

# 权 利 要 求 书

1、一种人结直肠腺癌细胞 TRPV1 基因敲除细胞株，其特征在于，命名为人结直肠腺癌细胞 TRPV1 基因敲除细胞株 CACO-2 KO，于 2019 年 12 月 25 日保藏在中国典型培养物保藏中心，保藏编号 CCTCC NO.C202024-  ；

该细胞株通过 CRISPR/Cas9 技术构建，将核苷酸序列如 SEQ ID NO：2～3 所示的单链 DNA 进行退火反应，得到双链 DNA 短片段，连接入 CRISPR/Cas9 载体，获得重组敲除载体，将重组敲除载体电转染到人结直肠腺癌细胞系中，经抗性和测序筛选获得人结直肠腺癌细胞 TRPV1 基因敲除细胞株 CACO-2 KO。

2、一种用于敲除 TRPV1 基因的 sgRNA 的识别序列，其特征在于，其核苷酸序列如 SEQ ID NO：1 所示。

3、一种用于构建人结直肠腺癌细胞 TRPV1 基因敲除细胞株的 gRNA 引物对，其特征在于，其核苷酸序列如 SEQ ID NO：2～3 所示。

4、权利要求 2 所述的 sgRNA 的识别序列和/或权利要求 3 所述 gRNA 引物对在敲除 TRPV1 基因中的应用。

5、一种人结直肠腺癌细胞 TRPV1 基因敲除细胞株的构建方法，其特征在于，通过 CRISPR/Cas9 技术构建，将核苷酸序列如 SEQ ID NO：2～3 所示的单链 DNA 进行退火反应，得到双链 DNA 短片段，连接入 CRISPR/Cas9 载体，获得重组敲除载体，将重组敲除载体电转染到人结直肠腺癌细胞系中，经抗性和测序筛选获得人结直肠腺癌细胞 TRPV1 基因敲除细胞株 CACO-2 KO。

6、一种含有 SEQ ID NO：2～3 所示的 gRNA 引物对的质粒载体。

7、权利要求 6 所述的质粒载体在构建人结直肠腺癌细胞 TRPV1 基因敲除细胞株中的应用。