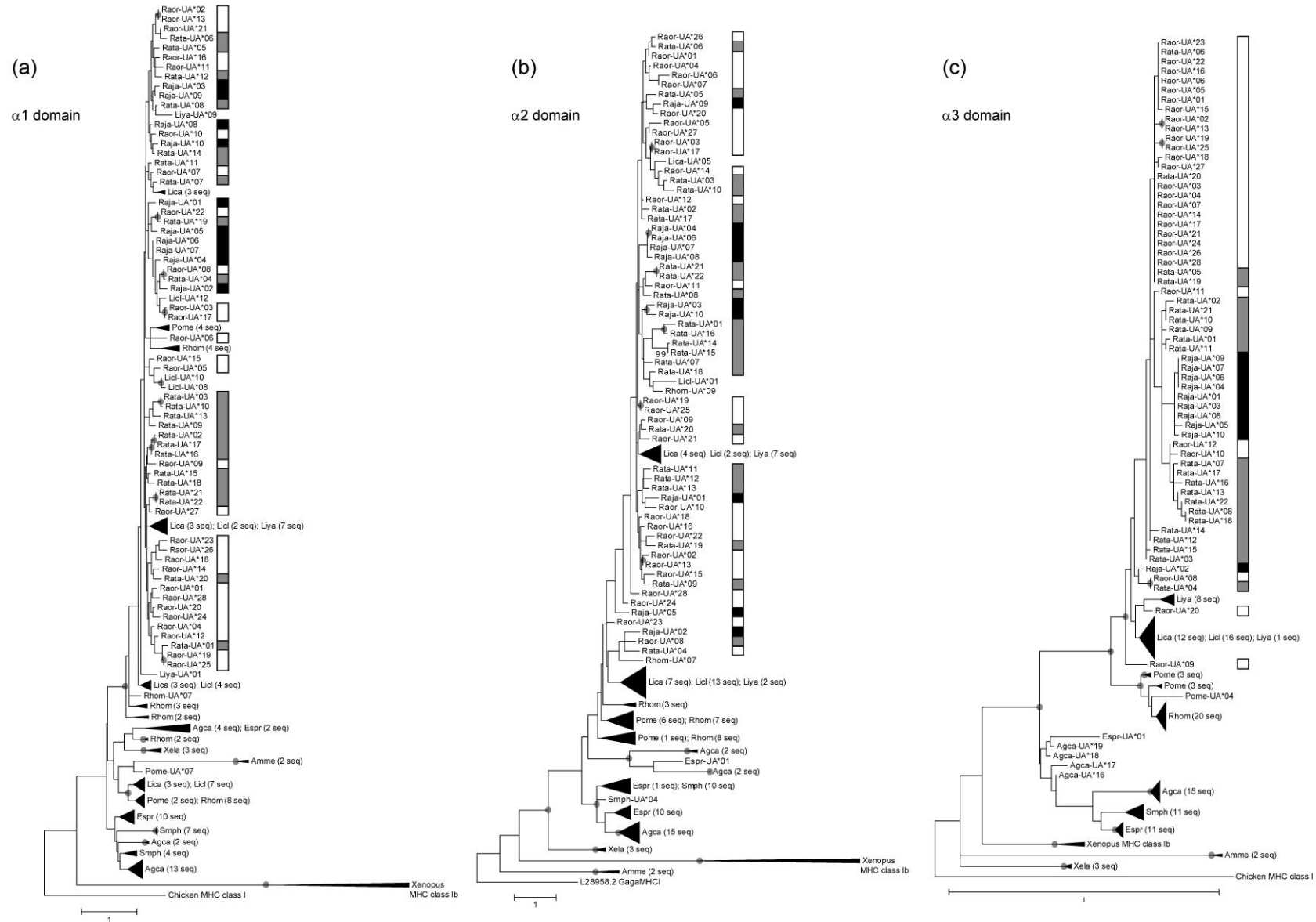


## Supplementary material

A. MHC class I variants identified in each individual and range of pairwise nucleotide (ncl) or amino acid (aa) difference within individual. Variants in bold were observed in more than one individual.

Individual	<i>R. japonica</i>			<i>R. ornativentris</i>			<i>R. tagoi</i>		
	Variants	ncl	aa	Variants	ncl	aa	Variants	ncl	aa
1	<i>Raja</i> -UA* <b>01</b> , 07	0.040	0.088	<i>Raor</i> -UA*01, 02, 26	0.044-0.063	0.081-0.116	<i>Rata</i> -UA*01, 07, 08, 09	0.050-0.079	0.096-0.138
2	<i>Raja</i> -UA* <b>01</b> , <b>03</b> , <b>05</b> , 08, 09	0.033-0.076	0.073-0.146	<i>Raor</i> -UA* <b>06</b> , 07, 08, 09, 25	0.050-0.104	0.092-0.173	<i>Rata</i> -UA*02, 03, 10	0.028-0.058	0.050-0.108
3	<i>Raja</i> -UA* <b>01</b> , <b>03</b> , <b>05</b> , 10	0.038-0.076	0.077-0.146	<i>Raor</i> -UA*16, 17, 22, 23, 24	0.044-0.077	0.081-0.119	<i>Rata</i> -UA*17, 18, 22	0.043-0.058	0.088-0.104
4	<i>Raja</i> -UA* <b>01</b> , 02, <b>03</b> , <b>04</b>	0.046-0.115	0.097-0.212	<i>Raor</i> -UA* <b>06</b> , 14, 15, 27, 28	0.055-0.078	0.092-0.131	<i>Rata</i> -UA*11, 12	0.050	0.100
5	<i>Raja</i> -UA* <b>01</b> , <b>04</b> , <b>05</b>	0.047-0.065	0.112-0.131	<i>Raor</i> -UA*13, 18, 19, 20, 21	0.045-0.069	0.088-0.138	<i>Rata</i> -UA*13, 14	0.068	0.131
6	<i>Raja</i> -UA* <b>04</b> , 06	0.012	0.031	<i>Raor</i> -UA*03, 04, 05	0.058-0.065	0.096-0.108	<i>Rata</i> -UA*04, 05, 06, 19, 20	0.053-0.101	0.100-0.169
7	<i>Raja</i> -UA* <b>01</b> , <b>03</b> , <b>04</b> , <b>05</b>	0.046-0.076	0.096-0.146	<i>Raor</i> -UA*10, 11, 12	0.058-0.076	0.108-0.150	<i>Rata</i> -UA*15, 16, 21	0.060-0.072	0.104-0.131

B. Phylogenetic relationships between MHC class I sequences from *R. japonica* (black bar), *R. ornativentris* (white bar), and *R. t. tagoi* (grey bar) compared to other amphibians, using maximum likelihood method. Trees were constructed independently for (a)  $\alpha 1$  domain, (b)  $\alpha 2$  domain, and (c)  $\alpha 3$  domain. Shaded circles indicate nodes with bootstrap support > 70%. Inferred relationships are comparable to those determined by neighbour-joining method in Figure 2. The basal *Rana* clade (containing *Raja*-UA\*02, *Raor*-UA\*08 and *Rata*-UA\*04) is present in  $\alpha 2$  and  $\alpha 3$  trees. Accession numbers for sequences from other species listed in Figure 2.



C. Codon sites predicted to be under positive selection in the three Japanese *Rana* species, as detected by each of the four methods omegaMap (OM), FEL, REL, and MEME.

Site	<i>R. japonica</i>					<i>R. ornativentris</i>					<i>R. t. tagoi</i>				
	OM	FEL	REL	MEME	Total	OM	FEL	REL	MEME	Total	OM	FEL	REL	MEME	Total
5	y		y		2		y	y	y	3	y		y		2
6					0					0	y				1
9	y		y		2	y	y	y	y	4	y	y	y		4
11	y	y	y		3	y	y	y	y	4	y	y	y	y	4
15	y				1					0					0
22					0		y	y		2					0
24	y		y	y	3	y			y	2	y		y	y	3
25					0					0	y				1
28					0	y				1					0
31					0	y	y	y		3					0
34	y	y	y		3	y	y	y	y	4	y				1
44	y				1					0					0
45	y		y		2	y				1	y				1
49	y				1					0					0
62	y				1	y				1	y			y	2
63	y			y	2	y	y	y	y	4	y		y	y	3
66	y		y		2	y	y	y	y	4	y			y	2
67	y				1	y	y	y		3	y	y	y	y	4
68					0	y				1					0
69	y				1	y				1	y			y	2
70					0	y	y	y	y	4	y	y	y	y	4
72					0			y		1	y				1
73	y		y	y	3	y	y	y	y	4	y	y	y	y	4
74	y		y		2	y	y	y	y	4					0
76	y				1			y		1					0
77	y				1	y		y		2					0
81	y		y	y	3	y	y	y	y	4	y	y	y	y	4
83					0	y				1					0
85					0			y		1					0
94	y			y	2					0	y			y	2
95	y				1	y	y	y	y	4	y			y	2
97	y				1	y	y	y	y	4	y		y	y	3
99	y				1	y		y	y	3	y			y	2
114	y				1	y		y	y	3	y		y	y	3
116	y				1	y	y	y	y	4	y				1
117	y				1					0	y	y	y	y	4
123					0	y				1					0
124	y		y		2					0	y				1
125					0		y	y	y	3					0
129					0	y				1					0
132	y				1					0	y				1
133	y				1			y		1	y	y			2
134					0	y				1					0
135	y		y		2	y		y	y	3	y				1
145	y				1	y	y	y	y	4			y		1
149					0					0	y			y	2
154	y				1	y		y		2	y	y	y	y	4
156	y		y		2	y	y	y	y	4	y	y	y	y	4
159	y				1					0					0
160	y		y		2	y	y	y	y	4	y		y		2
164	y				1		y	y	y	3	y	y	y	y	4
165	y				1					0					0
167	y			y	2	y		y	y	3	y		y	y	3
169	y				1					0	y				1
171	y				1	y				1	y			y	2
175	y		y		2			y		0	y				1
177	y				1			y	y	2	y				1
185	y				1			y		1					0
188	y				1			y		1	y				1
192	y				1					0					0
203	y				1					0	y				1
226	y				1					0					0
237	y				1					0	y				1
255					0	y		y	y	3	y			y	2
258					0			y		1	y	y	y	y	4
260	y				1	y				1	y				1
266	y				1					0					0
SUM	50	2	15	6	18	33	21	37	25	30	45	12	19	25	28

D. Codon-based z-tests for selection (neutrality, purifying and positive selection) for each domain and globally in MHC class I; results presented as Z-statistic (p-value), Z-statistics with significant values ( $p < 0.05$ ) are in bold; positive selection was also tested using PARRIS implemented in the Datamonkey webserver, with results presented as [p-value].

Species	Neutrality					Purifying					Positive				
	Overall	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 1 + \alpha 2$	$\alpha 3$	Overall	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 1 + \alpha 2$	$\alpha 3$	Overall	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 1 + \alpha 2$	$\alpha 3$
<i>R. japonica</i>	<b>4.030</b> ( $<0.001$ )	<b>3.536</b> ( $<0.001$ )	<b>2.472</b> (0.015)	<b>4.199</b> ( $<0.001$ )	0.042 (0.966)	-3.959 (1.000)	-3.503 (1.000)	-2.497 (1.000)	-4.204 (1.000)	-0.043 (1.000)	<b>4.024</b> ( $<0.001$ ) [ $<0.001$ ]	<b>3.493</b> ( $<0.001$ ) [0.001]	<b>2.449</b> (0.008) [0.145]	<b>4.219</b> ( $<0.001$ ) [ $<0.001$ ]	0.0431 (0.4828) [0.922]
<i>R. ornativentris</i>	<b>2.031</b> (0.044)	<b>2.808</b> (0.006)	<b>2.010</b> (0.047)	<b>3.446</b> (0.001)	<b>-2.290</b> (0.024)	-1.961 (1.000)	-1.991 (1.000)	-2.809 (1.000)	-3.422 (1.000)	<b>2.335</b> (0.011)	<b>1.950</b> (0.027) [ $<0.001$ ]	<b>2.880</b> (0.002) [ $<0.001$ ]	<b>1.960</b> (0.026) [ $<0.001$ ]	<b>3.372</b> (0.001) [ $<0.001$ ]	-2.373 (1.000) [1.000]
<i>R. t. tagoi</i>	<b>3.186</b> (0.002)	<b>2.057</b> (0.042)	<b>3.443</b> (0.001)	<b>3.808</b> ( $<0.001$ )	-1.097 (0.275)	-3.198 (1.000)	-2.057 (1.000)	-3.443 (1.000)	-3.808 (1.000)	1.106 (0.135)	<b>3.176</b> (0.001) [ $<0.001$ ]	<b>2.057</b> (0.021) [0.006]	<b>3.363</b> (0.001) [ $<0.001$ ]	<b>3.920</b> ( $<0.001$ ) [ $<0.001$ ]	-1.128 (1.000) [1.000]