



## Infectio

Print ISSN 0123-9392

Infect. vol.9 no.4 Bogotá Oct./Dec. 2005



ARTÍCULO ORIGINAL

### Identificación de una agrupación génica que codifica para ARN pequeños de nucléolo en *Trypanosoma rangeli*

### Identification of a Genetic Cluster Coding for Six Small Nucleolar RNA in *Trypanosoma rangeli*

CONCEPCIÓN J. PUERTA

Laboratorio de Parasitología Molecular, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

#### RESUMEN

**Objetivo.** Realizar un análisis in silico de un fragmento de 801 pb de *Trypanosoma rangeli*, previamente reportado como codificante para el ARN pequeño de nucléolo C1, perteneciente a la familia de los C/D snoARN.

**Materiales y métodos.** El tamizaje de las secuencias se realizó en las bases de datos de los diferentes proyectos de genomas de los parásitos usando el programa BLASTN. Las alineaciones de las secuencias se hicieron con los programas L-ALIGN y Clustal W.

**Resultados.** La secuencia C1 constituye una agrupación génica que codifica para seis ARN pequeños de nucléolo, tres pertenecientes a la familia C/D snoARN y tres a la familia H/ACA snoARN.

**Conclusión.** Los ARN pequeños de nucléolo de Trypanosomatidae presentan una organización genómica similar y elevados porcentajes de identidad en las secuencias consenso, lo cual unido a las funciones de estos ARN en el procesamiento y modificación posteriores a la transcripción del ARN ribosómico y, también, en el proceso de "*trans splicing*", hace de estas moléculas un blanco atractivo para el control de estos parásitos.

**Palabras clave:** snoARN, C/D snoARN, H/ACA snoARN, modificaciones del ARN ribosómico, *Trypanosoma rangeli*.

#### ABSTRACT

**Objective.** To perform an in silico assay of a 801 bp fragment of *Trypanosoma rangeli*, previously reported as coding for C1 small nucleolar RNA belonging to the family of C/D snoRNAs.

**Materials and methods.** The screening of sequences was performed with the different parasite genome project databases using the BLASTN program. Sequence alignments were done using the L-ALIGN and Clustal W programs. Results. Sequence C1 constitutes a genetic cluster coding for six small nucleolar RNA, three belonging to the C/D snoRNA family and three belonging to the H/ACA snoRNA family.

**Conclusion.** Small nucleolar RNAs of Trypanosomatidae exhibit a similar genomic organization and high percentages of identity in the consensus sequences. Considering also the function of these RNAs in the processing and post-transcriptional modification of ribosomal RNA and in the trans-splicing process, it is possible to conclude that these molecules are attractive targets for control of these parasites.

**Key words:** snoRNA, C/D box snoRNA, H/ACA box snoRNA, ribosomal RNA modifications, *Trypanosoma rangeli*.

---

## INTRODUCCIÓN

En todos los organismos eucariotas, los genes que codifican para el ARN ribosómico (rARN) se transcriben en el nucléolo como transcritos precursores de gran tamaño, los cuales son procesados y modificados para producir las moléculas de rARN maduras. Por ejemplo, en las levaduras y en los metazoarios el procesamiento da lugar a las moléculas de rARN denominadas 18 S, 5,8 S y 28 S (25 S en levaduras) (1). En Trypanosomatidae, por su parte, la molécula de 28 S sufre procesamientos adicionales dando lugar a seis rARN conocidos como 28 S $\alpha$ , 28 S $\beta$ , sr1, sr2, sr4 y sr6 (2). En cuanto a las modificaciones posteriores a la traducción del rARN, éstas básicamente consisten en la metilación del esqueleto de la ribosa en la posición 2'-OH (3) y la conversión de los residuos de uridina a pseudouridina (4). Ambos eventos ocurren en el nucléolo en donde existe una compleja población de ARN pequeños llamados ARN pequeños de nucléolo (snoARN) (5-7). Algunos de los snoARN asisten el procesamiento del precursor del rARN, mientras que la mayoría guían los procesos de metilación y pseudouridinilación, ubicando el sitio exacto de modificación, gracias a la complementariedad entre sus bases y el ARN que se va a modificar (8, 9).

Existen dos grandes familias o clases estructurales de snoARN: los C/D snoARN y los H/ACA snoARN (7). Los primeros se encargan, junto con la enzima metilasa (fibrilarina), de mediar la metilación, mientras que los segundos, en conjunto con la enzima pseudouridina sintasa (CBF5p), guían la pseudouridinilación (10-12). Ambos tipos de snoARN se asocian con sus enzimas respectivas y proteínas adicionales para formar partículas ribonucleares denominadas snoRNP (13).

Los C/D snoARN se caracterizan por poseer elementos cortos conservados denominados las cajas C (5'-PuUGAUGA-3') y D (5'-CUGA-3') y las secuencias menos conservadas, denominadas cajas C' y D' (3, 7). Estas secuencias constituyen el punto de interacción con la fibrilarina y se sitúan muy próximas en la molécula de ARN, formando una estructura tridimensional característica. Además, entre ellas (cajas C y D' o cajas C' y D) se encuentra un segmento de complementariedad con el sitio que se va a modificar del rARN, formando así un dúplex de 10- 21 nucleótidos que guía la localización de la modificación (14). Los C/D snoARN forman un complejo estable con las proteínas fibrilarina o Nop1p, Nop56p, Nop58p y 15,5K/Snu13p, y conforman el núcleo o centro de la RNP (15).

Los H/ACA snoARN están conformados por dos horquillas con lazo unidas entre sí por una región de cadena sencilla que contiene el dominio H (ANANNA) y por una región de cadena sencilla en el extremo 3' de la molécula que contiene la tripleta ACA. El lazo de cada horquilla presenta una región de complementariedad con el rARN de 4 a 10 nucleótidos, y da lugar al bolsillo de pseudouridinilación (16). El residuo de uridina que se va a modificar siempre se localiza de 14 a 16 nucleótidos antes de las cajas H o ACA (17). En las levaduras y en los mamíferos, las dos horquillas con lazo son necesarias para la modificación del rARN, aun cuando el snoARN solo guíe una modificación (18). Asociados a estos ARN se han encontrado 4 proteínas: Gar1P,

Cbf5p/diskarina, Nhp2p y Nop10p (19).

Los C/D snoARN descritos en Trypanosomatidae tales como *Leptomonas collosoma* (20,21), *Trypanosoma brucei* (22-24), *Leishmania tarentolae* (22) y *Trypanosoma cruzi* (22), entre otras especies, presentan la estructura general de estos snoARN; también siguen la regla de +5, según la cual el nucleótido que se va a metilar se localiza 5 nucleótidos antes de la caja D o D' (25). Además, se han encontrado los genes ortólogos a las proteínas de eucariotas superiores que conforman la RNP en el genoma de *T. brucei*, con la excepción del correspondiente a la proteína Snu13p (26).

Sorprendentemente, la mayoría de los H/ACA snoRNA descritos hasta el momento en Trypanosomatidae forman una sola horquilla y, en lugar de la tripleta ACA en su extremo 3', contienen la secuencia AGA (27-30). Esta misma estructura ha sido descrita para los snoARN de Archaea (31) y Euglena (32), por lo cual se ha postulado que dado que los tripanosomas y Euglena se separaron de manera temprana en la línea evolutiva de los eucariotas, sus H/ACA snoARN pueden constituir el extremo 5' de los snoARN de los eucariotas superiores, los cuales probablemente se originaron luego de un evento de duplicación.

La metilación del rARN es un proceso que ocurre sobre un gran espectro de la escala evolutiva; se presenta en Archaea, levaduras y mamíferos (33). En levaduras, por ejemplo, existen 55 sitios de metilación, mientras que en mamíferos este número aumenta a 93-95. En Trypanosomatidae, a diferencia de otros organismos unicelulares, se estima la existencia de 95 a 100 metilaciones, número similar al encontrado en plantas y vertebrados (26). Un estudio reciente en el tripanosoma africano, *T. brucei*, sugiere la existencia de 57 C/D snoARN, con un potencial de realizar 84 metilaciones, 40% de las cuales son especie-específicas (34). Aunque la metilación es una modificación que afecta sustancialmente la estructura terciaria de la molécula de rARN, se desconoce su función precisa. Llama la atención la presencia de un gran número de metilaciones en los organismos sometidos a cambios bruscos de temperatura, tales como Archaea, plantas y tripanosomátidos. Por tanto, es posible que esta modificación se relacione con la necesidad de preservar la actividad ribosómica bajo condiciones adversas. Así mismo, el hecho de que la metilación tenga lugar durante la síntesis de la cadena naciente de rARN, pero se localice en la porción de rARN maduro, sugiere que esta modificación participa en el plegamiento de la molécula del rARN maduro y en su ensamblaje con las proteínas ribosómicas (26).

Debido a que las secuencias conservadas en los H/ACA snoARN son tan cortas, la búsqueda de estos snoARN por métodos bioinformáticos no es tan sencilla como en el caso de los C/D snoARN. Por lo anterior, se estima que la identificación de estas moléculas en los diferentes genomas representa tan sólo una porción de las existentes. Es así como, por ejemplo, en *T. brucei* se han identificado tan sólo 34 de los 100 H/ACA snoARN esperados (30, 34). La función de las pseudouridinas en el rARN parece correlacionarse también con su estructura terciaria, de manera que esta modificación tiene un efecto de apilamiento sobre las bases, lo cual aumenta la rigidez de la molécula y mantiene su estructura tridimensional (26).

Estudios recientes indican que el silenciamiento en *T. brucei* de la enzima pseudouridina sintasa, o CBF5, enzima encargada de la conversión de uridinas a pseudouridinas y que, a su vez, hace parte de las proteínas asociadas a los H/ACA snoARN, no sólo desestabiliza todos los snoARN de la familia H/ACA, sino que genera defectos en el procesamiento del rARN que impiden su correcta maduración y, de esta manera, constituyen un gen esencial para la viabilidad del parásito (30).

En las levaduras se ha observado que la depleción del gen Cbf5 afecta la traducción de las proteínas (35). Además, en Trypanosomatidae la falta de la actividad de la enzima CBF5 afecta el *trans splicing*, evento mediante el cual los ARN mensajeros (mARN) de los Trypanosomatidae adquieren una secuencia líder denominada miniexón como parte del procesamiento de las unidades policistrónicas a monocistrones en la maduración de todas las moléculas de mARN (36).

En resumen, se ha visto que aparte de inhibir o disminuir la isomerización de las uridinas de los ARN pequeños del nucléolo (snARN) que intervienen en el *trans splicing*, SLA1, un H/ACA snoARN único de Trypanosomatidae, está involucrado en la modificación de las uridinas del SL-ARN o molécula de ARN intermediaria en el proceso de *trans splicing* y, además, posee actividad de chaperona del SL-ARN durante las fases tempranas de su biogénesis (27, 28, 30).

Recientemente, en *T. brucei* se ha identificado el primer snoARN que interviene en el procesamiento del rARN en Trypanosomatidae. Se trata del ortólogo del snR30 en levaduras y U17 en mamíferos, un H/ACA snoARN de 270 nucleótidos que, a diferencia de los otros H/ACA snoRNA de Trypanosomatidae, posee, a semejanza de sus ortólogos en vertebrados y levaduras, dos horquillas con lazo y el motivo ACA en su extremo 3' (30).

En general, los snoARN de Trypanosomatidae, además de intervenir en el procesamiento, maduración y modificación del rARN, tienen un papel fundamental en el *trans splicing*, mecanismo sui generis de estos parásitos, por lo cual se consideran un blanco atractivo para controlar la proliferación de los parásitos (34).

Se ha descrito que otras moléculas de ARN, además del rARN también sufren modificaciones posteriores a la traducción en sus dominios conservados y funcionalmente importantes, como es el caso del ARN de transferencia y de los ya mencionados snARN (34).

Por otra parte, *Trypanosoma rangeli* es un parásito protozoo causante de infección en insectos vectores, animales reservorios y el hombre en América Latina (37). A pesar de carecer de capacidad patológica para el hombre, su importancia se deriva de que comparte vectores y reservorios con el agente causal de la enfermedad de Chagas, *T. cruzi*, llegando a presentarse infecciones mixtas por estos dos parásitos, los cuales presentan reactividad inmunológica cruzada (37). Por esta razón, los estudios de *T. rangeli* se han encaminado tanto al desarrollo de herramientas diagnósticas que permitan la diferenciación de *T. cruzi* (38), como al análisis de genes o productos de *T. rangeli* que sean relevantes dentro del contexto de su asociación con *T. cruzi* y la relación huésped-vector.

En la búsqueda de secuencias específicas de *T. rangeli*, a partir de una subdivisión de la biblioteca genómica de la cepa C23 [KP1(-)] construida en el sitio NotI del plásmido pBS (Stratagene) y enriquecida en fragmentos de 1,0 kb, se aisló el clon Cl, el cual fue caracterizado mediante ensayos de Southern blot, electroforesis de campo pulsante (PFGE), Northern blot y secuenciación de nucleótidos. Los resultados permitieron concluir que dicho clon codificaba para un C/D snoARN, el cual fue denominado snoARN-Cl1 (39). Dado que la mayoría de los C/D y H/ACA snoARN en Trypanosomatidae se organizan en tándem y se encuentran intercalados entre sí, en este trabajo se realizó un análisis in silico de toda la agrupación génica Cl con el fin de identificar la presencia de otros snoARN.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El tamizaje de las secuencias se hizo en las bases de datos de los diferentes proyectos de genoma de los parásitos *T. brucei*, *T. cruzi* y *Leishmania major* <http://www.genedb.org> con el programa BLASTN (40). Los lineamientos sencillos y múltiples se hicieron con los programas L-ALIGN (41) y Clustal W (42) (<http://www.ch.embnet.org>), respectivamente. Se realizaron ajustes menores en forma manual para el caso de los alineamientos múltiples.

## RESULTADOS

Se identificaron seis snoARN, tres de ellos que codifican para cada una de las familias C/D y H/ACA [Figura 1](#). Llama la atención que se hayan encontrado genes ortólogos que codifican para estos snoARNs en el cromosoma 11 de *T. brucei*, en donde se encuentran conformando una agrupación que se repite 3,5 veces. En líneas generales, la expresión de estos snoARN y, también, la detección de las modificaciones realizadas por los mismos, han sido evidenciadas en *T. brucei* (34). Los análisis basados en las secuencias reportadas en los diferentes proyectos de genoma de *T. cruzi* y *L. major* demuestran la presencia de estos snoARN en estos parásitos con

la excepción de TrCl3 y TrCl5 en *T. cruzi*. Además, también se han identificado genes ortólogos para estos snoARN en *L. collosoma* (34).

El primer gen que hace parte de la agrupación CI en *T. rangeli* en sentido 5' -3' es el denominado TrCl2 [Figura 1](#), cuyo ortólogo TB11Cs4C2 en *T. brucei* codifica para un C/D snoARN implicado en la metilación del uracilo 1080 y de la adenina 1091 de la subunidad ribosómica grande (LSU) (29, 34). Este gen se encuentra bastante conservado en Trypanosomatidae con identidad del 60% al 80% entre las diferentes especies estudiadas ([Tablas 1 y 2](#)). De especial interés es el hecho de que aun cuando se observan desviaciones de la secuencia consenso entre las diferentes especies, estas secuencias son idénticas en *T. rangeli* y en *T. cruzi* (véase [Figura 2](#)); es más, la secuencia de la caja C, en lugar de iniciar con una timidina, inicia con una citidina, al igual que el snoARN TB9Cs2C3 de *T. brucei* (34).

El tercer gen de la agrupación es el denominado TrCl4 ([Figuras 1 y 2](#)) que codifica para un C/D snoARN encargado de la metilación de la uridina 611 de la LSU en su ortólogo TB11Cs4C3 de *T. brucei* (29, 34). Este gen comparte porcentajes de identidad de 70% a 82% con su contraparte en otros Trypanosomatidae (véase [tablas 1 y 2](#)).

**Tabla 1**

**Comparación de los snoARN de *Trypanosoma rangeli* con sus ortólogos en Trypanosomatidae**

snoARN de <i>T. rangeli</i>	Ortólogo de Trypanosomatidae			
	Nombre	Especie	Tamaño (nucleótidos)	Identidad (%)
CI1 (86)	TC11C4C1	<i>T. cruzi</i>	87	80,2
	TB11Cs4C1	<i>T. brucei</i>	89	73,3
	G2	<i>L. collosoma</i>	84	78,8
	LM27C1C1	<i>L. major</i>	88	70,6
CI2 (88)	TC11C4C2	<i>T. cruzi</i>	87	88,5
	TB11Cs4C2	<i>T. brucei</i>	96	85,4
	TS1	<i>L. collosoma</i>	91	71,4
	LM27C1C2	<i>L. major</i>	88	60,0
CI3 (75)	TB11Cs4H1	<i>T. brucei</i>	74	71,4
	LM27Cs1H1	<i>L. major</i>	66	77,3
CI4 (99)	TC11C4C3	<i>T. cruzi</i>	90	83,7
	TB11Cs4C3	<i>T. brucei</i>	101	64,0
	TS2	<i>L. collosoma</i>	99	72,4
	LM27C1C3	<i>L. major</i>	89	71,3
CI5 (71)	TB11Cs4H2	<i>T. brucei</i>	69	76,2
	LM27Cs1H3	<i>L. major</i>	69	74,2
CI6 (77)	TC11C4H3	<i>T. cruzi</i>	72	88,9
	TB11Cs4H3	<i>T. brucei</i>	78	74,3
	H6	<i>L. collosoma</i>	69	62,5
	LM27Cs1H2	<i>L. major</i>	66	64,8

TrCl5, el cuarto gen de la agrupación, codifica para un H/ACA snoARN (véanse [Figuras 1 y 3](#)) cuyo ortólogo TB11Cs4H2 en *T. brucei* modifica las uridinas 61 y 1907 de la subunidad ribosómica pequeña (SSU) ([tablas 1 y 2](#)) (29, 34).

El quinto gen de la agrupación corresponde a TrCl6 ([Figuras 1 y 3](#)), el cual - al igual que sus ortólogos TB11Cs4H3, TC11C4H3, H6 y LM27C1H1 de *T. brucei*, *T. cruzi*, *L. major* y *L.*

collosoma, respectivamente ([Tablas 1 y 2](#)) - codifica para un H/ACA snoARN responsable de la isomerización de la uridina 566 de la LSU (29, 34).

El sexto y último gen corresponde al previamente descrito C/D snoARN-CI1 o TrCI1 (39), el cual se encarga de metilar las adeninas 1326 y 1338 de la LSU en *T. brucei* (véase [tablas 1 y 2](#)).

## DISCUSIÓN

La organización genómica de estos snoARN en *T. rangeli* es similar a la que se presenta en la mayoría de snoARN de plantas y Trypanosomatidae, en los cuales diferentes snoARN forman una agrupación que se transcribe de forma policistrónica dependiente de la ARN polimerasa II (23, 26). Por el contrario, en vertebrados y humanos la mayoría de los snoARN que guían las modificaciones, se localizan en intrones de genes que codifican para proteínas involucradas en la biogénesis de los ribosomas y muy pocos se transcriben de forma independiente (25).

En general, las distancias entre cada uno de los genes TrCI, que es de 15 a 450 nucleótidos, se encuentra dentro del rango esperado según lo reportado para *T. brucei* (34), con la excepción de los genes cl5 y cl6, los cuales se encuentran separados por tan sólo 11 nucleótidos. Sin embargo, reportes previos indican que la distancia intergénica mínima requerida para el procesamiento correcto de los snoARN es de 10 nucleótidos,(34).

Los snoARN en Trypanosomatidae comparten las secuencias conservadas ([Figura 2 y 3](#)), y presentan niveles elevados de identidad entre sí ([tabla 1](#)), por lo cual es de esperarse que las modificaciones realizadas por los snoARN de *T. brucei*, también se lleven a cabo por sus ortólogos en los otros Trypanosomatidae. Vale la pena resaltar que la presencia de las regiones de complementariedad con el rARN se conservan tanto en los C/D snoARN como en los H/ACA snoARN, además de los motivos consenso ([Figura 2 y 3](#)).

Por otra parte, a diferencia de los C/D snoARN estudiados, los cuales parecen tener su contraparte en levaduras, plantas y humanos, la isomerización de la uridina realizada por los H/ACA snoARN TB11Cs4H1, TB11Cs4H2 y TB11Cs4H3, al parecer es única de Trypanosomatidae (34). Sin embargo, es posible que dada la dificultad en identificar estos snoARN, no se hayan identificado todos los snoARN de levaduras, plantas y humanos.

Al igual que TrCI1, TrCI2 presenta dos zonas de complementariedad con el rARN, lo cual sugiere que estos snoRNA son capaces de guiar dos eventos de metilación. Esta situación ha sido descrita especialmente en *Archaea*, *L. collosoma* y *Arabidopsis*, en los cuales un porcentaje significativo de los snoARN funcionan como guías dobles al metilar residuos cercanos ya sea por secuencia o por plegamiento (20, 21, 33, 43). La presencia de estos snoARN parece relacionarse con la limitación de tamaño presentada por los genomas pequeños.

Llama la atención que, si bien existe una elevada conservación en la estructura primaria de los snoARN en Trypanosomatidae, el orden de estos snoARN dentro de la agrupación génica difiere entre especies, como es el caso de la agrupación CI de *T. rangeli* y TB11Cs4 de *T. brucei*, en los cuales la diferencia está dada principalmente por la ubicación del gen que codifica para TrCI1 que se ubica al final de la agrupación en *T. rangeli*, en tanto en *T. brucei* se encuentra al inicio de la misma (34). Esta diferencia en el orden podría no tener consecuencias, mas, sin embargo, sí se relaciona con el hecho de que la transcripción en Trypanosomatidae es policistrónica y, al menos para el caso de *L. collosoma*, se ha detectado la presencia de una secuencia de 700 nucleótidos antes del primer snoARN de la agrupación B2, lo cual aumenta la transcripción de los snoARN (29); estos cambios en el orden podrían influir la expresión de estos ARN.

Las secuencias de los snoARN en *T. rangeli* presentan una mayor identidad con sus ortólogos en *T. cruzi* que en *T. brucei*. Este hecho que coincide con los resultados obtenidos con los genes que codifican para las proteínas KMP-11 (44), histona H2A (45) y HSP70 (46), lo cual sustenta, en general, una mayor cercanía evolutiva de *T. rangeli* con *T. cruzi* y no con *T. brucei*, a pesar de que tanto *T. rangeli* como *T. brucei* se transmiten a través de la saliva del insecto vector (sección Salivaria), a diferencia de *T. cruzi* que se transmite a través de las heces (sección Stercolaria) (37). Estos resultados ilustran la utilidad de *T. rangeli* como modelo de estudio de

*T. cruzi*.

Dados los hallazgos recientes de la división de *T. rangeli*, por lo menos, en dos grupos epidemiológicamente importantes, las cepas KP1(-) asociadas con la línea evolutiva Pallescens del insecto vector y las cepas KP1(+) transmitidas por la saliva de los triatomíneos de la línea evolutiva Prolixus (47), actualmente se está realizando la comparación de la agrupación CI en cepas KP1(+) y KP1(-) del parásito. Los estudios preliminares en la cepa Tre KP1 (-) de *T. rangeli* indican que esta secuencia, al menos en los 400 nucleótidos estudiados, es idéntica a la de la cepa C23 KP1(-) analizada en este trabajo. Por su parte, la secuencia de CI en la cepa H14, KP1(+) está siendo clonada y secuenciada.

En conclusión, la dilucidación y la caracterización de los genes de *T. rangeli* en conjunto con los avances del proyecto transcriptoma de este parásito (48), los proyectos de genoma de otros Trypanosomatidae (49), la genómica comparativa (50) y el desarrollo de técnicas como el ARN de interferencia (51) permitirán no sólo conocer y ahondar en el papel individual de cada uno de los ARN pequeños del nucleolo, sino en la importancia y el papel biológico desarrollado por las modificaciones del rARN. De esta forma, dada la elevada conservación de estas moléculas de ARN, tanto en su organización como en la secuencia y la estructura de Trypanosomatidae, la presencia de snoARN específicos de Trypanosomatidae y la participación de los mismos en procesos característicos de estos parásitos, como el *trans splicing*, pueden constituir blancos para el diseño de nuevos fármacos contra estos parásitos de importancia en salud animal y fitopatología.

## Referencias

1. EICHLER DC, CRAIG N. Processing of eukaryotic ribosomal RNA. Prog Nucleic Acid Res Mol Biol. 1994;49:197-239.
2. HASAN G, TURNER MJ, CORDINGLEY JS. Ribosomal RNA genes of *Trypanosoma brucei*: mapping the regions specifying the six small ribosomal RNAs. Gene. 1984;27:75-86.
3. SAMARSKY DA, FOURNIER MJ, SINGER RH, BERTRAND E. The snoRNA box C/D motif directs nucleolar targeting and also couples snoRNA synthesis and localization. EMBO J. 1998;17:3747-57.
4. BALAKIN A, SMITH L, FOURNIER M. The RNA world of the nucleolus; two major families of small nucleolar RNAs defined by different box elements with related functions. Cell. 1996;86:823-34.
5. BACHELLERIE JP, MICHOT B, NICOLOSO M, BALAKIN A, NI J, FOURNIER MJ. Antisense snoRNAs: a family of nucleolar RNAs with long complementarities to rRNA. Trends Biochem Sci. 1995;20:261-4.
6. BACHELLERIE JP, CAVAILLE J. Guiding ribose methylation of rRNA. Trends Biochem Sci. 1997; 22:257-61.
7. HENRAS AK, DEZ C, HENRY Y. RNA structure and function in C/D and H/ACA s(no)RNP. Curr Opin Struct Biol. 2004;14:335-43.
8. FILIPOWICZ W, PELCZAR P, POGACIC V, DRAGON F. Structure and biogenesis of small nucleolar RNAs acting as guides for ribosomal RNA modification. Acta Biochim Pol. 1999;46:377-89.
9. VENEMA J, TOLLERVEY D. Ribosome synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. Annu Rev Genet. 1999; 33:261-311.
10. FILIPOWICZ W, POGACIC V. Biogenesis of small nucleolar ribonucleoproteins. Curr Opin Cell Biol. 2002; 14:319-27.
11. KISS T. Small nucleolar RNAs: an abundant group of noncoding RNAs with diverse cellular

functions. *Cell* 2002; 109:145-8.

12. DECATUR WA, FOURNIER MJ. RNA-guided nucleotide modification of ribosomal and other RNAs. *J Biol Chem*. 2003;278:695-8.

13. WEINSTEIN LB, STEITZ JA. Guided tours: from precursor snoRNA to functional snoRNP. *Curr Opin Cell Biol*. 1999;11:378-84.

14. MAXWELL ES, FOURNIER MJ. The small nucleolar RNAs. *Annu Rev Biochem* 1995;35:897-934.

15. LAFONTAINE DL, TOLLERVEY D. Birth of the snoRNAs: the evolution of the modification-guide snoRNAs. *Trends Biochem Sci*. 1998;23:383-8.

16. GANOT P, BORTOLIN ML, KISS T. Site-specific pseudouridine formation in preribosomal RNA is guided by small nucleolar RNAs. *Cell* 1997;89:799-809.

17. TOLLERVEY D, KISS, T. Function and synthesis of small nucleolar RNAs. *Curr Opin Cell Biol*. 1997;9:337-42.

18. BORTOLIN ML, GANOT P, KISS T. Elements essential for accumulation and function of small nucleolar RNAs directing site-specific pseudouridylation of ribosomal RNAs. *EMBO J*. 1999;18:457-69.

19. DAS A, PETERSON G, KANNER SB, FREVERT U, PARSONS M. A major tyrosine-phosphorylated protein of *Trypanosoma brucei* is a nucleolar RNA-binding protein. *J Biol Chem* 1996;271:15675-81.

20. LEVITAN A, XU Y, BEN-DOV C, BEN-SHLOMO H, ZHANG Y, MICHAELI S. Characterization of a novel trypanosomatid small nucleolar RNA. *Nucleic Acids Res*. 1998;26:1775-83.

21. XU Y, LIU L, LOPEZ-ESTRAÑO C, MICHAELI S. Expression studies on clustered trypanosomatid box C/D small nucleolar RNAs. *J Biol Chem*. 2001; 276: 14289-98.

22. ROBERTS TG, STURM NR, YEE BK, MICHAEL C, HARTSHORNE T, AGABIAN N *et al*. Three small nucleolar RNAs identified from the spliced leader-associated RNA locus in kinetoplastid protozoa. *Mol Cell Biol*. 1998;18:4409-17.

23. DUNBAR D, CHEN AA, WORMSLEY S, BASERGA SJ. The genes for small nucleolar RNAs in *Trypanosoma brucei* are organized in clusters and are transcribed as a polycistronic RNA. *Nucleic Acids Res*. 2001; 28:2855-61.

24. DUNBAR D, WORMSLEY S, LOWE T, BASERGA SJ. Fibrillar-associated box C/D small nucleolar RNAs in *Trypanosoma brucei*. *J Biol Chem*. 2000;275:14767- 76.

25. KISS-LÁSZLÓ Z, HENRY Y, BACHELLERIE JP, CAIZERGUES-FERRER M, KISS T. Site-specific ribose methylation of preribosomal RNA: a novel function for small nucleolar RNAs. *Cell* 1996;85:1077-88.

26. ULIEL S, LIANG X, UNGER R, MICHAELI S. Small nucleolar RNAs that guide modification in trypanosomatids: repertoire, targets, genome organization, and unique functions. *Int J Parasitol*. 2004;34:445-54.

27. LIANG XH, LIU L, MICHAELI S. Identification of the first trypanosome H/ACA RNA that guides pseudouridine formation on rRNA. *J Biol Chem*. 2001; 276:40313-8.

28. LIANG XH, XU YX, MICHAELI S. The spliced leader-associated RNA is a trypanosome-specific sn(o)RNA that has the potential to guide pseudouridine formation on the SL RNA. *RNA* 2002;8:237-46.

29. LIANG XH, OCHAION A, XU YX, LIU Q, MICHAELI S. Small nucleolar RNA clusters in



trypanosomatid *Leptomonas collosoma*. Genome organization, expression studies, and the potential role of sequences present upstream from the first repeated cluster. *J Biol Chem.* 2004;279:5100-9.

30. BARTH S, HURY A, LIANG XH, MICHAELI S. Elucidating the role of H/ACA-like RNAs in trans-splicing and rRNA processing via RNA interference silencing of the *Trypanosoma brucei* CBF5 pseudouridine synthase. *J Biol Chem.* 2005;280:34558-68.

31. TANG TH, BACHELLERIE JP, ROZHDESTVENSKY, BORTOLIN ML, HUBER H, DRUNGOWSKI M *et al.* Identification of 86 candidates for small non messenger RNAs from the archeon *Archaeoglobus fulgidus*. *Proc Nat Acad Sci USA* 2002;99:7536-41.

32. RUSSELL AG, SCHNARE MN, GRAY MW. Pseudouridine- guide RNAs and other Cbf5p-associated RNAs in *Euglena gracilis*. *RNA* 2004;10:1034-46.

33. OMER AD, LOWE TM, RUSSELL AG, EBHARDT H, EDDY SR, DENNIS PP. Homologs of small nucleolar RNAs in Archaea. *Science* 2000;288:517-22.

34. LIANG XH, ULIEL S, HURY A, BARTH S, DONIGER T, UNGER R, MICHAELI S. A genome-wide analysis of C/D and H/ACA-like small nucleolar RNAs in *Trypanosoma brucei* reveals a trypanosome-specific pattern of rRNA modification. *RNA* 2005;11:619-45.

35. KING TH, LIU B, MCCULLY RR, FOURNIER MJ. Ribosome structure and activity are altered in cells lacking snoRNPs that form pseudouridines in the peptidyl transferase center. *Mol Cell Biol.* 2003; 11:425-35.

36. AGABIAN N. *trans splicing* of nuclear pre-mRNAs. *Cell.* 1990;61:1157-60.

37. GUHL F, VALLEJO G. *Trypanosoma* (Herpetosoma) *rangeli* Tejera, 1920 - An updated review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003;98:435-42.

38. GUHL F, JARAMILLO C, CARRANZA JC, VALLEJO G. Molecular characterization and diagnosis of *Trypanosoma cruzi* and *T.rangeli*. *Arch Med Res.* 2002;33:362-70.

39. MORALES L, ROMERO I, DÍEZ H, DEL PORTILLO P, MONTILLA M, NICHOLLS RS ET AL 2002. Characterization of a candidate *Trypanosoma rangeli* small nucleolar RNA gene and its application in a PCR based parasite detection. *Exp Parasitol.* 2002; 102: 72-80.

40. ALTSCHUL SF, GISH W, MILLER W, MYERS EW, LIPMAN DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 1990;215:403-10.

41. HUANG XQ, HARDISON RC, MILLER W. A spaceefficient algorithm for local similarities. *Comput Appl Biosci.* 1990;6:373-81.

42. CORPET F. Multiple sequence alignment which hierarchical clustering. *Nucleic Acid Res.* 1988; 16:10881-90.

43. BROWN JW, ECHEVERRIA M, QU LH. Plant snoRNAs: functional evolution and new modes of gene expression. *Trends Plant Sci.* 2003;8:42-9.

44. DÍEZ H, THOMAS MC, URUEÑA C, SANTANDER SP, CUERVO CL, LÓPEZ M *et al.* Molecular characterization of the kinetoplastid membrane protein-11 genes from the parasite *Trypanosoma rangeli*. *Parasitology.* 2005;130:643-51.

45. PUERTA C, CUERVO P, THOMAS MC, LÓPEZ MC. Molecular characterization of the histone H2A gene from the parasite *Trypanosoma rangeli*. *Parasitol Res.* 2000;86:916-22.

46. CUERVO CL, MAYORGA DC, LÓPEZ MC, PUERTA C. Caracterización parcial de los genes codificantes para la proteína de choque térmico HSP70 de *Trypanosoma rangeli*. *Infectio.* 2005;8:268-78.

47. URREA DA, CARRANZA JC, CUBA-CUBA CA, GURGEL-GONCALVES R, GUHL F, SCHOFIELD CJ *et al.* Molecular characterisation of *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius ecuadoriensis* in Peru, *R. colombiensis* in Colombia and *R. pallens* in Panama, supports a co-evolutionary association between parasites and vectors. *Infect Genet Evol.* 2005;5:123-9.
48. SNOEIJER CQ, PICCHI GF, DAMBROS BP, STEINDEL M, GOLDENBERG S, FRAGOSO SP *et al.* *Trypanosoma rangeli* Transcriptome Project: generation and analysis of expressed sequence tags. *Kinetoplastid Biol Dis.* 2004;3:1.
49. EL-SAYED N, MYLER P, BARTHOLOMEU DC, NILSSON D, AGGARWAL G, TRAN A, *et al.* The genome sequence of *Trypanosoma cruzi*, etiological agent of Chagas disease. *Science* 2005;309:409-15.
50. EL-SAYED N, MYLER P, BLANDIN G, BERRIMAN M, CRABTREE J, AGGARWAL G *et al.* Comparative genomics of trypanosomatid parasitic protozoa. *Science* 2005;309:404-9.
51. LIANG XH, LIU Q, MICHAELI S. Small nucleolar RNA interference induced by antisense or double-stranded RNA in trypanosomatids. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:7521-6.

---

© 2011 *Asociación Colombiana de Infectología.*

**Calle 118 No. 15-24 Oficina 503, Bogotá, D. C., Colombia**  
**Teléfono 215 3714 y 215 3517**

  
[acin@etb.net.co](mailto:acin@etb.net.co)