

Luz dos Vagalumes

Ciências

Enviado por: _marileusa@seed.pr.gov.br

Postado em:05/09/2016

Estudo explica por que vagalumes e besouros emitem luz com cores diferentes Por Elton Alisson (Agência FAPESP) Os vagalumes e algumas espécies de besouros possuem enzimas, chamadas luciferases, que conferem a eles a capacidade de emitir luz fria e visível (bioluminescência). As mesmas enzimas que permitem aos vagalumes emitir luz com tonalidade verde-amarelo no crepúsculo, por exemplo, também fazem com que produzam luz com cor vermelha quando expostos a ambientes com pH ácido, sob altas temperaturas ou na presença de metais pesados. E também são responsáveis pelo fato de besouros emitirem luz com uma ampla gama de tons, independentemente do pH do ambiente. Pesquisadores do grupo de bioluminescência e biofotônica da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), campus de Sorocaba, em colaboração com um colega da University of Electro-Communications, do Japão, desvendaram, por meio de uma série de pesquisas apoiadas pela FAPESP, os mecanismos moleculares que fazem com que as enzimas luciferases emitam luz de cores diferentes nos insetos bioluminescentes. As descobertas foram descritas em um artigo publicado na revista Biochemistry, da American Chemical Society (ACS). “Apesar de décadas de estudos, os mecanismos moleculares por trás da mudança de cor da bioluminescência de vagalumes e besouros e da sensibilidade das enzimas luciferases de vagalumes ao pH, temperatura e metais pesados ainda permaneciam desconhecidos”, disse Vadim Viviani, professor da UFSCar e primeiro autor do artigo, à Agência FAPESP.“Nosso estudo permitiu entender melhor, agora, como as luciferases produzem diferentes cores de luz”, avaliou. De acordo com o pesquisador, as enzimas luciferases produzem bioluminescência em vagalumes e besouros por meio da catálise da reação de oxidação da proteína luciferina – uma molécula fluorescente que, ao ser oxidada, age como emissor de luz. Dependendo do microambiente da região onde ocorre a reação de oxidação da luciferina (o sítio ativo), a cor da luz produzida pode variar do verde ao vermelho, detalhou Viviani. Por meio de pesquisas realizadas nos últimos anos, os pesquisadores na UFSCar e em outras universidades e instituições de pesquisa no mundo identificaram que dois dos 550 aminoácidos que compõem a enzima luciferase – Glutamato311 (E311) e Arginina337 (R337) – têm cargas elétricas opostas: o E311 tem carga positiva e o R337, carga negativa. Há alguns anos, Viviani fez uma mutação no aminoácido E311 e, dessa forma, conseguiu mudar a cor da luz emitida pela enzima luciferase de um vagalume brasileiro. Já um grupo de pesquisadores dos Estados Unidos também fez recentemente uma mutação no aminoácido R337 e conseguiu obter o mesmo efeito de mudança da cor da luz produzida e identificou que, coincidentemente, os resíduos do E311 e do R337 estão muito próximos na estrutura tridimensional da luciferase de vagalumes. “Essas descobertas evidenciaram que esses dois aminoácidos eram importantes para a mudança da cor da luz emitida pelas luciferases, mas não se sabia qual papel desempenham na determinação da cor da bioluminescência”, afirmou Viviani. A fim de tentar esclarecer essa questão, os pesquisadores e colaboradores fizeram agora mutações dos aminoácidos E311 e R337, que resultaram na mudança das cargas elétricas de um conjunto de luciferases que produzem diferentes cores de bioluminescência, clonadas por Viviani e seu grupo ao longo das últimas décadas. Por sua

vez, o professor Takashi Irano, da University of Electro-Communications, no Japão, sintetizou análogos de luciferina que interagem com partes específicas do sítio ativo das enzimas luciferases testadas. As mutações dos dois aminoácidos de uma luciferase obtida a partir do vagalume *Macrolampis s2* — encontrado na Mata Atlântica — que foram objeto da dissertação de mestrado da estudante Aline Simões, no programa de biotecnologia e monitoramento ambiental da UFSCar — indicaram que, como possuem cargas elétricas opostas, os aminoácidos interagem entre si eletrostaticamente e fecham o sítio ativo da enzima. Com isso, o sítio ativo da luciferase torna-se hidrofóbico (repele água), resultando em um aumento da energia da luz produzida pela enzima, que, dessa forma, ganha tonalidade variável entre o verde e o azul. Já a interrupção da interação dos dois aminoácidos por mudanças na carga elétrica de um deles ou alteração no pH do ambiente onde está a luciferase, por exemplo, promove a abertura do sítio ativo da enzima, permitindo a entrada de água. “A luz produzida nessas situações é menos energética e assume uma cor avermelhada”, explicou Viviani. Uma das autoras do estudo — a estudante Vanessa Rezende Bevilaqua, doutoranda no programa de genética evolutiva e biologia molecular da UFSCar, sob orientação do pesquisador e com Bolsa da FAPESP — identificou que a única luciferase que produz naturalmente cor vermelha, oriunda da larva *Phrixotrix hirtus*, não tem o aminoácido R337 e, portanto, não tem carga elétrica positiva. A falta dessa carga positiva, que de outra forma atrairia a carga negativa do aminoácido E311 e bloquearia o sítio ativo, faz com que a região não feche direito e que a luz emitida pela luciferase seja vermelha. Os resultados foram corroborados por outras mutações em aminoácidos feitas pela estudante de doutorado na UFSCar Gabriele Gabriel e pela modelagem da estrutura tridimensional das enzimas pelo estudante Frederico Arnoldi, atualmente pesquisador da Fundação Grupo Boticário de Proteção à Natureza. “Essas descobertas ajudam a explicar como as luciferases produzem diferentes cores de luz”, afirmou Viviani. “Isso abre a possibilidade de poder controlar melhor esses mecanismos para criar luciferases por engenharia genética que apresentem propriedades desejadas para diferentes aplicações biotecnológicas, como com uma determinada tonalidade de cor ou intensidade de luz”, afirmou. Aplicações biotecnológicas As enzimas luciferases e seus substratos — a luciferina — são amplamente utilizados como reagentes bioanalíticos e marcadores celulares em biossensores de poluição e prospecção de drogas anticancerígenas e antibióticos, entre vastíssima gama de outras aplicações, apontou o pesquisador. A criação dessas enzimas para aplicações biotecnológicas, contudo, era feita ao acaso, por meio de mutações em uma parte da proteína de forma a obter uma nova enzima mutante, com uma determinada cor e para um uso específico. Esse processo frequentemente resultava em uma enzima mais fraca, que produzia pouca luz, explicou Vadim. “Agora, ao conhecermos melhor o mecanismo por trás da produção de luz, será possível fazer mutações nas enzimas para mudar a cor da luz emitida sem afetar outras características de sua luminescência”, afirmou. O grupo de pesquisa liderado por ele na UFSCar já clonou, produziu por engenharia genética e investigou mais de 10 luciferases diferentes de besouros bioluminescentes brasileiros, que apresentam diferentes cores de luz e propriedades luminescentes. “Somos o grupo de pesquisa que mais clonou e investigou a maior variedade de luciferases de insetos no mundo, incluindo as três famílias de vagalumes”, afirmou Viviani. A clonagem e a modificação feitas pelo grupo de pesquisadores brasileiros de uma enzima luciferase de larvas luminescentes de vagalumes colonizadoras de cupinzeiros no Cerrado (*Pyrearinus termitilluminans*), que apresenta a bioluminescência mais verde-azulada e mais eficiente entre as luciferases de besouros, já resultou no desenvolvimento de um marcador de células de mamíferos por um grupo de pesquisadores no Japão com os quais colabora. Várias outras luciferases de besouros clonadas pelo grupo também estão atualmente sendo testadas para o desenvolvimento de biossensores e marcadores celulares. O artigo “Glu311 and Arg337 stabilize a closed active-site conformation and provide a critical catalytic base and counteraction for green bioluminescence in beetle

luciferases” (doi:10.1021/acs.biochem.6b00260), de Viviani e outros, pode ser lido por assinantes da revista Biochemistry em <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.biochem.6b00260>. Esta notícia foi publicada em 05/09/2016 no site agencia.fapesp.br. Todas as informações nela contida são de responsabilidade do autor.