

## 金担子素 A (AbA, 进口)

### 产品规格 (PY1053)

AbA (1mg/ml) :	1mg	保存: -20℃ 避光
AbA (1mg/ml) :	5×1mg	保存: -20℃ 避光
AbA (1mg/ml) :	10×1mg	保存: -20℃ 避光

### 产品说明

本品为直接溶解于甲醇的 AbA 溶液，浓度为 1mg/mL。免去您自己溶解的麻烦，更加方便您的使用。

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 (0.1-0.5μg/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。

### 操作方法

1. 加入 0.5ml 过夜培养的酵母到 50ml YPD 培养基中；

- 30°C培养约 6h, 测定 OD660 为 1~2。使用二倍体时, 测定 OD660 为 2~4;
- 1,000×g 离心 5min;
- 用 10mL Solution A (配方: 100mM Lithium acetate, 10mM Tris-HCl pH 7.5, 1mM EDTA) 悬浮沉淀, 1,000×g 离心 5min;
- 用 Solution A 重悬沉淀, 直到 OD660 为 150;
- 在管内分取 100μl 细胞悬浮液, 30°C培养 1h;
- 加入 5μg 载体 (环状或线性 DNA) 和 150μg Carrier DNA (已经过 100°C 加热 10min, 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 转化。

- 加入 850μl Solution B (配方: 取 40g Polyethylene Glycol 4000 溶于 100ml Solution A 充分溶解, 需要现用现配), 轻轻混匀;
- 30°C培养 30min 后, 42°C培养 15min;
- 室温放置 10min;
- 5,000 rpm 离心 1min, 用 5ml YPD 培养基悬浮沉淀;
- 30°C培养 6h~过夜;
- 5,000~10,000 rpm 离心, 用 1-10ml 0.9% NaCl 悬浮沉淀;
- 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 100μl 细胞悬液。30°C培养 3~4d 后转化完成;
- 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。
- 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。