植物学通报 2005, **22** (3): 267~275
Chinese Bulletin of Botany

特 邀 综 述

古DNA及其在生物系统与进化研究中的应用①

[1,2]俞国琴 [3]郑云飞 [1]石春海 [2]葛 颂②

[1](浙江大学农业与生物技术学院 杭州 310029)
[2](中国科学院植物研究所系统与进化植物学院重点实验室 北京 100093)
[3](浙江省文物考古研究所 杭州 310014)

摘要 古DNA是指从已经死亡的古代生物的遗体和遗迹中得到的DNA。本文回顾了近20年古DNA研究所经历的3个阶段, 从早期参与研究的科学家较少并主要利用克隆技术, 到后来由于PCR技术的出现以及提取化石DNA技术的成熟从而出现大量有关古DNA的报道; 近几年由于发现不少问题, 并引起激烈的争论, 科学家们因此而开始考虑古DNA的真实性问题, 并且提出了开展古DNA研究的严格标准。本文还讨论了古DNA在人类起源、系统发育重建、动植物驯化及考古研究中的重要意义以及现状, 表明古DNA的研究给某些原先的观点如人类的非洲起源说提供了重要证据, 也对某些观点提出了挑战; 古DNA研究还提供了某些已经灭绝生物的形态学和分子资料, 为从序列上确定古代材料的系统位置并有效地补充仅用现代DNA建立起来的谱系提供了来自古生物的依据。在动植物驯化及考古方面, 古DNA证据也为科学家提供了许多有价值的信息。最后, 本文还对古DNA研究的应用前景进行了展望。

关键词 古DNA, 系统发育, 进化, 动植物驯化

Ancient DNA Study and its Progress in Systematic and Evolutionary Biology

[1,2]YU Guo-Qin [3]ZHENG Yun-Fei [1]SHI Chun-Hai [2]GE Song②

[1](*College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University*, Hangzhou 310029)
[2](*Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100093)
[3](*Zhejiang Cultural Relic Archeological Institute*, Hangzhou 310014)

Abstract Ancient DNA is DNA sequences extracted from ancient biological remains. This paper briefly reviews the 20-year history of ancient DNA study from its early period mainly with the technology of cloning to later use of PCR technology and the mature technology of extracting DNA from fossils. In the recent years, because of the emergence of many problems and fierce controversy in ancient DNA study, scientists began to consider the authenticity of ancient DNA and put forward some strict standards. Here, we discuss the significance and progress of ancient DNA studies involving anthropology, systematic and evolutionary biology, biological domestication, and archeology.

①中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCXZ-SW-101A)资助。
②通讯作者。Author for correspondence. E-mail: gesong@ibcas.ac.cn
收稿日期: 2004-02-17 **接受日期**: 2004-06-09 **责任编辑**: 崔郁英, 于昕

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-022

The data from ancient DNA studies provide additional evidence to support former viewpoints such as the out of Africa theory . In the study of systematics and evolution, study of ancient DNA added valuable information about extinct biological groups and facilitated the reconstruction of phylogenetic relationships of organisms. Ancient DNA study also provided valuable insights into biological domestication and archeology of both domesticated animals and crop plants. Finally, perspectives and trends of ancient DNA study are reviewed.

Key words Ancient DNA, Phylogeny, Evolution, Biological domestication

古DNA(ancient DNA)是指从已经死亡的古代生物的遗体和遗迹中得到的DNA, 通常分为两大类: 一类是从博物馆标本、古代生物尸体及琥珀等软组织中提取的DNA; 另一类存在于古代动植物化石中, 必须经过打磨、液氮裂解和脱钙等预处理后才能提取出DNA(Pabbo, 1990)。生物系统学是研究生物类群之间的关系以及生物进化式样及机制的科学, 其研究的主要对象是现存的生物。对于已灭绝生物, 生物学家只能得到一些残缺不全的形态信息及历史记录, 这大大制约了生物系统学的发展, 使得很多系统发育和进化理论的研究只能间接地通过对现有生物的推测进行。近几十年来, 分子生物学的广泛应用使生物系统学研究大大受益, 而古DNA的应用更是增加了系统发育及生物进化研究的可靠性, 它不仅是对形态学的必要补充, 而且为进化和系统学家提供从形态学及解剖学中难以获得的生物演化式样和机理方面的信息。实际上, 古DNA的应用已远远超出了传统古生物学的领域, 可广泛地应用于考古学、生物学、遗传学、地学、环境科学甚至医学等诸多领域。本文简单回顾了古DNA研究的历史, 介绍了古DNA证据在生物系统与进化研究中所取得的成绩, 并对其应用前景进行了展望。

1 古DNA的研究历史

自1984年英国《自然》杂志上首次报道了从19世纪末已经灭绝的Quagga(斑驴)标本中抽提出DNA以来(Higuchi *et al.*, 1984), 古DNA的研究历史至今虽然才20年, 但它的重要性在许多研究领域, 特别是人类和动植物起源和进化方面日渐明显。综观其发展历程, 大致可以划分为3个阶段。

1984~1989年, 古DNA研究的科学家并不多, 所采用的方法主要是利用当时的克隆技术。由于古DNA毕竟经过漫长的历史, 氧化作用、水解作用及环境微生物降解等作用的存在, 古DNA分子受到严重破坏, 基本降解殆尽或仅有少数残余, 而且这些残余的分子也仅以几百个碱基的片段存在, 在其内还广泛存在着各种各样的损伤, 如形成缺口和碱基脱落或交联等(Paabo *et al.*, 1989), 这些古DNA通常还受到微生物及真菌的污染(Rollo *et al.*, 1994), 这些因素大大地制约了古DNA的克隆效率。一是由于古DNA本身的损伤导致克隆效率低下; 二是克隆后的分子在宿主内可能会受到某些修补或修饰, 从而无法完全真实地反映出古代生物的遗传信息(Paabo and Wilson, 1988), 因此这一时期有关古DNA的报道很少。最早是Higuchi等(1984)从保存在博物馆中距今约150多年的一种类似于斑马的四足动物Quagga的皮肤上提取出了少量的线粒体DNA, 并克隆到λgtl0上进行测序, 根据序列结果构建了Quagga与其他一些哺乳动物的系统发育树, 使人们开始意识到古DNA在古生物学、考古学、进化生物学和法医学上的重大意义。其后Paabo(1985)报道了从距今约2 400多年的埃及木乃伊中克隆出古DNA分子, 并通过DNA杂交和测序检测出一个克隆分子含有人类DNA重复序列, 即Alu家族中的

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-022

两个成员, 并认为古DNA克隆是可靠的, 然而Paabo(1985)的成功得益于他得到了长约5 000 bp的古DNA, 这么长的古DNA至今为止都没有再次获得过, 大多数得到的古DNA长度一般均在500 bp以下。

1989~1994年, 古DNA的研究得到了迅速发展, 主要得益于两个发现。第一个是美国科学家Mullis等(1986)发现并创立的PCR扩增(聚合酶链式反应)技术, 这一技术不但能解决克隆效率低的问题, 而且由于PCR扩增是在体外进行, 不会出现修饰或修补这个问题。于是作为研究古DNA的先驱者, Paabo等(1989)开始用PCR技术来代替常规克隆进行古DNA的研究。美国科学家Golenberg等(1990)从爱达荷州Clarkia中新世(距今1 700～2 000万年)的木兰属(*Magnolia*)植物化石中获取了叶绿体DNA的*rbc*L序列, 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, 从而掀起了研究古DNA的高潮。如美国纽约自然博物馆的科学家们报道了从距今约2 500万年琥珀中获得的白蚁线粒体DNA(Desalle and Gatesy, 1992)。Cano等(1993, 1994)报道了从保存在距今约1.2～1.35亿年白垩纪琥珀中获得的象鼻虫DNA和从距今2 500～4 000万年琥珀中的孢子中获取的古细菌DNA。与此同时, Hoss和Paabo(1993)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, 如通过系统发育分析认为从恐龙骨骼碎片中得到的“古DNA”序列(Woodward *et al.*, 1994)最有可能是人类的线粒体DNA片段的污染(Hedges and Schweitzer, 1995)。由于古DNA的降解, 在进行PCR扩增时引物总是会优先选择现代DNA为模板(Paabo *et al.*, 1989), 所以用PCR扩增古DNA很容易受到现代DNA的污染, 因此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(Rollo *et al.*, 1994)。不过后来对Neandertal人的研究证实了古DNA的存在, 1997年德国的Paabo实验室从著名的Neandertal人中提取了378 bp线粒体DNA (Krings *et al.*, 1997), 通过与现代人基因的对比, 从遗传学角度提出Neandertal人与现代人的祖先相距甚远。Ovchinnikov等(2000)报道了第二例256 bp的Neandertal人线粒体DNA, 他们的研究标本来自Neandertal人群分布的最东端——北高加索, 放射性测年时代是在29 000年前, 该DNA序列与1997年Paabo等报道的第一例Neandertal人的DNA序列只有3.48%的差异, 通过谱系研究表明, 两例Neandertal人的遗传关系十分接近, 并在分支树上明显地与现代人分开, 而且这次实验分别在苏格兰格拉斯哥大学和瑞典斯德哥尔摩大学同时进行, 得到了相同的结果。这项成果不仅在人类起源上具有重大意义, 更重要的是它证明了古DNA存在的可靠性。然而这种可靠性并不是通过改进技术来实现的, 而主要是科学家们在研究中严谨小心的结果。因此为了保证古DNA结果的可靠性, 这一时期许多科学家如Cooper和Poinar(2000)开始呼吁建立和实施严格的研究和实验标准。

2 古DNA研究的现状

随着古DNA的频频报道以及对其真实性的证明, 有越来越多的科学家认识到了古DNA的重要意义, 纷纷加入古DNA的研究行列, 并将古DNA研究与其他领域相结合, 形成了许多方向, 现在研究较多的主要为以下几个方面。

2.1 人类的起源

早在1986年,牛津大学的Clegg及其同事研究了来自8个现代种群700个个体的β胡萝卜素基因(Wainscost *et al.*, 1986), 所得数据表明人类的祖先源于非洲, 然后从非洲不断向外迁移, 形成现在所有的非洲以外的人种, 从此揭开了从分子水平上研究人类演化的序幕。通过对现代人种基因分析, 从分子水平上来探索人类

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-022

起源和发展是一项重大的科学问题。在目前举世瞩目的人类基因组计划(HGP)及中国人类基因组计划(CHGP)中十分重视与人类起源和进化有关的信息。但是，仅仅根据现代样品得到的分子信息是间接的，从中推出的结论可能会与古人类学及考古学的发现相矛盾，如果能从古代人类标本中直接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。

Paabo (1985)运用分子克隆方法从23具埃及木乃伊中获得了公元前2 000多年的古DNA，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。目前此方面的研究成果很多，如Handt等(1994)研究了1991年发现于阿尔卑斯山的一具冷冻干尸标本，对其皮肤和骨骼的放射性碳年龄测定结果为5 100～5 300年，通过对其古DNA的研究表明，冷冻干尸的线粒体DNA的类型与现代欧洲人相近，并与现代中欧和北欧人种的线粒体DNA类型更为接近。在一些洞穴和考古埋葬地点保存的古人骨骼是研究古DNA的重要材料。Beraud-Colomb等(1995)成功地从采自非洲和欧洲的620、1 200、7 000和12 000年前的10块古人骨骼标本中获得了胡萝卜素基因，并证明古人类的系统基因的研究是可靠的。

过去考古学、语言学和遗传学的证据似乎都证明太平洋美拉尼西亚(Melanesia)岛上人种可能起源于东南亚岛屿(可能为中国的台湾省)，并称之为通往波尼西亚(Po1ynesia)的“特快列车”。但是Hagelberg(1997)从美拉尼西亚岛上与当地文化有关的古代埋藏品中提取出了线粒体DNA，从古DNA中没有发现原来所说的9 bp线粒体DNA的缺失，如果这一发现是正确的，可能表明古美拉尼西亚人不是“特快列车”上的乘客，而只是先前存在的古美拉尼西亚人种的积累。这毫无疑义给占优势的考古学观点提出了挑战。

近年来，对人类起源及进化研究最主要的成就是对Neandertal人的研究。1997年，德国慕尼黑大学的Paabo领导的研究小组和美国宾夕法尼亚大学的同行们对Neandertal人进行了研究(Kring *et al*., 1997, 1999)。他们从距今5万年的Neandertal人标本中获得了378 bp的线粒体DNA，通过与现代人类基因的对比，从遗传学角度上认为Neandertal人与现代人的祖先相距甚远，是介于现代人和黑猩猩(chimpanzee)之间的过渡类型。他们认为，早在50～60万年前Neandertal人的祖先就与人类祖先在系统演化树上分离，因此Neandertal人不是人类祖先，并支持现代人非洲起源说。Ovchinnikov(2000)和Kring(2000)均报道了第2例256 bp的Neandertal人线粒体DNA，验证了Krings等(1997)的研究结果，对古Neandertal人DNA的分析为非洲起源说又添加了一个重重的砝码。

2.2 系统发育重建

对古DNA的研究可以得到某些已经灭绝生物的宝贵资料，通过与现代生物相应DNA的比较，不但可以从序列上确定古代材料的系统位置，有效地补充利用现代DNA建立起来的谱系，还能用所得到的古DNA信息来鉴别和确定祖先性状，从而提高谱系的精度(Kring *et al*., 1999)。同时古DNA信息还可以为研究动植物的起源及进化提供直接和极有价值的分子资料。

现已灭绝的*Nordenskioldia*植物可以追溯到白垩纪后期，其在北半球古新世的沉积物中普遍存在。它的名字是根据其果序特征而命名的，由于这种果序明显是昆栏树目的一个特征，于是有人认为*Nordenskioldia*与昆栏树属亲缘关系最近。然而，*Nordenskioldia*的果实比较有特征，但是根据其叶子的形态特征，一些分类学家认为它可能更接近于其他种属如杨属和木防己属等，最近这些叶子又被认为可能是已经灭绝的一种叫*Zizyphoides*的植物叶子。毫无疑问，如果古DNA研究方法能介入，这个问题就会迎刃而解。首先从这些果实和叶子中提取出来的DNA可以确定这些果实和叶子是否属

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-022

于同一种植物。其次将从灭绝植物中提取出来的DNA与现代植物的DNA相比较, 可确定它们之间亲缘关系的远近(Soltis *et al*., 1995)。

Lee和Langenheim(1975)根据形态特征将孪叶豆属(*Hymenaea*)分为 4 个种, 分别是 *H. verrucosa*、*H. oblongifolia*、*H. courbail* 和 *H. Protera*, 并且认为它们的系统发育关系是: *H. verrucosa* 与 *H. oblongifolia* 为姐妹类群, 其出现早于 *H. courbail*, 而 *H. courbail* 又与 *H. oblongifolia* 的亲缘关系密切, *H. protera* 则是 *H. verrucosa* 和 *H. oblongifolia* 的祖先。Poinar 等(1993)从一个含有*Protera*叶子的琥珀提取出了已灭绝多年的 *H. protera* 的DNA, 经过对这些植物包括*Protera*中的*rbcL*基因进行分析后发现, *H. protera*与*H. courbail*的亲缘关系比与 *H. oblongifolia* 更近。而按 Lee 和 Langenheim (1975)的假说: *H. protera*应该与*H. oblongifolia* 的关系更加近一点, 因为 *H. courbail*在孪叶豆属内处于比较进化的地位。根据这个结果, 分类学家认为 *H. courbail* 可能和 *H. verrucosa* 及 *H. oblongifolia*出现得一样早, 只是因为某种原因 *H. courbail* 的一些性状出现了变化, 而 *H. oblongifolia* 可能因为局限于南美常绿森林生态系统, 各种性状保持比较稳定。现今分类学的发展已经出现了新的分支——分子系统学, 而对灭绝植物的DNA进行研究, 无疑为分类学家解决一些分类与进化问题提供了有力的直接来自古生物本身的证据。

Soltis 等(1992)从落羽松(*Taxodium distichum* (L.) Rich.)的一份化石标本中得到了长为1 320 bp的*rbcL*片段, 通过与现存落羽松*rbcL* 片段比较后, 发现化石落羽松与现存落羽松存在 11 个碱基的差异。虽然它们之间的序列分化时间无法确认, 但可以肯定它们至少与克拉克(Clarkia)遗址的时代相同(1 700~2 000万年前)或更早。如果它们在 1 700~2 000 万年前拥有同一个祖先, 那么这个*rbcL*片段的进化速率为每百万年0.55~0.65个碱基替代或者平均每个位点每百万年发生 4.2×10^{-4}~ 4.9×10^{-4} 次替代。根据这一结果, 生物学家不仅可以推测落羽松科内其他各个种的分化时间, 同时还说明古DNA的研究使分子进化研究也大大受益(Soltis *et al*., 1992)。

近年来动物分类学家越来越重视获得灭绝动物的 DNA 信息, 以此来解决一些仅用现代DNA无法解决的分类与进化问题, 至今已经对十几种灭绝动物的DNA进行了研究, 取得了丰硕的成果(Hanni *et al*., 1994; Hoss *et al*., 1996; Westerman *et al*., 1999)。如象亚科的分类长期以来有争论, 通过对距今9 000～50 000年的冰冻组织标本和风干骨头中获取的猛犸象(*Mamuthus primigenius*)DNA序列分析表明, 猛犸象确实与现代象有亲缘关系, 同时猛犸象是一种比以前想像的更加特化的生物类群(Hagelberg *et al*., 1994; Hoss *et al*., 1994; Ozawa *et al*., 1997; Noro *et al*., 1998)。Yang 等(1996)从已绝灭的美国乳齿象(*Mammuit americanum*)及猛犸象化石中获得线粒体细胞色素b基因序列作为外类群分析象亚科内现代亚洲象和非洲象的系统发育关系, 证实现生亚洲象与已绝灭的猛犸象之间的亲缘关系密切。对灭绝的澳洲袋狼(*Thylacinus cynocephalus*)的线粒体 DNA 揭示其与澳洲其他有袋动物的亲缘关系比与南美的肉食动物更近, 这意味着澳洲和南美的有袋肉食动物的许多相似特征可能是在两个大陆独立进化的结果(Krajewski *et al*., 1992; Thomas *et al*., 1993; Krajewski *et al*., 1997); 而对新西兰恐鸟(moa)的研究表明, 其与澳洲不会飞行的鸟类的亲缘关系比与现存的新西兰几维鸟(kiwi)要近(Cooper, 1992), 这说明在新西兰像这种鸵鸟一样的鸟存在过两次。Hofreiter(2000)对距今 26 500~49 000年的洞熊(*Ursus spelaeus*)的线粒体DNA分析并从中揭示出洞熊并非单起源, 而是至少进行了两次独立的进化的重要信息。

2.3 动植物的驯化及考古

研究古DNA可以帮助我们了解古代农业,

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-022

了解一些作物及家畜的驯化过程及其传播,这一直是考古学界长期探讨和争论问题。以往是通过分析动植物的形态变异来进行研究的,这种方法对材料的要求很高,因为古代材料经过漫长的历史往往只剩下一些残骸或者已经碳化,很难进行形态鉴别。而且植物的形态不仅只是由基因决定,还会受到环境的影响,同一品种在不同的环境中形态上可以有非常大的差异,因此用形态学方法研究古代农业具有很大局限性。古DNA研究方法直接从分子水平上分析,不存在以上问题,且能得到较为准确的信息。基于古DNA在研究农业发展上的巨大潜力,尤其在动植物的驯化和家养时间确定方面的作用更为突出,因此在过去的10多年时间,古DNA研究者在这方面取得了一定的成果。

英国曼彻斯特大学科技学院的 Brown 等(1994)一直从事古代农业发展的研究,他们对小麦的研究表明,小麦在驯化过程中涉及到3个不同的倍性以及类群,在其栽培历史的前8 000年中基因表现出很高的多样性,但在最近1 500年中,小麦基因已经有很大部分遗失,逐步地形成为一个种,大约在100多年前这个种的基因库基本稳定下来。通过对小麦驯化过程的分析,他们希望能够从中了解早期农业社会的发展以及人类利用植物思路的变化。亚洲栽培稻中籼粳两亚种的起源一直存在争议,而凭现行的一些遗传学、分子遗传学和形态学等方法很难有大的突破。最近几年农学研究工作者通过分析遗址中出土的炭化米和稻叶片中残留的古DNA,获得一些新的认识。如距今 7 000 年以前的浙江余姚河姆渡遗址、江苏高邮龙虬遗址出土的炭化米中长粒型和短圆型两种粒型都有,但从炭化米中提取的古DNA分析结果显示遗址中栽培稻为粳稻类型(佐藤, 1998b)。日本的栽培稻一直认为是从中国大陆传入的,但最近对绳纹文化时期 (9 000~2 500 B.P.)遗址中出土的炭化米和稻叶的古DNA研究结果表明,当时的栽培稻中有热带粳稻,这一结果对认识日本稻作农耕文化起源和发展可能会产生一定的影响(佐藤, 1998a)。

Kahila等(2002)对新石器时代山羊的驯化过程进行了研究,他们的材料来自以色列耶路撒冷市以西12 km的一个叫阿卜高溪(Abu Gosh)的小村庄,得到了两个时期的一些山羊骨骼,即前陶器(Pre-pottery Neolithic B)时代(距今大约9 500～8 000年)和陶器时代(Pottery Neolithic)(距今大约7 500～5 500 年)。通过对前陶器时代山羊骨骼的形态学分析,认为那时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*)。分析上述样品的线粒体DNA得到了与形态学分析相同的结果。同时,古 DNA 研究还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。

由于古DNA的研究只需要采取少量样品便可获得古DNA遗传学信息,因此这种方法用来鉴定一些考古发掘地中常见的形态不清的或有争议的生物残余很有价值,能够为考古学家们提供精确的鉴定结果。如1997年,在以色列南部古阿什卡隆(Ashkalon)的一个墓地发掘出一个浴室,在这个浴室的后面,考古学家发现 100 多具婴儿的残骸,起先考古学家解释这些残骸可能是被抛弃的女婴,因为在古阿什卡隆普遍存在这种现象,但是他们无法解释后来发现的一些有色情画的灯及招牌。通过对这些婴儿性染色体分析表明,这其中有许多是男婴。于是就有了更合理的解释,这是个妓院,这些婴儿很有可能是那些妓女的孩子。古DNA研究的介入,使古阿什卡隆浴室之谜昭然若揭。

3 展望

古DNA的研究是一个极富前景的研究领域,它不会替代任何一门现有的学科,但却几乎可以为一切与古生物有关的学科提供一个更为

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-022

广阔的三维空间。在短短的20年内, 它为我们提供了许多现已灭绝的生物的DNA信息, 这不仅丰富了我们的基因库,而且还为我们得到更为完整的谱系结构,得出更为合理的进化理论提供了许多宝贵的信息,体现了其在动植物分类与进化和人类起源等领域研究中的价值。不仅如此, 它的出现还可能带动新的领域的出现。如在第五次国际古DNA研讨会上, 美国自然历史博物馆的Alex Greenwood就曾发言表明他们正在试图从猛犸象的核细胞中提取出病毒的部分插入序列, 以探索猛犸象、巨大的陆地獭及其他一些巨大的哺乳动物在最后一次冰川时期的灭绝之谜,同时还试图通过对猛犸象的研究来开创一个新的领域——古病毒学。如果 Alex Greenwood的这一想法得以实现, 那么古DNA的研究不仅是对动植物分类与进化和人类起源等领域具有极其重大的意义,甚至对医学都将产生重大影响。

目前, 古DNA研究面临的最大问题是污染问题。为此一些科学家如 Thomas 对古 DNA 的研究抱悲观的态度,但至今仍然有许多学者如 Pabbo、Hoss、Poinar、Hofreiter 和 Brown 在继续着有关古 DNA 的工作。如 Poinar 就曾在第五次国际古 DNA 会议上表示要分析古人类的粪便化石中的古DNA, 以此来获取古人类的饮食信息。而英国曼彻斯特大学科技学院 Brown博士则一直在利用古DNA进行着有关小麦驯化有关的研究。对于污染问题, 一些学者已经提出了一些解决的方案, 相信不久的将来, 古 DNA 的研究又会进入一个新的发展阶段。

参 考 文 献

佐藤洋一郎 (1998) DNA 分析法. 平尾良光・山岸良二 编著, 文化财探科学の眼. 国土社, 东京, **1:** 38-44

佐藤洋一郎 (1998) 青森县三内丸山遺跡 , および遺跡出土の熱帯 *japonica* 品種の炭化米および藁状遺物. 日本文化財科学会第 15 回大会研究発表要旨集, 60-61

Beraud-Colomb E, Roubin R, Martin J (1995) Human β-globin gene polymorphisms characterized in DNA ancient bones 12000 years old. *American Journal of Human Genetics*, **57:** 1267-1274

Brown T, Allaby R, Brown K (1994) Biomolecular archaeology of wheat: past, present and future. *World Archaeology*, **25:** 64-73

Cano RJ, Borucki MK, Schweitzer MH, Poinar HN, Poinar GO, Pollard KJ (1994) Bacillus DNA in fossil bees: an ancient symbiosis? *Applied and Environmental Microbiologly*, **60:** 2164-2167

Cano RJ, Poniar HN, Pieninazek NJ (1993) Amplification and sequencing of DNA from 120~135 million year old weevil. *Nature*, **363:** 536-538

Cooper A (1992) Independent origins of New Zealand maos and kiwis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **89:** 8741-8744

Cooper A, Poinar HN (2000) Ancient DNA: do it right or not? *Science*, **289:** 1139

Desalle R, Gatesy J (1992) Amplification and sequencing of DNA from a fossil termite in Oligo-Miocene amber and their phylogenetic implications. *Science*, **257:** 1933-1936

Golenberg EM, Giannsi DE, Clegg MT (1990) Chloroplast DNA sequence from a Miocene *Magnolia* species. *Nature*, **334:** 656-658

Hagelberg EM, Thomas G, Cook JCE (1994) DNA from ancient mammoth bones. *Nature*, **370:** 333-334

Hagelberg E (1997) Ancient and modern mitochondrial DNA sequences and the colonization of the Pacific. *Electrophoresis*, **18:** 1529-1533

Handt O, Richards M, Trommsdorff M (1994) Molecular genetic analysis of the Tyrolean ice man. *Science*, **264:** 1775-1778

Hanni C, Laudet V, Stehelin D, Taberlet P (1994) Tracking the origins of the cave bear (*Ursus spelaeus*) by

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-022

mitochondrial DNA sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **91:** 12336-12340

Hedges SB, Schweitzer MH (1995) Detecting dinosaur DNA. *Science*, **268:** 1191-1192

Higuchi R, Bowman B, Freiberger M, Ryder O, Wilson AC (1984) DNA sequence from the Quagga. *Nature*, **312:** 282-284

Hofreiter M (2000) A molecular analysis of ground sloth diet through the last glaciation. *Molecular Ecology*, **9:** 1975-1984

Hoss M, Paabo S (1993) DNA extraction from Pleistocene bones by a silica-based purification method. *Nucleic Acids Research*, **21:** 3913-3914

Hoss M, Dilling A, Currant A, Paabo S (1996) Molecular phylogeny of the extinct ground sloth Mylodon darwinii. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **93:** 181-185

Hoss M, Paabo S, Vereshchagln NK (1994) Mammoth DNA sequences. *Nature*, **370:** 333

Kahila BG, Khalarily H, Mader O (2002) Ancient DNA evidence for the transition from wild to domestic status in Neolithic goats: a case study from the site of Abu Gosh, Israel. *Ancient Biomolecule*, **4:** 9-17

Krajewski C, Buckley L, Westerman M (1997) DNA phylogeny of the marsupial wolf resolved. *Proceedings of the Royal Society of London*, **B264:** 911-917

Krajewski C, Driskell AC, Baverstock PR, Braun MJ (1992) Phylogenetic relationships (Mammalia: Thylacinidae) among dasyuroid marsupials:evidence from cytochrome b DNA sequences. *Proceedings of the Royal Society of London*, **B250:** 19-27

Kring M (2000) A view of Neadertal genetic diversity. *Nature*, **404**,490-493

Kring M, Geisert H, Schmitz RW, Krainitzki H, Paabo S (1999) DNA sequence of the mitochondrial hypervariable region **II** from the Neandertal type specimen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **96:** 5581-5585

Krings M, Stone A, Schmitz RW, Krainitzki H, Stonking M, Paabo S (1997) Neanderthal DNA sequence and the origin of modern humans. *Cell*, **90:** 19-30

Lee YT, Langenheim JH (1975) Systematics genus *Hymenaea* (Leg. Caesalpinoidea, Ditarieae). *Univesity of California Publication in Botany*, **69:** 1-109

Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich HI (1986) Specific enzymatic amplification of DNA *in vitro*: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantative Biology*, **51:** 263-273

Noro M, Masuda R, Dubrovo IA, Yoshida MC, Kato M (1998) Molecular phylogenetic inference of the woodly mammoth *Mammuthus prinigenius*, based on complete sequences of mitochondrial cytochrome b and 12s ribosomal RNA genes. *Journal of Molecular Evolution*, **46:** 314-326

Ovchinnikov IV (2000) Molecular analysis of Neanderthal DNA from the northern Caucasus. *Nature*, **404:** 490-493,

Ozawa T, Hayashi S, Mikhelson VM (1997) Phylogenetic position of mammoth and Steller's sea cow whthin Tethytheria demonstrated by mitochondrial DNA sequences. *Journal of Molecular Evolution*, **44:** 406-413

Paabo S (1985) Molecular cloning of the Egyptian mummy DNA. *Nature*, **314:** 644-645

Paabo S, Higuchi RG, Wilson AC (1989) Ancient DNA and the polymerase chain reaction. *Journal of Biological Chemistry*, **264:** 9706-9712

Paabo S, Wilson AC (1988) Polymerase chain reaction reveal cloning artifacts. *Nature*, **334:** 387-388

Pabbo S (1990) Amplifying ancient DNA. In: Innis MA, Gelfand DH eds, PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego, pp.159-166

Poinar HN, Cane RJ, Poinar GO (1993) DNA from an extinct plant. *Nature*, **363:** 677

Rollo F, Asci SA, Marota L, Ubatdi M (1994) Molecular ecology of a Nelithic meddow: the DNA of the grass remains from the archeological site of the Tyrolean

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-022

iceman. *Experientia*, **50:** 576-584

Soltis PS, Soltis DE, Novak SJ, Schultz JL, Kuzoff RK (1995) Fossil DNA: ITS potential for bioststematic. In: Hoch PC, Stepghenson AG eds, Experimental and Molecular Approaches to Plant Biosystematics. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, pp. 1-13.

Soltis PS, Soltis DE, Smiley CJ (1992) An *rbcL* sequence from a Miocene *Taxodium* (bald cypress). *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, **89:** 449-451

Thomas RH, Schaffner W, Wilson AC, Paabo S (1993) DNA phylogeny of the extinct marsupial wolf. *Nature*, **240:** 465-467

Wainscost JS, Hill AVS, Boyce AL (1986) Evolutionary relationship of human populations from an analysis of nuclear DNA polymorphisms. *Nature*, **319:** 491-493

Westerman M, Spriner MS, Kixon J, Krajewski C (1999) Molecular relationships of the extinct pig-footed bandicoot Chaeropus ecaudatus (Marsupialia:Perameloidea) using 12S rRNA sequences. *Journal of Mammalian Evolution*, **6:** 271-288

Woodward SR, Weyand NJ, Burnell M (1994) DNA sequence from Cretaceous. *Period Science*, **266:** 1229

Yang H, Golenberg EM, Shoshani J (1996) Phylogenetic resolution within the Elephantidae using fossil DNA sequence from the mastodon (*Mammut americanum*) as an outgroup. *Evolution*, **93:** 1190-1194

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-022