

## M5 PNGase F 使用说明书

| 产品名称        | 单位     | 货号       |
|-------------|--------|----------|
| M5 PNGase F | 15000u | MF462-01 |
| M5 PNGase F | 75000u | MF462-05 |

【储存条件】: -20℃

### 【产品简介】

肽 N-糖苷酶 F (Peptide-N4-(N-acetyl-β-D-glucosaminyl) asparagineamidase, PNGase F) 是一种酰胺水解酶, 主要由脑膜炎脓杆菌等革兰氏阴性菌分泌, 能够在温和的条件下从糖肽、糖蛋白上面完整切下 N-连接的寡糖链 (N-糖苷), 将寡糖链和蛋白部分分开。该酶具有广泛的底物专一性, 对所有类型的 N-寡糖链都有作用。这些特性使其在糖链结构分析、糖链在生物体内的作用和糖链对糖蛋白的作用的研究中起到了重要的作用。

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 的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氨酰转化为天冬氨酸。

### 【产品组分】

|                    |      |
|--------------------|------|
| PNGase F (500U/μl) | 30μl |
| 10×糖蛋白变性缓冲液        | 1ml  |
| 10×PNGase F 反应缓冲液  | 1ml  |
| 10% NP40           | 1ml  |

### 【活性定义】:

1 单位 (U) 指在 10μl 的反应体系中, 37℃条件下 1 小时从 10μg 变性 RNase B 中除去超过 95%的碳水化合物所需的酶量。

【缓冲液】: 50 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl pH 8.0, 5 mM EDTA

【表达宿主】: 大肠杆菌

【酶切位点】: PNGase F 几乎可以水解糖肽/糖蛋白中所有 N-连接糖 (x = H 或寡糖)

【分子量】: 36kDa

【纯度】: 90% (SDS-PAGE)

【比活性】: 1,800,000 U/mg

【热失活】: 75℃, 10 分钟

【酶切反应条件】：以 20ul 体系为例

### 1、变性反应

|                    |      |
|--------------------|------|
| 客户的糖蛋白(1-20ug)     | 1ul  |
| 10×糖蛋白变性缓冲液        | 1ul  |
| ddH <sub>2</sub> O | 8ul  |
| <hr/>              |      |
|                    | 10ul |

100℃温度下煮沸 10 分钟，然后迅速转移到冰上，短暂离心 10 秒。

### 2、酶切反应

|                    |      |
|--------------------|------|
| 上述变性反应体系           | 10ul |
| 10% NP-40          | 2ul  |
| 10×PNGase F 反应缓冲液  | 2ul  |
| ddH <sub>2</sub> O | 5ul  |
| <hr/>              |      |
|                    | 20ul |

加入 PNGase F 1ul，短暂离心 10 秒

37℃温度下温育 1 小时。

随后进行 SDS-PAGE 蛋白电泳检测

【注意事项】：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 NP-40。

### 【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。