

Aureobasidin A (AbA) 金担子素 A

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Aureobasidin A (AbA) 金担子素 A	60231ES03	1 mg (1 mg/mL)
	60231ES08	5×1 mg (1 mg/mL)
	60231ES10	10×1 mg (1 mg/mL)

产品描述

金担子素 A, 又名 Aureobasidin A、AbA、Basifungin、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, 是一种环状肽、抗真菌的抗生素, 具有很强的抗真菌能力, 是肌醇磷酸化神经酰胺合成酶 AUR1 的抑制剂。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*)。作用机制是 Aureobasidin A 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 Aureobasidin A 产生抗性, 如 *AUR1-C* 基因。

Aureobasidin A 非常适合作为阳性克隆子筛选用的药物选择性标记。Aureobasidin A 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 Aureobasidin A 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))。

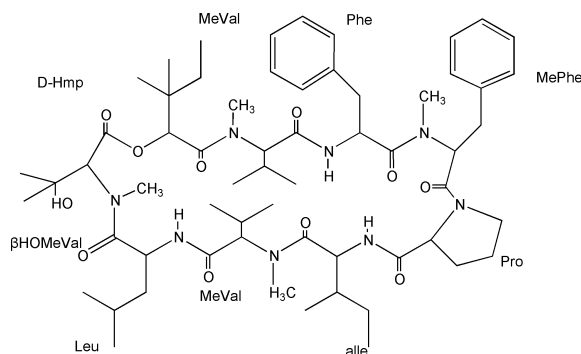
表 1 Aureobasidin A 对各种酵母菌的最低抑菌浓度

菌株	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	
<i>S.cerevisiae</i>	ATCC9763 (diploid)	0.2-0.4
	SH3328 (haploid)	0.1
	Sake yeast (diploid)	0.1-0.2
	Shochu yeast (diploid)	0.1
	Beer yeast (triploid or tetraploid)	0.1
	Baker's yeast (diploid)	0.2-0.4
	<i>Schizo.pombe</i>	JY-745 (monoploid)
<i>C.albicans</i>	TIMM-0136 (diploid)	0.04
<i>C.tropicalis</i>	TIMM-0324 (diploid)	0.08

产品性质

英文别名 (English Synonym)	Aureobasidin A; AbA; Basifungin
中文名称 (Chinese Name)	金担子素; 金担子素 A; 短梗霉素 A
CAS 号 (CAS NO.)	127785-64-2
分子式 (Formula)	$\text{C}_{60}\text{H}_{92}\text{N}_8\text{O}_{11}$
分子量 (Molecular weight)	1101.42 g/mol
外观 (Appearance)	液体溶液
纯度 (Purity)	$\geq 97\%$
溶解性 (Solubility)	粉末易溶于 DMSO 和甲醇(0.5-10 mg/mL); 不溶于水

结构式 (Structure)



运输与保存方法

冰袋运输。-20°C保存，有效期2年。建议分装后-20°C干燥保存，避免反复冻融。不建议4°C和常温下长期存放。

产品应用

1. 酵母双杂交研究
2. 酵母单杂交研究
3. 严格的酵母药物选择标记
4. Aureobasidin A 抗性是酵母杂交研究的理想报告因子

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: 1 L 液体培养基含有 10 g yeast extract, 20 g polypeptone, 20 g 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 100 μL 细胞悬浮液, 30°C培养 1 小时。
 7. 加入 5 μg 载体 (环状或线性 DNA) 和 150 μg 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 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. 本产品仅用于科研用途, 禁止用于人身上。
3. 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。

使用浓度

【具体使用浓度请参考相关文献，并根据自身实验条件（如实验目的，细胞种类，培养特性等）进行摸索和优化。】

使用方法（数据来自于公开发表的文献，仅供参考）

细胞实验（体外实验）

Aureobasidin A 通过神经酰胺毒性和必需肌醇磷酸化神经酰胺的抑制而抑制酵母细胞的生长。^[1]

利用合适的酶切位点将所有 DNA 片段克隆到 Y1H 载体 pAbAi 中，根据酵母转化系统 2 手册(Clontech, Mountain View, USA), 将构建好的 pAbAi 用 BstbI 线性化, 转化到酿酒酵母 Y1HGOLD 菌株。携带目的 DNA 片段的克隆在添加了 Aureobasidin A (浓度为 100-900 ng/mL) 的合成尿嘧啶脱落培养基上成功进行筛选。^[2]

将 SIBES1 基因的开放阅读框(ORFs)扩增并连接到 pGBKT7-GAL4BD 质粒中，将融合蛋白 GAL4BD-SIBES1 转化至 Y2H 金酵母细胞中，SD/-Trp 培养基用于培养酵母转化，用 X- α -gal 鉴定转化子 α -半乳糖苷酶活性，用 Aureobasidin A 筛选 *AURI-C* 的基因表达。^[3]

客户使用本产品发表的文献

研究中使用的载体 pAbAi 含有尿嘧啶报告基因 Ura3 和对 Aureobasidin A (AbA) 耐药的选择性基因 *AURI-C*，将目标序列 F16、F20 或 F73 分别插入到 *AURI-C* 基因上游的多个克隆位点。为了避免酵母内源转录因子与目标顺式元件相互作用的干扰，事先确定用于单个酵母菌落选择的最低 AbA 浓度。将 3 种酵母和含 p53-AbAi 阳性对照分别悬浮在 0.9% NaCl 中，OD₆₀₀ 调整为 0.005。随后，将 100 μ L 样品涂于含 0、100、200、500 和 1000 ng/mL AbA 的 SD/-Ura 固体介质(Yeasen Co., China) 表面。将平板倒置，在 30°C 下培养 3-5 天，AbA 的适宜浓度为 500 ng/mL。^[4]

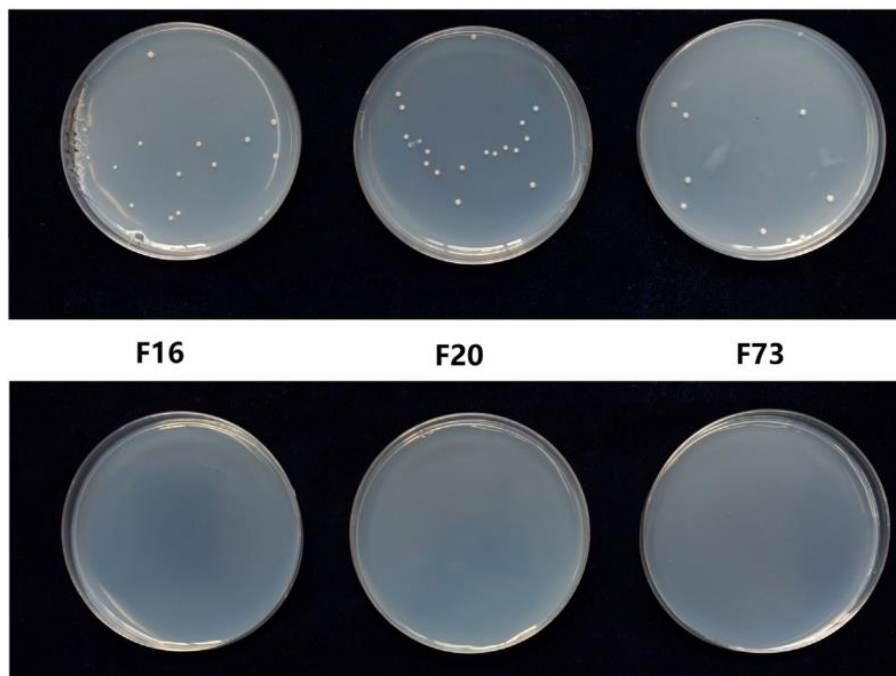


图 1 GmWRKY31 蛋白与含有 F16、F20、F73、delF16、delF20 或 delF73 片段的酵母菌互作

参考文献

- [1] Vanessa Cerantola, et al. Aureobasidin A arrests growth of yeast cells through both ceramide intoxication and deprivation of essential inositolphosphorylceramides. *Mol Microbiol.* 2009 Mar;71(6):1523-37.
- [2] Gong P, Song C, et al. *Physalis floridana* CRABS CLAW mediates neofunctionalization of GLOBOSA genes in carpel development. *J Exp Bot.* 2021 Oct 26;72(20):6882-6903.
- [3] Su D, Xiang W, Wen L, et al. Genome-wide identification, characterization and expression analysis of BES1 gene family in tomato. *BMC Plant Biol.* 2021;21(1):161.

[4] Dong H, Tan J, Li M, Yu Y, Jia S, Zhang C, Wu Y, Liu Y. Transcriptome analysis of soybean WRKY TFs in response to *Peronospora manshurica* infection. *Genomics*. 2019 Dec;111(6):1412-1422. doi: 10.1016/j.ygeno.2018.09.014. Epub 2018 Sep 27. PMID: 30267765.