

# 遗传基因技术与三峡考古实践

黄颖 李辉 文波 王玲娥 金力 高蒙河

(复旦大学 上海 200433)

Molecular genetics is a new-developed science field, technology of which now is applied in Sanxia archaeology for the first time in China. Collection, experimental test and distinguishing on human bones' ancient DNA from Han dynasty tombs in Shidibang of Chongqing City shows that the remains shall be a southern aborigine, which match case with culture analysis on archaeological typology.

Key words: Human Gene experimental test Sanxia Archaeology Culture analysis.

**内容提要** 遗传基因技术是新兴起的前沿学科领域,将这一方法应用于三峡考古的实践在国内还是首次。本文通过对重庆库区石地磅汉代墓地出土人类遗骨基因的采样、测试和分辨,得出了墓主人可能是南方土著居民初步认识,这一认识与考古类型学分析结果可以互证。

**关键词** 遗传基因 测试手段 三峡考古 类型学分析

**中图分类号** K85 **文献标识码** A

2001年春季,复旦大学文博系考古队与复旦大学生命科学学院现代人类学研究中心古DNA实验室合作,利用分子生物学技术手段,开展了对三峡地区出土人骨古DNA的提取和研究工作,目前已从重庆万州石地磅汉代墓地出土的人骨中,成功地提取了部分古人骨样品的DNA,为逐步建立三峡地区古DNA数据库迈出了相当可喜的第一步。

## 一 古DNA研究的历史和现状

DNA(脱氧核糖核苷酸)为两条脱氧核苷酸链反向平行盘绕所生成的双螺旋结构。在生物活体中它与蛋白质融合而成遗传物质的载体——染色体。DNA存在于几乎所有的细胞中。古DNA(又称aDNA)是指残留于古代生物遗骸中的DNA。

古代生物遗骸可分为三类:软组织(soft tissues)、硬组织(hard tissues)和化石(fossil)<sup>[1]</sup>。软组

**收稿日期** 2000-5-20

**作者简介** 黄颖(1978年7月生),女,浙江绍兴人,复旦大学文博系,硕士。

李辉(1978年5月生),男,上海人,复旦大学生命科学学院遗传所,硕士。

文波(1975年5月生),男,云南昆明人,复旦大学生命科学学院遗传所,博士。

王玲娥(1955年8月生),女,上海人,复旦大学生命科学学院遗传所,助理实验师。

金力(1962年2月生),男,上海人,复旦大学生命科学学院遗传所,教授,博士生导师。

高蒙河(1958年8月生),男,吉林省吉林市人,复旦大学文博系,副教授。该课题联系人。

织指以较好的状态保存下来的遗骸,如人或动物古尸的肌肉、皮肤、脑、内脏等,只有在特殊或罕见的情况下,这些软组织才得以较好的情况保存下来,如埃及的木乃伊、德国和法国边境发现的距今5000年的“雪人”、长沙马王堆的干尸、各地不断发现的明清时期古尸等,这些都是古代DNA研究难得的好标本,硬组织则指一般考古发掘所得的古代骨骼、牙齿等,这些材料来源广泛,种类和数量较多,是古代DNA研究的更常见的材料;化石即指远古人类和动植物的化石,由于年代太过久远,在现有的技术条件下,绝大多数化石还不能成为古代DNA研究的材料。就生物中的人类而言,古代DNA是指考古发掘所得的古代人类遗骸中所含的人类DNA。众所周知,DNA中蕴涵着人体所有的遗传信息,历来是分子生物学研究关注的焦点,自从DNA快速排序技术问世后,建立在生物DNA序列比较上的进化研究逐渐普及开来。但是现代DNA序列只能提供形成该序列历史过程的间接而非直接证据,所以某种意义上说,这种有似于“关公战秦琼”式的比较方法,尚无法摆脱“时间陷阱”这一困境。而古代DNA研究的兴起为摆脱这种困境提供了一条出路。自从证实了在古代人类遗骸中的某些“硬组织”(如骨骼、牙齿)及在缺水条件下的“软组织”存在着少量未降解或稍降解的DNA,对古代遗骸的分子水平上的研究就迅速开展起来。通过分子技术对古代人类遗骸中的DNA片段进行提取、扩增、测序,就能得到关于古人的遗传结构信息,对于了解人类的起源、进化和迁徙提供了直接证据,开拓了一个新的领域。

采取分子生物学技术从古代生物遗骸中提取DNA片段,并运用于考古研究的工作开始于80年代。目前中国、美国、日本、德国等国学者均已在应用古DNA技术研究古代个体和群体之间亲缘关系等方面取得了相应成果。世界上开创性并成功提取DNA的最早先例,是中国科学院生物物理研究所从长沙马王堆古墓出土女尸中提取出的古DNA和RNA<sup>[2]</sup>,而最早对古DNA进行研究的是1984年Higuchi等人从博物馆中保存了140年的马科动物(Quagga)肌肉标本中提取、克隆并测序了两个线粒体DNA片段,通过比较与其近亲马、驴和斑马之间的相关线粒体DNA序列,建立了相互的亲缘关系和进化树,这项开创性的工作充分证明了古代DNA研究的可行性和重要性<sup>[3]</sup>。此后,美国学者Paabo又从埃及木乃伊中提取并克隆了古人类DNA<sup>[4]</sup>。

80年代中期,聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction,简称PCR)技术问世,这一分子生物学领域的革命性进展为古DNA的研究注入了全新的活力。PCR技术的介入使得古DNA的研究真正迅速地开展起来,1988年Paabo和Willson等人率先将这种技术运用于古DNA的研究中,他们从发现于美国佛罗里达州小盐泉的距今7000年左右的干枯人脑组织中成功提取到了线粒体DNA,序列分析表明这个古代人属于一个在旧大陆稀少且在美国本地人中不存在的线粒体支系<sup>[5]</sup>。在此以后,有关学者对古代DNA的提取分析技术进行了更加深入的研究,样品范围已扩展到人类骨骼、牙齿、木乃伊及其它干化组织,已成功地从距今数百年到接近一万年的样品中提取到DNA。通过对古代DNA的研究使我们能够对古代人类的基因型、群体,甚至已经绝灭的人属成员的DNA进行分析,同时也使得我们能对不同阶段的人类DNA进行纵向对比,从而加深对人类演化历史的认识。对古代DNA的分析可以获得以下三方面的信息:

1. 个体水平上的遗传信息(Individual level):这方面的信息可用于考古墓葬发掘的个体鉴定、家系鉴定,同时也是获得以下两方面信息的前提;
2. 人群内部的遗传信息(Intrapopulation level):通过比较群体内两个或多个个体之间的遗传信息可以确定一个群体中个体之间的相似或歧异程度;
3. 群体之间的遗传信息(Interpopulation level):比较不同人群之间的DNA差异可以揭示出他们之间在进化上的相互关系,进而在时间或空间上重建人类演化过程。

迄今为止,美、德、日等国已在运用分子生物学技术进行人类学、考古学研究领域中作出了相应的成绩,不仅已成功地从距今数百年到一万年的样品中提取到DNA,而且对种族、群体、个体特征DNA研究的成果已被用于考古发掘中发现的人类遗骸的鉴定以及一些古代人群形成发展的研究。例如Paabo、Hagelberg和Clegg扩增了史前太平洋岛屿居民遗骨提取物的线粒体DNA第五区,结果显示来自美尼拉西亚群岛的早期移民占据了这些太平洋岛屿<sup>[6]</sup>。Nielson等从西格陵兰岛发现的1500年前的木乃伊样品中提取DNA,并扩增了mtDNA的D环(D-loop),发现其与高加索人的序列有着惊人的相似<sup>[7]</sup>。日本学者Kurosaki等人成功地从发掘于九州距今1500~2000年日本

弥生和古坟时代的两个墓葬群的55个个体的骨骼和牙齿中提取到DNA,然后使用短核苷酸串联重复序列位点(Short VNTR loci)法对这两批标本进行了家系及种族特征等方面的鉴定<sup>[8]</sup>。1997年慕尼黑大学Paabo的和Clegg从最早发现的尼安德特人化石中成功提取了50个线粒体DNA分子片段作为模板加以PCR扩增,将之与1600个现代全球各地各种族人的线粒体DNA作分析对比,证明了尼人是人类进化过程中已绝灭了旁支,而不是现代人的祖先,为非洲起源说提供了又一依据<sup>[9]</sup>。

目前,对古DNA的研究主要集中于对其中线粒体DNA的分型上,对Y染色体的分型研究则处于起步阶段。

线粒体是真核生物细胞中重要的细胞器,其功能是产生能量以维持细胞的活动,故被称为“动力工厂”,是细胞乃至整个机体的能量源泉。线粒体DNA具有如下一些特征:一是单倍体呈严格的母系遗传;二为其突变率较高,比核DNA(gDNA)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积累的大量核苷酸变化信息。而且线粒体DNA变化主要来源于突变而非重组,所以通过对其差异的系统分析可以忠实再现人群的母系进化史;再次,线粒体DNA拥有比细胞核DNA更多的拷贝数,因而在组织中残留量大,易于提取,相对于核DNA而言具有更高的灵敏度,适合于古代DNA的分析。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等特点,因而被较广泛的应用于DNA(包括古DNA)的研究中。线粒体DNA的若干多态位点在不同人群中的遗传多样性的研究,为人类进化和群体源流、迁移提供了大量生物学证据。1987年,以Willson为首的伯克利研究组根据对祖先来源于非、欧、亚洲及新几内亚和澳大利亚土著共147名妇女胎盘细胞线粒体DNA的分析提出了现代人类起源于非洲的“夏娃理论”<sup>[10][11]</sup>。

但是线粒体DNA在研究中仍然存在一些问题,比如说,线粒体DNA的高突变率尽管带来了高多样性,但是同时带来的问题是很难通过对其的分析确定其古老的基因状态,而且某些片段的突变率太高以致在一些特定的突变位点会产生回复突变以及再次突变。相对而言,Y染色体避免了这些不足。

Y染色体是一个小的近端着丝粒染色体,由大约50Mb核苷酸构成。具有如下特点:突变率较

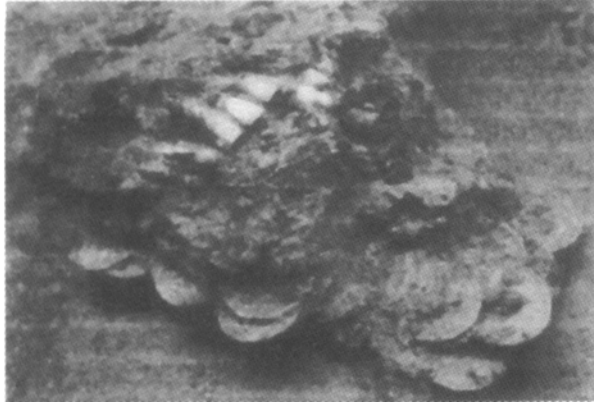
低,使得不同的单倍型可以较稳定的遗传,增强数据的说服力;Y染色体由于父系遗传,简化了数据分析,基本不存在重组现象,比较容易得到群体单倍型,显示出比常染色体和mtDNA更好的空间结构。目前关于Y染色体的研究的目的是构建一个进化树以提供现代Y染色体的进化关系以确定它的起源和分支时间,这一点突出体现在人类的起源与进化研究的应用中;其次在于通过检验不同人群之间不同Y染色体类型的频率来确定人群间的亲缘关系。一般而言,亲缘关系近的人群具有相似的同种Y染色体的频率较高,亲缘关系越远,Y染色体类型的差别就越大,这对于人群亲缘关系及迁徙的研究无疑极有实用意义。Y染色体成为线粒体之后研究人类起源、进化和迁徙的又一有力工具。1997年,Underhill根据Y染色体研究结果提出了“亚当学说”——最早的男性出现在非洲,与“夏娃学说”相吻合<sup>[12]</sup>。目前大多数的对于Y染色体的研究方法集中于STR和SNP。SNP标记即Y染色体的单核苷酸多态性标记,是目前公认的研究早期人类进化和迁移最理想的工具,为研究群体遗传学,包括古人类遗传特征、亲缘关系与迁徙情况,提供了广阔的前景。目前这一技术已找到超过200个Y染色体SNP位点,1999年宿兵等人从这套Y-SNP中选择了由19个Y-SNP构成的一组Y染色体单倍型,这19个Y-SNP覆盖了所有的东亚和太平洋地区群体具有的单倍型,用这一套单倍型来系统研究包括中国在内的东亚人群的起源和迁移,得到了这些SNP在东亚包括中国各人群中的特征分布<sup>[13][14]</sup>。从而也为古DNA的研究提供了参照系和相关数据库。

## 二 采样和测试方法

2001年春季,复旦大学考古队在清理石地磅墓地的过程中,发掘和浮选出了部分人体骨骼和牙齿,虽然保存状况不够理想,但是为对该地区的古DNA研究提供了基本样本。之后,运用分子生物技术对其中的DNA进行了抽提,并进行了PCR扩增、测序,在对成功抽提的DNA的线粒体DNA突变区和Y染色体SNP位点的分析中,取得了一些初步的成果。

### 1 材料与设备

1.1 人骨:重庆市万州区石地磅汉墓M1出土人体肢骨两块、牙齿若干(图一);汉墓M2出土07、08、09号陶器内泥土浮选所得人类牙齿;探方102③层出土人骨一块。1.2 主要试剂:



图一// M1 清理出的牙齿和钱币

① EDTA: 乙二胺四乙酸二钠 5M/ml ;新洁尔灭 ;蛋白酶 K: 10mg/ml -20℃ 备用 ;TE 缓冲液: Tris - HCL 10mM/l ;SDS: 十二烷基磺酸钠 0.5% ;饱和酚 ;氯仿 - 异戊醇 (2:1) ;无水乙醇 ;70% 乙醇 ;无菌水 ;醋酸钠 3M/l PH5.2 ;丙酮 ;

② PCR 体系 :Tag 酶 (Hot - star) 5 单位 / 微升 ;dNTP 2mM ;10xbuffer ;引物 10mM ;Mgcl<sub>2</sub> 25mM ;无菌水 ;Q - solution ;

③ 10xTBE 缓冲液 ;107.8gTris Base ;55.0gBoric acid(硼酸) ;8.2gEDTA 二钠盐 ;

④ 琼脂糖 ;溴酚兰 ;溴化乙锭 (EB) ;甘油 ;0.18% 的电泳上样缓冲液 :含 1% 溴酚兰 ,30% 甘油 ,ddH<sub>2</sub>O ;

⑤ 限制性核酸内切酶 :Bst<sub>u</sub> I ,Nla<sub>u</sub> III。

### 1.3 主要器材

PTC - 100 PCR 仪 ;SCR - 300 电泳仪 ;Electro - 4 Gel Tank 电泳槽 ;FR - 200 紫外与可见分析装置 ;应用及分析软件 (Smartview image analyse) ;台式高速离心机 ;水平式低温超速离心机 ;摇床 ;烘箱。

## 2 古 DNA 的提取方法 :

① 选样和灭菌。选取样品中保存情况相对较好的骨骼和牙齿 ,用解剖刀将表面刮干净 ,用酒精消毒 ,放入无菌室用紫外线光灭菌。

② 取骨粉。用灭过菌的解剖刀将骨头表面刮去 ,取较深层的骨粉。将牙齿碾碎至呈粉粒状 ,装入 1.5ml 离心管 ,加入 1ml 新洁尔灭稀释液 ,放入摇床震荡过夜。

③ 去清液 ,用无菌水清洗三次 ,每次加无菌水 1ml 后震荡打散。13000rpm 离心 5 分钟 ,去上清 ,最后加入 1ml 无菌水 ,震荡过夜。

④ 用无菌水清洗两次 ,每次加无菌水 1ml 后

震荡打散 ,3000rpm 离心 10 分钟 ,去上清 ,最后加入 1ml 裂解液 ,震荡过夜。

⑤ 将样品在液氮中冷冻 5 分钟 ,然后在 55℃ 烘箱中解冻 ,反复 4 次 ,放入液氮中冷冻过夜。

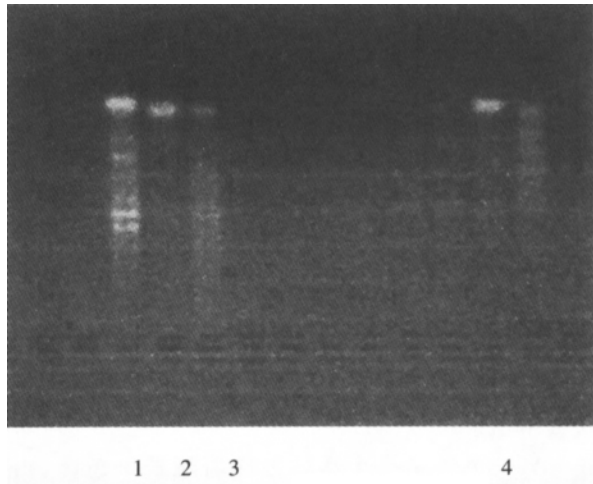
⑥ 将样品在 55℃ 烘箱中解冻 30 分钟 ,5000rpm 离心 10 分钟 ,去上清 ,用消毒玻璃棒搅碎骨粉 ,加 900μl 裂解液和 100μl 蛋白酶 K ,震荡过夜两天。

⑦ 酚氯仿抽提 DNA ,乙醇沉淀 DNA , -20℃ 保存待用。

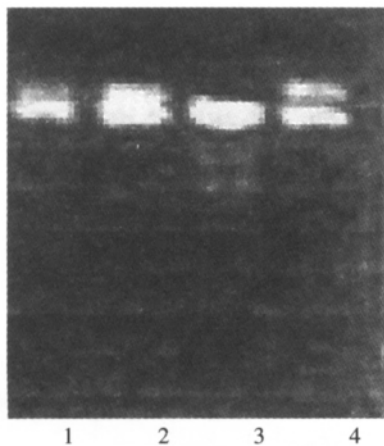
所有实验操作均在无菌室内完成 ,实验者严格遵循防污染操作原则。

### 3 线粒体 DNA (mtDNA) Region V 9bp 的 PCR 扩增

mtDNA 是线粒体中的闭合环状双链 DNA ,具有母系遗传 ,有效群体相对较小 ,突变率高 ,拷贝数多 ,易于检测 ,遗传背景清楚等优点。许多研究表明 mtDNA 具有种族和群体的特异性。其中位于 CoII 和 tRNA LYS 基因间的 Region V 区域的 9bp 缺失是最为重要的发现之一 ,被认为是东亚人的标记。CoII/tRNA LYS 区域的长度差异首先由 Cann 和 Willson 发现 ,测序结果显示这一差异是由于缺失了一个 CCCCTCTA 重复序列所致 ,正常人群为两个重复。通过对世界各人群 9bp 缺失的筛查和系统分析 ,有人认为 9bp 缺失发生于东亚 ,是进化史上的一次性事件<sup>[15]</sup>。9bp 缺失也具有种族和群体的特异性 ,据中国科学院动物学研究所姚永刚等人对来自 12 个民族和 9 个不同地理区域汉族的 1218 个中国人的血样线粒体 DNA 的 9bp 筛查显示 ,所有样本的 9bp 平均缺失率为



图二// 9bp 缺失电泳结果



图三 // M122 位点酶切电泳条带

14.7% ,但在不同的民族中的比率在 0% 和 32% 之间变化。而且 ,就整体而言 ,似乎南方人群 9bp 缺失率高于北方人群 ,例如缺失率最高的群体是贵州省的苗族 (32.4% ) ,而在华北较少以至于无 ,如山东青岛的样本缺失率仅为 3.33% ,而新疆的喀什人的缺失率为 0% 。明显呈现出“南高北低”的地理梯度分布 ,提示 9bp 缺失的 mtDNA 可能是由南向北扩散<sup>[16]</sup>。对于古 DNA 的分析而言 ,9bp 缺失的筛查对于分析样品所代表的个体的族属具有较强烈的提示性。

结果显示 ,电泳图象上各样品的条带分布于 112bp 和 121bp 两个位置 ,图二为部分样品电泳图象。缺失型其片段较小 ,泳动较快 ,跑在前面。从图二可见 ,泳道 1 为已知 9bp 缺失的参照 ,对照可见 ,泳道 4 的 M1 为 9bp 缺失型 ,泳道 2 和 3 的实验者为 9bp 不缺失型 ,其余古代样品无显示。

从出土地点分析 ,6 个样品至少分属三个人类个体 ,如果仅就 3 个个体而言 ,其 9bp 缺失率已不低于 30% 。当然 ,由于样品个体太少 ,前述比例无统计学上的意义 ,但至少提供了一种暗示 ,即该地区人群中 9bp 缺失率有可能较高 ,M1 的墓主人极有可能为南方土著居民。

#### 4 Y 染色体 SNP 位点基因分型

如前所述 ,Y 染色体由于其父系遗传的特性与母系遗传的 mtDNA 形成了互补 ,其突变率非常低 ,基本不存在重组现象 ,因而其上突变可以看作一次性事件 ,便于推断古老型。而且一个 SNP 位点上只有两个等位基因 (biallelic ) ,因此往往只要进行 + / - 分析 ,就可以用较简便的 PCR - RFLP 进行检测。

以下拟对样品 DNA 进行 M119、M122 和

M134 位点上的基因分型 ,先对目标片段进行一次长扩增 (Long - PCR) ,再进行一次巢式扩增 (Nest - PCR) ,PCR 产物用相应限制性内切酶切割。电泳检测扩增产物和酶切产物的长度 ,分析各位点是否有突变 (现代男性 DNA 作阳性对照 ,空白作阴性对照) ,M122 位点结果如图三所示。

图三泳道 3 为 M1 扩增产物。M122 突变为 T (100bp) → C (122bp) ,发生突变的个体 ,其扩增产物不能被酶切开。未被酶切的 ,片段较大 ,泳动速度较慢 ;被酶切的片段变小 ,泳动速度较快。M1 扩增产物泳动较慢 ,跑在后面 ,表明它未被酶切开 ,所以为突变个体 ,即 M1 样品为 M122C 突变型。泳道 1 和 2 为阳性对照 ,均被酶切。泳道 4 为电泳尺度标志 ,非样品。阴性对照无产物。说明结果是可信的。

M119 和 M134 位点的测试结果显示 ,M1 个体非 M119 突变型 ,也非 M134 突变型。

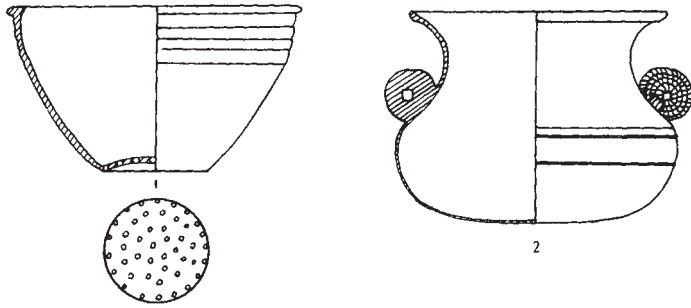
据复旦大学遗传所现代人类学研究中心已有的研究结果 ,并参照该实验室数据库内相关 SNP 位点分布情况数据显示 ,M119C 突变型在百越民族中出现频率最高 ,M122C 突变型在汉藏语系民族和三苗集团中出现频率最高。所以 ,此三位点的分型结果在前述线粒体 DNA 的 9bp 筛查结果基础上就 M1 个体族属作出了更进一步的提示 ,即 M1 的墓主人极有可能为南方土著居民 ,而且在族属上与百越民族相去甚远 ,与汉藏语系民族或三苗集团的亲缘关系较近。

#### 三 类型学分析与 DNA 测试结果的比照研究

石地磅汉代墓地位于重庆市万州区太龙乡新立村八组 ,发现 M1、M2、M3、M5 四座东汉时期墓葬。由于墓址都位于一条南北向高约 2 米的后代断坎上 ,均受到了相当程度的自然和人为扰动 ,券顶和墓室结构已遭到一定破坏<sup>[17]</sup>。

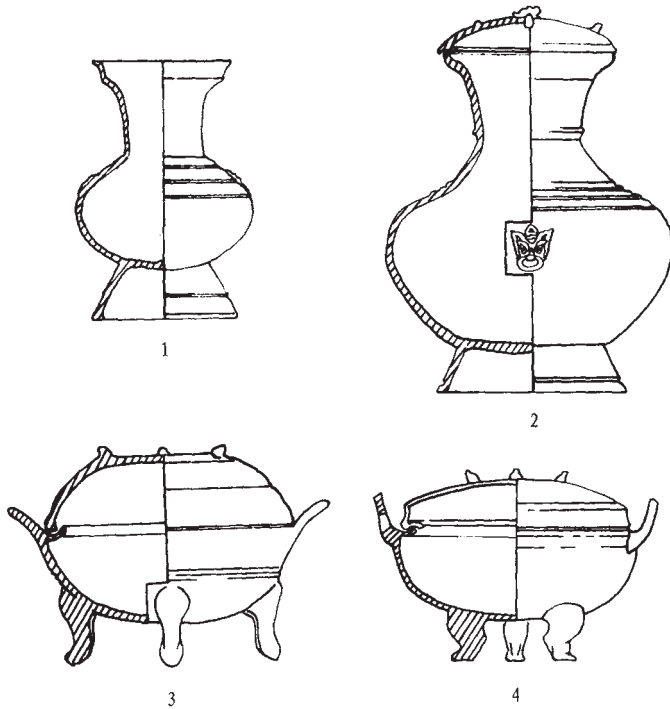
M1 墓室呈长方形 ,西部一半墓室已损坏殆尽 ,残存墓室两侧用长方形仿砖石块砌成 ,未发现葬具痕迹和铺地砖。出土有铜釜、灰陶甗、红陶盘口壶、灰陶和红陶碗钵、灰陶仓形罐等 13 件器物和 210 多枚汉五铢钱。铜釜和灰陶甗相套 ,应为一套炊器组合 (图四) ,釜腹部以下有明显的炊爨留下的黑色烟炱。遗骨残损严重 ,仅剩牙齿和个别肢骨 ,据牙齿和肢骨位置推测 ,墓主葬式为仰面、头向东南 ,脚向长江 ,头下枕有大量五铢钱。

M2 为刀把形砖室墓 ,四壁用模印菱形纹砖砌成 ,并用素面长方薄砖铺地。随葬器物包括 92 件



图四// 带有土著文化特色的釜甑组合

1. 灰陶甑(M1 05) 2. 青铜釜(M1 06)



图五// 各墓出土的带有中原文化因素的器物

1. 红陶盘口壶(M1 02) 2. 釉陶盘口壶(M2 04)

3、4. 红陶鼎(M2 73、M3 08)

器物 and 6 枚汉五铢。集中分布于墓道北侧和墓室西南角两处,并在沿道东西向可见葬具的痕迹。遗骨主要是在墓道入口处的西部有残留的牙齿和残头骨。墓室内除随葬品外不见葬具和遗骨痕迹。推测这是一座双人合葬墓。M3 仅存青、红两色砖铺地,北半部拼接散乱,南半部规整,东侧端有河卵石铺地,估计是一座有扩建可能性的土坑合葬墓。但未见遗骨。出土 12 件红陶器,22 件灰陶器和 23 枚汉五铢钱(图五)。M5 也为砖室墓,但是已被破

坏至仅存一堆乱砖和极少数几件红器物。

综观出土的红陶器和灰陶器,两者存在着较为显著的差异,主要表现在以下几个方面:

1. 红陶器皆为泥质,胎质细腻。灰陶部分夹砂,夹石英砂、砾砂。胎质相对较粗。

2. 红陶烧成温度较低,胎质较疏,无日常使用痕迹。灰陶烧成温度较高,胎骨坚硬,个别器物有明显使用痕迹。如 M2 灰陶甑出土时与铜釜相套,构成一套炊器组合,铜釜上留有明显的炊爨留下的烟炱痕。M3 04 灰陶筒形罐内留有残存的食物根茎痕迹。

3. 红陶器形普遍较小,器类众多,尤其 M2 的红陶器最为丰富。有壶、鼎、钵、甑、敦形器、香薰、罐、灯盏、杯、盒、豆、釜、盆、盘、瓢等。灰陶器器形较大,器类较少,只有钵、甑、碗、罐少数几种。

4. 红陶器的另一特点是明显具有仿铜造型和制作的象征性,尤以釜、鼎最为典型。M2、M3 均有红陶釜出土,与 M1、M2 出土的青铜釜形态极为相似,但形体明显大为缩小,实用器上的环形耳已象征性地简化成乳突耳。釉陶器也多呈这种倾向,皆为红陶胎,器表施青绿色釉,器类有壶、釜、杯、瓢、香薰等。釉陶器首先产生于西汉初期的陕西关中地区,由于烧成温度较低多作丧葬明器。

由上述差异可以推断,红陶和釉陶系列的器物是专门为随葬而特制的明器。而灰陶器则大部分是生活实用器。

如果以类型学手段对各墓进行文化因素分析,就可以发现在墓室结构上存在着砖室和仿砖石室两种形式。砖室结构的横穴木椁墓的墓葬形制为秦汉以来中原地区在墓葬形制上的重大变动,这种变化大约首先发生在黄河流域,然后普及影响到全国各地。远离黄河流域,偏于西陲的巴渝地区出现这种墓葬形制,估计是受到了中原文化的影响。M1 的墓葬形制则不同,是仿砖石室,较有特色。四川地区为中国石结构墓葬在西南地区的集中发现地,主要

包括石棺墓和大石墓两种形式。冯汉骥和童恩正先生对此有过较为深入的研究,认为这两种石结构墓葬约行于战国至西汉,与巴蜀民族的大石崇拜的意识相关,并且就整个中国范围来看,石结构墓基本不见于中原,而是中原以外民族的葬俗<sup>[18][19]</sup>。延至东汉,M1的这种石结构形制虽有别于前,融入了较多同时期中原的砖室墓的因素,但极有可能为前者的一种余绪。并且在巴蜀以外的地区也极少发现,因此可以认为是当地土著居民对砖室墓的一种地方性模仿和改造,体现了较为浓郁的土著特色。

从随葬器物来看,红陶和釉陶的仿铜礼器特点明显不属于本地文化传统,形制多与同时期的中原墓葬出土陶器相近,说明中原汉文化的礼制观念和丧葬习俗已传输到这里。而实用性的灰陶器、铜釜、铁釜应该说是地方土著文化特色的体现。日常炊爨、盛放和食用的功能决定了这类器物的形制和质地必须实用和耐用,因而器形和种类较专为随葬而制的红陶和釉陶明器,便明显呈现出简便、粗朴的特色。

从表中的统计数据可以看出,M1的随葬器物中象征礼器的红陶器在数量上仅占1/3,而灰陶占到2/3,并且从器类数来讲,前者也仅是后者的一半。当然,不能不考虑到M1受到的较大的扰动对器物数量和比例所造成的影响。从这一角度而言,与之相临的M2受到的外界扰动较小,应该具有一定的可比性。M2中红陶器和釉陶器所占比例明显增多,达到40%左右,虽然数量上未能超过灰陶器,但是器类之丰富远灰陶器所不能及。再者,就器物组合而言,M1中的釜、甑组合体现着浓郁的西南地区土著文化特色<sup>[20]</sup>。其中的辨索纹竖环耳青铜釜,形体浑圆,器壁甚薄,早在巴蜀文化时期就是典型的铜器,同一谱系承递关系明显,传统久远,与中原铜器有着显著差别。

与M1不同的是,M2、M3中明显存在着两套组合,一是代表土著文化特色的实用釜、甑组合,又有仿制的红陶釜甑组合。二是红陶器中存在的鼎、豆、壶组合,以鼎、豆、壶组合随葬的葬俗不见于传统巴蜀土著文化的墓葬,其源起亦在中原。战国晚期,中原地区丧葬制度发生了较大转变,其中重要一条便是用陶礼器代替铜礼器,陶礼器制造迅速发展,仿造铜器形式的鼎、豆、壶、盆、盘等陶器成套生产,而用陶制鼎、豆、壶组合随葬也逐渐形成定制风行中原各国<sup>[21]</sup>。这种制度逐步影响普及全国各地并延续直至汉代,四川地区的巴县冬

笋坝东汉M62、重庆市临江支路西汉墓和忠县涂井蜀汉崖墓中均可见之<sup>[22]</sup>。

应当说,两墓的墓室结构和皆以一定数量生活用器随葬的做法,都体现出了汉代儒家“治孝”思想支配下“视死如生”的丧葬思想和习俗,M2的中原式砖室结构墓和以为数近半、种类丰富、组合特定的仿铜礼器的红、釉陶器随葬,较之以实用器为主要随葬品体现出受到统治中心的中原文化,尤其是其“礼制”观念的影响更为深入。而M1无论从墓葬形制还是随葬品的形制上都体现了较为浓郁的土著特色。由此可知,M1和M2、M3在葬制和明器等因素方面的不同,实质上更深层次地反映了土著文化与外来文化丧葬观念和习俗的差异。

通过对M1和M2、M3墓葬形制、随葬品及其组合的类型学分析,可以看出:M1较为明显地以当地土著文化因素占主导,而M2、M3中却是两种文化因素共存,以受中原文化影响为主的因素较占优势。由物及人,似乎应该得出这样的结论:M1的墓主人极有可能为当地土著居民,而M2的墓主人则有两种可能:或者是受到中原文化浸濡较深的当地土著,或者直接是中原或当地以外的移民。

秦汉时期,随着国家政治的统一,文化的改造也势在必行,秦汉王朝对于原巴、蜀地区异质文化的改造主要通过政治经济变革对文化的自然反馈作用来进行。如秦灭巴蜀后设置郡县,颁布法令变革土地制度和生产关系;汉朝初立,就划巴蜀为“天子自有”之地,“不封藩王”。还减税、奖励军功,特别是汉武帝时实行盐铁官营制度,铁官的设置,强制性的使人们采取器物的同一官样形式,从而迅速取代了残存的巴蜀文化器物形制,对于巴蜀特有的青铜文化造成了根本性的冲击。而移民政策也是其采取的又一稳固其统治的手段,移民乃是削弱地方土著势力的有效方法,包括将外民迁入和将土著迁出两种形式。《华阳国志·蜀志》载,秦惠王灭蜀后,鉴于当时“戎伯尚强,乃移秦民万家实之”。“临邛县,(蜀)郡西南二百里,本有邛民,秦始皇徙上郡实之。”《史记·货殖列传》载:“蜀卓氏之先,赵人也用铁冶富,秦破赵,迁卓氏。”东汉顺帝时的《任孝渊碑》记载:“孝之先,元关东,秦益,功烁纵横。汉徙豪杰,迁梁,建宅处业,汶山之阳。”其先原为关东豪杰,汉初被朝廷强徙于蜀。东汉建安十年的《樊敏碑》记载:“肇祖戏,遗苗后稷……肆汉之际,或居于楚,或集于梁。”其先世出于周人,后其分族辗转入蜀定居<sup>[23]</sup>。这些移民在丧

葬习俗上仍然会保留较大部分的旧有传统。但由于与当地土著居民的频繁接触 相互融合,在文化上也会融入当地传统因素。而当地土著居民在中原文化改造的大气候和外来移民接触的直接环境中,必然会接受越来越多的外来影响,包括物质的和观念的,文化融合是必然结果。如语言上,从“蜀左言”变为“民始能秦言”,至西汉时“言语颇与华同”<sup>[24]</sup>。体现在丧葬习俗中,两种甚至更多种文化因素共存也是文化融合的必然显现。

因此,在文化交流、融合较为频繁的时期和地区,仅凭类型学手段对静态的遗存进行类型学比照和分析,虽然能从文化因素角度观察到文化融合这一现象的存在。但是在对文化的负载者——人的族属的判断上,却明显显示出其不足性。文化区系是相对稳定的而人是活动的,其迁徙是动态的过程,在此过程中,观念的转变是渐变的过程,不同文化影响是相互的,不同族属的人在相互接触、交往的过程中观念会在潜移默化中互相接近、同化。因而,以往考古学对遗存类型学的排比,在解决人的族属问题上就显现出相当的局限性。对那些文化因素较为单一的遗存而言,通过类型学的分析和文化区系的比照,应该说基本能揭示其文化面貌,包括相关人的族属问题。而对于那些不同文化因素共存情况较为显著的遗存,并且历史文献记载中有相关的人群迁移记载的地区和时代的遗存,尤其是墓葬中个体和群体的族属判断上,很有必要借助其他手段来进行。即使对于前一种文化因素单一的情况,其他手段的介入也可以起到对原有结果进行验证的作用。

古 DNA 的分析通过对人类族属的直接证据——基因的分型和对比,可以在分子水平上对个体遗传信息进行提取。DNA 分子是生物遗传物质的直接载体,它特定的碱基排列顺序构成了 DNA 分子的特异性,从而构成了物种的特异性。对 DNA 序列的比较可以直接从分子水平上揭示出个体的差异性。遗传结构的传承性又使得其具有群体性,不同族属的人群往往具有不同的遗传结构,因此,对人群的 DNA 序列的比较就可以甄别不同群体,并对其亲缘关系远近加以判断,是研究人类起源、迁徙、亲缘关系的直接证据。以往考古学的类型学手段追求“透物见人”,即物—人的转化,转化的依据是业已建立的文化谱系,这种方法无疑具有可行性,但是由物及人这之间存在一定的距离,是一种间接的手段。而古 DNA 的研究某种意义上大大缩短了这种距离,从人本身的差异

性入手进行直接的对人的研究,是对包括类型学手段在内的固有考古学方法论的有力的技术支撑和补充。当然,一门学科在引入一种对自身而言的新手段时,应该是审慎的、客观的。

此次对石地磅 M1 和 M2 以及地层出土的人骨及牙齿进行的古 DNA 测试,应当就是这一学科背景下的有益探索。但是由于三峡地区的酸性土壤极不利于人体骨骼的保存,样本受损较严重, M2 的牙齿样本由于齿髓腔已完全暴露,因而未获结果。M1 两块骨骼样本中的一块受到同墓共存的铜釜的污染,铜离子的干扰使这个样本的测试结果极不理想。只有 M1 的另一块骨骼样本由于保存较好,成功提取出了其中蕴涵的 DNA 片段,进行 PCR 扩增,对其线粒体 DNA 相关区段和 Y 染色体相关 SNP 位点进行测试,得出了一些较为有意义的结果。由于样本量太少,故仅就该样本而言,通过与实验室相关研究成果和数据库内相关数据的参照,提示出 M1 的主人极有可能为南方土著居民。

这一实验结果与前述类型学的文化因素分析结果相吻合,可以说从分子生物学角度为其提供了一个技术支撑和直接证据。在该类文化因素比较单一,考古学传统手段本身能揭示的问题上,古 DNA 研究方法的介入起到的是验证的作用。M1 的结果说明了古 DNA 研究方法在解决考古学问题中的可行性。对于类似 M2 这种文化因素融合现象显著,单一的类型学分析并不能解决其墓主人个体族属问题时,古 DNA 这一直接证据就显出了其必要性,某种意义上讲,它是解决问题的决定因素。而族属问题的解决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无疑具有先导意义。很遗憾,这次 M2 的样品未获结果,因此,其墓主人的身份仍不明,但这也从另一角度说明了古 DNA 研究在解决该类问题中的重要性。

#### 四 结语

迄今为止,古 DNA 的研究在国际上发展仅近 20 年,但是其研究已经取得了令人瞩目的成就,如尼安德特人的研究,在科学界内外引起轰动,更被权威杂志 Science 评为 1997 年十大科学成就之一。

80 年代以来,中国考古学开始了更加广泛地与物理、化学、生物和地理学相结合,利用自然科学手段分析考古材料,新技术和新方法也被不断地引入考古学当中,渗透到考古学研究的各个领域。而分子生物学技术和理论的成熟,尤其在



DNA 研究领域技术平台的建立,使得分子生物学和考古学的交叉研究也成为可能。近年来,中国社会科学院考古所、中科院遗传所、吉林大学考古系等单位对安阳殷墟、郑州西山、内蒙龙头山、河北姜家梁等遗址的人骨遗传基因的实验研究,已经取得了相应的成效<sup>[25][26]</sup>。去年,复旦大学和上海博物馆也对以上海马桥遗址为代表的上海地区古人类遗骨样品,进行了线粒体 DNA 的 Region V 区段研究<sup>[27]</sup>。复旦大学还与上海自然博物馆合作,提取了“古哈密人”的线粒体 DNA<sup>[28]</sup>,目前又与浙江省考古所和重庆市考古所一起,正在分别对浙江桐乡新地里良渚文化墓地和重庆巫山大溪遗址出土的人骨进行研究。所有这些都为解决与各地考古学文化相关的问题提供了一种新的思路和方法,并把我国的体质人类学研究逐步提高到分子水平,有利于利用、开发和保护我国古人骨的遗传资源。

这次,三峡考古引入分子生物学技术手段,也是目前国内为数不多的将古 DNA 技术运用于考古学研究的有益尝试,这无疑会为这一地区文物的抢救性发掘和研究注入新的活力,提供新的信息,开拓新的领域。

- [1]蔡胜和、杨焕明:《伤兴未艾的古代 DNA 研究》,《遗传》2000,22(1):41~46。
- [2]王贵海、陆传宗:《长沙汉墓古尸肝脏中核酸的分离和鉴定》,《生物化学与生物物理进展》,1981,39:70~75。
- [3]Higuchi R, Bowman B, Freiburger M, Ryder O A, Wilson A C. DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. [J] Nature, 1984, 312: 282~284.
- [4]Paabo S. Molecular cloning of Ancient Egyptian mummy DNA. [J] Nature, 1985, 314(6012): 644~645.
- [5]Paabo S, Gifford J A, Wilson A C. Mitochondrial DNA sequences from a 7000-year-old brain. Nucleic Acids Research, 1988, 16: 9775~9787.
- [6]Hagelberg E, Clegg J B. Genetic Polymorphisms in Prehistoric Pacific Islanders Determined by Ancient Bone DNA. Proc Roy Soc Lond B, 1993, 252: 163~170.
- [7]Nielson H, Engberg J and Thuesen I. DNA from arctic human burials. In: Herrmann, B. and Hummel, S. (eds) Ancient DNA. Springer-Verlag, New York, 1994, 122~140.
- [8]刘武、叶剑:《DNA 与人类起源和演化——现代分子生物学技术在人类学研究中的应用》,《人类学学报》,1995,3,14:266~279。
- [9]Krings M, Stone A, Schmitz R W, Krainitzki H, Stoneking M, and Paabo S. Neandertal DNA sequences and the origin of modern human [J]. Cell, 1997, 90: 19~30.
- [10]Cann, R. L., Stoneking, M. & Wilson, A. C. Mitochondria DNA and human evolution[J]. Nature, 325, 31~36, 1987.
- [11]理查德·利基著,吴汝康等译,《人类的起源》,上海科学技术出版社 1995 年。
- [12]Gibbons A. Y, Y chromosome shows that Adam was African[J]. Science, 278 (6399) 804~805, 1997.
- [13]Jin Li & Su Bing. Natives or immigrants: modern human origin in East Asia[J]. Nature Reviews Genetics 1(2): 126~133, 2000.
- [14]Yuehai Ke, Bing Su. African Origin of Modern Humans in East Asia: A Tale of 12000 Y Chromosome[J]. Science, 2001, 292: 1151~1153.
- [15]Harihara S, Hirai M, Suutou Y, Shimizu K, Omoto K. Frequency of a 9-bp deletion in the mitochondrial DNA among Asian populations. Hum Biol, 1992, 64: 161~166.
- [16]Yong-Gang Yao, W S Watkins and Ya-Ping Zhang. Evolutionary history of the mtDNA 9-bp deletion in Chinese populations and its relevance to the peopling of east and southeast Asia. Published online: 10 Nov, 2000.
- [17]复旦大学文博系考古队:《三峡历史文化遗产的考古发掘与研究》,《复旦大学学报》(社会科学版)2002 年第 1 期。
- [18]冯汉骥、童恩正:《岷江上游的石棺葬》,《考古学报》1973 年第 2 期。
- [19]童恩正:《四川西南地区大石墓族属试探》,《考古》1978 年第 2 期。
- [20]叶小燕:《试论巴蜀文化的铜器——兼论巴蜀与中原文化的关系》,《中国考古学研究——夏鼐先生考古五十年论文集(二)》,科学出版社 1986 年。
- [21]中国硅酸盐学会主编:《中国陶瓷史》,文物出版社 1982 年。
- [22]国家文物局三峡工程文物保护领导小组湖北工作站编:《四川巴县冬笋坝战国和汉墓清理简报》,《重庆市临江支路西汉墓》,《四川忠县涂井蜀汉崖墓》,均见《三峡考古之发现》,湖北科学技术出版社 1998 年。
- [23][24]段渝:《政治结构与文化模式——巴蜀古代文明研究》,学林出版社 1999 年。
- [25]唐际根:《遗传基因技术与殷墟人骨研究》,《中国文物报》1999 年 3 月 10 日。
- [26]朱泓:《吉林大学有关古人骨 DNA 的研究》,《中国文物报》2001 年 3 月 28 日。
- [27]复旦大学沪郊人类学综合研究小组:《上海地区古人类遗骨线粒体 DNA 的 Region V 区段研究》(打印稿)2001 年。
- [28]张建松:《科学家首次采用 DNA 技术研究“丝绸之路”》,《中国文物报》1999 年 5 月 5 日。