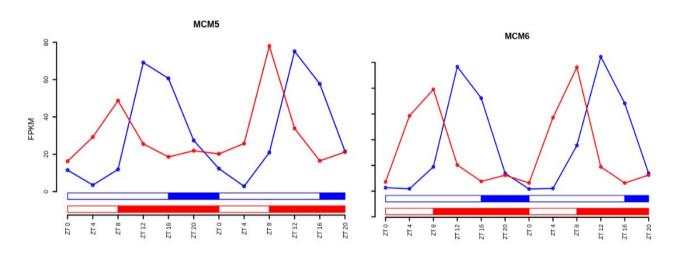
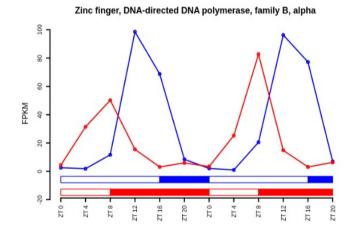
Resumen rutas Ostreococcus tauri.

Replicación de DNA.

Se observa un comportamiento uniforme tanto en las proteínas encargas de controlar la replicación (por ej. <u>MCM6</u> ostta01g02580 y <u>MCM5</u> ostta04g00450), como en las subunidades de la <u>polimarasa alpha</u>(ostta08g00710, ostta11g01400, ostta13g02040, ostta11g00940) y en las subunidades de las demás polimerasas implicadas. En condiciones de LD el pico de expresión de estas enzimas encargadas de la replicación se encuentra antes del anochecer(4h antes), en torno a ZT12. En cambio, en condiciones de SD parece apurar el día al máximo y presenta el pico de expresión de estas proteínas justo en ZT8.

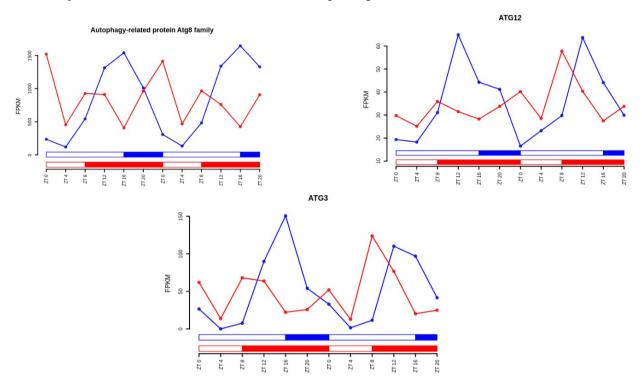
Además, podemos observar el mismo comportamiento en los genes implicados en los distintos **mecanismos de reparación** del DNA.



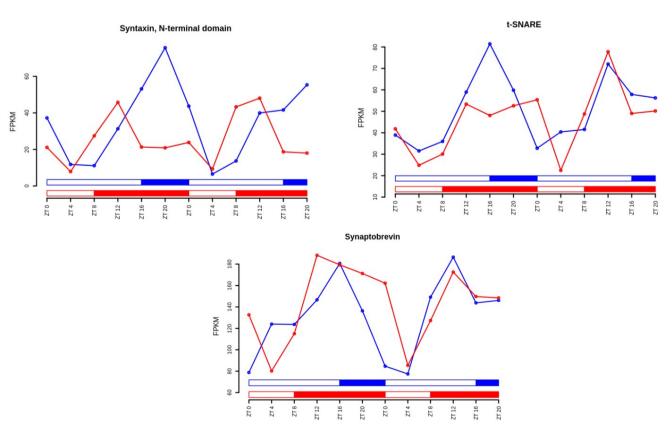


Autofagia.

Casi de forma generalizada(<u>ATG8 ostta01g05650,ATG3 ostta06g03810</u>,etc), las proteínas relacionadas con la autofagia, presentan un pico al final del día en condiciones de LD, coincidiendo con el pico en torno a ZT8 que se manifiesta en SD. Sin embargo, en SD aparece un segundo pico, en la mayoría de ocasiones incluso mas elevado que el primero al final de la noche.



Paralelamente, los genes involucrados en el transporte de vesículas por **SNARE** también presentan el mismo perfil de expresión, en concordancia con la relación existente entre ambos procesos.

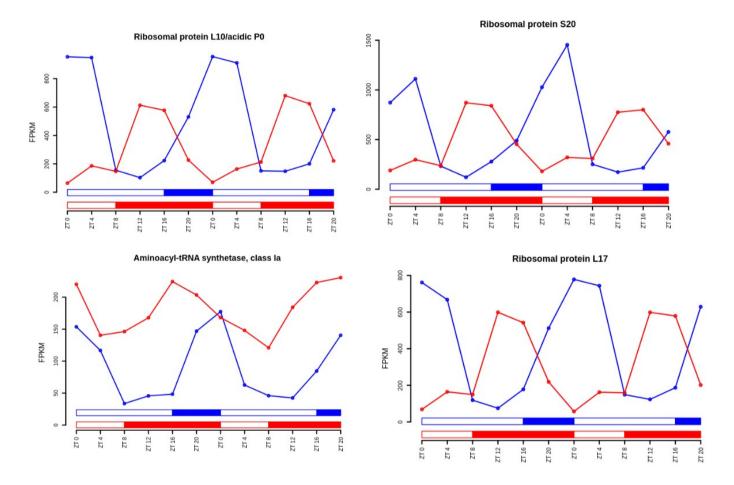


Traducción.

En condiciones SD la mayoría de las subunidades que componen los **ribosomas**, así como las enzimas involucradas en su ensamblaje y biogénesis tienen su pico de expresión 4h después de anochecer (ZT12).

En cambio, en condiciones de LD tienen su pico de expresión en ZTO, al amanecer.

Coincide con el perfil de expresión que presentan los genes involucrados en la <u>sintesis de los RNAt</u> y en la unión de los mismos con el correspondiente aminoácido (Picos de expresión entre ZT12 y ZT16 en SD y entre ZT0 y ZT4 en LD).

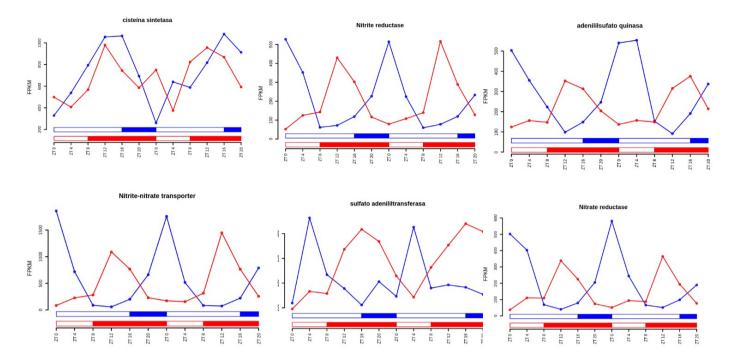


Asimilación de sulfuro y nitrógeno.

Las enzimas de la ruta de la **reducción asimilatoria del nitrógeno**, tanto la **nitrato reductasa** (ostta10g00920) como la **nitrito reductasa** (ostta10g00930), muestran comportamientos distintos en SD y LD. En condiciones de SD ambas tienen un pico de expresión a ZT12, a mitad de la noche, mientras que en condiciones de LD lo tienen en ZT0. Se observa el mismo patrón con los niveles de expresión del **transportador de nitrito/nitrato** (ostta10g00950).

Del mismo modo, las enzimas de la ruta de la **reducción asimilatoria del sulfato** (la sulfato adenililtransferasa (ostta10g00290), y la adenililsufato quinasa (ostta09g03020)) muestran un pico de expresión a la mitad de la noche en SD y en ZT4 (despues de amanecer) en LD.

Sin embargo, las enzimas finales de estas rutas (cisteina sintetasa y glutamina/glutamato sintetasa) no coinciden con este perfil de expresión.

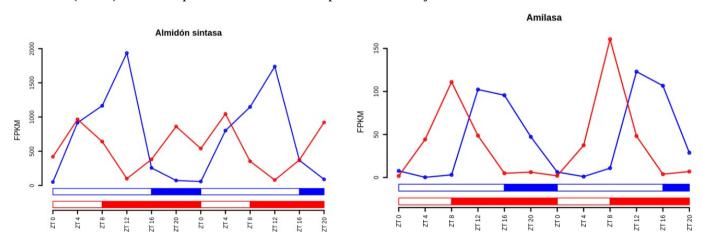


Metabolismo del almidón

Centrándonos en los perfiles de expresión de dos enzimas, la **amilasa** (ostta07g01950) y la **almidón sintasa** (Ostta06g02940), los resultados cumplen con lo esperado.

Por un lado, en condiciones de LD el almidón debería aumentar durante el día, coincidiendo con el perfil de expresión del gen codificante para la almidón sintasa, la cual mantiene altos sus niveles de expresión desde que amanece hasta ZT16, teniendo su pico más alto en ZT12. Paralelamente, la amilasa presenta un perfil de expresión complementario, teniendo su pico de expresión en ZT12 y alargando su expresión durante la noche.

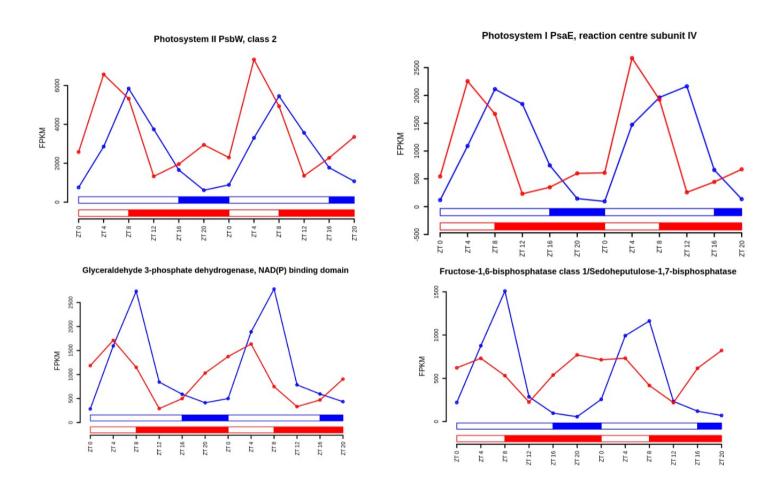
De forma similar, en condiciones de SD, el nivel de expresión del gen que codifica para la almidón sintasa aumenta durante el día, desde que amanece hasta ZT12, teniendo su pico en ZT4. De nuevo, paralelamente la amilasa tiene su pico de expresión en ZT8, alargándose solo hasta la mitad de la noche (ZT16) donde se presenta su nivel de expresión más bajo.



Fotosíntesis y ciclo de Calvin.

Los genes codificantes para los fotosistemas e incluso las enzimas del ciclo de Calvin, presentan su máximo pico de expresión cuando la irradiancia es máxima (ZT4 en condiciones de SD y ZT8 en condiciones de LD).

Sin embargo, el perfil de expresión de todos estos genes en condiciones de SD se diferencian con los de LD por comenzar a expresarse antes de que amanezca, pudiéndose incluso observar en algunos casos un segundo pico de expresión a ZT20.

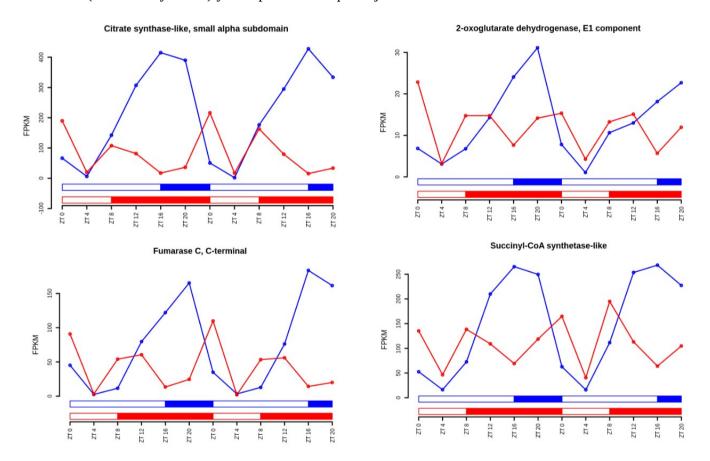


Ciclo de Krebs.

Los genes codificantes para la mayoría de enzimas involucradas en el Ciclo de Krebs (<u>citrato sintasa</u>, <u>2-oxoglutarato deshidrogenasa</u>, <u>fumarasa</u>, <u>malato deshidrogenasa</u>, <u>succinil-CoA sintetasa</u>, etc) muestran unas diferencias peculiares entre los perfiles de expresión en condiciones de LD y SD.

En condiciones de LD, todas esas enzimas muestran un pico de expresión al inicio de la noche, concretamente a ZT16.

Sin embargo, en condicones de SD, ciclan cada 12h teniendo un pico de expresión al inicio de la noche (entre ZT8 y ZT12) y otro pico a ZT0 que baja drásticamente cuando aumenta la irradiancia.

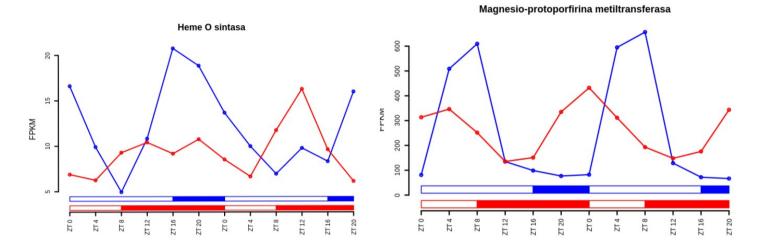


Biosíntesis de tetrapirroles.

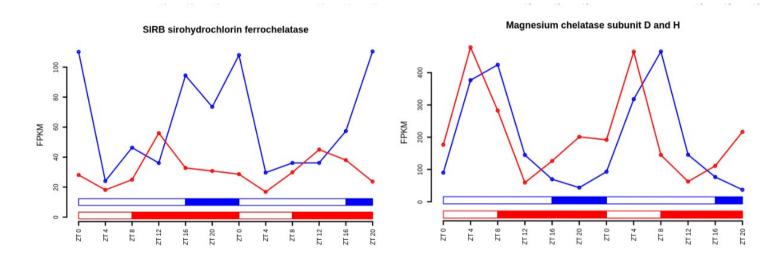
Esta ruta da lugar a productos finales que son requeridos en distintos momentos del día: la clorofila y los grupos hemo (necesarios para producir los citocromos). Existe un punto en el que la ruta se bifurca para dar lugar un producto u otro. En los perfiles de expresión de los genes que codifican para las enzimas que participan en esta bifurcación se encuentran dos patrones distintos.

Por un lado, la enzima que dirige los metabolitos hacia la producción de clorofila (la **magnesio-protoporfirina metiltransferasa** ostta07g02590) se encuentra más activa en el momento de máxima irradiancia en condiciones de LD, mientras que en condiciones de SD comienza a aumentar su nivel de expresión a mitad de la noche, estando en su punto más alto al amanecer para tener la maquinaria lista al comenzar el día.

Por otro lado, las enzimas que dirigen los metabolitos hacia la producción de grupos hemo (como la **hemo O sintasa** ostta04g04940) muestran sus picos de expresión durante la noche. En general, se observa una separación temporal de la producción los dos metabolitos principales de esta ruta.



Aparte, el gen **SIRB** involucrado en la producción de grupos sirohemos y las subunidades de la **magnesio quelatasa**, aunque no estén incluidos en KEGG (tabla suplementaria), también presentan unos perfiles de expresión similares.



Material suplementario.

Magnesium-protoporfirine

Lista 1: Genes representados en el informe.

methyltransferase

| Sulfur and nitrogen assimila | tion | DNA Replication. | |
|------------------------------|---------------|---------------------------|---------------|
| cysteine synthetase | ostta12g03060 | MCM6 | ostta01g02580 |
| sulfate adenililtranferase | ostta10g00290 | MCM5 | ostta04g00450 |
| adenililsulfate quinase | ostta09g03020 | | ostta08g00710 |
| nitrate reductase | ostta10g00920 | alpha polimerase | ostta11g01400 |
| nitrite reductase | ostta10g00930 | aipila polittierase | ostta13g02040 |
| nitrate/nitrite transporter | ostta10g00950 | | ostta11g00940 |
| Starch metabolism | | Autophagy | |
| starch synthase | ostta06g02940 | ATG8 | ostta01g05650 |
| amilase | ostta07g01950 | ATG3 | ostta06g03810 |
| | | ATG12 | ostta06g00610 |
| Photosynthesis | | | |
| photosystem II | ostta02g02320 | SNARE proteins | |
| photosystem I | ostta02g03860 | syntaxina | ostta02g04320 |
| glyceraldehyde 3-phosphate | | T-SNARE | ostta05g03640 |
| dehydrogenase | ostta01g01560 | synaptobrevin | ostta14g02870 |
| fructose-1,6-biphosphatase | ostta03g00350 | | |
| | | Translation | |
| TCA cycle | | L10 | ostta02g05480 |
| citrate synthase | ostta17g02090 | S20 | ostta02g03140 |
| fumasare C | ostta10g01370 | L17 | ostta01g06000 |
| Succinyl-CoA synthetase | ostta03g05920 | aminoacil-tRNA synthetase | ostta03g02860 |
| 2-oxoglutarate dehydrogenase | ostta03g02250 | | |
| Tetrapyrrole metabolism | | | |
| Heme O synthase | ostta04g04940 | | |
| | | | |

ostta07g02590

Representación de rutas metabólicas en la red OMEN.

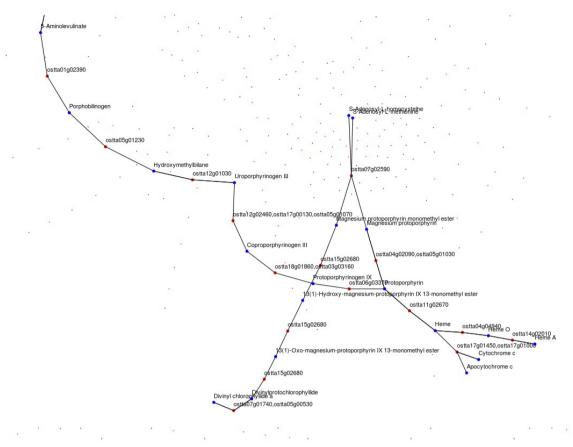


Illustration 1: Representación de la ruta de biosíntesis de tetrapirroles en la red metabólica OMEN.

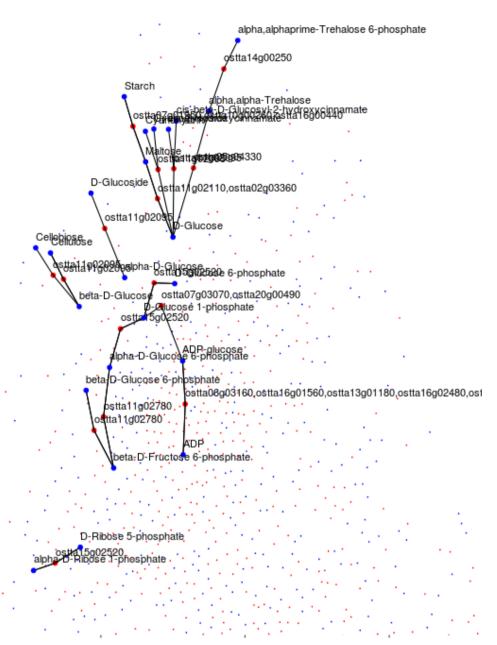


Illustration 2: Representación de la ruta del metabolismo de almidón en la red metabólica OMEN.

Tablas suplementarias: genes no incluidos en KEGG.

Se obtuvieron mediante la alineación de las secuencias proteicas resultantes de los genes de *Chlamydonomas reinhardtii* contra todas las secuencias de proteinas de *Ostreococcus tauri*. Se han representado con el código de colores propuesto por ORCAE para indicar el nivel de similitud entre los candidatos a ser genes homólogos.

| Color code for | ∠E0 | EO 100 | 100 150 | 150 200 | >200 |
|----------------|-----|--------|---------|---------|------|
| score bits | <50 | 50-100 | 100-150 | 150-200 | >200 |

| | | | Chlamydomon as reinhardtii | |
|-----------------|--------------------|---|-------------------------------|--|
| | metabolism-related | | homologs | |
| ALAD | ostta01g02390 | d-aminolevulinic acid dehydratase | Cre02.g091050 | |
| PBGD | ostta05g01230 | porphobilinogen deaminase | Cre16.g663900 | |
| UROS | ostta12g01030 | uroporphyrinogen-III synthase | Cre09.g409100 | |
| UROD1 | ostta12g02460 | uroporphyrinogen-III decarboxylase | Cre11.g467700 | |
| UROD2 | ostta17g00130 | uroporphyrinogen decarboxylase | Cre02.g076300 | |
| UROD3 | ostta01g03390 | uroporphyrinogen decarboxylase | Cre02.g073700 | |
| CPX | ostta03g03160 | coproporphyrinogen III oxidase | Cre02.g085450 | |
| PPX | ostta06g03370 | protoporphyrinogen oxidase | Cre09.g396300 | |
| CHLD | ostta05g04960 | magnesium chelatase subunit D and H | Cre05.g242000 | |
| CHLH1 | ostta05g04960 | magnesium chelatase subunit H | Cre07.g325500 | |
| CHLH2 | ostta05g01030 | magnesium chelatase subunit H | Cre11.g477625 | |
| CHLI1 | ostta02g02390 | magnesium chelatase subunit I | Cre06.g306300 | |
| CHLI2 | ostta01g05690 | magnesium chelatase subunit I | Cre12.g510800 | |
| GUN4 | ostta17g00100 | tetrapyrrole-binding protein | Cre05.g246800 | |
| CHLM | ostta07g02590 | magnesium protoporphyrin O-methyltransferase | Cre12.g498550 | |
| CRD1 | ostta15g02680 | copper response defect 1 protein | Cre07.g346050 | |
| CTH1 | ostta15g02680 | copper target 1 protein | Cre12.g510050 | |
| DVR1 | ostta15g01850 | 3,8-divinyl protochlorophyllide a 8-vinyl reductase | Cre01.g042800 | |
| POR1 | ostta07g01740 | light-dependent protochlorophyllide reductase | Cre01.g015350 | |
| CHLG | ostta08g01100 | chlorophyll synthetase | Cre06.g294750 | |
| CAO1 | ostta12g01390 | chlorophyllide a oxygenase | Cre01.g043350 | |
| FLP | ostta08g02730 | FLU chloroplast precursor, alternative spliced version I-Fl | LFCre10.g460050 | |
| NYC1 | ostta01g02870 | non-yellow coloring | Cre12.g517700 | |
| NOL | ostta01g02870 | short-chain dehydrogenase/reductase; probably chlorophy | | |
| HCAR | ostta07g00390 | Coenzyme F420 hydrogenase/dehydrogenase beta subur | | |
| Chlorophyl | catabolism | , , , , , , | 5.5 <u>—</u> .g55.55 | |
| CHL1 | ostta16g01470 | Chlorophyllase I | Cre03.g148750 | |
| Siroheme b | iosynthesis | | | |
| SUMT1 | ostta14g00340 | S-adenosyl-L-methionine-dependent uroporphyrinogen III methyltran | nsfCre09 d396401 | |
| SIRB | ostta16g01550 | sirohydrochlorin ferrochelatase | Cre04.g214100 | |
| Heme synthesis | | | | |
| HEM15 | ostta11g02670 | ferrochelatase | Cre07.g339750 | |
| HCS | ostta17g01450 | cytochrome c heme lyase | Cre12.g525700; Cre16.g690050 | |
| | | | 5.512.g323700, C1610.g090030 | |
| Heme catabolism | | | | |
| HMOX1 | ostta18g01610 | heme oxygenase | Cre10.g423500 | |
| HMOX2 | ostta18g01610 | heme oxygenase | Cre11.g467753 | |
| PCYA | ostta04g04540 | phycocyanobilin ferredoxin oxidoreductase-like protein | Cre13.g587100 | |
| . 01/1 | 110000 . 90 . 0 10 | prijessjansmin renedomin omdoreddetase inte protein | C1610.9001100 | |

Table 1: Genes no incluidos en KEGG involucrados en la biosíntesis de tetrapirroles.

| PSII core su | | 0550 | Chlamydomonas reinhardtii homologs |
|--------------|--------------------|---|---|
| PSBP1 | ostta14g02630 | OEE2 | Cre12.g550850 |
| PSBPQ | ostta16g01620 | OEE3 | Cre08.g372450 |
| PSBPO | ostta14g00150 | OEE1 | Cre09.g396213 |
| PSBX | ostta15g01520 | X protein, 4.1 kDa photosystem II subunit | Cre02.g082750 |
| PSBR | ostta05g04560 | 10 kDa photosystem II polypeptide | Cre06.g261000 |
| PSBY | Ostta12g00520 | Ycf32-related polyprotein of photosystem II | Cre10.g452100 |
| • | e assembly factors | | |
| _TO1 | ostta10g00200 | CPLD41 | Cre12.g493150 |
| REP27 | ostta11g02260 | | Cre10.g430150 |
| RBD1 | ostta07g04470 | | Cre07.g315150 |
| .HCII subun | | | |
| HCBM1 | ostta11g00990 | LHCII | Cre01.g066917; Cre04.g232104; Cre03.g156900; Cre06.g284200 |
| HCBM2 | ostta14g01180 | LHCII | Cre12.g548400; Cre06.g283950; Cre06.g285250; Cre12.g548950; Cre |
| LHCII assem | ibly factor | _ | |
| ALB3.1 | ostta03g02230 | | Cre06.g251900; Cre17.g729800 |
| PSI subunits | S | | |
| PSAD | ostta15g02670 | PsaD | Cre05.g238332 |
| PSAE | ostta02g03860 | PsaE | Cre10.g420350 |
| PSAF | ostta04g01790 | PsaF | Cre09.g412100 |
| PSAG | ostta05g00800 | PsaG | Cre12.g560950 |
| PSAH | ostta15g00990 | PsaH | Cre07.g330250 |
| PSAK | ostta17g00570 | PsaK | Cre17.g724300 |
| PSAL | ostta02g00580 | PsaL | Cre12.g486300 |
| PSAN | ostta06g00250 | PsaN | Cre02.g082500 |
| PSAO | ostta02g05340 | PsaO | Cre07.g334550 |
| PSI putative | assembly factors | - | - |
| CGL71 | ostta13g01320 | CGL71 | Cre12.g524300 |
| LHCI subuni | its | | - |
| LHCA1 | ostta02g04800 | p22/p22.1 | Cre06.g283050 |
| LHCA2 | ostta03g04920 | p19 | Cre12.g508750 |
| LHCA3 | ostta18g01230 | p14.1 | Cre11.g467573 |
| LHCA4 | ostta02g03330 | p14 | Cre10.g452050; Cre10.g425900; Cre06.g278213 |
| LHCA7 | ostta09g04420 | p15 | Cre16.g687900; Cre06.g272650 |
| LHCA9 | ostta05g03830 | p22.2 | Cre07.g344950 |
| o6f subunits | ; | | · · |
| PETC | ostta01g06610 | | Cre13.g585750 |
| PETM | ostta04g04150 | | Cre12.q546150 |
| PETN | ostta12g00550 | | Cre16.g650100 |
| PETO | ostta04g05020 | | Cre12.g558900 |
| b6f assembl | | | g |
| | 5.ostta06g02600 | | Cre16.g662150 |
| CCB2 | ostta07g04220 | | Cre12.g537850 |
| | 4:ostta08g00450 | | Cre01.g052400 |
| , | 2ostta08g00720 | | Cre08.g382300 |
| CPLD38 | ostta13g01750 | | Cre01.g000850 |
| CCS1 | ostta16g01590 | | Cre13.g575000 |
| CCS2 | ostta01g01220 | | Cre03.g213201 |
| CCS5 | ostta10g03140 | | Cre17.g702150 |
| | ATP synthase | | 5.52. Ig1 VE200 |
| ATPC | ostta09g01080 | l | Cre06.g259900 |
| ATPG | ostta01g00830 | | Cre11.g481450 |
| | ATP synthase assem | bly factors | C1611.9401400 |
| CGL160 | ostta17g00165 | | Cre01.g049600 |
| | | | 0.001.g0-10000 |

Table 2: Genes no incluidos en KEGG involucrados en la fotofosforilación.

Chloroplast division genes

FTSZ1 ostta08g02230 FTSZ2 ostta07g01610 MIND1 ostta02g03880 DRP8 ostta04g04800 ARC6 ostta04g00170

Chlamydomonas reinhardtii homologs

Cre02.g118600 Cre02.g142186 Cre12.g522950 Cre10.g433050 Cre12.g488500

Table 3: Genes no incluidos en KEGG involucrados en la división cloroplastídica.

LHC-like proteins

ELIP1 ostta04g01820 ELIP4 ostta13g02170 ELIP6 ostta12g00250 ELIP8 ostta08g04020 LHCSR ostta05g01780 PSBS ostta06g04600

Chlamydomonas reinhardtii homologs

Cre16.g679250; Cre08.g384650; Cre09.g394325; Cre01.g033071

Cre07.g320400; Cre07.g320450

Cre04.g211850 Cre14.g626750

Cre08.g365900; Cre08.g367500; Cre08.g367400

Cre01.g016600; Cre01.g016750

Table 4: Genes LHC-like no incluidos en KEGG.

| DCII sava suk | | | Chlamadamana winhardtii hamalaga |
|---------------|--------------------|---|---|
| PSII core sub | | 0552 | Chlamydomonas reinhardtii homologs |
| PSBP1 | ostta14g02630 | OEE2 | Cre12.g550850 |
| PSBPQ | ostta16g01620 | OEE3 | Cre08.g372450 |
| PSBPO | ostta14g00150 | OEE1 | Cre09.g396213 |
| PSBX | ostta15g01520 | X protein, 4.1 kDa photosystem II subunit | Cre02.g082750 |
| PSBR | ostta05g04560 | 10 kDa photosystem II polypeptide | Cre06.g261000 |
| PSBY | Ostta12g00520 | Ycf32-related polyprotein of photosystem II | Cre10.g452100 |
| • | assembly factors | | |
| LTO1 | ostta10g00200 | CPLD41 | Cre12.g493150 |
| REP27 | ostta11g02260 | | Cre10.g430150 |
| RBD1 | ostta07g04470 | | Cre07.g315150 |
| LHCII subuni | | | |
| LHCBM1 | _ | LHCII | Cre01.g066917; Cre04.g232104; Cre03.g156900; Cre06.g284200 |
| LHCBM2 | ostta14g01180 | LHCII | Cre12.g548400; Cre06.g283950; Cre06.g285250; Cre12.g548950; Cre06.g284250 |
| LHCII assem | bly factor | | |
| ALB3.1 | ostta03g02230 | | Cre06.g251900; Cre17.g729800 |
| PSI subunits | | | |
| PSAD | ostta15g02670 | PsaD | Cre05.g238332 |
| PSAE | ostta02g03860 | PsaE | Cre10.g420350 |
| PSAF | ostta04g01790 | PsaF | Cre09.g412100 |
| PSAG | ostta05g00800 | PsaG | Cre12.g560950 |
| PSAH | ostta15g00990 | PsaH | Cre07.g330250 |
| PSAK | ostta17g00570 | PsaK | Cre17.g724300 |
| PSAL | ostta02g00580 | PsaL | Cre12.g486300 |
| PSAN | ostta06g00250 | PsaN | Cre02.g082500 |
| PSAO | ostta02g05340 | PsaO PsaO | Cre07.g334550 |
| - | assembly factors | | |
| CGL71 | ostta13g01320 | CGL71 | Cre12.g524300 |
| LHCI subunit | | | |
| LHCA1 | ostta02g04800 | p22/p22.1 | Cre06.g283050 |
| LHCA2 | ostta03g04920 | p19 | Cre12.g508750 |
| LHCA3 | ostta18g01230 | p14.1 | Cre11.g467573 |
| LHCA4 | ostta02g03330 | p14 | Cre10.g452050; Cre10.g425900; Cre06.g278213 |
| LHCA7 | ostta09g04420 | p15 | Cre16.g687900; Cre06.g272650 |
| LHCA9 | ostta05g03830 | p22.2 | Cre07.g344950 |
| b6f subunits | | | |
| PETC | ostta01g06610 | | Cre13.g585750 |
| PETM | ostta04g04150 | | Cre12.g546150 |
| PETN | ostta12g00550 | | Cre16.g650100 |
| PETO | ostta04g05020 | | Cre12.g558900 |
| b6f assembly | ostta06g02600 | I | 2 42 224 |
| CCB1 (CPLD) | ostta07g04220 | | Cre16.g662150 |
| | ostta07g04220 | | Cre12.g537850 |
| ` | ostta08g00720 | | Cre01.g052400 |
| CPLD38 | ostta13g01750 | | Cre08.g382300 |
| CCS1 | ostta16g01590 | | Cre01.g000850 |
| CCS1 | ostta01g01220 | | Cre13.g575000 |
| CCS2 CCS5 | ostta10g03140 | | Cre03.g213201 Cre17.g702150 |
| Chloroplast A | _ | • | CIGIT. BLOCTON |
| ATPC | ostta09g01080 | l | Cre06.g259900 |
| ATPG | ostta01g00830 | | Creu6.g259900 Cre11.g481450 |
| | ATP synthase assem | bly factors | OICII.9TOIT400 |
| CGL160 | ostta17g00165 | | Cre01.g049600 |
| 302100 | 900200 | | 0.002.g0-0000 |