

分子进化的概念、理论和方法

陈建华

(同济大学医学系,上海)

严格地说,“分子进化”有两层含意。一层含意是指生命起源时期的化学进化,即有机分子由简单向复杂的演变^[1];另一层含意是指生物进化过程中,构成生物体的大分子,如蛋白质、核酸的演变。由于分子生物学的迅速进展,已经搞清了许多生物大分子的一级结构。从某些同源蛋白质(或核酸)的比较中,人们发现,不同生物之间,同源蛋白质(或核酸)结构上的差异各不相同,亲缘关系近的差异较小,反之则差异较大,即这些生物大分子象生物的表型一样,能反映物种间的亲缘关系,体现物种的演化过程。现在,当提及分子进化时,一般都是指后一层意思。

分子进化的证据

血红蛋白是“分子进化”中研究得比较深入的一种分子。高等脊椎动物的血红蛋白是由两条 α 链和两条 β 链聚合而成的四聚体,其中 α 链由141个氨基酸构成。已对许多脊椎动物的 α 链进行过比较^[10],发现人与鲨鱼有74个氨基酸不同,人与鲤鱼有68个氨基酸不同,人与牛有17个氨基酸不同。从古生物学和比较解剖学研究获知,三者中人与鲨鱼的亲缘关系最远,与牛的亲缘关系最近。可见,生物从同一祖先分歧进化的过程中,血红蛋白分子也在进化。两物种分道扬镳的时间越迟,分子变化越小,两分子间氨基酸不同的数目也就越少,反之则越多。已知人与大猩猩的亲缘关系更近,而事实上它们的血红蛋白也只有1个氨基酸不同^[11]。

细胞色素C是一个从细菌到人类都有的“古老”蛋白质。大部分生物的细胞色素C由104个氨基酸组成,各物种间细胞色素C的相似程度与它们间的亲缘关系也是一致的^[11]。迄今为止,已有不少的生物大分子被用于分子进化的研究,如血汗蛋白肽、胰岛素、核糖核酸酶、胰蛋白酶原、组蛋白IV、以及tRNA、5S rRNA等,这些研究都充分表明分子在不断地进化。

分子进化的学说

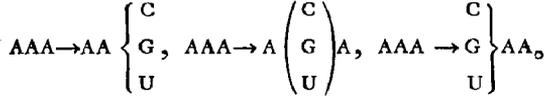
达尔文的伟大功绩就是建立了生物进化的自然选择学说。将达尔文的自然选择和孟德尔的遗传学综合在一起,就成了综合进化学说,又称新达尔文主义(综合进化论者有时又被称为群体遗传学派)。由于 Fi-

sher、Haldane、Wright、Dobzhansky、Simpson 和 Mayr 等人的卓越贡献,综合进化学说成了一种融生物学和数学为一体的完美学说。这个学说似乎可以概括成三句话:突变是进化的原料,孟德尔遗传规律是进化的保障,自然选择是进化的动力。综合进化学说能很好地解释生物的表型进化。由于人工选择的成就,人们更加坚信选择对物种形成的创造性作用。于是形成了这样一个传统观念:即进化是那些有利突变(适应性突变)在自然选择的帮助下固定下来的结果。群体遗传学派承认有中性突变,但却认为所谓中性是相对的、暂时的(实际上最终否认中性突变的意义);承认遗传漂变,但认为它是不重要的,只在小群体中偶然起作用。对综合进化论者来说,没有自然选择的帮助,一个突变基因能在一个大群体中长期固定下来,这是难以想象的。他们企图把分子进化也纳入自然选择的轨道,然而遇到了极大困难。Kimura^[8]首先反对这种选择万能主义,提出了分子进化的中性学说。翌年,King 和 Jukes^[7]用大量分子生物学资料肯定了这一学说。

中性学说是“中性突变—随机漂变假说”(neutral mutation—random drift hypothesis)的简称。这个学说的基本内容是:在分子水平上,大多数进化演化和物种内的大多数变异,不是由自然选择所引起,而是通过那些对选择呈中性或近中性的突变等位基因的遗传漂变所引起的^[10]。中性学说的事实根据是:同一种分子的进化速率,按每年每氨基酸替换保持不变。它的数学基础是随机过程理论。它的出发点是中性突变。中性学说并不反对自然选择学说,认为对于那些破坏分子结构和功能的突变,那些影响表型的突变,自然选择有清除它们的作用,从而保持基因的功能完整。中性学说反对选择万能主义,特别反对正自然选择决定分子进化的观点,认为由于有利突变率相当低,因此它们对分子进化的影响极微,分子进化主要靠中性突变的随机漂变实现。中性学说认为突变在分子进化中起重要作用,并与进化速率有关。

中性突变

产生突变的 DNA 变化方式有 4 种, 即核苷酸的替换、缺失、附加和倒位, 而最常发生的是核苷酸替换。基因中的核苷酸替换能引起密码子变换。对于一个密码子来说, 由于核苷酸替换可以发生在三联体的任何一个位置, 而每一位置有 3 种替换方式, 故一个核苷酸替换可以 9 种方式导致密码子变换, 如



故而, 61 种氨基酸密码子就可因一个核苷酸替换而产

生 549 种密码子变换。AAA 与 AAG 都是 Lys 的密码子, 这种密码子变换并不引起氨基酸替换, 称同义突变 (synonymous mutation) 或沉默突变 (silent mutation)。AGA 是 Arg 的密码子, 从 AAA 到 AGA 能引起氨基酸替换, 称变义突变 (missense mutation)。UAA

表 1 一个核苷酸替换引起的各种突变的数目及其比例

类型	突变数	所占比例
同义突变	134	134/549 即 24.4%
变义突变	392	392/549 即 71.4%
无义突变	23	23/549 即 4.2%

表 2 无义突变的变换方式及突变数

替换位置	第一核苷酸	第二核苷酸	第三核苷酸	突变数
终止密码子				
UAA	$\begin{cases} C \\ A \\ G \end{cases} \left. \begin{matrix} AA \rightarrow UAA \end{matrix} \right\}$	$U \begin{pmatrix} U \\ C \end{pmatrix} A \rightarrow UAA$	$UA \begin{pmatrix} U \\ C \end{pmatrix} \rightarrow UAA$	7
UAG	$\begin{cases} C \\ A \\ G \end{cases} \left. \begin{matrix} AG \rightarrow UAG \end{matrix} \right\}$	$U \begin{pmatrix} U \\ C \\ G \end{pmatrix} G \rightarrow UAG$	$UA \begin{pmatrix} U \\ C \end{pmatrix} \rightarrow UAG$	8
UGA	$\begin{cases} C \\ A \\ G \end{cases} \left. \begin{matrix} GA \rightarrow UGA \end{matrix} \right\}$	$U \begin{pmatrix} U \\ C \end{pmatrix} A \rightarrow UGA$	$UG \begin{cases} U \\ C \\ G \end{cases} \rightarrow UGA$	8
突变数	9	7	7	23

是终止密码子, 从 AAA 到 UAA 称无义突变 (nonsense mutation)。表 1 列出了一个核苷酸替换可能引起各种突变的数目及其比例, 其结果是对照遗传密码表 (假定各密码子出现的概率相等), 逐一变换、计数而来。表 2 是无义突变的变换方式。

同义突变由于不引起氨基酸替换, 突变后基因合成的蛋白质没有任何改变, 这种突变一般不改变生物的适合度, 所以是中性的。遗传密码的简并性本身就能保证 24% 的同义突变, 而实际上分子水平的同义突变发生率比变义突变发生率要高得多^[15, 13]。

变义突变使 20 种氨基酸之间相互替换的方式有 $C_{20}^2 = 190$ 种, 如图 1 所示。其中 75 种由 1 个核苷酸替换引起 (图 1 中的点格), 101 种由 2 个核苷酸替换引起 (白色方格), 14 种由 3 个核苷酸替换引起 (标 × 方格)。氨基酸替换又分为性质相似的氨基酸间替换 (如 Arg 和 Lys 间, Phe 和 Tyr 间, Glu 和 Asp 间等) 和性质明显不同的氨基酸间替换 (如 Asp 和 Val 间, Phe 和 Ser 间, Arg 和 Ile 间等)。前者称保守替换 (conservative substitution), 如图 1 中由粗黑线和斜线圈出的部分。在 190 种变换中有 70 种属保守变换,

占 37%。75 种由 1 个核苷酸替换引起的氨基酸替换中有 34 种为保守替换, 而氨基酸替换可有几种 1 核苷酸替换方式 (如 Val → Met 有 1 种, Val → Leu 有 6 种, Val → Ile 有 3 种), 若每种方式以同样概率发生, 则 1 核苷酸替换引起的氨基酸替换中有 53% 是保守替换。从分子进化研究中观察到的氨基酸替换分析, 保守替换占 68%^[23]。保守替换不改变分子的结构与功能, 或改变很小, 所以也是中性或近中性的。

此外, 在 DNA 的非编码区以及基因的内含子区域发生的核苷酸替换, 不转译成蛋白质的假基因中发生的变化也是中性或近中性的, 而且在生物体内大量存在。可见, 分子水平上绝大多数是中性或近中性突变。

中性学说的缘起

中性学说有两个根, 一是群体遗传学中的随机理论, 二是分子遗传学。在 Kimura 等提出中性学说之前, 这两个根已深深地扎在分子进化领域里了。按照 Nei 的观点^[2], Kimura 1974 年谈到的关于分子进化的四大特征也不是他的新发现, 早在 1965 年, Zucke-

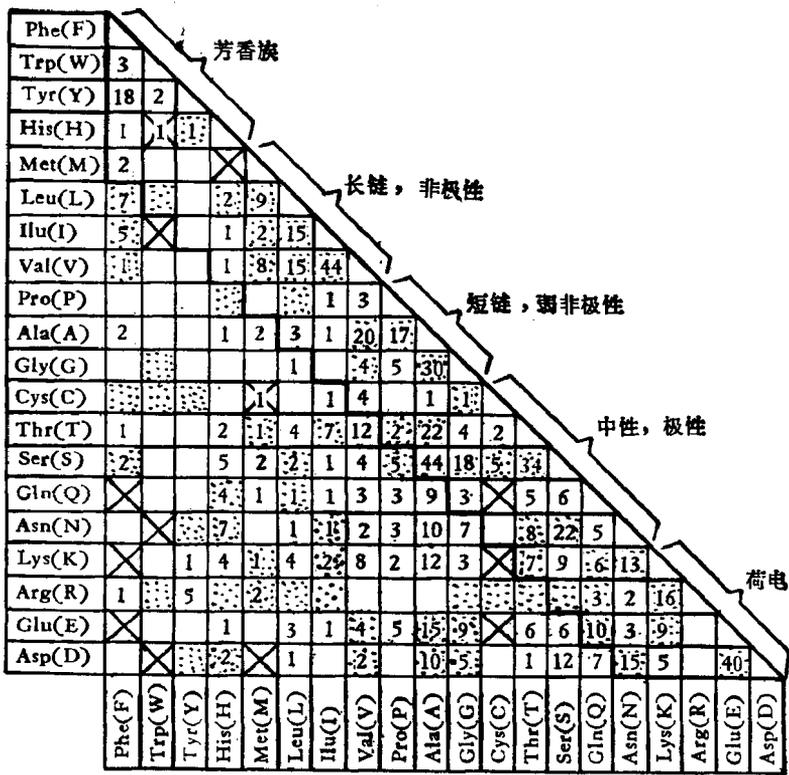


图1 190种氨基酸相互替换方式。其中粗线及斜线围出的区域为保守突变。点格、白格和标×格各表示由1、2和3个核苷酸替换引起。格中数字记录了在分子进化研究中已实际观察到的替换。

rkrandl 和 Pauling^[14] 以及 Margoliash 和 Smith^[11] 在大分子的进化变化研究中已有全面论述。Kimura 等的功绩似乎只是在理论上迈了一步，把中性突变——遗传漂变放到决定性的位置上。然而，由于这一步在根本问题上(自然选择)离经叛道，是许多分子进化研究者所不敢跨越的，所以具有革命性的意义。分子进化研究中暴露出的矛盾，使 Kimura 最后放弃了“选择万能主义”。

(1) 关于氨基酸替换率的矛盾：根据分子生物学资料估计，在由 100 个氨基酸构成的多肽中，发生 1 个氨基酸替换约需 28×10^6 年^[10]。这只是比较保守的估计，实际上所需时间可能要少一些。哺乳动物的基因组约含 4×10^9 核苷酸对，核苷酸与氨基酸按 3:1，则每基因组每年的突变替换率(不考虑非编码 DNA)为：

$$\left(\frac{1}{28 \times 10^6} \div 100 \right) \times (4 \times 10^9 \div 3) = 0.5/aa/yr.$$

若该哺乳动物 4 年一代，则每代约发生 2 个氨基酸替换。然而，根据自然选择学说，Haldane 曾算出发生 1 个氨基酸替换约需 300 代(计算请参阅文献 [2] 第 60 页)，两者相差竟达上百倍。

(2) 关于自然选择代价的矛盾：自然选择代价

(cost of natural selection) 是 Haldane 首先提出来的，后来被 Kimura 称为替换负荷 (substitution load)。所谓代价是指：在基因替换过程中，由于原来占很大比例的基因变为不利基因，适合度下降，从而使群体的适合度总量下降，造成大量个体在成熟前被淘汰。这种适合度下降总量就是在自然选择下基因替换所付出的代价^[5,6]。一个群体所能付出的自然选择代价取决于该物种的生殖力。例如，若每两代发生一个氨基酸替换，每一个亲本为了产生一个能存活并能繁殖的后代，它必须留下 $e^{1/2} \approx 3.27 \times 10^6$ 个子代^[12]。这样大的代价是任何一种哺乳动物都付不起的。

(3) 关于有利突变率的矛盾：用突变替换率表示分子进化速率有： $K = 4NeVs_1$ ^[12]。其中 K 是每代的氨基酸替换率， Ne 是群体的有效大小， V 是每配子每代突变率， s_1 是选择系数。若某哺乳动物 $Ne = 10^7$ ， $K = 3$ (按每年替换率为 0.5，每代 6 年计)， $s_1 \leq 0.001$ (在自然选择下轻微有利)，则 $V = 0.015$ 。这就是说要使有利基因按照 $K = 3$ 的速率替换，有利突变必须高到 1.5%。这一值与每配子致死和半致死突变率的总和属同一数量级，这样高的有利突变率是与自然选择的适应性进化原理相违背的。

(4) 关于分离负荷的矛盾：由于电泳方法的应

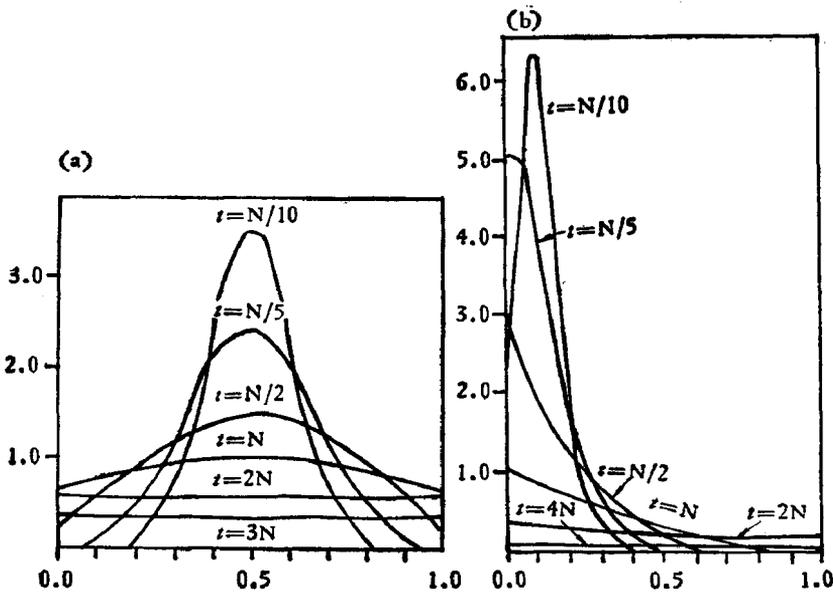


图2 等位基因 A_1 因随机遗传漂变而产生的频率分布变化过程

(a) 初始频率为 0.5;

(b) 初始频率为 0.1。

横轴表示 A_1 的频率;纵轴是概率密度 ϕ ; t 表示时间; N 为群体有效大小。该分布不包括基因频率,且 $x=0$ 和 $x=1$ 。

用,分子多态现象大量报道,其多样性程度比表型上的多样性程度高得多。自然选择的“超显性”(overdominance)假说在解释表型多态现象的保存机制方面比较成功,但在解释分子多态现象时,出现了难以忍受分离负荷(segregation load)的困难。杂合子在生殖过程中,由于分离,产生适合度小的纯合子,从而使群体平均适合度降低。这种因分离而引起的适合度降低即分离负荷。若有 n 个分离位点,每个位点的纯合子选择系数为 s ,则由于分离,每一个体的后代被选择淘汰的部分为 $1 - e^{-ns/2L^{(0)}}$ 。当 $n = 2,000, s = 0.01$ 时,则

这些矛盾只有中性学说才能解决:在分子水平上之所以有这样高的进化速率,这样高的多样性,是因为大多数突变并未被自然选择所淘汰,而是经遗传漂变固定下来了。

遗传漂变

遗传漂变即群体中基因频率的偶然变动。形象一点,即基因频率的变动好比水中的浮萍,漂移不定;或者说象分子的布朗运动,杂乱无章。众所周知,一个无限大的群体在随机交配的情况下,群体的遗传组成将保持稳定,即基因频率不发生变化。然而,对于一个小群体(或有限大小的群体)而言,由于参入合子形成的配子的偶然选取,基因频率就会在世代过程中发生或增或减的波动。例如,在一个小群体中,若等位基因 A 和 a 的初始频率都是 $1/2$,亲代产生的配子中有 8 个参入合子形成,则从统计的意义上讲 A 和 a 各 4 个的可能性较大。但可能实现的事并不一定必然实现,也有可能是 $5A + 3a$, 或 $3A + 5a$ 。每一次合子形成时,各种配子的比例究竟如何,这要看当时的具体情况。这一过程好比从一个装满等量黑球和白球的盒子里抽样,若抽出的 8 个球 5 黑 3 白(相应于 $5A + 3a$),则 A 的频率就从 $1/2$ 变成了 $5/8$ 。 F_1 代的配子则是从黑白比例为 5:3 的盒子里抽样,如果正巧抽到 3 黑 5 白,则 A 的频率又从 $5/8$ 变成 $3/8$ 了。基因频率的每一次具体的变动都是偶然的,不可预测的。那么,这样一种杂乱无章的变动能不能使某种突变基因固定呢?用分子扩散的偏微分方程对此进行了数学处理。

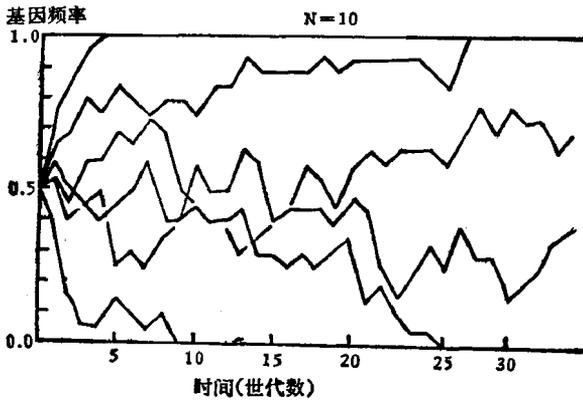


图3 基因频率从 0.5 随机漂移的几个途径

该结果是用计算机模拟 $N = 10$ 的群体,经蒙特卡罗实验获得。

为 $1 - e^{-10} \approx 0.9999546$ 。这样,群体为要在世代过程中维持其大小不变,则每一个体平均要产生

$$\frac{1}{0.9999546} \approx 22,000$$

个幼体。显然,没有哪一种哺乳动物能经得起这样的生殖浪费。

设 $\phi(p, x; t)$ 为等位基因 A_1 , 其初始频率为 p , 在 t 代频率为 x 的概率密度, 则 $\phi(p, x; t)$ 满足扩散方程:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \frac{1}{4N} \frac{\partial^2}{\partial x^2} [x(1-x)\phi] \quad (1)$$

此方程的解为：

$$\phi(p, x; t) = \sum_{i=1}^{\infty} p(1-p)^i (i+1)(2i+1)F(1-i, i+2, 2, p)F(1-i, i+2, 2, x)e^{-i(i+1)t/4N} \quad (2)$$

其中 $F(\cdot, \cdot, \cdot, \cdot)$ 是超几何级数。每固定一个 p 和 t ，则可在 $\phi-x$ 坐标上作出一条频率——概率密度曲线。如图 2 即为 $p = 0.5$ (左图)和 $p = 0.1$ (右图)时的若干条曲线。每条曲线代表在 t 世代瞬间各种基因频率与群体比例之间的关系。由左图可知，当初始频率为 0.5 时，经 $2N$ 世代 (N 为群体的有效大小)后，未固定部分(占群体数的 50%)处于各种基因频率的群体比例大致相等。右图表明，当初始频率为 0.1 时，曲线变得平坦所需的世代数为 $4N-5N$ 。随着世代数增加，未固定部分逐渐减少，一种基因的最后命运或者是固定或者是消失，而这一过程并不限于小群体，只需群体大小有限。只不过当 N 比较大时，基因固定或消失所需的世代数多一点而已。基因频率变动的实际过程如图 3 所示， A_1 的初始频率为 0.5，可以经过几种途径的随机波动从而达到固定或消失。

在一个相当大的群体中，每一世代可产生许多突变，但其中的大多数只需几个世代就会因机遇而消失，能够固定下来的只是少数“幸运者”。不仅有害突变和中性突变如此，就是有利突变也是如此，除非有利度相当大。如对于一个有利度为 1% 的突变，它在群体中扩散的机会仅为 2% 左右，有 98% 的可能会因机遇而消失^[1]，从而不为进化所利用。所以，经遗传漂变固定下来的突变其适合度并不完全相等。中性学说并不严格要求突变在选择上呈中性，而只是要求选择压力与突变压和漂变比起来可以忽略。不要求各突变的选择系数 s 相等，只要求它们间的差别相当小。一般说来当：

$$|s| < \frac{1}{2Ne}$$

时，就可以把它们当作中性突变看待了^[1]。

进化速率

在大小为 N 的 2 倍体群体中，有 $2N$ 个染色体位点，若每配子每代的突变率为 ν ，则每代将产生 $2N\nu$ 个新突变。设一个突变最终被固定的概率为 μ ，则每代每氨基酸替换数为：

$$K = 2N\nu\mu \quad (3)$$

由于群体中有 $2N$ 个基因，当突变呈中性时，每个基因固定的概率相等，所以 $\mu = \frac{1}{2N}$ 。于是 $2N\nu$ 个新突

变中仅有 $\frac{1}{2N}$ 被固定下来，故有：

$$K = 2N\nu \cdot \frac{1}{2N} = \nu \quad (4)$$

(4)式表明，在中性突变情况下，氨基酸替换速率与群体大小无关^[1]。

在分歧进化过程中，如果两物种在相同位置上发生氨基酸替换，这样被观察到的只有一个氨基酸差异。如果两次突变相互抵消，则不发生替换。所以，在求氨基酸每年替换率时，不能简单地用氨基酸差异数与分歧进化时间之比求得。计算速率时常用 Poisson 法加以修正^[11,16,12]。

设 K_{aa} 为每年每氨基酸替换率，则在 T 年时间内该位置上氨基酸替换的平均数为 $K_{aa}T$ ，而 T 年中出现 r 个氨基酸替换的概率为一 Poisson 分布：

$$Pr(T) = \frac{e^{-K_{aa}T}(K_{aa}T)^r}{r!} \quad (5)$$

当 $r = 0$ 时，即不发生氨基酸替换时 $P_0(T) = e^{-K_{aa}T}$ 。两个进行比较的多肽，在相同位置上都不发生替换的概率为： $e^{-K_{aa}T} \cdot e^{-K_{aa}T}$ 。设多肽有 n_{aa} 个氨基酸，则

表 3 8 种脊椎动物血红蛋白 α 链比较
(每 100 个氨基酸中的差异氨基酸数)

鲨	鲤	蝾螈	鸡	针鼹鼠	袋鼠	狗	人
59.4	61.4	59.7	60.4	55.4	56.8	53.2	鲨
	53.2	51.4	53.6	50.7	47.9	48.6	鲤
		44.7	50.4	47.5	46.1	44.0	蝾螈
			34.0	29.1	31.2	24.8	鸡
				34.8	29.8	26.2	针鼹鼠
					23.4	19.1	袋鼠
						16.3	狗
							人

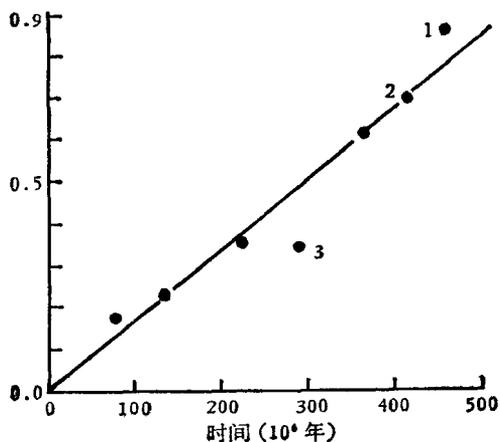


图 4 氨基酸替换数 \bar{K}_{aa} 与分歧进化时间 (以 10^6 年为单位)间的关系

两个多肽相同氨基酸的预期数 n 近似为:

$$n = n_{aa} e^{-2K_{aa}T} \quad \text{令:}$$

$$\bar{K}_{aa} = 2K_{aa}T \quad (6)$$

$$d_{aa} = n_{aa} - n \quad (7)$$

则:

$$\bar{K}_{aa} = -\ln \frac{n}{n_{aa}} = -\ln \left(1 - \frac{d_{aa}}{n_{aa}} \right) = -\ln(1 - p_d) \quad (8)$$

p_d 是氨基酸差异比, 表 3 所列数据为每 100 个氨基酸中差异氨基酸的数目, 即 $p_d \times 100$ 。例如, 人和鲨鱼的差异氨基酸数为 74, 相同氨基酸数为 65, 所以

$$p_d = \frac{74}{74 + 65} = 0.532。$$

$$\bar{K}_{aa} = -\ln(1 - 0.532) = 0.760。$$

人与鲤鱼的 $d_{aa} = 68$, $n_{aa} = 140$, $p_d = 0.486$, 所以 $\bar{K}_{aa} = 0.666$ 。依此可求得 28 个 \bar{K}_{aa} 值。

图 4 是以分歧进化时间为横坐标, \bar{K}_{aa} 为纵坐标作的图。点 1 表示鲨鱼的平均 \bar{K}_{aa} 值 (将鲨鱼与其它 7 种脊椎动物间 \bar{K}_{aa} 加以平均) 和分歧进化时间。点 2 表示鲤鱼与蝾螈等 6 种脊椎动物 \bar{K}_{aa} 的平均值和蝾螈的分歧进化时间。从图 4 中可看出, 7 个点几乎在同一直线上, 其斜率为 0.00179。由(6)式, 进化速率

$$K_{aa} = \bar{K}_{aa}/2T = \frac{1}{2} \times (0.00179 \times 10^{-6}) \\ \approx 0.9 \times 10^{-9}。$$

点 3 是鸡的数据, 与直线偏离较远, Kimura 认为, 由古生物学推算出的鸟类分歧进化时间可能有点问题^[10]。

分子进化的特征

分子进化的四大特征是: (1) 对每种蛋白质说来, 只要分子的三级结构和功能基本不变, 那么, 各种进化路线以氨基酸替换表示的进化速率, 大致保持每年每个位置上恒定。(2) 机能较次要的分子或分子片段的

表 4 8 种蛋白质的进化速率

蛋白质	$K_{aa} \times 10^9 / \text{yr}$
血汗蛋白肽	8.3
胰核糖核酸酶	2.1
溶菌酶	2.0
血红蛋白 α 链	1.2
肌红蛋白	0.89
胰岛素	0.44
细胞色素 C	0.3
组蛋白 H4	0.01

进化速率, 高于机能较重要的分子或分子片段的进化速率。(3) 在进化过程中, 使分子现存结构和功能破坏较小的突变比破坏较大的突变有更高的替换频率。(4) 基因重复通常发生在一个具有新功能的基因出现之前。

表 4 列出了 8 种分子的进化速率, 同时也反映出分子进化的某些特征。第 (4) 个特征表明基因重复是一种储备力量, 为新基因的出现作准备。

1973 年以后 Ohta^[11] 和 Kimura^[10] 认为分子进化还有第五个特征: 明显有害突变的选择消除和选择上中性的或轻微有害的突变的随机固定, 比明显有利突变的正达尔文选择更为频繁。这再次表明: 中性学说虽认为分子水平上绝大多数突变是中性的, 但并不认为所有的突变都是中性的。

参 考 文 献

- [1] Li, C. C. (美), 吴仲贤译: 1981. 群体遗传学, 农业出版社, 354 页。
- [2] Nei, M. (美), 王家玉译: 1983. 分子群体遗传学与进化论, 农业出版社, 238 页。
- [3] 吉川宽: 1979. 真核生物の分子生物学——问题解法, 共立出版株式会社, 东京, 264—266 页。
- [4] Calvin, M.: 1969. *Chemical Evolution*, Oxford Univ. Press, New York.
- [5] Haldane, J. B. S.: 1957. *J. Genet.*, 55: 511—524.
- [6] —————: 1960. *ibid.*, 57: 351—360.
- [7] King, J. L. and T. H. Jukes: 1969. *Science*, 164: 788—798.
- [8] Kimura, M.: 1968. *Nature*, 217: 624—626.
- [9] —————: 1968. *Genet. Res. Camb.*, 11: 247—269.
- [10] —————: 1983. *The Neutral Theory of Molecular Evolution*, Cambridge Univ. Press, London.
- [11] Margoliash, E. and G. H. Smith: 1965. In: *Evolving Genes and Proteins*, Bryson, Y and H. J. Vogel eds., Academic Press, New York, pp. 221—242.
- [12] Nei, M.: 1969. *Nature*, 221: 40—42.
- [13] Nichols, B. P. and Yanofsky Ch.: 1979. *PNAS, USA*, 76: 5244—5248.
- [14] Ohta, T.: 1973. *Nature*, 246: 90—98.
- [15] Salser, W.: 1978. *Cold Spring Harbor Symp Quant. Biology*, 42 (“Chromatin”, part 2): 985—1002.
- [16] Zuckernandl, E. and L. Pauling: 1965. In: *Evolving Genes and Proteins*, Bryson, Y. and H. J. Vogel eds., Academic Press, New York, pp. 97—166.