

Ecn 1917 IdhA Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL3044)

Ecn 1917 IdhA 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 IdhA O6:K5:H1 EndA⁺ Dcm⁺

● 产品说明

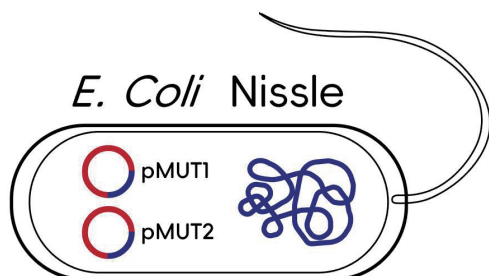
大肠杆菌菌株 Nissle 1917 是一种非致病的共生大肠杆菌分离物, 1917 年由德国微生物学家 Alfred Nissle 从一名未感染痢疾的士兵肠道中分离出一株大肠杆菌, 这个菌株可以作为药物治疗其他感染者, 后来被命名为 Nissle 1917, 通常也缩写为 EcN。EcN 是一株未经过改造的野生型大肠杆菌菌株, 不产生任何肠毒素或细胞毒素 (肠毒素是由某些微生物产生的毒素, 可引起胃肠道症状)。本公司的 Ecn 1917 IdhA 菌株来源于 Mutaflor 的 EcN 1917, 将 Ecn 1917 基因组中的 IdhA 基因敲除, 即是 Ecn 1917 IdhA; Ecn 1917 IdhA (乳酸脱氢酶缺失的大肠杆菌 Nissle 1917) 是一种通过代谢工程改造的益生菌株。它的核心作用是阻断乳酸合成通路, 重构菌株的代谢流向。乳酸脱氢酶 (由 IdhA 基因编码) 是负责将丙酮酸转化为乳酸的关键酶。敲除 IdhA 基因后, 菌株无法再积累乳酸, 导致代谢通量发生重定向: 一, 碳流转向: 原本流向乳酸的碳被导向其他代谢分支, 如乙酰辅酶 A、琥珀酸等。二, 减少副产物积累: 在许多发酵工程中, 乳酸被视为非目标副产物, 敲除 IdhA 有助于提高目标产物的纯度和得率。Ecn 1917 IdhA 是优秀的底盘菌株, 尤其适合需要精确控制代谢流向、减少副产物积累、优化目标产物产量的试验, 常用于开发治疗代谢性疾病的活体生物药。通过其代谢能力, 使其在肠道内持续生产并输送特定短链脂肪酸 (如丁酸、丙酸等), 用于治疗炎症性肠病、心血管疾病等。Ecn 1917 IdhA 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 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 IdhA 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 × 10⁷ cfu/µg DNA。

● 操作方法

1. Ecn 1917 IdhA 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 µl 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 µl 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。

● Ecn 1917 IdhA 菌株在癌症治疗中的作用：肿瘤微环境中会积累大量乳酸，这些乳酸会抑制免疫细胞的活性，帮助肿瘤避免免疫攻击。Ecn 1917 IdhA 可以作为底盘菌构建清除肿瘤内乳酸的目标菌株，可以逆转免疫抑制状态，增强机体自身的抗肿瘤免疫反应。

● 质粒信息



● pMUT1 (3173bp) 质粒序列：

```
GCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCCTGTTC
CGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCA
CGCTGTTGGTATCTCGGTTCCGGTGTAGGTCGTTCCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCGTTCA
GCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTAACGCCAC
TGCAACGGCCACTGGTAAGCAGGATGTGCGAGAGATGTAACGAGAGTTCTTGAAGTGGCGGCCCTAACTG
AGGCTACACTGAAAGGACAGTATTTGGTGACATGTCTCGCACAAGACTGTTACCACGGTTAGAGAATCTGCC
AGGATTAATAACCTTCGAAAAACACCTGCCAGGGTGGTTTTTTTTCGTTTTTACAATAGTGAGATTACGACGA
GACTGAATGAATCTCAAGATTTCAATTTAGCCTGCCGCTCGATCATTCAAAGTTTTGAGGTAGCTTCATTGGGT
CATGGTATCCAAGCTCTAAAAGCTTTATATGGTTCGGTGTGACCCGCTGAAATGAATAACCCAGTCAGAAAC
CTTGATTTCCCATGAAACGTATCTTTAAAAACCGGATCGCCTAAATGAGCATGCCATAATTTGTTAGCTCTAG
CATACTTCTCAATAGCTTCTTTGTTTTCGTAATGATCAGGCACTTCCACGATGGCGATACTTTGCCAGTCCAA
GCTGGATATCCTTTTAAAGGATCGCCAAAGAGATTGATTTTTTCAAATGCTCAATGAAATCATCGATTTTATCG
AGTGTTTTTGCAGAATATCTGGATGTGTAATAAAGGTTGAAGGTCTCAGAGAATGAGACAATATTCAATTGTG
GATTTTGCAGCCTGCTCCGCTGCCATGCTCTTCTCTGCTCCCGACTTAGACCAGATGGCATTGTAACAGA
CTTCTCATTGCTCTGGAAATCAACAGAGACAAGGATACGCCAAAAACCTCAATATCTTTAACAAGATCATGA
CGTTGTTCCGTTTTTCATATCGCTAACTCCGTATCTAATTCAGGCAGGAAAAATCTTTTCTCGTTTTTCAGAGT
AGTCTTTTTTGGTTGCACAATAATGGCGCCAGTGTACCCCTATTGATGATGAATATACCATATAATATATACTTTAA
ATATTTGGGGCTTAGGAAAATCAATGACTTACTCCGTTAAGAATAAATGGAAAGCTGGCGGTTTTGTCTCTTG
GCTGGACAGCAGTGCCTACCGTATTGTTTTTATACAAAACGAGAAAAAGCTAACTTCAGTGGCCTTTAACAC
ACTACTAACCTGATCGTTCACTGGTGGAGTTTGAAGAGTGGCCGCATCCGTCAATGGAAAGTCTAGCCAT
ACGTATGGGGGTTTCTGTACGGACTGTTGAGAGCTATCAATGATCTTAAAAAGCTAATCTCTTGGACAAG
```

AAACCAACATCGAAGAGTGATCGCCGATATGGTGGTCGCAATATTTATGATCTAACAAAGCTAGTTGACTACC
TAGATACAATGGGTCCATCAGTAGCTGAACAAGTTAAGAAACCACGCCATAAAAAACCGGTATATACCGTAAG
AAAAACGACAGCTTAAAAAAGCACAATGGAAGTGAAGCGCGAGCGATGCACGATAGCAAAACGATATATTACTT
ATTGCATTGGTCTTGGTAGCCCTGCTTCTGGCTAAACCACTGTCAGGAGTAATTGGCTTTGCCCTGTAATGGG
TTCATCGCTTACAGTTAAAGTTATCGCATAGCTCATATATTTACCATAATCCCTTAATTGTACGCACCACTGAA
ACGCGCTGAACCGGATTCTGACGCAGACACCGCAAAAAGAGATGTTTTACCCCGGAAAAACAGGAAGGATG
CGTCAGGATCGTTTTAGCTCGCTGCATAGCTATGCATGAAAGCGAATGGTGATCACTTTGGGAGCTTACGG
TGTTCATACCGTCAGTTTTCGACAGTTTTCTCTCCGGGAAGCTAATCTGCCATAAGCCTGGATAACAGGGCA
CGGTGATACTCCGTAATAGCGATCAGCACCTCCGCATACTCCCTGTCCCCGACACGCTTGCCGTCGATAAAG
AGTTTTTTCTGTAACGCCCCAGTCTCATAACTCTTTTCAGTACCCGATCATCAGTCAGTGAGTTAACTTTCTT
ACCGAGAGCTGCCGCCGTAAAAAACCGGAAACGGTCTTGCCGCATTGAGCAGCCCTTTTTCTGATTTCTT
GGTCTTCTTCTGCCGTCAGACGAACAGGGCGACTGATAGCCCGCTGCGCGTATTACTTCCACTTCGTTTT
GTCATAAAACATGGCTCCGTATCTGACATGGGTGTGCGGGCAAAGCCCTGACCAGGGCAATTGTAATAGCGT
GCATGTATGCGCGGTATAACAATTGCACATCCTGTCTGTGAGCAAGCTCGAATTACCGACAAAAGGCACGGC
AGTTTTTTGGCAGTGACAGTGTTGTCTGACAGAAATGCCCGTCAAAAAGCCAAGCGGCAGAATAGCGGCAG
CAAAACAGTCGAAAAGTGGTACGCGATATAATCACACAACGCAGATGACAGACAGAACCGGAGAAAACGAAA
AGATGAATAAGCAGCAGCAAGCCGTAACAATGGCGGGATTGATAAAAAGTCAGAGCCTGACGCTGCTC
GAAAAACTGGACGCACTCAATGCCGACGAACAGGCCGCCATGTGTGAGAACTGCACGAACTCGCAGAAG
AACTCCAGAACAGCATAACAGACAGCTTTGAAGCGGAAAATCTTACCGGGATATAACGCATCCGGACAGGAT
GCAGAACGGCATAGAGGAGCGTAAGGAGAAAATGTACATAAGGCGCTCTTCCGCTTCTCGCTCACTGAC
TCGCTACGCTCGGTGCTTTCGACTGCGGCGAGCGGTGTCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCAC
AGAATCGGGGGATAAAACCGGAAAGAACATGTGAGCAAAAAGACAAAGACCCAGAAGAAGGGCGCGCGGGA
GGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCAAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTG

● pMUT2 (5514bp) 质粒序列:

GTGATGGCAATGAAAATATCCCAATTGTTGATTTTACAGTGTTGGATCTAATATCAAAAAGTTGACTCAATCATT
TTCGTTTTGAGTAAGAATAATGACGACAATTGTATAACCATATACAAGAAGCAATATCCAGTTCAAAACCTATCA
AGAAAAGAAAATAATTTTTATGGGTTTAGCAAAAAGAACTATCTCGAGTAGATCAAGATATGATTTCTATTGAT
GGTAAGGCATCTCTGTTTTTCTGCGGATACGGTATTTATCTACGACCAAAATGTTTTCGAGCGTTTTTTTTGG
CTATAAAGCATGGATAAAAATGCTGCCACTGATTTTGTAAACAATATGTCCACTCGTTTTAAGGGATTTGTTG
ACTTAAGCAAATTTATTGAGCGAGTAAATAAGATAGTCATGATGCGGATGCTTTTTCTCGGAAGCTAGCTAAG
GCGTATGCTCGAAGCGAAAACAAAGCAAACGCTACAAAACAATAACAAATGAACATCTTAAGAGTGTTCTAGATG
AAAATGGATATTTAGCAGGTGTTTTAAAGTATAAAAAGGTGATGCTACGATTTGCATCGCAAGCCATAACCAG
CAAGATACGTTTATCGCTATGGTATCCGAAGGCGTATTGAGATCGTTGATTACAGGCATTGATTATTTAAGCCT
TGGGTCAAAGCGGAAAATATCGTCAGCAGCATCCAATACTACTACCAGTACCCTTCGGATTCTCTCCGCT

GCCGTGTGAGACAAAACAACCTATATCAGATAACAGCCCTGCTTTTGC GGGGCTTTTGTGGTGTGCGTGATG
CGACCTCGATGTACGATAGATGCTGTACTAAGCCAGTACACACAGCGTCCCCTCTTCGAGGTGCCGTCTGT
GACTGTTTCAGGGGGCTCGCCGCCCCCGAAACCCCTTGCATCCACTGCGAAAATTCGCACTTTGGGTGC
GAAACTTTCTCAGCGGATTCTCATGAAAAGCGCACCAAAGAGATCAAATCAGACTCACCGAAGCGGAGC
ATCAGCGGCTACTTGAACGCTGTGACCGTAAGCATTGGCCGAGTGTTACGAGCCGTTGGCTTAGGCGAA
TCGCGTACAGCTCGGCGTGTCCGCTACCTACCGTAGACCCGACCTTGTTACGTCAGGTCAGCGGGATCG
GTAATAACCTCAATCAAATAGCCCGTTACTTGAATCAGCATGGCTTACCGCCGCAAGAACGGGTGTCGTTGTT
AGCGGTGCTCAATAGCATTGACCAACATCTTGCCGAAGTCTGGAGCAACATCGTGATCGTTAAGATTCATG
GTCGTTGGTGCCGGTGGCGGGAGTGGTCCTGTGATTACCTTCTGGGCCCTGATCGTCAGCGCGAACAAGC
GACGGTGTACGGGGTAACCCTGAGCACGTCAAAGAGCTGATTGATGGCTGCGAATTTGCCCGAAGTATA
CCTCTGGCGTGCTCTCTTTTCAGGAGAGTGATTACCCGAAGCGAAAAGCAGCGATTGATGGATGAATGG
GAGCAGACATTGATGACCGGTCTAGATAAAGACCAGTATGCCTGCCTCTGGGTCAACATCAGGACAAAGG
GCGTCTTGAATTGAATTTTGTATCCCGAACATCGAATTGCAGAGCGGAAAACGGCTACAACCTTACTTTGAT
CGGGCTGACCGGCCTCGTGTTAACGCATGGCAAACCCTCACCAATGACCGGCTTGGGTTACGCGACCCGA
ATGACCCTGCTAATCGCCGAGCATTAAACCCCTCTAATGACCTTCTCGCAACAAACAGCAGGCAGCGGAA
GCCATTACCAAAGGGCTAATCAGCTTGATTGAGCAGGGAGAAATTACGGATCGTAAAGGGGTGATTTCCAC
CTTACCGATGCCGATTGTCGGTGTACGGGAAACCAAATCCAGTATCAGTATTGCTGATCCGGCAGGTGG
CCCGAATATTCGCTTAAAAGGAGTGCTGTATGAGCGAGATTTTAAATTTAGCGCGGGAGTTTCGAGAGCAAAT
CGAAGCAGCAAGCCAAGACTACCGCAACGAGCGTCGCGAACGCATTTCGAGAAGCACGAGAAACGTATCAC
CGAGGCCTTGAAATTAAGCTCAGGGAACATACAGACCCTATCCAAGAAGAGAACGACAGCCAGCTAAAAC
AGATACACCGCTTAGTCGGAATGACATGGCTGTACAGCCTGGCATTAAAGTGGGATCCTGTTTGCATATTGAT
TGGAGTAGCTTGGTATCTCGGGACTATCGTGGTTCGAACGCCAGAACGAAATCAGCGAGCAGAGCCAGATCC
TGCAGGACTTAAAGAGCCAGACCGGAGCCGGCGTATCGATAATTCAGATTCCAAGAACAAGAGCGTGTATT
ACCTGATCCTTCCGCAGGGGGCGAAGAAGATCGACGAGTACAAGAACGCTCAACATCGTCAGGTCATCAAG
TACAGCGCAAATAACCTCATCAGACGCCACAGAATCGATTCTGGGCGTTTTATCTATCAGGGTGAAGAGA
TTCATGACCGAAATGGAGCAGCAGCTTCTGAGCGCATTAGAGAGCTTACAGAGGCACTACGAACAACAGCA
GCAAGCGTGGCAGGACAGCTACGCCAATTACAGCGCATGTTTCGAGGTTACCTCGCAGGAGTTGGCGAAA
AACGACAGGGTTTGTGAGGCCCTTGTGAGCATGCAAGTACCGGCTTGGCGCAGCAAGTCGAGAGCTTAAACA
GAACAGTGCGCCGCTTGTGCAATTAGCCAAGCGGCACGAACAGCGGTATTCTCGCGGTACGGCATGAGT
TTATAAGCGTTTATCGGCCGATCGTAAGCGGCAGAACGCTCGCGCTTACCGACCGCCACCACGAATACCG
TAATGGTTTGTGCGAACCTGATAGACCAAGCGATAACCGGATGCACGGAGCTTGAATTTGTAGCAGTCAT
GCAGCTCTCGCAGGCGATTTTATCGATCCGCGGGTGTGTTAGAACCTGCTCGAGTTTTTTCTTGAAGTCA
GACGGACATCATCCCCGAGCTTGCGCCATTCTTACGGGCTCGGGGATCAAATTCAGGTTATAGCTCATCC
AGTGACACCTTTACGCCCGCCTGTGGGTTTTCCAGACGATCCCGAACGATAGCCATCAAATCGGCATCATCC

TCGGTCAGCAAAACCTGCTGGAACGGCAAACGTCCGCTTTGGGCCACATATTCCAGTGTTTGGCGCAGAAC
CTCGGACGGCGTTACGCCAGCTTTTCCAGTGCGGCATAAGAGCGGCTTTTCAGCTCGTCATCGATCCGAA
TATTAATCGTGGCCATCATCTCACCTCTTGATGTAGTGACAAGTGTATCTACAAGAAGTAGTATGAGCGTAAAG
CCGTGCGAGAACAAGCAGGAATAACGGATTGTCGGGGATGACAAAAACCGTTGTTGAGGTGTAACCTAGTG
GCAGAAAAACAAGCCCCGAAATCATGCTCTACTTTGGCGAGCGGACATGACATTCAGGGCTAGGTCGAA
ACCTAGAAAGGATATTAGCACATGCAGCGTGCAAAACAACAGCCCCGCCATAAGGCTGGGAGCCTTGATAA
TCAGGCTTTAACGCTTTTTAACGACCGGTTACCCACAAGCCGACTTCTCCGATGATTTACAGTTTGGTGTT
CGCATTGCCGGTAAAGAGCGTGCTCTCCTCGCAAAATACATCCAGTTAATCAGCCTCACGCCATGTACTGG
CTTTGCTTTGACGTGGACAGAGCCGGAGCCGCGATTGATTGGGCCGATCTGGGGGCACCTGCGCCACAC
TCACCATCAAAAACCCCGAGAACGGACATGCTCACCTGTTGTATGCCTTGACATACGGCGGTACGTACCGCG
CCGGATGGTCGAGCTGCCCCCTTAAATACGCCGCCCATCGAGAATGCGCTGCGTAAAAAATTGGGCGC
AGATGCGGGTATTAGGGCTAATTTGCAAGAATCCGAACCCTGCACTGGCAGATCACCGTCTGGCAGC
CAGAGCTCTATACCCTTGACTGGTTAGCCGATTACCTCGACCTTGGCGCAGCCAATGACCGCGAAATCCTG
CCGGACTACGGTTTAGCCGTAACCTGCACCCTTTCGATAAAACCCGCAAGTGGGCTTACCGCGCTATCCG
CCAAGGCTGGCCGAGTATGACCAATGGCTACAAGCTGCATTGAACGCGCTAAAGCCTACAACCTGCAGT
TCTCCGCACCTTTAGACGAGAACGAAGTCATGGGAATTGCTAAAAGTGTGGCTAAGTGACAAGTAAGAAC
CTTACAGAGCTTGGCTTTGAAGAGTATGTTAAACAAACACATACTTCTGAAATTCAGCGTCAACGTGGAAAA
AAAGCTCTGGTGGTGAAGGCCGAAAGTTAGAGATGGAGAATGGATTTCTTTAGGAATAAGTAGATCAACGT
GGTACAGGAAATTTACAAAAATGAAAATTAGAATGTATCTTATCAATGTTGTTTTATTATACCGATAACAA
TATATTTTCTGGTATTGATAACGTATGGTCTGTTTTAGATAAGGCCATGTCTTCGTGTTCTGGCGCGGATGGA
AAATTTCAATGCGTACTCGACTATTCAATAGCAGATTAACATTTTCTGTATTGAGGTGAGTATCTGCGGGC
TTTGATTTAACTTGTCTTATACATACATTTGGTATCGATGGGTTTTGAAAACTTAGACTCCGGTGC GGTT
CAAGAAAGTTAAAGTTCGTTTCATGAAAAAGAATCCGGTGAGTATCTTCTTTTTTATCAACGTACATAATG
CCGTTGGTCTTACTGATTTAAGCAAACCATCAAATATAGTTAATTTTTGTTTGTGTTTATTATCGTCGGTTTT
TGCACATCAAAACAAAAGAATTCAGTCAACCCAACATTGTCATTATTAATGTTTCTGCCTATAAGACTACTT
ACAGTGTGGTAGCTAATGGAAGGGAAAAACGCAAGACGGTGAGTTGATAGTTTTATCTAAAGATTTAATAAA
AGAAAATGATTTTATCAGAGTTATAAATCATGATGATTATTTAACGTTTCGCGAAAAAATCATAGAGGAATGATG
ATGAGTGACGATGCCTTAGATCTTGATGCTTTGGAGCATAATGAAGAAAAAGCACAAAGAGCTTTTAGAACTGT
ATAAGCATTTTGATTGTGATATTAACGATGTTACATTGCACACTTACTTTAACTTTAAAAATAAAGGTAAGCGG
GTGCTAAGGACTCTTTAGCTATAAAATTGCCATCCTTAAAAATGACAGTGAGCTAAAACAGTCCATTATTGAT
AATGTGATAAAGAAAACATATCTGATTTAGAAAATCGGGTTGTGATAGTATCAGATGTTAATACACTAAGTGAC
CGCACCAACACCATTTCATTTTAAATGATGCTGAGCAGTATGATAATGAGCAAATGAAGTTTCTGACTGGCAT
TGTGTTTGTGCTGGGTTTGGTG

2nd LabTM
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 LabTM
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