

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) : C₆₀H₉₂N₈O₁₁

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 OD₆₆₀ 为 1~2。使用二倍体时, 测定 OD₆₆₀ 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 OD₆₆₀ 为 150。
 6. 从管内取 100 μL 细胞悬浮液, 30°C培养 1 小时。
 7. 加入 5 μg 载体 (环状或线性 DNA) 和 150 μg 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 μL 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 μ 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 (μ 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