

EcN 1917(T7 RNAP) Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL3045)

EcN 1917(T7 RNAP) Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件 (保质期) :	-80°C (6个月)

● 基因型

EcN 1917 ΔmalEFG lacUV5::T7RNAP O6:K5:H1 EndA⁺ Dcm⁺

● 产品说明

大肠杆菌菌株 Nissle 1917 是一种非致病的共生大肠杆菌分离物, 1917 年由德国微生物学家 Alfred Nissle 从一名未感染痢疾的士兵肠道中分离出一株大肠杆菌, 这个菌株可以作为药物治疗其他感染者, 后来被命名为 Nissle 1917, 通常也缩写为 EcN。EcN 是一株未经过改造的野生型大肠杆菌菌株, 不产生任何肠毒素或细胞毒素 (肠毒素是由某些微生物产生的毒素, 可引起胃肠道症状)。EcN 属血清 06:K5:H1 型, 其 LPS 侧链较短, 且 K5 型荚膜具有血清敏感性, 在体内易被血清清除, 因此 EcN 不具致病性。EcN 可以抑制肠道内病原菌的生长, 防止病原菌在肠道内定植, 同时具有抗炎作用。EcN 在临床上主要用于胃肠功能障碍性疾病的治疗, 例如克罗恩病、炎症性肠病及便秘等。本公司的 EcN 1917 (T7 RNAP) 菌株来源于 Mutaflo^r 的 EcN 益生菌, 是一种非致病性微生物, 食用后可以促进消化系统健康; 该 EcN 菌株胞内含有两个野生型辅助质粒 pMUT1 (3173bp)、pMUT2 (5514bp), 这两个质粒无已知功能, 无明显的筛选标记, 但在大肠杆菌中可稳定存在, 可作为 EcN 菌株的鉴定标准质粒使用, 也可作为 EcN 菌株的加工平台, 对 pMUT1、pMUT2 进行加工改造可连入外源基因, 可表达蛋白或引入外源小 RNA 分子等。EcN 1917 (T7 RNAP) 是在基因组中引入了一个拷贝的 lacUV5 启动子驱动 T7 RNA polymerase/T7 RNAP, 整合到 EcN 的 malEFG 操纵子中, 可以用于各种商业化蛋白表达质粒 (利用 T7 启动子驱动蛋白表达的质粒: pet28a/32a/pGEX/pMAL/pCold 等) 进行蛋白表达, 提高蛋白产量。EcN 菌株核酸酶 endA1 为野生型, 体内核酸酶含量较高, 提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液尽量去除核酸酶对质粒的污染, 防止质粒降解; 另外染色体中携带有功能的 Dcm 甲基化酶; 不可用于蓝、白斑筛选。EcN 1917 (T7 RNAP) 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^r) 检测转化效率 >1 × 10⁶ cfu/μg DNA。

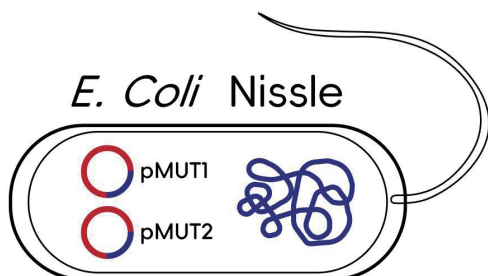
- 注意: 商业化的原核蛋白表达质粒需要加 IPTG 诱导蛋白表达, T7 启动子本身有很强的泄露表达, 不加诱导剂时也会有很强的本底表达, 比大部分的组成型启动子更高; 如果需要更高表达量的 T7 质粒, 可选用唯地生物改造的非诱导型 T7 高表达质粒 (货号 CAT#: PE9016/PE9017/PE9018/PE9019/PE9020)

● 操作方法

1. EcN 1917(T7 RNAP)感受态细胞从-80°C拿出, 迅速插入冰中, 5 分钟后待菌块融化, 加入目的质粒, 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。
2. 42°C水浴热激 45 秒, 迅速放回冰上并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。

3. 向离心管中加入 700 μ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37°C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体, 留取 100 μ l 左右上清重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37°C 培养箱过夜培养。

● 质粒信息



● pMUT1 (3173bp) 质粒序列:

```
GCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCCTGTTC
CGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCA
CGCTGTTGGTATCTCGGTTCCGGTGTAGGTCGTTCCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCGTTCA
GCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTAACGCCAC
TGCAACGGCCACTGGTAAGCAGGATGTGCGAGAGATGTAACGAGAGTTCTTGAAGTGGCGGCCCTAACTG
AGGCTACACTGAAAGGACAGTATTTGGTGACATGTCTCGCACAAGACTGTTACCACGGTTAGAGAATCTGCC
AGGATTAATAACCTTCGAAAAACCACCTGCCAGGGTGGTTTTTTTTCGTTTTTACAATAGTGAGATTACGACGA
GACTGAATGAATCTCAAGATTTCAATTTAGCCTGCCGCTCGATCATTCAAAGTTTTGAGGTAGCTTCATTGGGT
CATGGTATCCAAGCTCTAAAAGCTTTATATGGTTCGGTGTGACCCGCTGAAATGAATAACCCAGTCAGAAAC
CTTGATTTCCCATGAAACGTATCTTTAAAAACCGGATCGCCTAAATGAGCATGCCATAATTTGTTAGCTCTAG
CATACTTCTCAATAGCTTCTTTGTTTTCGTAATGATCAGGCACTTCCACGATGGCGATACTTTGCCAGTCCAA
GCTGGATATCCTTTTAAAGGATCGCCAAAGAGATTGATTTTTTCAAATGCTCAATGAAATCATCGATTTTATCG
AGTGTTTTTGCAGAATATCTGGATGTGTAATAAAGGTTGAAGGTCTCAGAGAATGAGACAATATTCAATTGTG
GATTTTGCAGCCTGCTCCGCTGCCCATGCTCTTCTCTGCTCCCGACTTAGACCAGATGGCATTGTAACAGA
CTTCTCATTGCTCTGGAAATCAACAGAGACAAGGATACGCCAAAAACCTCAATATCTTTAACAAGATCATGA
CGTTGTTCCGTTTTTCATATCGCTAACTCCGTATCTAATTCAGGCAGGAAAAAATCTTTTCCTCGTTTTCAGAGT
AGTCTTTTTTGGTTGCACAATAATGGCGCCAGTGTACCCTATTCATATGAATATACCATATAATATATACTTTAA
ATATTTGGGGCTTAGGAAAATCAATGACTTACTCCGTTAAGAATAAATGGAAAGCTGGCGGTTTTGTCTCTTG
GCTGGACAGCAGTGCCTACCGTATTGTTTTTATACAAAACGAGAAAAAGCTAACTTCAGTGGCCTTTAACAC
ACTACTAACCTGATCGTTCACTGGTGGAGTTTGAAGAGTGGCCGCATCCGTCAATGGAAAGTCTAGCCAT
ACGTATGGGGGTTTCTGTACGGACTGTTGAGAGCTATCAATGATCTTAAAAAGCTAATCTCTTGGACAAG
```

AAACCAACATCGAAGAGTGATCGCCGATATGGTGGTCGCAATATTTATGATCTAACAAAGCTAGTTGACTACC
TAGATACAATGGGTCCATCAGTAGCTGAACAAGTTAAGAAACCACGCCATAAAAAACCGGTATATACCGTAAG
AAAAACGACAGCTTAAAAAAGCACAATGGAAGTGAAGCGCGAGCGATGCACGATAGCAAAACGATATATTACTT
ATTGCATTGGTCTTGGTAGCCCTGCTTCTGGCTAAACCACTGTCAGGAGTAATTGGCTTTGCCTGTAATGGG
TTCATCGCTTACAGTTAAAGTTATCGCATAGCTCATATATTTACCATAATCCCTTAATTGTACGCACCACTGAA
ACGCGCTGAACCGGATTCTGACGCAGACACCGCAAAAAGAGATGTTTTACCCCGGAAAAACAGGAAGGATG
CGTCAGGATCGTTTTAGCTCGCTGCATAGCTATGCATGAAAGCGAATGGTGATCACTTTGGGAGCTTACGG
TGTTCATACCGTCAGTTTTCGACAGTTTTCTCTCCGGAAGCTAATCTGCCATAAGCCTGGATAACAGGGCA
CGGTGATACTCCGTAATAGCGATCAGCACCTCCGCATACTCCCTGTCCCGACACGCTTGCCGTCGATAAAG
AGTTTTTTCTGTAACGCCCCAGTCTCATAACTTCTTTTCTGACACCGGATCATCAGTCAGTGAGTTAACTTTCTT
ACCGAGAGCTGCCGCCGTAATAAACCGGAAACGGTCTTGCCGCATTGAGCAGCCCTTTTTCTGATTTCTT
GGTCTTTCTGCCGTCAGACGAACAGGGCGACTGATAGCCCGCTGCGCGTATTACTTCCACTTCGTTTT
GTCATAAAACATGGCTCCGTATCTGACATGGGTGTCGGGGCAAAGCCCTGACCAGGGCAATTGTAATAGCGT
GCATGTATGCGCGGTATAACAATTGCACATCCTGTCTGTGAGCAAGCTCGAATTACCGACAAAAGGCACGGC
AGTTTTTTGGCAGTGACAGTGTTGTCTGACAGAAATGCCCGTCAAAAAGCCAAGCGGCAGAATAGCGGCAG
CAAAACAGTCGAAAAGTGGTACGCGATATAATCACACAACGCAGATGACAGACAGAACCGGAGAAAACGAAA
AGATGAATAAGCAGCAGCAAGCCGTAACAATGGCGGGATTGATAAAAAGTCAGAGCCTGACGCTGCTC
GAAAAACTGGACGCACTCAATGCCGACGAACAGGCCGCCATGTGTGAGAACTGCACGAACTCGCAGAAG
AACTCCAGAACAGCATAACAGACACGCTTTGAAGCGGAAAATCTTACCGGGATATAACGCATCCGGACAGGAT
GCAGAACGGCATAGAGGAGCGTAAGGAGAAAATGTACATAAGGGCGCTTCCGCTTCCGCTCACTGAC
TCGCTACGCTCGGTGCTTCTGACTGCGGCGAGCGGTGTCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCAC
AGAATCGGGGGATAAAAACCGGAAAGAACATGTGAGCAAAAAGACAAAGACCCAGAAGAAGGGCGCGCGGGA
GGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAATAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTG

● pMUT2 (5514bp) 质粒序列:

GTGATGGCAATGAAAATATCCCAATTGTTGATTTTACAGTGTTGGATCTAATATCAAAAAGTTGACTCAATCATT
TTCGTTTTGAGTAAGAATAATGACGACAATTGTATAACCATATACAAGAAGCAATATCCAGTTCAAAACCTATCA
AGAAAAGAAAATAATTTTTATGGGTTTAGCAAAAAAGAACTATCTCGAGTAGATCAAGATATGATTTCTATTGAT
GGTAAGGCATCTCTGTTTTGCTGGCGATACGGTATTTATCTACGACCAAATGTTTTCGAGCGTTTTTTTTGG
CTATAAAGCATGGATAAAAATGCTGCCACTGATTTTGTAAACAATATGTCCACTCGTTTTAAGGGATTTGTTG
ACTTAAGCAAATTTATTGAGCGAGTAAATAAGATAGTCATGATGCGGATGCTTTTTCTCGGAAGCTAGCTAAG
GCGTATGCTCGAAGCGAAAACAAAGCAAACGCTACAAAACAATAACAAATGAACATCTTAAGAGTGTTCTAGATG
AAAATGGATATTTAGCAGGTGTTTTAAAGTATAAAAAGGTGATGCTACGATTTGCATCGCAAGCCATAACCAG
CAAGATACGTTTATCGCTATGGTATCCGAAGGCGTATTGAGATCGTTGATTACAGGCATTGATTATTTAAGCCT
TGGGTCAAAGCGGAAAATATCGTCAGCAGCATCCAATACTACTACCAGTACCCTTCGGATTCTCTCCGCT

GCCGTGTGAGACAAAACAACCTATATCAGATAACAGCCCTGCTTTTGC GGGGCTTTTGTGGTGTGCGTGATG
CGACCTCGATGTACGATAGATGCTGTACTAAGCCAGTACACACAGCGTCCCCTCTTCGAGGTGCCGTCTGT
GACTGTTTCAGGGGGCTCGCCGCCCCCGAAACCCCTTGCATCCACTGCGAAAATTCGCACTTTGGGTGC
GAAACTTTCTCAGCGGATTCTCATGAAAAGCGCACCAAAGAGATCAAATCAGACTCACCGAAGCGGAGC
ATCAGCGGCTACTTGAACGCTGTGACCGTAAGCATTGGCCGAGTGGTTACGAGCCGTTGGCTTAGGCGAA
TCGCGTACAGCTCGGCGTCTCCGCTACCTACCGTAGACCCGACCTTGTTACGTCAGGTCAGCGGGATCG
GTAATAACCTCAATCAAATAGCCCGTTACTTGAATCAGCATGGCTTACCGCCGCAAGAACGGGTGTCGTTGTT
AGCGGTGCTCAATAGCATTGACCAACATCTTGCCGAACCTGCTGGAGCAACATCGTGATCGTTAAGATTCATG
GTCGTTGGTGCCGGTGGCGGGAGTGGTCCTGTCGATTACCTTCTGGGCCCTGATCGTCAGCGCGAACAAGC
GACGGTGTACGGGGTAACCCTGAGCACGTCAAAGAGCTGATTGATGGCTGCGAATTTGCCCGAACTTATA
CCTCTGGCGTGCTCTTTTTAGGAGAGTGATTACCCGAAGGCGAAAAGCAGCGATTGATGGATGAATGG
GAGCAGACATTGATGACCGGTCTAGATAAAGACCAGTATGCCTGCCTCTGGGTCAACATCAGGACAAAAGG
GCGTCTTGAATTGAATTTGTTATCCCGAACATCGAATTGCAGAGCGGAAAACGGCTACAACCTTACTTTGAT
CGGGCTGACCGCCTCGTGTTAACGCATGGCAAACCCTACCAATGACCGGCTTGGGTACGCGACCCGA
ATGACCCTGCTAATCGCCGAGCATTAAACCCCTCTAATGACCTTCTCGCAACAAACAGCAGGCAGCGGAA
GCCATTACCAAAGGGCTAATCAGCTTGATTGAGCAGGGAGAAATTACGGATCGTAAAGGGGTGATTTCCAC
CTTACCGATGCCGATTGTCGGTCTGACGGAAACCAAATCCAGTATCAGTATTGCTGATCCGGCAGGTGG
CCCGAATATTCGCTTAAAAGGAGTGCTGTATGAGCGAGATTTAAATTTAGCGGGGAGTTTCGAGAGCAAAT
CGAAGCAGCAAGCCAAGACTACCGCAACGAGCGTCGCGAACGCATTTCGAGAAGCACGAGAAACGTATCAC
CGAGGCCTTGAAATTAAGCTCAGGGAACATACAGACCCTATCCAAGAAGAGAACGACAGCCAGCTAAAAC
AGATACACCGCTTAGTCGGAATGACATGGCTGTACAGCCTGGCATTAAAGGGATCCTGTTTGCATATTGAT
TGGAGTAGCTTGGTATCTCGGGACTATCGTGGTCTGAACGCCAGAACGAAATCAGCGAGCAGAGCCAGATCC
TGCAGGACTTAAAGAGCCAGACCGGAGCCGGCGTATCGATAATTCAGATTCCAAGAACAAGAGCGTGTATT
ACCTGATCCTTCCGAGGGGGCGAAGAAGATCGACGAGTACAAGAACGCTCAACATCGTCAGGTCATCAAG
TACAGCGCAAATAACCTCATCAGACGCCACAGAATCGATTCTGGGCGTTTTATCTATCAGGGTGAAGAGA
TTCATGACCGAAATGGAGCAGCAGCTTCTGAGCGCATTAGAGAGCTTACAGAGGCACTACGAACAACAGCA
GCAAGCGTGGCAGGACAGCTACGCCAATTACAGCGCATGTTTCGAGGTTACCTCGCAGGAGTTGGCGAAA
AACGACAGGGTTTGTGAGGCCCTGAGCATGCAAGTACCGGCTTGGCGCAGCAAGTCGAGAGCTTAAACA
GAACAGTGCGCCGCTTGAAGCAATTAGCCAAGCGGCACGAACAGCGGTATTCTCGCGTACGGCATGAGT
TTATAAGCGTTTATCGGCCGATCGTAAGCGGCAGAACGCTCGCGCTTACCGACCGCCACCACGAATACCG
TAATGGTTTATCGCGAACCTGATAGACCAAGCGATAACCGGATGCACGGAGCTTGAATTTGTAGCAGTCAT
GCAGCTCTCGCAGGCGATTTTTATCGATCCGCGGGTGTGTTAGAACCTGCTCGAGTTTTTTCTTGAAGTCA
GACGGACATCATCCCCGAGCTTGCGCCATTCTCAGGGCTCGGGGATCAAATTCAGGTTATAGCTCATCC
AGTGACACCTTTACGCCCGCTGTGGGTTTTCCAGACGATCCCGAACGATAGCCATCAAATCGGCATCATCC

TCGGTCAGCAAAACCTGCTGGAACGGCAAACGTCCGCTTTGGGCCACATATTCCAGTGTTTGGCGCAGAAC
CTCGGACGGCGTTACGCCAGCTTTTCCAGTGCGGCATAAGAGCGGCTTTTCAGCTCGTCATCGATCCGAA
TATTAATCGTGGCCATCATCTCACCTCTTGATGTAGTGACAAGTGTATCTACAAGAAGTAGTATGAGCGTAAAG
CCGTGCGAGAACAAGCAGGAATAACGGATTGTCGGGGATGACAAAAACCGTTGTTGAGGTGTAACCTTAGTG
GCAGAAAAACAAGCCCCGAAATCATGCTCTACTTTGGCGAGCGGACATGACATTCAGGGCTAGGTCGAA
ACCTAGAAAGGATATTAGCACATGCAGCGTGCAAAACAACAGCCCCGCCATAAGGCTGGGAGCCTTGATAA
TCAGGCTTTAACGCTTTTTAACGACCGGTTACCCACAAGCCGACTTCTCCGATGATTTACAGTTTGGTGTT
CGCATTGCCGGTAAAGAGCGTGCTCTCCTCGCAAAATACATCCAGTTAATCAGCCTCACGCCATGTACTGG
CTTTGCTTTGACGTGGACAGAGCCGGAGCCGCGATTGATTGGGCCGATCTGGGGGCACCTGCGCCACAC
TCACCATCAAAAACCCCGAGAACGGACATGCTCACCTGTTGTATGCCTTGCCATACGGCGGTACGTACCGCG
CCGGATGGTCGAGCTGCCCCCTTAAATACGCCGCCCATCGAGAATGCGCTGCGTAAAAAATTGGGCGC
AGATGCGGGGTATTAGGGCTAATTTGCAAGAATCCGAACCCTGCACTGGCAGATCACCGTCTGGCAGC
CAGAGCTCTATACCCTTGACTGGTTAGCCGATTACCTCGACCTTGGCGCAGCCAATGACCGCGAAATCCTG
CCGGACTACGGTTTAGCCGTAACCTGCACCCTCTTCGATAAAACCCGCAAGTGGGCTTACCGCGCTATCCG
CCAAGGCTGGCCGAGTATGACCAATGGCTACAAGCTGCATTGAACGCGCTAAAGCCTACAACCTGCAGT
TCTCCGCACCTTTAGACGAGAACGAAGTCATGGGAATTGCTAAAAGTGTGGCTAAGTGGACAAGTAAGAAC
CTTACAGAGCTTGGCTTTGAAGAGTATGTTAAACAAACACATACTTCTGAAATTCAGCGTCAACGTGGAAAAA
AAAGCTCTGGTGGTGGAAAGGCCGAAAGTTAGAGATGGAGAATGGATTTCTTTAGGAATAAGTAGATCAACGT
GGTACAGGAAATTTACAAAAATGAAAATTAGAATGTATCTCTTATCAATGTTGTTTTATTATACCGATAACAA
TATATTTTCTGGTATTGATAACGTATGGTCTGTTTTAGATAAGGCCATGTCTTCGTGTTCTGGCGGGATGGA
AAATTTCAATGCGTACTCGACTATTCAAATAGCAGATTAACATTTTCTGTATTGAGGTGAGTATCTGCGGGGC
TTTGATTTAACTTGTTCTTATACATACATTTGGTATCGATGGGTTTTGAAAACTTAGACTCCGGTGC GGTT
CAAGAAAGTTAAAGGTCGTTTCATGTAAAAAAGAATCCGGTGAGTATCTTCTTTTTTATCAACGTACATAATG
CCGTTGGTCTTACTGATTTAAGCAAACCATCAAATATAGTTAATTTTTGTTTGTGTTTATTATCGTCGGTTTTT
TGCACATCAAAAACAAAAGAATTCAGTCAACCCAACATTGTCATTATTAATGTTTCTGCCTATAAGACTACTT
ACAGTGTGGTAGCTAATGGAAGGGAAAAACGCAAGACGGTGAGTTGATAGTTTTATCTAAAGATTTAATAAA
AGAAAATGATTTTATCAGAGTTATAAATCATGATGATTATTTAACGTTTCGCGAAAAAATCATAGAGGAATGATG
ATGAGTGACGATGCCTTAGATCTTGATGCTTTGGAGCATAATGAAGAAAAAGCACAAAGAGCTTTTAGAACTGT
ATAAGCATTTTGATTGTGATATTAACGATGTTACATTGCACACTTACTTTAACTTTAAAAATAAAGGTAAAGCGG
GTGCTAAGGACTCTTTAGCTATAAAATTGCCATCCTTAAAAATGACAGTGAGCTAAAACAGTCCATTATTGAT
AATGTGATAAAGAAAACATATCTGATTTAGAAAATCGGGTTGTGATAGTATCAGATGTTAATACACTAAGTGAC
CGCACCAACACCATTTCAATTTTAAATGATGCTGAGCAGTATGATAATGAGCAAATGAAGTTTCTGACTGGCAT
TGTGTTTGTGCTGGGTTTGGTG

2nd Lab™
For a Better Lab

您身边的感受态专家！

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。混入目的 DNA 时应轻柔操作。
2. 若要获得大量，高纯度质粒，建议在 TB 培养基（唯地 CAT#: CM1018L）中摇菌培养（以标准质粒 PUC19 为例：在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍，SOC 的 2 倍）。

2nd Lab™
For a Better Lab

上海唯地生物技术有限公司，专注成就卓越。

电话：021-34790199

网址：www.weidibio.com

邮箱：sales@weidibio.com