



**10 siRNA Sequences** (Up to 10 top scoring siRNA sequences are reported, sorted by the Start position and ranked as ★★★★★ to ★☆☆☆☆ to indicate knockdown probability). Select the sequence to order and click "Continue".

| Select                   | No. | Start | Sequence(DNA)       | Region | GC%   | Tuschl's pattern match* | Rank <sup>1</sup> |
|--------------------------|-----|-------|---------------------|--------|-------|-------------------------|-------------------|
| <input type="checkbox"/> | 1   | 186   | GCTCAGAGCAACTGTACAT | ORF    | 47.37 |                         | ★★★★★             |
| <input type="checkbox"/> | 2   | 253   | TCTGCCAATGTCGGGCAAT | ORF    | 52.64 |                         | ★★★★☆             |
| <input type="checkbox"/> | 3   | 267   | GCAATGGGCTCACAGGTAT | ORF    | 52.64 |                         | ★★★★★             |
| <input type="checkbox"/> | 4   | 295   | GCTCCACGCTAACTTCCAA | ORF    | 52.64 |                         | ★★★★☆             |
| <input type="checkbox"/> | 5   | 631   | GGCTCTTCCAAGAACGCTA | ORF    | 52.64 |                         | ★★★★☆             |
| <input type="checkbox"/> | 6   | 668   | CCTATCCGCGGTACACTAT | ORF    | 52.64 |                         | ★★★★★             |
| <input type="checkbox"/> | 7   | 689   | GGAGCCCACCATTAGATA  | ORF    | 52.64 | B                       | ★★★★☆             |
| <input type="checkbox"/> | 8   | 762   | GCCGCCTACTACTTCGAAA | ORF    | 52.64 |                         | ★★★★☆             |
| <input type="checkbox"/> | 9   | 871   | TCTACTACCTGGACGAGAA | ORF    | 47.37 | B                       | ★★★★☆             |
| <input type="checkbox"/> | 10  | 997   | GGAGGAAGTCGGGCAAATA | ORF    | 52.64 |                         | ★★★★☆             |

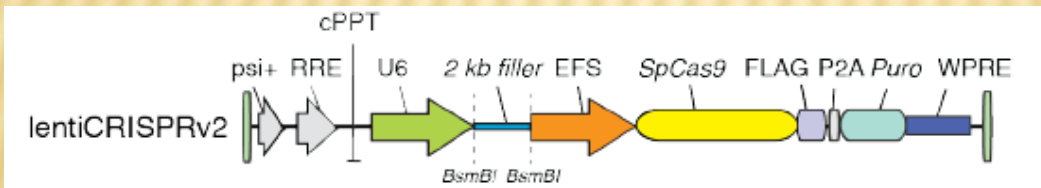
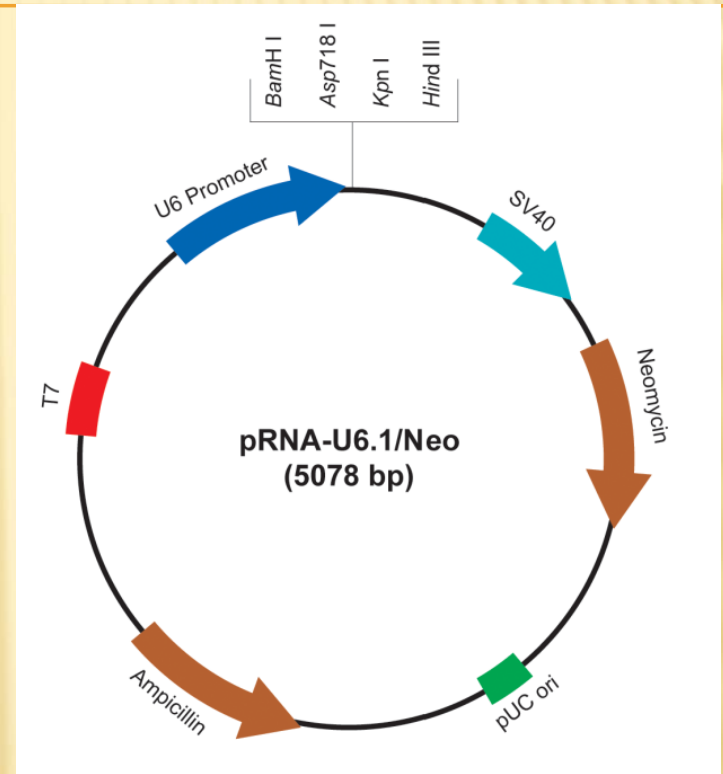
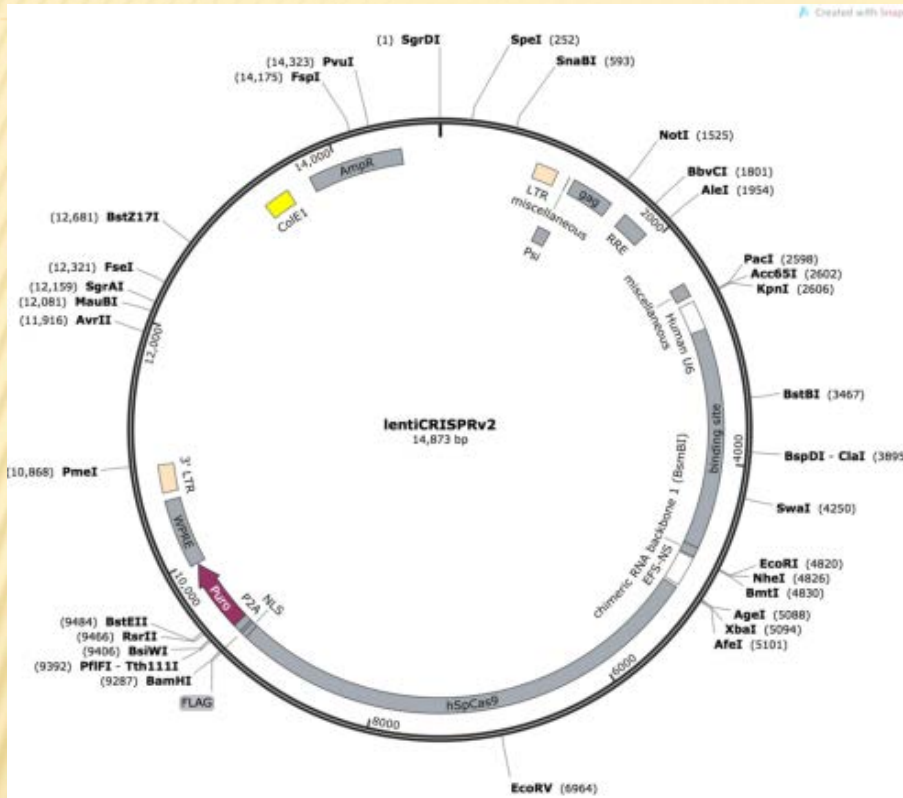
5'...GATCCG **GCAATGGGCTCACAGGTAT** TTCAAGAGA **ATACCTGTGAGCCCATTGC** TTTTTGGAAA...3'  
sense                      loop                      antisense                      terminal

5'...AGCTTTTCC **AAAAAA** **GCAATGGGCTCACAGGTAT** TTCTTTGAAA **ATACCTGTGAGCCCATTGC** CG...3'

***BamH I***

GATCCGGCAATGGGCTCACAGGTATTTCAAGAGAATACCTGTGAGCCCATTGCTTTTTTGGAAA  
 GCCGTTACCCGAGTGTCATAAAGTTCTCTTATGGACACTCGGGTAACGAAAAAACCTTTTCGA

***Hind III***



# shRNA i gRNA

---

Spojení oligonukleotidů

Štěpení vektorů

Eluce fragmentů DNA z agarozového gelu

Ligace

Příprava kompetentních buněk E. coli

Transformace E. coli ligační směsí

Expanze klonů E. coli

Izolace plazmidové DNA

Ověření začlenění oligonukleotidu do vektoru (PCR, **sekvenace**)

Transfekce eukaryotických buněk

# shRNA

---

SDS elektroforéza proteinů a imunobloting

# gRNA

Selekce rezistentních buněk

Klonování rezistentních buněk metodou limitního ředění a expanze klonů

SDS elektroforéza proteinů a imunobloting

Izolace genomové DNA

PCR a klonování do sekvenačního vektoru

Sekvenace + analýza významu mutací