



## 金担子素A

商品货号: S23561

### 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。可溶于甲醇配成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。

### 操作步骤 (抗AbA的酵母转化系统; 仅供参考)

- 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 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  $\mu$ g载体（环状或线性DNA）和150  $\mu$ 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  $\mu$ 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）。

### 储存与运输条件：

保存：液体(1mg/ml)置于2-8°C密封保存，6个月有效。粉末短期置于2-8°C密封干燥保存，长期置于-20°C密封干燥保存，3年有效。

运输：冰袋运输。

### 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。