

权利要求书

1、一种 CHO 细胞基因组内某位点稳定表达蛋白质的应用，其特征在于，所述 CHO 细胞基因组内用于稳定表达蛋白质的位点位于 CHO 细胞基因 NW_006882456.1 的第 1020651 碱基处；

所述位点附近 1020585-1020690 范围内可被 CRISPR/Cas9 技术识别的 5' NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGG3' 为靶序列。

2、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述蛋白质为分子量小于 160KDa 的蛋白质。

3、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述蛋白质为多肽、功能性蛋白质、抗体、融合蛋白质中的一种。

4、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 CHO 细胞基因 NW_006882456.1 的第 1020651 碱基处附近第 1020640-1020662 碱基处；所述靶序列为 5'-ACCCTTGTGCCCCAAAGACAGGG-3'。

5、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-ACCCTGTCTTTGGGGCACAAGGG-3'。

6、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-GTCTTTGGGGCACAAGGGTGAGG-3'。

7、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-TTTGGGGCACAAGGGTGAGGTGG-3'。

8、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-TTGGGGCACAAGGGTGAGGTGGG-3'。

9、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-CAAGGGTGAGGTGGGGTAAATGG-3'。

10、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-GGTGAGGTGGGGTAAATGGATGG-3'。

11、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-AGGTGGGGTAAATGGATGGTTGG-3'。

12、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-GGGGTAAATGGATGGTTGGTTGG-3'。

13、根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-

TGGGGCACAAGGGTGAGGTGGGG-3'。

14、根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-ACAGAGAAACCCTGTCTTTGGGG-3'。

15、根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-CACAGAGAAACCCTGTCTTTGGG-3'。

16、根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-AGTGAGTTCTAAGACAGCCAGGG-3'。

17、根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-ACACAGAGAAACCCTGTCTTTGG-3'。

18、根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-GTTTCTCTGTGTAAACAGCCCTGG-3'。

19、根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述靶序列为 5'-ACTCACTCTGTAGACCAGGCTGG-3'。

20、一种靶向载体，其特征在于，该靶向载体含有权利要求1中所述可用于位点编辑的能够被CRISPR/Cas9技术识别的5'-NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGG3'的靶序列。

21、一种用于CHO细胞表达外源基因的重组供体载体，其特征在于，该重组供体载体含有权利要求1中所述位点NW_006882456.1的第1020651碱基处上下游500bp-800bp同源臂。

22、根据权利要求21所述的重组供体载体，其特征在于，所述载体的制作方法为：将蛋白质基因插入到质粒5'arm和3'arm中间的区域，使该核苷酸序列位于启动子的下游并受其调控，得到重组CHO细胞表达质粒。

23、一种用于稳定表达外源蛋白质的CHO重组细胞系，其特征在于，该重组细胞系构建过程中使用了权利要求20、21或22所述的载体或质粒。