



**ESTRUCTURA GENÓMICA Y
REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN
GENÉTICA EN *Leishmania major* y
*Trypanosoma cruzi***

**Santiago Martínez-Calvillo^{*},
Luis E. Florencio-Martínez,
Saúl Rojas-Sánchez,
Rodrigo Moreno-Campos,
Juan C. Vizuet-de-Rueda,
Norma E. Padilla-Mejía,
Fiordaliso C. Román-Carraro,
Carlos Flores-Pérez,
Rebeca G. Manning-Cela y
Elisa E. Figueroa-Angulo**

*Autor correspondiente

1. Introducción

Los miembros de la familia Trypanosomatidae (triptanosomátidos), del orden Kinetoplastida, constituyen un grupo de protozoos flagelados de importancia biológica y médica. En esta familia se incluyen organismos de los géneros *Leishmania* y *Trypanosoma*, los cuales presentan ciclos de vida complejos que involucran varias formas de desarrollo que alternan entre un hospedero invertebrado y uno vertebrado. Los triptanosomátidos no sólo han llamado la atención de parasitólogos, sino también de biólogos moleculares, ya que se caracterizan por presentar mecanismos de expresión genética muy diferentes a los presentes en otros organismos eucariontes, entre los que se incluye la transcripción policistrónica y el *trans-splicing* (Campbell et al., 2003; Martínez-Calvillo et al., 2010). En este capítulo se discutirán éstos y otros procesos relacionados con la expresión de las RNA polimerasas II y III. Aspectos sobre la transcripción de la RNA polimerasa I son tratados en el capítulo correspondiente a *Trypanosoma brucei*.

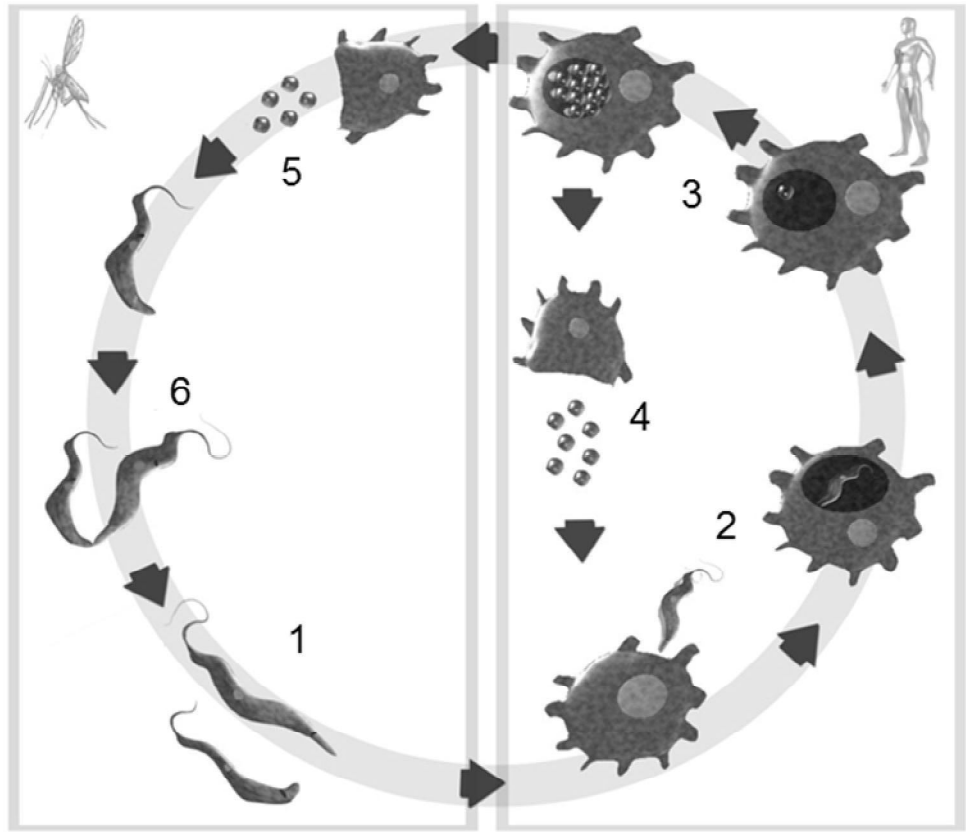
2. Generalidades sobre Leishmania

Alrededor de 20 especies diferentes de *Leishmania* producen en el hombre la leishmaniasis, que es un grupo de enfermedades con manifestaciones clínicas muy diversas. Los tres principales tipos de leishmaniasis son: cutánea, mucocutánea y visceral. La primera se caracteriza por la presencia de úlceras en el sitio donde picó el insecto transmisor, las cuales pueden tardar varios meses en cicatrizar; es producida por *L. major* (en el Viejo Mundo) y por *L. mexicana* (en el Nuevo Mundo), entre otras especies. En la leishmaniasis mucocutánea se producen lesiones desfigurantes en

el individuo, como consecuencia de la destrucción parcial o total de las membranas mucosas de la nariz y boca, así como de los tejidos vecinos. Este tipo de leishmaniasis es producido principalmente por *L. braziliensis*. Por su parte, la leishmaniasis visceral se caracteriza por una grave inflamación en órganos como bazo e hígado, y puede ser mortal si no es tratada a tiempo; es causada principalmente por *L. donovani* (en el Viejo Mundo) y por *L. infantum* (en el Nuevo Mundo) (Desjeux, 2004). La leishmaniasis es endémica en 98 países o territorios en áreas tropicales de América, África, Asia y en algunas regiones alrededor del mar Mediterráneo. La Organización Mundial de la Salud estima que actualmente hay en el mundo más de 12 millones de personas infectadas con *Leishmania* (WHO, 2010). Anualmente se presentan cerca de 1.5 millones de casos nuevos de leishmaniasis cutánea y 0.5 millones de casos de leishmaniasis visceral, que producen alrededor de 50,000 muertes. En los últimos años se ha registrado un aumento en el número de casos, principalmente por el desplazamiento poblacional hacia zonas urbanas, el deterioro de las condiciones sociales y económicas y la coinfección con el virus de inmunodeficiencia humano (VIH) (WHO, 2010).

El ciclo de vida de *Leishmania* se ilustra en la Figura 1A. El promastigote metacíclico, la forma infecciosa del parásito, es transmitido al hombre por la picadura de la mosca de la arena (*Phlebotomus* en el Viejo Mundo, *Lutzomyia* en el Nuevo Mundo). Estas formas son fagocitadas por los macrófagos y dentro de los fagolisosomas se diferencian a amastigotes, las formas responsables de la invasión a otros tejidos del mamífero.

A



B

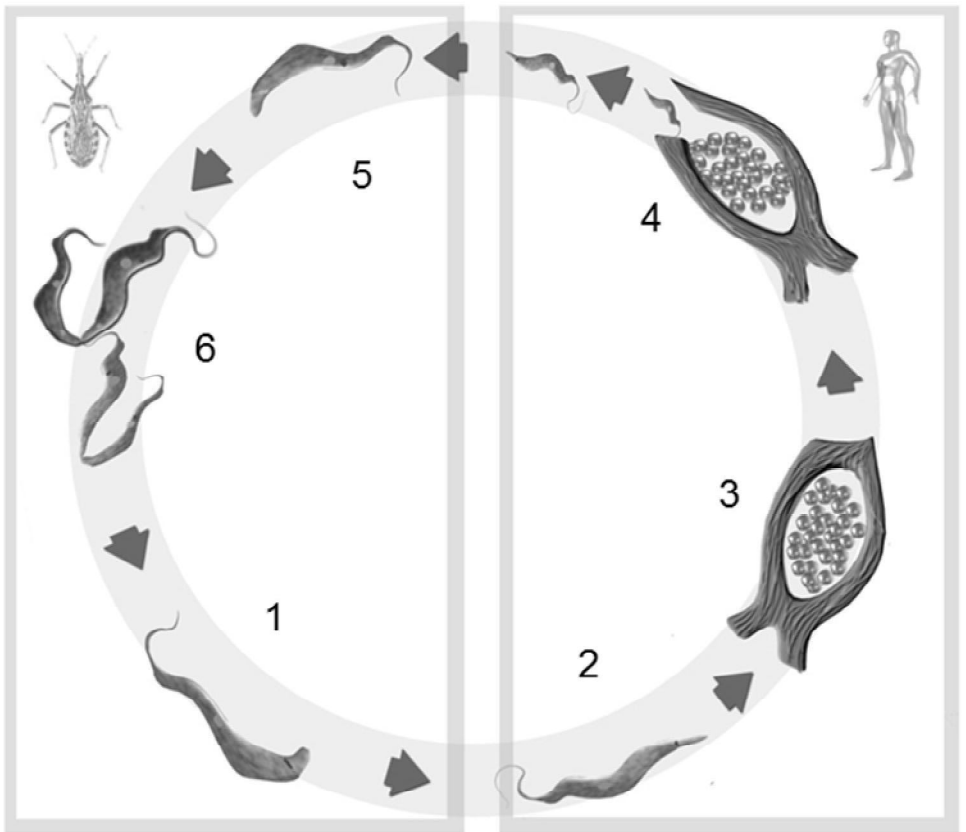


Figura 1. Ciclo de vida de *Leishmania major* (panel A) y *Trypanosoma cruzi* (panel B). **A)** Los promastigotes metacíclicos son transmitidos al hombre por la picadura de la mosca de la arena (1). Estas formas son fagocitadas por los macrófagos (2), y dentro de fagolisosomas se diferencian a amastigotes (3), los cuales pueden invadir otros tejidos del mamífero (4). Cuando otra mosca pica a una persona infectada puede ingerir amastigotes presentes en la sangre (5). En el intestino de la mosca los amastigotes se transforman en promastigotes procíclicos, formas replicativas (6). Los promastigotes procíclicos se unen a la pared del intestino medio para luego liberarse y migrar al aparato bucal de la mosca, diferenciándose entonces a promastigotes metacíclicos infectivos (1). **B)** Una chinche infectada ingiere sangre del hospedero vertebrado, defecando al mismo tiempo y liberando tripomastigotes metacíclicos infectivos en sus heces (1). Éstos ingresan en el vertebrado a través de heridas de la piel (2) e infectan células a través de una vacuola parasitófora, de donde escapan y se transforman en amastigotes en el citoplasma (3). Los amastigotes se replican y más tarde se diferencian en tripomastigotes sanguíneos, los cuales se liberan al torrente sanguíneo por lisis celular, quedando en posibilidad de infectar otras células o ser tomados por otra chinche (4). Dentro de ésta, los tripomastigotes se transforman a epimastigotes (5) y migran al intestino medio, en donde se dividen repetidamente (6). En el recto, los epimastigotes se diferencian en tripomastigotes metacíclicos infectivos (1).

Cuando otra mosca pica a una persona infectada puede tomar amastigotes presentes en la sangre. En el intestino de las moscas los amastigotes se transforman en promastigotes procíclicos, formas no infectivas, pero altamente replicativas. Estas formas se unen a la pared del intestino medio para luego liberarse y migrar al aparato bucal de la mosca, diferenciándose a promastigotes metacíclicos infectivos (Handman, 1999). La mejor técnica de detección del parásito es la visualización directa mediante microscopía. Sin embargo, la detección de DNA del parásito en muestras de tejido o de sangre mediante PCR es cada día más usada. Diversas pruebas serológicas para detectar antígenos de *Leishmania* son también empleadas. No se ha desarrollado ninguna

vacuna efectiva contra la leishmaniasis, aunque existen varios medicamentos eficaces para atacar al parásito. Entre éstos se encuentra la pentamidina, los derivados del antimonio y la anfotericina B. Sin embargo, el tratamiento con estas drogas suele acompañarse de molestos problemas digestivos, renales y hepáticos; además, su costo es muy elevado, por lo que se usan sobre todo en países ricos (Desjeux, 2004; Murray et al., 2005).

3. Aspectos generales de *Trypanosoma cruzi*

T. cruzi es el agente causal de la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, y es transmitido al hombre por insectos hematófagos hemípteros de los géneros *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus*. La enfermedad de Chagas se caracteriza clínicamente por presentar dos fases: la aguda y la crónica, en donde esta última se divide en dos etapas, la indeterminada o asintomática y la sintomática. En su fase crónica sintomática, la enfermedad se manifiesta con alteraciones graves en el corazón, esófago y/o colon, que pueden conducir a la muerte del individuo. Se estima que hay 18 millones de personas infectadas en Latinoamérica, con cerca de 45,000 muertes reportadas al año. La infección del hospedero vertebrado inicia cuando un insecto infectado ingiere sangre de éste, defecando al mismo tiempo y liberando tripomastigotes metacíclicos (forma infectiva) en sus heces (Fig. 1B). Los tripomastigotes ingresan en el vertebrado a través de heridas de la piel, como el piquete del insecto, o por membranas mucosas. Posteriormente infectan células (tanto fagocíticas como no fagocíticas) a través de una vacuola parasitófora, de donde escapan y se transforman en amastigotes en

el citoplasma. Los amastigotes comienzan a dividirse y más tarde se diferencian en tripomastigotes sanguíneos, los cuales se liberan al torrente sanguíneo por lisis celular, quedando en posibilidad de infectar otras células, o ser tomados por un insecto transmisor. Ya en el insecto, los tripomastigotes se transforman a epimastigotes, que migran al intestino medio, en donde se dividen repetidamente. En el recto, los epimastigotes se diferencian en tripomastigotes metacíclicos infectivos (De Souza, 2002). Cabe señalar que se produce un considerable número de infecciones con *T. cruzi* mediante la transfusión de sangre proveniente de donadores con infecciones no detectadas. La enfermedad de Chagas es diagnosticada mediante la observación directa del parásito en la sangre, a través del xenodiagnóstico, mediante PCR o a través de técnicas inmunológicas que detecten anticuerpos específicos contra *T. cruzi*. La selección de la prueba depende de la fase clínica en la que se encuentre el paciente. A la fecha no existen vacunas efectivas contra la enfermedad de Chagas, la cual es tratada principalmente con dos fármacos, el nifurtimox y el benznidazol. Sin embargo, su disponibilidad en el mercado es limitada y su eficacia en la erradicación del parásito es moderada; además, producen serios efectos adversos si se usan por largo plazo (De Souza, 2002; Rassi, Jr. et al., 2010).

4. Organización genómica

En los tripanosomátidos los genes se encuentran organizados en grupos grandes de genes localizados en una misma cadena de DNA (unidades policistrónicas). Esto se hizo evidente al ser publicada la secuencia completa del cromosoma 1 de *L. major*

Friedlin, la cepa de referencia del Proyecto del Genoma de *Leishmania* (Myler et al., 1999). El análisis de la secuencia reveló un arreglo sorprendente de los 85 genes identificados: 32 de ellos se localizaron en la hebra de DNA inferior y los restantes 53 en la hebra superior (Fig. 2). La secuenciación del genoma completo de *L. major* (Ivens et al., 2005), *T. cruzi* (El-Sayed et al., 2005a) y *T. brucei* (Berriman et al., 2005) reveló que todos los cromosomas de los tripanosomátidos presentan un arreglo similar al del cromosoma 1 de *L. major*, con unidades policistrónicas largas que pueden contener más de 200 genes (Fig. 2).

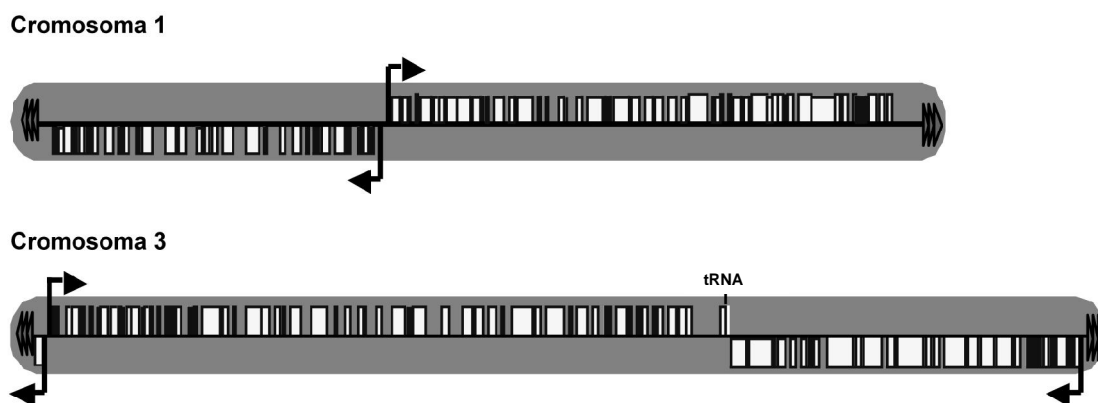


Figura 2. Organización genómica de los cromosomas 1 (300 kb) y 3 (385 kb) de *L. major*. Las flechas indican las regiones de inicio de la transcripción. En el cromosoma 3 se indica la posición del gen de tRNA-Lys. Las flechas abiertas en los extremos de los cromosomas representan los repetidos teloméricos.

Los genomas de *L. major* y *T. cruzi* se encuentran distribuidos en 36 y 41 cromosomas, respectivamente (Ivens et al., 2005; Weatherly et al., 2009). Los cromosomas de los tripanosomátidos no se condensan durante la mitosis, pero pueden ser separados y

visualizados mediante electroforesis de campos alternos pulsados. Los tripanosomátidos son diploides, aunque algunos de sus cromosomas pueden presentar aneuploidía (Martinez-Calvillo et al., 2005). La mayoría de los genes de los tripanosomátidos no presentan similitud alguna con genes de otros organismos, por lo que se desconoce su función. Muchos de estos genes parecen ser exclusivos de la familia Trypanosomatidae, por lo que se presume que participan en funciones parásito-específicas. En la Tabla 1 se resumen algunas de las características de los genomas de *L. major* y *T. cruzi*. Al menos el 50% del genoma de *T. cruzi* está integrado por secuencias repetidas, que en su mayoría constituyen familias génicas de proteínas de superficie, retrotransposones y secuencias subteloméricas. En contraste, el genoma de *L. major* posee pocas secuencias repetidas y no se ha reportado la presencia de retrotransposones activos. En los tripanosomátidos, como en otros eucariontes, los extremos de los cromosomas contienen la secuencia telomérica repetida GGGTTA; mientras que las regiones subteloméricas están compuestas de elementos repetidos de tamaño y secuencia variables, que en muchos casos son responsables del polimorfismo de tamaño observado entre cromosomas homólogos. A pesar de haber divergido hace más de 200 millones de años, los genomas de los tripanosomátidos son altamente sinténicos, esto es, muestran una alta conservación en el orden de sus genes (El-Sayed et al., 2005b).

Tabla 1. Características de los genomas de *L. major* y *T. cruzi*

	<i>L. major</i>	<i>T. cruzi</i>
Tamaño del genoma (Mb)	32	~60
Número de cromosomas	36	41
Genes de proteínas	8272	~12000
Genes de rRNA	~63	~219
Genes de tRNA	83	120
Genes de snRNA	6	19
Genes de snoRNA	695	1447
Genes del RNA miniexón	~63	~192
Densidad génica (por Mb)	252	385
Contenido de G+C (%)	59.7	51

En *T. cruzi* el número de genes identificado es mayor al encontrado en otros tripanosomátidos. Esto se debe principalmente a la naturaleza híbrida de la cepa CL Brener, que fue la cepa secuenciada. Recientemente se propuso que la cepa CL Brener se generó por dos eventos de recombinación (Westenberger et al., 2005); el primero entre cepas de los grupos *T. cruzi* I y *T. cruzi* II (subgrupo IIb), que llevó a generar híbridos heterocigotos que al paso del tiempo homogenizaron su genoma y originaron los subgrupos IIa y IIc. Un segundo evento de recombinación entre cepas de los grupos IIb y IIc dio origen al subgrupo IIe, al que pertenece la cepa CL Brener.

5. Transcripción y procesamiento de mRNA

A diferencia de la mayoría de los organismos eucariontes, la transcripción en los tripanosomátidos es policistrónica, formándose transcritos primarios largos que contienen información para sintetizar varias proteínas (Johnson et al., 1987; Martínez-Calvillo et al., 2003). Los RNAs mensajeros (mRNAs) individuales se generan postranscripcionalmente, mediante *trans-splicing* y poliadenilación (Parsons et al., 1984) (Fig. 3). El *trans-splicing* es un proceso mediante el cual se agrega al extremo 5' de todos los mRNA una secuencia de 39 bases, conocida como RNA miniexón o *spliced-leader* (Fig. 3). El RNA miniexón porta el cap, el cual proporciona estabilidad al mRNA (Gunzl, 2010).

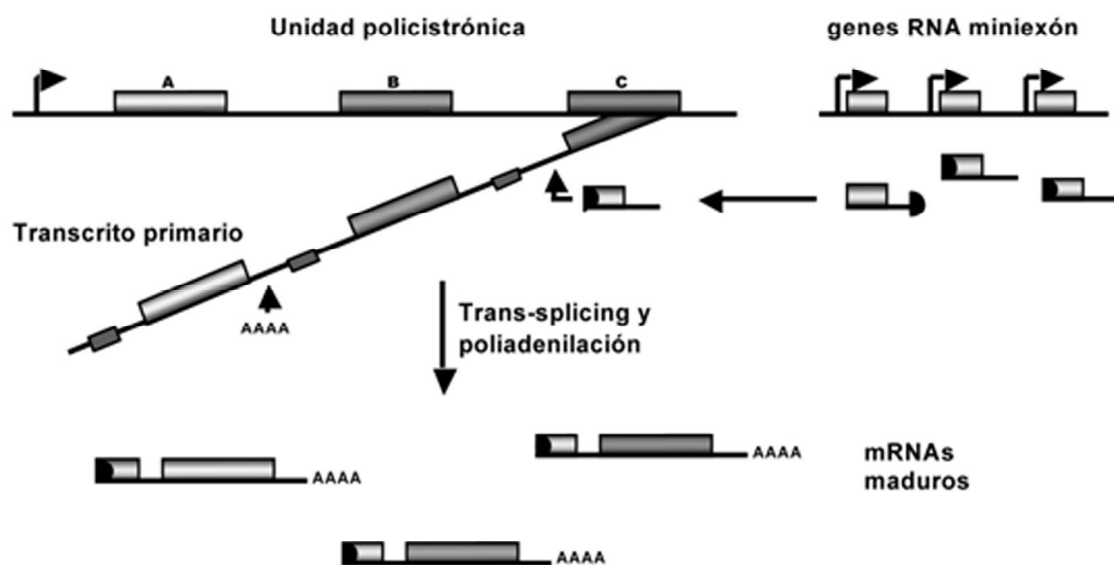
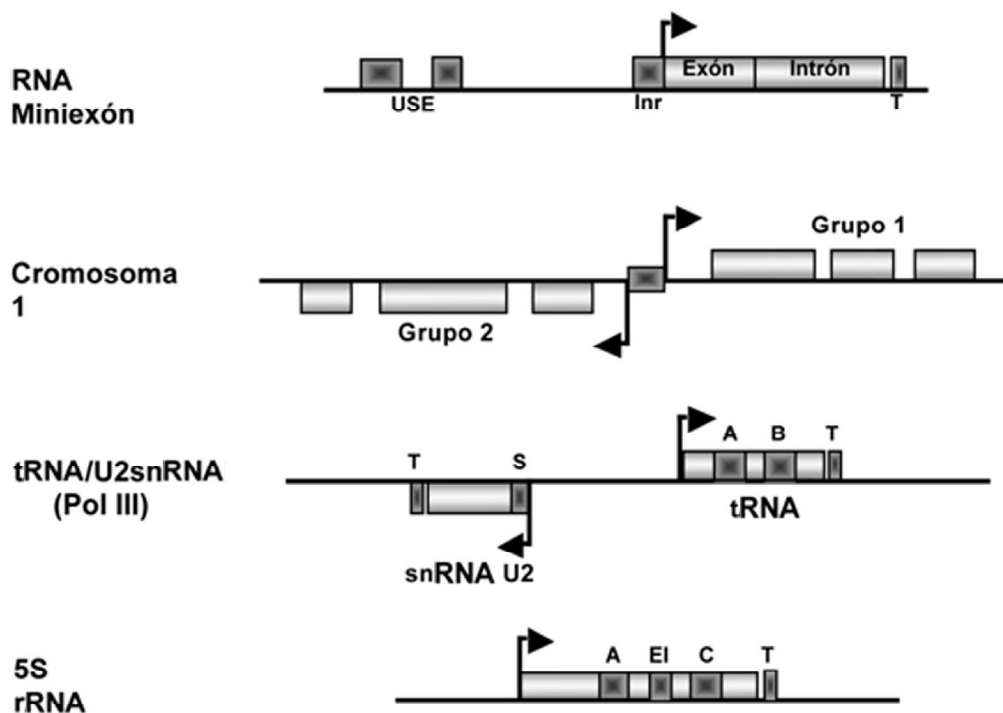


Figura 3. Transcripción policistrónica y procesamiento del RNA en tripanosomátidos. Los transcritos policistrónicos son procesados por *trans-splicing* y poliadenilación para generar los mRNA maduros. Las cajas pequeñas localizadas en las regiones intergénicas del transcrito primario representan regiones ricas en pirimidinas (T y C). Las 4 As representan la cola de poli(A), y el semicírculo en el extremo 5' del RNA miniexón representa el cap.

El proceso de *trans-splicing* es muy similar al del *cis-splicing*, pues en él también participan los diferentes complejos ribonucleoproteicos que contienen a los RNAs pequeños nucleares (snRNAs) U1, U2, U4, U5 y U6 (Agabian, 1990; Gunzl, 2010). Al igual que el *cis-splicing*, el *trans-splicing* se realiza a través de dos reacciones de trans-esterificación. Sin embargo, en los tripanosomátidos se genera un intrón con una estructura en forma de “Y” como producto intermediario (y no la típica estructura en forma de “lazo” del *cis-splicing*). Varias secuencias dentro del precursor de mRNA son importantes para que se lleve a cabo el *trans-splicing*. Las más importantes son el sitio aceptor del RNA miniexón (secuencia AG localizada río arriba del codón de inicio de traducción) y una región rica en pirimidinas (ubicada río arriba del sitio aceptor); esta última también es necesaria para el proceso de poliadenilación de la secuencia codificante localizada río arriba. La eficiencia con la que se presenta el *trans-splicing* y la poliadenilación es un factor muy importante que regula el nivel de expresión de un gen determinado (Myung et al., 2002).

A causa de la transcripción policistrónica, la identificación de regiones promotoras se ha visto dificultada en este grupo de organismos (McAndrew et al., 1998). A la fecha, el único promotor de Pol II que ha sido ampliamente caracterizado es el del gen que codifica para el RNA miniexón. Tanto en *T. brucei* como en *L. tarentolae* y *Leptomonas seymouri*, el promotor del RNA miniexón está formado por un dominio bipartita río arriba (USE, localizado alrededor de las bases -60 y -30) y un dominio localizado en la región de inicio de la transcripción (Inr) (Fig. 4) (Saito et al., 1994; Gunzl et al., 1997; Luo et al., 1999).

En lo que respecta a promotores de genes que codifican proteínas se sabe muy poco. Estudios de *run-on* nuclear llevados a cabo con fragmentos de DNA de cadena sencilla del cromosoma 1 de *L. major* indicaron que la transcripción de todo el cromosoma inicia de manera bidireccional únicamente en la región intergénica que separa las dos unidades policistrónicas (entre los genes 32 y 33) (Martinez-Calvillo et al., 2003) (Fig. 2). En una región de aproximadamente 100 pb fueron identificados varios sitios de inicio de la transcripción para ambas unidades policistrónicas (Fig. 4). Algunas regiones de las cadenas no codificantes mostraron cierta señal de transcripción, aunque esta fue en promedio 10 veces menor que la que se observó en las regiones codificantes.



Figur

a 4. Estructura de los promotores de Pol II y Pol III en tripanosomátidos. Se muestra el promotor del RNA miniexón de *Leishmania tarentolae*, la región de inicio de la transcripción del cromosoma 1 de *L. major*, el locus del tRNA/U2 snRNA de *T. brucei*, y el rRNA 5S de *T. cruzi*. USE: dominio bipartita río arriba; Inr: región iniciadora; A: caja A; B: caja B; C: caja C; S: elemento iniciador; EI: elemento intermedio; T: región de término de la transcripción. Las flechas indican los sitios de inicio de la transcripción. Los dibujos no están a escala.

Esto sugiere que un nivel bajo de transcripción inespecífica podría llevarse a cabo en todo el cromosoma 1 (tanto en hebras codificantes como no codificantes). Sin embargo, la transcripción que conduce a la síntesis de mRNAs funcionales parece iniciar solamente en la región intergénica entre los genes 32 y 33. Se ha propuesto la posibilidad de que esta región intergénica sea el único lugar donde los factores de inicio y de elongación de la transcripción se unan eficientemente a Pol II, estabilizando el complejo transcripcional (Martinez-Calvillo et al., 2003). Aunque Pol II sea capaz de unirse a otras regiones del cromosoma e iniciar la transcripción, aparentemente la elongación no se lleva a cabo de manera eficiente. Estudios similares llevados a cabo en el cromosoma 3 de *L. major* confirmaron que la transcripción inicia únicamente río arriba del primer gen de una unidad policistrónica (Martinez-Calvillo et al., 2004) (Fig. 2). Como el número de unidades policistrónicas por cromosoma es pequeño (los cromosomas 1 y 3 contienen solamente dos), el número de regiones donde inicia la transcripción aparentemente es muy reducido. Las regiones de inicio en los cromosomas 1 y 3 de *L. major* no presentan ninguna secuencia común, y carecen de dominios típicos de Pol II, como las cajas TATA. Esto sugiere que Pol II en tripanosomátidos no requiere reconocer secuencias conservadas para poder iniciar la transcripción. Estudios recientes llevados a cabo en *L. major* demostraron que la histona H3 acetilada en K₉ y K₁₄, el cual es un marcador asociado a inicio de la transcripción activo en otros eucariontes, está presente en todas las regiones intergénicas que separan unidades policistrónicas divergentes (Thomas et al., 2009).

Subunidades de Pol II y factores de transcripción. En levadura, Pol II es la menos compleja de las RNA polimerasas pues está formada por sólo 12 subunidades, en comparación con las 14 subunidades de Pol I y las 17 de Pol III (Lee y Young, 2000; Paule y White, 2000; Geiduschek y Kassavetis, 2001). Cinco subunidades (RPB5, RPB6, RPB8, RPB10 y RPB12) son compartidas por las tres polimerasas; dos de ellas (RPAC1 y RPAC2) son compartidas entre Pol I y III, con homólogos (RPB3 y RPB11, respectivamente) en Pol II; y otras cinco (RPA1/RPB1/PC1, RPA2/RPB2/PC2, RPA43/RPB7/PC8, RPA14/RPB4/PC9, y RPA12/RPB9/PC10) son subunidades homólogas (Ishihama et al., 1998). Además, dos subunidades (RPA49 y RPA34) son específicas de Pol I, mientras que cinco (PC3, PC4, PC5, PC6 y PC7) son exclusivas de Pol III (Willis, 1993).

Mediante búsquedas tipo Blast en los genomas de los tripanosomátidos han sido identificados los genes de todas las subunidades compartidas y homólogas; sin embargo, los genes de varias de las subunidades específicas no han sido identificados (Ivens et al., 2005). Algo que resulta interesante es que los tripanosomátidos presentan al menos dos copias de los genes de RPB5, RPB6 y RPB10. Dichas copias son muy diferentes, lo cual en principio sugiere que, a diferencia de otros organismos, estas subunidades podrían no ser compartidas entre las tres RNA polimerasas en tripanosomátidos (Ivens et al., 2005; Kelly et al., 2005; Park et al., 2011). La caracterización bioquímica de complejos de Pol II por el método del TAP-tag en *T. brucei* (Devaux et al., 2006) y *L. major* (Martinez-Calvillo et al., 2007), confirmó que sólo una de las isoformas de RPB5, RPB6 y RPB10 está presente

en dichos complejos. Además, estos trabajos confirmaron la presencia de RPB1, RPB2, RPB3, RPB4, RPB7, RPB8, RPB9 y RPB11 en Pol II. Otra diferencia importante entre tripanosomátidos y otros eucariontes es que el extremo carboxilo de RPB1 carece de las repeticiones de siete aminoácidos características de ese dominio (Evers et al., 1989). La fosforilación de aminoácidos en estos repetidos juega un papel muy importante en el inicio y la elongación de la transcripción en levadura y organismos superiores (Lee y Young, 2000). La falta de repeticiones en RPB1 de tripanosomátidos sugiere que en estos organismos Pol II realiza sus funciones de manera diferente al resto de los eucariontes.

Muy pocos factores de transcripción han sido identificados en tripanosomátidos mediante búsquedas tipo Blast, generando la pregunta de si la mayoría de ellos está realmente ausente en estos organismos, o si no han sido detectados debido a que su secuencia ha divergido considerablemente (Hernandez-Rivas et al., 2007; Martinez-Calvillo et al., 2010). La caracterización de los complejos de Pol II que sintetizan el RNA miniexón permitió la identificación del factor de transcripción SNAPc (Das y Bellofatto, 2003). En humanos, este factor es esencial para la síntesis de varios snRNAs, independientemente de que sean transcritos por Pol II o Pol III. En *T. brucei*, SNAPc se une al dominio USE del promotor del RNA miniexón y está formado por tres subunidades: SNAP50, SNAP43 y SNAP26 (Schimanski et al., 2005). Otros factores de transcripción que participan en la síntesis del RNA miniexón en tripanosomátidos, identificados recientemente, son: la subunidad TBP de TFIID (Ruan et al., 2004), un ortólogo muy divergente de TFIIB (Palenchar et al., 2006), dos subunidades de TFIIA (Schimanski et al., 2005; Das et

al., 2005) y TFIIH (formado por 9 subunidades en *T. brucei*) (Lee et al., 2009). De esta manera, los hallazgos recientes indican que los tripanosomátidos poseen más factores generales de transcripción de los que inicialmente revelaron los estudios *in silico*. Además, un trabajo reciente demostró que los tripanosomátidos poseen el complejo mediador, que en levadura y vertebrados actúa como coactivador de la transcripción de Pol II (Lee et al., 2010). En *T. brucei* el complejo mediador es necesario para la síntesis del RNA miniexón.

Regulación postranscripcional. En la mayoría de los organismos la expresión de un gen es regulada a nivel de inicio de la transcripción. Cada gen posee un promotor propio que controla la síntesis de su mRNA, dependiendo de las necesidades celulares (Lee y Young, 2000). En tripanosomátidos, en cambio, la expresión génica es regulada principalmente a nivel postranscripcional (Vanhamme y Pays, 1995). Como consecuencia de la transcripción policistrónica, todos los genes que forman parte de una unidad policistrónica son transcritos en un mismo nivel. Sin embargo, los mRNA maduros de genes contiguos normalmente presentan diferentes concentraciones en la célula, y pueden mostrar expresión estadio-específica. Esto se debe a que en los tripanosomátidos la expresión de un gen se regula principalmente a nivel de procesamiento, estabilidad y/o degradación de su mRNA; que son procesos regulados normalmente por secuencias localizadas en la región 3' no traducida (3'-UTR) del mRNA (Clayton, 2002; Mani et al., 2011). Por ejemplo, el mRNA de la fosfoglicerato cinasa PGKB de *T. brucei* contiene en su región 3'-UTR una secuencia rica en AU que estimula la degradación del mRNA en la forma sanguínea, pero

no en la forma procíclica (Quijada et al., 2002). Asimismo, el gen de amastina de *L. infantum* presenta en su región 3'-UTR una región de 450 bases que es responsable de que el gen se exprese únicamente en el estadio de amastigote, por un mecanismo que activa la traducción del mRNA (Boucher et al., 2002).

Término de la transcripción. Poco es lo que se sabe en tripanosomátidos sobre término de la transcripción de Pol II. En los genes del RNA miniexón se ha demostrado que la transcripción termina en una región que contiene varias Ts, localizada río abajo del gen (Fig. 4). En *L. tarentolae*, al menos seis Ts son requeridas para que se dé una terminación eficiente *in vivo* (Sturm et al., 1999). El extremo 3' del transcrito es generado posteriormente por procesamiento nucleolítico. El término de la transcripción en genes que codifican para proteínas es muy diferente al del gen del RNA miniexón, ya que en ellos Pol II se encuentra a su paso muchas regiones ricas en Ts (principalmente en regiones intergénicas) que no impiden la elongación del transcrito policistrónico. Esto sugiere la presencia de al menos dos tipos diferentes de factores de término que se unen ya sea a los complejos de Pol II que sintetizan el RNA miniexón o a los complejos de Pol II que producen los mRNA; otra posibilidad es que algún mecanismo de regulación epigenética sea el causante de las diferencias observadas. En el cromosoma 3 de *L. major* se presentan dos regiones policistrónicas de 67 y 30 genes, en cadenas de DNA opuestas, que convergen en una región que contiene un gen de un RNA de transferencia (tRNA) (Fig. 2) (Worthey et al., 2003). Ensayos de *run-on* nuclear y RT-PCR indicaron que la transcripción de Pol II de ambas cadenas de DNA termina dentro del gen de tRNA (Martinez-Calvillo et al., 2004).

Transfecciones transitorias apoyaron el papel de la región que contiene el tRNA en término de la transcripción de Pol II. Muy interesante es el hecho de que dicha región también es capaz de terminar la transcripción de Pol I y Pol III. En levadura, si la transcripción de dos genes convergentes no termina en el lugar correcto (justo al final de cada gen) se produce una reducción en la expresión de ambos genes por un mecanismo llamada colisión transcripcional (Prescott y Proudfoot, 2002). La presencia de una región de término entre las dos unidades policistrónicas convergentes del cromosoma 3 sugiere que *L. major*, como levadura, probablemente requiera separar dos unidades de transcripción de Pol II contiguas con señales de término para evitar la colisión transcripcional. Muchas de las unidades policistrónicas convergentes de otros cromosomas de *L. major* y otros tripanosomátidos están separadas por un gen de tRNA (o algún otro gen transcrito por Pol III) (El-Sayed et al., 2005b; Padilla-Mejia et al., 2009); lo que sugiere que la participación de genes de tRNA en término de la transcripción de Pol II podría no ser exclusiva del cromosoma 3 de *L. major*.

6. Transcripción de la RNA Polimerasa III

Promotores de Pol III. Pol III sintetiza RNAs pequeños esenciales, tales como tRNAs, RNA ribosomal (rRNA) 5S y algunos snRNAs. La característica más distintiva e inusual de las regiones promotoras de Pol III es que la mayoría de ellas requiere secuencias localizadas “río abajo” del sitio de inicio de la transcripción (SIT, +1), dentro de la región codificadora (Geiduschek y Kassavetis, 2001). La mayoría de los promotores de Pol III han sido agrupados en tres categorías

distintas; los promotores tipo I, característicos de los genes de rRNA 5S, consisten de tres regiones de control interno: Caja A, Elemento Intermedio y Caja C. Los promotores del tipo II están presentes en los genes de tRNA, y están formados por dos dominios internos: Cajas A y B. Los promotores del tipo III consisten de elementos que residen exclusivamente “río arriba” del gen; este tipo de promotor lo presenta el snRNA (Willis, 1993; Paule y White, 2000).

En tripanosomátidos, todos los snRNAs son sintetizados por Pol III, además de los tRNAs, el rRNA 5S y el RNA 7SL. En *T. brucei* y *Leptomonas* ya han sido caracterizados los promotores de algunos snRNAs y del RNA 7SL (Nakaar et al., 1994; Ben-Shlomo et al., 1997). Estos genes tienen un gen de tRNA contiguo, hacia su extremo 5' y localizado en la cadena opuesta de DNA (Fig. 4). Sorprendentemente, las cajas A y B del tRNA vecino son esenciales para la expresión del snRNA y del 7SL RNA. En la mayoría de los casos, se requieren también elementos regulatorios intragénicos del snRNA y del 7SL RNA para lograr un nivel de expresión óptimo (Nakaar et al., 1997). Aunque no es muy claro como las cajas A y B del tRNA promueven la expresión del snRNA, se ha propuesto un modelo de “asa de DNA” en el que los sitios de inicio de la transcripción de los genes de snRNA y del tRNA son aproximados de manera tal que el factor TFIIB facilita la llegada de Pol III en ambos sitios (Nakaar et al., 1997). Aunque no se ha llevado a cabo el análisis funcional de los promotores de los genes de tRNA y rRNA 5S en tripanosomátidos, el análisis de las secuencias reveló que contienen las regiones de control interno típicas de otros eucariontes (Hernandez-Rivas et al., 1992; Padilla-Mejia et al., 2009) (Fig. 4).

Subunidades de Pol III y factores de transcripción. Como se mencionó anteriormente, la mayoría de las subunidades de Pol III fueron identificadas en el genoma de los tripanosomátidos mediante búsquedas tipo Blast. Además, un ortólogo probable de BRF1, subunidad del factor TFIIIB, fue también identificado (Ivens et al., 2005). Mediante la técnica del TAP-tag, usando RPB6 como blanco, fueron aislados complejos transcripcionales de Pol III en *L. major* (Martinez-Calvillo et al., 2007). El análisis de espectrometría de masas de dichos complejos permitió la identificación de 12 subunidades de Pol III: RPC1, RPC2, RPC3, RPC4, RPC5, RPC6, RPC9, RPAC1, RPAC2, RPB5, RPB6 y RPB8. Dichos complejos contenían también nueve subunidades de Pol II, pero ninguna subunidad específica de Pol I, lo cual indicó que la isoforma RPB6 es exclusiva de Pol II y III, mientras que la isoforma RPB6z podría estar restringida a Pol I. Esto fue confirmado en *T. brucei* mediante experimentos de co-inmunoprecipitación (Nguyen et al., 2006). Además de subunidades de Pol III y Pol II, otras proteínas fueron co-purificadas junto con RPB6 en *L. major*. Entre éstas se incluye un probable factor de elongación de la transcripción, el factor de *splicing* PTSR-1, una proteína que se une a RNA, cuatro helicasas y varias proteínas de función desconocida (Martinez-Calvillo et al., 2007). Estas proteínas podrían asociarse físicamente con los complejos transcripcionales de Pol II y/o Pol III en *L. major*. Un estudio reciente de inmunoprecipitación de la cromatina combinada con microarreglos (ChIP-chip) indicó que las proteínas TBP y SNAP50 se unen a genes transcritos por Pol III en *L. major* (Thomas et al., 2009).

Término de la transcripción de Pol III. En eucariontes superiores y levadura, la transcripción en genes de tRNA y rRNA 5S finaliza en una región de 4-8 Ts localizada río abajo de la región codificadora (Willis, 1993). RPC10 es una de las subunidades de Pol III involucrada en término de la transcripción, pues en células en las que no está presente se ve afectada significativamente la eficiencia de término (Chedin et al., 1998). La proteína “La” está involucrada en el procesamiento de los extremos 5' y 3' de tRNAs, y funciona como una especie de chaperona en el ensamblaje de complejos de snRNAs en levadura y en humanos; hay evidencias que indican que también participa en término de la transcripción (Maraia, 1996). Algunas de las subunidades del factor TFIIIC, como TFIIIC2, participan en el término y en el re-inicio de la transcripción (Maraia, 1996). Como sucede en otros eucariontes, regiones ricas en Ts funcionan como señales de término de Pol III en tripanosomátidos. Así se ha observado en el gen del snRNA U2 de *T. brucei* (Gunzl et al., 1995), y en el gen de tRNA del cromosoma 3 de *L. major* (Martinez-Calvillo et al., 2004; Padilla-Mejia et al., 2009). Ninguna proteína involucrada en término de la transcripción ha sido identificada en tripanosomátidos.

7. Conclusiones

Los tripanosomátidos son un grupo de protozoarios que causan serias enfermedades y alta mortandad en el hombre y otros mamíferos en países en vías de desarrollo de regiones tropicales y subtropicales. Como consecuencia de haber divergido hace más de 200 millones de años, estos protozoarios presentan ciclos de vida muy diferentes y producen enfermedades distintas. A pesar de

esto, todos los tripanosomátidos presentan mecanismos de expresión genética similares, como la transcripción policistronica, el *trans-splicing* y la edición de los transcritos mitocondriales. Muchos de estos procesos son exclusivos de los tripanosomátidos, lo que los convierte en un grupo de organismos sumamente interesante. La mayoría de estos mecanismos son muy complejos, por lo que siguen siendo poco entendidos a pesar de que han sido estudiados ampliamente en varios laboratorios del mundo durante varias décadas. Se espera que la reciente publicación de los genomas de *L. major*, *T. cruzi* y *T. brucei* aporte nuevas armas que nos permitan lograr un mejor entendimiento de procesos celulares básicos como la transcripción y el procesamiento del RNA.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por los donativos 128461 de CONACyT e IN203909 de PAPIIT (UNAM) asignados a S. Martínez-Calvillo; y por los donativos 42862 y 60152 de CONACYT asignados a R. Manning-Cela. N.E. Padilla-Mejía, J.C. Vizuet-de-Rueda, S. Rojas-Sánchez y R. Moreno-Campos (estudiantes de Doctorado en Ciencias Biológicas, UNAM) son becarios de CONACyT. E. E. Figueroa-Angulo tuvo una beca posdoctoral de la DGAPA (UNAM).

Referencias

Agabian, N. (1990). Trans splicing of nuclear pre-mRNAs. *Cell* 61, 1157-1160.

- Ben-Shlomo,H., Levitan,A., Beja,O., and Michaeli,S. (1997). The trypanosomatid *Leptomonas collosoma* 7SL RNA gene. Analysis of elements controlling its expression. *Nucleic Acids Res.* 25, 4977-4984.
- Berriman,M., Ghedin,E., Hertz-Fowler,C., Blandin,G., Renaud,H., Bartholomeu,D.C., Lennard,N.J., Caler,E., Hamlin,N.E., Haas,B., Bohme,U., Hannick,L., Aslett,M.A., Shallom,J., Marcello,L., Hou,L., Wickstead,B., Alsmark,U.C., Arrowsmith,C., Atkin,R.J., Barron,A.J., Bringaud,F., Brooks,K., Carrington,M., Cherevach,I., Chillingworth,T.J., Churcher,C., Clark,L.N., Corton,C.H., Cronin,A., Davies,R.M., Doggett,J., Djikeng,A., Feldblyum,T., Field,M.C., Fraser,A., Goodhead,I., Hance,Z., Harper,D., Harris,B.R., Hauser,H., Hostetler,J., Ivens,A., Jagels,K., Johnson,D., Johnson,J., Jones,K., Kerhornou,A.X., Koo,H., Larke,N., Landfear,S., Larkin,C., Leech,V., Line,A., Lord,A., Macleod,A., Mooney,P.J., Moule,S., Martin,D.M., Morgan,G.W., Mungall,K., Norbertczak,H., Ormond,D., Pai,G., Peacock,C.S., Peterson,J., Quail,M.A., Rabbinowitsch,E., Rajandream,M.A., Reitter,C., Salzberg,S.L., Sanders,M., Schobel,S., Sharp,S., Simmonds,M., Simpson,A.J., Tallon,L., Turner,C.M., Tait,A., Tivey,A.R., Van,A.S., Walker,D., Wanless,D., Wang,S., White,B., White,O., Whitehead,S., Woodward,J., Wortman,J., Adams,M.D., Embley,T.M., Gull,K., Ullu,E., Barry,J.D., Fairlamb,A.H., Opperdoes,F., Barrell,B.G., Donelson,J.E., Hall,N., Fraser,C.M., Melville,S.E., and El-Sayed,N.M. (2005). The genome of the African trypanosome *Trypanosoma brucei*. *Science* 309, 416-422.
- Boucher,N., Wu,Y., Dumas,C., Dube,M., Sereno,D., Breton,M., and Papadopoulou,B. (2002). A common mechanism of stage-regulated gene expression in *Leishmania* mediated by a

- conserved 3'-untranslated region element. *J. Biol. Chem.* 277, 19511-19520.
- Campbell,D.A., Thomas,S., and Sturm,N.R. (2003). Transcription in kinetoplastid protozoa: why be normal? *Microbes. Infect.* 5, 1231-1240.
- Chedin,S., Riva,M., Schultz,P., Sentenac,A., and Carles,C. (1998). The RNA cleavage activity of RNA polymerase III is mediated by an essential TFIIIS-like subunit and is important for transcription termination. *Genes Dev.* 12, 3857-3871.
- Clayton,C.E. (2002). Life without transcriptional control? From fly to man and back again. *EMBO J.* 21, 1881-1888.
- Das,A. and Bellofatto,V. (2003). RNA polymerase II-dependent transcription in trypanosomes is associated with a SNAP complex-like transcription factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 100, 80-85.
- Das,A., Zhang,Q., Palenchar,J.B., Chatterjee,B., Cross,G.A.,andBellofatto,V. (2005). Trypanosomal TBP functions with the multisubunit transcription factor tSNAP to direct spliced-leader RNA gene expression. *Mol. Cell Biol.* 25, 7314-7322.
- De Souza,W. (2002). Basic cell biology of *Trypanosoma cruzi*. *Curr. Pharm. Des* 8, 269-285.
- Desjeux,P. (2004). Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 27, 305-318.
- Devaux,S., Lecordier,L., Uzureau,P., Walgraffe,D., Dierick,J.F., Poelvoorde,P., Pays,E., and Vanhamme,L. (2006). Characterization of RNA polymerase II subunits of *Trypanosoma brucei*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 148, 60-68.
- El-Sayed,N.M., Myler,P.J., Bartholomeu,D.C., Nilsson,D., Aggarwal,G., Tran,A.N., Ghedin,E., Worthey,E.A., Delcher,A.L., Blandin,G., Westenberger,S.J., Caler,E., Cerqueira,G.C.,

Branche,C., Haas,B., Anupama,A., Arner,E., Aslund,L., Attipoe,P., Bontempi,E., Bringaud,F., Burton,P., Cadag,E., Campbell,D.A., Carrington,M., Crabtree,J., Darban,H., da Silveira,J.F., de,J.P., Edwards,K., Englund,P.T., Fazelina,G., Feldblyum,T., Ferella,M., Frasc,A.C., Gull,K., Horn,D., Hou,L., Huang,Y., Kindlund,E., Klingbeil,M., Kluge,S., Koo,H., Lacerda,D., Levin,M.J., Lorenzi,H., Louie,T., Machado,C.R., McCulloch,R., McKenna,A., Mizuno,Y., Mottram,J.C., Nelson,S., Ochaya,S., Osoegawa,K., Pai,G., Parsons,M., Pentony,M., Pettersson,U., Pop,M., Ramirez,J.L., Rinta,J., Robertson,L., Salzberg,S.L., Sanchez,D.O., Seyler,A., Sharma,R., Shetty,J., Simpson,A.J., Sisk,E., Tammi,M.T., Tarleton,R., Teixeira,S., Van,A.S., Vogt,C., Ward,P.N., Wickstead,B., Wortman,J., White,O., Fraser,C.M., Stuart,K.D., and Andersson,B. (2005a). The genome sequence of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas disease. *Science* 309, 409-415.

El-Sayed,N.M., Myler,P.J., Blandin,G., Berriman,M., Crabtree,J., Aggarwal,G., Caler,E., Renaud,H., Worthey,E.A., Hertz-Fowler,C., Ghedin,E., Peacock,C., Bartholomeu,D.C., Haas,B.J., Tran,A.N., Wortman,J.R., Alsmark,U.C., Angiuoli,S., Anupama,A., Badger,J., Bringaud,F., Cadag,E., Carlton,J.M., Cerqueira,G.C., Creasy,T., Delcher,A.L., Djikeng,A., Embley,T.M., Hauser,C., Ivens,A.C., Kummerfeld,S.K., Pereira-Leal,J.B., Nilsson,D., Peterson,J., Salzberg,S.L., Shallom,J., Silva,J.C., Sundaram,J., Westenberger,S., White,O., Melville,S.E., Donelson,J.E., Andersson,B., Stuart,K.D., and Hall,N. (2005b). Comparative genomics of trypanosomatid parasitic protozoa. *Science* 309, 404-409.

- Evers,R., Hammer,A., Kock,J., Jess,W., Borst,P., Memet,S., and Cornelissen,A.W. (1989). Trypanosoma brucei contains two RNA polymerase II largest subunit genes with an altered C-terminal domain. *Cell* 56, 585-597.
- Geiduschek,E.P.andKassavetis,G.A. (2001). The RNA polymerase III transcription apparatus. *J. Mol. Biol.* 310, 1-26.
- Gunzl,A. (2010). The pre-mRNA splicing machinery of trypanosomes: complex or simplified? *Eukaryot. Cell* 9, 1159-1170.
- Gunzl,A., Tschudi,C., Nakaar,V., and Ullu,E. (1995). Accurate transcription of the Trypanosoma brucei U2 small nuclear RNA gene in a homologous extract. *J. Biol. Chem.* 270, 17287-17291.
- Gunzl,A., Ullu,E., Dorner,M., Fragoso,S.P., Hoffmann,K.F., Milner,J.D., Morita,Y., Nguu,E.K., Vanacova,S., Wunsch,S., Dare,A.O., Kwon,H., and Tschudi,C. (1997). Transcription of the Trypanosoma brucei spliced leader RNA gene is dependent only on the presence of upstream regulatory elements. *Mol. Biochem. Parasitol.* 85, 67-76.
- Handman,E. (1999). Cell biology of Leishmania. *Adv. Parasitol.* 44, 1-39.
- Hernandez-Rivas,R., Florencio-Martinez,L.E., Martinez-Salazar,M., and Martinez-Calvillo,S. (2007). Gene expression and transcriptional machinery in trypanosomatid and apicomplexa parasites. In *Advances in the immunobiology of parasitic diseases*, L.I.Terrazas, ed. (Kerala, India: Research Signpost), pp. 313-337.
- Hernandez-Rivas,R., Martinez-Calvillo,S., Romero,M., and Hernandez,R. (1992). Trypanosoma cruzi 5S rRNA genes:

molecular cloning, structure and chromosomal organization. *FEMS Microbiol. Lett.* 71, 63-67.

Ishihama,A., Kimura,M., and Mitsuzawa,H. (1998). Subunits of yeast RNA polymerases: structure and function. *Curr. Opin. Microbiol.* 1, 190-196.

Ivens,A.C., Peacock,C.S., Worthey,E.A., Murphy,L., Aggarwal,G., Berriman,M., Sisk,E., Rajandream,M.A., Adlem,E., Aert,R., Anupama,A., Apostolou,Z., Attipoe,P., Bason,N., Bauser,C., Beck,A., Beverley,S.M., Bianchetin,G., Borzym,K., Bothe,G., Bruschi,C.V., Collins,M., Cadag,E., Ciarloni,L., Clayton,C., Coulson,R.M., Cronin,A., Cruz,A.K., Davies,R.M., De,G.J., Dobson,D.E., Duesterhoeft,A., Fazelina,G., Fosker,N., Frasch,A.C., Fraser,A., Fuchs,M., Gabel,C., Goble,A., Goffeau,A., Harris,D., Hertz-Fowler,C., Hilbert,H., Horn,D., Huang,Y., Klages,S., Knights,A., Kube,M., Larke,N., Litvin,L., Lord,A., Louie,T., Marra,M., Masuy,D., Matthews,K., Michaeli,S., Mottram,J.C., Muller-Auer,S., Munden,H., Nelson,S., Norbertczak,H., Oliver,K., O'neil,S., Pentony,M., Pohl,T.M., Price,C., Purnelle,B., Quail,M.A., Rabbinowitsch,E., Reinhardt,R., Rieger,M., Rinta,J., Robben,J., Robertson,L., Ruiz,J.C., Rutter,S., Saunders,D., Schafer,M., Schein,J., Schwartz,D.C., Seeger,K., Seyler,A., Sharp,S., Shin,H., Sivam,D., Squares,R., Squares,S., Tosato,V., Vogt,C., Volckaert,G., Wambutt,R., Warren,T., Wedler,H., Woodward,J., Zhou,S., Zimmermann,W., Smith,D.F., Blackwell,J.M., Stuart,K.D., Barrell,B., and Myler,P.J. (2005). The genome of the kinetoplastid parasite, *Leishmania major*. *Science* 309, 436-442.

Johnson,P.J., Kooter,J.M., and Borst,P. (1987). Inactivation of transcription by UV irradiation of *T. brucei* provides evidence for a

- multicistronic transcription unit including a VSG gene. *Cell* 51, 273-281.
- Kelly,S., Wickstead,B., and Gull,K. (2005). An in silico analysis of trypanosomatid RNA polymerases: insights into their unusual transcription. *Biochem. Soc. Trans.* 33, 1435-1437.
- Lee,J.H., Cai,G., Panigrahi,A.K., Dunham-Ems,S., Nguyen,T.N., Radolf,J.D., Asturias,F.J., and Gunzl,A. (2010). A TFIIH-associated mediator head is a basal factor of small nuclear spliced leader RNA gene transcription in early-diverged trypanosomes. *Mol. Cell Biol.* 30, 5502-5513.
- Lee,J.H., Jung,H.S., and Gunzl,A. (2009). Transcriptionally active TFIIH of the early-diverged eukaryote *Trypanosoma brucei* harbors two novel core subunits but not a cyclin-activating kinase complex. *Nucleic Acids Res.* 37, 3811-3820.
- Lee,T.I. and Young,R.A. (2000). Transcription of eukaryotic protein-coding genes. *Annu. Rev. Genet.* 34, 77-137.
- Luo,H., Gilinger,G., Mukherjee,D., and Bellofatto,V. (1999). Transcription initiation at the TATA-less spliced leader RNA gene promoter requires at least two DNA-binding proteins and a tripartite architecture that includes an initiator element. *J. Biol. Chem.* 274, 31947-31954.
- Mani,J., Guttinger,A., Schimanski,B., Heller,M., Acosta-Serrano,A., Pescher,P., Spath,G., and Roditi,I. (2011). Alba-domain proteins of *Trypanosoma brucei* are cytoplasmic RNA-binding proteins that interact with the translation machinery. *PLoS. ONE.* 6, e22463.
- Maraia,R.J. (1996). Transcription termination factor La is also an initiation factor for RNA polymerase III. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 93, 3383-3387.

- Martinez-Calvillo,S., Nguyen,D., Stuart,K., and Myler,P.J. (2004). Transcription initiation and termination on Leishmania major chromosome 3. *Eukaryot. Cell* 3, 506-517.
- Martinez-Calvillo,S., Saxena,A., Green,A., Leland,A., and Myler,P.J. (2007). Characterization of the RNA polymerase II and III complexes in Leishmania major. *Int. J. Parasitol.* 37, 491-502.
- Martinez-Calvillo,S., Stuart,K., and Myler,P.J. (2005). Ploidy changes associated with disruption of two adjacent genes on Leishmania major chromosome 1. *Int. J. Parasitol.* 35, 419-429.
- Martinez-Calvillo,S., Vizuet-de-Rueda,J.C., Florencio-Martinez,L.E., Manning-Cela,R.G.,andFigueroa-Angulo,E.E. (2010). Gene expression in trypanosomatid parasites. *J. Biomed. Biotechnol.* 2010, 525241.
- Martinez-Calvillo,S., Yan,S., Nguyen,D., Fox,M., Stuart,K., and Myler,P.J. (2003). Transcription of Leishmania major Friedlin chromosome 1 initiates in both directions within a single region. *Mol. Cell* 11, 1291-1299.
- McAndrew,M., Graham,S., Hartmann,C., and Clayton,C. (1998). Testing promoter activity in the trypanosome genome: isolation of a metacyclic-type VSG promoter, and unexpected insights into RNA polymerase II transcription. *Exp. Parasitol.* 90, 65-76.
- Murray,H.W., Berman,J.D., Davies,C.R., and Saravia,N.G. (2005). Advances in leishmaniasis. *Lancet* 366, 1561-1577.
- Myler,P.J., Audleman,L., Devos,T., Hixson,G., Kiser,P., Lemley,C., Magness,C., Rickel,E., Sisk,E., Sunkin,S., Swartzell,S., Westlake,T., Bastien,P., Fu,G., Ivens,A., and Stuart,K. (1999). Leishmania major Friedlin chromosome 1 has an unusual distribution of protein-coding genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 96, 2902-2906.

- Myung,K.S., Beetham,J.K., Wilson,M.E., and Donelson,J.E. (2002). Comparison of the post-transcriptional regulation of the mRNAs for the surface proteins PSA (GP46) and MSP (GP63) of *Leishmania chagasi*. *J. Biol. Chem.* 277, 16489-16497.
- Nakaar,V., Dare,A.O., Hong,D., Ullu,E., and Tschudi,C. (1994). Upstream tRNA genes are essential for expression of small nuclear and cytoplasmic RNA genes in trypanosomes. *Mol. Cell Biol.* 14, 6736-6742.
- Nakaar,V., Gunzl,A., Ullu,E., and Tschudi,C. (1997). Structure of the *Trypanosoma brucei* U6 snRNA gene promoter. *Mol. Biochem. Parasitol.* 88, 13-23.
- Nguyen,T.N., Schimanski,B., Zahn,A., Klumpp,B., and Gunzl,A. (2006). Purification of an eight subunit RNA polymerase I complex in *Trypanosoma brucei*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 149, 27-37.
- Padilla-Mejia,N.E., Florencio-Martinez,L.E., Figueroa-Angulo,E.E., Manning-Cela,R.G., Hernandez-Rivas,R., Myler,P.J., and Martinez-Calvillo,S. (2009). Gene organization and sequence analyses of transfer RNA genes in Trypanosomatid parasites. *BMC. Genomics* 10, 232.
- Palenchar,J.B., Liu,W., Palenchar,P.M., and Bellofatto,V. (2006). A divergent transcription factor TFIIB in trypanosomes is required for RNA polymerase II-dependent spliced leader RNA transcription and cell viability. *Eukaryot. Cell* 5, 293-300.
- Park,S.H., Nguyen,T.N., Kirkham,J.K., Lee,J.H., and Gunzl,A. (2011). Transcription by the multifunctional RNA polymerase I in *Trypanosoma brucei* functions independently of RPB7. *Mol. Biochem. Parasitol.* 180, 35-42.

- Parsons,M., Nelson,R.G., Watkins,K.P., and Agabian,N. (1984). Trypanosome mRNAs share a common 5' spliced leader sequence. *Cell* 38, 309-316.
- Paule,M.R. and White,R.J. (2000). Survey and summary: transcription by RNA polymerases I and III. *Nucleic Acids Res.* 28, 1283-1298.
- Prescott,E.M. and Proudfoot,N.J. (2002). Transcriptional collision between convergent genes in budding yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 99, 8796-8801.
- Quijada,L., Guerra-Giraldez,C., Drozd,M., Hartmann,C., Irmer,H., Ben-Dov,C., Cristodero,M., Ding,M., and Clayton,C. (2002). Expression of the human RNA-binding protein HuR in *Trypanosoma brucei* increases the abundance of mRNAs containing AU-rich regulatory elements. *Nucleic Acids Res.* 30, 4414-4424.
- Rassi,A., Jr., Rassi,A., and Marin-Neto,J.A. (2010). Chagas disease. *Lancet* 375, 1388-1402.
- Ruan,J.P., Arhin,G.K., Ullu,E., and Tschudi,C. (2004). Functional characterization of a *Trypanosoma brucei* TATA-binding protein-related factor points to a universal regulator of transcription in trypanosomes. *Mol. Cell Biol.* 24, 9610-9618.
- Saito,R.M., Elgort,M.G., and Campbell,D.A. (1994). A conserved upstream element is essential for transcription of the *Leishmania tarentolae* mini-exon gene. *EMBO J.* 13, 5460-5469.
- Schimanski,B., Nguyen,T.N., and Gunzl,A. (2005). Characterization of a multisubunit transcription factor complex essential for spliced-leader RNA gene transcription in *Trypanosoma brucei*. *Mol. Cell Biol.* 25, 7303-7313.

- Sturm,N.R., Yu,M.C., and Campbell,D.A. (1999). Transcription termination and 3'-End processing of the spliced leader RNA in kinetoplastids. *Mol. Cell Biol.* 19, 1595-1604.
- Thomas,S., Green,A., Sturm,N.R., Campbell,D.A., and Myler,P.J. (2009). Histone acetylations mark origins of polycistronic transcription in *Leishmania major*. *BMC. Genomics* 10, 152.
- Vanhamme,L. and Pays,E. (1995). Control of gene expression in trypanosomes. *Microbiol. Rev.* 59, 223-240.
- Weatherly,D.B., Boehlke,C., and Tarleton,R.L. (2009). Chromosome level assembly of the hybrid *Trypanosoma cruzi* genome. *BMC. Genomics* 10, 255.
- Westenberger,S.J., Barnabe,C., Campbell,D.A., and Sturm,N.R. (2005). Two hybridization events define the population structure of *Trypanosoma cruzi*. *Genetics* 171, 527-543.
- WHO (2010). Control of the leishmaniases, Technical Report Series 949. (Geneva: World Health Organization).
- Willis,I.M. (1993). RNA polymerase III. Genes, factors and transcriptional specificity. *Eur. J. Biochem.* 212, 1-11.
- Worthey,E.A., Martinez-Calvillo,S., Schnauffer,A., Aggarwal,G., Cawthra,J., Fazelinia,G., Fong,C., Fu,G., Hassebrock,M., Hixson,G., Ivens,A.C., Kiser,P., Marsolini,F., Rickel,E., Salavati,R., Sisk,E., Sunkin,S.M., Stuart,K.D.,andMyler,P.J. (2003). *Leishmania major* chromosome 3 contains two long convergent polycistronic gene clusters separated by a tRNA gene. *Nucleic Acids Res.* 31, 4201-4210.