

Archeogenetika – mitochondriální DNA a migrace *Homo sapiens*

“...from a genomic perspective, we are all Africans, either living in Africa or in quite recent exile outside Africa”¹

■ Viktor ČERNÝ

Archeologický ústav
AV ČR, Praha, v. v. i.

Archeogenetika

V září 1999 se na konferenci v Cambridge nazvané *Human Diversity in Europe and Beyond: Retrospect and Prospects* zrodila nová etapa populačně genetického výzkumu označená jako archeogenetika (Renfrew – Boyle 2000). V té době se totiž začalo v mnohem větším měřítku využívat molekulárně genetických analýz současných populací, především pak mitochondriální DNA (mtDNA), pro poznání naší dávné historie. Na tomto dění se podílí i Archeologický ústav AVČR v Praze, kde byla krátce poté založena archeogenetická laboratoř (obr. 1). Díky odhadům mutační rychlosti mtDNA je totiž možné datovat – což je pro archeologii podstatné – období vzniku fylogeneticky příbuzných mtDNA sekvencí (tzv. haploskupin). Vznik haploskupin je přitom přisuzován pravěkým demografickým expanzím, díky nimž se nové mutace mohly v populaci našich předků fixovat. Obr. 2 představuje schematický náčrtek, jak za příznivých přírodních podmínek umožňujících rychlý demografický růst dává jedna původní (ancestrální) DNA sekvence vznik celé skupině jí příbuzných, fylogeneticky mladších sekvencí lišících se výskytem těch či oněch mutací. Geografické rozložení starších (původních) vs. mladších (odvozených) sekvencí pak odráží i to, zda se demografická expanze odehrávala v menším uzavřeném prostoru nebo zda byly některé linie zaneseny i do vzdálenějších oblastí. Z uvedeného vyplývá, že archeogenetika coby nový směr bádání o pravěku

má výrazně mezioborový charakter. Její výsledky lze porovnávat nejen s výsledky archeologickými, ale např. i paleoklimatologickými nebo lingvistickými; celkově tak tato disciplína pomáhá vytvořit ucelenější obraz naší dávné historie.

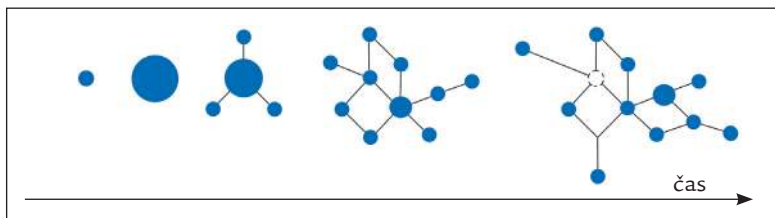
Teze vzniku anatomicky moderních lidí

Nejdůležitější otázkou při pátrání po počátcích současné biologické diverzity Eurasie je původní příspěvek afrických populací. Již v minulém století byly zformulovány dvě základní teze. Podle první teorie (označované jako multiregionální)

došlo k podobnému biologickému vývoji ve všech oblastech, kam se před bezmála 2 miliony let rozšířil *Homo erectus*. Naproti tomu podle teorie jediného původu, známé jako *Out of Africa*, vznikl anatomicky moderní *Homo sapiens* jen v Africe, a to nejdříve před ~ 200 tis. lety. Z Afriky se moderní člověk později rozšířil do Eurasie, kde vytlačil a vbrzku zcela nahradil původní populace – v Evropě neandrtálce, v Asii i relikty dnes ještě poměrně málo známých populací. Tato druhá teorie (příp. některá její varianta) je dnes uznávána širokým okruhem antropologů a podle převažujícího názoru proběhl vývoj



■ Obr. 1 Archeogenetická laboratoř Archeologického ústavu AVČR, Praha, v. v. i. Do archeogenetických projektů jsou zapojováni studenti katedry antropologie a genetiky člověka PřF UK Praha, kteří zde zároveň pracují i na svých diplomových nebo disertačních pracích. Jde o jednu z mnoha forem spolupráce mezi archeologií a přírodními vědami.



■ Obr. 2 Schematický náčrtek vzniku a stárnutí haploskupiny. Za klimaticky příznivých podmínek dochází k populační expanzi, během níž se jedna původní (ancestrální) DNA sekvence (bod vlevo) v populaci množí (větší bod). Po nějakém čase ale začíná přirozeně mutovat a rozpadá se do sekvencí příbuzných. Postupně vzniká celá řada příbuzných, fylogeneticky mladších sekvencí (haplotypů) lišících se mezi sebou výskytem těch či oněch mutací, které by mohly být vypsány na čarách spojujících jednotlivé body.

1 „...z genomické perspektivy jsme všichni Afričané – žijící buď stále v Africe, nebo v nedávném exilu mimo ni“ (Pääbo 2003)

jednotlivých druhů rodu *Homo* tak, jak je schematicky zobrazeno na **obr. 3**.

Problematika první úspěšné migrace anatomicky moderního člověka ven z Afriky spočívá dále i v otázce, zda proběhla před ~ 45 tis. lety skrze údolí Nilu a dále přes Sinajský poloostrov, tedy tzv. „severní cestou“, nebo před ~ 60 tis. lety z východní Afriky přes úžinu zvanou Báb el-Mandab na jih Arabského poloostrova, tj. cestou „jižní“. Ponecháme-li stranou nálezy z izraelských lokalit Qafzeh a Skhul, které představují sice první, ale velmi pravděpodobně ještě neúspěšnou kolonizaci Eurasie před více než 100 tis. lety, dosahují mezi mimoafrickými nálezy *Homo sapiens* největšího stáří (~ 40 tis. let) fosílie z Niah Cave na Borneu a Lake Mungo 3 v Austrálii. Ukazují na možnost šíření původní africké populace příbřežní cestou, která nevyžadovala složitější adaptace na vnitrozemské prostředí severněji situované Eurasie. Jižní trasa anatomicky moderních populací je vykreslena na **obr. 4**. Je ale zároveň zřejmé, že pokud migrace moderních lidí postupovala jen po pobřeží, nelze počítat s tím, že bychom její archeologické stopy dnes zachytili; v té době byla totiž hladina oceánů o více než 50 metrů níže, a místa, kde naši dávní předci tábořili, jsou již zaplavená. Archeogenetika tedy představuje asi jedinou možnost, jak migraci prvních mimoafrických zástupců *Homo sapiens* lokalizovat.

mtDNA fylogeneze

Již v roce 1987 bylo pomocí restriktivního mapování zjištěno, že nejstarší větve mtDNA fylogeneze jsou nesený výhradně Afričany. Tento výsledek byl nadále potvrzen roku 2000, kdy bylo kompletně osekvenováno 53 mtDNA genomů různého geografického původu (Ingman *et al.* 2000). I v této studii bylo výsledkem úplné oddělení subsaharských linií, hluboké větvení mezi nimi a naopak velmi malé rozdíly mezi liniemi ostatními. Stáří celé fylogeneze ukazovalo na období před zhruba 171 tis. lety, přičemž nejstarší nesubsaharské linie se oddělovaly před zhruba 52 tis. lety. Novější práce, které berou v potaz mnohem větší počet vzorků, poskytují podobné výsledky (Behar *et al.* 2008). Na **obr. 5** je znázorněno sedm fylogeneticky starých afrických

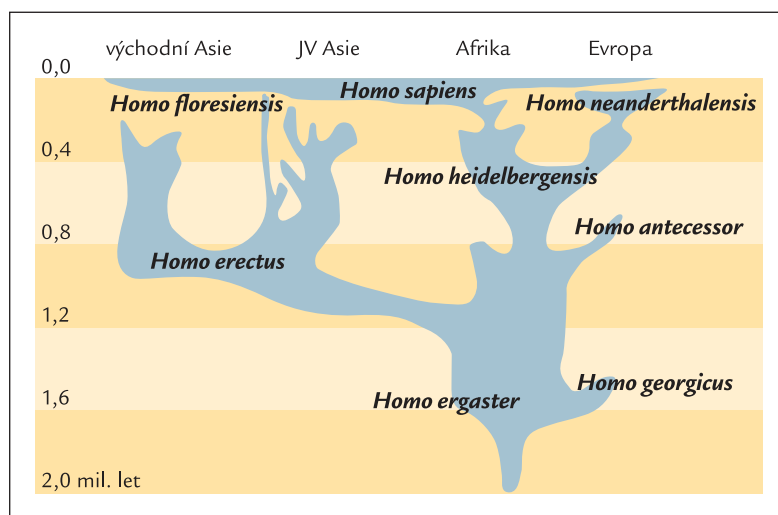
mtDNA větví označených L0–L6, z nichž jen jedna (L3) dala později vznik mimoafrickým liniím M a N.

Geografické rozložení nejstarších neafrických mtDNA linií

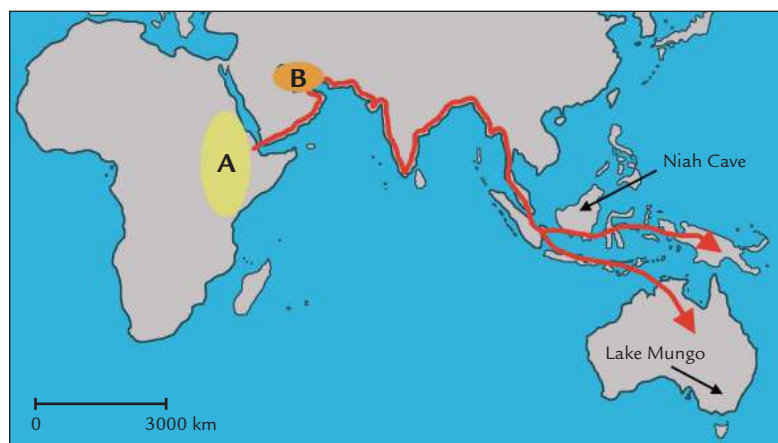
Významným přínosem při řešení otázky první úspěšné kolonizace jihozápadní Asie a nastíněním možnosti jižní cesty byla studie mtDNA genetické diverzity domorodých populací Etiopie a Indie (*Quintana-Murci et al. 1999*). Ukázalo se, že u výše zmíněných populačních skupin existuje poměrně vysoký podíl (~ 20 %) evolučně starých linií haploskupiny M, jejichž molekulární datování spadá do období před 50–60 tis. lety. Starší data byla přitom vypočtena na základě sekvencí z Indie a nikoli Afriky! Později se skutečně ukázalo, že do Afriky byla později zanesena jen jedna linie M,

a to M1 zpětnou migrací z Předního východu. To, že současná distribuce této haploskupiny skutečně podporuje tezi jižní cesty bylo prvně publikováno již v roce 2001 (Forster *et al.* 2001). V době před vznikem haploskupiny M tedy muselo dojít k několika demografickým expanzím malé části afrického genofonu nesoucí nejspíše pouze linii L3*. Tato linie pronikla do Perského zálivu, kde lze předpokládat jedno z prvotních refugií (B na obr. 4).

Detailnější pohled do celé problematiky přinesly ale až studie vyhodnocující mtDNA diverzitu domorodých populací Malajsie, Andamanských ostrovů, Japonska, Indie a Íránu. Ve výše uvedených oblastech byly zjištěny další fylogeneticky staré linie nejen u haploskupiny M, ale i u N a R, jejichž počátek byl stanoven do doby před ~ 63 tisíci lety (M a N) a ~ 60 tisíci lety (R). V rámci výše uvedených haploskupin byly rovněž prokázány



■ Obr. 3 Schéma vývoje jednotlivých druhů rodu Homo.



■ **Obr. 4** Jižní trasa anatomicky moderních lidí. **A:** Oblast vzniku; **B:** prvotní refugium v Perském zálivu.

geografické gradienty jejich frekvencí (tzv. klinální variabilita), které nastínily nejpravděpodobnější směr migrace nositelů těchto genetických znaků. Význam jižní Asie pro formování euroasijského genofondu dokazují i pozdější mtDNA studie. Z výše uvedených zjištění vyplývá zároveň mimořádný význam Arabského poloostrova, skrze který muselo docházet k řadě významných migrací mezi Afrikou a Eurasií. V následujícím textu si tento region, na jehož archeogenetickém výzkumu se podílí i Archeologický ústav AVČR v Praze, přiblížíme.

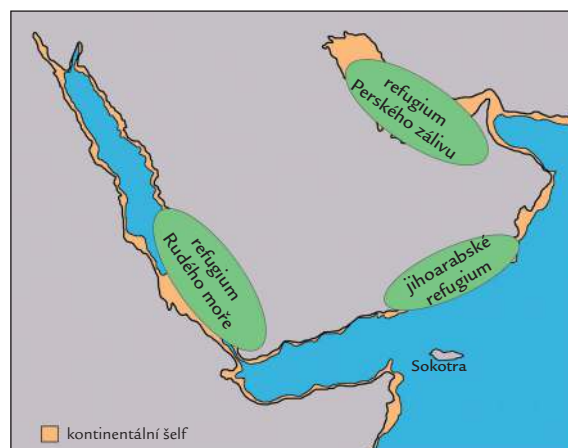
Geografie a populační struktura Jemenu

Na jihu Arabského poloostrova leží Jemen, který je z přírodovědného hlediska nesmírně rozmanitou zemí. Postupujeme-li ze západu na východ, lze jej rozdělit do zhruba pěti klimaticky a vegetačně odlišných oblastí. Na západě podél Rudého moře probíhá úzký pruh

nížiny zvané Tihama, kde jak etnografické, tak archeologické výzkumy ukazují na významný vliv blízké Afriky. Podnebí je zde celoročně horké a vlhké. Dále na východ narazíme zhruba po 50 km na horské pásmo vysokého centrálního masívu, které se táhne po celém území západního Jemenu a pokračuje (podobně jako i Tihama) do Saudské Arábie. Nejvyšší vrchol Arabského poloostrova Džebel al-Nabi Šuajb dosahující 3660 m n. m. leží nedaleko hlavního města Sana'a. Oproti Tihamě je v horách o poznání chladnější. Postupujeme-li dále na východ, dostaneme se z hor do pouště Ramlat as-Sabatajn navazující na severu na ještě větší Rub al-Chálí. V této dnes nehostinné, vyprahlé a horké pustině byla objevena celá řada významných archeologických památek spadajících většinou do období starověku. Poslední pevninskou zastávkou na cestě východním směrem je údolí Hadramawt, které je oproti okolní poušti velmi úrodnou a zároveň i od pravěku kontinuálně



■ Obr. 6 Dračinec (*Dracaena cinnabari*) je typickým stromem rostoucím výhradně na ostrově Sokotra.

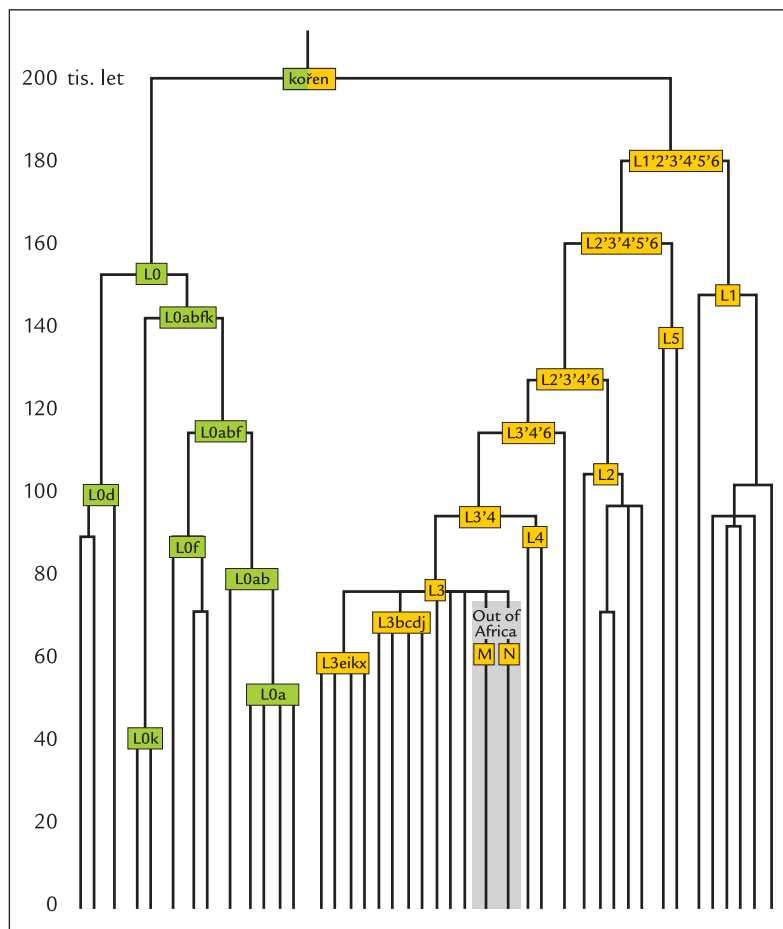


■ Obr. 7 Pravděpodobná poloha třech pozdně pleistocenních refugií na Arabském poloostrově.

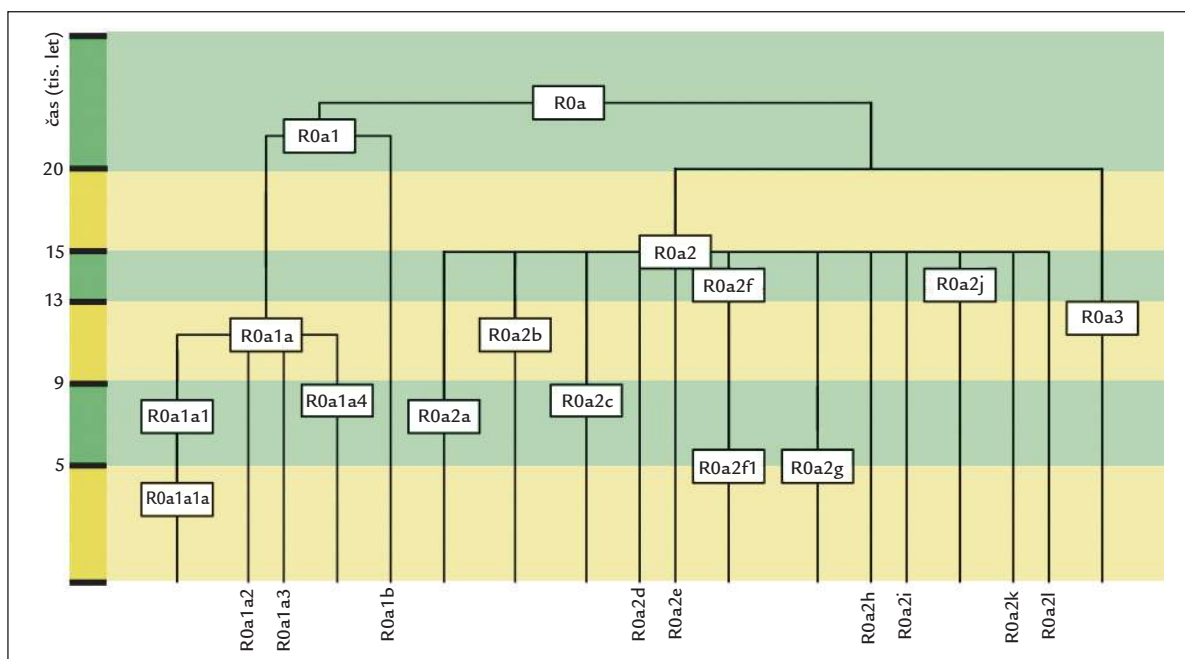
osídlenou oblastí. Pátou klimaticky odlišnou oblastí Jemenu je ostrov Sokotra s vysokým podílem endemické fauny a flóry, z níž asi nejznámějším druhem je třetihorní relikta dračinec *Dracaena cinnabari* (obr. 6). Společně s jemenskou oblastí Al-Mahra a ománským Dhofarem tvoří místo jihoarabského pravěkého refugia, kde se dnes setkáváme se zajímavými biotopy mlžných lesů. V těchto místech se mimochodem nehovoří arabsky, ale původními, tzv. jihoarabskými jazyky (obr. 7).

Paleoklimatologie Arabského poloostrova

Klimatické změny pozdního pleistocénu a holocénu na Arabském poloostrově se podobně jako v Africe poněkud liší od změn evropských. Klimaticky odlišná období se dělí na fáze označené MIS (Marine Isotope Stages), které odpovídají změnám poměru izotopů kyslíku ve vápenitých schránkách mikroorganismů z hlubokomořských vrtů. Poslední interglaciál je označen MIS



■ Obr. 5 Fylogeneze nejstarších větví mtDNA. Nejstarší haploskupiny jsou L0, které se často vyskytují u khoianských populací jižní Afriky žijících se donedávna lovem a sběrem. Mimafrické klady M a N se oddělily až před ~ 60 tis. lety. Podle Behar et al. 2008.



■ Obr. 8 Molekulární datování jednotlivých haploskupin R0a ve srovnání s klimatickými fázemi Arabského poloostrova; zeleně období vlhčí klimaticky příznivější, žlutě období suchá. Podle Černý et al. 2011.

5 s dobou trvání před 130–74 tis. lety a vlhkými pluvii na začátku a konci. Je to mimochodem období již zmíněné první neúspěšné migrace anatomicky moderních lidí s nálezy na lokalitách Qafzeh a Skhul. MIS 4 trvající do doby před 60 tis. lety je naopak obdobím chladným a v Arábii suchým, které je s velkou pravděpodobností alespoň v počátcích způsobeno výbuchem sopky Toba na Sumatře. Její vulkanická aktivita mohla mít neblahé následky na populace žijící v jejím dosahu. Pro naši populační historii je ale asi nejvýznamnější MIS 3 trvající do období před 20 tis. lety, kdy za klimaticky zlepšených podmínek

došlo k šíření lidských populací po celé Eurasii, včetně Austrálie a Oceánie; je ale třeba dodat, že celkové klima bylo v té době stále chladnější než dnes. Fáze MIS 2 souvisí s posledním maximem doby ledové a na Arabském poloostrově je opět obdobím velmi suchým, kdy muselo dojít k významné populační kontrakci. Následující období holocénu začínající před zhruba 10 tis. lety je zde ale opět obdobím příznivě vlhkým, kdy lze předpokládat šíření vegetačního pokryvu a s ním i řadu populačních expanzí a později i šíření zemědělské technologie. Podobně jako v Africe lze současné aridní podmínky Arabského poloostrova očekávat přibližně od období před 5 tis. lety. Na základě paleoklimatologických studií bylo na Arabském poloostrově možné lokalizovat i pravděpodobnou polohu třech refugií (obr. 7), kam se populace stahovaly v nepříznivých obdobích, a odkud mohly následně expandovat (Rose – Petraglia 2009).

Archeogenetika na Arabském poloostrově

Arabský poloostrov se stal středem archeogenetického zájmu poměrně nedávno. Nejprve byly zjištěny podobnosti v mtDNA genofondu Etiopie a Jemenu. V obou populacích byl nalezen podobný podíl hlavních ne-saharských mtDNA linií typu M a N a navíc byly definovány

některé zcela nové haploskupiny typu L. Významným poznatkem bylo zjištění, že značný podíl etiopských a jemenských haplotypů, zejména pak haploskupiny R0a, je sdílen i s oblastí Předního východu. Za nějaký čas byla publikována i data ze Saudské Arábie, jejichž prostřednictvím byl prokázán velmi slabý vliv Afriky ve středu Arabského poloostrova a podobně jako i v Jemenu a Etiopii značný podíl haploskupiny R0a.

Význam haploskupiny R0a byl v Jemenu dále prokázán regionální studií čtyř lokálních populačních celků (Černý et al. 2008). Mezi nimi byl identifikován poměrně malý počet sdílených haplotypů s výjimkou haplotypů R0a, z nichž některé se vyskytovaly i na území Etiopie. Překvapivým zjištěním byl také vysoký podíl subsaharských haplotypů (zejména L0a), nikoli ale na území Tihamy, kde by se daly očekávat, ale naopak v Hadramawtu, tedy na východě území. Tyto subsaharské haplotypy zde ale nevykazovaly žádnou fylogeneticky validní strukturu a jejich časté sdílení s oblastmi jihovýchodní Afriky naznačovalo jejich recentní původ související s obchodem s otroky.

Následná studie mtDNA variability populace ostrova Sokotry (Černý et al. 2009a) ukázala, že R0a byla na tomto ostrově nejen nejpočetnější,



■ Obr. 9 Archeogenetický výzkum na území Afriky se odehrává většinou v odlehlejších místech, kde lze předpokládat přítomnost fylogeneticky starších mtDNA haploskupin. V každé vesnici zvolené oblasti jsou s pomocí místních starostů vybráni nepřibuzní lidé, které danou populaci reprezentují; samo vzorkování je striktně anonymní.

ale také i nejvariabilnější složkou. Byly zde dokonce detekovány zcela unikátní, jinde na světě se nevyskytující R0a haplotypy, z nichž některé vytvářely ve fylogenetické síti novou haploskupinu námi pojmenovanou R0a1a1a. Ve spolupráci s portugalskými, americkými, jemenskými, dubajskými, marockými a tuniskými kolegy se nám podařilo identifikovat řadu dalších R0a haplotypů z okolních oblastí a vytvořit celogenomový strom sestávající celkem z 89 vzorků pocházejících nejen z Jemenu, ale i sousedních oblastí Afriky. Zjistili jsme celou řadu nových mutací této haploskupiny, čímž jsme zpřesnili i její vnitřní variabilitu. Potvrdili jsme přítomnost dvou již dříve detekovaných kladů R0a1 a R0a2 a objevili nový relativně vzácný R0a3. Z R0a1 si zaslouží největší pozornost vysoce diverzifikovaný R0a1a datovaný do období před 12 tis. lety, kde se také nachází námi již dříve definovaná a pro Sokotru specifická skupina R0a1a1a. Do ní nově přibyl jen jeden vzorek z oblasti Al-Mahra, která je ostrovu blízka jak geograficky, tak jazykově. Značně odlišný charakter má klad R0a2, kde se nachází mnohem vyšší počet subhaploskupin (identifikovali jsme jich celkem 12 označených a–l), které jsou zároveň reprezentovány pouze několika málo haplotypy. V rámci R0a2 byl ale nejvíce diverzifikován klad R0a2f1, který vykazoval opět velmi silnou vazbu k ostrovu Sokotra a jejímu nejbližšímu okolí. Molekulární datování těchto haploskupin dobře odpovídá klimaticky příznivým fázím jihoarabského pravěku (**obr. 8**). Úzká geografická vazba obou nově detekovaných kladů (R0a1a1 a R0a2f1) na jihoarabské populační refugium navržené paleoklimatologickými studiemi (viz **obr. 7**) potvrzuje jeho platnost a navíc určuje období, které zde mohlo být z populačně genetického hlediska nejdynamičtější. Není vyloučeno, že význam ostatních dvou refugií ukáže fylogeografická studie jiných haploskupin, které mohou vykazovat vyšší stáří než námi detekovaná R0a.

Závěr

Výše uvedené mtDNA haploskupiny jsou příkladem pozdně pleistocenní populační expanze a holocenní koevoluce mtDNA s jazyky. Mladší kлады R0a (R0a1a1 a R0a2f1), které

diverzifikovaly v jihoarabském refugiu, se dnes vyskytují převážně u lidí hovořících tzv. jihoarabskými, s arabštinou blíže nepříbuznými jazyky. Podobný příklad jsme našli v prostředí Čadského jezera, kde se hovoří celou řadou různých jazyků rodiny afroasijské, nilosaharské a nigerokonžské. I zde jsme důkladným terénním vzorkováním místních populací (**obr. 9**) detekovali např. haploskupinu L3f3, která se dnes vyskytuje téměř výhradně u čadsky hovořících skupin afroasijské jazykové rodiny a nikoli jejich sousedů (**Černý et al. 2009b**). Fylogenetické zakotvení této haploskupiny ve východní Africe dává tušit časné holocenní migraci směrem k tehdy ohromnému tzv. Megačadskému jezeru, kde v souvislosti s vysycháním klimatu, muselo později dojít k izolaci původní protočadské populace, u níž tato haploskupina pak dále diverzifikovala. Oba uvedené příklady z jižní Arábie i afrického sahelu ukazují na význam přírodních poměrů v pozdním pleistocénu a holocénu při formování genetické diverzity současných populací. Význam vlivu klimatických změn na migrace našich předků prokazují i další archeogenetické studie.

Literatura

- Behar, D. M. – Villem, R. – Soodyall, H. – Blue – Smith, J. – Pereira, L. – Metspalu, E. – Scozzari, R. – Makkan, H. – Tzur, S. – Comas, D. and others. 2008: The dawn of human matrilineal diversity. *Am J Hum Genet* 82(5):1130–1140.
- Černý V., Mulligan C. J., Fernandes V., Silva N. M., Alshamali F., Non A., Harich N., Cherni L., El Gaied A.B., Al-Meerri A., Pereira L. 2011: Internal diversification of mitochondrial haplogroup R0a reveals post-last glacial maximum demographic expansions in South Arabia. *Mol Biol Evol* 28(1):71–8.
- Černý, V. – Mulligan, C. J. – Rídl, J. – Žaloudková, M. – Edens, C. M. – Hájek, M. – Pereira, L. 2008: Regional differences in the distribution of the sub-Saharan, West Eurasian, and South Asian mtDNA lineages in Yemen. *Am J Phys Anthropol* 136(2):128–137.
- Černý, V. – Pereira, L. – Kujanová, M. – Vašíková, A. – Hájek, M. – Morris, M. – Mulligan, C. J. 2009a: Out of Arabia – the settlement of island Soqatra as revealed by mitochondrial and Y chromosome genetic diversity. *Am J Phys Anthropol* 138(4):439–447.
- Černý, V. – Fernandes, V. – Costa, M. D. – Hájek, M. – Mulligan, C. J. – Pereira, L. 2009b: Migration of Chadic speaking pastoralists within Africa based on population structure of Chad Basin and phylogeography of mitochondrial L3f haplogroup. *BMC Evol Biol* 9:63.
- Forster, P. – Torroni, A. – Renfrew, C. – Rohl, A. 2001: Phylogenetic star contraction applied to Asian and Papuan mtDNA evolution. *Mol Biol Evol* 18(10):1864–1881.

- Ingman, M. – Kaessmann, H. – Paabo, S. – Gyllenstein, U. 2000: Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature* 408(6813):708–713.
- Pääbo S. 2003: The mosaic that is our genome. *Nature* 421(6921):409–412.
- Quintana-Murci L., Semino O., Bandelt H. J., Passarino G., McElreavey K. and Santachiara-Benerecetti A. S. 1999: Genetic evidence of an early exit of Homo sapiens sapiens from Africa through eastern Africa. *Nat Genet* 23(4):437–441.
- Renfrew, C. – Boyle, C. (eds.) 2000: *Archaeogenetics: DNA and the population prehistory of Europe*. Cambridge: McDonald Institute for Archaeological Research.
- Rose, J. I. – Petraglia, M. D. 2009: Tracking the Origin and Evolution of Human Populations in Arabia. In: Petraglia, M. D. – Rose, J. I. (eds.). *The evolution of human populations in Arabia: Paleoenvironments, prehistory and genetics*. New York: Springer. p 1–12.

Summary

Archeogenetics – mitochondrial DNA and the migration of Homo sapiens

Archeogenetic research over the past decade has significantly enriched our knowledge of prehistoric populations. This article discusses the “Out of Africa” theory, which is supported today primarily by mitochondrial DNA analysis (mtDNA). Furthermore, archeogenetic research of the Arabian Peninsula and the African Sahel, in which the Institute of Archaeology in Prague is actively involved, is further treated. The results of research based on the terrain sampling at specific sites indicate the relative isolation of the original prehistoric populations from which the foundations of today's language groups and even the latest branches of mtDNA phylogeny could have emerged. This represents a rare interference of two different phenomena – the beginning of the “fast” evolution of a language and the completion of “slow” genetic evolution, i.e. phenomena that could correlate thanks only to the geographical isolation of past human populations before their recent demographic expansion. Due to climate instability during the Late Pleistocene period, prehistoric populations lived mostly in relatively segregated groups. More stable and very favourable climatic conditions lasting at least 5,000 years came with the beginning of the Holocene period, a time that also saw the creation of the first agricultural centres, from which this new method of subsistence strategy spread worldwide. As is the case in Europe, archeogenetics on the Arabian Peninsula and in the African Sahel indicate the exceptional importance of refugia where the populations survived the final peak of the Ice Age 20,000–18,000 years ago and from where the neighbouring areas were later re-colonized. Our dependence on the vagaries of the climate and natural conditions is something we shouldn't underestimate even today.

Autor by chtěl tímto poděkovat lidem, kteří poskytli biologické vzorky k archeogenetickým účelům, a kolegům, kteří se na jejich zpracování podílejí. Projekt v Africe je podporován grantem GAČR (206/08/1587) a projekt na Arabském poloostrově grantem MŠMT (KONTAKT ME 917).