

История палеогенетических исследований: от распределения по группам крови до генетических открытий (обзор)

Арамова Ольга Юрьевна^{1,2}

¹*Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия*

²*Федеральный исследовательский центр Южный научный центр РАН,
г. Ростов-на-Дону, Россия*

aramova.olya@mail.ru

DOI: 10.18522/2308-9709-2023-45-7

Аннотация

Интерес человека к своему происхождению так же, как и к разнообразию животного и растительного мира, был всегда. Начиная с 20 века ученые в поисках маркеров, различающих разные народности между собой, искали закономерности в частотах встречаемости групп крови населения. Развитие молекулярно-генетических методов позволило разнообразить объекты исследования в данной области, в т.ч. ДНК из археологических и музейных образцов и проводить анализ отдельных коротких последовательностей. Наука, появившаяся на стыке археологии и современной генетики получила название палеогенетика. Путем разработки новых более чувствительных молекулярно-генетических методов, описанных в данной статье, стало возможно минимизировать потери и без того ограниченное количество генетического материала в ископаемых видах. В свою очередь палеогенетика способна решить ряд задач: определение генетических и популяционных характеристик изучаемого сообщества, установление половой структуры и возможных родственных связей населения, выявление путей миграций и расселения народов, реконструкция возникновений видов и взаимосвязей между ними, обнаружение эпигенетических изменений в древней ДНК,

установление внешних характеристик древних людей, и это только часть возможностей. Мировой опыт показывает возрастающий интерес к данной научной области, изменившей наше понимание человеческой предыстории. В настоящей работе представлен исторический очерк исследований с использованием актуальных времени биохимических и генетических методов, а также ученых, которые положили начало молодой, но быстро развивающейся науки палеогенетики.

Ключевые слова: палеогенетика; древняя ДНК; посмертная модификация ДНК

The history of paleogenetic research: from blood group distribution to genetic discoveries

Aramova Olga Yurievna^{1,2}

¹*Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia*

²*Federal Research Center Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, Russia*

aramova.olya@mail.ru

DOI: 10.18522/2308-9709-2023-45-7

Abstract

Humanity has always been interested in its origin, as well as in the diversity of the animal and plant world. Since the 20th century, scientists, in search of markers that distinguish different nationalities from each other, have looked for patterns in the frequency of occurrence of blood groups in the population. The development of molecular genetic methods has made it possible to diversify the objects of research in this area, for example, DNA from archaeological and museum samples and the analysis of individual short sequences. The science that appeared at the junction of archaeology and modern genetics was called paleogenetics. By developing new, more sensitive molecular genetic methods described in this article, it has become

possible to minimize the loss of an already limited amount of genetic material in fossil species. In turn, paleogenetics is able to solve a number of tasks: determining the genetic and population characteristics of the studied community, establishing the sexual structure and possible kinship relationships of the population, identifying migration and settlement routes of peoples, reconstructing the origin of species and relationships between them, detecting epigenetic changes in ancient DNA, establishing the external characteristics of ancient people, and this is only part of the possibilities. World experience shows an increasing interest in this scientific field, which has changed our understanding of human prehistory. This paper presents a historical outline of the research using biochemical and genetic methods and the scientists who laid the foundation for the young but rapidly developing science of paleogenetics.

Keywords: paleogenetics; ancient DNA; postmortem DNA modification

Предыстория: XX век

Термин «палеогенетика, археогенетика» был введен в 1963 году биологом Эмилем Цукерканделем и химиком Лайнусом Полингом. В совместных работах по сравнению гомологичных полипептидных цепей гемоглобина ученые определили закономерности, делающие возможным реконструировать последовательности структурных генов вымерших животных путем сравнения с ныне живущими видами (Pauling et al., 1963). Предпосылками археогенетики являлись работы начала XX века, когда ученые искали закономерности между различиями внутренних и внешних признаков человека. В 1919 году микробиолог Людвик Гиршфельд изучал группы крови и их связь с болезнями, возрастом, социальным классом и расой, в итоге отметив отсутствие корреляции фенотипических признаков и группы крови. С 1940 года гематолог и химик Артур Морант исследовал частоты генов АВ0, антигены, а также уделял особое внимание полиморфизмам, заложив основу будущей науки «археогенетики» (Roberts, 1997). В 1950 годы продолжались активные исследования генетики

человеческих рас. В книге «Генетика и человеческие расы» (1950) биохимик Уильям Бойд путем систематизации и классификации по группам крови разделил мировое население на 13 рас – населения с разными аллелями (Boyd, 1950). Таким образом, первый этап развития палеогенетики характеризуется работами по изучению распределений групп крови в человеческой популяции.

Стремительное развитие науки и технологий XX века позволило изучать человека на геномном уровне. С 1960 года популяционный генетик Луиджи Кавалли-Сфорца дал начало новой области исследований, объединив исследования демографии нескольких последних столетий с анализом распределения групп крови современного населения (Cavalli-Sforza et al., 1994a). Изучая генетические маркеры Л. Кавали-Сфорца, предположил, что современный человек, имея африканское происхождение, мигрировал на Ближний Восток, Европу и Азию, а затем расселялся на континенты Америки и Австралии. В 1994 году применяя математические методы анализа генетического распределения ученый разделил человеческую популяцию на 10 основных кластеров – европейцы, восточные азиаты, юго-восточные азиаты, южные азиаты, коренные американцы, население тихоокеанских островов, эскимосы, северные африканцы, суб-сахарские африканцы, центральноафриканские пигмеи, койсанская группа, австралийские аборигены (Cavalli-Sforza, 1997b). Кавали-Сфорца выделил ранние (древние) и поздние потоки миграций, сопоставив их с археологическими и лингвистическими данными.

Открытие полимеразной цепной реакции (ПЦР, Кэри Муллис, 1983) и революционный метод расшифровки первичной структуры коротких фрагментов ДНК (Фредрик Сэнгер, 1977) дали возможность изучения сложных биологических объектов, содержащих малую концентрацию генетического материала. В 1984 году Рассел Хигучи совместно с коллегами успешно выделил и амплифицировал ДНК из высушенной мышцы кваги (*Equus quagga*). Подвид бурчелловой зебры обитал на территории Южной

Африки и вымер в 1883 году. Исследователям удалось секвенировать несколько фрагментов митохондриальной ДНК (мтДНК) длиной 229 нуклеотидных пар (н.п.) и относительно низкой молекулярной массы. Последовательности отличались на 12 нуклеотидных оснований от гомологичных участков мтДНК современного члена рода *Equus* – горной зебры. Количество, природа и расположение замен подразумевала, что посмертная модификация последовательностей мтДНК квагги была незначительной или отсутствовала, тем самым эти два вида имели общего предка около 3–4 млн лет назад, что согласуется с палеонтологическими данными о возрасте рода *Equus* (Higuchi R. et al., 1984). Иными словами, было показано филогенетическое сродство ископаемого вида с современными зебрами. Р. Хигучи предполагал, что в случае, если долгосрочная сохранность ДНК окажется общепринятым свойством, то это может иметь неоспоримую пользу для нескольких областей знаний, включая палеонтологию, эволюционную биологию, археологию, историю, генетику и криминалистику. Предположения научной группы Хигучи оказались верны, а через 30 лет геном исчезнувшей квагги был почти полностью секвенирован (Jónsson et al., 2013).

Изучение генетического материала музейных образцов дало современной науке новое определение и предмет исследований – древнюю ДНК (дДНК). дДНК – это ДНК, выделенная из археологических или музейных образцов, а также ископаемых останков, как правило высоко деградированная и модифицированная под действием физических или химических факторов. Трудно установить, когда именно ДНК считается «древней» и в научном сообществе нет единого мнения по этому поводу.

В 1985 году биолог Сванте Паабо исследовал генетический материал 23 египетских мумий, полагая, что условия климата и хранения останков благоприятны для консервации ДНК. В итоге была получена ДНК мумии ребенка возрастом 2400 лет, которая успешно была клонирована в плазмидном векторе (Paabo, 1985a). Результат удивил Паабо, т.к. фрагмент

был не характерного для дДНК размера – около 3.4 тысяч п. н. Полученные данные являлись результатом загрязнения образца экзогенной ДНК, о чем в последствии говорил сам исследователь.

Эпоха пост-ПЦР (1990) открыла технологические возможности репликации небольших фрагментов дДНК людей и животных всевозможных географических локаций. Так, были опровергнуты открытия, в которых утверждалось, что аутентичная ДНК может быть извлечена из образцов, возраст которых составляет миллионы лет. Большинство таких результатов основано на экстракции ДНК (преимущественно насекомых и бактерий) из доминиканского янтаря, датируемого эпохой олигоцена (Cano et al., 1985a; Cano et al., 1992b; Cano, 1994c; DeSalle R., Grimaldi D., 1994; Poinar et al., 1993). С 1992 года ведутся активные исследования нуклеиновых кислот, извлеченных из образцов пшеницы (Brown et al., 1994), кукурузы (Goloubinoff et al., 1992) и семян ячменя и редьки (O'Donoghue et al., 1996) возрастом около 5000 лет. Подобные работы открыли значительные перспективы в понимании проблем новой области знаний – палеоэкологии и внесли большой вклад в развитие ботаники. В это время Скотт Вудворд и коллеги опубликовали последовательности гена цитохрома *b*, извлеченного из костей, возраст которых превышает 80 миллионов лет (меловой период). Порядок нуклеотидов отличался от всех имеющихся на тот момент вариантов этого гена согласно базам данных GenBank и European Molecular Biology Laboratory databases (Woodward et al., 1994). Полученные данные положили начало циклу работ, посвященных попыткам исследовать нуклеиновые кислоты, содержащиеся в яйцах и окаменелых остатках одних из самых загадочных животных, когда-либо населяющих планету – динозавров (Zischler et al., 1995), однако на сегодняшний день многие полученные результаты были опровергнуты, тем самым определив основные трудности работы с дДНК при молекулярно-генетических исследованиях.

Особенности работы с дДНК

При работе с дДНК нужно учитывать ряд методических особенностей, связанных со структурными изменениями молекулы с течением времени и условиями местонахождения образца.

Объект палеогенетических исследований

Зачастую объектом палеогенетических исследований являются твердые биологические объекты: костные останки и зубы, найденные в различных типах почв. Генетический материал в минерализованном коллагене костей подвергается замедленной скорости деградации из-за его адсорбции на гидроксиапатите (Collins et al., 1995; Jans et al., 2004). Упрощенная модель взаимодействия коллагена и гидроксиапатита представлена на рис. 1.

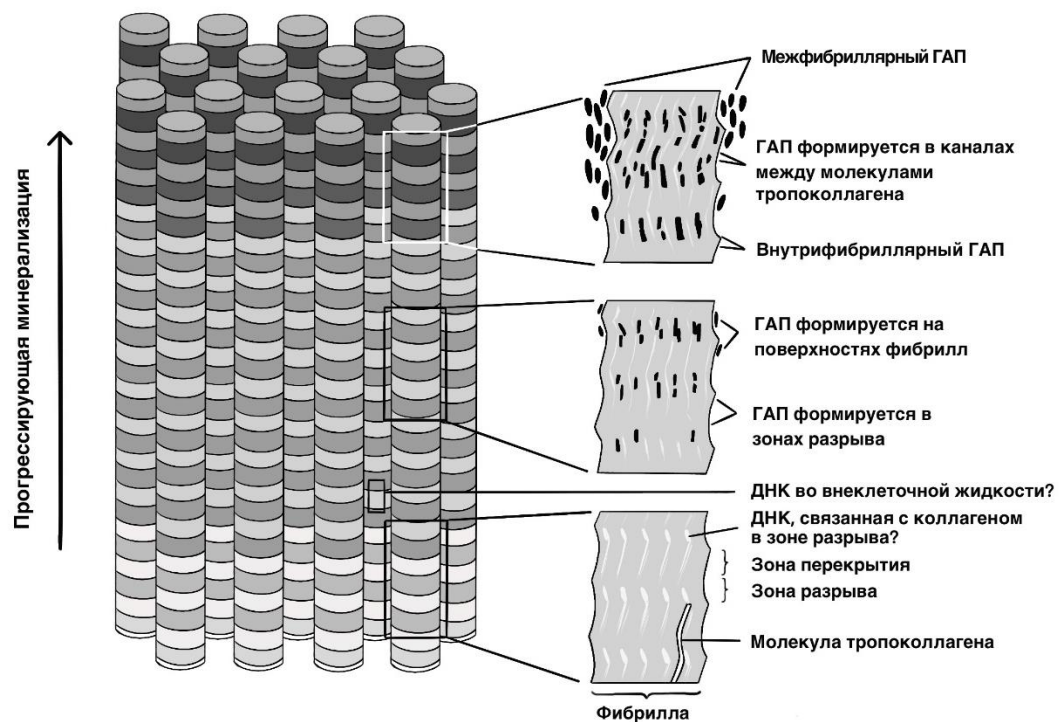


Рис. 1 – Модель взаимодействия между коллагеном и гидроксиапатитом (ГАП)
(Gilbert et al., 2005)

Остеоид формируется путем внеклеточной самоагрегации молекул коллагена и тропоколлагена. Эти «коллагеновые триплеты» выстраиваются и переплетаются, образуя фибриллы. Исчерченный вид коллагеновых фибрилл формируется за счет повторяющихся каждые 67 нм зон разрыва и

перекрытия. В зонах разрыва фибриллы более разупорядочены и хаотичны. Фибриллы окружены внеклеточной жидкостью, которая содержит не коллагеновые белки, протеогликаны, гликоаминогликаны и остатки клеток, содержащие ДНК. Процесс минерализации начинается в зонах разрыва на поверхностях фибрилл. За счет содержания воды кристаллы апатитов растут и заполняют межфибриллярные пространства. Таким образом, высушенные костные ткани, как источник дДНК, содержат около 46 % коллагена, 46 % апатита, 8 % воды. (Gilbert et al., 2005; Kitamura et al., 1997; Mrevlishvili, Svintradze, 2005).

С другой стороны зоны разрыва, являясь более разупорядоченными, могут быть участками, где небольшие фрагменты ДНК связываются с молекулами коллагена, а затем заключаются в гидроксиапатиты в процессе минерализации. По данным исследователей в процессе образования и резорбции костной ткани большое количество мтДНК высвобождается в остеоидной матрикс после апоптоза остеобластов и остеокластов. Таким образом, ДНК становится доступной для связывания с внешними поверхностями коллагеновых фибрилл в минерализующемся остеоиде или поверхностями растущих кристаллов апатита (Gilbert et al., 2005).

Описанные выше механизмы длительного сохранения ДНК, т.е. связывания генетического материала с минералом или коллагеном имеют важное значение при выборе подхода его успешной экстракции, учитывая тот факт, что стандартные протоколы подразумевают удаление минеральной фазы (Campos et al., 2012). При палеогенетических исследованиях вышеописанные модели усложняются из-за потенциального высвобождения продуктов разложения тканей, включая фрагменты ДНК и коллагена, в результате химической или микробной деградации неминерализованного остеоида, а также замещения органического вещества костной ткани кремнием.

Объект исследований чаще всего контаминирован (Raabo S. et al., 2004b). **Контаминация** в генетике – это загрязнение исследуемого объекта чужеродной (экзогенной) ДНК, приводящее к недостоверным результатам.

Проблема загрязнения в палеогенетике человека является критичной, т.к. зачастую работа ведется с крайне малым количеством биоматериала, а отличить аутентичную последовательность становится невозможно. В результате профиль образца может представлять собой смесь генетических признаков двух разных людей или полностью являться ложным.

Одним из основных правил работы с дДНК является разделение «грязных» и «чистых» зон палеогенетической лаборатории, использование стерильных реактивов и расходного материала, защитной одежды, а также выделение ДНК из разных частей исследуемого объекта в нескольких параллелях. Постановку ПЦР обязательно проводить с отрицательным контролем, а воспроизводимость результатов контролировать в другой независимой лаборатории (Корниенко, Харламов, 2012; Binladen et al., 2007; Cooper et al., 2000; Endicott et al., 2009; Paabo S. et al., 2004b; Willerslev, Cooper, 2005).

Несмотря на описанные меры по борьбе с контаминацией, у палеогенетиков возникла острая необходимость в разработке методик деконтаминации образцов, которые зачастую загрязнены генетическим материалом многочисленных исследователей, контактировавших с ними (Арамова и др., 2019). В результате в 2019 году был создан деконтаминационный раствор (ДКР), работающий на основе клеточного лизиса на поверхности твердых биологических объектов, эффективно устраняя возможное загрязнение. Таким образом, применение ДКР позволяет получить аутентичный генетический профиль, в условиях высокой концентрации контаминирующего агента: 10 000 клеток на 1 грамм образца, 60 нг/мкл современной ДНК на 1 грамм древнего образца (Пат. 2789387, 2023).

Условия окружающей среды

Время определяет не только смысловую значимость палеогенетических исследований, но и трудности работы с биологическим материалом. дДНК имеет характерный размер около 120 п.н., что обусловлено разрывами в

линкерных участках нуклеосом, в результате гидролиза фосфодиэфирных связей под действием эндонуклеаз или окисления (Эллиот В., Эллиот Д., 2002). Гидролиз N-гликозидных связей между основанием и дезоксирибозой приводит к депуринизации и депиримидинизации. Если основание является пуриновым (аденин или гуанин), то гидролиз N-гликозидной связи происходит примерно в 20 раз быстрее по сравнению с цитозином и тиминном (O'Rourke et al., 1996). Фрагменты ДНК, размер которых более нескольких сотен п.н. могут быть получены в результате контаминации и требуют проведения дополнительных исследований.

На стабильность связей внутри молекулы оказывает значение **pH** среды, в которой был найден объект. Установлено, что водородные связи остаются стабильными при значениях pH = 4–10, а фосфодиэфирные связи в пределах pH = 3–12 (Hofreiter M. et al., 2001; Lindahl, 1993).

Одним из негативных критериев сохранности является **влажность**. Установлено, что в аэрированных почвах грибы и бактерии колонизируют губчатые пространства костей, вследствие чего начинается распад минерализованных тканей (Bell et al., 1996). Обезвоживание клеток и физическое исключение микробов и других внешних загрязнителей играют положительную роль в сохранении ДНК (Hummel et al., 1994; O'Rourke et al., 1996).

Температурные условия пребывания объекта также играют решающую роль. Вечная мерзлота позволяет сохранить исследуемый объект не только на молекулярном, но и на организменном уровне. Благодаря объектам, законсервированным при низких температурах, стало возможно исследовать ДНК возрастом более 60 000 лет и изучать эволюционные изменения видов. К настоящему времени установлено 95,5 % сходство мтДНК шерстистого мамонта (*Mammuthus primigenius*) и африканского слона (*Loxodonta africana*), при этом расхождение двух видов произошло 4–6 миллионов лет назад в Африке (Miller et al., 2008; Todd, 2006).

Поскольку зачастую местонахождением палеогенетических объектов является **почва**, при работе следует учитывать ее физико-химические показатели, а также наличие ингибиторов таких как гуминовые и фульвокислоты (Флоринская и др., 2022а). Эти соединения сосаждаются совместно с ДНК и в концентрациях от 50 мкг/мл блокируют прохождение ПЦР, требуя дополнительных манипуляций по нивелированию негативного эффекта. Выявить почвенные ингибиторы можно по наличию коричневого цвета препарата ДНК и метода УФ-спектроскопии. На сегодняшний день решить проблему ингибирования можно путем кратного разведения ДНК или при помощи устройств Microcon-30kDa с мембраной Ultracel-30, что критично при исследованиях единичных копий фрагментированного палеогенетического материала (Флоринская и др., 2022b). Важно отметить, что ДНК захороненных останков также разрушается микроорганизмами биоты почв.

УФ или ионизирующее излучение, механические повреждения ДНК, а также химические источники повреждения, например воздействие окисляющих веществ (в том числе и свободных радикалов), алкилирующих веществ, а также химических мутагенов фрагментируют и затрудняют исследование дДНК. Важно отметить, что модификации оснований могут происходить спонтанно, что значительно усложняет анализ.

Таким образом, определены наиболее благоприятные условия окружающей среды для длительной сохранности генетического материала внутри твёрдых биологических объектов: низкая температура (до 15°C), отсутствие попадания прямых солнечных лучей на объект исследования, нейтральный или слабощелочной pH, пониженная влажность и сниженная концентрация микроорганизмов (Корниенко, Харламов, 2012; Hofreiter et al., 2001; Lindahl, 1993).

По данным лаборатории идентификации биологических объектов вооруженных сил США при равных условиях окружающих факторов, наибольшее количество активной ДНК матрицы можно получить из длинных

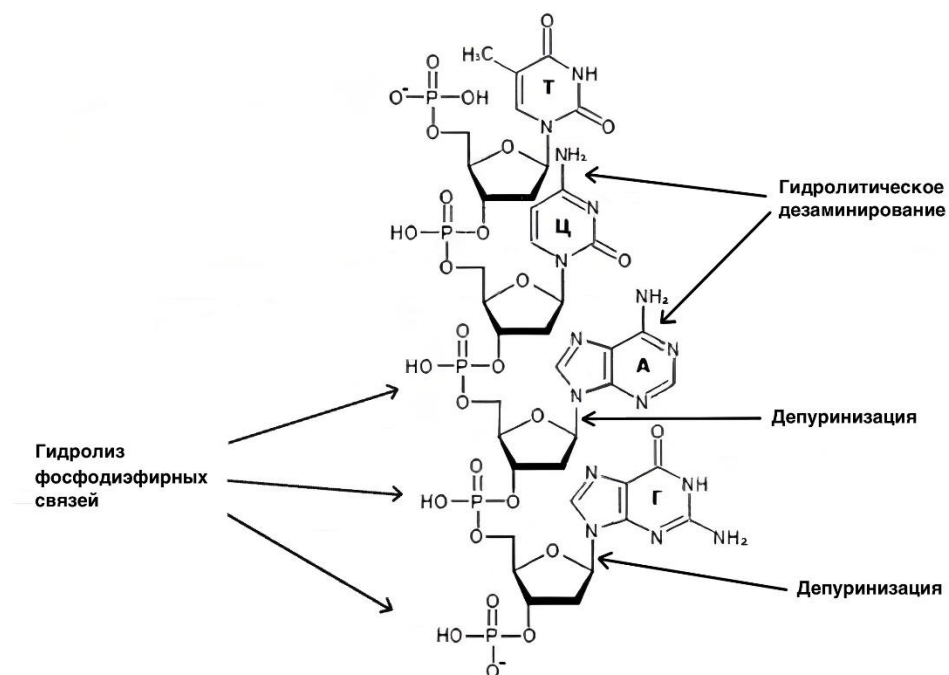


Рис. 3 – Варианты гидролиза дДНК (Корниенко, Харламов, 2012)

Пиримидины (цитозин, тимин) в 40 раз чаще подвергаются трансформации чем пурины (аденин, гуанин). Чаще всего в результате гидролиза остатки цитозина теряют аминогруппу и превращаются в остатки урацила, характерные для молекулы РНК. В процессе дальнейших трансформаций эта модификация приводит к замене гуанин-цитозина на аденин-тимин, что приводит к получению последовательности отличной от аутентичной. Дезаминирование аденина приводит к образованию гипоксантина, который связывается с цитозином и неизбежно ведет к ложным выводам. Выявить дезаминирование можно при помощи ДНК урацил-N-гликозилазы, которая удаляет продукты дезаминирования цитозина. Определение аутентичной последовательности дДНК осуществляется путем сравнения многократных постановок ПЦР и секвенирования исследуемого участка (O'Rourke et al., 1996).

Механизм метилирования дДНК изучен менее подробно, однако, установлено, что метилирование сохраняется с течением времени и дает возможность изучения эпигенетических характеристик объекта (Женило и др., 2016). В 2010 году научная группа Сванте Паабо начала проект по

созданию карт метилирования дДНК неандертальца. В результате установлена потенциальная возможность определения метилирования *CpG in vivo* (Briggs et al., 2010). Определить наличие метилирования можно при помощи обработки ДНК бисульфитом, превращающего цитозин в урацил. В случае если цитозин подвергнулся метилированию, то трансформации его в урацил не произойдет. Однако, еще одной трудностью при палеоэпигенетических исследованиях является превращение метилированных остатков цитозина в тимин в процессе дезаминирования. Таким образом, детектировать аутентичные модификации дДНК непростая задача.

К ложному и невоспроизводимому результату могут привести и другие более сложные модификации, требующие дальнейших исследований, например, тиминовые сшивки или димеризация молекул (Geacintov, Broyde, 2010; Graham, 2007; Sonntag, 2006).

XXI век: эволюция палеогенетических исследований

Благодаря возможностям NGS и внедрению различных биоинформационных инструментов стало возможным полностью секвенировать древние геномы. Существенным преимуществом NGS является простота извлечения данных из коротких фрагментов дДНК (30–100 п. н.), несмотря на проблемы амплификации: наличие ингибиторов, модификации азотистых оснований, низкое количество копий эндогенной дДНК (Carøe et al., 2018). При подготовке библиотек дДНК можно выделить два методологических подхода – создание двухцепочечных или одноцепочечных библиотек. Двухцепочечная библиотека склонна к неполному лигированию и повреждению, а ее конструкция требует лигирования двухцепочечных адаптеров к фрагментам дДНК с репарированными концами (Gansauge, Meyer, 2013a; Wang Q. et al., 2017). Компания Illumina представила модификации, в которых каждая молекула дДНК лигировалась на отдельные адаптеры без существенной потери генетического материала (Bentley et al.,

2008). Мария Т. Гансадж и Маттиас Мейер (2013) также разработали одноцепочечную библиотеку древнего материала (Gansauge, Meyer, 2013a). Лигирование одноцепочечной молекулы с биотинилированным адаптером на 3'-конце с использованием CircLigase (LGC Biosearch Technologies, США) и связывание продукта с гранулами, покрытыми стрептавидином, было описано в 2013 году. Использование таких гранул позволяет избежать потери ДНК на этапах очистки. В том же году фермент был заменен на ДНК-лигазу T4 и введен олигонуклеотид со случайной последовательностью оснований с меченым биотином адаптером. Несмотря на множество преимуществ стратегии одноцепочечной библиотеки, она требует существенных временных и финансовых затрат (Gansauge, Meyer, 2013a; Gansauge et al., 2017b). Исследования древних биологических образцов показали, что преимущества одноцепочечного протокола особенно очевидны при работе с проблемными/загрязненными образцами. Благодаря постоянной оптимизации и модификации описанных методов NGS стало возможным эффективное секвенирование генома и, таким образом, получение информации о древних видах (Barlow et al. 2016; Sandoval-Velasco M. et al., 2017).

Первой, кто использовал NGS в исследовании дДНК, была команда Хендрика Пойнара в 2006 году. Исследователи извлекли ДНК из нижней челюсти шерстистого мамонта и секвенировали фрагменты размером 95 н. п., в общем количестве 28 миллионов н. п., из которых 13 миллионов н. п. были идентифицированы как эндогенные. Хотя ученые и не секвенировали весь геном шерстистого мамонта, они утверждали, что это вполне возможно, учитывая высокий уровень эндогенной ДНК в образце (Barlow et al. 2016).

В 2010 году Мортен Расмуссен и коллеги секвенировали первый геном древнего человека из 4000-летнего волоса, сохранившегося в вечной мерзлоте. Ученые восстановили 79 % (2,4 миллиарда п. н.) полного диплоидного генома со средней глубиной секвенирования 20× и обнаружили 351151 однонуклеотидных полиморфизмов с высокой степенью достоверности. Анализ данных предоставил доказательства миграции из

Сибири в Северную Америку около 5500 лет назад (Rasmussen et al., 2010). В том же году были секвенированы геномы как неандертальца, так и денисовца. Команда Ричарда Грина извлекла ДНК из костей трех разных образцов неандертальца из пещеры Виндия в Хорватии и представила проект генома неандертальца длиной более 4 миллиардов н. п. Анализ этого генома выявил доказательства общей связи неандертальцев и анатомически современных людей. В 2016 году Паабо получил данные, свидетельствующие о более чем трех эпизодах скрещивания между неандертальцами и различными группами человека разумного (Krause, Paabo, 2016). Все эти данные позволили идентифицировать участки генома, которые могли подвергнуться положительному отбору у анатомически современных людей (Green et al., 2010). Райх и его коллеги секвенировали геном фаланги пальца ранее неизвестного архаичного гоминида, найденной в Денисовой пещере на юге Сибири. Анализ показал, что денисовцы имели общего предка с неандертальцами, однако характеризовались иной эволюционной историей, чем неандертальцы или современные люди: мтДНК современного человека отличается от образца по 385 нуклеотидам, тем самым подтверждая открытие нового подвида *Homo denisovensis* (Reich et al., 2010).

Уже к концу 2016 года были частично проанализированы более 500 геномов гоминид и древних людей, включая индивидуумов верхнего палеолита (Fu et al., 2014; Jones et al., 2017; Raghavan et al., 2014; Seguin-Orlando et al., 2014), индейцев (Malaspinas et al., 2014; Rasmussen et al., 2015), мезолитических охотников-собирателей (Gamba et al., 2014; Jones et al., 2017; Lazaridis et al., 2014; Olalde et al., 2014), неолитических охотников-собирателей (Cassidy et al., 2016; Lazaridis et al., 2014; Mathieson et al., 2015), а также европейцев бронзового века (Cassidy et al., 2016; Gamba et al., 2014; Ochir-Goryaeva M. A. et al., 2021). В 2022 г. были получены геномные данные из отложений Гренландии возрастом два миллиона лет, что стало новым рекордом для палеогенетических исследований (Kjær et al., 2022). В 2023 году Денис Фесенко и коллеги провели ДНК-фенотипирование

представителей Хазарского каганата, населявших Юг России, тем самым открыв новый взгляд на внешний облик людей прошлого (Фесенко и др., 2023).

И наконец, Нобелевская премия по физиологии и медицине в 2022 году была присвоена Сванте Паабо, за открытие (в ее современном виде) и развитие новой области науки – палеогенетики и его выдающиеся исследования, часть которых описаны в данной статье. Выявляя генетические различия, которые отличают всех *Homo sapiens* от вымерших гоминидов, его открытия обеспечивают основу для изучения того, что делает нас уникальными людьми¹.

Заключение

Несмотря на сложность объектов исследований и методических трудностей палеогенетика стала новой быстро развивающейся областью научного знания. Эволюция подходов пробоподготовки древних образцов, разработка новых методов деконтаминации и установление стандартов для проверки, полученных данных, позволили получать достоверные и воспроизводимые результаты. Благодаря постоянному развитию технологий NGS стало возможным секвенирование целых геномов древних образцов и анализ большого массива данных. На сегодняшний день наука, объединившая в себе археологию, генетику и антропологию, способна решить задачи, связанные с вопросами генетической истории нашего мира.

Ученые в будущем, вероятно, сосредоточатся на многопрофильных исследованиях, основанных на палеогеномике, палеопротеомике, метагеномике и палеоэпигенетике, поскольку только лишь геномные данные не дают полного представления об объекте и рассматриваемых процессах.

Работа выполнена в рамках гранта РНФ № 22–28–02000 «Комплексное историко-культурное и молекулярно-генетическое исследование древнего населения Нижнего Подонья в сарматское время».

1 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2022/press-release/>

Литература

Арамова, О. Ю., Фалеева Т.Г., Махоткин М.А., Андриянов А.И., Корниенко И.В. Инновационная методика деконтаминации археологического биологического материала //Генетика-фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции. 2019. – С. 89–90.

Биохимия и молекулярная биология / В. Эллиот, Д. Эллиот; Под ред. А.И. Арчакова, М.П. Кирпичникова, А.Е. Медведева, В.П. Скулачева; Пер. с англ. О.В. Добрыниной, И.С. Севериной, Е.Д. Скоцеляс и др. – М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2002. – 446 с.

Женило С.В., Соколов А.С., Прохорчук Е.Б. Эпигенетика древней ДНК //Acta Naturae (русскаяязычная версия). 2016. Т. 8. №. 3 (30). – Р. е87.

Корниенко И.В., Харламов С.Г. Методы исследования ДНК человека. Ростов-на-Дону: ЮФУ, 2012. – 216 с.

Пат. 2789387 Российская Федерация, МПК А61L 2/18, А61L 101/26, А61L 101/28, А61L 101/22, А61L 101/32. Композиция для удаления ДНК и/или РНК-содержащего биологического материала (варианты) / Корниенко И. В., Фалеева Т. Г., Арамова О. Ю. ; патентообладатель Корниенко И. В., Фалеева Т. Г. – № 2021129837; заявл. 11.10.2021; опубл. 02.02.2023.

Фесенко Д.О. и др., ДНК-фенотипирование останков из элитных погребений юга России хазарского времени //Молекулярная биология. – 2023. – Т. 57. – №4. – С. 597–608.

Флоринская В.С., Корниенко И.В., Арамова О.Ю., Безуглова О.С. Исследование влияния фульвокислот чернозема южного на полимеразную цепную реакцию при молекулярно-генетических исследованиях //IX Международная конференция молодых ученых: вирусологов, биотехнологов, биофизиков, молекулярных биологов и биоинформатиков. 2022. – С. 685.

Флоринская В.С., Корниенко И.В., Безуглова О.С., Арамова О.Ю. Исследование влияния фульвокислот каштановой почвы на полимеразную

цепную реакцию при палеогенетических исследованиях // Наука Юга России: достижения и перспективы. 2022. – С. 26.

Barlow A. et al. Massive influence of DNA isolation and library preparation approaches on palaeogenomic sequencing data //BioRxiv. – 2016.

Bell L.S., Skinner M.F., Jones S.J. The speed of post mortem change to the human skeleton and its taphonomic significance //Forensic science international. – 1996. – V. 82. – №. 2. – P. 129-140.

Bentley D. R. et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry //nature. – 2008. – Т. 456. – №. 7218. – С. 53-59.

Binladen J., Gilbert M.T.P., Willerslev E. 800 000 year old mammoth DNA, modern elephant DNA or PCR artefact? //Biology Letters. – 2007. – V. 3. – №. 1. – P. 55-57.

Boyd W.C. Genetics and the Races of Man. – Oxford : Blackwell, 1950. – p. 335-342.

Briggs A. W. et al. Removal of deaminated cytosines and detection of in vivo methylation in ancient DNA //Nucleic acids research. – 2010. – V. 38. – №. 6. – С. e87-e87.

Brown T.A., Brown K.A. Ancient DNA: using molecular biology to explore the past //BioEssays. – 1994. – V. 16. – №. 10. – P. 719-726.

Campos P.F. et al. DNA in ancient bone – where is it located and how should we extract it? //Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger. – 2012. – V. 194. – №. 1. – P. 7-16.

Cano R. J. et al. Bacillus DNA in fossil bees: an ancient symbiosis? //Applied and Environmental Microbiology. – 1994. – V. 60. – №. 6. – P. 2164-2167.

Cano R. J., Poinar H.N., Roubik D.W., Poinar G.O. Enzymatic amplification and nucleotide sequencing of portions of the 18S rRNA gene of the bee *Proplebeia dominicana* (Apidae: Hymenoptera) isolated from 25-40 million year old Dominican amber //Medical science research. – 1992. – V. 20. – С. 619.

Cano R.J., Poinar H., Poinar G.O. Isolation and partial characterisation of DNA from the bee *Proplebeia dominicana* (Apidae: Hymenoptera) in 25-40 million year old amber // *Medical Science Research*. – 1992. – V. 20. – №. 7. – P. 249-251.

Carøe C. et al. Single-tube library preparation for degraded DNA // *Methods in Ecology and Evolution*. – 2018. – V. 9. – №. 2. – P. 410-419.

Cassidy L. M. et al. Neolithic and Bronze Age migration to Ireland and establishment of the insular Atlantic genome // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2016. – V. 113. – №. 2. – P. 368-373.

Cavalli-Sforza L.L. Genes, peoples, and languages // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1997. – V. 94. – №. 15. – P. 7719-7724.

Cavalli-Sforza L.L., Menozzi P., Piazza A. The history and geography of human genes. – Princeton university press, 1994.

Collins M.J. et al. A basic mathematical simulation of the chemical degradation of ancient collagen // *Journal of Archaeological Science*. – 1995. – V. 22. – №. 2. – P. 175-183.

Cooper A., Poinar H.N. Ancient DNA: do it right or not at all // *Science*. – 2000. – V. 5482. – №. 1139. – P. 416.

DeSalle R., Grimaldi D. Very old DNA // *Current opinion in genetics & development*. – 1994. – V. 4. – №. 6. – P. 810-815.

Endicott P., Sanchez J.J., Pichler I., Brotherton B., Brooks J., Egarter-Vigl E., Cooper A., Pramstaller P. Genotyping human ancient DNA with multiplexed Single-Base-Extension assays: the singular maternal history of the Tyrolean Iceman // *BMC Genetics*. – 2009. – V. 10. – P. 29.

Fu Q. et al. Genome sequence of a 45,000-year-old modern human from western Siberia // *Nature*. – 2014. – V. 514. – №. 7523. – P. 445-449.

Gamba C. et al. Genome flux and stasis in a five millennium transect of European prehistory // *Nature communications*. – 2014. – V. 5. – №. 1. – P. 5257.

Gansauge M. T. et al. Single-stranded DNA library preparation from highly degraded DNA using T4 DNA ligase // *Nucleic acids research*. – 2017. – V. 45. – №. 10. – P. e79

Gansauge M. T., Meyer M. Single-stranded DNA library preparation for the sequencing of ancient or damaged DNA //Nature protocols. – 2013. – V. 8. – №. 4. – P. 737-748.

Geacintov N.E., Broyde S. The chemical biology of DNA damage. Weinheim: Wiley-VCH, 2010. – 471 p.

Gilbert M., Bandelt H.J., Hofreiter, M., Barnes I. Assessing ancient DNA studies //Trends in ecology & evolution. – 2005. – V. 20. – № 10. – P. 541-544.

Goloubinoff P., Paabo S., Wilson A. C. The evolution of maize according to nuclear DNA sequences from archaeological specimens //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1992. – V. 90. – P. 1997-2001.

Graham E.A.M. DNA reviews: ancient DNA //Forensic Science, Medicine, and Pathology. – 2007. – V. 3. – P. 221-225.

Green R.E. et al. A draft sequence of the Neandertal genome //Science. – 2010. – V. 328. – №. 5979. – P. 710-722.

Hansen A.J. et al. Crosslinks rather than strand breaks determine access to ancient DNA sequences from frozen sediments //Genetics. – 2006. – V. 173. – №. 2. – P. 1175-1179.

Higuchi R. et al. DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family // Nature. – 1984. – V. 312. – P. 282-284.

Hofreiter M. et al. Ancient DNA //Nature Reviews Genetics. – 2001. – V. 2. – P. 353-359.

Higuchi R. et al. DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family //Nature. – 1984. – V. 312. – №. 5991. – P. 282-284.

Jans M.M.E. et al. Characterisation of microbial attack on archaeological bone //Journal of Archaeological Science. – 2004. – V. 31. – №. 1. – P. 87-95.

Jones E. R. et al. The Neolithic transition in the Baltic was not driven by admixture with early European farmers //Current Biology. – 2017. – V. 27. – №. 4. – P. 576-582.

Jónsson H. et al. mapDamage2. 0: fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters //Bioinformatics. – 2013. – V. 29. – №. 13. – P. 1682-1684.

Kitamura R., Mokhtarian P. L., Laidet L. A micro-analysis of land use and travel in five neighborhoods in the San Francisco Bay Area //Transportation. – 1997. – V. 24. – P. 125-158.

Kjær K. H. et al. A 2-million-year-old ecosystem in Greenland uncovered by environmental DNA //Nature. – 2022. – V. 612. – №. 7939. – P. 283-291.

Lazaridis I. et al. Ancient human genomes suggest three ancestral populations for present-day Europeans //Nature. – 2014. – V. 513. – №. 7518. – P. 409-413.

Leney M. D. Sampling skeletal remains for ancient DNA (aDNA): a measure of success //Historical Archaeology. – 2006. – V. 40. – №. 3. – P. 31-49.

Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA //Nature. – 1993. – V. 362 – № 6422. – P. 709-715.

Malaspinas A. S. et al. Two ancient human genomes reveal Polynesian ancestry among the indigenous Botocudos of Brazil //Current Biology. – 2014. – V. 24. – №. 21. – P. R1035-R1037.

Mathieson I. et al. Genome-wide patterns of selection in 230 ancient Eurasians //Nature. – 2015. – V. 528. – №. 7583. – P. 499-503.

Miller W. et al. Sequencing the nuclear genome of the extinct woolly mammoth //Nature. – 2008. – V. 456. – №. 7220. – P. 387-390.

Mrevlishvili G. M., Svintradze D. V. Complex between triple helix of collagen and double helix of DNA in aqueous solution //International journal of biological macromolecules. – 2005. – V. 35. – №. 5. – P. 243-245.

Ochir-Goryaeva M. A. et al. Ancestry and identity in Bronze Age Catacomb culture burials: A meta-tale of graves, skeletons, and DNA //Journal of Archaeological Science: Reports. – 2021. – V. 37. – P. 102894.

O'Donoghue K. et al. Remarkable preservation of biomolecules in ancient radish seeds //Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. – 1996. – V. 263. – №. 1370. – P. 541-547.

Olalde I. et al. Derived immune and ancestral pigmentation alleles in a 7,000-year-old Mesolithic European //Nature. – 2014. – V. 507. – №. 7491. – P. 225-228.

O'Rourke D.H., S.W. Carlyle, R.L. Parr. Ancient DNA: Methods, progress, and perspectives //American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Association. – 1996. – V. 8. – № 5. – P. 557-571.

Paabo S. Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA //Nature. – 1985. – V. 314. – №. 6012. – P. 644-645.

Paabo S., et al. Genetic analyses from ancient DNA //Annu. Rev. Genet. – 2004. – V. 38 – P. 645-679.

Krause J., Paabo S. Genetic time travel //Genetics. – 2016. – T. 203. – №. 1. – C. 9-12.

Pauling L., Zuckerkand E., Henriksen T., Lövstad R. Chemical Paleogenetics: Molecular «Restoration Studies» of Extinct Forms of Life //Acta Chemica Scandinavica. – 1963. – № 17. – P. 9–16.

Poinar H.N., Cano R.J., Poinar G.O. DNA from an extinct plant //Nature. – 1993. – V. 363. – №. 6431. – P. 677-677.

Raghavan M. et al. The genetic prehistory of the New World Arctic //Science. – 2014. – V. 345. – №. 6200. – P. 1255832-1.

Rasmussen M. et al. Ancient human genome sequence of an extinct Palaeo-Eskimo //Nature. – 2010. – V. 463. – №. 7282. – P. 757-762.

Rasmussen S. et al. Early divergent strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 years ago //Cell. – 2015. – V. 163. – №. 3. – P. 571-582.

Reich D. et al. Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia //Nature. – 2010. – V. 468. – №. 7327. – P. 1053-1060.

Roberts D.F. Obituary: Arthur Mourant (1904-1994) //Human Biology. – 1997. – P. 277-289.

Sandoval-Velasco M. et al. Relative performance of two DNA extraction and library preparation methods on archaeological human teeth samples //STAR: Science & Technology of Archaeological Research. – 2017. – V. 3. – №. 1. – P. 80-88.

Seguin-Orlando A. et al. Genomic structure in Europeans dating back at least 36,200 years //Science. – 2014. – V. 346. – №. 6213. – P. 1113-1118.

Sonntag C. Free-radical-induced DNA damage and its repair. – Berlin : Springer, 2006. – 523 p.

Todd N. E. Trends in proboscidean diversity in the African Cenozoic //Journal of Mammalian Evolution. – 2006. – V. 13. – №. 1. – P. 1-10.

Wang Q. et al. Targeted sequencing of both DNA strands barcoded and captured individually by RNA probes to identify genome-wide ultra-rare mutations //Scientific Reports. – 2017. – V. 7. – №. 1. – P. 3356.

Willerslev E., Cooper A. Ancient DNA //Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2005. – V. 272. – № 1558. P. 3-16.

Woodward S.R, Weyand N.J., Bunnell M. DNA sequence from Cretaceous period bone fragments //Science. – 1994. – V. 266. – № 5188. – P. 1229-1232.

Zischler H., Hoss M., Handt O., von Haeseler A., van der Kuyl A. C., Goudsmit J., Paabo S. (1995). Detecting dinosaur DNA //Science. – 1995. – V. 268. – № 5214. – P. 1192-1193.