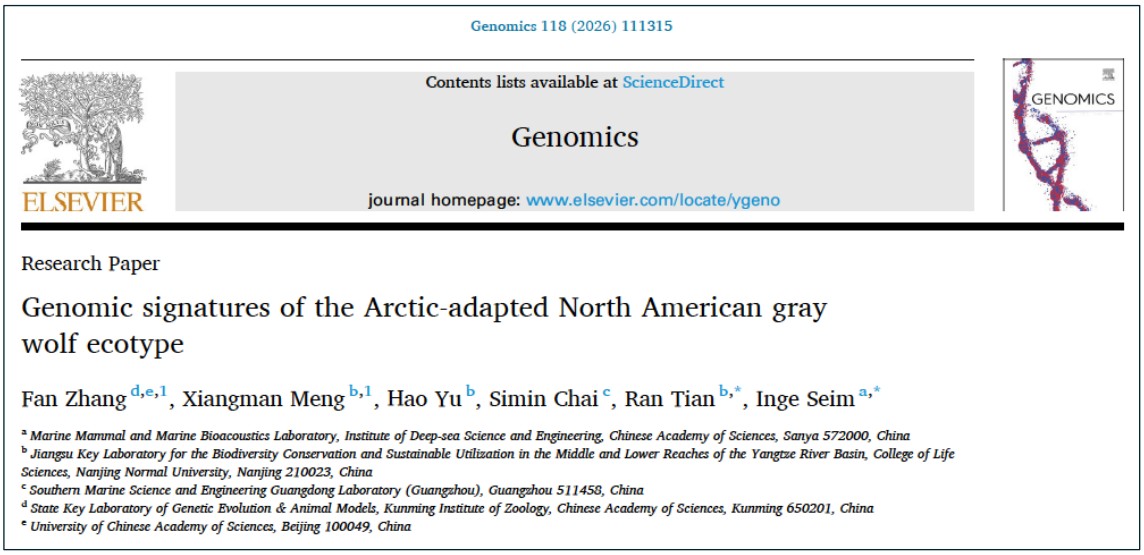
Signatures génomiques de l'écotype du loup gris d'Amérique du Nord adapté à l'Arctique



Genomics 118 (2026) 111315

Contents lists available at ScienceDirect

Genomics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ygeno

Research Paper

Genomic signatures of the Arctic-adapted North American gray wolf ecotype

Fan Zhang [d,e,1], Xiangman Meng [b,1], Hao Yu [b], Simin Chai [c], Ran Tian [b,*], Inge Seim [a,*]

[a] Marine Mammal and Marine Bioacoustics Laboratory, Institute of Deep-sea Science and Engineering, Chinese Academy of Sciences, Sanya 572000, China
[b] Jiangsu Key Laboratory for the Biodiversity Conservation and Sustainable Utilization in the Middle and Lower Reaches of the Yangtze River Basin, College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China
[c] Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Guangzhou), Guangzhou 511458, China
[d] State Key Laboratory of Genetic Evolution & Animal Models, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China
[e] University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Résumé

Le cercle arctique est l'un des environnements les plus extrêmes de la Terre. Il se caractérise par des températures glaciales, une rareté des ressources et une obscurité hivernale quasi totale. Nous avons réalisé ici un **assemblage génomique** au niveau chromosomique d'un loup mâle de l'archipel arctique (*Canis lupus arctos*). Notre assemblage, ainsi que celui du *C. l. orion* apparenté, originaire du Groenland, a été utilisé pour identifier des éléments géniques et régulateurs candidats chez les loups polaires adaptés à l'Arctique, allant de la sélection agissant sur la variation existante et les changements d'acides aminés dans les gènes aux éléments non-exoniques conservés (CNEE) susceptibles de réguler l'expression génique. Nous avons identifié des gènes et des CNEE adjacents associés à la thermorégulation (par exemple, APOB), à la couleur et au motif du pelage (par exemple, GOLGB1), ainsi qu'à la réponse aux dommages de l'ADN (par exemple, POLQ). Des tests in vitro ont confirmé les **modifications** de la fonction des gènes du loup polaire (substitutions d'acides aminés dans POLQ et TRPV2) et des CNEE. Notre étude apporte un éclairage sur les mécanismes génétiques sous-jacents aux adaptations du loup polaire, jetant ainsi les bases de futures études sur les canidés de l'Arctique.

Mots-clés : Génomique comparative, Loups polaires, Adaptation à l'Arctique, Substitutions d'acides aminés, Éléments non-exoniques conservés

INTRODUCTION

Le cercle polaire arctique (« l'Arctique »), qui englobe les régions continentales et insulaires situées à environ 66° au nord de l'équateur, se caractérise par des températures froides, une rareté des ressources, ainsi qu'une obscurité hivernale quasi totale et une luminosité estivale intense [1]. Au cours des 45 dernières années, les températures dans l'Arctique ont augmenté **quatre** fois plus vite que la moyenne annuelle mondiale, ce qui rend d'autant plus urgent de comprendre la biologie des espèces qui peuplent ses terres et ses océans [1,2].

Les espèces résidentes de l'Arctique ont développé des **adaptations** telles qu'un rythme circadien modifié et une multitude de modifications thermorégulatrices (par exemple, un plumage d'hiver isolant chez les oiseaux, la fourrure et la graisse chez les mammifères, ainsi que le refroidissement des tissus périphériques et des appendices) [1,3]. Des études génomiques récentes menées sur des ruminants (rennes et bœufs musqués), des ours et des canidés ont accéléré les efforts visant à élucider les **adaptations arctiques** [4-8]. Les canidés modernes (par exemple, les loups, les renards et les chiens) partagent un ancêtre commun et sont présents dans le monde entier, mais sont rares dans les régions arctiques [9]. Au-delà du renard arctique (*Vulpes lagopus*), on sait relativement peu de choses sur la manière dont ils se sont adaptés génétiquement aux conditions arctiques. Les **clades** du loup gris (*Canis lupus*) et du chien domestique (*Canis familiaris*) ont divergé il y a 27 000 à 40 000 ans et comprennent des **écotypes** adaptés à l'Arctique [9]. Les loups arctiques vivent au sud du 75ème parallèle nord, dans la toundra continentale et à la lisière nord de la taïga, tandis que les loups de l'Arctique extrême vivent dans l'archipel arctique et au Groenland [10]. Une étude récente a révélé que les chiens de traîneau d'Alaska, hybrides d'anciens loups Sibériens (écotype du loup arctique) et de chiens, sont apparus lors de la transition entre le Pléistocène et l'Holocène (il y a 9 500 ans) [11]. **De même**, des témoignages anecdotiques suggèrent que les peuples autochtones du Groenland ont croisé des loups de l'écotype de l'Extrême-Arctique avec des chiens pour créer le chien de traîneau Groenlandais [12].

Les loups de l'Arctique offrent l'occasion d'étudier les **fondements génomiques** de l'adaptation à des environnements extrêmes. Leur survie dans le Haut-Arctique implique probablement des adaptations coordonnées au niveau de caractéristiques telles que la thermorégulation, la coloration du pelage, la tolérance au rayonnement et les rythmes biologiques saisonniers [1]. Ces **traits adaptatifs** peuvent impliquer à la fois des modifications codant pour des protéines et une évolution régulatrice. **Cependant**, les changements génétiques sous-jacents à ces traits adaptatifs restent largement inexplorés. Nous avons ici testé l'hypothèse selon laquelle les loups modernes habitant le cercle polaire arctique ont acquis des modifications génétiques spécifiques à leur lignée qui leur permettent de persister dans l'un des environnements saisonniers les plus extrêmes de la Terre. À cette fin, nous avons généré un assemblage génomique au niveau chromosomique d'un loup de l'archipel arctique (*Canis lupus arctos*) et l'avons comparé, ainsi que le génome d'un loup du Groenland (*Canis l. orion*), à d'autres génomes de canidés.

2. RESULTATS

2. 1. Assemblage génomique de haute qualité d'un loup de l'archipel arctique

Nous avons combiné des lectures longues PacBio HiFi (~40×) et des lectures courtes Illumina (~50×) pour réaliser un assemblage au niveau chromosomique d'un loup mâle (*C. l. arctos*) originaire de l'île d'Ellesmere, au Canada, située à proximité du nord-est du Groenland (Fig. S1). Notre assemblage de 2,46 Gb, comprenant 93 contigs avec un N50 de 53,34 Mb, a été ancré sur 20 chromosomes ($2n = 40$) à l'aide de données Hi-C (~120×) (Fig. 1, Fig. S2 et Tableaux S1 et S2). Au total, 1,13 Gb de séquences répétitives ont été identifiées, représentant 46,06% du génome entier (Tableau S3). Les éléments intercalés longs (LINE ; 26,57%), les rétrotransposons à longs terminaux (LTR ; 5,61%) et les éléments intercalés courts (SINE ; 9,33%) constituaient les classes de répétitions les plus abondantes (Tableau S4). Nous avons annoté 21 924 gènes codant pour des protéines (Tableau S5). Les statistiques

récapitulatives de l'assemblage (Tableau S2) ainsi que les scores BUSCO relatifs à l'assemblage et aux ensembles de gènes (protéines) (Tableaux S6 et S7) étaient comparables à ceux de génomes canins publiés précédemment.

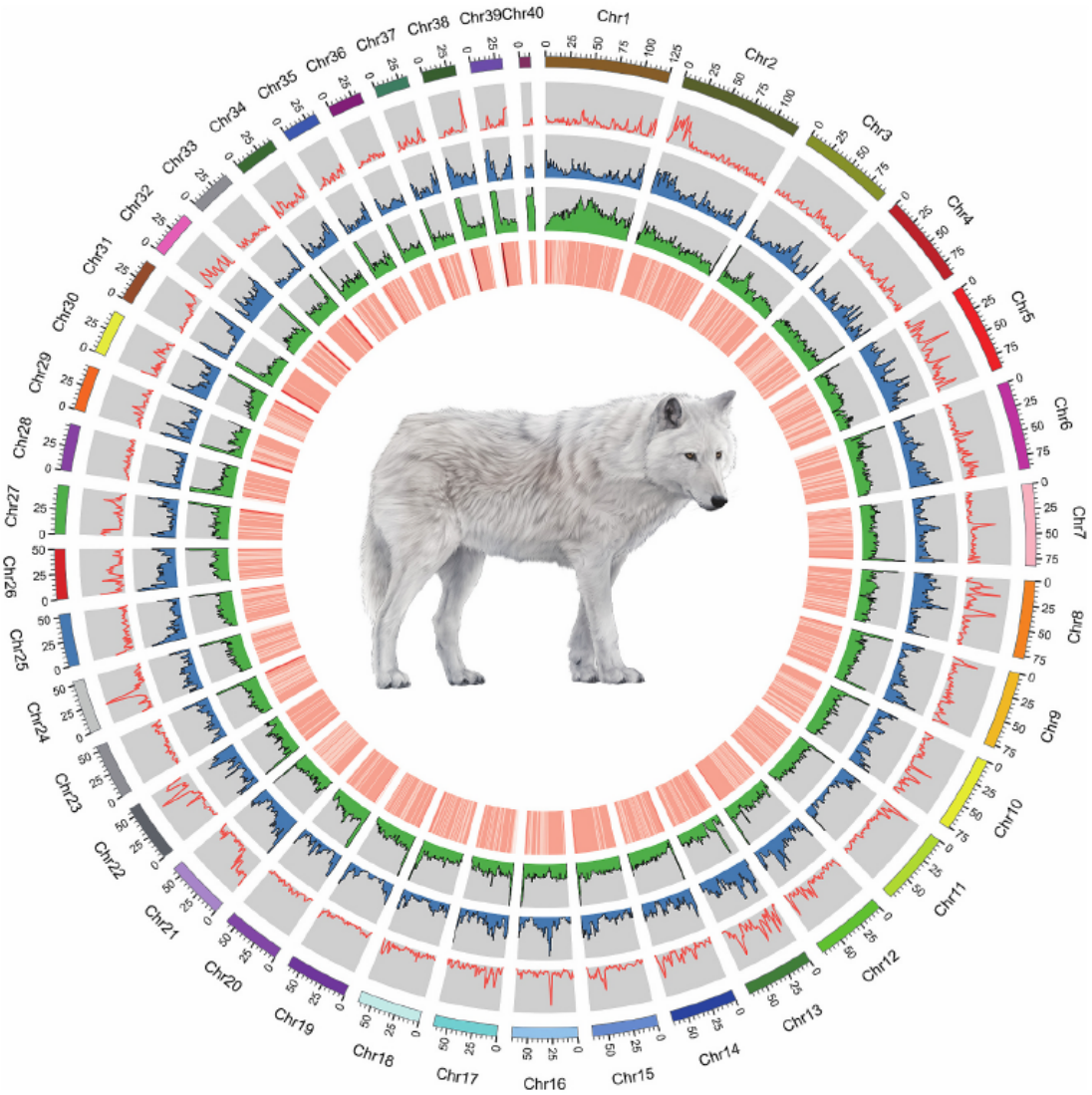


Fig. 1. Assemblage du génome de Canis lupus arctos. Graphique Circos de l'assemblage du génome de référence de *Canis lupus arctos*. Le segment le plus extérieur représente les séquences chromosomiques, les chiffres figurant sur la surface externe indiquant la taille du génome en Mb. Les courbes, de l'extérieur vers l'intérieur, représentent la distribution de la densité des séquences codantes (CDS) (de O à 0,15), de la teneur en GC (de 0,30 à 0,65) et du rapport d'éléments transposables (TE) (de 0,2 à 1,0). Les fréquences ont été calculées dans des fenêtres glissantes de 500 kb. Chr39 et Chr40 correspondent respectivement aux chromosomes X et Y

2.2. Signaux génomiques des loups polaires

L'archipel Arctique Canadien et le Groenland abritent des sous-espèces apparentes de loups [10, 13]. L'individu mâle de *C. l. orion* précédemment séquencé provenait de Siorapaluk, au nord-est du Groenland [14]. On observe actuellement une migration importante de *Canis l. arctos* vers cette région [15-17]. En l'absence de données génomiques populationnelles exhaustives et conformément à [14], nous désignons ici les loups polaires sous les noms de *Canis l. arctos* et *Canis l. orion* afin de refléter leurs grandes similitudes morphologiques. En

d'autres termes, leurs adaptations proviennent vraisemblablement en grande partie d'un **écotype ancestral commun**.

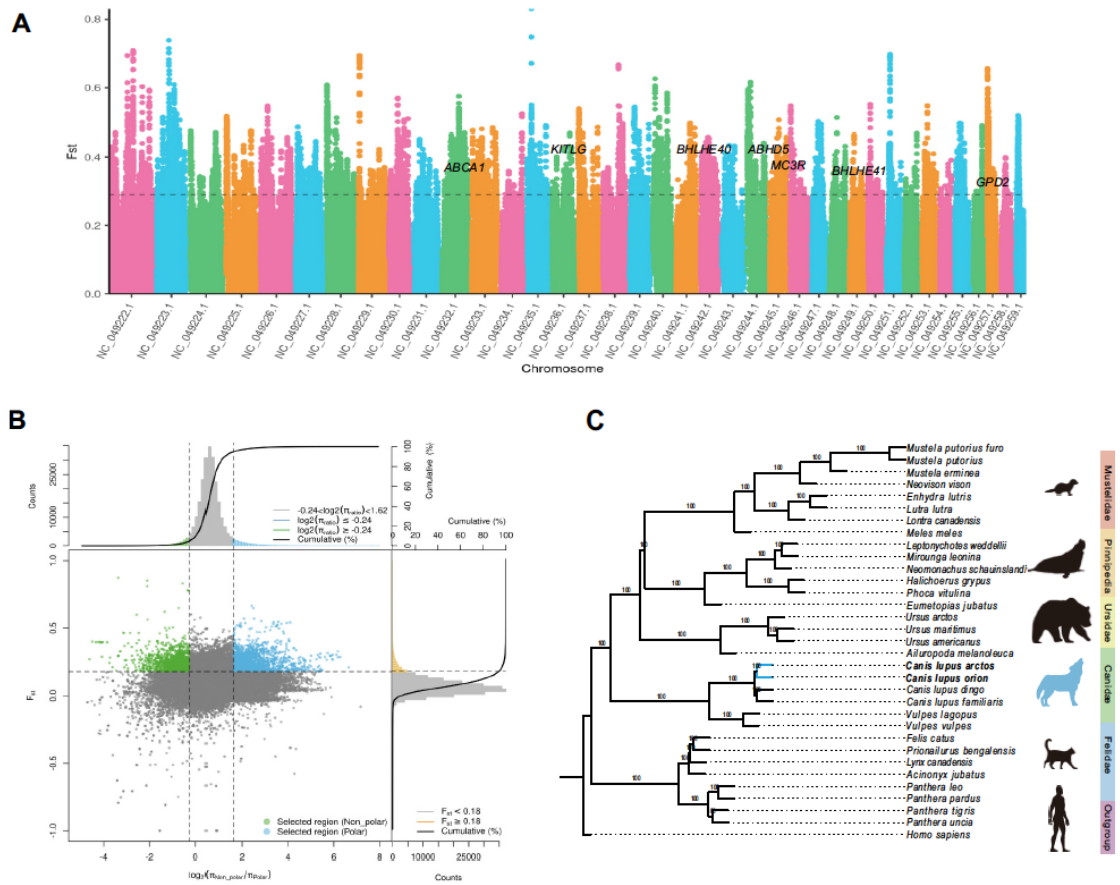


Fig. 2. Génomique des populations de loups polaires et arbre phylogénétique pour 7 471 gènes possédant des orthologues chez le loup polaire. (**A**) Diagramme de Manhattan du sr entre les loups polaires et les loups gris du continent à ~50°N (Minnesota). Les régions situées au-dessus de la ligne pointillée dans la distribution des valeurs de F_{ST} se trouvent dans la queue droite à 5% de la distribution empirique. Seuls les autosomes ont été utilisés dans l'analyse. (**B**) Distribution des valeurs de F_{ST} et du rapport Or pour les deux groupes de (A). Les lignes verticales et horizontales en pointillés indiquent les seuils de significativité. (**C**) Arbre phylogénétique ASTRAL-III de 32 espèces de carnivores et de l'humain (groupe externe), basé sur les séquences codantes complètes de 7 471 orthologues 1:1. Les lignées de loups polaires sont indiquées en bleu. Les valeurs de support des nœuds représentent les probabilités a posteriori locales estimées par ASTRAL-III. (Pour l'interprétation des références aux couleurs dans cette légende, le lecteur est invité à consulter la version en ligne de cet article.)

Afin d'identifier les gènes candidats impliqués dans les adaptations à un environnement arctique, nous avons évalué la variation de 16,5 millions de SNPs (densité moyenne de 6,7 SNP/kb) chez 10 loups gris d'Amérique du Nord, en plus de notre individu séquencé provenant de l'île d'Ellesmere : six loups gris du continent à environ 50° N (Minnesota) et quatre loups polaires [18]. Nous avons d'abord pris en compte les balayages sélectifs forts, un modèle dans lequel une nouvelle mutation confère un avantage adaptatif, conduisant à terme à la fixation de sa fréquence allélique [19]. Un balayage du génome par fenêtres a permis d'identifier 479 gènes se situant dans les 5% supérieurs de la distribution empirique à l'échelle du génome, tant pour la valeur F_{ST} que pour le rapport = $\theta\pi$ (Fig. 2A, B et Tableaux S8 et S9). Une analyse d'enrichissement des ensembles de gènes (MSigDb) a révélé des termes associés au métabolisme des acides gras (ACAA1, ACSS1, BCKDHB, GPD2), au métabolisme des acides gras à chaîne courte (ACSS1, ACSS2) et à la

différenciation des adipocytes blancs (HELZ2, MED10, NCOA3) (Tableaux S10 à S12 ; *P* bootstrap ≤ 0,0001). Parmi les 479 gènes candidats, un seul – la sous-unité BDP1 de l'ARN polymérase III – présentait une substitution d'acide aminé spécifique au loup polaire parmi les 7 471 gènes orthologues codant pour des protéines chez les loups et d'autres mammifères de notre ensemble de données (Fig. 2C et Tableau S13). Le site BDP1 (K1630E) présentait une forte différenciation (F_{ST} des SNPs = 0,75) et une perte totale de diversité ($\theta\pi$ = 0) chez les loups polaires, ce qui correspond à un balayage sélectif intense.

Une des limites de l'approche par fenêtres et du seuil des 5% de valeurs aberrantes les plus extrêmes réside dans l'incapacité à détecter les changements de séquence récents, incomplets ou associés à des balayages sélectifs modérés issus de la variation existante (c'est-à-dire qu'un allèle présent chez les loups gris du continent a vu sa fréquence augmenter chez les loups polaires parce qu'il est devenu avantageux) [19,20]. **Par conséquent**, à titre d'approche complémentaire, nous avons filtré 131 gènes présentant des changements de séquence d'acides aminés spécifiques à la lignée des loups dans notre ensemble de données de 35 espèces, en intégrant des estimations de fréquence allélique au niveau de la population issues des données de reséquençage des loups (Tableaux S13-15). Cette stratégie a permis de retenir 31 gènes présentant un total de 34 changements de résidus d'acides aminés, avec une valeur F_{ST} moyenne au niveau des SNPs de 0,39 ± 0,14 par site entre les loups polaires et les loups gris du Minnesota, contre une moyenne à l'échelle du génome de 0,067. Nous avons combiné une analyse d'enrichissement génique à une revue manuelle de la littérature afin de hiérarchiser les gènes candidats associés à des traits d'adaptation arctiques connus (par exemple, voir réf. [1]), notamment la thermorégulation, la tolérance au rayonnement et la coloration du pelage. Les 31 gènes présentaient un enrichissement en termes associés à la réponse aux dommages de l'ADN (POLQ, KNLI, TDG) et au transport des lipides (APOB) (Tableaux S16-18). Les recherches bibliographiques ont permis d'identifier des gènes jouant potentiellement un rôle dans la **thermorégulation** (TRPV2) ainsi que dans la **couleur** et le motif du pelage (GOLGB1). Parmi ces gènes candidats, POLQ et TRPV2 ont été sélectionnés pour une **validation fonctionnelle** en raison de leur pertinence potentielle face à deux défis majeurs auxquels sont confrontés les loups de l'Arctique : la protection contre l'augmentation du **rayonnement UV** et l'adaptation à des conditions de **froid extrême**. Le gène POLQ code pour une ADN polymérase impliquée dans la réparation des dommages à l'ADN [53,54], tandis que le gène TRPV2 a été associé à la détection de la température et à la régulation thermogénique [57,58]. Nous avons examiné fonctionnellement si les substitutions d'acides aminés spécifiques aux loups dans ces gènes modifiaient les phénotypes cellulaires en surexprimant les allèles du loup polaire et du chien domestique dans des cellules HEK293T. Plus précisément, nous avons évalué l'effet de la variante POLO sur la résistance cellulaire au stress induit par les UV à l'aide d'un test de viabilité cellulaire, et nous avons évalué l'effet de la variante TRPV2 sur l'expression des gènes liés à la thermogenèse mitochondriale. Le loup polaire POLQ (G1280S ; SNP F_{ST} = 0,40) a montré une survie accrue aux UV, tandis que le TRPV2 du loup polaire (Q275H ; SNP F_{ST} = 0,32) a augmenté l'expression des gènes liés aux mitochondries associés au métabolisme énergétique thermogénique (Fig. 3).

Les éléments non exoniques conservés (CNEEs) sont des séquences génomiques souvent situées dans des régions régulatrices proches ou au sein des gènes, et qui ont été associées à

des innovations évolutives [21-24]. Nous avons identifié 1,97 million d'éléments conservés chez l'humain et 19 carnivores (longueur médiane : 244 pb, longueur moyenne : 385 pb, longueur maximale : 11 971 pb). Parmi ceux-ci, 0,06% présentaient des **insertions** (702 événements ; longueur médiane de 86 pb, longueur moyenne de 82 pb, longueur maximale de 102 pb) ou des **délétions** (467 événements ; longueur médiane de 98 pb, longueur moyenne de 93 pb, longueur maximale de 116 pb) spécifiques à la lignée du loup polaire (Tableaux S19-20). Les CNEEs de type InDel étaient répartis de manière égale entre les introns et les régions intergéniques. Nous avons réalisé une analyse d'enrichissement fonctionnel en prenant en compte une zone de 300 kb en amont et en aval de la séquence génomique linéaire des CNEEs de type InDel. Les gènes voisins présentaient un enrichissement en termes associés au rythme circadien, à la pigmentation, à la thermorégulation et aux réponses vasculaires (Fig. 4A, panneau de gauche). Bon nombre de ces CNEEs sont situés à moins de 100 kb du site d'initiation de la transcription d'un gène (Fig. 4A, panneau de droite), ce qui suggère une fonction régulatrice potentielle.

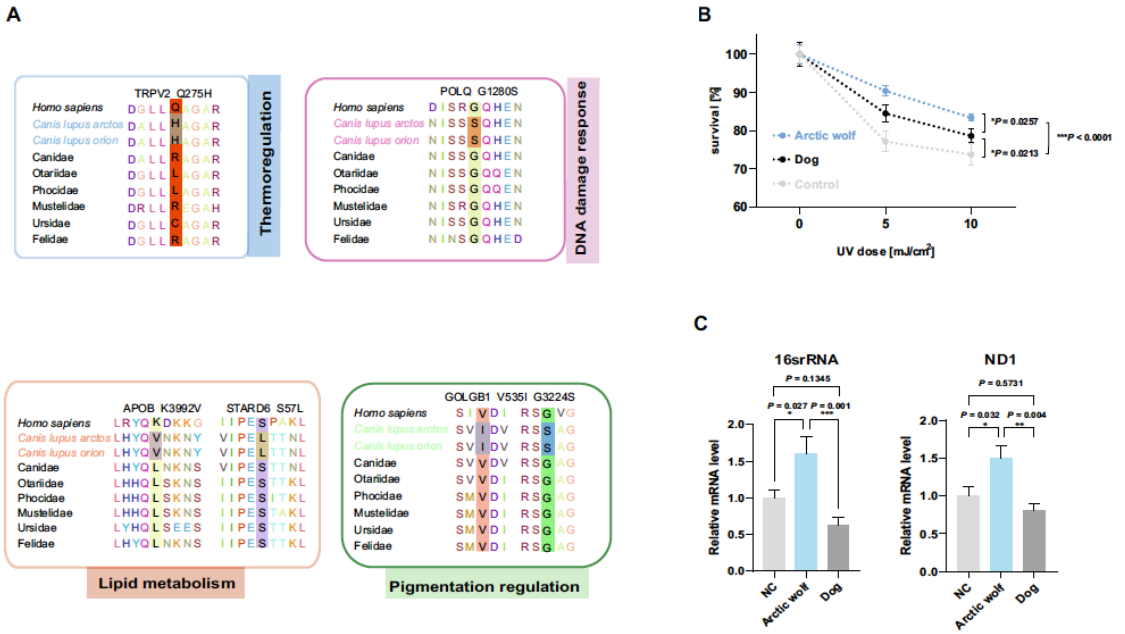


Fig. 3. Gènes présentant des substitutions d'acides aminés spécifiques au loup polaire. (**A**) Sélection de gènes présentant des substitutions d'acides aminés chez le loup polaire. Les gènes sont classés selon des catégories fonctionnelles telles que la thermorégulation. (**B**) Test de survie aux UV sur des cellules HEK293T surexprimant le gène *POLQ* du loup polaire et du chien. Données issues de trois expériences indépendantes avec des mesures uniques, présentées sous forme de moyenne ± écart-type par rapport au témoin (plasmide pDNA3.1 vide). Signification statistique déterminée par une ANOVA unilatérale avec le test de comparaisons multiples de Tukey. (**C**) Les cellules surexprimant le gène *TRPV2* du loup polaire présentent une expression génique plus élevée du gène ND1, associé à la production de chaleur mitochondriale, et de la protéine de traduction mitochondriale 16S. Données présentées sous forme de moyenne d'expression + écart-type issues de trois expériences indépendantes avec trois mesures chacune, par rapport au contrôle vecteur ; statistiques identiques à celles du panneau (B)

Afin de vérifier si les InDels spécifiques au loup polaire présents dans les CNEEs modifient l'activité transcriptionnelle, nous avons sélectionné neuf éléments en fonction de leur proximité avec des gènes impliqués dans le rythme circadien, la pigmentation et la thermorégulation, ainsi que de leur chevauchement avec des pics régulateurs candidats (ATAC-seq ou ChIP-seq) issus des données ENCODE humaines (Fig. 4 et 5, et Fig. S3). Parmi ceux-ci, cinq ont présenté une activité luciférase accrue par rapport à la séquence du

chien, tandis qu'un seul a montré une diminution. Les trois CNEE restants n'ont pas présenté de différences significatives d'activité luciférase entre le loup polaire et le chien domestique (Fig. S3). Parmi les six CNEE présentant des effets spécifiques à l'espèce, les éléments voisins du répresseur transcriptionnel de CLOCK/BMAL1, BHLHE40 (également connu sous le nom de DEC1) [25], et du gène KITLG, impliqué dans la prolifération des mélanocytes et la distribution de la mélanine [26], chevauchent respectivement des pics régulateurs candidats issus de la lignée cellulaire SK-N-SH dérivée du cerveau humain et différenciée en cellules de type neuronal, et de kératinocytes cutanés primaires [27] (Fig. 4B, C.

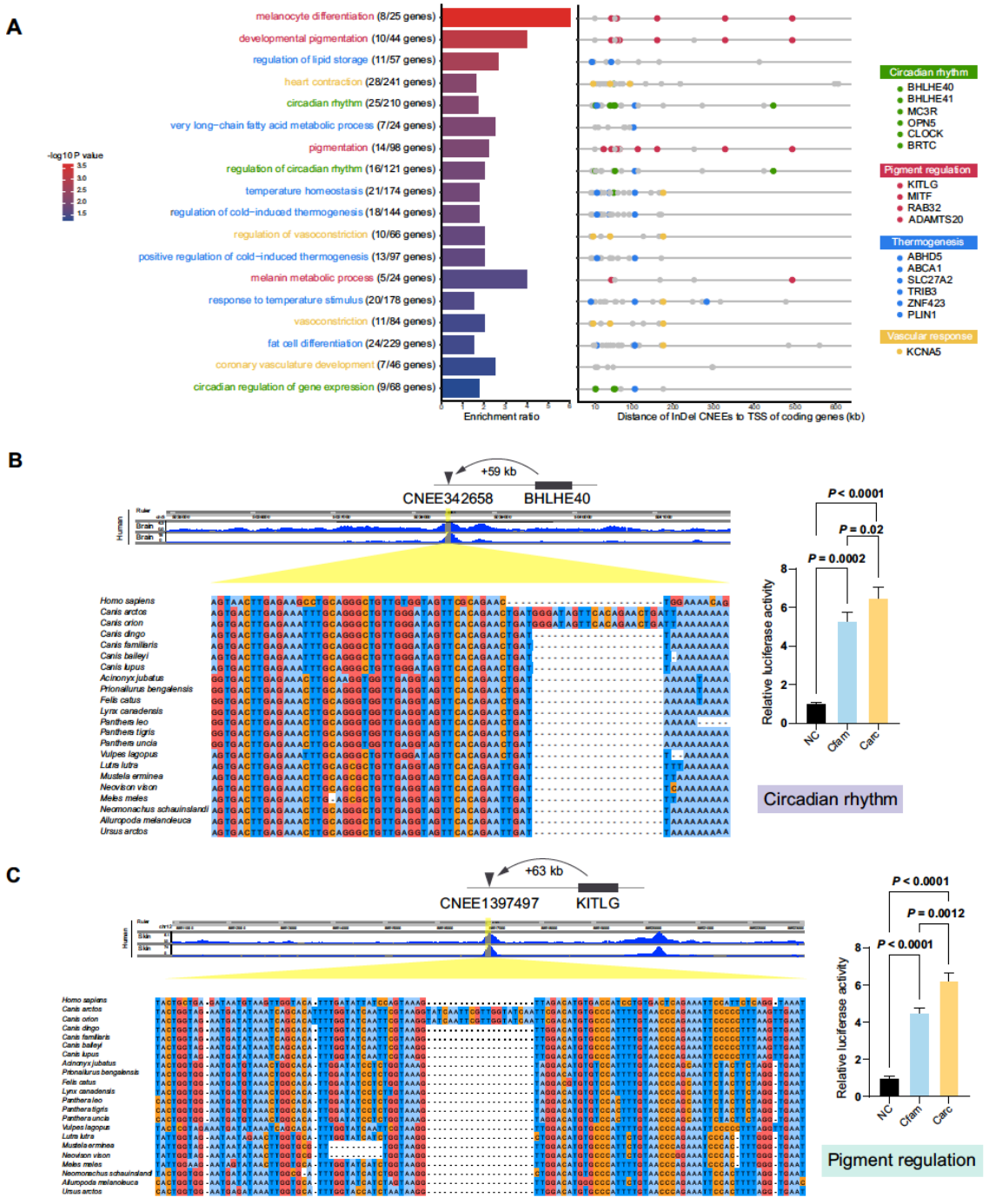


Fig. 4. Évolution moléculaire des éléments non-exoniques conservés chez le loup polaire. (**A**) Analyse d'enrichissement fonctionnel des gènes situés à proximité (à moins de 300 kb sur la séquence génomique linéaire) des CNEEs présentant des InDels chez le loup polaire. À gauche, termes GO classés en rythme

circadien (vert), régulation de la pigmentation (rouge), thermogenèse (bleu) et réponse vasculaire (orange). Les termes biologiques surreprésentés ont été identifiés à l'aide du package R clusterProfiler avec un seuil de valeur P ajusté de 0,05. Le dégradé de couleur de chaque barre représente les valeurs P transformées par -logio, une couleur plus claire indiquant une valeur P plus faible ; l'axe des x représente le rapport d'enrichissement (observé/attendu). À droite, la plupart des InDels CNEE (points) du panneau de gauche sont proches du site d'initiation de la transcription des gènes. Les CNEEs associés à un même gène sont représentés par la même couleur. (**B**) InDel CNEE du loup polaire dans une région régulatrice potentielle du gène du rythme circadien BHLHE40. À gauche, une insertion de 20 pb près de *BHLHE40*. À droite, comparaison des résultats du test à double luciférase sur des cellules HEK293T pour le CNEE34258 du loup polaire et du chien, un CNEE chevauchant un pic ATAG-seq issu de cellules SK-N-SH humaines différenciées de type neuronal (https://www.encodeproject.org/experiments/ENCSR587TRP). Cfam désigne le chien ; Carc, le loup polaire ; NC, le témoin (vecteur vide). Données présentées sous forme de moyennes ± écart-type de trois réplicats biologiques. Signification statistique déterminée par une ANOVA unilatérale avec test de comparaisons multiples de Tuke. (**C**) InDel du CNEE du loup polaire dans une région régulatrice potentielle du gène de pigmentation KITLG. À gauche, une insertion de 20 pb près de KITLG. À droite, comparaison des activités régulatrices du CNEE du loup polaire et du chien CNEE1397444, un CNEE chevauchant un pic ATAC-seg provenant de kératinocytes cutanés primaires humains (http://www.encodeproject.org/experiments/ENCSR290YMN). Réalisé et annoté comme en (B). (Pour l'interprétation des références aux couleurs dans cette légende, le lecteur est invité à consulter la version en ligne de cet article.)

Nous avons reconstitué les trajectoires démographiques historiques d'un loup polaire représentatif et d'un loup gris continental représentatif à l'aide de PSMC (Fig. S5). Les deux lignées ont présenté des schémas démographiques à long terme globalement similaires, ce qui suggère un contexte démographique ancestral commun. Toutes deux ont connu un déclin ancestral marqué, centré autour de −0,8 à −1,0 Ma, qui s'inscrit dans l'intervalle plus large de la transition du Pléistocène moyen (~1,25 à −0,7 Ma). Cette transition s'est caractérisée par une **augmentation** du volume global de glace, un refroidissement climatique et une extension accrue de la banquise [28, 29]. **En revanche**, la lignée du loup polaire a maintenu une taille de population effective systématiquement inférieure à celle du loup gris continental pendant environ 0,1 à 0,3 Ma (Fig. S5). Cette période chevauche la fin du Pléistocène moyen jusqu'à la fin du Pléistocène, lorsque la réorganisation répétée des calottes glaciaires de l'hémisphère nord a altéré la connectivité des habitats aux hautes latitudes [30, 31]. Nous interprétons la taille de population effective systématiquement plus faible de la lignée du loup polaire comme étant cohérente avec une histoire démographique plus restreinte, impliquant potentiellement une connectivité réduite lors des oscillations climatiques répétées du Pléistocène, ce qui a pu contribuer à sa différenciation par rapport aux loups gris continentaux. Cette interprétation doit être considérée avec prudence, car les inférences PSMC issues de génomes diploïdes uniques ont une résolution limitée à des profondeurs temporelles extrêmes et peuvent être influencées par la structure démographique ancestrale. **Néanmoins**, la taille de population effective plus faible du loup polaire est compatible avec une histoire démographique plus restreinte. Cette interprétation est étayée par des données génomiques anciennes montrant que les loups sont restés étroitement connectés pendant une grande partie du Pléistocène supérieur [32], ce qui implique que l'isolement du loup polaire était relativement récent ou épisodique.

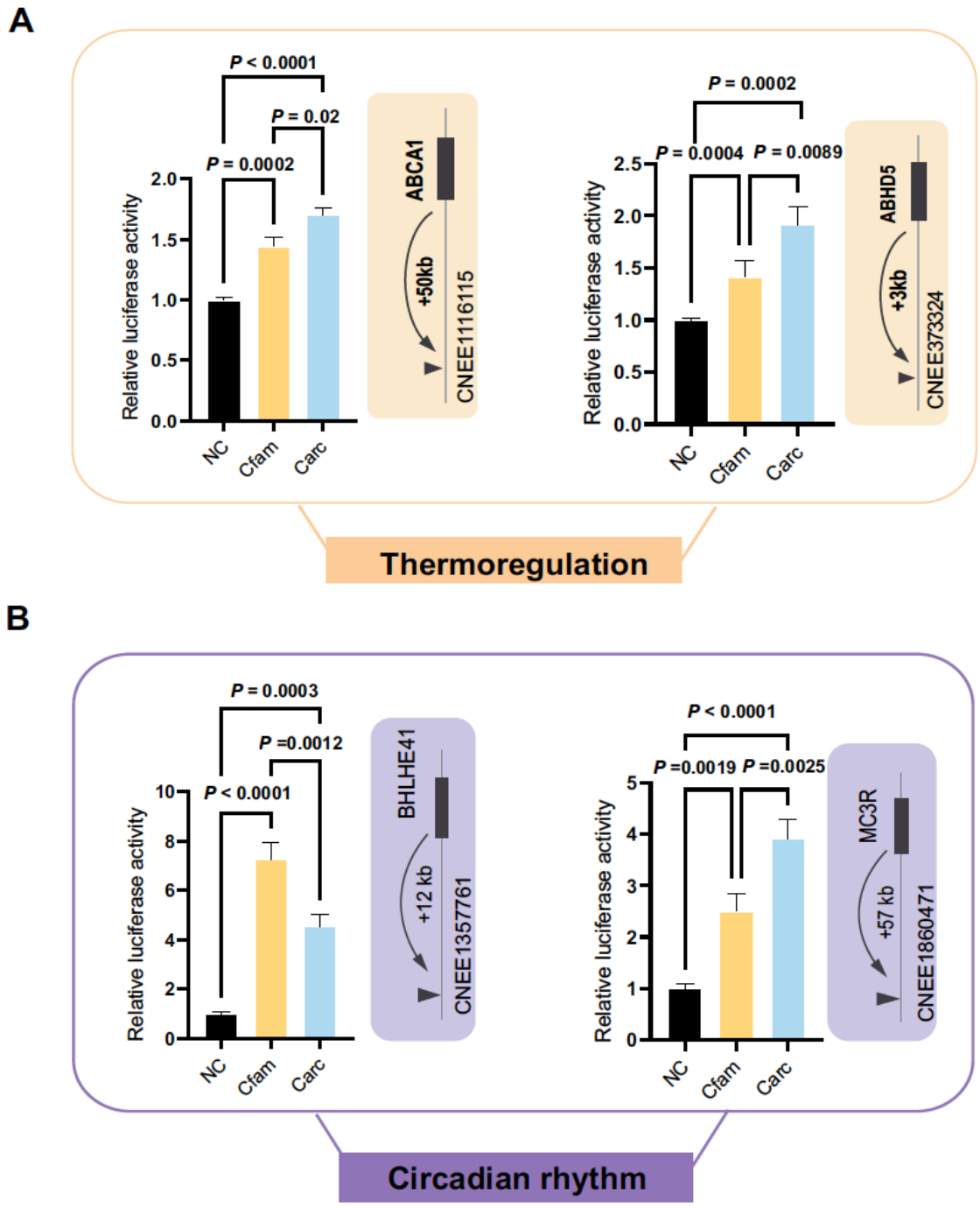


Fig. 5. Activité régulatrice spécifique à chaque espèce des variants CNEE du loup polaire et du chien dans des cellules HEK293T. Test de double luciférase réalisé sur des cellules HEK293T surexprimant des éléments conservés non exoniques (CNEE). Données présentées sous forme de moyennes ± écart-type de trois réplicats biologiques. Cfam désigne le chien ; Care, le loup polaire ; NC, le témoin (vecteur vide). Signification statistique déterminée par une ANOVA unilatérale avec test de comparaisons multiples de Tukey

3. DISCUSSION

Dans le cadre de cette étude, nous avons examiné les génomes de loups originaires du cercle polaire Arctique. Nous les appelons « **loups polaires** » (voir [8, 14]) et avons identifié les gènes présentant des signaux évolutifs spécifiques à cet **écotype** (Fig. 6). Notre analyse a mis en évidence des SNPs entraînant des changements d'acides aminés ainsi que des signes de sélection positive sur 32 gènes. Les analyses F_{ST} ont mis en évidence des signatures de sélection dans la lignée des loups polaires pour 31 de ces gènes, ce qui correspond à une

sélection sur la variation existante (« soft sweeps »). Le gène restant, *BDP1*, a montré des signes d'un « hard sweep » classique, l'allèle sélectionné ayant été conduit à la fixation chez les loups polaires. Ce résultat n'est pas surprenant, car les populations de loups gris d'Amérique du Nord sont restées **interconnectées** jusqu'à ce que l'émergence de **refuges arctiques**, lors du dernier maximum glaciaire, facilite **l'isolement** et les adaptations d'un écotype de loup polaire [10,33,34]. Cela signifie que les changements adaptatifs au niveau des acides aminés proviennent probablement en grande partie de la variation existante chez les loups gris d'Amérique du Nord. Le nombre limité de changements dans les gènes codant pour des protéines concorde également avec les résultats d'études portant sur les génomes d'autres mammifères terrestres arctiques, tels que l'ours polaire et le renard arctique [7,35]. **Néanmoins**, le faible nombre d'individus de loups polaires limite notre capacité à détecter des **variants rares**, et l'inclusion d'une seule population de loups gris du continent restreint notre capacité à distinguer la sélection spécifique à l'Arctique de l'histoire démographique, de la structure de population ou de la dérive génétique. Les régions identifiées ici doivent donc être considérées comme des **signaux** de sélection potentiels, en attendant une validation sur des échantillons plus importants de loups polaires et un panel de populations de loups plus diversifié sur le plan géographique.

Parmi près de deux millions d'éléments non exoniques conservés (CNEEs) présents dans notre jeu de données, nous avons identifié environ 3 000 événements d'insertion ou de délétion (InDel). **Cependant**, à l'exception du loup gris du Mexique (*Canis lupus baileyi*), les assemblages utilisés dans notre analyse des InDel des CNEE n'ont pas fait l'objet d'une résolution au niveau des haplotypes, ce qui empêche actuellement tout filtrage supplémentaire de ces éléments afin de confirmer si ces InDel sont véritablement fixés et homozygotes chez les loups polaires, ou s'ils leur sont propres. Bien que leur abondance et leur nature non codante rendent leur évaluation fonctionnelle difficile, ces InDels de CNEE pourraient néanmoins contribuer à la divergence régulatrice chez les loups polaires. Nous les présentons ici comme des **variants candidats** à privilégier dans de futures études et mettons en avant plusieurs candidats particulièrement prometteurs pour des recherches plus approfondies.

3.1. Couleur et motif du pelage

De nombreux vertébrés de l'Arctique ont développé une couleur de pelage dimorphique selon les saisons, généralement blanche en hiver et brune en été [36-38]. Par exemple, deux substitutions d'acides aminés dans le gène du récepteur de la mélanocortine-1 (*MC1R*) sont à l'origine des différences de couleur du pelage du renard arctique (*Vulpes lagopus*) [39,40]. Le pelage des renards arctiques blancs vire au brun en été, tandis que les individus bleus sont uniformément brun foncé ou anthracite toute l'année et légèrement plus clairs pendant les mois d'été.

Outre ses propriétés isolantes, le pelage épais et presque blanc du loup polaire est essentiel au camouflage de ces superprédateurs pendant les neuf mois de l'hiver arctique ; leur pelage reste blanc toute l'année, à l'exception de taches sombres causées par l'intense soleil estival. Alors qu'une étude récente a rapporté que la couleur très claire du pelage des loups polaires et des chiens provient d'un ancien promoteur *ASIP* (protéine de signalisation agouti) canin [41], d'autres gènes contribuent probablement aussi à la couleur uniformément blanche du pelage du loup polaire. La couleur du pelage varie chez les loups gris d'Amérique du Nord,

mais les pelages blancs sont très fréquents au nord d'environ 70° de latitude [37]. Nous avons détecté deux substitutions d'acides aminés (V5301 et G3219S) dans le gène GOLGB1 (Golgin B1) du loup polaire, avec des valeurs SNP F_{ST} supérieures à 0,30, ce qui suggère une sélection spécifique à l'écotype (Fig. 3 et Tableau S15). Des changements d'acides aminés et une sélection positive de ce gène ont été attribués au follicule pileux des félins [42] et à la pigmentation des plumes chez les oiseaux [43, 44]. Nous avons également identifié des CNEEs de type InDel à proximité de gènes associés à la pigmentation qui présentaient une activité différentielle par rapport à la forme du chien domestique ; voir *KITLG* sur la Fig. 4C). Le CNEE situé à 63 kb en amont de *KITLG* est particulièrement intéressant car il chevauche un pic régulateur candidat dans les kératinocytes humains (Fig. 4B) et ce gène est un régulateur principal de la pigmentation chez les vertébrés. Des études antérieures ont montré que des variants régulateurs situés à des centaines de kilobases en amont de *KITLG* peuvent influencer son expression et contribuer à la variation de la pigmentation [45, 46]. Sur la base des résultats de nos tests de luciférase, nous émettons l'hypothèse que la variante du CNEE spécifique au loup polaire pourrait moduler l'expression de *KITLG*, affectant potentiellement la distribution des mélanocytes ou la production de pigments au cours du développement du pelage et contribuant ainsi à la coloration pâle caractéristique du pelage des loups arctiques. **Cependant**, les effets directs de cet élément régulateur sur l'expression endogène de *KITLG* et les phénotypes de pigmentation nécessitent des recherches supplémentaires.

L'environnement Arctique présente de multiples sources de **stress génotoxique**. La fourrure blanche des loups polaires pourrait transmettre plus efficacement le rayonnement infrarouge visible et proche du visible depuis les couches externes de la fourrure vers la peau [1]. Le rayonnement ultraviolet (UV) non ionisant est particulièrement élevé dans l'Arctique en raison de la nature réfléchissante de la neige et de la glace de mer [47,48], et un flux élevé de rayons cosmiques aux hautes latitudes pourrait encore accroître le risque de dommages à l'ADN [49-52]. Parmi les gènes présentant des signes de sélection spécifique à l'écotype chez les loups polaires, le gène *POLQ* (ADN polymérase) s'est imposé comme un candidat de premier plan pour la médiation de la résistance à ces facteurs de stress. Le gène *POLQ* porte une substitution d'acide aminé spécifique aux loups polaires (G1280S) et présente un degré de différenciation élevé par rapport aux loups gris continentaux (SNP F_{ST} = 0,40). Dans les cellules humaines et de rongeurs, on sait que la protéine *POLQ* protège contre les dommages à l'ADN causés à la fois par les rayonnements ionisants et les rayons UV [53,54]. En accord avec ces résultats, nous avons constaté que les cellules HEK293T surexprimant la variante du POLQ propre au loup polaire présentaient un taux de survie plus élevé après une exposition aux UV que celles exprimant la variante canine (Fig. 2B).

3.2. Réponses thermorégulatrices et vasculaires au froid extrême

Le défi sans doute le plus important auquel est confrontée une espèce arctique est le **froid extrême**, qui nécessite une thermorégulation et la prévention de lésions telles que les **engelures** [1]. Une stratégie centrale de tolérance au froid consiste à augmenter la production de chaleur (thermogenèse avec et sans frissons). Comme le montre la Figure 6, nous signalons des modifications d'acides aminés chez le loup polaire, ainsi que des CNEEs de type InDel à proximité de plusieurs gènes associés à la thermorégulation. Parmi ceux-ci figuraient plusieurs CNEEs présentant une activité différentielle lors du test de la double luciférase par rapport à la séquence du chien (Fig. 4B-C, 5). Nous avons également identifié

une **substitution** d'acide aminé chez le loup polaire (K3992V ; SNP F_{ST} = 0,32) dans le gène *APOB* (apolipoprotéine B), ainsi qu'un CNEE de type InDel à proximité de ce gène. L'*APOB* synthétisée dans l'intestin est un constituant majeur des chylomicrons, qui transportent les lipides alimentaires alimentant la thermogenèse sans frissons du tissu adipeux brun [55]. Ce **gène** fait l'objet d'une forte sélection chez les espèces Arctiques telles que l'ours polaire [7], le renne [5] et le mammouth laineux [56]. Smith et al. (2017) ont également signalé une substitution d'acide aminé commune (A424V) chez le morse et le mammouth laineux.

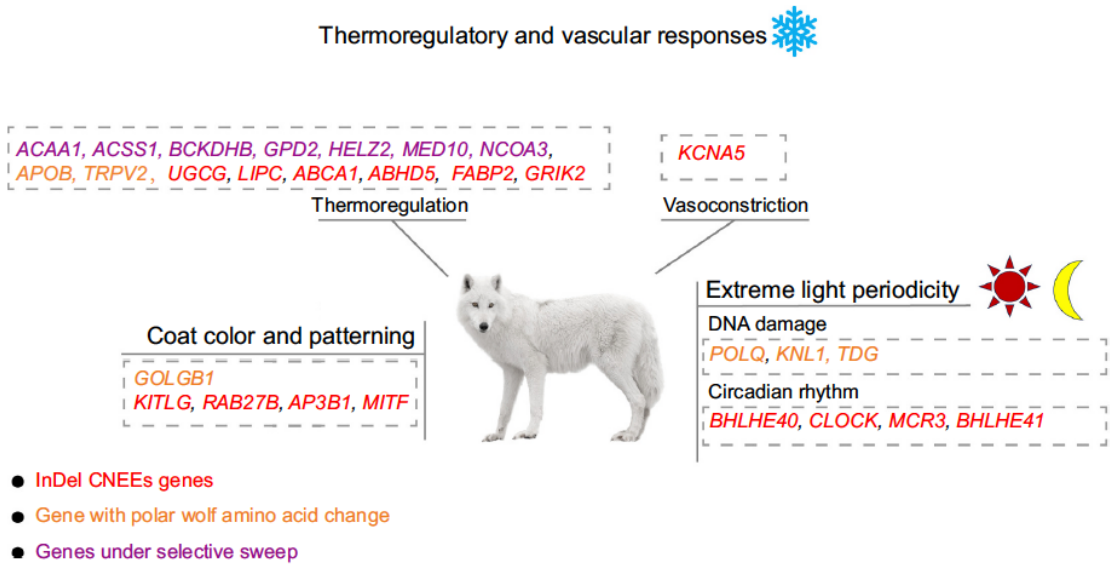


Fig. 6. Exemples choisis de gènes présentant des signaux évolutifs chez les loups polaires. Les modifications présumées des gènes adaptatifs ou des CNEEs (éléments conservés non exoniques) sont indiquées. Image d'un loup polaire gracieusement fournie par photomaster/Shutterstock.com

Le *TRPV2* (récepteur à potentiel transitoire vanilloïde 2) du loup polaire, un canal ionique perméable au calcium, présente une substitution d'acide aminé (Q275H) au sein de son domaine à répétitions d'ankyrine et montre des signes de sélection spécifique à l'écotype (SNP F_{ST} = 0,32) (Fig. 2A et Tableau S15). Dans les adipocytes bruns, l'expression du *TRPV2* augmente lors d'une exposition au froid, et la protéine agit de concert avec l'ADRB3 pour favoriser la thermogenèse sans frissonnement médiée par la protéine de découplage 1 (UCP1) [57,58]. Des acides aminés spécifiques associés à l'activation du *TRPV2* ont été identifiés. Par exemple, l'oxydation des résidus de méthionine (M) abaisse la température d'activation de *TRPV2* [59,60], tandis qu'une histidine en position 165 (H165) au sein d'un domaine à répétitions d'ankyrine — une position occupée par la glutamine (Q) dans les paralogues TRPV1 et TRPV3 — confère une sensibilité au probénécide, un médicament inotrope [61]. Nous avons émis l'hypothèse que la substitution Q275H, spécifique au loup polaire, modifie les propriétés d'activation du TRPV2. Contrairement à l'orthologue canin, qui ne présentait aucune différence par rapport au contrôle par vecteur vide, les cellules HEK293T surexprimant le *TRPV2* du loup polaire ont montré une expression significativement plus élevée de *ND1*, un gène impliqué dans la production de chaleur mitochondriale [62], ainsi que de la protéine de liaison à l'ARN ribosomique 16S, essentielle à la traduction mitochondriale (Fig. 3C). Ces résultats fournissent des preuves préliminaires indiquant que la substitution Q275H renforce la signalisation calcique vers les mitochondries médiée par le TRPV2, favorisant ainsi l'expression des gènes thermogéniques.

3.3. Périodicité lumineuse extrême

Les régions polaires, en particulier le Haut-Arctique, se caractérisent par une forte saisonnalité de la durée du jour. Les animaux résidents présentent un schéma d'activité quotidienne faible, voire absent (c'est-à-dire une horloge circadienne ; voir [63] pour une revue de ses gènes fondamentaux) tout au long de l'année et une dépendance plus forte à une horloge circannuelle moins bien définie sur le plan moléculaire [1,3]. À l'appui de ce concept, Lin et ses collègues [5] ont identifié une substitution d'acide aminé P1172T dans le gène PER2 du renne (*Rangifer tarandus*), qui réduit sa capacité de liaison avec le cryptochrome (CRY1). Le renne et le bœuf musqué présentent une évolution convergente d'autres gènes de l'horloge circadienne, bien qu'au niveau des voies moléculaires [4].

Nous n'avons détecté aucune substitution d'acides aminés spécifique au loup polaire dans les gènes circadiens, mais avons identifié des CNEEs de type InDel à proximité de gènes clés, notamment CLOCK (Fig. 4A). Les CNEEs de type InDel situés à proximité du gène MC3R (récepteur de la mélanocortine-3) et des gènes codant pour les protéines de type hélice-boucle-hélice basique (bHLH), BHLHE40 et BHLHE41, ont présenté une activité différentielle lors des tests à double luciférase (Fig. 4B et 5B). Alors que le rôle circadien du gène MC3R doit encore faire l'objet d'études plus approfondies [64], les gènes *BHLHE40* et *BHLHE41* sont des gènes « classiques » de l'horloge circadienne [65]. Nous émettons l'hypothèse que ces CNEEs de type InDel reflètent l'arythmie circadienne des loups polaires. Les CNEEs circadiens candidats pourraient également être liés à des caractères liés au pelage. Les signaux photopériodiques constituent un régulateur important de la phénologie saisonnière de la mue du pelage, tandis que les horloges circadiennes périphériques présentes dans la peau et les follicules pileux sont connues pour réguler la croissance et le cycle du poil [66-68]. La mue saisonnière de la couleur du pelage s'accompagne également de modifications transcriptionnelles chez le lièvre d'Amérique (*Lepus americanus*) [69].

4. Conclusion

Le cercle polaire Arctique compte parmi les environnements les plus extrêmes de la Terre, et les animaux qui y vivent ont développé diverses adaptations pour prospérer dans cet habitat. Nous avons ici généré un génome au niveau chromosomique de *Canis lupus arctos*, un membre d'un **écotype** de loup gris que nous appelons ici « **loups polaires** ». La comparaison de deux génomes de loups polaires avec ceux d'autres mammifères a révélé des changements génomiques susceptibles d'être à l'origine d'adaptations à un environnement froid et fortement saisonnier, fournissant ainsi une base pour de futures études.

5. Méthodes

5.1. Prélèvement d'échantillons, séquençage, assemblage et annotation du génome

Du sang a été prélevé sur un mâle de *Canis lupus arctos* au Nanjing Underwater World (Chine) dans le cadre de son bilan de santé annuel. L'individu serait originaire de l'île d'Ellesmere (environ 80°N, 86°O), au Canada, adjacente au nord-est du Groenland. L'ADN génomique a été extrait à l'aide d'un kit d'extraction d'ADN génomique TIANGEN (réf. Y2009), puis utilisé pour construire des bibliothèques de séquençage. En bref, 96,52 Gb (~40×) de lectures longues ont été générés sur la plateforme PacBio Revio par séquençage de bibliothèques présentant une taille d'insert moyenne de 20 kb, construites à l'aide d'un kit SMRTbell Prep Kit 3.0. 164,91 Gb (~66×) de lectures appariées de 100 pb ont été générés

par séquençage d'une bibliothèque préparée à l'aide du kit MGIEasy Universal DNA Library Prep Kit V1.0 sur la plateforme DNBSEQ-T7RS. Une bibliothèque Hi-C issue du même échantillon sanguin, préparée à l'aide du kit NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina (NEB), a été séquencée sur la plateforme Illumina Novaseg/MGI-2000 afin de générer 320,24 Gb de lectures appariées de 150 pb. L'ARN sanguin extrait à l'aide de TRIzol (QIAGEN) a été utilisé pour la préparation de la bibliothèque et séquencé sur la plateforme DNBSEQ-T7RS afin de générer 24,62 Gb de données de séquençage d'ARN (RNA-seq) sous forme de lectures appariées de 100 pb.

Les données de séquençage à lectures courtes ont été utilisées pour estimer la taille du génome et l'hétérozygotie à l'aide de Jellyfish v2.3.1 [70]. Les lectures PacBio HiFi ont été assemblées en contigs à l'aide de Hifiasm v0.16.1-375 [71]. Les doublons haplotypiques ont été supprimés à l'aide de purge_dups v1.2.5 [72]. Les lectures Hi-C ont ensuite été utilisées pour ancrer les contigs sur les chromosomes à l'aide de Yahs v1.2 [73]. Juicebox v2.15 [74] a été utilisé pour corriger manuellement les erreurs d'assemblage et ajuster la position des échafaudages en fonction des cartes thermiques Hi-C [75].

…

upon request.

References

[1] A.S. Blix, Adaptations to polar life in mammals and birds, J. Exp. Biol. 219 (2016) 1093–1105.
[2] M. Rantanen, A.Y. Karpechko, A. Lipponen, K. Nordling, O. Hyvärinen, K. Ruosteenoja, T. Vihma, A. Laaksonen, The Arctic has warmed nearly four times faster than the globe since 1979, Commun. Earth Environ. 3 (2022) 168.
[3] W. Lu, Q.-J. Meng, N.J. Tyler, K.-A. Stokkan, A.S. Loudon, A circadian clock is not required in an arctic mammal, Curr. Biol. 20 (2010) 533–537.
[4] M. Li, X. Li, Z. Wu, G. Zhang, N. Wang, M. Dou, S. Liu, C. Yang, G. Meng, H. Sun, Convergent molecular evolution of thermogenesis and circadian rhythm in Arctic ruminants, Proc. R. Soc. B 290 (2023) 20230538.
[5] Z. Lin, L. Chen, X. Chen, Y. Zhong, Y. Yang, W. Xia, C. Liu, W. Zhu, H. Wang, B. Yan, Biological adaptations in the Arctic cervid, the reindeer (*Rangifer tarandus*), Science 364 (2019).
[6] V. Kumar, V.E. Kutschera, M.A. Nilsson, A. Janke, Genetic signatures of adaptation revealed from transcriptome sequencing of Arctic and red foxes, BMC Genomics 16 (2015) 1–13.
[7] L. Carbone, R.A. Harris, S. Gnerre, K.R. Veeramah, B. Lorente-Galdos, J. Huddleston, T.J. Meyer, J. Herrero, C. Roos, B. Aken, F. Anaclerio, N. Archidiacono, C. Baker, D. Barrell, M.A. Batzer, K. Beal, A. Blancher, C. L. Bohrson, M. Brameier, M.S. Campbell, O. Capozzi, C. Casola, G. Chiatante, A. Cree, A. Damert, P.J. de Jong, L. Dumas, M. Fernandez-Callejo, P. Flicek, N. V. Fuchs, I. Gut, M. Gut, M.W. Hahn, J. Hernandez-Rodriguez, L.W. Hillier, R. Hubley, B. Ianc, Z. Izsvak, N.G. Jablonski, L.M. Johnstone, A. Karimpour-Fard, M.K. Konkel, D. Kostka, N.H. Lazar, S.L. Lee, L.R. Lewis, Y. Liu, D.P. Locke, S. Mallick, F.L. Mendez, M. Muffato, L.V. Nazareth, K.A. Nevonen, M. O'Bleness, C. Ochis, D.T. Odom, K.S. Pollard, J. Quilez, D. Reich, M. Rocchi, G.G. Schumann, S. Searle, J.M. Sikela, G. Skollar, A. Smit, K. Sonmez, B. ten Hallers, E. Terhune, G.W. Thomas, B. Ullmer, M. Ventura, J.A. Walker, J.D. Wall, L. Walter, M. C. Ward, S.J. Wheelan, C.W. Whelan, S. White, L.J. Wilhelm, A.E. Woerner, M. Yandell, B. Zhu, M.F. Hammer, T. Marques-Bonet, E.E. Eichler, L. Fulton, C. Pronick, D.M. Muzny, W.C. Warren, K.C. Worley, J. Rogers, R.K. Wilson, R. A. Gibbs, Gibbon genome and the fast karyotype evolution of small apes, Nature 513 (2014) 195–201.
[8] S. Lok, T.N.H. Lau, B. Trost, A.H.Y. Tong, T. Paton, R.F. Wintle, M.D. Engstrom, A. Gunn, S.W. Scherer, Chromosomal-level reference genome assembly of muskox (Ovibos moschatus) from Banks Island in the Canadian Arctic, a resource for conservation genomics, Sci. Rep. 14 (2024) 21023.
[9] J.R. Castelló, Canids of the World: Wolves, Wild Dogs, Foxes, Jackals, Coyotes, and their Relatives, Princeton University Press, 2018.
[10] M. Musiani, E. Randi, Conservation genomics of wolves: the global impact of RK Wayne's research, J. Hered. 115 (2024) 458–469.
[24] L. Yusuf, M.C. Heatley, J.P.G. Palmer, H.J. Barton, C.R. Cooney, T.I. Gossmann, Noncoding regions underpin avian bill shape diversification at macroevolutionary scales, Genome Res. 30 (2020) 553–565.
[25] A. Nakashima, T. Kawamoto, K.K. Honda, T. Ueshima, M. Noshiro, T. Iwata, K. Fujimoto, H. Kubo, S. Honma, N. Yorioka, DEC1 modulates the circadian phase of clock gene expression, Mol. Cell. Biol. 28 (2008) 4080–4092.
[26] M. Cario-André, C. Pain, Y. Gauthier, V. Casoli, A. Taieb, In vivo and in vitro evidence of dermal fibroblasts influence on human epidermal pigmentation, Pigment Cell Res. 19 (2006) 434–442.
[27] ENCODE Project Consortium, An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome, Nature 489 (2012) 57–74.
[28] P.U. Clark, D. Archer, D. Pollard, J.D. Blum, J.A. Rial, V. Brovkin, A.C. Mix, N. G. Pisias, M. Roy, The middle Pleistocene transition: characteristics, mechanisms, and implications for long-term changes in atmospheric PCO, Quat. Sci. Rev. 25 (2006) 3150–3184.
[29] H. Elderfield, P. Ferretti, M. Greaves, S. Crowhurst, I.N. McCave, D. Hodell, A. M. Piotrowski, Evolution of ocean temperature and ice volume through the mid-Pleistocene climate transition, Science 337 (2012) 704–709.
[30] C.L. Batchelor, M. Margold, M. Krapp, D. Murton, A.S. Dalton, P.L. Gibbard, C. R. Stokes, J.B. Murton, A. Manica, The configuration of northern hemisphere ice sheets through the quaternary, Nat. Commun. 10 (2019) 3713.
[31] L. Loog, O. Thalmann, M.H.S. Sinding, V.J. Schuenemann, A. Perri, M. Germonpre, H. Bocherens, K.E. Witt, J.A.S. Castruita, M.S. Velasco, I.K. C. Lundstrom, N. Wales, G. Sonet, L. Frantz, H. Schroeder, J. Budd, E.L. Jimenez, S. Fedorov, B. Gasparyan, A.W. Kandel, M. Lázničková-Galetová, H. Napierala, H. P. Uerpmann, P.A. Nikolskiy, E.Y. Pavlova, V.V. Pitulko, K.H. Herzig, R.S. Malhi, E. Willerslev, A.J. Hansen, K. Dobney, M.T.P. Gilbert, J. Krause, G. Larson, A. Eriksson, A. Manica, Ancient DNA suggests modern wolves trace their origin to a Late Pleistocene expansion from Beringia, Mol. Ecol. 29 (2020) 1596–1610.
[32] A. Bergström, D.W. Stanton, U.H. Taron, L. Frantz, M.-H.S. Sinding, E. Ersmark, S. Pfrengle, M. Cassatt-Johnstone, O. Lebrasseur, L. Girdland-Flink, Grey Wolf Genomic History Reveals a Dual Ancestry of dogs, 2022.
[33] S.A. Hendricks, R.M. Schweizer, R.K. Wayne, Conservation genomics illuminates the adaptive uniqueness of North American gray wolves, Conserv. Genet. 20 (2019) 29–43.
[34] L. Tensen, A. Emami-Khoyi, A. Khan, G. Camacho, L.H. Swanepoel, K.D.J.J.o.Z.S. Fischer, E. Research, Mitogenomic Characterization of South African Leopards and the Effect of Past Climatic Events, 2024.
[35] Y. Peng, H. Li, Z. Liu, C. Zhang, K. Li, Y. Gong, L. Geng, J. Su, X. Guan, L. Liu, R. Zhou, Z. Zhao, J. Guo, Q. Liang, X. Li, Chromosome-level genome assembly of the Arctic fox (Vulpes lagopus) using PacBio sequencing and Hi-C technology, Mol. Ecol. Resour. 21 (2021) 2093–2108.
[36] C. Di Bernardi, A.M. Thierry, N.E. Eide, D.E. Bowler, L. Rød-Eriksen, S. Blumentrath, L. Tietgen, B.K. Sandercock, Ø. Flagstad, A. Landa, Fitness and fur colouration: testing the camouflage and thermoregulation hypotheses in an Arctic mammal, J. Anim. Ecol. 90 (2021) 1328–1340.

[11] M.S. Sinding, S. Gopalakrishnan, J. Ramos-Madrigal, M. de Manuel, V.V. Pitulko, L. Kuderna, T.R. Feuerborn, L.A.F. Frantz, F.G. Vieira, J. Niemann, J. A. Samaniego Castruita, C. Caroe, E.U. Andersen-Ranberg, P.D. Jordan, E. Y. Pavlova, P.A. Nikolskiy, A.K. Kasparov, V.V. Ivanova, E. Willerslev, P. Skoglund, M. Fredholm, S.E. Wennerberg, M.P. Heide-Jorgensen, R. Dietz, C. Sonne, M. Meldgaard, L. Dalen, G. Larson, B. Petersen, T. Sicheritz-Ponten, L. Bachmann, O. Wiig, T. Marques-Bonet, A.J. Hansen, M.T.P. Gilbert, Arctic-adapted dogs emerged at the Pleistocene-Holocene transition, Science 368 (2020) 1495–1499.
[12] M.L. Jensen, M.-H. Sinding, Wolf-dogs in Greenland. Interbreeding of Greenland sled dogs and Arctic wolves (research note), Étud. Inuit Stud. 47 (2023) 359–380.
[13] E. Ersmark, C.F. Klütsch, Y.L. Chan, M.-H.S. Sinding, S.R. Fain, N.A. Illarionova, M. Oskarsson, M. Uhlén, Y.-P. Zhang, L. Dalén, From the past to the present: wolf phylogeography and demographic history based on the mitochondrial control region, Front. Ecol. Evol. 4 (2016) 134.
[14] M.-H.S. Sinding, S. Gopalakrishnan, K. Raundrup, L. Dalén, J. Threlfall, W.S.I.T. of Life, T. Gilbert, D.T.o.L. Consortium, The genome sequence of the grey wolf, *Canis lupus* Linnaeus 1758, Wellcome Open Res. 6 (2021).
[15] P.R. Dawes, M. Elander, M. Ericson, The wolf (*Canis lupus*) in Greenland: a historical review and present status, Arctic (1986) 119–132.
[16] U. Marquard-Petersen, Reproduction and mortality of the high arctic wolf, Canis lupus arctos, in northeast Greenland, 1978-1998, The Canadian field-naturalist 122 (2008) 142–152.
[17] U. Marquard-Petersen, Invasion of eastern Greenland by the high arctic wolf Canis lupus arctos, Wildl. Biol. 17 (2011) 383–388.
[18] J.A. Robinson, J. Raikkonen, L.M. Vucetich, J.A. Vucetich, R.O. Peterson, K. E. Lohmueller, R.K. Wayne, Genomic signatures of extensive inbreeding in Isle Royale wolves, a population on the threshold of extinction, Sci. Adv. 5 (2019) eaau0757.
[19] W. Stephan, Selective sweeps, Genetics 211 (2019) 5–13.
[20] Y. Zheng, T. Wiehe, Adaptation in structured populations and fuzzy boundaries between hard and soft sweeps, PLoS Comput. Biol. 15 (2019) e1007426.
[21] P. Espindola-Hernandez, J.C. Mueller, B. Kempenaers, Genomic signatures of the evolution of a diurnal lifestyle in Strigiformes, G3 (Bethesda) 12 (2022).
[22] T.B. Sackton, P. Grayson, A. Cloutier, Z. Hu, J.S. Liu, N.E. Wheeler, P.P. Gardner, J.A. Clarke, A.J. Baker, M. Clamp, S.V. Edwards, Convergent regulatory evolution and loss of flight in paleognathous birds, Science 364 (2019) 74–78.
[23] S.B. Shakya, S.V. Edwards, T.B. Sackton, Convergent evolution of noncoding elements associated with short tarsus length in birds, BMC Biol. 23 (2025) 52.
[50] C.E. Hellweg, C. Arena, S. Baatout, B. Baselet, K. Beblo-Vranesevic, N. Caplin, R. Coos, F. Da Pieve, V. De Micco, N. Foray, Space radiobiology, in: Radiobiology Textbook, Springer, 2023, pp. 503–569.
[51] M. Abbrescia, C. Avanzini, M. Arlandoo, G. Balbi, L. Baldini, R.B. Ferroli, G. Batignani, M. Battaglieri, S. Boi, D. Cavazza, New high precision measurements of the cosmic charged particle rate beyond the Arctic Circle with the PolarquEEEst experiment, Eur. Phys. J. C 80 (2020) 1–20.
[52] M. Abbrescia, C. Avanzini, L. Baldini, R.B. Ferroli, G. Batignani, M. Battaglieri, S. Boi, E. Bossini, F. Carnesecchi, D. Cavazza, Measurement of the cosmic charged particle rate at sea level in the latitude range 35∘÷ 82∘ N with the PolarquEEEst experiment, Eur. Phys. J. C 83 (2023) 293.
[53] J.-H. Yoon, M.J. McArthur, J. Park, D. Basu, M. Wakamiya, L. Prakash, S. Prakash, Error-prone replication through UV lesions by DNA polymerase θ protects against skin cancers, Cell 176 (2019) 1295–1309, e1215.
[54] A.A. Kruchinin, A.V. Makarova, Multifaceted nature of DNA polymerase theta, Int. J. Mol. Sci. 24 (2023).
[55] A. Visser, M.M. Hussain, J.A. Kuivenhoven, The intracellular chylomicron highway: novel insights into chylomicron biosynthesis, trafficking, and secretion, Curr. Opin. Lipidol. 36 (2025) 145–152.
[56] S.D. Smith, J.K. Kawash, S. Karaiskos, I. Biluck, A. Grigoriev, Evolutionary adaptation revealed by comparative genome analysis of woolly mammoths and elephants, DNA Res. 24 (2017) 359–369.
[57] W. Sun, Y. Luo, F. Zhang, S. Tang, T. Zhu, Involvement of TRP channels in adipocyte thermogenesis: an update, Front. Cell Dev. Biol. 9 (2021) 686173.
[58] T.C. Fricke, A. Leffler, TRPV2: a universal regulator in cellular physiology with a yet poorly defined thermosensitivity, J. Physiol. Sci. 74 (2024) 42.
[59] M. Iwase, S. Kawarasaki, T. Goto, K. Uchida, Methionine oxidation of TRPV2 regulates thermogenesis in brown adipocytes, Biomed. Res. 46 (2025) 145–153.
[60] T.C. Fricke, F. Echtermeyer, J. Zielke, J. de la Roche, M.R. Filipovic, S. Claverol, C. Herzog, M. Tominaga, R.A. Pumroy, V.Y. Moiseenkova-Bell, P.M. Zygmunt, A. Leffler, M.J. Eberhardt, Oxidation of methionine residues activates the high-threshold heat-sensitive ion channel TRPV2, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 116 (2019) 24359–24365.
[61] J.A. Rocereta, T. Sturhahn, R.A. Pumroy, T.C. Fricke, C. Herzog, A. Leffler, V. Moiseenkova-Bell, Structural insights into TRPV2 modulation by probenecid, Nat. Struct. Mol. Biol. 32 (2025) 1019–1029.
[62] P. Rustin, H.T. Jacobs, M. Terzioglu, P. Bénit, Mitochondrial heat production: the elephant in the lab…, Trends Biochem. Sci. 50 (2025) 559–565.
[63] J.S. Takahashi, Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock, Nat. Rev. Genet. 18 (2017) 164–179.
[64] T. Yanik, S.T. Durhan, Specific functions of melanocortin 3 receptor (MC3R), J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol. 15 (2023) 1.
[65] C. Bret, F. Desmots-Loyer, J. Moreaux, T. Fest, BHLHE41, a transcriptional repressor involved in physiological processes and tumor development, Cell. Oncol. (Dordr) 48 (2025) 43–66.
[66] Y. Al-Nuaimi, J.A. Hardman, T. Biro, I.S. Haslam, M.P. Philpott, B.I. Toth, N. Farjo, B. Farjo, G. Baier, R.E.B. Watson, B. Grimaldi, J.E. Kloepper, R. Paus, A meeting of two chronobiological systems: circadian proteins Period1 and BMAL1 modulate the human hair cycle clock, J. Invest. Dermatol. 134 (2014) 610–619.
[67] K.K. Lin, V. Kumar, M. Geyfman, D. Chudova, A.T. Ihler, P. Smyth, R. Paus, J. S. Takahashi, B. Andersen, Circadian clock genes contribute to the regulation of hair follicle cycling, PLoS Genet. 5 (2009) e1000573.
[37] P.S. Gipson, E.E. Bangs, T.N. Bailey, D.K. Boyd, H.D. Cluff, D.W. Smith, M. D. Jiminez, Color patterns among wolves in western North America, Wildl. Soc. Bull. (2002) 821–830.
[38] J.E. Russell, R. Tumlison, Comparison of microstructure of white winter fur and brown summer fur of some arctic mammals, Acta Zool. 77 (1996) 279–282.
[39] L. Tietgen, I.J. Hagen, O. Kleven, C.D. Bernardi, T. Kvalnes, K. Norén, M. Hasselgren, J.P. Wallén, A. Angerbjörn, A. Landa, Fur colour in the Arctic fox: genetic architecture and consequences for fitness, Proc. R. Soc. B 288 (2021) 20211452.
[40] D.I. Våge, E. Fuglei, K. Snipstad, J. Beheim, V.M. Landsem, H. Klungland, Two cysteine substitutions in the MC1R generate the blue variant of the arctic fox (Alopex lagopus) and prevent expression of the white winter coat, Peptides 26 (2005) 1814–1817.
[41] D.L. Bannasch, C.B. Kaelin, A. Letko, R. Loechel, P. Hug, V. Jagannathan, J. Henkel, P. Roosje, M.K. Hytonen, H. Lohi, M. Arumilli, G.A.c. Do, K.M. Minor, J.R. Mickelson, C. Drogemuller, G.S. Barsh, T. Leeb, Dog colour patterns explained by modular promoters of ancient canid origin, Nat. Ecol. Evol. 5 (2021) 1415–1423.
[42] J. Yuan, G. Wang, L. Zhao, A.C. Kitchener, T. Sun, W. Chen, C. Huang, C. Wang, X. Xu, J. Wang, How genomic insights into the evolutionary history of clouded leopards inform their conservation, Sci. Adv. 9 (2023) eadh9143.
[43] G. Hua, J. Chen, J. Wang, J. Li, X. Deng, Genetic basis of chicken plumage color in artificial population of complex epistasis, Anim. Genet. 52 (2021) 656–666.
[44] X. Li, R. Gao, G. Chen, A.L. Price, D.B. Oksnebjerg, P.A. Hosner, Y. Zhou, G. Zhang, S. Feng, Draft genome assemblies of four manakins, Sci. Data 9 (2022) 564.
[45] C.T. Miller, S. Beleza, A.A. Pollen, D. Schluter, R.A. Kittles, M.D. Shriver, D. M. Kingsley, cis-regulatory changes in kit ligand expression and parallel evolution of pigmentation in sticklebacks and humans, Cell 131 (2007) 1179–1189.
[46] Z. Yang, H. Shi, P. Ma, S. Zhao, Q. Kong, T. Bian, C. Gong, Q. Zhao, Y. Liu, X. Qi, X. Zhang, Y. Han, J. Liu, Q. Li, H. Chen, B. Su, Darwinian positive selection on the pleiotropic effects of KITLG explain skin pigmentation and winter temperature adaptation in Eurasians, Mol. Biol. Evol. 35 (2018) 2272–2283.
[47] A. Bais, D. Lubin, A. Arola, G. Bernhard, M. Blumthaler, N. Chubarova, C. Erlick, H. Gies, N. Krotkov, K. Lantz, Surface ultraviolet radiation: past, present, and future, Sci. Assess. Ozone Depletion 7 (2006), 2007.
[48] D.K. Perovich, The interaction of ultraviolet light with Arctic sea ice during SHEBA, Ann. Glaciol. 44 (2006) 47–52.
[49] D. Atri, A.L. Melott, Cosmic rays and terrestrial life: a brief review, Astropart. Phys. 53 (2014) 186–190.
[80] J. Jurka, V.V. Kapitonov, A. Pavlicek, P. Klonowski, O. Kohany, J. Walichiewicz, Repbase update, a database of eukaryotic repetitive elements, Cytogenet. Genome Res. 110 (2005) 462–467.
[81] M. Stanke, M. Diekhans, R. Baertsch, D. Haussler, Using native and syntenically mapped cDNA alignments to improve de novo gene finding, Bioinformatics 24 (2008) 637–644.
[82] J. Keilwagen, F. Hartung, J. Grau, GeMoMa: homology-based gene prediction utilizing intron position conservation and RNA-seq data, in: Gene Prediction: Methods and Protocols, 2019, pp. 161–177.
[83] H. Li, B. Handsaker, A. Wysoker, T. Fennell, J. Ruan, N. Homer, G. Marth, G. Abecasis, R. Durbin, G.P.D.P. Subgroup, The sequence alignment/map format and SAMtools, Bioinformatics 25 (2009) 2078–2079.
[84] B.J. Haas, S.L. Salzberg, W. Zhu, M. Pertea, J.E. Allen, J. Orvis, O. White, C. R. Buell, J.R. Wortman, Automated eukaryotic gene structure annotation using EVidenceModeler and the program to assemble spliced alignments, Genome Biol. 9 (2008) 1–22.
[85] M. Manni, M.R. Berkeley, M. Seppey, F.A. Simão, E.M. Zdobnov, BUSCO update: novel and streamlined workflows along with broader and deeper phylogenetic coverage for scoring of eukaryotic, prokaryotic, and viral genomes, Mol. Biol. Evol. 38 (2021) 4647–4654.
[86] D.M. Emms, S. Kelly, OrthoFinder: phylogenetic orthology inference for comparative genomics, Genome Biol. 20 (2019) 1–14.
[87] V. Ranwez, E.J. Douzery, C. Cambon, N. Chantret, F. Delsuc, MACSE v2: toolkit for the alignment of coding sequences accounting for frameshifts and stop codons, Mol. Biol. Evol. 35 (2018) 2582–2584.
[88] J. Castresana, Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis, Mol. Biol. Evol. 17 (2000) 540–552.
[89] L.-T. Nguyen, H.A. Schmidt, A. Von Haeseler, B.Q. Minh, IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies, Mol. Biol. Evol. 32 (2015) 268–274.
[90] C. Zhang, M. Rabiee, E. Sayyari, S. Mirarab, ASTRAL-III: polynomial time species tree reconstruction from partially resolved gene trees, BMC Bioinform. 19 (2018) 153.
[91] H. Cho, B.-M. Kim, W.Y. Lee, J.-S. Rhee, Complete mitochondrial genome of the Greenland wolf, *Canis lupus orion*, Mitochondrial DNA B: Resour. 4 (2019) 2836–2838.
[92] I. Agnarsson, M. Kuntner, L.J. May-Collado, Dogs, cats, and kin: a molecular species-level phylogeny of Carnivora, Mol. Phylogenet. Evol. 54 (2010) 726–745.
[93] M.A. Field, S. Yadav, O. Dudchenko, M. Esvaran, B.D. Rosen, K. Skvortsova, R. J. Edwards, J. Keilwagen, B.J. Cochran, B. Manandhar, S. Bustamante, J. A. Rasmussen, R.G. Melvin, B. Chernoff, A. Omer, Z. Colaric, E.K.F. Chan, A. E. Minoche, T.P.L. Smith, M.T.P. Gilbert, O. Bogdanovic, R.A. Zammit, T. Thomas, E.L. Aiden, J.W.O. Ballard, The Australian dingo is an early offshoot of modern breed dogs, Sci. Adv. 8 (2022) eabm5944.
[94] S. Chen, Y. Zhou, Y. Chen, J.J.B. Gu, fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor, Bioinformatics 34 (2018) i884–i890.
[95] H. Li, R. Durbin, Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform, Bioinformatics 25 (2009) 1754–1760.
[96] **H. Li, Aligning Sequence Reads, Clone Sequences and Assembly Contigs with BWA-MEM, in: Preprint at,** http://arxiv.org/abs/1303.3997**, 2013.**
[97] G.A. Van der Auwera, B.D. O'Connor, Genomics in the Cloud: Using Docker, GATK, and WDL in Terra, O'Reilly Media, 2020.
[98] P. Danecek, A. Auton, G. Abecasis, C.A. Albers, E. Banks, M.A. DePristo, R.

[68] Z.-x. Chai, J.-w. Xin, C.-f. Zhang, Dawayangla, Luosang, Q. Zhang, Pingcuozhandui, C. Li, Y. Zhu, H.-w. Cao, Whole-genome resequencing provides insights into the evolution and divergence of the native domestic yaks of the Qinghai–Tibet Plateau, BMC Evol. Biol. 20 (2020) 137.
[69] M.S. Ferreira, P.C. Alves, C.M. Callahan, J.P. Marques, L.S. Mills, J.M. Good, J. Melo-Ferreira, The transcriptional landscape of seasonal coat colour moult in the snowshoe hare, Mol. Ecol. 26 (2017) 4173–4185.
[70] G. Marçais, C. Kingsford, A fast, lock-free approach for efficient parallel counting of occurrences of k-mers, Bioinformatics 27 (2011) 764–770.
[71] H. Cheng, G.T. Concepcion, X. Feng, H. Zhang, H. Li, Haplotype-resolved de novo assembly using phased assembly graphs with hifiasm, Nat. Methods 18 (2021) 170–175.
[72] D. Guan, S.A. McCarthy, J. Wood, K. Howe, Y. Wang, R. Durbin, Identifying and removing haplotypic duplication in primary genome assemblies, Bioinformatics 36 (2020) 2896–2898.
[73] C. Zhou, S.A. McCarthy, R. Durbin, YaHS: yet another Hi-C scaffolding tool, Bioinformatics 39 (2023) btac808.
[74] N.C. Durand, J.T. Robinson, M.S. Shamim, I. Machol, J.P. Mesirov, E.S. Lander, E. L. Aiden, Juicebox provides a visualization system for Hi-C contact maps with unlimited zoom, Cell Syst. 3 (2016) 99–101.
[75] L. Zhang, K. Zhang, F. Yang, B. Dayananda, Y. Cao, Z. Hu, Y. Liu, Chromosome-level genome of *Scolopendra mutilans* provides insights into its evolution, Integr. Zool. 20 (2025) 909–914.
[76] G. Benson, Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences, Nucleic Acids Res. 27 (1999) 573–580.
[77] S. Saha, S. Bridges, Z.V. Magbanua, D.G. Peterson, Empirical comparison of ab initio repeat finding programs, Nucleic Acids Res. 36 (2008) 2284–2294.
[78] N. Chen, Using Repeat Masker to identify repetitive elements in genomic sequences, Curr. Protoc. Bioinformatics 5 (2004) 4.10. 11–14.10. 14.
[79] J.M. Flynn, R. Hubley, C. Goubert, J. Rosen, A.G. Clark, C. Feschotte, A.F. Smit, RepeatModeler2 for automated genomic discovery of transposable element families, Proc. Natl. Acad. Sci. 117 (2020) 9451–9457.
[107] Gene Ontology Consortium, S.A. Aleksander, J. Balhoff, S. Carbon, J.M. Cherry, H.J. Drabkin, D. Ebert, M. Feuermann, P. Gaudet, N.L. Harris, D.P. Hill, R. Lee, H. Mi, S. Moxon, C.J. Mungall, A. Muruganugan, T. Mushayahama, P. W. Sternberg, P.D. Thomas, K. Van Auken, J. Ramsey, D.A. Siegele, R. L. Chisholm, P. Fey, M.C. Aspromonte, M.V. Nugnes, F. Quaglia, S. Tosatto, M. Giglio, S. Nadendla, G. Antonazzo, H. Attrill, G. Dos Santos, S. Marygold, V. Strelets, C.J. Tabone, J. Thurmond, P. Zhou, S.H. Ahmed, P. Asanitthong, D. Luna Buitrago, M.N. Erdol, M.C. Gage, M. Ali Kadhum, K.Y.C. Li, M. Long, A. Michalak, A. Pesala, A. Pritazahra, S.C.C. Saverimuttu, R. Su, K.E. Thurlow, R. C. Lovering, C. Logie, S. Oliferenko, J. Blake, K. Christie, L. Corbani, M.E. Dolan, H.J. Drabkin, D.P. Hill, L. Ni, D. Sitnikov, C. Smith, A. Cuzick, J. Seager, L. Cooper, J. Elser, P. Jaiswal, P. Gupta, P. Jaiswal, S. Naithani, M. Lera-Ramirez, K. Rutherford, V. Wood, J.L. De Pons, M.R. Dwinell, G.T. Hayman, M. L. Kaldunski, A.E. Kwitek, S.J.F. Laulederkind, M.A. Tutaj, M. Vedi, S.J. Wang, P. D'Eustachio, L. Aimo, K. Axelsen, A. Bridge, N. Hyka-Nouspikel, A. Morgat, S. A. Aleksander, J.M. Cherry, S.R. Engel, K. Karra, S.R. Miyasato, R.S. Nash, M. S. Skrzypek, S. Weng, E.D. Wong, E. Bakker, T.Z. Berardini, L. Reiser, A. Auchincloss, K. Axelsen, G. Argoud-Puy, M.C. Blatter, E. Boutet, L. Breuza, A. Bridge, C. Casals-Casas, E. Coudert, A. Estreicher, M. Livia Famiglietti, M. Feuermann, A. Gos, N. Gruaz-Gumowski, C. Hulo, N. Hyka-Nouspikel, F. Jungo, P. Le Mercier, D. Lieberherr, P. Masson, A. Morgat, I. Pedruzzi, L. Pourcel, S. Poux, C. Rivoire, S. Sundaram, A. Bateman, E. Bowler-Barnett, A.J. H. Bye, P. Denny, A. Ignatchenko, R. Ishtiaq, A. Lock, Y. Lussi, M. Magrane, M. J. Martin, S. Orchard, P. Raposo, E. Speretta, N. Tyagi, K. Warner, R. Zaru, A. D. Diehl, R. Lee, J. Chan, S. Diamantakis, D. Raciti, M. Zarowiecki, M. Fisher, C. James-Zorn, V. Ponferrada, A. Zorn, S. Ramachandran, L. Ruzicka, M. Westerfield, The gene ontology knowledgebase in 2023, Genetics 224 (2023).
[108] M. Ashburner, C.A. Ball, J.A. Blake, D. Botstein, H. Butler, J.M. Cherry, A. P. Davis, K. Dolinski, S.S. Dwight, J.T. Eppig, M.A. Harris, D.P. Hill, L. Issel-Tarver, A. Kasarskis, S. Lewis, J.C. Matese, J.E. Richardson, M. Ringwald, G. M. Rubin, G. Sherlock, Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium, Nat. Genet. 25 (2000) 25–29.
[109] R. Tian, K. Han, Y. Geng, C. Yang, C. Shi, P.B. Thomas, C. Pearce, K. Moffatt, S. Ma, S. Xu, G. Yang, X. Zhou, V.N. Gladyshev, X. Liu, D.O. Fisher, L.K. Chopin, N.O. Leiner, A.M. Baker, G. Fan, I. Seim, A chromosome-level genome of Antechinus flavipes provides a reference for an Australian marsupial genus with male death after mating, Mol. Ecol. Resour. 22 (2022) 740–754.
E. Handsaker, G. Lunter, G.T. Marth, S.T.J.B. Sherry, The variant call format and VCFtools, Bioinformatics 27 (2011) 2156–2158.
[99] Q.B. Zheng, X.Y. Wu, X.M. Ma, X.L. Zhou, T. Wang, C.F. Ma, M.H. Zhang, M. Chu, X. Guo, C.N. Liang, P.J. Bao, P. Yan, Genetic structure analysis of yak breeds and their response to adaptive evolution, Genomics 116 (2024) 110933.
[100] D. Battilani, R. Gargiulo, R. Caniglia, E. Fabbri, J.R.-. Madrigal, C. Fontsere, M. M. Ciucani, S. Gopalakrishnan, M. Girardi, I. Fracasso, Beyond population size: whole-genome data reveal bottleneck legacies in the peninsular Italian wolf, J. Hered. 116 (2025) 10–23.
[101] A.H. Freedman, R.M. Schweizer, D. Ortega-Del Vecchyo, E.J. Han, B.W. Davis, I. Gronau, P.M. Silva, M. Galaverni, Z.X. Fan, P. Marx, B. Lorente-Galdos, O. Ramirez, F. Hormozdiari, C. Alkan, C. Vilà, K. Squire, E. Geffen, J. Kusak, A. R. Boyko, H.G. Parker, C. Lee, V. Tadigotla, A. Siepel, C.D. Bustamante, T. T. Harkins, S.F. Nelson, T. Marques-Bonet, E.A. Ostrander, R.K. Wayne, J. Novembre, Demographically-based evaluation of genomic regions under selection in domestic dogs, PLoS Genet. 12 (2016) e1005851.
[102] Y.-B. Sun, FasParser2: a graphical platform for batch manipulation of tremendous amount of sequence data, Bioinformatics 34 (2018) 2493–2495.
[103] J. Zhang, Rates of conservative and radical nonsynonymous nucleotide substitutions in mammalian nuclear genes, J. Mol. Evol. 50 (2000) 56–68.
[104] A. Subramanian, P. Tamayo, V.K. Mootha, S. Mukherjee, B.L. Ebert, M.A. Gillette, A. Paulovich, S.L. Pomeroy, T.R. Golub, E.S. Lander, J.P. Mesirov, Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102 (2005) 15545–15550.
[105] A. Liberzon, C. Birger, H. Thorvaldsdottir, M. Ghandi, J.P. Mesirov, P. Tamayo, The molecular signatures database (MSigDB) hallmark gene set collection, Cell Syst. 1 (2015) 417–425.
[106] M. Milacic, D. Beavers, P. Conley, C. Gong, M. Gillespie, J. Griss, R. Haw, B. Jassal, L. Matthews, B. May, R. Petryszak, E. Ragueneau, K. Rothfels, C. Sevilla, V. Shamovsky, R. Stephan, K. Tiwari, T. Varusai, J. Weiser, A. Wright, G. Wu, L. Stein, H. Hermjakob, P. D'Eustachio, The Reactome pathway knowledgebase 2024, Nucleic Acids Res. 52 (2024) D672–D678.
[110] S. Ma, S.H. Yim, S.G. Lee, E.B. Kim, S.R. Lee, K.T. Chang, R. Buffenstein, K. N. Lewis, T.J. Park, R.A. Miller, C.B. Clish, V.N. Gladyshev, Organization of the mammalian metabolome according to organ function, lineage specialization, and longevity, Cell Metab. 22 (2015) 332–343.
[111] B. Efron, R. Tibshirani, Bootstrap methods for standard errors, confidence intervals, and other measures of statistical accuracy, Stat. Sci. (1986) 54–75.
[112] M. Blanchette, W.J. Kent, C. Riemer, L. Elnitski, A.F. Smit, K.M. Roskin, R. Baertsch, K. Rosenbloom, H. Clawson, E.D. Green, Aligning multiple genomic sequences with the threaded blockset aligner, Genome Res. 14 (2004) 708–715.
[113] M.J. Hubisz, K.S. Pollard, A. Siepel, PHAST and RPHAST: phylogenetic analysis with space/time models, Brief. Bioinform. 12 (2011) 41–51.
[114] A. Siepel, G. Bejerano, J.S. Pedersen, A.S. Hinrichs, M. Hou, K. Rosenbloom, H. Clawson, J. Spieth, L.W. Hillier, S. Richards, Evolutionarily conserved elements in vertebrate, insect, worm, and yeast genomes, Genome Res. 15 (2005) 1034–1050.
[115] C.Y. McLean, D. Bristor, M. Hiller, S.L. Clarke, B.T. Schaar, C.B. Lowe, A. M. Wenger, G. Bejerano, GREAT improves functional interpretation of cis-regulatory regions, Nat. Biotechnol. 28 (2010) 495–501.
[116] T. Wu, E. Hu, S. Xu, M. Chen, P. Guo, Z. Dai, T. Feng, L. Zhou, W. Tang, L., Zhan, clusterProfiler 4.0: a universal enrichment tool for interpreting omics data, Int. J. Hydrog Energ. 2 (2021).
[117] A. Visel, S. Minovitsky, I. Dubchak, L.A. Pennacchio, VISTA enhancer browser—a database of tissue-specific human enhancers, Nucleic Acids Res. 35 (2007) D88–D92.
[118] H. Li, R. Durbin, Inference of human population history from individual whole-genome sequences, Nature 475 (2011) 493–U484.
[119] E.W. Sayers, C. O'Sullivan, I. Karsch-Mizrachi, Using GenBank and SRA, Methods Mol. Biol. 2443 (2022) 1–25.
[120] H. Li, A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data, Bioinformatics 27 (2011) 2987–2993.
[121] E.M. Koch, R.M. Schweizer, T.M. Schweizer, D.R. Stahler, D.W. Smith, R. K. Wayne, J. Novembre, De novo mutation rate estimation in wolves of known pedigree, Mol. Biol. Evol. 36 (2019) 2536–2547.
[122] K.J. Livak, T.D. Schmittgen, Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method, Methods 25 (2001) 402–408.