

EIFs na síntese proteica de Tripanossomatídeos

Fatores de iniciação tradução envolvidos na síntese proteica de Tripanossomatídeos: Uma revisão de literatura

ANA HELENA NASCIMENTO MOURA*, TAMARA DE CARLI DA COSTA LIMA*

***Centro Universitário Tabosa de Almeida, Avenida Portugal, 584,
Universitário, 55016-901 Caruaru, PE, Brasil**

e-mail para correspondência: tamaralima@asces.edu.br

RESUMO

Os tripanossomatídeos são protozoários flagelados responsáveis pelas diversas formas de leishmaniose e a doença de Chagas. Estes protozoários possuem algumas características únicas como o controle da expressão gênica ao nível pós-transcricional, onde a iniciação da tradução parece ser uma etapa fundamental. Vários fatores estão envolvidos nessa etapa de iniciação como as proteínas do complexo EIF4F e a proteína de ligação a cauda poli-A (PABP). Este

trabalho caracteriza-se como um estudo de revisão de literatura integrativa de caráter descritivo e tem por objetivo analisar o papel de diferentes fatores de iniciação da tradução (EIFs e PABP) envolvidos na síntese proteica dos tripanossomatídeos. Até o momento foram descritos dois complexos EIF4F, um formado pelos EIF4G3, EIF4E4, EIF4A1 e PABP1 que estaria de fato envolvido com o processo de iniciação da tradução e o segundo formado pelas proteínas EIF4G4, EIF4E3 com papel ainda não bem caracterizado e que podem estar associados ao EIF4A1 e a homólogos da PABP. A caracterização dessas interações é uma etapa crítica para o entendimento do processo de tradução dos tripanossomatídeos e dessa forma contribuir para o desenvolvimento de moléculas específicas que atuem bloqueando essas interações e que podem levar a estratégias de tratamento mais específicas.

Palavras chaves: Biossíntese de Proteínas, *Leishmania*, *Trypanosoma*

INTRODUÇÃO

Tripanossomatídeos são protozoários flagelados da família Trypanosomatidae causadores de doenças em humanos, animais e plantas (Galanti et al., 1998), cujos os principais representantes são espécies dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania*, destacando-se entre eles: *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania spp.* Todos os três são transmitidos por insetos vetores e são responsáveis por enfermidades de importância médica e econômica, como a doença do sono, a doença de Chagas e as leishmanioses, respectivamente (Belli, 2000).

Os tripanossomatídeos estão entre os mais primitivos eucariotos, pois divergiram precocemente de outros eucariotos durante a evolução, sobrevivendo atualmente como parasitas obrigatórios destes. Apresentam características únicas dentre os eucariotos, como uma complexa regulação da expressão gênica. Entretanto, como há um reduzido número de elementos promotores em tripanossomatídeos, a regulação da transcrição pela RNA polimerase II nesses organismos é considerada inexistente, de tal forma que a expressão gênica é controlada por eventos pós-transcricionais, através do controle no processamento, estabilidade e tradução de mRNAs e no processamento e modificações pós-traducionais das proteínas (Clayton, 2002; Ivens et al., 2005; Clayton e Shapira, 2007).

Os genes codificantes de proteínas em tripanossomatídeos estão agrupados em unidades transcricionais que são co-transcritas constitutivamente

em pré-mRNAs policistrônicos, os quais, a partir do processo de trans-splicing e poliadenilação, dão origem aos mRNAs monocistrônicos que são traduzíveis (Campbell et al., 2003; Alsford e Horn, 2004). Essa forma peculiar de processamento do RNA gera múltiplos mRNAs que são diferencialmente regulados durante o desenvolvimento parasitário (Hug et al. 1994; Clayton e Shapira, 2007).

A proteína de ligação à cauda poli-A (PABP - poly-A binding protein) é uma das principais proteínas de ligação à mRNAs nos eucariotos e cujo papel vem sendo demonstrado como crítico na regulação da tradução. Esta proteína se liga a cauda poli-A presente na extremidade 3' dos mRNAs e promove a interação entre suas extremidades 3' e 5', através da ligação com fatores de iniciação da tradução (eIFs – eukaryotic initiation factors), proteínas individuais ou complexos proteicos, que auxiliam na atividade ribossomal. Entre os eIFs se destaca o complexo heterotrimérico eIF4F (composto pelas subunidades eIF4A, eIF4E e eIF4G) que se liga a extremidade inicial dos mRNAs através da interação entre a subunidade eIF4E e o “cap” (extremidade 5'). Simultaneamente à ligação ao mRNA, o complexo eIF4F interage então com a PABP, através de uma interação direta entre a subunidade eIF4G e a PABP, o que promove uma circularização do mRNA (Wells et al., 1998) e potencializa a associação da subunidade menor do ribossomo e o início da tradução (Kapp e Lorsch, 2004).

A interação entre a PABP e a cauda poli-A media boa parte das funções associadas a esta estrutura, tais como: o processamento dos mRNAs precursores

no núcleo, o transporte núcleo-citoplasmático, o controle de meia-vida e degradação dos mRNAs, o recrutamento dos mRNAs pela maquinaria de síntese proteica e a tradução propriamente dita (Kühn e Wahle, 2004; Brook et al., 2009).

Pelo exposto, o estudo do processo de iniciação da síntese proteica em tripanosomatídeos constitui uma etapa essencial para se conhecer melhor os mecanismos de controle da expressão gênica em tripanossomatídeos, bem como suas semelhanças e diferenças em relação a outros eucariotos. Um grande número de antibióticos e agentes quimioterápicos agem inibindo a síntese proteica para impedir a proliferação de agentes patogênicos. Em tripanossomatídeos, onde ferramentas apropriadas de controle inexistem, esse processo constitui um alvo em potencial para a ação de quimioterápicos, o que exige um conhecimento detalhado deste mecanismo. A descoberta recente de que compostos que interferem com a interação entre subunidades do complexo eIF4F podem ser potenciais ferramentas terapêuticas em mamíferos sugerindo que compostos semelhantes poderiam ser utilizados contra agentes patogênicos, desde que tenhamos o conhecimento de particularidades exclusivas dos mesmos.

Este trabalho tem como objetivo analisar o papel de diferentes fatores de iniciação da tradução (EIFs e PABP) envolvidos na síntese proteica dos tripanossomatídeos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este artigo caracteriza-se como um estudo de revisão de literatura integrativa de caráter descritivo. Baseou-se em artigos originais, seguindo critérios de seleção descritos abaixo.

Critérios de Inclusão:

- Foram utilizados artigos originais.
- Bases de dados utilizados: SciELO, Portal Regional da Biblioteca Virtual em Saúde e PubMed.
- Descritores em concordância com o DeCS: Biossíntese de Proteínas, *Leishmania*, *Trypanosoma*
- Período de publicação: Do ano de 2006 a 2016.
- Idiomas dos artigos: Português e/ ou Inglês.
- Tipos de estudos dos artigos: Revisões de Literatura Sistemática; e, Experimentais.

Critérios de Exclusão:

- Artigos incompletos.
- Estudos que apresentaram investimento por empresa de interesses.

RESULTADOS

O objetivo deste artigo foi apresentar e discutir os achados da literatura referente a diferentes fatores de iniciação de tradução envolvidos na síntese proteica dos tripanossomatídeos, através de estudos originais.

Na busca foram encontrados 29 artigos de acordo com o tema, que foram lidos e selecionados, porém 19 foram separados criteriosamente e agrupados em

seis categorias: a) Iniciação da tradução em tripanossomatídeos; b) EIF4F; c) EIF4A; d) EIFAE; e) EIF4G; f) PABP.

Iniciação da tradução em tripanossomatídeos

Nos tripanossomatídeos os mecanismos de expressão gênica vêm sendo estudado ao longo dos últimos anos. Estes estudos vêm ganhando complexidade nos últimos anos, principalmente após o sequenciamento de genomas de espécies importantes destes protozoários (El-Sayed et al., 2005). Este tem sido o ponto de partida para análises mais refinadas em relação à busca da função de proteínas homólogas a fatores de iniciação da tradução, fatores estes originalmente estudados em outros eucariotos. Uma vez que o processo de tradução é um dos processos mais complexos de todos os seres vivos, e tendo em vista que a iniciação da tradução é a etapa mais crítica de todo o processo e a mais variável entre diferentes grupos de seres vivos, trabalhos vêm se detendo na caracterização funcional de homólogos de fatores de iniciação da tradução nos tripanossomatídeos. Dentre estes, um dos focos principais tem sido o estudo das subunidades do complexo eIF4F e a PABP, devido ao seu papel no recrutamento dos mRNAs para a tradução. Em relação às subunidades do complexo eIF4F, já foram descritos nos tripanossomatídeos dois homólogos do fator eIF4A (EIF4AI e EIF4AIII), seis de eIF4E (EIF4E1-6), cinco de eIF4G (EIF4G1-5), além de três de PABP (PABP1- 3) em *Leishmania* (Da Costa Lima et al., 2010; Dhalia et al., 2005; Freire et al., 2014; Yoffee et al., 2004, 2006). Com exceção da PABP, que possui apenas dois homólogos encontrados em *T. brucei* e *T. cruzi*, todos os outros fatores possuem o mesmo número de homólogos nas diferentes espécies de tripanossomatídeos. Foi demonstrado a formação de dois complexos: o primeiro

formado pelos EIF4G3, EIF4E4, EIF4AI e PABP1, envolvido com o processo de iniciação da tradução, e o segundo formado pelas proteínas EIF4G4 e EIF4E3 com papel ainda não bem caracterizado e que podem ou não se associarem ao EIF4AI e a homólogos de PABP (Da Costa Lima et al., 2010; Freire et al., 2011; Moura et al., 2015; Reis, 2009). Para algumas destas interações, foi demonstrando que trechos de resíduos nas proteínas EIF4G3 e EIF4G4 estão envolvidos respectivamente na ligação com as proteínas EIF4E4 e EIF4E3 (Moura et al., 2015), entretanto não ficou esclarecido se a ligação EIF4G/EIF4E nos dois complexos ocorre de forma similar.

EIF4F

Como descrito a cima o complexo EIF4F desempenha função crítica no início da síntese proteica pois atua media a ligação do complexo 43S ao mRNA e auxilia no rastreamento da região 5'-UTR em busca do códon de iniciação da tradução (Jackson *et al.*, 2010; Hinnebusch, 2014), etapa esta essencial para a síntese de proteínas. O mesmo é composto por três polipeptídeos, o eIF4A, eIF4E e eIF4G. A função de cada um dos componentes deste complexo vêm sendo bem estabelecidas por estudos em vários organismos e sistemas (Tuteja, 2009).

As várias subunidades do complexo EIF4F e da proteína PABP tem sido alvo de vários trabalhos os quais começaram a desvendar o seu papel na iniciação da tradução e destacaram um novo padrão para complexos do tipo EIF4F.

EIF4A

Nos tripanossomatídeos até o presente momento foram descritos dois homólogos de eIF4A encontrados tanto em *L. major* quanto em *T. brucei*. Estes homólogos foram denominados EIF4AI e EIF4AIII, uma vez que foram identificados como ortólogos dos eIF4Ai e eIF4AIII de mamíferos. Os mesmos possuem 403 e 389 aminoácidos e 59% e 52% de similaridade com a proteína eIF4AI de humano, respectivamente. Os estudos realizados mostraram que apenas um dos dois homólogos identificados nos tripanosomatídeos, o EIF4AI, está envolvido na tradução. Estas proteínas diferem em abundância, na sua localização subcelular e apenas o EIF4AI, citoplasmático, se liga especificamente ao domínio HEAT do homólogo de EIF4G3 de *Leishmania* (Dhalia *et al.*, 2005; Dhalia *et al.*, 2006).

Em fase promastigota o LmeIF4A1 se mostrou bem abundante e o LmeIF4A2 não foi detectado o que sugere o LmeIF4A1 seria o homólogo funcional nesta fase o LmeIF4A2 seria expresso em outras formas do ciclo evolutivo. Em *T. brucei* também foram identificados dois homólogos ao eIF4A: o TbeIF4AI mostrou-se de localização citoplasmática, essencial para a viabilidade e envolvido na tradução e o TbeIF4AIII mostrou-se localização nuclear, não é essencial para viabilidade celular e foi proposto que esteja envolvido nas mesmas funções do eIF4AIII de humanos (Dhalia *et al.*, 2006).

EIF4E

Com relação aos homólogos de eIF4E de tripanossomatídeos, dentre os seis homólogos identificados, apenas dois, os EIF4E3 e EIF4E4, se mostraram capazes de interagir respectivamente com homólogos de eIF4G potencialmente

envolvidos no processo de tradução, os EIF4G4 e EIF4G3 (Reis, Tese de Doutorado, 2009). De fato, diversas linhas de evidência implicam o homólogo EIF4E4 como o candidato mais provável para melhor realizar as funções atribuídas para o eIF4E na iniciação da tradução (Jagus et al., 2012; Zinoviev; Shapira, 2012). Do ponto de vista das interações entre os dois pares de homólogos de eIF4E e eIF4G, estas parecem exigir o resíduo de triptofano conservado nos homólogos de eIF4E (equivalente ao W73 de mamíferos), e motivos presentes na curta extremidade N-terminal dos homólogos de eIF4G que divergem do consenso descrito em outros eucariotos o motivo YXXXXLΦ) (Goodfellow; Roberts, 2008). Recentemente foram descritas interações entre outros homólogos de eIF4E e eIF4G, formando novos complexos eIF4F cujas funções ainda não estão bem caracterizadas (Freire et al., 2014). Os homólogos EIF4E3 e EIF4E4 são proteínas abundantes, de localização estritamente citoplasmática, que se destacam ainda por possuírem em comum extensas regiões N-terminais de homologia limitada e que não foram vistas em homólogos de eIF4E em outros organismos (Freire et al., 2011). Uma evidência clara das diferenças existentes no processo de iniciação da tradução nos tripanossomatídeos foi a identificação de uma interação entre o EIF4E4 com a PABP1, descrita em *Leishmania*. Esta interação envolve a região N-terminal da proteína EIF4E4 e representa o único caso descrito até o momento em eucariotos de interação direta entre homólogos de eIF4E e PABP (Zinoviev et al., 2011). Recentemente foi demonstrado que a interação do EIF4E4 diretamente com a PABP1 é mediada por três motivos localizados na região N-terminal da proteína EIF4E4 e mutações de aminoácidos nos três motivos ao mesmo tempo interrompem a interação do EIF4E4 a PABP1 (De Melo Neto et al., 2015).

Experimentos de complementação que expressaram versões mutantes desta proteína em *L. infantum* confirmaram que a interação entre o EIF4E4/PABP1 é mais importante para o processo de tradução que a interação EIF4E4/EIF4G3, reforçando as diferenças no processo de tradução destes protozoários.

EIF4G

Em *L. major* foram encontrados cinco homólogos de eIF4G encontrados e foi observado que estes não apresentavam nenhum domínio óbvio para ligação ao eIF4E ou à PABP quando se baseou apenas na homologia de sequências, entretanto todos apresentam o domínio conservado nos demais eucariotos, o HEAT-1/MIF4G. Uma análise mais detalhada das suas sequências revelou que estes homólogos de uma forma geral não compartilham outras semelhanças, com exceção dos EIF4G3 e EIF4G4. Estas duas proteínas apresentam uma região N-terminal curta e uma região conservada de aproximadamente 120 aminoácidos localizada cerca de 180 aminoácidos após o domínio HEAT-1/MIF4G, com similaridade aos dois outros domínios HEAT do eIF4G humano (HEAT-2/MA3 e/ou HEAT-3/W2) (Dhalia et al., 2005). No entanto, análises de predição da região C-terminal dos homólogos EIF4G3 e EIF4G4 previu com alta confiança um domínio MA3 semelhante a um domínio regulador de tradução de mamífero Pdc4 (Chang et al., 2009). Além disso, resíduos de triptofano conservados, também na extremidade C-terminal dos eIF4Gs de tripanossomatídeos assemelham-se a aminoácidos aromáticos conservados no domínio W2 de mamíferos e afins (Bellolell et al., 2006; Liberman et al., 2008). Apesar das suas regiões N-terminais do EIF4G3 e EIF4G4 terem um tamanho muito curto,

observa-se que nas mesmas estão localizados os motivos de interação ao EIF4E3 e EIF4E4 respectivamente. Estas interações ocorrem através de motivos semelhantes aos descritos para outros eucariotos, mas que seriam posicionados em regiões não correspondentes nos dois homólogos de eIF4G (Yofee et al., 2009, Zinoviev et al., 2012). A proteína EIF4G3 demonstrou ainda ser capaz de interagir com a proteína PABP1, e polipeptídeos contendo o domínio MIF4G e/ou o domínio C-terminal da proteína EIF4G3 são capazes de interagir com a proteína PABP1, através das suas regiões N e C-terminais. Estes resultados sinalizam para um modo de interação eIF4G/PABP diferente do que foi descrito até o momento em outros eucariotos (Da Costa Lima et al., 2010; Reis, Tese de doutorado 2009; Xavier , Monografia 2013).

PABP

Homólogos da PABP nos tripanossomatídeos foram identificados e caracterizados em *T. brucei*, *T. cruzi*, e *L. major*. Análises de bioinformática confirmaram que todos os tripanossomatídeos estudados apresentam dois homólogos de PABP (PABP1 e 2) e que espécies de *Leishmania* apresentam um terceiro homólogo (PABP3). Os três homólogos da PABP em *Leishmania* sp. possuem localização predominantemente citoplasmática, entretanto foi observado que as três proteínas diferem na maneira de se ligar ao RNA alvo. Experimentos de imunoprecipitação mostram que as PABP2 e 3 interagem entre si e com as mesmas populações de mRNAs, porém nenhuma das duas se ligam a PABP1, que parece se associar a populações diferentes de mRNAs. Até o momento somente a PABP1 foi identificada se ligando a um homólogo de eIF4G, o EIF4G3

(Da Costa Lima et al., 2010). Com relação à interação da PABP1 com o EIF4G3, observa-se ser bem mais fraca quando comparada com as interações entre PABP1 e EIF4E4 ou EIF4G3 e EIF4E4. Esta interação parece envolver múltiplos segmentos, com a região central e C-terminal do EIF4G3 interagindo com motivos distintos e ainda não definidos da PABP1 (Xavier, Monografia, 2013). A estrutura da PABP é altamente conservada e assim como nos demais eucariotos, os homólogos de tripanossomatídeos se caracterizam por uma região N-terminal que apresenta quatro motivos de ligação a RNA (RRMs), uma região intermediária rica em prolina/glutamina e uma região C-terminal contendo um domínio chamado PABC. Além disso, estudos por análises de sequências de bioinformática foram avaliados motivos relevantes da proteína, que parecem mediar interações com parceiros proteicos ou RNAs (De Melo Neto, dados não publicados, correspondência com o autor). Outro estudo importante foi a busca em banco de dados por domínios de diferentes eucariotos que são capazes de interagir com a PABC e foi encontrado um motivo bastante conservado denominado PAM2. Ao comparar a sequência desse motivo com a sequência do EIF4E4 de *Leishmania* sp, observou-se um alto grau de conservação principalmente com a região dos três motivos que media a interação do EIF4E4 com a PABP1, sendo um indicativo da presença de um motivo PAM2 no EIF4E4 e detalhes da estrutura de interação da PABP1/EIF4E4 ajudarão a elucidar a função desta associação para o processo de iniciação da tradução em tripanossomatídeos. Considerando a importância desta interação para a viabilidade celular, é importante investiga-la mais profundamente (De Melo Neto, dados não publicados, correspondência com o autor).

DISCUSSÃO

As tripanossomíases são classificadas como doenças tropicais negligenciadas e estão intimamente relacionadas ao desenvolvimento do país ou região onde são encontradas, tendo uma maior prevalência em locais de baixo desenvolvimento. As drogas disponíveis para o tratamento dessas doenças possuem alta toxicidade e são deficientes devido à resistência gerada aos quimioterápicos usados atualmente. A síntese de proteínas constitui um alvo importante para a ação de quimioterápicos e dados preliminares sugerem que esse processo apresenta muitos elementos diferenciados nos protozoários causadores destas enfermidades. Um ponto de destaque é a iniciação da tradução e em especial o complexo eIF4F, responsável por uma das primeiras etapas do processo, alvo de drogas em desenvolvimento em outros modelos eucarióticos. A caracterização das interações entre subunidades deste complexo e sua parceira PABP, é uma etapa crítica para o desenvolvimento de moléculas específicas que atuem bloqueando estas interações e que poderiam levar a estratégias de tratamento mais específicas. Sendo assim, o entendimento do comportamento destes fatores frente a seus parceiros se faz necessária não só para uma melhor compreensão do papel que essas proteínas desempenham no metabolismo celular dos tripanossomatídeos, bem como para o desenvolvimento de novas abordagens de controle do parasita e de quimioterápicos.

REFERENCIAS

Belli SI 2000. Chromatin remodeling during the life cycle of trypanosomatids. *Int J Parasitol* 30: 679-687.

Bellolell L, Cho-Park PF, Paulin F, Sonenberg N, Burley SK 2006. Two structurally atypical HEAT domains in the C-terminal portion of human eIF4G support binding to eIF4A and Mnk1. *Structure* 14: 913-23.

Brook M, Smith JW, Gray NK 2009. The DAZL and PABP families: RNA-binding proteins with interrelated roles in translational control in oocytes. *Reproduction* 137: 595-617.

Campbell DA, Thomas S, Sturm NR 2003. Transcription in Kinetoplastid Protozoa: why be normal? *Microbes infect* 5: 1231-1240.

Chang JH, Cho YH, Sohn SY, Choi JM, Kim A, Kim YC, Jang SK, Cho Y 2009. Crystal structure of the eIF4A-PDCD4 complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 106: 3148-3153.

Clayton C, Shapira M 2007. Post-transcriptional regulation of gene expression in trypanosomes and leishmanias. *Mol Biochem Parasitol* 156: 93-101.

Clayton CE 2002. Life without transcriptional control? From fly to man and back again. *EMBO* 21: 1881-1888.

Da Costa Lima TD, Moura DM, Reis CR, Vasconcelos JR, Ellis L, Carrington M, Figueiredo RC, de Melo Neto OP 2010. Functional characterization of three *Leishmania* poly(a) binding protein homologues with distinct binding properties to RNA and protein partners. *Eukaryotic cell* 101: 484-94.

Dhalia R, Reis CR, Freire ER, Rocha PO, Katz R, Muniz JR, Standart N, de Melo Neto OP 2005. Translation initiation in *Leishmania major*. Characterization of multiple eIF4F subunit homologues. *Mol. Biochem. Parasitol* 140: 23-41.

Dhalia R, Marinsek N, Reis CRS, Katz R, Muniz JRC, Standart N, Carrington M, de Melo Neto OP 2006. The two eIF4A helicases in *Trypanosoma brucei* are functionally distinct. *Nucleic Acids Res* 34: 2495-2507.

El-Sayed NM, Myler PJ, Blandin G, Berriman M, Crabtree J, Aggarwal G, Caler E, Renauld H, Worthey EA, Hertz-Fowler C, Ghedin E, Peacock C, Bartholomeu DC, Haas BJ, Tran AN, Wortman JR, Alsmark UC, Angiuoli S, Anupama A, Badger J, Bringaud F, Cadag E, Carlton JM, Cerqueira GC, Creasy T, Delcher AL, Djikeng A, Embley TM, Hauser C, Ivens AC, Kummerfeld SK, Pereira-Leal JB, Nilsson D, Peterson J, Salzberg SL, Shallom J, Silva JC, Sundaram J, Westenberger S, White O, Melville SE, Donelson JE, Andersson B, Stuart KD, Hall N 2005. Comparative Genomics of Trypanosomatid Parasitic Protozoa. *Science* 309: 404-409.

Freire ER, Dhalia R, Moura DM, da Costa Lima TD, Lima RP, Reis CR, Hughes K, Figueiredo RC, Standart N, Carrington M, de Melo Neto OP 2011. The four trypanosomatid eIF4E homologues fall into two separate groups, with distinct features in primary sequence and biological properties. *Mol. Biochem. Parasitol* 176: 25-36.

Freire ER, Vashisht AA, Malvezzi AM, Zuberek J, Langousis G, Saada EA, Nascimento JF, Stepinski J, Darzynkiewicz E, Hill K, de Melo Neto OP, Wohlschlegel JA, Sturm NR, Campbell DA 2014. eIF4F-like complexes formed by cap-binding homolog TbEIF4E5 with TbEIF4G1 or TbEIF4G2 are implicated in post-transcriptional regulation in *Trypanosoma brucei*. *RNA* 20: 1272-86.

Goodfellow I, Roberts L 2008. Eukaryotic initiation factor 4E. *Int. J. Biochem. Cell Biol* 40: 2675-2680.

Horn D 2008. Codon usage suggests that translational selection has a major impact on protein expression in trypanosomatids. *BMC Genomics* doi: 10.1186/1471-2164-9-2.

Hug M, Hotz HR, Hartmann C, Clayton C 1994. Hierarchies of RNA-processing signals in a *trypanosome* surface antigen mRNA precursor. *Mol Cell Biol* 14: 7428-7435.

Ivens AC, Peacock CS, Worthey EA, Murphy L, Aggarwal G, Berriman M, Sisk E, Rajandream MA, Adlem E, Aert R, Anupama A, Apostolou Z, Attipoe P, Bason N, Bauser C, Beck A, Beverley SM, Bianchetti G, Borzym K, Bothe G, Bruschi CV, Collins M, Cadag E, Ciarloni L, Clayton C, Coulson RM, Cronin A, Cruz AK, Davies RM, De Gaudenzi J, Dobson DE, Duesterhoeft A, Fazelina G, Fosker N, Frasch AC, 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 JC, Müller-Auer S, Munden H, Nelson S, Norbertczak H, Oliver K, O'neil S, Pentony M, Pohl TM, Price C, Purnelle B, Quail MA, Rabinowitsch E, Reinhardt R, Rieger M, Rinta J, Robben J, Robertson L, Ruiz JC, Rutter S, Saunders D, Schäfer M, Schein J, Schwartz DC, 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 DF, Blackwell JM, Stuart KD, Barrell B, Myler PJ 2005. The Genome of the Kinetoplastid Parasite, *Leishmania major*. *Science* 309: 436-442.

Jackson R, Hellen C, Pestova T 2010. The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11: 113-127.

Jagus R, Bachvaroff TR, Joshi B, Place AR 2012. Diversity of Eukaryotic Translational Initiation Factor eIF4E in Protists. *Comp. Funct. Genomic* doi: 10.1155/2012/134839.

Kapp, LD, Lorsch JR 2004. The molecular mechanics of eukaryotic translation. *Annu Rev Biochem* 73: 657-704.

Kühn U, Wahle E. Structure and function of poly(A) binding proteins. *Biochim Biophys. Acta* 678: 67-84.

Lieberman N, Dym O, Unger T, Albeck S, Peleg Y, Jacobovitch Y, Branzburg A, Eisenstein M, Marash L, Kimchi A 2008. The crystal structure of the C-terminal DAP5/p97 domain sheds light on the molecular basis for its processing by caspase cleavage. *J Mol. Biol* 383: 539-548.

Moura DMN, Reis CRS, Xavier CC, da Costa Lima TD, Lima RP, Carrington M, de Melo Neto 2015. Two trypanosomatid eIF4G homologues have functional differences compatible with two distinct eIF4F complexes. *RNA Biol* 12: 305-319.

Reis CRS 2009. *Identificação e mapeamento de domínios de ligação de homólogos do fator EIF4G de iniciação da tradução de Leishmania major*. Tese de Doutorado em Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Xavier CC 2013. *Identificação de domínios em um homólogo de iniciação da tradução EIF4G envolvidos na sua ligação a proteína de ligação à cauda poli-a em Leishmania major*. Monografia de Bacharelado em Biomedicina, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Yoffe Y, Zuberek J, Lerer A, Lewdorowicz M, Stepinski J, Altmann M, Darzynkiewicz E, Shapira M 2006. Binding specificities and potential roles of

isoforms of eukaryotic initiation factor 4E in *Leishmania*. *Eukaryot. Cell* 5: 1969-1979.

Yoffe Y, Zuberek J, Lewdorowicz M, Zeira Z, Keasar C, Orr-Dahan I, Jankowska-Anyszka M, Stepinski J, Darzynkiewicz E, Shapira M 2004. Cap-binding activity of an eIF4E homolog from *Leishmania*. *Nucleic Acids Res* 37: 3243-3253.

Zinoviev A, Léger M, Wagner G, Shapira M 2011. A novel 4E interacting protein in *Leishmania* is involved in stage-specific translation pathways. *Nucleic Acids Res* 39: 8404-8415.

Zinoviev A, Shapira M 2012. Evolutionary conservation and diversification of the translation initiation apparatus in trypanosomatids. *Comp. Funct. Genomics* doi: 10.1155/2012/813718.