



产品使用说明书

Rhinogen[®] α -N-乙酰半乳糖苷酶

货号：QPF-018



目 录

| | |
|-------------|---|
| 目 录 | 1 |
| 产品信息 | 2 |
| 试剂包装 | 2 |
| 产品来源 | 2 |
| 产品质量 | 2 |
| 产品特性 | 2 |
| 酶活定义 | 2 |
| 保藏条件 | 2 |
| 产品综述 | 3 |
| 背景 | 3 |
| 概述 | 3 |
| 应用 | 3 |
| 特性 | 3 |
| 操作方法 | 4 |
| 实验准备 | 4 |
| 糖蛋白消化 | 4 |
| 注意事项 | 4 |
| 相关产品 | 5 |
| 联系我们 | 6 |
| 参考文献 | 6 |

产品信息

试剂包装 Rhinogen® α -N-乙酰半乳糖苷酶包装规格如下:

| 目录号 | 规格 | 浓度 |
|-----------|-------|--------------|
| QPF-018-A | 2000U | 67U/ μ l |

Rhinogen® α -N-乙酰半乳糖苷酶配套提供的试剂如下:

| 目录号 | 试剂 | 成分 |
|------|----------------|-------------------|
| EB10 | 10×Glyco 缓冲液 3 | 200mM Tris, pH6.8 |

可消化至多 2mg O-糖蛋白。

产品冻干于 20mM TBS, pH7.6 中, 不添加防腐剂。

产品来源 序列来源于 *Akkermansia muciniphila*, 重组表达于 *E. coli*, 理论分子量约 52KD, C 端带 6×His 标签。

产品质量 SDS-PAGE分析, 纯度 \geq 95%; 没有检测到污染的外切糖苷酶、糖苷内切酶及蛋白酶活性。

产品特性 α -N-乙酰半乳糖苷酶 (α -N-Acetylgalactosaminidas, *exo*- α -N-Acetylgalactosaminidase, α -NAGA, EC3.2.1.49) 是一种高度特异性的糖苷外切酶, 可有效水解与糖蛋白中丝氨酸或苏氨酸残基连接的 α -N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) (Tn抗原), 该酶还对 α 1-3连接的末端GalNAc显示活性。 α -NAGA在天然条件下水解糖蛋白上的GalNAc。适用pH值范围 6.0到7.6, 不需要辅助因子或特殊缓冲体系。

酶活定义 α -N-乙酰半乳糖苷酶能从4-Nitrophenyl N-acetyl-alpha -D-galactosaminide中裂解 α -N-乙酰基半乳糖胺基, 通过402nm检测释放PNP的量来定义酶活, 在所述条件下 (20mM Tris, pH6.8) 每个活力单位每分钟能释放 \geq 600pmol PNP。

保藏条件 采用冰袋运输, 长期储存请置于-20°C, 重悬后 2-8°C可保存 1 个月。避免反复多次冻融和频繁的温度变化。

产品综述

背景

在生产O-糖基化生物药物的过程中，由于核心GalNAc残基的不完全加工，可能会出现Tn抗原（GalNAc以 α 连接的方式链接在丝氨酸/苏氨酸上），有研究指出，Tn抗原可参与C型凝集素巨噬细胞半乳糖凝集素（MGL）结合，且MGL在树突细胞和巨噬细胞中表达，因此Tn抗原与MGL的连接可能引起免疫抑制，帮助肿瘤实现免疫逃逸。

α -N-乙酰半乳糖苷酶是一种高度特异性的外糖苷酶，可有效水解与糖蛋白（Tn 抗原）中丝氨酸或苏氨酸残基连接的 α -N-乙酰半乳糖胺（GalNAc），该酶还对 α 1-3 连接的末端GalNAcs 显示活性。因此 α -N-乙酰半乳糖苷酶可用于去除 Tn 抗原。

概述

α -N-乙酰半乳糖苷酶广泛分布于生物体内，参与糖缀合物的代谢。 α -NAGA在天然条件下水解糖蛋白上的GalNAc。适用pH值范围6.0到7.6，不需要辅助因子或特殊缓冲体系。

应用

1. 从糖肽及糖蛋白上释放完整的 Tn 抗原；
2. 对 O-糖基化生物药物进行 Tn 抗原表征
3. 表征蛋白质是否糖基化及去糖基化；
4. 糖蛋白测序及分析
5. 糖蛋白重组表达

特性

α -N-乙酰半乳糖苷酶在生理缓冲液和中性 pH 值中具有活性，使其与大多数样品兼容。此外， α -N-乙酰半乳糖苷酶的活性不依赖于可能损害 LC-MS 分析的任何辅助因子，例如 BSA。根据糖蛋白底物的性质，孵育时间为 2~18h。

| 酶的特性 | α -N-乙酰半乳糖苷酶 |
|----------|---------------------|
| 培养时间 | 2-18h |
| pH 范围 | 6.0-7.6 |
| MS 兼容性 | 兼容 |
| 特殊缓冲液 | 不需要 |
| 辅助因子 | 不需要 |
| 添加剂或 BSA | 无 |

操作方法

实验准备 配制反应缓冲液（20mM Tris, pH6.8）：将10×Glyco 缓冲液3稀释至1×。
使用反应缓冲液将糖蛋白底物调整至0.5-5.0mg/ml。

糖蛋白消化 以2000U/支产品为例：
1、使用100μl ddH₂O重悬冻干粉至20U/μl；
2、以1U α-N-乙酰半乳糖苷酶/1μg糖蛋白的比例添加α-N-乙酰半乳糖苷酶；
3、37°C孵育2-18h。
注：根据底物类型适当优化酶的浓度和孵育时间。

注意事项

- 避免反复冻融。
- 可适当分装以减少多次冻融带来的活性损失。
- 本产品仅供研究使用，不适用于人或动物的物诊断及治疗用途。

相关产品

| 产品名称 | 货号 |
|----------------------------------------------------------------------------|---------|
| PNGase F(Glycerol-free) | QPF-001 |
| O-Glycosidase | QPF-004 |
| α 2-3,6,8,9 Neuraminidase | QPF-005 |
| β 1-4 Galactosidase | QPF-006 |
| β -N-Acetylhexosaminidase | QPF-007 |
| Protein Deglycosylation Kit I (for O-linked Glycans) | QPF-008 |
| Protein Deglycosylation Kit II (for N-linked & Simple O-linked Glycans) | QPF-009 |
| Protein Deglycosylation Kit III (for N-linked & Complex O-linked Glycans) | QPF-010 |
| EndoS endoglycosidase | QPF-011 |
| α 1-2 Fucosidase | QPF-013 |
| α 1-2,4,6 Fucosidase | QPF-014 |
| α 1-3,4 Fucosidase | QPF-015 |
| Endo F1 | QPF-016 |
| Endo F3 | QPF-017 |
| Quick™ PNGase F -Plus | QPF-019 |
| Immobilized PNGase F, Microspin | QPF-101 |
| TransCOUPER™ 糖链重塑试剂盒 | QPF-102 |
| TransCOUPER™ 去岩藻糖链重塑试剂盒 | QPF-103 |
| TransCOUPER™ 叠氮活化试剂盒 | QPF-104 |

联系我们

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电 话: [0512-87663137](tel:0512-87663137)
- 技术支持: techserv@rhinobio.com

参考文献

-
1. Matsusako T , Muramatsu H , Shirahama T , et al. A metastasis-associated antigen is present on a 60 kDa glycoprotein in transitional cell carcinoma of the human urinary bladder[J]. The Histochemical Journal, 1992, 24 (11) :805-810.
 2. Eirikur, Saeland, Sandra, et al. The C-type lectin MGL expressed by dendritic cells detects glycan changes on MUC1 in colon carcinoma[J]. Cancer Immunology Immunotherapy, 2007.
 3. Van V S J , Ellis V L , Eirikur S , et al. Carbohydrate profiling reveals a distinctive role for the C-type lectin MGL in the recognition of helminth parasites and tumor antigens by dendritic cells[J]. International Immunology (5) :661-669.
 4. Napoletano C , Rughetti A , Agervig Tarp M P , et al. Tumor-associated Tn-MUC1 glycoform is internalized through the macrophage galactose-type C-type lectin and delivered to the HLA class I and II compartments in dendritic cells.[J]. Cancer Research, 2007, 67 (17) :8358-8367.
-

RHINO BIO



上海瑞诺生物科技有限公司
苏州瑞特佰生物科技有限公司
网 址: www.rhinobio.com
电 话: 0512-87663137
邮 箱: techserv@rhinobio.com



公众号



联系客服

