

Que haja luz

Os pesquisadores do grupo de Bioluminescência e Biofotônica da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), campus de Sorocaba, deram um importante passo para, em um futuro próximo, possibilitar que algumas enzimas de interesse biomédico, biotecnológico e ambiental emitam luz.

A propriedade é importante para estudar doenças como o câncer ou infecções bacterianas, por exemplo. Os cientistas descobriram um dos principais “disjuntores” presentes na “caixa de força” de enzimas com baixa capacidade de luminescência da mesma classe das luciferases - responsáveis pela emissão de luz fria e visível em vagalumes -, que pode ser modificado para aumentar a intensidade de sua luz.

A descoberta do estudo, resultado de projeto de pesquisa Luciferases de coleópteros: evolução estrutural e funcional, e engenharia para fins biotecnológicos apoiado pela FAPESP por meio de um Auxílio à Pesquisa - Regular, será publicada no fim deste mês na revista Photochemical and Photobiological Sciences.

Em 2009, o mesmo grupo clonou e isolou da larva de um inseto não luminescente (besouro) uma enzima da mesma família das luciferases (a AMP-CoA-ligases), fracamente luminescente e conhecida como protoluciferase, para estudar como as luciferases de vagalumes desenvolveram durante a evolução a capacidade de catalisar a reação de oxidação da luciferina - o composto responsável pela bioluminescência de insetos - e produzir intensa luz visível.

Nos últimos anos, ao comparar as sequências de aminoácidos da protoluciferase com a luciferase, os pesquisadores da UFSCar começaram a identificar partes da estrutura delas que poderiam estar envolvidas com a determinação da atividade de produzir luz.

Por meio de técnicas de engenharia genética, a estudante de doutorado Rogilene Prado e o pesquisador Vadim Viviani, coordenador do projeto, realizaram mutações de aminoácidos da protoluciferase. Agora, o grupo identificou que a mutação de um desses aminoácidos aumenta bastante a atividade luminescente da enzima, tornando-a muito semelhante à de uma luciferase.

“É como se a enzima protoluciferase fosse um circuito eletrônico, que tem uma bateria, representada

pelo oxigênio, e uma lâmpada, que é a luciferina. Descobrimos agora um dos principais interruptores presentes na estrutura delas, que é responsável por ligar a bateria à lâmpada. Ou seja, fazer com que a reação da luciferina e do oxigênio ocorra, acendendo a luz”, disse Viviani à Agência FAPESP.

Segundo ele, a descoberta abre a possibilidade de tornar outras enzimas da família AMP-CoA-ligases de interesse biomédico, biotecnológico e ambiental que não produzem luz em luminescentes.

Presente em todos os organismos, incluindo bactérias e o homem, as AMP-CoA-ligases desempenham as mais variadas funções metabólicas, como a biossíntese de pigmentos (em plantas), metabolismo de lipídeos, síntese de antibióticos e eliminação de substâncias tóxicas e compostos químicos estranhos a um organismo ou sistema biológico (xenobióticos).

Em comum, a primeira reação que elas catalisam é a ativação de ácidos orgânicos, como os aminoácidos, ácidos graxos e a própria luciferina do vagalume, que é oxidada pelas luciferases, produzindo luz. Em função disso, os pesquisadores pretendem utilizá-las como indicadores de determinados ácidos orgânicos de interesse biomédico, como os ácidos tóxicos, e biotecnológicos.

“A capacidade de servir como um indicador para selecionar determinados ácidos orgânicos de interesse farmacêutico e biotecnológico talvez represente o maior potencial de aplicações dessas enzimas”, disse Viviani.

Evolução em laboratório

Segundo o coordenador do projeto, algumas poucas luciferases de vagalumes norte-americanos, europeus e japoneses são utilizadas como reagentes analíticos. São usadas para detectar o estado metabólico de uma amostra biológica e biomarcadores de expressão gênica, ou para marcar células de câncer em estudos biofotônicos, por exemplo.

Por meio das pesquisas com o protótipo da enzima luciferase que clonaram e aumentaram a luminescência, os pesquisadores brasileiros pretendem criar por engenharia genética uma nova enzima luciferase que tenha a propriedade de emitir luz comparável às luciferases empregadas atualmente no mercado.

“Com as condições ideais de evolução, essa protoluciferase poderá se transformar em uma luciferase. Estamos simulando a evolução dela em laboratório”, disse Vaviani.

O grupo de pesquisa da UFSCar é um dos únicos dedicados ao estudo de enzimas luciferases no Brasil. No Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP) há um outro grupo, coordenado pelo professor Cassius Stevani, com o qual eles colaboram, que estuda fungos luminescentes.

Já no mundo, os grupos de pesquisa na área estão estabelecidos nos Estados Unidos, Europa e Japão - esse último colabora com os pesquisadores brasileiros. E, segundo Viviani, nenhum deles ainda conseguiu clonar uma enzima protoluminescente com a capacidade de emitir luz semelhante à do grupo brasileiro.

O resumo do estudo *Structural evolution of luciferase activity in Zophobas mealworm AMP/CoA-ligase (protoluciferase) through site-directed mutagenesis of the luciferin binding site*, de autoria do professor Viviani e de outros pesquisadores, pode ser lido em pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2011/PP/c0pp00392a.

Fonte: Agência FAPESP, por Elton Alisson