

**PENGLONAN DAN PENJUJUKAN DNA  
RETROVIRUS ENDOGENUS  
DI DALAM IKAN MARIN SABAH**

**RAHA HANIZA BT ABD RAHMAN**

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

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

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

**APRIL 2007**



**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: PENKLOANAN DAN PENJUJUKAN DNA RETROVIRUS ENDOGENUS

DI DALAM IKAN MARIN SABAH

Ijazah: SARJANA MUDA SAINS (BIOTEKNOLOGI)

SESI PENGAJIAN: 2004 - 2007

Saya RAHA HANIDA BT ABD RAHMAN

(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

Paha Hanida  
(TANDATANGAN PENULIS)

\_\_\_\_\_  
(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: 43, JLN SELASIH 9,  
TAMAN KEMAS, 81200,

JOHOR BAHRU, JOHOR.

\_\_\_\_\_  
Nama Penyelia

Tarikh: 20/4/2007

Tarikh: \_\_\_\_\_

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).

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

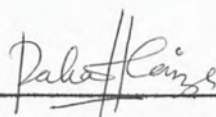


UMS  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## PENGAKUAN

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

20 APRIL 2007



---

RAHA HANIZA BT ABD RAHMAN

HS2004-1144

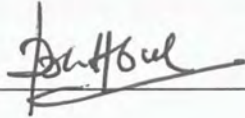


## DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

## 1. PENYELIA

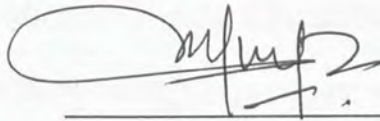
( Dr. Roziah Hj Kambol )



---

## 2. PEMERIKSA 1

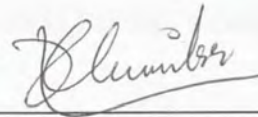
( Dr. Vijay Kumar )



---

## 3. PEMERIKSA 2

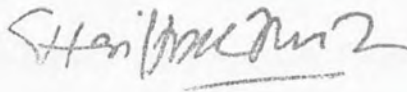
( Dr. Lee Ping Chin )



---

## 4. DEKAN

( SUPT/KS Prof. Madya Dr Shariff A.Kadir S.Omang )



---





## PENGHARGAAN

Alhamdulillah dengan izin Allah SWT, disertasi ini telah berjaya disiapkan pada masa yang ditetapkan. Pada kesempatan ini, saya ingin merakamkan setinggi-tinggi penghargaan kepada Dr Roziah Hj Kambol selaku penyelia diatas segala bimbingan, nasihat, tunjuk ajar beliau sepanjang kajian ini dijalankan. Segala cadangan dan pandangan yang telah disampaikan amat saya hargai.

Disini, saya juga ingin merakamkan jutaan penghargaan kepada Sekolah Sains dan Teknologi, Universiti Malaysia Sabah atas segala kemudahan dan peralatan yang diperlukan untuk menyiapkan kajian saya ini. Tidak lupa juga kepada rakan sekerja khususnya Nabila Hana, yang telah banyak membantu dan memberi galakan sepanjang kajian ini dijalankan.

Selain itu, penghargaan juga turut diberikan kepada pelajar-pelajar Pasca Siswazah Bioteknologi, dan pembantu makmal di Makmal penyelidikan Bioteknologi dan Makmal Fisiologi Haiwan yang sentiasa memberikan kerjasama yang baik semasa kajian dijalankan.

Akhir sekali, ribuan penghargaan juga diberikan kepada keluarga serta rakan-rakan seperjuangan atas sokongan dan dorongan samada secara langsung atau tidak sepanjang proses menyiapkan disertasi ini. Jasa anda semua tidak akan saya lupakan dan semoga sentiasa diberkati tuhan. Sekian, terima kasih



## ABSTRAK

Kajian ini dijalankan bertujuan untuk mengklon dan menjujukan gen transkriptase berbalik (RT) bagi retrovirus endogenus di dalam ikan marin Sabah menggunakan strategi pengklonan berasaskan tindakbalas rantai polimerase (PCR). Sejumlah tujuh ekor ikan marin Sabah yang berlainan spesis iaitu ikan Mong, ikan Gaguk, ikan Sulit Merah, ikan Sulit, ikan Banglus, ikan Merah dan ikan Buntal, telah digunakan dalam kajian ini. Enam daripadanya memberikan keputusan positif bagi pengekstrakan DNA dengan menunjukkan saiz genomik DNA yang dikehendaki iaitu melebihi 23,000 pasangan bes. Purata kepekatan DNA yang diperolehi daripada kuantifikasi DNA menggunakan spektrofotometer adalah 72.14 ng/ $\mu$ l bagi 30mg tisu ikan. Enam sampel ikan yang positif ini telah dijalankan tindakbalas rantai polimerase (PCR) untuk mengamplifikasikan gen transkriptase berbalik dan protease. Sejumlah lima sampel ikan iaitu Mong, Sulit Merah, Sulit, Merah, dan Buntal telah memberikan keputusan positif dengan memberikan produk PCR pada saiz yang dikehendaki iaitu 600-900 pasangan bes. Kelima-lima sampel ini dipurifikasikan daripada gel agaros dan hanya dua sampel ikan iaitu Merah dan Buntal menunjukkan hasil positif dimana wujudnya jalur tunggal pada saiz yang sama dengan produk PCR bagi sampel tersebut, iaitu 800 pasangan bes bagi sampel ikan merah (A6), dan 700 pasangan bes bagi sampel ikan Buntal (A7). Kemudian, kedua-dua sampel positif ini melalui proses pengklonan yang melibatkan langkah ligasi produk PCR ke dalam vektor dan transformasi sel, dan keputusan positif hanya ditunjukkan oleh sampel ikan Merah, dimana berlaku pertumbuhan koloni putih dan biru pada media agar. Dua koloni diambil dan dijalankan pengekstrakan plasmid dan pemotongan enzim pembatasan *EcoRI* terhadap plasmid. Seterusnya penjujukan DNA dijalankan bagi kedua-dua klon tersebut dan hasil dari penjujukan DNA tersebut menunjukkan saiz jujukan DNA bagi klon pertama iaitu RV-Merah-a adalah 801 pasangan bes, manakala saiz jujukan DNA bagi klon kedua iaitu RV-Merah-b adalah 795 pasangan bes. Analisis bagi kedua-dua jujukan tersebut menunjukkan bahawa ianya adalah bukan dari retrovirus endogenus. Oleh itu, objektif utama kajian ini iaitu untuk mengklonkan dan menjujukan DNA retrovirus endogenus gagal dicapai.





## ABSTRACT

This study was conducted to clone and sequence the retrovirus endogenous reverse transcriptase gene (RT) and protease (PRO) from piscine host using PCR based cloning method. A total of seven different species of Sabah Marine Fish were used in this study. Six samples showed positive result for DNA extraction by producing band at the right range of size which is more than 23,000 base pairs. The samples were analyzed further by conducting polymerase chain reaction (PCR) in order to amplify the reverse transcriptase and protease genes. Five samples which are Mong , Sulit Merah, Sulit, Merah, and Buntal gave positive result by showing the right amplification size of 600-900bp. The DNA bands of PCR products were excised from the gel and purified. However, only two of the fish samples, Merah and Buntal were successfully purified. After that, both samples were subjected to the cloning process which involve ligation of the PCR product into a plasmid vector and cell transformation. Only Merah fish sample showed positive result, in which there were white and blue colonies grew on agar media. Two of the colonies were further subjected to plasmid digestion and restriction enzyme digestion analysis and it was subsequently sequenced for reverse transcriptase and protease genes. The DNA sequence was successfully obtained with the size of 801bp for the first clone of RV-Merah-a and 795bp for the second clone of RV-Merah-b. Analysis of the DNA sequences for both clones showed that the DNA sequences were not from endogenous retrovirus and thus, the objectives of this study which is to clone and sequence endogenous retrovirus in Sabah marine fish is not achieved.



## KANDUNGAN

	Muka surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI FOTO	xii
SENARAI SIMBOL	xiii
SENARAI LAMPIRAN	xiv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
<b>BAB 2 RUJUKAN PERPUSTAKAAN</b>	<b>4</b>
2.1 Retrovirus	4
2.1.1 Genom Retrovirus	5
2.2 Pengkelasan Retrovirus	7
2.2.1 <i>Alpharetrovirus</i>	8
2.2.2 <i>Betaretrovirus</i>	9
2.2.3 <i>Gammaretrovirus</i>	9
2.2.4 <i>Deltaretrovirus</i>	10
2.2.5 <i>Epsilonretrovirus</i>	10
2.2.6 <i>Lentivirus</i>	11
2.2.7 <i>Spumavirus</i>	12
2.2.8 Fragmen Retrovirus Endogenus dari Sampel Ikan Malaysia.	12





<b>BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH</b>	14
3.1 Persampelan Ikan	14
3.2 Pengekstrakan DNA	15
3.3 Elektroforesis Gel	18
3.4 Pengukuran Kepekatan DNA	19
3.5 Tindakbalas Berantai Polimerase (PCR)	20
3.5.1 Jenis Primer	21
3.5.2 Jenis Reagen PCR	23
3.6 Purifikasi Produk PCR	25
3.7 Pengklonan Produk PCR	27
3.7.1 Ligasi Produk PCR Menggunakan Vektor pGEM-T <i>easy</i>	28
3.7.2 Transformasi Menggunakan Tindakbalas Ligasi Vektor pGEM-T <i>easy</i>	30
3.8 Pengekstrakan Plasmid DNA	32
3.9 Pemotongan Enzim Pembatasan Terhadap Plasmid DNA	34
3.10 Penjujukan DNA dan Analisis Jujukan DNA	36
 <b>BAB 4 KEPUTUSAN</b>	 38
4.1 Pengekstrakan DNA	38
4.2 Kuantifikasi DNA Menggunakan Spektrofotometer Penyerapan Cahaya Ultraungu	40
4.3 Tindakbalas Rantai Polimerase (PCR)	42
4.4 Purifikasi Produk PCR	44
4.5 Pengklonan Produk PCR	47
4.6 Pemotongan Enzim Pembatasan Terhadap Plasmid DNA	49
4.7 Penjujukan DNA dan Analisis Jujukan DNA	50
 <b>BAB 5 PERBINCANGAN</b>	 57
5.1 Pengekstrakan DNA	57
5.2 Kuantifikasi DNA Menggunakan Spektrofotometer Penyerapan Cahaya Ultraungu	61



5.3	Tindakbalas Rantai Polimerase (PCR)	63
5.4	Purifikasi Produk PCR	65
5.5	Pengklonan Produk PCR	68
5.6	Pemotongan Enzim Pembatasan Terhadap Plasmid DNA	72
5.7	Penjjukan DNA dan Analisis Jujukan DNA	73
<b>BAB 6 KESIMPULAN</b>		<b>78</b>
<b>RUJUKAN</b>		<b>80</b>
<b>LAMPIRAN</b>		<b>84</b>



## SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
3.1 Nama saintifik bagi samel ikan yang terlibat dalam kajian ini	15
3.2 Amaun reagen yang digunakan semasa PCR	24
3.3 Amaun reagen tindakbalas ligasi yang diperlukan	29
3.4 Bahan-bahan yang terlibat dan isipadu yang diperlukan	35
4.1 Senarai ikan marin Sabah yang dijalankan pengekstrakan genomik DNA	39
4.2 Kepekatan DNA yang ditentukan menggunakan Spektrofotometer Penyerapan Cahaya Ultraungu	41
4.3 Senarai sampel ikan marin Sabah yang dijalankan tindakbalas rantai polimerase (PCR) dan keputusannya.	42
4.4 Sampel ikan marin Sabah yang dijalankan purifikasi produk PCR dan keputusannya.	45
4.5 Bilangan pertumbuhan koloni putih dan biru di atas media agar dan kecekapan transformasi bagi sampel ikan Merah (A6)	48





**SENARAI RAJAH**

No. Rajah	Muka Surat
2.1 Susunan organisasi genom retrovirus	6
4.1 Jujukan DNA RV-Merah-a (A6a) dengan panjang jujukan 801 pasangan bes DNA.	51
4.2 Jujukan asid amino RV-Merah-a (A6a) dengan panjang jujukan 266 asid amino.	51
4.3 Pencarian tBlastn jujukan asid amino RV-Merah-a (A6a).	52
4.4 Jujukan DNA RV-Merah-b (A6b) dengan panjang jujukan 795 pasangan bes DNA	54
4.5 Jujukan asid amino RV-Merah-b (A6b) dengan panjang jujukan 265 asid amino.	54
4.6 Pencarian tBlastn jujukan asid amino RV-Merah-b (A6b).	55



## SENARAI FOTO

No. Foto	Muka Surat
2.1 Susunan Organisasi Genom Retrovirus (Bruce, 2002)	6
3.1 Vektor pGEM-T <i>easy</i> (Promega)	28
4.1 Pengekstrakan genomik DNA bagi sampel ikan Mong (A1), ikan Gaguk (A2), ikan Sulit Merah (A3), ikan Sulit (A4), ikan Banglus (A5), ikan Merah (A6), ikan Buntal (A7).	40
4.2 Tindakbalas rantai polimerase (PCR) bagi sampel ikan Mong (A1) sebagai kawalan positif, ikan Sulit Merah (A3), ikan Sulit (A4), ikan Merah (A5), ikan Buntal (A6) dan air ternyahcas ganda dua sebagai kawalan negatif.	43
4.3 Tindakbalas rantai polimerase (PCR) bagi sampel Gaguk (A2), kawalan positif ikan Mong, dan kawalan negatif air ternyahcas ganda dua.	44
4.4 Purifikasi produk PCR bagi sampel ikan Buntal (A7)	46
4.5 Purifikasi produk PCR bagi sampel ikan Merah (A6)	47
4.6 Keadaan media agar yang ditumbuhi koloni putih dan biru bagi sampel ikan Merah (A6)	48
4.8 Gel elektroforesis bagi sampel yang berjaya diklonkan iaitu sampel ikan Merah (A6) yang dijalankan pemotongan enzim pembatasan <i>EcoRI</i>	49



## SENARAI SIMBOL

°C	Darjah Celcius
%	Peratus
μ	Mikro
g	Gram
l	Liter
m	meter
M	Molar
mM	Milimolar
nm	Nanometer
Rpm	Revolusi per minit
V	Volt
DNA	Asid Deoksiribonukleotida
PCR	Tindakbalas berantai polimerase
Bp	pasangan bes
A	Penyerapan cahaya
EDTA	Asid Ethylenediamin
TAE	Tris Asetat EDTA
U	Unit
A	Bes Adenina
C	Bes Sitosina
G	Bes Guanina
T	Bes Tiamina





**LAMPIRAN**

No. Lampiran	Muka Surat
Lampiran A	84
Lampiran B	87
Lampiran C	88
Lampiran D	90
Lampiran E	91
Lampiran F	99



## BAB 1

### PENDAHULUAN

Retrovirus merupakan genus virus dalam famili retroviridae yang mempunyai pelbagai kesan patogenik termasuk kebolehan mereplikasi dan kekal dalam sel perumah tanpa sebarang tanda-tanda jangkitan. Nama retrovirus berasal daripada perkataan Latin iaitu *retro* bermaksud terbalik yang merujuk kepada wujudnya enzim transkripsi berbalik dalam genom virus ini. Walaubagaimanapun, kajian ini hanya memfokuskan kepada retrovirus endogenus yang tidak bersifat patogenik terhadap sel perumah yang dijangkitinya iaitu perumah ikan (Kamboi, 2007).

Retrovirus terdiri daripada tujuh genera iaitu *Alfaretrovirus*, *Betaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Epsilonretrovirus*, *Lentivirus*, dan *Spumavirus*. Daripada tujuh genera tersebut, *Epsilonretrovirus* merupakan genera yang berkait rapat dengan kajian ini iaitu melibatkan kajian virus dalam perumah ikan. Genus ini melibatkan virus daripada dua perumah ikan iaitu ikan jenis *walleye* (*stizosedion vitreum*) yang dijangkiti oleh *Walleye Dermal Sarcoma virus* (WDSV), *Walleye Epidermal Hyperplasia Virus I* dan *II* (WEHV I dan WEHV II) dan ikan *Snakehead* (*Ophicephalus striatus*) yang melibatkan retrovirus *Snakehead* (SnRV).



Seperti yang diketahui, kajian mengenai retrovirus endogenus dalam perumah ikan adalah masih rendah jika dibandingkan dengan kajian yang telah dilakukan pada burung dan mamalia. Perkara ini dapat dilihat melalui kekurangan bahan-bahan kajian berkenaan retrovirus endogenus ikan berbanding kajian virus ini dalam perumah lain. Maka, ia adalah bertepatan dengan usaha kajian ini dijalankan iaitu dalam meneruskan kajian mengenai retrovirus endogenus dalam perumah ikan dengan mengkaji kadar penyebaran retrovirus endogenus pada spesis ikan marin di perairan Sabah melalui sampel-sampel ikan yang digunakan.

Memandangkan kajian ini melibatkan kajian pada peringkat gen, maka gen sasaran dalam genom retrovirus endogenus yang diperolehi adalah transkriptase berbalik dan protease yang dikodkan oleh gen *pol*. Oleh itu, kajian ini melibatkan teknik-teknik molekular yang digunakan untuk mengesan kehadiran kedua-dua enzim tersebut di dalam perumah ikan yang berlainan serta mengetahui fungsi dan mekanisme bagi setiap satu daripadanya. Antara teknik-teknik molekular yang terlibat dalam kajian ini adalah pengekstrakan DNA, pengukuran kepekatan DNA, gel elektroforesis, tindakbalas berantai polimerase, purifikasi gel serta teknik pengklonan seperti ligasi dan transformasi serta akhir sekali adalah penjujukan DNA.





Objektif kajian ini adalah untuk: -

1. Mengekstrak genomik DNA daripada sampel ikan marin di Sabah.
2. Mengamplifikasi gen transkriptase berbalik (RT) dan protease (PRO) menggunakan teknik tindakbalas berantai polimerase (PCR)
3. Menentukan produk PCR iaitu gen transkriptase berbalik (RT) dan protease (PRO) yang telah diamplifikasi menggunakan PCR.
4. Mengklonkan serta menjujukan gen transkriptase berbalik (RT) dan protease (PRO) yang terdapat dalam perumah ikan marin di Sabah.



## BAB 2

### RUJUKAN PERPUSTAKAAN

#### 2.1 Retrovirus

Retrovirus merupakan virus RNA yang berada dibawah famili retroviridae dimana ia boleh menjangkiti perumah vertebrata. Kunci utama dalam biologi retrovirus adalah kebolehan nya dalam mensintesis salinan genom DNA daripada genom RNAnya melalui proses transkripsi berbalik hasil daripada tindakan enzim transkripsi berbalik yang dikodkan oleh gen *pol* pada genom retrovirus dan seterusnya membenarkan proses integrasi antara genom virus dan genom perumah dimana pada ketika ini, DNA retrovirus disebut sebagai provirus (Bruce, 2002).

Retrovirus boleh dibahagikan kepada dua jenis mengikut cara jangkitannya, iaitu retrovirus endogenus dan retrovirus eksogenus, di mana retrovirus endogenus merupakan virus yang tidak boleh berjangkit dan tidak bersifat patogenik terhadap sel perumah tetapi ia berfungsi sebagai kolam genetik kepada retrovirus eksogenus dengan membekalkan gen komplimen yang diperlukan bagi membentuk virus tersebut.



Selain itu, retrovirus endogenus juga bertindak sebagai prekursor kepada retrovirus eksogenus serta membekalkan jujukan DNA berfungsi kepada virus eksogenus. Manakala retrovirus endogenus merupakan virus yang boleh berjangkit dan ia hanya akan memulakan jangkitan selepas virion yang terbebas menjangkiti sel perumah lain (Butel dan Ornston, 1995).

Struktur morfologi bagi retrovirus yang tipikal ini adalah kompleks dimana ia terbina daripada matrik, nukleokapsid yang isometrik dan kapsid. Retrovirus bersampul ini wujud dalam bentuk sferikal dengan diameter antara 80nm hingga 100nm dan mempunyai duri glikoprotein dengan 8nm panjang yang tersebar pada lapisan permukaan retrovirus (Butel dan Ornston 1995).

### 2.1.1 Genom Retrovirus

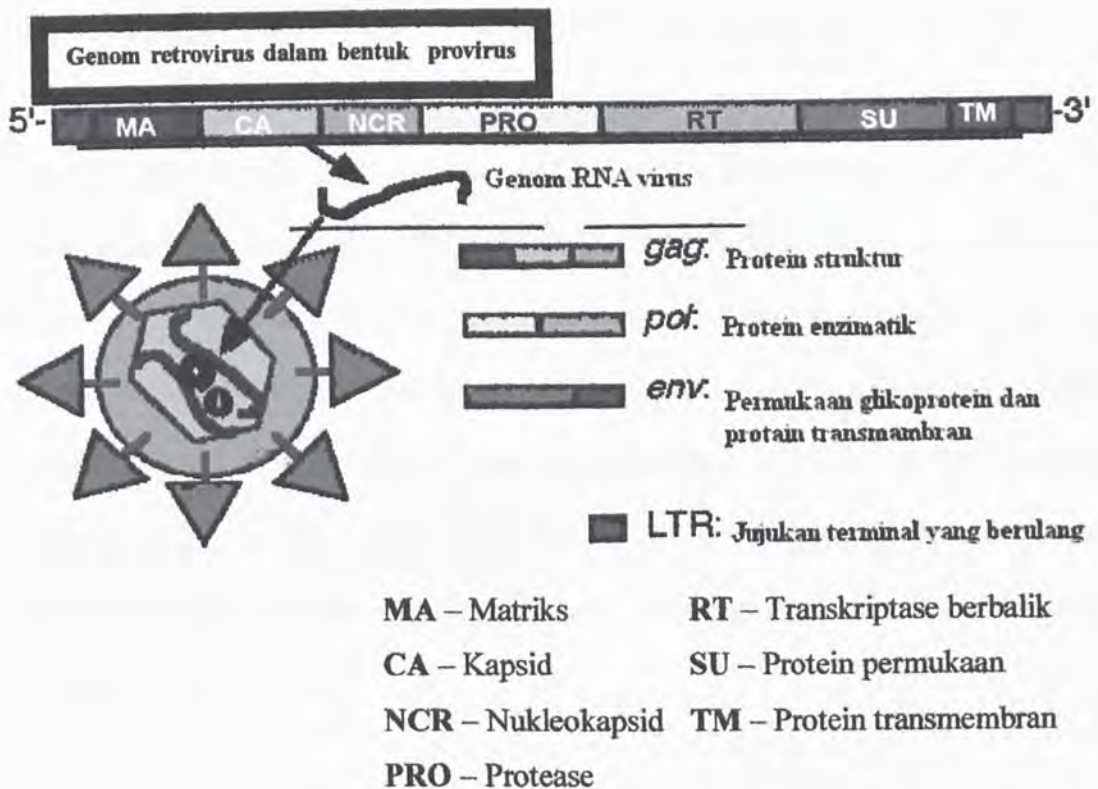
Genom retrovirus terdiri daripada dua molekul RNA rantai tunggal positif yang mempunyai *cap* pada hujung 5' dan Poli-(A) pada hujung 3', yang bersaiz antara 8kb hingga 11kb. Genom retrovirus terdiri daripada empat ciri unik iaitu:

- a. Ia merupakan satu-satunya virus yang mengandungi bahan genetik yang diploid.
- b. Ia merupakan satu-satunya virus yang memerlukan tRNA semasa replikasi.
- c. Ia tidak menggunakan RNA seperti mRNA semasa proses translasi seperti kebanyakan virus RNA positif yang lain.





- d. Ia menggunakan fungsi sel perumah untuk menghasilkan DNA virus daripada RNA virus.



**Foto 2.1** Susunan organisasi genom retrovirus (Bruce, 2002).

Terdapat tiga gen utama dalam genom retrovirus iaitu *gag*, *pol* dan *env* yang terlibat dalam kitar hidup setiap retrovirus seperti yang ditunjukkan dalam foto 2.1 di atas. Gen *gag* yang mewakili kumpulan-antigen spesifik yang mengkodkan protein kapsid, nukleokapsid, dan matrik, dimana kapsid terletak di bahagian tengah dalam struktur pembinaan retrovirus dan mengandungi RNA viral, protein nukleokapsid dan enzim seperti transkriptase berbalik. Nukleokapsid pula merupakan protein yang

terlibat dalam pelbagai fungsi dan mengawalatur interaksi tertentu seperti terlibat dalam proses pembungkusan viral RNA. Selain itu, gen *pol* merupakan gen retrovirus yang mengkodkan protease, transkriptase berbalik, RnaseH, dan integrase dimana protease bertindak dalam pengumpulan partikel protein retrovirus di dalam sitoplasma sel perumah sebelum keluar menjadi virus matang manakala transkriptase berbalik berfungsi dalam menukarkan rantai tunggal RNA virus kepada rantai ganda dua DNA melalui proses transkripsi berbalik yang kemudiannya akan di integrasikan ke dalam genom sel perumah dengan tindakan enzim integrase. Gen yang terakhir adalah *env* yang mengkodkan pembentukan lapisan permukaan luar virus iaitu kapsul glikoprotein seperti protein transmembran. Jika diperhatikan terdapat jujukan terminal yang berulang (LTR) pada setiap hujung 3' dan hujung 5' setiap genom, dimana ia mempunyai jujukan pengawalatur yang terlibat dalam pengekspresan gen (Bruce, 2002).

## 2.2 Pengelasan retrovirus

Retrovirus boleh dikelaskan melalui dua cara iaitu berdasarkan morfologi dan juga berdasarkan jujukan molekular dan struktur organisasi retrovirus. Secara ringkasnya, berdasarkan morfologi, retrovirus dikelaskan kepada empat bahagian iaitu jenis A, jenis B, jenis C, dan jenis D. Retrovirus jenis A mencirikan morfologi retrovirus yang tidak bersampul, belum mencapai kematangan dan virus yang tidak berjangkit serta merupakan prekursor kepada jenis B. Retrovirus dibawah jenis B pula menunjukkan struktur yang lebih kompleks, bersampul dan bahagian luar permukaan



virus yang mempunyai duri. Retrovirus jenis C mempunyai ciri yang sama seperti jenis B tetapi mempunyai tambahan nukleoid, dimana kebanyakan retrovirus manusia dan avian seperti Virus Limfotropik-T Manusia (HTLV), Virus Murine Leukemia (MLV), dan Virus Avian Leukosis (ALV) tergolong dalam jenis ini. Manakala bagi retrovirus jenis D, strukturnya merupakan modifikasi nukleoid daripada bentuk silinder kepada bentuk kuboid (Doerfler *et al.*, 1993).

Retrovirus dikelaskan kepada tujuh genera berdasarkan jujukan molekular iaitu *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus*, *Lentivirus*, dan *Spumavirus*. (Gifford dan Tristem, 2003).

### 2.2.1 *Alpharetrovirus*

Virus ini berkait rapat dengan malignasi dan penyakit lain seperti sarkoma, tumor, anemia, immunosupresi yang disebabkan oleh kehilangan tisu otot, osteoporosis terhadap perumah burung, dan ayam. Ia terdiri daripada morfologi jenis C. (Doerfler *et al.*, 1993).

Virus yang dikelaskan dibawah genera ini terbahagi kepada tiga kumpulan utama iaitu *Avian Leukosis-Sarcoma Virus*, yang merupakan retrovirus endogenus dan juga eksogenus. Kumpulan kedua pula ialah *Rous Sarcoma Virus*, dan kumpulan ketiga adalah *Avian Myeloblastosis*, *Fujimani Sarcoma Virus* dan *Avian Carcinoma Virus* (Van Regenmortel *et al.*, 2000).





### 2.2.2 *Betaretrovirus*

Virus ini tersebar secara menegak dan merupakan virus endogenus yang tidak bersifat patogenik terhadap perumah seperti tikus, monyet dan kambing biri-biri. Ia mempunyai morfologi jenis B dan C. (Van Regenmortel *et al.*, 2000).

Virus ini menyebabkan jangkitan *Mouse Mammary Tumor Virus* (MMTV) kepada perumah tikus dan jangkitan *Mason Pfizer Monkey Virus* (MPMV) yang dikaitkan dengan kekurangan daya tahan dan tumor terhadap perumah monyet, manakala bagi kambing biri-biri, virus ini dikaitkan dengan kanser pulmonari bagi haiwan perumah tersebut (Gifford dan Tristem, 2003).

### 2.2.3 *Gammaretrovirus*

Virus ini melibatkan pelbagai spesis yang mengandungi onkogen dan menyebabkan sarkoma dan leukemia. Ia juga dikaitkan dengan pelbagai malignasi, immunosupresi, dan penyakit neurologi terhadap haiwan perumah. (Van Regenmortel *et al.*, 2000).

Antaranya adalah Virus Leukemia Murin, Virus Leukemia Feline, Virus Sarkoma Feline, dan Virus Reticuloendotheliosis Avian. Kebanyakan retrovirus endogenus yang berkait rapat dengan gammaretrovirus eksogenus wujud dalam DNA mamalia termasuk manusia, burung, reptilia, dan amfibia (Doerfler *et al.*, 1993).





## RUJUKAN

- Anderson, D. P. 1974. *Fish Immunology, Diseases of Fishes*. T. F. H Publications, United State of America.
- Barnes, M.R & Gray, I.C. 2003. *Bioinformatics for Geneticists*. Wiley & Sons, Canada LTD. England.
- Baxevanis, A. D. & Ouellete, B.F.F. 2001. *Bioinformatics*. 2<sup>nd</sup> Edition. John Wiley & Sons, Inc, United States of America.
- Bruce, A. V. 2002. *The Biology of Viruses*. 2nd Edition. Mc Graw Hill, New York.
- Butel, J. S. & Ornston, L. N. 1995. *Jawetz and Meinick, Adelberg's Medical Microbiology*. Apeton and Lange, United State of America.
- Cantor, C. R. & Smith, C. L. 2001. *Genomics, The Science and Technology Behind the Human Genome Project*. John Wiley and Sons, Inc, United States of America.
- Dawson, M. T., Powel, R. & Gannon, F. 1996. *Gene Technology*. BIOS Scientific Publisher Ltd, United Kingdom.
- Doerfler, W. & Bohm, P. (eds). 1993. *Virus Strategies, Molecular Biology, Pathogenesis*. VCH, Germany.
- Gifford, R. & Tristem, M. 2003. *The Evolution, Distribution, and Diversity of Endogenous Retroviruses*. Kluwer Acedemic Publishers, Netherland. 291-315.



- Hartwell, L. H., Hood, L., Goldberg, M. L., Reynolds, A. E., Silver, L. M. & Veres, R. C. 2004. *Genetics from Gene to Genomes*. 2nd edition. Mc Graw Hill, New York.
- Hart, D., G. N. Frerichs, A. Rambaut, & D. E. Onions. 1996. *Complete Nucleotide Sequence and Transcriptional Analysis of the Snakehead fish retrovirus*. *J.Virology*. **70**: 3606-3616.
- Herniou, E., Martin, J., Miller, K., Cook, J., Wilkinson, M., Tristem, & M. 1998. *Retroviral Diversity and Distribution in vertebrates*. *J. Virology*. **72**:5955-5966
- Holzschu, D. L., D. Martineou, S. K. Fodor, V.M.V., P.R. Bowser, & J. M. Casey.1995. *Nucleotide Sequence and Protein Analysis of a Complex Piscine retrovirus Walleye Dermal Sarcoma Virus*. *J.Virology*. **72**: 5320-5331.
- Kambol, R., Kabat, P., & Tristem, M., 2003. *Complete Nucleotide Sequence of Endogenous Retrovirus from the Amphibian, Xenopus laevis*. *J. Virology*. **311**: 1-6
- Kambol, R. 2003. *Distribution and Evolution of Endogenous Retroviruses within Amphibian and Piscine Hosts*. Department of Biological Science. Imperial College of Science Technology and Medicine, University of London. (Tidak diterbitkan)
- Kambol, R. 2005. *Xenopus Endogenous Retrovirus (XEN) Posseses A Relatively Complex Retrovirus Sequence In Its Genome*. Borneo Science. *Journal of Science and Technology*. **17**: 11-33.



- Kambol, R & Tristem, M. 2005. *The Diversity and Distribution of Piscine Endogenous Retroviruses in Piscine Host. Proc of the 6<sup>th</sup> National Congress on Genetics. Beyond Genome: Harnessing the Potential.* 12-14 Mei 2005. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Kambol, R. 2005. *Evolution and Distribution of Endogenous Retrovirus within Amphibian and Piscine Host. Proc. of the 6<sup>th</sup> National Congress on Genetics. Beyond Genome: Harnessing the potential.* 12-14 Mei 2005. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Kambol, R. 2006. *The Distribution of Piscine Endogenous Retrovirus in Malaysian Freshwater Fish. Proc of the 4<sup>th</sup> Genome to Systems Conference.* 22-24 Mac, 2006. Manchester Convention Centre Manchester, UK.
- Kambol, R. 2007. Pengklonan dan Penjujukan DNA beberapa fragmen Retrovirus Endogenus daripada Ikan Marin Sabah. Laporan Penyelidikan Akhir penyelidikan Fundamental UMS, Kod Projek B-103-01-ER/U103.
- Karp, G. 2003. *Cell and Molecular Biology.* 3rd edition. John Wiley and Sons, inc, New Jersey.
- Mahy, B. W. J. & Kangro, H. O. 1997. *Virology Methods Manual.* Acedemic Press, London.
- Michels, C. A. 2003. *Genetic Techniques for Biological Research A Case Study Approach.* John Wiley and Sons Ltd, United States of America.





- Swanstrom, R., & Wills, J. W. 1997. *Synthesis, Assembly and Processing of Viral Proteins*. Eds. J.M Coffin, S.H. Hughes and H.E. Varmus In *Retrovirus*. Cold Spring Harbour Laboratory Press. New York. 263-334 ms.
- Teich, N. 1984. *Taxonomy of Retroviruses*. Weiss, R., Teich, N., Varmus, H.E., Coffin, J. (eds) In *Molecular Biology of Tumor Viruses*. 2<sup>nd</sup> Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. USA.
- Van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Carsten, 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: Classification and Nomenclature of Viruses*. The seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Academic Press, San Diego.
- Watson, J. D., Baker, T. A., Bell, S. P., Gann, A., Levine, M. & Losick, R. 2004. *Molecular Biology of the Gene*. 5th Edition. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco.
- Wu, W., Welsh, M. J., Kaufman, P. B. & Zhang, H. H. 2004. *Gene Biotechnology*. 2nd Edition. CRC Press, United States of America.

<http://bio.lunberg.gu.se/edu/translat.html>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

<http://www.promega.com/vectors/>.

