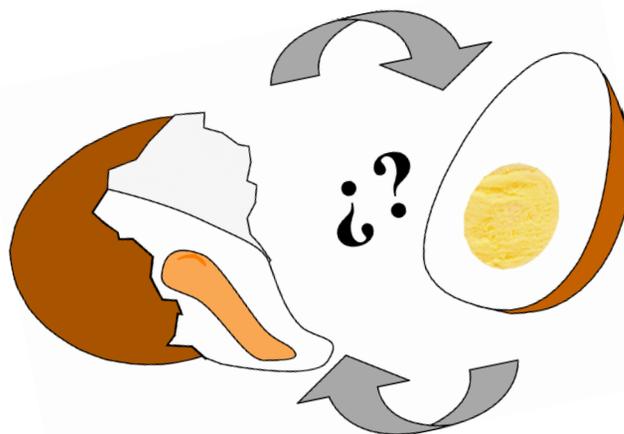


El premio IG NOBEL de QUÍMICA 2015

Investigando lo improbable: ¿existe una receta para “deshervir” un huevo?



Erick Mendoza Paredes*

Resumen

El premio Ig-Nobel de Química de este año fue entregado al profesor Tom Yuan y su equipo de colaboradores por crear una receta para “deshervir un huevo” de forma sencilla. Aunque no lo aparente, este trabajo es de vital importancia, pues ofrece la posibilidad de regresar proteínas desnaturalizadas y agregadas a su estado natural, lo que podría beneficiar a la industria actual evitando la pérdida de miles de millones de dólares.

Palabras clave: Ig-Nobel, hervir, huevo, replegamiento de proteínas.

Abstract

Professor Tom Yuan and his team were awarded the Ig-Nobel Prize in Chemistry for creating a recipe to “unboil” an egg. Although it may seem unimportant, this work has crucial importance, as it offers the possibility of refolding denatured proteins and getting them back to its natural state. This research might have an impact on industry, as it could prevent the loss of billions of dollars.

Keywords: Ig-Nobel, boil, egg, protein refolding.

La gran mayoría de personas cuando ve un huevo duro, sancocado o hervido, naturalmente piensa en comerlo; son muy pocos los que se detienen a pensar en si es posible “deshervirlo”. ¿Acaso es esto posible?, se preguntarán algunos. Por esta vez, pongámonos en esta situación y tratemos de responder las siguientes preguntas: de ser posible, ¿cómo hacerlo?, ¿qué se necesita?, ¿es un proceso complicado o todos podemos intentarlo en casa?, ¿cómo sé si un huevo está realmente “deshervido”?, ¿por qué hacerlo?, ¿trae esto algún beneficio?

* Erick es Bachiller en Ciencias con mención en Química. Actualmente, se encuentra realizando la tesis de Licenciatura en la Sección Química de la Facultad de Ciencias e Ingeniería de la PUCP en el grupo del Dr. Eric Cosio, en el área de metabolismo vegetal (e-mail: e.mendozap@pucp.pe)

Estas preguntas son las que debieron hacerse el profesor Yuan y su equipo de colaboradores de la Universidad de California (Irvine, Estados Unidos), de la Universidad del Oeste de Australia y de la Universidad de Flinders (Australia), quienes han sido galardonados con el famoso Premio Ig Nobel de Química 2015 por su investigación en el área del reordenamiento estructural de proteínas por esfuerzos cortantes (cizalladura)¹. Aunque el título de su artículo no lo especifica (el texto podría traducirse al español como “Replegamiento de proteínas a partir de agregados y cuerpos de inclusión por medio de esfuerzos de cizalladura”), su investigación abre la posibilidad de “deshervir” un huevo de forma relativamente sencilla. Al menos, así lo entienden los miembros del comité del Premio Ig Nobel.

1. “The 2015 Ig Nobel Prize Winners”. www.improbable.com/ig/winners/#ig2015. Acceso octubre 2015 (📄)

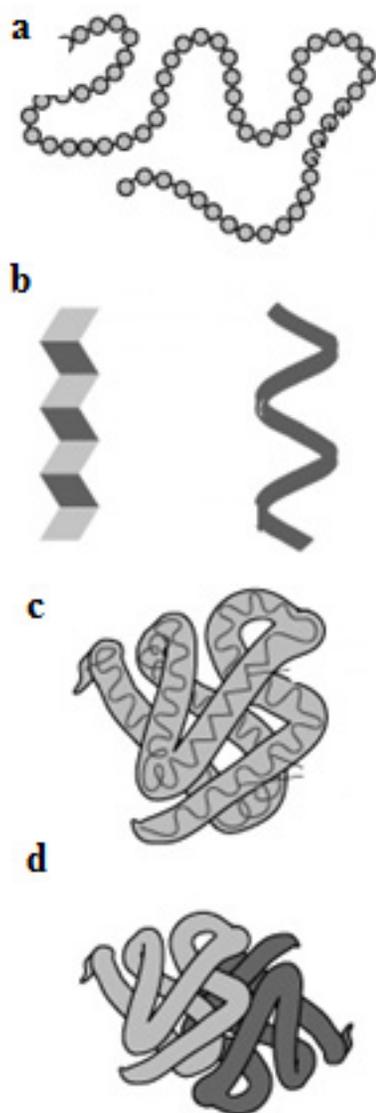


Fig. 1. Niveles de orden estructural de las proteínas. (a) primario o secuencia de aminoácidos. (b) secundario: hélices alfa y láminas beta. (c) terciario: subunidad de una proteína, (d) cuaternario: subunidades juntas. Fuente de la imagen: [National Center for Biotechnology Information](#) (🌐)

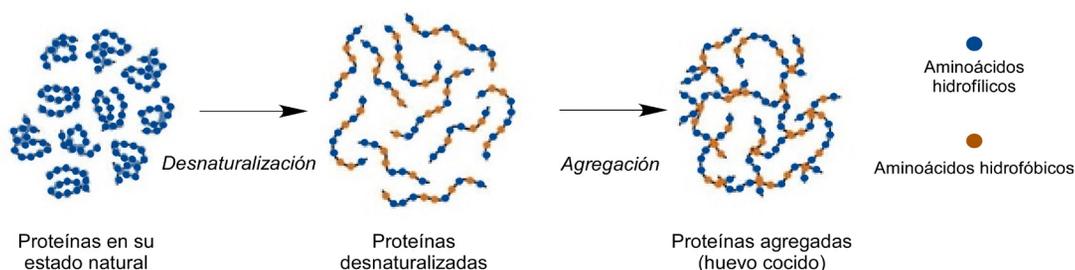


Fig. 2. Procesos de desnaturalización y agregación que ocurren con las proteínas al momento de hervir un huevo. Fuente de la imagen: [Blog bite sized biology](#) (🌐)

Para entender lo que estos científicos han hecho, empecemos por lo más simple y recordemos que tanto la yema como la clara de un huevo están formadas por proteínas (12 y 16%, respectivamente). Como cualquier proteína, las presentes en los huevos poseen diferentes niveles de organización estructural, **Figura 1**, a los que deben sus actividades biológicas. El nivel estructural primario en una proteína es el orden secuencial de los aminoácidos que la componen (Figura 1a), mientras que su estructura secundaria (Figura 1b) resulta de interacciones entre aminoácidos de una misma secuencia por medio de puentes de hidrógeno. Como producto de estas interacciones, las proteínas adoptan formas conocidas como hélices alfa y láminas plegadas beta, las cuales, a su vez, pueden interactuar entre sí por fuerzas de van der Waals y enlaces disulfuro, de las que sólo las últimas son de carácter fuerte, y formar subunidades (Figura 1c). Estas subunidades resultantes son conocidas como estructuras terciarias. Finalmente, un último nivel estructural, el cuaternario, se da cuando las subunidades interactúan entre sí (Figura 1d)². Cuando se altera cualquiera de estos órdenes estructurales, también se alteran las propiedades de la proteína; en algunos casos estas alteraciones no son críticas y las proteínas mantienen su actividad; en otros, sin embargo, los cambios son tan críticos que la proteína incluso puede perder toda actividad biológica².

Cuando un huevo es hervido, el calor rompe algunas de las interacciones que mantenían el orden estructural de las proteínas, y estas se agrupan y se solidifican. Esto lo observamos fácilmente por el endurecimiento de la clara y la yema, **Figura 2**. Desde el punto de vista científico, a estos procesos se les conoce como desnaturalización y agregación de proteínas, respectivamente³.

“Deshervir” un huevo, al menos parcialmente, implica entonces, devolver las proteínas a su estado original, con sus respectivos niveles estructurales bien definidos y su actividad biológica restaurada. Esta tarea puede parecer bastante difícil realizar. Sin embargo, la metodología propuesta por los ganadores del Ig-Nobel 2015 ofrece la posibilidad de conseguirlo de forma relativamente sencilla. Veamos, a continuación, la propuesta.

2. Nelson, D.L. y Cox, M.M.: “*Lehninger Principles of Biochemistry*” 5a Ed. W.H. Freeman and Company, Nueva York, 2008.

3. Armas, S. y col.: “Why Do Eggs “Hard-Boil”?” *SciBytes by Nature Education*. 2013. Acceso: octubre de 2015. (🌐)

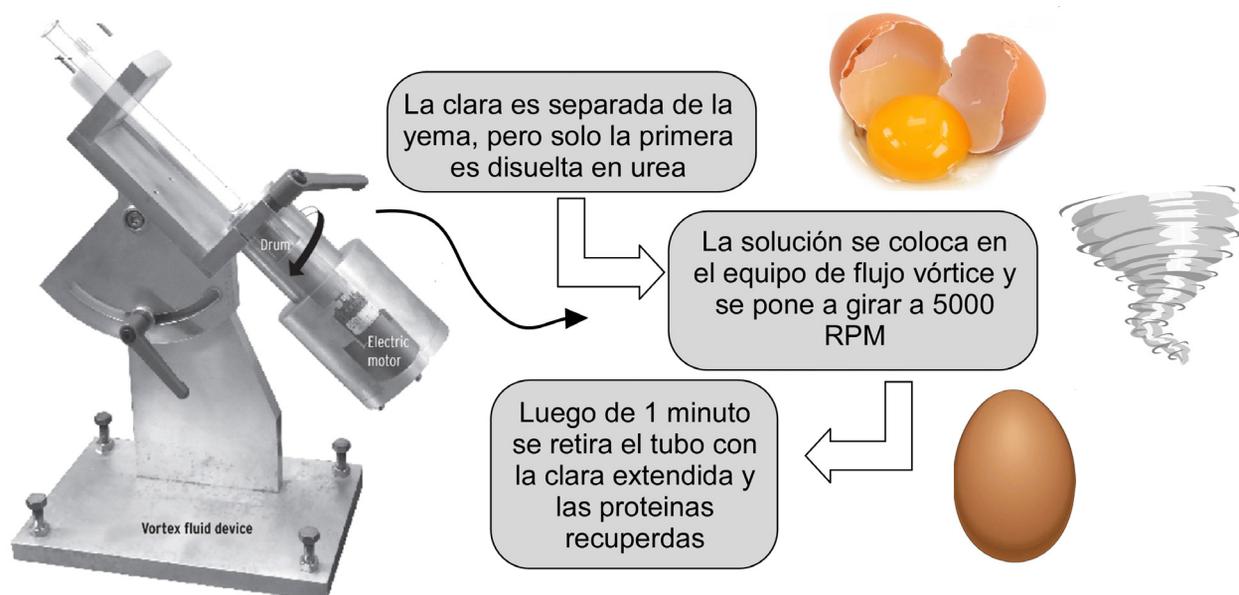


Fig. 3. Dispositivo usado para “deshervir” un huevo. El huevo disuelto en úrea se coloca en un tubo y se hace girar a 5000 rpm. A esta velocidad, la solución dentro del tubo forma películas de fluido delgadas que introducen un esfuerzo cortante; este esfuerzo cortante es el responsable de devolver a las proteínas a su estado original. Imagen del aparato de flujo de vortex tomada de: *University of California News*. (📷)

Primero, debemos tener en cuenta que este proceso solo se ha aplicado a la clara, la cual es primero separada de la yema para ser disuelta en una solución de úrea y colocada dentro de un tubo de vidrio. La solución de úrea desnatura las proteínas de forma similar a lo que haría el hervido del huevo. El tubo, con 1 mL de la muestra, es colocado en un dispositivo de flujo vórtice y colocado a un ángulo de 45°. Posteriormente, el tubo con la muestra se hace rotar a 5000 revoluciones por minuto, lo que permite que la clara se extienda uniformemente por el tubo y que las proteínas se separen. Lo que realmente sucede es que, a velocidades de rotación tan elevadas, la solución dentro del tubo forma películas de fluido muy delgadas, de micrómetros de espesor, que lentamente se van depositando unas encima de otras conforme van fluyendo en la misma dirección de la pared del tubo. Cuando esto sucede, se genera un gradiente de velocidad dentro de las películas delgadas que introduce un esfuerzo cortante en la solución. Este esfuerzo cortante es el responsable de separar las proteínas agregadas, lo cual, a su vez, les permite regresar a su forma original⁴. Una representación esquemática de esta secuencia de pasos y del equipo utilizado en esta tarea se puede apreciar en la **Figura 3**.

Para comprobar que el huevo fue realmente “deshervido” (es decir, que las proteínas habían regresado a su forma inicial), se seleccionó a la lisozima, de entre todas las demás proteínas presentes en la clara del huevo, para someterla a dos ensayos que evaluaron su actividad y orden estructural. El primer ensayo consistió en comparar los espectros de dicroísmo circular. Una proteína desnaturada y una en su forma nativa, tienen espectros muy diferentes. Los resultados indicaron que el espectro de la proteína recuperada es muy

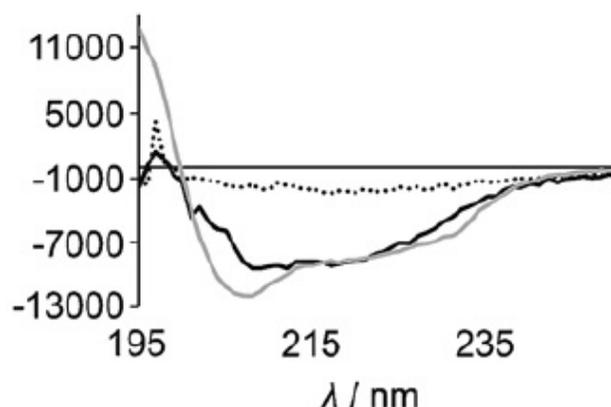


Fig. 4. Espectro de dicroísmo circular de la lisozima. La línea negra es la proteína natural, la punteada representa la proteína en el huevo hervido, y la gris la proteína recuperada. Tomada de: Yuan, T.; Ormonde, C.; Kudlacek, S.; Kunch, S.; Smith, J.; Brown, W.; Pugliese, K.; Olsen, T.; Iftikhar, M.; Raston, C.; Weiss, G.. *Shear-Stress-Mediated Refolding of Proteins from Aggregates and Inclusion Bodies*. *Chem Bio Chem*. 2015, 16, 393-396. © 2015 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. Reproduced with permission. (📷)

similar al de las nativas y que el espectro de la enzima desnaturada y agregada es completamente diferente al de una natural, lo que indica que la enzima efectivamente recupera su orden estructural, **Figura 4**⁴. La segunda prueba consistió

4. Yuan, T. y col.: *Chem Bio Chem*. 2015, 16, 393-396.

en un análisis enzimático que fue hecho con un kit de chequeo enzimático específico para la lisozima (*Lysozyme EnzChek assay kit*). Este kit se basa en mediciones de fluorescencia que son directamente proporcionales a la actividad de la proteína, la cual, para este caso en particular, es la hidrólisis del enlace β -(1-4)-glucosídico entre el ácido N-acetilmurámico y los residuos N acetil-D-glucosamina de la pared celular de la bacteria *Micrococcus luteus*. Con esta prueba se determinó que la lisozima del huevo hervido no tenía actividad, mientras que la recuperada por el proceso descrito tenía un 82% respecto al de proteína inicial, lo que confirma que el método aplicado para recuperar la conformación nativa de la proteína fue exitoso⁴.

A pesar de lo que pueda parecer, la importancia de este trabajo no radica en “deshervir” un huevo, pues no parece que a nadie le vaya a apetecer usar las proteínas recuperadas para hacerse un huevo frito, sino en el hecho de que el proceso mencionado ofrece la posibilidad de regresar las proteínas a su estado natural una vez agregadas. Actualmente, existen métodos que hacen posible esta reversión, como por ejemplo aquellos basados en matriz asistida, en cromatografía de exclusión por tamaño, en chaperonas naturales** y artificiales, o en diálisis solo por mencionar algunos^{4,5}. Aunque estos métodos ciertamente consiguen su objetivo, estos aún son muy laboriosos y costosos, lo que dificulta que puedan ser aplicados a escala industrial, un área que podría resultar especialmente beneficiada por este descubrimiento⁴.

Entre las industrias que podrían verse beneficiadas por los estudios del profesor Yuan y su equipo se encuentran aquellas que usan proteínas para fines farmacéuticos, para aplicaciones medioambientales e industrias como la agrícola, la alimentaria y la ganadera. Para tener una idea de la importancia económica de las proteínas, solo en las tres primeras industrias, estas representan 160 000 millones de dólares, cifra que sigue aumentando año tras año⁴. Algunas de las proteínas de gran interés industrial son, por ejemplo, las lacasas, usadas como blanqueadores en la industria del papel y el tratamiento de aguas, las pectinasas, usadas en la extracción de jugos de frutas, la apoferritina, usada como transportador de fármacos contra el cáncer, las celulasas, que se usan como aditivos en alimentos y en la industria farmacéutica, o la más recientemente redescubierta LEM (del inglés *Lymphocyte Expansion Molecule*), que puede estimular el sistema inmune contra el cáncer^{6,7,8}.

Cuando se preparan muchas de estas proteínas con bacterias, uno de los principales problemas que se encuentran es que las bacterias sobreexpresan las proteínas (las fabrican en exceso) y estas forman agregados y cuerpos de inclusión, que las hacen inservibles, de modo similar a lo que ocurre cuando se hierva un huevo⁴. Es por esto que el premio

Ig-Nobel de Química de este año, lejos de ser un trabajo risible, es de gran importancia y abre la posibilidad de reducir pérdidas millonarias en la industria.

Sin embargo, aún se necesita ampliar las investigaciones en esta área para determinar si es realmente factible aplicar el mismo proceso a otras proteínas diferentes a la lisozima del huevo. Algunos experimentos similares en otras proteínas, como la caveolina, la proteína quinasa A y la glicoproteína 41, muestran un camino prometedor con esta técnica, pues cambiando mínimas condiciones, tales como el tiempo de tratamiento y la velocidad de rotación del tubo, se obtienen resultados positivos y se logra devolver a las proteínas a su estado original⁴. Veremos qué nos depara el futuro.

Recibido: 30 de octubre 2015

Aceptado en forma final: 14 de diciembre 2015

Bibliografía esencial:

Nelson, D.L. y Cox, M.M.: *Lehninger Principles of Biochemistry*. 5th Edition. W.H. Freeman and Company, Nueva York, 2008.

Yuan, T.; Ormonde, C.; Kudlacek, S.; Kunche, S.; Smith, J.; Brown, W.; Pugliese, K.; Olsen, T.; Ifitkhar, M.; Raston, C. y Weiss, G.: “Shear-Stress-Mediated Refolding of Proteins from Aggregates and Inclusion Bodies”. *Chem Bio Chem*. 2015, 16, 393-396. (📄)

Vallejo, L.; Rinas, U.: Strategies for the recovery of active proteins through refolding of bacterial inclusion body proteins. *Microb. Cell Fact.*, 2004, 3, 1-124. (📄)

5. Vallejo, L. y Rinas, U.: *Microb. Cell Fact.*, 2004, 3, 1-12. (📄)

6. Rabert, C. y col.: *Braz. J. Microbiol.*, 2013, 44, 351-356. (📄)

7. Okoye, I. y col.: *Science*, 2015, 348, 995-1001. (📄)

8. Luo, Y. y col.: *Biomater. Science*, 2015, 3, 1386-1394. (📄)

**Las chaperonas son proteínas que se encargan de ayudar al plegamiento de otras proteínas una vez que estas son formadas en las células.