

## ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОЛИПЕПТИДА ЦИТОХРОМА *b* КРАСНО-СЕРОЙ ПОЛЕВКИ (*Craseomys rufocanus*)

© 2022 г. В. В. Переверзева\*, @, Н. Е. Докучаев\*, А. А. Примаков\*, Е. А. Дубинин\*

\*Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, ул. Портовая, 18, Магадан, 685000 Россия

@E-mail: vvpereverzeva@mail.ru

Поступила в редакцию 19.03.2020 г.

После доработки 28.05.2021 г.

Принята к публикации 01.07.2021 г.

На основании собственных и заимствованных из доступных источников данных рассматривается полиморфизм полипептида цитохрома *b* красно-серой полевки (*Craseomys rufocanus* Sundevall, 1846) в популяциях Северо-Восточной Азии. Обнаружено 27 изоформ аминокислотной последовательности фермента. Проведен сравнительный анализ частот вариантов цитохрома *b* в выборках красно-серой полевки. В модели вторичной структуры энзима определена локализация аминокислотных замен. Методы TreeSAAP-анализа, Снита, Бачинского и Грэнтсема достоверно подтверждают консервативный тип аминокислотных замен, что свидетельствует о действии стабилизирующего отбора, направленного на сохранение двух физико-химических свойств у ряда вариантов полипептида.

**Ключевые слова:** красно-серая полевка, *Craseomys rufocanus*, ген цитохрома *b* (*cytb*), изоформы фермента цитохрома *b* (*Cytb*), генетическое разнообразие, филогенетический анализ

**DOI:** 10.31857/S1026347022020147

В области молекулярной филогеографии различных видов млекопитающих широко используются данные о полиморфизме нуклеотидной последовательности гена цитохрома *b* (*cytb*) (Abramson *et al.*, 2012; Богданов и др., 2015; Малярчук и др., 2015a, 2015b; Kohli *et al.*, 2015; Petrova *et al.*, 2015; Faerman *et al.*, 2017; Григорьева и др., 2018; Ялковская и др., 2018). При этом изменчивость аминокислотного строения фермента цитохрома *b* (*Cytb*) почти не изучена (Малярчук, 2011; Переверзева и др., 2016, 2020). Ранее обсуждалась возможность адаптивной эволюции митохондриальных ферментов, основанной на изменении биоэнергетики митохондрий, которая может определять вектор внутривидовой дифференциации (Gershoni *et al.*, 2009). В отношении некоторых видов северных животных было показано, что под влиянием адаптации процесс внутривидовой дивергенции редко сопровождается радикальными аминокислотными заменами, возникающими в полипептиде *Cytb* (Малярчук, 2011). У *Clethrionomys rutilus* обнаружен высокий уровень полиморфизма фрагмента (253 аминокислоты) *Cytb* (Переверзева, Примаков, 2016; Переверзева и др., 2020). В ходе предварительного исследования было найдено, что большинство замен в нуклеотидной последовательности *cytb* у *Craseomys rufocanus* являются синонимичными, но часть выявленных мутаций обуславливает изменение аминокислотной по-

следовательности полипептида *Cytb* (Переверзева и др., 2016). Цель настоящей работы – провести развернутый анализ полиморфизма аминокислотной последовательности фермента *Cytb* в разных популяциях красно-серой полевки, населяющих Северо-Восточную Азию.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ранее нами был проанализирован полиморфизм полной нуклеотидной последовательности гена *cytb* красно-серой полевки в ряде популяций Северного Приохотья, бассейна р. Колыма и Чукотки (Переверзева и др., 2016, 2018). В настоящей работе на основании компьютерных программ MEGA 10.0.4 (Tamura *et al.*, 2013) и TreeSAA (Woolley *et al.*, 2003) исследовали полиморфизм полной аминокислотной последовательности полипептида *Cytb*. Исследовали 235 экз. красно-серых полевок из 6 островных и 7 материковых локальностей Магаданской области и Чукотки (табл. 1).

Гаплотипы гена *cytb* красно-серых полевок бассейна Колымы и материковой части Северного Приохотья обозначены аббревиатурой КСРсб, о. Талан – ТКСРсб1, о. Спафарьева – СКСРсб1, о. Умара – УКСРсб1, о. Завьялова – ЗКСРсб1-ЗКСРсб9 и Чукотки – АКСРсб (GenBank №№ KR059876-KR059903; KX082722-KX082750). Для

**Таблица 1.** Характеристика выборок красно-серой полевки из популяций Магаданской области и Чукотки

Места сбора материала					Объем выборки	Число <i>cytb</i> - гаплотипов	Число изоформ полипеп-тида <i>Cytb</i>
Северное Приохотье	Острова Тауйской губы:	<i>L</i>	<i>S</i>	<i>t</i>			
	Спафарьева	7	32	10.5	5	1	1
	Талан	7	1.6	10	13	1	1
	Недоразумения	2.2	4.5	7	19	3	2
	Завьялова	19	116	13	48	9	6
	Вдовушка	0.2	0.04	5–6	10	1	1
	Умара	1.5	0.3	5–6	24	1	1
	п-ов Старицкого				23	4	3
	п-ов Кони				24	11	3
	бассейн реки Дукча				35	12	5
	бассейн реки Челомджа				13	5	3
	бассейн реки Гижига				3	3	3
Бассейн реки Колыма	35 км ниже поселка Дебин				16	11	7
Чукотка	побережье Анадырского лимана				2	2	1
Всего:					235	64	37

Примечание. *L* – удаленность острова от материка (км); *S* – площадь острова (км<sup>2</sup>); *t* – время отделения острова от материка (тыс. л. н.)

проведения филогенетического анализа, помимо собственных данных, из GenBank были взяты сведения о полной нуклеотидной последовательности гена *cytb* 13-ти красно-серых полевок из различных популяций Дальнего Востока и Восточной Сибири – №№ GenBank NM165372 (Китай, Liu *et al.*, 2012); AB675444-AB675446 (о. Сахалин), AB675447-AB675449 (окрестности г. Иркутска), AB676833-AB676836 (о. Хоккайдо, Япония) (Kariwa *et al.*, 2012 не опубликовано); AY309412 (Cook *et al.*, 2004 окрестности г. Магадана); AB031580 (Iwasa *et al.*, 2000 окрестности г. Магадана). Принадлежность исследуемых *cytb*-гаплотипов к гаплогруппам проводили в соответствии с классификацией, предложенной Н.И. Абрамсон (Abramson *et al.*, 2012). Для определения степени полиморфизма нуклеотидных последовательностей *cytb*-гаплотипов, кодирующих у красно-серых полевок варианты энзима FKCP1-FKCP3, в пакете программ ARLEQUIN рассчитанные индексы молекулярного разнообразия ( $\pi$ ,  $h$  и  $Pi$ ). Картирование гена *cytb* проводили относительно полной нуклеотидной последовательности мтДНК *C. rufocanus* GenBank № KT725595 (Lu *et al.*, 2015). В качестве внешней группы использовали последовательность нуклеотидов гена *cytb* *C. rutilus* GenBank № JX477342.

Сайты несинонимичных нуклеотидных замен и аминокислотные последовательности обнаруженных вариантов полипептида *Cytb* определяли в программе MEGA. Для кластерного анализа *cytb*-гаплотипов построено филогенетическое дерево по методу максимального правдоподобия (ML) с использованием бипараметрической модели Кимуры, учитывающей разную вероятность транзиций и трансверсий и выбранной с помощью байесовского информационного критерия. Оценку устойчивости узлов ветвления осуществляли бутстреп-методом (1000 итераций), позволяющим оценить надежность обособления клад. ML-метод построения дерева дает возможность получить максимально правдоподобный вариант филогенетических отношений между исследуемыми последовательностями нуклеотидов.

В работе применяется однобуквенное обозначение аминокислот, рекомендуемое ИЮПАК (IUPAC). Топология аминокислотных замен в пространственной конфигурации фермента *Cytb* дана в соответствии с представленными в публикациях (Howell *et al.*, 1989; Irwin *et al.*, 1991; McClellan *et al.*, 2005). Для оценки адаптивности изменений в гене *cytb* использована программа TreeSAAP, которая определяет селективные воздействия в процессе кладогенеза на 31 структур-

ное и биохимическое физико-химическое свойство аминокислот с использованием  $z$ -теста (Woolley *et al.*, 2003). Это позволяет оценить замены аминокислот в восьми категориях значимости ( $m_c$ ) и определить тип отбора: при стабилизирующем отборе сохраняются консервативные аминокислотные замены ( $m_c = 1 - m_c = 3$  при  $z > 3.09$ ,  $P < 0.001$ ), а при движущем – радикальные ( $m_c = 6 - m_c = 8$  при  $z > 3.09$ ,  $P < 0.001$ ).

Характер выявленных аминокислотных замен в полипептидной последовательности фермента *Cytb* красно-серой полевки также оценивали методами Снита, Бачинского и Грэнтсема (Бутвиловский и др., 2009). В основе метода Снита лежит анализ физико-химических свойств аминокислот. Количественно оцененным физико-химическим свойствам присваиваются числовые значения и подразделяют их на классы. Коэффициент Снита характеризует степень подобия аминокислот и рассчитывается по определенной формуле. Метод Бачинского основан на анализе числа замен аминокислот в семействах изофункциональных белков. В результате анализа определена “функциональная близость аминокислот” – степень взаимозаменяемости в белке одной аминокислоты на другую. Метод Грэнтсема учитывает характеристики боковых радикалов аминокислот: элементный состав, полярность и объем. Во всех трех методах замене одной аминокислоты на другую присваивается коэффициент. В каждом методе консервативные и радикальные замены разделены пороговым значением соответствующего коэффициента (по Сниту – 0.416; по Бачинскому – 12.4; по Грэнсеми – 57.9). При большем значении коэффициента – замена консервативная, при меньшем – радикальная (Бутвиловский и др., 2009).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В нуклеотидных последовательностях гена *cytb* мтДНК 235-ти красно-серых полевок Магаданской области и Чукотки было выявлено 73 замены, определяющие 53 *cytb*-гаплотип. Доля переменных позиций составляла 0.0630 от общей длины гена *cytb*. Соотношение синонимичных/несинонимичных нуклеотидных замен соответствовало 0.7945/0.2055. Доля транзиций в первой позиции триплета 0.2192 (0.1233 несинонимичные). Все транзиции во второй позиции (доля – 0.0548) приводят к аминокислотным заменам. Транзиции в третьей позиции триплета (0.6164) синонимичные. Доля трансверсий в первой 0.0411 (0.0137 – несинонимичные) и третьей 0.0685 (0.0137 – несинонимичные) позиции триплета. С учетом полных нуклеотидных последовательностей красно-серых полевок, представленных в GenBank, в общей сложности у 248 образцов найдено 106 замен, кодирующих 65 *cytb*-гаплотипов. В совокупной

выборке отношение синонимичных/несинонимичных нуклеотидных замен составляет 0.8019/0.1981. Доля транзиций в первой позиции триплета 0.1698 (0.1132 несинонимичные). Все транзиции во второй позиции (доля – 0.0472) несинонимичные. Транзиции в третьей позиции (0.7264) синонимичные. Доля трансверсий в первой позиции 0.0283 (несинонимичных 0.0094) и третьей 0.0754 (несинонимичных 0.0094). Полученные результаты не противоречат данным о соотношении транзиций и трансверсий и обычном распределении нуклеотидных замен в триплетах (Nei, 1987; Hassanin *et al.*, 1998; Nei, Kumar, 2000). С использованием пакета программ MEGA у 235-ти красно-серых полевок Магаданской области и Чукотки также определено 21 изоформа аминокислотной последовательности *Cytb*, которые различаются 16 аминокислотными заменами. С учетом полных нуклеотидных последовательностей красно-серых полевок, взятых из GenBank, у 348 образцов найдено в общей сложности 27 полиморфных аминокислотных последовательностей, различающихся 20 заменами (рис. 1). В табл. 2 и 3 приведены доли вариантов полипептида *Cytb* у *S. rufocanus* в выборках из исследованных популяций красно-серых полевок Северного Приохотья и бассейна р. Колыма.

Ранее было показано, что у красно-серых полевок Северного Приохотья, бассейна р. Колыма и Анадырского лимана в совокупности найдено 31 гаплотип субклады С2 и 22 гаплотипа С1-вариантов *cytb* (Переверзева и др., 2018).

Обнаруженные у *S. rufocanus* Северного Приохотья 26 С2-гаплотипов кодируют 12 вариантов полипептида *Cytb* (FKCP1-FKCP3, FKCP5-FKCP7, FKCP9-FKCP11, FKCP13-FKCP15), 16 гаплотипов субклады С1 определяют аминокислотную последовательность 13 изоформ фермента (FKCP1-FKCP4, FKCP11, FKCP12, FKCP16-FKCP21). В аминокислотной последовательности *cytb* красно-серых полевок Северного Приохотья суммарно определено 15 замен.

У *S. rufocanus* бассейна Колымы обнаружено 8 вариантов гена *cytb*, относящихся к субкладе С2, которые определяют 6 вариантов полипептида *Cytb* (FKCP1-FKCP3, FKCP9-FKCP11) и 2 *cytb*-гаплотипа сублинии С1, кодирующие изоформу FKCP4 полипептида *Cytb*. Гаплотип KCPcb18 (содержит информацию об аминокислотной последовательности варианта FKCP2) является связующим звеном между этими подгруппами. В общей сложности аминокислотное строение полипептида *Cytb* полевок бассейна Колымы различается шестью аминокислотными заменами.

У красно-серых полевок, отловленных на Чукотке, 2 гаплотипа субклады С1 кодируют вариант аминокислотной последовательности FKCP1.

		1 1 1 1 2 2	2 3 3 3 3 3 3 3 3
		2 4 5 6 0 0 1 2 1 3	9 1 2 3 3 5 7 7 7 8
		3 2 3 7 2 9 5 1 3 2	9 6 7 3 8 3 2 4 8 0
FKCP1		ATMTVMMF SV	MATFITTND
FKCP2		T.....	.....
FKCP3		.....I.....	.....
FKCP4		T.....	.T.....
FKCP5		.....	.I.....
FKCP6		.....	.L.....
FKCP7		.T.A.....	.....
FKCP8		.....P.....	.....
FKCP9		.....I.....	.I.....
FKCP10		.TT.....	.....
FKCP11		T...I.....	.....
FKCP12		.....I.....	L.....
FKCP13		.M.....	.....
FKCP14		.....A.....	.T.....
FKCP15		.....	.T.....
FKCP16		T..AI.....	L.....
FKCP17		.....I..P.....	.....V.....
FKCP18		T...I.....	L.....
FKCP19		.....	.....N
FKCP20		T.....L.....	.....
FKCP21		T.....L.....	.....
FKCP22	HM165372	.....T.....	.....
FKCP23	AB676835	.....	.....M.....
FKCP24	AB675444	.....	.....A..N.....
FKCP25	AB675445	.....	.T..A.....
FKCP26	AB675446	.....	.....A.....
FKCP27	AB675449	.....	L.....K.....

**Рис. 1.** Аминокислотные замены в изоформах полипептида цитохрома *b* у красно-серой полевки. Замены представлены относительно аминокислотной последовательности варианта FKCP1. Сайты замен показаны от начала полипептида цитохрома *b*.

Результаты детекции филогенетических связей гаплотипов представлены на ML-дендрограмме (рис. 2). Наличие двух крупных кластеров с высокими значениями бутстреп-индексов обусловлено генетической обособленностью C1 и C2 сублиний красно-серых полевков. Кластеры полиморфны по структуре и подразделяются на субкластеры, часть из которых имеет значимые (>50%) бутстреп-индексы в узлах ветвления. В гаплогруппе C2 наиболее значительную бутстреп-поддержку имеют две субклады. Бутстреп-индекс 95% у ветви, образованной нуклеотидными последовательностями красно-серых полевков отловленных в бассейнах рек Челомджи KCPcb7 (кодирует FKCP7) и Колымы KCPcb16 (кодирует

FKCP10). Бутстреп-индекс 96% у субклады, сформированной образцами AB675447 и AB675448 (кодирующих FKCP1) мтДНК особей, добытых в окрестностях г. Иркутска. Ветви остальные исследованных нуклеотидных последовательностей красно-серых полевков Магаданской области, окрестностей Иркутска (AB675449, кодирует FKCP27) и о. Хоккайдо (AB676833 и AB676834 кодируют FKCP1; AB676835 кодирует FKCP23) столь значимой поддержки не имеют. В гаплогруппе C1 бутстреп-индекс 83% у субклады, образованной *cytb*-гаплотипами KCPcb20 и KCPcb21 (кодируют FKCP4) красно-серых полевков, отловленных в бассейне р. Колымы. Бутстреп-индекс 68% имеет субклада, образованная гаплотипами KCPcb25

**Таблица 2.** Доля изоформ полипептида цитохрома *b* у красно-серых полевков в выборках из островных популяций Северного Приохотья

Изоформа полипептида	Острова Тауйской губы					
	Спафарьева	Талан	Недоразумения	Завьялова	Вдовушка	Умара
FKCP1	0.0000	0.0000	0.2223	0.0000	1.0000	0.0000
FKCP2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	1.0000
FKCP3	0.0000	0.0000	0.0000	0.3958	0.0000	0.0000
FKCP5	0.0000	0.0000	0.7778	0.0000	0.0000	0.0000
FKCP6	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
FKCP11	0.0000	0.0000	0.0000	0.1667	0.0000	0.0000
FKCP12	0.0000	0.0000	0.0000	0.2708	0.0000	0.0000
FKCP16	0.0000	0.0000	0.0000	0.0833	0.0000	0.0000
FKCP17	0.0000	0.0000	0.0000	0.0208	0.0000	0.0000
FKCP18	0.0000	0.0000	0.0000	0.0625	0.0000	0.0000
FKCP19	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

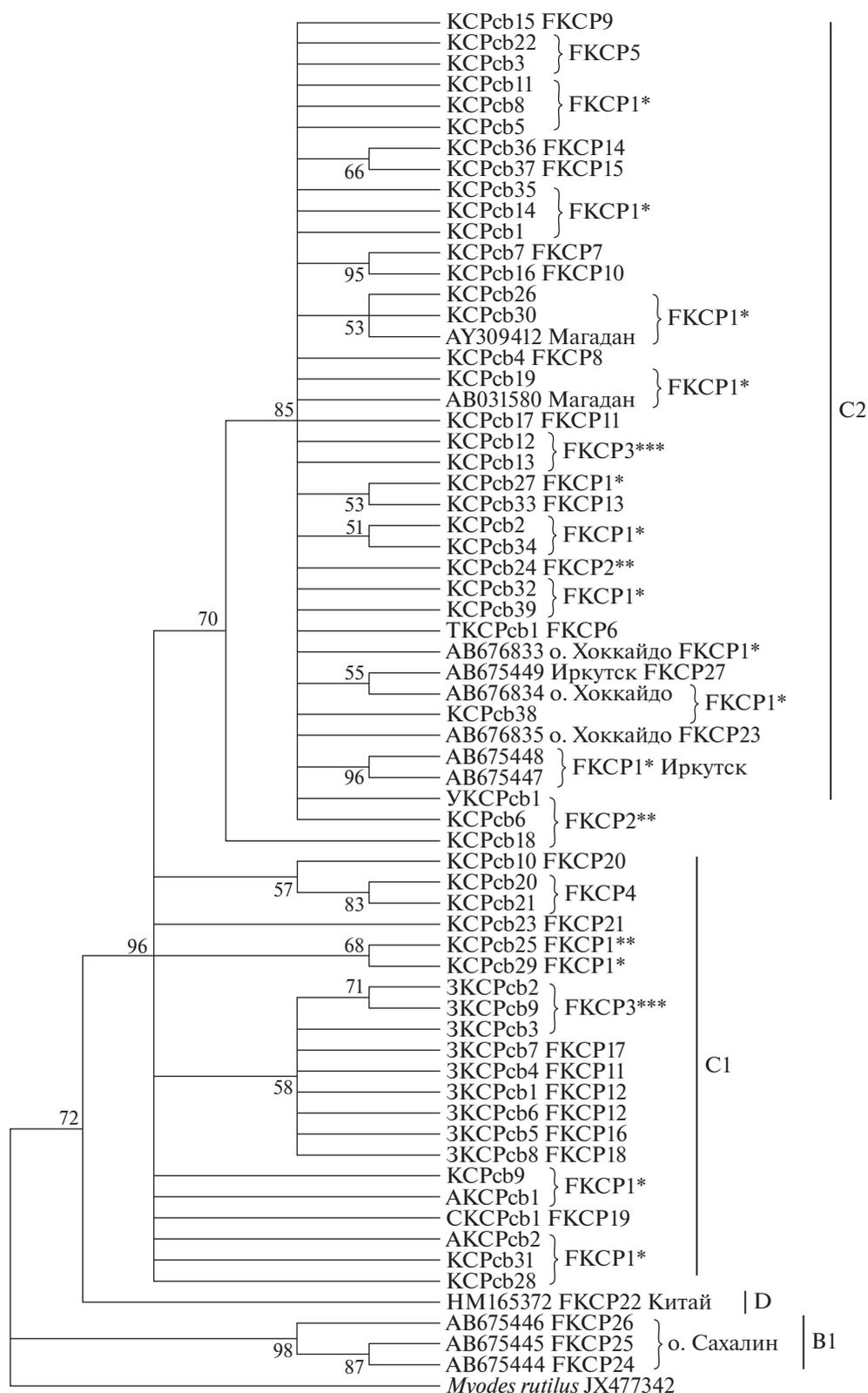
**Таблица 3.** Доля изоформ полипептида цитохрома *b* у красно-серых полевков в выборках из материковых популяций Магаданской области

Изоформа полипептида	Материковая часть Северного Приохотья					Бассейн реки Колыма
	Полуостров Старицкого	Полуостров Кони	Бассейн реки Дукча	Бассейн реки Челомджа	Бассейн Реки Гижига	
FKCP1	0.9000	0.9167	0.6857	0.8461	0.3333	0.2500
FKCP2	0.0000	0.0000	0.1714	0.0769	0.0000	0.0625
FKCP3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1875
FKCP4	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1250
FKCP5	0.0500	0.0000	0.0857	0.0000	0.0000	0.0000
FKCP7	0.0000	0.0000	0.0000	0.0769	0.0000	0.0000
FKCP8	0.0500	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
FKCP9	0.0000	0.0417	0.0000	0.0000	0.0000	0.1875
FKCP10	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0625
FKCP11	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1250
FKCP13	0.0000	0.0417	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
FKCP14	0.0000	0.0000	0.0286	0.0000	0.0000	0.0000
FKCP15	0.0000	0.0000	0.0286	0.0000	0.0000	0.0000
FKCP20	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.3333	0.0000
FKCP21	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.3333	0.0000

(кодирует FKCP2; особь отловлена в устье р. Дукча) и KCPcb29 (кодирует FKCP1, экземпляр добыт на п-ове Кони). Единую компактную субкладу с бутстреп-индексом 58% формируют нуклеотидные последовательности особей о. Завьялова ZKCPcb1-ZKCPcb9. Остальные C1-нуклеотидные последовательности KCPcb28, KCPcb31 (отловлены на п-ове Кони) и AKCPcb1 и AKCPcb2 (кодируют FKCP1); SKCPcb1 (кодирует FKCP19)

и KCPcb23 (добытый в бассейне р. Гижига, кодирует FKCP21) значимых различий не имеют.

Представленный в GenBank образец NM165372 (кодирует FKCP22) отловленного в Китае экземпляра, относится к генетической линии D. Гаплотипы добытых на о. Сахалине красно-серых полевков AV675444-AV675446 (кодируют FKCP24-FKCP26) принадлежит гаплогруппе B1.



**Рис. 2.** ML-филогенетическое дерево, построенное по данным об изменчивости нуклеотидной последовательности гена цитохрома *b* мтДНК красно-серой полевки. На ветвях указаны бутстреп-индексы (>50%). C1, C2, B1, D – генетические субклады.

У *C. rufocanus* островных популяций (о-вов Завьялова, Талан, Умара и Спафарьева) вариант энзима *Cytb* FKCP1 не обнаружен. Однако данная изоформа полипептида превалирует у полевок во всех остальных обследованных локальностях. На островах Талан, Умара и Спафарьева уникальные *cytb*-гаплотипы TSCPb1, UKSCPb1 и SKSCPb1 кодируют соответственно варианты энзима FKCP6 (уникальный), FKCP2 (присутствует и у особей из бассейнов рек Дукча, Челомджа и Колыма) и FKCP19 (уникальный) (табл. 2, рис. 2). У полевок, отловленных на о. Завьялова, найдено шесть вариантов *Cytb*, кодируемые девятью уникальными *cytb*-гаплотипами: 3KSCPb1 и 3KSCPb6 содержат информацию о строении полипептидной последовательности FKCP12; 3KSCPb2, 3KSCPb3 и 3KSCPb9 кодируют FKCP3; 3KSCPb4 – изоформу FKCP11; 3KSCPb5 – вариант FKCP16; 3KSCPb7 – FKCP17 и гаплотип 3KSCPb8 – аминокислотную последовательность *Cytb* FKCP18 (рис. 2). Полипептиды FKCP12, FKCP16–FKCP18 обнаружены только у полевок, отловленных на о. Завьялова. Варианты FKCP3 и FKCP11 найдены также с достаточной частотой у экземпляров из бассейна Колымы (табл. 3). Следует отметить, что *C. rufocanus* – единственный вид полевок на этом острове, достигающий высокой численности и заселивший практически все его биотопы (Докучаев, 2012). Уровень полиморфизма полипептида *Cytb* соответствует таковому в материковых популяциях: в выборке красно-серых полевок из бассейна Колымы найдено семь вариантов изоформ этого фермента, а в остальных – от трех до пяти (табл. 3).

Ранее было показано, что *cytb*-генофонд красно-серых полевок о-вов Недоразумения и Вдовушка не является уникальным (Переверзева и др., 2018). Варианты полипептидов FKCP1 и FKCP5 обнаружены не только у полевок с этих островов (табл. 2), но и на п-ове Старицкого и в бассейнах рек Дукча и Челомджа (табл. 3). Изоформа FKCP1 кодируется гаплотипами KSCPb1 и KSCPb11 у особей о. Недоразумения и KSCPb2 у экземпляров о. Вдовушка (рис. 2). Полипептид FKCP5 определяется нуклеотидной последовательностью KSCPb22 красно-серых полевок о. Недоразумения (рис. 2). У полевок о. Недоразумения соотношение доли полипептидных последовательностей FKCP1/FKCP5 = 0.2222/0.7778.

По-видимому, длительное время изоляции способствовало накоплению витальных мутаций в митохондриальном геноме генофондов островных популяций полевок. Площадь островов обуславливает численность обитающих на их территориях особей, от которой зависит интенсивность стохастических процессов в обособленных популяциях.

У *C. rufocanus*, отловленных на п-ове Старицкого, обнаружены KSCPb1–KSCPb4 *cytb*-гаплотипы

подгруппы C2 (Переверзева и др., 2018). Варианты KSCPb1 и KSCPb2 кодируют наиболее распространенный полипептид FKCP1. Нуклеотидные последовательности KSCPb3 и KSCPb4 определяют соответственно изоформы фермента FKCP5 и FKCP8 (найден только на п-ове Старицкого) (рис. 2).

В выборке красно-серых полевок из бассейна р. Дукча определены 12 *cytb*-гаплотипов, 11 из которых относятся к субкладе C2 (Переверзева и др., 2018). Нуклеотидные последовательности субклады C2 KSCPb1, KSCPb2, KSCPb19, KSCPb26, KSCPb27, KSCPb38 и KSCPb39 кодируют аминокислотную последовательность FKCP1. Варианты субклады C2 KSCPb36 и FKCP37 кодируют соответственно полипептиды FKCP16 и FKCP17. Изоформу фермента FKCP2 определяют *cytb*-гаплотипы KSCPb24 (субклады C2) и KSCPb25 (субклады C1) (рис. 2).

У красно-серых полевок с п-ова Кони найдено 11 вариантов *cytb*. Гаплотипы субклады C2 KSCPb1, KSCPb19, KSCPb30, KSCPb32, KSCPb34, KSCPb35 и субклады C1 KSCPb28, KSCPb29 и KSCPb31 определяют аминокислотную последовательность FKCP1. Варианты субклады C2 KSCPb15 и KSCPb33 кодируют соответственно изоформы FKCP9 и FKCP13 (рис. 2).

У *C. rufocanus*, отловленных в бассейне р. Челомджа, обнаружено 5 C2-*cytb*-гаплотипов. Варианты KSCPb1, KSCPb5 и KSCPb8 кодируют FKCP1. Гаплотипы KSCPb6 и KSCPb7 несут информацию о полипептидах FKCP2 и FKCP7 соответственно (рис. 2).

В бассейне р. Гижига у 3-х отловленных красно-серых полевок найдено 3 C1-*cytb*-гаплотипа. Вариант KSCPb9 кодирует FKCP1, KSCPb10 и KSCPb23 аминокислотные последовательности FKCP20 и FKCP21. Полученный результат косвенно свидетельствует о высоком уровне полиморфизма данной популяции.

Следует отметить, что в материковых популяциях *C. rufocanus* не наблюдается корреляции между количеством *cytb*-гаплотипов и числом кодируемых вариантов энзима *Cytb* (табл. 1). Три изоформы полипептида *Cytb* кодируются от трех (бассейн р. Гижига) до одиннадцати (п-ов Кони) гаплотипами. Можно предположить, что данный факт иллюстрирует действие микроэволюционных процессов в исследованных популяциях.

Отдельно рассмотрены варианты *cytb*, определяющие аминокислотное строение наиболее распространенных последовательностей FKCP1, FKCP2 и FKCP3, относящихся к разным субкладам субклад C1 и C2 (рис. 2). Генетическая дифференциация этих гаплотипов подтверждается высокими значениями соответствующих бутстреп-индексов, что показывает дивергенцию строения нуклеотидных последовательностей этих вариан-

**Таблица 4.** Индексы молекулярного разнообразия в выборках FKCP1-FKCP3 красно-серых полевков Магаданской области, Чукотки, Иркутска и Японии

Объединенная совокупность FKCP красно-серых полевков	<i>N</i>	<i>V</i>	<i>Pi</i> ± <i>sd</i>	$\pi$ ± <i>sd</i>	<i>h</i> ± <i>sd</i>
FKCP1	103	48	5.1776 ± 2.5274	0.0045 ± 0.0024	0.8412 ± 0.0259
FKCP2	32	14	1.6391 ± 0.9926	0.0014 ± 0.0010	0.4234 ± 0.0995
FKCP3	22	14	3.6190 ± 1.9072	0.0032 ± 0.0019	0.7532 ± 0.0572

Примечание. *N* – число носителей модификации полипептида; *V* – число варибельных сайтов в нуклеотидной последовательности гена *cytb* мтДНК; *Pi* – среднее число попарных различий между гаплотипами;  $\pi$  – нуклеотидное разнообразие; *h* – гаплотипическое разнообразие; *sd* – стандартное отклонение.

тов мтДНК. На рис. 3 показаны сайты нуклеотидных замен гаплотипов, которые кодируют данные изоформы полипептида *Cytb*. Было найдено, что 20 гаплотипов сублинии С2, кодирующие наиболее распространенный вариант энзима *Cytb* FKCP1, различаются между собой 35 нуклеотидными заменами; 6 гаплотипов субклады С1, кодирующие FKCP1, разнятся 9 нуклеотидными заменами. В общей сложности варианты нуклеотидной последовательности генетической линии С, несущей информацию о полипептиде FKCP1, различаются между собой по 48 локусам.

Изоформа фермента FKCP2 кодируется тремя *cytb*-гаплотипами субклады С2, разнящимися двумя нуклеотидными заменами и двумя *cytb*-гаплотипами сублинии С1, которые различаются по шести локусам. Общее количество нуклеотидных замен у FKCP2-*cytb*-гаплотипов составляет 13 сайтов. У всех FKCP2-особей присутствует транзигция в первой позиции кодона G67A, которая и приводит к аминокислотной замене A23T. Данное замещение определяет отличие полипептида FKCP2 от FKCP1 (рис. 1).

Два С2-*cytb*-гаплотипа, определяющие вариант полипептида FKCP3, различаются двумя нуклеотидными заменами, три С1-*cytb*-варианта отличаются по двум сайтам. В общей сложности *cytb*-гаплотипы генетической линии С, кодирующие FKCP3, разнятся по 14 заменам. Транзигция по первому нуклеотиду кодона в G304A, присутствующая в нуклеотидной последовательности всех FKCP3-*cytb*-гаплотипов, определяет замену V102I, отличающую аминокислотную последовательность изоформы FKCP3 от FKCP1 (рис. 1).

Индексы молекулярного разнообразия (табл. 4) показывают уровень полиморфизма нуклеотидных последовательностей *cytb*-гаплотипов, кодирующих у красно-серых полевков варианты энзима FKCP1-FKCP3. Полученные высокие значения индексов нуклеотидного ( $\pi$ ) и гаплотипического (*h*) разнообразия, а также среднего числа попарных различий между гаплотипами (*Pi*), которые кодируют одинаковые изоформы

полипептида, свидетельствуют о значительном полиморфизме нуклеотидных последовательностей FKCP1-FKCP3-гаплотипов *cytb*.

С учетом данных GenBank об аминокислотной последовательности фермента *Cytb* у *C. rufocanus* Восточной Сибири, Дальнего Востока и Японии, в общей сложности обнаружено 27 вариантов полипептида, которые разнятся 20 аминокислотными заменами (рис. 1). Варианты полипептида FKCP2-FKCP27 отличаются от аминокислотной последовательности FKCP1 от 1 до 4 сайтов. Следует отметить, что ряд замен присутствуют в нескольких вариантах полипептида. В последовательности аминокислот полипептида FKCP2 имеет место единственное замещение A23T. Однако, в числе прочих, данная замена найдена в изоформах FKCP4, FKCP11, FKCP16, FKCP18, FKCP20, FKCP21 и не идентифицирована у особей, отловленных в Китае, Японии, в окрестностях Иркутска и на о. Сахалин. Замена V102I определена у всех особей о. Завьялова (FKCP3, FKCP11, FKCP12, FKCP16-FKCP18), у части полевков с п-ова Кони (FKCP9) и бассейна Колымы (FKCP3, FKCP9, FKCP11) (табл. 3 и 4, рис. 1). Замена I42T присутствует в FKCP7 и FKCP10; T67A в FKCP7 и FKCP16; S213P в FKCP8 и FKCP17; M299L в FKCP12, FKCP16, FKCP18 и FKCP27 (AB675449, Иркутск); A316T в FKCP4, FKCP14, FKCP15 и FKCP25 (AB675445, о. Сахалин); T327I в FKCP5 и FKCP9. Остальные аминокислотные замены, найденные у исследованных красно-серых полевков, уникальны и у представленных в GenBank образцах не обнаружены. Замена T353A присутствует только у особей, отловленных на о. Сахалин (AB675444-AB675446), что может являться следствием микроэволюционных процессов, протекающих на изолированной территории.

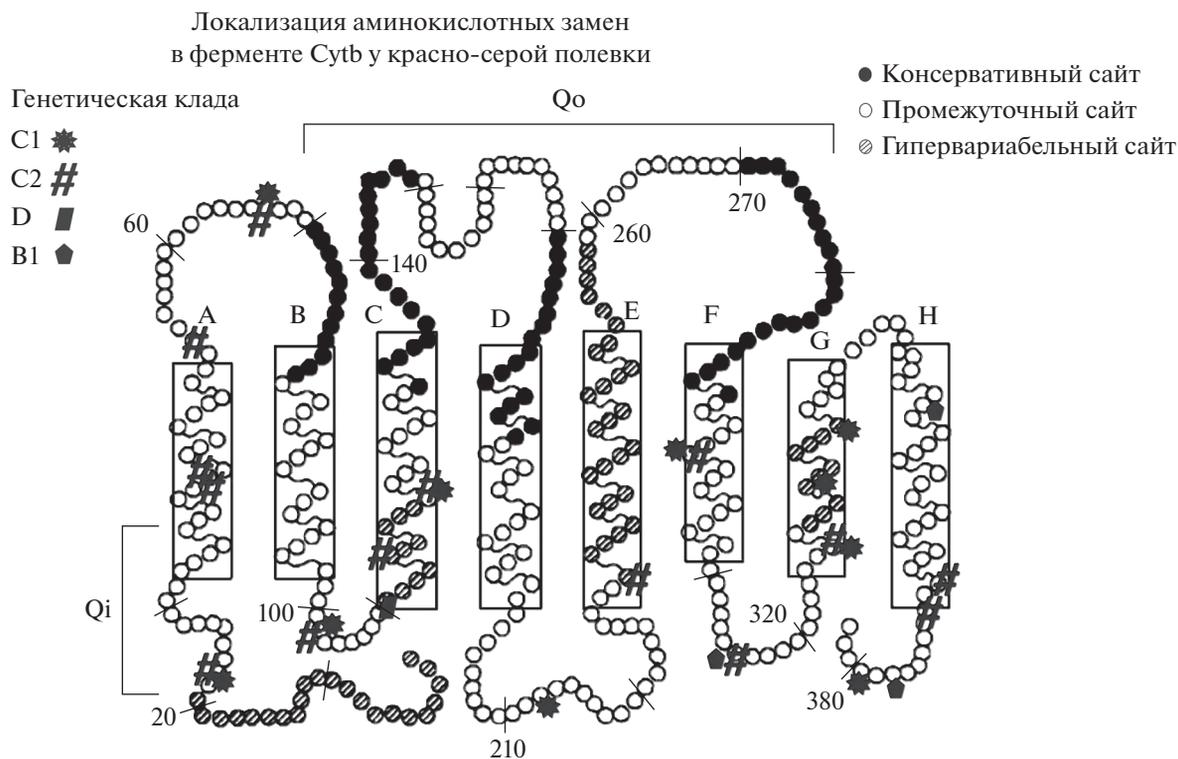
Энзим *Cytb* относится к трансмембранным ферментам и имеет два окислительно-восстановительных центра: участок Qo связан с внешней поверхностью мембраны митохондрии, Qi – с внутренней. При сравнительном анализе строения молекулы *Cytb* различных видов животных

		111112	2222333344	4445555566	6666777888	8999990000	1111	111
		1256234563	4779004622	7890155700	2668007016	8047890237	824	
		5877654654	3694462936	7681328906	1098384462	6125405021	920	
		FKCP1						
		<i>клада C2</i>						
KCPcb1	KR059876	GTTGCTACTC	TTTGGCCAAG	CAAATTCCTG	CTTTAGTGC	CTGTATTCAT	CTT	
KCPcb2	KR059877	.....	.....	A.....	...C.....	...C..C...	...	
KCPcb5	KR059880	.....	.....A.....	.....	.....	.....	.....	
KCPcb8	KR059883	.....	C.....	.....	.....	.....	.....	
KCPcb11	KR059886	.....	.....	.....C.....	.....	.....	.....	
KCPcb14	KR059889	.....T	.....T.....	.....G.....	.....	T.....	.....	
KCPcb19	KR059894	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....	
KCPcb26	KR059901	.....	.....G.....	.....	.....	.....G.....	.....	
KCPcb27	KR059902	.....	.....	.....	.....CC.....	.....	.....	
KCPcb30	KX082740	.....	.....G.....	.....	.....A.....	.....	.....	
KCPcb32	KX082742	.....	.....	.....	.....	.....C.....	.....	
KCPcb34	KX082744	.....	.....	.....	.....C.....	.....C.....	.....	
KCPcb35	KX082745	.....C.....	.....	.....	.....C.....	.....	.....	
KCPcb38	KX082748	.....T.....	.....G.....	.....C.....	.....	.....A.....G.....	.....C.....	
KCPcb39	KX082749	.....G.....	.....	.....	.....	.....C.....	.....	
AB031580	Магадан	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....C.....	
AY309412	Магадан	.....	.....G.....	.....	.....	.....C.....	.....	
AB675448	Иркутск	AC.....	.....C.....A	.....	.....	.....A.....	.....C.....	
AB676833	Япония	.....	.....	.....	.....	.....A.....	.....A.....	
AB676834	Япония	.....C.....	.....C.....	.....	.....	.....A.....	.....	
		<i>клада C1</i>						
KCPcb9	KR059884	..C.....	.....T.G.	.....CC.	..C.....T	..A...T..	T..	
KCPcb28	KX082738	..C.....	.....T.....	..G...CC.	..C.....T	..AC...T..	...	
KCPcb29	KX082739	..C.....	.....T.....	..G...ACC.	T.C...G..T	..A...T..	...	
KCPcb31	KX082741	..C.....	.....T.....	.....CC.	..C.....T	..AC...T..	...	
AKCPcb1	KX082735	..C.....	.....T.....	.....CC.	..C.....T	..A...T..	...	
AKCPcb2	KX082736	..C.....	.....T.....	.....CCA	..C.....T	..A.T..T..	...	
		FKCP2						
		<i>клада C2</i>						
KCPcb6	KR059881	..A.....	.....	.....	.....	.....	.....	
KCPcb24	KR059899	..A.....	.....	.....	.....	.....	.....C.....	
УКCPcb1	KX082737	..A.....	.....	.....	.....	.....A.....	.....	
		<i>клада C1</i>						
KCPcb18	KR059893	..CA.....	.....T.....	.....CC.	..C.....	.....	.....	
KCPcb25	KR059900	..CA.....	.....T.....	..G...ACC.	T.C...A..T	.....	.....T.....	
		FKCP3						
		<i>клада C2</i>						
KCPcb12	KR059887	.C.....A..	.....A.....	.....	.....	.....	.....	
KCPcb13	KR059888	.....A..	.....A.....	.....	.....	.....C.....	.....	
		<i>клада C1</i>						
3KCPcb2	KX082726	..C.....	.....A.T...	..G...CC.	..C...A..T	..CA...T..	...	
3KCPcb3	KX082728	..C.....	.....A.T...	.....CC.	..C...A..T	..A...T..	...	
3KCPcb9	KX082734	..C.....	.....A.T...	.....CC.	..C...A..T	..CA...T..	...	

**Рис. 3.** Гаплотипы гена цитохрома *b* FKCP1-, FKCP2- и FKCP3-особей красно-серой полевки генетических субклад C1 и C2. Нуклеотидные замены представлены относительно нуклеотидной последовательности варианта KCPcb1. Сайты замен показаны от начала гена цитохрома *b*.

было показано, что трансмембранные домены наиболее вариабельны, а петлевые участки активного центра Q<sub>o</sub> – самые консервативные (Kocher *et al.*, 1989; Irwin *et al.*, 1991; McClellan *et al.*, 2005). В вариантах FKCP1-FKCP27 аминокислотные замены обнаружены как в трансмембранных, так и

в петлевых участках фермента (рис. 4). У красно-серых полевок C1-клады найдено по две замены в промежуточных по вариабельности сайтах каталитического центра Q<sub>i</sub> и в гипервариабельном участке трансмембранного домена G. У полевок C2-клады обнаружено по одной аминокислотной



**Рис. 4.** Локализация аминокислотных замен в структуре фермента цитохрома *b* красно-серой полевки северо-востока Азии.

замене в промежуточных по вариабельности сайтах активных центров фермента *Qo*, *Qi* и гипервариабельных участках трансмембранных доменов С и Е; в домене А в промежуточных по вариабельности сайтах найдено две замены. У красно-серых полевков С1 и С2 клад найдены шесть аминокислотных замещений в одних и тех же сайтах: одна замена в каталитическом центре *Qo* и две замены в петлевом участке *Qi*, а также по одной замене в промежуточных по вариабельности участках трансмембранных доменов С, F и G.

Результаты TreeSAAP-анализа, методы Снита, Бачинского и Грэнтсема свидетельствуют, что только у красно-серых полевков о. Завьялова замена V102I (изоформы FKCP3, FKCP11, FKCP12, FKCP16–FKCP18) достоверно консервативная. TreeSAAP-анализ показал, что транзиция G304A в первой позиции кодона, обуславливающая данную аминокислотную замену, имеет кладообразующий характер (бутстреп-индекс 58) для всех *cytb*-гаплотипов (субклада С1) красно-серых полевков данного острова. Два физико-химических свойства (энергия дальнего взаимодействия и среднее квадратическое отклонение размаха колебаний) замены V102I находятся под действием стабилизирующего отбора ( $\chi$ -тест:  $ms = 1$ ;  $P < 0.001$ ). Значения коэффициентов по Сниту – 0.843; по Бачинскому – 35, по Грэгсему – 86. Полученные

результаты позволяют предположить, что закрепление транзиции G304A в генофонде популяций произошло в результате действия стабилизирующего отбора. Кроме того, на территории, ставшей впоследствии островом Завьялова, по-видимому, находились полевки, у которых в 102 позиции *Cytb* находился изолейцин. В результате либо эффекта основателя, либо синергии стохастических процессов и стабилизирующего отбора в изолированной островной популяции подобные особи стали составлять 100% населения.

Следует отметить, что V102I присутствует также в полипептидах С2-особей FKCP3 (KCPcb12, KCPcb13) и FKCP11 (KCPcb17), отловленных в бассейне Колымы и FKCP9 (KCPcb15), обнаруженных на п-ове Кони. Уникальные варианты энзима *Cytb* FKCP6 (о. Талан, кодируется С2-*cytb*-гаплотипом ТКРcb1) и FKCP19 (о. Спафарьева, кодируется С1-*cytb*-гаплотипом СКРcb1) содержат замены F333L ( $\chi$ -тест:  $ms = 2$ ,  $P < 0.001$ ) и D380N ( $\chi$ -тест:  $ms = 1$ ,  $P < 0.001$ ). Однако гаплотипы, кодирующие эти варианты *Cytb*, не имеют достоверной бутстреп-поддержки и кладообразующего характера на ML-дереве. По-видимому, их закрепление в генофонде в данных популяций обусловлено стохастическими процессами и не связано с действием отбора. Методами Снита, Бачинского и Грэнтсема F333L и D380N опреде-

лены как консервативные. Для замены F333L соответствующие коэффициенты 0.570; 16 и 86, а для D380N – 0.637; 27 и 86.

Анализ остальных аминокислотных замен с помощью методов Снита, Бачинского и Грэнтсема показал отсутствие радикальных замен, подтвержденных всеми тремя алгоритмами, и обозначил возможную нейтральность большинства аминокислотных замещений.

Таким образом, генетический анализ аминокислотной последовательности изоформ *Cytb* показал высокий уровень полиморфизма данного полипептида у *C. rufocanus* Северо-Востока Азии. Быстрая смена поколений обуславливает возникновение в нуклеотидной последовательности гена *cytb* мтДНК большого числа мутаций. Вырожденность генетического кода обеспечивает закрепление в генофонде популяций разных генотипов, кодирующих одинаковые витальные фенотипы. По-видимому, наиболее распространенная в популяциях красно-серых полевков Северо-Восточной Азии изоформа FKCP1 функционально оптимальна для *C. rufocanus* в экологических условиях этого региона. Фермент *Cytb* – ключевое звено клеточного дыхания и его строение строго детерминировано действием стабилизирующего отбора, который отсекает все формы полипептида, значительно понижающие функциональную эффективность энзима. Анализ, проведенный четырьмя методами, достоверно подтверждает только консервативный тип аминокислотных замен. По-видимому, взаимодействие высокой мутабельности мтДНК и стабилизирующего отбора сформировали гено- и фенотип полипептида *Cytb* *C. rufocanus* Северо-Восточной Азии.

**Финансирование.** Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ (18-04-00579а).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Богданов А.С., Лебедев В.С., Зыков А.Е., Баклушинская И.Ю. Изменчивость гена цитохрома *b* и прилежащего участка гена *TRNA-THR* митохондриальной ДНК у обыкновенной слепушонки *Ellobius talpinus* (Mammalia, Rodentia) // Генетика. 2015. Т. 51. № 12. С. 1410–1423.
- Бутвиловский А.В., Барковский Е.В., Бутвиловский В.Э., Давыдов В.В., Черноус Е.А., Хрусталева В.В. Основные методы молекулярной эволюции / Под общ. ред. проф. Е.В. Барковского. Мн.: Белпринт, 2009. 216 с.
- Григорьева О.О., Стахеев В.В., Орлов В.Н. Митохондриальные свидетельства прошлого рефугиального распространения малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* Pall. (RODENTIA, MURIDAE) на Северо-Западном Кавказе // Генетика. 2018. Т. 54. № 3. С. 326–334.
- Докучаев Н.Е. Млекопитающие // Остров Завьялова (геология, геоморфология, история, археология, флора и фауна). М.: ГЕОС, 2012. С. 183–192.
- Малярчук Б.А. Адаптивная внутривидовая дивергенция (на примере гена цитохрома *b* животных) // Генетика. 2011. Т. 2011. № 8. С. 1103–1111.
- Малярчук Б.А., Деренко М.В., Денисова Г.А., Литвинов А.Н. Топологические конфликты при филогенетическом анализе различных участков митохондриального генома соболя (*Martes zibellina* L.) // Генетика. 2015а. Т. 51. № 8. С. 1915–1923.
- Малярчук Б.А., Деренко М.В., Денисова Г.А. Изменчивость митохондриального генома россомахи (*Gulo gulo*) // Генетика. 2015б. Т. 51. № 11. С. 1291–1296.
- Переверзева В.В., Примак А.А. Генетическое разнообразие синонимичных гаплотипов фрагмента гена цитохрома *b* красной полевки *Myodes (Clethrionomys) rutilus* (Pallas, 1779) // Генетика. 2016. Т. 52. № 2. С. 189–197.
- Переверзева В.В., Примак А.А., Евдокимова А.А. Полиморфизм фермента цитохрома *b* красно-серой полевки *Myodes rufocanus* (Sundevall, 1846) Северного Приохотья и бассейна р. Колымы // Матер. III Всеросс. конф. “Геология, география, биологическое разнообразие и ресурсы северо-востока России (к 105-летию со дня рождения А. П. Васильковского)” г. Магадан, СВКНИИ ДВО РАН, 12–14 октября 2016 г. С. 267–269.
- Переверзева В.В., Примак А.А., Докучаев Н.Е., Дубинин Е.А., Евдокимова А.А. Изменчивость гена цитохрома *b* мтДНК красно-серой полевки (*Craseomys rufocanus* Sundevall, 1846) Северного Приохотья и бассейна р. Колыма // Вестник СВНЦ. 2018. № 1. С. 101–112.
- Переверзева В.В., Докучаев Н.Е., Примак А.А., Дубинин Е.А. Полиморфизм цитохрома *b* красной полевки *Clethrionomys rutilus* Pallas // Вест. СВНЦ. 2020. № 3. С. 109–119.
- Ялковская Л.Э., Зыков С.В., Сибиряков П.А. Генетическая изменчивость желтогорлой мыши (*Sylvaemus flavicollis* Melch., 1834, MURIDAE, RODENTIA) на восточной границе ареала // Генетика. 2018. Т. 54. № 6. С. 629–638.
- Abramson N.I., Petrova T.V., Dokuchaev N.E., Obolenskaya E.V., Lisovski A.A. Phylogeography of the gray red-backed vole *Craseomys rufocanus* (Rodentia: Cricetidae) across the distribution range inferred from nonrecombining molecular markers // Rus. J. Theriol. 2012. V. 11. № 2. P. 137–156.
- Cook J.A., Runck A.M., Conroy C.J. Historical biogeography at the crossroads of the northern continents: molecular phylogenetics of red-backed voles (Rodentia: Arvicolinae) // Mol. Phylogenet. Evol. 2004. V. 30. № 3. P. 767–777.
- Faerman M., Bar-Gal G.K., Boaretto E., Boeskorov G.G., Dokuchaev N.E., Ermakov O.A., Golenishchev F.N., Gubin S.V., Mintz E., Simonov E., Surin V.L., Titov S.V., Zanina O.G., Formozov N.A. DNA analysis of a 30,000-year-old *Urocitellus glacialis* from northeastern Siberia reveals phylogenetic relationships between ancient and present-day arctic ground squirrels // Scie. Reports. 2017. V. 7. P. 42639.

- Gershoni M., Templeton A.R., Mishmar D.* Mitochondrial bioenergetics as a major motive force of speciation // *Bioessays*. 2009. V. 31. P. 642–650.
- Hassanin A., Lecointre G., Tiller S.* Related articles, links abstract. The “evolutionary signal” of homoplasy in protein-coding gene sequences and its consequences for a priori weighting in phylogeny // *C.R. Acad. Sci.* 1998. V. 321. № 7. P. 611–620.
- Howell N.* Evolutionary conservation of protein regions in the proton motive cytochrome b and their possible roles in redox catalysis // *J. Mol. Evol.* 1989. V. 29. P. 157–169.
- Irwin D.M., Kocher T.D., Wilson A.C.* Evolution of the cytochrome b gene of mammals // *J. Mol. Evol.* 1991. V. 32. P. 128–144.
- Iwasa M.A., Utsumi Y., Nakata K., Kartavtseva I.V., Nevedomskaya I.A., Kondoh N., Suzuki H.* Geographic patterns of cytochrome b and Sry gene lineages in the gray red-backed vole, *Clethrionomys rufocanus* from Far East Asia including Sakhalin and Hokkaido // *Zool. Sci.* 2000. V. 17. P. 477–484.
- Kocher T.D., Thomas W.K., Meyer A., Edwards S.V., Pääbo S., Villablanca F.X., Wilson A.C.* Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1989. V. 86. P. 6196–6200.
- Kohli B.A., Fedorov V.B., Waltari E., Cook J.A.* Phylogeography of a Holarctic rodent (*Myodes rutilus*): testing high-latitude biogeographical hypotheses and the dynamics of range shifts // *J. Biogeogr.* 2015. V. 42. P. 377–389.
- Liu S., Liu Y., Guo P., Sun Z., Murphy R.W., Fan Z., Fu J., Zhang Y.* Phylogeny of oriental voles (rodentia: muridae: arvicolinae): molecular and morphological evidence // *Zool. Sci.* 2012. V. 29. № 9. P. 610–622.
- Lu T., Zhu M., Yi C., Si C., Yang C., Chen H.* Complete mitochondrial genome of the gray red-backed vole (*Myodes rufocanus*) and a complete estimate of the phylogenetic relationships in Cricetidae // *Mitochondrial DNA*, 2015. P. 1–3. In press PUBMED 26709866
- McClellan D.A., Palfreyman E.J., Smith M.J., Moss J.L., Christensen R.G., Sailsbery J.K.* Physicochemical evolution and molecular adaptation of the cetacean and artiodactyl cytochrome b proteins // *Mol. Biol. Evol.* 2005. V. 22. P. 437–455.
- Nei M.* *Molecular Evolutionary Genetics*. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987. 495 p.
- Nei M., Kumar S.* *Molecular evolution and phylogenetic*. N.Y.: Oxford Univ. Press, 2000. 333 p.
- Petrova T.V., Zakharov E.S., Samiya R., Abramson N.I.* Phylogeography of the narrow-headed vole *Lasiopodomys (Stenocranium) gregalis* (Cricetidae, Rodentia) inferred from mitochondrial cytochrome b sequences: an echo of pleistocene prosperity // *J. Zoolog. System. Evol. Res.* 2015. V. 53. P. 97–108.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipowski A., Kumar S.* MEGA-6: Mol. evolutionary genetics analysis version 6.0.2.74 // *Mol. Biol. Evol.* 2013. V. 30. P. 2725–2729.
- Woolley S., Johnson J., Smith M.J., Crandall K.A., McClellan D.A.* TreeSAAP: selection on amino acid properties using phylogenetic trees // *Bioinf. Appl. Note.* 2003. V. 19. № 5. P. 671–672.

## Variability of Cytochrome *b* Polypeptide of the Gray Red-Backed Vole *Cruseomys rufocanus*

V. V. Pereverzeva<sup>1, #</sup>, N. E. Dokuchaev<sup>1</sup>, A. A. Primak<sup>1</sup>, and E. A. Dubinin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Biological Problems of the North FEB RAS, st. Portovaya, 18, Magadan, 685000 Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: vvpereverzeva@mail.ru*

Polymorphism of the cytochrome b polypeptide of the gray red-backed vole (*Cruseomys rufocanus* Sundevall, 1846) in the populations of Northeast Asia is considered, basing on the data from available sources and our own data. 27 isoforms of the amino acid sequence of the enzyme were found. Comparative analysis of the frequencies of cytochrome b variants in samples of the gray red-backed vole was carried out. Localization of amino acid substitutions in the model of the secondary structure of the enzyme is determined. The method of TreeSAAP analysis, as well as Snit's, Bachinsky's, and Grantsem's methods reliably confirm the conservative type of amino acid substitutions, which indicates the effect of stabilizing selection aimed at preserving two physicochemical properties in a number of polypeptide variants.

**Keywords:** gray red-backed vole, *Cruseomys rufocanus*, cytochrome *b* (*cytb*) gene, isoforms of cytochrome *b* (Cytb) enzyme, genetic diversity, phylogenetic analysis