

Table S1: Proteins and RNAs likely involved in the organellar metabolism of *N. ovalis* and their presence or absence in 14 other species.

Y indicates the presence of an ortholog of the mitochondrial protein in the corresponding species, N its absence. This information is not available for all species. O means that the information (position of the ortholog in the tree and presence of a predicted mitochondrial signal) is inconsistent. With the exception of Ram, Pla and Psp, whole genomes were available for analysis.

* corresponds to proteins/RNAs of the *N. ovalis* genome that were already described in (Boxma et al. 2005).

Species with mitochondria: (Hsa) *Homo sapiens*, (Sce) *Saccharomyces cerevisiae*, (Tth) *Tetrahymena thermophila*, (Pte) *Paramecium tetraurelia*, (Ram) *Reclinomonas americana* and (Pfa) *Plasmodium falciparum*, species with hydrogenosomes: (Tva) *Trichomonas vaginalis*, (Blas) *Blastocystis*, (Pla) *Psalteriomonas lanterna*, (Psp) *Piromyces sp.* and species with a mitosomes: (Cpa) *Cryptosporidium parvum*, (Ehi) *Entamoeba histolytica*, (Gla) *Giardia lamblia* and (Ecu) *Encephalitozoon cuniculi*.

<i>Mt proteins in N. ovalis</i>	Accession number	EC number	Mitochondria						Hydrogenosomes				Mitosomes				
			Hsa	Sce	Tth	Pte	Ram	Pfa	Tva	Blas	Pla	Psp	Cpa	Ehi	Gla	Ecu	
mt catabolism/energy metabolism																	
PDH E1a*	AY623917	1.2.4.1	Y	Y	Y	Y		Y, not mito	PFO	Y+PFO	PFO	PFL	PNO	PFO ^c	PFO ^c	Y	
PDH E1b *	AY628683	1.2.4.1	Y	Y	Y	Y		Y, not mito	PFO	Y+PFO	PFO	PFL	PNO	PFO ^c	PFO ^c	Y	
PDH E2*	AY623925	2.3.1.12	Y	Y	Y	Y		Y, not mito	PFO	Y+PFO	PFO	PFL	PNO	PFO ^c	PFO ^c	N	
PDH E3/GCS_L	AM897245	1.8.1.4	Y	Y	Y	Y		O	Y	Y			Y	O	O	N	
Adenylate kinase 2*	AJ871316/AJ871317	2.7.4.3	Y	Y	Y	Y		Y	Y	Y			Y	N	N	N	
D-lactate dehydrogenase*	AJ871318	1.1.2.4	Y	Y	Y	Y		N	N	Y			N	N	N	N	
Malic enzyme	AM899076	1.1.1.38	N	Y	Y	Y		N	Y	N		Y	N	Y	Y	N	
TCA cycle																	
SDH a*	AY616152	1.3.5.1	Y	Y	Y	Y		Y	N	Y			N	N	N	N	
SDH b*	AY619980	1.3.5.1	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y			N	N	N	N	
Succinyl-CoA synthetase β*	AJ871319	6.2.1.4	Y	Y	Y	Y		Y	Y	Y			N	N	N	N	
Succinyl-CoA synthetase α	AM898998	6.2.1.5	Y	Y	Y	Y		Y	Y	Y			N	N	N	N	

Mt proteins in <i>N. ovalis</i>	Accession number	EC number	Mitochondria						Hydrogenosomes				Mitosomes			
			Hsa	Scs	Tth	Pte	Ram	Pfa	Tva	Blas	Pla	Psp	Cpa	Ehi	Gla	Ecu
mitochondrial complex I																
NAD1	GU057832	1.6.5.3	Y	N	Y	Y	Y	N	N	Y			N	N	N	N
NAD2 *	AJ871267/ GU057832	1.6.5.3	Y	N	Y	Y	Y	N	N	Y			N	N	N	N
NAD3	GU057832	1.6.5.3	Y	N	Y	Y	Y	N	N	Y			N	N	N	N
NAD4	GU057832	1.6.5.3	Y	N	Y	Y	Y	N	N	Y			N	N	N	N
NAD4L*	AJ871267/ GU057832	1.6.5.3	Y	N	Y	N	Y	N	N	Y			N	N	N	N
NAD5*	AJ871267/ GU057832	1.6.5.3	Y	N	Y	Y	Y	N	N	Y			N	N	N	N
NAD7*	AJ871267/ GU057832	1.6.5.3	Y	N	Y	Y	Y	N	N	Y			N	N	N	N
NAD9	GU057832	1.6.5.3	Y	N	Y	Y	Y	N	N	Y			N	N	N	N
NAD10	GU057832	1.6.5.3	Y	N	Y	Y	Y	N	N	Y			N	N	N	N
24kD*	AY628688	1.6.5.3	Y	N	Y	Y	Y	N	Y	Y			N	N	N	N
51kD*	AY608632	1.6.5.3	Y	N	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y		N	N	N	N
NAD11/75kD*	AJ871573	1.6.5.3	Y	N	Y	Y	Y	N	N	Y			N	N	N	N

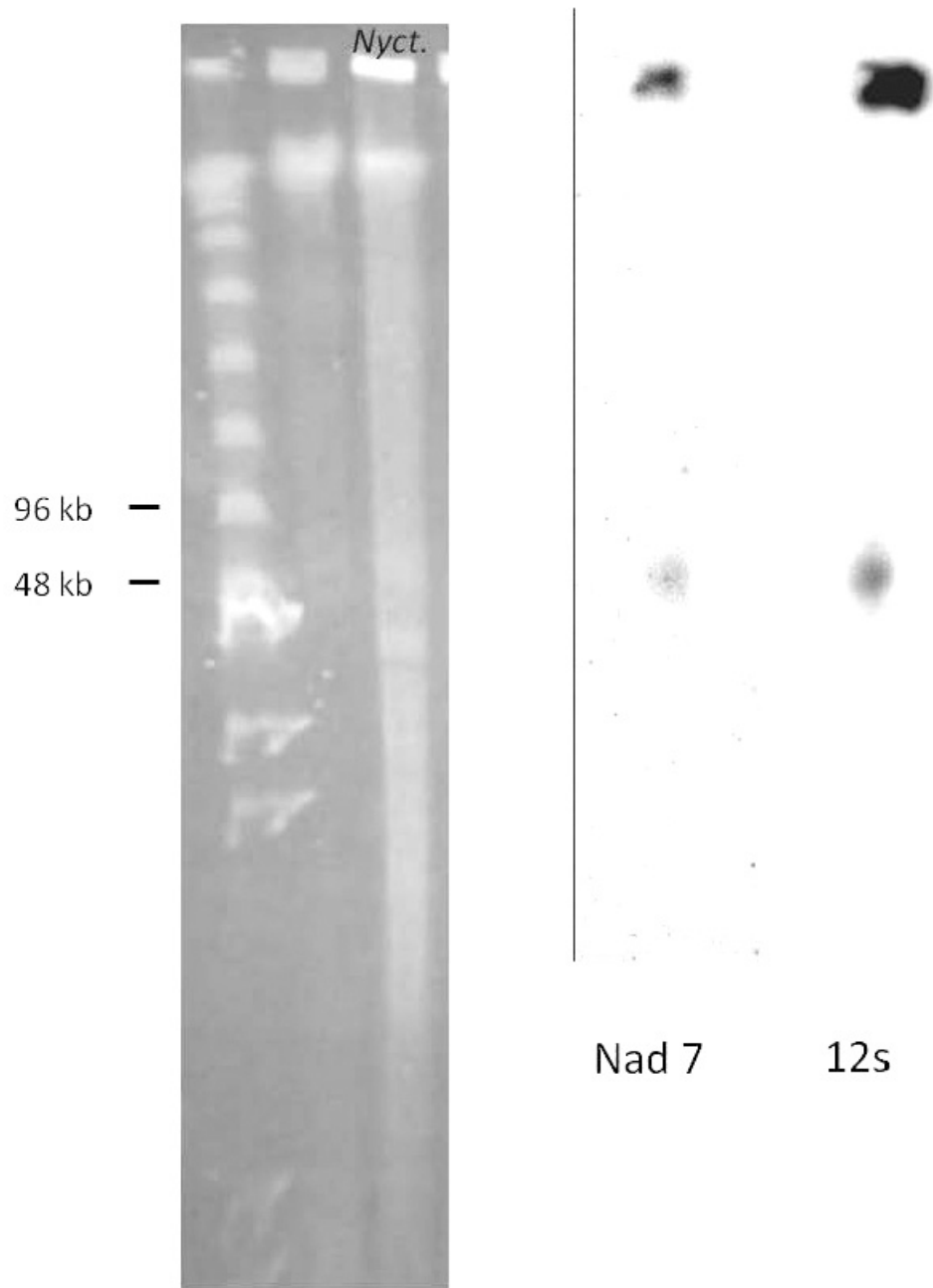
Mt proteins in <i>N. ovalis</i>	Accession number	EC number	Mitochondria						Hydrogenosomes				Mitosomes			
			Hsa	Scs	Tth	Pte	Ram	Pfa	Tva	Blas	Pla	Psp	Cpa	Ehi	Gla	Ecu
mt ribosomal proteins																
<i>RPS8</i>	GU057832		N	Y	N	N	Y	Y	N	Y			N	N	N	N
<i>RPS12</i>	GU057832		Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y			N	N	N	N
<i>RPS14</i>	GU057832		Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y			N	N	N	N
<i>RPL2*</i>	AJ871267/ GU057832		Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y			O	N	N	N
<i>RPL6</i>	GU057832		N	Y	Y	Y	Y	N	N	Y			N	N	N	N
RPL11 ^a	AM899415		Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y			N	N	N	N
RPL 14*	AJ871267/ GU057832		Y	Y	Y	N	Y	Y	N	Y			N	N	N	N
RPL15 ^a	AM893303		Y	Y	Y	Y		Y	N	Y			N	N	N	N
RPL 20**	AJ871314/ GU057832		Y	N	Y	Y	Y	Y	N	Y			N	N	N	N
mt tRNA																
tRNA tryptophane	GU057832		Y	Y	Y	Y	Y	N	N	Y		N	N	N	N	N
tRNA Phenylalanine	GU057832		Y	Y	Y	Y	Y	N	N	Y		N	N	N	N	N
tRNA tyrosine*	AJ871267/ GU057832		Y	Y	Y	Y	Y	N	N	Y		N	N	N	N	N
mt rRNA																
rns*	AJ871267/ GU057832		Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y		N	N	N	N	N
rnl	GU057832		Y	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y		N	N	N	N	N
Propionate metabolism																
Methylmalonyl-CoA mutase	AM897339	5.4.99.2	Y	N	N	N		N	N	Y		Y	N	N	N	N
Propionyl-CoA carboxylase α^*	AJ871336	6.4.1.3	Y	N	N	N		N	N	Y	Y		N	N	N	N

Mt proteins in <i>N. ovalis</i>	Accession number	EC number	Mitochondria					Hydrogenosomes				Mitosomes				
			Hsa	Scs	Tth	Pte	Ram	Pfa	Tva	Blas	Pla	Psp	Cpa	Ehi	Gla	Ecu
Fatty acid metabolism																
Long-chain-fatty-acid-CoA ligase 1*	AJ871337	6.2.1.3	Y	Y	Y	Y		Y	Y	Y			Y	Y	Y	Y
Glycerol kinase*	AJ871321	2.7.1.30	Y	Y	Y	Y		Y	Y	Y			N	N	Y	N
amino acid metabolism																
PDH E3/GCS_L	AM897245	1.8.1.4	Y	Y	Y	Y		O	Y	Y			Y	O	O	N
GCS_H	AM897163		Y	Y	Y	Y		Y	Y	Y			N	N	N	N
GCS_T	AM893078	2.1.2.10	Y	Y	Y	Y		Y	N	Y			N	N	N	N
Serine hydroxymethyltransferase*	AJ871334	2.1.2.1	Y	Y	Y	Y		Y	Y	Y			Y	N	N	Y
2-oxoisovalerate dehydrogenase α	AM895397	1.2.4.4	Y	N	Y	Y		Y	N	N			N	N	N	N
2-oxoisovalerate dehydrogenase β	AM893656	1.2.4.4	Y	N	Y	Y		Y	N	N			N	N	N	N
Branched-chain α -keto acid dihydrolipoyl acyltransferase	AM897245	2.3.1.-	Y	Y	Y	Y		Y	N	Y			N	N	N	N
Branched-chain aa aminotransferase*	AJ871330	2.6.1.42	Y	Y	Y	Y		N	N	Y			N	N	N	N
alanine aminotransferase*	AJ871331	2.6.1.2	Y	Y	Y	Y		N	Y	Y			N	Y	Y	N
Glutamate dehydrogenase*	AJ871332	1.4.1.3	Y	Y	Y	Y		Y	Y	N	Y		N	N	Y	N
Cystathionine β -synthase*	AJ871333	4.2.1.22	O	Y	Y	Y		N	N	N			N	N	N	N
Saccharopepsin ^b *	AJ871335	3.4.23.25	O	Y	N	Y		Y	N	N			N	N	N	N
5,10-methylenetetrahydrofolate synthetase	AM898130	6.3.3.2	Y	Y	Y	Y		N	N	Y			N	N	N	N

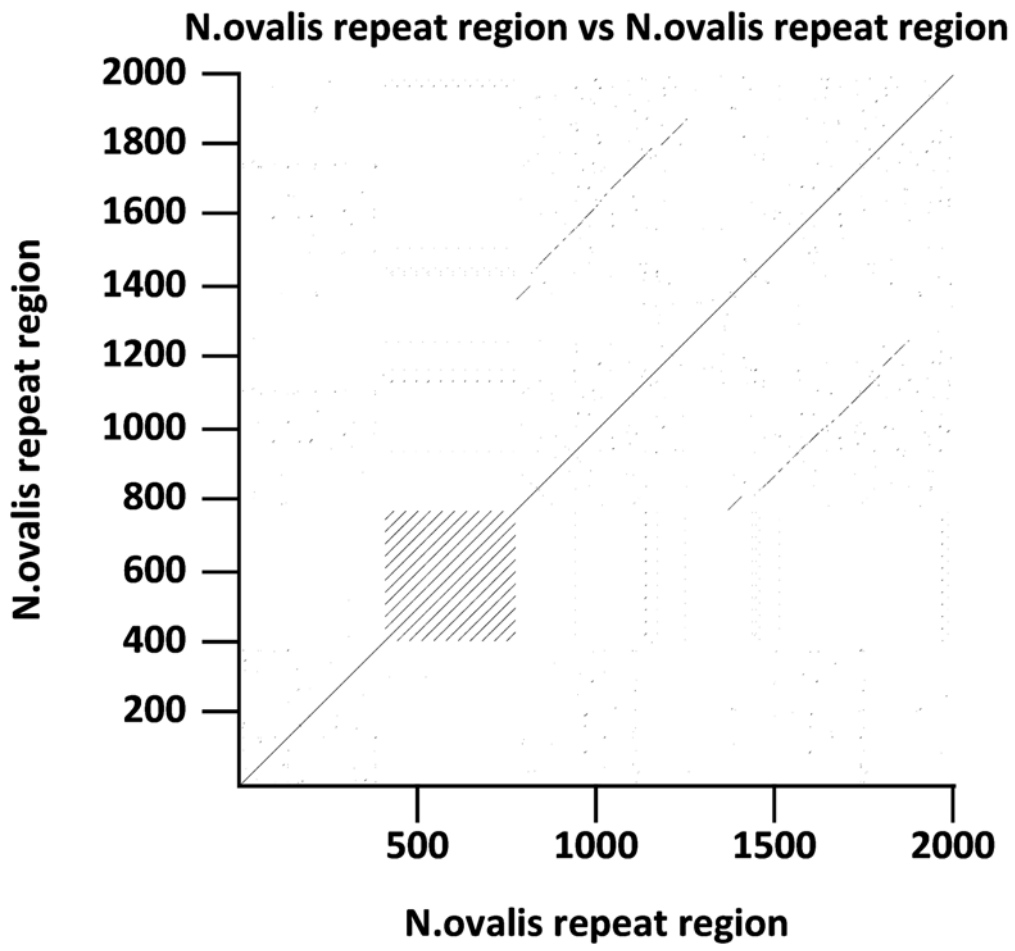
Mt proteins in <i>N. ovalis</i>	Accession number	EC number	Mitochondria						Hydrogenosomes				Mitosomes			
			Hsa	Scs	Tth	Pte	Ram	Pfa	Tva	Blas	Pla	Psp	Cpa	Ehi	Gla	Ecu
ROS defence system																
Thioredoxin ^{b*}	AM895244		Y	Y	Y	N		N	Y	Y			O	O	N	N
Peroxiredoxin-4*	AM897142	1.11.1.15	Y	Y	Y	Y		Y	Y	Y			Y	Y	Y	Y
Glutathione reductase*	AM897249	1.8.1.7	Y	Y	Y	Y		Y	N	Y			Y	N	N	N
Hybrid cluster protein	AM890083		N	N	N	N		N	Y	N			N	Y	Y	N
mt DNA repair/metabolism																
Uracil-DNA glycosylase	AM897482	3.2.2.-	Y	Y	O	O		O	O	Y			O	O	O	O
Others																
elongation factor Tu	AM895994		Y	Y	Y	Y		Y	N	Y			N	N	N	N
Cytochrome c1	AM899743		Y	Y	Y	Y		Y	N	N			N	N	N	N
Succinyl-CoA:3-ketoacid-CoA transferase*/ASCT	AJ871320	2.8.3.5	Y	N	Y	Y		N	N	N			N	N	N	N
Dynammin-related protein DNMI*	AJ871343	3.6.1.50	Y	Y	O	O		O	O	Y			O	O	O	O
MPV17 protein*	AJ871353		Y	Y	Y	N		N	N	Y			N	N	N	N
Prohibitin*	AJ871354		Y	Y	O	O		Y	N	Y			O	N	N	N
Protein C21orf2*	AJ871356		Y	N	O	O		N	O	N			N	N	O	N
ACN9 protein homolog	AM898820		Y	Y	O	O		O	N	Y			N	N	N	N
Methionyl-tRNA formyltransferase	AM893972	2.1.2.9	Y	Y	O	O		O	N	Y			N	N	N	N

- a) nuclear encoded organellar ribosomal proteins
- b) occurs in a relative
- c) Hsp90 was previously annotated hsp82
- d) we can not establish any orthology precisely for this mitochondrial carrier
- e) cytoplasmic localization

PFGE and Southern blotting on *N. ovalis* gDNA



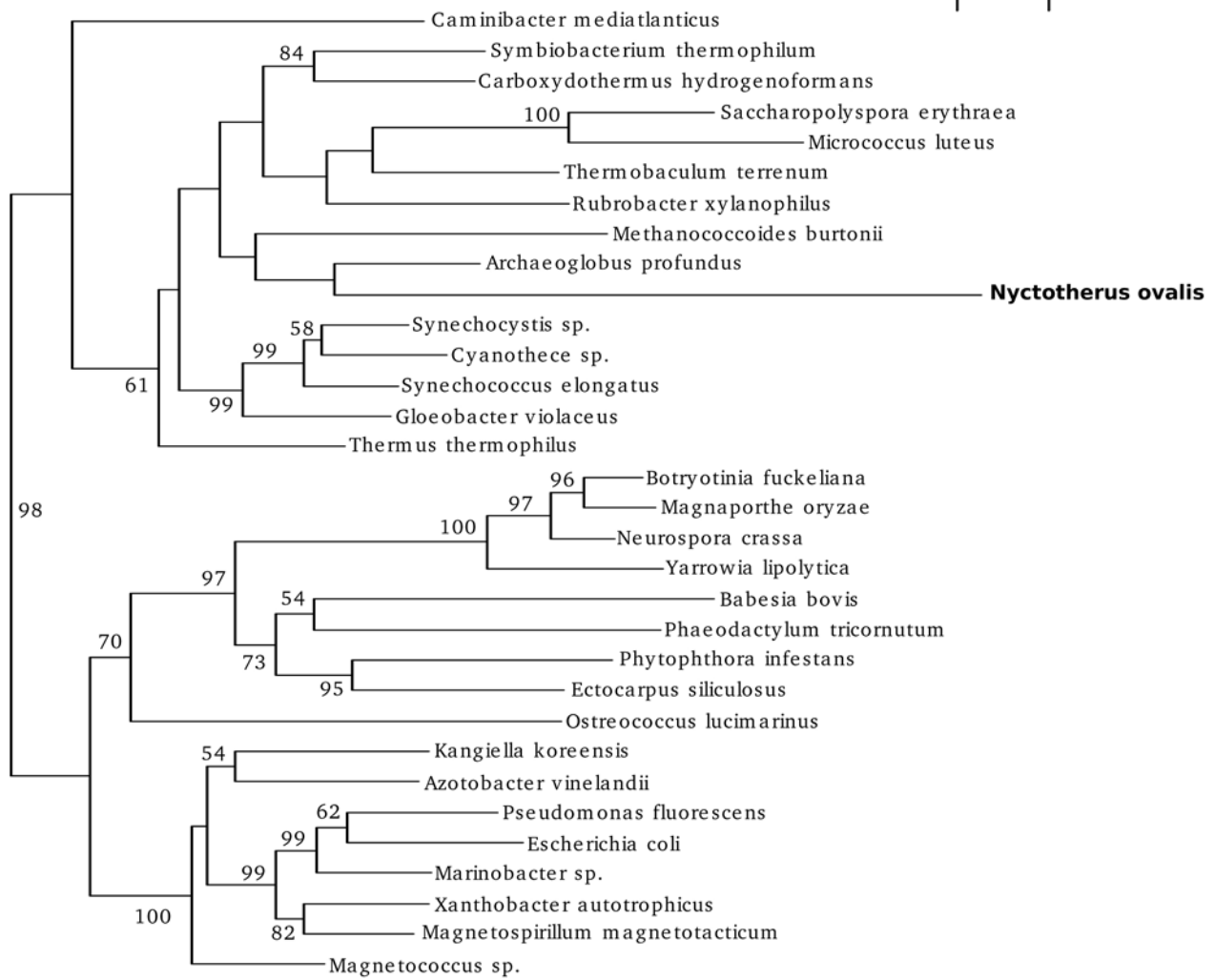
Supplementary Figure 1



Supplementary Figure 2

Acetyl-Coenzyme A synthetase ML tree

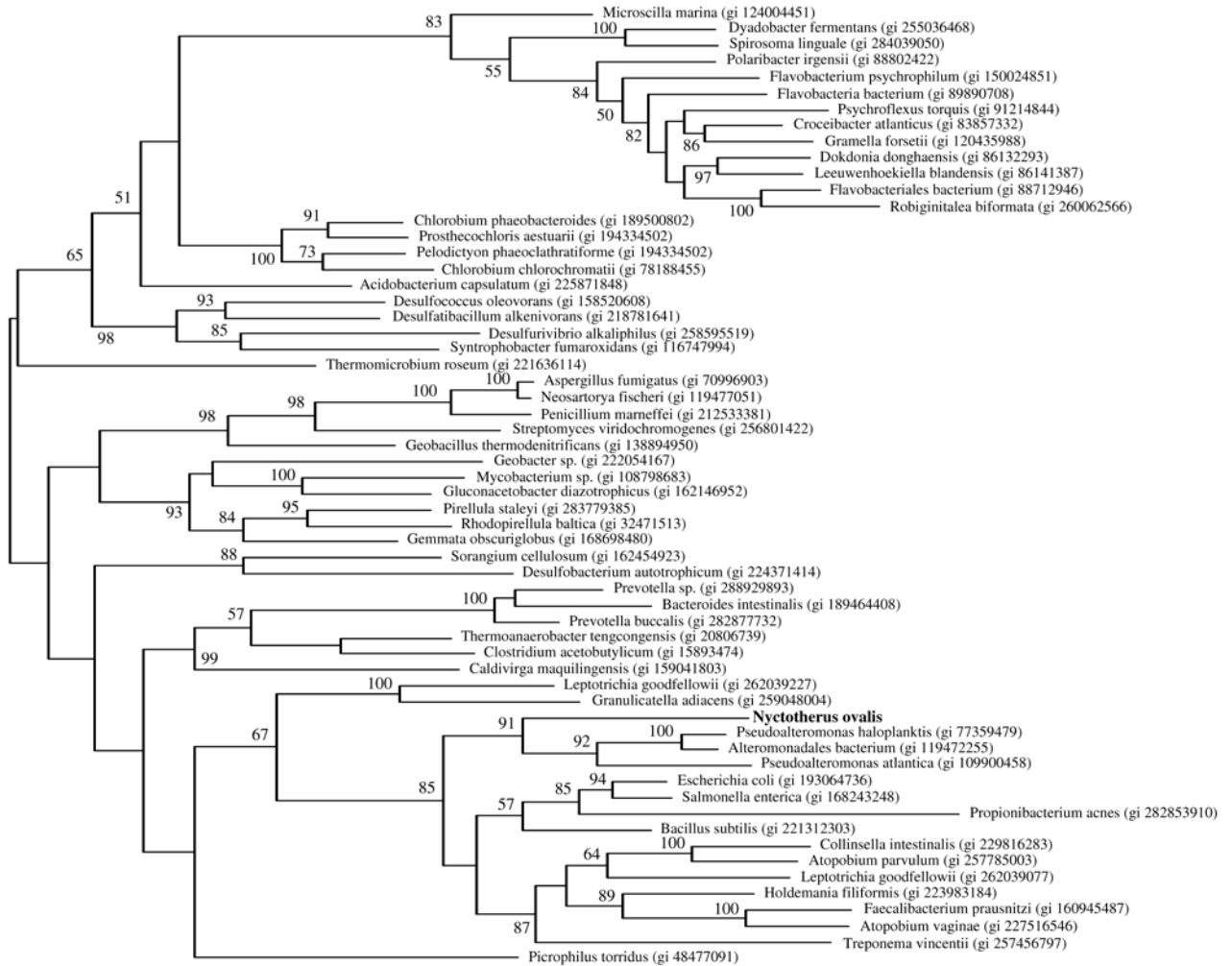
0.2 substitutions/site



Supplementary Figure 4a

Beta lactamase

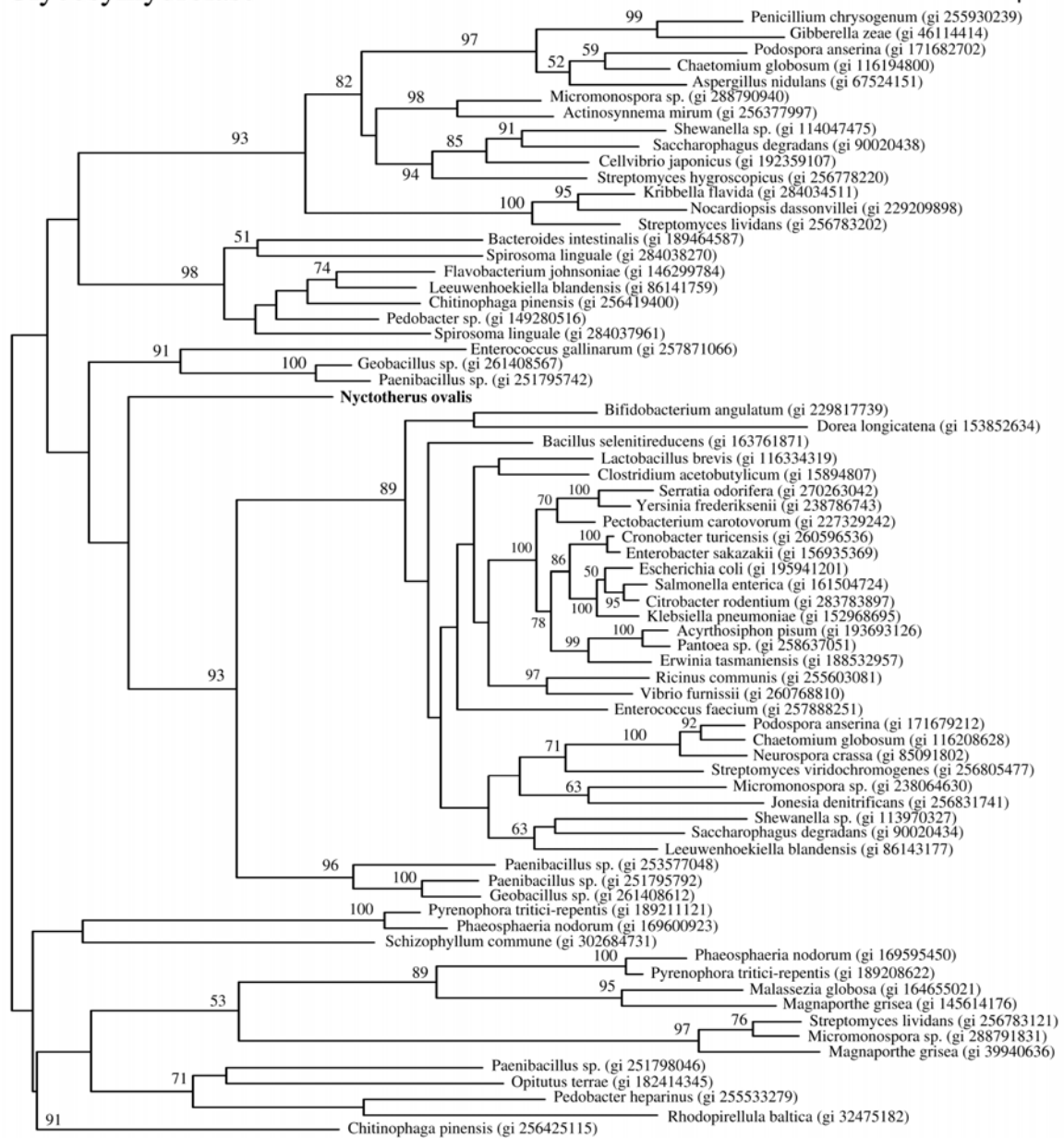
0.5 substitutions/site



Supplementary Figure 4b

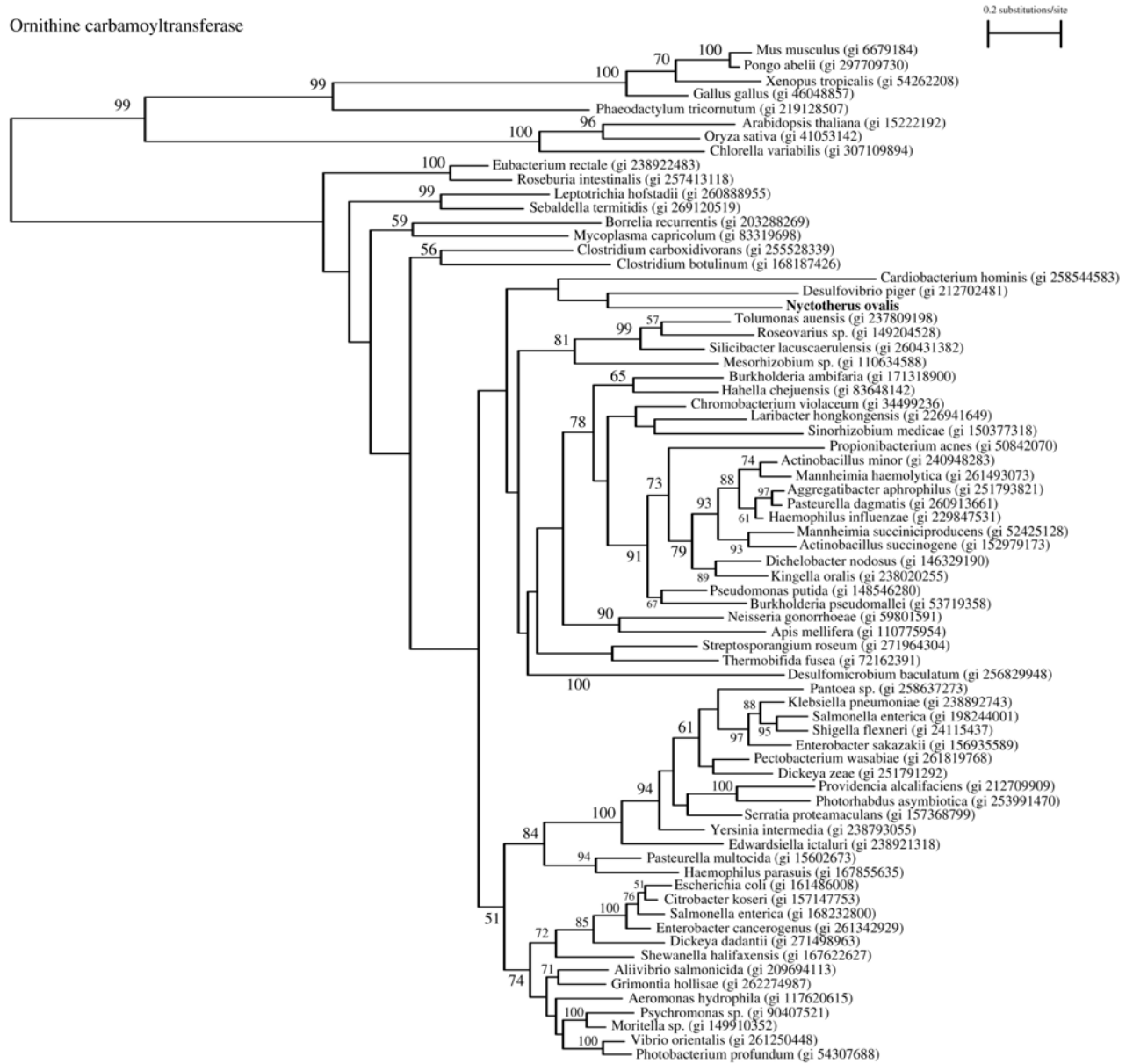
Glycosylhydrolase

0.5 substitutions/site



Supplementary Figure 4c

Ornithine carbamoyltransferase



Supplementary Figure 4d