

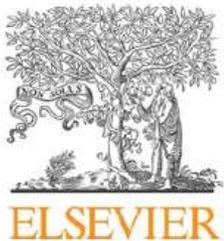
**PENYUSUNAN PUSTAKA GENOM  
PADA ORGANISME  
MENGUNAKAN METODE BAC  
(*Bacterial Artificial Chromosome*)**

# POKOK BAHASAN

Konstruksi dan karakterisasi *high coverage* pustaka BAC kambing kasmir yang berisi *cashmere-associated genes*

- Liu *et al.* (2012)

Small Ruminant Research 104 (2012) 85–88



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Small Ruminant Research

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/smallrumres](http://www.elsevier.com/locate/smallrumres)



Short communication

Construction and characterization of a high coverage cashmere goat BAC library containing cashmere-associated genes

Zhihong Liu<sup>a</sup>, Ning Li<sup>b</sup>, Liming Ren<sup>b</sup>, Xiaoxiang Hu<sup>b</sup>, Ying Guo<sup>b</sup>, Chen Du<sup>a</sup>,  
Wenguang Zhang<sup>a</sup>, Jun Yin<sup>a</sup>, Yanjun Zhang<sup>a</sup>, Yanhong Zhao<sup>a</sup>, Jinquan Li<sup>a,\*</sup>

# Konstruksi dan karakterisasi *high coverage* pustaka BAC kambing kasmir yang berisi *cashmere-associated genes*

Kambing kasmir, merupakan hewan domestik yang penting secara pertanian di Mongolia dan Cina, yang dibudidayakan untuk berbagai keperluan, terutama untuk produksi kasmir. *Cashmere* adalah bahan tekstil kelas tinggi, memiliki nilai ekonomis tinggi karena seratnya yang tipis, lembut, berkilau, dan putih bersih.

Studi histologis telah menunjukkan bahwa kasmir kambing dikembangkan dari folikel rambut sekunder, namun mekanisme molekuler yang mendasarinya tetap tidak jelas.

Pembentukan pustaka BAC kambing akan memfasilitasi identifikasi kerabat gen dan gen yang terlibat dalam regulasi pertumbuhan rambut dan *cashmere*.



# Konstruksi dan karakterisasi *high coverage* pustaka BAC kambing kasmir yang berisi *cashmere-associated genes*

## METODE

1. Sel darah putih diekstraksi dari darah kambing kasmir jantan ARBAS dan diperangkap dalam *low melting agarose* (LMP), setelah penambahan lisat sel darah merah. Pra-elektroforesis dilakukan sebelum digesti parsial menggunakan enzim restriksi *HindIII*.
2. DNA dengan berat molekul tinggi (HMW) diisolasi dengan *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE). Fragmen DNA yang didigesti dalam kisaran 150-400 kb *directly* dengan elektroelusi, dan diligasi ke vektor pcc1BAC.
3. Selanjutnya, potongan genom yang telah menyatu dengan vektor didialisis untuk ditransformasi dalam isolat DH10B *Escherichia coli* melalui elektroporasi.
4. Pustaka BAC kambing disusun menjadi dua *grade* (*superpool* dan *secondpool*) dan struktur 4 dimensi (*rowpool*, 4 *columnpools*, 6 *columnpools*, dan *platepools*).
5. Genom yang telah teriserasi dianalisis menggunakan PFGE untuk menghitung ukuran dan cakupan (*coverage*) genom. Untuk lebih mengkarakterisasi perpustakaan BAC, dilakukan skrining terhadap 20 penanda mikrosatelit dan 6 gen yang terkait dengan folikel rambut dan pengembangan kulit pada kambing kasmir, menggunakan proses PCR tiga langkah (Yuan et al., 2006).
6. Pada langkah pertama digunakan DNA genom sebagai templat PCR. Untuk langkah kedua dan ketiga menggunakan *superpool* dan *pools* masing-masing.

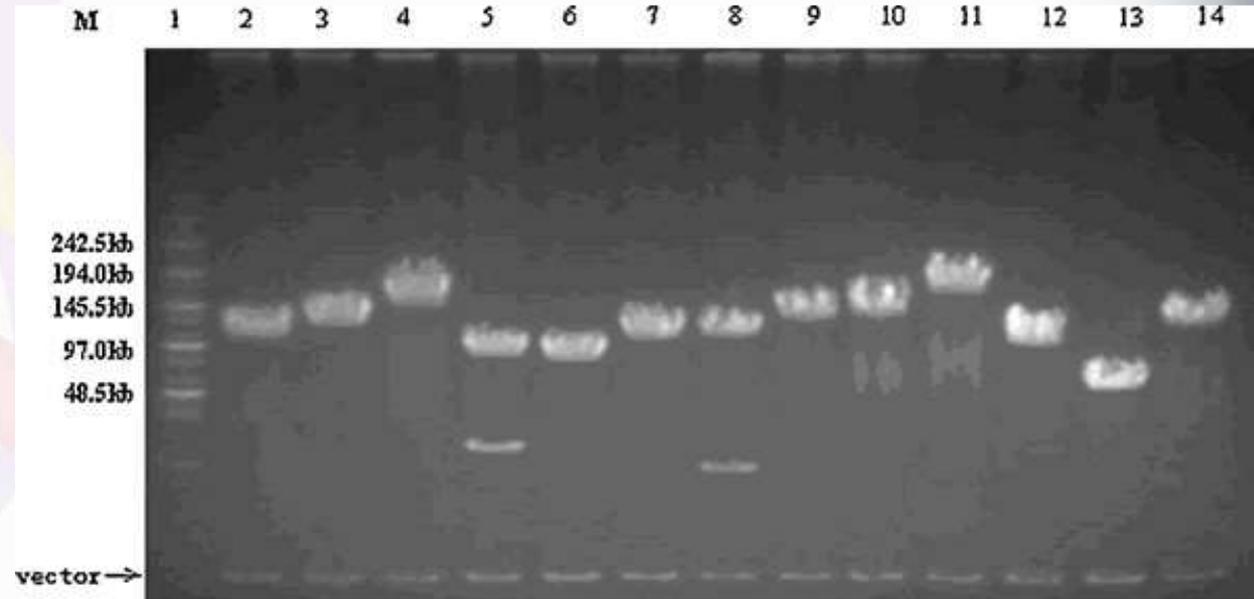
# Konstruksi dan karakterisasi *high coverage* pustaka BAC kambing kasmir yang berisi *cashmere-associated genes*

## HASIL

Pustaka genom ini terdiri dari 276.480 koloni BAC. Hasil analisis insersi genom melalui *pulsed field gel electrophoresis* (PFGE) dari 566 klon positif yang dipilih random untuk menjadi sampel PFGE dengan digesti *NotI*, menunjukkan rerata genom yang terinsersi berukuran 128 kb.

Lebih dari 95% klon, memiliki ukuran sisipan berkisar antara 50-250 kb, sementara 77% klon berisi sisipan yang berukuran > 100 kb. Beberapa klon berisi sisipan 300 kb.

Rasio non-rekombinan dari pustaka BAC ini adalah 0,53%. Cakupan genom pustaka ini 11,8 kali lipat, dengan asumsi bahwa ukuran genom  $3 \times 10^9$  basa.



Gambar ini merupakan analisis ukuran DNA BAC sisipan dengan PFGE yang didigesti *Not I* dicerna BAC DNA. Ukuran DNA BAC lane 2–14 adalah 130, 145, 165, 135, 135, 105, 110, 140, 140, 150, 150, 160, 100, 80, dan 110 kb. Rata-rata adalah sekitar 128 kb.

Lane 5 dan 8 memiliki 2 *band*, sehingga dua ukuran dijumlahkan untuk mendapatkan ukuran total untuk klon.

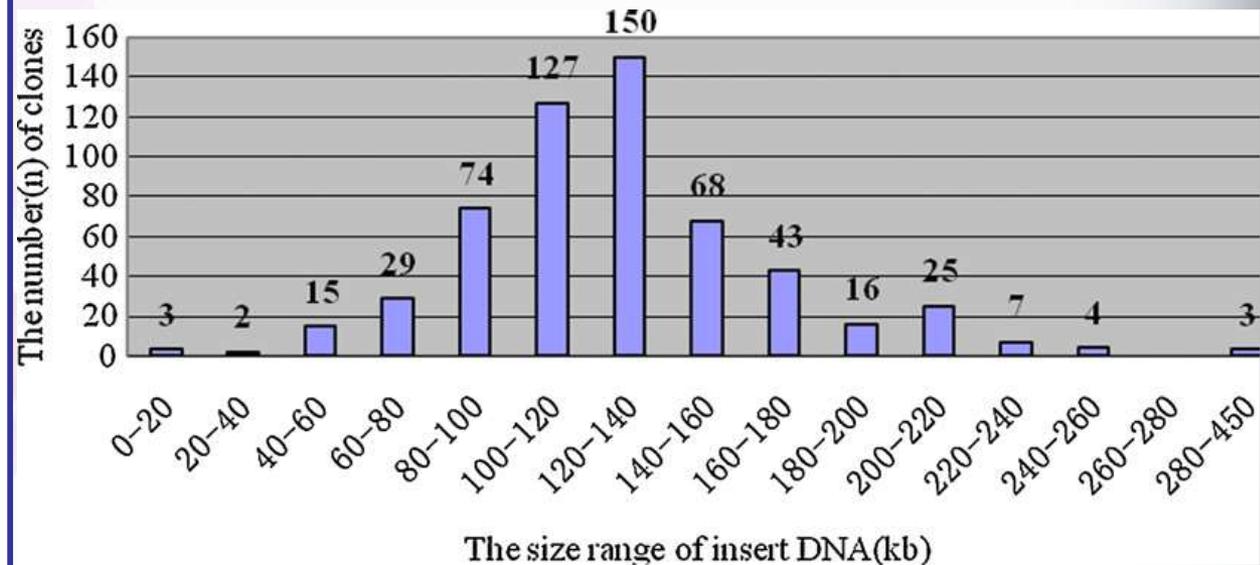
# Konstruksi dan karakterisasi *high coverage* pustaka BAC kambing kasmir yang berisi *cashmere-associated genes*

## HASIL

Pustaka genom ini terdiri dari 276.480 koloni BAC. Hasil analisis insersi genom melalui *pulsed field gel electrophoresis* (PFGE) dari 566 klon positif yang dipilih random untuk menjadi sampel PFGE dengan digesti *NotI*, menunjukkan rerata genom yang terinsersi berukuran 128 kb.

Lebih dari 95% klon, memiliki ukuran sisipan berkisar antara 50-250 kb, sementara 77% klon berisi sisipan yang berukuran > 100 kb. Beberapa klon berisi sisipan 300 kb.

Rasio non-rekombinan dari pustaka BAC ini adalah 0,53%. Cakupan genom pustaka ini 11,8 kali lipat, dengan asumsi bahwa ukuran genom  $3 \times 10^9$  basa.



Gambar ini merupakan analisis ukuran insersi DNA dari 566 klon BAC positif.

# Konstruksi dan karakterisasi *high coverage* pustaka BAC kambing kasmir yang berisi *cashmere-associated genes*

## HASIL

**Table 1**  
Microsatellite screening of BAC clones.

Microsatellite name	Number of positive clones	Microsatellite name	Number of positive clones
BM1818	5	BMS812	15
BM3033	8	BMS875	7
BM315	16	MB023	9
BM6444	13	MB067	12
BMC1206	3	LSCV03	10
BMC3224	8	LSCV29	12
BMS1248	14	LSCV38	10
BMS1714	15	LSCV44	11
BMS1943	9	BM1225	19
BMS574	12	BM6404	14
Average number of positive clone		11.1	

**Table 2**  
Screening of BAC clones containing cashmere-associated genes.

Gene/protein name	Number of BAC clones	Location of BAC clone
MTNR1a BMP4	3 12	CGB026M23, CGB292F07, CGB560G16 CGB396M09, CGB317L21, CGB368M15, CGB430N04, CGB463G14, CGB523L07, CGB572K17, CGB580K17, CGB656B12, CGB371O19, CGB415E22, CGB649F17
FGF5	7	CGB0324A24, CGB478G18, CGB548E07, CGB553F23, CGB577L05, CGB709B14, CGB713C15
HOXC9	15	CGB012A23, CGB424C17, CGB429A24, CGB572K17, CGB124B03, CGB148M19, CGB314N15, CGB301H10, CGB307I01, CGB342O02, CGB455C15, CGB468F08, CGB509H09, CGB560D18, CGB593P07, CGB0348P17, CGB509N13, CGB666A09, CGB678J01, CGB706H15, CGB606E01, CGB665G05, CGB509D15, CGB495F05 CGB065H04, CGB074D18, CGB0166D04, CGB178D18, CGB211E12, CGB256N14, CGB486C05, CGB566P22, CGB577P09
KAP8.1	9	
IGFBP5	9	
Average	9.2	

20 marker mikrosatelit diskriming menggunakan PCR. Hasil identifikasi keseluruhan marker BAC mikrosatelit (urutan basa Nitrogen pada DNA) yang terdeteksi positif berkisar antara 3 hingga 19 klon, dengan rata-rata 11.1 (Tabel 1).

Dari pustaka genom ini, dapat dilakukan isolasi terhadap dan 6 gen yang terkait dengan perkembangan folikel rambut dan kulit kambing kasmir, dimana jumlah BAC yang positif untuk gen-gen tersebut berkisar antara 3 hingga 15 klon per gen, dengan rata-rata 9,2 (Tabel 2).

# Konstruksi dan karakterisasi *high coverage* pustaka BAC kambing kasmir yang berisi *cashmere-associated genes*

## HASIL

Pustaka BAC ini selanjutnya akan memfasilitasi studi tentang mekanisme molekuler yang mendasari perkembangan kambing kasmir. Pustaka BAC dapat menjadi sumber penelitian gen fungsional dari pertumbuhan, perkembangan, dan regulasi pada kambing kasmir, yang pada akhirnya akan mengarah pada penjelasan tentang mekanisme regulasi pertumbuhan rambut pada kambing kasmir.

Penelitian gen fungsional juga akan digunakan untuk mempercepat program pemuliaan kambing. Cakupan genom yang tinggi dan ukuran insersi yang besar dari pustaka BAC kambing ini akan menjadikannya sumber daya yang ideal untuk studi di masa mendatang, seperti lokalisasi kromosom, sekuensing genom, konstruksi peta fisik, dan identifikasi elemen pengatur gen yang terdapat pada kambing kasmir.

# PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian jurnal-jurnal di atas, dapat disimpulkan bahwa penyusunan pustaka genom menggunakan metode BAC (*Bacterial Artificial Chromosome*) menjadi salah satu pendekatan yang efektif untuk digunakan dalam mempelajari genom suatu organisme.

Penyusunan pustaka BAC dapat berguna dalam isolasi molekul gen fungsional, membantu memahami evolusi genom dan mekanisme molekulernya, dapat menjadi sumber penyelidikan terperinci ke dalam struktur genom, dan dapat menjadi sumber daya yang ideal untuk studi di masa mendatang, seperti lokalisasi kromosom, sekuensing genom, konstruksi peta fisik, dan identifikasi elemen pengatur gen.

# SUMBER

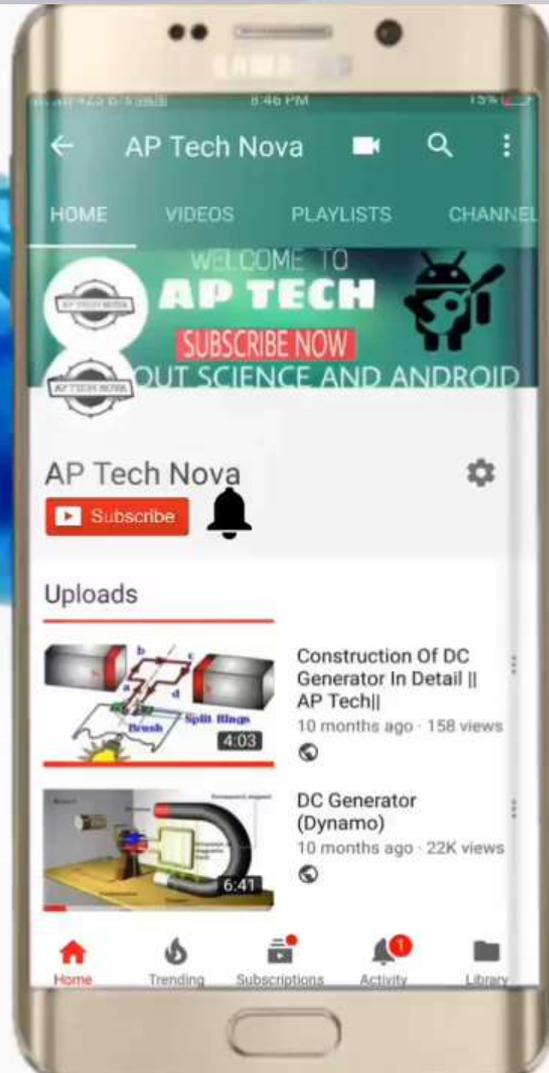
- Jang, S., F. Zhou, L. Xia, W. Zhao, H. Cheng, R. Zhou. 2006. Construction of a BAC library and identification of Dmrt1 gene of the rice field eel, *Monopterus albus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 348 : 775–780
- Liu, Z., N. Li, L. Ren, X. Hu, Y. Guo, C. Dua, W. Zhanga, J. Yina, Y. Zhanga, Y. Zhaoa, J. Li. 2012. Construction and characterization of a high coverage cashmere goat BAC library containing cashmere-associated genes. *Small Ruminant Research* 104 : 85– 88
- Suzukia, K., T. Suzuki, S. Stu"rzenbaum, S. Gamou. 2008. Construction of a Bacterial Artificial Chromosome (BAC) library and the genomic analysis of valosine-containing proteins in the earthworm *Eisenia fetida*. *European Journal of Soil Biology* 44 : 202-206

GA

# CONSTRUCTING GENOMIC LIBRARIES

UMS MOOC  
IBG143

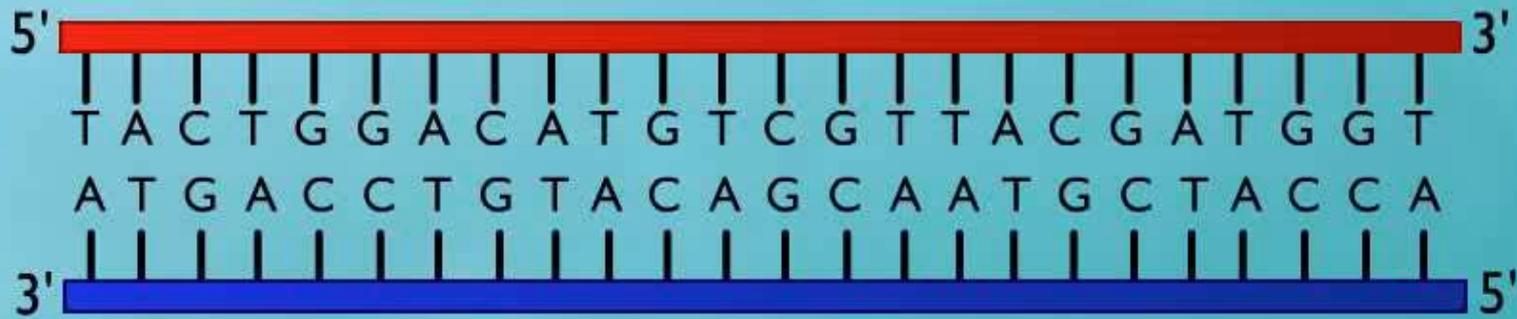
FlipaClip

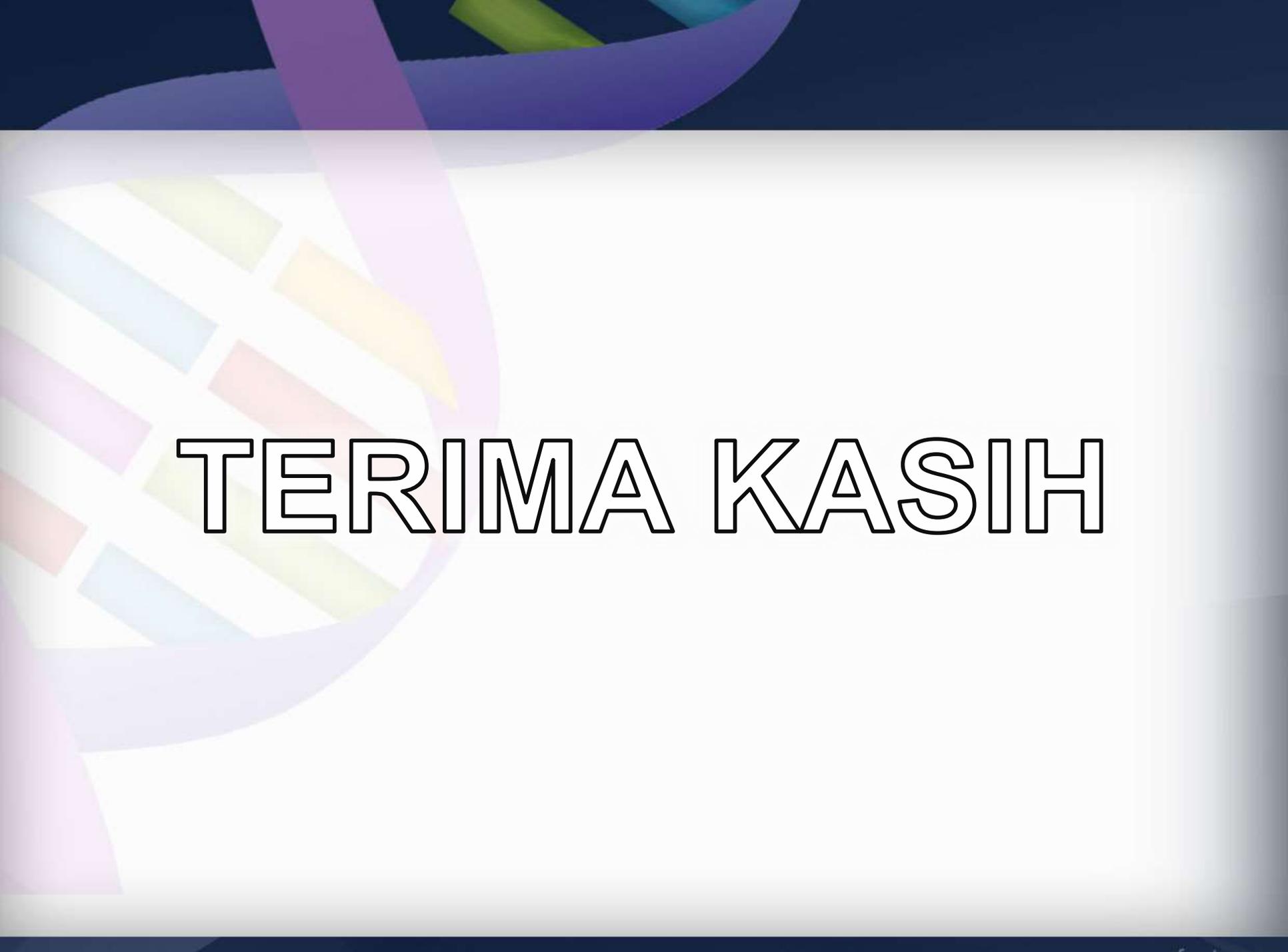


# What is Pulse Field Gel Electrophoresis?



*be* INSPIRED  
*drive* DISCOVERY  
*stay* GENUINE



The background features a dark blue gradient at the top and bottom. On the left side, there are several overlapping, semi-transparent curved bands in shades of purple, blue, and green. A grid of colored squares (yellow, light blue, pink, light green) is visible behind these bands. The main area of the slide is a light gray gradient.

TERIMA KASIH