

**Honfoglalók származásának és rokonsági
viszonyainak vizsgálata archaeogenetikai
módszerekkel**

Ph.D. értekezés tézisei

Neparáczi Endre

Témavezető: Dr. Török Tibor

Társtémavezető: Dr. Pálfi György

Biológia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem Természettudományi és
Informatikai Kar

Genetikai Tanszék

Szeged

2017.

A kutatás előzményeinek összefoglalása

A népcsoportok rokonsági és leszármazási viszonyainak vizsgálatában az utóbbi évtizedekben egyre nagyobb szerepet játszanak a genetikai vizsgálatok, melyek kezdetben ma élő emberekre korlátozódtak. A mai adatokból azonban csak közvetett módon következtethetünk az egykori őseinkre. Ezzel szemben a közelmúltban megjelent új tudományág, a régészeti genetika vagy archeogenetika közvetlen adatokkal szolgál, vagy bármely ősi népesség, például a honfoglalók származásáról rokonsági viszonyairól.

A hazai régészeti genetikai kutatások 2000-ben kezdődtek a Szegedi Biológiai Központban, Raskó István kutatócsoportjában. Itthon nekik sikerült először ásatag DNS izolálniuk és mtDNS haplotipizálási módszert kidolgozniuk. Vizsgálták a kunok eredetét, a magyar nyelvű populációk és a honfoglalók lehetséges genetikai kapcsolatait és néhány honfoglaló mintán Y-kromoszómás vizsgálatot (Tat) is végeztek.

Munkánk során sikerrel optimalizáltuk az ásatag DNS izolálásának módszerét, és adaptáltuk a legújabb haplotipizálási módszereket. Rutinra tettünk szert az ásatag csontokból izolált mitokondriális DNS haplotípusának meghatározásában, melynek során a szokásos HVR szakaszok szekvenálását kiegészítettük a kódoló szakaszok SNP haplotípus meghatározásával a

SNaPshot technika alkalmazásával. Ugyanezen módszerrel a jobb megtartású csontokból, meg tudtuk határozni az apai ág (Y kromoszóma) haplocsoportját is.

Az archeogenetikai kutatások területét az utóbbi néhány évben forradalmasította az újgenerációs szekvenálás (NGS) módszer alkalmazása. A laborban az elmúlt években elsajátítottuk az NGS könyvtár készítés módszerét. A beállított módszerekkel célul tűztük ki a honfoglaláskori minták nagyfelbontású genetikai vizsgálatának elvégzését egy kellően reprezentatív mintaszámon. Célunk volt néhány temető teljes anyagának vizsgálata, mely összehasonlítási alapul szolgálhat a további temetőkből és korszakokból később elvégzendő vizsgálatok számára, továbbá felderíthetők a temetőn belüli és temetők közötti rokonsági viszonyok is.

Alkalmazott módszerek

1. Csontminták porítása:
 - Porítás dremel kéziszerszámmal
 - Porítás csontmalommal
2. DNS kivonás ásatag leletekből (tömör csontból, foggyökér, sziklacsontból)
3. PCR amplifikálás
 - mitokondriális DNS amplifikálás
 - Y kromoszóma DNS amplifikálás
 - multiplex PCR
4. SNaPshot assay
5. Kapilláris elektroforézis
6. STR analízis
7. Új-generációs szekvenálás:
 - könyvtár készítés
 - mitokondrium genom dúsítás
 - genomiális dúsító kit összeállítása
 - szekvenálás kiértékelése
8. Statisztikai analízis:
 - populációgenetikai vizsgálatok
 - filogeneikai vizsgálatok

Elért eredmények és következtetések

Első kísérleteinkben a Karos-III. temető 19 sírjának 17 leletéből tudtunk sikeresen mtDNS-t kivonni és meghatározni az egyének anyai haplotípusát, a teljes HVR-I és a részleges HVR-II szakasz szekvenálásával, illetve a kódoló régió 22 SNP pontjának a meghatározásával. A 17 minta 7 fő haplocsoportba és 13 haplotípusba volt sorolható.

Haplocsoport megoszlása alapján ezen karosi populáció ősi európai és ősi ázsiai eredetű populációk keveredéséből származhatott. A populációgenetikai eredmények arra utaltak, hogy ez a keveredés valószínűleg i.e. 2000-700 táján, a bronzkor végén történhetett az Andronovo kultúra területén (mai Kazahsztán), mert a vizsgált populáció az innen származó ősi populációkkal és ma itt található modern populációkkal mutatta a leghasonlóbb haplocsoport megoszlást. A haplotípusok egy része arra utalt, hogy a karosi honfoglalók ősei innen nyugat felé vándorolva további európai genetikai elemekkel keveredtek. Fontos hangsúlyozni, hogy a karosi populáció egy része biztosan nem származhatott Ázsiából, mivel a bennük kimutatott X2f és a H5 mitokondriális haplocsoportok valamint az I2a és R1b1b Y haplocsoportok szinte teljesen hiányoznak erről a területről. Adataink alapján a karosiak végső összetétele valahol a kelet-európai sztyeppén alakulhatott ki, és az X2f, H5 haplocsoportok

elterjedtsége, valamint a T1a és J haplocsoportok gyakorisági adatai alapján arra következtettünk, hogy az ázsiai eredetű populációkkal keveredő népeségek egy része a Kaukázus vidékéről származhatott.

Kísérleteink második felében már dúsítással kombinált újgenerációs szekvenálással dolgoztunk, és ennek eredményeképp a Karos-I temetőből 11, a Karos-II temetőből 44, a Karos-III temetőből 18, a Sárrétudvari-Hízóföld temetőből 6, a Kenézlő-Fazekaszug-II temetőből 4, a Szegvár-Oromdülő temetőből 2 és a Magyarhomoróg, Orosháza-Görbici tanya, Szabadkígyós-Pálliget, Harta-Freifelt temetőkből 1-1 minta mtDNS genom szekvenciáját határoztuk meg. Ez a 89 minta tehát 3 temető csaknem teljes anyagát tartalmazza, ami nagyon reprezentatív mintaszámot jelent, a többi temetőből származó néhány minta eredményéből pedig arra tudunk következtetni, hogy azok mennyiben hasonlítanak, vagy térnek el a karosi eredményektől. Ezen nagy mintaszámú nagyfelbontású adatok alapján már nagy biztonsággal körvonalazható a honfoglalók származása.

Azonos mitokondrium genommal rendelkeznek, vagyis anyai ágon testvérek vagy unokatestvérek lehetnek a következő egyének: Karos-I/1-Karos-I/2, a Karos-I/3-Karos-I/5, a Karos-I/10-Karos-I/38, a Karos-II/9-Karos-II/60-Kenézlő-Fazekaszug-II/1027-Kenézlő-Fazekaszug-II/1045, a Karos-II/16-Karos-II/54, a Karos-

II/21-Karos-II/22, a Karos-II/31-Szabadkígyós-Pálliget/7/anc4, a Karos-II/52-Karos-III/11 (vezérek), a Karos-III/5-Karos-III/6, a Karos-III/7-Karos-III/8-Karos-III/9, a Karos-III/18-Karos-III/19. Ezek a rokonsági viszonyok arra utalnak, hogy a 3 karosi temető népessége egymástól markánsan elkülönül, az egyes temetőkön belül vannak rokonok, de temetők között között csak a vezérek testvérek. Meglepő módon azonban a többi temetőkből vett kis mintaszám ellenére is több valószínű közvetlen rokont találtunk az egyes karosi egyének és egyéb temetőkből származó egyének között. A temetők közötti rokonok hiánya, valamint a markánsan eltérő haplocsoport összetétel arra utal, hogy Karoson 3 hasonló összetételű de eltérő azonosságtudatú törzs telepedett le. Ha ehhez hozzávesszük, hogy a távoli temetők között viszont az azonos mtDNS genomok alapján közvetlen rokonok valószínűsíthetők az a következtetés adódik, hogy a Kárpát-medence elfoglalását követően az egyes törzseket megosztották, tagjaikat széttelepítették, és az egyes területekre különböző törzsek töredékeit telepíthették egymás mellé.

Összegzés

Kísérleteinket a nemzetközi követelménynek megfelelő ásatag DNS laborban végeztük az archaikus DNS izolálás és szekvencia analízis legmodernebb módszereivel. Ez kezdetben az mtDNS HVR régió szekvenálásával, és 22 mtDNS kódoló régióban elhelyezkedő SNP vizsgálatával (GenoCoRe22) történt, amely munkánk kezdetekor a legjobb módszernek számított. A PCR alapú módszerrel az Y kromoszóma esetében kizárólag azt a 25 SNP-t vizsgáltunk (GenoY25), melyek a főcsoport besorolásához szükségesek. Ezt a metodikát Magyarországon először nekünk sikerült alkalmazni, ez a ún. klasszikus módszer legfejlettebb változata az archeogenetika területén.

A továbbiakban is igyekeztünk lépést tartani a szakterület élvonalával, ezért áttértünk a dúsítással kombinált újgenerációs szekvenálásra. Első NGS munkáinkban újvizsgáltunk korábbi mintákat, és demonstráltuk a klasszikus és NGS módszer minősége közti különbséget. Kimutattuk, hogy az újgenerációs szekvenálással kapott eredmények tökéletesen megbízhatók, míg a PCR alapú haplotípus eredmények meglehetősen megbízhatatlanok.

További NGS szekvenálásokkal kibővítettük a honfoglaló leletekből készített teljes mitokondrium genom gyűjteményünket reprezentatív mennyiségűre (n=89). Ezt követően minden egyes lelet filogenetikai

leszarmazását meghatároztuk, amiből azt kaptuk, hogy a honfoglalók anyai ágon nagyrészt két különböző, jól körvonalazható földrajzi területről származtak: Kelet-Ázsiából, és Észak-Nyugat-Európából, továbbá egy kis részük a Kaukázus régióból, és Közel-Keletről.

Publikációk referált folyóiratban

Neparácski Endre MTMT azonosító: 10030445

Genetic data imply Xiongnu origin of the Hungarian Conquerors, who were considerably admixed with germans of Scandinavian origin

Neparácski E, Maróti Z, Kalmár T, Bihari P, Nagy I, Pálfi G, Fóthi E, Maráczi L, Raskó I, Török T
Manuscript in preparation

Revising mtDNA haplotypes of the ancient Hungarian conquerors with next generation sequencing.

Neparácski E, Kocsy K, Tóth GE, Maróti Z, Kalmár T, Bihari P, Nagy I, Pálfi G, Molnár E, Raskó I, Török T.
PLoS One. 2017

PMID: , IF: 4.411

Genetic structure of the early Hungarian conquerors inferred from mtDNA haplotypes and Y-chromosome haplogroups in a small cemetery.

Neparácski E, Juhász Z, Pamjav H, Fehér T, Csányi B, Zink A, Maixner F, Pálfi G, Molnár E, Pap I, Kustár A, Révész L, Raskó I, Török T.

Molecular Genetics and Genomics. 1: 14 p. Paper

10.1007/s00438-016-1267-z. 14 p. 2016

PMID: 27803981, IF: 2.622

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott, Dr. Török Tibor, Neparáczki Endre PhD munkájának témavezetőjeként igazolom, hogy a jelölt tézisei az általa végzett munka eredményeit tükrözi és a PhD értekezéséhez felhasznált közlemény létrehozásához jelentősen hozzájárult.

.....
Dr. Török Tibor

Társszerői nyilatkozat

Alulírott Dr. Török Tibor, nyilakozom arról, hogy a "Genetic structure of the early Hungarian conquerors inferred from mtDNA haplotypes and Y-chromosome haplogroups in a small cemetery." (MGG 2016) és "Revising mtDNA haplotypes of the ancient Hungarian conquerors with next generation sequencing." (Plos One 2017) című közleményünkben, illetve a doktori dolgozatában közölt eredmények létrehozásában a jelölt, Neparácski Endre meghatározó szerepet játszott. Hozzájárulok, hogy a közleményünkben foglalt eredményeket a jelölt felhasználja a Szegedi Tudományegyetem TTIK Biológia Doktori Iskola keretében a doktori fokozat elérésért benyújtott dolgozatában, és egyúttal kijelentem, hogy ezeket az eredményeket senki más nem használta fel tudományos fokozat megszerzéséhez, és ezt a jövőben sem teszi.

.....
Neparácski Endre
(jelölt)

.....
Dr. Török Tibor