

## ZPRÁVY Z PRACOVIŠŤ

## NOVÝ ANCIENT DNA RESEARCH TEAM NA ÚSTAVU ARCHEOLOGIE A MUZEOLOGIE FILOZOFICKÉ FAKULTY MASARYKOVY UNIVERZITY

### New Ancient DNA Research Team at the Department of Archaeology and Museology, Faculty of Arts, Masaryk University

Pavína Ingrová<sup>1</sup>, Denisa Zlámalová<sup>1,2</sup>,  
Jiří Macháček<sup>1</sup>, Zuzana Hofmanová<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Ústav archeologie a muzeologie, Filozofická fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika

<sup>2</sup> Katedra antropologie a genetiky člověka, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika

<sup>3</sup> Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Leipzig, Germany

Využití analýzy starobylé DNA (aDNA z anglického *ancient DNA*) v různých vědeckých oborech, zejména archeologii či antropologii, je dnes čím dál častější, spíše je již jejich nedílnou součástí. Vzhledem k stále pokročilejším metodám může tato analýza pomoci určit pohlaví, zdravotní status jedince, stanovit příbuzenství, studovat migraci, sociální stratifikaci ad. (např. Bouwman, Brown, Prag & Brown, 2008; Hofmanová et al., 2016; Spyrou et al., 2019).

Počátkem roku 2021 proto vznikl na Ústavu archeologie a muzeologie Filozofické fakulty Masarykovy univerzity v Brně nový vědecko-výzkumný tým s názvem *aDNA Research Team*, který je otevřený spolupráci při plánování i implementaci výzkumných záměrů v této oblasti.

Tento tým na daném ústavu zřídil laboratoř pro sterilní odběr kosterních vzorků určených pro analýzu aDNA (obrázek 1). Laboratoř sestává z více samostatných místností, které slouží k oddělení jednotlivých činností, aby bylo zamezeno kontaminaci vzorků. Velký důraz je také kladen na minimalizaci poškození materiálu při vzorkování.

#### Ukázka činnosti laboratoře a odběru vzorků

V laboratoři jsou za sterilních podmínek prováděny odběry kostního prášku ze všech kostí skeletu a jiných vzorků. V následujících odstavcích Vám budou stručně představeny nejčastější možnosti odběru kostního prášku z lidského kosterního materiálu (i vzhledem k míře zachování aDNA) prováděné v laboratoři.

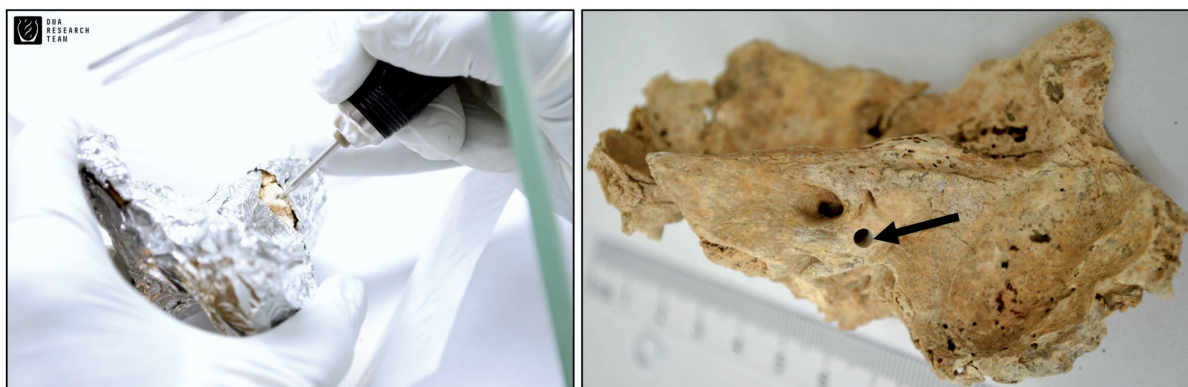
#### *Pars petrosa*

V posledních letech bývají pro odběr vzorků na analýzu aDNA preferovány spánkové kosti (konkrétně *pars petrosa*), které vykazují vysokou míru zachování této starobylé DNA (Pinhasi et al., 2015). Členové týmu jsou vyškoleni na odběr kostního prášku dle předepsaných protokolů na standardizovaném místě nedaleko *meatus acusticus internus* (obrázek 2; Orfanou, Himmer, Aron & Haak, 2020). Výhodou tohoto odběru kromě možnosti vysoké míry zachování DNA je skryté místo odběru, ale také malé množství, které je na analýzu aDNA potřeba (cca 50 mg, které stačí na dvě nezávislé extrakce), což činí tuto metodu méně invazivní.

V případě, že není *pars petrosa* volně přístupná z vnitřní strany, nebo ji nelze jemně z lebky vyjmout, je možnost navrtání vně zespod báze lebni (Sirak et al., 2018; obrázek 3). Tato metoda však vyžaduje velkou čistotu celé lebky (aby nedocházelo k velké kontaminaci kostního prášku hlinou) a zásah do *pars petrosa* může být invazivnější oproti předchozí metodě (mírně odlišná lokace vrtání, větší ztráta prášku uvnitř lebky atd.). I přesto je však tento odběr v naší laboratoři realizovatelný.



Obrázek 1. Prostora laboratoře. Foto: Denisa Zlámalová (vlevo), Martin Košťál (vpravo).



Obrázek 2. Ukázka odběru kostního prášku z *pars petrosa ossis temporalis*. Foto: Martin Košťál (vlevo), Denisa Zlámalová (vpravo).



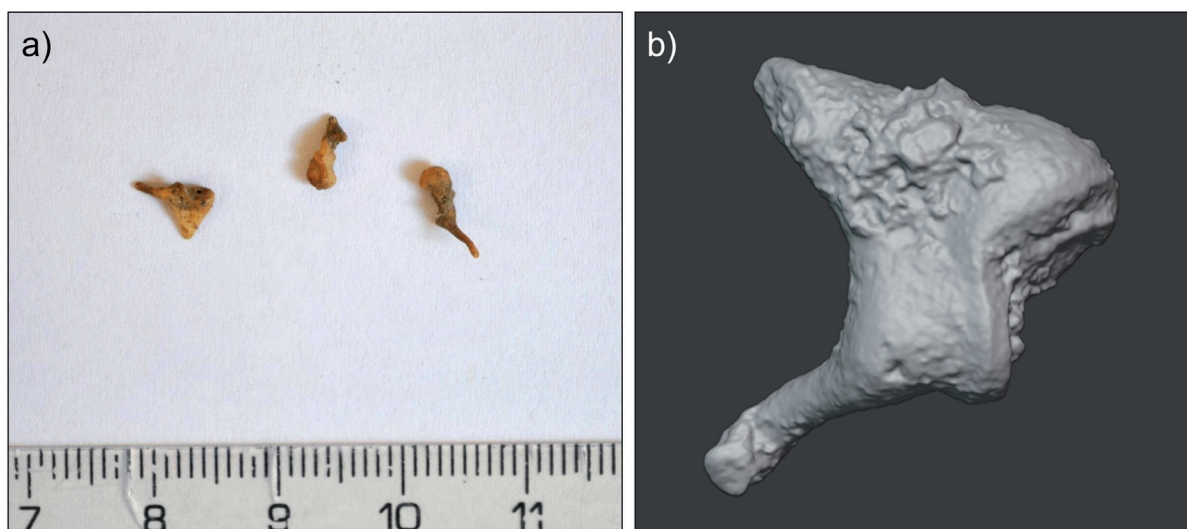
Obrázek 3. Ukázka odběru z *pars petrosa* vně báze lebni: odstranění části kosti, aby byl možný přístup ke standardizovanému místu odběru (vlevo), vrtání v místě odběru (uprostřed), výsledek po vrtání (vpravo). Foto: Pavlína Ingrová.

### Sluchové kůstky

Druhou možností, pokud není *pars petrosa* přístupná z vnitřní strany, je sterilní odběr sluchových kůstek (zejména *malleus* a *incus*, obrázek 4a), pokud jsou ve zvukovodu uchovány. Podle studie Sirak et al. (2020) vykazují také ušní kůstky velkou mírou zachování aDNA, podobně jako je tomu u *pars petrosa*. Tento postup bývá preferován před vrtáním *pars petrosa* z vnější strany báze lebni.

### Zuby

Po *pars petrosa* jsou nejčastěji v naší laboratoři odebírány vzorky ze zubů (Neumann, Valtuena, Fellows Yates & Brandt, 2020). Zuby totiž také vykazují vysokou mírou uchování aDNA, ač o něco málo nižší, než je tomu u *pars petrosa* (Parker et al., 2020). Další výhodou zubů je i možnost analyzovat DNA patogenů přenášených krví (např. *Yersinia pestis*; Spyrou et al., 2019). Zub je v tomto případě rozdělen v oblasti



Obrázek 4. Ušní kůstky (*malleus* a *incus*, a), 3D model kovadlinky (*incus*, b). Foto: Pavlína Ingrová (a), 3D model: Vojtěch Nosek (b). Model dostupný na odkazu: <https://sketchfab.com/3d-models/poh-2019-179-9e02c58d6ee443118b09e9b15f4b126d>.



**Obrázek 5.** Ukázka odběru vzorků ze zubů s možností rozpadu kořenů (uprostřed) či korunky (vpravo). Foto: Pavlína Ingrová.

krčku a navrtáván v dřevěné dutině, kde v období života byla přítomnost krve a patogenů nejpravděpodobnější (obrázek 5).

Jedná se o méně destruktivní metodu, než je tomu u sluchových kůstek, avšak ne vždy zub zůstane pouze na 2 části (může dojít např. k rozpadnutí korunky, rozdělení kořenů). Proto je vhodné zároveň zvážit využití zbylých částí zubu či navrtaného kostního prášku i na další analýzy, např. izotopové. Nicméně, ve většině případů k rozpadu nedojde a zub je možné rekonstruovat a navrátit do čelisti bez viditelných známek proběhlého vzorkování. V některých případech po poradě s kurátory provádíme také odběr ze zubu v čelisti *in situ*. Vibrace při vrtu ale neumožňují zcela vyloučit možnost poškození zubu či jiných částí lebky a výsledná DNA nemusí být tak kvalitní.

#### Zubní kámen

Dle standardizovaných protokolů se členové týmu zabývají také sterilním odběrem zubního kamene, který je bohatý zejména na DNA orálního mikrobiomu (Warriner, Velsko & Fellows Yates 2020).

#### Individuální přístup a interdisciplinární spolupráce

I přes standardizaci některých uvedených postupů odběru přistupujeme ke každému kosternímu vzorku individuálně. Pokud není zachována ta část kosti, která je optimální pro odběr vzorku, aplikujeme na kosti po poradě s kurátory i jiné postupy/metody. Dále odebíráme DNA z artefaktů, patologických elementů a kostí jiných zvířecích druhů. Kromě samotného odběru vzorků v naší laboratoři provádíme výběr kosterního materiálu s kurátory přímo na vědecko-výzkumném pracovišti. Jsme schopni také uskutečnit i sterilní odběr přímo *in situ* při odkryvu a vyzvednutí kosterních nálezů.

#### 3D modely

Protože se v případě odběru vzorků jedná o destruktivní metody: plně destruktivní u ušních kůstek, částečně destruktivní u zubů, nebo se jedná o zásah do integrity kosti (otvor v *pars petrosa*), je možné za pomoci kolegů z 3D Lab Ústavu archeologie a muzeologie Filozofické fakulty Masarykovy univerzity (Mgr. Vojtěch Nosek, Bc. Martin Košťál, kontakt: vojtechnosekUAM@gmail.com) vytvořit 3D modely kostí a zubů, včetně sluchových kůstek (obrázek 4b), prostřednictvím *Structure from Motion* (obrazová korelace, běžně také fotogrammetrie), nebo 3D skenerem.

#### Financování a projekt

Laboratoř vznikla za finanční podpory projektu GX21-17092X *The Formation of Multi-ethnic Complex Societies in Early Medieval Moravia. Collective Action Theory and Interdisciplinary Approach*. Hlavním cílem tohoto projektu je prozkoumat vznik a dynamiku raně středověké středoevropské společnosti a populace v době od 6. do 10. století. Kromě komplexní analýzy raně středověkých sídlišť a pohřebišť z Moravy (popř. České republiky) je klasický archeologický a antropologický výzkum doplněn například o archeogenetiku. Z hlediska

archeogenetiky jsou hlavní cíle: a) studium příbuzenské struktury zachované na raně středověkých pohřebišťích a b) dopad migrace na formování raně středověkých společností. Více informací o tomto projektu je k dispozici např. na internetových stránkách <https://www.phil.muni.cz/formor>.

#### Spolupráce a projekty

Členové týmu spolupracují s odborníky z různých zemí světa, archeologickými pracovišti, muzei či vědecko-výzkumnými institucemi. Kromě výše uvedeného projektu se **aDNA Research team** v současnosti podílí na analýze aDNA pro mezinárodní ERC Synergy projekt HistoGenes (<https://www.histogenes.org/>), který si klade za cíl propojit archeologii, antropologii, historii a genetiku a vrhnout nové světlo na vývoj lidské společnosti v centrální Evropě mezi lety 400 a 900 n. l. Dále členové laboratoře úzce spolupracují s Max Planck Institutem v Lipsku, ve kterém jsou používány nejnovější a nejpřičkovější (laboratorní a bioinformatické) metody a vybavení. Mezi další spolupracující instituce patří Univerzita ve Fribourgu ve Švýcarsku, Univerzita Stony Brook v New Yorku, UCL v Londýně, IAS v Princetonu, ELTE v Budapešti a Národní muzeum ve Vídni.

V laboratoři tak pracujeme na projektech z různých období – od neolitu až po novověk. Ročně naší laboratoři projdou tisícovky vzorků. Úzce spolupracujeme s archeology a antropology na přípravě projektů zaměřených antropologicky i archeologicky s archeogenetickou částí. Jsme otevření spolupráci a v případě zájmu je možné kontaktovat členy týmu. Zároveň se naše vědecko-výzkumné pracoviště zaměřuje i na výuku a popularizaci vědy formou odborných přednášek pro odbornou i laickou veřejnost a příprav muzejních expozic.

#### Členové vědecko-výzkumného aDNA Research týmu jsou:

Zuzana Hofmanová, Dr. rer. nat. (hofmanova@mail.muni.cz; kontaktní osoba) – archeogenetička, vedoucí týmu a zároveň Group Leader na *Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology* v Lipsku.

Mgr. Pavlína Ingrová, Ph.D. (ingrova.p@mail.muni.cz) – antropoložka, technička.

Mgr. Denisa Zlámalová (zlamalova.denisa@gmail.com) – archeogenetička, technička, studentka doktorského studijního programu.

#### Poděkování

Článek je výstupem projektu GA ČR EXPRO *The Formation of Multi-ethnic Complex Societies in Early Medieval Moravia. Collective Action Theory and Interdisciplinary Approach* (FORMOR), kód projektu GX21-17092X.

Někteří členové týmu byli také spolufinancováni projektem Evropské výzkumné rady (ERC), který je součástí programu Evropské unie Horizon 2020 *research and innovation* (grantová dohoda n° 856453 ERC-2019-SyG).

Chtěli bychom poděkovat kolegům z 3D Lab ÚAM za spolupráci při fotodokumentaci prostorů laboratoře a tvorbě 3D modelů.

**Literatura**

- Bouwman, A., Brown, K., Prag, A., & Brown, T. (2008). Kinship between burials from Grave Circle B at Mycenae revealed by ancient DNA typing. *Journal of Archaeological Science*, 35, 2580-2584.
- Hofmanová, Z., Kreutzer, S., Hellenthal, G., Sell, C., Diekmann, Y., Díez-del-Molino, D., ... Burger, J. (2016). Early farmers from across Europe directly descended from Neolithic Aegeans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113, 6886-6891.
- Neumann, G. U., Valtuena, A., Fellows Yates, J. A., Stahl, R., & Brandt, G. (2020). Tooth Sampling from the inner pulp chamber for ancient DNA Extraction. protocols.io <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bqebmtan>. Version created by Gunnar Neumann.
- Orfanou, E., Himmel, M., Aron, F., & Haak, W. (2020). Minimally-invasive sampling of pars petrosa (os temporale) for ancient DNA extraction. protocols.io. <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bqd8ms9w>. Version created by Eleftheria Orfanou.
- Parker, C., Rohrlach, A. B., Friederich, S., Nagel, S., Meyer, M., Krause, J., ... Haak, W. (2020). A systematic investigation of human DNA preservation in medieval skeletons. *Scientific Reports*, 10(1), 18225.
- Pinhasi, R., Fernandes, D., Sirak, K., Novak, M., Connell, S., Alpaslan-Roodenberg, S., ... Hofreiter, M. (2015). Optimal Ancient DNA Yields from the Inner Ear Part of the Human Petrous Bone. *PLOS ONE*, 10(6), e0129102.
- Sirak, K. A., Fernandes, D. M., Cheronet, O., Novak, M., Gamarra, T. B., Balassa, T., ... Pinhasi, R. (2017). A minimally-invasive method for sampling human petrous bones from the cranial base for ancient DNA analysis. *BioTechniques*, 62(6), 283-289.
- Sirak, K., Fernandes, D. M., Cheronet, O., Harney, E., Mah, M., Mallick, S., ... Pinhasi, R. (2020). Human auditory ossicles as an alternative optimal source of ancient DNA. *Genome Research*, 30(3), 427-436.
- Spyrou, M., Keller, M., Tukhbatova, R., Scheib, C., Nelson, E., Andrades Valtueña, ... Krause, J. (2019). Phylogeography of the second plague pandemic revealed through analysis of historical *Yersinia pestis* genomes. *Nature Communications* 10(1).
- Warinner, C., Velsko, I., & Fellows Yates, J. A. (2020). Dental Calculus Field-Sampling Protocol (Warinner Version). protocols.io. <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.7hphj5n>.