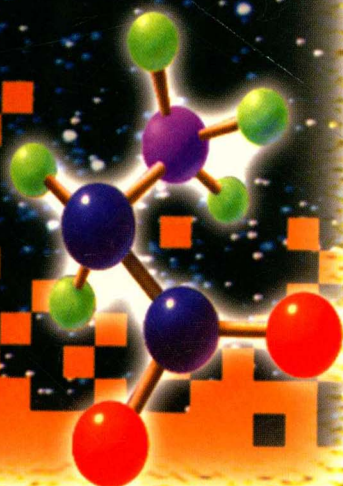




中国科学院研究生教学丛书



分子古生物学原理与方法

杨 群 主编



科学出版社

www.sciencep.com

中国科学院研究生教学丛书

分子古生物学原理与方法

杨 群 主编

中国科学院“百人计划”

国家自然科学基金委“杰出青年基金”

科技部重大基础研究计划(G200077700)

科技部重大基础研究计划前期项目(2002CCA03300)

中国科学院南京地质古生物研究所创新工程

资助创新领域

科学出版社

北 京

内 容 简 介

分子古生物学是 20 世纪 90 年代兴起的一个多学科交叉领域,它涉及古生物学、分子进化与分子系统学、地质学、地球化学等科学分支的理论与方法。本书是我国该领域的第一部基础性读物。它较为系统地介绍了分子古生物研究的基本概念、技术方法、理论原理以及国内外的主要研究方向和进展,包括分子进化理论、分子数据的处理与分析方法、古 DNA、古氨基酸、分子标记物、分子系统学、古生物与现生物分子数据的综合研究等方面。本书适合作为地质和生物类研究生、本科生的课外读物或选修课教材,分子进化和分子古生物专业研究生的课程教材;同时,可作为地质和生物领域研究人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

分子古生物学原理与方法/杨群主编. —北京:科学出版社,2003

(中国科学院研究生教学丛书)

ISBN 7-03-011613-5

I. 分… II. 杨… III. 分子古生物学—研究生—教材 IV. Q91

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 051905 号

责任编辑:胡晓春/责任校对:柏连海

责任印制:钱玉芬/封面设计:槐寿明

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>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2003 年 9 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2006 年 5 月第二次印刷 印张:16 3/4

印数:1 501—3 000 字数:371 000

定价: 38.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈科印〉)

《中国科学院研究生教学丛书》总编委会

主 任:

白春礼

副主任:

何 岩 师昌绪 杨 乐 汪尔康 沈允钢

黄荣辉 叶朝辉

委 员:

朱清时 叶大年 王 水 施蕴渝 余翔林

冯克勤 冯玉琳 高 文 洪友士 王东进

龚 立 吕晓澎 林 鹏

《中国科学院研究生教学丛书》地学学科编委会

主 编:

黄荣辉

副主编:

叶大年

编 委:

章 申 秦大河 石耀霖 丁仲礼 蔡运龙

《中国科学院研究生教学丛书》序

在 21 世纪曙光初露,中国科技、教育面临重大改革和蓬勃发展之际,《中国科学院研究生教学丛书》——这套凝聚了中国科学院新老科学家、研究生导师们多年心血的研究生教材面世了。相信这套丛书的出版,会在一定程度上缓解研究生教材不足的困难,对提高研究生教育质量将起到积极的推动作用。

21 世纪将是科学技术日新月异,迅猛发展的新世纪,科学技术将成为经济发展的最重要的资源和不竭的动力,成为经济和社会发展的首要推动力量。世界各国之间综合国力的竞争,实质上是科技实力的竞争。而一个国家科技实力的决定因素是它所拥有的科技人才的数量和质量。我国要想在 21 世纪顺利地实施“科教兴国”和“可持续发展”战略,实现小平同志规划的第三步战略目标——把我国建设成中等发达国家,关键在于培养造就一支数量宏大、素质优良、结构合理,有能力参与国际竞争与合作的科技大军。这是摆在我国高等教育面前的一项十分繁重而光荣的战略任务。

中国科学院作为我国自然科学与高新技术的综合研究与发展中心,在建院之初就明确了出成果出人才并举的办院宗旨,长期坚持走科研与教育相结合的道路,发挥了高级科技专家多,科研条件好,科研水平高的优势,结合科研工作,积极培养研究生;在出成果的同时,为国家培养了数以万计的研究生。当前,中国科学院正在按照江泽民同志关于中国科学院要努力建设好“三个基地”的指示,在建设具有国际先进水平的科学研究基地和促进高新技术产业发展基地的同时,加强研究生教育,努力建设好高级人才培养基地,在肩负起发展我国科学技术及促进高新技术产业发展重任的同时,为国家源源不断地培养输送大批高级科技人才。

质量是研究生教育的生命,全面提高研究生培养质量是当前我国研究生教育的首要任务。研究生教材建设是提高研究生培养质量的一项重要的基础性工作。由于各种原因,目前我国研究生教材的建设滞后于研究生教育的发展。为了改变这种情况,中国科学院组织了一批在科学前沿工作,同时又具有相当教学经验的科学家撰写研究生教材,并以专项资金资助优秀的研究生教材的出版。希望通过数年努力,出版一套面向 21 世纪科技发展,体现中国科

学院特色的高水平的研究生教学丛书。本丛书内容力求具有科学性、系统性和基础性,同时也兼顾前沿性,使阅读者不仅能获得相关学科的比较系统的科学基础知识,也能被引导进入当代科学研究的前沿。这套研究生教学丛书,不仅适合于在校研究生学习使用,而且也可以作为高校教师和专业研究人员工作和学习的参考书。

“桃李不言,下自成蹊。”我相信,通过中国科学院一批科学家的辛勤耕耘,《中国科学院研究生教学丛书》将成为我国研究生教育园地的一丛鲜花,也将似润物春雨,滋养莘莘学子的心田,把他们引向科学的殿堂,不仅为科学院,而且也为全国研究生教育的发展做出重要贡献。

饶秉祥

前 言

当自然科学进入 21 世纪的时候,学科交叉和领域渗透已成为几乎所有科学分支向前发展的一种源动力。20 世纪末期,人类进入了信息时代;信息技术的大范围渗透和利用,使许多自然科学领域(包括地球科学、生物科学等)发生了革命性的进步。与此同时,生物技术的快速发展与信息技术一起,推动了整个生命科学领域(包括生物医学)的大幅度扩展与进步。现代地球科学中的全球监测系统和环境系统研究中也高度集合了信息科学和生物技术的作用。

分子古生物研究作为一个新兴的学术方向,它借鉴现代分子生物学、生物化学和有机化学等实验手段,融合了地质学、古生物学、分子进化与分子系统学、有机地球化学等多个学科分支的理论与方法,代表现代科学园地中一个典型的跨学科研究领域(杨群,1995)。

分子古生物学有两大主要任务:一是发掘和分析源于古生物的残遗分子。它们通常被保存在实体化石或遗迹化石(如粪化石)内或残存于沉积物之中。常见的古生物分子包含一些较稳定的生物聚合物,如维管植物的木质素、古生物细胞内的类脂化合物、碳水化合物、氨基酸和含遗传信息的脱氧核糖核酸(DNA)(杨洪等,1998; Summons et al., 1999)。二是综合古生物地层学资料 and 现代分子生物学数据(例如, DNA 和蛋白质序列),以探讨历史生物界的发生与演化规律。

显然由于分子古生物学的跨学科性质,它的研究内容和目的是与分子进化研究、有机地球化学和古生物学等领域密切相关的。保存在沉积物中的古代生物遗留下来的有机分子是分子古生物学和有机地球化学的共同研究对象,尽管上述两个不同领域的研究目的有所区别:前者侧重于探究这些有机分子所代表的古代生物的特性,而后者则更多地对地质环境与有机分子及其变化过程的关系感兴趣。现代分子进化研究与分子古生物学的共同兴趣点在于生物系统发生及生物进化规律;两者的主要区别则表现在,前者主要以代表生物界进化末端的现生生物为研究基础,而后者更多地以古生物的地层记录作为框架。古生物学研究者普遍认为,化石记录可为揭示生物系统的发生提供关于时间系列和形态演化趋势方面的重要证据;然而,以现生生物为研究对象的现代进化学者对于上述思路并不完全认可。现代科学分支之间的交叉与渗透一方面使它们之间的界线变得模糊,另一方面有利于从多个侧面探讨一些科学问题(比如关于生物进化规律的问题),以获得较全面的结论。分子古生物研究具有这样的使命和特色。

Calvin (1968) 最早提出了“分子古生物学”(molecular paleontology)的概念,其当时的含义局限于有关生物标记物(biomarkers)的研究。Runnegar (1986) 首次将分子古生物研究作为古生物学领域的一个学科分支,并指出分子古生物学是现代分子生物学、有机地球化

学与古生物学等多学科结合的边缘领域。Runnegar 认为,现代分子生物学的发展为我们提供了探索生命历史的一个新型工具,这一工具对于当今古生物学的意义可与比较解剖学在居维叶时代所起的作用相提并论。

广义的分子古生物研究可追溯到 20 世纪 50 ~ 60 年代或者更早(如 Abelson 1956: *Paleobiochemistry*; Wyckoff 1972: *The biochemistry of animal fossils*)。然而,作为一个独立的学科方向,分子古生物学是近年发展起来的。尤其是 20 世纪 90 年代初以来,研究者成功地分离了可直接用作生物谱系和进化研究的、载有生物遗传信息的化石 DNA(源于化石的 DNA)。这一重要突破迅速使分子古生物研究从有机地球化学及分子生物学领域中脱颖而出,成为探索历史生物系统的演化、分类与谱系发育等古生物学主题的一个学科分支。

有一个专用名词是许多同行非常感兴趣的,即“分子化石”(molecular fossil)。分子化石的基本含义是,源于死亡生物的有机分子,源生物可能已经成为化石或者其生物体的大部分已经遭受破坏。由于有机分子的分子结构非常脆弱,因而在保存过程中极易被损坏,一般仅有痕量残遗分子可能被发现。但是,随着分析技术的发展,这些痕量分子化石将被越来越多地发掘出来。常见生物有机分子包括四大类:核酸(DNA、RNA)、蛋白质、碳水化合物和脂类,它们是所有生物共有的。此外,还有一些部分生物特有的有机分子。其中核酸和蛋白质是最不稳定的,而碳水化合物和脂类则是比较经得起化学降解的。显然,不同分子化石要求的保存条件有所不同,但是有一个共同的要求:尽量减少与微生物、水和空气的接触;此外,氧含量和温度也是分子化石得以保存的重要因素。可能保存分子化石的材料(标本)包括:化石硬体(内、外骨骼)、富含有机质的泥页岩、煤和干酪根,其中干酪根中可能隐藏着地层记录中 80% 以上的有机分子。目前,人们有关分子化石的知识仍然非常薄弱,尤其在系统分子化石记录方面更是如此。然而,分子化石可能揭示历史生物界各种性质的潜力将是巨大的。

我国在分子古生物领域的系统研究起步较晚。1995 年,经中国科学院批准,南京地质古生物研究所装备了用于分析核酸和氨基酸的实验设施,并正式开辟和筹建了分子古生物实验室。这一举措标志着分子古生物学学科建设在我国展开。在此之前,与分子古生物学相关的生物分子标记物的研究早在 20 世纪 60 年代开始已在我国有机地球化学领域被研究者涉足(参见本书第 5 章)。化石和地层氨基酸的研究也在 70 年代以来作为沉积地层学的一种手段被研究者探讨(参见本书第 4 章)。90 年代开始,随着国际古 DNA 研究热潮的兴起,我国生物学和古生物、古人类领域的研究者开始尝试化石 DNA 的获取与分析。由于适合的研究材料匮乏以及易于污染、难以鉴别等问题,化石 DNA 这一研究方向至今仍然处于初步的探索性阶段(参见本书第 3 章)。值得指出,近年来分子古生物学领域出现了另一个极为活跃的新方向,即综合运用古生物地层资料 and 现代生物的分子生物学数据,以探讨历史生物类群的起源时间和系统发生型式(pattern)。如“早期后生动物的辐射进化”、“维管植物的起源”等重要演化古生物学问题均属于该研究方向所探讨的范围(参见本书第 8 章和第 9 章)。

1996 年 6 月,一批来自现代生物学、有机地球化学和古生物学领域的研究者,出于对

分子古生物学这一新兴领域的兴趣及好奇,聚集古城南京,召开了我国首次以分子古生物和分子进化为主题的小型学术研讨会。与会者展示了从地层中的生物标志化合物、恐龙基因、古人类及龟板中的古 DNA、化石氨基酸,到现代分子进化和保护生物学等众多课题的研究成果,讨论了学科间的交叉、渗透与合作,取得了极为鼓舞人心的效果。2000年7月,与分子古生物学相关的研究人员在武汉召开了一次小型国际讨论会,主题是“Ancient Biomolecules”(古代分子)。会议邀请美国和英国的有关专家报告了分子古生物研究领域及相关学科的研究现状和成果。与此同时,我国又一个分子古生物研究小组和实验室在中国地质大学(武汉)正式成立。这显示了分子古生物学领域的发展和壮大。在国际上,欧、美、日等国的研究人员在古代分子领域开展了广泛的探索;其中一个重要的标志是,此领域的一个专业刊物——《Ancient Biomolecules》于1996年诞生(荷兰 Harwood Academic Publishers)。

本书的编写目的是:①为涉足分子古生物研究的初学者和对此领域有兴趣的人士提供一个基础入门读物,当前确实缺乏此类读物;②向现代进化研究领域的读者提供一个了解分子古生物学的窗口,以促进古生物学与现代生物科学分支学科间的交叉与联合;③报告分子古生物领域的现状和主要研究进展。

由于分子古生物研究的跨学科性质,本书编者特别邀请了与分子古生物研究有关的多学科领域中的专家参加编著本书的不同章节,以期使读者了解那些相关研究方向中的前沿技术、理论、方法和进展,并将那些理论与方法应用于探索历史生物界的特性中去。被特别邀请的专家及其编写的内容包括:刘德明(中国科学院南京地质古生物研究所,古氨基酸研究)、傅家谟、盛国英、张干、彭平安(中国科学院广州地球化学研究所,生物标记物研究)、庚镇城(复旦大学,中性理论)、王顺德、罗泽伟(复旦大学,群体遗传学)、施苏华(中山大学,分子系统学)、钟扬等(复旦大学生命科学学院,分支分类方法)、赖旭龙(中国地质大学,武汉,古 DNA 研究)、夏旭华(加拿大渥太华大学,分子数据的分析方法)、杨洪(美国 Bryant College,古 DNA 与分子埋藏学)。中国科学院南京地质古生物研究所李春香、孙晓燕参加了本书的部分文字翻译和图文处理工作。

分子古生物学既是一个新领域,有待于多学科工作者去开发与探索;同时,它又代表古生物学和进化研究领域的一个前沿方向,可望成为21世纪中一个较为活跃的学术园地。它的生命力寓于新技术、新理论和新方法的引入以及大跨度的学科交叉。占地质沉积物总量2%之多(相当于地球上现存生物总量一万倍以上)的、源于古生物的有机分子尚有待于研究人员去探讨其古生物学和进化生物学内涵。

由于编者水平所限,错误和不足之处在所难免。如有发现,请读者批评指正。

编者

2002年冬季

目 录

《中国科学院研究生教学丛书》序

前言

| | |
|-----------------------------|---------------|
| 第 1 章 DNA 与分子古生物学 | 杨群 施苏华 钟扬 (1) |
| 引言 | (1) |
| 1.1 历史回顾 | (1) |
| 1.2 一些基本概念 | (3) |
| 1.2.1 DNA 与基因 | (3) |
| 1.2.2 遗传密码 | (4) |
| 1.2.3 基因组 | (5) |
| 1.2.4 氨基酸与蛋白质结构 | (7) |
| 1.3 分子进化型式 | (8) |
| 1.3.1 编码基因的突变型式 | (9) |
| 1.3.2 非编码序列中的替代型式 | (11) |
| 1.4 分子系统学概要 | (13) |
| 1.4.1 性状(特征) | (14) |
| 1.4.2 分类群 | (14) |
| 1.4.3 分子系统学的特点 | (16) |
| 1.5 分子系统学在古生物学中的意义 | (17) |
| 1.5.1 分子化石 | (17) |
| 1.5.2 古生物学中的 DNA 分子指标 | (17) |
| 1.6 附录 | (19) |
| 1.6.1 标本的采集与储存 | (19) |
| 1.6.2 分子古生物学实验室设置 | (20) |
| 第 2 章 群体遗传动力学 | 王顺德 罗泽伟 (23) |
| 引言 | (23) |
| 2.1 等位基因频率的变化 | (23) |
| 2.2 自然选择 | (24) |
| 2.2.1 共显性 | (25) |
| 2.2.2 超显性 | (26) |
| 2.3 随机遗传漂变 | (27) |

| | | |
|------------|---------------------|----------------|
| 2.4 | 有效居群规模 | (31) |
| 2.5 | 基因替代 | (32) |
| 2.5.1 | 等位基因被固定的概率 | (32) |
| 2.5.2 | 等位基因的固定时间 | (33) |
| 2.5.3 | 基因替代率 | (34) |
| 2.6 | 在突变压力下等位基因的消失 | (35) |
| 2.7 | 基因多态性 | (36) |
| 2.8 | 新达尔文理论和中性突变假设 | (38) |
| 第3章 | 古DNA的研究方法与应用 | 赖旭龙 杨群 杨洪 (40) |
| | 引言 | (40) |
| 3.1 | 研究简史 | (40) |
| 3.2 | 古DNA研究的意义及难点 | (42) |
| 3.2.1 | 意义 | (42) |
| 3.2.2 | 难点 | (43) |
| 3.3 | 基本概念与方法 | (44) |
| 3.3.1 | 古DNA的定义与范畴 | (44) |
| 3.3.2 | DNA分子埋藏学 | (45) |
| 3.3.3 | 古DNA研究材料的选用 | (46) |
| 3.4 | 实验技术 | (47) |
| 3.4.1 | 总体规划 | (47) |
| 3.4.2 | 古DNA的提取与扩增 | (47) |
| 3.5 | 古DNA序列分析及可靠性鉴别方法 | (49) |
| 3.5.1 | DNA序列分析 | (49) |
| 3.5.2 | 污染控制 | (51) |
| 3.5.3 | 可重复性 | (51) |
| 3.5.4 | 甄别古DNA的标准 | (52) |
| 3.6 | 古DNA的应用 | (53) |
| 3.6.1 | 谱系发育研究 | (53) |
| 3.6.2 | 历史群体遗传学研究 | (53) |
| 3.6.3 | 谱系地理的演变 | (54) |
| 3.6.4 | 古生态研究 | (55) |
| 3.6.5 | 分子进化速率的直接估算 | (55) |
| 3.6.6 | 古人类研究 | (56) |
| 3.6.7 | 其他应用 | (56) |
| 3.7 | 结语 | (57) |
| 3.8 | 附录:古DNA实验要点 | (57) |
| 3.8.1 | 抽提 | (57) |

| | | |
|--------------|---------------------------------------|---------------------|
| 3.8.2 | PCR 扩增 | (58) |
| 3.8.3 | PCR 引物设计 | (59) |
| 3.8.4 | PCR 产物的直接测序 | (59) |
| 第 4 章 | 古氨基酸研究 | 刘德明 (62) |
| 引言 | | (62) |
| 4.1 | 氨基酸立体化学基础 | (62) |
| 4.1.1 | 四面体碳和光学异构体 | (62) |
| 4.1.2 | 构型的标定 | (65) |
| 4.1.3 | 氨基酸及衍生物系统名称的构成 | (68) |
| 4.1.4 | 氨基酸外消旋反应动力学 | (69) |
| 4.2 | 技术和方法 | (72) |
| 4.2.1 | 气相色谱原理 | (73) |
| 4.2.2 | 氨基酸衍生物的制备 | (74) |
| 4.2.3 | 氨基酸气相色谱分析 | (75) |
| 4.2.4 | 氨基酸液相色谱分析 | (79) |
| 4.3 | 化石氨基酸及其外消旋作用的一些应用 | (82) |
| 4.3.1 | 地层氨基酸的总量与组分研究 | (82) |
| 4.3.2 | 氨基酸年代学 | (84) |
| 4.3.3 | 氨基酸外消旋与古 DNA 保存的评估 | (85) |
| 4.3.4 | 重要年代界线地层中的氨基酸研究 | (87) |
| 4.3.5 | 有孔虫的氨基酸分析与属种效应 | (88) |
| 4.3.6 | 生物年代学 | (89) |
| 4.4 | 附录 | (91) |
| 4.4.1 | 氨基酸分子结构式 | (91) |
| 4.4.2 | 2.5mmol 氨基酸标准液的配制 | (91) |
| 4.4.3 | 贝壳化石中氨基酸组分的提取 | (92) |
| 4.4.4 | 氨基酸组分的气相色谱分析 | (92) |
| 4.4.5 | 氨基酸对映体的气相色谱法拆分(用光学活性酰化剂) | (93) |
| 4.4.6 | 氨基酸对映体的气相色谱法拆分(用光学活性酯化剂) | (94) |
| 4.4.7 | 氨基酸对映体的气相色谱法拆分(用手性相 Chirasil-Val 毛细柱) | (94) |
| 第 5 章 | 生物标志物及其古生物与古环境意义 | 盛国英 张干 傅家谟 彭平安 (96) |
| 引言 | | (96) |
| 5.1 | 生物标志物的定义与特点 | (96) |
| 5.2 | 研究简史 | (97) |
| 5.3 | 有机化学预备知识 | (98) |
| 5.3.1 | 有机化合物的结构表示法 | (98) |
| 5.3.2 | 无环烷烃 | (98) |

| | | |
|--------------|------------------------------------|-------|
| 5.3.3 | 环烷烃 | (99) |
| 5.3.4 | 类异戊二烯烃 | (99) |
| 5.3.5 | 系列化合物碳优势指数 | (101) |
| 5.3.6 | 生物标志物的立体化学 | (102) |
| 5.3.7 | 典型生物标志物的立体化学 | (103) |
| 5.4 | 生物标志物的地球化学 | (107) |
| 5.4.1 | 生物标志与古生物输入 | (108) |
| 5.4.2 | 生物标志物及其参数的地球化学意义 | (122) |
| 5.5 | 生物标志物在古气候古环境研究中的应用 | (125) |
| 5.5.1 | 古温度 | (125) |
| 5.5.2 | 古大气二氧化碳分压(P_{CO_2})指标 | (126) |
| 5.5.3 | 古湖泊沉积物源与生产力的有机分子指标 | (128) |
| 5.5.4 | 应用生物标志物辨认古环境研究示例 | (129) |
| 5.6 | 生物标志化合物的地史分布 | (138) |
| 5.7 | 附录:生物标志物的分析技术 | (140) |
| 5.7.1 | 样品的保存和化学前处理 | (140) |
| 5.7.2 | 气相色谱-质谱(GC-MS)分析 | (143) |
| 第 6 章 | 分子数据的基本处理方法——以 DAMBE 分析软件为例 | |
| | 夏旭华 李春香 杨群 | (149) |
| | 引言 | (149) |
| 6.1 | 分子数据文件的格式及格式转换 | (149) |
| 6.2 | 在互联网(Internet)上获取数据 | (152) |
| 6.3 | GenBank 数据文件的内涵与处理方法 | (154) |
| 6.4 | 多序列对位排列(Multiple Alignment) | (157) |
| 6.5 | 分子序列数据的基本分析方法 | (158) |
| 6.5.1 | 核苷酸与二核苷酸频率 | (158) |
| 6.5.2 | 密码子的频率 | (160) |
| 6.5.3 | 实例分析 | (162) |
| 6.6 | 氨基酸频率及其演化 | (165) |
| 6.7 | 附录 | (165) |
| 6.7.1 | DAMBE 程序的简介及安装程序 | (165) |
| 6.7.2 | 常用的计算机辅助程序 | (165) |
| 第 7 章 | 分子谱系树的构建与检验 | |
| | 钟扬 唐先华 黄德世 张晓艳 施苏华 杨群 | (168) |
| | 引言 | (168) |
| 7.1 | 基本概念、模型与分析流程 | (168) |
| 7.1.1 | 谱系树 | (168) |

| | | |
|--------------|--------------------------|-------------|
| 7.1.2 | 分子数据和序列进化模型 | (170) |
| 7.1.3 | 对位排列 | (173) |
| 7.2 | 分子谱系树的构建 | (175) |
| 7.2.1 | 距离矩阵法 | (176) |
| 7.2.2 | 简约法 | (178) |
| 7.2.3 | 最大似然法 | (180) |
| 7.2.4 | 谱系树构建方法的比较 | (181) |
| 7.3 | 分子谱系树的统计检验 | (183) |
| 7.3.1 | 一致性指数和一致树 | (183) |
| 7.3.2 | 谱系树的重复抽样检验 | (185) |
| 7.4 | 附录:网络资源 | (187) |
| 第 8 章 | 中性理论、分子钟及支系分歧时间估算 | 庚镇城 杨群(189) |
| | 引言 | (189) |
| 8.1 | 中性理论:分子进化速率研究的理论基础 | (190) |
| 8.1.1 | 分子突变中的中立性 | (190) |
| 8.1.2 | 中性理论的要点 | (191) |
| 8.1.3 | 关于中性理论的争议 | (192) |
| 8.2 | 分子钟 | (193) |
| 8.2.1 | 概念 | (193) |
| 8.2.2 | 分子钟的构建与相对速率检验 | (195) |
| 8.2.3 | 二簇检验法与枝长检验法 | (198) |
| 8.3 | 谱系间的速率差异 | (198) |
| 8.3.1 | 啮齿类 vs 灵长类 | (198) |
| 8.3.2 | 谱系进化速率差异的原因 | (199) |
| 8.4 | 关于分子钟的争议 | (200) |
| 8.5 | 研究实例:后生动物门类的起源 | (201) |
| 8.6 | 展望 | (202) |
| 第 9 章 | 非线性分子进化与古生物重大事件 | 吕宝忠 杨群(204) |
| | 引言 | (204) |
| 9.1 | 进化研究从形态至分子、从线性至非线性 | (204) |
| 9.1.1 | 线性形态进化 | (204) |
| 9.1.2 | 线性分子进化 | (205) |
| 9.1.3 | 非线性形态进化 | (205) |
| 9.1.4 | 非线性分子进化 | (206) |
| 9.2 | 非线性分子进化研究简史 | (206) |
| 9.3 | 非线性分子进化的机制 | (207) |
| 9.3.1 | 基因重复 | (207) |

| | |
|---------------------------------|-------|
| 9.3.2 外显子拼接、域拼接 | (208) |
| 9.3.3 基因共享 | (208) |
| 9.3.4 基因的横向转移 | (210) |
| 9.3.5 同功替代 | (211) |
| 9.4 非线性进化研究方法 | (211) |
| 9.4.1 以蛋白质构象叠合来校正其序列的对位排列 | (211) |
| 9.4.2 功能-结构分析 | (211) |
| 9.5 三叶虫兴衰的呼吸机制探秘 | (214) |
| 9.6 结语 | (215) |
| 参考文献 | (217) |
| 名词索引 | (237) |
| 中英对照 | (237) |
| 英中对照 | (243) |

第 1 章 DNA 与分子古生物学

引 言

DNA (deoxyribonucleic acid, 脱氧核糖核酸) 作为生物遗传信息载体, 实质上也是记录生物进化历史的原始卷宗 (Li and Graur, 1991; Li, 1997)。虽然记录在 DNA 分子上的信息通常是混乱、分散甚至是支离破碎的, 但其进化型式 (pattern) 在很大程度上可以反映生物系统进化的本质。尽管 DNA 分子在古生物中的保存潜力有待于进一步研究, 但众多研究表明, 这些分子在特殊埋藏条件下, 可在数万至数千万年的古代生物 (包括人类) 标本中残存至今 (参见本书第 3 章)。这一发生在最近十多年中的新的突破, 不仅已成为 20 世纪末期分子古生物研究在国内外兴起的原因, 而且将继续引导人们从基因层次探索历史生物界的演化过程。

本书前言中已提及, 分子古生物学的主要任务是: ① 发掘保存在地层中的有机分子 (包括 DNA、氨基酸和其他生物标志化合物), 并研究这些化石分子的古生物学意义; ② 研究地层古生物数据与分子进化规律和分子系统学的统一性, 从而更全面地认识历史生物界的演化过程 (杨群, 1995; 杨群、尚庆华, 1995; 杨群等, 1997; 杨洪等, 1998)。DNA 是上述研究中的重要对象。

由于快速 DNA 测序技术的广泛应用, 现代进化生物学研究常常依赖于不同生物之间的 DNA 序列的比较与分析。然而, 现存生物间的 DNA 序列的比较分析只能提供生物界长期演化历史的间接性证据, 从某种意义上说, 这种进化分析是“掉入时间陷阱的” (“time trapped”, Hofreiter et al., 2001), 也就是说受到固定时间 (当前) 的束缚; 而古 DNA 研究为我们提供了逐渐摆脱这一困境的途径。从而使我们得以从基因水平上沿时间跟踪进化的踪迹 (详见第 3 章: 古 DNA 的研究方法与应用)。

鉴于 DNA 对于分子古生物领域的特殊意义和作用, 这里首先介绍与 DNA 有关的分子古生物学概念和基本知识, 旨在为古生物学专业和其他非分子遗传与进化专业的读者提供一些有助于阅读后续章节的背景。对于分子进化领域的读者来说, 本章有助于了解分子古生物学的基本思想与研究内容。

1.1 历史回顾

自 Watson 和 Crick (1953) 提出 DNA 双螺旋结构模型^① 开始, 分子生物学及整个生命

^① DNA 双螺旋结构模型与量子理论和广义相对论一起, 被称为“20 世纪自然科学三大进展”。

科学研究进入了一个崭新的历史阶段。20世纪60年代中期起,分子生物技术迅速发展,并逐渐引入进化生物学和群体遗传学研究领域。蛋白质电泳技术首先被用于自然居群内的基因分异度、基因流向、物种的边界及系统分类等方面的研究,取得了显著进展。例如,研究者发现,蛋白酶在动物(果蝇)和人类居群内(个体间)存在着较大的变异(Harris, 1966; Hubby and Lewontin, 1966)。这些重要突破及其伴随的新发现导致人们在微进化和宏进化认识方面产生了飞跃。分子进化的中性理论(Neutral Theory, 又译作“中立学说”, 参见本书第8章)便是在大量蛋白质序列数据积累的基础上产生的(Kimura, 1968)。

70年代以来,限制性内切酶技术分析DNA片段(RFLP技术)、线粒体(mt)DNA和DNA指纹技术(DNA finger printing)开始应用于遗传多样性研究(Avise et al., 1979)。80年代后期起,随着PCR技术的迅速普及,DNA序列的测定与分析技术业已成为分子进化与分子系统学研究中的常用方法(Hillis et al., 1996)。据不完全统计,在国际学术领域里,DNA及相关分子生物学方法应用于分子进化和分子古生物学研究的一些重要突破或里程碑性的进展包括:

1963 Pauling 和 Zuckerkandl 在研究血红蛋白分子进化时,探讨了基因水平上核苷酸(nucleotide)突变的规律性,发现分子可以记载进化信息,进而提出了分子钟的概念;

1963 Margoliash 测定了部分生物的细胞色素c序列,并进而用所得序列数据构建了第一个分子谱系树;

1967 Sarich 和 Wilson 运用免疫学方法,发现人与巨猿(great ape)的共同祖先早于原来推测的时代;

1968 Kimura(木村)提出了关于分子进化的中性理论;

1971 分子进化研究领域的第一本专业期刊——《Journal of Molecular Evolution》问世;

1979 Avise 等将线粒体(mt)DNA分析方法用于动物自然居群研究;

1980 湖南医学院的研究人员首次从2000多年前的古代标本中提取出古代DNA(aDNA)和古代RNA(aRNA);

1981 Palmer 等运用叶绿体(cp)DNA构建了植物分子谱系树;

1984 Higuchi 等首次克隆了aDNA,并测定了已灭绝物种(斑驴)的aDNA序列;

1985 Jeffrey 等发明了DNA指纹法;

1989 Kocher 等设计了一系列可用于扩增生物mtDNA特定片段的保守引物;

1991 Golenberg 等首次从化石标本中获取了DNA序列;

1992 分子进化领域中涌现多种专业期刊,例如《Molecular Ecology》,《Molecular Phylogenetics and Evolution》,《Molecular Biology and Evolution》等;

1996 第一本关于分子化石的专业刊物——《Ancient Biomolecules》问世;

1997 Kring 等发现,尼安德特人(Neanderthal)的mtDNA与现代欧洲人的mtDNA无直接联系,两者的共同祖先可能于50万年以前分道扬镳(Kring et al., 1999)。从而推翻了传统的有关现代欧洲人起源的理论。