

PRODUKT INFORMATION**PNGase F, recombinant (lyophilized)****Cat. no. 36405****PRODUKTBESCHREIBUNG**

PNGase F ist eine mutante rekombinante Glykosidase aus *Flavobacterium meningosepticum*, exprimiert in *E. coli*. Das Enzym katalysiert die Spaltung von N-verknüpften Oligosacchariden zwischen dem innersten GlcNAc und Asparagin-Resten von mannosereichen, hybriden und komplexen Oligosacchariden N-verknüpfter Glykoproteine. Durch die vorgenommenen proprietären Veränderungen zeigt PNGase F einzigartige Eigenschaften im Vergleich zu anderen kommerziell erhältlichen Enzymen:

- Kein Kühltransport nötig, Lagerung bei Raumtemperatur
- Benötigt keinen Denaturierungsschritt
- Deglykosylierung nativer Glykoproteine und Serum-Glykoproteine in Minuten bei Raumtemperatur
- Setzt mehr komplexe Glykane frei im Vergleich zu anderen kommerziell erhältlichen Enzymen

Speziell entwickelt und getestet für MALDI-Imaging von Gewebe

Konzentration nach Rekonstitution in 50 µl dest. H₂O: 10⁶ Units/ml (2,0 mg/ml)

Molekulargewicht: ca. 36 kDa

Lagerung des Lyophilisats: Bei + 15 °C bis + 30 °C.

Lagerung der Lösung: Bei + 2 °C bis - 20 °C (kein wiederholtes Auftauen und Einfrieren).**1. Deglykosylierung von Proteinen unter denaturierenden Bedingungen**

Deglykosylierung kann durch Gel-Shift auf SDS-PAGE analysiert werden.

Benötigtes Material:

- 5 % (w/v) SDS
- 1 M DTT
- 1x Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung (PBS), pH 7,4
- 10 % (w/v) NP-40
- Eis

- Bis zu 50 µg Glycoprotein zu 1x PBS zugeben (Endvolumen 11 µl).
- Zugabe von 1 µl 5 % SDS und 1 µl 1 M DTT.
- Denaturieren der Probe bei 95 ° C, 10 min und abkühlen der Probe auf Eis.

Hinweis: Andere Puffer können verwendet werden, wenn ihr pH-Bereich bei pH 6 - 10 liegt.

- Zugabe von 2 µl 10 % NP-40 und 1 µl rekombinanter PNGase F
- 30 min bei 37 ° C inkubieren.

2. Deglykosylierung von Proteinen unter nativen Bedingungen

Die Deglykosylierung unter nativen (nicht-denaturierenden) Bedingungen kann eine Erhöhung der Enzymmenge auch der Inkubationszeit erfordern.

Benötigtes Material:

- 1x Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung (PBS), pH 7,4
- Bis zu 20 µg Glycoprotein zu 1x PBS zugeben (Endvolumen 18 µl).
- Zugabe von 2 µl rekombinante PNGase F.
- Inkubation bei 37 °C, 0,5 – 24 Stunden.

Vers 01/19