

**AMPLIFIKASI PCR GEN TRANSKRIPTASE BERBALIK RETROVIRUS
ENDOGENUS DARIPADA IKAN MARIN SABAH 3**

AHMAD AMIRUL AZIM BIN MUHAMMAD

**DISERTASI INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN
DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA SAINS DENGAN
KEPUJIAN**

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

Mac 2007



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: AMPLIFIKASI PCR GEN TRANSKRIPTASE BERBALIKRETROVIRUS ENDOGENUS DARIPADA IKAN MARIN SABAH MUDA .3 .

MUDA

Ijazah: IJAZAH SARJANA SAINS DENGAN KEPUJIAN CHS OF BIOTEKNOLOGISESI PENGAJIAN: 2003Saya AHMAD AMIRUL ADIM BIN MUHAMMAD

(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/Sarjana/Doktor Falsafah)* ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. **Sila tandakan (/)

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh


(TANDATANGAN PENULIS)
(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)Alamat Tetap: PT 1253 HILIR MASJID
MUTTAQIN, JALAN DATO' LUNDANGDR. ROZIAH KAMBOL

Nama Penyelia

15200 KOTA BHARU KELANTANTarikh: 18.04.07Tarikh: 18.04.07

CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

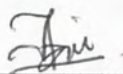
@ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah saya jelaskan sumbernya.

17 Mac 2007



AHMAD AMIRUL AZIM BIN MUHAMMAD

HS2003-2824



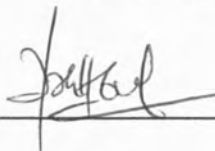
PERAKUAN PEMERIKSA

DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

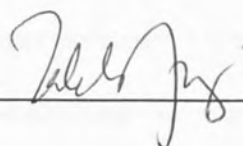
1. PENYELIA

(DR. ROZIAH HJ. KAMBOL)



2. PEMERIKSA 1

(DR. ZALEHA ABDUL AZIZ)

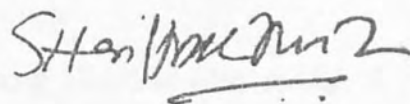


3. PEMERIKSA 2

(DR. IVY WONG NYET KUI)

4. DEKAN

(SUPT/KS. PROF. MADYA DR. SHARIFF A.K. OMANG)





PENGHARGAAN

Pada ruangan ini, saya ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada penyelia projek saya iaitu Dr. Roziah Kambol atas segala bimbingan, nasihat, tunjuk ajar dan sudi meminjamkan jurnal-jurnal dan buku-buku yang telah banyak membantu saya semasa penyelidikan projek ini dijalankan.

Di sini saya juga ingin merakamkan ribuan terima kasih kepada Sekolah Sains dan Teknologi, Universiti Malaysia Sabah atas segala kemudahan dan peralatan yang diperlukan untuk menyiapkan kajian saya ini. Tidak dilupakan rakan-rakan seperjuangan saya, khasnya Amir, Shahida, Razif dan Ridzuan yang telah banyak membantu dan memberi galakan sepanjang kajian ini.

Akhir sekali kepada keluarga tersayang atas bantuan dari segi dorongan dan kewangan sepanjang saya menjayakan kajian ini.

Segala tunjuk ajar, nasihat, bantuan serta galakan yang diberikan oleh semua pihak amat dihargai dan diingati. Semoga mereka sentiasa diberkati Tuhan. Sekian, terima kasih.



ABSTRAK

Kajian ini dijalankan untuk mengamplifikasikan gen transkriptase berbalik (RT) endogenous retrovirus daripada ikan marin Sabah menggunakan teknik Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR). Sejumlah 15 ekor ikan marin Sabah yang berlainan spesies telah digunakan dalam kajian ini. Daripada 15 sampel ikan ini, sebanyak sepuluh sampel ikan telah menunjukkan keputusan yang positif bagi pengekstrakan genomik DNA dengan menunjukkan saiz genomik yang dikehendaki iaitu melebihi 23 000 pasangan bes. Sepuluh sampel yang menunjukkan keputusan positif ini kemudiannya dijalankan Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR) yang bertujuan untuk mengamplifikasikan gen transkriptase berbalik dengan penggunaan dua primer universal iaitu PRO (protease) dan RT (transkriptase berbalik) dengan purata kepekatan DNA adalah 124ng/ μ l. Sebanyak satu sampel telah memberikan keputusan yang positif dengan memberikan produk PCR pada saiz yang dikehendaki iaitu 700 pasangan bes. Sampel yang positif ini kemudiannya dipotong daripada gel agarose dan dipurifikasikan daripada gel. Apabila sampel ini dianalisa dengan gel elektroforesis untuk kali kedua, didapati bahawa tiada jalur DNA yang dapat di kesan pada saiz yang dikehendaki. Difahami bahawa kegagalan untuk mendapatkan hasil PCR bagi gen transkriptase berbalik ini adalah disebabkan bilangan salinan endogenous retrovirus yang rendah pada ikan marin Sabah.



ABSTRACT

This study was conducted to amplify the retrovirus endogenous reverse transcriptase gene (RT) from fish using the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. A total of 15 different species of Sabah marine fish had been used for this study. From 15 of these samples, 10 samples of marine fish had shown the positive result for the DNA extraction by showing the genomic size more than 23 000 base pairs. These fishes which had shown positive results had been analyzed further by conducting Polymerase Chain Reaction (PCR) in order to amplify the reverse transcriptase gene with the use of two universal primers which are PRO (protease) and RT (reverse transcriptase) with their average concentration of DNA are 124ng/ μ l. As a result, only one sample had given positive result by showing the right size of PCR product that is 700 base pairs. The DNA band of the PCR product was cut from the gel and purified but when this sample was analyzed with electrophoresis gel for the second time, no DNA band was formed on the gel, with the wanted size. It is understood that the failure to obtain the PCR product of reverse transcriptase gene from the purified sample was due to the fact that the low copy number of the retrovirus endogenous viruses in Sabah marine fishes.



KANDUNGAN

	Muka Surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI FOTO	xii
SENARAI SIMBOL	xiv
SENARAI LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif kajian	2
BAB 2 RUJUKAN PERPUSTAKAAN	3
2.1 Retrovirus	3
2.1.1 Genom retrovirus	4
2.1.2 Kitar hidup retrovirus	5
2.2 Pengelasan retrovirus	9
2.2.1 <i>Alpharetrovirus</i>	10



2.2.2	<i>Betaretrovirus</i>	11
2.2.3	<i>Gammaretrovirus</i>	11
2.2.4	<i>Deltaretrovirus</i>	11
2.2.5	<i>Epsilonretrovirus</i>	12
2.2.6	<i>Lentivirus</i>	13
2.2.7	<i>Spumavirus</i>	13
BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH		15
3.1	Penyimpanan tisu sampel ikan	15
3.2	Pengekstrakan DNA	15
3.3	Kuantifikasi genomik DNA	18
3.3.1	Elektroforesis gel	19
3.3.2	Pengukuran kepekatan DNA	20
3.4	Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR)	21
3.4.1	Reagen PCR	22
3.4.2	Penulenan produk PCR	23
BAB 4 KEPUTUSAN		26
4.1	Pengekstrakan Genomik DNA	26
4.2	Kuantifikasi DNA	30
4.2.1	Spektrofotometer Penyerapan Cahaya Ultraungu	30
4.3	Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR)	34
4.4	Purifikasi Gel	41
BAB 5 PERBINCANGAN		43
5.1	Pengekstrakan DNA	43



5.2	Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR)	45
5.3	Purifikasi Gel Elektroforesis	47
	BAB 6 KESIMPULAN	49
	RUJUKAN	50
	LAMPIRAN	53



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
2.1.1 Tujuh genera retrovirus beserta jenis spesis virus dan perumah masing-masing	9
3.4.1 Jadual menunjukkan reagen yang terlibat di dalam Tindakbalas berantai polimerase (PCR)	22
4.1.1 Senarai ikan marin Sabah yang telah dijalankan proses pengekstrakan genomik DNA dan keputusannya	27
4.2.1 Kepekatan DNA yang ditentukan dengan menggunakan Spektrofotometer Penyerapan Cahaya Ultraungu	31
4.3.1 Senarai ikan marin Sabah yang telah dijalankan teknik Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR) dan keputusannya	35
4.4.1 Senarai ikan marin Sabah yang telah dijalankan teknik Pengekstrakan Genomik DNA, Kuantifikasi DNA dan Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR) dan keputusannya	42



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
2.1 Struktur asas retrovirus	4
2.2 Susunan organisasi genom retrovirus	4



SENARAI FOTO

No. Foto	Muka Surat
4.1.1 Pengekstrakan genomik DNA bagi ikan Putih Pondan (B1), ikan Kursus (B2), ikan Titik Kuning (B3), ikan Kerapu Bunga (B4), ikan Pahat (B5), ikan Fanta Merah (B6), ikan Kapas Merah (B7) dan ikan Titir (B8)	28
4.1.2 Pengekstrakan genomik DNA bagi ikan Kuning @ Selar Kuning (B9), ikan Temenung Kuning (B10), ikan Pisang-Pisang (B11), ikan Helikopter @ Buntal Kapan (B12), ikan Bodoh (B13), ikan Belais (B14) dan ikan Tamban (B15)	29
4.1.3 Pengekstrakan genomik DNA bagi ikan Titir (B8), ikan Kuning @ Selar Kuning (B9), ikan Pisang-Pisang (B11) dan ikan Tamban (B15)	30
4.3.1 Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR) bagi ikan Kursus (B2), ikan Pahat (B5), ikan Fanta Merah (B6), ikan Kapas Merah (B7) dan ikan Titir (B8), ikan Kuning @ Selar Kuning (B9), ikan Temenung Kuning (B10), ikan Pisang-Pisang (B11) dan ikan Bodoh (B13)	37
4.3.2 Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR) bagi ikan Kuning @ Selar Kuning (B9), ikan Temenung Kuning (B10), ikan Pisang-Pisang (B11), ikan Bodoh (B13) dan ikan Tamban (B15)	38
4.3.3 Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR) bagi ikan Kapas Merah (B7 ₁ , B7 ₂ dan B7 ₃), ikan Titir (B8 ₁ , B8 ₂ dan B8 ₃)	39



4.3.4	Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR) bagi ikan Titir (B8), ikan Kuning @ Selar Kuning (B9), ikan Pisang-Pisang (B11) dan ikan Tamban (B15)	40
4.4.1	Purifikasi daripada gel bagi ikan Tamban (B15)	41



SENARAI SIMBOL

°C	Darjah Celcius
%	Peratus
μ	Mikro
n	Nano
g	Gram
l	Liter
m	meter



LAMPIRAN

No. Lampiran	Muka Surat
Lampiran A	53
Lampiran B	54



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Kajian mengenai retrovirus endogenus di dalam ikan adalah masih kurang jika dibandingkan dengan kajian yang telah dilakukan pada mamalia dan burung. Ini terbukti dengan penghasilan bahan-bahan kajian yang agak kurang mengenai retrovirus endogenus ikan berbanding dengan kajian-kajian yang telah dilakukan seperti pada endogenus retrovirus manusia (HERVs). Sehingga ke hari ini, hanya sebilangan kecil retrovirus ikan yang telah dikaji dan dikenalpasti sebagai genus retrovirus yang baru, iaitu epsilonretrovirus.

Genus ini terdiri daripada virus dari dua perumah ikan: virus *Walleye Dermal Sarcoma* (WDSV), *Walleye Epidermal Hyperplasia Virus I* dan *II* (WEHVI dan WEHVII) daripada ikan jenis *Walleye (Stizostedion vitreum)* dan retrovirus *Snakehead* (SnRV) daripada ikan *Snakehead* berbelang (*Ophicephalus striatus*).



Struktur genomik retrovirus endogenus bagi ayam, khinzir, tikus dan manusia telah dikenalpasti. Namun bagi ikan, walaupun fragmen daripada elemen retroviral endogenus telah dilaporkan tetapi ia menunjukkan terdapat mutasi dan pemotongan yang meluas dan berkemungkinan tidak akan menghasilkan protein berfungsi.

1.2 Objektif Kajian

Objektif kajian ini ialah:

1. Pengekstrakan genomik DNA daripada sampel ikan marin di Sabah.
2. Penentuan saiz genomik DNA ikan menggunakan Spektrofotometer Penyerapan Cahaya Ultraungu.
3. Amplifikasi gen transkriptase berbalik (RT) menggunakan teknik Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR)



BAB 2

RUJUKAN PERPUSTAKAAN

2.1 Retrovirus

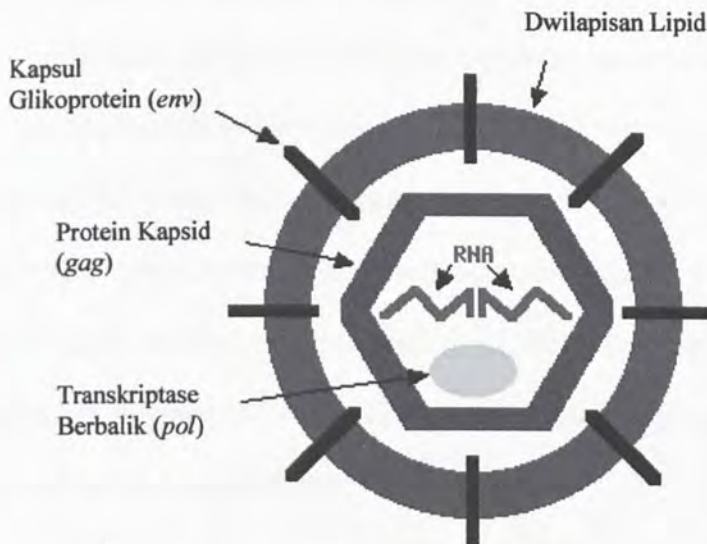
Retrovirus merupakan sejenis virus yang mempunyai genom yang terdiri daripada RNA. Retrovirus bergantung kepada sejenis enzimnya yang dinamakan transkriptase berbalik (reverse transcriptase) bagi membolehkan genomnya ditukarkan daripada RNA kepada DNA. Ini adalah bagi membolehkan bahan genetiknya diintegrasikan ke dalam genom perumah. Sebagaimana yang kita ketahui, virus hanya dapat diaktifkan apabila berada di dalam perumah dan genom retrovirus yang telah berintegrasi dengan genom perumah dipanggil provirus.

Retrovirus yang tipikal lazimnya terdiri daripada kapsul luar yang sebenarnya berasal dari membran plasma perumah, beberapa salinan protein kapsul (envelope protein) yang tertanam pada membran dwilapisan lipid, protein kapsid, dua molekul RNA dan molekul enzim transkriptase berbalik.



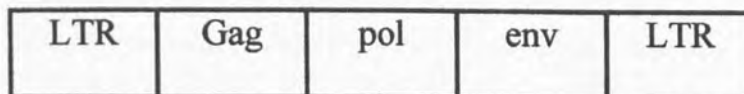
2.1.1 Genom retrovirus

Genom retrovirus terdiri daripada sekurang-kurangnya tiga gen yang utama iaitu *gag* untuk mengkodkan sintesis teras dan protein struktur bagi virus, *pol* untuk mengkodkan enzim polimerase seperti enzim transkriptase berbalik, protease, RNaseH dan integrase dan *env* untuk mengkodkan sintesis kapsul glikoprotein.



Rajah 2.1: Struktur asas retrovirus.

Gambarajah di bawah menunjukkan genom bagi retrovirus.



Rajah 2.2: Susunan organisasi genom retrovirus.

Sebagai mana yang dapat kita lihat, pada hujung setiap genom retrovirus terdapat jujukan terminal yang berulang (LTR). Sebenarnya jujukan ini mempunyai dua fungsi penting bagi retrovirus. Fungsi yang pertama adalah bagi membolehkan salinan DNA virus dapat di integrasikan bersama dengan DNA perumah. Fungsi yang kedua pula adalah jujukan ini bertindak untuk memangkinkan proses transkripsi salinan DNA virus pada kadar yang lebih cepat.

Retrovirus telah menjadi bahan kajian kerana mempunyai sejenis enzim polimerase yang unik yang dikenali sebagai transkriptase berbalik. Enzim ini dapat menukarkan bahan genetik retrovirus yang terdiri daripada RNA kepada DNA. Ini adalah bagi membolehkan bahan genetik virus tersebut dapat berintegrasi dengan genom perumah. Enzim transkriptase berbalik merupakan sejenis polimerase DNA yang menggunakan RNA sebagai templat. Oleh yang demikian, enzim ini berupaya untuk menghasilkan bahan genetik dalam keadaan berbalik iaitu daripada RNA kepada DNA dan juga daripada DNA kepada RNA.

2.1.2 Kitar hidup retrovirus

Kitar hidup retrovirus bermula dengan interaksi protein kapsul retrovirus dengan reseptor yang terdapat pada sel perumah semasa jangkitan. Apabila retrovirus menjangkiti sel, enzim transkriptase berbalik dan RNA bebenang tunggal virus akan memasuki sitoplasma sel perumah tersebut. Enzim ini kemudiannya akan melekat pada RNA virus dan



seterusnya menjalankan proses transkripsi berbalik. Proses ini akan menukarkan RNA bebenang tunggal kepada DNA bebenang ganda dua di dalam sitoplasma perumah dengan bantuan enzim transkriptase berbalik. Salinan DNA ini seterusnya akan memasuki nukleus perumah dan berintegrasi dengan DNA perumah dan dikenali sebagai provirus (Lewin, 2004).

DNA proviral ini bertindak sebagai gen perumah yang stabil semasa fasa yang selanjutnya dalam kitar hidup retrovirus di mana DNA proviral ini akan ditranskripsikan kepada RNA yang lengkap dan RNA subgenomik oleh enzim perumah iaitu RNA polimerase II. Genomik RNA yang lengkap ini seterusnya akan diproses dan ditranslasikan kepada gen prekursor *gag* dan *gag-pro-pol* yang mengkodkan struktur dan komponen enzim retrovirus. RNA subgenomik pula akan ditranslasikan kepada prekursor *env* yang menentukan kebolehhjangan virus.

Selepas menjalani proses translasi, *gag* dan prekursor *gag-pro-pol* dipindahkan ke dalam bahagian sitosolik dan seterusnya menjalani proses pematangan. Bagi prekursor kapsul, proses pematangan berlaku di dalam retikulum endoplasmik. Kesemua gen virus yang telah matang akan dihimpunkan pada membran plasma perumah sebelum pertunasan dan pembebasan partikel yang berjangkit (virion) akan dibebaskan daripada perumah (Lewin, 2004).



Bagi retrovirus eksogenus, kitar jangkitan virus hanya akan dimulakan apabila virion yang terbebas mengjangkiti sel perumah yang lain (jangkitan sel ke sel). Namun ini berbeza dengan retrovirus endogenus kerana virus jenis ini tidak berjangkit dan tiada partikel virus yang terbebas daripada sel perumah. Retrovirus endogenus telah menghasilkan strategi replikasi yang unik menggunakan transkripsi berbalik dan transposisi (transposition) di dalam kitar hidupnya. Strategi ini akan dapat meningkatkan jumlah retrovirus endogenus di dalam sel perumah. Antara contoh retrovirus endogenus yang terdapat di dalam sel perumah dengan salinan yang banyak adalah seperti di dalam genom ayam iaitu sebanyak 40 hingga 100 salinan dan 30 hingga 100 salinan retrovirus endogenus di dalam genom manusia (Wilkinson *et al*, 1994, Tristem, 2000, Lower *et al*, 1996 and Mc Allister *et al*, 1978).

Bagi memastikan kelangsungan hidup retrovirus endogenus di dalam genom perumah, retrovirus endogenus telah mengalami beberapa modifikasi dan adaptasi di dalam kitar hidupnya. Antara modifikasinya adalah seperti bersifat tidak berjangkit kepada sel perumah yang lain bagi memastikan retrovirus endogenus ini tidak diserang oleh sistem keimunan yang terdapat di dalam sel perumah. Oleh kerana itu, kebanyakan retrovirus endogenus mempunyai struktur genom yang tidak lengkap akibat proses delesi dan mutasi yang berlaku. Selain itu, retrovirus endogenus juga bereplikasi secara relatifnya adalah kurang berbanding retrovirus eksogenus bagi meminimalkan persaingan di antara kedua-dua virus ini semasa di dalam genom perumah (Wilkinson *et al*, 1994).



Retrovirus endogenus mempunyai tiga fungsi yang utama di dalam genom perumah. Fungsi yang pertama adalah bertindak sebagai prekursor kepada bentuk berjangkit (infectious form) iaitu kepada bentuk retrovirus eksogenus. Ini di buktikan dengan beberapa fakta yang jelas menunjukkan bahawa terdapat banyak persamaan di dalam jujukan protein struktur dan jujukan asid amino antara retrovirus endogenus dengan retrovirus eksogenus.

Pada mulanya, retrovirus endogenus memasuki sel perumah sama seperti retrovirus eksogenus, sebelum bersifat tidak berjangkit kepada sel perumah yang lain selepas berintegrasi ke dalam genom perumah untuk jangka masa yang panjang. Contoh bagi situasi ini dapat dijumpai pada dua kumpulan virus endogenus yang dijumpai pada genom tikus, Murine Leukaemia Virus (MLV) dan Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV) (Wilkinson *et al*, 1994).

Fungsi retrovirus endogenus yang kedua adalah berperanan untuk membekalkan gen yang diperlukan kepada virus eksogenus, iaitu bertindak sebagai kolam genetik bagi membekalkan gen yang komplen yang diperlukan bagi membentuk virus eksogenus. Di dalam genom tikus, kebanyakan virus endogenus yang dijumpai mempunyai jujukan yang tidak lengkap dan seterusnya akan menghasilkan gen yang tidak berfungsi. Walau bagaimanapun, terdapat beberapa strain tikus yang mempunyai jujukan retrovirus endogenus yang lengkap dan interaksi antara virus endogenus yang lengkap dengan virus



RUJUKAN

- Barnum, S.R. 1998. *Biotechnology An Introduction*. Wadsworth Publishing Company, Canada.
- Bourgaize, D., Jewell, T. R., dan Bruiser, R.G. 1999. *Biotechnology: Demystifying the Concepts*. Addison Wesley Longman, San Francisco, California.
- Brown, T.A. 1995. *Gene Cloning An Introduction*. 3rd Edition. Chapman & Hall, London.
- Bruce, A.V. 2002. *The Biology of Viruses*. 2nd Edition. New York.
- Chin, P.K. 1998. *Marine Food Fish and Fisheries of Sabah*. Natural History Publications, Kota Kinabalu.
- Cooper, G.M. dan Hausman, R.E. 2004. *The Cell a Molecular Approach*. 3rd Edition. ASM Press, Washington D. C.
- Polar, P dan M. Chandler. 1995. *Bacterial Transposes and Retroviral Integrase*. Mol Microbial. 15:13-23
- Kambol, R. 2003. *Evolution and Distribution of Endogenous Retrovirus within Amphibian and Piscine Host*. Unpublished PhD Thesis. Department of Biological Sciences, Imperial College London, United Kingdom.
- Kambol, R., Kabat, P., dan Tristem, M. 2003. *Complete Nucleotide Sequence of Endogenous Retrovirus From the Amphibian, Xenopus laevis*. Virology. 311, 1-6



- Kambol, R., dan Michael, T. 2005. *The Diversity and Distribution of Piscine Endogenous Retrovirus in Piscine Hosts*. Proc. Of the 6th National Congress on Genetics. Beyond Genome: Harnessing the Potential. 12-14 May, 2005. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Kambol, R. 2006. *The Distribution of Piscine Endogenous Retrovirus in Malaysian Freshwater Fish*. Proc of the 4th. Genomes to Systems Conference. 22-24 March 2006. Manchester Convention Centre. Manchester, UK.
- Karp, G. 2002. *Cell and Molecular Biology, Concepts and Experiments*. 3rd Edition. John Wiley & sons Inc., New York.
- Lewin, B. 2004. *Genes VIII International Edition*. Pearson Prentice Hall, New Jersey.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., dan Parker, J. 2003. *Brock Biology of Microorganisms*. 10th Edition. Pearson Education, Inc., United States of America.
- Tizard, I.R. 1984. *Immunology: An Introduction*. Thompson Learning, Inc., United States of Amerika.
- Van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Cartesan, E.B., Estes, M.K., Lemon, S.M., Maniloff, J., Mayo, M.A., McGeoch, D.J., Pringle, C.R., Wickner, R.B. 2000. *Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses*, The Seventh report of The International Committee on Taxonomy of Viruses, Academic Press, San Diego.
- Wilkinson, D.A., Mager, D.L., dan J.A.C. 1984. *Endogenous Human Retrovirus. Eds a Levy in the Retroviridae*. Vol. 3. Plenum Press, New York.
- Unknown, <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fegi?iid=10930>.
- Unknown, <http://www.news-medical.net/default.asp>



Unknown, http://en.wikipedia.org/wiki/Reverse_transcriptase

Unknown, <http://www.lander.edu/rsfox/111virus.html>-

Unknown, http://www.accessexcellence.org/RC/VL/GG/retro_Life.html-

Unknown, <http://www.bio.jhu.edu/Faculty/Corces/Research1.html>

Unknown, http://dbb.urmc.rochester.edu/labs/smith/research_3.htm

Unknown, <http://www-micro.msb.le.ac.uk/3035/Retroviruses.html>

Unknown, http://en.wikipedia.org/wiki/Reverse_transcriptase

