



产品使用说明书

Rhinogen[®] Endo F3

货号：QPF-017



目 录

目 录	1
产品信息	2
试剂包装	2
产品来源	2
产品特性	2
产品质量	2
酶活定义	2
保藏条件	2
产品综述	3
背景	3
概述	3
应用	5
操作方法	6
实验准备	6
糖蛋白消化	6
注意事项	6
常见问题	7
相关产品	8
联系我们	9
参考文献	9

产品信息

试剂包装 Rhinogen® 内切糖苷酶 F3 (Endo F3) 包装规格如下:

目录号	规格
QPF-017-A	240U/30μl
QPF-017-C	1600U/200μl

储存于 20mM Tris-HCl, pH7.5 中, 不添加防腐剂。

配套提供的试剂如下:

目录号	试剂	成分
EB13	10× Glyco 缓冲液 6	500mM sodium acetate, pH4.5

产品来源 Endo F3 重组表达于 *E. coli*, 理论分子量约 74 kDa, N 端带 MBP 融合蛋白, C 端带 6×His 标签。

产品特性 Endo F3 (Endo-β-N-acetylglucosaminidase F3, Endoglycosidase F3) 是一种内切糖苷酶, 属于糖基水解酶家族 18 (GH18)。如下图 1 所示, 从肽和蛋白质中选择性释放三触角和 α-(1-6)-岩藻糖基化双触角 N-聚糖。该酶适用于在天然条件下从糖蛋白中脱糖基化, 适用于各种糖组学、蛋白质组学和质谱应用。

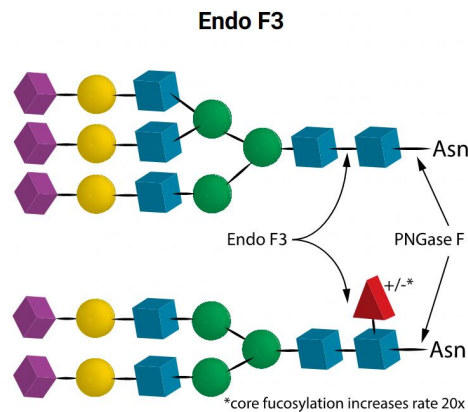


图1. Endo F3切割位点

产品质量

- ✓ **高纯度:** 通过 SDS-PAGE 检测, 纯度≥90%;
- ✓ **高活性:** 比活>4000U/mg, 活性>8000U/ml;
- ✓ **高稳定性:** 每批产品都经过严格的质量控制, 以实现产品批间稳定性。

酶活定义 在 37°C、pH 4.5 条件下, 在 1 分钟内催化 1 μM 猪纤维蛋白原释放 N-连接寡糖所需的酶量。

保藏条件 采用冰袋运输, 2-8°C 可储存 12 个月。室温储存几天不会明显降低活性。避免冻融。

产品综述

背景

Endo F3 切割游离的或天冬酰胺连接的三触角或 α -(1-6) 岩藻糖基化的双触角寡糖，以及三氨基壳二糖核心结构。非岩藻糖基化的双触角聚糖也会被切割，但速度会降低 40 倍。它在寡糖的二乙酰壳二糖核心中的两个 N-乙酰氨基葡萄糖残基之间裂解，产生一个截短的糖分子，其中一个 N-乙酰氨基葡萄糖残基留在天冬酰胺上。相反，PNGase F 可完整去除寡糖。 α 1-3 岩藻糖基化会抑制酶活性，且对寡甘露糖和杂合分子没有活性。

概述

Endo F3 可在寡糖 N-连接的二乙酰基壳二糖聚糖核心中的两个 N-乙酰葡萄糖胺残基之间进行切割，从而产生截短的糖分子，其中一个 N-乙酰氨基葡萄糖残基则保留在天冬酰胺上（图 2）。Endo F3 对寡甘露糖和杂合分子没有活性。Endo F3 可以较慢的速率切割非岩藻糖基化的双角和三角复合寡糖，但仅限于肽连接的寡糖（图 3 和 4）。双角结构的核心岩藻糖基化可使其活性增加至 400 倍。核心岩藻糖基双角结构是 Endo F3 的有效底物，即使在游离的低聚糖中也是如此。Endo F3 还可在游离和蛋白质连接的寡糖上对岩藻糖基化的三甘露糖核心结构进行切割。复合四角聚糖的天然去糖基化需要通过顺序水解为三甘露糖二乙酰基壳二糖 (Man3GlcNAc2) 核心，然后再使用 Endo F3 进行切割（图 5）。

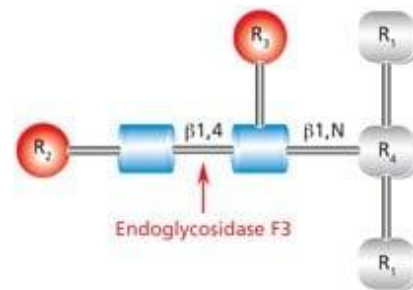


图 2. Endo F3 的切割位点和结构要求

R1 = 除 H 以外的进行 N-和 C-取代的基团

R2 = 双角或三角复合寡糖或三甘露糖 (Man3) 核心

R3 = H 或 α (1 \rightarrow 6) 岩藻糖

R4 = Asn (如果在 R3 位置经岩藻糖基化，则为 Asn 或 H)

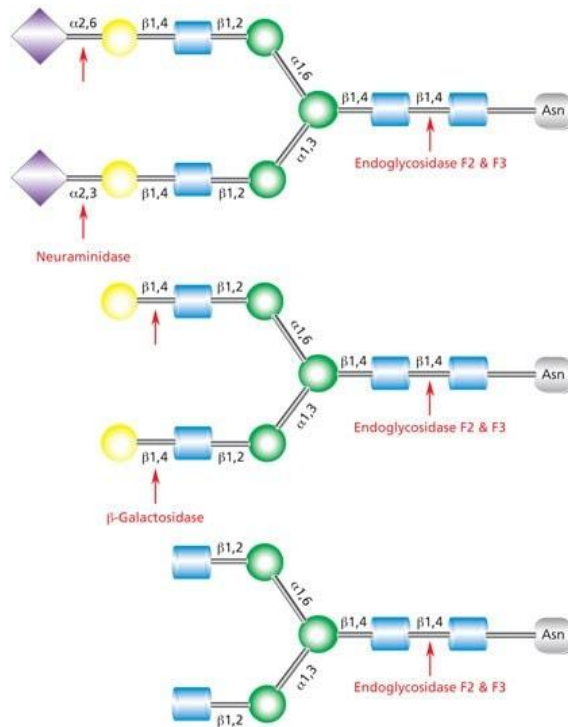


图 3. 复合双天线聚糖中内切糖苷酶 F2 和 F3 的切割位点。显示了使用外切糖苷酶神经氨酸酶和β-半乳糖苷酶去除末端单糖的连续降解过程。

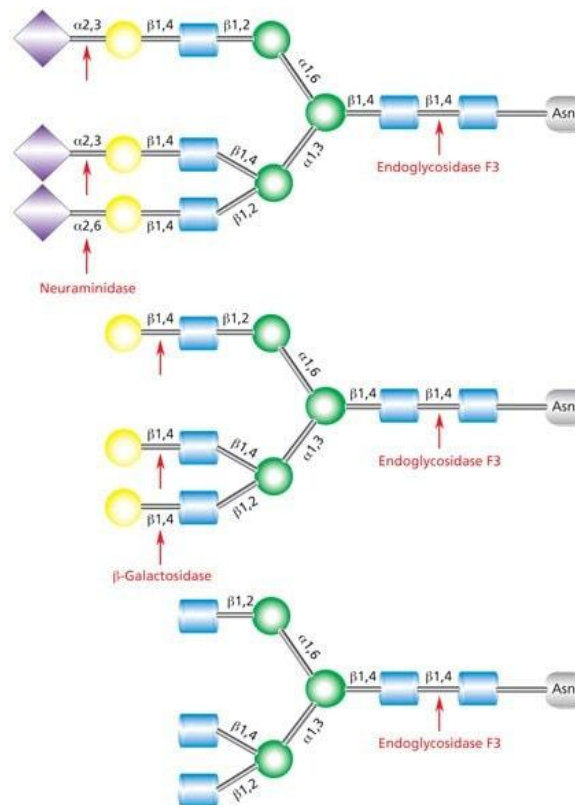


图 4. 复合三角聚糖中内切糖苷酶 F3 的切割位点。显示了使用外切糖苷酶神经氨酸酶和β-半乳糖苷酶去除末端单糖的连续降解过程。

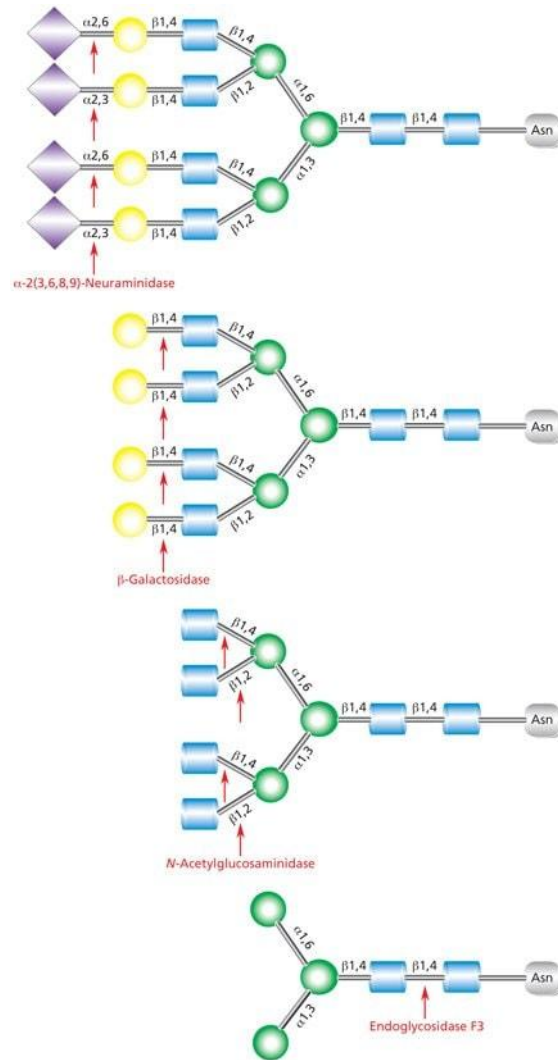


图 5. 复合四角聚糖的顺序去糖基化。使用外切糖苷神经氨酸酶、 β -半乳糖苷酶和 N-乙酰葡萄糖胺酶依次除去末端的单糖，直至剩余三甘露糖二乙酰基壳二糖的核心，以用于随后的 Endo F3 切割。

应用

- ✓ 糖组学；
- ✓ 糖型分析及糖基化位点的确定；
- ✓ 蛋白质组学；
- ✓ 质谱应用。

操作方法

实验准备

使用前，请将Rhinogen® Endo F3瞬离，确保所有试剂都在管底。

糖蛋白消化

- 1、将 20 μg 糖蛋白、1 μl 10 \times GlycoBuffer 4 和 纯水（如有必要）混合成 9 μl 总反应体积；
- 2、加入 1 μl Endo F3，轻柔混匀；
- 3、37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应1小时。

注意事项

- 对于不同的糖蛋白样品，需要实验摸索最适的酶浓度及反应时间。
- 反应体系可以线性扩大。
- 为防止微生物污染，尽可能无菌取用。
- 较高的酶浓度可以提高单个糖蛋白的消化效率，需要根据实际情况优化。
- 避免多次冻融。
- 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诊断及治疗用途。

常见问题

Endo F3 良好的阳性对照是什么？

猪纤维蛋白原是一种糖蛋白，含有岩藻糖基化双触角 N 连接聚糖，可用作 Endo F3 的阳性对照。

洗涤剂会抑制 Endo F3 活性吗？

Endo F3 只能在非变性（天然）条件下使用。去污剂，例如 SDS，会抑制 Endo F3 的活性。

Endo F3 活性的最佳 pH 值是多少？

Endo F3 裂解岩藻糖基化双触角（即猪纤维蛋白原）和三触角聚糖（即胎球蛋白）的最佳 pH 值为 pH 4.5（10× Glycobuffer 4）。然而，岩藻糖基化的双触角聚糖也可以在 pH 6.0（10× Glycobuffer 3）下被 Endo F3 裂解。

PNGase F 和 Endo F3 有什么区别？

PNGase F 在来自 N 连接糖蛋白的高甘露糖、杂合和复合寡糖的最内层 GlcNAc 和天冬酰胺残基之间切割。而 Endo F3 对去除含有岩藻糖基化双触角和三触角寡糖的糖蛋白壳二糖核心内的 N 连接聚糖具有高度特异性。

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
α -N-乙酰半乳糖苷酶	QPF-018
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. Tarentino AL, Quinones G, Schrader WP, Changchien LM, Plummer TH Jr. Multiple endoglycosidase (Endo) F activities expressed by *Flavobacterium meningosepticum*. Endo F1: molecular cloning, primary sequence, and structural relationship to Endo H. *J Biol Chem*. 1992 Feb 25;267(6):3868-72. PMID: 1740434.
 2. Trimble RB, Tarentino AL. Identification of distinct endoglycosidase (endo) activities in *Flavobacterium meningosepticum*: endo F1, endo F2, and endo F3. Endo F1 and endo H hydrolyze only high mannose and hybrid glycans. *J Biol Chem*. 1991 Jan 25;266(3):1646-51. PMID: 1899092.
 3. Reddy A, Grimwood BG, Plummer TH, Tarentino AL. High-level expression of the Endo-beta-N-acetylglucosaminidase F2 gene in *E.coli*: one step purification to homogeneity. *Glycobiology*. 1998 Jun;8(6):633-6. doi: 10.1093/glycob/8.6.633. PMID: 9592130.
 4. Plummer TH Jr, Tarentino AL. Purification of the oligosaccharide-cleaving enzymes of *Flavobacterium meningosepticum*. *Glycobiology*. 1991 Jun;1(3):257-63. doi: 10.1093/glycob/1.3.257. PMID: 1794038.
 5. Elder JH, Alexander S. endo-beta-N-acetylglucosaminidase F: endoglycosidase from *Flavobacterium meningosepticum* that cleaves both high-mannose and complex glycoproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982 Aug;79(15):4540-4. doi: 10.1073/pnas.79.15.4540. PMID: 6812050; PMCID: PMC346710.
 6. Tarentino AL, Plummer TH Jr. Substrate specificity of *Flavobacterium meningosepticum* Endo F2 and endo F3: purity is the name of the game. *Glycobiology*. 1994 Dec;4(6):771-3. doi: 10.1093/glycob/4.6.771. PMID: 7734840.
-

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

