

PREDICCIÓN COMPUTACIONAL DE ASPECTOS FUNCIONALES Y ESTRUCTURALES DE LA PROTEÍNA FTDG_01454 DE *FRANCISELLA TULARENSIS*

Janneth González¹, Ludis Morales¹, Luz M Salazar¹, Nelson E Vega-Vela¹, y George E Barreto¹

¹ Departamento de Nutrición y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C., Colombia.

janneth.gonzalez@javeriana.edu.co

RESUMEN

Francisella tularensis es una bacteria patógena que produce Tularemia en humanos y que puede infectar a más de 250 especies de animales. La reciente secuenciación del genoma de *F. tularensis* permitió la identificación de la proteína FTDG_01454 de *F. tularensis*, la cual, podría estar involucrada en la patogénesis de la bacteria siendo por tanto un posible blanco terapéutico para la protección inmunológica frente a la Tularemia. Debido a que el mecanismo patogénico de esta bacteria continúa siendo poco conocido, el objetivo de este estudio consistió en predecir *in silico* la estructura tridimensional de la proteína FTDG_01454 de *F. tularensis*, e inferir regiones funcionales asociadas importantes para su actividad. Las estructuras primaria, secundaria y terciaria de la proteína FTDG_01454 fueron analizadas *in silico*; la estructura 3D de FTDG_01454 es presentada de acuerdo al análisis estereoquímico y energético. Se encontró que la proteína corresponde a una enzima de actividad catalítica hidrolasa evidenciada en el dominio carboxilestarasa fosfolipasa thioesterasa y que su estructura es estable. Estos resultados evidencian que la actividad hidrolítica podría brindar resistencia a los antibióticos, lo cual es importante para un mejor entendimiento de la fisiología de esta bacteria y la importancia de futuras investigaciones acerca de esta.

INTRODUCCIÓN

La tularemia es una enfermedad infecciosa producida por *Francisella tularensis* que presenta un patrón epidemiológico complejo, debido a que puede infectar a más de 250 especies animales²³. *F. tularensis* puede sobrevivir a bajas temperaturas y en ausencia de luz solar directa, en un gran número de hábitats terrestres, acuáticos, vegetales^{2,13} y puede transmitirse entre animales y de éstos a las personas por múltiples vías, que incluyen picaduras de insectos hematófagos, contacto directo con animales y materiales infectados, ingestión de alimentos y bebidas contaminados e inhalación de aerosoles^{13,23,26}.

La infección por *F. tularensis* muestra diferentes presentaciones clínicas dependiendo de varios factores como son la virulencia del microorganismo infectante, la dosis y la vía de inoculación. *F. tularensis* es una bacteria bacilar gram negativa, patogénica intracelular facultativa, no móvil, y de metabolismo aeróbico^{13,32} que puede penetrar a través de la piel, la conjuntiva ocular y las mucosas de los tractos gastrointestinal y respiratorio^{18,33}. La infección puede producir, distintos cuadros clínicos de gravedad variable: tularemia ulceroganglionar, ganglionar, oculoganglionar, orofaríngea, neumónica, tifoide y séptica³⁴. La mayoría de los estudios clínicos y epidemiológicos proceden de EE.UU, donde se diagnostican entre 30-150 casos cada año¹⁶. De acuerdo con la clasificación del Centro de Control y Prevención de Enfermedades¹⁴, *F. tularensis* ha sido catalogada como un microorganismos que puede provocar accidentes masivos dada su gran infectividad y virulencia. El CDC ha analizado las consecuencias de un ataque biológico con *F. tularensis* y reporta que si se dispersara una nube de tularemia sobre una población de 100.000 habitantes habría que esperar unos 82.500 casos de enfermedad con alrededor de 6.200 muertes, ya que la mayoría de los casos serían de las formas neumónica y tifoidea, las más graves. Es decir, una tasa de ataque de 82.5% con una tasa de mortalidad del 6.2%¹⁴.

Aunque *F. tularensis subsp. tularensis* es la forma más sistémica y grave de tularemia, probablemente debido a su capacidad de diseminación intraorgánica⁹, los factores que determinan su virulencia no han sido ampliamente reportados. Algunos estudios han relacionado la gran resistencia a la lisis de las cepas virulentas con la expresión de lipopolisacáridos de tipo S (liso)^{22,27}. También se ha reportado la relación entre la virulencia y la expresión de la fosfatasa ácida AcpA, que actúa como inhibidora de la explosión respiratoria de los fagocitos, permitiendo a la bacteria sobrevivir en el interior de dichas células⁶. Otro estudio ha relacionado la virulencia con la expresión de proteínas inducibles por estrés, las cuales le confieren a la bacteria la posibilidad de sobrevivir en condiciones ambientales adversas⁷.

Aunque se ha demostrado que *F. tularensis* puede inducir la síntesis de prostaglandina E2 (PGE2) en macrófagos, inhibiendo el desarrollo de las respuestas inmunes de las células T⁴⁰, los eventos de transducción de señales en el macrófago que conducen a la síntesis de PGE2 en respuesta a *F. tularensis*, así como la base molecular de la infección por *Francisella*, no han sido comprendidos en su totalidad.

La reciente secuenciación del genoma de *F. tularensis*³⁸ permitió la identificación de 1741 genes codificantes para proteínas, dentro de las cuales la proteína FTDG_01454 de *F. tularensis* fue identificada como una proteína que podría estar envuelta en la patogénesis de la bacteria, siendo por tanto un posible blanco terapéutico para la protección inmunológica frente a la Tularemia²⁰.

Debido a que el mecanismo patogénico de esta bacteria continúa siendo poco conocido, el objetivo de este estudio consistió en predecir *in silico* la estructura tridimensional de la proteína FTDG_01454 de *F. tularensis*, e inferir regiones funcionales asociadas importantes para su actividad.

Todo el trabajo será en Verdana 10, con el texto justificado, la bibliografía acotada, que no excedan de 12 páginas y no más de 5 imágenes. El trabajo completo en Word no excederá de los 450 kbytes, y las imágenes que no deben pasar de 80 kbytes.

Al final de la introducción se deben incluir los objetivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis computacional de la estructura primaria de FTDG 01454

La secuencia de la proteína FTDG_01454 (Acc.No. EDN38632.1) fue obtenida a través del GenBank del Centro Nacional de Información para la Biotecnología²⁴. La búsqueda de similitud con otras secuencias reportadas se llevó a cabo con el algoritmo BLAST¹, disponible en NCBI. Las propiedades fisicoquímicas, tales como los perfiles de accesibilidad, hidrofobicidad, índice de estabilidad, índice alifático, promedio general de la hidropatía, entre otras, fueron calculadas con PROTPARAM¹⁷ del servidor ExPasy Proteomic Tools⁴. En el caso del perfil de hidrofobicidad se utilizó el algoritmo de Kyte y Doolittle, cuya escala considera valores entre 3,0 y 4,0¹⁷. El tamaño de la ventana para los análisis de ProtScale fue de 9 aminoácidos, el cual es recomendado para garantizar la óptima cobertura de la secuencia. El punto isoeléctrico (pI) y el peso molecular se obtuvieron por medio del programa Comput pI/Mw¹⁷, mientras que las regiones funcionales fueron identificadas con PFAM¹⁵ del Trust Sanger Institute de Inglaterra.

Predicción de la estructura secundaria y terciaria de FTDG_01454

Para predecir la estructura secundaria de la proteína hipotética FTDG_01454 de *F. tularensis* se realizó un consenso de 12 algoritmos: SPOM, SOPMA, HNN, MLRC, DPM,

DSC, GORI, GORRI, GORIV, PHD, PREDATOR y SIMPA96, mediante el servidor NSP@¹². Los métodos usados se fundamentan en el uso de parámetros de probabilidad determinados por las frecuencias relativas de las apariciones de cada aminoácido en cada tipo de estructura secundaria y en probabilidad de inferencia bayesiana. La búsqueda de dominios de la proteína FTDG_01454 se realizó a través de InterProScan²⁹. La predicción de la estructura 3D se realizó por homología con el programa MOE¹⁰. La minimización energética se llevó a cabo con el campo de fuerza AMBER 94³⁷ de MAESTRO 8.0³⁵. Por último, la validación estereoquímica y energética del modelo se realizó con el servidor Rampage⁵, y el modelo predicho fue visualizado con el programa Pymol V. 0,98³⁶.

RESULTADOS

Análisis computacional de la estructura primaria de FTDG_01454

El alineamiento local de la secuencia de la proteína FTDG_01454 permitió la identificación de una secuencia de aminoácidos similar en un 99%, correspondiente a la secuencia de la familia de las proteínas carboxilesterasas/fosfolipasas de *Francisella tularensis subsp. Holarctica* (Zp_04984590.1). Las propiedades fisicoquímicas obtenidas mediante ProtParam y ComputpI/Mw (**Tabla 1**) permitieron determinar el peso molecular, punto isoeléctrico, índice de inestabilidad, tiempo de vida, índice alifático y promedio general de la hidropatía. Por otra parte, los resultados arrojados por ProtScale (**Figura 1**) revelaron que la proteína FTDG_01454 es anfipática, permitiendo identificar las regiones hidrofóbicas e hidrofílicas de ésta, en donde se observa el puntaje en función del residuo. Los picos más altos corresponden a las regiones hidrofóbicas, mientras los más bajos cercanos a -1.5 indican las regiones hidrofílicas. Se determinó que la proteína presenta 8 regiones hidrofóbicas y 7 regiones hidrofílicas.

Predicción de la estructura secundaria

La predicción de la estructura secundaria (**Figura 2**) se realizó con base en un consenso de 12 algoritmos. El modelo predicho muestra que la proteína contiene 6 hélices alfa correspondientes a un 30.63%, 8 hebras no plegadas correspondientes a un 18.47% y un 41.89% de bucles intercalados entre las hélices y las hebras no plegadas.

Predicción de la estructura terciaria y función

La plantilla escogida para el modelamiento de la estructura tridimensional de la proteína FTDG_01454 corresponde a la estructura cristalográfica de la cadena A de la enzima carboxilesterasa de la familia fosfolipasas identificada con el código 4F21 (Res. 2.5Å). El modelo predicho se presenta en la **Figura 3**. La minimización de energía se realizó a partir del software Macromodel V 9.7 disponible en la suite de análisis molecular de

Schrodinger usando el campo de fuerzas AMBER 94. La energía mínima del modelo predicho fue de -7455,676 KJ/mol. La validación del modelo de FTDG_01454 cumplió esencialmente con los parámetros estereoquímicos de una estructura estable con un alto porcentaje de residuos en zonas favorables (99.5%) y permitidas (>99.8%; **Figura 3; Figura 4**) con un valor de Qmean de 0.65.

En cuanto a la predicción de la función de FTDG_01454 se identificó un pliegue alfa/beta hidrolasa, cuyo núcleo es una lámina alpha/beta con 8 hebras conectadas por hélices y los pliegues conforman una triada catalítica⁸ involucrada en la síntesis no ribosomal de péptidos.

CONCLUSIONES

Análisis computacional de la estructura primaria de FTDG_01454

Teniendo en cuenta que la identidad de cada proteína se basa en el orden preciso de cada uno de sus aminoácidos¹¹, el porcentaje de identidad entre las secuencias FTDG_01454 y Zp_04984590.1 permite deducir que éstas son homólogas y por lo tanto altamente similares en su estructura tridimensional. Lo anterior constituye un buen hallazgo teniendo en cuenta que la proteína hipotética FTDG_01454 no cuenta con información disponible con respecto a su estructura y su función.

De acuerdo al peso molecular y al índice de estabilidad de FTDG_01454, esta proteína se puede clasificar como un inmunogeno potente, ya que generalmente los compuestos con peso molecular entre 10.000 a 100.000 Da y con índices de estabilidad menor a 40 se pueden clasificar como tal¹⁹. Diferentes estudios han descrito que el incremento de la estabilidad conformacional de las proteínas antigénicas puede aumentar o disminuir la inmunogenicidad de las mismas³, razón por la cual es posible que la proteína FTDG_01454 sea capaz de incrementar su inmunogenicidad en condiciones experimentales.

El índice alifático, el cual determina el volumen relativo ocupado por las cadenas laterales alifáticas, presentó un valor alto que indica que la proteína FTDG_01454 tiende a tener gran termoestabilidad. En cuanto al promedio general de la hidropatía, que indica la capacidad de la proteína para establecer interacciones con el agua, se encontró un valor muy bajo que sugiere que la proteína puede estar altamente hidratada en medios acuosos, ya que entre más bajo sea este valor hay mayor posibilidad de establecer dicha interacción. Esta medida se basa en la cantidad de energía (k/mol) que se usa para transferir un segmento de secuencia de longitud definida de un medio hidrofóbico a un medio hidrofílico²¹. De acuerdo a las regiones hidrofílicas e hidrofóbicas reveladas por ProtScale, éstas sugieren que una parte de su estructura se encuentra en contacto con un medio acuoso, mientras que la otra parte podría estar en contacto con la parte interna de la membrana celular.

Predicción de la estructura secundaria

Debido a que la calidad de la predicción de la estructura secundaria puede ser de mejor calidad si se realiza por clasificaciones basadas en consensos que utilizando solo uno de los métodos²⁸, para obtener una predicción más confiable se realizó un consenso de 12 algoritmos. De acuerdo a la estructura secundaria de FTDG_01454, la estabilidad de la proteína se evidencia claramente por la preponderancia de bucles que hacen a estas moléculas más dúctiles y se explica por la necesidad funcional de establecer fácilmente interacciones con otras proteínas³¹, lo cual es corroborado por el índice de estabilidad de 26.89 mencionado anteriormente. Este hallazgo constituye un indicio que la proteína podría presentarse realmente de forma natural.

Predicción de la estructura terciaria y función

Una estructura es considerada como estable con base en los parámetros estereoquímicos derivados de los valores de las variables internas de la macromolécula (enlaces, ángulos y torsiones) que determinan su plegamiento. Dado que el rango permitido de ángulos dentro de una estructura es restrictivo, es posible identificar los valores de los ángulos que permiten una aproximación a la probabilidad de que la conformación estructural de la proteína sea correcta³⁹. De acuerdo con lo anterior, los valores presentados según la evaluación estereoquímica permiten determinar que la estructura presentada para FTDG_01454 corresponde a una correcta aproximación de su estructura real.

De acuerdo a la predicción de la función de FTDG_01454, se identificó que FTDG_01454 tendría actividad fosfolipasa, con un rol importante en el catabolismo de fosfolípidos para producir mensajeros secundarios que inician eventos de transducción de señales y está implicada en la producción de PGE2, lo cual es importante puesto que se ha encontrado por medio del uso de inhibidores de fosfolipasas y lipasas que la actividad de cPLA2 (Fosfolipasa Calcio Dependiente Humana) Y DAGL (Diacilglicerol-Lipasa) son necesarias para que *F. tularensis* induzca la síntesis de PGE2 en los macrófagos desencadenando la Tularemia⁴⁰, lo que aduce al hecho que la bacteria utiliza fosfolipasas, ya sean endógenas o exógenas para generar la patología.

De las posibles funciones predichas para la proteína hipotética FTDG_01454, particularmente la catálisis hidrolítica de la carboxilesterasa, jugaría un papel muy importante al darle una resistencia especial a los antibióticos ya que permite la hidrólisis de enlaces como C-O, C-N, ó C-C²⁵ y la detoxificación celular de xenobioticos³⁰. La proteína FTDG_01454 parece tener también una función hidrolítica de fosfolípidos para la producción de ácidos monocarboxílicos alifáticos. El futuro estudio de la carboxilesterasa de *F. tularensis* y de sus posibles interacciones con diferentes ligandos y metabolitos podría generar información valiosa que permita desarmar los mecanismos de defensa de

la bacteria y evitar que ocurran las cascadas bioquímicas necesarias para el desarrollo de la tularemia.

Agradecimientos

Este trabajo es parte de los proyectos financiados por la Pontificia Universidad Javeriana ID: 00004960 y 0048078.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 1997; 25: 3389–402.
- 2 Anda P, Segura del Pozo J, Díaz García JM, Escudero R, García Peña FJ, López Velasco MC, Sellek RE, Jiménez Chillarón MR, Sánchez Serrano LP, Martínez Navarro JF. Waterborne outbreak of tularemia associated with crayfish fishing. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 575–82.
- 3 Arancibia S, Campo M Del, Nova E, Salazar F, Becker MI. Enhanced structural stability of Concholepas hemocyanin increases its immunogenicity and maintains its non-specific immunostimulatory effects. *Eur J Immunol* 2012; 42: 688–699.
- 4 Artimo P, Jonnalagedda M, Arnold K, Baratin D, Csardi G, de Castro E, Duvaud S, Flegel V, Fortier A, Gasteiger E, Grosdidier A, Hernandez C, Ioannidis V, Kuznetsov D, Liechti R, Moretti S, Mostaguir K, Redaschi N, Rossier G, Xenarios I, Stockinger H. ExPASy: SIB bioinformatics resource portal. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: W597–603.
- 5 De Bakker P, Lovell S. RAMPAGE, Ramachandran Plot Assessment. 2013. Available at <http://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage.php>.
- 6 Baron GS, Reilly TJ, Nano FE. The respiratory burst-inhibiting acid phosphatase AcpA is not essential for the intramacrophage growth or virulence of *Francisella novicida*. *FEMS Microbiol Lett* 1999; 176: 85–90.
- 7 **Basnak'ian IA, Bondarenko VM, Mel'nikova VA, Beliavskaia VA. Stress-inducible bacterial proteins and virulence. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*; : 101–8.**
- 8 Carr PD, Ollis DL. Alpha/beta hydrolase fold: an update. *Protein Pept Lett* 2009; 16: 1137–48.
- 9 Champion MD. Host-pathogen o-methyltransferase similarity and its specific presence in highly virulent strains of *Francisella tularensis* suggests molecular mimicry. *PLoS One* 2011; 6: e20295.
- 10 Chemical Computing Group. MOE, Molecular Operating Environment. 2013. Available at https://www.chemcomp.com/MOE-Molecular_Operating_Environment.htm. Accessed May 30, 1BC.

- 11 Claverie J-M, Notredame C. *Bioinformatics For Dummies*. : For Dummies, 2006.
- 12 Combet C, Blanchet C, Geourjon C, Deléage G. NPS@: network protein sequence analysis. *Trends Biochem Sci* 2000;25:147–50.
- 13 Dennis DT, Inglesby T V., Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, Fine AD, Friedlander AM, Hauer J, Layton M, Lillibridge SR, McDade JE, **Osterholm MT, O'Toole T**, Parker G, Perl TM, Russell PK, Tonat K. Tularemia as a Biological Weapon. *JAMA* 2001;285:2763.
- 14 Departamento de Salud y Servicios Humanos. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. 2013. Available at <http://emergency.cdc.gov/agent/tularemia/espanol/facts.asp>. Accessed July 10, 1BC.
- 15 Finn RD, Tate J, Mistry J, Coghill PC, Sammut SJ, Hotz H-R, Ceric G, Forslund K, Eddy SR, Sonnhammer ELL, Bateman A. The Pfam protein families database. *Nucleic Acids Res* 2008;36:D281–8.
- 16 Fulton KM, Zhao X, Petit MD, Kilmury SLN, Wolfraim LA, House R V, Sjostedt A, Twine SM. Immunoproteomic analysis of the human antibody response to natural tularemia infection with Type A or Type B strains or LVS vaccination. *Int J Med Microbiol* 2011;301:591–601.
- 17 Gasteiger E, Hoogland C, Gattiker A, Duvaud S, Wilkins M, Appel R, Bairoch A. Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server. In: Walker J, ed. *The Proteomics Protocols Handbook SE - 52*. : Humana Press, 2005: 571–607.
- 18 Gurycová D, Výrosteková V, Khanakah G, Kocianová E, Stanek G. Importance of surveillance of tularemia natural foci in the known endemic area of Central Europe, 1991-1997. *Wien Klin Wochenschr* 2001;113:433–8.
- 19 Khan FH. *The Elements of Immunology*. Nueva Delhi, 2009.
- 20 Larsson P, Oyston PCF, Chain P, Chu MC, Duffield M, Fuxelius H-H, Garcia E, Hälltorp G, Johansson D, Isherwood KE, Karp PD, Larsson E, Liu Y, Michell S, Prior J, Prior R, Malfatti S, Sjöstedt A, Svensson K, Thompson N, Vergez L, Wagg JK, Wren BW, Lindler LE, Andersson SGE, Forsman M, Titball RW. The complete genome sequence of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia. *Nat Genet* 2005;37:153–9.
- 21 **Lieberman. MA. Marks' Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach, 3rd ed.** LIPPINCOTT, WILLIAMS & WILKINS, 2009.
- 22 Maslova NN, Pavlovich N V. The immunomodulating and antitoxic properties of preparations of lipopolysaccharides from representatives of the genus *Francisella*. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*;: 50–3.
- 23 Mörner T. The ecology of tularaemia. *Rev Sci Tech* 1992;11:1123–30.
- 24 NCBI. National Center for Biotechnology Information. 2013. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

- 25 Ollis DL, Cheah E, Cygler M, Dijkstra B, Frolow F, Franken SM, Harel M, Remington SJ, Silman I, Schrag J. The alpha/beta hydrolase fold. *Protein Eng* 1992;5:197–211.
- 26 Parola P, Raoult D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis* 2001;32:897–928.
- 27 Pavlovich N V, Sorokin VM, Blagorodova NS. The resistance of *Francisella tularensis* to the bactericidal action of normal serum as a criterion for evaluating the virulence of the bacterium. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*; :7–10.
- 28 Pollastri G, Martin AJM, Mooney C, Vullo A. Accurate prediction of protein secondary structure and solvent accessibility by consensus combiners of sequence and structure information. *BMC Bioinformatics* 2007;8:201.
- 29 Quevillon E, Silventoinen V, Pillai S, Harte N, Mulder N, Apweiler R, Lopez R. InterProScan: protein domains identifier. *Nucleic Acids Res* 2005;33:W116–20.
- 30 Ross MK, Crow JA. Human carboxylesterases and their role in xenobiotic and endobiotic metabolism. *J Biochem Mol Toxicol* 2007;21:187–96.
- 31 Sáenz-Suárez H, Lareo LR, Oribio-Quinto C, Martínez-Mendoza J, Chávez-Zobel A. Predicción computacional de estructura terciaria de las proteínas humanas Hsp27, aB-cristalina y HspB8. *Univ Sci* 2011;16:15–28.
- 32 Sainz A, Kim CH, Tesouro MA, Hansen R, Amusatogui I, Koo HY, Kakoma I. Serological evidence of exposure to *Ehrlichia* species in dogs in Spain. *Ann N Y Acad Sci* 2000;916:635–42.
- 33 Santic M, Al-Khodor S, Abu Kwaik Y. Cell biology and molecular ecology of *Francisella tularensis*. *Cell Microbiol* 2010;12:129–39.
- 34 **Schaechter M, Engleberg C, Dermody T, DiRita V. *Schaechter's Mechanisms of Microbial Disease*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2012.**
- 35 Schrödinger LLC. Maestro. 2007.
- 36 Schrödinger LLC. The PyMOL. Molecular Graphics System. Available at <http://www.pymol.org>.
- 37 Shell MS, Ritterson R, Dill KA. A test on peptide stability of AMBER force fields with implicit solvation. *J Phys Chem B* 2008;112:6878–86.
- 38 Svensson K, Sjödin A, Byström M, Granberg M, Brittnacher MJ, Rohmer L, Jacobs MA, Sims-Day EH, Levy R, Zhou Y, Hayden HS, Lim R, Chang J, Guentherer D, Kang A, Haugen E, Gillett W, Kaul R, Forsman M, Larsson P, Johansson A. Genome sequence of *Francisella tularensis* subspecies holarctica strain FSC200, isolated from a child with tularemia. *J Bacteriol* 2012;194:6965–6.
- 39 Tosatto SCE, Battistutta R. TAP score: torsion angle propensity normalization applied to local protein structure evaluation. *BMC Bioinformatics* 2007;8:155.

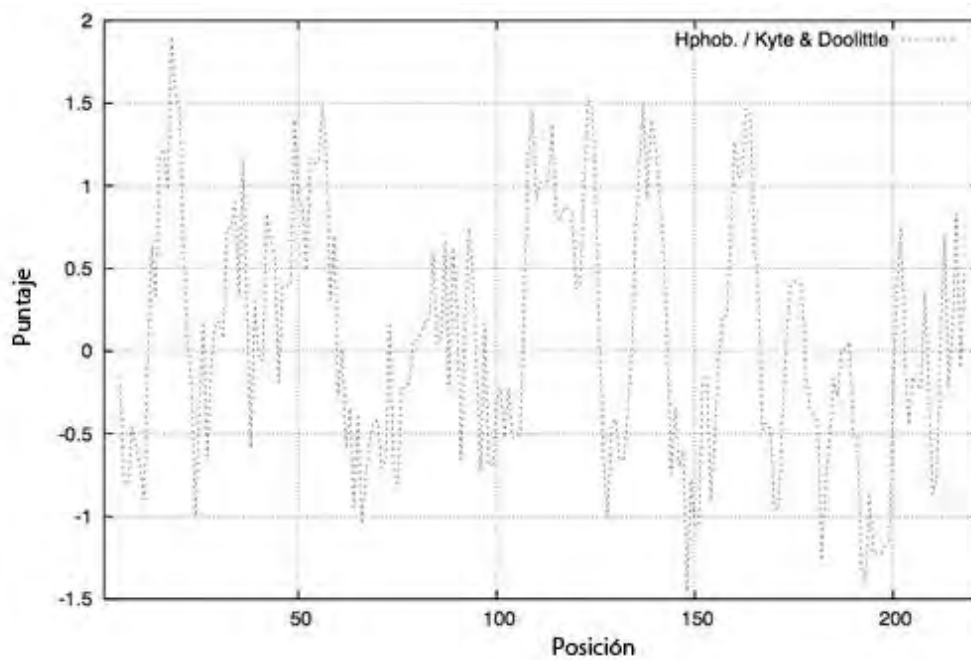
40 Woolard M, Navrati A, Studt A, Bryan J. Phospholipases are required for Francisella tularensis induction of macrophage prostaglandin E2 synthesis. J Immunol 2011;186:110-15.

ANEXOS

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de la proteína hipotética FTDG_01454 de *F.tularensis* calculados con ProtParam.

Propiedades Fisicoquímicas de la proteína hipotética FTDG_01454

Número de aminoácidos	222
Peso molecular (Da)	24638,3
Índice de estabilidad	26,89
Punto Isoeléctrico	5,43
Tiempo de vida (Horas)	30
Índice alifático	102,75
Promedio general de hidropatía	0,081



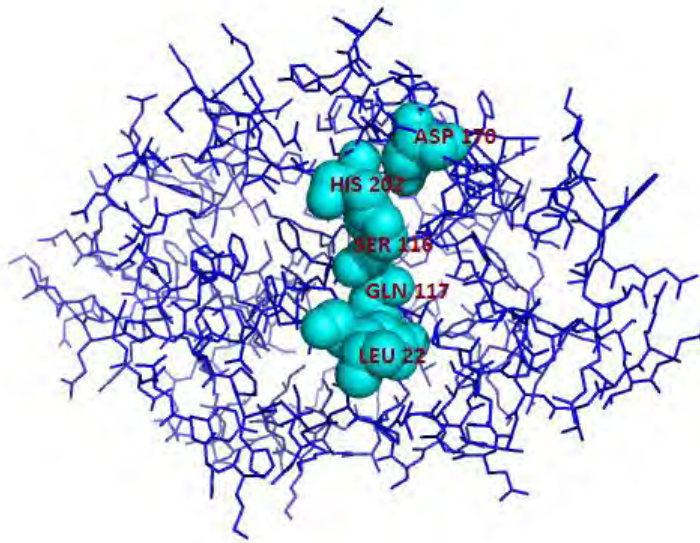


Figura 4. Residuos implicados en el sitio de interacción de FTDG 01454. En azul Leu. 22, Gln 117, Ser 110, Hist 202, Asp 170.