

<http://www.geojournals.cn/georev/ch/index.aspx>



地质体中主要生物分子的研究方法及应用

杨洪

(美国密歇根大学医学院人类遗传学系, 密歇根)

程安进 杨群

(中国科学院南京地质古生物研究所, 210008)

内容提要 现代分子生物学、生物化学及有机地球化学等领域的发展,为古生物研究者在分子水平上探索地质生物世界提供了新的概念和技术手段。本文着重讨论可用于分子古生物学研究的生物分子,例如,维管植物的木质素等稳定生物聚合物、古生物细胞内的类脂化合物、碳水化合物、蛋白质及氨基酸和含遗传信息的核酸。分子古生物资料可用于探讨化石埋藏学、古生物分子系统学、生物演化模式与机制、分子演化速率、古生态环境再造等问题。本文较详细地介绍了DNA数据在分子古生物学中的应用。分子古生物研究领域的开辟,标志着古生物研究进入一个新的发展阶段。

关键词 分子化石 古DNA 分子古生物学

在分子水平上观察、描述和分析现生生物及古生物,是人类在认识和改造自然界过程中的一次飞跃。分子生物学技术的兴起和应用不仅丰富了传统生物学研究的方法与手段,而且使古生物学可能深入分子水平研究化石生物。分子古生物学以古代生物分子及含有演化生物学意义的现代生物分子为研究对象,利用分子生物学、生物化学和地球化学的技术和方法从分子水平上探讨古生物学及演化生物学问题。最近国内外发表的一些研究成果表明,这一介于地质学与生命科学之间的古生物新学科——分子古生物学正在逐步走向成熟。

研究化石分子的思想始于本世纪30年代,化学家首先认识到石油及油页岩中的古代有机分子可与现代有机分子类比。Abelson^[1]发现壳体化石中含有古代氨基酸分子,从而揭开了研究化石体内原生古代大分子(当时称为“化学化石”)的序幕。随着生物化学技术的发展,特别是提取、提纯及鉴定氨基酸和蛋白的方法走向常规化,分子古生物学由研究围岩中的游离生物分子转向研究化石中的原位生物大分子上来,从而使化石氨基酸、蛋白及类脂分子的研究得到了较大的发展。与此同时,这一领域也暴露出一些难以解决的问题,首先,生物化学的方法只对纯化的生物大分子有效,而化石中所保存的原生古代生物分子不仅含量太低,而且经过降解之后已被破碎不全,因而难以进行深入研究;其次,所获得的古代生物分子只包含有限的古生物学信息,往往不具备属种特征。80年代初,研究者开始运用生物免疫学的方法,根据化石中残留的蛋白分子建立化石生物的亲缘关系,使分子古生物学在化石分类学的研究上进了一步^[2]。然而,当时的分子生物学技术尚不具备直接研究化石中富含遗传信息的、但结构上不稳定的

注:杨洪兼任中国科学院南京地质古生物研究所客座研究员。

本文1997年1月收到,4月改回,萧品芳编辑。

核酸 (DNA 及 RNA) 的可能^[3]。80 年代后期, 多聚酶链状反应 (polymerase chain reaction 或 PCR) 技术的发现与应用使研究化石和亚化石中保存的微量古 DNA 分子成为可能^[4,5]。至此, 分子古生物学已演化成为一门与传统古生物学和同位素地质学相结合, 应用现代分子生物技术研究一系列古代生物大分子的新学科^[6]。本文将结合分子古生物学及相关领域的最新进展, 讨论分子古生物学研究的主要内容、方法、特点及其发展趋向。

1 地质体中的主要生物分子及其研究方法

生物体内的大多数有机大分子已被发现于不同年龄的地质体 (化石或围岩) 中。它们的丰度、含量和保存状态根据所产出地质体的年代、古环境以及分子本身的稳定性而有所不同。由于不同的生物分子在化学结构上的差异大, 其研究技术与手段也大不相同, 但总体来说, 包括提取、鉴定及确认等重要步骤^[7,8]。

1.1 木质素及其它稳定生物聚合物

木质素 (lignin) 是维管植物中一类常见的有机分子, 它在植物体中起支撑纤维素的作用。其分子结构主要是由带羟脯氨酰基的苯环组成的三维空间结构。木质素的稳定三维空间结构使其在植物化石及沉积岩中广泛分布, 成为具有代表性的稳定古代生物聚合物。木质素的分析方法一般是通过热解 (pyrolysis) 或氧化作用研究其结构组成^[9]。用于热解的标本一般在 0.1 ~ 1 mg 左右, 高温热解后所分解的化合物可直接由热解质谱仪 (PY-MS) 鉴定或先由气相色谱分析而后通过质谱仪鉴定 (PY-GC-MS)。Logan 和 Thomas^[10]曾用此方法研究石炭纪植物碎屑中的木质素分子。应用类似的技术, Tegelaar 等^[11]分析了植物化石角质层中的其它稳定生物聚合物, 如角质 (cutin) 和皮质 (cutan), 用于探讨古植物在地层中的保存潜力。

1.2 类脂化合物

类脂化合物 (lipids) 是生物细胞内储藏能量的有机分子, 它的基本单元由甘油 (glycerol, 三碳分子及—OH) 以及脂肪酸 (fatty acids, 碳链—COOH) 组成。脂肪酸中的碳链以饱和共价键 (C—C) 为主。类脂分子仅溶于有机溶剂 (如酒精) 而不溶于水, 这一特征使类脂分子具有较高的地层保存潜力。在地质体中发现的古代类脂分子及其分解产物 (geolipids) 的结构可同现生物中提取的类脂分子直接对比。由于保存在地质体中的类脂分子以混生的形式存在, 较有效的研究手段为色谱法 (chromatography), 色谱仪利用不同分子在两态 (如气态与液态) 转换时的特征差异, 将混合的有机分子分开, 其中气相色谱仪 (gas chromatography 或 GC) 是最常见的一种^[12]。色谱仪通常和质谱仪 (mass spectrometer, 简称 MS) 相连用以鉴定 GC 图谱上每个峰值的分子结构^[13]。新型的质谱仪可直接鉴定单分子中¹³C 同位素的组成^[14]。从围岩中及化石中提取并研究古代类脂分子的成果表明^[15,16], 某些类脂化合物仅存在于部分生物门类中, 因此可作为一种有用的生物标记。不同类脂分子保存在沉积岩中, 它们的相对含量及结构变化对沉积物的埋藏历史具有一定的指示作用^[7]。

1.3 碳水化合物

碳水化合物 (carbohydrates) 是由 H、O、C 组成的有机分子, 其中 H:O:C 的比值大多为 2:1:1。单糖 (monosaccharides) 是碳水化合物中最简单的分子 (如血糖和果糖)。单糖中的—OH 与—COOH 可相互连接组成长链的多糖分子 (polysaccharides), 多糖分子本身可折叠形成复杂的三级或四级结构。高等动物细胞中的动物淀粉 (glycogen) 及木本植物体中的纤维素 (cellulose) 均是较重要的多糖分子。由于碳水化合物具有亲水性, 因此多糖分子在自然界中的

稳定性远不及类脂及木质素。热解的方法可用于碳水化合物的研究, 固态 ^{13}C 核磁共振 (nuclear magnetic resonance, 简称 NMR) 技术也已被应用到古代碳水化合物的研究上^[17], 研究化石多糖的工作多限于中、新生代化石及沉积物^[18]。

1.4 蛋白和氨基酸

氨基酸 (amino acids) 是组成蛋白 (proteins) 的基本单位。生物体内存在 20 种氨基酸, 它们以共同含有氨基 ($-\text{NH}_2$) 而得名。每种氨基酸上的氨基可与另外一种氨基酸上的一 COOH 反应产生连接两种氨基酸的肽键 (peptide bond)。多个氨基酸相连组成不同的蛋白分子, 每一种蛋白分子具有独特的氨基酸序列。氨基酸之间还可以氢键 (hydrogen bond) 相连从而使蛋白分子折叠成复杂的三维空间结构, 蛋白的立体结构对它的稳定性和功能有着重要的影响。由于蛋白易于水解, 因此, 完整的蛋白分子在地质记录中较为少见, 水解的结果导致肽键断开, 从而产生较短的肽链或游离氨基酸。氨基酸本身在分子立体形态上也会发生变化。同一种氨基酸可能有两种不同的镜面对称形态 (对映体: D 型及 L 型), 而在生物体正常生活的条件下, D 型氨基酸的含量可忽略不计; 但是, 生物体死亡后, L 型氨基酸便开始向 D 型转化, 这一作用被称为氨基酸的外消旋作用 (racemization)。一般认为, 氨基酸外消旋的速率具有依赖于时间的均一性, 而且是不可逆的。因此, 这一特征为氨基酸地层学提供了基本理论依据^[19~21]。

研究化石蛋白及氨基酸的技术来自于现代生物化学方法^[22]。氨基酸分析仪虽然可以用于直接分析各种氨基酸的相对含量, 但其古生物学信息极为有限。由于蛋白在成岩过程中结构发生了较大变化, 因此, 尚不能获得具有遗传学信息的氨基酸序列。如果化石中的蛋白分子保存较好, 可采用 ^{125}I 标记法对化石蛋白进行凝胶电泳 (gel electrophoresis) 分析, 但这种方法往往只限于保存较好的新生代化石^[23]。

近年来, 免疫学方法被较广泛地应用到古代蛋白的研究上并取得了一定的成功^[24]。这一方法的基本原理是利用生物体内的免疫系统对外来蛋白产生的抗体反应, 并利用反应的强弱来确定生物 (或古生物) 之间亲缘关系的远近。Lowenstein^[25]较详细地介绍了放射免疫测试法 (radioimmunoassay, 简称 RIA)。这种方法应用 ^{125}I 标记测量不同化石生物蛋白抗原与现生生物抗体的反应强度, 从而推算出有关化石生物的亲缘关系的相对远近。这一方法的优势在于, 所研究的化石蛋白可以是经过成岩作用之后保存的不完整的分子, 但不足之处在于化石蛋白的保存程度对测量免疫反应的精度有较大的影响, 因此间接地影响了分析生物亲缘关系的准确程度。近年来不同学者围绕免疫学方法在研究现代及化石腕足动物蛋白上的应用展开了辩论^[26~29]。

1.5 核酸

核酸 (nucleic acids) 是脱氧核糖核酸 (DNA) 及核糖核酸 (RNA) 的统称。由于 DNA 是生命遗传信息的载体, 自从 Watson 和 Crick^[30]发现 DNA 分子的结构之后, DNA 一直是分子生物学和遗传学研究的中心。DNA 的基本单元是由脱氧核糖及碱基组成的核苷酸 (nucleotide), 前后核苷酸之间以磷酸二酯键 (phosphodiester bond) 相连成为链状分子。DNA 链上的碱基共有四种, 即: 腺嘌呤 (adenine, 简称 A), 胞嘧啶 (cytosine, 简称 C), 鸟嘌呤 (guanine 简称 G) 及胸腺嘧啶 (thymine, 简称 T)。其中 A 与 T, G 与 C 为互补碱基, 即这两对碱基总是以氢键的形式在 DNA 双螺旋结构之间对应相连。在 DNA 链上的碱基排列顺序被称为 DNA 序列。DNA 序列中所包含的遗传信息在遗传过程中被转录到 RNA 上, 而后在核糖体中合成蛋白。同现代生物体中的 DNA 相比较, 古生物化石内的古 DNA 在保存过程中发生过一

系列的物理化学变化^[31]。水解及氧化作用是 DNA 降解的两个最主要的原因^[32]。古代 DNA 在经历降解之后其原始分子遭到不同程度的破坏,这给化石古 DNA 的研究带来了不少困难。化石 DNA 的研究包括提取、扩增、测序及序列分析和确证来源等几个重要组成部分^[33]。从化石材料中提取 DNA 首先要将细胞基因组总 DNA (genomic DNA) 从细胞中释放出来,而后经提纯除去可能影响 PCR 扩增的蛋白以及其它化合物。目前较常用的提取古代 DNA 的方法有 3 类^①,因不同材料而异,提取的总 DNA 要经过扩增之后才能进一步测序。PCR 技术是扩增化石 DNA 片段最有效的方法。PCR 利用 DNA 分子的物理、化学特性及根据已知 DNA 片段中的保守序列设计同“目标”基因两端互补的引物(约 20~30 个碱基的单链 DNA),应用抗高温的 DNA 聚合酶(如 Taq 聚合酶)通过多次加温和降温的循环将所研究的 DNA 片段成百万倍地扩增^[4]。扩增后的 PCR 产物(即同样的 DNA 片段)经纯化之后可进行直接测序。目前常用的 DNA 测序法为双脱氧核苷酸测序法(或称桑格尔法)^[34]。所测定的 DNA 序列一般要输入计算机中同其它同源的古代及现代 DNA 序列进行对比以确定其来源。常用于研究 DNA 生物系统学的软件为“PAUP”^[35]、“MEGA”^[36]及“PHYLIP”^[37]。由于 PCR 是高度灵敏的精密技术,各种来源的非目标 DNA 可能被扩增而造成“假阳性”结果,因此确证化石 DNA 的古代来源就成为应用化石 DNA 序列的至关重要的一环^{[33]②}。

2 分子古生物信息的应用及古 DNA 研究的进展

分子古生物学与化石形态学、解剖学等传统古生物学方法相比,具有易于量化、精度高、跨大类分析等特点。同时,分子古生物资料具有很高的理论和应用价值。在理论上,分子古生物资料不仅是对形态学的必要补充,而且可以提供从形态学及解剖学中难以获得的生物演化机理及过程方面的信息。在应用上,分子古生物学已远远超出了传统古生物学的领域,可广泛地应用于地学、生物学、考古学、环境科学、遗传学等诸多领域。但是,分子古生物学的研究对实验设备要求较高,研究周期相对较长,而且各实验室之间竞争相当激烈。当前国际上分子古生物研究领域涉及的主要内容包括:①古生物系统分类学;②生物演化模式、速率及相关理论的研究;③第四纪研究、考古学及濒危物种领域的应用研究;④化石燃料中的有机分子的研究;⑤有机分子与矿物直接的相互作用;⑥化石分子对古环境、古气候的指示;⑦分子埋藏学。在此仅讨论与 DNA 研究相关的问题。

当前应用 DNA 分子讨论古生物学及演化生物学问题的的工作可分为两个主要范畴,一是利用现代生物的 DNA 序列间接地讨论古生物学问题;二是直接应用从古代生物中获取的古 DNA 分子研究古生物学问题。这两方面的研究都必须紧密结合化石资料并建立在可靠的地层学基础之上。在研究某一个生物类群时,根据现生生物 DNA 序列建立的系统树可被用于对比以化石资料为依据的系统关系。分子系统树不仅可用于独立测试传统的形态分类,而且可提供演化速率方面的定量信息。Wray 等利用现生底栖有孔虫 18S rDNA 序列,结合化石及地层资料讨论有孔虫的起源^[38];Canapa 等对比双壳类 16S rDNA 序列及化石资料并研究其演化速

① Yang H. Ancient DNA from Pleistocene fossils: preservation, recovery, and utility of ancient genetic information for Quaternary research. *Quaternary Science Review*(in press).

② Yang H, Golenberg E M, Shoshani J. Proboscidean DNA from museum and fossil specimens: Assessment of ancient DNA extraction and amplification techniques based on a blind testing system. *Molecular Phylogeny and Evolution*(submitted).

率^[39],均取得了较好的效果。利用现代生物 DNA 序列推算生物类群之间的系统关系的研究,尽管存在争议,但仍然是当前的“热点”之一。Hedges 等以现代 DNA 序列为依据推算了鸟类和哺乳类各现生科的起源时间^[40],其结果均早于化石记录的时间。特别应当指出,Hedges 的资料首次利用分子生物学数据,提出中生代联合古大陆的加速解体对现生鸟纲和哺乳纲的分异有着十分重要的影响。

寒武纪初期许多现生生物门类的突然出现及生态上的适应辐射是目前化石生物学研究中的重要问题之一。寒武纪生物演化事件是否可以用分子生物学数据进行讨论?目前不少学者开始了有益的探讨,所获的结论不尽相同。Philippe 等以 18S rDNA 为基础,构建了寒武纪出现并有现生代表的生物门类的系统树^[41],由于所建的系统树在基部不稳定、分辨率低,所以他们认为这一结果支持了化石记录所反映的寒武纪生物爆发式适应辐射的模式。然而,Wray 等利用 7 种现代生物基因(包括 18S rDNA)所获得的主要现生无脊椎动物门的起源时间比化石记录所指示的时间要早得多^[42],他们指出,从分子生物数据推算,现代后生动物各门类应当起源于前寒武纪,而早寒武世的化石记录只反映了各门类的生态分异度,并非各门类的起始点。

在古 DNA 研究方面,序列数据和新技术方面的成果在近年中不断积累。Höss 等从更新世洞穴沉积物中保存的南美树獭(*Mylodon darwini*)骨骼中获取 rDNA 序列,并以此为依据讨论了树獭的系统学问题^[43]。Beraud-Colomb 等从更新世古人骨骼中获取线粒体及核内 DNA 片段,证实单拷贝的核内基因也可能在古代材料中保存^[44]。笔者之一^[45]从已绝灭的美国乳齿象(*Mammuth americanum*)及猛犸象(*Mammuthus primigenius*)化石中获取线粒体细胞色素 b 基因片段,以此为依据的系统学研究证实现生亚洲象与已绝灭的猛犸象之间的亲缘关系紧密。这一研究也表明,古代 DNA 序列在分子生物系统学中可弥补单独应用现代 DNA 序列的不足;本例中古 DNA 数据增加了系统的分辨率。

在研究古代 DNA 的降解和长期保存方面,Höss 等认为^[43],化石中由于氧化作用而释放出的乙丙酰脲(hydantoin)可用来指示 DNA 分子氧化的程度,原因是乙丙酰脲的含量是由 DNA 分子上嘧啶氧化的多少控制的。Poinar 等认为^[46],DNA 水解的强弱可用同一标本中保存的氨基酸外消旋率来指示。他们的实际资料显示,在古代标本中,若天冬氨酸(aspartic acid)的 D/L 比值超过 0.08 时,不可能从中获取有用的古 DNA 分子。需要指出,以上两例研究结果都是依据少量标本得出的数据,仍然需要运用更多标本加以证实。

在古代 DNA 实验方法和序列甄别方面进展较快。Handt 等讨论了古人类 DNA 序列的验证问题,并强调评价古代材料中古分子数量的重要性^[47]。Yang et al. (in press) 补充了他们提出的暗样测试(blind testing)古 DNA 的方法^[45],认为该方法可在一个实验室中进行自我测试,从而简化了两个实验室独立测试过程,免去了由于两个实验室技术不一致而导致的失误。

近年来,恐龙 DNA 研究引起了古生物学界的广泛兴趣,但也存有争议。经过对序列的再分析,以前报道的两例恐龙 DNA 序列均不可靠。Hedges 等^[48]重新分析了 Woodward^[49]报道的白垩纪恐龙骨骼中获取的细胞色素 b 基因片段,认为其真正来源可能是现代人。杨洪^[33]及屈良鹤等^[50]分别独立地重新分析了安成才等^[51]报道的从恐龙蛋中获取的 18S rDNA 序列,一致认为所报道的两组序列分别是现代高等植物和真菌的 18S rDNA 基因序列。最新研究表明,现代生物的核内 DNA 很可能含有早期由线粒体内转移而来的线粒体 DNA 序列^[52],由于这类 DNA 序列在系统树上的位置很容易被误认为是古代序列,因此,在序列分析过程中还应注意基因突变的规律及方式^[53]。

3 结论

分子古生物学数据为古生物学家及演化生物学家提供了独立于形态解剖学的古生物学的新信息。分子古生物学在技术与方法上正在逐步趋于完善,并发展成为一门介于地学与生命科学间的,具有广泛的理论及应用前景的古生物学新分支。当前的分子古生物学研究以利用 DNA 分子的成果最为突出,本学科的近期发展趋向可归纳为以下几点:

(1) 更紧密地同传统地质学及古生物学资料相结合,对传统古生物学的理论与假说在分子水平上进行独立检验,其结果可能会导致概念上的突破或对传统理论的重新解释和补充。

(2) 古代分子与现代分子的研究相结合,这主要反应在:①直接从地质体中获取各种生物分子并与模拟实验数据相对比;②运用现生生物基因库资料分析古 DNA 序列,用于讨论古生物学问题。

(3) 分子古生物学的发展将有赖于新技术的应用与改良,高新技术的应用将导致从更广泛的地质材料中获取古代生物分子并使一些目前难度较大的实验技术常规化。

(4) 随着分子古生物学基本理论、概念及方法的成熟与普及,分子古生物学资料将会获得更广泛的应用;分子古生物学与地学(地层学、沉积岩石学、传统古生物学)及生命科学(生物系统学、形态解剖学、分子生物学及遗传学)相交叉、结合,为人类认识地球历史及生物演化史作出独特的贡献。

本文在中国科学院“百人计划”的资助下完成。感谢国家自然科学基金委员会资助留学人员短期回国工作讲学专项基金及国家人事部资助留学人员短期回国工作基金 1995 和 1996 年度的资助,本文在写作过程中曾听取了许多中外学者的意见和建议,在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 Abelson P H. Organic constituents of fossils. *Carnegie Institute of Washington Year Book*, 1954, 53:97~101.
- 2 Lowenstein J M. Immunological reactions from fossil material. *Phil. Trans. R. Soc. London B*, 1981, 292:143~149.
- 3 Runneger B. Molecular palaeontology. *Palaeontology*, 1986, 29:1~24.
- 4 Saiki R K, Gelfand D H, Stoffel S, Scharf S J, Higuchi R, Horn G T, Mullis K B, Erlich H A. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 1988, 239:487~491.
- 5 杨洪, Smiley C J, 洪光. 化石 DNA 的发现及其背景和进化意义. *大自然探索*, 1991, 10(35): 41~47.
- 6 杨群. 古生物学领域的新辟园地——分子古生物研究. *古生物学报*, 1995, 34(4):265~276.
- 7 Eglinton G, Logan G A. Molecular preservation. *Phil. Trans. R. Soc. London B*, 1991, 333:315~326.
- 8 Logan G A, Boon J J, Eglinton G. Structural biopolymer preservation in Miocene leaf fossils from the Clarkia site, northern Idaho. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90:2246~2250.
- 9 Hedges J I, Cowie G L, Ertel J R, Barbour R J, Hatcher P G. Degradation of carbohydrates and lignins in buried woods. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1985, 49:701~711.
- 10 Logan K J, Thomas B A. The distribution of lignin derivatives in fossil plants. *New Phytologists*, 1987, 105:157~173.
- 11 Tegelaar E W, Kerp H, Visscher H, Schenck P A, de Leeuw J W. Bias of the paleobotanical record as a consequence of variations in the chemical composition of higher vascular plant cuticles. *Paleobiology*, 1991, 17:133~144.
- 12 Willet J E. *Gas Chromatography: Analytical Chemistry by Open Learning*. John Wiley and Sons, London, 1987.
- 13 Eglinton G, Evershed R P, Gill J P, Hein C S. Analytical methods in organic geochemistry. *Anal. Proc.*, 1985, 22:263~266.
- 14 Hayes J M, Takigiku R, Ocampo R, Callot H J, Albrecht P. Isotopic compositions and probable origins of organic molecules in the Eocene Messel shale. *Nature*, 1987, 329:48~51.
- 15 Robinson N, Eglinton G, Cranwell P, Zeng Y B. Messel oil shale (western Germany): Assessment of depositional palaeoenvironment from the content of biological marker compounds. *Chemical Geology*, 1989, 76:153~173.

- 16 Logan G A, Smiley C J, Eglinton G. Preservation of fossil leaf waxes in association with their source tissues, Clarkia, northern Idaho, USA. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1995, 59:751~763.
- 17 Wilson M A, Verheyen T V, Vassallo A M, Hill R S, Perry G J. Selective loss of rates from plant remains during coalification, *Organic Geochem.*, 1987, 11:265~271.
- 18 Michaelis W, Myke B, Richnow H H. Organic chemical indicators for reconstructions of Angola Basin sedimentation processes, *Mitt. Geol. Paleont. Inst. Univ. Hamburg*, 1986, 60:90~113.
- 19 Hare P E, Hoering T C, King K. eds. *Biogeochemistry of Amino Acids*, John Wiley and Sons, New York, 1980. 558.
- 20 刘德明, 蓝秀, 王金全. 福建沿海全新世贝壳沉积物的氨基酸外消旋年代测定. *古生物学报*, 1987, 26(3):345~353.
- 21 王将克, 陈水挟, 钟月明, 罗红红 (主编). *氨基酸生物地球化学*. 北京: 科学出版社, 1991.
- 22 Robbins L L, Muzer G, Brew K. Macromolecules from living and fossil biominerals; Implications for the establishment of molecular phylogenies. In: Engel M H, Macko S A. eds. *Organic Geochemistry*, Plenum Press, New York, 1993. 799~816.
- 23 Robbins L L, Brew K. Proteins from the organic matrix of recent and fossil planktonic foraminifera. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1990, 54:2285~2292.
- 24 Lowenstein J M. Immunological reactions from fossil material. *Phil. Trans. R. Soc. London B*, 1981, 292:143~149.
- 25 Lowenstein J M. Immunological Methods for determining phylogenetic relationships. In: Runnegar B, Schopf J W. eds. *Molecular Evolution and the Fossil Record*. Short courses in paleontology number 1, The Paleontological Society, 1988. 12~19.
- 26 Cohen B L. Utility of molecular phylogenetic methods: a critique of immunotaxonomy. *Lethaia*, 1992, 25:441~442.
- 27 Cohen B L. Immuno-taxonomy and the reconstruction of brachiopod phylogeny. *Palaeontology*, 1994, 37:907~911.
- 28 Curry G B, Quinn R, Collins M J, Endo K, Ewing S, Muzer G, Westbroek P. Immunological responses from brachiopod skeletal macromolecules: a new technique for assessing taxonomic relationships using shells. *Lethaia*, 1991, 24:399~407.
- 29 Curry G B, Quinn R, Collins M J, Endo K, Ewing S, Muzer G, Westbroek P. Molecules and morphology—the practical approach. *Lethaia*, 1993, 26:5~6.
- 30 Watson J D, Crick F H C. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 1953, 171:737~738.
- 31 Pbo S. Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:1939~1943.
- 32 Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*, 1993, 362:709~715.
- 33 杨洪. 古代 DNA 序列的分析与甄别. *古生物学报*, 1995, 34(6):657~673.
- 34 Sanger F, Nicklen S, Coulson A R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977, 74:5463~5467.
- 35 Swofford D L. PAUP; phylogenetic analysis using parsimony, Version 3. 0. Computer program distributed by the Illinois Natural History Survey, Champaign, IL., 1991.
- 36 Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA: molecular evolutionary genetics analysis. Version 1. 01. Penn. State University, 1993.
- 37 Felsenstein J. PHYLIP (phylogeny inference package), version 3. 3. University of Washington, 1990.
- 38 Wray C G, Langer M R, De Salle R, Lee J J, Lipps J H. Origin of the foraminifera. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 9:141~145.
- 39 Canapa A, Marota I, Rollo F, Olmo E. Phylogenetic analysis of veneridae (Bivalvia): Comparison of molecular and palaeontological data. *J. Mol. Evol.*, 1996, 43:517~522.
- 40 Hedges S B, Parker P H, Sibley C G, Kumar S. Continental breakup and the ordinal diversification of birds and mammals. *Nature*, 1996, 381:226~229.
- 41 Philippe H, Chenuil A, Adoutte A. Can the Cambrian explosion be inferred through molecular phylogeny? *Development*, 1994, supplement:15~25.
- 42 Wray G A, Levinton J S, Shapiro L H. Molecular evidence for deep Precambrian divergences among metazoan phyla. *Science*, 1996, 274:568~573.
- 43 Hss M, Dilling A, Carrant A, Pbo S. Molecular phylogeny of the extinct ground sloth *Myiodon darwini*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1996, 93:181~185.
- 44 Beraud-Colomb E, Roubin R, Martin J, Maroc N, Gardeisen A, Trabuchet G, Goossens M. Human -globin gene polymorphisms characterized in DNA extracted from ancient bones 12,000 years old. *Am. J. Hum. Genet.* 1995, 57:1267~1274.
- 45 Yang H, Golenberg E M, Shoshani J. Phylogenetic resolution within the Elephantidae using fossil DNA sequence from

- American mastodon (*Mammot americanum*) as an outgroup. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93:1190~1194.
- 46 Poinar H N, Hss M, Bada J L, Pbo S. Amino acid racemization and the preservation of ancient DNA. *Science*, 1996, 272: 864~866.
- 47 Handt C, Krings M, Ward R H, Paabo S. The retrieval of ancient human DNA sequences. *Am. J. Hum. Genet.* 1996, 59: 368~376.
- 48 Hedges S B, Schweitzer M H. Detecting dinosaur DNA. *Science*, 1995, 268:1191.
- 49 Woodward S R, Weyand N J, Bunnell M. DNA sequence from Cretaceous Period bone fragments. *Science*, 1994, 266: 1229~2132.
- 50 屈良鸽, 施苏华, 周慧. 河南西峡恐龙 18S rDNA 片段质疑. *中山大学学报(自然科学版)*, 1995, 34(3):115~119.
- 51 安成才, 李毅, 朱玉贤, 沈兴, 张昀, 由凌涛, 梁晓文, 李小华, 吴思, 伍鹏, 顾红雅, 周曾铨, 陈章良. 中国河南西峡恐龙蛋化石中 18S rDNA 部分片断的克隆及序列分析. *北京大学学报(自然科学版)*, 1995, 31(2):140~147.
- 52 Van der Kuyl A, Kuiken C L, Dekker J T, Perizonius W R K, Goudsmit J. Nuclear counterparts of the cytoplasmic mitochondrial 12S rRNA gene: A problem of ancient DNA and molecular phylogenies. *J. Mol. Evol.*, 1995, 40:652~657.
- 53 Collura R V, Steward C-B. Insertions and duplications of mtDNA in the nuclear genomes of Old World monkeys and hominoids. *Nature*, 1995, 378: 485~489.

Biomolecules in the Geological Record: Recovery and Applications

Yang Hong

(*Department of Human Genetics, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109 USA*)

Cheng Anjin and Yang Qun

(*Nanjing Institute of Geology and Palaeontology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing, Jiangsu, 210008*)

Abstract

Ancient biomolecules recovered from fossils and sediments using organic geochemical, biochemical, and molecular biological techniques have provided insight into our understanding of geological and paleobiological events at the molecular level. This paper deals with preservation, recovery and utility of biomolecules in the geological record with emphasis on recent progress of ancient DNA research. Lignin, lipids, carbohydrates, amino acids, and nucleic acids are discussed regarding their structure and recovery techniques. Recent results using DNA sequence data in addressing paleontological questions are also reviewed.

Key words: fossil biomolecules; ancient DNA; molecular paleontology

作者简介

杨洪, 1993 年在美国爱德荷大学获博士学位, 1995 年在美国密歇根维恩州立大学完成分子生物学博士后研究, 现任密歇根大学人类遗传学研究所研究员、兼任中国科学院南京地质古生物研究所客座研究员。美国科学院 Alfred P. Sloan 奖金获得者。主要研究领域: 分子遗传学、分子古生物学、古生态学。通讯地址: Department of Human Genetics, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109 USA。