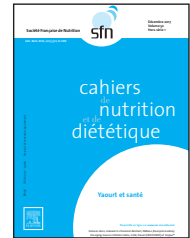




Disponible en ligne sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



Histoire de l'utilisation des laitages et de la persistance du gène de la lactase

Dairying history and the evolution of lactase persistence

Pascale Gerbault^{1,*}, Mélanie Roffet-Salque²

¹Department of Life Sciences, University of Westminster, 115 New Cavendish Street, London W1W 6UW, UK

²Organic Geochemistry Unit, School of Chemistry, University of Bristol, Cantock's Close, Bristol BS8 1TS, UK

MOTS-CLÉS

Néolithique ;
Résidus lipidiques ;
Exploitation
laitière ;
Lactase ;
Évolution ;
Fromage

KEYWORDS

Neolithic;
Lipid residue
analysis;
Dairying;
Lactase;
Evolution;
Cheese

Résumé

Ce chapitre présente des données archéologiques et biologiques permettant de retracer l'histoire de l'utilisation des laitages et l'évolution de la persistance de l'enzyme lactase, responsable de la digestion du lactose, dans les populations européennes. Nous faisons état de recherches archéologiques, anthropologiques et de génétique évolutive, expliquant les méthodes d'identification de résidus laitiers dans des poteries archéologiques ainsi que l'évolution de la persistance de la lactase chez certaines populations humaines. Ces observations montrent que le lait des animaux domestiques était exploité dès les débuts de la domestication au Néolithique, tandis que les échantillons d'acide désoxyribonucléique (ADN) ancien humain provenant de ces mêmes périodes suggèrent que ces populations européennes étaient majoritairement intolérantes au lactose. Ceci contraste avec la distribution moderne de la persistance de la lactase, la majorité des populations européennes étant tolérante au lactose.

© 2017 Société française de nutrition. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Summary

This chapter covers archaeological and biological studies that have been insightful in the understanding of dairying history and the evolution of lactase persistence in humans. More specifically, we report results from lipid residue analyses on archaeological pottery vessels, ancient and modern human DNA and explain the biology and genetics of lactase persistence. Available data suggests that domesticated animals were used for milk consumption by humans early in the Neolithic, while contemporaneous populations seem to have been mainly lactose intolerant. This contrasts with modern European populations, which show a generally high proportion of lactase persistence.

© 2017 Société française de nutrition. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

*Auteurs correspondant.

Adresse e-mail : p.gerbault@westminster.ac.uk (P. Gerbault).

(Pré-)histoire de la consommation laitière : analyses des résidus lipidiques dans les poteries

Principes et méthodologies

Pour comprendre les pratiques alimentaires passées, les poteries dans lesquelles ont été cuisinés, entre autres, des produits animaux sont une source d'information importante. Lors de la cuisson, une partie des graisses des aliments est absorbée par l'argile poreuse des poteries utilisées comme marmites. Ces lipides peuvent rester préservés pendant des millénaires dans les pores de l'argile [1]. Condamine et al. ont montré, dès le milieu des années 1970, qu'il était possible d'extraire et d'identifier des traces organiques issues de l'utilisation des poteries [2]. Un nettoyage mécanique d'environ 2 g de tesson de poterie permet d'enlever toute trace de contamination provenant de la manipulation des tessons ou du sol. L'échantillon est alors réduit en poudre afin d'ouvrir les pores, puis les lipides préservés dans l'argile sont extraits avec des solvants organiques [3-5]. Cet extrait est ensuite analysé grâce à des techniques chromatographiques (séparation des composés), spectrométriques (identification) et isotopiques (mesure de la composition isotopique en carbone stable des acides gras) afin d'affiner l'identification des graisses animales.

La composition moléculaire des extraits permet de reconnaître les graisses animales [6,7], les huiles végétales [8], la cire d'abeille [9], les résines et brais (goudrons végétaux) [1,10]. Les graisses animales sont très souvent dégradées en contexte archéologique et les composés tels que les acides gras insaturés ou les triglycérides sont détruits avec le temps, rendant souvent impossible l'identification précise de leur origine (espèce animale, origine laitière ou adipeuse...) grâce à la seule composition moléculaire. Toutefois, depuis la fin des années 1990, la spectrométrie de masse isotopique a permis d'aller beaucoup plus loin dans l'identification des graisses animales, même en présence d'extraits archéologiques très dégradés dominés par les acides gras saturés $C_{16:0}$ (palmitique) et $C_{18:0}$ (stéarique) [6]. En effet, des analyses de graisses animales modernes ont montré que la composition isotopique de ces deux acides gras est différente entre ruminants (bovins/caprins) et non-ruminants (cochons) en raison de leurs différences de métabolismes. Au sein de la classe des ruminants, il est également possible de distinguer les graisses laitières des graisses adipeuses. En effet, l'acide stéarique du lait provient en partie de la remobilisation des graisses adipeuses mais est aussi incorporé directement à partir des acides gras insaturés ($C_{18:n}$) des plantes après leur bio-hydrogénation dans le rumen [7].

En revanche, ces analyses ne permettent pas d'identifier l'espèce animale qui a produit le lait. De nouvelles méthodes spectrométriques prometteuses (NanoESI MS et MS/MS) sont en train d'être explorées sur des échantillons lacustres mieux conservés (présence de triglycérides) afin d'identifier l'espèce animale dont provenait le lait [11].

État de la recherche - Moyen-Orient, Europe centrale, Royaume-Uni

Depuis la fin des années 1990, de nombreuses études se sont intéressées à la transition alimentaire entre le Mésolithique

des chasseurs-cueilleurs et le Néolithique des premiers agriculteurs, notamment à l'ancienneté de la production laitière. Le développement de méthodes d'identification de résidus laitiers en contexte archéologique a ouvert de nouvelles pistes de recherche sur l'utilisation du lait au Néolithique, entre les IX^e et IV^e millénaires avant notre ère.

L'analyse de plus de 2 200 tessons de poteries provenant du Proche-Orient a montré la présence de résidus laitiers à partir du VII^e millénaire avant notre ère, ce qui en fait la plus ancienne preuve directe d'exploitation laitière [12]. Ces résultats sont en accord avec les études archéozoologiques (études des restes animaux) montrant des pratiques d'élevage orienté vers le lait dès le Néolithique précéramique B (autour du IX^e millénaire avant notre ère) avant même l'invention de la poterie (dans la seconde partie du VII^e millénaire avant notre ère). On assiste à cette époque à la régionalisation de l'exploitation laitière, avec une exploitation intensive autour de la mer de Marmara (entre les mers Noire et Égée), et plus discrète ailleurs.

L'adoption de l'exploitation laitière ne s'est pas faite partout au même rythme. Au nord de l'Europe, deux trajectoires différentes ont pu être observées. Au sud de la Grande-Bretagne, la présence de résidus laitiers dans les poteries est importante (> 25 %) dès l'arrivée du Néolithique [13]. En Grande-Bretagne et en Irlande, des résidus laitiers ont été détectés dans plus de 80 % des tessons du début du néolithique. Les premiers néolithiques des îles Britanniques semblent même délaisser les ressources aquatiques omniprésentes durant le Mésolithique pour exploiter leur cheptel domestique, principalement pour leur lait [14]. Au contraire, une transition plus graduelle entre ressources aquatiques et ressources animales domestiques (dont le lait) a été observée par l'analyse de tessons en Finlande [15] et au Danemark [16] suggérant des stratégies de subsistance opportunistes, alliant la chasse, la pêche et la cueillette à l'élevage, probablement les plus adaptées aux conditions environnementales.

Plus au sud, d'autres études s'intéressant à des sites néolithiques du bassin nord de la Méditerranée ont montré des différences régionales concernant l'intensité de l'exploitation laitière [17]. Les analyses des tessons et l'étude des stratégies d'élevage par l'intermédiaire des restes osseux animaux des sites archéologiques montrent une très faible exploitation laitière dans le nord de la Grèce alors qu'elle est plus intense à l'est et à l'ouest de la Méditerranée [17].

La découverte de résidus laitiers dans des tessons de poteries de taille et de forme très variables ne permet pas d'expliquer les pratiques alimentaires ni la nature des produits laitiers consommés [12]. Cependant, la présence de tessons de poterie perforés sur des sites néolithiques a attiré l'attention de certains archéologues dès les années 1980 [18,19]. En Europe centrale, ces poteries perforées de trous millimétriques découvertes dans les sites archéologiques des premiers agriculteurs de cette région, ont longtemps été interprétées comme des faisselles, preuves de la fabrication du fromage dans ces villages [19]. Sur ces mêmes sites, l'omniprésence d'ossements de bovins, majoritairement issus de femelles matures, a permis de soutenir l'hypothèse d'une exploitation laitière. Près de 30 ans plus tard, l'analyse des lipides extraits de tessons perforés provenant de la région de Cujavie (Pologne) a confirmé que

ces poteries datant entre 5 200 et 4 800 avant notre ère avaient été utilisées pour la manipulation du lait [20]. La présence de perforations dans ces récipients de typologie similaire à des faisselles modernes ainsi que la détection de lipides d'origine laitière apportent conjointement la preuve que ces poteries ont été utilisées pour la fabrication du fromage. Les perforations (réalisées avant la cuisson de l'argile) permettent en effet au caillé d'être séparé du petit-lait. Ce procédé, faisant intervenir la fermentation, permet de transformer le lait cru, riche en lactose, en fromage, produit laitier pauvre en lactose. La fabrication de fromage permet d'une part de conserver le lait qui est un aliment fragile, mais aussi de le transformer en un produit laitier plus digeste pour les populations intolérantes au lactose. À ce jour, les poteries utilitaires non perforées de ces sites n'ont pas livré de résidus laitiers, suggérant que le lait était principalement transformé en fromage.

Histoire de l'utilisation des laitages : évolution de la persistance de l'enzyme lactase

Si les sites archéologiques témoignent de l'utilisation du lait par les premières populations néolithiques entre le VII^e et le VI^e millénaire avant notre ère, ceci ne nous informe pas sur leur capacité à digérer le lait [12]. En effet, tandis que le lait frais est riche en lactose, les produits laitiers fermentés (comme les yaourts ou les fromages) en contiennent moins [21], et leur consommation par des personnes intolérantes au lactose n'entraîne normalement pas de symptômes d'intolérance (voir P. Marteau, ce numéro) [22]. Les symptômes d'intolérance au lactose peuvent se présenter lors de la consommation de lait frais par des adultes dont l'enzyme lactase n'est plus active.

La lactase est une enzyme qui permet de scinder le lactose (disaccharide) en glucose et galactose, le rendant digestible. La lactase voit son activité diminuer après le sevrage. Ce phénotype, appelé la « non-persistance de la lactase », est un développement naturel des mammifères. Toutefois, environ un tiers des adultes dans le monde présentent une persistance de l'activité de l'enzyme tout au long de leur vie. La distribution géographique de ce phénotype de persistance de la lactase chez les adultes est corrélée avec une pratique ancestrale du pastoralisme et de la traite laitière [23-25].

Ce phénotype de persistance de la lactase est héréditaire et causé par des changements de nucléotides dans la séquence d'ADN située à environ 14kb en amont du promoteur du gène de la lactase (*LCT*) sur le chromosome 2 [26,27]. À ce jour, au moins cinq variants génétiques, ou allèles, associés à la persistance de la lactase ont été identifiés [28-33]. Ces allèles ne sont pas répartis de façon homogène géographiquement : tous ont été identifiés en Afrique, mais un seul allèle -13910*T est présent en Europe. Tous ces allèles semblent activer l'expression de l'enzyme *in vitro*, mais ceci ne démontre pas leur effet fonctionnel biologique *in vivo* [31,33-37]. Ces études *in vivo* sont difficiles à mettre en place et jusqu'à présent, un seul de ces allèles (-13910*T) a été étudié *in vivo* et associé avec l'expression de l'enzyme [38].

Les techniques d'étude de l'ADN ancien nous permettent de savoir si les adultes des premières populations néolithiques qui utilisaient le lait possédaient cet allèle, et donc auraient pu être tolérantes au lactose. L'échantillon le plus ancien étudié ayant été typé à cette position de l'ADN remonte à environ 4 300 ans avant notre ère [39-60]. Cependant l'allèle -13910*T n'est détecté que plus tard, l'échantillon le plus ancien présentant cet allèle datant de 3 000 ans avant notre ère [45].

De plus, des méthodes de génétique des populations appliquées à des échantillons de populations modernes ont estimé que l'allèle -13910*T serait apparu entre 188 et 18 660 ans avant notre ère [61-63], avec des intervalles de temps similaires pour l'allèle le plus fréquent associé à la persistance de la lactase en Afrique (-14010*C) [31].

L'ensemble de ces observations est surprenant considérant que la fréquence de l'allèle -13910*T peut atteindre près de 95 % de la population au nord-ouest de l'Europe [23]. Un allèle atteignant de telles fréquences aujourd'hui est soit ancien, ce qui n'est pas le cas ici au regard des données de l'ADN ancien et des populations actuelles, soit associé à une pression adaptative appelée aussi « pression de sélection ». Les coefficients de sélection estimés (obtenus par des méthodes de génétique de population) pour expliquer une émergence aussi récente couplée à des fréquences aussi importantes, sont parmi les plus élevés de notre histoire évolutive [64].

Le Néolithique (début de l'agriculture et de l'élevage) a commencé aux environs de -9 000 ans au Proche-Orient. On voit ces techniques néolithiques se propager progressivement sur l'ensemble du territoire européen, remplaçant - ou cohabitant avec - les chasseurs-cueilleurs, qui jusque-là peuplaient le continent. À l'aide de techniques de détection et d'identification de résidus lipidiques, l'exploitation du lait est observée dès les débuts du Néolithique, accompagnant les premiers signes de l'agriculture et de l'élevage. L'allèle -13910*T n'est observé que plus tard dans certaines populations néolithiques. Cet allèle est retrouvé chez 95% des adultes du nord de l'Europe (îles Britanniques et Scandinavie).

Conclusions et perspectives

Les données que nous possédons aujourd'hui montrent que (i) les populations néolithiques utilisaient le lait de leurs animaux domestiques dès 7 000 avant notre ère, (ii) l'allèle associé à la persistance de la lactase en Europe était rare 3 000 ans avant notre ère, (iii) il semble que cet allèle ait augmenté en fréquence très rapidement sous pression de sélection. Il est important de préciser que ce n'est pas parce que l'allèle est présent dans les populations du passé qu'il était déjà sous pression de sélection ; les deux phénomènes (présence d'une mutation et pression de sélection) pouvant être découplés [65].

Des études de simulation suggèrent que ce processus d'adaptation aurait commencé en Europe centrale environ 6 000 ans avant notre ère [66] (Fig. 1). Or, à cette époque dans cette région, l'analyse de dizaines de tessons perforés provenant de ces sites de la culture rubanée suggère que le lait était transformé en fromage, dont la consommation n'entraînait probablement pas de symptômes d'intolérance

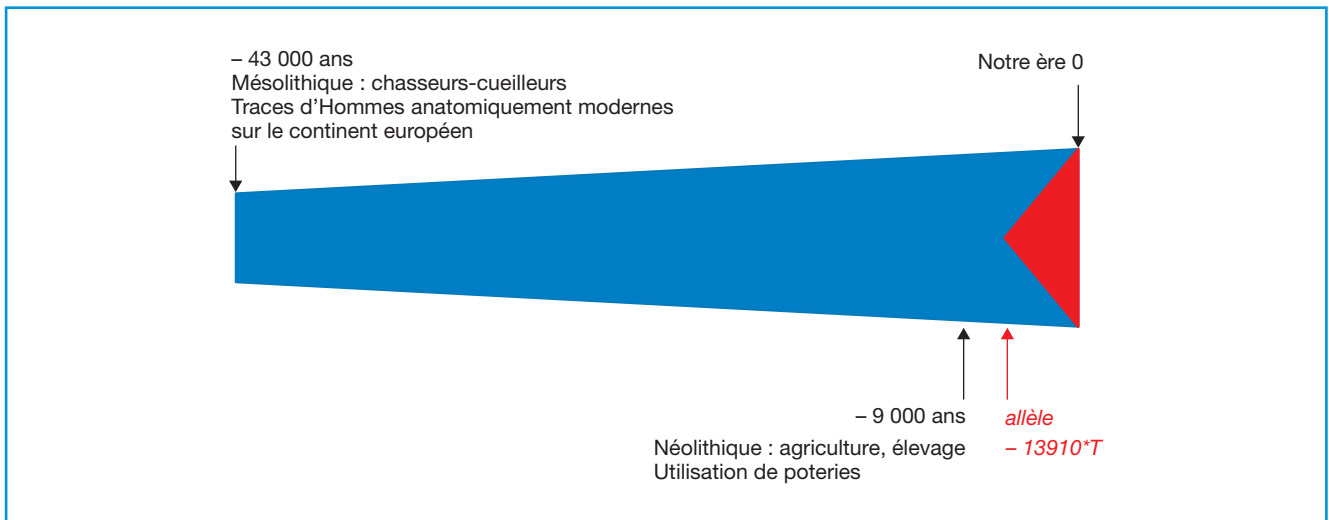


Figure 1. Cette chronologie simplifiée représente de façon schématisée la croissance démographique (en bleu) que l'espèce humaine a connue en Europe. L'aire rouge représente l'augmentation en fréquence de l'allèle -13910^*T associé à la persistance de la lactase en Europe depuis sa possible apparition jusqu'à aujourd'hui.

au lactose. Il reste ainsi à montrer que les premières populations néolithiques qui utilisaient le lait consommaient des produits dont la digestion nécessitait la persistance de la lactase, à une période où leur survie pouvait dépendre de cet aliment. Il semble en tout cas que le lait ait pu fournir un complément alimentaire important aux adultes capables de le digérer sans symptômes d'intolérance au lactose. Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer la distribution de ce phénotype et son évolution, mais les raisons pour lesquelles cet allèle aurait été sélectionné restent à élucider [25,67-70].

Malgré le fait que l'accès au lait n'ait été possible qu'après la domestication des vaches, brebis et chèvres qui a commencé il y a 10 500 ans, et donc relativement récemment dans l'histoire humaine, le lait et les produits laitiers ont pris une place importante dans l'alimentation des sociétés de tradition pastorale depuis cette période et auraient peut-être conditionné la survie de certaines populations durant le Néolithique.

Remerciements et financement

P. Gerbault est financée par un programme de bourse Leverhulme Trust attribué à A. M. Migliano (UCL Anthropology) et M. G. Thomas (RP2011-R-045, UCL Genetics, Evolution and Environment). M. Roffet-Salque est financée par la bourse European Research Council Advanced Grant (ERC) *NeoMilk* (neomilk-erc.eu) accordée à R. P. Evershed (FP7-IDEAS-ERC/324202). Nous remercions Marie Balasse, Jean-Denis Vigne et Rosalind Gillis pour l'aide apportée lors de la rédaction de ce manuscrit.

Liens d'intérêts

P. Gerbault et M. Roffet-Salque ont été rémunérées par Danone produits frais France pour la rédaction de cet article.

Références

- [1] Evershed RP. Organic residue analysis in archaeology: the archaeological biomarker revolution. *Archaeometry* 2008;50:895-924.
- [2] Condamine J, Formenti F, Metais MO, Michel M, Blond P. The application of gas chromatography to the tracing of oil in ancient amphorae. *Archaeometry* 1976;18:195-201.
- [3] Evershed RP, Heron C, Goad LJ. Analysis of organic residues of archaeological origin by high-temperature gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Analyst* 1990;115:1339-42.
- [4] Charters S, Evershed RP, Goad LJ, Leyden A, Blinkhorn PW, Denham V. Quantification and distribution of lipid in archaeological ceramics: implications for sampling potsherds for organic residue analysis and the classification of vessel use. *Archaeometry* 1993;35:211-23.
- [5] Correa-Ascencio M, Evershed RP. High throughput screening of organic residues in archaeological potsherds using direct methanolic acid extraction. *Anal. Methods*. 2014;6:1330-40.
- [6] Dudd SN, Evershed RP. Direct demonstration of milk as an element of archaeological economies. *Science* 1998;282:1478-81.
- [7] Copley MS, Berstan R, Dudd SN, Docherty G, Mukherjee AJ, Straker V, et al. Direct chemical evidence for widespread dairying in prehistoric Britain. *PNAS* 2003;100:1524-29.
- [8] Copley MS, Evershed RP, Rose PJ, Clapham A, Edwards DN, Horton MC. Processing palm fruits in the Nile Valley - biomolecular evidence from Qasr Ibrim. *Antiquity* 2001;75:538-42.
- [9] Roffet-Salque M, Regert M, Evershed RP, Outram AK, Cramp LJE, Decavallas O, et al. Widespread exploitation of the honeybee by early Neolithic farmers. *Nature* 2016;534:1-2.
- [10] Regert M, Devièse T, Le Hô AS, Rougeulle A. Reconstructing ancient Yemeni commercial routes during the Middle Ages using a structural characterization of terpenoid resins. *Archaeometry* 2008;50:668-95.
- [11] Mirabaud S, Rolando C, Regert M. Molecular criteria for discriminating adipose fat and milk from different species by nanoESI MS and MS/MS of their triacylglycerols: application to archaeological remains. *Anal. Chem.* 2007;79:6182-92.
- [12] Evershed RP, Payne S, Sherratt AG, Copley MS, Coolidge J, Urem-Kotsu D, et al. Earliest date for milk use in the Near

- East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature* 2008;455:528-31.
- [13] Copley MS, Berstan R, Dudd SN, Aillaud S, Mukherjee AJ, Straker V, et al. Processing of milk products in pottery vessels through British prehistory. *Antiquity* 2005;79:895-908.
- [14] Cramp LJE, Jones J, Sheridan A, Smyth J, Whelton H, Mulville J, et al. Immediate replacement of fishing with dairying by the earliest farmers of the northeast Atlantic archipelagos. *Proc. R. Soc. B* 2014;281:20132372.
- [15] Cramp LJE, Evershed RP, Lavento M, Halinen P, Mannerman K, Oinonen M, et al. Neolithic dairy farming at the extreme of agriculture in Northern Europe. *Proc. R. Soc. B* 2014;281:20140819.
- [16] Craig OE, Steele VJ, Fischer A, Hartz S, Andersen SH, Donohoe P, et al. Ancient lipids reveal continuity in culinary practices across the transition to agriculture in Northern Europe. *PNAS* 2011;108:17910-5.
- [17] Debono Spiteri C, Gillis RE, Roffet-Salque M, Castells Navarro L, Guilaine J, Muntoni IM, et al. Regional asynchronicity in dairy production and processing in early farming communities of the northern Mediterranean. *PNAS* 2016;113:13594-9.
- [18] Poplin F. L'origine de la production laitière. *Initiation à l'archéologie et à la Préhistoire* 1980;17:13-7.
- [19] Bogucki PI. Ceramic sieves of the Linear Pottery culture and their economic implications. *Oxf. J. Archaeol* 1984;3:15-30.
- [20] Salque M, Bogucki PI, Pyzel J, Sobkowiak-Tabaka I, Grygiel R, Szmyt M, et al. Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. *Nature* 2013;493:522-5.
- [21] Liebert A. The Milkybars are on me. Lactase persistence and its traces within DNA. May contain traces of milk - Investigating the role of dairy farming and milk consumption in the European Neolithic. *LeCHE*. York, The University of York 2012;127-41.
- [22] Marteau P, Olivier S. L'intolérance au lactose. *Cah Nutr Diététique* 2017;52S:S13-8.
- [23] Itan Y, Jones B, Ingram C, Swallow D, Thomas M. A worldwide correlation of lactase persistence phenotype and genotypes. *BMC Evol. Biol* 2010;10:36.
- [24] Simoons F. Primary adult lactose intolerance and the milking habit: a problem in biologic and cultural interrelations. A culture historical hypothesis. *Am J Dig Dis* 1970;15:695-710.
- [25] Holden C, Mace R. Phylogenetic analysis of the evolution of lactose digestion in adults. *Hum. Biol.* 1997;69:605-28.
- [26] Ferguson A, Maxwell JD. Genetic aetiology of lactose intolerance. *The Lancet* 1967;290:188-91.
- [27] Swallow DM, Hollox EJ. The genetic polymorphism of intestinal lactase activity in adult humans. In *Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al. The metabolic and molecular basis of inherited disease*. New York, McGraw-Hill 2000:1651-62.
- [28] Ingram CJE, Elamin MF, Mulcare CA, Weale ME, Tarekegn A, Oljira Raga T, et al. A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: multiple causes for lactase persistence? *Hum. Genet.* 2007;120:779-88.
- [29] Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Peltonen L, Järvelä I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat. Genet.* 2002;30:233-7.
- [30] Imtiaz F, Savilahti E, Sarnesto A, Trabzuni D, Al-Kahtani K, Kagevi I. The T/G-13915 variant upstream of the lactase gene (LCT) is the founder allele of lactase persistence in an urban Saudi population. *J. Med. Genet.* 2007;44:e89.
- [31] Tishkoff SA, Reed FA, Ranciaro A, Voight BF, Babbitt CC, Silverman JS, et al. Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat. Genet.* 2007;39:31-40.
- [32] Ingram CJE, Raga TO, Tarekegn A, Browning SL, Elamin MF, Bekele E, et al. Multiple rare variants as a cause of a common phenotype: several different lactase persistence associated alleles in a single ethnic group. *J. Mol. Evol.* 2009;69:579-88.
- [33] Jones BL, Raga TO, Liebert A, Zmarz P, Bekele E, Danielsen ET. Diversity of lactase persistence alleles in Ethiopia: signature of a soft selective sweep. *Am. J. Hum. Genet.* 2013;93:538-44.
- [34] Olds LC, Sibley E. Lactase persistence DNA variant enhances lactase promoter activity *in vitro*: functional role as a *cis* regulatory element. *Hum. Mol. Genet.* 2003;12:2333-40.
- [35] Troelsen JT, Olsen J, Møller J, Sjöström H. An upstream polymorphism associated with lactase persistence has increased enhancer activity. *Gastroenterology* 2003;125:1686-94.
- [36] Lewinsky RH, Jensen TKG, Møller J, Stensballe A, Olsen J, Troelsen JT. T₋₁₃₉₁₀ DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity *in vitro*. *Hum. Mol. Genet.* 2005;14:3945-53.
- [37] Jensen TKG, Liebert A, Lewinsky R, Swallow DM, Olsen J, Troelsen JT. The -14010°C variant associated with lactase persistence is located between an Oct-1 and HNF1 α binding site and increases lactase promoter activity. *Hum. Genet* 2011;130:483-93.
- [38] Fang L, Ahn JK, Wodziak D, Sibley E. The human lactase persistence-associated SNP -13910*T enables *in vivo* functional persistence of lactase promoter - reporter transgene expression. *Hum. Genet* 2012;131:1153-9.
- [39] Burger J, Kirchner M, Bramanti B, Haak W, Thomas MG. Absence of the lactase-persistence-associated allele in early Neolithic Europeans. *PNAS* 2007;104:3736-41.
- [40] Malmström H, Linderholm A, Lidén K, Storå J, Molnar P, Holmlund G, et al. High frequency of lactose intolerance in a prehistoric hunter-gatherer population in northern Europe. *BMC Evol. Biol.* 2010;10:89.
- [41] Lacan M, Keyser C, Ricaut FX, Brucato N, Duranthon F, Guilaine J, et al. Ancient DNA reveals male diffusion through the Neolithic Mediterranean route. *PNAS* 2011;108:9788-91.
- [42] Lacan M, Keyser C, Ricaut FX, Brucato N, Tarrús J, Bosch A, et al. Ancient DNA suggests the leading role played by men in the Neolithic dissemination. *PNAS* 2011;108:18255-9.
- [43] Nagy D, Tömöry G, Csányi B, Bogácsi-Szabó E, Czibula Á, Priskin K, et al. Comparison of lactase persistence polymorphism in ancient and present-day Hungarian populations. *Am. J. Phys. Anthropol* 2011;145:262-9.
- [44] Keller A, Graefen A, Ball M, Matzas M, Boisguerin V, Maixner F, et al. New insights into the Tyrolean Iceman's origin and phenotype as inferred by whole-genome sequencing. *Nat. Commun.* 2012;3:698.
- [45] Plantinga TS, Alonso S, Izagirre N, Hervella M, Fregel R, van der Meer JW, et al. Low prevalence of lactase persistence in Neolithic South-West Europe. *Eur. J. Hum. Genet* 2012;20:778-82.
- [46] Gamba C, Jones ER, Teasdale MD, McLaughlin RL, Gonzalez-Forbes G, Mattiangeli V, et al. Genome flux and stasis in a five millennium transect of European prehistory. *Nat. Commun* 2014;5:1-9.
- [47] Kozłowski T, Stepanczak B, Reitsema LJ, Osipowicz G, Szostek K, Płoszaj T, et al. Osteological, chemical and genetic analyses of the human skeleton from a Neolithic site representing the Globular Amphora Culture (Kowal, Kuyavia region, Poland). *Anthropologie (Brno)* 2014;52:91-111.
- [48] Krüttli A, Bouwman A, Akgül G, Della Casa P, Rühli F, Warinner C. Ancient DNA analysis reveals high frequency of European Lactase Persistence allele (T-13910) in Medieval Central Europe. *PLoS ONE* 2014;9:e86251.
- [49] Lazaridis I, Patterson N, Mittnik A, Renaud G, Mallick S, Kirsanow K, et al. Ancient human genomes suggest three ancestral populations for present-day Europeans. *Nature* 2014;513:409-13.
- [50] Olalde I, Allentoft ME, Sanchez-Quinto F, Santpere G, Chiang CWK, DeGiorgio M, Prado-Martinez J. Derived immune and ancestral pigmentation alleles in a 7,000-year-old Mesolithic European. *Nature* 2014;507:225-8.

- [51] Sverrisdóttir OÓ, Timpson A, Toombs J, Lecoeur C, Froguel P, Carretero J, et al. Direct estimates of natural selection in Iberia indicate calcium absorption was not the only driver of lactase persistence in Europe. *Mol. Biol. Evol.* 2014;31:975-83.
- [52] Allentoft ME, Sikora M, Sjogren KG, Rasmussen S, Rasmussen M, Stenderup J, et al. Population genomics of Bronze Age Eurasia. *Nature* 2015;522:167-72.
- [53] Cassidy LM, Martiniano R, Murphy EM, Teasdale MD, Mallory J, Hartwell B, et al. Neolithic and Bronze Age migration to Ireland and establishment of the insular Atlantic genome. *PNAS* 2015;113:368-73.
- [54] Haak W, Lazaridis I, Patterson N, Rohland N, Mallick S, Llamas B, et al. Massive migration from the steppe was a source for Indo-European languages in Europe. *Nature* 2015;522:207-11.
- [55] Mathieson I, Lazaridis I, Rohland N, Mallick S, Patterson N, Roodenbergs S, et al. Genome-wide patterns of selection in 230 ancient Eurasians. *Nature* 2015;528:499-503.
- [56] Olalde I, Schroeder H, Sandoval-Velasco M, Vinner L, Lobón I, Ramirez O, et al. A common genetic origin for early farmers from Mediterranean Cardial and Central European LBK Cultures. *Mol Biol Evol* 2015;32:3132-42.
- [57] Płoszaj T, Jerszyńska B, Jędrychowska-Dańska K, Lewandowska M, Kubiak D, Grzywnowicz K, et al. Mitochondrial DNA genetic diversity and LCT-13910 and deltaF508 CFTR alleles typing in the medieval sample from Poland. *HOMO - J. Comp. Hum. Biol* 2015;66:229-50.
- [58] Witas HW, Płoszaj T, Jędrychowska-Dańska K, Witas PJ, Mastowska A, Jerszyńska B, et al. Hunting for the LCT-13910*T allele between the Middle Neolithic and the Middle Ages suggests its absence in dairying LBK people entering the Kuyavia region in the 8th millennium BP. *PLoS ONE* 2015;10:e0122384.
- [59] Broushaki F, Thomas MG, Link V, López S, van Dorp L, Kirsanov K, et al. Early Neolithic genomes from the eastern Fertile Crescent. *Science* 2016;353:499-503.
- [60] Hofmanová Z, Kreutzer S, Hellenthal G, Sell C, Diekmann Y, Diezdel-Molino D, et al. Early farmers from across Europe directly descended from Neolithic Aegeans. *PNAS* 2016;113:6886-91.
- [61] Bersaglieri T, Sabeti PC, Patterson N, Vanderploeg T, Schaffner SF, Drake JA, et al. Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene. *Am. J. Hum. Genet.* 2004;74:1111-20.
- [62] Mulcare C. The evolution of lactase persistence phenotype. Research Department of Genetics, Evolution and Environment 2006; London, University of London. PhD.
- [63] Coelho M, Luiselli D, Bertorelle G, Lopes A, Seixas S, Destro-Bisol G, et al. Microsatellite variation and evolution of human lactase persistence. *Hum. Genet.* 2005;117:329-39.
- [64] Sabeti PC, Varilly P, Fry B, Lohmueller J, Hostetter E, Cotsapas C, et al. Genome-wide detection and characterization of positive selection in human populations. *Nature* 2007;449:913-8.
- [65] Peter BM, Huerta-Sanchez E, Nielsen R. Distinguishing between selective sweeps from standing variation and from a *de novo* mutation. *PLoS Genet* 2012;8:e1003011.
- [66] Itan Y, Powell A, Beaumont MA, Burger J, Thomas MG. The origins of lactase persistence in Europe. *PLoS Comput. Biol* 2009;5:e1000491.
- [67] Flatz G, Rotthauwe HW. The human lactase polymorphism: physiology and genetics of lactose absorption and malabsorption. *Prog. Med. Genet* 1977;2:205-49.
- [68] Gerbault P, Moret C, Currat M, Sanchez-Mazas A. Impact of selection and demography on the diffusion of lactase persistence. *PLoS ONE* 2009;4:e6369.
- [69] McCracken RD. Lactase deficiency: an example of dietary evolution. *Curr. Anthropol.* 1971;12:479-517.
- [70] Gerbault P, Liebert A, Itan Y, Powell A, Currat M, Burger J, et al. Evolution of lactase persistence: an example of human niche construction. *Philos; Trans. R Soc. Lond. B: Biol. Sci* 2011;366:863-77.