

古 DNA: 用分子生物学手段探知过去*

王 沥

(遗传与发育生物学研究所 北京 100101)

摘要 古生物分子遗传研究室成功完成了山东省临淄地区古墓群中古人类群体 DNA 的分析, 阐明了不同历史时期山东半岛人群的分布及遗传结构与现代人的异同性。目前正分析殷墟出土的商代晚期古代人群的 DNA 解析结果, 以期复原我国商代人群结构、迁徙模式和文明、文化传承途径。

关键词 古代 DNA, 分子考古学, 群体遗传学, 迁徙

1 研究背景和意义

人类共同的祖先究竟来自哪里? 是非洲起源, 还是本土起源? 北京猿人是不是中华民族的祖先? 这不仅是世界瞩目的热点课题, 也是困惑人们已久的难题。为了解答这些难题, 诸多学者从不同学科和领域进行了研究和探讨。就人类遗传领域而言, 对现代人类, 特别是蒙古人种的起源、进化及形成已在诸多方面进行了研究, 并获得大量数据。但至今绝大部分论据都是通过比较现代人的遗传特性所获得的。这种用现代人的遗传数据对比推论古代人类的遗传结构和进化过程, 是在忽视过去人类群体迁徙、扩散以及混血等因素的前提下, 单纯地推断古代人类群体的遗传结构。这类方法显然有一定的局限性。因此, 如何跨越“时代的鸿沟”直接探索人类及动物过去的遗传特性, 乃是科学家们长久以来热切关注和急于解决的难题。

近年来, 随着分子生物学技术的不断革新, 尤其是 80 年代中期聚合酶链式反应 (PCR, Polymerase Chain Reaction) 的问世, 使从古生物化石中直接提取并分析古 DNA 分子成为现实, 研究古生物遗传结构已不再是梦想。由于 PCR 方法可以将古生物遗骸中仅存的极其微量的 DNA 分子在短时间内扩增到

足以进行分析的程度^[1], 因此它引发了一场古生物 DNA 研究的革命。到目前为止, 国际上已报道的成功例子中最古老的古 DNA 研究已将年代记录推进到亿年以上^[2,3]。

古 DNA 研究最显著的特征之一是它在考古学研究中所提供结论的客观性。其目的就是要跨越“时代的鸿沟”, 将现代生物和古代生物之间的缺环连接起来。作为一个重要的研究手段, 古 DNA 研究展示了它在考古学、法医学、古病理学等研究领域的应用价值^[4,5]。在考古学中, 古 DNA 研究可解决如下关键问题: 通过确定同一墓穴中不同个体的性别及血缘关系, 回答人们关注的古人类家族结构、文明和氏族状态等问题; 通过对古代及现代人群体 DNA 序列的比较, 构建和复原古代人群体遗传关系结构、进化过程及迁移模式^[6]; 此外, 古代动植物标本的分析将能够定性地揭示古人类生活所依赖的环境和动、植物驯化的历史年代以及人类最早从事农耕的证据。事实上, 古 DNA 的研究结果已经不断地将动物驯化和农业耕种年代向更早的时间推移。

中华民族具有悠久的历史、丰富的文化遗产以及广泛的古人类分布, 同时, 欧亚大陆的古地质、地理、气候等给我们以得天独厚的条件, 使我们能够

发掘和获得大量的古生物样本。如何使这些极其宝贵的古生物材料体现出它们全部的、真正的、最终的科学价值,已成为科学界、文化界、教育界共同关注的热点。分子考古学的介入将使我们进一步了解中国的古代文明历史、社会构成及古人类遗传结构,并为考证中华民族演化过程、我国多民族大家庭的历史变迁和人文考古学提供证据^[7]。

迄今国内外对中国古人类的分子生物学研究报道甚少。国内外虽然有不少科研机构及学者迫切希望导入古生物 PCR、DNA 序列和蛋白质分析,但由于此项研究所采用的古 DNA 提取及分析技术难度高、成功率低,实验设备、器具及样本等防污染步骤与措施极其复杂以及古生物,特别是古人类遗骸资源的贫乏等,使研究工作举足维艰,进展缓慢。

2 研究成果

1999 年,在中国科学院和国家自然科学基金委员会及中国社会科学院考古研究所领导的大力支持下,在短时期内建立起一个初具规模、具有世界先进水平的古生物分子遗传研究室。通过实验技术的革新,建立了较为系统的实验方法,使 DNA 提取的成功率跃居世界领先水平 60%—70%(一般为 40%—50%)。同时总结出一系列行之有效的防止污染(包括环境、实验设备及用具、样本等)的技术措施与手段,为提供准确和可信度高的实验数据创造了条件。

该项研究首先在严格控制古生物样本发掘之后二次污染的前提下,根据古 DNA 的理化性质先将古生物样本表面进行处理及洗涤,清除表面可能的污染,然后用超低温冷冻、破碎古生物遗骸,并提取残留在古生物遗骸中的微量 DNA,最后通过 PCR 法及 DNA 序列分析法获取和分析古生物的线粒体 DNA。由于线粒体 DNA 具有高拷贝数、无重组效应(母性遗传)及较高的突变率等特征,使其成为研究古代及现代群体之间相互关系的最为理想的遗传指标^[8]。该项研究采用线粒体 DNA 中突变率最高的 D-loop region 进行古代及现代群体的 DNA 分析。目前已收集并系统整理出数千个全世界不同人种及其群体的线粒体 DNA 序列库,其中包括现代人及古人类的序列。

通过对山东省临淄地区古墓群中古人类群体 DNA 的分析与研究,成功地从 2 500 年前、2 000 年前的古人骨与现代人样本中提取和分析了 DNA,完成了同一地区三个不同历史年代的人类群体与世界 18 个不同人群的 DNA 序列比较及数理统计分析,阐明了不同历史时期山东半岛人群的分布及遗传结构与现代人的异同性。首次发现,我国 2 000 多年前的古代人群中包含与现代人群血缘关系完全相异的群体,其遗传结构与现代西亚地区的人群更为接近。该研究的成功为进一步大规模地开展分子考古学研究奠定了基础。研究成果分别发表在国际分子生物学与进化年会、21 世纪中国考古及世界考古学研讨会和冷泉港人类起源及疾病会议等重要国际会议上,得到同行的高度评价;并刊登在国际分子生物学和进化学领域重要刊物 *Molecular Biology and Evolution* 上。

最近,我们又成功地从殷墟大量出土的商代晚期人骨中提取并纯化了 DNA。所获得的古 DNA 解析结果正在利用大型计算机与已发表的全世界不同人种、不同群体的现代人及古代人线粒体基因数据库进行比较和数理统计分析,以期复原我国商代晚期古代人群结构及迁徙模式,为殷商以来 5 000 年的文明史提供分子生物学依据。在中国开展该研究,将对我们更进一步地了解中国的古代文明史、社会构成及古人类遗传结构提供重要依据;也将为进化概念的更新及现代人类起源及蒙古人种、高加索人种和黑人的分离年代等研究提供依据;同时,将为我国古 DNA 研究建立一个标准和生物材料对照机制,以保证该类研究的准确度和可信度。该研究室将利用我国丰富的古生物资源,通过发掘和整理古生物材料、分离和提取核酸片段、分类和比较不同时代、不同物种的分子序列,为物种的起源、变异及多样性的研究提供可靠依据。

分子考古学研究近期目标是复原商代人群的分布状态和文明、文化传承途径,并将此研究扩展到全国不同文化地层。长期目标是阐明我国历史上古代人群分布、迁移和中华民族形成模式。古代人群分子考古学研究的初步成功,不仅积累了人类进化历史长河中一些重要历史片断的人类学信息,

也激励我们继续跨越不同历史时期和地区,将这些残缺不全的历史断片用分子生物学手段“焊接”起来。

参考文献

1 Hagelberg E, Sykes B, Hedges R. Ancient bone DNA amplified. *Nature*, 1989, (342): 485.

2 DeSalle R, Barcia M, Wray C. PCR jumping in clones of 30-million-year-old DNA fragments from amber preserved termites (*Mastotermes electrodominicus*). *Experientia*, 1993, (49): 906-909.

3 Cano R J, Poinar H N, Pieniazek N J, et al. Amplification and sequencing of DNA from a 120-135-million-year-old weevil. *Nature*, 1993, (363): 536-538.

4 Krings M, Stone A, Schmitz W et al. Neanderthal DNA se-

quences and the origin of modern humans. *Cell*, 1997, (90): 19-30.

5 Oota H, Saitou N, Matsushita T et al. A Genetic study of 2000-year-old human remains from Japan using mitochondrial DNA sequences. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 1995, (96): 133-145.

6 Ovchinnikov I V, Gotherstrom A, Romanova G P et al. Molecular analysis of Neanderthal DNA from the northern Caucasus. *Nature*, 2000, (404): 490-493.

7 Oota H, Saitou N, Matsushita T et al. Molecular genetic analysis of remains of a 2000-year-old human population in China - and its relevance for the origin of the modern Japanese population. *Am. J. Hum. Genet.*, 1999, (64): 250-258.

8 Anderson S, Bankier A T, Barrell B G et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 1981, (290): 457-465.

Ancient DNA: A Powerful Tool for Tracing Past

Wang Li

(Institute of Genetics and Developmental Biology, CAS, 100101 Beijing)

We have successfully studied ancient populations in Shandong Province. The result demonstrated an interesting model of spatiotemporal changes during the large span of history. Simultaneously, we are analyzing another population DNA sample of Shang Dynasty excavated from Yin ruins. It is expected to recur the genetic construction, the routes of migration and the delivery of civilizations of the people in the dynasty.

王 沥 女,中国科学院遗传与发育生物学研究所研究员。1962 年 5 月生。1983 年毕业于中国科技大学生物系。1987-1989 年任美国迈阿密大学助理研究员。1992-1995 年获东京大学硕士和博士学位。1995-1998 年为日本红十字血液中心及日本学术振兴会博士后研究员。1996-1998 年任东京大学研究员。主要从事分子免疫学及进化学研究,首次发现血小板特异抗原及膜糖蛋白与免疫疾病的分子病理机制。首次建立 GVHD 病的分子生物学诊断法并发现相关 T-细胞受体基因。获日本优秀学术成果奖。1998 年入选中国科学院“百人计划”。