

Aureobasidin A (AbA) 金担子素 A

货号：A6870

规格：1mg

保存：4℃保存。

产品说明：

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。在较低的浓度下 (0.1-0.5 $\mu\text{g/ml}$) 即可对酵母产生毒性。对其敏感的真菌种类包括：出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)、光滑念珠菌 (*Candida glabrata*)、构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) 和黑曲霉 (*A. niger*)。作用机制在于 AbA 抑制了真菌生长所依赖的肌醇磷酸胺 (inositol phosphorylceramide, IPC) 合成酶的活性，干扰鞘脂合成，从而进一步杀死菌株。编码 IPC 合成酶的基因研究较多的有来自酿酒酵母菌的 AUR1 基因，以及构巢曲霉的 AURA 基因，两者具有同源性。通过对这些编码基因进行突变即可使得菌株对 AbA 产生抗性，如 AUR1-C 基因。

AbA 非常适合用作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。具体的工作浓度取决于宿主细胞的敏感度。

产品性质：

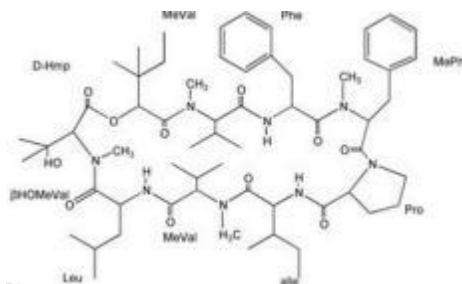
分子式 (Formula)：C₆₀H₉₂N₈O₁₁

分子量 (Molecular weight)：1100

纯度 (Purity)：≥95%

熔点 (Melting point)：155-157℃

结构式 (Structure)：



操作步骤(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 (配方：1L 液体培养基含有 10g yeast extract, 20g polypeptone, 20g D-glucose; 固体培养基另外加入 2%琼脂)。
2. 30℃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 Solution 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 Solution A 重悬沉淀，直到 OD₆₆₀ 为 150。
6. 在管内分取 100 μl 细胞悬浮液，30℃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℃加热 10 分钟，并迅速冷却)。

注意：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 μ l Solution B (配方: 取 40 g Polyethylene Glycol 4000 溶于 100 ml Solution A 充分溶解, 需要现用现配), 轻轻混匀。
9. 30 $^{\circ}$ C 培养 30 分钟后, 42 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 培养 6 小时~过夜。
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(含有一定浓度的 AbA, 依菌株类型而定)上接种 100 μ l 细胞悬液。30 $^{\circ}$ C 培养 3-4 天后转化完成。
15. 挑取阳性转化子, 和/或测定转化效率 (以每微克质粒 DNA 转化的菌落数来表示)。

注意事项:

1. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. AbA 的最佳工作浓度因宿主细胞不同而有差异, 可根据最低抑菌浓度 (MIC) 来确定。