**PRODUÇÃO DE BIOLUMINESCÊNCIA POR ORGANISMOS VIVOS E POTENCIAIS APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS**

**RESUMO**

**A bioluminescência é a emissão de luz por seres vivos, produzida a partir de reações catalisadas pelas enzimas luciferases. As luzes emitidas, que variam entre o espectro azul e vermelho, são naturalmente utilizadas para atração sexual, comunicação, defesa, camuflagem ou atração de presas.** As aplicações biotecnológicas da bioluminescência são pouco conhecidas no meio acadêmico, devido a esse fato o presente trabalho teve como objetivo descrever os mecanismos da reação enzimática envolvidos na emissão de luz, bem como identificar as possíveis aplicações biotecnológicas dessa biomolécula. A partir de uma revisão integrativa da literatura, foi possível identificar que a bioluminescência é comumente utilizada na área da saúde, como marcadores biológicos, visando a detecção de doenças, e na área ambiental, a partir da detoxificação de efluentes contaminados. Foram evidenciados que os trabalhos relacionados à aplicação da bioluminescência na área de biotecnologia estão avançando, principalmente com o desenvolvimento de técnicas de manipulação do DNA.

**Palavras-chave:** Bioluminescência; Aplicação Biotecnológica; Organismos**.**

**ABSTRACT**

Bioluminescence is the emission of light by living beings, heard from reactions catalyzed by luciferase enzymes. The emitted lights, which select from the blue and red spectrum, are naturally used for sexual attraction, communication, defense, camouflage or prey attraction. Since biotechnological applications of bioluminescence are little used in academia, due to a fact or work present that aimed to describe the enzymatic reaction mechanisms, light emissions, as well as identify the possible biotechnological applications of this biomolecule. From an integrative literature review, it was possible to identify that bioluminescence is commonly used in health, as biological markers, monitor disease detection and the environmental area, from the detoxification of contaminated effluents. The work related to the application of bioluminescence in the biotechnology area that are advancing was evidenced, mainly with the development of DNA manipulation techniques.

**Keywords**: Bioluminescence; Biotechnology Application; Organisms.

1. INTRODUÇÃO

A bioluminescência é a emissão de luz fria e visível por seres vivos a partir de reações catalisadas por enzimas denominadas luciferases. Essa missão de luz tem sido objeto de interesse e estudo pela humanidade desde os tempos de Aristóteles (384-322 a. C.) (OLIVEIRA et al., 2013). A bioluminescência pode emitir variações de luz entre o espectro azul e vermelho, e naturalmente é utilizada para comunicação em locais com ausência de iluminação, atração sexual, defesa, camuflagem ou, até mesmo, para atração de presas. (SHIMOMURA, 2006). Além desses fatores, a bioluminescência também apresenta fortes indicações de proteção antioxidativa, decorrente da ação da enzima *luciferase*, classificada como *oxirredutase*, frente o substrato luciferina.

Estudos indicam que a bioluminescência ocorre mais frequentemente em organismos que vivem no fundo dos mares, abrangendo dinoflagelados, lulas, medusas e insetos, que emitem principalmente a luz na cor azul. A emissão de luzes azul ou verde pode ser detectada mais facilmente em camadas mais superficiais do mar e em águas costeiras, servindo como camuflagem para os organismos (BECHARA; VIVIANE, 2015).

Segundo Ravara et al. (2010), a bioluminescência também pode ser detectada em alguns fungos, presentes em florestas tropicais e pequenas matas ciliares (OLIVEIRA et. al., 2013); em bactérias dos gêneros *Shewanella, Photobacterium, Aliivibrio e Vibrio* (CHIU et. al., 2007), e em besouros como os coleópteros, pertencentes às famílias *Lampyridae* (vaga-lumes), *Phengodidae* (trenzinhos) e *Elateridae* (besouros tec-tec).

A diversidade de espectros possíveis da bioluminescência proporciona diferentes variações de luz, que podem ser utilizadas na área da biotecnologia (OLIVEIRA, 2019). Porém, as aplicações biotecnológicas da bioluminescência são pouco conhecidas no meio acadêmico, devido a esse fato o presente trabalho teve como objetivo descrever brevemente os mecanismos da reação enzimática envolvidos na emissão de luz, bem como identificar as possíveis aplicações biotecnológicas dessa biomolécula.

1. METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão integrativa da literatura, tendo como finalidade sintetizar resultados adquiridos a respeito de um determinado tema. A coleta de dados foi feita a partir de pesquisas em artigos científicos com datas entre o período do ano 2004 a 2016. O levantamento bibliográfico do estudo levou em consideração as seguintes perguntas-problemas: Como ocorre a emissão de luz por organismos vivos? Como a bioluminescência pode ser utilizada em aplicações biotecnológicas?

A coleta de dados iniciou com a leitura do material selecionado e o registro das informações extraídas, para enfim organizar os dados obtidos em uma tabela composta por organismos que foram utilizados, técnica de aplicação, funcionamento e autor e data, com base na análise de cada um.

1. **RESULTADOS E DISCUSSOES**

Para descrição do mecanismo de emissão de luz visível por organismos vivos e identificação das aplicações biotecnológicas da bioluminescência, foram analisados artigos, de acordo com a pergunta-problema e os critérios de inclusão previamente estabelecidos, ou seja, os artigos científicos relacionados ao tema e publicados entre os anos de 2004 e 2016. Os artigos relacionados a aplicações biotecnológicas da bioluminescência foram organizados em forma de tabela e apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Relação de autores, técnicas de aplicações biotecnológicas com bioluminescência, considerando sua aplicação biotecnológica e os organismos utilizados.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Autor, Ano | Técnica | Aplicação Biotecnológica | Organismos |
| BECHARA, 2008 | Biotômica de baixa intensidade. | Bioluminescência utilizada para identificação de patologias | Fungos, coleópteros e água viva. |
| BARCELLOS, 2013. | Genes Repórteres para patologias como criptocomas pulmonares. | Os genes de bioluminescência fora utilizados como marcadores biológicos. | Bactérias dos gêneros *Vibrio*, *Photobacterium* e *Enterovibrio*. |
| OLIVEIRA, 2010. | Identificação de bactérias reativas através da intensificação da emissão de luz. | Os genes são extraídos e intensificados *in vitro*, aumentando a emissão de luz que irá proporcionar a correta identificação de bactérias reativas de oxigênio. | *Armillaria mellea* e outros fungos bioluminescentes |
| SATO; KLAUNBERG; TOLWANI, 2004 | Marcadores de células cancerígenas *in vivo.* | Os genes fora utilizados para o monitoramento de células infecciosas *in vivo* além de serem marcadores de células cancerígenas. | Gêneros *Shewanella, Photobacterium* e *Alivibrio* |

**Fonte:** Autoria Própria.

A partir das pesquisas, pode-se verificar que a bioluminescência pode ser induzida em organismos vivos por fatores externos físicos (estímulos mecânicos), como também por estímulos químicos e neurológicos. Os organismos podem ativar e desativar as proteínas que atuam na emissão de luz, como também a intensidade, a cor e a distribuição angular da luz. O mecanismo envolve a liberação de íons cálcio e outros neurotransmissores padrões. Em dinoflagelados, a emissão de luz é ativada a partir de um estresse físico na membrana plasmática. Esse estímulo mecânico ativa receptores de membrana, que enviam sinais intracelulares e estimulam a liberação de luciferina (HADDOCK; MOLINE; CASE, 2010).

A reação de bioluminescência ocorre a partir do substrato luciferina, na presença do íon magnésio e oxigênio molecular, com gasto de energia em forma de adenosina trifosfato (ATP). Durante a reação, a enzima luciferase catalisa a formação da molécula oxiluciferina eletricamente excitada, a partir do substrato luciferina. A luz visível é emitida durante o relaxamento da oxiluciferina excitada, até o seu estado fundamental (NAKATSU et al. 2004). Em microorganismos como fungos e bactérias, essa reação é dependente da redução da Luciferina por NADPH (Nicotinamida Adenosina Dinucleotídeo Fosfato), como mostrado na Figura 1 (OLIVEIRA et al., 2012).

**Figura 1:** Reação enzimática catalisada pela luciferase, para produção de oxiluciferina a partir de luciferina.

Fonte: Adaptado de Oliveira et al. (2012).



As cores proporcionadas pela bioluminescência podem variar entre tons azulados e avermelhados, como também, tons de verde fluorescente (SHIMOMURA, 2006). A cor da luz que é emitida pelos organismos, depende da sequencia de aminoácidos da enzima luciferase, ou da presença de proteínas acessórias, como a Proteína Verde Fluorescente (*Green Fluorescent Protein* - GFP). A alteração de apenas um aminoácido pode alterar a emissão de luz verde para azul (WILSON; HASTINGS, 1998).

 Figura 2: Diferentes espécies de *Photobacterium.*

 Fonte: URBANCZYK et. al, 2011.

Baseada nesse modo de ação das bactérias, as pesquisas com bioluminescência são realizadas a fim de procurar ferramentas biotecnológicas para potencial uso na medicina, como os marcadores de células cancerígenas, além de avaliar níveis de toxinas usando um gene bioluminescente em amostras ambientais, como também usando o gene para identificação de tumores dentro de animais em laboratórios sendo a técnica testada com eficientes resultados (ROSA, SILVA, WALTRICK, 2016; BECHARA, 2008; HADDOCK et. al. 2010). Para o monitoramento de processos infecciosos, como marcadores de células cancerígenas *in vivo,* estão sendo cada vez mais utilizados os genes bioluminescentes presentes principalmente em bactérias marinhas, dos gêneros *Shewanella, Aliivibrio* e *Photobacterium.*

A bioluminescência tem permitido o acompanhamento de importantes avanços relacionados à proliferação de tumores e o estudo na interação entre patógeno e hospedeiro *in vivo* revelando localização e extensão de infecções (SATO; KLAUNBERG; TOLWANI,2004; CHIU, B. et al. 2007). Entre as técnicas desenvolvidas a partir da bioluminescência, pode-se citar a biotômica de baixa intensidade (Figura 3), a qual funciona a partir de fotoproteínas (GFP) como marcadores moleculares em tempo real para identificar processos biológicos e patológicos com alta sensibilidade (BECHARA, 2008).

**Figura 3:** Técnica biotômica de baixa densidade.



**Fonte:** BECHARA, 2008

A bioluminescência também pode servir como “gene repórter”, sendo uma das alternativas para a identificação de doenças como a criptococose, a partir da localização dos criptococomas pulmonares. A técnica já foi testada em cobaias de laboratórios e o resultado foi positivo. No entanto, os testes não foram realizados em seres humanos (BARCELLOS, 2013). Bactérias da espécie *Vibrio fischeri* (Figura 4)também podem ser utilizadas, especialmente, para aplicações contra toxicidades no tratamento de efluentes e acidentes ambientais (ROSA; SILVA; WALTRICK; 2016).

**Figura 4:** Placa de Petri com *Vibrio fischeri.*



 **Fonte:** ROSA, 2016.

De acordo com os artigos analisados, pode-se avaliar que a utilização biotecnológica da bioluminescência é comumente utilizada na criação de marcadores moleculares, porém, pode ser aplicada na detoxificação de efluentes contaminados ou em casos de acidentes ambientais. As pesquisas demonstram que ainda existem inúmeros trabalhos e aprimoramentos a serem realizados, e as técnicas apresentadas ilustram a utilidade da bioluminescência como fator de auxilio principalmente para áreas biomédicas e ambientais.

# 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos relacionados à aplicação biotecnológica da bioluminescência analisados no presente trabalho, foram realizados principalmente na área da saúde, como marcadores biológicos, visando a detecção de doenças, e na área ambiental, a partir da detoxificação de efluentes contaminados. Foram evidenciados que os trabalhos relacionados à aplicação da bioluminescência na área de biotecnologia estão avançando cada vez mais, principalmente com o desenvolvimento da tecnologia do DNA Recombinante, que permitiu a manipulação do gene responsável pela produção da enzima luciferina. As pesquisas relacionadas à essa área, tem grande potencial, e poderá gerar muitos benefícios para o homem, principalmente em reação à área da saúde e meio ambiente.

# 5. REFERENCIAS BIBLIOFRÁFICAS

BARCELLOS, V. A. Proteínas bioluminescentes: biomarcadores para o monitoramento in vivo da infecção por Cryptococcus neoformans e Cryptococcus gattli. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013.

BECHARA, Vadim R. Viviani e Etelvino J.H. Um Prêmio Nobel Para Uma Proteína Brilhante. *In: Atualidades em Química,* n. 30, 2008.

BECHARA, E. J. H.; VINIANI, V. R. Luzes Vivas na Escuridão: Fatos e Casos. Revista Virtual Química, v. 7, n. 1, p; 3-40, 2015.

CHIU, H.; Chou, H.; Jean, W. Shieh, W. Isolation and characterization of marine luminous bacteria from shallow coastal waters of Taiwan. *In: J. Microbiol. Immunol*. Infect., Taiwan, v. 40, n. 1, p. 14-23, FEB. 2007.

COSTA, R. A. Pesquisa de *Vibrio* no cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* no estado do Ceará. Dissertação (Mestrado ), Universidade Federal do Ceará, 102 p., 2006.

GOMEZ-GIL, B.; Rodriguez, S.; Gasca, A.;Roque, A.; Juarez, J.;Thompson, F.; Swings, J. Molecular identification of *Vibrio harveyi* - related isolates associated with diseased aquatic organisms. *In: J. Gen. Microbiol*., v. 150, n. 6, p. 1769-1777, jun. 2004.

GREER III, L. F.; SZALAY, A. A. Imaging of light emission from the expression of luciferases in living cell and organisms a review*. In: J. Lumin*., Amsterdã, v. 4, p. 305-313, Sep. 2003.

HADDOCK, S. H. D.; MOLINE, M. A.; CASE, J. F. Bioluminescence in the sea. In; Annu. Rev. Sci., v. 2, p. 443-493. Mar. 2010.

NAKATSU, T.; ICHIYAMA, S.; HIRATAKE, J.; SALDANHA, A.; KONASHI, N; SAKATA, K; KATO, H. Structural basis for the spectral difference in luciferase bioluminescence, *Nature*, v. 440, p. 372-376, 2006.

NUNES-HALLDORSON, V. S.; DURAN, N. L. bioluminescent bactéria: gene lux as environmental biosensors. *In: Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 34, n. 96, jun. 2003.

OLIVEIRA, A. G.; DESJARDIN, D. E.; PERRYC, B. A.; STEVANI, C. V. Evidence that a single bioluminescent system is shared by all known bioluminescent fungal lineages Photochemical and Photobiological sciences, v. 11, n. 5, p. 848-852, 2012.

OLIVEIRA, A. G.; CARVALHO, R. P.; WALDENMAIER, H. E.; STEVANI, C. V. Bioluminescência de fungos: Distribuição, Função e Mecanismo de Emissão de Luz. *In: Química Nova*, v. 36, n. 2, p. 314-319, Sorocaba e São Paulo, Brasil, 2013.

OLIVEIRA, G.. Estudo comparativo do efeito da temperatura na estabilidade e espectros de bioluminescência das luciferases de *phrixotrix hirtus* e outros besouros bioluminescentes. Tese (pós-graduação), Universidade Federal de São Carlos, 2019.

RAVARA, Vadim; Yamazaki Rocha, Mayra; Hagen, Oskar. Fauna de besouros bioluminescentes (Coleoptera: Elatroidea: Lampyridae; Phengodidae, Elatridae) nos municípios de Campinas, Sorocaba-Votorantim e Rio Claro-Limeira (SP, Brasil): Biodiversidade e influência da urbanização. *In: Biota Neotropica*. V. 10, p. 103-116, 2010.

ROSA, D. S.; SILVA, L. A.; WALTRICK, S. AP. Muller. VIBRIO FISCHERI: Uma abordagem prática através da Biotecnologia. *In: Maiêutica – Tecnologia e Meio Ambiente*, v. 4, n. 1, 2016.

SATO, A.; KLAUBERG, B.; TOLWANI, R. In Vivo Bioluminescence Imaging. *In: Comp. Med*., Memphis, v. 54, n. 6, p. 631-634, Dec. 2004.

SHIMOMURA, O. Bioluminescence: Chemical Principles and Methods. Ed. World Scientific. Singapore. p. 500, 2006.

URBANCZYK, H.; AST, J. C.; DUNLAP, P. V. Phylogeny, genomics, and symbiosis of Photobacterium. *In: FEMS Microbiology*, V.35, 324–342, 2011.

WILSON, T.; HASTINGS, J. W. Bioluminescenc**E, *Annual Review of Cell and Developmental Biology***

v. 14, p.197-230, 1998.