

## Interaksi Molekuler Peptida Antimikrobal Lendir Kulit Ikan Lele Kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*) terhadap Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3) pada *Escherichia coli* secara *In silico*

### *Molecular Interaction of Antibacterial Peptides of Yellow Fish Skin (*Pelteobagrus fulvidraco*) against Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3) in *Escherichia coli* by *In silico**

Taufik Muhammad Fakhri<sup>1\*</sup>, Mentari Luthfika Dewi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jalan Ranga Gading No. 8, Bandung, Indonesia, 40116

\*Email : [taufikmuhammadf@gmail.com](mailto:taufikmuhammadf@gmail.com)

doi: <http://dx.doi.org/10.29405/j.bes/4148-554951>



Received: 30 Januari 2020 | Accepted: 31 Mei 2020 | Published: 30 Juni 2020

#### Abstrak

**Pendahuluan:** Lendir kulit ikan baru-baru ini dikenal sebagai sumber potensial peptida antimikrobal yang berfungsi untuk memberikan pertahanan pertama pada manusia terhadap bakteri patogen, seperti *Escherichia coli*. Beberapa peptida antimikrobal yang dihasilkan oleh lendir kulit ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*) terbukti mampu menghambat *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* pada *Escherichia coli*, antara lain *Pelteobagrins*, *Myxinidin*, *Pleurocidin*, dan *Pardaxin-P1*. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan identifikasi, evaluasi, dan eksplorasi terhadap interaksi molekuler antara molekul peptida antimikrobal dengan *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* pada *Escherichia coli* menggunakan metode penambatan molekuler berbasis protein-peptida. **Metode:** Sekuens peptida antimikrobal terlebih dahulu dimodelkan ke dalam bentuk konformasi 3D menggunakan server *PEP-FOLD*. Konformasi terbaik hasil pemodelan dipilih untuk selanjutnya dilakukan studi interaksi terhadap makromolekul *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* pada *Escherichia coli* menggunakan perangkat lunak *PatchDock*. Interaksi yang terbentuk kemudian diamati lebih lanjut menggunakan perangkat lunak *BIOVIA Discovery Studio 2020*. **Hasil:** Hasil dari penambatan molekuler menunjukkan bahwa peptida *Pardaxin-P1* memiliki afinitas paling baik, yaitu dengan *ACE score*  $-1402,39$  kJ/mol. **Kesimpulan:** Dengan demikian, peptida antimikrobal tersebut diprediksi dapat dipilih sebagai kandidat antimikroba alami.

**Kata kunci:** peptida antimikrobal; penicillin-binding protein 3 (PBP); *escherichia coli*; ikan lele kuning (*pelteobagrus fulvidraco*); studi *in silico*

#### Abstract

**Background:** Fish skin mucus has recently been recognized as a potential source of antimicrobial peptides that serve to provide the first defense in humans against pathogenic bacteria, including *Escherichia coli*. Some antimicrobial peptides produced by yellow catfish skin mucus (*Pelteobagrus fulvidraco*) can inhibit *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* in *Escherichia coli*, such as *Pelteobagrins*, *Myxinidin*, *Pleurocidin*, and *Pardaxin-P1*. This research aims to identify, evaluate, and explore molecular interactions between antimicrobial peptide molecules and *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* on *Escherichia coli* using protein-peptide docking methods. **Methods:** Antimicrobial peptide sequences was modeled into 3D conformation using the *PEP-FOLD* server. The best conformation of the modeling results was chosen for the next study of interactions against the *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* macromolecules on *Escherichia coli* using *PatchDock*. The formed interactions were then observed further using the *BIOVIA Discovery Studio 2020*. **Results:** The results of protein-peptide docking showed that the *Pardaxin-P1* peptide had the best affinity, with an *ACE score* of  $-1402.39$  kJ/mol. **Conclusions:** Therefore, the antimicrobial peptide is predicted to be selected as a natural antimicrobial candidate.

**Keywords:** antimicrobial peptide; penicillin-binding protein 3 (PBP3); *escherichia coli*; yellow catfish (*pelteobagrus fulvidraco*); *in silico* study

Cara citasi: Fakih, T.M. & Dewi, M.L. 2020. Identifikasi Interaksi Molekuler Peptida Lendir Kulit Ikan Lele Kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*) terhadap *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli* secara *in silico*. *BIOEDUSCIENCE: Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains.*, 04(01): 48-55. Doi: <http://dx.doi.org/10.29405/j.bes/4148-554951>



© 2020 Oleh Bioeduscience: Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains, Uhamka, Jakarta. Artikel ini bersifat open access yang didistribusikan di bawah syarat dan ketentuan Creative Commons Attribution (CC-BY) license. (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## PENDAHULUAN

Peptida antimikrobal (PAM) merupakan komponen sistem imun bawaan yang terdapat pada permukaan sel epitel yang bersifat sitolitik dan mikrobisidal. Peptida ini umumnya terdiri dari 10 hingga 50 asam amino dengan muatan positif 2 sampai 8 serta memiliki berbagai aktivitas diantaranya menghambat pertumbuhan mikroba, seperti bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, jamur, virus, dan parasite parasit (Lei et al., 2019; Pushpanathan et al., 2013). Selain itu, peptida tertentu juga berperan sebagai imunomodulator untuk meningkatkan imunitas tubuh (Gokhale & Satyanarayanajois, 2014). Hingga saat ini, sekitar 1200 PAM telah dikarakterisasi dan sebagian besar di antaranya diisolasi dari mamalia, amfibi, serangga, atau invertebrata lainnya (Papp & Marschang, 2019; Stöhr et al., 2016).

Salah satu hewan vertebrata yang paling melimpah adalah ikan, akan tetapi PAM yang diisolasi dari hewan tersebut masih sangat minim, hal ini dikarenakan kurangnya perhatian akan potensi PAM yang dihasilkan hewan tersebut (Hedmon et al., 2018; Masso-silva & Diamond, 2014; Rakers et al., 2013).

Ikan hidup di lingkungan yang kaya akan mikroba sehingga memiliki sistem pertahanan inang yang kuat. Kulit ikan berisiko sangat tinggi terhadap infeksi karena selalu terpapar mikroorganisme yang terbawa oleh air. Namun, apabila dibandingkan dengan mamalia dan amfibi, sistem imun adaptif ikan relatif kurang berkembang, sehingga ikan dianggap memiliki ketergantungan yang besar terhadap sistem kekebalan tubuh bawaannya (Ángeles Esteban, 2012).

Lendir kulit merupakan perlindungan pertama terhadap mikroba yang terbawa air. Selain berfungsi sebagai penghalang fisik antara

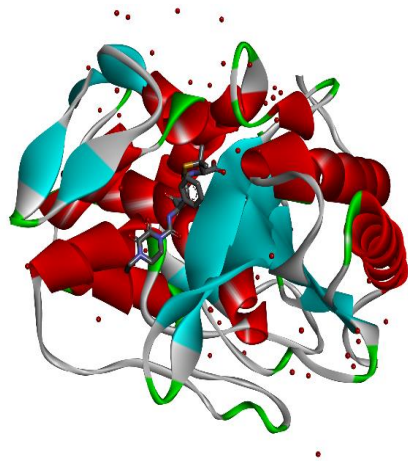
ikan dan lingkungan akuatiknya, lendir kulit juga telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba yang dimediasi melalui serangkaian faktor imun bawaan seperti lisozim, lektin, enzim proteolitik, flavoenzim, imunoglobulin, dan protein C-reaktif (Brinchmann et al., 2018; Dash et al., 2018). Penelitian terbaru mengungkapkan bahwa mukosa permukaan beberapa ikan juga mengandung berbagai PAM, seperti pada kulit ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*) yang mengandung peptida Pelteobagrin, Myxinidin, Pleurocidin, dan Pardaxin-P1 (Su, 2011).

Melalui penelitian ini akan dilakukan studi komputasi dengan memanfaatkan simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida antara beberapa molekul PAM yang berasal dari lendir kulit ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*) dengan makromolekul *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli* yang bertujuan untuk mengidentifikasi, mengevaluasi, dan mengeksplorasi afinitas dan interaksi molekuler yang terbentuk.

## METODE PENELITIAN

### Makromolekul Protein Target

Makromolekul protein target yang digunakan dalam penelitian ini merupakan struktur kristal *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli* yang telah membentuk kompleks dengan piperacillin. Makromolekul protein target tersebut diperoleh dari web Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>) dengan kode PDB 6I1I dan memiliki resolusi 1,75 Å (Gambar 1) (Bellini et al., 2019).



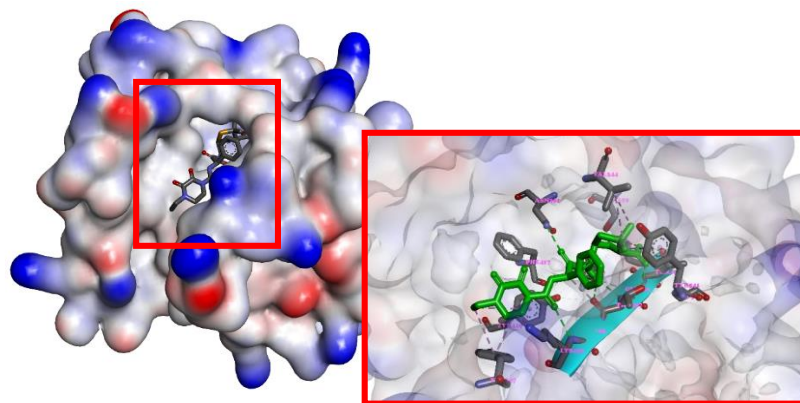
**Gambar 1.** Struktur kristal makromolekul *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* pada *Escherichia coli* yang membentuk kompleks dengan piperacillin

### *Molekul Peptida Antimikrobia*

Molekul peptida antimikrobia yang digunakan dalam penelitian ini adalah peptida antimikrobia yang memiliki aktivitas terhadap *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* pada *Escherichia coli* dan telah dibuktikan pada penelitian sebelumnya (Su, 2011). Peptida antimikrobia tersebut meliputi Pelteobagrin, Myxinidin, Pleurocidin, dan Pardaxin-P1 yang berasal dari lendir kulit ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*).

### *Preparasi Makromolekul Protein Target*

Struktur makromolekul protein target yang telah diunduh dari web Protein Data Bank kemudian dilakukan preparasi terlebih dahulu dengan menggunakan perangkat lunak MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2.



**Gambar 2.** Bagian sisi aktif pengikatan makromolekul *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* pada *Escherichia coli*

Tahapan preparasi makromolekul protein target ini dilakukan dengan menghilangkan molekul air dan piperacillin yang berperan sebagai ligan alami, serta menambahkan atom hidrogen polar dan menghitung muatan parsial Kollman (Rizvi et al., 2013).

### *Identifikasi dan Evaluasi Bagian Sisi Aktif Makromolekul Protein Target*

Makromolekul protein target yang telah dilakukan preparasi selanjutnya diidentifikasi dan dievaluasi bagian sisi aktif pengikatan yang bertanggung jawab terhadap aktivitas biologis menggunakan perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio 2020 (Sharma et al., 2019). Piperacillin yang berperan sebagai ligan alami dari makromolekul protein target *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* pada *Escherichia coli* digunakan untuk mengidentifikasi dan mengevaluasi bagian sisi aktif dari makromolekul protein target tersebut.

### *Pemodelan Molekul Peptida Antimikrobia*

Pemodelan molekul peptida antimikrobia dilakukan dengan menggunakan server PEP-FOLD (<http://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/PEP-FOLD/>) (Gambar 2). Server PEP-FOLD merupakan suatu perangkat lunak yang digunakan untuk memodelkan sekuensing molekul peptida antimikrobia menjadi konformasi struktur 3D dengan metode de novo (Shen et al., 2014).

### Simulasi Penambatan Molekuler Berbasis Protein-Peptida

Simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida dilakukan secara *in silico* dengan menggunakan perangkat lunak PatchDock untuk mengamati afinitas antara makromolekul protein target *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli* dengan peptida antimikrobal. Jarak permukaan makromolekul protein target dan peptida antimikrobal dibatasi dengan radius maksimum 4.0 Å. Simulasi penambatan molekuler ini menggunakan beberapa parameter berdasarkan representasi bentuk molekul, bagian sisi aktif pengikatan makromolekul protein target, serta pemilihan dan penilaian. Simulasi ini juga dilakukan secara efisien tanpa ikatan antar molekul yang rigid (Agrawal et al., 2019).

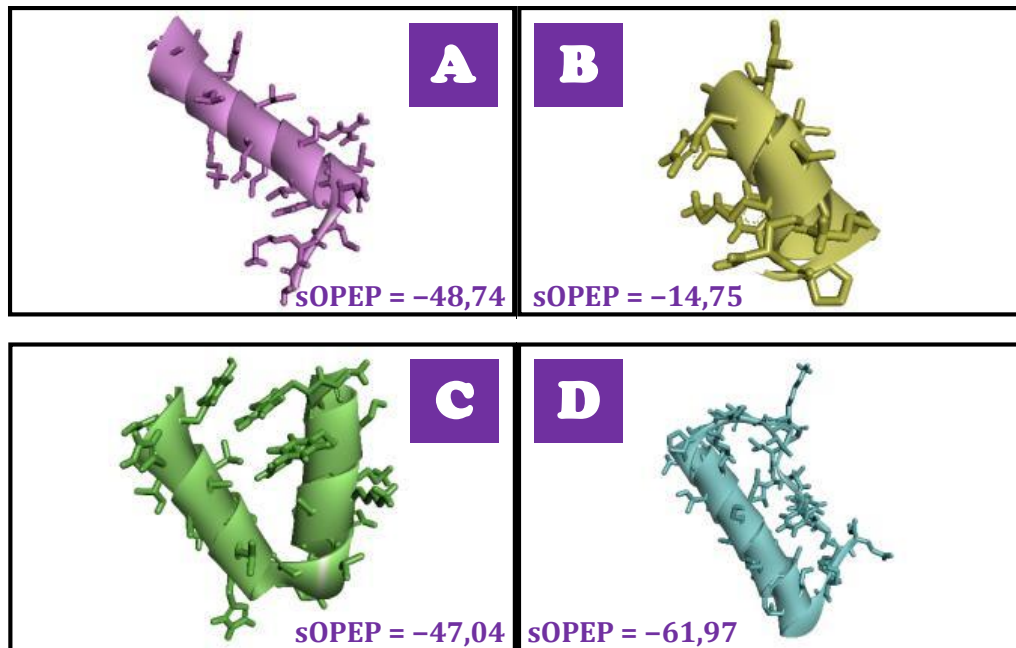
### Identifikasi Hasil Simulasi Penambatan Molekuler Berbasis Protein-Peptida

Pengamatan lebih lanjut dilakukan terhadap interaksi molekuler yang terjadi antara

makromolekul protein target *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli* dengan peptida antimikrobal berdasarkan Atomic Contact Energy (ACE) score (Senthilkumar et al., 2016). Kemudian dilakukan eksplorasi terhadap residu asam amino yang bertanggung jawab terhadap interaksi molekuler protein-peptida dengan menggunakan perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio 2020.

### HASIL

Pemodelan molekul peptida antimikrobal menjadi konformasi struktur tiga dimensi dilakukan dengan menggunakan server *PEP-FOLD*. Peptida antimikrobal dengan konformasi terbaik dipilih berdasarkan energi sOPEP (*Optimized Potential for Efficient Structure Prediction*) (Thevenet et al., 2012).



**Gambar 3.** Struktur molekul peptida antimikrobal (A) Pelteobagrin, (B) Myxinidin, (C) Pleurocidin, dan (D) Pardaxin-P1

Hasil simulasi penambatan molekuler yang terdapat pada Tabel 1 menunjukkan bahwa peptida Pardaxin-P1 memiliki afinitas yang paling baik apabila dibandingkan dengan peptida

antimikrobal lainnya, yaitu dengan ACE score  $-1402,39$  kJ/mol.

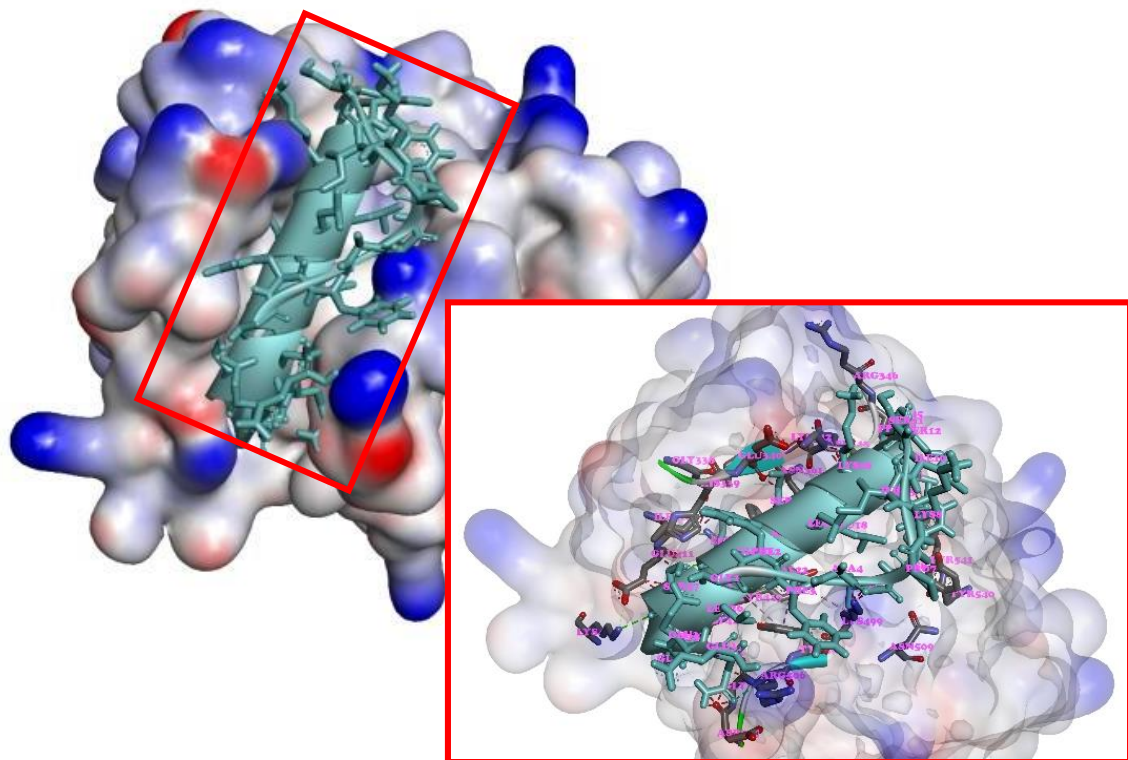


**Tabel 1.** Energi bebas pengikatan hasil simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida

Peptida antimikrobia	Sekuens peptida	PatchDock score	ACE score (kJ/mol)
Pelteobagrin	GKLNLFSLRLEILKLFVGAL	11760	-607,14
Myxinidin	GIHDILKYGKPS	7792	-259,32
Pleurocidin	GWGSFFKKAHVKGKVGKAALTHYL	11116	-737,60
Pardaxin-P1	GFFALIPKIISSPLFKTLLSAVGSALSSSGEQE	10076	-1402,39

Identifikasi terhadap hasil simulasi penambatan molekuler dilakukan lebih lanjut terhadap visualisasi dari kompleks peptida

Pardaxin-P1 dan makromolekul *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* pada *Escherichia coli*.



**Gambar 4.** Interaksi molekuler antara peptida Pardaxin-P1 pada sisi aktif pengikatan dengan makromolekul *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* pada *Escherichia coli*

**PEMBAHASAN**

Saat ini, telah diakui bahwa lendir kulit ikan memainkan peranan penting dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuh manusia karena mengandung komponen zat antibakteri, termasuk peptida antimikrobia (PAM) (Reverter et al., 2018). Selama beberapa tahun terakhir, beberapa PAM telah diidentifikasi dari lendir epidermis ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*) termasuk Pelteobagrin, Myxinidin, Pleurocidin, dan Pardaxin-P1 (Su, 2011). Satu fitur umum dari kebanyakan PAM adalah struktur alfa-heliks amfipatik yang berfungsi untuk saluran keluar-masuk ion dalam membran bakteri, menginduksi

perubahan permeabilitas, dan menyebabkan lisis pada sel (Avci et al., 2018; Irazazabal et al., 2018).

Pada penelitian ini dipilih makromolekul protein target *Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3)* pada *Escherichia coli* untuk mengamati afinitas dan interaksi peptida antimikrobia sebagai kandidat antibakteri. Preparasi makromolekul protein target tersebut terlebih dahulu dilakukan dengan menghilangkan molekul air dan piperacillin sebagai ligan alami, kemudian dilanjutkan dengan penambahan atom hidrogen polar, dan menghitung muatan parsial Kollman dengan menggunakan perangkat lunak MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2 (Rizvi et al., 2013). Tahapan preparasi ini

bertujuan untuk memastikan agar interaksi molekuler antara *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli* dengan peptida antimikrobia dapat membentuk ikatan yang stabil. Selain itu, piperacillin yang telah membentuk kompleks dengan *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli* digunakan sebagai molekul pembanding untuk mengamati afinitas dan interaksinya.

Makromolekul protein target yang telah dilakukan preparasi, kemudian diidentifikasi dan dievaluasi bagian sisi aktif pengikatannya dengan menggunakan perangkat lunak *BIOVIA Discovery Studio 2020* sehingga dapat diamati karakteristik dari area pengikatan protein-peptida *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli*. Interaksi yang terjadi antara *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli* dengan piperacillin terdiri dari 11 ikatan hidrogen (dengan Ser307, Ser359, Asn361, Lys494, Thr495, Gly496, Thr497, dan Lys499), 8 interaksi hidrofobik (dengan Val344, Tyr419, Lys499, Tyr507, dan Tyr541) dan 1 interaksi elektrostatik (dengan Lys494) (Gambar 3). Berdasarkan interaksi yang terdapat di sekitar sisi aktif *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli* maka dapat diprediksi bahwa residu asam amino tersebut bertanggung jawab sebagai komponen penyusun area pengikatan protein-peptida.

Energi sOPEP yang telah terintegrasi dalam server *PEP-FOLD* menjelaskan bahwa konformasi struktur peptida antimikrobia yang telah dimodelkan mendekati keadaan aslinya sehingga diharapkan mampu menghasilkan suatu afinitas yang stabil pada sisi aktif makromolekul protein target. Gambar 2 menunjukkan prediksi bahwa peptida tersebut akan mampu membentuk interaksi pada bagian sisi aktif pengikatan *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli*.

Simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida yang memanfaatkan metode secara komputasi dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak PatchDock untuk mengamati afinitas paling baik diantara beberapa molekul

peptida antimikrobia. Selain itu, dilakukan juga identifikasi dan evaluasi terhadap interaksi molekuler yang terbentuk antara peptida antimikrobia dengan makromolekul *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) pada *Escherichia coli*. Sistem kompleks protein-peptida dengan konformasi terbaik hasil penambatan molekuler dipilih berdasarkan PatchDock *score*, selanjutnya peptida antimikrobia tersebut dibandingkan afinitasnya berdasarkan *Atomic Contact Energy* (ACE) *score* (Senthilkumar et al., 2016).

Fenomena tersebut dapat dikarenakan peptida Pardaxin-P1 memiliki susunan asam amino yang lebih banyak, yaitu dengan jumlah asam amino mencapai 33. Dengan demikian, dapat diprediksi bahwa peptida tersebut dapat membentuk interaksi yang kuat pada bagian sisi aktif dari makromolekul protein target (Patil et al., 2013).

Berdasarkan Gambar 4 dapat diamati bahwa peptida tersebut terletak pada bagian sisi aktif pengikatan dari makromolekul protein target. Kemudian, sebagian besar residu asam amino yang berinteraksi dengan peptida Pardaxin-P1 hampir sama dengan molekul piperacillin yang berperan sebagai ligan alami.

Interaksi molekuler yang terbentuk antara peptida Pardaxin-P1 dengan makromolekul protein target meliputi 8 ikatan hidrogen (dengan Asp343, Asn361, Lys404, Ile410, Gly420, Thr414, dan Arg506) dan 9 interaksi hidrofobik (dengan Val344, Ala345, Phe417, Tyr419, Lys499, Tyr507, dan Tyr541). Hasil identifikasi ini membuktikan bahwa ACE *score* dari kompleks peptida Pardaxin-P1 dan makromolekul protein target yang lebih baik dari peptida antimikrobia lainnya dapat disebabkan memiliki pose yang sama dengan ligan alami pada area sisi aktif pengikatan (Ozboyaci et al., 2016).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penambatan molekuler berbasis protein-peptida diperoleh bahwa peptida bioaktif Pardaxin-P1 memiliki afinitas yang paling baik dibandingkan peptida antimikrobia lainnya yaitu dengan ACE *score* -1402,39 kJ/mol.

Oleh karena itu, peptida bioaktif tersebut memiliki potensi sebagai kandidat antimikroba alami.

## REFERENSI

- Agrawal, P., Singh, H., Srivastava, H. K., Singh, S., Kishore, G., & Raghava, G. P. S. (2019). Benchmarking of different molecular docking methods for protein-peptide docking. *BMC Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2449-y>
- Ángeles Esteban, M. (2012). An Overview of the Immunological Defenses in Fish Skin. *ISRN Immunology*. <https://doi.org/10.5402/2012/853470>
- Avci, F. G., Akbulut, B. S., & Ozkirimli, E. (2018). Membrane Active Peptides and Their Biophysical Characterization. *Biomolecules*, 8(77), 1–43. <https://doi.org/10.3390/biom8030077>
- Bellini, D., Koekemoer, L., Newman, H., & Dowson, C. G. (2019). Novel and Improved Crystal Structures of *H. influenzae*, *E. coli* and *P. aeruginosa* Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3) and *N. gonorrhoeae* PBP2: Toward a Better Understanding of  $\beta$ -Lactam Target-Mediated Resistance. *Journal of Molecular Biology*, 431(18), 3501–3519. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.07.010>
- Brinchmann, M. F., Patel, D. P., Pinto, N., & Iversen, M. H. (2018). Functional Aspects of Fish Mucosal Lectins—Interaction with Non-Self Molecules. *Molecules*, 23(1119), 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules23051119>
- Dash, S., Das, S. K., Samal, J., & Thatoi, H. (2018). Epidermal mucus, a major determinant in fish health: A review. *Irianian Journal of Veterinary Research*, 19(2), 72–81. <https://doi.org/10.22099/ijvr.2018.4849>
- Gokhale, A. S., & Satyanarayana, S. (2014). Peptides and Peptidomimetics As Immunomodulators. *Immunotherapy*, 6(6), 755–774. <https://doi.org/10.2217/IMT.14.37>
- Hedmon, O., Jacqueline, A., Koffi, K. T., Drago, K. C., & Engeu, O. P. (2018). Fish Mucus: A Neglected Reservoir for Antimicrobial Peptides. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 6(4), 6–11. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22270/ajprd.v6.i4.389>
- Irazabal, L. N., Porto, W. F., Fensterseifer, I. C. M., Alves, E. S. F., Matos, C. O., Menezes, A. C. S., Felício, M. R., Gonçalves, S., Santos, N. C., Suzana, M., Humblot, V., Lião, L. M., Ladram, A., & Franco, L. (2018). Fast and Potent Bactericidal Membrane Lytic Activity Of Padbs1r1, A Novel Cationic Antimicrobial Peptide. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 186(1), 178–190. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2018.08.001>
- Lei, J., Sun, L. C., Huang, S., Zhu, C., Li, P., He, J., Mackey, V., Coy, D. H., & He, Q. Y. (2019). The antimicrobial peptides and their potential clinical applications. In *American Journal of Translational Research*.
- Masso-silva, J. A., & Diamond, G. (2014). Antimicrobial Peptides from Fish. *Pharmaceuticals*, 7(3), 265–310. <https://doi.org/10.3390/ph7030265>
- Ozboyaci, M., Kokh, D. B., Corni, S., & Wade, R. C. (2016). Modeling and simulation of protein-surface interactions: Achievements and challenges. In *Quarterly Reviews of Biophysics*. <https://doi.org/10.1017/S0033583515000256>
- Papp, T., & Marschang, R. E. (2019). Detection and Characterization of Invertebrate Iridoviruses Found in Reptiles and Prey Insects in Europe over the Past Two Decades. *Viruses*, 11(600), 1–25.
- Patil, B. S., Krishnamurthy, G., Lokesh, M. R., Shashikumar, N. D., Bhojya Naik, H. S., Lathe, P. R., & Ghate, M. (2013). Synthesis of some novel 1,2,4-triazole and 1,3,4-oxadiazole derivatives of biological interest. *Medicinal Chemistry Research*. <https://doi.org/10.1007/s00044-012-0332-3>
- Pushpanathan, M., Gunasekaran, P., & Rajendhran, J. (2013). Antimicrobial peptides: Versatile biological properties. *International Journal of Peptides*. <https://doi.org/10.1155/2013/675391>
- Rakers, S., Niklasson, L., Steinhagen, D., Kruse, C., Sundell, K., & Paus, R. (2013). Antimicrobial Peptides (AMPs) from Fish Epidermis: Perspectives for Investigative Dermatology. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(5), 1140–1149. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.503>
- Reverter, M., Tapissier-bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2018). Biological and Ecological Roles of External Fish Mucus: A Review. *Fishes*, 3(41), 1–19. <https://doi.org/10.3390/fishes3040041>
- Rizvi, S. M. D., Shakil, S., & Haneef, M. (2013). A simple click by click protocol to perform docking: Autodock 4.2 made easy for non-bioinformaticians. *EXCLI Journal*. <https://doi.org/10.17877/DE290R-11534>
- Senthilkumar, B., Meshachpaul, D., & Rajasekaran, R. (2016). Geometric Simulation Approach for Grading and Assessing the Thermostability of CALBs. *Biochemistry Research International*. <https://doi.org/10.1155/2016/4101059>
- Sharma, S., Kumar, P., Chandra, R., Singh, S. P., Mandal, A., & Dondapati, R. S. (2019). Overview of BIOVIA materials studio, LAMMPS, and GROMACS. In *Molecular Dynamics Simulation of Nanocomposites using BIOVIA Materials Studio*,

- Lammips and Gromacs.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816954-4.00002-4>
- Shen, Y., Maupetit, J., Derreumaux, P., & Tuffery, P. (2014). Improved PEP-FOLD Approach for Peptide and Miniprotein Structure Prediction. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 10, 4745–4758.  
<https://doi.org/dx.doi.org/10.1021/ct500592m>
- Stöhr, A. C., Papp, T., & Marschang, R. E. (2016). Repeated Detection of an Invertebrate Iridovirus in Amphibians. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*. <https://doi.org/10.5818/1529-9651-26.1-2.54>
- Su, Y. (2011). Isolation and identification of pelteobagrin, a novel antimicrobial peptide from the skin mucus of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*.  
<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2010.11.002>
- Thevenet, P., Shen, Y., Maupetit, J., Guyon, F., Derreumaux, P., & Tuffery, P. (2012). PEP-FOLD : an updated de novo structure prediction server for both linear and disulfide bonded cyclic peptides. *Nucleic Acids Research*, 40, 288–293.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gks419>