

ARCHEOLOGIA MOLEKULARNA

Do niedawna badacze mogli analizować jedynie cząsteczki DNA pochodzące z materiału biologicznego, który został pobrany od organizmów żyjących współcześnie. Jednakże coraz lepsze efekty daje analiza DNA częściowo zniszczonego *post mortem*. Ustalana kolejność jego składowych może powiedzieć wiele nie tylko o cechach badanego organizmu i jego pochodzeniu, ale także opisać warunki, w jakich żył.

HENRYK W. WITAS

D Poznawanie przyszłości i przeszłości zawsze intrygowało. O ile przewidywanie przyszłości nadal jest w większym stopniu domeną wróżbiarstwa niż nauki, o tyle rekonstrukcja przeszłości na podstawie zachowanych do dzisiaj śladów może prowadzić do godnych uwagi wyników. Powodzenie działań merytorycznych z tym związanych zależy głównie od

możliwości dysponowania obiektem posiadającym historię i zastosowania właściwej metody badawczej. W ciągu ostatniego ćwierćwiecza archeologia wzbogaciła swój warsztat o możliwość odtwarzania ożywionej części przeszłości.

Początkowe próby analizowania cząsteczki Życia – DNA, bo o metodach molekularnych mowa, obarczone były błędami wynikającymi z nieznamomości tafonomii, szczegółów dotyczących degradacji

chemicznej DNA i czynników za to odpowiedzialnych. Badano szczątki z różnych okresów, ale dopiero po przeszło dekadzie niepowodzeń opublikowano pierwszą wiarygodną metodycznie sekwencję nukleotydów krótkiego fragmentu cząsteczki Życia, wyizolowanej ze szczątków neandertalczyka. Od tego czasu analiza kopalnego DNA budzi co-

SŁOWNICZEK TERMINÓW UŻYWANYCH W TEKŚCIE

ALLEL – wariant genu; występują co najmniej dwa allele każdego genu, jednak może być ich kilkadziesiąt; nowy allel jest generowany przez zmianę nawet jednego nukleotydu.

AMINOKWASY – związki wchodzące w skład białek (20 rodzajów), zawierające w swojej budowie przynajmniej jedną grupę

aminową (zasadową) i jedną karboksylową (kwasową), dzięki którym łączą się tworząc heteropolimery – białka.

AUSTRALOPITECUS AFARENSIS – forma przedludzka, gatunek występujący w Afryce pomiędzy 3,8 i 2,8 mln lat temu.

DEAMINACJA CYTOZYNY – odłączenie grupy aminowej od cząsteczki cytozyny z jednoczesnym przekształceniem jej w uracyl. Zmienia pierwotny sens zapisanej w DNA informacji

DNA – kwas deoksyrybonukleinowy; dwuniciowy, liniowy heteropolimer zbudowany z podjednostek, z których każda składa się z reszty kwasu fosforowego, deoksyrybozy



DNA Znaczenie kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA) dla żywych organizmów decyduje o jego powszechności w nich obecności. Nie ma związku pomiędzy długością DNA i stopniem rozwoju danego organizmu. Liczba par zasad (pz) tworzących dwuniciową strukturę jest charakterystyczna dla gatunku i u człowieka wynosi 3×10^9 . Od niedawna dopiero wiemy, że strukturę przestrzenną DNA tworzą dwie nici, z których każda jest heteropolimerem, utworzonym przez cztery rodzaje nukleotydów. Każdy nukleotyd zbudowany jest z trzech związków: reszty kwasu fosforowego, monocukru deoksyrybozy i zasady azotowej – purynowej (Adenina, Guanina) lub pirymidynowej (Cytosyna, Tymina). Poszczególne składniki są ze sobą połączone tak, że tworzą nici z na przemian ułożonych reszt kwasu fosforowego i deoksyrybozy, do której przyłączona jest jedna z zasad. Dwie nici nukleotydowe łączą wiązania wodorowe zgodnie z zasadą komplementarności: A z T (dwa wiązania) i G z C (trzy wiązania). Dzięki takiej strukturze cząsteczka jest odtwarzana w mitozie (na użytek własny organizmu) i mejozie (gametogeneza) gwarantującej przekazanie informacji genetycznej następnemu pokoleniu. Cechy organizmu (fenotyp) zapisane, jako kolejność (sekwencja) nukleotydów DNA (genotyp), są swoiste osobniczo i charakterystyczne dla gatunku. Dzięki temu możliwe jest odtwarzanie fenotypu na podstawie analizy DNA wyizolowanego ze szczątków nawet dziesiątki tysięcy lat po śmierci organizmu.

raz mniej zastrzeżeń, dzięki wdrażaniu kolejnych sposobów oceny jej autentyczności. Metodyka stała się na tyle zaawansowana, że sekwencjonowane są genomy organizmów wymarłych dziesiątki tysięcy lat temu. Niska temperatura otoczenia szczątków (np. wieczna zmarzlina) znacznie rozszerza czasowy obszar badań, w którym poruszają się badacze, oraz pozwala odtwarzać składniki flory i fauny żyjącej setki tysięcy lat temu.

Analiza sekwencji kopalnego DNA staje się wraz z wprowadzaniem nowych technologii coraz obfitszym źródłem wiedzy o cechach mieszkańców przeszłego świata oraz panujących wtedy zależnościach, przede wszystkim jednak stwarza sposobność poznawania mechanizmu kierującego procesem ewolucji i odkrywania narzędzi, którymi się posługiwała - czynników selekcyjnych cechy i rzeźbiących kształt Życia. Niemniej, jak żadne inne działanie, nie pozwala przewidzieć jego szczegółów w przyszłości.

Wszystkie organizmy, których żywot był częścią historii Życia na Ziemi wystawiane były na działanie warunków selekcyjnych ich cechy zgodnie z naczelną zasadą, którą dostrzegli dopiero półtora wieku temu Karol Darwin i Alfred Wallace.

ŻYCIE I DNA

Mniej więcej 13,7 miliarda lat upłynęło od narodzin Wszechświata, a jedna z najstarszych jego galaktyk – Droga Mleczna, której historia rozpoczęła się już kilkaset milionów lat po Wielkim Wybuchu, stała się stosunkowo niedawno (5-6 mln lat temu) domem Układu Słonecznego. Jest wielce prawdopodobne, że jedna z jego planet, prawie całkowicie pokryta wtedy wodą, mniej więcej 4,5 mld lat temu przygarnęła wędrującą w przestrzeni międzygwiazdnej cząsteczkę prebiotyczną, a wśród nich stanowiące dzisiaj o Życiu – węglowodory, aminokwasy, a nawet zasady azotowe – składniki DNA i RNA. Według niektórych autorów, znajdując na Ziemi odpowiednie warunki, cząsteczki tworzyły przez miliardy lat coraz bardziej złożone układy, aż wreszcie około 200 tys. lat temu rozpoczęło

się powolne kumulowanie przystosowań formujących gatunek *Homo sapiens*, którego przedstawiciele potrafią rejestrować swoją historię, co czynią od 100-150 pokoleń, i próbują zrozumieć strukturę oraz mechanizmy leżące u podstaw fenomenu Życia w każdej jego formie.

Wszystkie organizmy, których żywot był częścią historii Życia na Ziemi wystawiane były na działanie warunków selekcyjnych ich cechy zgodnie z naczelną zasadą, którą dostrzegli dopiero półtora wieku temu Karol Darwin i Alfred Wallace. Myśl i praca Darwina, którego 200. rocznicę urodzin obchodzimy w tym roku, miały ogromny wpływ na kształt współczesnej nauki, a 150. rocznica wydania „O powstawaniu gatunków...” przypomina, że jeszcze niedawno temu ludzie nie znali podstawowego mechanizmu różnicowania przyrody pod kontrolą środowiska – kumulowania korzystnych dla zbioru organizmów cech (w DNA) na drodze doboru naturalnego i przekazywania ich kolejnym pokoleniom.

Ewolucja wertykalna stała się możliwa, kiedy wśród struktur komórkowych pojawił się rybosom, odpowiedzialny za przenoszenie informacji zapisanej kolejnością nukleotydów w kwasie nukleinowym (genotyp) na kolejność aminokwasów w białku (fenotyp), odpowiedzialną za jego właściwości i funkcję. Dzięki zyskanej możliwości przekazywania informacji pomiędzy pokoleniami, Życie zakończyło trwający ~2 mld lat okres chaotycznego, horyzontalnego transferu cech i rozpoczęło przystosowywanie się do warunków otoczenia poprzez wytwarzanie coraz większego różnicowania gatunkowego.

Ogromna, jak wynika z badań, różnorodność gatunków ledwie uchroniła Życie przed zagładą. Kilka wielkich wymierań w okresie Życia w postaci wielokomórkowej (ostatnie ~600 mln lat) pokazało, że zasadnicze zmiany parametrów środowiska mogą być niezwykle groźne (np. 245 mln lat temu ponad 90% gatunków wyginęło, głównie z oceanów pokrywających większą część globu). Według najnowszych danych proces różnicowania w obrębie gatunku rozpoczął się 6 – 7 mln lat temu, kiedy żył wspólny przodek ludzi i szympanсів (*Sahelanthropus tchadiensis*).

Rozszyfrowanie cech fenotypowych na podstawie

i zasady azotowej; koduje kolejność aminokwasów w białkach.

EQUUS QUAGGA QUAGGA – pierwszy spośród wymarłych organizmów, którego DNA był analizowany; zgodnie z uzyskanym wynikiem należał do podgatunku zebry stepowej (*Equus quagga*). Ostatni okaz zakończył życie 12 sierpnia 1883 roku w amsterdamskim zoo.

EWOLUCJA WERTYKALNA (DARWINOWSKA) – proces kształtowania fenotypu kierowany doбором naturalnym cech (alleli), które są zachowywane w puli, genowej dzięki ich przekazywaniu między pokoleniami. Różnicowanie zestawu cech w wyniku działania zmieniających warunków środowiska może prowadzić do powstania nowego gatunku. Ewolucja wertykal-

na jest znacznie szybszym procesem niż ewolucja horyzontalna, której przebieg zależy wyłącznie od przypadkowego przepływu genów pomiędzy osobnikami niespokrewnionymi, powszechny wśród przedstawicieli najprymitywniejszych grup – Archea i Bacteria.

FENOTYP – zespół cech organizmu stanowiących efekt ekspresji genotypu (dziedziczona

Mechanizm i produkty degradacji DNA post mortem

Najbardziej utrudniającym pracę badacza efektem degradacji DNA post mortem jest jego defragmentacja do odcinków zbyt krótkich, aby mogły być analizowane. Kiedy jednak w preparacie znajdują się odcinki o długości przynajmniej ~50 pz (par zasad) można je skopiować (namnożyć) metodą łańcuchowej reakcji polimerazy DNA (PCR) i uzyskać wystarczającą do analizy liczbę cząsteczek.

Rozróżniane są dwa rodzaje uszkodzeń DNA powstających po śmierci komórki, kiedy to nie działa już mechanizm naprawy uszkodzeń cząsteczki. O jej kształcie chemicznym decydują wtedy czynniki fizyko-chemiczne, np. temperatura, obecność H₂O i O₂, kwasowość otoczenia i promieniowanie. Pierwszą grupę stanowią modyfikacje struktury chemicznej zasad purynowych (Adenina, Guanina) i pirymidynowych (Tymina i Cytosyna) zmieniające autentyczną informację zawartą pierwotnie w DNA. Jedną z najczęściej obserwowanych jest deaminacja hydrolytyczna zasad, tj. odłączenie grupy aminowej w miejscu rozpoznawanym przez enzym polimeryzujący (ang. miscoding lesion). Efektem jest błędne odczytywanie i rozpoznawanie zmian w de novo syntezowanej, komplementarnej nici w trakcie PCR. Po deaminacji adeniny powstaje hipoksantyna, która rozpoznawana jest przez polimerazę jako guanina (A G/T C, typ 1, ~15%), natomiast cytosyna zmieniana jest w uracyl rozpoznawany jako tymina (C T/G A, typ 2, ~80%). Najczęściej obserwowane uszkodzenia w kopalnym DNA dotyczą reszt cytozyny znajdujących się w obrębie jednoniciowych końców zdegradowanej cząsteczki (~70%), podczas gdy region dwuniciowy cząsteczki, chroniony przed deaminacją, kumuluje ich nie więcej niż 1%. Ponieważ uracyl jest naturalnym składnikiem RNA, można go łatwo, enzymatycznie usunąć z DNA. Wytworzone w ten sposób miejsce(a) apirymidynowe hamuje(a) syntezę komplementarnej nici w PCR, ponieważ stosowane powszechnie poli-

merazy nie rozpoznają i nie namnażają tak zmienionych fragmentów. W ten sposób, zmienione chemicznie fragmenty eliminowane są z puli cząsteczek kopiowanych i nie są analizowane.

Drugi rodzaj uszkodzeń DNA jest efektem daleko posuniętego skracania post mortem jego dwuniciowej struktury (podwójne pęknięcia). Zbyt krótkie fragmenty (<50 pz) nie mogą być namnażane i analizowane. Metoda PCR pozwala ocenić zawartość preparatu pod względem długości wyizolowanych fragmentów. Brak produktu namnażania może także świadczyć o ograniczeniu dostępu polimerazy do kopalnych matryc DNA po wytworzeniu post mortem wiązań krzyżowych typu DNA-DNA i DNA-białko (odwracalnych w obecności bromku N fenyloacetylotiazolowego). Często przyczyną niskiej wydajności PCR jest hamowanie aktywności polimerazy DNA przez inhibitory współizolowane z DNA.

Nowe obszary historii Życia są zazwyczaj niedostępne do czasu wynalezienia właściwego narzędzia badawczego, które im bardziej wyszukane, tym większe obszary nieznanego pozwala eksplorować. Tak też stało się w przypadku analizy kopalnego DNA. Nowe technologie, np. 454 Life Sciences opisana pod koniec 2005 roku, ciągle aktualizowana i weryfikowana, oraz jej podobne pozwalają jednocześnie sekwencjonować gigantyczną liczbę nukleotydów. Genom człowieka współczesnego może być zsekwenconowany w ciągu 3 dni za jedyne 5 tys. USD. Niespotykana dotychczas precyzja wyniku z sekwenconowania pojedynczych nici DNA i składania fragmentów komplementarnych, co przede wszystkim pozwala analizować i eliminować zasady niekomplementarne, błędnie włączone przez enzym polimeryzujący lub zmienione chemicznie i tym samym stoi na straży odczytywania autentycznej sekwencji badanego fragmentu.

informacji zawartej w DNA wymarłych ludzkich i przedludzkich form, np. *Homo erectus* sprzed 2 mln lat, *Australopithecus afarensis* sprzed 3,5 mln lat, ani tym bardziej *Sahelanthropus tchadensis* niestety jest dzisiaj niemożliwe, chociaż trudno przewidzieć przyszłość. Powód jest prozaiczny: degradacja chemiczna samego nośnika informacji.

Niemniej, DNA naszych kuzynów, neandertalczyków, którzy prawdopodobnie chodzili po Ziemi jeszcze 24 tys. lat temu, zachował się na tyle dobrze, że sekwencje nukleotydów jego genomu mitochondrialnego już znamy. Ciekawe, że porównany z genomem *Homo sapiens* neandertalski okazał się znacząco różny. Nie tylko pierwsza analiza z 1997 roku, ale także wyniki licznych już

Metody molekularne mogą z pewnością ożywić badane przez archeologów miejsca, dostarczając informacji o fenotypie ludzi, zwierząt, roślin i drobnoustrojów je zamieszkujących, a także o pokrewieństwie lub nękających je chorobach.

dzisiaj porównań mtDNA sugerują rozdzielność obydwóch gatunków. Sekwencjonowanie genomu jądrowego rozpoczęte w 2006 roku (1 milion par zasad) pozwoliło określić czas, jaki upłynął od wspólnego przodka (~700 tys. lat) i czas, od kiedy rozpoczęła się osobna historia zmian DNA każdego z wyodrębnionych gatunków (~370 tys. lat).

Jak wynika z wielu doniesień, liczebność pierwszych populacji *Homo sapiens* znacznie różniła się od dzisiejszej, była śladowa. Najbardziej radykalni w swoich wyliczeniach sugerują, że wszystkim razem wzięte grupy zamieszkujące Czarny Ląd w okresie wyjścia z Afryki nie były liczniejsze niż 2000 osobników. Jedną z przyczyn migracji, jak się przypuszcza, była susza trwająca pomiędzy 130

instrukcja), która pozostaje pod wpływem środowiska życia

HAPLOGRUPA – zbiór podobnych haplotypów (charakterystycznych sekwencji mtDNA) pochodzących od wspólnego przodka i dzielących taką samą zmianę pojedynczego nukleotydu (SNP).

HOMO ERECTUS – wczesna forma ludzka obecna na Ziemi pomiędzy 1,9 mln i 30 tys.

lat temu, najstarszy przedstawiciel rodzaju *Homo*, który opuścił Afrykę, na długo przed *H. sapiens*; według niektórych autorów niewykluczona jest wymiana genów z człowiekiem współczesnym.

HVR 1 – jedna z dwóch części wysokozmiennego regionu kontrolnego mitochondrialnego DNA HVR (ang. hypervariable region), obejmująca odcinek pomiędzy pozycjami 16001

i 16568. Identyfikacja zmian pojedynczych nukleotydów w HVR jest wykorzystywana do oznaczania tzw. haplogrup, np. świadczących o pochodzeniu.

KOPALNY DNA (ANG. ANCIENT DNA, ADNA, FOSSIL DNA, FDNA) – DNA w różnym stopniu zdegradowany chemicznie, wyizolowany z prób archeologicznych post mortem.

runkowy). Fakt selekcjonowania cechy regionalnie przemawia za darwinowskim doбором naturalnym, potwierdzając aktywny proces ewolucji człowieka, trwający również dzisiaj. Niektórzy badacze, analizując nasz genom, sugerują zmianę częstości występowania alleli aż 1,8 tys. genów (genom człowieka to ok. 25 tys. genów) jako efekt presji selekcyjnej działającej w okresie ostatnich 10 tys. lat, tj. 450 – 500 pokoleń. Szybkiemu, w skali czasu ewolucyjnego, pojawianiu się i utrwalaniu zmian sprzyja niewątpliwie wciąż rosnąca liczba ludzi. Proces rozpoczął się w neolicie (liczebność całej ówczesnej populacji *Homo sapiens* szacowana jest na 4-6 mln osobników). Ostatnie 200 lat przyniosło wzrost z 1 mld na początku XIX w. do blisko 7 mld dzisiaj, przy czym w ciągu 50 lat liczba mieszkańców Ziemi się podwoiła. Im więcej w danym czasie osobników (wariantów cząsteczki DNA), tym większa różnorodność genomów, na które działają selekcjonujące czynniki środowiska, zmieniającego się ciągle także pod wpływem człowieka, i jakże odmienne od tych, które formowały współczesnego *Homo sapiens* przez ~200 tys. lat.

KOPALNY DNA: PROBLEMY METODYCZNE I OKRUCHY ŻYCIA Z PRZESZŁOŚCI

Dzisiejsze metody badawcze oferują możliwość śledzenia zmian struktury chemicznej DNA, tj. zawartej w nim informacji, w różnych przedziałach czasowych. Można je wykorzystywać na dwa sposoby. Pierwszy polega na analizie struktury pierwszorzędowej DNA organizmów współcześnie żyjących. Porównywanie coraz liczniej dostępnych genomów różnych gatunków dostarcza danych o mechanizmie ewolucji, pozwala określać czas, jaki upłynął od momentu powstania zmiany w DNA (nowego allelu), czas rozpoczęcia jej selekcji, a niejednokrotnie umożliwia wnioskowanie o rodzaju czynnika selekcyjnego. Drugi sposób jest znacznie trudniejszy w realizacji z powodu znacznych ograniczeń metodycznych i zawsze ograniczonej możliwości dostępu do obiektu analizowanego – cząsteczek kopalnego DNA. Z metodycznego punktu widzenia, działanie obarczone jest błędami, jednakże, kiedy realizowane zgodnie z zasadami sztuki, stanowi bezcenne źródło wiedzy o pulach genowych należących do przeszłości. Można dzięki niemu uzyskać dane o genach organizmów żyjących na określonym obszarze i ustalonym przedziale czasowym, częstości występowania alleli lub różnicach w strukturze pierw-

szorzędowej fragmentów niekodujących, które mogły przyczynić się do powstania cechy gatunku, jak to miało miejsce (co najmniej dwukrotnie) w przypadku tolerancji laktozy. Analiza DNA wczesnoneolitycznych Europejczyków sprzed 7-8 tys. lat wykazała brak u nich tej cechy (jest efektem zamiany jednego tylko nukleotydu), w przeciwieństwie do ludzi żyjących w okresie późnej epoki żelaza.

Trudno byłoby dzisiaj wyobrazić sobie analizę kopalnego DNA bez znajomości mechanizmów degradacji i wyszukanych metod badawczych. Dzięki zaawansowanej technologii 454 wykazano, że prawie 80% analizowanych fragmentów DNA wyizolowanych w 2006 roku z neandertalskiego materiału kostnego (Vindija, Chorwacja), liczącego sobie ~36 tys. lat, nie przystawało do żadnej znanej sekwencji znajdującej się w bazach referencyjnych DNA, a tylko ~6% przystawało do genomów przedstawicieli rzędu naczelnych (*Primates*).

Sekwencjonowanie jądrowego DNA *H. neanderthalensis* dostarczyło już np. informacji na temat koloru włosów naszych kuzynów. Analiza alleli genu MC1R wykazała ponad wszelką wątpliwość, że wśród neandertalczyków bywali rudzi, a jeden z około 500 genów związanych z mową ludzką, FOXP2, występował u nich w postaci allelicznej identycznej jak u współczesnego człowieka.

W 2007 roku badacze sięgnęli do najstarszych badanych dotychczas cząsteczek DNA, reprezentujących florę i faunę Grenlandii sprzed 450-800 tys. lat. Grupy organizmów zidentyfikowane na podstawie DNA w próbach z wielokilometrowych odwiertów w lodowcu pokrywającym Grenlandię dowodzą istnienia przed setkami tysięcy lat ekosystemu tętniącego życiem.

Metody molekularne mogą z pewnością ożywić badane przez archeologów miejsce, dostarczając informacji o fenotypie ludzi, zwierząt, roślin i drobnoustrojów je zamieszkujących, a także o pokrewieństwie lub nękających chorobach. Dzięki analizie DNA z przeszłości archeolodzy uzyskać mogą precyzyjną informację o kierunkach migracji całych grup ludzkich lub pojedynczych osobników. Opublikowane niedawno wyniki dwóch pierwszych analiz mtDNA sprzed tysięcy lat, stanowiące głos w dyskusji o pochodzeniu współczesnych Europejczyków i mechanizmie wprowadzania technologii neolitycznych, wydają się być sprzeczne, choć mogą także świadczyć o jego złożonym charakterze. Według jednych autorów jesteśmy potomkami neolitycznych

Poruszanie się w czasie, dzięki analizowaniu DNA z różnych okresów daje nieosiągalną do niedawna sposobność śledzenia procesu ewolucji zarówno całego gatunku, jak i pojedynczych cech u przedstawicieli różnych grup.

komplementarności. Po dwudziestu cyklach (jeden cykl to kolejno – rozłączenie dwóch nici, przyłączanie starterów i synteza) kontrolowanych zmieniającą się temperaturą, z jednej cząsteczki matrycy DNA uzyskiwanych jest ponad milion jej kopii!

POLIMERAZY DNA – enzymy (biokatalizatory) syntezujące z nukleotydów łańcuch DNA.

RNA – kwas rybonukleinowy; jednoniciowy, liniowy heteropolimer zbudowany z podjednostek, z których każda składa się z reszty kwasu fosforowego, rybozy i zasady azotowej; występuje głównie, jako transportowy (tRNA), informacyjny (mRNA), lub wchodzi w skład rybosomów (rRNA).

SAHELANTHROPUS TCHADENSIS „TOUMAI” – znaleziona 2001 roku w Czadzie czaszka, której wiek określany jest na 6-7 mln lat, zdaje się należeć do wspólnego przodka szympanśów i człowieka, o czym świadczą zidentyfikowane cechy anatomiczne obydwóch grup.


rolników dziedzicząc ich cechy (*demic diffusion*), za czym przemawiać ma śladowa reprezentacja haplogrupy N1a u współczesnych (0,02%), występującej powszechnie w środkowej Europie (25%) 7 tys. lat temu. Jednocześnie, wyniki innej grupy badaczy analizujących występowanie haplogrup wśród ludzi sprzed 5 tys. lat zamieszkujących rejon Pirenejów wykazała, że częstotliwość kilku z nich jest identyczna z dzisiejszą, sugerując rozprzestrzenianie się technologii a nie genów (bez udziału przybyszów z Bliskiego Wschodu), potwierdzając tym samym mezolityczny rodowód dzisiejszych Europejczyków (*cultural diffusion*).

Identyfikując allele predysponujące i oceniając częstość ich występowania w przeszłej populacji można pokusić się o odtworzenie jej obrazu pod względem zapadalności na choroby niejednokrotnie dziesiątkujące społeczności w różnych okresach. I tak, wykazano, że niektóre allele predysponujące do chorób autoimmunizacyjnych, w tym cukrzycy insulinozależnej, były w średniowieczu tak częste, jak u współcześnie żyjących chorych na cukrzycę typu 1. Allele niektórych genów predysponujące do infekcji *M. tuberculosis* czyli prądkiem gruźlicy w średniowieczu były powszechne, a współcześnie występują tylko u nielicznych. Tak więc dane epidemiologiczne ostatniej dekady, pokazujące wzrost zachorowalności na gruźlicę, mogą sugerować zmianę „takytyki” drobnoustroju. Allele predysponujące do zachorowania w średniowieczu, eliminowane z populacji w obliczu niedawnych epidemii (XVII-XIX w.), być może związane były z inną cechą, np. potwierdzoną dzisiaj opornością na powszechnie wtedy występujące u ludzi pasożyty, podobnie jak ma to miejsce dzisiaj w krajach Trzeciego Świata. Sugeruje się na przykład, że określone allele HLA DQB, dawniej rzadkie, współcześnie wielokrotnie częstsze, selekcionowane kolejnymi epidemii gruźlicy, mogą co prawda chronić przed infekcją prądkiem gruźlicy, ale jednocześnie predysponują do alergii. Częstość allelu delta 32 CCR5 we wczesnym średniowieczu, chroniącego przed zachorowaniem na AIDS, podobna do dzisiejszej pokazuje, że już znacznie wcześniej niż tysiąc lat temu musiał istnieć mechanizm i/lub czynnik selekcyjny allel ochronny, wbrew temu, co sugerują niektórzy autorzy, wskazując na późnośredniowieczne epidemie dżumy.

Nie sposób rozwodzić się nad szczegółami tech-

nicznymi, niemniej jednak coraz bardziej zaawansowane metodycznie działania zwiększają prawdopodobieństwo osiągnięcia wyników wyższej jakości (autentycznych) i coraz większy dostęp do kopalnych matryc. Na przykład, prace sprzed dwóch lat potwierdziły, możliwość molekularnego konstruowania polimeryzujących enzymów, które syntezują komplementarną do kopalnej matrycy nić, pomimo uszkodzeń strukturalnych stanowiących przeszkodę dla dotychczas stosowanych polimeraz. Tym samym, fragmenty DNA obecne w materiale archeologicznym, cenne ze względu na zawartą w nich informację, nieosiągalne jeszcze do niedawna z powodu częściowej degradacji chemicznej, stają się dostępne, ponieważ problem identyfikacji uszkodzeń i ustalenia ich autentycznej struktury jest dzisiaj już tylko kwestią wyboru metodyki.

Przykłady wymienione powyżej, podobnie jak wiele innych, świadczą o możliwości genotypowania na podstawie odtworzonych fenotypów, zdobywania danych filogenetycznych, a nawet rekonstruowania składu przeszłych ekosystemów i warunków w nich panujących poprzez identyfikację organizmów je zamieszkujących. Znamy już dzisiaj sekwencje genomu mitochondrialnego neandertalczyka, niedźwiedzia jaskiniowego i mamuta. Sekwencjonowanie genomu jądrowego neandertalczyka trwa, a mamuta ma się już ku końcowi. Ileż to problemów ewolucyjnych zostanie rozwiązanych, a ileż nowych pomysłów pojawi się, kiedy będzie można porównać genomy organizmów wymarłych z współcześnie żyjącymi. Poruszanie się w czasie dzięki analizowaniu DNA z różnych okresów daje nieosiągalną do niedawna sposobność śledzenia procesu ewolucji zarówno całego gatunku, jak i pojedynczych cech u przedstawicieli różnych grup. Najstarsze sekwencjonowane mtDNA przedstawiciela rodzaju *Homo* (*neanderthalensis*) ma ok. 100 tys. lat, a wynik porównania z cząsteczkami neandertalczyków z późniejszych okresów wykazał zwiększenie się liczby różnic pomiędzy ich mtDNA i ludzkim wraz z upływem czasu.

Chociaż sięganie do informacji zapisanej w DNA jest ograniczone labilnością jego chemicznej struktury, i chociaż nie dotrzemy poprzez analizę cząsteczki do początków Życia, to jednak istnieje szansa śledzenia zmian, które targały nią w okresie najstotniejszym dla dziejów *Homo sapiens*. 



O autorze:

HENRYK W. WITAS – profesor nadzwyczajny Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Kierownik Zakładu Biologii Molekularnej UM. Jest autorem lub współautorem ponad 200 publikacji i opracowań. Z pracownikami i doktorantami wprowadzał przez ponad trzy lata trudną metodykę badań kopalnego DNA, a od czterech lat zajmuje się śledzeniem zmian częstości alleli chorób uwarunkowanych genetycznie.

Aktualny przedmiot zainteresowania - identyfikowanie cech człowieka ewoluującego w okresie od neolitu do współczesności. W 2004 zorganizował „8th International Conference on Ancient DNA and Associated Biomolecules”.

SEKWENCJONOWANIE GENOMU – ustalanie metodami biologii molekularnej kolejności nukleotydów w całej cząsteczce DNA osobnika.

TAFONOMIA – nauka zajmująca się badaniem i określaniem zmian zachodzących w organizmach po śmierci.

WĘGLOWODORY – organiczne związki chemiczne zbudowane z atomów węgla i wodoru.

ŻYJNY PÓŁKSIĘŻYC – ang. Fertile Crescent, żyzne tereny wokół Tygrysu i Eufratu, kolebka współczesnego człowieka, pierwsze z miejsc gdzie człowiek zarzucił zbieracko-łowicki tryb życia (do końca paleolitu) na rzecz

rolnictwa, obejmują na Bliskim Wschodzie obszar Lewantu i Mezopotamii należące dzisiaj do Iraku, Syrii, Libanu, Izraela, Kuweitu, Jordanii, południowo-wschodnią część Turcji i południowo-zachodni Iran oraz, według niektórych, Egiptu.