

необходимо, поскольку пептидное картирование обеспечивает как подтверждение известной первичной структуры, так и идентификацию структуры отличающихся по составу белков (в случае их наличия) при сравнении с пептидной картой стандартного образца пептида, структура которого установлена.

Разработка и валидация метода составления пептидных карт при разработке нормативной документации на лекарственное средство требует исчерпывающей характеристики каждого из индивидуальных пиков пептидной карты. Для характеристики индивидуальных пиков могут быть использованы как метод *N*-концевого секвенирования с последующим анализом аминокислот, так и метод с использованием масс-спектропии.

В случаях, когда для установления первичной последовательности аминокислот используется метод *N*-концевого секвенирования с последующим анализом аминокислот, аналитическое разделение масштабируют для целей препаративного разделения. Необходимо убедиться на основании эмпирических данных, что ухудшения разрешения между пиками вследствие проведения масштабирования не происходит. Элюаты, соответствующие пикам определённых пептидных фрагментов, собирают, концентрируют и повторно хроматографируют, при необходимости. Аминокислотный анализ фрагментов может быть ограничен размером пептидов. В случае если *N*-концевая аминокислота заблокирована, может потребоваться ее высвобождение до секвенирования. С целью получения характеристики может также использоваться *C*-концевое секвенирование белков в комбинации с карбоксипептидазой и методом матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с времяпролетным масс-анализатором (*MALDI-TOF*).

Использование масс-спектропии для характеристики пептидных фрагментов производится либо путем непосредственного введения выделенных пептидов, либо с использованием *on-line* системы ВЭЖХ с масс-спектрометром для анализа разделяемых фрагментов.