

266-281

人类学: 起源, 进化, DNA

15118(11)

第14卷 第3期

人类学学报

Vol.14, No.3

1995年8月

ACTA ANTHROPOLOGICA SINICA

Aug., 1995

综述

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

刘武

(中国科学院古脊椎动物与古人类研究所)

叶健

(公安部第二研究所分子遗传室)

Q981.1

1987年1月, 美国加州大学伯克利分校的分子生物学家 Cann, Stoneking 和 Wilson 3人联合在英国《自然》杂志发表了题为“线粒体DNA与人类进化”的文章(Cann, et al., 1987)。他们根据对祖先来自非洲、欧洲、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(Mitochondrion)脱氧核糖核酸(DNA)的分析宣称: 人类共同的祖先是20万年前生活在非洲的一个女人。这一被称之为“夏娃”(Eve)理论的学说在国内外报刊广为报道并在学术界引起了激烈的争论。“替代学说”的支持者认为这一研究结果为现代人的单一起源理论提供了遗传学上的证据(Stringer and Andrews, 1988)。而坚持“多地区起源理论”的学者则指出世界各地人群在线粒体脱氧核糖核酸(mtDNA)上的相似性并不意味着所有的现代人类拥有共同的近期祖先。相反, 这些相似性反映了自从大约一百万年前我们的祖先出现在旧大陆以来基因交流(Gene flow)所导致的遗传上的联系, 这种联系是我们的祖先自出现以来迁栖移动相互交往的结果(Wolpoff, M.H. et al., 1988; Thorne and Wolpoff, 1991)。伴随着这一争论的进行, 现代分子生物学技术, 尤其是DNA研究在阐明人类起源、演化、群体间相互关系及考古鉴定上的应用价值引起了遗传学家和人类学家的广泛关注。国外许多大学和研究机构纷纷开展包括化石DNA在内的DNA的研究并试图以此来解决众多人类学上悬而未决的难题。但同时也不乏学者对这一技术的可靠性和准确性表示怀疑。本文将从遗传学和分子生物学技术的角度对DNA在人类学应用的理论基础、实际应用及存在的问题作一简要的介绍, 同时对这一新兴的领域在未来人类学研究上的应用前景进行讨论。

1 现代分子生物学理论与技术在人类学上的应用

人类的体质特征, 包括肉眼观察测量性状和细胞甚至分子水平的特征, 都是受遗传基因控制的。人类血型、血清蛋白型等特征虽然在细胞水平上刻画了人类群体和个体的特征, 但这些特征多受常染色体显性基因控制, 并且这些特征所代表的不同变异类型的数量较少。在人类进化的长期过程中, 极易受到遗传漂变(Genetic drift)和群体之间基因交流

收稿日期: 1995-02-21

溶和的影响。在过去的十几年中,随着分子生物学技术的发展及日益成熟, DNA 序列资料得到大量积累并使得我们可以在 DNA 水平上直接研究生物的进化过程。这些成果使得人类对于自身体质特征的遗传和演化规律有了更加深入的理解。这些理论与技术在人类学研究领域也得到了应用。遗传学家和人类学家都试图通过对人类 DNA 中蕴藏的遗传信息的分析来揭示整个人类的形成与演化过程。这些研究主要围绕以下几方面的内容开展:

### 1.1 细胞核 DNA (Nuclear DNA)

细胞核是细胞内最大的细胞器。在真核细胞中除红细胞外,都含有细胞核,细胞核是遗传信息贮存、复制和表达的主要场所。其主要成分包括脱氧核糖核酸(DNA)和少量的核糖核酸(RNA)。DNA 与核蛋白相结合以染色体的形式存在。人类细胞核内有 22 对常染色体(Autosome)和一对性染色体(Sex chromosome),存在于常染色体内的 DNA 称为常染色体 DNA (Autosomal DNA),而存在于性染色体内的 DNA 称为性染色体 DNA(Sex-chromosome DNA)。其中存在于男性 Y 染色体内的 DNA 称为 Y-DNA。

DNA 是生物的遗传基础,生物机体的遗传特征以密码(Code)的形式编码在 DNA 分子上,表现为特定的碱基排列顺序并且通过 DNA 复制(Replication)把遗传信息由亲代传递给子代,因此,对人类 DNA 的分析将揭示出人类个体和群体特征的众多信息量和复杂的变异。除此之外,非编码区(Noncoding region)具有更广泛的多态性,生物体在进化和世代更替过程中形成了自己独特的区别于其他个体的 DNA 碱基顺序,这种 DNA 碱基顺序的差异性即为 DNA 多态性(DNA polymorphisms)。DNA 多态性表现为三种类型:(1)单碱基突变:DNA 在某一顺序上有一个或几个单碱基存在差异;(2)碱基顺序发生突变:DNA 序列中由一个或几个碱基对的插入、缺失或移位而产生的多态性;(3)可变数目串联重复序列(Variable number of tandem repeats VNTRs);在基因组 DNA 内含有高变区(Hypervariable regions HVRs),它由多个串联的重复顺序组成,有些重复顺序的重复数目在个体或群体间存在差异。串联重复有 3 种类型:a 编码区内基因片段的串联重复,如人甲胎蛋白基因;b 编码区内完整基因的串联重复,如 rRNA 基因。这两种类型的 VNTRs 造成的 DNA 多态比较少;c 非编码区的串联重复, VNTRs 主要发生在非编码区,重复单位长度长的可达数十个碱基,最短仅为两个碱基对(2 bp)。重复数差异也很悬殊,少者数次,多者数百次。基于上述原理,Jeffreys 等人率先将在人体基因组中高度可变的小卫星区域 (Minisatellite region) 用于个体识别并创立了 DNA 指纹(DNA fingerprints)技术 (Jeffreys, 1985)。这一技术已被广泛用于法医个人识别和亲子鉴定(Gill *et al.*, 1985; 李伯龄等, 1991)。细胞核 DNA 除具有高度的个体变异外,还具有广泛的群体特征。Vainscoat 等人(Vainscoat *et al.*, 1986)对来自世界各地八个不同人群的常染色体  $\beta$ -球蛋白基因组上一组紧密连锁的核 DNA 多态性基因频率的分析表明:所有非洲人群都具有一个有限数量的普通单倍体型(Haplotype),而非洲人群拥有的占主导地位的单倍体型在非洲以外的其他人群却没有发现。还有研究(Balazs *et al.*, 1989)显示:使用 DNA 探针在人类基因组可识别出若干高变位点(Hypervariable loci),这些等位基因频率的分布具明显的种族特异性,提示核 DNA 在人类群体遗传及人类演化历史研究上有巨大的潜力。但是,目前对核 DNA 的研究还有许多尚未克服的理论与技术上的困难,使其距离直接用于揭示人类演化过程还相距甚远。这些困难包括:用来揭示人类演化过程的核基因的突变积累缓慢;每代均通过父母双方遗传,这种每代双亲混合的结果是重组

(Recombination) 的产生, 这样使我们难以追踪特定的 DNA 片段的演化历史。通过对比核 DNA 来估计遗传距离是基于人群内部和人群间分子变异频率的差异。而这种基因频率的差异可能受到重组、遗传漂变、选择及迁移的影响。所以, 根据核 DNA 计算的遗传距离不能像根据 mtDNA 那样推断时间和突变距离之间的直接关系。另外, 在对细胞核 DNA 进行测序分析时, 因等位基因之间的序列可能存在差异, 必须用克隆方法纯化出单一的 DNA 分子才能进行测序分析。而线粒体 DNA 的均一性为直接测序提供了方便。

## 1.2 线粒体 DNA (简写 mtDNA)

线粒体是真核生物细胞中的一种细胞器, 其功能是产生能量以维持细胞的活动。根据细胞需要能量强度的不同, 一个细胞中所含线粒体的数目可以有很大的差异, 变化范围约是 1 000—10 000 个。每个线粒体中都含有一个 mtDNA 分子。所以, 在一个细胞中可以含有 1 000—10 000 个 mtDNA 分子。人类 mtDNA 基因组由 16569 个碱基对组成, 只相当于核 DNA 基因组的 0.0005%。然而, mtDNA 在进化上的重要性却远远超过其对全部人类基因组的贡献(Anderson *et al.*, 1981; Stoneking, 1993)。mtDNA 具有若干与核 DNA 不同并使其在进化研究上具有特殊意义的特征:

(1) mtDNA 是单倍体(Haploid), 由母系遗传, 因为精子的线粒体都在精子的尾部, 而受精时只有精子的头部进入卵子。由于线粒体 DNA 只是由母体而来, 因而它显示出来的差别不是由于基因的重组合, 而是由于基因的突变。因此, 对 mtDNA 的系统分析可以直接反映出人群或种族的母系历史。同时也意味着对 mtDNA 基因组而言, 其有效群体大小(Effective population size)是核 DNA 的四分之一。这就导致了高度的随机遗传漂变引起的 mtDNA 地区性群体差异。

(2) mtDNA 的演变速率比核 DNA 快 5—10 倍, 因而在相同的一段时间内, 它比核 DNA 能积累更多的变化, 使得易于区别和测量。同时, mtDNA 序列的高速演化也加速了群体之间差异的形成。关于这一点, 值得一提的是有两种方式来表达 mtDNA 演化的速率, 即祖先和后代之间 mtDNA 突变的数量及两种 mtDNA 类型之间发生的突变数。前者是发生于一个血统(lineage)的演化和变化的数量; 如转换成时间, 则合适的度量单位是进化率(rate of evolution)。后者则为歧异或偏离的数量(amount of divergence), 或两个血统之间的变异。其时间单位是歧异率或偏离率(rate of divergence)。由于歧异率代表着两个血统之间的差异, 所以, 它是进化率的两倍。

(3) mtDNA 比核 DNA 拥有更多的拷贝数, 所以对 mtDNA 的检验比对核 DNA 的检验具有更高的灵敏度并使其适于古代 DNA 或化石 DNA 的分析。

(4) mtDNA 是目前为止了解得最为清楚的真核细胞基因组, 它的整个序列和基因结构已为人类所知(Anderson *et al.*, 1981, 1982)。因此可以通过将观察到的限制性片段图谱与那些已经发表的整个片段进行比较而构建详细的高分辨率限制酶谱, 从而准确地推断出使其产生限制性位点多态性的核苷酸所在位置。另外, 由于 PCR (多聚酶链状反应) 技术的问世使酶扩增已知其侧翼(Flanking)核苷酸序列的任何 DNA 片段成为可能。因此全部人类 mtDNA 序列的知识意味着可以用 PCR 技术分析任何需要的 mtDNA 区域。

对世界范围内的 mtDNA 调查在以下两个方面充实了我们对人类基因库的知识:

### (1) mtDNA 的个体特异性

研究表明: 在 mtDNA 中存在着个体之间的差异(Cann *et al.*, 1987; Horai and

Hayasaka, 1990)。大多数变异不是随机的，而主要集中于 mtDNA 非编码区 D-环 (D-loop) 的两个高变片段 (Vigilant *et al.*, 1989)。Higuch 等人首先将人类 mtDNA D-环在不需克隆的条件下进行扩增，用扩增产物直接测序。其研究表明：不同个体间存在序列差异，而同一个体血液与毛发 mtDNA D-环区的序列相同，从而证明检验 mtDNA 的碱基序列差异可以用于法医个人识别 (Higuch *et al.*, 1988)。这种通过 DNA 序列差异进行个人识别鉴定的方法比以往 DNA 限制长度多态性 (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP) 检验又向精确方向前进了一步。RFLP 研究的内容是短串联序列所导致的 DNA 长度变化，而序列测定研究是个体之间 DNA 碱基排列顺序的差异 (Sullivan *et al.*, 1992)。1991 年，Stoneking 等人 (Stoneking, M. *et al.*, 1991) 采用酶扩增特异序列寡核苷酸探针方法进行了 mtDNA D-环区域的研究。他们使用了 23 个 SSO 探针 (Sequence-Specific Oligonucleotide probe) 检测了来自非洲、亚洲、高加索、日本和墨西哥五个地区 525 个个体的 D-环区的序列。揭示出一个巨大的变异，并能观察到带有歧变价值的 274 个 mtDNA 型存在于这些个体中。就每个群体而言，歧异率超过 95%。由于 mtDNA 通过母系遗传，所以，同一母亲所生的子女应具有相同的 mtDNA 序列，即都与母亲的序列相同。由此可以进行母系单亲的亲子关系鉴定。他们用上述方法成功地对一起儿童走失案件进行了鉴定。

#### (2) mtDNA 的种族群体特征

人类 mtDNA 所具有的母系单倍体遗传特点使其有效群体大小仅为核 DNA 的四分之一。在随机遗传漂变的作用下，产生了高度的地区性群体差异。而 mtDNA 序列高速演化的特点将加速这种群体间的差异。表明 mtDNA 不仅在全球人类水平上，而且也在不同的种族群体水平上可以揭示出人类遗传构造和演化历史 (Stoneking *et al.*, 1990)。近年来，国外学者采用不同的方法对人类 mtDNA 分子的序列多态性进行了详细的研究并发现 mtDNA 分子核苷酸序列在不同区域的碱基排列都有差别。据此，可以根据每一区域碱基序列的差异将 mtDNA 划分为许多不同的类型系统。进一步的研究发现这些类型或其频率分布具有明显的种族特异性。在近 10 年中，采用限制性酶切图谱、寡核苷酸探针及酶扩增测序等方法对人类 mtDNA 的研究揭示出许多具有种族群体特异性的序列或结构特征。这些特征有些在非洲、亚洲及欧洲等洲际水平上刻画了 mtDNA 所代表的种族特点，也有一些特征或其频率分布呈现出地区性的群体间差异 (Balaz *et al.*, 1989; Brown *et al.*, 1992; Denaro *et al.*, 1981; Harihara *et al.*, 1988; Horai and Hayasaka, 1990; Piercy *et al.*, 1993; Rienzo and Wilson, 1991; Scozzari *et al.*, 1988; Stine *et al.*, 1992; Stoneking *et al.*, 1991; Vigilant *et al.*, 1989)。对于人类 mtDNA 类型种族群体特征的研究主要集中在亚洲及太平洋地区人类群体，揭示出许多存在于 mtDNA 不同区域的种族特征。其中最为重要的发现是在人类 mtDNA COII 和 tRNA 区域之间的第五非编码区存在一个九个碱基对的缺失序列 (9-base-pair sequence deletion) (Cann and Wilson, 1983)。进一步的研究表明这一序列缺失是由于在复制期间滑动错配产生长度的突变，丢失了 9-bp 序列中两个相邻拷贝之一所致。系统分析显示这一缺失序列在从现代人 mtDNA 祖先进化的过程中只发生一次并且是东亚人类的重要标记 (表 1、表 2) (Harihara *et al.*, 1992; Hertzberg *et al.*, 1989; Wrischnik *et al.*, 1987; Horai and Matsunaga, 1986)。其他研究显示这一缺失序列也出现于西伯利亚和北极地区人类、美洲印第安人、太平洋岛民及部分南亚人类 (Passarino

*et al.*, 1993; Schurr *et al.*, 1990; Shields *et al.*, 1992; Stoneking *et al.*, 1990), 表明这些人群的起源与早期东亚人类密切相关。这一缺失序列尚未在非洲人和欧洲人中发现。

表 1 人类 mtDNA 第五非编码区的长度多态性序列

区域 V 的长度	mtDNA 型	序 列
正常型	1, 47, 100 102, 119 L-1	CACCCCCTCTA CCCCTCTAGAG
缺失型	46, 67, 70, 77 78, 79, 80, 81 82, 122, 127, R-1	CACCCCCTCTAGAG
长 型	101	CACCCCCCCCCCTA CCCCTCTAGAG

表 2 亚洲人类群体 mtDNA 9-bp 缺失型的出现频率

人 群	例 数	9-bp 缺 失 型	
		出现例数	百 分 比
美洲印第安人	31	14	45.2
马来西亚华人	14	1	7.1
台湾汉族	20	8	40.0
日本人	63	12	19.0
西藏人	54	3	5.6
阿伊奴人	51	1	2.0
朝鲜人	54	5	7.8
越南人	28	4	14.3
马来人	14	2	14.3
尼格利陀人	37	34	91.9
尼伯尔塔鲁人	107	8	8.4
维达人	20	0	0.0
波利尼西亚人	150	139	93.0
斐济人	28	23	82.0
新英格兰人	40	3	8.0
澳大利亚土著	31	1	3.0
新几内亚人	119	23	19.3

表中数据引自 Ballinger *et al.*, 1992; Harihara *et al.*, 1992; Passarino *et al.*, 1993; Shields *et al.*, 1992; Torroni *et al.*, 1994

最近, 以美国埃默里大学 (Emory University) 遗传学家 Wallace 为首的研究组对包括这一 9-bp 序列缺失在内的人类 mtDNA 序列的亚洲蒙古人种特征进行了更为深入的研究 (Ballinger *et al.*, 1992; Torroni *et al.*, 1992, 1993a, 1993b, 1994; Schurr *et al.*, 1990; Wallace *et al.*, 1985)。他们的研究结果显示在人类 mtDNA 分子 AluI/ DdeI 区域具有的两个古老的多态类型为所有亚洲人类共有, 其中一个类型还见于非洲人类。表明所有亚洲人类拥有共同的祖先。此外, 研究结果还揭示这两种 mtDNA 类型在越南人具有最大的变异和最高的频率, 表明越南人是这一地区最为古老的人类。也提示华南及东南亚是蒙古人种的起源地并且是现代人类 mtDNA 的一个次级扩散的中心。他们的研究还表明 9-bp 缺失序列

突变在进化过程中已发生多次。加之,许多研究数据都显示这一缺失序列在太平洋沿岸和岛屿以及美洲印第安人中都有着广泛的分布,据此,他们提出通过 mtDNA 种族特征的研究可以证实整个亚太和美洲地区的现代人类是来自于早期东南亚人类两次大的迁移扩散结果的学说。第一次迁移沿亚洲大陆架向东,到印度尼西亚以及太平洋诸岛;另一次向北经西伯利亚和白令海峡最终抵达美洲。这一缺失序列在东亚、太平洋和美洲的高频率分布提示这一广大地区的人类有着共同的祖先。

但迄今为止对人类 mtDNA 最有意义的研究是根据对全球范围各人类群体 mtDNA 的调查来揭示现代人类的起源与演化,这一部分将在以下论述。

### 1.3 古代 DNA 及化石 DNA (Ancient DNA and fossil DNA)

古代 DNA 是指从考古发掘所得的人类和古生物标本化石中提取的 DNA,其中从化石标本中得到的 DNA 称为化石 DNA。古代 DNA 的年代范围可从 100 年以内直至数千万年前,古代 DNA 的研究是一个新兴的研究领域,近年 PCR 技术的应用促进了这一领域的迅速发展,并波及到生物进化、人类学、医学、农业和法庭科学等学科。本文内容只限于讨论与人类学有关的古代 DNA 研究,古代 DNA 的研究材料包括古人类化石、考古发掘出的人类骨骼、牙齿、干尸、木乃伊等。这些标本都可能含有人类 DNA 片段,采用分子生物学技术可以设法提取出蕴藏其中的 DNA 片段,然后进一步扩增、测序,用于分析。通过对古代 DNA 的研究使我们能够对那些已经绝灭的人类基因型、群体、甚至已绝灭的人属成员的 DNA 进行分析;同时也使我们得以对不同阶段的人类 DNA 进行纵向对比,从而加深对人类演化历史的认识(Herrman and Hummel, 1994; Villablanca, 1994)。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。

提取和分析古代 DNA 的方法除某些与处理古代样品有关的要求外,基本与通常的方法一致。用于人类学分析的信息片段包括 mtDNA 的限制性位点长度多态性和高变 D-环序列,以及核 DNA 的短串联重复序列 (Short Tandem Repeat Sequence)。古代 DNA 的研究始于 80 年代初期 (Higuch *et al.*, 1984; Paabo, 1985)。PCR 技术问世后推进了这一研究的进展,Paabo 和 Wilson 首先采用 PCR 技术从发现于美国佛罗里达距今 7000 年的干固的人脑组织中成功地提取到 mtDNA。进一步的扩增、测序显示这一个体的 mtDNA 具有某些不属于当地美洲印第安人的独特序列特征 (Paabo and Wilson, 1988a)。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、木乃伊及其他干化组织。已成功地从距今数百年到接近一万年的样品中提取到 DNA (Horai *et al.*, 1989; Hagelberg and Hedges, 1989; Hagelberg and Clegg, 1991; Thomas *et al.*, 1990)。对这些 DNA 种族、群体、个体特征的研究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 (Hagelberg *et al.*, 1994; Holland *et al.*, 1993; Kurosaki *et al.*, 1993; Stone and Stoneking, 1993)。如日本学者

Kurosaki 等人成功地从发掘于九州距今 1 500—2 000 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 (Kurosaki *et al.*, 1993)。还有研究报道从古代美洲印第安人墓葬人骨和古代太平洋复活岛居民 (Easter Islanders) 骨骼中提取的 DNA 序列分析发现有 9-bp 缺失序列, 表明这些人群的起源与亚洲人类有关 (Stone and Stoneking, 1993; Hagelberg *et al.*, 1994)。此外, 古代 DNA 的研究成果在法庭科学鉴定上也得到了广泛的应用 (Hagelberg *et al.*, 1991; Jeffreys *et al.*, 1992; Gill *et al.*, 1994)。

目前主要有 3 方面因素影响对古代 DNA 的研究:

(1) 现代 DNA 的污染: 用于扩增 DNA 片段的 PCR 技术有极高的灵敏度, 在实验过程中即便掺入极微量的现代 DNA, 都会带来干扰。

(2) 古代 DNA 分子的降解: 存在于古代组织中的 DNA 分子大多不同程度地被分解破坏。从古代样品中提取的 DNA 分子大多已降解为 100—200 bp 的片段 (从新鲜组织中提取的 DNA 片段一般在 10 000 bp 以上)。这样使得古代 DNA 模板改变, 造成扩增困难。

(3) 组织抽提物的其他成分对 DNA 多聚酶有抑制作用, 可能影响 PCR 的扩增结果 (Cooper, 1994; Paabo, 1989; Paabo and Wilson, 1988b; Hagelberg *et al.*, 1991)。

在以上三方面的因素中, 以现代 DNA 污染对成功地提取古代 DNA 具有最严重的影响。造成现代污染的来源是多方面的, 如考古学家在提取和搬运标本过程中用手直接接触标本、空气中含有类上皮细胞的尘埃以及实验过程中的污染等等。因此, 在提取用于古代 DNA 分析的标本及实验过程中时, 要极度小心, 以免造成对古代 DNA 的污染 (Paabo, 1993; Hagelberg, 1994)。

古代 DNA 研究的一个重要方面是试图从化石标本中提取到 DNA。由于化石中存在的 DNA 含量极其微小, 加之上述 3 个因素的影响, 这一方面的研究还没有突破性进展 (Hagelberg, 1994)。虽有报道从距今 1 700—2 000 万年中新世马兰花叶化石中和距今 25 000 年的马化石中提取到 DNA (Golenberg *et al.*, 1990; Hoss and Paabo, 1993), 但迄今尚未见有从数万年以上人类化石中提取到 DNA 的正式研究报告。

## 2 mtDNA 与现代人类起源和演化

1987 年, 以 Wilson 为首的伯克利研究组根据对祖先来自非洲、欧洲、亚洲及新几内亚和澳大利亚土著共 147 名妇女胎盘细胞 mtDNA 的分析提出了生活在地球上的现代人类的共同起源于非洲的“夏娃”理论 (Cann *et al.*, 1987), 随后该研究组采用改进的方法进行了进一步的研究并为这一结果提供了新的支持 (Cann, 1988; Rienzo *et al.*, 1991; Stoneking, 1993; Vigilant *et al.*, 1989, 1991)。这一假说的主要内容有 4 方面:

### 2.1 所有现代人群所具有的 mtDNA 类型都起源于单一的祖先

这一点是根据 mtDNA 本身的特点而确定的。假设我们调查一个现代人群并发现有  $n$  种 mtDNA 类型, 如果向前追溯并调查这一群体的上一代, 至多也只能发现  $n$  种这些

mtDNA 类型 (不考虑  $n$  种以外的其他 mtDNA 类型, 因为其他的 mtDNA 类型并不代表现今的这一群体, 是绝灭的类型)。如果我们继续向前追溯, 在某一代会发现只有  $n-1$  种现今的 mtDNA 类型。这是因为在这一代发生了突变, 因而产生了新的 mtDNA 类型。换言之, 两种存在于下一代 mtDNA 类型将在此发生接合 (coalesced)。这一过程不断重复, 最终, 直至所有当前这一代所具有的  $n$  种 mtDNA 类型接合成一个祖先。这就是所有现代人类 mtDNA 类型的共同祖先。以上观点包含有几方面的含义。(1) 由于 mtDNA 是母系遗传, 所以这一 mtDNA 的祖先应该是一名妇女; (2) 这一 mtDNA 祖先并非生存于当时的唯一个体。她是当时一个群体中的一员。然而, 与她相同时代的其他 mtDNA 类型由于没有留下后代或仅仅留有男性后代, 因而最终绝灭; (3) 这一 mtDNA 祖先并非出现于地球上的第一个女人。与当时的其他人一样, 她也有其自己的祖先。但是, 她代表着所有现代 mtDNA 类型的接合点; (4) 她并未对各现代人群的其他基因或 DNA 片段有任何贡献。虽然每一个基因或 DNA 片段都有其共同祖先, 但这些祖先都是生存于不同时代的不同个体。

## 2.2 这一祖先大概生活在非洲

伯克利研究组 (Cann *et al.*, 1987) 从祖先来自非洲、欧洲、亚洲及新几内亚和澳大利亚土著五个地理人群共 147 名妇女胎盘细胞中提取了高纯化 mtDNA。然后使用 12 种高分辨率限制性内切酶构建成限制性酶图谱。据此, 进一步划分为 133 个类型。结果显示: 在 133 个类型中, 有 7 个类型为一个个体以上的人所具有, 但没有任何个体拥有一个以上类型。并且在这 7 个共享类型中, 每一型均为同一群体中的个体共享。没有任何一型出现于两个不同群体中。这表明 mtDNA 类型具有明显的种族特异性。由于 mtDNA 具有单倍体母系遗传的特点, 所有新的变异都来源于突变。造成两个 mtDNA 类型的突变数量就反映了他们之间的关系密切程度或他们共同祖先生存距今的久远程度。因此, 以一个单一突变为区别的两个 mtDNA 类型之间的密切相关程度比他们中的任何一个与相差为两个突变的第三个 mtDNA 类型之间的密切相关程度要大得多。基于这一原理, 他们采用系统发生分析 (Phylogenetic analysis) 建立了表示这些个体 mtDNA 类型相互关系的系统树。这一系统树 (图 1) 具有一个共同的祖先。但分为两大分支, 一支只含有非洲人 mtDNA 类型, 而另一支则由包括非洲类型在内的参加分析的所有 mtDNA 类型组成。据此, 他们提出: 非洲是现代人类 mtDNA 祖先的起源地并由此扩散到世界各地。

这一结果发表后, 一些学者注意到了该研究在方法上的缺陷 (Saitou and Omoto, 1987; Vigilant *et al.*, 1989)。这些缺陷包括采用限制性分析 (Restriction analysis) 的间接方法来对比 mtDNA; 使用了居住在美国黑人来代表非洲人 mtDNA; 在系统分类上采用了落后的中点法 (Midpoint rooting); 及未能提供统计检验等。因而, 该研究组采用先进的

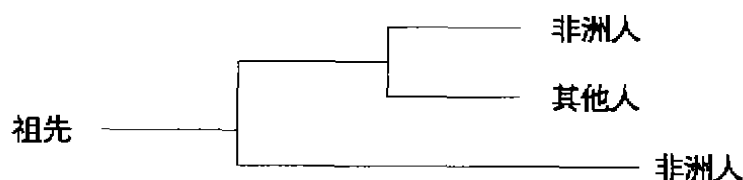


图 1 根据人类 mtDNA 类型进行系统分析的结果模式



PCR 方法和 mtDNA 测序法对包括 121 名非洲土著在内的 189 名个体 mtDNA 控制区 (Control region) 两个高变片段 (Hypervariable segments) 进行了重新分析。在系统分析上采用增加黑猩猩 mtDNA 序列一同分析的组外法 (Outgroup rooting) 并进行了统计检验 (Vigilant *et al.*, 1991)。结果完全支持现代人类 mtDNA 祖先起源于非洲的结论。

伯克利研究组提出的支持现代人起源于非洲的另一个重要证据来自对 mtDNA 序列歧异 (Sequence divergence) 的研究。对世界范围内人类 mtDNA 变异的研究显示: 非洲人群具有最大的 mtDNA 序列歧异程度 (见表 3), 其次为亚洲人和欧洲人。由于 mtDNA 序列歧异直接反应了随时间变化而积累于群体内部的 mtDNA 突变的数量, 所以非洲人拥有最大的 mtDNA 序列歧异就意味着他们积累了最多的 mtDNA 突变, 即非洲人是最古老的人类。

表 3 世界各人群 mtDNA 序列变异情况

群 体	控制区 (610-bp 序列)		控制区 (482-bp 序列)		限制酶图谱 (entire molecule)	
	例数	歧异率	例数	歧异率	例数	歧异率
非洲人	21	2.08	10	2.38	20	0.47
亚洲人	24	1.75	71	1.37	34	0.35
欧洲人	15	1.08	20	0.94	47	0.23
作 者	Vigilant <i>et al.</i> , 1991		Horai and Hayasaka, 1990		Cann <i>et al.</i> , 1987	

### 2.3 现代人类 mtDNA 祖先距今大约 20 万年前

根据以上的发现来估计现代人 mtDNA 起源于非洲及祖先离开非洲向世界各地迁移的时间需要首先确定自现代人类 mtDNA 祖先以来积累的 mtDNA 序列歧异量和人类 mtDNA 序列歧异率。序列歧异量可以通过所建立的系统树容易地获得, 虽然对通过系统分析方法来推断现代人起源地点还有争议, 但以此估算的平均歧异量不大可能受到很大的影响。例如采用几种不同的系统分析法可以获得若干种相异的树状图, 但却得到基本相同的序列歧异量估计值 (Stoneking, 1993)。关键的问题是确定人类 mtDNA 序列歧异率及其标准误。伯克利研究组最初根据公认的人类定居新几内亚、澳大利亚及新大陆的时间来计算人类 mtDNA 歧异率 (Cann *et al.*, 1987)。但目前较为常用的确定人类 mtDNA 歧异率的方法是用人类与其最近的近亲 (如黑猩猩) 之间的平均歧异量除以人类-黑猩猩之间的分离时间获得人类 mtDNA 的歧异率 (Vigilant *et al.*, 1991)。一般采用的人类与黑猩猩的分离时间是 400—600 万年。这一数据已得到越来越多的证据支持 (Ruvolo *et al.*, 1991), 其中包括对 mtDNA 的研究结果。如 Horai 等人根据对包括人类在内的六种人猿超科成员近 5000 种 mtDNA 核苷序列的分析发现黑猩猩与人类的亲缘关系最为密切并计算出人与黑猩猩的分离时间为 470 万年 (Horai *et al.*, 1992)。最后, 用累积的人类 mtDNA 序列歧异量除以 mtDNA 序列歧异率就得到了现代人类 mtDNA 祖先起源于非洲的时间。伯克利研究组以此获得的现代人类 mtDNA 祖先生存于非洲的时间分别是 140 000—290 000 年 (Cann *et al.*, 1987) 和 166 000—249 000 年 (Vigilant *et al.*, 1991), 平均年代都是距今大约 20 万年。此外, 值得一提的是上述时间指的是现代人类 mtDNA 的祖先起源于非洲的时间, 并不意味着现代人类一定在等同的时间起源于非洲, 因为此时的人类也许还不具有现

代人的解剖学特征。这就是说遗传学上的分化时间 (Genetic divergence) 先于人类群体的分化时间 (Population divergence)。所以现代人类的祖先离开非洲的时间要晚于上述的现代人类 mtDNA 祖先形成于非洲的时间。伯克利研究组提出现代人类的祖先离开非洲向世界各地扩散的时间可能在距今 10 万年前左右 (Stoneking, 1993)。

#### 2.4 起源于非洲的现代人类祖先向旧大陆扩散并取代了当地的原住居民

到目前为止掌握的资料显示人类 mtDNA 的祖先存在于距今大约 20 万年前的非洲, 而尚无证据表明早于这一时间非洲以外的人类 mtDNA 参与构成了现代人类的 mtDNA, 由此可以推测居住在世界各地的现代人类是来自于非洲的祖先取代了当地的原住民之后留下的后代。伯克利研究组还认为: 非洲祖先在向世界各地扩散并取代当地居民的过程中几乎没有与当地居民发生溶和, 或者即便发生了溶和也未能留下后代。否则, 在现代人群中就会发现更多的 mtDNA 歧异类型。

这一假说提出后, 在学术界引起了激烈的争论。一些学者的进一步研究为其提供了新的支持 (Hasegawa and Horai, 1991; Hasegawa *et al.*, 1993; Long *et al.*, 1990; Rapacz *et al.*, 1991)。但在遗传学家内部同样也有不同的意见。对于从人类遗传学的知识推导出所有现代人类 mtDNA 类型均来自于一个共同的祖先这一点, 在所有的遗传学家中都没有异议。争论的焦点是: 是否可以通过对人类 mtDNA 的研究准确地得出现代人类 mtDNA 的祖先起源于非洲及起源的时间为 20 万年 (Ballinger *et al.*, 1992; Darlu *et al.*, 1987; Saitou and Omoto, 1987; Templeton, 1991, 1993;). 其中以美国圣路易斯华盛顿大学的遗传学家 Templeton 提出的意见较具有代表性并在一些著名国际学术杂志上引发了直接的争论 (Harpending *et al.*, 1993; Stoneking, 1994; Templeton, 1994)。Templeton 采用伯克利研究组的原始数据进行了重新分析并从以下几个方面对伯克利研究组的研究结果提出怀疑:

##### (1) 关于现代人类 mtDNA 祖先起源于非洲

首先, 伯克利研究组采用系统分析法对原始数据分析建立的系统树显示所有 mtDNA 类型分为两大支, 其中一支完全由非洲人类型组成, 而另一支则由包括非洲人在内的全部其他类型组成并据此为一个证据而提出现代人类 mtDNA 祖先起源于非洲的观点。Templeton 指出这一结论的错误在于未能正确地使用并过分地相信了系统分析结果。计算机软件并不能保证提供最佳的系统树, 因为处理这样大的数据时, 可能得出多种不同的树状图。如以伯克利研究组的 135 种单倍体类型 (Vigilant *et al.*, 1991) 为例, 最多可以得到  $8 \times 10^{264}$  种树状图。并且用于系统分析的统计软件 (PAUP 3.0) 的制造商也告诫使用者在处理大量数据时不能保证得到最理想的树状图。mtDNA 数据以拥有大量的单倍体类型 (其中许多类型在突变上极为相似) 为特征, 这样的数据在 PAUP 环境下趋向于只能在局部得到最佳聚合, 而是否得到局部理想聚合又与数据输入的顺序有关。所以, 减少这种误差的唯一办法是随机输入数据, 反复多次运算。伯克利研究组的两个树状图 (Cann *et al.*, 1987; Vigilant *et al.*, 1991) 都是采用一种数据输入顺序的运算结果。Templeton 使用伯克利组 1991 年报告的数据, 按不同的输入顺序反复计算, 获得了 1000 种相同的树状图。结果显示两大分支中原来属于非洲类型的一支还含有非洲以外的类型, 似乎表明非洲单倍体类型可能是获得性的, 而非洲以外的类型更为古老。Templeton 指出这一结果也并非是最优的选择, 最终的结果应在分析全部的运算结果后才能得出。但这一结果可以证明系统分析还不能为“夏娃”理论提供支持。

其次,伯克利研究组提出的支持现代人 mtDNA 祖先起源于非洲的另一个证据是非洲人较欧洲人和亚洲人拥有更大的 mtDNA 序列歧异率。Templeton 认为伯克利研究组的两篇报告都未能在充分的统计分析基础上估计 mtDNA 序列歧异率。他们据此估算的非洲人、亚洲人和欧洲人 mtDNA 分子平均每个核苷的歧异率分别为 0.47%、0.35% 和 0.23%。而 Templeton 重新计算的结果分别是 0.46%、0.46% 和 0.44%。因此, Templeton 认为:非洲人具有较大的 mtDNA 序列歧异率的说法是错误统计计算的结果。

根据以上两点, Templeton 提出现代人 mtDNA 祖先起源于非洲的结论是不可靠的。

#### (2) 关于起源时间

伯克利研究组根据种内特异 (Intraspecific calibrations) 和种间特异 (Interspecific calibrations) 计算获得的现代人 mtDNA 祖先起源时间分别是 140 000—290 000 年和 160 000—249 000 年。但 Templeton 认为这两个数据范围都不可靠。他指出最重要的误差来自对进化本身的认识。连接现代人类 mtDNA 到一个单一的共同祖先是一个随机的过程 (Stochastic process) 并受到遗传突变的很大影响。即便按照分子钟 (Molecular clock) 的假设,每一个单倍体类型的突变积累是遵循泊松过程 (Poisson process), 而并不是按照一个恒定的速率进行积累。即使每一个人类 mtDNA 序列都被测定,歧异率也准确地计算。分子钟按照理想的泊松过程运转,其接合时间仍会有相当大的不确定性。因此,进化的随机性给我们进行准确的年龄估算带来了固有的限制 (Inherent limit)。并且还不可能用增大样品,增加遗传分辨率,或更精确地计算完全克服这种限制。Templeton 认为起源时间误差的另一个来源是歧异率的估算。伯克利研究组 1987 年报告以 2%—4% 的歧异率计算出起源时间为 160 000—249 000 年。但根据其文,实际的歧异率范围应为 1.8%—9.3%。如此,则计算出的年代范围为 33 000—675 000 年。关于伯克利研究组 1991 年报告以 400—600 万年前为人类与黑猩猩的分支时间来估算人类 mtDNA 歧异率, Templeton 认为这一时间不可靠。他指出有研究证明人类与黑猩猩的分支时间为距今 900 万年。据此计算,则人类 mtDNA 祖先起源的时间为 235 000—554 000 年。最后, Templeton 指出:虽然关于人类 mtDNA 祖先起源的时间还有许多不确定性,估计不大可能少于 10 万年,但应大大早于 20 万年。

#### (3) 关于来自非洲的现代人祖先取代世界各地原住民

Templeton 指出对 mtDNA 或核 DNA 的研究表明都有充分的证据显示在过去近百万年中,居住在欧洲和亚洲的人类之间具有一定程度的基因交流。此外,世界各现代人群之间所具有的差异有些可能在现代人类 mtDNA 祖先接合点之前就已存在。因此,难以支持现代人的非洲祖先完全取代各地原住民的观点。

除以上反对“夏娃”理论的观点外,还有一些遗传学家根据对 mtDNA 的研究提出现代人的祖先可能来自东南亚 (Denaro *et al.*, 1981; Johnson *et al.*, 1983; Balliger *et al.*, 1992)。但这一观点在学术界的影响不大。

### 3 DNA 在人类学研究上的应用前景

综上所述,近10几年发展起来的现代分子生物学技术在人类学研究上已得到了广泛的

应用。对人类 DNA 的研究结果在现代人起源、现生各人类群体之间相互关系及演化过程、以及在考古发掘出的人类遗骸的鉴定等方面都显示出了其独特的优越性。特别值得一提的是对人类 mtDNA 的研究加速了阐明现代人类起源的进程。而这一技术在考古发掘鉴定中的应用,如确定标本的性别、家系关系等,则发挥了传统人类学鉴定无法比拟的作用。可以说 DNA 研究已大大推动了人类学的发展并展示出其在未来研究中的巨大潜力。

但必须承认,目前 DNA 研究的技术手段还有许多局限性,所以根据其研究结果而提出的一些学说来解释有关人类起源与进化的问题还难以被人类学家广泛接受。其主要原因在于迄今为止遗传学家主要根据 mtDNA 的研究来探讨这一问题。虽然 mtDNA 具有许多特点使其适合于用于人类进化研究,毕竟它仅代表一个单一的遗传位点。而只依靠这一个位点提供的信息来重建人类群体历史的危险在于在随机因素或选择力量的作用下,这一位点的变异方式可能与其他位点相差很大,从而使我们的结论偏离真实情况。有关学者已注意到了这一问题并指出准确地重建人类演化历史需要采用更多的研究手段,检验更多的遗传位点上所蕴藏的信息 (Stoneking, 1993)。

### 3.1 Y-DNA

存在于男性细胞核 Y 染色体中的 Y-DNA 似乎也与 mtDNA 一样是单倍体单亲遗传(父系)。因此,有可能采用研究 mtDNA 的方法追踪现代人类 Y-DNA 的祖先存在的时间和地点。但是,由于缺少人类 Y-DNA 变异的信息,试图发现人类 Y-DNA 限制位点多态性的研究进展缓慢,目前对人类 Y-DNA 非编码区核苷序列的研究只证明有低水平的变异 (Stoneking, 1993)。曾有报道使用 p49 探针在人类 Y-DNA 的若干位点发现有多态变异并推测这一变异在非洲俾格米(Pygmies)人拥有最高的出现率。因而可以证实现代人类起源于非洲的假说(Oakey and Tyler-Smith, 1990; Lucotte *et al.*, 1989)。但这一结论似乎还不够成熟。其问题在于采用 p49 探针检测变异的分子基础还不确定,实验的重复性差 (Torroni *et al.*, 1990; Spurdle *et al.*, 1991)。所以,在彻底阐明人类 Y-DNA 变异的分子基础之前,任何采用探针方法建立的人类 Y-DNA 单倍体类型演化历史的结果都是不可靠的。目前需要作的工作是确定人类 Y-DNA 变异的程度。如果人类 Y-DNA 的变异水平明显低于所估计的程度,那将提供现代人类 Y-DNA 起源时间非常晚的证据。相信在将来会发现人类 Y-DNA 核苷序列多态性的变化区域并阐明 p49 探针检测到的变异的分子基础。届时将揭示人类 Y-DNA 的演化历史。

### 3.2 常染色体 DNA (Autosomal DNA)

用于分析常染色体 DNA 的方法与分析 mtDNA 的方法不同。对于前者,是通过基因频率的分析来揭示人群之间的关系;而后者则是借助突变数量的差异来重建个体 mtDNA 类型的系统历史。根据对常染色体 DNA 的特征来探讨人类演化历史的研究进展较为缓慢,在当前发挥作用不大。目前这方面的研究重点是寻找能够重建人类常染色体 DNA 重组片段演化历史和鉴定非重组片段的方法。可以设想,如果这方面的研究获得突破,我们将在更广泛的基础上得到有关人类演化历史的知识。

### 3.3 古代 DNA 和化石 DNA

这是一个全新的研究领域。通过对古代 DNA,尤其是对数万年直至上百万年前人类化石中蕴藏的 DNA 的分析可直接回答许多涉及人类起源与演化的重大问题,如中国古人类的连续进化、尼人与现代欧洲人的关系等。目前国外许多研究机构正在积极开展这方面

的研究。但由于对化石 DNA 的研究面临许多困难,如现代 DNA 造成的污染、DNA 严重降解等技术问题还有待解决,到目前为止尚未见有从古人类化石中提取到 DNA 或已获得重大进展的报道。这一难关一旦得以克服,无疑将对古人类学研究带来深远的影响。

总而言之,通过以上几方面的努力,将大大扩展我们对人类演化历史的了解,使我们在更为可靠和准确的遗传学基础上恢复建立从我们的祖先到现在的演化过程。目前古人类学和遗传学家在两个截然不同的领域共同探索人类起源与演化的问题。古人类学家主要根据化石骨骼的形态或测量特征并结合对比其他标本材料来推断古人类的体质特征及其演化过程;而遗传学家则主要依据对现代人类 DNA 的分析来追溯祖先的演化历史。骨骼化石上的形态特征变异受遗传、生理、环境等多种因素的影响。也许在将来会彻底阐明控制和影响人类形态特征的遗传基础。通过对这些控制形态特征的基因和化石 DNA 的综合分析将是最终揭示人类起源与演化历史的途径。

这一研究领域的兴起已引起了我国人类学界的注意。在 Cann 等人提出“夏娃”理论并在国际人类学和遗传学界引发争论后不久,吴汝康先生就向国内学术界介绍了这一研究的进展及今后的发展趋势(吴汝康,1989)。目前已有一些国内研究机构准备开展这方面的研究,也有一些国外大学与国内有关方面联系,商谈合作进行化石 DNA 研究的可能性。相信以 DNA 研究为代表的现代分子生物学技术在我国人类学研究领域的开展必将有助于阐明中华民族的起源与演化过程,推动我国人类学事业的发展。

### 参 考 文 献

- 吴汝康 1989 现代人起源问题的新争论. 人类学学报, 8(2): 182—185
- 李伯龄, 倪棉堂, 叶健等 1991.  $\alpha$ -珠蛋白-3'HVR 探针 DNA 指纹图谱法医应用的研究. 遗传学报, 18(3): 200—207.
- Anderson S *et al* 1981 Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290:457—465.
- Anderson S *et al* 1982. The complete sequence of bovine mitochondrial DNA: conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *J Mol Biol*, 156:683—717.
- Balazs I *et al* 1989 Human population genetic studies of five hypervariable DNA loci. *Am J Hum Genet*, 44:182—190
- Ballinger SW *et al* 1992. Southeast Asian mitochondrial DNA analysis reveals genetic continuity of ancient mongoloid migration. *Genetics*, 130:139—152
- Brown M D *et al* 1992. Mitochondrial DNA complex I and III mutations associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Genetics*, 130:163—172
- Cann RL 1988. DNA and human origins. *Ann Rev Anthropol*, 17:127—143.
- Cann RL and Wilson AC. 1983. Length mutations in human mitochondrial DNA. *Genetics*, 104:699—711.
- Cann RL, Stoucking M and Wilson AC 1987. Mitochondrial DNA human evolution. *Nature*, 325:31—36.
- Cooper A. 1994. DNA from museum specimens. In: Herrmann B and Hummel S eds. *Ancient DNA*. New York, Springer-Verlag, 149—166
- Darlu *et al* 1987 Disputed African origin of human populations. *Nature*, 329:111—112.
- Denaro M *et al* 1981. Ethnic variation in HpaI endonuclease cleavage patterns of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 78:5768—5772

- Gill P *et al.* 1985. Forensic application of DNA fingerprints. *Nature*, 318:557.
- Gill P *et al.* 1994. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nature Genet*, 6:130-135
- Golenberg EM *et al.* 1990. Chloroplast DNA sequence from a Miocene *Magnolia* species. *Nature*, 344:656-658.
- Hagelberg E. 1994. Mitochondrial DNA from ancient bones. In: Herrmann B and Hummel S eds. *Ancient DNA*. New York: Springer-Verlag, 195-204
- Hagelberg E. 1994. Ancient DNA studies. *Evol Anthropol*, 3:199-207.
- Hagelberg E and Hedges R. 1989. Ancient bone DNA amplified. *Nature*, 342:485
- Hagelberg E and Glegg JB. 1991. Isolation and characterization of DNA from archaeological bone. *Proc R Soc Lond B*, 244:45-50
- Hagelberg E *et al.* 1991. Analysis of ancient bone DNA: techniques and applications. *Phil Trans R Soc Lond B*, 333:399-407.
- Hagelberg E *et al.* 1991. Identification of a murder victim by DNA analysis. *Nature*, 352:427-429.
- Hagelberg E *et al.* 1994. DNA from ancient Easter Islanders. *Nature*, 369:25-26.
- Harihara S *et al.* 1992. Frequency of a 9-bp deletion in the mitochondrial DNA among Aisan populations. *Hum Biol*, 64:161-166.
- Harihara S *et al.* 1988. Mitochondrial DNA polymorphism among five Asian populations. *Am J Hum Genet*, 43:134-143
- Harpending HC *et al.* 1993. The genetic structure of ancient human populations. *Curr Anthropol*, 34:483-496
- Hasegawa M and Horai S. 1991. Time of the deepest root for polymorphism in human mitochondrial DNA. *J Mol Evol*, 32:37-42
- Hasegawa M *et al.* 1993. Toward a more accurate time scale for the human mitochondrial DNA tree. *J Mol Evol*, 37:347-354.
- Herrman B and Hummel S. 1994. Introduction. In: Herrmann B and Hummel S eds. *Ancient DNA*. New York: Springer-Verlag, 1-13
- Herzberg M *et al.* 1989. An Asian-specific 9-bp deletion of mitochondrial DNA is frequently found in Polynesians. *Am J Hum Genet* 44:504-510
- Higuchi R *et al.* 1984. DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature*, 312:282-284.
- Higuchi R *et al.* 1988. DNA typing from single hairs. *Nature*, 332:543-546
- Holland MM *et al.* 1993. Mitochondrial DNA sequence analysis of human skeletal remains: identification of remains from the Vietnam war. *J Foren Sci*, 38:542-553.
- Horai S and Hayasaka K. 1990. Intraspecific nucleotide sequence differences in the major noncoding region of human mitochondrial DNA. *Am J Hum Genet*, 46:828-842.
- Horai S and Matsunaga E. 1986. Mitochondrial DNA polymorphism in Japanese. *Hum Genet*, 72:105-117.
- Horai S *et al.* 1989. DNA amplification from ancient human skeletal remains and their sequence analysis. *Proc Jpn Acad B*, 65:229-233
- Horai S *et al.* 1992. Man's place in Hominoidea revealed by mitochondrial DNA genealogy. *J Mol Evol*, 36:32-43
- Hoss M and Paabo S. 1993. DNA extraction from Pleistocene bones by a silica-based purification method. *Nucleic Acids Research*, 21:3913-3914
- Jeffreys AJ *et al.* 1985. Individual-specific fingerprints of human DNA. *Nature*, 316:76-79.

- Jeffreys AJ *et al.* 1992. Identification of the skeletal remains of Josef Mendele by DNA analysis. *Fore Sci Int*, 56:65–76.
- Johnson MJ *et al.* 1983. Radiation of human mitochondrial DNA types analyzed by restriction endonuclease cleavage patterns. *J Mol Evol*, 19:255–271.
- Long JC *et al.* 1990. Phylogeny of human B-globin haplotypes and its implications for recent human evolution. *Am J Phys Anthropol*, 81:113–130.
- Lucotte G *et al.* 1989. Y chromosome DNA polymorphisms in two African populations. *Am J Hum Genet*, 45:16–20.
- Kurosaki K *et al.* 1993. Individual DNA identification from ancient human remains. *Am J Hum Genet*, 53:638–643.
- Oakey R and Tyler-Smith C. 1990. Y chromosome haplotyping suggests that most Europeans and Asian men are descended from one of two males. *Genomics*, 7:325–330.
- Paabo S. 1985. Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA. *Nature*, 314:644–645.
- Paabo S. 1989. Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proc Natl Sci USA*, 86:1939–1943.
- Paabo S. 1993. Ancient DNA. *Sci Amer*, 269:60–66.
- Paabo S and Wilson AC. 1988a. Mitochondrial DNA from a 7000-year old brain. *Nucleic Acids Research*, 16:9775–9787.
- Paabo S and Wilson AC. 1988b. Polymerase chain reaction reveals cloning artefacts. *Nature*, 334:383–388.
- Passarino G *et al.* 1993. COII/ tRNA<sup>Lys</sup> intergenic 9-bp deletion and other mtDNA markers clearly reveal that the Tharus (southern Nepal) have oriental affinities. *Am J Hum Genet*, 53:609–618.
- Piercy R *et al.* 1993. The application of mitochondrial DNA typing to the study of white Caucasian genetic identification. *Int J Leg Med*, 105:85–90.
- Rapacz J *et al.* 1991. Identification of the ancestral haplotype for apolipoprotein B suggests an African origin of *Homo sapiens sapiens* and trace their subsequent migration to Europe and the Pacific. *Proc Natl Sci USA*, 88:1043–1046.
- Rienzo AD and Wilson AC. 1991. Branching pattern in the evolutionary tree for human mitochondrial DNA. *Proc Natl Sci USA*, 88:1597–1601.
- Ruvolo M *et al.* 1991. Resolution of the African hominoid trichotomy by use of a mitochondrial gene sequence. *Proc Nat Acad Sci USA*, 88:1570–1574.
- Sartou N and Omoto K. 1987. Time and place of human origins from mtDNA data. *Nature*, 327:288.
- Schurr TG *et al.* 1990. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages. *Am J Hum Genet*, 46:613–623.
- Scozzari R *et al.* 1988. Genetic studies on the Senegal population. I. mitochondrial DNA polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 43:534–544.
- Shields GF *et al.* 1992. Absence of the Asian-specific region V mitochondrial marker in native Beringians. *Am J Hum Genet*, 50:758–765.
- Spurdle A and Jenkins T. 1991. Y chromosome probe p49a detects complex PvuII and many new TaqI haplotypes in southern African populations. *Am J Hum Genet*, 50:102–125.
- Stine OC *et al.* 1992. The evolution of two west African populations. *J Mol Evol*, 34:336–344.
- Stone AC and Stoneking M. 1993. Ancient DNA from a Pre-Columbian Amerindian population. *Am J Phys Anthropol*, 92:463–471.
- Stoneking M. 1993. DNA and recent human evolution. *Evol Anthropol*, 2:60–73.

- Stoneking M. 1994. In defense of "Eve"—A response to Templeton's critique. *American Anthropologist*, 96:131–141
- Stoneking M *et al.* 1990. Geographic variation in human mitochondrial DNA from Papua New Guinea. *Genetics*, 124:717–733.
- Stoneking M *et al.* 1991. Population variation of human mtDNA control region sequences detected by enzymatic amplification and sequence-specific Oligonucleotide probes. *Am J Hum Genet*, 48:370–382
- Stringer CB and Andrews P. 1988. Genetic and fossil evidence for the origin of modern humans. *Science*, 239:1263–1268
- Sullivan KM *et al.* 1992. Identification of human remains by amplification and automated sequencing of mitochondrial DNA. *Int J Leg Med*, 105:83–86.
- Templeton AR. 1991. Human origins and analysis of mitochondrial DNA sequences. *Science*, 255:737.
- Templeton AR. 1993. The "Eve" hypotheses, a genetic critique and reanalysis. *American Anthropologist*, 95:51–72.
- Templeton AR. 1994. "Eve". Hypothesis compatibility versus hypothesis testing. *American Anthropologist*, 96:141–146.
- Thomas WK *et al.* 1990. Spatial and temporal continuity of kangaroo rat populations shown by sequencing mitochondrial DNA from museum specimens. *J Mol Evol*, 31:101–112.
- Thorae A and Wolpoff M. 1991. Conflict over modern human origins. *Search*, 22:175–177.
- Torrioni A *et al.* 1990. Y chromosome DNA polymorphisms in human populations: differences between Caucasoids and Africans detected by 49a and 49f probes. *Ann Hum Genet*, 54:287–296
- Torrioni A *et al.* 1992. Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics*, 130:153–162.
- Torrioni A *et al.* 1993a. Asian affinities and continental radiation of the four founding native American mtDNAs. *Am J Hum Genet*, 53:563–590.
- Torrioni A *et al.* 1993b. mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with native Americans. *Am J Hum Genet*, 53:591–608.
- Torrioni A *et al.* 1994. Mitochondrial DNA analysis in Tibet: implications for the origin of the Tibetan population and its adaptation to high altitude. *Am J Phys Anthropol*, 93:189–199.
- Vainscoat JS *et al.* 1986. Evolutionary relationships of human populations from an analysis of nuclear DNA polymorphisms. *Nature*, 319:491–493
- Vigilant L *et al.* 1989. Mitochondrial DNA sequences in single hairs form a southern African population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86:9350–9354
- Vigilant L *et al.* 1991. African populations and the evolution of human mitochondrial DNA. *Science*, 253:1503–1507.
- Villablanca FX. 1994. Spatial and temporal aspects of populations revealed by Mitochondrial DNA. In: Herrmann B and Hummel S eds. *Ancient DNA*. New York: Springer-Verlag, 31–58.
- Wallace DC *et al.* 1985. Dramatic founder effects in Amerindian mitochondrial DNA. *Am J Phys Anthropol*, 68:149–155
- Wolpoff MH *et al.* 1988. Modern human origins. *Science*, 241:772–773.
- Wrischnik LA *et al.* 1987. Length mutations in human mitochondrial DNA: direct sequencing of enzymatically amplified DNA. *Nucleic Acids Research*, 15:529–542.