



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA

**“Estudio *In silico* de la proteína fotosintética *PsbO* en la
babosa de mar *Elysia* sp. (Risso, 1818)”**

TRABAJO PRÁCTICO

Previo a la obtención del título de:

Biólogo marino

Autor:

Baidal Aguirre Antonio Emanuel

TUTOR:

Blga. Galarza Tipán Janeth Ph.D.

La Libertad - Ecuador

2021

TRIBUNAL DE GRADO



Firmado electrónicamente por:
**MAYRA MAGALI
CUENCA ZAMBRANO**

Blga., Cuenca Zambrano Mayra, M.Sc.
Decana (e)
Facultad de Ciencias del Mar



Firmado electrónicamente por:
**JIMMY AGUSTIN
VILLON MORENO**

Ing., Villón Moreno Jimmy, M.Sc.
Director (e)
Carrera de Biología Marina



Firmado electrónicamente por:
**ISABEL JANETH
GALARZA TIPAN**

Blga., Galarza Tipán Janeth, Ph.D.
Docente Tutor

Blga., Tomala Solano Dennis, M.Sc.
Docente de Área

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, a Dios dador de vida, a mi madre, y abuela por ser los pilares fundamentales dentro de todo este proceso de formación personal y apoyo en la formación profesional. A la Blga. Cristina Aguaiza, M.Sc. por motivarme a la investigación de las babosas marinas en su aspecto ecológico, a la Blga. Janeth Galarza, Ph.D. por motivarme en los estudios de la biotecnología y llevar el enfoque hacia la bioinformática. Gracias a todos y cada uno de los docentes y compañeros durante el proceso de formación profesional, así mismo al personal administrativo de la Facultad de Ciencias del Mar.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	i
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	iii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. JUSTIFICACIÓN	3
3. OBJETIVOS.....	5
3.1 Objetivo General	5
3.2 Objetivos específicos	5
4. MARCO TEÓRICO.....	6
4.1 Bioinformática y estudios <i>In Silico</i>	6
4.2 Modelados de proteínas por homología	6
4.3 Bases de datos, herramientas en línea y software utilizados en el trabajo.	6
4.4 Fotosíntesis, fotosistema II y proteína PsbO	7
4.5 Estudios moleculares de la fotosíntesis.....	8
4.6 Organismos fotosintéticos.....	9
4.7 Estudio del género <i>Elysia</i> en Ecuador.....	10
5. METODOLOGÍA.....	11
5.1 Obtención de secuencia de la proteína <i>PsbO</i>	11
5.4 Modelamiento por homología de proteína.	12
5.5 Cascada de Señalización.	12
6. Análisis de los resultados	14
6.1 Análisis de la composición de aminoácidos de la proteína <i>PsbO</i> de <i>Elysia</i> y su similitud con <i>PsbO</i> de diferentes especies.....	14
6.2 Modelamiento de la proteína <i>PsbO</i> por homología.	16
6.3 Cascada de señalización.	18
7. Conclusiones.	22
8. Referencias Bibliográficas.....	24
9. Anexos.....	30
Photosystem II extrinsic protein O [<i>Elysia chlorotica</i>]	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Porcentaje de composición de aminoácidos de PsbO	14
Tabla 2 Resultados para las 3 plantillas para PsbO. Método EM = Micrografía electrónica, RX = Rayos X.	17

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Porcentaje de similitud y cobertura de PsbO Autor: Baidal A., 2021	15
Gráfico 2 Resultados del modelamiento de la proteína. Autor: Swiss-Model, 2021....	16
Gráfico 3 Alineamiento de la secuencia de la proteína molde con la plantilla. Autor: Swiss-Model, 2021	17
Gráfico 4 A) Plantillas de la proteína sobrepuestas. B) Plantilla de la estructura del PSII-FCP en <i>Chaetoceros gracilis</i> . C) Estructura de cristal del captador de oxígenos para un alga roja. D) Estructura del C2S2 PSII-FCPII para diatomea. Autor: Baidal A., 2021	18
Gráfico 5 Cascada de señalización de la proteína PsbO en <i>Elysia diomedea</i> . Autor: Baidal A., 2021, Modificado de: Khan Academy (2016); University of Illinois at Urbana-Champaign (s. f.) Creada en: BioRender.com	20
Gráfico 6 1. Ciclo de Joliot-Klok 2. Ciclo de Calvin Autor: Modificado en BioRender..	21
Gráfico 7 Histograma de proteínas encontradas en PsbO de <i>Elysia chlorotica</i>	31

Estudio *in silico* de la proteína fotosintética *PsbO* en la babosa de mar *Elysia* sp. (Risso, 1818)

Autor: Baidal Aguirre Antonio Emanuel
Tutor: Blga. Galarza Tipán Janeth Isabel Ph.D.

RESUMEN.

Los estudios *in silico* son importantes debido a su ayuda en el modelamiento de procesos biológicos e interacción de moléculas funcionales, convirtiéndose en una extensión de la experimentación *in vitro* e *in vivo*. Los estudios de procesos celulares *in silico* y modelamientos por homología de proteínas son escasos en el país, ocasionando déficit de conocimiento en la composición de los sistemas biológicos, riqueza de genes y proteínas presentes en especies con un bajo nivel de exhibición, como *Elysia*, los cuales obtienen genes que codifican proteínas fotosintéticas desde macroalgas, como *PsbO*. Para este estudio se obtuvo la secuencia de aminoácidos de *PsbO* en *Elysia* desde el GenBank, la similitud de la misma por medio de la herramienta BLAST. Se descargó la secuencia de *PsbO* en *Elysia* y se procedió al análisis de aminoácidos en BioEdit, en el servidor de Swiss-Model se consiguió el diseño 3D por medio del modelamiento por homología el cual indicó un índice QMEAN -2.31 y un índice global de modelamiento de 0.58. Por último, se realizó la cascada de señalización hipotética en la herramienta BioRender, indicándonos que la proteína se encuentra conservada en los organismos fotosintéticos y su activación es similar en estos.

Palabras claves: *Fotosíntesis, Elysia, PsbO, Técnicas moleculares in silico, Swiss-model.*

1. INTRODUCCIÓN.

Los modelamientos *in silico*, se desarrollan a través de herramientas informáticas para conocer procesos fisiológicos o farmacológicos, convirtiéndose en una extensión de la experimentación *in vitro* e *in vivo*; disminuyendo costos gracias a su aumento exponencial en investigaciones (Colquitt, Colquhoun y Thiele, 2011). La bioinformática ayuda a la identificación de genes y proteínas a través de herramientas versátiles, manejando regiones de secuencias de ADN o ARN ya conocidas, permitiendo diseñar y probar modelos *in silico* con un alto nivel de confianza (Jiménez y Chaparro-Giraldo, 2016). Así mismo, estos modelamientos permiten realizar simulaciones para entender la estructura atómica de proteínas basándose en estructuras ya conocidas de la misma familia y sus mecanismos de función celular, gracias a bases de datos arregladas según algoritmos (Contreras Moreira, 2011; Pérez Rodríguez, 2018).

La fotosíntesis es uno de los procesos más antiguos en el planeta, se desarrolla de forma simple para obtener energía química a través de la solar. Los organismos fotoautótrofos capturan la energía lumínica, que junto al dióxido de carbono y el agua son utilizados en la síntesis de carbohidratos y otras moléculas orgánicas para almacenar energía (Karp, Iwasa, y Marshall, 2015). Debido a esta propiedad, los organismos fotoautótrofos elaboran su propio alimento, conformando la base de la red trófica y son esenciales para el flujo de energía dentro de la misma (Jaime y Hernández Almaraz, 2018). En este proceso se emplean dos fotosistemas (PS): fotosistema I (PSI) y II (PSII) (Markwell, Namuth, y Hernández-Rios, 2019). El fotosistema II se encuentra en la membrana tilacoidal realizando el proceso de oxidación del agua, dentro de él se encuentran varias proteínas formando subunidades periféricas que abarcan la membrana tal es el caso de las *PsbA*, *PsbB*, *PsbO*, entre otras. (Adamiec, Misztal, Kosicka, Paluch-Lubawa, & Luciński, 2018; Sasi, Venkatesh, Daneshi, & Gururani, 2018; Yamada et al., 2018; Pi et al., 2019). Siendo el gen *PsbO* codificador de la proteína del mismo nombre importante en el estudio molecular del PSII de algas, cianobacterias y plantas superiores, gracias a su tamaño (aproximadamente 33kDa) e importancia en funciones como: mantener el grupo de evolución del oxígeno OEE, estabilizar al complejo de iones manganeso y conformar el esqueleto polipeptídico (Balsera, 2004; UniProtKB, 2018).

Para entender la fotosíntesis es preciso emplear estudios que consideren las estructuras y funciones de sistemas celulares en la síntesis de ADN, ARN y proteínas, usando varias técnicas que se pueden combinar con métodos y conceptos usados en genética y bioquímica (Cambra, 2019). En el caso de estudios moleculares sobre la fotosíntesis se han utilizado varias técnicas *in silico* o realizadas en computadoras, que han permitido entender como los dos centros de reacciones de luz y fotosistemas están conectados para el transporte de electrones (Stirbet et al., 2019).

Por otro lado, la fotosíntesis se produce en microalgas, macroalgas y plantas superiores; sin embargo, la documentación científica demuestra que las babosas de mar del superorden Sacoglossa obtienen genes fotosintéticos a través de transmisión horizontal desde los plástidos de macroalgas y los incorporan en su sistema digestivo, proceso conocido como cleptoplastia o mantenimiento funcional de plástidos (Cartaxana et al., 2019). Esta característica única de realizar fotosíntesis en un organismo heterótrofo ha conducido a que las babosas Sacoglossas del género *Elysia* se conviertan en un punto de atracción para la investigación sobre la cleptoplastia (Guzman, 2016; Rauch et al., 2017; de Vries et al., 2015).

En Ecuador se ha venido estudiando a las babosas del género *Elysia* desde el 2012, mediante experimentos en cautiverio, inanición o sin alimento, tomando en cuenta su comportamiento, supervivencia, distribución, abundancia, desarrollo embrionario e identificación por medio del gen 18S (Chavez Viteri, 2012; Moreano Arroba, 2019; Reyes, 2014). Sin embargo, en el país se observa que no existen estudios donde se involucren a los genes o proteínas fotosintéticas obtenidos por *Elysia* sp. (Género reportado para Ecuador). Siendo necesario iniciar estudios a nivel molecular de estos genes y sus proteínas, por lo cual se propone la presente tesina con el objetivo de analizar la proteína fotosintética *PsbO* en la babosa de mar *Elysia* sp., aplicando técnicas moleculares *in silico* que conlleven a demostrar su presencia en este organismo heterótrofo.

2. JUSTIFICACIÓN

Los estudios moleculares basados en modelamientos *in silico*, son poco empleados en el país, lo cual ocasiona pérdida de tiempo y reactivos, equivalente a un mayor gasto económico al momento de aplicar un estudio directamente en el laboratorio sin tener conocimiento previo de los procesos celulares. Tal es el caso de los estudios enfocados a especies con un bajo nivel de exhibición, pero, alto nivel de distribución dentro de la zona intermareal rocosa costera como lo es *Elysia* sp., siendo transcendental su estudio a nivel molecular por la riqueza de genes de importancia ecológica y su interacción a nivel molecular en los procesos de fotosíntesis gracias a los plástidos obtenidos a través de su alimentación.

En las últimas décadas, la comunidad científica ha demostrado la presencia de organismos heterótrofos que realizan fotosíntesis, entre estos se encuentran a las babosas marinas del género *Elysia* que a través de la transferencia horizontal de genes obtiene plástidos desde algas e integran en su genoma genes que a su vez codifican proteínas fotosintéticas, por lo que se considera necesario el estudio a nivel molecular de proteínas altamente estudiadas involucradas en la fotosíntesis de organismos fotoautótrofos como la *PsbO* que, también se encuentra en las babosas de mar del género *Elysia*.

Para el presente estudio, se consideró a estas babosas de mar *Elysia* sp., por ser un género que presenta características fotosintéticas, especie que se encuentra distribuida en zonas costeras rocosas del país. Los genes y proteínas involucradas en la fotosíntesis que ameritan ser estudiados son varios, sin embargo, se seleccionó la proteína *PsbO* por estudios moleculares previos dentro del genoma del género *Elysia*, por ser el de mayor tamaño dentro del fotosistema II y también por ser la encargada de disociar las moléculas de agua para generar oxígeno molecular. Además, es el mejor conservado dentro de la familia de los genes *PsbO* con un 40% de similitud en sus nucleótidos, encontrándose en la mayoría de los organismos fotosintéticos (algas y plantas superiores) sin importar la relación filogenética que existan entre ellos.

Por medio de la bioinformática se puede llegar a entender como la proteína *PsbO* interactúa con otras fotosintéticas, además de determinar su funcionamiento dentro de *Elysia* sp. a través de la cascada de señalización, verificar su similitud con otras proteínas fotosintéticas de la misma familia y de su posterior diseño virtual; enriqueciendo el conocimiento de esta proteína importante biológica y ecológicamente. El estudio de esta proteína se realizará por medio de técnicas moleculares *in silico*, usando programas y herramientas bioinformáticas para simular su estructura y el proceso biológico en el que intervienen.

3. OBJETIVOS.

3.1 Objetivo General

Caracterizar la proteína fotosintética *PsbO* de la babosa de mar *Elysia* sp., aplicando técnicas moleculares *in silico* para demostrar su presencia y activación en este organismo heterótrofo.

3.2 Objetivos específicos

- Obtener la secuencia de la proteína *PsbO* presente en *Elysia* sp., mediante la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica NCBI para analizar su composición y similitud de aminoácidos.
- Realizar un modelamiento de la proteína *PsbO* por homología, con el software Swiss-Model mediante una proteína molde para evaluar el grado de similitud funcional.
- Interpretar la activación de la proteína fotosintética *PsbO* en *Elysia* sp., y su función en el proceso de la fotosíntesis mediante una cascada de señalización.

4. MARCO TEÓRICO.

4.1 Bioinformática y estudios *In Silico*

La bioinformática involucra varias disciplinas como la genética, biología molecular, estadística, matemática e informática; resolviendo problemas con un gran espectro de datos. Ayuda al análisis de secuencias de ADN, ARN y proteínas en busca de pistas sobre su función, subproblemas como identificación de homólogos, alineación de secuencias múltiples, secuencia de búsqueda patrones, análisis evolutivos, procesos fisiológicos y farmacológicos convirtiéndose en una extensión lógica de la experimentación controlada *in vitro*, y proporcionando ventajas a la experimentación *in vitro* e *in vivo* (Can, 2014; Colquitt et al., 2011). Un ejemplo de esto es el manejo de regiones de ADN o ARN conocidas, que permiten diseñar y probar con un alto nivel de confianza los modelos *in silico* (Jiménez y Chaparro, 2016).

4.2 Modelados de proteínas por homología

Es un enfoque computacional para generar estructuras tridimensionales a partir de técnicas predictivas en la cual se puede obtener una aproximación de la estructura atómica de una cadena polipeptídica, basándose en coordenadas atómicas de estructuras conocidas de proteínas relacionadas llamadas plantillas (Contreras-Moreira, 2011). Tomando en consideración que la secuencia de la proteína molde tiene que tener un porcentaje de identidad mayor al 30% de la plantilla, lo que se obtiene mediante la alineación de secuencias; también se deben considerar los modelos que provengan de cristalización con rayos X > 2.2Å ya que proveen de resultados con una mayor confiabilidad (Arnold et al., 2006; Bitencourt-Ferreira y de Azevedo, 2019)

4.3 Bases de datos, herramientas en línea y software utilizados en el trabajo.

La base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica, NCBI (siglas en inglés), fue creada para ayudar a la biología molecular moderna con

el fin de comprender el lenguaje de la naturaleza de las células, del cual de un alfabeto de solo cuatro letras del ADN surge una sintaxis de procesos vitales, siendo así que el volumen de datos moleculares y sus patrones han llevado a desarrollar herramientas de análisis y bases de datos computarizadas (U.S. National Library of Medicine, s.f.).

Dentro de esta base de datos se encuentran herramientas como el Basic Local Alignment Search Tool o BLAST por sus siglas en inglés; ésta busca regiones de similitud y las alinea, donde compara secuencias de nucleótidos o proteínas dentro de una base de datos calculando las coincidencias a través de una significancia estadística. Así mismo ayuda a inferir relaciones evolutivas y funcionales entre secuencias e identificar miembros de familia de genes (Camacho et al., 2009; Rédei, 2008). Esta herramienta es usada también por el software BioEdit que edita el alineamiento de las secuencias, así mismo este software permite conocer el tamaño de la proteína, su composición de una manera específica (Lai et al., 2020). La misma función desempeña en el servidor de Swiss-Model, siendo una de las bases para el modelado por homología de proteínas el cual consta de cuatro pasos: 1) identificación de plantillas estructurales, 2) alineación de la secuencia molde y la base, 3) construcción de modelo y 4) evaluación de la calidad del modelo (Arnold et al., 2006; Steinegger et al., 2019; Swiss Model, s.f.).

4.4 Fotosíntesis, fotosistema II y proteína PsbO

La fotosíntesis es uno de los procesos más antiguos e importantes para el planeta, en este se fabrican moléculas orgánicas que se utilizan como fuente de energía. Durante este proceso las células usan el dióxido de carbono y la energía solar para producir moléculas de oxígeno y azúcar, siendo estas la base de otras más complejas como la glucosa. A su vez, estas a través de procesos de respiración utilizan el oxígeno y la glucosa para producir adenosín trifosfato (ATP), y dióxido de carbono como desecho, impulsando así el ciclo del carbono y creando el oxígeno necesario para la respiración de otros organismos (Karp et al., 2015; Laurie Brenner, 2018; Soll y Schleiff, 2004).

Debido a esta propiedad, los organismos fotoautótrofos elaboran su propio alimento, conformando la base de la red trófica siendo esenciales para el flujo de energía dentro de la misma (Jaime y Hernández Almaraz, 2018). Gracias a la evolución, estos organismos fotoautótrofos pueden utilizar los electrones del agua y transferirlos al nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, NADPH. Sin embargo, un solo fotón no contiene energía suficiente para llevar al electrón al nivel de energía requerido en una sola etapa, por lo cual en este proceso se emplean dos fotosistemas (PS): fotosistema I (PSI) y II (PSII), cada uno conformado por un conjunto de pigmentos antena y un centro de reacción denominados P-680 y P-700 (Markwell et al., 2019). El fotosistema II se encuentra en la membrana tilacoidal realizando el proceso de oxidación del agua; dentro de él se encuentran varias proteínas formando subunidades periféricas que abarcan la membrana tal es el caso de las *PsbA*, *PsbB*, *PsbO*, entre otras. Proteínas tales como: *PsbO*, *PsbP*, *PsbQ*, *PsbR*, *PsbU* y *PsbV* se encuentran ubicadas en el lado luminal del núcleo de PSII, a estas se las conoce como proteínas extrínsecas y se unen a las subunidades del PSII (Adamiec, Misztal, Kosicka, Paluch-Lubawa, y Luciński, 2018; Sasi, Venkatesh, Daneshi, y Gururani, 2018; Yamada et al., 2018; Pi et al., 2019).

La proteína *PsbO* es también conocida como OEE1 u OEC33 debido a su función molecular, la cual es activar o potenciar la evolución del oxígeno, MSP o estabilizador del complejo manganeso, posee una masa molecular teórica de 26.5 KDA. Esta proteína actúa en el proceso biológico de montaje y estabilización del fotosistema II y gracias a la homología de proteínas de la familia *PsbO* en diferentes organismos oxi-fotosintéticos (>40%) es muy probable que estructuralmente sea similar en diferentes PSII (Balsera, 2004; UniProtKB, 2018).

4.5 Estudios moleculares de la fotosíntesis.

Para estudios moleculares en la fotosíntesis se han utilizado varias técnicas *in silico* o realizadas en computadoras, proporcionando modelos matemáticos de la cinética del excitón y la captura en un sistema fotosintético, transición de estado o adaptación de luz permitiendo entender el equilibrio y como los dos

centros de reacciones de luz y los complejos proteicos situados en membranas de organismos autótrofos donde se agrupan los pigmentos fotosintéticos (fotosistemas) están conectados para el transporte de electrones (Stirbet et al., 2019). Permitiendo conocer como esta proteína se activa y así poder diseñar una cascada de señalización.

4.6 Organismos fotosintéticos.

La fotosíntesis se produce en microalgas, macroalgas y plantas superiores; sin embargo, la documentación científica demuestra que las babosas de mar del superorden Sacoglossa obtienen genes fotosintéticos desde los plástidos de macroalgas y los incorporan en su sistema digestivo; este proceso es conocido como cleptoplastia o mantenimiento funcional de plástidos (Cartaxana et al., 2019). Esta característica única de realizar fotosíntesis en un organismo heterótrofo ha conducido a que las babosas Sacoglossas del género *Elysia* se conviertan en un punto de atracción para la investigación sobre la cleptoplastia (Guzman 2016; Rauch et al. 2017; de Vries et al. 2015).

Está demostrado que los genes involucrados en la fotosíntesis de las babosas marinas pueden mantenerse funcionales hasta aproximadamente un año en algunas especies, y en otras se pierden a las dos semanas de haberlos ingeridos (Cruz et al., 2015). Por ejemplo, en las babosas *E. trisinuata*, *E. atroviridis* y *Thuridilla* sp. el tiempo de retención es de pocos días mientras que en *E. viridis*, *E. timida*, *E. crispata* y *Costasiella ocellifera* es de algunas semanas o pocos meses, siendo *Plakobranthus ocellatus* y *E. chlorotica* las especies reportadas con mayor duración (hasta aproximadamente 9 meses) y funcionalidad de cloroplastos (Cruz et al. 2015), indicando dentro de sus estudios que el tiempo de funcionalidad de los plástidos puede variar dependiendo de su robustez, mecanismos físicos y moleculares aún no estudiado. Dentro de las especies mencionadas se ha estudiado el genoma de *E. chlorotica* para determinar si existe una transferencia horizontal de genes (HTG) desde el alimento (macroalga) hacia el molusco, siendo así los genes fotosintéticos *PRK* (fosfororibuloquinasa) y *PsbO*, los más estudiados (Rumpho et al. 2008; Schwartz, Curtis, y Pierce 2014), sumándoseles a estos estudios los de la

interacción entre la babosa y sus plástidos secuestrados (Rauch et al. 2017; Van Steenkiste et al. 2019; Wägele, Museum, y Koenig 2016). La aplicación de las técnicas moleculares también se evidencian en la identificación de especies de babosas (Medrano et al., 2019; Oladi et al., 2018), filogenia y genética de poblaciones (Richling et al., 2017; Saito et al., 2018).

4.7 Estudio del género *Elysia* en Ecuador.

Los estudios del género *Elysia* en el país se han enfocado principalmente en la especie *Elysia diomedea* obteniendo su identificación molecular, distribución, comportamiento, abundancia y desarrollo embrionario. Tesis realizadas demuestran que es capaz de vivir sin alimentarse hasta ocho semanas (Chavez Viteri, 2012); se encuentra distribuida de norte a sur en la zona costera, incluyendo Galapagos, siendo una de las especies de mayor abundancia para las zonas rocosas de Santa Elena, específicamente en Ayangue y La Entrada, considerándose como especie permanente para ambos lugares (Reyes, 2014). Moreano (2019) indica que por medio de identificación con el gen mitocondrial 16S se logró identificar a tres poblaciones ubicadas en diferentes localidades (Playa de Ballenita, Cabuya y Mompiche) como pertenecientes a la especie *Elysia diomedea*.

5. METODOLOGÍA.

La investigación realizada en este estudio fue de carácter formativo, teórico y aplicable pues contextualiza un entorno real entre la teoría y la práctica a través de procesos llevados a cabo en herramientas informáticas (*in silico*), los cuales pueden ser aplicados y comprobados en el laboratorio (*in vitro*). Los procesos bioinformáticos se llevaron a cabo en una Laptop Dell con procesador Intel Core i5 7ma generación. Se descargó e instaló el programa BioEdit desde el navegador Google Chrome. En este último se ingresó a la página web del Centro Nacional de Información Biotecnológica y realizó la obtención y el alineamiento de secuencia. Luego, en la página de Swiss-model el modelamiento por homología de la proteína.

5.1 Obtención de secuencia de la proteína *PsbO*.

Se seleccionó desde la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (National Center for Biotechnology Information) o NCBI, la secuencia correspondiente para el género *Elysia* con código de acceso No. ACF22980 (Anón, 2019).

5.2 Análisis de la composición de aminoácidos.

Se descargó la secuencia No. ACF22980 en formato FASTA y se analizó en el programa BioEdit, donde se obtuvo el peso molecular de la proteína, composición de aminoácidos y su clasificación.

5.3.- Alineamiento de secuencias de la proteína *PsbO* presente en *Elysia* sp. y organismos fotoautótrofos.

A través de la herramienta BLAST se obtuvieron secuencias con los códigos de acceso No. ABF5967.2 (*Vaucheria litorea*), BAJ61701.1 (*Botrydium granulatum*), AAN11311.1 (*Heterosigma akashiwo*), TFJ80937.1 (*Nannochloropsis salina*), CBN78902.1 (*Ectocarpus siliculosus*), XP_002291225.1 (*Thalassiosira pseudonana*), BAG85210.1 (*Chaetoceros gracilis*), BAJ61709.1 (*Chroomonas caudata*), OAE30235.1 (*Marchantia polymorpha* subsp. *Ruderalis*) y XP_001422458.1 (*Ostreococcus lucimarinus*), estas fueron seleccionadas por su similitud y porcentajes de alineación de aminoácidos (Rédei, 2008).

5.4 Modelamiento por homología de proteína.

El modelo por homología se obtuvo desde el servidor SWISS-MODEL con su modo automatizado en el cual se colocó el código de acceso de la proteína y se buscaron plantillas con alta similitud (Arnold et al., 2006). Las plantillas fueron identificadas por medio de BLAST 2.2.31 y HHblits 2.0.16, se clasificaron de acuerdo a la calidad de los modelos resultantes (Camacho et al., 2009; Steinegger et al., 2019). Se escogieron modelos de estructuras determinadas por cristalografía de rayos X con una resolución mayor a 2.2 Å, en el mismo servidor se evaluaron los parámetros obtenidos como la identidad de la secuencia molde con la problema, calidad global y local estimada obteniendo así la estructura 3D y comprender la funcionalidad de nuestra secuencia problema (Guex, Diemand, y Peitsch, 2002).

5.5 Cascada de Señalización.

Para demostrar la activación y función de la proteína se realizó en la aplicación en línea BioRender una cascada de señalización en la cual se observan las interacciones de numerosas proteínas que ganan y/o pierden su actividad biológica mediante diversas modificaciones tales como fosforilación, desfosforilación y translocación intracelular, a partir de las siguientes publicaciones: Un mapa de fosforilación del complejo C2S2M2 del fotosistema II (Puthiyaveetil y Kirchhoff, 2013), Un mapa filogenético estructural para la fotosíntesis de cloroplasto (Allen et al., 2011), Análisis de la estructura de la proteína *PsbO* y sus implicaciones (De Las Rivas y Barber, 2004), Evidencia transcriptómica de que la longevidad de los plástidos adquiridos en las babosas fotosintéticas *E. timida* y *Plakobanchus ocellatus* no implica la transferencia lateral de genes nucleares de algas (Wägele et al., 2011), Un borrador del ensamblaje del genoma de la babosa marina *E chlorotica* con energía solar (Cai et al., 2019), y El comportamiento y un ciclo funcional de xantofilas mejoran los mecanismos de foto regulación en la babosa marina *Elysia timida*, alimentada por energía solar (Jesus, Ventura, y Calado, 2010).

La activación del gen que codifica la proteína se da luego que el fotón de luz (P680) excite al complejo captador de luz LHC II ocurriendo el ciclo de Joliot-Kok en el cual por la absorción de los fotones de luz se genera oxígeno y se extrae

electrones del agua; y la fosforilación del fotosistema II en el cual la proteína *PsbO* oxida al complejo de manganeso y disocia la molécula de agua, generando oxígeno; al finalizar este proceso el fotosistema II es fosforilado, acción en la cual se disocian los super complejos y son reordenados gracias a la proteína *PsbO*.

6. Análisis de los resultados

6.1 Análisis de la composición de aminoácidos de la proteína *PsbO* de *Elysia* y su similitud con *PsbO* de diferentes especies.

La secuencia seleccionada para el modelamiento corresponde al código de acceso No. ACF22980, la misma consta de 320 aminoácidos de los cuales el 37.5% son hidrófilos, 40% hidrófobos, 11.25% ácidos y 11.25% básicos, siendo los aminoácidos glicina (11.25%) de mayor frecuencia en la proteína seguido por treonina (8.75%) y lisina (8.13%) (Tabla 1) (Grafico 7). Su peso molecular de 34080,96 Daltons, con porcentaje molecular de aminoácidos.

Tabla 1 Porcentaje de composición de aminoácidos de *PsbO*

Clasificación	Aminoácido	Numero	% molecular
Polares o hidrófilos	Cisteína	Cys C 2	0.63%
Polares o hidrófilos	Glicina	Gly G 36	11.25%
Polares o hidrófilos	Asparagina	Asn N 12	3.75%
Polares o hidrófilos	Glutamina	Gln Q 10	3.13%
Polares o hidrófilos	Serina	Ser S 24	7.50%
Polares o hidrófilos	Treonina	Thr T 28	8.75%
Polares o hidrófilos, aromático	Tirosina	Tyr Y 8	2.50%
Apolares o hidrófobos	Alanina	Ala A 23	7.19%
Apolares o hidrófobos, aromático	Fenilalanina	Phe F 17	5.31%
Apolares o hidrófobos	Isoleucina	Ile I 17	5.31%
Apolares o hidrófobos	Leucina	Leu L 25	7.81%
Apolares o hidrófobos	Metionina	Met M 6	1.88%
Apolares o hidrófobos	Prolina	Pro P 16	5.00%
Apolares o hidrófobos	Valina	Val V 24	7.50%
Apolares o hidrófobos, aromático	Triptófano	Trp W 0	0.00%
Ácidos	Ácido aspártico	Asp D 16	5.00%
Ácidos	Ácido glutámico	Glu E 20	6.25%
Básicos	Histidina	His H 0	0.00%
Básicos	Lisina	Lys K 26	8.13%
Básicos	Arginina	Arg R 10	3.13%

Autor: Baidal A. 2021

Se observa en el gráfico 1 que la similitud y el porcentaje de cobertura de la proteína *PsbO* de *Elysia chlorotica* con el alga *Vaucheria litorea*, es el más alto, esto debido a que de esta obtienen los plástidos mediante transferencia horizontal de genes a través de la alimentación, como lo indican Rumpho et al., 2008 en el cual se encuentra una secuencia idéntica entre los genomas del depredador y la presa; sin embargo, vemos como el porcentaje de cobertura varía con el de otras especies de macro y microalgas, siendo mayor al 50% de cobertura en la cadena de aminoácidos. En el caso del porcentaje de similitud este varía hasta menos del 50% pero se mantiene dentro de estas diferentes especies fotoautótrofas, demostrando que la funcionalidad de las proteínas codificadas serán similares, según Balsera, 2004 *PsbO* en organismos oxifotosintéticos posee una gran homología (>40%) haciendo probable que el núcleo estructural sea similar en diferentes PSII, sin embargo, la proteína se encuentran en especies filogenéticamente separadas.

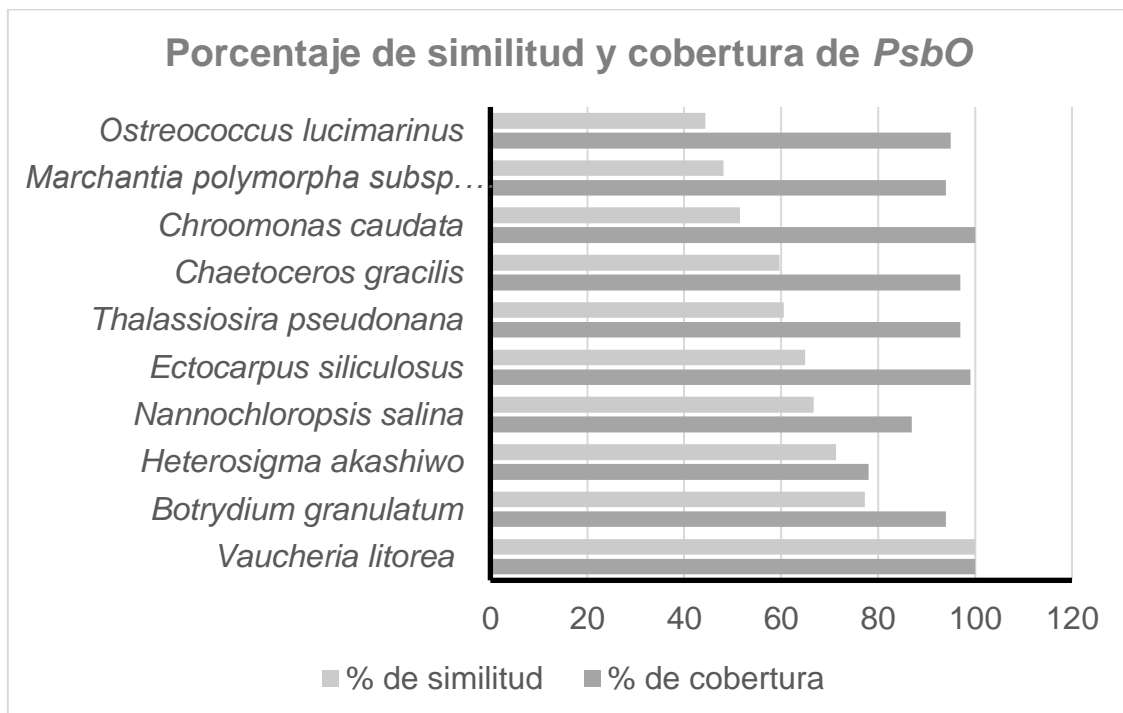


Gráfico 1 Porcentaje de similitud y cobertura de *PsbO*
Autor: Baidal A., 2021

6.2 Modelamiento de la proteína *PsbO* por homología.

Se escogió el modelo de la estructura oxígeno envolvente del fotosistema II para un alga roja, por haber sido cristalizada con métodos de rayos-X, resolución de 2.77 Å, GMQE de 0.57 y QMEAN de -2.31 todos estos parámetros dentro de los rangos aceptables como se muestra en el gráfico 2, sin embargo, la estimación de calidad de estructura cuaternaria es de 0 ya que no es posible la construcción de un oligómero, debido a que esta es una subunidad.

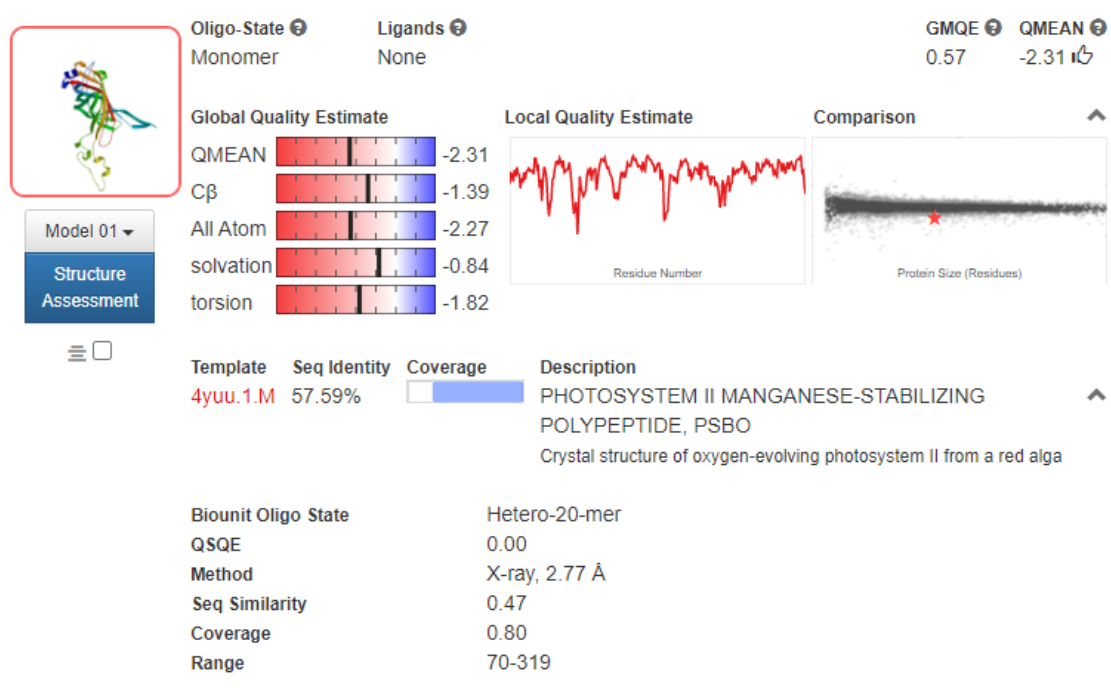


Gráfico 2 Resultados del modelamiento de la proteína.

Autor: Swiss-Model, 2021.

El alineamiento de la secuencia molde con respecto a la plantilla cubre el 77% de los aminoácidos, alineándose desde el aminoácido 71 al 318, se observan sustituciones de aminoácidos dentro de este rango lo que nos da una similitud del molde con la plantilla de 57%, Contreras-Moreira, 2011 indica que 40% de similitud es el valor límite para construir un modelo general, sin embargo es muy útil para realizarlo, se deben considerar los sistemas de evaluación de cada herramienta de modelación, como se ha realizado en este estudio tomando varios de los factores de evaluación para obtener un modelo de calidad en base a su plantilla molde (Gráfico 3).

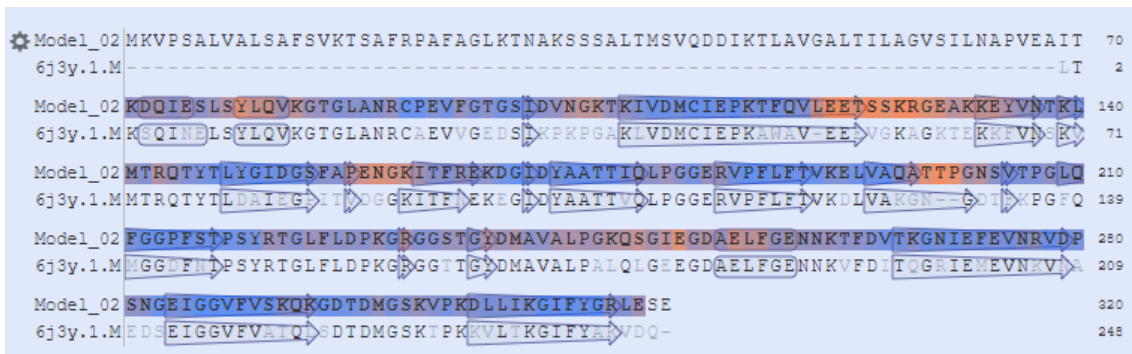


Gráfico 3 Alineamiento de la secuencia de la proteína molde con la plantilla.
Autor: Swiss-Model, 2021

Con el programa Swiss-model se encontraron 28 plantillas, de estas se seleccionaron 6 con un índice de QMEAN mayor a -3.32; 2 plantillas determinadas por micrografía electrónica y 4 por cristalografía de rayos X con resoluciones de 2.4 a 5.7 Å, la identidad de las secuencias moldes con porcentajes de identidad del 44.67% al 67.47%, cobertura del 76% al 82%; estimación de la calidad del modelo local (QMQE) de 0.5 a 0.59 y el estimado de propiedades geométricas del -3.32 a -2.31 (Tabla 2).

Tabla 2 Resultados para las 3 plantillas para PsbO. Método EM = Micrografía electrónica, RX = Rayos X.

Descripción del molde	% cobertura	% similitud	GMQE	QMEAN	Método
Estructura del PII en <i>Chaetoceros gracilis</i>	78	50	0.59	-2.31	EM
Estructura de cristal del captador de oxígeno en un alga roja	80	47	0.57	-2.31	R-X
Estructura C2S2 PSII-FCPII en diatomea	77	50	0.58	-2.46	EM

Autor: Baidal A., 2021

Se puede observar en el gráfico 4 que las proteínas de la familia *PsbO* indiferente de las especies de las que provienen, el modelado de estas plantillas son 80% idénticas y se solapan tanto en las hélices α , láminas β y giros Ω , demostrando así que su estructura se mantiene dentro de diferentes especies llegando a cumplir la función específica de estabilizar el ion manganeso y disociar las moléculas de agua.

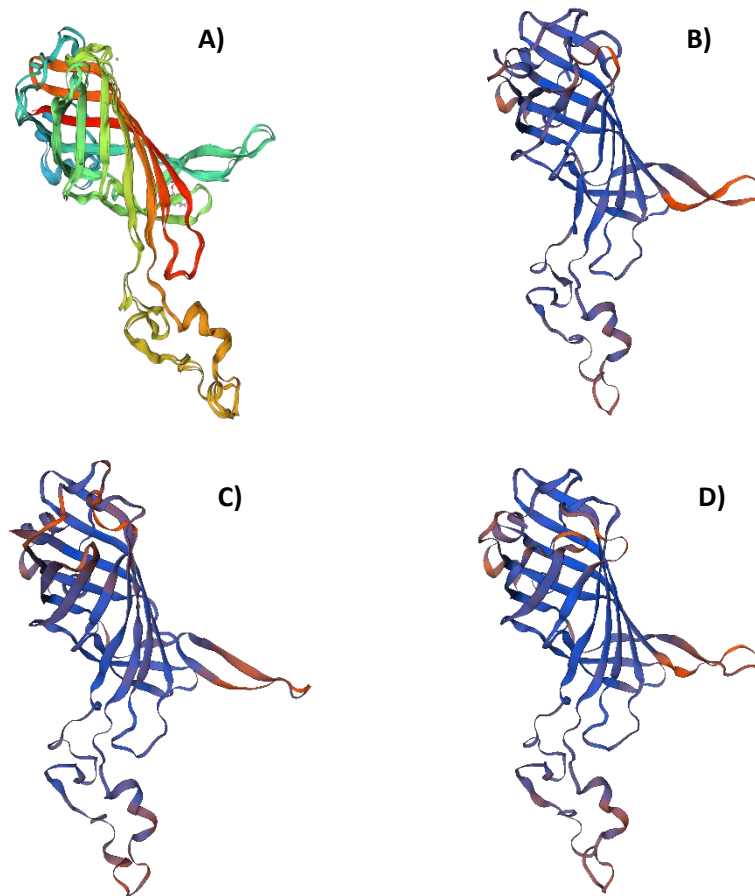


Gráfico 4 A) Plantillas de la proteína sobrepuestas. B) Plantilla de la estructura del PSII-FCP en *Chaetoceros gracilis*. C) Estructura de cristal del captador de oxígenos para un alga roja. D) Estructura del C2S2 PSII-FCPII para diatomea.
Autor: Baidal A., 2021

6.3 Cascada de señalización.

Obtenido el modelamiento por homología de la proteína *PsbO*, ayuda a la comprensión de la activación y funcionamiento de la misma, siguiendo los patrones de la fotosíntesis normal, Wei et al., 2016 en su estudio con espinacas mediante ensamblaje estructural de alta resolución con microscopía crioelectrónica de una sola partícula, presenta al supercomplejo del PSII-LHCII menciona que las subunidades extrínsecas como *PsbO* son esenciales para proteger los complejos manganésos así mismo esta hipótesis se corrobora en otros estudios realizados por Sasi et al., 2018 & Yamada et al., 2018. Se tiene que el rayo de luz con un fotón de 680 nm es el encargado de iniciar este proceso, en el cual se activan los captadores de luz o Lhcb, los mismos que

desencadenan el ciclo de Joliot-Kok que consta de 5 estados desde el S_0 al S_4 en el cual 2 moléculas de agua son utilizadas libre 2 hidrógenos, luego los 2O junto a un H se unen a un manganeso cada una dejando libre H, un e^+ que carga a P680 y e^- dando paso a S_1 de la cual se obtiene un e^+ que carga a P680 y e^- activando al estado S_2 ocurriendo el mismo proceso. Sin embargo en este se desprende la molécula de hidrogeno y cada manganeso se une al oxigeno por medio de enlaces dobles activando sucesivamente los estados S_3 y S_4 , este último no desprende e^+ y libera O_2 ; así mismo el fotón 680 excita y fosforila al PSII, durante este proceso PsbO se encarga de oxidar el grupo manganeso y disociar el agua para formar $\frac{1}{2}$ molécula de oxígeno; a su vez se encarga de disociar al super complejo de proteínas PSII para reparar las partes degradadas por la fosforilación; donando electrones al fotón 680 pasa a 700 y activa al fotosistema I, dando origen al Ciclo de Calvin, donde se fija una molécula de CO_2 , dando como resultado dos moléculas de 3-fosfoglicerato, luego el mismo es fosforilado por la enzima ATP sintetasa, resultando 1,3-difosfoglicerato, posteriormente ocurre la etapa de reducción en el cual el 1,3-difosfoglicerato es reducido en un transporte de iones, resultando 2 Gliceraldehido-3-fosfato, en donde al final de 6 ciclos se produce 12 Gliceraldehido-3-fosfato de los cuales dos son usados para conformar una azúcar y grupos de fosfatos inorgánicos (Pi), mientras que los otros 10 Gliceraldehido-3-fosfato son reincorporados en la etapa de regeneración del Ciclo, con varios productos intermedios que son incorporados en el estroma, después de la liberación del tilacoides, productos como ATP sintetasa y NADH que actúa como transportador de adenosintrifosfato, por otra parte el fosforo inorgánico es transportado desde el estroma hasta el ribosoma 70s por medio de NADHs, en donde el grupo el grupo fosfato servirá de sustrato para la activación del promotor de complejo de ARN para la traducción y síntesis de las proteínas y complejos enzimáticos que se encuentran inmersos en el proceso (Grafico 5).

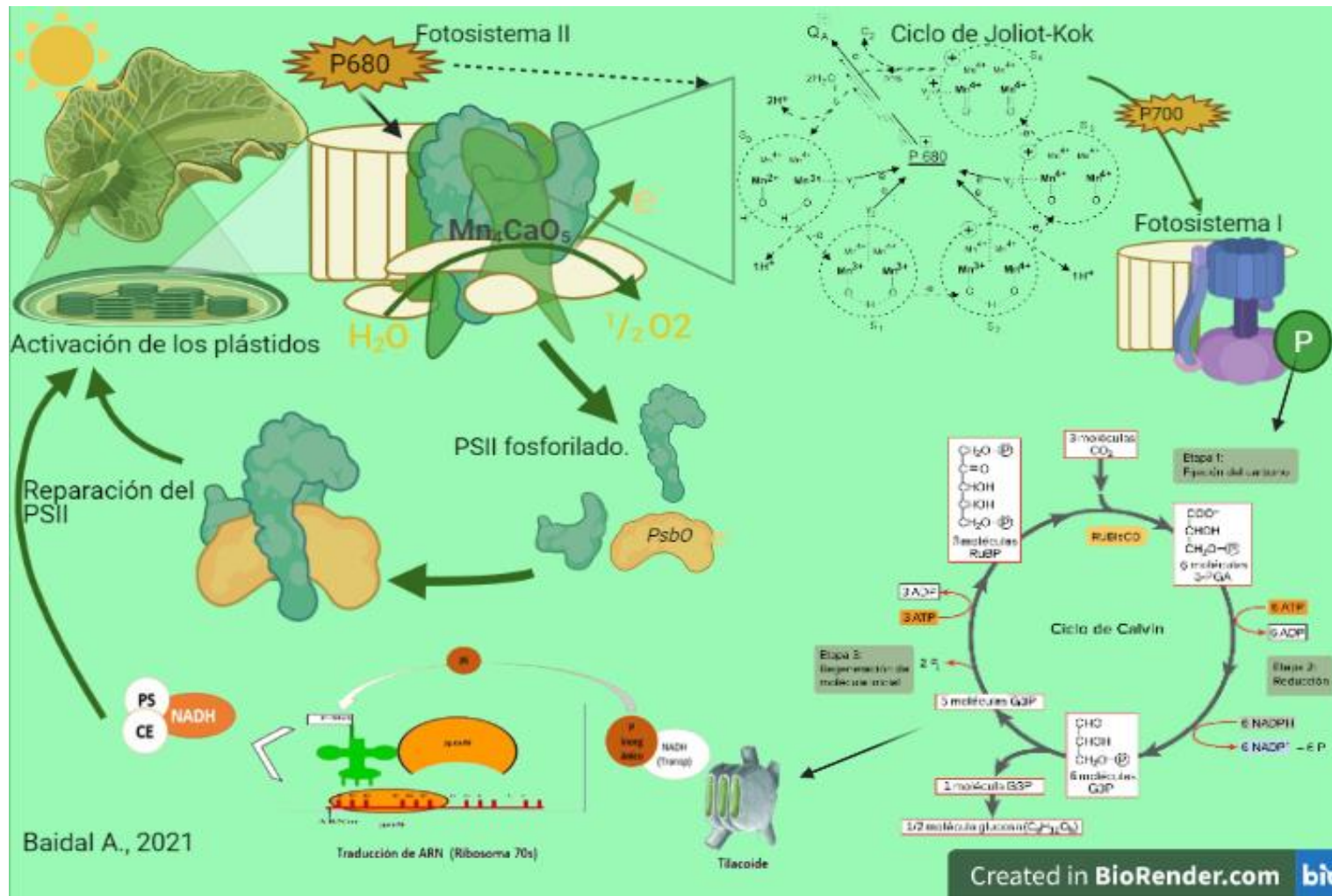


Gráfico 5 Cascada de señalización de la proteína *PsbO* en *Elysia diomedea*.

Autor: Baidal A., 2021, Modificado de: Khan Academy (2016); University of Illinois at Urbana-Champaign (s. f.) Creada en: BioRender.com

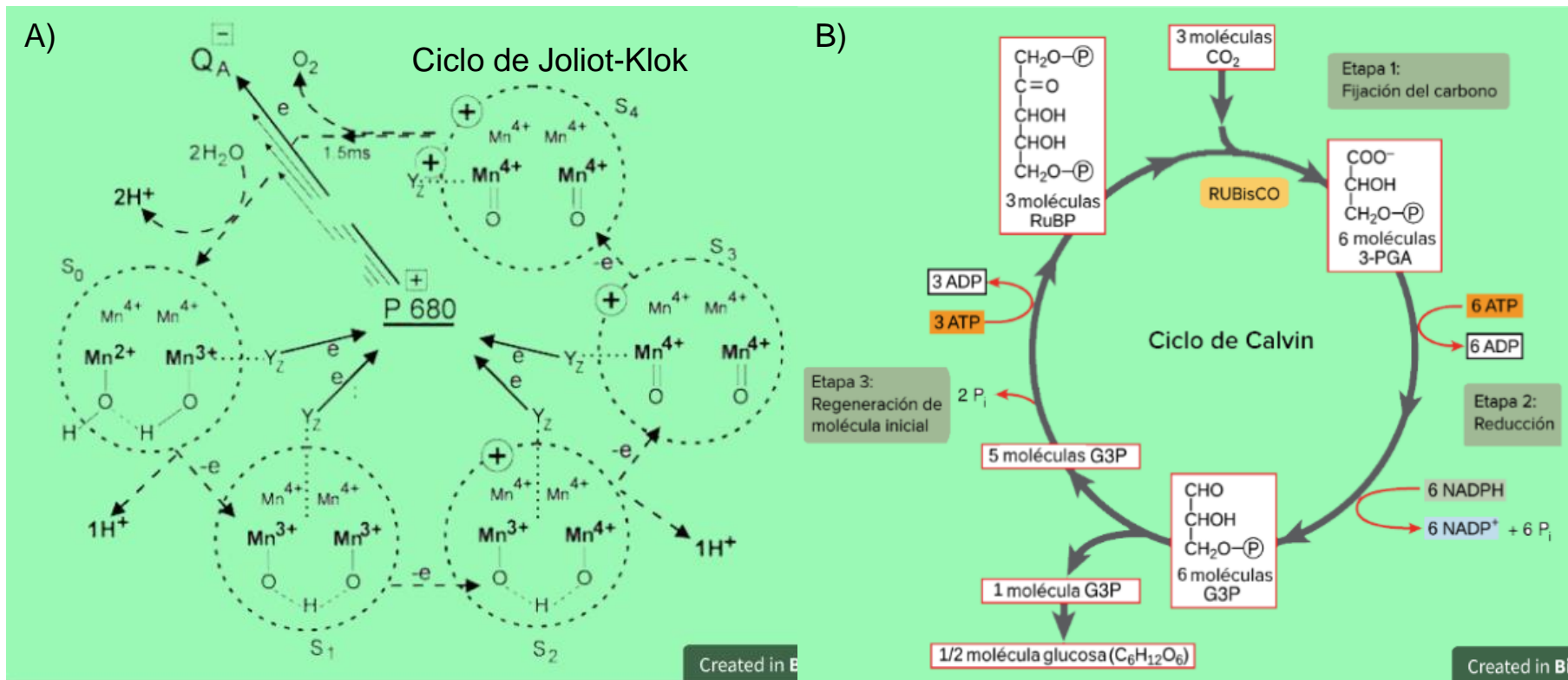


Gráfico 6 1. Ciclo de Joliot-Klok 2. Ciclo de Calvin
 Autor: Modificado en BioRender

7. Conclusiones.

La secuencia de la proteína de *PsbO* de *Elysia* No. ACF22980 contiene 320 de aminoácidos la misma que presenta una similitud mayor al 40% respecto a porcentaje de cobertura, aportando a la teoría de que esta proteína es una de las mayores conservadas dentro de las proteínas fotosintéticas de la familia *PsbO*, compartiendo el 100% de similitud y cobertura con la proteína *PsbO* de *Vaucheria litorea* No. ABF5967.2 alga de la cual se alimenta *Elysia chlorotica* como en la cual se realizaron los primeros estudios de genes fotosintéticos; 97% de cobertura y 59,62% de similitud con *Chaetoceros gracilis* No. BAG85210.1, sin embargo, con el porcentaje de similitud se trataría de proteínas funcionalmente similares, pero evolutivamente adaptadas según sus necesidades.

El modelo de la proteína por homología realizado en el software Swiss-Model a partir de la estructura de *PsbO* en un alga roja, es confiable debido a que la estimación de la calidad del modelo local (QMQE) alcanzó el 0.57 con propiedades geométricas (QMEAN) de -2.31, se escogió la plantilla por ser obtenida de cristalización por rayos X, sin embargo este modelo no tenía una variación con los modelos obtenidos a través de la micrografía electrónica los que presentaban valores de QMQE de 0.5 a 0.59 y QMEAN no menores a -3.32 lo cual nos indican que son modelos teóricamente aplicable, el porcentaje de similitud de la proteína base con la molde fue de 0.4 lo que nos ayuda a inferir que la funcionalidad de esta se mantiene en *Elysia*. No se encontraron modelos realizados de manera tradicional (cristalografía por rayos X o micrografía electrónica) para *Vaucheria litorea* solo una plantilla realizada por homología, la cual fue descartada para el diseño en este estudio.

La cascada de señalización de la proteína *PsbO* en *Elysia* sp. demuestra hipotéticamente que la función y proceso que esta cumple es la misma con otros organismos oxi-fotosintéticos, debido a lo expuesto en las anteriores conclusiones, activándose a través del P680 ayudando así a la ruptura de moléculas de agua, estabilizar el grupo manganeso y encargarse de la disociación y asociación del fotosistema II, demostrando su importante función

dentro del proceso de la fotosíntesis; sin embargo, hay que considerar que los organismos estudiados hasta la fecha poseen distintos tiempos de funcionalidad de plástidos lo que consideran Cruz et al., 2015 se debe a la fotoprotección la cual va ligada a esta proteína. Razón por la cual se recomienda aplicar este estudio y comprobar sus resultados *in vitro*, la cual a su vez desencadenara otros basados en las babosas Sacoglossas reportadas en Ecuador *Elysia diomedea* y *E. viridis*, y las algas de las cuales obtienen los plástidos, además de sus metabolitos secundarios.

8. Referencias Bibliográficas.

- Adamiec, Małgorzata, Lucyna Misztal, Ewa Kosicka, Ewelina Paluch-Lubawa, y Robert Luciński. 2018. «*Arabidopsis thaliana egy2* mutants display altered expression level of genes encoding crucial photosystem II proteins». *Journal of Plant Physiology* 231:155-67.
- Allen, John F., Wilson B. M. de Paula, Sujith Puthiyaveetil, y Jon Nield. 2011. «A structural phylogenetic map for chloroplast photosynthesis». *Trends in Plant Science* 16(12):645-55.
- Anón. 2019. «National Center for Biotechnology Information». Pp. 1723-1723 en.
- Arnold, Konstantin, Lorenza Bordoli, Jürgen Kopp, y Torsten Schwede. 2006. «The SWISS-MODEL workspace: A web-based environment for protein structure homology modelling». *Bioinformatics* 22(2):195-201.
- Balsera, Monica. 2004. «Análisis estructural de la proteína extrínseca *PsbQ* del fotosistema ii de plantas superiores». Universidad de Salamanca. Tesis doctoral.
- Bitencourt-Ferreira, Gabriela y Walter Filgueira de Azevedo. 2019. «Homology modeling of protein targets with MODELLER». Pp. 231-49 en *Methods in Molecular Biology*. Vol. 2053. Humana Press Inc.
- Cai, Huimin, Qiye Li, Xiaodong Fang, Ji Li, Nicholas E. Curtis, Andreas Altenburger, Tomoko Shibata, Mingji Feng, Taro Maeda, Julie A. Schwartz, Shuji Shigenobu, Nina Lundholm, Tomoaki Nishiyama, Huanming Yang, Mitsuyasu Hasebe, Shuaicheng Li, Sidney K. Pierce, y Jian Wang. 2019. «Data descriptor: A draft genome assembly of the solar-powered sea slug *Elysia chlorotica*». *Scientific Data* 6(1):1-13.
- Camacho, Christiam, George Coulouris, Vahram Avagyan, Ning Ma, Jason Papadopoulos, Kevin Bealer, y Thomas L. Madden. 2009. «BLAST+: Architecture and applications». *BMC Bioinformatics* 10.
- Cambra Samper, Javier. 2019. «Estrategias de edición genómica en la cianobacteria *Synechococcus elongatus*». *Universitat D'Alacant* 1-121.
- Can, Tolga. 2014. «Introduction to bioinformatics». *Methods in Molecular Biology*

1107:51-71.

Cartaxana, Paulo, Luca Morelli, Bruno Jesus, Gonçalo Calado, Ricardo Calado, y Sónia Cruz. 2019. «The photon menace: Kleptoplast protection in the photosynthetic sea slug *Elysia timida*». *Journal of Experimental Biology* 222(12).

Chavez-Viteri, Yolanda E. 2012. «Estudios experimentales de comportamiento en la babosa marina fotosintética *Elysia diomedea* (Opisthobranchia: Sacoglossa) ante distintas condiciones de luz y tipos de dieta». QUITO / PUCE / 2012.

Colquitt, Richard B., Douglas A. Colquhoun, y Robert H. Thiele. 2011. «In silico modelling of physiologic systems». *Best Practice and Research: Clinical Anaesthesiology* 25(4):499-510.

Contreras-Moreira. 2011. «Modelado comparativo de proteínas.» *Laboratorio de biología computacional* 8(40):1-30.

Cruz, Sónia, Paulo Cartaxana, Rebecca Newcomer, Gisela Dionísio, Ricardo Calado, João Serôdio, Karen N. Pelletreau, y Mary E. Rumpho. 2015. «Photoprotection in sequestered plastids of sea slugs and respective algal sources». *Scientific Reports* 5.

Guex, Nicolas, Alexander Diemand, y Manuel C. Peitsch. 2002. «Protein modelling for all». *Trends in Biochemical Sciences* 24(9):364-67.

Guzman, Saira. 2016. «*Elysia chlorotica* babosa capaz de realizar la fotosíntesis».

Jaime, Mario y Pablo Hernández Almaraz. 2018. *Bioacumulación y transferencia de metales y contaminantes emergentes a través de las cadenas tróficas marinas*. Samsara. University of Alaska Fairbanks. Instituto Antártico Chileno. UABCS. CONACYT ISBN: 9789709430769.

Jesus, Bruno, Patrícia Ventura, y Gonçalo Calado. 2010. «Behaviour and a functional xanthophyll cycle enhance photo-regulation mechanisms in the solar-powered sea slug *Elysia timida* (Risso, 1818)». *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 395(1-2):98-105.

- Jiménez, Jenny Paola y Alejandro Chaparro-Giraldo. 2016. «Diseño in silico y evaluación funcional de genes semisintéticos que confieran tolerancia a fosfotricina». *Revista Colombiana de Biotecnología* 18(2):90-96.
- Karp, Gerald, Janet Iwasa, y Wallace Marshall. 2015. «Chapter 6: Photosynthesis and the Chloroplast» editado por Intergovernmental Panel on Climate Change. *Karp's Cell and Molecular Biology/Concepts and Experiments 8th edition* 1(8):199-218.
- Khan Academy. 2016. «El ciclo de Calvin». Recuperado 31 de marzo de 2021 (<https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/cellular-energetics/photosynthesis/a/calvin-cycle>).
- Lai, Alessia, Annalisa Bergna, Carla Acciarri, Massimo Galli, y Gianguglielmo Zehender. 2020. «Early phylogenetic estimate of the effective reproduction number of SARS-CoV-2». *Journal of Medical Virology* 92(6):675-79.
- De Las Rivas, Javier y James Barber. 2004. «Analysis of the structure of the PsbO protein and its implications». *Photosynthesis Research* 81(3):329-43.
- Laurie Brenner. 2018. «Why Is Photosynthesis Important for All Organisms? | Sciencing». Recuperado 26 de noviembre de 2019 (<https://sciencing.com/photosynthesis-important-organisms-6389083.html>).
- Markwell, John, Deana Namuth, y Ismael Hernández-Rios. 2019. «Los Pigmentos Vegetales y la Fotosíntesis». *Plant & Soil Sciences eLibrary*.
- Medrano, Sabrina, Patrick J. Krug, Terrence M. Gosliner, A. Biju Kumar, y Ángel Valdés. 2019. «Systematics of Polybranchia Pease, 1860 (Mollusca: Gastropoda: Sacoglossa) based on molecular and morphological data». *Zoological Journal of the Linnean Society* 186(1):76-115.
- Moreano Arroba, Lola Aymara. 2019. «Descripción del desarrollo embrionario e identificación genética de tres poblaciones de *Elysia diomedea* en Ecuador».
- Oladi, Mahshid, Ali Nasrolahi, Faraham Ahmadzadeh, Omid Alizadeh, y Patrick J. Krug. 2018. «Molecular confirmation of the occurrence of *Elysia cf. tomentosa* (Mollusca: Heterobranchia) in the Persian Gulf». *Zoology in the Middle East* 64(2):124-30.

- Pérez Rodríguez, Gael. 2018. *Simulación in silico de fenómenos celulares de interés biotecnológico e biomédico*. (Doctoral dissertation, Universidade de Vigo).
- Pi, Xiong, Songhao Zhao, Wenda Wang, Desheng Liu, Caizhe Xu, Guangye Han, Tingyun Kuang, Sen Fang Sui, y Jian Ren Shen. 2019. «The pigment-protein network of a diatom photosystem II–light-harvesting antenna supercomplex». *Science* 365(6452).
- Puthiyaveetil, Sujith y Helmut Kirchhoff. 2013. «A phosphorylation map of the photosystem II supercomplex C2S2M2». *Frontiers in Plant Science* 4(NOV):459.
- Rauch, Cessa, Peter Jahns, Aloysius G. M. Tielens, Sven B. Gould, y William F. Martin. 2017. «On being the right size as an animal with plastids». *Frontiers in Plant Science* 8.
- Rédei, George P. 2008. «Blast (basic local alignment search tool)». Pp. 221-221 en *Encyclopedia of Genetics, Genomics, Proteomics and Informatics*.
- Reyes, Franklin. 2014. «Evaluación De La Abundancia Y Distribución Espacio-Temporal De Opisthobranchios Con Relación Al Tipo De Sustrato En La Zona Rocosa Intermareal De Ayangue Y La Entrada Provincia De Santa Elena». *Tesis de grado* 84.
- Richling, Ira, Yaron Malkowsky, Jacqueline Kuhn, Hans Jörg Niederhöfer, y Hans D. Boeters. 2017. «A vanishing hotspot—the impact of molecular insights on the diversity of Central European Bythiospeum Bourguignat, 1882 (Mollusca: Gastropoda: Truncatelloidea)». *Organisms Diversity and Evolution* 17(1):67-85.
- Rumpho, Mary E., Jared M. Worful, Jungho Lee, Krishna Kannan, Mary S. Tyler, Debashish Bhattacharya, Ahmed Moustafa, y James R. Manhart. 2008. «Horizontal gene transfer of the algal nuclear gene psbO to the photosynthetic sea slug *Elysia chlorotica*». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105(46):17867-71.
- Saito, Takumi, Larisa Prozorova, Tatiana Sitnikova, Purevdorj Surenkhorloo, Takahiro Hirano, Yuta Morii, y Satoshi Chiba. 2018. «Molecular phylogeny

- of glacial relict species: a case of freshwater Valvatidae molluscs (Mollusca: Gastropoda) in North and East Asia». *Hydrobiologia* 818(1):105-18.
- Sasi, Shina, Jelli Venkatesh, Rawya FatoAllah Daneshi, y Mayank Anand Gururani. 2018. «Photosystem ii extrinsic proteins and their putative role in abiotic stress tolerance in higher plants». *Plants* 7(4):100.
- Schwartz, Julie A., Nicholas E. Curtis, y Sidney K. Pierce. 2014. «FISH labeling reveals a horizontally transferred algal (*Vaucheria litorea*) nuclear gene on a sea slug (*Elysia chlorotica*) chromosome». *Biological Bulletin* 227(3):300-312.
- Soll, Jürgen y Enrico Schleiff. 2004. «Protein import into chloroplasts». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 5(3):198-208.
- Van Steenkiste, Niels W. L., India Stephenson, María Herranz, Filip Husnik, Patrick J. Keeling, y Brian S. Leander. 2019. «A new case of kleptoplasty in animals: Marine flatworms steal functional plastids from diatoms». *Science Advances* 5(7):eaaw4337.
- Steinegger, Martin, Markus Meier, Milot Mirdita, Harald Vöhringer, Stephan J. Haunsberger, y Johannes Söding. 2019. «HH-suite3 for fast remote homology detection and deep protein annotation». *BMC Bioinformatics* 20(1).
- Stirbet, Alexandrina, Dušan Lazár, Ya Guo, y Govindjee. 2019. «Photosynthesis: Basics, History, and Modeling». *Annals of Botany* 109(5):937-51.
- Swiss Model. 2021. «Documentation | SWISS-MODEL». Recuperado 2 de marzo de 2021 (<https://swissmodel.expasy.org/docs/help>).
- U.S. National Library of Medicine. 2021. «Our Mission - NCBI». Recuperado 4 de marzo de 2021 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/home/about/mission/>).
- UniProtKB. 2018. «psbO - PsbO, PSII-O, OEE1, photosystem II polypeptide, oxygen evolving enhancer 1 - *Ostreococcus lucimarinus* (strain CCE9901) - psbO gene & protein». Recuperado 3 de marzo de 2021 (<https://www.uniprot.org/uniprot/A4SAM4>).
- University of Illinois at Urbana-Champaign. 2021. «Lecture 25, oxygen evolution».

Recuperado 31 de marzo de 2021
(<https://www.life.illinois.edu/crofts/bioph354/lect25.html>).

- de Vries, Jan, Christian Woehle, Gregor Christa, Heike Wägele, Aloysius G. M. Tielens, Peter Jahns, y Sven B. Gould. 2015. «Comparison of sister species identifies factors underpinning plastid compatibility in green sea slugs». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 282(1802).
- Wägele, Heike, Oliver Deusch, Katharina Händeler, Rainer Martin, Valerie Schmitt, Gregor Christa, Britta Pinzger, Sven B. Gould, Tal Dagan, Annette Klusmann-Kolb, y William Martin. 2011. «Transcriptomic evidence that longevity of acquired plastids in the photosynthetic slugs *Elysia timida* and *Plakobranthus ocellatus* does not entail lateral transfer of algal nuclear genes». *Molecular Biology and Evolution* 28(1):699-706.
- Wägele, Heike, Research Museum, y Alexander Koenig. 2016. *Photosynthesis and the role of plastids (kleptoplastids) in Sacoglossa (Heterobranchia, Gastropoda) a short review. Aquatic science & management*, 3(1), 1-7.
- Wei, Xuepeng, Xiaodong Su, Peng Cao, Xiuying Liu, Wenrui Chang, Mei Li, Xinzheng Zhang, y Zhenfeng Liu. 2016. «Structure of spinach photosystem II-LHCII supercomplex at 3.2 Å resolution». *Nature* 534(7605):69-74.
- Yamada, M., R. Nagao, M. Iwai, Y. Arai, A. Makita, H. Ohta, y T. Tomo. 2018. «The PsbQ' protein affects the redox potential of the QA in photosystem II». *Photosynthetica* 56(1):185-91.

9. Anexos

Photosystem II extrinsic protein O [*Elysia chlorotica*]

GenBank: ACF22980.1

LOCUS ACF22980 320 aa linear INV 24-NOV-2008

DEFINITION photosystem II extrinsic protein O [*Elysia chlorotica*].

ACCESSION ACF22980

VERSION ACF22980.1

DBSOURCE accession [EU621882.1](#)

SOURCE *Elysia chlorotica* (eastern emerald elysia)

ORGANISM [Elysia chlorotica](#)

Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Mollusca; Gastropoda;
Heterobranchia; Euthyneura; Panpulmonata; Sacoglossa;
Placobranchoidea; Plakobranchidae; Elysia.

REFERENCE 1 (residues 1 to 320)

AUTHORS Rumpho,M.E., Worful,J.M., Lee,J., Kannan,K., Tyler,M.S.,
Bhattacharya,D., Moustafa,A. and Manhart,J.R.

TITLE Horizontal gene transfer of the algal nuclear gene psbO to the
photosynthetic sea slug *Elysia chlorotica*

JOURNAL Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 105 (46), 17867-17871 (2008)

PUBMED [19004808](#)

REFERENCE 2 (residues 1 to 320)

AUTHORS Worful,J.M. and Rumpho,M.E.

TITLE *Vaucheria litorea* like-protein O of photosystem II from *Elysia
chlorotica*

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 3 (residues 1 to 320)

AUTHORS Worful,J.M. and Rumpho,M.E.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (02-APR-2008) BMMB, University of Maine, 5735
Hitchner

Hall, Orono, ME 04469, USA

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..320

/organism="*Elysia chlorotica*"

/db_xref="taxon:[188477](#)"

[Protein](#) 1..320

/product="photosystem II extrinsic protein O"

/name="manganese stabilizing protein of photosystem II;
PsbO"

[Region](#) 9..318

/region_name="MSP"

/note="Manganese-stabilizing protein / photosystem II
polypeptide; cl23911"

[CDS](#) /db_xref="CDD:305068"
 1..320
 /coded_by="EU621882.1:1..963"

ORIGIN

1 mkvpsalval safsvktsaf rpaflaglkn aksssaltms vqddiktlav galtilagvs
 61 ilnapveait kdqieslsyl qvkgtglanr cpevfgtgsi dvngtkkivd mciepktfqv
 121 leetsskrge akkeyvntkl mtrqtytylg idgsfapeng kitfrekdgi dyaattiqlp
 181 ggervpflft vkelvaqatt pgnsvtpglq fggpfstpsy rtglfldpkg rggstgydma
 241 valpgkqsgj egdaelfgen nkftdvtkgn iefevnrudp sngieggvfv skqkgdtdmg
 301 skvpkdlilk gifygrlese

//

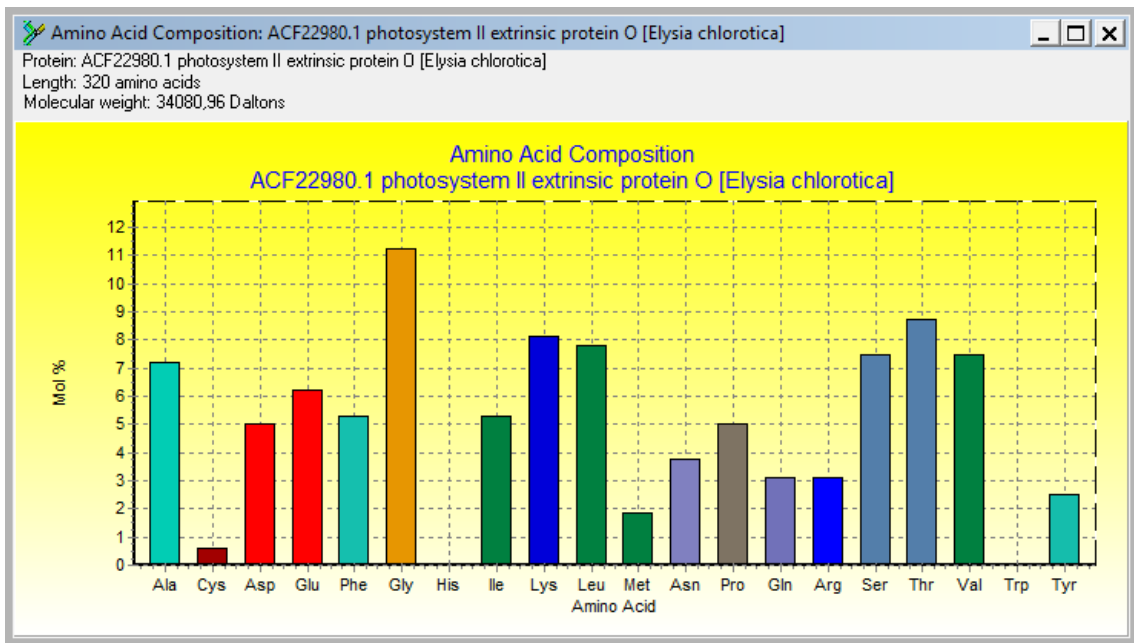


Gráfico 7 Histograma de proteínas encontradas en *PsbO* de *Elysia chlorotica*.