

анализируемого белка, оценки стабильности клеточных систем экспрессии, используемых для получения продуктов рекомбинантных ДНК и оценки согласованности процесса в целом — в отношении как оценки стабильности продукта, так и обеспечения идентичности белка, либо определения содержания протеинов с изменениями в структуре.

Составление пептидных карт может рассматриваться как метод получения «отпечатков пальцев» белка и представляет собой получаемую в результате ряда химических процессов полную расшифровку анализируемого белка. Метод включает четыре принципиальные стадии: выделение и очистка белка (или «подготовка белка к гидролизу») — в случае, если белок входит в состав какой-либо смеси; избирательное расщепление пептидных связей (гидролиз); хроматографическое разделение образующихся пептидных фрагментов; анализ и идентификация пептидов.

Анализируемый образец подвергается расщеплению и анализу параллельно со стандартным образцом. Полное расщепление пептидных связей более вероятно при использовании ферментов, таких как эндопептидазы (например, трипсин), а не химических гидролизующих реагентов. Для того, чтобы карта была информативной, она должна содержать достаточное количество пептидов. С другой стороны, в случае, если пептидных фрагментов будет слишком много, карта может утратить свою специфичность, поскольку у многих белков может оказаться аналогичный профиль.

Пептидное картирование не является общим методом, а заключается в составлении индивидуальных карт для каждого отдельного белка.

Методики испытания должны быть приведены в фармакопейной статье или нормативной документации на субстанции или лекарственную форму.

ПОДГОТОВКА БЕЛКА К ГИДРОЛИЗУ

Подготовка белка к гидролизу включает этапы подготовки белка к расщеплению (восстановление, денатурацию, алкилирование и пр.) выделение и очистку белка от вспомогательных соединений.