

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science

ELUCIDATION OF POTENTIAL PROTEINS ASSOCIATED WITH *Vibrio parahaemolyticus* INFECTION IN WHITELEG SHRIMP, *Penaeus vannamei* USING HOST-PATHOGEN PROTEIN-PROTEIN INTERACTION NETWORK ANALYSIS

NUR FATHIAH ROSILAN

2024

Main Supervisor : Dr. Nor Afiqah Aleng @ Mohamad, Ph.D

Co-Supervisor : Prof. Dr. Yeong Yik Sung, Ph.D

School/Institute : Institute of Climate Adaptation and Marine Biotechnology

The whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei*, is an important species in shrimp aquaculture that contributes to economic growth worldwide. However, its production is hindered by diseases caused by *Vibrio parahaemolyticus*, resulting in a huge profit loss for shrimp aquaculture. Several studies on the molecular aspects underlying this infection serve as a great basis for understanding the immune responses of *P. vannamei* to *V. parahaemolyticus* infection. But, there is a limited explanation of the molecular interactions between the host and pathogen. Protein-protein interaction (PPI) depicts important processes, including infection and defence processes. Hence, this study aimed to identify the candidate effector proteins of *V. parahaemolyticus* and their targeted proteins in *P. vannamei*, pathways involved in *V. parahaemolyticus* infection in *P. vannamei*, and specific binding sites and affinities between *P. vannamei* and *V. parahaemolyticus* proteins. The *P. vannamei*-*V. parahaemolyticus* PPI (PVPPI) network was constructed using two approaches: interolog- and domain-based methods. Clustering and pathway enrichment analyses were performed to determine the associated pathways with the infection. Protein-protein docking and molecular dynamics (MD) simulation were performed to determine the specific binding sites and

affinities between *P. vannamei* and *V. parahaemolyticus* proteins. The constructed PVPPPI network comprised 448,871 interactions between 4,427 *P. vannamei* and 18,119 *V. parahaemolyticus* proteins. Several proteins, including major iron storage and energy proteins, were identified as targeted proteins involved in the host immune response, while secretion system and flagella proteins were identified as candidate effector proteins involved in infection. Enriched pathways that may be involved in *V. parahaemolyticus* infection in *P. vannamei* included primary bile acid biosynthesis, chemokine signalling, bacterial secretion system, and bacterial chemotaxis. The docking analysis revealed Complex 3 (ATP synthase subunit beta-type 3 secretion system ATPase) has the highest docked score with the hydrogen bond formation at several interacting residues. The MD simulation validated that this complex was the most stable, with a binding free energy of -53.72 kJ/mol. Conclusively, this study reported the first PPI network between *P. vannamei* and *V. parahaemolyticus*, highlighting several host and pathogen proteins with significant pathways, which could serve as biomarkers for future disease management in the shrimp aquaculture industry.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Master Sains

**ELUSIDASI PROTEIN YANG BERPOTENSI BERKAIT DENGAN
JANGKITAN *Vibrio parahaemolyticus* dalam udang putih, *Penaeus vannamei*
MENGUNAKAN ANALISIS RANGKAIAN INTERAKSI PROTEIN-
PROTEIN PERUMAH-PATOGEN**

NUR FATHIAH ROSILAN

2024

Penyelia : **Dr. Nor Afiqah Aleng @ Mohamad, Ph.D**

Penyelia Bersama : **Prof. Dr. Yeong Yik Sung, Ph.D**

Pusat Pengajian/Institut : **Institut Adaptasi Iklim dan Bioteknologi
Marin**

Udang putih, *Penaeus vannamei*, merupakan spesies penting di dalam aktiviti akuakultur udang dan aktiviti ini menyumbang kepada pertumbuhan ekonomi dunia. Walaubagaimanapun, pengeluaran udang terganggu oleh penyakit yang disebabkan oleh *Vibrio parahaemolyticus*, mengakibatkan kerugian yang besar kepada akuakultur udang. Beberapa kajian berkaitan aspek molekul berdasarkan jangkitan telah memberikan asas pemahaman yang baik tentang tindak balas imun oleh *P. vannamei* terhadap jangkitan *V. parahaemolyticus*. Tetapi, terdapat penjelasan yang terbatas tentang interaksi molekul antara perumah dan patogen. Interaksi protein-protein (IPP) merupakan proses yang penting, termasuk proses jangkitan dan pertahanan. Oleh yang demikian, kajian ini bertujuan untuk mengenal pasti calon protein efektor *V. parahaemolyticus* dan protein sasarannya dalam protein *P. vannamei*, tapak jalan yang terlibat dengan jangkitan *V. parahaemolyticus* dalam *P. vannamei*, dan tapak ikatan interaksi spesifik dan kekuatan ikatan interaksi antara protein *P. vannamei* dan *V. parahaemolyticus*. Rangkaian IPP *P. vannamei*-*V. parahaemolyticus* (IPPPV) telah dibina menggunakan dua pendekatan: kaedah yang berasaskan interolog dan domain. Analisis pemerikayaan kluster dan tapak jalan telah dijalankan untuk menentukan tapak

jalan yang terlibat dengan jangkitan. Pendedokan protein-protein dan simulasi molekul dinamik (MD) telah dilakukan untuk menentukan tapak ikatan interaksi spesifik dan kekuatan ikatan interaksi antara protein *P. vannamei* dan *V. parahaemolyticus*. Rangkaian IPPPV yang dibina terdiri daripada 448,871 interaksi antara 4,427 protein *P. vannamei* dan 18,119 protein *V. parahaemolyticus*. Beberapa protein, termasuk protein utama simpanan besi dan tenaga, telah dikenal pasti sebagai protein sasaran yang terlibat dengan tindak balas imun perumah, manakala, protein sistem rembesan dan flagella telah dikenal pasti sebagai protein efektor yang terlibat dalam jangkitan. Tapak jalan yang mungkin terlibat dengan jangkitan *V. parahaemolyticus* dalam *P. vannamei* adalah biosintesis asid hempedu primer, pengisyaratan kemokin, sistem rembesan, dan kemosensitiviti bakteria. Analisis pendedokan membuktikan Komplek 3 (*ATP synthase subunit beta-type 3 secretion system ATPase*) mempunyai skor pendedokan tertinggi dengan pembentukan ikatan hidrogen pada beberapa interaksi residu. Simulasi MD mengesahkan bahawa kompleks ini adalah paling stabil dengan ikatan tenaga bebas sebanyak -53.72 kJ/mol. Kesimpulannya, kajian ini melaporkan rangkaian IPP yang pertama antara protein *P. vannamei* dan *V. parahaemolyticus*, dan kajian ini juga berjaya mengenal pasti beberapa protein perumah dan patogen dengan tapak jalan yang signifikan, di mana ianya berfungsi sebagai penanda bio untuk pengawalan penyakit di dalam industri akuakultur udang pada masa hadapan.