Miloš Macholán

Paleogenetika člověka – způsobí analýza archaické DNA revoluci v pohledu na lidskou evoluci?

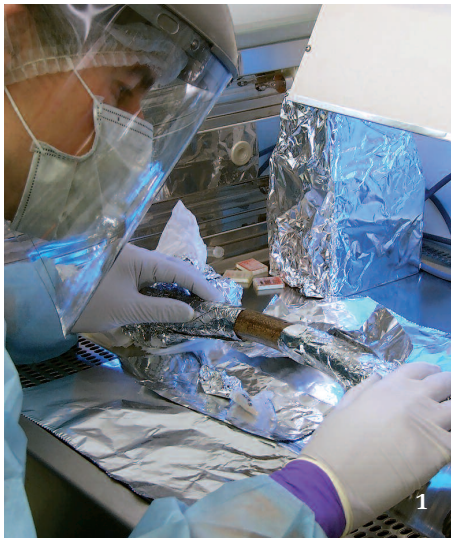
Je pravděpodobné, že výkonnost a použitelnost molekulárních technik poroste. Je to předznamenáním smrti klasické paleoantropologie?
R. Lewin a R. Foley

Jestli se poustevník Dionisij neboli Denis (Diviš) mezi modlitbami a rozjímáním kochal krásami okolní altajské přírody, není známo. Těžko si ovšem mohl představit, že krasová jeskyně nad řekou Anuj, kam se koncem 18. stol. uchýlil, v budoucnu ponese jeho jméno. Ať už je tato verze původu názvu Denisovy jeskyně, které místní říkají Aju-Taš (Medvědí skála), pravdivá nebo ne, jedno je jisté: zmíněný poustevník (nebo pastevec Denis, který podle jiné verze v okolí jeskyně pásl ovce) nemohl tušit, že se toto místo zapíše do historie paleoantropologie. Za věhlasem naleziště, ležícího nedaleko vesnice Čornyj Anuj, však nestojí ani tak četné artefakty acheuléenské, moustérienské a levalloiské industrie, ale nález úlomku článku malíčku sedmiletého děvčátka, které zde žilo někdy před 40 tisíci let. Nález sám, učiněný ruskými archeology v r. 2008, by stěží mohl vyvolat větší pozornost, kdyby se z něho o dva roky později nepodařilo týmu švédského evolučního genetika Svanteho Pääba z Institutu Maxe Plancka pro evoluční antropologii v Lipsku izolovat a analyzovat DNA.

Člověk a jeho místo na stromu života

Anatomická podobnost člověka a lidoopů byla zřejmá už biologům 19. stol. Např. T. H. Huxley v r. 1863 napsal, že se člověk ve všech částech svého těla odlišuje od lidoopů méně než lidoopi od nižších primátů. Huxley i Ch. Darwin předpokládali, že kolébku moderního člověka je třeba hledat v Africe, avšak počátkem 20. stol. začala převládat hypotéza H. F. Osborna o asijském původu. V každém případě panovalo přesvědčení, že se člověk od lidoopů oddělil velmi dávno. Nález tzv. piltdownského člověka v prosinci 1912 pak tento názor fosilizoval do podoby vědeckého paradigmatu, které přežilo i odhalení této „relikvie“ coby falza složeného z lebky středověkého člověka, dolní čelisti orangutana a stoličky šimpanze.

Do role obrazoborce se pasoval americký genetik A. Wilson z Kalifornské univerzity v Berkeley, který se zaměřil se svým studentem V. Sarichem na odhad tzv. imunologických vzdáleností mezi vyššími primáty. Vycházel z předpokladu, že blíže příbuzné druhy by měly mít podobné antigeny, a proto by jejich imunitní reakce na antigen opačného druhu měla být slabší než v případě druhů fylogeneticky vzdálenějších. Jejich studie vedla v r. 1967 k překvapivému závěru, že lidoopi jsou člověku blíž než ostatním úzkonosým opicím (*Catarrhini*). To by neznamenalo nic revolučního. Pokud však budeme v souladu s hypotézou molekulárních hodin předpokládat, že DNA se vyvíjí víceméně konstantním tempem, dospějeme k odhadu



1 Extrakce archaické DNA v laboratoři (J. Krause, Max-Planck-Institut für evolutionäre Anthropologie, Lipsko). Foto J. A. Svoboda

odštěpení lidské linie přibližně před pěti miliony let. To, co nás dnes sotva překvapí, vyvolalo na přelomu 60. a 70. let vlnu nesouhlasu paleontologů, kteří dosud kladli počátky našeho rodokmenu do období před 15 miliony let. Ukázalo se, že zkoumání molekul žijících druhů primátů včetně současných lidských populací může poskytnout důležité informace o naší vlastní evoluci. Tím však antropologická hereze ani zdaleka nekončila.

Udeřila znovu v Berkeley 20 let po zveřejnění Sarichovy a Wilsonovy imunologické práce. Wilson se svými spolupracovníky R. Cannovou a M. Stonekingem totiž zjistili, že ze vzorku mitochondriální DNA (mtDNA) 147 lidí mělo 7 nejstarších variant (haplotypů) africký původ. Variabilita afrických haplotypů navíc byla vyšší než proměnlivost všech ostatních. Získané výsledky vedly autory k závěru, že všechny zkoumané haplotypy odvozují svůj původ od jediné ženy („mitochondriální Evy“; také např. Živa 2010, 1: 4–6), která žila v Africe zhruba před 200 tisíci let. K podobnému závěru později dospěly analýzy chromozomu Y – i pomyslný „Y-chromozomový Adam“ měl africký rodný list.

Stejně jako v r. 1967 se závěry Wilsonova týmu setkaly s kritikou. Podle převládající multiregionální hypotézy naznačené už počátkem 20. stol. německým anatomem a antropologem F. Weidenreichem a později rozpracované především americkým paleoantropologem M. Wolpoffem (u nás např. J. Jelínkem), se anatomicky moderní člověk vyvinul z člověka vzpřímeného (*Homo erectus*), který jako první hominin migroval z Afriky do Eurasie, souběžně v celém areálu svého výskytu. (Termínem hominin označujeme člověka a jeho nejbližší příbuzné, tedy všechny žijící i vymřelé druhy vyskytující se v linii vedoucí od posledního společného předka lidí a šimpanzů k *Homo sapiens* – člověku moudrému, anatomicky modernímu člověku. Dříve používaný pojem hominid zahrnuje všechny zástupce čeledi *Hominidae*, tj. také šimpanze, gorily a orangutany včetně jejich vymřelých příbuzných.) Jinými slovy migrace mezi populacemi byly natolik silné, že dokázaly vznikající evoluční novinky šířit do ostatních oblastí. Na vědeckých kontroverzích je pozitivní, že vyvolávají zvýšenou výzkumnou aktivitu soupeřících táborů a nejinak tomu bylo i v tomto případě. V důsledku to, co se jevilo jako další bláznivý nápad „zkumavkových vědců“, dnes většina z nás bere jako daný fakt. Musíme však mít na zřeteli, že odhady minulých dějů na základě zkoumání jednotlivých molekulárních markerů mohou být velice variabilní. I kdyby naše analýzy a na nich založené dedukce byly naprosto přesné, získaný výsledek bude odrážet pouze jedinou realizaci evolučního procesu.

Představa výhradně africké kolébky soudobého lidstva neznamenala největší sporný moment hypotézy A. Wilsona a jeho kolegů. Tím byl názor, že migrační vlna anatomicky moderních lidí postupně nahradila původní obyvatele eurasijského kontinentu, aniž by mezi starousedlíky a imigranty docházelo ke křížení. Neandertálci a další druhy homininů tedy zmizeli v propadlišti dějin, aniž by po sobě zanechali genetickou stopu. Tato představa, zvláště pro paleoantropology těžko stravitelná, dlouho zůstávala na úrovni sice provokativní, nicméně stále spekulace. Bylo jasné, že odpověď budeme muset hledat v DNA našich vymřelých příbuzných.

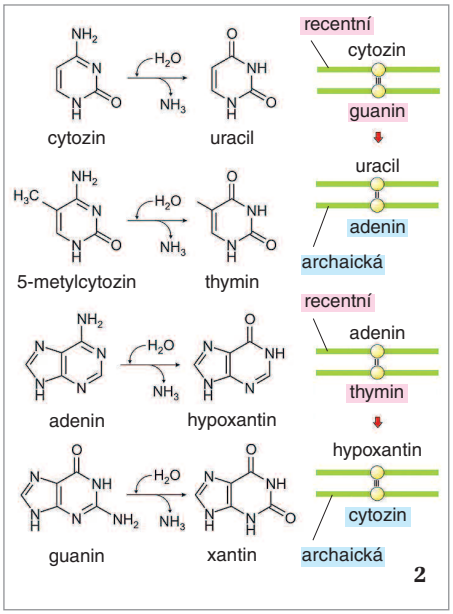
Analýza archaické DNA

Spolu s ostatními rozkladnými procesy nastává záhy po smrti organismu degradace DNA. Dochází k rozrušení buněčných

kompartmentů, které za normálních okolností izolují katabolické (degradační) enzymy od zbytku buňky. DNA se pak rychle rozkládá např. lyzozomálními nukleázami. Degradovanými částmi makromolekul se navíc živí široká škála bakterií, hub a dalších organismů. Pouze ve vzácných případech, kdy je DNA rychle vysušena, zmražena v ledu či permafrostu nebo adsorbována na některé minerální látky, jsou tyto děje zpomaleny. Naopak vyšší teploty nebo přítomnost vody zkázu urychlí. Většina těchto procesů probíhá stejným či podobným způsobem i v živých buňkách, v nich jsou ale vyvažovány enzymatickými opravnými mechanismy udržujícími integritu DNA. Podle současných odhadů tak fragmenty autentické DNA ve fosilním materiálu mizí přibližně po čtvrt milionu let.

Jaké má tedy archaická DNA (aDNA) typické znaky? Nejnápadnějším rysem je její rozštěpení na krátké segmenty o délce zpravidla nepřesahující 100 párů bází (bp). Ke zlomům v řetězci DNA dochází častěji bezprostředně před purinovou bází (adenin, guanin) – proč, to zatím spolehlivě nevíme. Kromě enzymatického štěpení se na rozkladu mohou podílet i některé neenzymatické procesy, např. hydrolýza fosfodiesterových vazeb cukr-fosfátové kostry dvoušroubovice DNA. Možnost sekvenovat delší úseky dále limituje přítomnost oxidativních poškození v izolovaných řetězcích aDNA, zpravidla způsobených peroxidem vodíku (H_2O_2) nebo volnými peroxidovými ($\cdot O_2$) a hydroxidovými ($\cdot OH$) radikály. Tyto léze znemožňují amplifikaci templátové (zdrojové) DNA pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) před následnou sekvenací. To je pouze malý výčet procesů, které mohou vést k degradaci aDNA. Na badatele však číhá i další nebezpečí ve formě chemické modifikace nukleotidových bází. Nejčastějším typem takové modifikace je hydrolytická ztráta aminoskupiny neboli deaminace. Tímto způsobem dochází k přeměně cytozinu na uracil, 5-metylcytozinu na thymin, adeninu na hypoxantin a guaninu na xantin. V komplementární sekvenci syntetizované v průběhu PCR enzymem DNA polymerázou se tak objeví adenin (A) místo guaninu (G) a cytozin (C) místo thyminu (T, viz obr. 2). Ukázalo se, že zatímco délka fragmentů se s rostoucím stářím aDNA výrazně nesnižuje, prokazatelně se zvyšuje četnost výskytu záměn C na T směrem k 5′-konci. Tyto modifikace se proto staly důležitým nástrojem k odlišení recentní a archaické DNA.

Další komplikaci při práci s aDNA znamená vysoké riziko kontaminace cizorodou DNA. Současná DNA snadno proniká do kosti, a to i velmi hluboko. Někteří čtenáři si možná vzpomenou na případy z poměrně nedávné doby, kdy byly sekvence současných organismů mylně uváděny jako DNA různých dinosaurů apod. (rekord nesly zřejmě sekvence DNA z halobakterií domněle získané z 250 milionu let starého halitu). Stupeň kontaminace se mezi jednotlivými vzorky dramaticky liší. Např. v jedné studii byl ve fosilních pozůstatcích z Francie (Saint-Césaire), Ruska (Okladnikova jeskyně) a Uzbekistánu (Tešik Taš) nalezen poměr neandertálské a lidské



2 Proces deaminace (odštěpení aminoskupiny NH_2) některých purinových a pyrimidinových bází. Vpravo jsou důsledky přeměny cytozinu na uracil (nahoře) a adeninu na hypoxantin (dole): v prvním případě bychom po amplifikaci zdrojové DNA v sekvenci zjistili adenin místo guaninu a ve druhém cytozin na místě thyminu. Orig. M. Macholán

mtDNA pouze kolem 1 : 99, obsah v jiných vzorcích kolísal mezi 5 a 75 %. Výjimečně vysoký podíl neandertálské DNA (94 %) v poměru k lidské DNA ve zmíněné studii nalezli pouze u jedince označeného Vi-80 (Vindija). I tento materiál však obsahoval množství cizorodé DNA. Jak ukazuje obr. 3, největší zastoupení ve vzorku (6,8 %) měly půdní bakterie skupiny *Actinomycetales* těsně následované primáty (6,2 %) a v menší míře pak i dalšími organismy.

Aby se zamezilo kontaminaci, všechny analýzy včetně extrakce aDNA by se měly provádět pouze v prostorách, kde se nikdy nepracovalo s amplifikovanou DNA (čím dále, tím lépe). Při práci je třeba používat speciální ochranný oděv (obr. 1), pracovní plochy pravidelně čistit oxidanty (např. bělidlem) a místnosti sterilizovat UV zářením. Autentičnost sekvencí aDNA by měla být posuzována na základě striktních kritérií. K nim patří mimo jiné opakované amplifikace jednoho nebo několika extraktů DNA z téhož vzorku, použití různých typů slepých vzorků a opakování analýz v jiné laboratoři. Některé problémy tradičních postupů vyřešilo nebo alespoň zmírnilo zavedení tzv. metod sekvenování příští generace (Next Generation Sequencing, NGS). Při NGS se neztrácí velké množství templátové DNA, k čemuž dochází při přenosu do plazmidových vektorů a následném klonování. Navíc protože podstatou NGS je současná amplifikace v oddělených kompartmentech, jednotlivé fragmenty templátové DNA si vzájemně nepřekážejí. Výhodou je i kratší délka sekvenovaných úseků (100–200 bp), která odpovídá velikosti většiny získaných fragmentů aDNA. A jelikož nakonec získáváme sekvence obrovského množství segmentů, nemusí nám tolik vadit, že velká část amplifikované DNA pochází z cizorodých organismů.

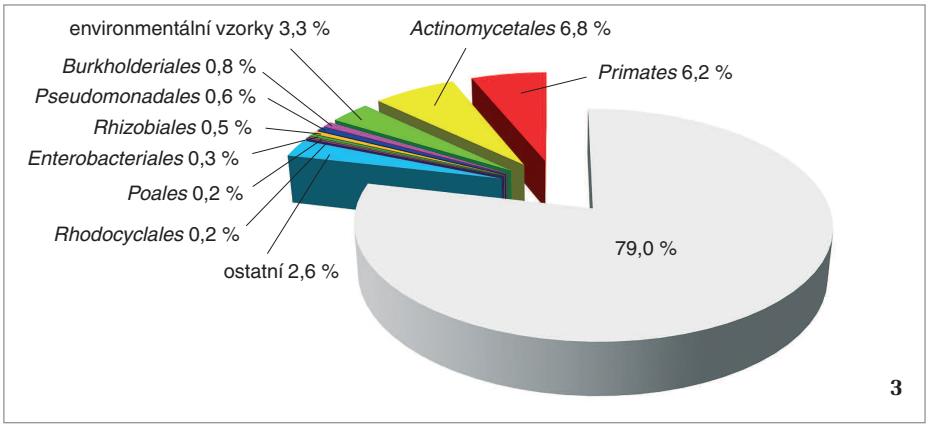
Z uvedeného stručného přehledu je patrné, že zde existuje určitý kompromis: čím je vzorek starší, tím se zvyšují míra jeho degradace a riziko kontaminace, u mladších vzorků (především v případě našeho druhu, jako např. u mladopaleolitických lovců z ruských Kostěnek nebo Dolních Věstonic) je naopak mnohem těžší odlišit autentickou DNA od současných příměsí.

Pátrání po neandertálských genech

Prvním vyhynulým organismem, jehož mtDNA se podařilo úspěšně sekvenovat, byla zebra kvaga (*Equus quagga*). Jako zdroj posloužil 150 let starý vysušený kousek svaloviny, analyzovaný r. 1984 opět Wilsonovým týmem. Ještě dále do minulosti se vydal o rok později S. Pääbo, který získal sekvenci 2 400 let staré egyptské mumie. Obě studie, byť průlomové, trpěly jedním problémem: výtěžek získané DNA byl příliš nízký na to, aby se daly analýzy opakovat, a tedy potvrdit. Pokrok přineslo až zavedení PCR koncem 80. let. Bylo otázkou času, kdy se zájem genetiků stočí i k našim vymřelým příbuzným.

Pozornost se logicky nejprve obrátila na fosilní pozůstatky nalezené v r. 1856 v údolí Neandertal poblíž Düsseldorfu – ve skutečnosti však byl tento typový exemplář člověka neandertálského (*H. neanderthalensis*) až třetím nálezem v pořadí, první objevení neandertálci pocházejí z belgického Engisu poblíž Liège z r. 1829, v r. 1848 následoval nález z Gibraltaru. První sekvenci jeho mtDNA zveřejnil r. 1997 Pääbův tým. Potom přišla smršť molekulárně genetických studií, v první vlně zaměřených na mitochondriální genom. Přestože, jak se později ukázalo, v mnoha případech byly alespoň některé z těchto prací negativně ovlivněny kontaminací, všechny se shodovaly, že šíře genetické proměnlivosti neandertálců leží mimo rozsah variability současných lidí. To, co vědce i laickou veřejnost zajímalo nejvíc, tedy jestli mezi neandertálci a anatomicky moderními lidmi docházelo ke křížení, se však vyřešit nepodařilo. Skutečnost, že neandertálské sekvence nejsou geneticky podobnější mtDNA současných Evropanů než archaickému *H. sapiens*, sice naznačovala absenci jakéhokoli toku genů mezi oběma druhy homininů, ale nelze vyloučit, že stopy pradávné hybridizace se v lidském genomu nezachovaly prostě náhodou. Navíc mtDNA předávaná výhradně po mateřské linii nemůže nic říci o možném přenosu jaderných genů.

Zavedení vysoce výkonných NGS technologií přineslo ovoce v podobě relativně dlouhých jaderných sekvencí (řádově 10^4 až 10^6 bp), ty však poskytovaly spíše konfliktní výsledky, byť byly založeny na analýze téhož vzorku. Později však Pääbův tým publikoval více než 4×10^9 bp (tj. čtyři miliardy párů bází) dlouhou sekvenci složenou ze tří jedinců a odpovídající zhruba 60 % neandertálského genomu (Green a kol. 2010). Tato práce ukázala, že genom současných lidí Evropy a Asie obsahuje 1–4 % genomu neandertálců. Přestože někteří poukazovali, že stejné výsledky lze vysvětlit i prostorovou strukturovaností populací archaických homininů, většina následujících genetických i statistických analýz hypotézu toku genů potvrdila. Sou-



časné odhady se pohybují v průměru kolem 2 % neandertálské DNA (tok genů v opačném směru nebyl dosud zjištěn). Protože je však tato 2% příměs v každém z nás jiná, celkové množství neandertálské DNA, které přežilo v současných obyvatelích Eurasie, dosahuje podle nejnovějších odhadů 20 %, zřejmě však může být i větší.

Podle fosilního záznamu se anatomicky moderní člověk poprvé objevil mimo Afriku v Levantě přibližně před 120 až 90 tisíci let. Toto datování se zdá být v souladu s vlhčí klimatickou epizodou, která zasáhla severní Afriku v období před 130 až 115 tisíci let a otevřela migrační koridor situovaný severojižním směrem západně od údolí Nilu. V Levantě mohlo dojít k prvnímu kontaktu a potenciálně též k hybridizaci s neandertálci. Pokud tomu tak skutečně bylo, měli bychom nalézat neandertálské geny i v severní Africe. Vzhledem k množství migračních vln, které se od té doby touto oblastí přehnaly, se ale důkazy nacházejí obtížně. Nedávno se však ukázalo, že obyvatelé Maghrebu jsou nejen geneticky bližší lidem z Blízkého východu a Evropy než populacím jižně od Sahary, ale obsahují také genetickou stopu neandertálského původu (nejrozšířenější u tuniských Berberů), jež se do severní Afriky dostala zpětnou migrací zhruba před 40 až 12 tisíci let. Ale to jsme předběhli. S nástupem globálního ochlazení (ca před 100 tisíci let) se lidé stáhli z Levanty zpět na africký kontinent. Druhá emigrační vlna začala přibližně před 85 tisíci let, kdy skupiny lidí překročily úžinu Bab-al-Mandab (Brána nářků) mezi dnešním Džibutskem a Jemenem. Odtud pokračovaly podél pobřeží Indického oceánu do západní Indonésie a posléze severně přes Sundy (v té době spojené s asijskou pevninou) do Číny a jižně na Novou Guineu a do Austrálie.

Uvedený scénář nabourává jeden zádrhel. Genetické údaje ukazují, že k toku genů mezi neandertálci a moderními lidmi došlo s největší pravděpodobností před 65 až 47 tisíci let. To je sice v souladu s předchozím závěrem, že ke křížení nedocházelo v období dlouhého soužití obou druhů v Evropě, odporuje to však představě levantského kontaktu o zhruba 65 tisíc let dříve. K přenosu neandertálských alel do genomu anatomicky moderního člověka by tak došlo na Středním východě až krátce před začátkem expanze do Evropy přibližně před 45 tisíci let. Nejnovější studie B. Vernota a J. Akeyho z r. 2014 z Washingtonské univerzity v Seattlu, porovnávající celkem 665 kompletních ge-

3 Zastoupení nejhojnějších řádů organismů v sekvencích získaných z 38 tisíc let staré kosti neandertálce Vi-80 z chorvatské jeskyně Vindija. Největší podíl v sekvenovaných úsecích DNA měly půdní bakterie řádu *Actinomycetales* (6,8 %) a primáti (6,2 %). Průměrná shoda s databázovými sekvencemi primátů byla 98,8 % (u ostatních řádů 92–98 %), což ukazuje na blízkou taxonomickou příbuznost identifikovaných sekvencí primátů ve srovnání s ostatními řády. Skupina tzv. environmentálních vzorků, což jsou neidentifikované organismy vyskytující se ve vzorcích půdy, mořské vody, obsahu střeva apod., tvořila 3,3 % sekvencí. Za povšimnutí stojí, že naprostou většinu (79 %) sekvencí se nepodařilo přiřadit k žádné databázové sekvenci. Upraveno podle: R. E. Green a kol. (2006)

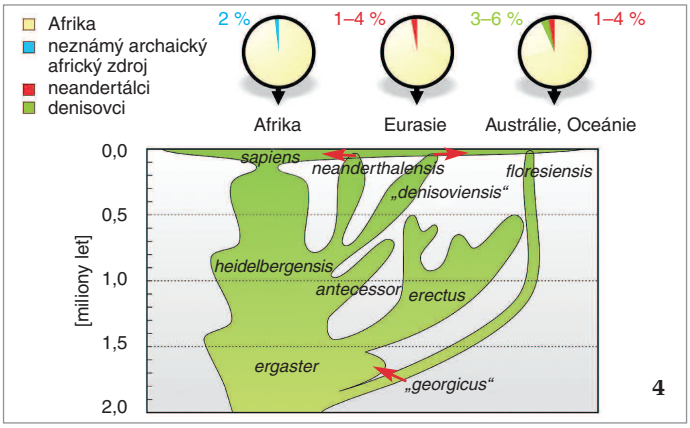
nomových sekvencí současných obyvatel Evropy a východní Asie, ovšem dospěla k závěru, že k hybridizaci rozhodně nemohlo dojít jednorázově, ale přinejmenším dvakrát. První vlna proběhla před rozdělením evropských a východoasijských populací a druhá až posléze, a to pouze v Asii, takže množství neandertálské DNA je v současných populacích východní Asie o 20 % větší než u Evropanů. Zdá se, jako by se celý obraz lidské migrace a mezidruhové hybridizace vracel na začátek. V každém případě se dnes předpokládá, že areál neandertálců byl mnohem rozsáhlejší, na severu zřejmě dosahoval až k pobřeží dnešního Barentsova moře (Bizovaja, Rusko) a na jihozápadě do údolí Indu, kde mohl nastat druhý hybridizační kontakt s populacemi moderních lidí migrujícími na východ. Proč ke křížení nedocházelo na evropském kontinentu navzdory tisícům let soužití, zůstává nejasné. Zmíněná studie amerických vědců navíc ukázala, že asijské populace jsou co do zastoupení neandertálských sekvencí v podstatě homogenní, kdežto mezi různými evropskými populacemi existují vysoce průkazné rozdíly. Kolonizace obou kontinentů tedy zřejmě probíhala odlišným způsobem.

Co nám křížení s neandertálci přineslo? Především se zdá, že jsme od nich převzali znaky spojené s vlastnostmi kůže. Podle práce S. Sankararamana z Harvardovy univerzity a jeho kolegů (2014) z počtu 1 004 Evropanů a Asiatů, které studovali, se u více než 60 % genomů vyskytuje neandertálská varianta genů ovlivňujících funkci bílkoviny keratinu, jenž tvoří základní složku vlasů, chlupů a nehtů a chrání kůži před vodou i vysušením, zajišťuje její pevnost a pružnost, a také ochranu proti parazitům. Vypadá to, že díky hybridizaci s neandertálci se lidé dokázali rychleji adaptovat na chladné podnebí posledního glaciálu. Neandertálské alely mimoto zřejmě ovlivňují i hladinu interleukinu 18, tedy proteinu ze skupiny cytokinů, hrajícího zásadní roli při obraně organismu proti patogenům. Jiné analýzy naznačují, že kromě keratinu jsme od svých příbuzných zdědili alely pro barvu kůže. Je zřejmé, že světlé zbarvení kůže je přizpůsobením prostředí s nízkou intenzitou dopadajícího UV záření, nezbytného pro syntézu vitamínu D. Můžou tedy neandertálci i za naši světlou pleť? Sekvence genu *MC1R* dvou jedinců z lokality El Sidrón ve Španělsku a Monti Lessini v Itálii navíc ukazují, že alespoň někteří neandertálci měli nejen světlou pleť, ale také ryšavé vlasy. Zdá se, že barva jejich kůže mohla být stejně proměnlivá jako u moderního člověka a minimálně 1 % z nich bylo „keltského typu" – s rusými vlasy, pihami a světlýma očima, podobně jako v populacích současných lidí (celosvětový podíl 1–2 %).

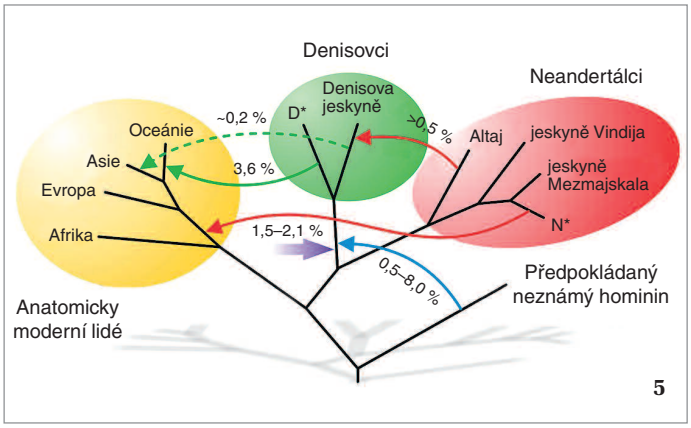
Mezaliance s neandertálci však měla i stinné stránky. Kvůli nim jsme pravděpodobně náchylní k onemocněním, jako jsou systémový lupus erythematodes, primární biliární cirhóza, Crohnova nemoc nebo cukrovka II. typu. Kdo se marně snaží skončit s kouřením, může si postěžovat na neandertálce, kvůli nimž se v genomu některých z nás vyskytuje alela způsobující zvýšený sklon k závislosti na nikotinu. Sankararamanova studie také ukazuje, že neandertálské sekvence, jinak rozprostřené po celém genomu, se takřka nevyskytují na našem chromozomu X. To by mohlo znamenat, že kříženci mužského pohlaví byli, v souladu s Haldaneovým pravidlem, sterilní. Toto pravidlo říká, že pokud se u hybridů vyskytuje snížená životaschopnost nebo plodnost, jde především o heterogametické pohlaví (u savců a dalších druhů s pohlavními chromozomy XY tedy samce). Navíc podle tzv. Coyneova pravidla o velkém účinku chromozomu X (large X-effect) bychom největší dopad hybridizace měli očekávat právě zde.

Dívka z Altaje a její španělští příbuzní

Rozruch, který mezi paleoantropology vytváří S. Pääbo se svými spolupracovníky, jako by neměl konce. Roku 2007 přišel jeho tým s nálezem, že úlomky kostí z Okladnikovy jeskyně na Altaji patří *H. neanderthalensis*. Překvapivě se tak ukázalo, že neandertálci byli schopni snášet i nehostinné sibiřské klima (podle některých spekulací mohl tento druh doputovat až do Severní Ameriky). Ještě větší překvapení však na ně čekalo při analýze aDNA drobného úlomku článku prstu asi sedmileté dívky z nedaleké Denisovy jeskyně. Kompletní mitochondriální genom se totiž lišil jak od současných lidí, tak od neandertálců. Jak „denisovci" vypadali, nevíme. Podle pozdějí nalezené stoličky, jejíž DNA potvrdila příslušnost ke stejnému druhu, můžeme pouze soudit, že minimálně měli velmi robustní dentici. (V o něco starší podvrstvě téže jeskyně byl nalezen fragment prstu dolní končetiny, podle DNA ale patřil neandertálci, takže stejnou jeskyni zjevně



4



5

využívali oba hominini). Podle mtDNA nám denisovci byli fylogeneticky vzdálenější než neandertálci, analýza jaderného genomu však ukázala na bližší vztah obou vymřelých druhů, které se vzájemně oddělily zhruba před 380 tisíci let. Poslední společný předek této dvojice a člověka moudrého pak žil někdy před 550 až 590 tisíci let (podle jiných odhadů musíme dále do minulosti, v prvním případě na 640 tisíc a ve druhém na 800 tisíc let). Jakému druhu denisovská DNA patřila? Nevíme. Podle některých názorů mohlo jít o starší formu člověka předchůdce (*H. antecessor*), podle jiných o člověka vzpřímeného nebo heidelberského (*H. heidelbergensis*; také seriál v Živě 2003, 1–6). Každopádně svět byl v mladším pleistocénu z hlediska lidské evoluce mnohem pestřejší, než se dříve soudilo (obr. 4). A to pomíjíme „hobity“ z indonéského Floresu (člověk floreský – *H. floresiensis*), kteří na tomto ostrově žili ještě před 13 tisíci let (podle některých názorů dokonce až do připlutí prvních portugalských lodí v 16. stol.). Není vyloučeno, že floresští hobiti dali vzniknout mýtům o malých chlupatých stvořeních, kterým místní říkají Ebu Gogo (pramáti, která všechno sní), na Sumatře pak Orang Pendek (malý člověk). Jaké jsou fylogenetické vztahy člověka floreského a ostatních homininů, je předmětem diskuzí. Jejich DNA nám v tom bohužel nepomůže, klimatické podmínky tropického ostrova jsou pro uchování aDNA nevhodné. Stejně tak zůstává otevřená i otázka jejich případného křížení s anatomicky moderními lidmi.

Zato víme, že k toku genů docházelo mezi homininy z Denisovy jeskyně a *H. sapiens* – až 6 % denisovské DNA bylo zjištěno v genomu dnešních filipínských negritů, novoguinejských Papuánců, Austrálců, Melanésanů, Polynésanů a některých izolovaných skupin v jihovýchodní Asii. Celkový obraz výměny genů mezi středo- a mladopaleolitickými homininy však zdaleka není úplný. Především nejméně 0,5 % neandertálské DNA bylo odhaleno i v genomu děvčete z Denisovy jeskyně. V denisovském genomu dokonce nacházíme až 8% příměs sekvencí pocházejících od neznámého hominina, který sdílel společného předka s neandertálci, denisovci i moderními lidmi (obr. 5).

Další záhadu do celé skládačky vnesl v r. 2013 opět Pääbův tým, a to z místa vzdáleného téměř 7 000 km západně od Denisovy jeskyně. Krasová oblast Atapuerca ve Španělsku je vyhlášená bohatstvím fosilních nálezů nejrůznějších homininů. Mezi nejznámější naleziště patří Sima de los Huesos (Šachta kostí) v jeskyni Cueva Mayor, obsahující pozůstatky více než 6 000 úlomků 28 jedinců člověka heidelberského, starých nejméně 300 tisíc let (podle elektronové spinové rezonance nadložních sintrů dokonce více než 530 tisíc let). Analýza téměř kompletního mitochondriálního genomu překvapivě ukázala na příbuznost s homininy z Denisovy jeskyně a nikoli s neandertálci, s nimiž sdíleli některé společné rysy. Stáří analyzované aDNA bylo odhadnuto přibližně na 400 tisíc let, což odpovídá době odhadnuté pro doprovodné fosilní pozůstatky jeskynního medvěda *Ursus deningeri*. Denisovská a atapuerská mitochondriální linie se oddělily zhruba před 700 tisíci let, na přesnější obrázek fylogenetických vztahů si však budeme muset počkat, až se podaří získat i jaderné sekvence.

Epilog

Poslední desetiletí přináší další a další důkazy o možnostech, které molekulární genetika výzkumu naší evoluce nabízí, a jež paleontologie nemá. Některé ze vzrušujících výsledků jsme zde zmínili, na jiné se nedostalo – např. na skutečnost, že lidská verze genu *FOXP2* zodpovědného za schopnost artikulované řeči byla nalezena i u neandertálců a denisovců (vzhledem k tomu, že člověk heidelberský ze Sima de los Huesos má podobný tvar jazylky, nebyl by nález stejné varianty *FOXP2* také u tohoto druhu velkým překvapením). Z archaické DNA jsme dnes schopni vyčíst třeba to, že velikost populace homininů z Altaje (neandertálců i denisovců) a moderních lidí zasáhl zhruba před milionem let silný pokles. U prvních dvou jmenovaných dále pokračoval, kdežto u lidí naopak došlo k opětovnému růstu, a to až do erupce indonéského vulkánu Toba před 74 tisíci let. Dokážeme vyvodit i takové „intimní“ detaily, jako že neandertálští rodiče majitele článku prstu nohy z Denisovy jeskyně byli buď nevlastní sourozenci sdílející společnou matku, nebo jinak blízce příbuzní.

Bude tedy paleogenetika znamenat konec tradiční paleoantropologie? Zcela určitě ne. Přestože nové objevy na poli analýzy aDNA v poslední době bezostyšně smetly ze stolu mnohé z toho, co jsme si dřív mysleli, že víme o evoluci člověka, pátrání po archaických genech má své limity. Jen je otázka, kde leží. Mám neodbytný pocit, že ne do roka a do dne, ale do vydání tohoto čísla Živy může být zase leccos jinak. Ale v tom právě tkví krása vědeckého bádání.

4 Vývoj pleistocenních zástupců rodu *Homo*. Jako *H. georgicus* byly popsány fosilní nálezy z gruzínské lokality Dmanisi (dnes jsou různými autory považovány za příslušníky druhů člověk zručný – *H. habilis*, č. vzpřímený – *H. erectus* nebo *H. ergaster*). Šipky naznačují přenos alel neandertálců a lidí z Denisovy jeskyně do genomu anatomicky moderního člověka. V horní části je schematicky znázorněno přibližné zastoupení genomů u současných obyvatel subsaharské Afriky, Eurasie, Austrálie a Oceánie. Podle: C. Stringer (2012), upraveno

5 Naznačení směru a přibližného rozsahu předpokládaného toku genů mezi příbuznými formami pleistocenních homininů. Fylogenetický strom je znázorněn pouze schematicky. Přerušovaná šipka znamená, že není jasné, jestli alely lidí z Denisovy jeskyně putovaly do pevninské východní Asie přímo, nebo přes Oceánii. Písmena s hvězdičkou označují předpokládané zdrojové populace denisovců (D*) a neandertálců (N*), ze kterých se alely dostaly do genomu anatomicky moderních lidí v Eurasii. Vzhledem ke stáří aDNA vymřelých homininů nelze odhalit případný opačný tok genů z moderních lidí do jejich genomu. Fialová šipka ukazuje fylogenetickou pozici příslušníků člověka heidelberského (*H. heidelbergensis*) neboli anteneandertálce ze Sima de Los Huesos (Atapuerca, Španělsko), jak se jeví na základě sekvence jejich mitochondriální DNA (mtDNA). Podle: K. Prüfer a kol. (2014)

Jak poznamenal známý britský novinář a spisovatel Matt Ridley: „Čím víc toho objevíš, tím víc si uvědomíš, co všechno jsi předtím nevěděl. Historie lidské prehistorie není žádnou výjimkou.“ A dodává: „Přál bych si, aby lidé o vědě svým dětem říkali, že je to nejbohatší zdroj nových záhad.“ Lepší tečku si snad nelze přát.

Použitou literaturu uvádíme na webové stránce Živy.

Pozn. redakce: Obsah článku vychází z úvodního textu M. Macholána v knize J. A. Svobody Předkové. Evoluce člověka (Academia, Praha 2014). V příštím čísle Živy budete mít možnost si přečíst článek J. A. Svobody o bipedii člověka a v některém z dalších čísel také recenzi na uvedenou knihu.