

Évolution

L'ADN de l'homme de Neandertal

Voici 141 ans que l'on a découvert dans la vallée de la Neander, près de Düsseldorf en Allemagne, le squelette de ce qui allait devenir l'homme de Neandertal. Celui-ci représente un groupe d'hominidés qui a occupé l'Europe et l'Asie de l'Ouest entre 300 000 et 30 000 ans. Durant une partie de ce temps, peut-être 10 000 ans, il a cohabité en Europe avec les hommes modernes. Une des questions débattue à son sujet depuis des dizaines et des dizaines d'années est le fait qu'il représente, soit un *Homo sapiens* archaïque tombant dans les limites de variation des populations humaines et ayant contribué au stock de gènes de l'homme moderne, soit une espèce séparée et distincte déplacée par l'arrivée récente d'*Homo sapiens sapiens* d'Afrique [1]. Se superposent à ces deux hypothèses, des causes différentes mais non exclusives, évoquées pour expliquer la disparition de Neandertal, à savoir, soit une disparition par « noyade génétique », soit par compétition (ou les deux). Une équipe germano-américaine conduite par Svante Pääbo vient d'apporter dans la revue *Cell* du 11 juillet un élément de réponse en décrivant la séquence nucléotidique de la région hypervariable de l'ADN mitochondrial (l'ADNmt) de l'homme de Neandertal [2].

Authenticité des résultats du séquençage de l'ADN ancien

Le champ émergent de l'ADN ancien a été terni par de spectaculaires annonces comme celle de l'ADN de dinosaure (*m/s* n° 4, vol. 11, p. 631) qui se sont avérées être des artefacts [3]. Le travail présenté ici repose sur de nombreuses précau-

tions qui rendent les résultats extrêmement crédibles. Les auteurs sont partis d'une section de 3,5 g de l'humérus droit du fossile de 1856 de la vallée de la Neander. Ils ont d'abord testé si l'état de préservation du fossile était compatible avec la présence d'ADN amplifiable *in vitro* par la technique PCR (*polymerase chain reaction*). Pour cela, ils ont analysé le rapport des énantiomères D et L de l'acide aspartique (*m/s* n° 10, vol. 12, p. 1170) et ont montré qu'il était compatible avec la survie de l'ADN aux agressions diverses (eau, température, etc...). Ils ont ensuite amplifié par PCR un fragment de 105 pb de la région de contrôle de l'ADNmt. L'ADNmt existe entre 500 et 1 000 copies par cellules, est transmis exclusivement par la mère et n'est pas sujet aux recombinaisons méiotiques. Les produits de PCR ont été clonés puis séquencés. Les produits d'amplification sont composés de deux classes de séquences, une classe mineure représentée par 3 clones similaires à l'ADNmt humain de référence et une autre classe de 27 clones, clairement différents de la séquence humaine. La première représente vraisemblablement une contamination humaine moderne lors des manipulations survenues depuis les 140 ans de sa découverte. L'autre représente l'ADNmt de l'homme de Neandertal. Par PCR quantitative, les auteurs ont alors estimé à 50 le nombre de molécules matrices intactes à partir desquelles l'amplification s'est faite. En effet, un nombre inférieur de molécules conduit à des résultats non fiables dus à des incorporations aberrantes de nucléotides et d'autres artefacts de PCR [4]. Une autre erreur dans le séquençage de l'ADN ancien provient de la contamination de la PCR

par une faible quantité d'ADN contemporain. De telles contaminations peuvent résulter, non seulement d'ADNmt, mais aussi d'insertions nucléaires d'ADNmt. Ces séquences insérées sont des pseudogènes avec un taux de mutation faible et des substitutions de nucléotides incorporées « au hasard ». Elles ressemblent pour cela à des « molécules fossiles ». De tels événements d'insertion se sont produits chez les primates au cours de l'évolution et la séquence rapportée de « l'ADN du dinosaure » n'est autre qu'une de ces séquences d'ADNmt insérée il y a à peu près 30 millions d'années [5, 6]. Pour s'affranchir d'un tel artefact, les auteurs ont vérifié qu'à l'aide d'amorces spécifiques de l'ADNmt de l'homme de Neandertal, il était impossible d'amplifier de l'ADN d'hommes modernes.

Enfin, l'extraction et l'amplification ont été répétées sur un autre fragment de 0,4 g d'os dans un autre laboratoire aux États-Unis où la même séquence a été retrouvée. La séquence entière de la région I hypervariable de la région de contrôle de l'ADNmt (positions 16 023 à 16 400) a été déterminée à l'aide de plusieurs produits de PCR chevauchants. Au total, 123 clones correspondant à 13 amplifications ont été utilisés pour déterminer 379 pb de l'homme de Neandertal.

Comparaisons et analyses phylogénétiques des séquences

Quand la séquence de l'homme de Neandertal est comparée à la séquence humaine de référence, 27 différences sont observées en dehors de l'homopolymère de cytosine sujet à l'hétéroplasmie. La moyenne du nombre de différences

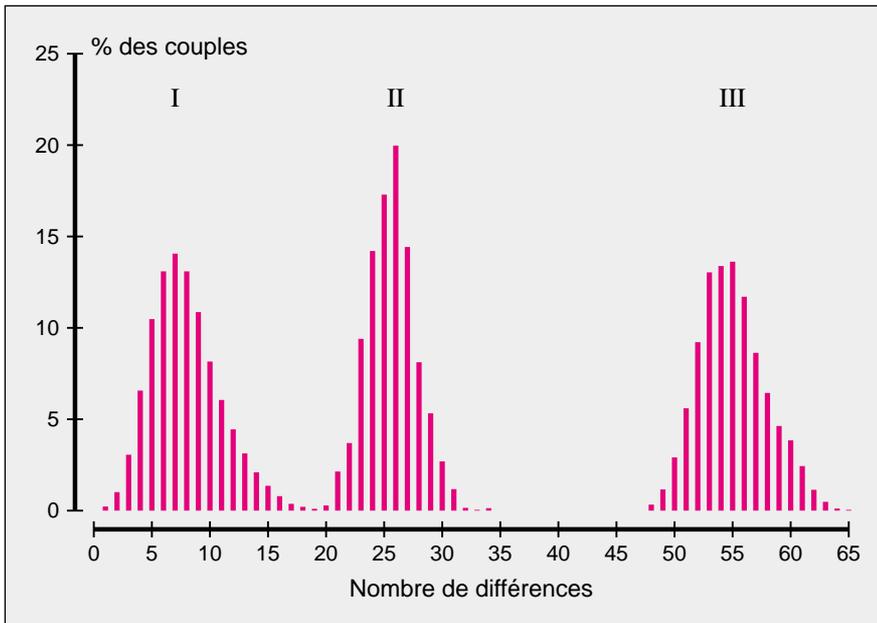


Figure 1. **Comparaison du nombre de différences entre séquences d'ADN mitochondrial.** Cet histogramme est tiré d'une matrice de distances où chaque couple d'unités comparées correspond au nombre de différences observées dans l'ADN mitochondrial. L'axe des ordonnées fournit le nombre de couples obtenus pour un nombre de différences donné [2]. I: couples H. sapiens sapiens-H. sapiens sapiens; II: couples H. sapiens sapiens-Neandertal; III: couples H. sapiens sapiens-chimpanzé.

de bases dans la région étudiée entre les différents hommes modernes (994 lignages d'ADNmt d'hommes contemporains ont été utilisés) étant de $8,0 \pm 3,0$ (valeurs extrêmes 1-24), la moyenne des différences entre les hommes modernes et l'homme de Neandertal est de $25,6 \pm 2,2$ (valeurs extrêmes 20-34) et entre les hommes modernes et les chimpanzés de $55,0 \pm 3,0$ (valeurs extrêmes 46-67) (figure 1). L'analyse phylogénétique de ces séquences par la méthode du « plus proche voisin » (*neighbor-joining*) [7] en utilisant les séquences de chimpanzés comme groupe extérieur (racine de l'arbre phylogénétique) place la séquence d'ADNmt de l'homme de Neandertal en dehors des séquences des hommes modernes (figure 2). En considérant la date de divergence entre l'homme et les chimpanzés à 4-5 millions d'années, la divergence entre l'ADNmt de l'homme de Neandertal et les hommes modernes est de 550 000 à 690 000 ans. En utilisant la même procédure, l'âge de l'ADNmt humain moderne est de 120 000 à

150 000 ans, ce qui est en accord avec les précédentes estimations. Enfin, cet arbre montre que les branches humaines d'émergence précoce sont composées de séquences d'ADNmt d'Africains, les séquences non Africaines n'apparaissant que dans la quatrième branche (figure 2).

Qu'en conclure ?

Il est tentant de conclure à partir de ces données qu'en Europe, l'homme de Neandertal n'a pas contribué au stock de gènes mitochondriaux de l'homme moderne et qu'il s'est donc éteint sans se mélanger à lui. En outre, le fait que les trois premières branches de l'arbre phylogénétique obtenu avec pour racine l'ADNmt de l'homme de Neandertal soient composées exclusivement d'Africains renforce le scénario « hors d'Afrique » (*out of Africa*) selon lequel l'homme moderne est apparu récemment en Afrique comme une espèce nouvelle et a remplacé, après migration hors d'Afrique, l'homme de Neandertal (*m/s n° 8-9, vol. 12, p. 1009*). Ces

conclusions méritent toutefois d'être nuancées. Tout d'abord, on ne peut exclure que l'homme de Neandertal ait contribué à d'autres gènes de l'homme moderne, notamment nucléaires. Cette objection ne peut malheureusement pas être testée pour l'instant: il semble quasi impossible d'arriver à amplifier de l'ADN génomique d'homme de Neandertal. De plus, les conclusions tirées ici ne reposent que sur la séquence courte d'un seul individu et le séquençage d'ADN d'autres hommes de Neandertal est souhaitable afin d'évaluer leur variabilité. A ces deux titres, la prudence devrait s'imposer. Sans aller réclamer d'autres manipulations lourdes et difficiles, il suffit de considérer l'étrange homogénéité génétique des hommes modernes. Celle-ci existe vraisemblablement parce qu'ils dérivent récemment d'un petit groupe ou parce que leurs ancêtres ont subi un goulet d'étranglement populationnel entraînant une perte de la variation génétique (*m/s n° 5, vol. 11, p. 770*). On peut donc facilement envisager que l'homme de Neandertal se soit mélangé avec des populations d'*Homo sapiens sapiens* plus anciennes et plus diverses génétiquement durant une période plus ou moins longue et qu'ensuite, les hommes modernes aient perdu beaucoup de ces variants génétiques. Ils serait intéressant de séquencer de l'ADN des premiers hommes modernes européens comme l'homme de Cro-Magnon (âgé de près de 30 000 ans) pour avancer dans le débat. En définitive, la position phylogénétique de l'homme de Neandertal telle qu'elle est trouvée par l'équipe allemande ne permet pas de statuer de façon formelle sur son interfécondité avec les populations d'*Homo sapiens sapiens*. Si la séquence de Neandertal était branchée au beau milieu du bouquet des hommes contemporains, alors la contribution génétique eût été quasiment prouvée. Car Neandertal, émergent d'un bouquet de populations interfécondes eût été probablement, lui aussi, interfécond avec celles-ci. Mais la position de Neandertal comme groupe-frère de l'humanité actuelle ne prouve pas le contraire, pour les

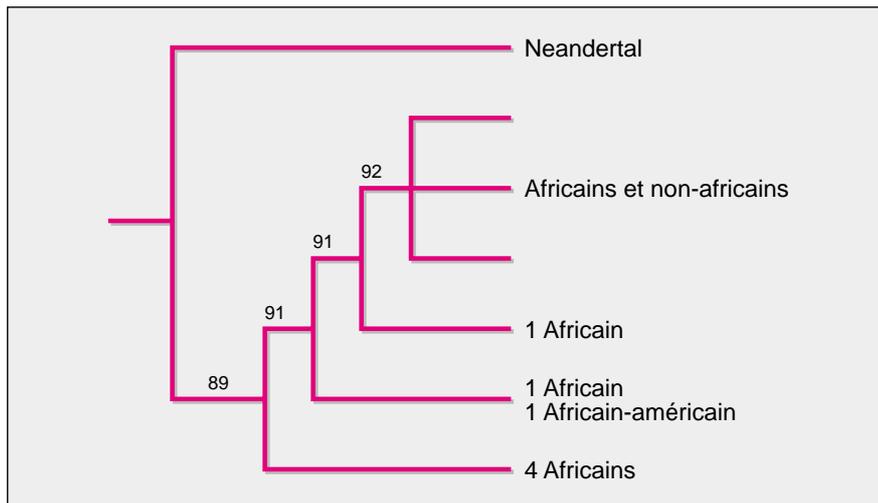


Figure 2. **Topologie obtenue à l'aide de la méthode neighbor joining sur la base des séquences d'ADN mitochondrial.** Les chiffres aux nœuds sont les indices de vraisemblance calculés par le programme «Puzzle 3.0». Cet arbre est raciné sur les séquences de chimpanzé [2].

raisons évoquées ci-dessus. La théorie de la disparition des hommes de Neandertal par «noyade génétique» n'est donc pas réfutée par ce travail. Le travail de l'équipe allemande, dont il faut saluer la prudence des conclusions, a été repris par les journaux spécialisés comme par la grande presse avec des titres affirmant tous, sous diverses formules, que «le Neandertal n'est plus notre ancêtre». Les titres ou légendes trouvés dans les commentaires de l'article de *Cell* faits par *Nature* [4] ou *Science* [3] manquent nettement de prudence (tandis que les textes, quant à eux, se montrent ici ou là plus nuancés). Par exemple, *Science* [3] titre «*Neandertals were an evolutionary dead end*». Si le terme «cul-de-sac évolutif» signifie strictement «absence de descendant actuel», alors il est adapté au contexte de l'article. Cependant, la notion de «cul-de-sac évolutif» est largement connotée en Biologie Évolutive. Les deux principaux problèmes que posent cette notion sont: (1) qu'elle s'exprime dans un contexte souvent anthropocentrique; (2) qu'elle est incompatible avec les méthodes phylogénétiques contemporaines [8]. En effet, cette notion juge du statut d'un taxon en fonction de son devenir, d'où les groupes privatifs comme «Invertébrés», au lieu de le faire en fonction de son passé, comme le font

justement les méthodes phylogénétiques [9, 10]. *Science* écrit aussi «*Neandertals (...) were a side branch of the human family tree, not our direct ancestors*». Outre les précautions déjà évoquées, il faut rappeler ici qu'en science phylogénétique, on ne peut que trouver des groupes-frères. Tout fossile sera une «branche-sœur»; c'est une nécessité méthodologique qui s'applique aussi lorsque l'on compare des séquences. On ne peut jamais attribuer à un fossile la qualité «d'ancêtre direct», même si ce sont ses séquences qui sont comparées. Le lien généalogique au sens strict (relations génétiques d'ancêtres à descendants) ne nous est plus accessible. Le lien phylogénétique, lui, nécessite que l'ancêtre soit toujours hypothétique [11-13]. La question opérationnelle est alors «qui est plus proche de qui?» et non «qui descend de qui?». Le fait que la phylogénétique ne retrouve que des groupes-frères est une contrainte matérielle (les individus ancêtres ont irrémédiablement disparu) et méthodologique [11]: affirmer que *ce* Neandertal n'est plus notre ancêtre est donc vide de sens. Pour ces raisons, la lecture de l'article de *Cell* et de toutes les publications subséquentes est en soi un excellent travail d'évaluation de la distortion de l'information scientifique lorsque celle-ci relate un fait exceptionnel ■

RÉFÉRENCES

1. Lindhal T. Facts and artifacts of ancient DNA. *Cell* 1997; 90: 1-3.
2. Krings M, Stone A, Schmitz RW, Krainitz H, Stoneking M, Pääbo S. Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell* 1997; 90: 19-30.
3. Kahn P, Gibbons A. DNA from an extinct human. *Science* 1997; 277: 176-8.
4. Ward R, Stringer C. A molecular handle on the Neandertals. *Nature* 1997; 388: 225-6.
5. Collura RV, Stewart CB. Insertions and duplications of mtDNA in the nuclear genomes of old world monkeys and hominoids. *Nature* 1995; 378: 485-9.
6. Zischler H, Geisert H, von Haeseler A, Pääbo S. A nuclear 'fossil' of the mitochondrial D-loop and the origin of modern humans. *Nature* 1995; 378: 489-92.
7. Philippe H, Germot A, Le Guyader H, Adoutte A. Que savons-nous de l'histoire évolutive des eucaryotes? 1. L'arbre universel du vivant et les difficultés de la reconstruction phylogénétique. *Med Sci* 1995; 11 (suppl n°8): I-XIII.
8. Hennig W. *Phylogenetic systematics*. Urbana, IL, USA: Urbana University, 1966.
9. Dupuis C. Permanence et actualité de la systématique: la «systématique phylogénétique» de W. Hennig (historique, discussion, choix de référence). *Cah Natur Bull NP* 1978; 34: 1-69.
10. Dupuis C. Darwin et les taxinomies d'aujourd'hui. In: Tassy P, ed. *L'ordre et la diversité du vivant*. Paris: Fayard, fondation Diderot, 1986: 215-40.
11. Engelmann GF, Wiley EO. The place of ancestor-descendant relationships in phylogeny reconstruction. *Syst Zool* 1977; 26: 1-11.
12. Tassy, P. Les arbres phylogénétiques et l'ancêtre absent. In: Férida P, Widlöcher D, eds. *Colloque de la revue Internationale de Psychopathologie*. Paris: PUF, 1994: 99-110.
13. Tassy P. *L'arbre à remonter le temps*. Paris: Christian Bourgois, 1991.

Erick Denamur

Inserm U. 458, hôpital Robert-Debré, 48, boulevard Sérurier, 75019 Paris, France.

Guillaume Lecointre

Service de Systématique moléculaire et Laboratoire d'Ichtyologie, Muséum National d'Histoire Naturelle, 43, rue Cuvier, 75005 Paris, France.

TIRÉS À PART

E. Denamur.