

образования зависит от соотношения содержания трипсина к белку в реакционной смеси. Для предотвращения автогидролиза растворы протеаз готовят при рН, отличном от оптимального (например, при рН 5 для трипсина), благодаря чему фермент не переходит в активное состояние до момента разведения с буферным раствором.

В некоторых случаях, при использовании трипсина для расщепления пептидных связей белка с молекулярной массой более 100 000 Да, может потребоваться защита лизиновых остатков путем получения производных с лимонной или малеиновой кислотой, так как в противном случае может образоваться слишком большое число пептидных фрагментов.

*Требования к реагентам для расщепления пептидных связей.*

Под реагентами в процедурах пептидного картирования подразумеваются химические агенты и ферменты, используемые для расщепления пептидных связей.

Требования к квалификации и качеству реагентов должны быть указаны в нормативной документации.

Использование реагентов, особенно ферментов, квалификации и качества отличных от установленной в ходе валидации методики, например другого производителя, нежели указано в нормативной документации, может привести к невоспроизводимости хроматографических профилей.

В случаях, когда требуется какая-либо специальная подготовка реагента, например, для обеспечения определённой чистоты фермента или химического агента, эти процедуры должны быть описаны в нормативной документации

*Установление оптимальных условий для расщепления пептидных связей.*

Факторы, которые влияют на полноту и эффективность расщепления протеинов, являются факторами, оказывающими влияние на химические и ферментативные реакции.