

IL DNA ANTICO: UN EFFICACE STRUMENTO PER RICOSTRUIRE LA STORIA DELL'UMANITÀ

Gianfranco Biondi e Olga Rickards

A cura di Sandra Simonelli

I primi resti dell'uomo di Neanderthal, una calotta cranica e alcune ossa lunghe, furono trovati per caso nel 1856 nella grotta di Feldhofer, nella Valle di Neander, in Germania. In quell'occasione non fu possibile datare il sito e nessuno pensò ad annotare la posizione esatta della grotta perciò se ne persero le tracce e soltanto alla fine del secolo scorso, durante alcuni scavi in quella zona un incredibile colpo di fortuna portò alla luce molti fossili tra cui un frammento di splanocranio che si adattava perfettamente alla calotta trovata nel 1856. Il ritrovamento fu determinante non soltanto per l'importanza del reperto ma anche perché le moderne tecniche di datazione permisero di stabilire che quei reperti risalivano a 40.000 anni fa.

Al momento del primo ritrovamento, però, avvenuto quando Charles Darwin non aveva ancora pubblicato *L'origine delle specie*, l'esistenza di una specie umana diversa dalla nostra, più antica ed ormai estinta era inconcepibile, perciò quelle ossa furono considerate umane e recenti e le loro particolari caratteristiche furono attribuite a deformazioni, causate da patologie e dallo stile di vita. Alcuni particolari dello scheletro indussero persino gli antropologi a riconoscerci i segni della demenza, della crudeltà e dell'inclinazione criminale, fantasie dalle quali si dissociarono alcuni scienziati tra cui Charles Lyell e Thomas Huxley, più rigorosamente scientifici, che si mostrarono già inclini ad ammettere che quei resti fossero antichi, anche se non troppo perché la struttura anatomo-morfologica dei reperti sembrava essere molto simile alla nostra.

Con la diffusione della teoria evolutiva darwiniana molte cose cambiarono e il mondo scientifico valutò i fossili con occhi diversi, accettando la possibilità che prima della comparsa della nostra specie fossero esistiti altri uomini, diversi da noi, finché, nel 1864, William King convinse il mondo scientifico che i reperti della Valle di Neander presentavano caratteri strutturali estranei al nostro taxon e appartenevano ad un'altra specie che fu classificata con il nome di *Homo neanderthalensis*.

In seguito la teoria di Darwin trovò conferma nella scoperta di molti altri reperti, che andarono ad arricchire il record fossile neandertaliano, e nel ritrovamento, in Asia, di alcuni resti fossili che, per la loro struttura anatomo-morfologica, sembravano appartenere ad un taxon più antico dell'*H. neanderthalensis*. La scoperta di questa specie, inizialmente denominata *pitecantropo* e poi classificata come *Homo erectus*, indusse Gustav Schwalbe a sostenere che la nostra specie poteva essere il risultato di una serie di passaggi evolutivi, da un antenato simile ad un'antropomorfa al pitecantropo, da questo all'*H. Neanderthalensis* ed infine all'uomo attuale.

Questi risultati, raggiunti attraverso lo studio anatomo-morfologico dell'antropologia classica, pur essendo notevoli, non riuscirono tuttavia a risolvere le controversie sull'origine e l'evoluzione della nostra specie, sia perché i caratteri che permettono di collocare un reperto in un taxon piuttosto che in un altro sono spesso mescolati tra loro e può capitare di trovare qualche caratteristica antica in una specie moderna, sia perché questi caratteri non sono sempre coerenti con la datazione; inoltre gran parte dei reperti consiste in frammenti di ossa la cui valutazione in termini di appartenenza ad una specie o ad un'altra è fortemente soggettiva e quindi non sempre condivisa.

Le cose sono migliorate notevolmente da quando, a metà del secolo scorso, l'analisi genetica ha affiancato l'antropologia classica e, già alla fine degli anni Ottanta, gli antropologi molecolari Rebecca Cann, Mark Stoneking e Allan Wilson, attraverso l'analisi del DNA mitocondriale di un campione di persone di tutti i continenti, sono riusciti a risalire per via materna ad un'antenata comune, che risultò essere vissuta in Africa circa 200.000 anni fa.

Questa scoperta ha posto fine alla controversia durata anni tra i sostenitori del modello *Out of Africa* e il modello *multi regionale*. Secondo il modello *Out of Africa* la specie *H. sapiens*, sarebbe nata in Africa, circa 200.000 anni fa per effetto di una speciazione puntiforme, avrebbe sostituito la specie madre africana e poi, una volta migrata *fuori dall'Africa*, avrebbe sostituito sia l'*Homo*

erectus che viveva in Asia che l'*Homo Neanderthalensis* in Europa, senza incrociarsi con loro; secondo il *modello multiregionale*, invece le specie ancestrali si sarebbero evolute, gradualmente e separatamente in un'unica specie, *H.sapiens*, nell'arco di due milioni di anni, incrociandosi geneticamente tra loro.

Un'ulteriore passo avanti nella ricerca delle nostre origini è stato compiuto quando, negli anni Sessanta del secolo scorso, si è riusciti ad estrarre DNA antico (aDNA) da una mummia di 2000 anni fa.

Il recupero del aDNA da resti mummificati o fossilizzati provenienti da scavi o conservati nei musei, non è semplice perché, con la decomposizione dei tessuti molli, il DNA si degrada in frammenti sempre più piccoli. Si è visto, però che nelle ossa e nei denti fossili, alcune molecole si mantengono abbastanza integre o in frammenti abbastanza lunghi. Ciò è dovuto al fatto che le cellule ossee ed i cementoblasti sono protetti dall'aggressione dei microrganismi dal tessuto rigido che le racchiude e lo scarso contenuto in acqua ed enzimi ne permette la mummificazione. Dal materiale scheletrico, quindi, si possono recuperare frammenti di aDNA lunghi fino a mille basi, purché i reperti non siano più vecchi di 150.000-100.000 anni, almeno per il materiale umano.

Teoricamente sarebbe possibile reperire anche frammenti di aDNA in reperti di uno o due milioni di anni perché questo sembra essere il tempo di fossilizzazione, ma fino a questo momento il DNA più antico che si è riusciti a recuperare risale a 450.000-400.000 anni fa.

In prevalenza si utilizza aDNA mitocondriale perché, essendo presente nelle cellule in molte copie uguali, ha una probabilità maggiore di essere recuperato integro rispetto al DNA nucleare, comunque, anche se la quantità di DNA utile recuperato è minima, è possibile risolvere il problema grazie alla PCR (*Polymerase Chain Reaction* o *reazione a catena della polimerasi*), una tecnologia che permette di amplificare, nel giro di qualche ora, un segmento di DNA, fino a ottenere milioni di copie.

Il DNA antico ha permesso di chiarire la posizione tassonomica dei neandertaliani nella sottofamiglia degli ominini e il loro rapporto filogenetico con la nostra specie quando Svante Pääbo, nel 1977, è riuscito ad estrarlo dal reperto di Felhofer. Dall'analisi risultò che il numero di mutazioni nella sequenza dell'mtDNA erano tre volte maggiori rispetto quelle riscontrate in media in popolazioni umane attuali e ciò significava che i neandertaliani dovevano aver intrapreso un percorso evolutivo diverso dal nostro, che la classificazione in due sottospecie di *Homo sapiens* (*Homo sapiens sapiens* e *Homo sapiens neanderthalensis*) non è lecita e che tra noi e l'uomo di Neanderthal non c'è alcun rapporto di discendenza diretta.

A conferma di questo risultato, il mtDNA dell'uomo di Neanderthal risulta molto diverso da quello recuperato da fossili di alcuni *H.sapiens* antichi che, invece, è confrontabile con il nostro.

La possibilità di incrocio tra noi e i neandertaliani è dell'ordine di 120 incroci in 15.000 anni. Ciò ci permette di supporre che i due taxa fossero reciprocamente sterili e quindi appartenenti a due specie diverse.

Qualche anno più tardi, il sequenziamento di una parte considerevole del DNA nucleare neandertaliano ha permesso di confrontarlo col nostro e con quello degli scimpanzé, evidenziando, notevoli differenze nei cromosomi sessuali che fanno supporre l'esistenza di una possibile barriera riproduttiva tra queste specie. Il confronto ha anche confermato che la divergenza tra *H. sapiens* e *H. neanderthalensis* dovrebbe risalire a circa 320.000 anni fa, in accordo con i risultati dell'analisi del DNA mitocondriale.

Altri risultati sono stati ottenuti dall'analisi genomica effettuata su DNA recuperato da due reperti, uno rinvenuto in Italia l'altro in Spagna, che ha permesso di stabilire che quei neandertaliani avevano probabilmente i capelli rossi e la carnagione chiara e forse erano anche capaci di utilizzare una qualche forma di linguaggio articolato.

Per definire la pigmentazione si è studiato il gene *MC1R*, che controlla il recettore della *melanocortina 1*, implicato nella pigmentazione in tutti i vertebrati. Nella nostra specie, alcune mutazioni che riducono la funzionalità di questo recettore si manifestano a livello fenotipico con il colore rosso dei capelli e con la pelle chiara. Nel gene *MC1R* dei due neandertaliani è stata rilevata

una mutazione puntiforme capace di ridurre l'attività del recettore, come è stato dimostrato sperimentalmente inducendo la mutazione in cellule umane e controllandone l'espressione, perciò è lecito supporre che i due individui esaminati, abbiano avuto i capelli rossi e la carnagione chiara.

E' interessante notare che, nella nostra specie, questa particolare mutazione del gene *MC1R* non è mai stata riscontrata finora e ciò significa che in *H.sapiens* e *H.neanderthalensis* il fenotipo capelli rossi e pelle chiara si è evoluto in modo indipendente, come risposta adattativa ad un ambiente dove la luce, necessaria a produrre vitamina D, è più scarsa.

Per quanto riguarda la capacità di utilizzare un linguaggio articolato, si è studiato il gene *FOXP2* situato sul cromosoma 7. Poche mutazioni di questo gene, infatti, producono menomazioni che rendono impossibile lo sviluppo di un linguaggio parlato. Le sequenze nucleotidiche del gene della nostra specie e quello dello scimpanzé presentano due mutazioni in due posizioni diverse mentre la sequenza nucleotidica del nostro gene e quella di due reperti neandertaliani rinvenuti in Spagna sono identiche, è quindi verosimile che quegli individui abbiano utilizzato un linguaggio articolato e complesso, possibilità confortata dal fatto che la conformazione dell'osso ioide dei neandertaliani è simile alla nostra.

Un nuovo metodo di sequenziamento del DNA, denominato PEC (*Primer Extension Capture*), con il quale è possibile analizzare anche frammenti molto piccoli e degradati di DNA, ha permesso di ricostruire l'intero genoma mitocondriale di cinque reperti neandertaliani datati tra 70.000 e 38.000 anni fa e di confrontarlo con quello moderno. Dal confronto di questi mtDNA e una sequenza precedentemente ottenuta da un reperto croato, e quelli di cento individui moderni, si è stimato che il livello di variabilità genetica intraspecifica nei neandertaliani era tre volte inferiore a quello della nostra specie. Ciò potrebbe dipendere da una distribuzione geografica limitata e di conseguenza da una popolazione numericamente ridotta, stimata da Pääbo in 70.000 individui. Se così fosse, la loro estinzione si potrebbe spiegare da un lato con una maggiore vulnerabilità ai cambiamenti climatici dovuta alla scarsa variabilità e dall'altra alla competizione con *H. sapiens* che, giunto dall'Africa in gran numero, avrebbe sostituito i neandertaliani dopo un periodo di convivenza.

Nel 2010 sono state messe a confronto le intere sequenze genomiche dei neandertaliani e della nostra specie. Da questo confronto si è potuto evidenziare che tutte le popolazioni della Terra condividono con i neandertaliani dall'1 al 4% del proprio genoma, tranne le popolazioni africane. Ciò si può spiegare ammettendo che *H. sapiens* si sia incrociato con *H.neanderthalensis*, anche se in sporadiche occasioni, dopo l'uscita dall'Africa, avvenuta circa 70.000 anni fa.

Da questa ibridazione potremmo aver ereditato, circa 40.000 anni fa, un allele del gene *MCPH1* che codifica per la microcefalia e influenza le dimensioni del cervello. L'inattivazione del gene è responsabile della microcefalia, ma non è ancora chiarito il funzionamento biochimico della proteina codificata da questo gene.

E' anche possibile che i nostri geni antichi non derivino da un incrocio con i neandertaliani ma siano stati ereditati da un antenato comune ad entrambe le specie. Il gene *TAS2R38*, che determina la percezione del gusto amaro, per esempio, è presente sia nel nostro genoma che in quello di *H. neanderthalensis* perciò la mutazione deve essersi fissata nel DNA prima della divergenza evolutiva.

Il nostro genoma corrisponde a quello dei neandertaliani per il 99,84 per cento e nella piccola frazione che resta sono localizzate le mutazioni accumulate dopo la divergenza delle due specie, quindi a partire da 440.000-270.000 anni fa. Queste mutazioni riguardano geni che codificano per proteine implicate nella cicatrizzazione e nel battito del flagello spermatico (*SPAG17*), nella pigmentazione (*TRPM1*), nel funzionamento delle ghiandole sudoripare e delle papille gustative (*RPTN*), nel diabete di tipo 2 (*THADA*), in alcune anomalie dello scheletro e dei denti (*RUNX2*) ed alcuni geni associati alle capacità cognitive come *DYRK1A* (implicato nella sindrome di Down), *NRG3* (implicato nella schizofrenia) e *CADPS2* e *AUTS2* (implicati nell'autismo). Quali diversità producano queste mutazioni a livello fisiologico, però, non è ancora chiaro.

Per quel che riguarda le capacità cognitive è interessante ricordare che esiste tra le due specie anche una diversa modalità nello sviluppo morfologico del cervello: alla nascita, la forma dei due encefali è la stessa ma nel corso del primo anno di vita cambia: nei neandertaliani mantiene la forma allungata mentre nella nostra specie tende a cambiare verso una conformazione tondeggiante.

Recentemente il record fossile ominino si è arricchito di qualcosa di nuovo. Nel 2008, infatti, nella grotta di Denisova, nella regione dell'Altai, in Siberia, è stata recuperata una flange risalente a 48.000-30.000 anni fa. La sequenza nucleotidica del mtDNA recuperato è risultata diversa sia da quella del nostro che da quella dei neandertaliani e, sulla base delle mutazioni nucleotidiche accumulate, la divergenza evolutiva dell'ominino siberiano sarebbe avvenuta circa un milione di anni fa, quindi molto prima della nostra separazione dai neandertaliani. L'analisi del DNA nucleare, però ha dato risultati discordanti secondo i quali denisoviani e neandertaliani sarebbero gruppi fratelli, derivati da un antenato comune 650.000 anni fa e la divergenza tra la nostra linea evolutiva e quella che ha portato ai loro due taxa, arretrerebbe a 800.000 anni fa.

Parte del genoma denisoviano è stato trovato in quello di popolazioni native della Nuova Guinea e della Melanesia, mentre non se ne è trovata traccia nei cinesi Han e nei mongoli che ora vivono nella regione dell'Altai, perciò gli incroci tra *H. sapiens* e denisoviani deve essere avvenuto in un luogo diverso dalla Siberia, quando quei nativi si erano ormai separati dal resto dell'umanità moderna e si può quindi concludere che nel tardo pleistocene i denisoviani erano distribuiti, in Asia su un'area piuttosto vasta.

Che i neandertaliani e i denisoviani siano convissuti, in quel periodo e in quell'area potrebbe trovare conferma in due reperti fossili: un cranio risalente a 200.000 anni fa che presenta caratteristiche anatomo-morfologiche estranee a tutti gli altri rappresentanti del genere Homo, e un molare trovato a Denisova che ha un DNA mitocondriale identico a quello della falange.

Nello studio della storia evolutiva di antiche popolazioni sono utilizzati anche metodi radiometrici. In natura lo stronzio è presente in natura in due forme isotopiche Sr^{87} e Sr^{86} e il rapporto Sr^{87}/Sr^{86} varia da luogo a luogo. Lo stronzio si fissa nei denti al momento della loro formazione nello stesso rapporto isotopico del luogo in cui l'individuo è nato perciò, se in un dente fossile il rapporto isotopico non corrisponde a quello del sito di ritrovamento vuol dire che l'individuo a cui apparteneva è nato altrove.

Questo tipo di indagine ha indicato che, in *Australopithecus africanus* e *Paranthropus robustus* risalenti ad un periodo tra 2,7 e 1,7 milioni di anni fa, dovevano essere le femmine, piuttosto che i maschi, ad allontanarsi dal gruppo di origine. Infatti almeno il 50% dei denti più piccoli, presumibilmente femminili, avevano un rapporto isotopico diverso da quello del suolo del sito mentre il 90% nei denti più grandi, presumibilmente maschili, i segnali isotopici erano identici.

Gli isotopi stabili del carbonio $^{13}CO_2$ e $^{12}CO_2$, invece, si fissano nelle piante in un rapporto che dipende dal tipo di fotosintesi effettuata dalla pianta. Le piante che utilizzavano la fotosintesi C4 (tipica delle specie che crescono in zone aride e fissano la CO_2 in composti a quattro atomi di carbonio), hanno un rapporto isotopico più alto delle piante C3 che fissano la CO_2 in composti a tre atomi di carbonio e vivono nelle zone temperate. Nei denti, il rapporto isotopico dipende dal tipo di pianta di cui l'individuo si è nutrito perciò il valore del segnale rilevato nei fossili è utilizzabile nelle ricostruzioni paleoambientali. L'analisi di alcuni denti fossili ha dimostrato che, contrariamente a quanto si credeva, il *Paranthropus boisei*, vissuto in Africa tra 2,3-1 milione di anni fa, dotato di mascelle possenti e grandi denti, non si cibava di noci, radici e piante coriacee ma piuttosto di erba e carici perché il segnale isotopico dei suoi denti rivela un'alimentazione a base di piante C4, come le piante erbacee della savana, e concorda col segnale rilevato nei denti fossili di mammiferi erbivori che abitavano lo stesso ambiente.

Il *P. boisei* aveva quindi una dieta diversa da quella dei primati attuali e probabilmente anche da quella degli altri ominini che, oltre a frutta, consumavano noci e semi anche carne.