



产品使用说明书

# Rhinogen<sup>®</sup> $\alpha$ -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®  $\alpha$ -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/ $\mu$ l

Rhinogen®  $\alpha$ -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** Rhinogen®  $\alpha$ -N-乙酰半乳糖苷酶重组表达于 *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**  $\alpha$ -N-乙酰半乳糖苷酶 ( $\alpha$ -N-Acetylgalactosaminidas, *exo*- $\alpha$ -N-Acetylgalactosaminidase,  $\alpha$ -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 $\alpha$ -N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) (Tn抗原), 该酶还对 $\alpha$  1-3连接的末端GalNAc显示活性。 $\alpha$ -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**  $\alpha$ -N-乙酰半乳糖苷酶能从4-Nitrophenyl N-acetyl-alpha -D-galactosaminide中裂解 $\alpha$ -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 $\alpha$ 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。

$\alpha$ -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 $\alpha$ -N-乙酰半乳糖胺（GalNAc），该酶还对 $\alpha$ 1-3连接的末端GalNAcs显示活性。因此 $\alpha$ -N-乙酰半乳糖苷酶可用于去除Tn抗原。

### 概述

$\alpha$ -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。 $\alpha$ -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

$\alpha$ -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， $\alpha$ -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	$\alpha$ -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 ddH<sub>2</sub>O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
$\alpha$ 2-3,6,8,9 Neuraminidase	QPF-005
$\beta$ 1-4 Galactosidase	QPF-006
$\beta$ -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
$\alpha$ 1-2 Fucosidase	QPF-013
$\alpha$ 1-2,4,6 Fucosidase	QPF-014
$\alpha$ 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](mailto: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](http://www.rhinobio.com)  
电 话: 0512-87663137  
邮 箱: [techserv@rhinobio.com](mailto:techserv@rhinobio.com)



公众号



联系客服

