

Aureobasidin A (AbA 金担子素 1 mg/mL) 说明书

● 产品规格

货号	规格	浓度
CAT# : YC8052S/M	1 ml×1 支/5 支	1mg/ml

● 产品内容：

包装名称	货号	包装含量	包装数量	保存条件	保存时间
Aureobasidin A (AbA 金担子素 1 mg/mL) 溶液 (过滤除菌)	CAT# : YC8052S/M	1ml	1 支/5 支	-20°C	24 个月

● 产品组分与配方：

产品组分	分子式/CAS 号/分子量	配方	除菌方式
Aureobasidin A/金担子素/金担子素 A	$C_{60}H_{92}N_8O_{11}$ /127785-64-2/1101.13	1mg/ml	0.22um 过滤
100%乙醇 (Absolute ethanol) 溶解	-----	-----	-----

● 产品说明

Aureobasidin A (金担子素), 英文名: Aureobasidin A、AbA, 中文名: 金担子素; 金担子素 A; 短梗霉素 A, 是从丝状真菌 *Aureobasidium pullulans* No. R106 中分离出来的环酯肽类抗生素, 是一种很强的抗真菌抗生素。在较低的浓度下 (0.1-0.5 μ g/mL) 可对酵母产生毒性, 对其敏感的真菌包括: 酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、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: AbA 抑制酵母中 AUR1 基因 (1,2) 编码的肌醇磷脂酰胺 (IPC) 合成酶的活性, AUR1 基因的突变形式 AUR1-C 的表达使酵母对 AbA 产生抗性。利用 AUR1-C 基因作为蛋白质互作的报告基因可降低仅用营养报告基因 (如 HIS3) 进行低严谨度初筛时产生的假阳性背景。由于 AbA 可以直接杀死敏感的酵母菌株, 而不是只抑制菌株生长, 所以基于 AbA 的筛选可降低酵母互作的假阳性。一般实际操作中, 用低浓度的 AbA 进行初筛时会获得很多克隆, 之后再提高筛选严谨度, 比如用 4 个报告基因 (AUR1-C, HIS3, ADE2 和 MEL1) 或提高 ABA 筛选浓度进行高严谨度的二次筛选以确认阳性克隆。

● 操作方法

1. Y2HGold (pGBKT7+pGADT7) 双杂系统: Y2HGold 菌株基因组中整合了 AbA 抗性基因 AUR1-C, Y2HGold 有四个报告基因: AbAr, HIS3, ADE2, MEL1, 当蛋白互作时会激活这四个报告基因的表达。酵母双杂的自激活验证和筛选试验中 AbA 的常规使用浓度为 125-200ng/ml。在做酵母双杂试验之前应对 Bait 质粒进行自激活验证, 初始 AbA 浓度可以用 125ng/ml, 若没有自激活, 可将此浓度作为后面双杂试验时的筛选浓度, 若有自激活可以提高 AbA 浓度, 直到 Bait 质粒没有自激活为止, 但 AbA 浓度最高不要超过 1000ng/ml (若超过此浓度仍然有自激活, 说明酵母细胞中有内源转录因子或其他分子可以识别 Bait 质粒, 激活 AUR1-C 基因, 这种试验结果是不准确的)。若酵母筛库试验中获得的阳性菌落太少, 可以适当降低筛库时的 AbA 浓度到 100ng/ml。

2.Y1HGold (pAbAi+pGADT7) 单杂交系统: Y1HGold 菌株基因组本身没有整合 AbA 抗性基因 AUR1-C, 在 pBait-AbAi 经线性化整合到 Y1HGold 基因组后变成 Y1HGold[Bait/AbAi] 菌株, 此菌株含有报告基因: AbAr, 当蛋白与 DNA 互作时会激活 AUR1-C (AbAr) 基因的表达。酵母单杂的自激活验证和筛选试验中 AbA 的常规使用浓度为 100-200ng/ml。在做单杂试验之前应对 Bait 质粒进行自激活验证, 初始 AbA 浓度可以设置为: 100ng/ml、150ng/ml、200ng/ml, 若均没有自激活, 可选最低浓度作为后面单杂试验时的筛选浓度, 若有自激活可以提高 AbA 浓度, 直到 Bait 质粒没有自激活为止, 但 AbA 浓度最高不要超过 1000ng/ml (若超过此浓度仍然有自激活, 说明酵母细胞中有内源转录因子或其他分子可以识别报告基因, 激活 AUR1-C 基因, 这种试验结果是不准确的)。单杂的自激活验证可先将菌液浓度调整到 OD600=0.2, 再稀释 100 倍到 0.002, 取 100ul 涂相应 AbA 浓度平板即可

3. 倒平板: 酵母用固体培养基微波炉加热融化后或高压灭菌后冷却至 55°C 以下, 若配制 125ng/ml 的 AbA 平板, 每 100ml 培养基加入 12.5ul 1mg/ml 的 Aureobasidin A 溶液混匀倒平板即可; 若配制 200ng/ml 的 AbA 平板, 每 100ml 培养基加入 20ul 1mg/ml 的 Aureobasidin A 溶液混匀倒平板即可。

● 产品参数:

CAS: 127785-64-2

英文名称: Aureobasidin A

分子量: 1101.13

分子式: C₆₀H₉₂N₈O₁₁

纯度: ≥98.0%

固体外观: 白色粉末

溶解性: 易溶于乙醇

● 注意事项

1. 不开封的 Aureobasidin A 溶液 (过滤除菌) 可在 -20°C 保存两年, 开封后若发现染菌, 停止使用。

● 文献

1. Takesako, K. *et al.* (1993) *J. Antibiot.* (Tokyo) **46** (9): 1414 - 20.
2. Hashida-Okado, T. *et al.* (1996) *Mol. Gen. Genet.* **251** (2): 236 - 244.