

## 金担子素 A (AbA, 1 mg/mL)

## Aureobasidin A (AbA, 1 mg/mL)

### 产品信息

产品名称	编号	规格
金担子素 A (AbA, 1 mg/mL)	DY50213	1mg / 5×1 mg / 10×1 mg

### 产品描述

金担子素 A (Aureobasidin A, AbA) 是从丝状真菌 *Aureobasidium pullulans* No.R106 中分离出来的环酯肽类抗生素, 具有很强的抗真菌能力。AbA 作用机制是抑制酵母中 AUR1 基因编码的肌醇磷酸酰胺 (inositol phosphorylceramide, IPC) 合成酶的活性, 干扰鞘脂合成, 从而杀死菌株。AbA 在较低的浓度下 (0.1-0.5  $\mu\text{g/mL}$ ) 即可对酵母产生毒性。编码 IPC 合成酶的基因研究较多的来自酿酒酵母菌的 AUR1 基因, 以及构巢曲霉的 AURA 基因, 两者具有同源性。

AbA 非常适合作为阳性克隆子筛选用的药物选择性标记。AbA 抗性也是酵母单/双杂交研究中理想的报告子。本品为溶于甲醇的 AbA 溶液, 浓度为 1 mg/mL。具体的工作浓度取决于宿主细胞的敏感度。

### 保存方式

2-8°C保存, 有效期为两年。

### 产品性质

分子式 (Formula) : C<sub>60</sub>H<sub>92</sub>N<sub>8</sub>O<sub>11</sub>

分子量 (Molecular weight) : 1100

纯度 (Purity) :  $\geq 95\%$

### 操作说明 (抗 AbA 的酵母转化系统)

1. 加入 0.5 mL 过夜培养的酵母到 50 mL YPD 培养基中。
  2. 30°C培养约 6 小时, 测定 OD<sub>660</sub> 为 1~2。使用二倍体时, 测定 OD<sub>660</sub> 为 2~4。
  3. 1,000×g 离心 5 分钟。
  4. 用 10 mL 溶液 A (配方: 100 mM Lithium acetate, 10 mM Tris-HCl pH 7.5, 1 mM EDTA) 悬浮沉淀, 1,000×g 离心 5 分钟。
  5. 用溶液 A 重悬沉淀, 直到 OD<sub>660</sub> 为 150。
  6. 从管内取 100  $\mu\text{L}$  细胞悬浮液, 30°C培养 1 小时。
  7. 加入 5  $\mu\text{g}$  载体 (环状或线性 DNA) 和 150  $\mu\text{g}$  Carrier DNA (已经过 100°C加热 10 分钟, 并迅速冷却)。
- 注: pAUR101 需使用线性 DNA 进行转化。使用环状 DNA 会降低转化效率甚至转化不成功。pAUR112 和 pAUR123 需使用完整的质粒 DNA 进行转化。
8. 加入 850  $\mu\text{L}$  溶液 B (配方: 取 40 g Polyethylene Glycol 4000 溶于 100 mL 溶液 A 充分溶解, 需要现用现配), 轻轻混匀。
  9. 30°C培养 30 分钟后, 42°C培养 15 分钟。

10. 室温放置 10 分钟。
11. 5,000 rpm 离心 1 分钟, 用 5 mL YPD 培养基悬浮沉淀。
12. 30°C培养 6 小时。
13. 5,000~10,000 rpm 离心, 用 1-10 mL 0.9% NaCl 悬浮沉淀。
14. 在 YPD 选择培养基平板 (含一定浓度的 AbA, 依菌株类型而定) 上接种 100  $\mu$ L 细胞悬液。30°C培养 3-4 天后转化完成。
15. 挑取阳性转化子, 可测定转化效率 (以每微克质粒 DNA 转化的菌落数来表示)。

不同菌株建议 AbA 的工作浓度

菌属	菌种	MIC ( $\mu$ g/mL)
S.cerevisiae	ATCC9763 (diploid)	0.2-0.4
	Baker's yeast (diploid)	0.2-0.4
	Beer yeast (triploid or tetraploid)	0.1
	SH3328 (haploid)	0.1
	Shochu yeast (diploid)	0.1
	Sake yeast (diploid)	0.1-0.2
C.albicans	TIMM-0136 (diploid)	0.04
C.tropicalis	TIMM-0324 (diploid)	0.08
Schizo.pombe	JY-745 (monoploid)	0.1

本产品仅作科研用途