

Основные направления и факторы, определяющие изменчивость аминокислотных последовательностей СУТВ азиатских скальных полевок (*Alticola*, *Rodentia*, *Arvicolinae*)

В. Ю. КОВАЛЕВА¹, И. В. МОРОЛДОЕВ¹, Ю. Н. ЛИТВИНОВ¹, К. В. ЕФИМОВ², В. М. ЕФИМОВ^{1, 3, 4}

¹Институт систематики и экологии животных СО РАН
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 11
E-mail: v_kov_65@mail.ru

²Высшая школа экономики
109028, Москва, ул. Мясницкая, 20

³Томский государственный университет
634050, Томск, пр. Ленина, 36

⁴Новосибирский государственный университет
630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Статья поступила 15.04.2024

После доработки 25.04.2024

Принята к печати 26.04.2024

АННОТАЦИЯ

Проведен статистический анализ изменчивости аминокислотного состава митохондриального белка СУТВ азиатских скальных полевок р. *Alticola*. Последовательности ($N = 36$; 380 а. о.) взяты из GenBank вместе с сопутствующей информацией об их географической принадлежности. Вычислены частоты аминокислот для каждой последовательности и матрица квадратов евклидовых расстояний между ними, по которой методом главных координат рассчитаны главные компоненты (principal component – PC). В пространстве первых двух PC ($\Sigma\lambda = 76,89\%$) все последовательности группируются в соответствии с их видовой принадлежностью, образуя восточно-сибирскую (*A. strelzowi*, *A. olchonensis*, *A. semicanus*, *A. tuvinicus*), южную (*A. stracheyi*, *A. argentatus*, *A. albicaudus*, *A. stoliczkanus*, *A. barakshin*) и северо-восточную (*A. lemminus*, *A. macrotis*) группы. В направлении PC1 происходит изменение частот Met, Gly, Ile → Ala, Thr, компонента высоко коррелирует с большим подмножеством AA-индексов ($N = 362$ при p -value <0,01 с учетом множественных сравнений по Бонферрони) и средним эволюционным рангом последовательностей СУТВ. В направлении PC2 изменяются частоты Val, Phe → Leu. Это направление демонстрирует значимые корреляции с широтой ($r = 752$; $p < 0,001$), высотой ($r = -717$; $p < 0,01$) местности, 21 климатической переменной местообитаний полевок и 54 AA-индексами.

Ключевые слова: СУТВ, частоты аминокислот, главные компоненты, физико-химические свойства, эволюционный ранг, факторы среды, *Alticola*.

ВВЕДЕНИЕ

Митохондриальный геном долгое время рассматривался как идеальный маркер для филогенетических реконструкций главным образом в связи с представлениями о его преимущественной селективной нейтральности. Однако имеются многочисленные свидетельства того, что существенное влияние на эволюцию митохондрий оказывает адаптивный отбор [Bazin et al., 2006; Ballard et al., 2007; da Fonseca et al., 2008; Chevron, Brumfield, 2012; Consuegra et al., 2015; James et al., 2016; Bondareva et al., 2021a].

Белки, кодируемые генами mtДНК, высококонсервативны, что отражает их жизненно важную роль в функционировании метаболического пути окислительного фосфорилирования (OXPHOS), в результате которого происходит синтез АТФ. Помимо синтеза АТФ, митохондрии также вырабатывают тепло для поддержания температуры тела. Баланс между выработкой АТФ и тепла определяется эффективностью OXPHOS, например, борьба с холодом включает усиленное выделение тепла и снижение выработки АТФ [Luo et al., 2008].

Пронизывающий внутреннюю мембрану митохондрий белок CYTB (наряду с COXs) относится к числу наиболее консервативных из всех митохондриальных белков. Вместе с тем сигналы положительного отбора наблюдались в функционально важных областях CYTB у видов с более специализированными метаболическими потребностями, такими как низкоэнергетическая диета при больших размерах тела у слонов и дюгоней, адаптация к дефициту кислорода при нырянии китообразных и полете летучих мышей, адаптация к условиям высокогорья, подземному образу жизни у полевок [McClellan et al., 2005; da Fonseca et al., 2008; Luo et al., 2008; Hassanin et al., 2009; Chevron, Brumfield, 2012; Bondareva et al., 2021a, b].

Сигналы положительного отбора в белок-кодирующих генах обычно оценивают с помощью соотношения частот несинонимичных и синонимичных замен ($\omega = dN/dS$) [Yang, 1998] и алгоритма, реализованного в TreeSAAP [Woolley et al., 2003], позволяющего классифицировать каждый аминокислотный сайт, используя количественные физико-химические свойства аминокислот. Однако для высококонсервативных белков,

таких как CYTB, такие подходы часто бывают неинформативны, поскольку не допускают возможности того, что адаптация может проявляться в виде очень небольшого количества аминокислотных замен [McClellan et al., 2005; da Fonseca et al., 2008; Bondareva et al., 2021b]. В исследовании [da Fonseca et al., 2008] представление об эволюции белка CYTB получено путем изучения аминокислотных замен, наблюдаемых при выравнивании последовательностей различных видов млекопитающих.

Азиатские скальные полевки – редкие, чаще всего малочисленные виды, населяющие труднодоступные районы Центральной и Северо-Восточной Азии. Они мозаично распределены по обширной территории от Казахского мелкосопочника на юго-западе ареала, далее на юг до хребтов Памиро-Алая, Тянь-Шаня, Гиндукуша и Гималаев; в горах Южной Сибири (Алтай, Западный и Восточный Саян), Монгольского Алтая и Северо-Западной Монголии, Северо-Западного Китая и Северной Индии; на восток на хребтах Хамар-Дабан и Баргузинский, островах оз. Байкал, Яблоновом хребте, в низовьях р. Лены, на Становом хребте и на юг до Амурской обл.; далее на северо-восток от гор Южной Якутии до Чукотского полуострова.

Все представители рода повсеместно приурочены к характерным каменистым местообитаниям: щебневым и каменистым россыпям и выходам скал, галечников речных долин, щебнистой тундры, в морских прибрежных районах населяют тундру, поднимаются до голыц на хребтах лесной зоны, а на юге ареала – до субальпийских лугов на высотах до 6140 м над уровнем моря (ур. м.) (*A. stoliczkanus*) [Громов, Ербаева, 1995; Kryštufek, Shenbrot, 2022].

Долгое время считались малоизученной “загадочной” группой грызунов в связи с труднодоступностью мест их обитания. Однако в последние десятилетия усилиями нескольких международных и отечественных исследовательских групп получены существенные результаты, проливающие свет на ряд важных вопросов, касающихся морфологии, экологии, распространения, филогенетического родства и систематики отдельных представителей скальных полевок и рода в целом [Lebedev et al., 2007; Чертилина и др., 2012; Kohli

et al., 2014; Бодров и др., 2016; Поздняков и др., 2017; Abramov et al., 2017; Tang et al., 2018; Абрамов и др., 2019; Bhatt, 2020; Bodrov et al., 2020; Abramson et al., 2021; Поздняков, 2022; Dvoyashov et al., 2023].

На основании морфологического и филогенетического анализа выделяют 12 [Wilson, Reeder, 2005] или 14 видов [Kryštufek, Shenbrot, 2022], относящихся к двум подродам *Alticola* s. str. и *Aschizomys* [Бодров и др., 2016; Kryštufek, Shenbrot, 2022].

Азиатские скальные полевки являются интересными объектами для изучения перестройки энергетического метаболизма системы клеточного дыхания при адаптации к комбинированным условиям гипотермии и гипоксии. В связи с этим целью работы было выявление основных направлений и факторов изменчивости аминокислотного состава митохондриального белка CYTB скальных полевок с применением статистического подхода.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Из GenBank [NCBI Resource Coordinators, 2015] взяты аминокислотные последовательности скальных полевок р. *Alticola* (380 а. о.), кодируемые митохондриальным геном *Cytb*, с сопутствующей информацией о местах отловов животных, всего 36 последовательностей, 11 видов (табл. 1). Из-за неполноты данных у всех последовательностей отсечены первые восемь и последняя 380-я позиция.

Для всех последовательностей вычислены частоты аминокислот (36×20) и матрица квадратов евклидовых расстояний между ними размером 36×36 , по которой методом главных координат [Gower, 1966] рассчитаны главные компоненты (РС) аминокислотной изменчивости данного набора последовательностей и их корреляции с частотами аминокислот (табл. 2).

Для интерпретации полученных РС использовано 553 полных физико-химических свойства 20 протеиногенных аминокислот из базы данных AAindex [Kawashima et al., 2008]. Для каждой последовательности и каждого АА-индекса рассчитано среднее арифметическое после замены всех 371 аминокислоты соответствующими значениями АА-индекса. Для полученной матрицы размером 36×553 вычислены коэффициенты линейной корреляции Пирсона АА-индексов с первыми РС аминокислотной изменчивости.

Кроме физико-химических свойств, еще одной своеобразной характеристикой аминокислот может служить порядок их хронологического появления в генетическом коде. Приято считать, что 20 аминокислот, входящих в состав современных белков, появились на эволюционной сцене неодновременно. В научной литературе обсуждается множество гипотетических сценариев этой эволюции.

На сегодняшний день предложено несколько различающихся вариантов эволюционного порядка аминокислот, их объединяет то, что аминокислоты Миллера [Miller, 1953, 1987] (абиотического синтеза) стоят первыми в хронологическом списке, а аминокислоты, связанные с захватом кодонов, – последними [Trifonov, 2004; Koonin, Novozhilov, 2009; Granold et al., 2018; Саралов, 2019]. Мы использовали эволюционные номера (ранги) аминокислот наряду с их физико-химическими свойствами для интерпретации главных направлений аминокислотной изменчивости последовательностей CYTB у скальных полевок. Так же как и для АА-индексов, для каждой последовательности и каждого из четырех авторских вариантов эволюционного порядка после замены всех 371 аминокислоты соответствующими эволюционными рангами каждой аминокислоты рассчитано среднее арифметическое – средний эволюционный ранг последовательности (СЭ-ранг). Для полученной матрицы размером 36×4 вычислены коэффициенты линейной корреляции Пирсона СЭ-рангов с первыми двумя РС аминокислотной изменчивости (табл. 3).

Посредством сервиса (<https://aquastat.fao.org/climate-information-tool/>) по географическим координатам “lat_lon” определили альтитуду и значения климатических переменных. Аквастат – это интерактивный инструмент для запроса пространственного набора данных, содержащий долгосрочные среднемесечные климатические данные. Набор данных охватывает глобальную поверхность суши с 10-минутным пространственным разрешением за период 1961–1990 гг. Инструмент отображает широту, долготу и высоту над уровнем моря выбранного местоположения, а также значения среднемесечных климатических переменных за период 1961–1990 гг.,

Таблица 1
Описание материала: виды, номера нуклеотидных последовательностей гена *Cytb* и соответствующих им аминокислотных последовательностей в GenBank, места сбора образцов и их авторская принадлежность (упорядочено по авторам)

Вид	Nucleotide	Protein_id	Lat	Lon	Регион	Авторы
A. (<i>Alticola</i>) <i>olchonensis</i>	MT381924	UFR83165	53,16	107,38	Россия: Байкал, о. Ольхон	Abramson et al., 2021
A. (<i>Alticola</i>) <i>tuvicus</i>	MT381926	UFR83191	51,85	95,57	Россия: Тыва	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>macrotis</i>	MK328034	QGA41874	50,10	89,19	Россия: Алтай, Кош-Агачский р-н	Bodrov et al., 2020
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>macrotis</i>	MK328036	QCA41876	52,35	100,77	Россия: Бурятия, Восточный Саян	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>macrotis</i>	MK341117	QGA69974	50,28	87,65	Россия: Алтай, Кош-Агачский р-н	
A. (<i>Alticola</i>) <i>strelzovi</i>	MT381925	UFR83178	51,24	92,19	Россия: Тыва	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>macrotis</i>	MK328035	QGA41875	52,00	94,02	Россия: Тыва, Куртушибинский хр.	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>lemminius</i>	MK341115	QGA69972	57,53	125,18	Россия: Якутия, Нерюнгринский р-н	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>lemminius</i>	MK328041	QGA41881	56,73	125,80	Россия: Якутия, р. Барыллас	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>lemminius</i>	MK328042	QGA41882	56,73	125,80	Россия: Якутия, р. Барыллас	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>lemminius</i>	MK328040	QGA41880	57,60	127,87	Россия: Якутия, р. Курунга-Хонку	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>macrotis</i>	AY309411	AAQ77203	64,40	173,21	Россия: пос. Привидения	Cook et al., 2004
A. (<i>Alticola</i>) <i>argentatus</i>	KJ566627	AHM94895	43,38	84,38	Китай: Синьцзян-Уйгурский а. р-н	
A. (<i>Alticola</i>) <i>strelzowi</i>	KJ566694	AHM94962	46,97	91,13	Монголия: Баян-Улгий	Kohli et al., 2014
A. (<i>Alticola</i>) <i>strelzowi</i>	KJ566696	AHM94964	46,97	91,13	Монголия: Баян-Улгий	
A. (<i>Alticola</i>) <i>barakshin</i>	KJ566663	AHM94931	45,17	100,78	Монголия: Баянхонгор	
A. (<i>Alticola</i>) <i>barakshin</i>	KJ566664	AHM94932	45,17	100,78	Монголия: Баянхонгор	
A. (<i>Alticola</i>) <i>barakshin</i>	KJ566683	AHM94951	44,40	95,90	Монголия: Говь-Алтай	
A. (<i>Alticola</i>) <i>barakshin</i>	KJ566689	AHM94957	45,50	94,33	Монголия: Говь-Алтай, Бугат	
A. (<i>Alticola</i>) <i>barakshin</i>	KJ566676	AHM94944	45,46	98,17	Монголия: Говь-Алтай, Чандмань	
A. (<i>Alticola</i>) <i>semicanus</i>	KJ566620	AHM94888	46,46	103,11	Монголия: Уверхантай	
A. (<i>Alticola</i>) <i>barakshin</i>	KJ566637	AHM94905	43,50	104,02	Монголия: Умнеговь	
A. (<i>Alticola</i>) <i>barakshin</i>	KJ566639	AHM94907	43,50	104,02	Монголия: Умнеговь	
A. (<i>Alticola</i>) <i>barakshin</i>	KJ566659	AHM94927	43,46	103,36	Монголия: Умнеговь	
A. (<i>Alticola</i>) <i>albicaudus</i>	KJ566726	AHM94994	35,95	74,59	Пакистан: Гилгит-Балтистан	
A. (<i>Alticola</i>) <i>albicaudus</i>	KJ566729	AHM94997	35,95	74,59	Пакистан: Гилгит-Балтистан	
A. (<i>Alticola</i>) <i>argentatus</i>	KJ566727	AHM94995	35,95	74,59	Пакистан: Гилдукуш	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>lemminius</i>	KJ566621	AHM94889	61,82	147,67	Россия: Магаданская обл.	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>lemminius</i>	KJ566632	AHM94900	65,66	169,09	Россия: Чукотский а. о.	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>lemminius</i>	KJ566633	AHM94901	65,66	169,09	Россия: Чукотский а. о.	
A. (<i>Alticola</i>) <i>barakshin</i>	DQ845194	ABI37080	43,64	98,31	Монголия: Баян-Ундер	Lebedev et al., 2007
A. (<i>Alticola</i>) <i>semicanus</i>	DQ845192	ABI37078	47,10	102,99	Монголия: Хархорин	
A. (<i>Alticola</i>) <i>barakshin</i>	DQ845188	ABI37074	45,36	96,75	Монголия: Цогт	
A. (<i>Aschizomys</i>) <i>macrotis</i>	DQ845196	ABI37082	50,47	84,55	Россия: Алтай, Усть-Коксинский р-н	
A. (<i>Alticola</i>) <i>stracheyi</i>	KY968269	AWK98310	30,29	81,18	Китай: Тибетский а. р-н, ок. Игари	Tang et al., 2018
A. (<i>Alticola</i>) <i>stoliczkanus</i>	MF040961	AWK98353	29,65	94,36	Китай: Тибетский а. р-н, ок. Ньянчи (прямое вложение)	

связанных с осадками, температурой, относительной влажностью, солнечным светом, скоростью ветра, эталонным испарением, всего 156 переменных. Для полученной матрицы размером $36 \times (3 + 156)$ также вычислены коэффициенты линейной корреляции Пирсона геоклиматических переменных с первыми РС аминокислотной изменчивости.

Для расчета достоверности коэффициентов корреляции с первыми двумя РС применялись критерии Бонферрони и Бенджамини – Хохберга с поправкой на множественные сравнения [Наркевич и др., 2020]. В общей сложности число всех анализируемых коэффициентов корреляции не превысило двух тысяч. Соответственно, критические значения коэффициентов корреляции при объеме выборки $N = 36$ и уровнях значимости $p < 0,001$ и $p < 0,01$ составили 0,725 и 0,675 для критерия Бонферрони и 0,562 и 0,462 для критерия Бенджамини–Хохберга. В настоящей работе в первую очередь анализируются коэффициенты корреляции по критерию Бонферрони как наиболее строгие.

Расчеты проводились с использованием статистических пакетов PAST4 [Hammer et al., 2001] и Jacobi4 [Polunin et al., 2019].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изменчивость аминокислотного состава белка СУТВ 11 видов скальных полевок р. *Alticola*, характеризуемая частотами содержания 20 аминокислотных остатков, укладывается преимущественно в два основных направления (76,89 % общей дисперсии признаков) (см. табл. 2). Взаимное расположение видов в пространстве РС1–РС2 изменчивости показано на рис. 1.

В проекции на ось РС1 аминокислотные последовательности группируются в соответствии с их видовой принадлежностью, образуя восточно-сибирскую (*A. strelzowi*, *A. olchonensis*, *A. semicanus*, *A. tuvinicus*), южную (*A. stracheyi*, *A. argentatus*, *A. albicaudus*, *A. stoliczkanus*, *A. barakshin*) и северо-восточную (*A. lemminius*, *A. macrotis*) группы видов. В этом направлении происходят замены Met, Gly, Ile → Ala, Thr. Закономерность можно было бы трактовать как уменьшение молекулярной массы аминокислот в направлении компоненты, однако ее нарушает Gly (легчайшая из протеиногенных аминокислот).

Таблица 2
Коэффициенты корреляции ($\times 1000$) РС1–РС2 изменчивости белка СУТВ с частотами аминокислот в последовательностях ($N = 36$)

AA	Частота AA, %	PC1	PC2
Ala	7,17	960***	-46
Cys	0,81	0	0
Asp	3,21	-202	164
Glu	1,59	-84	-277
Phe	7,31	-487	-652*
Gly	7,01	-800***	524
His	3,05	-242	-365
Ile	11,41	-762***	535
Lys	1,89	-89	86
Leu	14,51	-39	654*
Met	4,13	-812***	-63
Asn	4,56	-281	-193
Pro	5,66	0	0
Gln	1,62	201	-129
Arg	1,89	-201	129
Ser	5,47	7	-175
Thr	6,74	694**	400
Val	4,77	-143	-936***
Trp	2,97	0	0
Tyr	4,23	242	365
$\lambda, \%$		55,41	21,48
$\Sigma \lambda, \%$		76,89	

П р и м е ч а н и е. Жирным шрифтом обозначены достоверные корреляции признаков с компонентами при: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$, с учетом множественных сравнений по Бонферрони. При использовании критерия Бенджамини – Хохберга достоверность всех выделенных коэффициентов корреляции $p < 0,001$. AA – аминокислоты; λ – дисперсия по компонентам, %; $\Sigma \lambda$ – суммарная дисперсия, %.

Таблица 3
Коэффициенты корреляции ($\times 1000$) РС1–РС2 изменчивости белка СУТВ скальных полевок р. *Alticola* с СЭ-рангами СУТВ, вычисленными по различным вариантам эволюционного порядка аминокислот

Средний эволюционный ранг последовательности СУТВ	PC1	PC2
по [Trifonov, 2004]	880***	39
по [Koonin, Novozhilov, 2009]	915***	64
по [Granold et al., 2018]	871***	68
по [Саралов, 2019]	871***	56

П р и м е ч а н и е. *** – обозначены достоверные корреляции признаков с компонентами при $p < 0,001$, с учетом множественных сравнений по Бонферрони.

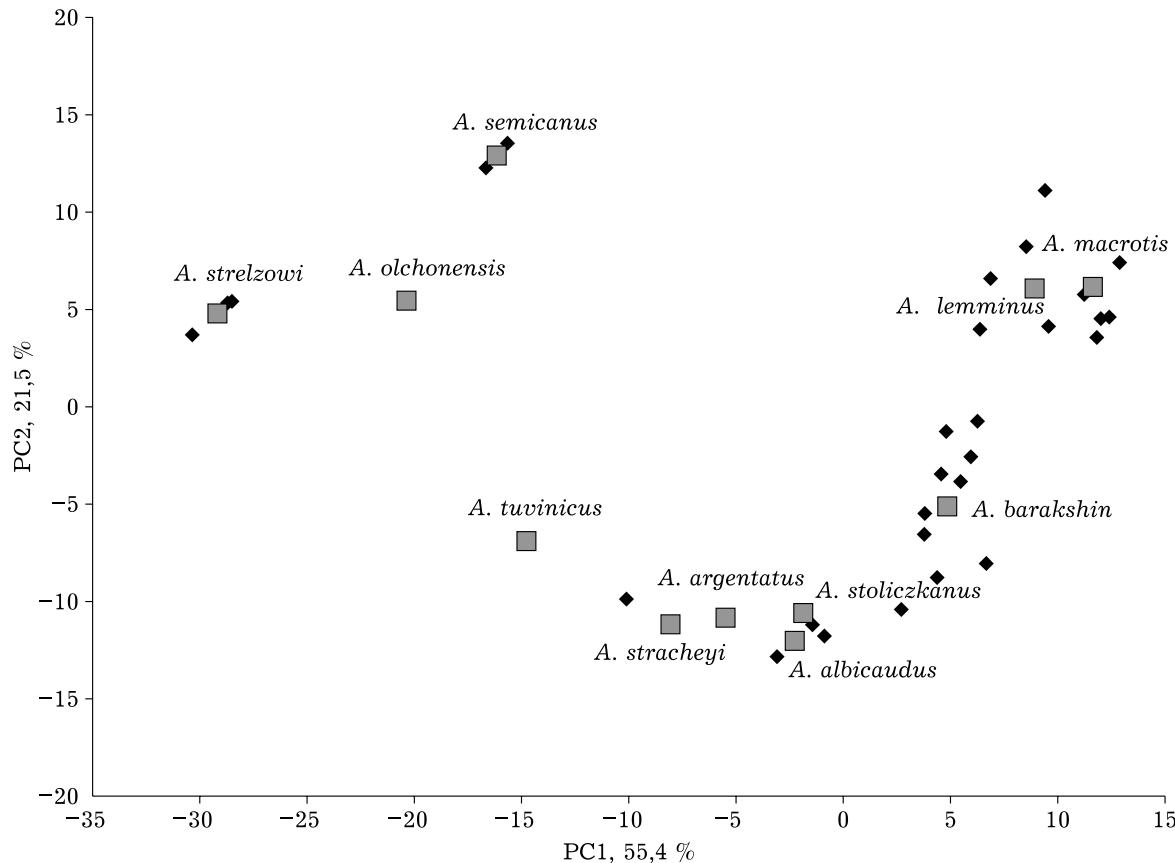


Рис. 1. Конфигурация видов скальных полевок р. *Alticola* на плоскости PC1–PC2 изменчивости аминокислотного состава белка СУТВ. Ромбы – аминокислотные последовательности особей ($N = 36$), квадраты – видовые центроиды ($N = 11$)

В проекции на вторую ось PC2 восточносибирская (*A. strelzowi*, *A. olchonensis*, *A. semicanus*, *A. tuvinicus*) и северо-восточная (*A. lemminus*, *A. macrotis*) группы видов, занимающие верхнюю часть графика, характеризуются пониженным содержанием частот Val, Phe и повышенным – Leu по сравнению с южной группой видов (*A. stracheyi*, *A. argentatus*, *A. albicaudus*, *A. stoliczkanus*, *A. barakshin*), расположенной ниже. Эти аминокислоты с неполярными (гидрофобными) радикалами близки по физико-химическим свойствам (хотя однозначных критериев для определения физико-химического сходства не существует), благодаря чему замены не должны приводить к значительным изменениям белковой структуры.

Поиск факторов, определяющих основные направления изменчивости аминокислотного состава белка СУТВ, показал наличие высоких по критерию Бонферрони ($p < 0,01$)

корреляций PC1 с большим подмножеством признаков, состоящим из 362 АА-индексов и 4 СЭ-рангов (см. табл. 3), а PC2 – с широтой местности ($p < 0,001$), высотой, 21 климатической переменной и 54 АА-индексами ($p < 0,01$) (рис. 2).

Наиболее значимая для СЭ-ранга СУТВ ($p < 0,915$; $p < 0,001$) корреляция с PC1 получена при использовании порядка аминокислот по [Koonin, Novozhilov, 2009] (рис. 3).

Значимые корреляции PC2 изменчивости аминокислотного состава белка СУТВ получены с комплексом климатических факторов среды обитания полевок. Наиболее существенные из них (при $r > 0,725$; $p < 0,001$, с учетом множественных сравнений по Бонферрони): географическая широта местности, почвенные заморозки апреля (Grnd Frost|04) и октября (Grnd Frost|10) и эвапотранспирация ноября (ET.d|11, ET.m|11 в миллиметрах водяного столба), среднесуточная и среднемесячная.

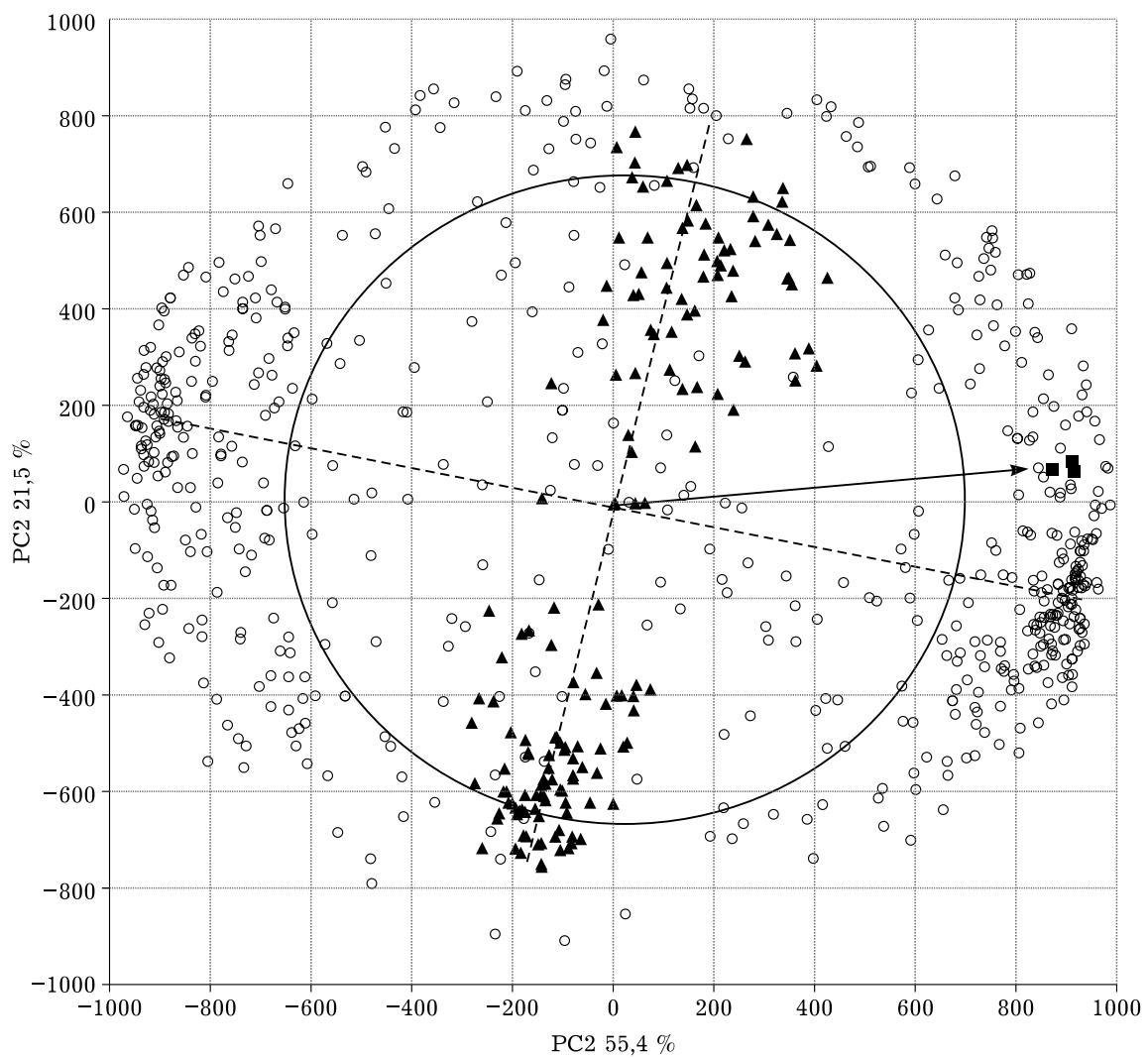


Рис. 2. Коэффициенты корреляции АА-индексов (кружки), СЭ-рангов (квадраты) и геоклиматических переменных (треугольники) с PC1–PC2 изменчивости аминокислотных последовательностей СУТВ скальных полевок р. *Alticola*. Окружность ($r > 0,675$) отделяет достоверные коэффициенты корреляции признаков с плоскостью PC1–PC2 при $p\text{-value} < 0,01$ с учетом множественных сравнений по Бонферрони

Значимое влияние ($r > 0,675$; $p < 0,01$), кроме того, оказывают высота местности и 16 климатических переменных, в числе которых показатели дневных и среднемесячных значений эвапотранспирации за шесть месяцев года (ET.d|01, ET.m|01; ET.d|02, ET.m|02; ET.d|03, ET.m|03; ET.d|09, ET.m|09; ET.d|10, ET.m|10; ET.d|12, ET.m|12), кроме апреля, мая и летних месяцев. Влияние оказывают почвенные заморозки марта (Grnd Frost|03), относительная влажность декабря и января, % (Rel. Hum.|01, Rel. Hum.|12), коэффициент вариации количества осадков в ноябре, % (Prc. cv|11).

Коэффициенты корреляции PC2 со всеми температурными параметрами находятся

в диапазоне 0,388–0,656 и не достигают достоверных значений (с учетом множественных сравнений по Бонферрони). Также с PC2 значительно коррелирует ряд АА-индексов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Митохондриальная ДНК содержит 13 генов, кодирующих белки, все они играют ключевую роль в метаболическом пути OXPHOS. Этот процесс обеспечивается системой переноса электронов (комплексы I–IV), АТФ-синтазой (комплекс V) и адениннуклеотидтранслязой [Ballard, Pichaud, 2014]. Нарушение функционирования этого пути отрицатель-

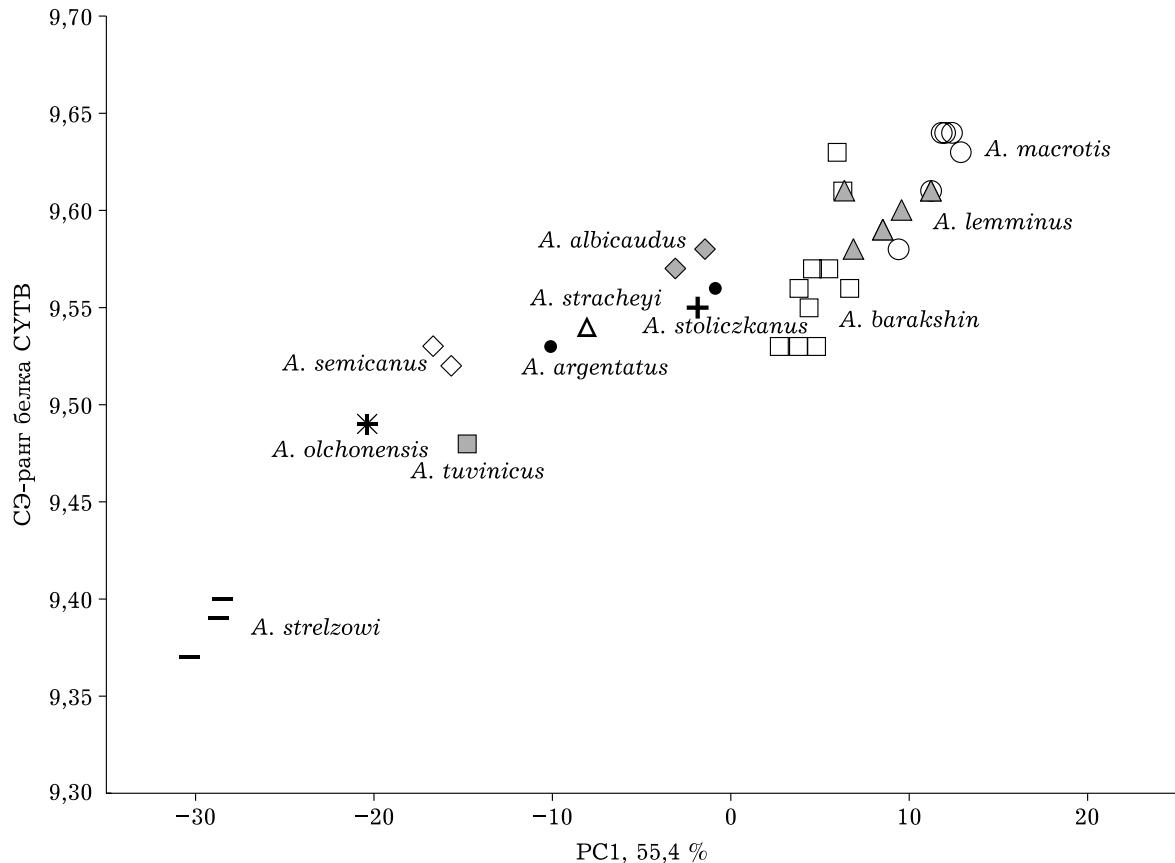


Рис. 3. Корреляция СЭ-ранга с PC1 изменчивости аминокислотного состава последовательностей CYTB. В направлении *A. strelzowi* – *A. macrotis* в составе белка увеличивается доля хронологически более поздних аминокислот

но оказывается на жизнедеятельности клетки и может даже привести к ее гибели. В связи с этим митохондриальный геном, с одной стороны, эволюционирует в условиях непрерывного очищающего (или отрицательного) отбора, который удаляет вредные мутации белок-кодирующих генов, с другой стороны, в экстремальных экологических условиях или при колонизации видами новой среды некоторые мутации могут оказаться полезными, в результате чего частота их увеличивается [Ramos et al., 2018].

В недавнем исследовании [Ефимов и др., 2023] по поиску проявлений отбора в белке CYTB у 67 видов грызунов и зайцеобразных мы использовали 553 полных физико-химических свойства на каждый аминокислотный сайт, методом главных компонент выявили основные направления изменчивости совокупности этих свойств и провели корреляционный анализ этих направлений с комплексом факторов местообитаний видов. Так же

как и в настоящем исследовании, найдены две первые РС-изменчивости, и только вторая из них прокоррелировала с географической широтой местообитаний, что мы интерпретировали как адаптацию к условиям среды.

В настоящем исследовании с помощью метода главных компонент показано, что изменчивость аминокислотного состава белка CYTB 11 видов скальных полевок р. *Alticola* раскладывается, по меньшей мере, на два ортогональных направления – PC1–PC2. PC1 не имеет значимых корреляций ни с одним из 156 используемых в работе климатических параметров (даже при снижении статистического порога значимости до $r > 0,462$; $p < 0,01$ по критерию Бенджамина – Хохберга). Практически полное отсутствие признаков адаптации к факторам внешней среды, скорее всего, вызвано очищающим отбором, в результате чего это направление изменчивости белка CYTB больше соответствует модели нейтральной эволюции. Это положение поддерживает

ся результатами филогенетического анализа [Tang et al., 2018], основанного на консенсусных деревьях, полученных в результате байесовского анализа генов *Cytb*, *COI* и *GHR* (ядерный ген рецептора гормона роста), на которых виды р. *Alticola* образуют кластеры, соответствующие полученным здесь трем группам видов (см. рис. 1). Изменение частот Met, Gly, Ile → Ala, Thr вдоль РС1 высоко коррелирует с большим подмножеством физико-химических свойств аминокислот, так что это дает основание интерпретировать РС1 как изменчивость структурно-функциональных свойств СУТВ.

Считается, что митохондриальные белки животных имеют заметно более высокое содержание легко окисляемой аминокислоты метионина, чем ядерные. Это связано с тем, что метионин является главным антиоксидантом митохондрий, особенно внутренней митохондриальной мембранны, сильно реагирует на дыхательные потребности в эволюционном масштабе времени, действует локально, избирательно защищая свой белок-носитель, и может использоваться в качестве молекулярного предиктора скорости аэробного метаболизма у животных в дополнение к традиционным маркерам, таким как гемоглобин [Bender et al., 2008; Schindeldecker, Moosmann, 2015]. Результаты исследования показали, что скальные полевки восточно-сибирской группы видов содержат повышенную частоту метионина по сравнению с северо-восточной и южной группами, что в связи с вышеуказанным может свидетельствовать о смещении баланса метаболического пути ОХРНС в сторону большей выработки тепла, снижения выработки АТФ и необходимости борьбы с активными формами кислорода.

Известно, что аминокислотный алфавит разделен на две почти независимые группы (за исключением общего серина) – аминокислоты, которые заменяют глицин и заменяющие аланин. Соответствующие кодоны представляют собой структуры N-пурин-N в Gly-цепи и N-пиримидин-N в Ala-цепи. Следовательно, имеются два алфавита: Gly-алфавит – Gly, Asp, Glu, Arg, Ser, Gln, Asn, His, Lys, Cys, Tyr, Trp, и Ala-алфавит – Ala, Val, Pro, Ser, Leu, Thr, Ile, Phe, Met [Trifonov, 2004]. Самые эволюционно ранние короткие нуклеотидные последовательности, по-видимому, несут информацию, кодирующую ми-

ни-белки двух независимых алфавитов (кроме серина): Gly-алфавит для Gly-нити и Ala-алфавит для Ala-нити. Далее из теории следует, что после того как такие мини-гены на более поздних этапах эволюции образуют более длинные генетические последовательности, кодируемые ими белковые последовательности должны иметь мозаичную структуру с короткими участками двух алфавитов. Существующие ныне последовательности все еще могут иметь остатки этого древнего мозаичного расположения последовательностей. Анализ матриц аминокислотных замен PAM61 и BLOSSUM21 показывает, что замены почти исключительно происходят внутри соответствующих двух алфавитов, перестановки между алфавитами довольно редки [Trifonov, 2004]. Здесь мы видим, что аминокислотные замены Met, Ile → Ala, Thr, формирующие изменчивость по РС1, происходят внутри аланинового ряда, замена Gly – более редкое событие, связанное со сменой аминокислотного алфавита.

Нами также была обнаружена неожиданно высокая корреляция РС1 с СЭ-рангом белка СУТВ с использованием различных вариантов эволюционной “аминокислотной хронологии” [Trifonov, 2004; Koonin, Novozhilov, 2009; Granold et al., 2018; Саралов, 2019]. Так, в работе [Trifonov, 2004] в результате обобщения 60 различных критериев получен следующий консенсусный ряд аминокислотной хронологии: Gly, Ala, Asp, Val, Pro, Ser, Glu, (Leu, Thr), Arg, (Ile, Gln, Asn), His, Lys, Cys, Phe, Тгу, Met, Trp. Десять первых (самых ранних) аминокислот консенсусного хронологического порядка относятся к аминокислотам абиотического синтеза, появившимся в имитационных опытах С. Миллера [Miller, 1953, 1987], а аминокислоты, связанные с захватом кодонов, особенно те, для которых распределение кодонов еще не полностью стабилизировано, появляются последними в хронологии. Считается, что последние аминокислоты возникли как необходимая адаптация белков, направленная на повышение их устойчивости к окислению в связи с повышением концентрации кислорода в атмосфере Земли и появлением аэробного метаболизма у животных. Разные авторы [Koonin, Novozhilov, 2009; Granold et al., 2018] располагают аминокислоты в своем “эволюционном порядке”, однако, несмотря

на это, все представленные реконструкции высокодостоверно коррелируют как между собой, так и с РС1 (см. табл. 3). При этом у скальных полевок северо-восточной группы видов СЭ-ранг белка СУТВ достигает наибольших значений по сравнению с восточно-сибирской и южной группами, демонстрируя насыщенность последовательностей эволюционно более поздними аминокислотами.

Обитание в условиях высокогорья связано с серьезным экологическим стрессом, связанным со снижением парциального давления кислорода, низкими температурами, повышенным уровнем УФ-излучения, скученными кормовыми запасами. Среди всех представителей подсемейства Arvicolinae азиатские скальные полевки считаются наиболее высокогорными [Громов, Ербаева, 1995; Kryštufek, Shenbrot, 2022]. В нашем исследовании использованы последовательности видов скальных полевок, собранных на высоте уровня моря (*A. macrotis*, Россия: пос. Провидения) и до 4700 м над ур. м. (*A. stoliczkanus*, Китай: Тибетский а. р-н, ок. Нынгчи). При этом наблюдаются значимые корреляции РС2 (21,48 % дисперсии) как с альтитудой, так и с географической широтой местности ($r = -0,717$; $p < 0,01$ и $r = 752$; $p < 0,001$, с учетом множественных сравнений по критерию Бонферрони соответственно). Как видно из рис. 2, с увеличением широты и уменьшением высоты местности у полевок восточно-сибирской и северо-восточной групп по сравнению с южной группой происходят замены Val, Phe → Leu. Экологическая обусловленность этих замен не вызывает сомнений, при этом наиболее значимыми факторами являются почвенные заморозки (особенно апреля и октября) и показатели эвапотранспирации или суммарного испарения с поверхности почвы и растительности (уменьшаются с широтой), которые во всех областях земного шара коррелируют с биопродуктивностью экосистем.

В исследовании [Ramos et al., 2018] проверялась гипотеза о влиянии недостатка пищи на эволюцию генов mtДНК, поскольку считается [Ballard, Melvin, 2010], что голодаание может способствовать более эффективному производству энергии, смещая баланс между выработкой тепла и производством АТФ в сторону повышения эффективности ОХРНС (увеличивая выход АТФ). При этом

в качестве показателя первичной продуктивности, а следовательно, и наличия питательных ресурсов в океанических экосистемах авторы использовали показатель уровня хлорофилла. В нашем исследовании аналогичную роль в оценке продуктивности экосистем играют показатели эвапотранспирации, которые, в свою очередь, являются критически важными для жизнедеятельности таких типичных зеленоядных видов, как скальные полевки. Как мы видим, показатели эвапотранспирации (судя по количеству и величине коэффициентов корреляции) доминируют над всеми остальными характеристиками местообитания.

В отношении физико-химических свойств аминокислот, коррелирующих с РС2, отметим, что биохимическая сложность процессов ОХРНС (белок-белковые взаимодействия, молекулярный кислород, диффузия протонов и перенос электронов) затрудняет на данном этапе однозначное обсуждение функциональных последствий выявленной изменчивости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основной результат нашего исследования – наличие в белке СУТВ скальных полевок ортогональных направлений аминокислотной изменчивости, обусловленных влиянием разных, в том числе экологических, факторов. Результат этот устойчив и воспроизводится на другом массиве данных. В нашем предыдущем исследовании [Ефимов и др., 2023] показано, что второе по значимости направление изменчивости физико-химических свойств белка СУТВ 67 видов грызунов и зайцеобразных значимо коррелировало с широтой местности и экологическими факторами местообитания на уровне подсемейств. Возможно, обсуждаемые здесь закономерности имеют более общий характер, и признаки сходной адаптивной эволюции на молекулярном уровне можно обнаружить у разных систематических групп животных и для разного набора видов.

Благодарности

Авторы благодарят анонимного рецензента за профессионализм и оперативную работу.

Вклад авторов

Ковалева В. Ю. – концепция, исследование, написание, первоначальный вариант и редактирование; Моролдоев И. В. – администрирование

проекта, привлечение финансирования, написание, редактирование; Литвинов Ю. Н. – администрирование проекта и кураторство; Ефимов К. В. – программное обеспечение, формальный анализ, визуализация, написание, редактирование; Ефимов В. М. – методология, программное обеспечение, исследование, формальный анализ, обработка данных. Все авторы прочитали окончательную версию рукописи и согласились с ней.

Финансирование

Работа выполнена в Институте систематики и экологии животных СО РАН при поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук FWGS-2021-0002.

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных. Исследованные аминокислотные последовательности взяты из базы данных GenBank [NCBI Resource Coordinators, 2015].

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Абрамов С. А., Лопатина Н. В., Мородоев И. В., Литвинов Ю. Н. Современный ареал тувинской полевки *Alticola tuvinicus* Ognev, 1950 (обзор экологических условий и моделирование) // Сиб. экол. журн. 2019. Т. 26, № 5. С. 550–563. [Abramov S. A., Lopatina N. V., Morodoev I. V., Litvinov Yu. N. Present range of Tuva mountain vole *Alticola tuvinicus* Ognev, 1950 (review of environmental conditions and modeling) // Contemporary Problems of Ecology. 2019. Vol. 12, N 5. P. 453–463.]
- Бодров С. Ю., Костыгов А. Ю., Руднева Л. В., Абрамсон Н. И. Ревизия таксономического положения ольхонской полевки (Rodentia, Cricetidae) // Изв. РАН. Сер. биол. 2016. № 2. С. 171–171. [Bodrov S. Yu., Kostygov A. Yu., Rudneva L. V., Abramson N. I. Revision of the taxonomic position of the Olkhon mountain vole (Rodentia, Cricetidae) // Biol. Bull. Russ. Acad. Sci. 2016. Vol. 43. P. 136–145.]
- Громов И. М., Ербаева М. А. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. СПб.: Изд-во Зоол. ин-та РАН, 1995. 522 с.
- Ефимов В. М., Ефимов К. В., Ковалева В. Ю. Геометрический подход к филогеографическому анализу молекулярных последовательностей: главные компоненты и дендрограммы // Мол. биология. 2023. Т. 57, № 2. С. 178–184. [Efimov V. M., Efimov K. V., Kovaleva V. Yu. Geometric Approach to Phylogeographic Analysis Molecular Genetic Sequences: Principal Components and Dendograms // Mol. Biol. 2023. Vol. 57, N 2. P. 176–181.]
- Наркевич А. Н., Виноградов К. А., Гржебовский А. М. Множественные сравнения в биомедицинских исследованиях: проблема и способы решения // Экология человека. 2020. № 10. С. 55–64. [Narkevich A. N., Vinogradov K. A., Grjibovski A. M. Multiple comparisons in biomedical research: the problem and its solutions // Ekologiya Cheloveka (Human Ecol.). 2020. Vol. 27, N 10. P. 55–64.]
- Поздняков А. А. Применение модели эпигенетического ландшафта для изучения структуры морфотипической изменчивости (на примере М3 скальных полевок (*Alticola*, Rodentia, Arvicolineae)) // Зоол. журн. 2022. Т. 101, № 2. С. 202–212. [Pozdnyakov A. A. Application of the epigenetic landscape model to study the structure of morphotypic variability, M3 rock voles (*Alticola*, Rodentia, Arvicolineae) taken as an example // Zoologicheskiy zhurnal. 2022. Vol. 101, N 2. P. 202–212.]
- Поздняков А. А., Абрамов С. А., Лопатина Н. В., Литвинов Ю. Н. Морфотипическая изменчивость плоскочерепной полевки (*Alticola strelzowi*, Rodentia, Arvicolineae) // Зоол. журн. 2017. Т. 96, № 10. С. 1267–1278. [Pozdnyakov A. A., Abramov S. A., Lopatina N. V., Litvinov Yu. N. Morphotypical variability of the flat-headed vole (*Alticola strelzowi*, Rodentia, Arvicolineae) // Zoologicheskiy zhurnal. 2017. Vol. 96, N 10. P. 1267–1278.]
- Саралов А. И. Факторы отбора протобиомономеров при возникновении генетического кода // Междунар. журн. прикл. и фундамент. исследований. 2019. № 10–2. С. 243–249.
- Чертилина О. В., Симонов Е. П., Лопатина Н. В., Литвинов Ю. Н. Генетическое разнообразие плоскочерепной полевки (*Alticola strelzowi* (Kastschenko, 1899)) по данным об изменчивости гена цитохрома *b* // Генетика. 2012. Т. 48, № 3. С. 352–352. [Chertilina O. V., Simonov E. P., Lopatina N. V., Litvinov Yu. N. Genetic diversity of flat-headed vole (*Alticola strelzowi* (Kastschenko, 1899)) inferred from cytochrome *b* variation // Russian Journal of Genetics. 2012. Vol. 48. P. 302–309.]
- Abramov S. A., Lopatina N. V., Litvinov Yu. N. Cranial size and shape variation in isolated populations of the Olkhon mountain vole (*Alticola olchonensis* Litvinov, 1960) // Zoology. 2017. Vol. 123. P. 91–100.
- Abramson N. I., Bodrov S. Y., Bondareva O. V., Genelt-Yanovskiy E. A., Petrova T. V. A mitochondrial genome phylogeny of voles and lemmings (Rodentia: Arvicolinae): Evolutionary and taxonomic implications // PLoS One. 2021. Vol. 16, N 11. P. e0248198.
- Ballard J. W. O., Melvin R. G. Linking the mitochondrial genotype to the organismal phenotype // Mol. Ecol. 2010. Vol. 19, N 8. P. 1523–1539.
- Ballard J. W. O., Pichaud N. Mitochondrial DNA: more than an evolutionary bystander // Functional Ecol. 2014. Vol. 28, N 1. P. 218–231.
- Ballard J. W. O., Melvin R. G., Katewa S. D., Maas K. Mitochondrial DNA variation is associated with measurable differences in life-history traits and mitochondrial metabolism in *Drosophila simulans* // Evolution. 2007. Vol. 61, N 7. P. 1735–1747.
- Bazin E., Glémén S., Galtier N. Population size does not influence mitochondrial genetic diversity in animals // Science. 2006. Vol. 312. P. 570–572.
- Bender A., Hajieva P., Moosmann B. Adaptive antioxidant methionine accumulation in respiratory chain complexes explains the use of a deviant genetic code in mitochondria // Proc. Nat. Acad. Sci. 2008. Vol. 105, N 43. P. 16496–16501.
- Bhatt S. Reassessment of the *Alticola roylei* species group in Northern Pakistan through morphology, molecular

- systematics, and biogeography: doctoral dissertation. The Ohio State University, 2020. 40 p.
- Bodrov S. Y., Vasiljeva V. K., Okhlopkov I. M., Mamayev N. V., Zakharov E. S., Oleinikov A. Y., Abramson N. I. Evolutionary history of mountain voles of the subgenus *Aschizomys* (Cricetidae, Rodentia), inferred from mitochondrial and nuclear markers // Integr. Zool. 2020. Vol. 15, N 3. P. 187–201.
- Bondareva O., Genelt-Yanovskiy E., Petrova T., Bodrov S., Smorkatcheva A., Abramson N. Signatures of adaptation in mitochondrial genomes of Palearctic subterranean voles (Arvicolinae, Rodentia) // Genes. 2021a. Vol. 12, N 12. P. 1945.
- Bondareva O. V., Potapova N. A., Konovalov K. A., Petrova T. V., Abramson N. I. Searching for signatures of positive selection in cytochrome b gene associated with subterranean lifestyle in fast-evolving arvicoline (Arvicolinae, Cricetidae, Rodentia) // BMC Ecol. Evolut. 2021b. Vol. 21, N 1. P. 92.
- Cheviron Z. A., Brumfield R. T. Genomic insights into adaptation to high-altitude environments // Heredity. 2012. Vol. 108, N 4. P. 354–361.
- Consuegra S., John E., Verspoor E., de Leaniz C. G. Patterns of natural selection acting on the mitochondrial genome of a locally adapted fish species // Genet. Select. Evolut. 2015. Vol. 47. P. 1–10.
- Cook J. A., Runk A. M., Conroy C. J. Historical biogeography at the crossroads of the northern continents: molecular phylogenetics of red-backed voles (Rodentia: Arvicolinae) // Mol. Phylogenet. Evolut. 2004. Vol. 30, N 3. P. 767–777.
- da Fonseca R. R., Johnson W. E., O'Brien S. J., Ramos M. J., Antunes A. The adaptive evolution of the mammalian mitochondrial genome // BMC Genom. 2008. Vol. 9. P. 1–22.
- Dvoyashov I. A., Bodrov S. Yu., Mamaev N. V., Glagoleva E. S., Abramson N. I. Inferring phylogenetic structure, taxa hybridization, and divergence times within rock voles of subgenus *Aschizomys* (Cricetidae: Alticola) using quaddRAD sequencing and a cyt b dataset // Ecol. Evolut. 2023. Vol. 13. P. e10742.
- Gower J. C. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis // Biometrika. 1966. Vol. 53. P. 325–338.
- Granold M., Hajieva P., Toşa M. I., Irimie F. D., Moosmann B. Modern diversification of the amino acid repertoire driven by oxygen // Proc. Nat. Acad. Sci. 2018. Vol. 115, N 1. P. 41–46.
- Hammer Ø., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontol. Electron. 2001. Vol. 4, N 1. P. 9.
- Hassanin A., Ropiquet A., Couloux A., Cruaud C. Evolution of the mitochondrial genome in mammals living at high altitude: new insights from a study of the tribe Caprini (Bovidae, Antilopinae) // J. Mol. Evolut. 2009. Vol. 68. P. 293–310.
- James J. E., Piganeau G., Eyre-Walker A. The rate of adaptive evolution in animal mitochondria // Mol. Ecol. 2016. Vol. 25, N 1. P. 67–78.
- Kawashima S., Pokarowski P., Pokarowska M., Kolinski A., Katayama T., Kanehisa M. AAindex: amino acid index database, progress report // Nucl. Acids Res. 2008. Vol. 36, suppl_1. P. D202–D205.
- Kohli B. A., Speer K. A., Kilpatrick C. W., Batsaikhan N., Damdinbaza D., Cook J. A. Multilocus systematics and non-punctuated evolution of Holarctic Myodini (Rodentia: Arvicolinae) // Mol. Phylogenet. Evolut. 2014. Vol. 76. P. 18–29.
- Koonin E. V., Novozhilov A. S. Origin and evolution of the genetic code: the universal enigma // IUBMB Life. 2009. Vol. 61, N 2. P. 99–111.
- Kryštufek B., Shenbrot G. Voles and lemmings (Arvicolinae) of the palaeoarctic region. University of Maribor: University Press, 2022. C. 449.
- Lebedev V. S., Bannikova A. A., Tesakov A. S., Abramson N. I. Molecular phylogeny of the genus *Alticola* (Cricetidae, Rodentia) as inferred from the sequence of the cytochrome b gene // Zoologica Scripta. 2007. Vol. 36, N 6. P. 547–563.
- Luo Y., Gao W., Gao Y., Tang S., Huang Q., Tan X., Chen J., Huang T. Mitochondrial genome analysis of *Ochotonana curzoniae* and implication of cytochrome c oxidase in hypoxic adaptation // Mitochondrion. 2008. Vol. 8, N 5–6. P. 352–357.
- McClellan D. A., Palfreyman E. J., Smith M. J., Moss J. L., Christensen R. G., Salsbury J. K. Physicochemical evolution and molecular adaptation of the cetacean and artiodactyl cytochrome b proteins // Mol. Biol. Evolut. 2005. Vol. 22, N 3. P. 437–455.
- Miller S. L. A production of amino acids under possible primitive earth conditions // Science. 1953. Vol. 117, N 3046. P. 528–529.
- Miller S. L. Which organic compounds could have occurred on the prebiotic earth? // Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol. 1987. Vol. 52. P. 17–27.
- Mitchell P. Possible molecular mechanisms of the proton-motive function of cytochrome systems // J. Theoret. Biol. 1976. Vol. 62, N 2. P. 327–367.
- NCBI Resource Coordinators. Database resources of the national center for biotechnology information // Nucl. Acids Res. 2015. Vol. 43. P. D6–D17.
- Polunin D., Shtaiger I., Efimov V. JACOBI4 software for multivariate analysis of biological data // BiOrxiv. 2019. P. 803684.
- Ramos B., González-Acuña D., Loyola D. E., Johnson W. E., Parker P. G., Massaro M., Dantas G. P. M., Miranda M. D., Vianna J. A. Landscape genomics: natural selection drives the evolution of mitogenome in penguins // BMC Genom. 2018. Vol. 19. P. 1–17.
- Schindeldecker M., Moosmann B. Protein-borne methionine residues as structural antioxidants in mitochondria // Amino Acids. 2015. Vol. 47. P. 1421–1432.
- Tang M. K., Jin W., Tang Y., Yan C. C., Murphy R. W., Sun Z. Y., Zhang X. Y., Zeng T., Liao R., Hou Q. F., Yue B. S., Liu S. Y. Reassessment of the taxonomic status of *Craseomys* and three controversial species of *Myodes* and *Alticola* (Rodentia: Arvicolinae) // Zootaxa. 2018. Vol. 4429, N 1. P. 1–52.
- Trifonov E. N. The triplet code from first principles // J. Biomol. Struct. Dyn. 2004. Vol. 22, N 1. P. 1–11.
- Wilson D. E., Reeder D. M. (Eds). Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference. 3rd ed. Johns Hopkins University Press, 2005. Vol. 2. 2142 p.
- Woolley S., Johnson J., Smith M. J., Crandall K. A., McClellan D. A. TreeSAAP: selection on amino acid properties using phylogenetic trees // Bioinformatics. 2003. Vol. 19, N 5. P. 671–672.
- Yang Z. Likelihood ratio tests for detecting positive selection and application to primate lysozyme evolution // Mol. Biol. Evolut. 1998. Vol. 15, N 5. P. 568–573.

The principal directions and factors determining the variability of CYTB amino acid sequences in mountain voles (*Alticola*, **Rodentia**, *Arvicolinae*)

V. YU. KOVALEVA¹, I. V. MOROLDOEV¹, YU. N. LITVINOV¹, K. V. EFIMOV², V. M. EFIMOV^{1, 3, 4}

¹*Institute of Systematics and Ecology of Animals of SB RAS
11, Frunze st., Novosibirsk, 630091, Russia
E-mail: v_kov_65@mail.ru*

²*HSE University
20, Myasnitskaya st., Moscow, 101000, Russia*

³*Tomsk State University
36, Lenin ave., Tomsk, 634050, Russia*

⁴*Novosibirsk National Research State University
2, Pirogova st., Novosibirsk, 630090, Russia*

A statistical analysis of the variability in the amino acid composition of the mitochondrial protein CYTB of Asian mountain voles of the genus *Alticola* was carried out. Sequences ($N = 36$; 380 a. a.) were taken from GenBank along with accompanying information about their geographical location. The frequencies of amino acids for each sequence and the matrix of squared Euclidean distances between them were calculated, from which the principal components (PC) were calculated using the principal coordinate method. In the space of the first two PCs ($\Sigma\lambda = 76.89\%$), all sequences are grouped according to their species, forming the East Siberian (*A. strelzowi*, *A. olchonensis*, *A. semicanus*, *A. tuvinicus*), southern (*A. stracheyi*, *A. argentatus*, *A. albicaudus*, *A. stoliczkanus*, *A. barakshin*) and the northeastern group (*A. lemminus*, *A. macrotis*). Mutational pressure in the PC1 direction leads to a change in the frequencies of Met, Gly, Ile → Ala, Thr, which strongly correlates with a large subset of AA indices and the average evolutionary rank of CYTB sequences ($N = 362$ with p -value < 0.01 taking into account multiple comparisons according to Bonferroni). In the PC2 direction, the frequencies Val, Phe → Leu change. This direction reveals significant correlations with latitude, altitude, 21 climatic variables of vole habitats and 54 AA indices.

Key words: CYTB, amino acid sequences, principal components, physicochemical properties, evolutionary rank, environmental factors, *Alticola*.