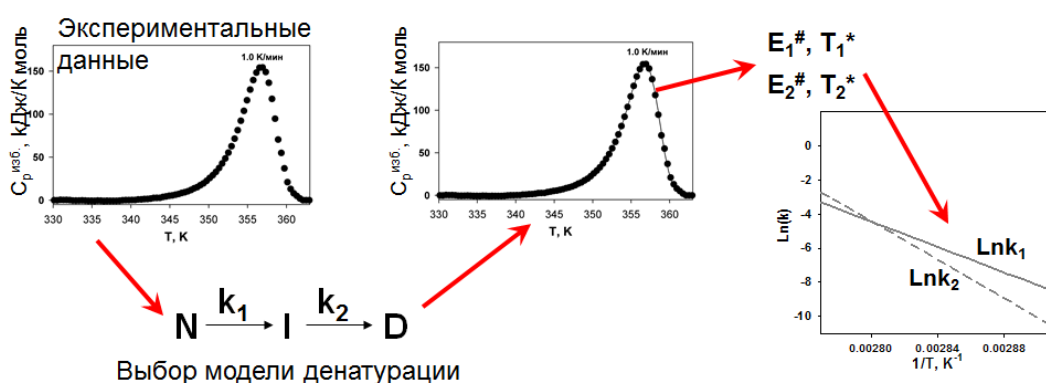


Метод сканирующей калориметрии в применении к исследованию неравновесного плавления белков, разворачивающихся в несколько стадий.

Методом сканирующей калориметрии в неравновесных условиях исследованы два белка – карбоксиангидраза и зеленый флуоресцентный белок (GFP). Это большие однодоменные белки, разворачивание которых проходит в несколько стадий. Причем скорости двух последних стадий разворачивания и карбоксиангидразы и GFP достаточно медленные (порядка 100 минут). Поэтому плавление этих белков проходит неравновесно при скоростях прогрева от 0.125 до 2.0 К/мин. Для карбоксиангидразы и зеленого флуоресцентного белка впервые методом сканирующей калориметрии получены константы скоростей разворачивания. Правильность полученных констант скоростей подтверждена прямыми кинетическими экспериментами (методами флуоресценции и кругового дихроизма).

1. Melnik T, Povarnitsyna T, Solonenko H, Melnik B. Studies of irreversible heat denaturation of green fluorescent protein by differential scanning microcalorimetry. *Thermochimica Acta*. 2011. 512: 71-75.
2. Мельник Т.Н., Солоненко Е.В., Поварницына Т.В., Мельник Б.С. Исследование тепловой денатурации зеленого флуоресцентного белка методом дифференциальной сканирующей микрокалориметрии. *Вестник СПбГУ*, 2009. сер.4, вып.3, стр.
3. Melnik BS, Povarnitsyna TV, Glukhov AS, Melnik TN and Uversky VN. SS-stabilizing proteins rationally: Intrinsic disorder – based design of stabilizing disulphide bridges in GFP. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*. 2012. 29(4): 817-24.
4. Melnik TN, Povarnitsyna TV, Glukhov AS, Melnik BS. Multi-state proteins. Approach allowing experimental determination of the formation order of structure elements in the green fluorescent protein. *PLoS One*. 2012. 7(11):e48604.

Из кривых неравновесного плавления можно рассчитать константы скоростей теплового разворачивания



Сравнение констант скоростей, рассчитанных из калориметрических данных и из прямого кинетического эксперимента для GFP

