

РАЗНООБРАЗИЕ АЛЛЕЛЕЙ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ У ОБЫКНОВЕННОГО ХОМЯКА (*Cricetus cricetus*) В ГОРОДСКОЙ И СЕЛЬСКОЙ ПОПУЛЯЦИЯХ

© 2022 г. Н. Ю. Феоктистова*, @, И. Г. Мещерский*, Т. Н. Карманова*,
А. В. Гуреева*, А. В. Суров*

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Ленинский пр., 33, Москва, 119071 Россия

@E-mail: feoktistovanyu@gmail.com

Поступила в редакцию 03.04.2022 г.

После доработки 11.04.2022 г.

Принята к публикации 11.04.2022 г.

Известно, что городские популяции млекопитающих и птиц сталкиваются с большим разнообразием различных патогенов. На основе метода таргетного секвенирования на платформе Illumina определяли аллельное разнообразие экзона 2 гена *DRB* главного комплекса гистосовместимости в городской (г. Симферополь) и сельской популяциях обыкновенного хомяка. Для особей, обитающих в городе, отмечено большее количество аллелей, более высокие значения показателей гаплотипического и нуклеотидного разнообразия, меньшая доля особей с гомозиготным генотипом. Для обеих популяций характерно значительное превышение числа несинонимичных замен над синонимичными и почти каждому аллелю гена соответствует своя аминокислотная последовательность. Однако влияние положительного отбора на разнообразие вариантов антигенсвязывающих участков в аллелях гена *DRB* в условиях города выражено значительно сильнее. Полученные результаты позволяют предполагать, что устойчивость обыкновенных хомяков, обитающих в специфических и разнообразных условиях городской среды к различного рода патогенной нагрузке выше, чем в сельских популяциях.

Ключевые слова: обыкновенный хомяк, *Cricetus cricetus*, МНС класс II, *DRB*, Illumina, генетическое разнообразие, урбанистические условия, патогенная нагрузка, естественный отбор

DOI: 10.31857/S1026347022050079

Стремительное распространение городских экосистем на планете можно рассматривать как качественно новый этап развития жизни на Земле. Предполагается, что к 2030 г. почти 10% суши будет урбанизировано (Schilthuizen, 2018). Увеличение площади территорий, занятых урбанизированным ландшафтом, неизбежно приводит к включению в городские экосистемы новых видов, ранее не проявлявших склонности к синантропизму. Хотя для многих видов городские условия являются абсолютно неприемлемыми, другие могут заселять отдельные городские биотопы, удовлетворяющие их биологическим потребностям. В то же время для отдельных видов городские условия оказываются благоприятными, и плотность населения таких видов в городах может быть даже выше, чем в естественных биотопах. В качестве примера можно привести виды, сокращающие численность в естественных биотопах, но успешно заселяющие города. Это, например, сокол сапсан (*Falco peregrinus*), освоивший за последние 30 лет города Северной Америки и Европы (Сорокин, 2002), или ястреб Купера (*Accipiter*

cooperii), успешно заселяющий города США (Boggie, Mannan, 2014; Morinha *et al.*, 2016). Так города фактически стали местом сохранения этих редких видов.

Изучение экологических особенностей городской среды, выявление положительных и отрицательных факторов, определяющих возможность существования здесь животных, растений, а в итоге и самого человека, является актуальной проблемой экологии. Одно из важнейших направлений в исследовании процессов синурбанизации — изучение механизмов адаптаций животных к новым условиям, а также определение параметров оценки их благополучия. Городская среда имеет множество специфических особенностей, включающих как абиотические (температурный режим, влажность, химическое, шумовое, световое загрязнение и т.д.), так и биотические факторы. Среди последних — обитание на одной территории ряда автохтонных и инвазивных видов, формирующих новые, ранее не существовавшие сообщества с повышенной плотностью населения,

с нехарактерной кормовой базой и пр. (Luniak, 2004). Как следствие, в городе следует ожидать появления новых паразитарно-хозяйственных отношений и более высокую паразитарную нагрузку. Известно, что в целом городские популяции млекопитающих и птиц чаще подвергаются заражению паразитами и встречаются с большим количеством патогенов, чем сельские (Gliwicz *et al.*, 1980; Luniak, 2004). При этом вид сталкивается в городе с патогенами и паразитами, не характерными для естественных биотопов. Возникает вопрос, как иммунная система животных – синурбистов отвечает на эти городские “вызовы”. Оценка аллельного разнообразия генов главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex – МНС) может пролить свет на решение этой проблемы и служить показателем степени приспособленности вида к противодействию негативным факторам городской среды. Эти гены играют ключевую роль в иммунной защите организма, в том числе в обеспечении ответа на патогенную нагрузку (Klein, 1986; Hill *et al.*, 1991; Potts, Wakeland 1993; Brown, Eklund 1994; Hedrick, 1994; Edwards, Potts 1996; Janeway *et al.*, 2004; Acevedo-Whitehouse, Cunningham, 2006; Ujvari, Belov, 2011).

Исследование популяций белоногих хомячков (*Peromyscus leucopus*), обитающих в парках Нью-Йорка показало, что гены, ответственные за иммунные характеристики особей (так же как и ряд других, например, ответственных за переработку продуктов, богатых жирами), в городских условиях находятся под влиянием положительного отбора (Harris *et al.*, 2013, 2016; Harris, Munshi-South, 2017). Исследования красных рысей (*Lynx rufus*) в г. Таузенд-Оукс (США), столкнувшихся с эпидемией чесотки, показали, что до и после эпидемии в популяции обнаружены разные наборы аллелей генов МНС и TLR (Toll-Like Receptors – рецепторы, позволяющие распознавать консервативные структуры микроорганизмов и активирующие клеточный иммунный ответ). По всей видимости, эпидемию пережили только те животные, которые обладали подходящей комбинацией иммунных генов (Serieys *et al.*, 2015).

Одним из видов млекопитающих, активно осваивающих урбанизированные территории, является обыкновенный хомяк (*Cricetus cricetus*). В естественных биотопах численность этого вида за последние полвека катастрофически снизилась, особенно в западной части ареала (Surov *et al.*, 2016), вплоть до того, что в 2020 г. вид был включен в Красную книгу МСОП со статусом CR (виды, находящиеся на грани полного исчезновения) (Banaszek *et al.*, 2020). В то же время поселения обыкновенного хомяка в городах, зачастую достигают высокой численности (Feoktistova *et al.*, 2013; Суров и

др., 2015; Surov *et al.*, 2016; Feoktistova *et al.*, 2017). К настоящему времени популяции этого вида обитают в Нальчике, Грозном, Кисловодске, Владимире, Омске, Туле, Рязани, Москве и некоторых других городах России (Feoktistova и др., 2019), известны из г. Нур-Султан в Казахстане (Feoktistova и др., 2020), а также из целого ряда городов Европы (Niethammer, 1982; Thorns, 1998; Endres, Weber, 1999; Kupfernagel, 2003; Losík *et al.*, 2007; Schmelzer, Millesi, 2008; Banaszek, Ziomek, 2010; Čanády, 2013; Feoktistova *et al.*, 2013; Matysek *et al.*, 2013; Petrová *et al.*, 2018; Buczek, 2019).

Объектом нашего исследования стала популяция обыкновенного хомяка, обитающая в г. Симферополь (Крым) – самая крупная из известных городских популяций этого вида (Товпинец и др., 2006; Feoktistova и др., 2016). Мы определяли аллельное разнообразие экзона 2 гена *DRB*, входящего в состав МНС класса II у млекопитающих. Полученные значения сравнивались с отмеченными для поселений хомяка, расположенных в сельском антропогенном ландшафте Крыма. Цель работы состояла в оценке влияния обитания в урбоценозе на особенности иммунной системы данного вида.

Существенным затруднением при изучении аллельного разнообразия генов МНС является значительное число отличающих разные аллели нуклеотидных замен, а также, в ряде случаев, многокопийность. Для того, чтобы определить замены, отличающие последовательность каждого из присутствующих в генотипе животного аллелей, традиционно используют такие трудоемкие методы, как клонирование или анализ одноцепочечного конформационного полиморфизма (SSCP) с последующим секвенированием по Сэнгеру во многих повторностях. В нашей работе мы воспользовались технологией секвенирования нового поколения (NGS), в настоящее время успешно вытесняющей традиционные методы (Shiina *et al.*, 2015). Возможность считывания до 250 п.н. при длине интересующего нас участка 246 п.н. позволила прямо определять каждый вариант последовательности без необходимости совмещения отдельных фрагментов молекулы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения молекулярно-генетического анализа были использованы образцы тканей 20 особей обыкновенного хомяка, отловленных нами в городской черте Симферополя, и 20 особей, с окраин сельских поселений, расположенных далее 20 км от границ города. Образцы представляли собой зафиксированные в 96%-ном этаноле ткани уха или пальца (при отлове живых зверьков) или зафиксированная аналогичным образом

мышечная ткань от мертвых животных, полученных от хозяев сельскохозяйственных участков.

Тотальную ДНК выделяли с использованием набора реагентов Diatom™ DNA Prep (ООО “Лаборатория Изоген”, Москва, Россия) по инструкции производителя.

Для амплификации экзона 2 гена *DRB* использовали праймеры, предложенные в работе Smulders *et al.*, 2003:

Forward: 5-GAGTGTCAATTTCTACAACGGGA-3;

Reverse: 5-CTCTCCGCGGCACAAAGGAA-3

Предварительно специфичность праймеров была проверена постановкой ПЦР с последующим секвенированием продукта методом Сэнгера. Полученные последовательности соответствовали представленным в работе (Smulders *et al.*, 2003), но содержали значительное количество нераспознаваемых (двойных) позиций.

Определение нуклеотидных последовательностей отдельных аллелей было выполнено в ООО “Евроген Лаб.” на основе таргетного секвенирования ПЦР-продуктов, полученных с использованием указанных праймеров на платформе Illumina.

Подготовку индивидуальных библиотек проводили в соответствии с протоколом, описанным в руководстве “16S Metagenomic Sequencing Library Preparation” (Part # 15044223 Rev. B; Illumina) с увеличенным количеством циклов амплификации на первой стадии ПЦР (35 циклов). После получения ампликонов библиотеки были очищены и смешаны эквимольно с помощью SequelPrep™ Normalization Plate Kit (“ThermoFisher”). Контроль качества полученных пулов библиотек был проведен с помощью системы Fragment Analyzer, количественный анализ — с помощью qPCR.

Пул библиотек был секвенирован на Illumina MiSeq с использованием реагентов MiSeq Reagent Kit v2 Nano: длина прочтений — 250 п.н. с двух сторон фрагментов, 500 циклов. Для контроля параметров секвенирования использовали библиотеку фага PhiX.

Файлы FASTQ были получены с помощью программного обеспечения bcl2fastq v2.17.1.14 Conversion Software (Illumina). При обработке файлов в формате FASTQ с парными чтениями для каждого образца на первом этапе анализа прямые и обратные чтения были слиты с помощью инструмента Bbmerge из пакета BBTools v38.87 (Bushnell *et al.*, 2017). Чтения, которые не сливались однозначно без замен, не учитывали. Слитые чтения были выровнены на референс одного из вариантов последовательности *DRB* экзон 2 известных для обыкновенного хомяка (Crcr-*DRB1**14 allele, GenBank AJ490324, Smulders *et al.*, 2003) с помощью

программного обеспечения Bowtie2 (Langmead, Salzberg, 2012) с опцией local. Из полученных выравниваний были извлечены чтения с длиной не менее 240 п.н. при длине референтной последовательности 246 п.н. (включая области посадки праймеров). Для дальнейшего анализа были использованы только образцы, для которых было получено не менее 50 последовательностей, отвечавших данному условию.

В наборе последовательностей, полученных для каждого образца, были определены уникальные варианты (аллели) и посчитана частота их встречаемости. Для дальнейшего анализа были отобраны варианты (а), представленные в каждом случае не менее, чем 10 повторностями; (б) составляющие не менее 5% от общего количества полученных для данной особи последовательностей и (в) представленные числом повторностей, составляющим не менее 25% от количества повторностей аллеля с более высокой частотой в данном образце.

Из отобранных на основании этих условий последовательностей были исключены участки, соответствующие областям посадки прямого (22 п.н.) и обратного (20 п.н.) праймеров, а также две начальные (консервативные) позиции — с тем, чтобы первая позиция последовательности соответствовала первой позиции триплета. Идентичность последовательностей аллелей, отмеченных у разных особей, определяли с использованием онлайн-сервиса FaBox 1.61 (Villesen, 2007).

Варианты последовательностей, отобранные для последующего анализа, а также соответствующие им последовательности аминокислот проверяли на соответствие ожидаемому участку генома с использованием функции BLAST на сайте NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

Учитывая, что на различия в количестве повторностей разных аллелей, полученных для каждого образца, в определенной степени влияют случайные отклонения в ходе секвенирования, а также отсутствие данных о возможном количестве повторов данного локуса (многокопийность) у обыкновенного хомяка, описание индивидуальных генотипов по соотношению представленности разных аллелей в индивидуальных наборах не проводили. Исключение составляло определение гомозиготных генотипов, которые регистрировались для особей, у которых в полученном наборе последовательностей был отмечен лишь один вариант, отвечающий указанным выше условиям. Последующее сравнение двух анализируемых выборок проводили на основании набора аллелей, отмеченных в каждой выборке, с указанием на число животных, в генотипе которых данный аллель был отмечен.

Сравнение выборок было проведено в программе Arlequin v.3.11 (Excoffier *et al.*, 2005) с использованием Fst и Φst критериев, а также с оценкой показателей гаплотипического (аллельного) и нуклеотидного разнообразия для каждой выборки.

Медианная сеть вариантов нуклеотидных последовательностей была построена методом Median Joining в программе Network 4.612 (Bandelt *et al.*, 1999). Полученные варианты нуклеотидных последовательностей были транслированы, определено число вариантов аминокислотных последовательностей и их соответствие отмеченным аллелям гена для каждой выборки, а также для всей исследованной совокупности.

В аминокислотных последовательностях были определены позиции, потенциально ответственные за связывание антигена — на основе данных, приведенных в работе (Brown *et al.*, 1993) и аналогично тому, как это было выполнено ранее для представителей рода *Peromyscus* (Richmond, Davey, 2003).

Характер нуклеотидных последовательностей в полученных выборках был проанализирован на количество и соотношение несинонимичных и синонимичных замен в программе MEGA X (Kumar *et al.*, 2018). Также в этой программе был выполнен Z-test на оценку влияния положительного отбора на увеличение разнообразия аминокислотных последовательностей. Тест был проведен на основе модифицированного метода Nei-Golobori с принимаемой вероятностью отношения частоты транзиций и трансверсий 2.0 и подтвержден бутстреп-тестом, включавшим 10000 реплик. Тест был выполнен как для полного состава последовательностей (201 п.н., 67 кодонов), так и только для регионов, ответственных за связывание антигена (57 п.н., 19 кодонов).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результирующие файлы, содержавшие от 53 до 2996 последовательностей нужной длины, были получены для 17 особей, отловленных в городе, и 19 из сельских популяций. Для каждого образца было получено от 15 до 606 вариантов нуклеотидных последовательностей, от 1 до 4, из которых отвечали перечисленным выше условиям. После удаления участков посадки праймеров все признанные валидными последовательности имели длину 201 п.н., не содержали стоп-кодонов, а также делеций или вставок, сдвигающих рамку считывания. Всего в двух исследованных выборках было отмечено 25 вариантов (аллелей), последовательности которых депонированы в базе данных GenBank NCBI (табл. 1). При проверке с использованием функции BLAST для всех этих вариантов было установлено соответствие гену

Таблица 1. Аллели локуса *DRB1*, экзон 2, отмеченные в ходе исследования

Аллель	Номер Генбанка	Количество особей в обобщенной выборке (<i>n</i> = 36)
Crcr-DRB*15	ON081883	12
Crcr-DRB*16	ON081884	4
Crcr-DRB*17	ON081885	3
Crcr-DRB*18	ON081886	1
Crcr-DRB*19	ON081887	7
Crcr-DRB*20	ON081888	4
Crcr-DRB*21	ON081889	1
Crcr-DRB*22	ON081890	2
Crcr-DRB*23	ON081891	1
Crcr-DRB*24	ON081892	2
Crcr-DRB*25	ON081893	3
Crcr-DRB*26	ON081894	3
Crcr-DRB*27	ON081895	2
Crcr-DRB*28	ON081896	2
Crcr-DRB*29	ON081897	1
Crcr-DRB*30	ON081898	1
Crcr-DRB*31	ON081899	1
Crcr-DRB*32	ON081900	1
Crcr-DRB*33	ON081901	1
Crcr-DRB*34	ON081902	2
Crcr-DRB*35	ON081903	1
Crcr-DRB*36	ON081904	1
Crcr-DRB*37	ON081905	1
Crcr-DRB*38	ON081906	1
Crcr-DRB*39	ON081907	1

DRB1 МНС класса II у грызунов. Для 21 варианта максимальное сходство (91.1–99.4%) было с 6 последовательностями, известными для *Cricetus cricetus* (AJ490311, AJ490314, AJ490316–317, AJ490319, AJ490320, AJ490322–323), для 3 вариантов (Crcr-DRB*25, Crcr-DRB*26 и Crcr-DRB*29 из городской популяции) — с последовательностью, известной для *Apodemus flavicollis* (JQ858341, сходство 93.3–93.8%), для аллеля Crcr-DRB*27 (городская популяция) — с последовательностью *Rattus norvegicus* (AY626204, сходство 93.8%). Использование функции BLAST для соответствующих данным аллелям аминокислотных последовательностей также показало их соответствие бета цепи антигенов МНС

Таблица 2. Характеристика разнообразия исследованных выборок

	Городская популяция	Сельская популяция	Обобщенная выборка
Объем выборки (<i>n</i>)	17	19	36
Число отмеченных аллелей	19	11	25
Среднее число аллелей в генотипе особи	1.71	1.42	1.56
Доля особей с гомозиготным генотипом, %%	47.15	79.0	61.1
Индекс гаплотипического разнообразия	0.961	0.866	0.932
Индекс нуклеотидного разнообразия, %%	10.15	8.14	9.69

класса II у грызунов (class II histocompatibility antigen, beta domain).

Между двумя исследованными выборками были отмечены достоверные различия как по частоте встречаемости разных аллелей ($F_{st} = 0.0316$, $p = 0.022$), так и по степени различия в нуклеотидных последовательностях ($\Phi_{st} = 0.09027$, $p = 0.0001$).

Количество аллелей, отмеченных в генотипе одного животного, варьировало от 1 (гомозиготность, отмечена у большинства особей) до 4. Характеристика разнообразия выборок представлена в табл. 2. Значения всех показателей разнообразия в городской популяции были заметно выше, чем в сельских.

Встречаемость разных аллелей в выборках показана на рис. 1. В загородной популяции частота одного из аллелей (Ccr-DRB*15, встречен у 47.4% особей) значительно превышала частоту остальных, встречавшихся не более, чем у 15.8% (аллели Ccr-DRB*16, Ccr-DRB*17 и Ccr-DRB*19, остальные с еще меньшей частотой) особей каждый. В городской популяции подобного доминирования ка-

кого-либо одного аллеля не наблюдалось. Максимальная частота (23.5% особей) здесь была отмечена у аллеля Ccr-DRB*19, и еще три аллеля (Ccr-DRB*15, Ccr-DRB*25 и Ccr-DRB*26) были отмечены у 17.6% особей каждый. В среднем каждый аллель был отмечен только у 7.5% особей в городской и у 5.7% особей в сельской популяции.

Большинство аллелей (73.7% в городской и 54.5% в сельской) были уникальными для каждой популяции. Из 25 отмеченных в нашем исследовании аллелей только 5 (20%) являлись общими для обеих выборок, остальные были встречены только в одной популяции каждый (рис. 1, 2). Два из них (Ccr-DRB*15 и Ccr-DRB*19) относились к числу относительно часто встречающихся в обеих популяциях и три были отмечены в обеих или в одной популяции только у 1–2 особей каждый.

Медианная сеть последовательностей аллелей, отмеченных в городской и сельской популяциях, представлена на рис. 3.

В центре сети расположены два из наиболее часто встречающихся общих для обеих выборок

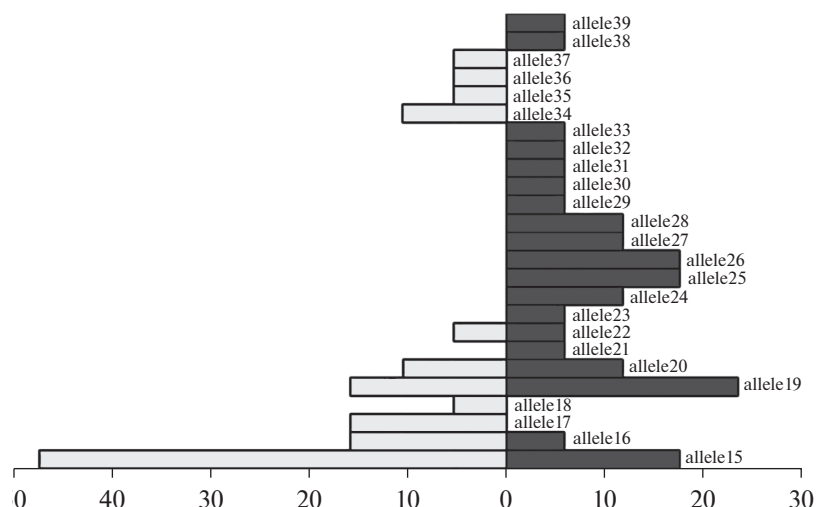


Рис. 1. Доля особей (%%) в городской (справа, темная заливка) и сельской (слева, светлая заливка) популяциях, у которых был отмечен тот или иной аллель.

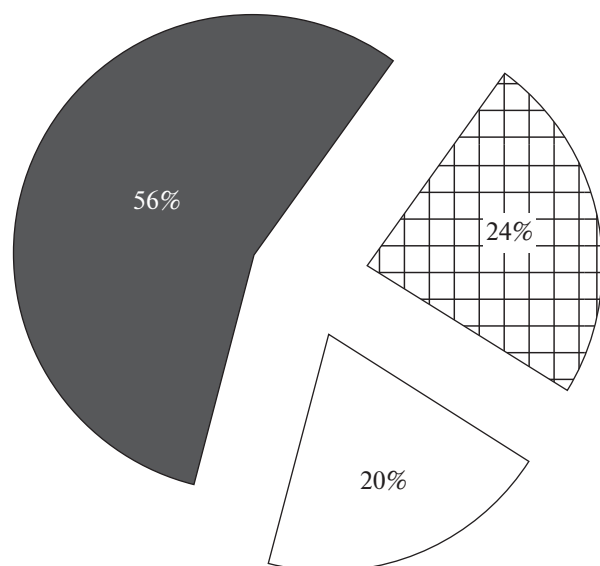


Рис. 2. Для суммарного числа аллелей — доля встреченных только в городской (серый цвет), только в сельской (штриховка) или в обеих (белый цвет) популяциях.

аллелей. Еще два общих аллеля также расположены ближе к центру. Одна из двух ветвей представлена аллелями, встречающимися либо в город-

ской, либо в сельской популяции, другая — уникальными вариантами, встреченными только в городской популяции. Однако выявление конкретных филогенетических связей между отдельными вариантами в большинстве случаев невозможно из-за значительного количества неразрешаемых узлов.

Большая часть вариантов нуклеотидных последовательностей (23 из 25) соответствовали оригинальным вариантам белка (рис. 4). Исключения составили два аллеля: присутствующий только в городской популяции *Crcr-DRB*25*, кодирует ту же аминокислоту, что и аллель *Crcr-DRB*15*, встречающийся в обеих популяциях. Аллель *Crcr-DRB*18* уникальный для сельской популяции кодирует ту же аминокислоту, что и *Crcr-DRB*22*, также характерный для обеих популяций. Следует отметить, что аллели *Crcr-DRB*25* и *Crcr-DRB*18* были отмечены только у одного животного каждый.

Число несинонимичных замен в последовательностях аллелей существенно превышало число синонимичных как в каждой из исследованных выборок, так и в целом (табл. 3). При этом величина dN/dS в выборке из городской популяции была существенно выше, чем в сельской, как при

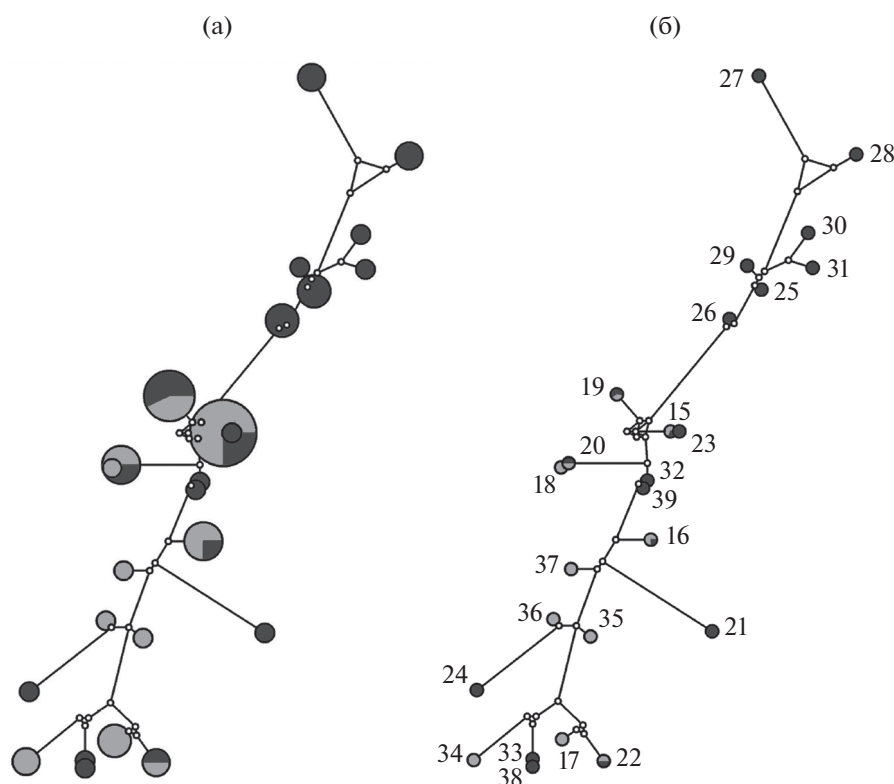


Рис. 3. Медианная сеть отмеченных вариантов последовательностей экзона 2 гена *DRB*. Темная заливка — городская, светлая заливка — сельская популяция, белые кружки — медианные векторы. (а) — диаметр кружков пропорционален встречаемости аллелей в обобщенной выборке, (б) — диаметр кружков одинаков. Числа соответствуют обозначениям аллелей, см. табл. 1.

	10	20	30	40	50	60
AY219812 Peer1a	QVRVYLDRIY	YNREEYVRFD	SDVGEYIAVT	ELGRPD AEYW	NSQKEILED R	RASVDTFCRH
	-----*--*	-----*--*	-----*--*	-----*--*	-----*--*	-----*--*
Crcr-DRB*15	Q.N....	FR....	DF.QK..	E...V...	F..	
Crcr-DRB*16	...LVV..F....	A....	R....	DFM.Q..	E...V...	
Crcr-DRB*17	...F.H..F....	G....	R....	S..F....	L..Q..	E...Y...
Crcr-DRB*18	...E.H..H.Q..	F....	FR....	L..Q..	E...V...	LD.
Crcr-DRB*19	...F.E..F....	Q..I....	R....	D.M.QT..	E...V...	F..
Crcr-DRB*20	...E.H..H.Q..	F....	FR....	L..Q..	E...V...	LD.
Crcr-DRB*21	...LVV..IV...	A....	FR....	L..QK..	E...V...	LD.
Crcr-DRB*22	...F.H..F....	GK....	FR....	S..F....	L..Q..	E...Y...
Crcr-DRB*23	Q.N....	FR....	DF.QK..	E...V...	F..	
Crcr-DRB*24	...E.H..H....	FR....	L..QK..	A...Y...	EGFD.	
Crcr-DRB*25	..M.L.V.L....	H....	FR....	L..QM..	A.E.V...	EGFD.
Crcr-DRB*26	..M.F.....	FR....	QT..	A.E.V...	E.LDK	
Crcr-DRB*27	...F.E...F....	R....	R...Y...	D..RK..	A...Y...	E.LDK
Crcr-DRB*28	...LVV.W..S.G.	N....	FR....	S...DF..	QT..	A...Y...
Crcr-DRB*29	..M.L.V.L....	F....	FR....	L..QM..	A.E.V...	E.LDK
Crcr-DRB*30	..M.L.N.L....	F....	FR....	A..L..	FM.QK..	A.E.V...
Crcr-DRB*31	...L.....	FR....	L..QM..	A.E.V...	FD.	
Crcr-DRB*32	...F.E.....	A....	FR....	L..Q..	E...V...	F..
Crcr-DRB*33	...LVA.W....	F....	FR....	S..F....	L..QK..	E...Y...
Crcr-DRB*38	...LVA.W....	F....	FR....	S..F....	L..QK..	E...Y...
Crcr-DRB*39	...F.E..V....	A....	FR....	L..Q..	E...V...	F..
Crcr-DRB*34	...LVV..F....	R....	S..F....	D.M.QK..	E...V...	
Crcr-DRB*35	...F.H..F....	Q..F....	FR....	L..QK..	E...Y...	
Crcr-DRB*36	...F.H..F....	FR....	L..QK..	E...Y...		
Crcr-DRB*37	...FVV..F....	GK.N....	R....	L..QK..	E...V...	

Рис. 4. Аминокислотные последовательности секвенированного участка экзона 2 гена *DRB*. В качестве референтной использована последовательность *Peromyscus ereimicus* (Richmond *et al.*, 2003). Одинаковые аминокислотные остатки обозначены точками. Предположительно антигенсвязывающие позиции указаны звездочками.

сравнении полных последовательностей секвенированных участков, так и только антигенсвязывающих регионов.

В пределах кодируемых отсекуемых участками экзона 2 гена *DRB* аминокислотных последовательностей 19 из 67 аминокислотных остатков предположительно являлись ответственными за связывание антигена (рис. 4).

Достоверное соответствие гипотезе воздействия балансирующего отбора было отмечено только для антигенсвязывающих регионов в обобщенной выборке и выборке из городской, но не из сельской популяции (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Генетическое разнообразие является важнейшим фактором благополучного существования популяций. При этом его изучение должно сочетать оценку как по нейтральным генетическим маркерам митохондриальной и ядерной ДНК (в том числе, микросателлитным локусам), так и по генам, ответственным за адаптивные характеристики организма, в частности генам МНС (Pfender *et al.*, 2000; Reed, Frankham 2001; Hedrick, 2001; McKay, Latta, 2002; Luikart *et al.*, 2003; Palo *et al.*, 2003; Gomez-Mestre, Tejedo, 2004; Ujvari *et al.*, 2005; Ujvari, Belov, 2011; Shiina *et al.*, 2015). По-

следние играют ключевую роль в обеспечении иммунных функций организма при инфекционной и паразитарной нагрузке, и наличие полиморфизма этих генов может свидетельствовать о благополучном состоянии популяций (Biedrzycka *et al.*, 2011). Разнообразие генов МНС является важным фактором при формировании прогноза выживания для исчезающих популяций животных в дикой природе (Ujvari, Belov, 2011, Shiina *et al.*, 2015).

Повышению полиморфизма аллелей МНС в индивидуальном генотипе способствует свойственная генам этого комплекса многокопийность — наличие более чем одного локуса определенного типа. Это явление широко распространено у млекопитающих: у лошадей (Fraser, Bailey, 1996), приматов (Bontrop *et al.*, 1999; Khazand *et al.*, 1999), крупного рогатого скота (Lewin *et al.*, 1999), разных видов кошачьих (Kennedy *et al.*, 2002), морских львов (Bowen *et al.*, 2004). Отмечена многокопийность генов МНС и у грызунов, в частности, у песчанок (*Gerbillurus pabea*) (Harf, Sommer, 2005) и бобров (*Castor fiber pohlei*) (Babik *et al.*, 2005). Вопрос о многокопийности гена *DRB* у обыкновенного хомяка до настоящего времени оставался открытым. При исследовании европейских популяций ни для одного из 70 образцов не было обнаружено

Таблица 3. Результаты оценки числа несинонимичных (dN) и синонимичных (dS) замен и результаты Z-теста на соответствие наблюдающихся разнообразия вариантов нуклеотидных последовательностей результату балансирующего отбора. Статистически достоверные значения выделены жирным шрифтом

	Полные последовательности секвенированных участков			Антигенсвязывающие регионы		
	Городская популяция	Сельская популяция	Обобщенная выборка	Городская популяция	Сельская популяция	Обобщенная выборка
dN (S.E.)	15.71 (2.71)	11.35 (2.60)	14.32 (2.68)	4.91 (1.52)	4.86 (1.58)	5.10 (1.57)
dS (S.E.)	4.71 (1.14)	4.69 (1.41)	5.01 (1.26)	1.04 (0.48)	1.34 (0.75)	1.18 (0.59)
dN/dS	3.335	2.422	2.861	4.736	3.62	4.311
Z	1.123	-0.094	0.5	2.109	0.961	1.791
p(Z)	0.132	1	0.309	0.019	0.169	0.038

наличие более двух аллелей (Smulders *et al.*, 2003). Однако это исследование проводилось методом клонирования с амплификацией и секвенированием не более, чем 10 молекул (клонов) на образец. В нашем случае, при секвенировании многократно большего числа ампликонов, была показана возможность присутствия в генотипе обыкновенного хомяка до 4 разных последовательностей экзона 2 гена *DRB*, представленных со сходно высокой частотой.

Обитание в условиях города зачастую характеризуется обеднением генетического разнообразия, выявляемого по нейтральным маркерам (Kajdacs *et al.*, 2013; Chiappero *et al.*, 2011; MunshiSouth *et al.*, 2014; Феоктистова и др., 2016; 2019). Связано это как с ограниченным числом приспособившихся к городским условиям особей основателей, так и ограниченностью и изолированностью пригодных для обитания территорий, что способствует усилению инбридинга. Однако в условиях города животные становятся мишенью для большого числа нестандартных патогенов и паразитов из-за высокой плотности синантропных видов и разнообразных стрессовых факторов (Gliwicz *et al.*, 1980; Luniak, 2004). Поэтому накопление большего высокого разнообразия генов, отвечающих за иммунные характеристики, является крайне актуальным для выживания видов-синурбистов.

Обыкновенный хомяк, как уже отмечалось, является видом, включенным в Красную книгу МСОП в связи с резким сокращением численности естественных популяций. Исследования генетического разнообразия по нейтральным маркерам (как

по мтДНК, так и по микросателлитным локусам), показали резкое сокращение генетического разнообразия его популяций в крайней западной части ареала, в то время как в популяциях из Восточной Европы разнообразие по этим маркерам остается достаточно высоким (Smulders *et al.*, 2003; Neumann *et al.*, 2004, 2005; Banaszek *et al.*, 2011; Reiners *et al.*, 2014).

Единственное исследование, оценивающее аллельное разнообразие генов МНС в популяциях обыкновенного хомяка было проведено также для естественных популяций западной части ареала вида (Smulders *et al.*, 2003). Было выявлено резкое снижение разнообразия (вплоть до сохранения единственного аллеля экзона 2 гена *DRB*) в популяциях Франции и Голландии, тогда как анализ музейных образцов продемонстрировал, что еще в начале прошлого века в этих популяциях присутствовало, по крайней мере, еще 7 аллелей. С резким сокращением аллельного разнообразия *DRB* в крайней западной части ареала вида связывают снижение средней массы тела, ухудшение размножения и снижение устойчивости к паразитарной нагрузке. В то же время в современной популяции из Чехии (Восточная Европа) у 15 животных было отмечено 13 различных аллелей гена *DRB*, и большинство животных были гетерозиготными (Smulders *et al.*, 2003). Учитывая, что обыкновенный хомяк в последние 50 лет начал активно заселять города, остро встал вопрос — насколько благополучными являются синурбические популяции этого вида? Ранее мы исследовали особенности распространения митохондриальных линий в по-

пуляциях обыкновенного хомяка в ряде городов Кавказа и Крыма (Феоктистова и др., 2016; 2019) и показали, что в городах разнообразие этих линий обеднено. Однако в городских популяциях обнаружены и уникальные варианты, не встречающиеся вне города. Так, на территории города Симферополя отмечено только три из семи вариантов объединенного участка гена цитохрома *b* и контрольного региона, представленных на Крымском полуострове. При этом два из них были уникальными для этого города.

Проведенный нами анализ аллельного состава гена *DRB* показал, что, напротив, именно городская популяция отличается повышенным разнообразием этого гена по всем показателям (число аллелей, отмеченных в популяции, среднее число аллелей в генотипе особи, рассчитанные для популяции индексы гаплотипического и нуклеотидного разнообразия). Число аллелей (11) в сельских популяциях обыкновенного хомяка на Крымском полуострове было несколько ниже, чем для благополучной негородской популяции Чехии (13), но для Симферополя это значение (19) было существенно большим. Хотя число несинонимичных замен превышало число синонимичных в обоих выборках с Крымского полуострова, соотношение dN/dS и значение показателя действия положительного отбора в городской популяции было заметно выше, чем сельской.

Полученные результаты позволяют предполагать, что представители городской популяции Симферополя хорошо “подготовлены” к противостоянию “городским вызовам”, обладая большей устойчивостью к инфекциям и паразитарной нагрузке. Скорее всего, это является следствием отбора к специфическим условиям городской среды.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (20-04-00102a) и (19-34-90059).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Сорокин А.Г. Современные проблемы сохранения и восстановления популяций редких птиц // Сохранение и восстановление биоразнообразия. Разд. V. М.: Изд-во Научного и учебно-методического центра, 2002. С. 131–147.
- Суров А.В., Поплавская Н.С., Богомолов П.Л., Кропоткина М.В., Товпинец Н.Н., Кацман Е.А., Феоктистова Н.Ю. Синурбанизация обыкновенного хомяка (*Cricetus cricetus* L., 1758) // Росс. журн. биологических инвазий 2015. Т. 8. № 4. С. 105–116.
- Товпинец Н.Н., Евстафьев И.Л., Карасева Е.В. Склонность к синантропии обыкновенного хомяка (*Cricetus cricetus*) по наблюдениям в Крыму. В сб.: Фауна в антропогенном ландшафте. Мат. териологической школы. 2006. № 8. 136–145.
- Феоктистова Н.Ю., Мещерский И.Г., Суров А.В., Богомолов П.Л., Товпинец Н.Н., Поплавская Н.С. Генетическая структура городской популяции обыкновенного хомяка (*Cricetus cricetus*) // Генетика. 2016. Т. 52. № 2. С. 221–221.
- Феоктистова Н.Ю., Мещерский И.Г., Богомолов П.Л., Мещерский С.И., Саян А.С., Ситникова Е.Ф., Власов А.А., Власова О.П., Суров А.В. К вопросу о границе между двумя филогруппами обыкновенного хомяка (*Cricetus cricetus*) (Cricetinae, Rodentia) // Поволжский экол. журн. 2019. № 4. С. 485–494.
- Феоктистова Н.Ю., Мещерский И.Г., Богомолов П.Л., Мещерский С.И., Кацман Е.А., Пельгунова Л.А., Поташикова Е.П., Суров А.В. Непреднамеренно поставленный эксперимент—заселение вновь созданного городского парка видом-синурбистом обыкновенным хомяком *Cricetus cricetus* L., 1758 // Изв. РАН. Сер. биол. 2020. № 2. С. 224–232.
- Acevedo-Whitehouse K., Cunningham A.A. Is MHC enough for understanding wildlife immunogenetics? // Trends in Ecol. Evol. 2006. № 21(8). P. 433–438.
- Babik W., Durka W., Radwan J. (2005). Sequence diversity of the MHC DRB gene in the Eurasian beaver (*Castor fiber*) // Mol. Ecology. V. 14(14). P. 4249–4257.
- Banaszek A., Ziomek J. The common hamster (*Cricetus cricetus* L.) population in the city of Lublin // Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska Lublin Polonia. 2010. V. 65. № 1. P. 59–66.
- Banaszek A., Jadwiszczak K.A., Ziomek J. Genetic variability and differentiation in the Polish common hamster (*Cricetus cricetus* L.): genetic consequences of agricultural habitat fragmentation // Mamm. Biol. 2011. V. 76(6). P. 665–671.
- Banaszek A., Bogomolov P., Feoktistova N., La Haye M., Monecke S., Reiners T.E., Rusin M., Surov A., Weinhold U., Ziomek J. // *Cricetus Cricetus*. The IUCN Red List of Threatened Species. 2020.
- <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020>
- <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020>
- Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. P. 37–48.
- <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
- Biedrzycka A., Kloch A., Buczek M., Radwan J. Major histocompatibility complex DRB genes and blood parasite loads in fragmented populations of the spotted suslik *Spermophilus suslicus* // Mamm. Biology. 2011. V. 76(6). P. 672–677.
- Boggie M.A., Mannan R.W. Examining seasonal patterns of space use to gauge how an accipiter responds to urbanization // Landscape and Urban Planning. 2014. V. 124. P. 34–42.
- Bontrop R.E., Otting N., de Groot N.G., Doxiadis G.G. Major histocompatibility complex class II polymorphisms in primates // Immunological reviews. 1999. V. 167(1). P. 339–350.

- Bowen L., Aldridge B.M., Gulland F., Van Bonn W., DeLong R., Melin S., Lowenstine L.J., Stott J.L., Johnson M.L. Class II multifunctionality generated by variable MHC-DRB region configurations in the California sea lion (*Zalophus californianus*) // Immunogenetics. 2004. V. 56(1). P. 12–27.
- Brown J.H., Jardetzky T.S., Gorga J.C., Stern L.J., Urban R.G., Strominger J.L., Wiley D.C. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1 // Nature. 1993. V. 364(6432). P. 33–39.
- Brown J.L., Eklund A. Kin recognition and the major histocompatibility complex: an integrative review // The American Naturalist. 1994. V. 143(3). P. 435–461.
- Buczek T. Inwentaryzacja chomika europejskiego *Cricetus cricetus* na obszarze Górów Czechowskich w Lublinie. 2019
- Bushnell B., Rood J., Singer E. BBMerge – Accurate paired shotgun read merging via overlap // PLoS ONE. 2017. V. 12(10). e0185056.
- Chiappero M.B., Panzetta Dutari G.M., Gomez D. et al. Contrasting genetic structure of urban and rural populations of the wild rodent *Calomys musculinus* (Cricetidae, Sigmodontinae) // Mammal. Biol. 2011. V. 76. P. 41–50.
- <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2010.02.003>
- Čanádý A. New site of the European hamster (*Cricetus cricetus*) in the urban environment of Košice city (Slovakia) // Zoology and Ecology. 2013. V. 23. P. 61–65.
- Edwards S.V., Potts W.K., Polymorphism of genes in the major histocompatibility complex (MHC): Implications for conservation genetics of vertebrates. In: Molecular Genetic Approaches in Conservation (eds TB Smith and RK Wayne) Oxford University Press. N.Y., 1996. P. 214–237.
- Endres J., Weber U. Möglichkeiten und Maßnahmen zur langfristigen Erhaltung des Feldhamsters (*Cricetus cricetus* L.) im Nordbereich der Universität Göttingen // Dokumentation zum Pilotforschungsprojekt “Feldhamster” am Institut für Wildbiologie und Jagdkunde der Georg-August-Universität Göttingen, 1999. 263 p. (in German)
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // Evol. Bioinform. Online. 2005. V. 1. P. 47–50. PMCID: PMC2658868
- Feoktistova N.Y., Surov A.V., Tovpinetz N.N., Kropotkina M.V., Bogomolov P.L., Siutz C., Haberl W., Hoffmann I.E. The common hamster as a synurbist: a history of settlement in European cities // Zoologica Poloniae. 2013. V. 58(3–4). P. 116.
- Feoktistova N.Y., Meschersky I.G., Bogomolov P.L., Sayan A.S., Poplavskaya N.S., Surov A.V. Phylogeographic structure of the Common hamster (*Cricetus cricetus* L.): Late Pleistocene connections between Caucasus and Western European populations // PLoS One. 2017. V. 12(11). e0187527.
- Fraser D.G., Bailey E. Demonstration of three DRB loci in a domestic horse family // Immunogenetics. 1996. V. 44(6). P. 441–445.
- Gomez-Mestre I., Tejedo M. Contrasting patterns of quantitative and neutral genetic variation in locally adapted populations of the natterjack toad, *Bufo calamita*. // Evolution. 2004. V. 58. P. 2343–2352.
- Gliwicz J. Ecological aspects of synurbization of Striped Field Mouse *Apodemus agrarius* (Pall.) // Wiadomości Ecol. 1980. V. 26. P. 185–196.
- Harf R., Sommer S. Association between major histocompatibility complex class II DRB alleles and parasite load in the hairy-footed gerbil, *Gerbillurus paeba*, in the southern Kalahari // Mol. Ecology. 2005. V. 14(1). P. 85–91.
- Harris S.E., Munshi-South J., Obergfell C., O'Neill R. Signatures of rapid evolution in urban and rural transcriptomes of white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) in the New York metropolitan area // PLoS One. 2013. V. 8(8). e74938.
- Harris S.E., Munshi-South J. Scans for positive selection reveal candidate genes and local adaptation of *Peromyscus leucopus* populations to urbanization // bioRxiv. 2016. 038141.
- Harris S.E., Munshi-South J. Signatures of positive selection and local adaptation to urbanization in white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) // Mol. Ecology. 2017. V. 26(22). P. 6336–6350.
- Hedrick P.W., Miller P.S. Rare alleles, MHC and captive breeding // In Conservation genetics. 1994. P. 187–204. Birkhäuser, Basel.
- Hedrick P.W. Conservation genetics: Where are we now? Trends Ecol. Evol. 2001. V. 16. P. 629–636.
- Hill A.V.S., Allsopp C.E.M., Kwiatowski D., Anstey N.M., Twumasi P., Rowe P.A., Bennett S., Brewster D., Michael A.J., Greenwood B.M. Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria // Nature. 1991. V. 352. P. 595–600.
- Janeway C., Travers P., Walport M., Shlomchik M. Immunobiology. Garland Science. N.Y., 2004.
- Kajdacs B., Costa F., Hyseni C. et al. Urban population genetics of slum dwelling rats (*Rattus norvegicus*) in Salvador, Brazil // Mol. Ecol. 2013. V. 22. P. 5056–5070.
- <https://doi.org/10.1111/mec.1245517>
- Kennedy L., Ryvar R., Gaskell R., Addie D., Willoughby K., Carter S., Thomson W., Ollier W.E.R., Radford A. Sequence analysis of MHC DRB alleles in domestic cats from the United Kingdom // Immunogenetics. 2002. V. 54(5). P. 348–352.
- Khazand M., Peiberg C., Nagy M., Sauermann U. Mhc-DQ-DRB haplotype analysis in the rhesus macaque: evidence for a number of different haplotypes displaying a low allelic polymorphism // Tissue antigen. 1999. V. 54(6). P. 615–624.
- Klein J., Figueroa F. Evolution of the major histocompatibility complex // Critical reviews in immunology. 1986. V. 6(4). P. 295–386.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. Mol. Biol. and Evol. 2018. V. 35. P. 1547–1549.
- Kupfernagel C. Raumnutzung umgesiedelter Feldhamster *Cricetus cricetus* (Linnaeus, 1758) auf einer Ausgleichsfläche bei Braunschweig // Braunschweiger Naturkundliche Schriften. 2003. V. 6. № 4. P. 857–887.
- Langmead B., Salzberg S. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. Nature Methods. 2012. V. 9. P. 357–359.

- Lewin A.Y., Long C.P., Carroll T.N. The coevolution of new organizational forms // *Organ. Science*. 1999. V. 10(5). P. 535–550.
- Losík J., Lisická L., Hříbková J., Tkadlec E. Demografická struktura a procesy v přírodní populaci křeček (*Cricetus cricetus*) na Olomoucku // *Lynx (Praha)*, n. s. 2007. V. 38. P. 21–29.
- Luikart G., England P.R., Tallmon D., Jordan S., Taberlet P. The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing // *Nat. Rev. Genet.* 2003. V. 4. P. 981–999.
- Luniak M. Synurbization—adaptation of animal wildlife to urban development. In *Proceedings 4th international urban wildlife symposium*. 2004. (P. 50–55). Tucson: University of Arizona.
- Matysek M., Hédzak M., Kuc M., Osmolska A. The occurrence site of the common hamster *Cricetus cricetus* in Krakow // [In Polish with English summary] *Chrońmy Przyr. Ojcz.* 2013. V. 69(5). P. 430–436
- McKay J.K., Latta R.G. Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. *Trends in ecology and evolution*, 2002. V. 17(6). P. 285–291.
- Morinha F., Ramos P.S., Gomes S., Mannan R.W., Guedes-Pinto H., Bastos E. Microsatellite markers suggest high genetic diversity in an urban population of Cooper's hawks (*Accipiter cooperii*) // *J. Genetics*. 2016. V. 95(1). P. 19–24.
- MunshiSouth J., Nagy C. Urban Park characteristics, genetic variation, and historical demography of whitefooted mouse (*Peromyscus leucopus*) populations in New York City, Peer J., 2014. V. 2. P. 310–315.
<https://doi.org/10.7717/peerj.310>
- Neumann K., Jansman H., Kayser A., Maak S., Gattermann R. Multiple bottlenecks in threatened western European populations of the common hamster *Cricetus cricetus* (L.) // *Conservation Genetics*. 2004. V. 5(2). P. 181–193.
- Neumann K., Michaux J., Maak S., Jansman A.H., Kayser A., Mundt G., Gattermann R. Genetic spatial structure of European common hamsters (*Cricetus cricetus*) – a result of repeated range expansion and demographic bottlenecks // *Mol. Ecol.* 2005. V. 14. P. 1473–1483.
- Niethammer J. *Cricetus cricetus* (Linnaeus, 1758) – Feldhamster // In: *Handbuch der Säugetiere Europas* / Eds. J. Niethammer, F. Krapp. Wiesbaden, 1982. Bd. 2/1, Rodentia II. P. 7–28.
- Palo J.U., O'Hara R.B., Laugen A.T., Laurila A., Primmer C.R., Merila J. Latitudinal divergence of common frog (*Rana temporaria*) life history traits by natural selection: Evidence from a comparison of molecular and quantitative genetic data. // *Mol. Ecol.* 2003. V. 12. P. 1963–1978.
- Petrová I., Petrílková M., Losík J., Gouveia A., Damugi I.E., Tkadlec E. Density-related pattern of variation in body growth, body size and annual productivity in the common hamster // *Mamm. Biol.* 2018. V. 91(1). P. 34–40.
- Pfrender M.E., Spitze K., Hicks J., Morgan K., Latta L., Lynch M. Lack of concordance between genetic diversity estimates at the molecular and quantitative-trait levels // *Conserv. Genet.* 2000. V. 1. P. 263–269.
- Potts W.K., Wakeland E.K. Evolution of MHC genetic diversity: a tale of incest, pestilence and sexual preference // *Trends in Genetics*. 1993. V. 9(12). P. 408–412.
- Reed D.H., Frankham R. How closely correlated are molecular and quantitative measures of genetic variation? A meta-analysis // *Evolution*. 2001. V. 55. P. 1095–1110
- Reiners T.E., Eidenschenk J., Neumann K., Nowak C. Preservation of genetic diversity in a wild and captive population of a rapidly declining mammal, the Common hamster of the French Alsace region // *Mammal. Biol.* 2014. V. 79(4). P. 240–246.
- Richmond T.J., Davey C.A. The structure of DNA in the nucleosome core // *Nature*. 2003. V. 423(6936). P. 145–150.
- Schilthuisen M. Darwin in de stad: evolutie in de urban jungle. Atlas Contact; 2018. May 23.
- Schmelzer E., Millesi E. Surface activity patterns in a population of European hamsters (*Cricetus cricetus*) in an urban environment // In: *The Common Hamster in Europe. Ecology, management, genetics, conservation, reintroduction. Proceedings Meeting of the International Hamster Workgroup* / Ed. G. Nechay. 2008. P. 19–22.
- Shiina T., Yamada Y., Aarnink A., Suzuki S., Masuya A., Ito S., Ido D., Yamanaka H., Iwatani C., Tsuchiya H., Ishigaki H., Itoh Y., Ogasawara K., Kulski J.K., Blancher A. Discovery of novel MHC-class I alleles and haplotypes in Filipino cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) by pyrosequencing and Sanger sequencing // *Immunogenetics*, 2015. V. 67(10). P. 563–578.
- Serieys L.E., Lea A., Pollinger J.P., Riley S.P., Wayne R.K. Disease and freeways drive genetic change in urban bobcat populations // *Evol. Applic.* 2015. V. 8(1). P. 75–92.
- Smulders M.J.M., Snoek L.B., Booy G., Vosman B. Complete loss of MHC genetic diversity in the Common Hamster (*Cricetus cricetus*) population in the Netherlands. Consequences for conservation strategies // *Cons. Genet.* 2003. V. 4(4). P. 441–451.
- Surov A., Banaszek A., Bogomolov P., Feoktistova N., Monecke S. Dramatic global decrease in the range and reproduction rate of the European hamster *Cricetus cricetus* // *Endangered Species Res.* 2016. V. 31. P. 119–145.
- Thorns H.-J. Die Göttinger Feldhamster-Story // BUND Landesverband Niedersachsen e.V., BUNDmagazin. 1998 // 4. http://www.bundniedersachsen.de/service/bundmagazin/41998/die_goettinger_feldhamster_story/
- Ujvari B., Olsson M., Madsen T. Discrepancy in mitochondrial and nuclear polymorphism in meadow vipers (*Vipera ursinii*) questions the unambiguous use of mtDNA in conservation studies // *Amphibia-Reptilia*. 2005. V. 26(3). P. 287–292.
- Ujvari B., Belov K. Major histocompatibility complex (MHC) markers in conservation biology // *Intern. J. Mol. Sci.* 2011. V. 12(8). P. 5168–5186.
- Villesen P. FaBox: an online toolbox for fasta sequences // *Mol. Ecol. Notes*. 2007. V. 7. P. 965–968.

Allele diversity of the Major Histocompatibility Complex in the Common Hamster (*Cricetus cricetus*) in Urban and Rural Populations

N. Y. Feoktistova^{1, #}, I. G. Meschersky¹, T. N. Karmanova¹, A. V. Gureeva¹, and A. V. Surov¹

¹*Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Leninsky pr., 33, Moscow, 119071 Russia*

[#]*e-mail: feoktistovanyu@gmail.com*

Based on the results of targeted sequencing on the Illumina platform we compared the allelic diversity of exon 2 of the *DRB* gene in urban (city of Simferopol) and rural populations of the common hamster. The urban population significantly differs from the rural one in terms of the composition and diversity of gene alleles. For individuals living in the city, a larger number of alleles, higher values of haplotype and nucleotide diversity indices, and a smaller proportion of individuals with a homozygous genotype were noted. Both populations are characterized by a significant excess of non-synonymous substitutions over synonymous ones and almost every allele of a gene corresponds to a different amino acid sequence. However, the influence of positive selection on the diversity of variants of antigen-binding sites in the alleles of the *DRB* gene in urban conditions is much more pronounced. The data suggest that resistance of common hamsters living in specific and varied conditions of the urban environment to various kinds of pathogenic load is higher than in rural populations.

Keywords: common hamster, *Cricetus cricetus*, MHC class II, *DRB*, Illumina, genetic diversity, urban conditions, pathogen load, natural selection