

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 ¹
<input type="checkbox"/>	1	282	CGACACAGCATCTACAGTA	ORF	47.37		★★★★★
<input type="checkbox"/>	2	289	GCATCTACAGTAGCGATGA	ORF	47.37	B	★★★★★
<input type="checkbox"/>	3	353	GCTGCCCAAATCTGGAAAG	ORF	52.64		★★★★★
<input type="checkbox"/>	4	356	GCCCAAATCTGGAAAGCGT	ORF	52.64		★★★★★
<input type="checkbox"/>	5	400	GGGAAGAGGATGAGAAGCT	ORF	52.64	BCD	★★★★★
<input type="checkbox"/>	6	407	GGATGAGAAGCTGAAGAAG	ORF	47.37	B	★★★★★
<input type="checkbox"/>	7	416	GCTGAAGAAGCTGGTGGAA	ORF	52.64	B	★★★★★
<input type="checkbox"/>	8	441	GGAACAGACGACTGGAAAG	ORF	52.64		★★★★★
<input type="checkbox"/>	9	453	TGAAAGTCATTGCCAATT	ORF	36.85		★★★★★
<input type="checkbox"/>	10	454	GGAAAGTCATTGCCAATTA	ORF	36.85		★★★★★

BamHI

5' GATCCGGGAAAGTCATTGCCAATTATTC AAGAGATAATTGGCAATGACTTTCCTTTTTTGGAAA

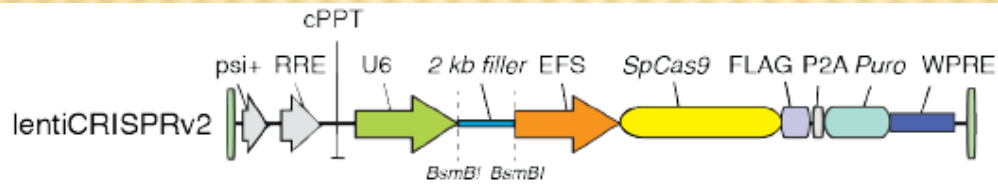
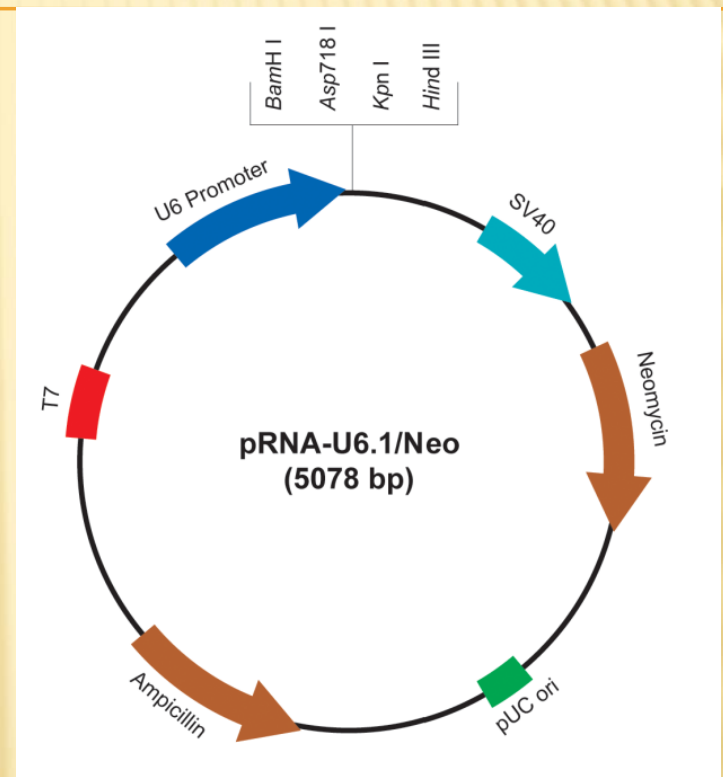
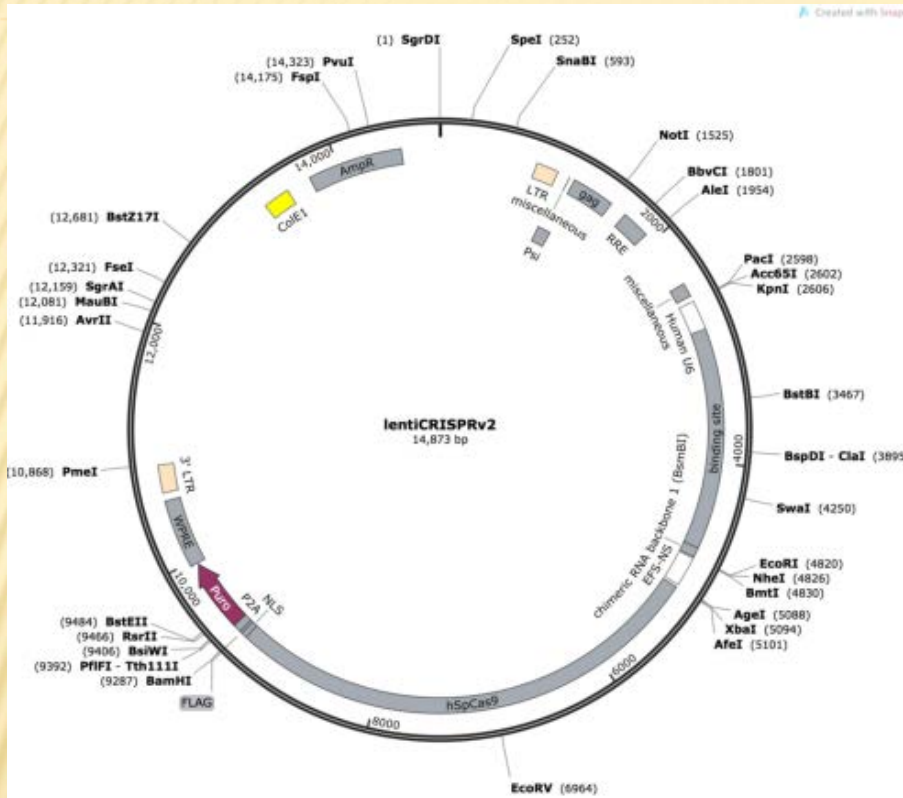
HindIII

5' AGCTTTTCCAAAAAGGAAAGTCATTGCCAATTATCTCTTGAATAATTGGCAATGACTTTCCTCG

BamHI

5' GATCCGGGAAAGTCATTGCCAATTATTC AAGAGATAATTGGCAATGACTTTCCTTTTTTGGAAA
GCCCTTTCAGTAACGGTTAATAAGTTCTCTATTAACCGTTACTGAAAGGAAAAAACCTTTTCGA 5'

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

Klonování pro sekvenaci

Genomova sekvence:

```
ttccagaatgagaaccagacaggcaaagtgggaaaggaaaaggagaaagcatttaaggaacaataaacaggttgg  
gaacagaaagcagaataaacactgggagagaagaacacgagcattctgtacagcatgccaagataacctcttcaa  
gagtcttcagaagggcacatgtagcttagccgagatttcagtttcaccaatcacagactctacagagtttcct  
acgttttgataaaaatgactagttacctcttcccttgtccacctagttttccccaagtgacgctttccagatttgg  
gcagcagcccatcgtagtcatggtcacacatctcaatgtcttcatctctcatcgctactgtagatgctgcaga  
aataagaatggacacacatgggccaaggcagaggatctaaactattggattatgaaactcagacagaaacgctt  
cagcaagcttggttaaagtctacagaaacaaaaccttgcacagttgcgcaatgaggttttctgcattctgggtgct  
gtagtgtttgtaaactggttttgctgttactagtatccacagagacaccaagagcctggcatttttctattgct  
ctgcatgttgaacctgttactgtagatcagtgacaagttacacatctggcaaacctccaaccaattgat
```