



## PNGase F (Glycerol-free)

### 肽 N-糖苷酶 F (无甘油)

版本号: V250101

货号: G201GF

保存: -20°C

运输: 低温

货号	规格
G201GF-01	15000 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  $\alpha$ -(1,3)-岩藻糖连接的寡糖。此酶不含甘油。本产品常应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	G201GF-01
ZG201GF-101	PNGase F (Glycerol-free, 500U/ $\mu$ l) <sup>a</sup>	30 $\mu$ l
ZG201-102	Denaturing Buffer (10 $\times$ )	1 ml
ZG201-103	GlycoBuffer 2 (10 $\times$ )	1 ml
ZG201-104	10% NP-40	1 ml

<sup>a</sup> 储存缓冲液: 20 mM Tris-HCl pH 7.5, 50 mM NaCl, 5 mM EDTA。

#### 【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  $\mu$ l 的反应体系中, 37°C 条件下 1 h 从 10  $\mu$ 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  $\mu\text{l}$  Denaturing Buffer (10 $\times$ )和目标糖蛋白 (1-20  $\mu\text{g}$ )，至终体积 10  $\mu\text{l}$ 。
- 2) 100 $^{\circ}\text{C}$ 温度下煮沸 10 min 使其变性，冰上冷却，离心 10 s。
- 3) 加入 2  $\mu\text{l}$  的 GlycoBuffer 2 (10 $\times$ )、2  $\mu\text{l}$  的 10%NP-40、6  $\mu\text{l}$  去离子水，总反应体积 20  $\mu\text{l}$ 。  
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  $\mu\text{l}$  的 PNGase F，在 37 $^{\circ}\text{C}$  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  $\mu\text{g}$  的糖蛋白至终体积为 18  $\mu\text{l}$ 。
- 2) 加入 2  $\mu\text{l}$  的 PNGase F。
- 3) 在 37 $^{\circ}\text{C}$  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  $\mu\text{l}$  的 GlycoBuffer 2 和目标糖蛋白 (1-20  $\mu\text{g}$ ) 至最终体积为 20  $\mu\text{l}$ 。
- 2) 加入 2-5  $\mu\text{l}$  的 PNGase F，轻轻混匀。
- 3) 37 $^{\circ}\text{C}$  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。