

(12) **PŘEKLAD EVROPSKÉHO
PATENTOVÉHO SPISU**

(10)
CZ/EP 2 937 418 T3

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

- (96) Datum podání evropské přihlášky: **20.10.2009**
- (96) Číslo evropské přihlášky: **EP 15151452.8**
- (97) Datum zveřejnění evropské přihlášky: **28.10.2015**
- (97) Číslo evropského patentu: **EP 2937418**
- (97) Datum oznámení o udělení evropského patentu: **18.10.2017**
- (30) Právo přednosti:
20.10.2008 US 106956 P
18.11.2008 US 115738 P
02.03.2009 US 156670 P
09.06.2009 US 185545 P
15.09.2009 US 242783 P
22.09.2009 US 244794 P
- (47) Datum zveřejnění překladu evropského patentového spisu: **31.01.2018**
(Věstník č. 5/2018)

(51) Int. Cl.:

C 12 N 15/11 (2006.01)
C 12 N 15/113 (2010.01)
A 61 K 31/713 (2006.01)

(73) Majitel patentu:
Alnylam Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA 02142, US

(72) Původce:
Sah, Dinah Wen-yee, Cambridge, MA 02142, US
Hinkle, Gregory, Cambridge, MA 02142, US
Alvarez, Rene, Cambridge, MA 02142, US
Milstein, Stuart, Cambridge, MA 02142, US
Chen, Qingmin, Cambridge, MA 02142, US

(74) Zástupce:
Traplová Hakr Kubát, advokátní a patentová kancelář, Ing. Eduard Hakr, patentový zástupce, Příkladná 24, 170 00 Praha
7

(54) Název vynálezu:
Kompozice a způsoby inhibice exprese transthyretinu

CZ/EP 2 937 418 T3

Popis se týká dvouvláknové ribonukleové kyseliny (dsRNA) cílící transtyretinový (TTR) gen, způsobů použití dsRNA k inhibici exprese TTR.

Transtyretin (TTR) je vylučovaný protein vázající tyroidní hormon. TTR váže a transportuje retinol-vázající protein (RBP) /vitamin A a sérový tyroxin (T4) v plazmě a cerebrospinální tekutině.

Jak TTR s normální sekvencí, tak i TTR s variantní sekvencí způsobují amyloidózu. TTR s normální sekvencí způsobuje srdeční amyloidózu u lidí, kteří jsou již starší a tato amyloidóza je označována jako senilní systemická amyloidóza (SSA) (rovněž uváděná jako senilní srdeční amyloidóza (SCA)). SSA je často doprovázena mikroskopickými depozity v mnoha dalších orgánech. Mutace TTR urychlují proces tvorby TTR amyloidů a představují nejvýznamnější rizikový faktor při rozvoji klinicky významné TTR amyloidózy (rovněž označované jako ATTR (amyloidóza transtyretinového typu)). Je známo, že systemickou, v rodině dědičnou amyloidózu způsobuje více než 85 amyloidogenních TTR variant.

Hlavním místem exprese TTR jsou játra. Další obdobná místa exprese zahrnují choroidní plexus, retinu a pankreas.

TTR amyloidóza se projevuje v různých formách. Když je převážně zasažena centrální nervová soustava, je nemoc označována dědičná amyloidní polyneuropatie (FAP). Když je hlavně zasaženo srdce, avšak nervová soustava zasažena není, je nemoc označována jako dědičná amyloidní kardiopatie (FAC). Třetí hlavní typ TTR amyloidózy je uváděn jako leptomeningeální/CNS (centrální nervová sousta) amyloidóza.

Ukázalo se, že dvouvláknové RNA molekuly (dsRNA) blokují genovou expresi ve vysoce konzervovaném regulačním mechanismu známém jako RNA interference (RNAi). Dokument WO 99/32619 (Fire et al.) uvádí použití dsRNA s délkou alespoň 25 nukleotidů pro inhibici exprese genů v *C. elegans*. Bylo rovněž prokázáno, že dsRNA degraduje cílenou RNA v dalších organizmech, včetně rostlin (viz například WO 99/53050, Waterhouse et al.; a WO 99/61631, Heifetz et al.), octomilek (*Drosophila*) (viz například Yang, D., et al., *Curr. Biol.* (2000) 10:1191-1200) a savců (viz například WO 00/44895, Limmer; a DE 101 00 586.5, Kreutzer et al.).

Dokument US 2007/0207974 uvádí funkční a hyperfunkční siRNAs. Dokument US 20090082300 uvádí antisense molekuly řízené proti TTR. Patent US 7,250,496 uvádí mikroRNAs řízenou proti TTR. Stein et al. (*The Journal of Neuroscience*, 1. září, 2004, 24(35): 7707-7717) uvádějí, že neutralizace transtyretinu reverezuje neuroprotektivní účinky vylučovaného amyloidního prekurzorového proteinu u APP_{Sw} myši.

V rámci jednoho provedení vynález poskytuje dvouvláknovou ribonukleovou kyselinu (dsRNA) pro inhibici exprese transtyreтину (TTR), přičemž (a) uvedená dsRNA obsahuje kódující (sense) vlákno a nekódující (antisense) vlákno, přičemž nekódující vlákno obsahuje oblast komplementární k části mRNA kódující transtyreтин (TTR), přičemž uvedená oblast komplementarity má délku 19 nukleotidů, nekódující vlákno obsahuje SEQ ID NO:170 a každé vlákno dsRNA má délku 19, 20, 21, 22, 23 nebo 24 nukleotidů; nebo (b) uvedená dsRNA obsahuje antisense vlákno obsahující oblast komplementární 19 nukleotidům nukleotidů 618-648 SEQ ID NO: 1331 a kde se báze uvedeného antisense vlákna párují s guaninem v poloze 628 SEQ ID NO: 1331; a kde je dsRNA formulována v lipidové formulaci obsahující kationtový lipid, nekationtový lipid a lipid, který preventivně působí proti agregaci částic.

Popisuje se dvouvláknová ribonukleová kyselina (dsRNA) pro inhibici exprese transtyreтину (TTR), přičemž uvedená dsRNA obsahuje kódující (sense) vlákno a nekódující (antisense) vlákno, přičemž nekódující vlákno obsahuje oblast komplementární k části mRNA kódující transtyreтин (TTR), přičemž uvedená oblast komplementarity má délku menší než 30 nukleotidů a nekódující vlákno obsahuje 15 nebo více sousedících nukleotidů SEQ ID NO:170, SEQ ID NO: 450, SEQ ID NO: 730 nebo SEQ ID NO:1010. V příbuzném provedení kódující vlákno obsahuje 15 nebo více sousedících nukleotidů SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:449, SEQ ID NO: 729 nebo SEQ ID NO: 1009. V rámci ještě jiného příbuzného provedení je kódující vlákno tvořeno SEQ ID NO:449 a nekódující vlákno je tvořeno SEQ ID NO:450. V rámci ještě dalšího souvisejícího provedení je kódující vlákno tvořeno SEQ ID NO:729 a nekódující vlákno je tvořeno SEQ ID NO:730. V rámci ještě dalšího souvisejícího provedení je kódující vlákno tvořeno SEQ ID NO:1009 a nekódující vlákno je tvořeno SEQ ID NO:1010. V ještě dalším příbuzném provedení dsRNA obsahuje kódující vlákno zvolené z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B, 7 a 16 a nekódující vlákno zvolené z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B, 7 a 16.

V určitých provedeních má oblast komplementarity mezi nekódujícím vláknem dsRNA a mRNA kódující transtyreтин délku 19 nukleotidů. V jiných provedeních oblast komplementarity sestává z SEQ ID NO:169. V jiných provedeních má každé vlákno dsRNA délku 19, 20, 21, 22, 23 nebo 24 nukleotidů. V rámci ještě jiného uskutečnění má každé vlákno délku 21 nukleotidů.

V určitých provedeních dsRNS pro inhibici exprese transtyreтину neštěpí TTR mRNA mezi adeninovým nukleotidem v poloze 637 sekvence SEQ ID NO:1331 a guaninovým

nukleotidem v poloze 638 sekvence SEQ ID NO:1331. V jiných provedeních dsRNA štěpí TTR mRNA mezi guaninovým nukleotidem v poloze 636 sekvence SEQ ID NO:1331 a adeninovým nukleotidem v poloze 637 sekvence SEQ IS NO:1331. V určitých provedeních dsRNA může kondenzovat s TTR mRNA mezi guaninovým nukleotidem v poloze 628 sekvence SEQ ID NO:1331 a uracilovým nukleotidem v poloze 646 sekvence SEQ ID NO:1331.

V ještě rámci jiného souvisejícího provedení vynález poskytuje dsRNA podle nároků pro inhibici exprese transtyreтину, přičemž dsRNA obsahuje jeden nebo více modifikovaných nukleotidů. V rámci souvisejícího provedení je alespoň jeden modifikovaný nukleotid (nebo nukleosidy) zvolen ze souboru zahrnujícího: 2'-O-methyl-modifikovaný nukleotid, nukleotid obsahující 5'-fosforothioátovou skupinu a terminální nukleotid připojený k cholesterylovému derivátu nebo k bisdecylamidové skupině dodekanové kyseliny. V rámci jiného souvisejícího provedení je modifikovaný nukleotid zvolen ze souboru zahrnujícího: 2'-deoxy-2'-fluor-modifikovaný nukleotid, 2'-deoxy-modifikovaný nukleotid, blokovaný nukleotid, nukleotid postrádající bázi, 2'-amino-modifikovaný nukleotid, 2'-alkyl-modifikovaný nukleotid, morfolinový nukleotid, fosforamidát a nukleotid obsahující nepřirodní bázi. V rámci určitých provedení dsRNA obsahuje alespoň jeden 2'-O-methyl-modifikovaný nukleotid.

V jiných uskutečněních je výše popsaná dsRNA pro inhibici exprese transtyreтину konjugována s ligninem nebo formulována do formy lipidové formulace. V určitých provedeních takovou lipidovou formulací může být LNP formulace, LNP01 formulace, XTC-SNALP formulace nebo SNALP formulace. V podobných uskutečněních XTC-SNALP formulace je následující: použije se 2,2-dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolan (XTC) s XTC/DPPC/cholesterol/PEG-cDMA v poměru 57,1/7,1/34,4/1,4 a poměr lipid:siRNA je roven asi 7. V rámci ještě dalších souvisejících uskutečnění sestává kódující vlákno dsRNA z SEQ ID NO:1009 a nekódující vlákno sestává z SEQ IDNO:1010 a dsRNA je formulována do XTC-SNALP formulace následujícím způsobem: použije se 2,2-dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolan (XTC) s XTC/DPPC/cholesterol/PEG-cDMA v poměru 57,1/7,1/34,4/1,4 a poměr lipid:siRNA činí asi 7. Alternativně dsRNAs, které byly popsány výše, mohou být formulovány v LNP09 formulaci následujícím způsobem: použije se XTC/DSPC/Chol(PEG₂₀₀₀-C14 v poměru 50/10/38,5/1,5 mol. % a poměr lipid:siRNA činí asi 11:1. V rámci další varianty je dsRNA formulován v LNP11 formulaci následujícím způsobem: použije se MC3(DSPC/Chol/PEG₂₀₀₀-C14 v poměru 50/10/38,5/1,5 mol. % a poměr lipid:siRNA činí asi 11:1. V ještě dalších uskutečněních dsRNA je rovněž formulována

v LNP09 formulaci nebo v LNP11 formulaci a snižuje TTR mRNA hladiny o asi 85 až 90 % při dávce 0,3 mg/kg vzhledem k PBS kontrolní skupině. V ještě jiných uskutečněních dsRNA je rovněž formulována v LNP09 formulaci nebo v LNP11 formulaci a snižuje TTR mRNA hladiny o asi 50 % při dávce 0,1 mg/kg vzhledem k PBS kontrolní skupině. V ještě jiných uskutečněních dsRNA je formulována v LNP09 formulaci nebo LNP11 formulaci a snižuje hladiny TTR proteinu dávkově dependentním způsobem vzhledem k PBS kontrolní skupině, stanoveno za použití analýzy western blot. V ještě jiných uskutečněních dsRNA je formulována v SNALP formulaci následovně: použije se DlinDMA s DLinDMA/DPPC/cholesterol/PEG2000-cDMA v poměru 57,1/7,1/34,4/1,4 a poměr lipid:siRNA činí asi 7.

V určitých provedeních popis poskytuje dsRNA, která byla popsána výše pro inhibici exprese transtyreтину, kde podávání dsRNA buňkám vede k asi 95% inhibici TTR mRNA exprese, stanoveno v reálném čase analýzou PCR, přičemž buňkou je buňka HepG2 nebo Hep3B a koncentrace dsRNA činí 10 nM. V příbuzných provedeních podávání dsRNA buňce vede k asi 74% inhibici exprese TTR mRNA, stanoveno testem rozvětvené DNA, přičemž buňkou je buňka HepG2 nebo Hep3B a koncentrace dsRNA činí 10 nM. V jiném příbuzném provedení dsRNA má hodnotu IC50 nižší než 10 pM v případě buňky HepG2 a koncentrace dsRNA rovné 10 nM. V ještě dalším příbuzném provedení dsRNA má hodnotu DS50 rovnou asi 1 mg/kg. V ještě dalších příbuzných provedeních podávání dsRNA snižuje TTR mRNA o asi 80 % v játrech opice rodu *Macaca*, přičemž koncentrace dsRNA činí 3 mg/kg. V ještě dalších příbuzných provedeních podávání dsRNA nevede k imunostimulační aktivitě u lidských periferních jednojaderných buněk (PBMCs), jak to bylo stanoveno testy IFN-alfa- a TNF-alfa-ELISA. V ještě dalších příbuzných provedeních podávání dsRNA snižuje jaterní hladiny TTR mRNA o asi 97 % nebo sérové hladiny TTR proteinu o asi 90 %, přičemž koncentrace dsRNA je rovna 6 mg/kg. V ještě dalších příbuzných provedeních podávání dsRNA snižuje jatrové hladiny TTR mRNA a/nebo sérové hladiny TTR proteinu až po dobu 22 dnů, přičemž koncentrace dsRNA je rovna 6 mg/kg nebo 3 mg/kg. V ještě dalších příbuzných provedeních dsRNA potlačuje sérové hladiny TTR proteinu až do dne 14 po ošetření, kdy je pacientovi, který má potřebu takového ošetření, podána dávka 1 mg/kg nebo 3 mg/kg. V ještě dalších příbuzných provedeních dsRNA snižuje expresi TTR o 98,9 % v buňce Hep3B při koncentraci 0,1 nM, stanoveno v reálném čase analýzou PCR. V ještě dalších příbuzných provedeních dsRNA snižuje expresi TTR o 99,4 % v buňce Hep3B při koncentraci 10 nM, stanoveno v reálném čase analýzou PCR.

V jiných provedeních popis poskytuje dvouvláknovou kyselinu ribonukleovou (dsRNA) pro inhibici exprese transtyreтину (TTR), přičemž uvedená dsRNA obsahuje kódující (sense) vlákno a nekódující (antisense) vlákno, přičemž nekódující vlákno obsahuje oblast komplementarity k části mRNA kódující transtyreтин (TTR), přičemž uvedená oblast komplementarity má délku menší než 30 nukleotidů a dsRNA obsahuje kódující vlákno zvolené z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B, 7 a 16 a nekódující vlákno je zvoleno z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B, 7 a 16.

V rámci jiného uskutečnění popis poskytuje dvouvláknovou ribonukleovou kyselinu (dsRNA) pro inhibici exprese transtyreтину (TTR), přičemž uvedená dsRNA obsahuje nekódující vlákno obsahující 15-30 nukleotidovou oblast komplementarity nukleotidů 618-648 sekvence SEQ ID NO:1331 a uvedené nekódující vlákno se bázemi páruje s guaninem v poloze 628 sekvence SEQ ID NO:1331.

Popisuje se buňka obsahující kteroukoli dsRNA popsanou v souhrnu výše. Popisuje se také vektor obsahující nukleotidovou sekvenci, která kóduje alespoň jedno vlákno libovolné z dsRNAs v souhrnu výše. V rámci určitých uskutečnění je vektor v buňce.

V rámci jiných provedení vynález poskytuje farmaceutickou kompozici pro inhibici exprese TTR genu obsahující některou z dsRNAs jak je nárokováno výše a farmaceuticky přijatelný nosič.

Je popsána farmaceutická kompozice pro inhibici exprese TTR genu obsahující dsRNA a SNALP formulaci, přičemž dsRNA obsahuje nekódující (antisense) vlákno, které má délku menší než 30 nukleotidů a obsahuje 15 nebo více přilehlých nukleotidů SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:450, SEQ ID NO: 730 nebo SEQ ID NO:1010, a přičemž SNALP formulace obsahuje DlinDMA, DPPC, cholesterol a PEG2000-cDMA v poměru 57,1/7,1/34,4/1,4.

Popisuje se způsob inhibice exprese TTR v buňce, přičemž tento způsob obsahuje: (a) uvedení do styku buňky s některou z dsRNAs popsanou v souhrnu výše; a (b) udržování buňky produkované v kroku (a) po dobu dostatečnou k dosažení degradace mRNA transkriptu TTR genu, čímž se inhibuje exprese TTR genu v buňce.

Popisuje se dsRNA podle vynálezu pro použití při způsobu léčení poruchy mediované TTR expresí zahrnující podávání člověku, který takovou léčbu potřebuje, terapeuticky účinného množství kterékoli dsRNA popsané v souhrnu výše. V rámci souvisejících uskutečnění je dsRNA podána člověku v dávce asi 0,01, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5 nebo 5,0 mg/kg. Ještě v rámci dalšího souvisejícího uskutečnění je dsRNA podána člověku v dávce asi 1,0 mg/kg. V ještě dalším příbuzném uskutečnění člověk, který se má léčit, má transthyretinovou

amyloidosou a/nebo poruchou jater. V ještě dalším příbuzné provedení má člověk dále transplatovaná játra. V ještě dalším provedení podávání dsRNA snižuje TTR mRNA v lidských játrech o asi 80 %, přičemž koncentrace dsRNA je rovna 3 mg/kg. V ještě dalším podobném provedení podávání dsRNA nemá za následek imunostimulační aktivitu u člověka, jak to bylo zjištěno analýzami IFN-alfa- a TNF-alfa-ELISA. V ještě jiném podobném provedení podávání dsRNA snižuje játrové hladiny TTR mRNA o asi 97 % nebo sérové hladiny TTR proteinu o asi 90 %, přičemž koncentrace dsRNA je rovna 6 mg/kg. V ještě dalším podobném provedení podávání dsRNA snižuje játrové hladiny TTR mRNA a/nebo sérové hladiny TTR proteinu až na dobu 22 dnů, přičemž koncentrace dsRNA je rovna 6 mg/kg nebo 3 mg/kg. V ještě dalším podobném provedení dsRNA je formulována v LNP09 formulaci následovně: použije se XTC/DSPC/Chol/PEG₂₀₀₀-C14 v poměru 50/10/38,5/1,5 mol. % a poměr lipid:siRNA je roven asi 11:1. V ještě dalším podobném provedení dsRNA je formulována v LNP11 formulaci následovně: použije se MC3/DSPC/Chol/PEG₂₀₀₀-C14 v poměru 50/10/38,5/1,5 mol. % a poměr lipid:siRNA činí asi 11:1. V ještě dalším podobném provedení dsRNA je formulována v LNP09 nebo v LNP11 formulaci a snižuje hladiny TTR mRNA o asi 85 až 90 % při dávce 0,3 mg/kg vzhledem k PBC kontrolní skupině. V ještě dalším podobném provedení dsRNA je formulována v LNP09 formulaci nebo v LNP11 formulaci a snižuje TTR mRNA hladiny o asi 50 % při dávce 0,1 mg/kg vzhledem k PBC kontrolní skupině. V ještě jiném podobném provedení podávání dsRNA je formulována v LNP09 formulaci nebo v LNP11 formulaci a snižuje hladiny TTR proteinu dávkově dependentním způsobem vzhledem k PBC kontrolní skupině, jak to bylo stanoveno analýzou western blot. V ještě dalším podobném provedení podávání dsRNA potlačuje sérové hladiny TTR proteinu až po dobu 14 dnů po ošetření v případě, že byla podána člověku v dávce 1 mg/kg nebo 3 mg/kg. V ještě dalším podobném provedení dsRNA je formulována v SNALP formulaci následovně: použije se DlinDMA s DlinDMA/DPPC/cholesterol/PEG2000 v poměru 57,1/7,1/34,4/1,4 a poměr lipid: siRNA je roven asi 7.

Je popsáno použití dsRNA pro léčení poruchy mediované TTR expresí zahrnující podání člověku, který takové léčení potřebuje, terapeuticky účinného množství některé z dsRNAs popsanych výše v odstavci uvádějící podstatu vynálezu. V podobných provedeních se dsRNA podává člověku při asi 0,01, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5 nebo 5,0 mg/kg. V konkrétním podobném provedení se dsRNA podává člověku při asi 1,0 mg/kg. V jiném podobném provedení trpí člověk transthyretinovou amyloidosou a/nebo poruchou jater. V ještě dalším provedení použití podle vynálezu má léčený člověk jaterní transplantát.

Popisuje se použití dsRNA při způsobu inhibice TTR exprese v buňce, přičemž uvedený způsob zahrnuje (a) uvedení do styku buňky s dsRNA popsanou výše v odstavci uvádějším podstatu vynálezu; a (b) udržování buňky produkované v kroku (a) po dobu dostatečnou k dosažení degradace mRNA transkriptu TTR genu, čímž se inhibuje exprese TTR genu v buňce.

Obr. 1 znázorňuje graf hladin TNF α a INF α v kultivovaných lidských PBMCs po transfekci s TTR siRNAs.

Obr. 2A a obr.2b jsou dávkově dependentní křivky pro AD-18324 respektive AD-18328 v buňkách HepG2.

Obr. 3 znázorňuje dávkově dependentní křivku pro AD-18246 v buňkách HepG2.

Obr. 4A a obr. 4B znázorňují inhibici jaterních hladin mRNA respektive plazmových hladin proteinu u transgenních myší H129-mTTR-KO/iNOS-KO/hTTR podáním intravenózního bolusu TTR-dsRNA (AD-18324, AD-18328 a AD-18246) formulované v LNP01.

Obr. 5 znázorňuje graf shrnující měření hladin TTR mRNA v játrech nelidských primátů po 15 minutové intravenózní infuzi TTR-dsRNA (AD-18324 a AD-18328) formulované v SNALP.

Obr. 6A a obr. 6B ukazuje inhibici lidské V30M jatrové TTR mRNA respektive sérové hladiny proteinu u transgenních myší při podání intravenózního bolusu SNALP-18328. Byly stanoveny skupinové střední hodnoty, které byly normalizovány na PBS kontrolní skupinu a potom vyneseny. Chybové úsečky znamenají standardní odchylky. Pro skupiny SNALP-1955 a SNALP-18328 je uvedeno procentní snížení skupinové střední hodnoty vzhledem k PBS (●●● $p < 0,001$, One-way ANOVA s testem Dunn post-hoc).

Obr. 7A a obr. 7B ukazují trvanlivost snížení lidské V30N TTR jaterní mRNA respektive sérové hladiny proteinu u transgenních myší po dobu 22 dnů následujících po jediném podání intravenózního bolusu SNALP-18328. Byly určeny skupinové střední hodnoty. Hladiny TTR/GAPDH mRNA byly normalizovány ke dni 0 a vyneseny. Bylo vypočteno procentní snížení normalizovaných hladin TTR mRNA vzhledem k SNALP-1955 pro každý časový bod a uvedeno pro SNALP-18328 skupiny (***) $p < 0,001$, One-way ANOVA s testem Dunn post-hoc).

Obr. 8 ukazuje časový průběh sérových hladin TTR proteinu u nelidských primátů v průběhu 14 dnů po jediném 15 minutovém intravenózním infúzním podání SNALP-18328.

Obr. 9 ukazuje snížení TTR-imunoreaktivity lidský V30M TTR/knock-out myši HSF-1 v různých tkáních po podání intravenózního bolusu SNALP-18328. E = jícen; S = žaludek; I1 = střevo/duodenum; I4 = střevo/tračník; N = nervová tkáň; D = spinální ganglion.

Obr. 10 ukazuje měření hladin TTR mRNA v játrech nelidských primátů po 15 minutové intravenózní infúzi XCT-SNALP-18328.

Obr. 11A a obr. 11B ukazují měření hladin TTR mRNA a sérového proteinu v játrech nelidských primátů po 15 minutové intravenózní infúzi LNP09-18328 nebo LNP11-18328. Obr. 11C ukazuje časový průběh hladin TTR sérového proteinu v průběhu 28 dní po 15 minutové intravenózní infúzi 0,3 mg/kg LNP09-18328 ve srovnání s PBS kontrolní skupinou.

Obr. 12 ukazuje sekvenci lidské TTR mRNA (Ref. Seq. NM_000371.3, SEQ ID NO:1331).

Obr. 13 a obr. 13B znázorňují sekvence lidské respektive krysí TTR mRNA. Obr. 13A znázorňuje sekvenci lidské TTR mRNA (Ref. Seq. NM_000371.2, SEQ ID NO:1329). Obr. 13B znázorňuje sekvenci krysí TTR mRNA (Ref. Seq. NM_012681.1, SEQ ID NO:1330).

Obr. 14 ukazuje nukleotidové vyrovnání NM_000371, NM_000371.2 a AD-18328.

Obr. 15 uvádí symptomy a mutace TTR související s dědičnou amyloidní neuropatií, dědičnou amyloidní kardiopatií a CNS amyloidózou.

Obr. 16 ukazuje snížení TTR mRNA hladin v játrech po infúzi SNALP-18534 při různých dobách trvání infúze. Skupinám zvířat (n = 4/skupina) byl podán 1 mg/kg SNALP-18534 15 minutovou infúzí nebo infúzí trvající 1, 2 nebo 3 hodiny. Po čtyřiceti osmi hodinách byly krysy usmrceny a jejich játra byla izolována. Hladiny TTR a GAPDH mRNA byly měřeny v jaterních lyzátech za použití testu Quantigene bDNA. Pro každé zvíře byl vypočten poměr hladin TTR k GAPDH mRNA. Byly určeny střední skupinové hodnoty a tyto byly normalizovány k PBS kontrolní skupině a potom vyneseny. Chybové úsečky znamenají standardní odchylky (***) $p < 0,001$, One-way ANOVA s Bonferroniho post-hoc testem, vzhledem k PBS).

Obr. 17 ukazuje měření hladin TTR mRNA v játrech krys po 15 minutové intravenózní infúzi LNP07-18534 nebo LNP08-18534.

Obr. 18 ukazuje inhibici in vivo endogenních hladin TTR mRNA v játrech krys Sprague-Dawley po 15 minutové IV infúzi LNP09-18534 nebo LNP11-18534. Skupinám zvířat (n=4/skupina) bylo podáno 0,01, 0,03, 0,1 nebo 0,3 mg/kg LNP09-18534, LNP-11-18534; nebo PBS prostřednictvím 15 minutové infúze. Po čtyřiceti osmi hodinách byla zvířata usmrcena a byla jim odebrána játra. Hladiny TTR a GAPDH mRNA byly změřeny jaterních

pítevních lyzátech za použití testu Quantigene bDNA. Pro každé zvíře byl vypočten poměr hladin TTR k GAPDH mRNA. Byly vypočteny skupinové středové hodnoty, které byly normalizovány k PBS kontrolní skupině a potom vyneseny. Chybové úsečky představují standardní odchylky.

Vynález je definován patentovými nároky.

Popisují se dsRNAs a způsoby použití dsRNAs pro inhibici exprese TTR genu v buňce nebo v savci, kde cílem dsRNA je TTR gen. Popis také poskytuje kompozice a způsoby léčení patologických stavů a chorob, jakými jsou TTR amyloidózy, u savce, které jsou způsobeny expresí TTR genu. dsRNA řídí sekvenčně specifickou degradaci mRNA způsobem, který je znám jako RNA interference (RNAi).

dsRNA zde uvedených kompozic zahrnují RNA vlákno (nekódující vlákno antisense) mající oblast, která má délku menší než 30 nukleotidů, obecně mající délku 19-24 nukleotidů, a která je v podstatě komplementární alespoň s částí mRNA transkriptu TTR genu. Použití těchto dsRNA umožňuje cílenou degradaci mRNA genů, které jsou implikovány v patologiích souvisejících s expresí TTR u savců. Již velmi nízké dávky TTR dsRNAs mohou zejména specificky a účinně mediovat RNAi, což má za následek významnou inhibici exprese TTR genu. Vynálezci demonstrovali pomocí testů v úrovni buněk, že dsRNA mající za cíl TTR může specificky a účinně mediovat RNAi, což má za následek významnou inhibici exprese TTR genu. Takto jsou způsoby a kompozice zahrnující tyto dsRNAs použitelné pro léčení patologických procesů, které mohou být mediovány regulací směrem dolů TTR, jakými jsou léčení jaterních poruch nebo TTR amyloidóz, jakou je například FAP.

Způsoby a kompozice obsahující TTR dsRNA jsou užitečné pro léčení patologických procesů mediovaných TTR expresí, jakou je například TTR amyloidóza. V uskutečnění se zahrnuje způsob léčení poruchy mediované TTR expresí zahrnuje podání člověku, který takové léčení potřebuje, terapeuticky účinného množství dsRNA, jejímž cílem je TTR. V provedení dsRNA je podána člověku v dávce asi 0,01, 0,1, 0,5, 1,0, 2, 2,5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 nebo 25 mg/kg.

Následující detailní popis popisuje to, jak připravit a použít kompozice obsahující dsRNAs pro inhibici exprese TTR genu, jakož i popisuje kompozice a způsoby pro léčení nemocí a poruch způsobených expresí uvedeného genu. Farmaceutické kompozice zahrnují dsRNA mající nekódující vlákno (antisense) obsahující oblast, která má délku menší než 30 nukleotidů, obecnou mající délku 19-24 nukleotidů, a která je v podstatě komplementární s alespoň částí RNA transkriptu TTR genu, společně s farmaceuticky přijatelným nosičem.

Kompozice mohou rovněž zahrnovat dsRNA mající nekódující vlákno mající oblast komplementarity, která má délku menší než 30 nukleotidů, obecně délku 19-24 nukleotidů, a je v podstatě komplementární s alespoň částí RNA transkriptu TTR genu.

Kódující vlákno (sense) dsRNA může zahrnovat 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 nebo více přilehlých nukleotidů SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:449, SEQ ID NO:729 nebo SEQ ID NO:1009. Nekódující vlákno (antisense) dsRNA může zahrnovat 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 nebo více přilehlých nukleotidů SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:450, SEQ ID NO:730 nebo SEQ ID NO:1010. V rámci jednoho provedení může sestávat kódující vlákno dsRNA z SEQ ID NO:449 a nekódující vlákno může sestávat z SEQ ID NO:450. V rámci jednoho provedení může sestávat kódující vlákno dsRNA z SEQ ID NO:729 a nekódující vlákno může sestávat z SEQ ID NO:730. V rámci jednoho provedení může být kódující vlákno dsRNA tvořeno SEQ ID NO:1009 a nekódující vlákno může být tvořeno SEQ ID NO:1010.

V provedení dsRNA může zahrnovat alespoň 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 nebo více modifikovaných nukleotidů. V provedení modifikovaný nukleotid může zahrnovat 2'-O-methyl-modifikovaný nukleotid, nukleotid obsahující 5'-fosforothioátovou skupinu a/nebo terminální nukleotid připojený k bisdecylamidové skupině cholesterylového derivátu nebo kyseliny dodekanové. V rámci jednoho provedení může modifikovaný nukleotid zahrnovat 2'-deoxy-2'-fluor-modifikovaný nukleotid, 2'-deoxy-modifikovaný nukleotid, blokový nukleotid, báze-prostý nukleotid, 2'-amino-modifikovaný nukleotid, 2'-alkyl-modifikovaný nukleotid, morfolinový nukleotid, fosforamidát a/nebo nukleotid obsahující nepřirodní bázi.

V provedení oblast komplementarity dsRNA má délku rovnou alespoň 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 nukleotidům. V provedení oblast komplementarity zahrnuje 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 nebo více přilehlých nukleotidů SEQ ID NO:169.

V provedení každé vlákno dsRNA má délku 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 nebo více nukleotidů. V provedení dsRNA zahrnuje kódující vlákno (sense) nebo jeho 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 nebo 21 nukleotidový fragment zvolený z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B, 7 a 16, a nekódující vlákno (antisense) nebo jeho 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 nebo 21 nukleotidový fragment zvolený z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B, 7 a 16.

V provedení podání dsRNA buňce má za následek asi 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95% nebo vyšší inhibici exprese TTR mRNA, stanovenou v reálném čase analýzou PCR. V provedení podání dsRNA buňce má za následek asi 40% až 45%, 45% až 50%, 50% až 55%, 55% až 60%, 60% až 65%, 65% až 70%, 75% až 80%, 80%

až 85%, 85% až 90%, 90% až 95% nebo vyšší inhibici exprese TTR mRNA, stanoveno v reálném čase analýzou PCR. V provedení podání dsRNA buňce má za následek asi 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95% nebo vyšší inhibici exprese TTR mRNA, stanoveno testem rozvětvené DNA (branched DNA assay). V provedení podání dsRNA buňce má za následek asi 40% až 45%, 45% až 50%, 50% až 55%, 55% až 60%, 60% až 65%, 65% až 70%, 75% až 80%, 80% až 85%, 85% až 90%, 90% až 95% nebo vyšší inhibici exprese TTR mRNA, stanoveno testem rozvětvené DNA.

V provedení dsRNA má hodnotu IC50 nižší než 0,01 pM, 0,1 pM, 1 pM, 5 pM, 10 pM, 100 pM nebo 1000 pM. V provedení dsRNA má hodnotu ED50 asi rovnou 0,01, 0,1, 1, 5 nebo 10 mg/kg.

V provedení podání dsRNA může snížit TTR mRNA o asi 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95% nebo více u makaků (*Macaca fascicularis*). V provedení podání dsRNA snižuje jaterní hladiny TTR mRNA o asi 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95% nebo více nebo sérové hladiny TTR proteinu o asi 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95% nebo více. V provedení podání dsRNA snižuje játrové hladiny TTR mRNA a/nebo sérové hladiny TTR proteinu až na 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 nebo více dnů.

V provedení dsRNA je formulována v LNP formulaci a snižuje hladiny TTR mRNA o asi 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95% nebo více v dávce 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, or 1 mg/kg, vztaženo k PBC kontrolní skupině. V provedení dsRNA je formulována v LNP formulaci a snižuje hladiny TTR proteinu o asi 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 90%, 95% nebo více, vztaženo k PBC kontrolní skupině a při měření analýzou western blot. V provedení dsRNA potlačuje sérové hladiny TTR proteinu až na 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 nebo 25 dnů po ošetření, když se subjektu, který má potřebu takového ošetření, podá dávka 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 nebo 25 mg/kg.

V souladu s tím v některých aspektech jsou zahrnuty farmaceutické kompozice obsahující TTR dsRNA a farmaceuticky přijatelný nosič, způsoby použití uvedených kompozic k inhibici exprese TTR genu a způsoby použití uvedených farmaceutických kompozic pro léčení nemocí způsobených expresí TTR genu.

I. Definice

Za účelem lepšího pochopení jsou zde uvedeny významy některých výrazů a slovních spojení použitých v následující části popisu, v příkladech a v připojených patentových nárocích. Jestliže bude zjištěn zjevný nesoulad mezi použitím určitého výrazu v jiných částech této popisné části a jeho definicí uvedenou v této části, potom má správný význam definice výrazu uvedená v této části.

Výrazy "G", "C", "A" a "U" každý obecně znamená nukleotid, který obsahuje guanin, cytosin, adenin respektive uracil jako bázi. Výrazy "T" a "dT" jsou zde zaměnitelně použity tak, že se vztahují deoxyribonukleotidu, ve kterém je nukleotidovou bází thymin, jako například v případě deoxyribothyminu. Avšak je třeba tomu rozumět tak, že výraz "ribonukleotid" nebo "nukleotid" nebo "deoxyribonukleotid" se rovněž může vztahovat k modifikovanému nukleotidu, jak bude dále detailně uvedeno, nebo k pseudonáhradnímu zbytku. Odborník v daném oboru si bude vědom toho, že guanin, cytosin, adenin a uracil mohou být nahrazeny jinými zbytky, aniž by došlo k podstatnému ovlivnění bázově párujících vlastností oligonukleotidu obsahujícího nukleotid nesoucí takový náhradní zbytek. Neomezujícím způsobem například nukleotid obsahující inosin jako jeho bázi se může bázemi párovat s nukleotidy obsahujícími adenin, cytosin nebo uracil. Tedy nukleotidy obsahující uracil, guanin nebo adenin mohou být nahrazeny v nukleotidových sekvencích podle vynálezu nukleotidem obsahujícím například inosin. Sekvence obsahující tako náhradní zbytky náleží do provedení podle vynálezu.

Zde použitý výraz "transthyretin" ("TTR") se vztahuje ke genu v buňce. TTR je rovněž znám jako ATTR, HsT2651, PALB, prealbumin, TBPA a transthyretin (prealbumin, amyloidóza typi I). Sekvence lidského TTR mRNA transkriptu může být nalezena v NM_000371. Sekvence myší TTR mRNA může být nalezena v NM_013697.2 a sekvence krysí TTR mRNA může být nalezena v NM_012681.1.

Zde použitý výraz "cílová sekvence" se vztahuje k přilehlé části nukleotidové sekvence mRNA molekuly vytvořené v průběhu přepisu TTR genu, včetně mRNA, která je produktem RNA zpracování primárního transkripčního produktu.

Zde použitý výraz "vlákno obsahující sekvenci" se vztahuje k oligonukleotidu obsahujícímu řetězec nukleotidů, který je popsán příslušnou sekvencí za použití standardní nukleotidové nomenklatury.

Pokud není uvedeno jinak, se zde použitý výraz "komplementární", v případě, že je použit k popsání první nukleotidové sekvence ve vztahu ke druhé nukleotidové sekvenci, vztahuje ke schopnosti oligonukleotidu nebo polynukleotidu obsahujícímu první

nukleotidovou sekvenci hybridizovat a vytvořit za určitých podmínek duplexní strukturu s oligonukleotidem nebo polynukleotidem obsahujícím druhou nukleotidovou sekvenci, jak to bude zřejmé pro odborníka v daném oboru. Takovými podmínkami mohou být například stringentní podmínky, přičemž takové stringentní podmínky mohou zahrnovat: 400 mM NaCl, 40 mM PIPES pH 6.4, 1 mM EDTA, 50°C nebo 70°C po dobu 12-16 hodin a následné promytí. Mohou být použity i jiné podmínky, jakými jsou fyziologické relevantní podmínky, které se vyskytují uvnitř organismu. Odborník v daném oboru bude schopen určit soubor nejvhodnějších podmínek pro test komplementarity dvou sekvencí v souladu s finální aplikací hybridizovaných nukleotidů.

To zahrnuje párování bází oligonukleotidu nebo polynukleotidu obsahujícího první nukleotidovou sekvenci s oligonukleotidem nebo polynukleotidem obsahujícím druhou nukleotidovou sekvenci přes celou délku první a druhé nukleotidové sekvence. Takové sekvence mohou být uvedeny jako vzájemně "plně komplementární". Nicméně, když je první sekvence uvedena jako "v podstatě komplementární" s druhou sekvencí, potom mohou být obě sekvence plně komplementární nebo mohou po hybridizaci vytvořit jeden nebo více, avšak obecně ne více než 4, 3 nebo 2 neodpovídající páry bází, přičemž si však zachovávají schopnost hybridizovat za podmínek, které jsou nejvhodnější pro jejich konečnou aplikaci. Avšak když jsou oba oligonukleotidy provedeny tak, že po hybridizaci tvoří jeden nebo více jednovláknových přesahových sektorů, potom by takové přesahové sektory neměly být nahlíženy jako rozhodné pro stanovení komplementarity. Například dsRNA, obsahující jeden oligonukleotid s délkou 21 nukleotidů a další oligonukleotid s délkou 23 nukleotidů, kde delší oligonukleotid obsahuje sekvenci 21 nukleotidů, která je plně komplementární s kratším oligonukleotidem, může být stále ještě označena pro zde uvedené účely jako "plně komplementární".

Zde použitý výraz "komplementární" sekvence může rovněž zahrnovat nebo může být zcela tvořena ne-Watson-Crickovými páry bází a/nebo může být vytvořena z nepřirodních a modifikovaných nukleotidů, pokud jsou splněny výše uvedené požadavky kladené na jejich schopnost hybridizovat. Takové ne-Watson-Crickovy páry bází neomezujícím způsobem zahrnují G:U-Wobbleho nebo Hoogsteinovu párování bází.

Zde použité výrazy "komplementární", "plně komplementární" a "v podstatě komplementární" mohou být použity vzhledem k odpovídajícímu párování bází mezi kódujícím (sense) vláknem a nekódujícím (antisense) vláknem dsRNA nebo mezi

nekódujícím (antisense) vláknem dsRNA a cílovou sekvencí, jak to bude pochopeno z kontextu jejich použití.

Zde použitý výraz polynukleotid, který je "v podstatě komplementární k alespoň části" mediátorové RNA (mRNA"), se vztahuje k polynukleotidu, který je v podstatě komplementární k přilehlé části zainteresované mRNA (například mRNA kódující TTR) zahrnující 5' UTR, otevřený čtecí rámeček (ORF) nebo 3' UTR. Tak například polynukleotid je komplementární s alespoň částí TTR mRNA, jestliže je uvedená sekvence komplementární s nepřerušenou částí mRNA kódující TTR.

Zde použitý výraz "dvouvláknová RNA" nebo "dsRNA" se vztahuje ke komplexu ribonukleových molekul majícím duplexní strukturu obsahující dvě antiparalelní a ve výše uvedeném významu v podstatě komplementární nukleokyselinová vlákna. Obecně převážnou část nukleotidů každého vlákna tvoří ribonukleotidy, avšak jak zde bude detailněji popsáno, mohou každé z obou vláken nebo obě vlákna zahrnovat alespoň jeden ne-ribonukleotid, například deoxyribonukleotid a/nebo modifikovaný nukleotid. Navíc zde použitý výraz "dsRNA" může zahrnovat chemické modifikace ribonukleotidů zahrnující podstatné modifikace v četných nukleotidech a zahrnující všechny typy modifikací, které jsou zde uvedeny nebo které jsou známé z dosavadního stavu techniky. Všechny takové modifikace, použité v siRNA typové molekule spadají do rozsahu "dsRNA" pro účely této popisné části a patentových nároků.

Obě vlákna tvořící duplexovou strukturu mohou být různými částmi jedné delší RNA molekuly nebo mohou být separátními RNA molekulami. Když jsou obě vlákna částí jedné větší molekuly a jsou tudíž spojeny nepřerušeným řetězcem nukleotidů mezi 3'-koncem jednoho vlákna a 5'-koncem příslušného druhého vlákna tvořícího duplexní strukturu, je spojující RNA řetězec označován jako "vláseňková klička". Když jsou obě vlákna spojena kovalentně pomocí jiného než nepřerušeného řetězce nukleotidů mezi 3'-koncem jednoho vlákna a 5'-koncem příslušného druhého vlákna tvořícího duplexní strukturu, je spojující struktura uváděna jako "linker". RNA vlákna mohou mít stejný nebo různý počet nukleotidů. Maximální počet párů bází je počet nukleotidů v nejkratším vlákně dsRNA minus libovolné přesahové sektory které jsou přítomné v duplexní struktuře. Kromě duplexní struktury může dsRNA obsahovat jedn nebo více přesahových úseků. Výraz "siRNA" je zde rovněž použit tak, že se vztahuje k výše popsané dsRNA.

Zde použitý výraz "nukleotidový přesahový úsek" se vztahuje k nepárování nukleotidu nebo k nepárovým nukleotidům, které vyčnívají z duplexní struktury dsRNA, když

3'-konec jednoho vlákna dsRNA vyběhá za 5'-konec druhého vlákna nebo obráceně. Zde použitý výraz "tupý" nebo "tupý konec" znamená, že se na tomto konci dsRNA nenachází žádný nepárovaný nukleotid, a tedy ani žádný nukleotidový nukleotidový přesahový úsek. Tupě ukončenou dsRNA je dsRNA, která je dvouvláknová v celé její délce, což znamená, že ani na jednom konci molekuly není žádný nukleotidový přesah.

Výraz "nekódující (antisense) vlákno" se vztahuje k vláknu dsRNA, které zahrnuje oblast, která je v podstatě komplementární s cílovou sekvencí. Zde použitý výraz "oblast komplementarity" se vztahuje k oblasti na nekódujícím (antisense) vláknu, která je v podstatě komplementární s určitou sekvencí, například se zde definovanou cílovou sekvencí. Když oblast komplementarity není plně komplementární s cílovou sekvencí, jsou neodpovídající párování nejvíce tolerována v terminálních oblastech a pokud jsou přítomná, jsou obecně v terminální oblasti nebo v terminálních oblastech, například v nukleotidech 6, 5, 4, 3 nebo 2 5'- a/nebo 3'-konce.

Zde použitý výraz "kódující (sense) vlákno" se vztahuje k vláknu dsRNA, které zahrnuje oblast, která je v podstatě komplementární s oblastí nekódujícího (antisense) vlákna.

Zde použitý výraz "SNALP" se vztahuje ke stabilní částici nukleová kyselina-lipid. SNALP představuje lipidový váček tvořící potah redukovaného vodného vnitřku obsahujícího nukleovou kyselinu, jakou je dsRNA nebo plasmid, ze kterého je dsRNA přepsána. Částice SNALP jsou popsány například v US zveřejněných patentových přihláškách č. 20060240093, 20070135372 a v USSN 61/045,228 podané 15. dubna 2008.

"Zavedení do buňky", když se vztahuje k dsRNA, znamená usnadnění absorpce buňkou nebo absorpci do buňky, jak je to chápáno odborníky v daném oboru. Absorpce nebo příjem dsRNA buňkou může probíhat nepodporovaným difuzním procesem nebo aktivními buněčnými procesy nebo za použití pomocných činidel nebo zařízení. Význam tohoto výrazu není omezen na buňky in vitro; dsRNA může být totiž "zavedena do buňky", kdy je buňka součástí živého organismu. V takovém případě bude zavedení do buňky zahrnovat dodávku do organismu. Například v rámci dodávky in vivo může být dsRNA injikována do daného místa tkáně nebo může být podána systemicky. Zavedení in vitro do buňky zahrnuje způsoby známé v daném oboru, jakými jsou například elektroporace a lipofekce. Další postupy jsou zde popsány nebo jsou známé ze stavu techniky.

Výrazy "ztlumit", "inhibovat expresi", "regulovat expresi směrem dolů", "potlačit expresi" a podobně zde znamenají v souvislosti s TTR genem alespoň částečné potlačení exprese TTR genu, které se projevuje snížením množství mRNA, které bylo izolováno z první

buňky nebo skupiny buněk, do kterých byl přepsán TTR gen a které byly ošetřeny tak, že došlo k inhibici exprese TTR genu a to ve srovnání s druhou buňkou nebo skupinou druhých buněk v podstatě identických s první buňkou nebo skupinou buněk, která nebo které nebyly takto ošetřeny (kontrolní buňky). Míra inhibice se obvykle vyjádří vztahem

$$\frac{(\text{mRNA v kontrolních buňkách}) - (\text{mRNA v ošetřených buňkách})}{(\text{mRNA v kontrolních buňkách})} \cdot 100 \%$$

Alternativně může být míra inhibice udána jako omezení parametru, který je funkčně spojen s expresí TTR genu, kterýmžto parametrem je například množství proteinu kódovaného genem TTR, který je vylučován buňkou nebo počet buněk vykazujících určitý fenotyp, jako je například apoptóza. V zásadě může být ztlumení TTR genu určeno v libovolné buňce exprimující cílový objekt a to buď konstitučně, nebo genovým inženýrstvím a za použití k tomu vhodného textu. Nicméně je-li zapotřebí odkaz, aby bylo možné stanovit, zda daná dsNRA inhibuje expresi TTR genu do určité míry a spadá-li tudíž do tohoto vynálezu, potom jako takový odkaz mohou sloužit testy poskytnuté v příkladech provedení vynálezu.

Tak například je exprese TTR genu potlačena alespoň o asi 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % nebo 50 % podáním dvouvláknového oligonukleotidu definovaného podle vynálezu. V některých provedeních je TTR gen potlačen o alespoň asi 60 %, 70 % nebo 80 % podáním dvouvláknového oligonukleotidu definovaného podle vynálezu. V rámci některých provedení je TTR gen potlačen o alespoň asi 85 %, 90 % nebo 95 % podáním dvouvláknového oligonukleotidu definovaného podle vynálezu.

V kontextu s TTR expresí zde použitý výraz "léčit", "léčení" a podobně se vztahuje ke zmírnění nebo ulehčení od patologických procesů mediovaných TTR expresí. V kontextu tohoto vynálezu, pokud se to vztahuje k některým dalším stavům uvedeným níže (jiné než patologické procesy mediované TTR expresí), výrazy "léčit", "léčení" a podobně znamenají zmírnění nebo ulehčení od alespoň jednoho symptomu souvisejícího s takovým stavem nebo zpomalení nebo zvrácení progresu takového stavu, jako například zpomalení progresu TTR amyloidózy, jakou je FAP. Symptomy TTR amyloidózy zahrnují smyslovou neuropatii (například parestezi, hypestezii v distálních končetinách), autonomní neuropatii (například gastrointestinální dysfunkce, jako žaludeční vřed nebo ortostatická hypotenze), motorickou neuropatii, záchvaty, demenci, myelopatii, polyneuropatii, syndrom karpálního tunelu, autonomní nedostatečnost, kardiomyopatii, opacitu očního sklivce, ledvinovou nedostatečnost, neuropatii, podstatné snížení mBMI (modifikovaný Body Mass Index), kraniální nervovou dysfunkci a korneální mřížkovou dystrofii.

Zde použitý výraz "terapeuticky účinné množství" a "profylakticky účinné množství" se vztahuje k množství, které poskytuje terapeutický užitek při léčení, prevenci nebo ošetření patologických procesů mediovaných TTR expresí nebo zjevného symptomu patologických procesů mediovaných TTR expresí. Specifické množství, které je terapeuticky účinné, může být snadno určeno normálním praktickým lékařem a může se měnit v závislosti na faktorech, které jsou známé v dané oblasti a kterými jsou například typ patologického procesu mediovaného TTR expresí, pacientova historie a věk, stav patologického procesu mediovaného TTR expresí a podání dalších anti-patologických činidel působících proti patologickému procesu mediovanému TTR expresí.

Zde použitý výraz "farmaceutická kompozice" obsahuje farmakologicky účinné množství dsRNA a farmaceuticky přijatelný nosič. Zde použité výrazy "farmakologicky účinné množství", "terapeuticky účinné množství" nebo prostě "účinné množství" se vztahuje k takovému množství dsRNA, které je účinné k poskytnutí zamýšleného farmakologického, terapeutického nebo preventivního výsledku. Například, je-li klinické léčení považováno za účinné, když se dosáhne alespoň 25% snížení měřitelného parametru souvisejícího s nemocí nebo poruchou, potom je terapeuticky účinné množství účinné látky použité pro léčení takové nemoci nebo poruchy množstvím, které je nezbytné ke způsobení alespoň 25% snížení uvedeného parametru. Tak například terapeuticky účinné množství dsRNA mající za cíl TTR může snížit sérové hladiny TTR o alespoň 25 %. V rámci jiného příkladu může terapeuticky účinné množství dsRNA mající za cíl TTR zlepšit funkci jater nebo funkci ledviny o alespoň 25 %.

Výraz "farmaceuticky přijatelný nosič" se vztahuje k nosiči pro podání terapeutického činidla. Takové nosiče zahrnují neomezujícím způsobem solný roztok, pufrovaný solný roztok, dextrózu, vodu, glycerol, ethanol a jejich kombinace. Tento výraz specificky vylučuje buněčné kultivační médium. V případě účinných látek podávaných orálně zahrnují farmaceuticky přijatelné nosiče neomezujícím způsobem farmaceuticky přijatelné excipienty, jakými jsou inertní ředidla, desintegrační činidla, pojiva, maziva, sladidla, látky modifikující chuť a vůni, barvicí činidla a konzervační činidla. Vhodná inertní ředidla zahrnují uhličitan sodný, uhličitan vápenatý, fosforečnan sodný, fosforečnan vápenatý a laktózu, zatímco kukuřičný škrob a kyselina alginová jsou vhodnými desintegračními činidly. Pojiva mohou zahrnovat škrob a želatinu, zatímco mazivem v případě, že je přítomno, bude obecně stearát hořečnatý, kyselina stearová nebo talek. Je-li to žádoucí, mohou být tablety potaženy

materiálem, jakým je například glycerylmonostearát nebo glyceryldistearát a to za účelem oddálení absorpce v gastrointestinálním traktu.

Zde použitý výraz "transformovaná buňka" se vztahuje k buňce, do které byl zaveden vektor, ze kterého může být exprimována dsRNA molekula.

II. Dvouvláknová kyselina ribonukleová (dsRNA)

Jak je zde podrobněji popsáno, popis poskytuje molekuly dvouvláknové ribonukleové kyseliny (dsRNA) pro inhibici exprese TTR genu v buňce nebo v savci, například v člověku trpícím TTR amyloidózou, kde dsRNA zahrnuje nekódující (antisense) vlákno mají oblast komplementarity, která je komplementární s alespoň částí mRNA vytvořené při expresu TTR genu, a kde oblast komplementarity má délku menší než 30 nukleotidů, přičemž obecně má délku 19-24 nukleotidů, a kde uvedená dsRNA po styku s buňkou exprimující uvedený TTR gen inhibuje expresi uvedeného TTR genu o alespoň 30 %, jak je to stanoveno například způsobem na bázi PCR nebo rozvětvené DNA (bdDNA) nebo způsobem na bázi proteinu, jakým je například analýza Western blot. Expresi TTR genu může být snížena o alespoň 30 % v případě, že je exprese měřena testem popsaným v dále zařazených příkladech. Například exprese TTR genu v buněčné kultuře, jakou jsou buňky Hep3B, může být stanovena měřením hladin TTR mRNA, jako je tomu v případě testu bdDNA nebo TaqMan, nebo měřením hladin proteinu, jako je tomu v případě analýzy ELISA. dsRNA podle vynálezu může dále zahrnovat jeden nebo více jednovláknových přesahových úseků

dsRNA může být syntetizována standardními postupy známými v dané oblasti, které budou dále popsány v další části popisu, například použitím automatických DNA syntetizérů, které jsou komerčně dostupné například u společnosti Biosearch, Applied Biosystems, Inc. dsRNA zahrnuje dvě RNA vlákna, které jsou dostatečně komplementární pro vytvoření duplexní struktury. Jedno vlákno dsRNA (vlákno antisense) zahrnuje oblast komplementarity, která je v podstatě komplementární, a to obecně plně komplementární, s cílenou sekvencí, odvozenou od sekvence mRNA vytvořené během exprese TTR genu, zatímco druhé vlákno (vlákno sense) zahrnuje oblast, která je komplementární s vláknem antisense, takže obě vlákna hybridizují a tvoří duplexní strukturu, když jsou obě vlákna kombinována za vhodných podmínek. Obecně má uvedená duplexní struktura délku mezi 15 a 30 nebo mezi 25 a 30 nebo mezi 18 a 25 nebo mezi 19 a 24 nebo mezi 19 a 21 nebo 19, 20 nebo 21 párů bází.. V rámci jednoho provedení má uvedená duplexní struktura délku 19 párů bází. V rámci jiného provedení má uvedená duplexní struktura délku 21 párů bází. Když se použije kombinace dvou různých siRNAs, potom mohou být duplexní délky stejné nebo různé.

Každé vlákno dsRNA má obecně délku mezi 15 a 30 nebo mezi 18 a 25 nebo 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 nebo 25 nukleotidů. V rámci jiného provedení má každé vlákno délku 25-30 nukleotidů. Každé vlákno duplexní struktury může mít stejnou délku nebo mohou mít vlákna různé délky. Když se použijí v kombinaci dvě odlišné siRNAs, potom mohou být délky každého vlákna každé siRNA identické nebo se mohou lišit.

dsRNA může zahrnovat jeden nebo více jednovláknových přesahových úseků zahrnujících jeden nebo více nukleotidů. V jednom provedení alespoň jeden konec dsRNA má jednovláknový přesah 1 až 4, obecně 1 nebo 2 nukleotidů. V jiném provedení vlákno antisense dsRNA má 1-10 nukleotidové přesahy na 3'-konci a na 5'-konci přes vlákno sense. V dalších provedeních vlákno sense dsRNA má 1-10 nukleotidové přesahy na 3'-konci a na 5'-konci přes vlákno antisense.

dsRNA mající alespoň jeden nukleotidový přesah může mít neočekávaně lepší inhibiční vlastnosti než tupě-ukončený protějšek. V některých provedeních přítomnost pouze jednonukleotidového přesahu posiluje interferenční aktivitu dsRNA, aniž by přitom došlo k ovlivnění její celkové stability. U dsRNA mající pouze jeden přesah se ukázalo, že je obzvláště stabilní a účinná *in vivo*, jako i v množině buněk, buněčných kultivačních médiích, krvi a v séru. Obecně se jednovláknový přesah nachází na 3'-terminálním konci vlákna antisense nebo alternativně na 3'-terminálním konci vlákna sense. dsRNA může mít rovněž tupý konec obecně se nacházející na 5'-konci vlákna antisense. Takové dsRNA mohou mít zlepšenou stabilitu a inhibiční aktivitu, což takto umožňuje podání nízkých dávek, tj. nižších než 5 mg/kg tělesné hmotnosti příjemce a den. Obecně má vlákno antisense dsRNA nukleotidový přesah na 3'-konci a 5'-konec je tupý. V jednom provedení jeden nebo více nukleotidů přítomných v přesahu je nahrazeno nukleosid-thiofosfátem.

V jednom provedení TTR gen je lidským TTR genem. V konkrétních provedeních vláknem sense dsRNA je jedna ze sekvencí sense z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B nebo 7 a vláknem antisense může být jedna ze sekvencí antisense z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B nebo 7. Alternativní činidla antisense, které jsou zaměřeny jinam v cílové sekvenci uvedené v tabulkách 3A, 3B, 4, 6A, 6B nebo 7, mohou být snadno určeny za použití cílové sekvence a boční (flanking) sekvence.

Odborník v daném oboru je si dobře vědom toho, že dsRNAs mající duplexní strukturu mezi 20 a 23 páry bází, avšak mající specificky 21 párů bází, byly uvedeny jako obzvláště účinné pro indukci RNA interference (Elbashir et al., EMBO 2001, 20:6888). Nicméně bylo zjištěno, že i kratší nebo delší dsRNAs mohou být rovněž účinné. V rámci výše

popsaných provedení mohou dsRNAs definované podle vynálezu na základě povahy oligonukleotidových sekvencí poskytnutých v tabulkách 3A, 3B, 4, 6A, 6B a 7 zahrnovat alespoň jedno vlákno se zde popsanou délkou. Může být rozumně očekáváno, že kratší dsRNA, mající jednu ze sekvencí z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B nebo 7 minus pouze několik málo nukleotidů na jednom nebo obou koncích, mohou být stejně účinné ve srovnání s výše popsanými dsRNA. Tudiž dsRNAs mající dílčí sekvenci s alespoň 15, 16, 17, 18, 19, 20 nebo více přilehlými nukleotidy z některé ze sekvencí uvedených v tabulkách 3, 4, 6 nebo 7 a lišící se jejich schopností inhibovat expresi TTR genu při níže popsaném testu o ne více než 5, 10, 15, 20, 25 nebo 30 % inhibice od dsRNA obsahujících plnou sekvenci, jsou rovněž uvažovány. Dále dsRNAs, které štěpí v požadované TTR cílové sekvenci, mohou být snadno připraveny za použití odpovídající TTR antisense sekvence a komplementární sense sekvence.

Navíc dsRNA poskytnuté v tabulkách 3A, 3B, 4, 6A, 6B nebo 7 identifikují místo v TTR, které je citlivé pro štěpení na bázi RNAi. Takto se předkládaný popis dále vyznačuje dsRNA, které cílí do sekvence cílené jedním z činidel podle popisu. Ve zde uvedeném smyslu se o druhé dsRNA uvádí, že cílí do sekvence první dsRNA, jestliže druhá dsRNA štěpí informaci (message) někde v mRNA, která je komplementární s vláknem antisense první dsRNA. Taková druhá dsRNA bude obecně sestávat z alespoň 15 přilehlých nukleotidů z jedné ze sekvencí poskytnutých v tabulkách 3A, 3B, 4, 6A, 6B nebo 7 spojených do dodatečných nukleotidových sekvencí z oblasti přilehlé ke zvolené sekvenci v TTR genu.

dsRNA popsaná zde může obsahovat jednu nebo více neshod s cílenou sekvencí. V jednom provedení dsRNA popsaná v popise obsahuje ne více než 3 takové neshody. Jestliže vlákno antisense dsRNA obsahuje neshody s cílenou sekvencí, potom je výhodné, když se neshodová oblast nenachází ve středu oblasti komplementarity. Jestliže vlákno antisense dsRNA obsahuje neshody s cílovou sekvencí, potom je výhodné, když je neshoda omezena na 5 nukleotidů od každého konce, například na 5, 4, 3, 2 nebo 1 nukleotid od každého z konců 5' nebo 3' oblasti komplementarity. Například v případě 23 nukleotidového dsRNA vlákna, které je komplementární s oblastí TTR genu, dsRNA obecně neobsahuje žádnou neshodu ve středových 13 nukleotidech. Způsoby popsané v rámci popisu mohou být rovněž použity ke stanovení toho, zda je dsRNA obsahující neshodu s cílovou sekvencí účinná pro inhibici exprese TTR genu. Posouzení účinnosti dsRNAs s uvedenými neshodami při inhibici exprese TTR genu je důležité, zejména jestliže je o specifické oblasti komplementarity v TTR genu známo, že má v populaci polymorfni sekvenční variaci.

Modifikace

V ještě dalším provedení za účelem zlepšení stability se dsRNA chemicky modifikuje. Nukleové kyseliny definované v rámci vynálezu mohou být syntetizovány a/nebo modifikovány postupy, které jsou již dobře zavedeny v dané oblasti, jako jsou postupy popsané v publikaci "Current protocols in nucleic acid chemistry," Beaucage, S.L. et al. (Eds.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA, jejíž obsah je zde uveden formou odkazu. Specifické příklady dsRNA sloučenin použitelných v rámci vynálezu zahrnují dsRNAs obsahující modifikované základní řetězce nebo neobsahující žádné přírodní internukleosidové vazby. Podle definice uvedené v této popisné části zahrnují dsRNAs, mající modifikované základní řetězce, ty dvouvláknové ribonukleové kyseliny, které zachovávají atom fosforu v základním řetězci a ty dvouvláknové ribonukleové kyseliny, které nemají atom fosforu v základním řetězci. Pro účely této popisné části a jak je to někdy odkazováno v rámci dosavadního stavu techniky, mohou být modifikované dsRNAs, které nemají atom fosforu v jejich internukleosidovém základním řetězci, rovněž považovány za oligonukleosidy.

Modifikované dsRNA základní řetězce zahrnují například fosforothioáty, chirální fosforothioáty, fosforodithioáty, fosfotriestery, aminoalkylfosfotriestery, methyl- a další alkylfosfonáty včetně 3'-alkylenfosfonátů a chirálních fosfonátů, fosfináty, fosforoamidáty včetně 3'-aminofosforamidátu a aminoalkylfosforamidátů, thionofosforamidáty, thionoalkylfosfonáty, thionoalkylfosfotriestery a boranofosfonáty mající normální vazby 3'-5', jejich 2'-5'-analogy a analogy mající obrácenou polaritu, přičemž přilehlé páry nukleosidových jednotek jsou spojeny způsobem 3'-5' s 5'-3' nebo 2'-5' s 5'-2'. Jsou zde rovněž zahrnuty různé soli, směsné soli a volné kyseliny.

Reprezentativní patenty US, které uvádějí přípravu výše uvedených fosforobsahujících vazeb, zahrnují neomezujícím způsobem patenty US 3,687,808; 4,469,863; 4,476,301; 5,023,243; 5,177,195; 5,188,897; 5,264,423; 5,276,019; 5,278,302; 5,286,717; 5,321,131; 5,399,676; 5,405,939; 5,453,496; 5,455,233; 5,466,677; 5,476,925; 5,519,126; 5,536,821; 5,541,316; 5,550,111; 5,563,253; 5,571,799; 5,587,361 a 5,625,050.

Modifikované základní řetězce dsRNA, které nezahrnují atom fosforu, mají základní řetězce, které jsou tvořeny internukleosidovými vazbami s krátkým alkylovým nebo cykloalkylovým řetězcem, smíšenými heteroatomovými a alkylovými nebo cykloalkylovými internukleosidovými vazbami nebo jednou nebo více krátkými heteroatomovými nebo heterocyklickými internukleosidovými vazbami. Tyto základní řetězce zahrnují základní řetězce mající morfolinové vazby (tvořené částečně z cukerné části a nukleosidu); siloxanové

základní řetězce; sulfidové, sulfoxidové a sulfonové základní řetězce; formacetylové a thioformacetylové základní řetězce; methylenformacetylové a thioformacetylové základní řetězce; alken-obsahující základní řetězce; sulfamátové základní řetězce; methyleniminové a methylenhydrazinové základní řetězce; sulfonátové a sulfonamidové základní řetězce; amidové základní řetězce; a další základní řetězce mající smíšené komponentní části N, O, S a CH₂.

Reprezentativní patenty US, které uvádějí přípravu výše uvedených oligonukleotidů, zahrnují neomezuujícím způsobem patenty US 5,034,506; 5,166,315; 5,185,444; 5,214,134; 5,216,141; 5,235,033; 5,64,562; 5,264,564; 5,405,938; 5,434,257; 5,466,677; 5,470,967; 5,489,677; 5,541,307; 5,561,225; 5,596,086; 5,602,240; 5,608,046; 5,610,289; 5,618,704; 5,623,070; 5,663,312; 5,633,360; 5,677,437 a 5,677,439, kdy všechny jsou ude uvedeny jako odkaz.

V jiných vhodných mimeticky působících dsRNA jsou jak cukerná, tak i internukleosidová vazba nukleotidových jednotek, které tvoří základní řetězec, nahrazeny novými skupinami. Jedna taková oligomerní sloučenina tvořící dsRNA mimetikum, u kterého byly prokázány znamenité hybridizační vlastnosti, se vztahuje k peptidové nukleové kyselině (PNA). V PNA sloučeninách je cukerný základní řetězec dsRNA nahrazen amid-obsahujícím základním řetězcem, zejména aminomethylglycinovým základním řetězcem. Nukleové báze jsou zachovány a jsou vázány přímo nebo nepřímo k aza-dusíkovým atomům amidové části základního řetězce. Reprezentativními patenty US, které popisují přípravu PNA sloučenin, zahrnují neomezuujícím způsobem patenty US 5,539,082; 5,714,331a 5,719,262. Další instrukce o PNA sloučeninách mohou být nalezeny v publikaci Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500.

Dalšími provedeními vynálezu jsou dsRNAs s fosforothioátovými základními řetězci a oligonukleosidy s heteroatomovými základními řetězci a zejména --CH₂--NH--CH₂--, --CH₂--N(CH₃)-O--CH₂--[známé jako methylenový (methyliminový) nebo MMI základní řetězec], --CH₂--O--N(CH₃)--CH₂--, --CH₂--N(CH₃)-N(CH₃)--CH₂-- a --N(CH₃)--CH₂--CH₂--[kde je nativní fosfodiesterový základní řetězec reprezentován jako --O--P--O--CH₂--] popsané ve výše uvedeném patentu US 5,489,677, a amidové základní řetězce z výše uvedeného patentu US 5,602,240. Rovněž výhodné jsou dsRNAs mající morfolinové struktury v základním řetězci podle patentu US 5,034,506.

Modifikované dsRNA mohou rovněž obsahovat jeden nebo více substituovaných cukerných zbytků. Výhodné dsRNAs obsahují jeden z následujících zbytků v poloze 2': OH;

F; O-, S- nebo N-alkyl; O-, S- nebo N-alkenyl; O-, S- nebo N-alkynyl; nebo O-alkyl-O-alkyl, kde alkyl, alkenyl a alkynyl mohou být substituovaný nebo nesubstituovaný C₁ až C₁₀-alkyl nebo C₂ až C₁₀-alkenyl a -alkynyl. Obzvláště výhodné jsou O[(CH₂)_nO]_mCH₃, O(CH₂)_nOCH₃, O(CH₂)_nNH₂, O(CH₂)_nCH₃, O(CH₂)_nONH₂ a O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂, kde n a m znamenají číslo od 1 do asi 10. Další výhodné dsRNAs obsahují jeden z následujících zbytků v poloze 2': C₁ až C₁₀-nižší alkyl, substituovaný nižší alkyl, alkaryl, aralkyl, O-alkaryl nebo O-aralkyl, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, heterocykloalkyl, heterocykloalkaryl, aminoalkylamino, polyalkylamino, substituovaný silyl a RNA-štěpící skupina, reportérová skupina, interkalátor, skupina pro zlepšení farmakokinetických vlastností dsRNA nebo skupina zlepšující farmakodynamické vlastnosti dsRNA a další substituenty mající podobné vlastnosti. Výhodná modifikace zahrnuje zbytek 2'-methoxyethoxy (2'-O-CH₂CH₂OCH₃ rovněž známý jako zbytek 2'-O-(2-methoxyethyl) nebo 2'-MOE) (Martin et al., *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78, 486-504), tj. alkoxyalkoxy skupinu. Další výhodná modifikace zahrnuje zbytek 2'-dimethylaminoethoxy, tj. skupinu O(CH₂)₂ON(CH₃)₂, která je rovněž známa jako 2'DMAOE a popsána v dále zařazených příkladech, a skupinu 2'-dimethylaminoethoxyethyl (rovněž známá v dané oblasti jako skupina 2'-O-dimethylaminoethoxyethyl nebo 2'DMAEOE), tj. 2'-O-CH₂-O-CH₂-N(CH₂)₂ rovněž popsána v dále zařazených příkladech.

Další výhodné modifikace zahrnují 2'-methoxy (2'-OCH₃), 2'-aminopropoxy (2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂) a 2'-fluor (2'F). Podobné modifikace mohou být rovněž provedeny v jiných polohách na dsRNA, zejména v poloze 3' cukru nebo v poloze 3' koncového nukleotidu nebo v polohách 2'-5' spojení dsRNA a v poloze 5' 5'-terminálního nukleotidu. dsRNAs mohou rovněž mít cukerná mimetika, jako jsou cyklobutylové zbytky namísto pentafuranosylového cukru. Reprezentativní patenty US, které popisují přípravu takových modifikovaných cukerných struktur, zahrnují neomezujičím způsobem patenty US 4,981,957; 5,118,800; 5,319,080; 5,359,044; 5,393,878; 5,446,137; 5,466,786; 5,514,785; 5,519,134; 5,567,811; 5,576,427; 5,591,722; 5,597,909; 5,610,300; 5,627,053; 5,639,873; 5,646,265; 5,658,873; 5,670,633 a 5,700,920.

dsNMR mohou rovněž zahrnovat modifikace nebo substituce nukleové báze (často v daném oboru jednoduše označované jako "báze"). Zde použitý výraz "nemodifikované" nebo "přírodní" nukleové báze zahrnují purinové báze adenin (A) a guanin (G) a pyrimidinové báze thymin (T), cytosin (C) a uracil (U). Modifikované nukleové báze zahrnují jiné syntetické a přírodní nukleové báze, jakými jsou například 5-methylcytosin (5-me-C), 5-

hydroxymethylcytosin, xanthin, hypoxanthin, 2-aminoadenin, 6-methyl- a další alkylové deriváty adeninu a guaninu, 2-propyl- a další alkylové deriváty adeninu a guaninu, 2-thiouracil, 2-thiothymin a 2-thiocytosin, 5-halogenuracil a -cytosin, 5-propynyluracil a -cytosin a -thymin, 5-uracil (pseudouracil), 4-thiouracil, 8-halogen-, 8-amino-, 8-thiol-, 8-thioalkyl-, 8-hydroxyl- a další 8-substituované adeniny a guaniny, 5-halogen-, zejména 5-brom-, 5-trifluormethyl- a další 5-substituované uracily a cytosiny, 7-methylguanin a 7-methyladenin, 8-azaguanin a 8-azaadenin, 7-deazaguanin a 7-dezaadenin a 3-deazaguanin a 3-dezaadenin. Další nukleové báze zahrnují nukleové báze uvedené v patentu US 3,687,808, nukleové báze uvedené v *The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering*, strany 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990, nukleové báze uvedené v Englisch et al., *Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613, a nukleové báze uvedené v Sanghvi, Y S., Chapter 15, *DsRNA Research and Applications*, strany 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993. Některé z těchto nukleových bází jsou obzvláště vhodné pro zvýšení vazebné afinity oligomerních sloučenin definované vynálezem. Tyto zahrnují 5-substituované pyrimidiny, 6-azapyrimidiny a N-2-, N-6- a 0-6-substituované puriny zahrnující 2-aminopropyladenin, 5-propyluracil a 5-propynylcytosin. V případě 5-methylcytosinových substitucí se ukázalo, že zvyšují stabilitu duplexní struktury nukleových kyselin o 0,6-1,2 °C (Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., *DsRNA Research and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278) a jsou příkladnými substitucemi nukleových bází dokonce zejména, když jsou kombinovány s 2'-O-methoxyethyl-cukernými modifikacemi.

Reprezentativní patenty US, které popisují přípravu některých z výše uvedených modifikovaných nukleových bází, jakož i dalších modifikovaných nukleových bází zahrnují neomezujícím způsobem výše uvedený patent US 3,687,808, jakož i patenty US 4,845,205; 5,130,30; 5,134,066; 5,175,273; 5,367,066; 5,432,272; 5,457,187; 5,459,255; 5,484,908; 5,502,177; 5,525,711; 5,552,540; 5,587,469; 5,594,121, 5,596,091; 5,614,617 a 5,681,941, a patent US 5,750,692.

Konjugáty

Další modifikace dsRNAs zahrnují chemické připojení k dsRNA jednoho nebo více zbytků nebo konjugátů, které zlepšují aktivitu, buněčnou distribuci nebo absorpci dsRNA. Takové zbytky zahrnují neomezeným způsobem lipidové zbytky, jakým je cholesterolový zbytek (Letsinger et al., *Proc. Natl. Acid. Sci. USA*, 1989, 86: 6553-6556), zbytek kyseliny cholové (Manoharan et al., *Biorg. Med. Chem. Let.*, 1994, 4:1053-1060), thioether, například

beryl-S-tritylthiol (Manoharan et al., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306-309; Manoharan et al., *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765-2770), thiocholesterol (Oberhauser et al., *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533-538), alifatický řetězec, například dodekandiolový nebo undecylový zbytek (Saison-Behmoaras et al., *EMBO J*, 1991, 10:1111-1118; Kabanov et al., *FEBS Lett.*, 1990, 259:327-330; Svinarchuk et al., *Biochimie*, 1993, 75:49-54), fosfolipid, například dihexadecyl-rac-glycerol nebo triethylammonium-1,2-di-O-hexadecyl-rac-glycero-3-H-fosfonát (Manoharan et al., *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654; Shea et al., *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777-3783), polyaminový nebo polyethylenglykolový řetězec (Manoharan et al., *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969-973), adamantan-octová kyselina (Manoharan et al., *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654), palmitylový zbytek (Mishra et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229-237) nebo oktadecylaminový nebo hexylaminokarbonyloxycholesterolový zbytek (Crooke et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923-937).

Reprezentativní patenty US, které popisují přípravy takových dsRNA-konjugátů, zahrnují neomezujícím způsobem patenty US 4,828,979; 4,948,882; 5,218,105; 5,525,465; 5,541,313; 5,545,730; 5,552,538; 5,578,717; 5,580,731; 5,591,584; 5,109,124; 5,118,802; 5,138,045; 5,414,077; 5,486,603; 5,512,439; 5,578,718; 5,608,046; 4,587,044; 4,605,735; 4,667,025; 4,762,779; 4,789,737; 4,824,941; 4,835,263; 4,876,335; 4,904,582; 4,958,013; 5,082,830; 5,112,963; 5,214,136; 5,082,830; 5,112,963; 5,214,136; 5,245,022; 5,254,469; 5,258,506; 5,262,536; 5,272,250; 5,292,873; 5,317,098; 5,371,241; 5,391,723; 5,416,203; 5,451,463; 5,510,475; 5,512,667; 5,514,785; 5,565,552; 5,567,810; 5,574,142; 5,585,481; 5,587,371; 5,595,726; 5,597,696; 5,599,923; 5,599,928 and 5,688,941.

Není nezbytné, aby všechny polohy v dané sloučenině byly modifikovány jednotně a ve skutečnosti může být některá z výše uvedených modifikací zavedena do jediné sloučeniny nebo dokonce do jediného nukleosidu v dsRNA. Tento popis rovněž zahrnuje dsRNA sloučeniny, které jsou chimerickými sloučeninami. "Chimerickými" dsRNA sloučeninami nebo "chimerami" jsou v kontextu tohoto popisu dsRNA sloučeniny, zejména dsRNAs, které obsahují dvě nebo více chemicky odlišných oblastí, kde každá je tvořena alespoň jednou monomerní jednotkou, tj. nukleotidem v případě dsRNA sloučeniny. Tyto dsRNAs typicky obsahují alespoň jednu oblast, ve které je dsRNA modifikována tak, aby se docílilo u dsRNA zvýšené odolnosti proti nukleázové degradaci, zvýšené buněčné absorpce a/nebo zlepšené vazebné afinity vůči cílové nukleové kyselině. Dodatečná oblast dsRNA může sloužit jako substrát pro enzymy schopné štěpit hybridy RNA:DNA nebo RNA:RNA. Jako příklad lze

uvést, že RNáza H je buněčnou endonukleázou, která štěpí RNA vlákno duplexu RNA:DNA. Aktivace RNázy H má proto za následek štěpení cílové RNA, čímž se výrazně zlepší účinnost dsRNA inhibice genové exprese. Vzhledem k tomu mohou být mnohdy získány srovnatelné výsledky s kratšími dsRNAs, když se nepoužijí chimerické dsRNA, ve srovnání s fosforothioátdeoxy-dsRNA-hybridizací ke stejné cílové oblasti.

Štěpení RNA cíle může být rutinně detekováno gelovou elektroforézou a v případě potřeby přidruženými technikami hybridizace nukleových kyselin, které jsou známé v daném oboru. Místa štěpení dsRNA na cílové mRNA mohou být stanovena za použití způsobů, které jsou známé odborníkovi v daném oboru, a kterým je například způsob R'-RACE popsán v Soutschek et al., *Nature*; 2004, Vol. 432, strany 173-178 (který je zde pro všechny případy uveden jako odkaz). V rámci jednoho provedení bylo za použití způsobu 5'-RACE popsaného autory Soutschek et al. určeno, že ALN-18328 štěpí TTR mRNA mezi guaninovým nukleotidem v poloze 636 SEQ ID NO:1331 (NM_000371.3) a adeninovým nukleotidem v poloze 637 SEQ ID NO:1331. V rámci jednoho provedení bylo určeno, že ALN-18328 neštěpí TTR mRNA mezi adeninovým nukleotidem v poloze 637 SEQ ID NO:1331 a guaninovým nukleotidem v poloze 638 SEQ ID NO:1331.

V některých případech může být dsRNA modifikována neligandovou skupinou. Za účelem zlepšení aktivity, buněčné distribuce nebo buněčné absorpce dsRNA byl s dsRNA konjugován určitý počet neligandových molekul a postupy pro tvorbu takových konjugátů jsou dostupné ve vědecké literatuře. Takové neligandové zbytky zahrnují lipidové zbytky, jako cholesterol (Letsinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:6553), kyselinu cholovou (Manoharan et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053), thioether, například hexyl-S-tritylthiol (Manoharan et al., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992,660:306; Manoharan et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765), thiocholesterol (Oberhauser et al., *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533), alifatický řetězec, například dodekandiolový nebo undecylový zbytek (Saison-Behmoaras et al., *EMBO J.*, 1991, 10:111; Kabanov et al., *FEBS Lett.*, 1990, 259:327; Svinarchuk et al., *Biochimie*, 1993, 75:49), fosfolipid, *e.g.*, di-hexadecyl-rac-glycerol nebo triethylammonium-1,2-di-O-hexadecyl-rac-glycero-3-H-fosfonát (Manoharan et al., *Tetrahedron Lett.*, 1995,36:3651; Shea et al., *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777), polyaminový nebo polyethylenglykolový řetězec (Manoharan et al., *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969), adamantan-octovou kyselinu (Manoharan et al., *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651), palmitylový zbytek (Mishra et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229) nebo oktadecylaminový nebo hexylaminokarbonyloxycholesterolový zbytek (Crooke et al., *J.*

Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277:923). Reprezentativní patenty US, které popisují přípravu takových dsRNA konjugátů již byly uvedeny výše. Typické konjugátové protokoly zahrnují syntézu dsRNA nesoucí aminový linker v jedné nebo více polohách sekvence. Aminokupina se potom uvede v reakci s molekulou, která je konjugována za použití vhodných kopulačních nebo aktivačních činidel. Konjugační reakce může být provedena buď s dsRNA, která je stále vázána k pevnému nosiči, nebo po štěpení dsRNA v roztokové fázi. Čištění dsRNA konjugátu vysoko výkonnou kapalinovou chromatografií HPLC typicky poskytuje čistý konjugát.

Vektor exprimující dsRNA

V rámci jiného aspektu jsou molekuly TTR dsRNA exprimovány z transkripčních jednotek vložených do DNA nebo RNA vektoru (viz například Couture, A, et al., TIG. (1996),12:5-10; Skillern, A., et al.: zveřejněná mezinárodní PCT přihláška č. WO 00/22113, Conrad: zveřejněná mezinárodní PCT přihláška č. WO 00/22114, Conrad: patent US 6,054,299). Tyto transgeny mohou být zavedeny jako lineární konstrukt, cirkulární plasmid nebo virální vektor, který může být inkorporován nebo zděděn jako transgen integrovaný do hostitelského genomu. Transgen může být rovněž konstruován tak, aby mohl být děděn jako extrachromosomální plasmid (Gassmann, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1995) 92:1292).

Individuální vlákna dsRNA mohou být přepsány promotory na dva separátní expresní vektory a ko-transfektovány do cílové buňky. Alternativně může být každé individuální vlákno dsRNA přepsáno promotory, které jsou oba lokalizovány na stejném expresním plasmidu. V rámci jednoho provedení je dsRNA exprimována jako invertovaná repetice spojená linkerovou polynukleotidovou sekvencí, takže dsRNA má tak zvanou vlásničkovou strukturu.

Vektory rekombinantní dsRNA exprese jsou obecně DNA plasmidy nebo virální vektory. Virální dsRNA expresní vektory mohou být konstruovány neomezujícím způsobem na bázi adeno-asociovaného viru (pro přehled viz Muzyczka, et al., Curr. Topics Micro. Immunol. (1992) 158:97-129)); adenoviru (viz například Berkner, et al., BioTechniques (1998) 6:616), Rosenfeld et al. (1991, Science 252:431-434) a Rosenfeld et al. (1992), Cell 68:143-155)); nebo alfaviru, jakož i na bázi dalších virů známých v rámci dosavadního stavu techniky. Retroviry byly použity k zavedení četných genů do mnoha různých buněčných typů, včetně epiteliálních buněk a to in vitro nebo in vivo (viz například Eglitis, et al., Science (1985) 230:1395-1398; Danos and Mulligan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1998) 85:6460-6464; Wilson et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:3014-3018; Armentano et al., 1990,

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:6141-6145; Huber et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:8039-8043; Ferry et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:8377-8381; Chowdhury et al., 1991, Science 254:1802-1805; van Beusechem. et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7640-19 ; Kay et al., 1992, Human Gene Therapy 3:641-647; Dai et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10892-10895; Hwu et al., 1993, J. Immunol. 150:4104-4115; patent US 4,868,116; patent US 4,980,286; PCT přihláška WO 89/07136; PCT přihláška WO 89/02468; PCT přihláška WO 89/05345 a PCT přihláška WO 92/07573). Rekombinantní retrovirální vektory schopné transdukce a exprese genů vložených do genomu buňky mohou být produkovány transfekcí retrovirálního genomu do vhodných obalových buněčných linií, jako jsou PA317 a Psi-CRIP (Comette et al., 1991, Human Gene Therapy 2:5-10; Cone et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6349). Rekombinantní adenovirální vektory mohou být použity k infikování velkého počtu buněk a tkání v citlivých hostitelích (například krysa, křeček, pes a šimpanz) (Hsu et al., 1992, J. Infectious Disease, 166:769) a jejich výhodou je rovněž, že nevyžadují pro infekci mitotoxicky aktivní buňky.

Může být použit libovolný virální vektor schopný přijmout kódující sekvence pro dsRNA molekulu nebo molekuly, které mají být exprimovány, například vektory odvozené od adenoviru (AV); adeno-asociovaného viru (AAV); retrovirů (například lentiviry (LV), rhabdoviry, virus myši leukémie), viry herpes apodobně. Tropismus virálních vektorů může být modifikován pseudotypingem vektorů obalovými proteiny nebo jinými povrchovými antigeny od ostatních virů nebo substitucí různých virálních kapsidových proteinů, je-li to vhodné.

Například lentivirální vektory definované v rámci vynálezu mohou být pseudotypovány povrchovými proteiny od viru vesikulární stomatitidy (VSV), viru vztekliny, viru Ebola, Mokola a podobně. Mohou být produkovány AAV vektory definované v rámci vynálezu k zacílení různých buněk konstruováním vektorů k expresi různých kapsidových proteinových serotypů. Například AAV vektor exprimující kapsidu serotypu 2 na genomu serotypu 2 je označován jako AAV 2/2. Tento gen kapsidy serotypu 2 ve vektoru AAV 2/2 může být nahrazen genem kapsidy serotypu 5 k produkci vektoru AAV 2/5. Techniky pro konstruování AAV vektorů, které exprimují různé kapsidové proteinové serotypy jsou popsány v rámci dosavadního stavu techniky, například v Rabinowitz J E et al. (2002), J Virol 76:791-801.

Selekce rekombinantních virálních vektorů, způsoby vložení sekvencí nukleových kyselin pro expresi dsRNA do vektoru a způsoby dodávky virálního vektoru do

zainteresované buňky jsou popsány v rámci dosavadního stavu techniky. O tom viz například Domburg R (1995), *Gene Therap.* 2: 301-310; Eglitis M A (1988), *Biotechniques* 6: 608-614; Miller A D (1990), *Hum Gene Therap.* 1: 5-14; Anderson W F (1998), *Nature* 392: 25-30; a Rubinson D A et al., *Nat. Genet.* 33: 401-406.

Virální vektory mohou být odvozeny od AV a AAV. V jednom provedení je dsRNA definovaná podle vynálezu exprimovaná jako dvě separátní komplementární jednovláčkové RNA molekuly z rekombinantního AAV vektoru majícího například promotory U6 nebo H1 RNA nebo cytomegalovirový (CMV) promotor.

Vhodný AV vektor pro expresi dsRNA definované podle vynálezu, způsob konstrukce rekombinantního AV vektoru a způsob dodávky vektoru do cílových buněk jsou popsány v Xia H et al. (2002), *Nat. Biotech.* 20: 1006-1010.

Vhodné AAV vektory pro expresi dsRNA definované podle vynálezu, způsob konstrukce rekombinantního AV vektoru a způsob dodávky vektoru do cílových buněk jsou popsány v in Samulski R et al. (1987), *J. Virol.* 61: 3096-3101; Fisher K J et al. (1996), *J. Virol.* 70: 520-532; Samulski R et al. (1989), *J. Virol.* 63: 3822-3826; v patentu US 5,252,479; v patentu US 5,139,941; v mezinárodní patentové přihlášce WO 94/13788; a v mezinárodní patentové přihlášce WO 93/24641.

Promotorem řídícím dsRNA expresi buď v DNA plasmidu nebo ve virálním vektoru definovaném v rámci vynálezu může být eukaryotická RNA polymeráza I (například ribosomální RNA promotor), RNA polymeráza II (například CMV raný promotor nebo aktinový promotor nebo promotor U1 snRNA) nebo obecně RNA polymerázový III promotor (například U6 snRNA nebo 7SK RNA promotor) nebo prokaryotický promotor, například promotor T7 za předpokladu, že expresní plasmid rovněž kóduje T7 RNA polymerázu požadovanou pro transkripci z promotoru T7. Promotor může rovněž usměrnit transgenovou expresi do pankreasu (Bucchini et al., 1986, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:2511-2515)).

Navíc může být exprese transgenů přesně regulována například použitím indukovatelné regulační sekvence a expresního systému, jako regulační sekvence, která je citlivá na určité fyziologické regulátory, například citlivá na cirkulující hladiny glukózy nebo na hormony (Docherty et al., 1994, *FASEB J.* 8:20-24). Takové indukovatelné expresní systémy vhodné pro kontrolu transgenové exprese v buňkách nebo v savcích zahrnují regulaci ecdysonem, estrogenem, progesteronem, tetracyklinem, chemickými induktory dimerace a isopropyl-beta-D1-thiogalaktopyranosidem (IPTG). Odborník v daném oboru bude schopen

zvolit příslušnou regulační/promotorovou sekvenci na základě zamýšleného použití dsRNA transgenu.

Obecně se rekombinantní vektory schopné exprimovat dsRNA molekuly dodávají dále popsaným způsobem a přetrvávají v cílových buňkách. Alternativně mohou být použity virální vektory, které umožňují přechodnou expresi dsRNA molekul. Takové vektory mohou být podle potřeby podávány opakovaně. Jakmile je exprimována, váže se dsRNA k cílové RNA a moduluje její funkci nebo expresi. Dodávka vektorů exprimujících dsRNA může být systemická, jako například poskytnutá intravenózní nebo intramuskulárním podáním, nebo provedena podáním do cílových buněk odebraných z pacienta a následným opětovným zavedením do pacienta nebo livovolným jiným způsobem umožňujícím zavedení do požadované cílové buňky.

dsRNA expresní DNA plasmidy jsou typicky transfektovány do cílových buněk jako komplex s kationtovými lipidovými nosiči (například Oligofectamine) nebo nekationtovými nosiči na bázi lipidů (například Transit-TKOTM). V rámci vynálezu jsou rovněž zamýšleny násobné lipidové transfekce pro dsRNA-mediované redukce cílící různé oblasti jediného TTR genu nebo množiny TTR genů v průběhu časové periody jednoho týdne nebo delší časové periody. Úspěšné zavedení vektorů do hostitelských buněk může být monitorováno za použití různých metod. Například přechodná transfekce může být signalizována reportérem, jakým je fluorescenční marker, jako například Green Fluorescent Protein (GFP). Stabilní transfekce buněk ex vivo může být zajištěna markéry, které poskytují transfektovanou buňku s rezistencí vůči specifickým environmentálním faktorům (například antibiotika a účinné látky), jako je tomu v případě hydromycin-B-rezistence.

TTR specifické dsRNA molekuly mohou být rovněž vloženy do vektorů a použity jako vektory genové terapie v případě lidských pacientů. Genové terapeutické vektory mohou být dodány subjektu například intravenózní injekcí, lokálním podáním (viz patent US 5,328,470) nebo stereotaktickou injekcí (viz například Chen et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3054-3057). Farmaceutický přípravek genového terapeutického vektoru může zahrnovat genový terapeutický vektor v přijatelném ředidle nebo může zahrnovat pozvolna uvolňující matici, ve které je genové dodávkové vehikulum zapouzdřeno. Alternativně, když může být kompletní genový dodávkový vektor produkován jako celek z rekombinantních buněk, jako je tomu u retrovirálních vektorů, může farmaceutický přípravek zahrnovat jednu nebo více buněk, které produkují genový dodávkový systém.

III. Farmaceutické kompozice obsahující dsRNA

V rámci jednoho provedení vynález poskytuje farmaceutické kompozice obsahující dsRNA podle nároků a farmaceuticky přijatelný nosič. Farmaceutická kompozice obsahující dsRNA je užitečná pro léčení nemoci nebo poruchy související s expresí nebo aktivitou TTR genu, jakými jsou patologické procesy mediované TTR expresí. Takové farmaceutické kompozice jsou formulovány v závislosti na způsobu dodávky účinné látky. Jedním příkladem jsou kompozice, které jsou formulovány pro systemické podání prostřednictvím parenterální dodávky, na příklad intravenózní (IV) dodávkou. Jiným příkladem jsou kompozice, které jsou formulovány pro přímou dodávku do mozkového parenchymu, například infuzí do mozku, jakou je například kontinuální infúze pomocí infúzní pumpy.

Zde definované farmaceutické kompozice jsou podány v dávkách dostatečných k inhibici TTR genů.

Obecně se bude vhodná dávka dsRNA pohybovat v rozmezí od 0,01 do 200,0 miligramů na kilogram tělesné hmotnosti příjemce a den, obvykleji v rozmezí od 1 do 50 mg na kilogram tělesné hmotnosti a den. dsRNA může být například podána v množství 0,0059 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,0295 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,0590 mg/kg, 0,163 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,543 mg/kg, 0,5900 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,7 mg/kg, 0,8 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,628 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 5,0 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 30 mg/kg, 40 mg/kg nebo 50 mg/kg v jediné dávce.

V jednom provedení se dávka pohybuje mezi 0,01 a 0,2 mg/kg. dsRNA může být například podána v dávce 0,01 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,07 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,09 mg/kg, 0,10 mg/kg, 0,11 mg/kg, 0,12 mg/kg, 0,13 mg/kg, 0,14 mg/kg, 0,15 mg/kg, 0,16 mg/kg, 0,17 mg/kg, 0,18 mg/kg, 0,19 mg/kg nebo 0,20 mg/kg,

V jednom provedení se dávka pohybuje mezi 0,005 mg/kg a 1,628 mg/kg dsRNA může být například podána v dávce 0,0059 mg/kg, 0,0295 mg/kg, 0,0590 mg/kg, 0,163 mg/kg, 0,543 mg/kg, 0,5900 mg/kg nebo 1,628 mg/kg,

V jednom provedení se dávka pohybuje mezi 0,2 mg/kg a 1,5 mg/kg. dsRNA může být například podána v dávce 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,7 mg/kg, 0,8 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg nebo 1,5 mg/kg.

Farmaceutická kompozice může být podána jednou denně nebo dsRNA může být podána jako dvě, tři nebo více dílčích poddávkách ve vhodných intervalech v průběhu dne nebo dokonce za použití kontinuální infúze nebo dodávky formulace s regulovaným

uvolňováním. V takovém případě musí být množství dsRNA obsažené v každé dílčí poddávce odpovídajícím způsobem menší, aby se dosáhlo celkové denní dávky. Dávková jednotka může být rovněž vytvořena pro dodávku v průběhu několika dní, například za použití konvenční formulace s trvalým uvolňováním účinné látky, který poskytuje trvalé uvolňování dsRNA po dobu časové periody několika dnů. Formulace s trvalým uvolňováním účinné látky jsou známé v dané oblasti techniky a jsou ozvlášť užitečné pro dodávku činidel do specifického místa, jakými by mohla být činidla podle vynálezu. V rámci tohoto provedení obsahuje dávková jednotka odpovídající množství denní dávky.

Účinek jediné dávky na TTR hladiny je dlouhodobý, takže následující dávky se podávají v ne více než 3, 4 nebo 5 denních intervalech nebo v ne více než 1, 2, 3 nebo 4 týdenních intervalech nebo v ne více než 5, 6, 7, 8, 9 nebo 10 týdenních intervalech.

Pro odborníka v daném oboru bude zřejmé, že dávkování a časování nezbytné k účinnému léčení subjektu může být ovlivněno některými faktory, zahrnujícími neomezuje způsobem závažnost nemoci nebo poruchy, předcházející léčení, obecný stav zdraví a/nebo věk léčeného subjektu, jakož i další onemocnění, kterými uvedený subjekt trpí. Navíc léčení subjektu terapeuticky účinným množstvím kompozice může zahrnovat jediné léčení nebo sérii léčení. Odhady účinných dávek a poločasy in vivo pro jednotlivé dsRNA zahrnuté v rámci vynálezu mohou být určeny za použití konvenčních metodik na základě testování in vivo s použitím příslušných zvířecích modelů, které jsou zde posány na jiném místě popisné části.

Pokroky dosažené v myší genetice generovaly určitý počet myších modelů pro studium různých lidských onemocnění, jako jsou patologické procesy mediované TTR expresí. Takové modely jsou použity pro testování in vivo dsRNA, jakož i pro stanovení terapeuticky účinné dávky. Vhodným myším modelem je například myš obsahující plasmid exprimující TTR. Dalším vhodným myším modelem je transgenní myš nesoucí transgen, který exprimuje lidský TTR.

Údaje získané z buněčných kultivačních testů a zvířecích studií mohou být použita pro formulování dávkových rozmezí použitelných u lidí. Dávka kompozic definovaných podle vynálezu leží obecně v rozmezí cirkulačních koncentrací, které zahrnují ED50 s nízkou nebo žádnou toxicitou. Dávkování v tomto rozmezí se může měnit v závislosti na použité dávkové formě a na použitém způsobu podání. Pro libovolnou sloučeninu použitou při způsobech definovaných podle vynálezu může být terapeuticky účinná dávka předběžně vypočtena z výsledků buněčných kultivačních testů. Dávka může být u zvířecích modelů formulována k dosažení rozmezí cirkulační plazmové koncentrace sloučeniny nebo, je-li to vhodné,

polypeptidového produktu cílové sekvence (například dosažení snížené koncentrace polypeptidu), které zahrnuje hodnotu IC50 (tj. koncentrace testované sloučeniny, pomocí které se dosahuje poloviny maximální inhibice symptomů), stanovenou v buněčné kultuře. Taková informace může být použita k přesnějšímu určení použitelných dávek u lidí. Plazmové hladiny mohou být například měřeny vysoko výkonnou kapalinovou chromatografií.

dsRNAs definované v rámci vynálezu mohou být podány v kombinaci s dalšími známými činidly účinnými při léčení patologických procesů mediovaných cílovou genovou expresí. V každém případě praktický lékař určující podmínky podání může nastavit množství a časování podání dsRNA na základě výsledků získaných za použití standardních měření účinnosti, kterážto měření jsou známa v daném oboru nebo která jsou zde popsána.

Podání

Tento vynález rovněž zahrnuje farmaceutické kompozice a formulace, které zahrnují dsRNA sloučeniny definované podle vynálezu. Farmaceutické kompozice podle vynálezu mohou být podány za použití určitého počtu podání v závislosti na tom, zda je žádoucí lokální nebo systemické léčení a v závislosti na oblasti určené k léčení. Podání může být topické, pulmonální, například inhalací nebo insuflací prášků nebo aerosolů, zahrnující podání za použití rozprašovače; intratracheální, intranasální, epidermální a transdermální, orální nebo parenterální. Parenterální podání zahrnuje, intravenózní, intraarteriální, subkutánní, intraperitoneální nebo intramuskulární injekci nebo infúzi; nebo intrakraniální, například intraparenchymální, intrathekální nebo intraventrikulární podání.

dsRNA může být dodána způsobem zasahujícím specifickou tkáň, jakou jsou játra (například hepatocyty jater).

Předkládaný popis zahrnuje farmaceutické kompozice, které mohou být dodány injekcí přímo do mozku. Injekcí může být stereotaktická injekce do specifické oblasti mozku (například substantia nigra, cortex, hippocampus, striatum nebo globus pallidus) nebo může být dsRNA dodána do několika oblastí centrální nervové soustavy (například do několika oblastí mozku a/nebo do míchy). dsRNA může být rovněž dodána do rozptýlených oblastí (například difúzní dodávka do kůry mozkové).

V jednom provedení dsRNA cílicí TTR může být dodána pomocí kanyly nebo jiného dodávkového zařízení majícího jeden konec implantovaný do tkáně, například do mozku, například do částí mozku zahrnujících substantia nigra, cortex, hippocampus, striatum, corpus callosum nebo globus pallidus. Uvedená kanyla může být připojena k zásobníku dsRNA

kompozice. Proud nebo dodávka kompozice může být zprostředkována pumpou, jakou je například osmotická pumpa nebo minipumpa, jakou je například pumpa Alzet (Durect, Copertino, CA). V rámci jednoho provedení jsou pumpa a zásobník uloženy v oblasti vzdálené od uvedené tkáně, například v břišní dutině, a dodávka je zajištěna potrubím vedeným od pumpy nebo zásobníku k místu uvolnění účinné látky. Infúze dsRNA kompozice do mozku může trvat několik hodin nebo několik dnů, například 1, 2, 3, 5 nebo 7 dnů nebo ještě déle. Zařízení pro dodávku do mozku jsou popsána například v patentech US 6,093,180 a 5,814,014.

Farmaceutické kompozice a formulace pro topické podání mohou zahrnovat transdermální náplasti, masti, lotiony, krémy, gely, kapky, čípky, postříky, kapaliny a prášky. Mohou být nezbytné nebo žádoucí konvenční farmaceutické nosiče na vodné, práškové nebo olejové bázi, zthutňovadla a podobně. Rovněž mohou být použity potažené kondomy, rukavice a podobně. Vhodné topické formulace zahrnují formulace, ve kterých jsou dsRNAs definované podle vynálezu smíšeny s topickým dodávkovým činidlem, jakým jsou lipidy, liposomy, mastné kyseliny, estery mastných kyselin, steroidy, chelatizační činidla a povrchově aktivní látky. Vhodné lipidy a liposomy zahrnují neutrální (například dioleoylfosfatidylethanolamin DOPE, dimyristoylfosfatidylcholin DMPC, distearoylfosfatidylcholin), negativní (například dimyristoylfosfatidylglycerol DMPG) a kationtové (například dioleyltetramethylaminopropyl(DOTAP)- a dioleylfosfatidylethanolamin DOTMA) liposomy. dsRNAs definované podle vynálezu mohou být zapouzdřeny v liposomech nebo s nimi mohou tvořit komplexy a to zejména s kationtovými liposomy. Alternativně mohou dsRNA tvořit komplexy s lipidy, zejména s kationtovými lipidy. Vhodné mastné kyseliny a estery mastných kyselin zahrnují neomezujícím způsobem kyselinu arachidonovou, kyselinu olejovou, kyselinu eikosanovou, kyselinu laurovou, kyselinu kaprylovou, kyselinu kaprinovou, kyselinu myristovou, kyselinu palmitovou, kyselinu stearovou, kyselinu linoleovou, kyselinu linolenovou, dikaprát, trikaprát, monoolein, dilaurin, glyceryl-1-monokaprát, 1-dodecylazacykloheptan-2-on, acylkarnitin, acylcholin nebo C₁₋₁₀-alkylester (například isopropylmyristát IPM), monoglycerid, diglycerid nebo jejich farmaceuticky přijatelná sůl. Typické formulace jsou detailně popsány v patentu US 6,747,014, jehož obsah je zde zahrnut formou odkazu.

Liposomální formulace

Existuje mnoho organizovaných povrchově aktivních struktur vedle mikroemulzí, které byly studovány a použity pro formulování účinných látek. Takové struktury zahrnují

monovrstvy, micely, dvouvrstvy a vezikula. Vezikula, jako například liposomy, přitahovaly velkou pozornost pro jejich specifčnost a dobu účinku, které nabízejí z hlediska dodávky účinné látky. V rámci vynálezu použitý výraz "liposom" znamená vezikulum tvořené amfifilní lipidy uspořádané ve sférické dvouvrstvě nebo dvouvrstvách.

Liposomy jsou jednolamelární nebo multilamelární vezikula, které mají membránu vytvořenou z lipofilního materiálu a vodný vnitřek. Vodná část obsahuje kompozici, jejíž dodávka má být zajištěna. Kationtové liposomy mají výhodu spočívající v tom, že jsou schopné fúze s buněčnou stěnou. Nekationtové liposomy, i když nejsou schopné účinné fúze s buněčnou stěnou, jsou absorbovány makrofágy *in vivo*.

Aby prošly nepoškozeny savčí pokožkou, musí lipidová vezikula projít skrze řadu jemných pórů, z nichž každý má průměr menší než 50 nm, a to pod vlivem vhodného transdermálního gradientu. Proto je žádoucí použít liposomy, které jsou vysoce deformovatelné a tudíž schopné projít takovými jemnými póry.

Další výhody liposomů zahrnují: liposomy získané z přírodních fosfolipidů jsou biokompatibilní a biologicky odbouratelné; liposomy mohou v sobě inkorporovat velké množství účinných látek rozpustných ve vodě a v lipidech; liposomy mohou chránit účinné látky zapouzdřené v jejich vnitřních prostorech před metabolismem a rozkladem (Rosoff, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1, str. 245). Důležitými faktory při přípravě liposomových formulací jsou lipidový povrchový náboj, velikost vezikula a vodný objem liposomů.

Liposomy jsou užitečné pro převod a dodávku účinných látek na místo účinku účinné látky. Protože je liposomální membrána strukturně podobná biologickým membránám, začínají se liposomy potom, co byly aplikovány do tkáně, spojovat s buněčnými membránami a tou měrou, jak dochází ke spojování liposomů s buňkami, dochází také k vyprazdňování liposomálního obsahu do buňky, kde může účinná látka začít působit.

Liposomální formulace byly středem rozsáhlého výzkumu týkajícího se způsobu jejich použití jako systému pro dodávku účinných látek. Existuje rostoucí přesvědčení o to, že pro topické aplikace mají liposomy některé výhody oproti ostatním formulacím. Takové výhody zahrnují omezené vedlejší účinky vztahující se k vysoké systemické absorpci podané účinné látky, zvýšenou akumulaci požadované účinné látky v požadovaném cílovém objektu a schopnost podání širokého spektra účinných látek a to jak hydrofilních, tak i hydrofobních, do kůže.

Několik zpráv detailně popsal schopnost liposomů dodávat do kůže činidla, včetně vysokomolekulárních DNA. Takto byla do kůže podána analgetika, protilátky, hormony a vysokomolekulární DNAs. Většina aplikací měla za následek zacílení horní pokožky.

Liposomy spadají do dvou širokých tříd. Kationtové liposomy jsou pozitivně nabitě liposomy, které vstupují v interakci s negativně nabitými molekulami DNA k vytvoření stabilního komplexu. Komplex pozitivně nabitá DNA/liposom se váže k negativně nabitému buněčnému povrchu a je internalizován do endosomu. V důsledku kyselého pH v endosomu liposomy prasknou a jejich obsah se uvolní do buněčné cytoplazmy (Wang et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1987, 147, 980-985).

Liposomy, které jsou pH-citlivé nebo negativně nabitě, zachytí DNA spíše, než aby s ní vytvořily komplex. Poněvadž jak DNA, tak i lipid jsou souhlasně nabitě, dochází k odpuzování a nikoliv ke tvorbě komplexu. Nicméně určitý podíl DNA je zachycen ve vodném vnitřním obsahu těchto liposomů. pH-Senzitivní liposomy byly použity k dodávce DNA kódující thymidin-kinázový gen do buněčných monovrstev v buněčné kultuře. Expres exogenního genu byla detekována v cílových buňkách (Zhou et al., *Journal of Controlled Release*, 1992, 19, 269-274).

Jeden hlavní typ liposomální kompozice zahrnuje fosfolipidy jiné než přírodně-odvozený fosfatidylcholin. Neutrální liposomové kompozice mohou být například vytvořeny z dimyristoylfosfatidylcholinu (DMPC) nebo dipalmitoylfosfatidylcholinu (DPPC). Aniontové liposomové kompozice jsou obecně vytvořeny z dimyristoylfosfatidylglycerolu, zatímco aniontové fuzogenní liposomy jsou primárně vytvořeny z dioeloylfosfatidylethanolaminu (DOPE). Další typ liposomální kompozice je vytvořen z fosfatidylcholinu (PC), jakým je například sójový PC a vaječný PC. Další typ je vytvořen ze směsi fosfolipidu a/nebo fosfatidylcholinu a/nebo cholesterolu.

Několik studií prokázalo topickou dodávku liposomálních formulací účinné látky do kůže. Aplikace liposomů obsahujících interferon do kůže morčete mělo za následek omezení kožních herpesových boláků, zatímco dodávka interferonu pomocí jiných prostředků (například roztok nebo emulze) byla neúčinná (Weiner et al., *Journal of Drug Targeting*, 1992,2,405-410). Další dodatečná studie testovala účinnost interferonu podaného jako součást liposomální formulace oproti podání interferonu za použití vodného systému a v rámci této studie byl učiněn závěr, že liposomální formulace byla lepší než vodné podání (du Plessis et al., *Antiviral Research*, 1992,18,259-265).

Rovněž byly zkoumány neionogenní liposomální systémy za účelem stanovení jejich použitelnosti při dodávce účinných látek do kůže, přičemž byly zkoumány zejména systémy obsahující neionogenní povrchově aktivní látku a cholesterol. K dodávce cyklosporinu A do pokožky myší kůže byly použity neionogenní liposomální formulace obsahující NovasomeTM II (glyceryldilaurát/cholesterol/polyoxyethylen-10-stearylether) a NovasomeTM II (glyceryldistearát/cholesterol/polyoxyethylen-10-stearylether). Výsledky ukázaly, že takové neionogenní liposomální systémy byly účinné při usnadnění depozice cyklosporinu A do různých vrstev kůže (Hu et al. S.T.P.Pharma. Sci., 1994,4,6,466).

Liposomy také zahrnují "stericky stabilizované" liposomy, což je výraz, který se zde vztahuje k liposomům obsahujícím jeden nebo několik specializovaných lipidů, kteří mají za následek, když jsou inkorporovány do liposomů, zlepšnou oběhovou životnost vzhledem k liposomům, které nemají takové specializované lipidy. Příklady stericky specializovaných liposomů jsou liposomy, u kterých část vezikulum-tvořící lipidové složky liposomu (A) obsahuje jeden nebo více glykolipidů, jakým je monosialogangliosid G_{M1}, nebo je derivatizována jedním nebo více hydrofilními polymery, jakým je například polyethylenglykolový zbytek (PEG). Aniž je zde snaha vázat se na určitou teorii, předpokládá se v dané oblasti, že alespoň u stericky stabilizovaných liposomů obsahujících gangliosidy, sfingomyelin nebo u PEG-derivatizovaných lipidů je zlepšená cirkulační životnost těchto stericky stabilizovaných liposomů odvozena od snížené absorpce do buněk retikuloendoteliálního systému (RES) (Allen et al., FEBS Letters, 1987, 223, 42; Wu et al., Cancer Research, 1993, 53, 3765).

Různé liposomy obsahující jeden nebo více glykolipidů jsou známé v rámci dosavadního stavu techniky. Papahadjopoulos et al. (Ann. N.Y. Acad. Sci., 1987, 507, 64) popsali schopnost monosialogangliosidu G_{M1}, galaktocerebrosid-sulfátu a fosfatidylinositolu zlepšit krevní životnost liposomů. Tato zjištění byla objasněna Gabizonem et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1988, 85, 6949). Patent US 4,837,028 a WO 88/04924 (oba Allen et al.) uvádějí liposomy obsahující (1) sfingomyelin a (2) gangliosid G_{M1} nebo galaktocerebrosid-sulfát-ester. Patent US 5,543,152 (Webb et al.) uvádí liposomy obsahující sfingomyelin. Liposomy obsahující 1,2-sn-dimyristoylfosfatidylcholin jsou uvedeny v dokumentu WO 97/134599 (Lim et al.).

Četné liposomy obsahující lipidy derivatizované jedním nebo více hydrofilními polymery a způsoby jejich přípravy jsou známé v dané oblasti. Sunamoto et al. (Bull. Chem. Soc. Jpn., 1980,53,2778) popsali liposomy obsahující neionogenní detergent, 2C_{1215G}, který

obsahuje zbytek PEG. Illum et al. (FEBS Lett., 1084, 167, 79) uvedli, že hydrofilní povlak polystyrenových částic za použití polymerních glykolů má za následek významně zlepšenou životnost v krvi. Syntetické fosfolipidy modifikované připojením karboxylových skupin polyalkylenglykolů (například PEG) jsou popsány Sears-ovými patenty US 4,426,330 a 4,534,899). Klibanov et al. (FEBS Lett., 1990, 268, 235) popsali experimenty demonstrující, že liposomy obsahující fosfatidylethanolamin (PE) derivatizovaný za použití PEG nebo PEG-stearátu mají významně zvýšenou životnost v krevní cirkulaci. Blume et al. (Biochimica et Biophysica Acta, 1990, 1029, 91) rozšířili tato pozorování na další PEG-derivatizované fosfolipidy, například na DSPE-PEG, vytvořené z kombinace diastearoyl-fosfatidylethanolaminu (DSPE) a PEG. Liposomy mající kovalentně vázané zbytky PEG na jejich vnějším povrchu jsou popsány v patentu EP 0 445 131 a v přihlášce WO 90/04384 (Fisher). Liposomové kompozice obsahující 1-20 molárních procent PE derivatizovaného za použití PEG a způsoby jejich použití jsou popsány Woodle-ovými patenty US 5,013,556 a 5,356,633) a Martin-ovými patenty US 5,213,804 a evropský patent EP 0 496 813 B1). Liposomy obsahující určitý počet dalších konjugátů lipid-polymer jsou uvedeny v přihlášce WO 91/05545 a v patentu US 5,225,212 (oba Martin et al.) a v přihlášce WO 94/20073 (Zalipsky et al.) Liposomy obsahující PEG-modifikované ceramidové lipidy jsou popsány v přihlášce WO 96/10391 (Choi et al.). Patenty US 5,540,935 (Miyazaki et al.) a 5,556,948 (Tagawa et al.) popisují PEG-obsahující liposomy, které mohou být dále derivatizované funkčními zbytky na jejich povrchu.

V rámci dosavadního stavu techniky je znám určitý počet liposomů obsahujících nukleové kyseliny. Dokument WO 96/40062 (Thierry et al.) uvádí způsoby zapouzdření vysokomolekulárních nukleových kyselin do liposomů. Patent US 5,264,221 (Tagawa et al.) uvádí s proteinem vázané liposomy a tvrdí, že obsahy takových liposomů mohou zahrnovat dsRNA. Patent US 5,665,710 (Rahman et al.) popisuje určité způsoby zapouzdření oligodeoxynukleotidů do liposomů. Přihláška WO 97/04787 (Love et al.) uvádějí liposomy obsahující dsRNA mající za cíl křesit gen.

Transfersomy jsou ještě dalším typem liposomů, které jsou vysoce deformovatelné lipidové agregáty pro vehikula dodávající účinné látky. Transfersomy mohou být popsány jako lipidové kapičky, které jsou vysoce deformovatelné a které jsou takto schopné snadno pronikat skrze póry, které jsou menší než uvedené kapičky. Transfersomy jsou schopné adaptace na prostředí, ve kterém jsou použity, přičemž jsou například samo-optimalizující (jsou přizpůsobitelné tvaru pórů v kůži), samo-opravitelné, často dosahují jejich cíle bez

fragmentace a mnohdy jsou samotné schopné inkorporovat účinnou látku. Za účelem přípravy transfersomů je možné přidat ke standardní liposomální kompozici aktivátory povrchového okraje, obvykle surfaktanty. Transferosomy byly použity k dodávce sérového albuminu do kůže. Bylo prokázáno, že transfersomy mediovaná dodávka sérového albuminu je stejně tak účinná jako subkutánní injekce roztoku obsahujícího sérový albumin.

Povrchově aktivní látky nebo surfaktanty nacházejí rozsáhlé použití ve formulacích jakými jsou emulze (včetně mikroemulzí) a liposomy. Nejobvyklejším způsobem klasifikace a zařazení vlastností mnoha různých typů povrchově aktivních látek a to jak přírodních, tak i syntetických je uvedení jejich hydrofilní/lipofilní rovnováhy (HLB). Povaha hydrofilní skupiny (rovněž známé jako "hlava") poskytuje nejužitečnější prostředek pro kategorizaci různých povrchově aktivních látek použitých ve formulacích (Rieger, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, p. 285).

Jestliže molekula povrchově aktivní látky není ionizovaná, potom je taková látka klasifikována jako neionogenní povrchově aktivní látka. Neionogenní povrchově aktivní látky nacházejí široké použití ve farmaceutických a kosmetických produktech a jsou použitelné v širokém rozmezí hodnot pH. Obecně se jejich hodnoty HLB pohybují v rozmezí od 2 do asi 18 a to v závislosti na jejich struktuře. Neionogenní povrchově aktivní látky zahrnují neionogenní estery, jako ethylenglykolestery, propylenglykolestery, glycerylestery, polyglycerylestery, sorbitanestery, estery sacharózy a ethoxylované estery. Do této třídy jsou rovněž zahrnuty neionogenní alkanolamidy a ethery, jako mastné alkoholethoxyláty, propoxylované alkoholy a ethoxylované/propoxylované blokové polymery. Polyoxyethylenové povrchově aktivní látky jsou nejpobulárnějšími členy třídy neionogenních povrchově aktivních látek.

Jestliže molekula povrchově aktivní látky nese negativní náboj, když je rozpuštěna nebo dispergována ve vodě, potom je taková povrchově aktivní látka klasifikována jako aniontová povrchově aktivní látka. Aniontové povrchově aktivní látky zahrnují karboxyláty, jako mýdla, acyllaktyláty, acylamidy, aminokyseliny, estery kyseliny sírové, jako alkylsulfáty a ethoxylované alkylsulfáty, sulfonáty, jako alkylbenzensulfonáty, acylisethionáty, acyltauráty a sulfosukcináty a fosfáty. Nejdůležitějšími členy třídy aniontových povrchově aktivních látek jsou alkylsulfáty a mýdla.

Jestliže molekula povrchově aktivní látky nese pozitivní náboj, když je rozpuštěna nebo dispergována ve vodě, potom je taková povrchově aktivní látka klasifikována jako kationtová povrchově aktivní látka. Kationtové povrchově aktivní látky zahrnují kvartérní

amoniové soli a ethoxylované aminy. Kvartérní amoniové soli jsou nejpoužívanějšími členy této třídy povrchově aktivních látek.

Jestliže molekula povrchově aktivní látky má schopnost nést buď pozitivní nebo negativní náboj, potom je taková povrchově aktivní látka klasifikována jako amfoterní povrchově aktivní látka. Amfoterní povrchově aktivní látky zahrnují deriváty kyseliny akrylové, substituované alkylamidy, N-alkylbetainy a fosfatidy.

Použití povrchově aktivních látek v léčivových produktech, formulacích a emulzích bylo v rámci dosavadního stavu techniky přehledně vyhodnoceno (Rieger, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, str. 285).

Lipidové částice obsahující nukleovou kyselinu

V jednom provedení TTR dsRNA definované v rámci vynálezu jsou zcela zapouzdřeny v tukové formulaci k vytvoření například částic SPLP, pSPLP, SNALP nebo dalších lipidových částic obsahujících nukleovou kyselinu. Zde použitý výraz "SNSLP" se vztahuje ke stabilní částici nukleová kyselina-lipid zahrnující SPLP. Zde použitý výraz "SPLP" se vztahuje k částici nukleová kyselina-lipid obsahující plazmidovou DNA zapouzdřenou v lipidovém vezikulu. SNALPs a SPLRs typicky obsahují kationtový lipid, nekationtový lipid a lipid, který brání agregaci částice (například konjugát PEG-lipid). SNALPs a SPLPs jsou extrémně užitečné pro systemické aplikace, poněvadž vykazují zvýšenou cirkulační životnost po intravenózní injekci a akumulují se v distálních místech (například v místech fyzicky oddělených od místa podání). SPLPs zahrnují "pSPLP" zahrnující zapouzdřený komplex kondenzační činidlo-nukleová kyselina uvedený ve zveřejněné PCT přihlášce WO 00/03683. Částice podle vynálezu mají typicky průměr asi 50 nm až asi 150 nm, typičtěji asi 60 nm až asi 130 nm, ještě typičtěji asi 70 nm až asi 110 nm a nejtypičtěji asi 70 nm až asi 90 nm, a jsou v podstatě netoxické. Navíc jsou nukleové kyseliny, pokud jsou přítomné v částicích nukleová kyselina-lipid podle vynálezu, rezistentní ve vodném roztoku vůči degradaci nukleázou. Částice nukleová kyselina-lipid a jejich způsob přípravy jsou uvedeny například v patentech US 5,976,567; 5,981,501; 6,534,484; 6,586,410; 6,815,432 a ve zveřejněné PCT přihlášce WO 96/40964.

V jednom provedení poměr lipidu k účinné látce (poměr hm./hm.) (například poměr lipidu k dsRNA) se může pohybovat v rozmezí od asi 1:1 do asi 50:1, od asi 1:1 do asi 25:1, od asi 3:1 do asi 15:1, od asi 4:1 do asi 10:1, od asi 5:1 do asi 9:1 nebo od asi 6:1 do asi 9:1.

Kationtovým lipidem může být například N,N-dioleyl-N,N-dimethylamoniumchlorid (DODAC), N,N-distearyl-N,N-dimethylamoniumbromid (DDAB), N-(1-(2,3-

dioleoyloxy)propyl)-N,N,N-trimethylamoniumchlorid (DOTAP), N-(I-(2,3-dioleoyloxy)propyl)-N,N,N-trimethylamoniumchlorid (DOTMA), N,N-dimethyl-2,3-dioleoyloxy)propylamin (DODMA), 1,2-dilinoleyloxy-N,N-dimethylaminopropan (DLinDMA), 1,2-dilinolenyloxy-N,N-dimethylaminopropan (DLenDMA), 1,2-dilinoleykarbamoyloxy-3-dimethylaminopropan (DLin-C-DAP), 1,2-dilinoleyoxy-3-(dimethylamino)acetoxipropan (DLin-DAC), 1,2-dilinoleyoxy-3-morfolinopropan (DLin-MA), 1,2-dilinoleoyl-3-dimethylaminopropan (DLinDAP), 1,2-dilinoleythio-3-dimethylaminopropan (DLin-S-DMA), 1-linoleoyl-2-linoleyloxy-3-dimethylaminopropan (DLin-2-DMAP), 1,2-dilinoleyloxy-3-trimethylaminopropanchloridová sůl (DLin-TMA.Cl), 1,2-dilinoleoyl-3-trimethylaminopropanchloridová sůl (DLin-TAP.Cl), 1,2-dilinoleyloxy-3-(N-methylpiperazino)propan (DLin-MPZ) nebo 3-(N,N-dilinoleylamino)-1,2-propanediol (DLinAP), 3-(N,N-dioleylamino)-1,2-propanediol (DOAP), 1,2-dilinoleyloxy-3-(2-N,N-dimethylamino)ethoxypropan (DLin-EG-DMA), 1,2-dilinolenyloxy-N,N-dimethylaminopropan (DLinDMA), 2,2-dilinoleyl-4-dimethylaminomethyl-[1,3]-dioxolan (DLin-K-DMA) nebo jejich analoga, (3aR,5s,6aS)-N,N-dimethyl-2,2-di((9Z,12Z)-oktadeca-9,12-dienyl)tetrahydro-3aH-cyklopenta[d][1,3]dioxol-5-amin (ALN100), (6Z,9Z,28Z,31 Z)-heptatriakonta-6,9,28,31-tetraen-19-yl 4-(dimethylamino)butanoát (MC3), 1,1'-(2-(4-(2-((2-(bis(2-hydroxydodecyl)amino)ethyl)(2-hydroxydodecyl)amino)ethyl)piperazin-1-yl)ethylazanediy)didodecan-2-ol (Tech G1) nebo jejich směs. Kationtový lipid může tvořit od asi 20 mol. % do asi 50 mol. % nebo asi 40 mol. % celkového obsahu lipidu přítomného v částici.

V jednom provedení k přípravě nanočástic lipid-siRNA může být použita sloučenina 2,2-dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolan. Syntéza 2,2-dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolanu je popsána v provizorní patentové přihlášce US 61/107,998 podané 23. října 2008, která je zde uvedena jako odkaz.

V jednom provedení částice lipid-siRNA obsahuje 40 % 2,2-dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolanu; 10 % DSPC; 40 % cholesterolu; 10 % PEG-C-DOMG (molární procenta), a mají velikost $63,0 \pm 20$ nm a poměr siRNA/lipid rovný 0,027.

Nekationtovým lipidem může být aniontový lipid nebo neutrální lipid zahrnující neomezujícím způsobem distearoylfosfatidylcholin (DCPC), dioleoylfosfatidylcholin (DOPC), dipalmitoylfosfatidylcholin (DPPC), dioleoylfosfatidylglycerol (DOPG), dipalmitoyl-fosfatidylglycerol (DPPG), dioleoylfosfatidylethanolamin (DOPE), palmitoyloleoyl-fosfatidylcholin (POPC), palmitoyloleoylfosfatidylethanolamin (POPE), dioleoylfosfatidylethanolamin 4-(N-maleimidomethyl)cyklohexan-1-karboxylát (DOPE-mal),

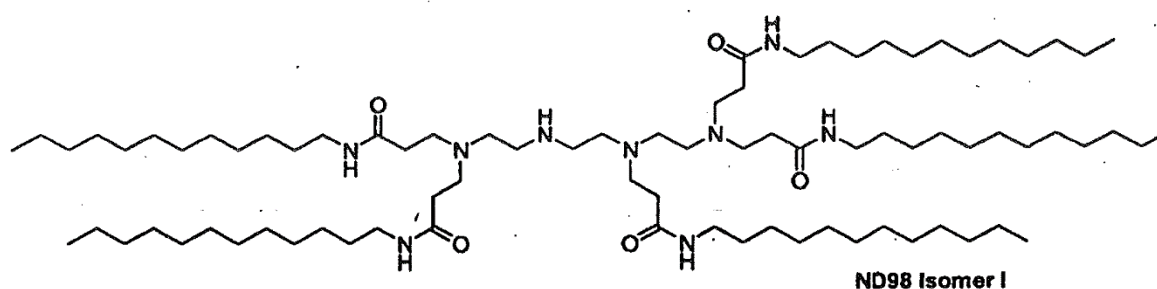
dipalmitoylfosfatidylethanolamin (DPPE), dimyristoylfosfoethanolamin (DMPE), distearoylfosfatidylethanolamin (DSPE), 16-O-monomethyl-PE, 16-O-dimethyl PE, 18-1 -trans PE, 1-stearoyl-2-oleoylfosfatidylethanolamin (SOPE), cholesterol nebo jejich směs. Nekationový lipid může tvořit od asi 5 mol. % do asi 90 mol. %, asi 10 mol. % nebo asi 58 mol. %, je-li zahrnut cholesterol, celkového obsahu lipidů přítomného v částici.

Konjugovaným lipidem, který inhibuje agregaci částic, může být například polyethylenglykol (PEG)-lipid zahrnující neomezujícím způsobem PEG-diacylglycerol (DAG), PEG-dialkyloxypropyl (DAA), PEG-fosfolipid, PEG-ceramid (Cer) nebo jejich směs. Konjugátem PEG-DAA může být například PEG-dilauryloxypropyl (C₂), PEG-dimyristyloxypropyl (C₄), PEG-dipalmitoxypropyl (C₆), nebo PEG-distearoxypropyl (C₈). Konjugovaný lipid, který inhibuje agregaci částic, může tvořit od 0 mol. % do asi 20 mol. % nebo asi 2 mol. % celkového obsahu lipidů přítomného v částici.

V některých provedeních částice kyselina nukleová-lipid dále obsahuje cholesterol, tvořící například asi 10 mol. % až asi 60 mol. % nebo asi 48 mol. % celkového obsahu lipidů přítomného v částici.

LNP01

V jednom provedení k přípravě nanočástic lipid-siRNA (tj částic LNP01 mohou být použity lipidoid ND98-4HCl (MW 1487) (vzorec 1), cholesterol (Sigma-Aldrich) a PEG-Ceramid C16 (Avanti Polar Lipids). Zásobní roztoky každé z látek mohou být připraveny následujícím způsobem: ND98, 133 mg/ml; cholesterol, 25 mg/ml, PEG-Ceramid C16, 100 mg/ml. Zásobní roztoky ND98, cholesterolu a PEG-Ceramidu C16 mohou být potom sloučeny například v molárním poměru 42:48:10. Kombinovaný lipidový roztok může být potom smíšen s vodnou siRNA (například v octanu sodném, pH 5) tak, aby finální ethanolová koncentrace činila asi 35-45 % a finální koncentrace octanu sodného činila asi 100-300 mM. Po smíšení se typicky spontánně vytvoří nanočástice lipid-siRNA. V závislosti na požadované distribuci velikosti částic může být rezultující nanočásticová směs vytlačena skrze polykarbonátovou membránu (například se separační mezí 100 nm) za použití například termobarelového extrudéru, jakým je vytlačovací stroj Lipex Extruder (Northern Lipids, Inc.). V některých případech může být vytlačovací krok vypuštěn. Odstranění ethanolu a současná výměna pufru mohou být provedeny například dialýzou nebo tangenciální proudovou filtrací. Pufry může být například zaměněn za fosfátem pufrovaný solný roztok (PBS) s asi pH 7, například s pH asi 6,9, s pH asi 7,0, s pH asi 7,1, s pH asi 7,2, s pH asi 7,3 nebo s pH asi 7,4.



Vzorec 1

LNP01 formulace jsou popsané například v mezinárodní zveřejněné přihlášce WO 2008/042973.

Dodatečné příkladné formulace lipid-siRNA jsou následující:

	Kationtový lipid	kationtový lipid/nekationtový lipid/cholesterol/PEG-lipidový konjugát; poměr lipid:siRNA	Způsob
SNALP	1,2-Dilinolenyloxy-N,N-dimethylaminopropan (DLinDMA)	DLinDMA/DPPC/Cholesterol/PEG-cDMA	
		(57.1/7.1/34.4/1.4)	
		lipid:siRNA ~ 7:1	
SNALP	2,2-Dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolan (XTC)	XTC/DPPC/Cholesterol/PEG-cDMA	
		57.1/7.1/34.4/1.4	
		lipid:siRNA ~ 7:1	
LNP05	2,2-Dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolan (XTC)	XTC/DSPC/Cholesterol/PEG-DMG	Extruze
		57.5/7.5/31.5/3.5	
		lipid:siRNA ~ 6:1	
LNP06	2,2-Dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolan (XTC)	XTC/DSPC/Cholesterol/PEG-DMG	Extruze

	Kationtový lipid	kationtový lipid/nekationtový lipid/cholesterol/PEG-lipidový konjugát; poměr lipid:siRNA	Způsob
		57.5/7.5/31.5/3.5	
		lipid:siRNA ~ 11: 1	
LNP07	2,2-Dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolan (XTC)	XTC/DSPC/Cholesterol/PEG-DMG	In line
		60/7.5/31/1.5,	mísení
		lipid:siRNA ~ 6:1	
LNP08	2,2-Dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolan (XTC)	XTC/DSPC/Cholesterol/PEG-DMG	In line
		60/7.5/31/1.5,	mísení
		lipid:siRNA ~ 11:1	
LNP09	2,2-Dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolan (XTC)	XTC/DSPC/Cholesterol/PEG-DMG	In line
		50/10/38.5/1.5	mísení
		Lipid:siRNA 10:1	
LNP10	(3aR,5s,6aS)-N,N-dimethyl-2,2-di((9Z,12Z)-oktadeka-9,12-dienyl)tetrahydro-3aH-cyklopenta[d][1,3]dioxol-5-amin (ALN100)	ALN100/DSPC/Cholesterol/PEG-DMG	In line
		50/10/38.5/1.5	mísení
		Lipid:siRNA 10:1	
LNP11	(6Z,9Z,28Z,31Z)-heptatriakonta-6,9,28,31-tetraen-19-yl-4-(dimethylamino)butanoát (MC3)	MC-3/DSPC/Cholesterol/PEG-DMG	In line
		50/10/38.5/1.5	mísení
		Lipid:siRNA 10:1	
LNP12	1,1'-(2-(4-(2-((2-(bis(2-hydroxydodecyl)amino)ethyl)(2-	Tech G1/DSPC/Cholesterol/PEG-	In line
			mísení

	Kationtový lipid	kationtový lipid/nekationtový lipid/cholesterol/PEG-lipidový konjugát; poměr lipid:siRNA	Způsob
	hydroxydodecyl)amino)ethyl)piperazin-1-yl)ethylazandiyl)didodekan-2-ol (Tech G1)	DMG 50/10/38.5/1.5 Lipid:siRNA 10:1	

LNP09 formulace a formulace obsahující XTC jsou popsány například v provizorní přihlášce US ser.č. 61/239,686, podané 3. září 2009, která je zde uvedena jako odkaz. LNP11 formulace a formulace obsahující MC3 jsou popsány například v provizorní přihlášce US ser.č. 61/244,834 podané 22. září 2009.

Formulace připravené buď standardním, nebo extruze-prostým způsobem mohou být charakterizovány podobnými způsoby. Například jsou formulace typicky charakterizovány vizuálním pozorováním. Mělo by jít o bělavé průsvitné roztoky prosté agregátů nebo sedimentu. Velikost částic a distribuce velikosti částic lipidových nanočástic může být měřena rozptylem světla za použití například zařízení Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern, USA). Částice by měly mít velikost asi 20-300 nm, jako například velikost 40-100 nm. Distribuce velikosti částic by měla být jednomódová. Celková koncentrace siRNA ve formulaci, jakož i zachycená frakce se vyhodnocuje barvivovým exkluzním testem (dye exclusion assay). Vzorek formulované siRNA může být inkubován s barvivem vázajícím se k RNA, přičemž tímto barvivem je například Ribogreen (Molecular Probes) v přítomnosti nebo v nepřítomnosti povrchově aktivní látky rozrušující formulaci, kterou je například 0,5% Triton-X100. Celková siRNA ve formulaci může být stanovena signálem z vzorku obsahujícího povrchově aktivní látku, vztaženo ke standardní křivce. Zachycená frakce se stanoví odečtením "volného" obsahu siRNA (stanoveného měřením signálu při absenci povrchově aktivní látky) od celkového obsahu siRNA. Procentní zachycený podíl siRNA typicky je > 85 %. V případě SNALP formulace činí velikost částic alespoň 30 nm, alespoň 40 nm, alespoň 50 nm, alespoň 60 nm, alespoň 70 nm, alespoň 80 nm, alespoň 90 nm, alespoň 100 nm, alespoň 110 nm a alespoň 120 nm. Vhodným rozmezím je typicky asi alespoň 50 nm až asi alespoň 110 nm, asi alespoň 60 nm až asi alespoň 100 nm nebo asi alespoň 80 nm až asi alespoň 90 nm.

Kompozice a formulace pro orální podání zahrnují prášky nebo granule, mikročástice, nanočástice, suspenze nebo roztoky ve vodě nebo v nevodném prostředí, kapsle, gelové kapsle, sáčky, tablety nebo minitabety. Mohou být žádoucí zhutňovadla, látky modifikující chuť nebo vůni, ředidla, emulgátory, pomocná dispergační činidla nebo pojiva. V rámci některých provedení jsou orálními formulacemi formulace, ve kterých jsou dsRNAs definované podle vynálezu podány ve spojení s jedním nebo více činidly podporujícími penetraci, surfaktanty a chelatizačními činidly. Vhodné surfaktanty zahrnují mastné kyseliny a/nebo jejich estery nebo soli, žlučové kyseliny a/nebo jejich soli. Vhodné žlučové kyseliny zahrnují kyselinu chenodeoxycholovou (CDCA) a kyselinu ursodeoxychenodeoxycholovou (UDCA), kyselinu cholovou, kyselinu dehydrocholovou, kyselinu deoxycholovou, kyselinu gluccholovou, kyselinu glycholovou, kyselinu glykodeoxycholovou, kyselinu taurocholovou, kyselinu taurodeoxycholovou, tauro-24,25-dihydrofusidát sodný a glykodihydrofusidát sodný. Vhodné mastné kyseliny zahrnují kyselinu arachidonovou, kyselinu undekanovou, kyselinu olejovou, kyselinu kaprylovou, kyselinu kaprinovou, kyselinu myristovou, kyselinu palmitovou, kyselinu stearovou, kyselinu linoleovou, kyselinu linolenovou, dikaprát, trikaprát, monoolein, dilaurin, glyceryl-1monokaprát, 1-dodecylazacykloheptan-2-on, acylkarnitin, acylcholin nebo monoglycerid, diglycerid nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli (například sodné). V rámci některých provedení se použijí kombinace činidel podporujících penetraci, například mastné kyseliny/soli v kombinaci se žlučovými kyselinami/solemi. Příkladnou kombinací je kombinace sodné soli kyseliny laurové, kyseliny kaprinové a UDCA. Další látky zlepšující penetraci zahrnují polyoxyethylen-9-laurylether, polyoxyethylen-20-cetylether. dsRNAs definované v rámci vynálezu mohou být dodány orálně v granulované formě zahrnující rozprášené suché částice nebo uvedeny do komplexu za účelem tvorby mikro-nebo nanočástic. dsRNA-komplexující činidla zahrnují polyaminoacids; polyiminy; polyakryláty; polyalkylakryláty, polyoxethany, polyalkylkyanoakryláty; kationizované želatiny, albuminy, škroby, akryláty, polyethylenglykoly (PEG) a škroby; polyalkylkyanoakryláty; DEAE-derivatizované polyiminy, pollulany, celulózy a škroby. Vhodné komplexotvorná činidla zahrnují chitosan, N-trimethylchitosan, poly-L-lysin, polyhistidin, polyornithin, polysperminy, protamin, polyvinylpyridin, polythiodiethylaminomethylethylen P(TDAE), polyaminostyren (např. p-amino), poly(methylkyanoakrylát), poly(ethylkyanoakrylát), poly(butylkyanoakrylát), poly(isobutylkyanoakrylát), poly(isohexylkyanoakrylát), DEAE-methakrylát, DEAE-hexylakrylát, DEAE-akrylamid, DEAE-albumin a DEAE-dextran, polymethylakrylát,

polyhexylakrylát, kyselina poly(D,L-mléčná), kyselina poly(DL-mléčná-ko-glykolová (PLGA), alginát, a polyethylenglycol (PEG). Orální formulace pro deRNAs a jejich příprava jsou detailně popsány v patentu UD 6,887,906, ve zveřejněné přihlášce US č. 20030027780 a v patentu US 6,747,014, přičemž každý z těchto dokumentů je zde zahrnut formou odkazu.

Kompozice a formulace pro parenterální, intraparenchymální (do mozku), intrathekální, intraventrikulární nebo intrahepatické podání mohou zahrnovat sterilní vodné roztoky, které mohou rovněž obsahovat pufrů, ředidla a další vhodné přísady, jakými jsou neomezujičím způsobem látky zlepšující penetraci, nosičové sloučeniny a další farmaceuticky přijatelné nosiče nebo excipienty.

Farmaceutické kompozice podle popisu zahrnují, ale bez omezení, roztoky, emulze a formulace obsahující liposomy. Tyto kompozice mohou být připraveny z množiny složek, která neomezujičím způsobem zahrnuje předběžně připravené kapaliny, samo-emulgující pevné složky, samo-emulgující polopevné složky. Obzvláště výhodné jsou formulace zacílené na játra v případě, kdy se léčí hepatické poruchy, jakou je například hepatický karcinom.

Farmaceutické formulace podle tohoto vynálezu, které mohou být vhodně formulované v jednotkové dávkové formě, mohou být připraveny konvenčními technikami, které jsou velmi dobře známé ve farmaceutickém průmyslu. Takové techniky zahrnují krok převedení do styku účinných látek s farmaceutickým nosičem nebo nosiči nebo excipientem nebo excipienty. Obecně se takové formulace připravují jednotným a důkladným uvedením do styku účinných látek s kapalnými nosiči nebo s jemně rozduženými pevnými nosiči nebo s oběma typy těchto nosičů a následně případným tvarováním získaného produktu, je-li to žádoucí.

Kompozice podle tohoto vynálezu mohou být formulovány do některé z mnoha dávkových forem, jakými jsou neomezujičím způsobem tablety, kapsle, gelové kapsle, kapalné sirupy, měkké gely, čípky a klystýry. Kompozice podle tohoto vynálezu mohou být rovněž formulovány jako suspenze ve vodném, nevodném nebo smíšeném prostředí. Vodné suspenze mohou dále obsahovat látky, které zvyšují viskozitu suspenze, zahrnující například natriumkarboxymethylcelulózu, sorbitol a/nebo dextrans. Tato suspenze může rovněž obsahovat stabilizátory.

Emulze

Kompozice podle tohoto vynálezu mohou být připraveny a formulovány jako emulze. Emulzemi jsou typicky heterogenní systémy jedné kapaliny rozptýlené nebo dispergované v jiné kapalině ve formě kapiček, majících obvykle průměr přesahující 0,1 μm (Idson, v

Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1, str. 199; Rosoff, v Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1, str. 245; Block in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 2, str. 335; Higuchi et al., in Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, str. 301). Emulzemi jsou mnohdy dvoufázové systémy obsahující dvě nemísitelné kapalné fáze, které jsou důkladně promíšeny a dispergované jedna ve druhé. Obecně. mohou být emulze buď typu voda-v-oleji (w/o) nebo typu olej-ve-vodě (o/w). Když je vodná fáze jemně rozdužena a dispergována ve formě nepatrných kapiček v základní olejové fázi, potom je rezultující kompozice označena jako emulze voda-v-oleji (w/o). Alternativně, když je olejová fáze jemně rozdužena a dispergována ve formě nepatrných kapiček v základní vodné fázi, potom je rezultující kompozice označena jako emulze olej-ve-vodě (o/w). Emulze mohou obsahovat vedle dispergované fáze dodatečné složky a účinnou látku, která může být přítomna jako roztok ve vodné nebo olejové fázi nebo může být sama přítomna jako separátní fáze. Pokud je to zapotřebí, mohou být přítomné v emulzi i farmaceutické excipiernty, jakými jsou emulgátory, stabilizátory, barviva a antioxidanty. Farmaceutickými emulzemi mohou být rovněž vícečetné emulze, které jsou tvořeny více než dvěma fázemi, jakými jsou například emulze typu olej-ve-vodě-v-oleji (o/w/o) a emulze typu voda-v-oleji-ve-vodě (w/o/w). Takové komplexní formulace často poskytují určité výhody, kterých se nedosahuje v případě jednoduchých binárních emulzí. Vícečetné emulze, ve kterých individuální olejové kapičky emulze o/w zapouzdřují malé vodné kapičky tvoří emulze typu w/o/w. Stejně tak systém olejových kapiček zapouzdřených v globulích vody stabilizované v olejové kontinuální fázi poskytují emulzi typu o/w/o.

Emulze jsou charakterizované malou nebo žádnou termodynamickou stabilitou. Často je dispergovaná nebo diskontinuální fáze emulze velmi dobře dispergována v externí nebo kontinuální fázi a udržována v této formě pomocí emulgátorů nebo v důsledku viskozity formulace. Jedna nebo druhá fáze emulze může být polopevná nebo pevná, jak je tomu v případě emulze v masťových základech a ve formě krémů. Další způsoby stabilizace emulzí zahrnují použití emulgátorů, které mohou být zabudovány v jedné z fází emulze. Emulgátory mohou být zhruba klasifikovány do čtyř kategorií: syntetické surfaktanty, přírodně se vyskytující emulgátory, absorpční báze a jemně rozdužené pevné látky (Idson, in

Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1, str. 199).

Surfaktanty, které jsou rovněž známé jako povrchově aktivní látky, našly rozsáhlou použitelnost při formulování emulzí a jsou přehledně uvedeny v literatuře (Rieger, v Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1., str. 285; Idson, v Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, svazek 1, str. 199). Surfaktanty jsou typicky amfifilní a obsahují hydrofilní a hydrofobní část. Poměr hydrofilního charakteru k hydrofobnímu charakteru surfaktantu byl označen jako hydrtofilní/lipofilní rovnováha (HLB) a tento poměr představuje cenný nástroj pro kategorizaci a selekci surfaktantů při přípravě uvedených formulací. Surfaktanty mohou být klasifikovány do odlišných tříd na základě povahy hydrofilní skupiny jako: neionogenní, aniontové, kationtové a amfoterní surfaktanty (Rieger, v Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1, str. 285).

Přírodně se vyskytující emulgátory použité v emulzních formulacích zahrnují lanolin, včelí vosk, fosfatidy, lecitin a akácii. Absorpční báze mají hydrofilní vlastnosti, takže mohou nasát vodu k vytvoření emulzí typu w/o, které si ještě zachovávají jejich polopevnou konzistenci, a jsou jimi například bezvodý lanolin a hydrofilní vazelína z ropy. V případě jemně rozdužených pevných látek se rovněž ukázalo, že jsou dobrými emulgátory, zejména v kombinaci se surfaktanty a ve viskózních přípravcích. Tyto látky zahrnují polární anorganické pevné látky, jako hydroxidy těžkých kovů, nebobtnající hlínky jako bentonit, attapulgit, hektorit, kaolin, montmorillonit, koloidní křemičitan hlinitý a koloidní hlinitokřemičitan hořečnatý, pigmenty a nepolární pevné látky, jako uhlík nebo glyceryltristearát. V emulzních formulacích je rovněž zahrnut velký počet neemulgujících materiálů, které přispívají k požadovaným vlastnostem emulzí. Tyto materiály zahrnují tuky, oleje, vosky, mastné kyseliny, mastné alkoholy, mastné estery, zvlhčovačla, hydrofilní koloidy, konzervační prostředky a antioxidanty (Block, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1, str. 335; Idson, v Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1, str. 199).

Hydrofilní koloidy neboli hydrokoloidy zahrnují přírodně se vyskytující gummy a syntetické polymery, jako polysacharidy (například akácie, agar, kyselina alginová, karagenan, guarová guma, guma karaya a tragant), deriváty celulózy (například

karboxymethylcelulóza a karboxypropylcelulóza) a syntetické polymery (například karbomery, ethery celulózy a karboxyvinylkové polymery). Tyto látky dispegují nebo bobtnají ve vodě za tvorby koloidních roztoků, které stabilizují emulze vytvořením silných interfaciálních filmů okolo kapiček dispegované fáze a zvýšením viskozity externí fáze.

Poněvadž emulze často obsahují přísady, jako uhlohydráty, proteiny, steroly a fosfatidy, které mohou snadno podporovat mikrobiální růst, obsahují uvedené formulace často konzervační prostředky. Obvykle konzervační prostředky používané v emulzních formulacích zahrnují methylparaben, propylparaben, kvartérní amoniové soli, benzalkoniumchlorid, estery kyseliny p-hydroxybenzoové a kyselinu boritou. K emulzním formulacím se obvykle rovněž přidávají antioxidanty za účelem zabránění zhoršení kvality uvedených formulací. Používanými antioxidanty mohou být skavenžery volných radikálů, jako tokoferoly, alkylgaláty, butylovaný hydroxyanisol, butylovaný hydroxytoluen, nebo redukční činidla, jako kyselina askorbová a disířičitan sodný, a synergisté antioxidantů, jako kyselina citronová, kyselina vinná a lecitin.

Použití emulzních formulací dermatologicky, orálně a parenterálně, jakož i způsoby přípravy uvedených emulzních formulací byly přehledně popsány v literatuře (Idson, v *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199). Emulzní formulace pro orální dodávku byly v široké míře používané vzhledem ke snadnosti jejich formulování, jakož i s ohledem na jejich účinnost, pokud jde o jejich absorpci a biologickou dostupnost (Rosoff, v *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., objem 1, str. 245; Idson, v *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1, str. 199). Laxativa na minerálně-olejové bázi, v oleji rozpustné vitaminy a nutriční přípravky s vysokým obsahem tuku patří mezi látky, které se obvykle podávají orálně jako emulze typu o/w.

V jednom provedení kompozice dsRNAs a nukleových kyselin jsou formulovány jako mikroemulze. Mikroemulze může být definována jako systém vody, oleje a amfifilu, který je jediným opticky isotropním a termodynamicky stabilním roztokem (Rosoff, v *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1, str. 245). Typickými mikroemulzemi jsou systémy, které jsou připraveny nejdříve didpergováním oleje ve vodném roztoku povrchově aktivní látky a potom přidáním dostatečného množství čtvrté složky, kterou je obecně alkohol s mezilehlou délkou řetězce k vytvoření transparentního systému. Proto byly mikroemulze popsány jako termodynamicky

stabilní, isotropicky čiré disperze dvou nemísitelných kapalin, které jsou stabilizované interfaciálními filmy povrchově aktivních molekul (Leung and Shah, v: *Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems*, Rosoff, M., Ed., 1989, VCH Publishers, New York, strany 185-215). Mikroemulze se obecně připraví sloučením tří až pěti komponent, které zahrnují olej, vodu, povrchově aktivní látku, ko-surfaktant a elektrolyt. To, zda je mikroemulze typu voda-v-oleji (w/o) nebo typu olej-ve-vodě (o/w), závisí na vlastnostech použitého oleje a surfaktantu a na struktuře a geometrickém obalu polárních hlav a uhlovodíkových ocasů molekul surfaktantu (Schott, v *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, str.. 271).

Byl rozsáhle studován fenomenologický přístup využívající fázové diagramy a tento přístup poskytl pro odborníka v daném oboru srozumitelnou instrukci o tom, jak formulovat mikroemulze (Rosoff, v *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1, str. 245; Block, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel-Dekker, Inc., New York, N.Y., svazek 1, str. 335). Ve srovnání s konvenčními emulzemi nabízejí mikroemulze výhodu solubilizace ve vodě nerozpustných účinných látek ve formulaci termodynamicky stabilních kapiček, které se tvoří spontánně.

Surfaktanty použité při přípravě mikroemulzí neomezujícím způsobem zahrnují iontové surfaktanty, neionogenní surfaktanty, Brij 96, polyoxyethylenoleylethery, polyglycerolestery mastných kyselin, tetraglycerolmonolaurát (ML310), tetraglycerolmonooleát (MO310), hexaglycerolmonooleát (PO310), hexaglycerolpentaoleát (PO500), dekglycerolmonokaprát (MCA750), dekglycerolmonooleát (MO750), dekglycerol-seskvioleát (SO750), dekglyceroldekaoleát (DAO750), a to samotné nebo v kombinaci s ko-surfaktanty. Ko-surfaktantem je obvykle alkohol s krátkým řetězcem, jako ethanol, 1-propanol a 1-butanol, který slouží ke zvýšení meziflošné tekutosti proniknutím do surfaktantového filmu a tudíž vytvořením neuspořádaného filmu v důsledku prázdného prostoru vytvořeného mezi molekulami surfaktantu. Mikroemulze mohou být nicméně připraveny bez použití ko-surfaktantů, přičemž v daném oboru jsou známé bezalkoholové samo-emulgující mikroemulzní systémy. Vodnou fází může být neomezujícím způsobem voda, vodný roztok účinné látky, glycerol, PEG300, PEG400, polyglyceroly, polypropylen glykoly a deriváty ethylenglykolu. Olejová fáze může neomezujícím způsobem zahrnovat materiály jako Captex 300, Captex 355, Capmul MCM, estery mastných kyselin, mono-, di- a triglyceridy, polyoxyethylované estery mastných kyselin, mastné alkoholy,

polyglykolizované glyceridy, nasycené polyglykolizované C8-C10 glyceridy, rostlinné oleje a silikonový olej.

Mikroemulze jsou zejména zajímavé z hlediska solubilizace účinné látky a zlepšené absorpce účinné látky. Mikroemulze na bázi lipidů (jak typu o/w, tak typu w/o) byly navrženy pro zlepšení orální biologické dostupnosti účinných látek zahrnujících peptidy (Constantinides et al., *Pharmaceutical Research*, 1994, 11, 1385-1390; Ritschel, *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 1993, 13, 205). Mikroemulze poskytují výhodu zlepšené solubilizace účinných látek, ochrany účinných látek před enzymatickou hydrolýzou, možného zlepšení absorpce účinných látek v důsledku změny v membránové fluiditě a permeabilitě indukované surfaktantem, snadné přípravy, snadného orálního podání oproti pevným dávkovým formám, zlepšené klinické potence a snížené toxicity (Constantinides et al., *Pharmaceutical Research*, 1994, 11, 1385; Ho et al., *J. Pharm. Sci.*, 1996, 85, 138-143). Mnohdy se mikroemulze mohou vytvořit spontánně, když jsou jejich složky uvedeny do vzájemného styku při okolní teplotě. To může být obzvláště výhodné, když jsou formulovány tepelně labilní účinné látky, peptidy nebo dsRNA. Mikroemulze byly rovněž účinné při transdermální dodávce účinných látek při kosmetických a farmaceutických aplikacích. Očekává se, že mikroemulzní kompozice a formulace podle vynálezu umožní zvýšenou systemickou absorpci dsRNAs a nukleových kyselin z gastrointestinálního traktu, jakož i zlepšenou buněčnou absorpci dsRNAs a nukleových kyselin.

Mikroemulze podle vynálezu mohou rovněž obsahovat dodatečné složky, jako sorbitanmonostearát (Grill 3), Labrasol a látky zlepšující penetraci za účelem zlepšení vlastností formulace a zlepšení absorpce dsRNAs a nukleových kyselin podle vynálezu. Látky zlepšující penetraci použité v mikroemulzích podle tohoto vynálezu mohou být klasifikovány jako náležející do jedné z pěti širokých kategorií, kterými jsou surfaktanty, mastné kyseliny, žlučové kyseliny, chelatační činidla a nechelatační ne-surfaktanty (Lee et al., *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, str. 92). Každá z těchto tříd byla diskutována výše.

Látky zlepšující penetraci

V jednom provedení předkládaný vynález využívá různé látky zlepšující penetraci za účelem dosažení účinné dávky nukleových kyselin, zejména dsRNA do kůže živočichů. Většina účinných látek je přítomna v roztoku v ionizované a neionizované formě. Avšak obvykle pouze účinné látky rozpustné v lipidech neboli lipofilní účinné látky snadno procházejí buněčnými membránami. Bylo zjištěno, že dokonce i nelipofilní účinné látky

mohou projít buněčnými membránami v případě, že membrána, která má být překonána, je ošetřena látkami zlepšujícími penetraci. Vedle podpoření difúze nelipofilních účinných látek skrze buněčné membrány zlepšují látky zlepšující penetraci také permeabilitu lipofilních účinných látek.

Látky zlepšující penetraci mohou být klasifikovány jako náležející do jedné z pěti širokých kategorií, kterými jsou surfaktanty, mastné kyseliny, žlučové kyseliny, chelatační činidla a nechelatační ne-surfaktanty (Lee et al., *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, p.92). Každá z výše uvedených tříd látek zlepšujících penetraci je detailněji popsána v další části popisu.

Surfaktanty: V souvislosti s překládaným vynálezem, surfaktanty (nebo "povrchově aktivní činidla") jsou chemické látky, které, když jsou rozpuštěny ve vodném roztoku, snižují povrchové napětí roztoku nebo meziplošné napětí mezi vodným roztokem a další kapalinou, což má za následek skutečnost, že dochází ke zlepšení absorpce dsRNA skrze mukózu. Vedle solí žlučových kyselin a mastných kyselin tyto látky zlepšující penetraci zahrnují například laurylsulfát sodný, polyoxyethylen-9-lauryl- ether a polyoxyethylen-20-cetyleter (Lee et al., *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, str. 92); a perfluorochemické emulze, jako FC-43. Takahashi et al., *J. Pharm. Pharmacol.*, 1988,40, 252).

Mastné kyseliny: Různé mastné kyseliny a jejich deriváty, které působí jako látky zlepšující penetraci, zahrnují například kyselinu olejovou, kyselinu laurovou, kyselinu kaprinovou (n-dekanová kyselina), kyselinu myristovou, kyselinu palmitovou, kyselinu stearovou, kyselinu linoleovou, kyselinu linolenovou, dikaprát, trikaprát, monoolein (1-monooleoyl-rac-glycerol), dilaurin, kyselinu kaprylovou, kyselinu arachidonovou, glycerol-1-monokaprát, 1-dodecylazacykloheptan-2-on, acylkarnitiny, acylcholinu, jejich C-substituované 1-10-alkylestery (například jejich methyl-, isopropyl- a t-butylestery) a jejich mono- a diglyceridy (tj. oleát, laurát, kaprát, myristát, palmitát, stearát, linoleát, atd.) (Lee et al., *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, p.92; Muranishi, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1990, 7, 1-33; El Hariri et al., *J. Pharm. Pharmacol.*, 1992, 44, 651-654).

Žlučové kyseliny: Fyziologická úloha žluče zahrnuje usnadnění disperze a absorpce lipidů a vitaminů rozpustných v tucích (Brunton, Chapter 38 in: Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9th Ed., Hardman et al. Eds., McGraw-Hill, New York, 1996, str. 934-935). Různé soli žlučových kyselin a jejich syntetické deriváty působí jako látky zlepšující penetraci. Takto výraz "žlučové soli" zahrnuje libovolnou z přírodně se

vyskytujících komponent žluči, jakož i libovolných z jejich syntetických derivátů. Vhodné žlučové soli zahrnují například kyselinu cholovou (nebo její farmaceuticky přijatelnou sodnou sůl, cholát sodný), kyselinu dehydrocholovou (dehydrocholát sodný), kyselinu deoxycholovou (deoxycholát sodný), kyselinu glucolovou (glucholát sodný), kyselinu glycholovou (glycholát sodný), kyselinu glukodeoxycholovou (glukodeoxycholát), kyselinu taurocholovou (taurocholát) kyselinu taurodeoxycholovou (taurodeoxycholát), kyselinu chenodeoxycholovou (chenodeoxycholát), kyselinu ursodeoxycholovou (UDCA), tauro-24,25-dihydrofusidát (STDHF), glykodi hydrofusidát sodný a polyoxyethylen-9-laurylether (POE) (Lee et al., *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, strana 92; Swinyard, Chapter 39 In: *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Ed., Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990, strany 782-783; Muranishi, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1990, 7, 1-33; Yamamoto et al., *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1992, 263, 25; Yamashita et al., *J. Pharm. Sci.*, 1990, 79, 579-583).

Chelatační činidla: Chelatační činidla ve významu souvisejícím s tímto vynálezem mohou být definována jako sloučeniny, které odstraňují kovové ionty z roztoku tvorbou jejich komplexů, což má za následek zlepšenou absorpci dsRNAs skrze mukózu. Pokud jde o jejich použití v rámci vynálezu jako látek zlepšujících penetraci, mají chelatační činidla dodatečnou výhodu v tom, že rovněž slouží jako DNázové inhibitory, neboť většina charakterizovaných DNA nukleáz potřebuje pro katalýzu dvouvalenční kovový iont a tyto nukleázy jsou takto inhibovány chelatačními činidly (Jarrett, *J. Chromatogr.*, 1993, 618, 315-339). Vhodná chelatační činidla zahrnují neomezujícím způsobem dvousodnou sůl kyseliny ethylendiamin-tetraoctové (EDTA), kyselinu citronovou, salicyláty (například salicylát sodný, 5 methoxysalicylát a homovanilát), N-acylderiváty kolagenu, laureth-9- a N-aminoacylderiváty beta-diketonů (enaminy) (Lee et al., *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, str. 92; Muranishi, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1990, 7, 1-33; Buur et al., *J. Control Rel.*, 1990, 14, 43-51).

Nechelatační ne-surfaktanty: Ve zde použitém významu mohou být ne-chelatační ne-surfaktantové penetraci-zlepšující sloučeniny definovány jako sloučeniny, které vykazují nevýznamnou aktivitu jako chelatační činidla nebo jako surfaktanty, avšak které nicméně zlepšují absorpci dsRNAs skrze alimentární mukózu (Muranishi, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1990, 7, 1-33). Tato třída látek zlepšujících penetraci zahrnuje například nenasycené cyklické močoviny, 1-alkyl- a 1-alkenylazacykloalkanonové deriváty (Lee et al., *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, strana 92); a

nesteroidní protizáněťová činidla, jako diclofenac-sodium, indomethacin a fenylbutazon (Yamashita et al., J. Pharm. Pharmacol., 1987, 39, 621-626).

Nosiče

Některé kompozice podle tohoto popisu rovněž zahrnují ve formulaci nosičové sloučeniny. Zde použitý výraz "nosičová sloučenina" nebo "nosič" se může vztahovat k nukleové kyselině nebo k jejímu analogu, kterážto kyselina je inertní (to znamená, že sama o sobě nemá biologickou aktivitu), avšak je rozpoznána jako nukleová kyselina in vivo procesy, které snižují biologickou dostupnost nukleové kyseliny mající biologickou dostupnost, například degradací biologicky aktivní nukleové kyseliny nebo podpořením jejího odstranění z oběhu. Také současné podání nukleové kyseliny a nosičové sloučeniny, typicky za použití nadbytku posledně uvedené sloučeniny může mít za následek podstatné snížení množství nukleové kyseliny získané zpět v játrech, ledvinách nebo jiných mimooběhových zásobnících, domněle v důsledku kompetice mezi nosičovou sloučeninou a nukleovou kyselinou pro společný receptor. Například regenerace části fosforothioát-dsRNA v hepatické tkáni může být snížena, když je nukleová kyselina společně podána s kyselinou polyinosinovou, dextranulfátem, kyselinou polycytidinovou nebo s kyselinou 4-acetamido-4'-isothiokyanostilben-2,2'-disulfonovou (Miyao et al., DsRNA Res. Dev., 1995, 5, 115-121; Takakura et al., DsRNA & Nucl. Acid Drug Dev., 1996, 6, 177-183).

Excipienty

Na rozdíl od nosičové sloučeniny je "farmaceutický nosič" nebo "excipient" farmaceuticky přijatelným rozpouštědlem, suspenzačním činidlem nebo libovolným jiným farmakologicky inertním vehikulem pro dodávku jedné nebo více nukleových kyselin živočichovi. Tento excipient může být kapalný nebo pevný a je zvolen s ohledem na zamýšlený způsob podání tak, aby poskytl požadovaný objem, požadovanou konzistenci, atd., když je sloučen s nukleovou kyselinou a s ostatními složkami dané farmaceutické kompozice. Typické farmaceutické nosiče neomezujícím způsobem zahrnují pojivová činidla (například předželatinizovaný škrob, polyvinylpyrrolidon nebo hydroxypropylmethylcelulózu, atd.); plniva (například laktózu a další cukry, mikrokrystalickou celulózu, pektin, želatinu, síran vápenatý, ethylcelulózu, polyakryláty nebo hydrogensodforečnan vápenatý, atd.); maziva (například stearát hořečnatý, talek, siliku, koloidní oxid křemičitý, kyselinu stearovou, stearáty kovů, hydrogenované rostlinné oleje, kukuřičný škrob, polyethylenglykoly, benzoát sodný, octan sodný, atd.)+ dezintegranty (například škrob, škrobglykolát sodný, atd.); a smáčecí činidla (například laurylsulfát sodný, atd.).

K formulování kompozic podle tohoto vynálezu mohou být rovněž použity farmaceuticky přijatelné organické nebo anorganické excipienty vhodné pro neparenterální podání, které nežádoucím způsobem nereagují s nukleovými kyselinami. Takové vhodné farmaceuticky přijatelné nosiče neomezujícím způsobem zahrnují vodu, solné roztoky, alkoholy, polyethylenglykoly, želatinu, laktózu, amylózu, stearát hořečnatý, talek, kyselinu křemičitou, viskózní parafin, hydroxymethylcelulózu, polyvinylpyrrolidon a podobně.

Formulace pro topické podání nukleových kyselin mohou zahrnovat sterilní a nesterilní vodné roztoky, nevodné roztoky v obvyklých rozpouštědlech, jakými jsou alkoholy, nebo roztoky nukleových kyselin v kapalných nebo pevných olejových základech. Roztoky mohou obsahovat pufrы, ředidla a další vodné přísady. Mohou být použity farmaceuticky přijatelné organické nebo anorganické excipienty vhodné pro neparenterální podání, které nežádoucím způsobem nereagují s nukleovými kyselinami.

Vhodné farmaceuticky přijatelné excipienty zahrnují neomezujícím způsobem vodu, solné roztoky, alkohol, polyethylenglykoly, želatinu, laktózu, amylózu, stearát hořečnatý, talek, kyselinu křemičitou, viskózní parafin, hydroxymethylcelulózu, polyvinylpyrrolidon a podobně.

Ostatní složky

Kompozice podle tohoto popisu mohou dodatečně obsahovat další pomocné komponenty, které konvenčně nacházejí použití ve farmaceutických kompozicích v jejich množstvích, která jsou rutinně používána v daném oboru. Takto mohou kompozice například obsahovat dodatečné, kompatibilní, farmaceuticky účinné materiály, jakými jsou například antipruritika, antistringenty, lokální anestetika nebo protizáněťová činidla, nebo mohou obsahovat dodatečné látky užitečné při fyzikálním formulování různých dávkových forem kompozic podle vynálezu, jakými jsou barviva, látky modifikující chuť a vůni, konzervační činidla, antioxidanty, látky generující opacitu, zhutňovací činidla a stabilizátory. Nicméně takové látky, pokud jsou přidány, by neměly nežádoucím způsobem interferovat s biologickými aktivitami složek kompozice podle tohoto vynálezu. Formulace mohou být sterilizované, a je-li to žádoucí, smíšeny s pomocnými činidly, jakými jsou například maziva, konzervační látky, stabilizátory, smáčecí činidla, emulgátory, soli modifikující osmotický tlak, pufrы, barvicí látky, látky modifikující chuť a/nebo aromatické látky a podobně, které nežádoucím způsobem neinterferují s nukleovou kyselinou nebo kyselinami formulace.

Vodné suspenze mohou obsahovat látky, které zvyšují viskozitu suspenze a které například zahrnují natriumkarboxymethylcelulózu, sorbitol a/nebo dextran. Suspenze může rovněž obsahovat stabilizátory.

V některých provedeních farmaceutické kompozice podle vynálezu zahrnují (a) jednu nebo více dsRNA sloučenin a (b) jedno nebo více anti-cytokinových biologických činidel, která působí ne-RNAi-mechanizmem. Příklady takových biologických činidel zahrnují biologická činidla, která jsou zacílena na IL1 β (například anakinra), IL6 (tocilizumab) nebo TNF (etanercept, infliximab, adlimumab nebo certolizumab).

Toxicita a terapeutická účinnost takových sloučenin může být stanovena standardními farmaceutickými postupy v buněčných kulturách nebo v pokusných zvířatech, jakými jsou například farmaceutické postupy stanovení LD50 (letální dávka pro 50 % populace) a ED50 (terapeuticky účinná dávka pro 50 % populace). Poměr mezi toxickým a terapeutickým účinkem je terapeutický index, který může být vyjádřen jako poměr LD50/ED50. Výhodné jsou sloučeniny, které vykazují vysoké terapeutické indexy.

Údaje získané z buněčných kultivačních testů a zvířecích studií mohou být použity pro formulování rozmezí dávek použitelných u lidí. Dávka kompozic definovaných v rámci vynálezu leží obvykle v rozmezí oběhových koncentrací, které zahrnují ED50 s nízkou nebo žádnou toxicitou. Dávka v tomto rozmezí se může měnit v závislosti na použité dávkové formě a na použitém způsobu podání. Pro libovolnou sloučeninu použitou při způsobech definovaných v rámci vynálezu může být terapeuticky účinná látka prvotně předběžně určena z buněčných kultivačních testů. Dávka může být formulována v rámci zvířecích modelů k dosažení rozmezí oběhové plazmové koncentrace sloučeniny nebo, je-li to vhodné, peptidového produktu cílové sekvence (například dosažení snížené koncentrace polypeptidu), které zahrnuje IC50 (tj. koncentrace testované sloučeniny, při které se dosahuje poloviční z maximální inhibice symptomů) stanovenou v buněčné kultuře. Takové informace mohou být použity k přesnějšímu určení vhodných dávek u lidí. Hladiny v plazmě mohou být měřeny například vysoko výkonnou kapalinovou chromatografií.

Kromě jejich výše diskutovaného podání mohou být dsRNA definované v rámci vynálezu podány v kombinaci s dalšími známými činidly účinnými při léčení patologických procesů mediovaných TTR expresí. V každém případě může praktický lékař určující dané podání nastavit množství dávky a časování dávkování daného podání dsRNA na základě výsledků pozorovaných za použití standardních měření účinnosti, která jsou známa v dané oblasti nebo která jsou zde popsána.

Způsoby léčení nemocí způsobených expresí TTR genu

Popis se týká zejména použití dsRNA, jejichž cílem je TTR, a kompozic obsahujících alespoň jednu takovou dsRNA pro léčení TTR-mediované poruchy nebo nemoci. Například dsRNA zacilující TTR gen může být vhodná pro léčbu TTR amyloidózy, zvolené z dědičné amyloidní polyneuropatie (FAP), dědičné amyloidní kardiomyopatie (FAC), leptomeningeální/CNS amyloidózy, amyloidózy formy VII (rovněž známé jako leptomeningeální nebo meningocerebrovaskulární amyloidóza), hypertyroxinemie, srdeční amyloidózy (rovněž označované jako senilní systemická amyloidóza (SSA) a senilní srdeční amyloidózy (SCA).

Obr. 15 ilustruje symptomy a mutace TTR asociovaného s dědičnou amyloidní neuropatií, dědičnou amyloidní kardiomyopatií a CNS amyloidózou. Vynález zahrnuje kompozice a způsoby léčení těchto nemocí a symptomů a je zaměřen na tyto mutantní verze TTR.

dsRNA zaměřující TTR gen je rovněž použita pro léčení symptomů a poruch, jakou je TTR amyloidóza. Symptomy související s takovou amyloidózou zahrnují například záchvaty, demenci, myelopatii, polyneuropatii, syndrom karpálního tunelu, autonomní nedostatečnost, kardiomyopatii, gastrointestinální dysfunkci (například žaludeční vředy, průjem, zácpa, malabsorpční syndrom), úbytek hmotnosti, hepatomegalii, lymfadenopatii, strumu, zakalení sklivce, ledvinovou nedostatečnost (zahrnující proteinurii a selhání ledvin), neuropatii, kraniální nervovou dysfunkci, dystrofii korneální mřížky, a městnavé srdeční selhání s obecnou slabostí a dýchacími obtížemi způsobenými zadržením tekutiny.

Vzhledem k inhibičním účinkům na TTR expresi může kompozice podle vynálezu nebo z ní připravená farmaceutická kompozice zlepši kvalitu života.

Popis se dále týká použití dsRNA nebo její farmaceutické kompozice, například pro léčení TTR amyloidózy, v kombinaci dalšími farmaceutickými a/nebo dalšími terapeutickými způsoby, například se známými farmaceutickými a/nebo známými terapeutickými způsoby, jakými jsou například způsoby, které jsou běžně používány pro léčení uvedených poruch. V rámci jednoho příkladu může být dsRNA zaměřující TTR podána v kombinaci s játrovým transplantátem. V rámci jiných příkladů může být dsRNA zaměřující TTR podána v kombinaci s farmaceutickým nebo terapeutickým způsobem pro léčení symptomu TTR nemoci, jakým je podání diuretik, ACE (enzym konvertující angiotensin) inhibitorů, blokátorů angiotensinového receptoru (ARBs) nebo použití dialýzy, například za účelem stabilizace funkce ledvin.

dsRNA a dodatečné terapeutické činidlo mohou být podány v jedné a téže kombinaci, například parenterálně, nebo může být dodatečné terapeutické činidlo podáno jako součást separátní kompozice nebo jiným zde popsaným způsobem.

Popis zahrnuje způsob podání dsRNA zaměřující TTR pacientovi trpícímu nemocí nebo poruchou mediovanou TTR expresí, jakou je TTR amyloidóza, například FAP. Podání dsRNA může stabilizovat a zlepšit periferní neurologickou funkci, například u pacienta trpícího nemocí FAP. Pacientovi může být podáno terapeutické množství dsRNA, jako 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,5 mg/kg, 2,0 mg/kg nebo 2,5 mg/kg dsRNA. dsRNA může být podána intravenózní infúzí v průběhu určité časové periody, jako v průběhu 5 minut, 10 minut, 15 minut, 20 minut, 25 minut, 60 minut, 120 minut nebo 180 minut. Podání se opakuje, například pravidelně, jako například za dva týdny (to znamená každé dva týdny), jednou měsíčně, vždy za dva měsíce, tři měsíce, čtyři měsíce nebo po ještě delší době. Po absolvování výchozího léčebného režimu může být léčení aplikováno méně často. Například po vždy dvoutýdením podání po dobu tří měsíců může být podání opakováno jednou za měsíc, jednou za šest měsíců nebo jednou za rok nebo za ještě delší dobu. Podání dsRNA může snížit TTR hladinu v krvi nebo moči pacienta o alespoň 20 %, o alespoň 25 %, o alespoň 30 %, o alespoň 40 %, o alespoň 50 %, o alespoň 60 %, o alespoň 70 %, o alespoň 80 % nebo o alespoň 90 % nebo o ještě více.

Před podáním plné dávky dsRNA může být pacientovi podána menší dávka, jakou je dávka odpovídající 5 % plné dávky, přičemž se monitorují nežádoucí účinky, jakými jsou například alergická reakce nebo změna funkce jater. Například u pacientů monitorovaných na změny funkce jater, je přijatelný malý rozsah změny LFT (test jaterní funkce) (například 10-20% změna LFT), (jako například reverzibilní trojnásobné zvýšení hladin ALT (alaninaminotransferáza) a/nebo AST (aspartát-aminotransferáza).

Mnohé TTR-související nemoci a poruchy jsou dědičné. Proto může být pacient potřebující léčbu pomocí TTR dsRNA identifikován podle rodinné historie. Osoby poskytující péči, jako například doktor, zdravotní sestra nebo člen rodiny, mohou prošetřit rodinnou historii ještě před předepsáním nebo podáním TTR dsRNA. U pacienta může být rovněž proveden DNA test za účelem identifikace mutace v TTR genu a to opět ještě předtím, než je TTR dsRNA podána pacientovi.

Pacient může podstoupit biopsii ještě předtím, než je mu podána TTR dsRNA. Taková biopsie může být provedena na tkáni, jakou je žaludeční sliznice, periferní nerv, kůže abdominální tuk, játro nebo ledvina, přičemž biopsie může odhalit amyloidní plaky, které jsou

kazatelem TTR-mediované poruchy. Po identifikaci amyloidních plaků je pacientovi podána TTR dsRNA.

Způsoby inhibice exprese TTR genu

V ještě dalším aspektu popis poskytuje způsob inhibice exprese TTR genu u savce. Tento způsob zahrnuje podání kompozice definované podle vynálezu savci tak, že se potlačí exprese cílového TTR genu.

Když je organizmem určeným k léčení savec, jako člověk, může být kompozice podána libovolným způsobem známým v daném oboru a zahrnujícím neomezujícím způsobem orální nebo parenterální podání, zahrnující intrakraniální podání (například intraventrikulární, intraparenchymální a intrathekální podání), intravenózní, intramuskulární, subkutánní, transdermální podání, podání dýchacími cestami (aerosol), nasální, rektální a topické podání (například bukální a sublingválním podání). V rámci určitých provedení se uvedené kompozice podávají intravenózní infúzí nebo injekcí.

Pokud není uvedeno jinak, mají všechny zde uvedené technické a vědecké výrazy stejné významy, jak jsou obecně chápány odborníkem v oboru, do kterého tento vynález patří. V případě konfliktu předkládaný popis, včetně definic, bude kontrolován, Kromě toho materiály, způsoby a příklady jsou pouze ilustrativní a nejsou určeny k omezení.

PŘÍKLADY

Příklad 1. Syntéza dsRNA

Zdroj činidel

Pokud zde není specificky uveden zdroj určitého činidla, potom může být takové činidlo získáno od dodavatele činidel pro molekulární biologii v kvalitě/čistotě, která je standardní pro použití v molekulární biologii.

Syntéza siRNA

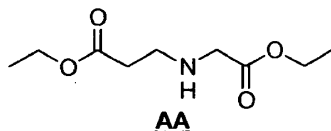
Jednovláknové RNAs byly produkovány syntézou v pevné fázi v měřítku 1 μ mol za použití syntetizátoru Expedite 8909 (Applied Biosystems, Applied Biosystems GmbH, Darmstadt, Německo) a skla s regulovanou porézností (CPG, 500Å, Proligo Biochemie GmbH, Hamburg, Německo) jako pevného nosiče. RNA a RNA obsahující 2'-O-methylnukleotidy byly generovány syntézou v pevné fázi za použití odpovídajících fosforamiditů respektive 2'-O-methylfosforamiditů (Proligo Biochemie GmbH, Hamburg, Německo). Tyto stavební bloky byly inkorporovány v selektivních místech do sekvence oligoribonukleotidového řetězce za použití standardní nukleosidové fosforamiditové chemie, například popsané v Current protocols in nucleic acid chemistry, Beaucage, S.L. et al. (Edrs.),

John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA. Fosforothioátové vazby byly zavedeny nahrazením jodového oxidačního roztoku roztokem Beaucage-ového činidla (Chruachem Ltd., Glasgow, UK) v acetonitrilu (1%) Další pomocná činidla byla získána od společnosti Mallinckrodt Baker (Griesheim, Německo).

Deprotekce a purifikace surových oligoribonukleotidů aniontovou iontoměničovou HPLC byly provedeny zavedenými postupy. Výtěžky a koncentrace byly stanoveny UV absorpcí roztoku příslušné RNA při vlnové délce 260 nm za použití spektrálního fotometru (DU 640B, Beckman Coulter GmbH, Unterschleissheim, Německo). Dvouvláknová RNA byla generována smíšením ekvimolárního roztoku komplementárních vláken v anealačním pufru (20 mM fosforečnan sodný, pH 6,8; 100mM chlorid sodný) zahřátém na vodní lázni na teplotu 85 - 90 °C po dobu 3 minut a potom ochlazeném na teplotu místnosti v průběhu 3 - 4 hodin. Anealovaný roztok RNA byl potom přechováván při teplotě -20 °C až do okamžiku jeho použití.

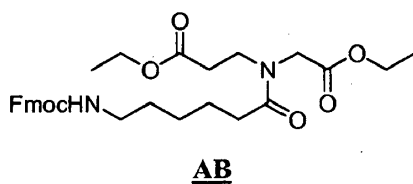
V případě syntézy s 3'-cholesterolem konjugované siRNA (zde uváděna jako -Chol-3') byl pro RNA syntézu použit příslušně modifikovaný pevný nosič. Tento pevný nosič byl připraven následujícím způsobem:

Diethyl-2-azabutan-1,4-dikarboxylát **AA**



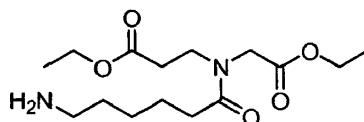
4,7M vodný roztok hydroxidu sodného (50 ml) byl přidán k míchanému, ledově chladnému roztoku hydrochloridu ethylglycinátu (32,19 g, 0,23 mol) ve vodě (50 ml). Potom byl přidán ethylakrylát (23,1 g, 0,23 mol) a směs byla míchána při teplotě místnosti až do ukončení reakce, které bylo potvrzeno chromatografií na tenké vrstvě TLC. Po 19 hodinách byl roztok rozdělen dichlormethanem (3 x 100ml). Organická vrstva byla vysušena nad bezvodým síranem sodným, zfiltrována a odpařena. Zbytek byl destilován k poskytnutí AA (28,8 g, 61 %).

Ethylester kyseliny 3-{ethoxykarbonylmethyl-[6-(9H-fluoren-9-ylmethoxykarbonylamino)hexanoyl]amino}propionové **AB**



Kyselina Fmoc-6-aminohexanová (9,12 g, 25,83 mmol) se rozpustí v dichlormethanu (50 ml) a získaný roztok se ochladí na ledu. K roztoku se přidá diisopropylkarbodiimid (3,25 g, 3,99 ml, 25,83 mmol) při teplotě 0 °C. Potom následuje přidání diethylazabuten-1,4-dikarboxylátu (5 g, 24,6 mmol) s dimethylaminopyridinu (0,305 g, 2,5 mmol). Roztok se přivede na teplotu místnosti a míchá dále po dobu 6 hodin. Ukončení reakce bylo určeno pomocí chromatografie na tenké vrstvě TLC. Reakční směs se zahustí za vakua a přidá se ethylacetát k vysrážení diisopropylmočoviny. Suspenze se zfiltruje. Filtrát se promyje 5% vodným roztokem kyseliny chlorovodíkové, 5% roztokem hydrogenuhličitanu sodného a vodou. Sloučená organická vrstva se vysuší nad síranem sodným a zahustí k získání surového produktu, který se přečistí sloupcovou chromatografií (50% EtOAc/hexany) k získání 11,87 g (88% výtěžek) produktu AB.

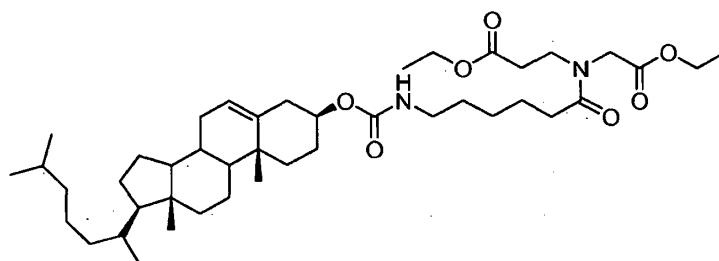
Ethylester kyseliny 3-[(6-aminohexanoyl)ethoxykarbonylmethylamino]propionové



AC

Ethylester kyseliny 3-{ethoxykarbonylmethyl-[6-(9H-fluoren-9-ylmethoxykarbonyl-amino)hexanoyl]amino}propionové AB (11,5 g, 21,3 mmol) se rozpustí ve 20% piperidinu v dimethylformamidu při teplotě 0 °C. V míchání roztoku se pokračuje po dobu jedné hodiny. Reakční směs se zahustí za vakua, ke zbytku se přidá voda a produkt se extrahuje ethylacetátem. Surový produkt se přečistí převedením na jeho hydrochloridovou sůl.

Ethylester kyseliny 3-({6-[17-(1,5-dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,-11,12,13,14,15,16,17-tetradekahydro-1H-cyklopenta[a]fenanthren-3-yloxykarbonylamino]-hexanoyl}ethoxykarbonylmethylamino)propionové AD

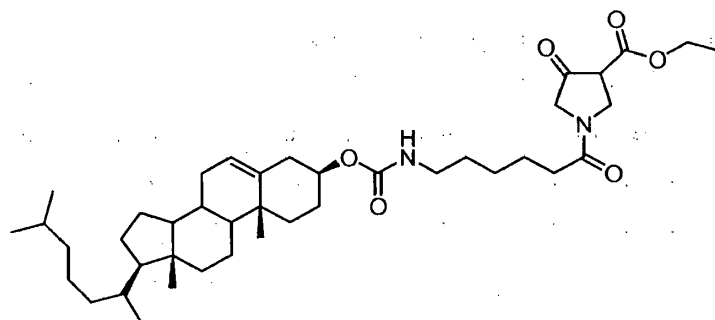


AD

Hydrochloridová sůl ethylesteru kyseliny 3-[(6-Amino-hexanoyl)-ethoxykarbonyl-methylamino]propionové AC (4,7 g, 14,8 mmol) se vyjme dichlormethanem. Suspenze se

ochladí na teplotu 0 °C na ledu. K suspenzi se přidá diisopropylamin (3,87 g, 5,2 ml, 30 mmol). K rezultujícímu roztoku se přidá cholesterylchlorformiát (6,675 g, 14,8 mmol). Reakční směs se míchá přes noc. Reakční směs se zředí dichlormethanem a promyje 10% kyselinou chlorovodíkovou. Produkt se přečistí mžíkovou chromatografií (10,3 g, 92% výtěžek).

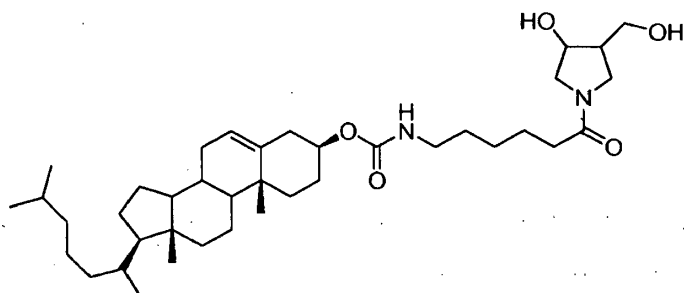
Ethylester kyseliny 1-{6-[17-(1,5-dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,-12,13,14,15,16,17-tetradekahydro-1H-cyklopenta[a]fenanthren-3-yloxykarbonylamino]hexanoyl}-4-oxopyrrolidin-3-karboxylové AE



AE

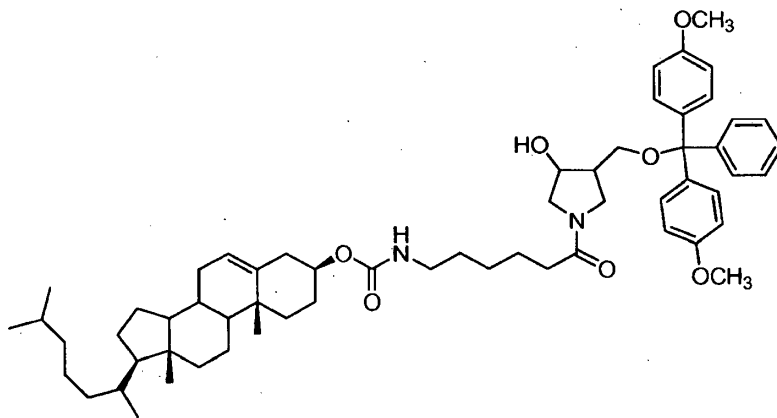
Terc-butoxid draselný (1,1 g, 9,8 mmol) se suspenduje ve 30 ml bezvodého toluenu. Směs se ochladí na teplotu 0 °C na ledu a pozvolna za míchání se přidá 5 g (6,6 mmol) diesteru AD v průběhu 20 minut. V průběhu přidávku se udržuje teplota nižší než 5 °C. V míchání se pokračuje po dobu 30 minut při teplotě 0 °C, načež se přidá 1 ml ledové kyseliny octové a bezprostředně potom se přidají 4 g NaH₂PO₄·H₂O ve 40 ml vody. Rezultující směs se dvakrát extrahuje vždy 100 ml dichlormethanu a sloučené organické extrakty se dvakrát promyjí vždy 10 ml fosfátového pufru, vysuší a odpaří k suchu. Zbytek se rozpustí v 60 ml toluenu, ochladí na teplotu 0 °C a třikrát extrahuje 50 ml podíly chladného uhličitanového pufru, pH 9,5. pH vodných extraktů se nastaví na pH 3 kyselinou fosforečnou a tyto se extrahují pěti 40 ml podíly chloroformu, sloučí, vysuší a odpaří k suchu. Zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií za použití 25% ethylacetátu v hexanu k získání 1,9 g b-ketoesteru (39% výtěžek).

17-(1,5-Dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradeka-hydro-1H-cyklopenta[a]fenanthren-3-yl-ester kyseliny [6-(3-hydroxy-4-hydroxymethylpyrrolidin-1-yl)-6-oxohexyl]karbamové AF

**AF**

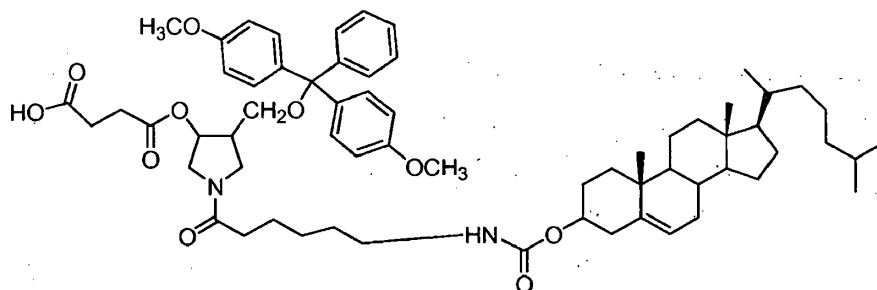
Ke směsi b-ketoesteru AE (1,5 g, 2,2 mmol) a borohydridu sodného (0,226 g, 6 mmol) v tetrahydrofuranu (10 ml) zahříváné na teplotu varu pod zpětným chladičem se po kapkách v průběhu 1 hodiny přidá methanol (2 ml). V míchání za zahřívání k varu pod zpětným chladičem se pokračuje po dobu 1 hodiny. Po ochlazení na teplotu místnosti se přidá 1N HCl (12,5 ml) a směs se extrahuje ethylacetátem (3 x 40 ml). Sloučená ethylacetátová vrstva se vysuší nad bezvodým síranem sodným a zahustí za vakua k získání produktu, který se přečistí sloupcovou chromatografií (10% MeOH v CHCl₃) (89% výtěžek).

17-(1,5-Dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradekahydro-1H-cyklopenta[a]fenanthren-3-yl-ester kyseliny (6-{3-[bis-(4-methoxyfenyl)fenylmethoxymethyl]-4-hydroxypyrrolidin-1-yl} -6-oxo-hexyl)karbamové AG

**AG**

Diol AF (1,25 g, 1,994 mmol) se vysuší odpařením s pyridínem (2 x 5 ml) za vakua. Za míchání se přidají bezvodý pyridin (10 ml) a 4,4'-dimethoxytritylchlorid (0,724 g, 2,13 mmol). Reakce se provádí přes noc při teplotě místnosti. Reakce se rychle ukončí přidáním methanolu. Reakční směs se zahustí za vakua a ke zbytku se přidá dichlormethan (50 ml). Organická vrstva se promyje 1M vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Organická vrstva se vysuší nad bezvodým síranem sodným, zfiltruje a zahustí. Zbytkový pyridin se odstraní odpařením s toluenem. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií (2% MeOH v chloroformu, R_f = 0,5 v 5% MeOH v CHCl₃) (1,75 g, 95% výtěžek).

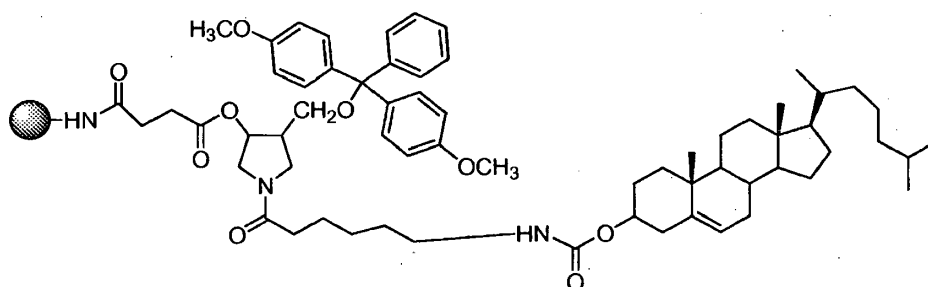
Mono-(4-[bis-(4-methoxyfenyl)fenylmethoxymethyl]-1-{6-[17-(1,5-dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradekahydro-1H-cyklopenta[a]fenanthren-3-yloxykarbonylamino]hexanoyl}pyrrolidin-3-yl)ester kyseliny jantarové AH



AH

Sloučenina AG (1,0 g, 1,05 mmol) se smísí s anhydridem kyseliny jantarové (0,150 g, 1,5 mmol) a DMAP (0,073 g, 0,6 mmol) a směs se vysuší přes noc za vakua při teplotě 40 °C. Směs se rozpustí v bezvodém dichlorethanu (3 ml), přidá se triethylamin (0,318 g, 0,440 ml, 3,15 mmol) a získaný roztok se míchá při teplotě místnosti pod argonovou atmosférou po dobu 16 hodin. Směs se potom zředí dichlormethanem (40 ml) a promyje ledově chladným vodným roztokem kyseliny citronové (5 hmotn. %, 30 ml) a vodou (2 x 20 ml). Organická fáze se vysuší nad bezvodým síranem sodným a zahustí k suchu. Zbytek se použije jako takový v následujícím kroku.

Cholesterolem derivatizovaný CPG AI



AI

Sukcinát AH (0,254 g, 0,242 mmol) se rozpustí ve směsi dichlormethan/acetonitril (3:2, 3 ml) K tomuto roztoku se postupně přidají DMAP (0,0296 g, 0,242 mmol) v acetonitrilu (1,25 ml) a 2,2'-dithio-bis(5-nitropyridin) (0,075 g, 0,242 mmol) ve směsi acetonitril/dichlormethan (3:1, 1,25 ml). K rezultujícímu roztoku se přidá trifenyfosfin (0,064 g, 0,242 mmol) v acetonitrilu (0,6 ml). Reakční směs získá světleoranžové zbarvení. Roztok se potom krátce promíchá za použití třepačky Wrist Action (5 minut). Přidá se alkylamin-CPG (LCAA-CPG) s dlouhým alkylovým řetězcem (1,5 g, 61 mM). Suspenze se míchá po dobu 2 hodin. CPG se zfiltruje skrze nálevku s fritou a postupně promyje

acetonitrilem, dichlormethanem a etherem. Nezareagované aminoskupiny se maskují za použití směsi anhydrid kyseliny octové/pyridin. Dosažené uložení CPG se měří stanovením pomocí UV (37 mM/g).

Syntéza siRNAs nesoucích bisdecylamidovou skupinu kyseliny 5'-12-dodekánové (která je zde uvedena jako "5'-C32-") nebo 5'-cholesterylderivátovou skupinu (zde je uvedena jako "5'-Chol-") se provede způsobem popsáním v přihlášce WO 2004/065601 s výjimkou toho, že se v případě cholesterylového derivátu provede oxidační krok za použití Beaucageova činidla za účelem zavedení fosforothioátové vazby na 5'-konec nukleokyselinového oligomeru.

Sekvence nukleových kyselin jsou uvedeny dále za použití standardní nomenklatury a specifických zkratk uvedených v tabulce 1.

Tabulka 1: Zkratky nukleotidových monomerů použitých v prezentaci sekvencí nukleových kyselin. Je třeba chápat, že tyto monomery, pokud jsou přítomné v oligonukleotidu, jsou vzájemně spojené 5'-3'-fosfodiesterovými vazbami.

Zkratka	Nukleotid(y)
A	adenosin-3'-fosfát
C	cytidin-3'-fosfát
G	guanosin-3'-fosfát
T	5-methyluridin-3'-fosfát
U	uridin-3'-fosfát
N	libovolný nucleotid (G, A, C nebo T)
a	2'-O-methyladenosin-3'-fosfát
c	2'-O-methylcytidin-3'-fosfát
g	2'-O-methylguanosin-3'-fosfát
u	2'-O-methyluridin-3'-fosfát
dT	2'-deoxythymidin-3'-fosfát
sT; sdT	2'-deoxythymidin-5'fosfát-fosforothioát

Příklad 2A. TTR siRNA model

Transkripty

Model siRNA byl proveden za účelem identifikace siRNA zaměřující transtyrelinový gen od člověka (symbol TTR) a krysy (symbol Ttr). Tento model používá TTR transkripty NM_000371.2 (SEQ ID NO:1329) (lidský) a NM_012681.1 (SEQ ID NO: 1330) (krysí) ze

sbírky NCBI Refseq. siRNA duplexy byly designovány se 100% identitou s jejich příslušnými TTR geny.

siRNA model a predikční specifita

Pro každou sekvenci byla stanovena predikční specifita všech možných 19merů. TTR siRNAs byly použity v komplexním průzkumu proti lidskému a krysímu transkriptomu (definován jako soubor zápisů NM_ a XM_ v souboru NCBI Refseq) za použití algoritmu FASTA. Pythonový skript "offtargetFasta.py" byl potom použit za účelem analýzy vyrovnání a generování skóre na základě polohy a počtu neshod mezi siRNA a libovolným potenciálním skriptem "off-target". Skóre off-target se statisticky zváží za účelem zdůraznění rozdílů v zárodečné oblasti siRNAs v polohách 2-9 od 5'-konce molekuly. Skóre off-target se vypočte následujícím způsobem: neshodám mezi subjektem oligo a transkriptem jsou přidělena ohodnocení. Neshodě v zárodečné oblasti v polohách 2-9 subjektu oligo je přiděleno ohodnocení 2,8; neshodám v předpokládaných štěpících místech 10 a 11 je přiděleno ohodnocení 1,2 a neshodám v polohách 12-19 je přiděleno ohodnocení 1. Neshody v poloze 1 nejsou brány v úvahu. Skóre off-target je potom vypočteno pro každý oligo-transkriptový pár sečtením vyhodnocení. Potom se stanoví nejnižší skóre off-target od všech oligo-transkriptních párů a toto se následně použije při třídění oligo-transkriptů. Obě siRNA vlákna byla zařazena do některé kategorie specifity podle vypočtených skórových hodnot: skóre vyšší než 3 je kvalifikováno jako vysoce specifické, skóre rovné 3 je kvalifikováno jako specifické a skóre mezi 2,2 a 2,8 je kvalifikováno jako středně specifické. Při výběru provedeném za účelem stanovení, které oligo-transkripty mají být syntetizovány, byla skóre off-target vlákna antisense tříděna od vysoké hodnoty k nízké hodnotě a bylo vybráno 144 nejlepších (nejnižší skóre off-target) oligo-párů u člověka a nejlepších 25 párů u krysy.

siRNA sekvenční selekce

Bylo syntetizováno celkem 140 sense a 140 antisense lidských, od TTR odvozených siRNA oligo-transkriptů a tyto byly formovány do duplexů. Bylo syntetizováno celkem 26 sense a 26 antisense krysích, od TTR odvozených siRNA oligo-transkriptů a tyto byly formovány do duplexů. Duplexy zahrnující uvedené oligo-transkripty jsou uvedeny v tabulkách 2-2 (lidský TTR) a v tabulkách 5-7 (krysí TTR).

Tabulka 2. Identifikační čísla pro lidské TTR dsRNAs

Viz tabulka 4 pro sekvence a modifikace oligo-transkriptů.		
Duplex #	Sense Oligo #	Antisense Oligo #
AD-18243	A-32153	A-32154
AD-18244	A-32155	A-32156
AD-18245	A-32157	A-32158
AD-18246	A-32159	A-32160
AD-18247	A-32163	A-32164
AD-18248	A-32165	A-32166
AD-18249	A-32167	A-32168
AD-18250	A-32169	A-32170
AD-18251	A-32171	A-32172
AD-18252	A-32175	A-32176
AD-18253	A-32177	A-32178
AD-18254	A-32179	A-32180
AD-18255	A-32181	A-32182
AD-18256	A-32183	A-32184
AD-18257	A-32187	A-32188
AD-18258	A-32189	A-32190
AD-18259	A-32191	A-32192
AD-18260	A-32193	A-32194
AD-18261	A-32195	A-32196
AD-18262	A-32199	A-32200
AD-18263	A-32201	A-32202
AD-18264	A-32203	A-32204
AD-18265	A-32205	A-32206
AD-18266	A-32207	A-32208
AD-18267	A-32211	A-32212
AD-18268	A-32213	A-32214
AD-18269	A-32215	A-32216
AD-18270	A-32217	A-32218
AD-18271	A-32219	A-32220
AD-18272	A-32221	A-32222

Viz tabulka 4 pro sekvence a modifikace oligo-transkriptů.

Duplex #	Sense Oligo #	Antisense Oligo #
AD-18273	A-32223	A-32224
AD-18274	A-32225	A-32226
AD-18275	A-32227	A-32228
AD-18276	A-32229	A-32230
AD-18277	A-32231	A-32232
AD-18278	A-32233	A-32234
AD-18279	A-32235	A-32236
AD-18280	A-32237	A-32238
AD-18281	A-32239	A-32240
AD-18282	A-32241	A-32242
AD-18283	A-32243	A-32244
AD-18284	A-32247	A-32248
AD-18285	A-32249	A-32250
AD-18286	A-32251	A-32252
AD-18287	A-32253	A-32254
AD-18288	A-32255	A-32256
AD-18289	A-32259	A-32260
AD-18290	A-32261	A-32262
AD-18291	A-32263	A-32264
AD-18292	A-32265	A-32266
AD-18293	A-32267	A-32268
AD-18294	A-32269	A-32270
AD-18295	A-32271	A-32272
AD-18296	A-32273	A-32274
AD-18297	A-32275	A-32276
AD-18298	A-32277	A-32278
AD-18299	A-32279	A-32280
AD-18300	A-32281	A-32282
AD-18301	A-32283	A-32284
AD-18302	A-32285	A-32286
AD-18303	A-32287	A-32288

Viz tabulka 4 pro sekvence a modifikace oligo-transkriptů.

Duplex #	Sense Oligo #	Antisense Oligo #
AD-18304	A-32289	A-32290
AD-18305	A-32291	A-32292
AD-18306	A-32295	A-32296
AD-18307	A-32297	A-32298
AD-18308	A-32299	A-32300
AD-18309	A-32301	A-32302
AD-18310	A-32303	A-32304
AD-18311	A-32307	A-32308
AD-18312	A-32309	A-32310
AD-18313	A-32311	A-32312
AD-18314	A-32313	A-32314
AD-18315	A-32315	A-32316
AD-18316	A-32319	A-32320
AD-18317	A-32321	A-32322
AD-18318	A-32323	A-32324
AD-18319	A-32325	A-32326
AD-18320	A-32327	A-32328
AD-18321	A-32331	A-32332
AD-18322	A-32333	A-32334
AD-18323	A-32335	A-32336
AD-18324	A-32337	A-32338
AD-18325	A-32339	A-32340
AD-18326	A-32341	A-32342
AD-18327	A-32343	A-32344
AD-18328	A-32345	A-32346
AD-18329	A-32347	A-32348
AD-18330	A-32349	A-32350
AD-18331	A-32351	A-32352
AD-18332	A-32353	A-32354
AD-18333	A-32355	A-32356
AD-18334	A-32357	A-32358

Viz tabulka 4 pro sekvence a modifikace oligo-transkriptů.

Duplex #	Sense Oligo #	Antisense Oligo #
AD-18335	A-32359	A-32360
AD-18336	A-32363	A-32364
AD-18337	A-32367	A-32368
AD-18338	A-32369	A-32370
AD-18339	A-32371	A-32372
AD-18340	A-32373	A-32374
AD-18341	A-32375	A-32376
AD-18342	A-32379	A-32380
AD-18343	A-32381	A-32382
AD-18344	A-32383	A-32384
AD-18345	A-32385	A-32386
AD-18346	A-32387	A-32388
AD-18347	A-32391	A-32392
AD-18348	A-32393	A-32394
AD-18349	A-32395	A-32396
AD-18350	A-32397	A-32398
AD-18351	A-32399	A-32400
AD-18352	A-32401	A-32402
AD-18353	A-32403	A-32404
AD-18354	A-32405	A-32406
AD-18355	A-32407	A-32408
AD-18356	A-32409	A-32410
AD-18357	A-32411	A-32412
AD-18358	A-32415	A-32416
AD-18359	A-32417	A-32418
AD-18360	A-32419	A-32420
AD-18361	A-32421	A-32422
AD-18362	A-32423	A-32424
AD-18363	A-32427	A-32428
AD-18364	A-32429	A-32430
AD-18446	A-32161	A-32162

Viz tabulka 4 pro sekvence a modifikace oligo-transkriptů.

Duplex #	Sense Oligo #	Antisense Oligo #
AD-18447	A-32173	A-32174
AD-18448	A-32185	A-32186
AD-18449	A-32197	A-32198
AD-18450	A-32209	A-32210
AD-18451	A-32245	A-32246
AD-18452	A-32257	A-32258
AD-18453	A-32293	A-32294
AD-18454	A-32305	A-32306
AD-18455	A-32317	A-32318
AD-18456	A-32329	A-32330
AD-18457	A-32361	A-32362
AD-19458	A-32365	A-32366
AD-18459	A-32377	A-32378
AD-18460	A-32389	A-32390
AD-18461	A-32401	A-32402
AD-18462	A-32413	A-32414
AD-18463	A-32425	A-32426

Tabulka 3A. Sekvence vlákna sense a antisense lidských TTR dsRNAs

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)

Vlákno	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:	Sekvence s 3'-dinukleotidovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	100	CCGGUGAAUCCAAGUGUCC	1	CCGGUGAAUCCAAGUGUCCNN	281
as	118	GGACACUUGGAUUCACCGG	2	GGACACUUGGAUUCACCGGNN	282
s	11	ACUCAUUCUUGGCAGGAUG	3	ACUCAUUCUUGGCAGGAUGNN	283
as	29	CAUCCUGCCAAGAAUGAGU	4	CAUCCUGCCAAGAAUGAGUNN	284
S	111	AAGUGUCCUCUGAUGGUCA	5	AAGUGUCCUCUGAUGGUCANN	285
as	129	UGACCAUCAGAGGACACUU	6	UGACCAUCAGAGGACACUUNN	286
S	13	UCAUUCUUGGCAGGAUGGC	7	UCAUUCUUGGCAGGAUGGCNN	287
as	31	GCCAUCCUGCCAAGAAUGA	8	GCCAUCCUGCCAAGAAUGANN	288
s	130	AAGUUCUAGAUGCUGUCCG	9	AAGUUCUAGAUGCUGUCCGNN	289

Vláknó: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)					
Vláknó	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:	Sekvence s 3'-dinukleotidovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	148	CGGACAGCAUCUAGAACUU	10	CGGACAGCAUCUAGAACUUNN	290
s	132	GUUCUAGAUGCUGUCCGAG	11	GUUCUAGAUGCUGUCCGAGNN	291
as	150	CUCGGACAGCAUCUAGAAC	12	CUCGGACAGCAUCUAGAACNN	292
s	135	CUAGAUGCUGUCCGAGGCA	13	CUAGAUGCUGUCCGAGGCANN	293
as	153	UGCCUCGGACAGCAUCUAG	14	UGCCUCGGACAGCAUCUAGNN	294
s	138	GAUGCUGUCCGAGGCAGUC	15	GAUGCUGUCCGAGGCAGUCNN	295
as	156	GACUGCCUCGGACAGCAUC	16	GACUGCCUCGGACAGCAUCNN	296
s	14	CAUUCUUGGCAGGAUGGCU	17	CAUUCUUGGCAGGAUGGCUNN	297
as	32	AGCCAUCCUGCCAAGAAUG	18	AGCCAUCCUGCCAAGAAUGNN	298
s	140	UGCUGUCCGAGGCAGUCCU	19	UGCUGUCCGAGGCAGUCCUNN	299
as	158	AGGACUGCCUCGGACAGCA	20	AGGACUGCCUCGGACAGCANN	300
s	146	CCGAGGCAGUCCUGCCAUC	21	CCGAGGCAGUCCUGCCAUCNN	301
as	164	GAUGGCAGGACUGCCUCGG	22	GAUGGCAGGACUGCCUCGGNN	302
s	152	CAGUCCUGCCAUCA AUGUG	23	CAGUCCUGCCAUCA AUGUGNN	303
as	170	CACAUUGAUGGCAGGACUG	24	CACAUUGAUGGCAGGACUGNN	304
s	164	CAAUGUGGCCGUGCAUGUG	25	CAAUGUGGCCGUGCAUGUGNN	305
as	182	CACAUGCACGGCCACAUG	26	CACAUGCACGGCCACAUGNN	306
s	178	AUGUGUUCAGAAAGGCUGC	27	AUGUGUUCAGAAAGGCUGCNN	307
as	196	GCAGCCUUCUGAACACAUC	28	GCAGCCUUCUGAACACAUNN	308
s	2	CAGAAGUCCACUCAUUCUU	29	CAGAAGUCCACUCAUUCUUNN	309
as	20	AAGAAUGAGUGGACUUCUG	30	AAGAAUGAGUGGACUUCUGNN	310
s	21	GGCAGGAUGGCUUCUCAUC	31	GGCAGGAUGGCUUCUCAUCNN	311
as	39	GAUGAGAAGCCAUCCUGCC	32	GAUGAGAAGCCAUCCUGCCNN	312
s	210	GAGCCAUUUGCCUCUGGGGA	33	GAGCCAUUUGCCUCUGGGANN	313
as	228	UCCCAGAGGCAA AUGGCUC	34	UCCCAGAGGCAA AUGGCUCNN	314
s	23	CAGGAUGGCUUCUCAUCGU	35	CAGGAUGGCUUCUCAUCGUNN	315
as	41	ACGAUGAGAAGCCAUCCUG	36	ACGAUGAGAAGCCAUCCUGNN	316
s	24	AGGAUGGCUUCUCAUCGUC	37	AGGAUGGCUUCUCAUCGUCNN	317
as	42	GACGAUGAGAAGCCAUCCU	38	GACGAUGAGAAGCCAUCCUNN	318
s	245	AGAGCUGCAUGGGCUCACA	39	AGAGCUGCAUGGGCUCACANN	319
as	263	UGUGAGCCCAUGCAGCUCU	40	UGUGAGCCCAUGCAGCUCUNN	320
s	248	GCUGCAUGGGCUCACAACU	41	GCUGCAUGGGCUCACAACUNN	321
as	266	AGUUGUGAGCCCAUGCAGC	42	AGUUGUGAGCCCAUGCAGCNN	322
s	25	GGAUGGCUUCUCAUCGUCU	43	GGAUGGCUUCUCAUCGUCUNN	323
as	43	AGACGAUGAGAAGCCAUCC	44	AGACGAUGAGAAGCCAUCCNN	324

Vláknno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)					
Vláknno	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:	Sekvence s 3'-dinukleotidovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	251	GCAUGGGCUCACAACUGAG	45	GCAUGGGCUCACAACUGAGNN	325
as	269	CUCAGUUGUGAGCCCAUGC	46	CUCAGUUGUGAGCCCAUGCNN	326
s	253	AUGGGCUCACAACUGAGGA	47	AUGGGCUCACAACUGAGGANN	327
as	271	UCCUCAGUUGUGAGCCCAU	48	UCCUCAGUUGUGAGCCCAUNN	328
s	254	UGGGCUCACAACUGAGGAG	49	UGGGCUCACAACUGAGGAGNN	329
as	272	CUCCUCAGUUGUGAGCCCA	50	CUCCUCAGUUGUGAGCCCANN	330
s	270	GAGGAAUUUGUAGAAGGGA	51	GAGGAAUUUGUAGAAGGGANN	331
as	288	UCCCUUCUACAAAUCCUC	52	UCCCUUCUACAAAUCCUCNN	332
s	276	UUUGUAGAAGGGAUUAACA	53	UUUGUAGAAGGGAUUAACANN	333
as	294	UGUAUAUCCCUUCUACAAA	54	UGUAUAUCCCUUCUACAAANN	334
s	277	UUGUAGAAGGGAUUAACAA	55	UUGUAGAAGGGAUUAACAANN	335
as	295	UUGUAUAUCCCUUCUACAA	56	UUGUAUAUCCCUUCUACAANN	336
s	278	UGUAGAAGGGAUUAACAAA	57	UGUAGAAGGGAUUAACAAANN	337
as	296	UUUGUAUAUCCCUUCUACA	58	UUUGUAUAUCCCUUCUACANN	338
s	281	AGAAGGGAUUAACAAAGUG	59	AGAAGGGAUUAACAAAGUGNN	339
as	299	CACUUUGUAUAUCCCUUCU	60	CACUUUGUAUAUCCCUUCUNN	340
s	295	AAGUGGAAAUAGACACCAA	61	AAGUGGAAAUAGACACCAANN	341
as	313	UUGGUGUCUAUUUCCACUU	62	UUGGUGUCUAUUUCCACUUNN	342
s	299	GGAAAUAGACACCAAUCU	63	GGAAAUAGACACCAAUCUNN	343
as	317	AGAUUUGGUGUCUAUUUCC	64	AGAUUUGGUGUCUAUUUCCNN	344
s	300	GAAAUAGACACCAAUCUU	65	GAAAUAGACACCAAUCUUNN	345
as	318	AAGAUUUGGUGUCUAUUUC	66	AAGAUUUGGUGUCUAUUUCNN	346
s	303	AUAGACACCAAUCUUACU	67	AUAGACACCAAUCUUACUNN	347
as	321	AGUAAGAUUUGGUGUCUAU	68	AGUAAGAUUUGGUGUCUAUNN	348
s	304	UAGACACCAAUCUUACUG	69	UAGACACCAAUCUUACUGNN	349
as	322	CAGUAAGAUUUGGUGUCUA	70	CAGUAAGAUUUGGUGUCUANN	350
s	305	AGACACCAAUCUUACUGG	71	AGACACCAAUCUUACUGGNN	351
as	323	CCAGUAAGAUUUGGUGUCU	72	CCAGUAAGAUUUGGUGUCUNN	352
s	317	UUACUGGAAGGCACUUGGC	73	UUACUGGAAGGCACUUGGCNN	353
as	335	GCCAAGUGCCUCCAGUAA	74	GCCAAGUGCCUCCAGUAANN	354
s	32	UUCUCAUCGUCUGCUCUC	75	UUCUCAUCGUCUGCUCUCNN	355
as	50	GAGGAGCAGACGAUGAGAA	76	GAGGAGCAGACGAUGAGAANN	356
s	322	GGAAGGCACUUGGCAUCUC	77	GGAAGGCACUUGGCAUCUCNN	357
as	340	GAGAUGCCAAGUGCCUUC	78	GAGAUGCCAAGUGCCUUCNN	358
s	326	GGCACUUGGCAUCUCCCCA	79	GGCACUUGGCAUCUCCCCANN	359

Vláknno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)					
Vláknno	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:	Sekvence s 3'-dinukleotidovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	344	UGGGGAGAUGCCAAGUGCC	80	UGGGGAGAUGCCAAGUGCCNN	360
s	333	GGCAUCUCCCCAUUCCAUG	81	GGCAUCUCCCCAUUCCAUGNN	361
as	351	AUGGAAUGGGGAGAUGCCTT	82	AUGGAAUGGGGAGAUGCCTTNN	362
s	334	GCAUCUCCCCAUUCCAUGA	83	GCAUCUCCCCAUUCCAUGANN	363
as	352	UCAUGGAAUGGGGAGAUGC	84	UCAUGGAAUGGGGAGAUGCNN	364
s	335	CAUCUCCCCAUUCCAUGAG	85	CAUCUCCCCAUUCCAUGAGNN	365
as	353	CUCAUGGAAUGGGGAGAUG	86	CUCAUGGAAUGGGGAGAUGNN	366
s	336	AUCUCCCCAUUCCAUGAGC	87	AUCUCCCCAUUCCAUGAGCNN	367
as	354	GCUCAUGGAAUGGGGAGAU	88	GCUCAUGGAAUGGGGAGAUNN	368
s	338	CUCCCCAUUCCAUGAGCAU	89	CUCCCCAUUCCAUGAGCAUNN	369
as	356	AUGCUC AUGGAAUGGGGAG	90	AUGCUC AUGGAAUGGGGAGNN	370
s	341	CCCAUCCAUGAGCAUGCA	91	CCCAUCCAUGAGCAUGCANN	371
as	359	UGCAUGCUC AUGGAAUGGG	92	UGCAUGCUC AUGGAAUGGGNN	372
s	347	CCAUGAGCAUGCAGAGGUG	93	CCAUGAGCAUGCAGAGGUGNN	373
as	365	CACCUCUGCAUGCUC AUGG	94	CACCUCUGCAUGCUC AUGGNN	374
s	352	AGCAUGCAGAGGUGGUAUU	95	AGCAUGCAGAGGUGGUAUUNN	375
as	370	AAUACCACCUCUGCAUGC	96	AAUACCACCUCUGCAUGCUNN	376
s	359	CAUGCAGAGGUGGUAUUC	97	CAUGCAGAGGUGGUAUUCANN	377
as	372	UGAAUACCACCUCUGCAUG	98	UGAAUACCACCUCUGCAUGNN	378
s	355	AUGCAGAGGUGGUAUUCAC	99	AUGCAGAGGUGGUAUUCACNN	379
as	373	GUGAAUACCACCUCUGCAU	100	GUGAAUACCACCUCUGCAUNN	380
s	362	GGUGGUAUUCACAGCCAAC	101	GGUGGUAUUCACAGCCAACNN	381
as	380	GUUGGCUGUGAAUACCACC	102	GUUGGCUGUGAAUACCACCNN	382
s	363	GUGGUAUUCACAGCCAACG	103	GUGGUAUUCACAGCCAACGNN	383
as	381	CGUUGGCUGUGAAUACCAC	104	CGUUGGCUGUGAAUACCACNN	384
s	364	UGGUAUUCACAGCCAACGA	105	UGGUAUUCACAGCCAACGANN	385
as	382	UCGUUGGCUGUGAAUACCA	106	UCGUUGGCUGUGAAUACCANN	386
s	365	GGUAUUCACAGCCAACGAC	107	GGUAUUCACAGCCAACGACNN	387
as	383	GUCGUUGGCUGUGAAUACC	108	GUCGUUGGCUGUGAAUACCNN	388
s	366	GUAUUCACAGCCAACGACU	109	GUAUUCACAGCCAACGACUNN	389
as	384	AGUCGUUGGCUGUGAAUAC	110	AGUCGUUGGCUGUGAAUACNN	390
s	367	UAUUCACAGCCAACGACUC	111	UAUUCACAGCCAACGACUCNN	391
as	385	GAGUCGUUGGCUGUGAAUA	112	GAGUCGUUGGCUGUGAAUANN	392
s	370	UCACAGCCAACGACUCCGG	113	UCACAGCCAACGACUCCGGNN	393
as	388	CCGGAGUCGUUGGCUGUGA	114	CCGGAGUCGUUGGCUGUGANN	394

Vláknno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)					
Vláknno	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:	Sekvence s 3'-dinukleotidovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	390	CCCCGCCGCUACACCAUUG	115	CCCCGCCGCUACACCAUUGNN	395
s	408	CAAUGGUGUAGCGGGCGGGG	116	CAAUGGUGUAGCGGGCGGGGNN	396
s	4	GAAGUCCACUCAUUCUUGG	117	GAAGUCCACUCAUUCUUGGNN	397
as	22	CCAAGAAUGAGUGGACUUC	118	CCAAGAAUGAGUGGACUUCNN	398
s	412	CCCUGCUGAGCCCCUACUC	119	CCCUGCUGAGCCCCUACUCNN	399
as	430	GAGUAGGGGCUCAGCAGGG	120	GAGUAGGGGCUCAGCAGGGNN	400
s	417	CUGAGCCCCUACUCCUAU	121	CUGAGCCCCUACUCCUAUUNN	401
as	435	AAUAGGAGUAGGGGCUCAG	122	AAUAGGAGUAGGGGCUCAGNN	402
s	418	UGAGCCCCUACUCCUAUUC	123	UGAGCCCCUACUCCUAUUCNN	403
as	436	GAAUAGGAGUAGGGGCUCA	124	GAAUAGGAGUAGGGGCUCANN	404
s	422	CCCUACUCCUAUUCACC	125	CCCUACUCCUAUUCACCNN	405
as	440	GGUGGAAUAGGAGUAGGGG	126	GGUGGAAUAGGAGUAGGGGNN	406
s	425	CUACUCCUAUUCACCACG	127	CUACUCCUAUUCACCACGNN	407
as	443	CGUGGUGGAAUAGGAGUAG	128	CGUGGUGGAAUAGGAGUAGNN	408
s	426	UACUCCUAUUCACCACGG	129	UACUCCUAUUCACCACGGNN	409
as	444	CCGUGGUGGAAUAGGAGUA	130	CCGUGGUGGAAUAGGAGUANN	410
s	427	ACUCCUAUUCACCACGGC	131	ACUCCUAUUCACCACGGCNN	411
as	445	GCCGUGGUGGAAUAGGAGU	132	GCCGUGGUGGAAUAGGAGUNN	412
s	429	UCCUAUUCACCACGGCUG	133	UCCUAUUCACCACGGCUGNN	413
as	447	CAGCCGUGGUGGAAUAGGA	134	CAGCCGUGGUGGAAUAGGANN	414
s	432	UAUUCACCACGGCUGUCG	135	UAUUCACCACGGCUGUCGNN	415
as	450	CGACAGCCGUGGUGGAAUA	136	CGACAGCCGUGGUGGAAUANN	416
s	433	AUUCACCACGGCUGUCGU	137	*AUUCACCACGGCUGUCGUNN	417
as	451	ACGACAGCCGUGGUGGAAU	138	ACGACAGCCGUGGUGGAAUNN	418
s	437	CACCACGGCUGUCGUCACC	139	CACCACGGCUGUCGUCACCNN	419
as	455	GGUGACGACAGCCGUGGUG	140	GGUGACGACAGCCGUGGUGNN	420
s	438	ACCACGGCUGUCGUCACCA	141	ACCACGGCUGUCGUCACCANN	421
as	456	UGGUGACGACAGCCGUGGU	142	UGGUGACGACAGCCGUGGUNN	422
s	439	CCACGGCUGUCGUCACCAA	143	CCACGGCUGUCGUCACCAANN	423
as	457	UUGGUGACGACAGCCGUGG	144	UUGGUGACGACAGCCGUGGNN	424
s	441	ACGGCUGUCGUCACCAAUC	145	ACGGCUGUCGUCACCAAUCNN	425
as	459	GAUUGGUGACGACAGCCGU	146	GAUUGGUGACGACAGCCGUNN	426
s	442	CGGCUGUCGUCACCAAUCC	147	CGGCUGUCGUCACCAAUCCNN	427
as	460	GGAUUGGUGACGACAGCCG	148	GGAUUGGUGACGACAGCCGNN	428
s	449	CGUCACCAAUCCCAAGGAA	149	CGUCACCAAUCCCAAGGAANN	429

Vláknno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)					
Vláknno	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:	Sekvence s 3'-dinukleotidovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	467	UCCUUGGGAUUGGUGACG	150	UCCUUGGGAUUGGUGACGNN	430
s	455	CAAUCCAAGGAAUGAGGG	151	CAAUCCAAGGAAUGAGGGNN	431
as	473	CCCUCAUUCCUUGGGAUUG	152	CCCUCAUUCCUUGGGAUUGNN	432
s	491	CCUGAAGGACGAGGGAUGG	153	CCUGAAGGACGAGGGAUGGNN	433
as	509	CCAUCCCUCGUCCUUCAGG	154	CCAUCCCUCGUCCUUCAGGNN	434
s	497	GGACGAGGGAUGGGAUUUC	155	GGACGAGGGAUGGGAUUUCNN	435
as	515	GAAAUCCAUCCCUCGUCC	156	GAAAUCCAUCCCUCGUCCNN	436
s	5	AAGUCCACUCAUUCUUGGC	157	AAGUCCACUCAUUCUUGGCNN	437
as	23	GCCAAGAAUGAGUGGACUU	158	GCCAAGAAUGAGUGGACUUNN	438
s	508	GGGAUUUCAUGUAACCAAG	159	GGGAUUUCAUGUAACCAAGNN	439
as	526	CUUGGUUACAUGAAAUCCC	160	CUUGGUUACAUGAAAUCCNN	440
s	509	GGAUUUCAUGUAACCAAGA	161	GGAUUUCAUGUAACCAAGANN	441
as	527	UCUUGGUUACAUGAAAUCC	162	UCUUGGUUACAUGAAAUCCNN	442
s	514	UCAUGUAACCAAGAGUAUU	163	UCAUGUAACCAAGAGUAUUNN	443
as	532	AAUACUCUUGGUUACAUGA	164	AAUACUCUUGGUUACAUGANN	444
s	516	AUGUAACCAAGAGUAUUC	165	AUGUAACCAAGAGUAUUCNN	445
as	534	GGAAUACUCUUGGUUACA	166	GGAAUACUCUUGGUUACAUNN	446
s	517	UGUAACCAAGAGUAUCCA	167	UGUAACCAAGAGUAUCCANN	447
as	535	UGGAAUACUCUUGGUUACA	168	UGGAAUACUCUUGGUUACANN	448
s	518	GUAACCAAGAGUAUCCA	169	GUAACCAAGAGUAUCCAUNN	499
as	536	AUGGAAUACUCUUGGUUAC	170	AUGGAAUACUCUUGGUUACNN	450
s	54	UGCCUUGCUGGACUGGUAU	171	UGCCUUGCUGGACUGGUAUNN	451
as	72	AUACCAGUCCAGCAAGGCA	172	AUACCAGUCCAGCAAGGCANN	452
s	543	UAAAGCAGUGUUUCACCU	173	UAAAGCAGUGUUUCACCUNN	453
as	561	AGGUGAAAACACUGCUUUA	174	AGGUGAAAACACUGCUUUNN	454
s	55	GCCUUGCUGGACUGGUAUU	175	GCCUUGCUGGACUGGUAUUNN	455
as	73	AAUACCAGUCCAGCAAGGC	176	AAUACCAGUCCAGCAAGGCNN	456
s	551	UGUUUCACCUCAUAUGCU	177	UGUUUCACCUCAUAUGCUNN	457
as	569	AGCAUAUGAGGUGAAAACA	178	AGCAUAUGAGGUGAAAACANN	458
s	552	GUUUUCACCUCAUAUGCUA	179	GUUUUCACCUCAUAUGCUNN	459
as	570	UAGCAUAUGAGGUGAAAAC	180	UAGCAUAUGAGGUGAAAACNN	460
s	553	UUUUCACCUCAUAUGCUAU	181	UUUUCACCUCAUAUGCUNN	461
as	571	AUAGCAUAUGAGGUGAAAA	182	AUAGCAUAUGAGGUGAAAAANN	462
s	555	UUCACCUCAUAUGCUAUGU	183	UUCACCUCAUAUGCUAUGUNN	463
as	573	ACAUAGCAUAUGAGGUGAA	184	ACAUAGCAUAUGAGGUGAANN	464

Vláknó: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)					
Vláknó	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:	Sekvence s 3'-dinukleotidovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	557	CACCUCAUAUGCUAUGUUA	185	CACCUCAUAUGCUAUGUUANN	465
as	575	UAACAUAGCAUAUGAGGUG	186	UAACAUAGCAUAUGAGGUGNN	466
s	56	CCUUGCUGGACUGGUUUUU	187	CCUUGCUGGACUGGUUUUNN	467
as	74	AAAUACCAGUCCAGCAAGG	188	AAAUACCAGUCCAGCAAGGNN	468
s	563	AUAUGCUAUGUUAGAAGUC	189	AUAUGCUAUGUUAGAAGUCNN	469
as	581	GACUUCUAACAUAGCAUAU	190	GACUUCUAACAUAGCAUAUNN	470
s	564	UAUGCUAUGUUAGAAGUCC	191	UAUGCUAUGUUAGAAGUCCNN	471
as	582	GGACUUCUAACAUAGCAUA	192	GGACUUCUAACAUAGCAUANN	472
s	566	UGCUAUGUUAGAAGUCCAG	193	UGCUAUGUUAGAAGUCCAGNN	473
as	584	CUGGACUUCUAACAUAGCA	194	CUGGACUUCUAACAUAGCANN	474
s	57	CUUGCUGGACUGGUUUUUG	195	CUUGCUGGACUGGUUUUGNN	475
as	75	CAAAUACCAGUCCAGCAAG	196	CAAAUACCAGUCCAGCAAGNN	476
s	578	AGUCCAGGCAGAGACAAUA	197	AGUCCAGGCAGAGACAAUANN	477
as	596	AUUGUCUCUGCCUGGACUTT	198	AUUGUCUCUGCCUGGACUTTNN	478
s	580	UCCAGGCAGAGACAAUAAA	199	UCCAGGCAGAGACAAUAAANN	479
as	598	UUUAUUGUCUCUGCCUGGA	200	UUUAUUGUCUCUGCCUGGANN	480
s	607	GUGAAAGGCACUUUUCAUU	201	GUGAAAGGCACUUUUCAUUNN	481
as	625	AAUGAAAAGUGCCUUUCAC	202	AAUGAAAAGUGCCUUUCACNN	482
s	62	UGGACUGGUUUUUGUGUCU	203	UGGACUGGUUUUUGUGUCUNN	483
as	80	AGACACAAAUACCAGUCCA	204	AGACACAAAUACCAGUCCANN	484
s	77	GUCUGAGGCUGGCCCUACG	205	GUCUGAGGCUGGCCCUACGNN	485
as	95	CGUAGGGCCAGCCUCAGAC	206	CGUAGGGCCAGCCUCAGACNN	486
s	79	CUGAGGCUGGCCCUACGGG	207	CUGAGGCUGGCCCUACGGGNN	487
as	97	CCCGUAGGGCCAGCCUCAG	208	CCCGUAGGGCCAGCCUCAGNN	488
s	81	GAGGCUGGCCCUACGGGCA	209	GAGGCUGGCCCUACGGGCANN	489
as	99	UGCCCGUAGGGCCAGCCUC	210	UGCCCGUAGGGCCAGCCUCNN	490
s	82	AGGCUGGCCCUACGGGCAC	211	AGGCUGGCCCUACGGGCACNN	491
as	100	GUGCCCGUAGGGCCAGCCU	212	GUGCCCGUAGGGCCAGCCUNN	492
s	84	GCUGGCCCUACGGGCACCG	213	GCUGGCCCUACGGGCACCGNN	493
as	102	CGGUGCCCGUAGGGCCAGC	214	CGGUGCCCGUAGGGCCAGCNN	494
s	85	CUGGCCCUACGGGCACCGG	215	CUGGCCCUACGGGCACCGGNN	495
as	103	CCGGUGCCCGUAGGGCCAG	216	CCGGUGCCCGUAGGGCCAGNN	496
s	87	GGCCCUACGGGCACCGGUG	217	GGCCCUACGGGCACCGGUGNN	497
as	105	CACCGGUGCCCGUAGGGCC	218	CACCGGUGCCCGUAGGGCCNN	498
s	9	CCACUCAUUCUUGGCAGGA	219	CCACUCAUUCUUGGCAGGANN	499

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)					
Vlákno	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:	Sekvence s 3'-dinukleotidovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	27	UCCUGCCAAGAAUGAGUGG	220	UCCUGCCAAGAAUGAGUGGNN	500
s	90	CCUACGGGCACCGGUGAAU	221	CCUACGGGCACCGGUGAAUNN	501
as	108	AUUCACCGGUGCCCGUAGG	222	AUUCACCGGUGCCCGUAGGNN	502
s	91	CUACGGGCACCGGUGAAUC	223	CUACGGGCACCGGUGAAUCNN	503
as	109	GAUUCACCGGUGCCCGUAG	224	GAUUCACCGGUGCCCGUAGNN	504
s	92	UACGGGCACCGGUGAAUCC	225	UACGGGCACCGGUGAAUCCNN	505
as	110	GGAUUCACCGGUGCCCGUA	226	GGAUUCACCGGUGCCCGUANN	506
s	93	ACGGGCACCGGUGAAUCCA	227	ACGGGCACCGGUGAAUCCANN	507
as	111	UGGAUUCACCGGUGCCCGU	228	UGGAUUCACCGGUGCCCGUNN	508
s	97	GCACCGGUGAAUCCAAGUG	229	GCACCGGUGAAUCCAAGUGNN	509
as	115	CACUUGGAUUCACCGGUGC	230	CACUUGGAUUCACCGGUGCNN	510
s	98	CACCGGUGAAUCCAAGUGU	231	CACCGGUGAAUCCAAGUGUNN	511
as	116	ACACUUGGAUUCACCGGUG	232	ACACUUGGAUUCACCGGUGNN	512
s	167	UGUGGCCAUGCAUGUGUUC	233	UGUGGCCAUGCAUGUGUUCNN	513
as	185	GAACACAUGCAUGGCCACA	234	GAACACAUGCAUGGCCACANN	514
s	168	GUGGCCAUGCAUGUGUUCA	235	GUGGCCAUGCAUGUGUUCANN	515
as	186	UGAACACAUGCAUGGCCAC	236	UGAACACAUGCAUGGCCACNN	516
s	171	GCCAUGCAUGUGUUCAGAA	237	GCCAUGCAUGUGUUCAGAANN	517
as	189	UUCUGAACACAUGCAUGGC	238	UUCUGAACACAUGCAUGGCNN	518
s	432	UAUUCCACCACGGCUGUCA	239	UAUUCCACCACGGCUGUCANN	519
as	449	UGACAGCCGUGGUGGAAUA	240	UGACAGCCGUGGUGGAAUANN	520
s	947	GUCAUCACCAAUCCCAAGG	241	GUCAUCACCAAUCCCAAGGNN	521
as	465	CCUUGGGAUUGGUGAUGAC	242	CCUUGGGAUUGGUGAUGACNN	522
s	115	GUCCUCUGAUGGUCAAAGU	243	GUCCUCUGAUGGUCAAAGUNN	523
as	133	ACUUUGACCAUCAGAGGAC	244	ACUUUGACCAUCAGAGGACNN	524
s	122	GAUGGUCAAAGUUCUAGAU	245	GAUGGUCAAAGUUCUAGAUNN	525
as	140	AUCUAGAACUUUGACCAUC	246	AUCUAGAACUUUGACCAUCNN	526
s	139	AUGCUGUCCGAGGCAGUCC	247	AUGCUGUCCGAGGCAGUCCNN	527
as	157	GGACUGCCUCGGACAGCAU	248	GGACUGCCUCGGACAGCAUNN	528
s	172	CCGUGCAUGUGUUCAGAAA	249	CCGUGCAUGUGUUCAGAAANN	529
as	190	UUUCUGAACACAUGCACGG	250	UUUCUGAACACAUGCACGGNN	530
s	238	AGUCUGGAGAGCUGCAUGG	251	AGUCUGGAGAGCUGCAUGGNN	531
as	256	CCAUGCAGCUCUCCAGACU	252	CCAUGCAGCUCUCCAGACUNN	532
s	252	CAUGGGCUCACAACUGAGG	253	CAUGGGCUCACAACUGAGGNN	533
as	270	CCUCAGUUGUGAGCCCAUG	254	CCUCAGUUGUGAGCCCAUGNN	534

Vláknno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)					
Vláknno	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:	Sekvence s 3'-dinukleotidovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	33	UCUCAUCGUCUGCUCCUCC	255	UCUCAUCGUCUGCUCCUCCNN	535
as	51	GGAGGAGCAGACGAUGAGA	256	GGAGGAGCAGACGAUGAGANN	536
s	340	CCCCAUUCCAUGAGCAUGC	257	CCCCAUUCCAUGAGCAUGCNN	537
as	358	GCAUGCUCUAUGGAAUGGGG	258	GCAUGCUCUAUGGAAUGGGGNN	538
s	421	GCCCCUACUCCUAUUCCAC	259	GCCCCUACUCCUAUUCCACNN	539
as	439	GUGGAAUAGGAGUAGGGGC	260	GUGGAAUAGGAGUAGGGGCNN	540
s	431	CUAUUCCACCACGGCUGUC	261	CUAUUCCACCACGGCUGUCNN	541
as	449	GACAGCCGUGGUGGAAUAG	262	GACAGCCGUGGUGGAAUAGNN	542
s	440	CACGGCUGUCGUCACCAAU	263	CACGGCUGUCGUCACCAAUNN	543
as	458	AUUGGUGACGACAGCCGUG	264	AUUGGUGACGACAGCCGUGNN	544
s	496	AGGACGAGGGAUGGGAAUUU	265	AGGACGAGGGAUGGGAAUUNN	545
as	514	AAAUCCCAUCCUCGUCCU	266	AAAUCCCAUCCUCGUCCUNN	546
s	556	UCACCUCAUAUGCUAUGUU	267	UCACCUCAUAUGCUAUGUUNN	547
as	574	AACAUAGCAUAUGAGGUGA	268	AACAUAGCAUAUGAGGUGANN	548
s	559	CCUCAUAUGCUAUGUUAGA	269	CCUCAUAUGCUAUGUUAGANN	549
as	577	UCUAACAUAAGCAUAUGAGG	270	UCUAACAUAAGCAUAUGAGGNN	550
s	570	AUGUUAGAAGUCCAGGCAG	271	AUGUUAGAAGUCCAGGCAGNN	551
as	588	CUGCCUGGACUUCUAACAUA	272	CUGCCUGGACUUCUAACAUNN	552
s	78	UCUGAGGCUGGCCCUACGG	273	UCUGAGGCUGGCCCUACGGNN	553
as	96	CCGUAGGGCCAGCCUCAGA	274	CCGUAGGGCCAGCCUCAGANN	554
s	87	GGCCUACGGGCACCGGUG	275	GGCCUACGGGCACCGGUGNN	555
as	105	CACCGGUGCCCGUAGGGCC	276	CACCGGUGCCCGUAGGGCCNN	556
s	95	GGCACCGGUGAAUCCAAG	277	GGCACCGGUGAAUCCAAGNN	557
as	113	CUUGGAUUCACCGGUGCCC	278	CUUGGAUUCACCGGUGCCCNN	558
s	167	CCAUGCAUGUGUUCAGAAA	279	CCAUGCAUGUGUUCAGAAANN	559
as	185	UUUCUGAACACAUGCAUGG	280	UUUCUGAACACAUGCAUGGNN	560

Tabulka 3B. Sekvence vláknna sense a antisense lidských TTR dsRNAs

Vláknno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO: 1329)			
Vláknno	Poloha	Sekvence s 3'-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	100	CCGGUGAAUCCAAGUGUCCdTdT	561
as	118	GGACACUUGGAUUCACCGGdTdT	562
s	11	ACUCAUUCUUGGCAGGAUGdTdT	563

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO: 1329)			
Vlákno	Poloha	Sekvence s 3'-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	29	CAUCCUGCCAAGAAUGAGUdTdT	564
s	111	AAGUGUCCUCUGAUGGUCAdTdT	565
as	129	UGACCAUCAGAGGACACUdTdT	566
s	13	UCAUUCUUGGCAGGAUGGCdTdT	567
as	31	GCCAUCCUGCCAAGAAUGAdTdT	568
s	130	AAGUUCUAGAUGCUGUCCGdTdT	569
as	148	CGGACAGCAUCUAGAACUdTdT	570
s	132	GUUCUAGAUGCUGUCCGAGdTdT	571
as	150	CUCGGACAGCAUCUAGAACdTdT	572
s	135	CUAGAUGCUGUCCGAGGCAdTdT	573
as	153	UGCCUCGGACAGCAUCUAGdTdT	574
s	138	GAUGCUGUCCGAGGCAGUCdTdT	575
as	156	GACUGCCUCGGACAGCAUCdTdT	576
s	14	CAUUCUUGGCAGGAUGGCUdTdT	577
as	32	AGCCAUCCUGCCAAGAAUGdTdT	578
s	140	UGCUGUCCGAGGCAGUCCUdTdT	579
as	158	AGGACUGCCUCGGACAGCAdTdT	580
s	146	CCGAGGCAGUCCUGCCAUCdTdT	581
as	164	GAUGGCAGGACUGCCUCGGdTdT	582
s	152	CAGUCCUGCCAUCA AUGUGdTdT	583
as	170	CACAUUGAUGGCAGGACUGdTdT	584
s	164	CAAUGUGGCCGUGCAUGUGdTdT	585
as	182	CACAUGCACGGCCACAUUGdTdT	586
s	178	AUGUGUUCAGAAAGGCUGCdTdT	587
as	196	GCAGCCUUUCUGAACACAUdTdT	588
s	2	CAGAAGUCCACUCAUUCUdTdT	589
as	20	AAGAAUGAGUGGACUUCUGdTdT	590
s	21	GGCAGGAUGGCUUCUCAUCdTdT	591
as	39	GAUGAGAAGCCAUCCUGCCdTdT	592
s	210	GAGCCAUUUGCCUCUGGGAdTdT	593
as	228	UCCCAGAGGCAA AUGGCUCdTdT	594

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO: 1329)

Vlákno	Poloha	Sekvence s 3'-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	23	CAGGAUGGCUUCUCAUCGUdTdT	595
as	41	ACGAUGAGAAGCCAUCCUGdTdT	596
s	24	AGGAUGGCUUCUCAUCGUCdTdT	597
as	42	GACGAUGAGAAGCCAUCCUdTdT	598
s	245	AGAGCUGCAUGGGCUCACAdTdT	599
as	263	UGUGAGCCCAUGCAGCUCUdTdT	600
s	248	GCUGCAUGGGCUCACAACUdTdT	601
as	266	AGUUGUGAGCCCAUGCAGCdTdT	602
s	25	GGAUGGCUUCUCAUCGUCUdTdT	603
as	43	AGACGAUGAGAAGCCAUCCdTdT	604
s	251	GCAUGGGCUCACAACUGAGdTdT	605
as	269	CUCAGUUGUGAGCCCAUGCdTdT	606
s	253	AUGGGCUCACAACUGAGGAdTdT	607
as	271	UCCUCAGUUGUGAGCCCAUdTdT	608
s	254	UGGGCUCACAACUGAGGAGdTdT	609
as	272	CUCCUCAGUUGUGAGCCCAdTdT	610
s	270	GAGGAAUUUGUAGAAGGGAdTdT	611
as	288	UCCCUUCUACAAAUUCCUCdTdT	612
s	276	UUUGUAGAAGGGAUUAUACAdTdT	613
as	294	UGUAUAUCCCUUCUACAAAdTdT	614
s	277	UUGUAGAAGGGAUUAUACAAdTdT	615
as	295	UUGUAUAUCCCUUCUACAAdTdT	616
s	278	UGUAGAAGGGAUUAUACAAAdTdT	617
as	296	UUUGUAUAUCCCUUCUACAdTdT	618
s	281	AGAAGGGAUUAUACAAAGUGdTdT	619
as	299	CACUUUGUAUAUCCCUUCUdTdT	620
s	295	AAGUGGAAAUAGACACCAAdTdT	621
as	313	UUGGUGUCUAUUUCCACUdTdT	622
s	299	GGAAAUAGACACCAAUCUdTdT	623
as	317	AGAUUUGGUGUCUAUUUCCdTdT	624
s	300	GAAAUAGACACCAAUCUdTdT	625

Vláknno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO: 1329)			
Vláknno	Poloha	Sekvence s 3'-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	318	AAGAUUUGGUGUCUAUUUCdTdT	626
s	303	AUAGACACCAAUCUUACUdTdT	627
as	321	AGUAAGAUUUGGUGUCUAUdTdT	628
s	304	UAGACACCAAUCUUACUGdTdT	629
as	322	CAGUAAGAUUUGGUGUCUAdTdT	630
s	305	AGACACCAAUCUUACUGGdTdT	631
as	323	CCAGUAAGAUUUGGUGUCUdTdT	632
s	317	UUACUGGAAGGCACUUGGCdTdT	633
as	335	GCCAAGUGCCUCCAGUAAdTdT	634
s	32	UUCUCAUCGUCUGCUCdTdT	635
as	50	GAGGAGCAGACGAUGAGAAAdTdT	636
s	322	GGAAGGCACUUGGCAUCUCdTdT	637
as	340	GAGAUGCCAAGUGCCUUCdTdT	638
s	326	GGCACUUGGCAUCUCCCCAdTdT	639
as	344	UGGGGAGAUGCCAAGUGCCdTdT	640
s	333	GGCAUCUCCCCAUUCCAUGdTdT	641
as	351	AUGGAAUGGGGAGAUGCCTTdTdT	642
s	334	GCAUCUCCCCAUUCCAUGAdTdT	643
as	352	UCAUGGAAUGGGGAGAUGCdTdT	644
s	335	CAUCUCCCCAUUCCAUGAGdTdT	645
as	353	CUCAUGGAAUGGGGAGAUGdTdT	646
s	336	AUCUCCCCAUUCCAUGAGCdTdT	647
as	354	GCUCAUGGAAUGGGGAGAUdTdT	648
s	338	CUCCCCAUUCCAUGAGCAUdTdT	649
as	356	AUGCUC AUGGAAUGGGGAGdTdT	650
s	341	CCCAUCCAUGAGCAUGCAdTdT	651
as	359	UGCAUGCUC AUGGAAUGGGdTdT	652
s	347	CCAUGAGCAUGCAGAGGUGdTdT	653
as	365	CACCUCUGCAUGCUC AUGGdTdT	654
s	352	AGCAUGCAGAGGUGGU AUUdTdT	655
as	370	AAUACCACCUCUGCAUGCUCdTdT	656

Vláknó: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO: 1329)			
Vláknó	Poloha	Sekvence s 3'-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	354	CAUGCAGAGGUGGUAUUCAdTdT	657
as	372	UGAAUACCACCUCUGCAUGdTdT	658
s	355	AUGCAGAGGUGGUAUUCACdTdT	659
as	373	GUGAAUACCACCUCUGCAUdTdT	660
s	362	GGUGGUAUUCACAGCCAACdTdT	661
as	380	GUUGGCUGUGAAUACCACdTdT	662
s	363	GUGGUAUUCACAGCCAACGdTdT	663
as	381	CGUUGGCUGUGAAUACCACdTdT	664
s	364	UGGUAUUCACAGCCAACGAdTdT	665
as	382	UCGUUGGCUGUGAAUACCAdTdT	666
s	365	GGUAUUCACAGCCAACGACdTdT	667
as	383	GUCGUUGGCUGUGAAUACCdTdT	668
s	366	GUAUUCACAGCCAACGACUdTdT	669
as	384	AGUCGUUGGCUGUGAAUACdTdT	670
s	367	UAUUCACAGCCAACGACUCdTdT	671
as	385	GAGUCGUUGGCUGUGAAUAdTdT	672
s	370	UCACAGCCAACGACUCCGGdTdT	673
as	388	CCGGAGUCGUUGGCUGUGAdTdT	674
s	390	CCCCGCCGCUACACCAUUGdTdT	675
as	408	CAAUGGUGUAGCGGCGGGGdTdT	676
s	4	GAAGUCCACUCAUUCUUGGdTdT	677
as	22	CCAAGAAUGAGUGGACUUCdTdT	678
s	412	CCCUGCUGAGCCCCUACUCdTdT	679
as	430	GAGUAGGGGCUCAGCAGGGdTdT	680
s	417	CUGAGCCCCUACUCCUAUUDdTdT	681
as	435	AAUAGGAGUAGGGGCUCAGdTdT	682
s	418	UGAGCCCCUACUCCUAUUCdTdT	683
as	436	GAAUAGGAGUAGGGGCUCAdTdT	684
s	422	CCCUACUCCUAUUCACCdTdT	685
as	440	GGUGGAAUAGGAGUAGGGGdTdT	686
s	425	CUACUCCUAUUCACCACGdTdT	687

Vláknno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO: 1329)			
Vláknno	Poloha	Sekvence s 3'-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	443	CGUGGUGGAAUAGGAGUAGdTdT	688
s	426	UACUCCUAUUCCACCACGGdTdT	689
as	444	CCGUGGUGGAAUAGGAGUAdTdT	690
s	427	ACUCCUAUUCCACCACGGCdTdT	691
as	445	GCCGUGGUGGAAUAGGAGUdTdT	692
s	429	UCCUAUUCCACCACGGCUGdTdT	693
as	447	CAGCCGUGGUGGAAUAGGAdTdT	694
s	432	UAUUCCACCACGGCUGUCGdTdT	695
as	450	CGACAGCCGUGGUGGAAUAdTdT	696
s	433	AUCCACCACGGCUGUCGUdTdT	697
as	451	ACGACAGCCGUGGUGGAAUdTdT	698
s	437	CACCACGGCUGUCGUCACCDdTdT	699
as	455	GGUGACGACAGCCGUGGUGdTdT	700
s	438	ACCACGGCUGUCGUCACCAdTdT	701
as	456	UGGUGACGACAGCCGUGGUdTdT	702
s	439	CCACGGCUGUCGUCACCAAdTdT	703
as	457	UUGGUGACGACAGCCGUGGdTdT	704
s	441	ACGGCUGUCGUCACCAAUCdTdT	705
as	459	GAUUGGUGACGACAGCCGUdTdT	706
s	442	CGGCUGUCGUCACCAAUCCdTdT	707
as	460	GGAUUGGUGACGACAGCCGdTdT	708
s	449	CGUCACCAAUCCCAAGGAAdTdT	709
as	467	UUCUUGGGAUUGGUGACGdTdT	710
s	455	CAAUCCCAAGGAAUGAGGGdTdT	711
as	473	CCUCAUUCUUGGGAUUGdTdT	712
s	491	CCUGAAGGACGAGGGAUGGdTdT	713
as	509	CCAUCCCUCGUCCUUCAGGdTdT	714
s	497	GGACGAGGGAUGGGAUUUCdTdT	715
as	515	GAAAUCCCAUCCCUCGUCCdTdT	716
s	5	AAGUCCACUCAUUCUUGGCdTdT	717
as	23	GCCAAGAAUGAGUGGACUdTdT	718

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO: 1329)			
Vlákno	Poloha	Sekvence s 3'-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	508	GGGAUUUCAUGUAACCAAGdTdT	719
as	526	CUUGGUUACAUGAAAUCCdTdT	720
s	509	GGAUUUCAUGUAACCAAGdTdT	721
as	527	UCUUGGUUACAUGAAAUCCdTdT	722
s	514	UCAUGUAACCAAGAGUAUUdTdT	723
as	532	AAUACUCUUGGUUACAUGdTdT	724
s	516	AUGUAACCAAGAGUAUUCCdTdT	725
as	534	GGAAUACUCUUGGUUACAuTdT	726
s	517	UGUAACCAAGAGUAUCCAdTdT	727
as	535	UGGAAUACUCUUGGUUACAdTdT	728
s	518	GUAACCAAGAGUAUCCAuTdT	729
as	536	AUGGAAUACUCUUGGUUACdTdT	730
s	54	UGCCUUGCUGGACUGGUAUdTdT	731
as	72	AUACCAGUCCAGCAAGGCAdTdT	732
s	543	UAAAGCAGUGUUUUCACCUdTdT	733
as	561	AGGUGAAAACACUGCUUUAdTdT	734
s	55	GCCUUGCUGGACUGGUAUUdTdT	735
as	73	AAUACCAGUCCAGCAAGGCdTdT	736
s	551	UGUUUUCACCUCAUAUGCUdTdT	737
as	569	AGCAUAUGAGGUGAAAACAdTdT	738
s	552	GUUUUCACCUCAUAUGCUAdTdT	739
as	570	UAGCAUAUGAGGUGAAAACdTdT	740
s	553	UUUUCACCUCAUAUGCUAUdTdT	741
as	571	AUAGCAUAUGAGGUGAAAAdTdT	742
s	555	UUCACCUCAUAUGCUAUGUdTdT	743
as	573	ACAUAGCAUAUGAGGUGAAAdTdT	744
s	557	CACCUCAUAUGCUAUGUUAdTdT	745
as	575	UAACAUAGCAUAUGAGGUGdTdT	746
s	56	CCUUGCUGGACUGGUUUUdTdT	747
as	74	AAAUACCAGUCCAGCAAGGdTdT	748
s	563	AUAUGCUAUGUUAGAAGUCdTdT	749

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO: 1329)			
Vlákno	Poloha	Sekvence s 3'-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	581	GACUUCUAACAUAAGCAUAUdTdT	750
s	564	UAUGCUAUGUUAGAAGUCCdTdT	751
as	582	GGACUUCUAACAUAAGCAUAdTdT	752
s	566	UGCUAUGUUAGAAGUCCAGdTdT	753
as	584	CUGGACUUCUAACAUAAGCAdTdT	754
s	57	CUUGCUGGACUGGUUUUGdTdT	755
as	75	CAAAUACCAGUCCAGCAAGdTdT	756
s	578	AGUCCAGGCAGAGACAAUAdTdT	757
as	596	AUUGUCUCUGCCUGGACUTTdTdT	758
s	580	UCCAGGCAGAGACAAUAAAdTdT	759
as	598	UUUAUUGUCUCUGCCUGGAdTdT	760
s	607	GUGAAAGGCACUUUUCAUUdTdT	761
as	625	AAUGAAAAGUGCCUUUCACdTdT	762
s	62	UGGACUGGUUUUGUGUCUdTdT	763
as	80	AGACACAAAUACCAGUCCAdTdT	764
s	77	GUCUGAGGCUGGCCCUCGdTdT	765
as	95	CGUAGGGCCAGCCUCAGACdTdT	766
s	79	CUGAGGCUGGCCCUCAGGGdTdT	767
as	97	CCCGUAGGGCCAGCCUCAGdTdT	768
s	81	GAGGCUGGCCCUCAGGGCAdTdT	769
as	99	UGCCCGUAGGGCCAGCCUCdTdT	770
s	82	AGGCUGGCCCUCAGGGCACdTdT	771
as	100	GUGCCCGUAGGGCCAGCCUdTdT	772
s	84	GCUGGCCCUCAGGGCACCGdTdT	773
as	102	CGGUGCCCGUAGGGCCAGCdTdT	774
s	85	CUGGCCCUCAGGGCACCGdTdT	775
as	103	CCGGUGCCCGUAGGGCCAGdTdT	776
s	87	GGCCCUACGGGCACCGGUGdTdT	777
as	105	CACCGGUGCCCGUAGGGCCdTdT	778
s	9	CCACUCAUUCUUGGCAGGAdTdT	779
as	27	UCCUGCCAAGAAUGAGUGGdTdT	780

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO: 1329)

Vlákno	Poloha	Sekvence s 3'-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	90	CCUACGGGCACCGGUGAAUdTdT	781
as	108	AUUCACCGGUGCCCGUAGGdTdT	782
s	91	CUACGGGCACCGGUGAAUCdTdT	783
as	109	GAUUCACCGGUGCCCGUAGdTdT	784
s	92	UACGGGCACCGGUGAAUCCdTdT	785
as	110	GGAUUCACCGGUGCCCGUAdTdT	786
s	93	ACGGGCACCGGUGAAUCCAdTdT	787
as	111	UGGAUUCACCGGUGCCCGUdTdT	788
s	97	GCACCGGUGAAUCCAAGUGdTdT	789
as	115	CACUUGGAUUCACCGGUGCdTdT	790
s	98	CACCGGUGAAUCCAAGUGUdTdT	791
as	116	ACACUUGGAUUCACCGGUGdTdT	792
s	167	UGUGGCCAUGCAUGUGUUCdTdT	793
as	185	GAACACAUGCAUGGCCACAdTdT	794
s	168	GUGGCCAUGCAUGUGUUCAdTdT	795
as	186	UGAACACAUGCAUGGCCACdTdT	796
s	171	GCCAUGCAUGUGUUCAGAAdTdT	797
as	189	UUCUGAACACAUGCAUGGCdTdT	798
s	432	UAUUCCACCACGGCUGUCAdTdT	799
as	449	UGACAGCCGUGGUGGAAUAdTdT	800
s	447	GUCAUCACCAAUCCCAAGGdTdT	801
as	465	CCUUGGGAUUGGUGAUGACdTdT	802
s	115	GUCCUCUGAUGGUCAAAGUdTdT	803
as	133	ACUUUGACCAUCAGAGGACdTdT	804
s	122	GAUGGUCAAAGUUCUAGAAdTdT	805
as	140	AUCUAGAACUUUGACCAUCdTdT	806
s	139	AUGCUGUCCGAGGCAGUCCdTdT	807
as	157	GGACUGCCUCGGACAGCAUdTdT	808
s	172	CCGUGCAUGUGUUCAGAAAdTdT	809
as	190	UUUCUGAACACAUGCACGGdTdT	810
s	238	AGUCUGGAGAGCUGCAUGGdTdT	811

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO: 1329)

Vlákno	Poloha	Sekvence s 3'-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	256	CCAUGCAGCUCUCCAGACUdTdT	812
s	252	CAUGGGCUCACAACUGAGGdTdT	813
as	270	CCUCAGUUGUGAGCCCAUGdTdT	814
s	33	UCUCAUCGUCUGCUCCUCCdTdT	815
as	51	GGAGGAGCAGACGAUGAGAdTdT	816
s	340	CCCCAUUCCAUGAGCAUGCdTdT	817
as	358	GCAUGCUC AUGGAAUGGGGdTdT	818
s	421	GCCCCUACUCCUAUUCCACdTdT	819
as	439	GUGGAAUAGGAGUAGGGGCdTdT	820
s	431	CUAUUCCACCACGGCUGUCdTdT	821
as	449	GACAGCCGUGGUGGAAUAGdTdT	822
s	440	CACGGCUGUCGUCACCAAUdTdT	823
as	458	AUUGGUGACGACAGCCGUGdTdT	824
s	496	AGGACGAGGGAUGGGAUUUdTdT	825
as	514	AAAUCCCAUCCCUCGUCCUdTdT	826
s	556	UCACCUCAUAUGCUAUGUUdTdT	827
as	574	AACAUAGCAUAUGAGGUGAdTdT	828
s	559	CCUCAUAUGCUAUGUUAGAdTdT	829
as	577	UCUAACAUAAGCAUAUGAGGdTdT	830
s	570	AUGUUAGAAGUCCAGGCAGdTdT	831
as	588	CUGCCUGGACUUCUAACAAdTdT	832
s	78	UCUGAGGCUGGCCCUACGGdTdT	833
as	96	CCGUAGGGCCAGCCUCAGAdTdT	834
s	87	GGCCCUACGGGCACCGGUGdTdT	835
as	105	CACCGGUGCCCGUAGGGCCdTdT	836
s	95	GGGCACCGGUGAAUCCAAGdTdT	837
as	113	CUUGGAUUCACCGGUGCCCDdTdT	838
s	167	CCAUGCAUGUGUUCAGAAAdTdT	839
as	185	UUUCUGAACACAUGCAUGGdTdT	840

Tabulka 4. Chemicky modifikované sekvence vláken sense a antisense lidských TTR dsRNAs

Viz tabulka 2 pro duplex #. Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha of 5'-base na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)

Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	A-32153	100	ccGGuGAAuccAAGuGuccdTdT	841
as	A-32154	118	GGAcACUUGGAUucACCGGdTdT	842
s	A-32155	11	AcucAuucuuGGcAGGAuGdTdT	843
as	A-32156	29	cAUCCUGCcAAGAAUGAGUdTdT	844
s	A-32157	111	AAGuGuccucuGAuGGucAdTdT	845
as	A-32158	129	UGACcAUcAGAGGAcACUudTdT	846
s	A-32163	13	ucAuucuuGGcAGGAuGGcdTdT	847
as	A-32164	31	GCcAUCCUGCcAAGAAUGAdTdT	848
s	A-32165	130	AAGuucuAGAuGcuGuccGdTdT	849
as	A-32166	148	CGGAcAGcAUCuAGAACUudTdT	850
s	A-32167	132	GuucuAGAuGcuGuccGAGdTdT	851
as	A-32168	150	CUCGGAcAGcAUCuAGAACdTdT	852
s	A-32169	135	cuAGAuGcuGuccGAGGcAdTdT	853
as	A-32170	153	UGCCUCGGAcAGcAUCuAGdTdT	854
s	A-32171	138	GAuGcuGuccGAGGcAGucdTdT	855
as	A-32172	156	GACUGCCUCGGAcAGcAUCdTdT	856
s	A-32175	14	cAuucuuGGcAGGAuGGcudTdT	857
as	A-32176	32	AGCcAUCCUGCcAAGAAUGdTdT	858
s	A-32177	140	uGcuGuccGAGGcAGuccdTdT	859
as	A-32178	158	AGGACUGCCUCGGAcAGcAdTdT	860
s	A-32179	146	ccGAGGcAGuccuGccAucdTdT	861
as	A-32180	164	GAUGGcAGGACUGCCUCGGdTdT	862
s	A-32181	152	cAGuccuGccAucAAuGuGdTdT	863
as	A-32182	170	cAcAUUGAUGGcAGGACUGdTdT	864
s	A-32183	164	cAAuGuGGccGuGcAuGuGdTdT	865
as	A-32184	182	cAcAUGcACGGCcAcAUUGdTdT	866
s	A-32187	178	AuGuGuucAGAAAGGcuGcdTdT	867
as	A-32188	196	GcAGCCUUCUGAAcAcAUdTdT	868
s	A-32189	2	cAGAAGuccAcucAuucuuudTdT	869
as	A-32190	20	AAGAAUGAGUGGACUUCUGdTdT	870

Viz tabulka 2 pro duplex #. Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha of 5'-base na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)

Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	A-32191	21	GGcAGGAuGGcuucucAucdTdT	871
as	A-32192	39	GAUGAGAAGCcAUCCUGCCdTdT	872
s	A-32193	210	GAGccAuuuGccucuGGGAdTdT	873
as	A-32194	228	UCCcAGAGGcAAAUGGCUCdTdT	874
s	A-32195	23	cAGGAuGGcuucucAucGudTdT	875
as	A-32196	41	ACGAUGAGAAGCCAUCCUGdTdT	876
s	A-32199	24	AGGAuGGcuucucAucGucdTdT	877
as	A-32200	42	GACGAUGAGAAGCcAUCCUdTdT	878
s	A-32201	245	AGAGcuGcAuGGGcucAcAdTdT	879
as	A-32202	263	UGUGAGCCcAUGcAGCUCUdTdT	880
s	A-32203	248	GcuGcAuGGGcucAcAAcudTdT	881
as	A-32204	266	AGUUGUGAGCCcAUGcAGCdTdT	882
s	A-32205	25	GGAuGGcuucucAucGucudTdT	883
as	A-32206	43	AGACGAUGAGAAGCcAUCCdTdT	884
s	A-32207	251	GcAuGGGcucAcAAcuGAGdTdT	885
as	A-32208	269	CUcAGUUGUGAGCCcAUGCdTdT	886
s	A-32211	253	AuGGGcucAcAAcuGAGGAdTdT	887
as	A-32212	271	UCCUcAGUUGUGAGCCcAUdTdT	888
s	A-32213	254	uGGGcucAcAAcuGAGGAGdTdT	889
as	A-32214	272	CUCCUcAGUUGUGAGCCcAdTdT	890
s	A-32215	270	GAGGAAuuuGuAGAAGGGAdTdT	891
as	A-32216	288	UCCCUUCuAcAAAUUCCUCdTdT	892
s	A-32217	276	uuuGuAGAAGGGAuAuAcAdTdT	893
as	A-32218	294	UGuAuAUCCCUUCuAcAAAdTdT	894
s	A-32219	277	uuGuAGAAGGGAuAuAcAAAdTdT	895
as	A-32220	295	UUGuAuAUCCCUUCuAcAAAdTdT	896
s	A-32221	278	uGuAGAAGGGAuAuAcAAAdTdT	897
as	A-32222	296	UUUGuAuAUCCCUUCuAcAdTdT	898
s	A-32223	281	AGAAGGGAuAuAcAAAGuGdTdT	899
as	A-32224	299	cACUUUGuAuAUCCCUUCUdTdT	900
s	A-32225	295	AAGuGGAAAuAGAcAccAAAdTdT	901

Viz tabulka 2 pro duplex #. Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha of 5'-base na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)

Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	A-32226	313	UUGGUGUCuAUUUCcACUUDTdT	902
s	A-32227	299	GGAAuAGAcAccAAAUcudTdT	903
as	A-32228	317	AGAUUUGGUGUCuAUUUCcTdT	904
s	A-32229	300	GAAuAGAcAccAAAUcudTdT	905
as	A-32230	318	AAGAUUUGGUGUCuAUUUCcTdT	906
s	A-32231	303	AuAGAcAccAAAUcudTdT	907
as	A-32232	321	AGuAAGAUUUGGUGUCuAUdTdT	908
s	A-32233	304	uAGAcAccAAAUcudAcuGdTdT	909
as	A-32234	322	cAGuAAGAUUUGGUGUCuAdTdT	910
s	A-32235	305	AGAcAccAAAUcudAcuGGdTdT	911
as	A-32236	323	CcAGuAAGAUUUGGUGUCUdTdT	912
s	A-32237	317	uuAcuGGAAGGcAcuuGGcdTdT	913
as	A-32238	335	GCcAAGUGCCUUCcAGuAAAdTdT	914
s	A-32239	32	uucucAucGucuGcuccudTdT	915
as	A-32240	50	GAGGAGcAGACGAUGAGAAAdTdT	916
s	A-32241	322	GGAAGGcAcuuGGcAucudTdT	917
as	A-32242	340	GAGAUGCcAAGUGCCUUCcTdT	918
s	A-32243	326	GGcAcuuGGcAucucuccAdTdT	919
as	A-32244	344	UGGGGAGAUGCcAAGUGCCdTdT	920
s	A-32247	333	GGcAucucuccAuuccAuGdTdT	921
as	A-32248	351	cAUGGAAUGGGGAGAUGCCdTdT	922
s	A-32249	334	GcAucucuccAuuccAuGAdTdT	923
as	A-32250	352	UcAUGGAAUGGGGAGAUGCdTdT	924
s	A-32251	335	cAucucuccAuuccAuGAGdTdT	925
as	A-32252	353	CUcAUGGAAUGGGGAGAUGdTdT	926
s	A-32253	336	AucucuccAuuccAuGAGcdTdT	927
as	A-32254	354	GCUcAUGGAAUGGGGAGAUCdTdT	928
s	A-32255	338	cucuccAuuccAuGAGcAudTdT	929
as	A-32256	356	AUGCUcAUGGAAUGGGGAGdTdT	930
s	A-32259	341	cccAuuccAuGAGcAuGcAdTdT	931
as	A-32260	359	UGcAUGCUcAUGGAAUGGGdTdT	932

Viz tabulka 2 pro duplex #. Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha of 5'-base na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)

Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	A-32261	347	ccAuGAGcAuGcAGAGGuGdTdT	933
as	A-32262	365	cACCUCUGcAUGCUcAUGGdTdT	934
s	A-32263	352	AGcAuGcAGAGGuGGuAuudTdT	935
as	A-32264	370	AAuACcACCUCUGcAUGCUdTdT	936
s	A-32265	354	cAuGcAGAGGuGGuAuucAdTdT	937
as	A-32266	372	UGAAuACcACCUCUGcAUGdTdT	938
s	A-32267	355	AuGcAGAGGuGGuAuucAcdTdT	939
as	A-32268	373	GUGAAuACcACCUCUGcAUdTdT	940
s	A-32269	362	GGuGGuAuucAcAGccAAcAdTdT	941
as	A-32270	380	GUUGGCUGUGAAuACcACcAdTdT	942
s	A-32271	363	GuGGuAuucAcAGccAAcGdTdT	943
as	A-32272	381	CGUUGGCUGUGAAuACcACdTdT	944
s	A-32273	364	uGGuAuucAcAGccAAcGAdTdT	945
as	A-32274	382	UCGUUGGCUGUGAAuACcAdTdT	946
s	A-32275	365	GGuAuucAcAGccAAcGAcdTdT	947
as	A-32276	383	GUCGUUGGCUGUGAAuACcAdTdT	948
s	A-32277	366	GuAuucAcAGccAAcGAcudTdT	949
as	A-32278	384	AGUCGUUGGCUGUGAAuACdTdT	950
s	A-32279	367	uAuucAcAGccAAcGAcudTdT	951
as	A-32280	385	GAGUCGUUGGCUGUGAAuAdTdT	952
s	A-32281	370	ucAcAGccAAcGAcuccGGdTdT	953
as	A-32282	388	CCGGAGUCGUUGGCUGUGAdTdT	954
s	A-32283	390	ccccGccGcuAcAccAuuGdTdT	955
as	A-32284	408	cAAUGGUGuAGCGGCGGGdTdT	956
s	A-32285	4	GAAGuccAcucAuucuuGGdTdT	957
as	A-32286	22	CcAAGAAUGAGUGGACUUCdTdT	958
s	A-32287	412	cccuGcuGAGcccuAcucdTdT	959
as	A-32288	430	GAGuAGGGGCUCAGcAGGGdTdT	960
s	A-32289	417	cuGAGcccuAcuccuAuudTdT	961
as	A-32290	435	AAuAGGAGuAGGGGCUCAGdTdT	962
s	A-32291	418	uGAGcccuAcuccuAuucdTdT	963

Viz tabulka 2 pro duplex #. Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha of 5'-base na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)

Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	A-32292	436	GAAuAGGAGuAGGGGCUcAdTdT	964
s	A-32295	422	cccuAcuccuAuuccAccdTdT	965
as	A-32296	440	GGUGGAAuAGGAGuAGGGGdTdT	966
s	A-32297	425	cuAcuccuAuuccAccAcGdTdT	967
as	A-32298	443	CGUGGUGGAAuAGGAGuAGdTdT	968
s	A-32299	426	uAcuccuAuuccAccAcGGdTdT	969
as	A-32300	444	CCGUGGUGGAAuAGGAGuAdTdT	970
s	A-32301	427	AcuccuAuuccAccAcGGcdTdT	971
as	A-32302	445	GCCGUGGUGGAAuAGGAGUdTdT	972
s	A-32303	429	uccuAuuccAccAcGGcuGdTdT	973
as	A-32304	447	cAGCCGUGGUGGAAuAGGAdTdT	974
s	A-32307	432	uAuuccAccAcGGcuGucGdTdT	975
as	A-32308	450	CGAcAGCCGUGGUGGAAuAdTdT	976
s	A-32309	433	AuuccAccAcGGcuGucGudTdT	977
as	A-32310	451	ACGAcAGCCGUGGUGGAAUdTdT	978
s	A-32311	437	cAccAcGGcuGucGucAccdTdT	979
as	A-32312	455	GGUGACGAcAGCCGUGGUGdTdT	980
s	A-32313	438	AccAcGGcuGucGucAccAdTdT	981
as	A-32314	456	UGGUGACGAcAGCCGUGGUdTdT	982
s	A-32315	439	ccAcGGcuGucGucAccAAdTdT	983
as	A-32316	457	UUGGUGACGAcAGCCGUGGdTdT	984
s	A-32319	441	AcGGcuGucGucAccAAucdTdT	985
as	A-32320	459	GAUUGGUGACGAcAGCCGUdTdT	986
s	A-32321	442	cGGcuGucGucAccAAuccdTdT	987
as	A-32322	460	GGAUUGGUGACGAcAGCCGdTdT	988
s	A-32323	449	cGucAccAAuccAAGGAAdTdT	989
as	A-32324	467	UUCUUGGGAUUGGUGACGdTdT	990
s	A-32325	455	cAAuccAAGGAAuGAGGGdTdT	991
as	A-32326	473	CCCUcAUUCUUGGGAUUGdTdT	992
s	A-32327	491	ccuGAAGGAcGAGGGAuGGdTdT	993
as	A-32328	509	CcAUCCCUCGUCCUUCAGGdTdT	994

Viz tabulka 2 pro duplex #. Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha of 5'-base na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)

Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	A-32331	497	GGAcGAGGGAuGGGAuuucdTdT	995
as	A-32332	515	GAAAUCCcAUCCUCGUCCdTdT	996
s	A-32333	5	AAGuccAcucAuucuuGGcdTdT	997
as	A-32334	23	GCcAAGAAUGAGUGGACUudTdT	998
s	A-32335	508	GGGAuuucAuGuAAccAAGdTdT	999
as	A-32336	526	CUUGGUuAcAUGAAAUCCdTdT	1000
s	A-32337	509	GGAUuucAuGuAAccAAGAdTdT	1001
as	A-32338	527	UCUUGGUuAcAUGAAAUCCdTdT	1002
s	A-32339	514	ucAuGuAAccAAGAGuAuudTdT	1003
as	A-32340	532	AAuACUCUUGGUuAcAUGAdTdT	1004
s	A-32341	516	AuGuAAccAAGAGuAuuccdTdT	1005
as	A-32342	534	GGAAuACUCUUGGUuAcAUdTdT	1006
s	A-32343	517	uGuAAccAAGAGuAuuccAdTdT	1007
as	A-32344	535	UGGAAuACUCUUGGUuAcAdTdT	1008
s	A-32345	518	GuAAccAAGAGuAuuccAudTdT	1009
as	A-32346	536	AUGGAAuACUCUUGGUuACdTdT	1010
s	A-32347	54	uGccuuGcuGGAcuGGuAudTdT	1011
as	A-32348	72	AuACcAGUCcAGcAAGGcAdTdT	1012
s	A-32349	543	uAAAGcAGuGuuuucAccudTdT	1013
as	A-32350	561	AGGUGAAAACUGCUUuAdTdT	1014
s	A-32351	55	GccuuGcuGGAcuGGuAuudTdT	1015
as	A-32352	73	AAuACcAGUCcAGcAAGGCdTdT	1016
s	A-32353	551	uGuuuucAccucAuAuGcudTdT	1017
as	A-32354	569	AGcAuAUGAGGUGAAAACdTdT	1018
s	A-32355	552	GuuuucAccucAuAuGcuAdTdT	1019
as	A-32356	570	uAGcAuAUGAGGUGAAAACdTdT	1020
s	A-32357	553	uuuucAccucAuAuGcuAudTdT	1021
as	A-32358	571	AuAGcAuAUGAGGUGAAAAdTdT	1022
s	A-32359	555	uucAccucAuAuGcuAuGudTdT	1023
as	A-32360	573	AcAuAGcAuAUGAGGUGAAAdTdT	1024
s	A-32363	557	cAccucAuAuGcuAuGuuAdTdT	1025

Viz tabulka 2 pro duplex #. Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha of 5'-base na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)

Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	A-32364	575	uAAcAuAGcAuAUGAGGUGdTdT	1026
s	A-32367	56	ccuuGcuGGAcuGGuAuuudTdT	1027
as	A-32368	74	AAAuACcAGUCcAGcAAGGdTdT	1028
s	A-32369	563	AuAuGcuAuGuuAGAAGucdTdT	1029
as	A-32370	581	GACUUCuAAcAuAGcAuAUdTdT	1030
s	A-32371	564	uAuGcuAuGuuAGAAGuccdTdT	1031
as	A-32372	582	GGACUUCuAAcAuAGcAuAdTdT	1032
s	A-32373	566	uGcuAuGuuAGAAGuccAGdTdT	1033
as	A-32374	584	CUGGACUUCuAAcAuAGcAdTdT	1034
s	A-32375	57	cuuGcuGGAcuGGuAuuuGdTdT	1035
as	A-32376	75	cAAAuACcAGUCcAGcAAGdTdT	1036
s	A-32379	578	AGuccAGGcAGAGAcAAuAdTdT	1037
as	A-32380	596	uAUUGUCUCUGCCUGGACUdTdT	1038
s	A-32381	580	uccAGGcAGAGAcAAuAAAdTdT	1039
as	A-32382	598	UUuAUUGUCUCUGCCUGGAdTdT	1040
s	A-32383	607	GuGAAAGGcAcuuuucAuudTdT	1041
as	A-32384	625	AAUGAAAAGUGCCUUUcAcdTdT	1042
s	A-32385	62	uGGAcuGGuAuuuGuGucudTdT	1043
as	A-32386	80	AGAcAcAAuACcAGUCcAdTdT	1044
s	A-32387	77	GucuGAGGcuGGccuAcGdTdT	1045
as	A-32388	95	CGuAGGGCcAGCCUcAGAcdTdT	1046
s	A-32391	79	cuGAGGcuGGccuAcGGGdTdT	1047
as	A-32392	97	CCCGuAGGGCcAGCCUcAGdTdT	1048
s	A-32393	81	GAGGcuGGccuAcGGGcAdTdT	1049
as	A-32394	99	UGCCCGuAGGGCcAGCCUCdTdT	1050
s	A-32395	82	AGGcuGGccuAcGGGcAcdTdT	1051
as	A-32396	100	GUGCCCGuAGGGCcAGCCUdTdT	1052
s	A-32397	84	GcuGGccuAcGGGcAccGdTdT	1053
as	A-32398	102	CGGUGCCCGuAGGGCcAGCdTdT	1054
s	A-32399	85	cuGGccuAcGGGcAccGGdTdT	1055
as	A-32400	103	CCGGUGCCCGuAGGGCcAGdTdT	1056

Viz tabulka 2 pro duplex #. Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha of 5'-base na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)

Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	A-32401	87	GGcccuAcGGGcAccGGuGdTdT	1057
as	A-32402	105	cACCGGUGCCCGuAGGGCCdTdT	1058
s	A-32403	9	ccAcucAuucuuGGcAGGAdTdT	1059
as	A-32404	27	UCCUGCcAAGAAUGAGUGGdTdT	1060
s	A-32405	90	ccuAcGGGcAccGGuGAAudTdT	1061
as	A-32406	108	AUUcACCGGUGCCCGuAGGdTdT	1062
s	A-32407	91	cuAcGGGcAccGGuGAAucdTdT	1063
as	A-32408	109	GAUUcACCGGUGCCCGuAGdTdT	1064
s	A-32409	92	uAcGGGcAccGGuGAAuccdTdT	1065
as	A-32410	110	GGAUUcACCGGUGCCCGuAdTdT	1066
s	A-32411	93	AcGGGcAccGGuGAAuccAdTdT	1067
as	A-32412	111	UGGAUUcACCGGUGCCCGUdTdT	1068
s	A-32415	97	GcAccGGuGAAuccAAGuGdTdT	1069
as	A-32416	115	cACUUGGAUUcACCGGUGCdTdT	1070
s	A-32417	98	cAccGGuGAAuccAAGuGudTdT	1071
as	A-32418	116	AcACUUGGAUUcACCGGUGdTdT	1072
s	A-32419	167	uGuGGccAuGcAuGuGuucdTdT	1073
as	A-32420	185	GAAcAcAUGcAUGGCcAcAdTdT	1074
s	A-32421	168	GuGGccAuGcAuGuGuucAdTdT	1075
as	A-32422	186	UGAAcAcAUGcAUGGCcACdTdT	1076
s	A-32423	171	GccAuGcAuGuGuucAGAAdTdT	1077
as	A-32424	189	UUCUGAAcAcAUGcAUGGCdTdT	1078
s	A-32427	432	uAuuccAccAcGGcuGucAdTdT	1079
as	A-32428	449	UGAcAGCCGUGGUGGAAuAdTdT	1080
s	A-32429	447	GucAucAccAAuccAAGGdTdT	1081
as	A-32430	465	CCUUGGGAUUGGUGAUGACdTdT	1082
s	A-32159	115	GuccucuGAuGGucAAAGudTdT	1083
as	A-32160	133	ACUUUGACcAUcAGAGGACdTdT	1084
s	A-32161	122	GAuGGucAAAGuucuAGAudTdT	1085
as	A-32162	140	AUCuAGAACUUUGACcAUCdTdT	1086
s	A-32173	139	AuGcuGuccGAGGcAGuccdTdT	1087

Viz tabulka 2 pro duplex #. Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha of 5'-base na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)

Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	A-32174	157	GGACUGCCUCGGAcAGcAUdTdT	1088
s	A-32185	172	ccGuGcAuGuGuucAGAAAdTdT	1089
as	A-32186	190	UUUCUGAAcAcAUGcACGGdTdT	1090
s	A-32197	238	AGucuGGAGAGcuGcAuGGdTdT	1091
as	A-32198	256	CcAUGcAGCUCUCcAGACUdTdT	1092
s	A-32209	252	cAuGGGcucAcAAcuGAGGdTdT	1093
as	A-32210	270	CCUcAGUUGUGAGCCcAUGdTdT	1094
s	A-32245	33	ucucAucGucuGcuccuccdTdT	1095
as	A-32246	51	GGAGGAGcAGACGAUGAGAdTdT	1096
s	A-32257	340	ccccAuuccAuGAGcAuGcdTdT	1097
as	A-32258	358	GcAUGCUcAUGGAAUGGGGdTdT	1098
s	A-32293	421	GccccuAcuccuAuuccAcdTdT	1099
as	A-32294	439	GUGGAAuAGGAGuAGGGGCdTdT	1100
s	A-32305	431	cuAuuccAccAcGGcuGucdTdT	1101
as	A-32306	449	GAcAGCCGUGGUGGAAuAGdTdT	1102
s	A-32317	440	cAcGGcuGucGucAccAAudTdT	1103
as	A-32318	458	AUUGGUGACGAcAGCCGUGdTdT	1104
s	A-32329	496	AGGAcGAGGGAuGGGAuuudTdT	1105
as	A-32330	514	AAAUCCcAUCCCUCGUCCUdTdT	1106
s	A-32361	556	ucAccucAuAuGcuAuGuudTdT	1107
as	A-32362	574	AAcAuAGcAuAUGAGGUGAdTdT	1108
s	A-32365	559	ccucAuAuGcuAuGuuAGAdTdT	1109
as	A-32366	577	UCuAAcAuAGcAuAUGAGGdTdT	1110
s	A-32377	570	AuGuuAGAAGuccAGGcAGdTdT	1111
as	A-32378	588	CUGCCUGGACUUCuAAcAUdTdT	1112
s	A-32389	78	ucuGAGGcuGGcccuAcGGdTdT	1113
as	A-32390	96	CCGuAGGGCcAGCCUcAGAdTdT	1114
s	A-32401	87	GGcccuAcGGGcAccGGuGdTdT	1115
as	A-32402	105	cACCGGUGCCCGuAGGGCCdTdT	1116
s	A-32413	95	GGGcAccGGuGAAuccAAGdTdT	1117
as	A-32414	113	CUUGGAUUCACCGGUGCCCDdTdT	1118

Viz tabulka 2 pro duplex #. Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha of 5'-base na transkriptu (NM_000371.2, SEQ ID NO:1329)

Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	A-32425	167	ccAuGcAuGuGuucAGAAAdTdT	1119
as	A-32426	185	UUUCUGAAcAcAUGcAUGGdTdT	1120

Tabulka 5: Identifikační čísla pro krycí TTR dsRNAs

Viz tabulka 7 pro sekvence.

Duplex #	Sense Oligo #	Antisense Oligo #
AD-18529	A-32745	A-32746.
AD-18530	A-32747	A-32748
AD-18531	A-32749	A-32750
AD-18532	A-32751	A-32752
AD-18533	A-32753	A-32754
AD-18534	A-32755	A-32756
AD-18535	A-32757	A-32758
AD-18536	A-32759	A-32760
AD-18537	A-32761	A-32762
AD-18538	A-32763	A-32764
AD-18539	A-32159	A-32160
AD-18540	A-32765	A-32766
AD-18541	A-32767	A-32768
AD-18542	A-32769	A-32770
AD-18543	A-32771	A-32772
AD-18544	A-32773	A-32774
AD-18545	A-32775	A-32776
AD-18546	A-32777	A-32778
AD-18547	A-32779	A-32780
AD-18548	A-32781	A-32782
AD-18549	A-32783	A-32784
AD-18550	A-32785	A-32786
AD-18551	A-32787	A-32788
AD-18552	A-32791	A-32792

Viz tabulka 7 pro sekvence.

Duplex #	Sense Oligo #	Antisense Oligo #
AD-18553	A-32793	A-32794
AD-18554	A-32795	A-32796

Tabulka 6A. Sekvence vláken sense a antisense pro kryší TTR dsRNAs

Vláknko: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_012681.1, SEQ ID NO:1330)					
Vláknko	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:	Sekvence s 3'-dinukleotidovým přesahem (5' to 3')	SEQ ID NO:
s	115	GUCCUCUGAUGGUCAAAGU	1121	GUCCUCUGAUGGUCAAAGUNN	1173
as	133	ACUUUGACCAUCAGAGGAC	1122	ACUUUGACCAUCAGAGGACNN	1174
s	537	UUCUUGCUCUAUAAACCGU	1123	UUCUUGCUCUAUAAACCGUNN	1175
as	555	ACGGUUUAUAGAGCAAGAA	1124	ACGGUUUAUAGAGCAAGAANN	1176
s	543	CUCUAUAAACCGUGUAGC	1125	CUCUAUAAACCGUGUAGCNN	1177
as	561	GCUAACACGGUUUAUAGAG	1126	GCUAACACGGUUUAUAGAGNN	1178
s	392	UCGCCACUACACCAUCGCA	1127	UCGCCACUACACCAUCGCANN	1179
as	410	UGCGAUGGUGUAGUGGCGA	1128	UGCGAUGGUGUAGUGGCGANN	1180
s	538	UCUUGCUCUAUAAACCGUG	1129	UCUUGCUCUAUAAACCGUGNN	1181
as	556	CACGGUUUAUAGAGCAAGA	1130	CACGGUUUAUAGAGCAAGANN	1182
s	541	UGCUCUAUAAACCGUGUUA	1131	UGCUCUAUAAACCGUGUUNN	1183
as	559	UAACACGGUUUAUAGAGCA	1132	UAACACGGUUUAUAGAGCANN	1184
s	532	CAGUGUUCUUGCUCUAUAA	1133	CAGUGUUCUUGCUCUAUANN	1185
as	550	UUAUAGAGCAAGAACACUG	1134	UUAUAGAGCAAGAACACUGNN	1186
s	542	GCUCUAUAAACCGUGUAG	1135	GCUCUAUAAACCGUGUAGNN	1187
as	560	CUAACACGGUUUAUAGAGC	1136	CUAACACGGUUUAUAGAGCNN	1188
s	134	CCUGGAUGCUGUCCGAGGC	1137	CCUGGAUGCUGUCCGAGGCNN	1189
as	152	GCCUCGGACAGCAUCCAGG	1138	GCCUCGGACAGCAUCCAGGNN	1190
s	119	UCUGAUGGUCAAAGUCCUG	1139	UCUGAUGGUCAAAGUCCUGNN	1191
as	137	CAGGACUUUGACCAUCAGA	1140	CAGGACUUUGACCAUCAGANN	1192
s	241	CUGGAGAGCUGCACGGGCU	1141	CUGGAGAGCUGCACGGGCUNN	1193
as	259	AGCCCGUGCAGCUCUCCAG	1142	AGCCCGUGCAGCUCUCCAGNN	1194
s	544	UCUAUAAACCGUGUAGCA	1143	UCUAUAAACCGUGUAGCANN	1195
as	562	UGCUAACACGGUUUAUAGA	1144	UGCUAACACGGUUUAUAGANN	1196
s	530	AACAGUGUUCUUGCUCUAU	1145	AACAGUGUUCUUGCUCUAUNN	1197
as	548	AUAGAGCAAGAACACUGUU	1146	AUAGAGCAAGAACACUGUUNN	1198
s	118	CUCUGAUGGUCAAAGUCCU	1147	CUCUGAUGGUCAAAGUCCUNN	1199
as	136	AGGACUUUGACCAUCAGAG	1148	AGGACUUUGACCAUCAGAGNN	1200
s	140	UGCUGUCCGAGGCAGCCCU	1149	UGCUGUCCGAGGCAGCCUNN	1201

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_012681.1, SEQ ID NO:1330)

Vlákno	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:	Sekvence s 3'-dinukleotidovým přesahem (5' to 3')	SEQ ID NO:
as	158	AGGGCUGCCUCGGACAGCA	1150	AGGGCUGCCUCGGACAGCANN	1202
s	239	GUCUGGAGAGCUGCACGGG	1151	GUCUGGAGAGCUGCACGGGNN	1203
as	257	CCCGUGCAGCUCUCCAGAC	1152	CCCGUGCAGCUCUCCAGCANN	1204
s	531	ACAGUGUUCUUGCUCUAUA	1153	ACAGUGUUCUUGCUCUAUANN	1205
as	549	UAUAGAGCAAGAACACUGU	1154	UAUAGAGCAAGAACACUGUNN	1206
s	117	CCUCUGAUGGUCAAAGUCC	1155	CCUCUGAUGGUCAAAGUCCNN	1207
as	135	GGACUUUGACCAUCAGAGG	1156	GGACUUUGACCAUCAGAGGNN	1208
s	131	AGUCCUGGAUGCUGUCCGA	1157	AGUCCUGGAUGCUGUCCGANN	1209
as	149	UCGGACAGCAUCCAGGACU	1158	UCGGACAGCAUCCAGGACUNN	1210
s	217	UUGCCUCUGGGAAGACCGC	1159	UUGCCUCUGGGAAGACCGCANN	1211
as	235	GCGGUCUUCCCAGAGGCAA	1160	GCGGUCUUCCCAGAGGCAANN	1212
s	242	UGGAGAGCUGCACGGGCUC	1161	UGGAGAGCUGCACGGGCUCANN	1213
as	260	GAGCCCGUGCAGCUCUCCA	1162	GAGCCCGUGCAGCUCUCCANN	1214
s	244	GAGAGCUGCACGGGCUCAC	1163	GAGAGCUGCACGGGCUCACANN	1215
as	262	GUGAGCCCGUGCAGCUCUC	1164	GUGAGCCCGUGCAGCUCUCANN	1216
s	246	GAGCUGCACGGGCUCACCA	1165	GAGCUGCACGGGCUCACCANN	1217
as	264	UGGUGAGCCCGUGCAGCUC	1166	UGGUGAGCCCGUGCAGCUCANN	1218
s	399	UACACCAUCGCAGCCCUGC	1167	UACACCAUCGCAGCCCUGNN	1219
as	417	GCAGGGCUGCGAUGGUGUA	1168	GCAGGGCUGCGAUGGUGUANN	1220
s	132	GUCCUGGAUGCUGUCCGAG	1169	GUCCUGGAUGCUGUCCGAGNN	1221
as	150	CUCGGACAGCAUCCAGGAC	1170	CUCGGACAGCAUCCAGGACANN	1222
s	245	AGAGCUGCACGGGCUCACC	1171	AGAGCUGCACGGGCUCACCANN	1223
as	263	GGUGAGCCCGUGCAGCUCU	1172	GGUGAGCCCGUGCAGCUCUNN	1224

Tabulka 6B. Sekvence vláken sense a antisense pro kryší TTR dsRNAs

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_012681.1, SEQ ID NO:1330)

<u>Vlákno</u>	<u>Poloha</u>	<u>Sekvence s 3-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')</u>	<u>SEQ ID NO:</u>
<u>s</u>	<u>115</u>	<u>GUCCUCUGAUGGUCAAAGUdTdT</u>	<u>1225</u>
<u>as</u>	<u>133</u>	<u>ACUUUGACCAUCAGAGGACdTdT</u>	<u>1226</u>
<u>s</u>	<u>537</u>	<u>UUCUUGCUCUAUAAACCGUdTdT</u>	<u>1227</u>
<u>as</u>	<u>555</u>	<u>ACGGUUUAUAGAGCAAGAAdTdT</u>	<u>1228</u>
<u>s</u>	<u>543</u>	<u>CUCUAUAAACCGUGUAGCdTdT</u>	<u>1229</u>
<u>as</u>	<u>561</u>	<u>GCUAACACGGUUUAUAGAGdTdT</u>	<u>1230</u>

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_012681.1, SEQ ID NO:1330)

<u>Vlákno</u>	<u>Poloha</u>	<u>Sekvence s 3-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')</u>	<u>SEQ ID NO:</u>
<u>s</u>	<u>392</u>	<u>UCGCCACUACACCAUCGCAdTdT</u>	<u>1231</u>
<u>as</u>	<u>410</u>	<u>UGCGAUGGUGUAGUGGGCGAdTdT</u>	<u>1232</u>
<u>s</u>	<u>538</u>	<u>UCUUGCUCUAUAAACCGUGdTdT</u>	<u>1233</u>
<u>as</u>	<u>556</u>	<u>CACGGUUUAUAGAGCAAGAdTdT</u>	<u>1234</u>
<u>s</u>	<u>541</u>	<u>UGCUCUAUAAACCGUGUAdTdT</u>	<u>1235</u>
<u>as</u>	<u>559</u>	<u>UAACACGGUUUAUAGAGCAdTdT</u>	<u>1236</u>
<u>s</u>	<u>532</u>	<u>CAGUGUUCUUGCUCUAUAAAdTdT</u>	<u>1237</u>
<u>as</u>	<u>550</u>	<u>UUAUAGAGCAAGAACACUGdTdT</u>	<u>1238</u>
<u>s</u>	<u>542</u>	<u>GCUCUAUAAACCGUGUUAGdTdT</u>	<u>1239</u>
<u>as</u>	<u>560</u>	<u>CUAACACGGUUUAUAGAGCdTdT</u>	<u>1240</u>
<u>s</u>	<u>134</u>	<u>CCUGGAUGCUGUCCGAGGCdTdT</u>	<u>1241</u>
<u>as</u>	<u>152</u>	<u>GCCUCGGACAGCAUCCAGGdTdT</u>	<u>1242</u>
<u>s</u>	<u>119</u>	<u>UCUGAUGGUCAAAGUCCUGdTdT</u>	<u>1243</u>
<u>as</u>	<u>137</u>	<u>CAGGACUUUGACCAUCAGAdTdT</u>	<u>1244</u>
<u>s</u>	<u>241</u>	<u>CUGGAGAGCUGCACGGGCUdTdT</u>	<u>1245</u>
<u>as</u>	<u>259</u>	<u>AGCCCGUGCAGCUCUCCAGdTdT</u>	<u>1246</u>
<u>s</u>	<u>544</u>	<u>UCUAUAAACCGUGUUAGCAdTdT</u>	<u>1247</u>
<u>as</u>	<u>562</u>	<u>UGCUAACACGGUUUAUAGAdTdT</u>	<u>1248</u>
<u>s</u>	<u>530</u>	<u>AACAGUGUUCUUGCUCUAUdTdT</u>	<u>1249</u>
<u>as</u>	<u>548</u>	<u>AUAGAGCAAGAACACUGUdTdT</u>	<u>1250</u>
<u>s</u>	<u>118</u>	<u>CUCUGAUGGUCAAAGUCCUdTdT</u>	<u>1251</u>
<u>as</u>	<u>136</u>	<u>AGGACUUUGACCAUCAGAGdTdT</u>	<u>1252</u>
<u>s</u>	<u>140</u>	<u>UGCUGUCCGAGGCAGCCCUdTdT</u>	<u>1253</u>
<u>as</u>	<u>158</u>	<u>AGGGCUGCCUCGGACAGCAdTdT</u>	<u>1254</u>
<u>s</u>	<u>239</u>	<u>GUCUGGAGAGCUGCACGGGdTdT</u>	<u>1255</u>
<u>as</u>	<u>257</u>	<u>CCCGUGCAGCUCUCCAGACdTdT</u>	<u>1256</u>
<u>s</u>	<u>531</u>	<u>ACAGUGUUCUUGCUCUAUAdTdT</u>	<u>1257</u>
<u>as</u>	<u>549</u>	<u>UAUAGAGCAAGAACACUGUdTdT</u>	<u>1258</u>
<u>s</u>	<u>117</u>	<u>CCUCUGAUGGUCAAAGUCCdTdT</u>	<u>1259</u>
<u>as</u>	<u>135</u>	<u>GGACUUUGACCAUCAGAGGdTdT</u>	<u>1260</u>
<u>s</u>	<u>131</u>	<u>AGUCCUGGAUGCUGUCCGAdTdT</u>	<u>1261</u>

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_012681.1, SEQ ID NO:1330)

<u>Vlákno</u>	<u>Poloha</u>	<u>Sekvence s 3-deoxythimidinovým přesahem (5' k 3')</u>	<u>SEQ ID NO:</u>
<u>as</u>	<u>149</u>	<u>UCGGACAGCAUCCAGGACUdTdT</u>	<u>1262</u>
<u>s</u>	<u>217</u>	<u>UUGCCUCUGGGAAGACCGCdTdT</u>	<u>1263</u>
<u>as</u>	<u>235</u>	<u>GCGGUCUUCCCAGAGGCAAdTdT</u>	<u>1264</u>
<u>s</u>	<u>242</u>	<u>UGGAGAGCUGCACGGGCUCdTdT</u>	<u>1265</u>
<u>as</u>	<u>260</u>	<u>GAGCCCGUGCAGCUCUCCAdTdT</u>	<u>1266</u>
<u>s</u>	<u>244</u>	<u>GAGAGCUGCACGGGCUCACdTdT</u>	<u>1267</u>
<u>as</u>	<u>262</u>	<u>GUGAGCCCGUGCAGCUCUCdTdT</u>	<u>1268</u>
<u>s</u>	<u>246</u>	<u>GAGCUGCACGGGCUCACCAdTdT</u>	<u>1269</u>
<u>as</u>	<u>264</u>	<u>UGGUGAGCCCGUGCAGCUCdTdT</u>	<u>1270</u>
<u>s</u>	<u>399</u>	<u>UACACCAUCGCAGCCUCGCdTdT</u>	<u>1271</u>
<u>as</u>	<u>417</u>	<u>GCAGGGCUGCGAUGGUGUAdTdT</u>	<u>1272</u>
<u>s</u>	<u>132</u>	<u>GUCCUGGAUGCUGUCCGAGdTdT</u>	<u>1273</u>
<u>as</u>	<u>150</u>	<u>CUCGGACAGCAUCCAGGACdTdT</u>	<u>1274</u>
<u>s</u>	<u>245</u>	<u>AGAGCUGCACGGGCUCACCDdTdT</u>	<u>1275</u>
<u>as</u>	<u>263</u>	<u>GGUGAGCCCGUGCAGCUCUdTdT</u>	<u>1276</u>

Tabulka 7. Chemicky modifikované sekvence vláken sense a antisens pro krysí TTR dsRNAs

Viz tabulka 5 duplex # (dsRNA název). Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_012681.1, SEQ ID NO: 1330)

<u>Vlákno</u>	<u>Oligo #</u>	<u>Poloha</u>	<u>Sekvence (5' k 3')</u>	<u>SEQ ID NO:</u>
<u>s</u>	<u>A-32159</u>	<u>115</u>	<u>GuccucuGAuGGucAAAGudTdT</u>	<u>1277</u>
<u>as</u>	<u>A-32160</u>	<u>133</u>	<u>ACUUUGACcAUcAGAGGACdTdT</u>	<u>1278</u>
<u>s</u>	<u>A-32745</u>	<u>537</u>	<u>uucuuGcucuAuAAAccGudTdT</u>	<u>1279</u>
<u>as</u>	<u>A-32746</u>	<u>555</u>	<u>ACGGUuAuAGAGcAAGAdTdT</u>	<u>1280</u>
<u>s</u>	<u>A-32747</u>	<u>543</u>	<u>cucuAuAAAccGuGuuAGcdTdT</u>	<u>1281</u>
<u>as</u>	<u>A-32748</u>	<u>561</u>	<u>GCuAAcACGGUuAuAGAGdTdT</u>	<u>1282</u>
<u>s</u>	<u>A-32749</u>	<u>392</u>	<u>ucGccAcuAcAccAucGcAdTdT</u>	<u>1283</u>
<u>as</u>	<u>A-32750</u>	<u>410</u>	<u>UGCGAUGGUGuAGUGGCGAdTdT</u>	<u>1284</u>
<u>s</u>	<u>A-32751</u>	<u>538</u>	<u>ucuuGcucuAuAAAccGuGdTdT</u>	<u>1285</u>
<u>as</u>	<u>A-32752</u>	<u>556</u>	<u>cACGGUuAuAGAGcAAGAdTdT</u>	<u>1286</u>
<u>s</u>	<u>A-32753</u>	<u>541</u>	<u>uGcucuAuAAAccGuGuuAdTdT</u>	<u>1287</u>

Viz tabulka 5 duplex # (dsRNA název). Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_012681.1, SEQ ID NO: 1330)

Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
as	A-32754	559	uAAcACGGUuAuAGAGcAdTdT	1288
s	A-32755	532	cAGuGuucuuGcucuAuAAdTdT	1289
as	A-32756	550	UuAuAGAGcAAGAAcACUGdTdT	1290
s	A-32757	542	GcucuAuAAAccGuGuuAGdTdT	1291
as	A-32758	560	CuAAcACGGUuAuAGAGCdTdT	1292
s	A-32759	134	ccuGGAuGcuGuccGAGGcdTdT	1293
as	A-32760	152	GCCUCGGAcAGcAUCcAGGdTdT	1294
s	A-32761	119	ucuGAuGGucAAAGuccuGdTdT	1295
as	A-32762	137	cAGGACUUUGACcAUcAGAdTdT	1296
s	A-32763	241	cuGGAGAGcuGcAcGGGcudTdT	1297
as	A-32764	259	AGCCCGUGcAGCUCUCcAGdTdT	1298
s	A-32765	544	ucuAuAAAccGuGuuAGcAdTdT	1299
as	A-32766	562	UGCuAAcACGGUuAuAGAdTdT	1300
s	A-32767	530	AAcAGuGuucuuGcucuAudTdT	1301
as	A-32768	548	AuAGAGcAAGAAcACUGUudTdT	1302
s	A-32769	118	cucuGAuGGucAAAGuccudTdT	1303
as	A-32770	136	AGGACUUUGACcAUcAGAGdTdT	1304
s	A-32771	140	uGcuGuccGAGGcAGccudTdT	1305
as	A-32772	158	AGGGCUGCCUCGGAcAGcAdTdT	1306
s	A-32773	239	GucuGGAGAGcuGcAcGGGdTdT	1307
as	A-32774	257	CCCGUGcAGCUCUCcAGACdTdT	1308
s	A-32775	531	AcAGuGuucuuGcucuAuAdTdT	1309
as	A-32776	549	uAuAGAGcAAGAAcACUGUdTdT	1310
s	A-32777	117	ccucuGAuGGucAAAGuccdTdT	1311
as	A-32778	135	GGACUUUGACcAUcAGAGGdTdT	1312
s	A-32779	131	AGuccuGGAuGcuGuccGAdTdT	1313
as	A-32780	149	UCGGAcAGcAUCcAGGACUdTdT	1314
s	A-32781	217	uuGccucuGGGAAGAccGcdTdT	1315
as	A-32782	235	GCGGUCUUCcAGAGGcAAdTdT	1316
s	A-32783	242	uGGAGAGcuGcAcGGGcudTdT	1317
as	A-32784	260	GAGCCCGUGcAGCUCUCcAdTdT	1318

Viz tabulka 5 duplex # (dsRNA název). Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5'-báze na transkriptu (NM_012681.1, SEQ ID NO: 1330)				
Vlákno	Oligo #	Poloha	Sekvence (5' k 3')	SEQ ID NO:
s	A-32785	244	GAGAGcuGcAcGGGcucAcdTdT	1319
as	A-32786	262	GUGAGCCCGUGcAGCUCUCdTdT	1320
s	A-32787	246	GAGcuGcAcGGGcucAccAdTdT	1321
as	A-32788	264	UGGUGAGCCCGUGcAGCUCdTdT	1322
s	A-32791	399	uAcAccAucGcAGcccuGcdTdT	1323
as	A-32792	417	GcAGGGCUGCGAUGGUGuAdTdT	1324
s	A-32793	132	GuccuGGAuGcuGuccGAGdTdT	1325
as	A-32794	150	CUCGGAcAGcAUCcAGGACdTdT	1326
s	A-32795	245	AGAGcuGcAcGGGcucAccdTdT	1327
as	A-32796	263	GGUGAGCCCGUGcAGCUCUdTdT	1328

Syntéza TTR sekvencí

TTR sekvence byly syntetizovány za použití syntetizátoru MerMade 192 v měřítku 1 μ mol. Pro všechny sekvence uvedené v seznamu byl aplikován chemický mechazmus "endolight", který bude detailněji posán níže.

- všechny pyrimidiny (cytosin a uridin) ve vláknu sense byly nahrazeny odpovídajícími 2'-O-methyl-bázemi (2'-O-methyl-C a 2'-O-methyl-U).
- Ve vláknu antisense byly pyrimidiny přilehlé (směrem k 5'-poloze) k ribo-A-nukleosidu nahrazeny jejich odpovídajícími 2-O-methylnukleosidy.
- Bylo zavedeno dvoubázové dTdT prodloužení na 3'-konci obou sekvencí vláken sense a antisense.
- Sekvenční soubor byl převeden na textový soubor, aby byl kompatibilní pro uložení do syntézního softwaru MerMade 192.

Syntéza TTR sekvencí byla provedena za použití oligonukleotidové syntézy na pevném nosiči s použitím fosforamiditové chemie. Syntéza výše uvedených sekvencí byla provedena v 1 μ m měřítku na 96 jamkových destičkách. Byly připraveny amiditové roztoky s 0,1M koncentrací, přičemž jako aktivátor byl použit ethylthiotetrazol (0,6M v acetonitrilu).

Syntetizované sekvence byly štěpeny a podrobeny deprotekcí v 96 jamkových destičkách za použití methylaminu v prvním kroku a triethylaminu.3HF ve druhém kroku. Takto získané surové sekvence byly vysráženy za použití směsi aceton:ethanol a získané

pelety byl resuspendován v 0,5M pufru na bázi octanu sodného. Vzorky každé sekvence byly analyzovány kapalinovou chromatografií sdruženou s hmotovou spektroskopií a získaná hmotová data potvrdila identitu uvedených sekvencí. Zvolený soubor vzorků byl rovněž analyzován iontoměničovou chromatografií.

Následující krok preparativního procesu je čištění. Všechny sekvence byly purifikovány za použití purifikačního systému AKTA explorer s využitím sloupce Source 15Q. Jediný pík odpovídající celé délce sekvence byl jímán v eluentu a následně byl analyzován na čistotu iontoměničovou chromatografií.

Vyčištěné sekvence byly odsoleny na sloupci Sephadex G25 s použitím purifikátoru AKTA. Odsolené TTR sekvence byly analyzovány za účelem stanovení jejich koncentrace a čistoty. Jednotlivá vlákna byla potom anealována za účelem vytvoření TTR-dsRNA.

Příklad 2B: Třídění in vitro TTR siRNAs pro supresi mRNA

Lidské TTR-zaměřující dsRNAs (tabulka 2) byly testované na inhibici endogenní TTR exprese v buňkách HepG2 a Hep3B za použití stanovení qPCR (PCR v reálném čase) a bDNA (rozvětvená DNA) za účelem kvantifikování TTR mRNA. Byly syntetizované krysí TTR-zaměřující dsRNA (tabulka 5) a tyto byly testované na inhibici endogenní TTR exprese za použití stanovení bDNA v buňkách H.4.II.E. Výsledky získané při jednodávkových stanoveních byly použity pro selekci podskupiny TTR dsRNA duplexů pro dávkově-odezvvé experimenty za účelem vypočtení hodnot IC₅₀. Výsledky hodnot IC₅₀ byly použity pro selekci TTR dsRNA pro další testování.

Buněčné kultivace a transfekce:

Hepatocytové buněčné linie buněk HepG2, Hep3B a H.4.II.E (ATCC, Manassas, VA) byly kultivovány téměř do konfluencie při teplotě 37 °C v atmosféře s 5 % CO₂ v Dulbecco-modifikovaném prostředí Eagle (ATCC) suplementovaném 10 % FBS, streptomycinem a glutaminem (ATCC) ještě před jejich uvolněním z destičky trypsinizací. Buňky H.4.II.E byly rovněž kultivované v Earleově minimálním esenciálním médiu. Reverzní transfekce byla provedena přidáním 5 µl činidla Opti-MEM k 5 µl siRNA duplexů na jamku v 96-jamkové destičce společně s 10 µl činidla Opti-MEM plus 0,2 µl činidla Lipofectamine RNAiMax na jamku (Invitrogen, Carlsbad CA. kat.# 13778-150), načež byla provedena kultivace buněk při teplotě místnosti po dobu 15 minut. Potom bylo přidáno 80 µl kompletního růstového média bez antibiotik obsahujícího 4x10⁴ (HepG2), 2x10⁴ (Hep3B) nebo 2x10⁴ (H.4.II.E) buněk. Buňky se inkubují po dobu 24 hodin před RNA purifikací. Byly provedeny jednodávkové experimenty při finální duplexné koncentraci 10 nM a dávkově-odezvvé experimenty byly

provedeny při koncentracích 10, 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01, 0.005, 0.001, 0.0005, 0.0001, 0.00005, 0.00001 nM.

Celková RNA izolace za použití soupravy MagMAX-96 Total RNA Isolation Kit (Applied Biosystems, Foster City CA, part #: AM1830):

Buňky byly izolovány a podrobeny lyzi ve 140 μ l lyzového/vazebného roztoku a potom míšeny po dobu 1 minuty při 850 otáčkách za minutu za použití mixéru Eppendorf Thermomixer (tato rychlost míchání byla stejná během celého procesu). Do buněčného lyzátu bylo přidáno dvacet mikrolitrů magnetických tělísek a lyzátní roztok byl míchán po dobu 5 minut. Magnetická tělíška byla potom zachycena za použití magnetické podložky a supernatant byl odstraněn aniž by vyvolal pohyb tělísek. Po odstranění supernatantu byla magnetická tělíška promyta promývacím roztokem 1 (přidaný isopropanol) a míchána po dobu 1 minuty. Tělíška byla potom opětovně zachycena a supernatant byl odstraněn. Tělíška byla potom promyta 150 μ l promývacího roztoku 2 (přidaný ethanol), zachycena a supernatant byl znovu odstraněn. Potom bylo k tělíškům přidáno 50 μ l DNázové směsi (MagMax turbo DNáza and Turbo DNáza) a tělíška byla míchána po dobu 10 až 15 minut. Po míchání bylo přidáno 100 μ l RNA zpětně vazebného roztoku a směs byla míchána po dobu 3 minut. Supernatant byl odstraněn a magnetická tělíška byla opětovně promyta 150 μ l promývacího roztoku 2 a míchána po dobu 1 minuty, načež byl supernatant zcela odstraněn. Magnetická tělíška byla míchána po dobu 2 minut k suchu předtím, než byla RNA eluována 50 μ l vody.

Syntéza cDNA za použití soupravy ABI High capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, kat.# 4368813):

Do 10 μ l celkové RNA byla přidána předsměs 2 μ l 10X pufru, 0,8 μ l nahodilých primerů, 1 μ l reverzní transkriptázy, 1 μ l RNázového inhibitoru a 3,2 μ l H₂O. cDNA byla generována za použití termálního cyklovače Bio-Rad C-1000 nebo S-1000 (Hercules, CA) v průběhu následujících kroků: 25 °C 10 minut, 37 °C 120 minut, 85 °C 5 sekund, 4 °C výdrž.

PCR v reálném čase:

K předsměsi 1 μ l sondy 18S TaqMan Probe (Applied Biosystems kat.# 431941E), 1 μ l sondy TTR TaqMan Probe (Applied Biosystems kat.# HS00174914M1) a 10 μ l směsi TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems kat. # 4324018) se přidá 1 μ l cDNA na jamku v titrační destičce MicroAmp Optical 96 well plate (Applied Biosystems kat.# 4326659). PCR v reálném čase byla provedena za použití systému ABI 7000 Prism nebo ABI

7900HT Real Time PCR system (Applied Biosystems) s využitím stanovení $\Delta\Delta C_t(RQ)$. Všechny reakce byly provedeny třikrát.

Údaje v reálném čase byly analyzovány za použití metody $\Delta\Delta C_t$ a normalizovány vzhledem ke stanovením u buněk transfektovaných za použití 10 nM systému BlockIT Fluorescent Oligo (Invitrogen kat. # 2013) nebo 10 nM systému AD-1955 (kontrolní duplex který zaměřuje nesavčí luciferázový gen) za účelem vypočtení změny ve skládání.

Stanovení na bázi rozvětvené DNA - QuantiGene 1.0 (Panomics, Fremont, CA, kat. #: QG0004) - použité pro vytřídění krysích specifických duplexů

Buňky H.4.II.E (ATCC) byly transfektovány s 10 nM siRNA. Po odstranění prostředí byly buňky H.4.II.E podrobeny lyzi ve 100 μ l směsi Diluted Lysis Mixture (směs 1 objemu lyzové směsi, 2 objemů vody prosté nukleázy a 10 μ l proteinázy-K na 1 ml k dosažení finální koncentrace 20 mg/ml) a potom inkubovány při teplotě 65 °C po dobu 35 minut. Potom bylo do záchytné destičky (Capture Plate) přidáno 80 μ l systému Working Probe Set (směs sondy TTR nebo GAPDH) a 20 μ l buněčného lyzátu. Záchytné destičky byly inkubovány při teplotě 53 °C \pm 1 °C přes noc (přibližně 16-20 hodin). Záchytné destičky byly potom 3 krát promyty pufrem 1X Wash Buffer (směs vody prosté nukleázy, složky Buffer Component 1 a Wash Buffer Component 2) a potom vysušeny odstředěním po dobu 1 minuty při rychlosti otáčení 1000 otáček za minutu. Do záchytné destičky bylo přidáno 100 μ l činidla Amplifier Working Reagent a záchytná destička byla potom uzavřena a inkubována po dobu 1 hodiny při teplotě 46 °C \pm 1 °C. Po 1 hodině inkubace byly promývací a sušící krok opakovány, načež bylo přidáno 100 μ l činidla Label Solution Reagent. Destička byla potom promyta, vysušena a následně do ní bylo přidáno 100 μ l substrátu (směs laurylsulfátu lithného a substrátového roztoku). Záchytné destičky byly potom uloženy do inkubátoru na dobu 30 minut při teplotě 46 °C \pm 1 °C. Záchytné destičky byly potom vyjmuty z inkubátoru a inkubovány při teplotě místnosti po dobu 30 minut. Nakonec byly záchytné destičky odečteny za použití zařízení Victor Luminometer (Perkin Elmer, Waltham, MA).

Stanovení na bázi rozvětvené DNA - QuantiGene 2.0 (Panomics kat. #: OS0011): stanovení je použito pro vytřídění všech dalších duplexů

Po 24 hodinové inkubaci při dané dávce nebo dávkách se prostředí odstraní a buňky se podrobí lyzi ve 100 μ l směsi Lysis Mixture (1 objem lyzové směsi, 2 objemy vody prosté nukleázy a 10 μ l proteinázy K(ml při finální koncentraci 20 mg/ml), načež se inkubují při teplotě 65 °C po dobu 35 minut. Potom se k záchytným destičkám přidá 20 μ l systému

Working Probe Set (TTR sonda pro genový cíl a GAPDH pro endogenní kontrolu) a 80 μ l buněčného lyzátu. Záchytové destičky se potom inkubují při teplotě 55 °C \pm 1 °C (přibližně 16-20 hodin). Příští den se záchytové destičky 3 krát promyjí pufrem 1X Wash Buffer (voda prostá nukleázy, složka Buffer Component 1 a složka Wash Buffer Component 2), načež se vysuší odstředěním po dobu 1 minuty při 249g. K záchytovým destičkám se přidá 100 μ l činidla pre-Amplifier Working Reagent a destičky se uzavrou hliníkovou fólií a inkubují po dobu 1 hodiny při teplotě 55 °C \pm 1 °C. Po 1 hodinové inkubaci se promývací krok opakuje, načež se přidá 100 μ l činidla Amplifier Working Reagent. Po 1 hodině se promývací a sušící krok opakuje, načež se přidá 100 μ l činidla Label Probe. Záchytové destičky se potom inkubují při teplotě 50 °C \pm 1 °C po dobu 1 hodiny. Destičky se potom promyjí pufrem 1X Wash Buffer a k záchytovým destičkám se potom přidá 100 μ l substrátu. Následně se záchytové destičky po 5 až 15 minutové inkubaci odečtou za použití systému SpectraMax Luminometer /Molecular Devices, Sunnyvale, CA).

Analýza bDNA údajů:

bDNA údaje se analyzují (i) odečtením průměrné hodnoty pozadí od každého triplikátového vzorce, (ii) zprůměrováním rezultujících triplikátových hodnot GAPDH (kontrolní vzorek) a TTR (experimentální vzorek) a potom (iii) získáním poměru: (experimentální vzorek-pozadí)/(kontrolní vzorek-pozadí).

Výsledky

Souhrn výsledků pro jedinou dávku a pro hodnotu IC50 v případě TTR-dsRNAs (TTR siRNAs) jsou uvedeny dále v tabulce 8. Výsledky pro jedinou dávku jsou vyjádřeny jako % TTR mRNA vzhledem ke kontrolnímu stanovení provedenému v buňkách HepG2. Hodnoty IC50 byly stanoveny v buňkách HepG2 a/nebo Hep3B, jak je to v uvedené tabulce uvedeno.

Tabulka 8. Výsledky pro jedinou dávku a pro IC50 při třídění in vitro TTR siRNAs

ND: žádné údaje; * ukazuje výsledek, který představuje průměr ze dvou experimentů,						
Duplex #	Jediná dávka při 10nM, vzhledem ke kontrolnímu stanovení		% IC50 (nM)			
	HepG2		HepG2		Hep3B	
	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA
AD-18243	50,35	141,53	ND	ND	ND	ND
AD-18244	64,26	158,55	ND	ND	ND	ND

ND: žádné údaje; * ukazuje výsledek, který představuje průměr ze dvou experimentů,

Duplex #	Jediná dávka při 10nM, vzhledem ke kontrolnímu stanovení		% IC50 (nM)			
	HepG2		HepG2		Hep3B	
	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA
AD-18245	56,89	107,22	ND	ND	ND	ND
AD-18246	10,53	32,51 *	0,265	0,086	ND	ND
AD-18247	125,56	69,57	ND	ND	ND	ND
AD-18248	127,78	66,97	ND	ND	ND	ND
AD-18249	48,77	48,76	ND	ND	ND	ND
AD-18250	96,94	86,42	ND	ND	ND	ND
AD-18251	170,41	129,15	ND	ND	ND	ND
AD-18252	73,52	81,90	ND	ND	ND	ND
AD-18253	25,25	61,25	ND	ND	ND	ND
AD-18254	95,13	103,96	ND	ND	ND	ND
AD-18255	119,46	ND	ND	ND	ND	ND
AD-18256	42,64	95,67	ND	ND	ND	ND
AD-18257	146,25	141,75	ND	ND	ND	ND
AD-18258	10,20	13,41*	0,007	0,005	0,004	0,005
AD-18259	9,30	20,91 *	0,102	0,005	ND	ND
AD-18260	125,37	81,36	ND	ND	ND	ND
AD-18261	14,27	19,40*	0,210	ND	ND	ND
AD-18262	84,95	104,05	ND	ND	ND	ND
AD-18263	16,32	23,25*	0,110	ND	ND	ND
AD-18264	104,18	83,69	ND	ND	ND	ND
AD-18265	41,62	64,87	ND	ND	ND	ND
AD-18266	39,98	110,53	ND	ND	ND	ND
AD-18267	149,64	ND	ND	ND	ND	ND
AD-18268	152,93	174,04	ND	ND	ND	ND
AD-18269	37,27	92,28	ND	ND	ND	ND
AD-18270	99,44	164,75	ND	ND	ND	ND
AD-18271	18,89	28,33*	0,503	0,004	ND	ND
AD-18272	128,32	132,58	ND	ND	ND	ND
AD-18273	115,78	201,95	ND	ND	ND	ND

ND: žádné údaje; * ukazuje výsledek, který představuje průměr ze dvou experimentů,

Duplex #	Jediná dávka při 10nM, vzhledem ke kontrolnímu stanovení		% IC50 (nM)			
	HepG2		HepG2		Hep3B	
	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA
AD-18274	8,97	20,04*	0,009	0,176	0,036	0,012
AD-18275	4,09	22,25*	0,026	0,118	ND	ND
AD-18276	19,73	45,22*	0,198	0,677	ND	ND
AD-18277	10,55	26,31*	0,121	0,426	ND	ND
AD-18278	108,86	116,26	ND	ND	ND	ND
AD-18279	66,59	ND	ND	ND	ND	ND
AD-18280	103,26	170,52	ND	ND	ND	ND
AD-18281	87,98	123,88	ND	ND	ND	ND
AD-18282	82,47	140,32	ND	ND	ND	ND
AD-18283	106,54	182,78	ND	ND	ND	ND
AD-18284	106,93	151,78	ND	ND	ND	ND
AD-18285	26,58	60,05*	ND	0,089	ND	ND
AD-18286	109,95	173,66	ND	ND	ND	ND
AD-18287	54,23	155,45	ND	ND	ND	ND
AD-18288	73,52	174,09	ND	ND	ND	ND
AD-18289	103,36	174,76	ND	ND	ND	ND
AD-18290	17,06	52,04*	1,253	0,181	ND	ND
AD-18291	7,71	169,29*	1,304	0,019	ND	ND
AD-18292	7,51	210,03*	0,604	0,005	ND	ND
AD-18293	3,61	62,53*	0,078	0,003	ND	ND
AD-18294	111,53	107,56	ND	ND	ND	ND
AD-18295	115,88	105,37	ND	ND	ND	ND
AD-18296	57,03	38,03	ND	ND	ND	ND
AD-18297	87,69	73,87	ND	ND	ND	ND
AD-18298	10,39	7,25*	0,455	0,008	ND	ND
AD-18299	18,79	18,06*	0,895	0,014	ND	ND
AD-18300	108,70	ND	ND	ND	ND	ND
AD-18301	114,22	70,50	ND	ND	ND	ND
AD-18302	116,19	122,40	ND	ND	ND	ND

ND: žádné údaje; * ukazuje výsledek, který představuje průměr ze dvou experimentů,

Duplex #	Jediná dávka při 10nM, vzhledem ke kontrolnímu stanovení		% IC50 (nM)			
	HepG2		HepG2		Hep3B	
	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA
AD-18303	124,89	ND	ND	ND	ND	ND
AD-18304	132,99	89,54	ND	ND	ND	ND
AD-18305	153,10	ND	ND	ND	ND	ND
AD-18306	159,22	ND	ND	ND	ND	ND
AD-18307	116,83	84,57	ND	ND	ND	ND
AD-18308	156,72	87,80	ND	ND	ND	ND
AD-18309	113,22	101,97	ND	ND	ND	ND
AD-18310	132,33	ND	ND	ND	ND	ND
AD-18311	161,68	92,92	ND	ND	ND	ND
AD-18312	103,01	71,17	ND	ND	ND	ND
AD-18313	120,65	53,26	ND	ND	ND	ND
AD-18314	116,33	ND	ND	ND	ND	ND
AD-18315	115,13	ND	ND	ND	ND	ND
AD-18316	118,73	122,34	ND	ND	ND	ND
AD-18317	114,03	121,10	ND	ND	ND	ND
AD-18318	80,85	122,57	ND	ND	ND	ND
AD-18319	119,14	148,87	ND	ND	ND	ND
AD-18320	22,86	55,43*	ND	0,023	0,403	ND
AD-18321	6,44	31,56*	0,001	0,033	ND	ND
AD-18322	54,21	100,46	ND	ND	ND	ND
AD-18323	6,37	28,71 *	0,005	0,023	ND	ND
AD-18324	2,53	15,98*	0,002	0,006	0,005	0,014
AD-18325	2,52	11,96*	0,001	0,016	ND	ND
AD-18326	18,34	43,16*	0,025	0,186	ND	ND
AD-18327	18,28	13,90*	0,044	0,215	ND	ND
AD-18328	4,53	26,04*	0,003	0,004	0,006	0,006
AD-18329	96,93	131,54	ND	ND	ND	ND
AD-18330	11,80	45,18*	0,0004	0,010	0,020	ND
AD-18331	117,77	163,07	ND	ND	ND	ND

ND: žádné údaje; * ukazuje výsledek, který představuje průměr ze dvou experimentů,

Duplex #	Jediná dávka při 10nM, vzhledem ke kontrolnímu stanovení		% IC50 (nM)			
	HepG2		HepG2		Hep3B	
	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA
AD-18332	11,53	35,09*	0,001	0,076	0,065	ND
AD-18333	12,24	46,94*	0,001	0,115	0,075	ND
AD-18334	16,27	55,28*	0,0004	0,181	1,071	ND
AD-18335	53,52	112,80	ND	ND	ND	ND
AD-18336	6,39	33,00*	0,001	0,112	0,081	ND
AD-18337	51,77	105,33	ND	ND	ND	ND
AD-18338	48,21	102,86	ND	ND	ND	ND
AD-18339	6,48	26,56*	0,004	0,002	0,018	0,029
AD-18340	4,53	30,76*	0,002	0,002	ND	ND
AD-18341	31,27	100,41	ND	ND	ND	ND
AD-18342	7,60	42,89*	ND	0,016	0,076	ND
AD-18343	3,42	17,45*	ND	0,001	ND	ND
AD-18344	75,08	134,31	ND	ND	ND	ND
AD-18345	13,62	42,75*	0,002	0,013	ND	ND
AD-18346	59,25	121,10	ND	ND	ND	ND
AD-18347	91,23	139,54	ND	ND	ND	ND
AD-18348	89,95	159,29	ND	ND	ND	ND
AD-18349	108,01	144,96	ND	ND	ND	ND
AD-18350	123,65	125,87	ND	ND	ND	ND
AD-18351	108,36	104,02	ND	ND	ND	ND
AD-18352	87,82	128,72	ND	ND	ND	ND
AD-18353	14,40	65,77	0,012	0,027	ND	ND
AD-18354	99,27	123,53	ND	ND	ND	ND
AD-18355	135,04	150,88	ND	ND	ND	ND
AD-18356	100,76	178,96	ND	ND	ND	ND
AD-18357	125,30	162,85	ND	ND	ND	ND
AD-18358	103,15	136,01	ND	ND	ND	ND
AD-18359	34,74	140,48	ND	ND	ND	ND
AD-18360	103,86	146,86	ND	ND	ND	ND

ND: žádné údaje; * ukazuje výsledek, který představuje průměr ze dvou experimentů,

Duplex #	Jediná dávka při 10nM, vzhledem ke kontrolnímu stanovení		% IC50 (nM)			
	HepG2		HepG2		Hep3B	
	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA	qPCR	bDNA
AD-18361	105,74	152,74	ND	ND	ND	ND
AD-18362	106,96	188,22	ND	ND	ND	ND
AD-18363	124,22	58,46	ND	ND	ND	ND
AD-18364	113,75	66,87	ND	ND	ND	ND
AD-18446	29,73	13,30	ND	ND	ND	ND
AD-18447	109,74	53,63	ND	ND	ND	ND
AD-18448	22,96	8,81	ND	ND	ND	ND
AD-18449	112,59	50,11	ND	ND	ND	ND
AD-18450	89,41	34,89	ND	ND	ND	ND
AD-18451	74,35	23,88	ND	ND	ND	ND
AD-18452	125,25	54,86	ND	ND	ND	ND
AD-18453	126,98	56,31	ND	ND	ND	ND
AD-18454	113,88	52,48	ND	ND	ND	ND
AD-18455	163,00	48,89	ND	ND	ND	ND
AD-18456	15,70	10,52	ND	ND	ND	ND
AD-18457	12,86	8,22	ND	ND	ND	ND
AD-18458	13,00	7,00	ND	ND	ND	ND
AD-18459	14,41	10,72	ND	ND	ND	ND
AD-18460	121,16	74,87	ND	ND	ND	ND
AD-18461	100,53	71,87	ND	ND	ND	ND
AD-18462	47,75	29,35	ND	ND	ND	ND
AD-18463	58,98	44,79	ND	ND	ND	ND

Údaje odezvy v závislosti na dávce použité k identifikaci IC₅₀ pro 5 TTR-dsRNAs (AD-18258, AD-18274, AD-18324, AD-18328 a AD-18339) jsou detailněji uvedeny níže v tabulce 9. U všech 5 siRNA bylo určeno, že mají pM IC₅₀ hodnoty. Údaje IC₅₀ pro dsRNAs v tabulce 8 představují souhrn údajů uvedených v následující tabulce 9.

Tabulka 9. Údaje dávka-odezva pro 5 TTR-dsRNAs

		% Inhibice vztažená ke kontrolnímu stanovení AD-1955												
Duplex AD-18258		Dávka duplexu (nM)												
Buněčný typ	Detekční metoda	10	1	0,5	0,1	0,05	0,01	0,005	0,001	0,0005	0,0001	0,00005	0,00001	IC50 (nM)
HepG2	qPCR	14,4	14,1	16,2	23,9	27,26	40,19	68,46	78,1	74,48	104,37	98,28	113,68	0,007
HepG2	bDNA	14,3	14,5	11,1	12,8	18,82	19,77	51,21	56,03	63,63	58,35	43,64	51,05	0,005
Hep3B	qPCR	11,9	8,62	12,4	16,4	28,35	30,49	58,36	54,57	81,26	89,43	81,85	101,87	0,004
Hep3B	bDNA	7,65	7,5	11,3	12,6	28,85	27,89	64,57	73,48	72,03	91,44	86,71	89,31	0,005

		% Inhibice vztažená ke kontrolnímu stanovení AD-1955												
Duplex AD-18274		Dávka duplexu (nM)												
Buněčný typ	Detekční metoda	10	1	0,5	0,1	0,05	0,01	0,005	0,001	0,0005	0,0001	0,00005	0,00001	IC50 (nM)
HepG2	qPCR	6,68	8,45	11,7	24,2	42,08	49,89	56,95	62,99	64,47	54,92	67,39	72,67	0,009
HepG2	bDNA	27,5	69	25,2	34,2	73,03	103,4	121,57	97,31	154,93	156,7	Nd	152,25	0,176
Hep3B	qPCR	7,58	17	15,6	43,9	42,22	60,55	78,8	77,81	79,97	85,84	86,13	83,99	0,036
Hep3B	bDNA	3,77	4,92	7,51	15	35,21	51,66	72,45	70,12	78,31	77,52	90,72	83,01	0,012

Duplex AD-18324		% Inhibice vztažená ke kontrolnímu stanovení AD-1955; Dávka duplexu (nM)												
Buněčný typ	Detekční metoda	10	1	0,5	0,1	0,05	0,01	0,005	0,001	0,0005	0,0001	0,00005	0,00001	IC50 (nM)
HepG2	qPCR	2,07	2,27	2,74	6,36	8,18	15,23	28,82	52,79	90,86	94,72	116,07	98,97	0,002
HepG2	bDNA	14,5	7,88	11,8	15,9	17,2	46,44	40,4	91,86	0	95,57	0	52,15	0,006
Hep3B	qPCR	2,07	3,48	5,76	16,2	18,73	44,54	49,77	68,88	63,48	76,61	74,7	77,83	0,005
Hep3B	bDNA	3,48	3,8	5,15	15,2	30,84	55,36	74,75	99,39	88,89	110,83	96,55	110,26	0,014

		% Inhibice vztažená ke kontrolnímu stanovení AD-1955												
Duplex AD-18328		Dávka duplexu (nM)												
Buněčný typ	Detekční metoda	10	1	0,5	0,1	0,05	0,01	0,005	0,001	0,0005	0,0001	0,00005	0,00001	IC50 (nM)
HepG2	qPCR	5,85	3,97	3,32	5,62	8	16,75	55,01	39,76	122,41	102,37	114,02	124,09	0,003
HepG2	bDNA	12,3	10,7	10,7	11,9	20,06	25	69,52	57,29	112,28	98,14	142,26	148,92	0,004
Hep3B	qPCR	3,17	5,52	11,7	13,8	27,68	39,58	61,21	61,87	90,51	87,56	106,03	108,72	0,006
Hep3B	bDNA	3,08	3,66	4,19	7,25	21,05	22,1	73,74	63,19	105,55	96,27	105,97	96,46	0,006

		% Inhibice vztažená ke kontrolnímu stanovení AD-1955												
Duplex AD-18339		Dávka duplexu (nM)												
Buněčný typ	Detekční metoda	10	1	0,5	0,1	0,05	0,01	0,005	0,001	0,0005	0,0001	0,00005	0,00001	IC50 (nM)
HepG2	qPCR	6,27	7,28	Nd	11	15,25	38,69	38,78	71,7	84,09	62,2	75,61	85,46	0,004
HepG2	bDNA	15,1	8,14	5,13	6,89	12,17	32,14	42,98	64,01	60,76	79,95	81,97	95,43	0,002
Hep3B	qPCR	8,3	9,47	13,2	34,5	44,54	77,38	81,04	81,41	93,95	81,04	75,61	78,28	0,018
Hep3B	bDNA	10,5	9,43	11,7	27,1	44,88	72,32	79,88	79,6	87,46	96,53	95,13	89,88	0,029

Souhrn jednodávkových výsledků pro krysí specifické TT-dsRNAs (TTR siRNAs) je uveden v následující tabulce 10. Tyto jednodávkové výsledky jsou vyjádřeny jako % TTR mRNA, vztaženo ke kontrolnímu stanovení provedenému u krysích buněk H.4.II.E po transfekci krysích specifických TTR siRNAs při 10 nM. Tyto výsledky ukazují, že některé krysí specifické TTR siRNAs jsou účinné při potlačení endogenní krysí TTR mRNA in vitro. Tabulka 10. Jednodávkové výsledky třídění in vitro krysích specifických TTR-dsRNAs (TTR siRNAs)

Duplex #	% vzhledem ke kontrolnímu stanovení při 10 nM	Duplex #	% vzhledem ke kontrolnímu stanovení při 10 nM
AD-18529	19,83	AD-18542	6,3
AD-18530	44,49	AD-18543	16,46
AD-18531	6,01	AD-18544	17,55
AD-18532	24,06	AD-18545	3,53
AD-18533	37,78	AD-18546	2,75
AD-18534	8,19	AD-18547	7,01
AD-18535	10,18	AD-18548	5,02
AD-18536	16,13	AD-18549	1,61
AD-18537	15,88	AD-18550	9,58
AD-18538	19,93	AD-18551	7,74
AD-18539	49,24	AD-18552	3,74
AD-18540	2,99	AD-18553	50,39
AD-18541	1,32	AD-18554	111,06

Příklad 3. Stanovení in vitro TTR siRNAs pro indukci sekrece TNF- α a IFN- α

Za účelem vyhodnocení imunostimulačního potenciálu byly TTR siRNA testovány in vitro s cílem určit indukci sekrece TNF- α a IFN- α .

Lidské PBMC byly izolované z čerstvě odebrané leukocytové vrstvy ("buffy coats") od zdravých dárců (Research Blood Components, Inc., Boston, MA) za použití standardního Ficoll-Hypaque-hustotního odstředění. Čerstvě izolované buňky (1×10^5 /jamka/100 μ l) byly zaočkovány do 96-jamkových destiček a kultivovány v prostředí RPMI 1640 GlutaMax (Invitrogen) suplementovaném 10 % tepelně inaktivovaného fetálního bovinního séra a 1 % antibiotika/antimykotika (Invitrogen).

siRNAs byly transfektované do PBMC za použití transfekčního činidla DOTAP (Roche Applied Science). Činidlo DOTAP bylo nejdříve zředěno v činidle Opti-MEM 5 minut před smíšením se stejným objemem činidla Opti-MEM obsahujícím siRNA. Komplexy siRNA/DOTAP byly inkubovány podle instrukcí poskytnutých výrobcí a následně přidány (50 μ l/jamka) a potom inkubovány po dobu 24 hodin. V rámci tohoto testu byly zahrnuty i pozitivní a negativní kontroly. Jako pozitivní kontrola siRNA byla použita AD-5048. AD-5048 odpovídá sekvenci, která zaměřuje lidský apolipoprotein B (Soutschek et al., 2004) a vyvolává sekreci jak IFN- α , tak i TNF- α při tomto testu. AD-1955, která nevyvolává sekreci IFN- α a TNF- α při tomto testu byla použita jako negativní kontrola siRNA. Všechny siRNAs byly použity ve finální koncentraci 133 nM. Poměr RNA k transfekčnímu činidlu činí 16,5 pmol na μ g DOTAP.

Cytokiny byly detekovány a kvantifikovány v kultivačních supernatantech za použití komerčně dostupných souprav ELISA pro IFN- α (BMS216INST) a TNF- α (BMS223INST), přičemž obě soupravy jsou dostupné u společnosti Bender MedSystems (Viedeň, Rakousko). TTR siRNA cytokinová indukce je vyjádřena jako procentní IFN- α nebo TNF- α , produkované vzhledem k pozitivní kontrole siRNA AD-5048.

Výsledky stimulace IFN- α a TNF- α pro určitý počet TTR siRNAs jsou uvedeny na obr. 1 (průměr z čtyřnásobných jamek \pm standardní odchylka) a v dále uvedené tabulce 11 (procentický podíl ve srovnání s AD-5048). Žádná z testovaných TTR siRNAs neindikuje významnou IFN- α - nebo TNF- α -sekreci kultivovanými lidskými PBMCs.

Tabulka 11. IFN- α a TNF- α stimulační výsledky pro TTR siRNAs

Duplex #	IFN- α (% z AD-5048)	TNF- α (% z AD-5048)
AD-18246	0	4
AD-18258	0	0
AD-18259	0	0
AD-18261	0	0

Duplex #	IFN- α (% z AD-5048)	TNF- α (% z AD-5048)
AD-18263	0	0
AD-18271	0	0
AD-18274	2	1
AD-18275	0	0
AD-18276	0	0
AD-18277	0	0
AD-18285	0	0
AD-18290	0	0
AD-18291	0	0
AD-18292	0	0
AD-18293	0	0
AD-18298	0	0
AD-18299	0	0
AD-18320	0	0
AD-18321	0	0
AD-18323	0	0
AD-18324	0	0
AD-18325	0	0
AD-18326	0	0
AD-18327	0	0
AD-18328	0	0
AD-18330	0	0
AD-18332	1	0
AD-18333	0	1
AD-18334	0	1
AD-18336	1	0
AD-18339	0	0
AD-18340	0	0
AD-18342	0	0
AD-18343	0	0
AD-18345	0	0
AD-18353	0	0
AD-18448	0	0

Duplex #	IFN- α (% z AD-5048)	TNF- α (% z AD-5048)
AD-18456	0	0
AD-18457	0	0
AD-18458	0	0
AD-18459	0	0

Bylo vybráno pět vedoucích TTR-zaměřujících dsRNAs (TTR siRNAs) na základě hodnot IC₅₀ v rozmezí pM v lidských hepatocytárních buněčných liniích HepG2 a Hep3B a na základě absence imunostimulační aktivity. Duplexy bez jakékoli neshody jsou vhodnější pro významné potlačení cílového transkriptu než duplexy s neshodami mezi oligo-transkripty a mRNA. Za účelem lepší interpretace křížově-druhových (cross-species) toxikologických dat a dosažení nejširší aplikovatelnosti na lidské pacienty jsou obecně výhodné duplexy, které mají 100% identitu v ortologních genech od krysy, makaků a lidí a které nezaměřují oblasti se známými polymorfismy. Pět vedoucích sloučenin bylo vybráno na základě hodnoty IC₅₀ v hepatocytárních buňkách v rozmezí pM, na základě absence imunostimulační aktivity, na základě specifičnosti s lidskými TTR transkripty a na základě absence známých polymorfismů (mutací) v oblasti mRNA zaměřené duplexem. V případě TTR nebyl nalezen žádný oligo-transkript s 19 bázemi s kompletní identitou u člověka, krysy a makaka. Soubor těchto údajů je uveden v tabulce 12, která rovněž zahrnuje informace o známých TTR mutacích v oblasti zaměřené duplexem a o křížově-druhové reaktivitě.

Tabulka 12. Soubor údajů pro pět nejpotentnějších TTR dsRNAs.

Duplex #	IC ₅₀ (qPCR): nM HepG2	IC ₅₀ (bdNA): nM HepG2	IFN α /TNF α	Nekryté mutace	Druhově-křížová reaktivita
AD-18258	0.007	0.005	Negativní	Žádná (nekódující oblast)	Makat: 1 neshoda @ poloha 14 A k G Krysa: žádná homologie v libovolné poloze
AD-18274	0.009	0.176	Negativní	Lys70Asn; Val71Ala; Ile73Val; Asp74His	Makak: žádná neshoda Krysa: žádná homologie v libovolné poloze

Duplex #	IC50 (qPCR): nM HepG2	IC50 (bDNA): nM HepG2	IFNa/TNFa	Nekryté mutace	Druhově-křížová reaktivita
AD-18324	0.002	0.006	Negativní	Žádná (nekódující oblast)	Makak: žádná neshoda Krysa: žádná homologie v libovolné poloze
AD-18328	0.003	0.004	Negativní	Žádná (nekódující oblast)	Makak: žádná neshoda Krysa: 7 neshod
AD-18339	0.004	0.002	Negativní	Žádná (nekódující oblast)	Žádná

Příklad 4. Redukce in vivo játrové TTR mRNA a plazmového TTR proteinu za použití LNP01-18324, LNP01-18328 a LNP01-18246 v transgenních myších

Pro vyhodnocení in vivo byly vybrány dvě TTR siRNA, a sice AD-18324 a AD-18328. Tyto duplexy potentně inhibují dávkově-odezvové potlačení in vitro u hepatocytálních buněčných linií (například HepG2). Obr. 2A a obr. 2B ukazují dávkové odezvy v buňkách HepG2 po transfekci s AD-18324 (obr. 2A) nebo AD-18328 (obr. 2B), přičemž dávky jsou vyjádřeny v nM na ose x a odezvy jsou vyjádřeny jako zbývající frakce TTR mRNA vzhledem ke kontrole na ose y. U buněk HepG2 byly stanoveny hodnoty IC50 pro AD-18324 a AD-18328 rovné 2 pM respektive 3 pM. Cílová TTR místa pro oba vedoucí dsRNA kandidáty se nacházejí v 3'-nepřeložené oblasti v TTR mRNA, tj. v oblasti ve které nejsou podle literatury hlášeny žádné mutace.

Sekvence každého vlákna obou vedoucích kandidátů jsou reprodukovatelné z následující tabulky. Vlákno: s = sense; as = antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu NM_000371.2.

Duplex #	Vlákno	Oligo #	Poloha*	Sekvence 5' k 3'	SEQ ID NO:
AD-18324	s	A-32337	509	GGAuucAuGuAAccAAGAdTdT	1001
AD-18324	as	A-32338	527	UCUUGGUuAcAUGAAAUCCdTdT	1002
AD-18328	s	A-32345	518	GuAAccAAGAGuAuuccAudTdT	1009
AD-18328	as	A-32346	536	AUGGAAuACUCUUGGUuACdTdT	1010

Kromě toho byla vybrána krysí křížově reaktivní TTR dsRNA, AD-18246, pro další vyhodnocení in vivo. AD-18246 zaměřuje sekvenci začínající v poloze 88 otevřeného čtecího

rámce, kde jsou literaturou hlášené tři mutace. Křivka dávka-odezva pro AD-18246 v buňkách HepG2 je znázorněna na obr. 3. AD-18246 je v podstatě méně potentní než AD-18324 a AD-18328; pro AD-18246 byla stanovena hodnota IC50 rovná 265 pM.

AD-18324, AD-18328 a AD-18246 byly podány transgenním myším po formulaci v LNP01. 3-5 měsíců starým transgenním myším H129-m TTR-KO/iNOS-KO/hTTR (myší transtyretinový knock-out / indukovatelný oxid dusíku-syntázový knock-out / lidský transgenní transtyretin) bylo intravenózně (IV) podáno 200 µl LNP01-formulované kontrolní siRNA zaměřující nesavší luciferázový gen (AD-1955) nebo PBS do ocasní žíly v koncentracích 1,0 mg/kg, 3,0 mg/kg nebo 6,0 mg/kg v případě siRNA AD-18324 a AD-18328, 3 mg/kg v případě siRNA AD-18246 a 6,0 mg/kg v případě siRNA AD-1955. LNP01 je lipidní formulace tvořená ND98, cholesterolem a PEG-ceramidem-C16.

Po přibližně čtyřiceti hodinách byly myši anestetizované 200 µl ketaminu a potom zbaveny krve přestřížením pravé kaudální artérie. Byla izolována celá krev, ze které byla izolována plazma, která byla přechovávána při teplotě -80 °C až do doby provedení testu. Byla také izolována játrová tkáň, které byla mžikově zmrazena a přechovávána při teplotě -80 °C až do doby zpracování.

Účinnost léčení byla vyhodnocena (i) změřením TTR mRNA v játrech 48 hodin po podání dávky a (ii) změřením TTR proteinu v plazmě před odstraněním krve a 48 hodin po podání dávky. Hladiny TTR játrové mRNA byly testovány za použití soupravy Branched DNA assays-QuantiGene 2.0 (Panomics kat. #: QS0011. Stručně definováno: vzorky myších jater byly rozemlety a byly z nich připraveny tkáňové lyzáty. Směs získaná lyzí jater (směs 2 objemu směsi získané lyzí, 2 objemy vody prosté nukleázy a 10 µl proteinázy-K/ml k dosažení finální koncentrace 20 mg/ml) byla inkubována při teplotě 65 °C po dobu 35 minut. Do záchytové destičky bylo potom přidáno 20 µl činidla Working Probe Set (TTR vzorek pro genový cíl a GAPDH pro endogenní kontrolu) a 80 µl tkáňového lyzátu. Záchytové destičky byly inkubovány při teplotě 55 °C ± 1 °C. Následující den byla záchytová destička 3 krát promyta puřem 1X Wash Buffer (voda prostá nukleázy, složka Buffer Component 1 a složka Wash Buffer Component 2), potom vysušena odstředěním po dobu 1 minuty při 240 g. Do záchytové destičky bylo potom přidáno 100 µl činidla preAmplifier Working Reagent, destička byla uzavřena hliníkovou fólií a inkubována po dobu 1 hodiny při teplotě 55 °C ± 1 °C. Po 1 hodinové inkubaci byl opakován promývací krok, načež bylo přidáno 100 µl činidla Amplifier Reagent. Po 1 hodině byly promývací a sušící krok zopakovány, načež bylo přidáno

100 μ l činidla Label Probe. Záchytové destičky byly inkubovány při teplotě $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 1 hodiny. Destička byla potom promyta pufrem 1X Wash Buffer a vysušena, načež k ní bylo přidáno 100 μ l substrátu. Záchytové destičky byly potom odečteny za použití zařízení SpektraMax Luminometer po 5 až 15 minutové inkubaci. Údaje bDNA byly analyzovány odečtením průměrné hodnoty pozadí od každého triplikátového vzorku, zprůměrováním rezultujících triplikátových hodnot GAPDH (kontrolní vzorek) a TTR (experimentální vzorek) a potom vypočtením poměru: (experimentální vzorek-pozadí) / (kontrolní vzorek-pozadí).

TTR plazmové hladiny byly testovány za použití komerčně dostupné soupravy "AssayMax Human Prealbumin ELISA kit" (AssayPro, St. Charles, MO, katalog.# EP3010) podle pokynů výrobce. Stručně uvedeno: myší plazma byla zředěna 1:10 000 v ředidlech 1X Mix a přidána do předběžně potažených destiček společně se standardy uvedené soupravy, načež byla inkubována po dobu 2 hodin při teplotě místnosti a potom 5 x promyta promývacím pufrem uvedené soupravy. Do každé jamky bylo přidáno padesát mikrolitrů biotinylované prealbuminové protilátky a směs byla inkubována po dobu 1 hodiny při teplotě místnosti a potom 5 x promyta promývacím pufrem, do každé jamky se přidá padesát mikrolitrů konjugátu streptavidin-peroxidáza a destičky se inkubují po dobu 30 minut při teplotě místnosti, načež se promyjí výše popsaným způsobem. Reakční směs byla vyvolána přidáním 50 μ l/jamka chromogenního substrátu a inkubována po dobu 10 minut při teplotě místnosti, načež byla reakce přerušena přidáním 50 μ l/jamka ukončovacího roztoku. Byla odečtena absorbance pomocí čtečky Versamax microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) a získané údaje byly analyzovány za použití softwarového balíčku Softmax 4.6 (Molecular Devices).

U LNP01-18324 a LNP01-18328 bylo stanoveno, že snižují játrovou TTR mRNA (obr. 4) a hladinu plazmového TTR proteinu (obr. 4B) dávkově dependentním způsobem při podání IV-bolusu. Pro mRNA byla zjištěna hodnota ED50 v případě LNP01-18328 rovná ~1 mg/kg zatímco hodnota ED50 v případě LNP01-18324 činila ~2 mg/kg. Účinky LNP01-18324 a LMP01-18328 byly specifické, protože kontrolní LNP01-1955 v množství 6 mg/kg významně neovlivnila jaterní hladiny TTR mRNA ve srovnání s PBS skupinou. LNP01-18324 a LMP01-18328 snížily plazmové hladiny TTR proteinu vzhledem k PBS skupině při potenci která byla podobná potenci dosažené u hladin TTR mRNA. Při dávce 3 mg/kg

LNP01-18246 snižuje jaterní hladinu TTR mRNA na menší hodnotu než při 3 mg/kg LNP01-18324 nebo LNP01-18328.

Tyto výsledky demonstrují, že LNP01-18324 a LNP01-18328 podané IV bolusem podstatně snižují lidskou TTR mRNA exprimovanou transgenními myšimi játry, což má za následek snížení TTR proteinu v oběhu.

Příklad 5. In vivo redukce divokého typu TTR mRNA v nelidských játrech primáta pomocí SNALP-18324 a SNALP-18328

Za účelem vyhodnocení účinnosti TTR siRNAs AD-18324 a AD-18328 u nelidských primátů na jaterní hladiny TTR mRNA byly siRNAs formulovány ve SNALP a podány 15 minutovou infúzí. Makakům (*Macaca fascicularis*) (3 zvířata o tělesné hmotnosti 2 až 5 kg na skupinu) byla podána 15 minutovou IV infúzí SNALP-18324 (0,3, 1,0 nebo 3,0 mg/kg), SNALP-18328 (0,3, 1 nebo 3 mg/kg) nebo SNALP-1955 (3 mg/kg při negativní kontrolní siRNA AD-1955, která zaměřuje nesavčí luciferázový gen). Čtyřicet hodin po podání dávky byly opice anestetizovány pentobarbitalem sodným a zbaveny krve. Jaterní tkáň pro stanovení TTR mRNA byla izolována a přechovávána při teplotě -80 °C až do dalšího zpracování.

Hladiny TTR mRNA v játrech byly stanoveny za použití obvyklého stanovení Branched DNA Assay s vyžitím technologie QuantiGene 1.0. Stručně uvedeno: vzorky opičích jater byly rozemlety a byly připraveny tkáňové lyzáty. Směs získaná lyzí jater (směs 2 objemu směsi získané lyzí, 2 objemy vody prosté nukleázy a 10 µl proteinázy-K/ml k dosažení finální koncentrace 20 mg/ml) byla inkubována při teplotě 65 °C po dobu 35 minut. Do záchytové destičky bylo potom přidáno 20 µl činidla Working Probe Set (TTR vzorek pro genový cíl a GAPDH pro endogenní kontrolu) a 80 µl tkáňového lyzátu. Záchytové destičky byly inkubovány při teplotě 55 °C ± 1 °C. Následující den byla záchytová destička 3 krát promyta pufrem 1X Wash Buffer (voda prostá nukleázy, složka Buffer Component 1 a složka Wash Buffer Component 2), potom vysušena odstředěním po dobu 1 minuty při 240 g. Do záchytové destičky bylo potom přidáno 100 µl činidla preAmplifier Working Reagent, destička byla uzavřena hliníkovou fólií a inkubována po dobu 1 hodiny při teplotě 55 °C ± 1 °C. Po 1 hodinové inkubaci byl opakován promývací krok, načež bylo přidáno 100 µl činidla Amplifier Reagent. Po 1 hodině byly promývací a sušící krok zopakovány, načež bylo přidáno 100 µl činidla Label Probe. Záchytové destičky byly inkubovány při teplotě 50 °C ± 1 °C po dobu 1 hodiny. Destička byla potom promyta pufrem 1X Wash Buffer, vysušena, načež k ní

bylo přidáno 100 µl substrátu. Záchytové destičky byly potom odečteny za použití zařízení SpektraMax Luminometer po 5 až 15 minutové inkubaci. Údaje bDNA byly analyzovány (i) odečtením průměrné hodnoty pozadí od každého triplikátového vzorku, (ii) zprůměrováním rezultujících triplikátových hodnot GAPDH (kontrolní vzorek) a TTR (experimentální vzorek) a potom (iii) vypočtením poměru: (experimentální vzorek-pozadí) / (kontrolní vzorek-pozadí).

Získané výsledky jsou uvedeny na obr. 5. SNALP-18324 a SNALP-18328 snižují hladiny TTR mRNA v játrech dávkově dependentním způsobem ve srovnání s negativní kontrolou SNALP-1955. Pro SNALP-18328 a SNALP-18324 byly stanoveny hodnoty ED50 rovné ~0,3 respektivně ~1 mg/kg.

Tyto výsledky demonstrují, že SNALP-18328 a SNALP-18324 jsou účinné při potlačení divokého typu TTR mRNA v játrech nelidského primáta v případě, že jsou podány IV infúzí.

Příklad 6. Snižení in vivo mutantní (V30M) TTR mRNA a proteinu pomocí SNALP-18328 u transgenní myši.

Za účelem vyhodnocení účinnosti TTR siRNA AD-18328 vůči mutantní (V30M) TTR mRNA v játrech a mutantního (V30M) TTR proteinu v séru byla AD-18328 formulována ve SNALP a podána IV bolusem transgenní myši V30M hTTR. 8 až 12 týdnů starým transgenním myším V30M hTTR (5 zvířat ve skupině) bylo intravenózně (IV) podáno 200 µl SNALP-18328 (0,03, 0,3 nebo 3 mg/kg), SNALP-1955 (3 mg/kg) s negativní kontrolou siRNA AD-1955, která zaměřuje nesavčí luciferázový gen) nebo PBS. Použitými zvířaty byly myši kmene *Mus musculus* H129-hTTR KO z Institutu molekulární a buněčné biologie, Porto, Portugalsko. Stručně uvedeno: transgenní myši hTTR H129 byly kříženy s endogenními TTR KO myšmi (knock-out myši ke generování transgenních H129-hTTR myši v knock-out myším TTR pozadí (Maeda, S., (2003), Use of genetically altered mice to study the role of serum amyloid P component in amyloid deposition. *Amyloid Suppl.* 1, 17-20).

48 hodin po injekci byla zvířatům ve všech pěti léčebných skupinách podána letální dávka ketaminu/xylazinu. Vzorky séra byly izolovány a přechovávány při teplotě -80 °C až do doby provedení analýzy. Byla odebrána jaterní tkáň a tato byla uchovávána při teplotě -80 °C až do doby jejího zpracování.

Za účelem kvantifikování TTR mRNA byla zmražená jaterní tkáň rozemleta na prášek, načež byly z tohoto prášku připraveny lyzáty. V lyzátech byly stanoveny hladiny TTR mRNA vztažené k hladinám GAPDH mRNA za použití stanovení rozvětvené DNA

(QuantiGene Reagent System, Panomics, Fremont, CA). Stručně uvedeno bylo stanovení QuantiGene (Genospektra) použito ke kvantifikování hladin mRNA ve vzorcích tkáňových lyzátů podle pokynů výrobce. Střední hladina TTR mRNA byla normalizována vzhledem ke střední hladině GAPDH mRNA pro každý vzorek. Skupinové průměry normalizovaných hodnot byly potom dále normalizovány vzhledem ke střední hodnotě pro PBS ošetřovanou skupinu k získání relativní exprese hladiny TTR mRNA.

Za účelem kvantifikace TTR proteinu bylo sérum testováno za použití testu AssayPro (St. Charles, MO) a soupravy Assaymax PreAlbumin ELISA podle protokolu poskytnutého výrobcem.

Získané výsledky jsou znázorněny na obr. 6A a obr. 6B pro jaterní mRNA respektive sérový protein. U SNALP-18328-ošetřených transgenních myši V30M hTTR došlo k dávkově dependentnímu a významnému poklesu hladiny TTR mRNA vzhledem k PBS kontrolní skupině, přičemž k maximálnímu 97% snížení ($p < 0,001$) došlo při 3 mg/kg SNALP-18328 a k 50% snížení (ED50) došlo při ~0,15 mg/kg SNALP-18328. Dávkově dependentním způsobem byla rovněž snížena sérová hladina TTR proteinu, přičemž maximálního 99% snížení sérového TTR proteinu ($p < 0,01$) (vzhledem k hladině před podáním dávky) bylo dosaženo při 3 mg/kg SNALP-18328, což je konzistentní se snížením hladin TTR mRNA. SNALP-1955 při dávce 3 mg/kg neměl žádný statisticky významný vliv ani na hladinu TTR mRNA, ani na hladinu proteinu ve srovnání s PBS.

Tyto výsledky demonstrují, že SNALP-18328 je aktivní v případě, že je podána IV, při potlačení mutantní V30M TTR mRNA v játrech transgenních myší, což má za následek snížení mutantního V30M TTR proteinu v oběhu.

Příklad 7. Trvanlivost potlačení TTR mRNA a proteinu pomocí SNALP-18328 u transgenní myši

Za účelem vyhodnocení trvanlivosti potlačení TTR mRNA a potlačení pomocí SNALP-18328, byla AD-18328 formulována v SNALP a podána IV bolusem transgenním myším V30M hTTR. V různých časových bodech po podání dávky byly kvantifikovány hladina TTR mRNA a hladina sérového TTR proteinu. 8- až 12-týdnů starým V30M hTTR transgenním myším (4 zvířata na skupinu) bylo intravenózně podáno 200 μ l SNALP-18328 (1 mg/kg) nebo SNALP-1955 (1 mg/kg s negativní kontrolou siRNA AD-1955, která zaměřuje nesavčí genovou luciferázu). Použitými zvířaty byly myši kmene *Mus musculus* H129-hTTR KO z Institutu molekulární a buněčné biologie, Porto, Portugalsko. Stručně uvedeno: transgenní myši hTTR H129 byly kříženy s endogenními H129 TTR KO myšmi (knock-out

myši pro generování transgenních myši H129-hTTR v knock-out myším TTR pozadí (Maeda, S., (2003), Use of genetically altered mice to study the role of serum amyloid P component in amyloid deposition. *Amyloid Suppl.* 1, 17-20.). V den 3, 8, 15 nebo 22 po podání dávky byla zvířatům v obou léčebných skupinách podána letální dávka ketaminu/xylazinu. Byly odebrané vzorky séra a tyto byly přechovávány při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do doby provedení analýzy. Byla odebrána jaterní tkáň, která byla mžikově zmrazena při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do doby jejího zpracování.

Za účelem TTR mRNA kvantifikace byla zmražená jaterní tkáň rozemleta na prášek a z tohoto prášku byly připraveny lyzáty. V uvedených lyzátech byly stanoveny hladiny TTR mRNA vzhledem k hladinám GAPDH mRNA za použití stanovení rozvětvené DNA (QuantiGene Reagent System, Panomics, Fremont, CA). Stručně uvedeno: test QuantiGene (Genospektra) byl použit pro kvantifikování hladin mRNA v lyzátech tkáňového vzorku podle instrukcí výrobce. Průměrná hladina TTR mRNA byla normalizována vzhledem ke střední hladině GAPDH mRNA pro každý vzorek. Skupinové průměry normalizovaných hodnot byly potom dále normalizovány vzhledem k průměrné hodnotě pro PBS-ošetřenou skupinu k získání relativní hladiny exprese TTR mRNA.

Za účelem TTR kvantifikace bylo sérum testováno za použití testu AssayPro (St. Charles, MO) a soupravy Assaymax PreAlbumin ELISA Kit podle výrobcova protokolu.

Získané výsledky jsou uvedeny na obr. 7A a obr. 7B pro jaterní mRNA respektive sérový protein. Jediné podání IV bolusu SNALP-18328 mělo za následek u transgenní myši hTTR V30M trvalou inhibici hladin TTR mRNA v játrech a TTR proteinu v séru. Ve srovnání s kontrolní skupinou (1 mg/ml SNALP-1955) jediné IV podání SNALP-18328 při dávce 1 mg/kg významně snižuje relativní TTR mRNA hladiny v den 3, 8, 15 a 22 po podání o 96 % ($p<0,01$), o 90 % ($p<0,001$), o 82 % ($p<0,001$) respektive o 73 % ($<0,001$) a po ukončení studie (den 22 po podání dávky) nedochází k návratu k výchozím hladinám. Rovněž dochází ke snížení hladin proteinu při dosažení maximálního 97% snížení sérového TTR ($p<0,001$) (vzhledem k SNALP-1955) v den 3 po podání dávky. V den 8, 15 a 22 po podání dávky byly hladiny TTR proteinu potlačeny o 72 % ($p<0,05$), o 32 % ($p<0,05$) respektive o 40 % ($p<0,001$) vzhledem k SNALP-1955.

Tyto výsledky demonstrují, že se jediným IV podáním SNALP-18328 dosahuje trvalého potlačení cílové jaterní hladiny mRNA a sérové hladiny proteinu u transgenní myši V30M hTTR při současném významném snížení jak jaterní TTR mRNA, tak i sérového TTR proteinu v den 22 po podání dávky.

Příklad 8. Trvanlivost potlačení sérového TTR proteinu pomocí SNALP-18328 u nelidského primátu

Za účelem vyhodnocení trvanlivosti potlačení sérového TTR proteinu pomocí SNALP-18328 byla AD-18328 formulována ve SNALP a podána IV infuzí nelidským primátům. V různých časových bodech po podání dávky se kvantifikují hladiny sérového TTR proteinu.

Makakům (*Macaca fascicularis*) ($n = 5$ zvířat/skupina v případě skupiny SNALP-18328 a $n = 3$ zvířata/skupina v případě skupin SNALP-1955 a PBS) byla provedena 15 minutová IV infúze SNALP-18328 (0,3, 1 nebo 3 mg/kg), SNALP-1955 (3 mg/kg s negativní kontrolou siRNA AD-1955, která zaměřuje nesavčí genovou luciferázu) nebo PBS. V den 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10 a 14 dávkové fáze se odeberou vzorky séra, které se přechovávají při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do provedení analýzy.

Za účelem vyhodnocení hladin TTR proteinu ve vzorcích séra byla použita analýza Western blot. Vzorky séra z každé skupiny byly sloučeny a zředěny v poměru 1:1 Laemmliho vzorkovým pufrům (β -merkaptoethanol byl přidán ve zředění 1:20). Vzorky se zahřívají na teplotu $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 10 minut. $12,5\text{ }\mu\text{l}$ každého vzorku bylo zavedeno do každého pruhu 10-20% preparativního gelu Criterion (Biograd, Herkules, CA) a rozděleno za použití SDS-PAGE při 120 V v průběhu 1,5 hodiny a následně převedeno na nitrocelulózovou membránu za použití polosuchého systému při 15 V v průběhu 1 hodiny. Membrána byla blokována přes noc při teplotě $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ v blokovacím pufru LiCOR (Lincoln, NE) zředěného 1:1 za použití 1X PBS. Blot byl nejdříve testován primárními protilátkami (kozí anti-TTR od společnosti Santa Cruz (Santa Cruz, CA) při zředění 1:1000 zředěnými ve směsi LiCOR blokovací pufr/PBS a to v průběhu 1 hodiny při teplotě místnosti za použití třepačky. Bloty byly potom 4 x promyty za použití PBS+0,2 % produktu Tween 20 (každé promytí trvalo 10 minut). Následně byly přidány fluorescenčně značené sekundární protilátky (anti-kryší protilátka 680 nm od společnosti Invitrogen (Carlsbad, CA) při zředění 1:10 000 ve směsi LiCOR blokovací pufr/PBS a blot byl inkubován po dobu 1 hodiny při teplotě místnosti. Po této inkubaci byly bloty 4 x promyty PBS + 0,2 produktu Tween 20 a následně 1x promyty PBS. Pro detekování proteinových pásů byl použit systém Li-COR's Odyssey Infrared Imaging System. TTR monomer migruje při 15 kDa.

Získané výsledky jsou zobrazeny na obr. 8. Hladiny sérového TTR proteinu vykazují dávkově dependentní snížení za použití 1 nebo 3 mg/kg SNALP-18328 ve srovnání s hladinou

před podáním dávky (den 0). Doba trvání uvedeného snížení po jediném IV podání SNALP-18328 činí alespoň 14 dnů po léčení podáním 1 nebo 3 mg/kg SNALP-18328.

Tyto výsledky demonstrují, že jedině IV podání SNALP-18328 poskytuje trvalé potlačení TTR proteinu v oběhu u nelidského primáta (*Macaca fascicularis*) při významném snížení TTR proteinu v den 14 po podání dávky.

Příklad 9: Snížení in vivo mutantního (V30M) TTR v periferních tkáních pomocí SNALP-18328 u transgenní myši

Za účelem vyhodnocení účinnosti SNALP-18328 při snížení TTR v periferních tkáních byly knock-out myši hTTR V30M/HSF-1 podrobeny imunohistochemickému vybarvení na TTR. Dva měsíce starým knock-out myším hTTR V30M/HSF-1 (Maeda, S., (2003), Use of genetically altered mice to study the role of serum amyloid P component in amyloid deposition. *Amyloid Suppl.* 1, 17-20) byl podán IV bolus 3 mg/kg SNALP-18328 (12 zvířat, 3 mg/kg SNALP-1955 (s negativní kontrolou siRNA AR-1955, která zaměřuje nesavčí genovou luciferázu, 4 zvířata) nebo PBS (4 zvířata) každé dva týdny celkem čtyři dávky v den 0, 14, 28 a 42. Jaterní hladiny TTR mRNA a TTR-imunoreaktivita v četných periferních tkáních byly vyhodnoceny 8 týdnů po podání první dávky v den 56.

Myši byla anestetizovány medetomidinem v dávce 1 mg/kg, načež jim byla podána letální dávka ketaminu. Tkáně a orgány, které byly středem zájmu, byly odebrány. Za účelem imunohistochemie byly jícen (E), žaludek (S), střevo (duodenum (I1) a tračník (I4)), nervy (N) a spinální ganglia (D) fixovány v neutrálním pufovaném formalinu a zapoždřeny do parafinu. Pro detekci TTR byly použity králičí anti-lidská TTR primární protilátka (1:1000, DAKO, Dánsko) a anti-králičí biotinem konjugovaná sekundární protilátka (1:20 Sigma, USA) následované extravidinovým značením (1:20, Sigma, USA) za účelem vybarvení TTR proteinu. Reakční směs byla vyvolána 3-amino-9-ethylkarbaxolem, AEC (Sigma, USA). Polokvantitativní analýza imunohistochemických podložních sklíček byla provedena za použití programu Scion image quant program, který měří plochu zaujmutou substrátovou reakční barvou a normalizuje tuto hodnotu vzhledem k celé obrazové ploše. Průměrné hodnoty % zaujmuté oblasti jsou vyneseny s odpovídající standardní odchylkou. Každá zvířecí tkáň byla vyhodnocena ve čtyřech odlišných oblastech. Přítomnost lidského TTR v parasympatických gangliích žaludku a střeva byla studována dvojím imunofluorescenčním vybarvením za použití králičího anti-lidského TTR (1:1000, DAKO, Dánsko) a myší anti-PGP9.5 (1:40, Serotec, USA) ve funkci primárních protilátek; sekundárními protilátkami byly: anti-králičí Alexa Fluor 488 (Molecular probes, UK) a kozí anti-myší Alexa Fluor 568

(Molecular probes, IK). Podložní skříčka byly fixovány za použití prostředku Vectashield (Vector) a vizualizovány za použití mikroskopu Zeiss Cell Observer System (Carl Zeiss, Německo) opatřeného filtry pro FITC a rhodamin.

Získané výsledky jsou graficky vyneseny na obr. 9. Na rozdíl od PBS- a SNALP-1955-ošetřených zvířat dosahuje se u SNALP-18328-ošetřených zvířat významného snížení TTR-imunoreaktivity ve všech zkoumaných tkáních (jícen (E), žaludek (S), střevo (duodenum (I1) a tračník (I4)), nervy (N) a spinální ganglia (D))

Tyto výsledky demonstrují, že podání SNALP-18328 knock-out myším hTTR V30M/HSF-1 způsobuje významné snížení TTR proteinu v periferních tkáních a orgánech zahrnujících jícen, žaludek, střevo (duodenum a tračník), nervy a spinální ganglion.

Příklad 10. Snížení in vivo divokého typu TTR mRNA v játrech nelidského primáta za použití XTC-SNALP-18328

Za účelem vyhodnocení účinnosti nových lipidových nanočásticových formulací XTC-SNALP pro dodávku siRNA do nelidského primáta, byla TTR siRNA AD-18328 formulovaná v XTC-SNALP (XTC-SNALP-18328) a podána IV infúzí, přičemž byla kvantifikována TTR mRNA. Makakům (*Macaca fascicularis*) byly podány 15-minutovou infúzí XTC-SNALP-18328 (0,03, 0,1, 0,3 nebo 1 mg/kg) nebo XTC-SNALP-1955 (1 mg/kg s negativní kontrolou siRNA AD-1955, která zaměřuje nesavčí genovou luciferázu). Čtyřicet osm hodin po podání dávky se opice anestetizují pentobarbitalem sodným a zbaví krve. Odebere se jaterní tkáň pro stanovení TTR mRNA, tato tkáň se mžikově zmrází a přechovává při teplotě -80 °C až do doby jejího zpracování. Způsoby použité pro kvantifikaci TTR mRNA v jaterní tkáni jsou stejné jako způsoby popsané v příkladu 5.

Získané výsledky jsou zobrazeny na obr. 10. XTC-SNALP-18328 redukuje hladiny TTR mRNA v játrech dávkově dependentním způsobem ve srovnání s negativní kontrolou XTC-SNALP-1955. V případě mRNA byla stanovena hodnota ED50 rovná ~0,1 mg XTC-SNALP-18328.

Tyto výsledky demonstrují, že XTC-SNALP-18328 je účinná při potlačení divokého typu TTR mRNA v játrech nelidského primáta v případě, že je podána IV infúzí.

Příklad 11: Snížení in vivo divokého typu TTR mRNA v játrech nelidského primáta pomocí LNP09-18328 a LNP11-18328

Za účelem vyhodnocení účinnosti dvou nových lipidových nanočásticových formulací, kterými jsou LNP09 a LNP11, pro dodávku siRNA u nelidského primáta byla TTR siRNA AD-18328 formulována v LNP09 (LNP09-18328) nebo LNP11 (LNP11-18328) a podána 15

minutovou IV transfúzí, načež byly testovány hladiny jaterní TTR mRNA a sérového TTR proteinu. Makakům (*Macaca fascicularis*) byly aplikovány 15 minutové IV infúze LNP09-18328 (0,03, 0,1 nebo 0,3 mg/kg), LNP11-18328 (0,03, 0,1 nebo 0,3 mg/kg) nebo PBS. 48 hodin po aplikaci dávky byly odebrány vzorky jaterní bioipsie, tyto vzorky byly mžikově zmrazeny a přechovávány při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do doby jejich zpracování. Sérum bylo odebráno před aplikací dávky (před vykrvácením) a ve dnech 1, 2, 4, 7, 14, 21 a 28 po aplikaci dávky a tato séra byla přechovávána při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do doby jejich zpracování. Způsoby použité pro kvantifikaci TTR mRNA v jaterní tkáni a pro vyhodnocení sérového TTR proteinu byly stejné jako způsoby popsané ve výše uvedených příkladech 5 a 8.

Získané výsledky jsou zobrazeny na obr. 11A pro mRNA a na obr. 11B a obr. 11C pro protein. Zvířata ošetřená LNO09-18328 a LNP11-18328 vykazovala dávkově dependentní snížení hladin TTR mRNA v játrech, přičemž bylo dosaženo při 0,3 mg/kg maximálního $\sim 85\%$ snížení (LNP09-18328) a maximálního $\sim 90\%$ snížení (LNP11-18329) vzhledem k PBS kontrole. V případě mRNA byla stanovena hodnota ED50 rovná $\sim 0,02\text{ mg/kg}$ jak pro LNP09-18328, tak i pro LNP11-18328. V den 7 po aplikaci dávky rovněž vzorky séra vykazovaly dávkově dependentní snížení TTR proteinu při 0,1 a 0,3 mg/kg LNP09-18328 a LNP11-18328, ve srovnání s PBS kontrolními hladinami. Obr. 11 ukazuje snížení TTR proteinových hladin při dávce 0,3 mg/kg LNP09-18328, kteréžto snížení vydrželo alespoň 28 dnů po aplikaci dávky ve srovnání s PBS kontrolní skupinou a ve srovnání se vzorkem odebraným před tím, než byla zvířata ponechána vykrvácet.

Tyto výsledky demonstrují, že LNP09-18328 a LNP11-18328 jsou účinné při potlačení divokého typu TTR mRNA v játrech nelidského primáta a TTR proteinu divokého typu v oběhu uvedeného primáta, když jsou podány IV infúzí. Kromě toho je uvedené potlačení při použití LN09-18328 trvalé a trvá po dobu alespoň 28 dnů po aplikaci uvedené IV infúze.

Příklad 12. Syntéza TTR sekvencí s tiltem

Byl konstruován soubor TTR duplexů ("duplexy s tiltem"), které zaměřují TTR gen v blízkosti cílové oblasti AD-18328, která zaměřuje lidský TTR gen počínající nukleosidem 628 z NM_000371.3.

V níže uvedených příkladech je číslování představující polohu 5' báze siRNA na transkriptu založeno na NM_000371.3 (obr. 12; SEQ ID NO:1331. Ve výše uvedených příkladech bylo číslování pro siRNA zaměřující lidskou siRNA založeno na NM_000371.2 (obr. 13A). NM_000371.3 prodlužuje sekvenci 5'UTR o 110 bází ve srovnání s

NM_000371.2, jak je to patrné z obr. 14. Takto je například výchozí polohou AD-18328 poloha 628 na NM_000371.3 a poloha 518 na NM_000371.2 (příklad 14).

TTR sekvence s tiltem byly syntetizované na syntetizátoru MerMade 192 v měřítku 1 μmol . Pro všechny v seznamu uvedené sekvence byl použit chemický mechanismus "endolight", který je detailněji popsán dále.

- Všechny pyrimidiny (cytosin a uridin) ve vláknu sense obsahovaly 2'-O-methyl-báze (2'-O-methyl-C a 2'-O-methyl-U);
- ve vláknu antisense byly pyrimidiny přilehlé (směrem k poloze 5') k ribo-A-nukleosidu nahrazeny jejich odpovídajícími 2-O-methylnukleosidy;
- dvoubázové dTdT prodloužení bylo zavedeno na 3'-konci sekvence jak vlákna sense, tak i vlákna antisense;
- sekvenční soubor byl převeden na textový soubor za účelem zajištění jeho kompatibility při zavedení do syntézního softwaru MerMade 192.

Syntéza, štěpení a deprotektce

Při syntéze TTR sekvencí byla použita oligonukleotidová syntéza na pevném nosiči s využitím fosforamiditové chemie. Syntéza sekvencí byla provedena v měřítku 1 μm na 96-jamkové destičce. Amiditové roztoky byly připraveny v 0,1M koncentraci a jako aktivátor byl použit ethylthiotetrazol (0,6M v acetonitrilu). Syntetizované sekvence byly štěpeny a zbaveny ochrany v 96-jamkových destičkách za použití methylaminu v prvním kroku a fluoridového činidla ve druhém kroku. Surové sekvence byly vysráženy za použití směsi aceton : ethanol (80:20) a získané pelety byly resuspendovány v 0,2M pufru tvořeném octanem sodným. Vzorky každé sekvence byly analyzovány za účelem potvrzení identity kapalinovou chromatografií spřaženou s hmotovou spektroskopií LC-MS a za účelem kvantifikace UV analýzou, přičemž vybraný soubor vzorků byl analyzován iontoměničovou chromatografií EIX za účelem stanovení čistoty.

Čištění a odsolení

TTR sekvence s tiltem byly čištěny za použití purifikačního systému AKTA explorer a sloupce Source 15Q. V průběhu čištění byla udržována teplota sloupce 65 °C. Nástřik a jímání vzorku byly provedeny v 96 jamkových destičkách (1,8 ml-obsah jamky). Z eluentu byla jímána frakce jediného píku odpovídajícího plné délce sekvence. Purifikované sekvence byly odsoleny na sloupci Sephadex G25 za použití purifikačního systému AKTA. Odsolené TTR sekvence byly analyzovány za účelem stanovení koncentrace (pomocí UV měření při A260) a čistoty (pomocí iontoměničové HPLC). Jediná vlákna byla potom podrobena anealaci..

TTR jediná vlákna a duplexy

Detailní seznam TTR duplexů s tiltem a odpovídajících jediných vláken (sense a antisense) je uveden v následující tabulce (tabulka 13).

Tabulka 13: TTR duplexy s tiltem a odpovídající jediná vlákna

Vlákno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.3, SEQ ID NO:1331).					
Duplex #	Poloha	Oligo #	Vlákno	Sekvence (5' k 3")	SEQ ID NO:
AD-18323	618	A-32335	S	GGGAuuucAuGuAAccAAGdTdT	1332
		A-32336	AS	CUUGGUuAcAUGAAAUCCdTdT	1333
AD-18324	619	A-32337	S	GGAuuucAuGuAAccAAGAdTdT	1334
		A-32338	AS	UCUUGGUuAcAUGAAAUCCdTdT	1335
AD-23000	620	A-42927	S	GAuuucAuGuAAccAAGAGdTdT	1336
		A-42928	AS	CUCUUGGUuAcAUGAAAUCdTdT	1337
AD-23001	621	A-42929	S	AuuucAuGuAAccAAGAGudTdT	1338
		A-42930	AS	ACUCUUGGUuAcAUGAAAUdTdT	1339
AD-23002	622	A-42931	S	uuucAuGuAAccAAGAGuAdTdT	1340
		A-42932	AS	uACUCUUGGUuAcAUGAAAdTdT	1341
AD-23003	623	A-42933	S	uucAuGuAAccAAGAGuAdTdT	1342
		A-42934	AS	AuACUCUUGGUuAcAUGAAAdTdT	1343
AD-18325	624	A-32339	S	ucAuGuAAccAAGAGuAuudTdT	1344
		A-32340	AS	AAuACUCUUGGUuAcAUGAdTdT	1345
AD-23004	625	A-42935	S	cAuGuAAccAAGAGuAuucdTdT	1346
		A-42936	AS	GAAuACUCUUGGUuAcAUGdTdT	1347
AD-18326	626	A-32341	S	AuGuAAccAAGAGuAuucdTdT	1348
		A-32342	AS	GGAAuACUCUUGGUuAcAUdTdT	1349
AD-18327	627	A-32343	S	uGuAAccAAGAGuAuuccAdTdT	1350
		A-32344	AS	UGGAAuACUCUUGGUuAcAdTdT	1351
AD-23005	628	A-42937	S	uAAccAAGAGuAuuccAuudTdT	1352
		A-42938	AS	AAUGGAAuACUCUUGGUuAdTdT	1353
AD-23006	629	A-42939	S	AAccAAGAGuAuuccAuudTdT	1354
		A-42940	AS	AAAUGGAAuACUCUUGGUdTdT	1355
AD-23007	631	A-42941	S	AccAAGAGuAuuccAuudTdT	1356
		A-42942	AS	AAAAUGGAAuACUCUUGGUdTdT	1357
AD-23008	632	A-42943	S	ccAAGAGuAuuccAuudTdT	1358
		A-42944	AS	AAAAAUGGAAuACUCUUGGdTdT	1359
AD-23009	633	A-42945	S	cAAGAGuAuuccAuudTdT	1360
		A-42946	AS	uAAAAAUGGAAuACUCUUGdTdT	1361
AD-23010	634	A-42947	S	AAGAGuAuuccAuudTdT	1362

Vláknó: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.3, SEQ ID NO:1331).					
Duplex #	Poloha	Oligo #	Vláknó	Sekvence (5' k 3'')	SEQ ID NO:
		A-42948	AS	GuAAAAAUGGAAuACUCUudTdT	1363
AD-23011	635	A-42949	S	AGAGuAuuccAuuuuuAcudTdT	1364
		A-42950	AS	AGuAAAAAUGGAAuACUCUdTdT	1365
AD-23012	636	A-42951	S	GAGuAuuccAuuuuuAcuAdTdT	1366
		A-42952	AS	uAGuAAAAAUGGAAuACUCdTdT	1367
AD-23013	637	A-42953	S	AGuAuuccAuuuuuAcuAAAdTdT	1368
		A-42954	AS	UuAGuAAAAAUGGAAuACUdTdT	1369
AD-23014	638	A-42955	S	GuAuuccAuuuuuAcuAAAAdTdT	1370
		A-42956	AS	UUuAGuAAAAAUGGAAuACdTdT	1371
AD-23015	639	A-42957	S	uAuuccAuuuuuAcuAAAGdTdT	1372
		A-42958	AS	CUUuAGuAAAAAUGGAAuAdTdT	1373
AD-23016	640	A-42959	S	AuuccAuuuuuAcuAAAGcdTdT	1374
		A-42960	AS	GCUUuAGuAAAAAUGGAAUdTdT	1375
AD-23017	641	A-42961	S	uuccAuuuuuAcuAAAGcAdTdT	1376
		A-42962	AS	UGCUUuAGuAAAAAUGGAAAdTdT	1377
AD-23018	642	A-42963	S	uccAuuuuuAcuAAAGcAGdTdT	1378
		A-42964	AS	CUGCUUuAGuAAAAAUGGAdTdT	1379
AD-23019	643	A-42965	S	ccAuuuuuAcuAAAGcAGudTdT	1380
		A-42966	AS	ACUGCUUuAGuAAAAAUGGdTdT	1381
AD-23020	644	A-42967	S	cAuuuuuAcuAAAGcAGuGdTdT	1382
		A-42968	AS	cACUGCUUuAGuAAAAAUGdTdT	1383
AD-23021	645	A-42969	S	AuuuuuAcuAAAGcAGuGudTdT	1384
		A-42970	AS	AcACUGCUUuAGuAAAAAUdTdT	1385
AD-23022	646	A-42971	S	uuuuuAcuAAAGcAGuGuudTdT	1386
		A-42972	AS	AAcACUGCUUuAGuAAAAAdTdT	1387
AD-23023	647	A-42973	S	uuuuAcuAAAGcAGuGuudTdT	1388
		A-42974	AS	AAAcACUGCUUuAGuAAAAAdTdT	1389
AD-23024	648	A-42975	S	uuuAcuAAAGcAGuGuuuudTdT	1390
		A-42976	AS	AAAACACUGCUUuAGuAAAAAdTdT	1391
AD-23025	649	A-42977	S	uuAcuAAAGcAGuGuuuucdTdT	1392
		A-42978	AS	GAAAACACUGCUUuAGuAAAdTdT	1393
AD-23026	650	A-42979	S	uAcuAAAGcAGu Guu uucAdTdT	1394
		A-42980	AS	UGAAAACACUGCUUuAGuAdTdT	1395
AD-23027	651	A-42981	S	AcuAAAGcAGuGuuuucAcTdTdT	1396
		A-42982	AS	GUGAAAACACUGCUUuAGUdTdT	1397
AD-23028	652	A-42983	S	cuAAAGcAGuGuuuucAccdTdT	1398
		A-42984	AS	GGUGAAAACACUGCUUuAGdTdT	1399

Vláknno: s= sense; as= antisense; Poloha: poloha 5' báze na transkriptu (NM_000371.3, SEQ ID NO:1331).					
Duplex #	Poloha	Oligo #	Vláknno	Sekvence (5' k 3")	SEQ ID NO:
AD-18330	653	A-32349	S	uAAAGcAGuGuuuucAccudTdT	1400
		A-32350	AS	AGGUGAAAACACUGCUUuAdTdT	1401
AD-23029	654	A-42985	S	AAAGcAGuGuuuucAccudTdT	1402
		A-42986	AS	GAGGUGAAAACACUGCUUuAdTdT	1403
AD-23030	655	A-42987	S	AAGcAGuGuuuucAccucAdTdT	1404
		A-42988	AS	UGAGGUGAAAACACUGCUUuAdTdT	1405
AD-23031	656	A-42989	S	AGcAGuGuuuucAccucAudTdT	1406
		A-42990	AS	AUGAGGUGAAAACACUGCUuAdTdT	1407
AD-18328	628	A-32345	S	GuAAccAAGAGuAuuccAudTdT	1408
		A-32346	AS	AUGGAAuACUCUUGGUuACdTdT	1409

Příklad 13. Třídění in vitro TTR siRNAs s tiltem

TTR duplexy s tiltem byly testované v buňkách Hep3B za účelem stanovení inhibice endogenní TTR exprese za použití stanovení PCR v reálném čase.

Buněčná kultivace a transfekce: buňky Hep3B (ATCC, Manassas, VA) byly kultivovány až téměř do konfluence při teplotě 37 °C v atmosféře s 5% obsahem CO₂ v minimálním esenciálním médiu Eagle (EMEM, ATCC) suplementovaném 10 % FBS, streptomycinem a glutaminem (ATCC) před jejich uvolněním z destičky trypsinizací. Byla provedena reverzní transfekce přidáním 5 µl prostředí Opti-MEM do jednotlivých jamek 96-jamkové destičky. Dále bylo přidáno 10 µl prostředí Opti-MEM plus 0,2 µl lipofektaminu RNAiMax na jamku (Invitrogen, Carlsbad, CA, kat.# 13778-150) a směs se inkubuje při teplotě místnosti po dobu 15 minut. Následně se přidá 80 µl výše popsaného kompletního růstového prostředí, avšak bez antibiotika, obsahujícího 2,0 x 10⁴ buněk Hep3B. Buňky se inkubují po dobu 24 hodin před RNA purifikací. Experimenty byly provedeny při 0,1 nebo 10nM finální koncentraci duplexu.

Celková RNA izolace za použití soupravy MagMAX-96 Total RNA Isolation Kit (Applied Biosystems, Foster City, part #: AM1830): buňky byly izolovány a podrobeny lyzi v roztoku Lysis/Binding Solution a potom míchány po dobu 1 minuty při 850 otáčkách za minutu za použití zařízení Eppendorf Thermomixer (rychlost míchání byla stejná v průběhu celého procesu). K buněčnému lyzátu bylo přidáno dvacet mikrolitrů magnetických tělísek a směs Lysis/Binding Enhancer a směs byla míchána po dobu 5 minut. Magnetická tělíska byla zachycena magnetickou podložkou a supernatant byl odstraněn, aniž by rušil polohu tělísek.

Po odstranění supernatantu byla magnetická tělíska promyta roztokem Wash Solution 1 (přidaný isopropanol) a míchána po dobu 1 minuty. Tělíska byla opětovně zachycena a supernatant byl odstraněn. Tělíska byla promyta 150 μ l roztoku Wash Solution 2 (přidaný ethanol) a zachycena a supernatant byl odstraněn. Potom bylo k tělískům přidáno 50 μ l DNázové směsi (MagMax turbo DNase Buffer a Turbo DNase) a tělíska byla míchána po dobu 10 až 15 minut. Po ukončení míchání bylo přidáno 100 μ l roztoku RNA Rebinding Solution a směs byla míchána po dobu 3 minut. Supernatant byl odstraněn a magnetická tělíska byla opětovně promyta 150 μ l roztoku Wash Solution 2 a směs se míchá po dobu 1 minuty, načež se supernatant zcela odstraní. Magnetická tělíska se míchají po dobu 2 minut k suchu předtím, než se RNA eluuje 50 μ l vody.

cDNA syntéza za použití soupravy ABI High capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, #4368813): předsměs 2 μ l pufru 10X Buffer, 0,8 μ l 25X dNTPs, 2 μ l primerů Random primers, 1 μ l transkriptázy Reverse Transcriptase, 1 μ l RNázového inhibitoru a 3,2 μ l H₂O per reakce byla přidána k 10 μ l celkové RNA. cDNA byla generována za použití termálního cykléru Bio-Rad C-1000 nebo S-1000 thermal cycler (Herkules, CA) provedením následujících kroků: 25 °C po dobu 10 minut, 37 °C po dobu 120 minut, 85 °C po dobu 5 sekund a výdrž při 4 °C.

Analýza PCR v reálném čase: 2 μ l cDNA bylo přidáno k předsměsi obsahující 0,5 μ l sondy GAPDH TaqMan Probe (Applied Biosystems kat. # 4326317E), 0,5 μ l sondy TTR TaqMan Probe (Applied Biosystems kat. # HS00174914 MI) a 10 μ l předsměsi Roche Probes Master Mix (Roche kat. # 04887301001) na jamku v jamkové destičce LightCycler 488 384 (Roche kat. # 0472974001). Analýza PCR v reálném čase byla provedena v zařízení LightCycler 480 Real Time PCR machine (Roche). Každý duplex byl testován ve dvou nezávislých transfekcích a každá transfekce byla provedena dvojmo.

Údaje získané v reálném čase byly analyzovány za použití metody $\Delta\Delta C_t$. Každý vzorek byl normalizován na GAPDH expresi a pokles byl vyhodnocen vzhledem k buňkám transfektovaným nezaměřujícím duplexem AD-1955. Tabulka 14 ukazuje pokles TTR za použití siRNAs. Údaje jsou vyjádřeny jako procentický podíl zbývajících informací vzhledem k buňkám zaměřeným AD-1955. Četné avšak nikoliv všechny obkladové TTR-dsRNAs zaměřující TTR v blízkosti cíle AD-18328, snižují TTR mRNA o alespoň 70 %, když jsou transfektovány do buněk Hep3B při 0,1 nM.

Tabulka 14: Inhibice TTR dsRNA s cílem zaměřující TTR v blízkosti cíle AD-18328

Duplex #	% podíl zbývající informace 0,1nM	% SD 0,1nM	% podíl zbývající informace 10nM	% SD 10nM
AD-18323	6,7	1,90	1,7	0,02
AD-18324	1,8	0,58	0,9	0,10
AD-23000	5,5	0,93	2,1	0,87
AD-23001	15,2	4,89	4,9	1,74
AD-23002	3,1	1,12	1,4	0,55
AD-23003	17,3	3,13	1,7	0,06
AD-18325	1,5	0,27	1,4	0,66
AD-23004	9,0	0,15	10,5	0,96
AD-18326	22,0	1,85	7,6	0,78
AD-18327	11,6	2,64	9,6	1,67
AD-18328	1,1	0,70	0,6	0,16
AD-23005	0,8	0,31	0,6	0,21
AD-23006	1,5	0,46	1,2	0,43
AD-23007	2,4	0,91	1,9	0,46
AD-23008	0,6	0,10	0,8	0,26
AD-23009	1,0	0,13	0,9	0,22
AD-23010	60,1	15,66	66,2	22,71
AD-23011	56,5	16,99	53,6	4,70
AD-23012	7,7	2,36	7,7	3,25
AD-23013	7,0	0,64	8,0	1,06
AD-23014	0,7	0,01	0,6	0,10
AD-23015	15,4	0,25	16,5	7,07
AD-23016	27,1	0,37	6,7	1,80
AD-23017	4,5	1,26	1,4	0,40
AD-23018	44,6	9,45	7,5	1,09
AD-23019	2,2	0,68	0,8	0,10
AD-23020	52,7	6,45	29,7	1,17
AD-23021	95,4	16,16	45,0	3,00
AD-23022	70,1	3,01	60,8	12,11
AD-23023	2,7	1,12	1,8	0,07
AD-23024	1,7	0,30	1,8	0,33

Duplex #	% podíl zbývající informace 0,1nM	% SD 0,1nM	% podíl zbývající informace 10nM	% SD 10nM
AD-23025	64,2	13,21	10,5	1,34
AD-23026	1,9	0,15	1,9	0,78
AD-23027	2,5	0,21	1,6	0,49
AD-23028	6,7	4,41	1,2	0,50
AD-18330	6,0	0,56	5,7	1,15
AD-23029	4,5	0,47	1,6	0,10
AD-23030	3,9	0,25	3,3	0,84
AD-23031	3,4	0,78	1,7	0,02

Příklad 14. Vyhodnocení doby trvání infúze na účinnost jediného intravenózního podání SNALP-18534 u kryš Sprague-Dawley

Cíle

Stanovení účinku doby trvání infúze na účinnost jediné IV infúze SNALP-18534 na jaterní hladiny TTR mRNA u kryš Sprague-Dawley.

Tabulka 15: Použité zkratky a definice

SNALP-18534	Kryší pro transtyreтин specifická siRNA formulovaná v SNALP
SNALP-1955	Pro nesavčí luciferázu specifická siRNA formulovaná SNALP

Sekvence vláken sense a antisense AD-18534 jsou reprodukovány níže z výše uvedených tabulek:

Vlákn	Oligo #	Poloha	Sekvence 5' k 3'	SEQ ID NO:
s	A-32755	532	cAGuGuucuuGcucuAuAAdTdT	1289
as	A-32756	550	UuAuAGAGcAAGAAcACUGdTdT	1290

Materiály použité při studii

Formulace podané v rámci testu

SNALP-18534 je tvořena siRNA zaměřující kryší TTR mRNA (AD-18534) a formulovanou ve stabilních nukleokyselinových-lipidových částicích (SNALP) pro dodávku do cílových tkání. Formulace SNALP (lipidová částice) sestává z nového aminolipidu (DLinDMA), PEGylovaného lipidu (mPEG2000-C-DMA), neutrálního lipidu (DPPC) a cholesterolu. Poměr lipid:nukleová kyselina ve formulaci SNALP je přibližně roven 5,8:1

(hm./hm.). SNALP-1955 obsahující siRNA zaměřující nesavčí liciferázovou mRNA je formulována ve stejných lipidových částicích jako SNALP-18534 a slouží jako farmakologicky neúčinná kontrola. Dávkové hladiny jsou vyjádřeny v mg/kg a vztahují se ke hmotnostnímu obsahu siRNA.

Koncept studie a použité postupy

Zvířata a podání testových formulací

Studie zahrnuje 9 skupin krys Sprague-Dawley (4 samečkové/skupina). Zvířatům je umožněno, aby měla alespoň 2 denní aklimatizační periodu před vlastní studií, přičemž všechna zvířata jsou v době započetí dávkování 7 týdnů stará. Podaná dávka byla vypočtena na základě údajů o tělesné hmotnosti získaných před dávkováním v den 1. Testové a kontrolní formulace byly podané ve formě 15-minutové, 1-hodinové, 2-hodinové nebo 3-hodinové IN infúze do ocasní žíly za použití kanyly 24G 3/4" uzavřené přepážkou Baxter Injection Site připojenou prostřednictvím křídlové ("butterfly") jehly 27G Terumo k pumpě Baxter AS40A Syringe Pump. Dávkový objem činí 3 ml/kg, infúzní rychlost činí 12 ml/kg/h a zvířata se průběhu dávkování mohou v kleci volně pohybovat. Krysy byly rozděleny do devíti léčebných skupin a byla jim aplikována jediná IV infúze formulací SNALP-18534, SNALP-1955 nebo PBS, jak je to uvedeno v tabulce 16:

Tabulka 16 Skupiny testovaných zvířat s aplikovaným dávkováním

Skupina	N	Testovaná formulace	Doba trvání infúze	Dávka
A	4	PBS	15 minut	---
B	4	PBS	3 hodiny	---
C	4	SNALP -1955	1 hodina	1 mg/kg
D	4	SNALP -1955	2 hodiny	1 mg/kg
E	4	SNALP -1955	3 hodiny	1 mg/kg
F	4	SNALP-18534	15 minut	1 mg/kg
G	4	SNALP-18534	1 hodina	1 mg/kg
H	4	SNALP-18534	2 hodiny	1 mg/kg
I	4	SNALP-18534	3 hodiny	1 mg/kg

Odebrání tkání a izolace RNA

V den 0 byla zvířata anestetizována inhalací isofluoranu a krevní vzorky před dávkováním byly jímány do sérum-separujících zkumavek retro-orbitálním odběrem. Krevní vzorky se ponechají vysrážet při teplotě místnosti v průběhu přibližně 30 minut před

odstředěním při teplotě 4 °C. Krevní vzorky se potom přechovávají při teplotě -80 °C až do doby, kdy se provede analýza. V den 3 byla zvířatům ve všech devíti léčebných skupinách podána letální dávka ketamin/xylazinu. Krev se jímá prostřednictvím ocasní duté žíly do sérum-separujících zkumavek a potom se krev ponechá vysrážet při teplotě místnosti přibližně 30 minut před odstředěním při teplotě 4 °C. Vzorky byly potom přechovávány při teplotě -80 °C až do doby, kdy se provede analýza. Byla odebrána jaterní tkáň, která byla mžikově zmrazena na suchém ledu. Zmražená jaterní tkáň byla rozemleta, načež z ní byly připraveny tkáňové lyzáty pro kvantifikaci jaterní mRNA.

Kvantifikace TTR mRNA:

V uvedených lyzátech byly stanoveny hladiny TTR mRNA vzhledem k hladinám GAPDH mRNA za použití testu rozvětvené DNA (QuantiGene Reagent System, Panomics, Fremont, CA). Stručně uvedeno, byl ke kvantitativnímu stanovení hladin mRNA ve vzorcích tkáňových lyzátů použit test QuantiGene (Genospektra) podle instrukcí výrobce. Průměrná hladina TTR mRNA byla normalizovaná vzhledem k průměrné hladině GAPDH mRNA pro každý vzorek.

Za účelem stanovení poměrné exprese hladiny TTR mRNA byly potom skupinové průměrné hodnoty pro skupiny ošetřené SNALP-1955 a SNALP-18534 a to 15-minutovou, 1-hodinovou a 2-hodinovou infúzí normalizovány vzhledem ke skupině ošetřené PBS a to 15-minutovou infúzí, zatímco průměrné hodnoty skupin ošetřených 3-hodinovou infúzí SNALP-1955 a SNALP-18534 byly potom normalizovány vzhledem k průměrné hodnotě skupiny ošetřené 3-hodinovou infúzí PBS.

Výsledky

Jak je to patrné z obr. 16, rezultuje jediná IV infúze 1 mg/kg formulace SNALP-18534 s různými dobami trvání infúze od 15 minut do 3 hodin ve srovnatelné inhibici jaterní hladiny TTR mRNA měřené dva dni po aplikaci dávky. Jediná IV infúze 1 mg/kg formulace SNALP-18534 rovněž vykazuje trvalé snížení TTR v průběhu 29 dnů po jediné 15-minutové IV infúzi ve srovnání s kontrolním stanovením za použití SNALP-1955 (údaje nejsou uvedeny). Ve srovnání se skupinou ošetřenou PBS 15-minutová, 1-hodinová, 2-hodinová nebo 3-hodinová IV infúze SNALP-18534 při 1 mg/kg významně snižuje relativní TTR mRNA expresní hladiny o 94 % ($p < 0,001$), o 94 % ($p < 0,001$) respektive o 93 % ($p < 0,001$). Specifičnost aktivity SNALP-18534 je demonstrována absencí významné cílené inhibice podáním SNALP-1955 prostřednictvím 1-hodinové, 2-hodinové nebo 3-hodinové IV infúze při stejné dávkové hladině.

Závěry

Tato studie demonstruje, že změnou doby trvání infúze od 15 minut do 3 hodin se neovlivní účinnost jediného IV podání 1mg/kg formulace SNALP-18534 u krys, jak je to potvrzeno snížením hladin TTR mRNA v játrech.

Příklad 15: Snížení in vivo divokého typu TTR mRNA v krysích játrech pomocí formulací LNP07-18534 a LNP08-18534

Za účelem vyhodnocení účinnosti dvou nových lipidových nanočásticových formulací LNP07 a LNP08 pro dodávku siRNA kryse byla krysí-specifická TTR siRNA, AD-18534 formulovaná v LNP07 (LNP07-18534) nebo LNP08 (LNP08-18534) a podána 15-minutovou IV infúzí, načež byla kvantifikována jaterní TTR mRNA. Krysám Sprague-Dawley (4 zvířata na skupinu) byla aplikována 15-minutová infúze LNP07-18534 (0,03, 0,1, 0,3 nebo 1 mg/kg), LNP08-18534 (0,01, 0,03 nebo 0,1 mg/kg) nebo LNP07-1955 (1 mg/kg) nebo LNP08-1955 (0,1 mg/kg) obsahující negativní kontrolu siRNA AD-1955, která zaměřuje nesavčí genovou luciferázu. Čtyřicet osm hodin později se zvířata usmrtní a odebere se jim jaterní tkáň, která se mžikově zmrazí a přechovává při teplotě -80 °C až do doby jejího zpracování.

Za účelem kvantifikace TTR mRNA se zmražená jaterní tkáň rozemele na prášek, ze kterého se připraví lyzáty. V uvedených lyzátech se stanoví hladiny TTR mRNA vzhledem k hladinám GAPDH mRNA za použití testu rozvětvené DNA (QuantiGene Reagent System, Fremont, CA). Stručně uvedeno použije se pro kvantifikaci hladin mRNA ve vzorích tkáňových lyzátů test QuantiGene (Genospectra) podle instrukcí výrobce. Průměrná hladina TTR mRNA se normalizuje vzhledem k průměrné hladině GAPDH mRNA pro každý vzorek. Skupinové průměry normalizovaných hodnot byly potom dále normalizovány vzhledem k průměrné hodnotě pro skupinu ošetřenou PBS k získání relativní hladiny exprese TTR mRNA.

Výsledky jsou uvedeny na obr. 17. LNP07-18534 snižuje hladiny TTR mRNA v játrech dávkově dependentním způsobem v úrovni 94% potlačení TTR mRNA v dávce 1 mg/kg. Tento účinek je specifický, neboť negativní kontrolní LNP07-1955 v dávce 1 mg/kg významně neovlivňuje hladiny TTR mRNA ve srovnání s kontrolou PBS. Hodnota ED50 v případě mRNA byla stanovena jako rovna ~ 0,05 mg/kg LNP07-18534. LNP08-18534 snižuje hladiny TTR mRNA v játrech dávkově dependentním způsobem v úrovni 86% potlačení TTR mRNA v dávce 1 mg/kg. Tento účinek je specifický, neboť negativní kontrolní LNP08-1955 v dávce 1 mg/kg významně neovlivňuje hladiny TTR mRNA ve srovnání s kontrolou PBS. Hodnota ED50 v případě mRNA byla stanovena jako rovna ~ 0,02 mg/kg LNP08-18534.

Tyto výsledky demonstrují, že LNP07-18534 a LNP08-18534 jsou účinné při potlačení divokého typu TTR mRNA v krysích játrech v případě, že jsou podány IV infúzí, a že LNP07 a LNP08 jsou účinnými formulacemi pro dodávku siRNA do jater.

Příklad 16: Snížení jaterní TTR mRNA jediným intravenózním podáním LNP09-19534 nebo LNP11-18534 u kryš Sprague-Dawley

Cíl:

Cílem je vyhodnocení účinnosti dvou nových lipidových nanočásticových (LNP) formulací pro dodávku krysí TTR-specifické siRNA, AD-18534 krysám Sprague-Dawley za účelem snížení hladin endogenní (divoký typ) jaterní TTR mRNA. Krysám bylo podáno 15-minutovou infúzí buď 0,01, 0,03, 0,1 nebo 0,3 mg/kg LNP09-18534, LNP11-18534 nebo fosfátem pufovaného solného roztoku (PBS), načež byly stanoveny hladiny mRNA 48 hodin po aplikaci léčebné dávky.

Materiály a způsoby:

LNP09 formulace: (XTC/DSPC/ChoUPEG₂₀₀₀-C14) = 50/10/38,5/1,5 mol. %; lipid:siRNA ~ 11:1. LNP11 formulace: (MC3/DSPC/Chol/PEG₂₀₀₀-C14) = 50/10/38,5/1,5 mol. %; lipid:siRNA ~ 11:1.

Odebrání tkáně a izolace RNA: v den 3 byla zvířatům všech léčebných skupin podána letální dávka ketaminu/xylazinu. Vzorke krve byly jímány prostřednictvím ocasní duté žíly do sérum-separujících zkumavek, načež byly ponechány vysrážet se při teplotě místnosti v průběhu přibližně 30 minut před odstředěním při teplotě 4 °C. Vzorke séra byly přechovávány při teplotě -80 °C až do doby budoucí analýzy. Byly odebrány jaterní tkáně, které byly mžikově zmrazeny na suchém ledu. Zmražená jaterní tkáň byla rozemleta a z ní byly připraveny tkáňové lyzáty pro kvantifikaci jaterní mRNA.

Kvantifikace TTR mRNA: v uvedených lyzátech byly stanoveny relativní hladiny TTR mRNA vzhledem k hladinám GAPDH mRNA za použití testu rozvětvené DNA (QuantiGene Reagent System, Panomics, Fremont, CA). Stručně uvedeno byl pro kvantifikaci hladin mRNA ve vzorcích tkáňových lyzátů použit test QuantiGene (Genospektra) podle instrukcí výrobce. Průměrná hladina TTR mRNA byla normalizována vzhledem k průměrné hladině GAPDH mRNA pro každý vzorek. Skupinové průměrné hodnoty byly potom normalizovány vzhledem k průměrné hodnotě skupiny ošetřené PBS k získání relativní exprese hladiny TTR mRNA.

Výsledky:

Jak je to zobrazeno na obr. 18 vykazují zvířata ošetřená LNP09-18534 a LNP11-18534 na rozdíl od zvířat ošetřených PBS významné dávkově dependentní snížení hladin TTR mRNA v játrech při dosažení maximálního ~ 90% snížení mRNA v případě jak LNP09-, tak i LNP11-formulovaných skupin vzhledem ke kontrolní skupině PBS při 0,3 mg/kg a dávce dosahující 50% snížení (ED_{50}) < 0,03 mg/kg pro LNP11-18534 a < 0,1 mg/kg pro LNP09-18534.

Závěry

Tato studie demonstruje, že jediná 15-minutová IV infúze LNP09-18534 nebo LNP11-18534 rezultuje u krys Sprague-Dawley v dávkově dependentním snížení jaterní TTR mRNA. Tyto údaje demonstrují účinnost LNP09-18328 a LNP11-18328 při snížení endogenně exprimované (divoký typ) TTR mRNA při ED_{50} < 0,03 a < 0,1 mg/kg pro LNP11-18534 respektive pro LNP09-18534.

Příklad 17: Inhibice TTR u lidí

Lidský subjekt byl ošetřen dsRNA zaměřenou na gen TTR za účelem inhibice genu TTR pro léčení chorobného stavu.

Subjekt, mající potřebu léčení, je vybrán nebo identifikován. Takový subjekt může trpět jaterní poruchou, transtyrelinovou amyloidózou a/nebo může mít transplantované játro.

K identifikaci subjektu může dojít v ambulantním oddělení nebo jinde, například v místě pobytu subjektu s tím, že subjekt sám použije samo-testovací soupravu.

V čase nula je subjektu podána vhodná první dávka anti-TTR siRNA. dsRNA je formulována zde popsaným způsobem. Po určité časové periodě po první dávce, například 7 dnů, 14 dnů a 21 dnů, je vyhodnocen stav subjektu, například změřením funkce jater. Toto měření může být doprovázeno změřením TTR exprese u uvedeného subjektu a/nebo produktů úspěšného siRNA zacílení TTR mRNA. Mohou být měřena i další relevantní kritéria. Počet a velikost dávek se nastaví podle potřeby subjektu.

Po uvedeném léčení se rychlost růstu nádoru subjektu snížila vzhledem k rychlosti, kterou růst nádoru probíhal před léčením nebo vzhledem k rychlosti růstu nádoru u obdobně postiženého, avšak neléčeného subjektu.

Předkládaný popis se dále týká následujících bodů:

1. Dvouvláknová kyselina ribonukleová (dsRNA) pro inhibici exprese transtyrelinu (TTR), přičemž uvedená dsRNA obsahuje vlákno sense a vlákno antisense, přičemž vlákno antisense obsahuje oblast komplementární s částí mRNA kódující transtyrelin

(TTR), kde uvedená oblast komplementarity má délku méně než 30 nukleotidů a vlákno antisense obsahuje 15 nebo více souvislých nukleotidů SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:450, SEQ ID NO:730, nebo SEQ ID NO:1010.

2. dsRNA podle bodu 1, kde sense vlákno obsahuje 15 nebo více souvislých nukleotidů SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:449, SEQ ID NO:729, nebo SEQ ID NO:1009.

3. dsRNA podle bodu 1, kde sense vlákno obsahuje SEQ ID NO:449 a kde antisense vlákno obsahuje SEQ ID NO:450.

4. dsRNA podle bodu 1, kde sense vlákno obsahuje SEQ ID NO:729 a kde antisense vlákno obsahuje SEQ ID NO:730.

5. dsRNA podle bodu 1, kde sense vlákno obsahuje SEQ ID NO:1009 a kde antisense vlákno obsahuje SEQ ID NO:1010.

6. dsRNA podle bodu 1, kde dsRNA zahrnuje sense vlákno vybrané z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B, 7, a 16, a antisense vlákno je vybrané z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B, 7, a 16.

7. dsRNA podle bodu 1 nebo 2 nebo 6, kde oblast komplementarity má délku 19 nukleotidů.

8. dsRNA podle bodu 1 nebo 2 nebo 6, kde oblast komplementarity sestává z SEQ ID NO:169.

9. dsRNA podle bodu 1 nebo 2 nebo 6, kde každé vlákno dsRNA má délku 19, 20, 21, 22, 23, nebo 24 nukleotidů.

10. dsRNA podle bodu 1 nebo 2 nebo 6, kde každé vlákno má délku 21 nukleotidů.

11. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde dsRNA neštěpí TTR mRNA mezi adeninovým nukleotidem v pozici 637 SEQ ID NO:1331 a guaninovým nukleotidem v pozici 638 SEQ ID NO:1331.

12. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde dsRNA štěpí TTR mRNA mezi guaninovým nukleotidem v pozici 636 SEQ ID NO:1331 a adeninovým nukleotidem v pozici 637 SEQ ID NO:1331.
13. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde se dsRNA aneluje k TTR mRNA mezi guaninovým nukleotidem v pozici 628 SEQ ID NO:1331 a uracilovému nukleotidu v pozici 646 SEQ ID NO: 1331.
14. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde uvedená dsRNA obsahuje alespoň jeden modifikovaný nukleotid.
15. dsRNA podle bodu 14, kde alespoň jeden z uvedených modifikovaných nukleotidů je vybraný ze skupiny, kterou tvoří: 2'-O-methylem modifikovaný nukleotid, nukleotid obsahující 5'-fosforothioátovou skupinu a terminální nukleotid vázaný k cholesterylovému derivátu nebo skupině bisdecylamidu dodekanové kyseliny.
16. dsRNA podle bodu 14, kde uvedený modifikovaný nukleotid je vybraný ze skupiny, kterou tvoří: 2'-deoxy-2'-fluor modifikovaný nukleotid, 2'-deoxy-modifikovaný nukleotid, uzamčený nukleotid, abazický nukleotid, 2'-amino-modifikovaný nukleotid, 2'-alkyl-modifikovaný nukleotid, morfolino nukleotid, fosforamidát a nepřírodní báze obsahující nukleotid.
17. dsRNA podle bodu 14 obsahující alespoň jeden 2'-O-methyl modifikovaný nukleotid.
18. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde dsRNA je konjugovaná k ligandu.
19. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde dsRNA je formulovaná v lipidové formulaci.
20. dsRNA podle bodu 19, kde dsRNA je formulovaná v LNP formulaci, LNP01 formulaci, XTC-SNALP formulaci nebo SNALP formulaci.
21. dsRNA podle bodu 19, kde dsRNA je formulována v XTC-SNALP formulaci následujícím způsobem: za použití 2,2-dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolanu (XTC) s XTC/DPPC/Cholesterol/PEG-cDMA v poměru 57,1/7,1/34,4/1,4 a v poměru lipid:siRNA asi 7.

22. dsRNA podle bodu 19, kde sense vlákno obsahuje SEQ ID NO:1009 a kde antisense vlákno obsahuje SEQ ID NO:1010, a kde dsRNA je formulována v XTC-SNALP formulaci následujícím způsobem: za použití 2,2-Dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolanu (XTC) s XTC/DPPC/Cholesterol/PEG-cDMA v poměru 57,1/7,1/34,4/1,4 a v poměru lipid:siRNA asi 7.

23. dsRNA podle bodu 19, kde dsRNA je formulována v LNP09 formulaci následujícím způsobem: za použití XTC/DSPC/Chol/PEG₂₀₀₀-C14 v poměru 50/10/38,5/1,5 mol % a v poměru lipid:siRNA asi 11:1.

24. dsRNA podle bodu 19, kde dsRNA je formulována v LNP11 formulaci následujícím způsobem: za použití MC3/DSPC/Chol/PEG₂₀₀₀-C14 v poměru 50/10/38,5/1,5 mol % a v poměru lipid:siRNA asi 11:1.

25. dsRNA podle bodu 19, kde dsRNA je formulována v LNP09 formulaci nebo LNP11 formulaci a snižuje hladiny TTR mRNA o asi 85 až 90 % při dávce 0,3 mg/kg, vzhledem k PBS kontrolní skupině.

26. dsRNA podle bodu 19, kde dsRNA je formulována v LNP09 formulaci nebo LNP 11 formulaci a snižuje hladiny TTR mRNA o asi 50 % při dávce 0,1 mg/kg, vzhledem k PBS kontrolní skupině.

27. dsRNA podle bodu 19, kde dsRNA je formulována v LNP09 formulaci nebo LNP11 formulaci a snižuje hladiny TTR proteinu způsobem závislým na dávce vzhledem k PBS kontrolní skupině měřeno pomocí western blot.

28. dsRNA podle bodu 19, kde dsRNA je formulována v SNALP formulaci následujícím způsobem: za použití DlinDMA s DLinDMA/DPPC/Cholesterol/PEG2000-cDMA v poměru 57,1/7,1/34,4/1,4 a v poměru lipid:siRNA asi 7.

29. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde podávání dsRNA buňkám vede k asi 95% inhibici TTR mRNA exprese, měřeno pomocí testu reálného času PCR, kde buňkou je HepG2 buňka nebo Hep3B buňka, a kde koncentrace dsRNA je 10nM.

30. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde podávání dsRNA buňkám vede k asi 74% inhibici TTR mRNA exprese měřeno pomocí testu rozvětvené DNA, kde buňkou je HepG2 buňka nebo Hep3B buňka, a kde koncentrace dsRNA je 10nM.
31. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde dsRNA má IC50 nižší než 10 pM v HepG2 buňce, a kde koncentrace dsRNA je 10nM.
32. dsRNA podle bodů 1,2, 3, 4, 5, nebo 6, kde dsRNA má ED50 asi 1 mg/kg.
33. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde podávání dsRNA snižuje TTR mRNA o asi 80 % v játrech opice makak, kde koncentrace dsRNA je 3 mg/kg.
34. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde podávání dsRNA nevede k imunostimulační aktivitě v monojaderných buňkách humánní periferní krve (PBMC), měřeno pomocí testů IFN-alfa a TNF-alfa ELISA.
35. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde podávání dsRNA snižuje jaterní hladiny TTR mRNA o asi 97 % nebo hladiny sérového TTR proteinu o asi 90 %, kde koncentrace dsRNA je 6 mg/kg.
36. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde podávání dsRNA snižuje jaterní hladiny TTR mRNA a/nebo hladiny sérového TTR proteinu až do 22 dnů, kde koncentrace dsRNA je 6 mg/kg nebo 3 mg/kg.
37. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde dsRNA potlačuje hladiny sérového TTR proteinu až do dne 14 po léčení, když se subjektu který takovou léčbu potřebuje, podává 1 mg/kg nebo 3 mg/kg.
38. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde dsRNA snižuje TTR expresi o 98,9% v Hep3B buňce při koncentraci 0,1 nM, měřeno PCR v reálném čase.
39. dsRNA podle bodů 1, 2, 3, 4, 5, nebo 6, kde dsRNA snižuje TTR expresi o 99,4% v Hep3B buňce při koncentraci 10nM, měřeno PCR v reálném čase.
40. Dvouvlákonová ribonukleová kyselina (dsRNA) pro inhibici exprese transthyretinu (TTR), kde uvedená dsRNA obsahuje sense vlákno a antisense vlákno, kdy antisense

vlákno obsahuje oblast komplementární k části mRNA kódující transthyretin (TTR), kde uvedená oblast komplementarity je kratší než 30 nukleotidů a kde dsRNA obsahuje sense vlákno vybrané z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B, 7, a 16, a antisense vlákno je vybrané z tabulek 3A, 3B, 4, 6A, 6B, 7, a 16.

41. Dvouvlákonová ribonukleová kyselina (dsRNA) pro inhibici exprese transthyretinu (TTR), kde uvedená dsRNA obsahuje antisense vlákno obsahující oblast komplementární s nukleotidy 15-30 nukleotidů 618-648 SEQ ID NO: 1331 a kde se báze uvedeného antisense vlákna párují s guaninem v pozici 628 SEQ ID NO:1331.

42. Buňka obsahující dsRNA podle bodů 1-41.

43. Vektor obsahující nukleotidovou sekvenci, která kóduje alespoň jedno vlákno dsRNA podle bodů 1-41.

44. Buňka obsahující vektor podle bodu 43.

45. Farmaceutická kompozice pro inhibici exprese TTR genu obsahující dsRNA podle bodů 1-41 a farmaceuticky přijatelný nosič.

46. Farmaceutická kompozice pro inhibici exprese TTR genu obsahující dsRNA a SNALP formulaci, kde dsRNA obsahuje antisense vlákno o délce menší než 30 nukleotidů a obsahuje 15 nebo více souvislých nukleotidů SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:450, SEQ ID NO:730, nebo SEQ ID NO:1010, a kde SNALP formulace obsahuje DlinDMA, DPPC, Cholesterol a PEG2000-cDMA v poměru 57,1/7,1/34,4/1,4 v tomto pořadí.

47. Způsob inhibice TTR exprese v buňce, kdy způsob zahrnuje:

(a) uvedení buňky do styku s dsRNA podle bodů 1-41; a

(b) zachování buňky připravené v kroku (a) po dostatečnou dobu, aby se dosáhlo degradace mRNA transkriptu TTR genu, a tím inhibice exprese TTR genu v buňce.

48. Způsob léčby onemocnění zprostředkovaného TTR expresí zahrnující podávání terapeuticky účinného množství dsRNA podle bodů 1-41 člověku, který takovou léčbu potřebuje.
49. Způsob podle bodu 48, kde dsRNA se podává člověku při asi 0,01, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, nebo 5,0 mg/kg.
50. Způsob podle bodů 48-49, kde dsRNA se podává člověku při asi 1,0 mg/kg.
51. Způsob podle bodů 48-50, kde člověk trpí transthyretinovou amyloidosou.
52. Způsob podle bodů 48-51, kde člověk trpí poruchou jater.
53. Způsob podle bodů 48-52, kde člověk má dále jaterní transplantát.
54. Způsob podle bodů 48-53, kde podávání dsRNA snižuje TTR mRNA o asi 80 % v játrech člověka, kde koncentrace dsRNA je 3 mg/kg.
55. Způsob podle bodů 48-54, kde podávání dsRNA nevede k imunostimulační aktivitě u člověka, měřeno pomocí IFN-alfa a TNF-alfa ELISA testů.
56. Způsob podle bodů 48-55, kde podávání dsRNA snižuje jaterní hladiny TTR mRNA o asi 97 % nebo hladiny sérového proteinu TTR o asi 90 %, kde koncentrace dsRNA je 6 mg/kg.
57. Způsob podle bodů 48-56, kde podávání dsRNA snižuje jaterní hladiny TTR mRNA a/nebo hladiny sérového proteinu TTR do 22 dnů, kde koncentrace dsRNA je 6 mg/kg nebo 3 mg/kg.
58. Způsob podle bodů 48-57, kde dsRNA je formulována v LNP09 formulaci následujícím způsobem: za použití XTC/DSPC/Chol/PEG₂₀₀₀-C14 v poměru 50/10/38,5/1,5 mol % a v poměru lipid:siRNA asi 11:1.
59. Způsob podle bodů 48-58, kde dsRNA je formulována v LNP11 formulaci následujícím způsobem: za použití MC3/DSPC/Chol/PEG₂₀₀₀-C14 v poměru 50/10/38,5/1,5 mol % a v poměru lipid:siRNA asi 11:1.

60. Způsob podle bodů 48-59, kde dsRNA je formulována v LNP09 formulaci nebo LNP 11 formulaci a snižuje hladiny TTR mRNA asi o 85 až 90 % při dávce 0,3 mg/kg, vzhledem k PBC kontrolní skupině.
61. Způsob podle bodů 48-60, kde dsRNA je formulována v LNP09 formulaci nebo LNP 11 formulaci a snižuje TTR mRNA hladiny asi o 50 % při dávce 0,1 mg/kg, vzhledem k PBC kontrolní skupině.
62. Způsob podle bodů 48-61, kde dsRNA je formulována v LNP09 formulaci nebo LNP 11 formulaci a snižuje hladiny TTR proteinu způsobem závislým na dávce vzhledem k PBC kontrolní skupině, měřeno pomocí western blot.
63. Způsob podle bodů 48-62, kde dsRNA potlačuje hladiny sérového proteinu TTR až do dne 14 po léčbě, pokud se podává člověku při 1 mg/kg nebo 3 mg/kg.
64. Způsob podle bodů 48-63, kde dsRNA je formulována v SNALP formulaci následujícím způsobem: za použití DlinDMA, s DLinDMA/DPPC/Cholesterol/PEG2000-cDMA v poměru 57,1/7,1/34,4/1,4 a poměru lipid:siRNA asi 7.
65. Použití dsRNA pro léčbu onemocnění zprostředkovaného TTR expresí zahrnující podávání terapeuticky účinného množství dsRNA podle bodů 1-41 člověku, který takovou léčbu potřebuje.
66. Použití podle bodu 65, kde dsRNA se podává člověku při asi 0,01, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, nebo 5,0 mg/kg.
67. Použití podle bodů 65-66, kde dsRNA se podává člověku při asi 1,0 mg/kg.
68. Použití podle bodů 65-67, kde člověk trpí transthyretinovou amyloidosou.
69. Použití podle bodů 65-68, kde člověk trpí poruchou jater.
70. Použití podle bodů 65-69, kde člověk má dále jaterní transplantát
71. Použití dsRNA pro inhibici TTR exprese v buňce, kdy použití zahrnuje:
- (a) uvedení buňky do styku s dsRNA podle bodů 1-41; a

(b) zachování buňky připravené v kroku (a) po dostatečnou dobu, aby se dosáhlo degradace mRNA transkriptu TTR genu, a tím inhibice exprese TTR genu v buňce.

SEZNAM SEKVENCÍ

<110> ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.

<120> KOMPOZICE A ZPŮSOBY INHIBICE EXPRESE TRANSTHYRETINU

<130> T1668 EP/1

<150> US 61/244,794

<151> 2009-09-22

<150> US 61/242,783

<151> 2009-09-15

<150> US 61/185,545

<151> 2009-06-09

<150> US 61/156,670

<151> 2009-03-02

<150> US 61/115,738

<151> 2008-11-18

<150> US 61/106,956

<151> 2008-10-20

<160> 1410

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 19

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

ccggugaauc caagugucc 19

<210> 2

<211> 19

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 2
ggacacuugg auucaccgg 19

<210> 3
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 3
acucauucuu ggcaggaug 19

<210> 4
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 4
cauccugcca agaaugagu 19

<210> 5
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 5
aaguguccuc ugaugguca 19

<210> 6
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 6
ugaccaucag aggacacuu 19

<210> 7
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 7
ucauucuuugg caggauggc 19

<210> 8
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 8
gccauccugc caagauga 19

<210> 9
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 9
aaguucuaga ugcuguccg 19

<210> 10
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 10
cggacagcau cuagaacu 19

<210> 11
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 11
guucuagaug cuguccgag 19

<210> 12
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 12
cucggacagc aucuagaac 19

<210> 13
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 13
cuagaucug uccgaggca 19

<210> 14
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 14
ugccucggac agcaucuag 19

<210> 15
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 15
gaugcugucc gagcaguc 19

<210> 16
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 16
gacugccucg gacagcauc 19

<210> 17
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 17
cauucuuggc aggauggcu 19

<210> 18
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 18
agccauccug ccaagaaug 19

<210> 19
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 19
ugcuguccga ggcaguccu 19

<210> 20
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 20
aggacugccu cggacagca 19

<210> 21
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 21
ccgaggcagu ccugccauc 19

<210> 22
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 22
gauggcagga cugccucgg 19

<210> 23
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 23
caguccugcc aucaaugug 19

<210> 24
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 24
cacauaugaug gcaggacug 19

<210> 25
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 25
caaugggcc gugcaugug 19

<210> 26
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 26
cacaugcag gccacauug 19

<210> 27
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 27
auguguucag aaaggcugc 19

<210> 28
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 28
gcagccuuuc ugaacacau 19

<210> 29
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 29
cagaagucca cucauucuu 19

<210> 30
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 30
aagaagagu ggacuucug 19

<210> 31
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 31
ggcaggaugg cuucucauc 19

<210> 32
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 32
gaugagaagc cauccugcc 19

<210> 33
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 33
gagccauuug ccucuggga 19

<210> 34
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 34
ucccagaggc aauggcuc 19

<210> 35
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 35
caggauggcu ucucaucgu 19

<210> 36
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 36
acgaugagaa gccauccug 19

<210> 37
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 37
aggauggcuu cucaucguc 19

<210> 38
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 38
gacgaugaga agccauccu 19

<210> 39
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 39
agagcugcau gggcucaca 19

<210> 40
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 40
ugugagccca ugcagcucu 19

<210> 41
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 41
gcugcauggg cucacaacu 19

<210> 42
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 42
aguugugagc ccaugcagc 19

<210> 43
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 43
ggauggcuuc ucaucgucu 19

<210> 44
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 44
agacgaugag aagccaucc 19

<210> 45
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 45
gcaugggcuc acaacugag 19

<210> 46
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 46
cucaguugug agcccaugc 19

<210> 47
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 47
augggcucac aacugagga 19

<210> 48
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 48
uccucaguug ugagcccau 19

<210> 49
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 49
ugggcucaca acugaggag 19

<210> 50
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 50
cuccucaguu gugagcca 19

<210> 51
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 51
gaggaauuug uagaaggga 19

<210> 52
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 52
ucccuucuaac aaauccuc 19

<210> 53
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 53
uuuguagaag ggauauaca 19

<210> 54
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 54
uguauauccc uucuacaaa 19

<210> 55
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 55
uuguagaagg gauauacaa 19

<210> 56
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 56
uuguauaucc cuucuaca 19

<210> 57
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 57
uguagaaggg auauacaaa 19

<210> 58
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 58
uuuguauauc ccuucuaca 19

<210> 59
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 59
agaagggaua uacaaagug 19

<210> 60
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 60
cacuuuguau auccuucu 19

<210> 61
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 61
aaguggaaau agacaccaa 19

<210> 62
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 62
uuggugucua uuuccacuu 19

<210> 63
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 63
ggaaauagac accaaaucu 19

<210> 64
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 64
agauuuggug ucuauuucc 19

<210> 65
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 65
gaaauagaca ccaaaucuu 19

<210> 66
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 66
aagauuuggu gucuuuuc 19

<210> 67
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 67
auagacacca aaucuuacu 19

<210> 68
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 68
aguaagauuu ggugucuau 19

<210> 69
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 69
uagacaccaa aucuuacug 19

<210> 70
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 70
caguaagauu uggugucua 19

<210> 71
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 71
agacaccaaaa ucuuacugg 19

<210> 72
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 72
ccaguaagau uuggugucu 19

<210> 73
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 73
uuacuggaag gcacuuggc 19

<210> 74
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 74
gccaagugcc uuccaguaa 19

<210> 75
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 75
uucucaucgu cugcuccuc 19

<210> 76
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 76
gaggagcaga cgaugagaa 19

<210> 77
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 77
ggaaggcacu uggcaucuc 19

<210> 78
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 78
gaugccaa gugccuucc 19

<210> 79
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 79
ggcacuuggc aucuccca 19

<210> 80
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 80
ugggggagaug ccaagugcc 19

<210> 81
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 81
ggcaucuccc cauuccaug 19

<210> 82
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 82
auggaauggg gagaugcctt 20

<210> 83
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 83
gcaucucccc auuccauga 19

<210> 84
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 84
ucauggaaug gggagaugc 19

<210> 85
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 85
caucucccca uuuccaugag 19

<210> 86
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 86
cucauggaau ggggagaug 19

<210> 87
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 87
aucucccau uccaugagc 19

<210> 88
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 88
gcucauggaa ugaggagau 19

<210> 89
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 89
cucccauuc caugagcau 19

<210> 90
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 90
augcucaugg aauggggag 19

<210> 91
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 91
cccauuccau gagcaugca 19

<210> 92
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 92
ugcaugcuca uggauggg 19

<210> 93
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 93
ccaugagcau gcagaggug 19

<210> 94
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 94
caccucugca ugcucaugg 19

<210> 95
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 95
agcaugcaga ggugguauu 19

<210> 96
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 96
aauaccacu cugcaugcu 19

<210> 97
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 97
caugcagagg ugguaauca 19

<210> 98
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 98
ugaauaccac cucugcaug 19

<210> 99
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 99
augcagaggu gguauucac 19

<210> 100
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 100
gugaauacca ccucugcau 19

<210> 101
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 101
ggugguauuc acagccaac 19

<210> 102
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 102
guuggcugug aauaccacc 19

<210> 103
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 103
gugguauuca cagccaacg 19

<210> 104
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 104
cguuggcugu gaauaccac 19

<210> 105
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 105
ugguauucac agccaacga 19

<210> 106
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 106
ucguuggcug ugauuacca 19

<210> 107
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 107
gguauucaca gccaacgac 19

<210> 108
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 108
gucguuggcu gugaauacc 19

<210> 109
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 109
guauucacag ccaacgacu 19

<210> 110
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 110
agucguuggc ugugaauac 19

<210> 111
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 111
uauucacagc caacgacuc 19

<210> 112
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 112
gagucguugg cugugaaua 19

<210> 113
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 113
ucacagccaa cgacuccgg 19

<210> 114
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 114
ccggagucgu uggcuguga 19

<210> 115
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 115
ccccgccgcu acaccuug 19

<210> 116
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 116
caauggugua gcggcgggg 19

<210> 117
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 117
gaaguccacu cauucuugg 19

<210> 118
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 118
ccaagaauga guggacuuc 19

<210> 119
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 119
cccugcugag ccccuacuc 19

<210> 120
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 120
gaguaggggc ucagcaggg 19

<210> 121
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 121
cugagcccu acuccuauu 19

<210> 122
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 122
aauaggagua ggggcucag 19

<210> 123
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 123
ugagcccuca cuccuauuc 19

<210> 124
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 124
gaauaggagu aggggcuca 19

<210> 125
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 125
cccuacucc uauuccacc 19

<210> 126
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 126
gguggauag gaguagggg 19

<210> 127
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 127
cuacuccuau uccaccag 19

<210> 128
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 128
cgugguggaa uaggaguag 19

<210> 129
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 129
uacuccuauu ccaccacgg 19

<210> 130
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 130
ccguggugga auaggagua 19

<210> 131
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 131
acuccuauuc caccacggc 19

<210> 132
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 132
gccguggugg aauaggagu 19

<210> 133
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 133
uccuauucca ccacgcug 19

<210> 134
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 134
cagccguggu ggaauagga 19

<210> 135
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 135
uauuccacca cggcugucg 19

<210> 136
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 136
cgacagccgu gguggaaua 19

<210> 137
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 137
auuccaccac ggcugucgu 19

<210> 138
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 138
acgacagccg ugguggaau 19

<210> 139
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 139
caccacggcu gucgucacc 19

<210> 140
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 140
ggugacgaca gccguggug 19

<210> 141
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 141
accacggcug ucgucacca 19

<210> 142
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 142
uggugacgac agccguggu 19

<210> 143
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 143
ccacggcugu cgucaccaa 19

<210> 144
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 144
uuggugacga cagccgugg 19

<210> 145
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 145
acggcugucg ucaccaauc 19

<210> 146
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 146
gauuggugac gacagccgu 19

<210> 147
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 147
cggcugucgu caccaaucc 19

<210> 148
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 148
ggauugguga cgacagccg 19

<210> 149
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 149
cgucaccaau cccaaggaa 19

<210> 150
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 150
uuccuuggga uuggugacg 19

<210> 151
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 151
caauccaag gaaugagg 19

<210> 152
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 152
ccucauucc uugggauug 19

<210> 153
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 153
ccugaaggac gagggauug 19

<210> 154
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 154
ccaucccucg uccuucagg 19

<210> 155
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 155
ggacgagga ugggauuuc 19

<210> 156
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 156
gaaauccau ccucgucc 19

<210> 157
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 157
aaguccacuc auucuugc 19

<210> 158
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 158
gccaagaug aguggacuu 19

<210> 159
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 159
gggauuucau guaaccaag 19

<210> 160
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 160
cuugguaca ugaaauccc 19

<210> 161
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 161
ggauuucaug uaaccaaga 19

<210> 162
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 162
ucuugguac augaaaucc 19

<210> 163
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 163
ucauguaacc aagaguauu 19

<210> 164
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 164
aauacucuug guuacauga 19

<210> 165
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 165
auguaaccaa gaguauucc 19

<210> 166
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 166
ggaauacucu ugguuacau 19

<210> 167
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 167
uguaaccaag aguauucca 19

<210> 168
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 168
uggaauacuc uugguuaca 19

<210> 169
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 169
guaaccaaga guauuccau 19

<210> 170
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 170
auggaauacu cuuguuac 19

<210> 171
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 171
ugccuugcug gacugguau 19

<210> 172
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 172
auaccagucc agcaaggca 19

<210> 173
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 173
uaaagcagug uuuucaccu 19

<210> 174
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 174
aggugaaaac acugcuua 19

<210> 175
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 175
gccuugcugg acugguau 19

<210> 176
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 176
aauaccaguc cagcaaggc 19

<210> 177
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 177
uguuuucacc ucuaugcu 19

<210> 178
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 178
agcauagag gugaaaaca 19

<210> 179
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 179
guuuucaccu cauugcua 19

<210> 180
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 180
uagcauaga ggugaaaac 19

<210> 181
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 181
uuuucaccuc auaugcuau 19

<210> 182
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 182
auagcauauaggugaaaa 19

<210> 183
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 183
uucaccucau augcuau 19

<210> 184
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 184
acauagcau ugaggugaa 19

<210> 185
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 185
caccucauau gcuauuu 19

<210> 186
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 186
uaacauagca uauaggug 19

<210> 187
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 187
ccuugcugga cugguuuu 19

<210> 188
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 188
aaauaccagu ccagcaagg 19

<210> 189
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 189
aauaugcuaug uuagaaguc 19

<210> 190
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 190
gacuucuaac auagcauau 19

<210> 191
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 191
uaugcuaugu uagaagucc 19

<210> 192
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 192
ggacuucuaa cauagcaua 19

<210> 193
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 193
ugcuauguua gaaguccag 19

<210> 194
<211> 19

<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 194
cuggacuucu aacauagca 19

<210> 195
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 195
cuugcuggac ugguuuug 19

<210> 196
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 196
caauaccag uccagcaag 19

<210> 197
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 197
aguccaggca gagacaaua 19

<210> 198
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 198
auugucucug ccuggacutt 20

<210> 199
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 199
uccaggcaga gacaauaaa 19

<210> 200
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 200
uuuauugucu cugccugga 19

<210> 201
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 201
gugaaaggca cuuuucauu 19

<210> 202
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 202
aaugaaaagu gccuuucac 19

<210> 203
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 203
uggacuggua uuugugucu 19

<210> 204
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 204
agacacaaau accagucca 19

<210> 205
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 205
gucugaggcu ggcccuacg 19

<210> 206
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 206
cguagggcca gccucagac 19

<210> 207
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 207
cugaggcugg ccuacggg 19

<210> 208
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 208
cccguagggc cagccucag 19

<210> 209
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 209
gaggcuggcc cuacgggca 19

<210> 210
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 210
ugcccguagg gccagccuc 19

<210> 211
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 211
aggcuggccc uacgggcac 19

<210> 212
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 212
gugcccguag ggccagccu 19

<210> 213
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 213
gcuggcccua cgggcaccg 19

<210> 214
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 214
cggugcccgu agggccagc 19

<210> 215
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 215
cuggcccuac gggcaccgg 19

<210> 216
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 216
ccggugcccg uagggccag 19

<210> 217
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 217
ggcccuacgg gcaccggug 19

<210> 218
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 218
caccggugcc cguagggcc 19

<210> 219
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 219
ccacucauuc uuggcagga 19

<210> 220
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 220
uccugccaag aaugagugg 19

<210> 221
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 221
ccuacgggca cggugaau 19

<210> 222
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 222
auucaccggu gcccguagg 19

<210> 223
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 223
cuacgggcac cggugaau 19

<210> 224
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 224
gauucaccgg ugcccguag 19

<210> 225
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 225
uacgggcacc ggugaaucc 19

<210> 226
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 226
ggauucaccg gugcccgua 19

<210> 227
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 227
acgggcaccg gugaaucca 19

<210> 228
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 228
uggauucacc ggugcccgu 19

<210> 229
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 229
gcaccgguga auccaagug 19

<210> 230
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 230
cacuuggauu caccggugc 19

<210> 231
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 231
caccggugaa uccaagugu 19

<210> 232
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 232
acacuuggau ucaccggug 19

<210> 233
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 233
uguggccaug cauguguuc 19

<210> 234
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 234
gaacacaugc auggccaca 19

<210> 235
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 235
guggccaugc auguguuca 19

<210> 236
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 236
ugaacacaug cauggccac 19

<210> 237
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 237
gccaugcaug uguucagaa 19

<210> 238
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 238
uucugaacac augcaugc 19

<210> 239
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 239
uauuccacca cggcuguca 19

<210> 240
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 240
ugacagccgu gguggaaua 19

<210> 241
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 241
gucaucacca auccaagg 19

<210> 242
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 242
ccuugggauu ggugaugac 19

<210> 243
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 243
guccucugau ggucaaagu 19

<210> 244
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 244
acuuugacca ucagaggac 19

<210> 245
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 245
gauggucaa guucuagau 19

<210> 246
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 246
aucuagaacu uugaccauc 19

<210> 247
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 247
augcuguccg aggcagucc 19

<210> 248
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 248
ggacugccuc ggacagcau 19

<210> 249
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 249
ccgugcaugu guucagaaa 19

<210> 250
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 250
uuucugaaca caugcacgg 19

<210> 251
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 251
agucuggaga gcugcaugg 19

<210> 252
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 252
ccaugcagcu cuccagacu 19

<210> 253
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 253
caugggcuca caacugagg 19

<210> 254
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 254
ccucaguugu gagcccaug 19

<210> 255
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 255
ucucaugcugc ugcuccucc 19

<210> 256
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 256
ggaggagcag acgaugaga 19

<210> 257
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 257
ccccauucca ugagcaugc 19

<210> 258
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 258
gcaugcucau ggauggggg 19

<210> 259
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 259
gccccuacuc cuauccac 19

<210> 260
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 260
guggaauagg aguaggggc 19

<210> 261
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 261
cuauuccacc acggcuguc 19

<210> 262
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 262
gacagccgug guggaauag 19

<210> 263
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 263
cacggcuguc guaccaau 19

<210> 264
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 264
auuggugacg acagccgug 19

<210> 265
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 265
aggacgaggg augggauuu 19

<210> 266
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 266
aaaucccauc ccucguccu 19

<210> 267
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 267
ucaccucaua ugcuauguu 19

<210> 268
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 268
aacauagcau augagguga 19

<210> 269
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 269
ccucauaugc uauguuaga 19

<210> 270
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 270
ucuaacauag cauauagg 19

<210> 271
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 271
auguuagaag uccaggcag 19

<210> 272
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 272
cugccuggac uucuaacau 19

<210> 273
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 273
ucugaggcug gcccuacgg 19

<210> 274
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 274
ccguagggcc agccucaga 19

<210> 275
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 275
ggcccuacgg gcaccggug 19

<210> 276
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 276
caccggugcc cguagggcc 19

<210> 277
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 277
gggcaccggu gaauccaag 19

<210> 278
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 278
cuuggauuca ccggugccc 19

<210> 279
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 279
ccaugcaugu guucagaaa 19

<210> 280
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens

<400> 280
uuucugaaca caugcaugg 19

<210> 281
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 281
ccggugaauc caagugucn n 21

<210> 282
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 282
ggacacuugg auucaccggn n 21

<210> 283
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 283
acucauucu ggcaggaugn n 21

<210> 284
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 284
cauccugcca agaaugagun n 21

<210> 285
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 285
aaguguccuc ugauggucan n 21

<210> 286
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 286
ugaccaucag aggacacuun n 21

<210> 287
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 287
ucauucuugg caggauggcn n 21

<210> 288
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 288
gccauccugc caagaaugan n 21

<210> 289
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 289
aaguucuaga ugcuguccgn n 21

<210> 290
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 290
cggacagcau cuagaacuun n 21

<210> 291
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 291
guucuagaug cuguccgagn n 21

<210> 292
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 292
cucggacagc aucuagaacn n 21

<210> 293
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 293
cuagaucug uccgaggcan n 21

<210> 294
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 294
ugccucggac agcaucuagn n 21

<210> 295
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 295
gaugcugucc gaggcagucn n 21

<210> 296
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 296

gacugccucg gacagcaucn n 21

<210> 297

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 297

cauucuuggc aggauggcun n 21

<210> 298

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 298

agccauccug ccaagaaugn n 21

<210> 299

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 299
ugcuguccga ggcaguccun n 21

<210> 300
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 300
aggacugccu cggacagcan n 21

<210> 301
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 301
ccgaggcagu ccugccaucn n 21

<210> 302
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 302
gauggcagga cugccucggn n 21

<210> 303
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 303
caguccugcc aucaaugugn n 21

<210> 304
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 304
cacauaugaug gcaggacugn n 21

<210> 305
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 305
caaugggcc gugcaugugn n 21

<210> 306
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 306
cacaugcacg gccacauugn n 21

<210> 307
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 307
auguguucag aaaggcugcn n 21

<210> 308
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 308
gcagccuuuc ugaacacaun n 21

<210> 309
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 309
cagaagucca cucauucuun n 21

<210> 310
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 310
aagaaugagu ggacuucugn n 21

<210> 311
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 311
ggcaggaugg cuucucaucn n 21

<210> 312
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 312
gaugagaagc cauccugccn n 21

<210> 313
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 313

gagccauuug ccucugggan n 21

<210> 314

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 314

ucccagaggc aaauggcucn n 21

<210> 315

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 315

caggauggc ucucaucgun n 21

<210> 316

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 316
acgaugagaa gccauccugn n 21

<210> 317
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 317
aggauggcuu cucaucgucn n 21

<210> 318
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 318
gacgaugaga agccauccun n 21

<210> 319
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 319
agagcugcau gggcucacan n 21

<210> 320
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 320
ugugagccca ugcagcucun n 21

<210> 321
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 321
gcugcauggg cucacaacun n 21

<210> 322
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 322
aguugugagc ccaugcagcn n 21

<210> 323
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 323
ggauggcuuc ucaucgucun n 21

<210> 324
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 324
agacgaugag aagccaucn n 21

<210> 325
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 325
gcaugggcuc acaacugagn n 21

<210> 326
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 326
cucaguugug agcccaugcn n 21

<210> 327
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 327
augggcucac aacugaggan n 21

<210> 328
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 328
uccucaguug ugagccaun n 21

<210> 329
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 329
ugggcucaca acugaggagn n 21

<210> 330
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 330

cuccucaguu gugagccan n 21

<210> 331

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 331

gaggaauuug uagaaggan n 21

<210> 332

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 332

ucccuucuaac aaauuccucn n 21

<210> 333

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 333
uuuguagaag ggauauacan n 21

<210> 334
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 334
uguauaucucc uucuacaan n 21

<210> 335
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20) .. (21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 335
uuguagaagg gauauacaan n 21

<210> 336
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 336
uuguauaucc cuucuacaan n 21

<210> 337
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 337
uguagaaggg auauacaan n 21

<210> 338
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 338
uuuguauauc ccuucuacan n 21

<210> 339
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 339
agaagggaua uacaaagugn n 21

<210> 340
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 340
cacuuuguau aucccuucun n 21

<210> 341
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 341
aaguggaaau agacaccaan n 21

<210> 342
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 342
uuggugucua uuuccacuun n 21

<210> 343
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 343
ggaaauagac accaaaucun n 21

<210> 344
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 344
agauuuggug ucuauuuccn n 21

<210> 345
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 345
gaaauagaca ccaaaucuun n 21

<210> 346
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 346
aagauuuggu gucuauuucn n 21

<210> 347
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 347

auagacacca aaucuuacun n 21

<210> 348

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 348

aguaagauuu ggugucuaun n 21

<210> 349

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 349

uagacaccaa aucuuacugn n 21

<210> 350

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 350
caguaagauu uggugucuan n 21

<210> 351
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 351
agacacaaaa ucuuacuggn n 21

<210> 352
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 352
ccaguaagau uggugucun n 21

<210> 353
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 353
uuacuggaag gcacuuggcn n 21

<210> 354
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 354
gccaagugcc uuccaguaan n 21

<210> 355
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 355
uucucaugcu cugcuccucn n 21

<210> 356
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 356
gaggagcaga cgaugagaan n 21

<210> 357
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 357
ggaaggcacu uggcaucucn n 21

<210> 358
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 358
gagaugccaa gugccuucn n 21

<210> 359
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 359
ggcacuuggc aucucccan n 21

<210> 360
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 360
uggggagaug ccaagugccn n 21

<210> 361
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 361
ggcaucuccc cauccaagn n 21

<210> 362
<211> 22
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (21) .. (22)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 362
auggauggg gagaucctt nn 22

<210> 363
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 363
gcaucuccc auuccaagan n 21

<210> 364
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 364

ucauggaaug gggagaugcn n 21

<210> 365

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 365

caucucccca uuccaugagn n 21

<210> 366

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 366

cucauggaau ggggagaugn n 21

<210> 367

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 367
aucucccau uccaugagcn n 21

<210> 368
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 368
gcucauggaa uggggagaun n 21

<210> 369
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 369
cucccauuc caugagcaun n 21

<210> 370
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 370
augcucaugg aauggggagn n 21

<210> 371
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 371
cccauuccau gagcaugcan n 21

<210> 372
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 372
ugcaugcuca uggaugggn n 21

<210> 373
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 373
ccaugagcau gcagaggugn n 21

<210> 374
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 374
caccucugca ugcucauggn n 21

<210> 375
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 375
agcaugcaga ggugguauun n 21

<210> 376
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 376
aauaccaccu cugcaugcun n 21

<210> 377
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 377
caugcagagg uggauaucan n 21

<210> 378
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 378

ugaauaccac cucugcaugn n 21

<210> 379

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 379

augcagaggu gguauucacn n 21

<210> 380

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20) .. (21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 380

gugaauacca ccucugcaun n 21

<210> 381

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 381

ggugguauuc acagccaacn n 21

<210> 382

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 382

guuggcugug aauaccacn n 21

<210> 383

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 383

gugguauuca cagccaacgn n 21

<210> 384

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 384
cguuggcugu gaauaccacn n 21

<210> 385
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 385
ugguauucac agccaacgan n 21

<210> 386
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 386
ucguuggcug ugauaccan n 21

<210> 387
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 387
gguauucaca gccaacgacn n 21

<210> 388
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 388
gucguuggcu gugaauaccn n 21

<210> 389
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 389
guauucacag ccaacgacun n 21

<210> 390
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 390
agucguuggc ugugaaucn n 21

<210> 391
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 391
uauucacagc caacgacucn n 21

<210> 392
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 392
gagucguugg cugugaaucn n 21

<210> 393
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 393
ucacagccaa cgacuccggn n 21

<210> 394
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 394
ccggagucgu uggcugugan n 21

<210> 395
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 395

ccccgccgc acaccuugn n 21

<210> 396

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 396

caauggugua gcggcggggn n 21

<210> 397

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 397

gaaguccacu cauucuuggn n 21

<210> 398

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20) .. (21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 398

ccaagaauga guggacuucn n 21

<210> 399

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 399

cccugcugag ccccuacucn n 21

<210> 400

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 400

gaguaggggc ucagcaggggn n 21

<210> 401

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 401
cugagcccu acuccuauun n 21

<210> 402
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20) .. (21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 402
aauaggagua ggggcucagn n 21

<210> 403
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 403
ugagcccu cuccuauucn n 21

<210> 404
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 404
gaauaggagu aggggcucan n 21

<210> 405
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 405
cccuacucc uauuccaccn n 21

<210> 406
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 406
gguggaauag gaguaggggn n 21

<210> 407
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 407
cuacuccuau uccaccacgn n 21

<210> 408
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 408
cgugguggaa uaggaguagn n 21

<210> 409
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 409
uacuccuauu ccaccacggn n 21

<210> 410
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 410
ccguggugga auaggaguan n 21

<210> 411
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 411
acuccuauuc caccacggen n 21

<210> 412
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 412
gccguggugg aauaggagun n 21

<210> 413
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 413
uccuauucca ccacgcugn n 21

<210> 414
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 414
cagccguggu ggaauaggan n 21

<210> 415
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 415

uauuccacca cggcugucgn n 21

<210> 416

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 416

cgacagccgu gguggaauan n 21

<210> 417

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 417

auuccaccac ggcugucgun n 21

<210> 418

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 418
acgacagccg ugguggaun n 21

<210> 419
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 419
caccacggcu gucgucaccn n 21

<210> 420
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 420
ggugacgaca gccguggun n 21

<210> 421
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 421
accacggcug ucgucaccan n 21

<210> 422
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 422
uggugacgac agccguggun n 21

<210> 423
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 423
ccacggcugu cgucaccaan n 21

<210> 424
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 424
uuggugacga cagccguggn n 21

<210> 425
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 425
acggcugucg ucaccaaucn n 21

<210> 426
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 426
gauuggugac gacagccgun n 21

<210> 427
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 427
cggcugucgu caccaaucn n 21

<210> 428
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 428
ggauugguga cgacagccgn n 21

<210> 429
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 429

cgucaccaau cccaaggaan n 21

<210> 430

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 430

uuccuuggga uuggugacgn n 21

<210> 431

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 431

caauccaag gaaugagggn n 21

<210> 432

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 432

cccucauucc uugggauugn n 21

<210> 433

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 433

ccugaaggac gagggauugn n 21

<210> 434

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 434

ccaucuccug uccuucagn n 21

<210> 435

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 435
ggacgagga ugggauuucn n 21

<210> 436
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 436
gaaauccau cccucgucn n 21

<210> 437
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 437
aaguccacuc auucuuggcn n 21

<210> 438
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 438
gccagaaug aguggacuun n 21

<210> 439
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 439
gggauuucan guaaccaagn n 21

<210> 440
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 440
cuugguaca ugaaucccn n 21

<210> 441
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 441
ggauuucaug uaaccaagan n 21

<210> 442
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 442
ucuugguuac augaaucn n 21

<210> 443
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20) .. (21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 443
ucauguaacc aagaguauun n 21

<210> 444
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 444
aauacucuug guuacaugan n 21

<210> 445
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 445
auguaaccaa gaguauuccn n 21

<210> 446
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 446
ggaauacucu ugguuacaun n 21

<210> 447
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 447
uguaaccaag aguauuccan n 21

<210> 448
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 448
uggaauacuc uugguacan n 21

<210> 449
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 449

guaaccaaga guauuccaun n 21

<210> 450

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 450

auggaauacu cuugguacn n 21

<210> 451

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 451

ugccuugcug gacugguaun n 21

<210> 452

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 452
auaccagucc agcaaggcan n 21

<210> 453
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 453
uaaagcagug uuuucaccun n 21

<210> 454
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 454
aggugaaaac acugcuuuan n 21

<210> 455
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 455
gccuugcugg acugguauun n 21

<210> 456
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 456
aauaccaguc cagcaaggcn n 21

<210> 457
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 457
uguuuucacc ucauavgcun n 21

<210> 458
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 458
agcauagag gugaaaacan n 21

<210> 459
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 459
guuuuccacu cauagcuan n 21

<210> 460
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 460
uagcauauga ggugaaaacn n 21

<210> 461
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20) .. (21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 461
uuuucaccuc auaugcuaun n 21

<210> 462
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 462
auagcauauag aggugaaaaan n 21

<210> 463
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 463

uucaccucau augcuaugun n 21

<210> 464

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 464

acauagcaua ugaggugaan n 21

<210> 465

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20) .. (21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 465

caccucauau gcuauguuan n 21

<210> 466

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 466

uaacauagca uaugaggugn n 21

<210> 467

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 467

ccuugcugga cugguauuun n 21

<210> 468

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 468

aaauaccagu ccagcaaggn n 21

<210> 469

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 469
auaugcuaug uuagaagucn n 21

<210> 470
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 470
gacuucuaac auagcauaun n 21

<210> 471
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 471
uaugcuaugu uagaaguccn n 21

<210> 472
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 472
ggacuucuaa cauagcauan n 21

<210> 473
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 473
ugcuauguua gaaguccagn n 21

<210> 474
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 474
cuggacuucu aacauagcan n 21

<210> 475
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 475
cuugcuggac ugguuuuugn n 21

<210> 476
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 476
caaauaccag uccagcaagn n 21

<210> 477
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 477
aguccaggca gagacaauan n 21

<210> 478
<211> 22
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (21) .. (22)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 478
auugucucug ccuggacutt nn 22

<210> 479
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 479
uccaggcaga gacaauaaan n 21

<210> 480
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 480
uuuauugucu cugccuggan n 21

<210> 481
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 481
gugaaaggca cuuuucauun n 21

<210> 482
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 482
aaugaaaagu gccuuucacn n 21

<210> 483
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 483

uggacuggua uuugugucun n 21

<210> 484

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 484

agacacaaau accaguccan n 21

<210> 485

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 485

gucugaggcu ggcccuacgn n 21

<210> 486

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 486
cguagggcca gccucagacn n 21

<210> 487
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 487
cugaggcugg ccuacgggn n 21

<210> 488
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 488
cccguagggc cagccucagn n 21

<210> 489
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 489
gaggcuggcc cuacgggcan n 21

<210> 490
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 490
ugcccguagg gccagccucn n 21

<210> 491
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 491
aggcuggccc uacgggcacn n 21

<210> 492
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 492
gugcccguag ggccagccun n 21

<210> 493
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 493
gcuggcccua cgggcaccgn n 21

<210> 494
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 494
cggugcccgu agggccagcn n 21

<210> 495
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 495
cuggcccuac gggcaccggn n 21

<210> 496
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 496
ccggugcccg uagggccagn n 21

<210> 497
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 497

ggcccuacgg gcaccggugn n 21

<210> 498

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 498

caccggugcc cguagggccn n 21

<210> 499

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 499

ccacucauuc uuggcaggan n 21

<210> 500

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 500

uccugccaag aaugaguggn n 21

<210> 501

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 501

ccuacgggca ccggugaaun n 21

<210> 502

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 502

auucaccggu gcccguaggn n 21

<210> 503

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 503
cuacgggcac cggugaaucn n 21

<210> 504
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 504
gauucaccgg ugcccguagn n 21

<210> 505
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 505
uacgggcacc ggugaaucn n 21

<210> 506
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20) .. (21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 506
ggauccaccg gugcccgua n 21

<210> 507
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 507
acgggcaccg gugaauccan n 21

<210> 508
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 508
uggauccacc ggugcccgua n 21

<210> 509
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 509
gcaccgguga auccaagugn n 21

<210> 510
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 510
cacuuggauu caccggugcn n 21

<210> 511
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 511
caccggugaa uccaagugun n 21

<210> 512
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 512
acacuuggau ucaccggugn n 21

<210> 513
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 513
uguggccaug cauguguucn n 21

<210> 514
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 514
gaacacaugc auggccacan n 21

<210> 515
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 515
guggccaugc auguguucan n 21

<210> 516
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 516
ugaacacaug cauggccacn n 21

<210> 517
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 517

gccaugcaug uguucagaan n 21

<210> 518

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 518

uucugaacac augcauggcn n 21

<210> 519

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 519

uauuccacca cggcugucan n 21

<210> 520

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 520
ugacagccgu gguggaauan n 21

<210> 521
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 521
gucaucacca auccaaggn n 21

<210> 522
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 522
ccuugggauu ggugaugacn n 21

<210> 523
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 523
guccucugau ggucaaagun n 21

<210> 524
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20) .. (21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 524
acuuugacca ucagaggacn n 21

<210> 525
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 525
gauggucaa guucuagaun n 21

<210> 526
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 526
aucuagaacu uugaccaucn n 21

<210> 527
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 527
augcuguccg aggcagucn n 21

<210> 528
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20) .. (21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 528
ggacugccuc ggacagcaun n 21

<210> 529
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 529
ccgugcaugu guucagaaan n 21

<210> 530
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 530
uuucugaaca caugcacggn n 21

<210> 531
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 531
agucuggaga gcugcauggn n 21

<210> 532
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 532
ccaugcagcu cuccagacun n 21

<210> 533
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 533
caugggcuca caacugaggn n 21

<210> 534
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 534

ccucaguugu gagccaugn n 21

<210> 535

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 535

ucucaugcugc ugcuccuccn n 21

<210> 536

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 536

ggaggagcag acgaugagan n 21

<210> 537

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 537
ccccauucca ugagcaugcn n 21

<210> 538
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 538
gcaugcucau ggaauuggggn n 21

<210> 539
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 539
gccccuacuc cuauuccacn n 21

<210> 540
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 540
guggaauagg aguaggggcn n 21

<210> 541
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 541
cuauuccacc acggcugucn n 21

<210> 542
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 542
gacagccgug guggaauagn n 21

<210> 543
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 543
cacggcuguc gucaccaun n 21

<210> 544
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 544
auuggugacg acagccgugn n 21

<210> 545
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 545
aggacgaggg augggauuun n 21

<210> 546
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 546
aaaucccauc ccucguccun n 21

<210> 547
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 547
ucaccucaua ugcuauuguun n 21

<210> 548
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 548

aacauagcau augaggugan n 21

<210> 549

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 549

ccucauauagc uauguuagan n 21

<210> 550

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 550

ucuaacauag cauauagagn n 21

<210> 551

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 551

auguuagaag uccaggcagn n 21

<210> 552

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 552

cugccuggac uucuaacaun n 21

<210> 553

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 553

ucugaggcug gcccuacggn n 21

<210> 554

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 554
ccguagggcc agccucagan n 21

<210> 555
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 555
ggcccuacgg gcaccggugn n 21

<210> 556
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 556
caccggugcc cguaggccn n 21

<210> 557
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 557
gggcaccggu gaaucCaagn n 21

<210> 558
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 558
cuuggauuca ccggugcccn n 21

<210> 559
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 559
ccaugcaugu guucagaaan n 21

<210> 560
<211> 21

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 560
uuucugaaca caugcauggn n 21

<210> 561
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 561
ccggugaauc caagugucct t 21

<210> 562
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 562
ggacacuugg auucaccggt t 21

<210> 563
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 563
acucauucuu ggcaggaugt t 21

<210> 564
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 564
cauccugcca agaaugagut t 21

<210> 565
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 565
aaguguccuc ugauggucat t 21

<210> 566
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 566
ugaccaucag aggacacuut t 21

<210> 567
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 567
ucauucuugg caggauggct t 21

<210> 568
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 568
gccauccugc caagaaugat t 21

<210> 569
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 569
aaguucuaga ugcuguccgt t 21

<210> 570
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 570
cggacagcau cuagaacuut t 21

<210> 571
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 571
guucuagaug cuguccgagt t 21

<210> 572
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 572
cucggacagc aucuagaact t 21

<210> 573
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 573
cuagaugcug uccgaggcat t 21

<210> 574
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 574
ugccucggac agcaucaagt t 21

<210> 575
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 575
gaugcugucc gaggcaguct t 21

<210> 576
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 576
gacugccucg gacagcauct t 21

<210> 577
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 577
cauucuuggc aggauggcut t 21

<210> 578
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 578
agccaucug ccaagaaugt t 21

<210> 579
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 579
ugcuguccga ggcagucct t 21

<210> 580
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 580
aggacugccu cggacagcat t 21

<210> 581
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 581
ccgaggcagu ccugccauct t 21

<210> 582
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 582
gauggcagga cugccucggt t 21

<210> 583
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 583
caguccugcc aucaaugugt t 21

<210> 584
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 584
cacauugaug gcaggacugt t 21

<210> 585
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 585
caauguggcc gugcaugugt t 21

<210> 586
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 586
cacaugcacg gccacauugt t 21

<210> 587
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 587
auguguucag aaaggcugct t 21

<210> 588
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 588
gcagccuuuc ugaacacaut t 21

<210> 589
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 589
cagaagucca cucauucut t 21

<210> 590
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 590
aagaaugagu ggacuucugt t 21

<210> 591
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 591
ggcaggaugg cuucucauct t 21

<210> 592
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 592
gaugagaagc cauccugcct t 21

<210> 593
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 593
gagccauuug ccucugggat t 21

<210> 594
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 594
ucccagaggc aauggcuct t 21

<210> 595
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 595
caggauggcu ucucaucgut t 21

<210> 596
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 596
acgaugagaa gccaucctt t 21

<210> 597
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 597
aggauggcuu cucaucguct t 21

<210> 598
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 598
gacgaugaga agccaucct t 21

<210> 599
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 599
agagcugcau gggcucacat t 21

<210> 600
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 600
ugugagccca ugcagcucut t 21

<210> 601
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 601
gcugcauggg cucacaacut t 21

<210> 602
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 602
aguugugagc ccaugcagct t 21

<210> 603
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 603
ggauggcuuc ucaucgucut t 21

<210> 604
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 604
agacgaugag aagccaucct t 21

<210> 605
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 605
gcaugggcuc acaacugagt t 21

<210> 606
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 606
cucaguugug agcccaugct t 21

<210> 607
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 607
augggcucac aacugaggat t 21

<210> 608
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 608
uccucaguug ugagcccaut t 21

<210> 609
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 609
ugggcucaca acugaggagt t 21

<210> 610
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 610
cuccucaguu gugagcccat t 21

<210> 611
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 611
gaggaauuug uagaaggat t 21

<210> 612
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 612
ucccuucuaac aaauuccuct t 21

<210> 613
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 613
uuuguagaag ggauauacat t 21

<210> 614
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 614
uguauauccc uucuacaat t 21

<210> 615
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 615
uuguagaagg gauauacaat t 21

<210> 616
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 616
uuguauaucc cuucuacaat t 21

<210> 617
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 617
uguagaaggg auauacaat t 21

<210> 618
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 618
uuuguauauc ccuucuacat t 21

<210> 619
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 619
agaagggaua uacaaagugt t 21

<210> 620
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 620
cacuuuguau aucccuucut t 21

<210> 621
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 621
aaguggaaau agacaccaat t 21

<210> 622
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 622
uuggugucua uuuccacuut t 21

<210> 623
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 623

ggaaaauagac accaaaucut t 21

<210> 624

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 624

agauuuggug ucuauuucct t 21

<210> 625

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 625

gaaauagaca ccaaaucut t 21

<210> 626

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 626

aagauuuggu gucuauuuct t 21

<210> 627

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 627

auagacacca aaucuuacut t 21

<210> 628

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 628

aguaagauuu ggugucuaat t 21

<210> 629

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 629

uagacaccaa aucuuacugt t 21

<210> 630

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 630

caguaagauu uggugucuat t 21

<210> 631

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 631
agacaccaaa ucuuacuggt t 21

<210> 632
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 632
ccaguaagau uuggugucut t 21

<210> 633
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 633
uuacuggaag gcacuugget t 21

<210> 634
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 634
gccaagugcc uuccaguaat t 21

<210> 635
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 635
uucucaucgu cugcuccuct t 21

<210> 636
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 636
gaggagcaga cgaugagaat t 21

<210> 637
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 637
ggaaggcacu uggcaucuct t 21

<210> 638
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 638
gagaugccaa gugccuucct t 21

<210> 639
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 639

ggcacuuggc aucucccat t 21

<210> 640

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 640

uggggagaug ccaagugcct t 21

<210> 641

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 641

ggcaucuccc cauuccaagt t 21

<210> 642

<211> 22

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 642

auggauggg gagaugcctt tt 22

<210> 643

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 643
gcaucucucc auuccaugat t 21

<210> 644
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 644
ucauggaau gggagaugct t 21

<210> 645
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 645
caucucucca uuccaugat t 21

<210> 646
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 646
cucauggaau ggggagaugt t 21

<210> 647
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 647
aucuccccau uccaugagct t 21

<210> 648
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 648
gcucauggaa uggggagaut t 21

<210> 649
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 649
cuccccauuc caugagcaut t 21

<210> 650
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 650
augcucaugg aauggggagt t 21

<210> 651
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 651
cccauuccau gagcaugcat t 21

<210> 652
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 652
ugcaugcuca uggaugggt t 21

<210> 653
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 653
ccaugagcau gcagagggt t 21

<210> 654
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 654
caccucugca ugcucauggt t 21

<210> 655
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 655
agcaugcaga ggugguauut t 21

<210> 656
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 656
aauaccaccu cugcaugcut t 21

<210> 657
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 657
caugcagagg ugguaaucat t 21

<210> 658
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 658
ugaauaccac cucugcaugt t 21

<210> 659
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 659
augcagaggu gguauucact t 21

<210> 660
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 660
gugaauacca ccucugcaut t 21

<210> 661
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 661
ggugguauuc acagccaact t 21

<210> 662
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 662
guuggcugug aauaccacct t 21

<210> 663
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 663
gugguauuca cagccaacgt t 21

<210> 664
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 664
cguuggcugu gaauaccact t 21

<210> 665
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 665
ugguauucac agccaacgat t 21

<210> 666
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 666
ucguuggcug ugaauacat t 21

<210> 667
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 667

gguauucaca gccaacgact t 21

<210> 668

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 668

gucguuggcu gugaauacct t 21

<210> 669

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 669

guauucacag ccaacgacut t 21

<210> 670

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 670

agucguuggc ugugaauact t 21

<210> 671

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 671
uauucacagc caacgacuct t 21

<210> 672
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 672
gagucguugg cugugaaat t 21

<210> 673
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 673
ucacagccaa cgacuccgt t 21

<210> 674
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 674
ccggagucgu uggcugugat t 21

<210> 675
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 675

ccccgccgc acaccauugt t 21

<210> 676

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 676

caauggugua gcggcggggt t 21

<210> 677

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 677

gaaguccacu cauucuuggt t 21

<210> 678

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 678

ccaagaauga guggacuuct t 21

<210> 679

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 679
cccugcugag ccccuacuct t 21

<210> 680
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 680
gaguaggggc ucagcagggt t 21

<210> 681
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 681
cugagcccu acuccuauut t 21

<210> 682
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 682
aauaggagua ggggcucagt t 21

<210> 683
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 683

ugagcccccua cuccuauuct t 21

<210> 684

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 684

gaauaggagu aggggcucac t 21

<210> 685

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 685

ccccuacucc uauuccacct t 21

<210> 686

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 686

gguggaauag gaguagggt t 21

<210> 687

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 687

cuacuccuau uccaccacgt t 21

<210> 688

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 688

cgugguggaa uaggaguagt t 21

<210> 689

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 689

uacuccuauu ccaccacgt t 21

<210> 690

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 690

ccguggugga auaggaguat t 21

<210> 691

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 691
acuccuauuc caccacggt t 21

<210> 692
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 692
gccguggugg aauaggagut t 21

<210> 693
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 693
uccuauucca ccacggcugt t 21

<210> 694
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 694
cagccguggu ggaauaggat t 21

<210> 695
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 695
uauuccacca cggcugucgt t 21

<210> 696
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 696
cgacagccgu gguggaauat t 21

<210> 697
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 697
auuccaccac ggcugucgut t 21

<210> 698
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 698
acgacagccg ugguggaaut t 21

<210> 699
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 699

caccacggcu gucgucacct t 21

<210> 700

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 700

ggugacgaca gccguggugt t 21

<210> 701

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 701

accacggcug ucgucaccat t 21

<210> 702

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 702

uggugacgac agccguggut t 21

<210> 703

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 703

ccacggcugu cgucaccaat t 21

<210> 704

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 704

uuggugacga cagccguggt t 21

<210> 705

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 705

acggcugucg ucaccaauct t 21

<210> 706

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 706

gauuggugac gacagccgut t 21

<210> 707

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 707
cggcugucgu caccaaucct t 21

<210> 708
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 708
ggauugguga cgacagccgt t 21

<210> 709
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 709
cgucaccaau cccaaggaat t 21

<210> 710
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 710
uuccuuggga uuggugacgt t 21

<210> 711
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 711
caauccaag gaaugagggt t 21

<210> 712
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 712
ccucauucc uugggauugt t 21

<210> 713
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 713
ccugaaggac gagggauugt t 21

<210> 714
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 714
ccaucccug uccuucaggt t 21

<210> 715
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 715
ggacgagga ugggauuuct t 21

<210> 716
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 716
gaaauccau cccucgucct t 21

<210> 717
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 717
aaguccacuc auucuugget t 21

<210> 718
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 718
gccaagaaug aguggacuut t 21

<210> 719
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 719

gggauuucau guaaccaagt t 21

<210> 720

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 720

cuugguuaca ugaaaucct t 21

<210> 721

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 721

ggauuucaug uaaccaagat t 21

<210> 722

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 722

ucuugguuac augaaucct t 21

<210> 723

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 723

ucauguaacc aagaguauut t 21

<210> 724

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 724

aauacucuug guuacaugat t 21

<210> 725

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 725

auguaaccaa gaguauucct t 21

<210> 726

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 726

ggaauacucu ugguuacaut t 21

<210> 727

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 727

uguaaccaag aguauccat t 21

<210> 728

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 728

uggaauacuc uugguacat t 21

<210> 729

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 729

guaaccaaga guauuccat t 21

<210> 730

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 730

auggaauacu cuugguact t 21

<210> 731

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 731
ugccuugcug gacugguaut t 21

<210> 732
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 732
auaccagucc agcaaggcat t 21

<210> 733
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 733
uaaagcagug uuuucaccut t 21

<210> 734
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 734
aggugaaaac acugcuuat t 21

<210> 735
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 735
gccuugcugg acugguauut t 21

<210> 736
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 736
aauaccaguc cagcaaggct t 21

<210> 737
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 737
uguuuucacc ucauaugcut t 21

<210> 738
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 738
agcauauagag gugaaaacat t 21

<210> 739
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 739

guuuucaccu cauaugcuat t 21

<210> 740

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 740

uagcauauga ggugaaaact t 21

<210> 741

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 741

uuuucaccuc auaugcuaut t 21

<210> 742

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 742

auagcauaug aggugaaaat t 21

<210> 743

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 743

uucaccucau augcuaugut t 21

<210> 744

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 744

acauagcaua ugaggugaat t 21

<210> 745

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 745

caccucauau gcuauguuat t 21

<210> 746

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 746

uaacauagca uaugaggugt t 21

<210> 747

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 747
ccuugcugga cugguauuut t 21

<210> 748
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 748
aaauaccagu ccagcaaggt t 21

<210> 749
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 749
aauugcuaug uuagaaguct t 21

<210> 750
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 750
gacuucuaac auagcauaut t 21

<210> 751
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 751
uauugcuaugu uagaagucct t 21

<210> 752
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 752
ggacuucuaa cauagcauat t 21

<210> 753
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 753
ugcuauguua gaaguccagt t 21

<210> 754
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 754
cuggacuucu aacauagcat t 21

<210> 755
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 755
cuugcuggac ugguaauugt t 21

<210> 756
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 756
caauaccag uccagcaagt t 21

<210> 757
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 757
aguccaggca gagacaaat t 21

<210> 758
<211> 22
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 758
auugucucug ccuggacutt tt 22

<210> 759
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 759

uccaggcaga gacaauaat t 21

<210> 760

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 760

uuuauugucu cugccuggat t 21

<210> 761

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 761

gugaaaggca cuuucauut t 21

<210> 762

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 762

aaugaaaagu gccuucact t 21

<210> 763

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 763
uggacuggua uuugugucut t 21

<210> 764
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 764
agacacaaau accaguccat t 21

<210> 765
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 765
gucugaggcu ggccuacgt t 21

<210> 766
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 766
cguaggcca gccucagact t 21

<210> 767
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 767
cugaggcugg ccuacgggt t 21

<210> 768
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 768
cccguagggc cagccucagt t 21

<210> 769
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 769
gaggcuggcc cuacgggcat t 21

<210> 770
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 770
ugcccguagg gccagccuct t 21

<210> 771
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 771
aggcuggccc uacgggcact t 21

<210> 772
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 772
gugcccguag ggccagccut t 21

<210> 773
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 773
gcuggcccua cgggcaccgt t 21

<210> 774
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 774
cggugcccgu agggccagct t 21

<210> 775
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 775
cuggcccuac gggcaccggt t 21

<210> 776
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 776
ccggugcccg uagggccagt t 21

<210> 777
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 777
ggcccuacgg gcaccggugt t 21

<210> 778
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 778
caccggugcc cguaggcct t 21

<210> 779
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 779

ccacucauuc uuggcaggat t 21

<210> 780

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 780

uccugccaag aaugaguggt t 21

<210> 781

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 781

ccuacgggca ccggugaaut t 21

<210> 782

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 782

auucaccggu gcccguaagt t 21

<210> 783

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 783
cuacgggcac cggugaauct t 21

<210> 784
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 784
gauucaccgg ugcccguagt t 21

<210> 785
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 785
uacgggcacc ggugaaucct t 21

<210> 786
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 786
ggauucaccg gugcccguat t 21

<210> 787
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 787

acgggcaccg gugaauccat t 21

<210> 788

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 788

uggauucacc ggugcccgut t 21

<210> 789

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 789

gcaccgguga auccaagugt t 21

<210> 790

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 790

cacuuggauu caccggugct t 21

<210> 791

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 791

caccggugaa uccaagugut t 21

<210> 792

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 792

acacuuggau ucaccggugt t 21

<210> 793

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 793

uguggccaug cauguguuct t 21

<210> 794

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 794

gaacacaugc auggccacat t 21

<210> 795

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 795
guggccaugc auguguucac t 21

<210> 796
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 796
ugaacacaug cauggccact t 21

<210> 797
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 797
gccaugcaug uguucagaat t 21

<210> 798
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 798
uucugaacac augcauggct t 21

<210> 799
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 799
uauuccacca cggcugucac t 21

<210> 800
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 800
ugacagccgu gguggaauat t 21

<210> 801
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 801
gucaucacca auccaaggt t 21

<210> 802
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 802
ccuugggauu ggugaugact t 21

<210> 803
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 803
guccucugau ggucaaagut t 21

<210> 804
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 804
acuuugacca ucagaggact t 21

<210> 805
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 805
gauggucaa guucuagaut t 21

<210> 806
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 806
aucuagaacu uugaccauct t 21

<210> 807
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 807
augcuguccg aggcagucct t 21

<210> 808
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 808
ggacugccuc ggacagcaut t 21

<210> 809
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 809
ccgugcaugu guucagaaat t 21

<210> 810
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 810
uuucugaaca caugcacggt t 21

<210> 811
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 811
agucuggaga gcugcaugt t 21

<210> 812
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 812
ccaugcagcu caccagacut t 21

<210> 813
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 813
caugggcuca caacugaggt t 21

<210> 814
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 814
ccucaguugu gagcccaugt t 21

<210> 815
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 815
ucucaugcugc ugcuccucct t 21

<210> 816
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 816
ggaggagcag acgaugagat t 21

<210> 817
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 817
ccccaucca ugagcaugct t 21

<210> 818
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 818
gcaugcucac ggauggggt t 21

<210> 819
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 819
gccccuacuc cuauuccact t 21

<210> 820
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 820
guggaauagg aguaggggct t 21

<210> 821
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 821
cuauuccacc acggcuguct t 21

<210> 822
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 822
gacagccgug guggaauagt t 21

<210> 823
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 823
cacggcuguc gucaccaut t 21

<210> 824
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 824
auuggugacg acagccgugt t 21

<210> 825
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 825
aggacgaggg augggauuut t 21

<210> 826
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 826
aaauccauc ccucgucut t 21

<210> 827
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 827
ucaccucaua ugcuauuguut t 21

<210> 828
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 828
aacauagcau augaggugat t 21

<210> 829
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 829
ccucauaugc uauguuagat t 21

<210> 830
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 830
ucuaacauag cauauagagt t 21

<210> 831
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 831
auguuagaag uccaggcagt t 21

<210> 832
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 832
cugccuggac uucuaacaut t 21

<210> 833
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 833
ucugaggcug gcccuacggt t 21

<210> 834
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 834
ccguagggcc agccucagat t 21

<210> 835
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 835
ggcccuacgg gcaccggugt t 21

<210> 836
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 836
caccggugcc cguagggcct t 21

<210> 837
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 837
gggcaccggu gaauccaagt t 21

<210> 838
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 838
cuuggauuca ccguggcct t 21

<210> 839
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 839
ccaugcaugu guucagaaat t 21

<210> 840
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 840
uuucugaaca caugcauggt t 21

<210> 841
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 841
ccggugaauc caagugucct t 21

<210> 842
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 842
ggacacuugg auucaccggt t 21

<210> 843
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 843
acucauucuu ggcaggaugt t 21

<210> 844
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 844
cauccugcca agaaugagut t 21

<210> 845
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 845
aaguguccuc ugauggucat t 21

<210> 846
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 846
ugaccaucag aggacacuut t 21

<210> 847
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 847
ucauucuugg caggauggct t 21

<210> 848
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 848
gccauccugc caagaugat t 21

<210> 849
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 849
aaguucuaga ugcuguccgt t 21

<210> 850
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 850
cggacagcau cuagaacuut t 21

<210> 851
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 851
guucuagaug cuguccgagt t 21

<210> 852
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 852
cucggacagc aucuagaact t 21

<210> 853
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 853
cuagaugcug uccgaggcat t 21

<210> 854
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 854
ugccucggac agcaucaagt t 21

<210> 855
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 855
gaugcugucc gaggcaguct t 21

<210> 856
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 856
gacugccucg gacagcauct t 21

<210> 857
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 857
cauucuuggc aggauggcut t 21

<210> 858
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 858
agccauccug ccaagaaugt t 21

<210> 859
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 859
ugcuguccga ggcagucct t 21

<210> 860
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 860
aggacugccu cggacagcat t 21

<210> 861
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 861
ccgaggcagu ccugccauct t 21

<210> 862
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 862
gauggcagga cugccucggt t 21

<210> 863
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 863
caguccugcc aucaaugugt t 21

<210> 864
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 864
cacauugaug gcaggacugt t 21

<210> 865
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 865
caaugggcc gugcaugugt t 21

<210> 866
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 866
cacaugcacg gccacauugt t 21

<210> 867
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 867
auguguucag aaaggcugct t 21

<210> 868
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 868
gcagccuuuc ugaacacaut t 21

<210> 869
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 869
cagaagucca cucauucut t 21

<210> 870
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 870
aagaaugagu ggacuucugt t 21

<210> 871
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 871
ggcaggaugg cuucucauct t 21

<210> 872
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 872
gaugagaagc cauccugcct t 21

<210> 873
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 873
gagccauuug ccucugggat t 21

<210> 874
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 874
ucccagagc aauggcuct t 21

<210> 875
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 875
caggauggcu ucucaucgut t 21

<210> 876
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 876
acgaugagaa gccaucctt t 21

<210> 877
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 877
aggauggcuu cucaucguct t 21

<210> 878
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 878
gacgaugaga agccaucct t 21

<210> 879
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 879
agagcugcau gggcucacat t 21

<210> 880
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 880
ugugagccca ugcagcucut t 21

<210> 881
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 881
gcugcauggg cucacaacut t 21

<210> 882
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 882
aguugugagc ccaugcagct t 21

<210> 883
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 883
ggauggcuuc ucaucgucut t 21

<210> 884
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 884
agacgaugag aagccaucct t 21

<210> 885
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 885
gcaugggcuc acaacugagt t 21

<210> 886
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 886
cucaguugug agcccaugct t 21

<210> 887
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 887
augggcucac aacugaggat t 21

<210> 888
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 888
uccucaguug ugagcccaut t 21

<210> 889
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 889
ugggcucaca acugaggagt t 21

<210> 890
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 890
cuccucaguu gugagcccat t 21

<210> 891
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 891
gaggaauuug uagaaggat t 21

<210> 892
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 892
ucccuucuaac aaauuccuct t 21

<210> 893
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 893
uuuguagaag ggauauacat t 21

<210> 894
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 894
uguauauccc uucuacaat t 21

<210> 895
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 895
uuguagaagg gauauacaat t 21

<210> 896
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 896
uuguauaucc cuucuacaat t 21

<210> 897
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 897
uguagaaggg auauacaat t 21

<210> 898
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 898
uuuguauauc ccuucuacat t 21

<210> 899
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 899

agaagggaua uacaaagugt t 21

<210> 900

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 900

cacuuuguau aucccuucut t 21

<210> 901

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 901

aaguggaaau agacaccaat t 21

<210> 902

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 902

uuggugucua uuuccacuut t 21

<210> 903

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 903

ggaaaauagac accaaaucut t 21

<210> 904

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 904

agauuuggug ucuauuuct t 21

<210> 905

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 905

gaaauagaca ccaaaucut t 21

<210> 906

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 906

aagauuuggu gucuauuuct t 21

<210> 907

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 907

auagacacca aaucuuacut t 21

<210> 908

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 908

aguaagauuu ggugucuaut t 21

<210> 909

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 909

uagacaccaa aucuuacugt t 21

<210> 910

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 910

caguaagauu uggugucuat t 21

<210> 911

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 911
agacaccaaa ucuuacuggt t 21

<210> 912
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 912
ccaguaagau uuggugucut t 21

<210> 913
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 913
uuacuggaag gcacuugget t 21

<210> 914
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 914
gccaagugcc uuccaguaat t 21

<210> 915
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 915
uucucaucgu cugcuccuct t 21

<210> 916
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 916
gaggagcaga cgaugagaat t 21

<210> 917
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 917
ggaaggcacu uggcaucuct t 21

<210> 918
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 918
gagaugccaa gugccuucct t 21

<210> 919
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 919
ggcacuuggc aucucccat t 21

<210> 920
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 920
uggggagaug ccaagugcct t 21

<210> 921
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 921
ggcaucuccc cauccaagt t 21

<210> 922
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 922
cauggaugg ggagaucct t 21

<210> 923
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 923

gcaucucucc auuccaugat t 21

<210> 924

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 924

ucauggaaug gggagaugct t 21

<210> 925

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 925

caucucucca uuccaugagt t 21

<210> 926

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 926

cucauggaaug ggggagaugt t 21

<210> 927

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 927

aucuccccau uccaugagct t 21

<210> 928

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 928

gcucauggaa uggggagaut t 21

<210> 929

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 929

cuccccauuc caugagcaut t 21

<210> 930

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 930

augcucaugg aauggggagt t 21

<210> 931

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 931
cccauuccau gagcaugcat t 21

<210> 932
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 932
ugcaugcuca uggaugggt t 21

<210> 933
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 933
ccaugagcau gcagagggt t 21

<210> 934
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 934
caccucugca ugcucauggt t 21

<210> 935
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 935
agcaugcaga ggugguauut t 21

<210> 936
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 936
aauaccaccu cugcaugcut t 21

<210> 937
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 937
caugcagagg ugguaucut t 21

<210> 938
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 938
ugaauaccac cucugcaugt t 21

<210> 939
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 939

augcagaggu gguauucact t 21

<210> 940

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 940

gugaauacca ccucugcaut t 21

<210> 941

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 941

ggugguauuc acagccaact t 21

<210> 942

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 942

guuggcugug aauaccacct t 21

<210> 943

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 943
gugguauuca cagccaacgt t 21

<210> 944
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 944
cguuggcugu gaauaccact t 21

<210> 945
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 945
ugguauucac agccaacgat t 21

<210> 946
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 946
ucguuggcug ugaauacat t 21

<210> 947
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 947

gguauucaca gccaacgact t 21

<210> 948

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 948

gucguuggcu gugaauacct t 21

<210> 949

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 949

guauucacag ccaacgacut t 21

<210> 950

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 950

agucguuggc ugugaauact t 21

<210> 951

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 951

uauucacagc caacgacuct t 21

<210> 952

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 952

gagucguugg cugugaaat t 21

<210> 953

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 953

ucacagccaa cgacuccgt t 21

<210> 954

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 954

ccggagucgu uggcugugat t 21

<210> 955

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 955

ccccgccgcu acaccauugt t 21

<210> 956

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 956

caauggugua gcggcggggt t 21

<210> 957

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 957

gaaguccacu cauucuuggt t 21

<210> 958

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 958

ccaagaauga guggacuuct t 21

<210> 959

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 959

cccugcugag ccccuacuct t 21

<210> 960

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 960

gaguaggggc ucagcagggt t 21

<210> 961

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 961

cugagcccu acuccuauut t 21

<210> 962

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 962

aauaggagua ggggcucagt t 21

<210> 963

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 963

ugagcccccua cuccuauuct t 21

<210> 964

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 964

gaauaggagu aggggcucac t 21

<210> 965

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 965

ccccuacucc uauuccacct t 21

<210> 966

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 966

gguggaauag gaguaggggt t 21

<210> 967

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 967

cuacuccuau uccaccacgt t 21

<210> 968

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 968

cgugguggaa uaggaguagt t 21

<210> 969

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 969

uacuccuauu ccaccacggt t 21

<210> 970

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 970

ccguggugga auaggaguat t 21

<210> 971

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 971

acuccuauuc caccacggt t 21

<210> 972

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 972

gccguggugg aauaggagut t 21

<210> 973

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 973

uccuauucca ccacggcugt t 21

<210> 974

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 974

cagccguggu ggaauaggat t 21

<210> 975

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 975

uauuccacca cggcugucgt t 21

<210> 976

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 976

cgacagccgu gguggaauat t 21

<210> 977

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 977

auuccaccac ggcugucgut t 21

<210> 978

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 978

acgacagccg ugguggaaut t 21

<210> 979

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 979

caccacggcu gucgucacct t 21

<210> 980

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 980

ggugacgaca gccguggugt t 21

<210> 981

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 981

accacggcug ucgucaccat t 21

<210> 982

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 982

uggugacgac agccguggut t 21

<210> 983

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 983

ccacggcugu cgucaccaat t 21

<210> 984

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 984

uuggugacga cagccguggt t 21

<210> 985

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 985

acggcugucg ucaccaauct t 21

<210> 986

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 986

gauuggugac gacagccgut t 21

<210> 987

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 987

cggcugucgu caccaaucct t 21

<210> 988

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 988

ggauugguga cgacagccgt t 21

<210> 989

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 989

cgucaccaau cccaaggaat t 21

<210> 990

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 990

uuccuuggga uuggugacgt t 21

<210> 991

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 991
caauccaag gaaugagggt t 21

<210> 992
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 992
ccucauucc uugggauugt t 21

<210> 993
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 993
ccugaaggac gagggauugt t 21

<210> 994
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 994
ccaucccug uccuucaggt t 21

<210> 995
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 995
ggacgaggga ugggauuuct t 21

<210> 996
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 996
gaaaucccau cccucgucct t 21

<210> 997
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 997
aaguccacuc auucuugget t 21

<210> 998
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 998
gccaagaaug aguggacuut t 21

<210> 999
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 999

gggauuucau guaaccaagt t 21

<210> 1000

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1000

cuugguuaca ugaaaucct t 21

<210> 1001

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1001

ggauuucaug uaaccaagat t 21

<210> 1002

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1002

ucuugguuac augaaucct t 21

<210> 1003

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1003
ucauguaacc aagaguauut t 21

<210> 1004
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1004
aauacucuug guuacaugat t 21

<210> 1005
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1005
auguaaccaa gaguauucct t 21

<210> 1006
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1006
ggaauacucu ugguuacaut t 21

<210> 1007
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1007
uguaaccaag aguauccat t 21

<210> 1008
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1008
uggaauacuc uugguuacat t 21

<210> 1009
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1009
guaaccaaga guauuccaut t 21

<210> 1010
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1010
auggaauacu cuugguuact t 21

<210> 1011
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1011
ugccuugcug gacugguaut t 21

<210> 1012
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1012
auaccagucc agcaaggcat t 21

<210> 1013
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1013
uaaagcagug uuuucaccut t 21

<210> 1014
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1014
aggugaaaac acugcuuuat t 21

<210> 1015
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1015
gccuugcugg acugguauut t 21

<210> 1016
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1016
aauaccaguc cagcaaggct t 21

<210> 1017
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1017
uguuuucacc ucauaugcut t 21

<210> 1018
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1018
agcauaugag gugaaaacat t 21

<210> 1019
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1019
guuuucaccu cauaugcuat t 21

<210> 1020
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1020
uagcauauga ggugaaaact t 21

<210> 1021
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1021
uuuucaccuc auaugcuaut t 21

<210> 1022
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1022
auagcauauag aggugaaaat t 21

<210> 1023
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1023
uucaccucau augcuaugut t 21

<210> 1024
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1024
acauagcaua ugaggugaat t 21

<210> 1025
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1025
caccucauau gcuauguuat t 21

<210> 1026
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1026
uaacauagca uaugaggugt t 21

<210> 1027
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1027
ccuugcugga cugguauuut t 21

<210> 1028
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1028
aaauaccagu ccagcaaggt t 21

<210> 1029
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1029
aauugcuaug uuagaaguct t 21

<210> 1030
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1030
gacuucuaac auagcauaut t 21

<210> 1031
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1031
uauugcuaugu uagaagucct t 21

<210> 1032
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1032
ggacuucuaa cauagcauat t 21

<210> 1033
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1033
ugcuauguua gaaguccagt t 21

<210> 1034
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1034
cuggacuucu aacauagcat t 21

<210> 1035
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1035
cuugcuggac ugguaauugt t 21

<210> 1036
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1036
caauaccag uccagcaagt t 21

<210> 1037
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1037
aguccaggca gagacaaat t 21

<210> 1038
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1038
uaaugucucu gccuggacut t 21

<210> 1039
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1039
uccaggcaga gacaauaat t 21

<210> 1040
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1040
uuuauugucu cugccuggat t 21

<210> 1041
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1041
gugaaaggca cuuucauut t 21

<210> 1042
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1042
aaugaaaagu gccuucact t 21

<210> 1043
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1043
uggacuggua uuugugucut t 21

<210> 1044
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1044
agacacaaau accaguccat t 21

<210> 1045
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1045
gucugaggcu ggcccuacgt t 21

<210> 1046
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1046
cguaggcca gccucagact t 21

<210> 1047
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1047
cugaggcugg ccuacgggt t 21

<210> 1048
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1048
cccguagggc cagccucagt t 21

<210> 1049
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1049
gaggcuggcc cuacgggat t 21

<210> 1050
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1050
ugcccguagg gccagccuct t 21

<210> 1051
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1051
aggcuggccc uacgggcact t 21

<210> 1052
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1052
gugcccguag ggccagccut t 21

<210> 1053
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1053
gcuggcccua cgggcaccgt t 21

<210> 1054
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1054
cggugcccgu agggccagct t 21

<210> 1055
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1055
cuggcccuac gggcaccggt t 21

<210> 1056
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1056
ccggugcccg uagggccagt t 21

<210> 1057
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1057
ggcccuacgg gcaccggugt t 21

<210> 1058
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1058
caccggugcc cguaggcct t 21

<210> 1059
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1059
ccacucauuc uuggcaggat t 21

<210> 1060
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1060
uccugccaag aaugaguggt t 21

<210> 1061
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1061
ccuacgggca ccggugaaut t 21

<210> 1062
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1062
auucaccggu gcccguaagt t 21

<210> 1063
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1063
cuacgggcac cggugaauct t 21

<210> 1064
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1064
gauucaccgg ugcccguagt t 21

<210> 1065
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1065
uacgggcacc ggugaaucct t 21

<210> 1066
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1066
ggauucaccg gugcccguat t 21

<210> 1067
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1067
acgggcaccg gugaauccat t 21

<210> 1068
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1068
uggauccacc ggugcccgut t 21

<210> 1069
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1069
gcaccgguga auccaagugt t 21

<210> 1070
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1070
cacuuggauu caccggugct t 21

<210> 1071
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1071
caccggugaa uccaagugut t 21

<210> 1072
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1072
acacuuggau ucaccggugt t 21

<210> 1073
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1073
uguggccaug cauguguuct t 21

<210> 1074
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1074
gaacacaugc auggccacat t 21

<210> 1075
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1075
guggccaugc auguguucat t 21

<210> 1076
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1076
ugaacacaug cauggccact t 21

<210> 1077
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1077
gccaugcaug uguucagaat t 21

<210> 1078
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1078
uucugaacac augcauggct t 21

<210> 1079
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1079
uauuccacca cggcugucac t 21

<210> 1080
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1080
ugacagccgu gguggaauat t 21

<210> 1081
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1081
gucaucacca auccaaggt t 21

<210> 1082
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1082
ccuugggauu ggugaugact t 21

<210> 1083
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1083
guccucugau ggucaaagut t 21

<210> 1084
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1084
acuuugacca ucagaggact t 21

<210> 1085
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1085
gauggucaa guucuagaut t 21

<210> 1086
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1086
aucuagaacu uugaccauct t 21

<210> 1087
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1087
augcuguccg aggcagucct t 21

<210> 1088
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1088
ggacugccuc ggacagcaut t 21

<210> 1089
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1089
ccgugcaugu guucagaaat t 21

<210> 1090
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1090
uuucugaaca caugcacgt t 21

<210> 1091
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1091
agucuggaga gcugcaugt t 21

<210> 1092
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1092
ccaugcagcu caccagacut t 21

<210> 1093
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1093
caugggcuca caacugaggt t 21

<210> 1094
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1094
ccucaguugu gagcccaugt t 21

<210> 1095
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1095
ucucaugcugc ugcuccucct t 21

<210> 1096
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1096
ggaggagcag acgaugagat t 21

<210> 1097
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1097
ccccaucca ugagcaugct t 21

<210> 1098
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1098
gcaugcucac ggauggggt t 21

<210> 1099
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1099
gccccuacuc cuauuccact t 21

<210> 1100
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1100
guggaauagg aguaggggct t 21

<210> 1101
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1101
cuauuccacc acggcuguct t 21

<210> 1102
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1102
gacagccgug guggaauagt t 21

<210> 1103
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1103
cacggcuguc gucaccaut t 21

<210> 1104
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1104
auuggugacg acagccgugt t 21

<210> 1105
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1105
aggacgaggg augggauuut t 21

<210> 1106
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1106
aaauccauc ccucgucut t 21

<210> 1107
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1107
ucaccucaua ugcuauuguut t 21

<210> 1108
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1108
aacauagcau augaggugat t 21

<210> 1109
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1109
ccucauaugc uauguuagat t 21

<210> 1110
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1110
ucuaacauag cauauagagt t 21

<210> 1111
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1111
auguuagaag uccaggcagt t 21

<210> 1112
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1112
cugccuggac uucuaacaut t 21

<210> 1113
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1113
ucugaggcug gcccuacggt t 21

<210> 1114
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1114
ccguagggcc agccucagat t 21

<210> 1115
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1115
ggcccuacgg gcaccggugt t 21

<210> 1116
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1116
caccggugcc cguagggcct t 21

<210> 1117
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1117
gggcaccggu gaauccaagt t 21

<210> 1118
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1118
cuuggauuca ccguggcct t 21

<210> 1119
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1119
ccaugcaugu guucagaaat t 21

<210> 1120
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1120
uuucugaaca caugcauggt t 21

<210> 1121
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1121
guccucugau ggucaaagu 19

<210> 1122
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1122
acuuugacca ucagaggac 19

<210> 1123
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1123
uucuugcucu auaaacggu 19

<210> 1124
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1124
acgguuuaua gagcaagaa 19

<210> 1125
<211> 19

<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1125
cucuauaac cguguuagc 19

<210> 1126
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1126
gcuaacacgg uuuauagag 19

<210> 1127
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1127
ucgccacuac accaucgca 19

<210> 1128
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1128
ugcgauggug uaguggcga 19

<210> 1129
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1129
ucuugcucua uaaaccgug 19

<210> 1130
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1130
cacgguuuau agagcaaga 19

<210> 1131
<211> 19

<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1131
ugcucuauaa accguguua 19

<210> 1132
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1132
uaacacgguu uauagagca 19

<210> 1133
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1133
caguguucuu gcucuauaa 19

<210> 1134
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1134
uuauagagca agaacacug 19

<210> 1135
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1135
gcucuauaaa ccguguuag 19

<210> 1136
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1136
cuaacacggu uuauagagc 19

<210> 1137
<211> 19

<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1137
ccuggaugcu guccgagc 19

<210> 1138
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1138
gccucggaca gcauccagg 19

<210> 1139
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1139
ucugaugguc aaaguccug 19

<210> 1140
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1140
caggacuuug accaucaga 19

<210> 1141
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1141
cuggagagcu gcacgggcu 19

<210> 1142
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1142
agcccgugca gcucuccag 19

<210> 1143
<211> 19

<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1143
ucuauaaacc guguuagca 19

<210> 1144
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1144
ugcuaacacg guuuauaga 19

<210> 1145
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1145
aacaguguuc uugcucuau 19

<210> 1146
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1146
auagagcaag aacacuguu 19

<210> 1147
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1147
cucugauggu caaaguccu 19

<210> 1148
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1148
aggacuuuga ccaucagag 19

<210> 1149
<211> 19

<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1149
ugcuguccga ggcagccu 19

<210> 1150
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1150
agggcugccu cggacagca 19

<210> 1151
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1151
gucuggagag cugcacggg 19

<210> 1152
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1152
cccgugcagc ucuccagac 19

<210> 1153
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1153
acaguguucu ugcucuaua 19

<210> 1154
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1154
uauagagcaa gaacacugu 19

<210> 1155
<211> 19

<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1155
ccucugaugg ucaaagucc 19

<210> 1156
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1156
ggacuuugac caucagagg 19

<210> 1157
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1157
aguccuggau gcuguccga 19

<210> 1158
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1158
ucggacagca uccaggacu 19

<210> 1159
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1159
uugccucugg gaagaccgc 19

<210> 1160
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1160
gcggucuucc cagaggcaa 19

<210> 1161
<211> 19

<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1161
uggagagcug cacgggcuc 19

<210> 1162
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1162
gagcccgugc agcucucca 19

<210> 1163
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1163
gagagcugca cgggcucac 19

<210> 1164
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1164
gugagcccgu gcagcucuc 19

<210> 1165
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1165
gagcugcacg ggcucacca 19

<210> 1166
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1166
uggugagccc gucagcuc 19

<210> 1167
<211> 19

<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1167
uacaccaug cagcccugc 19

<210> 1168
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1168
gcagggcugc gauggugua 19

<210> 1169
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1169
guccuggaug cuguccgag 19

<210> 1170
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1170
cucggacagc auccaggac 19

<210> 1171
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1171
agagcugcac gggcucacc 19

<210> 1172
<211> 19
<212> RNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 1172
ggugagcccg ugcagcucu 19

<210> 1173
<211> 21

<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1173
guccucugau ggucaaagun n 21

<210> 1174
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1174
acuuugacca ucagaggacn n 21

<210> 1175
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1175
uucuugcucu auaaacgun n 21

<210> 1176
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1176
acgguuuaua gagcaagaan n 21

<210> 1177
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1177
cucuauaaac cguguuagcn n 21

<210> 1178
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1178
gcuaacacgg uuuauagagn n 21

<210> 1179
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1179
ucgccacuac accaucgan n 21

<210> 1180
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1180
ugcgauuggug uaguggcgan n 21

<210> 1181
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1181

ucuugcucua uaaaccgugn n 21

<210> 1182

<211> 21

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1182

cacgguuuau agagcaagan n 21

<210> 1183

<211> 21

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1183

ugcucuaaua accguguuan n 21

<210> 1184

<211> 21

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1184
uaacacgguu uauagagcan n 21

<210> 1185
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1185
caguguucuu gcucuauaan n 21

<210> 1186
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1186
uuauagagca agaacacugn n 21

<210> 1187
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1187
gcucuauaaa ccguguuagn n 21

<210> 1188
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1188
cuaacacggu uuauagagcn n 21

<210> 1189
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1189
ccuggaugcu guccgagcn n 21

<210> 1190
<211> 21

<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1190
gccucggaca gcauccaggn n 21

<210> 1191
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1191
ucugaugguc aaaguccugn n 21

<210> 1192
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1192
caggacuuug accaucagan n 21

<210> 1193
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1193
cuggagagcu gcacgggcun n 21

<210> 1194
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1194
agccccgugca gcucuccagn n 21

<210> 1195
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1195
ucuauaaacc guguuagcan n 21

<210> 1196
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1196
ugcuaacacg guuuauagan n 21

<210> 1197
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1197
aacaguguuc uugcucuaun n 21

<210> 1198
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1198

auagagcaag aacacuguun n 21

<210> 1199

<211> 21

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1199

cucugauggu caaaguccun n 21

<210> 1200

<211> 21

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>

<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)

<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1200

aggacuuuga ccaucagagn n 21

<210> 1201

<211> 21

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1201
ugcuguccga ggcagcccun n 21

<210> 1202
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1202
agggcugccu cggacagcan n 21

<210> 1203
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1203
gucuggagag cugcacgggn n 21

<210> 1204
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1204
cccgugcagc ucuccagacn n 21

<210> 1205
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1205
acaguguucu ugcucuauan n 21

<210> 1206
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1206
uauagagcaa gaacacugun n 21

<210> 1207
<211> 21

<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1207
ccucugaugg ucaaaguccn n 21

<210> 1208
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1208
ggacuuugac caucagaggn n 21

<210> 1209
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1209
aguccuggau gcuguccgan n 21

<210> 1210
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1210
ucggacagca uccaggacun n 21

<210> 1211
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1211
uugccucugg gaagaccgen n 21

<210> 1212
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20) .. (21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1212
gcggucuucc cagaggcaan n 21

<210> 1213
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1213
uggagagcug cacgggcucn n 21

<210> 1214
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1214
gagcccgugc agcucuccan n 21

<210> 1215
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze

<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1215
gagagcugca cgggcucacn n 21

<210> 1216
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1216
gugagcccg gcagcucucn n 21

<210> 1217
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1217
gagcugcacg ggcucaccan n 21

<210> 1218
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1218
uggugagccc gugcagcucn n 21

<210> 1219
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1219
uacaccaucg cagcccugcn n 21

<210> 1220
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1220
gcagggcugc gaugguguan n 21

<210> 1221
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1221
guccuggaug cuguccgagn n 21

<210> 1222
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1222
cucggacagc auccaggacn n 21

<210> 1223
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1223
agagcugcac gggcucaccn n 21

<210> 1224
<211> 21

<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<220>
<221> modifikovaná_báze
<222> (20)..(21)
<223> a, c, t, g, neznámý nebo jiný

<400> 1224
ggugagcccg ugcagcucun n 21

<210> 1225
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1225
guccucugau ggucaaagut t 21

<210> 1226
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1226
acuuugacca ucagaggact t 21

<210> 1227
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1227
uucuugcucu auaaacggut t 21

<210> 1228
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1228
acgguuuaua gagcaagaat t 21

<210> 1229
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1229
cucuauaaac cguguuagct t 21

<210> 1230
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1230
gcuaacacgg uuuauagagt t 21

<210> 1231
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1231
ucgccacuac accaucgat t 21

<210> 1232
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1232
ugcgauggug uaguggcga t 21

<210> 1233
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1233
ucuugcucua uaaaccgugt t 21

<210> 1234
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1234
cacgguuuau agagcaagat t 21

<210> 1235
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1235
ugcucuauaa accguguuat t 21

<210> 1236
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1236
uaacacgguu uauagagcat t 21

<210> 1237
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1237
caguguucuu gcucuuaat t 21

<210> 1238
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1238
uuauagagca agaacacugt t 21

<210> 1239
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1239
gcucuauaaa ccguguuagt t 21

<210> 1240
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1240
cuaacacggu uuauagagct t 21

<210> 1241
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1241
ccuggaugcu guccgagct t 21

<210> 1242
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1242
gccucggaca gcauccaggt t 21

<210> 1243
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1243
ucugaugguc aaaguccugt t 21

<210> 1244
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1244
caggacuuug accaucagat t 21

<210> 1245
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1245
cuggagagcu gcacgggcut t 21

<210> 1246
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1246
agcccgugca gcucuccagt t 21

<210> 1247
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1247
ucuauaaacc guguuagcat t 21

<210> 1248
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1248
ugcuaacacg guuuauagat t 21

<210> 1249
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1249
aacaguguuc uugcucuaut t 21

<210> 1250
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1250
auagagcaag aacacuguut t 21

<210> 1251
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1251
cucugauggu caaaguccut t 21

<210> 1252
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1252
aggacuuuga ccaucagagt t 21

<210> 1253
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1253
ugcuguccga ggcagcccut t 21

<210> 1254
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1254
agggcugccu cggacagcat t 21

<210> 1255
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1255
gucuggagag cugcacgggt t 21

<210> 1256
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1256
cccgugcagc ucuccagact t 21

<210> 1257
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1257
acaguguucu ugcucuauat t 21

<210> 1258
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1258
uauagagcaa gaacacugut t 21

<210> 1259
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1259
ccucugaugg ucaaagucct t 21

<210> 1260
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1260
ggacuuugac caucagaggt t 21

<210> 1261
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1261
aguccuggau gcuguccgat t 21

<210> 1262
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1262
ucggacagca uccaggacut t 21

<210> 1263
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1263
uugccucugg gaagaccgct t 21

<210> 1264
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1264
gcggucuucc cagaggcaat t 21

<210> 1265
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1265
uggagagcug cacgggcuct t 21

<210> 1266
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1266
gagcccgugc agcucucatt t 21

<210> 1267
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1267
gagagcugca cgggcucact t 21

<210> 1268
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1268
gugagcccg gcagcucuct t 21

<210> 1269
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1269
gagcugcacg ggcucacat t 21

<210> 1270
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1270
uggugagccc gucagcuct t 21

<210> 1271
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1271
uacaccaug cagccugct t 21

<210> 1272
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1272
gcagggcugc gaugguguat t 21

<210> 1273
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1273
guccuggaug cuguccgagt t 21

<210> 1274
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1274
cucggacagc auccaggact t 21

<210> 1275
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1275
agagcugcac gggcucacct t 21

<210> 1276
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1276
ggugagcccg ugcagcucut t 21

<210> 1277
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1277
guccucugau ggucaaagut t 21

<210> 1278
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1278
acuuugacca ucagaggact t 21

<210> 1279
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1279
uucuugcucu auaaacggut t 21

<210> 1280
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1280
acgguuuaua gagcaagaat t 21

<210> 1281
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1281
cucuauaaac cguguuagct t 21

<210> 1282
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1282
gcuaacacgg uuuauagagt t 21

<210> 1283
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1283
ucgccacuac accaucgat t 21

<210> 1284
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1284
ugcgauggug uaguggcgat t 21

<210> 1285
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1285
ucuugcucua uaaaccgugt t 21

<210> 1286
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1286
cacgguuuau agagcaagat t 21

<210> 1287
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1287
ugcucuauaa accguguuat t 21

<210> 1288
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1288
uaacacgguu uauagagcat t 21

<210> 1289
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1289
caguguucuu gcucuuaat t 21

<210> 1290
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1290
uuauagagca agaacacugt t 21

<210> 1291
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1291
gcucuauaaa ccguguuagt t 21

<210> 1292
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1292
cuaacacggu uuauagagct t 21

<210> 1293
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1293
ccuggaugcu guccgagct t 21

<210> 1294
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1294
gccucggaca gcauccaggt t 21

<210> 1295
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1295
ucugaugguc aaaguccugt t 21

<210> 1296
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1296
caggacuuug accaucagat t 21

<210> 1297
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1297
cuggagagcu gcacgggcut t 21

<210> 1298
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1298
agcccgugca gcucuccagt t 21

<210> 1299
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1299
ucuauaaacc guguuagcat t 21

<210> 1300
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1300
ugcuaacacg guuuauagat t 21

<210> 1301
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1301
aacaguguuc uugcucuaut t 21

<210> 1302
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1302
auagagcaag aacacuguut t 21

<210> 1303
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1303
cucugauggu caaaguccut t 21

<210> 1304
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1304
aggacuuuga ccaucagagt t 21

<210> 1305
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1305
ugcuguccga ggcagcccut t 21

<210> 1306
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1306
agggcugccu cggacagcat t 21

<210> 1307
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1307
gucuggagag cugcacgggt t 21

<210> 1308
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1308
cccgugcagc ucuccagact t 21

<210> 1309
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1309
acaguguucu ugcucuauat t 21

<210> 1310
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1310
uauagagcaa gaacacugut t 21

<210> 1311
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1311
ccucugaugg ucaaagucct t 21

<210> 1312
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1312
ggacuuugac caucagaggt t 21

<210> 1313
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1313
aguccuggau gcuguccgat t 21

<210> 1314
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1314
ucggacagca uccaggacut t 21

<210> 1315
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1315
uugccucugg gaagaccgct t 21

<210> 1316
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1316
gcggucuucc cagaggcaat t 21

<210> 1317
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1317
uggagagcug cacgggcuct t 21

<210> 1318
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1318
gagcccgugc agcucucatt t 21

<210> 1319
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1319
gagagcugca cgggcucact t 21

<210> 1320
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1320
gugagcccgu gcagcucuct t 21

<210> 1321
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1321
gagcugcacg ggcucacat t 21

<210> 1322
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1322
uggugagccc gucagcuct t 21

<210> 1323
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1323
uacaccaug cagccugct t 21

<210> 1324
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1324
gcagggcugc gaugguguat t 21

<210> 1325
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1325
guccuggaug cuguccgagt t 21

<210> 1326
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1326
cucggacagc auccaggact t 21

<210> 1327
<211> 21
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1327

agagcugcac gggcucacct t 21

<210> 1328

<211> 21

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Rattus norvegicus"

<400> 1328

ggugagcccg ugcagcucut t 21

<210> 1329

<211> 650

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1329

acagaagtcc actcattctt ggcaggatgg cttctcatcg tctgctcctc ctctgccttg	60
ctggactggt atttgtgtct gaggctggcc ctacgggcac cggatgaatcc aagtgtcctc	120
tgatggtcaa agttctagat gctgtccgag gcagtcctgc catcaatgtg gccgtgcatg	180
tgttcagaaa ggctgctgat gacacctggg agccatttgc ctctgggaaa accagtgagt	240
ctggagagct gcatgggctc acaactgagg aggaatttgt agaagggata tacaagtgg	300
aaatagacac caaatcttac tggaaggcac ttggcatctc cccattccat gagcatgcag	360
aggtggtatt cacagccaac gactccggcc cccgcccgcta caccattgcc gccctgctga	420
gcccctactc ctattccacc acggctgtcg tcaccaatcc caaggaatga gggacttctc	480
ctccagtgga cctgaaggac gagggatggg atttcatgta accaagagta ttccattttt	540
actaaagcag tgttttcacc tcatatgcta tgttagaagt ccaggcagag acaataaaac	600
attcctgtga aaggcacttt tcattccaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	650

<210> 1330

<211> 595

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 1330

```

cctgacagga tggcttccct tcgctgttc ctctctgcc tcgctggact gatatttgcg      60
tctgaagctg gccctggggg tgctggagaa tccaagtgtc ctctgatggt caaagtctctg     120
gatgctgtcc gaggcagccc tgctgtcgat gtggccgtga aagtgttcaa aaggactgca     180
gacggaagct gggagccgtt tgcctctggg aagaccgccg agtctggaga gctgcacggg     240
ctcaccacag atgagaagtt cacggaaggg gtgtacaggg tagaactgga caccaaatca     300
tactggaagg ctcttggcat ttccccattc catgaatacg cagaggtggt tttcacagcc     360
aatgactctg gtcctcgcca ctacaccatc gcagccctgc tcagcccgta ctccacagc     420
accactgctg tcgtcagtaa cccccagaac tgagggaccc agcccacgag gaccaagatc     480
ttgccaaagc agtagctccc atttgtactg aaacagtgtt cttgctctat aaaccgtgtt     540
agcaactcgg gaagatgccg tgaaacgttc ttattaaacc acctttatct cattc         595

```

<210> 1331

<211> 938

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1331

```

gttgactaag tcaataatca gaatcagcag gtttgcagtc agattggcag ggataagcag      60
cctagctcag gagaagtgag tataaaagcc ccaggctggg agcagccatc acagaagtcc     120
actcattctt ggcaggatgg cttctcatcg tctgctcctc ctctgccttg ctggactggg     180
atttgtgtct gaggctggcc ctacgggcac cggatgaatcc aagtgtcctc tgatggtcaa     240
agtcttagat gctgtccgag gcagtcctgc catcaatgtg gccgtgcatg tgttcagaaa     300
ggctgctgat gacacctggg agccatttgc ctctgggaaa accagtgagt ctggagagct     360
gcatgggctc acaactgagg aggaatttgt agaagggata tacaagtgg aaatagacac     420
caaatcttac tggaaggcac ttggcatctc cccattccat gagcatgcag aggtggtatt     480
cacagccaac gactccggcc cccgccgcta caccattgcc gccctgctga gcccctactc     540
ctattccacc acggctgtcg tcaccaatcc caaggaatga gggacttctc ctccagtgga     600
cctgaaggac gagggatggg atttcatgta accaagagta ttccattttt actaaagcag     660
tgttttcacc tcatatgcta tgttagaagt ccaggcagag acaataaaac attcctgtga     720
aaggcacttt tcattcact ttaacttgat tttttaaat cccttattgt cccttcaaa     780
aaaaagagaa tcaaaatctt acaagaatc aaaggaatc tagaaagtat ctgggcagaa     840
cgctaggaga gatccaaatt tccattgtct tgcaagcaa gcacgtatta aatatgatct     900
gcagccatta aaaagacaca ttctgtaaaa aaaaaaaaa                               938

```

<210> 1332

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1332

gggauuucan guaccaagt t 21

<210> 1333
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1333
cuugguuaca ugaaaucct t 21

<210> 1334
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1334
ggauuucaug uaaccaagat t 21

<210> 1335
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1335
ucuugguuac augaaucct t 21

<210> 1336
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1336
gauuucaugu aaccaagagt t 21

<210> 1337
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1337
cucuugguua caugaaau t 21

<210> 1338
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1338
auuucagua accaagagut t 21

<210> 1339
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1339
acucuugguu acaugaaat t 21

<210> 1340
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1340
uuuucaguaa ccaagaguat t 21

<210> 1341
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1341
uacucuuggu uacaugaaat t 21

<210> 1342
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1342
uucauguaac caagaguaut t 21

<210> 1343
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1343
auacucuugg uuacaugaat t 21

<210> 1344
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1344
ucauguaacc aagaguauut t 21

<210> 1345
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1345
aauacucuug guuacaugat t 21

<210> 1346
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1346
caaguaacca agaguauuct t 21

<210> 1347
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1347
gaauacucuu gguuacaugt t 21

<210> 1348
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1348
auguaaccaa gaguauucct t 21

<210> 1349
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1349
ggaauacucu ugguuacaut t 21

<210> 1350
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1350
uguaaccaag aguauucatt t 21

<210> 1351
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1351
uggaauacuc uugguuacat t 21

<210> 1352
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1352
uaaccaagag uauuccaaut t 21

<210> 1353
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1353
aauggaauc ucuugguat t 21

<210> 1354
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1354
aaccaagagu auuccauut t 21

<210> 1355
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1355
aaauggaaua cucuugguat t 21

<210> 1356
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1356
accaagagua uuccauuuut t 21

<210> 1357
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1357
aaauggaau acucuuggut t 21

<210> 1358
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1358
ccaagaguau uccauuuuut t 21

<210> 1359
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1359
aaaauggaa uacucuuggt t 21

<210> 1360
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1360
caagaguauu ccuuuuuat t 21

<210> 1361
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1361
uaaaaaugga auacucuugt t 21

<210> 1362
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1362
aagaguauuc cauuuuuact t 21

<210> 1363
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1363
guaaaaaugg aauacucuut t 21

<210> 1364
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1364
agaguauucc auuuuuacut t 21

<210> 1365
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1365
aguaaaaug gaauacucut t 21

<210> 1366
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1366
gaguauucca uuuuuacuat t 21

<210> 1367
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1367
uaguaaaaau ggaauacuct t 21

<210> 1368
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1368
aguauuccau uuuuacuaat t 21

<210> 1369
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1369
uuaguaaaa uggaauacut t 21

<210> 1370
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1370
guauuccauu uuuacuaaat t 21

<210> 1371
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1371
uuuaguaaaa auggaauact t 21

<210> 1372
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1372
uauuccauuu uuacuaaagt t 21

<210> 1373
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1373
cuuuaguaaa aauggauat t 21

<210> 1374
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1374
auuccauuuu uacuaaaget t 21

<210> 1375
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1375
gcuuuaguaa aaauggaaut t 21

<210> 1376
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1376
uuccauuuuu acuaaagcat t 21

<210> 1377
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1377
ugcuuuagua aaaauggaat t 21

<210> 1378
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1378
uccauuuuuua cuaaagcagt t 21

<210> 1379
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1379
cugcuuuagu aaaauggat t 21

<210> 1380
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1380
ccauuuuuac uaaagcagut t 21

<210> 1381
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1381
acugcuuuag uaaaaaugt t 21

<210> 1382
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1382
cauuuuuacu aaagcagugt t 21

<210> 1383
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1383
cacugcuuuu guaaaaaugt t 21

<210> 1384
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1384
auuuuuacua aagcagugt t 21

<210> 1385
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1385
acacugcuu aguaaaaut t 21

<210> 1386
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1386
uuuuuacuaa agcaguguut t 21

<210> 1387
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1387
aacacugcuu uaguaaaaat t 21

<210> 1388
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1388
uuuuacuaaa gcaguguuut t 21

<210> 1389
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1389
aaacacugcu uuaguaaaat t 21

<210> 1390
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1390
uuuacuaaag caguguuuut t 21

<210> 1391
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1391
aaaacacugc uuuaguaaaat t 21

<210> 1392
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1392
uuacuaaagc aguguuuuct t 21

<210> 1393
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1393
gaaaacacug cuuuagaaat t 21

<210> 1394
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1394
uacuaaagca guguuuucac t 21

<210> 1395
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1395
ugaaaacacu gcuuuagaaat t 21

<210> 1396
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1396
acuaaagcag uguuuucac t 21

<210> 1397
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1397
gugaaaacac ugcuuuagut t 21

<210> 1398
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1398
cuaaagcagu guuuucacct t 21

<210> 1399
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1399
ggugaaaaca cugcuuuagt t 21

<210> 1400
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1400
uaaagcagug uuuucaccut t 21

<210> 1401
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1401
aggugaaaac acugcuuat t 21

<210> 1402
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1402
aaagcagugu uuucaccuct t 21

<210> 1403
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1403
gaggugaaaa cacugcuut t 21

<210> 1404
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1404
aagcaguguu uucaccucat t 21

<210> 1405
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1405
ugaggugaaa acacugcuut t 21

<210> 1406
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1406
agcaguguuu ucaccuaut t 21

<210> 1407
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1407
augaggugaa aacacugcut t 21

<210> 1408
<211> 21
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> zdroj
<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1408
guaaccaaga guauuccaut t 21

<210> 1409

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Homo sapiens"

<400> 1409

auggauacu cuugguact t 21

<210> 1410

<211> 19

<212> DNA

<213> Umělá sekvence

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of umělá sekvence: Synthetic oligonucleotide"

<220>

<221> zdroj

<223> /pozn.="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic oligonucleotide"

<400> 1410

gtaaccaa gatttccat 19

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Dvouvláknová ribonukleová kyselina (dsRNA) pro inhibici exprese transthyretinu (TTR), kde

(a) uvedená dsRNA obsahuje sense vlákno a antisense vlákno, kdy antisense vlákno obsahuje oblast komplementární k části mRNA kódující transthyretin (TTR), kdy uvedená oblast komplementarity má délku 19 nukleotidů, antisense vlákno obsahuje SEQ ID NO:170, a každé vlákno dsRNA má délku 19, 20, 21, 22, 23, nebo 24 nukleotidů; nebo

(b) uvedená dsRNA obsahuje antisense vlákno obsahující oblast komplementární k 19 nukleotidům nukleotidů 618-648 SEQ ID NO: 1331 a kde se báze uvedeného antisense vlákna párují s guaninem v pozici 628 SEQ ID NO:1331;

a kde dsRNA je formulována v lipidové částici nukleové kyseliny obsahující kationtový lipid, nekationtový lipid a lipid, který preventivně působí proti agregaci částice.

2. dsRNA podle nároku 1, kde uvedeným kationtovým lipidem je (6Z,9Z,28Z,31Z)-heptatriakonta-6,9,28,31-tetraen-19-yl 4-(dimethylamino) butanoát (MC3).

3. dsRNA podle nároku 1, kde uvedeným nekationtovým lipidem je distearoylfosfatidylcholin (DSPC).

4. dsRNA podle nároku 1, kde uvedeným lipidem, který preventivně působí proti agregaci částice je polyethylenglykol (PEG)-lipid.

5. dsRNA podle kteréhokoli z nároků 1 až 4, kde formulace dále obsahuje cholesterol.

6. dsRNA podle nároku 1, kde formulace obsahuje MC3, DSPC, cholesterol a PEG₂₀₀₀-C14.

7. dsRNA podle nároku 1, kde formulace obsahuje MC3/DSPC/cholesterol/PEG₂₀₀₀-C14 v poměru 50/10/38,5/1,5 mol %.

8. dsRNA podle kteréhokoli z nároků 1 až 7, kde

(a) vlákno sense sestává ze sekvence SEQ ID NO:449 a vlákno antisense sestává ze sekvence SEQ ID NO:450;

(b) vlákno sense sestává ze sekvence SEQ ID NO:729 a vlákno antisense sestává ze sekvence SEQ ID NO:730; nebo

(c) vlákno sense sestává ze sekvence SEQ ID NO:1009 a vlákno antisense sestává ze sekvence SEQ ID NO:1010.

9. Kyselina dsRNA podle kteréhokoli z nároků 1 až 7, ve které vlákno sense obsahuje sekvenci SEQ ID NO:169.

10. Kyselina dsRNA podle některého z nároků 1 až 7, kde kyselina dsRNA obsahuje alespoň jeden modifikovaný nukleotid, kde s výhodou alespoň jeden z uvedených modifikovaných nukleotidů je zvolen ze souboru zahrnujícího 2'-O-methyl-modifikovaný nukleotid, nukleotid obsahující 5'-fosforothioátovou skupinu, terminální nukleotid připojený k cholesterylovému derivátu nebo k bisdecylamidové skupině kyseliny dodekanové, 2'-deoxy-2'-fluor-modifikovaný nukleotid, 2'-deoxy-modifikovaný nukleotid, blokovaný nukleotid, abazický nukleotid, 2'-amino-modifikovaný nukleotid, 2'-alkyl-modifikovaný nukleotid, morfolinonukleotid, fosforamidát a nukleotid obsahující nepřírodní bázi.

11. Kyselina dsRNA podle některého z nároků 1 až 10, kde dsRNA je konjugovaná s ligandem.

12. Farmaceutická kompozice pro inhibici exprese TTR genu obsahující dsRNA podle kteréhokoli z nároků 1 až 11 a farmaceuticky přijatelný nosič.

13. Způsob inhibice exprese TTR v buňce, přičemž tento způsob obsahuje:

(a) uvedení do styku buňky s dsRNA podle kteréhokoli z nároků 1 až 11; a

(b) udržování buňky produkované ve stupni (a) po dobu dostatečnou k dosažení degradace transkriptu mRNA genu TTR, čímž se inhibuje exprese genu TTR v buňce;

s výhradou, že je vyloučen každý způsob ošetření lidského nebo zvířecího těla terapií.

14. Kyselina dsRNA podle kteréhokoli z nároků 1 až 11 pro použití při léčení u člověka poruchy mediované extresí TTR, přičemž

- (a) člověk trpí transtyretinovou amyloidózou; a/nebo
- (b) člověk trpí jaterní poruchou,

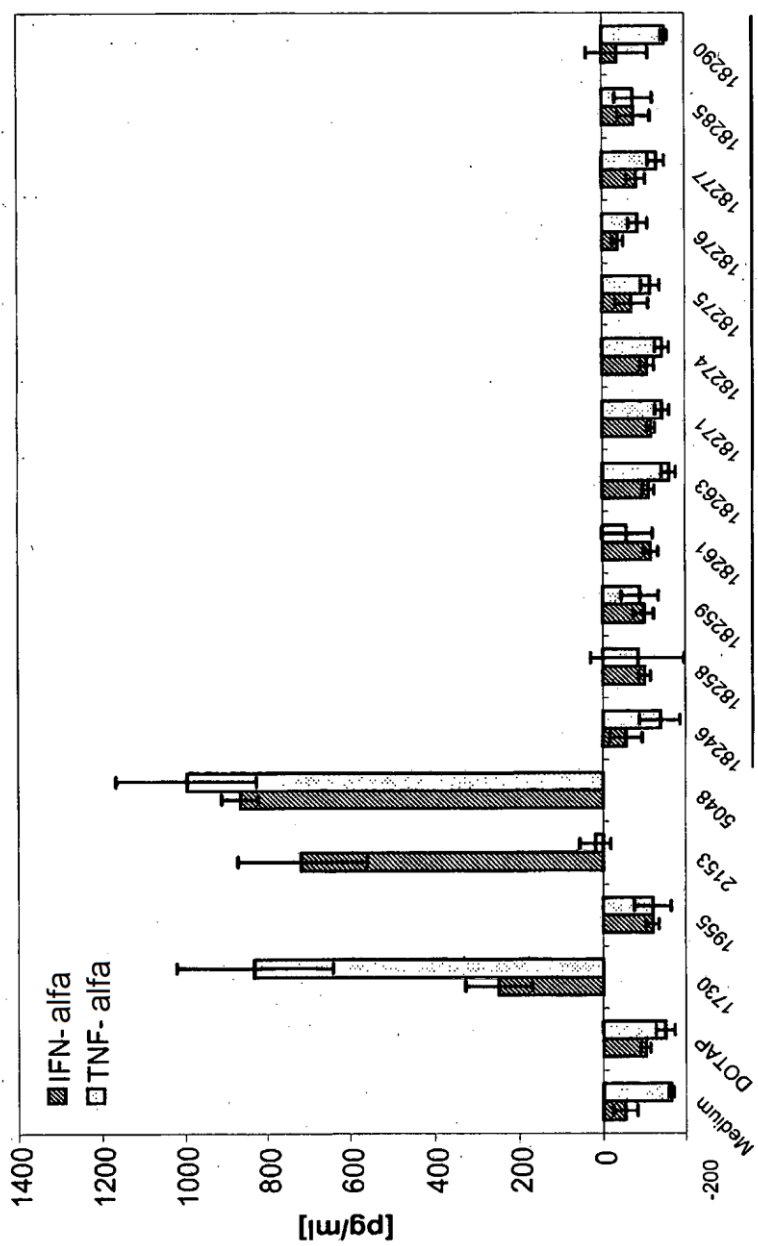
kde uvedená transthyretinová amyloidosa je s výhodou vybrána z familiální amyloidotické polyneuropatie (FAP), familiální amyloidotické kardiomyopatie (FAC), leptomeningeální/CNS amyloidosy, senilní systémové amyloidosy (SSA) a senilní srdeční amyloidosy (SCA).

15. Kyselina dsRNA podle nároku 14, kde uvedená dsNMR má být podána člověku v množství asi 0,01, 0,1, 0,3, 0,4, 0,5, 0,543, 0,59, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 2,5 nebo 5,0 mg/kg.

16. Kyselina dsRNA pro použití podle nároku 14 nebo 15, kdy člověku je dodatečně aplikován terapeutický způsob pro léčení TTR amyloidózy, přičemž tento terapeutický způsob je zvolen ze souboru sestávajícího z podání diuretik, inhibitorů angiotensin-konvertujícího enzymu a blokátorů angiotensinového receptoru nebo aplikace dialýzy a jaterního transplantátu.

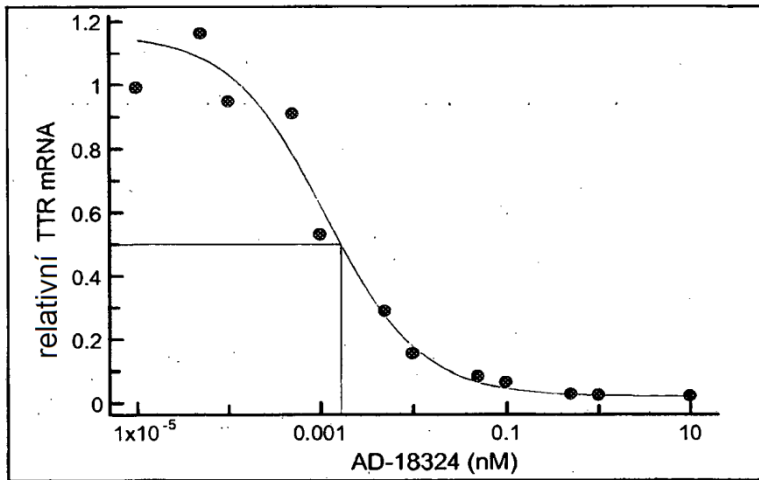
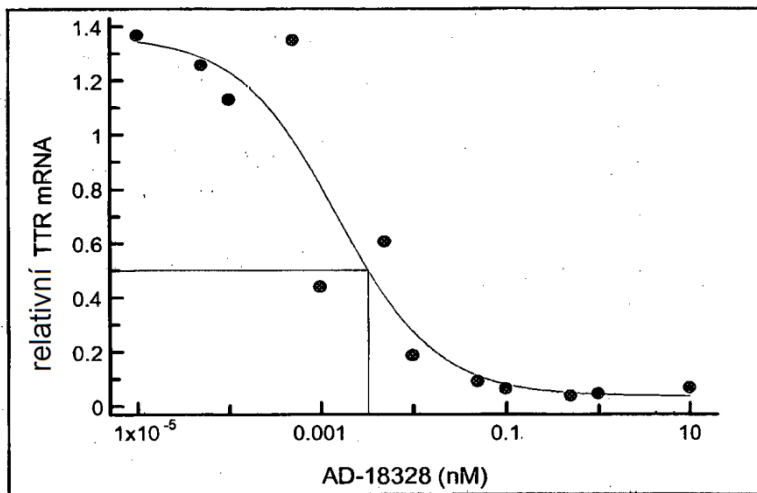
17. Kyselina dsRNA pro použití podle některého z nároků 14 až 16, kde dsRNA se má podávat člověku v ne více než 1, 2, 3 nebo 4 týdenních intervalech.

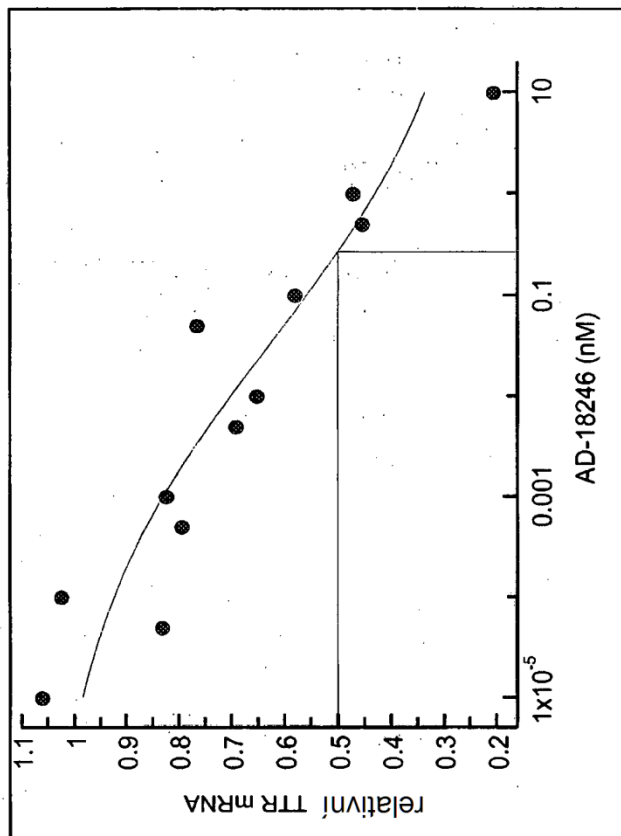
18. Kyselina dsRNA pro použití podle některého z nároků 14 až 17, kde uvedená dsRNA má být podána intravenózně nebo intravenózní infúzí po dobu 15 minut.

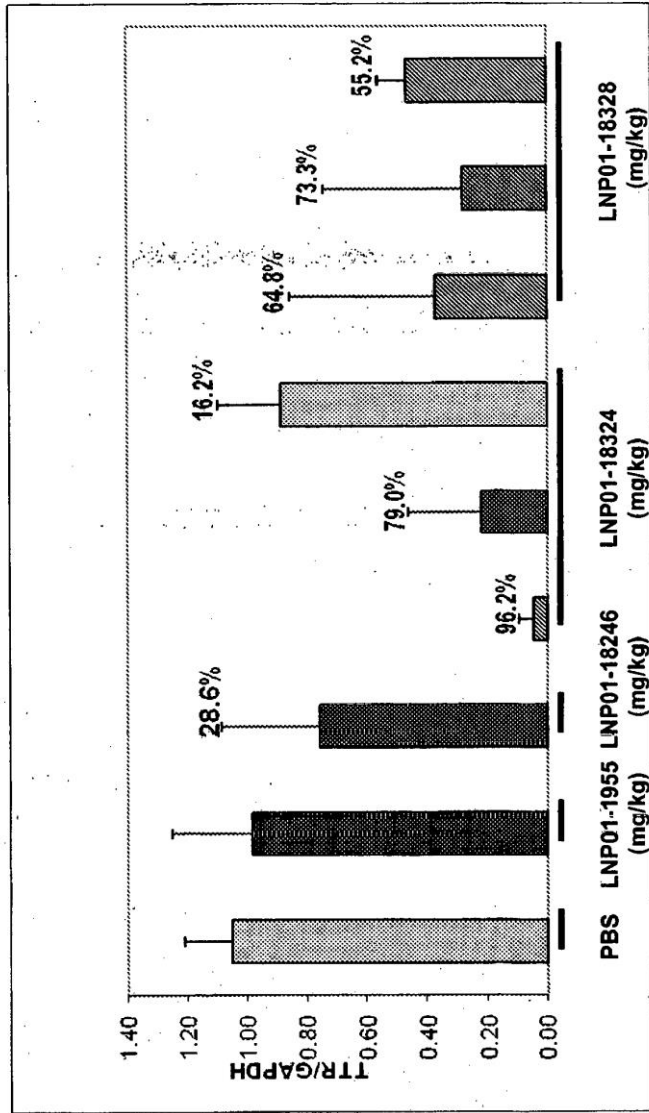


siRNAs - kandidati

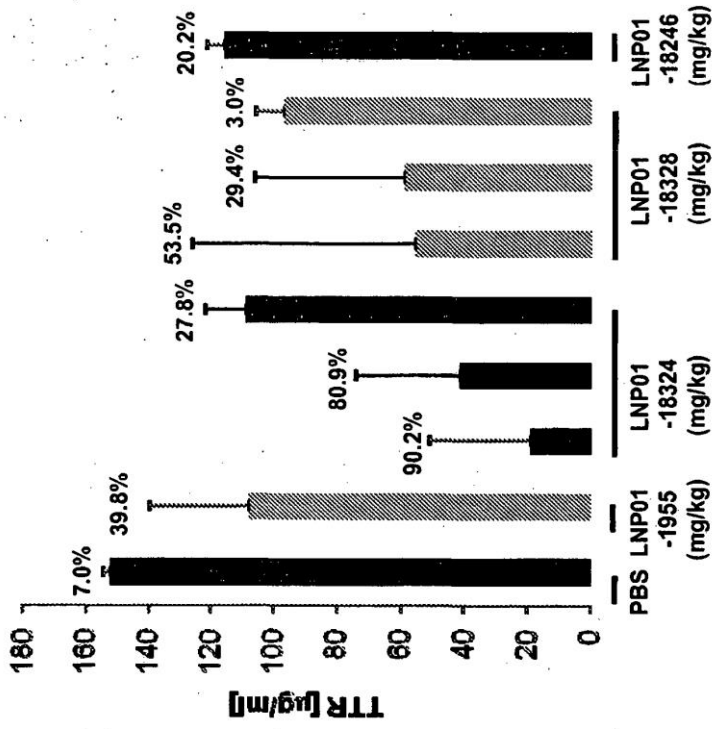
Obr. 1

**Obr. 2A****Obr. 2B**

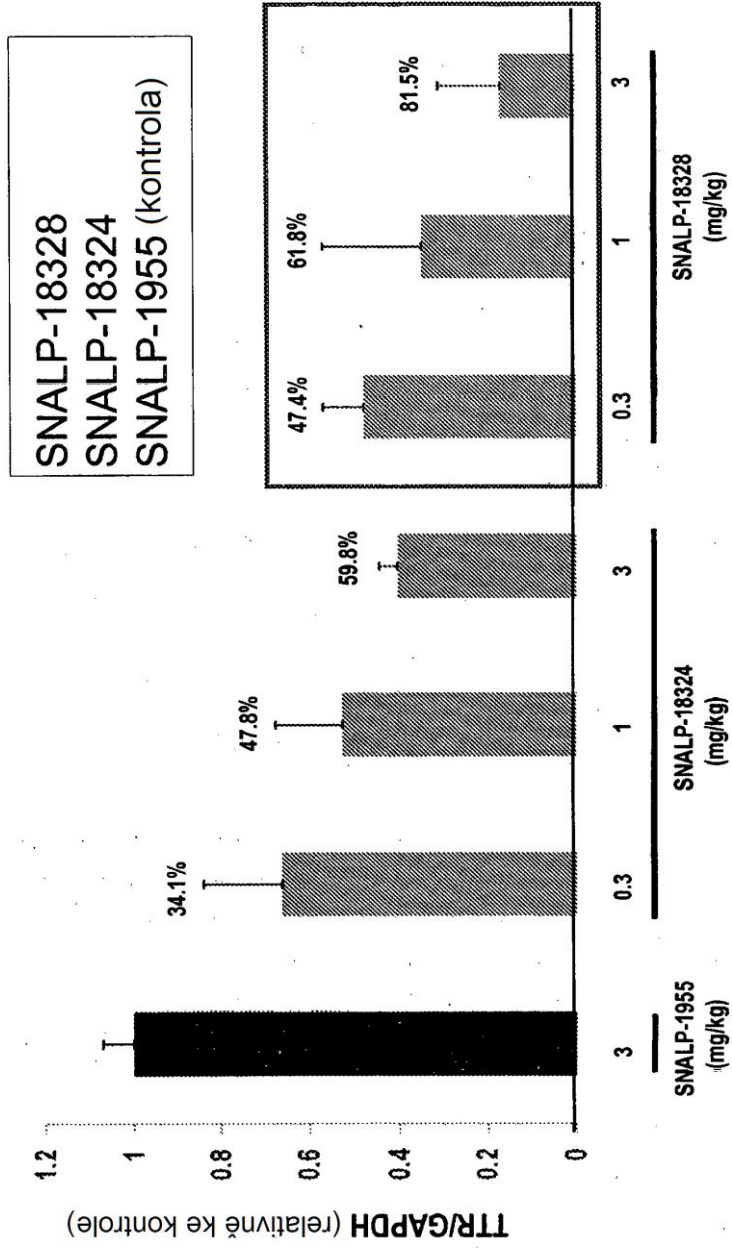
**Obr. 3**



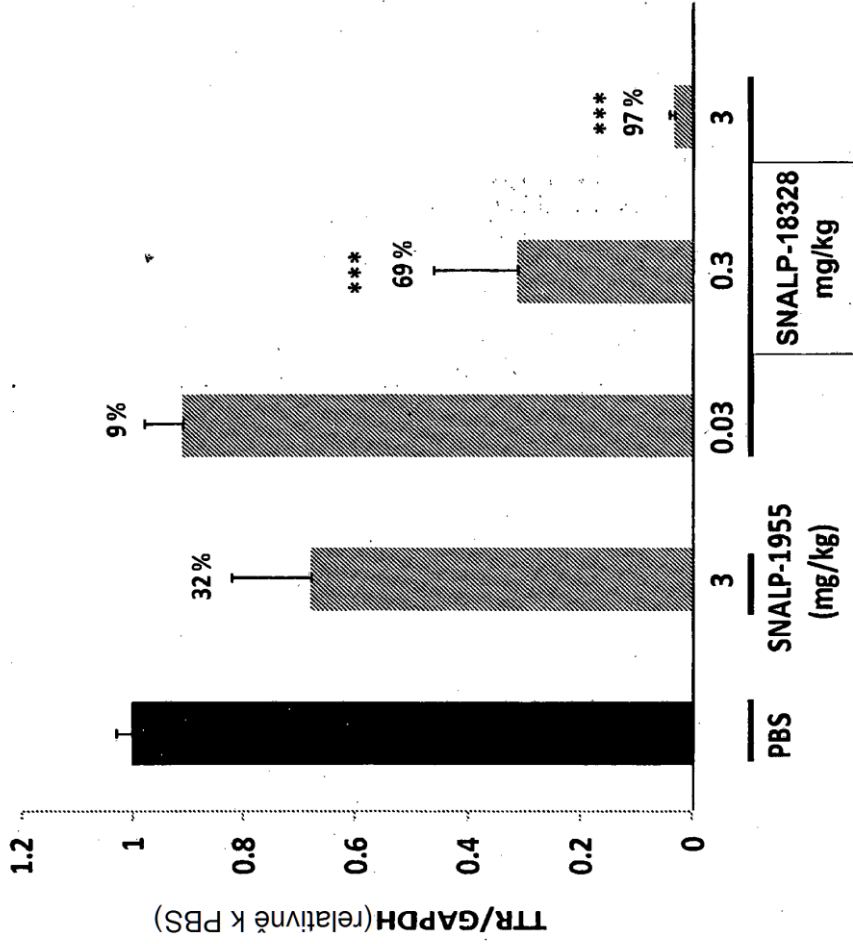
Obr. 4A



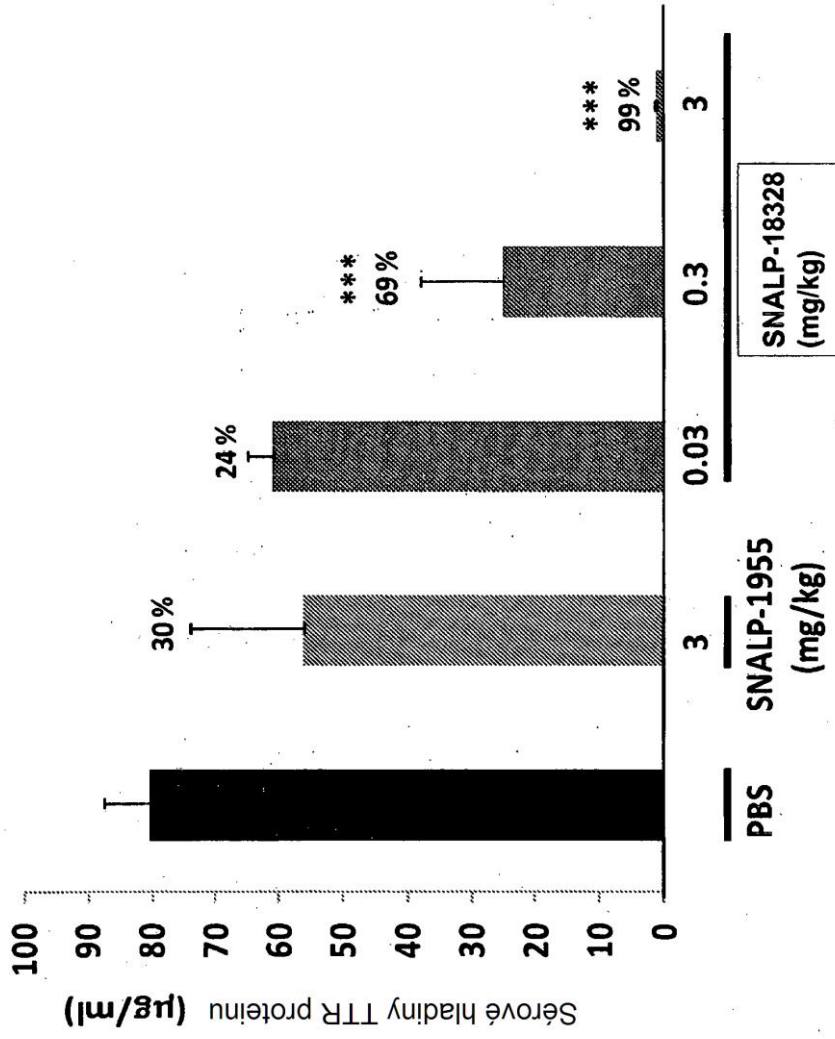
Obr. 4B



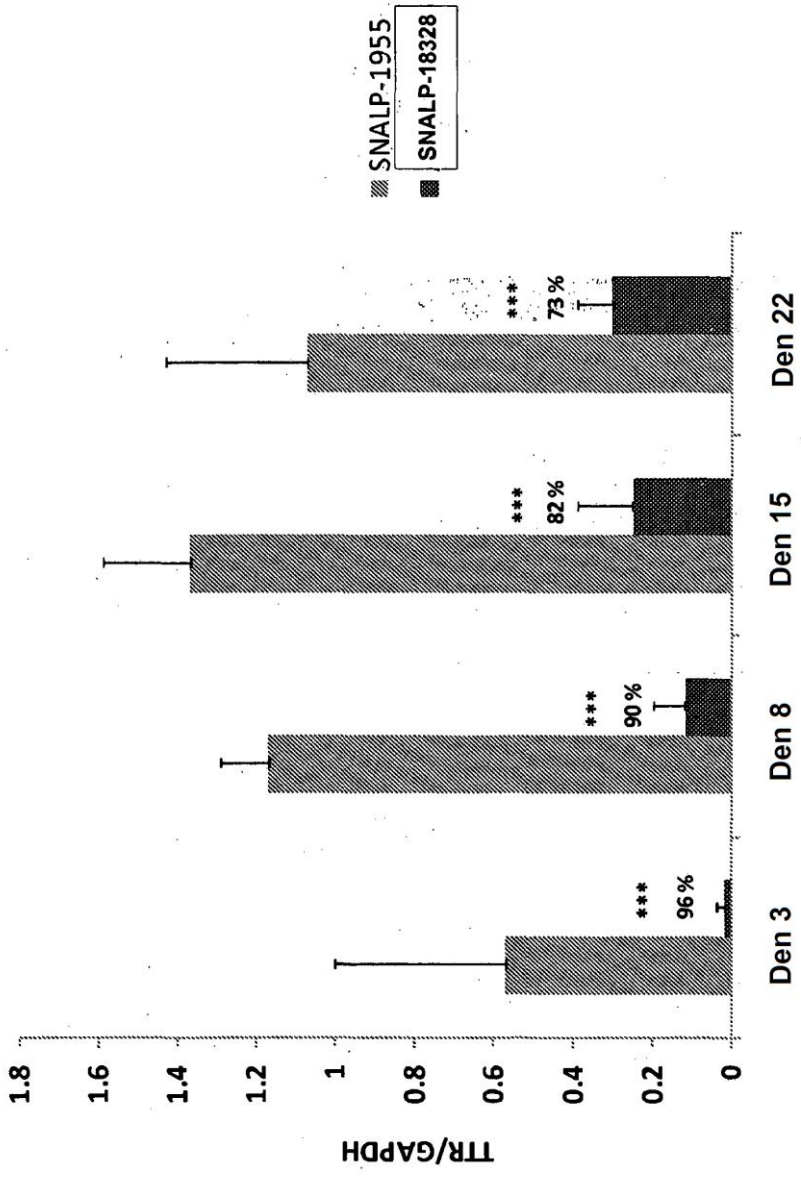
Obr. 5



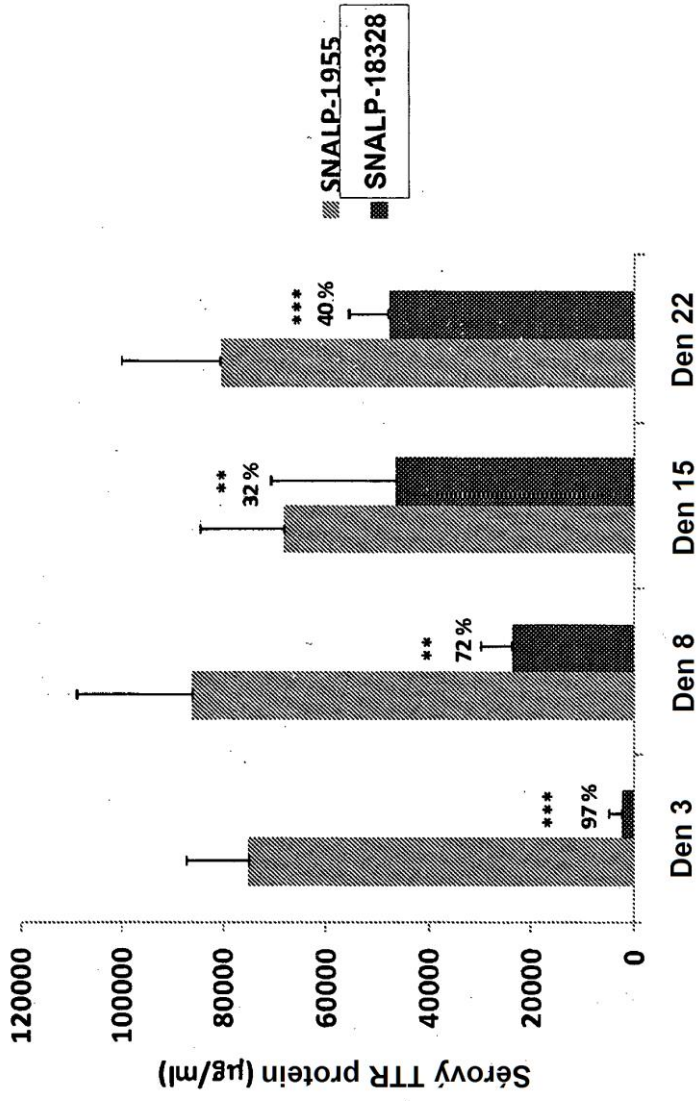
Obr. 6A



Obr. 6B

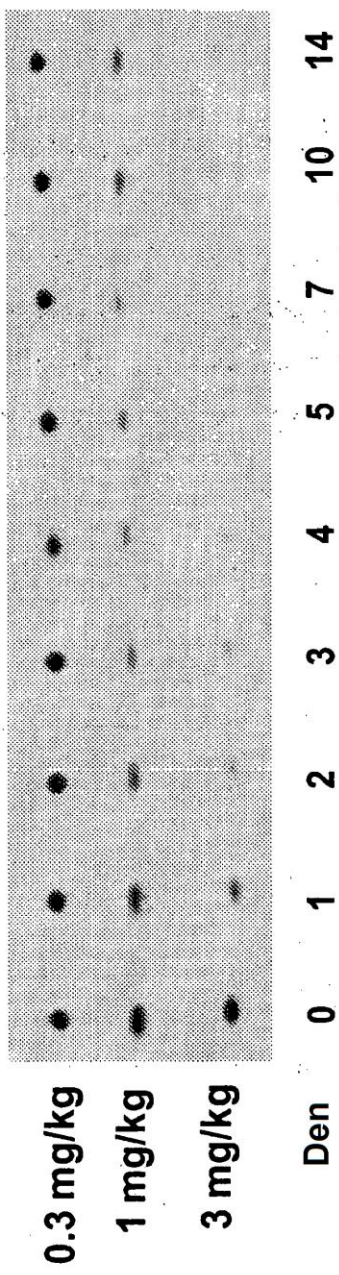


Obr. 7A

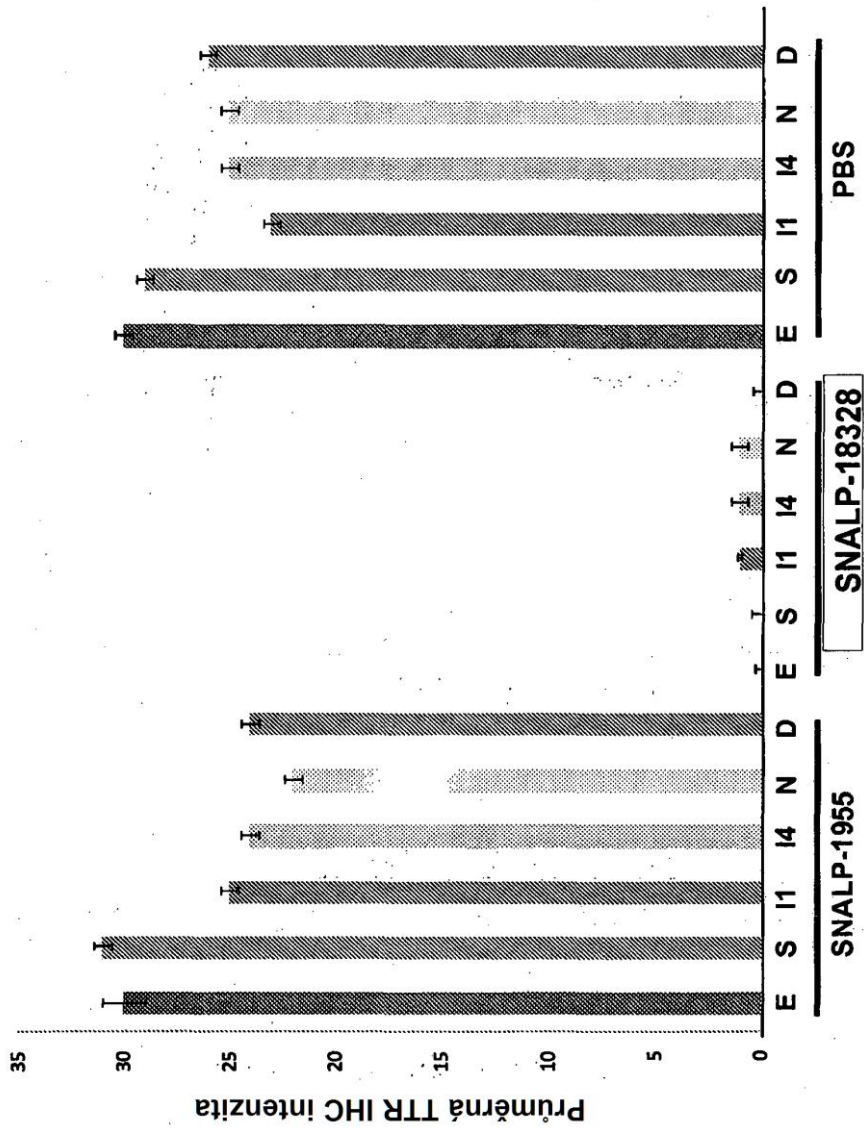


Obr. 7B

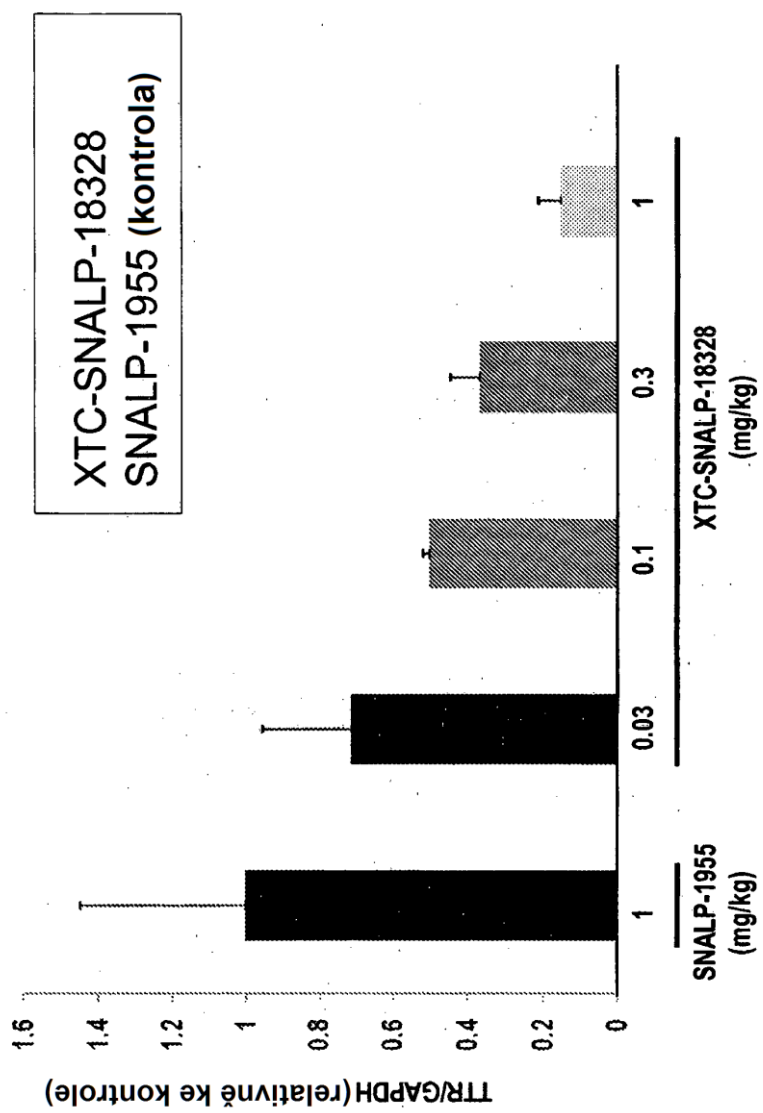
SNALP-18328

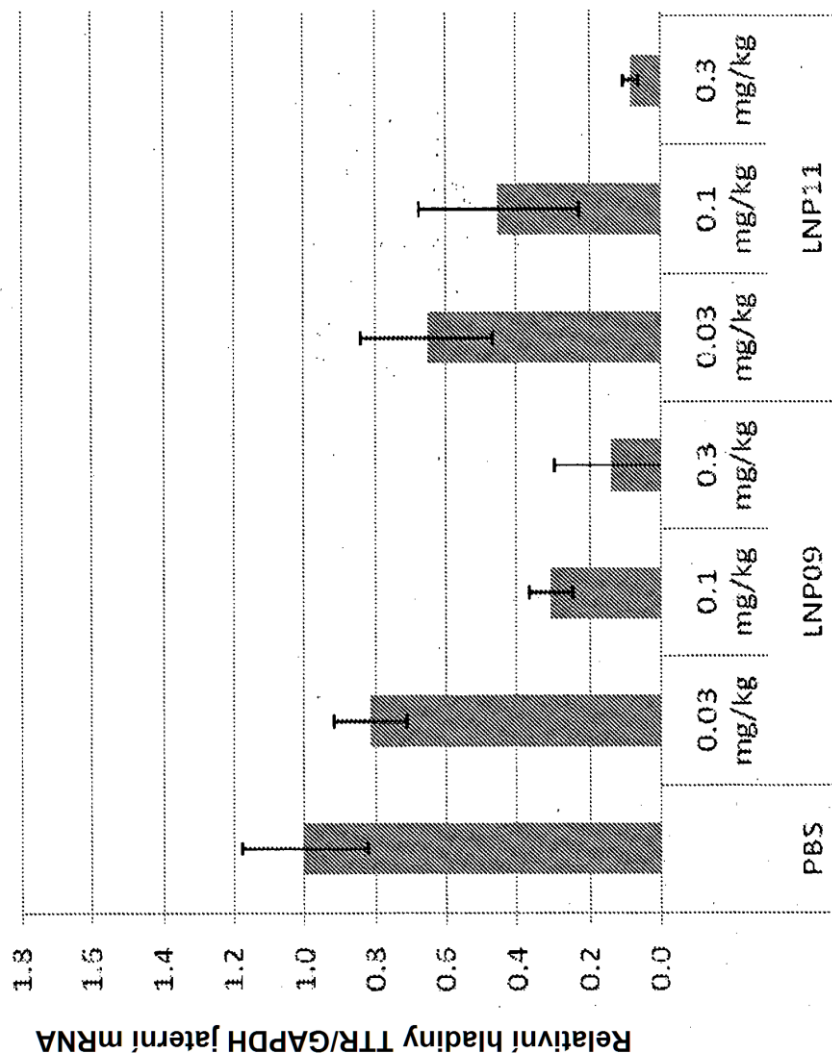


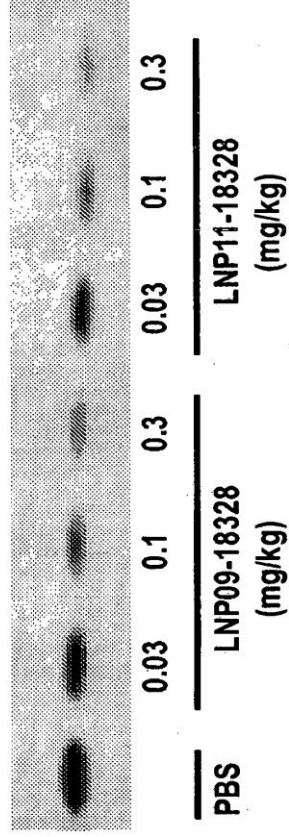
Obr. 9



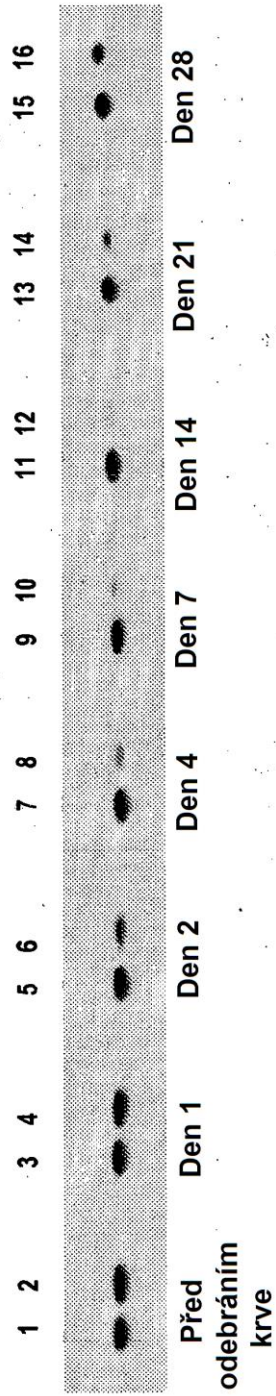
Obr. 9

**Obr. 10**

**Obr. 11A**



Obr. 11B



Pruhy 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 a 15: PBS zvířata
 Pruhy 2, 4, 6, 8, 10, 14 a 16: 0,3 mg/kg LNP09-18328

Obr. 11C

gttgactaag tcaataatca gaatcagcag
gtttgcagtc agattggcag ggataagcag
cctagctcag gagaagtgag tataaaagcc
ccaggctggg agcagccatc acagaagtcc
actcattctt ggcaggatgg cttctcatcg
tctgctcctc ctctgccttg ctggactggg
atttgtgtct gaggctggcc ctacggggcac
cggatgaatcc aagtgtcctc tgatgggcaa
agttctagat gctgtccgag gcagtcctgc
catcaatgtg gccgtgcatg tgttcagaaa
ggctgctgat gacacctggg agccatttgc
ctctgggaaa accagtgagt ctggagagct
gcatgggctc acaactgagg aggaatttgt
agaagggata taciaaagtgg aatagacac
caaatcttac tggaaggcac ttggcatctc
cccattccat gagcatgcag aggtgggtatt
cacagccaac gactccggcc cccgccgcta
caccattgcc gccctgctga gcccctactc
ctattccacc acggctgtcg tcaccaatcc
caaggaatga gggacttctc ctccagtgga
cctgaaggac gagggatggg atttcatgta
accaagagta ttccattttt actaaagcag
tgttttcacc tcatatgcta tgttagaagt
ccaggcagag acaataaaac attcctgtga
aaggcacttt tcattccact ttaacttgat
tttttaaatt cccttattgt cccttccaaa
aaaaagagaa tcaaaaatttt acaaagaatc
aaaggaattc tagaaagtat ctgggcagaa
cgctaggaga gatccaaatt tccattgtct
tgcaagcaaa gcacgtatta aatatgatct
gcagccatta aaaagacaca ttctgtaaaa
aaaaaaaa (SEQ ID NO: 1331)

Obr. 12

Obr. 13A

ACAGAAGTCCACTCATTCTTGGCAGGATGGCTTCTCATCGTCTGCTCCTCCT
CTGCCTTGCTGGACTGGTATTTGTGTCTGAGGCTGGCCCTACGGGCACCGGT
GAATCCAAGTGTCTCTGATGGTCAAAGTTCTAGATGCTGTCCGAGGCAGTC
CTGCCATCAATGTGGCCGTGCATGTGTTTCAGAAAGGCTGCTGATGACACCTG
GGAGCCATTTGCCCTCTGGGAAAACCAGTGAGTCTGGAGAGCTGCATGGGCTC
ACAACTGAGGAGGAATTTGTAGAAGGGATATACAAAGTGGAATAGACACCA
AATCTTACTGGAAGGCACTTGGCATCTCCCCATTCCATGAGCATGCAGAGGT
GGTATTCACAGCCAACGACTCCGGCCCCCGCCGCTACACCATTGCCGCCCTG
CTGAGCCCCTACTCCTATTCCACCACGGCTGTGTCACCAATCCCAAGGAAT
GAGGGACTTCTCTCCAGTGGACCTGAAGGACGAGGGATGGGATTTTCATGTA
ACCAAGAGTATTCCATTTTTACTAAAGCAGTGTTTTTACCTCATATGCTATG
TTAGAAGTCCAGGCAGAGACAATAAAACATTCTGTGAAAGGCACTTTTCAT
TCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA (SEQ ID NO:1329)

Obr. 13B

CCTGACAGGATGGCTTCCCTTCGCCTGTTCCCTCCTCTGCCTCGCTGGACTGA
TATTTGCGTCTGAAGCTGGCCCTGGGGGTGCTGGAGAATCCAAGTGTCTCT
GATGGTCAAAGTCTGGATGCTGTCCGAGGCAGCCCTGCTGTTCGATGTGGCC
GTGAAAGTGTTCAAAAGGACTGCAGACGGAAGCTGGGAGCCGTTTGCCCTCG
GGAAGACCGCCGAGTCTGGAGAGCTGCACGGGCTCACACAGATGAGAAGTT
CACGGAAGGGGTGTACAGGGTAGAACTGGACACCAAAATCATACTGGAAGGCT
CTTGGCATTTCCTCATTCATGAATACGCAGAGGTGGTTTTTACAGCCAATG
ACTCTGGTCATCGCCACTACACCATCGCAGCCCTGCTCAGCCCGTACTCCTA
CAGCACCCTGCTGTGTCAGTAACCCCGAAGTGGAGGACCCAGCCACG
AGGACCAAGATCTTGCCAAAGCAGTAGCTCCCATTTGTAAGTAAACAGTGT
CTTGCTCTATAAACCGTGTAGCAACTCGGGAAGATGCCGTGAAACGTTCTT
ATTAAACCACCTTTATTTTCATTC
(SEQ ID NO:1330)

```

                20      40      60
NM_000371.3  GTTGACTAAGTCAATAATCAGAATCAGCAGGTTTGCAGTCAGATTGGCAGGGATAAGCAGCCTAGCTC 68
NM_000371.2  -----
AD-18328_sense -----

                80      100      120
NM_000371.3  AGGAGAAGTGAATAAAAGCCCCAGGCTGGGAGCAGCCATCACAGAAGTCCACTCATTCTTGGCAGG 136
NM_000371.2  -----ACAGAAGTCCACTCATTCTTGGCAGG 26
AD-18328_sense -----

                140      160      180      200
NM_000371.3  ATGGCTTCTCATCGTCTGCTCCTCCTCTGCCCTTGGCTGGACTGGTATTTGCTCTGAGGCTGGCCCTAC 204
NM_000371.2  ATGGCTTCTCATCGTCTGCTCCTCCTCTGCCCTTGGCTGGACTGGTATTTGCTCTGAGGCTGGCCCTAC 94
AD-18328_sense -----

                220      240      260
NM_000371.3  GGGCACCCGGTGAATCCAAGTGTCTCTGATGGTCAAAGTTCAGATGCTGTCGGAGGCAGTCTCTGCCA 272
NM_000371.2  GGGCACCCGGTGAATCCAAGTGTCTCTGATGGTCAAAGTTCAGATGCTGTCGGAGGCAGTCTCTGCCA 162
AD-18328_sense -----

                280      300      320      340
NM_000371.3  TCAATCTGGCCGTCATGCTCTTCAGAAAAGCTGCTGATGACACCTGGGAGCCATTTGCCCTCTGGGAAA 340
NM_000371.2  TCAATCTGGCCGTCATGCTCTTCAGAAAAGCTGCTGATGACACCTGGGAGCCATTTGCCCTCTGGGAAA 230
AD-18328_sense -----

                360      380      400
NM_000371.3  ACCAGTGAGTCTGGAGAGCTGCATGGGCTCACAACCTGAGCAGGAATTTGTAGAAGGGATATACAAAGT 408
NM_000371.2  ACCAGTGAGTCTGGAGAGCTGCATGGGCTCACAACCTGAGCAGGAATTTGTAGAAGGGATATACAAAGT 298
AD-18328_sense -----

                420      440      460
NM_000371.3  GGAATAGACACCAAATCTTACTGGAAGGCACCTTGGCATCTCCCATTCATGAGCATGCAGAGGTCGG 476
NM_000371.2  GGAATAGACACCAAATCTTACTGGAAGGCACCTTGGCATCTCCCATTCATGAGCATGCAGAGGTCGG 366
AD-18328_sense -----

                480      500      520      540
NM_000371.3  TATTACAGCCAAAGGACTCCGGCCCCCGCCGCTACACCATTGCCGCCCTGCTGAGCCCTACTCTCTAT 544
NM_000371.2  TATTACAGCCAAAGGACTCCGGCCCCCGCCGCTACACCATTGCCGCCCTGCTGAGCCCTACTCTCTAT 434
AD-18328_sense -----

                560      580      600
NM_000371.3  TCCACCACGGCTGTGCTCACCAATCCCAAGGAATGAGGCACTTCTCCTCCAGTGGACCTGAAGGACGA 612
NM_000371.2  TCCACCACGGCTGTGCTCACCAATCCCAAGGAATGAGGCACTTCTCCTCCAGTGGACCTGAAGGACGA 502
AD-18328_sense -----

                620      640      660      680
NM_000371.3  GGGATGGGATTTTCATGTAACCAAGAGTATTCATTTTACTAAAGCAGTCTTTTACCTCATATGCTA 680
NM_000371.2  GGGATGGGATTTTCATGTAACCAAGAGTATTCATTTTACTAAAGCAGTCTTTTACCTCATATGCTA 570
AD-18328_sense -----GTAACCAAGAGTATTCAT-----

                700      720      740
NM_000371.3  TGTTAGAAGTCCAGGCAGAGACAATAAAACATTCCTGTGAAAAGGCACITTTTCATTCCACTTAACTTG 748
NM_000371.2  TGTTAGAAGTCCAGGCAGAGACAATAAAACATTCCTGTGAAAAGGCACITTTTCATTCCA----- 628
AD-18328_sense -----

                760      780      800
NM_000371.3  ATTTTTTAAATTCCTTATTGTCCCTTCCAAAAAAGAGAATCAAATTTTACAAAGAATCAAAGCA 816
NM_000371.2  -----AAAAAAAAA----- 838
AD-18328_sense -----

                820      840
NM_000371.3  ATTTAGAAAAGTATCTGGCCAGAACGCTAGCAGAGATCCAAAATTTCCATTGTCTTGCAAGCAAAGCAC 884
NM_000371.2  ----- 638
AD-18328_sense -----

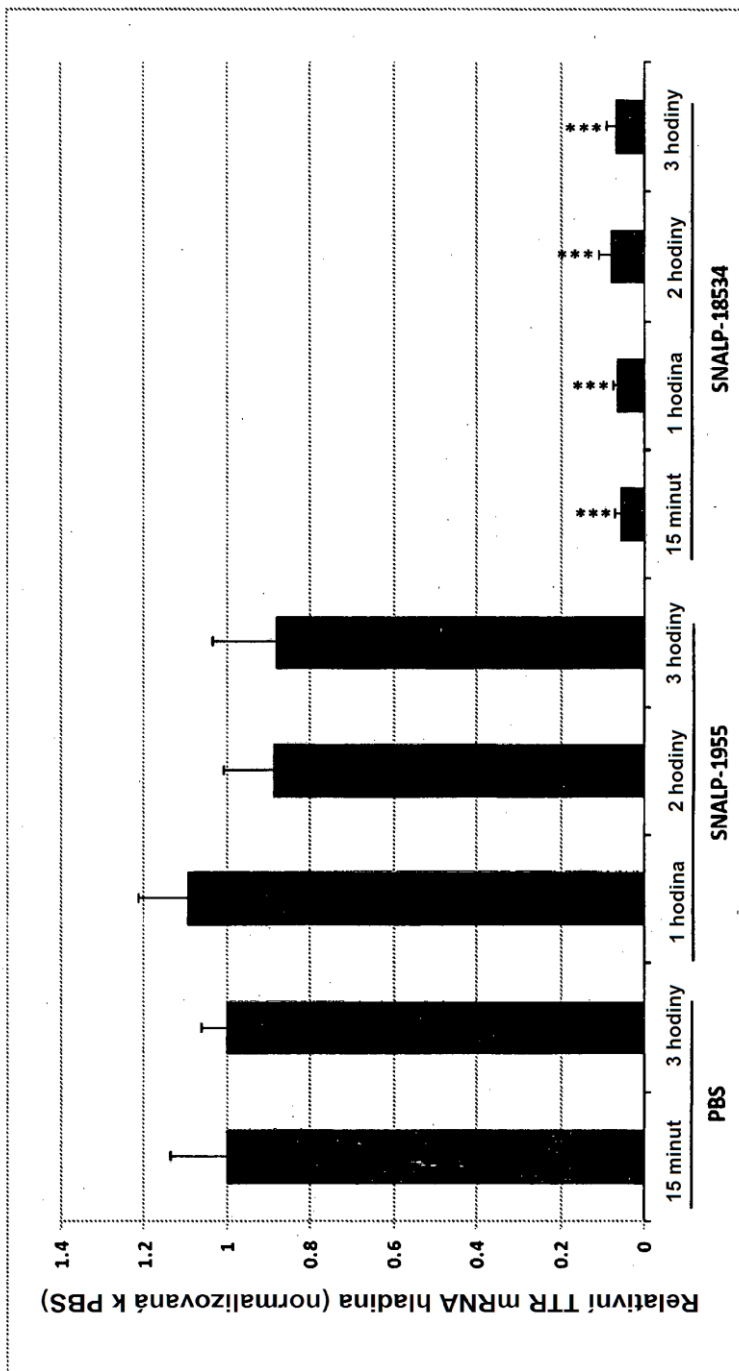
                860      880
NM_000371.3  CTATTAATATGATCTCCAGCCATTA AAAAAGACACATTCTCTAAAAA AAAAAA 938
NM_000371.2  -----AAAAAAAAA 650
AD-18328_sense -----

```

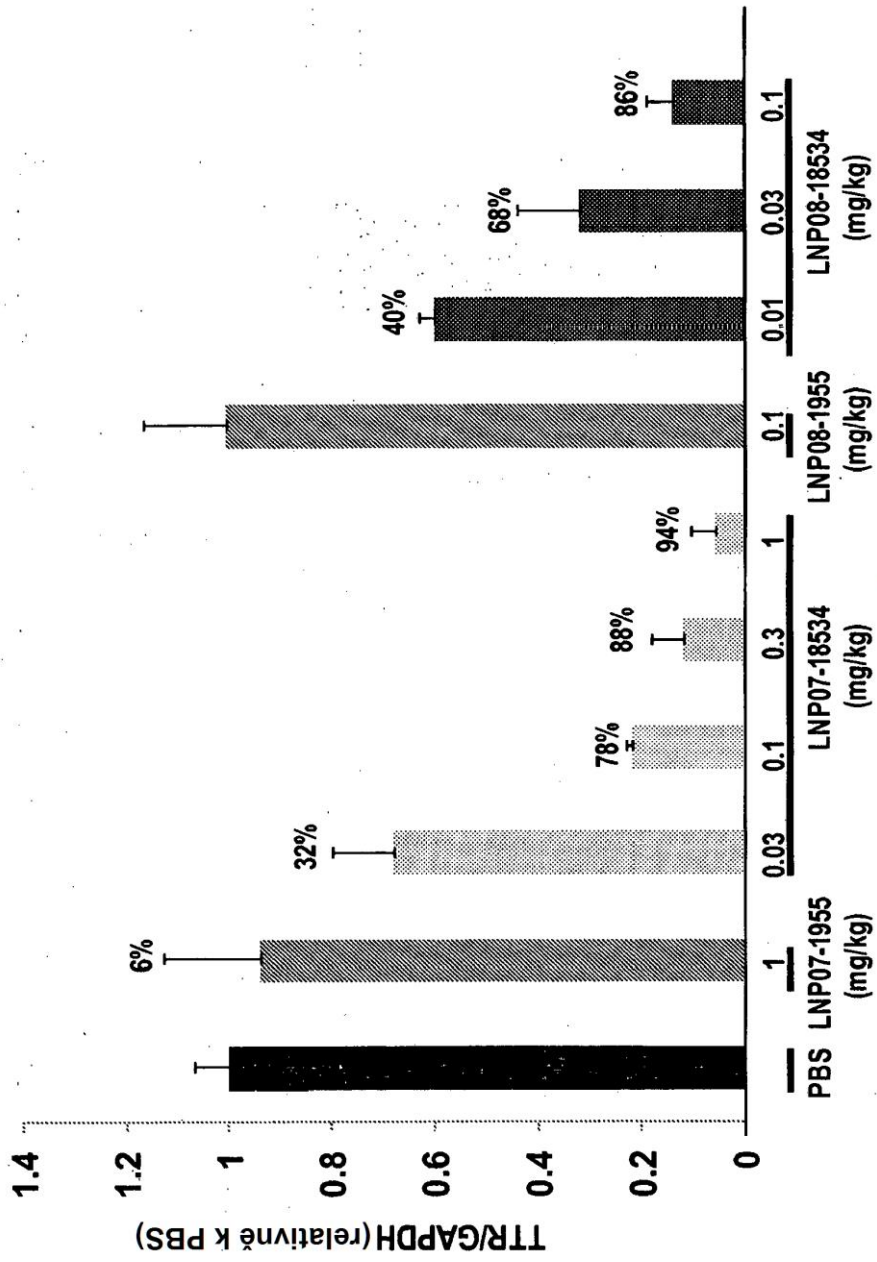
Obr. 14

Fenotyp	Znaky	Genotypy (související s mutací v TTR)
Familiální amyloidní neuropathie (FAP)	<p>Rané: Impotence Senzomotorická polyneuropatie nohou Syndrom karpálního tunelu Autonomní dysfunkce Zácpa/průjem</p> <p>Pozdní: Kardiomyopatie Opacita sklivce Nefropatie</p>	<p>V28M L58H V30M L58R K70N Y78F I84S Y114H V30A K35N G47V S50R T60A Y114C</p>
Familiální amyloidní kardiopatie (FAC)	<p>Kardiomegalie Městnavé srdeční selhání Kondukční anomálie Arytmie Angína Náhlé úmrtí</p>	<p>D18N D18E V20I P24S E42D A45T T49P S50I H56R I68L A81T Q92K R103S L111M V122I T60A</p>
CNS amyloidóza (CNSA)	Demence, ataxie, spasticita, záchvaty, hemoragie (intracerebelární a/nebo subarachnoidní), psychóza, hydrocefalus	<p>L12P D18G A25T V30G A36P G53E F64S Y69H Y114C</p>

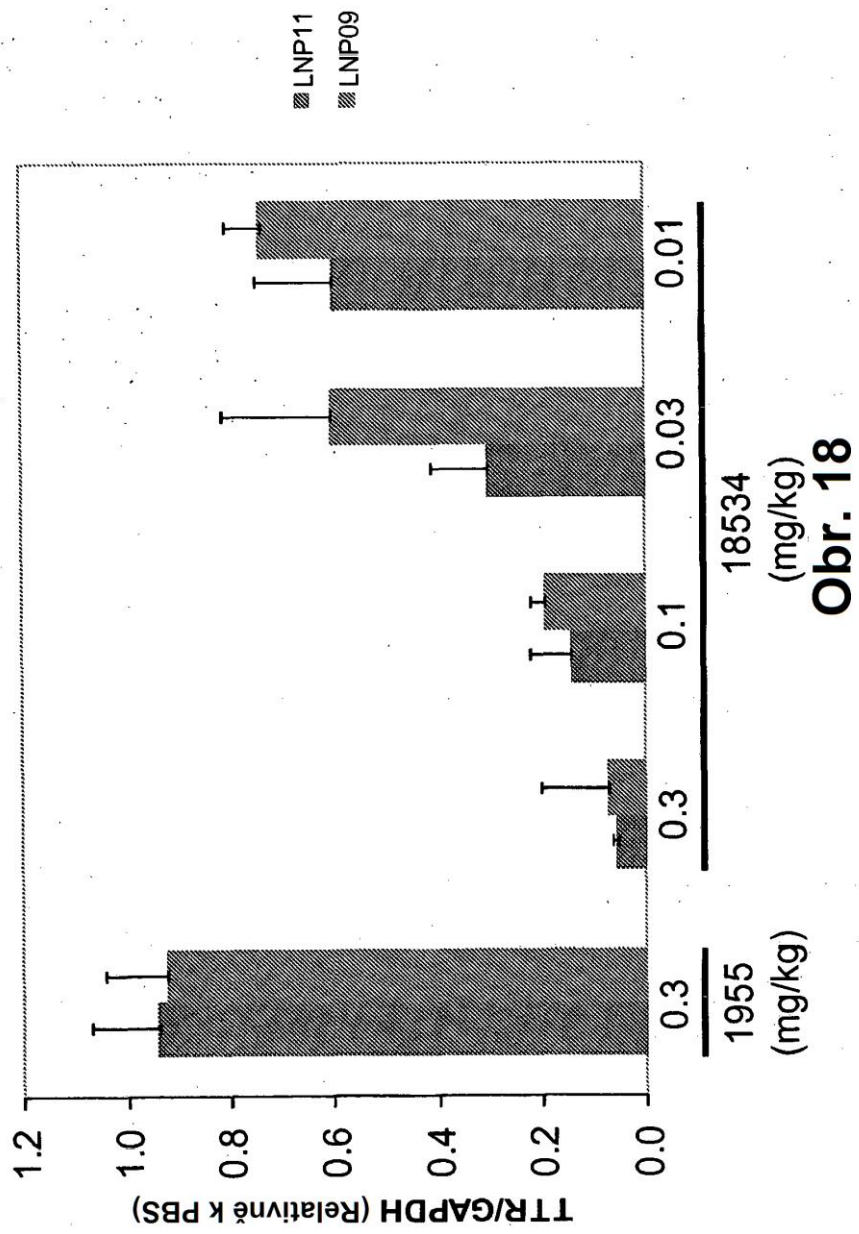
Obr. 15



Obr. 16



Obr. 17

**Obř. 18**