

DESPLEGAMIENTO, INTERMEDIARIOS Y AMILOIDOSIS: EL DOMINIO VARIABLE DE LAS CADENAS LIGERAS $\lambda 6$.

Blancas-Mejía L.M. y Fernandez-Velasco D.A.

Facultad de Medicina. Departamento de Bioquímica, UNAM. México, DF. A.P. 70-159, C.P. 04510, Tel.56232259. fdaniel@servidor.unam.mx

La amiloidosis de cadenas ligeras (AL) es una patología caracterizada por la acumulación de agregados proteicos fibrilares, formadas principalmente por dominios variables de inmunoglobulinas. Las proteínas pertenecientes al subgrupo $\lambda 6$ están implicadas en aproximadamente el 30% de los casos reportados de amiloidosis AL. Sin embargo, dada su baja frecuencia en el repertorio de individuos sanos (4 % del total), se ha planteado que dicho subgrupo es intrínsecamente propenso a la formación de agregados amiloides. 6aJL2 es una proteína modelo del subgrupo $\lambda 6$ construida a partir de la secuencia de aminoácidos predicha para los genes 6a y JL2. En este trabajo se caracterizó el proceso de desnaturalización de 6aJL2 inducido por temperatura y urea. A tiempos de incubación cortos (3 minutos), los datos espectroscópicos, hidrodinámicos y calorimétricos indican que la desnaturalización de 6aJL2 es un proceso de dos estados. De igual manera, los valores de ΔG , m y C_m estimados a partir de experimentos al equilibrio, fueron compatibles con los obtenidos con experimentos cinéticos.

Ya que la formación de fibrillas es un proceso lento, se realizaron experimentos usando tiempos largos de incubación (24 horas). Las propiedades espectroscópicas, hidrodinámicas y calorimétricas determinadas para las muestras incubadas a 37 °C durante 24 horas, revelan la presencia de un intermediario "no nativo" en concentraciones de urea cercanas a la C_m (1.5-3.0 M urea). Por otra parte se encontró que la cinética de formación del intermediario es dependiente de la concentración de proteína. Este último resultado y las propiedades hidrodinámicas determinadas para dicho intermediario son consistentes con un intermediario oligomérico. Ya que la concentración del estado nativo y del desnaturalizado son máximas en la C_m , proponemos que el intermediario está formado por la asociación intermolecular de los estados nativo y desnaturalizado. Los experimentos de formación de fibrillas *in vitro* mostraron que el menor tiempo de retardo en la cinética de fibrillogénesis y la máxima velocidad de extensión de las fibrillas se obtiene en la C_m (2.5 M a 37 °C), lo cual indica que la presencia del intermediario no nativo, es crucial en el mecanismo de formación de las fibrillas.