



# PNGase F

## PNGase F 糖酰胺酶 A

### 产品简介

PNGase F 是去除糖蛋白中几乎所有 N-连接寡糖的最有效的酶促法。PNGase F 是一种酰胺酶，切割糖蛋白上的 N-连接糖，切割位点为最内侧 N-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 和天冬酰胺残基之间，切割的糖型包括高甘露糖型、杂合型和复杂型寡糖。  
**酶活定义：**1 单位指在 10  $\mu$ l 总反应体系中，37°C 条件下，1 小时内从 10  $\mu$ g 变性 RNase B 中去除超过 95% 的糖链所需的酶量。

### 产品特点

- 1: 酶切后的 N-糖链核心寡糖保持完整，适合用于进一步分析。
- 2: 非重组表达，不含糖苷内切酶 F1、F2 或 F3 污染。
- 3: 纯度  $\geq$  95% (经 SDS-PAGE 和 ESI-MS 测定)。
- 4: 贮存于 50%甘油中。
- 5: 拥有最佳活性和稳定性，可稳定贮存长达 24 个月。
- 6: 可在非变性或变性条件下使用。

### 产品组成

组分	FS0657 PNGase F 糖酰胺酶 A		
	产品货号		
<b>试剂盒组分名称</b>	<b>15KU</b>	<b>75KU</b>	<b>Storage</b>
<b>试剂 A:</b> PNGase F (50U/ $\mu$ l)	<b>30 <math>\mu</math>l</b>	<b>150 <math>\mu</math>l</b>	-20°C，避免反复冻融
<b>试剂 B:</b> 10 $\times$ 糖蛋白变性缓冲液	<b>1mL</b>	<b>1mL</b>	
<b>试剂 C:</b> 10 $\times$ PNGase F 反应缓冲液	<b>1mL</b>	<b>1mL</b>	
<b>试剂 D:</b> 10% NP40	<b>1mL</b>	<b>1mL</b>	
使用说明书	1 份		

**保存及运输：** -20°C避光保存，至少 2 年有效，避免反复冻融。

### 使用方法

#### 一、变性反应条件：

- 1.将 1-20 $\mu$ g 糖蛋白，1 $\mu$ l 糖蛋白变性缓冲液 (10 $\times$ ) 和 ddH<sub>2</sub>O (如有必要) 混合，制成 10 $\mu$ l 总反应体积。
- 2.100°C加热反应 10 分钟使糖蛋白变性。
- 3.在冰上冷却变性糖蛋白并离心 10 秒。
- 4.加入 2 $\mu$ l PNGase F 反应缓冲液 (10 $\times$ )，2 $\mu$ l 10% NP-40 和 6 $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O，使总反应体积为 20 $\mu$ l。PNGase F 被 SDS 抑制，因此在变性条件下反应混合物中必须含有 NP-40。未能将 NP-40 纳入变性方案将导致酶活性的丧失。
- 5.加入 1 $\mu$ l PNGase F，轻轻混合。
- 6.选择方法分析



**【注意】**：评估去糖基化程度的最简单方法是通过 SDS-PAGE 凝胶上的迁移率变化。

## 二、非变性反应条件：

在对天然糖蛋白进行脱糖基化处理时，建议取一份糖蛋白样品进行变性处理，以提供完全脱糖基化蛋白的阳性对照。然后可以进行非变性反应将其与变性反应进行比较，以确定反应完成的程度。

- 1.将 1-20 $\mu$ g 糖蛋白，2 $\mu$ l PNGase F 反应缓冲液 (10 $\times$ ) 和 ddH<sub>2</sub>O (如有必要) 混合，制成 20 $\mu$ l 总反应体积。
- 2.加入 2-5 $\mu$ l PNGase F，轻轻混合。
- 3.在 37 $^{\circ}$ C 下孵育反应 4-24 小时。
- 4、选择分析方法。

**【注意】**：评估去糖基化程度的最简单方法是通过 SDS-PAGE 凝胶上的迁移率变化。

## 注意事项

- 1)SDS 会抑制 PNGase F 的活性，因此反应混合物必须含有 NP-40。目前还不清楚这种非离子去污剂抵消 SDS 抑制作用的机理。
- 2)要在非变性条件下对糖蛋白去糖基化，建议增加酶量并延长温育时间。
- 3)PNGase F 不会切割含有核心  $\alpha$ 1-3 岩藻糖的 N-连接糖链。
- 4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

