## LA BIOLUMINESCENCE CHEZ LES ANIMAUX

#### **Anne-Marie BAUTZ**

Université Henri Poincaré, Nancy 1 Laboratoire de Biologie expérimentale-Immunologie

# **DÉFINITIONS**

La luminescence est l'émission d'un photon lumineux lors de la désactivation d'une molécule excitée vers un état énergétique moins élevé. Selon le mode d'excitation de la molécule, on distingue plusieurs types de luminescence. La bioluminescence ou bio-chimi-luminescence présentée par certains êtres vivants est due à l'émission de photons par une molécule organique (luciférine) excitée à la suite d'une réaction d'oxydation catalysée par une enzyme (luciférase).

#### HISTORIQUE DE LA BIOLUMINESCENCE

Aristote (348-322 av JC) est le premier à signaler la lumière froide émise par des poissons morts et par des moisissures. Pline l'Ancien (23-79 ap JC) décrit plusieurs organismes luminescents dans son *Historia naturalis*: méduses, vers luisants, pholades, champignons. Boyle (1667) réalise les premières expériences sur la bioluminescence et montre que l'air est nécessaire à la bioluminescence. Scheele et Priestley (1767) démontrent que l'oxygène est indispensable, et Spallanzani (1790) montre que l'eau l'est également. Enfin Dubois en 1887 découvre que la bioluminescence met en jeu trois composés: un composé organique oxydable qu'il nomme luciférine, une enzyme spécifique qu'il nomme luciférase et l'oxygène.

Les recherches ultérieures révèlent qu'il existe dans la nature un grand nombre de molécules organiques oxydables capables d'émettre de la lumière et qu'à chaque molécule correspond une enzyme spécifique. Les termes de luciférine et de luciférase sont toujours utilisés pour les désigner, mais il est nécessaire de préciser leur origine.

En général la lumière émise par la luciférine est bleue, mais dans certains cas la luciférine transmet son énergie à une protéine fluorescente qui émet alors un photon d'une autre longueur d'onde. La lumière émise est de couleur différente selon la nature de la protéine.

## LES ÊTRES VIVANTS LUMINESCENTS

\_\_\_\_\_

Le phénomène de bioluminescence est présent chez beaucoup d'êtres vivants : bactéries (les poissons morts signalés par Aristote devaient leur luminescence à la présence de bactéries lumineuses), protozoaires (par exemple les noctiluques), champignons (par exemple : les pleurotes et les polypores).

Beaucoup d'animaux sont également capables d'émettre de la lumière : plus de 700 espèces ont déjà été signalées, mais beaucoup d'espèces lumineuses ne sont pas encore connues, car elles vivent dans les grands fonds marins qui commencent seulement à être explorés.

La répartition de la bioluminescence chez les animaux est très vaste : beaucoup sont marins, planctoniques ou pélagiques, mais il existe aussi des animaux aériens lumineux. Les groupes zoologiques dans lesquels on trouve des espèces luminescentes sont : les Protozoaires (Radiolaires), les Cnidaires (méduses, Siphonophores), les Cténaires, les Annélides (beaucoup de Polychètes marins ainsi que certains vers de terre comme Eisenia ou ver du fumier), les Mollusques (Gastéropodes Hétéropodes et Nudibranches, Lamellibranches et Céphalopodes, en particulier des calmars). Parmi les Arthropodes, beaucoup de Crustacés planctoniques (Copépodes) présentent une luminescence qui peut se transmettre à leurs prédateurs. Les Insectes possèdent également de nombreux représentants lumineux, en particulier les Coléoptères avec les Lucioles appelées plus couramment vers luisants et quelques Diptères. Il existe des Ophiures luminescentes (Amphipholis, Ophiothrix), ainsi que des Tuniciers (Oïkopleura, Pyrosoma). Enfin chez les Vertébrés, seuls les Poissons peuvent émettre de la lumière. Leurs organes lumineux sont très variés et situés à des endroits différents du corps selon les espèces.

# LES DIFFÉRENTS MÉCANISMES BIOCHIMIQUES IMPLIQUÉS DANS LA BIOLUMINESCENCE

Les réactions de bioluminescence peuvent être regroupées en 5 catégories différentes :

- a) l'oxydation de la luciférine : la lumière est émise par l'oxyluciférine liée à la luciférase. Il existe des luciférines et des luciférases différentes selon les organismes. C'est le cas chez *Latia* (Mollusque Gastéropode).
- b) l'oxydation précédée par une activation du substrat : la luciférine doit être activée par l'ATP en présence d'ions magnésium pour former un complexe luciférine-luciférase-AMP. Après oxydation de la luciférine, le complexe est activé et émet de la lumière. C'est le cas chez les lucioles.
- c) l'oxydation du substrat précédée d'une réduction : la luciférine est la flavine mononucléotide réduite (FMNH $_2$ ) ; son oxydation par l'oxygène produit de la flavine mononucléotide (FMN) excitée qui est hautement luminescente. C'est le cas chez les bactéries et les champignons.
- d) la peroxydation du substrat, c'est à dire que l'oxygène provient de l'eau oxygénée ( $H_2O_2$  ou peroxyde d'hydrogène). Dans ce cas la luciférase est une peroxydase. C'est le cas chez les Annélides
- e) les systèmes préchargés : la lumière est émise sans réaction chimique. L'émission lumineuse est provoquée soit par abaissement du pH ou par un afflux d'ions calcium. C'est le cas chez les méduses.

#### La bioluminescence chez les animaux

## STRUCTURE DES ORGANES LUMINEUX

L'étude histologique comparée des organes lumineux met en évidence deux types d'organes :

Le premier type consiste en cellules glandulaires spécialisées dans l'élaboration des produits nécessaires à la bioluminescence, leur stockage et éventuellement le contrôle de leur réaction.

Chez certains animaux ces cellules glandulaires émettent leurs sécrétions à l'extérieur, produisant ainsi une luminescence extracellulaire, souvent associée à du mucus (ex : pholade, crustacés, annélides et calmars).

Chez d'autres animaux, la luminescence reste à l'intérieur des cellules : il s'agit d'une luminescence intracellulaire. Les zones lumineuses renferment des cellules modifiées appelées photocytes. Ces cellules contiennent des structures particulières : les photosomes, formés par les tubules du réticulum endoplasmique. La luminescence est liée à un changement de la perméabilité de la membrane du réticulum endoplasmique qui met en contact la luciférine et la luciférase.

Les photocytes peuvent être soit répartis dans tout l'organisme (chez les méduses par exemple), soit regroupés dans des organes lumineux appelés photophores : il s'agit alors de luminescence intraglandulaire.

En général les photophores se forment au niveau de l'épiderme, ils sont plus ou moins enfoncés dans le derme. Leur structure est assez complexe. Du côté interne, ils possèdent un réflecteur doublé extérieurement par une couche pigmentaire opaque qui réfléchit les rayons lumineux émis par les photocytes et les renvoie vers l'extérieur. La direction de propagation des rayons lumineux peut être contrôlée par une lentille de chitine ou de protéine située dans l'ouverture du photophore. De plus la couleur de la bioluminescence peut être modifiée par un filtre coloré composé soit de cellules pigmentaires (filtre d'absorption) soit par de nombreuses couches réflectrices qui ne laissent passer que certaines longueurs d'onde (filtre d'interférence).

Le 2ème type d'organes lumineux ne contient pas de photocytes, la lumière est produite par des bactéries lumineuses symbiotiques. Les photophores de ce 2ème type ont une structure comparable à celle des précédents, on les rencontre chez de nombreux poissons et chez beaucoup de calmars.

## CONTRÔLE PHYSIOLOGIQUE DES ÉMISSIONS LUMINEUSES

Beaucoup d'animaux ne réagissent lumineusement que lorsqu'ils sont soumis à une stimulation externe. Il peut s'agir de stimulations mécaniques (toucher, courant d'eau), de stimulations électriques ou thermiques ou encore lumineuses (mais la lumière peut aussi être inhibitrice, c'est pourquoi de nombreuses espèces ne sont lumineuses que la nuit). Il peut s'agir aussi d'un changement dans l'environnement ionique.

La propagation de l'émission lumineuse se fait par le système nerveux. Les animaux sont capables de réguler l'émission de lumière, même chez les espèces pourvues de photophores contenant des bactéries symbiotiques qui émettent de la lumière en continu. Les modalités de cette régulation varient d'une espèce à l'autre : par exemple le poisson *Anomalops* peut pivoter ses photophores de 180°, ce qui fait apparaître le fond pigmenté et opaque des organes, tandis que le poisson *Photoblepharon* ferme son photophore à l'aide d'une paupière mobile. Les lucioles sont capables de synchroniser leurs émissions de lumière en intégrant l'information lumineuse sur tout leur champ visuel.

#### LES FONCTIONS DE LA BIOLUMINESCENCE

Quatre rôles différents ont pu être mis en évidence.

- a) **l'éclairage**: il y a relativement peu d'exemples de cette utilisation de la bioluminescence. L'un d'eux est l'utilisation de feux d'atterrissage par certaines lucioles nocturnes qui illuminent la feuille ou la brindille sur laquelle elles vont atterrir. Par ailleurs beaucoup de poissons de la zone mésopélagique (jusqu'à 1000 m de profondeur) s'éclairent grâce à une luminescence bleue qui correspond aux longueurs d'onde les mieux propagées par l'eau de mer. Ils possèdent des pigments visuels sensibles à cette couleur. Certains poissons d'eau plus profonde comme *Malacosteus* possèdent 2 types de photophores : un qui émet en lumière bleue et un autre qui émet une lumière rouge de très grande longueur d'onde, invisible pour l'œil humain, mais visible avec une caméra sensible aux infrarouges. Ce poisson possède des pigments visuels sensibles à cette longueur d'onde et il se sert vraisemblablement de ce 2ème photophore pour illuminer à leur insu des proies colorées en rouge (comme c'est le cas de nombreux crustacés).
- b) **l'attraction des proies** est une fonction beaucoup plus fréquente. Deux exemples : les poissons-pêcheurs qui portent un barbillon pourvu de bactéries luninescentes. Ce barbillon imite les signaux d'une autre espèce et attire ainsi les proies vers la bouche du poisson. De même, les filaments de mucus lumineux produits par les larves du Diptère *Bolitophila* des grottes de Nouvelle Zélande attirent les proies qui viennent s'engluer dans le mucus et qui sont ensuite dévorées par les larves.
- c) la protection contre les prédateurs. Elle peut s'exercer de trois façons différentes :
- émission d'éclairs lumineux inattendus afin d'effrayer les prédateurs (ex : méduses).
- utilisation de la bioluminescence pour tromper les prédateurs. Par exemple les annélides à élytres luminescents menacées par un prédateur émettent

#### La bioluminescence chez les animaux

de la lumière en s'enfuyant. En cours de route elles détachent quelques élytres qui continuent à produire de la lumière alors qu'elles cessent d'en produire. Le prédateur se précipite sur les élytres lumineuses isolées tandis que les vers s'éloignent rapidement. Les poissons lanternes qui vivent en banc utilisent un stratagème assez proche. S'ils sont attaqués par un prédateur, les mâles émettent de la lumière et s'éloignent du banc en nageant dans toutes les directions. Le prédateur tente de les poursuivre et s'éloigne ainsi des femelles restées dans l'obscurité.

- utilisation de la bioluminescence pour se dissimuler des prédateurs.

C'est le cas chez les animaux de la zone mésopélagique (poissons et calmars) dont la silhouette sombre se découpe contre la lumière venant de la surface. Toutes les espèces ont une face ventrale claire, beaucoup sont aplatis latéralement, mais le plus efficace est d'illuminer la face ventrale afin de se fondre dans la lumière du jour en arrière plan. La plupart possèdent des photophores ventraux dont la lumière émise vers le bas mime parfaitement celle de la surface de la mer.

d) **la communication**, en particulier entre partenaires lors des parades sexuelles.

Par exemple chez les polychètes luminescentes, l'essaimage et la parade sexuelle sont particulièrement spectaculaires. En premier lieu les femelles montent en surface où elles nagent rapidement en décrivant des cercles. Elles émettent leurs œufs et un exsudat lumineux qui forme un halo autour d'elles. Les mâles montent alors en surface en émettant des éclairs de lumière. Ils nagent avec les femelles et libèrent leur sperme avec un exsudat lumineux.

Le rôle de communication a été très clairement démontré chez les lucioles. Chez le lampyre ou ver luisant européen, seule la femelle est luminescente, elle n'a pas d'ailes et émet en continu une lueur prolongée vers le ciel. Le mâle en vol reconnaît le signal et se pose pour s'accoupler.

Ce système très simple est valable s'il n'existe qu'une seule espèce et qu'aucune confusion n'est possible. Lorsque plusieurs espèces cohabitent, chacune d'entre elles présente un système plus complexe avec de véritables "conversations" entre mâles et femelles qui sont tous luminescents.

#### APPLICATIONS DE LA BIOLUMINESCENCE

Les premières applications ont été réalisées dans le domaine de la microanalyse.

La lumière émise par bioluminescence est un élément dont la mesure est facile, rapide et sensible, ce qui permet de doser certaines molécules impliquées de façon directe ou indirecte dans les réactions de bioluminescence : l'ATP qu'il est possible de détecter à des concentrations aussi faibles que 2 picomoles par litre, le FMNH<sub>2</sub>, l'eau oxygénée, les enzymes impliquées dans les réactions de luminescence et les substrats de ces enzymes. Le dosage de l'ATP est particulièrement utilisé, en effet l'ATP est présent dans toutes les cellules vivantes, il n'est pas stocké dans les cellules, si bien que sa concentration résulte d'un équilibre permanent entre sa production et sa consommation. Le dosage de l'ATP renseigne donc sur l'activité cellulaire. Il est particulièrement utile en microbiologie pour détecter l'activité des microorganismes pathogènes ou non, il

est donc couramment utilisé dans les domaines de l'agro-alimentaire, de l'environnement et de la cosmétologie. Les applications dans le domaine médical sont particulièrement nombreuses, elles concernent non seulement l'activité microbienne, mais également l'activité d'autres types cellulaires, cellules sanguines, spermatozoïdes et même cellules cancéreuses.

La bioluminescence permet également de réaliser des dosages immunologiques : par couplage de la luciférase à un anticorps on peut révéler la présence de l'antigène correspondant.

Une électrode à oxygène a été également mise au point en utilisant des bactéries luminescentes.

Le calcium peut être dosé et localisé dans les cellules en exploitant la propriété de l'aequorine des méduses d'émettre de la lumière en sa présence.

Des applications se sont développées plus récemment dans le domaine de la génétique moléculaire et des biotechnologies. Le gène de diverses luciférases a été cloné. Il peut être couplé à d'autres gènes, la bioluminescence qui se manifeste en présence du substrat de l'enzyme permet alors :

- de vérifier si l'insertion d'un gène dans une cellule a réussi (le gène de la luciférase est un marqueur d'insertion)
- de vérifier l'activité d'un gène dont le produit n'est pas détectable de façon simple (c'est la technique du rapporteur luminescent).

On peut aussi obtenir des bactéries qui deviennent luminescentes en présence d'un composé chimique toxique, ce qui permet de détecter ce composé dans l'environnement ou dans la nourriture.

## CONCLUSION

Par sa diversité la bioluminescence touche aux problèmes biologiques les plus variés. Elle permet souvent de les aborder d'une manière privilégiée, car la lumière émise au cours des réactions est un élément facilement quantifiable, même si l'émission est très faible, et elle présente le grand avantage de ne pas être toxique.

Les nombreuses applications pratiques mises au point jusqu'à présent concernent surtout la luminescence *in vitro*, c'est à dire en dehors du contexte cellulaire. Mais, de par leur organisation si particulière, les photocytes pourraient constituer un matériel de choix dans le domaine de la cytologie et de la physiologie.