

产品组分

组分名称	组分编号	浓度	规格-1	规格-2
			20,000 U	100,000 U
PNGase F, Recombinant (Expressed in <i>E. coli</i>)	RM02961	500,000 U/mL	40 μ L	200 μ L
10X Denaturing Buffer	RM02958	10X	1 mL	1 mL
10X Sodium Phosphate	RM02959	10X	1 mL	1 mL
10% NP-40	RM02960	10%	1 mL	1 mL

产品说明

肽 N-糖苷酶 F (Peptide N-Glycosidase F, PNGase F) 是一种糖基肽酶, 理论分子量 35.9 kD, 可以从糖蛋白中切割天冬酰胺连接的高甘露糖、杂合和复杂寡糖。PNGase F 的切割位点为糖蛋白最内侧 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。常应用于抗体、糖蛋白去糖基化。

产品来源

来自 *Elizabethkingia miricola* (*Chryseobacterium miricola*) 的基因构建在大肠杆菌中表达并分离纯化, 带有多重组氨酸标签。

保存条件

-20°C

活性定义

1 活性单位 (U) 指在 10 μ L 体系中, 37°C, 1 hr, 将 10 μ g 变性 RNase B 去除 95% 的碳水化合物所需要的酶量。

反应条件

50 mM Sodium phosphate pH 7.5 @ 25°C 体系中, 37°C 反应。

缓冲液组成

10X Denatured buffer :5% SDS、400 mM DTT

10X Sodium phosphate: 0.5M Sodium phosphate pH 7.5 @ 25°C

酶存储液

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

注意事项

1. 本产品仅用于科研用途。
2. 变性条件下更利于去除糖支链, 在非变性条件下, 建议增加酶的添加量及切割时间, 以达到最好的切割效果。
3. 原酶浓度较高, 建议稀释后使用。
4. 避免反复冻融。
5. 实验体系可以根据需求等比例放大。
6. PNGase F 可以通过 Ni 柱层析去除, 或通过阳离子交换去除。

操作说明

1. 在变性条件下去除蛋白质的糖基化

组分	加入量 (10 μ L 体系)
酶切底物	0-10 μ g
10X Denaturing Buffer	1 μ L
ddH ₂ O	To 7 μ L
100°C变性 10 min, 冰上冷却, 离心 10 s	
10% NP-40	1 μ L
10X Sodium Phosphate	1 μ L
PNGase F, Recombinant (Expressed in <i>E.coli</i>) (稀释到 1-5 U/ μ L) *	1 μ L
37°C反应 1 hr	

* 注 1: 当体系体积较小时, 可以用 1X Sodium Phosphate 缓冲液对 PNGase F 进行适当稀释后使用。

注 2: 因蛋白质本身以及糖基化修饰的不同, N-糖苷移除效率可能存在差异, 可视情况适当调整 PNGase F 用量和反应时间, 以获得最佳的实验效果。

2. 在非变性条件下去除蛋白质的糖基化

组分	加入量 (10 μ L 体系)
酶切底物	0-10 μ g
10X Sodium Phosphate	1 μ L
ddH ₂ O	To 9 μ L
PNGase F, Recombinant (Expressed in <i>E.coli</i>) (稀释到 1-10 U/ μ L) *	1 μ L
37°C反应 4-24 hr	

* 注 1: 当体系体积较小时, 可以用 1X Sodium Phosphate 缓冲液对 PNGase F 进行适当稀释后使用。

注 2: 因蛋白质本身以及糖基化修饰的不同, N-糖苷移除效率可能存在差异, 可视情况适当调整 PNGase F 用量和反应时间, 以获得最佳的实验效果。