

第五节 墓葬人骨的遗传基因研究 (良渚文化、马桥文化和战国时期)

考古学除了关心文化的发展变化以外，也考虑文化的负载者的变迁。传统的从器物类型的传播来推断人群的分野、融合和迁移，只能得出不太肯定的推论。体质人类学的骨骼测量方法能较科学地间接分析人群遗传关系，但由于统计方法上的局限，有许多实际个案都无法得到最满意的解决。有些人群的遗传差异并没有在骨骼上有明显的表现；而且许多骨骼特征在人群之间并不是可以黑白分明地辨别的，只存在频率的差异，当遗骸的个数较少时，往往产生很大的抽样误差。所以骨骼测量分辨人群也引起了许多争议。

自从证实了在古人类遗骸中某些坚硬组织及在缺水条件下的软组织存在着少量稍降解的DNA，对古代人群的分子遗传学研究便蓬勃开展起来了。DNA中含着人体所有的遗传信息，理论上总能在DNA中找到两个有遗传差异的群体的显著差异片断，以丰富的类型来补足小样本的缺憾。目前用于鉴定群体差异，研究人类进化的成熟DNA区段有母系遗传的线粒体(mtDNA)突变区、父系遗传的Y染色体的单核苷酸多态(SNP)单倍型和短序列重复片段(STR)等。通过这些研究能分析各群体间的亲缘远近，可以了解人群之间的源出关系。用线粒体研究世界人群就曾得出著名的现代人都源于非洲的“黑夏娃”学说。如果我们能够得到足够量的古代人群DNA，就可以追踪古人的流徙，也可以探寻现代人群的根源。

成功地提取古DNA，最早是1980年湖南医科大学从汉代马王堆女尸中提取了古DNA和RNA^[2]。古DNA研究的突破性进展是利用了分子克隆这一技术。从动物组织中第一次提取并扩增了古DNA^[3]之后，Pääbo^[4]从埃及木乃伊中提取并克隆了古人类DNA。但是，分子克隆需

要的古DNA量较大,而多数古人遗骸数量较少,并与其他研究价值,这就限制了古DNA的研究。80年代中期,聚合酶链式反应(PCR)技术的出现^[5]使古DNA和古RNA的研究真正迅速开展起来,由于PCR技术仅需痕量的DNA作模板,它成为几乎所有研究者的有力工具。对古DNA的研究使我们有幸了解古生物和古人类的遗传特征及进化、迁移的过程等等。目前的研究进展主要有三个方面:一,个体水平遗传信息的获取,从个体水平我们可以了解到史前人类的遗传信息,如位点分布等;二,独立群体水平遗传信息的获取,对一个较小范围内的两个或多个个体进行遗传信息的比较,我们可以得出他们之间的家族亲缘关系,及古代人群的遗传信息;三,多群体水平遗传信息的获取,比较不同群体可以得出其进化的过程或迁移的过程,特别是结合考古的人文学方面的研究结果,我们可以从时间和空间等角度较全面地了解民族群体的发展史,并且构建进化树。

线粒体DNA由于其独有的一些特征,近年来被广泛应用于人类群体遗传学和进化遗传学研究。首先,线粒体DNA呈严格的母系遗传,总是由母亲传给后代,再由后代中的女儿传下去;其次,线粒体DNA的突变率较高,比核DNA(nDNA)高5~10倍,所以比较其DNA序列可以获得在相对较短的进化时期内累积大量核苷酸变化的信息,而且线粒体DNA的变化主要来源于突变而非重组,所以通过对线粒体DNA差异的分析可以忠实再现人群的母系进化史;再次,mtDNA在每个细胞内常多于一份,不像细胞核DNA只有一份,所以mtDNA在组织中残留量大,更易于提取。另外,线粒体DNA还有群体内变异大、分子结构简单、疾病序列已完全清楚^[6]等特点。这样我们可以通过对比mtDNA序列上的差异而严格推算祖先发生分化的时间,寻找人类的起源和群体分化的结点。但是线粒体的进化历程较长,对于短暂的人类历史并不具有较全面的概括性,它对于种族辨认得很清晰,但对民族就不能很好地辨识。

Y染色体近来成为继线粒体后的又一个热点^[7]。它只有男子体内存在,而且正常有繁殖力的男子只有一条,所以Y染色体特异区段不发生同源重组。在个体水平上表现为不受混血影响的父子继承。在Y染色体非重组区发现了越来越多的单核苷酸多态(SNP)位点,这些位点提供了越来越多的人类迁徙发展的信息,并且正好与民族系统演化的时间尺度相吻合。许多微妙而鲜为人知的民族形成的过程都在这些位点中昭示于众^[8]。

每个SNP位点上的一个碱基在群体中存在两种类型,一种是原始型,另一种是突变型^[9]。Y染色体上各位点在历史中陆续发生的突变形成了许多种组合。这就是Y染色体的各种SNP单倍型^[10]。它们在各民族中有独特的分布格局。

图五一中显示了东亚人群中分布的16种Y染色体单倍型,H2和H3是从中亚进入的类型,H6到H12是东亚地区特有的类型。图五二列出了东亚一些民族群体的Y染色体单倍型分布。

由图五二中看到,H9分布于傣、壮、侗、黎等侗台民族和高山族中,并向东北延伸;

H10 和 H12 几乎只分布于侗台民族和高山族,可以认为是百越民族特有的。H7 分布于瑶、畲等苗瑶民族中,可以认为是其特有类型。国内在苗瑶民族中没有百越的 H9,H10,H12,而百越民族中也没有 H7。所以这几种单倍型是这两个民族系统的鉴别标准。土家族中既有 H9、H12,又有 H7,所以可知其是有百越和苗瑶融合而成的。高山族中 H9、H10、H12 几乎占了 75%,阿美人占 100%^[11],可见其与百越民族亲缘关系之深。在西部的藏缅民族和汉族中 H8 的比例极高,在景颇等民族中达到 100%,可推测 H8 发生于氏羌系统民族,并随着汉族的扩散而带到各民族群体中。由此我们可以推测出图五三中各单倍型的地理发生情况。

根据这些 Y 染色体单倍型,我们可以分析中国古今各群体的族属成分。远古时代中国大陆上生活这具有不同文化的各种人群,这些人群是现代各民族的祖先,通过对各种考古文化遗址中保留的弥足珍贵的古代居民遗骨,我们可以研究他们遗传结构,解释他们的族属关系。

许多考古中无法用文物鉴别来解决的问题,比如同一地点居住着几个族群的人,文化传播的同时人群是否迁徙,文化断层背后是否有居民变迁,都可以用遗传手段来解决。对成片墓地中的遗骸的遗传基因研究,也可以了解各墓葬中的埋葬者之间的亲缘关系,以研究古代社会的结构形态。随着对古代人骨的基因研究的深入和广泛开展,我们必然会了解更多的族群起源和发展的历程、古代社会阶级形态、远古先民的健康状况和生活生产质量等等方方面面的信息。

马桥遗址中出土了各时期的人骨,本节通过对其遗传基因的研究分析马桥先民的族属和当地良渚时期和马桥时期居民血统的继承性。

一 材料与方法

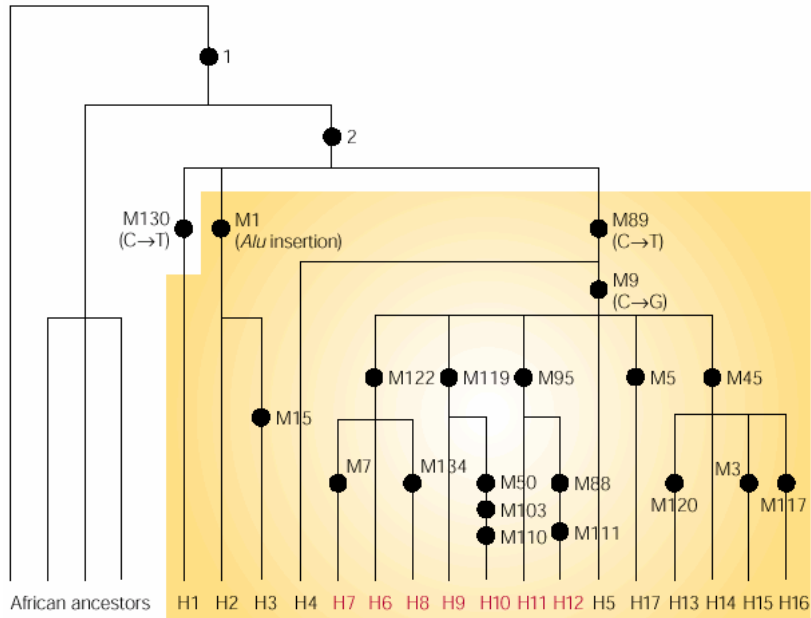
(一) 材料

材料是从马桥遗址出土的良渚文化墓葬骨骼5块、马桥文化墓葬2块和战国时期墓葬骨骼1块,其他材料有福泉山战国墓葬骨骼1块、松江等地明代墓葬骨骼3块(主要是白齿)、马桥现代居民血样26份、马桥东南以黄浦江相隔的金汇镇居民血样48份(血样全部为男性),以之作为研究的参照材料(表6)。

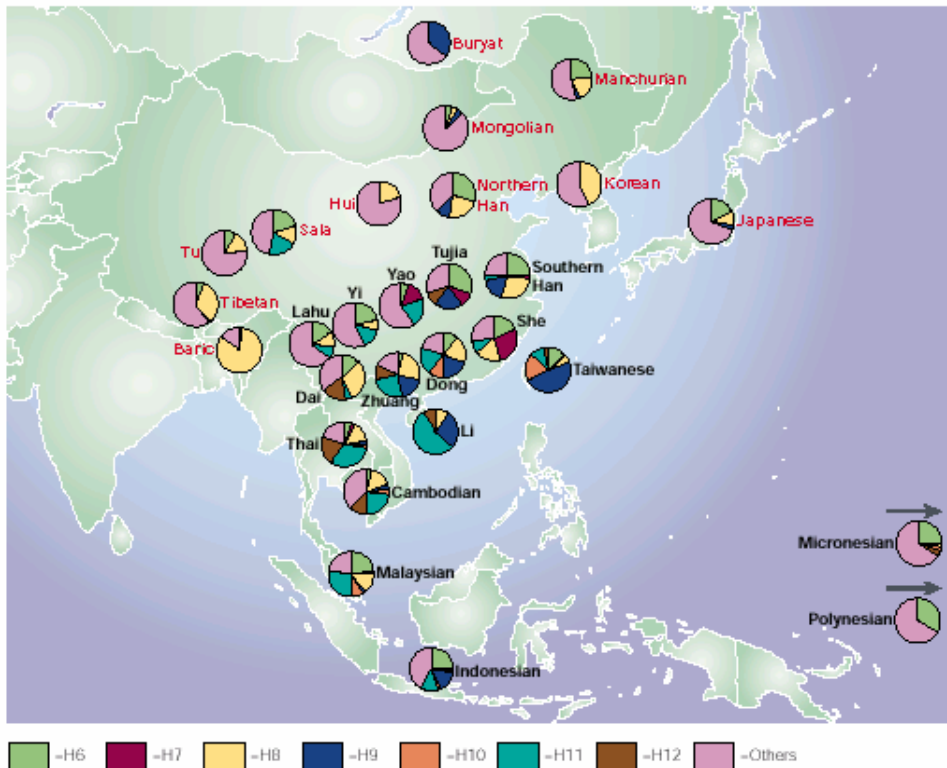
(二) 方法

牙齿样品先用酒精洗净外部附着的污物,再用紫外光照射降解外部DNA。用微型电钻研磨齿髓腔,收集髓粉,用新洁尔灭液清洗消毒2小时,再用无菌水反复长时振荡清洗数次。用SDS也去除蛋白质,反复置于液氮和55℃烘箱中数次以裂解骨细胞支架,使内部DNA暴露。

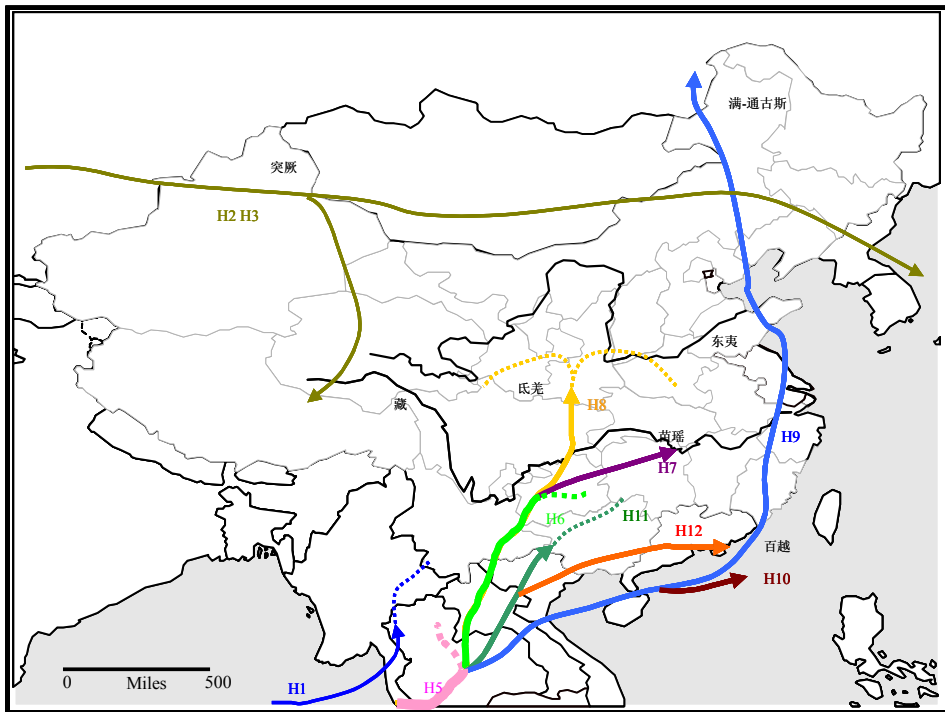
用SDS液和蛋白酶K反应48小时，破坏所有蛋白质。在用常规的酚-氯仿法抽提DNA，用酒精沉淀纯化DNA。提取人骨样品中DNA的过程在较严格灭菌的环境下进行，操作人员全部带上口罩、手套以防自身DNA污染样品。对血样进行蛋白质消化和酚-氯仿法抽提DNA。



图五一 亚洲人群中 SNP 位点组合成的 Y 染色体单倍型(摘自注释 10)



图五二 7 种东亚特有 Y 染色体单倍型的分布(摘自注释 10)



图五三 推测 Y 染色体各单倍型的地理发生图（虚线表示扩散）

对各人骨样品的 mtDNA Region V 区段进行扩增的 PCR 反应。反应引物为：

P8316: 5' ATG CTA AGT TAG CTT TAC AG 3'

P8196: 5' ACA GTT TCA TGC CCA TCG TC 3'。

对古代人骨和现代人 Y 染色体上 M130、M89、M9、M119、M95、M122、M45 等 SNP 位点进行增长扩增 (long-PCR) 和巢式扩增 (nest-PCR) 两步扩增。扩增产物用相应的限制性内切酶切割。M1 直接扩增。各位点的相应信息见表 7。

用琼脂糖凝胶电泳检测扩增和酶切产物的长度，分析各位点是否突变。对线粒体 DNA 扩增产物进行测序。

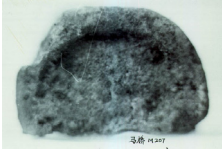

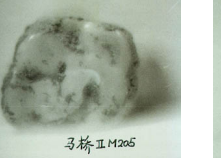
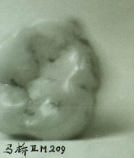
实验者 DNA 作阳性对照，空白作阴性对照，同样品一起作检测。

二 结果

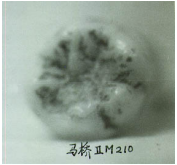
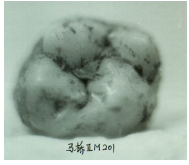
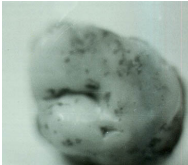
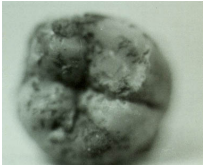
（一）墓葬人骨线粒体 Region V 区段 9bp 缺失状况

在线粒体的细胞色素氧化酶基因 (Co II) 和 tRNA^{Lys} 基因间 Region V 区段有一个 9bp (碱基单位) 的缺失，这一缺失广泛存在于亚洲各人群、新几内亚人以及美洲印第安人中，而被认为是印第安人和亚洲沿海人群特有的。邻近的西伯利亚人群中却完全无此缺失^[12]。这

表 6 上海地区古人骨样品状况表

编 号	1	2	3	4
时 期	良渚文化	良渚文化	良渚文化	良渚文化
地 点	马桥	马桥	马桥	马桥
墓 号	IIM207	IIM204	IIM205	IIM209
样品部位	腰椎	第二臼齿	第三臼齿	第二臼齿
图 片				

(续表)

编 号	5	6	7	8
时 期	良渚文化	马桥文化	马桥文化	战国
地 点	马桥	马桥	马桥	马桥
墓 号	IIM210	IIM201	IIM102	IIM203
样品部位	第二臼齿	第三臼齿	第三臼齿	第三臼齿
图 片				

(续表)

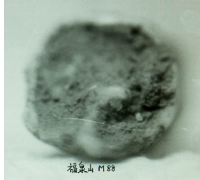
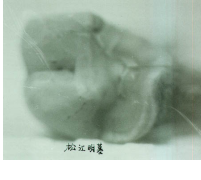
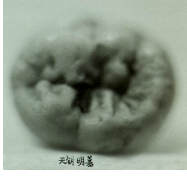
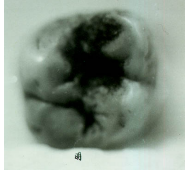
编 号	9	10	11	12
时 期	战国	明代	明代	明代
地 点	福泉山	松江	徐汇天钥	徐汇
墓 号	M88			
样品部位	第三臼齿	第三臼齿	第三臼齿	第三臼齿
图 片				

表 7 各位点的扩增引物和扩增产物

位点	增长 扩增 产物 长度	巢式扩增引物	巢式			
			扩增 产物 长度	内切 酶	原始 型	突变 型
M130	205	5' TAT CTC CTC TTC TAT TGC AG 3' 5' CCA CAA GGG GGA AAA AAC AC 3'	205	BsII	C 切	T
M1		5' CAGGGGAAGATAAAGAAATA3' 5' ACTGCTAAAAGGGGATGGAT3'			无 Alu 插入	有 Alu 插入
M89	527	5' GAA AGT GGG GCC CAC AGA AGG A 3' 5' GCA AAT CAG GCA AAG TGA GAC AT 3'	100	NlaIII	C 切	T
M9	340	5' GAA ACG GCC TAA GAT GGT TGG AT 3' 5' AAA CTG AAT CTT TTT TCC TCA TTT TTG 3'	210	BamHI	C 切	G
M119	330	5' AGG TAA ATG ACT CAC CCT AAG GAA G 3' 5' GGG TTA TTC CAA TTC AGC ATA CA GC 3'	161	Bstul	A	C 切
M95	480	5' ATA AGG AAA GAC TAC CAT ATT AGC G 3' 5' T TTG AAG GCC CCA GTT GTG AG 3'	202	HhaI	C 切	T
M122	350	5' TAG AAA AGC AAT TGA GAT ACT AAT TCA 3' 5' GCG ATG CTG ATA TGC TAG TTC AG 3'	122	NlaIII	C 切	T
M45	353	5' ATT GGC AGT GAA AAA TTA TAG CTA 3' 5' TGC CTT TGC TAC AAC TCT CCT A 3'	162	BfaI	G 切	A

一区段的突变是研究东亚人群遗传结构的重点之一。

各人骨样品的反应产物电泳图像上的条带分布于121bp和112bp两个位置。图五四是部分电泳图像。各样品的产物大小见表8。

对Region V区段测序。1、2、3、7、8号样品的结果见图五五（9bp缺失测序序列图），序列中CCCCCTCTA只有一份，是9bp缺失型；而其他样品见图五五（9bp重复测序序列图），CCCCCTCTA有两份重复，是标准型。

1-5号样品为良渚时期样品，9bp缺失占60%，是相当高的。6、7号是马桥文化时期样品，8、9号是战国时期样品，9bp缺失各占一半。10、11、12号是明代样品，没有发现9bp缺失。

（二）马桥地区古代遗骨的Y染色体SNP位点类型

马桥古代样品中除良渚时期M207的一块腰椎骨以外，其余11颗臼齿都成功的扩增和检测。阴性对照无产物，阳性对照与样品结果不一致，所以可知样品没有被实验者污染，结果是可信的。各样品各位点的类型见表9。

各样品SNP位点类型的组合都符合图五一的系统，所以结果是可信的。良渚、马桥两个时期，马桥地区的居民都有一半是M119突变的，战国没有突变，明代墓葬中松江的有突

变,其他地区没有发现 M119C 突变,而出现了 M130T 突变和 M89T-M9C 类型。M95 T 出现于良渚、马桥、战国三个时期。M119 的酶切电泳图像见图五六。

(三) 马桥地区现代居民的 Y 染色体 SNP 单倍型

对马桥和金汇两镇现代居民的样品检测结果,各位点突变个体数见表 10。

马桥和金汇的各 SNP 突变频率分布比较相似。金汇的 M119C 频率特别高,占总数的一半以上。这与高山族,侗族,黎族等群体结构相似,但远高于浙南,福建的群体^[13]。马桥的 M119C 占 1/3 左右,与浙南相近。

三 讨论

(一) 墓葬人骨线粒体 DNA 分析马桥地区各时期先民母系遗传

9bp 缺失在群体中的频率越往东南亚至太平洋岛屿越高,在华北较少以至于无。良渚文化、马桥文化、战国时期的样品都采于马桥地区,而明代 10-12 号采于徐汇等中部地区。从研究结果看,明代样品与其他时期样品可能不属于同一遗传群体。1-9 号所属群体可能是南方土著人群,故而 9bp 缺失频率较高,而 10-12 号可能是北方来的晚近移民。良渚文化、马

表 8 各样品 Region V 区段 9bp 缺失状况

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
产物长度 (bp)	112	112	112	121	121	121	112	112	121	121	121	121
9bp 缺失	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+

注: +为 9bp 重复, -为 9bp 缺失。

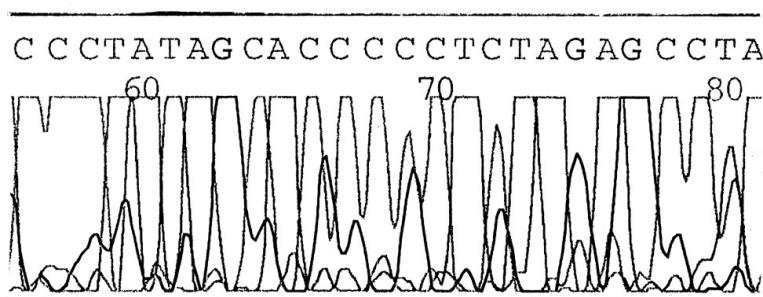
表 9 马桥古代各时期样品的 Y 染色体若干 SNP 位点类型

样品 位点	良渚文化时期				马桥文化时期		战国时代		明代		
	M204	M205	M209	M210	M201	M102	M203	M88	松江	天钥	徐汇
M130	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	T
M1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M89	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	C
M9	G	G	G	G	G	G	G	G	G	C	C
M119	C	A	C	C	C	A	A	A	C	A	A
M95	C	T	C	C	C	T	T	C	C	C	C
M122	C	C	C	C	C	C	C	T	C	C	C
M45	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
单倍型	H9/H10	H11/H12	H9/H10	H9/H10	H9/H10	H11/H12	H11/H12	H6/H8	H9/H10	H4	H1

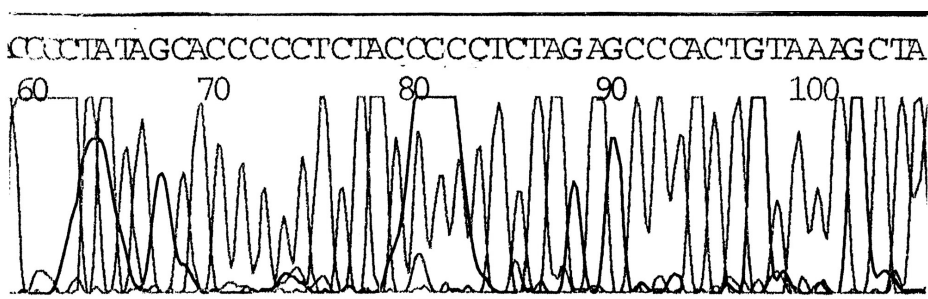
(注: M1 位点“-”表示没有 Alu 插入。)



图五四 若干样品 mtDNA Region V 区段 PCR 产物电泳图像
(从左到右为: 长度标记, 2-10 号样品。)



9bp 缺失测序序列图



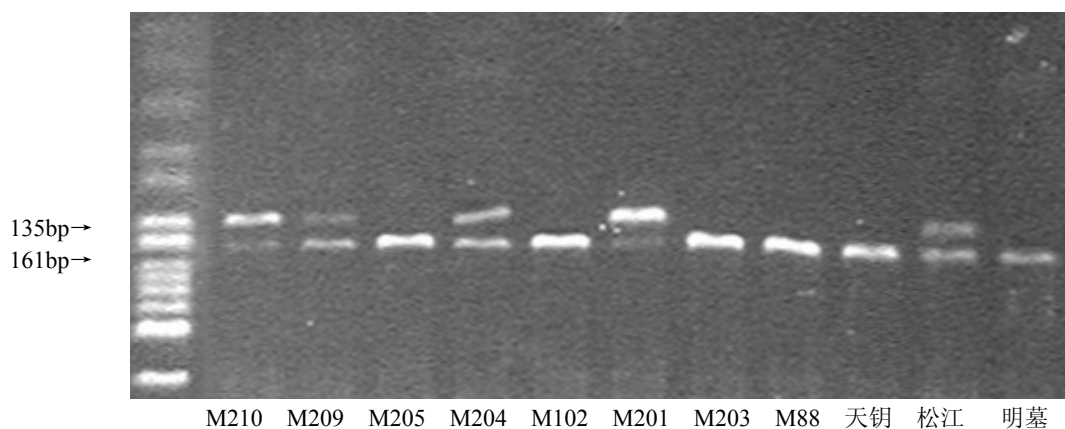
9bp 重复测序序列图

图五五 线粒体 Region V 测序序列图

桥文化、战国时期的马桥地区先民从线粒体DNA上反映的母系遗传是没有差异的。但是由于我们研究的样品数过少可能存在较大的取样误差，所以不能得出肯定的群体属性论断。

(二) Y染色体DNA分析良渚时期和马桥时期先民的族属

虽然因为古代遗骸的样品难得，我们检测的数目相当少，我们还是看到了良渚文化和马桥文化居民的主要遗传结构。这两个时期的Y染色体SNP单倍型都是以M119C和M95T两类



图五六 墓葬人骨 Y 染色体 DNA M119 酶切电泳图像

表 10 马桥镇与金汇镇居民 Y 染色体 SNP 突变频率和 M1Alu 插入频率
(比较其他民族)

	M130T	M1Alu 插入	M119C	M95T	M122T	M45A
金汇	6.25	2.08	52.08	10.42	29.66	
马桥	3.85	3.85	34.61	15.38	46.15	
台湾:						
布农			77.8	22.2		
泰雅			62.5		37.6	
排湾			81.8		18.2	
阿美			100			
侗傣:						
侗族			30	20	30	
黎族			27.3	63.6	9.1	
壮族	3.6	3.6	17.9	35.7	28.6	
汉族:						
浙江	12		26	6	50	
江苏	7.3	1.8	16.4	3.6	49	1.8
上海	6.7		26.7		46.7	3.3
福建	7.7			7.7	77	
南洋:						
马来			18.5	3.7	55.5	
爪哇	9.1		27.3	18.2	9.1	
关岛	16.7	16.7			33.3	
萨摩亚	48.3			6.9	41.4	3.5

突变型为主。这一方面说明,古代马桥居民是典型的百越民族群体,与三苗集团(主要为M122T)蚩尤部落毫无关系;另一方面也说明了至少在马桥地区,良渚时期与马桥时期的居民在遗传上是有一致性的,仅是文化在其它因素影响下发生了较大的变化。但是,即便在良渚鼎盛时期,马桥地区与良渚中心之间文化葬俗上也是有差异的。所以,良渚时期马桥居民的遗传结构是否能代表整个良渚文化先民的遗传结构是值得商榷的。就良渚时期与马桥时期遗传上的一致性而言,也只能说明这两个时期居民都属于百越。而百越在南方分布是极广泛的,浙南闽北肩头弄文化等被认为对马桥文化有贡献^[4]的类群是否也属于百越也待研究,不能排除他们对马桥文化先民血脉也有贡献。但是马桥先民与北方二里头文化等先民之间遗传上无关系应是较明确的。

(三) 马桥地区历史时期居民父系遗传传承

我们的数据非常倾向于良渚时期马桥时期居民遗传上有继承性。在战国和明代样品只有两三个的情况下仍发现了M95T和M119C,说明这两种突变类型在群体中可能仍是较主要的,事前的血脉是一直传承下来的。在战国时期出现了之前未发现的M122T突变。M122T可能在原先并不存在于马桥地区,是春秋战国时期从西部传入的。当时中国大部分地区战乱频繁,太湖流域经历了吴越争霸和楚国扩张的事件,荆吴人口的流入是很有可能。而荆吴应带有西部的M122T。明代是中国与外交流较频繁的历史时期,所以上海地区遗传结构也开始复杂,但不排除本来马桥地区就有H4和H1类型。

(四) 现代马桥地区居民的遗传结构

现代马桥地区居民的M119C依然是主要类型,特别是金汇镇,这表明马桥先民的血脉仍是当地人的主要构成,当地人多数在遗传上属于百越系统的。此外M1Alu插入的发现说明西北民族对本地也有影响,这种影响可能主要发生于元代。M122T的频率已经相当可观,在马桥镇已占了近半。这很可能是被汉族同化的结果。在浙南和福建的群体中同样有这样的遗传结构,暗示着东南部的许多汉族群体是来源于百越的。金汇的遗传结构与现代侗台民族和高山族相似,证明这一群体是较纯的百越群体,是与良渚、马桥时期一脉相承的族系。由于黄浦江以西地区流动性更大,所以马桥地区虽然7000年来发生了许多大事件和社会文化变革,但是当地居民的血脉应是一贯传承下来的。

注释:

- [1] 宋建:《论良渚文明的兴衰过程》,浙江省文物考古研究所编:《良渚文化研究——纪念良渚文化发现六十周年论文集》,科学出版社,1999年。
- [2] Human Medical College: Study of an ancient cadaver in Mawangtui tomb No.1 of the Han Dynasty in Changsha, Ancient Memorial Press, pp184-187, 1981.
- [3] Higuchi R., Bowman B., Freiburger M., Ryder OA, Wilson AC: DNA Sequence from a quagga, an extinct member of the horse family. Nature 312:282-284, 1984.
- [4] a. Pääbo S.: Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA. Nature 314:644-645, 1985.
b. Pääbo S.; Higuchi R.G., Wilson A.C.: Ancient DNA and the Polymerase Chain Reaction, Journal of

- Chemistry, 264(17): 9709-9712, 1989.
- [5] Saiki RK, et al: Enzymatic amplification of β -globulin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230:1350-1354, 1985.
- [6] Boom R. : Rapid and Simple Method for Purification of Nucleic Acids, *Journal of Clinical Microbiology*,:495-503, 1990.
- [7] a. Jobling, M.A. & Tyler-Smith, C: .Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution. *Trends Genet*, 11:449-455, 1995.
b. Gilbbons A.Y: Y chromosome shows that Adam was African. *Science* ,278 (5399): 804-805, 1997
c. Su, B. et al: Y-chromosome evidence for a northward migration of modern human into East Asia during the last ice age. *Am.J.Hum.Genet.* 65:1718-1724, 1999.
- [8] Ke Yuehai, Su Bing, Song Xiufeng: Independent origin of human populations in East Asia: A tale of 12,000 Y chromosomes. *Science* 288(5518), 2001.
- [9] 张思仲: 《人类基因组的 SNP 及其医学应用》, 《中国医学遗传学杂志》第 16 卷第 2 期, 1999。
- [10] Jin Li & Su Bing: Natives or immigrants: modern human origin in East Asia. *Nature Reviews Genetics* 1(2):126-133, 2000.
- [11] Su, B. et al: Polynesian origins: insights from the Y chromosome. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 97:8225-8228, 2000.
- [12] Ballinger SW et al: Southeast Asian mitochondria DNA analysis reveals genetic continuity of ancient Mongoloid migration. *Genetics*, 130:139-152, 1992.
- [13] 同[11]。
- [14] 宋建: 《马桥文化探源》. 《东南文化》, 1988 年第 1 期。