

**COMPARATIVE GENOMICS OF *COCHLODINIUM* AND OTHER MARINE  
DINOFLAGELLATES AS INFERRED FROM GENOME SEQUENCE ANALYSIS**

GRACE JOY CHIN WEI LIE

PROJECT CODE: FRG0186-NSH-2/2009  
1 JANUARY 2010 – 31 DECEMBER 2011

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BIOTECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



## SYNOPSIS

### COMPARATIVE GENOMICS OF *COCHLODINIUM* AND OTHER MARINE DINOFLAGELLATES AS INFERRED FROM GENOME SEQUENCE ANALYSIS

*Cochlodinium polykrikoides* is one of the causative agents for harmful algal blooms occurring in the west coast of Sabah, which result in massive economic damage to the aquaculture and mariculture industries. Currently, limited information is available on the genomics of *C. polykrikoides*. The objectives of this study were to develop a protocol for the construction of an expressed sequence tag (EST) library for *C. polykrikoides* cells cultured under normalized conditions, to design gene specific primers using sequence information of related dinoflagellates and to test the gene specific primers against the DNA and RNA of *C. polykrikoides*. *Cochlodinium polykrikoides* stock cultures were obtained from the Unit for Harmful Algal Blooms Studies (UHABs) of the Borneo Marine Research Institute, Universiti Malaysia Sabah and cultured in f/2 medium. Optimization of total RNA isolation from *C. polykrikoides* was performed using five different methods. Among the five methods tried, the RNA isolation protocol using the TRIzol reagent produced the best results. Synthesis of cDNA was performed on successfully isolated RNA samples followed by cloning and direct sequencing of the purified clones. In addition, fourteen gene specific primer pairs were designed and synthesized using sequence information from other harmful algae species. Genomic DNA samples isolated from *C. polykrikoides* cells were used as templates for the PCR amplification carried out using the synthesized gene specific primers. Amplification products from three gene specific primers, *psaA1* F/R, *COX-1* F/R and *ATPsynC* F/R were purified and subsequently cloned and directly sequenced. Based on the sequencing results, the cloned products were found to produce identity matches to genes encoding products from similar and related protein families, such as the oxidoreductases and cytochrome oxidases.

## SINOPSIS

*Cochlodinium polykrikoides* merupakan salah satu agen penyebab untuk ledakan mikroalga berbahaya yang berlaku di perairan barat Sabah, yang menyebabkan kerugian besar kepada industri akuakultur dan marikultur. Setakat ini, maklumat terhad berkenaan genomik *C. polykrikoides* boleh didapati. Tujuan kajian ini adalah untuk mengusahakan satu protokol untuk membina sebuah expressed sequence tag (EST) library untuk sel *C. polykrikoides* yang dikultur dalam keadaan normal, untuk mereka primer gen khusus dengan menggunakan maklumat penjujukan dinoflagellata berkaitan dan untuk menguji primer gen khusus terhadap DNA dan RNA *C. polykrikoides*. Kultur induk *C. polykrikoides* diperolehi daripada Unit Kajian Alga Bahaya (UHABs) dari Institut Penyelidikan Marin Borneo, Universiti Malaysia Sabah dan dikultur di f / 2 media. Optimasi untuk protokol isolasi RNA dari *C. polykrikoides* dilakukan menggunakan lima metodologi berlainan. Protokol untuk isolasi RNA menggunakan reagen TRIzol didapati memberikan isolasi RNA yang berkualiti tinggi. Sintesis cDNA dilakukan untuk sampel RNA yang diisolasikan dengan lengkap diikuti dengan proses pengklonan dan penjujukan. Di samping itu, empat belas pasang primer gen khusus direka dan disintesis menggunakan maklumat penjujukan dari spesies mikroalga berbahaya yang lain. Sampel genomik DNA yang diisolasi dari sel *Cochlodinium* digunakan sebagai templat untuk amplifikasi PCR yang dilakukan dengan menggunakan primer khusus gen disintesis. Produk amplifikasi daripada tiga primer gen khusus, *psaA1 F/R*, *COX-1 F/R* dan *ATPsynC F/R* telah dituliskan dan kemudian diklonkan diikuti dengan proses penjujukan. Berdasarkan keputusan penjujukan, produk pengklonan didapati menghasilkan identiti sesuai untuk produk yang dikodkan oleh gen dari keluarga protein yang sama dan berkaitan, seperti oksidoreductase dan Cytochrome oksidase.