

Тандемная масс-спектрометрия также используется для определения последовательности модифицированных белков и для определения типа произошедшей аминокислотной модификации.

Идентификация полученных фрагментов может быть осуществлена с помощью современных компьютерных баз данных.

Определение расположения дисульфидных связей в различных сульфгидрил-содержащих пептидах может быть произведено методом сравнения масс-спектров продукта расщепления до и после восстановления.

Если некоторые части первичной структуры не могут быть достаточно четко отражены пептидной картой, может потребоваться составление вторичной пептидной карты. Получение вторичной пептидной карты заключается в выделении полученных при гидролизе пептидных фрагментов с последующим их вторым расщеплением в выбранных условиях, хроматографическим разделением, обнаружением и идентификацией. Выделение пептидных фрагментов после первого гидролиза проводится, как правило, методами колоночной хроматографии. Условия гидролиза, разделения и идентификации при получении вторичной пептидной карты отличаются от условий получения первичной пептидной карты.

Для каждого из белков характерна совокупность уникальных свойств, обусловленных его первичной структурой и структурами более высокого порядка. Пики пептидных фрагментов наиболее характерных для данного пептида и/или отражающих наиболее важные свойства испытуемого пептида, например, комплимент зависимую область, выбираются в качестве характерных (реперных) пиков. Выбор реперных пиков должен быть обоснован, а перечень реперных пиков приводится в нормативной документации.

Валидация.

Методики пептидного картирования подлежат валидации. Характеристики, подлежащие валидации определяются критическими параметрами испытания, влияющими на интерпретацию результатов и их