

TARTU ÜLIKOOL

LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEADUSKOND

MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

EVOLUTSIOONILISE BIOLOOGIA ÕPPETOOL

**Neoliitiline transitsioon Eestis – kamm- ja nöörikeramika  
kultuuride esindajate DNA sekveneerimine ning mitokondriaalse  
DNA analüüs**

Lehti Saag

Magistritöö

Juhendajad: PhD Mait Metspalu

PhD Ene Metspalu

TARTU 2015





# Sisukord

Kasutatud lühendid	6
Sissejuhatus	7
1. Kirjanduse ülevaade	8
1.1. Mitokondriaalne DNA	8
1.1.1. Üldisloomustus	8
1.1.2. Fülogenees	8
1.2. Vaadeldavad ajalooperioodid Eestis	9
1.2.1. Mesoliitikum	9
1.2.2. Neoliitikum	10
1.3. Uuritavad arheoloogilised kultuurid	10
1.3.1. Kammkeraamika kultuur	10
1.3.1.1. Arheoloogia	10
1.3.1.2. Geneetika	12
1.3.2. Nöörkeraamika kultuur	12
1.3.2.1. Arheoloogia	12
1.3.2.2. Geneetika	13
1.4. Neoliitilise transitsiooni mõju Euroopa populatsioonide mitmekesisusele	15
1.4.1. Neoliitilise transitsiooni jäljed tänapäeva populatsioonide geenitiigis	16
1.4.2. Neoliitikumi populatsioonide vana DNA uuringud	18
2. Eksperimentaalosa	21
2.1. Töö eesmärgid	21
2.2. Materjal ja meetodika	21
2.2.1. Hambad, millest DNA eraldati	21
2.2.2. DNA eraldamine hammastest	22
2.2.2.1. Saastuse vältimine	22
2.2.2.2. Puurimine ja purustamine	22

2.2.2.3.	Purustatud hammaste lahustamine	23
2.2.2.4.	DNA sidumine ränikerakestele	24
2.2.3.	DNA sekveneerimisraamatukogude koostamine	24
2.2.3.1.	DNA-fragmentide üheaheelaliste otste täitmine	25
2.2.3.2.	DNA puhastamine üheaheelaliste otste täitmise reaktsioonisegust	25
2.2.3.3.	Adapterite liitmine DNA-fragmentidele	25
2.2.3.4.	DNA puhastamine adapterite liitmise reaktsioonisegust	25
2.2.3.5.	Adapteri lünkade täitmine	26
2.2.3.6.	Polümeraasi ahelreaktsioonid	26
2.2.3.7.	Geelelektroforees	27
2.2.3.8.	DNA puhastamine polümeraasi ahelreaktsiooni komponentidest	27
2.2.3.9.	Raamatukogude pikkusjaotuse ja DNA kontsentratsiooni määramine	27
2.2.4.	DNA sekveneerimine	27
2.2.5.	Sekveneeritud järjestuste joondamine referentsile	28
2.2.5.1.	Järjestuste joondamiseks ettevalmistamine	28
2.2.5.2.	Järjestuste joondamine referentsile	28
2.2.6.	Referentsile joondatud järjestuste analüüs	29
2.2.6.1.	Joendusfailide analüüsiks ettevalmistamine	29
2.2.6.2.	Uuritava proovi kvaliteedikontroll	29
2.2.6.3.	Täisgenoomi katvuse ja mitokondri genoomi katvuse arvutamine	30
2.2.6.4.	mtDNA haplogruppide määramine	30
2.3.	Tulemused ja arutelu	31
2.3.1.	Eraldatud DNA sekveneerimise tulemused	31
2.3.1.1.	Referentsjärjestusele paigutunud järjestuste osakaal	31
2.3.1.2.	Uuritavate proovide kvaliteet	32
2.3.1.3.	Saavutatud täisgenoomi katvus ja mtDNA katvus	36
2.3.2.	Sekveneeritud indiviidide jaotumine mtDNA haplogruppidesse	36
2.3.3.	Leitud haplogruppide olemasolevates andmebaasides esinevate alamharude levik tänapäeva Euroopas	38

2.3.4. Analüüsitud proovide ja varem publitseeritud sama perioodi proovide mtDNA haplogrupilise kuuluvuse võrdlus	40
Kokkuvõte	44
Summary	45
Kirjanduse loetelu	46
Kasutatud veebiaadressid	55
Lisad	56
Lisa 1. Koondtabel	56
Lisa 2. Sekveneeritud proovide kvaliteedikontroll	57
Lisa 3. vana DNA võrdlusandmestik	62
Lihtlitsents	70

## Kasutatud lühendid

$F_{ST}$  – fikseerumisindeks (*fixation index*), mis võrdleb alampopulatsioonide ja metapopulatsiooni heterosügootsust

GRCh37 – Genoomi Referentsi Konsortsiumi inimese genoomi 37. versioon (*Genome Reference Consortium human 37*)

HVS – hüpervarieeruv segment (*hypervariable segment*)

LBK – joonkeraamika kultuur (*Linearbandkeramik*)

$N_{ef}$  – naiste efektiivne populatsioonisuurus (*female effective population size*)

$N_{em}$  – meeste efektiivne populatsioonisuurus (*male effective population size*)

rCRS – parandatud Cambridge'i referentsjärjestus (*revised Cambridge reference sequence*)

## Sissejuhatus

Neoliitikumis jõudsid Lähis-Idast Euroopasse põlluharimine ja karjakasvatus, millega kaasnesid olulised muutused paljudes eluvaldkondades. Kirjeldatud uuenduste perioodi nimetatakse neoliitiliseks transitsiooniks ning selle mõjusid inimeste geneetilisele mitmekesisusele on tänapäevase DNA põhjal uuritud juba pikka aega. Viimasel kümnendil on hakatud teemat lahkama ka vana DNA andmetele toetudes, kuid siiani põhiliselt Kesk-Euroopa ja vähem ka Lõuna-Euroopa ning Skandinaavia proove kasutades. Ida-Euroopa proovide analüüsitulemusi on seni avaldatud väga vähe.

Kammkeraamika kultuur tekkis ~6000 aastat tagasi (a.t.) Läänemerest itta jäävatel aladel ja levis Põhja-Rootsi ja Valgeveneni ning ulatus idas Karjala, Peterburi ja Pihkvani. Kultuur, mille esindajad elatusid küttimisest-korilusest ja kalapüügist, on oma nime saanud kammilaadse templiga savinõude kaunistamise järgi. Umbes 5000 a.t. jõudis Eesti territooriumile Ida-Euroopa steppides alguse saanud ning Kesk-Euroopast Skandinaavia ja Ida-Euroopani ulatunud nõorkeraamika ehk venekirveste kultuur, mille esindajad tegelesid põlluharimise ja karjakasvatusega. Nõörivajutustega kaunistatud savinõude või vene kujuliste kivist kirveste järgi nimetatud kultuur ei asendanud kammkeraamika kultuuri koheselt, vaid eksisteeris sellega pikka aega paralleelselt.

Käesolev töö on osa pikemaajalisest vana DNA projektist, milles vaadeldakse kõnealust perioodi Eestis ning üritatakse välja selgitada, kas põlluharimine ja karjakasvatus jõudsid koos nõorkeraamikakultuuriga siia põhiliselt migratsiooni või kultuuriülekanne tulemusena. Magistritöö konkreetseteks eesmärkideks on eraldada ja sekveneerida kamm- ja nõorkeraamika kultuuride esindajate hammastest DNA, teha kindlaks sekveneeritud proovide mitokondriaalse DNA haplogrupid, võrrelda neid varem publitseeritud sama perioodi proovide tulemustega ning vaadelda leitud haplogruppide olemasolevates andmebaasides esinevate alamharude levikut tänapäeva Euroopas.

# 1. Kirjanduse ülevaade

## 1.1. Mitokondriaalne DNA

### 1.1.1. Üldiseloostus

Inimese mitokondriaalne DNA (mtDNA) on 16 568 aluspaari pikkune kaheaheelaline rõngaskromosoom (Anderson *et al.*, 1981; Andrews *et al.*, 1999), mis ei rekombineeru ja pärandub järglastele ainult emalt, võimaldades uurida emaliinis toimunud evolutsioonilisi muutuseid.

Mitokondriaalne DNA on heaks vahendiks inimkonna geneetilise varieeruvuse tekke rekonstrueerimisel ka seetõttu, et see evolutsioneerub oluliselt kiiremini kui tuumagenoom (Brown *et al.*, 1979). Mitokondri genoomi kontrollregiooni ehk mittekodeeriva osa (HVS I ja HVS II) mutatsioonikiirus on HVS I regioonis  $1,8 \times 10^{-7}$  (Forster *et al.*, 1996) ja puhastava valikuga arvestades kontrollregioonis tervikuna  $9,88 \times 10^{-8}$  (Soares *et al.*, 2009) mutatsiooni nukleotiidi kohta aastas. Kodeeriva osa (positsioonid 577–16023) mutatsioonikiirus on kontrollregiooni omast väiksem – kõigi asendustega arvestades  $1,26 \times 10^{-8}$  (Mishmar *et al.*, 2003) ning ainult sünonüümseid asendusi vaadeldes  $3,5 \times 10^{-8}$  mutatsiooni nukleotiidi kohta aastas (Kivisild *et al.*, 2006). Neoliitiliste ja pronksiaegsete proovide põhjal kalibreeritud kogu mtDNA keskmine mutatsioonikiirus on  $2,4 \times 10^{-8}$  asendust nukleotiidi kohta aastas (Brotherton *et al.*, 2013) ning kasutades proove eri ajapunktidest viimase 40 000 aasta jooksul,  $2,67 \times 10^{-8}$  asendust nukleotiidi kohta aastas (Fu *et al.*, 2013). Mitokondri genoom on ka asutajaefekti ja geenisiirde poolt autosomaalsest DNA-st enam mõjutatud (Underhill ja Kivisild, 2007) ning võimaldab seeläbi tuvastada populatsiooni demograafilist ajalugu.

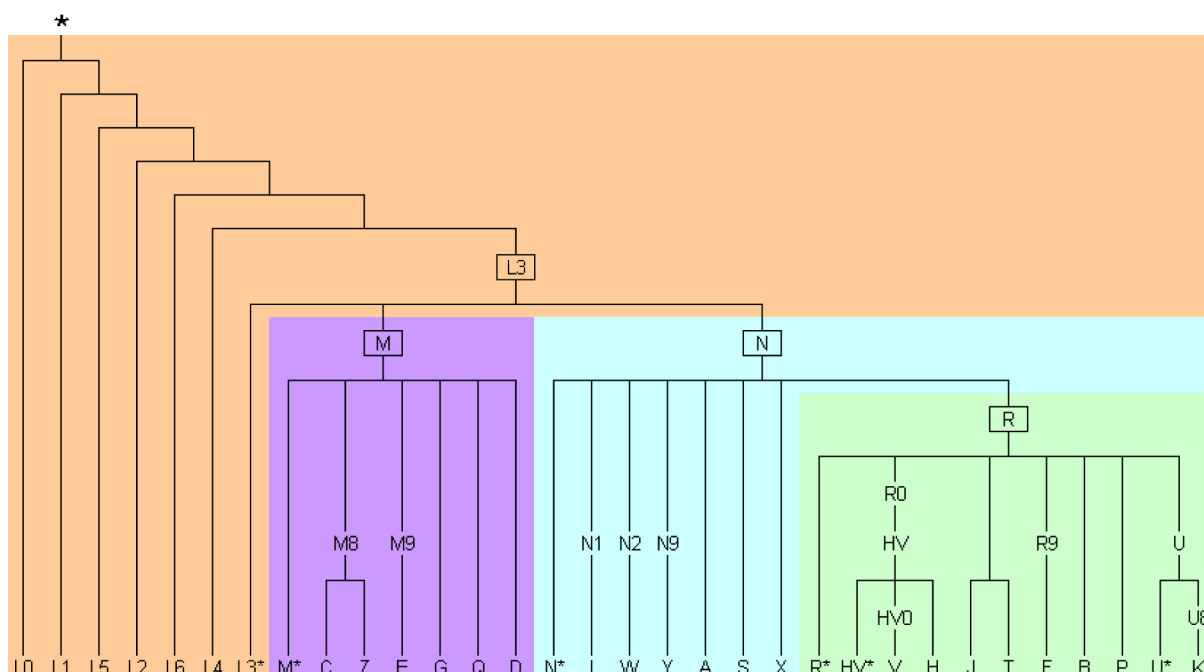
Mitokondriaalse DNA geograafilist hajuvust suurendab patrilokaalsus (Seielstad *et al.*, 1998). Naiste suur migratsioonisagedus mingis konkreetses piirkonnas ei mõjuta siiski populatsioonide struktuuri globaalsel skaalal ning maailma keskmine populatsioonidevaheline varieeruvus (fikseerumisindeks  $F_{ST}$  – *fixation index*) on mtDNA-l (0,382) ja Y-kromosoomil (0,334) sarnane (Wilder *et al.*, 2004).

### 1.1.2. Fülogenees

Anatoomiliselt moodsa inimese mtDNA fülogeneetilise puu kuus kõige sügavamad hargnemised eristavad tänapäeva Aafriklasti. Need puu harud ehk haplogrupid tähistatakse L0–L6 (Salas *et al.*, 2002). Haplogrupp L3 sisaldab kahte haru M ja N, mis jõudsid Euraasiasse umbes 50 000 a.t. ja panid aluse kogu ülejäänud maailma emaliinidele (Quintana-Murci *et al.*,

1999). Haplogrupp M esineb tänapäeval Aasias ning N nii Aasias kui Euroopas. Haplogrupp N hõlmab endas superhaplogruppi R, haplogruppe A, S ja X ning alamhaplogruppide N1, N2 ja N9 all haplogruppe I, W ja Y. Superhaplogrupp R omakorda sisaldab ülemhaplogruppi R0, haplogruppe J ja T, B, P ning U ja alamhaplogrupi R9 all haplogruppi F. Ülemhaplogrupi R0 alla kuulub haplogrupp HV, mis hõlmab haplogruppi H ja alamhaplogrupi HV0 all haplogruppi V. Haplogrupi U alamharu U8 sisaldab haplogruppi K (Maca-Meyer *et al.*, 2001; Kivisild *et al.*, 2002; van Oven ja Kayser, 2009) (joonis 1).

Tänapäeval kasutatakse mtDNA analüüse läbi viies enim pidevalt uuendatavat mtDNA täielikku fülogeneesipuud sisaldavat veebisaiti *PhyloTree* (van Oven ja Kayser, 2009).



**Joonis 1. Mitokondriaalse DNA lihtsustatud fülogeneesipuu.** Oranžiga taustaga Aafrika-spetsiifilised liinid, lillaga Aasias levinud makrohaplogrupp M, helesinisega Aasias ja Euroopas levinud makrohaplogrupp N ning rohelisega selles sisalduv superhaplogrupp R. Suure tärniga on märgitud puu juur. Tärnikestega märgistatud liinid hõlmavad kõiki ülejäänud vastava haplogrupi alamhaplogruppe (van Oven ja Kayser, 2009).

## 1.2. Vaadeldavad ajalooperioodid Eestis

### 1.2.1. Mesoliitikum

Mesoliitikum algas Eesti aladel umbes 9700 aastat eKr, kui lõppes viimane jääaeg. Vanimad inimasustuse jäljed pärinevad Pärnu kandist Pullist, kuhu asuti elama umbes 8600 a eKr. 8500–7000 a eKr kestnud Kunda Lammasmäe asulakoha järgi nime saanud Kunda etapi ajal elati põhiliselt siseveekogude ääres, kus tegeleti küttimise, kalastamise ja korilusega. Järgnenud Sindi-Lodja (7000–5500 a eKr) ja Narva (5500–4000 a eKr) etappide ajal asuti

elama ka rannikule, mistõttu toonaste inimeste toidusesse lisandusid merekalad ja mereimetajad. Hülgeid küttides jõuti suhteliselt kaugele merele, ilmselt tänu millele avastati kiviaegsest rannajoonest kümnete kilomeetrite kaugusele jäänud laiud ning saared (Kriiska, 2014). Umbes 5500 aastat eKr alustati Eesti aladel juba keraamika valmistamisega (Kriiska, 2014), kuid sellega ei kaasnenud suuri muutusi asustuses, majanduses ega ühiskonnakorralduses (Kriiska, 2015).

## **1.2.2. Neoliitikum**

Varem räägiti Eesti neoliitikumi algusest seoses savinõude kasutuselevõttuga, kuid kaasaegsed arheoloogid loevad neoliitikumi alguseks esimesi katsetusi kultuurtaimede kasvatamises umbes 4000 aastat eKr. Neoliitikum jagatakse kolme alaperioodi, millest esimene, varaneoliitikum, jääb vahemikku 4000–3500 a eKr ning on seotud kammkeraamika kultuuri kasutuselevõttuga, mille esindajad elatusid põhiliselt kalapüügist ja küttimisest-korilusest, kuid katsetasid veidi ka teraviljakasvatusega. Keskneoliitikumis (3500–2900 a eKr) toimus jagunemine väiksemateks kultuuripiirkondadeks. Peatükis 1.4 käsitletava neoliitilise transitsiooni perioodiks võib Eesti aladel pidada hilisneoliitikumi (2900–1800 a eKr), mil kammkeraamika kultuuri kõrvale tekkinud nörkeraamika kultuuris hakati põhilise elatusallikana tegelema viljelusmajandusega, mis tähendas teraviljakasvatuse osakaalu suurenemist ning kariloomade pidamisega alustamist. Neoliitikum lõppes ~1800 a eKr, mil seoses pronksist tööriistade kasutuselevõttuga algas pronksiaeg (Kriiska, 2015).

## **1.3. Uuritavad arheoloogilised kultuurid**

### **1.3.1. Kammkeraamika kultuur**

#### **1.3.1.1. Arheoloogia**

Kammkeraamika kultuur tekkis ~4000 aastat eKr suhteliselt üheaegselt Läänemerest itta jäävatel aladel ning levis põhjasuunal Rovaniemi ja Põhja-Rootsini, idas Venemaa Karjala, Peterburi ja Pihkva piirkondadeni ning lõunas Ida-Leedu ja Lääne-Valgeveneni. Kammkeraamika kompleks tekkis eelkõige kultuurimuutuse tagajärjel, kuigi välistada ei saa ka immigratsiooni mõju osades piirkondades (Kriiska, 2015). Tüüpiline kammkeraamika, mis sai oma nime kammilaadse templiga savinõude kaunistamise järgi (Jaanits, 1982), muutus suhteliselt kiiresti erinäoliseks, mistõttu võib alates 3700. a eKr rääkida mitmete alamtüüpidega hilisest kammkeraamikast (Kriiska, 2015). Tüüpilise kammkeraamika savinõud olid kaunistatud vaheldumisi kammivajutuste ja lohkude ridadega (Jaanits, 1982), mis katsid kogu nõu pealispinna, ulatudes teinekord ka siseküljele (Kriiska, 2015) (joonis 2).



Kultuuri esindajad liikusid palju ringi, kuna tegelesid küttimise ja korilusega, kuid ehtasid püsivamatesse asulakohtadesse juba väikseid suhteliselt vastupidavaid süvendatud põhjaga maju, millesse pärast pikematel toiduhankimisretkedel onnides ja lühematel retkedel varjualustes ööbimist naaseti (Jaanits, 1982; Kriiska, 2014). Taolised asulad koosnesid üldjuhul kuni 5 majast ning neis elas kokku mõnikümmend inimest (Jaanits, 1982).



**Joonis 2. Kammkeraamikale omase savinõu killud**  
(*Wikimedia Commons*).

Eesti kammkeraamika vanimad dateeringud pärinevad Sindi-Lodja III ja Jägala Jõesuu I asulakohtadest (vastavalt 3900 ja 3700 a eKr) (Kriiska, 2015). Kuna kammkeraamika kultuuri esindajad elasid põhiliselt mere, jõgede ja järvede ääres, enamasti veepiiri lähedal liivasel pinnasel, elatusid nad suure osas kalapüügist ja küttisid ka mereimetajaid (Jaanits, 1982). Kammkeraamika kultuuri inimesed hakkasid Eestis esimestena katsetama ka teraviljakasvatusega (Kriiska, 2014), omandades selleks oskusi ilmselt Kesk-Euroopa või Lõuna-Skandinaavia varastelt põlluharijatelt. Maaharimine oli sellegi poolest kammkeraamika kultuuri esindajate seas vähelevinud, jäädes piiratuks nii viljade hulga kui kasutatavate maalade poolest (Kriiska, 2015). Tõenditeks kontaktidest kaugemate piirkondadega on tollal Eestis laialdaselt levinud materjalid tulekivi, merevaik ja metatuff, mis pärinesid vastavalt Lääne-Venemaalt ja Lõuna-Leedust/Valgevenest, Lääne-Lätist ja Lääne-Leedust ning Karjalast Äänisjärve piirkonnast (Jaanits, 1982; Kriiska, 2014). Surnute matmises esines Eestis erinevusi, kuid kõige enam on leitud selili väljasirutatud asendis peaga lõunakagusse maetuid, kusjuures meeste ja naiste vahel erinevusi täheldatud ei ole (Kriiska, 2015). Hauapanustena on leitud tööriistu ning mitmesugustest materjalidest (luu, hammas, merevaik, kivi) loomakujulisi ripatseid ja kaelahteid, millel oli ilmselt seos usundiga (Jaanits, 1982). Leitud hauad paiknesid tihti eluasemetes tuleaseme läheduses, kuid matuseid on leitud vähe, millest võib järeldada, et enamik surnuid maeti asulast eemale (Jaanits, 1982), jäeti hoopis metsa maapinnale või pandi puude otsa (Kriiska, 2014).

### 1.3.1.2. Geneetika

Eesti asub kammkeraamika kultuuri levikupiirkonna läänepiiril, mis tähendab, et kõnealust kultuuri ei esinenud Kesk-Euroopas, Lõuna-Euroopas ega Skandinaavias – piirkondades, kust pärineb valdav enamus senini analüüsitud Euroopa vana DNA leidudest. Sellest tulenevalt ei õnnestunud leida ühtegi publikatsiooni, milles oleks tutvustatud kammkeraamika kultuuri esindajate DNA-uuringute tulemusi.

### 1.3.2. Nöörkeraamika kultuur

#### 1.3.2.1. Arheoloogia

Nöörkeraamika kultuurikompleks tekkis ~3000 a eKr Ida-Euroopa stepialadel (Müller *et al.*, 2009; Kriiska, 2015) või Kesk-Euroopas (Kriiska, 2015). Hiljem ulatus kultuur Ida-Belgiast ja Ida-Prantsusmaalt Tatarstanini ning Põhja-Šveitsist ja Ida-Ukrainast Kesk-Soome, Kesk-Rootsi ja Lõuna-Norrani (Haak *et al.*, 2008; Kriiska, 2015). Nöörkeraamika kultuur esines kogu levialal suhteliselt pikka aega paralleelselt varasemate kultuuridega (Kriiska, 2015). Tegemist oli mitmekesise kompleksiga, mille ühisosaks olid algul nõõrivajutustega kaunistatud peekrikujulised savinõud ja varrepaigaldusauguga kivikirved, kuid hiljem ilmnesid erinevused anumate ja tööriistade kujus ning materjalides. Nöörkeraamika savinõud olid õhukese S-kujulise seinaprofiiliga peekrid, mille ülemine pool kaunistati nõõri ümber nõu kerides või kriipides (Jaanits, 1982) (joonis 3). Kultuurile oli ilmselt omane elamine üksikmajapidamistes (Müller *et al.*, 2009; Kriiska, 2014). Nöörkeraamika kultuuri inimesed olid veidi pikemad ja tugevama kehaehitusega kui varasemate kultuuride omad (Kriiska, 2014; Allentoft *et al.*, 2015). Surnud maeti üldiselt külili asendis, näoga lõunasse – naised vasakul küljel ning mehed paremal küljel (Haak *et al.*, 2008). Hauapanustena kasutati savinõusid, tööriistu, rõivakinniteid ja meestel kivikirveid (Haak *et al.*, 2008; Jaanits, 1982; Kriiska, 2014), kuid usundilise tähendusega panuseid esines harva (Kriiska, 2015).



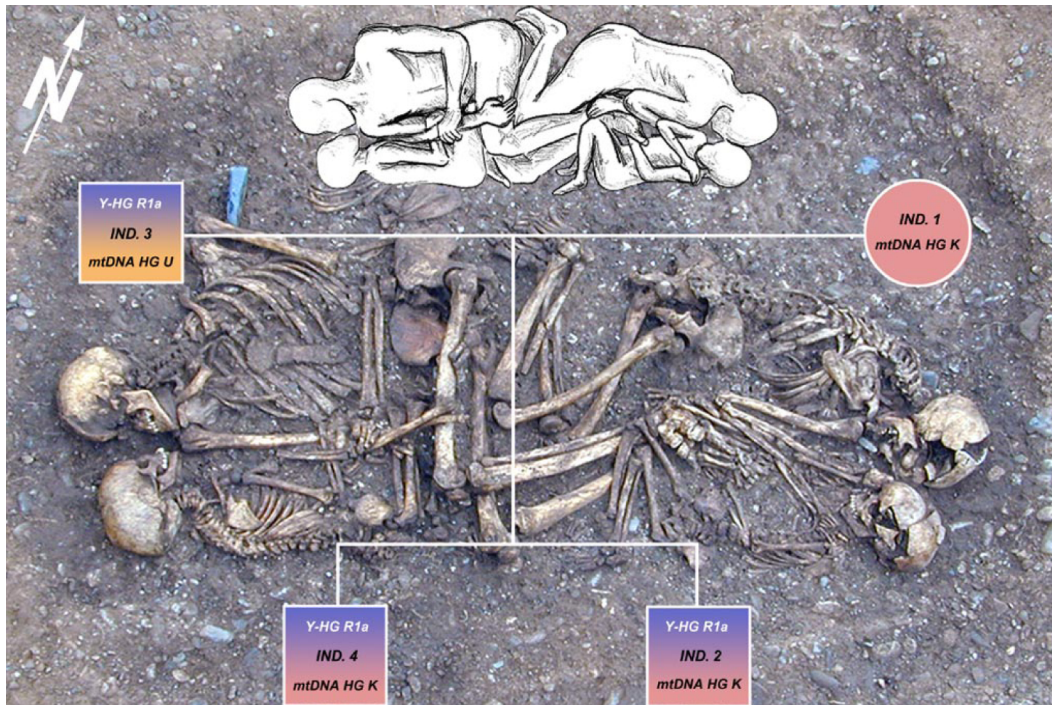
Joonis 3. Nöörkeraamikale iseloomulik savinõu ja venekujulised kivikirved (*Wikimedia Commons*).

Eesti aladele jõudis kultuur ilmselt umbes 2900 a eKr, kuigi vanim dateering on hetkel 2800 eKr (Kriiska, 2015), ning siin on seda venet (paat) meenutava kivikirveste kuju tõttu kutsutud ka venekirveste kultuuriks (Jaanits, 1982) (joonis 3). Keraamika ja kivikirveste sarnasuste alusel moodustas Eesti ühise väiksema kultuuripiirkonna Läti, Ingerimaa, Karjala maakitsuse ja Kagu-Soomega, kus nöörikeramika periood kestis ühtlasi kauem (kuni ~2000 eKr) kui Kesk- ja Põhja-Euroopas (kuni 2400/2300 eKr). Nöörikeramika kultuuri asulad paiknesid Eestis tihti rannikust ja veekogudest eemal, kalapüügist elatumiseks ebasobivatel aladel, mis võib tähendada, et ei tekkinud tugevat konkurentsi kammkeramika kultuuri esindajatega. Arheoloogiliste esemeleidude põhjal on raske tuvastada kamm- ja nöörikeramika kultuuri segunemist Eestis, kuid üheks viiteks sellele võib olla kammkeramikale omane kuju nöörikeramika nõudel. Nöörikeramika kultuuri ajast pärinevad vanimad rõhtpalkhooned Eestis, milleaolisi lähipiirkonnas rohkem ei leidu (Kriiska, 2015), kuid mida võib leida näiteks Kesk-Euroopast (Müller *et al.*, 2009). Olulise muutusena hakati Eestis nöörikeramika kultuuri saabumisega seoses kariloomi (kits, siga, veis) pidama ning alepõldudel kasvatati otra ja nisu (Kriiska, 2014). Eesti nöörikeramika kultuuri esindajad maeti kägardatud asendis (Jaanits, 1982) ning leitud matused viitavad sellele, et erinevalt Kesk-Euroopast asetati naised paremale ja mehed vasakule küljele, kuid matuseid on leitud liiga vähe, et seda reeglits lugeda (Kriiska, 2015).

### **1.3.2.2. Geneetika**

2005. aastal leiti Saksamaal Mittelbe-Saale piirkonnas Eulau arheoloogilistel väljakaevamistel osana suuremast surnuaiast 4 hästi säilinud mitmikmatust, mis sisaldasid kokku 13 nöörikeramika kultuuri kuuluva vägivaldselt surnud indiviidi umbes 4500 aastat vanu säilmeid. Maetute paigutuse ja suguluse seoseid uurides nähti, et nöörikeramika kultuurile omasest näoga lõunasse asendist erineva näod vastamisi paigutusega 4-inimese matuse naine ja poisid kuulusid samasse mtDNA (hg K) ning mees ja poisid samasse Y-kromosoomi haplogruppi (hg R1a) (joonis 4). Sealjuures traditsioonilise näoga lõunasse paigutusega lapsed ja seljaga nende poole asetsev naine teisest mitmikmatusest kuulusid erinevatesse mitokondriaalse DNA haplogruppidesse (lapsed hg X, naine hg H). Strontsiumisotoopanalüüs viitas patrilokaalsusele, kuna laste ja meeste isotoobisuhted sarnanesid Eulau settekihtide suhetele, kuid naiste  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  suhted erinesid selgelt ülejäänutest, mis tähendab, et uuritud naised olid sündinud kuskil mujal (Haak *et al.*, 2008). 44-st genotüüpiseeritud Mittelbe-Saale nöörikeramika kultuuri esindajast kuulus 45,5% vara- ja keskneoliitikumi haplogruppidesse T2, K, J, HV, W ja X, 22,7% hilisemaid kultuure küttidest-korilastest eristavasse haplogruppi H, 20,5% kütide-korilaste põhihaplogruppidesse

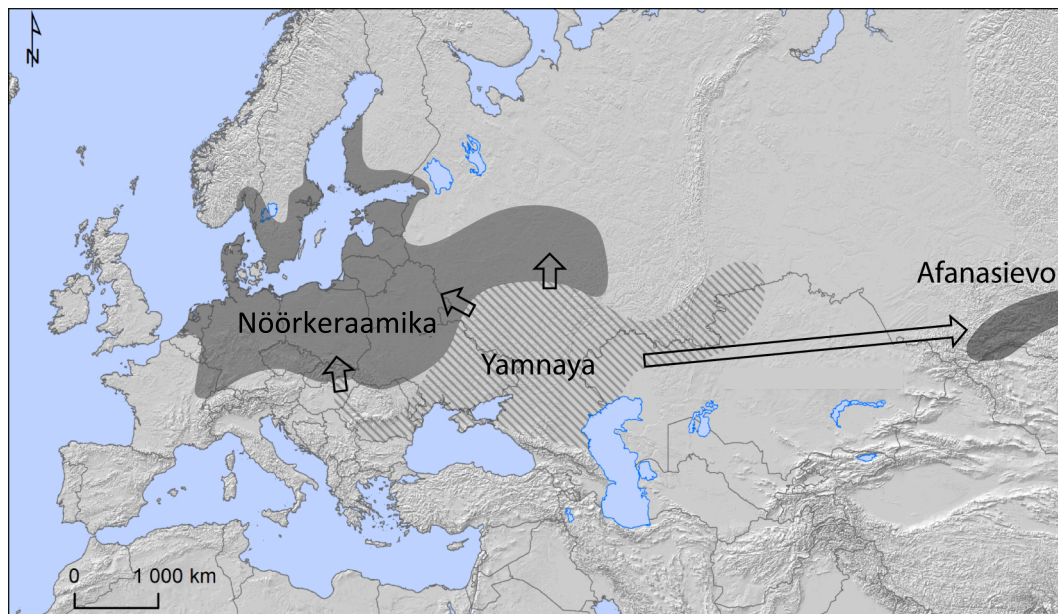
U4 ja U5, 6,8% hilisneoliitikumil ja varapronksiajal levinud haplogruppi T1 ning 4,6% piirkonna jaoks uutesse haplogruppidesse I ja U2 (Brandt *et al.*, 2013). Tänapäeva populatsioonidest sarnanesid nöörikeramika kultuuri indiviidid enim Ida- ja Põhja-Euroopa ning Kaukaasia populatsioonidega (Brandt *et al.*, 2013; Allentoft *et al.*, 2015).



**Joonis 4.** Foto Eulau 4-inimese mitmikhaust, millele on kantud indiviidide Y-kromosoomi ja mtDNA haplogruppidel põhinevad geneetilised suhted ning joonistus indiviidide asendist matmishetkel. Meessoost indiviidid on kujutatud ruutude ja naine ringiga; Y-kromosoomi haplogrupid on kujutatud sinisega ja mtDNA haplogrupid kollase ja roosaga (Haak *et al.*, 2008).

Nöörikeramika kultuuri ilmumist Euroopas on juba pikka aega seostatud Kesk-Aasia steppide kurgaani kultuuriga (Gimbutas, 1963). Saksamaa nöörikeramika kultuuri esindajatel leidunud haplogrupid I, U2 ja T1 (Brandt *et al.*, 2013) olid sagedased (18,2–37,5%) kurgaani kultuurile järgnenud Andronovo, Karasuki, Tagari ja Tachtyki kultuuride esindajatel (Lalueza-Fox *et al.*, 2004; Keyser *et al.*, 2009), mis viitab tõepoolest ühisele päritolule. Allentoft *et al.* (2015) sekveneerisid 101 ~5000–3000 aastat vana indiviidi genoomid madala katvusega ning nägid, et nöörikeramika kultuuri näol on geneetiliselt tegemist seguga neoliitikumi põlluharijatest ning kurgaani kultuuri alamtüübi Yamnaya kultuuri esindajatest (joonis 5). 8000–3000 aastat vanade indiviidide peaaegu 400 000 polümorfismi uuring kinnitas samuti, et nöörikeramika kultuuri indiviidid on geneetiliselt kõige sarnasemad Yamnaya kultuuri viljelejatele ning ühtlasi leiti, et Yamnaya komponent on neil suurem kui hilisematel Euroopa populatsioonidel, millest võib järeldada, et vaadeldava kultuuri esindajad pärinesid otseselt Yamnaya kultuuri esindajatest, mitte polnud tegemist pikaajalise geenivooluga idast (Haak *et al.*, 2015).

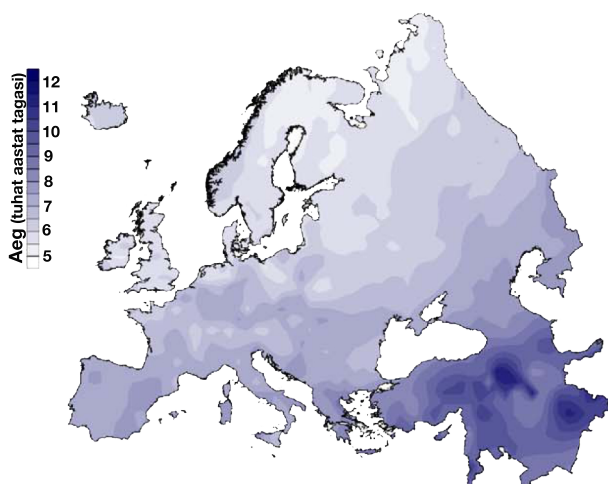




Joonis 5. Yamnaya kultuuri esindajate väljaliikumine kultuuri tuumikalalt (viirutatud) umbes 3000 a eKr, mille tagajärjel tekkisid Afanasievo ja nöörkeraamika kultuurid (levikualad tumehalliga) (kohandatud: Allentoft *et al.*, 2015).

## 1.4. Neoliitilise transitsiooni mõju Euroopa populatsioonide mitmekesisusele

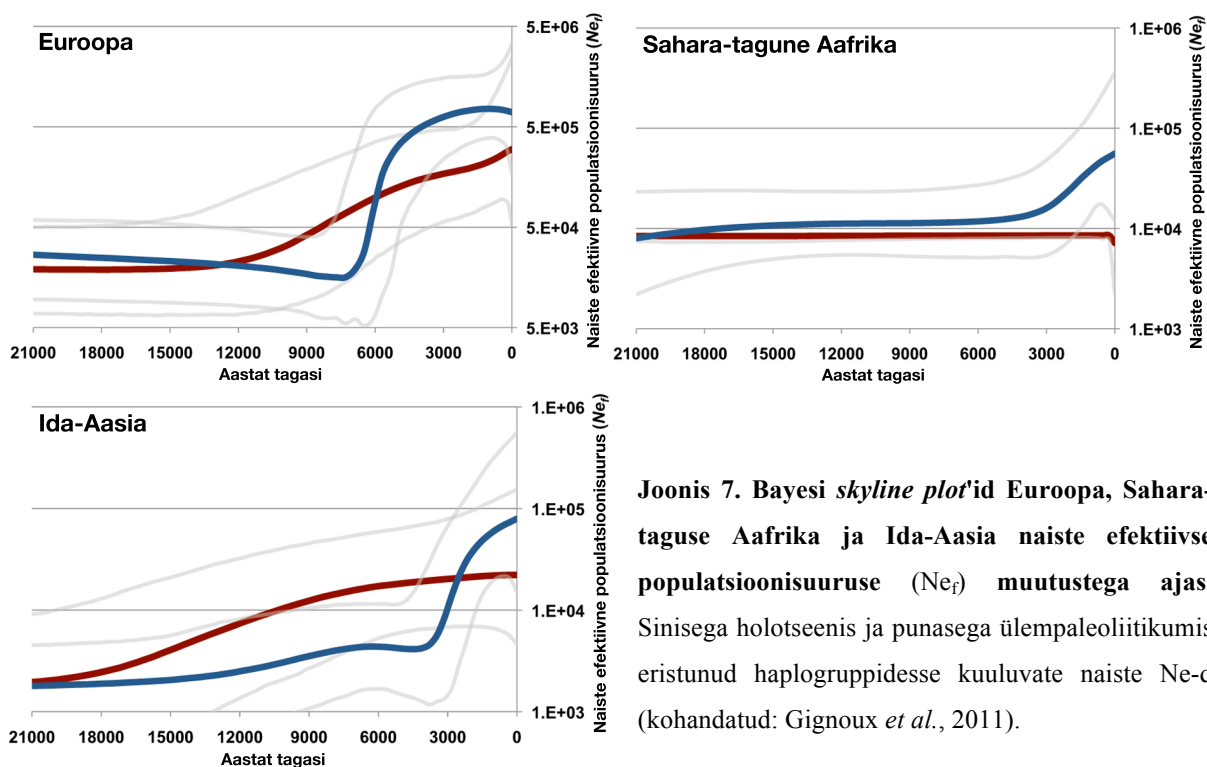
Neoliitikumis ehk nooremal kiviajal, mis kestis eri paikades 10. aastatuhandest eKr 2. aastatuhandeni eKr (Eestis vahemikus 4000–1800 aastat eKr), toimus Euroopas Lähis-Idast lähtuv üleminek nomaadlikult eluviisilt (kütid-korilased) paiksele eluviisile (karjakasvatus, põlluharimine) (joonis 6). Tegemist on ühe olulisema läbimurdega inimkonna ajaloos, millega kaasnesid suured muutused tehnoloogiates, toitumises, ühiskonnakorralduses ja paljudes teistes eluvaldkondades. Järgnevates alapeatükkides tuleb juttu sellest, millised muutused kaasnesid põlluharimise kasutuselevõtuga neoliitikumi populatsioonide geeniitiigis ja kuidas need kajastuvad tänapäeva populatsioonide mitmekesisuses.



Joonis 6. Põlluharimise levik Lähis-Idast Euroopasse arheoloogiliste leiukohtade alusel (kohandatud: Balaresque *et al.*, 2010).

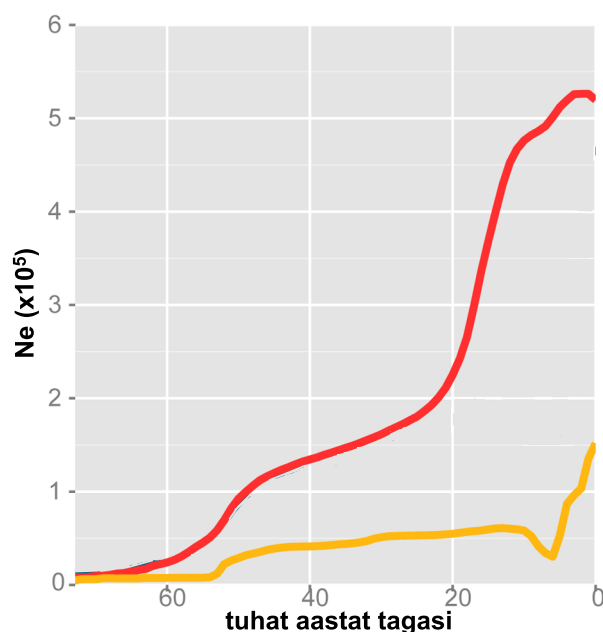
### 1.4.1. Neoliitilise transitsiooni jäljed tänapäeva populatsioonide geenitiigis

Neoliitilise transitsiooniga kaasnenud põlluharimine ja paikne eluviis võimaldasid populatsioonide kasvu, mida saab välja lugeda ka tänapäeva populatsioonide geenitiiki uurides. mtDNA täisjärjestusi analüüsid leiti, et nii Euroopa, Sahara-taguse Aafrika kui Ida-Aasia holotseenis (alates 12 000 a.t.) põlluharimise leviku allikast vastavasse piirkonda jõudnud haplogruppidesse (Euroopas T1, T2, J1a, K2a ja H4a) kuuluvate naiste efektiivsed populatsioonisuurused ( $N_{ef}$  – *female effective population size*) hakkasid neoliitikumis (Euroopas alates 7700 a.t., Sahara-taguses Aafrikas ja Ida-Aasias alates ~4500 a.t.) järsult kasvama (joonis 2) (Gignoux *et al.*, 2011). Sealjuures ülempaleoliitikumis ja viimase jääaja maksimumi jooksul vaadeldavas piirkonnas eristunud mtDNA liine (Euroopas U5a, U5b1, V ja H3) esindavate naiste  $N_{ef}$  hakkasid Euroopas sujuvalt kasvama pärast viimase jääaja maksimumi, Ida-Aasias juba üle 20 000 aasta tagasi ja püsisid Sahara-taguses Aafrikas hoopis konstantsetena ning nende kasvamise kiirus ei muutunud pärast viimase jääaja maksimumi (joonis 7) (Gignoux *et al.*, 2011). 60 Aafrika ja Euraasia populatsiooni autosomaalsete mikrosatelliitide uuringus kinnitati, et nii Aafrika kui Euraasia paiksed põlluharimisega tegelevad populatsioonid kasvasid neoliitikumis (alates umbes 5000 a.t.), kuid rändavate küttide-korilaste ja rändkarjakasvatajate populatsioonide suurus jäi muutumatuks (Aimé *et al.*, 2014). Erandiks on Kesk-Aasia, kus neoliitilise transitsiooni järel kasvasid põlluharimiseks ebasobiva kliima või pärast paikset perioodi uuesti rändkarjakasvatusega tegelema hakkamise tõttu (Renfrew, 1996) autosomaalsete mikrosatelliitide andmete kohaselt ka tänapäeval nomaadlike populatsioonide suurus (Aimé *et al.*, 2014).



**Joonis 7. Bayesi skyline plot'id Euroopa, Sahara-taguse Aafrika ja Ida-Aasia naiste efektiivse populatsioonisuuruse ( $N_{ef}$ ) muutustega ajas. Sinisega holotseenis ja punasega ülempaleoliitikumis eristunud haplogruppidesse kuuluvate naiste  $N_{ef}$  (kohandatud: Gignoux *et al.*, 2011).**

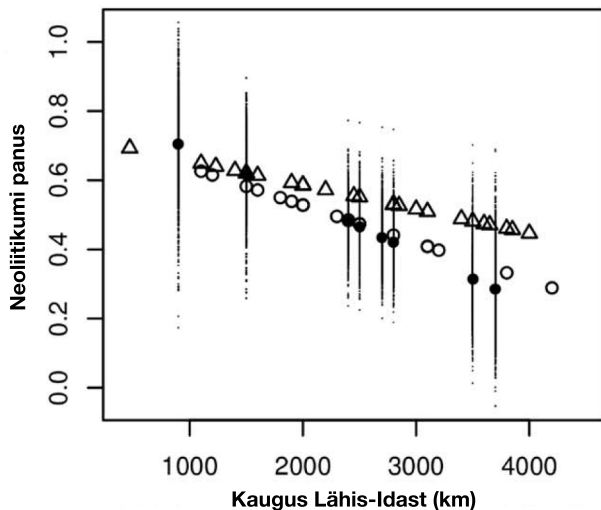
Rasteiro ja Chikhi (2013) leidsid Y-kromosoomi ja mtDNA andmetega samu analüüse läbi viies, et meeste efektiivne populatsioonisuurus oli neoliitikumis küll väiksem kui naistel, kuid kasvas kiiremini. Analüüsides meeste Y-kromosoomi ja mtDNA täisjärjestusi, tuvastati põlluharimise kasutuselevõttuga üheaegselt meeste efektiivse populatsioonisuuruse ( $N_{em}$  – *male effective population size*) tugev vähenemine, millele järgnes kiire kasv (joonis 8) (Karmin *et al.*, 2015).  $N_{em}$ -i vähenemine võis olla tingitud sellest, et neoliitilise transitsiooni järel suurenes varieeruvus meeste järglaste saamise edukuses, kuna paikse eluviisiga kaasnes pärandatava vara tekkimine ja seeläbi majanduslik kihistumine.



**Joonis 8.** Naiste (punane joon) ja meeste (kollane joon) efektiivsete populatsioonisuuruste ( $N_e$ ) muutused viimase 60 tuhande aasta jooksul (kohandatud: Karmin *et al.*, 2015).

Neoliitikumi põlluharijate geenide panus tänapäeva eurooplaste geenitiiki on pikka aega olnud geneetiliste uuringute sihtmärgiks. Neoliitikumi põlluharijate alleelide osakaalu seosel kaugusega Lähis-Idast on mitokondriaalse DNA haplogruppide analüüsitulemuste alusel arvatud olevat keerulisemad tagamaad kui põlluharimise levik migratsiooni teel (Simoni *et al.*, 2000; Richards *et al.*, 2002). mtDNA HVSI (*hypervariable segment* – hüpervarieeruv segment) regiooni andmete analüüsil autokorrelatsiooni statistikuid kasutades leiti, et neoliitiliste alleelide sagedus väheneb Lähis-Idast kaugenedes küll Lõuna-Euroopas, kuid selline seos puudub Põhja-Euroopas (Simoni *et al.*, 2000). Sama mtDNA regiooni asutaja-analüüsi tulemustest järeldati, et varased põlluharijad on tänapäeva eurooplaste geneetilisse struktuuri panustanud 10–20% ulatuses (Richards *et al.*, 2000). Mõne aasta taguses uuringus aga tuvastasid Pala *et al.* (2012), et haplogrupid J ja T, mida varasemalt seostati neoliitikumi põlluharijate liikumisega Lähis-Idast Euroopasse, jõudsid sinna juba jääaja lõpus seoses refuugiumidest väljumisega. See võib tähendada, et paljud haplogruppide J ja T alamhaplogrupid saabusid Euroopasse juba viimase jääaja lõpus ning vaid mõnesid harusid

saab kindlalt seostada neoliitilise transitsiooniga. Y-kromosoomi ja mtDNA andmeid paralleelselt analüüsid jõuti järeldusele, et neoliitikumi põlluharijate panus tänapäeva eurooplaste geenitiiki väheneb Lähis-Idast kaugenedes nii ema- kui isaliinides (joonis 9), millest järeldati, et põlluharimine levis Lähis-Idast Euroopasse koos migreeruvate inimestega (Rasteiro ja Chikhi 2013). Kuna uuemates publikatsioonides on tänu uute statistikute ja analüüsimeetodite kasutuselevõtule saavutatud suurem lahutuvusaste, võib neis saadud tulemusi pidada vanemate publikatsioonidega võrreldes usaldusväärsemateks.



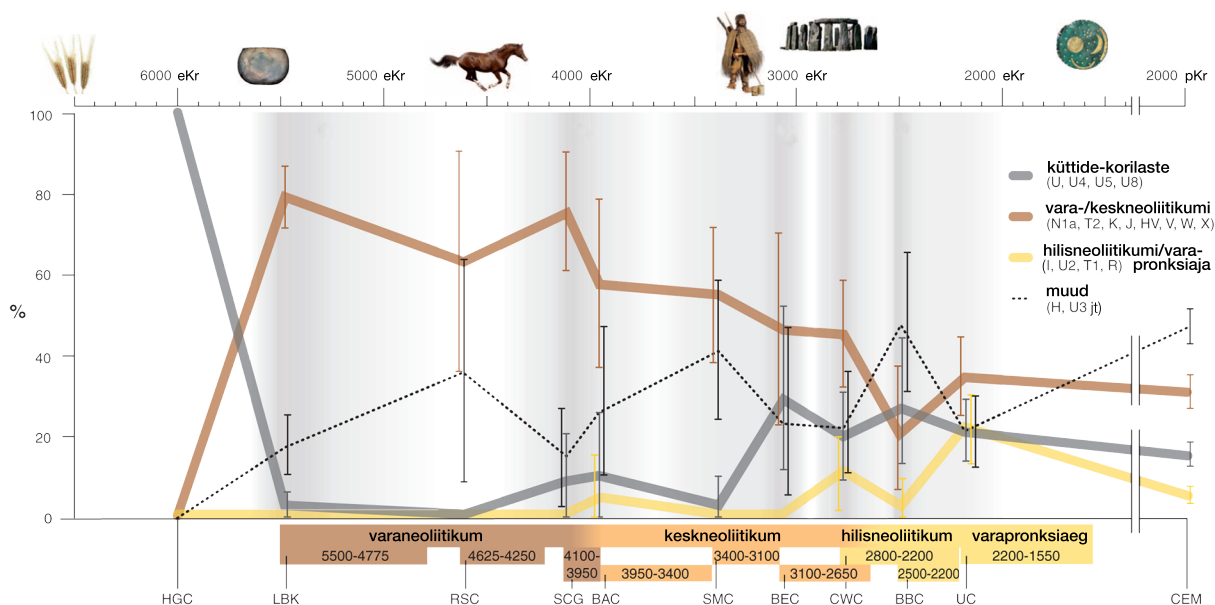
**Joonis 9. Neoliitilise panuse vähenemine Lähis-Idast kaugenedes.** Seest täis ringid kujutavad mtDNA andmeid ning seest tühjad ringid ja kolmnurgad kahte erinevat Y-kromosoomi andmestikku (kohandatud: Rasteiro ja Chikhi, 2013).

### 1.4.2. Neoliitikumi populatsioonide vana DNA uuringud

Kesk-Euroopa küttidele-korilastele olid iseloomulikud mtDNA haplogrupp U alamhaplogrupid U4, U5a, U8 ning eriti U5b (Bramanti *et al.*, 2009; Fu *et al.*, 2013), kuid neoliitikumile omased haplogrupid olid N1a, T2, K, J, HV, V, W ja X (Haak *et al.*, 2005; Haak *et al.*, 2010). Kesk-Saksamaa Mittelelbe-Saale piirkonna esimeste põlluharijate, paelkeraamika kultuuri (LBK – *Linearbandkeramik*) esindajate, mitokondriaalse DNA mitmekesisusest moodustasid vara- ja keskneoliitikumile iseloomulikud haplogrupid 79,4%, hilisemate kultuuride esindajaid küttidest-korilastest eristavad haplogrupid H ja U3 17,65% ning küttidele-korilastele omased haplogrupid vaid 2,9%. Taolised osakaalud püsisid järgmised 2000 aastat (joonis 10), millest võib järeldada, et põlluharimine jõudis Kesk-Euroopasse migratsiooni teel ning kütid-korilased ja põlluharijad esimeste aastatuhandete jooksul oluliselt ei segunenud (Brandt *et al.*, 2013). Eelpoolkirjeldatuga ühtisid Ungarist ja Horvaatiast pärinevate proovide mitokondriaalse DNA analüüsitulemused (Szécsényi-Nagy *et al.*, 2015). Saksamaalt Blätterhöhle koopast välja kaevatud mesoliitilisi (u. 8000–9000 aastat vanu) ja neoliitilisi (u. 3000–4000 aastat vanu) proove uurides jõudsid ka Bollongino *et al.* (2013) samale järeldusele, kuna neoliitikumi suures osas mageveekaladest toituvad kütid-korilased olid geneetiliselt oluliselt sarnasemad 5000 aastat varem samas paigas elanud



mesoliitikumi kütide-korilastega kui neoliitikumi põlluharijatega. Y-kromosoomi ja mtDNA haplogruppe paralleelselt uurides selgus, et mõlemad markerid toetavad põlluharimise levikut Kesk-Euroopasse migratsiooni teel, kuid sarnaselt tänapäeva populatsioonide uurimisel saadud tulemustega (Rasteiro ja Chikhi, 2013) leiti, et neoliitikumi naiste Ne oli suurem kui meestel, mis võis olla tingitud paikse eluviisiga kaasnevast monogaamsuse ja patrilokaalsuse kasvust (Szécsényi-Nagy *et al.*, 2015).

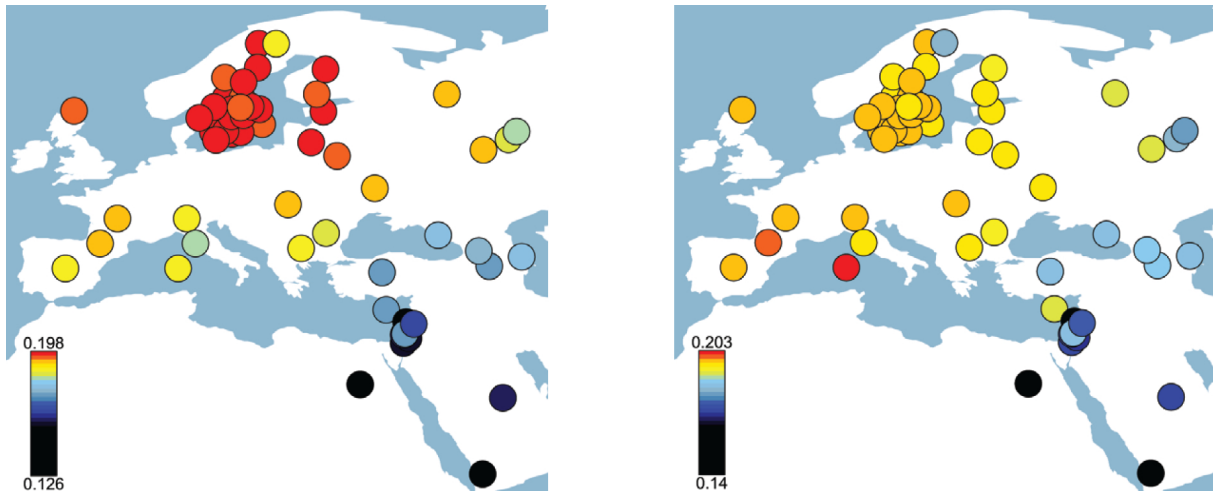


**Joonis 10. Kesk-Saksamaa neoliitiliste ja tänapäevaste proovide jagatud haplotüüpide analüüsi graafik.**

Alumisele x-teljele on märgitud erinevate kultuuride Saksamaale jõudmise aeg: kütt-korilus (HG), paelkeraamika kultuur (LBK), Rösseni kultuur (RSC), Schöningeni grupp (SCG), Baalgerge kultuur (BAC), Salzmünde kultuur (SMC), Bernburgi kultuur (BEC), nõorkeraamika kultuur (CWC), kellpeekri kultuur (BBC), Únětice kultuur (UC), tänapäevane Kesk-Euroopa (CEM). Ülemisel x-teljel on vastavasse aega dateeritud leiud: esimesed kõrrelised Kesk-Euroopas, LBK savinõu, esimesed kodustatud hobused, jäämees Ötzi, Stonehenge, Nebra taevaketas (kohandatud: Brandt *et al.*, 2013).

Skandinaaviast väljakaevamistel leitud mesoliitilise (~7500 aastat vana) kütt-korilase, 6 neoliitilise (~5000 aastat vana) lohkeraamika kultuuri küti-korilase ning 4 neoliitilise lehterpeekri kultuuri põlluharija genoomiuuringutega tuvastati, et ka Skandinaavia neoliitikumi kütid-korilased sarnanesid enam mesoliitikumi kütide-korilastega kui neoliitikumi põlluharijatega (Skoglund *et al.*, 2012; Skoglund *et al.*, 2014). Kütide-korilaste geneetiline varieeruvus oli väike ja ülegenoomsete markerite analüüsi andmetel polnud nad oluliselt põlluharijatega segunenud (Skoglund *et al.*, 2014), kuid 26% nende mitokondriaalse DNA haplotüüpidest olid mesoliitilised ja 21% neoliitilised (Brandt *et al.*, 2014). Need erinevused viitavad sellele, et kütide-korilastega segunesid põlluharijate hulgast põhiliselt naised, kuna mtDNA pärandub emaliini pidi. Varased põlluharijad olid Skandinaavias kütide-korilastega rohkem segunenud kui Kesk-Euroopas (Skoglund *et al.*, 2014), vastates

20% ulatuses küttide-korilaste ja 40% ulatuses põlluharijate haplotüüpidele (Brandt *et al.*, 2014). Tänapäeva populatsioonidest sarnanesid Skandinaavia neoliitikumi kütid-korilased lätlaste ja leedulastega (Malmström *et al.*, 2009; Skoglund *et al.*, 2014), kuid põlluharijad sardiinlastega (Skoglund *et al.*, 2014) (joonis 11), nagu ka Tirooli jäämees Ötzi (Keller *et al.*, 2012; Sikora *et al.*, 2014).



**Joonis 11. Jagatud geneetiline triiv tänapäeva Lääne-Euraasia populatsioonide ja Skandinaavia neoliitikumi kütt-korilase Ajvide58 (vasakul) või põlluharija Gökhem2 (paremal) vahel. Skaalal punasest mustani näitab kõige rohkem ja must kõige vähem jagatud triivi (kohandatud: Skoglund *et al.*, 2014).**

## 2. Eksperimentaalosa

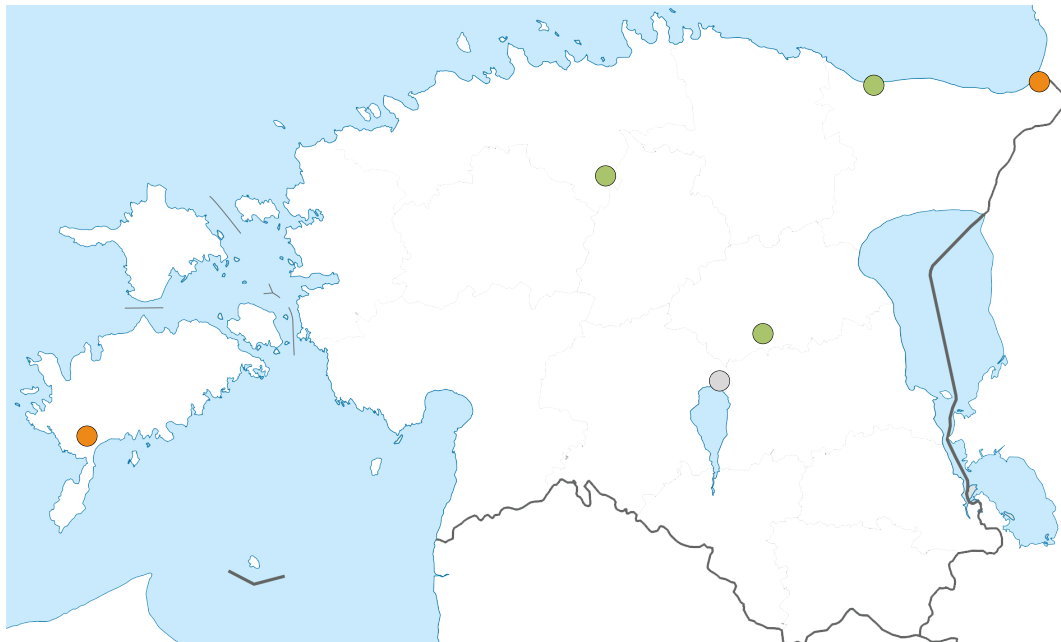
### 2.1. Töö eesmärgid

1. eraldada ja sekveneerida DNA kamm- ja nõorkeraamika kultuuride esindajate hammastest
2. teha kindlaks sekveneeritud proovide mitokondriaalse DNA haplogrupid
3. vaadelda leitud haplogruppide olemasolevates andmebaasides esinevate alamharude levikut tänapäeva Euroopas
4. võrrelda uuritavaid proove mtDNA alusel varem publitseeritud sama perioodi proovidega

### 2.2. Materjal ja meetodika

#### 2.2.1. Hambad, millest DNA eraldati

DNA eraldamiseks kasutatud hambad pärinevad Tallinna Ülikooli Ajaloo Instituudi ning Tartu Ülikooli Ajaloo ja Arheoloogia Instituudi kogudest ning on leitud arheoloogilistel väljakaevamistel Eesti eri paigus (joonis 12; tabel 1). Hammaste kasutamise DNA eraldamiseks võimaldas Tartu Ülikooli laboratoorse arheoloogia professor Aivar Kriiska.



**Joonis 12. DNA eraldamiseks kasutatud hammaste leiukohad kaardil.** Halliga on märgitud mesoliitikumist pärinev leid, oranžiga kammkeraamika kultuuri ja rohelisega nõorkeraamika kultuuri esindajate leiukohad (aluskaart *Wikimedia Commons*).

DNA eraldati 10 hambast, millest 5 kuulusid nöörikeramika kultuuri ja 4 kammkeramika kultuuri esindajatele ning 1 indiviidile, kes elas praegusel Eesti territooriumil mesoliitikumi lõpus (tabel 1). Kasutatud nöörikeramika kultuuri esindajate skelettide dateeringud jäävad vahemikku 2400–2700 eKr, kammkeramika kultuuri esindajatel vahemikku 2700–3600 eKr ning varasema indiviidi dateering on 4300 eKr (tabel 1).

**Tabel 1. Indiviidide, kelle hammastest DNA eraldati, kokkuleppelised nimetused (indiviid), leiukohad, arheoloogilised kultuurid (kultuur), dateeringud ja 14C dateeringu olemasolu (meetod).**

#	Indiviid	Leiukoht		Kultuur	Dateering	Meetod
		asula	maakond			
1	Kivisaare	Meleski küla	Viljandimaa		4300	+
2	Kudruküla1	Kudruküla küla	Ida-Virumaa	kamm-	3600	+
3	Kudruküla2	Kudruküla küla	Ida-Virumaa	kamm-	3600	+
4	Kudruküla3	Kudruküla küla	Ida-Virumaa	kamm-	3600	+
5	Naakamäe	Hirmuste küla	Saaremaa	kamm-	2700	-
6	Ardu1	Ardu alevik	Harjumaa	nöör-	2700	-
7	Ardu2	Ardu alevik	Harjumaa	nöör-	2700	+
8	Kunila1	Kursi küla	Jõgevamaa	nöör-	2500	-
9	Kunila2	Kursi küla	Jõgevamaa	nöör-	2500	+
10	Sope	Jäbara küla	Ida-Virumaa	nöör-	2400	-

## 2.2.2. DNA eraldamine hammastest

DNA eraldati hammastest Kopenhaageni Ülikooli GeoGeneetika Keskuse vana DNA laboris Jesper Stenderupi ja Morten Allentofti juhendamisel. Esimesest kahest hambast (1. osa – Sope ja Kudruküla1) eraldas DNA 2014. aasta aprillis protseduure õpetades Jesper Stenderup. Ülejäänud 8 hambast (2. osa) DNA eraldamisega tegelesin 2014. aasta oktoobris ise Stenderupi juhendamisel. Kuna Kopenhaageni Ülikooli GeoGeneetika Keskuses tegeletakse pidevalt protokollide arendamisega, on 1. ja 2. osa protokollid mõnedes punktides erinevad.

### 2.2.2.1. Saastuse vältimine

Proovide saastamise vältimiseks põlesid vana DNA laboris kogu öö UV-lambid, kõiki pindu puhastati laborist lahkudes kloorilahuse ja etanooliga ning kasutati spetsiaalset kaitseriietust, mille hulka kuulusid puukingad, kilesussid, kaitseülkond, lisakäised, kahed kummikindad, kirurgimask ning juuksevõrk. Lisaks ei olnud vana DNA laborisse sisenemine tänapäevase DNA laborist tulles lubatud riideid vahetamata ning duši all käimata.

### 2.2.2.2. Puurimine ja purustamine

Hammaste puurimine ja purustamine toimus spetsiaalses ruumis tõmbekapi all. Hamba pealispind puhastati kettakujulise puuriotsikuga, seejärel lõigati hammas krooni ja juure üleminekukohalt risti pooleks. 1. osa hammaste puhul puuriti dentiin peenikese puuriga hambakroonist välja hõbepaberile, kallati eelnevalt kaalutud 15 ml tsentrifuugituubi ning kaaluti uuesti. Juur purustati tangidega väikesteks tükkideks, mis kanti teise eelnevalt

kaalutud 15 ml tsentrifuugituubi ning kaaluti uuesti. Selle tulemusel saadi 2 hambast 4 proovi. 2. osa hammaste puhul puuriti peenikese puuriga juurekanalid puhtaks, purustati juur ning edasi tegutseti sarnaselt 1. osaga, kuid hambakroon jäeti puutumata, kuna GeoGeneetika Keskuse kogemus näitab, et juures on DNA-d rohkem säilinud kui dentiinis. Erandiks oli hammas Ardu1, mille juure kvaliteet oli kahtluse all, mistõttu eraldati selle hamba kroonist sarnaselt 1. osa hammastele dentiin. Seetõttu saadi 2. osa 8 hambast 9 proovi. Töö käigus märgiti üles hammaste värvus ja puurides ning tangidega purustades tunnetatud tekstuur (tabel 2). Edasine töö viidi läbi kokku 13 prooviga, mis sisaldasid 130–277 mg dentiinipulbrit või 140–1030 mg purustatud juurt (tabel 2).

**Tabel 2. Kasutatud proovide nimed (proov), arheoloogilised kultuurid (kultuur), dateeringud, värvuse ja tekstuuri kirjeldused ning massid.**

#	Proov	Kultuur	Dateering	Kirjeldus	Mass
		...keraamika	eKr	värvus; tekstuur	mg
1	Kivisaare		4300	hele; väga pude	390
2	Kudruküla1 dentiin	kamm-	3600	tumepruun; kõva	176
3	Kudruküla1 juur	kamm-	3600	tumepruun; kõva	438
4	Kudruküla2	kamm-	3600	pruun; pehme	580
5	Kudruküla3	kamm-	3600	tumepruun; pehme/kõva	940
6	Naakamäe	kamm-	2700	tumepruun; väga pehme	140
7	Ardu1 dentiin	nöör-	2700	hele; väga kõva	130
8	Ardu1 juur	nöör-	2700	hele; väga kõva	520
9	Ardu2	nöör-	2700	hele; väga kõva	400
10	Kunila1	nöör-	2500	oranžikas; kõva	780
11	Kunila2	nöör-	2500	hele; väga kõva	1030
12	Sope dentiin	nöör-	2400	hele; väga kõva	277
13	Sope juur	nöör-	2400	hele; väga kõva	395

### 2.2.2.3. Purustatud hammaste lahustamine

Saastuse vähendamiseks (lahtise materjali eemaldamiseks) lisati proovidele 3 ml eralduspuhvrit A [lõppkontsentratsioonidega ( $C_{lõpp}$ ): EDTA 0,465 M, proteinaas K 0,14–0,22 mg/ml, N-laurüülsarkosiin 0,5%], suleti korgid parafilmiga ning asetati proovid 20 minutiks 45 °C juurde aeglasesse vertikaalsesse rootoris (Stuart SB2, VWR International), misjärel neid tsentrifuugiti 2 minutit kiirusel 2000 pöret minutis (rpm) (Centrifuge 5804, Eppendorf) ning supernatant valati ära. 2. osa proovidele lisati 4,5 ml eralduspuhvrit A, korgid suleti parafilmiga ning proovid asetati 30 minutiks toatemperatuuril aeglasesse vertikaalsesse rootoris, misjärel supernatant eemaldati pipetiga.

Purustatud hammaste lahustamiseks ning nukleaaaside inaktiveerimiseks lisati 1. osa proovidele 5 ml ning 2. osa proovidele 4,5 ml eralduspuhvrit A, suleti korgid parafilmiga ning asetati proovid 37 °C juurde aeglasesse vertikaalsesse rootoris. Järgmisel hommikul tsentrifuugiti proove 5 minutit kiirusel 2000 rpm ning supernatant kanti 50 ml tuubi. Lahustumata jäänud materjal hoiustati hilisemaks lisaeraldamiseks sügavkülmikus.

#### 2.2.2.4. DNA sidumine ränikerakestele

Ränikerakeste valmistamiseks kaaluti 6g SiO<sub>2</sub>, kanti see 50 ml tsentrifuugituubi, lisati 50 ml vett, segati ning jäeti tuub lauale seisma. Tunni aja pärast kanti pealmised 48 ml uude 50 ml tsentrifuugituubi ning jäeti veel 5 tunniks lauale seisma. Seejärel eemaldati pealmised 43 ml, alles jäänud 5 ml-le lisati 60 µl 37% HCl-i (C<sub>lõpp</sub> = 0,44%), segati põhjalikult ning tuubi hoiti kasutamiseni külmkapis.

Hammaste lahustamisel saadud DNA-d sisaldavale supernatandile lisati 45 ml sidumispuhvrit [1. osa puhul B (C<sub>lõpp</sub>: guanidiin-tiotsüanaat 59%, Tris 0,05 M, NaCl 0,025 M, EDTA 0,02 M, N-laurüülsarkosiin 0,5%), 2. osa puhul puhvrit BL01 (Qiageni puhver PB, millele lisati naatriumatsetaati C<sub>lõpp</sub> = 88 mM, NaCl-i C<sub>lõpp</sub> = 25 mM ning 37% HCl-i pH = 4 saavutamiseni)] ning 100 µl ränikerakesi ja asetati tuubid 1. osa puhul 3 tunniks ning 2. osa puhul 1 tunniks pimedasse ruumi aeglasesse rootoris. Antud aja möödudes tsentrifuugiti tuube 5 minutit kiirusel 2000 rpm ning kallati supernatant ära. Järgmisena lisati 1 ml sidumispuhvrit, suspenderiti vorteksil, kanti suspensioon 2 ml tuubi, tsentrifuugiti 2 minutit lauatsentrifuugis kiirusel 2000 rpm ning kallati supernatant ära. Seejärel lisati 1 ml külma 80% piiritust, suspenderiti vorteksil, tsentrifuugiti 2 minutit kiirusel 2000 rpm, eemaldati piiritus pipetiga ning korrati sama protsessi veelkord. Teisel korral eemaldati piiritus väikese pipetiotsikuga täielikult ning asetati tuubid lahtise kaanega umbes 15 minutiks (kuni sade oli kuivanud) termoblokki 37 °C juurde. Kuivale sademele lisati 1. osa puhul 125 µl ja 2. osa puhul 75 µl EB elueerimispuhvrit (*QIAquick PCR Purification Kit, QIAGEN*), asetati tuubid kinnise kaanega 5 minutiks termoblokki 37 °C juurde, tsentrifuugiti 2 minutit kiirusel 13 000 rpm, kanti supernatant ristsidujas (ingl. k. *crosslinker*) (*CL-1000, UVP*) olnud 1,5 ml tuubi, tsentrifuugiti veel 2 minutit kiirusel 13 000 rpm ning kanti supernatant ristsidujas olnud steriilsesse 1,5 ml tuubi.

#### 2.2.3. DNA sekveneerimisraamatukogude koostamine

DNA sekveneerimisraamatukogude ehk DNA sekveneerimiseks vajalike adapterite, indeksite ja seondumisjärjestustega varustatud DNA-fragmentide kogude koostamine toimus Kopenhaageni Ülikooli GeoGeneetika Keskuse vana ja tänapäevase DNA laborites Jesper Stenderupi ja Morten Allentofti juhendamisel. Etapid, mida on kirjeldatud alapeatükkides 1–5, viidi läbi vana DNA laboris ning alapeatükkides 6–9 kirjeldatud etapid tänapäevase DNA laboris. 1. osale proovidest koostas raamatukogud Stenderup ning 2. osale tema juhendamisel käesoleva töö autor. Protokollides esineb kahe osa vahel erinevusi, mis on allpool välja toodud. Raamatukogude koostamiseks kasutati komplekti *NEBNext DNA Library Prep*

*Master Mix Set for 454* (E6070, *New England BioLabs*), mis sisaldas otste täitmise puhvrit ja ensüümisegu, ligeerimispuhvrit ja T4 ligaasi ning adapteri lünkade täitmise puhvrit ja Bst DNA polümeraasi. Erinevalt tänapäevasest DNA-st ei ole vana DNA-d vaja enne sekveneerimisraamatukogude koostamist fragmenteerida, kuna see toimub aja jooksul keskkonnas niigi (täpsemalt peatükis 2.3.1.2).

### **2.2.3.1. DNA-fragmentide üheahelaliste otste täitmine**

DNA-fragmentide üheahelaliste otste täitmiseks valmistati 1,5 ml tuubi reaktsioonisegu, mis sisaldas ühe proovi kohta 2,5 µl 10x otste täitmise puhvrit ning 1,25 µl otste täitmise ensüümisegu (T4 polünukleotiidkinaas  $C_{lõpp} = 0,5 \text{ u}/\mu\text{l}$ , T4 DNA polümeraas  $C_{lõpp} = 0,2 \text{ u}/\mu\text{l}$ ). Reaktsioonisegu kanti 3,75 µl kaupa ristsidujas olnud PCR-i tuubidesse, lisati 20 µl eraldatud DNA-d ning tuubid asetati PCR-i masinasse, kus neid inkubeeriti 20 minutit 12 °C ja seejärel 15 minutit 37 °C juures.

### **2.2.3.2. DNA puhastamine üheahelaliste otste täitmise reaktsioonisegust**

DNA üheahelaliste otste täitmise reaktsioonisegu komponentidest puhastamiseks kasutati komplekti *MinElute PCR Purification Kit* (*QIAGEN*) vastavalt tootja juhistele, välja arvatud see, et komplektis sisalduva puhvri PB asemel kasutati laboris väljatootatud eralduspuhvrit A. 1. osa proovid elueeriti 15 µl elueerimispuhvris EB 15 minutit termoblokis 37 °C juures inkubeerides. 2. osa proovide elueerimiseks kasutati 18 µl puhvrit EB ja inkubeeriti 5 minutit.

### **2.2.3.3. Adapterite liitmine DNA-fragmentidele**

Adapterite liitmiseks DNA-fragmentidele valmistati 1,5 ml tuubi reaktsioonisegu, mis sisaldas ühe proovi kohta 5 µl 5x ligeerimispuhvrit, 0,5 µl Illumina-spetsiifiliste adapterite segu (kummagi adapteri  $C_{lõpp} = 2 \text{ }\mu\text{M}$ ) (*Multiplexing Sample Preparation Oligonucleotide Kit, Illumina*), 2 µl vett ning 2,5 µl T4 ligaasi ( $C_{lõpp} = 200 \text{ u}/\mu\text{l}$ ). Reaktsioonisegu kanti 10 µl kaupa ristsidujas olnud PCR-i tuubidesse, lisati 15 µl täidetud otstega DNA-d ning tuubid asetati 15 minutiks PCR-i masinasse 20 °C juurde.

### **2.2.3.4. DNA puhastamine adapterite liitmise reaktsioonisegust**

DNA puhastamine adapterite liitmise reaktsioonisegu komponentidest viidi läbi sarnaselt alapeatükis 2.2.3.2 kirjeldatule, kuid seekord kasutati komplektis sisalduvat puhvrit PB ning 1. osa proove elueeriti 20 µl ja 2. osa proove 23 µl elueerimispuhvris EB.

### 2.2.3.5. Adapteri lünkade täitmine

Adapteri lünkade täitmiseks valmistati 1,5 ml tuubi reaktsioonisegu, mis sisaldas ühe proovi kohta 2,5 µl 10x adapteri lünkade täitmise puhvrit ja 1,5 µl Bst DNA polümeraasi ( $C_{lõpp} = 0,5$  u/µl). Reaktsioonisegu kanti 4 µl kaupa ristsidujas olnud PCR-i tuubidesse, lisati 20 µl adapteritega DNA-d ning tuubid asetati PCR-i masinasse, kus neid inkubeeriti 20 minutit 20 °C juures ning seejärel 20 minutit 80 °C juures polümeraasi inaktiveerimiseks.

### 2.2.3.6. Polümeraasi ahelreaktsioonid

Adapteritega DNA-fragmentide amplifitseerimiseks viidi läbi 2 polümeraasi ahelreaktsiooni, millest esimesega lisati indeksid ja teisega amplifitseeriti raamatukogusid. Reaktsioonisegud valmistati vana DNA laboris, kuid reaktsioon viidi läbi uue DNA laboris, kuna vana DNA laboris DNA amplifitseerimine saastaks labori.

Esimese reaktsiooni jaoks valmistati 1,5 ml tuubi segu, mis sisaldas ühe proovi kohta 5 µl *GeneAmp 10x PCR Gold Buffer* puhvrit (*Applied Biosystems by Life Technologies*), 4 µl  $MgCl_2$  ( $C_{lõpp} = 4$  mM), 1 µl BSA-d ( $C_{lõpp} = 0,4$  mg/ml), 1 µl AmpliTaq Gold DNA polümeraasi (*Applied Biosystems by Life Technologies*) ( $C_{lõpp} = 0,1$  u/µl), 0,5 µl dNTP-sid ( $C_{lõpp} = 0,25$  mM), 1,5 µl DMSO-d ( $C_{lõpp} = 0,09\%$ ), 1 µl praimerit inPE 1.0 (*Multiplexing Sample Preparation Oligonucleotide Kit, Illumina*) ( $C_{lõpp} = 0,2$  µM) ning 11 µl vett. Reaktsioonisegu kanti 25 µl kaupa ristsidujas olnud PCR-i tuubidesse, lisati 1 µl indekseeritud praimerit (*Multiplexing Sample Preparation Oligonucleotide Kit, Illumina*) ( $C_{lõpp} = 0,2$  µM) (igasse tuubi erineva indeksiga; lisa 1) ja 24 µl adapteritega DNA-d ning tuubid transporditi hermeetiliselt suletud kotis uue DNA laborisse ning asetati seejärel PCR-i masinasse. PCR-i programm algas 8 minuti eelkuumutusega 94 °C juures, sellele järgnes 30 sekundit denaturatsiooni 94 °C juures, 30 sekundit praimerite seondumiseks 60 °C juures ning 40 sekundit DNA sünteesiks 72 °C juures. Denaturatsiooni, praimerite seondumise ja DNA sünteesi etappi korrati 12 korda. Programmi lõpus jäeti temperatuur DNA sünteesi lõppemiseks veel 7 minutiks 72 °C juurde.

Teise reaktsiooni maht oli poole väiksem kui esimesel reaktsioonil, mistõttu valmistati samade lõppkontsentratsioonide saavutamiseks 1,5 ml tuubi segu, mis sisaldas ühe proovi kohta poole vähem Gold puhvrit,  $MgCl_2$ , BSA-d, AmpliTaq Gold DNA polümeraasi, dNTP-sid ja DMSO-d. Lisaks eeltoodud komponentidele lisati segule 1 µl sekveneerimisel voolukambri (ingl. k. *flow cell*) põhjas asuvatele oligonukleotiididele seondumiseks vajalike järjestustega (P5 ja P7) praimereid ( $C_{lõpp} = 0,5$  µM) ning 11,5 µl vett. Reaktsioonisegu kanti 20 µl kaupa ristsidujas olnud PCR-i tuubidesse ning tuubid transporditi hermeetiliselt suletud



kotis uue DNA laborisse. Pärast esimese reaktsiooni lõppu lisati teise reaktsiooni segule 5 µl esimese reaktsiooni produkti ning tuubid asetati seejärel PCR-i masinasse. PCR-i programm oli sarnane esimese reaktsiooni programmiga, kuid denaturatsiooni, praimerite seondumise ja DNA sünteesi etappi korrati 1. osa hammaste puhul 8 ning 2. osa hammaste puhul 6 korda. Juhul kui geelelektroforeesil selgus, et produkti pole tekkinud, korrati teist reaktsiooni vastavalt vajadusele 10, 12, 14 ja 16 tsükliga (lisa 1).

#### **2.2.3.7. Geelelektroforees**

DNA sekveneerimisraamatukogude amplifitseerimise õnnestumist kontrolliti horisontaalsel geelelektroforeesil 2% agarosgeelis (1x TBE puhvris). Geelile kandes lisati PCR-i produktile tilk laadimispuhvrit, mis sisaldas 1% *GelRed* värvi (*Biotinum*). Forees viidi läbi 200 V juures elektroodide vahega 22 cm 20–30 minuti vältel. Geeli pildistati UV-valguses, et hinnata, kas produkti on tekkinud.

#### **2.2.3.8. DNA puhastamine polümeraasi ahelreaktsiooni komponentidest**

DNA puhastamine polümeraasi ahelreaktsiooni komponentidest viidi läbi sarnaselt alapeatükis 2.2.3.4 kirjeldatule, kuid 1. osa proove elueeriti 30 µl ja 2. osa proove 20 µl elueerimispuhvris EB.

#### **2.2.3.9. Raamatukogude pikkusjaotuse ja DNA kontsentratsiooni määramine**

Sekveneerimisraamatukogude DNA-fragmentide pikkusjaotuse ja kontsentratsiooni määramiseks kasutati masinat *2100 Bioanalyzer* (*Agilent Technologies*) vastavalt tootja instruktsioonidele.

#### **2.2.4. DNA sekveneerimine**

DNA-d sekveneeriti teise põlvkonna *single-end* meetodil Illumina HiSeq platvormi kasutades Kopenhaageni Ülikooli GeoGeneetika Keskuse sekveneerimiskeskuses. Esialgel sekveneerimisel, mis on mõeldud põhiliselt endogeense DNA sisalduse tuvastamiseks, kuid võimaldab ka mitokondriaalse DNA uuringuid, segati 1. osa 4 proovi ühel rajal kokku veel 5 prooviga ning 2. osa 9 proovi pandi koos ühele rajale. Sellest tulenevalt saadi sekveneerimisel teiste proovide jaoks 3,5–33,8 miljonit järjestust (tabel 3), kuid kuna proov Sope\_juur kaasati ka rahvusvahelisse projekti *The Rise*, sekveneeriti seda täiendavalt 16 rajal ning saadi lõpptulemusena 0,3 miljardit järjestust (tabel 3).

**Tabel 3. Kasutatud proovide nimed (proov), arheoloogilised kultuurid (kultuur), dateeringud, sekveneerimise numbrid (sekv. nr.) ja sekveneeritud järjestuste hulgad (järjestusi).**

#	Proov	Kultuur	Dateering	Sekv. nr.	Järjestusi
		...keraamika	eKr		
1	Kivisaare		4300	MA972	14 403 977
2	Kudruküla1_dentiin	kamm-	3600	MA827	14 138 156
3	Kudruküla1_juur	kamm-	3600	MA828	6 520 420
4	Kudruküla2	kamm-	3600	MA974	17 358 771
5	Kudruküla3	kamm-	3600	MA975	21 099 802
6	Naakamäe	kamm-	2700	MA970	20 671 654
7	Ardu1_dentiin	nöör-	2700	MA968	16 861 762
8	Ardu1_juur	nöör-	2700	MA976	33 812 392
9	Ardu2	nöör-	2700	MA969	6 153 948
10	Kunila1	nöör-	2500	MA971	23 207 899
11	Kunila2	nöör-	2500	MA973	16 870 495
12	Sope_dentiin	nöör-	2400	MA825	3 459 874
13	Sope_juur	nöör-	2400	MA826	318 168 210

## 2.2.5. Sekveneeritud järjestuste joondamine referentsile

Sekveneeritud järjestuste joondamiseks referentsile ning hilisemaks analüüsiks andis juhtnööre Ulvi Gerst-Talas bioinformaatika töögrupist. Järjestuste ettevalmistamine ning joondamine toimus Eesti Biokeskuse serveris Taevas, milles töötati programmi *Terminal 2.4* (*Apple Inc.*) abil.

### 2.2.5.1. Järjestuste joondamiseks ettevalmistamine

Järjestuste allalaadimiseks Kopenhaageni Ülikooli GeoGeneetika Keskuse serverist kasutasin programmi *lftp* (A.V. Lukyanov) käskudega *open* ja *mirror*, mille tulemusel avati GeoGeneetika Keskuse serveris sekveneerimistulemusi sisaldav kaust ning kopeeriti selle sisu Eesti Biokeskuse serverisse loodud kausta.

Ühe proovi järjestusi sisaldavate \*.fastq.gz failide lahti pakkimiseks ja seejärel üheks failiks liitmiseks kasutati programmi *gunzip* (M. Adler) ning saadud koondfaili tagasi kokku pakkimiseks kasutati programmi *gzip* (J.-l. Gailly).

Järjestuste otstest indeksite ja adapterite järjestuste eemaldamiseks kasutati *Java* programmi *Trimmomatic 0.32* (Bolger *et al.*, 2014) sammudega *ILLUMINACLIP*, mille sättena sisestati adapteri järjestus, ning *MINLEN*, mille sättteks oli säilitatavate järjestuste minimaalne pikkus. Selleks pikkuseks määrati 30 nukleotiidi, kuna sellest lühemad järjestused võivad juhuslikult referentsgenoomile paigutada, kuigi kuuluvad tegelikult mõnele muule organismile.

### 2.2.5.2. Järjestuste joondamine referentsile

Järjestuste joondamisel kasutati referentsina 1000 Genoomi projekti viimases faasis kasutatavat järjestust hs37d5, mis põhineb GRCh37 (*Genome Reference Consortium human 37* – Genoomi Referentsi Konsortsiumi inimese genoomi 37. versioon) referentsjärjestusel,

kuid sisaldab lisaks inimese genoomile inimese herpesviirus 4 tüüp 1 genoomi ja niinimetatud peibutusjärjestusi *HuRef*, *Human Bac* ja *Fosmid* kloonidest ja NA12878-st.

Järjestuste joondamiseks referentsile kasutati programmi *Bowtie 2.0.0-beta7* (B. Langmead) sättega *end-to-end*, mis tähendab, et järjestused pidid joondamisel terves pikkuses referentsile sobituma, mitte ainult mingi lõigu ulatuses. Proovi *Sope\_juur* järjestused joondati referentsile sekveneerimiskordade kaupa.

## **2.2.6. Referentsile joondatud järjestuste analüüs**

### **2.2.6.1. Joondusfailide analüüsiks ettevalmistamine**

Joondusfailide analüüsiks ettevalmistamiseks kasutati paketti *samtools 0.1.19* (H. Li, B. Handsaker, J. Ruan, J. Marshall, P. Danecek) kuuluva programmi *samtools* erinevaid käske, millest tuleb täpsemalt juttu järgnevatel lõikudes.

Joondusfailide \*.sam formaadist \*.bam formaati konverteerimiseks kasutati käsku *view* ning sama sammuga sorteeriti joondatud järjestused käsuga *sort* genoomikoordinaatide (kromosoomi number, X, Y, MT või kontiigi number) alusel, jättes alles ainult referentsile paigutatud järjestused.

Raamatukogude koostamisel läbi viidud PCR-il tekkinud duplikaatjärjestuste eemaldamiseks kasutati käsku *rmDup*. Proovi *Sope\_juur* joondusfailid liideti pärast seda sammu üheks failiks käsuga *merge*.

Ainult mitokondriaalse DNA järjestusi sisaldava faili loomiseks kasutati käsku *view* sättega *MT*.

Mõnede analüüsides läbiviimiseks vajalike indeksfailide loomiseks nii kõiki referentsile paigutatud järjestusi kui ainult mitokondriaalse DNA järjestusi sisaldavatele \*.bam failidele kasutati käsku *index*.

### **2.2.6.2. Uuritava proovi kvaliteedikontroll**

Uuritava proovi kvaliteedikontrolliks ehk võimaliku tänapäevase DNA-ga saastatuse tuvastamiseks kasutati skripti *bamdamage* (Y. Wang, O. Tange) ning *hs37d5* referentsjärjestust. Skripti väljundiks on PDF-formaadis fail, mis sisaldab histogrammi referentsile joondunud DNA-fragmentide pikkusjaotusest ning graafikuid fragmentide otstes esinevate asenduste sagedustest.

### 2.2.6.3. Täisgenoomi katvuse ja mitokondri genoomi katvuse arvutamine

Täisgenoomi ja mitokondri genoomi katvuse arvutamiseks kasutati programmi *BEDTools* 2.19.0 (A.R. Quinlan, I.M. Hall) käsuga *genomecov*. Saadud tekstifailis oli tabelina esitatud eraldi kõigi kromosoomide, mitokondri genoomi, kontiigide, kogu inimese genoomi ja kogu referentsjärjestuse kohta, mitmes positsioonis iga täisarvuline katvus (alates nullist) esineb. Seda informatsiooni kasutades arvutati programmi *Microsoft Excel for Mac* (*Microsoft Corporation*) abil inimese täisgenoomi ja mitokondri genoomi keskmine katvus ning joonistati katvusvahemike positsioonide hulki kujutav histogramm.

### 2.2.6.4. mtDNA haplogruppide määramine

Referentsist erinevate positsioonide leidmiseks kasutati paketti *samtools* 0.1.19 kuuluvaid programme *samtools* ja *bcftools* ning skripti *vcfutils.pl*. Esmalt viidi ainult mitokondri genoomi järjestusi sisaldav joondusfail *samtools*'i käsuga *mpileup* BCF formaati, seejärel konverteeriti andmed *bcftools*'i käsuga *view* BCF formaadist VCF formaati ning seejärel filtreeriti *vcfutils.pl*'i käsuga *varFilter* välja need positsioonid, kus esines erinevus GRCh37 referentsjärjestusest.

Sarnasel viisil loodi proovi mitokondriaalse DNA järjestuse konsensusfail. Erinevusteks olid parameetrite lisamine *mpileup* käsule, millega määrati joonduse kasutamiseks vajalik minimaalne joonduse kvaliteedihinnang (30) ja nukleotiidiga arvestamiseks vajalik minimaalne nukleotiidi kvaliteedihinnang (20), ning *vcfutils.pl*'i käsu *varFilter* asemel käsu *vcf2fq* kasutamine, mille tulemusel konverteeriti andmed VCF formaadist FastQ formaati.

Mitokondriaalse DNA haplogrupi kindlakstegemiseks laeti loodud konsensusfail üles internetileheküljele <http://dna.jameslick.com>, kus programm võrdles konsensusjärjestust referentsjärjestusega rCRS (*revised Cambridge Reference Sequence* – parandatud Cambridge'i referentsjärjestus) (Andrews *et al.*, 1999). ning leitud erinevusi omakorda mtDNA fülogeneesipuuga *PhyloTree mtDNA tree Build 16* (van Oven ja Kayser, 2009). Lisaks kontrolliti saadud tulemust visuaalselt, joondades referentsjärjestusele paigutunud DNA-järjestused samale referentsile programmi *samtools* käsu *tview* abil.

Võrdluses kasutatud tänapäevase DNA proovide täisjärjestuste joondamiseks referentsjärjestusele kasutati algoritmi *Clustal 2* (Larkin *et al.*, 2007).

## **2.3. Tulemused ja arutelu**

### **2.3.1. Eraldatud DNA sekveneerimise tulemused**

Vana DNA proovid sisaldavad lisaks uuritava indiviidi DNA-le ehk endogeensele DNA-le väga suurel määral vana DNA-d erinevatelt organismidelt, kes aja jooksul säilmetega kontaktis on olnud. Samuti võivad proovid olla saastunud tänapäevase DNA-ga, mis pärineb näiteks säilmeid välja kaevanud, puhastanud või antropoloogilisi analüüse läbi viinud arheoloogidelt. Seetõttu ei saa erinevalt tänapäevase DNA-ga töötamisest sekveneerimisraamatukogu eduka koostamise järel ette näha, kas ja kui palju uuritava indiviidi DNA-d proovis sisaldub. Järgnevates alapeatükkides vaadeldakse, kui suur osa proovides sisaldunud DNA-fragmentidest paigutus referentsile, kas nende fragmentide näol oli tegemist vana DNA-ga (ja kuidas seda kontrollitakse) ning kui suur täisgenoomi ja mtDNA katvus esialgsel sekveneerimisel saavutati. Lisaks arutletakse selle üle, millest tulenevad erinevused sekveneeritud proovide endogeense DNA sisalduses.

#### **2.3.1.1. Referentsjärjestusele paigutunud järjestuste osakaal**

Referentsjärjestusele GRCh37 paigutunud järjestuste osakaal kõigist sekveneeritud järjestustest varieerus proovide vahel oluliselt, ulatudes 0,02%-st 86,12%-ni (tabel 4). Mesoliitikumist pärineva proovi järjestuste referentsile joondumise osakaal oli 0,95%, kammkeraamika kultuuri individide proovidel keskmiselt 2,18% ning nörkeraamika kultuuri esindajate proovidel keskmiselt 44,51%. Vanemate proovide väiksem endogeense DNA sisaldus ei ole üllatav, kuna DNA laguneb pinnases seistes järjest väiksemateks fragmentideks, mida on üha keerulisem DNA-d eraldades ränikerakestele püüda ning ka hiljem usaldusväärselt joondada, mistõttu alla 30 aluspaari pikkused fragmendid enne joondamist eemaldatai.

Kolme hamba puhul eraldati DNA nii krooni dentiinist kui juurest (proovid 2 ja 3, 7 ja 8 ning 12 ja 13) ning kõigil kolmel juhul joondus dentiini proovi järjestustest referentsile väiksem osa kui juure proovi järjestustest (tabel 4). Meie koostööpartnerid Kopenhaageni Ülikooli GeoGeneetika Keskusest nägid oluliselt suurema valimi puhul sama trendi (Allentoft *et al.*, 2015), mistõttu alates 2014. aasta keskpaigast eraldatakse nende laboris DNA-d enamasti ainult juurest. Selline erinevus võib olla tingitud sellest, et hambakroon on keskkonnale avatud ning emaili tekivad aja jooksul mõrad, mille kaudu võõras DNA jõuab dentiinini, kuid juur on vähemalt suurema osa DNA eraldamisele eelnevast ajast kaitstult lõualuu sees.

Arvestatav erinevus on ka 1. (tabel 4, proovid 2, 3, 12 ja 13) ja 2. (tabel 4, proovid 1, 4–11) eralduskorra keskmiste joondumisprotsentide vahel (vastavalt 13,20% ja 34,43%). Ka seda erinevust kinnitavad GeoGeneetika Keskuse tulemused ning suurema joondunud järjestuste osakaalu põhjuseks on ilmselt uus sidumispuhver, mis võimaldab lahustunud materjalist ränikerakestele püüda varasemast lühemaid DNA-fragmente (Allentoft *et al.*, 2015).

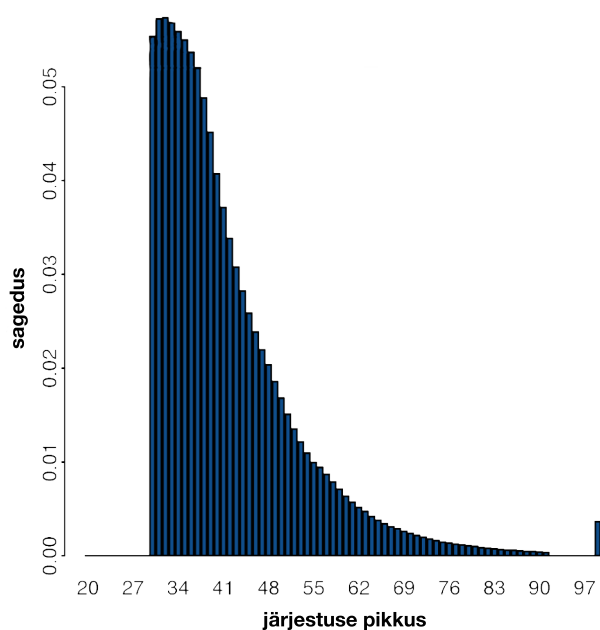
**Tabel 4. Sekveneritud proovide nimed (proov), arheoloogilised kultuurid (kultuur), dateeringud, sekvenerimise numbrid (sekv. nr.) ja referentsile GRCh37 joondunud järjestuste osakaal (joondumise %).**

#	Proov	Kultuur	Dateering	Sekv. nr.	Joondumine
		...keraamika	eKr		%
1	Kivisaare		4300	MA972	0,95
2	Kudruküla1_dentiin	kamm-	3600	MA827	0,25
3	Kudruküla1_juur	kamm-	3600	MA828	0,62
4	Kudruküla2	kamm-	3600	MA974	7,22
5	Kudruküla3	kamm-	3600	MA975	2,48
6	Naakamäe	kamm-	2700	MA970	0,02
7	Ardu1_dentiin	nöör-	2700	MA968	34,88
8	Ardu1_juur	nöör-	2700	MA976	86,12
9	Ardu2	nöör-	2700	MA969	83,2
10	Kunila1	nöör-	2500	MA971	32,08
11	Kunila2	nöör-	2500	MA973	62,96
12	Sope_dentiin	nöör-	2400	MA825	0,33
13	Sope_juur	nöör-	2400	MA826	12

### 2.3.1.2. Uuritavate proovide kvaliteet

Veendumaks, et referentsjärjestusele joondunud järjestused on tõepoolest vana DNA fragmendid, mitte tänapäevase DNA saastus, vaadeldakse esmalt joondunud järjestuste pikkusjaotust. Pärast indiviidi surma laguneb DNA aja möödudes järjest lühemateks fragmentideks, kuna elavas organismis pidevalt DNA-kahjustusi ja katkeid parandavad mehhanismid enam ei funktsioneerid. DNA lagunemise kiirust mõjutavad muuhulgas temperatuur ja pH, mistõttu igikeltsaaladelt või liustikest (Keller *et al.*, 2012) leitud indiviidide DNA on üldjuhul suhteliselt hästi säilinud, kuid happelisest keskkonnast (näiteks rabadest) pärit leidudest pole siiani DNA-d eraldada õnnestunud. Üheks põhiliseks säilmetes DNA katkemiseni viivaks mehhanismiks on depurinatsioon (Briggs *et al.*, 2007; Sawyer *et al.*, 2012), mis kujutab endast lämmastikaluse eemaldumist A- ja G-nukleotiididel hüdroolüüsi käigus, mille järel DNA-ahel kergesti katkeb. Kuna iga DNA-fragmendi katkemisel tekib 2 lühemat fragmenti, peaks vana DNA proovi joondunud järjestuste pikkus olema eksponentsiaalselt kahanev ning järjestuste keskmine pikkus suhteliselt väike, kuid kui esineb saastatus tänapäevase DNA-ga, sisaldab proov oodatust rohkem pikki fragmente, mis ühtlasi suurendab joondunud järjestuste keskmist pikkust. Joondunud järjestuste pikkusjaotuste graafikuid ning keskmisi pikkusi vaadates tuleb silmas pidada, et need jäävad meetodikast tulenevalt vahemikku 30–100 nukleotiidi (30 nt-st lühemaid järjestusi ei joondatud ning

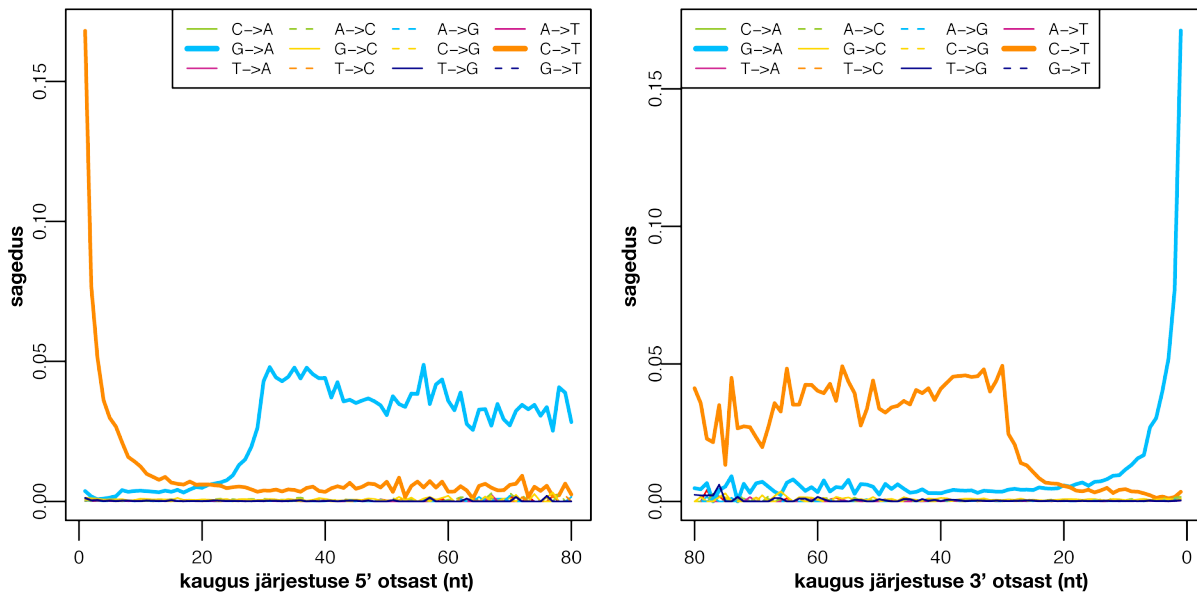
sekveneeriti maksimaalselt 100 nt). Peaaegu kõigi uuritud proovide referentsile joondunud järjestuste pikkused kahanesid eksponentsiaalselt (joonis 13; lisa 2) ning nende keskmised pikkused jäid vahemikku 39,75–56,34 nukleotiidi (tabel 5). Erandiks on proovid Ardu1\_juur, millest räägitakse põhjalikumalt käesoleva alapeatüki viimases lõigus, ja Kudruküla1\_dentiin, mille joondunud järjestuse keskmine pikkus oli 62,28 nukleotiidi (tabel 5). Viimase puhul oli tegemist suhteliselt halvasti säilinud hambaga, mis võis olla emaili pragude kaudu saastunud, kuid samas joondus sekveneeritud DNA-järjestustest referentsile vaid 0,25%, nii et proovi sattunud tänapäevase inimese DNA kogus ei saanud olla väga suur.



**Joonis 13. Proovi Ardu2 referentsile joondunud DNA-järjestuste pikkusjaotuse histogramm.**

Kvaliteedikontrolli teise etapina vaadatakse asenduste sagedusi referentsjärjestusele joondunud järjestuste otstes. Kuna DNA kaksikheeliksi ahelad katkevad säilmetes üldjuhul erinevatest kohtadest (enamasti A- või G-nukleotiidi kõrvalt), on tekkivad fragmendid üheaahelaliste üleulatuvate otstega, mis on keemilistele mõjutustele tundlikumad kui 2-ahelaline DNA. Üleulatuvates otstes toimub tsütosiini deaminatsioon ehk aminorühma eemaldamine tsütosiinilt hüdroolüüsi käigus, nii et tsütosiinist saab uratsiil. Sekveneeritud järjestustes avaldub toimunud muutus 5'-otstes C => T asenduste ning 3'-otstes G => A asenduste suure sagedusena. 5'-otstes esinevad järjestustes T-nukleotiidid, kuna uratsiile loetakse DNA sekveneerimisel tümiinidena, ning 3'-otstes A-nukleotiidid, kuna sekveneerimisraamatukogude koostamisel sünteesitakse üleulatuvatele otstele vastasahel ja asendus kantakse seeläbi teise ahelasse üle (Briggs *et al.*, 2007; Sawyer *et al.*, 2012). Vana DNA proovi peetakse kõrgkvaliteetseks, kui C => T asenduste sagedus järjestuste 5'-otstes on vähemalt 10%, kuigi ka sel juhul ei saa välistada kerget saastumist uuema DNA-ga (Allentoft *et al.*, 2015). Enamikul uuritavatest proovidest oli C => T asenduste sagedus vähemalt 10%

(joonis 14; lisa 2), sealjuures kõige suurem oli kõnealune asenduste sagedus proovidel Kunila1 ja Kunila2 (~18%) (tabel 5). Kolmel proovil (Kudruküla1\_dentiin, Ardu2 ja Kudruküla2) oli T-nukleotiidiga asendunud veidi alla 10% C-nukleotiididest (vastavalt ~8%, ~9% ja ~8%) (tabel 5). Ardu1\_juur erines teistest proovidest ka selle tunnuse poolest.



**Joonis 14.** Proovi Kivisaare referentsile joondunud DNA-järjestuste otstes esinevate asenduste sageduste graafik.

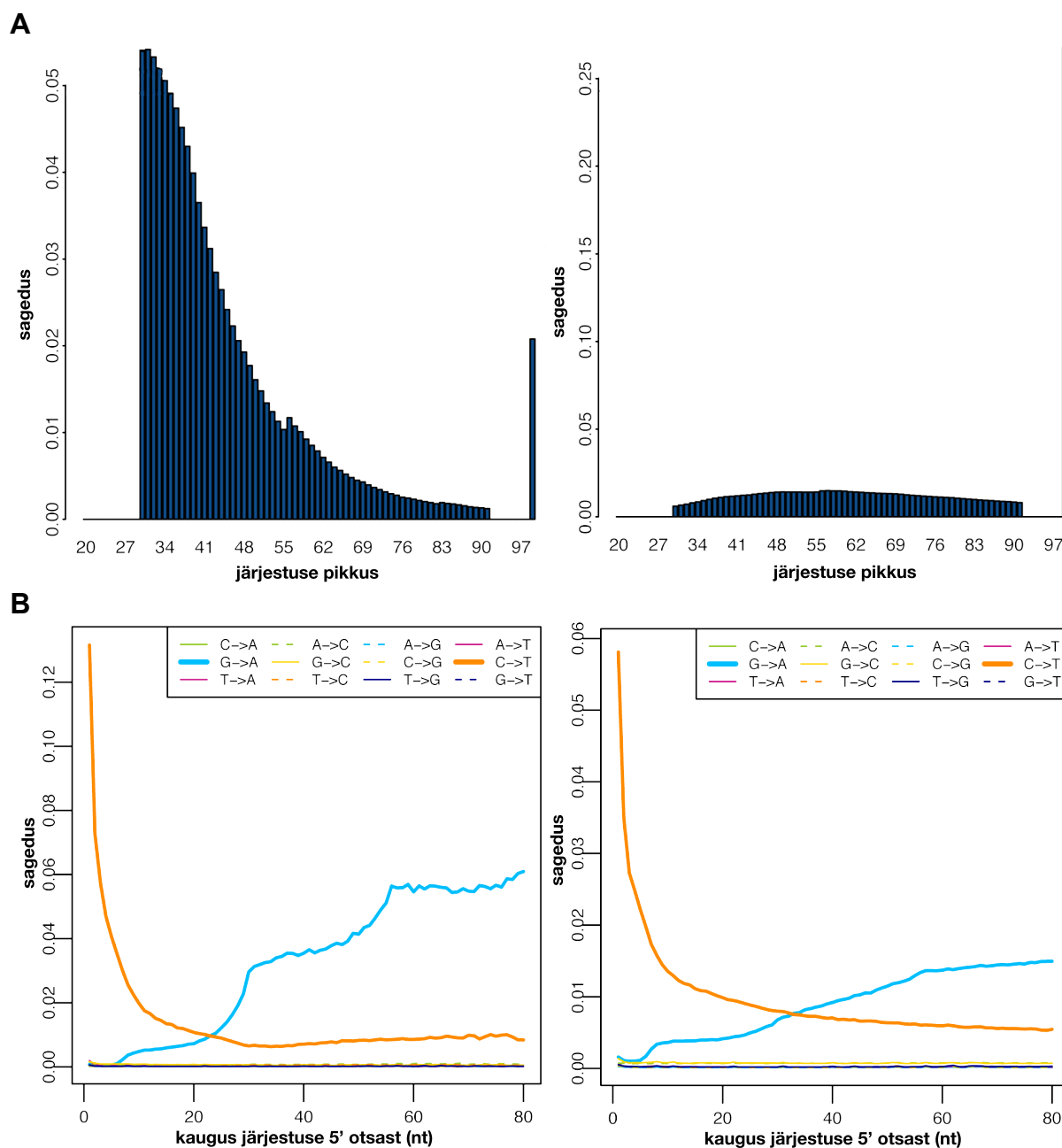
**Tabel 5.** Sekvenceritud proovide nimed (proov), arheoloogilised kultuurid (kultuur), dateeringud, sekvencerimise numbrid (sekv. nr.) ning referentsile joondunud järjestuste keskmised pikkused (pikkus) ja nende 5'-otstes esinevate C => T asenduste sagedused (asendused).

#	Proov	Kultuur	Dateering	Sekv. nr.	Pikkus	Asendused
		...keraamika	eKr		nt	%
1	Kivisaare		4300	MA972	39,75	~17
2	Kudruküla1_dentiin	kamm-	3600	MA827	62,28	~8
3	Kudruküla1_juur	kamm-	3600	MA828	46,28	~10
4	Kudruküla2	kamm-	3600	MA974	52,66	~8
5	Kudruküla3	kamm-	3600	MA975	54,66	~12
6	Naakamäe	kamm-	2700	MA970	51,17	~13
7	Ardu1_dentiin	nöör-	2700	MA968	44,44	~13
8	Ardu1_juur	nöör-	2700	MA976	70,58	~6
9	Ardu2	nöör-	2700	MA969	41,65	~9
10	Kunila1	nöör-	2500	MA971	56,34	~18
11	Kunila2	nöör-	2500	MA973	45,89	~18
12	Sope_dentiin	nöör-	2400	MA825	46,67	~10
13	Sope_juur	nöör-	2400	MA826	45,94	~11

Proov Ardu1\_juur eristus ülejäänud proovidest nii referentsjärjestusele joondunud järjestuste keskmise pikkuse kui ka nende otstes esinevate tsütosiini deaminatsioonist tingitud asenduste sageduse poolest. Täpsemalt öeldes viitasid mõlemad tunnused sellele, et proov oli saastunud, kuna järjestuste keskmine pikkus oli tervelt 70,58 nukleotiidi, kusjuures suur osa järjestustest olid 100 nukleotiidi pikad, ning järjestuste 5'-otsa C-nukleotiididest oli T-nukleotiididega



asendunud vaid ~6% (joonis 15; tabel 5). Selle proovi puhul toimus saastumine suure tõenäosusega hamba puurimisel. Puurimise demonstreerimise käigus lendas juur laboritöötaja näppude vahelt minema ja maandus tõmbkapi katmata jäänud kraanikausis. Juure kätte saamiseks tuli kutsuda töömees, kes võttis selle haisulukust välja. Hiljem loputati juurt lahja kloorilahusega. Õnneks õnnestus sama hamba krooni dentiinist DNA edukalt eraldada, nii et juhtunut võib vaadata näitena sellest, milline on saastunud DNA proov ja kui oluline on puhtus vana DNA-ga töötades.



**Joonis 15. Indiviidi Ardu1 dentiini- (vasakul) ja juureproovi (paremal) võrdlus referentsile joondunud DNA-fragmentide pikkusjaotuse histogrammide (A) ja referentsile joondunud DNA-järjestuste 5' otstes esinevate asenduste sageduste graafikute (B) alusel.**

### 2.3.1.3. Saavutatud täisgenoomi katvus ja mtDNA katvus

Sekveneerimisel saavutatud täisgenoomi katvus oli uuritavatel proovidel üldjuhul madal, jäädes vahemikku 0,00006–0,13 korda (tabel 6). Madala katvuse põhjuseks oli see, et iga proovi jaoks genereeriti vaid mõni miljon kuni paarkümmend miljonit järjestust (tabel 3), millest suure osa moodustasid võõr-DNA järjestused. Suurem katvus saavutati proovidel Sope\_juur (0,52x) ja Ardu1\_juur (0,53x) (tabel 6), kuid viimase puhul oli see tingitud saastatusest tänapäevase DNA-ga, nii et tulemus pole korrektne endogeense DNA jaoks. Proovi Sope\_juur ülejäänud proovidest suurema katvuse tagasid lisasekveneerimised projekti *The Rise* raames, mille tulemusel saadi antud proovi kohta 0,3 miljardit järjestust (tabel 3).

Mitokondriaalse DNA katvus oli enamikul uuritavatest proovidest 1,21 kuni 30,11 korda (tabel 6). Eelnenud lõigus selgitatud põhjustel on proovide Sope\_juur ja Ardu1\_juur mtDNA katvus võrreldes teiste proovidega kõrge (vastavalt 235,76x ja 109,61x; tabel 6). Mitokondriaalse DNA oluliselt suurem katvus täisgenoomi katvusega võrreldes tuleneb sellest, et kromosoomi on igas rakutuumas 2 koopiat (meestel kumbagi sugukromosoomi isegi ainult 1), kuid mitokondreid on rakus sadu ja rõngaskromosoomi igas mitokondris kümneid, mille tõttu mtDNA koopiaarv rakus on tuhandetes.

**Tabel 6. Sekveneeritud proovide nimed (proov), arheoloogilised kultuurid (kultuur), dateeringud, sekveneerimise numbrid (sekv. nr.) ja täisgenoomi (gen.) ning mtDNA (MT) katvus.**

#	Proov	Kultuur	Dateering	Sekv. nr.	Gen. katvus	MT katvus
		...keraamika	eKr		x	x
1	Kivisaare		4300	MA972	0,002	1,55
2	Kudruküla1_dentiin	kamm-	3600	MA827	0,0007	7,21
3	Kudruküla1_juur	kamm-	3600	MA828	0,0006	1,42
4	Kudruküla2	kamm-	3600	MA974	0,02	3,07
5	Kudruküla3	kamm-	3600	MA975	0,009	1,21
6	Naakamäe	kamm-	2700	MA970	0,00006	0,08
7	Ardu1_dentiin	nöör-	2700	MA968	0,06	30,11
8	Ardu1_juur	nöör-	2700	MA976	0,53	109,61
9	Ardu2	nöör-	2700	MA969	0,06	9,93
10	Kunila1	nöör-	2500	MA971	0,13	18,65
11	Kunila2	nöör-	2500	MA973	0,15	23,79
12	Sope_dentiin	nöör-	2400	MA825	0,0002	1,32
13	Sope_juur	nöör-	2400	MA826	0,52	235,76

### 2.3.2. Sekveneeritud indiviidide jaotumine mtDNA haplogruppidesse

Mitokondriaalse DNA haplogrupid ehk paiknemine mtDNA fülogeneesipuul õnnestus kindlaks teha 12-l analüüsitud proovil 13-st ning seeläbi 9-l uuritud indiviidil 10-st (tabel 7). Proovi Naakamäe mtDNA katvus osutus kahjuks haplogrupi määramiseks liiga madalaks. Kõigi kolme indiviidi puhul, kelle DNA-d eraldati nii krooni dentiinist kui juurest (Sope, Kudruküla1 ja Ardu1), ühtisid mõlema proovi analüüsil määratud haplogrupid, kuigi nende lahusastmed võisid erineva katvuse tõttu erineda (tabel 7). Eelnevast tulenevalt võib öelda,

et ka töö käigus saastunud proov Ardu1\_juur ei sisaldanud nii suures koguses võõrast DNA-d, et see oleks kaasa toonud vale mtDNA haplogrupi omistamise proovile.

Kõige sagedasemad olid uuritavatel indiviididel haplogrupp U alamhaplogrupid, mis esinesid 6 indiviidil 9-st. Ülejäänud 3 indiviidi kuulusid mitokondriaalse DNA alusel haplogruppide H, T ja J alamhaplogruppidesse (tabel 7).

Mesoliitikumis elanud indiviid (Kivisaare) ja kõik 3 kammkeraamika kultuuri esindajat, kes õnnestus haplogrupeerida (Kudruküla1, -2 ja -3), kuulusid haplogruppi U, täpsemalt alamhaplogruppidesse U5a2d, U5b1d1, U4a ja U2e1 (vastavalt sulgudes toodud indiviidide järjekorrale). Saadud tulemus kattub üldiselt kirjandusest loetuga, mille alusel küttidelekorilastele olid iseloomulikud haplogrupp U alamhaplogrupid (teiste hulgas U5a, U5b ja U4) (Bramanti *et al.*, 2009; Fu *et al.*, 2013), kuid haplogrupp U2 jõudis praegustel andmetel Kesk-Euroopasse (täpsemalt Saksamaale Mittelbe-Saale piirkonda) alles nöörikeramika kultuuri esindajatega (Brandt *et al.*, 2013).

Nöörikeramika kultuuri viljelejad osutusid haplogrupiliselt kuuluvuselt mitmekesisemateks, kuuludes haplogruppidesse H5a1, T2a1a, U5b2c, U5b1 ja J1c3 (vastavalt Sope, Ardu1, Ardu2, Kunila1 ja Kunila2). Haplogrupid H, T2 ja J olid sagedased ka Kesk-Euroopa neoliitiliste põlluharimise ja karjakasvatusega tegelevate kultuuride esindajatel ning samuti esines sarnaselt kirjanduse ülevaates käsitletud uuringutega küttidelekorilastele omaste haplogruppide esindajaid (Haak *et al.*, 2005; Haak *et al.*, 2008; Haak *et al.*, 2010; Brandt *et al.*, 2013).

**Tabel 7. Sekveneritud proovide nimed (proov), arheoloogilised kultuurid (kultuur), dateeringud, sekvenerimise numbrid (sekv. nr.) ja mtDNA haplogrupid (hapl.).**

#	Proov	Kultuur	Dateering	Sekv. nr.	Hapl.
		...keraamika	eKr		
1	Kivisaare		4300	MA972	U5a2d
2	Kudruküla1_dentiin	kamm-	3600	MA827	U5b1d1
3	Kudruküla1_juur	kamm-	3600	MA828	U5b1d1
4	Kudruküla2	kamm-	3600	MA974	U4a
5	Kudruküla3	kamm-	3600	MA975	U2e1
6	Naakamäe	kamm-	2700	MA970	?
7	Ardu1_dentiin	nöör-	2700	MA968	T2a1a
8	Ardu1_juur	nöör-	2700	MA976	T2a1
9	Ardu2	nöör-	2700	MA969	U5b2c
10	Kunila1	nöör-	2500	MA971	U5b1
11	Kunila2	nöör-	2500	MA973	J1c3
12	Sope_dentiin	nöör-	2400	MA825	H5a
13	Sope_juur	nöör-	2400	MA826	H5a1

### 2.3.3. Leitud haplogruppide olemasolevates andmebaasides esinevate alamharude levik tänapäeva Euroopas

Kõik leitud haplogruppid esinevad erinevate sagedustega ka tänapäeva Euroopas. Haplogrupp H5a1 on madala sagedusega levinud üle kogu Euroopa ning sinna kuulub ~2% makrohaplogrupi R0 esindajatest (Brandstätter *et al.*, 2008). J1c moodustab umbes kolmveerandi kõigist J haplogrupi liinidest, mis kokku annavad ~8% Euroopa mitokondriaalsest mitmekesisusest. Haplogrupp T2-e sagedus on Euroopas ~7%. Haplogrupp U5 moodustab Euroopa mtDNA geenitiigist keskmiselt 5–12%, sealjuures alamhaplogrupp U5a ~4% ja U5b ~3%. Haplogrupp U2 on madala sagedusega (0,5–2%) levinud enamikus Euroopast. Haplogrupi U4 sagedus jääb Euroopas keskmiselt ~2% juurde, kuid Lätis moodustab see haplogrupp tervelt 8,5% mitokondriaalse DNA mitmekesisusest (Ottoni *et al.*, 2011; *Eupedia*).

Vaatlemaks analüüsitavate proovide mtDNA haplogruppide alamharude levikut tänapäeva Euroopas, lähtuti proovide individuaalsetest mutatsioonidest, mis iseloomustavad just konkreetseid harusid, ning otsiti samu mutatsioone kandvaid indiviide olemasolevatest andmebaasidest. Individuaalseid mutatsioone tuvastati peaaegu kõigil uuritud indiviididel ning nii mtDNA kodeerivas kui HVSI regioonis, kuid kuna kättesaadavaid mtDNA täisjärjestusi on oluliselt vähem kui HVSI regiooni omi, õnnestus tänapäevasest andmestikust tuvastada vaid proovi Kunila1 mutatsiooni C16147T kandev alamharu. Mutatsiooni C16147T kandvaid U5b1-e indiviide leiti evolutsioonibioloogia töörühma ulatuslikust andmestikust (41 populatsiooni, 12611 indiviidi; tabel 8A) ja kirjanduses avaldatud andmetest (tabel 8B) 14 – moldaavlane (mutatsiooni esinemissagedus populatsioonis 0,011), horvaat (0,0007), rumeenlane (0,002), valgevenelane (0,002), venelane (0,001), norralane (0,0007) ja itaallane (0,002), 2 sakslast (0,002) ning 5 mordvalast (2 mokšat ja 3 ersat) (0,046). See tähendab, et leitud U5b1 alamharu mutatsiooniga C16147T on tänapäeval levinud üle Euroopa, kuid madala sagedusega. Erandiks on mordvalased, kellel on mutatsioon positsioonis 16147 teistest ülaltoodud populatsioonidest (v.a. moldaavlased) oluliselt sagedasem (p-väärtused vahemikus  $6,3 \times 10^{-13}$ – $1,3 \times 10^{-4}$ ).

**Tabel 8. A – Evolutsioonibioloogia töörühma andmestikku kuuluvad populatsioonid ja proovide arvud neis (N). B – Populatsioonid, milles mutatsioon C16147T haplogruppi U5b1 kuuluvatel indiviididel esines, mutatsiooni kandvate indiviidide arvud (n), proovide koguarvud (N) ja allikad.**

A		B			
Populatsioon	N	Populatsioon	n	N	allikad
albaanlased	280	moldaavlased	1	93	avaldamata andmed *
baškiirid	500	mokšad	2	58	Bermisheva <i>et al.</i> , 2002
bosnialased	256	ersad	3	51	Bermisheva <i>et al.</i> , 2002
bulgaarlased	64	valgevenelased	1	542	Behar <i>et al.</i> , 2010; avaldamata andmed *
eestlased	410	horvaadid	1	1341	Tolk <i>et al.</i> , 2001; Jeran <i>et al.</i> , 2009; Sarac <i>et al.</i> , 2012; Sarac <i>et al.</i> , 2014; avaldamata andmed *
gagauusid	134	rumeenlased	1	441	Richards <i>et al.</i> , 2000; Behar <i>et al.</i> , 2010
hispaanlased	25	venelased	1	1005	Orekhov <i>et al.</i> , 1999; Richards <i>et al.</i> , 2000; Malyarchuk ja Derenko, 2001; Malyarchuk <i>et al.</i> , 2002; avaldamata andmed *
horvaadid	2202	norralased	1	1455	Opdal <i>et al.</i> , 1998; Passarino <i>et al.</i> , 2002; Richards <i>et al.</i> , 2000; Helgasson <i>et al.</i> , 2001; <i>FamilyTreeDNA Norway project</i>
Horv. mustlased	75	itaallased	1	624	Richards <i>et al.</i> , 2000; Achilli <i>et al.</i> , 2007
itaallased	150	sakslased	2	1183	Richards <i>et al.</i> , 1996; Pfeiffer <i>et al.</i> , 1999; Lutz <i>et al.</i> , 1998; Hofmann <i>et al.</i> , 1997; Baasner <i>et al.</i> , 1998
karjalased	181				
komid	345				
kreeklased	184				
kreetalased	184				
küproslased	179				
leedulased	47				
lätlased	324				
Maked. mustlased	160				
marid	84				
moldaavlased	96				
montenegrolased	140				
mordvalased	165				
poolakad	144				
rumeenlased	803				
saamid	73				
sakslased	22				
serblased	183				
sitsiillased	546				
slovakid	512				
sloveenlased	290				
soomlased	100				
šveitslased	205				
tatarlased	221				
tšehhid	94				
tšuvašid	267				
udmurdid	183				
ukrainlased	622				
ungarlased	116				
valgevenelased	767				
venelased	1214				
vepslased	64				

\* evolutsioonibioloogia töörühma avaldamata andmed

Ülalmainitud 14 indiviidist viie DNA leidus evolutsioonibioloogia töörühma kogus ning töörühma liikmel Anu Solnikul õnnestus neist mtDNA täisjärjestused resekveneerida. Saadud järjestuste võrdlemisel nõorkeraamika kultuuri esindaja Kunilal mtDNA järjestusega ja referentsjärjestusega rCRS selgus, et kõik 6 indiviidi kannavad mutatsioone ka positsioonides 3708, 6302 ja 12618. Indiviidi Kunilal ainus mutatsioon, mida ühelgi teisel analüüsitud indiviidil ei esinenud, oli positsioonis 5453 (tabel 9). Leitud haplogrupp U5b1 4 mutatsiooniga alamharu tekkis järelikult hiljemalt neoliitikumi teises pooles ning on praeguseks madala sagedusega levinud üle Euroopa.

**Tabel 9. Neoliitikumis elanud indiviidi Kunila1 ning 5 tänapäevase indiviidi (ersad Erz50 ja Erz6, moldaavlane Mold24, horvaat Zagr1797 ning valgevenelane Bbt 269) võrdlus referentsjärjestusega rCRS – haplogruppi U5b1 defineerivad mutatsioonid (värvitu taustaga) ja lisamutatsioonid, mis esinevad neil kõigil (kollase taustaga) või vaid ühel/mõnel (helerohelise taustaga).**

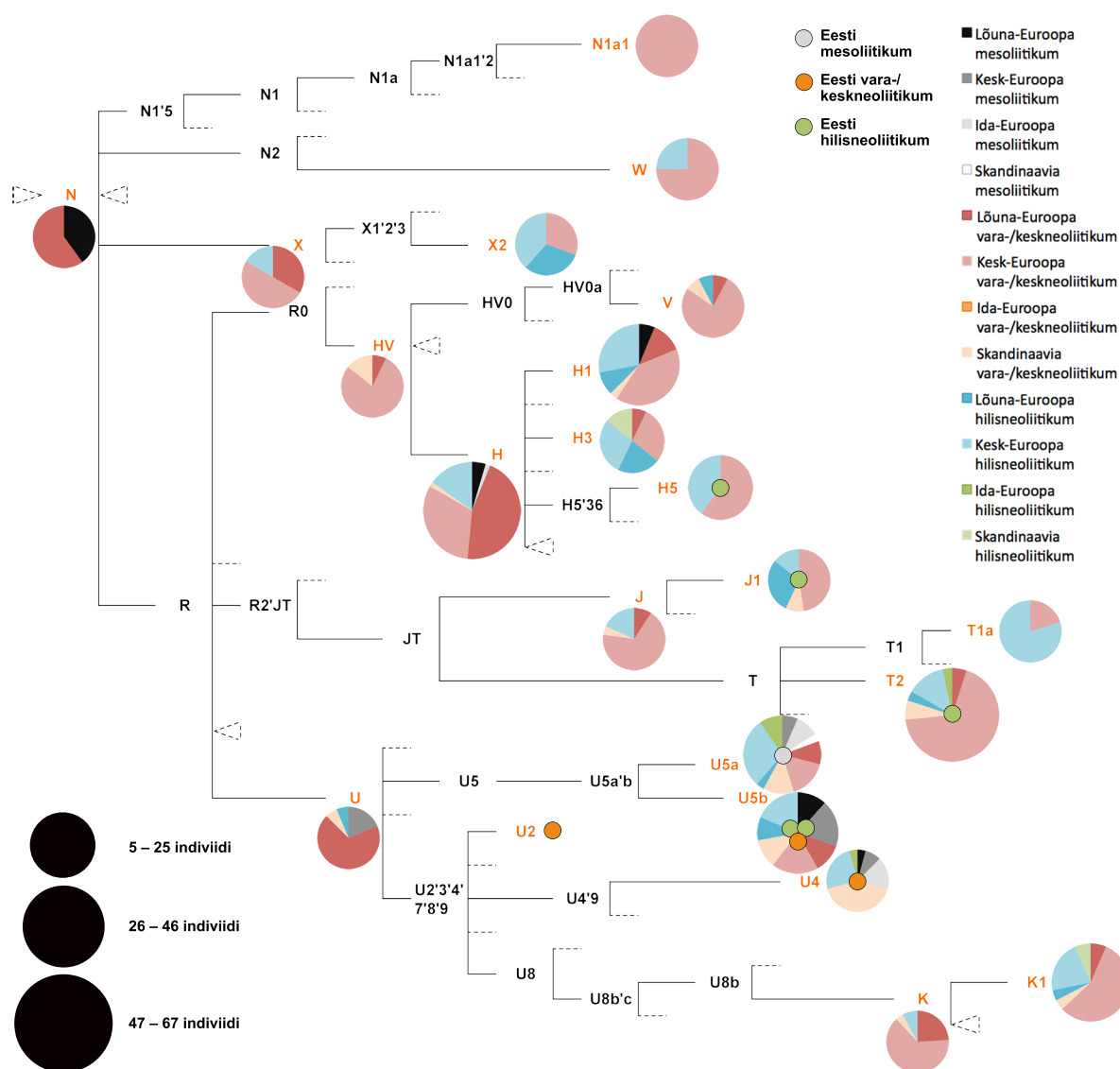
Positsioon	rCRS	Kunila1	Erz50	Erz6	Mold24	Zagr1797	Bbt269
73	A	G	G	G	G	G	G
150	C	T	T	T	T	T	T
228	G	G	G	G	A	G	G
263	A	G	G	G	G	G	G
471	T	T	T	T	T	C	T
750	A	G	G	G	G	G	G
1438	A	G	G	G	G	G	G
2706	A	G	G	G	G	G	G
3197	T	C	C	C	C	C	C
3708	A	G	G	G	G	G	G
3849	G	G	A	A	G	A	G
4769	A	G	G	G	G	G	G
5453	A	G	A	A	A	A	A
5656	A	G	G	G	G	G	G
6302	A	G	G	G	G	G	G
7028	C	T	T	T	T	T	T
7768	A	G	G	G	G	G	G
8860	A	-	G	G	G	G	G
9477	G	A	A	A	A	A	A
11150	G	G	G	G	A	G	G
11467	A	G	G	G	G	G	G
11719	G	A	A	A	A	A	A
12308	A	G	G	G	G	G	G
12372	G	A	A	A	A	A	A
12618	G	A	A	A	A	A	A
13617	T	C	C	C	C	C	C
14182	T	C	C	C	C	C	C
14766	C	T	T	T	T	T	T
15326	A	G	G	G	G	G	G
16093	T	T	T	T	C	T	T
16147	C	T	T	T	T	T	T
16189	T	C	C	C	C	C	C
16270	C	T	T	T	C	T	T
16519	T	T	T	T	T	C	T

### 2.3.4. Analüüsitud proovide ja varem publitseeritud sama perioodi proovide mtDNA haplogruppilise kuuluvuse võrdlus

Võrdlemaks käesoleva töö raames analüüsitud Eesti territooriumilt välja kaevatud proove varem publitseeritud sama perioodi proovidega, kasutati andmestikku 566 indiviidi mtDNA haplogruppidega, mis oli kokku pandud järgnevate publikatsioonide põhjal: Chandler, 2003; Chandler *et al.*, 2005; Haak *et al.*, 2005; Haak *et al.*, 2008; Bramanti *et al.*, 2009; Malmström *et al.*, 2009; Haak *et al.*, 2010; Hervella, 2010; Krause *et al.*, 2010; Lacan, 2011; Lacan *et al.*, 2011a; Lacan *et al.*, 2011b; Gamba *et al.*, 2012; Hervella *et al.*, 2012; Sánchez-Quinto *et al.*, 2012; Skoglund *et al.*, 2012; Brandt *et al.*, 2013; Brotherton *et al.*, 2013; Der Sarkissian *et al.*, 2013; Fu *et al.*, 2013; Skoglund *et al.*, 2014; Allentoft *et al.*, 2015 (lisa 3). Indiviidid jaotati rühmadesse mtDNA haplogruppi, ajalooajalooperioodi (mesoliitikum, vara-/keskneoliitikum ja

hilisneoliitikum) ning viimasena leiukoha (Lõuna-, Kesk-, Ida-Euroopa ja Skandinaavia) alusel, nii et igasse haplogruppi kuuluvad indiviidid jagunesid 12 rühma (joonis 16).

Eesti proovide mtDNA haplogrupiline jaotus sobitus üldiselt hästi võrdlusandmestikuga (joonis 16). Oluline on silmas pidada, et võrdlusandmestikust moodustasid valdava osa (383 proovi) Kesk-Euroopa proovid ning Ida-Euroopa oli esindatud vaid 20 mesoliitikumist ja hilisneoliitikumist pärit prooviga (lisa 3).



**Joonis 16. Osaline mtDNA fülogeneesipuu *PhyloTree mtDNA tree Build 16* (van Oven ja Kayser, 2009) alusel, millele on mtDNA haplogrupilise kuuluvuse põhjal lisatud sektordiagrammid varem publitseeritud vana DNA proovidega mesoliitikumist ja neoliitikumist (Chandler, 2003; Chandler *et al.*, 2005; Haak *et al.*, 2005; Haak *et al.*, 2008; Bramanti *et al.*, 2009; Malmström *et al.*, 2009; Haak *et al.*, 2010; Hervella, 2010; Krause *et al.*, 2010; Lacan, 2011; Lacan *et al.*, 2011a; Lacan *et al.*, 2011b; Gamba *et al.*, 2012; Hervella *et al.*, 2012; Sánchez-Quinto *et al.*, 2012; Skoglund *et al.*, 2012; Brandt *et al.*, 2013; Brotherton *et al.*, 2013; Der Sarkissian *et al.*, 2013; Fu *et al.*, 2013; Skoglund *et al.*, 2014; Allentoft *et al.*, 2015) ning käesolevas töös uuritavad Eesti vana DNA proovid. Esindatud haplogrupid on tähistatud oranžiga.**

Haplogruppi H5 kuulus 1 Eestist pärinev nõorkeraamika kultuuri indiviid hilisneoliitikumist, kuid ei kuulunud üksi 6-st võrdlusandmestiku Ida-Euroopa indiviidist. Üldse esindas vaadeldavat haplogruppi lisaks Eesti indiviidile 15 indiviidi Kesk-Euroopast, kellest 60% pärinesid vara-/keskneoliitikumist ja 40% hilisneoliitikumist. Kokkuvõttes võib öelda, et tegemist on haplogruppiga, mis polnud väga sage, kuid leidis sarnasel määral kogu neoliitikumi jooksul, aga puudus mesoliitikumis.

Haplogruppi J1 kuulus enim indiviide vara-/keskneoliitikumist, sealjuures nii Kesk-Euroopast kui Skandinaaviast. Peaaegu sama palju haplogrupp J1 esindajaid (43%) pärines Kesk- ja Lõuna-Euroopa hilisneoliitikumist. Ka Eesti andmestikust kuulus antud haplogruppi hilisneoliitikumis elanud indiviid, mis tähendab, et tegemist on haplogruppiga, mida esines neoliitikumis üle kogu Euroopa.

Haplogruppi T2 kuulus tervelt 60 indiviidi võrdlusandmestikust, mis tähendab, et tegemist on ühe kõige arvukamalt esindatud haplogruppiga kasutatud andmestikus. See haplogrupp oli kõige sagedasem Kesk-Euroopa vara-/keskneoliitikumi indiviididel (41), kuid esines samal perioodil ka Lõuna-Euroopas ja Skandinaavias (kokku 80% T2-te kuulujatest). Vähem esines haplogruppi T2 hilisneoliitikumis, kuid lisaks Eesti indiviidile kuulus sinna indiviide ka mujalt Ida-Euroopast (2) ning Kesk- ja Lõuna-Euroopast.

Haplogruppi U5a kuulus indiviide kõikidest ajalooperioodidest ja piirkondadest, kuid mesoliitikumist siiski vähem kui vara-/keskneoliitikumist või hilisneoliitikumist. Ida-Euroopa indiviididest esindasid kõnealust haplogruppi koos antud töös uuritutega 4 indiviidi mesoliitikumist ja 3 hilisneoliitikumist, mis teeb U5a-st kasutatud andmestiku põhjal Ida-Euroopa kõige sagedasema haplogrupi vaadeldud perioodil.

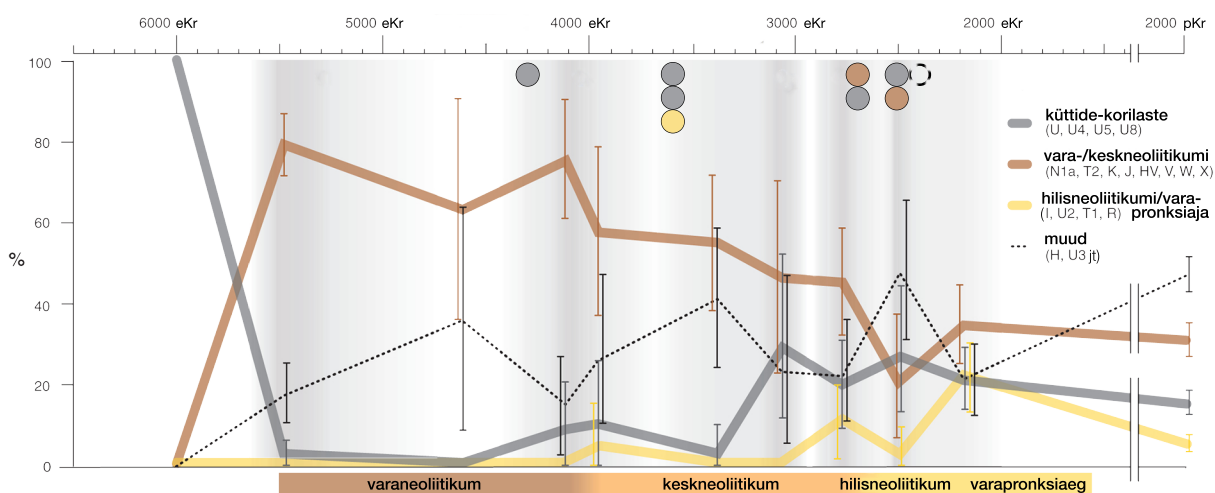
Haplogruppi U5b kuulusid tervelt 3 analüüsitud indiviidi Eestist, kellest 1 pärines vara-/keskneoliitikumist ja 2 hilisneoliitikumist. Ühtlasi oli tegemist ainsate haplogrupp U5b esindajatega kasutatud Ida-Euroopa andmestikus. Samas kuulus vaadeldavasse haplogruppi mujalt Euroopast sarnane hulk indiviide kõigist 3-st ajalooperioodist (28%, 42% ja 30%).

Haplogruppi U2 kuulus lisaks vara-/keskneoliitikumis elanud Eesti indiviidile veel vaid 4 indiviidi, kellest 3 pärinesid Ida-Euroopa mesoliitikumist ning 1 Kesk-Euroopa hilisneoliitikumist. See info seob Eesti kammkeraamika kultuuri indiviidi antud kultuuri levialaga Eestist idas ning eristab seda Kesk-Euroopast, mida esindava 383 indiviidiga andmestiku alusel jõudis haplogrupp U2 piirkonda alles hilisneoliitikumis, olles ka siis harv.



Haplogruppi U4 kuulus sarnases hulgas indiviide kõigist perioodidest (vastavalt 29%, 42% ja 29%), kuid huvitav on see, et kõik haplogruppi U4 esindavad vara-/keskneoliitikumi indiviidid võrdlusandmestikus pärinesid Skandinaaviast (10 indiviidi). Sellesse haplogruppi kuulus ka Eesti vara-/keskneoliitikumi indiviid, mis võiks viidata kontaktidele Eesti ja Skandinaavia tollaste elanike vahel. Tõenäolisem on siiski, et haplogruppi U4 esines ka vara-/keskneoliitikumi Ida-Euroopas, mille indiviidid võrdlusandmestikus puuduvad, kuna sinna kuulus Ida-Euroopa indiviide nii mesoliitikumist (4) kui hilisneoliitikumist (1).

Kokkuvõttes võib öelda, et Eestis vara-/keskneoliitikumis elanud kammkeraamika kultuuri indiviidid sarnanesid käesolevas töös kasutatud uute proovide ning võrdlusandmestiku põhjal pigem teiste Ida-Euroopa indiviididega. Sellist tulemust toetab ka asjaolu, et kammkeraamika kultuuri leviala jäi Ida-Euroopasse (Eesti paiknes selle läänepiiril). Eesti territooriumil elanud nõorkeraamika kultuuri esindajad olid aga samade andmete alusel sarnasemad pigem läänepoolse Euroopa indiviididega ja erinesid varasema kammkeraamika kultuuri esindajatest (joonis 17). Kuna nõorkeraamika kultuur jõudis Eestisse läänest (Eesti jäi antud kultuuri idapiirile), toetab selline tulemus uue kultuuri jõudmist Eesti territooriumile migratsiooniga, mitte peamiselt kultuuriülekanedega. mtDNA analüüsi mõttes väikese valimi ja lünkliku Ida-Euroopa võrdlusmaterjali tõttu ei saa selles järelduses täiesti kindel olla, mistõttu on edaspidi plaanis professor Aivar Kriiska abiga analüüsida veel proove Eestist ning ka Venemaalt ja Lätist. Kuna tänapäeva populatsioonide uurimiseks kasutatavate valimitega võrreldavat hulka vana DNA proove pole siiski Eestis võimalik kokku saada, kavatakse liikuda mtDNA tasandilt autosoomide tasandile, mis rekombineerumise tõttu võimaldab väikese valimi analüüsitulemusi suurema kindlusega laiendada kogu populatsioonile.



**Joonis 17. Kesk-Saksamaa neoliitiliste ja tänapäevaste proovide jagatud haplotüüpide analüüsi graafik, millele on lisatud käesolevas töös analüüsitud proovid.** Alläärde on märgitud ajalooperioodide kestvused Saksamaal ning mummudena on lisatud käesolevas töös analüüsitud proovid (kohandatud: Brandt *et al.*, 2013).

## Kokkuvõte

Käesoleva magistritöö raames eraldati DNA 10 Eestis arheoloogilistel väljakaevamistel leitud hambast, millest 1 pärines mesoliitikumist, 4 kuulusid kammkeraamika kultuuri indiviididele ja 5 nõorkeraamika kultuuri esindajatele. Sekveneeritud proovide analüüsil selgus, et enim endogeenset DNA-d sisaldasid nõorkeraamika kultuuri esindajate hammastest eraldatud proovid. 2 proovi kvaliteet polnud usaldusväärsete tulemuste saamiseks piisav. Kuna mõlemad saastunud proovid pärinesid indiviididelt, kelle DNA eraldati nii hamba kroonidentiinist kui juurest, kvalifitseerusid kõik 10 indiviidi siiski edasisteks analüüsideks.

Mitokondriaalse DNA haplogrupi määramine õnnestus 9 indiviidil 10-st, proovi Naakamäe mtDNA katvus osutus selleks ebapiisavaks. Kõik haplogrupeeritud kütid-korilased kuulusid haplogrupi U alamhaplogruppidesse U5a, U5b, U4 ja U2, kuid põlluharimise ja karjakasvatusega tegelejad nõorkeraamika kultuuri indiviidid esindasid lisaks U5b-le ka haplogruppe H5, T2 ja J1. Saadud tulemused on üldjoontes kooskõlas kirjanduses esitletud Kesk-Euroopa andmetega. Erandiks on haplogrupp U2, mis jõudis Kesk-Euroopasse alles nõorkeraamika kultuuriga, kuid esines Ida-Euroopas juba mesoliitikumis.

Vaadeldes proovil Kunila1 esineva haplogrupi U5b1 mutatsiooni C16147T kandva alamharu levikut tänapäeva Euroopas, tuvastati see väga madala sagedusega moldaavlastel, horvaatidel, rumeenlastel, valgevenelastel, venelastel, norralastel, itaallastel ja sakslastel ning kõrgema sagedusega mordvalastel. mtDNA täisjärjestuste analüüsil selgus, et kõik vaadeldud indiviidid (2 mordvalast, moldaavlane, horvaat ja valgevenelane) jagasid neoliitilise prooviga mutatsioone ka positsioonides 3708, 6302 ja 12618. See tähendab, et indiviid Kunila1 kuulub 4 lisamutatsiooniga haplogrupi U5b1 alamharusse, mis on levinud ka tänapäeva Euroopas.

Käesoleva töö raames haplogrupeeritud proovide võrdlemisel 566 indiviidi varem publitseeritud andmetega nähti, et kammkeraamika kultuuri esindajad sarnanesid pigem Ida-Euroopa ning nõorkeraamika kultuuri esindajad läänepoolse Euroopa indiviididega. Kirjeldatud tulemused toetavad nõorkeraamika kultuuri jõudmist Eesti territooriumile migratsiooni teel, kuid mtDNA analüüsi mõttes väikese valimi ja lünkliku Ida-Euroopa võrdlusmaterjali tõttu ei saa selles järelduses täiesti kindel olla. Seetõttu on projekti jätkudes plaanis analüüsida veel proove Eestist ning lisaks ka Venemaalt ja Lätist ning liikuda mtDNA tasandilt autosoomide tasandile, mis võimaldab väikese valimi analüüsitulemusi suurema kindlusega laiendada kogu populatsioonile.

# **Neolithic transition in Estonia – sequencing and mtDNA analyses of comb ceramics and corded ware culture individuals' DNA**

Lehti Saag

## **Summary**

Neolithic transition in Europe is a period of great change in many aspects of life brought on by the arrival of farming from the Near East. Its impact on peoples' genetic diversity has been studied for a while using modern DNA. During the last decade aDNA has also been used, so far mostly in Central Europe and less in Southern Europe and Scandinavia. In Estonia this period is marked by the arrival of the Corded Ware culture from Central Europe around 5000 years BP. It coexisted with the Eastern European hunter-gatherer culture the Comb Ceramics culture for an extended time period before replacing it fully.

This thesis is a part of a longer aDNA project which aims to find out if farming together with the Corded Ware culture arrived in Estonia via demic or cultural diffusion. The specific aim of the thesis was to sequence DNA from people of the Corded Ware and Comb Ceramics cultures, haplogroup them, look at the distribution of found lineages in Europe today and compare the results with published aDNA samples.

13 DNA samples were extracted from 10 individuals and after quality controls all 10 individuals although only 11 samples qualified for further analyses. mtDNA haplogroups could be found for 9 individuals and all of the hunter-gatherers belonged to subhaplogroups of hg U (U5a, U5b, U4 and U2) but the farmers also represented haplogroups H5, T2 and J1. The results overall support those from Central Europe although hg U2 arrived there with the Comb Ceramics culture, but was already present in Eastern Europe during the mesolithic.

While looking at the distribution of the lineages in Europe today it was found that mutation C16147T from a U5b1 Corded Ware sample is spread with a low frequency all over Europe. Also, 5 individuals from Eastern Europe shared 3 more mutations with the neolithic farmer.

A comparison with 566 samples from published results showed that Comb Ceramics culture individuals were more similar to Eastern European and Corded Ware culture individuals to Western European individuals. These results support the demic diffusion hypothesis for the arrival of farming in Estonia. Nevertheless, the small sample size and lacking information from Eastern Europe makes it hard to be sure, which is the reason why we're planning to involve samples from Russia and Latvia in the future and move on to autosomal analyses.

## **Kirjanduse loetelu**

Achilli A, Olivieri A, Pala M, Metspalu E, Fornarino S, Battaglia V, Accetturo M, Kutuev I, Khusnutdinova E, Pennarun E et al. (2007). Mitochondrial DNA variation of modern Tuscans supports the near eastern origin of Etruscans. *Am J Hum Genet* 80(4): 759–768.

Aimé C, Verdu P, Séguel L, Martinez-Cruz B, Hegay T, Heyer E, Austerlitz F. (2014). Microsatellite data show recent demographic expansions in sedentary but not in nomadic human populations in Africa and Eurasia. *Eur J Hum Genet* 22: 1201–1207.

Allentoft ME, Sikora M, Sjögren K-G, Rasmussen S, Rasmussen M, Stenderup J, Damgaard PB, Schroeder H, Ahlström T, Vinner L et al. (2015). Bronze Age population dynamics, selection, and the formation of Eurasian genetic structure. *Nature* (vastu võetud).

Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N. (1999). Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet* 23: 147.

Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich DP, Roe BA, Sanger F et al. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290(5806): 457–465.

Baasner A, Schafer C, Junge A, Madea B. (1998). Polymorphic sites in human mitochondrial DNA control region sequences: population data and maternal inheritance. *Forensic Sci Int* 98: 169–178.

Balaresque P, Bowden GR, Adams SM, Leung HY, King TE, Rosser ZH, Goodwin J, Moisan JP, Richard C, Millward A et al. (2010). A predominantly neolithic origin for European paternal lineages. *PLoS Biol* 8(1): e1000285. doi: 10.1371/journal.pbio.1000285.

Behar DM, Yunusbayev B, Metspalu M, Metspalu E, Rosset S, Parik J, Rootsi S, Chaubey G, Kutuev I, Yudkovsky G et al. (2010). The genome-wide structure of the Jewish people. *Nature* 466(7303): 238–242. doi: 10.1038/nature09103.

Bermisheva M, Tambets K, VILLEMS R, Khusnutdinova E. (2002). Diversity of mitochondrial DNA haplotypes in ethnic populations of the Volga-Ural region of Russia (vene keeles). *Mol Biol (Mosk)*. 36(6): 990–1001.

- Bolger AM, Lohse M, Usadel B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics* 30(15): 2114–2120. doi: 10.1093/bioinformatics/btu170.
- Bollongino R, Nehlich O, Richards MP, Orschiedt J, Thomas MG, Sell C, Fajkosová Z, Powell A, Burger J. (2013). 2000 years of parallel societies in Stone Age Central Europe. *Science* 342(6157): 479–481.
- Bramanti B, Thomas MG, Haak W, Unterlaender M, Jores P, Tambets K, Antanaitis-Jacobs I, Haidle MN, Jankauskas R, Kind CJ et al. (2009.) Genetic discontinuity between local hunter-gatherers and central Europe's first farmers. *Science* 326(5949): 137–140.
- Brandstätter A, Zimmermann B, Wagner J, Göbel T, Röck AW, Salas A, Carracedo A, Parson W. (2008). Timing and deciphering mitochondrial DNA macro-haplogroup R0 variability in Central Europe and Middle East. *BMC Evol Biol* 8: 191. doi: 10.1186/1471-2148-8-191.
- Brandt G, Haak W, Adler CJ, Roth C, Szécsényi-Nagy A, Karimnia S, Möller-Rieker S, Meller H, Ganslmeier R, Friederich S et al. (2013). Ancient DNA reveals key stages in the formation of central European mitochondrial genetic diversity. *Science* 342(6155): 257–261.
- Brandt G, Szécsényi-Nagy A, Roth C, Alt KW, Haak W. (2014). Human paleogenetics of Europe - The known knowns and the known unknowns. *J Hum Evol* 79: 73–92.
- Briggs AW, Stenzel U, Johnson PL, Green RE, Kelso J, Prüfer K, Meyer M, Krause J, Ronan MT, Lachmann M, Pääbo S. (2007). Patterns of damage in genomic DNA sequences from a Neandertal. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(37): 14616–14621.
- Brotherton P, Haak W, Templeton J, Brandt G, Soubrier J, Jane Adler C, Richards SM, Sarkissian CD, Ganslmeier R, Friederich S et al. (2013). Neolithic mitochondrial haplogroup H genomes and the genetic origins of Europeans. *Nat Commun* 4: 1764.
- Brown WM, George M, Jr., Wilson AC. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76: 1967–1971.
- Chandler H. (2003). *Using Ancient DNA to Link Culture and Biology in Human Populations*. University of Oxford.
- Chandler H, Sykes B, Zilhão J. (2005). Using ancient DNA to examine genetic continuity at the Mesolithic-Neolithic transition in Portugal. *Kogumikus: Arias P, Ontañón R, García-Moncó C. Actas dell III Congreso del Neolítico en la Península Ibérica, Santander,*

Monografías del Instituto internacional de Investigaciones Prehistóricas de Cantabria 1: 781–786.

Der Sarkissian C, Balanovsky O, Brandt G, Khartanovich V, Buzhilova A, Koshel S, Zaporozhchenko V, Gronenborn D, Moiseyev V, Kolpakov E et al. (2013). Ancient DNA Reveals Prehistoric Gene-Flow From Siberia in the Complex Human Population History of North East Europe. *PLoS Genet* 9(2): e1003296s.

Forster P, Harding R, Torroni A, Bandelt HJ. (1996). Origin and evolution of Native American mtDNA variation: a reappraisal. *Am J Hum Genet* 59: 935–945.

Fu Q, Mittnik A, Johnson PL, Bos K, Lari M, Bollongino R, Sun C, Giemsch L, Schmitz R, Burger J et al. (2013). A revised timescale for human evolution based on ancient mitochondrial genomes. *Curr Biol* 23(7): 553–559.

Gamba C, Fernández E, Tirado M, Deguilloux MF, Pemonge MH, Utrilla P, Edo M, Molist M, Rasteiro R, Chikhi L, Arroyo-Pardo E. (2012). Ancient DNA from an Early Neolithic Iberian population supports a pioneer colonization by first farmers. *Mol Ecol* 21(1): 45–56.

Gignoux CR, Henn BM, Mountain JL. (2011). Rapid, global demographic expansions after the origins of agriculture. *PNAS* 108(15): 6044–6049.

Gimbutas M. (1963). The Indo-Europeans: archaeological problems. *Am Anthropol* 65.

Haak W, Forster P, Bramanti B, Matsumura S, Brandt G, Tänzer M, Villems R, Renfrew C, Gronenborn D, Alt KW, Burger J. (2005). Ancient DNA from the first European farmers in 7500-year-old Neolithic sites. *Science* 310(5750): 1016–1018.

Haak W, Brandt G, de Jong HN, Meyer C, Ganslmeier R, Heyd V, Hawkesworth C, Pike AW, Meller H, Alt KW. (2008). Ancient DNA, Strontium isotopes, and osteological analyses shed light on social and kinship organization of the Later Stone Age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(47): 18226–18231.

Haak W, Balanovsky O, Sanchez JJ, Koshel S, Zaporozhchenko V, Adler CJ, Der Sarkissian CS, Brandt G, Schwarz C, Nicklisch N et al. (2010). Ancient DNA from European early neolithic farmers reveals their near eastern affinities. *PLoS Biol* 8(11): e1000536. doi: 10.1371/journal.pbio.1000536.

- Haak W, Lazaridis I, Patterson N, Rohland N, Mallick S, Llamas B, Brandt G, Nordenfelt S, Harney E, Stewardson K et al. (2015). Massive migration from the steppe was a source for Indo-European languages in Europe. *Nature* (trükis ilmumata). doi: 10.1038/nature14317.
- Helgason A, Hickey E, Goodacre S, Bosnes V, Stefánsson K, Ward R, Sykes B. (2001). mtDNA and the islands of the North Atlantic: estimating the proportions of Norse and Gaelic ancestry. *Am J Hum Genet* 68(3): 723-737.
- Hervella M. (2010). Variación temporal del ADNmt en Poblaciones de la Cornisa Cantábrica. Contribución del ADN antiguo. University of the Basque Country.
- Hervella M, Izagirre N, Alonso S, Fregel R, Alonso A, Cabrera VM, de la Rúa C. (2012). Ancient DNA from Hunter-Gatherer and Farmer Groups from Northern Spain Supports a Random Dispersion Model for the Neolithic Expansion into Europe. *PLoS one* 7(4): e34417.
- Hofmann S, Jaksch M, Bezold R, Mertens S, Aholt S, Paprotta A, Gerbitz K-D. (1997). Population genetics and disease susceptibility: characterization of central European haplogroups by mtDNA gene mutations, correlation with D loop variants and association with disease. *Hum Mol Genet* 6(11): 1835–1846.
- Jaanits L. 1982. Noorem kiviaeg (III aastatuhat–II aastatuhande keskpaik e.m.a.), lk 56-127. Raamatus: Jaanits L, Laul S, Lõugas V, Tõnisson E. Eesti esiajalugu. Tallinn Kirjastus "Eesti Raamat"
- Jeran N, Havas Augustin D, Grahovac B, Kapović M, Metspalu E, Villems R, Rudan P. (2009). Mitochondrial DNA heritage of Cres Islanders--example of Croatian genetic outliers. *Coll Antropol* 33(4): 1323–1328.
- Karmin M, Saag L, Vicente M, Wilson Sayres MA, Järve M, Talas UG, Rootsi S, Ilumäe AM, Mägi R, Mitt M. (2015). A recent bottleneck of Y chromosome diversity coincides with a global change in culture. *Genome Res* 25(4): 459–466. doi: 10.1101/gr.186684.114.
- Keller A, Graefen A, Ball M, Matzas M, Boisguerin V, Maixner F, Leidinger P, Backes C, Khairat R, Forster M et al. (2012). New insights into the Tyrolean Iceman's origin and phenotype as inferred by whole-genome sequencing. *Nat Commun* 3: 698. doi: 10.1038/ncomms1701.
- Keyser C, Bouakaze C, Crubézy E, Nikolaev VG, Montagnon D, Reis T, Ludes B. Ancient DNA provides new insights into the history of south Siberian Kurgan people. (2009). *Hum Genet* 126(3): 395–410.

Kivisild T, Bamshad MJ, Kaldma K, Metspalu M, Metspalu E, Reidla M, Laos S, Parik J, Watkins WS et al. (1999). Deep common ancestry of Indian and western-Eurasian mitochondrial DNA lineages. *Curr Biol* 9(22): 1331–1334.

Kivisild T, Tolk HV, Parik J, Wang Y, Papiha SS, Bandelt HJ, Villems R. (2002). The emerging limbs and twigs of the East Asian mtDNA tree. *Mol Biol Evol* 19(10): 1737–1751 (erratum 1720: 1162).

Kivisild T, Shen P, Wall DP, Do B, Sung R, Davis K, Passarino G, Underhill PA, Scharfe C, Torroni A et al. (2006). The role of selection in the evolution of human mitochondrial genomes. *Genetics* 172: 373–387.

Krause J, Briggs AW, Kircher M, Maricic T, Zwyns N, Derevianko A, Pääbo S. (2010). A complete mtDNA genome of an early modern human from Kostenki, Russia. *Curr Biol* 20(3): 231–236.

Kriiska A. 2014. Üleminek viljelevale majandusele kiviaja lõpul ja pronksiaja algul, lk 20-25. Raamatus: Kriiska A, Mäesalu A, Selart A, Põltsam-Jürjo I, Piirimäe P. Eesti ajalugu I Esiajast Rootsi aja alguseni. Tallinn Avita kirjastus.

Kriiska A. 2015. Segamajanduslik kiviaeg (4000–1800 eKr). Raamatus: Kriiska A, Lang V, Tvaauri A, Valk H, Mäesalu A. Esiajalugu. Eesti ajalugu I. Tartu (ilmumata).

Lacan M. (2011). La Néolithisation du bassin méditerranéen: Apports de l'ADN ancien. University of Toulouse.

Lacan M, Keyser C, Ricaut FX, Brucato N, Duranthon F, Guilaine J, Crubézy E, Ludes B. (2011). Ancient DNA reveals male diffusion through the Neolithic Mediterranean route. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(24): 9788–9791.

Lacan M, Keyser C, Ricaut FX, Brucato N, Tarrús J, Bosch A, Guilaine J, Crubézy E, Ludes B. (2011). Ancient DNA suggests the leading role played by men in the Neolithic dissemination. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(45): 18255–18259.

Lalueza-Fox C, Sampietro ML, Gilbert MT, Castri L, Facchini F, Pettener D, Bertranpetit J. Unravelling migrations in the steppe: mitochondrial DNA sequences from ancient central Asians. (2004). *Proc Biol Sci* 271(1542): 941–947.



- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R et al. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23(21): 2947–2948.
- Lutz S, Weisser H-J, Heizmann J, Pollak S. (1998). Location and frequency of polymorphic positions in the mtDNA control region of individuals from Germany. *Int J Legal Med* 111: 67–77.
- Maca-Meyer N, González AM, Larruga JM, Flores C, Cabrera VM. (2001). Major genomic mitochondrial lineages delineate early human expansions. *BMC Genet* 2(1): 13.
- Malmström H, Gilbert MT, Thomas MG, Brandström M, Storå J, Molnar P, Andersen PK, Bendixen C, Holmlund G, Götherström A, Willerslev E. (2009). Ancient DNA reveals lack of continuity between neolithic hunter-gatherers and contemporary Scandinavians. *Curr Biol* 19(20): 1758–1762.
- Malyarchuk BA, Derenko MV. (2001). Mitochondrial DNA variability in Russians and Ukrainians: implication to the origin of the Eastern Slavs. *Ann Hum Genet* 65(Pt 1): 63–78.
- Malyarchuk BA, Grzybowski T, Derenko MV, Czarny J, Woźniak M, Miścicka-Sliwka D. (2002). Mitochondrial DNA variability in Poles and Russians. *Ann Hum Genet* 66(Pt 4): 261–283.
- Mishmar D, Ruiz-Pesini E, Golik P, Macaulay V, Clark AG, Hosseini S, Brandon M, Easley K, Chen E, Brown MD et al. (2003). Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 171–176.
- Müller J, Seregély T, Becker C, Christensen A-M, Fuchs M, Kroll H, Mischka D, Schüssler U. (2009). A Revision of Corded Ware Settlement Pattern – New Results from the Central European Low Mountain Range. *Proceedings of the Prehistoric Society* 75: 125–142.
- Opdal SH, Rognum TO, Vege A, Stave AK, Dupuy BM, Egeland T. (1998). Increased number of substitutions in the D-loop of mitochondrial DNA in the sudden infant death syndrome. *Acta Pædiatr* 87: 1039–1044.
- Orekhov V, Poltoraus A, Zhivotovsky LA, Spitsyn V, Ivanov P, Yankovsky N. (1999). Mitochondrial DNA sequence diversity in Russians. *FEBS Lett* 445(1): 197–201.
- Otoni C, Ricaut FX, Vanderheyden N, Brucato N, Waelkens M, Decorte R. (2011). Mitochondrial analysis of a Byzantine population reveals the differential impact of multiple

historical events in South Anatolia. *Eur J Hum Genet* 19(5): 571–576. doi: 10.1038/ejhg.2010.230.

Pala M, Olivieri A, Achilli A, Accetturo M, Metspalu E, Reidla M, Tamm E, Karmin M, Reisberg T, Hooshiar Kashani B et al. (2012). Mitochondrial DNA signals of late glacial recolonization of Europe from near eastern refugia. *Am J Hum Genet* 90(5): 915–924. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.04.003.

Passarino G, Cavalleri GL, Lin AA, Cavalli-Sforza LL, Børresen-Dale A-L, Underhill PA. (2002). Different genetic components in the Norwegian population revealed by the analysis of mtDNA and Y chromosome polymorphisms. *Eur J Hum Genet* 10: 521–529.

Pfeiffer H, Brinkmann B, Hühne J, Rolf B, Morris AA, Steighner R, Holland MM, Forster P. (1999). Expanding the forensic German mitochondrial DNA control region database: genetic diversity as a function of a sample size and microgeography. *Int J Legal Med* 112: 291–298.

Quintana-Murci L, Semino O, Bandelt HJ, Passarino G, McElreavey K, Santachiara-Benerecetti AS. (1999). Genetic evidence of an early exit of homo sapiens sapiens from Africa through eastern Africa. *Nat Genet* 23(4): 437–441.

Rasteiro R, Chikhi L. (2013). Female and male perspectives on the neolithic transition in Europe: clues from ancient and modern genetic data. *PLoS One* 8(4): e60944. doi: 10.1371/journal.pone.0060944.

Renfrew C. 1996. Language families and the spread of farming, lk 70-92. *Raamatus: Harris DR. The Origins and Spread of Agriculture and Pastoralism in Eurasia*. London UCL Press.

Richards M, Côté-Real H, Forster P, Macaulay V, Wilkinson-Herbots H, Demaine A, Papiha S, Hedges R, Bandelt HJ, Sykes B. (1996). Paleolithic and neolithic lineages in the European mitochondrial gene pool. *Am J Hum Genet* 59(1): 185–203.

Richards M, Macaulay V, Hickey E, Vega E, Sykes B, Guida V, Rengo C, Sellitto D, Cruciani F, Kivisild T et al. (2000). Tracing European founder lineages in the Near Eastern mtDNA pool. *Am J Hum Genet* 67(5): 1251–1276.

Richards M, Macaulay V, Torroni A, Bandelt HJ. (2002). In search of geographical patterns in European mitochondrial DNA. *Am J Hum Genet* 71(5): 1168–1174.

- Salas A, Richards M, De la Fe T, Lareu MV, Sobrino B, Sanchez-Diz P, Macaulay V, Carracedo A. (2002). The making of the African mtDNA landscape. *Am J Hum Genet* 71(5): 1082–1111.
- Sánchez-Quinto F, Schroeder H, Ramirez O, Avila-Arcos MC, Pybus M, Olalde I, Velazquez AM, Marcos ME, Encinas JM, Bertranpetit J et al. (2012). Genomic Affinities of Two 7,000-Year-Old Iberian Hunter-Gatherers. *Curr Biol* 22(16): 1494–1499.
- Sawyer S, Krause J, Guschanski K, Savolainen V, Pääbo S. (2012). Temporal patterns of nucleotide misincorporations and DNA fragmentation in ancient DNA. *PLoS One* 7(3): e34131. doi: 10.1371/journal.pone.0034131.
- Seielstad MT, Minch E, Cavalli-Sforza LL. (1998). Genetic evidence for a higher female migration rate in humans. *Nat Genet* 20: 278–280.
- Sikora M, Carpenter ML, Moreno-Estrada A, Henn BM, Underhill PA, Sánchez-Quinto F, Zara I, Pitzalis M, Sidore C, Busonero F et al. (2014). 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* 10(5): e1004353. doi: 10.1371/journal.pgen.1004353.
- Simoni L, Calafell F, Pettener D, Bertranpetit J, Barbujani G. (2000). Geographic patterns of mtDNA diversity in Europe. *Am J Hum Genet* 66(1): 262–278.
- Skoglund P, Malmström H, Raghavan M, Storå J, Hall P, Willerslev E, Gilbert MT, Götherström A, Jakobsson M. (2012). Origins and genetic legacy of Neolithic farmers and hunter-gatherers in Europe. *Science* 336(6080): 466–469.
- Skoglund P, Malmström H, Omrak A, Raghavan M, Valdiosera C, Günther T, Hall P, Tambets K, Parik J, Sjögren KG et al. (2014). Genomic diversity and admixture differs for Stone-Age Scandinavian foragers and farmers. *Science* 344(6185): 747–750.
- Soares P, Ermini L, Thomson N, Mormina M, Rito T, Röhl A, Salas A, Oppenheimer S, Macaulay V, Richards MB. (2009). Correcting for Purifying Selection: An Improved Human Mitochondrial Molecular Clock. *Am J Hum Genet* 84(6): 740–759.
- Szécsényi-Nagy A, Brandt G, Haak W, Keerl V, Jakucs J, Möller-Rieker S, Köhler K, Mende BG, Oross K, Marton T et al. (2015). Tracing the genetic origin of Europe's first farmers reveals insights into their social organization. *Proc Biol Sci* 282(1805). pii: 20150339. doi: 10.1098/rspb.2015.0339.

Šarac J, Šarić T, Jeran N, Auguštin DH, Metspalu E, Vekarić N, Missoni S, Villems R, Rudan P. (2012). Influence of evolutionary forces and demographic processes on the genetic structure of three Croatian populations: a maternal perspective. *Ann Hum Biol* 39(2): 143–155. doi: 10.3109/03014460.2012.660194.

Šarac J, Šarić T, Auguštin DH, Jeran N, Kovačević L, Cvjetan S, Lewis AP, Metspalu E, Reidla M, Novokmet N et al. (2014). Maternal genetic heritage of Southeastern Europe reveals a new Croatian isolate and a novel, local sub-branching in the X2 haplogroup. *Ann Hum Genet* 78(3): 178–194. doi: 10.1111/ahg.12056.

Tolk HV, Barac L, Pericic M, Klaric IM, Janicijevic B, Campbell H, Rudan I, Kivisild T, Villems R, Rudan P. (2001). The evidence of mtDNA haplogroup F in a European population and its ethnohistoric implications. *Eur J Hum Genet* 9(9): 717–723.

Underhill PA, Kivisild T. (2007). Use of y chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations. *Annu Rev Genet* 41: 539–564.

Wilder JA, Kingan SB, Mobasher Z, Pilkington MM, Hammer MF. (2004). Global patterns of human mitochondrial DNA and Y-chromosome structure are not influenced by higher migration rates of females versus males. *Nature Genetics* 36: 1238–1238.

## **Kasutatud veebiaadressid**

Eupedia, <http://www.eupedia.com/genetics>, 13.05.15

FamilyTreeDNA Norway Project, <https://www.familytreedna.com/public/Norway?iframe=mtresults>, 11.03.15

van Oven M, Kayser M. (2009). Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum Mutat* 30(2): E386-E394. doi:10.1002/humu.20921, <http://www.phylotree.org>, 08.05.15

# Lisad

## Lisa 1. Koondtabel

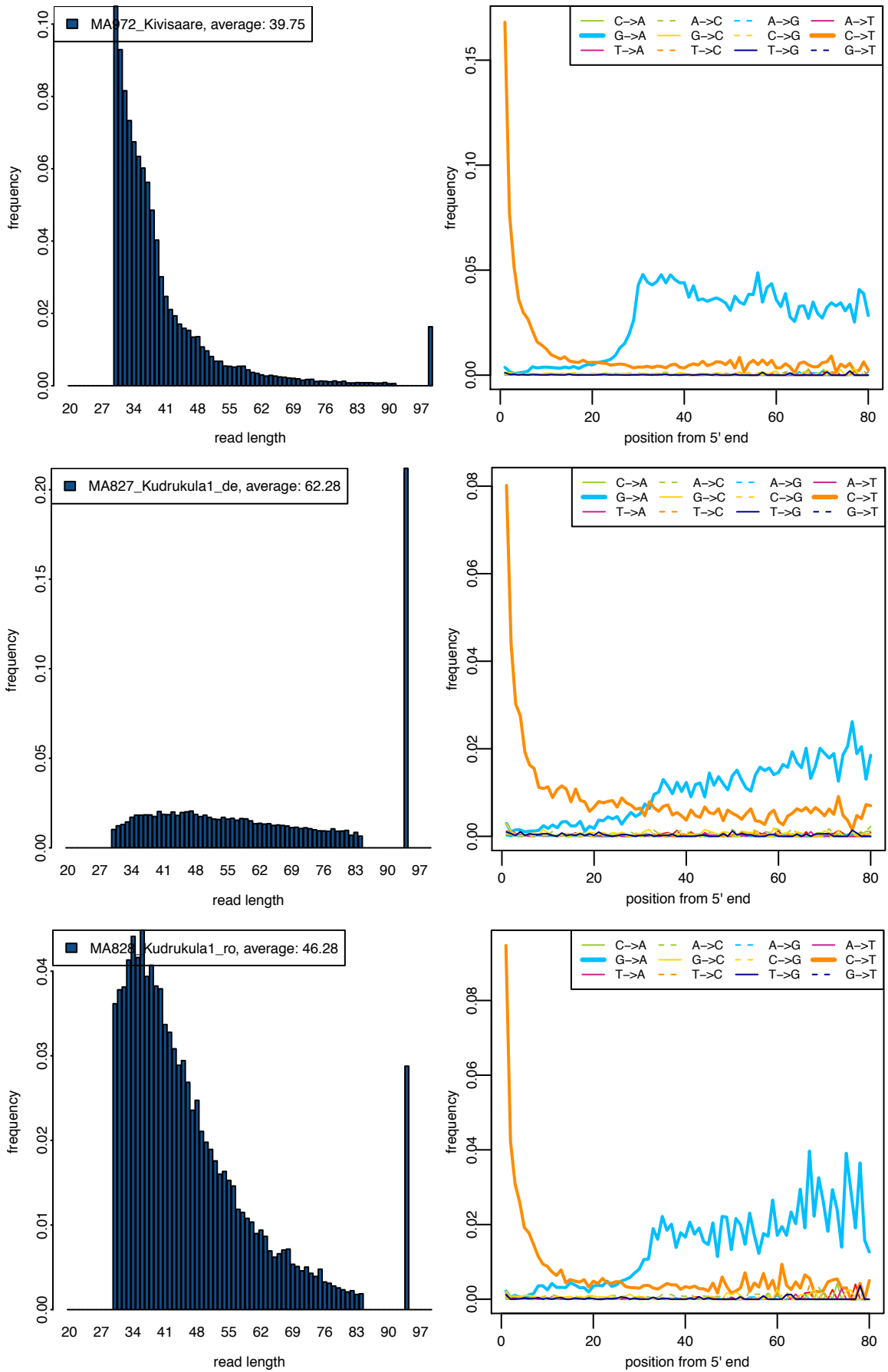
Lisatabel 1. Analüüsitud proovide nimetused (proov), leiukohad, arheoloogilised kultuurid (kultuur), dateeringud, 14C dateeringute olemasolu (meetod), hammaste värvuse ja tekstuuri kirjeldused ja massid; raamatukogu loomisest kasutatud indekseid järjekorranumbrid (indeks), PCR 2 tsükli arvu, puhastuse numbrid (MAp nr.), sekveneerimise numbrid (sekv. nr.) ja sekveneeritud järjestuste hulga (järjestusi); referentsile GRCh37 joondunud järjestuste osakaal (joondumise %), keskmised pikkused (pikkus) ja 5'-otstes esinevate C => T asenduste sagedused (asendused); täisgenoomi (gen.) ja mtDNA (MT) katvus ning mtDNA haplogrupid (hapl.).

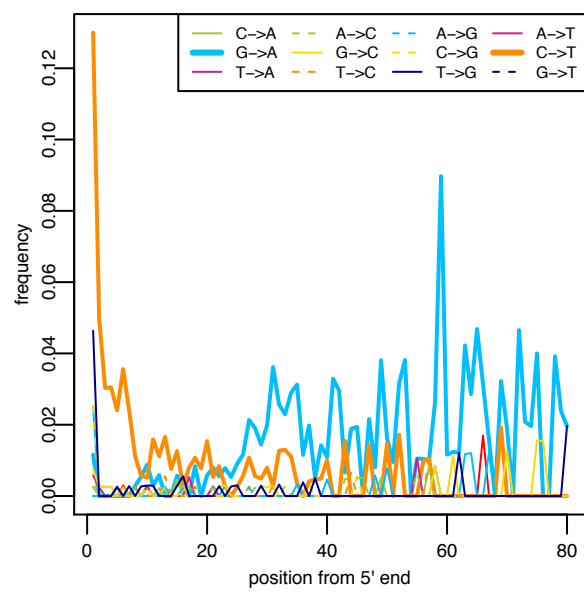
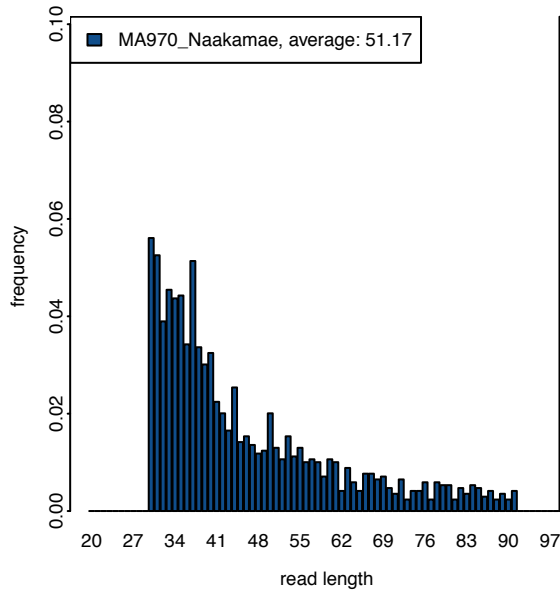
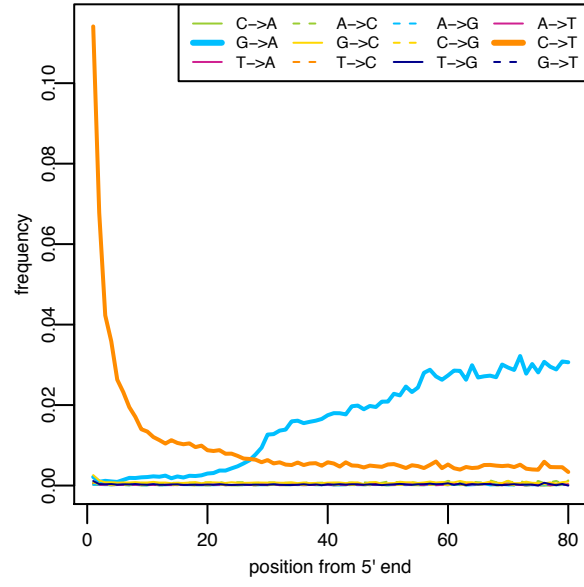
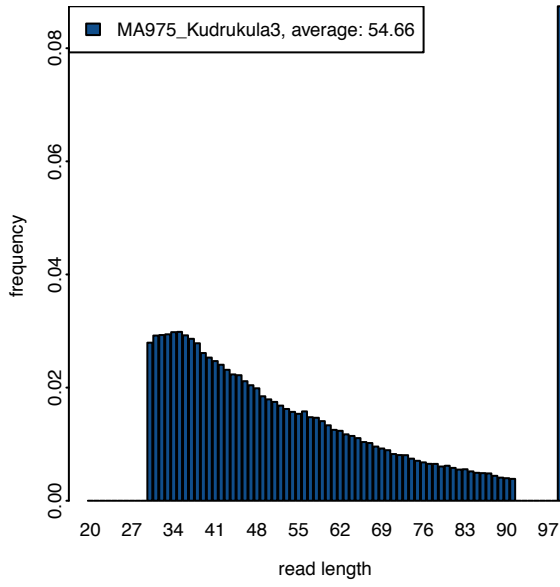
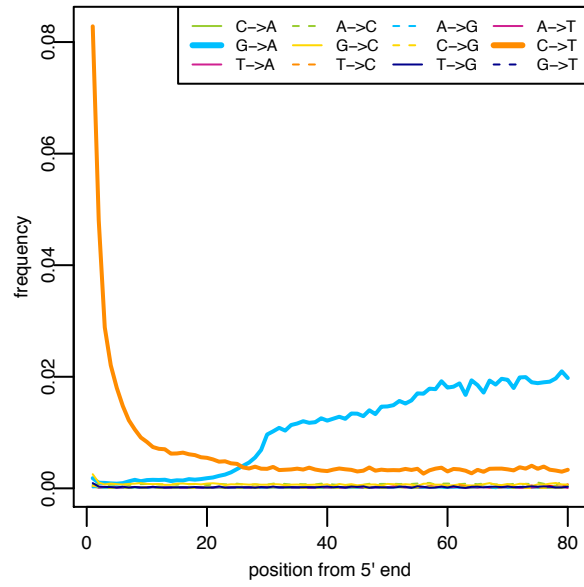
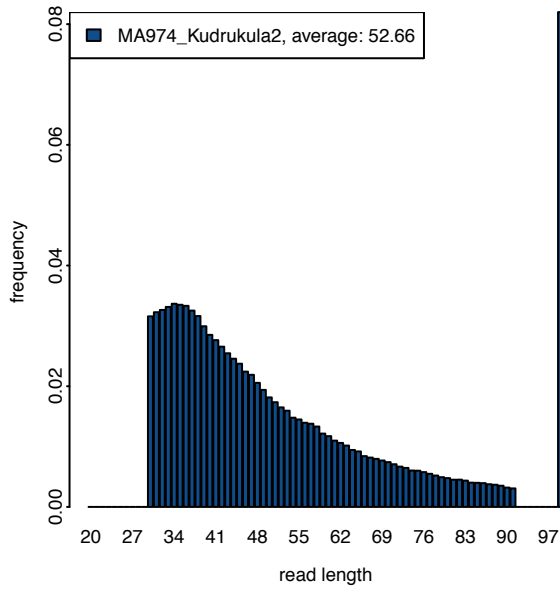
#	Proov	Leiukoht		Kultuur	Dateering	Meetod	Kirjeldus	Mass
		asula	maakond					
1	Kivisaare	Meleski küla	Viljandimaa	...	4300	14C	värvus; tekstuur	390
2	Kudruküla1_dentiin	Kudruküla küla	Ida-Virumaa	kamm-	3600	+	hele; väga pude	176
3	Kudruküla1_juur	Kudruküla küla	Ida-Virumaa	kamm-	3600	+	tumepruun; kõva	438
4	Kudruküla2	Kudruküla küla	Ida-Virumaa	kamm-	3600	+	pruun; pehme	580
5	Kudruküla3	Kudruküla küla	Ida-Virumaa	kamm-	3600	+	tumepruun; pehme/kõva	940
6	Naakamäe	Hirmuste küla	Saaremaa	kamm-	2700	-	tumepruun; väga pehme	140
7	Ardu1_dentiin	Ardu alevik	Harjumaa	nöör-	2700	-	hele; väga kõva	130
8	Ardu1_juur	Ardu alevik	Harjumaa	nöör-	2700	-	hele; väga kõva	520
9	Ardu2	Ardu alevik	Harjumaa	nöör-	2700	+	hele; väga kõva	400
10	Kunila1	Kursi küla	Jõgevamaa	nöör-	2500	-	oranžikas; kõva	780
11	Kunila2	Kursi küla	Jõgevamaa	nöör-	2500	+	hele; väga kõva	1030
12	Sope_dentiin	Jäbara küla	Ida-Virumaa	nöör-	2400	-	hele; väga kõva	277
13	Sope_juur	Jäbara küla	Ida-Virumaa	nöör-	2400	-	hele; väga kõva	395

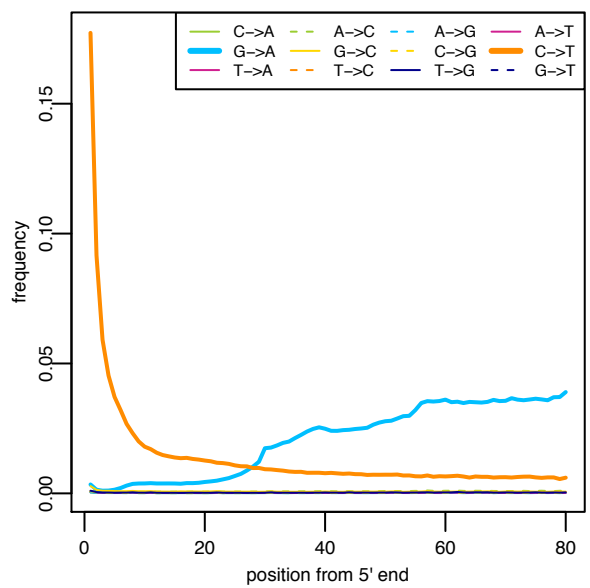
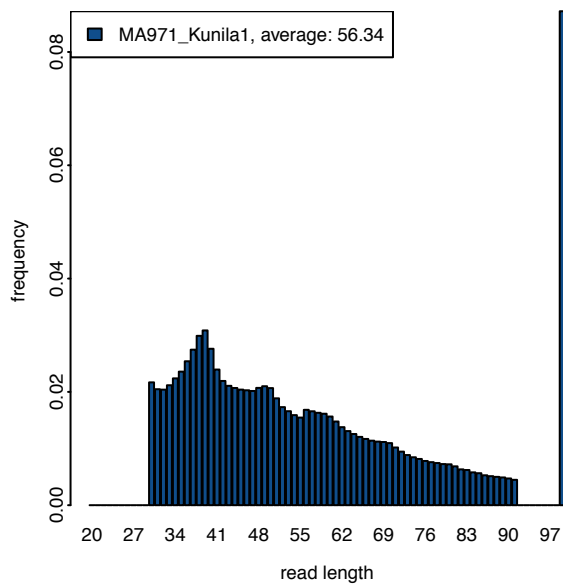
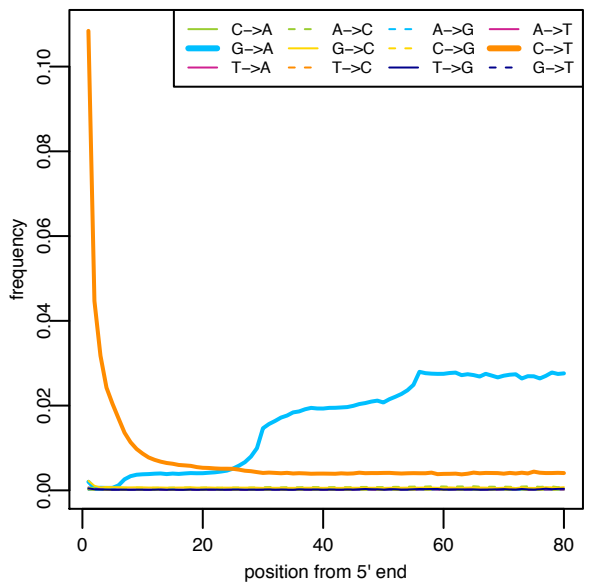
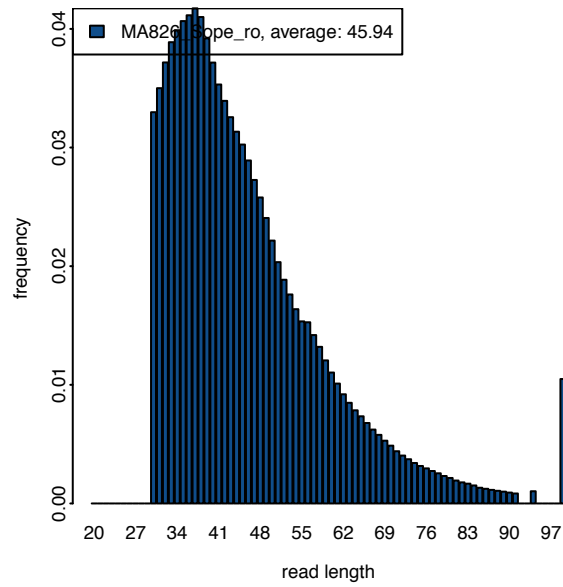
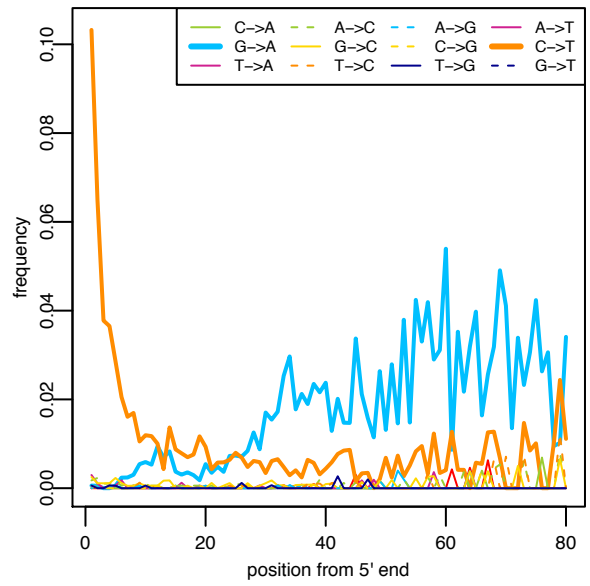
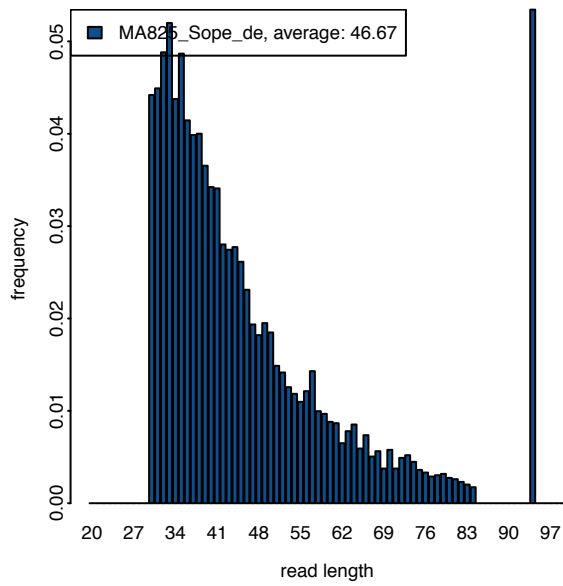
#	Indeks	Tsükleid	MAp nr.	Sekv. nr.	Järjestusi	Joondumine		Pikkus	Asendused	Gen. katvus	MT katvus	Hapl.
						%	nt					
		PCR 2						nt	%	x	x	
1	25	6	1192	MA972	14 403 977	0,95	39,75	~17	0,002	1,55	U5a2d	
2	38	12+16	746	MA827	14 138 156	0,25	62,28	~8	0,0007	7,21	U5b1d1	
3	39	8	742	MA828	6 520 420	0,62	46,28	~10	0,0006	1,42	U5b1d1	
4	27	14	1201	MA974	17 358 771	7,22	52,66	~8	0,02	3,07	U4a	
5	28	10	1195	MA975	21 099 802	2,48	54,66	~12	0,009	1,21	U2e1	
6	23	10	1190	MA970	20 671 654	0,02	51,17	~13	0,00006	0,08	?	
7	21	14	1199	MA968	16 861 762	34,88	44,44	~13	0,06	30,11	T2a1a	
8	29	14	1202	MA976	33 812 392	86,12	70,58	~6	0,53	109,61	T2a1	
9	22	10	1189	MA969	6 153 948	83,2	41,65	~9	0,06	9,93	U5b2c	
10	24	14	1200	MA971	23 207 899	32,08	56,34	~18	0,13	18,65	U5b1	
11	26	10	1193	MA973	16 870 495	62,96	45,89	~18	0,15	23,79	J1c3	
12	36	8	740	MA825	3 459 874	0,33	46,67	~10	0,0002	1,32	H5a	
13	37	8	741	MA826	318 168 210	12	45,94	~11	0,52	235,76	H5a1	

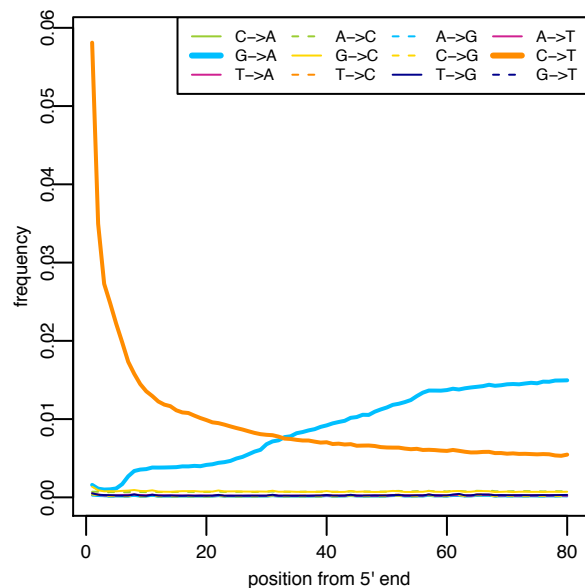
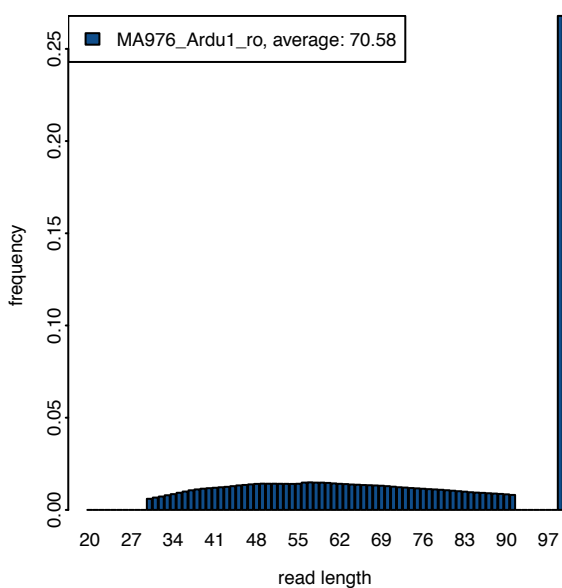
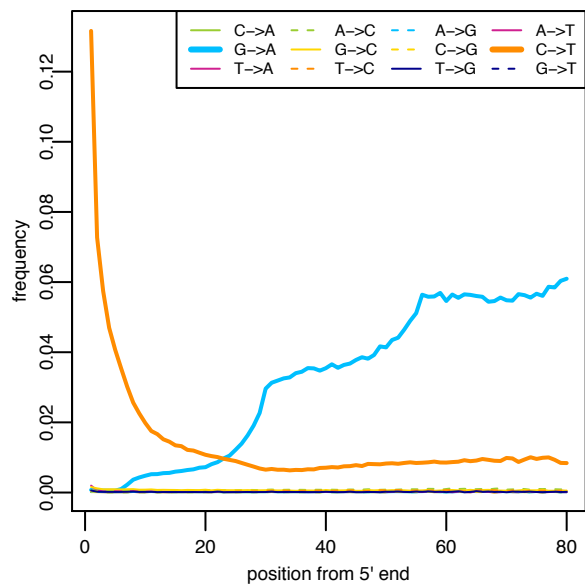
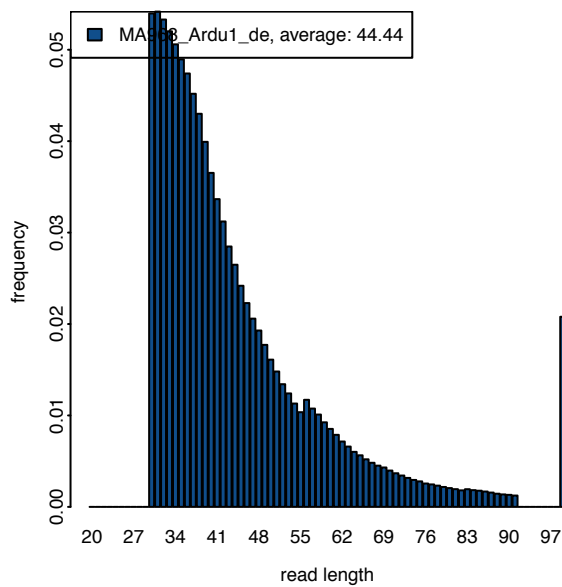
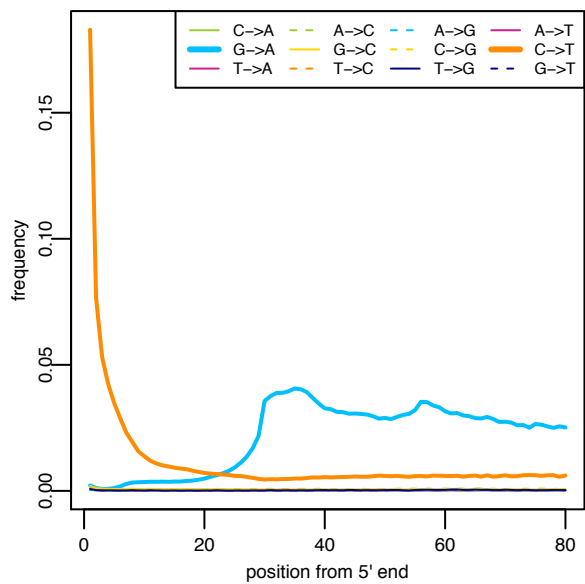
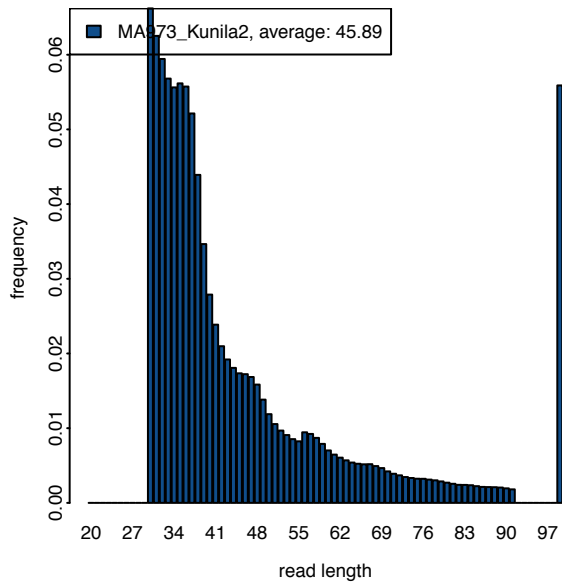
## Lisa 2. Sekvenerituid proovide kvaliteedikontroll

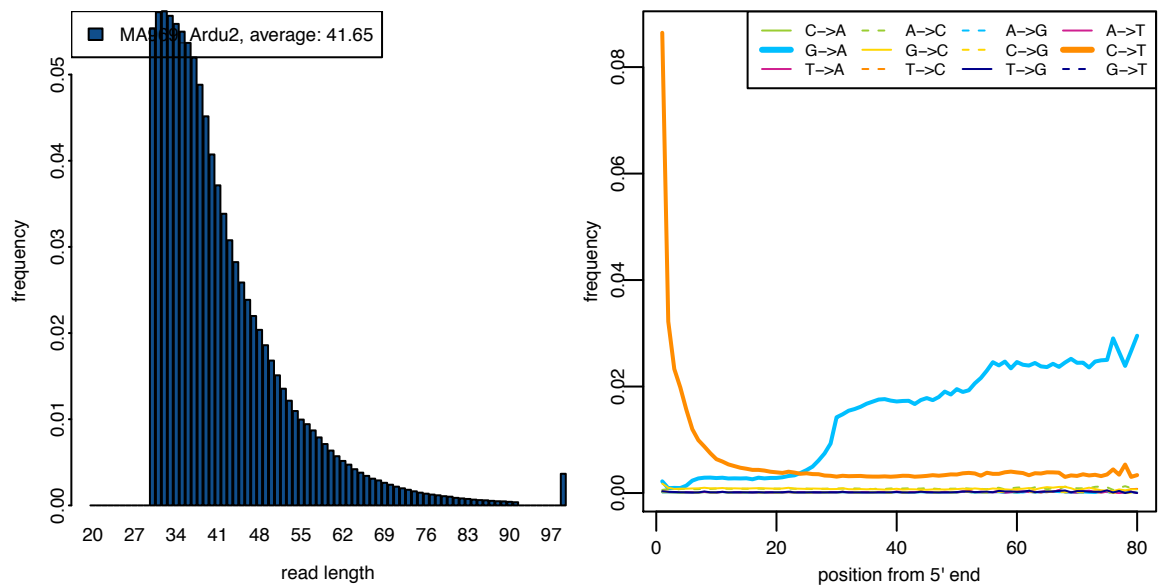












**Lisajoonis 1. Sekvenceritud proovide DNA-fragmentide pikkusjaotuse histogrammid (vasakul) ja referentsile joondunud DNA-järjestuste 5' otses esinevate asenduste sageduste graafikud (paremal). Proovide nimetused on nähtavad DNA-fragmentide pikkusjaotuse histogrammi ülemises vasakus nurgas.**

### Lisa 3. vana DNA võrdlusandmestik

Lisatabel 2. vana DNA võrdlusandmestiku proovide päritoluriigid piirkondade kaupa, kultuurid (lühendite selgitused joonise 10 allkirjas), mtDNA haplogrupid ja viited.

Kesk-Eur. riik	kultuur	haplogrupp	viited
Tšehhi	HGC	U8	Fu et al. 2013
Tšehhi	HGC	U	Fu et al. 2013
Tšehhi	HGC	U	Fu et al. 2013
Saksamaa	HGC	U4	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	HGC	U5a2a	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	HGC	U5b2	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	HGC	U	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	HGC	U5b1	Fu et al. 2013
Poola	HGC	U5a	Bramanti et al. 2009
Poola	HGC	U5b	Bramanti et al. 2009
Poola	HGC	U5b	Bramanti et al. 2009
Luksemburg	HGC	U5b1a	Fu et al. 2013
Leedu	HGC	U5b	Bramanti et al. 2009
Leedu	HGC	U5b	Bramanti et al. 2009
Leedu	HGC	U5b	Bramanti et al. 2009
Leedu	HGC	U4	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	LBK	N1a1	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	K	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	N1a1a	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	HV	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	HV	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	H88	Haak et al. 2010, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	K1a	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	V	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	T2b	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	HV	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	H1j	Haak et al. 2010, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	N1a1a3	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	W	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	J	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	J	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	T2b23a	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	W	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	T2f	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	U5a1a'g	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	J	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	K1a	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	T2b	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	V	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	N1a1a	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	T2b	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	N1a1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	N1a1	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	H	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	N1a1a3	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	V	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	V	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	X	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	N1a1a3	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	H26	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	N1a1	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	H23	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	W	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	V	Brandt et al. 2013

Saksamaa	LBK	H1e	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	J1c2	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	U5a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	H1bz	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K1b1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2f	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	H	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2e	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	J1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	H46b	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	HV	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	U5b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	N1a1a3	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K2a5	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	J1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	K	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	N1a1a3	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	N1a1a3	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2b23a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	LBK	T2f	Brandt et al. 2013
Austria	LBK	H	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	N1a1a	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	H	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	HV?	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	T2b	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	K	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	K	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	H	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	N1a1	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	K	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	N1a1a	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	HV	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	HV	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	H85	Haak et al. 2010. Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	K1a	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	V	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	T2b	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	HV	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	H1j	Haak et al. 2010. Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	N1a1a3	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	W	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	J	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	J	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	T2b23a	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	W	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	T2f	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	U5a1a'g	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	J	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	K1a	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	T2b	Haak et al. 2010
Saksamaa	LBK	V	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	N1a1a	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	T2b	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	H	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	H26	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	H23	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013

Saksamaa	LBK	H1e	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	H1bz	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	H	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	H46b	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	LBK	K	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	N1a1a3	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	T2b	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	T2c	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	H5	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	T2	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	U3	Haak et al. 2005
Saksamaa	LBK	J	Haak et al. 2005
Saksamaa	RSC	T2e	Brandt et al. 2013
Saksamaa	RSC	V	Brandt et al. 2013
Saksamaa	RSC	H16a'c	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	RSC	H89	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	RSC	H1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	RSC	X2c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	RSC	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	RSC	H5b	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	RSC	T2f	Brandt et al. 2013
Saksamaa	RSC	HV0	Brandt et al. 2013
Saksamaa	RSC	N1a1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	RSC	H16a'c	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	RSC	H89	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	RSC	H1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	RSC	H5b	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	SCG	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	J1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	J2b1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	H10i	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	SCG	W1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	W1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	H1e7	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	SCG	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	HV	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	N1a1a3	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	X2b1'2'3'4'5'6	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	U5b3	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	U5b2a2c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	T2c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	T2f	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	W1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	U8b1b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	J1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	J1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SCG	H10i	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	SCG	H1e7	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	BAC	H1e1a5	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	BAC	H7d5	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	BAC	T2c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	T1a1'3	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	U8a1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	U5b2a2	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	X	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	N1a1a	Brandt et al. 2013

Saksamaa	BAC	T2c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	X2c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	HV	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	T2e	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BAC	H1e1a5	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	BAC	H7d5	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	SMC	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	H5	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	V	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	U3a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	U3a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	H5	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	H5	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	H5	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	HV	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	K1	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	J1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	H3	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	SMC	U3a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	X2b1'2'3'4'5'6	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	N1a1a3	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	J1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	H3	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	SMC	J2b1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	K1a4a1a2	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	J1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	J1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	U5b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	N1a1a3	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	H5	Brandt et al. 2013
Saksamaa	SMC	H3	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	SMC	H3	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	BEC	U5b1c1	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	U5a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	W	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	U5b2a1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	T2b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	U5a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	K1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	H5	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	K1	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	U5b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	X	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	V	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BEC	H1e1a3	Brandt et al. 2013
Itaalia	RDC	J1c1b	Allentoft et al. 2015
Itaalia	RDC	H2a	Allentoft et al. 2015
Itaalia	RDC	X2c1	Allentoft et al. 2015
Saksamaa	CWC	H1ca1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	CWC	U5a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	U4	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	H6a1a	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	CWC	W6a'b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	U5a1a'g	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	U5a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	X	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	T2b2b	Brandt et al. 2013

Saksamaa	CWC	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	I	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	K1a24a	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	H10e	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	X2b1'2'3'4'5'6	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	X2b1'2'3'4'5'6	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	U5b1a'b	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	K1	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	K1	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	K1	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	T1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	H5	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	H2a1	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	U4	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	J1c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	T2b4f	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	U4a1	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	U2e2	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	T2	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	T1a1'3	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	U5a1b1	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	T1a1'3	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	T2b4f	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	K2a5	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	U5b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	HV0e	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	T2c	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	CWC	H4a1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	CWC	H1ca1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	CWC	I	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	K1a24a	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	H10e	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	X2b1'2'3'4'5'6	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	X2b1'2'3'4'5'6	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	U5b1a'b	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	K1	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	K1	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	K1	Haak et al. 2008
Saksamaa	CWC	H6a1a	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	CWC	H4a1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Poola	CWC	K1b1a1	Allentoft et al. 2015
Poola	CWC	T2e	Allentoft et al. 2015
Saksamaa	CWC	U4	Allentoft et al. 2015
Saksamaa	CWC	J1b1a1	Allentoft et al. 2015
Saksamaa	CWC	U5b1c2	Allentoft et al. 2015
Saksamaa	CWC	U5b1c2	Allentoft et al. 2015
Saksamaa	BBC	H3b	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	BBC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	U5a1b1	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	H1e8	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	BBC	T2a1b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	U5a1a'g	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	U5a1a'g	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	W	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	W	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	T1a	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	U5b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	U4c1	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	U4c1	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	U5a1a'g	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	H5	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	T2e	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	H1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	BBC	U5b	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	H1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	BBC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	H4a1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013
Saksamaa	BBC	H13a1a2c	Brandt et al. 2013, Brotherton et al. 2013



Saksamaa	BBC	J	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	H3ao2	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	H5a3	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	K	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	H	Brandt et al. 2013
Saksamaa	BBC	H5a3	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	H3b	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	H1e8	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	H1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	H1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	H4a1	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	H13a1a2c	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	H3ao2	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	H5a3	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	H5a3	Brandt et al. 2013, Brotherton et al.
Saksamaa	BBC	H46	Allentoft et al. 2015
Saksamaa	BBC	U5a1a1	Allentoft et al. 2015
Saksamaa	BBC	H2a1e	Allentoft et al. 2015
Saksamaa	BBC	K1c1	Allentoft et al. 2015
Saksamaa	BBC	H+16311	Allentoft et al. 2015
Tšehhi	BBC	H	Allentoft et al. 2015
Tšehhi	BBC	U5b2c	Allentoft et al. 2015
Tšehhi	BBC	H44a	Allentoft et al. 2015
Tšehhi	BBC	H1af	Allentoft et al. 2015

**Lõuna-Eur. riik kultuur haplogrupp**

**viited**

Portugal	HGS	H1b1a'c'd'h	Chandler 2003, Chandler et al. 200
Portugal	HGS	U5b1c2	Chandler 2003, Chandler et al. 200
Portugal	HGS	N*	Chandler 2003, Chandler et al. 200
Portugal	HGS	U4	Chandler 2003, Chandler et al. 200
Portugal	HGS	H	Chandler 2003, Chandler et al. 200
Portugal	HGS	H1b1a'c'd'h	Chandler 2003, Chandler et al. 200
Portugal	HGS	N*	Chandler 2003, Chandler et al. 200
Hispaania	HGS	H	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	HGS	H	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	HGS	U5b	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	HGS	U5b	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	HGS	U5b2c1	Sánchez-Quinto et al. 2012
Hispaania	HGS	U5b	Sánchez-Quinto et al. 2012
Hispaania	CAR	K	Gamba et al. 2012
Hispaania	CAR	H	Gamba et al. 2012
Hispaania	CAR	H	Gamba et al. 2012
Hispaania	CAR	N*	Gamba et al. 2012
Hispaania	CAR	K	Gamba et al. 2012
Hispaania	CAR	H	Gamba et al. 2012
Hispaania	CAR	X	Gamba et al. 2012
Hispaania	CAR	N*	Gamba et al. 2012
Hispaania	CAR	K	Gamba et al. 2012
Hispaania	CAR	H20a	Gamba et al. 2012
Hispaania	CAR	N*	Gamba et al. 2012
Hispaania	CAR	K1a	Lacan 2011, Lacan et al. 2011b
Hispaania	CAR	K1a	Lacan 2011, Lacan et al. 2011b
Hispaania	CAR	H3	Lacan 2011, Lacan et al. 2011b
Hispaania	CAR	T2b	Lacan 2011, Lacan et al. 2011b
Hispaania	CAR	T2b	Lacan 2011, Lacan et al. 2011b
Hispaania	CAR	K1a	Lacan 2011, Lacan et al. 2011b
Hispaania	CAR	U5b	Lacan 2011, Lacan et al. 2011b
Hispaania	NBQ	U	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	U5b	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	H	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	U	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	U	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	H	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	U5b	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	H	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	H	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	H	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	U	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	H	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	U	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	H	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	J	Hervella 2010, Hervella et al. 2012
Hispaania	NBQ	T2	Hervella 2010, Hervella et al. 2012



<b>Skandin. riik</b>	<b>kultuur</b>	<b>haplogrupp</b>	<b>viited</b>
Rootsi	HGN	U5a1	Skoglund et al. 2014
Rootsi	FBC	T2b	Malmström et al. 2009
Rootsi	FBC	J1c4c	Malmström et al. 2009
Rootsi	FBC	H	Malmström et al. 2009, Skoglund et al. 2012
Saksamaa	FBC	K	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	FBC	U5b	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	FBC	U5b	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	FBC	T2e	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	FBC	J	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	FBC	T2e	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	FBC	U5a2b3	Bramanti et al. 2009
Saksamaa	FBC	H1c	Skoglund et al. 2014
Saksamaa	FBC	K1e	Skoglund et al. 2014
Saksamaa	FBC	H24	Skoglund et al. 2014
Rootsi	PWC	U5a1a'g	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U4	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	HV?	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	HV?	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U5a1a'g	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U5b2b1a	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	V	Malmström et al. 2009, Skoglund et al. 2012
Rootsi	PWC	U4	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U5b	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U4	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U4	Malmström et al. 2009, Skoglund et al. 2012
Rootsi	PWC	U5b	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U4	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U4	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U5a1a'g	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U4	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	T2b	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U4d	Malmström et al. 2009, Skoglund et al. 2012
Rootsi	PWC	K1a	Malmström et al. 2009
Rootsi	PWC	U4d	Skoglund et al. 2014
Rootsi	PWC	U4d	Skoglund et al. 2014
Rootsi	PWC	U	Skoglund et al. 2014
Taani		J1c4	Allentoft et al. 2015
Rootsi	CWC	K1a2a	Allentoft et al. 2015
Taani		H3v+16093	Allentoft et al. 2015
Taani		H3b	Allentoft et al. 2015
Rootsi		K2a5	Allentoft et al. 2015
Rootsi		K1b1a1	Allentoft et al. 2015
Rootsi		K1a3	Allentoft et al. 2015

<b>Ida-Eur. riik</b>	<b>kultuur</b>	<b>haplogrupp</b>	<b>viited</b>
Venemaa	HGE	U2	Krause et al. 2010
Venemaa	HGE	U5a	Bramanti et al. 2009
Venemaa	HGE	U5a1	Bramanti et al. 2009
Venemaa	HGE	U4	Der Sarkissian et al. 2013
Venemaa	HGE	U4	Der Sarkissian et al. 2013
Venemaa	HGE	C1	Der Sarkissian et al. 2013
Venemaa	HGE	C1	Der Sarkissian et al. 2013
Venemaa	HGE	U2e	Der Sarkissian et al. 2013
Venemaa	HGE	U2e	Der Sarkissian et al. 2013
Venemaa	HGE	U4	Der Sarkissian et al. 2013
Venemaa	HGE	U4	Der Sarkissian et al. 2013
Venemaa	HGE	U5a	Der Sarkissian et al. 2013
Venemaa	HGE	C1	Der Sarkissian et al. 2013
Venemaa	HGE	H	Der Sarkissian et al. 2013
Venemaa	YMC	U5a1d1	Allentoft et al. 2015
Venemaa	YMC	U5a1d2b	Allentoft et al. 2015
Venemaa	YMC	T2a1a	Allentoft et al. 2015
Venemaa	YMC	U4	Allentoft et al. 2015
Venemaa	YMC	U5a1i	Allentoft et al. 2015
Venemaa	YMC	T2a1a	Allentoft et al. 2015

# Lihtlitsents

## Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Lehti Saag

(sünnikuupäev: 30.04.1991),

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

„Neoliitiline transitsioon Eestis – kamm- ja nöörikeramika kultuuride esindajate DNA sekveneerimine ning mitokondriaalse DNA analüüs”,

mille juhendajad on PhD Mait Metspalu ja PhD Ene Metspalu,

1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu alates **25.05.2018** kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 25.05.2015