

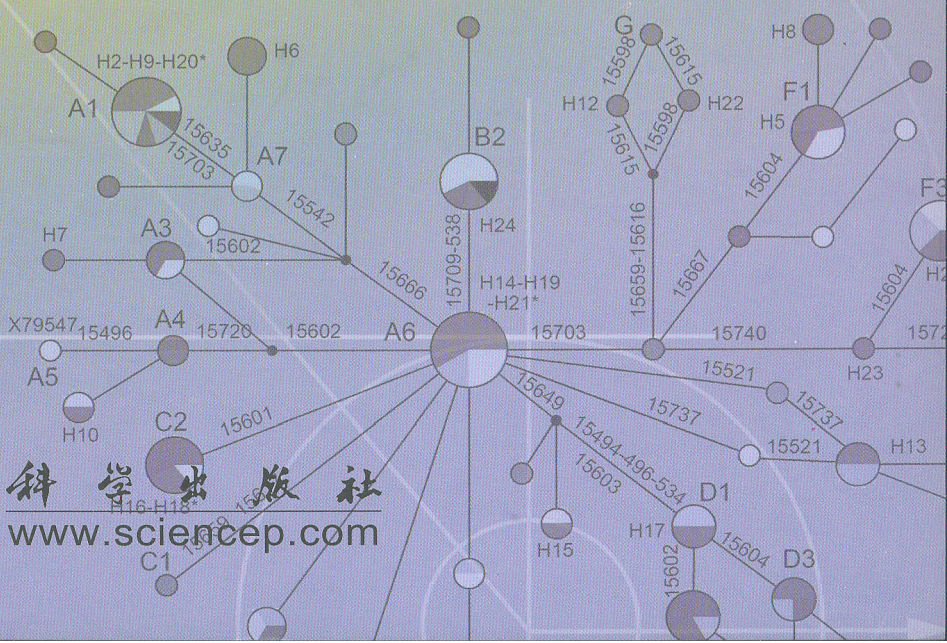
# 分子考古学导论

蔡大伟 主编



科学出版社

www.sciencep.com





# 分子考古学导论

蔡大伟 主编

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

本书是我国分子考古领域的第一部基础性读物，它系统地介绍了分子考古学的基本概念、理论原理、研究方法以及国内外的主要研究方向和进展。

本书适合作为考古学、博物馆学本科生、研究生的必修课教材，同时，也可以作为分子进化和古生物专业研究人员的参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

---

分子考古学导论 / 蔡大伟主编. —北京: 科学出版社, 2009

ISBN 978-7-03-023404-9

I. 分… II. 蔡… III. 分子-考古学 IV. K85

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 178069 号

---

责任编辑: 宋小军 席 慧 / 责任校对: 李奕莹

责任印制: 赵德静 / 封面设计: 王 浩

**科 学 出 版 社** 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2008 年 12 月 第 一 版 开本: B5 (720 × 1000)

2008 年 12 月 第一次印刷 印张: 16 1/2

印数: 1—2 500 字数: 360 000

**定价: 48.00 元**

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈科印〉)

## 《分子考古学导论》编委会名单

主编 蔡大伟

编者 周 慧 崔银秋 王海晶

许 月 张小雷

本书的编写获国家基础科学人才培养基金特殊学  
科点项目（批准号：**J0530184**）资助

## 主编简介



蔡大伟，1969年11月出生于长春。2007年毕业于吉林大学生命科学学院，获理学博士学位，于当年留在吉林大学边疆考古研究中心任教，主讲“分子考古学”课程，现为吉林大学历史学博士后流动站博士后。多年来一直从事分子考古研究，参与多个国家级重大项目的研究工作，先后发表文章十余篇，其中在SCI收录的刊物上发表论文5篇，近期的主要研究方向是中国古代家养动物的起源研究，先后对中国多个遗址出土的绵羊和马遗骸进行了古DNA分析，从分子水平上揭示了中国绵羊以及家马的起源，为探索古代社会的经济结构以及人群的迁徙提供了分子生物学证据。

## 前 言

《分子考古学导论》是在我国古 DNA 研究开创者之一吉林大学边疆考古研究中心古 DNA 实验室周慧、朱泓教授的扶植、鼓励下，在吉林大学边疆考古研究中心、生命科学学院众多老师、同事的关心、帮助下完成的。特别是周慧先生，我的硕士、博士研究生导师，建议由我这个古 DNA 研究领域的新兵主编这本书，充分体现了她提携后辈的无私精神；吉林大学边疆考古研究中心主任朱泓先生十分关心分子考古学的学科建设与发展，在本书撰写过程中给予了无私的指导和宝贵的建议。在此，我表示深深的敬意和感谢。

从世界范围看，现代考古学已逐渐演变成一个以人文科学研究为目的，包含大量自然科学方法的交叉性学科。20 世纪 80 年代，随着分子生物学技术飞速发展，尤其是 PCR 扩增技术的出现以及对古 DNA 研究的深入，考古学家和分子生物学家将以古 DNA 研究为主导的现代分子生物学引入传统考古学研究领域，并逐渐形成了新兴的考古学分支学科——分子考古学。

1998 年，吉林大学生命科学学院与考古系合作成立了国内第一个考古 DNA 实验室，随后承担了多个国家重大项目。近十年来一直从事古 DNA 研究工作，研究范围也由最初的古代人类扩展到古代动植物，本人有幸见证并参与了整个过程的研究。多年的研究使实验室的老师和研究生们对古 DNA 研究的理论、方法及其在考古学中的应用有了深刻的认识，积累了丰富的资料，这也是本书的基础。本书是我国该领域的第一部基础性读物，它系统地介绍了分子考古学的基本概念、理论原理、研究方法以及国内外的主要研究方向和进展，适合作为考古学、博物馆学本科生、研究生的必修课教材，同时，也可以作为分子进化和古生物专业研究人员的参考书。

本书的编写是集体智慧的结晶，周慧老师负责编写第一篇生物学基础以及书稿的审阅，王海晶老师负责第二篇第 5 章、许月老师负责第二篇第 7 章的编写工作，张小雷硕士负责第三篇第 10 章部分内容的编写工作，崔银秋老师在本书写作过程中提供了大量的研究成果，并提出了宝贵的意见。本书的其余章节和参考文献的整理均由本人完成，本书中的部分图片和内容引自互联网，很多是网上转帖的内容，实难确定作者或出处，故在本书中没有标注，请相关作者海涵。本书还参考了本实验室已经毕业的博士于长春、段然慧、付玉芹、谢承志等的博士论文中的内容，在此一并表示感谢。

分子考古学进入我国才十余年的时间，是一个非常新的交叉学科，也是一个非常有潜力的学科，这一年轻的学科要健康、稳定、快速地向发展，离不开后备人才的培养。相信这本书的出版，会使越来越多的人认识分子考古、喜爱分子考古、投身于分子考古领域，这也是本书所要达到的目的。本书的出版，有利于分子考古研究方法和水平的提高，对传统考古研究领域的深化以及多学科研究的整合都将起到积极的推动作用。

由于编者水平有限，书中难免有一些错误，敬请广大读者批评指正。

蔡大伟

吉林大学边疆考古研究中心

2008年8月18日



# 目 录

## 前言

绪论 .....	(1)
一、什么是分子考古学? .....	(1)
二、分子考古的主要研究内容 .....	(1)
1. 研究人类的起源与迁徙 .....	(1)
2. 古代动植物的驯化 .....	(2)
3. 古人的个体识别、群体遗传关系及族属鉴定 .....	(2)
4. 古人与生活环境的关系 .....	(3)
5. 古病理研究 .....	(4)
三、分子考古学理论基础与研究方法 .....	(4)
四、什么是古 DNA, 有何特点? .....	(6)
五、古 DNA 分子保存年限 .....	(9)
六、古代 DNA 研究的历史与现状 .....	(12)

## 第一篇 生物学基础

第 1 章 生物大分子 .....	(21)
1.1 蛋白质 .....	(21)
1.1.1 肽键 .....	(23)
1.1.2 蛋白质的结构与功能 .....	(23)
1.1.3 同源蛋白质 .....	(24)
1.2 核酸 .....	(25)
1.2.1 碱基、核苷、核苷酸 .....	(26)
1.2.2 核酸的紫外吸收 .....	(30)
1.2.3 核酸的变性、复性与杂交 .....	(30)
第 2 章 基因与基因组 .....	(32)
2.1 基因的定义 .....	(33)
2.2 基因组定义 .....	(33)
2.3 半保留半不连续复制机制 .....	(33)
2.4 基因的突变、损伤与修复 .....	(34)
2.5 基因重组 .....	(35)

---

2.6	基因转录 .....	(35)
2.7	遗传密码 .....	(36)
2.8	蛋白质的生物合成 .....	(38)
<b>第3章</b>	<b>基因组演化与物种分类 .....</b>	<b>(40)</b>
3.1	细胞的形成 .....	(40)
3.2	从单细胞生物到多细胞生物 .....	(42)
3.3	病毒基因组 .....	(42)
3.4	原核生物染色体结构 .....	(43)
3.5	真核生物的染色体结构 .....	(44)
3.6	人类基因组 .....	(45)
3.7	基因组进化模式 .....	(46)
3.8	物种的分类 .....	(49)
3.9	分子系统树 .....	(50)
<b>第4章</b>	<b>遗传多态性标记 .....</b>	<b>(52)</b>
4.1	遗传多态性标记的分类 .....	(52)
4.1.1	形态、生理标记 .....	(52)
4.1.2	染色体标记 .....	(53)
4.1.3	血型 and 蛋白质标记 .....	(53)
4.1.4	DNA 标记 .....	(53)
4.2	DNA 多态性研究 .....	(53)
4.2.1	DNA 多态性形成机制 .....	(53)
4.2.2	DNA 标记的分类 .....	(54)
4.2.3	人类 DNA 多态性研究的历史和现状 .....	(56)
4.3	mtDNA 遗传多态性标记 .....	(57)
4.3.1	mtDNA 遗传系统的特点 .....	(59)
4.3.2	mtDNA 多态性检测方法 .....	(59)
4.3.3	mtDNA 多态性研究在人类进化上的应用 .....	(60)
4.3.3.1	非洲人群的迁移和 mtDNA 变异 .....	(61)
4.3.3.2	欧洲人群的迁移和 mtDNA 变异 .....	(63)
4.3.3.3	亚洲人群的迁移和 mtDNA 变异 .....	(64)
4.4	Y 染色体遗传标记 .....	(67)
4.4.1	Y 染色体结构 .....	(67)
4.4.2	Y 染色体遗传系统的特点 .....	(68)
4.4.3	Y 染色体变异形式 .....	(69)
4.4.4	Y 染色体多态性检测方法 .....	(70)
4.4.5	单核苷酸多态位点变异在人类进化中的应用 .....	(70)

## 第二篇 古 DNA 应用实例

第 5 章 人类古 DNA 研究应用 .....	(85)
5.1 古 DNA 在人类起源研究中的应用 .....	(85)
5.2 古 DNA 在人群水平上的应用 .....	(98)
5.2.1 欧洲人群研究 .....	(98)
5.2.2 新疆地区人群研究 .....	(99)
5.2.3 中国北方地区古代人群研究 .....	(101)
5.3 古 DNA 在家庭或家族水平的应用 .....	(103)
5.4 古 DNA 在个体水平的应用 .....	(104)
5.4.1 性别鉴定 .....	(104)
5.4.2 个体身份识别 .....	(105)
5.5 古 DNA 在古病理学的应用 .....	(110)
第 6 章 古 DNA 与家养动物起源研究 .....	(116)
6.1 家养动物起源研究的研究方法 .....	(116)
6.1.1 考古调查 .....	(116)
6.1.2 分子生物学分析 .....	(118)
6.2 家猪的起源研究 .....	(118)
6.3 狗的起源研究 .....	(121)
6.4 黄牛的起源研究 .....	(122)
6.5 绵羊的起源研究 .....	(126)
6.6 山羊的起源研究 .....	(128)
6.7 家马的起源研究 .....	(131)
第 7 章 植物古 DNA 研究应用 .....	(138)
7.1 小麦古 DNA 研究应用 .....	(138)
7.2 玉米古 DNA 研究应用 .....	(140)
7.3 稻古 DNA 研究应用 .....	(141)
7.4 高粱古 DNA 研究应用 .....	(142)
7.5 其他植物遗存古 DNA 研究应用 .....	(142)
7.6 植物化石古 DNA 研究应用 .....	(143)
7.7 冰芯中植物古 DNA 研究应用 .....	(146)

## 第三篇 古 DNA 的研究方法

第 8 章 古 DNA 研究流程 .....	(153)
8.1 古 DNA 实验技术流程 .....	(153)
8.1.1 考古发掘人员样本采集 .....	(153)

---

8.1.2	样本评估 .....	(154)
8.1.3	样本处理 .....	(156)
8.1.4	DNA 提取 .....	(157)
8.1.5	PCR 扩增 .....	(158)
8.1.5.1	PCR 技术的基本原理 .....	(158)
8.1.5.2	PCR 反应 5 要素 .....	(160)
8.1.5.3	PCR 系统中的其他成分 .....	(161)
8.1.5.4	PCR 反应参数 .....	(162)
8.1.6	PCR 产物检测 .....	(163)
8.1.7	PCR 产物纯化 .....	(165)
8.1.8	测序 .....	(166)
8.2	古 DNA 序列的真实性 .....	(168)
8.2.1	污染来源 .....	(169)
8.2.2	污染的控制 .....	(170)
8.2.3	污染的识别 .....	(172)
8.2.4	甄别古 DNA 的标准 .....	(172)
8.3	古 DNA 研究中的新进展 .....	(173)
8.3.1	荧光实时定量 PCR .....	(174)
8.3.2	扩增产物长度多态性 .....	(174)
8.3.3	嘧啶 N 糖基化酶 .....	(175)
8.3.4	焦磷酸测序技术 .....	(176)
8.3.5	多重 PCR .....	(177)
<b>第 9 章</b>	<b>古 DNA 数据分析 .....</b>	<b>(181)</b>
9.1	系统发育分析 .....	(181)
9.1.1	系统发育树 .....	(181)
9.1.2	序列比对与排序 .....	(184)
9.1.3	系统发育树的重建 .....	(184)
9.1.3.1	距离法 .....	(185)
9.1.3.2	简约法 .....	(188)
9.1.3.3	似然法 .....	(189)
9.1.3.4	进化树搜索 .....	(190)
9.1.3.5	系统树树根的确定 .....	(191)
9.1.3.6	其他构树方法 .....	(191)
9.1.3.7	不同构树方法的评估和比较 .....	(192)
9.1.3.8	系统发育树的检验 .....	(194)

---

9.2	遗传多维尺度分析	(195)
9.3	主成分分析	(196)
9.4	群体遗传学分析	(197)
9.4.1	群体遗传多样性指数分析	(197)
9.4.2	核苷酸配对差异分析与中性检验	(198)
9.4.3	分子差异分析	(198)
9.4.4	基因混合度计算	(199)
<b>第 10 章</b>	<b>古 DNA 研究常用软件</b>	<b>(202)</b>
10.1	引物设计	(202)
10.1.1	引物设计原则	(202)
10.1.2	Primer Premier 软件	(203)
10.2	从测序图谱到 DNA 序列——Chromas 软件的应用	(206)
10.2.1	文件输入及导出	(207)
10.2.2	图谱的编辑及序列查找	(207)
10.3	序列检索	(208)
10.3.1	相似性检索	(209)
10.3.2	相关序列的下载	(210)
10.4	DNA 序列的比对及排序——Clustal 软件的应用	(214)
10.4.1	序列输入	(214)
10.4.2	编辑比对序列	(214)
10.4.3	多重序列比对	(215)
10.4.4	构建系统树	(216)
10.5	分子系统树的构建及检验与 Phylip 软件包的使用	(216)
10.5.1	Phylip 软件包输入数据的格式	(218)
10.5.2	用 Phylip 软件包构建系统发育树	(219)
10.6	Mega 软件包在分子系统学中的应用	(222)
10.6.1	Mega 数据的输入	(223)
10.6.2	数据文件的导入	(224)
10.6.3	序列特殊信息的浏览和输出	(224)
10.6.4	序列的分组	(226)
10.6.5	序列的组成成分统计	(226)
10.6.6	遗传距离的计算	(227)
10.6.7	系统发育树的构建及检验	(230)
10.6.8	多重序列比对	(232)

---

10.7	Arlequin 软件包在分子系统学中的应用·····	(233)
10.7.1	Arlequin 软件包输入数据的格式·····	(233)
10.7.2	Arlequin 软件包操作界面简介及数据输入·····	(233)
10.7.3	遗传多样性指数菜单·····	(235)
10.7.4	中性检验菜单·····	(237)
10.7.5	遗传结构分析菜单·····	(237)
10.8	Network 软件与中介网络图的构建·····	(238)
10.8.1	Network 软件输入数据及其格式·····	(239)
10.8.2	中介网络图的构建·····	(240)
10.8.3	绘制中介网络图·····	(241)
10.8.4	Network 软件操作技巧·····	(242)
10.9	SPSS 软件与遗传多维尺度分析及主成分分析·····	(242)
10.9.1	SPSS 数据输入·····	(243)
10.9.2	SPSS 与遗传多维尺度分析·····	(244)
10.9.3	SPSS 与主成分分析·····	(247)



# 绪 论

## 一、什么是分子考古学？

考古学是研究人类历史中有关人类及其活动的科学，新石器时期以来的生物和人类文明的研究都属考古学和历史学研究范畴。从世界范围看，现代考古学已逐渐演变成一个以人文科学研究为目的，包含大量自然科学方法的交叉性学科。20 世纪 80 年代，随着分子生物学技术飞速发展，尤其是 PCR 扩增技术的出现以及对古 DNA (ancient DNA) 研究的深入，考古学家和分子生物学家将以古 DNA 研究为主导的现代分子生物学引入传统考古学研究领域，并逐渐形成了新兴的考古学的分支学科——分子考古学 (molecular archaeology)。

分子考古学是指利用分子生物学技术，对出土的古代的任何可研究对象（包括人类、动物、植物以及微生物）进行分子水平上的考古研究。分子考古学的核心是古 DNA 研究，它利用现代分子生物学的手段提取和分析保存在古代人类和动植物遗骸 (remains) 中的古 DNA 分子去解决考古学问题。作为遗传信息的载体，古 DNA 分子能够准确地反映生物的结构特征以及生物种群的系统发生与演变规律，对解决人类的起源和迁徙，动植物的家养与驯化过程以及农业的起源和早期发展等重大考古学问题具有重要意义。

从研究的方法与手段来看，分子考古属于科技考古范畴；从所研究的对象和内容上来看，分子考古属于生物考古范畴。目前，分子考古学正在逐步走向成熟，并成为国际考古学界所普遍关注的焦点和前沿。

## 二、分子考古的主要研究内容

古代 DNA 技术从诞生之日起就被广泛用于人类学、考古学、古生态学、群体遗传学、动物系统学、植物系统学、保护生物学以及法医学等领域。下面简要介绍一下古 DNA 技术在考古学方面的应用情况。

### 1. 研究人类的起源与迁徙

应用分子生物学讨论现代人类的起源、演化、发展和迁徙已经对考古学的研究产生不可估量的影响。然而以往的分子进化研究主要是以现代生物的遗传信息为基础，通过对现代生物的遗传数据分析反推得以重建历史事件，并不是由直接观察历史记录进行研究的。现代生物的遗传信息仅仅为漫长的进化历史提供间接证据，从某种意义上来说，现代分子进化研究是受到时间束缚的 (time trapped)，

其结论可能会与现在古人类学及考古学的发现相矛盾，如果能够直接从古代人类标本中获取分子演化的证据，无疑对研究人类的进化和起源具有重要的意义。古代 DNA 提取和检测技术的建立，为解决上述问题打开了希望之门。通过对古 DNA 的研究，结合对现代人的 DNA 研究，我们可以从分子水平上追踪进化的轨迹，有效地捕捉进化过程中的细节。目前，最成功的例子是通过对尼安德特人的古 DNA 研究表明尼安德特人是人类进化过程中灭绝了的“旁支”，尼安德特人的基因对于现代人的基因库没有贡献，不是人类的直系祖先。

## 2. 古代动植物的驯化

在人类漫长的发展历程中，动物和植物的驯化是最重要的事件，家养动物为人类提供了来源稳定的动物蛋白质，是人类社会由散居、渔猎型向群居、农业型转变的重要基础和必然产物<sup>[1]</sup>。野生动物被驯化为家养动物后，其扩散是依赖于人类的迁移而实现的。因此，对家养动物起源的研究不仅具有其自身的意义，对于了解人类社会的发展也有重要的价值。目前，考古学家们采用多种方法和手段进行研究。以往人们只能研究动植物家养过程中的形态变异，而对产生这些形态变异的根源——遗传变异则不能直接观察和研究。基于古代 DNA 研究的分子遗传学在了解早期农业的发展方面具有很大的潜力，尤其在确定动植物的驯化和家养时间的确定方面作用更加突出。目前的研究主要集中于大型的家养动物，如绵羊、山羊、牛、马和猪等的起源研究，初步揭示了近东和东亚这两个独立的主要驯化中心。此外，科学家还通过对小麦、高粱、稻米以及玉米等农作物驯化过程的分析，了解早期农业社会的发展以及人类利用植物思路的变化。

史前人类进行动植物驯化，或通过迁徙把某地的动植物带到其他地域是不争的历史事实。因此，通过对考古学发现的动物区系内遗存的 DNA 进行分析，可以追踪史前人类的迁徙情况。Matisoo-Smith 和 Allen<sup>[2]</sup> 的研究表明，太平洋老鼠 (*Rattus exulans*) 是由第一批来太平洋岛屿的拓荒者带来的。通过分析这种横跨太平洋岛屿，与人类共生的物种的分子多态性，他们阐明了首批拓荒者的迁徙路径。

## 3. 古人的个体识别、群体遗传关系及族属鉴定

(1) 古 DNA 在个体水平上最简单的应用就是性别鉴定。性别是极其重要的一项个体指标，对于了解古代社会的劳动分工、埋葬习俗等都很有帮助。这一工作过去由传统体质人类学的骨骼形态分辨来完成，如对颅骨、上下颌骨、骨盆等具有性别差异部位的区分，但形态鉴定主要依靠经验，而且对骨骼数量、部位要求都较高，对未成年个体的性别判断不够准确，尤其是那些人类学标记不清晰，如仅仅有骨骼碎片或儿童的遗骸更是难以辨认。而分子生物学手段从决定性别的根本因素 DNA 入手，通过扩增细胞核 DNA 中具有性别多态性的基因片段来鉴别，显然科学得多。此外，还可以对家系内部个体的身份进行血缘识别。古代社会的人们往往聚族而居，死后经常埋葬在一起。在考古研究中，通过对家系内母

系、父系血缘世系的确立以及特殊家庭之间关系的了解,可以分析当时的社会结构、婚嫁模式乃至史前社会的丧葬习俗等考古学问题。以往我们只能通过观察不同个体的墓志铭、埋葬位置、陪葬方式和形制来探讨不同个体间的亲缘关系,在相关细节缺乏时很难准确地进行个体身份的识别。通过分析不同个体的线粒体DNA(mtDNA)和Y染色体DNA(Y-DNA),我们很容易弄清他们的母系和父系血缘关系。

(2)对古人的群体研究主要目的是重建古代人群的遗传结构、进化过程及迁移模式。一个人群的遗传学变化是从它的祖先人群继承下来的,因此,现代人群与其祖先人群具有相似的遗传标记频率。此外,某些遗传标记在不同人群间是呈特征性分布的,这样的遗传标记可作为两个人群间亲缘关系的指示性标记。在能大量获得古人类个体的前提下,史前的人口迁徙情况、人群的连续性发展和人群代替问题,可以用古DNA技术分析说明<sup>[3]</sup>。

首先,在一个较小而确定的地域范围内,古DNA技术可以分析人群连续性和人群替代等问题。其次,在较为广泛的地域范围里,用古DNA技术可以研究在大洲范围内的人群迁徙。例如,Haak等<sup>[4]</sup>通过对7500年前的欧洲农民的遗传结构进行分析证明,新石器时期第一批由近东地区扩散到欧洲的农民对现代欧洲人的遗传影响非常有限,其影响力仅限于农业技术的传播,这为现代欧洲人起源于旧石器时期的猎户采集人提供了佐证。

(3)在考古学文化的研究中,族属鉴定是考古中重要的一环,以往考古学家只能通过考古学文化内涵、文献记载以及民族史的成果进行推测,缺少比较确切的科学依据,古DNA能够提供直接的遗传证据,为相关的考古学文化的渊源和流向、族属以及古代和现代民族的关系提供重要的信息。例如,汪古部是金元时期蒙古草原上的重要部落之一,在中国历史上,这一部落对元朝的建立和中国的统一曾经起了重要的作用。然而,关于汪古部的族源历来有不同的观点,主要有汪古属于突厥族和汪古属于蒙古族等说法。付玉芹等<sup>[5]</sup>对汪古部的遗传结构进行了分析,结果表明汪古部的遗传结构十分复杂,其母系既含有亚洲谱系成分,又包含了欧洲谱系成分。同时发现这个古代部落与现在说突厥语族的乌兹别克族和维吾尔族人的亲缘关系最近,支持了汪古部的突厥起源说。

#### 4. 古人与生活环境的关系

对远古人类生活环境的重建是史前考古学家研究的课题之一。通过对史前人们居住的生态系统的重建,可以了解当时古人的生存适应情况,包括食物获取行为、季节性迁徙行为以及动植物的驯养行为等。过去主要用确认动植物群落、动物区系遗存的方法进行环境重建,用某些物种优选的栖息地推断局部环境的生态状况。因此,对动植物遗存进行准确的确认在环境重建方面是至关重要的。然而,在一些考古遗址中常见的一些形态不清的或有争议的动植物残骸的物种确认

经常是不准确的<sup>[6]</sup>。

此外，遗传学上有密切联系但形态学上明显不同的物种，其生存环境往往也是不同的。在这种情况下，用古 DNA 技术对考古学遗存进行物种的准确分类，对重建局部生态环境是必不可少的。Barnes 等<sup>[7]</sup>对 Lincolnshire 两个考古学位点的 6 个鹅种，进行了 DNA 依赖的物种确认，结果表明，当时的盎格鲁撒克逊人（Anglo-Saxon，7~12 世纪）既从事猎禽活动，也从事野生鸟的驯化管理。Kahila 等<sup>[8]</sup>对前陶器时代（距今 9500~8000 年）和陶器时代（距今 7500~5500 年）的一些山羊骨骼进行了形态学分析，认为前陶器时代的山羊属于正处于驯化前期的野生种，而陶器时代的山羊则明显属于驯化山羊（*Capra hircus*）。通过古 DNA 分析得到了与形态学分析相同的结果，并通过古 DNA 研究成功区别开了山羊的两个野生种——牛黄山羊（*Bezoar goat*）和努比亚野生山羊（*Nubian ibex*），这一点通过目前形态学手段是无法做到的，体现了古 DNA 的优越性。

此外，通过分析古人类粪便中残留的 DNA，可以揭示当时古人类食物中的动物、植物的种类，间接复原当时的生活环境和食物获取方式。分析古土壤中的植物 DNA 也可以重建当时的生活环境，Willerslev 等<sup>[9]</sup>先后在西伯利亚冰原和南极格陵兰岛地下深层土壤中获取植物叶绿体 DNA 的片段并且鉴定出了多种植物，复原了几十万年前当地的生态环境。

### 5. 古病理研究

通过对古代样本微生物的调查，人类学家、考古学家可以推断某些物种灭绝的原因。极地永冻地带发现的某些种类的大型哺乳动物样本，为开创这方面的研究创造了条件；古代埃及木乃伊，不但可以用来分析新石器时代以来的埃及人群的基因频率多态性，也可以用来研究古代疾病的进化历史。鉴定古人遗骸中的病原微生物，如对流感病毒、结核分枝杆菌以及麻风病的研究，为古代传染病及其传播方式、影响范围以及病原体与宿主之间相互作用的研究，开创了一条新途径。根据上文的描述，我们从人类资源古 DNA 和非人类资源古 DNA 两方面，对其在考古学中的应用进行了总结（表 1），请读者进一步参考。

## 三、分子考古学理论基础与研究方法

传统考古学的理论基础是地层学和类型学，分子考古学的理论基础是分子系统学（molecular phylogenetics）和群体遗传学（population genetics）。

分子系统学是由物种分类的传统方法衍生而来的。18 世纪，林奈（Linnaeus）根据已知的生物体在形态结构上的差异，把生物归入不同的类别，为生物多样性的描述和分类奠定了基础，林奈这一系统因其严谨性、科学性而很快得到公认，并被进化学家拉马克、达尔文、海克尔所采用。1860 年，海克尔提出了系统发生（phylogeny）这一概念。系统发生研究的主要任务是探讨物种之间的历史

表1 古 DNA 在考古学中的总体应用情况

古 DNA 资源	应用领域	解决问题的范围	具体内容
人类资源应用	个体识别	性别鉴定	分析婚姻和丧葬习俗、不同性别的差别、死亡率，进而分析当时的社会状况
		母系和父系 血缘追踪	分析当时的社会结构、个体的社会地位、婚嫁模式以及丧葬习俗和迁徙等
	群体遗传关系 (含族属鉴定)	种群连续性和 种群替代	分析群体历史遗传结构的变化规律，追踪史前人群的进化和迁徙，分析具有相同/不同形态结构、文化特征的古代人群之间以及古代人群与现代人群之间的祖先与后裔关系
	人类起源与进化	整个现代人类以及其他古人类	不同地区人类的进化模式及其起源，如东亚人群、欧洲人群的起源问题
非人类资源应用	动植物资源	动植物遗骸 种属鉴定	分析狩猎方式、食物结构、环境重建
		种群连续性和 种群替代	分析动植物群体历史遗传结构的变化，揭示其起源与驯养的历史及其与农业起源的密切关系
	微生物资源	古病理	探寻史前和有史记载的疾病历史和模式

渊源以及物种之间的亲缘关系。早期的研究主要集中于物种、物种形成和地理变异而不是生物发生。20世纪50年代开始，免疫学方法和蛋白质电泳开始用来比较亲缘关系接近的物种及同一物种不同成员的变化。70年代以后，随着分子生物学的发展，生物大分子在系统进化研究上的作用越来越重要，核酸（DNA或RNA）、蛋白质和染色体都可作为遗传标记，来解释种群的遗传结构和分类群间的关系，而这些大分子的研究产生了许多可比较的数据基础，提供了洞察分子本身进化的可能，同时这些分子含有大量的有效遗传信息，由此而产生了分子系统学。

分子系统学的研究首先是通过现代分子生物学技术，获得物种特定遗传标记的大量数据，然后把这些数据进行相关的数学分析而对研究结果进行解释和说明。近几年随着测序技术的推广、普及和自动测序技术的发展，DNA已经成为分子系统学研究的主要遗传标记，常用的分析方法有DNA杂交、串联重复序列数目变异、单链构象多态性、变性梯度凝胶电泳、限制性片段长度多态性、随机扩增多态性DNA、测序和克隆。在得到遗传标记的大量数据后，必须对它们进行系统发育分析，从中得出遗传信息，来构建系统进化树，用以描述所研究的生物间的进化关系。

群体遗传学是古DNA研究的另一块基石。群体是指一群可以相互交配的个体。群体遗传学主要研究群体的遗传结构及其变化规律，是一门定量地研究生物进化机制的遗传学分支学科。群体遗传学起源于英国数学家哈代（Hardy）和德

国医学家温伯格 (Weinberg) 于 1908 年提出的遗传平衡定律 (law of genetic equilibrium), 也称为哈代-温伯格定律。以后, 英国数学家费希尔 (Fisher)、遗传学家霍尔丹 (J. B. S. Haldane) 和美国遗传学家赖特 (S. Wright) 等又做出了重大贡献, 使群体遗传学成为一门独立的学科。

遗传平衡定律认为, 如果一个群体无限大, 群体内的个体随机交配, 没有突变和选择压力发生, 则群体中各种基因型的比例可以逐代保持不变。事实上, 这种情况在自然界中尤其是人类社会中是不可能存在的, 基因型的频率肯定是变化的。基因突变、自然选择、遗传漂变和群体迁移是造成基因频率变化的主要因素。基因突变是指基因发生突变, 突变基因在群体中固定 (fixed) 下来需要很长时间。自然选择即环境对变异的选择, 即保存有利变异和淘汰不利变异的过程。选择的实质是定向地改变群体的基因频率。遗传漂变 (random genetic drift) 是指由于群体较小和偶然事件造成基因频率随机波动的现象。当一个新的群体只是由几个个体建立起来时, 就会发生遗传漂变的极端情况, 称为奠基者效应 (founder effect)。迁移是指含有某种基因的个体从一个地区迁移到另一个地区的机会不均等, 而导致基因频率发生改变。群体遗传学就是应用数学和统计学的方法研究群体中基因频率和基因型频率的变化, 以及影响这些变化的选择效应和突变作用, 还研究了群体迁移和遗传漂变与遗传结构的关系, 由此来探讨生物进化的机制。

分子考古学的研究方法是利用分子生物学技术从古代生物遗骸中提取出 DNA, 获取古 DNA 序列, 然后运用分子系统学和群体遗传学的分析方法, 对数据进行分析, 以解决考古学问题。

古代 DNA 研究的一般实验技术路线包括样本的采集、保存质量评估、去污染处理、DNA 提取、PCR 扩增、PCR 产物的测序和数据的真实性检验等步骤, 通过上述步骤, 我们能够获得真实可靠的古 DNA 序列。随后利用系统发育分析和群体遗传学方法对古 DNA 数据进行分析处理, 系统发育分析主要是通过构建 DNA 系统发育树揭示古代群体和现代群体的关系, 从分子水平上探讨群体进化的规律。群体遗传学分析通过分析过去群体的遗传结构, 推断群体的扩张模式、历史动态, 推算群体起源、分歧的大致时间以及群体的进化速率、基因混合程度、甄别古 DNA 序列等, 并可以给出统计学上的量化结果。

#### 四、什么是古 DNA, 有何特点?

古 DNA (ancient DNA) 是指残存在古代生物遗骸中的遗传物质——脱氧核糖核酸 (DNA)。对古生物体中残存的 DNA 进行研究, 能够揭示远古时期不为人知的生态、环境、社会的发展。古 DNA 研究的资源是比较丰富的, 化石、亚化石、博物馆收藏标本、考古标本、法医学标本都可以作为古 DNA 研究的材料。根据标本的物理特性, 古 DNA 研究材料可分为软组织 (包括毛发)、硬组织和化



石。在特定环境下（永冻地带或干燥的沙漠）得以较好保存的软组织，包括人或动物古尸的肌肉、皮肤、脑、内脏和毛发等都是古 DNA 研究中难得的材料，而且是最容易成功提取古 DNA 的，如埃及的木乃伊、德国和法国边界发现的距今 5000 多年的“雪人”（图 1）、博物馆馆藏干尸标本等。所谓硬组织是指骨、牙齿等材料，它们来源广泛，种类和数量较多，是古代 DNA 研究中最常见的材料，也是古 DNA 研究的主要对象。人骨和牙齿结构较为稳定，经过长期埋藏，其骨细胞内仍能含有一定数量的 DNA 片段。但对化石而言，在现有技术条件下，绝大多数化石还不能成为古代 DNA 研究的材料。



图 1 古人类样本

A. 新疆木乃伊（引自 [www.photobase.cn](http://www.photobase.cn)）；B. 冰人“奥茨”（引自 <http://rosedale.lkdsb.net/otzi.htm>）

经过长期的保存，古 DNA 具有含量极低、高度降解、广泛损伤的特点。Handt 等<sup>[10,11]</sup>用竞争性 PCR 方法定量分析古 DNA 的含量（以可经 PCR 扩增的模板 DNA 的分子数表示），根据他们的研究，在保存状态较好的情况下，每毫克古代样品中约含 2000 个长约 100bp 的 mtDNA 分子，比新鲜组织中的含量少 6 个数量级以上。而保存状态一般的样品中，古 DNA 的含量更低，仅为每毫克组织 10~40 个分子。一般而言，生物遗体中的古 DNA 分子已经降解成短的片段，长度仅为 100~500bp。

现代 DNA 具有正常的 DNA 结构，它包括两个缠绕在一起形成双螺旋结构的核苷酸长链，互补碱基腺嘌呤（A）与胸腺嘧啶（T）、胞嘧啶（C）与鸟嘌呤（G）之间的氢键连接。在活细胞中，DNA 分子的损伤会通过修复系统快速而有效地自我修复。而当生物死亡之后，由于自身的修复机制停止作用<sup>[21]</sup>，在体内核酸酶、外界环境以及土壤微生物的共同作用下，DNA 分子迅速降解并遭到严重的损伤，随着时间的推移逐渐积累，最终导致古 DNA 完整性的丧失。

古 DNA 损伤包括断链损伤、氧化损伤、DNA 交联和水解损伤四个方面，其中水解损伤和氧化损伤是古 DNA 损伤的主要因素，二者均可引起古 DNA 分子含氮碱基发生脱氨基、脱嘌呤以及脱嘧啶等变化，进而造成 DNA 分子的断裂。

水解主要破坏碱基与糖环相连接的 *N*-糖苷键以及连接磷酸糖骨架的磷酸二酯键，此外，酸、碱催化作用都可导致碱基本身水解脱去氨基，如胞嘧啶脱氨基形成尿嘧啶，腺嘌呤脱氨基形成次黄嘌呤（图 2）。水解作用导致 DNA 含量减少、片段变短以及编码潜能改变。

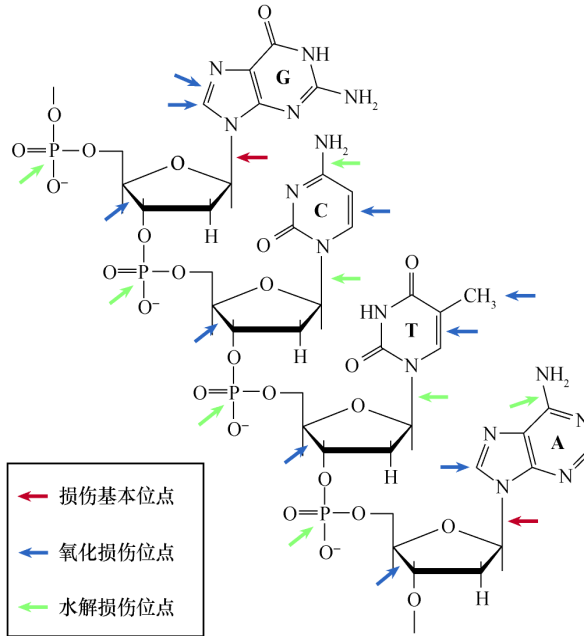


图 2 DNA 的易损伤位点<sup>[12]</sup>

氧化作用则对碱基和磷酸糖骨架本身具有破坏作用，氧化损伤可以是电离辐射直接造成的，也可能是由电离辐射所引发的各种自由基所造成的。嘌呤和嘧啶的双键是氧化损伤所发生的主要部位，脱氧核糖环的化学键也是氧化损伤的易发部位（图 2）。氧化损伤引起的碱基、糖-磷酸骨架结构的改变以及碱基修饰作用，在 PCR 反应中会严重阻碍 *Taq* 酶对 DNA 链的延伸作用，例如，由碱基 C、T 氧化产生的乙内酰脲能关闭 DNA 聚合酶的活性，抑制 PCR，C 脱氨基则可导致 PCR 过程中不正确碱基的插入等。

除了水解和氧化损伤以外，古 DNA 还面临着断链损伤和 DNA 交联。断链损伤可以分为内源性的酶促降解以及非酶解磷酸二酯键的断裂两个方面，它们是导致古 DNA 片段变短的重要原因。DNA 交联在 PCR 扩增过程中也会严重阻碍 *Taq* 酶作用的发挥。此外，其他诸如 UV 照射、烷基化作用以及一些细菌等微生物所

释放的酶类也对古代样本中的 DNA 有损伤作用。表 2 列出了 DNA 的损伤类型和 PCR 解决方案。

表 2 古代 DNA 损伤类型总揽及 PCR 解决方案<sup>[13]</sup>

损伤类型	发生过程	对 DNA 影响	解决方案
断链损伤	微生物降解	DNA 总量减少	套叠引物 PCR 扩增 (片段叠加)
	内源核酸酶降解	片段变短	
	其他化学过程		
氧化损伤	碱基损伤	碱基的片段化	套叠引物 PCR 扩增 (片段叠加)
	脱氧核糖残基损伤	糖环的片段化	
		核苷酸修饰	多个独立的 PCR 扩增; 多克隆测序
DNA 交联	DNA 内; DNA 和其他生物分子 (如蛋白质分子)	Mailard 产物	PTB ( <i>N</i> -苯酰甲噻唑溴, <i>N</i> -phenacyl thiazolium bromide)
水解损伤	氨基丢失: A→I; C→U;	编码潜能改变	多个独立的 PCR 扩增; 多克隆测序
	5' 甲基化: C→T; G→X		

## 五、古 DNA 分子保存年限

古 DNA 分子的保存年限, 一直是科学家关注的问题。Willerslev 等<sup>[13]</sup>曾经做过古 DNA 的保存年限的统计。如图 3 所示, 截止到 2004 年末, 已报道的一些最古老的古 DNA 都是从永冻地带的样本中获得的, 包括 5 万年前的猛犸象 mtDNA<sup>[14]</sup>、6.5 万年前的美洲野牛 mtDNA<sup>[15]</sup> 以及 30 万~40 万年前的植物叶绿体 DNA (chloroplast DNA, cpDNA) 和 4 万~6 万年前的细菌序列<sup>[16,17]</sup>。

Lindahl 等<sup>[18]</sup>以纯化的 DNA 水溶液为实验材料对 DNA 的降解进行模拟分析, 实验测得在 70℃, pH 7.0 条件下 DNA 衰减速率为  $4 \times 10^{-9}$  bp/s, 进而估计古 DNA 的最大保存年限为 10 万年。然而在现实中, 古 DNA 的降解是受到多方因素所控制的, 并不是简单的实验室模拟就能准确地推断出古 DNA 的保存年限。Pääbo<sup>[19]</sup>通过对古代遗骸中残存的 DNA 分子的研究, 提出 DNA 的损伤速度并不与时间呈正比关系, DNA 降解的速度在死亡后一段时间里最快, 随后很快下降并保持相对稳定的状态, 这就是 DNA 降解的“平台效应”。相似的降解方式在其他古分子如氨基酸、可溶性肽中也有发现。Li 等<sup>[20]</sup>发现在特殊条件下 DNA 水溶液与生物组织的降解速率差异明显, 根据 DNA 水溶液的降解速率来推算古 DNA 的保存年限并不准确。这些研究表明古 DNA 的降解速度受许多因素影响, 与埋藏环境的温度、湿度、pH 和离子强度、土壤特性、微生物及组织分解产生的有机物 (如腐殖酸、棕黄酸) 等密切相等 (表 3)。



表 3 影响古 DNA 的因素及结果<sup>[21]</sup>

因素	结果及结论
温度	低温 (0℃ 以下最好) 可降低水解反应、氧化反应的速率, 阻碍微生物的生长, 有利于古 DNA 的保存
湿度	游离水分是水解反应及氧化反应的必要条件, 湿度较低且恒定的条件利于古 DNA 的保存
酸碱性和	强酸或强碱性条件均导致 DNA 降解或骨骼组织的破坏, 中性或弱碱性环境有利于古 DNA 的保存
微生物	微生物及其代谢活动可完全破坏 DNA, 干燥、低温环境可抑制微生物活性, 有利于古 DNA 保存
UV 辐射或放射性同位素	UV 辐射只破坏样品表面 DNA, 但可激活氧离子, 加速 DNA 氧化过程代谢气体的形成及软组织破坏, 可加速微生物的破坏作用, 深度埋藏将大大减弱辐射作用, 有利于古 DNA 的保存

一般来说, 恒定低温的环境对古 DNA 的长期保存起着关键作用。Barnes 等<sup>[22]</sup> 和 Lambert 等<sup>[23]</sup> 的研究证明, 从全新世、更新世永冻地带保存的骨样本中可以扩增出长度为 900 ~ 1000bp 的古 DNA。原因在于在寒冷的埋藏环境下, 土壤冻结或冰的形成过程产生封闭作用, 可以隔离埋藏生物遗体 DNA 与氧气的接触, 抑制其氧化分解。由于液态水含量极大地减少和冰胶结作用, 主要依赖于液态水而发生的生物大分子的化学分解以及生物降解反应减慢, 有机体在成岩过程中没有降解和水解, 从而使古 DNA 分子得以较好的保存<sup>[24]</sup>。

目前, 已报道的一些最古老的 DNA 都是从永冻地带的样本中获得的。2003 年, 丹麦哥本哈根大学的分子生物学家 Eske Willerslev 等<sup>[16]</sup> 在西伯利亚冰原地下 31m 深的土壤中提取出植物叶绿体 DNA 的片段, 并且鉴定出了被子植物、裸子植物和苔藓植物的 28 个科, 从沉积物的放射性定年来看, 这些 DNA 距今 30 万 ~ 40 万年。2007 年, Eske Willerslev 等<sup>[25]</sup> 在冰雪覆盖的格陵兰岛冰河下的发现更是将古 DNA 的保存年限提高到 80 万年。Eske Willerslev 等从地下 2000m 深的冰芯中提取出古老植物 (松树、云杉、赤杨和紫杉) 和昆虫 (蝴蝶、蜘蛛、苍蝇和甲虫) 的 DNA, 应用热释光测年技术和放射性年代测定法测定这些冰芯的年龄有 45 万 ~ 80 万年。

除了寒冷的环境以外, 湿度较低、中性或弱碱性埋藏环境有利于古 DNA 的保存; 深度埋藏将大大减弱 UV 辐射或放射性同位素辐射作用, 也有利于古 DNA 的保存。此外, 不同组织 DNA 的保存也不同, 一般来说, 古 DNA 在骨骼和牙齿中比在软组织中的保存要好。为什么会出现这样的情况呢? 这首先要从骨骼的结构说起, 人类骨骼组织主要包括三种细胞: 骨细胞、成骨细胞和破骨细胞, 其细胞间质主要由胶原和羟基磷灰石  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$  构成, 胶原与羟基磷

灰石通过钙桥连接形成的嵌合结构具有一定的空间效应，弱碱性条件下 DNA 片段带负电，在羟基磷灰石晶体表面可以形成化学吸附，这对古 DNA 的保存相当有利<sup>[21]</sup>。在长期埋藏过程中，骨骼组织中非晶态的羟基磷灰石将逐渐转变为晶体结构，这种晶态的转变对古 DNA 的保存有两方面影响：一方面，结晶使骨骼硬度增强，可减缓外部环境因素的侵蚀；另一方面，结晶度的增加减小了羟基磷灰石的吸附表面积，使古 DNA 的保存空间减小，羟基磷灰石晶态结构的改变和可逆分解将加速微生物对骨胶原质的分解，促使胶原质逐渐分解或矿化，同时，胶原质的存在也将有效延缓羟基磷灰石的分解速率<sup>[21]</sup>。深入了解古 DNA 降解与埋藏环境的关系，对于我们进行古 DNA 研究具有科学的指导意义，可以避免盲目的研究。

## 六、古代 DNA 研究的历史与现状

DNA 是遗传信息的载体，它所携带的遗传信息是人们的研究焦点，然而人们一直认为有机体死亡后 DNA 会很快降解，它所携带的遗传信息也就随之消失殆尽，并没有什么价值。但是经过人们不断地艰难探索，古 DNA 的研究露出了一线曙光。古 DNA 的研究历史大致可以划分为三个阶段：①准备和酝酿阶段（1984 ~ 1989 年）；②暴发阶段（1989 ~ 1994 年）；③平稳发展阶段（1994 年至今）。

1981 年，我国湖南医学院的专家们发表了有关约 2000 年前长沙马王堆汉代女尸的古 DNA 和古 RNA 的研究成果，这是最早的 DNA 提取研究，其开创性的研究得到世界的公认<sup>[26]</sup>。

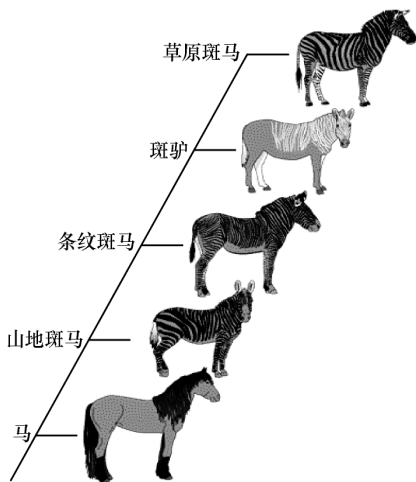


图 4 斑驴与马和斑马的进化关系图

1984 年，美国加利福尼亚大学伯克利分校的 Higuchi 等<sup>[27]</sup>成功地从博物馆保存的已绝灭 140 年的斑驴（quagga）风干的肌肉中提取出 DNA，克隆并测序了两段 mtDNA 序列。通过其与马、驴和斑马的相关 mtDNA 序列的比较，得出结论：斑驴与斑马的亲缘关系最近，而与马或驴的亲缘关系较远（图 4）。这篇文章在 *Nature* 上发表后引起极大的轰动。随后，Pääbo 在 1985 年从距今 2400 多年的埃及木乃伊中也成功地克隆出了人类古 DNA<sup>[28]</sup>。这些结果清晰地表明 DNA 分子的片段可以在有机体死亡之后的很长一段时



间内保存。更为重要的是, 这些实验结果表明, 通过对古代 DNA 的研究, 灭绝物种与其近亲的亲缘关系可以在分子水平上重新构建, 从此掀起了古 DNA 研究的热潮。

但生物机体的变质降解以及在漫长的地质年代中古 DNA 被严重地损伤和修饰, 给古 DNA 的研究带来许多困难。因而早期的古 DNA 研究主要集中在 DNA 的提取过程, 其目的仅仅是为了证明在远古的生物遗骸中能够提取出 DNA 并用于科学研究。

随着 1986 年美国化学家 Mullis 及其合作伙伴发现并创立了划时代的聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 技术, 古 DNA 迎来了一次划时代的革命, PCR 技术能够灵敏、高效、特异性扩增上百万的目的 DNA 片段, 使古代材料中微量的 DNA 在很短的时间内扩增出大量的古 DNA 成为现实, 极大地推动了古 DNA 的研究。1989 年, Pääbo 首先意识到 PCR 技术所带来的革命, 率先把该技术引入到古 DNA 研究中<sup>[29]</sup>, 他和其领导的研究小组从一个一岁古埃及男孩的木乃伊组织中提取并克隆了 DNA 片段, 还从陈列在曼彻斯特博物馆中的埃及第 12 王朝的祭司 Nakht-ankh 的木乃伊肝组织中得到了 mtDNA 序列<sup>[30]</sup>。其后保存在冻土及沙漠环境中的古代干尸成为获取古人 DNA 的主要材料。

1990 年, 美国科学家 Golenberg 等<sup>[31]</sup>首次从爱达荷州 Clarkia 中新世 (距今 1700 万 ~ 2000 万年) 的木兰属 (*Magnolia*) 植物化石中获取了叶绿体 DNA, 使古 DNA 的来源从一些软组织扩大到了化石, 大大丰富了古 DNA 的来源, 激发了研究者广泛的兴趣, 从而掀起了研究古 DNA 的高潮。1992 年, Soltis 等<sup>[32]</sup>首次从中新世湖泊沉积物的植物叶片中获得 DNA 加以分析获得成功。人们开始探索研究恐龙等早已灭绝的生物化石中的 DNA, 以及琥珀化石中的 DNA。Woodward<sup>[33]</sup>从六七千万年前的恐龙化石中获得 DNA 序列。Desalle 和 Gatesy<sup>[34]</sup>从距今约 2500 万年的琥珀中获得白蚁线粒体 DNA。Cano<sup>[35-37]</sup>从保存在距今 1.2 亿 ~ 1.35 亿年白垩纪琥珀中获得象鼻虫 DNA, 从距今 2500 万 ~ 4000 万年琥珀中的孢子中获取古细菌 DNA。与此同时, Höss 和 Pääbo<sup>[38]</sup>报道获得了更新世骨骼化石中的 DNA。

1994 年以后, 许多科学家开始考虑古 DNA 的真实性问题, 并且验证出许多原来报道的古 DNA 其实是 DNA 污染的结果 (如恐龙、琥珀化石的研究, 系统发育分析认为, 从恐龙骨骼碎片中得到的古 DNA 序列最有可能是人类的 mtDNA 片段的污染<sup>[39]</sup>)。当时甚至有科学家认为所有得到的古 DNA 都有可能是一些污染的 PCR 产物<sup>[40]</sup>, 古 DNA 研究的声誉一落千丈, 科学家们痛定思痛, 开始呼吁制定古 DNA 研究标准来检验结果的真实性<sup>[41,42]</sup>, 1997 年对尼安德特人的研究是古 DNA 研究历史上的经典之作。严格遵循古 DNA 真实性的标准, 自此古 DNA 研究重新得到尊重, 走向平稳发展阶段。

最近古 DNA 研究进入了一个新纪元。多重 PCR 扩增技术和一种新基因组焦磷酸测序技术使研究者能够从核基因组获得有意义的序列信息，而不是仅仅依靠线粒体或叶绿体基因。古 DNA 测序在 2005 年取得了重要突破，来自德国莱比锡马克斯普朗克人类进化学院的 Michael Hofreiter 和他的同事在英国 *Nature* 杂志上发表了运用 multiplex PCR 从 200mg 骨粉中获得了 16 770bp 的猛犸象全线粒体基因组的文章，证明了可以从少量小分子重建长序列<sup>[43]</sup>。仅仅两天后，著名的美国 *Science* 杂志发表了一个关于对 27 000 年前西伯利亚猛犸象下颌骨的核 DNA 和 mtDNA 大规模测序的报道。使用这种技术能从古代化石样本中测定 280 000 000bp 的序列，其中 130 000 000bp 是来源于猛犸象本身<sup>[44]</sup>。这些进展预示着古 DNA 研究进入了核 DNA 时代。对此我们充满期盼，虽然我们无法通过灭绝生物 DNA 序列再造这种生物，但是可以通过研究灭绝生物的某些基因来推测其表型，如皮肤颜色、行为优点等。通过研究 *FOX2P* 基因可以回答诸如尼安德特人能否说话，如果能，又达到什么程度等问题，进而有助于解决尼安德特人灭亡原因的争论<sup>[45]</sup>。

古 DNA 研究在我国起步较晚，除了 1981 年湖南省湖南医学院开展的长沙马王堆汉代女尸的古 DNA 研究外<sup>[26]</sup>，最早的研究可以追溯到 1995 年，当时北京大学生命科学学院的科学家对河南西峡盆地白垩纪恐龙蛋化石进行了古 DNA 的提取和分析，后来这个结果被证明是外源微生物的污染，尽管如此，该项研究开创了我国古 DNA 研究的先河<sup>[46]</sup>。随后，陆续有其他高等院校和研究机构开展了古 DNA 研究。1999 年，中国医学科学院的吴东颖利用古 DNA 方法分析了古代契丹人与达斡尔、汉族等的遗传关系<sup>[47,48]</sup>。2001 年，吉林大学考古 DNA 实验室对河南、内蒙古、河北等墓地出土的古人骨进行了 mtDNA 分析，探讨了运用古 DNA 方法解决考古学相关问题，如人骨性别、墓地的社会性质、社会组织结构、族属等的可行性<sup>[49-51]</sup>。2001 年，复旦大学开始进行三峡地区的分子考古工作，先后完成了上海马桥遗址、浙江桐乡新地里良渚文化墓地和重庆巫山大溪遗址出土遗骸的分子考古学研究，对于探求当时的人员迁移、当地的社会成员组成、社会结构、文化交流方式和影响程度具有先导意义<sup>[52]</sup>。2002 年，中国地质大学（武汉）的杨淑娟和赖旭龙揭示了中国首例猛犸象的古 DNA 序列<sup>[53]</sup>。

总体来说，我国的古 DNA 研究规模较小，还处于积累资料阶段。值得一提的是，1998 年，吉林大学生命科学学院与考古系合作成立了国内第一个考古 DNA 实验室，近十年来一直从事古 DNA 研究工作，积累了一定数量的古 DNA 数据，发表的论文占中国古 DNA 研究论文的 80% 以上。

该实验室成立至今，先后承担了多个国家重大项目，完成了对郑州西山仰韶晚期墓地（新石器时期，约 5000 年前）、龙头山夏家店上层文化墓地、三道湾汉代鲜卑墓地（约 2000 年前）和姜家梁墓地（约 5000 年前）等多处人骨样本线

粒体 DNA 高可变区的扩增与测序工作。姜家梁墓地所处的时期为母系社会与父系社会的过渡阶段,使用传统考古学方法无法准确得出结论。通过古 DNA 分析判定了姜家梁墓地古人群已由母系社会过渡到了父系社会。

完成了新疆罗布诺尔、吐鲁番、圆沙古城、交河故城、山普拉和察吾呼沟等不同区域不同时代古样本的 DNA 分析,揭示了新疆地区部分古代人类 mtDNA 高可变区序列突变频率、速度和特点。定量描述了新疆地区距今 4000 ~ 2000 年期间多民族之间的基因混合程度和迁移模式<sup>[54~59]</sup>。

对老山汉墓出土的女性墓主人遗骸进行体质人类学、古 DNA 和颅像复原三个方面的综合研究。结果显示,老山汉墓女性墓主人的 DNA 序列属于亚洲 M 谱系,代表了东亚地区现代人群的某种祖先类型的遗传学性状<sup>[60]</sup>。

对山西太原虞弘墓主人的残破遗骸进行了古 DNA 分析,揭示了其神秘的中亚身份<sup>[61]</sup>。

对青海喇家灾难遗址中的古代人类进行了分子鉴定,揭示了他们的亲缘关系及其与青藏地区现代人类的关系<sup>[62]</sup>。

近年来,还开展了古代动植物起源与驯化的古 DNA 研究,初步揭示了中国古代绵羊和家马起源与驯化的历史<sup>[63,64]</sup>。

以上简要介绍了古 DNA 研究的发展过程,在短短 20 年里,它是考古学范围发展最为迅速的一个前沿领域,并形成了一个新学科——分子考古学,推动了考古学的发展。正如生物考古学领域最重要的学者之一马丁·琼斯在 2002 年出版的《分子狩猎——考古学家如何唤醒沉睡的过去》一书中所说:“过去 25 年,分子生物学的进展和应用使考古学发生了深刻的变化。过去被我们视为废物的动植物遗骸、残留物和土壤中蕴涵着大量有关物种鉴定、亲缘关系、进化以及疾病的信息”。一个与以往不同的历史正在被书写,随着分子生物学技术的不断进步以及科研工作者的不断努力,古 DNA 的研究会发展到新的深度和高度,考古学必然会随之进入一个更高的境界。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 张亚平. 家养动物的起源、进化与遗传多样性. 光明日报, 2004-11-5
- [ 2 ] Matisoo-Smith E, Allen J S. Name that rat: molecular and morphological identification of Pacific rodent remains. *Int J Osteoarch*, 2001, 11: 34 ~ 42
- [ 3 ] Kaestle F A, Horsburgh K A. Ancient DNA in anthropology: methods, applications, and ethics. *Am J Phys Anthropol*, 2002, 35: 92 ~ 130
- [ 4 ] Haak W, Forster P, Bramanti B, et al. Ancient DNA from the first European farmers in 7500-year-old Neolithic sites. *Science*, 2005, 310 (5750): 1016 ~ 1018
- [ 5 ] Fu Y Q, Zhao H, Cui Y Q, et al. Molecular genetic analysis of Wanggu Remains, Inner Mongolia, China. *Am J Phys Anthropol*, 2007, 132: 285 ~ 291

- [ 6 ] Gobalet K W. A critique of faunal analysis: inconsistency among experts in blind tests. *J Archaeol Sci*, 2001, 28: 377 ~ 386
- [ 7 ] Barnes I, Young J P W, Dobney K M. DNA-based identification of goose species from two archaeological sites in Lincolnshire. *J Archaeol Sci*, 2000, 27: 91 ~ 100
- [ 8 ] Kahila B G, Khalarily H, Mader O, et al. Ancient DNA evidence for the transition from wild to domestic status in Neolithic goats: a case study from the site of Abu Gosh, Israel. *Anc Biol*, 2002, 4: 9 ~ 17
- [ 9 ] Willerslev E, Cappellini E, Boomsma W, et al. Ancient biomolecules from deep ice cores reveal a forested southern Greenland. *Science*, 2007, 317: 111 ~ 114
- [ 10 ] Handt O, Richards M, Trommsdorff M, et al. Molecular genetic analysis of the Tyrolean Ice man. *Science*, 1994, 264: 1775 ~ 1778
- [ 11 ] Handt O, Krings M, Ward R H, et al. The retrieval of ancient human DNA sequences. *Am J Hum Genet*, 1996, 59: 368 ~ 376
- [ 12 ] Hofreiter M, Serre D, Poinar H N, et al. Ancient DNA. *Nature Rev Genet*, 2001, 2: 353 ~ 360
- [ 13 ] Willerslev E, Cooper A. Ancient DNA. *Proc Biol Sci*, 2005, 272 (1558): 3 ~ 16
- [ 14 ] Höss M, Pääbo S, Vereshchagin N K. Mammoth DNA sequences. *Nature*, 1994, 370: 333
- [ 15 ] Gilbert M T, Wilson A S, Bunce M, et al. Ancient mitochondrial DNA from hair. *Curr Biol*, 2004, 14: 463 ~ 464
- [ 16 ] Willerslev E, Hansen A J, Brand T B, et al. Diverse plant and animal DNA from Holocene and Pleistocene sedimentary records. *Science*, 2003, 300: 792 ~ 795
- [ 17 ] Willerslev E, Hansen A J, Brand T B, et al. Long-term persistence of bacterial DNA. *Curr Biol*, 2004, 14: 9 ~ 10
- [ 18 ] Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*, 1993, 362: 709 ~ 715
- [ 19 ] Pääbo S, Higuchi R G, Wilson A C. Ancient DNA and polymerase chain reaction. The emerging field of molecular archaeology. *J Biol Chem*, 1989, 264 (17): 9709 ~ 9712
- [ 20 ] Li C X, Cheng A J, Yang Q. A preliminary study on DNA survival curves under simulated sedimentary environment. *Palaeoworld*, 12: 1 ~ 12
- [ 21 ] 杨周岐, 张虎勤, 张金等. 古人类骨骼 DNA 降解影响因素分析. *第四军医大学学报*, 2006, 27 (1): 90 ~ 92
- [ 22 ] Barnes I, Matheus P, Shapiro B, et al. Dynamics of Pleistocene population extinctions in Beringian brown bears. *Science*, 2002, 295: 2267 ~ 2270
- [ 23 ] Lambert D M, Ritchie P A, Millar C D, et al. Rates of evolution in ancient DNA from Adélie penguins. *Science*, 2001, 295: 2270 ~ 2273
- [ 24 ] 程国栋, 林清. 寒区环境中的古 DNA 分子. *冰川冻土*, 2002, 24 (6): 812 ~ 818
- [ 25 ] Willerslev E, Cappellini E, Boomsma W, et al. Ancient biomolecules from deep ice cores reveal a forested southern Greenland. *Science*, 2007, 317: 111 ~ 114
- [ 26 ] 王贵海, 陆传宗. 长沙汉墓古尸肝脏中核酸的分离与鉴定. *生物化学与生物物理进*