

ПАЛЕОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

А.С. Пилипенко¹, В.И. Молодин²

¹ Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики СО РАН,
Новосибирск, Россия, e-mail: alexpil@bionet.nsc.ru;

² Учреждение Российской академии наук Институт археологии и этнографии СО РАН,
Новосибирск, Россия

В работе рассмотрен современный методический уровень палеогенетических исследований. Обсуждаются спектр существующих на данный момент направлений использования молекулярно-генетических методов при изучении различных типов археологических материалов, проблема эффективной интеграции анализа древней ДНК в рамки комплексного археологического исследования. Проведен критический анализ работ по изучению структуры ДНК из археологических объектов, включая исследования, проведенные авторами обзора. Обсуждаются дальнейшие перспективы развития этого научного направления.

Ключевые слова: палеогенетика, междисциплинарный подход в археологическом исследовании, древняя ДНК, этногенетические реконструкции.

Введение

Одной из современных тенденций развития науки является привлечение к изучению конкретных объектов максимально возможного числа методов и их объединение в рамках мультидисциплинарного исследования. Это ярко проявляется в современной археологии, где наряду с традиционными подходами применяется все более широкий спектр естественнонаучных методов (рис. 1). Преимущество такого подхода заключается в объективном характере получаемых данных, возможности их независимой проверки, накладывающей ограничения на свободу интерпретации результатов. Анализ полученной информации в рамках археологического контекста позволяет проводить максимально объективные реконструкции изучаемых древних феноменов. При этом новые методы не заменяют, а существенно расширяют возможности традиционных подходов. Следует подчеркнуть, что недооценка роли археологического контекста, распространенная в настоящее время в мировой практике, резко снижает информативность подобного рода мультидисциплинарных исследований.

Многочисленность задействованных в археологии естественнонаучных методов определяется разнообразием источников (и их свойств), которые исследователи выявляют в процессе изучения археологических памятников. Наиболее часто объектами для применения естественнонаучных методов являются биологические останки: микроорганизмов, растений, животных, человека. Доминирующая роль в их исследовании принадлежит биологическим дисциплинам. Методы физической антропологии, палеозоологии (остеологии), палеоботаники уже прочно вошли в археологическую практику и, как правило, подразумевают изучение останков на макроскопическом уровне. Новые подходы связаны с анализом структуры биологических макромолекул – ДНК и белков. Наибольший потенциал применительно к археологическим источникам имеют палеогенетические исследования. Их задачей являются получение и анализ структуры молекул ДНК из биологических останков различного возраста, не подвергавшихся заранее специальным процедурам консервации ДНК. Таким образом, все разнообразие биологических останков из археологических памятников, состояние которых до-



Рис. 1. Структура мультидисциплинарного археологического исследования.

пускает вероятность сохранности аутентичных молекул ДНК, попадает в категорию объектов палеогенетического исследования (Kaestle, Horsburgh, 2002).

Помимо разнообразия потенциальных объектов исследования и их конкретного археологического контекста спектр применения палеогенетического подхода в археологии определяется методическими и аналитическими возможностями молекулярной генетики. Прежде чем рассмотреть возможности использования молекулярно-генетического анализа в археологии, необходимо кратко охарактеризовать современный методический уровень, специфические трудности палеогенетического направления и степень их преодоления на данный момент.

История становления метода и современные возможности анализа древней ДНК

Первое исследование в области палеогенетики было посвящено выделению, клонированию и анализу последовательности фрагмента митохондриальной ДНК (мтДНК) из останков вымершего представителя рода лошадей/зебр

(*Equus*) – квагги (*Equus quagga*) возрастом около 140 лет (Higuchi *et al.*, 1984). Почти сразу же была опубликована первая работа по анализу ДНК из археологического объекта – останков египетской мумии возрастом около 2400 лет (Paabo, 1985). Эти работы продемонстрировали принципиальную возможность экстракции и анализа структуры ДНК из ископаемых останков животных и человека различного возраста. Было показано, что эндогенная ДНК в биологических останках представлена короткими фрагментами многокопийных локусов, таких, как мтДНК, сохраняющимися в чрезвычайно низкой концентрации (Higuchi *et al.*, 1984; Paabo, 1985, 1989). Используемый авторами первых работ метод клонирования фрагментов ДНК в бактериальных векторах был малоэффективен для амплификации деградированной древней ДНК и потенциально позволял проводить исследование образцов только с необычно высокой для древних останков степенью сохранности. Изобретение и широкое внедрение в практику молекулярно-генетических исследований метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) (Mullis, Falloona, 1987; Saiki *et al.*, 1988), позволяющей получать практически неогра-

ниченное число копий короткого целевого фрагмента ДНК даже при чрезвычайно низкой концентрации матрицы, существенно расширили спектр ископаемых останков, потенциально пригодных для выделения и анализа древней ДНК (Paabo, Wilson, 1988; Paabo, 1989; Paabo *et al.*, 1989). Появились многочисленные работы, посвященные исследованию структуры ДНК, выделенной из ископаемых останков разнообразных животных, растений, микроорганизмов, относящихся к широким хронологическим рамкам (Thomas *et al.*, 1989; Golenberg *et al.*, 1990; Guthrie, 1990; Cano *et al.*, 1992; Poinar *et al.*, 1993; Woodward *et al.*, 1994). Впоследствии работы, посвященные изучению степени и характера деградации ДНК в останках, потенциала ее сохранности и распространенности загрязнения древних образцов современной ДНК (Paabo *et al.*, 1989; Lindahl, 1993; Handt *et al.*, 1994a; Hoss *et al.*, 1996), продемонстрировали, что на раннем этапе развития палеогенетики серьезность этих проблем недооценивалась исследователями. Повсеместное распространение современной ДНК (особенно ДНК человека и микроорганизмов) вызвало скептическое отношение к возможности получения достоверных результатов методами палеогенетики (Richards *et al.*, 1995; Stoneking, 1995; Handt *et al.*, 1996). Одним из основных направлений ее развития в этот период становится исследование биохимии процессов деградации ДНК, происходящих после смерти организма, их влияния на результаты анализа структуры древней ДНК, потенциала сохранности ДНК в останках в различных условиях и способов верификации результатов палеогенетических экспериментов (Hoss *et al.*, 1996; Lau *et al.*, 2000; Hansen *et al.*, 2001; Hofreiter *et al.*, 2001a). Основным достижением этих работ стали доказательство возможности сохранения ДНК, пригодной для анализа в останках возрастом в несколько тысяч лет (Poinar *et al.*, 1996), совершенствование методов извлечения ДНК из останков (Rohland, Hofreiter, 2007) и создание системы критериев верификации результатов палеогенетических исследований (Paabo *et al.*, 2004; Willerslev, Cooper, 2005), а также выработка рекомендаций по максимально корректному выполнению палеогенетических экспериментов (Cooper, Poinar, 2000).

Проблема достоверности палеогенетических результатов

Среди факторов, существенно осложняющих проведение палеогенетических исследований, центральное место занимают процессы деградации ДНК после смерти организма (Paabo *et al.*, 1989, 2004; Mitchell *et al.*, 2005). Именно на фоне деградированного состояния ДНК в древних останках становятся значимыми такие факторы, как загрязнение древнего материала современной ДНК.

ДНК является относительно нестабильной биологической молекулой (Paabo *et al.*, 2004; Mitchell *et al.*, 2005). После смерти организма она подвергается интенсивной ферментативной деградации внутриклеточными ферментами, а затем разрушается под влиянием организмов-редуцентов (Eglinton, Logan, 1991). Лишь в благоприятных условиях – при быстром замерзании или высыхании мягких тканей, а также при адсорбции на минеральном матриксе костной ткани – она может избежать быстрого полного разрушения. В этих случаях ДНК подвергается биохимической деградации (Hofreiter *et al.*, 2001a; Gilbert *et al.*, 2003a, b). Постепенно происходит накопление нарушений в структуре ДНК, вплоть до полного разрушения ее молекул (Paabo *et al.*, 2004).

К основным типам биохимической деградации ДНК относятся: а) *нарушения, приводящие к разрывам цепей ДНК*. Это основная причина преобладания в древних экстрактах коротких по длине фрагментов ДНК и даже полного разрушения молекул ДНК (Lindahl, 1993; Willerslev, Cooper, 2005; Mitchell *et al.*, 2005), когда ее исследование становится невозможным; б) *образование внутримолекулярных и межмолекулярных перекрестных химических связей между разными молекулами ДНК или ДНК и белками* блокирует участие молекул ДНК в ПЦР. При этом существенно возрастает риск амплификации контаминирующей современной ДНК. ДНК сохраняется в останках, но недоступна для исследования стандартными молекулярно-генетическими методами. Как правило, этот тип деградации проявляется, если в палеоматериале сохраняются достаточно протяженные молекулы ДНК: в условиях мерзлоты (Mitchell *et al.*, 2005) или при быстром высыхании тканей (Paabo,

1989). В этом случае эффективна обработка экстрактов ДНК реактивами, разрушающими внутри- и межмолекулярные связи, например N-фенилацилтиазолиум бромидом (Poinar *et al.*, 1998); в) *модификация азоти-стых оснований* может приводить к различным последствиям: некоторые продукты окисления (например 5-гидроксигидантоин) могут блокировать синтез ДНК полимеразой, что приводит к возникновению химерных продуктов ПЦР в результате так называемой «прыгающей ПЦР» (jumping PCR) (Raabo *et al.*, 1990; Gilbert *et al.*, 2003b). Другим последствием химической модификации азотистых оснований в древней ДНК может быть включение некорректных нуклеотидов во вновь синтезированную ДНК в процессе ПЦР (Hansen *et al.*, 2001; Hofreiter *et al.*, 2001a; Gilbert *et al.*, 2003a, b). Модификации азотистых оснований ДНК в останках не всегда препятствуют ее амплификации в ПЦР, но изменяют ее первичную структуру. Первоначально предполагалось присутствие в древней ДНК различных вариантов такой модификации, которые могут приводить к неправильным филогенетическим интерпретациям полученных результатов (Gilbert *et al.*, 2003a, b). Впоследствии было показано: абсолютно доминирующим типом модификации азотистых оснований (практически единственным) является дезаминирование цитозина с образованием урацила, что приводит к смене пар оснований CG → TA. Было предложено использовать это свойство древней ДНК в качестве критерия аутентичности (Brotherton *et al.*, 2007). Показано, что данный тип деградации проявляется при анализе образцов с низким содержанием целевых фрагментов ДНК, когда ПЦР инициируется менее чем с 1 тыс. копий матрицы (Cooper, Poinar, 2000; Hofreiter *et al.*, 2001b).

Интенсивность процессов биохимической деградации ДНК зависит от условий среды, в которой находятся биологические останки: температурного режима в сочетании с уровнем pH, влажностью, химическим составом среды, интенсивностью жизнедеятельности микроорганизмов (Lindahl, 1993; Hofreiter *et al.*, 2001b; Smith *et al.*, 2001; Willerslev *et al.*, 2004). Накопленные сведения о природе биохимической деградации ДНК в останках (Ehrlich *et al.*, 1990; Lindahl, 1993; Smith *et*

al., 2003; Gilbert *et al.*, 2003a, b; Mitchell *et al.*, 2005) позволяют теоретически оценить время, в течение которого возможна сохранность ДНК в останках при различных условиях внешней среды. Согласно этим расчетам, небольшие фрагменты ДНК (100–500 п.н.) могут сохраняться в среднем до 10 тыс. лет в условиях умеренного климата (Poinar *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 2001). Примечательно, что в этот хронологический период укладываются все археологические материалы с периода неолита до позднего средневековья.

К настоящему моменту разработаны меры, позволяющие избежать прямого влияния различных типов деградации ДНК в останках на результаты палеогенетического исследования (табл. 1) (Gilbert *et al.*, 2003a, b; Raabo *et al.*, 2004; Mitchell *et al.*, 2005). Однако на фоне деградированного состояния аутентичной ДНК чрезвычайно значимой становится проблема контаминации палеоматериала современной ДНК. Низкая концентрация выделяемой из древних останков ДНК, ее слабая матричная способность по сравнению с современной ДНК и высокая эффективность ПЦР, применяемой для анализа, могут приводить к получению ложных результатов при попадании даже незначительного количества современной ДНК в экстракт (Raabo *et al.*, 1989, 2004).

В проблеме ДНК-контаминации в палеогенетических исследованиях условно можно выделить два аспекта: а) загрязнение образцов в генетической лаборатории непосредственно в процессе палеогенетического эксперимента (Handt *et al.*, 1996; Hofreiter *et al.*, 2001b; Serre *et al.*, 2004b); б) контаминация палеоматериала до его попадания в генетическую лабораторию (Sampietro *et al.*, 2006). В настоящее время проблема внутрилабораторной контаминации достаточно эффективно решается комплексом мер, касающихся оборудования лаборатории и непосредственно процедуры эксперимента (табл. 1) (обзоры методов см. Raabo *et al.*, 2004; Willerslev, Cooper, 2005). Наиболее эффективным при исследовании археологического материала представляется подход, когда меры, предотвращающие контаминацию (или облегчающие ее детекцию), предпринимаются на протяжении всего периода работы с источниками. До момента передачи образцов в генетическую

Таблица 1

Распространенные методы верификации результатов палеогенетического исследования
(анализ ДНК из останков человека)

Метод верификации	Проблема, решаемая с помощью данного метода
Повторные экстракции ДНК из материала одного образца	Спорадическая контаминация в процессе предварительной обработки образца и экстракции ДНК
Повторные ПЦР из одного экстракта	Спорадическая контаминация в процессе предварительной обработки и выделения ДНК; ошибки полимеразы; результаты «прыгающей» ПЦР
Аmplификация нескольких перекрывающихся участков	Спорадическая контаминация компонентов ПЦР; ошибки полимеразы; результаты «прыгающей» ПЦР
Отрицательный контроль экстракции и ПЦР	Спорадическая и систематическая контаминация в процессе предварительной обработки образцов, экстракции ДНК и ПЦР
Клонирование продуктов ПЦР, секвенирование нескольких клонов	Спорадическая контаминация в процессе предварительной обработки образцов, экстракции ДНК и ПЦР; ошибки полимеразы; искажение полученной последовательности ДНК вследствие модификации азотистых оснований (дезаминирования цитозина)
Выделение и анализ ДНК из разных частей одного скелета (например, зубы и кости конечностей)	Загрязнение палеоматериала до его попадания в генетическую лабораторию
Анализ ДНК из сопутствующих останков животных	Косвенный показатель сохранности ДНК в останках человека в условиях конкретного археологического комплекса
Обработка экстрактов урацил-N-гликозилазой	Искажение полученной последовательности ДНК вследствие дезаминирования цитозина
Оценка стартовой концентрации матрицы в экстракте	Доказательство сохранности ДНК в палеоматериале в условиях конкретного археологического комплекса
Воспроизведение результатов в другой палеогенетической лаборатории	Систематическая внутрилабораторная контаминация
Идентификация признаков деградированного состояния древней ДНК с помощью методов высокопроизводительного секвенирования	Универсальный метод доказательства аутентичности полученных образцов мтДНК (за исключением проблемы контаминации образцов в древности)

лабораторию материалы из археологических памятников проходят несколько стадий предварительного исследования. Непосредственно в полевых условиях осуществляются тщательная расчистка комплексов, содержащих останки, их детальное документирование, изъятие и первичная камеральная обработка палеоматериалов (рис. 2). На этом этапе существует высокая вероятность загрязнения материала современной ДНК, особенно если речь идет об останках человека. Эффективными мерами против загрязнения на этой стадии по опыту авторов данной работы являются: ограничение числа сотрудников, контактирующих с каждым конкретным

образцом, их тщательное документирование в специальном журнале (и генотипирование); использование средств, предотвращающих контакт персонала с образцами, – стерильных перчаток, масок (рис. 3); изолирование части останков, потенциально пригодных для палеогенетического исследования (высокой степени сохранности), сразу после вскрытия комплексов и вплоть до их передачи в лабораторию (Молодин и др., 2006). Необходимо избегать промывания археологических останков водой в процессе их первичной камеральной обработки, так как это может приводить к проникновению загрязняющей ДНК с поверхности во внутренние облас-



Рис. 2. Пример фотодокументирования погребально-погребного комплекса. Полностью расчищенное коллективное погребение носителей андроновской (федоровской) культуры (первая половина II тыс. до н. э.), могильник Тартас-1 (Барабинская лесостепь).

ти образцов, после чего ее механическое удаление (или разрушение) становится затруднительным. Идеальным следует считать вариант, при котором отбор образцов для последующего палеогенетического исследования осуществляется немедленно после вскрытия археологического комплекса присутствующим в поле специалистом-генетиком (Молодин, 2007; Pilipenko *et al.*, 2010). Аналогичные меры предосторожности применяются и на последующих стадиях исследования материала (антропологическое, палеоботаническое или палеозоологическое изучение). Проблема загрязнения образцов до их попадания в палеогенетическую лабораторию в большинстве случаев также может быть разрешена непосредственно в процессе эксперимента такими мерами, как удаление или обработка внешнего слоя образцов веществами, разрушающими ДНК (Kemp *et al.*, 2005), анализ нескольких образцов от одной особи (из разных частей скелета, например зубы и кости посткраниального скелета) и другие (Raabo *et al.*, 2004; Willerslev, Cooper, 2005). Реализация каждой из этих мер в значительной степени снижает вероятность получения ложных результатов.

По-видимому, новый уровень верификации результатов палеогенетических исследований становится доступным с появлением высокопроизводительных методов секвенирования

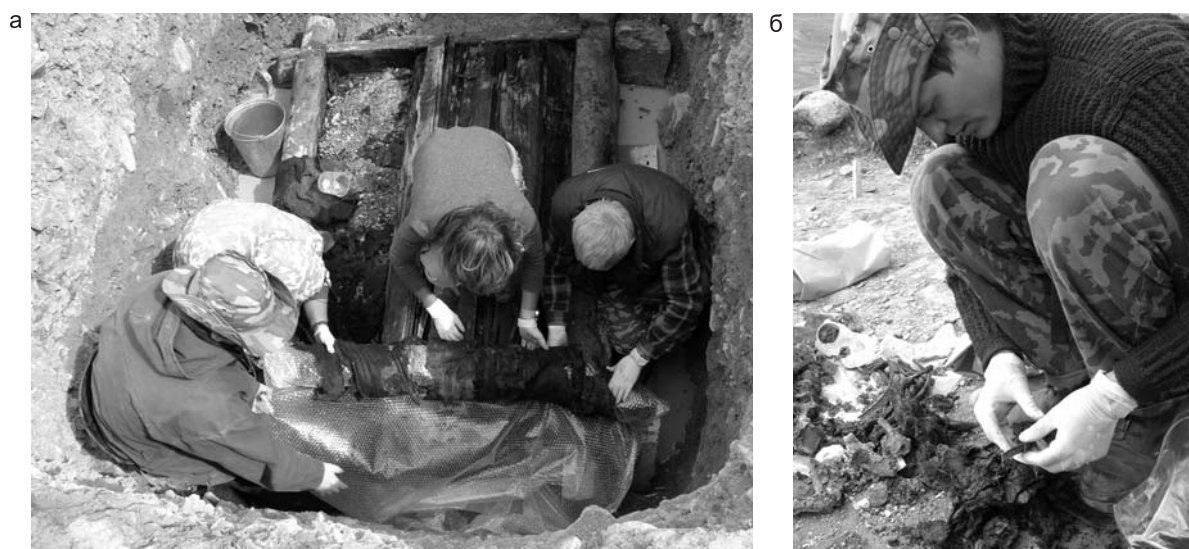


Рис. 3. (а, б) Процесс расчистки погребального комплекса пазырыкской культуры (IV–III вв. до н. э.) в Северо-Западной Монголии (2006 г.). Памятник Олон-Курин-Гол-10, курган 1. Фото В.П. Мыльников.

На фото: а – слева направо: А.С. Пилипенко, Ю.Н. Гаркуша, М. Мороз, В.И. Молодин. На фото: б – А.С. Пилипенко.

ДНК (методов секвенирования ДНК второго поколения). Возможность считывания полной последовательности нуклеотидов отдельных фрагментов ДНК в экстракте позволяет анализировать свойства молекул эндогенной древней ДНК, которые отличают ее от современных контаминирующих молекул и появляются вследствие длительных процессов деградации (Krause *et al.*, 2009).

Археологические источники как объекты молекулярно-генетического исследования: разнообразие и проблема квалифицированного отбора образцов

Одними из основных задач при исследовании археологических памятников являются отбор максимально возможного числа источников, несущих какую-либо информацию об изучаемом древнем населении, их тщательное документирование, сохранение в процессе полевых работ. Только при условии квалифицированного проведения полевой части исследования создаются предпосылки для последующего полноценного анализа обнаруженных археологами материалов в камеральных и лабораторных условиях. Пополнение методических возможностей археологических исследований за счет естественнонаучных методов чрезвычайно расширяет спектр информативных источников.

Если еще совсем недавно в задачи археолога входили оценка и фиксация общей ситуации на памятнике, отбор наиболее информативного с точки зрения традиционной археологии инвентаря и антропологического материала (Авдусин, 1980; Мамонова и др., 1989; Мартынов, Шер, 1989), то в настоящее время археолог еще до начала раскопок, зная общие характеристики исследуемого объекта, должен прибегать к консультации с широким кругом специалистов о методах качественного отбора образцов и проб для последующего многостороннего анализа. Другим подходом может быть участие специалистов конкретной области в работе археологической экспедиции. При исследовании особенно многообещающих объектов заранее формируется команда специалистов разного профиля, принимающая участие в археологической экспедиции. Это не только позволяет квалифицированно отобрать стандартные про-

бы для последующего анализа, но и открывает возможности для выявления новых потенциальных объектов исследования среди материалов археологического памятника при обнаружении неожиданных объектов. Например, в состав экспедиции, исследовавшей погребальные комплексы пазырыкской культуры, содержащие лед, в горах северо-западной Монголии, помимо археологов входили геофизики, мерзлотоведы и палеогенетики (Молодин, 2007; Молодин и др., 2009; Parzinger *et al.*, 2008). В результате их совместной работы при раскопках удалось получить уникальный корпус образцов для всестороннего анализа исследованных комплексов – геологического, климатологического, палеогенетического, микробиологического и др.

В настоящее время можно выделить несколько типов материалов, обнаруживаемых при археологических раскопках, которые могут быть использованы в качестве источников ДНК для палеогенетического исследования.

1. **Костные останки человека и животных** являются наиболее распространенными материалами для экстракции древней ДНК. Костная ткань обеспечивает наилучшие условия для сохранности молекул ДНК в останках в течение длительного периода после смерти организма. Минеральный матрикс обеспечивает защиту внутренних областей костной ткани от воздействия микроорганизмов и неблагоприятных для сохранности ДНК условий внешней среды. В адсорбированном на минеральном матриксе состоянии короткие фрагменты ДНК способны сохраняться в течение достаточно длительного времени (Rollo *et al.*, 2002a). При этом зубы, особенно находящиеся в челюсти *in situ*, меньше подвержены контаминации, чем кости посткраниального скелета. Однако их исследование, как правило, приводит к полному разрушению образцов. В связи с этим были предложены различные подходы для минимизации деструкции зубов при палеогенетическом исследовании (Shiroma *et al.*, 2004).

2. **Мягкие ткани.** Сохранившиеся мягкие ткани человека или животных являются редкой находкой при исследовании археологических памятников. Наиболее благоприятными в отношении сохранности мягких тканей являются территории с суровым климатом: зоны вечной мерзлоты, высокогорье, а также области с за-

сушливым климатом. Из-за климатических особенностей такие регионы относительно слабо эксплуатировались человеком. Этим объясняется и меньшая плотность обнаруживаемых здесь археологических памятников. Исключениями могут служить некоторые высокогорные области, например высокогорные районы Алтая, в которых сосредоточено огромное количество археологических объектов, относящихся к различным эпохам (Молодин и др., 2004). Эта ситуация объясняется образом жизни древнего населения региона, кочевых скотоводов, которые использовали эти территории в качестве сезонных летних пастбищ, откочевывая на неблагоприятный период года в зоны с более мягкими климатическими условиями (предгорья). Высокогорные курганные могильники, оставленные, например, носителями пазырыкской культуры (IV–III вв. до н. э., скифское время), представляют собой уникальные археологические комплексы, в которых сохранились вещи, изготовленные из органических материалов, и останки мягких тканей человека и животных. Следует отметить, что именно редкие находки сохранившихся мягких тканей были объектами палеогенетических исследований на ранних этапах развития направления (Raabo *et al.*, 1985; Handt *et al.*, 1994b; Воевода и др., 1998). Впоследствии на разнообразных материалах было продемонстрировано, что мягкие ткани не всегда являются хорошим источником для выделения древней ДНК (Clisson *et al.*, 2002; Piliipenko *et al.*, 2010). По-видимому, высокая сохранность ДНК в них обеспечивается лишь в условиях быстрого замораживания останков после смерти организма без последующего длительного или многократного размораживания, или же в случаях преднамеренной мумификации тканей. В противном случае ДНК в мягких тканях подвергается быстрой деградации, и ее сохранность и пригодность для исследования, как правило, существенно ниже, чем в костной ткани того же индивида.

3. Волосы. В последние несколько лет было показано, что волосы (стержни волос) являются чрезвычайно перспективным источником для выделения древней ДНК (Gilbert *et al.*, 2004; Amoyu *et al.*, 2007). Несмотря на редкость обнаружения в археологических памятниках, волосы являются очень удобным объектом для

палеогенетического исследования. Структура стержня волоса не позволяет контаминирующей ДНК проникать во внутренние области образца. Загрязнения могут быть легко удалены с поверхности волоса (механически или при обработке веществами, разрушающими ДНК). Таким образом, использование волос в качестве материала для выделения ДНК облегчает получение достоверных результатов. Первоначально считалось, что волосы содержат только митохондриальную ДНК, пригодную для палеогенетического исследования (Gilbert *et al.*, 2004). Однако применение высокочувствительных методов секвенирования нового поколения позволяет проводить анализ ядерной ДНК из стержня волоса (Rasmussen *et al.*, 2010).

4. Копролиты. Копролиты могут быть использованы в качестве альтернативного источника древней ДНК. Считается, что их изучение уменьшает риск контаминации образцов современной ДНК (Gilbert *et al.*, 2008). Копролиты могут служить источником информации о структуре генетических маркеров особи (Poinar *et al.*, 2003), продуктом жизнедеятельности которой они являются или реконструкции ее диеты (Poinar *et al.*, 2001; Rollo *et al.*, 2002b) и патологического статуса (присутствие ДНК гельминтов, инфекционных агентов).

Среди недостатков можно назвать сложности в определении видовой принадлежности копролита, его датировки на предварительной стадии исследования и большое число перекрестных связей сохранившихся молекул ДНК с белками (Poinar *et al.*, 1998, 2009). Потенциальные проблемы с верификацией результатов анализа ДНК из копролитов могут быть связаны также с проникновением ДНК в растворенном виде из вышележащих областей культурного слоя в нижележащие (Haile *et al.*, 2007; Poinar *et al.*, 2009).

5. Растительные остатки. Как правило, для палеогенетического исследования представляют интерес остатки культурных растений (главным образом семена), которые находят при раскопках археологических памятников (Jaenicke-Despres *et al.*, 2003), а также остатки дикорастущих растений, использовавшиеся человеком в быту или обрядовой практике. До настоящего времени значение растительных остатков как высокоинформативного объекта для молекулярно-генетического исследования

недооценивается. Об этом свидетельствуют сравнительно низкий уровень развития этого направления палеогенетики и небольшое число опубликованных работ (Gugerli *et al.*, 2005).

6. Микроорганизмы. В археологических материалах может быть представлена либо ДНК микроорганизмов, нежизнеспособных в течение длительного периода (например ДНК возбудителей заболеваний в останках человека и животных (Drancourt *et al.*, 1998; Zink *et al.*, 2003; Hershkovitz *et al.*, 2008)), либо жизнеспособных микроорганизмов, сохраняющихся в закрытых археологических комплексах (как правило, в погребениях, содержащих мерзлоту (Пучкова и др., 2008; Ханаева и др., 2008)). В последнем случае исследователь имеет дело с современной ДНК микроорганизмов. Методическая сторона такого исследования соответствует стандартному микробиологическому анализу.

Большинство археологических материалов, интересных с точки зрения палеогенетического анализа, одновременно являются объектами анализа для археологов и широкого круга других специалистов и, следовательно, отбираются в процессе раскопок для последующего изучения в лабораторных условиях, даже если проведение молекулярно-генетического анализа не было запланировано. Такие материалы из коллекций могут быть использованы в качестве источника древней ДНК при соблюдении соответствующих мер по выявлению возможной контаминации.

В отношении палеогенетических исследований особенно остро стоит проблема квалифицированного отбора образцов в связи с высокой вероятностью контаминации древнего материала современной ДНК (см. раздел «Проблема достоверности палеогенетических результатов»). Другая проблема связана с деструктивным характером палеогенетических исследований. Процедура предварительной обработки и экстракции ДНК из костных останков (или других источников) подразумевает механическое разрушение некоторого количества биологического материала. При этом биологические останки являются объектом исследования большого числа других научных направлений, включая остеометрию, краниологию, одонтологию, палеопатологию, анализ содержания стабильных изотопов и т. д. Каждое из этих направлений потенциально

позволяет получить ценную информацию об объекте исследования. В такой ситуации решением может быть последовательное изучение палеоантропологических материалов сначала недеструктивными (например, методы физической антропологии), а затем деструктивными методами (анализ стабильных изотопов, молекулярно-генетическое исследование). Однако этот вариант существенно осложняет получение достоверных палеогенетических результатов из-за вероятной контаминации образцов. Проблема может быть решена несколькими путями: 1) *исследование образца только палеогенетическими методами* целесообразно, когда информация, которая потенциально может быть получена в результате молекулярно-генетического анализа, представляется более ценной, чем данные, потерянные в результате деструкции образца; 2) *снижение количества материала, необходимого для молекулярно-генетического исследования* за счет использования малодеструктивных методов предварительной обработки костного материала (Shiroma *et al.*, 2004) или использования высокоэффективных методов молекулярно-генетического анализа, требующих минимального количества исходного материала, например методов секвенирования второго поколения (Krause *et al.*, 2009, 2010); 3) *проведение необходимых недеструктивных исследований образца* (например остеометрического или одонтологического исследования) *до молекулярно-генетического анализа в условиях, минимизирующих возможность контаминации материала*. При этом необходим учет потенциальных источников контаминации (например генотипирование специалистов, исследовавших образец, для последующего выявления возможного загрязнения). Современный комплекс методов верификации результатов в большинстве случаев позволяет получать высоко достоверные результаты даже из образцов, в некоторой степени загрязненных современной ДНК или по крайней мере выявить случаи контаминации (см. выше).

Таким образом, для развития палеогенетики актуальным на сегодняшний день является распространение культуры отбора биологических проб в процессе проведения полевых археологических исследований с учетом интересов всех специалистов, задействованных в дальнейшем изучении полученных материалов.

Применение молекулярно-генетических методов в археологических исследованиях

В настоящее время работы по анализу ДНК из археологических объектов существенно варьируют как по масштабам решаемых проблем, так и по степени их интеграции с компонентами комплексного археологического исследования. Палеогенетический анализ так же, как и археологический, направлен на реконструкцию процессов, происходивших в далеком прошлом. Существует несоответствие между палеогенетикой и традиционными подходами археологии по степени изученности имеющегося банка археологических источников. В настоящее время традиционными подходами обработаны огромные коллекции материалов. По многим проблемам уже пройден путь от накопления первичных данных до формулирования крупных обобщений.

История молекулярно-генетического исследования археологических объектов насчитывает около 3 десятков лет. Большая часть этого времени была затрачена на обеспечение возможности получения достоверных результатов анализа древней ДНК. По сути, лишь последнее десятилетие можно считать периодом полноценного применения молекулярно-генетического направления в археологическом исследовании.

Отчасти это несоответствие положительным образом отражается на развитии палеогенетики. Информативность любого исследования определяется адекватным выбором модели (материала), с учетом имеющихся методических возможностей. Выбор материала для палеогенетического исследования был бы абсолютно невозможен без учета данных, накопленных археологией. Корректный анализ археологического контекста – ключевой момент палеогенетического исследования как на стадии постановки задачи и планирования эксперимента, так и на этапе интерпретации полученных молекулярно-генетических данных.

Палеогенетический подход становится все более распространенным компонентом в составе комплексного анализа археологических материалов. Это приводит к диверсификации информации, которую удается получать методами анализа образцов древней ДНК.

Характер и объем информации, которую можно получить при анализе древней ДНК, определяются: 1) экспериментальными возможностями, т. е. уровнем методического и приборного обеспечения лаборатории: современный уровень развития молекулярно-генетической методологии и приборной базы потенциально позволяет исследовать различные участки генома в древнем материале, вплоть до полногеномного секвенирования древних образцов (Green *et al.*, 2010; Rasmussen *et al.*, 2010). Таким образом, лимитирующим фактором на данный момент выступает прежде всего финансовая обеспеченность лаборатории; 2) уровнем развития соответствующих разделов генетики: на сегодняшний день относительно небольшое число потенциально информативных генетических маркеров в геноме человека изучено достаточно, чтобы осуществлять их анализ и корректную интерпретацию в рамках палеогенетического исследования; 3) конкретным археологическим контекстом: в зависимости от его особенностей палеогенетический анализ материалов, сопоставимых по объему и сохранности, может быть направлен на решение совершенно разных задач.

Центральным объектом археологического исследования является человек. Поэтому обзор существующих (и перспективных) направлений использования методов анализа древней ДНК в археологии целесообразно начать с работ по анализу древней ДНК человека. Масштаб исследуемой модели в этом случае может варьировать от отдельно взятого индивида до населения обширного региона или даже нескольких разновременных групп населения.

Индивидуальный уровень

Информация, которую можно получить для индивидуального образца древней ДНК человека на данный момент включает: 1) структуру мтДНК, а также нерекombинируемого участка Y-хромосомы (для индивидов мужского пола), а также некоторых филогенетически информативных аутомомных локусов генома. Это позволяет судить о его положении на глобальных филогенетических деревьях мтДНК и Y-хромосомы (или аутомомных маркеров) человека. В некоторых случаях молекулярно-генетический

анализ служит для определения видовой принадлежности образца (для представителей рода *Homo*) (Krause *et al.*, 2010); 2) половую принадлежность останков, что особенно актуально для детских или сильно фрагментированных останков (Faerman *et al.*, 1995); 3) определение индивидуального профиля высоковариабельных STR-маркеров (молекулярно-генетическая идентификация индивида) (Burger *et al.*, 1999; Keyser-Tracqui *et al.*, 2003; Amory *et al.*, 2007; Keyser *et al.*, 2009); 4) наличие генетической предрасположенности к заболеваниям (Hummel *et al.*, 2005; Zawicki *et al.*, 2008); 5) наличие в останках ДНК возбудителей инфекционных заболеваний. Работы в этой области, как правило, связаны с оценкой присутствия ДНК возбудителей заболеваний человека в останках (Drancourt *et al.*, 1998; Taylor *et al.*, 2005; Papagrigrakis *et al.*, 2006; Hershkovitz *et al.*, 2008) (последние два пункта важны для установления возможных причин смерти индивида); 6) статус функционально значимых локусов генома, определяющих конкретный фенотип (Keyser *et al.*, 2009) или физиологическую черту (Burger *et al.*, 2007); 7) для некоторых индивидов инициирован полногеномный анализ (Green *et al.*, 2010; Rasmussen *et al.*, 2010).

Как правило, в отдельном палеогенетическом исследовании реализуется лишь небольшая часть из перечисленных потенциальных направлений анализа структуры образцов древней ДНК, в наибольшей степени отвечающая стоящей перед исследователями задаче. Примеры реализации этих направлений при изучении археологических материалов будут рассмотрены ниже.

Палеогенетические исследования материалов эпохи палеолита и мезолита

Направление археологии, посвященное исследованию памятников древнекаменного века (палеолита) и мезолита, существенно отличается от археологических исследований последующих эпох. Отличия касаются методических особенностей проведения полевых работ, набора обнаруживаемых артефактов (главным образом, каменные орудия), возможностей применения различных естественнонаучных методов и их относительной значимо-

сти. Так, на первый план среди естественнонаучных методов в археологии палеолита выходят геология, трассологические исследования и методы абсолютного датирования полученных палеолитических материалов. Важной особенностью археологических исследований памятников палеолита является большая редкость обнаружения останков человека. Это связано прежде всего с отсутствием устойчивой практики намеренного погребения умерших в палеолите (Смирнов, 1991). Останки верхнепалеолитического человека – чрезвычайно редкий и ценный материал, требующий особенно бережного обращения и строгого соблюдения процедуры квалифицированного отбора образцов. Редкость обнаружения останков человека в палеолитических материалах определяет одну из особенностей палеогенетических исследований этого материала: как правило, работы посвящены анализу единичных образцов древней ДНК, а не серий (Krings *et al.*, 1997; Ovchinnikov *et al.*, 2000; Caramelli *et al.*, 2008; Krause *et al.*, 2009, 2010). Тем не менее значение каждой такой работы очень высоко, учитывая относительно небольшое количество имеющейся информации о биологических характеристиках древних представителей рода *Homo*.

Такая ситуация, когда масштабные выводы основаны на анализе единичных образцов древней ДНК, накладывает особые требования к корректной интерпретации археологического контекста находки. Информативность исследования единичного образца древней ДНК человека в значительной степени зависит от археологического контекста, в котором были обнаружены останки. Только располагая достоверными данными об археологическом контексте останков человека, можно использовать анализ даже единичного образца для решения разнообразных задач.

Чрезвычайно важным является вопрос корректной датировки антропологических материалов эпохи палеолита. Ведущую роль в решении этого вопроса играют тонкие стратиграфические наблюдения, осуществляемые при выполнении раскопок культурного слоя палеолитических стоянок, и привязка обнаруженных палеоантропологических материалов к конкретному горизонту или стратиграфическому слою. Поскольку попадание палеоантропологических останков

в культурный слой палеолитической стоянки может объясняться различными причинами, а не преднамеренным погребением, как в случае погребальных памятников более поздних эпох, важную роль выполняют естественнонаучные методы прямого датирования материалов, которые позволяют проверить правильность дат, установленных традиционными подходами (Gilbert *et al.*, 2008; Krause *et al.*, 2009).

Другой особенностью палеоантропологических материалов эпохи палеолита является фрагментарность останков. Зачастую они представлены лишь единичным зубом или небольшим фрагментом кости черепа или посткраниального скелета. При этом чрезвычайно важным представляется как можно более разностороннее исследование образца, что в свою очередь усугубляет вероятность его контаминации, особенно если принять во внимание сильную степень деградации эндогенной ДНК в останках такого возраста. Неслучайно именно в работах, посвященных анализу ДНК из палеолитических материалов (человека или животных), впервые реализуются многие методические новшества, касающиеся минимизации деструкции образца при его предварительной подготовке, применения высокопроизводительных методов анализа структуры ДНК, новые методы верификации результатов.

Одним из основных направлений использования палеогенетических данных о представителях рода *Homo* эпохи палеолита является реконструкция ранних этапов истории человека современного типа – некоторых особенностей его становления как отдельного биологического вида. С этой проблемой тесно связаны вопросы филогенетических взаимоотношений верхнепалеолитических *Homo sapiens* с другими представителями рода *Homo*. Успешным примером в этом направлении являются работы по установлению характера генетических взаимоотношений человека современного типа и неандертальца (*Homo neanderthalensis*). Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что неандертальцы населяли обширную территорию, охватывающую Европу и Западную Азию, в период ~ 300–30 тыс. лет назад (Klein, 2003). Начало процесса заселения Евразии людьми современного типа относят к ~ 70 тыс. лет назад (по генетическим данным) (Forster, Matsumura,

2005) и к ~ 50 тыс. лет назад (по некоторым другим данным) (Tattersall, 2009). В течение достаточно длительного времени (~ с 45 до 30 тыс. лет назад) неандертальцы и анатомически современные люди могли сосуществовать друг с другом в различных регионах Евразии (Mellars, 1992). Анализ ископаемых останков и элементов материальной культуры не позволяет однозначно ответить на вопрос, внесли ли неандертальцы существенный вклад в генофонд популяций *H. sapiens* (Wolpoff *et al.*, 2000, 2001; Hawks, Wolpoff, 2001) или были полностью вытеснены людьми современного типа (Stringer, Andrews, 1988; Stringer, 2002).

Анализ последовательности гипервариабельных участков контрольного района митохондриальной ДНК из останков нескольких неандертальцев позволил установить, что они лежат за пределами внутривидовой изменчивости мтДНК в современных популяциях человека (Krings *et al.*, 1997, 1999, 2000; Ovchinnikov *et al.*, 2000; Schmitz *et al.*, 2002; Knight, 2003). На этом основании был сделан вывод о принадлежности неандертальцев и современных людей к различным видам. Дальнейшие исследования мтДНК неандертальцев и отсутствие специфических для неандертальцев последовательностей мтДНК в останках древних представителей *H. sapiens* позволили установить, что вклад неандертальцев в генофонд современного человека если и был, то должен составлять менее 25 % (Serre *et al.*, 2004a). Моделирование с дополнительным учетом данных по структуре генофондов мтДНК современных популяций человека Евразии позволило сделать вывод о том, что уровень скрещивания между неандертальцем и современным человеком не мог составлять более 0,1 % (Currat, Excoffier, 2004). Результаты определения полной последовательности мтДНК неандертальца также свидетельствуют о принадлежности *H. sapiens* и *H. neanderthalensis* к разным биологическим видам (Green *et al.*, 2008).

Следует отметить, что интенсивное использование останков неандертальцев в качестве объекта палеогенетического исследования определяется помимо высокого интереса к этой проблематике более высокими возможностями верификации результатов исследования. Поскольку последовательности ДНК неандертальцев отличаются от таковых у современного

человека, обнаружение специфичной последовательности ДНК служит достаточно надежным доказательством достоверности результатов (Green *et al.*, 2009). Это обстоятельство сделало ДНК неандертальца удобным объектом для апробации новых методов палеогенетического анализа. Так, например, применение методов секвенирования нового поколения в палеогенетике (по крайней мере, для представителей рода *Homo*) было впервые применено для анализа ДНК неандертальца (Green *et al.*, 2008). В результате именно для представителя вида *H. neanderthalensis* было впервые в палеогенетической практике инициировано полногеномное секвенирование (Green *et al.*, 2010).

На нескольких образцах ДНК неандертальца впервые был опробован новый подход к верификации результатов исследования древней ДНК, основанный на определении специфических свойств древней ДНК, являющихся следствием ее деградации. Этот подход был успешно применен для верификации полной последовательности мтДНК из останков анатомически современного человека из верхнепалеолитического памятника Костенки-14 возрастом более 30 тыс. лет (Krause *et al.*, 2009). Ранее для верификации результатов палеогенетического исследования останков сопоставимого возраста исследователям необходимо было учитывать все известные возможные последовательности мтДНК, которые могли загрязнить образец (Caramelli *et al.*, 2008).

Новый подход к верификации результатов палеогенетических исследований позволяет исследовать и другие образцы мтДНК эпохи палеолита (использование этого подхода для массового исследования менее древних образцов, по-видимому, пока ограничивается высокой стоимостью его реализации). Целесообразность и информативность таких исследований не вызывают сомнений в связи с крайне ограниченным количеством достоверной биологической информации о формировании анатомически современного человека как вида и его расселении по планете.

Это ярко иллюстрируют результаты анализа полной последовательности мтДНК, выделенной из кости фаланги пальца человека, обнаруженной при раскопках верхнепалеолитических слоев Денисовой пещеры (возраст слоя 30–48

тыс. лет). Полученные результаты позволили авторам предположить, что исследованный палеоантропологический образец мог принадлежать представителю рода *Homo*, ранее неизвестному науке. Время существования последнего общего предка современного человека, неандертальца и индивида из Денисовой пещеры оценивается по последовательности мтДНК в 1 млн лет. То есть его предок отделился от эволюционной ветви, ведущей к современному человеку, задолго до неандертальцев (500–300 тыс. лет назад) (Krause *et al.*, 2010). Полученные результаты свидетельствуют о том, что на территории Горного Алтая порядка 40 тыс. лет назад могли сосуществовать сразу три вида гоминид, что является принципиально новой информацией для данной области науки. Для окончательного определения видовой принадлежности останков необходим анализ ядерной ДНК. В случае подтверждения выдвинутой гипотезы индивид из Денисовой пещеры станет представителем третьего вида из рода *Homo*, для которого удалось получить палеогенетические результаты после *H. sapiens* и *H. neanderthalensis*.

Помимо скелетных фрагментов человека среди материалов палеолитических памятников иногда обнаруживают копролиты, которые также могут быть использованы в качестве источника для выделения ДНК человека. Примером такой работы является исследование мтДНК человека из копролитов, обнаруженных в пещере на территории штата Орегон в Северной Америке (Gilbert *et al.*, 2008). Полученные результаты, по мнению авторов, однозначно свидетельствуют о принадлежности копролитов человеку. Обнаруженные в 6 образцах варианты мтДНК относятся к подгруппам А2, В2 мтДНК, характерным для современного аборигенного населения Америки. Согласно данным прямой датировки, возраст исследованных копролитов составляет не менее 14 тыс. лет. Эти данные свидетельствуют в пользу более раннего заселения территории Северной Америки, чем это предполагается популярной на данный момент гипотезой, рассматривающей носителей культуры Кловис в качестве первого населения Америки (Dixon, 2001). Следует отметить, что эта работа подверглась серьезной критике (Poinar *et al.*, 2009). Среди основных возражений, выдвинутых против представленных в работе выводов, был и слабый

учет данных по археологическому контексту образцов – стратиграфии их залегания, анализа сопутствующего инвентаря. Высказано сомнение в адекватности применения методов прямого датирования к материалу копролитов. Эта работа – пример того, что для точной датировки материалов иногда недостаточно проведения лишь прямого датирования естественнонаучными методами. Очевидно, для проверки сделанных в работе выводов необходимо проведение масштабных работ по поиску дополнительных материалов, информативных по отношению к проблеме первоначального заселения Америки современным человеком.

Палеогенетические исследования материалов эпохи неолита – позднего средневековья

Круг задач исследования палеолитических материалов методами палеогенетики сводится, как правило, к анализу единичных (или немногочисленных) образцов ДНК с целью прояснения ранних этапов становления современного человека как вида, его взаимоотношений с другими видами гоминид и расселения по планете. Молекулярно-генетический анализ материалов последующих эпох – с неолита до позднего средневековья – позволяет решать разнообразные задачи, касающиеся последующих этапов развития человечества.

С наступлением эпохи неолита в среде древнего населения различных регионов планеты происходит распространение новаций, которые существенно повлияли на набор источников, обнаруживаемых при раскопках археологических памятников. Появляется практика преднамеренного погребения умерших, выполняемого согласно определенным погребальным традициям. В результате в распоряжении археологов появляется массовый по сравнению с эпохой палеолита палеоантропологический материал относительно высокой сохранности и комплектности. Это открыло возможности для накопления обширных палеоантропологических коллекций, для их исследования методами физической антропологии. Таким образом, появилась возможность получать значительное количество информации о биологических характеристиках представителей древних групп

населения. Принципиальное значение имеет тот факт, что погребения часто представляют собой закрытые комплексы (в случае если они не были нарушены), в которые останки человека помещены вместе с сопроводительным инвентарем. Эта дает возможность осуществления не прямой датировки останков и отнесения погребенного к конкретной этнокультурной группе (например археологической культуре). В этом контексте сложно переоценить еще одну новацию – в эпоху неолита было открыто изменение свойств глины при обжиге, благодаря чему появилась возможность изготовления глиняной посуды. Это внесло существенные изменения в диету человека, так как появилась возможность употреблять горячую и жидкую пищу, что не могло не сказаться на физиологических особенностях человека. Кроме того, керамика является одним из наиболее информативных культурнодиагностирующих маркеров для памятников рассматриваемого периода. Увеличение разнообразия артефактов, обнаруживаемых при исследовании археологических памятников, появление новых типов памятников (погребальные) позволяют получать более разностороннюю картину существования древнего человека для периодов неолита–позднего средневековья по сравнению с эпохой палеолита. Соответственно увеличивается и разнообразие задач, для решения которых потенциально применимы методы палеогенетики (Молодин и др., 2009б).

Отличием палеогенетических исследований голоценовых материалов является проведение анализа уже серии образцов. Анализ единичных образцов встречается редко. Как правило, он проводится для образцов, представляющих особую ценность для науки. Примером такого исследования может служить анализ ДНК тирольского «снежного человека». Исследованию одной только его митохондриальной ДНК посвящено пять работ в высокорейтинговых научных журналах (Handt *et al.*, 1994b; Rollo *et al.*, 2006; Ermini *et al.*, 2008; Endicott *et al.*, 2009; Olivieri *et al.*, 2010). Палеогенетический анализ останков тирольского человека осуществляется в рамках комплексного всестороннего их изучения, включающего исследование его диеты (Rollo *et al.*, 2002b), микробиома (Tito *et al.*, 2008) и многих других аспектов.

Результаты по исследованию единичных образцов вызывают повышенный интерес и в случае их несоответствия имеющимся археологическим представлениям. Так, например, в работе Хие с соавт. (2007) было показано присутствие варианта западно-евразийской гаплогруппы U5 в останках индивидуума, обнаруженных на территории центрального Китая, возраст которых оценивается в 1400 лет. Таким образом, был зафиксирован случай более раннего проникновения в этот регион носителя гаплогруппы мтДНК, типичной для населения западной части Евразии, чем это предполагалось по другим данным.

В большинстве случаев исследователь имеет дело с анализом больших или меньших серий образцов древней ДНК. Рассмотрим основные направления использования палеогенетического подхода в археологии периода неолита–позднего средневековья.

Реконструкция элементов погребальных традиций, обрядов, родственной и социальной структуры древних групп человека

Реконструкция особенностей погребальной практики – одна из фундаментальных проблем археологии. Для древних групп населения (как, впрочем, и для современного человека) характерно особое отношение к обряду погребения. Для многих этнокультурных групп археологи фиксируют удивительно устойчивые погребальные традиции, распространенные по всему ареалу культуры. Вместе с тем изменения особенностей погребальной практики, появление новых обрядов могут являться маркерами внешнего этнокультурного влияния. Некоторые особенности погребальной практики могут указывать на систему социальных взаимоотношений в исследуемой древней группе (Гуляев, Ольховский, 1999).

Молекулярно-генетический анализ останков может быть использован для реконструкции следующих черт погребальной обрядности:

1. *Сооружение коллективных погребений по родственному или половому признаку или зависимость планиграфической организации могильника от степени родства (или пола) погребенных.* Выяснение степени родства между

индивидами из коллективных погребений может прояснить мотивы их сооружения, уточнить черты наблюдаемой обрядности. В работе Наак с соавт. (2008) проведен анализ степени родства индивидов из коллективных погребений с территории Германии. Комплексный молекулярно-генетический анализ степени родства индивидов (по маркерам аутосом, митохондриальной ДНК и Y-хромосомы) подтвердил значимость степени родства погребенных при помещении их в одно погребение. В одном из погребений была выявлена целая семья – родители и двое детей. Возраст исследованных погребений составляет порядка 4600 лет.

Анализ ДНК из останков детей грудного возраста, погребенных под полом жилищ городища Чича-1 (IX–VII вв. до н. э.) в Барабинской лесостепи, позволил установить мужской пол всех исследованных индивидов. Вероятно, это является обязательным условием совершения этого обряда (Пилипенко и др., 2008б). Анализ митохондриальной ДНК показал, что в случае сооружения двух детских погребений в одном жилище их родство по материнской линии не играло существенной роли (Пилипенко и др., 2009б).

2. *Как правило, пространство могильника характеризуется довольно сложной планиграфической структурой.* Во многих случаях на территории крупных могильников можно выделить планиграфически обособленные группы (Молодин, 2001). Их появление может объясняться либо различной этнокультурной или хронологической принадлежностью погребенных индивидов, либо формированием групп погребений по родственному принципу, когда могильник состоит из родовых (семейных) некрополей. Попытка установления корреляции планиграфии могильника (формирования рядов погребений) со степенью родства индивидов в настоящее время предпринимается авторами статьи на материалах могильника эпохи бронзы Тартас-1 в Барабинской лесостепи. В некоторых случаях оценка степени родства индивидов в погребальных комплексах потенциально может прояснить особенности социальной организации общества (размещение погребений на пространстве некрополя в зависимости от социального статуса умершего и т. д. (Keyser-Tracqui *et al.*, 2003).

3. *Идентификация числа индивидов в коллективном погребении или принадлежности частей скелетов конкретным индивидам.* Это бывает необходимо в случае коллективных погребений, содержащих нарушенные скелеты людей, схожих по половозрастным характеристикам. В этом случае возникают проблемы их идентификации методами физической антропологии.

4. *Оценка корреляции изменений в погребальной практике и генетическом составе населения позволяет соотнести изменения особенностей материальной культуры и структуры генофонда древнего населения.* Эта задача, как правило, решается при исследовании особенностей этногенетических процессов (в том числе, культурогенетических) (см. ниже).

Исследование этногенетических процессов

Реконструкция общих и региональных особенностей этногенеза является одной из главных задач изучения древней истории и актуальной проблемой генетики человека, археологии, физической палеоантропологии. Различные ее аспекты традиционно решаются с помощью альтернативных подходов – изучения генофондов современных популяций человека методами этногеомики или оценки эволюции особенностей материальной культуры традиционными методами археологии в комплексе с анализом антропометрических (краниометрических, одонтологических) особенностей представителей древних этнокультурных групп, а также с привлечением данных других наук, прежде всего этнографии и лингвистики (Алексеев, 1989).

Исследования особенностей структуры генофондов современных популяций с различными расовыми характеристиками, проведенные за последние десятилетия, позволили оценить характер генетической вариативности человека по различным маркерам (митохондриальная ДНК (мтДНК), Y-хромосома, различные типы аутомомных маркеров) в масштабах планеты. Накопленные данные создают объективные предпосылки для попыток реконструкции некоторых особенностей процессов расогенеза и этногенеза. Этот подход особенно эффективен в отношении реконструкции наиболее общих характеристик эволюционного прошлого че-

ловека. Так, данные этногеомики позволили сформулировать теорию недавнего африканского происхождения анатомически современного человека (Cann *et al.*, 1987), реконструировать основные маршруты его расселения по планете и общие особенности формирования генетической специфичности отдельных крупных групп населения (Малярчук, Деренко, 2006). Эти результаты в настоящее время находят подтверждение и в других областях науки (археология, физическая антропология). Возможности более тонкой реконструкции генетической истории современных популяций человека методами этногеомики, как правило, ограничены в связи с тем, что структура их генофонда сформировалась в результате разнообразных и многоступенчатых процессов. Путем интерпретации особенностей структуры генофонда современных популяций в большинстве случаев могут быть определены лишь общие закономерности формирования генетического состава населения исследуемых территорий.

Альтернативным подходом к этногенетическим реконструкциям является изучение древних этнокультурных групп человека методами археологии и физической антропологии. В этом случае информация о генетическом прошлом популяций человека извлекается из косвенных источников. Установление взаимосвязи эволюции особенностей материальной культуры (предмет исследования археологии) и генетической истории древних групп часто затруднительно. Сложная генетическая природа фенотипических признаков, которыми оперирует физическая антропология (краниометрические, одонтологические характеристики), до сих пор остается малоизученной, что иногда мешает их корректной интерпретации с точки зрения биологического прошлого популяции.

Таким образом, возможности применения каждого из подходов для реконструкции эволюционного прошлого популяций человека ограничены. Тем не менее именно комплексное археологическое представление об этногенетических процессах в настоящее время наиболее приближено к реальной картине. В нем отражены различные аспекты этногенеза – культурогенетический и биологический. Накопленные археологические материалы свидетельствуют о чрезвычайной сложности процесса этногенеза

и многообразии его действующих факторов. Согласно археологическим данным формирование состава населения каждого региона – многоступенчатый процесс, включающий смену многочисленных этнокультурных групп на протяжении многих тысячелетий. Непосредственными действующими факторами этногенеза являлись многочисленные и разнонаправленные миграционные потоки, сопровождавшиеся этнокультурным взаимодействием на уровне культурного обмена и генетических контактов, с одной стороны, и реализация механизмов генетической (и культурной) преемственности между сменяющимися друг друга этнокультурными группами, с другой. Важно, что широкомасштабные археологические исследования позволили установить выраженные региональные отличия в процессе формирования населения как на уровне больших регионов, так и на уровне археологических микрорайонов. Их анализ является ключом к пониманию процессов формирования этноспецифичности современных популяций человека.

Безусловно, дальнейший прогресс в этой области может быть достигнут при объединении археологического и генетического подходов. Такая возможность появилась с развитием палеогенетики. Удачный опыт подобной интеграции был получен при реконструкции этногенеза носителей пазырыкской культуры юга Горного Алтая (Молодин и др., 2003). Исследование этногенетических процессов – одно из наиболее бурно развивающихся направлений палеогенетики.

В палеогенетике можно условно выделить два подхода к изучению процессов этногенеза. Значительная часть работ в настоящее время посвящена изучению генетических аспектов масштабных процессов, происходивших в прошлом, путем анализа небольшого числа образцов древней ДНК (Lalueza-Fox *et al.*, 2004; Naak *et al.*, 2005; Bramanti *et al.*, 2009). Такое исследование слабо интегрировано с археологией. Учитываются лишь археологические обобщения, а более частные данные используются ограниченно, например, для выбора материала, имеющего отношение к исследуемым древним процессам. Для такого типа работ характерно широкое использование методов математического моделирования при интерпретации полу-

ченных результатов. Их корреляция с данными комплексного археологического исследования возможна только на уровне обобщения большого масштаба. Полученная информация, как правило, носит общий характер, а построенная модель по своим характеристикам может быть далека от реально происходивших в прошлом процессов. Выдвинутые по результатам таких работ гипотезы нуждаются в дополнительном обосновании посредством проведения многочисленных исследований на меньших по масштабам моделях. Безусловная положительная роль данного подхода состоит в том, что полученные первые результаты помогают правильно спланировать дальнейшие исследования на более локальном уровне и скоординировать усилия по исследованию различных аспектов проблемы. Кроме того, исследование разрозненных образцов с обширной территории в некоторых случаях позволяет обнаружить наиболее характерные и выраженные черты, объединяющие население такой территории. Так, например, исследование всего 20 образцов мтДНК от представителей групп охотников-собирателей различных регионов Европы позволило обнаружить преобладание в их генофонде линий гаплогруппы U (Bramanti *et al.*, 2009), а исследование 24 образцов мтДНК первых носителей навыков сельского хозяйства Центральной Европы – высокую частоту линий гаплогруппы N1a (Naak *et al.*, 2005).

Доминирование такого подхода особенно характерно для начальных стадий становления научного направления. Аналогией может служить история изучения этногенетических процессов методами митохондриальной этногеномики человека. Несмотря на слабую методическую базу и небольшое количество данных по полиморфизму мтДНК в популяциях, ранние работы по изучению варибельности мтДНК были посвящены решению вопросов происхождения человека современного типа как вида, дифференциации его на масштабные группы (например расы), заселения человеком континентов и т. д. Результатом стало появление нескольких противоречащих друг другу гипотез происхождения и дальнейшей эволюции человека современного типа (Denaro *et al.*, 1981; Cann *et al.*, 1987; Minshu *et al.*, 1988). И лишь проведенные в последующие годы многочисленные

исследования разнообразия мтДНК и других филогенетически информативных маркеров в популяциях человека с различными этническими и расовыми характеристиками позволили оценить каждую из гипотез и признать наиболее достоверной гипотезу недавнего африканского происхождения человека современного типа и его последующего расселения по планете (Stringer, 2002).

Аналогичная ситуация наблюдается в палеогенетике сегодня. Многие из опубликованных до настоящего времени палеогенетических исследований содержат гипотезы о характере протекания масштабных процессов в прошлом, например о заселении человеком континентов (Haak *et al.*, 2005; Bramanti *et al.*, 2009), приручении и распространении в масштабах планеты домашних животных (Troy *et al.*, 2001; Bar-Gal *et al.*, 2002; Edwards *et al.*, 2007) и др. Экспериментальная часть таких исследований, как правило, состоит в анализе небольшой серии образцов древней ДНК, полученных от особей, предположительно имеющих отношение к исследуемому процессу. Выдвинутые в таких работах гипотезы, несомненно, представляют интерес, хотя иногда противоречивы. Необходимо проведение намного более масштабных экспериментальных работ на локальных моделях для получения более реальных (и детальных) представлений об исследуемом феномене. Эти задачи реализуются в рамках второго подхода к исследованию этногенеза посредством анализа древней ДНК, реализуемого на локальных моделях.

Поиск локальных моделей, адекватных цели исследования, возможен только путем тесной интеграции палеогенетического и комплексного археологического подходов. Анализ накопленной археологией обширной базы разнообразных источников с учетом имеющихся методических возможностей палеогенетики позволяет эффективно отобрать из множества локальных моделей те, которые в наибольшей степени информативны по отношению к исследуемым феноменам. Таким образом, работа, проведенная археологами на протяжении многих десятилетий, существенно сокращает для палеогенетического направления путь от накопления первичного фактического материала до формулирования первых обобщений и позволяет уже на начальных этапах исследо-

вания заниматься осторожной интерпретацией полученных данных в рамках археологического контекста сначала на локальном уровне, а затем и в большем масштабе.

В настоящее время начаты широкомащтабные работы по накоплению первичной информации о генетическом разнообразии в группах древнего населения планеты различного возраста и этнокультурной принадлежности. Исследованию подвергаются генетические маркеры, наиболее информативные при проведении исследований этногенеза методами палеогенетики. В подавляющем большинстве работ анализируется митохондриальная ДНК, из-за высокой степени сохранности в палеоантропологическом материале и уникальных свойств ее как генетического маркера. Вторым маркером, анализ которого в образцах древней ДНК начат сравнительно недавно, является нерекombинируемая часть Y-хромосомы (Bouakaze *et al.*, 2007; Keyser *et al.*, 2009). Таким образом, основные исследования этногенеза методами палеогенетики до настоящего времени связаны с однородительскими маркерами. Их выбор обусловлен уникальными генетическими свойствами (однородительский тип наследования, отсутствие рекомбинации и т. д.), обеспечивающими их высокую информативность в отношении реконструкции истории формирования генофондов популяций человека, а также высокой степенью изученности в современных этнических группах. Для этих маркеров разработана подробная классификация структурных вариантов, реконструированы филогенетические взаимоотношения между группами вариантов, установлены предполагаемое время, а также географическая локализация центров их происхождения и диверсификации. Вся эта информация легла в основу единых филогенетических деревьев мтДНК и Y-хромосомы человека, которые являются уникальными инструментами для реконструкции различных аспектов этногенеза (Ruiz-Persini *et al.*, 2006; Torroni *et al.*, 2006; Underhill, Kivisild, 2007). Аутомные маркеры реже используются в палеогенетике, так как известно сравнительно немного аутомных локусов, обладающих высоким разрешением по отношению к истории формирования генофонда популяции, хорошо изученных в современных популяциях

различной этнической принадлежности и при этом удобных для анализа в деградированных образцах древней ДНК.

Практика обязательной подробной публикации результатов палеогенетических исследований приводит к тому, что они становятся частью условной базы данных, аналогично данным по современным популяциям планеты. К настоящему моменту можно говорить как минимум о нескольких сотнях последовательностей древней мтДНК, которые можно считать достоверными.

Каким образом данные палеогенетического анализа останков человека используются при исследовании этногенеза? Такие исследования можно условно разделить на несколько типов. В первом типе работ анализу подвергается палеоантропологический материал от древних популяций, предположительно относящихся к единой группе, существовавшей в определенный период в прошлом. Как правило, это представители одной этнокультурной группы (например носители одной археологической культуры). Такие исследования наиболее многочисленны до настоящего времени. Выборка образцов в такой работе либо формируется из материалов одного археологического памятника (Alzualde *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2008; Adachi *et al.*, 2009), либо является сборной серией, сформированной из материалов памятников конкретного региона: от расположенных в пределах одного микрорайона могильников (Sampietro *et al.*, 2005) до обширных по площади территорий, вплоть до субконтинентального уровня (Lalueza-Fox *et al.*, 2004; Haak *et al.*, 2005; Shook, Smith, 2008).

В работах, в которых исследуется структура генофонда одной группы древнего населения, для интерпретации результатов используются накопленная информация о структуре генофонда современных популяций человека и стандартные подходы этногеомики человека (филогеографический анализ). При этом полученные данные о составе линий мтДНК (реже Y-хромосомы) в генофонде древней этнокультурной группы анализируют в контексте имеющихся представлений о возможных времени и месте происхождения, распространения и диверсификации этих вариантов. Корреляция полученных генетических результатов с

предполагаемыми конкретными этногенетическими процессами осуществляется при их сопоставлении с археологическим контекстом исследуемой группы древнего населения, а именно с ее положением в системе древних этнокультурных групп региона, предполагаемыми контактами с населением сопредельных территорий (на уровне материальной культуры или палеоантропологических характеристик) и другими данными. В последнее время источником информации при интерпретации результатов палеогенетического исследования древних групп человека становятся данные о структуре генофонда других групп древнего населения планеты, полученные и опубликованные независимыми исследовательскими коллективами (Keyser *et al.*, 2009). Этот аспект исследования по существу является сравнительным анализом, и можно предполагать усиление его роли при накоплении более значительного объема палеогенетических результатов.

Применение комплексного филогеографического подхода к анализу данных палеогенетического исследования позволило оценить характер генетических связей группы древнего населения Синьцзяна, относящейся к концу I тыс. до н. э., с современными и древними популяциями Евразии, установить ее появление в регионе в результате миграции и локализовать вероятные источники мигрантов (Gao *et al.*, 2008).

Корректный учет данных археологии на всех стадиях палеогенетического исследования в комплексе с филогеографическим анализом позволил по результатам изучения серии образцов мтДНК от представителей населения городища Чича-1 (Барабинская лесостепь) переходного периода от эпохи бронзы к эпохе железа реконструировать направления генетических связей этой древней группы, зафиксировать миграционный поток генетически контрастного населения с территории современного Казахстана непосредственно в период функционирования городища (Пилипенко и др., 2008б, 2009б).

Следует отметить, что при формировании выборки для палеогенетического анализа любой группы древнего населения с учетом археологических данных о принадлежности материалов к конкретному этнокультурному образованию возникают определенные сложности. Критерием выделения археологической культуры, как

правило, является специфика в различных компонентах материальной культуры, экономики и традиций (в том числе погребальных) древней группы, отличающих ее от других групп (Молодин, 2008). Для разных регионов планеты набор этих компонентов варьирует. Для северной Евразии он включает специфику организации поселений и жилищ, тип хозяйства, погребальной практики, вещевого комплекса (оружие, орудия труда, украшения и другие предметы быта) и один из наиболее часто анализируемых маркеров – особенности керамического комплекса. Для каждого компонента материальной культуры определены основные характеристики, которые подвергаются анализу. Например, при анализе керамического комплекса анализу подвергаются состав сырья, способ приготовления «теста», способ придания формы и саму форму сосудов, способ нанесения и характер орнамента сосудов, способ обжига керамики и некоторые другие характеристики (Глушков, 1996). В результате многолетних исследований с привлечением доступных письменных источников, а также возможностей радиоуглеродного анализа археологами сформировано представление о времени бытования и ареале тех или иных типов элементов материальной культуры, построены и датированы так называемые типологические ряды, отражающие эволюцию того или иного типа артефактов. Эта информация позволяет определять культурную принадлежность и датировку исследуемых материалов с большей или меньшей точностью. При этом, как правило, материалы из разных частей ареала археологической культуры демонстрируют полиморфизм элементов материальной культуры. То есть население археологической культуры часто бывает не вполне однородно. Неоднородность эта может быть вызвана, например, разницей в направлении культурных контактов ее носителей в разных районах ее ареала. Еще более сложная ситуация складывается в отношении генетической структуры населения древней этнокультурной группы. О генетической неоднородности носителей археологических культур могут свидетельствовать данные физической антропологии. Иногда сложно даже выделить доминирующий краниологический тип, как в случае андроновской этнокультурной общности, у населения которой выявлены сразу

несколько антропологических типов (Кузьмина, 1994). Дополнительные трудности связаны с возможностью распространения элементов материальной культуры без существенного генетического влияния (через торговые контакты, обучение и т. д.). Иными словами, археология при выделении групп древнего населения оперирует культурными характеристиками, тогда как генетика и физическая антропология анализируют биологические параметры населения. Выяснение взаимоотношений между этими двумя аспектами генезиса населения региона – крайне сложная фундаментальная проблема, которую еще только предстоит решить. По-видимому, этот вопрос необходимо ставить и решать индивидуально для каждой этнокультурной группы.

Во избежание этих трудностей при формировании выборки для палеогенетического анализа древней группы необходима тщательная оценка степени достоверности культурной атрибуции материалов. Лучше всего использовать в исследовании материалы памятников, являющихся базовыми для характеристики населения культуры. Следует учитывать и возможную неоднородность материалов внутри каждого могильника. Оценить все перечисленные тонкости могут только специалисты в области археологии. Поэтому, на наш взгляд, тесное сотрудничество исследователей в области палеогенетики, археологии и антропологии на всех стадиях исследования является обязательным условием проведения изучения этногенеза методами палеогенетики.

Перспективными в отношении реконструкции этногенетических процессов являются работы, в которых осуществляются попытки проследить формирование структуры генофонда древнего населения во времени путем сравнения генетического состава популяций, сменявших друг друга на одной территории в течение некоторого периода. В этом случае сравнение генофондов древних групп населения между собой становится одним из наиболее информативных способов интерпретации результатов. Информацию о характере изменений в структуре генофонда можно затем рассматривать в рамках археологического контекста. Таким образом, появляется возможность непосредственно сопоставить данные генетики и

комплексного археологического исследования, касающиеся одних и тех же конкретных событий в этногенезе древнего населения региона.

В одной из первых подобных работ (Wang *et al.*, 2000) было проведено сравнение вариабельности мтДНК в сериях образцов ДНК представителей населения юга Китая (Линзи, провинция Гуаньдун) возрастом 2500, 2000 лет с современной популяцией. Авторы зафиксировали существенные различия в составе линий мтДНК между исследованными группами и сделали вывод о более сложной картине древних миграций в регионе, чем считалось ранее (Wang *et al.*, 2000). Впоследствии эти выводы были опровергнуты. Причиной ошибки стало использование в работе для филогеографических построений короткого участка ГВС I мтДНК, не позволявшего с достаточным уровнем достоверности провести сравнение рассматриваемых групп и их филогенетической близости с современными популяциями (Yao *et al.*, 2003).

В некоторых исследованиях ставится задача проследить динамику структуры генофонда значительных по площади регионов путем исследования небольших выборок образцов древней ДНК. Работа Lalueza-Fox с соавт. (2004) посвящена исследованию соотношения западно- и восточно-евразийских линий мтДНК в генофонде разновременных групп древнего населения с территории современного Казахстана. На основании результатов анализа 27 образцов мтДНК от представителей древнего населения из различных регионов современного Казахстана (Центрального, Южного, Восточного и Западного) из археологических памятников, датированных периодом XIV в. до н. э. – V в. н. э. (т. е. в течение ~ 2 тыс. лет), авторы делают выводы, что до периода XIV–VII вв. до н. э. генофонд населения Казахстана был представлен только западно-евразийскими линиями мтДНК, а после данного периода – имел смешанную структуру (западно- и восточно-евразийские линии). Интересно отметить, что при постановке задачи исследования и формировании выборок образцов авторы воспользовались лишь данными о предполагаемой датировке исследуемых материалов. Между тем, с точки зрения археологии, очевидно, что население, проживающее одновременно в разных частях такой обширной территории, относилось к различным, вероятно,

даже неродственным в генетическом отношении этнокультурным группам. Более того, характер процессов этногенеза (и культурогенеза) в различных частях рассмотренной в работе территории коренным образом отличался. При этом в работе не была учтена даже культурная принадлежность исследуемых материалов.

Напротив, обоснование полученных в работе выводов строится авторами на отдельных фактах в области археологии, антропологии и лингвистики, коррелирующих с полученными выводами. Таким образом, налицо выраженный дисбаланс в использовании данных археологии на разных стадиях исследования. На наш взгляд, представленные палеогенетические результаты интересны, но не позволяют сделать однозначных выводов ввиду чрезвычайно низкой репрезентативности исследованных серий образцов ДНК по отношению к исследуемым древним популяциям и некорректного формирования серий.

Другим примером работ, где предпринята попытка выявить характер изменения генофонда мтДНК, является серия из двух статей, посвященных распространению в Европе носителей навыков ведения сельского хозяйства. В результате исследования останков первых носителей производящего типа хозяйства Центральной Европы (Haak *et al.*, 2005) и потомков автохтонных для региона групп охотников-собирателей (Bramanti *et al.*, 2009) и сравнения их с современным населением Центральной Европы удалось установить, что первые носители сельскохозяйственных навыков были не потомками аборигенного европейского населения (охотников-собирателей), а мигрантами. Более того, пришлые группы с производящей системой экономики внесли незначительный вклад в структуру генофонда современного населения Центральной Европы. Тем не менее авторам не удалось прояснить вопрос о происхождении структуры генофонда современных европейцев и вкладе в эти процессы аборигенных групп охотников-собирателей, пришлых носителей сельскохозяйственных навыков и более поздних мигрантов. В работе отмечено, что простые модели, положенные в основу интерпретации полученных данных не могут полностью объяснить современную картину. В частности необходим корректный

учет многочисленных более поздних этногенетических процессов (миграции, ассимиляции, энтокультурное взаимодействие и др.) (Bramanti *et al.*, 2009).

В работе Keyser с соавт. (2009) проведено палеогенетическое исследование древних групп человека, составлявших население Минусинской котловины на протяжении около 2 тыс. лет – с середины II тыс. до н. э. до середины I тыс. н. э. Исследованию были подвергнуты носители четырех археологических культур – андроновской, карасукской, тагарской и таштыкской (суммарно 26 образцов). Комплексный генетический подход, при котором был проведен анализ мтДНК, нерекombинируемого участка Y-хромосомы, а также аутомных STR-маркеров и ОНП, предположительно играющих роль в детерминировании пигментации глаз и волос человека, позволил существенно увеличить информативность работы. Это помогло авторам установить доминирование в исследованных сериях западно-евразийских вариантов мтДНК и Y-хромосомы. Причем доля восточно-евразийского компонента генофонда увеличивалась от эпохи бронзы к эпохе железа, что коррелирует с данными, полученными Lalueza-Fox с соавт. (2004) по генофонду населения Казахстана аналогичного периода, а также с результатами исследования древнего населения Синьцзяна (Gao *et al.*, 2008). Авторы связывают преобладание западно-евразийских линий в генофонде древнего населения региона с миграцией популяций с запада. Филогеографический анализ выявленных линий мтДНК и в большей степени Y-хромосомы позволил предположить, что западно-евразийские генетические компоненты проникли на территорию юга Центральной Сибири с территории Восточной Европы. По мнению авторов, полученные результаты согласуются с предполагаемой принадлежностью населения андроновской культуры к индоевропейской языковой группе.

Основным недостатком рассмотренной работы является резкое несоответствие низкой репрезентативности исследованных выборок (26 образцов мтДНК и 10 Y-хромосомы для четырех этнокультурных групп) и масштабов сделанных выводов. Очевидно, что в данном исследовании нашла отражение лишь незначительная часть состава генофонда населения развитой

и поздней бронзы Минусинской котловины. Хотя исследованный регион является крайней восточной периферией ареала анализируемых в работе этногенетических процессов, на основании полученных для его населения результатов авторы обсуждают модель возникновения, распространения и роли культур, соорудивших погребальные конструкции в виде курганов, практически в масштабах всего евразийского материка. Это выглядит необоснованно.

Реконструкция процессов этногенеза путем интеграции комплексного археологического исследования и палеогенетического подхода осуществляется авторами обзора на материалах эпохи бронзы из памятников Барабинской лесостепи, занимающей лесостепное междуречье Оби и Иртыша. В результате многолетних археологических работ создана хорошо аргументированная классификация этнокультурных групп, населявших регион с эпохи неолита до позднего средневековья. Накоплены обширные палеантропологические коллекции. Костные останки из могильников Барабинской лесостепи характеризуются высокой сохранностью, что позволяет успешно проводить их молекулярно-генетический анализ. На территории центральной Барабы (Венгеровский район Новосибирской области и прилегающие к нему территории) открыты и исследованы памятники, расположенные близко друг к другу и давшие коллекции останков от представителей всех этнокультурных групп региона эпохи бронзы. Важно, что в этом археологическом микрорайоне локализованы памятники, которые являются базовыми для характеристики древних групп региона и даже для выделения некоторых археологических культур западно-сибирского региона, например усть-таргасской и одиновской (Молодин, 2001, 2008). Это позволило сформировать многочисленные серии образцов от представителей каждой этнокультурной группы, при использовании для этого только материала с высоко достоверным определением культурной принадлежности и наилучшей сохранности. Расположение Барабы в области между таежным поясом с севера и евразийским степным поясом с юга, а также между зонами распространения классических европеоидов и монголоидов обусловило высокую роль в этногенезе миграционных потоков,

сопровождавшихся взаимодействием контрастных этнокультурных групп. Таким образом, Барабинская лесостепь на данный момент является одним из наиболее перспективных районов для исследования этногенетических процессов с привлечением междисциплинарного подхода, объединяющего комплексный археологический (включая антропологический) и палеогенетический. Исследование более 100 образцов мтДНК от семи этнокультурных групп, населявших этот микрорайон в течение 3 тысячелетий (IV–начало I), позволило непосредственно сопоставить данные археологии, физической антропологии и палеогенетики. В результате удалось доказать, что в ранние периоды эпохи бронзы здесь доминировали процессы генетической преемственности между одновременными популяциями. В последующие периоды конца развитой и поздней бронзы население формируется в результате смешения аборигенных и пришлых популяций (Пилипенко и др., 2008а, 2009а).

Полученные к настоящему времени результаты информативны для решения таких вопросов, как особенности происхождения ранних групп населения Барабинской лесостепи, характер взаимодействия мигрировавшего в регион в эпоху развитой бронзы андроновского (федоровского) населения с аборигенным позднекротовским, соотношение вклада андроновского (федоровского) населения в формирование этнокультурных групп в эпоху бронзы на уровне материальной культуры и структуры генофонда. Развитие работы требует исследования новых серий образцов как из памятников Барабинской лесостепи, так и с сопредельных территорий с привлечением к анализу других филогенетически информативных маркеров помимо мтДНК.

Таким образом, анализ опубликованных независимыми группами данных и наш собственный опыт позволяют констатировать, что уже на данном этапе развития методологии палеогенетических исследований их применение для анализа археологических материалов позволяет получать уникальную информацию об особенностях древних этногенетических процессов при условии тесной интеграции палеогенетической части исследования в комплексный археологический подход.

Анализ останков животных, растений и микроорганизмов из археологических памятников

Одной из фундаментальных задач археологического исследования является реконструкция среды обитания древнего человека. Важной составляющей этой среды являлись животные, растения и микроорганизмы, сосуществовавшие с древним человеком. Их останки часто обнаруживают при раскопках археологических памятников различных типов – погребальных, поселенческих, культовых. Специфика памятника определяет и характер вероятного использования биоты человеком. Останки животных и растений являются традиционным объектом археологического исследования. На макроскопическом уровне (морфология, определение видовой принадлежности и т. д.) их исследуют в рамках палеозоологии (остеологии) и палеоботаники. Микроорганизмы являются новым объектом для археологии, так как их изучение стало возможным только в результате применения в археологической практике методов молекулярной биологии и генетики.

Молекулярно-генетический анализ останков животных из археологических памятников. Исследование ДНК из останков животных является одним из наиболее развитых направлений палеогенетики. Его результаты в меньшей степени подвержены влиянию контаминации, чем останки человека. Современная ДНК большинства животных не характеризуется широким распространением. Отсутствие потенциальных источников контаминации существенно упрощает методологию верификации палеогенетических результатов. Значительная часть работ в этом направлении связана с анализом останков животных из археологических памятников. Как правило, в культурный слой попадают останки животных, так или иначе используемых человеком в своей хозяйственной деятельности. Это либо останки диких животных, являвшихся объектами охоты древнего человека, либо останки одомашненных животных, разводимых человеком с различными целями. Большое число костей животных находят на поселенческих комплексах. Кроме того, для носителей многих археологических культур помещение останков животных в могилу с человеком было

неотъемлемой частью погребального обряда и наделялось особым сакральным смыслом. Например, неотъемлемой частью погребальной обрядности большинства скифских и тюркских культур являлось помещение коня в погребальный комплекс с человеком (Нестеров, 1990).

Палеогенетические исследования диких животных чаще всего проводят для памятников, оставленных населением, в хозяйстве которого существенную роль играла охота. Целью такого исследования, помимо выяснения характера использования фауны человеком, может быть реконструкция экологической обстановки в исследуемый период. Кроме того, генетические данные могут быть полезны для выяснения филогенетических отношений древних популяций (или даже видов) животных с ныне существующими. В первую очередь это касается памятников древнекаменного века. Наибольшую известность получили исследования ДНК представителей позднеплейстоценовой фауны, сосуществовавших с верхнепалеолитическим человеком, – мамонтов, пещерного медведя и позднеплейстоценового бурого медведя (Hanni *et al.*, 1994; Leonard *et al.*, 2000; Barnes *et al.*, 2002; Hofreiter *et al.*, 2002, 2004).

Большинство работ в области палеогенетики животных из археологических памятников связано с останками представителей domesticiрованных видов (Keyser-Tracqui *et al.*, 2005). Процесс одомашнивания животных – один из ключевых для понимания истории человечества. Этому вопросу уделяется большое внимание археологами и этнографами (Шнирельман, 1980). Исследования структуры ДНК из останков одомашненных животных, которые находят в археологических памятниках, уже способствовали реконструкции общих и региональных особенностей процессов доместикиции и распространения основных видов сельскохозяйственных животных. В частности, анализ древней ДНК позволил прояснить историю доместикиции свиней (Watanabe *et al.*, 2001, 2002), коров (Bailey *et al.*, 1996; Troy *et al.*, 2001; Edwards *et al.*, 2007), коз (Bar-Gal *et al.*, 2002).

Полученные данные позволяют не только реконструировать центры доместикиции сельскохозяйственных животных, но и прояснить пути их распространения. Поскольку распространение сельскохозяйственных животных часто

происходило параллельно с миграцией больших или малых по численности групп людей – носителей сельскохозяйственных традиций, выяснение пути расселения животных может быть дополнительным способом исследования древних миграционных волн, а также других элементов этногенетических процессов. Например, установление ближневосточного происхождения генофонда современных и древних коров Центральной Европы является дополнительным аргументом в пользу происхождения первых европейских носителей сельскохозяйственных навыков в эпоху неолита из ближневосточного региона наряду с непосредственным исследованием структуры генофонда их митохондриальной ДНК (Edwards *et al.*, 2007).

Молекулярно-генетический анализ останков животных из погребальных или культовых комплексов может быть использован для реконструкции элементов погребальных традиций древних культурных групп. Примером может служить исследование ДНК из останков лошадей, погребенных вместе с людьми в элитном погребальном комплексе скифского времени Аржан-2 с территории Тувы (Benecke *et al.*, 2010). Мужской пол всех 14 погребенных лошадей, неожиданно высокое разнообразие линий митохондриальной ДНК свидетельствуют в пользу предположения археологов о том, что погребенные животные являлись даром различных групп людей представителю элиты скифского общества, погребенному в Аржане-2. Эти данные хорошо согласуются с результатами остеометрического анализа, которые выявили необычный для скифского времени высокий рост лошадей, свидетельствующий об их элитном происхождении.

Помимо самостоятельной научной ценности анализ ДНК из останков животных, сопутствующих останкам человека, имеет методическое значение. Успешный анализ ДНК животных, извлеченных из археологических комплексов вместе с останками человека, является убедительным аргументом в пользу сохранности древней ДНК в останках человека и достоверности результатов ее исследования (Burger *et al.*, 2007; Pilipenko *et al.*, 2010).

Исследование ДНК растений. Основные результаты в области палеогенетики растений получены при исследовании останков растений

из археологических памятников (Gugerli *et al.*, 2005). Исследования ДНК из растительных остатков, не связанных с археологическими памятниками, представлены лишь немногочисленными работами с коллекциями гербариев небольшого возраста (Savolainen *et al.*, 1995). Наиболее часто исследованию подвергаются остатки сельскохозяйственных растений. Эти работы внесли большой вклад в понимание таких вопросов, как возникновение и распространение земледелия, происхождение и эволюция некоторых культурных (сельскохозяйственных) растений (Freitas *et al.*, 2003). Удалось исследовать эволюцию зерновых культур (Jaenicke-Despres *et al.*, 2003) и даже некоторых систем генов растений под воздействием селекции хозяйственно полезных признаков человеком (Goloubinoff *et al.*, 1993; Allaby *et al.*, 1999). Анализ ДНК растительных остатков, содержащихся в копролитах или в пищеварительном тракте, используется для реконструкции палеодиеты животных и человека (Poinar *et al.*, 2001; Hofreiter *et al.*, 2003). Примером использования этого подхода в археологии является реконструкция диеты тирольского «снежного человека» (Rollo *et al.*, 2002b).

Исследование ДНК микроорганизмов. Выделение и анализ структуры ДНК микроорганизмов из древних образцов осложнены высокой вероятностью контаминации, в связи с повсеместным распространением современных микроорганизмов (Paabo *et al.*, 2004; Willerslev *et al.*, 2004). Только реализация строгой системы верификации результатов позволяет получать достоверные данные. Палеогенетические исследования в данной области могут использоваться для изучения древних пищевых технологий, а также в экологических и климатологических реконструкциях. Отдельной областью исследования является определение ДНК возбудителей заболеваний (бактерий, вирусов) в останках человека из археологических памятников (Drancourt *et al.*, 1998; Zink *et al.*, 2001, 2003; Hershkovitz *et al.*, 2008), а также микробиомов древних людей (Tito *et al.*, 2008).

Особняком стоят исследования жизнеспособных микроорганизмов, сохраняющихся в закрытых археологических комплексах. Как правило, это становится возможным для памятников, содержащих мерзлоту. Такой анализ был

проведен при непосредственном участии авторов данной статьи для проб льда и органических материалов, извлеченных при раскопках погребальных памятников, содержащих мерзлоту, на могильниках пазырыкской культуры в Северо-Западной Монголии (Пучкова и др., 2008; Ханаева и др., 2008).

С методической точки зрения эта работа близка к обычным микробиологическим исследованиям. В таких исследованиях возможно получение результатов, имеющих потенциальное прикладное значение наряду с фундаментальными, например, открытие новых ферментов, потенциально применимых в молекулярной биологии. Так, при исследовании ферментативной активности штаммов микроорганизмов, полученных из материалов пазырыкских могильников с мерзлотой, был обнаружен продуцент эндонуклеазы рестрикции Asp103I – изоизомера рестриктазы *Bam*HI. Отличием нового фермента является низкая оптимальная температура активности фермента (6–10 °С по сравнению с 37 °С у *Bam*HI) (Пучкова и др., 2008).

Перспективным направлением использования анализа ДНК микроорганизмов из археологических материалов представляется реконструкция особенностей климата и экологической обстановки, существовавшей на момент сооружения закрытого археологического комплекса.

Таким образом, исследование останков представителей биоты из археологических памятников представляется информативным в отношении широкого круга вопросов. При этом исследование останков животных, растений и микроорганизмов из археологических памятников (по крайней мере для периода голоцена) практически всегда направлено на исследование различных сторон жизни человека и редко имеет самостоятельное фундаментальное значение (за исключением вопросов филогенетических взаимоотношений исчезнувших видов животных с современными).

Заключение

Современный методический уровень исследований структуры ДНК из биологических останков различного возраста и наличие системы критериев достоверности палеогенетических

данных позволили приступить к полноценному использованию молекулярно-генетических методов для решения разнообразных вопросов, возникающих при исследовании археологических культур. Масштаб решаемых проблем варьирует от определения конкретных биологических характеристик отдельных древних индивидов до реконструкции особенностей этногенетических процессов обширных регионов и даже проблем становления анатомически современного человека как вида. Дальнейший методический прогресс в данной области, очевидно, будет связан с внедрением в рутинную практику высокопроизводительных методов анализа структуры древней ДНК. Информативность палеогенетических исследований будет определяться степенью их интеграции с другими составляющими комплексного археологического подхода. В перспективе палеогенетический анализ, по-видимому, станет обязательно составляющей археологических исследований, особенно в области этногенетических реконструкций.

Работа поддержана грантами РФФИ 09-06-00357а, 10-06-00406а, РГНФ 10-0100193а, Междисциплинарным интеграционным проектом СО РАН № 115 (2009–2011).

Литература

- Авдусин Д.А. Полевая археология СССР. М.: Высш. шк., 1980. 335 с.
- Алексеев В.П. Историческая антропология и этногенез. М.: Наука, 1989. 445 с.
- Воевода М.И., Ситникова В.В., Чикишева Т.А. и др. Молекулярно-генетический анализ митохондриальной ДНК представителей Пазырыкской культуры Горного Алтая (IV–II вв. до н. э.) // Докл. РАН. 1998. Т. 358. № 4. С. 564–566.
- Глушков И.Г. Керамика как археологический источник. Новосибирск: Изд-во Ин-та археологии и этнографии СО РАН, 1996. 327 с.
- Гуляев В.И., Ольховский В.С. Погребальные памятники и погребальная обрядность: проблемы анализа и интерпретации // Погребальный обряд. Реконструкция и интерпретация древних идеологических представлений. М.: Восточная лит-ра РАН, 1999. С. 10–18.
- Кузьмина Е.Е. Откуда пришли индоарии? М.: Восточная лит-ра РАН, 1994. 464 с.
- Малярчук Б.А., Деренко М.В. Филогеографические аспекты изменчивости митохондриального генома человека // Информ. вестник ВОГиС. 2006. Т. 10. № 1. С. 41–56.
- Мамонова Н.Н., Романова Г.П., Харитонов В.М. Первичная обработка и определение антропологического материала в полевых условиях // Методика полевых археологических исследований. Л.: Наука, 1989. С. 50–83.
- Мартынов А.И., Шер Я.А. Методы археологического исследования. М.: Высш. шк., 1989. 223 с.
- Молодин В.И. Памятник Сопка-2 на реке Оми (культурно-хронологический анализ погребальных комплексов эпохи неолита и раннего металла). Новосибирск: Изд-во Ин-та археологии и этнографии СО РАН, 2001. Т. 1. 128 с.
- Молодин В.И. Исследования российско-германско-монгольской экспедиции на Северо-Западе Монголии летом 2006 г. // Рос. археология. 2007. № 4. С. 42–50.
- Молодин В.И. Одиновская культура в Восточном Зауралье и Западной Сибири. Проблема выделения // Россия между прошлым и будущим: исторический опыт национального развития. Екатеринбург: УрО РАН, 2008. С. 9–13.
- Молодин В.И., Воевода М.И., Чикишева Т.А. и др. Население Горного Алтая в эпоху раннего железного века как этнокультурный феномен: происхождение, генезис, исторические судьбы (по данным археологии, антропологии, генетики). Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2003. 286 с.
- Молодин В.И., Новиков А.В., Богданов Е.С. и др. Археологические памятники плоскогорья Укок (Горный Алтай). Новосибирск: Изд-во ИАЭТ СО РАН, 2004. 255 с.
- Молодин В.И., Новикова О.И., Гришин А.Е. и др. Изучение памятника эпохи развитой бронзы Таргас-1 // Проблемы археологии, этнографии, антропологии Сибири и сопредельных территорий. Новосибирск: Изд-во Ин-та археологии и этнографии СО РАН, 2006. Т. XII. С. 422–427.
- Молодин В.И., Парцингер Г., Цевээндорж Д. Замерзший погребальный комплекс пазырыкской культуры Олон-Курин-Гол-10 в Западной Монголии. Предварительные результаты // Вестн. истории, литературы, искусства. 2009а. Т. 6. С. 9–24.
- Молодин В.И., Ромашенко А.Г., Пилипенко А.С. Археология и палеогенетика. Некоторый опыт и перспективы мультидисциплинарных исследований // Роль естественнонаучных методов в археологических исследованиях: Сб. науч. тр. / Отв. ред. Ю.Ф. Кирюшин, А.А. Тишкин. Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2009б. С. 228–232.
- Нестеров С.П. Конь в культурах тюркоязычных племен Центральной Азии. Новосибирск: Наука, 1990. 143 с.
- Пилипенко А.С., Журавлев А.А., Ромашенко А.Г. и др.

- Генофонд мтДНК населения лесостепной полосы Западной Сибири эпохи развитой бронзы: влияние миграционных потоков // Факторы экспериментальной эволюции организмов: Сб. науч. тр. Киев: Логос, 2009а. Т. 7. С. 369–372.
- Пилипенко А.С., Ромашенко А.Г., Молодин В.И. и др. Формирование этнокультурных сообществ в западносибирской лесостепи на основе данных палеогенетики (первые результаты) // Тр. II (XVIII) Всерос. археологического съезда в Суздале. М.: ИА РАН, 2008а. Т. III. С. 391–394.
- Пилипенко А.С., Ромашенко А.Г., Молодин В.И. и др. Особенности захоронения младенцев в жилищах городища Чича-1 Барабинской лесостепи по данным анализа структуры ДНК // Археология, этнография и антропология Евразии. 2008б. № 2. С. 57–67.
- Пилипенко А.С., Ромашенко А.Г., Молодин В.И. и др. Особенности структуры генофонда митохондриальной ДНК населения городища Чича-1 (IX–VII вв. до н. э.) в Барабинской лесостепи // Чича – городище переходного от бронзы к железу времени в Барабинской лесостепи. Новосибирск: Изд-во ИАЭТ СО РАН, 2009б. Т. 3. Гл. 7. С. 108–127.
- Пучкова Л.И., Андреева И.С., Печуркина Н.И. и др. Штамм *Acinetobacter sp.* 103р – продуцент эндонуклеазы рестрикции Asp103I, узнающей нуклеотидную последовательность 5'-GGATCC-3' // Достижения современной биотехнологии. Новосибирск, 2008. С. 300–306.
- Смирнов Ю.А. Мустьерские погребения Евразии: Возникновение погребальной практики и основы тафологии. М.: Наука, 1991. 341 с.
- Ханаева Т.А., Сулова М.Ю., Парфенова В.В. и др. Разнообразие культивируемых органотрофных бактерий в пробах из археологических комплексов пазырыкской культуры (IV–III вв. до н. э.) Северо-Западной Монголии // Новости палеонтологии и стратиграфии. 2008. Вып. 10/11. (Приложение к журналу Геология и геофизика. Т. 49). С. 67–68.
- Шнирельман В.А. Происхождение скотоводства. М.: Наука, 1980. 330 с.
- Adachi N., Shinoda K., Umetsu K., Matsumura H. Mitochondrial DNA analysis of Jomon skeletons from the Funadomari site, Hokkaido, and its implication for the origins of native american // *Am. J. Phys. Anthropol.* 2009. V. 138. P. 255–265.
- Allaby R.G., Banerjee M., Brown T.A. Evolution of the high-molecular weight glutenin loci of the A, B, D and G genomes of wheat // *Genome.* 1999. V. 42. P. 296–307.
- Alzualde A., Izagirre N., Alonso S. et al. Insights into the «Isolation» of the Basques: mtDNA lineages from the historical site of Aldaieta (6th–7th centuries AD) // *Am. J. Phys. Anthropol.* 2006. V. 130. P. 394–404.
- Amory S., Keyser C., Crubezy E., Ludes B. STR typing on ancient DNA extracted from hair shafts of Siberian mummies // *Forensic Sci. Int.* 2007. V. 166. P. 218–229.
- Bailey J.F., Richards M.B., Macaulay V.A. et al. Ancient DNA suggest a recent expansion of European cattle from a diverse wild progenitor species // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.* 1996. V. 263. P. 1467–1473.
- Bar-Gal G.K., Khalaily H., Mader O. et al. Ancient DNA evidence for the transition from wild to domestic status in Neolithic goats: a case study from the site of Abu Gosh, Israel // *Ancient Biomolecules.* 2002. V. 4. P. 9–17.
- Barnes I., Matheus P., Shapiro B. et al. Dynamics of Pleistocene population extinctions in Beringian brown bears // *Science.* 2002. V. 295. P. 2267–2270.
- Benecke N., Pruvost M., Weber C. Die Pferdeskelette – Archäozoologie und Molekulargenetik // K.V. Cugunov, H. Parzinger, A. Nagler. Der skythenzeitliche Fürstenkurgan Arzan 2 in Tuva. Archäologie in Eurasien, Band 26; Steppenvölker Eurasiens, Band 3. Verlag Philipp von Zabern, Mainz, 2010. S. 249–256.
- Bouakaze C., Keyser C., Amory S. et al. First successful assay of Y-SNP typing by SNaPshot minisequencing on ancient DNA // *Int. J. Legal. Med.* 2007. V. 121. P. 493–499.
- Bramanti B., Thomas M.G., Haak W. et al. Genetic discontinuity between local hunter-gatherers and Central Europe's first farmers // *Science.* 2009. V. 326. P. 137–140.
- Brotherton P., Endicott P., Sanchez J.J. et al. Novel high resolution characterization of ancient DNA reveals C > U-type base modification events as the sole cause of post mortem miscoding lesions // *Nucl. Acids Res.* 2007. V. 35. P. 5717–5728.
- Burger J., Hummel S., Herrmann B., Henke W. DNA preservation: A microsatellite-DNA study on ancient skeletal remains // *Electrophoresis.* 1999. V. 20. P. 1722–1728.
- Burger J., Kirchner M., Bramanti B. et al. Absence of the lactase-persistence-associated allele in early Neolithic Europeans // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. P. 3736–3741.
- Cann R.L., Stoneking M., Wilson A.C. Mitochondrial DNA and human evolution // *Nature.* 1987. V. 325. № 1. P. 31–36.
- Cano R.J., Poinar H.N., Poinar Jr.G.O. Isolation and partial characterisation of DNA from the bee *Proplebeia dominicana* (Apidae: Hymenoptera) in 25–40 million year old amber // *Med. Sci. Res.* 1992. V. 20. P. 249–251.
- Caramelli D., Milani L., Vai S. et al. A 28,000 years old cromagnon mtDNA sequence differs from all potentially contaminating modern sequences // *PLoS*

- ONE. 2008. V. 3. № 7. e2700.
- Clisson I., Keyser C., Francfort H.-P. *et al.* Genetic analysis of human remains from a double inhumation in a frozen kurgan in Kazakhstan (Berel site, Early 3rd Century BC) // *Int. J. Legal. Med.* 2002. V. 116. P. 304–308.
- Cooper A., Poinar H. Ancient DNA: do it right or not at all // *Science*. 2000. V. 289. P. 1139.
- Currat M., Excoffier L. Modern humans did not admix with Neanderthals during their range expansion into Europe // *PLoS Biol.* 2004. V. 2. № 12. P. 2264–2274.
- Denaro M., Blanc H., Johnson M.J. *et al.* Ethnic variation in *HpaI* endonuclease cleavage patterns of human mitochondrial DNA // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1981. V. 78. P. 5768–5772.
- Dixon E.J. Human colonization of the Americas: timing, technology and process // *Quat. Sci. Rev.* 2001. V. 20. P. 277–299.
- Drancourt M., Aboudharam G., Signoli M. *et al.* Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp: an approach to the diagnosis of ancient septicemia // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1998. V. 95. P. 12637–12640.
- Edwards C.J., Bollongino R., Amelie Scheu A. *et al.* Mitochondrial DNA analysis shows a Near Eastern Neolithic origin for domestic cattle and no indication of domestication of European aurochs // *Proc. Biol. Sci.* 2007. V. 274. P. 1377–1385.
- Eglinton G., Logan G.A. Molecular preservation // *Philos. Trans. R. Soc. London*. 1991. V. 333. P. 315–327.
- Ehrlich M., Zhang X.Y., Inamdar N.M. Spontaneous deamination of cytosine and 5-methylcytosine residues in DNA and replacement of 5-methylcytosine residues with cytosine residues // *Mutat. Res.* 1990. V. 238. P. 277–286.
- Endicott P., Sanchez J.J., Pichler I. *et al.* Genotyping human ancient mtDNA control and coding region polymorphisms with a multiplexed Single-Base-Extension assay: the singular maternal history of the Tyrolean Iceman // *BMC Genet.* 2009. V. 10. P. 29.
- Ermini L., Olivieri C., Rizzi E. *et al.* Complete mitochondrial genome sequence of the Tyrolean Iceman // *Curr. Biol.* 2008. V. 18. P. 1687–1693.
- Faerman M., Filon D., Kahila G. *et al.* Sex identification of archaeological human remains based on amplification of the X and Y amelogenin alleles // *Gene*. 1995. V. 167. P. 327–332.
- Forster P., Matsumura S. Did early humans go north or south? // *Science*. 2005. V. 308. P. 965–966.
- Freitas F.O., Bendel G., Allaby R.G., Brown T.A. DNA from primitive maize landraces and archaeological remains: implications for the domestication of maize and its expansion into South America // *J. Archaeol. Sci.* 2003. V. 30. P. 901–908.
- Gao S.Z., Cui Y.Q., Yang Y.D. *et al.* Mitochondrial DNA analysis of human remains from the Yuansha site in Xinjiang, China // *Sci. China Ser. C-Life Sci.* 2008. V. 51. P. 205–213.
- Gilbert M. T.P., Willerslev E., Hansen A.J. *et al.* Distribution patterns of post-mortem damage in human mitochondrial DNA // *Amer. J. Hum. Genet.* 2003a. V. 72. P. 32–47.
- Gilbert M.T.P., Hansen A.J., Willerslev E. *et al.* Characterization of genetic miscoding lesions caused by post-mortem damage // *Amer. J. Hum. Genet.* 2003b. V. 72. P. 48–61.
- Gilbert M.T.P., Jenkins D.L., Gothenstrom A. *et al.* DNA from pre-clovis human coprolites in Oregon, North America // *Science*. 2008. V. 320. P. 786–789.
- Gilbert M.T.P., Wilson A.S., Bunce M. *et al.* Ancient mitochondrial DNA from hair // *Curr. Biol.* 2004. V. 14. R463–R464.
- Golenberg E.M., Giannasi D.E., Clegg M.T. *et al.* Chloroplast DNA from a Miocene *Magnolia* species // *Nature*. 1990. V. 344. P. 656–658.
- Goluboinoff P., Paabo S., Wilson A.C. Evolution of maize inferred from sequence diversity of an *adh2* gene segment from archaeological specimens // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1993. V. 90. P. 1997–2001.
- Green R.E., Briggs A.W., Krause J. *et al.* The Neanderthal genome and ancient DNA authenticity // *The EMBO J.* 2009. V. 28. P. 2494–2502.
- Green R.E., Krause J., Briggs A.W. *et al.* A draft sequence of the Neanderthal genome // *Science*. 2010. V. 328. P. 710–722.
- Green R.E., Malaspina A.S., Krause J. *et al.* A complete Neanderthal mitochondrial genome sequence determined by high-throughput sequencing // *Cell*. 2008. V. 134. P. 416–426.
- Gugerli F., Parducci L., Petit R.J. Ancient plant DNA: review and prospects // *New Phytologist*. 2005. V. 166. P. 409–418.
- Guthrie R.D. *Frozen Fauna of the mammoth steppe: the story of blue babe*. Chicago: The University of Chicago Press, 1990. 346 p.
- Haak W., Brandt G., de Jongh H.N. *et al.* Ancient DNA, strontium isotopes, and osteological analyses shed light on social and kinship organization of the later stone age // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2008. V. 105. P. 18226–18231.
- Haak W., Forster P., Bramanti B. *et al.* Ancient DNA from the first European farmers in 7500-year-old Neolithic sites // *Science*. 2005. V. 305. P. 1016–1018.
- Haile J., Holdaway R., Oliver K. *et al.* Ancient DNA chronology within sediment deposits: are paleobiological reconstructions possible and is DNA leaching a factor? // *Mol. Biol. Evol.* 2007. V. 24. P. 982–989.
- Handt O., Hoss M., Krings M., Paabo S. Ancient DNA:

- methodological challenges // *Experientia*. 1994a. V. 50. P. 524–529.
- Handt O., Krings M., Ward R.H., Paabo S. The retrieval of ancient human DNA sequences // *Amer. J. Hum. Genet.* 1996. V. 59. P. 368–376.
- Handt O., Richards M., Tromsdorff M. *et al.* Molecular genetic analyses of the Tyrolean iceman // *Science*. 1994b. V. 264. P. 1775–1778.
- Hanni C., Laudet V., Stehelin D., Taberlet P. Tracking the origins of the cave bear (*Ursus spelaeus*) by mitochondrial DNA sequencing // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1994. V. 91. P. 12336–12340.
- Hansen A.J., Willerslev E., Wiuf C. *et al.* Statistical evidence for miscoding lesions in ancient DNA templates // *Mol. Biol. Evol.* 2001. V. 18. P. 262–265.
- Hawks J.D., Wolpoff M.H. The accretion model of Neanderthal evolution // *Evolution*. 2001. V. 55. P. 1474–1485.
- Hershkovitz I., Donoghue H.D., Minnikin D.E. *et al.* Detection and molecular characterization of 9000-year-old *Mycobacterium tuberculosis* from a Neolithic settlement in the Eastern Mediterranean // *PLoS ONE*. 2008. V. 3. № 10. e3426.
- Higuchi R., Bowman B., Freiberger M. *et al.* DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family // *Nature*. 1984. V. 312. P. 282–284.
- Hofreiter M., Betancourt J.L., Sbriller A.P. *et al.* Phylogeny, diet, and habitat of an extinct ground sloth from Cuchillo Cura, Neuquen Province, southwest Argentina // *Quat. Res.* 2003. V. 59. P. 364–378.
- Hofreiter M., Capelli C., Krings M. *et al.* Ancient DNA analyses reveal high mitochondrial DNA sequence diversity and parallel morphological evolution of Late Pleistocene cave bears // *Mol. Biol. Evol.* 2002. V. 19. P. 1244–1250.
- Hofreiter M., Jaenicke V., Serre S. *et al.* DNA sequences from multiple amplifications reveal artifacts induced by cytosine deamination in ancient DNA // *Nucl. Acids Res.* 2001a. V. 29. P. 4793–4799.
- Hofreiter M., Rabeder G., Jaenicke-Despres V. *et al.* Evidence for reproductive isolation between cave bear populations // *Curr. Biol.* 2004. V. 14. P. 40–43.
- Hofreiter M., Serre D., Poinar H.N. *et al.* Ancient DNA // *Nat. Rev. Genet.* 2001b. V. 2. P. 353–360.
- Hoss M., Jaruga P., Zastawny T.H. *et al.* DNA damage and DNA sequence retrieval from ancient tissues // *Nucl. Acids Res.* 1996. V. 24. P. 1304–1307.
- Hummel S., Schmidt D., Kremeyer B. *et al.* Detection of the CCR5_Delta32 HIV resistance gene in Bronze Age skeletons // *Genes. Immun.* 2005. V. 6. P. 371–374.
- Jaenicke-Despres V., Buckler E.S., Smith B.D. *et al.* Early allelic selection in maize as revealed by ancient DNA // *Science*. 2003. V. 302. P. 1206–1208.
- Kaestle F.A., Horsburgh K.A. Ancient DNA in anthropology: Methods, applications, and ethics // *Yearbook of Physical Anthropol.* 2002. V. 45. P. 92–130.
- Kemp B.M., Smith D.G. Use bleach to eliminate contaminating DNA from the surface of bones and teeth // *Forensic Sci. Int.* 2005. V. 154. P. 53–61.
- Keyser-Tracqui C., Blandin-Frappin B., Francfort H.-P. *et al.* Mitochondrial DNA analysis of horses recovered from a frozen tomb (Berel site, Kazakhstan, 3rd Century BC) // *Anim. Genet.* 2005. V. 36. P. 203–209.
- Keyser-Tracqui C., Crubezy E., Ludes B. Nuclear and mitochondrial DNA analysis of a 2,000 year-old necropolis in the Egyin Gol valley of Mongolia // *Amer. J. Hum. Genet.* 2003. V. 73. P. 247–260.
- Keyser C., Bouakaze C., Crubezy E. *et al.* Ancient DNA provides new insights into the history of south Siberian Kurgan people // *Hum. Genet.* 2009. V. 126. P. 395–410.
- Klein R.G. Paleoanthropology. Whither the Neanderthals? // *Science*. 2003. V. 299. P. 1525–1527.
- Knight A. The phylogenetic relationship of Neanderthal and modern human mitochondrial DNAs based on informative nucleotide sites // *J. Hum. Evol.* 2003. V. 44. P. 627–632.
- Krause J., Briggs A.W., Kircher M. *et al.* A Complete mtDNA genome of an early modern human from Kostenki, Russia // *Curr. Biol.* 2009. V. 20. P. 1–6.
- Krause J., Fu Q., Good J.M. *et al.* The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominin from southern Siberia // *Nature*. 2010. V. 464. P. 894–897.
- Krings M., Capelli C., Tschentscher F. *et al.* A view of Neanderthal genetic diversity // *Nat. Genet.* 2000. V. 26. P. 144–146.
- Krings M., Geisert H., Schmitz R.W. *et al.* DNA sequence of the mitochondrial hypervariable region II from the Neanderthal type specimen // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1999. V. 96. P. 5581–5585.
- Krings M., Stone A., Schmitz R.W. *et al.* Neanderthal DNA sequences and the origin of modern humans // *Cell*. 1997. V. 90. P. 19–30.
- Lalueza-Fox C., Sampietro M.L., Gilbert M.T.P. *et al.* Unravelling migrations in the steppe: mitochondrial DNA sequences from ancient Central Asians // *Proc. R. Soc. Lond.* 2004. V. 271. P. 941–947.
- Lau A., Wyatt M., Glassner B. *et al.* Molecular basis for discrimination between normal and damaged bases by the human alkyladenine glycosylase, AAG // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2000. V. 97. P. 13575–13578.
- Leonard J.A., Wayne R.K., Cooper A. Population genetics of Ice Age brown bears // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2000. V. 97. P. 1651–54.
- Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA // *Nature*. 1993. V. 362. P. 709–715.
- Mellars P.A. Archaeology and the population-dispersal

- hypothesis of modern human origins in Europe // *Philos. Trans. Roy. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1992. V. 337. P. 225–324.
- Minshu Y., Xinfang Q., Jinglum X. *et al.* Mitochondrial DNA polymorphism in Chinese // *Sci. Sinica (Ser. B)*. 1988. V. 31. № 7. P. 860–872.
- Mitchell D., Willerslev E., Hansen A. Damage and repair of ancient DNA // *Mutat. Res.* 2005. V. 571. P. 265–276.
- Mullis K.B., Faloona F.A. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase catalyzed chain reaction // *Methods Enzymol.* 1987. V. 155. P. 335–350.
- Olivieri C., Ermini L., Rizzi E. *et al.* Characterization of nucleotide misincorporation patterns in the Ice-man's mitochondrial DNA // *PLoS ONE*. 2010. V. 5. № 1. e8629.
- Ovchinnikov I.V., Gotherstrom A., Romanova G.P. *et al.* Molecular analysis of Neanderthal DNA from the Northern Caucasus // *Nature*. 2000. V. 404. P. 490–493.
- Paabo S. Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA // *Nature*. 1985. V. 314. P. 644–645.
- Paabo S. Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1989. V. 86. P. 1939–1943.
- Paabo S., Higuchi R.G., Wilson A.C. Ancient DNA and the polymerase chain reaction // *J. Biol. Chem.* 1989. V. 264. P. 9709–9712.
- Paabo S., Irwin D., Wilson A. DNA damage promotes jumping between templates during enzymatic amplification // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 4718–4721.
- Paabo S., Poinar H., Serre D. *et al.* Genetic analyses from ancient DNA // *Annu. Rev. Genet.* 2004. V. 38. P. 645–679.
- Paabo S., Wilson A.C. Polymerase chain reaction reveals cloning artifacts // *Nature*. 1988. V. 334. P. 387–388.
- Papagrigorakis M.J., Yapijakis C., Synodinos P.N., Baziotopoulou-Valavani E. DNA examination of ancient dental pulp incriminates typhoid fever as a probable cause of the plague of Athens // *Int. J. Infect. Dis.* 2006. V. 10. № 3. P. 206–214.
- Parzinger H., Molodin V., Ceveendorz D. *Der Skythezeitliche Krieger aus dem Eis: Neue entdeckungen im Mongolischen Altaj*. Amsterdam, 2008. 66 s.
- Pilipenko A.S., Romaschenko A.G., Molodin V.I. *et al.* Mitochondrial DNA studies of the Pazyryk people (4th to 3rd centuries BC) from northwestern Mongolia // *J. Archaeol. Anthropol. Sci.* 2010. (In press).
- Poinar H., Fiedel S., King C.E. *et al.* Comment on «DNA from Pre-Clovis Human Coprolites in Oregon, North America» // *Science*. 2009. V. 325. P. 148.
- Poinar H.N., Hofreiter M., Spaulding W.G. *et al.* Molecular coproscopy: dung and diet of the extinct ground sloth *Nothrotheriops shastensis* // *Science*. 1998. V. 281. P. 402–406.
- Poinar H.N., Hoss M., Bada J.L., Paabo S. Amino acid racemization and the preservation of ancient DNA // *Science*. 1996. V. 272. P. 864–866.
- Poinar H., Kuch M., McDonald G. *et al.* Nuclear gene sequences from a Late Pleistocene sloth coprolite // *Curr. Biol.* 2003. V. 12. P. 1150–1152.
- Poinar H.N., Kuch M., Sobolik K.D. *et al.* A molecular analysis of dietary diversity for three archaic Native Americans // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2001. V. 98. P. 4317–4322.
- Poinar H.N., Poinar G.O., Cano R.P. DNA from an extinct plant // *Nature*. 1993. V. 363. P. 677.
- Rasmussen M., Li Y., Lindgreen S. *et al.* Ancient human genome sequence of an extinct Palaeo-Eskimo // *Nature*. 2010. V. 463. P. 757–762.
- Richards M.B., Sykes B.C., Hedges R.M. Authenticating DNA extracted from ancient skeletal remains // *J. Archaeol. Sci.* 1995. V. 22. P. 291–299.
- Rohland N., Hofreiter M. Comparison and optimization of ancient DNA extraction // *BioTechniques*. 2007. V. 42. P. 343–352.
- Rollo F., Ermini L., Luciani S. *et al.* Fine characterization of the iceman's mtDNA haplogroup // *Am. J. Phys. Anthropol.* 2006. V. 130. P. 557–564.
- Rollo F., Ubaldi M., Ermini L., Marota I. Otzi's last meals: DNA analysis of the intestinal content of the Neolithic glacier mummy from the Alps // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2002b. V. 99. P. 12594–12599.
- Rollo F., Ubaldi M., Marota I. *et al.* DNA diagenesis: effect of environment and time on human bone // *Ancient Biomol.* 2002a. V. 4. P. 1–7.
- Ruiz-Pesini E., Lott M.T., Procaccio V. *et al.* An enhanced MITOMAP with a global mtDNA mutational phylogeny // *Nucl. Acids Res.* 2006. V. 35. P. 823–828.
- Saiki R.K., Gelfand D.H., Stoffel S. *et al.* Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase // *Science*. 1988. V. 239. P. 487–491.
- Sampietro M.L., Caramelli D., Lao O. *et al.* The genetics of the Pre-Roman Iberian Peninsula: a mtDNA study of ancient Iberians // *Ann. Hum. Genet.* 2005. V. 69. P. 1–14.
- Sampietro M.L., Gilbert M.T.P., Lao O. *et al.* Tracking down human contamination in ancient human teeth // *Mol. Biol. Evol.* 2006. V. 23. P. 1801–1807.
- Savolainen V., Cuenoud P., Spichiger R. *et al.* The use of herbarium specimens in DNA phylogenetics—evaluation and improvement // *Plant System. Evol.* 1995. V. 197. P. 87–98.
- Schmitz R.W., Serre D., Bonani G. *et al.* The Neanderthal type site revisited: Interdisciplinary investigations of skeletal remains from the Neander Valley, Germany // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2002. V. 99.

- P. 13342–13347.
- Serre D., Hofreiter M., Paabo S. Mutations induced by ancient DNA extracts? // *Mol. Biol. Evol.* 2004b. V. 21. P. 1463–1467.
- Serre D., Langaney A., Chech M. *et al.* No evidence of Neanderthal mtDNA contribution to early modern humans // *PLoS Biol.* 2004a. V. 2. № 3. P. 313–317.
- Shiroma C.Y., Fielding C.G., Lewis J.A. *et al.* Minimally destructive technique for sampling dentin powder for mitochondrial DNA testing // *J. Forensic Sci.* 2004. V. 49. № 4. P. 1–5.
- Shook B.A., Smith D.G. Using ancient mtDNA to reconstruct the population history of Northeastern North America // *Am. J. Phys. Anthropol.* 2008. V. 137. P. 14–29.
- Smith C.I., Chamberlain A.T., Riley M.S. *et al.* Neanderthal DNA: not just old but old and cold? // *Nature.* 2001. V. 410. P. 771–772.
- Smith C.I., Chamberlain A.T., Riley M.C. *et al.* The thermal history of human fossils and the likelihood of successful DNA amplification // *J. Hum. Evol.* 2003. V. 45. P. 203–217.
- Stoneking M. Ancient DNA: how do you know when you have it and what can you do with it? // *Amer. J. Hum. Genet.* 1995. V. 57. P. 1259–1262.
- Stringer C. Modern human origins: progress and prospects // *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B.* 2002. V. 357. P. 563–579.
- Stringer C.B., Andrews P. Genetic and fossil evidence for the origin of modern humans // *Science.* 1988. V. 239. P. 1263–1268.
- Tattersall I. Out of Africa: modern human origins special feature: human origins: out of Africa // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2009. V. 106. P. 16018–16021.
- Taylor G.M., Young D.B., Mays S.A. Genotypic analysis of the earliest known prehistoric case of tuberculosis in Britain // *J. Clin. Microbiol.* 2005. V. 43. P. 2236–2240.
- Thomas R.H., Schaffner W., Wilson A.C., Paabo S. DNA phylogeny of the extinct marsupial wolf // *Nature.* 1989. V. 340. P. 465–467.
- Tito R., Macmil S., Wiley G. *et al.* Phylotyping and functional analysis of two ancient human microbiomes // *PLoS ONE.* 2008. V. 3. № 11. e3703.
- Torroni A., Achilli A., Macaulay V. *et al.* Harvesting the fruit of the human mtDNA tree // *Trends Genet.* 2006. V. 22. P. 339–345.
- Troy C.S., MacHugh D.E., Bailey J.F. *et al.* Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle // *Nature.* 2001. V. 410. P. 1088–1091.
- Underhill P.A., Kivisild T. Use of Y-chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations // *Annu. Rev. Genet.* 2007. V. 41. P. 539–564.
- Wang L., Oota H., Saitou N. *et al.* Genetic structure of a 2,500 years old human population in China and its spatiotemporal changes // *Mol. Biol. Evol.* 2000. V. 17. P. 1396–1400.
- Watanabe T., Ishiguro N., Nakano M. *et al.* Prehistoric introduction of domestic pigs onto the Okinawa islands: ancient mitochondrial DNA evidence // *J. Mol. Evol.* 2002. V. 55. P. 222–231.
- Watanabe T., Ishiguro N., Okumura N. *et al.* Ancient mitochondrial DNA reveals the origin of *Sus scrofa* from Rebun Island, Japan // *J. Mol. Evol.* 2001. V. 52. P. 281–289.
- Willerslev E., Cooper A. Ancient DNA // *Proc. R. Soc. Lond. B.* 2005. V. 272. P. 3–16.
- Willerslev E., Hansen A.J., Poinar H.N. Isolation of nucleic acids and cultures from ice and permafrost // *Trends Ecol. Evol.* 2004. V. 19. P. 141–147.
- Wolpoff M.H., Hawks J., Caspari R. Multiregional, not multiple origins // *Amer. J. Phys. Anthropol.* 2000. V. 112. P. 129–136.
- Wolpoff M.H., Hawks J., Frayer D.W., Hunley K. Modern human abcestry at the peripheries: a test of the replacement theory // *Science.* 2001. V. 291. P. 293–297.
- Woodward S.R., Weyand N.J., Bunell M. DNA sequence from Cretaceous period bone fragments // *Science.* 1994. V. 266. P. 1229–1232.
- Xie C.Z., Li C.X., Cui Y.Q. *et al.* Evidence of ancient DNA reveals the first European lineage in Iron Age Central China // *Proc. R. Soc. Lond. B.* 2007. V. 274. P. 1597–1601.
- Yao Y.G., Kong Q.P., Man X.Y. *et al.* Reconstructing the evolutionary history of China: a caveat about inferences drawn from ancient DNA // *Mol. Biol. Evol.* 2003. V. 20. P. 214–219.
- Zawicki P., Witas H.W. HIV-1 protective CCR5-Delta32 allele in medieval Poland // *Infect. Genet. Evol.* 2008. V. 8. P. 146–151.
- Zink A.R., Grabner W., Reischl U. *et al.* Molecular study of human tuberculosis in three geographically distinct and time delineated populations from ancient Egypt // *Epidemiol. Infect.* 2003. V. 130. P. 239–249.
- Zink A., Haas C.J., Reischl U. *et al.* Molecular analysis of skeletal tuberculosis in an ancient Egyptian population // 2001. *J. Med. Microbiol.* V. 50. P. 355–366.

PALEOGENETIC ANALYSIS IN ARCHAEOLOGICAL STUDIES

A.S. Pilipenko¹, V.I. Molodin²

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: alexpil@bionet.nsc.ru;

² Institute of Archaeology and Ethnography, SB RAS, Novosibirsk, Russia

Summary

The article deals with the present-day methodological level of paleogenetics. The range of currently existing applications of molecular genetics to various types of archaeological materials and fruitful integration of ancient DNA analysis in multidisciplinary archaeological research are considered. Critical analysis of studies on DNA from archaeological materials, including those conducted by the author, is quoted. Further prospects of this line of inquiry are discussed.

Key words: paleogenetics, interdisciplinary approach in archaeology, ancient DNA, ethnogenesis reconstruction.