

产品说明

PNGase F 是一种酰胺酶，切割糖蛋白上的 N-连接糖，切割的糖型有：高甘露糖、杂合和复杂寡糖，切割位点为：最内侧的 N-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 和天冬酰胺之间。PNGase F 还提供不含甘油的形式，便于在 HPLC 方法中取得最佳效果。重组 PNGase F(无甘油) 户型和含甘油的 PNGase F 相同，也是一种重组表达的酰胺酶，可以在高甘露糖型、杂合型和复杂型寡糖的最内侧 N-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 和天冬酰胺残基之间进行切割。

本公司 PNGase (无甘油) 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

1 活性单位指在 37°C 下，1×PNGase 反应缓冲体系下，60 min 内将 10 μg 变性 RNase B 中除去超过 95% 的碳水化合物所需要的酶量。糖基化 RNase B 分子量约 17,000 Da，去糖基后约 13,683 Da。

活性测定条件

1×PNGase Buffer: 糖蛋白变性缓冲液 (含 0.1% SDS, 10 mM DTT)、1×GlycoBuffer 2 缓冲液、1% NP-40, 37°C 反应 1 小时。

糖蛋白于 1×糖蛋白变性缓冲液 (含 0.5% SDS, 40mM DTT) 中 100°C 煮沸 10 分钟使其变性。

浓度: 500U/μl

保存条件: -20°C 可保存 2 年，避免反复冻融

特点与应用

- 糖蛋白的 N-连接糖的去糖基化
- PNGase F 几乎可以水解糖肽/糖蛋白中所有 N-连接糖
- 重组表达酶：确保不含糖苷内切酶 F1、F2 或 F3
- 无甘油剂型，有助于在 HPLC 和质谱分析中获得最佳结果
- 纯度 ≥ 95% (经 SDS-PAGE 和 ESI-MS 测定)
- 负 20 度不解冻情况下可稳定贮存长达 24 个月
- 可在天然或变性条件下使用
- 经优化设计，酶切后的 N-糖链核心寡糖保持完整，适合用于进一步分析

产品包装规格及组成

Component	AE6108A	AE6108B
PNGase (无甘油)	15 kU	75 kU
10×PNGase Buffer	0.5 ml	1.5 ml
10% NP40 (10×)	0.5 ml	1.5 ml
10×糖蛋白变性 Buffer	0.5 ml	1.5 ml

质量控制

经过严格的质控检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。

酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 5 mM EDTA, pH 7.5 @ 25°C

反应缓冲液

10×PNGase Buffer: 500 mM Sodium Phosphate (pH 7.5 @ 25°C)

其它缓冲液

10×糖蛋白变性缓冲液 (Glycoprotein Denaturing Buffer): 5% SDS, 400 mM DTT

10×NP-40: 10% NP-40。

注意事项

- 若 PNGase F (无甘油) 收货时为液体状态，建议在 4°C 保存，避免冻融。
- 已知 PNGase F 的活性受 SDS 的抑制，所以在反应混合物中必须加入终浓度 1% 的 NP-40。
- 要使天然糖蛋白去糖基化，建议增加酶量并延长温育时间。

使用实例：

1. 非变性糖蛋白的去糖基化

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积或浓度
10×PNGase Buffer	2 ul
糖蛋白	X ul
PNGase F (500U/μl)	1-2 ul
H ₂ O	Y ul
总体积	20 ul

- 2) 37°C × 4-24 h 反应，
- 3) 75°C × 15min 失活酶，
- 4) SDS-PAGE 电泳检测酶切产物，或按实验目的进行后续操作。

2. 变性糖蛋白的去糖基化

1) 按下列条件制备变性的糖蛋白底物

反应组分	体积或浓度
10×糖蛋白变性 Buffer	2 ul
糖蛋白	2-20ug
H ₂ O	Y ul
总体积	20 ul

100 度加热 10 min 变性糖蛋白，然后放在冰上冷却 5 min，最后离心 10 秒

2) 按下表配制反应体系

反应组分	体积或浓度
10×PNGase Buffer	2 ul
10% NP40	2 ul
变性糖蛋白	2-20ug
PNGase F (500U/μl)	1-2 ul
H ₂ O	Y ul
总体积	20 ul

- 2) 37°C × 60min 反应，
- 3) 75°C × 15min 失活酶，
- 4) SDS-PAGE 电泳检测酶切产物，或按实验目的进行后续操作。

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。