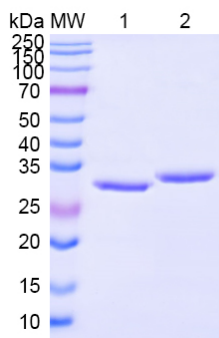


产品信息 (Product Details)

概述 (Summary)

产品英文名 (Product Name)	PNase F
产品中名	肽N-糖苷酶
产品描述 (Description)	肽N-糖苷酶 F (PNase F) 是一种酰胺水解酶，主要由脑膜炎奈瑟菌等革兰氏阴性菌分泌。PNase 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。PNase 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酰胺转化为天冬氨酸。 PNase F 不会去除常见植物糖蛋白上含有核心α-(1,3)-岩藻糖连接的真糖。
储存条件 (Storage)	储存于 -20°C，保质期 12 个月。
运输方式 (Shipping)	蓝冰运输
Note	For research use only .
状态 (Form)	Liquid
储存溶液 (Buffer)	20 mM Tris-HCl pH 7.5, 50 mM NaCl, 5 mM EDTA, 50% Glycerol
表达宿主 (Host)	E. coli
酶切位点	PNase 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	48.40 kDa
酶活	50000U/ml
酶活单位定义	1个酶活力单位指在10ul的反应体系中，37°C条件下1小时从10ug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) 。

实验示例 (Experiment Example)



在变性条件下，糖蛋白经PNase F
在37°C酶切1h后的电泳检测图。

Lane 1: 酶切后
Lane 2: 酶切前

使用方法 (Standard Operating Procedure)

在变性条件下进行SDS-PAGE的蛋白质去糖基化

1. 在水中加入1~20 μ g目标糖蛋白、Glycoprotein Denaturing Buffer (10X) 1 μ l至最终体积为10 μ l。
2. 在100°C加热10min使样品变性。
3. 将样品在冰上冷却，离心10秒。
4. 加入2 μ l的GlycoBuffer 2(10X)、2 μ l的10% NP-40、6 μ l去离子水，总反应体积为20 μ l。
5. 加入2 μ l的PNGase F, 轻轻混匀。
6. 37°C孵育1h。

注意：糖蛋白的去糖基化可以通过SDS-PAGE上的凝胶移位来观察，去糖基化的产物比糖基化的底物移动的更快。

注意：糖蛋白底物的差异，可能需要延长孵育时间。

在非变性条件下进行SDS-PAGE的蛋白质去糖基化

1. 在水中加入1~20 μ g目标糖蛋白、GlycoBuffer 2 (10X) 2 μ l至最终体积为20 μ l。
2. 加入2~5 μ l的PNGase F, 轻轻混匀。
3. 37°C孵育4-24h。

注意：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。

1X Glycoprotein Denaturing Buffer

0.5% SDS

40 mM DTT

1X NP-40

1% NP-40 in MilliQ-H₂O

1X GlycoBuffer 2

20 mM Tris, PH 7.5