



PNGase F

肽 N-糖苷酶 F

版本号: V240601

货号: G201
 保存: -20°C
 运输: 低温

货号	规格
G201-01	15000 U
G201-05	75000 U

【产品概述】

肽 N-糖苷酶 F (PNGase F) 是一种酰胺水解酶, 克隆自和平空间站伊丽莎白菌 (*Elizabethkingia miricola*, formerly *Flavobacterium meningosepticum*), 在大肠杆菌中重组表达。PNGase F 可以裂解由天冬酰胺连接的高甘露糖, 及杂合和复杂的寡糖糖蛋白。PNGase F 切割位点为糖蛋白内侧 N-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 和天冬酰胺残基之间的酰胺键, 同时将酶解后蛋白上的天冬酰胺转化为天冬氨酸, 而不会去除常见植物糖蛋白上含有核心 α -(1,3)-岩藻糖连接的寡糖。本产品常用于抗体及其相关蛋白完全去糖基化。

【产品特性】

1. 表达宿主: 大肠杆菌 *E.coli*。
2. 纯度: 经 SDS-PAGE 分析, 纯度 >95%。
3. 分子量: 36 kDa。
4. 比活性: 1,800,000 U/mg。

【产品组分】

组分货号	组分名称	G201-01	G201-05
ZG201-101	PNGase F (500U/ μ l) ^a	30 μ l	150 μ l
ZG201-102	Denaturing Buffer (10 \times)	1 ml	1 ml
ZG201-103	GlycoBuffer 2 (10 \times)	1 ml	1 ml
ZG201-104	10% NP-40	1 ml	1 ml

^a储存缓冲液: 20 mM Tris-HCl pH 7.5, 50 mM NaCl, 5 mM EDTA, 50% Glycerol。

【保存条件】

-20°C 保存, 保质期 12 个月。

【产品应用】

1. 从糖肽及糖蛋白上释放完整的 N-连聚糖。
2. 表征蛋白质是否糖基化。
3. 用于分子量检测或晶体学研究时去糖基化蛋白质的制备。
4. N-糖基化糖蛋白的结构-功能研究。
5. 糖基化位点的确定。

【活性定义】

一个活性单位 (U) 定义为: 10 μ l 的反应体系中, 37°C 条件下 1 h 从 10 μ g 变性 RNase B 中除去超过 95% 的碳水化合物所需要的酶量定义为一个活性单位 (U)。

【质量保证】

无糖苷外切酶污染, 无糖苷内切酶 F1、F2 和 F3 活性, 无蛋白水解活性。

**【使用方法】****1. 变性条件下蛋白质去糖基化：**

- 1) 在水中加入 1 μ l Denaturing Buffer (10 \times) 和目标糖蛋白 (1-20 μ g)，至终体积 10 μ l。
- 2) 100 $^{\circ}$ C 温度下煮沸 10 min 使其变性，冰上冷却，离心 10 秒。
- 3) 加入 2 μ l 的 GlycoBuffer 2 (10 \times)、2 μ l 的 10%NP-40、6 μ l 去离子水，总反应体积 20 μ l。
注：由于 SDS 会抑制 PNGase F 酶活，为保证 PNGase F 酶发挥作用，去糖基化反应体系中必须加入 NP40。
- 4) 加入 1 μ l 的 PNGase F，在 37 $^{\circ}$ C 孵育 1-3 h。
- 5) 糖蛋白去糖基化分析。
注：糖蛋白的去糖基化可以通过 SDS-PAGE 上的凝胶移位来观察，即去糖基化的产物比糖基化的底物移动的更快。

2. 在非变性条件下进行质谱检测的蛋白质去糖基化：

- 1) 在 50 mM 碳酸氢铵 (pH 7.8) 中加入 20 μ g 的糖蛋白至终体积为 18 μ l。
- 2) 加入 2 μ l 的 PNGase F。
- 3) 在 37 $^{\circ}$ C 孵育 2-18 h。

3. 非变性条件下蛋白质去糖基化：

- 1) 在水中加入 2 μ l 的 GlycoBuffer 2 和目标糖蛋白 (1-20 μ g) 至最终体积为 20 μ l。
- 2) 加入 2-5 μ l 的 PNGase F，轻轻混匀。
- 3) 37 $^{\circ}$ C 孵育 4-24 h。
注：在变性条件下大多数底物能够更好的去糖基化，在非变性条件下可能需要增加 PNGase F 的量和延长孵育时间。
- 4) 糖蛋白去糖基化分析。
注：糖蛋白的去糖基化可以通过 SDS-PAGE 上的凝胶移位来观察，即去糖基化的产物比糖基化的底物移动的更快。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。