

## Aureobasidin A 1mg/ml

货号: C060208

存储条件: 2-8°C, 溶液有效期 1 年

### 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。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) )。

### 产品性质

|      |                                                                |
|------|----------------------------------------------------------------|
| 别名   | AbA                                                            |
| 英文名称 | Aureobasidin A                                                 |
| 分子式  | C <sub>60</sub> H <sub>92</sub> N <sub>8</sub> O <sub>11</sub> |
| 分子量  | 1100                                                           |
| 纯度   | ≥95%                                                           |

### 操作步骤 (抗 AbA 的酵母转化系统)

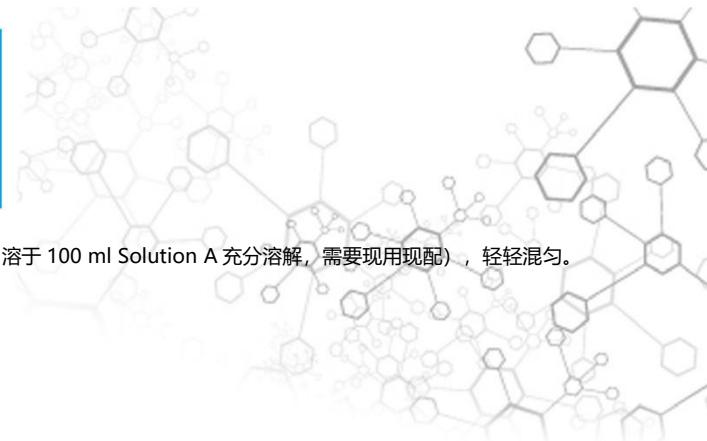
- 1) 加入 0.5 ml 过夜培养的酵母到 50 ml YPD 培养基中 (配方: 1L 液体培养基含有 10g yeast extract, 20g polypeptone, 20g D-glucose; 固体培养基另外加入 2%琼脂; )。
- 2) 30°C培养约 6 小时, 测定 OD<sub>660</sub> 为 1~2。使用二倍体时, 测定 OD<sub>660</sub> 为 2~4。
- 3) 1,000×g 离心 5 分钟。
- 4) 用 10 ml Solution A (配方: 100 mM Lithium acetate, 10 mM Tris-HCl
- 5) pH 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 OD<sub>660</sub> 为 150。
- 6) 在管内分取 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。





兰博利德 LABLEAD  
高新技术企业



- 8) 加入 850  $\mu$ 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°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  $\mu$ 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, 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

为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅作科研用途!

