

ÚJ IRÁNYOK AZ MTA BTK RÉGÉSZETI INTÉZETÉNEK ARCHEOGENETIKAI KUTATÁSAIBAN

SZÉCSÉNYI-NAGY ANNA – MENDE BALÁZS GUSZTÁV¹

Az eltűnt korokból származó, örökítőanyagot tartalmazó emberi és állati maradványok molekuláris genetikai vizsgálata olyan kérdésekre próbál választ adni, mint az egyes csoportok/személyek közötti közvetlen genetikai kapcsolat és annak típusa, különböző területek és régészeti korok populációinak eredete és rokonsági kapcsolata, a népességekre jellemző betegségek kórokozóinak molekuláris evolúciója és járványtani kérdései. Az archaikus minták vizsgálatában alkalmazott technológiák napjainkra már a legmagasabb szintű molekuláris genetikai módszertanra és eszközparkra épülnek, a kinyert archaikus DNS-adatok egyre jobb minőségűek és informatívabbak, így kiértékelésük egyre komolyabb bioinformatikai tudást kíván. A régészeti-történeti kontextusban való interpretáció pedig csak az egyes tudományterületek magas szintű együttműködésével lehet teljes. Az alábbiakban szeretnénk bemutatni az MTA BTK Régészeti Intézet Archeogenetikai Laboratóriumában folyó kutatások új irányait, melyek jól mutatják a régészeti kutatás és a bioarcheológia tudományterületeinek összefogását és az együttműködés struktúráját.

Az archeogenetika vagy más néven régészeti genetika az 1980-as évek második felében, a polimeráz láncreakció (PCR) felfedezésével és egyre terjedő használatával párhuzamosan kialakult tudományterület. A PCR egy olyan az enzimátikus folyamat, amely lehetővé teszi a régészeti lelőhelyeken feltárt, egykor élt élőlények maradványaiban igen kis mennyiségben fennmaradt DNS-molekulák felsokszorozását, így azoknak detektálását és további analizisét. A PCR alapú vizsgálati módok közel húsz éven át szolgálták az archeogenetikát, amely az 1990-es években gyors fejlődésnek indult. Az archaikus DNS-t analizáló, gomba módra szaporodó cikkek minősége és hitelessége azonban megosztotta a terület kutatóit.² Legkomolyabb gondot a humán DNS-vizsgálatok hitelessége és a leírt DNS-szekvenciák esetleges modern szennyeződése jelentette.³ A DNS feltárásának módszertani fejlődése, a laboratóriumi protokollok kanonizálása a 2000-es évek végére lehetővé tette nagy mennyiségű ősi minta PCR és Sanger-típusú szekvenálással végrehajtott tipizálását.⁴ Azonban ezek a tömeges vizsgálatok is csak igen rövid (párszor 100–200 nukleotid hosszúságú) szakaszaira koncentráltak például a közel 3 milliárd nukleotid párból álló humán genomnak. Az archeogenetika második forradalma 2005-től indult, amikor először tesztelték archaikus mintákon az új generációs szekvenátorokat (angol rövidítéssel NGS, azaz Next Generation Sequencing). Az első archaikus humán genomot 2010-ben közölték,⁵ napjainkra pedig már az archeogenomika, más néven paleogenomika önálló tudományterületté fejlődött.

A teljes archaikus genomokat random szekvenáló NGS módszerek még napjainkban is jelentős költségigénnyel bírnak. A folyamatosan fejlődő DNS feltárási és DNS könyvtárkészítési protokollok ugyan sokat javítanak a ráfordítás/eredmény rátán, mégis igen kevés, jó lefedettséggel szekvenált archaikus humán genom (<100) tudtak mostanáig előállítani. A népességek, populációk genetikai történetének kutatása során a

¹ Magyar Tudományos Akadémia Bölcsészettudományi Kutatóközpont Régészeti Intézet

² Stoneking, Mark: Ancient DNA: how do you know when you have it and what can you do with it? *Am. J. Hum. Genet.* 57 (1995), 1259–1262; Cooper, Alan: Reply to Stoneking: ancient DNA – how do you really know when you have it? *Am. J. Hum. Genet.* 60 (1997)/4, 1001–3.

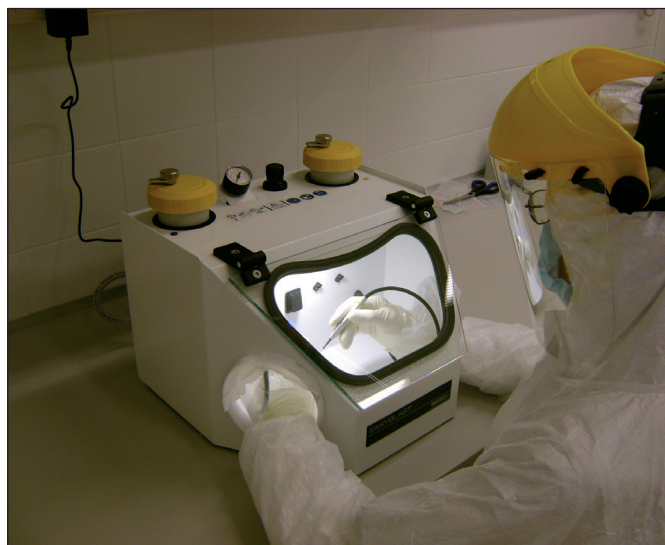
³ Cooper, Alan – Poinar, Henrik N.: Ancient DNA: do it right or not at all. *Science* 289 (2000), 530–531.

⁴ Brandt, Guido et al.: Ancient DNA reveals key stages in the formation of Central European mitochondrial genetic diversity. *Science* 342:6155 (2013), 257–61. Doi: 10.1126/science.1241844.

⁵ Rasmussen, Morten et al.: [Ancient human genome sequence of an extinct Palaeo-Eskimo](#). *Nature* 463 (2010), 757–762.

teljes hosszában szekvenált humán genomok jelentős része feldolgozatlan marad, a jelenleg még többnyire ismeretlen funkciójú genomi régiók kutatása során. A random szekvenálás mellett kialakultak az NGS megközelítés variánsai is, melyek célzottan vizsgálják tömeges számú (390–1240 ezer) nukleotidpozíciót (SNP – *single nucleotide polymorphism*) a humán genomból.⁶ Ez a módszer az őskori népek esetén elegendő információt biztosít népmozgások, népcsoportok keveredéseinek detektálására.⁷ Az őskor végi, ókori és népvándorlás kori migrációk viszont olyan mértékben keverték össze Európa lakosságát, hogy a földrajzilag közel élő népek génállományainak különbségei jelentősen lecsökkentek. A kora középkori archeogenomikai kutatások ezért teljes egészében szekvenált archaikus és recens genomokban keresnek olyan ritka variánsokat, melyek lehetővé teszik például az angolszász migráció (5–7. század) mai Nagy-Britanniában megfogható genetikai örökségének a korábbiaknál pontosabb becslését.⁸

Az archeogenetika és archeogenomika fentebb felvázolt kutatási trendjébe az MTA Bölcsészettudományi Kutatóközpontjának Régészeti Intézete több szálon is bekapcsolódik. 2004-óta működik itt egy célzottan régészeti korú csontmaradványok genetikai vizsgálataira kialakított Archeogenetikai Laboratórium (1–2. kép). Az NKFP 5. keretprogramban Raskó István és Bálint Csanád professzorok vezetésével elnyert pályázati és más akadémiai forrásokból felszerelt laboratórium eszközparkja a 2010-es években az MTA infrastruktúra fejlesztési pályázatainak elnyert összegekből jelentősen bővült. Mára a nemzetközi szinten is jól felszerelt, két egységből (pre-PCR és post-PCR) álló laboratórium adottságai lehetőséget adnak az új generációs szekvenálási technikák alkalmazására is. A 2015 őszen megvásárolt Illumina MiSeq szekvenátor használatával a korábban vizsgált, néhány száz nukleotid hosszúságú DNS-szakaszok (pl. mitokondriális



1. kép: Archaikus minták tisztítása az Archeogenetikai Laboratóriumban fogtechnikai homokfúvó kamra használatával



2. kép: A DNS-könyvtárak készítése PCR fülke alatt zajlik



3. kép: Illumina MiSeq szekvenátor készülék

⁶ Mathieson, Ian et al.: Genome-wide patterns of selection in 230 ancient Eurasians. *Nature* 528 (2015), 499–503. Doi:10.1038/nature16152.

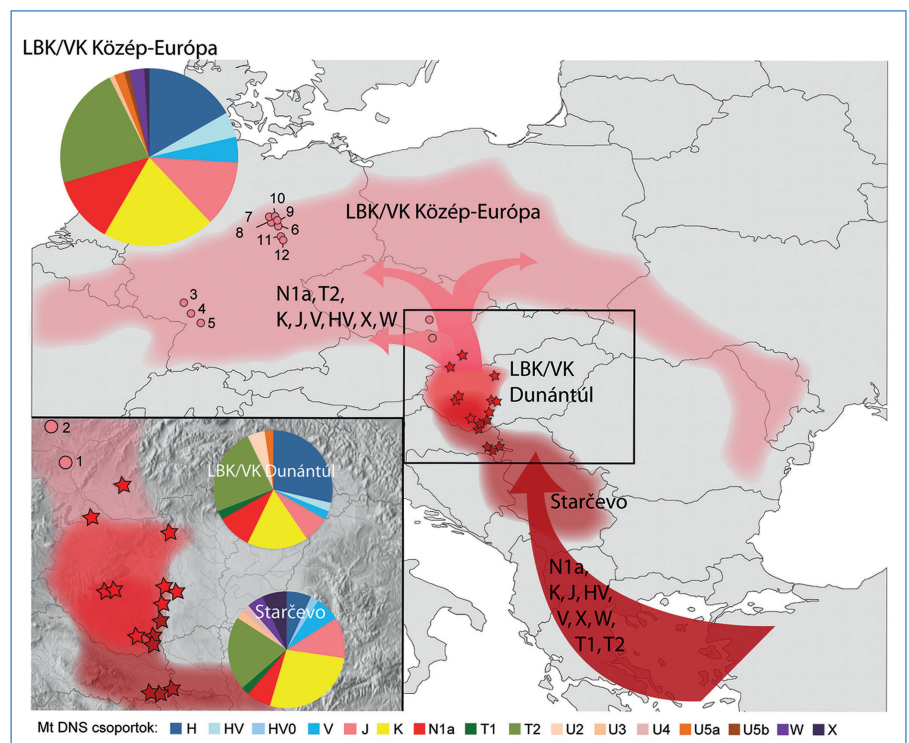
⁷ Haak, Wolfgang et al.: Massive migration from the steppe was a source for Indo-European languages in Europe. *Nature* 522/7555 (2015), 207–11. Doi: 10.1038/nature14317.

⁸ Schiffels, Thomas et al.: Iron Age and Anglo-Saxon genomes from East England reveal British migration history. *Nat Commun.* (2016)/7, 10408. Doi: 10.1038/ncomms10408.

DNS kontrollrégiója) helyett NGS technológiával több millió nukleotidot vizsgálhatunk egy szekvenáló futás során (3. kép). A DNS-szálak sokszoros leolvasásának köszönhetően az eredmények hitelesítéséhez már nincs szükség a felszaporított DNS-molekulák baktériumokba transzformálására, az úgynevezett klónozásra, majd ismételt szekvenálásukra. A laboratóriumi munkák időigénye részben a klónozás kiesése folytán jelentősen csökkent, azonban az adatok értékelése a korábbinál magasabb szintű bioinformatikai tudást, képzettséget igényel.

A 2010–2014 között futó, Német Kutatási Alap által finanszírozott német–magyar bioarcheológiai kutatási program archeogenetikai része még a mitokondriális DNS csupán 400 nukleotid hosszúságú szakaszára (HV-I régió) koncentrált (4. kép).⁹ Az ezen projekt keretében feldolgozott és előszűrt, közel 600 újkőkori minta közül laboratóriummunka tovább vizsgálja a legjobb állapotúakat, többek között a harvardi *Medical School* Genetika Tanszék és a jénai *Max Planck Institute for the Science of Human History* archeogenetikai laboratóriumainak együttműködésével. A budapesti labor végzi a minták elsődleges, tiszta pre-PCR labort igénylő feldolgozását, a DNS feltárását és az úgynevezett DNS-könyvtárak készítését. Ezekben a DNS-könyvtárakban archiválják az ősi DNS-t, amelyek különféle megismételhető vizsgálatok alapjául szolgálnak. A DNS-szálakat enzimatis javítás és felszaporítás után egyedi, molekuláris bárkódokkal látjuk el. Az új genomikai kutatást kibővítettük további 150 rézkori és bronzkori ember csontmaradványainak vizsgálatával, így lefedve a Kárpát-medence középső részének 4000 éves őstörténetét. Célunk egyrészt a teljes mitokondriális genom térképezése (400 helyett 16 569 nukleotidpár hosszan), amely a korábbinál sokkal pontosabb mitokondriális csoportmeghatározásokat tesz lehetővé. Továbbá az anyai öröklődésű mitokondriális leszármazási vonalak mellett az apai Y-kromoszómális vonalakat is nagy felbontásban térképezzük. A többlépcsős szűrőn átjutott minták közül a jó DNS-megtartással bírók egy 1240 ezer pozíciót szelektíven vizsgáló, ún. *hybridisation capture* (hibridizációs befogás) alá esnek a Harvardon. A kutatás utolsó fázisában tervezzük a jelentős endogén DNS-tartalommal bíró minták teljes genom szekvenálását.

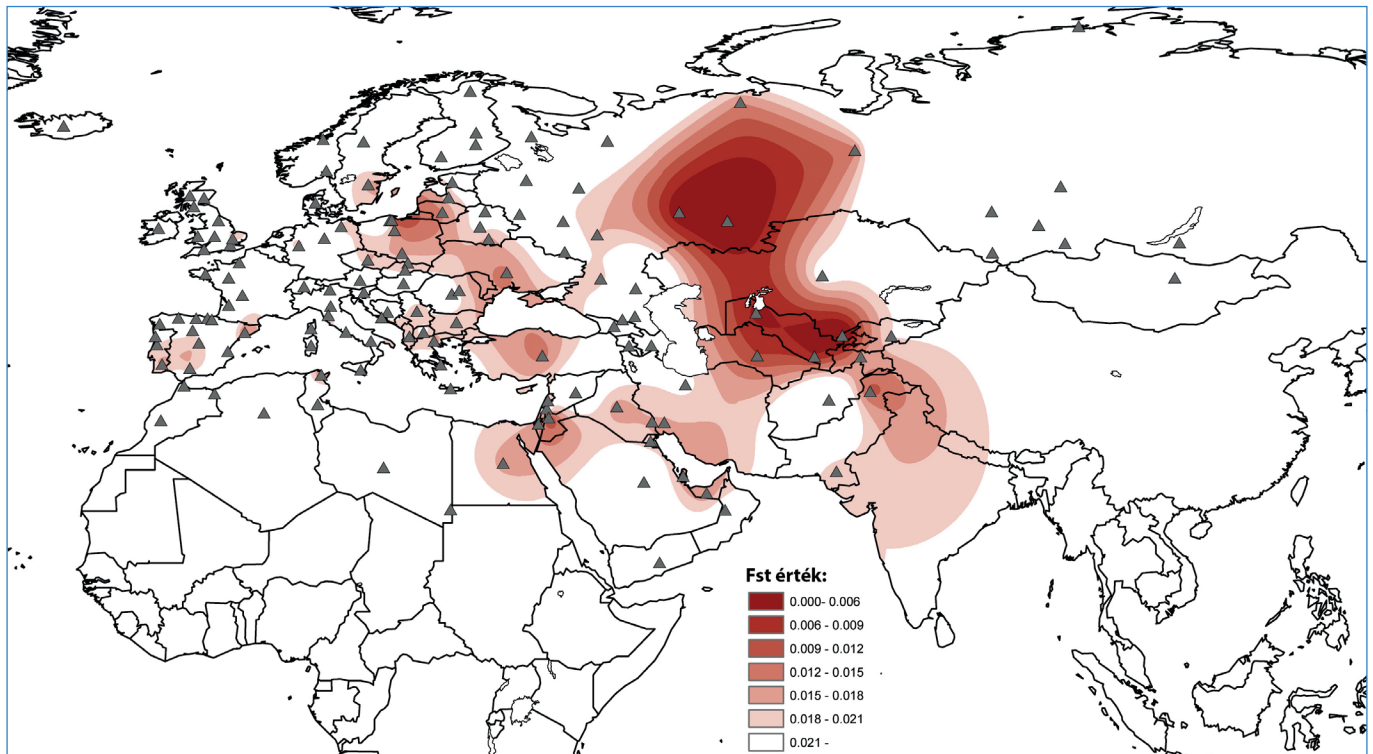
Az MTA BTK Régészeti Intézetének Archeogenetikai Laboratóriuma a kezdetektől jelentős hangsúlyt fektetett a magyar etnogenezis kutatására. Mitokondriális DNS-típezéseket elsősorban a 6–11. századi Kárpát-medence



4. kép: A mitokondriális „neolitikus csomag”. A neolitikáció terjedésének régészeti-kulturális nyomai (piros területek) és a mitokondriális genetikai vizsgálatok haplocsoport szintű eredményei (Szécsényi-Nagy 2015 alapján)*

⁹ Bánffy Eszter: [Német-magyar bioarcheológiai kutatási program az MTA BTK Régészeti Intézetben](#). *Magyar Régészet* 2013 Nyár; Szécsényi-Nagy, Anna et al.: Tracing the genetic origin of Europe's first farmers reveals insights into their social organization. *Proc. Roy. Soc. B*, 282 (2015), 20150339. DOI: 10.1098/rspb.2015.0339.

* Szécsényi-Nagy, Anna: [Molecular genetic investigation of the Neolithic population history in the western Carpathian Basin/ Molekulargenetische Untersuchungen zur Bevölkerungsgeschichte des Karpatenbeckens](#). ArchiMeD (2015) Mainz, Germany.



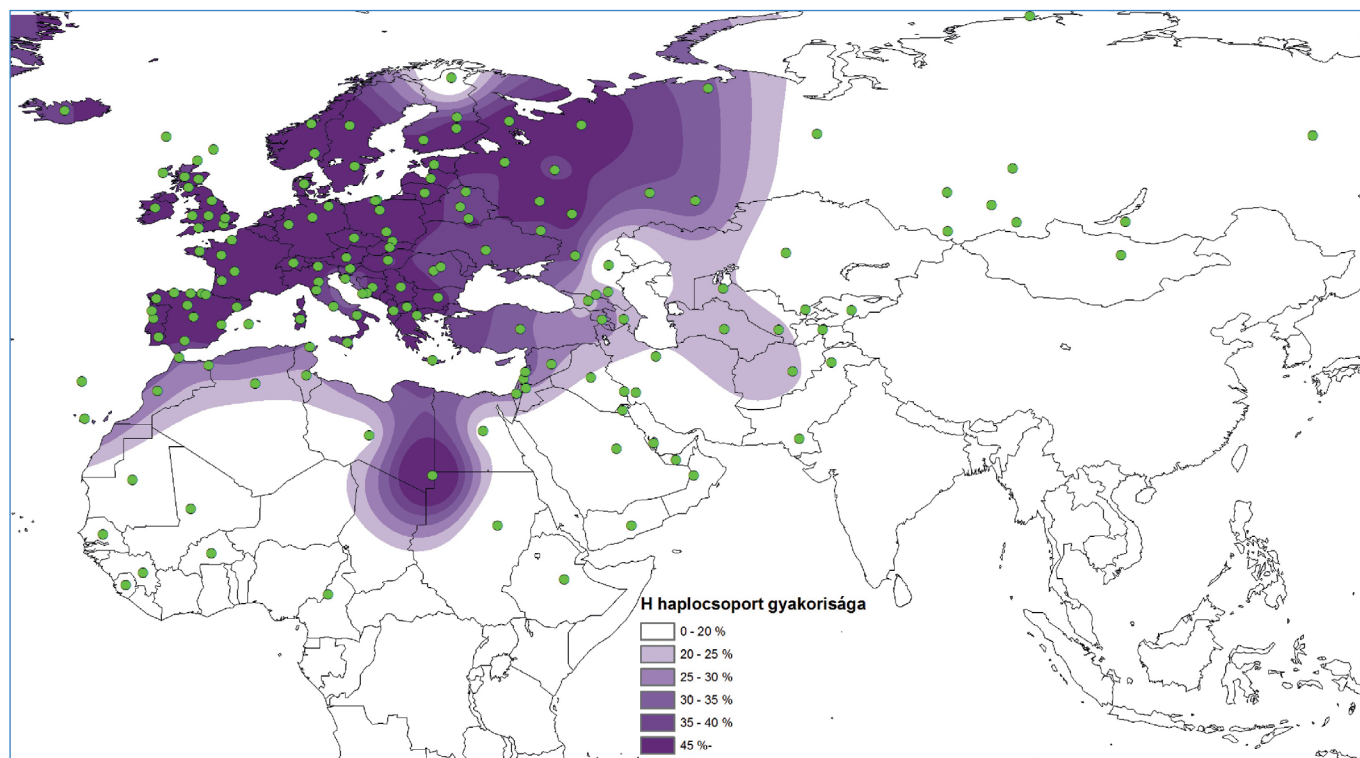
5. kép: A honfoglaló magyarok anyai génállományának genetikai kapcsolatai. A térkép genetikai távolságokat ábrázol, amelyeket a 10. századi Kárpát-medencei minták ($n=102$) és 144 mai populáció között számítottunk a mitokondriális DNS HV-I régiója alapján (lásd Csősz et al. 2016)

sírleletein végeztünk (5. kép)¹⁰ A honfoglalás kori népesség keleti kapcsolatrendszerét a 8. századi szaltovói kultúrkör sírjainak mitokondriális DNS-elemzéseivel vizsgáltuk.¹¹ Bevonva kutatásainkba a honfoglaló magyarság szállásterületeinek peremvidékén élt szláv-magyar népesség temetőit is, a nyitrai Konstantin Filozófus Egyetemen és a komáromi Selye János Egyetemen együttműködve elemeztük Nitra-Šindolka 10–12. századi temetőjét. A sikeresen tipizált, Nitra-Šindolkán eltemetett 14 egyén, kiegészítve a 9–12. századi csekeji (Čakajovce) temetőben feltárt nyolc személy mitokondriális típusával, egy középkori viszonylatban jellegzetesen vegyes, de többségében a mai európaiakhoz közel álló anyai génállományról tanúskodik.¹² Az eddigi, közel 400 nukleotidpár hosszúságú mitokondriális DNS-szakasz helyett az új irányt vett magyar őstörténeti kutatásainkban már szintén teljes mitokondriális genomokat szekvenálunk. Ez a részletes térképezés lehetővé teszi az olyan, széles földrajzi régiókban elterjedt mitokondriális csoportok meghatározását, mint például a mai Európában leggyakoribb és a honfoglalóknál is 22%-ban megjelenő H haplocsoport (6. kép). Az elmúlt években a Türk Attila által vezetett oroszországi és ukrainai expedíciók során felgyűjtöttük azokat a mintákat, amelyek magyar vonatkozású leletanyaggal eltemetett sírokból jelenleg ismertek és elérhetőek. Ez a mintasor alapját adja egy új kutatási projektnek, amelyet az ELTE TTK Biológia Doktori Iskola PhD programjával együtt indítottunk.

¹⁰ Csősz Aranka – Mende Balázs Gusztáv: Beszámoló a Kárpát-medence 7–10. századi népességén végzett archeogenetikai vizsgálatok eredményeiről. In: *Magyar Őstörténet. Tudomány és hagyományörzés*, szerk. Sudár Balázs – Szentpéteri József – Petkes Zsolt – Lezsák Gabriella – Zsidai Zsuzsanna (Budapest: MTA BTK, 2014), 173–179.

¹¹ Csősz, Aranka – Mende, Balázs Gusztáv – Langó, Péter: Arheogenetičeskie issledovani â materialov saltovskoj i drevnevengrskoj kul'tur. In: *Centr pam'jatkoznavstva NANU Starožitnosti Livoberežnogo Podniprov'â/Antiquities of the Dnieper Left Bank Regions* (Kiev: Institut Arheologii Nacional'noi Akademii nauk Ukraini, 2012), 94–101.

¹² Csáky Veronika et al.: Maternal Genetic Composition of a Medieval Population from a Hungarian-Slavic Contact Zone in Central Europe. *PLoS ONE* 11(3): e0151206. doi:10.1371/journal.pone.0151206. (2016)



6. kép: A mitokondriális H haplocsoport elterjedése recens populációkban. A zöld körök a felhasznált mintapoolok elhelyezkedését jelölik; a sötétlila szín 45%-nál nagyobb H haplocsoport frekvenciát jelent**

Az NGS-típusú vizsgálati sort kiterjesztjük az apai leszármazási vonalak, az X-kromoszóma és a testi kromoszómák vizsgálatára is. Az Y-kromoszómális típusok variabilitását összevetve a teljes mitokondriális genomokkal a magyar őstörténet szempontjából releváns női és férfi maradványokból nyert genetikai vonalak migrációs mintázatainak esetleges különbségeire derülhet fény, illetve olyan társadalmi szokásokról árulhatnak el genetikai információkat, mint a patrilocális és az exogámia egyes formái. A sejtmagi autoszómák diploid voltak, rekombinációjuk és öröklődési módjuk révén a vizsgált egyén számos ősenek genetikai örökségét hordozzák. Tömeges SNP-tipizálással teljes populációk összetett genetikai örökségére, múltjára következtethetünk akár 5–10 egyén SNP-profilját elemezve népszerűenként. Eredményeinket az egyre bővülő publikált genomikai adatsorokhoz illesztve, adott populáció genetikai eredetét, összetételét, más népségekkel történő keveredésének mértékét állapíthatjuk meg. A magyar őstörténeti projekt¹³ legjobb DNS-tartalmú mintáin teljes genom szekvenálását tervezzük, a jénai MPI és a Harvard Medical School közreműködésével.

Az archaikus maradványok szóra bírhatósága terén azonban nem csak a humán DNS-állományok kutatásában következett be jelentős fejlődés. Az emberi szervezet kórokozójának DNS-maradványai ugyanis ugyanúgy megtalálhatók a különböző mintákból feltárt izolátumokban, mint az ember saját örökítőanyaga.¹⁴ A kórokozók kutatása nemcsak azok evolúciója és differenciálódása szempontjából áll az érdeklődés homlokterében, hanem a patogéneknek az emberi populációval, illetve az ember környezetében felbukkanó, sok esetben domesztikált állatfajokkal való koevolúciója miatt is. Míg a klasszikus módszerek általában csak a kórokozó kimutatására voltak alkalmasak,¹⁵ egyre mélyebb felbontású módszerek és a több kóroko-

¹³ A vizsgálatok elvégzéséhez szükséges források biztosítására az MTA Lendület projekt keretében adtunk be interdiszciplináris pályázatot Türk Attila vezetésével, ennek elbírálása folyamatban van.

¹⁴ Rasmussen, Morten et al.: Early Divergent Strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 Years Ago. *Cell* 163 (2015), 1–12.

¹⁵ Pósa, Annamária et al.: Tuberculosis in Late Neolithic-Early Copper Age human skeletal remains from Hungary. *Tuberculosis (Edinb.)* 95 Suppl 1, (2015) S18–22. Doi: 10.1016/j.tube.2015.02.011.

** Csósz, Aranka – Szécsényi-Nagy, Anna et al.: Maternal genetic ancestry and legacy of 10th century AD Hungarians. Előkészületben, 2016.

zó DNS-jegyeit egyszerre kereső, összetett hibridizációs befogások lehetőséget adnak arra, hogy az egyes betegségek megjelenését összefüggésbe hozzuk a humán populáció genetikai variabilitásának, környezet-földrajzi jellemzőinek, mozgásának alakulásával. Különösen releváns kérdés ez a laboratóriumunk egyik fő kutatási időszakában, a neolit és bronzkori népességmozgások idején. Ezért a kielői egyetem (Institut für Klinische Molekularbiologie) közreműködésben szűrünk újkőkori, a tuberkulózis csonttani tüneteit mutató emberi és állati maradványokat több betegségre, köztük elsősorban tbc-re, fiatal kutatói ösztöndíjasunk részvételével. A járványos betegségek kutatása olyan kérdésekben is a régészeti kutatás segítségére lehet, mint az eddig nem ismert háttérű rézkori többszemélyes temetkezések/tömegsírok kérdése. Ezekben az esetekben felmerül, hogy az eddig leginkább rituális okra visszavezetett jelenség háttérében a népességet egyszerre rövid időn belül sújtó, nagy demográfiai hatással járó járvány állhat. Ennek kutatását a jénai laboratóriummal közösen tervezzük.

A laboratórium hatékony működtetésében több szempont is szerepet játszik: a projektszerzés, ami főként a nemzetközi és hazai partnerekkel való állandó kapcsolattartást és projektorientált együttműködést jelent. Ezzel párhuzamosan szükséges a laboratóriumi munka feltételeinek állandó, de legalábbis az egyes projektek tekintetében folyamatos biztosítása. Más összetett kutatási területekhez hasonlóan itt sem könnyű a humán erőforrás-technológia-vegyszerköltségek hármasszögét megteremteni és fenntartani, főként a hazai finanszírozási keretek között. Az archeogenetikai/genomikai kutatásban a nemzetközi tudományos fórumokon való tartós, versenyképes jelenlét feltételei a hazai kutatási struktúrában nem adóttak, ezért a nemzetközi tudományossággal való, külső szemlélő számára néhány esetben alárendelt jellegűnek tűnő kapcsolat a laboratóriumunk működésének nemcsak igénye, hanem az erőforrások és technológiai lehetőségek allokációjának szükség szerinti velejárója is.

Az archeogenetikai laboratórium működtetése nem csak a molekuláris genetikai vizsgálatok technológiáinak kialakítását és metódusainak elsajátítását jelenti. A kutatott régészeti korszak, jelenség, csoport genetikai adatai csak a régészeti kontextus és más bioarcheológiai területek adataival együtt nyernek értelmet. Ezért ez a jellegű munka klasszikus teammunka, amelyben a mintavételezéstől az informatikai és statisztikai adatok értelmezésén keresztül a régészeti-történelmi interpretációig minden kutató szakértelmére szükség van. Így kedvező kimenetel esetében a fent vázolt kutatásaink nemzetközi és hazai eredményessége nemcsak a laboratórium munkatársainak, hanem a Régészeti Intézet és az együttműködő tudományterületek képviselőinek is közös sikere.

AJÁNLOTT IRODALOM

BOLDOG ZOLTÁN – PETKES ZSOLT – SUDÁR BALÁZS – TÜRK ATTILA

[Az őshazától a Kárpátokig. – A leletektől a viseletekig. Vándor poszterkiállítás a magyar őstörténet és honfoglaláskor régészeti kutatásának újabb eredményeiről.](#) *Magyar Régészet* (2015)/ ősz.

BRANDT, GUIDO – SZÉCSÉNYI-NAGY, ANNA – ROTH, CHRISTINA – ALT, KURT W – HAAK, WOLFGANG
Palaeogenetics of Europe – the known knowns and the known unknowns. *Journal of Human Evolution* 79 (2015), 73–92.

HAGELBERG, ERIKA – HOFREITER, MICHAEL – KEYSER, CHRISTINE

Ancient DNA: the first three decades. *Phil. Trans. R. Soc. B* 370 (2015), 20130371; Published 8 December 2014. DOI: 10.1098/rstb.2013.0371.

MENDE BALÁZS GUSZTÁV

[Archeogenetika és a honfoglalás kor népességtörténete: új módszer – régi problémák.](#) *Magyar Tudomány* 169 (2008)/10, 1188–1198.