

Ανάλυση αρχαίου DNA σε βιολογικά ανασκαφικά ευρήματα της Πρώιμης εποχής του Χαλκού στον ελληνικό χώρο

Σεβαστή Κουρσιώτη
Επιβλέπων: Νίκος Πουλακάκης

Περίληψη

Στον ελληνικό χώρο, ανθρώπινα προϊστορικά δείγματα, στα οποία έχει γίνει ανάλυση αρχαίου DNA, υποδηλώνουν τη γενετική διαφοροποίηση της Νεολιθικής εποχής με την εποχή του Χαλκού. Ωστόσο, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι τα άτομα του ελληνικού χώρου κατά την Πρώιμη εποχή του Χαλκού τείνουν να παρουσιάζουν περισσότερες γενετικές ομοιότητες με άτομα που χρονολογούνται στη Νεολιθική περίοδο της Ελλάδας και της δυτικής και κεντρικής Ανατολίας, παρά με αυτά της εποχής του Χαλκού της Ελλάδας¹. Στόχος της εργασίας είναι ο ανεξάρτητος έλεγχος της παραπάνω υπόθεσης χρησιμοποιώντας γενετικά δεδομένα από δείγματα που προέρχονται από το οστοφυλάκιο του σπηλαίου της Λίμνης Βουλιαγμένης στην Περαχώρα Κορινθίας, τα οποία βάσει αρχαιολογικών εκτιμήσεων, χρονολογούνται στην Πρώιμη εποχή του Χαλκού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, τα άτομα της Περαχώρας εμφανίζουν περισσότερες γενετικές ομοιότητες με άτομα της Νεολιθικής εποχής παρά με άτομα της Μέσης και Ύστερης εποχής του Χαλκού, ενισχύοντας έτσι την επικρατούσα υπόθεση που αφορά τη γενετική σύσταση των ατόμων της Πρώιμης εποχής του Χαλκού στον ελληνικό χώρο.

Εισαγωγή

Το αρχαίο DNA (ancient DNA-aDNA) είναι το γενετικό υλικό που διατηρείται σε αρχαιολογικά-παλαιοντολογικά βιολογικά ευρήματα και φέρει συγκεκριμένα χαρακτηριστικά φθοράς, λόγω αποσύνθεσης. Η μελέτη του aDNA μπορεί να αφορά ένα είδος, έναν πληθυσμό ή ακόμη και ένα άτομο. Αρχαίο DNA ανθρώπων έχει ανακτηθεί από κάθε τμήμα της προϊστορικής περιόδου, η οποία χωρίζεται στην Εποχή του Λίθου, την Εποχή του Χαλκού και την Εποχή του Σιδήρου. Σχετικά με την καταγωγή των ανθρώπων κατά τη Νεολιθική εποχή, στην Ελλάδα, φαίνεται να έχει προέλθει από μετακινήσεις πληθυσμών από την Εγγύς Ανατολή^{1,2}. Η γενετική σύσταση των ανθρώπων αλλάζει σταδιακά μεταβαίνοντας από τη Νεολιθική εποχή στην εποχή του Χαλκού. Η διαφοροποίηση έγκειται στη σταδιακή εμφάνιση του γενετικού προφίλ των Στεπών, η οποία έχει συνδεθεί με μετακινήσεις πληθυσμών κατά την Πρώιμη εποχή του Χαλκού¹.

Πίνακας 1. Αποτελέσματα γενετικού φύλου και απλοομάδων του μιτοχονδρίου και του χρωμοσώματος Ψ.

Δείγματα	Γενετικό φύλο	Απλοομάδα μιτοχονδρίου	Απλοομάδα χρωμοσώματος Ψ
31_6	XY	J1c2	J
62_1_3	XY	J1c	G2a2b2a3a
62_2	XX	T2	-
65_1	XX	T2c1d + 152	-
66	XX	H	-

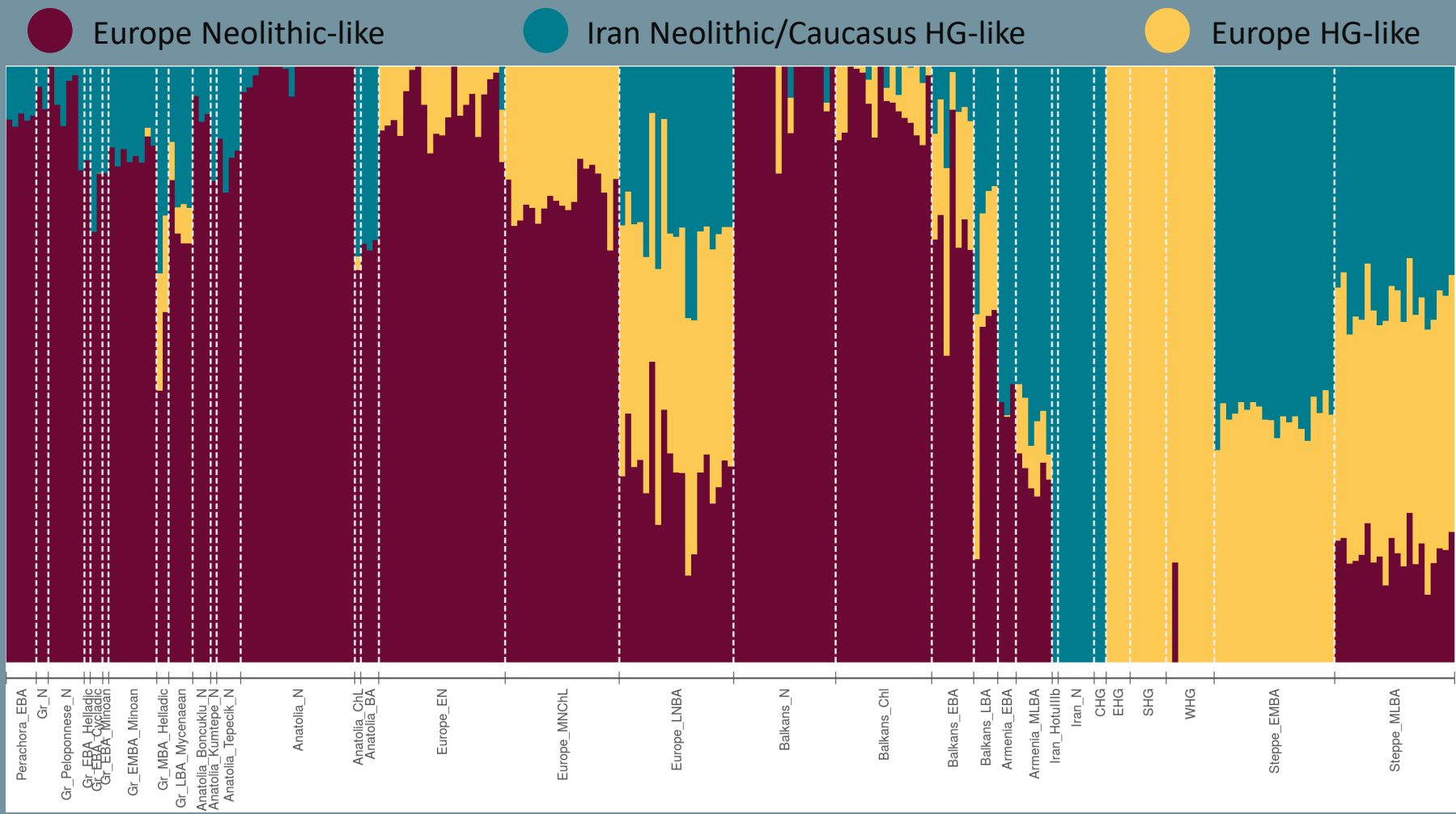
Υλικά και Μέθοδοι

Όλες οι πειραματικές διαδικασίες έλαβαν χώρα στο εργαστήριο αρχαίου DNA του IMBB-ITE.

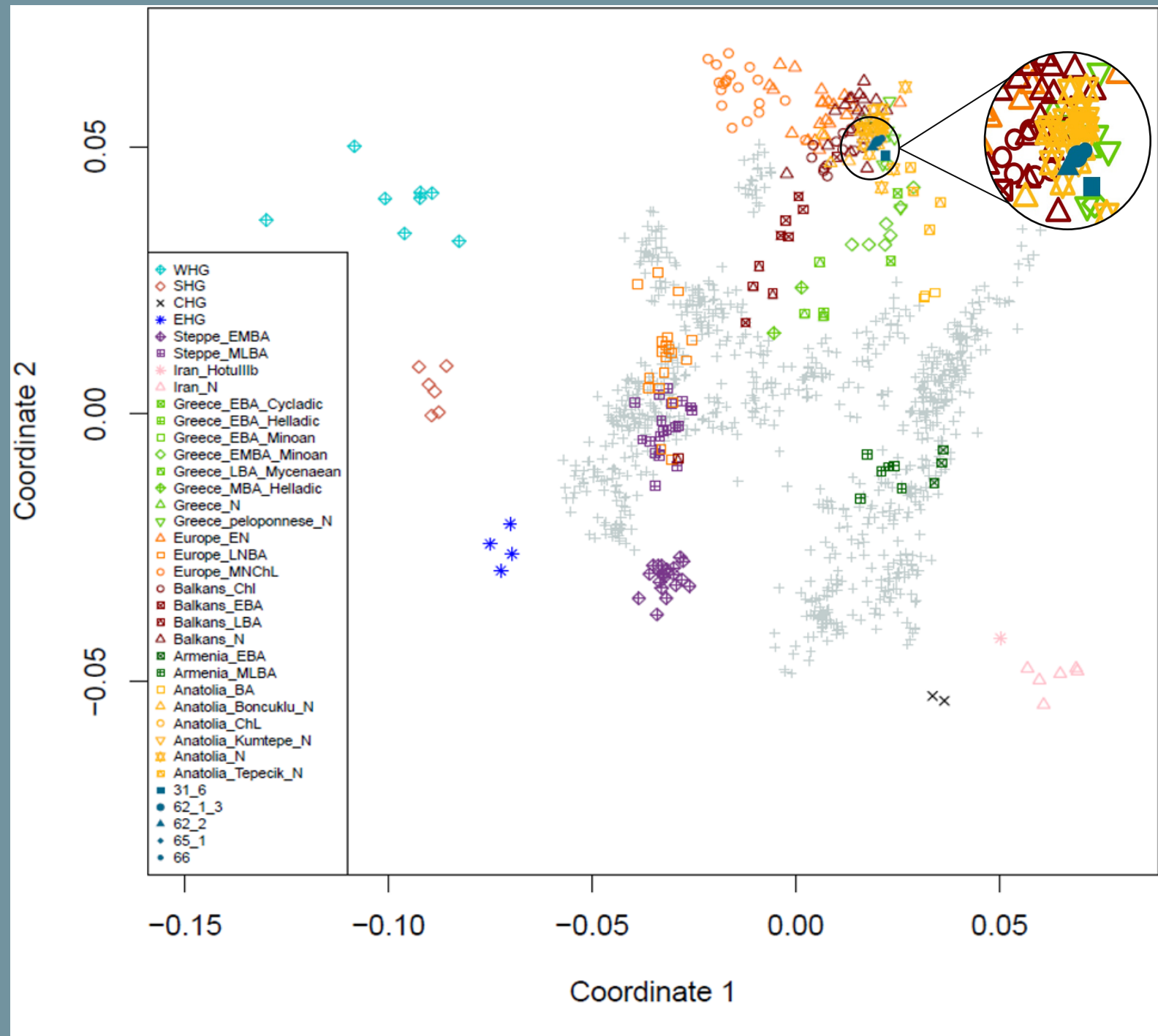
- Χρησιμοποιήθηκαν πέντε λιθοειδείς μοίρες του κροταφικού οστού.
- Εξαγωγή aDNA³, κατασκευή γονιδιωματικών βιβλιοθηκών δίκλωνου^{4,5} και μονόκλωνου⁶ DNA, μερικώς επεξεργασμένες με ένζυμο USER.
- Αλληλούχισι με μεγάλο βάθος κάλυψης του γονιδιώματος (Illumina NextSeq 500).
- Επεξεργασία δεδομένων: μεταθανάτια φθορά aDNA (mapDamage2.0⁷), εκτίμηση ποσοστού επιμόλυνσης (ANGSD⁸, Schmutzi⁹ και contamMix¹⁰), χαρτογράφηση στο γονιδίωμα αναφοράς του ανθρώπου (BWA¹¹), προσδιορισμός γενετικού φύλου (μέθοδοι RY¹² και R_x¹³) και απλοομάδων μιτοχονδρίου (Haplogrep¹⁴) και χρωμοσώματος Ψ (Yhaplo¹⁵).
- «Κάλεσμα» του ψευδο-απλοειδούς γονότυπου (pileupCaller) και ενοποίηση δεδομένων με μοντέρνα και αρχαία γονιδιώματα ανθρώπων από τη δυτική Ευρασία.
- Πληθυσμιακές αναλύσεις: MDS και ADMIXTURE¹⁶.

Αποτελέσματα

- Μεταθανάτια φθορά του DNA: 29-37% απαμινωμένες κυτοσίνες στα άκρα των αναγνώσεων.
- Τα ποσοστά της επιμόλυνσης από μοντέρνο DNA ήταν μικρά (0,8-1,9%).
- Προσδιορισμός γενετικού φύλου: δύο αρσενικά και τρία θηλυκά (Πιν.1).
- Διαφορετικές απλοομάδες μιτοχονδρίου και χρωμοσώματος Ψ, μεταξύ των ατόμων (Πιν.1).
- MDS: Τα άτομα της Περαχώρας ομαδοποιούνται με τους Νεολιθικούς πληθυσμούς της Ευρώπης, της Ελλάδας και της Ανατολίας (Εικ.2).
- ADMIXTURE: Απουσία του παράγοντα γενετικής καταγωγής που μοιάζει με τους κυνηγούς-τροφοσυλλέκτες της Ευρώπης (Europe HG-like) (Εικ.1).



Εικόνα 1. Ανάλυση ADMIXTURE χρησιμοποιώντας τρεις γενετικούς παράγοντες καταγωγής (K=3): Europe Neolithic-like, Iran Neolithic/Caucasus HG-like, Europe HG-like. Τα άτομα της Περαχώρας δεν φέρουν τον παράγοντα γενετικής καταγωγής που μοιάζει με τους κυνηγούς-τροφοσυλλέκτες της Ευρώπης (Europe HG-like).



Εικόνα 2. Μέθοδος της πολυδιάστατης Κλιμακοποίησης (Multidimensional Scaling – MDS). Τα άτομα της Περαχώρας (σκούρο μπλε) εμφανίζονται κοντά στα Νεολιθικά άτομα της Ευρώπης, της Ανατολίας και των Βαλκανίων.

Συζήτηση

Οι πληθυσμοί που συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση ADMIXTURE (K=3) μπορούν να περιγραφούν από τρεις γενετικούς παράγοντες: τους νεολιθικούς της Ευρώπης (European Neolithic-like, EN-like) (σκούρο κόκκινο), τους νεολιθικούς του Ιράν/κυνηγούς-τροφοσυλλέκτες του Καυκάσου (Iran Neolithic/Caucasus HG-like, IN/CHG-like) (μπλε) και τους κυνηγούς-τροφοσυλλέκτες της Ευρώπης (European HG-like, EHG-like) (κίτρινο) (Εικ1.). Τα άτομα της Πρώιμης εποχής του Χαλκού από την Περαχώρα φαίνεται να είναι πιο κοντά γενετικά με τα νεολιθικά άτομα παρά με άλλα άτομα της εποχής του Χαλκού στην Ελλάδα. Η διαφοροποίηση της Πρώιμης με τη Μέση και την Ύστερη εποχή του Χαλκού έγκειται στην αύξηση των γενετικών παραγόντων των IN/CHG-like και EHG-like. Ο συνδυασμός αυτών των δύο παραγόντων είναι συνδεδεμένος με τη γενετική καταγωγή των Στεπών (Steppe_EMBA), ως αποτέλεσμα επιμειξίας¹.

Συμπεράσματα

Το γενετικό προφίλ των ατόμων της Περαχώρας αποτελείται κυρίως από τη Νεολιθική εποχή του Αιγαίου και της Ανατολίας με κατάλοιπα από το νεολιθικό Ιράν/Κυνηγούς-Τροφοσυλλέκτες του Καυκάσου. Το παραπάνω εύρημα συμφωνεί με τις με αρχαιολογικές μελέτες σχετικά με τη μετάβαση από τη Νεολιθική περίοδο προς την εποχή Χαλκού όπου οι άνθρωποι στην Ελλάδα, κατά την Πρώιμη Εποχή του Χαλκού, είναι αποτέλεσμα μετακινήσεων πληθυσμών από την Ανατολία και τον Καύκασο¹⁷. Επίσης, ο γενετικός παράγοντας των EHG-like εμφανίζεται πλέον στην Ελλάδα κατά τη Μέση εποχή του Χαλκού, όπως έχει δείχθει και από προηγούμενες μελέτες¹. Μάλιστα, η άφιξη αυτού του γενετικού παράγοντα και η ταυτόχρονη αύξηση του IN/CHG-like στην Ελλάδα έχει συνδεθεί με την εξάπλωση πληθυσμών από τις Στέπες, περίπου, κατά την Πρώιμη εποχή του Χαλκού, από την Ευρασιατική Στέπα προς τα δυτικά και τα ανατολικά¹.

Αναφορές

- Clemente et al. 2021
- Hofmanová et al. 2016
- Rohland et al. 2018
- Allentoft et al. 2015
- Psonis et al. 2020
- M.-T. Gansauge et al. 2017
- Jónsson et al. 2013
- Kornelissen et al. 2014
- Renaud et al. 2015
- Fu et al. 2013
- Li & Durbin 2009
- Skoglund et al. 2013
- Mitnik et al. 2016
- Weissensteiner et al. 2016
- Poznik 2016
- Alexander et al. 2009