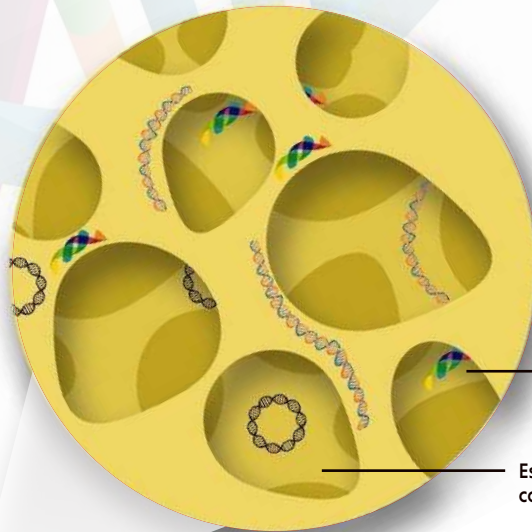


PALÉO- GÉNÉTIQUE MODE D'EMPLOI



ADN

Esquilles d'os
contenant de l'ADN

1

PRÉPARATION D'UN ÉCHANTILLON OSSEUX

Un échantillon est prélevé par réduction en poudre de l'intérieur d'un os, afin d'obtenir un mélange de minuscules esquilles d'os contenant des fragments d'ADN ancien ou moderne (contaminant). La très grande majorité de l'ADN provient de champignons, bactéries et autres microorganismes du sol venus vivre dans le cadavre après la mort ; malgré toutes les précautions prises, des contaminations avec de l'ADN humain moderne, du manipulateur ou de personnes ayant été en contact avec l'os, sont aussi possibles.

6

IDENTIFIER L'ESPÈCE PAR L'ADN

D'autres algorithmes comparent le génome ainsi obtenu à divers génomes de référence afin de mesurer les distances génétiques entre populations. On s'intéresse en particulier au nombre de variations ponctuelles d'un génome à l'autre. En effet, plus ces variations, nommées SNP (pour *single nucleotid polymorphism*), sont nombreuses, plus les chances sont grandes que les individus comparés appartiennent à deux formes humaines distinctes. En général, le nombre de SNP différenciant deux individus d'une même espèce est faible (environ une variation sur 1000 chez *H. sapiens*), mais bien plus grand lorsqu'on compare l'ADN de deux espèces (environ une base sur 100 entre une espèce humaine et le chimpanzé) ou de deux formes humaines (environ une variation sur 250 entre *Homo sapiens* et les Néandertaliens ou Denisoviens). Le nombre de SNP distinguant Néandertaliens et Denisoviens est également assez grand pour que l'on distingue ces deux formes. Ces mêmes SNP ont aussi permis de distinguer l'ADN des Denisoviens du nord (celui du fossile Denisova 1) de celui de Denisoviens du sud, passé dans les génomes des Papous et des Aborigènes d'Australie.

Génome humain de référence

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

Séquences obtenues du génome ancien

T C C A A A G C A T

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T C C A A A G C A T C A C C A C C A A T A A C T C A T C A T T C C A T A G T G A A T G G A C A G T C

T signalant
la désamination
de la cytosine

Variation ponctuelle
entre génome ancien et
génome de référence

Erreur
de séquençage
manifeste

5

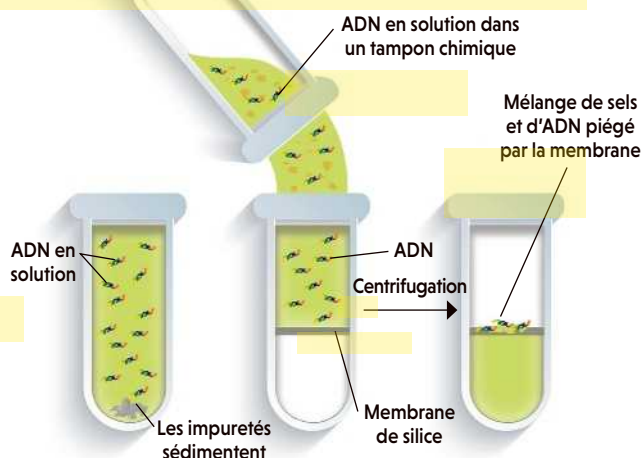
RECONSTITUTION DE L'ADN

Les algorithmes de puissants ordinateurs comparent les séquences obtenues à un ou plusieurs génomes de référence (par exemple le génome de sapiens) afin de reconstituer numériquement le génome ancien. Ils s'appuient sur le fait que ces génomes présentent de grandes similarités. Peu à peu, les fragments de séquences s'assemblent comme un long puzzle linéaire où le nombre de redondances est un gage de fiabilité. Afin de ne pas confondre les séquences correspondant à de l'ADN ancien avec d'éventuels contaminants modernes, les algorithmes traquent aussi les endroits des séquences analysées où ils lisent T au lieu de C par rapport au génome de référence. Ces T sont des indices qu'il s'agit bien de séquences anciennes. Pourquoi ? Parce que lorsque l'ADN vieillit, les cytosines de l'extrémité des fragments ont tendance à se muer en une autre base, l'uracile U, mais l'amplificateur transforme systématiquement ces U en T. Ce sont ces T de remplacement qui prouvent que l'ADN est ancien.

2

EXTRACTION CHIMIQUE DE L'ADN

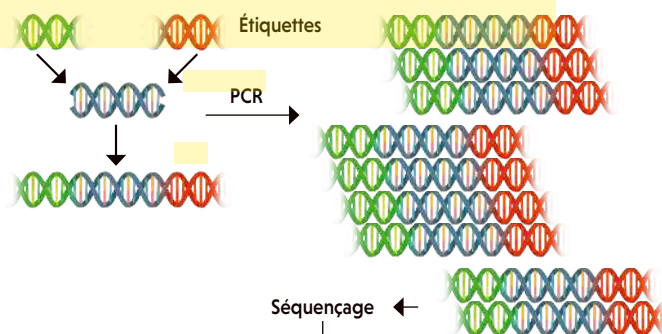
La poudre est placée dans une solution enzymatique afin de dissoudre la matrice osseuse enserrant l'ADN ancien. Après une centrifugation qui sépare l'ADN des restes osseux, on récupère l'ADN en filtrant la solution obtenue à travers une membrane de silice. Un sel chimique et un alcool ajoutés à la solution avant la filtration facilitent la récupération des fragments d'ADN, y compris les plus petits : une étape importante pour récupérer l'ADN ancien, qui, dégradé par le temps, est très fragmenté. Enfin, l'ADN est remis en solution.



3

PRÉPARATION DES FRAGMENTS

À l'aide de diverses manipulations génétiques, on flanque les fragments d'ADN avec des « étiquettes » (ci-dessus en rouge et vert), des séquences connues qui indiquent le début et la fin des fragments et que le séquenceur sera capable de décrypter. Les fragments ainsi modifiés sont ensuite « amplifiés » : on en produit de multiples copies au moyen d'une réaction enzymatique de polymérisation en chaîne, ce qui permettra au séquenceur de les détecter.



GCTATCGGGTCATACTATAAGATTCGCAATGCGACTTATA
AGATGCCCTTAACGGTATCGCAACTTGGCATGTGCCTGCTAT
GCTAATGCATATCTCGCCAGTAGCTTCCAATATGAG
AGCATCAATTGTAGATCGGGCCGGGATAATCATGTCTGTCAC
GGAAGTACTGTAAGAGTAATAATTTAAAGAGATGTCGGTTT
GCTGGTTCACGTAAGGTCCTCGCGCTA
CCTTAAGTAAGTGAGCGGTCGTG
ACATTATCCCTGATTTCTCACTACTATTAGTACTC
ACGGCGCAATTCACCACAGCCTTGTCTCGCCAGAATGC
CAGTCAGCATAAGGAAGAGCTCAAGGCAGGTCAACTCGCACTGT
GAGGGTACATGG

4

SÉQUENÇAGE

L'échantillon amplifié est alors séquencé : les fragments d'ADN sont traduits en successions de quatre lettres – A, T, G et C – correspondant à l'enchaînement de petites molécules constitutives de l'ADN (les bases azotées adénine, thymine, guanine et cytosine).

Un gène dénisovien permet aux Tibétains de vivre en altitude

➤ Certaines protéines, comme le collagène, ont en effet une longévité beaucoup plus grande que l'ADN. Et les molécules constituant le collagène sont constituées par une solide chaîne d'acides aminés dont la séquence est codée le long de l'ADN nucléaire. Or nous avons réussi à extraire des protéines dégradées de notre fossile. En comparant leur structure avec celle codée dans l'ADN des Denisoviens, un des membres de mon équipe, Frido Welker, a pu montrer en mai 2019 qu'elles leur étaient apparentées. Pour la première fois un Denisovien était identifié à plus de 2000 kilomètres de la grotte de Denisova.

Cette découverte permet de résoudre un mystère entourant l'origine d'un allèle du gène *EPAS1* répandu chez les habitants actuels du Tibet. La protéine qu'il code améliore le transport de l'oxygène dans l'organisme, et facilite ainsi la vie dans une atmosphère raréfiée en oxygène. Ce gène figurait dans la liste des quelques gènes hérités des Denisoviens par des populations asiatiques vivant en haute altitude. Pourtant la grotte de Denisova se trouve à une élévation de seulement 700 mètres et point n'était besoin de posséder ce gène pour y vivre. Xiahe apportait la solution : c'est en fait beaucoup plus au sud, aux confins de l'Himalaya que la sélection de ce trait s'était opérée chez les Denisoviens. Le nouveau fossile levait aussi une partie du voile sur la morphologie dénisovienne et surtout permettait un rapprochement avec d'autres fossiles chinois. Notre étude a notamment souligné la forte ressemblance entre le fossile de Xiahe et une demi-mandibule récoltée au fond de la mer de Chine, entre Taïwan et le continent, celle de Penghu, dont tout porte à croire désormais qu'elle appartenait à un autre Denisovien. Les dimensions des deux fossiles sont très proches. Ces individus n'ont jamais développé de troisième molaire, à la différence de la très grande majorité des spécimens humains anciens ; et, surtout, tous deux présentent un caractère très particulier : ➤