



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110093361 A

(43)申请公布日 2019.08.06

(21)申请号 201910307035.2

(22)申请日 2019.04.17

(71)申请人 拜澳泰克生物医学科技(沈阳)有限公司

地址 110000 辽宁省沈阳市大东区东北大  
马路104号(1门)

(72)发明人 尹秀山 李根 李学龙

(51)Int.Cl.

C12N 15/67(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页  
序列表4页 附图1页

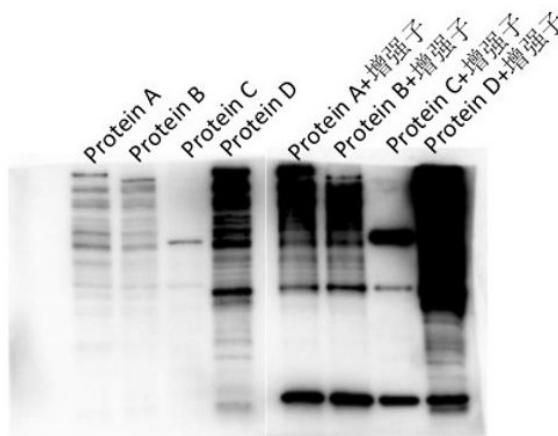
(54)发明名称

一种增强基因表达的增强子多肽及其应用

(57)摘要

本发明公开了一种增强目的基因蛋白表达的增强子多肽。所述增强子多肽信息包括增强子多肽对应的cDNA序列, RNA序列和蛋白序列。本发明还提供了一种增强基因表达的蛋白多肽的方法, 将蛋白多肽作为一个增强剂来进行与靶基因的共转染使用, 进而增强目的基因的表达水平。本多肽作为增强剂, 可以显著增强目的基因的表达水平, 尤其对于一些低表达的蛋白与增强子多肽联用后, 可以比较容易的进行功能研究。蛋白多肽作为一个增强剂与目的基因共转染的方式多样化, 不局限于脂质体转染、磷酸钙转染及电转法等, 都能达到增强目的基因表达的目的。本发明首次使用蛋白多肽来增强目的基因表达, 效果显著且适用范围广泛。该增强子多肽可以通过体外和体内合成得到, 无需构建复杂载体, 方便快捷, 为今后增强目的基因表达提供了新的途径和方法。

CN 110093361 A



1. 一种增强基因表达的方法,其特征在于:通过利用多肽作为增强剂与目的基因进行共转染,增强目的基因的转录/表达水平,所述多肽包括SEQ ID NO:1 所示的cDNA序列和/或如SEQ ID NO:2所示的RNA序列 和/或如 SEQ ID NO:3 所示的蛋白序列和/或与如SEQ ID NO:1 所示的cDNA序列同源性高于60%的同源序列和/或与如SEQ ID NO:2所示的RNA序列同源性高于60%的同源序列和/或与如 SEQ ID NO:3 所示的蛋白序列同源性高于60%的同源序列。

2. 根据权利要求1所述的增强基因表达的方法,其特征在于:所述同源序列为与如SEQ ID NO:1 所示的cDNA序列同源性高于80%的同源序列和/或与如SEQ ID NO:2所示的RNA序列同源性高于80%的同源序列和/或与如 SEQ ID NO:3 所示的蛋白序列同源性高于80%的同源序列。

3. 根据权利要求1所述的一种增强基因表达的方法,其特征在于:所述共转染方法为脂质体法和/或磷酸钙法/电穿孔法/DEAE-葡聚糖法/polybrene法/机械法。

4. 根据权利要求1-3中任意一项所述的增强基因表达的方法,其特征在于:共转染对象为真核细胞。

5. 一种检测基因表达水平的方法,其特征在于:通过利用权利要求1-2所述的多肽作为增强剂与目的基因进行共转染,通过蛋白免疫印迹法/荧光检测法检测目的基因表达水平。

6. 根据权利要求5所述的检测基因表达水平的方法,包括:选取HEK293细胞或HeLa细胞进行多肽和目的基因的脂质体共转染,利用蛋白免疫印迹法检测多肽对目的基因的促表达情况。

7. 根据权利要求6所述的检测基因表达水平的方法,步骤如下:

步骤一:对HEK293细胞或HeLa细胞进行常规培养;

步骤二:细胞生长到50%-80%时,进行转染,转染2-4天后收集细胞;

步骤三:细胞裂解;

步骤四:蛋白质印记法检测裂解产物目的蛋白的表达情况。

8. 一种根据权利要求5所述的检测基因表达水平的方法,具体如下:选取HEK293细胞或HeLa细胞进行多肽和目的基因的脂质体共转染,利用荧光显微镜观测增强子多肽对目的基因的脂质体的促表达情况。

9. 根据权利要求8所述的检测基因表达水平的方法,其特征在于:所述目的基因的脂质体为tdTomato的脂质体,步骤如下:

步骤一:对HEK293或HeLa细胞进行常规培养;

步骤二:细胞生长到50%-80%时,进行转染;

步骤三:转染12-36小时后在荧光显微镜下进行观察tdTomato红色荧光。

10. 一种检测目的基因对目的细胞活性影响的检测方法,其特征在于:通过利用权利要求1-2中任意一项所述的多肽作为增强剂与目的基因共转染,通过蛋白免疫印迹法/荧光检测法检测目的基因表达水平,确定目的基因对目的细胞活性的影响。

## 一种增强基因表达的增强子多肽及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及基因工程技术领域,特别涉及一种增强基因表达的蛋白多肽的应用。

### 背景技术

[0002] 分子生物学时代的基因工具在细菌和细胞中的应用,尤其是真核细胞中的应用,大大推动了生命科学的发展。特别是基因工程在真核细胞中的应用,为研究基因和蛋白质的功能提供了很好的平台。传统的转染方法大体分为三类:生物、物理和化学方式。现有的生物转染如病毒转染会产生插入突变,具有免疫原性和细胞毒性并且会对实验室人员造成潜在的危害。现有的物理转染如机械法经常会造成细胞死亡并且会损害样本。现有的电转方法有的需要的细胞量比较大(如伯乐的电转仪),有的需要繁琐的操作步骤及转染试剂(如lonza的aAmaza),同样会因为攻击目的基因片段使得表达量降低。实验室常规的转染方法一直是以脂质体,DEAE-葡聚糖法和polybrene法的化学方法为主。该方法具有细胞毒性小,操作相对简单,不需要对细胞进行额外处理等优点。不过,现有的化学方法的转染效率在不同类型细胞中存在差异,对于稳定的细胞株,如HeLa,HEK293等,转染效率可以达到90%以上,但是对其它细胞株或者原代细胞转染效率较低,导致转染的目的基因表达水平低。极大限制了对目的基因的功能研究和基因治疗的应用 (Analytical and Bioanalytical Chemistry 2010, 397: 3173-3178)。

[0003] 为了解决上述问题,研究者已经开发出携带增强基因表达元件的核酸构建体 (Discov Med 2015, 19: 49-57)、病毒RNA载体 (BMC Biotechnol 2008, 8: 19) 和非编码RNA (PLoS One 2014, 9: e108253) 配合常规的转染方法来保证目的基因稳定和高度异源表达。以上方法在解决前述问题的同时,也存在载体构建的过程繁琐耗时,免疫原性和适用范围窄等因题。因此,发明一种高效增强目的基因表达水平且操作方便的新方法很有必要。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种通过在共转染的过程中引入蛋白多肽作为增强目的基因表达的增强剂,来检测目的基因对细胞的影响,利用该方法还可以检测目的基因对特定基因表达的影响,同时这种方法也可以有效提高目的基因的蛋白产量,在医学方面还可以用于肿瘤的基因治疗与瘤苗的制备。该增强子多肽可以应用于脂质体、磷酸钙共沉淀、电穿孔、DEAE-葡聚糖、polybrene以及机械转染方法。本专利所述增强型的蛋白多肽可以增强共转染的目的基因的表达,该蛋白多肽可以通过体外的固相/液相合成法、体内的大肠杆菌表达系统来合成等方法得到。

[0005] 为实现上述目的,本发明提供如下技术方案:提供一种增强基因表达的蛋白多肽作为增强剂,所述蛋白多肽的信息包括编码增强子多肽的cDNA序列、RNA序列或蛋白序列,或它们的组合。所述增强子多肽也可来源于核受体ESRRB的部分序列。所述编码增强子多肽的cDNA序列为SEQ ID NO:1或与SEQ ID NO:1序列同源性高于60%的同源序列;所述编码增

强子多肽的RNA序列为SEQ ID NO:2或与SEQ ID NO:2序列同源性高于60%的同源序列;所述增强子多肽蛋白序列为SEQ ID NO:3或与SEQ ID NO:3序列同源性高于60%的同源序列;优选的,所述cDNA序列为与SEQ ID NO:1序列同源性高于80%的同源序列,所述RNA序列为与SEQ ID NO:2序列同源性高于80%的同源序列,所述多肽蛋白序列为与SEQ ID NO:3序列同源性高于80%的同源序列。以上序列间的任意组合也产生前面所述的增强作用。

[0006] 本发明提供了一种应用前述蛋白多肽增强基因表达的方法,具体如下:

[0007] 选取HEK293细胞或HeLa细胞进行增强子多肽和目的基因的脂质体共转染,用蛋白质印记法(western blotting)检测增强子多肽对目的基因的促表达情况。

[0008] 普通转染方法视野作为对照。实验表明单独转染目的基因的细胞内,能检测到信号强度高低不一的目的条带。在共转染增强子多肽的细胞中,表达强度高低不一的信号均得到了显著增强。该数据证明增强子多肽对共转染的目的基因表达的增强作用。且可以根据表达情况在确定蛋白量变化方面也能获得更明确的信息,从而更容易确定蛋白的进一步应用。

[0009] 本发明还提供了一种观测增强子多肽对荧光蛋白的促表达情况的方法,通过观察荧光的方式确定促表达情况。

[0010] 普通转染方法视野作为对照。实验表明单独转染荧光蛋白很低剂量的细胞内,能观测到微弱的荧光信号,在共转染增强子多肽的细胞中,红色荧光信号明显得到了增强。该数据证明本专利所述的多肽对蛋白表达的增强作用。在确定蛋白量变化方面也能获得更明确的信息,从而更容易确定蛋白的进一步应用。

[0011] 上述两个实验应用的举例,证明本专利记载的增强子多肽可以作为一个增强剂在共转染实验中使用,增强目的基因的表达水平。

[0012] 本发明还提供一种检测目的基因对目的细胞活性影响的检测方法:通过利用所述的多肽作为增强剂与目的基因共转染,通过蛋白免疫印迹法或荧光检测法检测目的基因表达水平,确定目的基因对目的细胞活性的影响。与不进行转染的目的细胞进行对照,效果更为明显。或者与进行其他方式转染的目的细胞进行对照,也可以进行基因间比较。

[0013] 该方法为基因工程用于临床提供了一种简便易行的检测手段,该方法直观、可靠,对于确定基因功能具有很高的实用价值。

[0014] 该增强子多肽与目的基因的共转染方式包括并不局限于优选的方法,同样可以应用于磷酸钙共沉淀、电穿孔、DEAE-葡聚糖、polybrene和机械转染方法。

[0015] 本发明的优点:

[0016] 1. 本发明将该增强子多肽分别与含有目的基因的真核表达载体进行共转染,利用蛋白免疫印迹检测了增强子多肽对目的基因的表达促进情况,同时,还将该增强子多肽与红色荧光蛋白基因进行共转染,利用荧光显微镜观测增强子多肽对红色荧光蛋白表达的增强情况,证实了增强子多肽具有很强的增强目的基因和tdTomato蛋白表达的能力。

[0017] 2. 本发明通过将增强子多肽和目的基因进行共同转染,可以显著增强目的基因的表达水平,尤其对于一些低表达的蛋白,可以比较容易地进行功能研究。因此本专利的多肽作为一个增强剂来配合脂质体转染方法使用,进而显著增强目的基因的表达水平。这种增强剂可以节省转染试剂,同时节约所使用的细胞量,进而在细胞工程方面可以显著节约实验成本;这种增强剂可以配合多种转染方法使用,适用范围广泛;增强子多肽可以通过体

外多肽合成,细菌或者真核细胞内根据对应的cDNA、RNA序列编码得到,省去了构建载体的繁琐步骤,相比传统方法更加方便快速。

### 附图说明

[0018] 图1为本发明的增强子多肽对共转染基因表达的影响。图中,1-4 栏为待测试目的蛋白A,B,C,D 的表达情况;5-8栏为待检测目的蛋白在增强子多肽存在下的表达情况。

[0019] 图2为本发明的增强子多肽对tdTomato荧光蛋白基因表达的影响。上半图显示白光角度下的细胞图像。左下图显示在荧光角度下,tdTomato 蛋白的荧光信号。右下图显示在荧光角度下,增强子多肽的存在可以显著增强tdTomato蛋白的荧光信号。

### 具体实施方式

[0020] 实施例1:

[0021] 本发明提供如下技术方案:通过利用多肽作为增强剂与目的基因进行共转染,增强目的基因的转录或表达水平,所述多肽的信息包括编码增强子多肽的cDNA序列、RNA序列或蛋白序列,或它们的组合,所述编码增强子多肽的cDNA序列为SEQ ID NO:1或与SEQ ID NO:1序列同源性高于60%的同源序列;所述编码增强子多肽的RNA序列为SEQ ID NO:2或与SEQ ID NO:2序列同源性高于60%的同源序列;所述增强子多肽蛋白序列为SEQ ID NO:3或与SEQ ID NO:3序列同源性高于60%的同源序列。

[0022] 实施例2:优选的,所述cDNA序列为与SEQ ID NO:1序列同源性高于80%的同源序列,所述RNA序列为与SEQ ID NO:2序列同源性高于80%的同源序列,所述多肽蛋白序列为与SEQ ID NO:3序列同源性高于80%的同源序列。

[0023] 实施例3:

[0024] 本发明提供了一种应用前述多肽增强基因表达的方法,如下:

[0025] 选取HEK293细胞或HeLa细胞进行多肽和目的基因的脂质体共转染,用蛋白质印记法(western blotting)检测多肽对目的基因的促表达情况。

[0026] 优选步骤如下:

[0027] 步骤一:对HEK293细胞或HeLa细胞进行常规培养;

[0028] 步骤二:细胞生长到50-80%时,进行转染,转染2-4天后收集细胞;

[0029] 步骤三:细胞裂解;

[0030] 步骤四:蛋白质印记法检测裂解产物目的蛋白的表达情况。

[0031] 结果见附图1。普通转染方法视野作为对照。实验表明单独转染目的基因的细胞内,能检测到信号强度高低的条带。在共转染增强子多肽的细胞中,表达强度高低的信号均得到了显著增强。该数据证明增强子多肽对共转染的目的基因表达的增强作用。

[0032] 实施例4:

[0033] 本发明还提供了一种观测增强子多肽对荧光蛋白的促表达情况的方法,通过观察荧光的方式,提高对目的蛋白的检测灵敏度。步骤如下:

[0034] 步骤一:对HEK293或HeLa细胞进行常规培养;

[0035] 步骤二:细胞生长到50-80%时,进行转染;

- [0036] 步骤三:转染12-36小时后在荧光显微镜下进行观察tdTomato红色荧光。
- [0037] 结果见附图2。普通转染方法视野作为对照。实验表明单独转染荧光蛋白很低剂量的tdTomato的细胞内,能观测到微弱的荧光信号,在共转染增强子多肽的细胞中,红色荧光信号明显得到了增强。该数据证明增强子多肽对tdTomato蛋白表达的增强作用。
- [0038] 上述两个实验应用的举例,证明本专利记载的增强子多肽可以作为一个增强剂在共转染实验中使用,增强目的基因的表达水平。
- [0039] 实施例5:
- [0040] 细胞培养:用HEK293细胞进行常规培养,培养条件为5%二氧化碳培养箱,在温度为37度恒温条件下培养;
- [0041] 共转染:所述转染方式为脂质体;
- [0042] 蛋白免疫印迹(Western blotting)检测:转染后,转细胞成长到染50%-80%当收集,裂解,裂解后的细胞进行western blotting,利用flag抗体进行检测目的蛋白的表达情况;
- [0043] 为了排除增强子多肽发挥作用的基因特异性,选取4个目的基因表达载体,分别表达4个基因,在与增强子多肽共转染及表达的情况下,发现4个蛋白的表达都得到了显著地上调,说明增强子多肽具有很强的增强目的蛋白表达的情况,结果见附图1;
- [0044] 实施例6:
- [0045] 荧光显微镜检测:
- [0046] 细胞培养:用HEK293细胞进行常规培养,培养条件为5%二氧化碳培养箱,在温度为37度恒温条件下培养,细胞生产到50%-80%时进行;
- [0047] 共转染转染:所述转染方式为脂质体;
- [0048] 转染时间:转染12-36小时
- [0049] 检测方式:在荧光显微镜下进行观察tdTomato红色荧光。
- [0050] 实验结果显示:单独转染很低剂量的tdTomato的细胞内,能观测到微弱的荧光信号,在共转染增强子多肽的细胞中,红色荧光信号非常强烈,该数据证明增强子多肽对tdTomato蛋白表达的增强作用,结果见附图2。
- [0051] 最后应说明的是:以上所述仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明的保护范围。

## 序列表

<110>	拜澳泰克生物医学科技(沈阳)有限公司	
<120>	一种增强基因表达的增强子多肽及其应用	
<141>	2019-01-16	
<160>	3	
<170>	SIPOSequenceListing 1.0	
<210>	1	
<211>	1302	
<212>	DNA	
<213>	小鼠( <i>Mus musculus</i> )	
<400>	1	
	atgtcgtccg aagacaggca cctgggtctet agttgcggct cttcatcaa gacggagcca	60
	tccagcccggt cctcgggcat tgatgcctc agccaccaca gccccagcgg ctcgtcggac	120
	gccagtgggtg gctttggcat tgcctgagc acccagcca acggtctgga ctgccgcct	180
	atgttcgcag gtgcggggct gggaggcaac ccgtgccga agagctacga ggactgtact	240
	agtggtatca tggaggactc cgccatcaaa tgcgagtaca tgcttaacgc catccccaaag	300
	cgctgtgcc tcgtgtcgg ggacattgcc tctggctacc actacggagt ggcctcctgc	360
	gaggcttgca aggcgttctt caagagaacc attcaaggca acatcgagta caactgccc	420
	gccaccaatg aatgtgagat caccaaagg aggcgcaagt cctgtcaggc ctgccgattc	480
	atgaaatgcc tcaaagtggg gatgctgaag gaaggtgtgc gccttgaccg agttcgagga	540
	ggccgccaga agtacaagcg acggctggat tcggagaaca gccctacct gaacctgcc	600
	atttccccac ctgctaaaaa gccattgact aagatcgtct cgaatctact aggggttgag	660
	caggacaagc tgtatgctat gcctccaac gatatccccg agggagatat caaggccctg	720
	accactctct gtgaattggc agatcgggag cttgtgttcc tcatcaactg ggccaagcac	780
	atcccaggct tcccagctct gacacttggg gaccagatga gcctgctgca gactgcctgg	840
	atggagattc tcatcttggg catcgtgtac cgctcgtcc catacagatga caagctggca	900
	tacgccgagg actatatcat ggatgaggaa cactctgcc tggtagggct gctggacctt	960
	taccgagcca tcctgcagct ggtgcgcagg tacaagaaac tcaagtaga gaaggaagag	1020
	tttatgatcc tcaaggcct gccctcgc aactcagatt cgatgtacat tgagaacctg	1080
	gaggcgggtc agaagctcca ggacctgtg cacgaggcgc tgcaggacta tgagctgagt	1140
	cagcggcacg aggagccgc gagggccggc aagctgctgc tgacgctgcc cctgctgagg	1200
	cagacagccg ccaaagccgt gcaacaattc tacagtgtga aactgcaggg caaggtgccc	1260
	atgcacaaac tcttctgga gatgctggag gccaaaggtg ga	1302
<210>	2	
<211>	1302	
<212>	RNA	
<213>	小鼠( <i>Mus musculus</i> )	
<400>	2	

augucguccg aagacaggca ccugggcucu aguugcggu ccuucauca gacggagcca	60
uccagcccggu ccucgggcau ugaugcccuc agccaccaca gccccagcgg cucgucggac	120
gccaguggug gcuuuggcau ugcccugagc acccacgcca acggucugga cucgccgccu	180
auguucgcag gugcggggcu gggaggcaac ccgugccgca agagcuacga ggacuguacu	240
agugguauca uggaggacuc cgccaucaaa ugcgaguaca ugcuuaacgc cauccccaag	300
cgccugugcc ucgugugcgg ggacauugcc ucuggcuacc acuacggagu ggccuccugc	360
gaggcuugca aggcguucuu caagagaacc auucaaggca acaucgagua caacugcccg	420
gccaccaaug aaugugagau caccaaaccg aggcgcaagu ccugucaggc cugccgauuc	480
augaaaugcc ucaaaguggg gaugcugaag gaaggugugc gccuugaccg aguucgagga	540
ggccgccaga aguacaagcg acggcuggau ucggagaaca gccccuaccu gaaccugccc	600
auuuccccac cugcuaaaaa gccauugacu aagaucgucu cgaaucuacu agggguugag	660
caggacaagc uguaugcuau gccucccaac gauauccccg agggagauau caaggcccug	720
accacucucu gugaauuggc agaucgggag cuuguguucc ucaucaacug ggccaagcac	780
aucccaggcu uccccagucu gacacuuggg gaccagauga gccugcugca gagugccugg	840
auggagauuc ucaucuuggg caucguguac cgcucgucucc cauacgauga caagcuggca	900
uacgccgagg acuauaucau ggauaggaa cacucugcc ugguagggu gcuggaccuu	960
uaccgagcca uccugcagcu ggugcgcagg uacaagaaac ucaagguaga gaaggaagag	1020
uuuaugaucc ucaaggcccu ggcccucgcc aacucagauu cgauguacau ugagaaccug	1080
gaggcggugc agaagcucca ggaccugcug cacgaggcgc ugcaggacia ugagcugagu	1140
cagcggcacg aggagccgcg gagggccggc aagcugcugc ugacgcugcc ccugcugagg	1200
cagacagccg ccaaagccgu gcaacacuuc uacaguguga aacugcaggg caaggugccc	1260
augcacaac ucuuccugga gaugcuggag gccaaaggugu ga	1302

<210> 3

<211> 433

<212> PRT

<213> 灏帆絃 (Mus musculus)

<400> 3

Met Ser Ser Glu Asp Arg His Leu Gly Ser Ser Cys Gly Ser Phe Ile														
1			5					10					15	
Lys Thr Glu Pro Ser Ser Pro Ser Ser Gly Ile Asp Ala Leu Ser His														
			20					25					30	
His Ser Pro Ser Gly Ser Ser Asp Ala Ser Gly Gly Phe Gly Ile Ala														
			35					40					45	
Leu Ser Thr His Ala Asn Gly Leu Asp Ser Pro Pro Met Phe Ala Gly														
			50					55					60	
Ala Gly Leu Gly Gly Asn Pro Cys Arg Lys Ser Tyr Glu Asp Cys Thr														
65								70					75	80
Ser Gly Ile Met Glu Asp Ser Ala Ile Lys Cys Glu Tyr Met Leu Asn														
			85					90					95	

Ala Ile Pro Lys Arg Leu Cys Leu Val Cys Gly Asp Ile Ala Ser Gly		
	100	105 110
Tyr His Tyr Gly Val Ala Ser Cys Glu Ala Cys Lys Ala Phe Phe Lys	115	120 125
Arg Thr Ile Gln Gly Asn Ile Glu Tyr Asn Cys Pro Ala Thr Asn Glu	130	135 140
Cys Glu Ile Thr Lys Arg Arg Arg Lys Ser Cys Gln Ala Cys Arg Phe	145	150 155 160
Met Lys Cys Leu Lys Val Gly Met Leu Lys Glu Gly Val Arg Leu Asp	165	170 175
Arg Val Arg Gly Gly Arg Gln Lys Tyr Lys Arg Arg Leu Asp Ser Glu	180	185 190
Asn Ser Pro Tyr Leu Asn Leu Pro Ile Ser Pro Pro Ala Lys Lys Pro	195	200 205
Leu Thr Lys Ile Val Ser Asn Leu Leu Gly Val Glu Gln Asp Lys Leu	210	215 220
Tyr Ala Met Pro Pro Asn Asp Ile Pro Glu Gly Asp Ile Lys Ala Leu	225	230 235 240
Thr Thr Leu Cys Glu Leu Ala Asp Arg Glu Leu Val Phe Leu Ile Asn	245	250 255
Trp Ala Lys His Ile Pro Gly Phe Pro Ser Leu Thr Leu Gly Asp Gln	260	265 270
Met Ser Leu Leu Gln Ser Ala Trp Met Glu Ile Leu Ile Leu Gly Ile	275	280 285
Val Tyr Arg Ser Leu Pro Tyr Asp Asp Lys Leu Ala Tyr Ala Glu Asp	290	295 300
Tyr Ile Met Asp Glu Glu His Ser Arg Leu Val Gly Leu Leu Asp Leu	305	310 315 320
Tyr Arg Ala Ile Leu Gln Leu Val Arg Arg Tyr Lys Lys Leu Lys Val	325	330 335
Glu Lys Glu Glu Phe Met Ile Leu Lys Ala Leu Ala Leu Ala Asn Ser	340	345 350
Asp Ser Met Tyr Ile Glu Asn Leu Glu Ala Val Gln Lys Leu Gln Asp	355	360 365
Leu Leu His Glu Ala Leu Gln Asp Tyr Glu Leu Ser Gln Arg His Glu	370	375 380
Glu Pro Arg Arg Ala Gly Lys Leu Leu Leu Thr Leu Pro Leu Leu Arg	385	390 395 400
Gln Thr Ala Ala Lys Ala Val Gln His Phe Tyr Ser Val Lys Leu Gln		

---

	405		410		415										
Gly	Lys	Val	Pro	Met	His	Lys	Leu	Phe	Leu	Glu	Met	Leu	Glu	Ala	Lys
		420						425							430
Val															

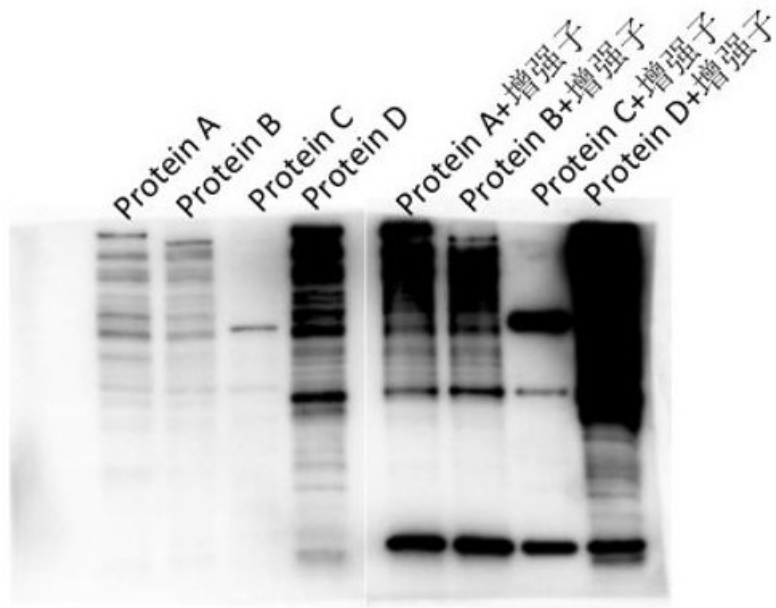


图1

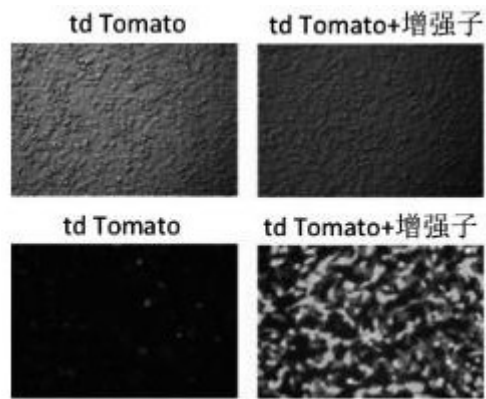


图2

专利名称(译)	一种增强基因表达的增强子多肽及其应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN110093361A</a>	公开(公告)日	2019-08-06
申请号	CN201910307035.2	申请日	2019-04-17
[标]发明人	尹秀山 李根 李学龙		
发明人	尹秀山 李根 李学龙		
IPC分类号	C12N15/67 G01N33/68 G01N33/53		
CPC分类号	C12N15/67 G01N33/53 G01N33/68		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了一种增强目的基因蛋白表达的增强子多肽。所述增强子多肽信息包括增强子多肽对应的cDNA序列，RNA序列和蛋白序列。本发明还提供了一种增强基因表达的蛋白多肽的方法，将蛋白多肽作为一个增强剂来进行与靶基因的共转染使用，进而增强目的基因的表达水平。本多肽作为增强剂，可以显著增强目的基因的表达水平，尤其对于一些低表达的蛋白与增强子多肽联用后，可以比较容易的进行功能研究。蛋白多肽作为一个增强剂与目的基因共转染的方式多样化，不局限于脂质体转染、磷酸钙转染及电转法等，都能达到增强目的基因表达的目的。本发明首次使用蛋白多肽来增强目的基因表达，效果显著且适用范围广泛。该增强子多肽可以通过体外和体内合成得到，无需构建复杂载体，方便快捷，为今后增强目的基因表达提供了新的途径和方法。

