3-氨基-1,2,4-三唑（3-AT）

制品内容

货号	名称	规格
QC2393-5g	3-AT(3-amino-1,2,4-triazole)	5g
QC2393-25g	3-AT(3-amino-1,2,4-triazole)	25g
QC2393-100g	3-AT(3-amino-1,2,4-triazole)	100g

产品简介

3-AT（3-氨基-1,2,4-三唑）作为酵母HIS3蛋白（His3p）的竞争性抑制剂，在酵母单杂交、双杂交和三杂交实验中发挥重要作用。HIS3作为报告基因在酵母系统中存在本底表达现象（即无互作激活时的基础表达水平）；此外，某些蛋白或DNA片段具有自激活特性，可在无互作情况下激活报告基因，导致实验产生假阳性结果。为有效抑制HIS3的本底表达和自激活现象，当选用HIS3作为报告基因时，建议在培养基中添加梯度浓度的3-AT，以降低背景信号并减少假阳性干扰。

保存

-20℃保存2年。

使用方法

1）做酵母互作实验时，培养基的筛选严谨度需要通过预实验来确定。如果使用的菌株没有本底表达，且Bait蛋白完全没有自激活现象，在选择HIS3作为报告基因时可以不加3-AT；如果Bait蛋白存在自激活，在选择HIS3作为报告基因时需要在培养基中加入不同浓度梯度的3-AT（例如：0、2.5、5、7.5、10、12.5、15、20、30、40、50、60mM 3-AT）来确定合适的筛选严谨度。筛选严谨度太低会导致假阳性过多；筛选严谨度太高则会产生过多假阴性，只能筛选到强互作，而弱互作无法显示。

2）如何确定合适的筛选严谨度：以pGBKT7-Bait为例，将质粒转化酵母后涂布在添加了不同浓度梯度3-AT的SD/-His/-Trp平板上，要求平板在30℃培养3-5天无菌落生长，5-7天无单菌落或产生的菌落数少于50个，且菌落直径小于1mm。符合这些条件的平板中最低的3-AT添加量，即可作为以HIS3作为报告基因时在培养基中加入3-AT的浓度。

3）3-AT的添加方法：液体培养基中可以直接加入3-AT；固体培养基在加热融化后温度降至55℃以下时加入3-AT，混匀后倒平板即可。

注意事项

1）2M 3-AT溶液在低温条件下可能出现沉淀析出，此时可将溶液置于37℃水浴中加热使其重新溶解，或通过充分振荡促进溶解。

2）培养基中3-AT浓度需严格控制，浓度过高容易导致假阳性结果。在酵母互作实验中，3-AT的使用浓度一般不超过60mM。当使用浓度超过30mM时，必须设置严格的阴性对照以确保实验可靠性。