

## 1. PŘÍLOHY

**Tabulka 3** – Důležité informace o různých typech plastiků na kultivaci buněk

Plastik	S [cm <sup>2</sup> ]	V <sub>kultivačního média</sub> [ml]	Průměrný počet buněk při 100 % konfluenci	V <sub>lyzačního pufru</sub> [μl]
10 cm miska	55	10	8,8 x 10 <sup>6</sup>	1000
6 cm miska	21	5	3,2 x 10 <sup>6</sup>	800
6-jamková destička	9	3	1,2 x 10 <sup>6</sup>	400
12-jamková destička	4	1,5	0,4 x 10 <sup>6</sup>	200
24-jamková destička	2	0,5	0,2 x 10 <sup>6</sup>	100

**Tabulka 4** – Objemy jednotlivých složek separačního a zaostřovacího gelu pro SDS elektroforézu (uváděno pro 1 gel)

Separační gel		Zaostřovací gel	
H <sub>2</sub> O	4,17 ml	H <sub>2</sub> O	3,10 ml
Protogel (30% AA / 0,8 % BIS)	3,33 ml	Protogel (30% AA / 0,8 % BIS)	0,65 ml
4x Tris, SDS (pH=8,8)	2,50 ml	4x Tris, SDS (pH=6,8)	1,25 ml
TEMED	6,7 μl	TEMED	5,0 μl
APS	33,0 μl	APS	25,0 μl

**Tabulka 5** – Objemy jednotlivých složek pro buněčnou transfekci

6 cm plastik	médium [μl]	PEI [μl]	shRNA [μl]	Pakážovací plazmidy [μl]
HEK 293	800	5	2,75	psPAX2 / VSVG 1,65 pMD2G / ΔRB2 1,1
Phoenix	800	6,25	6,25	---

**Tabulka 6** – Objemy jednotlivých složek pro siRNA transfekci (převzato z manuálu SignaGen Laboratories)

<b>Plastik</b>	<b>V<sub>kultivačního média</sub></b> <b>[ml]</b>	<b>V<sub>transfekčního pufru</sub></b> <b>[μl]</b>	<b>V<sub>siRNA</sub> [μl]</b>	<b>V<sub>transfekčního činidla GenMute</sub> [μl]</b>
10 cm miska	10	800	40	33
6 cm miska	5	300	15	12
6-jamková destička	3	100	5	4
12-jamková destička	1,5	75	3,75	3,3
24-jamková destička	0,5	50	2,5	2

## Seznam shRNA sekvencí

### IRF9

- Top strand

5' TCGA GAAGGTATATTGCTGTTGACAGTGAGCG AGCACACACTGGCTGGTGG  
AGATAGTGAAGCCACAGATGTATCTCCACCAGCCAGTGTGTGCGTGCCTACTG  
CCTGG 3'

- Bottom strand

3' AATTCGAGGCAGTAGGCACGCACACACTGGCTGGTGGAGATACATCTGTG  
GCTTCACTATCTCCACCAGCCAGTGTGTGCTCGCTCACTGTCAACAGCAATAT  
ACCTTC 5'

### IRF9\_1

- Top Strand

5' TCGA GAAGGTATATTGCTGTTGACAGTGAGCG AACTCAACAAGAGTTCTGA  
ATTAGTGAAGCCACAGATGTAAATTCAGAACTCTTGTTGAGTGTGCCTACTG  
CCTCGG 3'

- Bottom strand

3' AATTCCGAGGCAGTAGGCACACTCAACAAGAGTTCTGAATTTACATCTGTG  
GCTTCACTAAATTCAGAACTCTTGTGAGTTCGCTCACTGTCAACAGCAATAT  
ACCTTC 5'

## IRF9\_2

- Top strand

5' TCGAGAAGGTATATTGCTGTTGACAGTGAGCGCCCTGTCCTCTTTGTGATAA  
TTAGTGAAGCCACAGATGTAAATTATCACAAAGAGGACAGGTTGCCTACTGC  
CTCGG 3'

- Bottom strand

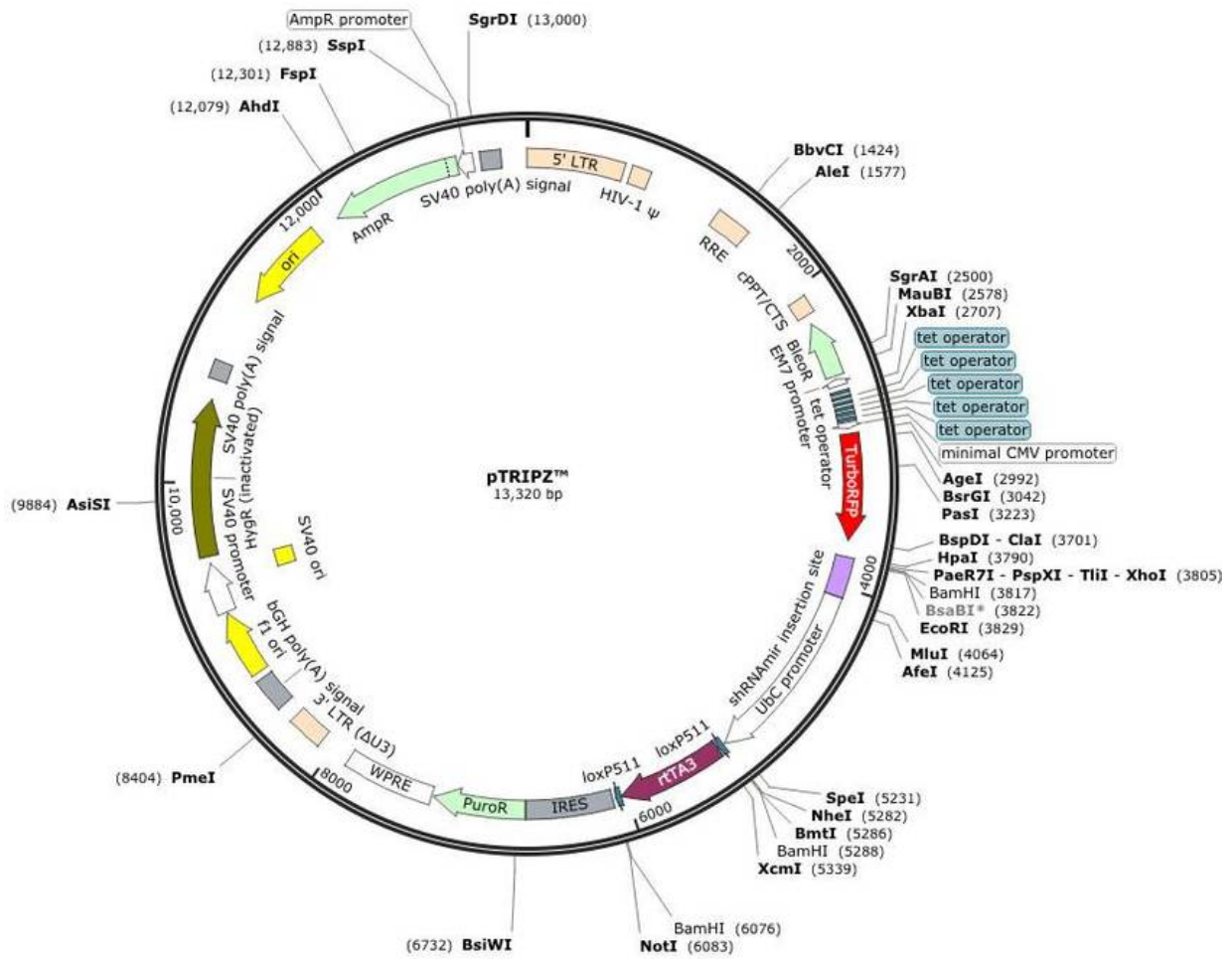
3' AATTCCGAGGCAGTAGGCCAACCTGTCCTCTTTGTGATAATTTACATCTGTGG  
CTTCACTAAATTATCACAAAGAGGACAGGGCGCTCACTGTCAACAGCAATAT  
ACCTTC 5'

Tabulka 7 – Seznam primerů pro qPCR

Geny	Forward primer	Reverse primer
STAT1	CTGAATTTCCGGCACCTGCAAT	GCTCTTCAGTAACGATGAGAGGA
STAT2	GGGACTTTGGTTACCTGACTCT	CAGTTCCTCTGTACACCTAGT
STAT3	AGTGTGCATTGACAAAGACTCT G	CGTTGTTGGATTCTTCCATGTTC
IRF9	AGCTCTTCAGAACCGCCTAC	CAGTGTTACCTGGAACCTTCGGT
GAPDH	GCATGGACTGTGGTCATGAG	CTGCACCACCAACTGCTTAG
EIF4H	CCTTCTGGCTACGGGAACCAT	CTTCGACACCTACGACGATCG

## Vektory pro tvorbu stabilních linií

- Pro tvorbu stabilních linií s inducibilním snížením exprese IRF9 byl využit p-tripz systém
  - Použité restrikční enzymy: Xho1, EcoR1



- Pro tvorbu stabilních linií s inducibilní expresí proteinů SOCS1 a SOCS3 byl využit lentivirový systém
  - Použité restrikční enzymy: MluI, BamHI

