

HEAT SHOCK PROTEIN 70 (HSP70) KNOCKDOWN IN THE  
BRINE SHRIMP ARTEMIA AND ITS EFFECTS ON EMBRYO  
DEVELOPMENT, DIAPAUSE TERMINATION AND STRESS  
TOLERANCE

MIMI IRYANI BINTI MAT TAB

MASTER OF SCIENCE  
UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU

2014

1100098635



tesis

QP 552 .H43 M5 2015



1100098635

Heat shock protein 70 (HSP70) knockdown in the brine shrimp  
artemia and its effects on embryo development, diapause  
termination and stress tolerance / Mimi Iryani Mat Taib.

PERPUSTAKAAN SULTANAH NUR ZAHIRAH  
UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU (UMT)  
21030 KUALA TERENGGANU

**1100098635**

PERPUSTAKAAN SULTANAH NUR ZAHIRAH UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU (UMT) 21030 KUALA TERENGGANU		
<b>1100098635</b>		

Lihat Sebelah

**HEAT SHOCK PROTEIN 70 (HSP70) KNOCKDOWN IN THE BRINE SHRIMP  
*ARTEMIA* AND ITS EFFECTS ON EMBRYO DEVELOPMENT, DIAPAUSE  
TERMINATION AND STRESS TOLERANCE**

**MIMI IRYANI BINTI MAT TAIB**

Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirement for the  
Degree of Master of Science in the Institute of Marine Biotechnology  
Universiti Malaysia Terengganu

September 2014

1100038832

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu  
in fulfillment of the requirement for the degree of Master of Science

**HEAT SHOCK PROTEIN 70 (HSP70) KNOCKDOWN IN THE BRINE SHRIMP  
*ARTEMIA* AND ITS EFFECTS ON EMBRYO DEVELOPMENT, DIAPAUSE  
TERMINATION AND STRESS TOLERANCE**

**MIMI IRYANI BINTI MAT TAIB**

**September 2014**

**Main Supervisor : Assoc. Prof. Yeong Yik Sung, Ph.D.**

**Co-Supervisor : Prof. Thomas H. MacRae, Ph.D.  
Prof. Mohd Effendy Bin Abd Wahid, Ph.D.**

**School : Institute of Marine Biotechnology**

RNA interference (RNAi) is a highly specific and effective tool to eliminate or reduce target mRNAs and thus proteins. In this study, RNAi was used to knockdown Hsp70 in *Artemia* and to investigate Hsp70 function in embryo development, diapause termination and stress tolerance, with the latter focused on thermotolerance and protection against pathogenic *Vibrio*. Injection of *Artemia* females with Hsp70 dsRNA eliminated Hsp70 mRNA and protein in cysts and nauplii, as revealed respectively by RT-PCR and Western immunoblotting. The loss of Hsp70 showed no significant effect on cyst and nauplii release from females, indicating a minor or non-essential role of Hsp70 in embryo development. In contrast to p26, an abundant diapause-specific small Hsp, knockdown of Hsp70 did not lead to spontaneous diapause termination in *Artemia* cysts. Nauplii lacking Hsp70 were less resistant to heat stress and pathogenic *Vibrio*

*campbellii*, with survival reduced approximately 31% and 28%, respectively, in challenge assays. This study provides new insights into the role of Hsp70 in embryo development, cyst diapause and stress protection in the crustacean, *Artemia*.

BILAK HANGGANG, LETZAKIA DAN KESAN-KESANNYA TERHADAP  
PERTUMBUHAN EMBRIO, PENAMATAN DIAPAUSE DAN  
TOLERANSI STRES

NIEMI IRYANI BINTU MAT LAH

September 2014

Pembimbing Utama : Prof. Madya Young Yik Sung, Ph.D.

Pembimbing : Prof. Titum H. MacRae, Ph.D.

Prof. Mohd Ghendy bin Abd Wahid, Ph.D.

Pemeriksa : Dr. Izzati Huseinarti Maris

RNA interference (RNAi) merupakan satu kaedah yang spesifik dan berkesan bagi menyuntikan DNA dengan tujuan untuk mematikan gen tertentu. Dalam kajian ini, teknologi RNAi telah diaplikasikan bagi menghasilkan *Artemia* tanpa Hsp70 bagi tujuan menyuntikan protein Hsp70 dalam persembutan embrio. Persembutan embrio dan teluran *Artemia* ke atas teluran dengan yang terdapat melalui rangkapan kepada teluran pada dan persembutan kawanan P<sub>0</sub> yang pangsak. Struktur ke atas induk *Artemia* terdapat dengan Hsp70 dsRNA, menghalang sintesis mRNA Hsp70 dan protein Hsp70 dalam embrio dan mampu untuk yang ditunjukkan melalui RT-PCR dan Western blotting. Penghasilan Hsp70 menunjukkan kesan yang tidak signifikan terhadap perkembangan embrio dan mampu untuk embrio embrio ini menunjukkan persembutan embrio yang tidak penting yang dihasilkan oleh Hsp70 dalam persembutan embrio.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu  
sebagai memenuhi keperluan untuk ijazah Sarjana Sains

**PENGHAPUSAN EKSPRESI PROTEIN RENJATAN HABA 70 (HSP70) DI  
DALAM UDANG *ARTEMIA* DAN KESAN-KESANNYA TERHADAP  
PERKEMBANGAN EMBRIO, PENAMATAN DIAPAUSE DAN  
TOLERANSI STRES**

**MIMI IRYANI BINTI MAT TAIB**

**September 2014**

**Penyelia Utama : Prof. Madya Yeong Yik Sung, Ph.D.**

**Penyelia Bersama : Prof. Thomas H. MacRae, Ph.D.  
Prof. Mohd Effendy Bin Abd Wahid, Ph.D.**

**Pusat Pengajian : Institut Bioteknologi Marin**

RNA interference (RNAi) merupakan satu kaedah yang spesifik dan berkesan bagi menyingkirkan atau menghapuskan sesuatu gen sasaran. Dalam kajian ini, teknologi RNAi telah diaplikasikan bagi menghasilkan *Artemia* tanpa Hsp70 bagi tujuan mengenalpasti peranan Hsp70 dalam pembentukan embrio, penamatan dorman dan toleransi *Artemia* ke atas tekanan, dengan yang terakhir memberi penumpuan kepada toleransi haba dan perlindungan melawan *Vibrio* yang patogenik. Suntikan ke atas induk *Artemia* betina dengan Hsp70 dsRNA, menghalang sintesis mRNA Hsp70 dan protein Hsp70 dalam sista dan nauplii seperti yang ditunjukkan melalui RT-PCR dan Western immunoblotting. Penghapusan Hsp70 menunjukkan kesan yang tidak signifikan terhadap perlepasan sista dan nauplii daripada induk betina, ini mencadangkan peranan kecil atau tidak penting yang dimainkan oleh Hsp70 dalam pembentukan embrio.

Berbeda dengan p26, yaitu Hsp kecil dorman-spesifik yang wujud dalam kuantiti tinggi, penghapusan Hsp70 tidak menghalang penamatan dorman secara spontan dalam sista *Artemia*. Dalam aspek toleransi ke atas tekanan, nauplii tanpa Hsp70 adalah kurang ketahanan terhadap tekanan haba dan *Vibrio campbellii*, dengan peratusan kemandirian masing-masing berkurangan kira-kira 31% dan 28% dalam ujian cabaran. Kajian ini memberi pandangan baru terhadap fungsi dasar Hsp70 dalam pembentukan embrio, dorman sista dan perlindungan ke atas tekanan pada *Artemia*.