

Tanulmányok

PREBIOTIKUS REPLIKÁZ-EVOLÚCIÓ AGYAGÁSVÁNY FELÜLETEKEN: MOLEKULÁRIS ALTRUIZMUS TÉRBE EXPLICIT RENDSZERBEN¹

Szabó Péter

doktorandusz,
pszabo@angel.elte.hu

Scheuring István

tud. főmts., a biol.tud. kandidátusa,
shieazsf@ludens.elte.hu

Czárán Tamás

tud. főmts., a biol.tud. kandidátusa,
czaran@ludens.elte.hu

Szathmáry Eörs

egyetemi tanár, a biol.tud. doktora,
szathmary@zeus.colbud.hu

Az élet eredete szempontjából döntő fontosságú lépés volt a gyors és hatékony replikáz katalitikus funkcióval rendelkező replikátormolekulák megjelenése¹. Habár az első RNS molekulák eredete még tisztázatlan, a katalitikus RNS enzimek (ribozimek) megjelenése az evolúció egy korai szakaszában valószínűsíthető¹. A másolási hűség fontossága kiemelkedő, mivel a mutációs teher korlátozza a replikálódó templátoknak a természetes szelekció által fenntartható hosszát². Egy adott monomerenkénti másolási hűség mellett a nagyobb monomerszám hátrányos, de a hosszabb molekulák feltehetően jobb replikázok.

A cikk eredetileg a *Nature* 2002. november 21-i számában jelent meg, angol nyelven: In Silico Simulations Reveal that Replicators with Limited Dispersal Evolve Towards Higher Efficiency and Fidelity. *Nature* 420. 2002. 340-343. A cikk ismertetése a News and Views rovatban: Gerald F. Joyce (2002) Molecular Evolution: Booting up life. *Nature* 420: 278-279.

A mind összetettebb és jobb replikáz-tulajdonságú molekulák felé vezető evolúció egy lehetséges forgatókönyve^{3,4} és annak matematikai elemzése⁵ már megszületett. Jelen írásban be szeretnénk mutatni, hogy a hatékony replikázok elterjedhetnek, feltéve, hogy a molekulapopuláció egy felületen abszorbeálódott molekulákból áll. Egy sejtautomata modelle⁶ kimutatható, hogy a másolási hűség, a replikáz sebesség és a templáttulajdonság a molekuláris paraziták jelenléte ellenére, a felületen lévő molekulák között kialakuló reciprok altruizmusnak^{7,8} (fajon belüli altruizmus) köszönhetően az evolúció során egyre javul, alátámasztva a replikázfunkció fokozatos tökéletesedésére vonatkozó hipotéziseket.

Képzelnünk el egy felülethez abszorbeálódott makromolekulákból álló molekulapopulációt, amelyek mindegyike négy különböző (A, B, C és D) monomerekből áll. Katali-

tikus aktivitásuk miatt a felszínen szomszédos helyeken elhelyezkedő makromolekulák templát-replikáz reakcióban vesznek részt, ami egy új makromolekula felépítését jelenti szabad monomerekből egy létező templát mintájára. Minden egyes ilyen replikációs folyamatban két replikátor molekula vesz részt; az egyik a templát, a másik pedig a replikáz szerepét játssza. Jellemezzünk egy ilyen replikációs eseményt két fő tulajdonságával, a sebességgel és a másolási hűséggel, amelyek viszont a reakcióban részt vevő két replikátor három tulajdonságától függenek.

- Replikáz aktivitás: azt fejezi ki, hogy a molekula milyen gyorsan ad hozzá egy új monomert az épülő szálhoz, amennyiben replikázként vesz részt a reakcióban.

- Másolási hűség: A molekula monomerenkénti másolási hűséget adja meg, szintén mint replikáz.

- Templát hatékonyság: a molekula replikázok számára való hozzáférhetőségét, „afinitását” fejezi ki, templátként viselkedve.

A replikációs sebesség később részletezett módon egyrészt a replikáz aktivitásától, másrészt a templát minőségétől függ – jobb replikáz-aktivitás és templát hatékonyság gyorsabb másolódást eredményez. Két, a felszín szomszédos helyein elhelyezkedő L és M replikátor molekula kétféle reakcióban vehet részt. L, mint replikáz másolhatja M-et, mint templátot vagy fordítva (részletek alább).

Az egyszerűség kedvéért feltesszük, hogy a replikáz-aktivitás, másolási hűség és templát hatékonyság a replikátormolekulák elsődleges szerkezetétől a következőképpen függ. Az A, B és C monomerek mindegyike befolyásolja a három releváns replikátortulajdonság egyikét, mégpedig a következő módon: A elősegíti a templáthatékonyságot, B növeli a replikázaktivitást, C pedig javítja a másolási hűséget. D egy neutrális monomer, aminek nincs direkt hatása a replikációra. Feltesszük még, hogy $t(n_A)$; egy

adott replikátormolekula templáthatékonysága n_A -tól, a benne lévő A monomerek leg-hosszabb összefüggő szekvenciájától egy növekvő szigmoid függvény szerint függ.

$$t(n_A) = \alpha_A + (1 - \alpha_A) \frac{n_A \beta_A}{\gamma_A + n_A \beta_A} \quad \text{ha } n_A > 0,$$

$$t(n_A) = 0 \quad \text{ha } n_A = 0$$

Hasonló módon, megfelelő $\alpha_B, \beta_B, \gamma_B$ és $\alpha_C, \beta_C, \gamma_C$ paraméterekkel az $r(n_B)$ replikáz-aktivitás és az $f(n_C)$ másolási hűség növekvő szigmoid függvényei a makromolekulában lévő összefüggő poli-B és poli-C szekvenciák hosszának.

A másolási hűség minimális értéke 0,7-0,9 a különböző szimulációkban (megjegyeznénk, hogy teljesen véletlenszerű monomerbeépülés 0,25-ös másolási hűséget jelent). A szigmoid függvény választásánál a következő szempontokat tartottuk szem előtt. (i) A függvény egy bizonyos monomerszámnál telítődjön, azaz a jó helyre beépülő monomerek haszna legyen egyre kisebb egy bizonyos hossz elérése után. Ennek egyik oka, hogy a reakciók diffúziólimitálttá válnak, különösen igaz ez felületi reakciók esetén. (ii) Kis molekuláknál az aktív centrumot alkotó kritikus helyek között szinergisztikus hatások érvényesülhetnek. A fenti két hatás jól kifejezhető egy szigmoid függvényvel. A modellnek az a jellegzetessége, hogy egy replikátormolekulát egymással csereviszonyban álló, különböző funkciók tulajdonságokért felelős doméneként kezel, miközben lehetővé teszi ezen funkciók csoportok mutációs károsodását, jól megalapozott és ésszerű tudományos alapokon áll, és a modellből levezetett következtetések várhatóan ugyanazok lennének – ha számszerűleg nem is – egy realiztikusabb, de kezelhetetlen szimulációs modell esetén is.

Megjegyeznénk, hogy még a fenti leegyszerűsítő feltételezések is megőrzik a makromolekula-replikátorok számunkra

legfontosabb jellegzetes tulajdonságait. Bár az RNS molekulák kétdimenziós szerkezete meglehetősen jól kiszámítható, ez nem vonatkozik a háromdimenziós szerkezetre. Ráadásul nem tudjuk, hogyan számíthatnánk ki a replikátorok jellemzésére használt fenti három tulajdonság (replikáz-aktivitás, másolási hűség és templát hatékonyság) értékét egy bármilyen, adott szekvencia esetén. Így azzal az ésszerű egyszerűsítéssel élünk, hogy fenti tulajdonságok a molekula különböző részei által formált katalitikus egységekhez rendelhetők és egymással csereviszonyban állnak: egy adott hosszúságú makromolekulában egy tulajdonság csak a másik kettőnek a rovására javulhat. Általában az RNS templátoknak egy target szekvenciát kell hordozniuk ahhoz, hogy a proteinreplikázok felismerjék őket¹⁰. DNS-függő DNS polimerázok másolási hűségét és sebességét meglehetősen alaposan ismerjük. A T4 fág polimeráznak ismertek mutatór és antimitatór mutánsai. Az utóbbiak sokkal lassabban haladnak a templát szál mentén^{11,12}. A T4 fág egy közeli rokona, az RB69 fág polimerázában a polimeráz és az exonukleáz aktív helyek 30 Å távolságra vannak egymástól¹³. Úgy tűnik, a polimerázok másolási hűségének egy fontos (esedleg legfontosabb) meghatározója a Watson-Crick és nem-Watson-Crick bázispárokra ható geometriai szelekció¹². Ezt az eredményt a DNS polimeráz kristályok legutóbbi vizsgálatait is megerősítették^{14,15}. Többen rámutattak, hogy a fenti mechanizmus ribozim enzimek esetén is működhet¹⁶. Mindent egybevetve, a fenti három replikátor tulajdonság valószínűleg konfliktusban van egymással, különösen kis molekulák esetén. Mindenesetre ez egy óvatos feltételezés, ami egy hatékony replikáz populáció megjelenését csak még jobban megnehezíti.

Egy replikációs esemény során mutációk történhetnek, azaz a másolat különbözhet a templáttól. Hogy a számításokat leegyszerű-

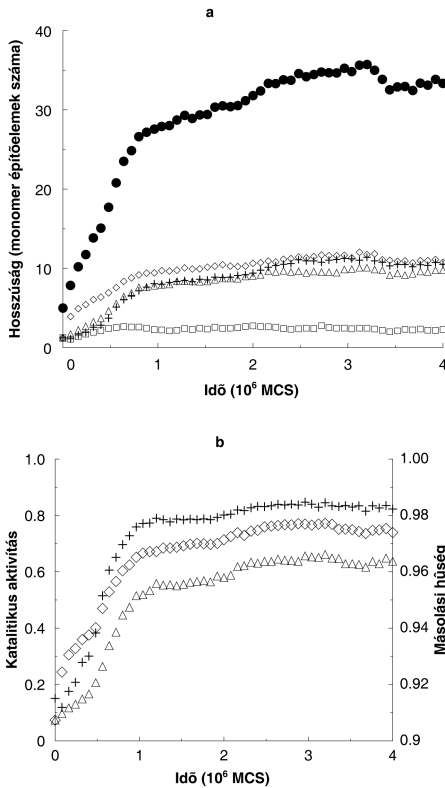
sítsuk, komplementer helyett homológ bázispárosodási szabályt használtunk (A A-val, C C-vel alkot párt és így tovább). Két típusú mutáció létezik, ahogy valódi replikázok/polimerázok esetében is.

Addíciós és deléciós mutációk: ezek a mutációk konstans $P_{ad} = 0,02$ valószínűséggel bukkannak fel. Egy addíciós mutáció során egy extra monomer adódik másolódás közben az új szál végére. Egy deléciós mutáció során az új szál egy véletlenül választott helyen eltörik és az egyik darab elveszik, így imitálva a valódi deléciós mutációk károsító hatását. Ezek a mutációk növelik a replikátorok hosszának varianciáját.

Pont (szubsztitúciós) mutációk: Minden egyes monomer a templátláncban a replikázmolekula másolási hűség tulajdonsága által meghatározott pontossággal másolódik. Ha mutáció történik, akkor a helyes monomer helyett a másik három monomertípus egyike épül be az adott helyre.

$t = 0$ időpontban a felületet reprezentáló négyzetrács rácspontjainak felé öt monomer hosszúságú, véletlen szelekciójú replikátorokkal „oltjuk be”, és követjük a replikátorpopuláció sorsát sok-sok generáción keresztül. Azok a replikátorok, amelyekről elbomlásuk előtt elég nagy számú pontos másolat készül, fennmaradnak, mások eltűnnek. Kimutatható, hogy a szelekció azt a domináns *kvázispeciest* részesíti előnyben, amely evolúciós szempontból hasznos tulajdonságokat hordoz. Az így létrejött kvázispeciest jó kezdőpontot nyújt a megváltozott szelekciós nyomások hatására kibontakozó esetleges későbbi evolúciónak.

Egy nagyon szerény funkcionalitással rendelkező oligomerpulációból összetett, hatékony replikátorokból álló replikátorpopuláció jön létre (*1a és 1b ábrák*). Mindhárom fontos replikátortulajdonság (replikáz-aktivitás, másolási hűség, valamint templát hatékonyság) nagymértékben tökéletesedik. A gyors és pontos replikáz, valamint jó templát



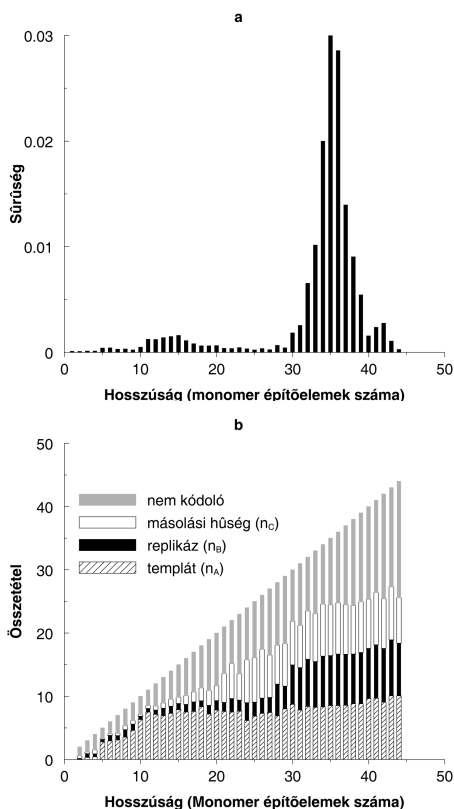
1. ábra

funkcióval rendelkező replikátorok szelekciós előnyt élveznek. A templátulajdonság szelekciós előnye nyilvánvaló, egy jó templátot gyakrabban másolnak az öt körülvevő replikátorok. Azonban a replikáz-aktivitás és a megnövekedett másolási hűség szelekciós haszna egy kicsit meglepő. Egy ezekkel a képességekkel rendelkező replikátor nagyobb valószínűséggel másolja a szomszédait, de elterjedéséhez másik, a környezetében lévő hatékony replikázokra van szüksége. Ezeknek a molekuláknak az előnye a lokális kölcsönhatásoknak köszönhető, amelyek aggregált mintázatok létrehozásán keresztül lehetővé teszik, hogy a jó replikázok között érvényesülhessen a reciprok altruizmus.

A replikáz- és templát funkciót javító monomerek száma a molekulákon belül növekszik, miközben funkcionális egységekbe rendeződnek. Ennek a folyamatnak a nagyságrendje megbecsülhető, ha összehasonlítjuk az A, B, illetve C monomerek alkotta funkcionális egységek méretét a neutrális D monomerek alkotta összefüggő szekvenciákkal. Ez utóbbi 5-10-szer kisebb, mint egy átlagos funkciós csoport mérete. A mind összetettebb funkcionális csoportok kialakulása a replikátorok átlagos hosszának növekedését vonja maga után.

Ahhoz, hogy a fenti evolúciós forgatókönyv érvényesülhessen, még a legpontosabban dolgozó replikázoknak (amelyekben nincs C monomer) is szignifikánsan nagyobb másolási hűséggel kell működniük, mint a véletlen monomerbeépülést jelentő 25 %, máskülönben a magas hibaarány miatt a rendszer összeomlik. Ez nem egy komoly feltétel, látva a minden ismert templátreakcióban megfigyelhető, nem véletlenszerű bázispárosodást.

Idővel az evolúció megreked. Az egyre hosszabb és hosszabb funkciós csoportok közötti csökkenő szelekciós előnyöket (amelyek az alkalmazott szigmoid függvény tulajdonságából adódnak) kiegyenlíti a – nagyobb templáthosszuság miatt megnövekvő – másolási idő okozta hátrány. A molekulacsoport egy, a különböző hosszúságú és funkcionális tulajdonsággal bíró replikátorok eloszlásával jelmezhető, összetett, stabil populációvá alakul (*2a és b ábrák*). A maximálisan elérhető hossz sokkal inkább a modell replikációt befolyásoló paramétereitől, mint a felhasználható monomerek számától függ. Habár számos különféle szekvencia van jelen, amelyek különböznek mind hosszban, mind monomerösszetételben, két alaptípus világosan megkülönböztethető. Ez a két típus a molekulák hosszeloszlását mutató ábrán mint két csúcs jelenik meg (*2a ábra*). Egyrészt jelen vannak nagyméretű, komplex replikátorok gyors és pontos replikáz-aktivitással, ame-

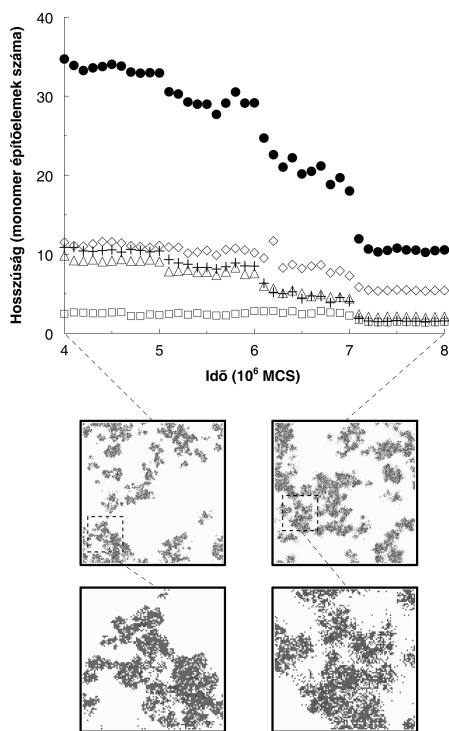


2. ábra

lyek ugyanakkor jó templátok, ezek mellett jelen van rövid molekuláknak egy kis populációja nagyon korlátozott replikázfunkcióval, de jó templáttulajdonsággal. Ők a domináns kvázispecies populáció parazitái, amezok nélkül nem is létezhetnének, a molekulák egymás másolásában megnyilvánuló „együttműködésben” nem vesznek részt.

A lokális kölcsönhatások és a korlátozott diszperzió biztosítják, hogy a paraziták aránya egy bizonyos szint fölé ne emelkedhessen, így nem tudják kiszorítani a jó replikátorokat. Hogy kimutassuk a térbeli szerkezet kulcszerepét a paraziták fékentartásában, elkészítettük a modell átlagtérközelítését, amelyben minden egyes templát egy olyan „átlagos replikáz” által másolódik le, amelynek a rep-

likáztulajdonsága a griden lévő összes molekula replikáztulajdonságainak átlaga. Az átlagtérmodellben, ha az előző modell végállapotából indulunk ki, azt láthatjuk, hogy a molekulapopuláció mérete hirtelen lecsökken, végül az egész populáció kihal. Ha a térbeli modellbe a diffúzió hatását is beleépítjük¹⁷, fény derül ennek okára is. A növekvő diffúzió megbontja az altruista replikátorok alkotta aggregált foltokat, mind a három replikátorfunkció romlik, beleértve legvégül a templáthatékonyságot is (3. ábra). Különböző diffúziós rátáknál mértük a születési és elmozdulási események arányát. Egy enyhe diffúzió nem változtatja meg a diffúzió nélküli modell eredményeit, és amennyiben a születési és a diffúziós ráta nagyságrendileg azonosak, úgy az eredmények lényegében azonosak lesznek. A konstruktív evolúciós folya-



3. ábra

mat megakadályozásához nagyarányú diffúzióra van szükség (lásd a 3. *ábra* feliratát). Az eredményeink egyetértésben vannak a korábbi replikátorokra alkalmazott, térbelileg explicit, felülethez-kötődési^{18,19} vagy proto-sejt-kompartmentalizációs²⁰ populációdinamikai modellekkel.

Hogy megmutassuk a fenti eredmények robusztusságát, a $t(n_A)$, $r(n_B)$ függvények paramétereinek változtatásával is elvégeztük a fenti szimulációkat. A különböző paraméterkombinációkkal kapott függvények különbségét a feltéltődési értékükkel (v_n) fejeztük ki. Az eredmények nem mutattak lényegi különbséget, minden esetben ugyanaz az evolúciós folyamat játszódott le. Nagyobb v_n értékeknél hosszabb szekvenciák alakultak ki, mert ebben az esetben a hatékony funkciós csoportok felépítéséhez több monomerre van szükség.

Érdemes gondolatban megvizsgálni a kérdést, mi történne egy hasonló rendszerben komplementer bázispárosodás esetén. A csereviszonyok miatt könnyen lehetséges, hogy egy kitűnő replikáz szál komplementer szekvenciája egy kitűnő templát legyen. Ez segítené a funkciók elterjedését és felveti a komplementer kódoló és enzimátikus szálak megjelenését, ami a transzkripció (lényegében egyoldalú másolódás) egy primitív formája, a Szathmáry és Maynard Smith által felvetett evolúciós elképzelés szellemében²¹.

Modellünk célja annak a demonstrálása, hogy bizonyos molekuláris tulajdonságok, amik az élet eredete szempontjából döntőek lehetnek, könnyen megjelenhetnek és elterjedhetnek megfelelő, nem túl specifikus körülmények között. Fontos megjegyezni, hogy a fentebb modellezett evolúciós folyamat összeegyeztethető az ásványi felszínen történő polimerizáció^{22,23} (öspizza²⁴) és felszíni katalízis^{25,26} kémiai hipotézisekkel. Ezenfelül alátámasztja azt a nézetet, hogy az ásványi felszínen játszódó szelekciós dinamika elősegítheti a „hasznos” molekulák

együttélését egy primitív genetikai rendszerben. Azonban az, hogy a prebiotikus evolúciónak ez a fontos szakasza pontosan milyen kémiai lépésekből állt, nyitott kérdés. Egy – a ligáz aktivitásra épülő – elképzelés szerint, rövid templátokból kiindulva, a hosszú komplementer építőelemek kémiai ligációja elvezethet hosszú templátok és kis szubsztrátok enzimátikus ligációjához, legvégül pedig a monomerek egymás utáni beépülésével működő templát-irányított polimerizációhoz. A modellben lévő azon feltételezés, hogy még a nagyon rövid oligonukleotidok is rendelkeznek bizonyos fokú replikázképességgel, nem életszerű. Egy mostanában előállított ribozim képes egy maximum 14 nukleotidból álló templát polimerizációját katalizálni kb. 0,967-es nukleotidonkénti pontossággal²⁷. De van három bökkenő: a ribozim maga több, mint 180 nukleotid hosszúságú, a sebessége viszonylag kicsi, és reakció után a templát és a másolat nem válnak szét. A modell alapvető üzenete azonban érvényes marad, ha a minimális replikázhosszt reálisztikusan választjuk meg, ebben az esetben azonban a számitások nagyon nehézkesé válnának. Jelenleg az egyetlen remény, hogy hamarosan találunk egy hatékony, nem enzimátikus RNS replikációs rendszert^{1,26}, ami replikázfunkció betöltésére képes, megfelelő méretű molekulákat tud termelni. Amint ez megtörtént, az ásványi felszínen történő további evolúció reciprok altruizmus segítségével lehetséges.

Módszerek

A replikátorpopuláció evolúciójának vizsgálatát egy stochasztikus sejtautomata modellel végeztük, mivel a térbeli mintázatok döntő szerepét valószínűsítettük a rendszer dinamikájában. A replikációs „aréna” (felszín) egy 400x400-as négyzetrács volt, toroid határfeltételekkel a peremhatások elkerülése végett. Minden egyes négyzetrács (cella) lehet üres, vagy pedig elfoglalhatja egy replikátor. Amennyiben foglalt, úgy az adott cella

jellemezhető a rajta lévő replikátor szekvenciájával. Minden egyes Monte Carlo-lépés során minden egyes cella állapota egyszer felülíródik véletlenszerű sorrendben, a következő szabályok alapján.

- ha a cella üres, nem történik semmi;
- ha foglalt, akkor P_d valószínűséggel az ott lévő replikátor elbomlik;
- amennyiben a replikátor nem bomlik el, úgy egy potenciális templát és

$$P_r = \frac{s}{3} \cdot d \cdot r \cdot \frac{t}{n}$$

valószínűséggel (ahol s a potenciális replikátorok száma a négy szomszédos cellában; r az egyik véletlenül választott szomszédos replikátor replikáz-aktivitása; t a fenti templát molekula templát hatékonysága; n a templátban lévő monomerek száma) replikálódik, és egy új replikátor születik.

d egy globális változó, ami a hozzáférhető monomerek mennyiségét fejezi ki. Értéke az egész négyzetláncra ugyanannyi, ami egy ésszerű választás, ha feltételezzük, hogy a monomerek diffúziója gyors.

$$d = \frac{\mu - m}{\mu}, \text{ ahol } m = \sum_{1 \leq i, j \leq 4} n_{ij} / P,$$

az összes cellára összegezve (m egy monomermennyiséget meghatározó konstans, n_{ij} az i, j pozícióban lévő replikátor hossza és l a négyzetlánc oldalhossza).

- A modell diffúziós változatában egy diffúziós lépés történik, ami a Toffoli-Margolus algoritmus alkalmazását jelenti egy véletlenül választott 2×2 cellából álló négyzet D valószínűséggel.

Csábító lenne A, B, C, D absztrakt monomerjeinket valós RNS bázisokkal azonosítani. Egy nemenzimatis templát oligomerizációs folyamat kísérletes vizsgálatakor a citidin a mi A monomerünkhöz hasonlóan viselkedett. Ámde absztrakt monomerjeink használatával valójában egy gyakorlatias kódot valósítottunk meg a következők szerint. Rendeljünk hozzá egy katalitikus doménhoz egy (önkéntes) véletlen bázisszekvenciát, mondjuk AGGUGCCGAA. A mi modellünkben ez egyBBBBBBBBBB szekvenciának felel meg. Így az absztrakt 'B' jelentése *bármilyen valós bázis, ami az adott domén katalitikus aktivitását javítja*. Egy báziskicsérölődés tönkretétel egy funkciót (D monomer beépülésének esete), javíthat azon (ami az evolúció elé nem állít semmilyen akadályt), avagy javíthat azon, miközben tönkretesz egy másik funkciót.

Kulcsszavak: *molekuláris evolúció, replikátor, replikáz-aktivitás, másolási hűség, templát-hatékonyság, sejtautómata modell*

Köszönettel tartozunk két, a névtelenség homályába burkolózó bíráló hasznos észrevételeiért. Hálás köszönet az Országos Tudományos Kutatási Alap által nyújtott pénzügyi támogatásért.

A leveleket, háttéranyagokra vonatkozó kéréseket Szathmáry Eörsnek címezve várjuk (e-mail: szathmary@colbud.hu. A felhasznált számítógépes algoritmus letölthető_ftp://hera.colbud.hu/users/szathmary/replik.c címen

IRODALOM:

1. Joyce G.F. & Orgel, L.E. (1999) Prospects for understanding the origin of the RNA world. In: (R.F. Gesteland, T.R. Cech & J. F. Atkins, eds.) *The RNA World 2nd Ed.*, pp. 49-77, Cold Spring Harbor Lab. Press, Cold Spring Harbor, N.Y..
2. Eigen, M. (1971) Self-organization of matter and the evolution of biological macromolecules. *Naturwiss.* **58**, 465-523.
3. Poole, A., Jeffares, D. & Penny, D. (1999) Early evolution: the new kids on the block. *BioEssays* **21**, 880-889.
4. James, K.D. & Ellington, A. D. (1998) The fidelity of template-directed oligonucleotide ligation and the inevitability of polymerase function. *Orig. Life Evol. Biosphere* **29**, 375-390.
5. Scheuring, I. (2000) Avoiding Catch-22 of early evolution by stepwise increase in copying fidelity.

- Selection* **1**, 135-145.
6. Wolfram, S. (2002) *A New Kind of Science*. Wolfram Research, Inc..
 7. Trivers, R. L. (1971) The evolution of reciprocal altruism. *Quart. Rev. Biol.* **46**, 35-57.
 8. Nowak, M. & Sigmund K. (1992) Tit For Tat in heterogeneous populations. *Nature* **355**, 250.
 9. Inoue, T. & Orgel, L. E. (1983) A nonenzymatic RNA polymerase model. *Science* **219**, 859-862.
 10. Florentz, C. & Giegé, R. (1995) tRNA-like structures in plant viral RNAs. In: (D. Söll and U. L. RajBhandary, eds.) *tRNA: Structure, Biosynthesis, Function*. pp. 141-164. ASM Press, Washington.
 11. Galas, D. J. & Branscomb, E. W. (1978) Enzymatic determinants of DNA polymerase accuracy. Theory of coliphage T4 polymerase mechanisms. *J. molec. Biol.* **124**, 653-687.
 12. Goodman, M. F. & Fyngenson, D. K. (1998) DNA polymerase fidelity: From genetics toward a biochemical understanding. *Genetics* **148**, 1475-1482.
 13. Wang, J. *et al.* (1997) Crystal structure of a pol α family replication DNA polymerase from bacteriophage RB69. *Cell* **89**, 1087-1099.
 14. Doublé, S. *et al.* (1998) Crystal structure of a bacteriophage T7 DNA replication complex at 2.2 Å resolution. *Nature* **391**, 251-258.
 15. Kiefer, J.R. *et al.* (1998) Visualizing DNA replication in a catalytically active *Bacillus* DNA polymerase crystal. *Nature* **391**, 304-307.
 16. Steitz, T.A. (1998) Structural biology. A mechanism for all polymerases. *Nature* **391**, 231-232.
 17. Toffoli T. & Margolus N. (1987) *Cellular Automata Machines: A New Environment for Modeling*. MIT Press, Cambridge, Mass..
 18. Boerlijst, M. C. & Hogeweg, P. (1991) Spiral wave structure in prebiotic evolution: Hypercycles stable against parasites. *Physica D* **48**, 17-28.
 19. Czárán, T. & Szathmáry, E. (2000) Coexistence of replicators in prebiotic evolution. In: *The geometry of ecological interactions: Simplifying Spatial Complexity*. Cambridge University Press, Cambridge. Pp. 116-134.
 20. Szathmáry, E. & Demeter, L. (1987) Group selection of early replicators and the origin of life. *J. theoret. Biol.* **128**, 463-486.
 21. Szathmáry, E. & Maynard Smith, J. (1993) The origin of chromosomes II. Molecular mechanisms. *J. theoret. Biol.* **164**, 447-454.
 22. Ferris, J. P. *et al.* (1996) Synthesis of long prebiotic oligomers on mineral surfaces. *Nature* **381**, 59-61.
 23. Orgel, L.E. (1998) Polymerisation on the rocks: Theoretical introduction. *Orig. Life Evol. Biosphere* **28**, 227-234.
 24. von Kiedrowski, G. (1996) Primordial soup or crêpes? *Nature* **381**, 20-21.
 25. von Kiedrowski, G. (1998) Surface-promoted replication and exponential amplification of DNA analogues. *Nature* **396**, 245-248.
 26. von Kiedrowski, G. & Szathmáry, E. (2000) Selection versus coexistence of parabolic replicators spreading on surfaces. *Selection* **1**, 173-179.
 27. Johnston W. K. *et al.* (2001) RNA-catalyzed RNA polymerization: accurate and general RNA-templated primer extension. *Science* **292**, 1319.

