

*pH реакционной среды.* Значение pH смеси, в которой осуществляется расщепление пептида, определяется эмпирически и направлено на оптимизацию состояния расщепляющего реагента. Например, при использовании трипсина в качестве расщепляющего агента оптимальной является слабощелочная среда (pH 8), применение цианобромида в качестве расщепляющего реагента требует создания сильнокислой среды (например, pH 2, за счёт использования муравьиной кислоты). Главным является требование, что бы значение pH реакционной среды не изменяло структуру белка в ходе реакции расщепления и не изменялось в ходе проведения гидролиза.

*Температура.* Для большинства реакций расщепления наиболее подходящей является температура в интервале от 25 °C до 37 °C.

Создаваемая температура должна способствовать минимизации побочных химических реакций. Тип протеина, подвергаемого расщеплению, определяет выбор температуры реакционной среды, поскольку некоторые белки с повышением температуры склонны к денатурации. Например, расщепление рекомбинантного бычьего соматотропина проводится при температуре 4 °C, поскольку при более высокой температуре он осаждается в ходе проведения реакции расщепления.

*Время.* Время проведения гидролиза оказывает существенное влияние на получаемую пептидную карту, поэтому следует установить оптимальное время для получения воспроизводимой карты, с одной стороны, и достаточное для проведения полного расщепления, с другой. Время расщепления варьируется от 2 ч до 30 ч.

Реакция гидролиза прекращается либо прибавлением кислоты или других веществ, которые не оказывают влияния на получаемую пептидную карту либо замораживанием. Наиболее часто используются растворы трифторуксусной кислоты, меркаптоэтанол.

*Количество используемого расщепляющего реагента.* Для обеспечения достаточного быстрого расщепления (от 6 ч до 20 ч) используется