

Aureobasidin A (AbA) 金担子素 A

货号规格:

货号	描述	规格
BN25331	金担子素 A	1mg
BN25331	金担子素 A	5mg
BN25331	金担子素 A	1g
BN20583	金担子素 A 溶液 (1mg/ml)	1ml
BN20583	金担子素 A 溶液 (1mg/ml)	1ml*5

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 μ 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酰胺 (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。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 (见表 1. AbA 对各种酵母菌的最低抑菌浓度 (MIC))。

附表1 金担子素 (Aureobasidin, AbA) 对不同酵母菌的最低抑菌浓度

表1 AbA对不同酵母菌的最低抑菌浓度 (MIC)		
	菌株类型	MIC (ng/ml)
Saccharomyces cerevisiae 酿酒酵母	ATCC9763 (diploid)	200-400
	SH3328 (haploid)	100
	Sake yeast (diploid)	100-200
	Shochu yeast (diploid)	100
	Beer yeast (triploid or tetraploid)	100
	Baker' s yeast (diploid)	200-400
Schizosaccharomyces pombe 粟酒裂殖酵母	JY-745 (monoploid)	100
Candidaalbicans白色念珠菌	TIMM-0136 (diploid)	40
Candidatropicalis热带念珠菌	TIMM-0324 (diploid)	80

本产品仅用于科研

产品性质:

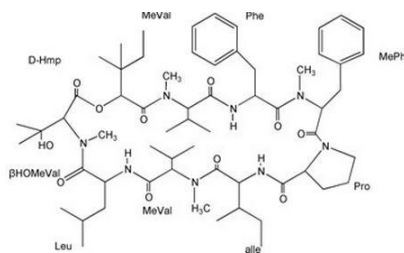
分子式 (Formula) : C₆₀H₉₂N₈O₁₁

分子量 (Molecular weight) : 1100

纯度 (Purity) : ≥95%

熔点 (Melting point) : 155-157°C

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°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 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 100μl 细胞悬浮液, 30°C培养 1 小时。
 7. 加入 5μg 载体 (环状或线性 DNA) 和 150μg Carrier DNA (已经过 100°C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 μl 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°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~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 μl 细胞悬液。30°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。