

**PENYARINGAN BERKOMPUTER RETROVIRUS ENDOGENUS
KHINZIR (PERV) DARIPADA PENGKALAN DATA
PROJEK GENOM MANUSIA**

SITI SARAH BINTI MOHD. NOOR

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**DISERTASI YANG DIKEMUKAKAN UNTUK
MEMENUHI SEBAHAGIAN DARIPADA SYARAT
MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS
DENGAN KEPUJIAN DALAM
BIOTEKNOLOGI**

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

2007



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: PENYARINGAN BERKOMPUTER RETROVIRUS
ENDOGENUS KHINZIR DARI PENGKALAN DATA PROJEK GENOM MANU

Ijazah: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUNJIAN

SESI PENGAJIAN: 2006/2007

Saya SITI SARAH BT. MOHD. NOOR
 (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: F30 Kg. MASJID,
SG. KECIL ILIR, 14300 MBONG

TEBAL, SEBERANG PERAI SELATAN

 Nama Penyelia

Tarikh: 20/4/07

Tarikh: _____

CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

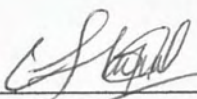
** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

@ 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).

PENAKUAN

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

27 APRIL 2007



SITI SARAH BINTI MOHD. NOOR
HS2004-2050

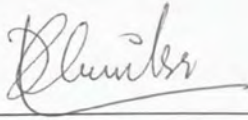


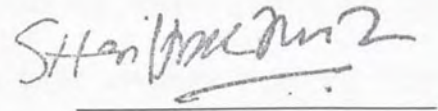
PERAKUAN PEMERIKSA**DIPERAKUKAN OLEH****1. PENYELIA****Tandatangan**

(DR. ROZIAH BINTI KAMBOL)

2. PEMERIKSA 1

(DR .LEE PING CHIN)



3. DEKAN(SUPT/KS PROF. MADYA DR. SHARIFF
A.KADIR S.OMANG)



PENGHARGAAN

Bismillahirrahmanirrahim dan assalamualaikum warahmatullahiwabarakatuh....

Bersyukur saya ke Hadrat Allah S.W.T kerana dengan izin dan limpah kurniaNya dapat saya menyiapkan disertasi ini sebagai memenuhi syarat untuk memperolehi ijazah sarjana muda sains dengan kepujian. Jutaan terima kasih saya tujukan buat Dr. Roziah Haji Kambol, selaku penyelia projek kerana telah memberikan segala tunjuk ajar, nasihat, teguran, didikan serta dorongan yang tidak ternilai sepanjang saya menyiapkan kajian ini.

Ribuan terima kasih juga saya ucapkan terhadap kedua ibubapa saya, En. Mohd. Noor bin Ahmad serta Pn. Fatimah binti Saad dan seluruh ahli keluarga kerana banyak memberikan bantuan samada dari segi dorongan dan juga kewangan sepanjang saya menyiapkan kajian ini. Tidak lupa juga buat teman sebilik, Gertrude dan Nisa' yang sedikit sebanyak membantu menyumbangkan pemikiran dan kemudahan kepada saya. Tidak lupa juga buat rakan-rakan seperjuangan, iaitu pelajar-pelajar Bioteknologi ambilan 2004 yang sama-sama berkongsi pendapat, maklumat serta galakan sepanjang kajian ini dijalankan. Sesungguhnya jasa anda semua amatlah saya hargai dan saya akhiri dengan ucapan terima kasih yang tidak terhingga buat anda semua. Semoga apa yang diusahakan akan sedikit sebanyak membantu generasi yang akan datang untuk lebih memahami dan mendalami semua kajian yang berkaitan di dalam bidang Bioinformatik yang berkembang pesat pada masa sekarang dan masa yang akan datang. InsyaAllah....

ABSTRAK

Terdapat tiga jenis retrovirus endogenous khinzir iaitu PERV-A, PERV-B dan PERV-C. Ketiga-tiga kelas virus ini merupakan virus-virus di bawah genera gammaretrovirus di mana mereka mempunyai hubungan yang sangat rapat dengan virus-virus leukimia murin dan felin yang dapat merangsangkan atau menggalakkan tumor dan immunodefisiensi dalam perumah yang dijangkiti. Organ khinzir merupakan organ yang sangat penting dalam xenotransplantasi (pemindahan organ haiwan ke dalam badan manusia) kerana menurut kajian, organ khinzir merupakan organ yang paling sesuai menggantikan organ manusia. Akan tetapi, penerima xenotransplantasi berisiko tinggi untuk dijangkiti oleh PERV yang telah lama berintegrasi dan wujud di dalam genom khinzir. Oleh itu, projek ini dilakukan untuk melihat kemungkinan samada pemindahan secara horizontal antara retrovirus endogenous khinzir ke dalam genom manusia dapat berlaku. Dalam projek ini, penyaringan secara berkomputer dilakukan dengan mencari elemen-elemen di dalam genom manusia yang homolog dengan prob yang digunakan. Prob yang digunakan terdiri daripada PERV, PERV-C/A dan PERV-C. Kaedah BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) digunakan untuk menyaring jujukan-jujukan tersebut melalui GENBANK. Pencarian ORF kemudian digunakan untuk penyaringan kali kedua. Jujukan yang didapati kemudiannya disusun menggunakan dua cara iaitu secara manual dan berkomputer (ClustalW). Sebanyak 100 elemen telah disaring untuk setiap satu prob dalam penyaringan BLAST manakala selepas penyaringan ORF, sebanyak 14 elemen didapati dari prob 1, 27 elemen dari prob 2 dan 9 elemen dari prob 3. Sebanyak 27 elemen sahaja tidak termasuk prob dan retrovirus dari genera lain yang digunakan dalam penyusunan ClustalW bagi pembinaan pokok filogenetik. Dalam analisis pokok filogenetik, didapati semua elemen berkumpul mengikut perumah masing-masing termasuk retrovirus dari tujuh genera yang berlainan dalam pokok filogenetik universal.



KANDUNGAN

	Muka Surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
Objektif Kajian	5
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	
2.1 Retrovirus	6
2.1.1 Pengelasan Retrovirus (Tradisional dan Moden)	6
2.1.2 Struktur Am Retrovirus	15
2.1.3 Struktur Genomik Retrovirus	18
2.1.4 Retrovirus Endogenous	20
2.1.5 Retrovirus Endogenous Khinzir(PERV)	22
2.1.6 Struktur Genetik Retrovirus Endogenous Khinzir (PERV)	23
2.1.7 Kitar Hidup Retrovirus Endogenous Khinzir (PERV)	25



2.2 Enzim	26
2.2.1 Transkriptase Berbalik	26
2.3 Bioinformatik	30
2.3.1 Program BLAST	30
2.3.2 Konsep Pangkalan Data	33
2.3.3 Analisis Statistik	35
2.3.4 Bacaan rangka terbuka (ORF)	37
2.4 Projek Genom	37
2.4.1 Projek Genom Manusia	37
2.4.2 Projek Genom Khinzir	39
BAB 3 METODOLOGI	41
3.1 Pembangunan Prob	41
3.2 Pencarian BLAST	43
3.3 Analisis Rangka Bacaan Terbuka (ORF)	51
3.4 Penyusunan jujukan	53
3.5 Pembinaan Pokok Filogenetik	57
BAB 4 KEPUTUSAN	
4.1 Prob	60
4.2 Keputusan pencarian BLAST dan penyaringan ORF	61
4.2.1 Keputusan BLAST dan ORF untuk Prob 1,PERV	62
4.2.2 Keputusan BLAST dan ORF untuk Prob 2,PERV-C/A	78
4.2.3 Keputusan BLAST dan ORF untuk Prob 3,PERV-C	107



4.3	Penyusunan Jujukan	118
4.3.1	Penyusunan secara mata kasar	119
4.3.2	Penyusunan menggunakan ClustalW	123
4.4	Pembinaan pokok filogenetik	130
4.4.1	Pokok filogenetik spesifik	130
4.4.2	Pokok filogenetik universal	131
BAB 5	PERBINCANGAN	133
5.1	Prob untuk mencari gen yang dikehendaki	133
5.2	Carian BLAST	134
5.3	Penentuan rangka bacaan terbuka (ORF)	136
5.4	Penyusunan jujukan	140
5.4.1	Penyusunan secara manual	140
5.4.2	Penyusunan menggunakan ClustalW	141
5.5	Pokok filogenetik	143
5.5.1	Analisa pokok filogenetik spesifik	147
5.5.2	Analisa pokok filogenetik universal	148
BAB 6	KESIMPULAN	154
RUJUKAN		156



SENARAI RAJAH

No. Rajah		Halaman
Rajah 2.1	Struktur Am Retrovirus	15
Rajah 2.2	Genom viral dan proviral	18
Rajah 2.3	Struktur genetik PERV	23
Rajah 2.4	Kitar hidup PERV	25
Rajah 2.5	Struktur enzim transkriptase berbalik	28
Rajah 2.6	Proses yang berlaku dalam program BLAST	31
Rajah 3.1	Skrin bagi laman web pangkalan data genom manusia	44
Rajah 3.2	Skrin bagi laman web format dalam program BLAST	45
Rajah 3.3	Skrin yang terdapat pada bahagian atas keputusan BLAST	47
Rajah 3.4	Elemen-elemen dalam keputusan BLAST mengikut peratus homologi.	48
Rajah 3.5	Keputusan BLAST bagi 10 elemen yang mempunyai ciri homologi.	49
Rajah 3.6	Skrin yang memaparkan jujukan - jujukan yang mempunyai kesamaan dengan jujukan prob.	50
Rajah 3.7	Grafik bagi pencarian bacaan rangka terbuka (ORF)	52
Rajah 3.8	Skrin bagi program ClustalW	55
Rajah 3.9	Format arahan ClustalW.	56
Rajah 3.10	Kotak penyusunan ClustalW.	56
Rajah 3.11	Skrin bagi membina pokok filogenetik	58

Rajah 4.1	Penyusunan secara manual menggunakan mata kasar bagi ketiga-tiga prob 1,2 dan 3.	119
Rajah 4.2	Penyusunan jujukan untuk pembinaan pokok filogenetik spesifik menggunakan ClustalW.	124-125
Rajah 4.3	Penyusunan jujukan untuk pembinaan pokok filogenetik universal menggunakan ClustalW.	126-129
Rajah 4.4	Pokok filogenetik spesifik bagi retrovirus endogenous khinzir beserta elemen-elemen yang didapati dalam genom manusia.	130
Rajah 4.5	Pokok filogenetik universal bagi retrovirus endogenous khinzir, elemen-elemen yang didapati dalam genom manusia, retrovirus dari perumah lain, serta retrovirus dari tujuh genera yang utama.	131



BAB 1

PENDAHULUAN

Bioinformatik, iaitu istilah yang telah didapati pada pertengahan tahun 1980-an merupakan suatu bidang yang merangkumi aplikasi komputer dalam sains biologi. Dalam erti kata yang lebih meluas, istilah ini membawa maksud aplikasi teknologi maklumat ke atas pengurusan dan analisis data biologi. Secara ringkas, bioinformatik mengumpul, menyimpan, menganalisis dan mengintegrasikan maklumat biologi dan genetik, seterusnya dapat diaplikasikan dalam penemuan dan perkembangan gen untuk hasilkan ubat-ubatan dan dadah. Dalam konteks inisiatif genom, istilah ini telah mula diaplikasikan ke atas pemanipulasian komputer dan analisis data jujukan biologi (DNA atau protein).

Bioinformatik melibatkan pencarian dan penemuan gen-gen dalam jujukan DNA pelbagai organisma. Selain itu, ia juga melibatkan perkembangan dan kemajuan

kaedah-kaedah untuk mengenalpasti dan menjangka struktur serta fungsi protein-protein yang baru ditemui selain struktur jujukan-jujukan RNA. Bioinformatik juga melibatkan pemotongan jujukan-jujukan protein kepada beberapa famili jujukan yang berkaitan, dan pembangunan model-model dan seterusnya penyusunan protein-protein yang sama serta penubuhan pokok filogenetik yang digunakan untuk mengkaji hubungan evolusi antara organisma.

Retrovirus merupakan sekumpulan virus RNA daripada famili Retroviridae yang telah lama diketahui menyebabkan pelbagai penyakit dalam beberapa spesis haiwan. Penyakit-penyakit ini dapat dikategorikan kepada (a) penyakit yang dicirikan daripada pertumbuhan sel yang tidak terkawal dari pelbagai jenis dan punca (leukimia, limfoma, eritroblastosis, sarkoma, karsinoma); (b) penyakit yang dicirikan daripada kehilangan jenis-jenis sel tertentu (immunodefisien, anemia, CNS ‘Chronic degenerative disorders of the central nervous system’); dan (c) penyakit yang dikawal oleh tanda-tanda dan simptom-simptom keradangan dan autoimmuniti (arthritis, mastitis, pneumonia, encephalitis). Dahulunya virus ini dikenali sebagai oncornavirus, leukovirus ataupun virus tumor RNA.

Virus ini berbeza daripada virus-virus RNA yang lain berdasarkan kepada keadaan genomnya, di mana virus ini dapat mengkodkan enzim transkriptase berbalik melalui gen *pol* yang dimilikinya. Enzim ini digunakan bagi proses transkripsi berbalik di mana ia mengkodkan rantai RNA kepada DNA. Genom Retrovirus mengandungi tiga gen yang mengkodkan protein dan ia boleh dijumpai dalam virus yang telah matang. Gen-gen

tersebut adalah gen *gag*, *pol* dan *env*. Gen *gag* mengkodkan teras dan struktur protein virus, gen *pol* mengkodkan enzim transkriptase berbalik, RNase H, protease dan integrase manakala gen *env* mengkodkan lapisan protein retrovirus atau sampul.

Retrovirus Endogenous Khinzir (PERV) adalah virus di bawah kumpulan gamma-retrovirus dan mengandungi tiga kelas utama iaitu A,B dan C (Patience *et al.*, 2001) di mana ia mengkodkan rangka bacaan terbuka (ORF) untuk antigen kumpulan spesifik (*gag*), polimerase/protease poliprotein (*pol*) dan protein sampul (*env*). Gen *env* ini menunjukkan perbezaan yang terbesar antara provirus-provirus individu dan menentukan spesifikasi perumah sama seperti pembezaan taksonomi kelas-kelas PERV. Gen-gen yang mengkodkan protein aksesori adalah tidak biasa di kalangan gammaretrovirus (Coffin *et al.*, 1996). Gen *gag* adalah kolinear bersama dengan *pro/pol* ORF dan kodon penamat yang memisahkan kedua-dua gen ditindas oleh tRNA^{Gln}. Sebahagian daripada gen *env* bertindih dengan *pro/pol* dan membentuk ORF yang baru.

Projek Genom Manusia telah ditubuhkan untuk menjunjukkan 24 pasangan kromosom manusia dan seterusnya melakar satu draf yang telah selesai pada tahun 2003. Selain itu, ia juga ditubuhkan untuk mengenalpasti jujukan bagi seluruh genom manusia iaitu kira-kira tiga bilion pasangan bes. Selepas proses pengenalpastian jujukan-jujukan di dalam genom manusia, maklumat yang diperolehi kemudiannya disimpan dalam pangkalan data di seluruh dunia dan dapat diakses di Internet contohnya NCBI dan GENBANK. Secara ringkas, objektif penubuhan Projek Genom Manusia ini adalah untuk

menganalpasti kesemua lebih kurang 20,000-25,000 gen dalam DNA manusia serta untuk menganalpasti jujukan-jujukan pasangan bes DNA.

Khinzir merupakan haiwan penderma pilihan bagi xenotransplantasi dan pengukuran terapi sel xenogenik. Kebanyakan patogen khinzir yang diketahui boleh dikawal oleh cara biasa seperti pemvaksinan, perubatan atau keadaan pembiakan bebas-patogen yang khusus. PERV adalah berbeza daripada patogen-patogen biasa disebabkan mereka berada secara endoparasit di dalam kromosom setiap sel haiwan, oleh itu jangkitan PERV tidak dapat dikawal dengan mudah.

Objektif pemetaan genom khinzir adalah untuk menghasilkan dua jenis peta, iaitu peta genetik dan peta fizikal. Peta genetik yang ingin dihasil haruslah mempunyai penanda genetik berjarak kira-kira 20 centiMorgan dan melebihi sekurang-kurangnya 90% daripada genom khinzir. Peta fizikal yang ingin dihasilkan pula haruslah mempunyai sekurang-kurangnya satu distal dan satu proksimal penanda lokus yang dipetakan dalam setiap lengan kromosom khinzir dan serta yang dipetakan secara genetik. Objektif kedua adalah untuk meningkatkan aliran karyotaip bagi khinzir berdasarkan kromosom yang diasingkan melalui FACS (*fluorescence activated cell sorter*), objektif yang seterusnya adalah untuk meningkatkan teknik PCR bagi membolehkan genotyping secara cepat bagi penanda polimorfik, untuk menilaikan pemuliharaan sinteni (merujuk kepada kehadiran dua atau lebih lokus dalam kromosom yang sama, yang mungkin mempunyai hubungan yang rapat) antara khinzir, manusia, tikus dan lembu ternakan serta akhir sekali, untuk meningkatkan teknik statistik yang diperlukan bagi menganalisa data daripada

eksperimen pemetaan QTL (*quantitative trait loci*) bagi merancang serta memulakan pemetaan QTL di dalam khinzir.

Objektif kajian ini adalah:-

- i) Untuk membuat penyaringan secara berkomputer retrovirus endogenous khinzir daripada pangkalan data projek genom manusia.
- ii) Untuk membuat penyusunan ke atas jujukan-jujukan DNA retrovirus endogenous khinzir yang diperolehi daripada pangkalan data projek genom manusia.
- iii) Untuk mengkaji hubungan di antara retrovirus endogenous khinzir dengan retrovirus endogenous perumah yang lain dengan menggunakan analisis daripada pokok filogenetik.
- iv) Untuk mengkaji kemungkinan berlaku transmisi horizontal antara retrovirus endogenous khinzir ke dalam genom manusia melalui analisis pokok filogenetik.

BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Retrovirus

2.1.1 Pengelasan Retrovirus

Retrovirus dapat dibahagikan kepada dua kumpulan berdasarkan jenis atau cara pemindahan mereka. Seperti kebanyakan agen berjangkit yang lain, mereka dipindahkan oleh jangkitan horizontal, iaitu dari satu individu kepada individu yang lain. Retrovirus ini dipanggil eksogenus. Yang lain dipindahkan secara vertikal, daripada induk kepada progeni, dalam bentuk provirus yang boleh diwarisi yang diintegrasikan ke dalam kromosom sperma atau oosit. Virus ini dikenali sebagai endogenus. Mereka ini tidak berjangkit di dalam perumah spesis asal mereka, tetapi boleh menjangkiti atau menyerang sel dari spesis yang lain. Bagi sesetengah retrovirus, mereka boleh menjangkiti sel daripada spesis yang sama dan juga daripada spesis yang berlainan, contohnya retrovirus endogenus khinzir.

Retrovirus juga diklasifikasikan mengikut spesifikasi perumah. Virus yang bereplikasi hanya di dalam sel spesies yang heterologous dipanggil xenotropik. Virus ekotropik bereplikasi hanya di dalam sel perumah dan spesies berkaitan yang terdekat. Virus amphotropik pula bereplikasi di dalam kedua-dua perumah semulajadi dan di dalam sel yang heterologous. Oleh itu, virus endogenus lazimnya adalah xenotropik manakala virus eksogenus pula adalah ekotropik atau amphotropik.

Terdapat dua jenis pengelasan retrovirus iaitu pengelasan cara klasik dan pengelasan cara moden. Mengikut pengelasan cara klasik, walaupun mempunyai struktur yang hampir sama, retrovirus boleh diklasifikasikan kepada empat jenis yang berlainan, iaitu A,B,C dan D, menurut kepada ciri-ciri morfologi virion mereka. Kebanyakan virus yang dikenali mempunyai morfologi jenis C. Partikel-partikel bagi kumpulan ini yang terbentuk oleh pertunasan daripada membran plasma mempunyai diameter kira-kira 80-120nm, dan mempunyai teras di tengah-tengah. Partikel jenis B (contohnya virus tumor tikus mamari, MMTV) adalah besar (125nm), mempunyai teras di dalam sitoplasma, dan memperoleh sampul sebaik saja bertunas daripada membran plasma. Teras mereka terletak secara esentrik. Virus jenis D pula terbentuk melalui cara yang hampir sama dengan virus jenis B, tetapi virionnya lebih menyerupai jenis C. Partikel jenis A hanya dijumpai secara intraselular dan tidak berjangkit.

Retrovirus juga diklasifikasikan berdasarkan kepada ciri-ciri biologikal atau patogeniknya dalam pengelasan secara klasik. Famili Retroviridae mengandungi tiga subfamili iaitu Oncovirinae, Spumavirinae, dan Lentivirinae (Matthews, 1979).

Oncovirus adalah berkait dengan tumor malignan dan Lentivirus pula dikaitkan dengan radang yang mengambil masa yang lama untuk membentuk virion sepenuhnya dan menyebabkan perumah tidak dapat berfungsi dengan baik. Spumavirus menyebabkan kemerosotan sel berbuih (sel yang mempunyai lebih bahan metabolik yang tersimpan di dalamnya) secara *in vitro*, tetapi sehingga kini tidak dikaitkan dengan penyakit pada haiwan atau manusia. Beberapa ciri-ciri ultrastruktur telah membantu untuk mengklasifikasikan subfamili-subfamili dengan menggunakan mikroskop elektron. (Bouillant dan Becker, 1984).

Untuk pengkelasan moden Retrovirus, terdapat tujuh genera utama di mana mereka dikelaskan berdasarkan penjujukan DNA dan organisasi genomik virus. Mereka terdiri daripada:-

a) Alpharetrovirus

Saiz genom bagi retrovirus ini adalah sebanyak 7.2kb. Mereka mempunyai gen viral (*gag*, *pro*, *pol* dan *env*) dengan tiada gen tambahan. LTR adalah sepanjang 350 pasangan bes di mana U3, U5 dan kawasan R masing-masing adalah 250 pasangan bes, 80 pasangan bes dan 20 pasangan bes. tRNA primer selalunya adalah dari jenis tRNA^{trp}. Struktur genomik bagi virus ini adalah gen *gag* dan *pro* yang berada dalam rangka bacaan terbuka (open reading frame) yang sama manakala *pol* dan *env* berada pada rangka bacaan terbuka yang berbeza (Van Regenmortel *et al.*, 2000).

Virus jenis genera ini biasanya terdapat pada burung dan juga boleh didapati pada ayam. Genus ini terdiri daripada tiga kumpulan virus yang berlainan mengikut ciri-ciri onkogenetik masing-masing (Van Regenmortel *et al.*, 2000). Kumpulan virus yang pertama merupakan Avian Leukosis-Sarcoma virus (ALSV) dari jenis eksogenus dan endogenus. ALSV ini selalunya ditemui pada ayam dan merupakan virus yang membawa penyakit leukotik, sarkoma dan beberapa jenis barah yang lain. Manakala kumpulan virus yang kedua iaitu virus Rous sarcoma, terdiri daripada beberapa jenis virus onkogenik yang menjalankan respirasi dan bersifat kompetan seperti virus Rous sarcoma (jujukan Prague C, Schmidt-Ruppin B dan jujukan-jujukan D). Kumpulan virus yang ketiga pula terdiri daripada virus yang onkogenik dan bersifat tidak aktif seperti virus Avian myeloblastosis, virus Fujimani sarcoma dan virus Avian carcinoma.

b) Betaretrovirus

Saiz genom virus ini selalunya sepanjang 8-10 kb. Wujud gen tambahan iaitu *sag*, pada hujung 3' pada genom MMTV bersama dengan *gag-pol-env* dan bertindak sebagai jujukan superantigen semasa proses percantuman virus dengan membran perumah. tRNA primer yang digunakan oleh virus ini adalah dari jenis tRNA^{Lys}, dengan tRNA^{Lys-3} untuk MMTV dan untuk ahli kumpulan lain di bawah genus yang sama. LTR untuk MMTV adalah sepanjang 1300 pasangan bes dengan 1200 pasangan bes pada kawasan U3, 15 pasangan bes pada kawasan R dan 95 hingga 120 pasangan bes pada kawasan U5 (Heinz, 1988). Struktur genomik bagi genus ini adalah gen *gag*, *pro*, *pol* dan *env* yang wujud dalam rangka bacaan terbuka (ORF) yang berasingan (Van Regenmortel *et al.*, 2000).

Kebanyakan virus-virus yang berada pada genus ini terdapat pada tikus dan primat. Pada tikus, contohnya virus Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV) manakala pada primat pula, betaretrovirus akan bergabung dengan immunasi penyakit dan barah-barah lain, contohnya virus Mason, Pfizer Monkey Virus (MPMV). Sebagai tambahan, terdapat betavirus juga saling berkait dengan barah pulmonari pada kambing biri-biri. Genus Betaretrovirus terdiri daripada virus yang dikenali sebagai retrovirus jenis B dan D.

c) Gammaretrovirus

Saiz genomnya adalah sepanjang 8.3kb, dengan tiada gen tambahan. LTR pula adalah sepanjang 600 pasangan bes, di mana kawasan U3 adalah sepanjang 500 pasangan bes, kawasan R pula adalah 60 pasangan bes dan kawasan U5 sepanjang 75 pasangan bes (Van Regenmortel *et al.*, 2000). tRNA primer yang digunakan bagi genus kumpulan ini adalah tRNA^{Pro} dan tRNA^{Glu} (pada virus endogenus tertentu bagi tikus). Struktur genomik bagi genus ini adalah gen *gag*, *pro* dan *pol* terletak di dalam rangka bacaan terbuka yang sama manakala gen *env* terletak pada rangka bacaan terbuka yang berbeza. Selalunya virus ini mudah didapati pada mamalia dan khususnya pada perumah murin. Namun begitu, ia juga boleh ditemui pada perumah-perumah avian dan reptilian.

Pada perumah murin, gammaretrovirus telah diletakkan kepada empat kumpulan utama: virus ekotropik (bereplikasi hanya pada sel-sel murin), virus xenotropik (bereplikasi hanya pada bukan sel-sel murin), virus politropik (bereplikasi pada sel-sel

murin dan bukan murin) dan virus amfotropik (bereplikasi pada sel-sel murin dan sel-sel yang tidak aktif). Melalui ciri-ciri berikut, terdapat dua kumpulan virus telah ditemui secara uji kaji makmal yang dicirikan mengikut kepada struktur genom dan sifat patogenik virus tersebut. Bagi kumpulan pertama (ekotropik) merupakan permindahan virus. Virus di dalam kumpulan ini membawa sifat onkogenik dan terbentuk hasil daripada kombinasi semula antara virus bersifat onkogenik dan jujukan-jujukan viral. Virus bagi kumpulan ini juga merupakan pembawa penyakit secara spontan ataupun di dalam jangka masa yang pendek (kira-kira beberapa hari). Sebaliknya, bagi kumpulan kedua (xenotropik), virus dalam kumpulan tersebut adalah virus yang tidak menjalankan proses replikasi. Virus ini tidak membawa sifat onkogenik dan pembentukkan barah apabila virus ini menjangkiti perumah. Seperti perumah murin, sesetengah daripada taksa mamalia terdapat beberapa perhimpunan virus, contohnya kucing (FeLV), gibbon (GaLV), tikus hamster dan khinzir (PoEV). Manakala tiga gammaretrovirus telah ditemui daripada perumah avian iaitu itik (SNV), ayam tempatan (REV) dan ayam biasa (CSV).

d) Deltaretrovirus

Saiz genom ini adalah sepanjang 8.3kb dengan dua gen tambahan iaitu *tax* dan *rex* wujud dalam genom deltaretrovirus dan telah terbukti bahawa gen tambahan tersebut mempunyai peranan yang signifikan semasa proses replikasi dan transkripsi. tRNA primer yang digunakan adalah tRNA^{Pro}. LTR adalah sepanjang 550-750 pasangan bes, 200-300 pasangan bes pada kawasan U3, 135-235 pasangan bes pada kawasan R dan 100-

200 pasangan bes pada kawasan U5. (Van Regenmortel *et al.*, 2000). Struktur genomik virus ini adalah gen yang umum iaitu *gag*, *pro*, *pol* dan *env* berada dalam rangka bacaan terbuka yang berbeza.

Virus yang tergolong di dalam genus ini merupakan virus yang sukar ditemui. Virus ini hanya boleh ditemui pada manusia, monyet (contohnya seperti simian dan ape) dan binatang ternakan seperti lembu dan kerbau. Virus ini telah bersatu dengan sel-sel leukaemia dan limfomas bagi sel B atau sel T, punca kepada penyakit neurologi. Pada manusia, virus ini terbahagi kepada dua kumpulan yang berbeza iaitu Human T-Lymphotropic virus type I (HTLV-I) dan type II (HTLV-II). Secara morfologi, partikel Type-D bagi virus ini mempunyai ciri-ciri yang hampir sama dengan gammaretrovirus.

e) Epsilonretrovirus

Bagi menerangkan organisasi genomik genus ini, kita akan melihat pada ciri-ciri genomik yang terdapat pada Walleye dermal sarcoma virus (WDSV) sebagai contoh. Saiz genom pada WDSV adalah sepanjang 12.8 kb di mana beberapa gen tambahan dan satu tRNA primer telah diperhatikan. Virus ini juga mempunyai tiga gen tambahan berfungsi yang dikenali sebagai *orf-a*, *orf-b* dan *orf-c*. (Van Regenmortel *et al.*, 2000). Pada masa *orf-a* dan *orf-b* terletak pada hujung 5' pada *env*, *orf-c* pula mendahului gen *gag*. Ketiga-tiga gen (*orf-a*, *orf-b* dan *orf-c*) tersebut tidak menunjukkan jujukan yang sama kepada gen yang telahpun diketahui ataupun telah wujud sebelum ini (*gag*, *pol* dan *env*). WDSV juga menggunakan tRNA^{His} primer baru yang tidak diperhatikan pada mana-mana retrovirus

RUJUKAN

- Akiyoshi, D.E., Denaro, M., Zhu, H., Greenstein, J.L., Banerjee, P., and Fishman, J.A. 1998. Identification of a full-length cDNA for an endogenous retrovirus of miniature swine. *J. Virol.* **72**:4503-4507.
- Allan, J.S. 1999. *Understanding Xenotransplantation Risks from Nonhuman Primate Retroviruses*. Department of Virology and Immunology, ASM Press, USA.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., and Lipman, D. J. 1990. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* **215**:403-410
- Arthur, M. L. 2002. *Introduction to Bioinformatics*. Pearson Prentice Hall, New York, USA.
- Athas, G.B., Lobelle-Rich ,G.P. and Levy, L.S. 1995. Function of a unique sequence motif in the long terminal repeat of feline leukemia virus isolated from an unusual set of naturally occurring tumors. *J. Virol.* **6** (69):3324-3332.
- Attwood, T. K. & Parry-Smith, D. J. 1999. *Introduction to Bioinformatics*. Pearson Education Limited, United Kingdom.
- Avidan O., Loya, S., Tönjes, R.R., Sevilya, Z., & Hizi, A. 2003. Expression and characterization of recombinant novel reverse transcriptase of a porcine endogenous retrovirus. *J. Virol.* **307**: 341-357.
- Baltimore, D. 1985. Retroviruses and retrotransposons: the role of reverse transcriptase in shaping the eukaryotic genome. *Cell* **40**:481.

- Bouillant, A. M. P. & Becker, S. 1984. Ultrastructural comparison of Oncovirinae (type C), Spumavirinae and Lentivirinae: Three subfamilies of Retroviridae found in farm animals. *J Natl Cancer Inst.* **72**:1075-1084.
- Boyer, P. L., Ferris, A. L., and Hughes, S. H. 1992. Mutational Analysis Of The Fingers Domain Of Human Immunodeficiency Virus Type I Reverse Transcriptase. *J. Virol.* **66**:7533-7537.
- Coffin, J. M. 1996. Retroviridae: the viruses and their replication. In: Fields, B. N., Knipe, D. M., Howley, P. M. (ed). *Fields virology 3rd ed.* **40**:1767-1847.
- Dai, Y., Vaught, T.D., Boone, J., Chen, S.H., Phelps, C.J., Ball, S., Monahan, J.A., Jobst, P.M., McCreath, K.J., Lamborn, A.E., Cowell-Lucero, J.L., Wells, K.D., Colman, A., Polejaeva, I.A. and Ayares, D.L. 2002. Targeted disruption of the alpha1,3-galactosyltransferase gene in cloned pigs. *Nat. Biotechnol.* **20**(3):251-255.
- Dan, E. K. & Michael, L. R. 2002. *Fundamental Concept of Bioinformatics*. Pearson Education, Inc., San Francisco, USA.
- Denner, J., Specke, V., Thiesen, U., Karlas, A. & Kurth, R. 2003. Genetic alterations of the long terminal repeat of an ecotropic porcine endogenous retrovirus during passage in human cells. *J. Virol.* **314**:125-133.
- Durbin, R., Eddy, S., Krogh, A., Mithchison G. 2003. *Biological sequence analysis – Probabilistic models of proteins and nucleic acid*. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Felsenstein, J. 2003. *Inferring Phylogenies*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, p.147-170.

- Fitch, W. M. 1970. Distinguishing homologous from analogous proteins. *Systematic Zoology* **19**:99-113.
- Heinz, F. C. 1988. *Virology Second Edition*. Prentice Hall, New Jersey, USA.
- Hughes, J.F., & Coffin, J.M. 2001. Evidence for genomic rearrangements mediated by human endogenous retroviruses during primate evolution. *Nat Genet* **29**:487-489.
- Jern, P., Sperber, G. O., and Blomberg, J. 2005. Divergent Patterns of Recent Retroviral Integrations in the Human and Chimpanzee Genomes: Probable Transmissions between Other Primates and Chimpanzees. *J. Virol.* **80**(3):1367–1375.
- Larder, B. A., Kemp, S. D. & Darby, G. 1987. Related functional domains in virus DNA polymerases. *EMBO Journal* **6**:169-175.
- Lee, J., Ihle, J. and Huebner, R. 1977. The humoral immune response of NIH Swiss and SWR/J mice to vaccination with formalinized AKR or Gross murine leukemia virus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **74**(1): 343–347.
- Lesk, M. L. 2002. *Introduction to Bioinformatics*. Oxford University Press Inc., New York, USA.
- Li, W. 1997. *Molecular Evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Matthews, R. E. 1979. Classification and nomenclatures of viruses. *Intervirology* **12**:234-238.
- Nelson, P.N., Carnegie, P.R., Martin, J., Ejtehadi, H.D., P Hooley, P., Roden, D., Rowland-Jones, S., P Warren, P., Astley, J., and Murray, P.G. 2003. Demystified: Human endogenous retrovirus. *Molecular Pathology* **56**:11-18.

- Niebert, M. & Tönjes, R.R. 2003. *Molecular Cloning and Functional Characterization of Infectious PERV and Development of Diagnostic Tests*. Paul-Ehrlich-Institut, Langen, Germany.
- Oldmixon, B.A., Wood, J.C., Ericsson, T.A., Wilson, C.A., White-Scharf, M.E., Andersson, G., Greenstein, J.L., Schuurman, H.J. and Patience, C. 2002. Porcine endogenous retrovirus transmission characteristics of an inbred herd of miniature swine. *J. Virol.* **76**(6):3045-3048.
- Patience, C., Switzer, W. M., Takeuchi, Y., Griffiths, D.J., Goward, M.E., Heneine, W., Stoye, J. P. & Weiss, R. A. 2000. Multiple Group of Novel Retroviral Genomes in Pigs and Related Species. *J. Virol.* **75**(6):2771-2775.
- Scheef, G., Fischer, N., Krach, U. & Tonjes, R. R. 2001. The number of a U3 repeat box acting as an enhancer in long terminal repeats of polytropic replication-competent porcine endogenous retroviruses dynamically fluctuates during serial virus passages in human cells. *J. Virol.* **75**:6933–6940.
- Springer, M.S., and Douzery, E. 1996. Secondary structure and patterns of evolution among mammalian mitochondrial 12S rRNA molecules. *J. Mol. Evol.* **43**: 357–373.
- Stoye, J. P., Le Tissier, P., Takeuchi, Y., Patience, C. & Weiss, R. A. 1998. Endogenous retroviruses: a potential problem for xenotransplantation? *Ann N Y Acad Sci* **862**: 67–74.
- Takeuchi, Y., Patience, C., Magre, S., Weiss, R. A., Banerjee, P. T., Tissier, P. L. & Stoye, J. P. 1998. Host Range and Interference Studies of Three Classes of Pig Endogenous Retrovirus. *J. Virol.* **72**(12):9986-9991.

- Tristem, M. 2000. Identification and Characterisation of Novel Human Endogenous Retrovirus Families by Phylogenetic Screening of Human Mapping Project Databases. *J.Virol.* **74**:3715-3730.
- Van Regenmortel, Fauquet, M. H. V., Bishop, C. M., Carsten, D. H. L., Estes, E.B., 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.
- Villesen, P., Aagaard, L., Wiuf, C., and Pedersen, F.S. 2004. Identification of endogenous retroviral reading frames in the human genome. *Retrovirology* **1**(32): 1186-1197.
- Webster, T.A., Patarca, R., Lathrop, R.H., and Smith, T.F. 1989. Potential Structural Motifs for Reverse Transcriptases. *Mol. Biol. Evol.* **6**(3):317-320.
- Wilkinson, D. A., Mager, D. L., dan Leong, J. A. C. 1994. *Endogenous Human Retroviruses*. Eds A Levy In *The Retroviridae*. Vol 3. Plenum Press, New York, USA.
- Wilson, C.A., Wong, S., VanBrocklin, M., and Federspiel, M.J. 2000. Extended analysis of the in vitro tropism of porcine endogenous retrovirus. *J. Virol.* **74**:49-56.

Anon,

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

Anon,

www.tulane.edu/dmsander/WWW/335/Retrovirus.html

Anon,

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

Anon,

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>

Anon,

<http://biotech.icmb.utexas.edu/pages/bioinfo.html>

Anon,

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

Anon,

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

Anon,

<http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2005/Koike/RT%20protein.htm>

Anon,

http://www.ornl.gov/sci/tech.resources/Human_Genome/project/project.shtml

Anon,

<http://www.scitechinfo.com/node/227>

Anon,

<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/faq.html>

Anon,

<http://sdmc.krdl.org.sg:8080/~lxzhang/phylip/>

