

PNGase F

产品描述

PNGase F是从糖蛋白中去除几乎所有N-糖链的最有效的方法。PNGase F是一种酰胺酶，切割糖蛋白上的N-连接糖链。切割的糖型有：高甘露糖型、杂合型和复杂型寡糖；切割位点为最内侧的N-乙酰葡萄糖胺和天冬酰胺之间的糖苷键。

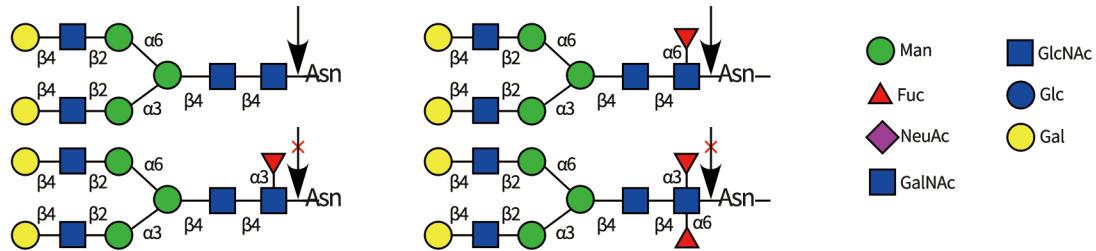


图1 PNGase F 的底物特异性

酶学性质

来源	微生物
分类	EC 3.5.1.52
分子量	35 kDa (SDS-PAGE)
最适pH	7.0-8.0
最适温度	37°C
底物选择性	水解蛋白质的Asn相连的N-糖链，使N-聚糖保持完整。
糖蛋白水解位点	除含 α 1-3岩藻糖苷键外，能切割所有N-糖链。
激活剂	DTT
抑制剂	SDS
储存温度	-20°C
失活条件	反应混合物在85°C孵育10min即可失活。

技术指标

外观	无色液体（含甘油或不含甘油）/可做冻干粉剂
蛋白纯度	$\geq 95\%$ (SDS-PAGE)
比活性	≥ 1500 U/mL

用途

用于从糖蛋白中去除N-糖链。

酶活定义

单位酶活定义为在下列条件下，10 μl的反应体系中，37°C反应1小时从10 μg变性RNase B中除去超过95%的碳水化合物所需要的酶量。

试剂组成

PNGase F	200 μl
10×Glycoprotein Denaturing Buffer	1000 μl
10×GlycoBuffer 2	1000 μl
10% NP-40	1000 μl

操作步骤

1. 用去离子水溶解1-20 μg的糖蛋白，加入1 μl的10×Glycoprotein Denaturing Buffer，用去离子水定容到10 μl；
2. 100 °C孵育10 min；
3. 加入2 μl的10×GlycoBuffer 2，2 μl的10% NP-40，轻轻吹打混匀；
4. 加入1-2 μl的PNGase F，加去离子水到20 μl，轻轻吹打混匀；
5. 37 °C孵育60 min；
6. 用于SDS-PAGE分析或HPLC分析。

各种糖蛋白去糖基化实验

糖蛋白	来源	N-糖链数量
RNase B	牛	1
Transferrin	人	2
Lactoferrin	人	3
Fetuin	牛	3
IgG	人	2
GDH(FAD)	毕赤酵母	9

反应不同时间(10 min、20 min、40 min、60 min)都能完全释放RNase B、Transferrin、Lactoferrin、IgG、Fetuin、GDH(FAD)的N-糖链。

糖智药业

销售热线

华东区:13658392159 (刘经理)

华南区:18364536083 (王经理)

其他区:13260523058 (杨经理)

服务邮箱:

sale@glycogene.com

官方网址:

www.glycogene.com



公众号