

L'Histoire revisitée par le décryptage de l'ADN ancien

par Patrick BERCHE^{1*}

RÉSUMÉ

À partir de techniques de biologie moléculaire, notamment la PCR et le séquençage à haut débit, il est possible d'étudier l'ADN ancien extrait de fossiles organiques. La lecture des séquences de cet ADN permet de revisiter l'histoire récente depuis l'invention de l'écriture il y a 5 300 ans, et de dévoiler un nouveau récit précédent cette période, pouvant remonter jusqu'à presque un million d'années. C'est une véritable révolution dans la connaissance de notre passé. Quelles sont les origines et les filiations des êtres vivants ? D'où viennent les agents pathogènes et quelle est leur histoire ? Quelles sont les causes des pandémies du passé ? Toutes ces questions fondamentales peuvent désormais être appréhendées à partir de l'ADN ancien. Parmi les découvertes les plus marquantes des dernières années, on peut par exemple citer celles d'hominidés archaïques, tels que l'homme de Denisova et l'homme de Néandertal, ou encore les scénarios de peuplement de l'Amérique précolombienne et de l'Eurasie, ainsi que la quête de l'origine des pandémies majeures, comme la grippe espagnole, la peste, la variole, la syphilis et la tuberculose.

MOTS-CLÉS

ADN ancien, hominidés, homme de Néandertal, homme de Denisova, grippe, variole, syphilis, peste, archéobiologie

INTRODUCTION

La naissance de l'écriture, il y a 5 300 ans, a marqué l'histoire de l'Humanité. Les inscriptions gravées dans la pierre ou le marbre des temples et des monuments, ainsi que celles sur les poteries, les tablettes d'argile, les rouleaux de papyrus, les parchemins, les incunables et les codex imprimés sur papier, nous racontent les événements, les coutumes, les croyances et les cultes, les dynasties, les cultures des civilisations éphémères qui nous ont précédés. Conjointement, les recherches archéologiques mettent au jour les traces des civilisations (des cités, monuments, palais, sanctuaires, églises,

amphithéâtres et cimetières) où sont découvertes des dépouilles humaines. À la fin du XX^e siècle, une nouvelle approche de l'Histoire s'est développée à partir de l'ADN, support génétique du monde vivant : l'archéobiologie, une nouvelle machine à remonter le temps, avatar de la biologie moléculaire, qui permet de décrypter selon un code de mots et de ponctuation l'ADN provenant des dépouilles des êtres vivants et même de leurs déjections (coprolithes...). L'ADN ancien est un nouveau support qui permet, à l'instar des écritures hiéroglyphiques ou cunéiformes, de revisiter l'histoire collective des hommes, des animaux et des végétaux, celle de leur origine, filiation ou migration, celle de leurs maladies et

¹ Professeur émérite, Université Paris Cité.

*Auteur correspondant : Pr Berche, patrick.berche@gmail.com

même de leur environnement. S'ouvre ainsi un nouveau livre d'histoire remontant à plusieurs centaines de milliers d'années (Figure 1). Des percées technologiques majeures, tels que la *Polymerase Chain Reaction* (PCR), qui amplifie des quantités infimes d'ADN, et le séquençage nucléotidique, qui traduit cette écriture en lettres de l'ADN (1), ont rendu cela possible.

En 1984, une équipe américaine a réussi à séquencer l'ADN mitochondrial du quagga, une espèce de zèbre d'Afrique australe disparue au XIX^e siècle (2,3) : cette avancée marquera le commencement d'une vaste quête de l'ADN des animaux disparus depuis des millénaires (Figure 2). L'année suivante, le Norvégien Svante Pääbo séquence l'ADN mitochondrial à partir des tissus d'une momie égyptienne, par

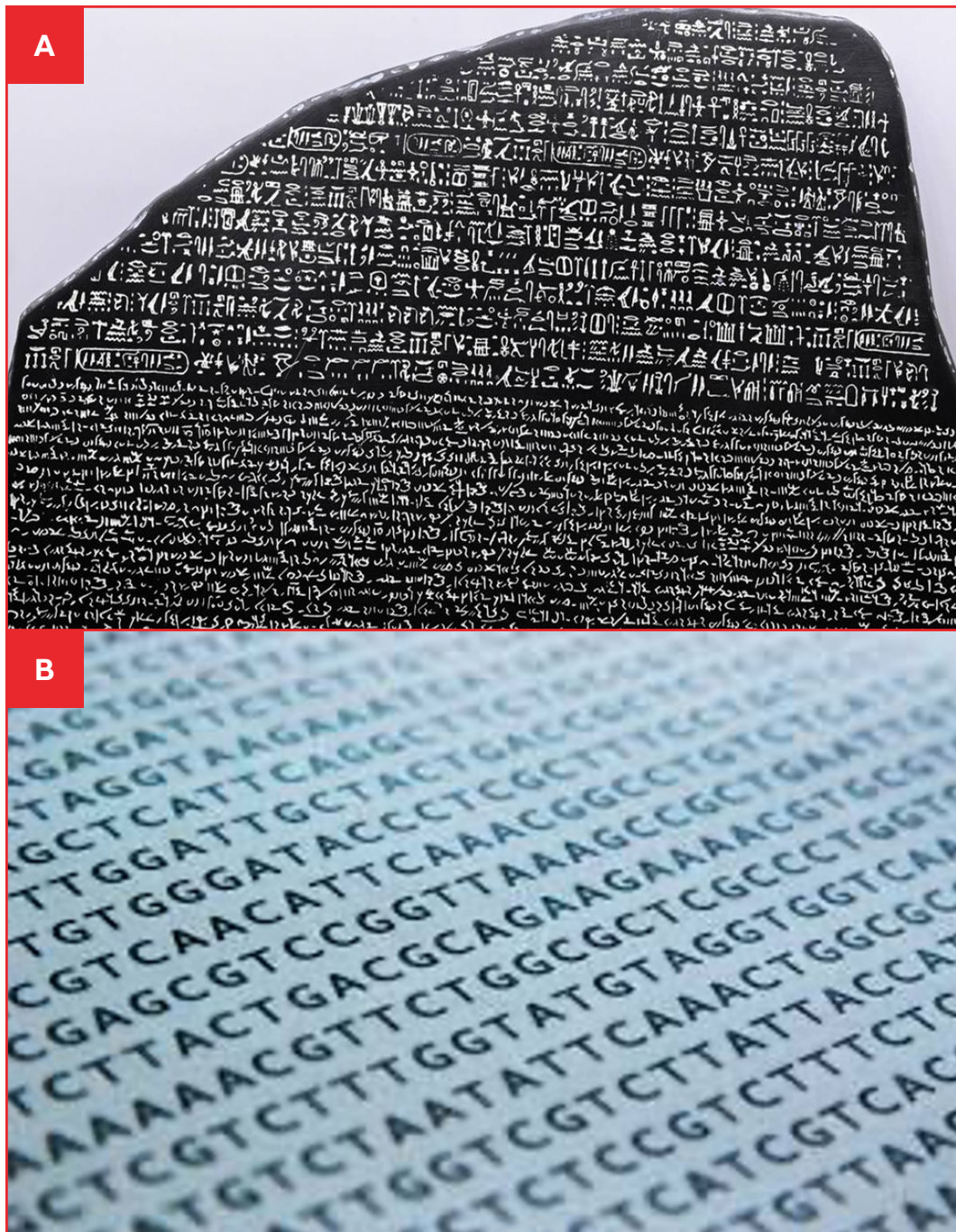


Fig. 1 - De nouvelles écritures. A, la pierre de Rosette ; B, les séquences d'ADN.



Quagga (Afrique du Sud)



Loup de Tasmanie



Paresseux géant (Amérique du Nord)



Mammouth



Ours brun des cavernes



Oie géante (Hawaï)

Moa
(Nouvelle-Zélande)

Fig. 2 - Représentations de quelques animaux ayant vécu au Pléistocène, et aujourd'hui disparus, dont l'ADN ancien (mitochondrial et nucléaire) a été décrypté pour déterminer leurs filiations.

clonage moléculaire sur de faibles quantités d'ADN (4). La paucité des données recueillies a rendu difficile la reproduction de ces premiers résultats. Toutefois, le développement de la PCR en 1985 (5) a permis de faire évoluer ces recherches, car elle ne nécessite que des quantités infimes d'ADN. Non sans difficultés, Pääbo et son équipe parviendront à séquencer de nombreux ADN mitochondriaux, puis nucléaires. Ces travaux pionniers ont abouti, en 2010, au séquençage complet de l'ADN de l'homme de Néandertal et puis celui de Denisova, une espèce jusqu'alors inconnue d'hominidé (6,7), travaux qui couronneront Svante Pääbo du prix Nobel de physiologie ou médecine en 2022 (Figure 3).

I. L'ADN ANCIEN

Dans les cellules vivantes, l'ADN localisé dans le noyau et dans les mitochondries est maintenu stable par la continuelle activité des systèmes de réparation tout au long de la vie. Après la mort de l'organisme, les compartiments cellulaires qui séquestrent normalement les enzymes cataboliques se décomposent. L'ADN est ainsi rapidement dégradé par les nucléases lysosomales, puis par celles des bactéries, champignons et insectes qui se nourrissent des molécules organiques. Alors que les fragments d'ADN extraits de cellules vivantes mesurent entre

5 000 à 35 000 paires de bases (pb), ceux provenant de l'ADN ancien mesurent souvent 100 à 200 pb, parfois même moins de 10 nucléotides. Sur le long terme, d'autres processus plus lents et inexorables altèrent fortement l'ADN (8) : oxydation des bases azotées et du squelette sucre-phosphate de l'ADN ; désamination, notamment de la cytosine ; dépurination et autres processus hydrolytiques rompant les molécules d'ADN (Figure 4). Ces modifications chimiques soulèvent des difficultés pour la récupération des séquences d'ADN ancien. Ainsi, une forte proportion de résidus de cytosine et de thymine est modifiée par oxydation en hydantoïnes, qui bloquent les ADN polymérases et la *Taq* polymérase de la PCR (8). De même, certains produits de désamination, ceux de la cytosine par exemple, peuvent provoquer l'insertion de bases incorrectes pendant la PCR. Après un temps suffisamment long, les effets cumulatifs des dommages causés à l'ADN deviennent si importants qu'il ne restera plus aucune molécule lisible. Dans certaines rares circonstances (dessiccation rapide, basse température, forte teneur en sels, pH neutre, absorption sur une matrice minérale), les nucléases peuvent être inactivées, permettant alors une meilleure préservation de l'ADN. Le seuil maximum pour l'amplification des molécules d'ADN est habituellement autour de 100 000 ans. Un autre écueil de l'étude



Fig. 3 - Svante Pääbo, prix Nobel de physiologie ou de médecine en 2022 (source : Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Leipzig).

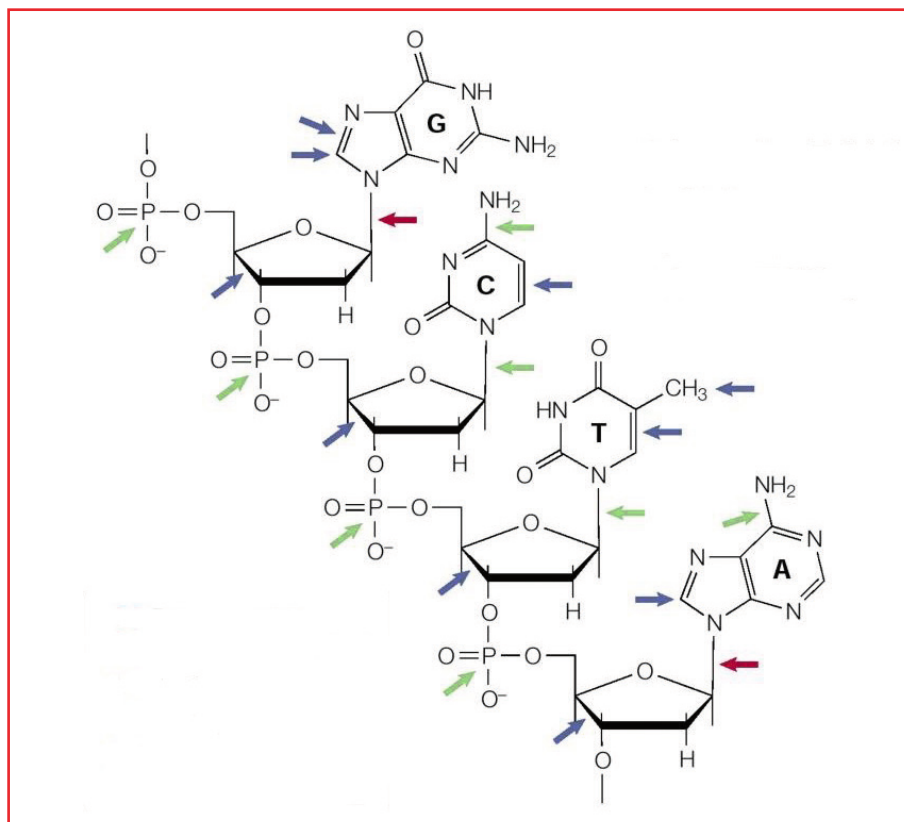


Fig. 4 - Différents processus de dégradation de l'ADN après la mort : dépurination (→), oxydation (→), hydrolyse (→).

de l'ADN ancien est la contamination par de l'ADN contemporain. Elle nécessite donc des conditions strictes de travail lors de la collection des échantillons dans les laboratoires (Figure 5). On a recours aux radiations ultraviolettes et à l'eau de Javel pour détruire l'ADN contaminant sur les surfaces, ainsi qu'à des systèmes d'air filtré. Il existe également des outils informatiques qui estiment la proportion de séquences contaminantes au cours de la lecture de l'ADN séquencé afin de les supprimer.

L'archéobiologie se révèle une science ardue et la collecte de l'ADN est une étape cruciale dans la recherche. On travaille sur de nombreuses substances organiques fossilisées : ossements, dents, osselets auditifs, coprolithes, coquilles, cheveux (Figure 6). Les courts fragments d'ADN sont difficilement accessibles au séquençage par la technique manuelle de Sanger. Le séquençage à haut débit (*Next-Generation Sequencing*, NGS), couplé à la bio-informatique, permet de surmonter en partie cet obstacle en utilisant la PCR et des techniques de captation sélective de l'ADN. Il s'agit d'abord d'évaluer rapidement la quantité d'ADN dans les échantillons, incluant la pyrolyse couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse. Les amorces oligonucléotidiques pour la

PCR (~20 pb) doivent pouvoir se lier à une séquence correspondante spécifique dans un échantillon contenant de l'ADN. L'ADN ancien peut être traité par des enzymes de réparation purifiées, afin de remplir les «trous» des séquences et de reconstituer la séquence originale, mais les ADN simple brin intacts peuvent également être seulement amplifiés (*single primer extension* ou SPEX).

L'amplification de la PCR démarre habituellement à partir de 1000 molécules d'ADN. Le premier sujet de travail a été l'ADN mitochondrial multicopie, abondant dans les cellules humaines, animales et végétales (chloroplastes). En effet, l'ADN nucléaire est beaucoup moins abondant et donc plus difficile à analyser. Les premières séquences courtes d'ADN nucléaire authentifiées ont été déterminées à partir d'animaux disparus du Pléistocène. Ces recherches ont abouti au décryptage du génome complet d'espèces humaines disparues, puis celui de nombreux individus inhumés depuis des millénaires. Des séquences publiées d'ADN datant de plus d'un million d'années, qualifiées «d'antédiluviennes», ont été publiées, mais ces résultats ne sont pas reproductibles et considérés comme des contaminations. Pour l'instant, l'exploration de l'ADN ancien est limitée à un million d'années.

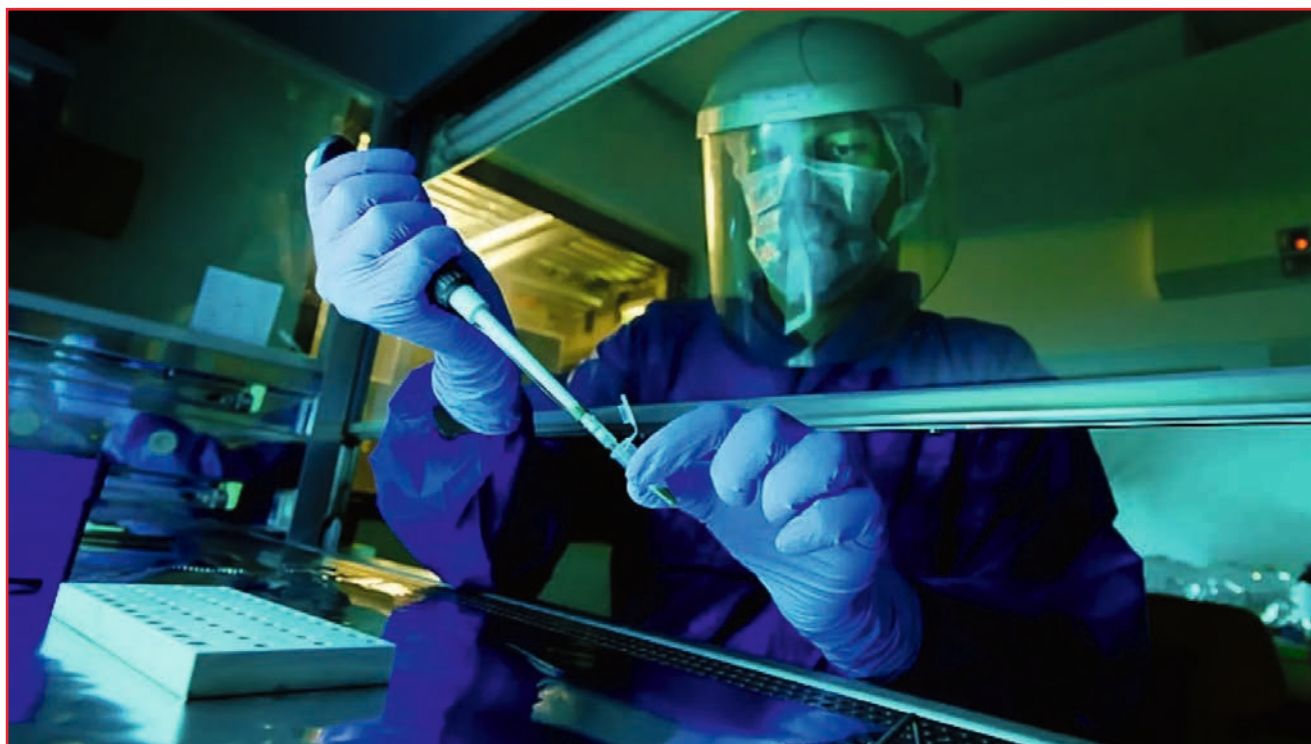


Fig. 5 - Précautions pour éviter les contaminations de l'ADN ancien (source : Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Leipzig).



Fig. 6 - Les fossiles organiques utilisés pour extraire l'ADN ancien : ossements, dents, coprolithes, coquilles, cheveux.

Les travaux sur l'ADN ancien connaissent aujourd'hui une croissance exponentielle attestée par les très nombreuses publications dans de multiples domaines. Cette approche s'applique à toutes les espèces vivantes, humaines, animales, végétales, champignons, incluant les protozoaires, les bactéries et les virus. Dans cet article, le choix est fait de présenter les découvertes les plus marquantes, souvent spectaculaires, dans le domaine de l'histoire de nos origines et des fléaux épidémiques.

II. L'HISTOIRE DE NOS ORIGINES

L'analyse de l'ADN ancien a permis de découvrir des pans entiers de l'Histoire humaine jusqu'ici totalement inconnus, incluant la généalogie des espèces humaines, les migrations ou encore les peuplements des continents. La découverte des hominidés archaïques a été une véritable révolution dans la compréhension de nos origines et de nos filiations. Des informations précieuses sur la domestication, les extinctions, les régimes alimentaires et même l'environnement ont également été collectées.

A. La découverte des hominidés archaïques

L'homme de Néandertal (*Homo neanderthalensis*) est une espèce humaine apparue il y a environ 430 000 ans et éteinte il y a 40 000 ans. Il a vécu en Europe, au Moyen-Orient et en Asie centrale. Depuis des décennies, les archéologues s'interrogent sur les causes de cette disparition. Les Néandertaliens ont-ils été exterminés par *Homo sapiens*, par des épidémies, ou pour une autre raison ? L'homme moderne apparue il y a 300 000 ans, a côtoyé les Néandertaliens en Europe et au Moyen-Orient pendant une période d'au moins 10 000 ans. L'étude de l'ADN ancien de cette espèce a permis de répondre à cette question. En 1997, on a obtenu les premières séquences de l'ADN mitochondrial de *H. neanderthalensis* provenant d'un fossile, permet de différencier ces deux espèces humaines sans preuve de mélange (9,10) et d'attester une ascendance archaïque commune (11). Le séquençage de l'ADN nucléaire des Néandertaliens a donné des résultats révolutionnaires. L'existence d'un métissage entre Néandertaliens et humains modernes a été mise au jour à partir d'extraits osseux provenant

de trois individus trouvés dans la grotte de Vindija en Croatie (6,12). Cette conclusion a été confirmée par de nombreuses études ultérieures, utilisant à la fois plusieurs génomes néandertaliens et les génomes anciens de *H. sapiens* (12-14). L'identification de blocs génomiques dérivés des Néandertaliens dans les génomes non africains actuels confirme que le métissage a bien eu lieu (15,16). Les génomes d'individus issus de trois populations non africaines (française, chinoise et papouasienne) étaient de 2-4 % plus similaires aux génomes néandertaliens que ceux d'individus issus de deux populations africaines. Un génome obtenu à partir d'un fossile de *H. sapiens* découvert en Sibérie et daté de 45 000 ans, contenait des segments néandertaliens beaucoup plus longs (6-9 % du génome), attestant d'un métissage plus marqué (13).

Ces recherches de l'ADN ancien de *H. neanderthalensis* ont permis, en 2010, une découverte fortuite majeure sur nos origines : l'existence d'une nouvelle espèce humaine jusque-là inconnue, l'homme de Denisova (*Homo denisovensis*). L'ADN mitochondrial a été extrait d'une minuscule phalange datée de 41 000 ans trouvée dans la grotte de Denisova en Sibérie (7,17). Ce résultat a été confirmé par l'analyse du génome nucléaire montrant que l'ADN de cet échantillon partage un ancêtre commun avec

ceux des Néandertaliens et de l'Homme moderne (17). Par la suite, dans cette même grotte, on a pu analyser des génomes plus anciens de 60 000 ans obtenus à partir des dents de deux autres individus, révélant une plus grande diversité génétique que l'ADN des Néandertaliens (18). En 2024, est publié le génome d'un Dénisovien vieux de 200 000 ans, le plus ancien génome humain séquencé à ce jour (19). D'autres traces génétiques ont été retrouvées à partir d'une mandibule dans la grotte de Baishiya située sur le plateau tibétain et d'un crâne trouvé à Harbin. Les Dénisoviens ont été le premier groupe d'hominidés archaïques à être caractérisé entièrement sur la base de la génomique, car les restes fossiles sont très rares. L'analyse phylogénétique de ces séquences a permis de montrer que l'homme de Denisova possède un ancêtre commun avec *H. sapiens* remontant à 750 000-550 000 ans, et avec l'homme de Néandertal il y a 473 000-380 000 ans (Figure 7). On retrouve des ancêtres dénisoviens chez les Mélanésien et les Aborigènes australiens (3-5 % de l'ADN) et, dans une moindre mesure, chez des peuples d'Asie orientale. Les Dénisoviens auraient vécu durant le Paléolithique moyen en Sibérie et en Asie du Sud-Est, jusqu'à Taiwan comme en atteste une mandibule datant du Pléistocène (20). Ils ont subi un second métissage avec un autre groupe d'hominidés archaïques, peut-être *Homo erectus*, lequel

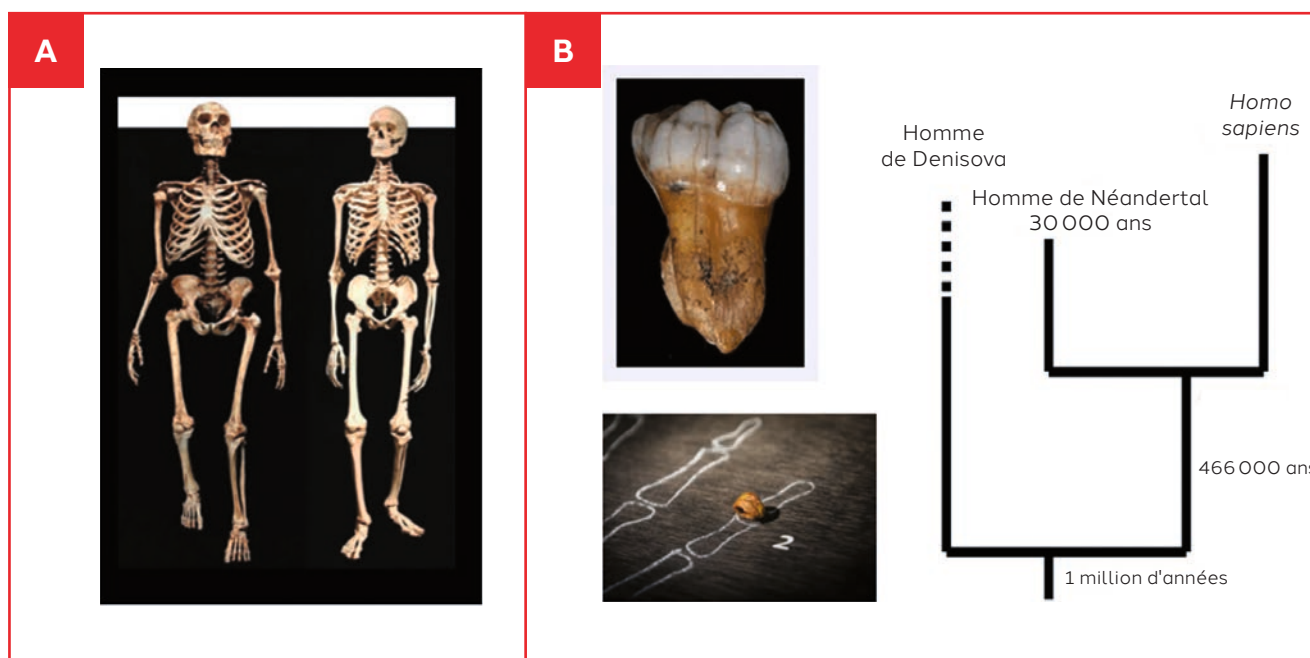


Fig. 7 - Croisement génétique de plusieurs espèces d'hominidés (d'après [6]).

A, squelettes de *H. neanderthalensis* (à gauche) et de *H. sapiens* (à droite).

B, l'homme de Denisova (ADN obtenu de phalange et de dents) et son arbre généalogique révélant les croisements génétiques depuis 1 million d'années.

serait l'ancêtre commun des humains, des Néandertaliens et des Denisoviens dont il s'est séparé il y a plus d'un million d'années (6).

B. Les migrations asiatiques en Amérique

Les premiers humains modernes ont commencé à atteindre l'Arctique sur le continent américain il y a 4500 ans. Les archéologues distinguent trois cultures principales dans cette expansion : les Paléoesquimaux anciens, les Paléoesquimaux tardifs et les Thuléens. Les Paléoesquimaux ont persisté jusqu'à il y a environ 1000 ans et ont été remplacés par les Thuléens, ancêtres directs des Inuits actuels. Les premières données sur l'ADN d'individus Paléoesquimaux, vieux de 4000 ans et conservés dans la glace (ADN mitochondrial et nucléaire), attestent d'une migration des Paléoesquimaux depuis la Sibérie, distincte en revanche des migrations à l'origine des Amérindiens actuels (21,22) (Figure 8). Par la suite, l'étude des ossements de 26 Paléoesquimaux a montré leur homogénéité génétique, leur provenance d'Asie orientale et leur rapide dispersion dans toute la région arctique de

l'Amérique (23). Les peuples Thulé descendent eux d'une vague d'immigration postérieure en provenance de Sibérie orientale (23). Ils ont remplacé les Paléoesquimaux sans aucun croisement détectable, en dépit du fait que les deux groupes avaient cohabité pendant 200 ans, une conclusion qui reste controversée.

Les populations amérindiennes dispersées jusqu'à l'Amérique du Sud ont une histoire différente. Les études génétiques révèlent que les Amérindiens ne descendent pas d'une seule population panmixte, mais proviennent de migrations différentes et antérieures à celles des Paléoesquimaux et des Thuléens. Il existe de nombreuses preuves archéologiques en faveur de l'existence en Amérique du Nord, il y a 13 000 ans (fin du Pléistocène supérieur), de populations associées à la culture Clovis (du nom de la ville au Nouveau-Mexique). De plus, certains sites en Amérique du Nord et du Sud suggèrent une occupation antérieure. La première séquence génomique complète d'un Amérindien provient d'un individu appelé *Anzick-1*, associé à des artefacts Clovis et daté d'environ 12 600 ans (24). Un autre individu

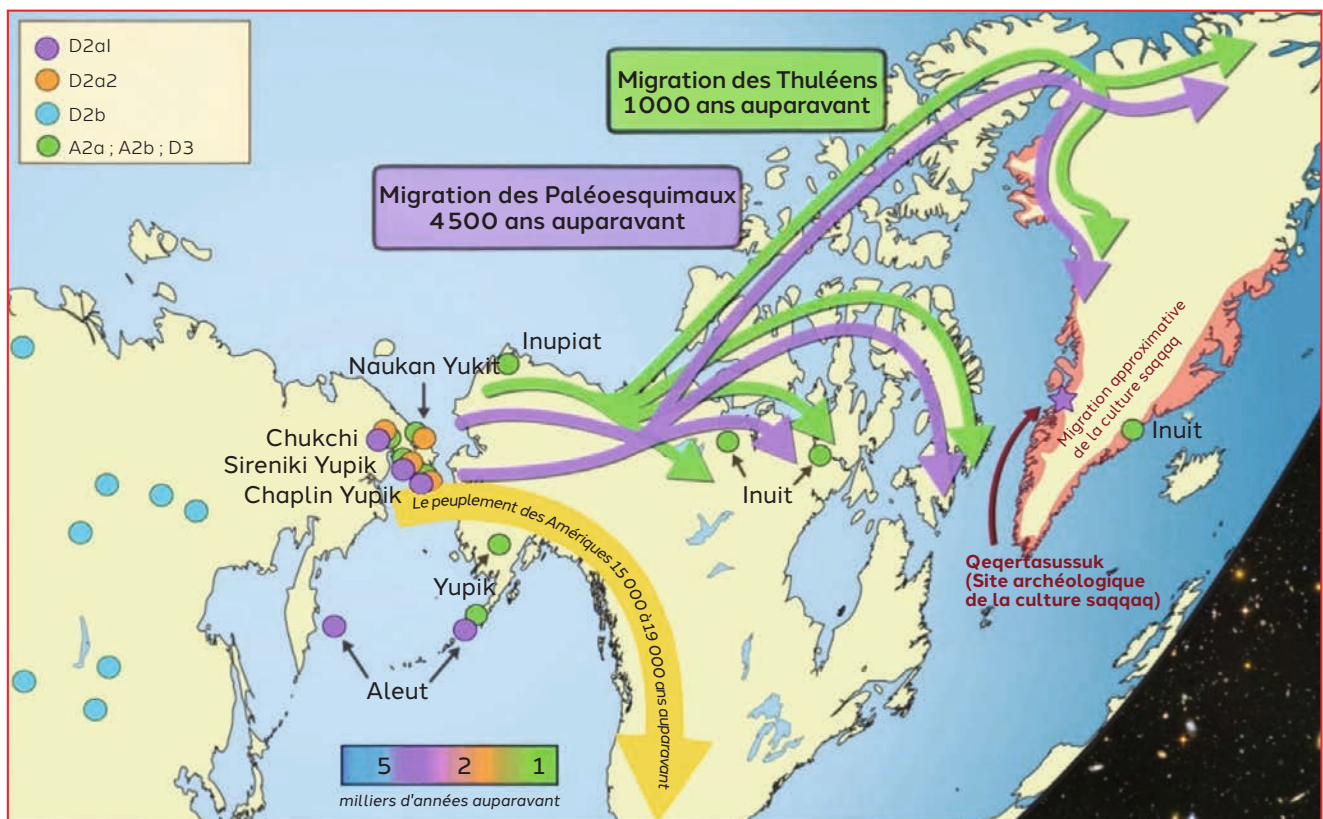


Fig. 8 - Le peuplement de l'Arctique.

Les différentes migrations en provenance d'Asie se sont répandues en plusieurs vagues dans le nord du Canada et au Groenland. Elles sont postérieures et indépendantes de celles des Amérindiens qui ont peuplé l'Amérique du Nord et du Sud (d'après [20]).

de 8 340 à 9 200 ans découvert dans l'État de Washington, désigné *Kennewick Man*, montre une proximité génétique avec plusieurs groupes amérindiens vivant actuellement dans cette zone de la côte ouest (25). Cela suggère que les premiers Amérindiens se sont dispersés assez rapidement à travers l'Amérique du Nord et du Sud, contrairement aux populations du nord-ouest des États-Unis qui ont demeuré dans cette région pendant plusieurs milliers d'années.

La séquence d'un fossile humain vieux de 24 000 ans, désigné MA-1, provenant de Mal'ta (sud de la Sibérie), est importante pour comprendre les origines des Amérindiens (26). Le génome de cet individu est étroitement lié à ceux des Amérindiens, mais sans proximité avec ceux des Asiatiques orientaux actuels. Sa séquence est plus proche des Amérindiens actuels que de tout autre groupe non américain. On estime que 14 à 38 % de l'ascendance des Amérindiens actuels proviennent de la population de Mal'ta, ce qui témoigne d'un métissage. Une immigration originaire de la Sibérie orientale aurait donc eu lieu il y a 17 000 à 23 000 ans, facilitée par la glaciation de la Béringie. Après leur arrivée en Amérique, les ancêtres des Amérindiens se sont diversifiés en deux branches génétiques fondamentales il y a environ 13 000 ans, l'une aujourd'hui dispersée à travers l'Amérique du Nord et l'Amérique du Sud, et l'autre limitée à l'Amérique du Nord (26). Enfin, il existe d'importantes différences génétiques entre les Indiens d'Amérique du Nord et ceux d'Amérique du Sud. Une étude phylogénétique de génomes humains modernes et anciens a conclu que tous les Amérindiens se sont séparés de leurs ancêtres il y a environ 20 000 ans (27). Les Amérindiens du Nord du continent se seraient séparés de ceux de l'Amérique centrale et du Sud il y a environ 13 000 ans. De plus, les Amérindiens du Sud auraient récemment reçu un flux génétique provenant d'Asie de l'Est et d'Australo-Mélanésien, peut-être via les îles Aléoutiennes (28).

C. Le peuplement de l'Eurasie

L'histoire du peuplement de l'Eurasie occidentale est plus complexe que celle de l'Amérique, car les populations étaient beaucoup plus anciennes et plus denses. Au cours des dernières années, on a analysé plus de génomes d'ADN ancien dans cette région que toute autre dans le monde (près de 100 génomes étudiés). Le premier génome européen séquencé provenait d'Ötzi, l'homme des glaces des Dolomites découvert à 3 200 mètres en 1991. La momie de cet homme, âgé de 45 ans à sa mort

(1,65 m, 50 kg), était très bien conservée dans la glace depuis 5 300 ans (29,30) (Figure 9). L'analyse de l'ADN mitochondrial montre qu'il fait partie de l'halogroupe K1, montrant des liens génétiques étroits avec la population sarde actuelle. De façon surprenante, l'ADN d'un agriculteur scandinave vieux de 5 000 ans a également des liens génétiques étroits avec les Sardes, contrairement aux chasseurs-cueilleurs vivant à l'époque dans la même région. En fait, le génome sarde serait présent dans une proportion élevée d'ancêtres d'agriculteurs venus du Proche-Orient. Une hypothèse veut que les premiers agriculteurs arrivés du Proche-Orient, il y a 6 000 à 8 000 ans, se seraient mélangés avec les chasseurs-cueilleurs européens. Ötzi et l'agriculteur scandinave appartenaient probablement à cette population d'agriculteurs en expansion.

Les génomes anciens d'un chasseur-cueilleur d'Europe occidentale à Loschbour (Luxembourg) et d'un agriculteur ayant vécu près de Stuttgart (Allemagne) ont ensuite été séquencés (31). Ces découvertes ont permis de proposer un nouveau scénario : l'individu de Loschbour appartiendrait aux premiers occupants humains modernes de l'Europe, appelés « chasseurs-cueilleurs occidentaux », arrivés il y a 8 000 à 9 000 ans. Cette population se serait ensuite mélangée à une population eurasiennne venue du Proche-Orient pour former la population des « agriculteurs européens précoces », qui aurait introduit l'agriculture en Europe. Les individus de Stuttgart et d'Ötzi appartiendraient à cette population. Par la suite, une troisième vague de migration en provenance de la steppe pontique (située entre l'embouchure du Danube et le fleuve Oural, bordant le nord de la mer Noire) a introduit une composante ancestrale nord-eurasiatique dans la région (32). Il existerait même une quatrième population antérieure de chasseurs-cueilleurs provenant du Caucase (33). Enfin, grâce à l'étude de l'ADN ancien, on dispose aussi de nombreuses données sur les populations de l'est de l'Asie, ainsi que de l'Afrique et de l'Océanie (34-36).

III. L'ADN ANCIEN ET L'ORIGINE DES ÉPIDÉMIES

Une des plus étonnantes avancées de l'analyse de l'ADN ancien provient de l'étude des grands fléaux épidémiques qui ont frappé l'Humanité, faisant parfois vaciller sa destinée (37). La plupart des agents pathogènes humains sont d'origine zoonotique. Au début de l'Holocène, les humains sont progressivement passés d'une subsistance basée sur la cueil-

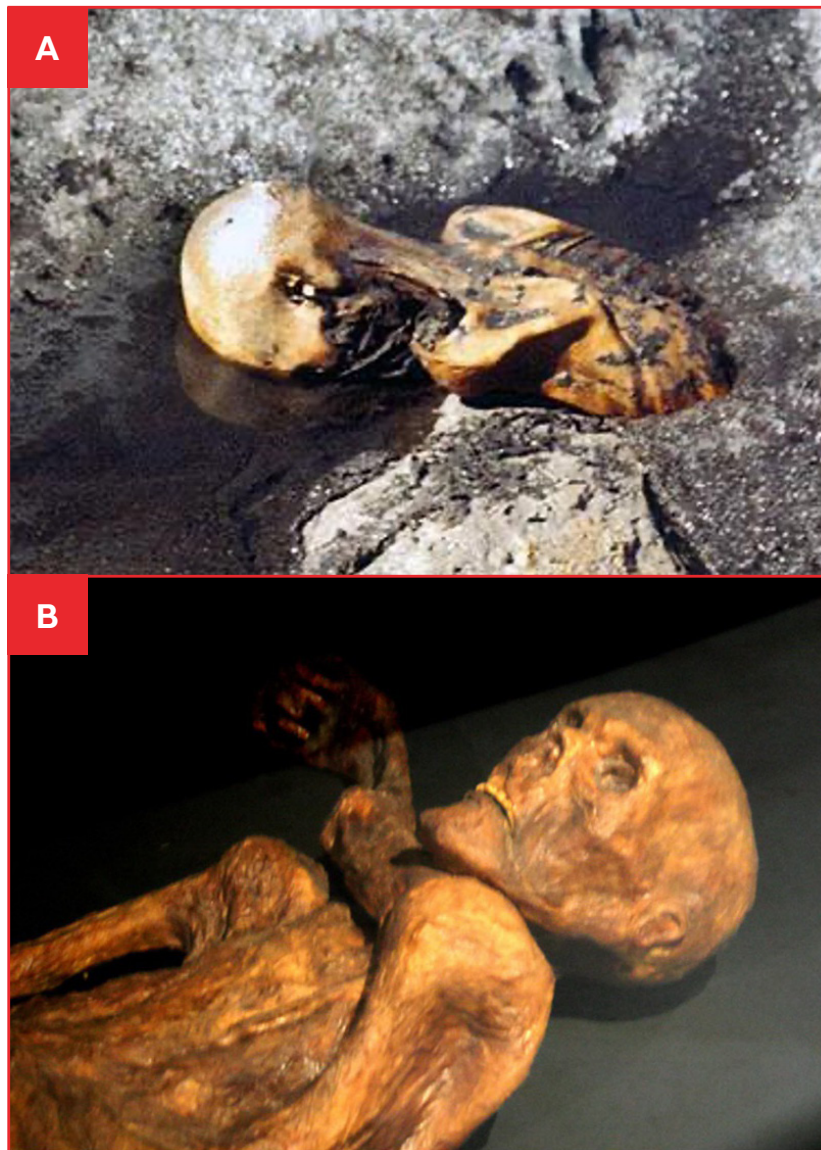


Fig. 9 - Ötzi, l'homme des glaces, mort il y a 5300 ans.

A, la momie insérée dans la glace (© Helmut Simon, 1991) ;

B, reconstitution de la momie (Musée de la Préhistoire des Gorges du Verdon, Quinson, Alpes-de-Haute-Provence).

lette et la chasse, à la production alimentaire par l'agriculture et l'élevage. Cette transition, qui a permis une croissance de la population mieux nourrie, a accru en contrepartie les risques de zoonoses du fait d'étroits contacts avec le bétail domestiqué et de l'organisation des communautés sédentaires en villages et bourgs. À l'âge du Bronze, la domestication des animaux (moutons, chèvres, porcs, bovins...) expliquerait l'émergence de germes contagieux, parfois mortels, à l'origine de maladies comme la grippe, la variole, la peste, la syphilis, la tuberculose, ou encore la typhoïde et la rougeole. La recherche d'ADN ancien a éclairé l'origine des

fléaux épidémiques qui ont décimé les populations humaines. On peut notamment citer les exemples de la grippe, la peste, la variole, la syphilis et la tuberculose.

A. La grippe espagnole de 1918

La grippe espagnole est survenue en 1918 dans les conditions épidémiologiques désastreuses de la fin de la Première Guerre mondiale. Cette pandémie aurait fait entre 50 et 100 millions de morts. Partie de camps militaires aux États-Unis en mars 1918, cette grippe très contagieuse transmise par

aérosols va faire le tour du monde et sévir jusqu'au printemps 1919 (38). Cette pandémie a évolué par vagues successives : une première en mars 1918 à faible létalité (0,2%), une deuxième beaucoup plus grave en septembre 1918 (létalité 2-4%), et une troisième vague de létalité moindre (1%), avant de devenir une grippe saisonnière à faible létalité (0,1%). Les patients, souvent entre 20 et 40 ans, mouraient en quelques jours d'une pneumonie, avec détresse respiratoire souvent associée à une surinfection bactérienne. L'agent responsable, *Myxovirus influenzae*, est un virus à ARN de 13,5 kb, découvert en 1933 lors d'une épidémie de grippe saisonnière à Londres. Cependant, aucun élément n'avait prouvé que ce virus était bien celui de la grippe espagnole. Une équipe américaine menée par Jeffery Taubenberg a réussi à séquencer l'ARN du virus de la grippe à partir d'échantillons de tissus pulmonaires de patients morts aux États-Unis et en Europe (39-42). Le virus a ensuite pu être ressuscité en culture cellulaire en 2005 (43). Il s'avère 50 000 fois plus virulent chez les primates que le virus actuel H1N1 saisonnier. En 2011, cette équipe a séquencé l'ARN viral de prélèvements d'autopsie datant de la première vague de mai 1918. La létalité de la deuxième vague serait due à des mutations dans le gène de l'hémagglutinine H1. Ces mutations entraîneraient une plus forte affinité pour les récepteurs d'acides sialiques α ,2-6 galactose présents sur tout l'épithélium respiratoire humain (pharynx, sinus, trachée, bronches, bronchioles) (44). Ce virus est d'origine aviaire, contenant 7 segments aviaires et un segment d'une autre origine, celui du gène de l'hémagglutinine H1 (45). En réalité, cet événement qui a donné naissance au virus pandémique serait survenu vers 1915, car les ancêtres communs des segments humains et porcins du virus H1N1 remontent à cette date. D'après les études phylogéniques des gènes H, ce gène aurait silencieusement circulé dans la population humaine avant 1918. L'étude des séquences de virus de la grippe humaine depuis 1918 montre que tous les virus pandémiques et saisonniers descendent du virus de la grippe espagnole, y compris les virus pandémiques H2N2 de 1957, H3N2 de 1968, et H1N1 de 2009 (46).

B. La peste

La peste bubonique est un fléau à l'origine de trois pandémies historiques, la peste de Justinien aux VI^e-VIII^e siècles, la peste noire de 1348, et la troisième pandémie débutant à la fin du XIX^e siècle. Elle est causée par une bactérie très virulente, *Yersinia pestis*. À partir de l'ADN d'ossements de victimes de

la peste de Justinien et de la peste noire, il a été prouvé que ce pathogène était bien à l'origine de ces pandémies (47,48). L'ADN ancien de cette bactérie a été beaucoup étudié puisqu'il existe plus de 200 génomes extraits de restes humains. L'analyse des génomes provenant des souches pandémiques montre leur forte proximité génétique et confirme l'origine asiatique. Toutes remontent à un ancêtre commun qui vivait il y a 3 800 ans dans la région de Samara, le long du cours moyen de la Volga (49). La bactérie s'est ensuite diversifiée en plusieurs lignées (branches O à 4) (50). Le principal réservoir de *Y. pestis* est constitué de petits mammifères, des rongeurs sauvages essentiellement. Les germes sont transmis par les puces à d'autres rongeurs sauvages et parfois, de façon sporadique, à des animaux plus grands et à l'Homme, provoquant la peste bubonique, une maladie très souvent mortelle (51).

L'étude du génome des souches isolées il y a plus de 5 000 ans a permis de retracer l'évolution de *Y. pestis* à partir de son ancêtre *Yersinia pseudotuberculosis*, dont il s'est différencié il y a 55 000 ans. *Y. pestis* a progressivement évolué vers une forte virulence par perte de certains gènes de *Y. pseudotuberculosis* (10 % de pseudogènes) et surtout par l'ajout de plasmides qui ont facilité la transmission de *Y. pestis* par les puces à un plus large éventail d'hôtes. Des passages interhumains itératifs ont contribué à l'exaltation de la virulence avec une mortalité élevée. Un premier plasmide, pYV, présent chez *Y. pseudotuberculosis* permet à la bactérie d'injecter des protéines dans les cellules pour paralyser le système immunitaire. Le deuxième plasmide, pPCP1, code une protéase Pla activant le plasminogène, facilitant ainsi la pénétration des bactéries dans les tissus. Cette enzyme joue un rôle important dans la transmission aérienne de la peste pneumonique. Enfin, un troisième plasmide, pMT1, porte le gène de la toxine murine, une phospholipase qui protège les bacilles dans l'intestin de la puce, indispensable à la transmission par les puces à l'origine de la peste bubonique (52-53).

L'étude de l'ADN ancien a permis de découvrir que les génomes bactériens isolés au cours de l'âge du Bronze, lors du « déclin néolithique » il y a 7 400 ans, ne possédaient pas le plasmide pMT1 (54), et provoquaient uniquement une peste pulmonaire. Ce plasmide n'est trouvé qu'au début du premier millénaire avant notre ère, il y a 3 000 ans, ce qui permet la transmission par les puces de la peste bubonique (55). La présence de ce plasmide a été aussi trouvée dans les génomes de *Y. pestis* provenant d'un rat médiéval *Rattus rattus* (56), d'un chien vivant au

Néolithique (57) et d'un mouton du Néolithique tardif daté de 5 000 ans provenant de la steppe eurasiennne (58). Cela suggère que *Y. pestis* a pu contaminer le bétail lors de la sédentarisation des chasseurs-cueilleurs et ainsi propager des épidémies limitées de peste pulmonaire.

C. La variole

La variole ou *smallpox* est une maladie très contagieuse, strictement humaine, sans porteurs sains, caractérisée par une éruption pustuleuse et une létalité de 30 %. D'après les sources historiques, le berceau de la variole serait situé dans la vallée du Gange en Inde, avant d'être exporté vers la Chine et l'Égypte, d'où elle atteindra l'Empire romain. La variole est tenue pour responsable de la « peste Antonine » au deuxième siècle de notre ère, une pandémie qui a affecté l'ensemble de l'Empire romain et même au-delà.

La variole est due à un Orthopoxvirus constitué d'ADN bicaténaire linéaire de 186 kb codant environ 200 gènes (59). Ce virus possède une région centrale (~102 kb) très conservée dans tous les Orthopoxvirus, et des régions terminales variables portant des gènes codant pour des protéines immunomodulatrices et d'autres impliquées dans la reconnaissance des cibles cellulaires déterminant le spectre d'hôte (60). Longtemps, ce virus à ADN a semblé très stable, donnant la même maladie stéréotypée pendant des siècles. Cela sera démenti par l'analyse de l'ADN ancien extrait d'ossements et de dents permettant de décrypter de multiples génomes viraux chez des patients morts depuis des siècles. Une étude de plus de 40 isolats humains de virus *smallpox* prélevés au XX^e siècle a d'abord montré l'existence d'une diversité des génomes viraux qui se regroupent en « clades » selon les continents où la variole a sévi, l'Afrique de l'Ouest, l'Amérique du Sud et l'Asie. Cela permet de construire un arbre phylogénétique qui indique une origine assez récente des isolats modernes il y a 300 ans (61). En 2016, on a pu déterminer le génome viral à partir de prélèvements d'un enfant lituanien âgé de 2 à 4 ans, mort entre 1643 et 1665 et reposant dans la crypte de l'église du Saint-Esprit à Vilnius (62). Ainsi a-t-on pu révéler un ancêtre commun de ce virus comparé aux isolats contemporains, qui serait apparu entre 1588 et 1645. Deux clades se sont séparés pendant la période d'expansion démographique et de résurgence de la variole en Europe aux XVII^e-XVIII^e siècles. Ces clades se sont ensuite diversifiés à la fin du XIX^e siècle du fait de la pression de sélection de la vaccination. Ces résultats seront ensuite confir-

més par l'analyse d'échantillons humains conservés dans des musées tchèques et anglais, et provenant de cadavres congelés en Sibérie (63-65).

En 2020, un nouvel éclairage sur le virus *smallpox* est apparu de manière inattendue. L'analyse informatique des données brutes provenant du séquençage des génomes humains entiers provenant de 1867 individus décédés au cours des 30 000 dernières années en Eurasie et en Amérique, a permis de faire une découverte très étonnante. Des séquences du virus de la variole ont été retrouvées dans 26 échantillons (66). Treize d'entre eux ont fait l'objet d'une étude approfondie, incluant deux individus décédés au XIX^e siècle et onze entre 603 et 1050 de notre ère et localisés en Europe du Nord, dans l'ouest de la Russie et au Royaume-Uni. Cela correspond à « l'époque des Vikings », une période de 450 ans marquée par une expansion de la population scandinave, qui est passée de 750 000 à un million d'individus. Le génome complet du virus *smallpox* a pu être entièrement reconstitué chez quatre individus, et seulement partiellement chez sept autres. Ces résultats établissent avec certitude l'existence de cas de variole il y a plus de mille ans. Les virus des Vikings correspondent à un clade aujourd'hui disparu et distinct des virus contemporains qui les ont remplacés. L'analyse comparative des génomes « Viking » et contemporains montre que, s'il n'y a aucune différence dans la zone centrale de 100 kb impliquée dans la réplication virale, il existe en revanche des différences significatives dans les parties terminales des génomes. Contrairement à ceux des Vikings, les génomes des virus modernes contiennent 29 gènes inactivés (délétions ou mutations). Ces gènes sont impliqués dans la réponse immunitaire innée et le spectre d'hôte, lesquels ne semblent pas requis pour la pathogénicité de la variole contemporaine. Cela suggère l'existence d'un spectre d'hôte plus large pour les virus des Vikings, qui ne se limiterait pas nécessairement aux seuls humains. D'après l'arbre phylogénétique, l'ancêtre commun le plus proche des isolats des Vikings comparativement aux isolats contemporains remonterait au III^e siècle de notre ère (Figure 10).

Le virus *smallpox* est génétiquement proche de virus trouvés chez des rongeurs africains et des camélidés. D'une part, le virus *taterapox* a été isolé à partir de la gerbille africaine (*Tatera kempii*) et n'exprime aucune pathogénicité chez ces rongeurs (67). D'autre part, le virus *camelpox* de la variole du chameau est à l'origine d'une maladie souvent bénigne chez les camélidés, mais parfois associée à une certaine gravité (68). L'adaptation à l'Homme

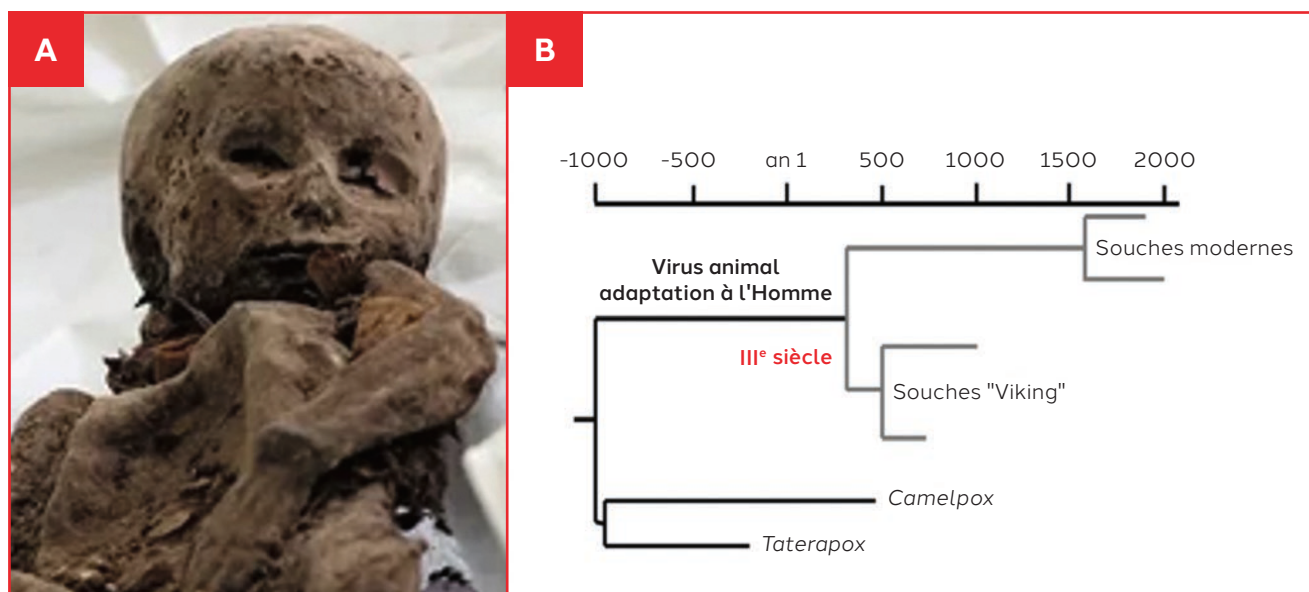


Fig. 10 - Genèse de la variole.

A, momie d'un enfant mort de variole (~1643-1665), reposant dans l'église du Saint-Esprit à Vilnius, Lituanie ; B, arbre généalogique du virus *smallpox* construit à partir des génomes viraux des Vikings et des virus contemporains. Les virus des Vikings ont disparu pour être remplacés par les virus actuels entre le XVI^e-XVII^e siècle (d'après [66]).

à probablement nécessité un hôte animal intermédiaire inconnu. Les camélidés seraient des candidats possibles. De plus, en analysant le génome de 22 isolats indépendants du virus *cowpox*, l'existence de plusieurs clades distincts a été révélée, dont l'un est étroitement lié aux virus *smallpox*, *taterapox* et *camelpox* (69). Cela suggère que le virus *smallpox* pourrait provenir d'un virus africain ancestral proche d'un virus *cowpox*, de faible virulence et comprenant environ 200 gènes. Cet ancêtre serait peu virulent et à large spectre d'hôte, ce qui lui aurait permis de s'adapter à l'Homme par transmissions animales et multiples passages interhumains.

L'étude de l'ADN ancien du virus *smallpox* a donc permis d'aller à l'encontre d'idées reçues, notamment son spectre d'hôte restreint à l'espèce humaine et les éventuelles variations de sa virulence au cours du temps. Elle a aussi permis de démontrer son origine africaine et découvrir son réservoir chez des rongeurs et des camélidés. Enfin, elle a révélé que l'exacerbation de la virulence était due à la perte de gènes et non à l'acquisition de matériel génétique (70).

La syphilis

La syphilis est une maladie répandue dans le monde entier. Due à l'espèce bactérienne *Treponema pallidum*, elle se distingue des autres tréponématoses par son mode de transmission sexuelle et sa gravité. Les autres tréponématoses sont endémiques et se

transmettent par contact cutané direct, touchant majoritairement les enfants vivant souvent dans des conditions précaires d'hygiène, avec un pronostic habituellement favorable. Le pian sévit dans les régions équatoriales humides. Le bejel (syphilis endémique) est principalement présent dans les régions chaudes et sèches de Méditerranée orientale et d'Afrique de l'Ouest saharienne. La pinta est décrite chez les indigènes du Mexique, d'Amérique centrale et du Sud. Chacune des tréponématoses est liée à une sous-espèce de *T. pallidum* : la syphilis (*subsp. pallidum*) ; le pian (*subsp. pertenue*) ; le bejel (*subsp. endemicum*) et la pinta (*subsp. carateum*). Le tréponème de la pinta n'a pas encore été séquencé. Les sous-espèces de tréponèmes présentent une identité nucléotidique de 99 %.

La syphilis était inconnue avant la Renaissance. Elle est apparue en Italie au décours du siège de Naples par les troupes du roi Charles VIII. La maladie était alors très sévère, commençant par des lésions génitales extensives, de vives douleurs osseuses et articulaires, des ulcérations et des tumeurs cutanées, aboutissant souvent à la mort en quelques mois. Vingt à trente ans après son émergence, la maladie a pris un tour chronique en devenant la maladie telle qu'on la connaît aujourd'hui, avec des chancres génitaux initiaux, suivis d'une éruption cutanée éphémère (roséole), puis de lésions cardiovasculaires et neurologiques pouvant aboutir à la mort après des années d'évolution.

Les tout premiers cas de syphilis ont été décrits à l'occasion de la bataille de Fornoue, en juillet 1495, mais plusieurs médecins contemporains ont rapporté l'existence de cas en Espagne dès 1494 et même 1493 (71). Les contemporains ont attribué l'origine de cette maladie au retour du premier voyage de Christophe Colomb en mars 1493. Cependant, une controverse a opposé jusqu'à récemment les partisans d'une origine américaine et ceux d'une résurgence d'une maladie endémique méconnue existant depuis des siècles en Europe. Cette hypothèse «précolombienne» repose sur l'observation de lésions ostéoarticulaires évoquant la syphilis, rarement retrouvées sur des squelettes exhumés dans l'Ancien monde au Moyen Âge. La maladie proviendrait de contacts antérieurs à la découverte de l'Amérique, d'origine africaine vers le XI^e siècle (72). Les tenants de l'origine américaine avancent l'absence de description clinique d'une maladie sexuellement transmissible avant la Renaissance, ainsi que la grande rareté des lésions ostéoarticulaires. Ainsi, aucune trace de syphilis osseuse n'a été retrouvée sur plus de 25 000 squelettes et momies de l'Égypte et du Soudan ancien, ni sur quelques dizaines de milliers de squelettes préhistoriques, antiques et médiévaux exhumés en Europe, en Asie Mineure et en Égypte (73). À cela, s'ajoutent la spécificité diagnostique contestée des lésions osseuses et l'imprécision des datations au carbone¹⁴ concernant les échantillons d'ADN couvrant la période cruciale du XV^e et XVI^e siècle.

On a réalisé une étude phylogénique à partir de 39 génomes de *T. pallidum*, provenant de prélèvements de patients au XX^e siècle, principalement syphilitiques et quelques cas de pian et de bejel. Ces génomes partagent un ancêtre commun qui a infecté les populations au début du XVIII^e siècle, donc à une date postérieure à la colonisation de l'Amérique. Ces résultats sont compatibles avec le modèle «postcolombien» de l'émergence de la syphilis en Europe (74). L'analyse de l'ADN ancien éclaire ce débat en étudiant les génomes de tréponèmes isolés à partir d'ossements anciens provenant d'Amérique et d'Europe. En 2020, à partir de quatre individus inhumés dans des cimetières à Vilnius (Lituanie) et en Finlande, on a découvert le génome de *T. pallidum subsp. pallidum* chez deux d'entre eux, un autre cas de *T. pallidum subsp. pertenue* (qui serait le premier cas historique de pian en Europe), le quatrième étant lié à une sous-espèce inconnue de *T. pallidum* (75). Ces échantillons sont datés au carbone¹⁴ entre le XV^e et le XVII^e siècle avec une certaine imprécision. Cependant, ces résultats montrent l'existence d'une forte diversité génétique

des souches de *T. pallidum* au début de la période moderne. De plus, la surprenante découverte d'un génome de tréponèmes de pian en Europe du Nord indique l'existence de contacts avec des patients originaires d'Afrique subtropicale où cette maladie sévit.

En 2025, à partir d'une collection d'échantillons de dents et d'os évoquant une tréponématose, provenant du Chili (39 cas), du Mexique (41 cas) et d'Argentine (1 cas), la présence des trois sous-espèces de *T. pallidum* connus avant l'expédition de Christophe Colomb en 1492 a été démontrée. Les études phylogéniques montrent que l'ancêtre le plus récent des sous-espèces de tréponèmes remonterait à l'Holocène (9 000 ans avant notre ère) lors des migrations des populations sibériennes en Amérique par le détroit de Béring (76). Cependant, l'introduction des tréponèmes par ces migrants semble peu probable, car leur maintien et leur diversification en plusieurs sous-espèces dans des lieux aussi dispersés sont peu compatibles avec la migration de petits groupes humains. L'interprétation paléontologique soutient l'existence d'une tréponématose endémique en Amérique précédant les migrations des populations sibériennes. Cela pose la question d'une origine zoonotique des tréponèmes à partir d'un hôte animal non identifié sur le continent américain. Ce travail plaide en faveur de la thèse de l'origine américaine de la syphilis en Europe à la fin du XV^e siècle.

La tuberculose

La tuberculose est une maladie humaine très ancienne due à *Mycobacterium tuberculosis*. Son existence est attestée depuis le Néolithique par l'observation de lésions osseuses caractéristiques (mal de Pott) sur les dépouilles humaines trouvées en Mésopotamie, en Égypte. Cela a été confirmé notamment par la détection de l'ADN de *M. tuberculosis*, extrait des tissus d'une momie égyptienne datée de 5 400 ans (77). Jusque dans les années 1990, on pensait que l'agent de la tuberculose, *M. tuberculosis*, était apparu au Néolithique lors de la domestication des bovins contaminés par une espèce proche, *M. bovis*. Le séquençage complet de *M. tuberculosis* en 1998 a permis de réaliser des études phylogénétiques comparatives avec les autres espèces apparentées à *M. tuberculosis* (78). Les résultats ont conclu qu'un complexe *tuberculosis* ancestral serait apparu il y a 40 000 ans, à l'occasion d'une des migrations humaines hors d'Afrique. Deux lignées différentes se seraient alors constituées, l'une infectant *H. sapiens*, l'autre d'autres

mammifères (bovins, caprins, rongeurs...) et parfois l'Homme. L'espèce *M. tuberculosis* serait issue de la lignée la plus ancienne et la plus proche du progéniteur ancestral des mycobactéries. Cette lignée aurait divergé par des délétions successives menant aux espèces *M. africanum*, *M. microti*, et enfin à *M. bovis*, la plus récente. Ainsi, *M. tuberculosis* a précédé l'apparition de *M. bovis*, montrant que l'Homme aurait infecté les bovins et non l'inverse.

On a pensé que la tuberculose avait été importée par les Européens à l'occasion de la découverte de l'Amérique, en comparant les profils génétiques des isolats américains de *M. tuberculosis* qui ressemblent à ceux des isolats européens. Cependant, en 1994, grâce à l'amplification génique, de l'ADN de *M. tuberculosis* a été découvert à partir de lésions pulmonaires d'une momie péruvienne datée de mille ans (79). Par la suite, on a mis en cause les mammifères marins comme source de tuberculose chez les habitants de la côte ouest du Pérou (80). En réalité, il s'agissait d'une espèce inconnue proche de *M. tuberculosis*, appelée *Mycobacterium pinnipedii* (81). Aujourd'hui, on pense que la tuberculose s'est répandue dans le monde entier dès la Préhistoire, à l'exception de petites populations isolées telles que les Polynésiens avant l'arrivée des Européens. La

plupart des épidémies ne sont pas liées à l'introduction du pathogène sur une population vierge, mais plutôt à un changement dans les conditions de vie et dans l'environnement des populations.

CONCLUSION

L'étude de l'ADN ancien est une nouvelle approche de décryptage de l'histoire de l'Humanité permettant de remonter bien au-delà de la découverte de l'écriture qui ne raconte qu'un passé récent d'environ 5 300 ans. Il est désormais possible de remonter le temps jusqu'à un million d'années (82). Le plus vieil échantillon d'ADN connu est celui d'un cheval du Pléistocène daté de 700 000 ans (83). Cette nouvelle approche contribue donc à revisiter l'histoire de tous les êtres vivants ou disparus : animaux, végétaux, champignons, bactéries et virus. L'ADN garde dans ses gènes les traces indélébiles des événements du passé, filiations, métissages, extinctions, migrations, catastrophes environnementales... On peut parler d'une Révolution de l'archéobiologie, attestée par l'explosion, en quelques années, des publications en quête du passé (84).

Conflit d'intérêts : aucun.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Pääbo S, Higuchi RG, Wilson AC. Ancient DNA and the polymerase chain reaction. The emerging field of molecular archaeology. *J Biol Chem* 1989 ; **264** : 9709-12.
- (2) Higuchi R, Bowman B, Freiberger M, Ryder OA, Wilson AC. DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature* 1984 ; **312** : 282-4.
- (3) Higuchi RG, Wrischnik LA, Oakes E, George M, Tong B, Wilson AC. Mitochondrial DNA of the extinct quagga: Relatedness and extent of postmortem change. *J Mol Evol* 1987 ; **25** : 283-7.
- (4) Pääbo S. Molecular cloning of Ancient Egyptian mummy DNA. *Nature* 1985 ; **314** : 644-5.
- (5) Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1986 ; **51** : 263-73.
- (6) Green RE, Krause J, Briggs AW, Maricic T, Stenzel U, Kircher M, et al. A draft sequence of the Neanderthal genome. *Science* 2010 ; **328** : 710-22.
- (7) Reich D, Green RE, Kircher M, Krause J, Patterson N, Durand EY, et al. Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature* 2010 ; **468** : 1053-60.
- (8) Pääbo S, Poinar H, Serre D, Jaenicke-Despres V, Hebler J, Rohland N, et al. Genetic analyses from ancient DNA. *Annu Rev Genet* 2004 ; **38** : 645-79.
- (9) Nordborg M. On the probability of Neanderthal ancestry. *Am J Hum Genet* 1998 ; **63** : 1237-40.
- (10) Krings M, Stone A, Schmitz RW, Krainitzki H, Stoneking M, Pääbo S. Neanderthal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell* 1997 ; **90** : 19-30.
- (11) Plagnol V, Wall JD. Possible ancestral structure in human populations. *PLoS Genet* 2006 ; **2** : e105.
- (12) Prüfer K, Racimo F, Patterson N, Jay F, Sankararaman S, Sawyer S, et al. The complete genome sequence of a Neanderthal from the Altai Mountains. *Nature* 2014 ; **505** : 43-9.
- (13) Fu Q, Li H, Moorjani P, Jay F, Slepchenko SM, Bondarev AA, et al. Genome sequence of a 45,000-year-old modern human from western Siberia. *Nature* 2014 ; **514** : 445-9.
- (14) Fu Q, Hajdinjak M, Moldovan OT, Constantin S, Mallick S, Skoglund P, et al. An early modern human from Romania with a recent Neanderthal ancestor. *Nature* 2015 ; **524** : 216-9.
- (15) Sankararaman S, Mallick S, Dannemann M, Prüfer K, Kelso J, Pääbo S, et al. The genomic landscape of Neanderthal ancestry in present-day humans. *Nature* 2014 ; **507** : 354-7.
- (16) Vernet B, Akey JM. Resurrecting surviving Neandertal lineages from modern human genomes. *Science* 2014 ; **343** : 1017-21.
- (17) Meyer M, Kircher M, Gansauge MT, Li H, Racimo F, et al. A high-coverage genome sequence from an archaic Denisovan individual. *Science* 2012 ; **338** : 222-6.
- (18) Sawyer S, Renaud G, Viola B, Hublin JJ, Gansauge MT, Shunkov MV, et al. Nuclear and mitochondrial DNA sequences from two Denisovan individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015 ; **112** : 15696-700.
- (19) Gibbons A. Oldest human genome comes from a Denisovan. *Science* 2024 ; **385** : 240-1.
- (20) Gilbert MT, Kivisild T, Grønnow B, Andersen PK, Metspalu E, Reidla M, et al. Paleo-Eskimo mtDNA genome reveals matrilineal discontinuity in Greenland. *Science* 2008 ; **320** : 1787-9.
- (21) Tsutaya T, Sawafuji R, Taurozzi AJ, Fagnäs Z, Patramanis I, Troché G, et al. A male Denisovan mandible from Pleistocene Taiwan. *Science* 2025 ; **388** : 176-80.
- (22) Rasmussen M, Li Y, Lindgreen S, Pedersen JS, Albrechtsen A, Moltke I, et al. Ancient human genome sequence of an extinct Palaeo-Eskimo. *Nature* 2010 ; **463** : 757-62.
- (23) Raghavan M, DeGiorgio M, Albrechtsen A, Moltke I, Skoglund P, Korneliussen TS, et al. The genetic prehistory of the New World Arctic. *Science* 2014 ; **345** : 1255832.
- (24) Rasmussen M, Anzick SL, Waters MR, Skoglund P, DeGiorgio M, Stafford TW Jr, et al. The genome of a Late Pleistocene human from a Clovis burial site in western Montana. *Nature* 2014 ; **506** : 225-9.
- (25) Rasmussen M, Sikora M, Albrechtsen A, Korneliussen TS, Moreno-Mayar JV, Poznik GD, et al. The ancestry and affiliations of Kennewick Man. *Nature* 2015 ; **523** : 455-8.
- (26) Raghavan M, Skoglund P, Graf KE, Metspalu M, Albrechtsen A, Moltke I, et al. Upper Palaeolithic Siberian genome reveals dual ancestry of Native Americans. *Nature* 2014 ; **505** : 87-91.
- (27) Raghavan M, Steinrücken M, Harris K, Schiffels S, Rasmussen S, DeGiorgio M, et al. Genomic evidence for the Pleistocene and recent population history of Native Americans. *Science* 2015 ; **349** : aab3884.
- (28) Skoglund P, Mallick S, Bortolini MC, Chennagir N, Hünemeier T, Petzl-Erler ML, et al. Genetic evidence for two founding populations of the Americas. *Nature* 2015 ; **525** : 104-8.
- (29) Keller A, Graefen A, Ball M, Matzas M, Boisguerin V, Maixner F, et al. New insights into the Tyrolean Iceman's origin and phenotype as inferred by whole-genome sequencing. *Nat Commun* 2012 ; **3** : 698.
- (30) Sikora M, Carpenter ML, Moreno-Estrada A, Henn BM, Underhill PA, Sánchez-Quinto F, et al. Population genomic analysis of ancient and modern genomes yields new insights into the genetic ancestry of the Tyrolean Iceman and the genetic structure of Europe. *PLoS Genet* 2014 ; **10** : e1004353.
- (31) Lazaridis I, Patterson N, Mittnik A, Renaud G, Mallick S, Kirsanow K, et al. Ancient human genomes suggest three ancestral populations for present-day Europeans. *Nature* 2014 ; **513** : 409-13.
- (32) Jones ER, Gonzalez-Fortes G, Connell S, Siska V, Eriksson A, Martiniano R, et al. Upper Palaeo-

- lithic genomes reveal deep roots of modern Eurasians. *Nature Com* 2015 ; **6** : 8912.
- (33) Fu Q, Meyer M, Gao X, Stenzel U, Burbano HA, Kelso K, Pääbo S. DNA analysis of an early modern human from Tianyuan Cave, China. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; **110** : 2223-7.
- (34) Pickrell JK, Patterson N, Loh P-R, Lipson M, Berger B, Stoneking P, et al. Ancient west Eurasian ancestry in southern and eastern Africa. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014 ; **111** : 2632-7.
- (35) Skoglund P, Thompson JC, Prendergast ME, Mitnik A, Sirak K, Hajdinjak M, et al. Reconstructing prehistoric African population. *Cell* 2017 ; **171** : 59-71.
- (36) Matisoo-Smith E. Ancient DNA and the human settlement of the Pacific: A review. *J Hum Evol* 2015 ; **79** : 93-104.
- (37) Spyrou MA, Bos KI, Herbig A, Krause J. Ancient pathogen genomics as an emerging tool for infectious disease research. *Nat Rev Genet* 2019 ; **20** : 323-40.
- (38) Berche P. The Spanish flu. *Presse Med* 2022 ; **51** : 104127.
- (39) Taubenberger JK, Reid AH, Krafft AE, Bijwaard KE, Fanning TG. Initial genetic characterization of the 1918 "Spanish" influenza virus. *Science* 1997 ; **275** : 1793-6.
- (40) Reid AH, Fanning TG, Hultin JV, Taubenberger JK. Origin and evolution of the 1918 "Spanish" influenza virus hemagglutinin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; **96** : 1651-6.
- (41) Reid AH, Fanning TG, Janczewski TA, Taubenberger JK. Characterization of the 1918 "Spanish" influenza virus neuraminidase gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; **97** : 6785-90.
- (42) Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM, Wang R, Jin G, Fanning TG. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature* 2005 ; **437** : 889-93.
- (43) Tumpey TM, Basler CF, Aguilar PV, Zeng H, Solórzano A, Wayne DE, et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish Influenza pandemic virus. *Science* 2005 ; **310** : 77-80.
- (44) Sheng ZM, Chertow DS, Ambroggio X, McCall S, Przygodzki RM, Cunningham RE, et al. Autopsy series of 68 cases dying before and during the 1918 influenza pandemic peak. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011 ; **108** : 16416-21.
- (45) Reid AH, Taubenberger JK, Fanning TG. Evidence of an absence: The genetic origins of the 1918 pandemic influenza virus. *Nat Rev Microbiol* 2004 ; **2** : 909-14.
- (46) Taubenberger JK, Morens DM. 1918 Influenza: The mother of all pandemics. *Emerg Infect Dis* 2006 ; **12** : 15-22.
- (47) Haensch S, Bianucci R, Signoli M, Rajerison M, Schultz M, Kacki S, et al. Distinct clones of *Yersinia pestis* caused the Black Death. *PLoS Pathogens* 2010 ; **6** : e1001134.
- (48) Harbeck M, Seifert L, Hänsch S, Wagner DM, Birdsell D, Parise KL, et al. *Yersinia pestis* DNA from skeletal remains from the 6th century AD reveals insights into Justinianic Plague. *PLoS Pathogens* 2013 ; **9** : e1003349.
- (49) Spyrou MA, Tukhbatova RI, Wang CC, Valtueña AA, Lankapalli AK, Kondrashin VV, et al. Analysis of 3800-year-old *Yersinia pestis* genomes suggests Bronze Age origin for bubonic Plague. *Nat Commun* 2018 ; **9** : 2234.
- (50) Cui Y, Yu C, Yan Y, Li D, Li Y, Jombart T, et al. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; **110** : 577-82.
- (51) Dubyanskiy VM, Yeszhanov AB. Ecology of *Yersinia pestis* and the epidemiology of plague. *Adv Exp Med Biol* 2016 ; **918** : 101-70.
- (52) Hinnebusch BJ, Rudolph AE, Cherepanov P, Dixon JE, Schwan TG, Forsberg A. Role of *Yersinia* murine toxin in survival of *Yersinia pestis* in the midgut of the flea vector. *Science* 2002 ; **296** : 733-5.
- (53) Bland DM, Miarinjara A, Bosio CF, Calarco J, Hinnebusch BJ. Acquisition of *Yersinia* murine toxin enabled *Yersinia pestis* to expand the range of mammalian hosts that sustain flea-borne plague. *PLoS Pathog* 2021 ; **17** : e1009995.
- (54) Rascovan N, Sjögren KG, Kristiansen K, Nielsen R, Willerslev E, Desnues C, Rasmussen S. Emergence and spread of basal lineages of *Yersinia pestis* during the Neolithic decline. *Cell* 2019 ; **176** : 295-305.
- (55) Rasmussen S, Allentoft ME, Nielsen K, Orlando L, Sikora M, Sjögren KG, et al. Early divergent strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 years ago. *Cell* 2015 ; **163** : 571-82.
- (56) Morozova I, Kasianov A, Bruskin S, Neukamm J, Molak M, Batieva E, et al. New ancient Eastern European *Yersinia pestis* genomes illuminate the dispersal of plague in Europe. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2020 ; **375** : 20190569.
- (57) Susat J, Haller-Caskie M, Bonczarowska JH, da Silva NA, Schierhold K, Rind MM, et al. Neolithic *Yersinia pestis* infections in humans and a dog. *Commun Biol* 2024 ; **7** : 1013.
- (58) Light-Maka I, Hermes TR, Bianco RA, Semerau L, Kosintsev P, Alekseeva V, et al. Bronze Age *Yersinia pestis* genome from sheep sheds light on hosts and evolution of a prehistoric plague lineage. *Cell* 2025 ; **188** : 5748-62.
- (59) Massung RF, Liu LI, Qi J, Knight JC, Yuran TE, Kerlavage AR, et al. Analysis of the complete genome of smallpox variola major virus strain Bangladesh-1975. *Virology* 1994 ; **201** : 215-40.
- (60) Massung RF, Esposito JJ, Liu L, Qi J, Utterback TR, Knight JC, et al. Potential virulence determinants in terminal regions of variola smallpox virus genome. *Nature* 1993 ; **366** : 748-51.
- (61) Esposito JJ, Sammons SA, Frace AM, Osborne JD, Olsen-Rasmussen M, Zhang M, et al. Genome sequence diversity and clues to the evolution of variola (smallpox) virus. *Science* 2006 ; **313** : 807-12.
- (62) Duggan AT, Perdomo MF, Piombino-Mascali D, Marciniak S, Poinar D, Emery MV, et al. 17th century variola virus reveals the recent history of smallpox. *Curr Biol* 2016 ; **26** : 3407-12.

- (63) Biagini P, Thèves C, Balaesque P, Géraut A, Cannet C, Keyser C, et al. Variola virus in a 300-year old Siberian mummy. *N Engl J Med* 2012 ; **367** : 2057-9.
- (64) Ferrari G, Neukamm J, Baalsrud HT, Breidenstein AM, Ravinet M, Phillips C, et al. Variola virus genome sequenced from an eighteenth-century museum specimen supports the recent origin of smallpox. *Philos Trans R Soc Lond B Bio Sci* 2020 ; **375** : 20190572.
- (65) Pajer P, Dresler J, Kabíckova H, Písa L, Aganov P, Fucik K, et al. Characterization of two historic smallpox specimens from a Czech museum. *Viruses* 2017 ; **9** : 200.
- (66) Mühlemann B, Vinner L, Margaryan A, Wilhelmson H, de la Fuente Castro C, Allentoft ME, et al. Diverse variola virus (smallpox) strains were widespread in northern Europe in the Viking Age. *Science* 2020 ; **369** : eaaw8977.
- (67) Parker S, Crump R, Hartzler H, Buller RM. Evaluation of taterapox virus in small animals. *Viruses* 2017 ; **9** : 203.
- (68) Dahiya SS, Kumar S, Mehta SC, Narnaware SD, Singh R, Tuteja FC. Camelpox : A brief review on its epidemiology, current status and challenges. *Acta Trop* 2016 ; **158** : 32-8.
- (69) Dabrowski PW, Radonić A, Kurth A, Nitsche A. Genome-wide comparison of cowpox viruses reveals a new clade related to Variola virus. *PLoS One* 2013 ; **8** : e79953.
- (70) Berche P. The life and death of smallpox. *Presse Med* 2022 ; **51** : 104117 & Cambridge Scholars Publishing, Newcastle upon Tyne (UK) ; 2025 : 197 p.
- (71) Chevallier J, Vons J. La «score pestilentielle» ou le mal français (1496). *Hist Sci Med* 2018 ; **52** : 143-9.
- (72) Dutour O, L'origine de la syphilis : Colomb enfin innocenté ? *Nouv Archéol* 2022 ; **169** : 29-34.
- (73) Grmek MD. Les maladies à l'aube de la civilisation occidentale. Payot, Paris ; 1983 : 208-12.
- (74) Arora N, Schuenemann VJ, Jäger G, Peltzer A, Seitz A, Herbig A, et al. Origin of modern syphilis and emergence of a pandemic *Treponema pallidum* cluster. *Nat Microbiol* 2016 ; **2** : 16245.
- (75) Giffin K, Lankapalli AK, Sabin S, Spyrou MA, Posth C, Kozakaitė J, et al. A treponemal genome from an historic plague victim supports a recent emergence of yaws and its presence in 15th century Europe. *Sci Rep* 2020 ; **10** : 9499.
- (76) Barquera R, Sitter TL, Kirkpatrick CL, Ramirez DA, Kocher A, Spyrou MA, et al. Ancient genomes reveal a deep history of *Treponema pallidum* in the Americas. *Nature* 2025 ; **640** : 186-93.
- (77) Crubézy E, Ludes B, Poveda JD, Clayton J, Crouau-Roy B, Montagnon D. Identification of *Mycobacterium* DNA in an Egyptian Pott's disease of 5400 years old. *C R Acad Sci III* 1998 ; **321** : 941-51.
- (78) Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, Gordon SV, et al. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 1998 ; **393** : 537-44.
- (79) Salo WL, Aufderheide AC, Buikstrat J, Holcomb TA. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in a pre-Columbian Peruvian mummy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; **91** : 2091-4.
- (80) Bos KI, Harkins KM, Herbig A, Coscolla M, Weber N, Comas I, et al. Pre-Columbian mycobacterial genomes reveal seals as a source of New World human tuberculosis. *Nature* 2014 ; **514** : 494-7.
- (81) Vågane AJ, Honap TP, Harkins KM, Rosenberg MS, Giffin K, Cárdenas-Arroyo F, et al. Geographically dispersed zoonotic tuberculosis in pre-contact South American human populations. *Nature Com* 2022 ; **13** : 1195.
- (82) Millar CD, Lambert DM. Ancient DNA: Towards a million-year-old genome. *Nature* 2013 ; **499** : 74-5.
- (83) Orlando L, Ginolhac A, Zhang G, Froese D, Albrechtsen A, Sittler M, et al. Recalibrating Equus evolution using the genome sequence of an early Middle Pleistocene horse. *Nature* 2013 ; **499** : 74-8.
- (84) Bergström A, Fellows Yates JA, Warinner C. Ancient DNA data hold insights into past organisms and ecosystems - handle them with more care. *Nature* 2024 ; **636** : 296-8.