



Bioluminesenssi

Elävän valon salaperäinen maailma

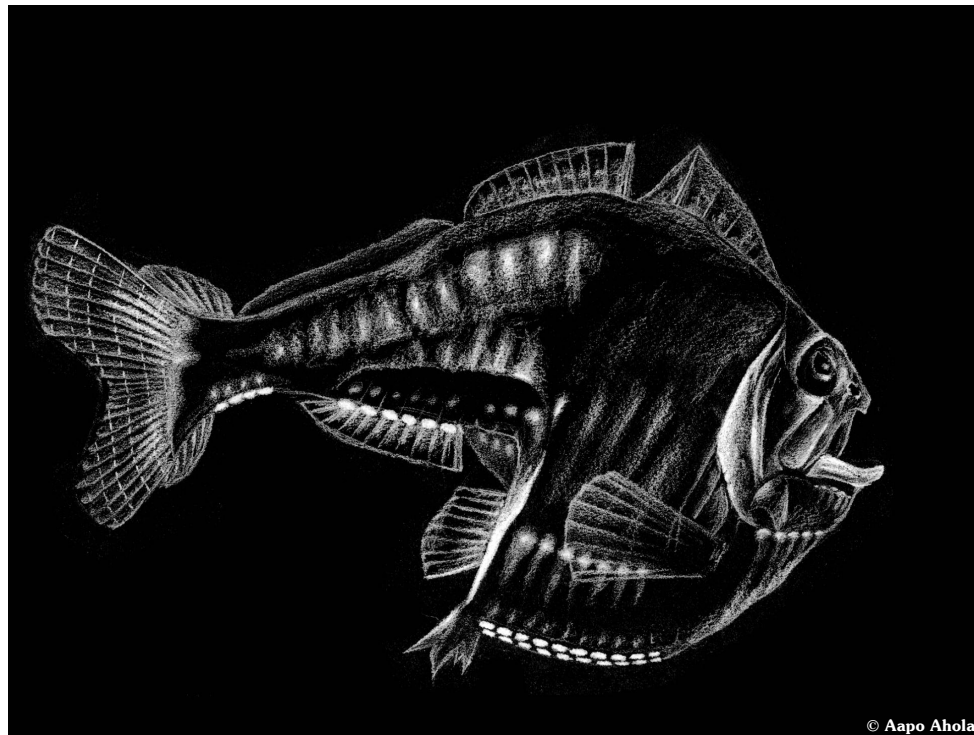
Madeiran saarella kalastajat houkuttelevat kaloja valoa tuottavien kalmarien paloilla, joita he kiinnostavat pitkien siimojensa tähden. Kalmarien tuottama valo on kylmää. Se on peräisin kemiallisesta reaktiosta, jonka sivutuotteena ei synny juuri lainkaan lämpöä. Valon kemiallista syntymistä elävissä organismeissa kutsutaan bioluminesenssiksi.

Bioluminesenssia tavataan lähes kaikissa eliöryhmissä, kuten bakteereissa, levissä, sienissä, alkueläimissä, hyönteisissä, nilviäisissä ja kaloissa. Valoa tuottavat eliöt kuitenkin puuttuvat esimerkiksi putkilokasveista ja maalla elävistä selkärangkaisista. Suurin osa valoa tuottavista eliöistä elää meressä.

Näkyä tai olla näkymättä

Eliöt käyttävät bioluminesenssia hyvin erilaisiin tarkoituksiin. Joillekin se on keino piiloutumiseen tai vihollisen hämäämiseen, toisille taas keino vastakkaisen sukupuolen houkutteluun. Joillekin eliöryhmille bioluminesenssin merkitystä voi vain arvailla.

Yleensä eläimet piiloutuvat väriä vaihtamalla, mutta myös valon avulla voi piiloutua: Saalistajat havaitsevat lähellä merenpintaa uivat kalat tummina silhouetteina yl-

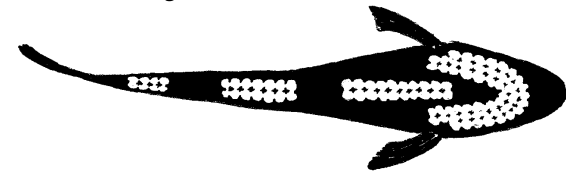


© Aapo Ahola

häältäpäin tulevaa valoa vasten. Helmiäiskaloilla (*Argyropelacus*) on vatsapuolellaan kaksi riviä valoelimiä, joiden tuottama valo on lähes yhtä kirkasta kuin veden läpi suodattunut auringonvalo. Nämä valot tekevät silhuetin selvästi vaikeammin havaittavaksi. [1] Myös eräät mustekalat ovat kehittäneet vastaavan menetelmän, mutta ne loistavat koko ruumiillaan.

Loistavien eliöiden määrä lisääntyy selvästi syvemmälle mentäessä. Monet syvänmerenkalat joutuvat tuottamaan valoa nähdäkseen, mutta sen tarkoituksena

Kuva 1: Syvänmerenhelmiäiskala (*Argyropelacus aculeatus*) sivulta (yllä) ja alhaaltapäin (alla). Valoelinten tuottama valo auttaa kalaa sulautumaan veden pinnan läpi kuultavaan auringon valoon.



voi olla myös esimerkiksi saaliin houkutteleva.

Syvänmerenkrotti on yksi erikoisimmista syvänmerenkalaisista. Se ui koko elämänsä ajan suu auki odottaen, että sen valoelimen houkutteleva saalis uisi sisään.

Luminesenssi

Luminesenssi tarkoittaa tapahtumaa, jossa atomin tai molekyylin viritystila purkautuu, ja atomi palaa alemmalle energiatasolle vapauttaen ylimääräisen energian valona. Jos luminesenssi tapahtuu heti viritymisen jälkeen, sitä kutsutaan *fluoresenssiksi*. Pitkän ajan päästä tapahtuvaa luminesenssia kutsutaan *fosforenssiksi*. Viritystilan aiheuttaneen energialähteen mukaan luminesenssi luokitellaan seuraavasti: [14]

Fotoluminesenssi

Fotoluminesenssissa atomiin osuva foton viritää sen. Viritystilan purkautuessa voi syntyä joko samanlainen foton, kaksi tai useampia fotoneita, joiden yhteenlaskettu energia on yhtä suuri kuin alkuperäisen, tai pienempienerginen foton, jolloin osa energiasta muuttuu lämmöksi. Fotoluminesenssia esiintyy muun muassa fosforipitoisissa kivissä ja pimeässä loistavissa tarroissa (fosforenssi) sekä hampaissa ja monilla valkaisevilla pesuaineilla pestyissä vaatteissa, kun niitä tarkastellaan ultravioletivalossa.

Kemiluminesenssi

Kemiallisessa reaktiossa syntyvän reaktiotuotteen konfiguraatio ei ole optimaalinen, jolloin se hetken kuluttua muuttaa muotoaan ja emittoi samalla fotonin. Bioluminesenssi on kemiluminesenssin erikoistapaus.

Elektroluminesenssi

Elektroluminesenssi syntyy kaasussa, joka on voimakkaassa sähkökentässä. Se esiintyy muun muassa salamoissa, loistelampuissa ja Pyhän Elmon tulessa.

Triboluminesenssi

Triboluminesenssi aiheutuu eräiden materiaalin fysikaalisesta ärsyttämistä, kuten venyttämistä, hankaamisesta ja rikkomisesta.

Sonoluminesenssi

Sonoluminesenssi syntyy joissakin orgaanisissa nesteissä, kun ne altistetaan ultraäänelle.

Krotilla on pitkät hampaat, jotka ovat tavallisesti kääntyneet sisänpäin helpottaen näin saaliin sisään-pääsyä. Kun saalis ui sisään, hampaat lokahtavat pystyasentoon sulkien saaliin kalterien taakse. Aikuiset Krotit syövät yleensä vain kerran elämässään, ja syötyään ne ovat valmiita tuottamaan jälkeläisiä.

lähettämänsä valo. *Malacosteus*-suvun kaloilla on silmässään toisenlaista proteiinia, joka muuttaa valon takaisin siniseksi, jolloin ne voivat havaita sen tavallista sinistä pigmenttiä sisältävillä aistinsoluillaan. Suku *Aristostomias* näyttää ratkaiseen ongelman tavallisemmalla tavalla, ja kehittäneen itselleen punaista pigmenttiä.

Suurin osa meressä esiintyvistä bioluminesenssista on väriltään sinivihreää, sillä merivesi suodattaa muut aallonpituudet nopeasti pois. Samasta syystä monet eliöt aistivat vain sinistä valoa. *Malacosteid*-heimon kalat ovat oppineet hyödyntämään tätä ominaisuutta: Ne tuottavat silmien alapuolella sijaitseissa valoelimissä punaista valoa. Vaikka punainen valo ei etenkään merivedessä pitkälle, se auttaa kuitenkin kalaa näkemään saaliseläimet niiden huomaamatta. Lisäksi näillä kaloilla on erillinen valoelin, jossa ne tuottavat tavallista sinivihreää valoa.

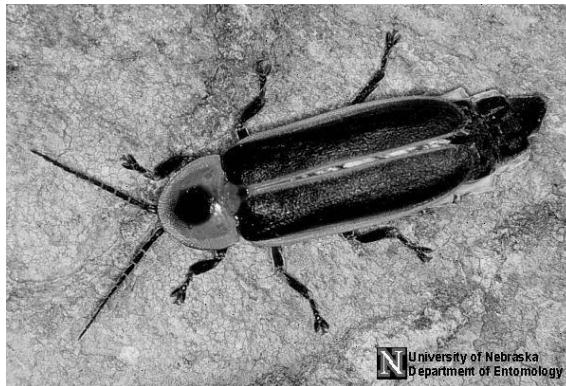
Malacosteid-heimon kalojenkin valo syntyy sinisenä, mutta niiden valoelimissä on fluoresoivaa proteiinia, joka absorboi sinisen valon ja emittoi punaista. Tämä ei kuitenkaan vielä riitä, vaan kalojen on pystyttävä myös näkemään

Kohtalokas myrkkyy

Pariuduttuaan erään tulikärpäsen, *Photuris pennsylvanican* naaras muuttaa välähdyksiä, ja alkaa vastata *Photinus pyralis* -koiraiden signaaleihin. Kun hämääntynyt koiras laskeutuu naaraan viereen paritellakseen, naaras tappaa koiraan ja syö sen. Tämä johtuu mitä ilmeisimmin *P. pyraliksen* sisältämästä Bufagiiniiksi kutsutusta vaarallisesta myrkyästä, joka suojaa tulikärpästä mm. lintuja ja hämähäkkejä vastaan. Syömällä yhden *P. pyraliksen* *P. pennsylvanica* saa sekä itselleen että munilleen myrkyntäntä suojan. *P. pyraliksen* oma myrkkyy voi siis koitua sen kohtaloksi.

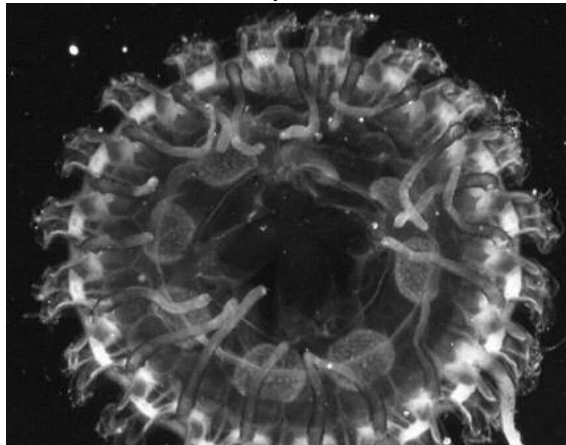
Sama myrkkyy on tappanut yhdysvalloissa myös lukuisia lemmikkiliskoja. Tulikärpäsiä on helppo pyydystää, ja siksi niitä onkin syötetty monille kaikkiruokaisille hyönteissyöjäliskoille, joiden alkuperäisellä elinalueella ei elä tulikärpäsiä, eivätkä ne siksi osaa niitä varoa.

Lusibufogiini muistuttaa rakenteeltaan sormustinkukan myrkyä, digitalisglykosideja, joita oikein annosteltuna voidaan käyttää sydänlääkkeenä. Jo yksi tulikärpänen sisältää tappavan annoksen. [13, 19]



Kuva 3: Tämä yhdysvalloissa erittäin yleinen tulikärpänen (*Photinus ignitus*) sisältää tarpeeksi myrkyä kookkaan lemmikkiliskon liskon tappamiseen.

Kuva 4: Noin 3 cm pitkä syvänmerenmeduusa *Atolla vanhoeffeni* esiintyy kaikkialla maailmassa. Häiritynä se voi tuottaa uskomattoman valonäytöksen.



© Steven Haddock

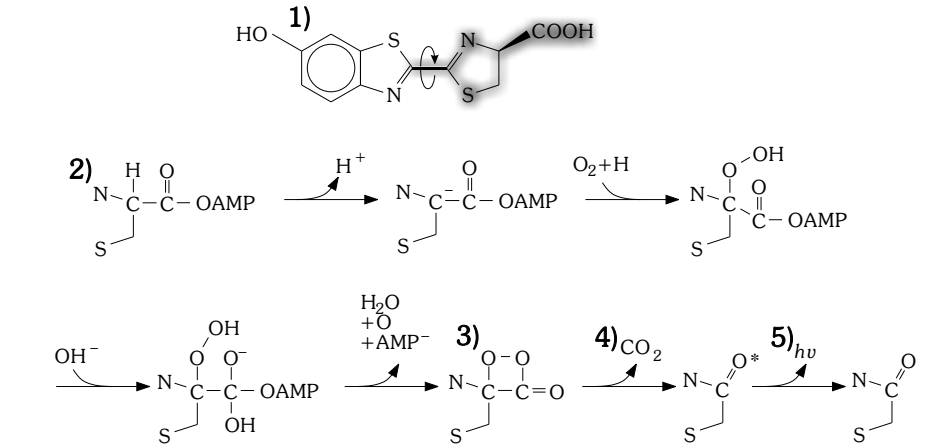
Kiiltomadot

Kiiltomadot (Lampyridae) ovat pieniä noin 10 – 20mm pituisia kovakuoriaisia, joihin kuuluu parituhatta lajia. Suomessa elää melko yleisenä *Lampyris noctiluca* eli ns. eurooppalainen kiiltomato. Eniten kiiltomatoja esiintyy keski-kesällä aukeiden reunoilla, mutta niiden löytäminen on helpompaa elokuussa, jolloin iltayöstä kiiltomatojen parhaaseen lentoaikaan on jo riittävän pimeää. Kaikkein voimakkaimmin loistavat siivettömät noin 20 mm pitkät naaraat, jotka kiipeävät heinänkorsiin houkuttelemaan lentäviä runsaan kymmenen millimetrin mittaisia koiraita luokseen. Kiiltomatojen valo syntyy vatsapuolella sijaitsevassa kolmen läpikuultavan solukerroksen muodostamassa ns. valoelimessä, jonka naaras kääntää ylöspäin koirasta houkutellessaan. Myös koiraat, naarasta muistuttavat toukat ja jopa munat loistavat, vaikkakin naarasta heikommin. Sekä toukat että aikuiset syövät

Kuva 6: Erään pohjoisamerikkalaisen tulikärpäslajin (*Photinus ignatus*) koiras väläyttelee valoaan.



© J. E. Lloyd



Kuva 5: Kiiltomatojen lusiferiini (1) (*Sidos*, jonka ympäri kiertyminen tapahtuu (ks. laattikko s. 17) on merkitty kiertävällä nuolella ja aktiivinen osa harmaalla taustalla) sekä sen oletettu lusiferaasin katalysoima hapettumisreaktio (vain aktiivinen osa näkyvissä): AMP kiinnittyy lusiferiiniin (2). Lusiferiinin aktiiviseen kohtaan muodostuu peroksidirengas (3), joka hajoaa karbonyyliryhmäksi ja hiilidioksidiksi (4). Reaktiossa vapautuu niin paljon energiaa, että karbonyyliryhmän happiatomi jää virittyneeseen tilaan. Viritystilän purkauksessa syntyy valoa (5). (Reaktioyhtälö on muodostettu lähteiden [7, 12] perusteella.)

maakotiloita. Toinen Suomessa elävä kiiltomatolaji, Pikkukiiltomato (*Phosphaneus hemipterus*), on hyvin harvinainen, ja sen elintavat tunnetaan huonosti.

Pohjois-Amerikassa ja Etelä-Euroopassa elää tulikärpäsiiksi kutsuttuja samaan heimoon kuuluvia hyönteisiä, jotka ovat kehittäneet paljon monimutkaisempia viestintämenetelmiä. Esim. pohjoisamerikkalaisen *Photinus pyralix* koiras lentää ja väläyttää valoaan säännöllisin väliajoin (n. 5,8s [1]). Kun maassa odottava naaras näkee valon, se väläyttää takaisin noin kahden sekunnin kuluttua (lämpötilasta riippuen), jolloin koiras lähtee lentämään naarasta kohti väläyttäen hetken kuluttua uudelleen, johon naaras taas vastaa. Tämä ehtii yleensä tapahtua useita kertoja ennen kuin koiras pääsee naaraan luo.

Paikalla on kuitenkin myös muita koiraita. Kuinka koiras välttää erehdyksen? On havaittu, että koiras tunnistaa naaraan vastaukseen kuluva ajasta, ja erehdys voi tapahtua vain, jos toinen koiras sattuu väläyttämään valoaan täsmälleen kahden sekunnin kuluttua, mutta tällöinkin suunta korjaantuu heti seuraavan välähdyksen yhteydessä. Välähdyksen välinen aika kuten myös välähdyksen muoto (kuva) ja aallonpituus ovat lajikohtaisia.

Luminesenssin kemiaa

Luminesenssi syntyy, kun virittyneessä tilassa oleva atomi tai molekyyli palaa takaisin normaali-tilaan. Elektroni, joka molekyyliin virittyessä on siirtynyt ulommalle

Hapen välttämättömyyden bioluminesenssille voi todeta esimerkiksi laittamalla luminoivia bakteereita tai mesisien rihmastoa purkkiin ja pumppaamalla sen tyhjäksi. Valo himmenee ilman ohetessa ja sammuu lopulta kokonaan. Kun astiaan taas päästetään ilmaa, syntyy salamien välähdyksiä muistuttava äkillinen valonväläys, kun kaikki hapenpuutteen aikana syntynyt lusiferiini hapettuu kerralla. Tämän jälkeen valon voimakkuus palaa normaalille tasolle.

kuorelle, palaa takaisin alemmalle kuorelle¹⁾, jolloin ylimääräinen energia vapautuu valona. Viritystilan saavuttamiseen tarvitaan kuitenkin paljon energiaa. Tarpeeksi suuren energiamäärän vapautuminen yhden reaktioaskelen aikana on hyvin harvinaista²⁾. Bioluminesenssin mahdolliseksi syntymekanismit on tarjottu kahta vaihtoehtoa [12]:

1. Elektroninsiirtoreaktiossa negatiivisesti varautunut ioni luovuttaa positiiviselle ionille elektronin. Tällöin saattaa vapautua tarpeeksi energiaa jälkimmäisen viritykseen. Välittömästi tämän jälkeen viritystila purkautuu ja energia vapautuu valona.

2. Tarvittava energia voi myös vapautua neliatomisen peroksidirenkkaan hajotessa. Peroksidirenkkaassa on kaksi toisiinsa yksinkertaisilla sidoksilla liittyntä happiatomia sekä kaksi hiiltä. Renkaan hajotessa muodostuu yleensä hiilidioksidiä ja jäljelle jää esteriryhmä. Voimakasta näkyvää va-

1) Virittyminen voi tapahtua myös elektroniparin toisen elektronin siirtyessä saman pääkuoren toiselle alakuorelle ja sen spinin kääntyessä vastakkaiseksi.

2) Jos energia vapautuu useamman askelen aikana, se ei riitä virittämään atomia vaan vapautuu lämpönä.

```
MEDKNILYGP EPFHPLADGT AGEQMFYALS RYADISGCIA LTNAHTKENV LYEEFLKLSCL
RLAESFKKYG LKQNDTIAVC SENGLQFFLP LIASLYLGI I AAPVSDKYIE RELIHSLGIV
KPRIIFCSKN TFQKVNLVKS KLKYVETIII LDLNEDLGGY QCLNNFISQN SDINLDVKKF
KPNSFNRDDQ VALVMFSSGT TGVSKGVMLT HKNIVARFVSH CKDPTFGNAI NPTTAILTVI
PFHHGFGMTT TLGYFTCGFR VALMHTFEEL LFLQSLQDYK VESTLLVPTL MAFFPKSALV
EKYDLSHSKE IASGGAPLSK EIGEMVKKRF KLNFRVQGYG LTETTSAVLI TPDTDVVRPGS
TGKIVPFHAV KVVDPDTGKI LGPNETGELY FKGDMIMSKY YNNEEATKAI INKDGWLRSG
DIAYYDNDGH FYIVDRKLSL IKYKGYQVAP AEIEGILLQH PYIVDAGVTG IPDEAAGELP
AAGVVVQTGK YLNEQIVQNF VSSQVSTAKW LRGGVKFLDE IPKGSTGKID RKVLRQMFEL
HKSKL
```

Kuva 7: Erään pohjoisamerikkalaisen tulikärpäsen (*Photuris pennsylvanica*) 545 aminohappoa sisältävän lusiferaasin aminohappojärjestys. [26]

loa tuottava bioluminesenssi näyttäisi olevan yhdistelmä näistä kahdesta: molekyylin sisällä tapahtuu elektronin siirto, joka laukaisee peroksidirenkkaan hajoamisen. [12]

Näkyvän bioluminesenssin voi yleistää reaktioksi, jossa lusiferiiniksi³⁾ kutsuttu aine hapettuu lusiferaasi-entsyymien vaikutuksesta oksilusiferiiniksi, joka virittyy. Suurin osa kemiallisesta energiasta vapautuu valona viritystilan purkautuessa, ja vain pieni osa muuttuu lämmöksi reaktion aikaisemmissa vaiheissa.

Erilaisten lusiferiinien suuressa määrässä voi päätellä, että bioluminesenssi on syntynyt evoluutiohistorian aikana itsenäisesti noin 30 kertaa [12]. Lähes kaikille bioluminesenssireaktioille näyttää

3) Luciferin ⇔ lat. valon kantaja

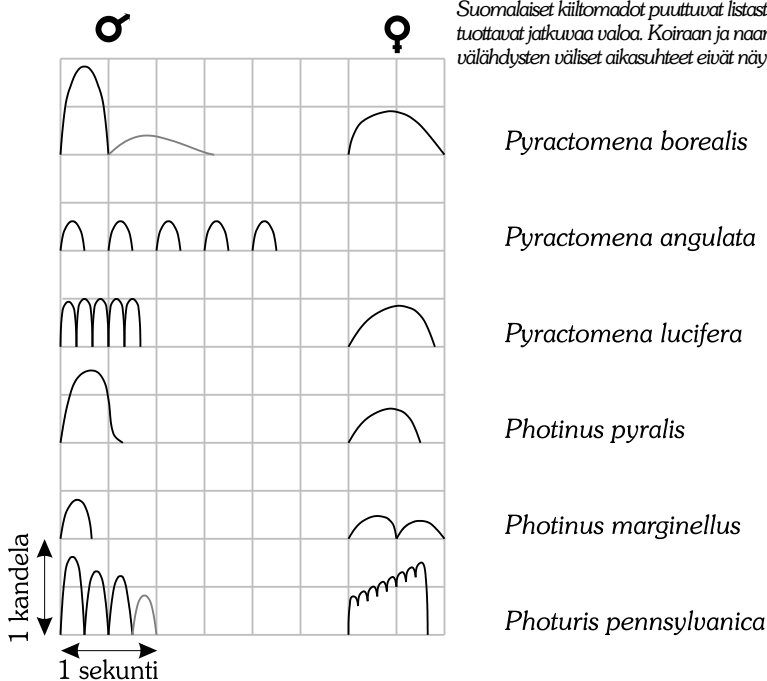
kuitenkin lusiferiinin ja lusiferaasin lisäksi olevan yhteistä happimolekyylien osallistumisen reaktioon sekä läheisen yhteys soluhengitykseen.

Lusiferaasin emäsjärjestys on erilainen kaikilla eliöillä, mutta lusiferiinejä lienee yhteensä vain joitakin kymmeniä, joista ainakin seitsemän rakente tunnetaan tarkasti [12]. Osittain tämä johtuu siitä, etteivät kaikki eliöt

itse tuota bioluminesenssiin tarvittavia kemikaaleja. Monien lajien valoelimissä elää symbioottisia bakteereita, toiset taas syövät va-

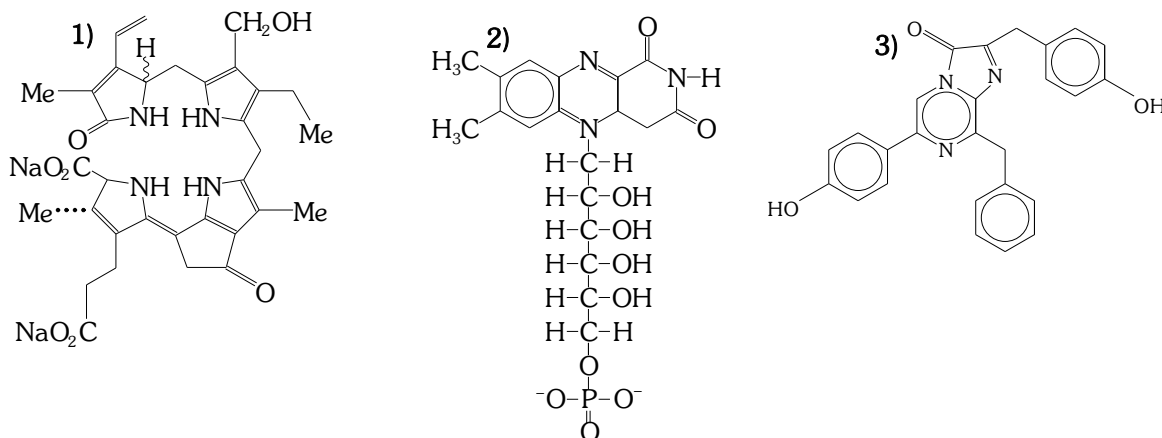
A	Alaniini
B	Asparagiini tai asparagiinihappo
C	Kysteini
D	Asparagiinihappo
E	Glutamiinihappo
F	Fenylalaniini
G	Glysiini
H	Histidiini
I	Isoleusiini
K	Lysiini
L	Leusiini
M	Metioniini
N	Asparagiini
P	Proliniini
Q	Glutamiini
R	Arginiini
S	Seriini
T	Treoniini
V	Valiini
W	Tryptofaani
Y	Tryosiini
Z	Glutamiini tai glutamiinihappo

Kuva 8: Tulikärpästen välähdykskuvioita. Suomalaiset kiiltomadot puuttuvat listasta, sillä ne tuottavat jatkuvaa valoa. Koiraan ja naaraan välähdyksen väliset aikasuhteet eivät näy kuvassa.



Synkronismi

Voisi kuvitella, että tulikärpästen määrätty vastausaika johtaisi helposti synkronismiin usean naaraan vastatessa samaan väläykseen. *P. pyralis* -kannalla tämä on kuitenkin hyvin harvinaista, vaikka ilmiö onkin onnistuttu tuottamaan keinotekoisesti. Eräiden aasialaisten tulikärpäslajien koiraat sitä vastoin suorastaan pyrkivät synkronismiin. Ne keraantuvat illalla puihin, ja alkavat väläytellä valoaan tasaisin välein. Alkuillasta välähdykset sattuvat täysin epätahdissa, mutta illan edetessä ne muodostavat yhä laajempia synkronoituja ryhmiä, kunnes koko puu välkkyi tahdistetusti. Vierisissä puissa väläykset ovat myös keskenään synkronissa, mutta eri tahdissa toisen puun kanssa. [] Näillä tulikärpäksillä väläyminen alkaa uudestaan joka ilta, mutta esimerkiksi *Colophotia* -suvun koirailta se saattaa pysyä muuttumattomana viikkokausia häiriötekijöistä riippumatta. [1]

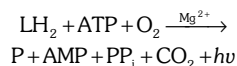


Kuva 9: Erlaisia Lusiferiineja: 1) Panssarisiimaeliöiden lusiferiini, jonka uskotaan olevan klorofyllin johdannainen. Sen hapettumista estävä lusiferiiniinsitojaproteiini reagoi pH:n muutoksiin. 2) Bakteerien lusiferiini on pelkistynyt flaviinimononukleotidi (FMNH₂), joka tavallisesti toimii soluaineenvaihdunnassa vedyn siirtäjänä. Joissakin bakteereissa se osallistuu bioluminesenssiin reaktioon hapettuessaan yhdessä erään pitkäketjuisen alfaattisen aldehydin kanssa. 3) Coelenterasiini, joka osallistuu mm. aequoriinin muodostamiseen.

loa tuottavia eliöitä, joiden lusiferiinin tai lusiferaasin ne käyttävät omaan bioluminesenssiinsä. Evoluutio ei myöskään mahdollista lusiferiinin rakenteen muuttumista kovin helposti, sillä monilla lusiferiineilla jopa konformaatioisomeereiltä puuttuu kyky tuottaa valoa.

Energiaa ATP:stä

Kiiltomatojen bioluminesenssi-reaktiossa tarvittava energia saadaan adenosiinitrifosfaatista (ATP).



ATP hajoaa pyrofosfaatiksi (PP_i) ja AMP:ksi, joista jälkimmäinen reagoi lusiferiinin (LH₂) kanssa muodostaen lysiferyyliadenylaattimolekyylin. Molekyylin aktiiviseen kohtaan muodostuu peroksidirengas, joka hajoaa hiilidioksidiksi ja karbonyyli-ryhmäksi vapauttaen energiaa. Näin syntynyt oksilusiferiini (P) virittyy ja emittoi fotonin viritystilasta purkautuessa. (ks. kuva 4) Lusiferaasi katalysoi sekä lysiferyyliadenylaatin muodostumista että peroksidirengkaan hajoamista. Lusiferaasin lisäksi reaktio edellyttää magnesiumionien läsnäoloa. Emittoidessaan fotonin oksilusiferiini

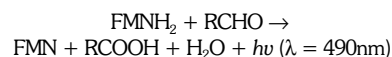
on vielä kiinni lusiferaasissa. [12]

Kiiltomatojen bioluminesenssi-reaktio on yksi tehokkaimpia. Sen hyötysyhyde on noin 0,92 eli 92% energiasta vapautuu valona. Ideaalisissa olosuhteissa fotonit saattaa syntyä jopa yksi jokaista hapettunutta lusiferiinimolekyyliä kohden, mutta yleensä tuotanto ei ole näin hyvä.

Bakteerit

Luminoivia bakteereita elää kaikkialla meressä. Ne tuottavat valoa kuitenkin vain tiheissä kasvustoissa, ja niiden loisteen voi havaita esimerkiksi mädäntyneessä kalassa, jossa bakteerit ovat päässeet kasvamaan tarpeeksi runsaslukuisiksi. Bakteereista parhaiten tunnettuja ovat meressä elävät *Vibrio harveyi*, *V. fischeri*, *Photobacterium phosphoreum* ja *P. leiognathi* sekä maalla elävä *Xenohabdus luminescens* [17].

Bakteerien bioluminesenssi on erityisen läheisessä yhteydessä soluaineenvaihduntaan, sillä niiden lusiferiinina toimii pelkistynyt flaviinimononukleotidi (FMNH₂), joka tavallisesti toimii vedyn siirtäjänä. [10, 18] Bakteereissa tapahtuva lusiferaasin katalysoima luminesenssi-reaktio voidaan yleistää seuraavasti:



missä RCOOH on pitkäketjuinen alifaattinen aldehydi, jonka hapettuminen kuuluu välttämättömänä osana luminesenssi-reaktioon. [10, 17, 18]

Monet suuremmat eliöt elävät symbioottisessa suhteessa valaisevien bakteerien kanssa. Näillä on ihanteelliset isännän kasvuoletukset valoelimestä. Erään kalmarin (*Euprymna scolopes*) valoelimestä elää *Vibrio fischeri*-bakteereita. Näitä bakteereita on kaikkialla merivedessä noin 100 kappaletta millilitrassa, mutta tällöin ne eivät kuitenkaan tuota valoa. Valon tuotanto alkaa vasta, kun bakteeritiheys nousee 10¹⁰ – 10¹¹ soluun/ml kuten esimerkiksi valoelimestä.

Koska *V. fischeri* valon tuotanto liittyy symbioottiseen suhteeseen, se on turhaa bakteerien eläessä vapaana merivedessä tai vasta kehityksessä olevissa valoelimestä, joiden bakteerikanta ei muutenkaan olisi tarpeeksi vahva tuottamaan merkittävää valomäärää. Niinpä bakteerit ovatkin kehittäneet erityisen keinon muiden bakteerien läheisyyden aistimiseksi.

Bakteerit tuottavat autoindusioijaksi⁴⁾ kutsuttua molekyyliä, joka rakenteensa vuoksi pystyy va-

paasti kulkemaan solukalvon läpi. Kun bakteereita on harvassa, autoindusoija diffundoituu ympäröivään veteen, mutta tiheissä kasvustoissa solujen välinen tila alkaa täyttyä, ja autoindusoijaa siirtyy yhä enemmän takaisin solujen sisälle.

Kaikkien *V. fischerin* luminesenssigeenien toimintaa säätelee luxR:ksi kutsuttu proteiini, jota on jatkuvasti solun solulimassa noin 500 molekyyliä. luxR:ssä on kaksi aktiivista kohtaa, joista toinen reagoi autoindusoijan ja toinen DNA:n lux-operonin kanssa. Kun autoindusoija kiinnittyy luxR:ään, se aktivoituu ja käynnistää luminesenssiin tarvittavien proteiinien tuotannon. Samalla syn-

4) Autoindusoijasta käytetään nimityksiä N-(3-oksoheksanoyyli) homoseriinilaktoni tai β -ketokarpyryyli homoseriinilaktoni

tyy lisää autoindusoijaa, joten sen määrä kasvaa entisestään. [17]

Symbioottisten bakteerien tuottaman valon säätely on yleensä mekaanista: Valon pääsy ulos valoelimistä estetään esimerkiksi suljinlöpällä. Eräillä eliöillä symbioottiset bakteerit elävät valoelimen solujen sisällä eli ovat evoluutiossa soluelimiksi⁵⁾. Tällöin eliöt voivat säädellä valonvälähdyksiä valoelinsolujen lähettämien ärsykkeiden avulla. Tarkkaa säätelymekanismia ei kuitenkaan tunneta. [12]

Panssarisiimaeliöt

Panssarisiimaeliöt ovat pieniä vedessä keijuvia eliöitä, jotka mekaanisesti ärsytettyinä synnyttävät valonvälähdyksiä.

Hankajalkaiset ovat panssarisiimaeliöiden luonnollisia vihollisia, mutta siimaeliöt ovat kehittäneet ainutlaatuisen puolustusmekanismin: Kun hankajalkaiset lähestyvät siimaeliöparvea, ne aiheuttavat veteen virtauksia, jotka laukaisevat siimaeliöiden bioluminesenssin.

Valo puolestaan houkuttelee paikalle kaloja, jotka syövät hankajalkaiset pois häiritsemästä. Näin kalat ja panssarisiimaeliöt hyödyttävät toinen toisiaan.

Monien muiden eliöi-

5) vrt. aitotumallisten solujen evoluutio



Kuva 10: Eräs kokonaikaikantaisten alaluokkaan (*Holobasidiomycetidae*) kuuluva lahottajasieni. Sieni on kuvattu päivänvalossa (yllä) ja omassa valossaan (alla). Valon merkitystä sienille ei tunneta, mutta on ehdotettu, että se houkuttelisi hyönteisiä leivittämään itiöitä. Tämänkin kuvan sienessä ainoastaan itiöistä tuottavat heltat loistavat.



den tavoin panssarisiimaeliöiden bioluminesenssi on läheisessä yhteydessä soluaineenvaihduntaan ja fotosynteesiin. Niiden tuottaman valon voimakkuus riippuu aurinkovalon määrästä edellisenä päivänä. Mitä enemmän aurinkoa ne ovat saaneet, sitä kirkkaammin ne loistavat. Panssarisiimaeliöiden lusiferiinin muistuttaa rakenteeltaan klorofylliä, jonka johdannainen sen arvellaankin olevan.

Panssarisiimaeliöt säätelevät bioluminesenssireaktiota nk. lusiferiiniinisisitojaproteiinin avulla. Normaali-pH:ssa (8) proteiini sitoutuu lusiferiiniin estäen näin sitä reagoimasta, mutta pH:n laskiessa kuuteen proteiini menettää toiminta-

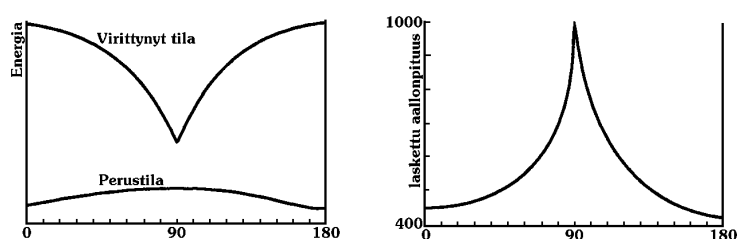
Väri vaihtelua

Bioluminesenssin väri vaihtelee merkittävästi eri kiiltomato- ja tulikärpäslajien välillä, vaikka ne käyttävät samaa lusiferiinia. Valon aallonpituus riippuukin pääasiassa jokaiselle lajille ominaisesta lusiferaasin rakenteesta. Lisäksi ulkoisten tekijöiden kuten lämpötilan, matalan pH:n tai metalli-ionien on todettu voivan nostaa aallonpituutta normaalista vihreästä (552 nm – 528 nm) jopa punaiseen (noin 610 nm). [4]

Kiiltomadon oksilusiferiinin aktiivinen osa on tavallisesti samassa tasossa muun rungon kanssa. Se pääsee kuitenkin helposti kiertymään sitä muuhun runkoon yhdistävän hiili-hiili-sidoksen ympäri siten, että molekyylin energia kasvaa vain vähän, sillä sidoksen lähellä ei ole kiertymistä estäviä vetyatomeita. Kun lusiferiini on sitoutuneena lusiferaasi-entsyymiin, entsyymien vetyatomit muodostavat vetysidoksia lusiferiinin typpi- ja rikkiatomeiden kanssa ja pakottavat näin sen aktiivisen kohdan tiettyyn kulmaan muuhun runkoon nähden.

Lusiferiinin virityssä tilanne kuitenkin muuttuu. Tällöin eri kiertokulmia vastaavat molekyylienergiat eivät olekaan enää lähellä toisiaan, vaan 90 asteen kiertokulma osoittautuu selvästi vähäenergisimmäksi. (Tavallisesti molekyyli asettuu heti pienenergisimpään tilaansa, mutta tässä tapauksessa fotonin emittoituu ennen kuin molekyylin konformaatio ehtii muuttua.) Kuten koulukursseista on tuttua, viritystilän purkautuessa vapautuvan valon aallonpituus vastaa viritykseen ja normaalitilaisen molekyylien välistä energiaeroa. Kun molekyylienergia riippuu merkittävästi kiertokulmasta, vaikuttaa kulma vastaavasti myös fotonin aallonpituuteen. [2]

Tietokoneella laskettu molekyylienergioiden ja aallonpituuksien riippuvuus kiertokulmasta käy ilmi seuraavista kaavioista:



© James Hayden, Brian Matsumoto, Carrie McDougall

Kuva 9:
Noin 1 mm pituinen
panssarisiimaeliö
(*Pyrocystis fusiformis*)

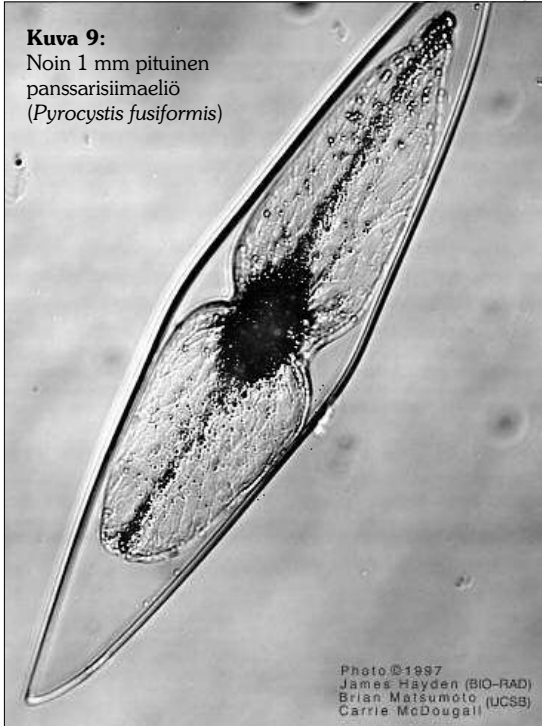


Photo ©1997
James Hayden (BIO-RAD)
Brian Matsumoto (UCSB)
Carrie McDougall

takykynsä, jolloin luminesenssi-reaktio käynnistyy. Valo syntyy 0,1 sekunnin pituisina välähdyksinä, joiden aikana eliöstä lähtee noin $6 \cdot 10^8$ fotonia. Valo on niin kirkas, että jopa yhden eliön tuottaman valon voi helposti havaita pimeään tottuneella silmällä. [10]

Anaerobista luminesenssia

Meressä elävillä eliöillä yleisin lusiferiini on nk. coelenterasiini. Se esiintyy lukuisissa eläinryhmissä, kuten kaloissa ja kalmareissa. Eri eliöt soveltavat coelenterasiinia eri tavoin. Joillakin se osallistuu tavalliseen hapettumisreaktioon, mutta toisilla se reagoi lusiferaasin ja hapen kanssa muodostaen suuren fotoproteiini-kompleksin, jota kutsutaan aequoriiniksi. Valoa syntyy kalsium-ionin (Ca^{2+}) osuessa fotoproteiiniin. Tämä on ainoita tunnettuja bioluminesenssi-reaktioita, jotka voivat tapahtua anaerobisesti eli ilman happimolekyylin välitöntä läsnäoloa. Vaikka happea tarvitaan aequoriinin muodostamiseen, aequoriini voi säilyä hyvinkin pitkään reaktioky-

kyisenä mahdollistaen näin bioluminesenssin silloinkin kun happea ei ole saatavilla.

Evoluutio

Bioluminesenssin evoluution ymmärtäminen on monessa suhteessa ongelmallista. Valon tuotto kuluttaa runsaasti energiaa, ja siksi sen ylläpitäminen on lajin säilymisen kannalta epäedullista, ellei siitä ole jotakin muuta merkittävää hyötyä. Jotta jokin hyödyllinen ominaisuus voisi syntyä, on myös kaikkien välivaiheiden oltava lajin säilymiselle edullisia. Luonnollisesti lusiferiinin ja lusiferaasin esiasteiden tuottaminen on hengissä selviytymisen kannalta vain energian tuhlausta niin kauan kuin valoa ei synny, ja tarpeeksi monen mutaation sattuminen yhtä aikaa on äärimmäisen epätodennäköistä. Siksi onkin oletettavaa, että bioluminesenssi on aluksi syntynyt jonkin muun, ehkä sittemmin tarpeettomaksi käyneen reaktion sivutuotteena. Monille lusiferaaseille onkin löydetty vastineita solun normaaliin aineenvaihduntaan osallistuvista entsyymeistä, ja bioluminesenssi-reaktiot ovat muutenkin usein läheisessä yhteydessä soluhengitykseen.

On ehdotettu, että bakteerien bioluminesenssi-reaktio olisi alunperin kehittynyt hapen poistamiseen. Vaikka molekylaarinen happi on monille eliöille elintärkeää, se on itse asiassa erittäin vaarallista niillekin soluille, jotka ovat sopeutuneet käyttämään sitä energialähteenään. Ihminenkin voi kuolla hapen yliannostukseen.

Lahokannot

Lahokannoissa kasvavan mesisien rihmaston tuottaman heikon valon voi nähdä pimeänä syyskesän öinä, kun menee metsään ilman taskulamppua ja antaa silmiensä tottua pimeään. Monien japanilaisten sienten itiöemätkin

loistavat varsin kirkkaasti, ja ne on helppo nähdä metsässä pitkänkin matkan päästä.

Bioluminesenssin merkitys sienille tunnetaan hyvin huonosti. On ehdotettu, että valo houkuttelisi hyönteisiä itiöiden levittäjiksi, mutta tämä teoria ei sovi ainakaan mesisieneen. Todennäköisempää onkin, että bioluminesenssi on jonkinlainen aineenvaihdunnan sivutuote.

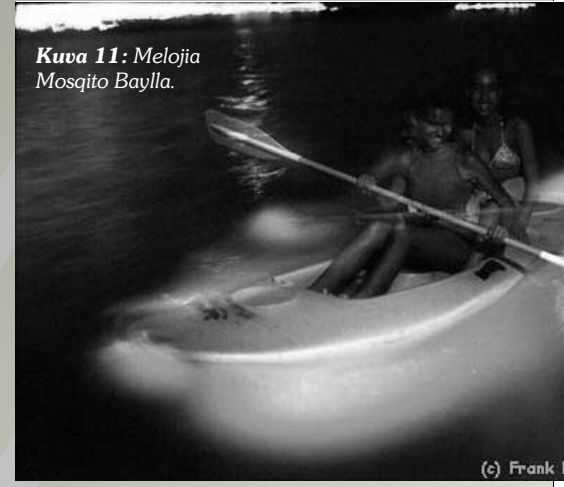
Loistava tupakantaimi

Bioluminesenssi on tunnettu jo tuhansia vuosia, ja sille on kehitetty lukuisia niin käytännön elämään kuin kemianteollisuuteen ja lääketieteeseen liittyviä sovelluksia. Erilaisia bioluminesenssi-reaktioita voidaan käyttää jonkin niihin olennaisesti kuuluvan ainesosan indikaattoreina. Näistä tärkein on ATP-testi, jossa käytetään kiiltomatojen lusiferiinia ja lusiferaasia. ATP-testillä voidaan havaita esimerkiksi virtsassa olevia bakteereita sekä testata bakteerien vastus-

Viequesin saarella Karibianmerellä sijaitsee Mosquito Bayn nimellä tunnettu lahti. Kun lahdelta saapuu yöllä, on aivan pimeää, mutta pienikin kosketus vedenpintaan aiheuttaa voimakkaan valonvälähdyksen. Loiste aiheutuu pienistä panssarisiimaeliöistä, joita vedessä on noin 133 000 kappaletta litrassa.

Lahti on aikaisemmin ollut suosittu turistikohte, mutta nykyään se on rauhoitettu, ja sinne menemiseen tarvitaan erityislupa. Ilmansaasteet ovat kuitenkin jo häirinneet lahden herkkää ekosysteemiä, ja sen kirkkaus on nykyään vain kymmenesosa alkuperäisestä. [10]

Kuva 11: Melojia Mosquito Baylla.



(c) Frank L.

Viime vuosisadan puolivälistä lähtien suoritetuissa tutkimuksissa on havaittu, että lähes kaikki elävät organismit bakteereista ihmiseen säteilevät heikkoa joko näkyvää tai ultraviolettia valoa. Valo on niin heikkoa, että sen voi havaita ainoastaan yksittäiset fotonit laskevilla mittalaitteilla, sillä fotoneita lähtee vain 10 – 1000 kappaletta sekunnissa neliösenttimetriltä. [3] Valoa voidaan myös vahvistaa luminoliksi kutsutun yhdisteen avulla [5]. Vaikka ilmiö tulikin yleisesti hyväksytyksi vasta 1950-luvulla, sen oli havainnut venäläinen Alexander Gurwitsch jo 1922 [3].

Tällä nk. ultraheikolla bioluminesenssilla on tärkeä merkitys monissa elimistön toiminnoissa – erityisesti elimistön säätelyjärjestelmässä. Se kuljetttaa monia viestejä, joiden aiemmin oli luultu siirtyvän ainoastaan hormonien välityksellä. On mm. havaittu, että kun kahdesta kvartsilevyllä toisistaan erotetulle rotalle syötettiin hormoneja, hormonituotanto käynnistyi myös toisessa rotassa. Kvartsilevyn korvaaminen lasilevyllä poisti tämän ilmiön [3].

Ultraheikko bioluminesenssi toimii myös osana elimistön puolustusjärjestelmää. Valkosolut säteilevät valoa aina bakteerin syömisen yhteydessä. Näin ne saattavat käynnistää vasta-ainetuotannon myös muissa valkosoluissa [3]. Tämä ilmiö on johtanut lukuisiin lääketieteellisiin sovelluksiin, kuten ihosyövän [3], verisyövän sekä tuberkuloosin [5] toteamiseen. Lisäksi sen avulla voidaan tutkia mm. alkion kehitystä ja siementen elinkelpoisuutta [3].

Ultraheikon bioluminesenssin synnyttävät mekanismit tunnetaan erittäin huonosti. Fotonien lähteenä on todennäköisesti molekylaarinen happi. Hapella on kaksi viritystilaa, jotka tulevat kysymykseen ultraheikon bioluminesenssin lähdettä etsittäessä. Viritystilaa, jossa yksi elektroni on siirtynyt ulomalle kuorelle merkitään $^1\Delta O_2$:lla. Paluu tästä viritystilasta normaalitilaan ($^3\Sigma O_2$) vapauttaa fotonin, jonka aallonpituus on 1268 nm. Hapella on toinenkin, vähempienergiainen viritystila, jossa elektronit pysyvät samalla pääkuorella, mutta sijaitsevat vastoin Hundin sääntöä⁷⁾ samalla alakuorella. Tätä viritystilaa merkitään $^1\Sigma O_2$, ja sen purkauksessa vapautuvan fotonin aallonpituus on 762 nm. [5] Todellisissa tilanteissa aallonpituuteen vaikuttaa paljon muitakin tekijöitä. Yleensä ultraheikon bioluminesenssin aallonpituus vaihtelee välillä 300 – 800 nm.

6) Tavallisen, nk. voimakkaan bioluminesenssin voimakkuus on suurempi kuin $10^6/cm^2.s$.

7) Kvanttimekaanisessa atomimallissa jokainen pääkuori ensimmäistä lukuunottamatta jakaantuu useisiin alakuoriin. Hundin säännön mukaan elektronit valtaavat ensin kaikki saman pääkuoren alakuoret ennen kuin samalle alakuorelle voi tulla kaksi elektronia. Nk. Paulin kielto säännön mukaan samalla alakuorella voi olla korkeintaan kaksi elektronia. Kun samalla alakuorella on kaksi elektronia, niiden nk. spinit ovat vastakkaisuuntaiset. (spin on eräs hiukkasen ominaisuus.) Viritystiloja kuvaavissa merkinnöissä kreikkalainen iso kirjain kertoo sen orbitaalin kvanttiluvun, jolla molekyylien välinen sidos tapahtuu, ja yläindeksissä oleva numero kertoo molekyylin magneettisen orientaation. 1 tarkoittaa ns. singlet-tilaa, jossa elektronien spinit kumoavat toisensa. Ns. triplet-tilassa (3) kaksi spiniä enemmän osoittaa toiseen suuntaan kuin toiseen. ks. [20,21]

tuskykyä antibiooteille: bakteereita viljellään petrimaljassa, ja käsitellään viljelmä testattavalla antibiootilla. ATP-testi kertoo, onko bakteereita vielä elossa [4].

Tieteellisessä tutkimustyössä tärkeimmät sovellukset liittyvät geenitekniikkaan. Koska bioluminesenssi on helppo havaita, sitä voidaan käyttää indikaattorina geenin siirtymisestä. Kun esim. *V. fischeri*stä eristetty geeni siirretään johonkin toiseen eliöön jonkin tie-

tyn geenin yhteyteen, tämän geenin esiintymistä geenimanipuloiduissa eliöissä voidaan seurata. Bioluminesenssigeeniä ilmentävän eliön perimä sisältää nimittäin hyvin suurella todennäköisyydellä myös seurannan kohteena olevaa geeniä.

Panssarisiimaeliöiden bioluminesenssigeenejä voidaan käyttää myös biologisen kellon tutkimiseen, sillä niiden toiminta riippuu vuorokaudenajasta. Kun geenejä siirrettiin tupakantaimiin, nekin alkoivat loistaa jaksottaisesti. Vaihdelurytmi saattoi kuitenkin normaalisti vuorokausikierrosta poiketen olla esimerkiksi 12 tai 36 tuntia.

Käytännön elämässä bioluminesenssia on käytetty esimerkiksi valaisimena tai syöttinä: Japanissa sotilaat kuljettivat aikoinaan mukanaan kuivattuja äyriäisiä. Kun niitä hieroi sormiensa välissä, ne tuottivat tarpeeksi valoa kartan lukemiseen. Euroopassa puolestaan on saatettu laittaa lyhtyyn kiiltomatoja tai lahokannonpalasia kynttilänkorvikkeeksi.

Sampo Tiensuu

Artikkelin asiasisällön on tarkistanut professori **Matti Järvillehto**

Kirjallisuutta

- [1] **Harvey, E. Newton;** *Bioluminescence*. Academic Press, New York 1952
- [2] **Hastings, J. W.; Kricka, L. J.; Stanley, P. E.** (toim.); *Bioluminescence and Chemiluminescence – Molecular Reporting with Photons*. John Wiley & Sons, New York 1996.
- [3] **Chang, Jiin-Ju; Fisch, Joachim; Popp, Fritz-Albert;** *Biophotons*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1998.
- [4] **DeLuca, Marlene A.; McElroy, William D.;** *Methods in Enzymology Volume 133 Bioluminescence and Chemiluminescence Part B*. Academic Press, Orlando 1986.
- [5] **Van Dyke, Knox; Castranova, Vincent;** *Cellular Chemiluminescence, Vol I, II ja III*. CRC Press, 1987.
- [6] **Crowson, R. A.;** *The Biology of the Coleoptera*. Academic Press, Lontoo 1981.
- [7] **Rockstein, Morris;** *The Biochemistry of Insects*. Academic Press, Lontoo 1978
- [8] **Tirri, Rauno; Lehtonen, Juhani; Lemmetyinen, Risto; Pihakaski, Seppo; Portin, Petter;** *Biologian sanakirja*. Otava, Keuruu 1993.
- [9] **Branham Marc** (1998); *The Firefly Files*. iris.biosci.ohio-state.edu/projects/FFiles/biolum.html
- [10] **Haddock, S.H.D.; McDougall, C.M.; Case, J.F.** (2000); "The Bioluminescence Web Page". <http://lifesci.ucsb.edu/~biolum/>
- [11] **L.Losa, Frank** (2000); *World's Brightest Glowing Bay!* <http://www.biobay.com/>
- [12] **Hastings, J. W.;** *Biological diversity, chemical mechanisms, and the evolutionary origins of bioluminescent systems / Journal of Molecular Evolution* vol. 19: p.309-321. Springer-Verlag 1983.
- [13] *Vaarallista Lemmikiruokaa*. Tieteen Kuvalehti 16/1999 p. 15, Bonnier Julkaisut Oy.
- [14] *Microsoft Encarta 98 Encyclopedia*.
- [15] *Light in the Ocean: Bioluminescence*. Plymouth Marine Laboratory, <http://www1.npm.ac.uk/set98/set97/biolumin.htm>
- [16] *Bioluminescence*. Scripps Institution of Oceanography, http://siobiolum.ucsd.edu/Biolum_intro.html
- [17] **Bluth, Brian J.; Frew, Sarah E.; McNally, Brian;** (≥ 1997), *Cell-Cell Communication and the lux operon in Vibrio fischeri*. Department of Biological Sciences, Carnegie Mellon University, <http://www.bio.cmu.edu/courses/03441/TermPapers/97TermPapers/lux/bioluminescence.html>
- [18] **Frye, Mike** (1999); *Bioluminescence – A "Glowing" Report*. <http://edie.cprost.sfu.ca/~rhlogan/frye.html>
- [19] *Mimicry and murder in the firefly world*, Environmental News Network, 2. 9. 1997
- [20] **Feynman, Richard P.; Leighton, Robert B.; Sands, Matthew;** *The Feynman Lectures on Physics, Part III – Quantum Mechanics*. California Institute of Technology, 1965.
- [21] **Lavonen, Jari; Kurki-Suonio, Kaarle; Hakulinen, Harri;** *Galilei 8 – Moderni fysiikka*. Weilin + Göös, Helsinki 1996.
- [22] **Cronin, T. W.; Järvillehto, M.; Weckström, M.; Lall, A. B.;** *Tuning of photoreceptor spectral sensitivity in fireflies (Coleoptera: Lampyridae) / Journal of Comp Physiol A* (2000) 186: 1-12. Springer-Verlag.
- [23] *Light in the ocean: bioluminescence*. Plymouth Marine Laboratory. <http://www1.npm.ac.uk/set98/set97/biolumin.htm>
- [25] **McCapra, Frank;** *Mechanisms of Bioluminescence and Chemiluminescence – Unfinished Business*. Kirjassa [2]
- [26] **Leach, F. R.; Ye, L.; Schaeffer, H. J.; Buck, L. M.;** *Cloning and Sequencing of a Firefly Luciferase from Photuris pennsylvanica*. Kirjassa [2]
- [27] **Lloyd, James E.;** *Occurrence of Aggressive Mimicry in Fireflies*. Florida Entomologist 67(3) p. 368–378 (1984)