

E. Coli Pengikat Limbah Besi di Perairan

Biologi Sintetik
Manipulasi Ekspresi Gen

Annistia Rahmadian U.
21112001
Annisa Novianti
20613004
Indah Oktaviani
20613002
Mellysa Rachmita
20613010
Prima Nanda Fauziah
20613036



Latar Belakang



Limbah industri yang mengandung logam berat tidak dapat langsung dibuang ke perairan bebas. Hal ini dikarenakan keberadaan logam berat sangat berbahaya bagi kehidupan manusia, hewan, tumbuhan, dan lingkungan. Salah satu logam berat, seperti besi (Fe) di dalam air umumnya dalam bentuk terlarut sebagai ion Ferri (Fe^{3+}) dan Ferro (Fe^{2+}), tersuspensi sebagai butir koloidal (diameter < 1 mm) atau lebih besar seperti $\text{Fe}(\text{OH})_3$.

Gambar 1. Dampak Akumulasi Limbah di Lingkungan

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor: 416/ MENKES/PER/IX/90 tentang baku mutu air bersih, kadar besi (Fe) yang diizinkan untuk air bersih adalah 1,0 mg/l.

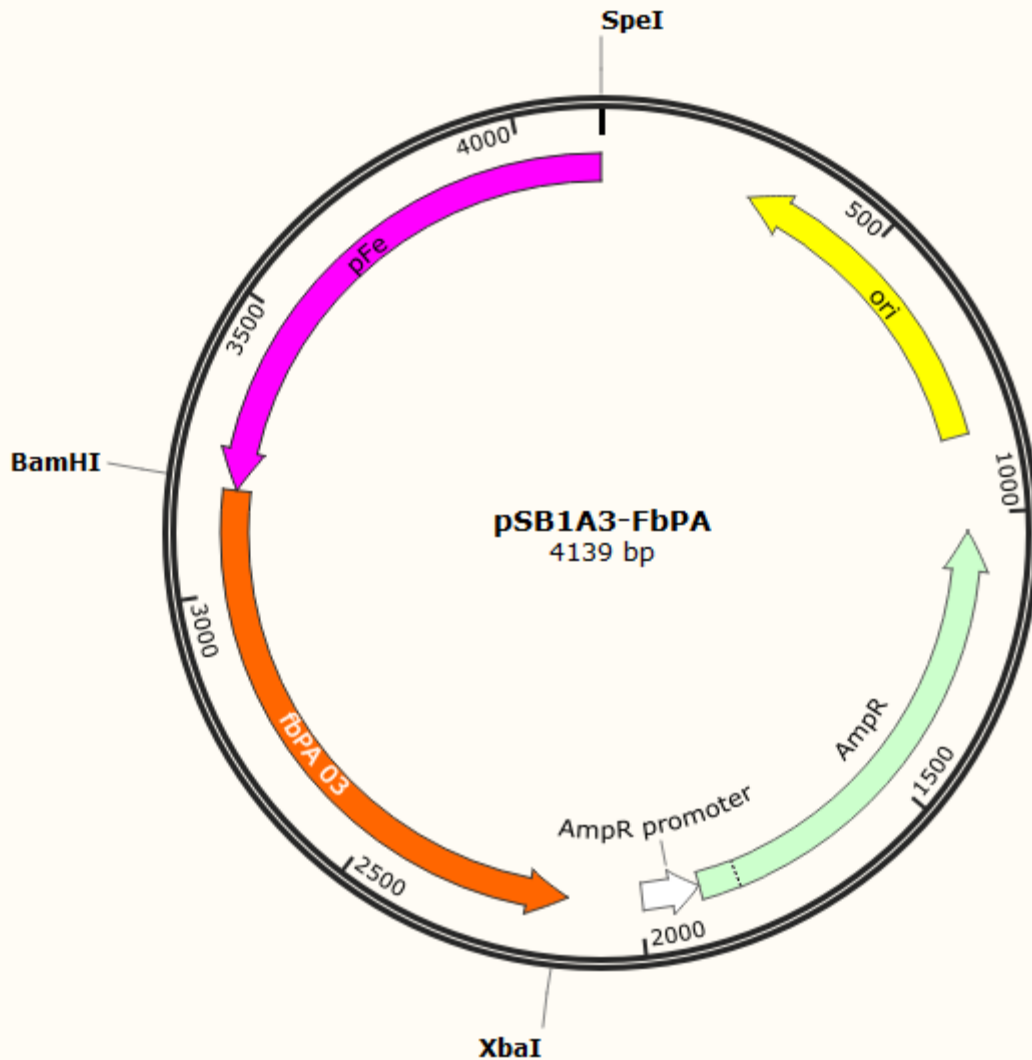
Tujuan

Merancang konstruksi gen di dalam *Escherichia coli* sintetik yang dapat menangkap dan mengakumulasi ion Ferri (Fe^{3+}) dan Ferro (Fe^{2+}), serta senyawa yang mengandung Fe di lingkungan industri (Agen Bioakumulator) sebagai salah satu upaya mengatasi pencemaran perairan akibat logam berat.

Besi

Zat besi merupakan salah satu logam yang penting untuk pertumbuhan prokariot. Untuk dapat tetap bertahan hidup, prokariot bergantung pada pengambilan zat besi dari lingkungan dengan sistem afinitas tinggi. Bakteri memperoleh zat besi ferri dengan memproduksi dan absorpsi dari siderophores atau melalui sistem transpor FbpABC yang berikatan dengan reseptor membran luar khusus yang spesifik untuk mengambil sumber zat besi seperti transferin dan laktoferin dari inang.

DIAGRAM RANCANGAN DAN CARA KERJA



Gambar 2. Konstruksi rancangan Bio Bricks

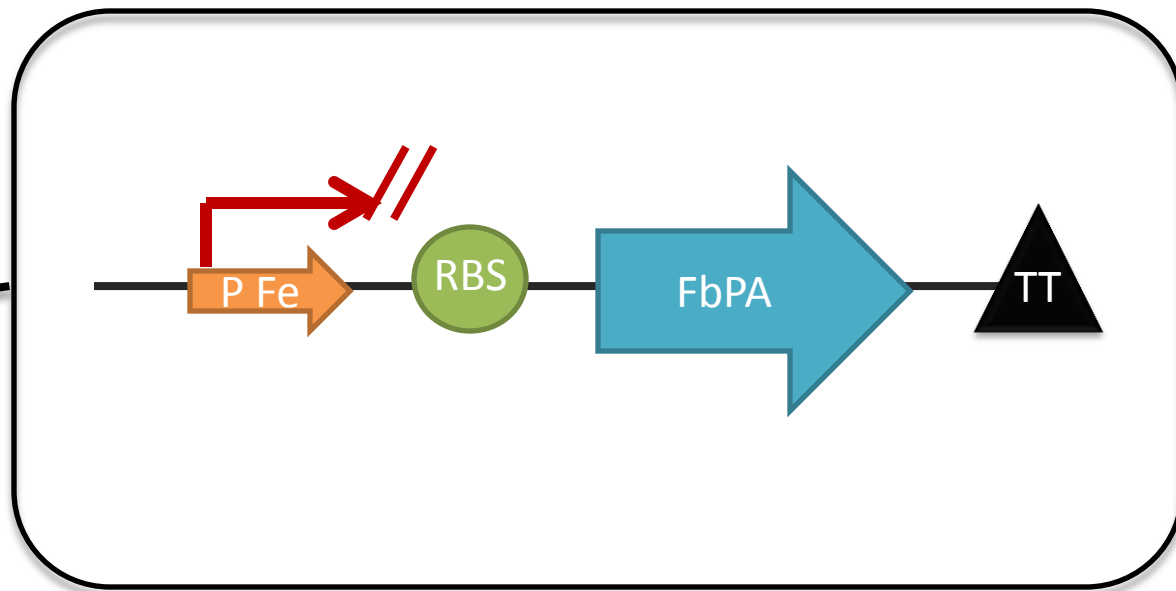
Bio Bricks Part

Promoter:
 BBa_I765000
 (Promoter sensitif Fe)

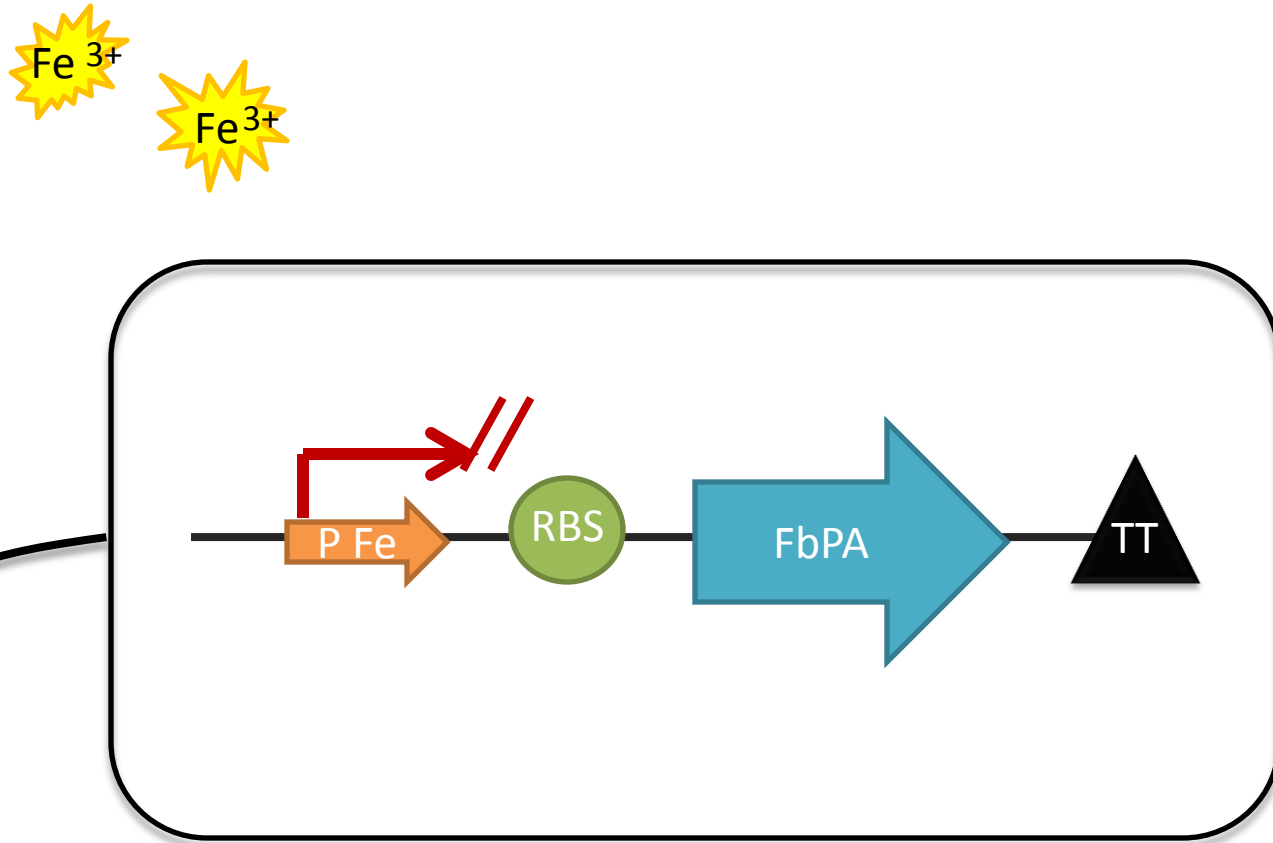
Coding sequences:
 BBa_K1122702
 (FbPA = Ferric Binding Protein)

Backbones:
 psB1A3
 (Ampisilin resisten, Ori)

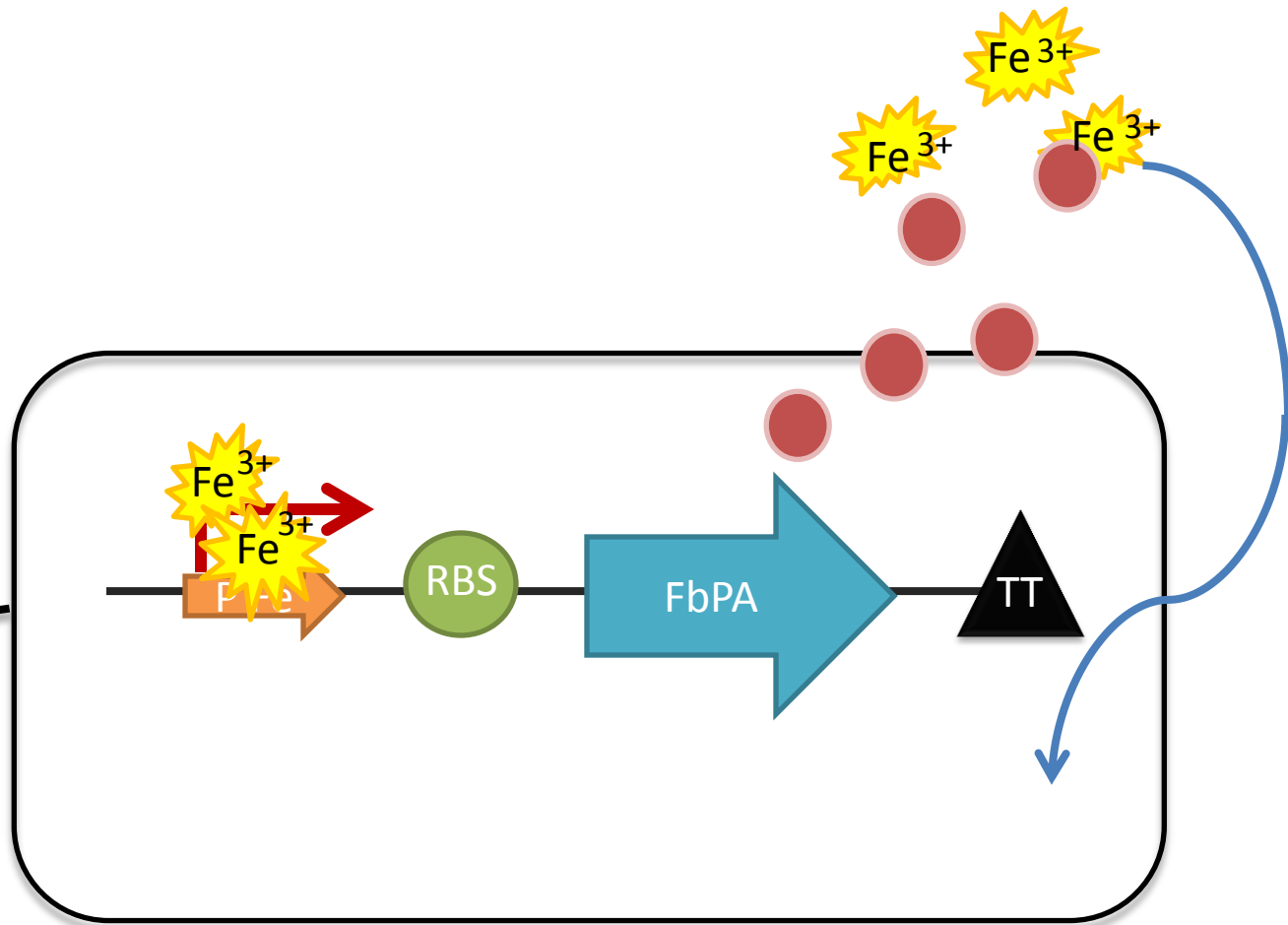
Mikroorganisme:
E. coli



Gambar 3. Mekanisme tidak berjalan ketika tidak ada iron (Fe)

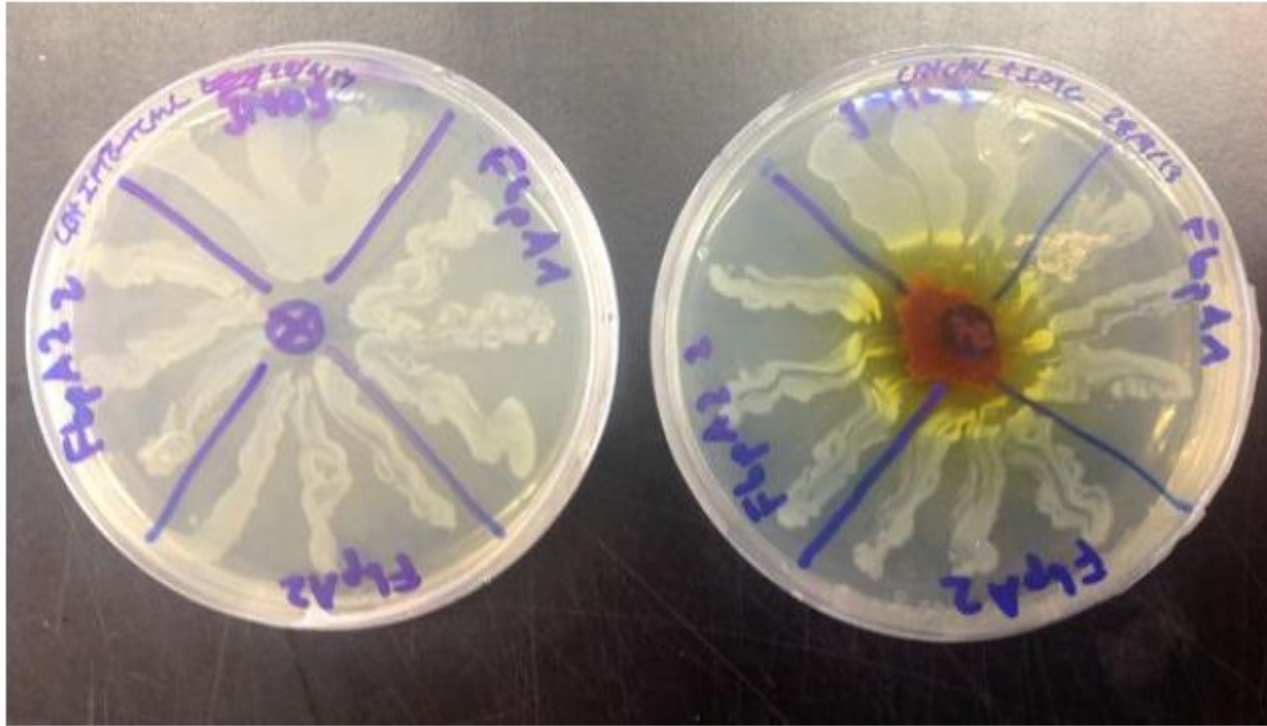


Gambar 4. Iron (Fe) di lingkungan akan meregulasi promotor sensitif Fe



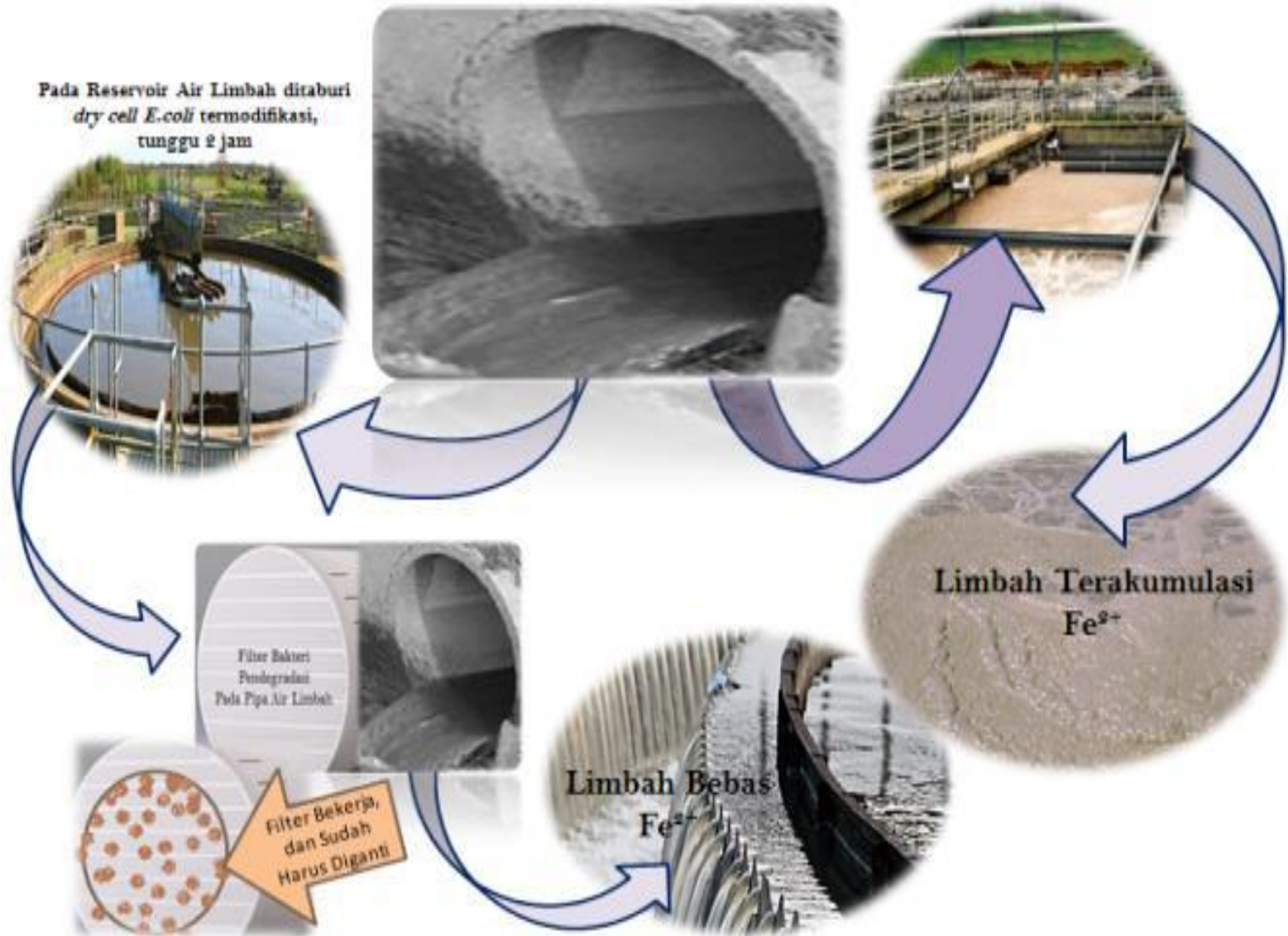
Gambar 5. Iron (Fe) di uptake ke dalam tubuh, meregulasi promotor, sehingga protein FbPA dapat dihasilkan. Protein FbPA akan menempel pada ion Fe untuk diakumulasi di dalam tubuh bakteri.

Prediction result



Gambar 6. Koloni yang dapat mengekspresikan FbPA ketika diberi iron pada bagian tengah capet, akan berwarna merah kecoklatan akibat proses akumulasi (Kanan). Koloni yang tidak sensitif Fe tidak akan mengakumulasi besi

Rancangan Penerapan



Kesimpulan

Rancangan konstruksi gen di dalam *Escherichia coli* sintetik diharapkan dapat menangkap dan mengakumulasi ion Ferri (Fe^{3+}) dan Ferro (Fe^{2+}), serta senyawa yang mengandung Fe di lingkungan industri (Agen Bioakumulator) sebagai salah satu upaya mengatasi pencemaran perairan akibat logam berat.

Daftar Pustaka

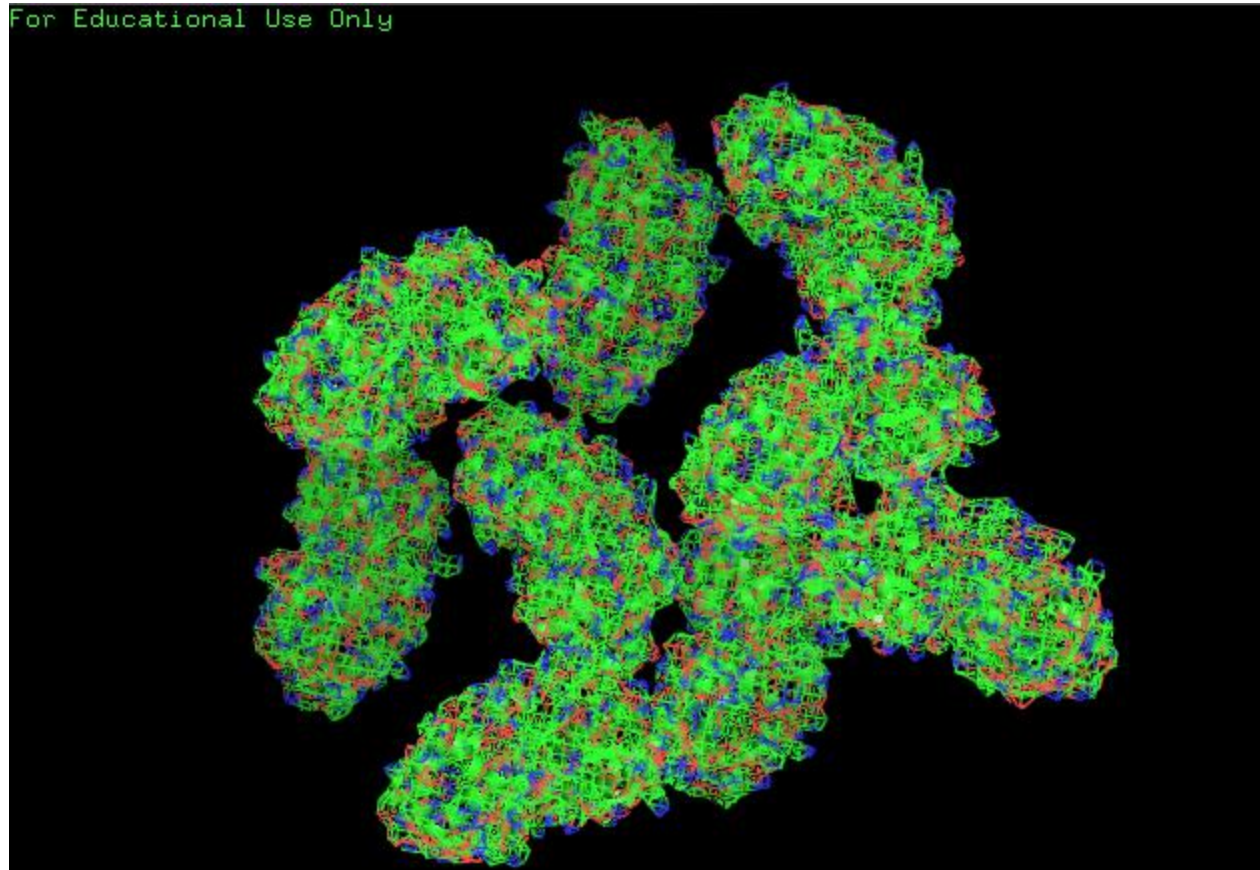
- Ferreiros, C., Criado, M. and Gomez, J. (1999). The Neisserial 37kDa ferric binding protein (FbpA). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 123. 1-7.
- Stacey A. L. Tom-Yew, Diana T. Cui, Elena G. Bekker and Michael E. P. Murphy. (2005). Anion-independent Iron Coordination by the *Campylobacter jejuni* Ferric Binding Protein. *The Journal of Biological Chemistry*, 280, 9283-9290.
- Chen et al. 1993. the ferric iron-binding protein of pathogenic *Neisseria* spp. functions as a periplasmic transport protein in iron acquisition from human transferrin. *Mol. Microbiol*, 10(2):311-8.
- Peraturan Menteri Kesehatan RI. Nomor: 416/ MENKES/PER/IX/90.
- 2013.igem.org/team:evry/project_fur.
- 2013.igem.org/team:edinburg/introduction
- Leong, J. and Neilands, J. B. (1976). Mechanisms of siderophore iron transport in enteric bacteria. *J Bacteriol*. 126(2): 823–830.



Terima Kasih

Hasil Penelitian Sebelumnya

- Berdasarkan uji coba yang dilakukan oleh kelompok iGem Edinburgh dan Evry (2013) ekspresi dari proses chelating iron berhasil dilakukan dengan menggunakan FUR sistem dan biosintesis protein yang berbeda, namun proses tersebut masih membutuhkan regulasi dari IPTG dalam menginduksi konstruk operon Lac dalam plasmid.
- Team iGem Colombia-Israel (2007) menemukan promoter sensitif Fe, sehingga dapat diregulasi dalam kondisi lingkungan yang mengandung Fe.



Gambar. Prediksi struktur protein FbpA ketika terikat dengan nanopartikel besi (iron)

Edinburgh team work on iron chelation but with another chelator: the ferric ion-binding protein A (FbpA)⁶. This protein from *Neisseria gonorrhoeae* is able to chelate various ion in solution as Fe³⁺, Ti⁴⁺, Cu²⁺, Zr⁴⁺ (Zirconium ion) or Hf⁴⁺ (Hafnium ion)⁷. Its affinity for ferrous iron is 10¹⁸, less than every enterobactins system, but it remains a good alternative for treatment.