

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2023.05.3-11>

Первые результаты и перспективы медико-генетических исследований музейных и археологических образцов

Андреева Т.В.^{1,2,3}, Быданов А.С.¹, Гусев Ф.Е.^{1,2}, Рогаев Е.И.^{1,3,4}

- 1 – Центр генетики и наук о жизни, АНОО ВО «Научно-технологический университет «Сириус»
354340 Краснодарский край, федеральная территория «Сириус», пгт. Сириус, Олимпийский пр., д. 1
- 2 – Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук
119991, ГСП-1, г. Москва, ул. Губкина, д. 3
- 3 – Центр генетики и генетических технологий, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
- 4 – Медицинская школа Чан Массачусетского университета, департамент психиатрии,
Шрусбери, 01545 США

Несмотря на впечатляющие успехи археогенетики, медико-генетическая история древнего народонаселения остаётся мало разработанной областью. Работы по исследованию древних геномов отдельных индивидов или групп людей, живших в различные исторические и доисторические периоды, как правило, связаны с изучением их эволюционной и популяционной истории, происхождения и миграций. В обзоре мы рассматриваем перспективность нового направления – патогенетики древних людей. Для корректной медико-генетической интерпретации геномных данных необходимы критерии достоверности, учитывающие особенности древней ДНК: плохую сохранность ДНК, контаминацию современной ДНК человека и микробной ДНК и особенно химические модификации, накапливающиеся в ДНК. Такие модификации ведут к появлению с высокой частотой так называемых “постмортальных” мутаций в древних геномах. К настоящему времени есть лишь единичные работы, посвященные выявлению генов менделирующих заболеваний при анализе древней ДНК, которые будут рассмотрены в обзоре.

Ключевые слова: древняя ДНК, глубокое секвенирование, патогенные мутации, палеогеномика.

Для цитирования: Андреева Т.В., Быданов А.С., Гусев Ф.Е., Рогаев Е.И. Первые результаты и перспективы медико-генетических исследований музейных и археологических образцов. *Медицинская генетика* 2023; 22(5): 3-11.

Автор для корреспонденции: Андреева Т.В.; e-mail: andreeva@vigg.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (системный номер 075-10-2020-116, номер гранта 13.1902.21.0023).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 04.05.2023

The first results and prospects of medical genetic studies of museum and archaeological samples

Andreeva T.V.^{1,2,3}, Bydanov A.S.¹, Gusev F.E.^{1,2}, Rogayev E.I.^{1,3,4}

- 1 – Center for Genetics and Life Science, Sirius University of Science and Technology
1, Olympic prospect., town. Sirius, federal territory “Sirius”, 354340, Russian Federation
- 2 – Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences
3, Gubkina st., Moscow, 119333, Russian Federation
- 3 – Center for Genetics and Genetic Technologies, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University
1, building 12, Leninskiye Gory, Moscow, 119991, Russian Federation
- 4 – Department of Psychiatry, UMass Chan Medical School,
Worcester, MA 01545, USA

Despite the impressive achievements of paleogenetics, the medical and genetic history of ancient populations has yet to be explored in detail. The vast majority of studies on ancient individuals or groups of people who lived in various historical and prehistoric periods focus on their evolutionary and population history, their origin and migrations. Here we discuss the prospects of a new direction – the pathogenetics of ancient people. For correct medical and genetic interpretation of genomic data, reliability criteria have to be established taking into account the specific features of ancient DNA: poor DNA preservation, contamination with modern human and microbial DNA, and, especially, chemical modifications accumulating in DNA. In the sequencing data of ancient genomes these modifications manifest themselves with high frequency in a form of so-called “postmortem” mutations. To

date, only a few studies are devoted to the identification of genes of mendelian diseases using ancient DNA, which are discussed in this review.

Keywords: ancient DNA, NGS, pathogenic mutations, paleogenomics.

For citation: Andreeva T.V., Bydanov A.S., Gusev F.E., Rogaev E.I. The first results and prospects of medical genetic studies of museum and archaeological samples. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2023; 22(5): 3-11. (In Russ.)

Corresponding author: Andreeva T.V.; **e-mail:** andreeva@vigg.ru

Funding: The work was supported financially by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (system number 075-10-2020-116, grant number 13.1902.21.0023).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 04.05.2023

Развитие генетических и геномных технологий в последние годы открыло новые перспективы в исследовании ДНК, извлеченной из археологических находок и музейных экспонатов. Анализ древней ДНК, наряду с существующими ранее археологическими и историческими методами, стал ключевым инструментом для решения вопросов эволюционной и популяционной истории развития человека, археологических культур и этносов. Одним из новых перспективных направлений использования древней ДНК стало изучение медицинской истории древнего населения, включая исследование инфекций в древних популяциях человека, а также анализ патогенных вариантов в геномах человека. В то время, как анализ древних патогенов (бактерий и вирусов) уже стал широко распространенным подходом для исследования инфекционных болезней, существовавших в древних популяциях [1], поиск и анализ клинически значимых мутаций, связанных с наследственными заболеваниями человека, является сравнительно новой задачей в области архео- и палеопатологии.

Исторические данные, а также археологические и антропологические исследования свидетельствуют о существовании у древних людей разных наследственных болезней, включая редкие менделирующие заболевания, однако до сих пор опубликованы лишь единичные работы, связанные с этим направлением, тогда как большинство работ по изучению геномов древних людей посвящено аспектам популяционной истории и адаптации к окружающим условиям, но не вопросам здоровья отдельных индивидов или их групп. В первую очередь это связано с особенностями древней ДНК: высоким уровнем фрагментации, контаминацией как современной ДНК человека, так и ДНК других видов, в первую очередь бактерий, а также высокой частотой постмортальных мутаций, затрудняющих определение генотипа.

Методические аспекты поиска и анализа патогенных генетических вариантов в древних образцах

ДНК, выделенная из древнего биологического материала (археологических объектов или музейных экспонатов), обладает специфическими особенностями, отличающими ее от современной ДНК. Под воздействием внешних факторов в молекулах ДНК возникают спонтанные изменения, которые в живой клетке исправляются клеточными репарационными системами. Такие изменения продолжают происходить и после смерти организма, но клеточные механизмы исправления ошибок перестают функционировать, поэтому происходят накопление химических модификаций в ДНК и ее постепенная деградация [2]. Наиболее типичными постмортальными изменениями в древней ДНК являются деградация (укорочение) молекул ДНК и дезаминирование азотистых оснований (рис. 1). Дезаминирование цитозина приводит к высокой частоте «древних» замен, которые появляются в молекулах ДНК — замены цитозина на тимин (а также гуанина на аденин, которые детектируются при секвенировании комплементарной цепи ДНК). Длина фрагментов ДНК, которые сохраняются в древнем археологическом и музейном материале, как правило, не превышает 100 п.н., а в большинстве случаев бывает еще короче, например, только очень короткие фрагменты ДНК длиной менее 45 п.н. удалось получить из останков Гейдельбергского человека [3].

Для решения проблемы, связанной с высокой частотой замен С>Т, в настоящее время разработаны подходы, позволяющие репарировать в древней ДНК такие «древние метки» с использованием специальных ферментов (например [4,5]), однако все равно сохраняется высокая вероятность неправильного определения генотипа, а следовательно, ложно-положи-

тельного результата в случае выявления в древнем образце патогенных транзиций [6].

В самых первых работах, посвященных поиску патогенных генетических вариантов в древней ДНК, были использованы классические методы генетического анализа, основанные на ПЦР-амплификации целевых участков и их последующем анализе, например, с использованием прямого секвенирования по Сэнгеру. Такой подход используется до сих пор в тех случаях, когда исторические данные или состояние останков позволяют предположить вероятную патологию у исследуемого индивида, например, гигантизм [9], а значит провести поиск патогенных вариантов в отдельном гене или даже проверить конкретный патогенный вариант, связанной с предполагаемым заболеванием. Этот метод стал «золотым стандартом» в современной медицинской генетике человека, однако секвенирование по методу Сэнгера образцов древней ДНК может быть затруднительно в связи с высокой степенью деградации древней ДНК. Длина доступных для анализа фрагментов древней ДНК (50-100 нуклеотидов) недостаточна для прямого использования этого метода и требует дополнительных манипуляций (например, клонирования или использования других подходов). Кроме того, высокий уровень контаминации древних образцов фрагментами экзогенной ДНК (включая современного человека и микроорганизмов) может влиять на результат секвенирования.

Развитие в последние годы новейших методов масштабного параллельного секвенирования (NGS — next generation sequencing) открыло новые перспективы в области медицинской геномики, обусловленные возможностью одновременно анализировать большое количество генетических локусов, в том числе полные геномные последовательности. Важным преимуществом использования методологии полногеномного секвенирования именно для анализа древней ДНК является возможность анализировать очень короткие фрагменты — разработанные методы подготовки образца к секвенированию позволяют не только секвенировать очень короткие фрагменты (от 20–25 п.н.), но и использовать для анализа одноцепочечные фрагменты ДНК, которые присутствуют в большом количестве в древней ДНК в связи с ее деградацией [10].

Следует однако отметить, что анализ прочтений, получаемых при секвенировании коротких фрагментов древней ДНК, может быть затруднителен, поскольку из-за малой длины эти прочтения могут быть картированы на разные участки генома, что не позволит однозначно определить положение в геноме генетиче-

ского варианта, присутствующего в прочтениях. Аналогичная проблема, связанная с крайне малой длиной прочтений, получаемых при секвенировании древней ДНК, может возникать при использовании разных версий сборок генома человека (рис. 2), что также следует учитывать при анализе древних образцов и выборе референсного генома для проведения анализа.

Полногеномное секвенирование, а также его модификации, позволяющие секвенировать только участки генома, кодирующие белковые последовательности (экзомное секвенирование) или определенные гены (панели генов), связанные с той или иной патологией, широко используются при проведении клинического анализа современных образцов и поиска генетических вариантов, связанных с менделирующими заболеваниями в современных популяциях человека. Кроме того, разработаны критерии и руководства для применения таких методов в клинической практике [11, 12]. Эти руководства содержат важные параметры качества секвенирования, которые используются для достоверной клинической интерпретации его результатов. В частности, среднее покрытие генома должно составлять не менее $\times 30$ при полногеномном секвенировании или не менее $\times 10$ при секвенировании целевого участка (экзомное секвенирование или таргетное секвенирование панели генов) [11]. Как было отмечено выше, одной из характерных особенностей древней ДНК является высокая степень ее загрязнения чужеродными фрагментами ДНК, преимущественно бактериальными. В большинстве случаев содержание эндогенной ДНК в костном или другом древнем материале не превышает 5-10%, а следовательно, с учетом ограниченного количества биологического материала, доступного для анализа, технически невозможно достижение высокого геномного покрытия [13]. Данная проблема в палеогеномике частично решается распространенным в последнее время подходом, основанном на обогащении подготовленных для секвенирования библиотек путем их гибридизации с зондами, составляющими панель ставших уже стандартными 1,24 миллиона генетических маркеров, представленных в базе данных Allen Ancient DNA Resource [14]. Эти маркеры покрывают весь геном человека и широко используются в палеогеномных работах при изучении популяционных процессов в древних группах людей (см, например, недавние работы [15–17]). Однако применение такой панели для исследования патогенных вариантов генома ограничено, так как она покрывает лишь небольшую часть кодирующих участков генома человека: не более 6,5% всех патогенных

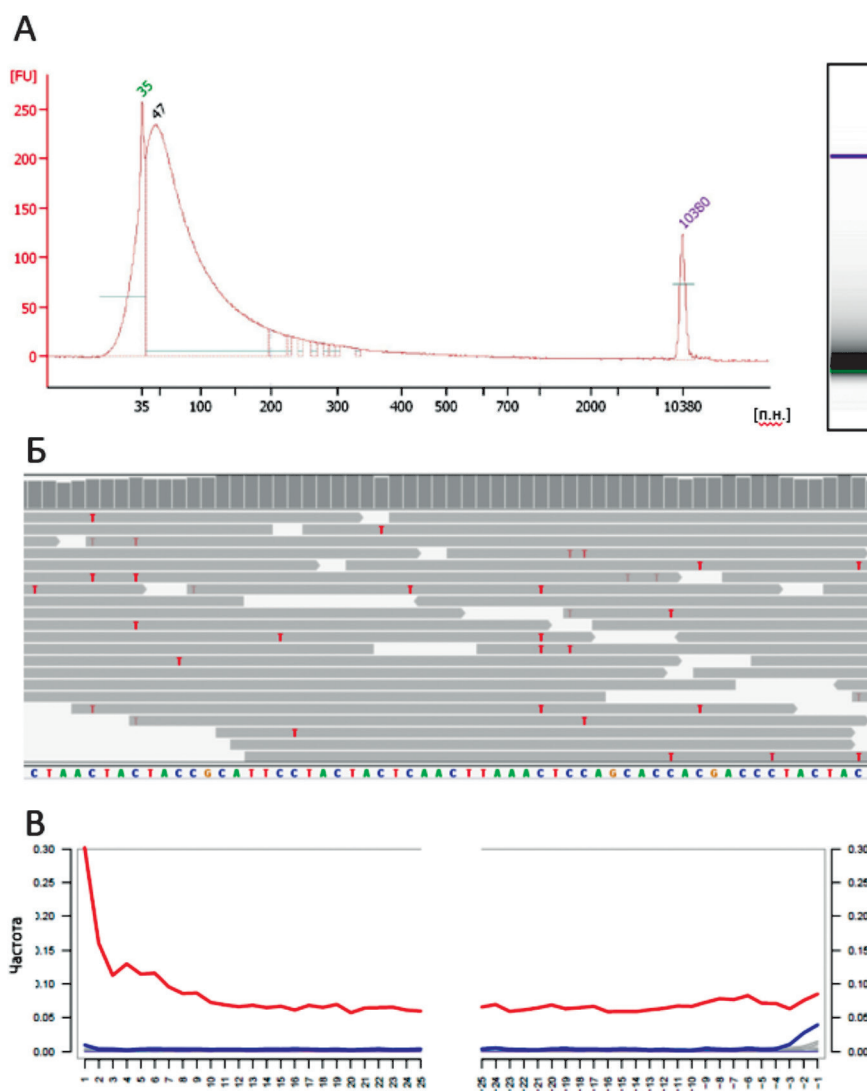


Рис. 1. Специфические особенности древней ДНК. ДНК, выделенная из древнего образца (средневековый житель Вологодской области), содержит преимущественно очень короткие фрагменты со средней длиной 47 п.н. Профиль длин фрагментов получен с использованием Bioanalyzer 2100 (Agilent). Фрагменты размером 35 и 10380 п.н. соответствуют маркеру длин ДНК (А). Дезаминирование цитозина в молекулах ДНК приводит к появлению специфичных для древней ДНК мутаций С>Т (Б, В). Короткие прочтения, полученные в результате геномного секвенирования на платформе Illumina и визуализированные в программе IGV [7], содержат замены С>Т (снизу приведена референсная последовательность ДНК) (Б). Частота замен С>Т (красная кривая на рисунке), оцененная с помощью программного пакета MapDamage2 [8], повышается к концам фрагментов ДНК (В). Собственные данные.

Fig. 1. Specific features of ancient DNA. DNA isolated from an ancient sample (a medieval inhabitant of the Vologda region) contains predominantly very short fragments with an average length of 47 bp. The fragment length profile was obtained using a Bioanalyzer 2100 (Agilent). Fragments 35 and 10380 bp correspond to the DNA length marker (A). Deamination of cytosine in DNA molecules leads to the appearance of C>T mutations specific for ancient DNA (B, B). Short reads obtained as a result of genome sequencing on the Illumina platform and visualized in the IGV program [7] contain C>T substitutions (the reference DNA sequence is shown below) (B). The frequency of C>T substitutions (red curve in the figure) estimated using the MapDamage2 software package [8] increases towards the ends of the DNA fragments (B). Own data.

вариантов, представленных в базе данных ClinVar могут быть выявлены с использованием этой панели генетических маркеров.

Важным аспектом, который также вносит ограничения в возможности патогеномных исследований древних образцов, является тот факт, что в большинстве случаев для исследования доступны только костные останки или их фрагменты. Таким образом, у исследователей отсутствует информация о возможных болезнях, которыми мог страдать при жизни изучаемый индивид, за исключением редких случаев, когда диагноз может быть установлен по состоянию скелета, сохранившихся костных фрагментов, мумифицированных тканей, или в исторических источниках сохранилась информация о болезнях конкретного человека, останки или биологические образцы (например, следы крови, волосы) которого могут быть использованы для генетического анализа.

Первые результаты медицинской интерпретации палеогенетических данных

Первой идентифицированной в древнем образце патогенной мутацией, связанной с менделирующим заболеванием, стала гомозиготная делеция в гене *HBB*, приводящая к аутосомно-рецессивной форме бета-талассемии. Вариант был обнаружен в 1995 г. при исследовании скелета мальчика из захоронения на мусульманском кладбище периода Османской империи (XVI-XIX вв.) с территории современного Израиля [18]. Скелет имел специфические поротические изменения костей, предполагающие генетическую патологию. Мутация была выявлена с использованием метода ПЦР-амплификации и последующего прямого секвенирования полученных фрагментов и дополнительно была подтверждена са-

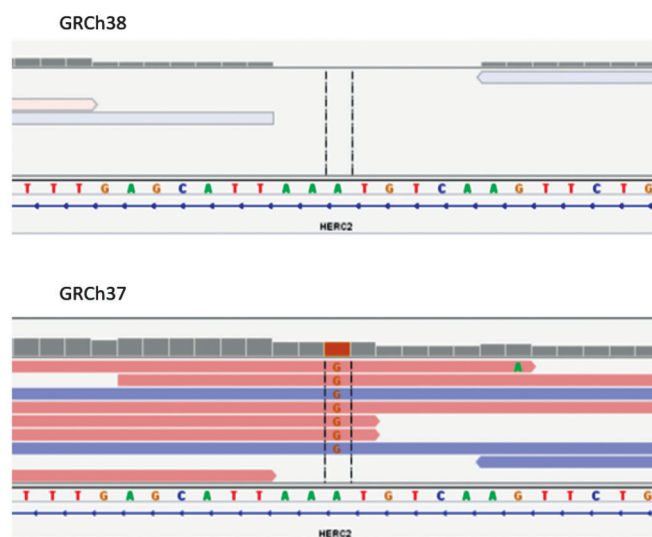


Рис. 2. Визуализация в программе IGV коротких прочтений, полученных в результате геномного секвенирования на платформе Illumina древней ДНК средневекового жителя Вологодской области со средним геномным покрытием $\times 9,5$. Прочтения картированы на локус хромосомы 15, содержащий маркер цвета глаз и волос rs12913832 (ограничен вертикальными линиями). А – прочтения картированы на сборку GRCh38 генома человека. В связи с присутствием в сборке GRCh38 геномного участка, гомологичного локусу, содержащему маркер rs12913832, короткие прочтения древней ДНК не картируются на данный участок 15 хромосомы. Б – прочтения картированы на сборку GRCh37 генома человека. Локус 15 хромосомы с маркером rs12913832 является уникальным в сборке GRCh37, все короткие прочтения картируются на него. Собственные данные.

Fig. 2. Visualization in the IGV program of short reads of the ancient DNA of a medieval inhabitant of the Vologda region, obtained by genome sequencing on the Illumina platform of an area with an average genomic coverage of $\times 9.5$. The reads are mapped to the locus of chromosome 15 containing the eye and hair color marker rs12913832 (limited by vertical lines). A – reads mapped to the GRCh38 assembly of the human genome. Due to the presence in the GRCh38 assembly of a genomic region homologous to the locus containing the rs12913832 marker, short reads of ancient DNA are not mapped to this region of chromosome 15. B – reads are mapped to the GRCh37 assembly of the human genome. The locus of chromosome 15 with the marker rs12913832 is unique in the GRCh37 assembly; all short reads are mapped to it. Own data.

узерн-блот гибридизацией со специфичными олигонуклеотидными пробами.

Первой работой, в которой патогенная мутация в историческом образце ДНК низкой степени сохранности была определена с использованием новой методологии — глубокого секвенирования, стало опубликованное в 2009 г. исследование, посвященное установлению генетических причин «царской болезни крови» в семье Романовых [19]. Эта болезнь была распространена среди членов европейских королевских семей, начиная с королевы Виктории (1819-1901 гг.), однако точная ее причина была неизвестна. В результате секвенирования всех кодирующих участков генов *F8* и *F9* в образцах ДНК Александры Федоровны, а также цесаревича Алексея и одной из его сестер была обнаружена мутация в гене *F9* на границе экзона (IVS3-3A>G), предположительно затрагивающая сайт сплайсинга. Дальнейший анализ показал, что данная мутация в интроне гена *F9* приводит к сдвигу рамки считывания и появлению преждевременного стоп-кодона. Таким образом было показано, что «королевская болезнь крови» — это гемофилия В, связанная с нарушением фактора свертывания крови (фактора Кристмаса) [19].

Ахондроплазия или карликовость — одна из немногих моногенных наследственных болезней, для которых известны гены и патогенные варианты в них, а болезнь может быть диагностирована по скелетным останкам. Первая попытка исследования останков с предположительной ахондроплазией была предпринята в 2004 г. при анализе египетской мумии, датированной около 5 тыс. лет до н.э. У мумии был обнаружен патогенный вариант в гене *FGFR3*, связанный с ахондроплазией. Однако эта же нуклеотидная замена (G>A) была выявлена еще у четырех других древних индивидов без признаков патологии, а следовательно может быть связана с постмортальным дезаминированием ДНК, что поставило под сомнение достоверность полученных результатов [6].

Позже при исследовании скелета «пруссского карлика» из Амстердамского музея была обнаружена мутация G1138A в гене *FGFR3* [9]. Замена была подтверждена на двух независимых экстрактах ДНК в нескольких независимых экспериментах, что позволило авторам сделать вывод о достоверности выявленного генетического варианта и показать, что «пруссский карлик» был носителем той же мутации, которая присутствует у 97% современных пациентов с ахондроплазией.

В недавней работе при исследовании двух скелетных останков со средневекового кладбища из Ирландии с применением методов полногеномного секвенирования были выявлены два патогенных варианта (Arg340Cys — у одного индивида и Lys126Argfs*63 — у второго) в гене *EXT1*, связанном с аутосомно-доминантной формой множественных экзостозов. Скелетные останки имели костные опухоли, таким образом авторам удалось определить генетическую причину данной патологии у средневековых жителей Ирландии. Кроме того, было показано независимое возникновение мутаций, связанных с одной патологией у двух исследованных индивидов из одного средневекового поселения [20].

Примером наследственной патологии, связанной с изменением числа копий генов, выявленным при исследовании ДНК, выделенной из скелетных останков, является исследование случая акрогигантизма у индивида 1872 г. рождения из Германии, имевшего на момент смерти рост 259 см. Методом цифровой капельной ПЦР (ddPCR) была выявлена дупликация гена *GPR101*, свидетельствующая о наличии у пациента X-сцепленного акрогигантизма, вызванного дупликацией участка X-хромосомы [21].

Помимо скелетных заболеваний, которые могут быть определены при исследовании скелетных археологических останков и музейных экспонатов, в ряде случаев палеопатологами могут быть описаны опухоли других тканей у древних людей или исторических личностей. Так, например, при исследовании мумии короля Ферранте I Арагонского (1431-1494) были обнаружены четкие гистологические признаки опухоли толстой кишки, что позволило предположить у короля колоректальную карциному. Анализ ДНК, выделенной из ткани опухоли, показал наличие нуклеотидной замены во втором экзоне гена *KRAS*, которая наиболее часто встречается при раке толстой кишки в современных популяциях [22].

Следует отметить, что при исследовании останков с известными или предполагаемыми клиническими признаками могут быть использованы классические генетические методы, основанные на ПЦР-амплификации и прямом секвенировании по методу Сэнгера целевых участков генома. Но такие болезни составляют лишь незначительную часть наследственных менделевских заболеваний человека. Большинство наследственных болезней нельзя диагностировать по внешним признакам музейных или археологических скелетных останков и мумий. В таких случаях методология полногеномного секвенирования является единственным эффективным инструментом анализа, позволяющим исследовать не только отдельные участки, наи-

более вероятно связанные с описанной патологией, но и весь геном или большую его часть, что дает возможность выявить весь спектр возможных патогенных мутаций в древних образцах.

Так, в результате экзомного секвенирования ДНК из мумии правителя Вероны Кан Гранде делла Скала (XIII-XIV вв.), сохранившейся в мраморном саркофаге, были обнаружены два патогенных варианта в гене альфа-глюкозидазы *GAA*, связанном с болезнью Помпе (прогрессирующее аутосомно-рецессивное заболевание, вызванное накоплением гликогена в лизосомах), а также редкие варианты в генах *ATP6* и *RUNX1*, также вовлеченных в работу лизосом [23]. Оказалось, что фенотипические проявления болезни Помпе полностью соответствуют историческим записям об этом человеке. Таким образом, удалось не только определить болезнь, которой страдал известный исторический деятель прошлого, но и отвергнуть распространенную гипотезу о его возможном отравлении, которая была основана на данных палеопатологических исследований.

Заболевания, вызванные хромосомными аномалиями — это еще один тип наследственных заболеваний человека, которые могут быть диагностированы по результатам геномного секвенирования древней ДНК. Данные полногеномного секвенирования, а именно покрытие каждой из хромосом, могут быть использованы для выявления таких нарушений. Таким образом была обнаружена трисомия по 21-й хромосоме у ребенка из неолитического памятника с территории Ирландии [24]. На данный момент это самый древний описанный индивид с синдромом Дауна. Кариотип XYU, связанный с синдромом Джейкобс, был случайно обнаружен в образце раннего железного века при исследовании населения степных регионов Центральной Азии [25]. Этот синдром характеризуется увеличенным ростом, а также может незначительно затрагивать когнитивные и поведенческие функции. Определение пола авторы исследования проводили стандартным для подобных исследований методом: оценивали соотношение покрытия X- и Y-хромосом к покрытию аутосом. В одном из образцов такое соотношение для Y-хромосомы и аутосом составило около 1, что соответствует кариотипу при синдроме Джейкобс [25]. Таким образом, крупные хромосомные аномалии, а именно изменение числа хромосом, могут быть определены при геномном секвенировании древних образцов, при этом может быть достаточно даже неглубокого покрытия, а отклонения в соотношении прочтений, кар-

тированных на разные хромосомы, могут свидетельствовать о хромосомных болезнях у древних людей.

Популяционные исследования редких патогенных мутаций в древних группах людей

Исследование патогенных генетических вариантов в древних популяциях открывает возможность не только определить причины заболеваний отдельных индивидов, но и оценить генетический груз древних популяций и сообществ, а также определить вероятное время возникновения тех или иных патогенных мутаций в популяциях человека, динамику их распространения в древних и сохранения в современных популяциях. Например, для проверки гипотез о происхождении и причинах высокой частоты у современного населения Сардинии мутации *cod39*, связанной с бета-талассемией, в 2017 г. был проведен скрининг образцов ДНК древних жителей Сардинии. В результате анализа в одном из образцов периода Римской республики (III в. до н.э. — I в. н.э.) был выявлен этот патогенный вариант в гетерозиготном состоянии. Дополнительный анализ материнской и отцовской линий этого человека позволил авторам предположить, что уже в раннем Римском периоде малярия была эндемичным для Сардинии заболеванием, а не попала на остров в результате более поздних колонизаций [26].

В недавнем крупном исследовании был проведен скрининг более 2,7 тыс. древних образцов разных археологических периодов (возраст от 15 тыс. лет до 100 лет), для которых были получены геномные данные с использованием панели из 1,24 млн маркеров, описанной выше. В результате проведенного анализа были выявлены мутации с доказанным патогенным эффектом в генах, связанных с фенилкетонурией (*PAH*), эктодермальной дисплазией (*EDAR*), нарушением свертываемости крови (*F11*), бета-талассемией (*FBB*), синдромом Андерманна (*SLC12A6*), а также нарушениями интеллекта и поведения (*MAOA*). При этом в 230 случаях мутации присутствовали в древних геномах в гомозиготном состоянии, а следовательно их носители страдали от соответствующих болезней [27].

Следует отметить, что к настоящему времени в древних геномах исследованы генетические причины лишь нескольких наследственных заболеваний и идентифицированы только известные в современных популяциях генетические варианты, связанные с менделирующими болезнями. До сих пор неизвестно, существовали ли у древних народов специфичные

для древних групп генетические варианты, которые исчезли в современных популяциях.

Заключение

Бурное развитие в последнее десятилетие направления, связанного с исследованием древней ДНК, было отмечено в конце 2022 г. вручением Нобелевской премии. Несмотря на то, что число работ, связанных с анализом ДНК, выделенной из музейных экспонатов и археологических находок, в настоящее время растет в геометрической прогрессии, и уже у более 10 тысяч древних людей (согласно базе данных Allen Ancient DNA Resource V54.1 от 16 ноября 2022 г.) определены геномные последовательности, лишь единичные исследования посвящены поиску и анализу в древних геномах патогенных генетических вариантов, ответственных за развитие митохондриальных наследственных заболеваний человека. Полногеномное секвенирование имеет большой потенциал в диагностике и изучении таких болезней, однако его применение к древней ДНК имеет свои ограничения и требует разработки новых подходов к проведению анализа и критериев достоверности для оценки результатов. Развитие методов масштабного параллельного секвенирования в области палеопатологии открывает перспективы не только в диагностике наследственных болезней в популяциях древних народов и цивилизаций, но и в оценке их роли в эволюционных, исторических процессах, а также в получении новых данных о происхождении, распространении и динамике патогенных вариантов в древних и современных популяциях человека.

Благодарности. Авторы работы выражают благодарность Добровольской Марии Всеволодовне и Макарову Николаю Андреевичу (Институт археологии РАН) за предоставленные образцы костного материала.

Литература

1. Malyarchuk A.B., Andreeva T.V., Kuznetsova I.L. et al. Genomics of Ancient Pathogens: First Advances and Prospects. *Biochem* 2022 873. 2022 Mar 11;87(3):242–58.
2. Андреева Т.В., Малиарчук А.Б., Сошкина А.Д. и др. Методология выделения древней ДНК из костной ткани для геномного анализа: подходы и практические рекомендации. *Генетика*. 2022;58(9):979–98.
3. Meyer M., Fu Q., Aximu-Petri A. et al. A mitochondrial genome sequence of a hominin from Sima de los Huesos. *Nature*. 2014;505(7483):403–6.
4. Mouttham N., Klunk J., Kuch M. et al. Surveying the repair of ancient dna from bones via high-throughput sequencing. *Biotechniques*. 2015;59(1):19–25.
5. Andreeva T.V., Manakhov A.D., Kunizheva S.S., Rogaev E.I. Genetic evidence of authenticity of a hair shaft relic from the portrait of tsesarevich Alexei, the son of the last Russian Emperor. *Biochem*. 2021;86(12).
6. Pusch C.M., Broghammer M., Nicholson G.J. et al. PCR-Induced Sequence Alterations Hamper the Typing of Prehistoric Bone Samples for Diagnostic Achondroplasia Mutations. *Mol Biol Evol*. 2004 Nov 1;21(11):2005–11.
7. Robinson P., Zemo jtel T. Integrative genomics viewer (IGV): Visualizing alignments and variants. In: *Computational Exome and Genome Analysis*. 2018. p. 233–45.
8. Jónsson H., Ginolhac A., Schubert M. et al. mapDamage2.0: fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters. *Bioinformatics*. 2013 Jul;29(13):1682–4.
9. Boer L.L., Naue J., De Rooy L., Oostra R.J. Detection of G1138A Mutation of the FGFR3 Gene in Tooth Material from a 180-Year-Old Museological Achondroplastic Skeleton. *Genes* 2017, Vol 8, Page 214. 2017 Aug 29;8(9):214.
10. Gansauge M.T., Gerber T., Glocke I. et al. Single-stranded DNA library preparation from highly degraded DNA using T4 DNA ligase. *Nucleic Acids Res*. 2017 Jun 2;45(10):e79.
11. Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б. и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS). *Медицинская Генетика*. 2019;18(2): 3–23.
12. Richards S., Aziz N., Bale S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015 May 8;17(5):405–24.
13. Hajdinjak M., Fu Q., Hübner A. et al. Reconstructing the genetic history of late Neanderthals. *Nature*. 2018;555(7698):652–6.
14. Fu Q., Hajdinjak M., Moldovan O.T. et al. An early modern human from Romania with a recent Neanderthal ancestor. *Nat* 2015 5247564. 2015 Jun 22;524(7564):216–9.
15. Lazaridis I., Alpaslan-Roodenberg S., Acar A. et al. Ancient DNA from Mesopotamia suggests distinct Pre-Pottery and Pottery Neolithic migrations into Anatolia. *Science* (80-). 2022 Aug 26;377(6609):982–7.
16. Chintalapati M., Patterson N., Moorjani P. The spatiotemporal patterns of major human admixture events during the European Holocene. *Elife*. 2022 May 1;11.
17. Liu Y.C., Hunter-Anderson R., Cheronet O. et al. Ancient DNA reveals five streams of migration into Micronesia and matrilocality in early Pacific seafarers. *Science*. 2022 Jul 1;377(6601):72–9.
18. Filon D., Faerman M., Smith P., Oppenheim A. Sequence analysis reveals a β -thalassaemia mutation in the DNA of skeletal remains from the archaeological site of Akhziv, Israel. *Nat Genet* 1995 94. 1995;9(4):365–8.
19. Rogaev E.I., Grigorenko A.P., Faskhutdinova G. et al. Genotype analysis identifies the cause of the “royal disease.” *Science*. 2009 Nov 6;326(5954):817.
20. Jackson I., Mattiangeli V., Cassidy L.M. et al. Millennium-old pathogenic Mendelian mutation discovery for multiple osteochondromas from a Gaelic Medieval graveyard. *Eur J Hum Genet*. 2022;
21. Beckers A., Fernandes D., Fina F. et al. Paleogenetic study of ancient DNA suggestive of X-linked acroigantism. *Endocr Relat Cancer*. 2017 Feb 1;24(2):L17–20.
22. Marchetti A., Pellegrini S., Bevilacqua G., Fornaciari G. K-RAS mutation in the tumour of Ferrante I of Aragon, King of Naples. *Lancet*. 1996 May 4;347(9010):1272.
23. Iadarola B., Lavezzari D., Modi A. et al. Whole-exome sequencing of the mummified remains of Cangrande della Scala (1291–1329 CE) indicates the first known case of late-onset Pompe disease. *Sci Rep*. 2021 Dec 1;11(1).

24. Cassidy L.M., Maoldúin R., Kador T. et al. A dynastic elite in monumental Neolithic society. *Nat* 2020 5827812. 2020 Jun 17;582(7812):384–8.
25. Gnecci-Ruscone G.A., Khussainova E., Kahbatkyzy N. et al. Ancient genomic time transect from the Central Asian Steppe unravels the history of the Scythians. *Sci Adv*. 2021 Mar 1;7(13):4414–40.
26. Viganó C., Haas C., Rühli F.J., Bouwman A. 2,000 Year old β -thalassaemia case in Sardinia suggests malaria was endemic by the Roman period. *Am J Phys Anthropol*. 2017 Oct 1;164(2):362–70.
27. Toncheva D., Marinova M., Borovska .P, Serbezov D. Spatio-temporal dynamics of pathogenic variants associated with monogenic disorders reconstructed with ancient DNA. *PLoS One*. 2022 Jun 1;17(6):e0269628.

References

1. Malyarchuk A.B., Andreeva T .V., Kuznetsova I.L. et al. Genomics of Ancient Pathogens: First Advances and Prospects. *Biochem* 2022 873. 2022 Mar 11;87(3):242–58.
2. Andreeva T.V., Malyarchuk A.B., Soshkina A.D., et al. Metodologiya vydeleniya drevney DNK iz kostnoy tkani dlya genomnogo analiza: podkhody i prakticheskiye rekomendatsii [Methodologies of ancient DNA extraction from bones for genomic analysis: approaches and practical recommendations]. *Genetika [Genetics]*. 2022;58(9):979–98. (In Russ.)
3. Meyer M., Fu Q., Aximu-Petri A. et al. A mitochondrial genome sequence of a hominin from Sima de los Huesos. *Nature*. 2014;505(7483):403–6.
4. Mouttham N., Klunk J., Kuch M. et al. Surveying the repair of ancient dna from bones via high-throughput sequencing. *Biotechniques*. 2015;59(1):19–25.
5. Andreeva T.V., Manakhov A.D., Kunizheva S.S., Rogaev E.I. Genetic evidence of authenticity of a hair shaft relic from the portrait of tsesarevich Alexei, the son of the last Russian Emperor. *Biochem*. 2021;86(12).
6. Pusch C.M., Broghammer M., Nicholson G.J. et al. PCR-Induced Sequence Alterations Hamper the Typing of Prehistoric Bone Samples for Diagnostic Achondroplasia Mutations. *Mol Biol Evol*. 2004 Nov 1;21(11):2005–11.
7. Robinson P., Zemo jtel T. Integrative genomics viewer (IGV): Visualizing alignments and variants. In: *Computational Exome and Genome Analysis*. 2018. p. 233–45.
8. Jónsson H., Ginolhac A., Schubert M. et al. mapDamage2.0: fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters. *Bioinformatics*. 2013 Jul;29(13):1682–4.
9. Boer L.L., Naue J., De Rooy L., Oostra R.J. Detection of G1138A Mutation of the FGFR3 Gene in Tooth Material from a 180-Year-Old Museological Achondroplastic Skeleton. *Genes* 2017, Vol 8, Page 214. 2017 Aug 29;8(9):214.
10. Gansauge M.T., Gerber T., Glocke I. et al. Single-stranded DNA library preparation from highly degraded DNA using T4 DNA ligase. *Nucleic Acids Res*. 2017 Jun 2;45(10):e79.
11. Ryzhkova O.P., Kardymon O.L., Prohorchuk E.B., et al. Rukovodstvo po interpretatsii dannykh posledovatel'nosti DNK cheloveka, poluchennykh metodami massovogo parallel'nogo sekvenirovaniya (MPS) (redaktsiya 2018, versiya 2) [Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants (update 2018, v2)]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics]*. 2019;18(2):3–23. (In Russ.) <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.02.3-23>
12. Richards S., Aziz N., Bale S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015 May 8;17(5):405–24.
13. Hajdinjak M., Fu Q., Hübner A. et al. Reconstructing the genetic history of late Neanderthals. *Nature*. 2018;555(7698):652–6.
14. Fu Q., Hajdinjak M., Moldovan O.T. et al. An early modern human from Romania with a recent Neanderthal ancestor. *Nat* 2015 5247564. 2015 Jun 22;524(7564):216–9.
15. Lazaridis I., Alpaslan-Roodenberg S., Acar A. et al. Ancient DNA from Mesopotamia suggests distinct Pre-Pottery and Pottery Neolithic migrations into Anatolia. *Science* (80-). 2022 Aug 26;377(6609):982–7.
16. Chintalapati M., Patterson N., Moorjani P. The spatiotemporal patterns of major human admixture events during the European Holocene. *Elife*. 2022 May 1;11.
17. Liu Y.C., Hunter-Anderson R., Cheronet O. et al. Ancient DNA reveals five streams of migration into Micronesia and matrilocality in early Pacific seafarers. *Science*. 2022 Jul 1;377(6601):72–9.
18. Filon D., Faerman M., Smith P., Oppenheim A. Sequence analysis reveals a β -thalassaemia mutation in the DNA of skeletal remains from the archaeological site of Akhziv, Israel. *Nat Genet* 1995 94. 1995;9(4):365–8.
19. Rogaev E.I., Grigorenko A.P., Faskhutdinova G. et al. Genotype analysis identifies the cause of the “royal disease.” *Science*. 2009 Nov 6;326(5954):817.
20. Jackson I., Mattiangeli V., Cassidy L.M. et al. Millennium-old pathogenic Mendelian mutation discovery for multiple osteochondromas from a Gaelic Medieval graveyard. *Eur J Hum Genet*. 2022;
21. Beckers A., Fernandes D., Fina F. et al. Paleogenetic study of ancient DNA suggestive of X-linked acroigantism. *Endocr Relat Cancer*. 2017 Feb 1;24(2):L17–20.
22. Marchetti A., Pellegrini S., Bevilacqua G., Fornaciari G. K-RAS mutation in the tumour of Ferrante I of Aragon, King of Naples. *Lancet*. 1996 May 4;347(9010):1272.
23. Iadarola B., Lavezzari D., Modi A. et al. Whole-exome sequencing of the mummified remains of Cangrande della Scala (1291–1329 CE) indicates the first known case of late-onset Pompe disease. *Sci Rep*. 2021 Dec 1;11(1).
24. Cassidy L.M., Maoldúin R., Kador T. et al. A dynastic elite in monumental Neolithic society. *Nat* 2020 5827812. 2020 Jun 17;582(7812):384–8.
25. Gnecci-Ruscone G.A., Khussainova E., Kahbatkyzy N. et al. Ancient genomic time transect from the Central Asian Steppe unravels the history of the Scythians. *Sci Adv*. 2021 Mar 1;7(13):4414–40.
26. Viganó C., Haas C., Rühli F.J., Bouwman A. 2,000 Year old β -thalassaemia case in Sardinia suggests malaria was endemic by the Roman period. *Am J Phys Anthropol*. 2017 Oct 1;164(2):362–70.
27. Toncheva D., Marinova M., Borovska .P, Serbezov D. Spatio-temporal dynamics of pathogenic variants associated with monogenic disorders reconstructed with ancient DNA. *PLoS One*. 2022 Jun 1;17(6):e0269628.