

# 氨基酸手性同一起源的新理论模型

韩大雄\* 陈伟珠 韩波 赵玉芬\*

( 厦门大学医学院药理学系, 厦门 361005; 厦门大学化学化工学院, 厦门 361005)

**摘要** 氨基酸手性同一, 这一生命体系特有的行为, 可能伴随着密码子的起源而形成. 在此假设的前提下, 本文将带有 P-N 键的核苷-5'-磷酸化氨基酸化合物作为前生物时期的手性起源模型来探讨手性的选择. 在这个模型化合物中, 由于氨基酸手性原子的存在, 导致氨基酸侧链和核苷酸碱基之间出现最佳空间取向差异, 进而影响到分子内部不同官能基团之间的相互作用, 氨基酸的某种手性可能成为优势构型, 有利于该化合物的稳定. 为了验证这一氨基酸手性同一起源模型, 本文从实验和理论上做了初步研究. 研究结果显示, 古老氨基酸的 L 型异构体优先被选择遵从立体/物理化学决定论, 而随后出现的氨基酸, 其手性的选择可能是手性继承的结果. 以上工作是氨基酸手性同一起源的一种猜测, 为进一步开展实验验证提供依据和思路.

**关键词** 生命起源 手性选择 基因密码子 手性同一 磷酸化氨基酸

在生命起源问题上, 最引人关注的两个问题是基因密码子和手性同一的起源. 基因密码子是一种生物代码, 即一种氨基酸被一个或多个核苷酸三联体编码. 密码子及其相应的载体 L 型 tRNA 大约形成于 1 亿年前, 到目前为止基本没有变化, 而且被绝大多数生物体所采纳<sup>[1]</sup>. 关于基因密码子起源, 立体化学假说<sup>[2,3]</sup>认为, 寡聚核苷酸和氨基酸之间通过立体化学或物理化学相互作用形成了密码子(或反密码子)关系, 而共进论学说<sup>[4,5]</sup>则认为: 基因密码子并不是同时出现的, 存在着一个进化过程, 与氨基酸自身的生物进化密切相关.

手性同一, 即组成蛋白质的氨基酸都是 L 型, 组成 DNA 和 RNA 的戊糖以及一些重要聚糖的单糖都是 D 型糖<sup>[6]</sup>. 由此可见, 手性同一是生命物质的一个普遍特征. 关于手性同一的起因仍然是个谜, 存在以下几种假说: ( )可能是手性矿物质表面的不对称吸收, 例如石英、黏土; ( )可能由于磁场等弱相互作用导致分子水平的宇称失衡(也被称为 Vester-Ulbricht

假说); ( )还可能是自发过程或者不对称光解反应导致<sup>[7,8]</sup>. 然而, 就基因密码子的起源和手性同一的起源的相关性的研究却鲜有报道. 在基因密码子和手性同一的起源阶段, 我们认为纯粹的化学进化不仅占主导地位而且两者协同进化. 密码子的早期载体结构, 可能存在着有利于寡聚核苷酸和氨基酸物理化学相互作用的匹配构型, 其中涉及的空间相互作用限制将可能影响氨基酸的手性选择. 因此我们认为手性同一这一生命体系特有的行为可能伴随着基因密码子的起源而形成, 也就是说, 氨基酸和寡聚核苷酸的特定空间取向以及相互作用将导致对左、右手性氨基酸选择的差异, 进而导致手性破缺.

本文将带有 P-N 键的核苷-5'-磷酸化氨基酸化合物作为前生物时期的手性起源模型来探讨手性的选择是有一定的科学意义的. 其类似化合物, 如氨基酸酰基-3',5'-核苷酸(aminoacyl-3', 5'-nucleotides)曾被作为基因密码子起源的模型化合物来研究氨基酸侧链和核苷酸碱基之间的相互作用<sup>[9]</sup>. 经过长期对磷酸化

收稿日期: 2007-03-11; 接受日期: 2007-06-06

国家自然科学基金(批准号: 20572061)和厦门大学人才引进基金(批准号: Z03120)资助项目

\* 联系人, E-mail: [daxiong@xmu.edu.cn](mailto:daxiong@xmu.edu.cn), [yfzhao@xmu.edu.cn](mailto:yfzhao@xmu.edu.cn)

氨基酸和磷酸化核苷酸功能基的合成研究, 发现通过磷酸化氨基酸和核苷酸反应, 磷酸化氨基酸的 P-N 键能够转移到多肽键和磷酸酯键上, 形成各种氨基酸和核苷酸的聚合物<sup>[10]</sup>. 因此, 提出将 N 端磷酸化氨基酸衍生物(如核苷-5'-磷酸化氨基酸化合物)作为一个研究生命起源问题的模型化合物, 即基因密码子和手性同一起源的模型化合物. 虽然这个化合物模型明显是一种假设, 但是期望其对将来的实验研究有一定的指导作用.

### 1 氨基酸手性同一性模型的建立

在自然水环境下, 单个氨基酸和核苷酸分子的自发碰撞相互作用的几率非常低, 然而黏土、沙子、矿物质等参与, 将起到吸附浓缩以及催化生物分子聚合的作用<sup>[11,12]</sup>. 在这些物质中, 矿物质表面吸附尤其重要, 因为含有金属离子的矿物质具有强催化聚合反应能力. 带正电荷的矿物质表面容易选择性的浓缩、定向以及诱导带负电荷的分子发生聚合反应. 生物有机分子要想携带负电基团, 在自然状态下磷酸基应该是最有可能被选择的, 因为它在生命体系中起着非常关键的作用. 例如 DNA, RNA 等核糖类物质的结构骨架都是以磷酸基作为连接基团, 而且

磷酸化氨基酸在多肽合成化学中常作为一种活性前体<sup>[13,14]</sup>. 那么磷酸基来自哪里? 又如何从无机磷酸转化成能形成生命体的有机酸? 众所周知, 火山区域是生命起源的重要摇篮, 火山喷发将大量磷酸岩带上地表. 通过实验室模拟以及分析火山灰中挥发性物质冷凝后的成份, 发现磷酸岩的主要成分  $P_4O_{10}$ , 经过部分水解可以形成  $PO_2^{3-}$ ,  $P_3O_9^{3-}$ , 直链寡聚磷酸 (linearoligophosphate) 以及环三聚磷酸 (cyclictriphosphate,  $P_{3m}$ ) 等水溶性磷酸聚合物<sup>[15]</sup>. 在远古荒芜之地的水体中, 由于钙镁离子的含量很高, 大部分可溶性磷酸离子都被沉淀为不溶物<sup>[16]</sup>. 而水溶性环三聚磷酸  $P_{3m}$  呈六元环, 能够发生开环反应, 与氨基酸形成带有 P-N 键的磷酸化氨基酸<sup>[17]</sup>, 与核苷形成单核苷酸<sup>[18]</sup>, 然后逐渐形成磷酸化体系, 其中可能存在模型分子核苷-5'-磷酸化氨基酸化合物(图 1). 图 1 显示磷在生命起源中扮演的重要角色: 带负电荷的磷酸基不仅能作为使矿物表面吸附前生物分子的媒介, 而且起到连接前生物分子和激活前生物分子的作用.

关于图 1 磷酸化体系中的各种聚合物是否可能生成, 我们通过实验做了初步研究<sup>[19]</sup>. 例如, 在室温条件和嘧啶非水溶液中将 DIPPTThr 分子(N-(O,O-diisopropyl) phosphothreonine)与腺嘌呤(A)、尿嘧啶

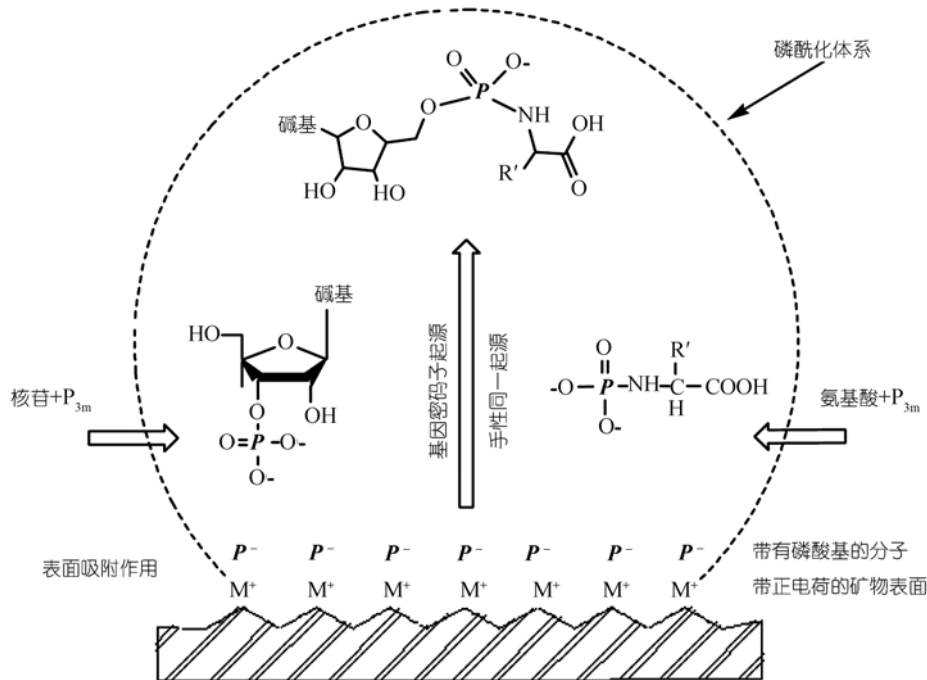


图 1 磷在生命分子进化中所起的作用

(U)、胞嘧啶(C)和鸟嘌呤(G)4种核苷反应,通过快原子轰击质谱(FAB-MS)、高效液相色谱(HPLC)、紫外光谱(UV)、毛细管电泳与质谱连用(CE-MS)等技术方法检测,其产物有(Thr)<sub>2-4</sub>, DIPP(Thr)<sub>2-4</sub>, XpX, (Xp)<sub>2</sub>, (Xp)<sub>2</sub>-Thr等,其中X表示4种核苷分子.这些聚合体的生成暗示在远古地球上多肽和寡聚核苷酸有可能同时形成.特别是基于(Xp)<sub>2</sub>-Thr产物的出现和磷酸酯键较强的抗水解特性<sup>[20]</sup>,推测在生命起源的化学进化阶段氨基酸将通过磷酸酯键与单体核苷酸聚合,而这种酯键连接又极大地促进了氨基酸侧链和核苷酸碱基之间相互作用,甚至是识别作用.因此,核苷-5'-磷酸化氨基酸共价化合物很可能是基因密码子和手性同一起源的始祖分子.基于以上假设,我们建立了一个起源结构模型(图2).根据密码子三联体理论<sup>[21]</sup>,主要和氨基酸产生空间相互作用的是密码子前2个核苷酸,其中第二个核苷酸尤其重要,所以在图2模型中,磷酸出现在5'端,也就是和第二个核苷酸相连.以上假设虽然需要追溯到很久以前,但是我们的实验和理论研究还是可以证实其中的部分推断是合理和可靠的.

## 2 实验研究

为了探讨氨基酸侧链和核苷碱基之间的空间关系,我们合成了一系列 Ser:Urd 类型(2',3'-Isopropyl-

ideneuridine 5'-isopropyl methoxyserinyl phosphamide)的核苷衍生物.合成过程如图3<sup>[22]</sup>,并用核磁的NOE效应表证了合成化合物的部分结构.核磁图谱(图4)显示尿苷(Urd)中碱基上的H6氢原子和戊糖上H1'和H2'两个氢原子有明显的NOE相干峰,这表明Ser:Urd化合物的碱基采取了顺式构象,其原因归结为丝氨酸侧链上的羰基、羟基和尿苷碱基之间形成两对氢键:一对是丝氨酸的羰基氧和碱基氮(N3)上的氢;另一对是丝氨酸的β-羟基上的氢和碱基氧(O2),见图2.以上推断说明,丝氨酸的羰基、羟基和尿苷碱基之间存在的强烈相互作用导致了碱基反式构象的形成.其他氨基酸侧链和核苷碱基之间也普遍存在着类似的相互作用.对于丙氨酸和缬氨酸等含有非极性侧链的氨基酸,氢键可能在羧基酸性基团和碱基之间形成,而对于含有芳香烃侧链的氨基酸,可能存在显著的芳环侧链和碱基平面的π-π叠合.以上研究结果为手性选择理论模型提供了非常重要的实验基础.

## 3 分子模拟结果和讨论

为了根据图2的结构模型来阐明手性选择性,本文计算了大约160种由氨基酸和核苷酸组合的化合物(20个氨基酸 × 4个核苷酸 × 2种手性对映体)的相对生成焓.由于在生成各种核苷-5'-磷酸化氨基酸

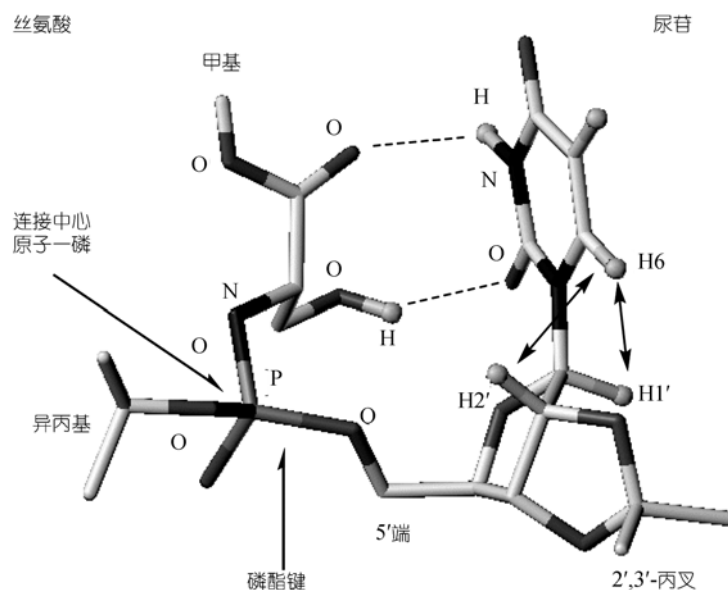


图2 带有P—N键的核苷-5'-磷酸化氨基酸类化合物的结构模型  
虚线表示氢键

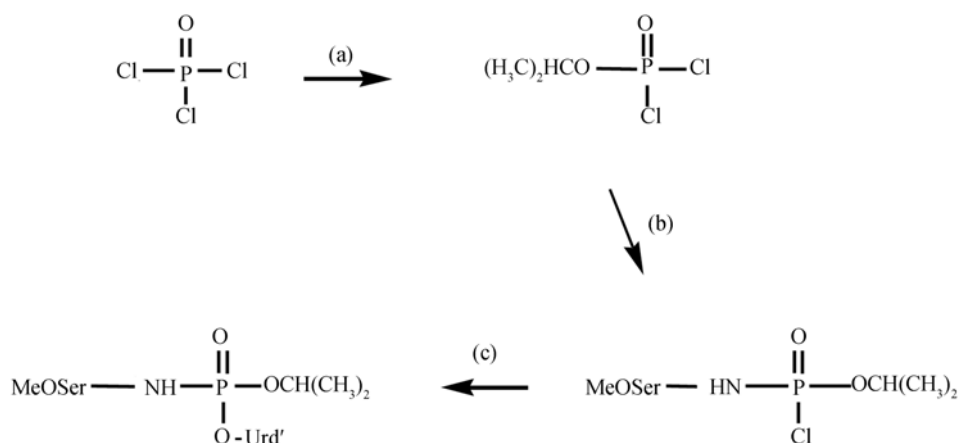


图 3 合成 Ser:Urd 化合物的试剂和条件

(a) 异丙醇, 三乙胺, 无水二乙基醚, 0 , 2 h, 升至室温, 5 h; (b) L 型丝氨酸甲酯氯化物, 三乙胺, 无水二氯甲烷, -70 , 2 h, 升至室温, 6 h; (c) 2',3'-尿苷丙叉(Urd'), 三乙胺, 无水四氢呋喃, 升至室温, 24-48 h

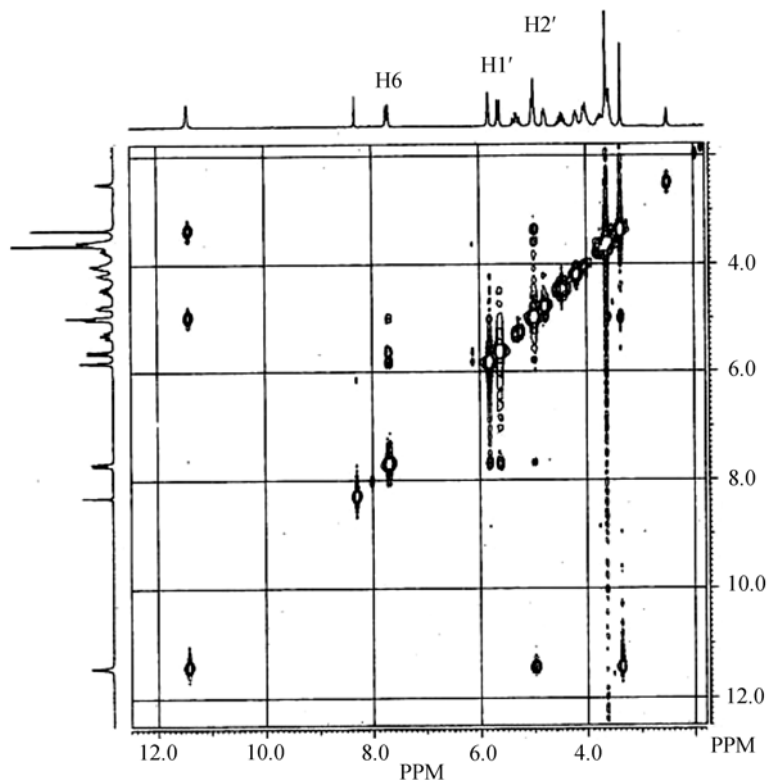


图 4 在 DMSO 溶液中 Ser:Urd 化合物的 500 MHz NOE 图谱

化合物时存在着同样键的打破和形成, 因此相对生成焓近似等于反应前氨基酸、脱氧核苷、磷酸等片段势能之和与反应后共价化合物的势能之差<sup>[23]</sup>. 相对生成焓, 也就是基于分子力学方法计算出来的反应前后的势能差, 恰好能展示手性氨基酸和脱氧核苷酸之间的空间相互作用能. 首先, 手工搭建核苷-5'-

磷酸化氨基酸化合物的初始结构(图 2), 在这个结构中, 尽可能使氨基酸侧链和核苷酸碱基靠近, 形成氢键构型. 然后, 将化合物溶解于一个 2 nm , 包含 TIP3P 水分子的箱中. 每一个化合物的最佳构象均来自分子动力学采样, 即在水箱中执行分子动力学平衡 10 ps 后, 再持续 1 ps 进行采样, 采样间隔时间为

0.2 ps. 化合物的 5 个构象被采出, 并从水箱中提取出后分别进行能量最小化, 将能量最低构象用于相对势能计算. 各种化合物分子结构的能量最小化通过共扼梯度法完成, 收敛标准为  $4.18 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{nm}^{-1}$ . 全部计算用一台 3.0 G PC, 在 MM+分子力学力场下完成, 软件为 *HyperChem 6.0* [24] (介电常数为 1.0).

表 1 和图 5 分别列出由手性氨基酸和核苷酸随机组合形成的化合物的相对生成焓. 图 5 中实线代表 L 型氨基酸形成化合物(L-aas)的生成焓, 虚线代表 D 型氨基酸形成化合物(D-aas)的生成焓. 生成焓越低, 意味着氨基酸越容易和脱氧核苷酸结合. 统计资料显示脱氧核苷酸选择和 L 型氨基酸结合的几率是 59.21%, 与 D 型是 40.79%. 其对应于图 5, 这两条生成焓的连接线是交叉的. 图 5 中从左到右氨基酸顺序是按照起源顺序排列, 最左侧甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、丝氨酸(Ser)、天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)以及缬氨酸(Val)是最古老氨基酸[25,26]. 其 L 型被核苷酸的选择率为 90.00%, D 型为 10.00%, 对应于图 5 势能线的左侧, 实线明显比虚线偏低, 也就是说对于古老氨基酸, L 型显著要比 D 型容易和核苷酸结合. 生成焓是一个传统的热力学参数, 在此, 基于分子力学模拟方法, 生成焓主要由氢键、范德华力、静电等能量组成. 这些作用能显著地依赖于氨基酸侧链和核苷酸碱

基之间的位阻、取向等空间关系以及它们的物理化学特征. 因此, 古老氨基酸手性的选择似乎严格遵守了“立体/物理化学决定论”[27,28], 这和基因密码子起源非常一致.

然而, 对于另一部分氨基酸, 特别是晚期氨基酸, 基于相对生成焓计算值, L 型并不比 D 型更容易和核苷酸结合(见图 5, 2 条势能线的交叉区域). 这说明对于晚期氨基酸在手型选择上某种程度已经抛弃了“立体/物理化学决定论”, 换句话说, 用“立体/物理化学决定论”并不能解释晚期氨基酸的手性选择性特征. 类似于基因密码子的共起源假设[4,5], 我们推测: 首先出现的先驱氨基酸, 特别是那 5 个古老氨基酸, 选择了 L 型异构体, 其他氨基酸起源于这些先驱氨基酸的生物合成演化, 它们的手性将完全可能继承先驱氨基酸的手性, 最后, 随着氨基酸的进化, 生命体系中手性同一逐渐完成. 对于古老氨基酸和晚期氨基酸为何表现出 L, D 型势能差值与氨基酸出现早晚相关, 解释如下: 对于古老氨基酸, 其侧链比较简单, D-型戊糖的不对称环境会对体系构象产生显著地影响, 进而影响体系势能; 而对于晚期氨基酸, 其侧链相对复杂, D-型戊糖的不对称环境的影响相对减弱. 因此, 我们推测核苷糖环的不对称及其手型可能造成手性氨基酸和核苷结合化合物的 L, D 型势能差异.

表 1 156 核苷-5'-磷酸化氨基酸化合物的相对生成焓<sup>a)</sup> (单位:  $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ )

	腺嘌呤		胞嘧啶		鸟嘌呤		尿嘧啶	
	L-	D-	L-	D-	L-	D-	L-	D-
Gly		<b>17.05</b>		22.95		19.35		25.75
Ala	31.64	35.03	34.53	34.44	<b>29.89</b>	31.31	33.23	31.89
Ser	36.45	45.94	31.10	32.06	<b>23.49</b>	27.50	31.39	33.02
Asp	29.80	36.37	33.48	37.79	<b>22.91</b>	30.22	35.40	39.04
Glu	<b>39.21</b>	47.36	44.27	48.95	41.34	45.48	43.72	49.95
Val	29.68	39.21	33.44	40.55	<b>24.12</b>	37.54	35.82	42.68
Pro	45.06	54.17	<b>38.96</b>	40.67	43.18	43.35	45.60	55.18
Thr	23.66	<b>16.93</b>	25.71	19.77	24.79	19.14	27.63	20.98
Leu	41.63	41.17	43.10	39.79	<b>26.38</b>	38.87	48.15	53.46
Ile	23.41	37.95	27.34	31.39	<b>20.27</b>	22.70	29.76	33.36
Phe	31.81	25.92	44.60	38.58	32.81	<b>23.95</b>	45.48	39.17
Tyr	26.54	16.47	38.50	24.62	21.15	<b>13.13</b>	35.99	16.55
Cys	37.54	26.67	29.55	<b>25.21</b>	30.76	26.71	32.06	26.88
Lys	19.23	26.42	<b>17.39</b>	31.10	17.60	22.86	19.27	22.95
Arg	35.36	35.99	26.88	<b>20.90</b>	28.88	31.18	30.68	25.08
His	34.86	<b>17.35</b>	40.09	30.10	30.68	19.98	40.34	32.56
Met	27.42	34.32	<b>11.66</b>	22.15	30.01	31.22	36.07	39.38
Trp	28.67	28.42	36.28	35.20	27.63	<b>25.71</b>	39.08	37.66
Asn	33.86	43.26	23.37	43.81	<b>18.98</b>	42.76	37.62	34.40
Gln	33.02	46.11	20.06	30.93	<b>11.45</b>	15.72	20.77	28.80

a) 黑斜体分别代表每个氨基酸系列的最低生成焓

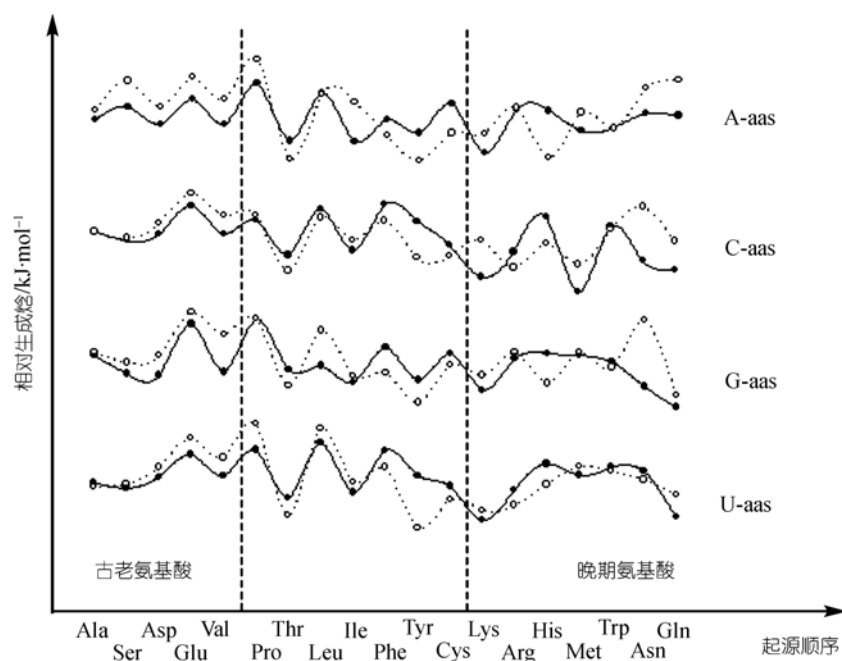


图 5 核苷-5'-磷酸化氨基酸化合物的相对生成焓  
实线表示 L 型氨基酸衍生物(L-aas); 虚线表示 D 型氨基酸衍生物(D-aas)

另外, 分子模拟结果还显示通过磷酸键的连接, 除了手性选择, 某个氨基酸对核苷酸的种类也有选择性. 表 1 的黑体字显示, 对于大多数氨基酸来说, 其最低生成焓集中于 G, C 区域, 特别是 G 区域. 显然, 由一个氨基酸和一个核苷酸组成的“一对一”起源模型建立起来的基因代码关系还是很差的. 但是还是值得一提, 因为它似乎揭示出基因密码子最原始形态的起源驱动力. 在基因密码子的最开始起源阶段, 可能存在着氨基酸和核苷酸的直接配对, 而且这种直接配对是从简单到复杂逐渐进化, 也就是在早期先有 G, C 编码, 然后出现 G, C, A, T 编码<sup>[29,30]</sup>. 表 1 中由 G, C 核苷酸和氨基酸组成的化合物的生成焓偏低, 暗示着 G, C 被选择为早期编码载体可能与其自身的化学特征相关.

#### 4 结论

通过应用分子模拟计算, 本文提出了氨基酸同一手性起源的新模型, 而且获得了一些有意义的结果. 首先, 我们认为在手性起源的早期阶段, 发生在氨基酸侧链和核苷酸碱基之间的立体相互作用有力地促进了古老氨基酸的 L 型异构体被选择作为生命

分子, 然后, 随着氨基酸的进化, 先驱氨基酸的手性被晚期氨基酸继承下来; 其次, 基于氨基酸和核苷酸的“一对一”起源模型, 该结合体系不仅能很好地揭示手性的选择, 而且也能在一定程度上显示氨基酸对核苷酸种类的选择性, 即特别偏好 G, C 核苷酸, 这对理解氨基酸和核苷酸的亲和力与基因密码子的关系很有帮助.

#### 参 考 文 献

- 1 Schimmel P, Giege R, Moras D, et al. An operational RNA code for amino acids and possible relationship to genetic code. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 8763—8768
- 2 Di Giulio M. On the origin of the genetic code. *J Theor Biol*, 1997, 187: 573—581
- 3 Di Giulio M. Physicochemical optimization in the genetic code origin as the number of codified amino acids increases. *J Mol Evol*, 1999, 49: 1—10
- 4 Wachtershauser G. The origin of life and its methodological challenge. *J Theor Biol*, 1997, 187: 483—494
- 5 Di Giulio M. Reflections on the origin of the genetic code: A hypothesis. *J Theor Biol*, 1998, 191: 191—196
- 6 Bonner W A. Parity violation and the evolution of biomolecular homochirality. *Chirality*, 2000, 12: 114—126
- 7 Bailey J. Chirality and the origin of life. *Acta Astronautica*, 2000, 46: 627—631

- 8 Jorissen A, Cerf C. Asymmetric photoreactions as the origin of biomolecular homochirality: A critical review. *Orig Life Evol Biosph*, 2002, 32: 129—142
- 9 Aylward N N, Bofinger N. The reactions of methanimine and cyanogen with carbon monoxide in prebiotic molecular evolution on earth. *Orig Life Evol Biosph*, 2001, 31: 481—500
- 10 Cheng C M, Liu X H, Li Y M, et al. N-phosphoryl amino acids and biomolecular origins. *Orig Life Evol Biosph*, 2004, 34: 455—464
- 11 Ferris J P, Hill A R, Liu R H, et al. Synthesis of long prebiotic oligomers on mineral surfaces. *Nature*, 1996, 381: 59—61
- 12 Zaia D A M. A review of adsorption of amino acids on minerals: As it is important for origin of life? *Amino Acids*, 2004, 27: 113—118
- 13 Eschenmoser A. Chemistry of potentially prebiological natural products. *Origins Life Evol Biosph*, 1994, 24: 389—423
- 14 Baltscheffsky H, Blomberg C, Liljenstrom H, et al. On the origin and evolution of life: An introduction. *J Theor Biol*, 1997, 187: 453—459
- 15 Yamagata Y, Watanabe H, Saitoh M, et al. Volcanic production of polyphosphates and its relevance to prebiotic evolution. *Nature*, 1991, 352: 516—519
- 16 Kolb V, Zhang S B, Xu Y, et al. Mineral induced phosphorylation of glycolate ion—a metaphor in chemical evolution. *Orig Life Evol Biosph*, 1997, 27: 485—503
- 17 Tshako M, Nakahama A, Ohashi S, et al. The reaction of cyclo-triphosphate with ethylenediamine. *Bull Chem Soc Jpn*, 1983, 56: 1372—1377
- 18 Tshako M, Fujimoto M, Ohashi S, et al. Phosphorylation of nucleosides with cyclo-triphosphate. *Bull Chem Soc Jpn*, 1984, 57: 3274—3280
- 19 Zhou W H, Ju Y, Zhao Y F, et al. Simultaneous formation of peptides and nucleotides from N-phosphothreonine. *Orig Life Evol Biosph*, 1996, 26: 547—560
- 20 Arrhenius G, Sales B, Mojzsis S, et al. Entropy and charge in molecular evolution—the case of phosphate. *J Theor Biol*, 1997, 187: 503—522
- 21 Seligmann H, Amzallag G N. Chemical interactions between amino acid and RNA: Multiplicity of the levels of specificity explains origin of the genetic code. *Naturwissenschaften*, 2002, 89: 542—551
- 22 McGuigan C, Pathirana R N, Balzarini J, et al. Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. *J Med Chem*, 1993, 36: 1048—1052
- 23 韩大雄, 杨 频. 分子模拟手性金属配合物  $\Delta, \Lambda$ -[Co(phen)<sub>2</sub>-dppz]<sup>3+</sup> 与 B-DNA 的作用模型. *中国科学 B 辑: 化学*, 2000, 30: 392—398
- 24 HyperChem Release 6.0, Hypercube Inc. 2000
- 25 Trifonov E N. Consensus temporal order of amino acids and evolution of the triplet code. *Gene*, 2000, 261: 139—151
- 26 Di Giulio M. The coevolution theory of the origin of the genetic code. *Phys Life Rev*, 2004, 1(2): 128—137
- 27 Szathmary E. Coding coenzyme handles: A hypothesis for the origin of the genetic code. *Pro Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 9916—9920
- 28 Di Giulio M, Medugno M. The historical factor: the biosynthetic relationships between amino acids and their physico-chemical properties in the origin of the genetic code. *J Mol Evol*, 1998, 46: 615—621
- 29 Hartman H. Speculations on the origin of the genetic code. *J Mol Evol*, 1995, 40: 541—544
- 30 Ikehara K, Omori Y, Arai R, et al. A novel theory on the origin of the genetic code: A GNC-SNS hypothesis. *J Mol Evol*, 2002, 54: 530—538