

Ursprung und Evolution des Lebens auf molekularer Ebene

Autor(en): **Eigen, Manfred**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Jahrbuch der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft. Wissenschaftlicher und administrativer Teil = Annuaire de la Société Helvétique des Sciences Naturelles. Partie scientifique et administrative**

Band (Jahr): **161 (1981)**

PDF erstellt am: **23.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-90838>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ursprung und Evolution des Lebens auf molekularer Ebene

Manfred Eigen

Biologische Komplexität

Das auffälligste Merkmal biologischer Organisation ist ihre Komplexität. Das wird besonders deutlich, wenn wir in das molekulare Detail eindringen. Das physikalische Problem der Lebensentstehung kann auf die Frage reduziert werden: Gibt es einen gesetzmässigen Mechanismus für die reproduzierbare Erzeugung von Komplexität? Eine Antwort auf die Frage, wie man sich die Entstehung biologischer Komplexität als gesetzmässigen Prozess vorstellen kann, ist bereits vor ca. 120 Jahren von Charles Darwin gegeben worden. Aus heutiger Sicht sind Darwins Thesen etwa folgendermassen zu formulieren:

- Komplexe Systeme entstehen evolutiv,
- Evolution basiert auf natürlicher Selektion.
- Natürliche Selektion ist eine gesetzmässige Konsequenz der Selbstreproduktion.

Die dritte These ist neo-darwinistischen Ursprungs. Sie geht aus den quantitativen Ansätzen der Populationsgenetik hervor, wie sie in der ersten Hälfte dieses Jahrhunderts vor allem von Haldane, Fischer und Wright ausgearbeitet wurden. Die molekularbiologische Revolution der fünfziger Jahre weckte die Euphorie, dass sich die Gesetze der Genetik auf die einfache Zauberformel

DNA → RNA → Protein → alles weitere

zurückführen liessen.

Dieses Dogma der Molekularbiologie postuliert, dass jedes Detail einer komplexen Struktur informationsgesteuert entsteht, wobei die Information un-umkehrbar von der genotypischen Legislative zur phänotypischen Exekutive der somatischen Seinsebene

des Organismus fliesst. Heute, in den achtziger Jahren – nachdem wir reversible Transkriptasen, Restriktionsendonukleasen, Exons und Introns, kurzum Teile des natürlichen Instrumentariums zur Verarbeitung genotypischer Information besser kennengelernt haben – sind wir mit unseren Aussagen etwas vorsichtiger:

- Alle Lebewesen müssen ihre genetische Information reproduzieren.
- Nur Nukleinsäuremoleküle sind sequenzgetreu reproduktionsfähig.
- Reproduktion ist nicht nur die Grundlage der Informationserhaltung, sondern auch der selektiven Informationsbewältigung und Optimierung.

Dreissig Jahre molekularbiologischer Forschung haben uns gezeigt, wie wir heute fragen müssen. Am Anfang steht die genaue experimentelle Beobachtung des grundlegenden Prozesses, nämlich die Reproduktion der genetischen Information. Daraus folgt die Abstraktion eines biologischen Grundprinzips sowie die experimentelle Verifizierung seiner logischen Konsequenzen. Schliesslich suchen wir in den biologischen Strukturen nach «fossilen» Spuren, die uns bestätigen, dass der historische Prozess der Lebenswerdung sich «im Prinzip» nach eben jenen Grundsätzen vollzogen hat. Im einzelnen sollen in enger Rückkopplung zwischen Theorie und Experiment folgende Fragen behandelt werden:

- Lässt sich zeigen, dass molekulare Selbstreproduktion Selektion und Evolution gesetzmässig bedingen?
- Ist Selbstorganisation auf der Grundlage von Selbstreproduktion und Selektion ein zwangsläufiger Prozess, dessen Voraussetzungen und Konsequenzen sich in natürlichen Systemen nachweisen lassen?

- Gibt es «fossile» Zeugnisse für den molekularen Evolutionsprozess?

Experimente zur molekularen Evolution

Wir befassen uns zunächst ausführlicher mit dem Reproduktionsmechanismus eines Virus, dessen genetische Information in einem einsträngigen RNA-Molekül niedergelegt ist. Das Virus benötigt für seine Aufgaben im wesentlichen vier Funktionen, die durch Proteineinheiten repräsentiert sind: Ein Kapsid als Verpackungsmaterial zum Schutz gegen hydrolytischen Abbau, ein Penetrationsenzym zum Einschleusen seiner genetischen Information, einen Faktor zur Auflösung der Wirtszelle sowie einen Umfunktionierungsmechanismus, der die gesamte komplexe Maschinerie der Wirtszelle der Befehlsgewalt des Virus unterordnet. In dem von uns untersuchten Fall wird dieser von einem Proteinmolekül wahrgenommen, das sich mit drei ribosomalen Wirtsproteinen assoziiert und damit ein Enzym ergibt, das das Virusgenom exklusiv erkennt und sehr schnell reproduziert. Der gesamte Stoffwechsel- und Übersetzungsapparat wird damit dem ausschließlichen Zweck untergeordnet, neue Viruspartikel zu produzieren. Allein in diesem Faktor ist das Prinzip der Virusinfektion begründet. Der Reproduktionsmechanismus eines RNA-Bakterien-Virus ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

Das aus vier Untereinheiten bestehende Enzym läuft vom 3'- zum 5'-Ende der Matrize. Der neugebildete Strang, die Replica, hat eine zur Matrize komplementäre innere Faltungsstruktur, die verhindert, dass ein Doppelstrang gebildet wird. Sol Spiegelman, der als erster das spezifische Reproduktionsenzym dieses Virus - Q_{β} genannt - isolierte und mit seiner Hilfe in vitro infektiös wirksame Virus-RNA synthetisieren konnte, hat gezeigt, dass durch Tempern die Reproduktionsfähigkeit des Virus verloren geht. Die Reproduktion erfolgt nicht kontinuierlich. Das Enzym pausiert an sogenannten «pause sites». Vermutlich muss es warten, bis ein weiterer Teilbereich der Matrize aufgeschmolzen ist, um dann in relativ schnellem Durchlauf diesen Bereich zu kopieren. Spiegelman verdanken wir auch die Entdeckung und Isolierung einer nicht-infektiösen, etwa

220 Nukleotide langen RNA-Komponente. Dieses «Midivariante» genannte RNA-Molekül besitzt einen «Ausweis», so dass es vom Enzym ebenso wie die echte Q_{β} -RNA erkannt und dann - allerdings sehr viel schneller als diese - reproduziert wird. «Midivariante» ist also ein Schmarotzer, der selber keine Infektion bewirkt, da er das spezifische Reproduktionsenzym nicht aufbauen kann. Wir haben in unserem Laboratorium den Mechanismus der RNA-Replikation mit Hilfe der Q_{β} -Replikase quantitativ studiert. Die Untersuchungen wurden von Manfred Sumper und Rüdiger Luce begonnen und später von Christof Biebricher und Rüdiger Luce fortgeführt. Unsere Kenntnisse über den Mechanismus der Replikation resultieren aus experimentellen Untersuchungen der Replikationsgeschwindigkeit als Funktion der Substrat-, Enzym- und RNA-Matrizen-

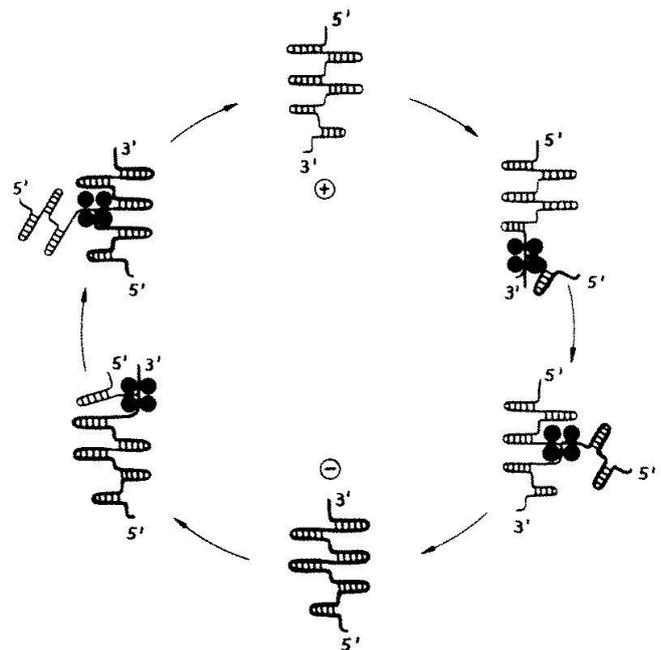


Abb. 1. Die einzelsträngige RNA des Bakterienvirus Q_{β} reproduziert sich mit Hilfe eines Enzyms, Q_{β} -Replikase genannt, das aus vier Untereinheiten (schwarze Punkte) besteht. Das Enzym erkennt die Matrize spezifisch und läuft bei der Synthese vom 3'- zum 5'-Ende des Matrizenstranges. Die gebildete Replica (-) ist zur Matrize (+) komplementär. Aufgrund einer Symmetrie zwischen 3'- und 5'-Ende haben Plus- und Minus-Strang gleichartige 3'-Enden, die beide von der Replikase spezifisch erkannt werden. Der Minus-Strang wirkt daher ebenfalls als Matrize für die Bildung eines Plus-Stranges. Die innere Faltungsstruktur beider Stränge verhindert die Ausbildung einer Plus-Minus-Doppelhelix.

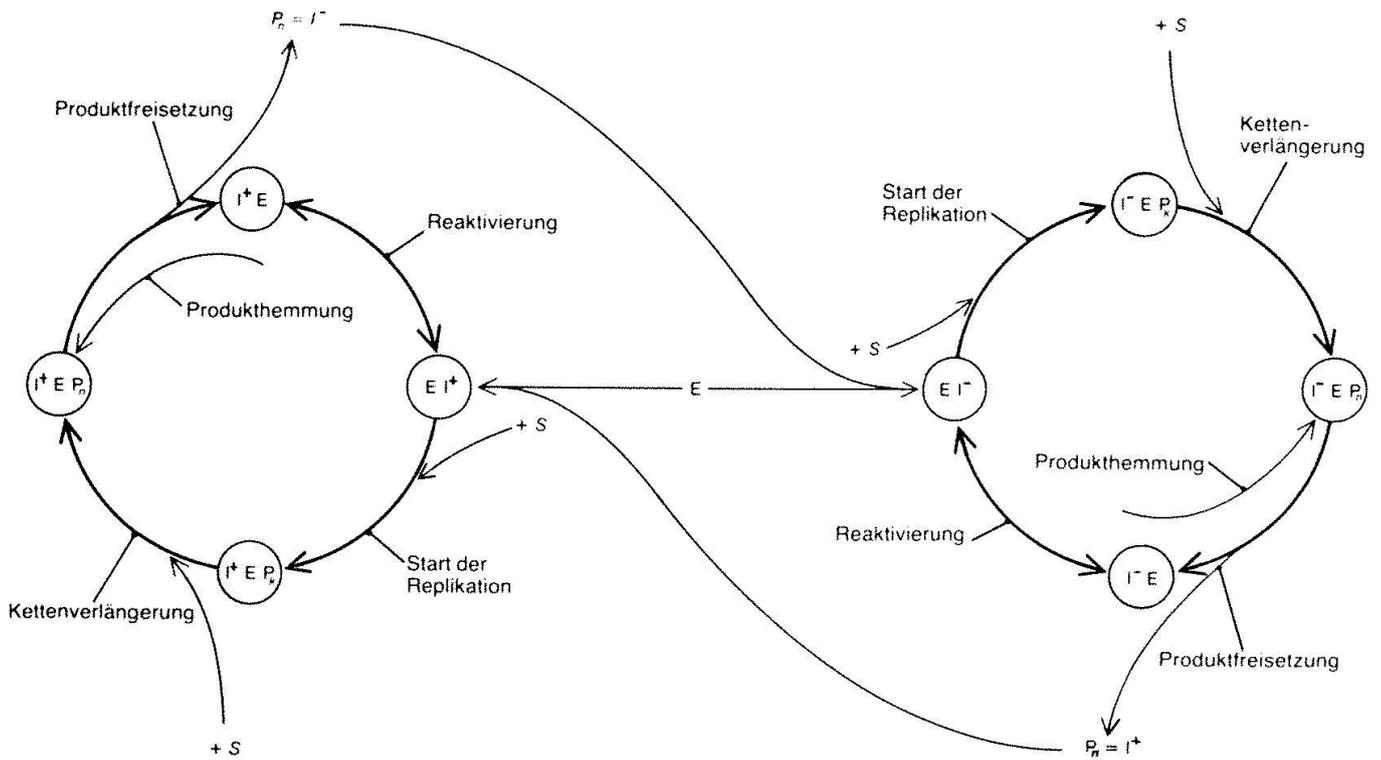
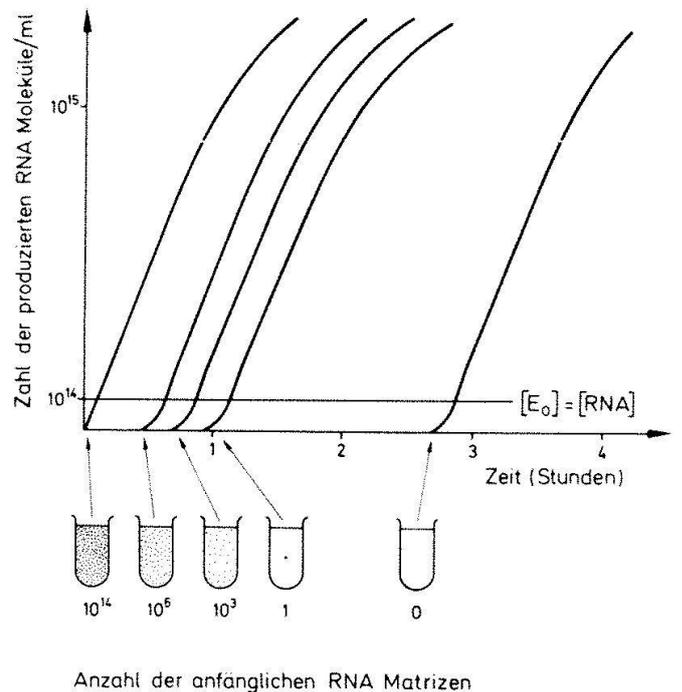


Abb. 2. Charakteristisch für den Mechanismus der RNA-Replikation sind die miteinander gekoppelten Syntheseyklen für den Plus- und Minus-Strang. Der katalytisch wirksame Komplex besteht aus dem Enzym, der Replikase, und einem RNA-Matrizen-Strang. Vier Phasen lassen sich in jedem Zyklus unterscheiden: Start der Replikation durch Anlagerung von mindestens zwei Substratmolekülen (Nukleosidtriphosphaten). Elongation des Replica-Stranges durch sukzessiven Einbau von Nukleotiden, Freisetzung der fertigen Replica, Dissoziation des am 5'-Ende der Matrize gebundenen Enzyms und Reassoziierung am 3'-Ende eines Matrizen-Stranges. I repräsentiert die Matrix (Information), E das Enzym, P das Reaktionsprodukt, das nach Fertigstellung (P_n) und Freisetzung als Matrize (I) wirkt. S ist das Substrat, also jeweils eins der vier Nukleosidtriphosphate von A, U, G und C.

Abb. 3. Inkubiert man Syntheselösungen (Puffer, Ionen, Q_{β} -Replikase, Nukleosidtriphosphate und RNA-Matrizen) mit einer äquivalenten Menge von Enzymmolekülen und Matrizen-Strängen, so erfolgt die Vermehrung der RNA-Moleküle linear mit der Zeit, denn die Zahl der katalytisch wirksamen Komplexe ist gleich der konstanten Zahl der Enzymmoleküle. (Das Abbiegen der Reaktionskurven bei hohen RNA-Konzentrationen resultiert aus einer Hemmung des Enzyms, hervorgerufen durch Bindung von überschüssiger RNA im aktiven Zentrum). Verringert man die Matrizenkonzentration seriell um jeweils den gleichen Faktor, so verschieben sich die Wachstumskurven um konstante Abschnitte auf der Zeitachse. Diese logarithmische Abhängigkeit der Induktionszeiten von der Verdünnung zeigen ein exponentielles Wachstumsgesetz, das gültig ist, solange das Enzym im Überschuss von RNA ist. Hier nimmt die Zahl der katalytisch aktiven Komplexe aufgrund der RNA-Vermehrung ständig zu (Autokatalyse). Auch wenn kein Matrizen-Strang vorhanden ist, entsteht nach langer Induktionszeit «de novo» RNA, die als Matrize wirkt und schnell vermehrt wird. Diese «de novo»-Synthese von RNA ist eine besondere Eigenschaft der Q_{β} -Replikase.



Konzentrationen, der analytischen Behandlung eines Replikationsmodells (siehe Abbildung 2) und der Computersimulation dieses Modells mit realistischen Parametern, die aus den experimentellen Daten gewonnen wurden.

Ein typisches Experiment ist in Abbildung 3 skizziert. Gemessen wird die Menge neu synthetisierter RNA – indiziert durch ein P^{32} -markiertes Nukleotid – als Funktion der Zeit. Die Konzentrationen der Substrate (das sind die vier Nukleosidtriphosphate von A, U, G und C) sowie des Enzyms sind konstant. Die Anfangskonzentration der RNA hingegen wird seriell variiert, indem man jeweils um einen konstanten Faktor verdünnt. Die Messkurven, nämlich der Anstieg der RNA-Konzentration mit der Zeit, lassen sich in drei Phasen unterteilen:

1. Eine Induktionsperiode, die mit steigender Verdünnung logarithmisch zunimmt. Verdünnung um einen konstanten Faktor bedeutet jeweils eine konstante Verschiebung auf der Zeitachse.

2. Ein linearer Anstieg der RNA-Konzentration mit der Zeit, der einsetzt, wenn die RNA-Matrizen-Konzentration ungefähr gleich der Enzymkonzentration ist.

3. Ein Plateau, das erst erreicht wird, wenn die RNA-Konzentration sehr gross gegenüber der Enzymkonzentration ist.

Diesem Reaktionsverhalten liegt folgender kinetischer Sachverhalt zugrunde: Die Reaktion, deren Produkt neue RNA-Matrizen sind, wird katalysiert durch einen Komplex aus Enzym und Matrize. Die Affinität zwischen beiden katalytischen Partnern ist so hoch, dass bei der gewählten Enzymkonzentration (ca. 10^{-7} Mol/Liter) zunächst jedes RNA-Molekül ein Enzymmolekül bindet. Die Zahl der katalytisch aktiven Komplexe nimmt exponentiell zu, und zwar bis die RNA-Konzentration gleich der Enzymkonzentration ist. Alle Enzymmoleküle sind dann mit Matrizen gesättigt. Die lineare Phase deutet an, dass die Zahl der pro Zeiteinheit neu synthetisierten RNA-Moleküle nunmehr konstant bleibt, eben weil die Zahl katalytisch aktiver RNA-Enzymkomplexe sich nicht mehr ändert. Die neugebil-

deten RNA-Moleküle binden aber nicht nur als Matrize an das Enzymmolekül, sondern auch – wenngleich mit geringerer Affinität – am Synthesort des Produkts. In der linearen Phase setzt daher eine Hemmung durch überschüssige RNA-Moleküle ein, die schliesslich die Reaktion vollständig zum Stillstand bringt. Durch Abwandlung der Versuchsbedingungen, wie Veränderung der Substrat-Konzentration, der Enzym-Konzentration oder des Verhältnisses der Anfangskonzentration von Plus- und Minus-Strang der Matrize, konnte eine quantitative Zuordnung der kinetischen Parameter erzielt und das in Abbildung 2 gezeigte Reaktionsschema verifiziert werden. Die wesentlichen Ergebnisse dieser Untersuchung sind:

- Die Replikation wird von einem Komplex katalysiert, der aus einem Enzym- und einem RNA-Molekül besteht.
- Die Wachstumsrate ist demzufolge der kleineren von beiden Bruttokonzentrationen (Enzym bzw. RNA) proportional. Das bedeutet für kleine RNA-Konzentrationen exponentielles, für grosse RNA-Konzentrationen lineares Wachstum.
- Bei Konkurrenz zwischen verschiedenen Mutanten wächst auch im linearen Bereich die vorteilhafte Mutante exponentiell an, bis diese das Enzym vollkommen sättigt.
- Selektionsvorteil in der linearen Phase basiert allein auf der Kinetik der Matrizen-Enzymbindung. In der exponentiellen Phase dagegen werden die Erzeugungsraten der verschiedenen Mutanten bewertet.
- Plus- und Minus-Strang tragen in der Exponentialphase mit dem geometrischen, in der linearen Phase mit dem harmonischen Mittel ihrer Geschwindigkeitsparameter zur Wachstumsrate bei. Das Ensemble von Plus- und Minus-Strang wächst konform in einem von ihren jeweiligen Geschwindigkeitsparametern abhängigen Verhältnis hoch.
- Die Replikationszeit hängt von der Länge der zu synthetisierenden RNA-Kette ab und ist von der mittleren (reziproken) Substratkonzentration (A, U, G, C) abhängig. Diese Abhängigkeit ist schwächer als linear, da die sukzessiv eingebauten Substrate bereits teilweise am Enzym gebunden vorliegen.

Wir kommen nun zur eigentlichen Fragestellung: Was sind die gesetzmässigen Konsequenzen der Replikation? Lassen sich mit Hilfe eines replikativen Systems evolutiv neue Eigenschaften erzeugen? Sind die Merkmale des replikativen Systems hinreichend, oder bedarf es noch anderer essentieller Eigenschaften?

Sol Spiegelman hatte auch hier schon eine wichtige Anregung gegeben. Durch serielle Übertragungen von RNA-Matrizen in Nährmedien hatte er am Ende der Versuchsreihe Varianten des Q_{β} -Genoms selektiert, die zwar nicht mehr infektiös waren, sich dafür aber durch eine höhere Replikationsrate (bezogen auf das einzelne Nukleotid) auszeichneten. Sie entkamen auf diese Weise dem Selektionsdruck der Ausdünnung durch schnellere Replikation. Das Wesentliche dabei war, dass die neuen Varianten nicht nur spezifisch schneller wuchsen, sondern dass sie anstelle der ursprünglich 4500 nur noch 500 Nukleotide besaßen und somit auch die Replikationsrunde sehr viel schneller beenden konnten. Eine solche Evolution, bei der Information verlorenggeht, mag eher als Degeneration bezeichnet werden. Doch zeigen die Untersuchungen, dass dieses Replikationssystem sehr anpassungsfähig ist – eine wesentliche Voraussetzung für evolutives Verhalten.

Die Versuche gewannen an Aktualität, als Manfred Sumper im Jahre 1974 eine überraschende Beobachtung machte. In Verdünnungsreihen, die soweit getrieben wurden, dass in der Probe nur noch mit sehr geringer Wahrscheinlichkeit überhaupt eine Matrize vorhanden sein konnte, entstand dennoch reproduzierbar und homogen ein Molekül, das etwa die Grösse und die Struktur der von Spiegelman isolierten «Midivariante» hatte. In Abbildung 3 ist dieses Phänomen angedeutet. Zum Unterschied von den matrizen-gesteuerten Replikationen ist diese Synthese mit einer unverhältnismässig langen und von den Versuchsbedingungen in kritischer Weise abhängigen Induktionsperiode verknüpft. Sumper war sofort überzeugt, dass er eine vom Q_{β} -Enzym «erfundene» und «de novo» synthetisierte Variante in den Händen hatte. (Seine Fachkollegen dagegen plädierten fast sämtlich auf eine durch das Enzym eingeschleppte Verunreinigung.) Konnte Sumper bereits durch eigene Versuche die «Verunrei-

nigungs»-Hypothese ausschliessen, so liegt heute, vor allem durch Christof Biebrichers und Rüdiger Luces Experimente, der Beweis für die «de novo»-Synthese vor. Aus den nunmehr bekannten kinetischen Daten folgt, dass die Induktionsperioden bei der matrizen-gesteuerten und der «de novo»-Synthese vollkommen verschiedenartigen Gesetzen gehorchen. So wird beispielsweise bei der matrizen-gesteuerten Synthese lediglich ein Enzymmolekül benötigt, und die Substrate werden sukzessive einzeln zugeführt. Für die «de novo»-Synthese ist dagegen ein Komplex aus mehreren Enzymmolekülen erforderlich, und der geschwindigkeitsbestimmende Schritt besteht im Aufbau eines Keimes von mindestens drei Substratmolekülen. Das wesentliche Beweisstück aber wird geliefert durch den Nachweis, dass in der Frühphase der Synthese stets unterschiedliche «de novo»-Varianten auftreten, die unter Selektionsdruck in ihrer Länge zunehmen und bei Variation der Versuchsbedingungen zu verschiedenartigen Endprodukten führen. Letzteres war auch schon von Manfred Sumper gezeigt worden. Er erhielt verschiedene «Mini-Varianten», die unter Bedingungen – z. B. in Gegenwart von Reaktionshemmern – aufwuchsen, unter denen der Wildtyp gar nicht mehr existenzfähig war.

Das entscheidende Experiment von Biebricher und Luce ist in Abbildung 4 dargestellt: Eine mit hochgereinigten Enzymen und Substraten angesetzte Syntheselösung wird durch Temperaturerhöhung inkubiert, und zwar für eine Zeit, die ausreicht, etwa vorhandene Matrizen hochzuverstärken, die aber zu kurz ist, fertige «de novo»-Produkte zu ermöglichen. Anschliessend wird die Lösung kompartimentiert. In den einzelnen Kompartimenten wird sodann für eine Zeit inkubiert, die für eine «de novo»-Synthese ausreichend ist. Die erhaltenen Produkte werden nach der Fingerprint-Methode analysiert und miteinander verglichen. Im Falle der Gültigkeit der «Verunreinigungs»-Hypothese sollten aufgrund der Verstärkung in der Anfangsphase alle Kompartimente das gleiche Produkt enthalten. Im Falle der «de novo»-Hypothese sollten sich dagegen die Produkte unterscheiden, da die Synthese an verschiedenen Enzymmolekülen mit verschiedenen «de novo»-Produkten beginnt. Selektion, das heisst bevorzugte Reproduk-

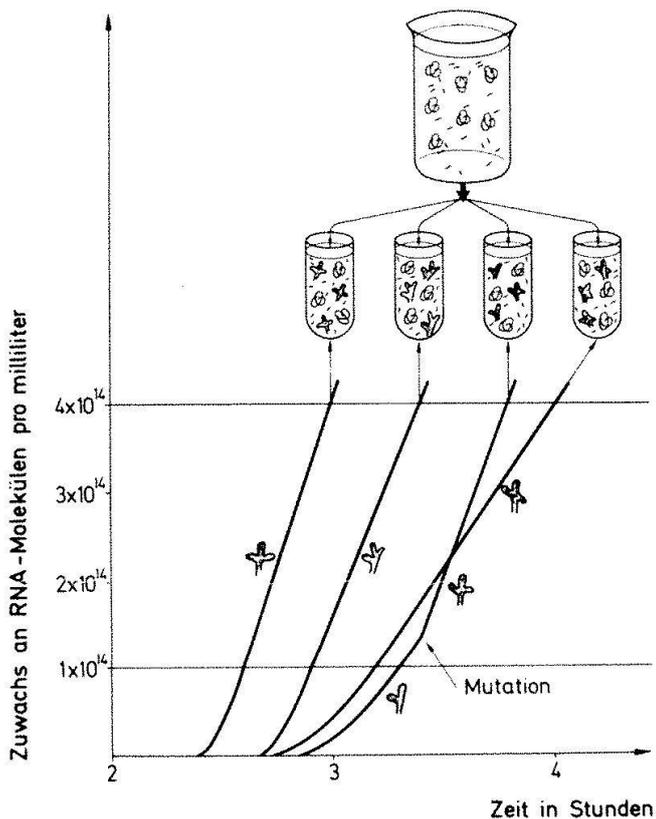


Abb. 4. Eine Lösung aus Nucleosidtriphosphaten wird in Gegenwart von Q_{β} -Replikase gerade lange genug inkubiert, dass jede als Verunreinigung des Enzyms vorhandene Matrize vielfach vermehrt würde. Der Inkubationsprozess wird aber unterbrochen, bevor auch nur eine Matrize «de novo» entstehen konnte. Anschließend kompartimentiert man diese Lösung und inkubiert wiederum, nunmehr lange genug, dass «de novo»-Produkte entstehen und sich vermehren können. Man analysiert die in den verschiedenen Kompartimenten gebildete RNA nach der Fingerprintmethode. Es ergeben sich unterschiedliche Reaktionsprodukte. Manchmal gibt sich in der Wachstumskurve noch eine Mutation zu erkennen. Während für die matrizen-gesteuerte Synthese die Induktionszeiten eindeutig festgelegt sind (als Folge einer Überlagerung vieler Einzelprozesse), ist hier eine Streuung der Induktionszeiten zu beobachten. Das weist darauf hin, dass der auslösende Schritt ein molekularer Einzelprozess ist, der anschließend sehr schnell «verstärkt» wird.

tion eines «de novo»-Stranges konnte noch nicht stattfinden, da innerhalb der kurzen Inkubationszeit keines der «de novo»-Produkte fertiggestellt war.

Das Experiment ergab viele unterschiedliche Produkte. Erst wenn man diese wieder vereinigte und die Lösung weiter inkubierte, wuchs schließlich eine Variante homogen und reproduzierbar auf. Die frühesten Produkte, die abgefangen werden konnten, hatten Längen von etwa 70 Nucleotiden. Im Verlauf der Evolution erschienen längere

Ketten, z. B. bei hohen Salzkonzentrationen die «Midvariante», die etwa 220 Nucleotide einschliesst.

Das fundamentale Ergebnis dieser Experimente liegt jedoch nicht allein in der Aufklärung der Besonderheit des Q_{β} -Systems. Man hat nunmehr ein flexibles Replikationssystem zur Verfügung, mit dem man eine Reihe höchst interessanter Produkte aufbauen kann. Hier zeigt sich vor allem, dass Selektion und Evolution gesetzmässige Konsequenzen der Selbstreplikation sind und sich als solche quantitativ studieren lassen. So konnte die Frage der schnellen Optimierung unter extremen Versuchsbedingungen bis ins Detail beantwortet werden. Die Resultate der beschriebenen Evolutionsexperimente können in vier Hauptaussagen zusammengefasst werden:

- «De novo»-Synthese von RNA durch Q_{β} -Replikase erfolgt nach einem grundlegend anderen Mechanismus als matrizen-gesteuerte RNA-Synthese. Der aktive Reaktionskomplex enthält mindestens zwei Enzymmoleküle und bedarf eines Keimes von drei bis vier Substratmolekülen.
- Keimbildung ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt, während Elongation und Reproduktion sehr schnell erfolgen. Die Einmaligkeit des molekularen Prozesses der Reaktionsauslösung ist in der Streuung der Induktionszeiten für die «de novo»-Synthese zu erkennen.
- «De novo»-Synthese erzeugt ein breites Spektrum von Mutanten unterschiedlicher Länge, das für verschiedenste Umweltbedingungen leicht adaptierbare Sequenzen enthält.
- Initiation von Selbstreproduktion ist offensichtlich hinreichend, evolutive Optimierung in Gang zu setzen.

Dieser Befund macht es möglich, einen Evolutionsreaktor zu entwickeln, in dem sich in relativ kurzer Zeit optimal reproduzierende RNA-Sequenzen herstellen lassen. Daraus kann auch ein Prinzip zur Evolution von RNA-Strukturen mit optimalen Übersetzungsprodukten entwickelt werden. Versuche in dieser Richtung sind im Gange.

Selbstreplikation und Mutagenität in einem offenen System (weitab vom Gleichgewicht) sind also hinreichend für selektives und evolutives Verhalten. Auch in relativ einfachen Replikationssystemen lassen sich (gemessen

am Wildtyp) optimale Eigenschaften in vitro innerhalb kurzer Generationsfolgen reproduzierbar erzeugen. Derartige Auswirkungen müssen die Konsequenz eines physikalischen Prinzips sein. Kann ein solches Prinzip quantitativ formuliert werden?

Selektion und Evolution als naturgesetzliche Vorgänge

In einer Reihe von früheren Veröffentlichungen ist gezeigt worden, dass das Selektionsprinzip aus den Voraussetzungen eines selbstreplikativen Systems heraus als Extremalprinzip ableitbar ist. Es besagt, dass bei inhärenter linearer Autokatalyse die relativen Populationsvariablen Werte annehmen, die einer optimalen Reproduktionseffizienz des Gesamtsystems entsprechen. Die relativen Konzentrationsverhältnisse der stationären Population sind nach kurzer Induktionszeit unabhängig von den zeitlichen Veränderungen des Gesamtsystems. Die Population besteht aus einem singulären Wildtyp (oder mehreren gleichwertigen, d.h. «entarteten» Varianten) und einem Mutantenspektrum. Der Wildtyp erscheint innerhalb seiner Mutantverteilung relativ zu jeder Einzelmutter am häufigsten, macht aber in einer gut adaptierten Population nur einen kleinen Bruchteil der Gesamtmenge aus. Der Quotient der Populationsvariablen (x_i) von Einzelmutter (i) und Wildtyp ist durch die jeweiligen Geschwindigkeitsparameter für Mutation $W_{im}(m \rightarrow i)$ und Reproduktion $W_{mm}(m \rightarrow m)$ bzw. $W_{ii}(i \rightarrow i)$ bestimmt:

$$\frac{x_i}{x_m} = \frac{W_{im}}{W_{mm} - W_{ii}}$$

Von Bedeutung sind ferner die Variablen:

- \bar{q} = mittlere Kopiergenauigkeit eines Nukleotids
- bzw. $1 - \bar{q}$ = mittlere Fehlerrate pro Nukleotid
- v_i = Zahl der Nukleotide in der Sequenz i
- $Q_i \approx \bar{q}^{v_i}$ = Bruchteil korrekter Replikationen
- σ_m = Superiorität des Wildtyps gegenüber seinem Mutantenspektrum (entspricht im allgemeinen dem

Verhältnis von Replikationsrate des Wildtyps und mittlerer Replikationsrate der Mutantverteilung.)

Die Konsequenzen dieses für Darwinsche Systeme gültigen Extremalprinzips sind:

- Selektion einer vom Wildtyp beherrschten Mutantverteilung. Diese ist nur solange stabil, wie die Bedingungen $\sigma_m > 1$ und $Q_m > \sigma_m^{-1}$ erfüllt sind.
- Evolution durch Selektion neu auftretender Mutanten, die aufgrund eines Selektionsvorteils die Stabilitätsbedingung $\sigma_m > 1$ verletzen und daher eine Destabilisierung des bis dahin dominanten Wildtyps bewirken.
- Begrenzung des Informationsgehaltes aufgrund der Bedingung $Q_m > \sigma_m^{-1}$. Der

Grenzwert errechnet sich zu $v_{\max} = \frac{\ln \sigma_m}{1 - \bar{q}_m}$.

Er entspricht etwa der reziproken mittleren Fehlerrate ($1 - \bar{q}_m$), sofern σ_m genügend gross gegen 1 ist. Wenn der Informationsgehalt v_m des Wildtyps nahe an den Grenzwert v_{\max} herankommt, wird Q_m etwa gleich σ_m^{-1} . Dann ist der Anteil des Wildtyps an der Gesamtpopulation sehr klein:

$$\frac{x_m}{\sum_k x_k} = \frac{Q_m - \sigma_m}{1 - \sigma_m^{-1}}$$

Beide Prozesse: Selektion als Stabilisierung einer bestimmten Verteilung sowie Evolution als sukzessive Etablierung neuer Populationen resultieren aus «innerem Zwang». Sie sind das unausweichliche Resultat selbstreproduktiven Verhaltens.

Dass ein solcher Optimierungsprozess der Evolution tatsächlich auf «hohe Berge» führt und nicht auf «niedrigen Hügeln» stehen bleibt, liegt an der Topologie des vieldimensionalen Mutantenraumes. Betrachten wir als Beispiel eine binäre Sequenz mit v Positionen. Wir können jeder Position der Sequenz eine Koordinate mit zwei Punkten zuweisen und erhalten dann einen v -dimensionalen Phasenraum, in dem jeder der 2^v Punkte eine Mutante darstellt. Der Evolutionsprozess kann dann als eine Route in

diesem Raum beschrieben werden, die durch einen ständig ansteigenden Selektionswert charakterisiert ist. Die Topologie eines solchen vieldimensionalen Raumes ist unserer Anschauung nicht leicht zugänglich; die «Gebirge» sind hier äusserst bizarr. Denn obwohl es 2ⁿ Punkte gibt, ist die grösste Entfernung nur v . Es gibt Sattelpunkte verschiedener Ordnung, bei denen ein Fortschreiten in k -Richtungen bergan und in $v-k$ Richtungen bergab führt. Aufgrund dieses Sachverhaltes genügen relativ kleine Mutationssprünge, um das System immer wieder eine ansteigende Route finden zu lassen. Es gibt eine optimale Zahl v , bei der die Anzahl der Routen bereits gross genug und Mehrfachmutationen so wahrscheinlich sind, dass ein optimaler «Gipfel» erreicht werden kann.

Fassen wir zusammen: Selektion, Evolution und Anpassung an ein Optimum sind Prozesse, die nach physikalischen Gesetzen ablaufen und die sich quantitativ formulieren lassen. Hier ist zu beachten, dass eine Theorie keineswegs den realiter in der Natur ablaufenden Prozess beschreibt, für den ja die Ausgangssituation, die komplexen Randbedingungen sowie die mannigfach überlagerten Störeinflüsse weitgehend unbekannt sind. Die Theorie sagt uns lediglich, was aus bestimmten Voraussetzungen bei Einhaltung bekannter Randbedingungen folgt. Sie erklärt die in der Natur zu beobachtenden, reproduzierbaren Regelmässigkeiten in einer «Wenn - dann»-Beschreibung. Das gilt auch für die hier dargestellte Theorie. Sie hilft uns zunächst, die oben geschilderten Experimente zu verstehen und auszuwerten. Unter den klar definierten Anfangs- und Randbedingungen im Laboratorium lässt sich die Theorie quantitativ bestätigen. Für die in der Natur ablaufenden Ereignisse zeigt sie lediglich Tendenzen, Minimalforderungen, Begrenzungen und eventuelle Auswirkungen auf. Hier muss wiederum experimentell überprüft werden, ob die Schlussfolgerungen, die sich aus der Theorie ergeben, auch für die natürlichen Prozesse relevant sind.

Als Folgerungen sind vor allem zu nennen: Die Informationsmenge, die in einer molekularen Population zur Selektion gelangen kann, ist von der mittleren Fehlerrate und dem mittleren Selektionsvorteil des Wildtyps abhängig. Beim Überschreiten der kritischen

Fehlerschwelle akkumulieren sich die Fehler derart, dass die Information der Wildtypsequenz restlos verloren geht.

Die Adaptationsfähigkeit des Wildtyps ist in der Nähe der Fehlerschwelle am grössten. Bei der für eine stabile Verteilung erreichbaren Informationsmenge zeigt das Mutantenspektrum grösstmögliche Variabilität. Ein solches System ist gegenüber Änderungen der Umweltbedingungen äusserst flexibel. Der Wildtyp ist als individuelle Sequenz absolut dominierend, ist jedoch im Vergleich zur Gesamtheit des Mutantenspektrums nur in geringer Menge vorhanden.

Molekulare Zeugnisse der natürlichen Evolution

Die Aussagen der Evolutionstheorie lassen sich an natürlichen Systemen testen. Charles Weissmann und Mitarbeiter haben für Q β -Viren die folgenden Ergebnisse erhalten:

Der Wildtyp hat eine definierte Sequenz, was aber nicht heisst, dass die überwiegende Zahl der Viren exakt die gleiche RNA-Sequenz besitzt. Es bedeutet lediglich, dass sämtliche Sequenzen bei Überlagerung eine eindeutige Nukleotidabfolge, nämlich die des Wildtyps ergeben.

Klonierung einzelner Viren bzw. einzelner Virus-RNA-Moleküle mit anschliessender schneller Vermehrung führt zu Populationen mit unterschiedlichen Sequenzen. Die Sequenzen weichen im allgemeinen in einer oder in zwei Positionen vom Wildtyp ab, der selbst kaum in irgendeinem Klon auftritt (siehe Abbildung 5). Aus der Tatsache, dass der Wildtyp nur einen (vernachlässigbar) kleinen Anteil des Mutantenspektrums ausmacht, lässt sich folgern, dass der Schwellenwert des Informationsgehalts mit der tatsächlichen Informationsmenge des Wildtyps (v_m) nahezu identisch ist.

Gezielt erzeugte extra-cistronische Einfehlermutanten (das sind nicht-lethale Mutationen ausserhalb der zur Übersetzung gelangenden Sequenzen) revertieren zum Wildtyp. Sie regenerieren ihre Fehler mit einer Wahrscheinlichkeit von ca. 3×10^{-4} . Die quantitative Auswertung erlaubt die Bestimmung von Fehlerrate und Wachstumsvorteil des Wildtyps und damit auch eine Festlegung der kritischen Fehlerschwelle für die optima-

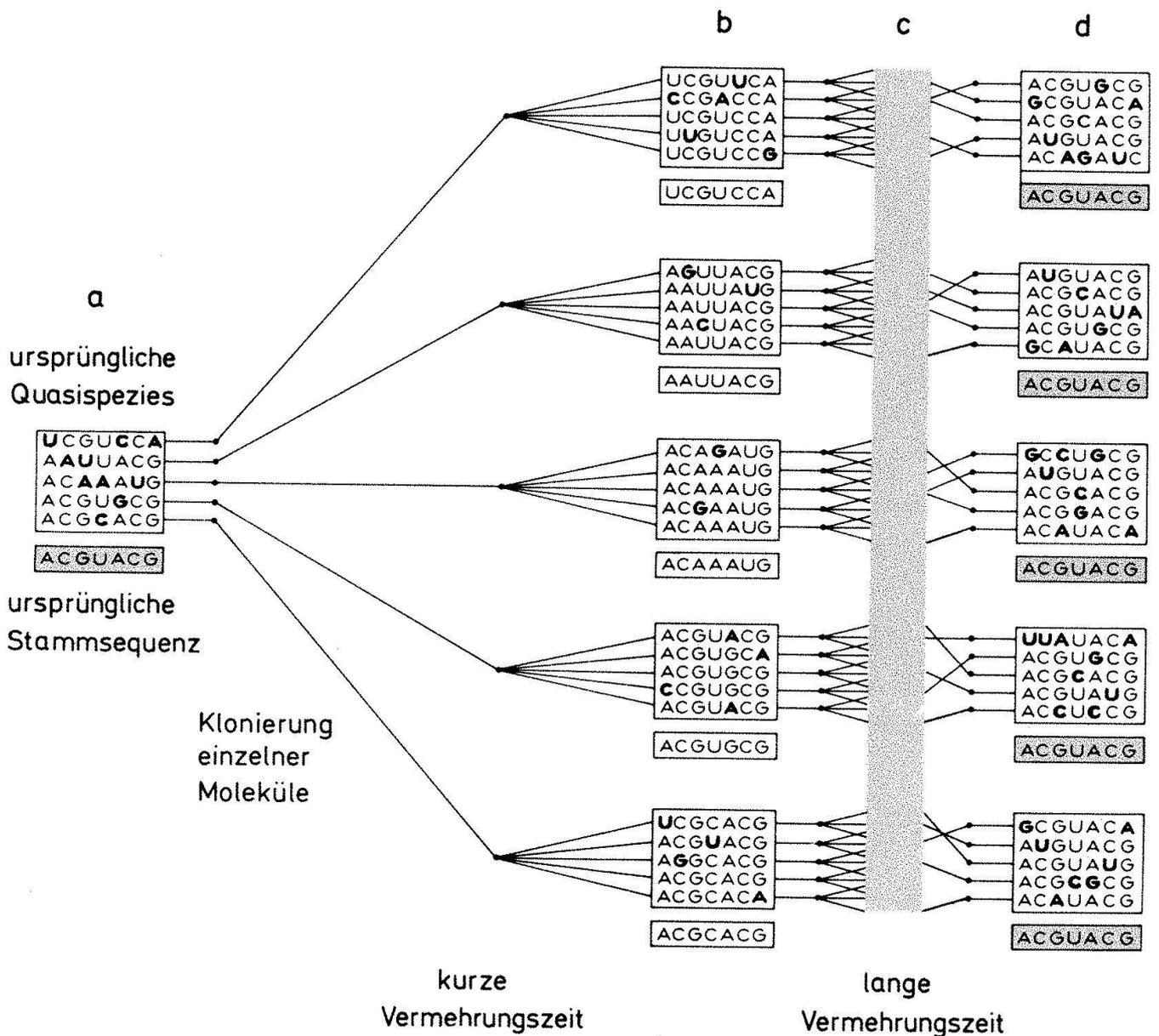


Abb. 5. In diesem von Charles Weissmann und Mitarbeitern ausgeführten Experiment wurden einzelne Q β -RNA Moleküle (bzw. Viren) aus einer Wildtypverteilung (a) in Coli-Bakterien kloniert. Die nach schneller Vermehrung der jeweils eingefangenen RNA-Moleküle erhaltenen Klone (b) wurden nach der Fingerprintmethode (zweidimensionale Elektrophorese teilweise gespaltener RNA-Sequenzen) analysiert und miteinander verglichen. Es zeigten sich durchweg Unterschiede in ein oder zwei Positionen der Sequenzen. Nach langer Vermehrungszeit (c) bildet sich in allen Klonen schliesslich wieder die Wildtypverteilung (d) aus, das heisst die Mittelwerte der Sequenzen werden sämtlich wieder identisch.

le Reproduktion der Informationsmenge. Dieser Wert stimmt innerhalb der Messfehler mit der vorhandenen Informationsmenge (4500 Nukleotide) überein. Die Tatsache, dass eine Klonierung von Einzelmutanten überhaupt möglich ist, liegt daran, dass in der Mutantenvverteilung des Wildtyps die Mutanten dominieren, deren Wachstumsrate der des Wildtyps sehr ähnlich ist. Diese werden bei der zum Klonieren von Einzelmolekülen notwendigen seriellen Verdünnung bevorzugt «herausgefischt». Da sie

sich fast so schnell vermehren wie der Wildtyp, bauen sie zunächst ein Mutantenspektrum auf, dessen mittlere Sequenz mit der der klonierten Einzelmutante identisch ist. In diesem Mutantenspektrum muss irgendwann auch der Wildtyp erscheinen. Er kann sich aber nur langsam durchsetzen, und zwar mit einer Rate, die der (kleinen) Differenz der Wachstumsgeschwindigkeit von Wildtyp und klonierter Mutante entspricht. Am Ende dominiert natürlich in jedem Klon wieder der Wildtyp (siehe Abbildung 5).

Weiterhin kann der Schluss gezogen werden, dass alle einsträngigen RNA-Viren ähnlichen Einschränkungen hinsichtlich des Informationsgehaltes unterworfen sind. Denn in der Natur gibt es keine (einsträngigen) RNA-Viren, deren replikative Einheit mehr Information als in der Grössenordnung von 10^4 Nukleotiden enthält. Alle grösseren Viren besitzen doppelsträngige Nukleinsäuren oder setzen sich aus mehreren replikativen Einheiten zusammen. Für diese gelten wiederum analoge Beziehungen zwischen Fehlerererkennung und Reproduzierbarkeit der Informationsmenge. DNA-Polymerasen müssen im allgemeinen wesentlich genauer als RNA-Replikasen arbeiten. Dieses geschieht vermittelt zusätzlicher Möglichkeiten zur Fehlererkennung und Korrektur.

Was bedeuten diese Ergebnisse für die frühe Evolution?

Die ersten replikativen Einheiten müssen einen erheblich geringeren Informationsgehalt besessen haben als die mit einer optimalen Reproduktionsmaschinerie arbeitenden RNA-Viren. Die Reproduktionsgenauigkeit hängt in Abwesenheit von (wohl-adaptierten) Enzymen allein von der Stabilität der Basenpaare ab. Das GC-Paar hat unter diesen Umständen gegenüber dem AU-Paar einen ca. zehnfachen Selektionsvorteil. Modellexperimente zeigen, dass für GC-reiche Polynukleotide eine Fehlerrate von 10^{-2} kaum unterboten werden kann. Die ersten «Gene» müssen demnach Polynukleotide einer Kettenlänge ≤ 100 gewesen sein.

Molekulare Evolution erfordert inhärente Selbstreproduktivität. RNA scheint diese Forderung am besten zu erfüllen. In der zeitlichen Abfolge entstand RNA aufgrund ihres komplexeren Aufbaus sicherlich später als Proteine oder proteinähnliche Substanzen. Proteine können an gewisse Funktionen zufällig adaptiert sein, doch folgte eine solche Adaptation lediglich strukturellen und nicht funktionellen Kriterien. Anpassung an optimale Funktion erfordert dagegen einen inhärenten Reproduktionsmechanismus. Der einzige logisch begründbare Weg, die ungeheure funktionelle Kapazität der Proteine evolutiv zu erschliessen, liegt in der Verknüpfung beider Stoffklassen, also in der Übersetzung der in den selbstreproduktiven RNA-Strukturen gespeicherten Information. Daraus ergibt sich sofort die Frage: Konnte

RNA ohne enzymatische Unterstützung, das heisst ohne Replikasen überhaupt entstehen? Experimente, die von Leslie Orgel und Mitarbeitern ausgeführt wurden, bejahen diese Frage. So wurde gefunden, dass Zn^{2+} -Ionen – die heute in allen Replikasen als Ko-faktoren enthalten sind – ausgezeichnete Katalysatoren für die 3'-5'-Verknüpfung von Nukleotiden darstellen und eine matrizengesteuerte Synthese von Polymeren ermöglichen. Gezeigt wurde dies zunächst für poly-C als Matrizenstrang. Bietet man diesem aktivierte G- und A-Nukleotide in gleichem Konzentrationsverhältnis an, so wird G je nach Reaktionsbedingungen 30- bis 200fach bevorzugt.

Damit wird nahegelegt, dass in einem chemisch genügend reichhaltigen Milieu GC-reiche RNA-Stränge einer Kettenlänge von ca. 100 Nukleotiden spontan entstehen, sich stabil reproduzieren und evolutiv adaptieren können.

Lassen sich für diese ersten «Gene» heute noch Zeugnisse finden?

Der Informationsgehalt solcher «Gene» reicht nur für relativ kleine, sicherlich noch nicht optimal angepasste Proteine aus. Das bedeutet aber, dass diese als Informationsträger inzwischen längst überholt und somit verdrängt worden sind. Der Verdrängungsprozess lief mit der Ausbildung der Translationsmaschinerie einher. Im Translationsapparat sind RNA-Strukturen nicht nur als Informationsquellen, sondern auch als Funktionsträger und Zielstrukturen wirksam. Es besteht viel eher die Möglichkeit, dass sie in dieser Funktion im Übersetzungsapparat, z.B. als Adaptoren in Form der Transfer-RNA (t-RNA) oder als ribosomale Nukleinsäuren (r-RNA) bis auf den heutigen Tag überlebt haben. Da die funktionellen RNA-Moleküle keine genetische Information zu speichern hatten, unterlagen sie nach erfolgter struktureller Anpassung kaum noch einem Evolutionszwang. Rekrutiert wurden die funktionellen Nukleinsäuren zunächst aus dem gleichen Reservoir wie ihre informationstragenden Schwestermoleküle, die m-RNAs. Wir erwarten daher, dass uns die t-RNA zum Beispiel als Zeuge der frühen Evolution des Translationsapparates Auskunft über Aufbau und Struktur der ersten «Gene» zu liefern vermag. Dieses Molekül entspricht mit einer Kettenlänge von ca. 76

Nukleotiden ideal den von der Theorie geforderten, an gegenwärtigen Strukturen experimentell bestätigten und für präbiotische Bedingungen relevanten Kriterien.

Von der t-RNA sind heute sehr viele Sequenzen bekannt, und zwar sowohl bei gegebenem Anticodon für eine Vielzahl phylogenetischer Stufen, als auch bei gegebener Spezies für eine grosse Zahl von unterschiedlichen Anticodons. Beide Fälle sind für eine komparative Analyse gleichermassen interessant: Die phylogenetische Analyse offenbart, ob t-RNA noch Information aus präbiotischer Zeit bewahrt hat oder ob diese im Verlauf der Phylogenie weitgehend verloren gegangen ist. Der Vergleich verschiedener t-RNA-Moleküle innerhalb einer Spezies kann dann zu einer weitgehenden Rekonstitution der Urstrukturen führen und über die frühe Evolution des Translationsapparates Aussagen machen.

Der in Abbildung 6 gezeigte phylogenetische Stammbaum für t-RNA_{met in} zeigt, dass t-RNA zu den konservativsten Strukturen gehört, die wir kennen. So unterscheiden sich in dem gezeigten Beispiel die Fruchtfliege (*Drosophila*) und der Seestern lediglich in einem einzigen Nukleotidpaar und beide vom Menschen nur in 4 Paaren. Organismen, die sich vor Milliarden von Jahren voneinander separiert haben, wie etwa die Eubakterien, Chloroplasten und Archaeobakterien, erscheinen auf der Ebene der t-RNAs noch als «nahe Verwandte», nämlich mit nur geringfügig abgeänderten Sequenzen.

Damit wird eine Rekonstitution der Urstruktur in den Bereich des Möglichen gerückt. Vergleicht man die Sequenzen verschiedener t-RNAs, zum Beispiel für Coli-Bakterien, für Hefezellen, oder für Archaeobakterien, so zeigen alle einen sehr hohen GC-Gehalt, der bei einer Überlagerung der Sequenzen noch zunimmt. Andererseits ist aus den mitochondrialen Sequenzen, die alle sehr AU-reich sind, zu ersehen, dass G und C im Verlaufe der Evolution – wohl aufgrund eines grossen Angebots des Stoffwechselprodukts A in den Mitochondrien – ersetzbar und nicht aus Gründen struktureller Stabilität erforderlich ist. Darüber hinaus deuten die rekonstituierten Vorläufersequenzen eine periodische Tripletstruktur an (siehe Abbildung 7), die auf einen Ur-Code GNC hinweist, in dem N jeweils eins der vier Nukleotide A, U, G, C

symbolisiert. t-RNA war offenbar nicht nur der Ur-Adaptor, sondern fungierte auch als genetischer Informationsträger, eine Eigenschaft, die im Verlaufe der Evolution verloren gegangen ist. Die vergleichende Sequenzanalyse der t-RNAs hat – zusammengefasst – zu folgenden Aussagen geführt:

- t-RNA ist ein «alter» Adaptor, der sich im Verlaufe der Phylogenese relativ geringfügig verändert hat.
- Verschiedene t-RNA Moleküle einer Spezies erscheinen als Mutanten einer Stammsequenz.

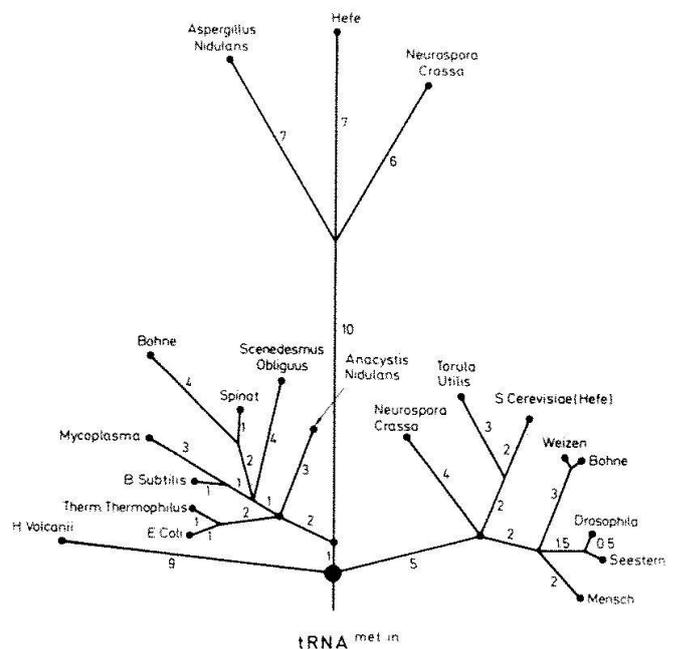


Abb. 6. Der Stammbaum einer Transfer-RNA, hier derjenigen, die beim Start der Translation eine Rolle spielt, lässt auch nach Milliarden von Jahren nur wenige Veränderungen in der Nukleotidsequenz (Zahlen an den Astabschnitten) erkennen. Bei allen bislang untersuchten Säugetieren ist die Sequenz nahezu dieselbe. Die Quotienten geben das Verhältnis von Guanin plus Cytosin zu Adenin plus Uracil an. In der Nähe der frühesten Verzweigungen ist es am grössten und an den Enden der langen Äste am kleinsten. Mit einem Wert von etwa 1:2 in den Mitochondrien (den «Kraftwerken» der Zelle) hat es sich gegenüber einem Wert von 2:1 nahe den frühesten Verzweigungen praktisch umgekehrt. Der Stammbaum lässt vier Gruppen deutlich hervortreten: Archaeobakterien (nur ein Vertreter: *H. Volcanii*), Eubakterien und Blaualgen, die sich kaum von den Chloroplasten unterscheiden, Eukaryonten sowie Mitochondrien. Der grosse Abstand der Mitochondrien ist durch eine starke Substitution von G und C durch A und U gekennzeichnet. In der Purin-Pyrimidinabfolge weisen sich die Mitochondrien als nähere Verwandte der Eubakterien aus, während ihr Abstand zu den Halobakterien und den Eukaryonten relativ gross bleibt.

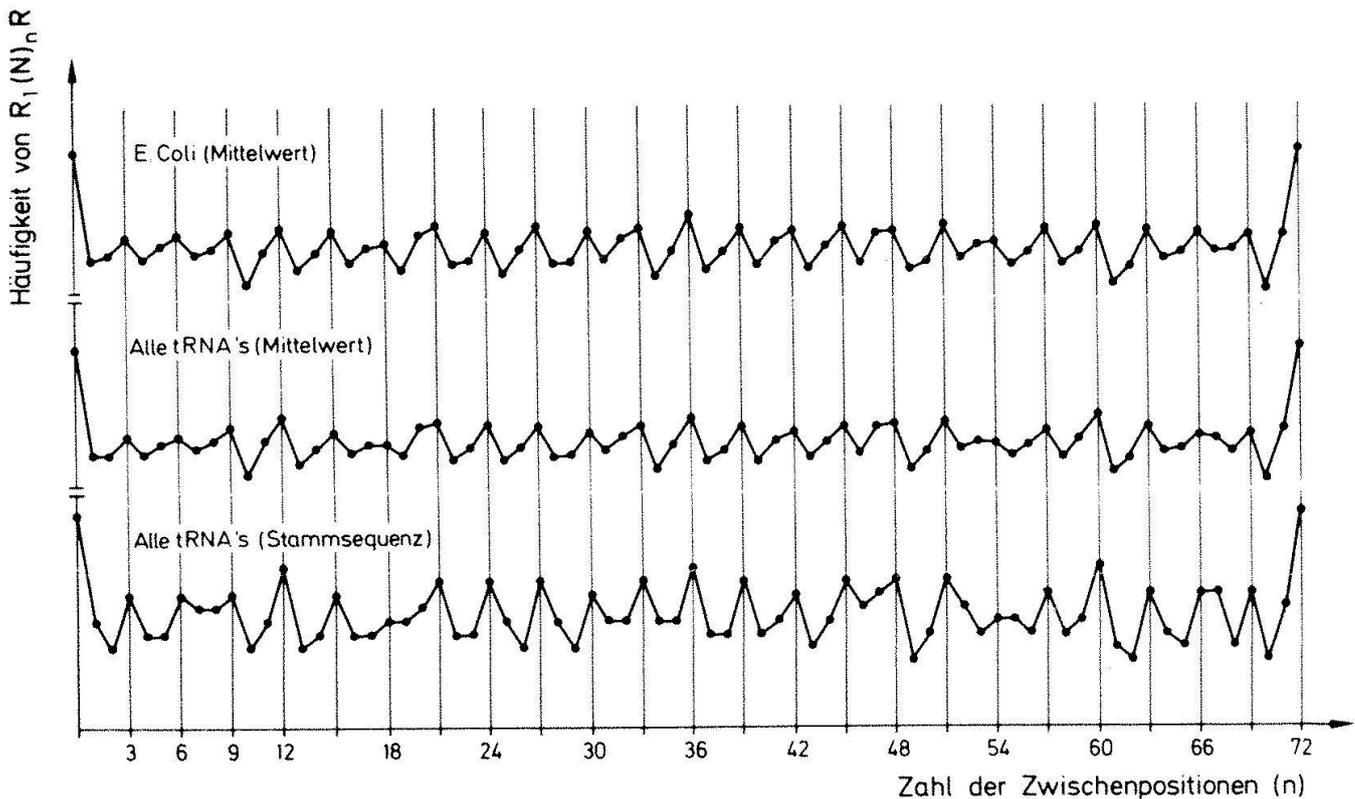


Abb. 7. Korrelationsanalyse der Repetition von Purin in t-RNA. Man unterteilt eine t-RNA Sequenz in Triplets, beginnend am 5'-Ende und im Raster mit dem Anticodon, und zählt, wie oft ein Purin (R) in erster Position des Triplets nach n Zwischenpositionen von einem Purin (R) gefolgt wird. Die deutlich sichtbare Dreierperiode weist auf eine Tripletstruktur der Form RNY hin. Die Kurven repräsentieren die Mittelwerte für die Sequenzen von E.coli bzw. von allen bisher untersuchten tRNAs im Vergleich zu der Sequenz, die sich aus einer Überlagerung aller tRNAs ergibt. Die Tatsache, dass die Korrelation in der «Überlagerungssequenz» deutlicher ist, zeigt an, dass es sich um eine «Erinnerung» an die Frühzeit der Evolution handeln könnte.

- Die ursprüngliche Stammsequenz ist zum grössten Teil rekonstruierbar.
- Sie zeichnet sich durch hohen GC-Gehalt sowie durch ein RNY-Code-Muster aus.
- Alle Befunde sind mit einem Ur-Code GNC für die in der Natur mit grösster Häufigkeit auftretenden natürlichen Aminosäuren: gly, ala, asp und val kompatibel.

Synopsis

Wir finden eine Kongruenz von Theorie, Modellexperiment und historischem Zeugnis. Doch sollten desungeachtet die folgenden Punkte berücksichtigt werden: Die Evolutionstheorie – wie jede andere physikalische Theorie – beschreibt lediglich ein «Wenn-dann-Verhalten». Unter der Voraussetzung, dass die Theorie frei von Fehlern ist,

zeigt sie, was aus gegebenen Anfangsbedingungen zwangsläufig folgen muss.

Der Wert der Theorie ist allein an der Möglichkeit ihrer experimentellen Überprüfung zu messen. Modellexperimente liefern quantitative «Eichwerte», mit deren Hilfe sich Wahrscheinlichkeiten für die Entstehung der molekularen Vorstufen des Lebens abschätzen lassen.

Weder Theorie noch Modellexperiment sagen etwas über den tatsächlichen historischen Ablauf der Evolution aus. Dazu bedarf es spezieller historischer Zeugnisse.

Kongruenz von Theorie, Modellexperiment und historischem Zeugnis ermöglicht uns, das Prinzip «Leben» als eine Regelmässigkeit der Natur zu begreifen.

Auf der Grundlage der erkannten Prinzipien wird der Evolutionsprozess im Laboratorium nachvollziehbar.

Literatur

- Spiegelman, S., et al. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 50 (1963) 905; 54 (1965) 579, 919; 60 (1968) 866; 63 (1969) 805.
- Mills, D.R., Kramer, F.R., Spiegelman, S., Science 180 (1973) 916.
- Kramer, F.R., Mills, D.R., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 75 (1978) 5334.
- Sumper, M., Luce, R. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72 (1975) 162.
- Biebricher, Ch.K., Eigen, M., Luce, R., J. Mol. Biol. 148 (1981) 369, 391.
- Biebricher, Ch.K., Eigen, M., Gardiner, W.C. Jr., to be published.
- Mills, D.R., Peterson, R.I., Spiegelman, S., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 58 (1967) 217.
- Eigen, M., Naturwiss. 58 (1971) 465.
- Eigen, M., Schuster, P., Naturwiss. 64 (1977) 541. 65 (1978) 7, 341.
- Domingo, E., Flavell, R.A., Weissmann, Ch., Gene 1 (1976) 3.
- Batschelet, E., Domingo, E., Weissmann, Ch. Gene 1 (1976) 27.
- Weissmann, Ch., Feix, G., Slor, H., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 33 (1968) 83.
- Lohrmann, R., Bridson, P.K., Orgel, L.E., Science 208 (1980) 1464; J. Mol. Evol. 17 (1981) 303.
- Bridson, P.K., Orgel, L.E., J. Mol. Biol. 144 (1980) 567.
- Eigen, M., Winkler-Oswatitsch, R., Naturwiss. 68 (1981) 217, 282.

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. Manfred Eigen
Max-Planck Institut für Biophysikalische Chemie
Abteilung für Biochemische Kinetik
D-3400 Göttingen (BRD)