

古DNA技术如何“浪里淘金”

重建已灭绝古人类——尼安德特人和丹尼索瓦人的全基因组、绘制全球人群迁徙交流历史、挖掘最古老东亚现代人“田园人”的遗传结构、揭示东亚人群末次盛冰期前后适应性基因的变化、追溯中国南北方人群格局的形成、溯源南岛语系人群的中国南方起源……在过去十余年里,研究人员利用古DNA技术发掘出那些遗落了成千上万年的遗传信息,从中抽丝剥茧,不断刷新人类对自身演化历程的认知。

近日,《细胞》发布特刊讨论了最新生物技术的前沿发展。中国科学院古脊椎动物与古人类研究所研究员付巧妹团队受邀领衔古DNA前沿领域针对古DNA技术与未来发表评述性论文。文章回顾了古DNA技术的发展历史和突破,探讨了目前的技术瓶颈和解决方案,以及未来古DNA技术的发展方向与前景。

高通量测序将古DNA领域“一网打尽”

高通量测序,又叫二代测序,是一种快速测定大量DNA序列的技术。在高通量测序普及之前,古DNA领域只能依赖PCR技术测定少数特定DNA片段的序列。

“这种方法获取的DNA信息极其有限,而且难以区分真正的古DNA和污染DNA。高通量测序理论上能测序样本中所有DNA分子的信息,且成本逐年降低。即使是含量极低的古DNA,也能很有效地对其进行测序。”付巧妹解释道。不仅如此,通过生物信息学手段,还能快速检测样本中是否存在古DNA损伤,从而达到鉴别古DNA的目的。这一方法也成了领域中古DNA检测的重要标准。

除此之外,研究人员还根据古DNA的特点,对高通量测序的实验方法(DNA文库构建)进行了多种调整与优化。

付巧妹提到, half-UDG 处理和单链DNA文库的构建是最重要的两项技术突破。Half-UDG 技术既能保留部分DNA末端损伤,又能修复大部分古DNA损伤,从而在保留古DNA特征的同时,提高古DNA测序结果的准确性。而单链DNA文库则针对古DNA中常常存在大量单链黏性末端的情况,直接将双链DNA变性成单链DNA构建文库,从而更有效地对受损的单链古DNA测序。

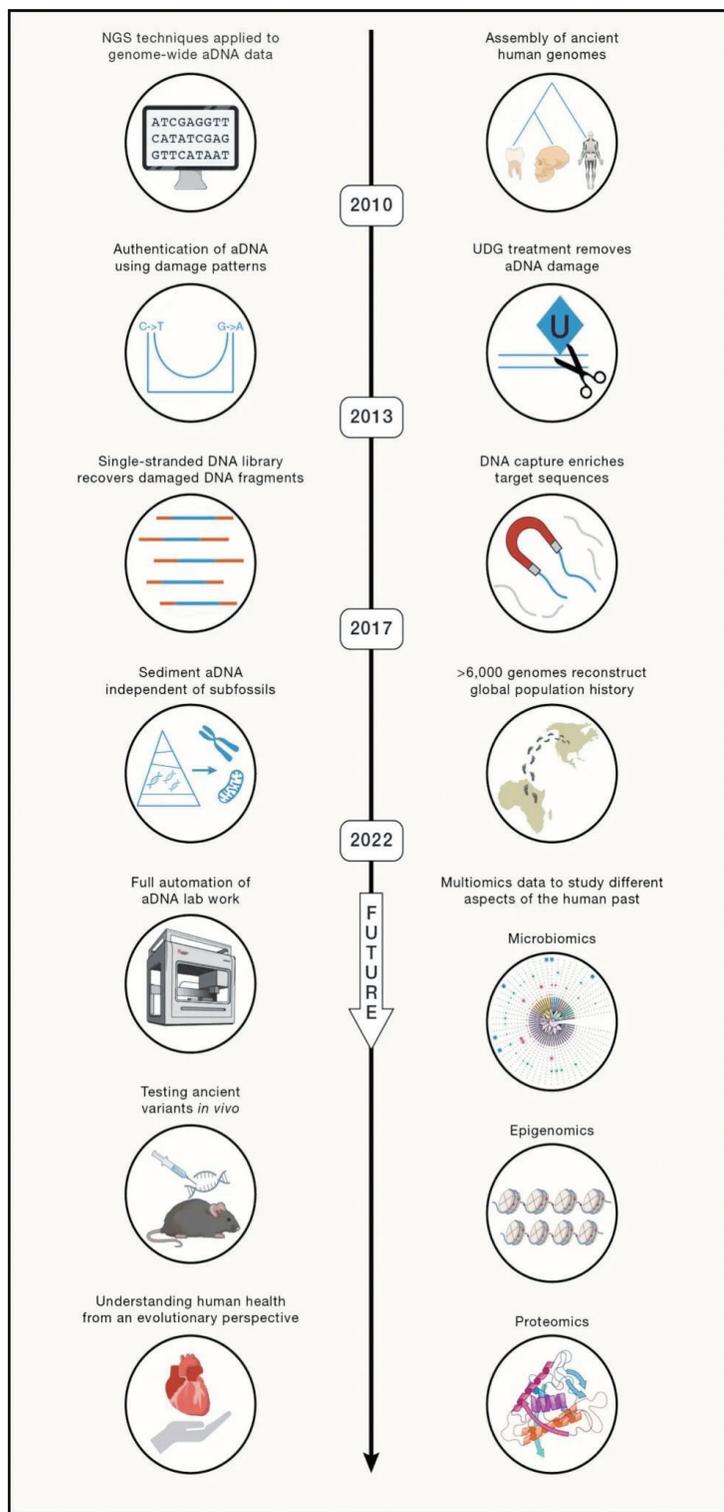
DNA捕获技术挑战极限

“尽管高通量测序已能较为有效地测序古DNA,但由于古DNA提取物中常常包含大量污染DNA,使得测序的大部分DNA分子都是没有用的信息,真正有用的古DNA序列常常只占测序数据的1%不到。”付巧妹表示。

对此,研究人员在古DNA领域研发应用了DNA捕获技术——通过设计DNA或RNA探针,像钓鱼一样把目标古DNA从海量的污染DNA中“钓取”出来。

这项技术目前已广泛应用于人类古基因组研究中,有超过2/3的人类古基因组数据来自于一个名为“1240k”的探针组捕获的数据。

“DNA捕获技术不仅使得古DNA测序效率大大提高,还能有效地从一些‘棘手’的样本中得到足够的用于分析。”付巧妹说。



2010年以来古DNA技术发展的重要里程碑

一个典型的例子就是付巧妹团队去年发表在《细胞》上的古代南方人群的基因组研究。中国南方温暖、潮湿的环境和当地的酸性土壤十分不利于古DNA的保存,使得这片区域的古DNA研究一度处于空白状态。当时,正是利用DNA捕获技术,付巧妹团队成功获取了30个古南方人群的基因组信息,揭示了1万余年以来东亚和东南亚交汇处的人群遗传史。

最近,古DNA研究人员进一步挑战极限,摆脱化石的桎梏,直接从“土”里提取古DNA。这项技术已成功应用于丹尼索瓦洞和白石崖溶洞,成功获取了数万年前的已灭绝古人类的DNA。古DNA技术不断迭代、“浪里淘金”的过程

仍在持续。

未来要攻克的难关

虽然古DNA领域成果丰硕,但古DNA研究却一直充满了艰辛和挑战。

古DNA本身极易受到污染,实验要求极为精细,而以往古DNA提取和建库几乎全程依赖人工操作。付巧妹介绍,最近,在全球少数几个实验室中,部分古DNA实验步骤已经成功整合到了全自动移液机器人平台中,不仅极大节省了人力和物力,还减少了人工操作引入污染的风险。

“目前样品的前处理步骤仍只能依赖人工,如何把这项耗时、耗力的工作整合到自动化体系中,是古DNA实验技术需要攻克的下一道难关。”付巧妹指出。

此外,古DNA技术的应用远不止于人类古基因组。付巧妹介绍,通过古微生物DNA信息追溯古代疫病流行和共生微生物演化,利用古表观遗传学信息探究古代动物和环境的相互作用,以及利用古蛋白质探索更大时间尺度的人类演化,这些都是古分子的重要分支方向。在她看来,如何更有效地获取这些信息,并把信息进行多维度结合,是未来研究的难点之一。

古DNA是带着时间刻度的遗传信息,它从独特的视角书写了人类数万年来的演化与适应。这些岁月的痕迹不仅记录了人类的遗传历史,还在持续地影响着现今人群的生理和健康。

“我们推测,一些重要功能基因单倍型就来自于已灭绝古人类,这些基因涉及到先天免疫、脂代谢、高海拔适应性、肤色、新冠重症易感性等。此外,还有我们东亚人群特有的与头发和牙齿表型相关的基因型,也是在末次盛冰期之后频率升高,推测与环境适应性相关。”付巧妹表示。

此外,还有很多古DNA研究发现的特殊基因型的功能尚未确定。付巧妹认为,未来,可以通过构建动物模型并结合基因编辑技术对这些发现进行验证。“结合古DNA技术与现代前沿分子生物学技术,我们可以更清晰地理解演化史对当今人类健康的影响。”

(据《中国科学报》)