

Verde, amarelo ou vermelho

Estudos sobre bioluminescência revelam os mecanismos por trás da cor do brilho de vagalumes

Maria Guimarães

Quem já viu a noite piscando de verde sabe o encanto dos vagalumes. Mas fora do inseto, a química que dá origem a essa bioluminescência é ainda mais fascinante: em condições variáveis de pH, temperatura e na presença de metais pesados, a cor da luz que as reações emitem pode ir do verde ao vermelho. O mecanismo que permite essa variação, misterioso há décadas, agora fica mais claro a partir do artigo publicado este mês na revista *Scientific Reports* pelo grupo do bioquímico Vadim Viviani, do campus de Sorocaba da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) e atual presidente da Sociedade Internacional de Bioluminescência e Quimioluminescência. Aficionado por vagalumes desde a infância, ele mantém uma coleção com mais de 200 espécies coletadas desde os 14 anos e há duas décadas investiga aspectos bioquímicos e moleculares do fenômeno da bioluminescência até em insetos que não produzem luz.

O grupo de Viviani examinou a interação entre as moléculas responsáveis pela produção de luz e mostrou que na família dos vagalumes mais

comuns, os lampirídeos, a conformação do sítio ativo da enzima é responsável por prender a substância luciferina. “Durante a reação de oxidação que gera luz, as partes ricas em cargas positivas das duas moléculas são forçadas uma contra a outra, como se fossem dois ímãs com o mesmo polo voltados um para o outro”, compara o bioquímico (*ver infográfico na página 60*). “A força repulsiva dessa aproximação gera uma luz de alta energia na região do verde.” Acontece que os íons positivos presentes em pH mais ácido ou em metais pesados, como zinco, rompem as interações eletrostáticas que funcionam como portões que mantêm fechada essa cavidade. Com isso o sítio ativo se abre, deixando entrar água que atenua a repulsão das cargas positivas. Ao mesmo tempo a luciferina fica mais solta no interior da enzima, interagindo com as paredes da cavidade da luciferase de maneira menos intensa. O resultado, nesses casos, é um brilho laranja ou vermelho que no vagalume íntegro só é visto à beira da morte.

A presença ou não de água (polaridade), a presença de grupos químicos básicos e a forma iônica das moléculas envolvidas – com as interações

As lanternas do
vagalume tec-tec
Pyrophorus ficam
acesas enquanto
anda; quando o
inseto voa, revela
luz ventral

eletrostáticas entre elas – eram consideradas as explicações possíveis para as mudanças observadas no comportamento da luciferina e da luciferase. Os resultados atuais indicam que, em vez de serem alternativas, todos esses fatores trabalham em conjunto.

ILUMINAÇÃO COLORIDA

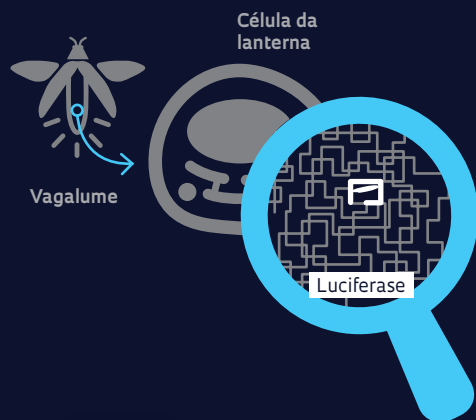
Desde o doutorado, realizado no Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP) sob orientação do químico Etelvino Bechara, pioneiro no estudo da bioluminescência no Brasil, Viviani documenta e investiga as cores produzidas pelas larvas-trenzinho, da família dos fengodídeos, e dos vagalumes tec-tec, insetos da família dos elaterídeos que produzem um estalo como forma de defesa. A diversidade luminosa desses animais exclusivos dos trópicos do continente americano é a maior entre os insetos bioluminescentes: tem espécies com brilho azul, em outras é verde, amarelo, laranja ou vermelho. Mesmo em tubos de ensaio, quando a luciferina e a luciferase reagem fora das células do organismo, cada par de moléculas só é capaz de produzir uma cor, sem variar como nos lampirídeos. Essa diversidade de padrões luminosos é o que permite a machos e fêmeas se reconhecerem no momento da reprodução. “Vagalumes têm voos nupciais com um padrão definido para cada espécie, não há possibilidade de encontros malsucedidos”, diz Bechara.

Ao estudar o efeito de mutações que alteram a estrutura molecular das luciferases e produzir modelos que reconstroem o formato tridimensional das moléculas, o grupo de Sorocaba está mostrando que as luciferases de elaterídeos e fengodídeos parecem ter estruturas mais rígidas. As diferentes configurações, com sítios ativos mais estreitos ou mais amplos, devem ser parte do que define a cor da luz emitida pelos organismos que produzem essas moléculas, conforme vem sendo mostrado pela estudante de doutorado Vanessa Bevilaqua. O biólogo Danilo Amaral, em estágio de pós-doutorado no laboratório de Viviani, está aprofundando o estudo da atividade gênica – o transcriptoma em espécies bioluminescentes de elaterídeos – para entender qual a diferença entre células das áreas luminescentes em relação às que não produzem luz. Ele também analisa o parentesco entre as espécies para entender a



De onde vêm as cores

Vagalumes da família dos lampirídeos só produzem luz verde, mas em tubo de ensaio sua química é versátil



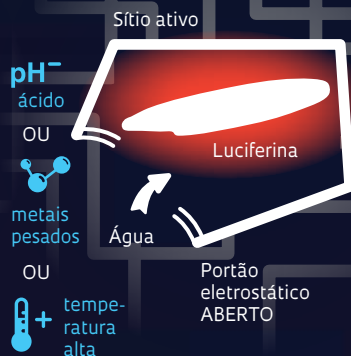
Dentro das células da lanterna, no abdômen, a enzima luciferase é a responsável pela bioluminescência, quando seu sítio ativo interage com a substância luciferina

LUZ VERDE



Em condições normais, típicas do interior do inseto, o sítio ativo da luciferase se mantém fechado por portões eletrostáticos, forçando a luciferina a uma reação de alta energia que resulta na luz verde

LUZ VERMELHA



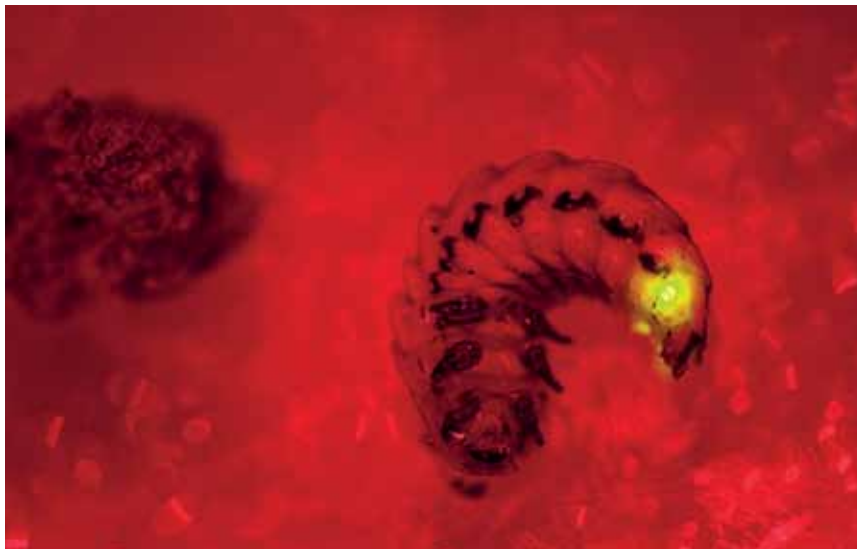
Condições com alto teor de cargas positivas, em tubo de ensaio, rompem os portões, ampliam o espaço do sítio ativo e permitem a entrada de água; o resultado é uma reação com energia moderada que produz luz vermelha

FONTE
VADIM VIVIANI / UFSCAR

evolução desse sistema. “As luciferases da família dos besouros têm uma origem comum, mas as lanternas não são homólogas”, diz Amaral.

Em um elaterídeo encontrado em Mato Grosso, *Pyrophorus angustus*, o grupo descobriu uma variação curiosa nas cores emitidas. Como todos os integrantes bioluminescentes da família, esses insetos têm algo semelhante a dois faróis atrás da cabeça – no protórax – que produzem luz esverdeada. A visão é um pouco fantasmagórica, como se fossem dois olhos acesos enquanto o animal anda. Quando voam, eles arqueiam o corpo e expõem a lanterna abdominal, que fica guardada em uma dobra. Nesse caso emitem uma luminosidade alaranjada, como os pesquisadores descreveram em artigo de 2016 na revista *Photochemical and Photobiological Sciences*. Esse fato é curioso não só pela diferença de cor entre as luzes de um mesmo animal, mas também porque na América Central a mesma espécie produz diferentes tons de verde nas duas partes do corpo. “Pode ser uma adaptação à luminosidade alaranjada do crepúsculo dentro da floresta amazônica”, sugere Amaral. Antes da descoberta desse inseto na Amazônia, outra espécie do mesmo gênero, *P. plagiophthalmus*, da Jamaica, era o único vagalume conhecido pela variação na cor da bioluminescência: de verde a amarelo nas lanternas do protórax e de verde a laranja no abdômen.

Esse é um dos achados que justifica a decisão, há quase 10 anos, de ampliar os horizontes do trabalho de campo em direção ao norte. “Já estudamos a Mata Atlântica bastante bem, e a Amazônia é muito pouco conhecida do ponto de vista da bioluminescência”, diz Viviani, que quando concedeu entrevista à *Pesquisa FAPESP* preparava uma expedição de duas semanas até Mato Grosso e Rondônia, um trajeto de quase 3 mil quilômetros. Outro exemplo amazônico são as larvas de elaterídeos do gênero *Pyrearinus* que vivem em paleotocas formadas por tatus gigantes em Carajás, no Pará, descritas em 2016 na revista *Annals of the Entomological Society of America*. As larvas se instalam em túneis que fazem nas paredes dessas grutas de argila, de forma semelhante aos mais conhecidos cupinzeiros salpicados de luzes verdes no Cerrado. Ao emitir luz na região próxima à cabeça, essas larvas conseguem atrair pequenos insetos, que viram alimento.



Larva de lampirídeo, família caracterizada pela luz verde

Em cavernas da Mata Atlântica, no Parque Estadual Intervales, no sul paulista, o grupo de Viviani encontrou larvas de mosquitos do gênero *Neoditomyia* que não produzem luz. Mas a semelhança com larvas com bioluminescência azul do gênero *Orfelia* nos Estados Unidos os levou a investigá-los, conforme relato deste ano na *Photochemical and Photobiological Sciences*. As larvas paulistas têm luciferina e também uma proteína responsável por estocá-la. “A existência das duas moléculas indica que a luciferina deve ter um papel bioquímico importante, mas ainda não sabemos qual é”, diz Viviani. Como não têm luciferase, permanecem apagadas. É um sistema bioquímico diferente que deve ser evolutivamente recente e com moléculas distintas, o que permite a Viviani começar de novo a desvendar o mecanismo como fez em outros organismos. “São soluções novas, que podem ter aplicações novas.”

DO INSETO À BIOTECNOLOGIA

A sensibilidade da luciferase tem se mostrado promissora como detector de condições ambientais. Depois de isolar a enzima dos vagalumes e os genes responsáveis por produzi-la, os pesquisadores inserem essas instruções genéticas em bactérias que passam a produzir a molécula de interesse. É um processo conhecido como clonagem. Assim conseguem não só fabricar a substância produtora de luz, mas também produzir alterações em sua conformação e suas propriedades por meio de engenharia genética. Cultivadas em pequenos poços de placas de

Conforme o pH e na presença de metais pesados, a cor da luz que as reações emitem pode ir do verde ao vermelho

plástico, essas bactérias se tornam sensores luminescentes de metais pesados que mudam de cor conforme a substância com que entram em contato, de acordo com artigo de 2016 na revista *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, parte do doutorado da biotecnóloga Gabriele Gabriel, encerrado em 2017.

“Agora estamos tentando mudar o tamanho da cavidade do sítio ativo e suas propriedades eletrostáticas, com certo sucesso”, diz Viviani. Esses ajustes

permitiram aumentar a sensibilidade da luciferase a metais pesados tóxicos como chumbo, cádmio e mercúrio. “Ainda não sabemos se terá uma aplicação efetiva, mas tudo indica que sim”, diz o pesquisador, que já submeteu a patente do método. O novo método poderia ser empregado na detecção de alterações de pH e de metais dentro das células, o que poderia permitir testes de toxicidade de agentes farmacêuticos e cosméticos em cultura de células, acompanhar o avanço de infecções ou a proliferação de células metastáticas e auxiliar a indústria farmacêutica na avaliação de drogas com o uso reduzido de cobaias nos experimentos. O pesquisador pensa abrir uma startup para desenvolver esse tipo de sistemas luminescentes para diferentes aplicações.

Do campo ao laboratório, o trabalho de Viviani passa por ecologia, evolução, genética e sobretudo bioquímica. “Vadim faz o trabalho moderno e contemporâneo da bioluminescência”, afirma Etevlino Bechara. “Ele manipula o DNA do jeito que quer para produzir luz amarela, laranja ou vermelha, isso é muito importante para aplicações analíticas.” Muito mudou desde que começou a trabalhar com bioluminescência, nos anos 1970. “Não tinha nada de biologia molecular, era mais história natural até do que química”, relembra o químico, atualmente envolvido em bioluminescência de cogumelos com o químico Cassius Stevani, do IQ-USP (ver Pesquisa FAPESP nº 255).

Viviani também considera que uma obrigação do pesquisador é chegar ao público. Há um ano instalou em um centro de extensão da universidade um pequeno museu de bioluminescência, que recebe estudantes de escolas locais (<https://biota-biolum.wixsite.com/museu-luminescencia>). “Levamos para lá o conhecimento que produzimos no laboratório.” ■

Os artigos e projetos mencionados nesta reportagem estão listados na versão on-line.