

INTRODUÇÃO

O fenômeno da bioluminescência está presente em diversos organismos, entre eles os pirilampos, espécies que produzem luz através do processo de oxidação de luciferina catalisada por oxiredutases denominadas *luciferases*. Diferentes espécies de pirilampos possuem enzimas diferentes, as quais reagem às condições ambientais de diversas formas, alterando o comprimento de onda da radiação emitida. Para compreender o mecanismo de ação dessas enzimas, pode-se utilizar Modelagem Molecular, técnica que nos permite simular o sítio ativo da enzima e compreender como este afeta o mecanismo da reação. Aliada a isso, pode-se utilizar a Teoria do Funcional de Densidade Dependente do Tempo (TDDFT) para estudar os estados excitados formados, os quais, ao relaxar, promovem a emissão de radiação, responsável pela luz dos pirilampos. Dessa forma, pode-se compreender como a enzima interfere na cor da luz emitida.



Figura 1 – Pirilampo: *Luciola Crucjata*

METODOLOGIA

Nesse estudo, partiu-se da molécula de luciferina mais comum entre os pirilampos para determinação do mecanismo da reação e da luciferase isolada a partir da espécie *Luciola Crucjata*, um pirilampo típico do Japão, para o estudo do efeito da enzima.

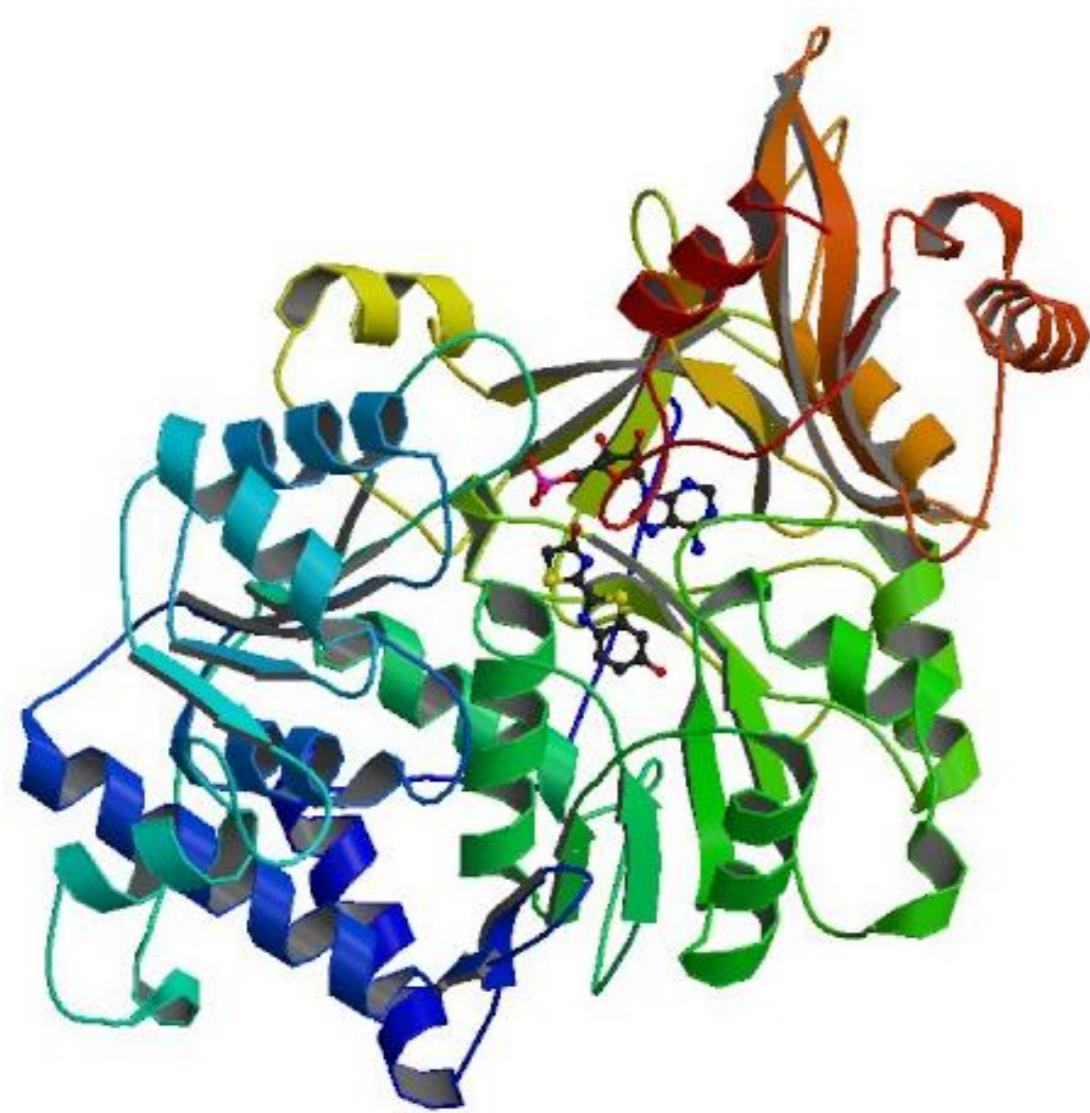


Figura 2 – Luciferase complexada com oxiluciferina+AMP

O mecanismo da reação de oxidação foi determinado utilizando DFT, aplicando aos estados excitados o TDDFT, com funcional B3LYP e conjunto de bases 6-31+G e 6-31+G*. Para modelar o sítio ativo da enzima, foi utilizada a estrutura cristalina obtida por Difração de Raio-X disponível no RCSB Protein Data Bank¹ e o software de modelagem MOLLEN.

1 - RCSB Protein Data Bank. PDB Code: 2D1S.
 Branchini et. al. *Biochemistry*, **38**, 13223-13230, 1999.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira etapa do projeto, foi determinado o mecanismo da reação, o qual envolve a luciferina complexada no sítio ativo da enzima juntamente com uma molécula de ATP.

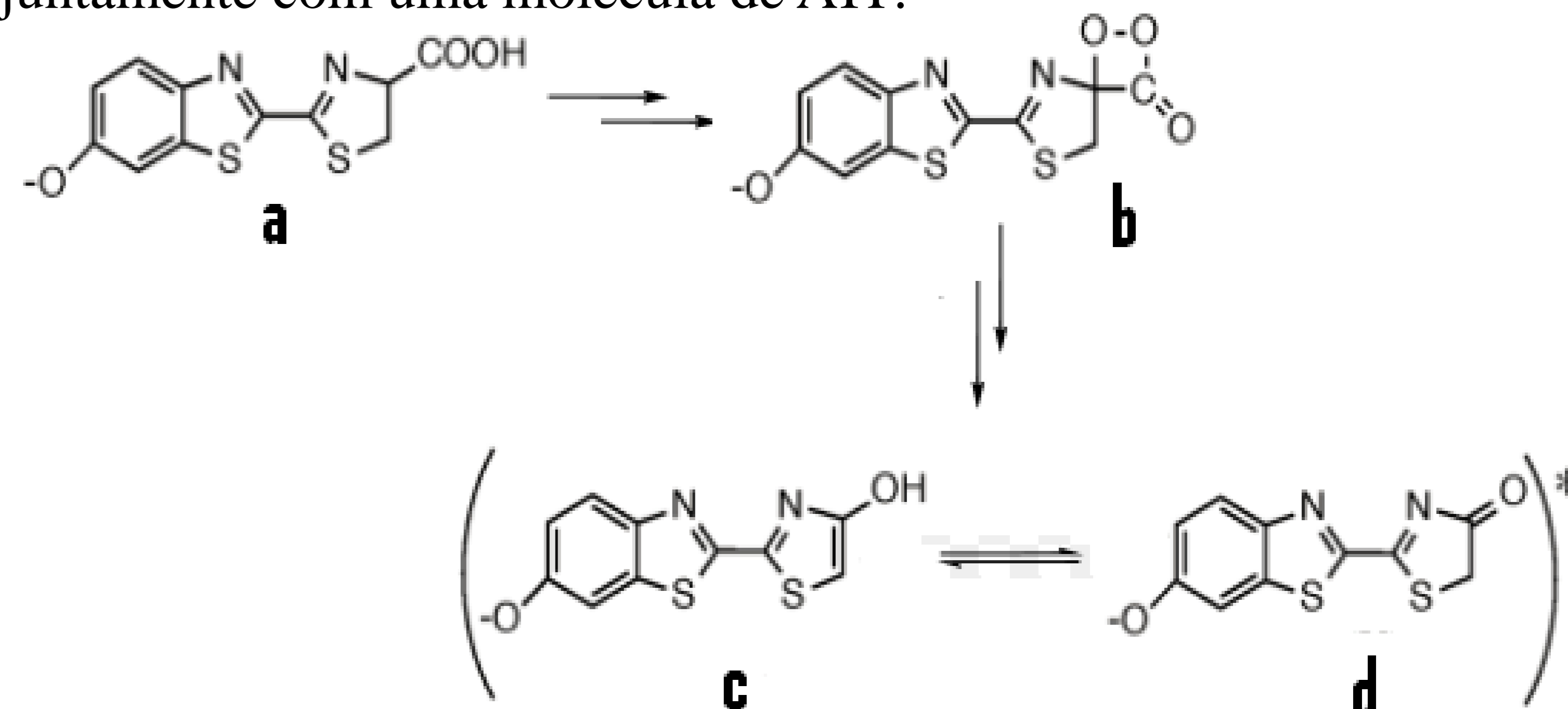


Figura 3 – Resumo do mecanismo proposto

Foi observado que a 1,2-dioxietanona (b), altamente energética, gera os produtos c e d excitados. Com a relaxação de c e d há emissão de luz verde se a forma enólica predominar ou vermelha se a forma ceto for a predominante.

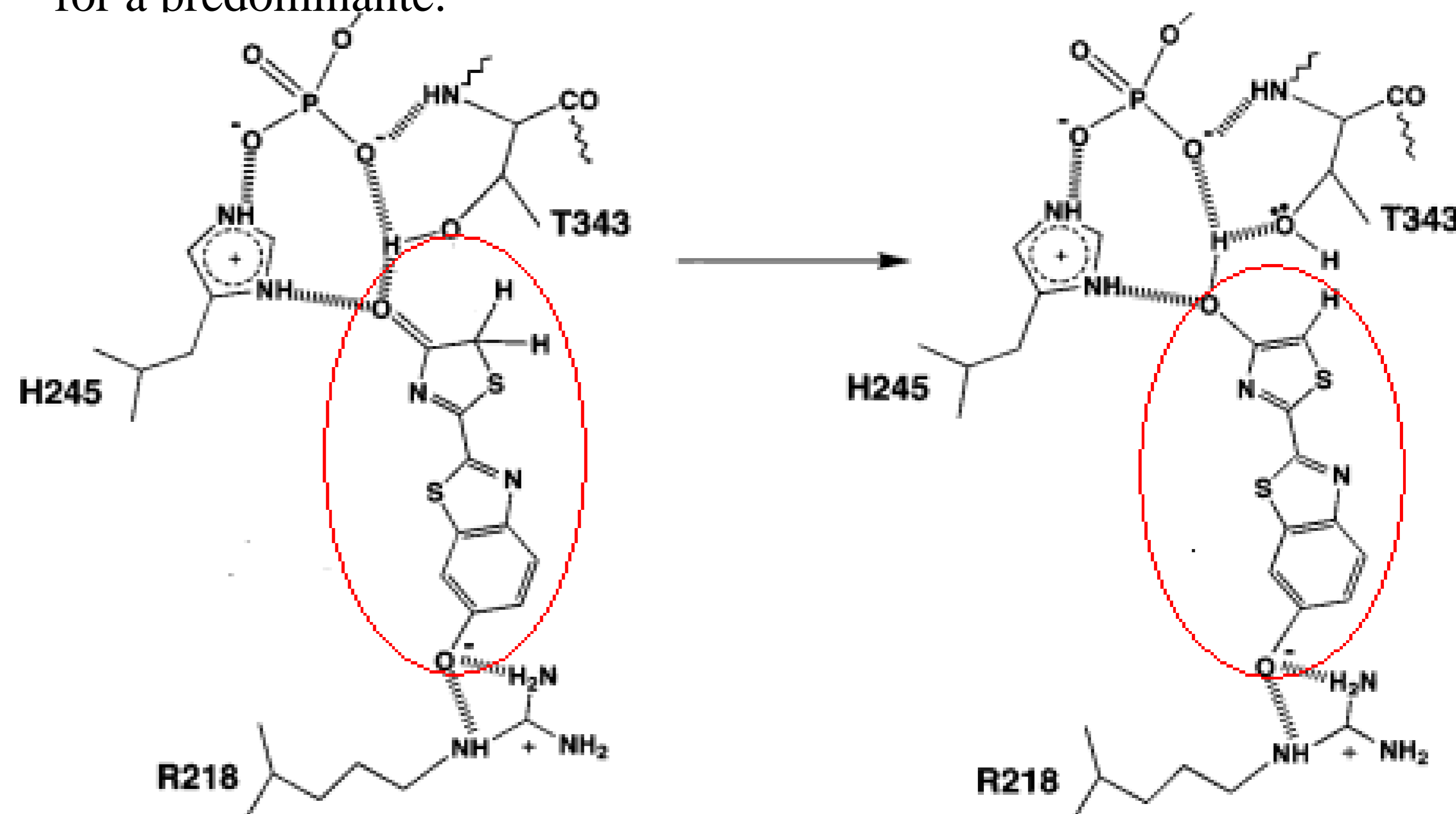


Figura 4 – Produtos complexados no sítio ativo da enzima

CONCLUSÃO

Utilizando DFT aliado a dados obtidos na literatura, foi possível determinar o mecanismo completo pelo qual a reação de oxidação de luciferina ocorre, bem como a estrutura do intermediário 1,2-dioxietanona, responsável pelo estado excitado formado na etapa final. Também foi possível observar a forma como os produtos se ligam à enzima, o que permite, posteriormente, compreender como as condições ambientais (pH, por exemplo) interferem no produto obtido, logo, na cor da luz emitida.

*felipe_wieira@hotmail.com