

## 2M 3-AT 溶液说明书

- 产品规格 (CAT#: YC8032S/M)

- 产品内容：

| 包装名称       | 包装含量      | 包装数量    | 保存条件  | 保存时间  |
|------------|-----------|---------|-------|-------|
| 2M 3-AT 溶液 | 5ml/100ml | 5 瓶/1 瓶 | -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      |
|----------------------|---|-------|-----------|
| 3-氨基-1,2,4-三氮唑(3-AT) | C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> /61-82-5/84.08 | 2M    | 0.22um 过滤 |
| ddH <sub>2</sub> O   | -----   | ----- | -----     |

- 产品说明

3-AT 是酵母 HIS3 蛋白(His3p)的竞争性抑制剂, HIS3 是酵母单杂, 双杂, 三杂实验的报告基因, HIS3 报告基因在酵母中会有微弱的泄露表达 (泄露表达: 指在报告基因没有被互作激活时的本底表达); 某些蛋白或 DNA 片段在酵母中有自激活现象, 在没有互作发生时也可以激活报告基因, 这种自激活现象导致酵母互作实验产生很多假阳性。为了抑制 HIS3 的本底表达或抑制自激活, 在选择 HIS3 作为报告基因时可以在培养基中同时加入不同浓度梯度的 3-AT, 以降低背景或减少酵母互作实验的假阳性。唯地生物的 2M 3-AT 溶液经 0.22um 滤膜过滤除菌, 可以直接加入培养基使用。

- 酵母实验中 3-AT 的使用方法

1. 做酵母互作试验时所使用培养基的筛选严谨度需要做预实验确定, 如果所用菌株没有泄露表达, Bait 完全没有自激活, 在选择 HIS3 作为报告基因时可以不加 3-AT; 如果 Bait 有自激活在选择 HIS3 作为报告基因时可以在培养基中加不同浓度梯度的 3-AT (比如: 0、2.5、5、7.5、10、12.5、15、20、30、40、50、60mM 3-AT) 确定合适的筛选严谨度。严谨度太低, 会产生很多假阳性; 严谨度太高会产生过多假阴性, 只能筛选到强的互作, 弱的互作无法显示。
2. 如何确定合适的筛选严谨度: 以 pGBKT7-Bait 为例, 将质粒转化酵母涂在加了不同浓度梯度 3-AT 的 SD/ - His/ - Trp 平板上, 要求平板在 30 度培养 3-5 天无菌落产生, 5-7 天无单菌落或产生的菌落数低于 50, 菌落直径小于 1mm。那么符合这种条件平板的最低的 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. 液体培养基中直接加入 3-AT 即可; 固体培养基在加热融化后温度低于 55 度时加入 3-AT 混匀倒板即可。

● 产品参数：

CAS: 61-82-5

英文名称: 3-AT(3-Amino-1,2,4-Triazole)

中文名: 3-氨基-1,2,4-三唑

分子量: 84.08

分子式: C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>N<sub>4</sub>/61-82-5/

纯度: ≥99.0%

外观: 灰白色粉末

溶解性: 易溶于水

● 不同酵母菌株 HIS3 报告基因备注：

含有 HIS3 报告基因，可以使用 3-AT 调节筛选严谨度的酵母菌株：AH109, Y187(含有 pHIS2 质粒), Y2HGold, Y190, NMY51 等。

● 注意事项

1. 2M 3-AT 溶液浓度偏高，温度降低时可能会有沉淀析出，将 3-AT 溶液放 37°C 预热可重新溶解，也可剧烈摇晃促进溶解。
2. 不开封的 2M 3-AT 溶液可在-20°C 保存 2 年，开封后若发现染菌，停止使用。
3. 培养基中 3-AT 浓度不可过高，过高的 3-AT 浓度易产生假阳性结果，一般酵母互作试验中 3-AT 的使用浓度不超过 60mM，使用浓度超过 30mM 的 3-AT，要设置严格的阴性对照。