

УДК 577.21:599.32

РЕКОНСТРУКЦИЯ ФИЛОГЕНИИ ОТРЯДА ГРЫЗУНОВ (Rodentia)
ПО ДАННЫМ СТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА
КОРОТКОГО РЕТРОПОЗОНА B1© 2007 г. Н. А. Вениаминова¹, Н. С. Васецкий¹, Л. А. Лавренченко²,
С. В. Попов³, Д. А. Крамеров¹¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва 119991;
e-mail: kramerov@imb.ru² Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва 119991³ Московский зоопарк, Москва 123242

Поступила в редакцию 28.02.2006 г.

Проведено крупномасштабное исследование короткого ретропозона (SINE) B1 в геномах грызунов, относящихся к большинству известных семейств этого отряда млекопитающих. Нуклеотидные последовательности B1 из грызунов разных семейств обнаруживали целый ряд характерных черт, включающих замены, делеции и tandemные дубликации. Сопоставляя распределение этих черт среди семейств грызунов, тестировали обсуждаемые в настоящее время филогенетические связи в отряде грызунов. Проведенный анализ свидетельствует, в частности: 1) о ранней дивергенции беличьих (Sciuridae) и родственных им семейств (Aplodontidae и Gliridae) от остальных грызунов; 2) о возможной последующей дивергенции бобров (Castoridae); 3) о монофилии групп Hysticognathi, включающей ряд семейств, в том числе таких как дикобразы (Hysticidae) и морские свинки (Caviidae); 4) о вероятной монофилии группы, образованной остальными семействами, включая шесть семейств мышеподобных грызунов (Myodonta). Обсуждаются различные подходы к использованию коротких ретропозонов для филогенетических исследований.

Короткие ретропозоны, или SINEs (Short Interspersed Elements), представляют собой мобильные генетические элементы длиной 80–400 пн, размножение которых в геноме происходит через обратную транскрипцию их РНК [1–3]. В качестве обратной транскриптазы короткий ретропозон использует полипептид, закодированный в одном из видов длинных ретропозонов, или LINE (Long Interspersed Elements).

В геномах млекопитающих одного вида имеются 2–4 семейства коротких ретропозонов, каждое из которых содержит 10^4 – 10^5 копий, чьи нуклеотидные последовательности обычно обладают 65–90%-ным сходством. Различия между копиями обусловлены как существованием подсемейств коротких ретропозонов, так и мутациями, возникшими после интеграции каждой из копий. По числу таких нуклеотидных замен можно судить о возрасте той или иной копии SINE.

Большинство коротких ретропозонов ведут свое происхождение от молекул тРНК. Однако имеются два класса SINE, чье происхождение связано с другими РНК, синтезирующимися РНК-полимеразой III. Один из них включает несколько недавно открытых семейств SINE рыб, произошедших из 5S рРНК [4, 5]. Короткие ретропозоны другого класса (Alu приматов и B1 грызунов) были среди первых описанных SINE [6–9]. Они

ведут происхождение от 7SL РНК – цитоплазматической РНК длиной 300 нуклеотидов, которая входит в состав рибонуклеопротеидных частиц (SPR, signal recognition particles), узнающих сигнальный пептид секретируемых и мембранных белков [10]. В процессе возникновения Alu и B1 произошла потеря центральной части 7SL РНК длиной 144–182 нуклеотида (рис. 1). Alu (300 пн) состоит из двух таких сходных, но не идентичных последовательностей, левого (L) и правого (R) мономеров. Alu был найден в геномах всех изучавшихся в этом отношении приматов, включая полуобезьян (Prosimiae), что свидетельствует о возникновении Alu у общего предка всех приматов [11–13].

В отличие от Alu B1-элемент из геномов домашней мыши (*Mus musculus*) и серой крысы (*Rattus norvegicus*) представляет собой мономер и имеет длину около 140 пн. Однако в этом элементе имеется внутренняя tandemная дубликация с размером повтора 29 пн, что тоже можно рассматривать как своего рода димеризацию [14]. Наличие делеции длиной 9 пн в центральной части B1 мышей – еще одно отличие B1 от Alu. В геномах этих грызунов обнаружено небольшое число копий B1 без такой дубликации и делеции, которые по своей нуклеотидной последовательности очень сходны с FLAM. Такие копии, названные pB1 (proto-B1), рассматриваются как эволюционные предше-

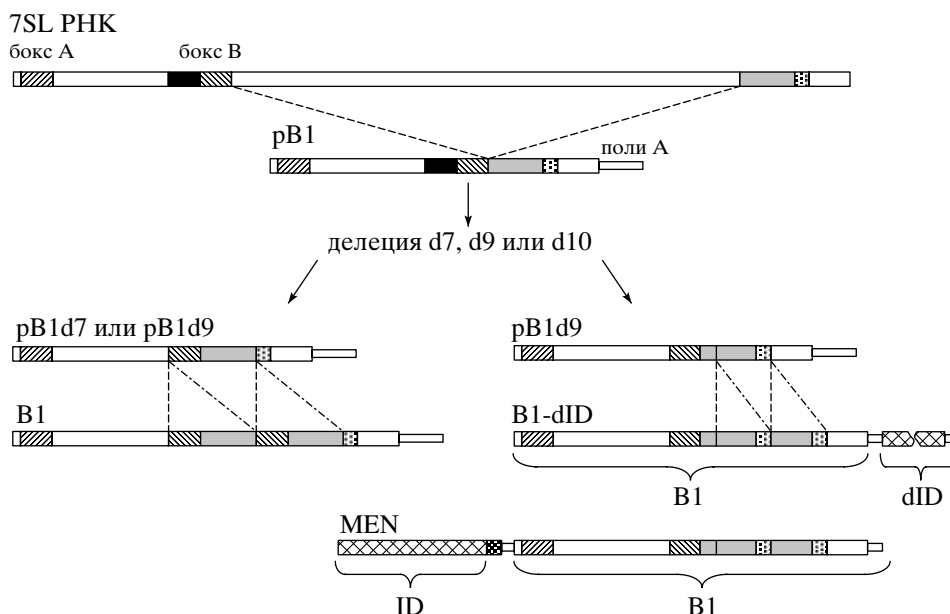


Рис. 1. Упрощенная схема, иллюстрирующая происхождение, эволюцию и структуру элемента B1 и родственных ему SINE у грызунов. У общего предка грызунов, приматов и тупай произошло образование ретропсевдогена 7SL PNH, несущего делецию 182 пн, что привело к возникновению элемента pB1. Последующая потеря специфического участка (отмечен черным) длиной 7, 9 или 10 пн привела к образованию новых семейств pB1. Тандемная дупликация участка длиной 29 пн привела к возникновению канонического элемента B1, известного из геномов *Mus musculus* и *Rattus norvegicus*. Образование 20-нуклеотидной тандемной дупликации в элементе pB1d10 предшествовало возникновению димерных SINE (B1-dID и MEN). ID – tРНК-родственный SINE, образовавший эти димерные SINE путем слияния с B1. Для последовательностей dID характерна делеция длиной 19 пн. Косой штриховкой отмечены боксы А и В промотора РНК-полимеразы III. Серым цветом и точечной штриховкой помечены участки, входящие в состав тандемных дупликаций.

ственники B1 [15]. В геномах мышей и крыс также обнаружены варианты pB1 со специфической делецией длиной 7, 10 или реже 9 пн (pB1d7, pB1d10 и pB1d9 соответственно; рис. 1).

Грызуны (Rodentia) образуют самый обширный отряд млекопитающих, состоящий по крайней мере из 30 семейств [16, 17]. Если B1 у мышей и крыс (сем. Muridae) изучены сравнительно хорошо [18–20], в частности благодаря секвенированию геномов *M. musculus* [21] и *R. norvegicus* [22], то этот SINE из геномов других грызунов остается очень мало изученным. Зиткевич и соавт. [12] показали наличие B1 у бурундука (Sciuridae) и морской свинки (Caviidae), но используя секвенирование ПЦР-продуктов эти авторы не могли изучить всю нуклеотидную последовательность этого SINE. Нами было описано два димерных SINE, содержащих в качестве мономеров B1 и ID-родственный элемент (ID известен как самостоятельный SINE грызунов, ведущий происхождение от аланиновой тРНК [23]). Первый из них, MEN, выделенный из генома белки *Menetes berdmorei*, имел левый ID-подобный мономер и B1 в качестве правого мономера [24]. Второй SINE, обнаруженный в геномах белок (Sciuridae) и сонь (Gliridae), имел противоположное расположение мономеров и был назван B1-dID [25]. Важно от-

метить, что B1-мономер из белок и сонь содержал внутреннюю дупликацию длиной 20, а не 29 пн, как в B1 мышей и крыс (рис. 1).

Недавно, используя гибридизацию с B1-зондом *M. musculus*, мы показали наличие 7SL PNH-родственных SINE не только у приматов (Alu), но и у грызунов всех 15 тестированных семейств [26], а также тупай (Scandentia) [26, 27], но не у представителей других отрядов млекопитающих. Предварительные опыты по клонированию и секвенированию геномных фрагментов ДНК подтвердили наличие копий B1 у таких грызунов, как тушканчики, мышовки, белки, бобры и морские свинки [26].

Было показано, что SINE могут быть использованы как надежные маркеры для изучения филогенетических связей. В частности, можно выяснять, имеются ли те или иные семейства SINE в геномах изучаемых организмов [28, 29]. Наличие общего семейства SINE у разных видов свидетельствует об их родстве.

В настоящей работе мы впервые использовали для филогенетических исследований не семейства, а подсемейства SINE (B1). Было секвенировано большое число копий B1-элемента из грызунов, относящихся к 22 семействам. В результате чего был обнаружен целый ряд подсемейств (ва-

риантов) В1, отличающихся специфическими нуклеотидными заменами, дупликациями и делециями. Анализ распределения таких вариантов В1 среди грызунов разных семейств позволил проверить существующие схемы филогенетического родства в пределах этого отряда млекопитающих.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы ДНК. Источники получения животных, их тканей или ДНК представлены в таблице. ДНК выделяли из свежих, замороженных или фиксированных в спирте тканей (почки, печень или мышцы) инкубацией гомогената с протеиназой К и последующей депротеинизацией смесью фенола с хлороформом (1 : 1).

Дот-гибридизация. Геномные ДНК грызунов (500 нг) инкубировали в 10 мкл 0.5 М NaOH в течение одного часа при 37°C, после чего добавляли 200 мкл раствора: 6хSSC – 6%-ный формальдегид – 25 мМ NaH₂PO₄. ДНК наносили на нейлоновый фильтр Hybond N с помощью стандартного устройства для дот-блотов. ДНК, иммобилизованную на фильтре, гибридизовали с ³²P-меченым В1-зондом мыши в смеси 4 × SSC–0.5% SDS – 5 × раствор Денхардта–0.1 мг/мл денатурированной ДНК сельди при 60°C [26]. Фильтр отмывали в 0.1 × SSC–0.1% SDS при 42°C. Радиоактивность, связанную с геномными ДНК, измеряли с помощью фосфоримиджера Cyclon (“Packard”, США).

Конструирование библиотек и их скрининг. Геномные ДНК грызунов (1.5–5.0 мкг) обрабатывали рестриктазами *EcoRI* и *HindIII* (ДНК *Eremodipus lichtensteini* была обработана рестриктазами *KpnI* и *HindIII*, поскольку большинство копий В1-элемента тушканчиков содержат внутренний сайт *EcoRI*) и фракционировали в 1%-ном агарозном геле. Фрагменты ДНК длиной от 500 до 1200 пн переносили на ДЭАЭ-фильтр с помощью электрофореза. Затем ДНК элюировали путем инкубации фильтра в 4090 мкл 1 М NaCl–10 мМ трис-HCl (рН 8.0)–1 мМ ЭДТА при 60°C в течение 30 мин. ДНК осаждали этанолом, используя 10 мкг гликогена в качестве носителя. Фрагменты ДНК (0.1–0.5 мкг) лигировали с плазмидным вектором pGEM3Z (0.1–0.3 мкг), обработанным теми же рестриктазами. Полученным лигатом трансформировали компетентные клетки *E. Coli* XL-1 Blue. Колонии переносили на нитроцеллюлозные фильтры и гибридизовали в тех же условиях, что и при дот-гибридизации. Позитивные колонии выявляли с помощью радиоавтографии. Клоны *E. Coli*, содержащие В1-фрагменты, очищали от загрязняющих клонов, используя два дополнительных раунда гибридизации и рассев штрихом.

Геномная ДНК *S. gundi* была сильно деградирована; поэтому после ее электрофореза в 3%-ном

агарозном геле фрагменты длиной 150–250 пн собрали на ДЭАЭ-фильтр и элюировали указанным выше способом. Для получения ДНК с тупыми концами выделенную фракцию инкубировали с фрагментом Кленова (15 ед.) и 25 мкМ dNTP в течение 20 мин при 30°C. Затем для добавления остатков аденозина на 3'-концы фрагментов ДНК их инкубировали с Taq-полимеразой и 0.5 мМ dATP в течение 30 мин при 72°C. Для создания геномной библиотеки *S. gundi* полученные фрагменты ДНК лигировали с pGEM-T-вектором (“Promega”, США) согласно рекомендациям производителя. Гибридизацию и скрининг библиотек производили радиоактивно меченым В1-зондом описанным выше способом.

Секвенирование ДНК и компьютерный анализ. Секвенирование клонированных фрагментов ДНК, содержащих В1, проводили с использованием стандартных затравок M13 набора BigDye Terminator sequencing kit и секвенатора ABI Prism 3100-Avant (“Applied Biosystems”). Нуклеотидные последовательности клонированных фрагментов ДНК были депонированы в GenBank под номерами с EF042308 по EF042578.

Последовательности В1 были также идентифицированы путем скрининга нуклеотидных баз данных с использованием алгоритма FASTA. Множественные выравнивания были сделаны вручную или с использованием Clustal W и оптимизированы с помощью GeneDoc. Консенсусные последовательности были также созданы с использованием GeneDoc на основе выравниваний, причем гипервариабельные сайты CG/CA/TG были вручную заменены на CG.

Для построения древа использовался алгоритм “continuous characters maximum likelihood” [30] из пакета PHYLIP [31], позволяющий анализировать количественные признаки, поскольку информация о частоте встречаемости конкретного признака (т.е. его выраженности) может теряться в консенсусной последовательности. Признаками служили внутренние дупликации, вставки, делеции и однонуклеотидные замены (кроме гипервариабельных сайтов CpG), отмеченные кружочками на рис. 3 (из 39 признаков были использованы 33, так как клада I и характерные для нее признаки были исключены из анализа). При этом признаку присваивался численный индекс в зависимости от его доли в копиях В1 данного семейства (например: +1.00, если он был представлен во всех последовательностях; 0.00 – в половине; –0.50, если он был в четверти последовательностей, и т.п.).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Используя дот-гибридизацию меченого зонда В1-элемента *Mus musculus* с геномными ДНК

Грызуны, исследованные в настоящей работе

Семейство*, подсемейство	Вид**	Источник
Muridae (мышинные) Murinae (мышинные)	<i>Mus musculus</i> (домовая мышь) Д	Виварий (Институт молекулярной биологии, Москва)
	<i>Rattus norvegicus</i> (серая крыса) Д	Виварий (Институт молекулярной биологии, Москва)
Gerbillinae (песчанковые)	<i>Tatera indica</i> (индийская гололапая песчанка) Д, К	Е.А. Ляпунова (Институт биологии развития, Москва)
Cricetidae (хомяковые)	<i>Microtus socialis</i> (общественная полевка) Д, К	Е.А. Ляпунова (Институт биологии развития, Москва)
Spalacidae (слепышовые)	<i>Spalax microphthalmus</i> (обыкновенный слепыш) Д, К	А. Пузаченко (Институт географии, Москва)
Rhizomyidae (бамбуковые крысы)	<i>Tachyoryctes splendens</i> (африканская бамбуковая крыса) Д, К	Добыта автором (Л.Л.)
Zapodidae (мышовковые)	<i>Sicista tianschanica</i> (мышовка тьянь-шанская) Д, К	Е.Ю. Иваницкая (Институт проблем экологии и эволюции, Москва)
Dipodidae (тушканчиковые)	<i>Eremodipus lichtensteini</i> (тушканчик Лихтенштейна) Д, К	Г.И. Шенброт (Институт проблем экологии и эволюции, Москва)
	<i>Allactaga major</i> (большой тушканчик) К	Приобретено у частного лица
Anomaluridae (шипохвостые)	<i>Anomalurus</i> sp. (шипохвост) Д, К	F. Catzeflis (Universite Montpellier 2, France)
Pedetidae (долгоногие)	<i>Pedetes capensis</i> (долгоног) Д, К	T. Robinson (University of Stellenbosch, Matieland, South Africa)
Castoridae (бобровые)	<i>Castor fiber</i> (обыкновенный бобр) Д, К	О.П. Лихнова (Институт проблем экологии и эволюции, Москва)
Geomysidae (гоферовые)	<i>Thomomys bottae</i> (западный гофер Ботта) Д, К	F. Catzeflis (Universite Montpellier 2, France)
Heteromyidae (мешотчатые прыгуны)	<i>Chaetodipus californicus</i> (калифорнийский мешотчатый прыгун) К	R. DeBry (University of Cincinnati, Cincinnati, USA)
Stenodactylidae (гундиевые)	<i>Stenodactylus gundi</i> (гунди) К	F. Catzeflis (Universite Montpellier 2, France)
Hystriidae (дикообразные)	<i>Hystrix indica</i> (индийский дикообраз) Д, К	Московский зоопарк
Thryonomysidae (тростниковые крысы)	<i>Thryonomys gregorianus</i> (малая тростниковая крыса) Д, К	Добыта автором (Л.Л.)
Dasypodidae (агутиевые)	<i>Myoprocta acouchy</i> (акуши) Д, К	Московский зоопарк
Hydrochoeridae (водосвинковые)	<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i> (водосвинка) Д, К	Московский зоопарк
Caviidae (свинковые)	<i>Cavia porcellus</i> (морская свинка) Д	Виварий (Институт молекулярной биологии, Москва)
Chinchillidae (шиншилловые)	<i>Chinchilla laniger</i> (шиншилла) Д, К	R. DeBry (University of Cincinnati, Cincinnati, USA)
Octodontidae (восьмизубовые)	<i>Octodon degus</i> (дегу) Д, К	А.П. Коваль (Институт молекулярной биологии, Москва)
Myocastoridae (нутриевые)	<i>Myocastor coypus</i> (нутрия) Д, К	Приобретено у частного лица
Gliridae (соневые)	<i>Dryomys nitedula</i> (лесная соня) Д, К	Е.Ю. Иваницкая (Институт проблем экологии и эволюции, Москва)
Sciuridae (белчьи)	<i>Sciurus carolinensis</i> (серая белка) Д, К	Е.А. Ляпунова (Институт биологии развития, Москва)
Aplodontidae (аплодонтовые)	<i>Aplodontia rufa</i> (Горный бобр) Д, К	F. Catzeflis (Universite Montpellier 2, France)

* Таксономия на уровне семейств дана согласно [16].

** Д – виды, использованные в опытах по дот-гибридизации; К – виды, исследованные с помощью клонирования и секвенирования.

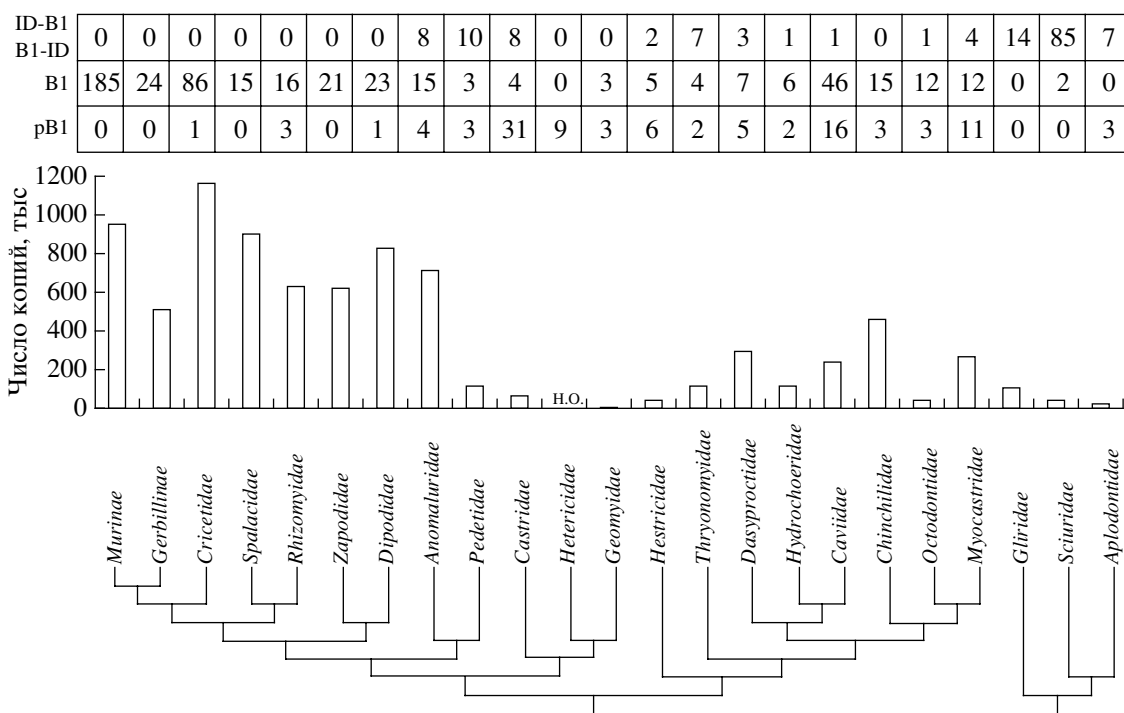


Рис. 2. Число копий элемента В1 в геноме представителей различных семейств грызунов. Высота столбиков показывает число копий В1, оцененное с помощью дот-гибридизации геномной ДНК (анализированные виды отмечены буквой “Д” в таблице). Снизу приведено вероятное филогенетическое древо грызунов, показывающее родственные связи между исследованными семействами. Muridae представлены двумя подсемействами – Murinae и Gerbillinae. У видов из сем. Heteromyidae число копий В1 не определяли (н.о.) из-за наличия лишь очень малых количеств ДНК. В верхней части рисунка указано число копий pB1, B1 и димерных SINE (B1-ID и ID-B1), секвенированных или найденных в базах данных в ходе этой работы.

грызунов различных семейств, мы оценили число копий В1 в их геномах. С этой целью определяли величину радиоактивности в каждом из пятен, включая то, которое содержало ДНК домашней мыши. Зная число копий В1 в геноме *Mus musculus* (955 тыс.), которое было установлено в результате полного секвенирования генома этого вида [21], вычисляли число копий В1 у других грызунов. Оказалось, что число копий В1 значительно различается у грызунов разных семейств. Семейства Muridae, Cricetidae, Spalacidae, Rhizomyidae, Zapodidae и Dipodidae, образующие кладу Myodonta, характеризуются очень большим числом копий В1: от 630 тыс. до 1.2 млн. (рис. 2). В кладе Anomaluromorpha наблюдается значительная разница числа копий В1 у видов из двух семейств, образующих эту кладу: 720 тыс. и 130 тыс. у Anomaluridae и Pedetidae соответственно. Всего лишь 13 тыс. копий В1 обнаруживается у *Thomomys bottae* (Geomyidae). Большинство анализируемых семейств (Thryonomyidae, Dasyproctidae, Hydrochoeridae, Caviidae, Chinchilidae и Myocastoridae) из клады Hystricognathi характеризуются умеренным числом копий В1 (130–140 тыс.), хотя для *Hystrix indica* (Hystricidae) и *Octodon degu* (Octodontidae) эти величины составляют лишь 39 и 47 тыс. соответственно. Родственные белкам грызуны име-

ют сравнительно небольшое – 28–45 тыс. (Aplodontidae и Sciuridae) или умеренное – 114 тыс. (Gliridae) число копий В1 в геномах (рис. 2).

Для выяснения особенностей структуры В1-элементов в ДНК грызунов различных семейств были созданы геномные библиотеки 23 видов, относящихся к 22 семействам отряда Rodentia. После скрининга библиотек путем гибридизации колоний с меченым В1-элементом плазмиды из клонов, дававших гибридизационный сигнал, секвенировали. Таким образом были установлены нуклеотидные последовательности 305 копий В1. Кроме того, некоторое число копий В1 было найдено в базе нуклеотидных данных GenBank/EMBL грызунов. Большинство нуклеотидных последовательностей копий В1 грызунов семейств Cricetidae, Caviidae и Sciuridae были идентифицированы с помощью компьютерного скрининга.

Все установленные нуклеотидные последовательности копий В1 анализировали и систематизировали, разделяя их на три категории: I) канонический вариант В1, содержащий внутреннюю тандемную дупликацию; II) pB1, вариант без такой дупликации, обычно рассматриваемый как эволюционный предшественник других вариантов; III) сложные SINEs, в состав которых В1 вхо-

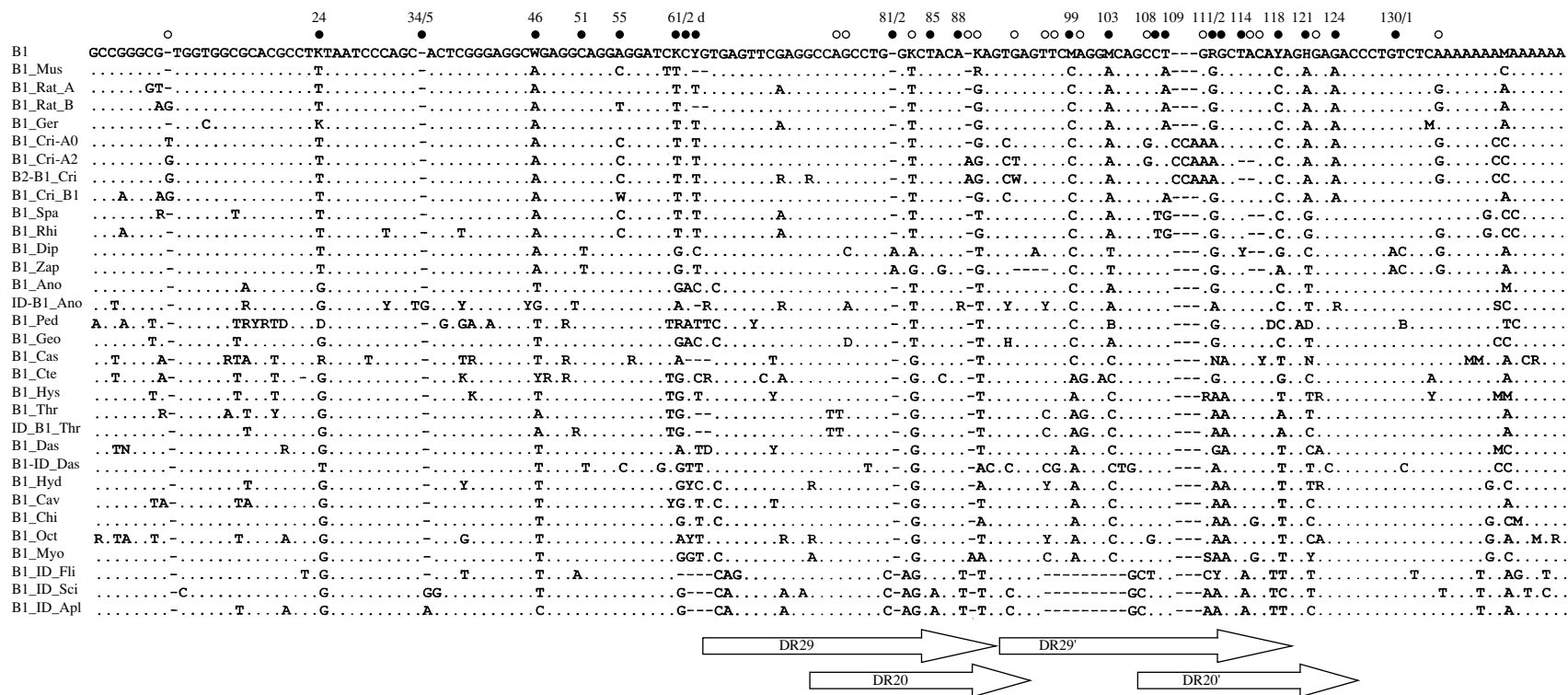


Рис. 3. Выравнивание консенсусов нуклеотидных последовательностей B1 из геномов грызунов различных семейств. Верхняя строка – формальный консенсус B1, полученный на основе всех консенсусов, специфичных для семейств. Точки отмечены нуклеотиды, совпадающие с таковыми в формальном консенсусе. Отсутствующие нуклеотиды отмечены знаком “-”. В названиях последовательностей даны три первые буквы из названий семейств грызунов (полные названия см. на рис. 4). Исключение составляет семейство Muridae, представленное четырьмя консенсусными последовательностями: B1_Mus (*Mus musculus*, подсем. Murinae), варианты B1_Rat-A и B1_Rat-B (*Rattus norvegicus*, Murinae) и B1-Ger (подсем. Gerbillinae). В случае семейства Cricetidae было также получено четыре консенсуса – три варианта мономерных B1 (B1_Cri-A0, B1_Cri-A2 и B1_Cri-B1) и один вариант, входящий в состав димерного SINE (B2-B1_Cri). Приведены также последовательности B1, образующие димерные SINE вместе с элементом ID. Кружочками сверху отмечены все значимые признаки, использованные для реконструкции филогении грызунов (рис. 5); при этом признаки, подтверждающие современное древо грызунов (см. рис. 4), обозначены черными кружочками и номерами позиций (по консенсусу B1 мыши).

дит в качестве одного из двух мономеров. На рис. 2 для каждого семейства грызунов указано число идентифицированных копий В1, относящихся к каждой из трех категорий. В большинстве семейств грызунов классический вариант В1 преобладает над рВ1. Однако у Pedetidae, Geomyidae и Hystricidae эти два варианта В1, видимо, представлены в приблизительно равных количествах. Более того, у бобра (Castoridae) рВ1 встречается в геноме в 8 раз чаще, чем В1, содержащие дупликацию. В случае мешотчатого прыгуна (Heteromyidae) было клонировано девять копий рВ1 и ни одной копии канонического В1, что указывает, по крайней мере, на значительное преобладание рВ1 над В1 в геноме этого грызуна. Отметим, что семейства грызунов, у которых не наблюдается преобладания В1 над рВ1, на филогенетическом древе расположены базально относительно большинства других семейств (рис. 2). Интересно, что те же семейства характеризуются, судя по дот-гибридизации, наименьшим числом копий элементов рВ1/В1 в геномах их представителей. Предположительно еще базальнее расположены Gliridae, Sciuridae и Aplodontidae. У этих грызунов сильно преобладают копии сложного В1-содержащего элемента В1-dID: было найдено только две копии В1 у Sciuridae и три копии рВ1 у Aplodontidae (рис. 2).

Копии рВ1-элемента у всех изучавшихся видов сильно дивергированы, но их консенсусы у разных грызунов весьма сходны (данные не представлены). Большинство наблюдаемых различий между консенсусами связаны с гипервариабельными (метилируемыми) сайтами CpG. Специфических подсемейств среди рВ1-элементов выделить не удалось. Исключение представляли собой рВ1 и сложные элементы (рВ1-ID и ID-рВ1) из геномов долгонога (Pedetidae) и шипохвоста (Anomaluridae), которые содержали специфическую вставку AGAGG(C/G), отсутствующую в рВ1 всех других изученных видов. Наличие такой общей черты свидетельствует о родстве этих двух семейств грызунов.

Оказалось, что в отличие от рВ1 канонические (т.е. содержащие внутреннюю tandemную дупликацию) В1 из геномов грызунов разных семейств весьма часто обладают структурными особенностями. Были составлены консенсусные последовательности для каждого семейства грызунов. На рис. 3 представлено выравнивание этих консенсусов, в том числе полученных для В1-мономеров сложных SINE. Семейство Muridae представлено на рисунке четырьмя консенсусными последовательностями: В1_Mus (*Mus musculus*, подсем. Murinae), варианты В1_Rat-A и В1_Rat-B (*Rattus norvegicus*, Murinae) и В1-Ger (подсем. Gerbillinae). Семейство Cricetidae также представлено четырьмя консенсусами – три варианта мономерных В1 (В1_Cri-A0, В1_Cri-A2 и В1_Cri-B1) и один вари-

ант, входящий в состав димерного SINE (В2-В1_Cri).

В последние годы имел место значительный прогресс в изучении родственных отношений между семействами грызунов, основанный на анализе нуклеотидных последовательностей ядерных генов. Тем не менее в этой области все еще остается ряд нерешенных вопросов. На рис. 2 представлено филогенетическое древо семейств грызунов, составленное нами на основании молекулярно-филогенетических данных нескольких статей [29, 32–37] (показаны только семейства, исследованные в данной работе).

Сравнение консенсусов В1 позволило выявить 39 признаков (протяженных дупликаций, вставок, делеций и однонуклеотидных замен), по которым отличались, по крайней мере, некоторые из консенсусов. Из них 23 признака подтверждали это древо грызунов (рис. 4); остальные либо были неинформативными, т.е. обнаруживались только у одного семейства (10), либо не соответствовали древу (6). Рассмотрим некоторые из синапоморфных признаков. Наличие дупликации длиной 29 пн (DR29) в В1 у всех грызунов, кроме Gliridae, Sciuridae и Aplodontidae (клада I), для которых характерна дупликация длиной 20 пн (DR20), подтверждает родство между кладами II и III и указывает на более раннюю дивергенцию клады I от остальных грызунов (рис. 4). Делеция D10, характерная для клады I, также подтверждает ее обособленность от клад II и III, в которых В1 несут делеции d7 или d9 (единственное исключение составляет Castoridae с делецией d10). Монофилия клады I подтверждается также специфическими нуклеотидными заменами в позициях 81, 82 и 88. Клады II и III достаточно дифференцируются друг от друга благодаря различиям в позициях 99, 103 и 118 их В1-элементов (рис. 4). Кроме того, все семейства, входящие в группу Hystricognathi, которая вместе с Stenodactylidae образует кладу II, характеризуются заменами A111 и A112. В разных семействах клады II В1 весьма сходны между собой; исключение составляет семейство Thyromyidae, для которого характерны делеция d9 (а не d7, как в других семействах клады II) и замены нуклеотидов в позициях 75, 76, 100, 118 (рис. 3). В кладе III и особенно в группе семейств Myodonta В1-элементы эволюционировали заметно быстрее. Монофилия Myodonta подтверждается заменами T24 и A46. Родственные отношения между Muridae (Murinae + Gerbillinae), Cricetidae, Spalacidae и Rhizomyidae поддерживаются нуклеотидными позициями Y55 и T61. О сестринских отношениях между Muridae и Cricetidae свидетельствуют замены нуклеотидов в позициях 109, 121 и 124 на A. Большое сходство В1 слепышей и бамбуковых крыс и наличие в них специфических нуклеотидных замен (T108, G109, G121) свидетельствуют о филогенетической близости Spalacidae и Rhy-

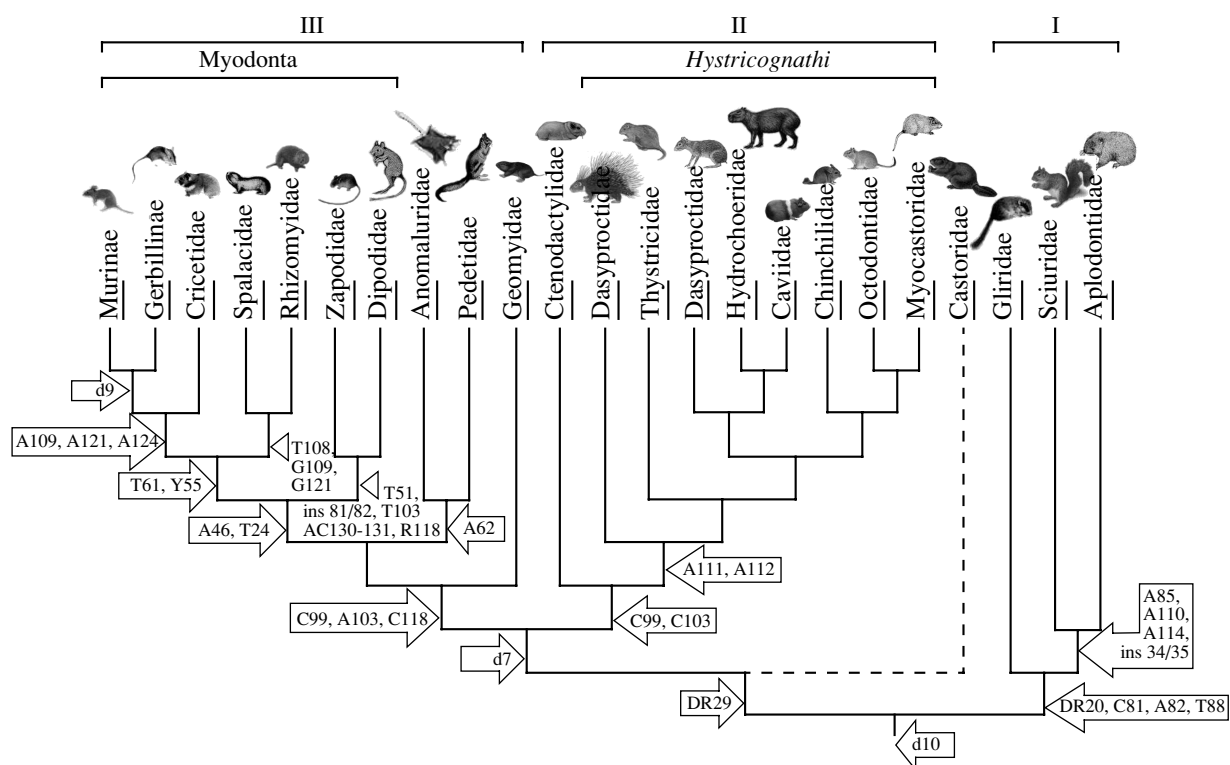


Рис. 4. Филогенетическое дерево семейств грызунов. Отмечены вероятные моменты возникновения замен, делеций и дупликаций в последовательности V1. Моменты возникновения этих признаков установлены на основе анализа их наличия или отсутствия у разных семейств грызунов. Наблюдаемое распределение признаков в главных чертах подтверждает топологию данного дерева, полученного путем объединения результатов ряда работ [34–38, 44]. Исключение составляет Castoridae, чью позицию предложено изменить (сравни с деревом на рис. 2). Сверху обозначены границы клад I, II и III, а также групп Myodonta и Hystricognathi. Эти клады соответствуют ранее описанным: клада I – The squirrel- and dormouse-related clade, клада II – The Stenohystrica clade (Ctedactylidae + Hystricognathi), клада III – The mouse-related clade [35].

zomyidae. V1 тушканчиков (Dipodidae) и мышовок (Zapodidae) содержат вставку A81/82 и пять общих нуклеотидных замен (T51, T101, R118, A130 и C131), что подтверждает родство этих семейств.

На дереве, построенном на основе данных, взятых из литературы [32, 33, 35–37], Castoridae (бобры) образуют общую кладу с Geomyidae и Heteromyidae (рис. 2). Однако анализ V1-элементов позволил предположить, что Castoridae занимает иное, базальное по отношению к кладам II и III, положение. Это отражено на рис. 4, где пунктирная линия показывает альтернативное положение Castoridae на дереве. Это предположение основано на том, что бобры – единственное семейство, в V1 которых сочетается делеция d10 с дупликацией DR29. Можно предложить следующий сценарий эволюции грызунов и V1 в их геномах, соответствующий базальной части дерева. В кладе I элемент pV1d10 после возникновения 20-нуклеотидной дупликации дал начало семейству SINE V1-d10. У общего предка остальных грызунов из pV1d10 мог образоваться V1-элемент с 29-нуклеотидной дупликацией (именно элемент этого типа был обнаружен в геноме бобра). Затем из такого

V1-элемента в результате тандемной дупликации трех нуклеотидов (CGC), расположенных перед делецией d10, произошло “укорочение” этой делеции и образование V1 с делецией d7 и дупликацией DR29. Возникший элемент (V1d7DR29), сильно амплифицировавшись в геномах грызунов группы Myodonta, оказался более успешным, чем его предшественник.

Кроме описанной выше проверки филогенетического дерева, основанного на анализе ядерных генов, мы предприняли попытку построения самостоятельного филогенетического дерева семейств грызунов, используя консенсусные последовательности V1 семейств грызунов. Использование стандартных методов построения деревьев (например, maximum likelihood и maximum parsimony) в отношении нуклеотидных последовательностей V1-элементов сталкивается с определенными трудностями, связанными, в частности, с различной выраженностью тех или иных признаков в консенсусах грызунов разных семейств. Поэтому мы применили другой метод (continuous characters maximum likelihood), предназначенный для обработки количественных признаков и тем

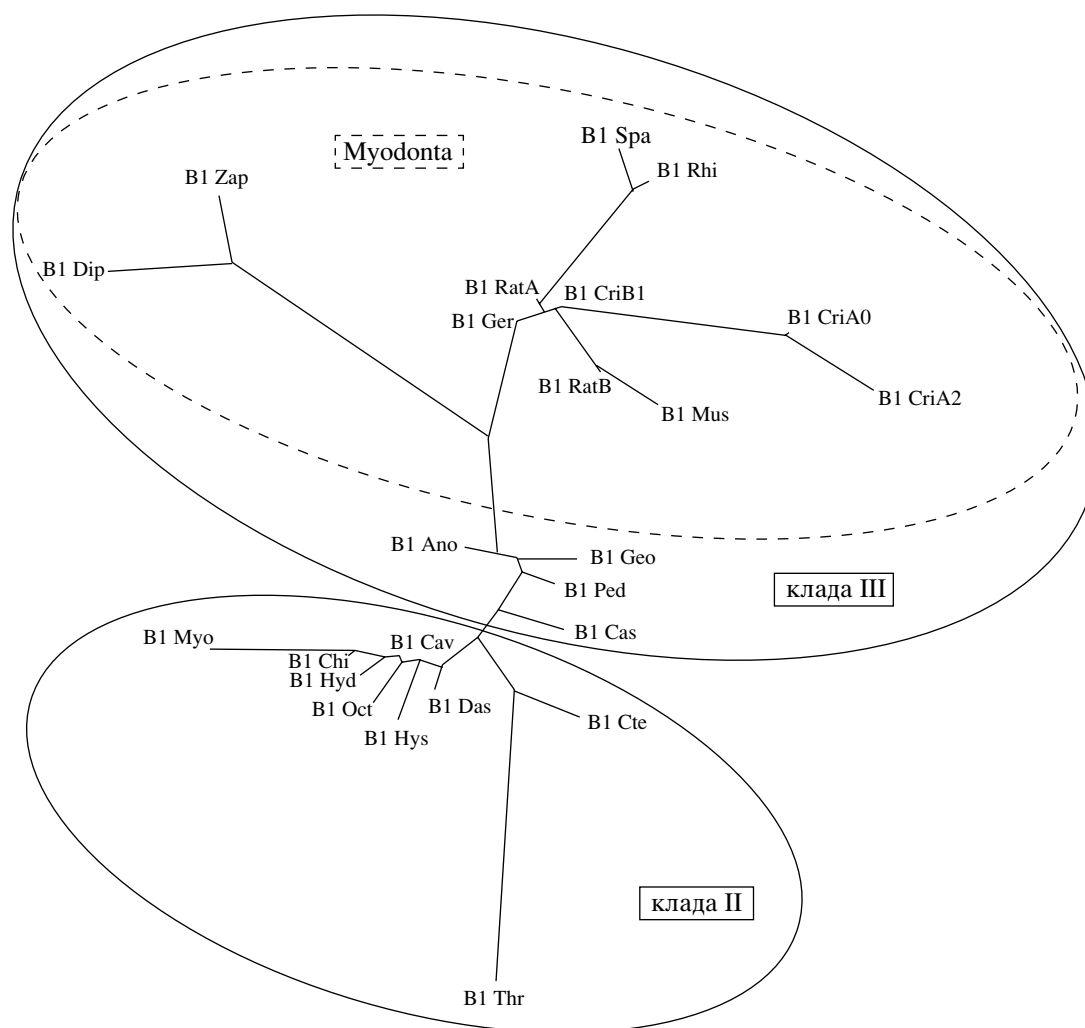


Рис. 5. Древо, построенное на основе анализа признаков структуры В1-элементов из грызунов различных семейств (кроме Gliridae, Sciuridae и Aplodontidae). Были использованы все значимые признаки последовательностей В1 (отмеченные кружками на рис. 3). В названиях В1 использованы три первые буквы из названий семейств грызунов (полные названия см. на рис. 4). Клады II и III, а также группа Myodonta обведены.

самым учитывающий степень выраженности признаков (например, соотношение между нуклеотидами в данной позиции В1-последовательностей) (см. “Материалы и методы”). На рис. 5 представлено такое неукорененное древо, построенное для В1-элементов семейств грызунов (В1-мономеры всех сложных SINE были исключены из рассмотрения). Полученное древо ясно подтверждает монофилию клады II и клады III, а также группы Myodonta. В то же время надо отметить, что расположение ветвей внутри этих клад не всегда совпадает с тем, которое изображено на рис. 2 и 4.

ОБСУЖДЕНИЕ

Основные варианты В1-элементов

В этой статье впервые проведено исследование В1-элементов в геномах грызунов большин-

ства (22) известных (30–35) семейств. Было просеквенировано более 300 копий этих SINE; кроме того, было проанализировано значительное число (269) нуклеотидных последовательностей В1, полученных скринингом баз данных копий В1-элементов из геномов хомяков (Cricetidae), морской свинки (Caviidae) и беличьих (Sciuridae). Анализ нуклеотидных последовательностей всех полученных копий позволил разделить их на три типа: 1) рВ1, 2) канонические В1, 3) сложные SINE, содержащие в своем составе В1-последовательности. В1 в отличие от рВ1 содержат внутреннюю тандемную дупликацию длиной 29 пн. рВ1 рассматривается как эволюционный предшественник В1 [38]. Сложные SINE, как правило, состоят из двух мономеров, один из которых представляет собой рВ1 или В1, и другой – ID-элемент. В зависимости от семейства таких SINE В1-последо-

ватливость может выступать в качестве правого или левого мономера.

Измерение суммарного числа копий показало, что последовательностей В1 много у грызунов группы *Myodonta*, меньше у видов, входящих в подотряд *Huystriognathi*, и относительно мало у *Pedetidae*, *Castoridae*, *Geomyidae* и *Huystricidae*. Интересно, что для этих четырех семейств не наблюдается преобладания числа копий В1 над рВ1 (рис. 2). Кроме того, эти семейства характеризуются ранней дивергенцией в эволюции грызунов. По-видимому, в геномах грызунов этих семейств канонические В1-элементы не смогли стать очень эффективными ретропозонами в отличие от аналогичных элементов у других грызунов. Можно ожидать, что число копий рВ1-элементов в геномах всех грызунов соизмеримо, но значительные различия в количестве канонических В1 могут обуславливать тот факт, что рВ1 значительно легче выявлялись в геномах грызунов с низким содержанием канонических В1 (рис. 2).

В1 и филогения грызунов

Анализ структуры рВ1-элементов оказался малоприменимым для определения родственных связей между семействами грызунов. Только в случае долгонога (*Pedetidae*) и шипохвоста (*Anomaluridae*) эти SINE оказались информативными, так как у этих грызунов удалось обнаружить рВ1-элементы, несущие специфическую 6-нуклеотидную вставку, что подтверждает родство этих семейств.

Структура В1-элементов оказалась более информативной. Мы обнаружили целый ряд нуклеотидных замен, а также делеции и дупликации, характерные для групп тех или иных семейств грызунов. Распределение этих признаков по филогенетическому древу (рис. 4), как правило, хорошо подтверждали современные представления о родственных связях между семействами грызунов. До недавнего прошлого эти связи изучались исключительно путем анализа морфологических признаков [16, 39]. Затем эти вопросы исследовались с помощью анализа ДНК митохондрий [40], однако некоторые, сделанные на основе этих данных, парадоксальные выводы (например, что морская свинка не является грызуном [41]) мешали стать полученным филогенетическим деревьям общепризнанными. В последние годы были проанализированы нуклеотидные последовательности экзонов нескольких ядерных генов, что вместе с использованием новых алгоритмов построения деревьев позволило добиться значительных успехов в этой области [32–36, 42]. Однако положение некоторых ветвей недостаточно хорошо установлено. В частности, это касается взаимного расположения клады I (*Sciuridae*, *Aplodontidae* и *Gliridae*), клады II (*Huystriognathi* +

+ *Stenodactylidae*) и клады III (остальные грызуны) (рис. 4). Кроме того, пока нет полной уверенности в том, где ветвь *Geomyidae*–*Heteromyidae*–*Castoridae* локализована на древе. Надо отметить, что позиции большинства других семейств на древе также все еще требуют дополнительных подтверждений. Наличие 20-нуклеотидной дупликации в В1 у *Gliridae*, *Sciuridae* и *Aplodontidae* в отличие от 29-нуклеотидной дупликации у остальных грызунов свидетельствует о родстве клады II и III, а также о более ранней дивергенции клады I. Кроме того, наличие 10-нуклеотидной делеции (d10) в В1 практически только у грызунов семейств *Gliridae*, *Sciuridae* и *Aplodontidae* также указывает на базальное расположение клады I на древе. Это подтверждается наличием той же делеции в В1 тупай, представляющих другой отряд [26, 27].

По крайней мере три нуклеотидные замены (С99, А103 и С118) подтверждают, что сем. *Geomyidae* входит в кладу III. В то же время наши данные ставят под сомнение родство *Geomyidae* с *Castoridae* и позволили нам предположить, что дивергенция *Castoridae* предшествовала расхождению клады II и III. Наконец, надо отметить, что значительное число нуклеотидных замен, а также вставок хорошо подтверждает топологию древа в пределах клады III, изображенного на рис. 4.

Сопоставление методов изучения филогении, основанных на анализе SINE

Во введении уже были упомянуты два подхода к изучению филогении видов, основанных на анализе SINE. В первом из них изучается вопрос о наличии или отсутствии копий SINE в конкретных локусах генома у разных видов (метод “копий”). Во втором методе устанавливается факт наличия или отсутствия у них целых семейств SINE (метод “семейств”). Наличие копий SINE в определенных локусах или наличие семейств SINE в геномах свидетельствует о родстве видов. Основными достоинствами этих методов является то, что SINE в отличие от морфологических признаков не склонны к гомоплазии – явлению, включающему конвергенцию и параллелизм. Надо отметить, что морфология грызунов особенно изобилует случаями гомоплазии [16]. Отсутствие гомоплазии у SINE основывается на следующем. Интеграция SINE в одно и то же место генома у двух разных видов – крайне маловероятное событие из-за огромных размеров генома и отсутствия выраженных предпочтений в сайтах интеграции. Возникновение двух одинаковых семейств SINE у разных видов также является чрезвычайно маловероятным.

Методы, основанные на анализе кодирующих последовательностей генов, широко применяемые в настоящее время, также могут страдать от гомоплазии, так как конвергентная и параллель-

ная эволюция вполне вероятна для функциональных последовательностей ДНК. Наличие большой доли позиций с нуклеотидными заменами в кодирующих последовательностях также создает проблемы для использования данных методов, так как этому сопутствуют частые обратные мутации. Кроме того, результаты этих методов могут зависеть от используемых алгоритмов построения филогенетических деревьев.

Методы, основанные на анализе SINE, находят все более широкое распространение для построения филогенетических деревьев, а также для проверки деревьев, построенных на основе анализа морфологических признаков или кодирующих последовательностей ДНК. Например, с помощью метода “копий” было показано, что китообразные (Cetacea) являются ветвью внутри древа парнокопытных (Artiodactyla), что позволило их объединить в одну таксономическую группу – Cetartiodactyla [43]. Этим же методом успешно изучают родство различных человеческих популяций и рас [44, 45]. С помощью метода “семейств” было показано, что сони (Gliridae) близки не миоморфным грызунам, как считалось ранее, а родственны белчицам (Sciuridae) [29]. Также этим методом была четко подтверждена недавно обнаруженная монофилия клады Afrotheria, включающей в себя слонов, даманов, серен, трубкозубов, златокротов, тенреков и прыгунчиков [46]. Кроме того, этим подходом подтверждено родство приматов, тупай и грызунов [26, 27].

Хотя методы, основанные на анализе SINE, представляются очень надежными, при их использовании тоже могут быть проблемы. В случае метода “копий” исследователи могут сталкиваться со следующими сложностями. Очень редко, однако наблюдаются случаи независимой интеграции копии SINE в один и тот же сайт генома у разных видов [47]. Для этого метода очень важно, что копии интегрируют необратимо и сохраняются в течение долгих эволюционных периодов. Однако недавно было обнаружено, что 0.5–1% копий Alu-элемента теряется из генома благодаря рекомбинации между короткими прямыми фланкирующими повторами [48]. По-видимому, такому вырезанию подвержены главным образом молодые копии Alu, поскольку именно они фланкированы совершенными прямыми повторами. Это указывает на то, что положение той или иной ветви на древе должно быть подтверждено анализом не одной, а нескольких копий SINE. С особыми трудностями сталкивались исследователи, работавшие с таксономическими группами, в которых шло очень быстрое видообразование – например, цихлидовые рыбы в озерах Африки [49]. Надо отметить, что на популяционном уровне многие “молодые” копии SINE не зафиксированы, т.е. они имеются далеко не у всех особей. В результате чего при быстром видооб-

разовании один новый вид может вести свое происхождение от особи, несущей данную копию SINE, тогда как для другого нового вида предком может служить особь, лишенная этой копии. Таким образом, один из двух родственных видов будет иметь данную копию, а другой – нет. В таких случаях выяснение с помощью метода “копий” филогенетического родства между видами сталкивается с большими трудностями [49]. Вышеописанные проблемы не свойственны методу “семейств”. Однако эффективность амплификации SINE может сильно различаться в разных организмах; соответственно, их детекция может быть затруднительной при небольшом числе копий и сильной дивергенции.

В этой работе мы впервые использовали анализ структуры подсемейств (вариантов) SINE, образующих одно семейство, для филогенетических исследований. Эти подсемейства V1-элемента характеризовались определенным набором нуклеотидных диагностических позиций. По своей сути использованный подход является вариантом метода “семейств” и обладает теми же достоинствами и потенциальными недостатками.

Как можно объяснить, что изучение распределения подсемейств V1 позволяет извлекать информацию о филогении грызунов? По-видимому, эволюция подсемейств V1 шла параллельно с эволюцией их “хозяев”. То есть появление новых групп грызунов сопровождалось возникновением новых успешных подсемейств V1 из ранее существовавших. Причем эти новые подсемейства, сохраняя ранее возникшие диагностические признаки, приобретали новые, дополнительные. Таким образом, прослеживая эволюцию подсемейств V1, можно делать выводы и о филогении самих грызунов.

Все диагностические позиции, представленные на рис. 4, ведут себя как синапоморфные признаки, подтверждающие монофилию тех или иных ветвей на древе. В то же время надо отметить, что несколько позиций (признаков) на рис. 3 не позволяли делать однозначных филогенетических выводов. Так, динуклеотидная делеция AC в позиции 115–116, обнаруживаемая в V1 у грызунов семейств Spalacidae, Rhizomyidae, Dipodidae и Zapodidae, указывает на монофилетическое происхождение всей этой группы. Однако это противоречит распределению других выявленных нами диагностических позиций и другим молекулярно-филогенетическим данным (рис. 4). Не исключено, что эта делеция произошла независимо в кладе Spalacidae/Rhizomyidae и кладе Dipodidae/Zapodidae. Однако более вероятным нам кажется, что эта делеция возникла еще у общего предка Myodonta, но мощная амплификация таких вариантов V1 произошла только у грызунов этих четырех семейств.

Не вполне однозначные выводы дает также нуклеотидная замена в позиции 83. Наиболее вероятным представляется, что замена G на T произошла у общего предка кланы III, а у тушканчиков (Dipodidae) и мышевок (Zarodidae) нуклеотид T снова был заменен на пуриновое основание.

Эти два примера свидетельствуют, что и в примененном методе имеются свои подводные камни. Однако ясно, что большинство описанных нами диагностических признаков синапоморфны и с успехом могут быть использованы для тестирования филогенетических деревьев, полученных другими методами. Можно надеяться, что этот подход найдет свое применение в изучении филогенеза и других групп организмов.

Авторы благодарны Р. Дебри (R. DeBry), Е. Иващенко, Ф. Кацефлису (F. Catzeflis), О. Лихновой, Е. Ляпуновой, А. Пузаченко, Т. Робинзону (T. Robinson) и Г. Шенброту за предоставление животных, их тканей или ДНК, а также благодарны М. Грашук за помощь в некоторых экспериментах.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 05-04-49553).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Deininger P.L., Batzer M.A.* Mammalian retroelements // *Genome Res.* 2002. V. 12. № 10. P. 1455–1465.
2. *Kramerov D., Vassetzky N.* Short retrotransposons in eukaryotic genomes // *International Rev. Cytol.* 2005. V. 247. № 1. P. 165–221.
3. *Okada N.* SINEs // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1991. V. 1. № 4. P. 498–504.
4. *Kapitonov V.V., Jurka J.* A novel class of SINE elements derived from 5S rRNA // *Mol. Biol. Evol.* 2003. V. 20. № 5. P. 694–702.
5. *Nishihara H., Smit A.F., Okada N.* Functional noncoding sequences derived from SINEs in the mammalian genome // *Genome Res.* 2006. V. 16. № 7. P. 864–874.
6. *Kramerov D.A., Grigoryan A.A., Ryskov A.P. et al.* Long double-stranded sequences (dsRNA-B) of nuclear pre-mRNA consist of a few highly abundant classes of sequences: Evidence from DNA cloning experiments // *Nucl. Acids Res.* 1979. V. 6. № 2. P. 697–713.
7. *Krayev A.S., Kramerov D.A., Skryabin K.G. et al.* The nucleotide sequence of the ubiquitous repetitive DNA sequence B1 complementary to the most abundant class of mouse fold-back RNA // *Nucl. Acids Res.* 1980. V. 8. № 6. P. 1201–1215.
8. *Deininger P.L., Jolly D.J., Rubin C.M. et al.* Base sequence studies of 300 nucleotide renatured repeated human DNA clones // *J. Mol. Biol.* 1981. V. 151. № 1. P. 17–33.
9. *Haynes S.R., Toomey T.P., Leinwand L. et al.* The Chinese hamster Alu-equivalent sequence: A conserved highly repetitive, interspersed deoxyribonucleic acid sequence in mammals has a structure suggestive of a transposable element // *Mol. Cell. Biol.* 1981. V. 1. № 7. P. 573–583.
10. *Ullu E., Tschudi C.* Alu sequences are processed 7SL RNA genes // *Nature.* 1984. V. 312. № 5990. P. 171–172.
11. *Daniels G.R., Deininger P.L.* A second major class of Alu family repeated DNA sequences in a primate genome // *Nucl. Acids Res.* 1983. V. 11. № 21. P. 7595–7610.
12. *Zietkiewicz E., Richer C., Sinnott D. et al.* Monophyletic origin of Alu elements in primates // *J. Moll. Evol.* 1998. V. 47. № 2. P. 172–182.
13. *Roos C., Schmitz J., Zischler H.* Primate jumping genes elucidate strepsirrhine phylogeny // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 29. P. 10650–10654.
14. *Labuda D., Sinnott D., Richer C. et al.* Evolution of mouse B1 repeats: 7SL RNA folding pattern conserved // *J. Mol. Evol.* 1991. V. 32. № 5. P. 405–414.
15. *Quentin Y.* A master sequence related to a free left Alu monomer (FLAM) at the origin of the B1 family in rodent genomes // *Nucl. Acids Res.* 1994. V. 22. № 12. P. 2222–2227.
16. *Hartenberger J.-L.* The order Rodentia: Major questions on their evolutionary origin, relationships and suprafamilial systematics // *Evolutionary Relationships among Rodents / Eds Luckett W.P., Hartenberger J.-L.* New York; London: Plenum Press, 1985. P. 1–33.
17. *Павлинов И.* Систематика современных млекопитающих. М.: Изд-во МГУ, 2003. 287 с.
18. *Krayev A.S., Markusheva T.V., Kramerov D.A. et al.* Ubiquitous transposon-like repeats B1 and B2 of the mouse genome: B2 sequencing // *Nucl. Acids Res.* 1982. V. 10. № 23. P. 7461–7475.
19. *Den Dunnen J.T., Schoenmakers J.G.* Consensus sequences of the *Rattus norvegicus* B1 and B2 repeats // *Nucl. Acids Res.* 1987. V. 15. № 6. P. 2772.
20. *Bains W., Temple-Smith K.* Similarity and divergence among rodent repetitive DNA sequences // *J. Mol. Evol.* 1989. V. 28. № 3. P. 191–199.
21. *Waterston R.H., Lindblad-Toh K., Birney E. et al.* Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome // *Nature.* 2002. V. 420. № 6915. P. 520–562.
22. *Gibbs R.A., Weinstock G.M., Metzker M.L. et al.* Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution // *Nature.* 2004. V. 428. № 6982. P. 493–521.
23. *Kim J., Martignetti J.A., Shen M.R. et al.* Rodent BC1 RNA gene as a master gene for ID element amplification // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1994. V. 91. № 9. P. 3607–3611.
24. *Serdobova I.M., Kramerov D.A.* Short retrotransposons of the B2 superfamily: Evolution and application for the study of rodent phylogeny // *J. Mol. Evol.* 1998. V. 46. P. 202–214.
25. *Kramerov D.A., Vassetzky N.S.* Structure and origin of a novel dimeric retrotransposon B1-deD // *J. Mol. Evol.* 2001. V. 52. № 2. P. 137–143.
26. *Vassetzky N.S., Ten O.A., Kramerov D.A.* B1 and related SINEs in mammalian genomes // *Gene.* 2003. V. 319. P. 149–160.
27. *Nishihara H., Terai Y., Okada N.* Characterization of novel Alu- and tRNA-related SINEs from the tree shrew

- and evolutionary implications of their origins // *Mol. Biol. Evol.* 2002. V. 19. № 11. P. 1964–1972.
28. Сердобова И.М., Крамеров Д.А. Использование коротких ретропозонов в качестве филогенетических маркеров // Докл. Акад. наук. 1994. Т. 335. № 5. С. 664–667.
 29. Kramerov D., Vassetzky N., Serdobova I. The evolutionary position of dormice (Gliridae) in Rodentia determined by a novel short retroposon // *Mol. Biol. Evol.* 1999. V. № . P. 715–716.
 30. Felsenstein J. Phylogenies from gene frequencies: A statistical problem // *Systematic Zoology*. 1985. V. 34. № 3. P. 300–311.
 31. Felsenstein J. PHYLIP – Phylogeny Inference Package (Version 3.2) // *Cladistics*. 1989. V. 5. № P. 164–166.
 32. Huchon D., Douzery E.J. From the Old World to the New World: A molecular chronicle of the phylogeny and biogeography of hystricognath rodents // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2001. V. 20. № 2. P. 238–251.
 33. Huchon D., Madsen O., Sibbald M.J. et al. Rodent phylogeny and a timescale for the evolution of Glires: Evidence from an extensive taxon sampling using three nuclear genes // *Mol. Biol. Evol.* 2002. V. 19. № 7. P. 1053–1065.
 34. Adkins R.M., Gelke E.L., Rowe D. et al. Molecular phylogeny and divergence time estimates for major rodent groups: evidence from multiple genes // *Mol. Biol. Evol.* 2001. V. 18. № 5. P. 777–791.
 35. Adkins R.M., Walton A.H., Honeycutt R.L. Higher-level systematics of rodents and divergence time estimates based on two congruent nuclear genes // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2003. V. 26. № 3. P. 409–420.
 36. Steppan S., Adkins R., Anderson J. Phylogeny and divergence-date estimates of rapid radiations in muroid rodents based on multiple nuclear genes // *Syst. Biol.* 2004. V. 53. № 4. P. 533–553.
 37. Opazo J.C. A molecular timescale for caviomorph rodents (Mammalia, Hystricognathi) // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2005. V. 37. № 3. P. 932–937.
 38. Quentin Y. Emergence of master sequences in families of retroposons derived from 7sl RNA // *Genetica*. 1994. v. 93. № 1–3. P. 203–215.
 39. Кэррол Р. Палеонтология и эволюция позвоночных. Т. 3. М.: Мир, 1993. С. 56–63.
 40. Reyes A., Pesole G., Saccone C. Long-branch attraction phenomenon and the impact of among-site variation on rodent phylogeny // *Gene*. 2000. V. 259. № 1–2. P. 177–187.
 41. D'Erchia A.M., Gissi C., Pesole G. et al. The guinea-pig is not a rodent // *Nature*. 1996. V. 381. № 6583. P. 597–600.
 42. Murphy W.J., Eizirik E., O'Brien S.J. et al. Resolution of the early placental mammal radiation using Bayesian phylogenetics // *Science*. 2001. V. 294. № 5550. P. 2348–2351.
 43. Shimamura M., Yasue H., Ohshima K. et al. Molecular evidence from retroposons that whales form a clade within even-toed ungulates // *Nature*. 1997. V. 388. № 6643. P. 666–670.
 44. Stoneking M., Fontius J.J., Clifford S.L. et al. Alu insertion polymorphisms and human evolution: evidence for a larger population size in Africa // *Genome Res.* 1997. V. 7. № 11. P. 1061–1071.
 45. Watkins W.S., Rogers A.R., Ostler C.T. et al. Genetic variation among world populations: inferences from 100 Alu insertion polymorphisms // *Genome Res.* 2003. V. 13. № 7. P. 1607–1618.
 46. Nikaido M., Nishihara H., Hukamoto Y. et al. Ancient SINEs from African endemic mammals // *Mol. Biol. Evol.* 2003. V. 20. № 4. P. 522–527.
 47. Rothenburg S., Eiben M., Koch-Nolte F. et al. Independent integration of rodent identifier (ID) elements into orthologous sites of some RT6 alleles of *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus* // *J. Mol. Evol.* 2002. V. 55. № 3. P. 251–259.
 48. Van De Lagemaat L.N., Gagnier L., Medstrand P. et al. Genomic deletions and precise removal of transposable elements mediated by short identical DNA segments in primates // *Genome Res.* 2005. V. 15. № 9. P. 1243–1249.
 49. Terai Y., Takahashi K., Nishida M. et al. Using SINEs to probe ancient explosive speciation: “hidden” radiation of African cichlids? // *Mol. Biol. Evol.* 2003. V. 20. № 6. P. 924–930.