNA survival. *Journal of Archaeological Science*, 29(6), 585–592. <https://doi.org/10.1006/jasc.2001.0731>
- Hendy, E. J., Tomiak, P. J., Collins, M. J., Hellstrom, J., Tudhope, A. W., Lough, J. M., & Penkman, K. E. H. (2012). Assessing amino acid racemization variability in coral intra-crystalline protein for geochronological applications. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 86, 338–353. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2012.02.020>
- Hendy, J., Colonese, A. C., Franz, I., Fernandes, R., Fischer, R., Orton, D., Lucquin, A., Spindler, L., Anvari, J., Stroud, E., Biehl, P. F., Speller, C., Boivin, N., Mackie, M., Jersie-Christensen, R. R., Olsen, J. V., Collins, M. J., Craig, O. E., & Rosenstock, E. (2018). Ancient proteins from ceramic vessels at Çatalhöyük West reveal the hidden cuisine of early farmers. *Nature Communications*, 9(1), 4713. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06335-6>
- Hendy, J., Welker, F., Demarchi, B., Speller, C., Warinner, C., & Collins, M. J. (2018). A guide to ancient protein studies. *Nature Ecology and Evolution*, 2(5), 791–799. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0510-x>
- Leichtner, J. N., Lüdecke, T., Foreman, A. D., Bourgon, N., Duprey, N. N., Vonhof, H., Souksavady, V., Bacon, A. M., Sigman, D. M., Tütken, T., & Martínez-García, A. (2023). Tooth enamel nitrogen isotope composition records trophic position: a tool for reconstructing food webs. *Communications Biology*, 6(1), 382. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04744-y>
- Linderholm, A., Fornander, E., Eriksson, G., Mörth, C-M., & Lidén, K. (2014). Increasing Mobility at the Neolithic/Bronze Age Transition - sulphur isotope evidence from Öland, Sweden. *Internet Archaeology*, 37. <https://doi.org/10.11141/ia.37.10>
- Loy, C., Brock, F., & Dyer, C. (2023). Investigating diagenesis of archaeological bones from Etton Causewayed enclosure, UK. *Quaternary International*, 660, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2022.12.012>
- Lüdecke, T., Kullmer, O., Wacker, U., Sandrock, O., Fiebig, J., Schrenk, F., & Mulch, A. (2018). Dietary versatility of Early Pleistocene hominins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(52), 13330–13335. <https://doi.org/10.1073/pnas.1809439115>
- Lüdecke, T., Leichtner, J. N., Aldeias, V., Bamford, M. K., Biro, D., Braun, D. R., Capelli, C., Cybulski, J. D., Duprey, N. N., Ferreira da Silva, M. J., Foreman, A. D., Habermann, J. M., Haug, G. H., Martínez, F. I., Mathe, J., Mulch, A., Sigman, D. M., Vonhof, H., Bobe, R., ... Martínez-García, A. (2022). Carbon, nitrogen, and oxygen stable isotopes in modern tooth enamel: A case study from Gorongosa National Park, central Mozambique. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 958032. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.958032>
- Lugli, F., Cipriani, A., Capocchi, G., Ricci, S., Boschini, F., Boscato, P., Iacumin, P., Badino, F., Mannino, M. A., Talamo, S., Richards, M. P., Benazzi, S., & Ronchitelli, A. (2019). Strontium and stable isotope evidence of human mobility strategies across the Last Glacial Maximum in southern Italy. *Nature Ecology & Evolution*, 3(6), 905–911. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-0900-8>
- Paterson, R. S., Mackie, M., Capobianco, A., Heckeberg, N. S., Munir, F., Patramanis, I., Ramos-Madrigal, J., Liu, S., Ramsøe, D., Dickinson, M. R., Baldreki, C., Gilbert, M., Sardella, R., Scorrano, G., Racimo, F., Willerslev, E., Penkman, K. E., Olsen, J. V., MacPhee, R. DE, ... Sinclair Paterson, R. (2024). A 20+ Ma old enamel proteome from Canada's High Arctic reveals diversification of Rhinocerotidae in the middle Eocene-Oligocene. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.06.07.597871>
- Prieto-Bonete, G., Pérez-Cárceles, M. D., Maurandi-López, A., Pérez-Martínez, C., & Luna, A. (2019). Association between protein profile and postmortem interval in human bone remains. *Journal of Proteomics*, 192, 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.jpro.2018.08.008>
- Rancourt, A. C., Sainte-Marie, S., Blackmore, V., & Currie, K. A. (2023). Evaluation of low-cost bone and teeth processing methods for automated DNA extraction. *Forensic Science International: Reports*, 8, 100328. <https://doi.org/10.1016/j.fsir.2023.100328>
- Tütken, T., Kaiser, T. M., Vennemann, T., & Merceron, G. (2013). Opportunistic Feeding Strategy for the Earliest Old World Hipsodont Equids: Evidence from Stable Isotope and Dental Wear Proxies. *PLoS ONE*, 8(9), e74463. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074463>
- Van Der Valk, T., Pečnerová, P., Díez-del-Molino, D., Bergström, A., Oppenheimer, J., Hartmann, S., Xenikoudakis, G., Thomas, J. A., Dehasque, M., Sağlıcan, E., Fidan, F. R., Barnes, I., Liu, S., Somel, M., Heintzman, P. D., Nikolskiy, P., Shapiro, B., Skoglund, P., Hofreiter, M., ... Dalén, L. (2021). Million-year-old DNA sheds light on the genomic history of mammoths. *Nature*, 591(7849), 265–269. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03224-9>
- Warinner, C., Kozow Richter, K., & Collins, M. J. (2022). Paleoproteomics. *Chemical Reviews*, 122(16), 13401–13446. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00703>

Chahardoli, Z. (2025). The Importance of Paleoproteomics as a Bio Archive of the Artworks, Archeological, and Paleontological Remains. *Journal of research on Archaeometry*, 11(1), 459. DOI: 10.61882/jra.2025.11.111