

**Univerzita Karlova v Praze**

**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

**Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv**

Obor: Zdravotní laborant

**Přehled terapeutik na bázi syntetických  
analogů nukleových kyselin I**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**Vypracoval:** David Petrásek

**Vedoucí:** Doc. PharmDr. Miroslav Miletín, Ph.D.

2016

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně. Veškeré použité podklady, ze kterých jsem čerpal informace, jsou uvedeny v seznamu použitých zdrojů a citovány v textu podle normy ČSN ISO 690.

V Hradci Králové dne 26. 9. 2016

.....

David Petrásek

## **Poděkování**

Děkuji Doc. PharmDr. Miroslavovi Miletínovi, Ph.D. za odborné vedení práce, poskytnuté materiály, věcné připomínky a vstřícnost při konzultacích při vypracovávání bakalářské práce.

## **Abstrakt**

Tato rešeršní práce shrnuje informace týkající se syntetických oligonukleotidů, používaných nebo vyvíjených jako terapeutika. Jsou popsány možné chemické modifikace oligonukleotidů, dále je uveden historický vývoj jejich syntézy se zaměřením na fosforamiditovou metodu. Druhá část práce se zabývá problematikou transportu terapeutik na bázi oligonukleotidů a mechanismy jejich fungování na genové úrovni. Závěr práce zahrnuje detailní rozbor několika terapeutik s přehledným seznamem.

## **Abstract**

This review summarizes information regarding synthetic oligonucleotides, used or developed as therapeutics. Possible chemical modifications of oligonucleotides are described, further a historical development of their synthesis with a focus on the phosphoramidite method is discussed. Second half of the work deals with the issue of transporting oligonucleotide based therapeutics and mechanisms of their action at the gene level. Finally, the work includes a detailed analysis of several therapeutics with a clear list.

## **Klíčová slova**

Oligonukleotidy, fosforamiditová metoda, syntetické nukleové kyseliny, antisense, antigene, fosforothioáty, aptamery

## **Keywords**

Oligonucleotides, phosphoramidite method, synthetic nucleic acids, antisense, antigene, phosphorothioates, aptamers

# Obsah

1. ÚVOD	
1.1 Genová terapie.....	7
1.2 Oligonukleotidy.....	10
2. MODIFIKACE	
2.1.1 Fosforothioátové oligonukleotidy.....	13
2.1.2 Methylfosfonátové oligonukleotidy.....	14
2.1.3 Cyklické oligonukleotidy.....	15
Pseudo-cyklické oligonukleotidy.....	16
2.2.1 Smíšené (chimérní) řetězce.....	16
2.2.2 Uzamčené nukleové kyseliny.....	18
2.2.3 Odemčené nukleové kyseliny.....	19
2.2.4 Přemostěné nukleové kyseliny.....	19
2',4'-BNA <sup>NC</sup> (2'-O,4'-aminomethylen BNA).....	20
2.2.5 2'-O-(2-methoxyethyl) oligodeoxyribonukleotidy.....	21
2.2.6 Kombinace modifikace fosfátové vazby a modifikace na cukru.....	22
DNA/LNA-methylfosfonátové řetězce.....	22
2.3.1 Peptidové nukleové kyseliny.....	22
2.3.2 Morfolinové oligonukleotidy.....	24
2.3.3 Kationické oligonukleotidy.....	25
Kationické fosforothioáty.....	25
3. VÝROBA	
3.1 Ideální délka oligonukleotidu.....	27
3.2.1 H-fosfonátová metoda.....	28
3.2.2 Fosfodiesterová metoda.....	28
3.2.3 Fosfotriesterová metoda.....	29
3.2.4 Fosfit-triesterová metoda.....	30
3.3.1 Fosforamiditová metoda.....	31
Přípravná fáze syntézy.....	32
Jednotlivé kroky syntézy.....	32
Post-syntetické zpracování.....	34
3.3.2 Enzymatická syntéza.....	34
4. PRIPCIPIY FUNGOVÁNÍ GENOVÉ TERAPIE ZPROSTŘEDKOVANÉ OLIGONUKLEOTIDY	
4.1 Antigene.....	36
4.1.1 Antigene RNA.....	38
4.1.2 Antigene PNA.....	38
4.2 Antisense.....	39
4.2.1 Gapmer oligonukleotidy.....	41
4.2.2 Interference ribonukleových kyselin.....	41
Small interfering RNA.....	42
4.2.3 microRNA.....	43
4.2.4 Ribozymy.....	45

4.2.5 Ribopřepínače (Riboswitch).....	46
4.2.6 Aptamery.....	47
5. TRANSPORT	
5.1 Molekulární konjugáty jako transportéry.....	49
5.1.1 Konjugáty se sacharidy.....	50
5.1.2 Lipidové konjugáty.....	50
5.1.3 Konjugáty s malými molekulami.....	51
5.1.4 Peptidové konjugáty.....	51
Na buňku zacílené peptidy.....	51
Do buňky pronikající peptidy.....	51
5.1.5 Konjugáty na bázi protilátek.....	52
5.1.6 Konjugáty s aptamery.....	52
5.1.7 Konjugáty s CpG.....	53
5.2 Nosiče jako transportéry.....	53
5.2.1 Polymerové nosiče.....	53
5.2.2 Proteinové nosiče.....	54
Lidský sérový albumin.....	54
Protamin.....	54
5.2.3 DNA nanočásticové nosiče.....	55
5.2.4 Anorganické nanočásticové nosiče.....	55
6. CELKOVÝ PŘEHLED TERAPEUTIK	
6.1 Přehled antisense terapeutik v klinických testech.....	57
6.2 Přehled siRNA terapeutik v klinických testech.....	59
6.3 Přehled miRNA terapeutik v klinických testech.....	64
7. ANTISENSE OLIGONUKLEOTIDY V NEJPOKROČILEJŠÍCH FÁZÍCH KLINICKÝCH TESTŮ	
7.1 Eteplirsén.....	65
7.2 Custirsén.....	67
8. OLIGONUKLEOTIDY UVEDENÉ NA TRH	
8.1 Fomivirsén (Vitravene).....	69
8.2 Pegaptanib (Macugen).....	70
8.3 Mipomersén (Kynamro).....	73
Seznam použitých zkratk.....	75
Seznam použitých zdrojů.....	77

# 1. Úvod

## 1.1 Genová terapie

Geny jsou funkční jednotky dědičnosti. Jsou to oblasti v genomu kódující proteiny. Pokud se charakter genu odchyluje více či méně od normy, může nastat patologický stav. Genová terapie má za cíl opravit defektní geny, které způsobují dané onemocnění, nebo blokovat realizaci nežádoucí genetické informace.

Genové terapii předchází detailní znalosti daného onemocnění. Musí být identifikován vadný gen. Jeho funkční analog musí být k dispozici. Musí být známy konkrétní buňky, ke kterým se terapie vztahuje a musí být dosažitelné. Metody pro vpravení na cílové místo musí být známy.

### Rozdělení genové terapie:

I. Podle způsobu, resp. místa provádění:

- A. in vivo
- B. ex vivo

II. Podle typu ovlivněných buněk:

- A. GT somatických buněk
- B. GT zárodečných buněk

III. Podle způsobu ovlivnění genetické informace

- A. Vnesení nové genetické informace (Vector Mediated GT, VMGT, vektory zprostředkovaná GT)
- B. Blokování exprese genetické informace (Oligonucleotide Mediated GT, OMGT, oligonukleotidy zprostředkovaná GT)
- C. Genová (genetická) imunizace

Ad II. Podle typu ovlivněných buněk je možné genovou terapii dělit na:

- A) Terapie zárodečných buněk. Smyslem tohoto přístupu je vymýtí geneticky přenosné choroby. Ještě před započetím jedince se provede zákrok v rámci genomu pohlavních buněk. Začleněním fungujících genů do genomu se u dospělého jedince i jeho potomků zabrání rozvoji onemocnění. Tento koncept z etických a technických důvodů zůstává, pokud se týče

lidského genomu, pouze v hypotetické rovině.<sup>1</sup>

- B) Terapie somatických buněk. Jedná se o transfer genů do již diferencovaných buněk. Jakékoliv následky tohoto typu terapie se váží pouze k danému pacientovi a není tudíž možné předávat takto změněný genom dalším potomkům. Toto je současně povolená a rutinně prováděná operace.<sup>2</sup>

Základní přístupy modifikace genů:

1. Fungující gen se vkládá do genomu do nespécifikované oblasti tak, aby nahradil nefunkční gen (nejběžnější).
2. “Vypínání či zapínání” genů. Jde o kontrolu míry exprese genu.
3. Abnormální gen může být vyměněn za normální gen homologní rekombinací.
4. Oprava nefunkčního genu selektivní obrácenou mutací.<sup>3-4</sup>

Nejnáročnější krok celé terapie spočívá v doručení genu do dané lokality v buňce. Řešení se vyhledává použitím vektorů, které slouží jako nosiče.<sup>5</sup> Tyto nosiče se volí tak, aby byly schopny efektivně doručit jeden nebo více genů o požadovaných velikostech. Nosiče musejí být specifické a minimálně toxické pro organismus a pro okolní prostředí.

Ad III. Podle způsobu ovlivnění genetické informace je možné genovou terapii dělit na:

- A) Vektory zprostředkovanou genovou terapii. Existují virové vektory, které vstupují a ty které nevstupují do buněk - přičemž oba typy doručují gen nebo geny do genomu. Viry jsou běžné patogeny, které uskutečňují svou replikaci skrze organizmy. Pokud se virová sekvence obmění sekvencí potřebnou pro opravu či náhradu genů, je pak možné využít patogen pro potřebný účel.<sup>6</sup> Pro uskutečnění se používají: retroviry, adenoviry, adeno-asociované viry a HSV. Jsou dva způsoby doručení vektorů. Prvním je smísení vektorů, do kterých byl naklonován fungující gen, s extrahovanými buňkami pacienta. Buňky s transfektovanými vektory jsou navráceny do pacienta. Druhým způsobem je prostá injekce upravených vektorů do oběhu pacienta.<sup>7</sup>
- B) Oligonukleotidy zprostředkovanou genovou terapii. Nejjednodušší způsob provedení OMGT spočívá v přímé aplikaci modifikovaných oligonukleotidů (dále jen ON) či oligonukleotidů



bez modifikace.<sup>8</sup> Příslušná modifikace umožňuje oligonukleotidům “přežít” transport k buňce, proniknout na cílové místo a propůjčuje jim vlastnosti, díky kterým se uskuteční interakce s cílovou strukturou. K transportu oligonukleotidů se používá lipoplexů (složených z neutrálních a záporně nabitých lipidů) či polyplexů (komplex polymerů s DNA) a dalších.<sup>10</sup> Momentálně nejvhodnější cesta k překonání buněčné membrány vede skrz internalizaci oligonukleotidů receptory na povrchu dané buňky. K tomu se využívá oligonukleotidů konjugovaných s proteiny či lipozomy nebo s kombinací obou.<sup>9</sup>

- C) Genetickou imunizaci, která se používá v případě, kdy běžná vakcína nepostačuje. Princiálně jde to vpravení umělé DNA nesoucí kód antigenního proteinu patogenu. Po expresi patogenního kódu je výsledný protein rozpoznáván imunitním systémem, který proti němu začne vytvářet protilátky. Teoreticky je možné vyrobit jakoukoli DNA vakcínu proti danému imunogenu. DNA vakcíny skýtají možnost pokrytí více typů imunitní odpovědi. Nevýhodou DNA vakcín je jejich použitelnost pouze pro proteinové antigeny (nejsou použitelné například pro polysacharidy bakterií). DNA vakcíny mohou narušit životně důležité buněčné mechanismy jako je růst buňky. Mohou přivodit autoimunitní reakci.<sup>430</sup> Pro člověka byla schválena pouze jedna vakcína tohoto typu v roce 2015 (vakcína proti japonské encefalitidě).<sup>431</sup>

Při terapii prováděné na kompletně diferencovaných somatických buňkách je efekt vždy dočasný a relativně krátkodobý. Toto se dá teoreticky obejít uskutečněním terapie na nediferencovaných kmenových buňkách. Ty jsou schopné proliferovat po relativně dlouhou dobu. Hematopoetické buňky jsou momentálně potenciálním prostředkem pro léčbu mnoha nemocí, např.: hemoglobinopatie, AIDS či rakoviny.<sup>11</sup> Druhá metoda s delším trváním účinku je použití buněk exprimujících geny do svého okolí jako nosičů uzavřených v neantigenních mikrokapslích.<sup>12</sup> Třetím a nakonec nejradikálnějším provedením je použití tzv. “nových orgánů”. Ty se skládají z upravených nosičských buněk obalených a připevněných k umělým vláknům kolagenu. Tyto implantáty jsou po vaskularizaci v břišní dutině schopny sekretovat proteiny.<sup>13</sup>

## 1.2 Oligonukleotidy

Na poli genové terapie mají ON svoje nezastupitelné místo. Za pomoci těchto krátkých uměle nasyntetizovaných RNA či DNA molekul je možné ovlivnit míru exprese mediátorové RNA (dále jen mRNA) či cílových proteinů. Přirozeně se ON vyskytují většinou ve formě krátkých RNA molekul regulujících genovou expresi. Jejich přítomnost také může zasahovat do reparačních nebo rekombinačních mechanismů. Oligoribonukleotidy (dále jen ORN) či oligodeoxyribonukleotidy (dále jen ODRN) jsou navrženy tak, aby vykazovaly komplementaritu k cílové molekule. Váží se buď přímo k chromozómové DNA nebo k mRNA na základě klasického Watson-Crickova párování bází nebo alternativního Hoogsteenova párování bází. Dále mohou interagovat také s transkripčními faktory nebo se sbalují do trojrozměrných komplexů, které se potom váží k funkčním molekulám v buňce.

Mohou nastat situace, kdy je daný ON částečně komplementární i k jiné než k původní molekule. Tento jev se označuje jako *off-target efekt*. Tento fenomén vede ke vzniku vedlejších účinků. Projevem vedlejšího účinku může být imunitní odpověď způsobená navázáním řetězce na receptory nacházející se na povrchu buňky. Také tím je nescifická vazba na peptidy či bílkoviny, což vede ke změně jejich chování v organismu.

ON bez modifikací a do určité míry i ty s modifikacemi jsou při aplikaci do organismu charakteristické tím, že jsou citlivé k nukleázám, nepadně spontánně prostupují buněčnou membránou a jsou rychle pohlcovány makrofágy a vylučovány ledvinami. Pro zlepšení jejich žádoucích vlastností a eliminaci těch negativních byly tyto syntetické nukleové kyseliny modifikovány a jsou nadále vyvíjeny. Tento zásah do struktury ON má celkově zprůchodnit proveditelnost biomedicínských aplikací – terapeutických nebo výzkumných.<sup>14</sup>

## 2. Modifikace

Proto, aby ON vykazoval určitou efektivitu, musí být nejprve přijat buňkou. ON musí být k cílové struktuře komplementární. Cílová sekvence může být degradována některým z přirozených mechanismů. Například by měl aktivovat ribonukleázu H (dále jen RNáza H) a tím vyvolat likvidaci vzniklého duplexu. Také musí být dostatečně stabilní vůči nukleázám.<sup>15-8</sup>

Z termodynamického hlediska jsou nativní nukleové kyseliny (dále jen NA) méně stabilní než ty modifikované. To proto, že struktura nativních NA se vyznačuje vyšším stupněm volnosti a ty pak více podléhají degradaci endo- a exonukleázami. Z těchto důvodů je nutné vyrobit modifikovaný ON. Cílem je získat ideálně strukturu s následujícími vlastnostmi.<sup>19</sup>

Strukturu, která:

1. bude zvyšovat stabilitu výsledného duplexu či triplexu na základě vyšší vazebné afinity.
2. bude vykazovat vyšší specifitu a následně minimální vedlejší účinky.
3. bude *in vivo* stabilní vůči degradaci.
4. bude snadno přijímána buňkou a uvnitř transportována na cílové místo.
5. bude stabilní v plazmě při transportu a bude vykazovat vazbu na plazmatické bílkoviny.

Na ON se nacházejí tři hlavní místa, na kterých je možno aplikovat změnu struktury. Pro ORN a ODRN platí, že modifikace lze uplatit na nukleových bázích a cukr-fosfátové kostře. ORN lze navíc modifikovat v 2'-pozici na ribóze, kde se nachází OH skupina, která u ODRN není k dispozici.<sup>20</sup>

## Nejdůležitější chemické modifikace oligonukleotidů:

### Modifikace I. generace

fosforothioáty

methylfosfonáty

cyklické oligonukleotidy

### Modifikace II. generace

smíšené (chimérické) řetězce

fosfodiester + fosforothioát

fosfodiester + methylfosfonát

fosfodiester + fosforothioát + methylfosfonát

modifikace na ribóze/deoxyribóze

kombinace modifikace fosfátové vazby + modifikace na cukru

### Modifikace III. generace

peptidové nukleové kyseliny (PNA)

morfolinové oligonukleotidy

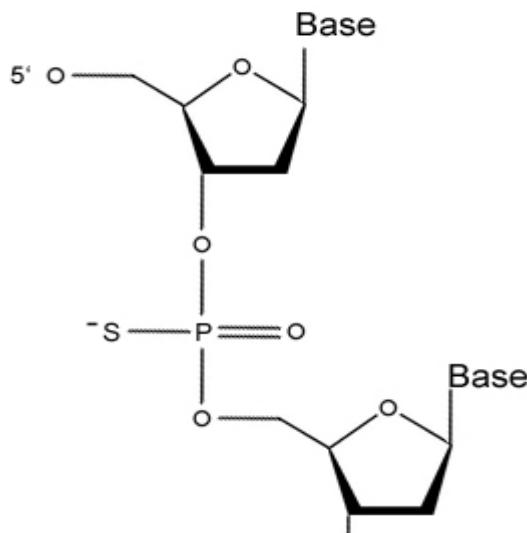
kationické oligonukleotidy

## 2.1 Modifikace I. generace

### 2.1.1 Fosforothioátové oligonukleotidy

Fosforothioátové ON či fosforothioáty (dále jen PS) byly první *antisense* léčiva, která vstoupila do klinických zkoušek.<sup>21-2</sup> Jedná se o stabilní, ve vodě rozpustné polyanionty.<sup>23-4</sup> Z části může docházet ke vzniku nespecifických produktů.<sup>25</sup> Například předtím, než PS vstoupí do buňky s příslušnou mRNA, může předtím svou vazbou pozměnit enzymy nebo se vázat na povrch buněk a tím je aktivovat. Výsledkem může být delší trvání srážení krve nebo aktivace komplementu.<sup>26-7</sup> Na základě

těchto nežádoucích interakcí s proteiny byly v klinických testech pozorovány tyto fyziologické změny: nízká až střední trombocytopenie, hyperglykemie a hypotenze.<sup>28-9</sup> Tyto děje se ruší účinkem, jakmile se PS vyplaví z organismu, což má relativně krátké trvání.<sup>30</sup>



Obr. 1: Fosforothioátový oligonukleotid.<sup>432</sup>

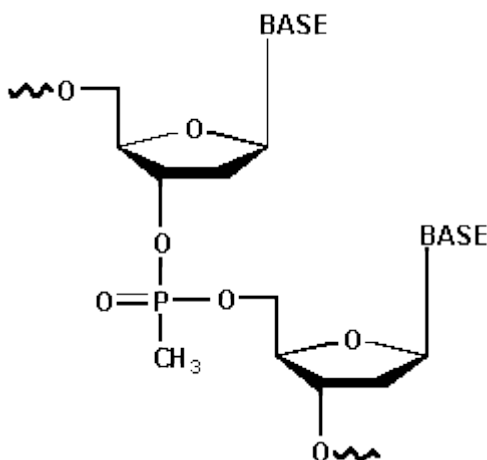
PS jsou při terapeutických dávkách obecně z více jak 96% navázány na plazmatických proteinech (hlavně na albumin a  $\alpha_2$ -makroglobulin), což je výhodné pro transport do cílových tkání. Nеспецифická vazba se nejspíše snadno uskutečňuje na základě elektrostatických interakcí. PS jsou rychle degradovány v závislosti na dávce a jejich biologický poločas v plazmě se pohybuje od 30 do 60 minut. Téměř 100% množství navázané na plazmatických proteinech brání vylučování ledvinami.<sup>31</sup> PS jsou metabolizovány převážně exonukleázami.<sup>32-3</sup>

Zvláštností PS je, že každý fosfor v páteři ON je opticky aktivním centrem. Mluvíme zde o směsi diastereoizomerů Sp a Rp. Za negativní náboj je zde odpovědný hlavně atom síry.<sup>34</sup> Izomer Sp je více stabilní vůči nukleázám. Rp izomer naopak podporuje aktivitu RNázy H a vyznačuje se vyšší teplotou tání ON ( $T_m$ ).<sup>35-6</sup>

## 2.1.2 Methylfosfonátové oligonukleotidy

Methylfosfonátové ON či methylfosfonáty (dále jen MP) jsou ODRN, které jsou rezistentní vůči

hydrolytickému štěpení nukleázami. Jsou přijímány buňkou a uvnitř buňky tvoří s cílovou RNA sekvencí relativně stabilní komplexy.<sup>37</sup>



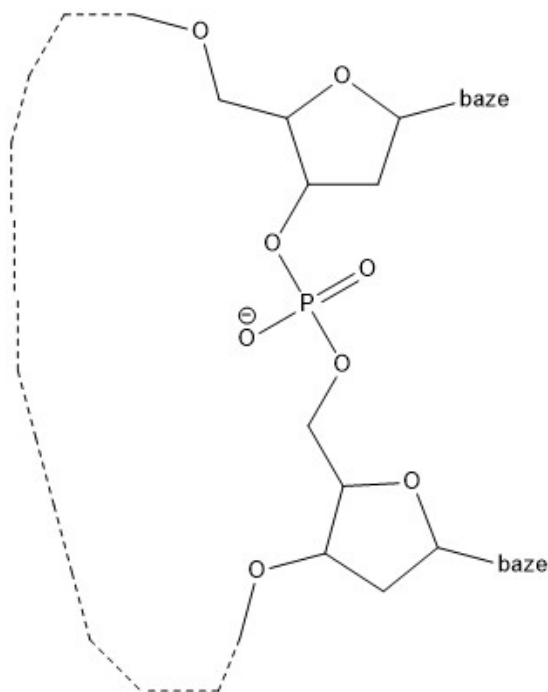
Obr. 2: Methylfosfonátový oligonukleotid.<sup>433</sup>

MP tvoří díky neutrální *backbone* stabilnější komplexy s jednovláknovou DNA než PS. To ale neplatí u jednovláknové RNA, ke které nemají smíšené diastereoizomery velkou afinitu.<sup>38</sup> Zvýšenou afinitu k cílové RNA mají pouze MP obohacené o Rp mezinukleotidové vazby.<sup>39</sup>

Chirální centrum na atomu fosforu MP umožňuje dvě absolutní konfigurace substituentů a určují o který diastereoizomer se jedná.<sup>40</sup> Methylová skupina má teoreticky zvyšovat stabilitu tím, že snižuje celkový záporný náboj v řetězci.<sup>41</sup> V praxi stabilita methylfosfonátů závisí právě na prostorovém uspořádání methylové skupiny na opticky aktivním centru. Pokud je  $-CH_3$  situovaná pseudoekvatoriálně (tj. v Rp konfiguraci), je výsledný helix stabilnější než odpovídající Sp izomer (pseudoaxiální uspořádání).<sup>42</sup>

Pro celkovou stabilitu helixu MP hraje roli také konfigurace substituentů na anomerním uhlíku (C1') deoxyribózy. Přírozené řetězce jsou  $\beta$ -diastereoizomery. Pro zlepšení vlastností se využívá změny konfigurace. Alfa-ODRN je možné vyrobit z nepřírozených  $\alpha$ -nukleotidových jednotek. Alfa-anomer MP je termodynamicky stabilnější než jeho  $\beta$ -anomer.<sup>43</sup>

### 2.1.3 Cyklické oligonukleotidy



Obr. 3: Cyklický oligonukleotid.

Výhodou cyklických forem oproti lineárním ON je jejich vyšší selektivita a afinita při hybridizaci s cílovou jednovláknovou DNA či RNA.<sup>44-6</sup> Cyklické formace tvaru činky se mohou chovat jako aptamery<sup>47-8</sup> a také jako klamné cíle pro transkripční faktory.<sup>49-50</sup> Dalším rozdílem oproti ostatním modifikacím je, že cyklické formy se vyskytují také přirozeně v organismech. Příkladem mohou být C-di-AMP a c-di-GMP<sup>51,52</sup>, což jsou malé cyklické ribodinukleotidy, které plní funkci druhých poslů, čímž regulují mnoho procesů v bakteriích. Cyklické ON se také používají ke studiu nekanonických DNA struktur, jako jsou vlásenky<sup>53-4</sup>, kříže a guaninové kvadruplexy<sup>55</sup>.

#### **Pseudo-cyklické oligonukleotidy**

Tyto *antisense* ON (dále jen AON) mohou existovat ve formě lineární a cyklické. *Antisense* doména a protektivní doména jsou spolu propojeny na 3'-koncích. Protektivní doména o délce pouze několika bází (pěti až osmi) je komplementární s 5'-koncevovou částí *antisense* domény. Tento funkční celek se

pak chová následovně. V nepřítomnosti cílové mRNA je protektivní doména hybridizovaná s *antisense* doménou a tvoří tedy uzavřený řetězec. Pokud dojde ke kontaktu s cílovou mRNA, dochází k hybridizaci s *antisense* doménou, což donutí odpojení protektivní domény a řetězec přechází v lineární. Stabilita heteroduplexu vzniklého s cílovou mRNA je vyšší u těchto pseudo-forem. Výhodou existence cyklické formy je, že je mnohem více odolná proti 5' a 3'-nukleázám než lineární ON. Další výhodou cyklické formy je méně PS skupin vystavených okolnímu prostředí, což snižuje míru s tím spojených vedlejších efektů jako je aktivace komplementu nebo prodloužení parciálního tromboplastinového času. Méně nespecifických interakcí také znamená rychlejší eliminaci z organismu.<sup>56</sup>

## 2.2 Modifikace II. generace

### 2.2.1 Smíšené (chimérické) řetězce

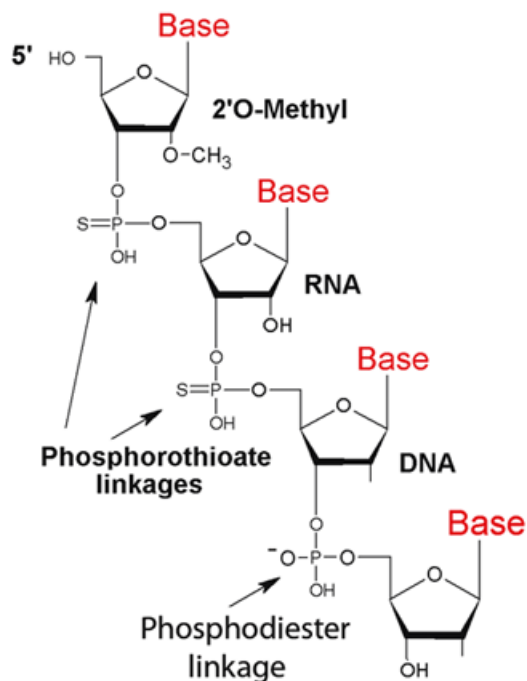
Hlavním důvodem kombinace jednotlivých modifikací na *backbone* je snaha o celkové zlepšení vlastností ON. Fosfodiesterové řetězce (dále jen PO) jsou velice málo rezistentní vůči působení nukleáz a vyvolávají štěpení RNázou H. MP a PS jsou oproti tomu vysoce rezistentní proti nukleázám, ale neaktivují RNázu H.<sup>57</sup> Také jejich afinita k cílové mRNA molekule je nižší oproti PO. Ve výsledném chimérickém řetězci jsou pak obsaženy výše zmíněné přednosti. Řetězce obsahující na svých koncích několik PS modifikací jsou nejvíce stabilní z výše uvedených.<sup>58-61</sup> Některé smíšené řetězce jsou snadněji přijímány buňkami než PO. Jedná se o PO-PS řetězce. MP-PO jsou přijímány hůře.

Jiné další výzkumné experimenty se smíšenými řetězci byly provedeny za účelem snížení výsledné nežádoucí toxicity *in vivo*. Bylo nutné minimalizovat úroveň vedlejších účinků PS řetězců. Proto byly vytvořeny chimérické řetězce, u kterých byly segmenty 2'-O-methylribonukleosidů vloženy na oba konce PS řetězce. Tyto smíšené řetězce jsou oproti PS méně toxické.<sup>62</sup>

Syntéza řetězců, které obsahují kombinaci více modifikací, vyžaduje mnohem přísnější podmínky pro uskutečnění. Zpravidla musí být tyto ON syntetizovány a oxidovány v blocích. To znamená, že nejprve musí dojít k nasyntetizování úseků o jednotlivých modifikacích. Tyto segmenty jsou pak



pospojovány a ošetřeny příslušnými oxidačními činidly.<sup>63</sup>

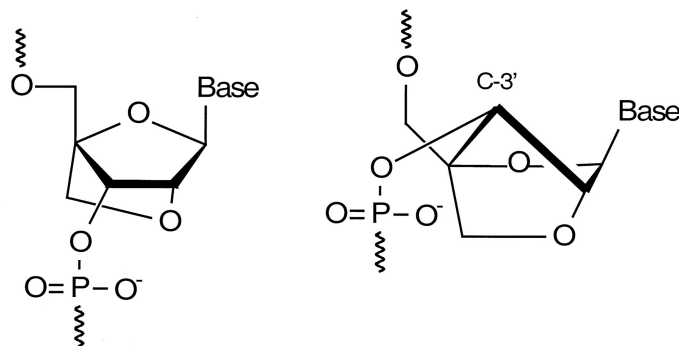


Obr. 4: Chiméřní řetězec.  
Fosforothioátové vazby (výše),  
fosfodiesterová vazba (níže).<sup>434</sup>

## 2.2.2 Uzamčené nukleové kyseliny

Strukturně se uzamčené nukleové kyseliny (LNA) liší od RNA tím, že obsahují navíc methylenovou skupinu, která na ribóze propojuje polohu mezi 2'-kyslíkem a 4'-uhlíkem. Ribóza RNA může přecházet do C3'-endo konformace. Díky methylenové spojnici zůstává ribóza uzamčená právě v C3'-endo konformaci.<sup>64</sup>

LNA modifikace zvyšuje pevnost vazby s cílovou RNA a odolnost vůči nukleázám. Tato modifikace se často zavádí při využití metod RNA interference, oproti běžným siRNA molekulám vykazuje také mnohem nižší četnost nescifických interakcí.<sup>65</sup>



Obr. 5: Monomerní jednotka uzamčené nukleové kyseliny. Znáznornění C3'-endo konformace (vpravo).<sup>435</sup>

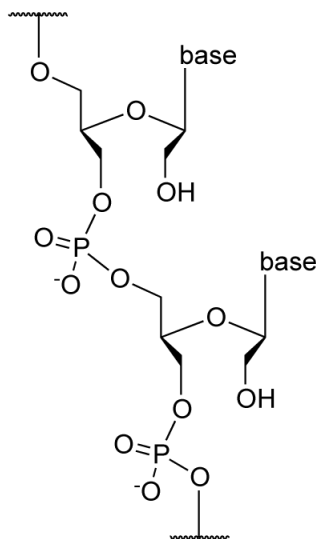
2D NMR odhalila, že stačí pouze přítomnost několika LNA modifikací v řetězci, aby došlo ke změně konformace ostatních nemodifikovaných cukrů.<sup>65</sup> Dvě LNA modifikace mohou v DNA řetězci navodit téměř 100% C3'-endo konformaci okolních cukrů. V RNA obsahujícím LNA monomery je tento efekt méně výrazný.<sup>66</sup>

Z termodynamického hlediska je obecně jednovláknový ON v nižším stavu entropie a je tedy schopný konat práci. Po navázání dvou vláken k sobě a při vzniku vodíkových vazeb se uvolňuje energie a entropie se tím zvyšuje. Čím více energie se uvolní u vznikajícího helixu, tím stabilnější potom daný helix je. Z toho vyplývá, že helix je stabilnější než dva samotné řetězce.<sup>66</sup>

Praktickým ukazatelem stability je rozdíl  $T_m$ .<sup>66</sup> V duplexu DNA vzrůstá  $T_m$  o 2-5 °C s každým dalším přítomným monomerním LNA. RNA duplexy s LNA modifikacemi jsou stabilnější, jelikož  $T_m$  zde roste o 4-10 °C s každou další LNA jednotkou. Pokud se ale v duplexu vyskytnou nekompatibilní páry bází, stabilita se o to více snižuje.<sup>67-8</sup>

### 2.2.3 Odemčené nukleové kyseliny

Struktura odemčených nukleových kyselin (UNA) se vyznačuje tím, že vazba mezi 2' a 3' uhlíkem ribózového kruhu je přerušena. Logicky vzato jde o flexibilní strukturu, která vykazuje opačné vlastnosti než LNA.<sup>69-70</sup>



Obr. 6: Odemčená nukleová kyselina.<sup>436</sup>

UNA modifikace snižuje termální stabilitu helixu. Za snížení je odpovědné právě zvýšení flexibility PO páteře ON. Při včlenění pouze jednoho UNA monomeru do DNA helixu se  $T_m$  snižuje o 7-10 °C. UNA monomer přítomný v RNA helixu snižuje  $T_m$  pouze o 5-10 °C. Bylo zjištěno, že RNA helixy s jednou až třemi UNA modifikacemi se strukturou nijak výrazně nelišily od nativních NA. V místě UNA modifikace se nukleové báze párují podle klasických Watson-Crickových pravidel.<sup>69,71</sup>

## 2.2.4 Přemostěné nukleové kyseliny

Pokud LNA mají omezenou pohyblivost uzamknutím konformace ribózy, jsou přemostěné nukleové kyseliny (BNA) z tohoto hlediska ještě více nepřístupnější a omezenější. BNA jsou jako LNA modifikované ORN se zafixovanou C3'-endo konformací.<sup>72</sup>

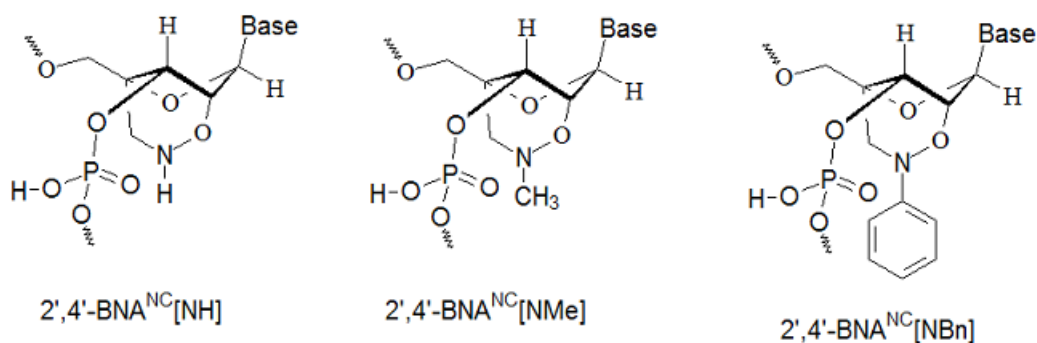
BNA-ON se vyznačují svojí pevnou strukturou, která poskytuje oproti LNA výrazně lepší vlastnosti. Z hlediska principu modifikace jde vlastně o analogii LNA. Opět se jedná o umělé propojení polohy mezi 2'-kyslíkem a 4'-uhlíkem. Nejjednodušší BNA modifikace nese označení 2',4'-BNA (LNA). Je považována za první generaci BNA oligonukleotidů. Je to již výše popsaná LNA modifikace s methylenovým propojením, která ve výsledku tvoří 5členný kruh na ribóze. Ostatní BNA tvoří 6 a 7členný kruh.

Díky vyšší afinitě při párování bází a stabilitě než u PNA, jsou BNA také mnohem více

selektivnější a tím pádem vhodnější pro hybridizaci při *antisense* a *antigene* přístupech.<sup>19</sup>

### **2',4'-BNA<sup>NC</sup> (2'-O,4'-aminomethylen BNA)**

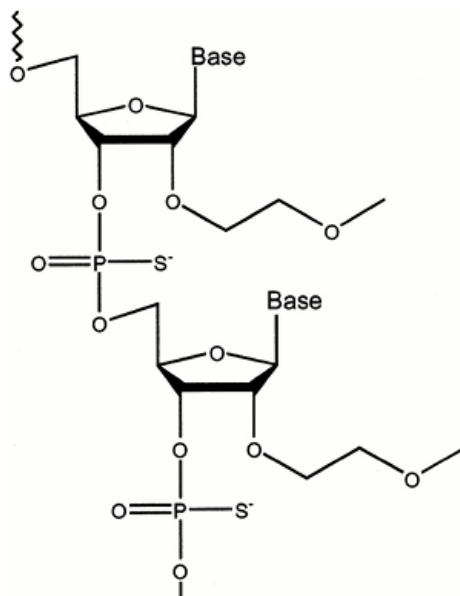
Tato modifikace se 6členným kruhem je typická přemostěním 2',4'-pozic aminomethylenovým zbytkem. V pozici 2' je na kyslík přímo navázán dusík aminoskupiny. Oproti LNA se tato BNA vyznačuje nepatrně zvýšenou vazebnou afinitou k cílové mRNA a je více selektivní při tvorbě triplexů. Je mnohem více odolnější vůči *exo*- i *endonukleázám* než příslušné PS. Neposlední řadě vyniká zvýšenou mírou detekce neshodujících se nukleotidů po spárování řetězců. Nízká četnost nespecifických interakcí znamená nízkou toxicitu.<sup>73-86</sup>



Obr. 7: Monomerní jednotky jednotlivých variant 2',4'-BNA<sup>NC</sup>.<sup>437</sup>

### **2.2.5 2'-O-(2-methoxyethyl) oligodeoxyribonukleotidy**

2'-O-(2-methoxyethyl) oligodeoxyribonukleotidy (2'-O-MOE-ON) je RNA obsahující připojenou 2-methoxyethyl skupinu ke kyslíku nacházejícího se ve 2'-pozici na ribóze. Modifikace na kyslíku ve 2'-poloze mohou zvýšit afinitu k cílovým RNA a 2'-O-MOE-ON jsou méně náchylné k hydrolyze.<sup>87-8</sup>



Obr. 8: 2'-O-(2-methoxyethyl) oligodeoxyribonukleotid.<sup>438</sup>

Povahově je methoxyethylen spíše hydrofobním zbytkem a je situován převážně v malém žlábku duplexu. Z fyzikálního hlediska 2'-O-MOE pracuje jako stabilizátor nadbytečné hydratace a tím zvyšuje stabilitu celkovou. Tato modifikace může být kombinována například s PS modifikací a vykazuje vyšší afinitu k RNA než k DNA.<sup>89</sup>

V rámci struktury 2'-O-MOE-ON se cukry nacházejí v C3'-endo konformaci kvůli vzájemnému odpuzování kyslíků. Ribóza je tak nucena zaujmout energeticky nejvýhodnější prostorovou orientaci.<sup>89</sup>

2'-O-MOE-ON vykazuje vyšší afinitu k cílové RNA než PS. Míra odolnosti 2'-O-MOE-ON proti působení nukleáz je podobná jako u PS a toxicita 2'-O-MOE-ON je na nižší úrovni. 2'-O-MOE-ON má i svoje nedostatky. Po hybridizaci s cílovou sekvencí nedokáže navodit degradaci zprostředkovanou RNázou H, nýbrž pouze stericky zabránit translaci. Tyto nedostatky je možno obejít inkorporací obou modifikací do jednoho chimérického řetězce.<sup>90</sup>

2'-O-MOE-ON se využívají pro úpravu splicingu určitých proteinů (např.: potlačení mutantní formy  $\beta$ -globinu při léčbě  $\beta$ -thalassemie).<sup>91</sup>

## 2.2.6 Kombinace modifikace fosfátové vazby a modifikace na cukru

### ***DNA/LNA-methylfosfonátové řetězce***

LNA modifikace, jak již bylo řečeno, se vyznačují vysokou afinitou k cílové molekule. Pokud se od 3'-konce molekuly LNA monomery nacházejí v přímém sousedství, toto uspořádání potom zvyšuje odolnost vůči degradaci 3'-exonukleázami. Izolované LNA monomery v DNA/LNA řetězci v porovnání s tím nevykazují žádnou protekci.<sup>92-6</sup>

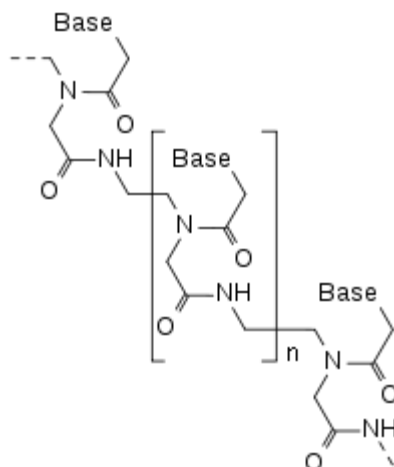
Methylfosfonáty obsahují neutrální mezinukleosidový spoj. Jsou více odolné vůči nukleázám na úkor snížení afinity k cílové molekule.<sup>97-9</sup>

Spojením těchto dvou modifikací do jednoho řetězce získáváme DNA/LNA-methylfosfonát, který vykazuje podobně vysokou afinitu a cílovou selektivitu k RNA jako odpovídající DNA/LNA řetězec, ale je navíc odolnější vůči 3'-exonukleázám. Ty jsou přitom označovány za hlavního viníka degradace *antisense* ON. DNA/LNA-MP řetězce jsou více než dvakrát stabilnější v přítomnosti nukleáz oproti MP řetězcům.<sup>100-2</sup>

## 2.3 Modifikace III. generace

### **2.3.1 Peptidové nukleové kyseliny**

Peptidové nukleové kyseliny (dále jen PNA) se chovají velmi podobně jako přirozeně se vyskytující DNA.<sup>103</sup> Původně byly navrženy jako ligandy pro rozeznávání dvouvláknové DNA. Měly se vázat na základě Hoogsteenova párování bází do velkého žlábků.<sup>104-7</sup> K vývoji byly využity počítačové modely, které pomohly najít strukturu, která by odpovídala cukr-fosfátové kostře DNA. Struktura této nově nalezené kostry se skládala (a skládá se) z opakujících se jednotek N-(2-aminoethyl)-glycinu spojených peptidovou vazbou. Na rozdíl od DNA tato struktura neobsahuje cukerné zbytky. Nukleové báze jsou připojené přes methylenový článek přímo ke kostře.<sup>103</sup> Každá molekula má svůj C- a N-konec. Na kostře PNA nejsou chirální centra ani cyklické struktury.



Obr. 9: Peptidová nukleová kyselina.<sup>439</sup>

Dále je tato kostra bez náboje, takže neodpuzuje nabitě molekuly a vzniklé duplexy jsou poté mnohem stabilnější než nativní NA.<sup>103</sup> Díky absenci náboje není  $T_m$  PNA téměř ovlivněna koncentrací NaCl v roztoku. I v prostředí, chudém na obsah solí, dojde k hybridizaci PNA s DNA řetězcem navzdory tomu, že zde může být přítomná i nějaká další kompetitivní molekula.<sup>108-10</sup>

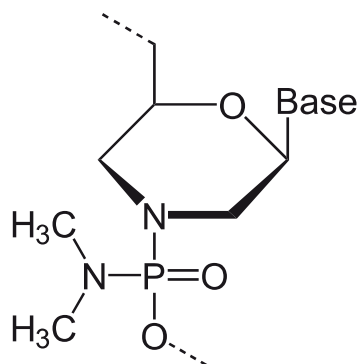
PNA je charakteristická také vyšší vazebnou specifitou. Pokud jsou ale v PNA duplexu přítomné chyby způsobené inzercí, delecí, nebo špatným zařazením bází, duplex je destabilizován dvakrát více než v případě nativních duplexů.<sup>108,111</sup>

PNA se díky svojí neutrální povaze téměř neváží na sérové proteiny, což z hlediska uplatnění v *antisense* terapii může znamenat rychlou eliminaci z organismu a nízký účinek.<sup>104</sup> Molekuly PNA také špatně prostupují skrze buněčnou membránu. Nicméně, byla prokázána schopnost zastavit transkripci v eukaryotické buňce navázáním homopyrimidinové PNA na kódující oblast DNA s následným vytvořením triplexu. Dále také schopnost inhibovat průběh translace navázáním na iniciační kodon AUG mRNA transkriptu.<sup>103</sup>

Dvojřetězce vzniklé po hybridizaci PNA s cílovou molekulou neaktivují RNázu H, takže heteroduplex musí být degradován jiným buněčným mechanismem nebo dochází k zablokování ribozomu.<sup>112-5</sup>

## 2.3.2 Morfolinové oligonukleotidy

Struktura morfolinových ON (dále jen MO) nese při fyziologickém pH náboj. Cukr je oproti nativním NA nahrazen 6tičlenným morfolinovým kruhem. Dále místo fosfodiesterové vazby MO obsahují fosfordiamidátovou vazbu. Neutralita MO je výhodná co se týče bezpečnosti, protože nedochází k nespecifickým interakcím s buněčnými elementy. Díky tomu je zabezpečena vysoká afinita k cílové molekule a také potřebná tkáňová koncentrace pro tvorbu duplexu.



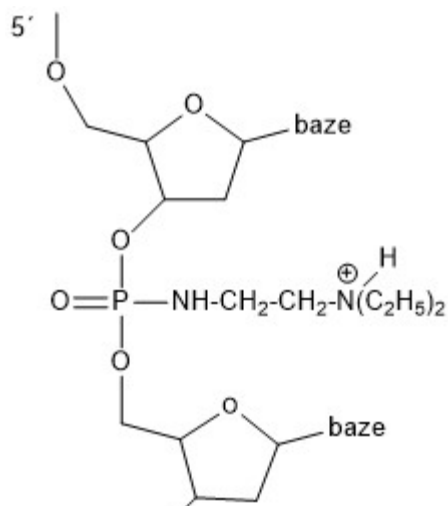
Obr. 10: Monomerní jednotka morfolinového oligonukleotidu.<sup>440</sup>

MO vykazují zvýšenou stabilitu v moči, plazmě, tkáních a cerebrospinální tekutině. To na základě jejich vysoké odolnosti vůči působení proteáz a nukleáz. Nevyvolávají aktivaci RNázy H, takže jejich mechanismus působení probíhá jiným způsobem. To se děje zastavením translace prostorovým zabráněním tvorby ribozomu po navázání na cílovou mRNA. Mohou se také vázat na místa sestřihu mezi introny a exony na jádrové pre-mRNA, alterovat tam místa štěpení a tím i výsledné proteiny nebo úplně zastavit jejich syntézu. Celkově se jedná o vysoce účinnou *antisense* strategii.<sup>116-21</sup>

## 2.3.3 Kationické oligonukleotidy

Modifikace, které samy o sobě dostatečně nevyhovují z hlediska hybridizace, se ještě dále modifikují připojením kationických skupin k cukr-fosfátové kostře. Mohou to být přírodní či syntetické polyaminy různých délek nebo další molekuly, které zlepšují vazebné interakce mezi nukleotidy.





Obr. 11: Kationický oligonukleotid.

Tento zásah do řetězce následně zvyšuje schopnost tvorby duplexu a také ovlivňuje míru rezistence k nukleázám. Míra stability závisí také na konkrétním diastereoizomeru neboli na konfiguraci substituentu na anomerickém uhlíku ribózy. U  $\alpha$ -oligonukleotidových řetězců bylo zjištěno, že připojení kationických skupin zvyšuje schopnost tvorby duplexu i triplexu. U  $\beta$ -řetězců se jedná o destabilizující efekt. ON s připojenými kationickými skupinami jsou také lépe přijímány buňkami. Principiálně zesílení vazby spočívá v tom, že po připojení zbytku jeho pozitivní náboj neutralizuje do určité míry negativní náboj *backbone* a tím se sníží míra odpuzování řetězců navzájem.<sup>122-32</sup>

### **Kationické fosforthoáty**

Příkladem modifikace, která může vyžadovat napojení kationických molekul ke zlepšení svých vlastností jsou PS. I když jsou PS velmi stabilní vůči působení nukleáz, jejich nevýhoda spočívá ve slabé afinitě k cílové sekvenci jednovláknové DNA či RNA. O to více je snížena i schopnost tvorby triplexů.<sup>133-6</sup>

V roce 2012 byla provedena studie PS s různě dlouhými aminoalkylovými zbytky konjugovanými na atomu síry ve fosforthoátové vazbě. Tato úprava celkově přidává na rezistenci proti nukleázám s tím, že Rp izomery jsou proti nim nejvíce odolné a také více přispívají ke stabilitě vzniklých triplexů. Rp izomery s touto modifikací prokázaly dále stabilnější vazbu s DNA řetězcem proti PS bez připojených zbytků. Sp izomery mají destabilizační účinek po vazbě na DNA ve srovnání s

nemodifikovanými PS. Stabilita vzniklých duplexů s cílovou RNA je u obou izomerů nižší oproti PS.<sup>137</sup>

# 3. Výroba

## 3.1 Ideální délka oligonukleotidu

Pro dosažení co nejvyšší specifičnosti vazby k cílové sktraktuře je pro terapii výhodné syntetizovat ON pouze o určité délce. Výpočet níže ukazuje, jak je možné teoreticky určit řetězec, který vykazuje optimální délku. Jinými slovy: délka sekvence, která se v lidském genomu tvořeném přibližně třemi miliardami bází, vyskytuje pouze jednou. Ze vztahu níže vyplývá:

$$4^x = 3 \times 10^9$$

Rovnici lze řešit logaritmováním

$$\ln 4^x = \ln (3 \times 10^9)$$

Odtud

$$x = \frac{\ln (3 \times 10^9)}{\ln 4}$$

A tedy

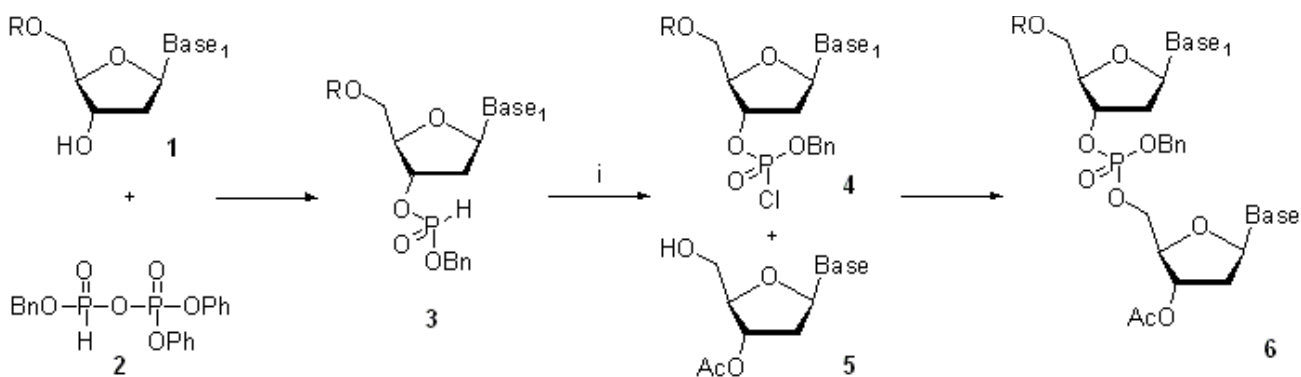
$$x = 15,7$$

Číslo 4 představuje počet nukleových bází. X je délka hledané sekvence. Sekvence delší než 16 nukleotidů se bude v genomu podle výpočtu teoreticky vyskytovat jen jednou. Podmínkou pro tuto jedinečnou oblast na DNA je nahodilost sekvencí.<sup>14</sup>

## 3.2 Historie

### 3.2.1 H-fosfonátová metoda

Prvním průkopníkem co do pokusu syntetizovat ON byl Alexander Todd se svým týmem na univerzitě v Cambridge v 50. letech. Proces syntézy, který probíhal v roztoku, spočíval nejprve ve vytvoření chráněného H-fosfonátového dinukleosidu (**3**). Tomu předcházela reakce 2,3-O-isopropylidenadenosinu (**1**) s 2,3-O-isopropylidenuridin-5-H-fosfonátem (**2**) v prostředí difenylfosfochloridátu. Poté se provedla chlorace s N-chlorsukcinimidem (**i**), hydrolyza meziproductu a nakonec se odstranila isopropylidenová chránící skupina. Výsledkem byly poměrně hodně nízké výtěžky dinukleosid fosfátu (**6**).<sup>138</sup>



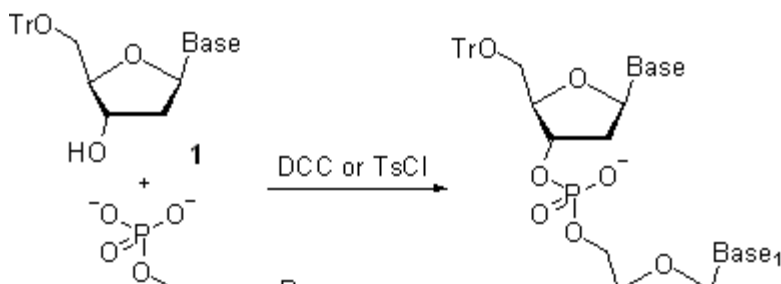
Obr. 12: H-fosfonátová metoda.<sup>441</sup>

O třicet let později byla účinnost této metody prověřena znovu.<sup>139</sup> Byla přetransformována do syntézy na pevné fázi a k tomu bylo použito jiné kondenzační činidlo (pivaloyl chlorid). Vyšlo najevo, že po této úpravě bylo možno připravit ON o velmi vysoké molekulové hmotnosti a to za relativně krátký čas.<sup>140-2</sup>

### 3.2.2 Fosfodiesterová metoda

Fosfodiesterovou metodou podle biochemika Har Gobind Khorany v 50. letech bylo možné

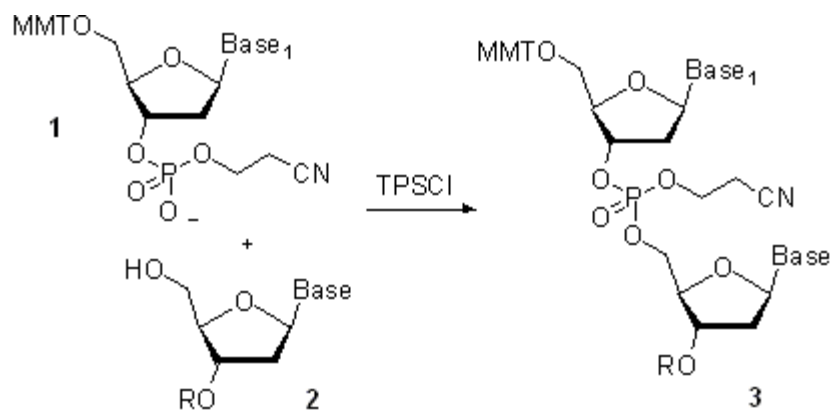
syntetizovat ODRN s účinností 50-70% (při vysokém nadbytku výchozích monomerů).<sup>143</sup> Fosfodiesterová metoda probíhala na základě aktivace dvou výchozích molekul pomocí N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu (DCC) nebo 4-toluensulfonyl chloridu (Ts-Cl). Poté se spolu mohly sloučit 3'-O-acetylthymidin-5'-O-fosfát (2) a 5'-O-tritylthymidin (1) za vzniku chráněného dinukleosid monofosfátu (3). V tomto postupu nebyly na mezinukleotidové vazby aplikovány chránící skupiny. Reakce probíhala v roztoku pyridinu.<sup>144-5</sup> Nevýhodou fosfodiesterové metody bylo nechránění mezinukleotidových vazeb v průběhu syntézy. Na těchto místech pak docházelo k nechtěnému větvení a vzniku nesespecifických produktů.



Obr. 13: Fosfodiesterová metoda.<sup>442</sup>

### 3.2.3 Fosfotriesterová metoda

Fosfotriesterová metoda vyvinutá R. Letsingerem a C. Reeseem v 60. letech byla více specifická. Pro chránění fosfodiesterové vazby se navíc do nukleotidu zabudoval 2-kyanethyl pomocí fosforylačního činidla 2-kyanethylfosfátu. Dále se uplatnil také 2,2,2-trichloroethylfosfát s kterým přišel Eckstein a Rizk.<sup>146-8</sup> Následně Reese a Saffhill zavedli fenylovou chránící skupinu do nukleotidu pomocí fenyfosforodichloridátu.<sup>149</sup> Vnesení chránící 2-kyanoethylové skupiny se provedlo tak, že se v prvním kroku nechal zreagovat 2-kyanoethylfosfát s příslušným monomerem v přítomnosti 1,3,5-trimethylbenzensulfonylchloridu. Poté proběhla samotná syntéza v přítomnosti TPS-Cl.



Obr. 14: Fosfotriesterová metoda.<sup>443</sup>

Na konci procesu bylo potřeba z výsledného řetězce chránící skupiny odstranit. V případě 2-kyanethylové chránící skupiny se použilo amoniaku. Pro odstranění 2,2,2-trichlorethylu pak zinkový prach v kyselině octové a na fenylovou skupinu se aplikoval hydroxid sodný ve vodném dioxanu.

Problémem dosavadního přístupu byla delší doba syntézy. Trvalo například několik hodin než došlo k fosforylaci 3'-OH skupiny 2'-deoxynukleosidu při pokojové teplotě.<sup>150</sup>

### 3.2.4 Fosfit-triesterová metoda

Vývoj nadále pokračoval ve směru nalezení vhodnějších činidel pro tvorbu mezinukleosidových vazeb. Doposud se používala činidla, ve kterých byl fosfor pětivazný P(V). To je pro fosfor nejběžnější varianta vyskytující se v přírodě. Letsinger a Lunsford v roce 1976 začali používat činidla, která obsahovala fosfor třívazný.<sup>151</sup> Jeden volný elektronový pár u tohoto P(III) fosforu byl zodpovědný za vyšší reaktivitu.

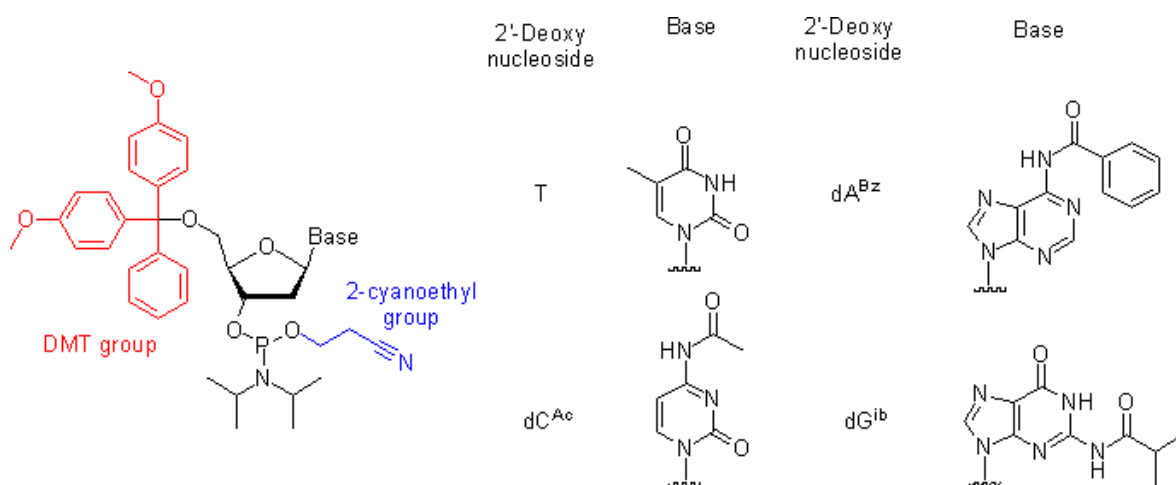
Zjistilo se, že činidla jako chlor- či dichlorfosfity vykazovaly právě vyšší specifitu a reaktivitu. Oproti několika-hodinovým reakcím u předchozích metod, fosfit-triesterový přístup poskytl zkrácení doby fosforylace na pouhých 5 minut. Obecně se fosfit-triesterová syntéza lišila od fosfotriesterové v tom, že se nejprve vytvořil fosfit-triester, který se pak zoxidoval na fosfotriester. Tyto reakce byly více specifické a celkové výtěžky se pohybovaly mezi 69%–82%.<sup>152-3</sup>

### 3.3 Syntéza na pevné fázi

Tento způsob provedení je prakticky použitelný pro syntézu malého množství materiálu. Její výjimečnost spočívá hlavně v rychlosti a účinnosti syntézy zadaných řetězců. Za posledních 30 let se téměř veškerá syntéza ON provádí výhradně s využitím pevných fází.<sup>153</sup>

#### 3.3.1 Fosforamiditová metoda

V roce 1981 Beaucage s Caruthersem představili světu fosforamiditové nukleosidy, jež vycházely z fosfitové metody.<sup>154</sup> K syntéze fosforamiditového nukleosidu nechali zreagovat nosič trojvazného fosforu, jímž byl chlor(dimethylamino)-methoxyfosfin, s 5'-O-DMTr-thymidinem. Výtěžnost jejich reakcí přesahovala 90%. Po zjištění, že nejsou stabilní v roztoku, byly testovány pro syntézu na pevné fázi, kde uspěli. Další tým poté zjistil, že N,N-diisopropylfosforamiditové nukleosidy jsou mnohem stabilnější než N,N-dimethylfosforamiditové. Köster se svým týmem také zjistil, že 2-kyanethylová skupina má lepší vlastnosti než pouhá methylová chránicí skupina.<sup>155-7</sup>



Obr. 15: 2'-chráněné deoxynukleosid phosphoramiditové jednotky. 2-kyanoethyl N,N-diisopropylfosforamiditový nukleosid (vlevo), používané nukleové báze (vpravo).<sup>444</sup>

Tyto dlouholeté výzkumné projekty nakonec dospěly k vytvoření praktické metody syntézy ON. Pro tento účel se dodnes téměř výhradně používají 2-kyanethyl N,N-diisopropylfosforamiditové nukleosidy. Tato metoda je na rozdíl od H-fosfonátového způsobu syntézy použitelná pouze pro

přípravu PS a PO řetězců.<sup>158-60</sup> S využitím této technologie je možné dosáhnout průměrného výtěžku přesahujícího 98% (s využitím aktivátoru 1H-tetrazolu, případně 5-substituovaných tetrazolů nebo dikyanimidazolu).<sup>153</sup>

### **Přípravná fáze syntézy**

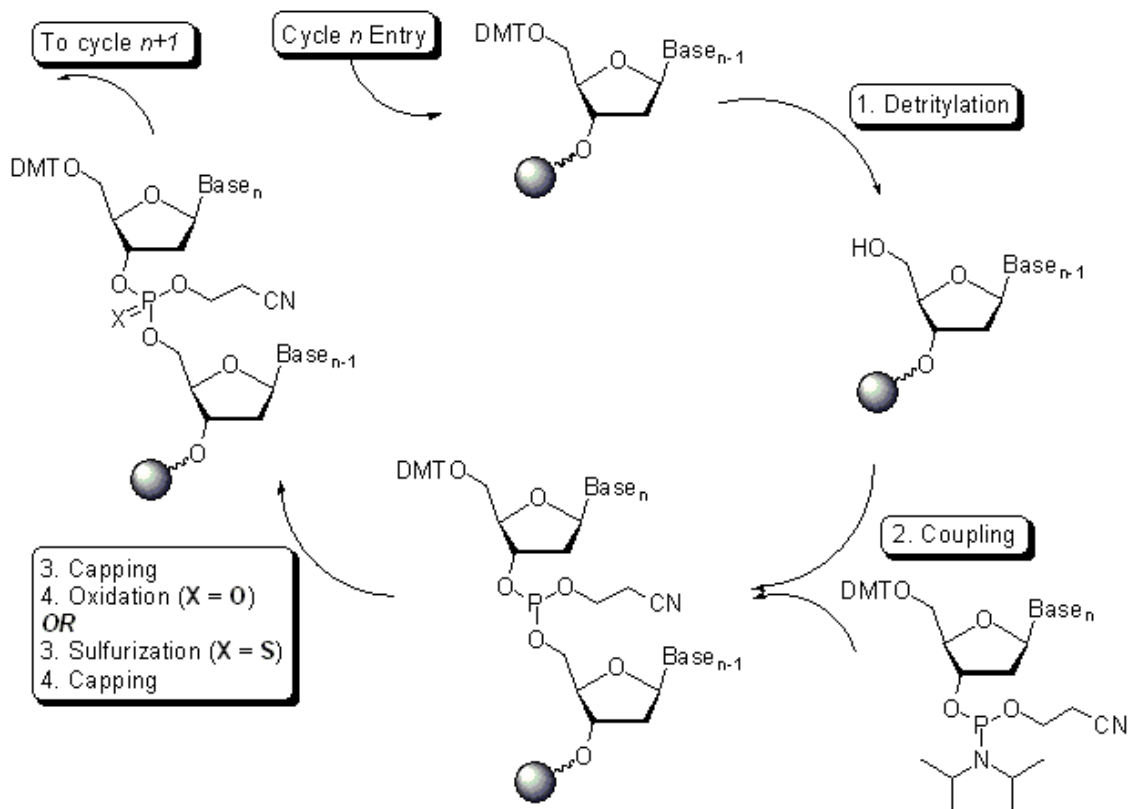
Polymery fungující zde jako pevná fáze jsou de facto odvozeny od materiálů založených na oxidu křemičitém. Může to být porózní sklo s definovanou velikostí pórů. Tyto materiály se používají pro syntézu právě proto, že nebobtnají v běžných organických rozpouštědlech a jsou inertní vůči reagentům použitých při syntéze.<sup>161</sup> Tyto materiály dále umožňují jednotlivým reagentům bezproblémů difundovat a poskytovat tak vysoké výtěžky.

Prvním krokem je napojení prvního patřičně upraveného chráněného deoxynukleosidu k pevné fázi. Toto se odborně nazývá *loading*. Před jeho připojením je nutné provést úvodní 4 hodinovou reakci pevné fáze s 3-aminopropyltriethoxysilanem v prostředí ethanolu.<sup>161</sup> Deoxynukleosid se potom navazuje k upravenému silikonovému povrchu za přítomnosti triethylaminu, dimethylformamidu a dioxanu.

### **Jednotlivé kroky syntézy**

Prodlužování se provádí postupným připojováním vhodně chráněných 3'-fosforamiditdeoxynukleotidových monomerů. Výhodou těchto stavebních jednotek je, že snadno tvoří mezinukleotidové vazby a jsou odolné vůči hydrolyze a oxidaci.<sup>161</sup> Syntéza se provádí v acetonitrilu. Diisopropylammonium tetrazolid je slabá kyselina, která slouží jako aktivátor syntézy. Řetězec narůstá ve směru od 3'-konce k 5'- konci. Syntéza se sestává z následujících kroků:<sup>161</sup>





Obr. 16: Cyklus syntézy fosforamiditové metody.<sup>445</sup>

1. **Detritylace - odstranění chránící dimethoxytritylové skupiny.** Detritylace je dokončena přibližně za 90 sekund.<sup>161</sup> Tato operace by neměla trvat více než 2 až 2,5 minuty, jelikož chráněné puriny mají tendenci se depurinovat v kyselém prostředí. Po detritylaci musí být zbytky kyseliny odstraněny, aby v dalším kroku nedošlo k detritylaci právě přidaného fosforamiditu, který má kondenzovat.
2. **Kondenzace (*coupling*) s chráněným deoxynukleosid 3'-fosforamiditem.** V tomto kroku je třeba vytvořit kompletně bezvodé prostředí, aby molekuly vody nesoutěžily s právě přidaným fosforamiditem. To se provádí vysušením pevné fáze a rostoucího ODRN řetězce promýváním bezvodým acetonitrem pod přívodem suchého argonu. Do reakce se vnáší 20molární přebytek fosforamiditu (v závislosti na předchozím loadingu). Po 2 minutách vzniká fosfit triester s 3'-5' mezinukleosidovou vazbou.
3. **Krytí nebo acylace (*capping*) nereaktivního deoxynukleosidu.** Provádí se z důvodu

zabránění vzniku nechtěných vedlejších produktů. Jelikož reakce není 100% efektivní, zůstává při každém cyklu po detritylaci několik nezreagovaných 5'-hydroxylových skupin. Tyto skupiny je nutné nevratně zablokovat. Pokud by se tak nestalo, tyto skupiny by se účastnily i dalšího cyklu(ů) syntézy. Na konci syntézy by vznikla směs řetězců o různé délce a sekvencích, která by se pak obtížně čistila.

4. **Oxidace fosfit-triesteru na fosfát-triester.** Provádí se pomocí roztoku jódu ve vodném lutidinu.<sup>161</sup> Ke trojmocnému fosforu se váže komplex jód-lutidin. Fosfor je poté přemístěn molekulou vody. Uvolňuje se proton. Fosfor se stává pětímocným. Reakce proběhne do 30 sekund.

### ***Post-syntetické zpracování***

Oligodeoxynukleotid je pak zbaven chránících skupin a izolován pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie (HPLC) nebo iontově výměnné chromatografie.

Dříve se používala elektroforéza na polyakrylamidovém gelu (PAGE) pro čištění nasyntetizovaných ON pro většinu aplikací jako je sekvenování DNA, klonování nebo snímání genových knihoven. Dnes se na PAGE provádí spíše analýza ON, a již ne tak často. Pro složitější biochemické experimenty se musí ON dodatečně vyčistit od vedlejších produktů pomocí HPLC. Zde se vychází buď z iontově výměnné, nebo reverzní fáze.<sup>161</sup>

### **3.3.2 Enzymatická syntéza**

Nasyntetizovat ON je možné i s využitím polymeráz a primerů. ODRN primery se chemicky připraví jednou z metod. K sestavení daného řetězce je možné využít například polynukleotidovou fosforylázu z *Escherichia coli* B sloužící jako katalyzátor adice deoxyribonukleotidů. Reakce probíhá v roztoku s potřebně nastavenými koncentracemi  $MgCl_2$  a  $NaCl$ .

Vhodné podmínky pro postupnou syntézu se zjistí na základě výsledku analýzy prvotních produktů. K tomu se může využít vysokotlaká iontově výměnná chromatografie. Ve většině kroků je možné nezreagovaný primer obnovit a recyklovat a to často vícekrát. S delšími ON se snižují výtěžky reakce. Propojení enzymaticky nasyntetizovaných ODRN do delších celků umožňuje enzym RNA ligáza.<sup>162</sup>

### 3.4 Syntéza v roztoku

Procesem syntézy na pevné fázi je možné získat ON o vysoké čistotě. Nevýhodou jsou vysoké náklady plynoucí z použití poměrně vysokých nadbytků drahých reagensů. Pomocí syntézy v roztoku je možné snížit tyto náklady a tím také redukovat čas výroby. Při syntéze v roztoku je umožněno se narozdíl od syntézy na pevné fázi vyhnout drahému pročišťování meziproductů chromatografickými metodami.

Na tomto poli se využívá i kombinace syntézy v roztoku a syntézy na pevné fázi. Například podle procedury HELP se pro izolaci meziproductů používá precipitace a filtrace. A jako rozpustná pevná fáze slouží polyethylenglykol.<sup>163</sup> Dalším příkladem je podle protokolu PASS využití pryskyřice k dočasné imobilizaci narůstajícího ON řetězce. Nadbytečné monomery se odstraňují extrakcí.<sup>164</sup>

# 4. Principy fungování genové terapie zprostředkované oligonukleotidy

Přirozený průběh syntézy aminokyselinové sekvence ze vzorového úseku DNA má v buňce danou posloupnost. V prvním kroku je *sense* vlákno DNA transkribováno do primárního transkriptu, ze kterého poté vzniká prekurzorová mRNA (pre-mRNA). Poté je pre-mRNA převedena na zralou mRNA. Tento druhý krok v sobě zahrnuje *capping* 5'-konce pre-mRNA, polyadenylaci 3'-konce a vystřížení nekódujících oblastí. Výsledná mRNA je ve třetím kroku transportována do ribozomu, kde podléhá translaci. Výsledkem je polypeptid. Do tohoto procesu je uměle zasahováno níže uvedenými postupy.<sup>165</sup>

## 4.1 Antigene

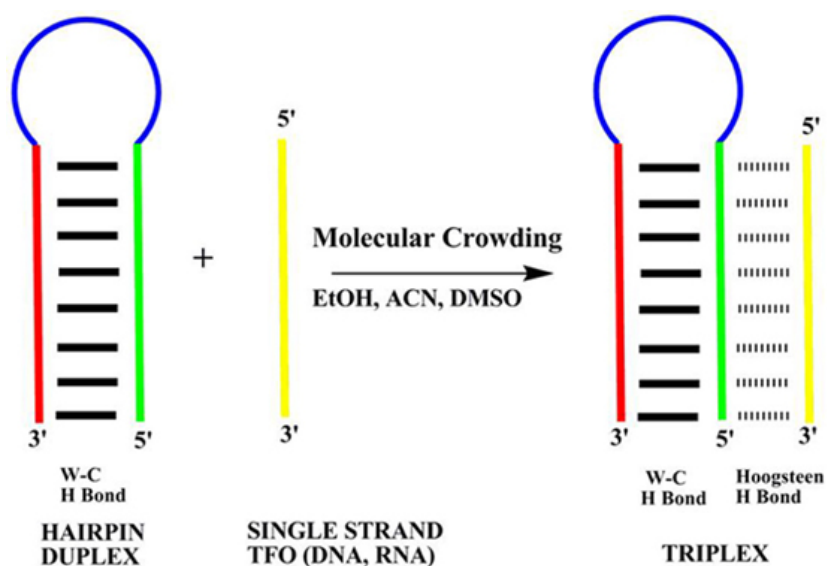
Přístup *antigene* představuje terapii založenou na interakci s chromozomální DNA. Cílem je předejít spuštění nebo zastavit proces transkripce. Je důležité zde zmínit, že cílová sekvence je v genomu přítomna pouze dvakrát. Zatímco kopií mRNA daného genu jsou tisíce. Při *antigene* terapii existuje teoreticky vyšší pravděpodobnost umlčení genů než při *antisense* terapii.

ON proniknuvší do jádra se v jádře musí vyhnout skládajícím proteinům a transkripčním faktorům.<sup>166</sup> Struktura chromatinu a dvojitého helixu znamená sama o sobě také určitou bariéru.<sup>167</sup> ON se navazuje na DNA specificky po rozeznání odpovídající sekvence.<sup>168</sup> Alternativně dochází při hybridizaci i k tvorbě triplexu.<sup>169-70</sup>

Místo účinku, jakožto začátku cesty exprese genu, je strategicky výhodné. Hybridizace terapeutika v této oblasti zamezuje spuštění transkripce.

Transkripce startuje po navázání transkripčních faktorů a RNA polymerázy s využitím molekul ATP v oblasti promotoru. RNA polymeráza musí částečně rozvolnit dvoušroubovici pro syntézu RNA. Rozvolněná dvoušroubovice v tomto pohybujícím se komplexu je vysoce náchylná pro specifickou hybridizaci. Hybridizace na tomto místě zastavuje již probíhající transkripci. Pro tyto účely se používají jednořetězcové agPNA nebo dvouřetězcové agRNA.<sup>171-2</sup>

*Antigene* mechanismus může být uskutečněn na základě blokace transkripce pomocí molekul zacílených na DNA (pre-mRNA již nevzniká). Používají se invazivní PNA nebo triplex tvořící ON (TFO) vázající se do velkého žlábkku.<sup>189</sup>



Obr. 17: Tvorba triplexu. Watsonoso-Crieckovo párování bází (vlevo i vpravo). Hoogsteenovo párování bází (vpravo).<sup>446</sup>

Invazivní PNA mají vyšší afinitu k DNA než samotná DNA, takže v cílové sekvenci vyvazují *antisense* vlákno a tvoří s ním duplex. TFO tvoří stabilní triplexy ve velkém žlábkku DNA. Jsou použitelné pouze pro purin-pyrimidinové oblasti DNA a kyselé prostředí a cytosiny v TFO musí být naprotonovány. TFO s LNA modifikacemi dokáží stabilizovat triplex i při fyziologickém pH.<sup>190</sup>

Při použití těchto ON platí následující. Sekvence transkripčních počátků mnoha genů nejsou známy vůbec nebo jen částečně. I kdyby byla tato sekvence perfektně prostudována v jedné buněčné linii, není pravidlem, že bude identická se sekvencí v další buněčné linii.

AgRNA jsou problematické při vazbě na DNA. Naproti tomu jednovláknová agPNA se váže vždy jen na templátové vlákno. Dvojvláknová agPNA se může navazovat i na netemplátové vlákno.<sup>167</sup>

### 4.1.1 Antigene RNA

*Antigene RNA* (agRNA), dvouvláknová RNA, je využívána pro zastavení exprese genu. Figuruje na úrovni promotorové sekvence na chromozómové DNA.<sup>173-81</sup> Není přesně jasné, jakým mechanismem probíhá hybridizace agRNA s DNA a jaké přirozené buněčné pochody s tím souvisejí.<sup>167</sup>

Duplexy agRNA byly testovány mimo jiné například pro utišení genu pro receptor lidského progesteronu. Použité *antigene* řetězce byly navrženy tak, aby nehybridizovaly s mediátorovou RNA. Tato studie prokázala, že agRNA namířená proti chromozomální DNA může specificky zablokovat startovací místo transkripce a snížit tím množství výsledného proteinu. Dvojvláknová RNA dokáže zabránit transkripci také u rostlin nebo kvasinek.<sup>182-3</sup>

### 4.1.2 Antigene PNA

PNA se vyznačují díky své neutrální *backbone* vysokou afinitou k cílové sekvenci na DNA. Minimálně interagují s proteiny. Při interakci *antigene PNA* (agPNA) s jadernou DNA nutně nemusí figurovat buněčné proteiny a kofaktory.<sup>166</sup>

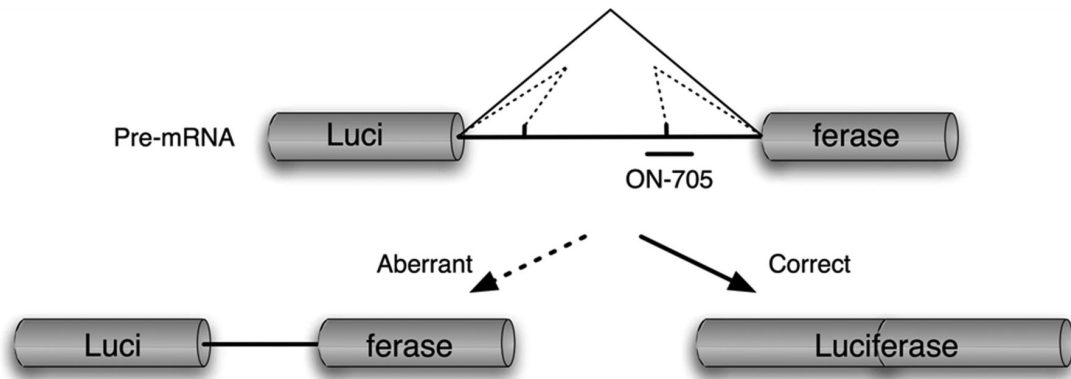
Existují dva způsoby jak uskutečnit přenos agPNA do jádra buněk. ON může být přenášen v komplexu s komplementární DNA a s lipidovým kationickým nosičem. Lipid napomáhá přijetí DNA buňkou. V buňce je PNA uvolněna s DNA nosiče a váže se na svůj cíl. Je to efektivní metoda přepravy.<sup>184-6</sup> Další možností jsou PNA-peptidové konjugáty, které relativně hladce prostupují membránou. Efektivita této metody stoupá s rostoucí koncentrací argininových a lysinových zbytků na peptidovém nosiči. Výhodou oproti lipidovému nosiči je nepřítomnost vedlejších efektů. Peptid nemusí být nutně připojen k PNA disulfidickou vazbou. Nevýhodou je nutnost použití vyššího množství terapeutika.<sup>187</sup>

## 4.2 Antisense

Termín *antisense* vyjadřuje namíření umělé RNA nebo DNA (*antisense* vlákna, modifikovaného či bez modifikace) proti (*sense*) vláknu mRNA. Hybridizací *sense* vlákna s *antisense* vláknem dojde k narušení běžných pochodů zpracování genetické informace. To může probíhat hned několika mechanismy. AON jsou nejběžnější a nejúspěšnější technologií používanou k úpravě exprese, částečnému potlačení nebo úplnému vyřazení (tzv. *knockoutu*) genů.<sup>165</sup>

Vazba molekul fungujících na principu *antisense* je vysoce selektivní k cílovým strukturám. Většinou se jedná o jednovláknové ON obsahující sekvence dlouhé 10 až 50 nukleotidů. K transportu mohou být využity vektory jako například plazmidy nesoucí vloženou sekvenci DNA, ze které se v buňce exprimuje *antisense* RNA vlákno dlouhé několik nukleotidů.<sup>188</sup>

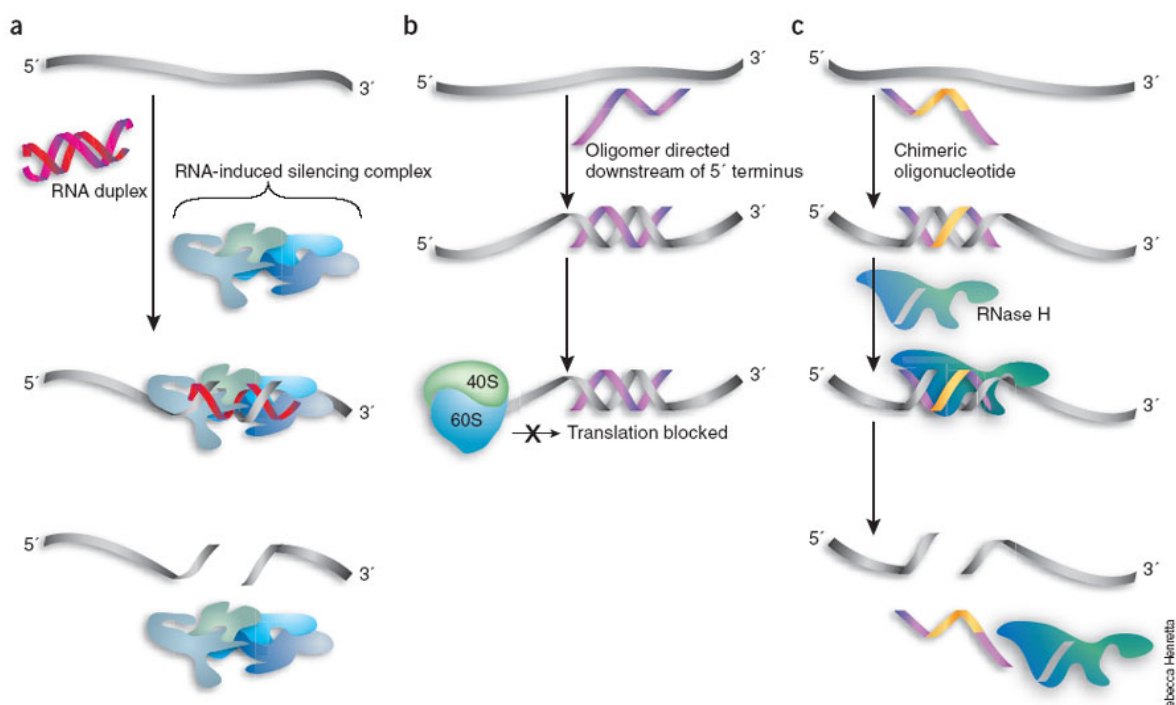
Existují 3 varianty *antisense* mechanismu. Tyto děje se váží vždy k danému stádiu transkripce nebo tranlace. *Antisense* mechanismus může být uskutečněn na základě blokace:



Obr. 18: Mechanismus účinku splice-switching oligonukleotidů. Pre-mRNA luciferázy obsahující chybné místo štěpení (nahore). Pokud je chybné místo štěpení je zamaskováno ON-705, dochází k expresi funkční luciferázy (vpravo).<sup>447</sup>

1. **či změně sestřihu pre-mRNA** (viz. Obr.: 18). Zralá mRNA nevzniká nebo je pozměněná. Pro zastavení dalšího zpracování pre-mRNA je potřeba zabránit sestřihu intronů. K tomu je možné použít teoreticky jakýkoliv ON splňující potřebnou komplementaritu.<sup>165</sup> Pro změnu vlastností výsledného proteinu se využívá *splice-switching* ON, které upravují způsob štěpení genetické informace.<sup>191-2</sup>

2. **translačního aparátu** (viz. Obr.: 19b). Protein nevzniká. AON může s aparátem interferovat dvěma způsoby. ON může fungovat jako sterická zbrána, takže v ribozomu dojde k předčasnému zastavení syntézy peptidu. V druhém případě může jen přítomnost ON zabraňovat sestavení podjednotek ribozomu.<sup>165</sup> Delší ODRN mohou aktivovat RNAi mechanismus.<sup>193</sup>
3. **translace** (viz. Obr.: 19c). Po hybridizaci s *antisense* vláknem je cílová sekvence je štěpena RNázou H. Protein nevzniká. Jedná se o neúčinnější, nepoužívanější a nevíce ověřený *antisense* mechanismus. RNáza H je endogenní enzym a je přítomna v cytoplasmě i v jádru. V jádru plní běžně funkci odstraňování RNA primerů z Okazakiho fragmentů při replikaci DNA. V buňce také specificky štěpí RNA:DNA duplexy. ODRN musí být pro degradaci RNázou H přesně zkonstruovány. K tomu se využívá *gapmer* ON.<sup>194-7</sup>



Obr. 19: Mechanizmy účinku antisense oligonukleotidů a siRNA. Blokace translace (b), štěpení řetězce RNázou H (c), štěpení řetězce RNA-indukovaným „utišujícím“ komplexem (a).<sup>448</sup>



## 4.2.1 Gapmer oligonukleotidy

*Gapmer* ON řetězce jsou specifickým typem chimérních řetězců. Jedná se o kombinace rozličných modifikací do jednoho řetězce, které se vzájemně doplňují. Prostředek řetězce je tvořen deoxyribonukleotidy. Na tento centrální blok jsou z obou stran připojeny řetězce ribonukleotidů. Jelikož je aktivace RNázy H nejvhodnějším způsobem pro degradaci při *antisense* mechanismu, pro centrální část se proto použijí dostatečně dlouhé sekvence, které tuto aktivitu dokáží vyvolat. Okrajovými sekvencemi jsou 2'-O-alkyl modifikované řetězce sloužící jako vhodná ochrana střední části před nukleázami.

Teoreticky je bezpečné použít ON o délce více než 16 nukleotidů. Čím je ON kratší, tím více existuje komplementárních protějšků a nespecifických interakcí. V praxi se ale například takový 15merní ON nemusí vázat pouze v této vymezené sekvenci. Může být chápán a rozeznán také jako 8 překrývajících se řetězců, každý s odlišnou komplementaritou.

Okrajové sekvence v *gapmer* ON řeší tento problém s nespecifickými interakcemi. *Gapmer* ON může obsahovat kratší centrální blok, protože ramena s 2'-O-alkyl modifikacemi nejsou schopny indukovat aktivitu RNázy H. I kdyby došlo k rozpoznání nechtěné sekvence, mají *gapmer* ON minimální vedlejší účinky.<sup>198</sup>

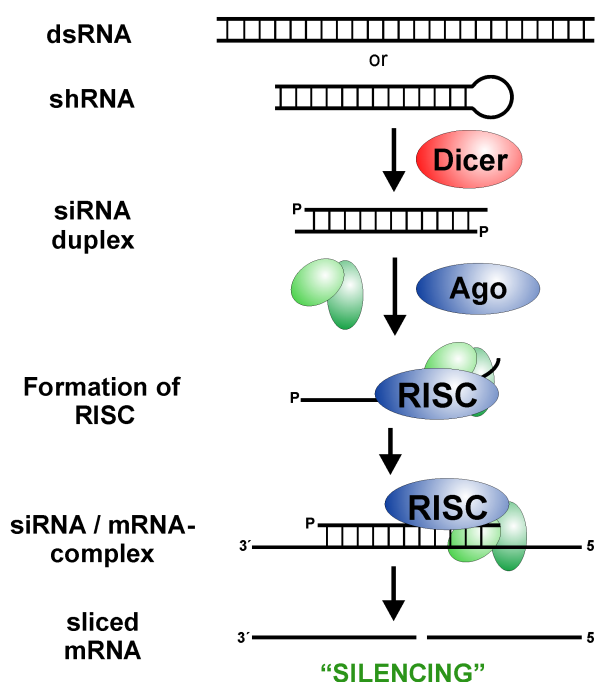
## 4.2.2 Interference ribonukleových kyselin

Mechanismus interference ribonukleových kyselin (RNAi) (viz. Obr.: 19a) byl objeven v roce 1998 v modelovém organismu půdního červa *Caenorhabditis elegans*. Jedná se o přirozeně se vyskytující fenomén sloužící pro regulaci genové exprese.<sup>199-204</sup> Může být chápán také jako starodávný obranný mechanismus eukaryotických buněk.<sup>165</sup>

RNAi funguje na principu štěpení cílové mRNA pomocí RNA-indukovaného „utišujícího“ komplexu (RISC). Po navázání *small interfering RNA* (siRNA) na Argonaut 2 endonukleázu (Ago2) dojde obvykle k štěpení *sense* vlákna na devátém nukleotidu od 5'-konce řetězce. *Antisense*, naváděcí vlákno, zůstává na Ago2 a to se dohromady ještě s dalšími proteiny označuje jako RISC, který se pomocí vlákna váže na základě komplementarity k cílové molekule mRNA. Ta je po nalezení cílové sekvence v daném místě endonukleázou štěpena a degradována v buňce.<sup>205-6</sup>

## Small interfering RNA

SiRNA je dvouvláknová molekula o přibližné délce 21 nukleotidů s dvěma nukleotidy přechýlujícími na 3'-koncích.<sup>207-8</sup> SiRNA je krátká nekódující RNA, která má téměř shodné fyzikálně-chemické vlastnosti s miRNA. Od miRNA se liší mimo jiné v mechanismu utišování genů. Po vpravení do buňky siRNA vyvolá výhradně RNAi mechanismus, kterým dojde k utišení homologních genů. Konkrétně dochází k zastavení translace jedné specifické cílové mRNA. Tento děj se odehrává v buňce přirozeně a je uskutečnitelný uměle. Kromě toho je siRNA vrozenou ochranou proti virové nákaze.<sup>209-10</sup>



Obr. 20: Mechanismus účinku siRNA.<sup>449</sup>

SiRNA vzniká postupně přepsáním svého genu z buněčné či jiné patogenní DNA do dvouvláknové RNA (dsRNA). Dicer upravuje v cytoplazmě dsRNA na kratší dvojvláknovou siRNA. Předpřipravená dsRNA může být také vpravena do buňky uměle, ale neměla by být delší než 30 nukleotidů. Více jak 30 nukleotidů dlouhá dsRNA může zaktivovat dráhu interferonu, což vede k nespecifickému štěpení mRNA a apoptóze. Proto je výhodné vpravovat do buňky již kompletně nasyntetizované siRNA

molekuly.<sup>211-2</sup>

Pro vyvolání RNAi mechanismu musí být siRNA plně komplementární ke své mRNA. Fosfodiesterová *backbone* mRNA je po splnění komplementarity štěpena Ago2 endonukleázou mezi 10. a 11. nukleotidem od 5'-konce řetězce. Naštěpené fragmenty jsou degradovány příslušnými exonukleázami.<sup>213-4</sup> Díky svojí specifitě se siRNA molekuly používají pro identifikaci a ověřování nových léčiv.<sup>215-6</sup>

### 4.2.3 microRNA

První miRNA byla objevena v roce 1993 při studiu vývojových regulačních genů v *Caenorhabditis elegans*. MiRNA je jednovláknová nekódující RNA molekula o délce 19-25 nukleotidů. Obsahuje vlásenku a dva nukleotidy přečnávající na 3'-koncích. MiRNA se přirozeně vyskytují v buňce a slouží jako regulátory genové exprese.<sup>217</sup>

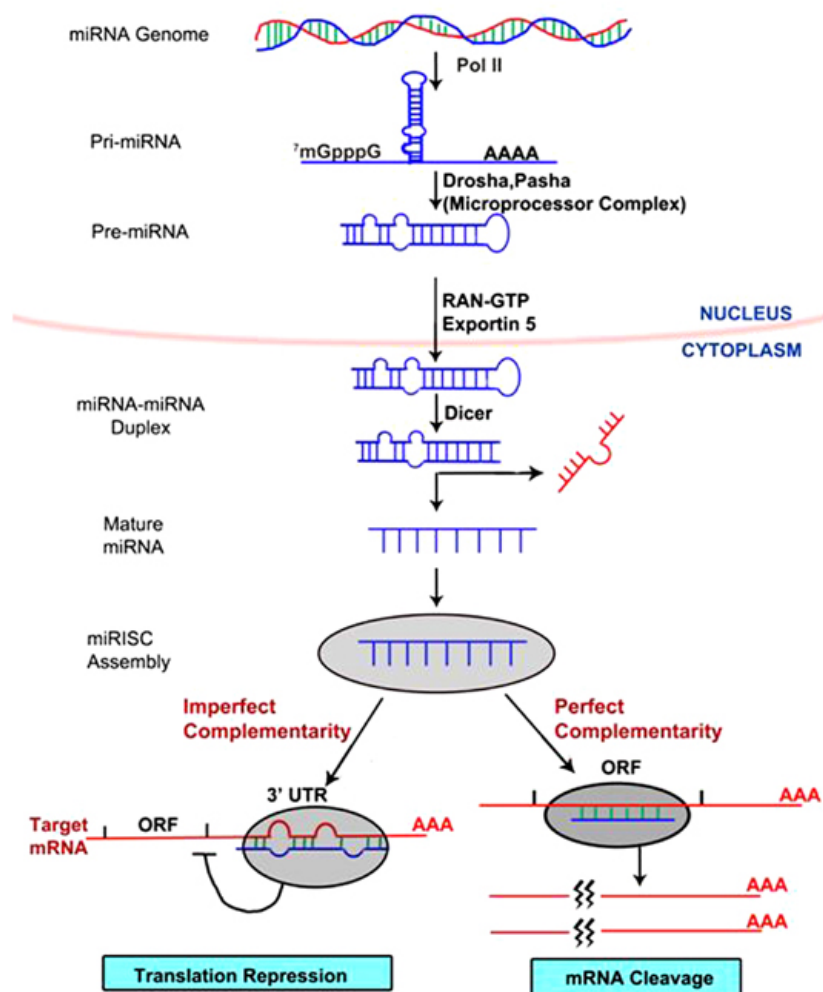
Pro genovou terapii se využívá dvou miRNA přístupů: inhibujícího či nahrazujícího. Inhibice probíhá jako běžná *antisense* terapie. Pro to se používají jednovláknové RNA molekuly zvané antagomir. Antagomir molekuly jsou připraveny tak, aby v buňce rozpoznaly endogenní miRNA řetězce a zastavily tak jejich přirozené regulační mechanismy.<sup>218</sup>

Nahrazovací terapie spočívá v použití umělých miRNA, které mají napodobit funkci endogenních miRNA, které svou přítomností degradují či inhibují mRNA.<sup>219</sup>

MiRNA se od siRNA liší hlavně tím, že miRNA jsou komplementární s více mRNA molekulami.<sup>220</sup> MiRNA je multikomplementární kvůli tomu, že hybridizuje s mRNA jen částečně v krátkém úseku svojí molekuly. Čím méně nukleotidů daná sekvence obsahuje, tím méně je vazba specifická a tudíž existuje více potenciálních mRNA sekvencí, se kterými má miRNA shodnou komplementaritu bází. Hybridizace miRNA s mRNA se většinou odehrává v oblasti na 3'-konci mRNA, která není překládána do proteinu. Tato oblast obsahuje 2 až 7 nukleotidů.<sup>221-2</sup>

Mechanismus účinku miRNA začíná utvořením miRISC komplexu. Po následném rozvinutí miRNA je její *sense* vlákno uvolněno a degradováno v buňce. MiRNA poté navádí miRISC komplex ke komplementární mRNA. Zastavení exprese genů probíhá sterickou blokadou translace či degradací miRISC komplexu s hybridizovanou mRNA deadenylací, *decappingem* či na základě exonukleázové

aktivity. Pokud je v některých případech shoda sekvencí miRNA a mRNA vysoká, uplatňuje se také RNAi mechanismus, který je podobný siRNA RNAi mechanismu.<sup>223-4</sup>



Obr. 21: Mechanismus účinku miRNA. Zastavení translace při nedokonalé komplementaritě (vlevo). Štěpení řetězce při vysoké shodě sekvencí (vpravo).<sup>450</sup>

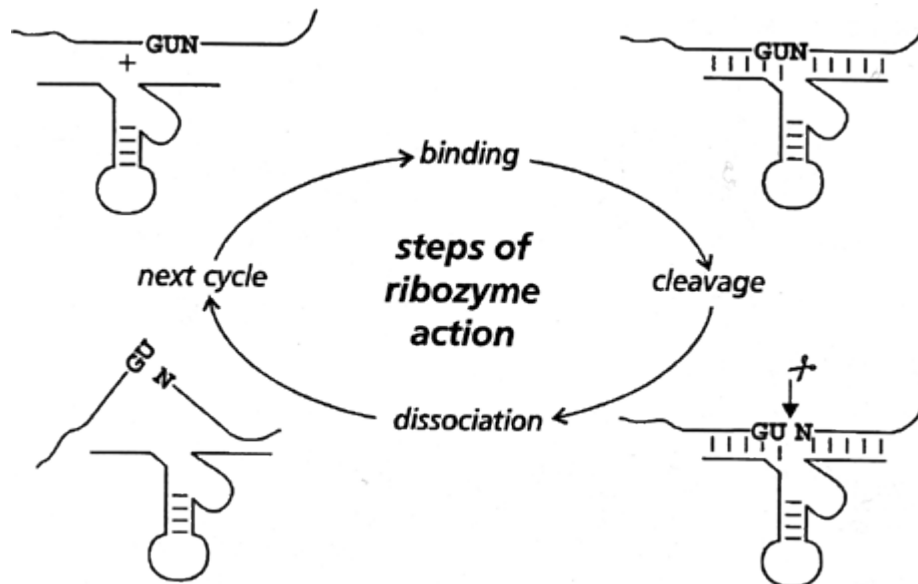
MiRNA se využívají při diagnostice jako *biomarkery*. Oproti běžným léčivům o malé molekulové hmotnosti, které jsou limitovány svým polem působnosti, mohou miRNA a siRNA snižovat expresi prakticky jakéhokoliv genu a jejich mRNA transkriptů. Nedostatkem tohoto přístupu je momentálně snížená stabilita a malá efektivita transportu siRNA a miRNA.<sup>225</sup>

## 4.2.4 Ribozymy

Ribozymy jsou RNA enzymy. Byly prvně popsány v modelovém organismu prvoka druhu *Tetrahymena thermophila* na začátku 80. let. Nejprostudovanějším RNA enzymem je tzv. *hammerhead* ribozym. Tato forma enzymu byla poprvé izolována z viroidní RNA.<sup>226-7</sup>

Komplex malých jaderných ribozymů, který je součástí spliceozomu, v buňce katalyzuje *splicing* pre-mRNA. Ribozymy nacházející se ve velké podjednotce ribozomu katalyzují kondenzaci aminokyselin peptidyl transferázy. To je patrně nejdůležitější úloha RNA enzymů v buňce.<sup>228-32</sup>

Skupina nukleolytických ribozymů zahrnuje soubor menších rozmanitých RNA, které zprostředkovávají specifické štěpení nebo ligaci řetězce RNA. Štěpení řetězce se uskutečňuje mechanismem nukleofilní substituce  $S_N2$ . Hydroxylová skupina ribozymu atakuje fosfodiesterovou vazbu štěpeného řetězce. Proběhne transesterifikace. Vzniká 2',3'-cyklofosfát a 5'-OH skupina. Ligace probíhá v přesně opačném pořadí. Ribozym je nezměněn na konci cyklu štěpení a ligace. Ribozymy jsou také schopny ovlivňovat genetickou expresi. Tři ribozymy, které pravděpodobně genetickou expresi ovlivňují jsou: *twister*, *hammerhead* a HDV.<sup>233-7</sup>



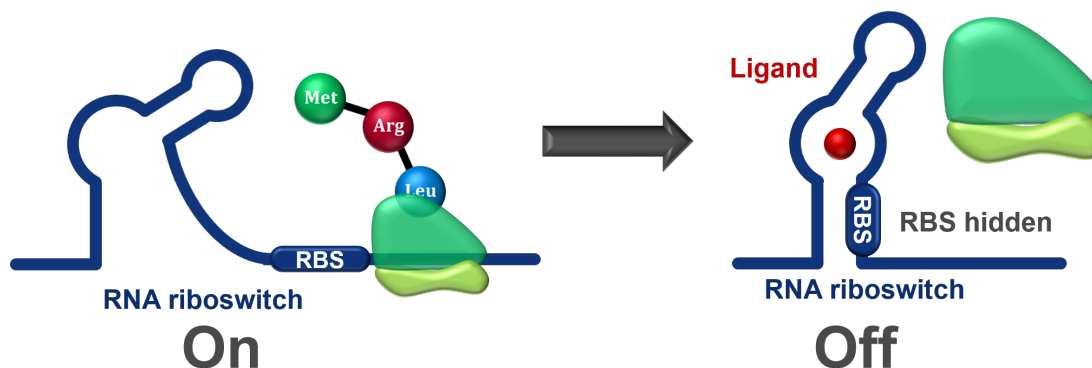
Obr. 22: Mechanismus účinku ribozymů. Jeden cyklus = navázání, štěpení, disociace.<sup>451</sup>

RNA enzymy jsou terapeuticky použitelné pro štěpení specifických míst na RNA. Pro léčbu virových onemocnění či rakoviny. Používají se uměle odvozené ribozymy od *hammerhead* či vlásenkového ribozymu. Ve své struktuře obsahují katalytickou RNA doménu, která štěpí mRNA a substrát vazací doménu, která obsahuje *antisense* sekvenci k cílové mRNA. Ribozym nasedá na cílovou oblast mRNA svou substrát vazací doménou.<sup>238-42</sup>

## 4.2.5 Ribopřepínače (Riboswitch)

Ribopřepínače jsou přirozeně se vyskytující nekódující úseky mRNA. Jsou schopny specifické vazby k buněčným metabolitům. Jedná se o mRNA složenou do trojrozměrné struktury. Váží na sebe malé molekuly, které mění expresi určitých genů. Klíčové pro fungování ribopřepínačů je změna uspořádání molekuly.<sup>243-5</sup>

Charakteristická pro ribopřepínač je schopnost přecházet mezi dvěma konformacemi. Změna konformace tam i zpět se děje při překročení nadprahové koncentrace ligandu souvisejícího s ribopřepínačem. Typický ribopřepínač, jako například RNA reagující na guanosin, obsahuje dvě hlavní oblasti. Je to aptamerová doména, která váže metabolit. Na druhé doméně probíhá exprese proteinu. Jsou zde obsaženy sekvence pro vazbu ribozomu, vlastní sekvence cílového proteinu a s tím související signály pro expresi. Tato doména je variabilní, kdežto aptamer je evolučně zakonzervován.<sup>246-8</sup>

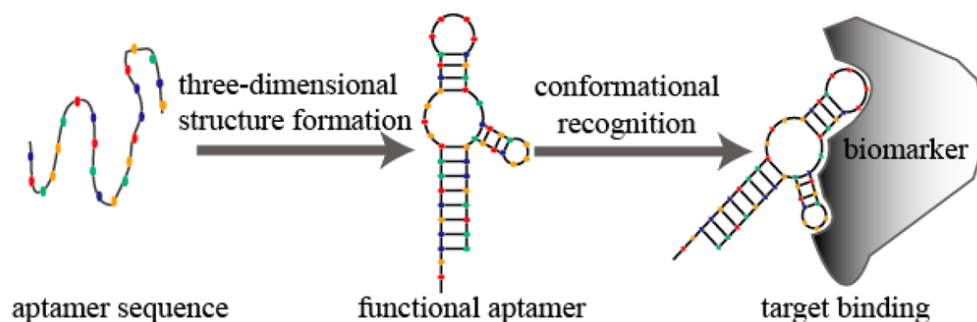


Obr. 23: Mechanismus účinku ribopřepínačů na úrovni translace.<sup>452</sup>

Pokud je na ribopřepínač navázán ligand, dochází ke stabilizaci a složení domény sloužící pro expresi. Syntéza proteinu neprobíhá (viz. Obr. 23: vpravo). Při nepřítomnosti metabolitu aptamerová doména netvoří stabilní útvar a následuje transformace celé molekuly (viz. Obr. 23: vlevo). Ribopřepínače fungují jako regulátory transkripce, translace, *splicingu* nebo degradace mRNA.<sup>249</sup>

## 4.2.6 Aptamery

Aptamery jsou krátké syntetické jednořetězcové RNA či DNA, které mají schopnost poskládat se do trojrozměrných struktur. Tyto struktury se běžně sestávají z 20-80 nukleotidů. Kromě komplementarity bází aptamery rozpoznávají své protějšky především na základě prostorového uspořádání molekuly. Vyznačují se vysokou specifitou a afinitou vazby. Při vazbě se uplatňují Van der Waalsovy síly, vodíkové vazby, elektrostatické interakce, interakce překrývajících se skupin a celková sterická shoda struktur na principu „zámku a klíče“ (viz. Obr.: 24). Aptamery mohou plnit funkci specifických ligandů, antagonistů a agonistů.<sup>250-1</sup>



Obr. 24: Princip „zámku a klíče“.<sup>453</sup>

Aptamery se někdy označují jako „chemické protilátky“, protože jsou dokonalou alternativou monoklonálních protilátek. Aptamery jednoznačně převyšují protilátky v několika ohledech. Nejsou přímo rozeznávány imunitním systémem a nevykazují známky imunogenicity a toxicity. Neobsahují nadbytečné oblasti, které by způsobovaly nepředvídatelné vedlejší interakce. Transport a přechod do nitra buněk je výrazně usnadněn díky malé velikosti aptamerů.<sup>252-7</sup>

Oblast působnosti aptamerů je takřka neomezená. Dodnes byly vytvořeny souhlasné aptamery k(e): proteinům, organickým peptidům, komplexům buněk, tkáním, malým anorganickým iontům a

léčivům. Výrobní náklady jsou v porovnání s protilátkami nižší. Metoda syntézy dovoluje aptamery vyrábět v šaržích, které se mezi sebou liší naprosto minimálně i ve velkých množstvích. Skladování a přeprava jsou snadné, protože aptamery jsou termálně stabilní.<sup>258-63</sup>

Specifické aptamery se připravují metodou SELEX, což v překladu znamená: systematické vyvíjení ligandů exponenciálním obohacováním (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment). V několika opakujících se cyklech probíhá amplifikace a obohacování. Tak vzniknou vysoce specifické aptamery s vynikající afinitou. V prvním kroku je připraveno  $10^{14}$ - $10^{15}$  odlišných jednovláknových ODRN o délce 30-50 nukleotidů. V této skupině zaujme každý ON svou sekundární a terciární strukturu. Heterogenní ON jsou inkubovány s imobilizovanými či volnými cílovými molekulami. Vzniklé komplexy jsou odseparovány, jsou poté amplifikovány PCR nebo RT-PCR metodou a produkty opět vstupují do nového cyklu. Obvykle proběhne 8 až 20 cyklů.<sup>264-5</sup>

Aptamery vyprodukované tímto způsobem ale nejsou vždy použitelné v terapii. To proto, že při podmínkách *in vitro* cílové molekuly zaujímají jiné konformace než *in vivo*. Tento problém se obchází metodou Cell-SELEX, kde se jako cíle používají celé živé buňky.<sup>266-70</sup>



# 5. Transport

Transport ON do cílového místa v buňce představuje překonání několika biologických bariér. Po úspěšném vpravení přípravku do organismu je ON vystaven působení nukleáz v krevním řečišti. Na této úrovni také dochází k degradaci cizorodých látek pomocí nespecifické imunity (viz.: mononukleární-fagocytární systém).

Krev je filtrována ledvinami, což je místo pro eliminaci nechtěných látek z organismu. Dále krev prochází játry, ve kterých léčiva podléhají metabolickému *first-pass efektu*. Při cirkulaci v krevním řečišti daná terapeutika prostupují endotelem cév do extracelulárního prostoru, kterým difundují až k cílovým tkáním. Na usnadnění cesty ON k buňce se spolupodílejí i jednotlivé výše uvedené modifikace.

Velikost molekuly terapeutika vpraveného do cirkulace rozhoduje o jeho farmakokinetice a biodistribuci. Částice o rozměru přibližně 10 nm a více se v řečišti nacházejí ještě dlouho po aplikaci, jelikož jsou minimálně eliminovány ledvinami. Ideální je použití částic o velikosti mezi 10 až 50 nm. Distribuce látek s velikostí nad 50 nm je již omezena pouze na játra, některé nádory a slezinu a podobné tkáně s vysokou propustností cév. Potom co se ON dostává k buňce, musí kromě plazmatické membrány překonat také endozomální membránu.<sup>271-3</sup>

Ve většině případů je nejméně účinnou strategií aplikace pouze holých NA. Je ale známo, že PS ve své přirozené podobě vstupují do buněk v mnohem vyšší míře než siRNA a MO.

Kromě prosté aplikace existují další dva způsoby jak zvýšit koncentraci ON v buňce. Používají se jednak ligandy konjugované s terapeutiky. Ligand je sám o sobě zacílen k určitému buněčnému receptoru. Po vazbě na receptor, která je vysoce specifická, je tento komplex přijat endocytózou. Další možností je inkorporace ON do lipidových či polymerových nanonosičů.<sup>274-82</sup>

## 5.1 Molekulární konjugáty jako transportéry

Hydrofilní látky, jako jsou mimo jiné i ON, nepronikají nebo jen velmi omezeně skrze buněčnou membránu. Jedním z řešení je konjugace dané molekuly s jinými makromolekulami, které mají lipofilní nebo amfifilní charakter.<sup>283</sup>

Výroba konjugovaných molekul, které jsou schopny specifické vazby na buněčném povrchu, se provádí přímou vazbou lipidů, sacharidů, peptidů nebo malé molekuly na 3' či 5'-konci ON. K tomu je využíváno amidů, thioetherů, thiol-maleimidů, esterů a disulfidů. Tato úprava by neměla ovlivnit cílovou reakci ON s RNA. U siRNA není možné provést modifikaci 5'-konce, jelikož musí být toto místo fosforylováno, aby bylo v buňce rozpoznáno pomocí RISC. Konjugáty s disulfidovými, peptidovými a hydrazonovými vazbami jsou navíc po transportu v buňce štěpeny. Úspěšnost této strategie závisí na počtu cílových receptorů a afinitě ligandu k danému receptoru na povrchu buňky.<sup>282,284-7</sup>

Konjugáty se specifickými ligandy jsou v porovnání s nanočásticemi mnohem více stabilnější, poskytují vyšší pokrytí cílových tkání a skýtají tak velký potenciál.<sup>288</sup>

### 5.1.1 Konjugáty se sacharidy

Tato skupina trivalentních konjugátů se používá hlavně pro transport ON do jaterních buněk. Aktuálně jsou testovány pro léčbu hypercholesterolémie, hemofilie a amyloidózy. Tyto konjugáty jsou kromě intravenózního podávání účinné také při subkutánní aplikaci s minimálními vedlejšími účinky. Trojmocnost je daná tím, že k 3'-konci siRNA jsou napojeny 3 molekuly N-acetylgalaktosaminu (GalNAc). Výhodou je, že konjugace ON může být provedena již při výrobě na pevné fázi. GalNAc je přijímán játry díky asialoglykoproteinovému receptoru, který se vyskytuje hlavně na hepatocytech. Tento receptor přirozeně vycytává glykoproteiny s koncovou galaktózou endocytoticky z oběhu.<sup>289-90</sup>

### 5.1.2 Lipidové konjugáty

Konjugace ON s lipidy zlepšuje kromě míry průchodu do buněk také jejich farmakokinetické vlastnosti. SiRNA konjugovaná s cholesterolem se v krvi váže na lipoproteiny a celkovou dobu cirkulace v řečišti je tím delší. To zvyšuje množství přijaté hepatocytem prostřednictvím lipoproteinových receptorů. Nově se používají ligandy jako  $\alpha$ -tokoferol. Dále je možné korigovat vlastnosti těchto konjugátů úpravou délky vazby mezi lipidem a siRNA.<sup>291-5</sup>

### 5.1.3 Konjugáty s malými molekulami

Pro transport některých ON se využívá nízkomolekulárních ligandů. Příkladem z této skupiny může být konjugace jednořetězcových ON s jednou či více molekulami anisamidu. Anisamid je nízkomolekulární ligand pro  $\sigma$ -receptor. Dále se jako malé ligandy využívají folátové ligandy, které se váží k folátovým receptorům a anandamidy vážící se ke kanabinoidovým receptorům. Tyto konjugáty vykazují vysokou vaznost ke svým receptorům a výrazně tak zvyšují příjem ON buňkami.<sup>296-8</sup>

### 5.1.4 Peptidové konjugáty

Peptidové konjugáty se dělí na dvě skupiny: na buňku zacílené peptidy (CTP) a do buňky pronikající peptidy (CPP).

#### ***Na buňku zacílené peptidy***

CTP jsou optimalizované pro vazbu na konkrétní buněčné receptory. Strukturně jsou CTP tvořeny třemi až deseti aminokyselinami a jsou přijímány endocytózou. Vykazují vysokou afinitu ke svým cílovým receptorům. Pro zlepšení afinity či avidity k cílovému receptoru se daný peptid cyklizuje nebo se násobí či multimerizuje.<sup>299</sup>

CTP se používají pro transport siRNA, *antisense* a jednořetězcových ON. Výsledný účinek konjugátu ovlivňuje cesta jeho internalizace. Účinek je také ovlivněn mírou multimerizace konjugátu. Mohou se vyskytovat v mono- bi- tri- a tetravalentní formě. Všechny tyto formy jsou přijímány s rozdílnou efektivností. A pouze některé formy dokáží vyvolat štěpení RNAi mechanismem.<sup>300</sup>

Kyselina arginylglycylasparagová (RGD) byla prvním peptidem specificky navázaným na nádorovou buňku. RGD tripeptid, specificky reaguje s integrinovým receptorem.<sup>301-3</sup> Integrinový receptor se vyskytuje v určitých fázích na povrchu některých nádorových buněk. Skrze něj je možné v nádoru ovlivňovat angiogenezi, migraci, invazi a metastatickou aktivitu.<sup>304</sup>

#### ***Do buňky pronikající peptidy***

CPP jsou méně specifické než CTP. Jsou to kationické nebo amfipatické peptidy o délce přibližně 30aminokyselin. První CPP molekula (Penetratin) byla objevena v roce 1994. Tato skupina molekul usnadňuje průchod záporně nabitých makromolekul skrze plazmatickou membránu. Buněčná toxicita

je minimální.<sup>283</sup> Zprostředkovávají přesun siRNA, AON a jednořetězcových ON. Kromě toho mohou samy o sobě prostupovat membránou. Bylo zjištěno, že spojení CPP s morfolinovými a peptidovými ON se pro transport jeví jako velice efektivní. Jednořetězcové CPP konjugáty byly testovány na myších se svalovou dystrofií Duchenne a na tkáňových kulturách s dobrými výsledky.<sup>305-10</sup>

Nejnovější metodou je použití více funkčních skupin peptidů v jednom ligandu. Tyto chimérické peptidy mají vyšší účinnost. Při korekci dystrofínu se využilo kombinace CPP s CTP se specifitou ke svalové tkáni. Toto vedlo k dalšímu zvýšení koncentrace terapeutika v cílových buňkách.<sup>288</sup>

### 5.1.5 Konjugáty na bázi protilátek

Protilátka jako transportér léčiv má velký význam při léčbě rakoviny. V případě doručování ON jsou protilátky neefektivní.

Humánní monoklonální protilátky mohou být připojené k siRNA pomocí disulfidové vazby, která je v buňce běžně štěpena. Určité množství je sice přijato endocytoticky do cytosolu buňky, ale výsledný účinek se již nedostaví.

Problém je v tom, že endozomy obsahující tento konjugát neuvolňují svůj obsah intracelulárního prostoru. To bylo odhaleno současným podáním chlorochinu, který dokáže rozvolnit endozomy. Další studie také potvrdily toto endozomální „uvěznění“.<sup>286,311-2</sup>

Tuto neúčinnou metodu založenou na protilátkách je přesto možné přetransformovat v prospěšnou terapii. Rozvolnění endozomů s těmito konjugáty a následnou aktivaci RNAi mechanismu je dosažitelné s použitím nosičů (viz.: 5.2.1 - Protamin).

### 5.1.6 Konjugáty s aptamery

Aptamery dokáží zvýšit účinnost endocytózy molekul, ke kterým jsou připojeny. Aptamery mohou přenášet do buňky léčiva, toxiny nebo ON. Kromě intracelulární terapie se aptamery používají i k blokaci povrchových receptorů buněk. SiRNA konjugované s aptamery se testují pro léčbu rakoviny prostaty, inhibici replikace viru HIV nebo pro onemocnění imunitního systému. Pro prodloužení biologického poločasu v plazmě se ke konjugátu přidává ještě koncový polyethylenglykol (PEG), který zvětšuje molekulu a zpomaluje tím glomerulární filtraci.<sup>313-7</sup>

## 5.1.7 Konjugáty s CpG

Pro terapii se využívá také CpG ODRN konjugovaných se siRNA. Tyto konjugáty jsou schopny prostoupit do časných endozomů. Uvnitř jsou rozpojeny a siRNA se váže na enzym Dicer.<sup>318</sup>

CpG ON obsahují ve své sekvenci opakující se motiv cytosin trifosfát deoxynukleotidu („C“) s guanin trifosfát deoxynukleotidem („G“). Malé „p“ značí fosfodiesterovou vazbu. CpG se hojně vyskytují v bakteriálním genomu a proto jsou považovány za patogenní oblasti. Tyto CpG sekvence jsou imunogenní, pokud jsou momentálně nemethylované. Imunitní odpověď vzniká rozeznáním CpG sekvence Toll-like receptorem 9 na povrchu B lymfocytů nebo plazmacytoidních dendritických buněk.<sup>319-21</sup>

## 5.2 Nosiče jako transportéry

Molekulární konjugáty jsou do určité míry postačující. Kromě přesného nasměrování terapeutik, je často potřeba splnit i další kritéria. Nosiče oproti konjugátům dokáží zabránit zadržování ON uvnitř endozomů a prodloužit dobu cirkulace v krevním řečišti. Nosiče velikostí překračují konjugáty a jsou přizpůsobitelné mnoha účelům.<sup>288</sup>

### 5.2.1 Polymerové nosiče

Dynamické polykonjugáty (DPC) jsou nejpoužívanějším typem polymerového nosiče. Je možné je dělit na DPC pro transport siRNA do jaterní tkáně a na DPC pro extrahepatální transport.

Základním kamenem jaterních DPC je molekula poly(butyl amino vinyl etheru) (PBAVE). Na PBAVE nasedají postranní alkylové řetězce, mezi nimiž jsou rozptýleny aminy. Celkově amfipatický charakter je určen k rozrušení buněčné membrány a také k uvolnění obsahu v endozomu.<sup>322</sup>

Další součástí základního řetězce jsou molekuly PEG a GalNAc. GalNAc molekuly umožňují specifické navázání na povrch hepatocytu. Molekuly PEG se přidávají pro celkové zvětšení komplexu. Ten je pak minimálně eliminován ledvinami a prodlužuje se tím biologický poločas.<sup>315</sup>

K tomuto nosiči se nakonec připojí siRNA disulfidickou vazbou. Pokud je komplex přijat buňkou, je v endozomu transportován do cytosolu. V kyselém prostředí endozomu se ligandové a

PEG molekuly uvolňují od PBAVE. Odhalený polymerový nosič potom může rozrušit endozom. V redukujícím prostředí cytozolu buňky je disulfidická vazba štěpena a volná siRNA může interferovat s cílovými strukturami.<sup>322</sup>

DPC pro extrahepatální transport obsahují odlišné ligandy. Mohou být namířeny na  $\alpha V\beta 3$  integrinový receptor, který je hojně exprimován na povrchu některých nádorových buněk.

Dřívější verze DPC při uvolnění z endozomů rozrušovaly i jiné membrány. Současné polymerové nosiče již ale nevykazují závažné vedlejší účinky. Nejnovějším přístupem v klinickém testování je nyní současná aplikace samotného polymerového nosiče a siRNA konjugovaného s cholesterolem. Byla zaznamenána 500x vyšší četnost přenosu siRNA do intracelulárního prostředí.<sup>323-4</sup>

## 5.2.2 Proteinové nosiče

### *Lidský sérový albumin*

Lidský sérový albumin (HSA) je přirozeným transportérem. Jeho přibližný průměr 7 nm je o něco málo větší než glomerulární póry, což pro HSA znamená 19denní poločas cirkulace.<sup>325-7</sup> Umožňuje přenos léčiv, například malých molekul nebo peptidů.

Jako nosič pro cílený transport je nutné albumin potřebně modifikovat navázáním specifických molekul. Albumin je možné konjugovat s řetězcí PEG s navázanými RGD peptidy na jejich koncích. K tomuto komplexu se jednořetězcové ON připojují disulfidicky. Výsledkem modifikace albuminu jsou uniformní částice o průměru 12-13 nm. Tyto komplexy se oproti běžným nanočásticím dostávají hluboko do nádorových sféroidů. Běžné nanočástice o velikostech kolem 300 nm mohou interagovat pouze s buňkami na povrchu nádorového sféroиду.

K jedné molekule HSA může být navázáno 10 až 15 molekul ligandu. Cytotoxicita nebyla prokázána. Tato metoda nezahrnuje navození uvolňování obsahu z endozomů.<sup>328-331</sup>

### *Protamin*

Protamin je jaderný protein bohatý na arginin a je volbou pro transfer siRNA. Dvouvláknová siRNA je záporně nabitá a svým nábojem brání prostupu membránou. Protamin nese kladný náboj. Vazba na siRNA je uskutečněna pouze interakcí nábojů nekovalentně. Pro specifickou cílovou interakci se musí

k protaminu napojit protilátka. Tento komplex je účinný při protinádorové terapii. Také byl zaznamenán úspěch při léčbě lymfocytů infikovaných HIV. Umlčení genů zde probíhá mechanismem RNAi. Kationický protamin dokáže navozovat rozvolnění endozomu.<sup>332-3,286</sup>

### 5.2.3 DNA nanočásticové nosiče

K přesunu ON do cytozolu je možné použít NA, které jsou schopny se na základě komplementarity bázi agregovat do vyšších struktur. S využitím znalosti sekvencí daných řetězců se navrhuje struktury o požadované velikosti a tvaru. Výsledné komplexy jsou perfektně rozpustné ve vodě.<sup>334-7</sup> Připravené DNA či RNA nanočástice jsou vhodné pro transfer aptamerů, protilátek, malých molekul a peptidů.

Sférické struktury složené z NA mohou obsahovat anorganické jádro. Útvary tvořené pouze NA používané k transportu jsou: DNA čtyřstěny, dvacetistěny a desetistěny; větvené DNA nanostruktury a polypody, struktury klecovitého charakteru a DNA origami.

K vytvoření nanostruktur je zapotřebí použít více vláken ON. Vlákna ON se mohou provázat do vyšších struktur na základě přítomnosti „lepivých konců“ na každém duplexu. Ligací je možné sestavit požadované struktury, které ale nejsou pevné a přesně definovatelné.<sup>338</sup> Proto se používají spolehlivější metody. Dlaždicová metoda využívá otoček helixu pro splétání řetězců do pevnějších a definovatelnějších struktur. Metoda na principu tensegrity využívá pro sestavování pevných struktur stavební jednotku trojúhelníku, která je stabilní oproti čtvercové kostře.<sup>339</sup>

### 5.2.4 Anorganické nanočásticové nosiče

Pro nanonosiče složené z anorganických komponent se používá zlato. Thiolové skupiny ON se k povrchu zlata připojují koordinačně-kovalentní vazbou. Tyto polyanionické konstrukty o vysoké hustotě a homogenitě připojených řetězců se označují jako kulovité nukleové kyseliny (SNA). U SNA byla potvrzena schopnost vyvolat RNAi a *antisense* mechanismus. Bez dalších pomocných látek vstupují SNA ve vysoké míře až do 50 různých buněčných typů a také do časných endozomů. SNA prostupují do buňky skrze receptory nízkodenzitního lipoproteinu (LDL). To probíhá velmi rychle za účasti kaveolinu a lipidů. Není zatím jasné, jakým způsobem se uvolňují z endozomů.<sup>340-2</sup>

Pokud stříbrné či zlaté nanočástice absorbují laserové záření o určité vlnové délce, nastane vybuzení elektronů a produkci tepla. Tento jev se označuje jako povrchová plazmonová rezonance či

fototermální efekt. Tohoto jevu se využívá pro rozvolnění endozomů a také pro odpojení nosiče od ON.<sup>343</sup> Při nádorové terapii se po podání SNA ozařuje pouze oblast s nádorem. Používá se paprsek o vlnové délce ve viditelné či blízké infračervené oblasti spektra. Navzdory tomu, že SNA jsou přijaty i jinými tkáněmi než nádorovými, SNA jsou aktivní pouze v místech ozáření, což minimalizuje vedlejší účinky.<sup>344</sup>



# 6. Celkový přehled terapeutik

## 6.1 Přehled antisense terapeutik v klinických testech

Název	Modifikace	Cílová struktura	Fáze testování	Způsob Podání	Výrobce
<i>Mipomersen</i>	2'-O-MOE-PS gapmer ODRN	ApoB-100	Schváleno v USA	S.c. injekce	Isis Pharmaceuticals/Genzyme
<i>Alicaforsen</i>	PS-ODRN	ICAM-1	III.	I.v. infuze, klystýr	Isis Pharmaceuticals/Atlantic
<i>Oblimersen</i>	PS-ODRN	Bcl-2	III. (vývoj přerušen)	I.v. infuze	Genta
<i>Eteplirsen</i>	PMO AON	Dystrophin	III.	I.v. infuze	Sarepta Therapeutics
<i>Drisapersen</i>	2'-Ome-PS AON	Dystrophin	III.	I.m. injekce	Prosensa/GSK
<i>Custirsen</i>	2'-O-MOE-PS gapmer ODRN	Clusterin	III.	I.v. infuze	Isis Pharmaceuticals/OncogeneX
<i>Trabedersen</i>	PS-ODRN	TGF- $\beta$ 2	III. (gliom), II. (rakovina pankreatu)	I.v. infuze, intratumorální infuze	Antisense Pharma
<i>Aprinocarsen</i>	PS-ODRN	PKC- $\alpha$	III. (vývoj přerušen)	I.v. infuze	Eli Lilly/EORTC/ECOG/NCI
<i>Miravirsen</i>	PS-LNA gapmer ODRN	MiR-122	II.	I.v. infuze, s.c. injekce	Santaris Pharma
<i>OGX-427</i>	2'-O-MOE-PS gapmer ODRN	HSP27	II.	Intravezikální instilace	Isis Pharmaceuticals/Oncogene
<i>ISIS-113715</i>	PS-ODRN	PTP1B	II.	I.v. & s.c. injekce	Isis Pharmaceuticals
<i>ISIS-EIF4E<sub>RX</sub></i>	2'-O-MOE-PS gapmer ODRN	EIF-4E	II.	I.v. infuze	Isis Pharmaceuticals/Eli Lilly
<i>ISIS-CRP<sub>RX</sub></i>	2'-O-MOE-PS gapmer ODRN	C-Reaktivní protein	II.	I.v. infuze	Isis Pharmaceuticals

Název	Modifikace	Cílová struktura	Fáze testování	Způsob Podání	Výrobce
<i>ISIS-TTR02</i>	2'-O-MOE-PS gapmer ODRN, liposomální přípravek	Transthyretin	II.	I.v. infuze	Isis Pharmaceuticals
<i>Genersen</i>	PS-ODRN	p53	II.	I.v. infuze	Eleos, Inc.
<i>TPI ASM8</i>	PS-ODRN (mix dvou)	Beta řetězec IL-3/IL-5/GM-CSF receptorů a CCR3	II.	Inhalace	Pharmaxis
<i>LY2181308</i>	2'-O-MOE	Survivin mRNA	II.	I.v. infuze	Eli Lilly
<i>GTI-2040</i>	PS-ODRN	RRM2	II.	I.v. infuze	Lorus Therapeutics
<i>ATL1102</i>	2'-O-MOE	VLA-4	II.	S.c. injekce	Antisense Therapeutics
<i>Archexin</i>	PS-ODRN	Protein kináza B alfa (AKT)	II.	I.v. infuze	Rexahn
<i>AVI-4557</i>	MO AON	CYP450 3A4	II.	I.v & s.c & injekce, p.o. podání	Sarepta Therapeutics
<i>EGFR antisense</i>	PS-ODRN	EGFR	I./II.	Intratumorální injekce	University of Pittsburgh
<i>AEG-35156</i>	PS-2'-O-Me gapmer ODRN	XIAP	I./II. (vývoj přerušen)	I.v. infuze	Aegera Therapeutics
	PS-cEt-BNA gapmer ODRN	STAT3	I.	I.v. infuze	Isis Pharmaceuticals
<i>ISIS-STAT3<sub>RX</sub>, ISIS-481464 LerafAON-ETU</i>	PS-ODRN gapmer v liposomálním přípravku	c-Raf	I. (vývoj přerušen)	I.v. infuze	Insys Therapeutics, Inc.
<i>Resten-NG</i>	MO AON	Modulátory c-myc proonkogenního proteinu	I. (vývoj přerušen)	I.v. injekce	Sarepta Therapeutics
<i>AVI-4065</i>	MO AON	RdRP	Ia. (vývoj přerušen)	I.v. injekce	Sarepta Therapeutics
<i>Liposomal Grb-2</i>	P-ethoxy ODRN v liposomálním	L-Grb-2	I.	I.v. infuze	Bio-Path Holdings, Inc.

Název	Modifikace	Cílová struktura	Fáze testování	Způsob Podání	Výrobce
	přípravku				
EZN-2968	LNA PS-ODRN	HIF-1 $\alpha$	I.	I.v. infuze	Enzon Pharma/ Santaris
AVI-6003	MOplus (směs 2 MO s částečně modifikovanými vazbami piperazinem)	Proteiny viru Marburg	I.	I.v. injekce	Sarepta Therapeutics

Tabulka 1. Přehled antisense terapeutik v klinických testech<sup>345-6</sup>

**Vysvětlivky:** ApoB-100: Apolipoprotein B100; ICAM-1: Intracelulární adhezní molekula 1; Bcl-2: B-buněčný lymfom 2; TGF- $\beta$ 2: Transformující růstový faktor-beta 2; PKC- $\alpha$ : Protein kináza C alfa; MiR-122: microRNA-122; HSP27: Protein teplotního šoku 27; PTP1B: Protein- tyrozin fosfatáza 1B; EIF-4E: Eukaryotický iniciační faktor translace 4E; p53: Tumor supresorový protein 53; IL-3, IL-5: Interleukin 3 a 5; GM-CSF: Granulocyt-makrofágový kolonie stimulující faktor; CCR3: C-C chemokinový receptor typu 3; RRM2: Regulační podjednotka M2 ribonukleotidové reduktázy; VLA-4: Intergrin alfa4beta1; CYP450 3A4: Cytochrom P450 3A4; EGFR: Receptor epidermálního růstového faktoru; XIAP: Na chromozom X-vázaný proteinový inhibitor apoptózy; cEt: 2',4'-ethylem uzamčená konformace; STAT3: Přenašeč signálů a aktivátor transkripce 3; c-Raf: RAF proto-onkogenní serin/treonin-protein kináza; RdRP: RNA-dependentní RNA polymeráza; L-Grb-2: Receptor růstového faktoru svázaného s proteiny 2; HIF-1 $\alpha$ : Hypoxii-navozující faktor 1-alfa.

## 6.2 Přehled siRNA terapeutik v klinických testech

Název	Indikace	Cílová struktura	Fáze testování	Transportní médium	Způsob Podání
<b><u>Rakovinná onemocnění</u></b>					
ALN-VSP02	Nádory v pokročilém stádiu s postižením jater	KSP, VEGF	I.	Lipidové nanočástice	Intravenózní

Název	Indikace	Cílová struktura	Fáze testování	Transportní médium	Způsob Podání
<i>Atu027</i>	Nádor v pokročilém stádiu  Duktální karcinom pankreatu	PKN3	I.  I./II.	Lipidové částice ( <i>AtuPLEX</i> ®)	Intravenózní
<i>CALAA-01</i>	Nádor	RRM2	I. (vývoj přerušen)	Nanočástice na bázi polymeru	Intravenózní
<i>DCR-MYC (Dicer-substrát siRNA)</i>	Nádor, mnohočetný myelom, non-Hodgkinův lymfom  Hepatocelulární karcinom	MYC onkogen	I.  I./II.	Lipidové nanočástice (EnCore)	Intravenózní
<i>siG12D LODER</i>	Rakovina pankreatu v pokročilém stádiu	Zmutovaný onkogen KRAS	II.	Konstrukce na bázi biologicky odbouratelného polymeru	Lokální implantace
<i>siRNA-EphA2-DOPC</i>	Rakoviny v pokročilém stádiu	EphA2	I.	Neutrální lipozomy	Intravenózní
<i>TKM-080301 (TKM-PLK1)</i>	Primární či sekundární rakovina jater  Neuroendokrinní nádory a adrenokortikoidní karcinom	PLK1	I.  I./II.	Lipidové nanočástice	Intravenózní
<b><u>Infekční onemocnění</u></b>					
<i>ALN-RSV01</i>	RSV infekce  RSV infekce u pacientů s transplantací plic	RSV nukleokapsida	II.  II.	žádné	Intranazální  Nebulizace
<i>ARC-520</i>	Chronická	Zachovalé	II.	DPC	Intravenózní

Název	Indikace	Cílová struktura	Fáze testování	Transportní médium	Způsob Podání
	infekce virem hepatitidy B	oblasti HBV		(membranolytické peptidy s konjugáty siRNA-cholesterol)	
<i>TKM-100201</i> <i>TKM-100802</i>	Infekce virem Ebola	Ebola L polymeráza, VP24 a VP35	I. (vývoj přerušen) I.	Lipidové nanočástice	Intravenózní
<b><u>Onemocnění očí</u></b>					
<i>AGN211745 (Sirna-027)</i>	CNV, AMD	VEGF receptor 1	I./II. II. (vývoj přerušen)	žádné	Intravitreální
<i>Bamosiran (SYL040012)</i>	Oční hypertenze  Glaukom  Glaukom s otevřeným úhlem	ADR $\beta$ 2	I.  I./II.  II.	žádné	Lokální oční
<i>Bevasiranib (Cand5)</i>	Vlhká AMD, diabetický makulární edém VEGF  Vlhká AMD  AMD	VEGF	II.  III. (vývoj přerušen) III. (stažen)	žádné	Intravitreální
<i>PF-04523655 (PF-655)</i>	AMD  CNV, diabetická retinopatie, diabetický makulární edém  Diabetická retinopatie, diabetické	RTP801 (hypoxicky indukovatelný faktor 1 responzivního genu)	II.  II.  II.	žádné	Intravitreální

Název	Indikace	Cílová struktura	Fáze testování	Transportní médium	Způsob Podání
	komplikace				
<i>QPI-1007</i>	Atrofie optického nervu, nearteritická přední ischemická optická neuropatie	CASP2	I.	žádné	Intravitreální
<i>SYL1001</i>	Oční bolest, syndrom suchých očí	Kapsaicinový receptor (TRPV1)	I. I./II.	žádné	Lokální oční
<b><u>Kardiovaskulární a metabolická onemocnění</u></b>					
<i>ALN-PCS02</i> <i>ALN-PCSsc</i>	Hypercholesterolemie	PCSK9	I. I.	Lipidové nanočástice GalNAc-siRNA konjugát	Intravenózní Subkutánní
<i>PRO-040201 (TKM-ApoB)</i>	Hypercholesterolemie	ApoB	I. (vývoj přerušen)	Lipidové nanočástice	Intravenózní
<b><u>Geneticky podmíněná onemocnění</u></b>					
<i>ALN-AT3sc</i>	Hemofilie A i B	Antitrombin	I.	GalNAc-siRNA konjugát	Subkutánní
<i>ALN-CC5</i>	PNH	Komponenta komplementu C5	I./II.	GalNAc-siRNA konjugát	Subkutánní
<i>ALN-TTR01</i>	Transthyretinem způsobená amyloidóza (FAP)	Transthyretin	I.	Lipidové nanočástice	Intravenózní
<i>Patisiran (ALN-TTR02)</i>	Transthyretinem způsobená amyloidóza (FAP)	Transthyretin	II./III.	Lipidové nanočástice	Intravenózní
<i>Revusiran</i>	Transthyretine	Transthyretin	I./II./III.	GalNAc-siRNA	Subkutánní

Název	Indikace	Cílová struktura	Fáze testování	Transportní médium	Způsob Podání
<i>(ALN-TTRsc)</i>	m způsobená amyloidóza (FAP)			konjugát	
<i>TD101</i>	Kongenitální pachyonychie	Keratin 6a (mutanta N171k)	I.	žádné	Intradermální
<b><u>Ostatní onemocnění</u></b>					
<i>ND-L02-s0201</i>	Jaterní fibróza	HSP47	I./II.	Lipozomy s navázaným vitamínem A	Intravenózní
<i>QPI-1002 (I5NP)</i>	Akutní renální selhání, poranění ledvin  Prevence opožděné funkce štěpu při transplantaci ledvin	p53	I. (vývoj přerušen)  I./II.	žádné	Intravenózní

Tabulka 2. Přehled siRNA terapeutik v klinických testech<sup>347</sup>

**Vysvětlivky:** *KSP*: Proteiny vřetenové hlavy kinesinu; *VEGF*: Vaskulární endoteliální růstový faktor; *PKN3*: Protein kináza N3; *MYC* onkogen: Regulační gen kódující transkripční faktor; *KRAS*: Homolog virového onkogeny myšího sakromu Kirsten; *EphA2*: Typ-A efrinový receptor 2; *PLK1*: Serin/treonin-protein kináza 1; *RSV*: Respirační syncyciální virus; *CNV*: Choroidální neovaskularizace; *AMD*: S věkem související makulární degenerace; *ADRB2*: Beta-2 adrenergní receptor; *CASP2*: Kaspáza 2; *PCSK9*: Proprotein konvertáza subtilizin/hexin typ 9; *PNH*: Paroxysmální noční hemoglobinurie.

### 6.3 Přehled miRNA terapeutik v klinických testech

Název	Indikace	Cílová struktura	Fáze testování	Transportní médium	Způsob Podání
MRX34	Primární rakovina jater , metastáza jater jiných rakovin	miRNA-34a	I.	Lipozomy (SMARTICLE S)	Intravenózní
<i>TargomiRs</i>	Maligní pleurální mesotheliom, nemalobuněčný karcinom plic	<i>miRNA-16</i>	I.	Nanočástice (neživé bakteriální minibuňky)	Intravenózní

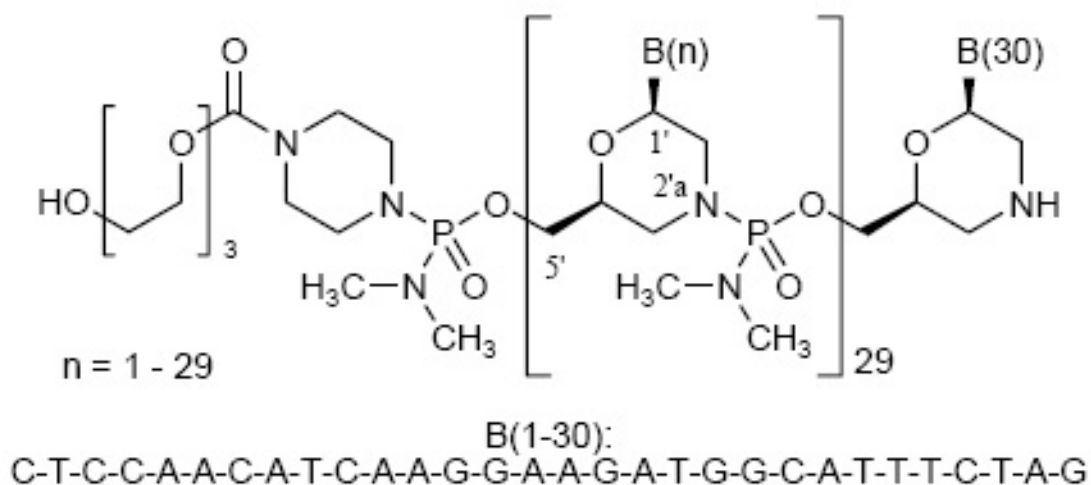
Tabulka 3. Přehled miRNA terapeutik v klinických testech<sup>348</sup>



# 7. Antisense oligonukleotidy v nejpokročilejších fázích klinických testů

## 7.1 Eteplirsen

Eteplirsen je morfolinový *antisense* 30 mer vyvíjený pro léčbu svalové dystrofie Duchenne (DMD). DMD je myopatie vyznačující se ochabováním svalstva již od kojeneckého věku s fatálními následky. DMD vzniká na podkladě mutace v rámci chromozomu X. V současné době existuje více než 2800 forem mutací způsobujících DMD.<sup>349</sup> Eteplirsen je zaměřen pouze na variantu 51, což představuje 13% pacientů s DMD.<sup>350</sup> Má za cíl hlavně zpomalit a zastavit progresi DMD.



Obr. 25: Chemický vzorec eteplirsenu.<sup>454</sup>

V roce 1987 byla rozkódována sekvence genu pro protein dystrofin. Dystrofin se nejhojněji vyskytuje v cytoplazmě v kosterním a srdečním svalstvu jako součást glykoproteinového komplexu DAGC.

DAGC fyziologicky připevňuje svalové vlákno k extracelulární matrix a tím stabilizuje svalová vlákna a jejich sarkolemu. Nefunkční dystrofin vede k zánětu ve svalové tkáni, její postupné degradaci a náhradě za fibroadipózní tkáň.<sup>351-2</sup>

Gen, který může být předvojem vzniku DMD je gen kódující dystrofin. Gen pro dystrofin je nejdelším protein-kódujícím genem v lidském organismu. Ve více jak dvou milionech párech bází dystrofinového genu existuje vysoká pravděpodobnost vzniku mutací.<sup>353-4</sup> Vzniklé mutace v genu pro dystrofin poté narušují čtecí rámec. Stop kodony jsou příčinou výrazně kratšího a nefunkčního nebo žádného proteinu.<sup>349,355-6</sup> V ranném transkriptu dystrofinu je obsaženo celkem 79 exonů.

Eteplirsen navozuje vynechání exonu 51 při sestřihu pre-mRNA dystrofinu. Váže se selektivně na exon 51 pre-mRNA dystrofinu. Nezahrnutí exonu 51 do výsledné mRNA vede ke korekci čtecího rámce, ale ne ke korekci mutací. Při translaci tak vznikne kratší, částečně funkční protein, který je srovnatelný s dystrofinem vyskytujícím se u lehčí formy DMD - Beckerovy svalové dystrofie (BMD). Pokud by byl eteplirsen podán zdravému jedinci, došlo by také k posunu čtecího rámce, ale výsledný dystrofin by byl defektní. Pro systémovou léčbu DMD je eteplirsen podáván intravenózně.

Předklinická fáze studia účinků eteplirsenu byla provedena na dystrofické myši a fibroblastech pacienta s DMD a makakovi jávském. Nebyly zjištěny vedlejší účinky a to ani při vysokých dávkách. Eteplirsen byl více přijímán ve více poškozeném svalstvu. Byla zaznamenána významně zvýšená tvorba kýženého dystrofinu. Při krátkodobé studii byla pouze zpočátku zaznamenána mírná akumulace bazofilních granul v ledvinách. Při dlouhodobé studii nebyla zaznamenána ani bazofilní granula.<sup>357-9</sup>

Při prvním klinickém testu bezpečnosti a účinnosti byl eteplirsen aplikován intramuskulárně. Přeskočení exonu bez vedlejších účinků bylo potvrzeno na základě biopsie po 4 týdnech z místa aplikace. Bylo detekováno až 42% množství dystrofinu oproti zdravé tkáni.<sup>360-1</sup>

Druhá klinická studie sledovala kromě bezpečnosti také farmakokinetiku eteplirsenu, který zde byl podáván intravenózně. Předmětem bylo také vyšetření fyziologických parametrů včetně testu chůze. Nejvyšší nárůst dystrofinu zde byl o 55% bez vedlejších efektů.<sup>351,362-4</sup>

V druhé fázi testování se dále také sledují mediátory zánětu a provádí se 6 minutový test chůze. Ti samí pacienti poté podstupují dlouhodobou studii trvající 80 týdnů. Již po 25 týdnech byl zaznamenán 22.5% nárůst dystrofinu a po 36 týdnech nárůst o 69 metrů při 6 minutovém testu chůze.<sup>365-7</sup>

## 7.2 Custirsen

Rakovina prostaty se zprvu léčí medikamentózně pomocí tzv. androgen-deprivační terapie (ADT) nebo chirurgicky. Přesto jsou některé subpopulace rakovinných buněk schopné přežít tuto terapii a následuje progresse onemocnění. Tento stav se označuje jako kastraci odolná rakovina prostaty (CRPC). Někdy ještě při tomto stavu funguje ADT a ta se poté provádí do konce života.<sup>368</sup>

Custirsen je AON, který je vyvinut pro snižování hladiny clusterinu v buňce. Clusterin (CLU) je chaperonový protein, který chrání buňku při stresu. CLU je ve vysoké míře exprimován při CRPC a zvyšuje rezistenci na léčbu.<sup>368</sup>

Custirsen je 21-merní PS terapeutikum s 2'-O-methoxyethyl modifikacemi ribózy. Modifikace ribózy jsou lokalizovány na 3'- a 5'-koncích řetězce, což zvyšuje odolnost proti působení vnitrobuněčných nukleáz a stejně tak i afinitu k cílové mRNA.<sup>369-71</sup> Custirsen hybridizuje s mRNA clusterinu. Po hybridizaci se uplatňuje štěpení vzniklého duplexu zprostředkované RNázou H.<sup>372</sup>

Biologický poločas ( $T_{1/2}$ ) custirsenu dosahuje až pěti dnů. Custirsen dokáže potlačit expresi CLU. Custirsen usnadňuje průběh chemoterapie, bez navýšení výsledné toxicity.<sup>373</sup>

Předklinické studie *in vitro* a *in vivo* potvrdily významně sníženou tvorbu CLU po aplikaci custirsenu. Experimenty probíhaly na různých liniích rakovinných buněk. Custirsen zabránil rezistenci buněk na léčbu docetaxelem a paklitaxelem. U modelových organismů custirsen pomohl snížit rezistenci rakovinných buněk prostaty na léčbu ozařováním, chemoterapií a hormonální terapií.<sup>374-8</sup>

V první fázi klinických studií se ukázalo, že custirsen má předvídatelný farmakokinetický profil a je dobře snášen. Závislost inhibice clusterinu na dávce custirsenu jasně korelovala s mírou apoptózy. Vše bylo provedeno na primární rakovinné tkáni prostaty. Toxické účinky  $1/2$  stupně se objevovaly většinou v prvním týdnu užívání.<sup>379</sup> První fáze posloužila k určení optimální dávky custirsenu v kombinaci s docetaxelem, při mírné až střední toxicitě.<sup>380</sup>

V druhé fázi klinických studií byl custirsen dobře snášen i v kombinaci s docetaxelem a prednisonem nebo v kombinaci s mitoxantronem a prednisonem. Více jak 90% vedlejších účinků se zde rovnalo 1. nebo 2. stupni. Kombinace custirsenu s chemoterapeutikem docetaxelem více nenavyšuje už tak nadměrnou toxicitu docetaxelu.<sup>381</sup>

Právě probíhající III. fáze klinických testů ověří, zda custirsen podávaný při chemoterapii opravdu zefektivní léčbu. Sleduje se zde míra přežití pacientů po 6 cyklech chemoterapie. Také se v této fázi sleduje validita clusterinu jako prediktivního biomarkeru.<sup>382</sup>

# 8. Oligonukleotidy uvedené na trh

## 8.1 Fomivirsen (Vitravene)

Fomivirsen je účinné a selektivní antivirotikum pro léčbu infekce způsobené lidským cytomegalovirem (CMV). Fomivirsen byl schválen FDA jako první *antisense* léčivo v roce 1998. Je určen pro léčbu cytomegalovirové retinitis u pacientů s AIDS, která může vést k úplnému oslepnutí.

Fomivirsen existuje ve formě sodné soli. Je to PS-ODRN o délce 21 párů sekvencí. Pracuje na základě dvou principů inhibice. Prvním je hybridizace s komplementární mRNA, ze které vznikají nejdůležitější časné proteiny CMV. Toto je tzv. na sekvenci závislý mechanismus. Druhým, na sekvenci nezávislým, mechanismem fomivirsenu je inhibice adsorpce CMV partikul k hostitelským buňkám.

Fomivirsen je účinný také proti rezistentním formám CMV. Průměrná efektivní koncentrace fomivirsenu je ke kmenu AD169 CMV v buněčné kultuře 30-90krát účinnější než ganciklovir. Nicméně při kombinaci fomivirsenu s ganciklovirem či foscarnetem celková účinnost terapie stoupá.<sup>383-9</sup>

Intravitreální aplikaci fomivirsenu předcházelo zjištění jeho *clearance* v předklinických testech. To bylo prováděno na králících, opicích a lidech. *Clearance* fomivirsenu ze sklivce po jedné injekci byl charakteru kinetiky prvního řádu.  $T_{1/2}$  fomivirsenu u králíků se rovnal 62h (sklivce) a 79h (sítnice). Zvířecí modely odhalily, že fomivirsen se do celého organismu distribuuje ve velmi malé míře. Dokonce ani při 3 měsíčním podávání (vždy jednou týdně) nebyl fomivirsen nalezen v orgánech či plazmě. Terapeutický rozsah fomivirsenu v sítnici je totiž dosažitelný již při velmi malých dávkách a je také velmi dobře snášen.<sup>390-3</sup>

Testy na pacientech s CMV zánětem sítnice potvrdily stejně jako u zvířat lineární průběh *clearance*.  $T_{1/2}$  dosahoval přibližně 55 hodin. Přibližně po dvou dnech byla ve sklivci patrná digesce endonukleázami. Fomivirsen ani jeho metabolity nebyly v průběhu testování v plazmě nalezeny.<sup>392</sup> Fomivirsen by neměl být podáván 2 až 4 týdny po léčbě cidofovirem, protože zde hrozí riziko lékové interakce a následného vzniku intraokulárního zánětu.<sup>394-5</sup>

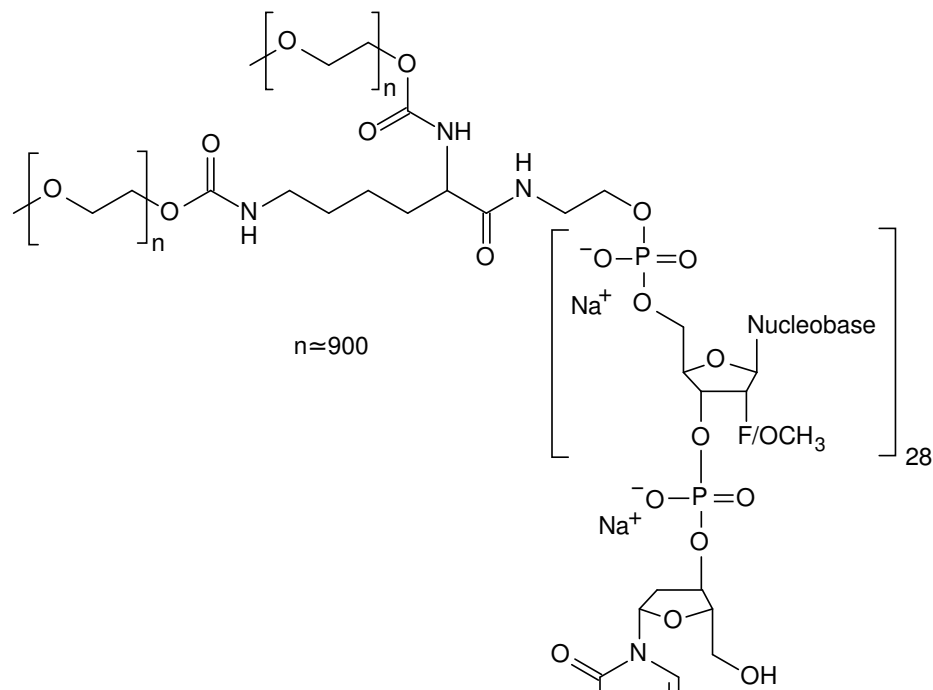


Obr. 26: Fomivirsen (Vitravene).

## 8.2 Pegaptanib (Macugen)

Věkem podmíněná makulární degenerace (AMD) se projevuje nevratnými a vážnými poruchami vidění. AMD znamená ztrátu funkce žluté skvrny na sítnici oka na základě degenerativních změn způsobených mimo jiné i stárnutím. Tyto změny pigmentového epitelu sítnice mohou být způsobeny kumulací genetických a dalších poškození.<sup>396-7</sup>

Rozlišují se dva typy AMD. Při ztrátě protektivních buněk se mluví o tzv. suché formě AMD (dAMD). Mokrý forma AMD (wAMD) se vyznačuje neobvyklým prorůstáním cév sítnicí a je odpovědná za 90% ztrát vidění celkově ze všech typů AMD. Choroidální neovaskularizaci a prosakování cév u wAMD způsobuje hlavně vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF).<sup>396,398-401</sup>



Obr. 27: Strukturální vzorec pegaptanibu.<sup>455</sup>

Sekvence pegaptanibu: 5'-CG G AAUCA G UG A A UG CUUA UA CA UCCG -3'-dT  
 f m m r r f f m m f m m m f m f f f m f m f m f f f m

G<sub>m</sub>, A<sub>m</sub> = 2-methoxy; C<sub>f</sub>, U<sub>f</sub> = 2-fluoro; A<sub>r</sub> = 2-hydroxy

V roce 2004 FDA schválila vůbec první na RNA založený aptamer pegaptanib. Pegaptanib je určen pro léčbu všech podtypů wAMD. Je to 28 párů bází dlouhý ON s dvěma rozvětvenými polyethylenglykolovými zbytky a existuje ve formě sodné soli. Tento aptamer je podáván intravitreálně a váže se selektivně k izoformě 165 VEGF (VEGF<sub>165</sub>). VEGF<sub>165</sub> je mediátorem kaskádového komplexu okulární angiogeneze a výrazným faktorem permeability. Na základě shody tvaru a náboje se pegaptanib páruje s extracelulárním VEGF<sub>165</sub> brání potencionální stimulaci receptorů VEGF<sub>165</sub> na povrchu endoteliálních buněk. Nedojde ke spuštění intracelulární kaskády s následným růstem cév či cévnímu prosakování.<sup>402-4</sup>

V předklinických studiích pegaptanib prokázal vysokou účinnost inhibice cévního prosakování a také inhibici novotvorby cév na buněčných kulturách i na sítnici zvířecích modelů. T<sub>1/2</sub> ze sklivce u *makaka rhesus* odpovídal 94h s lineárním průběhem.<sup>405-8</sup>

První fáze klinických studií byla provedena s 15 pacienty s AMD. Po třech měsících léčby se u 80% pacientů zlepšil nebo přestal zhoršovat zrak a někteří jedinci zaznamenali velice výrazné zlepšení stavu.<sup>406</sup>

Ve druhé a třetí fázi klinických testů se účastnilo celkem 1208 pacientů po celém světě. V těchto fázích bylo zjištěno, že u pacientů užívajících pegaptanib byl prokázán 50% nárůst zrakové ostrosti oproti skupině pacientů užívajících placebo. U placebo skupiny bylo naopak zaznamenáno značné zhoršení zrakových parametrů. Pozitivních výsledků bylo dosaženo i po 2 letech užívání pegaptanibu při dlouhodobé srovnávací studii.<sup>409-11</sup>

Pegaptanib se neakumuloval v plazmě ani po několikanásobné aplikaci. Většina nežádoucích účinků ve 3 fázi testování bylo přechodného charakteru. Rozsahově se jednalo o mírné až středně závažné účinky, které ve většině případech souvisely se samotnou aplikační procedurou.<sup>409,411</sup>

Při experimentálním testování nového způsobu aplikace byl pegaptanib zaopatřen nosičem kvůli dosažení kontrolovaného uvolňování. Byl zapouzdřen v poly(lakto-ko-glykolové) kyselině (PLGA). Z těchto mikročastic byl uvolňován v průměru v množství 2  $\mu\text{g}/\text{den}$  po dobu 20ti dnů po aplikaci do králičí sklery.<sup>412</sup>



*Obr. 28: Pegaptanib (Macugen).*



## 8.3 Mipomersen (Kynamro)

Familiální hypercholesterolemie (FH) je geneticky podmíněné autozomálně dominantní onemocnění. FH vzniká na podkladě mutace genu pro receptor nízkodenzitního lipoproteinu (LDL receptor) nebo se jedná o mutaci v genu pro apolipoprotein B. Také se může jednat o vadný gen pro-protein konvertázy subtilizin/hexin 9 (PCSK9). FH se dělí podle charakteru alel na heterozygotní a homozygotní formu onemocnění. Heterozygotní forma je mnohem častější s tím, že obě formy se projevují patologicky zvýšenými hodnotami lipidových parametrů. Hladiny celkového cholesterolu a LDL-C (LDL cholesterol) jsou přibližně dvakrát vyšší u homozygotů než u heterozygotů. Ateroskleróza u pacientů s FH je rizikem pro předčasný vznik ischemické choroby srdeční.<sup>413-6</sup>

Mipomersen je PS řetězec o délce sekvence 20 nukleotidů, skládající se z DNA i RNA, existující ve formě sodné soli. Pět nukleotidů na obou koncích nese na ribóze 2'-O-methoxyethylové zbytky pro ochranu před působením nukleáz, což umožňuje podávat léčivo jednou týdně. Mipomersen byl schválen v roce 2013 pro léčbu homozygotní formy FH a je inhibitorem syntézy apolipoproteinu B. Používá se jako součást kombinované léčby spolu s dalšími činidly pro snižování hladiny LDL-C, apoB, celkového cholesterolu a hladiny non-HDL-C (non-HDL cholesterol).<sup>417-20</sup> Apolipoprotein B tvoří součást lipoproteinových částic LDL a VLDL. Mipomersen je komplementární k mRNA kódující apolipoprotein B. Po hybridizaci je tento heterokomplex degradován působením RNázy H a translace neprobíhá. Výsledkem je snížená tvorba aterogenních lipoproteinů.<sup>421-4</sup>

Farmakokinetické vlastnosti mipomersenu byly zkoumány při 2. fázi klinických testů. Po subkutánní aplikaci se  $T_{1/2}$  pohyboval kolem 3 až 4 týdnů, což záviselo na množství podané látky. Mipomersen je z více jak 90% vázán na plazmatické proteiny. Distribuční poločas mipomersenu činí 2 až 5 hodin. Mipomersen je metabolizován tkáňovými endonukleázami na kratší úseky, které jsou pak úplně degradovány pomocí exonukleáz.<sup>425-6</sup>

Ve třetí fázi klinického testování se uplatnily 2 studie čítající přes 50 pacientů. Subkutánně aplikovaný mipomersen byl oproti placebu o 20% účinnější ve snižování hladiny LDL-C a měl také významný vliv na hladinu ostatních lipidů. Z druhé studie vyplynuly, že mipomersen byl o více jak 20% efektivnější než placebo při snižování hladiny LDL-C, opět s ovlivněním ostatních lipidů. U heterozygotní formy FH byly zaznamenány podobné výsledky.<sup>427-9</sup>

Vážné vedlejší účinky mipomersenu jsou dány zvýšením hladiny alaninaminotransferasy (ALT).

Dále se objevovaly vedlejší účinky: zvýšení sérového kreatininu, akutní infarkt myokardu, srdeční selhání, nemoc věnčitých tepen. Hepatotoxičita mipomersenu také způsobuje nárůst tukové jaterní tkáně.<sup>427-9,426</sup>Léčba mipomersenem musí být pečlivě sledována. Při až trojnásobně zvýšených hladinách ALT či AST musí být podávání mipomersenu pozastaveno nebo nesmí být léčba započata. Mipomersen by měl být podáván opatrně současně s dalšími hepatotoxickými léčivými. Významné farmakodynamické či farmakokinetické interakce ostatních léčiv s mipomersenem nebyly zaznamenány.<sup>426</sup>



Obr. 29: Mipomersen (Kynamro).

## Seznam použitých zkratek

Ago2 – Argonaut 2 endonukleáza

agPNA – antigene peptidová nukleová kyselina

agRNA – antigene ribonukleová kyselina

AIDS – syndrom získaného selhání imunity

AON – antisense oligonukleotid

ATP – adenosin trifosfát

BNA – přemostěné nukleové kyseliny

CPP – do buňky pronikající peptidy

CTP – na buňku zacílené peptidy

DNA – deoxyribonukleová kyselina

DAGC – glykoproteinový komplex spojený s dystrofinem

dsDNA – dvouvláknová deoxyribonukleová kyselina

dsRNA – dvouvláknová ribonukleová kyselina

GalNAc – N-acetylgalaktosamin

HSV – Herpes simplex virus

LNA – uzamčené nukleové kyseliny

miRNA – microRNA

MO – morfolinový oligonukleotid

MP – methylfosfonátové oligonukleotidy či methylfosfonáty

mRNA – mediátorová RNA, účastnící se procesu translace

NA – nukleová kyselina

ODRN – oligodeoxyribonukleotid

ON – oligonukleotid

ORN – oligoribonukleotid

PAGE – elektroforéza na polyakrylamidovém gelu

PCR – polymerázová řetězová reakce, sloužící k syntéze oligonukleotidů

PEG – polyethylenglykol

PNA – peptidové nukleové kyseliny

PO – fosfodiesterové oligonukleotidy

pre-mRNA – prekurzorová mRNA

PS – fosforothioátové oligonukleotidy či fosforothioáty

RGD – kyselina arginylglycylasparagová (tripeptid)

RISC – RNA-indukovaný „utišující“ komplex

RNA – ribonukleová kyselina

RNAi – interference ribonukleových kyselin

RNáza H – ribonukleáza H, štěpící vlákno RNA

siRNA – malá interferující ribonukleová kyselina

$T_{1/2}$  – biologický poločas (též. eliminační poločas) je čas, který je potřeba k tomu, aby léčivo ztratilo polovinu své farmakologické aktivity

TFO – triplex tvořící oligonukleotid

$T_m$  – teplota tání oligonukleotidového helixu či nativní nukleové kyseliny, při které je duplex z 50% denaturován do jednořetězcové formy

UNA – odemčené nukleové kyseliny

## Seznam použitých zdrojů

1. **Mathews QL, Curiel DT.** *Gene Therapy: Human Germline Genetics Modifications- Assessing the Scientific, Socioethical, and Religious Issues.* Southern Medical Journal: 2007. Ročník: 100. Strana: 98-100. Převzato z: **Sanjukta Misra.** *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution.* Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 2.
2. **Bank A.** *Human Somatic Cell Gene Therapy: 1996.* Ročník: 18. Strana: 999-1007. Převzato z: **Sanjukta Misra.** *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution.* Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 2.
3. **Miller DA.** *Human gene therapy comes of age.* Nature: 1992. Ročník: 375. Strana: 455-460. Převzato z: **Sanjukta Misra.** *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution.* Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 1.
4. **Verma IM, Weitzman MD.** *Gene therapy: Twenty-first century medicine.* Annu Rev Biochem: 2005. Ročník: 74. Strana: 711-738. Převzato z: **Sanjukta Misra.** *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution.* Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 1.
5. **Gardlik R, Paiffy R, Hodosy J, Lukacs J, Twrna J, Celec P.** *Vectors and delivery system in gene therapy.* Med Sci Monit: 2005. Ročník: 11. Strana: 110-121. Převzato z: **Sanjukta Misra.** *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution.* Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 2.
6. **Walther W, Stein U.** *Viral vector for gene transfer: a review of their use in the treatment of human disease.* Drug: 2000. Ročník: 60. Strana: 249-271. Převzato z: **Sanjukta Misra.** *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution.* Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 3.
7. **Romano G, Pacilio C, Giurdano A.** *Gene transfer technology in therapy: current application and future goals.* Stem Cells: 1999. Ročník: 17. Strana: 191-202. Převzato z: **Sanjukta Misra.** *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution.* Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 2.
8. **Wolff JA, Malone RW, Williams P, et al.** *Direct gene transfer into mouse muscle in vivo.* Science: 1990. Ročník: 247. Strana: 1465-68. Převzato z: **Sanjukta Misra.** *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution.* Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 4.
9. **Wagner E, Curiel D, Cotton M.** *Delivery of drugs, proteins and genes using transferring as a ligand for receptor-mediated endocytosis.* Adv Drug Deliv Rev: 1994. Ročník: 14. Strana: 113-135. Převzato z: **Sanjukta Misra.** *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution.* Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 4.
10. **Pierce EA, Liu Q, Igouchera O, Dmarrudin R, Ma H, Diamond SL, et al.** *Oligonucleotide-directed single base DNA alteration in mouse embryonic stem cells.* Gene Therapy: 2003. Ročník: 10. Strana: 24-33. Převzato z: **Sanjukta Misra.** *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution.* Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 4.
11. **Karlsson S.** *Treatment of genetic defect in hematopoietic cell function by gene transfer.* Blood: 1991. Ročník: 78. Strana: 2481-2492. Převzato z: **Sanjukta Misra.** *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution.* Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 4.
12. **Huges M, Vassilakos A, Andrews DW, et al.** *Delivery of a secretable adenosine deaminase*

- microcapsule- a novel approach to somatic gene therapy*. Hum Gene Ther: 1994. Ročník: 5. Strana: 1445-1455. Převzato z: **Sanjukta Misra**. *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution*. Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 4.
13. **Culliton BJ**. *Gortex organoids and genetic drug*. Science: 1989. Ročník: 246. Strana: 747-749. Převzato z: **Sanjukta Misra**. *Human Gene Therapy: A Brief Overview of the Genetic Revolution*. Japi: únor 2013. Ročník: 61. Strana: 4.
  14. **Anon**. *Oligonukleotidy [online]*. Farmaceutická technologie: 2015. [vid. 15.února 2016]. Dostupné z: <http://files.farmaceuticka-biotechnologie.cz/200000030-04dd905d50/12-Oligonukleotidy.pdf>. Strana: 1-2.
  15. **Agrawal S, Zhao Q**. Cur. Opin. Chem. Biol.: 1998. Ročník: 2. Strana: 519. Převzato z: **Zhiwei Jiang, Ekambar R. Kandimalla, Qiuyan Zhao, Ling X. Shen, Antonella DeLuca, Nicola Normano, Mary Ruskowski, Sudhir Agrawal**. *Pseudo-Cyclic Oligonucleotides: In Vitro and In Vivo Properties*. Bioorganic & Medicinal Chemistry: 1999. Ročník: 7. Strana: 1.
  16. **Kronenwett R, Haas R**. Ann. Hematol.: 1998. Ročník: 77. Strana: 1. Převzato z: **Zhiwei Jiang, Ekambar R. Kandimalla, Qiuyan Zhao, Ling X. Shen, Antonella DeLuca, Nicola Normano, Mary Ruskowski, Sudhir Agrawal**. *Pseudo-Cyclic Oligonucleotides: In Vitro and In Vivo Properties*. Bioorganic & Medicinal Chemistry: 1999. Ročník: 7. Strana: 1.
  17. **Gewirtz AM, Sokol DL, Ratajczak MZ**. Blood: 1998. Ročník: 92. Strana: 712. Převzato z: **Zhiwei Jiang, Ekambar R. Kandimalla, Qiuyan Zhao, Ling X. Shen, Antonella DeLuca, Nicola Normano, Mary Ruskowski, Sudhir Agrawal**. *Pseudo-Cyclic Oligonucleotides: In Vitro and In Vivo Properties*. Bioorganic & Medicinal Chemistry: 1999. Ročník: 7. Strana: 1.
  18. **Bennett CF**. Biochem. Pharmacol. 1998. Ročník: 55. Strana: 9. Převzato z: **Zhiwei Jiang, Ekambar R. Kandimalla, Qiuyan Zhao, Ling X. Shen, Antonella DeLuca, Nicola Normano, Mary Ruskowski, Sudhir Agrawal**. *Pseudo-Cyclic Oligonucleotides: In Vitro and In Vivo Properties*. Bioorganic & Medicinal Chemistry: 1999. Ročník: 7. Strana: 1.
  19. **Anon**. *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
  20. **Kurreck J**. *Antisense technologies: Improvement through novel chemical modifications*. European Journal of Biochemistry: 2003. Ročník: 270. Strana: 1628–1644. Převzato z: **Anon**. *Antisense Technologies [online]*. Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 2.
  21. **Crooke ST**. *Therapeutic applications of oligonucleotides in medicine*. Chem Ind: 1996. Ročník: 3. Strana: 90–93. Převzato z: **Scott P. Henry, Mark A. Jagels, Tony E. Hugli, Sheri Manalili, Richard S. Geary, Patricia C. Giclas, Arthur A. Levin**. *Mechanism of Alternative Complement Pathway Dysregulation by a Phosphorothioate Oligonucleotide in Monkey and Human Serum*. NUCLEIC ACID THERAPEUTICS: 2014. Ročník: 24. Strana: 1.
  22. **Crooke ST**. *Progress in antisense therapeutics*. Med Res Rev: 1996. Ročník: 16. Strana: 319–344. Převzato z: **Scott P. Henry, Mark A. Jagels, Tony E. Hugli, Sheri Manalili, Richard S. Geary, Patricia C. Giclas, Arthur A. Levin**. *Mechanism of Alternative*

- Complement Pathway Dysregulation by a Phosphorothioate Oligonucleotide in Monkey and Human Serum*. NUCLEIC ACID THERAPEUTICS: 2014. Ročník: 24. Strana: 1.
23. **Agrawal S, J Goodchild, MP Civeira, AH Thornton, PS Sarin and PC Zamecnik.** *Oligodeoxynucleoside phosphoramidites and phosphorothioates as inhibitors of human immunodeficiency virus*. Proc Natl Acad Sci (USA): 1988. Ročník: 85. Strana: 7079–7083. Převzato z: **Scott P. Henry, Mark A. Jagels, Tony E. Hugli, Sheri Manalili, Richard S. Geary, Patricia C. Giclas, Arthur A. Levin.** *Mechanism of Alternative Complement Pathway Dysregulation by a Phosphorothioate Oligonucleotide in Monkey and Human Serum*. NUCLEIC ACID THERAPEUTICS: 2014. Ročník: 24. Strana: 1.
24. **Geary RS, JM Leeds, SP Henry, DK Monteith and AA Levin.** *Antisense oligonucleotide inhibitors for the treatment of cancer: 1. Pharmacokinetic properties of phosphorothioate oligodeoxynucleotides*. Anticancer Drug Des: 1997. Ročník: 12. Strana: 383–393. Převzato z: **Scott P. Henry, Mark A. Jagels, Tony E. Hugli, Sheri Manalili, Richard S. Geary, Patricia C. Giclas, Arthur A. Levin.** *Mechanism of Alternative Complement Pathway Dysregulation by a Phosphorothioate Oligonucleotide in Monkey and Human Serum*. NUCLEIC ACID THERAPEUTICS: 2014. Ročník: 24. Strana: 1.
25. **Levin AA, DK Monteith, JM Leeds, PL Nicklin, RS Geary, M Butler, MV Templin and SP Henry.** *Toxicity of oligodeoxynucleotide therapeutic agents*. Z: Antisense Research and Application: 1998. **ST Crooke, ed. Springer, Heidelberg**, strana: 169–215. Převzato z: **Scott P. Henry, Mark A. Jagels, Tony E. Hugli, Sheri Manalili, Richard S. Geary, Patricia C. Giclas, Arthur A. Levin.** *Mechanism of Alternative Complement Pathway Dysregulation by a Phosphorothioate Oligonucleotide in Monkey and Human Serum*. NUCLEIC ACID THERAPEUTICS: 2014. Ročník: 24. Strana: 1.
26. **Henry SP, PC Giclas, J Leeds, M Pangburn, C Auletta, AA Levin and DJ Kornbrust.** *Activation of the alternative pathway of complement by a phosphorothioate oligonucleotide: Potential mechanism of action*. J Pharmacol Exp Ther: 1997. Ročník: 281. Strana: 810–816. Převzato z: **Scott P. Henry, Mark A. Jagels, Tony E. Hugli, Sheri Manalili, Richard S. Geary, Patricia C. Giclas, Arthur A. Levin.** *Mechanism of Alternative Complement Pathway Dysregulation by a Phosphorothioate Oligonucleotide in Monkey and Human Serum*. NUCLEIC ACID THERAPEUTICS: 2014. Ročník: 24. Strana: 1.
27. **Henry SP, W Novotny, J Leeds, C Auletta and DJ Kornbrust.** *Inhibition of coagulation by a phosphorothioate oligonucleotide*. Antisense Nucleic Acid Drug Dev: 1997. Ročník: 7. Strana: 503–510. Převzato z: **Scott P. Henry, Mark A. Jagels, Tony E. Hugli, Sheri Manalili, Richard S. Geary, Patricia C. Giclas, Arthur A. Levin.** *Mechanism of Alternative Complement Pathway Dysregulation by a Phosphorothioate Oligonucleotide in Monkey and Human Serum*. NUCLEIC ACID THERAPEUTICS: 2014. Ročník: 24. Strana: 1.
28. **Chi KN, Gleave ME, Klasa R, Murray N, Bryce C, Lopes de Menezes DE, D'Aloisio S, Tolcher AW.** *A phase I dose-finding study of combined treatment with an antisense Bcl-2 oligonucleotide (Genasense) and mitoxantrone in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer*. Clin Cancer Res: 2001. Ročník: 7. Strana: 3920–3927. Převzato z: **Adams Amantana, Patrick L Iversen.** *Pharmacokinetics and biodistribution of phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers*. Current Opinion in Pharmacology: 2005. Ročník: 5. Strana: 1.

29. **Waters JS, Webb A, Cunningham D, Clarke PA, Raynaud F, di Stefano F, Cotter FE.** *Phase I clinical and pharmacokinetic study of bcl-2 antisense oligonucleotide therapy in patients with non-Hodgkin's lymphoma.* J Clin Oncol: 2000. Ročník: 18. Strana: 1812-1823. Převzato z: **Adams Amantana, Patrick L Iversen.** *Pharmacokinetics and biodistribution of phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers.* Current Opinion in Pharmacology: 2005. Ročník: 5. Strana: 1.
30. **Scott P. Henry, Mark A. Jagels, Tony E. Hugli, Sheri Manalili, Richard S. Geary, Patricia C. Giclas, Arthur A. Levin.** *Mechanism of Alternative Complement Pathway Dysregulation by a Phosphorothioate Oligonucleotide in Monkey and Human Serum.* NUCLEIC ACID THERAPEUTICS: 2014. Ročník: 24. Strana: 1.
31. **Brown DA, Kang S-H, Gryaznov SM, et al.** *Effect of phosphorothioate modification of oligodeoxynucleotides on specific protein binding.* J Biol Chem: 1994. Ročník: 269. Strana: 26801-5. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry, Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions.* Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 4.
32. **Gaus HJ, Owens SR, Winniman M, et al.** *On-line HPLC electrospray mass spectrometry of phosphorothioate oligonucleotide metabolites.* Anal Chem: 1997. Ročník: 69. Strana: 313-9. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry, Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions.* Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 4.
33. **Temsamani J, Roskey A, Chaix C, et al.** *In vivo metabolic profile of a phosphorothioate oligodeoxynucleotide.* Antisense Nucleic Acid Drug Dev: 1997. Ročník: 7. Strana: 159-65. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry, Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions.* Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 4.
34. **Frey PA, Sammons RD.** *Bond order and charge localization in nucleoside phosphorothioates.* Science: 1985. Ročník: 228. Strana: 541-545. Převzato z: **W. Brad Wan, Michael T. Migawa, Guillermo Vasquez, Heather M. Murray, Josh G. Nichols, Hans Gaus, Andres Berdeja, Sam Lee, Christopher E. Hart, Walt F. Lima, Eric E. Swayze, Punit P. Seth.** *Synthesis, biophysical properties and biological activity of second generation antisense oligonucleotides containing chiral phosphorothioate linkages.* Nucleic Acids Research: 2014. ročník: 42. Strana: 1.
35. **Koziolkiewicz M, Krakowlak A, Kwinkowski M, Boczkowska M, Stec WJ.** *Stereodifferentiation—the effect of P chirality of oligo(nucleoside phosphorothioates) on the activity of bacterial RNase H.* Nucleic Acids Res.: 1995. Ročník: 23. Strana: 5000-5005. Převzato z: **W. Brad Wan, Michael T. Migawa, Guillermo Vasquez, Heather M. Murray, Josh G. Nichols, Hans Gaus, Andres Berdeja, Sam Lee, Christopher E. Hart, Walt F. Lima, Eric E. Swayze, Punit P. Seth.** *Synthesis, biophysical properties and biological activity of second generation antisense oligonucleotides containing chiral phosphorothioate linkages.* Nucleic Acids Research: 2014. ročník: 42. Strana: 1.
36. **Koziolkiewicz M, Wojcik M, Kobylanska A, Karwowski B, Rebowska B, Guga P and Stec WJ.** *Stability of stereoregular oligo(nucleoside phosphorothioate)s in human plasma: diastereoselectivity of plasma 3'-exonuclease.* Antisense Nucleic Acid Drug Dev.: 1997. Ročník: 7. Strana: 43-48. Převzato z: **W. Brad Wan, Michael T. Migawa, Guillermo**



- Vasquez, Heather M. Murray, Josh G. Nichols, Hans Gaus, Andres Berdeja, Sam Lee, Christopher E. Hart, Walt F. Lima, Eric E. Swayze, Punit P. Seth. *Synthesis, biophysical properties and biological activity of second generation antisense oligonucleotides containing chiral phosphorothioate linkages*. Nucleic Acids Research: 2014. ročník: 42. Strana: 1.
37. Paul S. Miller, Cheryl H. Agris, Laure Auerelian, Kathleen R. Blake, Akira Murakami, M. Parameswara Reddy, Sharon A. Spitz, Paul O.P. Ts'o. *Control of ribonucleic acid function by oligonucleoside methylphosphonates*. BIOCHIMIE: 1985. Ročník: 67. Strana: 1.
38. Giles RV and Tidd DM. Anticancer Drug Des.: 1992. Ročník: 7. Strana: 37–48. Převzato z: **Françoise Debart, Albert Meyer, Jean-Jacques Vasseur, Bernard Rayner**. *Anomeric inversion (from  $\beta$  to  $\alpha$ ) in methylphosphonate oligonucleosides enhances their affinity for DNA and RNA*. Nucleic Acids Research: 1998. Ročník: 26. Strana: 1.
39. Reynolds MA, Hogrefe RI, Jaeger JA, Schwartz DA, Riley TA, Marvin WB, Daily WJ, Vaghefi MM, Beck TA, Knowles SK, Klem RE and Arnold LJ Jr. Nucleic Acids Res.: 1996. Ročník: 24. Strana: 4584–4591. Převzato z: **Françoise Debart, Albert Meyer, Jean-Jacques Vasseur, Bernard Rayner**. *Anomeric inversion (from  $\beta$  to  $\alpha$ ) in methylphosphonate oligonucleosides enhances their affinity for DNA and RNA*. Nucleic Acids Research: 1998. Ročník: 26. Strana: 1.
40. Miller PS, Dreon N, Pulford SM and McParland KB. J. Biol. Chem.: 1980. Ročník: 255. Strana: 9659–9665. Převzato z: **Françoise Debart, Albert Meyer, Jean-Jacques Vasseur, Bernard Rayner**. *Anomeric inversion (from  $\beta$  to  $\alpha$ ) in methylphosphonate oligonucleosides enhances their affinity for DNA and RNA*. Nucleic Acids Research: 1998. Ročník: 26. Strana: 1.
41. Lebedev AV and Wickstrom E. Perspect. Drug Discov. Des.: 1996. Ročník: 4. Strana: 17–40. Převzato z: **Françoise Debart, Albert Meyer, Jean-Jacques Vasseur, Bernard Rayner**. *Anomeric inversion (from  $\beta$  to  $\alpha$ ) in methylphosphonate oligonucleosides enhances their affinity for DNA and RNA*. Nucleic Acids Research: 1998. Ročník: 26. Strana: 1.
42. Bower M, Summers MF, Powell C, Shinozuka K, Regan JB, Zon G and Wilson WD. Nucleic Acids Res.: 1987. Ročník: 15. Strana: 4915–4930. Převzato z: **Françoise Debart, Albert Meyer, Jean-Jacques Vasseur, Bernard Rayner**. *Anomeric inversion (from  $\beta$  to  $\alpha$ ) in methylphosphonate oligonucleosides enhances their affinity for DNA and RNA*. Nucleic Acids Research: 1998. Ročník: 26. Strana: 1.
43. Rayner B, Malvy C, Paoletti J, Lebleu B, Paoletti C and Imbach JL. In: Cohen JS. Topics in Molecular and Structural Biology: 1989. Ročník: 12. *Oligodeoxynucleotides, Antisense Inhibitors of Gene Expression*. MacMillan Press, London. Strana: 119–136. Převzato z: **Françoise Debart, Albert Meyer, Jean-Jacques Vasseur, Bernard Rayner**. *Anomeric inversion (from  $\beta$  to  $\alpha$ ) in methylphosphonate oligonucleosides enhances their affinity for DNA and RNA*. Nucleic Acids Research: 1998. Ročník: 26. Strana: 2.
44. Escaja N, Gómez-Pinto I, Viladoms J, Rico M, Pedroso E, González C. Chem. Eur. J.: 2006. Ročník: 12. Strana: 4035. Převzato z: **Júlia Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González**. *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads*. Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.
45. Prakash G, Kool ETJ. Am. Chem. Soc.: 1992. Ročník: 114. Strana: 3523. Převzato z: **Júlia**

- Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González.** *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.
46. **Prakash G, Kool ETJ.** Chem. Soc., Chem. Commun.: 1991. Strana: 1161. Převzato z: **Júlia Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González.** *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.
47. **Hannoush RN, Carreiro S, Min KL, Damha MJ.** ChemBioChem: 2004. Ročník: 5. Strana: 527. Převzato z: **Júlia Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González.** *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.
48. **Di Giusto DA, King GC.** J. Biol. Chem.: 2004. Ročník: 275. Strana: 46483. Převzato z: **Júlia Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González.** *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.
49. **Lim CS, Jabrane-Ferrat N, Fontes JD, Okamoto H, Garovoy MR, Peterlin BM, Hunt CA.** Nucleic Acids Res.: 1997. Ročník: 25. Strana: 575. Převzato z: **Júlia Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González.** *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.
50. **Hosoya T, Takeuchia H, Kanesaka Y, Yamakawa Y, Miyano-Kurosaki N, Takaia K, Yamamoto N, Takakua H.** FEBS Lett.: 1999. Ročník: 461. Strana: 136. Převzato z: **Júlia Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González.** *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.
51. **Römling GC.** Sci. Signal.: 2008. Ročník: 1. Strana: 39. Převzato z: **Júlia Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González.** *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.
52. **Hengge R.** Nat. Rev. Microbiol.: 2009. Ročník: 7. Strana: 263. Převzato z: **Júlia Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González.** *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.
53. **Ippel JH, Lanzotti V, Galeone A, Mayol L, Van den Boogaart JE, Pikkemaat JA, Altona CJ.** Biomol. NMR: 1995. Ročník: 6. Strana: 403. Převzato z: **Júlia Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González.** *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.
54. **Escaja N, Gomez-Pinto I, Rico M, Pedroso E, Gonzalez C.** ChemBiochem: 2003. Ročník: 4. Strana: 623. Převzato z: **Júlia Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González.** *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.

55. **Casals J, Viladoms J, Pedroso E, Gonzalez CJ.** *Nucleic Acids*: 2010. doi:10.4061/2010/468017. Převzato z: **Júlia Viladoms, Núria Escaja, Enrique Pedroso, Carlos González.** *Self-association of cyclic oligonucleotides through G:T:G:T minor groove tetrads.* *Bioorganic & Medicinal Chemistry*: 2010. Ročník: 18. Strana: 1.
56. **Zhiwei Jiang, Ekambar R. Kandimalla, Qiuyan Zhao, Ling X. Shen, Antonella DeLuca, Nicola Normano, Mary Ruskowski, Sudhir Agrawal.** *Pseudo-Cyclic Oligonucleotides: In Vitro and In Vivo Properties.* *Bioorganic & Medicinal Chemistry*: 1999. Ročník: 7. Strana: 1.
57. **Gao W-Y, Han FS, Storm C, Egan W, Cheng Y-C.** *Phosphorothioate oligonucleotides are inhibitors of human DNA polymerases and RNase H: Implications for antisense technology.* *Mol. Pharmacol.*: 1992. Ročník: 41. Strana: 223-229. Převzato z: **Qiuyan Zhao, Sara Matson, Charles J. Herrera, Eric Fisher, Hong Yu, Arthur M. Krieg.** *Comparison of Cellular Binding and Uptake of Antisense Phosphodiester, Phosphorothioate, and Mixed Phosphorothioate and Methylphosphonate Oligonucleotides.* *Antisense research and development*: 1993. Ročník: 3. Strana: 53-66.
58. **Hoke GD, Draper K, Freier SM, Gonzalez C, Driver VB, Zounes MC, Ecker DJ.** *Effects of phosphorothioate capping on antisense oligonucleotide stability, hybridization and antiviral efficacy versus herpes simplex virus infection.* *Nucleic Acids Res.*: 1991. Ročník: 19. Strana: 5743-5748. Převzato z: **Qiuyan Zhao, Sara Matson, Charles J. Herrera, Eric Fisher, Hong Yu, Arthur M. Krieg.** *Comparison of Cellular Binding and Uptake of Antisense Phosphodiester, Phosphorothioate, and Mixed Phosphorothioate and Methylphosphonate Oligonucleotides.* *Antisense research and development*: 1993. Ročník: 3. Strana: 53-66.
59. **Sarin PS, Agarwal S, Civeira MP, Goodchild J, Ikeuchi T, Zamecnik PC.** *Inhibition of acquired immunodeficiency syndrome virus by oligonucleoside methylphosphonates.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*: 1988. Ročník: 85. Strana: 7448. Převzato z: **Qiuyan Zhao, Sara Matson, Charles J. Herrera, Eric Fisher, Hong Yu, Arthur M. Krieg.** *Comparison of Cellular Binding and Uptake of Antisense Phosphodiester, Phosphorothioate, and Mixed Phosphorothioate and Methylphosphonate Oligonucleotides.* *Antisense research and development*: 1993. Ročník: 3. Strana: 53-66.
60. **Stein CA, Cohen JS.** *Oligodeoxynucleotides as inhibitors of gene expression: A review.* *Cancer Res.*: 1988. Ročník: 48. Strana: 2659-2688. Převzato z: **Qiuyan Zhao, Sara Matson, Charles J. Herrera, Eric Fisher, Hong Yu, Arthur M. Krieg.** *Comparison of Cellular Binding and Uptake of Antisense Phosphodiester, Phosphorothioate, and Mixed Phosphorothioate and Methylphosphonate Oligonucleotides.* *Antisense research and development*: 1993. Ročník: 3. Strana: 53-66.
61. **Tidd DM.** *Anticancer drug design using modified antisense oligonucleotides.* In: *Modern Cell Biology: Antisense RNA and DNA.* **JAH Murray, ed.** (Wiley & Sons, Inc. New York: 1992), strana: 227-240. Převzato z: **Qiuyan Zhao, Sara Matson, Charles J. Herrera, Eric Fisher, Hong Yu, Arthur M. Krieg.** *Comparison of Cellular Binding and Uptake of Antisense Phosphodiester, Phosphorothioate, and Mixed Phosphorothioate and Methylphosphonate Oligonucleotides.* *Antisense research and development*: 1993. Ročník: 3. Strana: 53-66.
62. **Sudhir Agrawal, Qiuyan Zhao.** *Mixed Backbone Oligonucleotides: Improvement in Oligonucleotide-Induced Toxicity In Vivo.* *Antisense & nucleic acid drug development*: 1998.

Ročník: 8. Strana: 135-139.

63. **Martin A. Maier, Andrei P. Guzaev, Muthiah Manoharan.** *Synthesis of Chimeric Oligonucleotides Containing Phosphodiester, Phosphorothioate, and Phosphoramidate Linkages.* ORGANIC LETTERS: 2000. Ročník: 2. Strana: 2.
64. **H. Kaur, B. R. Babu and S. Maiti.** Chem. Rev.: 2007. Ročník: 107. Strana: 4672–4697. Převzato z: **Meghan A. Campbell and Jesper Wengel.** *Locked vs. unlocked nucleic acids (LNA vs. UNA): contrasting structures work towards common therapeutic goals.* Chem. Soc. Rev.: 2011. Ročník: 40. Strana: 3.
65. **Meghan A. Campbell and Jesper Wengel.** *Locked vs. unlocked nucleic acids (LNA vs. UNA): contrasting structures work towards common therapeutic goals.* Chem. Soc. Rev.: 2011. Ročník: 40. Strana: 2, 5.
66. **M. Petersen, C. B. Nielsen, K. E. Nielsen, G. A. Jensen, K. Bondensgaard, S. K. Singh, V. K. Rajwanshi, A. A. Koshkin, B. M. Dahl, J. Wengel and J. P. Jacobsen.** J. Mol. Recognit.: 2000. Ročník: 13. Strana: 44–53. Převzato z: **Meghan A. Campbell and Jesper Wengel.** *Locked vs. unlocked nucleic acids (LNA vs. UNA): contrasting structures work towards common therapeutic goals.* Chem. Soc. Rev.: 2011. Ročník: 40. Strana: 6.
67. **M. Petersen, K. Bondensgaard, J. Wengel and J. P. Jacobsen.** J. Am. Chem. Soc.: 2002. Ročník: 124. Strana: 5974–5982. Převzato z: **Meghan A. Campbell and Jesper Wengel.** *Locked vs. unlocked nucleic acids (LNA vs. UNA): contrasting structures work towards common therapeutic goals.* Chem. Soc. Rev.: 2011. Ročník: 40. Strana: 6.
68. **John Brennan.** *The Structural Stability of the DNA Double Helix [online].* Demand Media: 2016. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <http://science.opposingviews.com/structural-stability-dna-double-helix-2232.html>.
69. **H. Kaur, J. Wengel and S. Maiti.** Biochemistry: 2008. Ročník: 47. Strana: 1218–1227. Převzato z: **Meghan A. Campbell and Jesper Wengel.** *Locked vs. unlocked nucleic acids (LNA vs. UNA): contrasting structures work towards common therapeutic goals.* Chem. Soc. Rev.: 2011. Ročník: 40. Strana: 6.
70. **E. Kierzek, A. Pasternak, K. Pasternak, Z. Gdaniec, I. Yildirim, D. H. Turner and R. Kierzek.** Biochemistry: 2009. Ročník: 48. Strana: 4377–4387. Převzato z: **Meghan A. Campbell and Jesper Wengel.** *Locked vs. unlocked nucleic acids (LNA vs. UNA): contrasting structures work towards common therapeutic goals.* Chem. Soc. Rev.: 2011. Ročník: 40. Strana: 6.
71. **A. A. Koshkin, S. K. Singh, P. Nielsen, V. K. Rajwanshi, R. Kumar, M. Meldgaard, C. E. Olsen and J. Wengel.** Tetra-hedron: 1998. Ročník: 54. Strana: 3607–3630. Převzato z: **Meghan A. Campbell and Jesper Wengel.** *Locked vs. unlocked nucleic acids (LNA vs. UNA): contrasting structures work towards common therapeutic goals.* Chem. Soc. Rev.: 2011. Ročník: 40. Strana: 6.
72. **Saenger, W.** *Principles of Nucleic Acid Structure.* Springer-Verlag: 1984. New York. ISBN ISBN 3-540-90761-0. Převzato z: **Anon.** *Bridged nucleic acid [online].* Wikipedia, The free encyclopedia: 2016. [vid. 6.března 2016]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Bridged\\_nucleic\\_acid](https://en.wikipedia.org/wiki/Bridged_nucleic_acid).
73. **Zon G, Geiser TG.** *Phosphorothioate oligonucleotides: chemistry, purification, analysis,*

- scale-up and future directions*. Anticancer Drug Des.: 1991. Ročník: 6. Strana: 539-568. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
74. **Prakash TP, Bhat B.** *2'-Modified oligonucleotides for antisense therapeutics*. Curr. Top. Med. Chem.: 2007. Ročník: 7. Strana: 641-649. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
75. **Manoharan M.** *2'-carbohydrate modifications in antisense oligonucleotide therapy: importance of conformation, configuration and conjugation*. Biochim. Biophys. Acta: 1999. Ročník: 1489. Strana: 117-130. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
76. **Dellinger DJ, Sheehan DM, Christensen NK, Lindberg JG, Caruthers MH.** *Solid-phase chemical synthesis of phosphonoacetate and thiophosphonoacetate oligodeoxynucleotides*. J. Am. Chem. Soc.: 2003. Ročník: 125. Strana: 9409-50. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
77. **Summerton J, Weller D.** *Morpholino antisense oligomers: design, preparation, and properties*. Antisense Nucleic Acid Drug Dev.: 1997. Ročník: 7. Strana: 187-195. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
78. **Hyrup B, Nielsen PE.** *Peptide nucleic acids (PNA): synthesis, properties and potential applications*. Bioorg. Med. Chem.: 1996. Ročník: 4. Strana: 5-23. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
79. **Stein CA, Cohen JS.** *Oligodeoxynucleotides as inhibitors of gene expression: a review*. Cancer Res.: 1988. Ročník: 48. Strana: 2659-2668. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
80. **Sanghvi YS.** *A status update of modified oligonucleotides for chemotherapeutics applications*. Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.: 2011. Kapitola: 4, Část: 4.1.1-22. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
81. **Prakash TP.** *An overview of sugar-modified oligonucleotides for antisense therapeutics*. Chem. Bioliers.: 2011. Ročník: 8. Strana: 1616-1641. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
82. **Yamamoto T, Nakatani M, Narukawa K, Obika S.** *Antisense drug discovery and development*. Future Med. Chem.: 2011. Ročník: 3. Strana: 339-365. Převzato: **Anon.**

- Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
83. **Veedu RN, Wengel J.** *Locked nucleic acids: promising nucleic acid analogs for therapeutic applications*. Chem. Bioliers.: 2010. Ročník: 7. Strana: 536-542. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
84. **Rahman SM, Seki S, Utsuki K, Obika S, Miyashita K, Imanishi T.** *2',4'-BNA(NC): a novel bridged nucleic acid analogue with excellent hybridizing and nuclease resistance profiles*. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.: 2007. Ročník: 26. Strana: 1625-1628. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
85. **Rahman SM, Seki S, Obika S, Yoshikawa H, Miyashita K, Imanishi T.** *Design, synthesis, and properties of 2',4'-BNA(NC): a bridged nucleic acid analogue*. J. Am. Chem. Soc.: 2008. Ročník: 130. Strana: 4886-4896. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
86. **Yamamoto T, Harada-Shiba M, Nakatani M, Wada S, Yasuhara H, Narukawa K, Sasaki K, Shibata M-A, Torigoe H, Yamaoka T, Imanishi T, Obika S.** *Cholesterol-lowering Action of BNA-based Antisense Oligonucleotides Targeting PCSK9 in Atherogenic Diet-induced Hypercholesterolemic Mice*. Mol. Ther. Nucleic Acids: 2012. Ročník: 1. Strana: 22. Převzato: **Anon.** *Bridged Nucleic Acid – BNA [online]*. Bio-Synthesis - CRO/CMO Life Sciences Company: 2012. [vid. 20.února 2016]. Dostupné z: <http://www.biosyn.com/bna-synthesis-bridged-nucleic-acid.aspx>.
87. **Yamada T, Okaniwa N, Saneyoshi H, Ohkubo A, Nagata T, Aoki Y, Takeda S, Sekine M.** J. Org. Chem.: 2011. Ročník: 76. Strana: 3042. Převzato z: **Kohji Seio, Munefumi Tokugawa, Takashi Kanamori, Hirosuke Tsunoda, Akihiro Ohkubo, Mitsuo Sekine.** *Synthesis and properties of cationic 2'-O-[N-(4-aminobutyl)carbamoyl] modified oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2012. Ročník: 22. Strana: 1.
88. **Saneyoshi H, Seio K, Sekine M.** J. Org. Chem.: 2005. Ročník: 70. Strana: 10453. Převzato z: **Kohji Seio, Munefumi Tokugawa, Takashi Kanamori, Hirosuke Tsunoda, Akihiro Ohkubo, Mitsuo Sekine.** *Synthesis and properties of cationic 2'-O-[N-(4-aminobutyl)carbamoyl] modified oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2012. Ročník: 22. Strana: 1.
89. **Ali Sabahi, Jesse Guidry, Gopal B. Inamati, Muthiah Manoharan, Pernilla Wittung-Stafshede.** *Hybridization of 2'-ribose modified mixed-sequence oligonucleotides: thermodynamic and kinetic studies*. Nucleic Acids Research: 2001. Ročník: 29. Strana: 1, 7.
90. **Guy Marais, Oreste Ghisalba.** *Chemo-enzymatic synthesis of 2'-O-methoxyethyl ribonucleosides using a phosphodiesterase from Serratia marcescens*. Appl Microbiol Biotechnol: 2005. Ročník: 66. Strana: 1.
91. **Sierakowska H, Sambade M, et al.** *Repair of thalassemic human  $\beta$ -globin mRNA in*

- mammalian cells by antisense oligonucleotides*. Proceedings of the National Academy of Sciences USA: 1996. Ročník: 93. Strana: 12840–12844. Převzato z: **Anon.** *Antisense Technologies [online]*. Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 3.
92. **Singh SK, Nielsen P, Koshkin AA, Wengel J.** *LNA was herein defined as an oligonucleotide containing one or more conformationally locked 2'-O,4'-C-methylene-b-D-ribofuranosyl nucleotide(s)*. Chem. Commun.: 1998. Ročník: 455. Převzato z: **Koji Nagahama, Rakesh N. Veedu, Jesper Wengel.** *Nuclease resistant methylphosphonate-DNA/LNA chimeric oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2009. Ročník: 19. Strana: 1.
  93. **Obika S, Nanbu D, Hari Y, Andoh J, Morio K, Doi T, Imanishi T.** Tetrahedron Lett.: 1998. Ročník: 39. Strana: 5401. Převzato z: **Koji Nagahama, Rakesh N. Veedu, Jesper Wengel.** *Nuclease resistant methylphosphonate-DNA/LNA chimeric oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2009. Ročník: 19. Strana: 1.
  94. **Singh SK, Wengel J.** Chem. Commun.: 1998. Ročník: 1247. Převzato z: **Koji Nagahama, Rakesh N. Veedu, Jesper Wengel.** *Nuclease resistant methylphosphonate-DNA/LNA chimeric oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2009. Ročník: 19. Strana: 1.
  95. **Vester B, Wengel J.** Biochemistry: 2004. Ročník: 43. Strana: 13233. Převzato z: **Koji Nagahama, Rakesh N. Veedu, Jesper Wengel.** *Nuclease resistant methylphosphonate-DNA/LNA chimeric oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2009. Ročník: 19. Strana: 1.
  96. **Morita K, Takagi M, Hasegawa C, Kaneko M, Tsutsumi S, Sone J, Ishikawa T, Imanishi T, Koizumi M.** Bioorg. Med. Chem.: 2003. Ročník: 11. Strana: 2211. Převzato z: **Koji Nagahama, Rakesh N. Veedu, Jesper Wengel.** *Nuclease resistant methylphosphonate-DNA/LNA chimeric oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2009. Ročník: 19. Strana: 1.
  97. **Miller PS, Braiterman LT, Ts'o PO.** P. Biochemistry: 1977. Ročník: 16. Strana: 1988. Převzato z: **Koji Nagahama, Rakesh N. Veedu, Jesper Wengel.** *Nuclease resistant methylphosphonate-DNA/LNA chimeric oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2009. Ročník: 19. Strana: 1.
  98. **Shoji Y, Akhtar S, Periasamy A, Herman B, Juliana R.** Nucleic Acid Res.: 1991. Ročník: 19. Strana: 7253. Převzato z: **Koji Nagahama, Rakesh N. Veedu, Jesper Wengel.** *Nuclease resistant methylphosphonate-DNA/LNA chimeric oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2009. Ročník: 19. Strana: 1.
  99. **Kean JM, Cushman CD, Kang HM, Leonard TE, Miller PS.** Nucleic Acid Res.: 1994. Ročník: 22. Strana: 4497. Převzato z: **Koji Nagahama, Rakesh N. Veedu, Jesper Wengel.** *Nuclease resistant methylphosphonate-DNA/LNA chimeric oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2009. Ročník: 19. Strana: 1.
  100. **Sarin PS, Agrawal S, Civeira MP, Goodchild J, Ikeuchi T, Zamecnik PC.** Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.: 1988. Ročník: 85. Strana: 7448. Převzato z: **Koji Nagahama, Rakesh N. Veedu, Jesper Wengel.** *Nuclease resistant methylphosphonate-DNA/LNA chimeric*

- oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2009. Ročník: 19. Strana: 1.
101. **Tidd DM, Hawley P, Warenus HM, Gibson I**. Anticancer Drug Des.: 1998. Ročník: 3. Strana: 117. Převzato z: **Koji Nagahama, Rakesh N. Veedu, Jesper Wengel**. *Nuclease resistant methylphosphonate-DNA/LNA chimeric oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2009. Ročník: 19. Strana: 1.
102. **Reynolds MA, Hogrefe RI, Jaeger JA, Schwartz DA, Riley TA, Marvin WB, Daily WJ, Vaghefi MM, Beck TA, Knowless SK, Klem RE, Arnold LJ Jr**. Nucleic Acid Res.: 1996. Ročník: 24. Strana: 4584. Převzato z: **Koji Nagahama, Rakesh N. Veedu, Jesper Wengel**. *Nuclease resistant methylphosphonate-DNA/LNA chimeric oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters: 2009. Ročník: 19. Strana: 1.
103. **Peter E. Nielsen, Michael Egholm**. *An Introduction to Peptide Nucleic Acid*. Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 2, 3, 9.
104. **Nielsen PE, Egholm M**. *Peptide Nucleic Acids: Protocols and Applications*. Horizon Scientific Press, Wymondham, U.K.: 1999. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm**. *An Introduction to Peptide Nucleic Acid*. Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 1.
105. **Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O**. *Sequence selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide*. Science: 1991. Ročník: 254. Strana: 1497-1500. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm**. *An Introduction to Peptide Nucleic Acid*. Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 1.
106. **Egholm M, Buchardt O, Nielsen PE, Berg RH**. *Peptide nucleic acids (PNA). Oligonucleotide analogues with an achiral peptide backbone*. J. Amer. Chem. Soc.: 1992. Ročník: 114. Strana: 1895-1897. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm**. *An Introduction to Peptide Nucleic Acid*. Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 1.
107. **Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O**. *Peptide nucleic acids (PNA). DNA analogues with a polyamide backbone*. In: *Antisense Research and Application*. Crook, S. and Lebleu, B. (eds.). CRC Press, Boca Raton: 1993. Strana: 363-373. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm**. *An Introduction to Peptide Nucleic Acid*. Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 1.
108. **Egholm M, Buchardt O, Christensen L, Behrens C, Freier SM, Driver DA, Berg RH, Kim SK, Norden B, Nielsen PE**. *PNA hybridizes to complementary oligonucleotides obeying the Watson-Crick hydrogen bonding rules*. Nature: 1993. Ročník: 365. Strana: 556-568. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm**. *An Introduction to Peptide Nucleic Acid*. Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 4.
109. **Tomac S, Sarkar M, Ratilainen T, Wittung P, Nielsen PE, Norden B, Gräslund A**. *Ionic effects on the stability and conformation of peptide nucleic acid (PNA) complexes*. J. Amer. Chem. Soc.: 1996. Ročník: 118. Strana: 5544-52. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm**. *An Introduction to Peptide Nucleic Acid*. Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 4.
110. **Ørum H, Jørgensen M, Koch T, Nielsen PE, Larsson C, Stanley C**. *Sequence specific purification of nucleic acids by PNA controlled hybrid selection*. Biotechniques: 1995.



- Ročník: 19. Strana: 472-480. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm.** *An Introduction to Peptide Nucleic Acid.* Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 4.
111. **Jensen KK, Ørum H, Nielsen PE, Norden B.** *Hybridization kinetics of Peptide Nucleic Acids (PNA) with DNA and RNA studied with BIAcore Technique.* Biochemistry: 1997. Ročník: 36. Strana: 5072-5077. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm.** *An Introduction to Peptide Nucleic Acid.* Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 3.
112. **Hanvey JC, Peffer NC, Bisi JE, Thomson SA, Cadilla R, Josey JA, Ricca DJ, Hassman CF, Bonham MA, Au KG, Carter SG, Bruckenstein DA, Boyd AL, Noble SA, Babiss LE.** *Antisense and antigene properties of peptide nucleic acids.* Science: 1992. Ročník: 258. Strana: 1481-1485. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm.** *An Introduction to Peptide Nucleic Acid.* Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 9.
113. **Knudsen H, Nielsen PE.** *Antisense properties of duplex and triplex forming PNA.* Nucleic Acids Res.: 1996. Ročník: 24. Strana: 494-500. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm.** *An Introduction to Peptide Nucleic Acid.* Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 9.
114. **Bonham MA, Brown S, Boyd AL, Brown PH, Bruckenstein DA, Hanvey JC, Thomson SA, Pipe A, Hassman F, Bisi JE, Froehler BC, Matteucci MD, Wagner RW, Noble SA, Babiss LE.** *An assessment of the antisense properties of RNase H-competent and steric-blocking oligomers.* Nucleic Acids Res.: 1995. Ročník: 23. Strana: 1197-1203. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm.** *An Introduction to Peptide Nucleic Acid.* Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 9.
115. **Wittung P, Kajanus J, Edwards K, Nielsen PE, Norden B, Malmström BG.** *Phospholipid membrane permeability of peptide nucleic acid.* FEBS Letters.: 1995. Ročník: 365. Strana: 27-29. Převzato z : **Peter E. Nielsen, Michael Egholm.** *An Introduction to Peptide Nucleic Acid.* Current Issues Molec. Biol.: 1999. Ročník: 1. Strana: 9.
116. **Summerton J, Weller D.** *Morpholino antisense oligomers: design, preparation, and properties.* Antisense Nucleic Acid Drug Dev: 1997. Ročník: 7. Strana: 187-195. Převzato z: **Adams Amantana, Patrick L Iversen.** *Pharmacokinetics and biodistribution of phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers.* Current Opinion in Pharmacology: 2005. Ročník: 5. Strana: 2.
117. **Kurreck J, Wyszko E, Gillen C, Erdmann VA.** *Design of antisense oligonucleotides stabilized by locked nucleic acids.* Nucleic Acids Res: 2002. Ročník: 30. Strana: 1911-1918. Převzato z: **Adams Amantana, Patrick L Iversen.** *Pharmacokinetics and biodistribution of phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers.* Current Opinion in Pharmacology: 2005. Ročník: 5. Strana: 2.
118. **Hudziak RM, Barofsky E, Barofsky DF, Weller DL, Huang SB, Weller DD.** *Resistance of morpholino phosphorodiamidate oligomers to enzymatic degradation.* Antisense Nucleic Acid Drug Dev: 1996. Ročník: 6. Strana: 267-272. Převzato z: **Adams Amantana, Patrick L Iversen.** *Pharmacokinetics and biodistribution of phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers.* Current Opinion in Pharmacology: 2005. Ročník: 5. Strana: 2.
119. **Summerton J.** *Morpholino antisense oligomers: the case for an RNase H-independent*

- structural type*. Biochim Biophys Acta: 1999. Ročník: 1489. Strana: 141-158. Převzato z: **Adams Amantana, Patrick L Iversen**. *Pharmacokinetics and biodistribution of phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers*. Current Opinion in Pharmacology: 2005. Ročník: 5. Strana: 2.
120. **Ghosh C, Stein D, Weller D, Iversen P**. *Evaluation of antisense mechanisms of action*. Methods Enzymol: 2000. Ročník: 313. Strana: 135-143. Převzato z: **Adams Amantana, Patrick L Iversen**. *Pharmacokinetics and biodistribution of phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers*. Current Opinion in Pharmacology: 2005. Ročník: 5. Strana: 2.
121. **Sazani P, Kole R**. *Therapeutic potential of antisense oligonucleotides as modulators of alternative splicing*. J Clin Invest: 2003. Ročník: 112. Strana: 481-486. Převzato z: **Adams Amantana, Patrick L Iversen**. *Pharmacokinetics and biodistribution of phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers*. Current Opinion in Pharmacology: 2005. Ročník: 5. Strana: 2.
122. **Haginoya N, Ono A, Nomura Y, Ueno Y, Matsuda A**. Bioconjugate Chem.: 1997. Ročník: 8. Strana: 271. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika**. *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
123. **Ueno Y, Mikawa M, Matsuda A**. Bioconjugate Chem.: 1998. Ročník: 9. Strana: 33. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika**. *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
124. **Matsukura M, Okamoto T, Miike T, Sawai H, Shinozuka K**. Biochem. Biophys. Res. Commun.: 2002. Ročník: 293. Strana: 1341. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika**. *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
125. **Moriguchi T, Sakai H, Suzuki H, Shinozuka K**. Chem. Pharm. Bull.: 2008. Ročník: 56. Strana: 1259. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika**. *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
126. **Lin K-Y, Jones RJ, Matteucci M**. J. Am. Chem. Soc.: 1995. Ročník: 117. Strana: 3873. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika**. *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
127. **Lin K-Y, Matteucci MD**. J. Am. Chem. Soc.: 1998. Ročník: 120. Strana: 8531. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika**. *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20.

Strana: 1.

128. **Venkiteswaran S, Vijayanathan V, Shirahata A, Thomas, T. J.** Biochemistry: 2005. Ročník: 44. Strana: 303. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika.** *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
129. **Winkler J, Saadat K, Díaz-Gavilán M, Urban E, Noe CR.** Eur. J. Med. Chem.: 2009. Ročník: 44. Strana: 670. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika.** *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
130. **Morvan F, Debart F, Vasseur J. J.** Chem. Biodivers.: 2010. Ročník: 7. Strana: 494. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika.** *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
131. **Michel T, Debart F, Heitz F, Vasseur J. J.** ChemBioChem: 2005. Ročník: 6. Strana: 1254. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika.** *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
132. **Fraley AW, Pons B, Dalkara D, Nullans G, Behr J-P, Zuber G. J.** Am. Chem. Soc.: 2006. Ročník: 128. Strana: 10763. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika.** *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
133. **Stein CA, Subasinghe C, Shinozuka K, Cohen JS.** Nucleic Acids Res.: 1988. Ročník: 16. Strana: 3209. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika.** *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
134. **Clark CL, Cecil PK, Singh D, Gray DM.** Nucleic Acids Res.: 1997. Ročník: 25. Strana: 4098. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika.** *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
135. **Xodo L, Alunni-Fabbroni M, Manzini G, Quadrifoglio F.** Nucleic Acids Res.: 1994. Ročník: 22. Strana: 3322. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika.** *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
136. **Kim S-G, Tsukahara S, Yokoyama S, Takaku H.** FEBS. Lett.: 1992. Ročník: 314. Strana: 29. Převzato z: **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam,**

- Satoshi Obika.** *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 1.
137. **S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, Tetsuya Kodama, Md. Ariful Islam, Satoshi Obika.** *Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides.* Bioorganic & Medicinal Chemistry: 2012. Ročník: 20. Strana: 4.
138. **R. H. Hall, A. Todd and R. F. Webb.** J. Chem. Soc.: 1957. Strana: 3291–3296. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* Org. Biomol. Chem.: 2005. Ročník: 3. Strana: 7.
139. **P. J. Garegg, T. Regberg, J. Stawinski and R. Strömberg.** Chem. Scr.: 1985. Ročník: 25. Strana: 280–282. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* Org. Biomol. Chem.: 2005. Ročník: 3. Strana: 7.
140. **B. C. Froehler and M. D. Matteucci.** Tetrahedron Lett.: 1986. Ročník: 27. Strana: 469–472. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* Org. Biomol. Chem.: 2005. Ročník: 3. Strana: 7.
141. **B. C. Froehler, P. G. Ng and M. D. Matteucci.** Nucleic Acids Res.: 1986. Ročník: 14. Strana: 5399–5407. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* Org. Biomol. Chem.: 2005. Ročník: 3. Strana: 7.
142. **B. C. Froehler** in *Methods in Molecular Biology. Protocols for Oligonucleotides and Analogs.* Ed. **S. Agrawal, Humana, Totowa.** 1993. Ročník: 20. Strana: 63–80. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* Org. Biomol. Chem.: 2005. Ročník: 3. Strana: 7.
143. **T. M. Jacob and H. G. Khorana.** J. Am. Chem. Soc.: 1965. Ročník: 87. Strana: 2971–2981. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* Org. Biomol. Chem.: 2005. Ročník: 3. Strana: 2.
144. **H. G. Khorana, G. M. Tener, J. G. Moffatt and E. H. Pol.** Chem. Ind.: 1956. Strana: 1523. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* Org. Biomol. Chem.: 2005. Ročník: 3. Strana: 2.
145. **H. G. Khorana, W. E. Razzell, P. T. Gilham, G. M. Tener and E. H. Pol.** J. Am. Chem. Soc.: 1957. Ročník: 79. Strana: 1002–1003. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* Org. Biomol. Chem.: 2005. Ročník: 3. Strana: 2.
146. **F. Eckstein and I. Rizk,** *Angew. Chem. Int. Ed.:* 1967. Ročník: 6. Strana: 695–696. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* Org. Biomol. Chem.: 2005. Ročník: 3. Strana: 3.
147. **F. Eckstein and I. Rizk,** *Angew. Chem. Int. Ed.:* 1967. Ročník: 6. Strana: 949. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* Org. Biomol. Chem.: 2005. Ročník: 3. Strana: 3.
148. **F. Eckstein and I. Rizk.** Chem. Ber.: 1969. Ročník: 102. Strana: 2362–2377. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* Org. Biomol. Chem.: 2005. Ročník: 3. Strana: 3.

149. **C. B. Reese and R. Saffhill.** *Chem. Commun.*: 1968. Strana: 767–768. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* *Org. Biomol. Chem.*: 2005. Ročník: 3. Strana: 3.
150. **Letsinger RL, Lunsford WB.** *Synthesis of thymidine oligonucleotides by phosphite triester intermediates.* *J. Am. Chem. Soc.*: 1976. Ročník: 98. Strana: 3655–3661. Převzato z: **Subhadeep Roy and Marvin Caruthers.** *Synthesis of DNA/RNA and Their Analogs via Phosphoramidite and H-Phosphonate Chemistries.* *Molecules*: 2013. Ročník: 18. Strana: 2.
151. **R. L. Letsinger and W. B. Lunsford.** *J. Am. Chem. Soc.*: 1976. Ročník: 98. Strana: 3655–3661. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* *Org. Biomol. Chem.*: 2005. Ročník: 3. Strana: 6.
152. **Subhadeep Roy and Marvin Caruthers.** *Synthesis of DNA/RNA and Their Analogs via Phosphoramidite and H-Phosphonate Chemistries.* *Molecules*: 2013. Ročník: 18. Strana: 2.
153. **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* *Org. Biomol. Chem.*: 2005. Ročník: 3. Strana: 7, 11.
154. **S. L. Beaucage and M. H. Caruthers.** *Tetrahedron Lett.*: 1981. Ročník: 22. Strana: 1859–1862. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* *Org. Biomol. Chem.*: 2005. Ročník: 3. Strana: 7.
155. **S. P. Adams, K. S. Kavka, E. J. Wykes, S. B. Holder and G. R. Gallupi.** *J. Am. Chem. Soc.*: 1983. Ročník: 105. Strana: 661–663. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* *Org. Biomol. Chem.*: 2005. Ročník: 3. Strana: 7.
156. **L. J. McBride and M. H. Caruthers.** *Tetrahedron Lett.*: 1983. Ročník: 24. Strana: 245–248. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* *Org. Biomol. Chem.*: 2005. Ročník: 3. Strana: 7.
157. **N. D. Sinha, J. Biernat and H. Köster.** *Tetrahedron Lett.*: 1983. Ročník: 24. Strana: 5843–5846. Převzato z: **Colin B. Reese.** *Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis.* *Org. Biomol. Chem.*: 2005. Ročník: 3. Strana: 7.
158. **Sinha ND, Biernat J, Koster H.** *Tetrahedron Lett.*: 1983. Ročník: 24. Strana: 5843. Převzato z: **Martin A. Maier, Andrei P. Guzaev, and Muthiah Manoharan.** *Synthesis of Chimeric Oligonucleotides Containing Phosphodiester, Phosphorothioate, and Phosphoramidate Linkages.* *Org. Lett.*: 2000. Ročník: 2. Strana: 2.
159. **McBride LJ, Caruthers MH.** *Tetrahedron Lett.*: 1983. Ročník: 24. Strana: 245. Převzato z: **Martin A. Maier, Andrei P. Guzaev, and Muthiah Manoharan.** *Synthesis of Chimeric Oligonucleotides Containing Phosphodiester, Phosphorothioate, and Phosphoramidate Linkages.* *Org. Lett.*: 2000. Ročník: 2. Strana: 2.
160. **Beaucage S, Iyer RP.** *Tetradhedron*: 1992. Ročník: 48. Strana: 2223. Převzato z: **Martin A. Maier, Andrei P. Guzaev, and Muthiah Manoharan.** *Synthesis of Chimeric Oligonucleotides Containing Phosphodiester, Phosphorothioate, and Phosphoramidate Linkages.* *Org. Lett.*: 2000. Ročník: 2. Strana: 2.
161. **M. H. Caruthers, A. D. Barone, S. L. Beaucage, D. R. Dodds, E. F. Fisher, L.J. McBride, M. Matteucci, Z. Stabinsky, J.-Y. Tang.** *Chemical Synthesis of Deoxyoligonucleotides by the Phosphoramidite Method.* *Methods in enzymology*: 1987.

Ročník: 154. Strana: 1-7.

162. **Shirley Gillam, Fritz Rottman, Pat Jahnke, Michael Smith.** *Enzymatic synthesis of oligonucleotides of defined sequence: Synthesis of a segment of yeast iso-i-cytochrome c gene.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA: 1977. Ročník: 74. Strana: 1.
163. **Bonora GM, Rossin R, Zaramella S, Cole DL, Eleuteri A, Ravikumar VT.** Org. Process Res. DeV.: 2000. Ročník: 4. Strana: 225. Převzato z: **Martijn C. de Koning, Amar B. T. Ghisaidoobe, Howard I. Duynstee, Paul B. W. Ten Kortenaar, Dmitri V. Filippov, Gijs A. van der Marel.** *Simple and Efficient Solution-Phase Synthesis of Oligonucleotides Using Extractive Work-Up.* Organic Process Research & Development: 2006. Ročník: 10. Strana: 1.
164. **Mihaichuk JC, Hurley BT, Vagle KE, Smith RS, Yegge JA, Pratt GM, Tompkins CJ, Sebesta DP, Pieken WA.** Org. Process Res. DeV.: 2000. Ročník: 4. Strana: 214. Převzato z: **Martijn C. de Koning, Amar B. T. Ghisaidoobe, Howard I. Duynstee, Paul B. W. Ten Kortenaar, Dmitri V. Filippov, Gijs A. van der Marel.** *Simple and Efficient Solution-Phase Synthesis of Oligonucleotides Using Extractive Work-Up.* Organic Process Research & Development: 2006. Ročník: 10. Strana: 1.
165. **Anon.** *Antisense Technologies [online].* Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 1, 5, 6, 7.
166. **Bethany A. Janowski, David R. Corey.** *Inhibiting transcription of chromosomal DNA using antigene RNAs.* Nucleic Acids Symposium Series: 2005. Ročník: 49. Strana: 1-2.
167. **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* NATURE PROTOCOLS: 2006. Ročník: 1. Strana: 1, 2.
168. **Kaihatsu K, Janowski BA, Corey DR.** Chem. Biol.: 2004. Ročník: 11. Strana: 749-748. Převzato z: **Bethany A. Janowski, David R. Corey.** *Inhibiting transcription of chromosomal DNA using antigene RNAs.* Nucleic Acids Symposium Series: 2005. Ročník: 49. Strana: 1.
169. **Knauert MP & Glazer PM.** *Triplex forming oligonucleotides: sequence-specific tools for gene targeting.* Hum. Mol. Gen.:2001. Ročník: 10. Strana: 2243–2251. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* NATURE PROTOCOLS: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
170. **Besch R, Giovannangeli C, Schuh T, Kammerbauer C & Degitz K.** *Characterization and quantification of triple helix formation in chromosomal DNA.* J. Mol. Biol.:2004. Ročník: 341. Strana 979–989. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* NATURE PROTOCOLS: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
171. **Janowski BA, Kaihatsu K, Huffman KE, Schwartz JC, Ram R, Hardy D, Mendelson CR, Corey DR.** Nature Chem. Biol.: 2005. Ročník: 1. Strana: 210-216. Převzato z: **Bethany A. Janowski, David R. Corey.** *Inhibiting transcription of chromosomal DNA using antigene RNAs.* Nucleic Acids Symposium Series: 2005. Ročník: 49. Strana: 1.
172. **Janowski BA, Huffman KE, Schwartz JC, Ram R, Hardy D, Shames DS, Minna JD,**

- Corey DR.** *Nature Chem. Biol.*: 2005. Ročník: 1. Strana: 216-222. Převzato z: **Bethany A. Janowski, David R. Corey.** *Inhibiting transcription of chromosomal DNA using antigene RNAs.* *Nucleic Acids Symposium Series*: 2005. Ročník: 49. Strana: 1.
173. **Janowski BA, et al.** *Inhibiting gene expression at transcription start sites in chromosomal DNA by antigene RNAs.* *Nat. Chem. Biol.*: 2005. Ročník: 1. Strana: 216–222. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* *NATURE PROTOCOLS*: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
174. **Morris KV, Chan SW, Jacobsen SE & Looney DJ.** *Small interfering RNA-induced transcriptional silencing in human cells.* *Science*: 2004. Ročník: 305. Strana: 1289–1292. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* *NATURE PROTOCOLS*: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
175. **Ting AH, et al.** *Short double-stranded RNA induces transcriptional gene silencing in human cells in the absence of DNA methylation.* *Nat. Genet.*: 2005. Ročník: 37. Strana: 906–910. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* *NATURE PROTOCOLS*: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
176. **Castanotto D, et al.** *Short hairpin RNA-directed cytosine (CpG) methylation of the RASSF1 promoter in HeLa cells.* *Mol. Ther.*: 2005. Ročník: 12. Strana: 179–183. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* *NATURE PROTOCOLS*: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
177. **Suzuki K, et al.** *Prolonged transcriptional silencing and CpG methylation induced by siRNAs targeted to the HIV-1 promoter region.* *J. RNAi Gene Silencing*: 2005. Ročník: 1. Strana: 66–78. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* *NATURE PROTOCOLS*: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
178. **Zhang M-X, et al.** *Regulation of endothelial nitric oxide synthase by small RNA.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*: 2005. Ročník: 102. Strana: 16967–16972. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* *NATURE PROTOCOLS*: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
179. **Weinberg MS, et al.** *The antisense strand of small interfering RNAs directs histone methylation and transcriptional gene silencing in human cells.* *RNA*: 2006. Ročník: 12. Strana: 256–262. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* *NATURE PROTOCOLS*: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
180. **Corey DR.** *Regulating mammalian transcription with RNA.* *Trends Biochem. Sci.*: 2005. Ročník: 30. Strana: 655–658. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* *NATURE PROTOCOLS*: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
181. **Morris KV.** *Therapeutic potential of siRNA-mediated transcriptional gene silencing.*

- Biotechniques: 2006. Ročník: 40. S7–S13. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* NATURE PROTOCOLS: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
182. **Pelissier T, Wassenegger M.** RNA: 2000. Ročník: 6. Strana: 55-65. Převzato z: **Bethany A. Janowski, David R. Corey.** *Inhibiting transcription of chromosomal DNA using antigene RNAs.* Nucleic Acids Symposium Series: 2005. Ročník: 49. Strana: 1-2.
183. **Grewal SIS, Moazed D.** Science: 2003. Ročník: 301. Strana: 798-802. Převzato z: **Bethany A. Janowski, David R. Corey.** *Inhibiting transcription of chromosomal DNA using antigene RNAs.* Nucleic Acids Symposium Series: 2005. Ročník: 49. Strana: 1-2.
184. **Janowski BA, et al.** *Inhibiting transcription of chromosomal DNA using antigene peptide nucleic acids.* Nat. Chem. Biol.: 2005. Ročník: 1. Strana: 210–215. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* NATURE PROTOCOLS: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
185. **Hamilton SE, Simmons CG, Kathriya I & Corey DR.** *Cellular delivery of peptide nucleic acids and inhibition of human telomerase.* Chem. Biol.: 1999. Ročník: 6. Strana: 343–351. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* NATURE PROTOCOLS: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
186. **Doyle DF, Braasch DA, Simmons CG, Janowski BA & Corey DR.** *Intracellular delivery and inhibition of gene expression by peptide nucleic acids.* Biochemistry: 2001. Ročník: 40. Strana: 53–64. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* NATURE PROTOCOLS: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
187. **Kaihatsu K, Huffman KE & Corey DR.** *Cellular uptake, localization, and inhibition of gene expression by PNAs and PNA-peptide conjugates.* Biochemistry: 2004. Ročník: 43. Strana: 14340–14347. Převzato z: **Bethany A Janowski, Jiaxin Hu & David R Corey.** *Silencing gene expression by targeting chromosomal DNA with antigene peptide nucleic acids and duplex RNAs.* NATURE PROTOCOLS: 2006. Ročník: 1. Strana: 1.
188. **Adams Amantana, Patrick L Iversen.** *Pharmacokinetics and biodistribution of phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers.* Current Opinion in Pharmacology: 2005. Ročník: 5. Strana: 1.
189. **Dagle JM and Weeks DL.** *Oligonucleotide-based strategies to reduce gene expression. Differentiation.* 2001. Ročník: 69. Strana: 75–82. Převzato z: **Anon.** *Antisense Technologies [online].* Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 6.
190. **Sorensen JJ, Nielsen JT, and Petersen M.** *Solution structure of a dsDNA:LNA triplex.* Nucleic Acids Res: 2004. Ročník: 32. Strana: 6078–6085. Převzato z: **Anon.** *Antisense Technologies [online].* Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 6.



191. **Mann CJ, Honeyman K, Cheng AJ, Ly T, Lloyd F, Fletcher S, Morgan JE, Partridge TA, Wilton SD.** *Antisense-induced exon skipping and synthesis of dystrophin in the mdx mouse.* Proc Natl Acad Sci USA: 2001. Ročník: 98. Strana: 42-47. Převzato z: **Adams Amantana, Patrick L Iversen.** *Pharmacokinetics and biodistribution of phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers.* Current Opinion in Pharmacology: 2005. Ročník: 5. Strana: 1.
192. **Vacek M, Sazani P, Kole R.** *Antisense-mediated redirection of mRNA splicing.* Cell Mol Life Sci: 2003. Ročník: 60. Strana: 825-833. Převzato z: **Adams Amantana, Patrick L Iversen.** *Pharmacokinetics and biodistribution of phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers.* Current Opinion in Pharmacology: 2005. Ročník: 5. Strana: 1.
193. **Dagle JM and Weeks DL.** *Oligonucleotide-based strategies to reduce gene expression.* Differentiation: 2001. Ročník: 69. Strana: 75–82. Převzato z: **Anon.** *Antisense Technologies [online].* Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 8.
194. **Walder RY and Walder JA.** *Role of RNase H in hybrid-arrested translation by antisense oligonucleotides.* Proceedings of the National Academy of Sciences USA: 1988. Ročník: 85. Strana: 5011–5015. Převzato z: **Anon.** *Antisense Technologies [online].* Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 8.
195. **Eder PS, and Walder JA.** *Ribonuclease H from K562 human erythroleukemia cells. Purification, characterization, and substrate specificity.* Journal of Biological Chemistry: 1991. Ročník: 266. Strana: 6472–6479. Převzato z: **Anon.** *Antisense Technologies [online].* Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 8.
196. **Eder PS, Walder RY, and Walder JA.** *Substrate specificity of human RNase H1 and its role in excision repair of ribose residues misincorporated in DNA.* Biochimie: 1993. Ročník: 75. Strana: 123–126. Převzato z: **Anon.** *Antisense Technologies [online].* Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 8.
197. **Crooke ST.** *Progress in antisense technology.* Annual Review of Medicine: 2004. Ročník: 55. Strana: 61–95. Převzato z: **Anon.** *Antisense Technologies [online].* Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 8.
198. **Kurreck J.** *Antisense technologies: Improvement through novel chemical modifications.* European Journal of Biochemistry: 2003. Ročník: 270 Strana: 1628–1644. Převzato z: **Anon.** *Antisense Technologies [online].* Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 3.

199. **Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC.** Nature: 1998. Ročník: 391. Strana: 806. Převzato z: **S. M. Abdur Rahman, Hiroyuki Sato, Naoto Tsuda, Sunao Haitani, Keisuke Narukawa, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika.** *RNA interference with 2',4'-bridged nucleic acid analogues.* Bioorganic & Medicinal Chemistry:2010. Ročník: 18. Strana: 1.
200. **Dorsett Y, Tuschl T.** Nat. Rev. Drug Disc.: 2004. Ročník: 3. Strana: 318. Převzato z: **S. M. Abdur Rahman, Hiroyuki Sato, Naoto Tsuda, Sunao Haitani, Keisuke Narukawa, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika.** *RNA interference with 2',4'-bridged nucleic acid analogues.* Bioorganic & Medicinal Chemistry:2010. Ročník: 18. Strana: 1.
201. **Kim DH, Rossi JJ.** Nat. Rev. Genet.: 2007. Ročník: 8. Strana: 173. Převzato z: **S. M. Abdur Rahman, Hiroyuki Sato, Naoto Tsuda, Sunao Haitani, Keisuke Narukawa, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika.** *RNA interference with 2',4'-bridged nucleic acid analogues.* Bioorganic & Medicinal Chemistry:2010. Ročník: 18. Strana: 1.
202. **Kurreck J.** Angew. Chem., Int. Ed.: 2009. Ročník: 48. Strana: 1378. Převzato z: **S. M. Abdur Rahman, Hiroyuki Sato, Naoto Tsuda, Sunao Haitani, Keisuke Narukawa, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika.** *RNA interference with 2',4'-bridged nucleic acid analogues.* Bioorganic & Medicinal Chemistry:2010. Ročník: 18. Strana: 1.
203. **Grimm D.** Adv. Drug Delivery Rev.: 2009. Ročník: 61. Strana: 672. Převzato z: **S. M. Abdur Rahman, Hiroyuki Sato, Naoto Tsuda, Sunao Haitani, Keisuke Narukawa, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika.** *RNA interference with 2',4'-bridged nucleic acid analogues.* Bioorganic & Medicinal Chemistry:2010. Ročník: 18. Strana: 1.
204. **Kim DH, Rossi JJ.** *Overview of Gene Silencing by RNA Interference.* In: Current Protocols of Nucleic Acid Chemistry: 2009. **John Wiley and Sons Inc.** Ročník: 36. Sekce: 16.1.1–16.1.10. Převzato z: **S. M. Abdur Rahman, Hiroyuki Sato, Naoto Tsuda, Sunao Haitani, Keisuke Narukawa, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika.** *RNA interference with 2',4'-bridged nucleic acid analogues.* Bioorganic & Medicinal Chemistry:2010. Ročník: 18. Strana: 1.
205. **Rand TA, Petersen S, Du F, Wang X.** Cell: 2005. Ročník: 123. Strana: 621. Převzato z: **S. M. Abdur Rahman, Hiroyuki Sato, Naoto Tsuda, Sunao Haitani, Keisuke Narukawa, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika.** *RNA interference with 2',4'-bridged nucleic acid analogues.* Bioorganic & Medicinal Chemistry:2010. Ročník: 18. Strana: 1.
206. **Leuschner PJF, Ameres SL, Kueng S, Martinez J.** EMBO Rep.: 2006. Ročník: 7. Strana: 314. Převzato z: **S. M. Abdur Rahman, Hiroyuki Sato, Naoto Tsuda, Sunao Haitani, Keisuke Narukawa, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika.** *RNA interference with 2',4'-bridged nucleic acid analogues.* Bioorganic & Medicinal Chemistry:2010. Ročník: 18. Strana: 1.
207. **Bartel DP.** Cell: 2004. Ročník: 116. Strana: 281. Převzato z: **S. M. Abdur Rahman, Hiroyuki Sato, Naoto Tsuda, Sunao Haitani, Keisuke Narukawa, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika.** *RNA interference with 2',4'-bridged nucleic acid analogues.* Bioorganic & Medicinal Chemistry:2010. Ročník: 18. Strana: 1.
208. **Meister G, Tuschl T.** Nature: 2004. Ročník: 431. Strana: 343. Převzato z: **S. M. Abdur Rahman, Hiroyuki Sato, Naoto Tsuda, Sunao Haitani, Keisuke Narukawa, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika.** *RNA interference with 2',4'-bridged nucleic acid analogues.*

- Bioorganic & Medicinal Chemistry:2010. Ročník: 18. Strana: 1.
209. **Behlke MA.** *Progress towards in vivo use of siRNAs.* Mol Ther: 2006. Ročník: 13. Strana: 644–670. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 1.
210. **Agrawal N, Dasaradhi PV, Mohammed A, Malhotra P, Bhatnagar RK and Mukherjee SK.** *RNA interference: biology, mechanism, and applications.* Microbiol Mol Biol Rev: 2003. Ročník: 67. Strana: 657–685. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 1.
211. **Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K and Tuschl T.** *Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells.* Nature: 2001. Ročník: 411. Strana: 494–498. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 2.
212. **Barik S.** *Silence of the transcripts: RNA interference in medicine.* J Mol Med (Berl): 2005. Ročník: 83 Strana: 764–773. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 2.
213. **Elbashir SM, Lendeckel W and Tuschl T.** *RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs.* Genes Dev: 2001. Ročník: 15. Strana: 188–200. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 3.
214. **Valencia-Sanchez MA, Liu J, Hannon GJ and Parker R.** *Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs.* Genes Dev: 2006. Ročník: 20. Strana: 515–524. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 3.
215. **Perwitasari O, Bakre A, Tompkins SM and Tripp RA.** *siRNA Genome Screening Approaches to Therapeutic Drug Repositioning.* Pharmaceuticals (Basel): 2013. Ročník: 6. Strana: 124–160. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 4.
216. **Drosopoulos K and Linardopoulos S.** *Integration of RNAi and small molecule screens to identify targets for drug development.* Methods Mol Biol: 2013. Ročník: 986. Strana: 97–104. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 4.
217. **Lee RC, Feinbaum RL and Ambros V.** *The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14.* Cell: 1993. Ročník: 75. Strana: 843–854. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic

- Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 1.
218. **van Rooij E, Purcell AL and Levin AA.** *Developing microRNA therapeutics.* Circ Res: 2012. Ročník: 110. Strana: 496–507. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 1.
219. **Bader AG, Brown D and Winkler M.** *The promise of microRNA replacement therapy.* Cancer Res: 2010. Ročník: 70. Strana: 7027–7030. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 1.
220. **Deng Y, Wang CC, Choy KW, Du Q, Chen J, Wang Q et al.** *Therapeutic potentials of gene silencing by RNA interference: principles, challenges, and new strategies.* Gene: 2014. Ročník: 538. Strana: 217–227. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 1.
221. **Bartel DP.** *MicroRNAs: target recognition and regulatory functions.* Cell: 2009. Ročník: 136. Strana: 215–233. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 3.
222. **Lim LP, Lau NC, Garrett-Engele P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, et al.** *Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs.* Nature: 2005. Ročník: 433. Strana: 769–773. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 3.
223. **Huntzinger E and Izaurralde E.** *Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay.* Nat Rev Genet: 2011. Ročník: 12. Strana: 99–110. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 2.
224. **Kim VN, Han J and Siomi MC.** *Biogenesis of small RNAs in animals.* Nat Rev Mol Cell Biol: 2009. Ročník: 10. Strana: 126–139. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 2.
225. **Hayes J, Peruzzi PP and Lawler S.** *MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy.* Trends Mol Med: 2014. Ročník: 20. Strana: 460–469. Převzato z: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung.** *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing.* Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 4.
226. **Cech TR, Zaugg AJ, and Grabowski PJ.** *In vitro splicing of the ribosomal RNA precursor of Tetrahymena: involvement of a guanosine nucleotide in the excision of the intervening sequence.* Cell: 1981. Ročník: 27. Strana: 487–496. Převzato z: **Anon.** *Antisense Technologies [online].* Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5.února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 5.

227. **Haseloff J and Gerlach WL.** *Simple RNA enzymes with new and highly specific endoribonuclease activities.* Nature: 1988. Ročník: 334. Strana: 585–591. Převzato z: **Anon. Antisense Technologies [online].** Integrated DNA Technologies: 2011. [vid. 5. února 2016]. Dostupné z: <https://www.idtdna.com/pages/docs/educational-resources/antisense-technologies.pdf?sfvrsn=6>. Strana: 5.
228. **Noller HF, Hoffarth V, Zimniak L.** *Unusual resistance of peptidyl transferase to protein extraction procedures.* Science: 1992. Ročník: 256. Strana: 1416–1419. Převzato z: **Timothy J. Wilson, Yijin Liu, David M. J. Lilley.** *Ribozymes and the mechanisms that underlie RNA catalysis.* Front. Chem. Sci. Eng.: 2016. Ročník: 10. Strana: 1.
229. **Nissen P, Hansen J, Ba N, Moore PB, Steitz TA.** *The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis.* Science: 2000. Ročník: 289. Strana: 920–930. Převzato z: **Timothy J. Wilson, Yijin Liu, David M. J. Lilley.** *Ribozymes and the mechanisms that underlie RNA catalysis.* Front. Chem. Sci. Eng.: 2016. Ročník: 10. Strana: 1.
230. **Weinger JS, Parnell KM, Dorner S, Green R, Strobel SA.** *Substrate-assisted catalysis of peptide bond formation by the ribosome.* Nature Structural & Molecular Biology: 2004. Ročník: 11. Strana: 1101–1106. Převzato z: **Timothy J. Wilson, Yijin Liu, David M. J. Lilley.** *Ribozymes and the mechanisms that underlie RNA catalysis.* Front. Chem. Sci. Eng.: 2016. Ročník: 10. Strana: 1.
231. **Kingery DA, Pfund E, Voorhees RM, Okuda K, Wohlgemuth I, Kitchen DE, Rodnina MV, Strobel SA.** *An uncharged amine in the transition state of the ribosomal peptidyl transfer reaction.* Chemistry & Biology: 2008. Ročník: 15. Strana: 493–500. Převzato z: **Timothy J. Wilson, Yijin Liu, David M. J. Lilley.** *Ribozymes and the mechanisms that underlie RNA catalysis.* Front. Chem. Sci. Eng.: 2016. Ročník: 10. Strana: 1.
232. **Fica SM, Tuttle N, Novak T, Li NS, Lu J, Koodathingal P, Dai Q, Staley JP, Piccirilli JA.** *RNA catalyses nuclear pre-mRNA splicing.* Nature: 2013. Ročník: 503. Strana: 229–234. Převzato z: **Timothy J. Wilson, Yijin Liu, David M. J. Lilley.** *Ribozymes and the mechanisms that underlie RNA catalysis.* Front. Chem. Sci. Eng.: 2016. Ročník: 10. Strana: 1.
233. **Przybilski R, Graf S, Lescoute A, Nellen W, Westhof E, Steger G, Hammann C.** *Functional hammerhead ribozymes naturally encoded in the genome of Arabidopsis thaliana.* Plant Cell: 2005. Ročník: 17. Strana: 1877–1885. Převzato z: **Timothy J. Wilson, Yijin Liu, David M. J. Lilley.** *Ribozymes and the mechanisms that underlie RNA catalysis.* Front. Chem. Sci. Eng.: 2016. Ročník: 10. Strana: 1.
234. **Seehafer C, Kalweit A, Steger G, Graf S, Hammann C.** *From alpaca to zebrafish: Hammerhead ribozymes wherever you look.* RNA (New York, N.Y.): 2011. Ročník: 17. Strana: 21–26. Převzato z: **Timothy J. Wilson, Yijin Liu, David M. J. Lilley.** *Ribozymes and the mechanisms that underlie RNA catalysis.* Front. Chem. Sci. Eng.: 2016. Ročník: 10. Strana: 1.
235. **Salehi-Ashtiani K, Luptak A, Litovchick A, Szostak JW.** *A genomewide search for ribozymes reveals an HDV-like sequence in the human CPEB3 gene.* Science: 2006. Ročník: 313. Strana: 1788–1792. Převzato z: **Timothy J. Wilson, Yijin Liu, David M. J. Lilley.** *Ribozymes and the mechanisms that underlie RNA catalysis.* Front. Chem. Sci. Eng.: 2016. Ročník: 10. Strana: 1.

236. **Webb CH, Riccitelli NJ, Ruminski DJ, Luptak A.** *Widespread occurrence of self-cleaving ribozymes.* Science: 2009. Ročník: 326. Strana: 953. Převzato z: **Timothy J. Wilson, Yijin Liu, David M. J. Lilley.** *Ribozymes and the mechanisms that underlie RNA catalysis.* Front. Chem. Sci. Eng.: 2016. Ročník: 10. Strana: 1.
237. **Roth A, Weinberg Z, Chen AG, Kim PB, Ames TD, Breaker RR.** *A widespread self-cleaving ribozyme class is revealed by bioinformatics.* Nature Chemical Biology: 2014. Ročník: 10. Strana: 56–60. Převzato z: **Timothy J. Wilson, Yijin Liu, David M. J. Lilley.** *Ribozymes and the mechanisms that underlie RNA catalysis.* Front. Chem. Sci. Eng.: 2016. Ročník: 10. Strana: 1.
238. **Sarver N, Cantin EM, Chang PS, et al.** *Ribozymes as potential anti-HIV-1 therapeutic agents.* Science: 1990. Ročník: 247. Strana: 1222 – 5. Převzato z: **Asad U. Khan.** *Ribozyme: A clinical tool.* Clinica Chimica Acta: 2006. Ročník: 367. Strana: 3.
239. **Yu M, Ojwang J, Yamada O, et al.** *A hairpin ribozyme inhibits expression of diverse strains of human immunodeficiency virus type 1.* Proc Natl Acad Sci U S A: 1993. Ročník: 90. Strana: 6340 – 4. Převzato z: **Asad U. Khan.** *Ribozyme: A clinical tool.* Clinica Chimica Acta: 2006. Ročník: 367. Strana: 3.
240. **Castanotto D, Rossi JJ, Sarver N.** *Antisense catalytic RNAs as therapeutic agents.* Adv Pharmacol: 1994. Ročník: 25. Strana: 289 – 317. Převzato z: **Asad U. Khan.** *Ribozyme: A clinical tool.* Clinica Chimica Acta: 2006. Ročník: 367. Strana: 3.
241. **Poeschla E, Wong-Staal F.** *Antiviral and anticancer ribozymes.* Curr Opin Oncol: 1994. Ročník: 6. Strana: 601 – 6. Převzato z: **Asad U. Khan.** *Ribozyme: A clinical tool.* Clinica Chimica Acta: 2006. Ročník: 367. Strana: 3.
242. **Rossi JJ.** *Ribozymes, genomics and therapeutics.* Chem Biol: 1999. Ročník: 6. Strana: R33 – 7. Převzato z: **Asad U. Khan.** *Ribozyme: A clinical tool.* Clinica Chimica Acta: 2006. Ročník: 367. Strana: 3.
243. **A.S. Mironov, I. Gusarov, R. Rafikov, L.E. Lopez, K. Shatalin, R.A. Kreneva, D.A. Perumov, E. Nudler.** *Sensing small molecules by nascent RNA: a mechanism to control transcription in bacteria.* Cell: 2002. Ročník: 111. Strana: 747–756. Převzato z: **Alla Peselis, Alexander Serganov.** *Themes and variations in riboswitch structure and function.* Biochimica et Biophysica Acta: 2014. Ročník: 1839. Strana: 1.
244. **A. Nahvi, N. Sudarsan, M.S. Ebert, X. Zou, K.L. Brown, R.R. Breaker.** *Genetic control by a metabolite binding mRNA.* Chem. Biol.: 2002. Ročník: 9. Strana: 1043. Převzato z: **Alla Peselis, Alexander Serganov.** *Themes and variations in riboswitch structure and function.* Biochimica et Biophysica Acta: 2014. Ročník: 1839. Strana: 1.
245. **W. Winkler, A. Nahvi, R.R. Breaker.** *Thiamine derivatives bind messenger RNAs directly to regulate bacterial gene expression.* Nature: 2002. Ročník: 419. Strana: 952–956. Převzato z: **Alla Peselis, Alexander Serganov.** *Themes and variations in riboswitch structure and function.* Biochimica et Biophysica Acta: 2014. Ročník: 1839. Strana: 1.
246. **M. Mandal, B. Boese, J.E. Barrick, W.C. Winkler, R.R. Breaker.** *Riboswitches control fundamental biochemical pathways in Bacillus subtilis and other bacteria.* Cell: 2003. Ročník: 113. Strana: 577–586. Převzato z: **Alla Peselis, Alexander Serganov.** *Themes and variations in riboswitch structure and function.* Biochimica et Biophysica Acta: 2014.

- Ročník: 1839. Strana: 1.
247. **W.C. Winkler, R.R. Breaker.** *Regulation of bacterial gene expression by riboswitches.* Annu. Rev. Microbiol.: 2005. Ročník: 59. Strana: 487–517. Převzato z: **Alla Peselis, Alexander Serganov.** *Themes and variations in riboswitch structure and function.* Biochimica et Biophysica Acta: 2014. Ročník: 1839. Strana: 1.
248. **E. Nudler, A.S. Mironov.** *The riboswitch control of bacterial metabolism.* Trends Biochem. Sci.: 2004. Ročník: 29. Strana: 11–17. Převzato z: **Alla Peselis, Alexander Serganov.** *Themes and variations in riboswitch structure and function.* Biochimica et Biophysica Acta: 2014. Ročník: 1839. Strana: 1.
249. **Alla Peselis, Alexander Serganov.** *Themes and variations in riboswitch structure and function.* Biochimica et Biophysica Acta: 2014. Ročník: 1839. Strana: 2.
250. **Saberian-Borujeni M, Johari-Ahar M, Hamzeiy H, Barar J, Omid Y.** *Nanoscaled aptasensors for multi-analyte sensing.* BioImpacts:BI 2014. Ročník: 4. Strana: 205–215. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
251. **Hermann T, Patel DJ.** *Adaptive recognition by nucleic acid aptamers.* Science: 2000. Ročník: 287. Strana: 820–825. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
252. **McNamara JO, Kolonias D, Pastor F, Mittler RS, Chen L, Giangrande PH, Sullenger B, Gilboa E.** *Multivalent 4-1BB binding aptamers costimulate CD8+ T cells and inhibit tumor growth in mice.* J. Clin. Investig.: 2008. Ročník: 118. Strana: 376–386. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
253. **Zhou B, Wang B.** *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration.* Exp. Eye Res.: 2006. Ročník: 83. Strana: 615–619. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
254. **Eyetechnology Study Group.** *Preclinical and phase IA clinical evaluation of an anti-VEGF pegylated aptamer (EYE001) for the treatment of exudative age-related macular degeneration.* Retina: 2002. Ročník: 22. Strana: 143–152. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
255. **Ireson CR, Kelland LR.** *Discovery and development of anticancer aptamers.* Mol. Cancer Ther.: 2006. Ročník: 5. Strana: 2957–2962. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
256. **Lao YH, Phua KK, Leong KW.** *Aptamer nanomedicine for cancer therapeutics: Barriers and potential for translation.* ACS Nano: 2015. Ročník: 9. Strana: 2235–2254. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
257. **Xiang D, Shigdar S, Qiao G, Wang T, Kouzani AZ, Zhou SF, Kong L, Li Y, Pu C,**

- Duan W.** *Nucleic acid aptamer-guided cancer therapeutics and diagnostics: The next generation of cancer medicine.* *Theranostics*: 2015. Ročník: 5. Strana: 23–42. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* *Molecules*: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
258. **Ciesiolka J, Gorski J, Yarus M.** *Selection of an RNA domain that binds Zn<sup>2+</sup>.* *RNA*: 1995. Ročník: 1. Strana: 538–550. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* *Molecules*: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
259. **Yang Q, Goldstein IJ, Mei HY, Engelke DR.** *DNA ligands that bind tightly and selectively to cellobiose.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*: 1998. Ročník: 95. Strana: 5462–5467. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* *Molecules*: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
260. **Stoltenburg R, Nikolaus N, Strehlitz B.** *Capture-SELEX: Selection of DNA Aptamers for Aminoglycoside Antibiotics.* *J. Anal. Methods Chem.*: 2012. Ročník: 2012. Strana: 415697. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* *Molecules*: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
261. **Liu Z, Duan JH, Song YM, Ma J, Wang FD, Lu X, Yang XD.** *Novel HER2 aptamer selectively delivers cytotoxic drug to HER2-positive breast cancer cells in vitro.* *J. Transl. Med.*: 2012. Ročník: 10. Strana: 148. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* *Molecules*: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
262. **Shangguan D, Li Y, Tang Z, Cao ZC, Chen HW, Mallikaratchy P, Sefah K, Yang CJ, Tan W.** *Aptamers evolved from live cells as effective molecular probes for cancer study.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*: 2006. Ročník: 103. Strana: 11838–11843. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* *Molecules*: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
263. **Li S, Xu H, Ding H, Huang Y, Cao X, Yang G, Li J, Xie Z, Meng Y, Li X, et al.** *Identification of an aptamer targeting hnRNP A1 by tissue slide-based SELEX.* *J. Pathol.*: 2009. Ročník: 218. Strana: 327–336. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* *Molecules*: 2015. Ročník: 20. Strana: 2.
264. **Ellington AD, Szostak JW.** *In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands.* *Nature*: 1990. Ročník: 346. Strana: 818–822. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* *Molecules*: 2015. Ročník: 20. Strana: 3.
265. **Tuerk C, Gold L.** *Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase.* *Science*: 1990. Ročník: 249. Strana: 505–510. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* *Molecules*: 2015. Ročník: 20. Strana: 3.
266. **Elle IC, Karlsen KK, Terp MG, Larsen N, Nielsen R, Derbyshire N, Mandrup S, Ditzel HJ, Wengel J.** *Selection of LNA-containing DNA aptamers against recombinant human CD73.* *Mol. Biosyst.*: 2015. Ročník: 11. Strana: 1260–1270. Převzato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.*



- Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 3.
267. **Daniels DA, Chen H, Hicke BJ, Swiderek KM, Gold L.** *A tenascin-C aptamer identified by tumor cell SELEX: systematic evolution of ligands by exponential enrichment.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA: 2003. Ročník: 100. Strana: 15416–15421. Převezato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 3.
268. **Sefah K, Shangguan D, Xiong X, O'Donoghue MB, Tan W.** *Development of DNA aptamers using Cell-SELEX.* Nat. Protoc.: 2010. Ročník: 5. Strana: 1169–1185. Převezato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 3.
269. **Cibiel A, Dupont DM, Duconge F.** *Methods To Identify Aptamers against Cell Surface Biomarkers.* Pharmaceuticals: 2011. Ročník: 4. Strana: 1216–1235. Převezato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 3.
270. **Cerchia L, de Franciscis V.** *Targeting cancer cells with nucleic acid aptamers.* Trends Biotechnol.: 2010. Ročník: 28. Strana: 517–525. Převezato z: **Hongguang Sun and Youli Zu.** *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application.* Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 3.
271. **R. Juliano, J. Bauman, H. Kang, X. Ming.** *Biological barriers to therapy with antisense and siRNA oligonucleotides.* Mol. Pharm.: 2009. Ročník: 6. Strana: 686–695. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2.
272. **K.A. Whitehead, R. Langer, D.G. Anderson.** *Knocking down barriers: advances in siRNA delivery.* Nat. Rev. Drug Discov.: 2009. Ročník: 8. Strana: 129–138. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2.
273. **H. Maeda, H. Nakamura, J. Fang.** *The EPR effect for macromolecular drug delivery to solid tumors: improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo.* Adv. Drug Deliv. Rev.: 2013. Ročník: 65. Strana: 71–79. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2.
274. **X. Ming.** *Cellular delivery of siRNA and antisense oligonucleotides via receptor-mediated endocytosis.* Expert Opin. Drug Deliv.: 2011. Ročník: 8. Strana: 435–449. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2.
275. **M.E. Davis, J.E. Zuckerman, C.H. Choi, D. Seligson, A. Tolcher, C.A. Alabi, Y. Yen, J.D. Heidel, A. Ribas.** *Evidence of RNAi in humans from systemically administered siRNA via targeted nanoparticles.* Nature: 2010. Ročník: 464. Strana: 1067–1070. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2.
276. **R. Kanasty, J.R. Dorkin, A. Vegas, D. Anderson.** *Delivery materials for siRNA therapeutics.* Nat. Mater.: 2013. Ročník: 12. Strana: 967–977. Převezato z: **Xin Ming, Brian**

- Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2.
277. **J. Li, L. Huang.** *Targeted delivery of RNAi therapeutics for cancer therapy.* Nanomedicine (Lond.): 2010. Ročník: 5. Strana: 1483–1486. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2.
278. **J. Li, Y. Wang, Y. Zhu, D. Oupicky.** *Recent advances in delivery of drug–nucleic acid combinations for cancer treatment.* J. Control. Release: 2013. Ročník: 172. Strana: 589–600. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2.
279. **A. Tamura, Y. Nagasaki.** *Smart siRNA delivery systems based on polymeric nanoassemblies and nanoparticles.* Nanomedicine (Lond.): 2010. Ročník: 5. Strana: 1089–1102. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2.
280. **T. Musacchio, V.P. Torchilin.** *siRNA delivery: from basics to therapeutic applications.* Front. Biosci.: 2013. Ročník: 18. Strana: 58–79. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2.
281. **J. Nguyen, F.C. Szoka.** *Nucleic acid delivery: the missing pieces of the puzzle?* Acc. Chem. Res.: 2012. Ročník: 45. Strana: 1153–1162. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2.
282. **R.L. Juliano, X. Ming, O. Nakagawa.** *The chemistry and biology of oligonucleotide conjugates.* Acc. Chem. Res.: 2012. Ročník: 45. Strana: 1067–1076. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2, 3.
283. **Maarja Mäe and Ülo Langel.** *Cell-penetrating peptides as vectors for peptide, protein and oligonucleotide delivery.* Current Opinion in Pharmacology: 2006. Ročník: 6. Strana: 1.
284. **J. Winkler.** *Oligonucleotide conjugates for therapeutic applications.* Ther. Deliv.: 2013. Ročník: 4. Strana: 791–809. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
285. **Y. Singh, P. Murat, E. Defrancq.** *Recent developments in oligonucleotide conjugation.* Chem. Soc. Rev.: 2010. Ročník: 39. Strana: 2054–2070. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
286. **Y. Ma, C.M. Kowolik, P.M. Swiderski, M. Kortylewski, H. Yu, D.A. Horne, R. Jove, O.L. Caballero, A.J. Simpson, F.T. Lee, V. Pillay, A.M. Scott.** *Humanized Lewis-Y specific antibody based delivery of STAT3 siRNA.* ACS Chem. Biol.: 2011. Ročník: 6. Strana: 962–970. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3, 4, 6.
287. **R.L. Juliano, K. Carver, C. Cao, X. Ming.** *Receptors, endocytosis, and trafficking: the*

- biological basis of targeted delivery of antisense and siRNA oligonucleotides*. J. Drug Target.: 2013. Ročník: 21. Strana: 27–43. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
288. **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 2, 4.
289. **J.K. Nair, J.L. Willoughby, A. Chan, K. Charisse, M.R. Alam, Q. Wang, M. Hoekstra, P. Kandasamy, A.V. Kel'in, S. Milstein, N. Taneja, J. O'Shea, S. Shaikh, L. Zhang, R.J. van der Sluis, M.E. Jung, A. Akinc, R. Hutabarat, S. Kuchimanchi, K. Fitzgerald, T. Zimmermann, T.J. van Berkel, M.A. Maier, K.G. Rajeev, M. Manoharan**. *Multivalent N-acetylgalactosamine-conjugated siRNA localizes in hepatocytes and elicits robust RNAi-mediated gene silencing*. J. Am. Chem. Soc.: 2014. Ročník: 136. Strana: 16958–16961. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
290. **R.J. Stockert**. *The asialoglycoprotein receptor: relationships between structure, function, and expression*. Physiol. Rev.: 1995. Ročník: 75. Strana: 591–609. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
291. **C. Lorenz, P. Hadwiger, M. John, H.P. Vornlocher, C. Unverzagt**. *Steroid and lipid conjugates of siRNAs to enhance cellular uptake and gene silencing in liver cells*. Bioorg. Med. Chem. Lett.: 2004. Ročník: 14. Strana: 4975–4977. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
292. **J. Soutschek, A. Akinc, B. Bramlage, K. Charisse, R. Constien, M. Donoghue, S. Elbashir, A. Geick, P. Hadwiger, J. Harborth, M. John, V. Kesavan, G. Lavine, R.K. Pandey, T. Racie, K.G. Rajeev, I. Rohl, I. Toudjarska, G. Wang, S. Wuschko, D. Bumcrot, V. Kotliansky, S. Limmer, M. Manoharan, H.P. Vornlocher**. *Therapeutic silencing of an endogenous gene by systemic administration of modified siRNAs*. Nature: 2004. Ročník: 432. Strana: 173–178. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
293. **C. Wolfrum, S. Shi, K.N. Jayaprakash, M. Jayaraman, G. Wang, R.K. Pandey, K.G. Rajeev, T. Nakayama, K. Charrise, E.M. Ndungo, T. Zimmermann, V. Kotliansky, M. Manoharan, M. Stoffel**. *Mechanisms and optimization of in vivo delivery of lipophilic siRNAs*. Nat. Biotechnol.: 2007. Ročník: 25. Strana: 1149–1157. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
294. **K. Nishina, T. Unno, Y. Uno, T. Kubodera, T. Kanouchi, H. Mizusawa, T. Yokota**. *Efficient in vivo delivery of siRNA to the liver by conjugation of alpha-tocopherol*. Mol. Ther.: 2008. Ročník: 16. Strana: 734–740. Převezato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
295. **N.S. Petrova, I.V. Chernikov, M.I. Meschaninova, I.S. Dovydenko, A.G. Venyaminova**,

- M.A. Zenkova, V.V. Vlassov, E.L. Chernolovskaya.** *Carrier-free cellular uptake and the gene-silencing activity of the lipophilic siRNAs is strongly affected by the length of the linker between siRNA and lipophilic group.* Nucleic Acids Res.: 2012. Ročník: 40. Strana: 2330–2344. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
296. **O. Nakagawa, X. Ming, L. Huang, R.L. Juliano.** *Targeted intracellular delivery of antisense oligonucleotides via conjugation with small-molecule ligands.* J. Am. Chem. Soc.: 2010. Ročník: 132. Strana: 8848–8849. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
297. **C. Dohmen, T. Frohlich, U. Lachelt, I. Rohl, H.P. Vornlocher, P. Hadwiger, E. Wagner.** *Defined folate-PEG-siRNA conjugates for receptor-specific gene silencing.* Mol. Ther. Nucleic Acids: 2012. Ročník: 1. Strana: e7. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
298. **J. Willibald, J. Harder, K. Sparrer, K.K. Conzelmann, T. Carell.** *Click-modified anandamide siRNA enables delivery and gene silencing in neuronal and immune cells.* J. Am. Chem. Soc.: 2012. Ročník: 134. Strana: 12330–12333. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
299. **Eric Vivès, Julien Schmidt, André Pèlegriin.** *Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery.* Biochimica et Biophysica Acta: 2008. Ročník: 1786. Strana: 7, 8.
300. **M.R. Alam, X. Ming, M. Fisher, J.G. Lackey, K.G. Rajeev, M. Manoharan, R.L. Juliano.** *Multivalent cyclic RGD conjugates fort targeted delivery of small interfering RNA.* Bioconjug. Chem.: 2011. Ročník: 22. Strana: 1673–1681. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 4.
301. **R. Pasqualini, E. Koivunen, E. Ruoslahti.** *Alpha v integrins as receptors for tumor targeting by circulating ligands.* Nat. Biotechnol.: 1997. Ročník: 15. Strana: 542–546. Převzato z: **Eric Vivès, Julien Schmidt, André Pèlegriin.** *Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery.* Biochimica et Biophysica Acta: 2008. Ročník: 1786. Strana: 7.
302. **D. Heckmann, H. Kessler.** *Design and chemical synthesis of integrin ligands.* Methods Enzymol.: 2007. Ročník: 426. Strana: 463–503. Převzato z: **Eric Vivès, Julien Schmidt, André Pèlegriin.** *Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery.* Biochimica et Biophysica Acta: 2008. Ročník: 1786. Strana: 7.
303. **K.R. Gehlsen, W.S. Argraves, M.D. Pierschbacher, E. Ruoslahti.** *Inhibition of in vitro tumor cell invasion by Arg-Gly-Asp-containing synthetic peptides.* J. Cell Biol.: 1988. Ročník: 106. Strana: 925–930. Převzato z: **Eric Vivès, Julien Schmidt, André Pèlegriin.** *Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery.* Biochimica et Biophysica Acta: 2008. Ročník: 1786. Strana: 7.
304. **J.A. Varner, D.A. Cheresh.** *Tumor angiogenesis and the role of vascular cell integrin alphavbeta3.* Important Adv. Oncol.: 1996. Strana: 69–87. Převzato z: **Eric Vivès, Julien**

- Schmidt, André Pèlegri.** *Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery.* Biochimica et Biophysica Acta: 2008. Ročník: 1786. Strana: 8.
305. **M. Lindgren, U. Langel.** *Classes and prediction of cell-penetrating peptides.* Methods Mol. Biol.: 2011. Ročník: 683. Strana: 3–19. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
306. **A. van den Berg, S.F. Dowdy.** *Protein transduction domain delivery of therapeutic macromolecules.* Curr. Opin. Biotechnol.: 2011. Ročník: 22. Strana: 888–893. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
307. **R. Abes, H.M. Moulton, P. Clair, S.T. Yang, S. Abes, K. Melikov, P. Prevot, D.S. Youngblood, P.L. Iversen, L.V. Chernomordik, B. Lebleu.** *Delivery of steric block morpholino oligomers by (R-X-R)<sub>4</sub> peptides: structure–activity studies.* Nucleic Acids Res.: 2008. Ročník: 36. Strana: 6343–6354. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
308. **G.D. Ivanova, A. Arzumanov, R. Abes, H. Yin, M.J. Wood, B. Lebleu, M.J. Gait.** *Improved cell-penetrating peptide–PNA conjugates for splicing redirection in HeLa cells and exon skipping in mdx mouse muscle.* Nucleic Acids Res.: 2008. Ročník: 36. Strana: 6418–6428. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
309. **H. Yin, A.F. Saleh, C. Betts, P. Camelliti, Y. Seow, S. Ashraf, A. Arzumanov, S. Hammond, T. Merritt, M.J. Gait, M.J. Wood.** *Pip5 transduction peptides direct high efficiency oligonucleotide-mediated dystrophin exon skipping in heart and phenotypic correction in mdx mice.* Mol. Ther.: 2011. Ročník: 19. Strana: 1295–1303. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
310. **A.F. Saleh, A.A. Arzumanov, M.J. Gait.** *Overview of alternative oligonucleotide chemistries for exon skipping.* Methods Mol. Biol.: 2012. Ročník: 867. Strana: 365–378. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 3.
311. **E.L. Sievers, P.D. Senter.** *Antibody–drug conjugates in cancer therapy.* Annu. Rev. Med.: 2013. Ročník: 64. Strana: 15–29. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 4.
312. **B. Schneider, M. Grote, M. John, A. Haas, B. Bramlage, L.M. Ickenstein, K. Jahn-Hofmann, F. Bauss, W. Cheng, R. Croasdale, K. Daub, S. Dill, E. Hoffmann, W. Lau, H. Burtcher, J.L. Ludtke, S. Metz, O. Mundigl, Z.C. Neal, W. Scheuer, J. Stracke, H. Herweijer, U. Brinkmann.** *Targeted siRNA delivery and mRNA knockdown mediated by bispecific digoxigenin-binding antibodies.* Mol. Ther. Nucleic Acids: 2012. Ročník: 1. Strana: e46. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 4.
313. **W. Tan, H. Wang, Y. Chen, X. Zhang, H. Zhu, C. Yang, R. Yang, C. Liu.** *Molecular*

- aptamers for drug delivery*. Trends Biotechnol.: 2011. Ročník: 29. Strana: 634–640. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 4.
314. **A.D. Keefe, S. Pai, A. Ellington**. *Aptamers as therapeutics*. Nat. Rev. Drug Discov.: 2010. Ročník: 9. Strana: 537–550. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 4.
315. **J.P. Dassie, X.Y. Liu, G.S. Thomas, R.M. Whitaker, K.W. Thiel, K.R. Stockdale, D.K. Meyerholz, A.P. McCaffrey, J.O. McNamara II, P.H. Giangrande**. *Systemic administration of optimized aptamer–siRNA chimeras promotes regression of PSMA-expressing tumors*. Nat. Biotechnol.: 2009. Ročník: 27. Strana: 839–849. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 4.
316. **J. Zhou, P. Swiderski, H. Li, J. Zhang, C.P. Neff, R. Akkina, J.J. Rossi**. *Selection, characterization and application of new RNA HIV gp 120 aptamers for facile delivery of Dicer substrate siRNAs into HIV infected cells*. Nucleic Acids Res.: 2009. Ročník: 37. Strana: 3094–3109. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 4.
317. **J. Zhou, H. Li, S. Li, J. Zaia, J.J. Rossi**. *Novel dual inhibitory function aptamer–siRNA delivery system for HIV-1 therapy*. Mol. Ther.: 2008. Ročník: 16. Strana: 1481–1489. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 4.
318. **S. Nechaev, C. Gao, D. Moreira, P. Swiderski, A. Jozwiak, C.M. Kowolik, J. Zhou, B. Armstrong, A. Raubitschek, J.J. Rossi, M. Kortylewski**. *Intracellular processing of immunostimulatory CpG–siRNA: Toll-like receptor 9 facilitates siRNA dicing and endosomal escape*. J. Control. Release: 2013. Ročník: 170. Strana: 307–315. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 4.
319. **Weiner GJ, Liu HM, Wooldridge JE, Dahle CE, Krieg**. *Immunostimulatory oligodeoxynucleotides containing the CpG motif are effective as immune adjuvants in tumor antigen immunization*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America AM: 1997. Ročník: 94. Strana: 10833–7. Převzato z: **Anon**. *CpG Oligodeoxynucleotide [online]*. Wikipedia, The free encyclopedia: 2015. [vid. 15.března 2016]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/CpG\\_Oligodeoxynucleotide](https://en.wikipedia.org/wiki/CpG_Oligodeoxynucleotide).
320. **Bauer S, Wagner H**. *Bacterial CpG-DNA licenses TLR9*. Current Topics in Microbiology and Immunology: 2002. Ročník: 270. Strana: 145–54. Převzato z: **Anon**. *CpG Oligodeoxynucleotide [online]*. Wikipedia, The free encyclopedia: 2015. [vid. 15.března 2016]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/CpG\\_Oligodeoxynucleotide](https://en.wikipedia.org/wiki/CpG_Oligodeoxynucleotide).
321. **Rothenfusser S, Tuma E, Endres S, Hartmann G**. *Plasmacytoid dendritic cells: the key to CpG*. Human immunology: 2002. Ročník: 63. Strana: 1111–9. Převzato z: **Anon**. *CpG Oligodeoxynucleotide [online]*. Wikipedia, The free encyclopedia: 2015. [vid. 15.března 2016]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/CpG\\_Oligodeoxynucleotide](https://en.wikipedia.org/wiki/CpG_Oligodeoxynucleotide).
322. **D.B. Rozema, D.L. Lewis, D.H. Wakefield, S.C. Wong, J.J. Klein, P.L. Roesch, S.L.**

- Bertin, T.W. Reppen, Q. Chu, A.V. Blokhin, J.E. Hagstrom, J.A. Wolff.** *Dynamic PolyConjugates for targeted in vivo delivery of siRNA to hepatocytes.* Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.: 2007. Ročník: 104. Strana: 12982–12987. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 4.
323. **R.G. Parmar, M. Busuek, E.S. Walsh, K.R. Leander, B.J. Howell, L. Sepp-Lorenzino, E. Kemp, L.S. Crocker, A. Leone, C.J. Kochansky, B.A. Carr, R.M. Garbaccio, S.L. Colletti, W. Wang.** *Endosomolytic bio reducible poly(amido amine disulfide) polymer conjugates for the in vivo systemic delivery of siRNA therapeutics.* Bioconjug. Chem.: 2013. Ročník: 24. Strana: 640–647. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 5.
324. **S.C. Wong, J.J. Klein, H.L. Hamilton, Q. Chu, C.L. Frey, V.S. Trubetskoy, J. Hegge, D. Wakefield, D.B. Rozema, D.L. Lewis.** *Co-injection of a targeted, reversibly masked endosomolytic polymer dramatically improves the efficacy of cholesterol-conjugated small interfering RNAs in vivo.* Nucleic Acid Ther.: 2012. Ročník: 22. Strana: 380–390. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 5.
325. **B. Elsadek, F. Kratz.** *Impact of albumin on drug delivery—new applications on the horizon.* J. Control. Release: 2012. Ročník: 157. Strana: 4–28. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 5.
326. **F. Kratz.** *Albumin as a drug carrier: design of prodrugs, drug conjugates and nanoparticles.* J. Control. Release: 2008. Ročník: 132. Strana: 171–183. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 5.
327. **U. Lund, A. Rippe, D. Venturoli, O. Tenstad, A. Grubb, B. Rippe.** *Glomerular filtration rate dependence of sieving of albumin and some neutral proteins in rat kidneys.* Am. J. Physiol. Renal Physiol.: 2003. Ročník: 284. Strana: F1226–F1234. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 5.
328. **X. Ming, K. Carver, L. Wu.** *Albumin-based nanoconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Biomaterials: 2013. Ročník: 34. Strana: 7939–7949. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 5.
329. **H. Kang, M.R. Alam, V. Dixit, M. Fisher, R.L. Juliano.** *Cellular delivery and biological activity of antisense oligonucleotides conjugated to a targeted protein carrier.* Bioconjug. Chem.: 2008. Ročník: 19. Strana: 2182–2188. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides.* Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 5.
330. **K. Carver, X. Ming, R.L. Juliano.** *Tumor cell-targeted delivery of nanoconjugated oligonucleotides in composite spheroids.* Nucleic Acid Ther.: 2014. Ročník: 24. Strana: 413–419. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing.** *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic*

- oligonucleotides*. *Advanced Drug Delivery Reviews*: 2015. Ročník: 87. Strana: 5.
331. **K. Carver, X. Ming, R.L. Juliano**. *Multicellular tumor spheroids as a model for assessing delivery of oligonucleotides in three dimensions*. *Mol. Ther. Nucleic Acids*: 2014. Ročník: 3. Strana: e153. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. *Advanced Drug Delivery Reviews*: 2015. Ročník: 87. Strana: 5.
332. **E. Song, P. Zhu, S.K. Lee, D. Chowdhury, S. Kussman, D.M. Dykxhoorn, Y. Feng, D. Palliser, D.B. Weiner, P. Shankar, W.A. Marasco, J. Lieberman**. *Antibody mediated in vivo delivery of small interfering RNAs via cell-surface receptors*. *Nat. Biotechnol.*: 2005. Ročník: 23. Strana: 709–717. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. *Advanced Drug Delivery Reviews*: 2015. Ročník: 87. Strana: 6.
333. **D. Peer, P. Zhu, C.V. Carman, J. Lieberman, M. Shimaoka**. *Selective gene silencing in activated leukocytes by targeting siRNAs to the integrin lymphocyte function-associated antigen-1*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*: 2007. Ročník: 104. Strana: 4095–4100. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. *Advanced Drug Delivery Reviews*: 2015. Ročník: 87. Strana: 6.
334. **J.W. de Vries, F. Zhang, A. Herrmann**. *Drug delivery systems based on nucleic acid nanostructures*. *J. Control. Release*: 2013. Ročník: 172. Strana: 467–483. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. *Advanced Drug Delivery Reviews*: 2015. Ročník: 87. Strana: 6.
335. **A.V. Pinheiro, D. Han, W.M. Shih, H. Yan**. *Challenges and opportunities for structural DNA nanotechnology*. *Nat. Nanotechnol.*: 2011. Ročník: 6. Strana: 763–772. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. *Advanced Drug Delivery Reviews*: 2015. Ročník: 87. Strana: 6.
336. **P.K. Lo, K.L. Metera, H.F. Sleiman**. *Self-assembly of three-dimensional DNA nanostructures and potential biological applications*. *Curr. Opin. Chem. Biol.*: 2010. Ročník: 14. Strana: 597–607. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. *Advanced Drug Delivery Reviews*: 2015. Ročník: 87. Strana: 6.
337. **H. Lee, A.K.R. Lytton-Jean, Y. Chen, K.T. Love, A.I. Park, E.D. Karagiannis, A. Sehgal, W. Querbes, C.S. Zurenko, M. Jayaraman, C.G. Peng, K. Charisse, A. Borodovsky, M. Manoharan, J.S. Donahoe, J. Truelove, M. Nahrendorf, R. Langer, D.G. Anderson**. *Molecularly self-assembled nucleic acid nanoparticles for targeted in vivo siRNA delivery*. *Nat. Nanotechnol.*: 2012. Ročník: 7. Strana: 389–393. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. *Advanced Drug Delivery Reviews*: 2015. Ročník: 87. Strana: 6.
338. **J. Chen, N.C. Seeman**. *Synthesis from DNA of a molecule with the connectivity of a cube*. *Nature*: 1991. Ročník: 350. Strana: 631–633. Převzato z: **Jan Willem de Vries, Feng Zhang, Andreas Herrmann**. *Drug delivery systems based on nucleic acid nanostructures*. *Journal of Controlled Release*: 2013. Ročník: 172. Strana: 1.
339. **D. Liu, M.S. Wang, Z.X. Deng, R. Walulu, C.D. Mao**. *Tensegrity: construction of rigid DNA triangles with flexible four-arm DNA junctions*. *J. Am. Chem. Soc.*: 2004. Ročník: 126. Strana: 2324–2325. Převzato z: **Jan Willem de Vries, Feng Zhang, Andreas Herrmann**.



- Drug delivery systems based on nucleic acid nanostructures*. Journal of Controlled Release: 2013. Ročník: 172. Strana: 1.
340. **D. Zheng, D.A. Giljohann, D.L. Chen, M.D. Massich, X.Q. Wang, H. Iordanov, C.A. Mirkin, A.S. Paller**. *Topical delivery of siRNA-based spherical nucleic acid nanoparticle conjugates for gene regulation*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.: 2012. Ročník: 109. Strana: 11975–11980. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 6.
341. **C.H. Choi, L. Hao, S.P. Narayan, E. Auyeung, C.A. Mirkin**. *Mechanism for the endocytosis of spherical nucleic acid nanoparticle conjugates*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.: 2013. Ročník: 110. Strana: 7625–7630. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 6.
342. **P.C. Patel, D.A. Giljohann, W.L. Daniel, D. Zheng, A.E. Prigodich, C.A. Mirkin**. *Scavenger receptors mediate cellular uptake of polyvalent oligonucleotide-functionalized gold nanoparticles*. Bioconjug. Chem.: 2010. Ročník: 21. Strana: 2250–2256. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 6.
343. **L. Vigderman, E.R. Zubarev**. *Therapeutic platforms based on gold nanoparticles and their covalent conjugates with drug molecules*. Adv. Drug Deliv. Rev.: 2013. Ročník: 65. Strana: 663–676. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 7.
344. **W. Lu, G. Zhang, R. Zhang, L.G. Flores II, Q. Huang, J.G. Gelovani, C. Li**. *Tumor site-specific silencing of NF-kappaB p65 by targeted hollow gold nanosphere-mediated photothermal transfection*. Cancer Res.: 2010. Ročník: 70. Strana: 3177–3188. Převzato z: **Xin Ming, Brian Laing**. *Bioconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides*. Advanced Drug Delivery Reviews: 2015. Ročník: 87. Strana: 7.
345. Přehled antisense terapeutik v klinických testech. In: **Mehrdad Dirin, Johannes Winkler**. *Influence of diverse chemical modifications on the ADME characteristics and toxicology of antisense oligonucleotides*. Expert Opinion on Biological Therapy: 2013. Ročník: 13. Strana: 3-4.
346. Antimediátorové molekuly v aktuálně probíhajících klinických testech. In: **Anon**. *Oligonukleotidy [online]*. Farmaceutická technologie: 2015. [vid. 15. února 2016]. Dostupné z: <http://files.farmaceuticka-biotechnologie.cz/200000030-04dd905d50/12-Oligonukleotidy.pdf>. Strana: 9.
347. Přehled siRNA terapeutik v klinických testech. In: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung**. *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing*. Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 12-13.
348. Přehled miRNA terapeutik v klinických testech. In: **Jenny KW Lam, Michael YT Chow, Yu Zhang, Susan WS Leung**. *siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing*. Molecular Therapy—Nucleic Acids: 2015. Ročník: 4. Strana: 14.
349. **Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S, Moser H, Kunkel LM**. *An explanation for*

- the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus.* Genomics: 1998. Ročník: 2. Strana: 90-5. Převzato z: **K. Haddley.** *ETEPLIRSEN.* Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 1.
350. **Anthony K, Feng L, Arechavala-Gomez V, et al.** *Exon skipping quantification by qRT-PCR in Duchenne muscular dystrophy patients treated with the antisense oligomer eteplirsen.* Hum Gene Ther Methods: 2012. Ročník: 23. Strana: 336-45. Převzato z: **K. Haddley.** *ETEPLIRSEN.* Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 1.
351. **Cirak S, Arechavala-Gomez V, Guglieri M, et al.** *Exon skipping and dystrophin restoration in patients with Duchenne muscular dystrophy after systemic phosphorodiamidate morpholino oligomer treatment: An open-label, phase 2, dose-escalation study.* Lancet: 2010. Ročník: 378. Strana: 595-605. Převzato z: **K. Haddley.** *ETEPLIRSEN.* Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 1.
352. **Hoffman EP, Brown RH Jr, Kunkel LM.** *Dystrophin: The protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus.* Cell: 1987. Ročník: 51. Strana: 919-28. Převzato z: **K. Haddley.** *ETEPLIRSEN.* Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 1.
353. **Kunkel LM.** *Cloning of the DMD gene.* Am J Hum Genet: 2005. Ročník: 76. Strana: 205-14. Převzato z: **K. Haddley.** *ETEPLIRSEN.* Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 1.
354. **Tennyson CN, Klamut HJ, Worton RG.** *The human dystrophin gene requires 16 hours to be transcribed and is contrascripturally spliced.* Nat Genet: 1995. Ročník: 9. Strana: 184-90. Převzato z: **K. Haddley.** *ETEPLIRSEN.* Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 1.
355. **Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ, et al.** *Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: Diagnosis, and pharmacological and psychological management.* Lancet Neurol: 2010. Ročník: 9. Strana: 77-93. Převzato z: **K. Haddley.** *ETEPLIRSEN.* Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 1.
356. **Baumbach LL, Chamberlain JS, Ward PA, Farwell NJ, Caskey CT.** *Molecular and clinical correlations of deletions leading to Duchenne and Becker muscular dystrophies.* Neurology: 1989. Ročník: 39. Strana: 465-74. Převzato z: **K. Haddley.** *ETEPLIRSEN.* Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 1.
357. **Shrewsbury SB, Sazani P.** *Preclinical safety of AVI-4658, a phosphorodiamidate morpholino oligomer (PMO) being developed to skip exon 51 in Duchenne muscular dystrophy.* Neuromuscular Disord [15<sup>th</sup> Int Congr World Muscle Soc (Oct 12-16, Kumamoto) 2010]: 2010. Ročník: 20. Strana: P3.07. Převzato z: **K. Haddley.** *ETEPLIRSEN.* Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 2.
358. **Aartsma-Rus A, Tanganyika-de Winter C, Karnaok T, Van Deutekom JCT, Van Ommen GB.** *Development of systemic antisense treatment in dystrophic mouse models for Duchenne muscular dystrophy.* 43<sup>rd</sup> Eur Hum Genet Conf (May 28-31, Amsterdam): 2011. Strana: Abst C09.2. Převzato z: **K. Haddley.** *ETEPLIRSEN.* Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 2.
359. **Sazani P.** *Long term preclinical safety of eteplirsen, a phosphorodiamidate morpholino oligomer (pmo) for the treatment of duchenne muscular dystrophy.* 51<sup>st</sup> Annu meet Soc

- Toxicol ( March 11-15, San Francisco) 2012, Abst. Převzato z: **K. Haddley. ETEPLIRSEN.** Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 2.
360. *Restoring dystrophin expression in Duchenne muscular dystrophy: A phase I/II clinical trial using AVI-4658 (NCT00159250).* **ClinicalTrials.gov Website.** November 27, 2012. Převzato z: **K. Haddley. ETEPLIRSEN.** Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 3.
361. **Kinali M, Arechavala-Gomez V, Feng L, et al.** *Restoration of dystrophin expression in Duchenne muscular dystrophy: A single blind, placebo-controlled dose escalation study using morpholino oligomer AVI-4658.* Neuromuscular Disord [14<sup>th</sup> Int Congr World Muscle Soc (Sep 9-12, Geneva) 2009]: 2009. Ročník: 19. Strana: Abst T.O.3. Převzato z: **K. Haddley. ETEPLIRSEN.** Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 3.
362. **Shrewsbury SB, Cirak S, Guglieri M, Bushby K, Muntoni F.** *Current Progress and preliminary results with the systemic administration trial of AVI-465,8 a novel phosphorodiamidate morpholino oligomer (PMO) skipping dystrophin exon 51 in Duchenne muscular dystrophy (DMD).* Neuromuscular Disord [15<sup>th</sup> Int Congr World Muscle Soc (Sep 12-16, Kumamoto) 2010]: 2010. Ročník: 20. Strana: Abst O.16. Převzato z: **K. Haddley. ETEPLIRSEN.** Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 3.
363. **Muntoni F, Bushby K, Cirak S, et al.** *Preliminary results with AVI-4658 of dystrophin expression, safety and pharmacokinetics from the first systemic administration study in boys with Duchenne muscular dystrophy (DMD), with a phosphorodiamidate morpholino oligomer (PMO) to skip exon 51.* 62<sup>nd</sup> Annu Meet Am Acad Neurol (AAN) (April 10-17, Toronto): 2010. Strana: Abst IN6.-1.001. Převzato z: **K. Haddley. ETEPLIRSEN.** Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 3.
364. **Cirak S, Feng L, Anthony K, et al.** *Restoration of the dystrophin-associated glycoprotein complex after exon skipping therapy in Duchenne muscular dystrophy.* Mol Ther: 2012. Ročník: 20. Strana: 462-7. Převzato z: **K. Haddley. ETEPLIRSEN.** Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 3.
365. *A randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple dose efficacy, safety, tolerability and pharmacokinetics study of AVI-4658 (eteplirsen), a phosphorodiamidate morpholino oligomer, administered over 28 weeks in the treatment of ambulant subjects with Duchenne muscular dystrophy (NCT01396239).* **ClinicalTrials.gov Web site.** Převzato z: **K. Haddley. ETEPLIRSEN.** Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 3.
366. *Open-label, multiple-dose, efficacy, safety, and tolerability study of eteplirsen in subjects with Duchenne muscular dystrophy who participated in.* **sWeb site.** November 27, 2012. Převzato z: **K. Haddley. ETEPLIRSEN.** Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 3.
367. **Kaye E.** *Results of the eteplirsen phase 2b and phase 2b extension study in Duchenne muscular dystrophy.* 8<sup>th</sup> Annu Meet Oligonucleotide Ther Soc (Oct 28-31, Boston): 2012. Strana: Abst 37. Převzato z: **K. Haddley. ETEPLIRSEN.** Drugs of the Future: 2013. Ročník: 38. Strana: 3.
368. **Sohaib Al-Asaaed & Eric Winqvist.** *Custirsen (OGX-011): Clusterin Inhibitor in Metastatic Prostate Cancer.* Curr Oncol Rep: 2013. Ročník: 15. Strana: 1, 2.
369. **Gleave ME, Miyake H, Zellweger T, Chi K, July L, Nelson C, et al.** *Use of antisense oligonucleotides targeting the antiapoptotic gene, clusterin/testosterone-repressed prostate*

- message 2, to enhance androgen sensitivity and chemosensitivity in prostate cancer. Urology: 2001. Ročník: 58. Strana: 39–48. Převzato z: Sohaib Al-Asaad & Eric Winquist. Custirsen (OGX-011): Clusterin Inhibitor in Metastatic Prostate Cancer. Curr Oncol Rep: 2013. Ročník: 15. Strana: 3.*
370. **Gleave M, Miyake H, Zangemeister-Wittke U, Jansen B.** *Antisense therapy: current status in prostate cancer and other malignancies. Cancer Metastasis Rev.: 2002. Ročník: 21. Strana: 79–92. Převzato z: Sohaib Al-Asaad & Eric Winquist. Custirsen (OGX-011): Clusterin Inhibitor in Metastatic Prostate Cancer. Curr Oncol Rep: 2013. Ročník: 15. Strana: 3.*
371. **Miyake H, Hara I, Gleave ME.** *Antisense oligodeoxynucleotide therapy targeting clusterin gene for prostate cancer: Vancouver experience from discovery to clinic. Int J Urol.: 2005. Ročník: 12. Strana: 785–94. Převzato z: Sohaib Al-Asaad & Eric Winquist. Custirsen (OGX-011): Clusterin Inhibitor in Metastatic Prostate Cancer. Curr Oncol Rep: 2013. Ročník: 15. Strana: 3.*
372. **Crooke ST.** *Molecular mechanisms of action of antisense drugs. Biochim Biophys Acta.: 1999. Ročník: 1489. Strana: 31–44. Převzato z: Sohaib Al-Asaad & Eric Winquist. Custirsen (OGX-011): Clusterin Inhibitor in Metastatic Prostate Cancer. Curr Oncol Rep: 2013. Ročník: 15. Strana: 3.*
373. **Zellweger T, Miyake H, Cooper S, Chi K, Conklin BS, Monia BP, et al.** *Antitumor activity of antisense clusterin oligonucleotides is improved in vitro and in vivo by incorporation of 2'-O-(2-methoxy)ethyl chemistry. J Pharmacol Exp Ther.: 2001. Ročník: 298. Strana: 934–40. Převzato z: Sohaib Al-Asaad & Eric Winquist. Custirsen (OGX-011): Clusterin Inhibitor in Metastatic Prostate Cancer. Curr Oncol Rep: 2013. Ročník: 15. Strana: 3.*
374. **Sowery RD, Hadaschik BA, So AI, et al.** *Clusterin knockdown using the antisense oligonucleotide OGX-011 resensitizes docetaxel refractory prostate cancer PC-3 cells to chemotherapy. BJU Int.: 2008. Ročník: 102. Strana: 389–397. Převzato z: Celestia S Higano. Potential use of custirsen to treat prostate cancer. OncoTargets and Therapy: 2013. Ročník: 6. Strana: 4.*
375. **Zellweger T, Miyake H, Cooper S, et al.** *Antitumor activity of antisense clusterin oligonucleotides is improved in vitro and in vivo by incorporation of 2'-O-(2-methoxy)ethyl chemistry. J Pharmacol Exp Ther.: 2001. Ročník: 298. Strana: 934–940. Převzato z: Celestia S Higano. Potential use of custirsen to treat prostate cancer. OncoTargets and Therapy: 2013. Ročník: 6. Strana: 4.*
376. **Cao C, Shinohara ET, Li H, et al.** *Clusterin as a therapeutic target for radiation sensitization in a lung cancer model. Int J Radiat Oncol Biol Phys.: 2005. Ročník: 63. Strana: 1228–1236. Převzato z: Celestia S Higano. Potential use of custirsen to treat prostate cancer. OncoTargets and Therapy: 2013. Ročník: 6. Strana: 4.*
377. **So A, Sinnemann S, Huntsman D, Fazli L, Gleave M.** *Knockdown of the cytoprotective chaperone, clusterin, chemosensitizes human breast cancer cells both in vitro and in vivo. Mol Cancer Ther.: 2005. Ročník: 4. Strana: 1837–1849. Převzato z: Celestia S Higano. Potential use of custirsen to treat prostate cancer. OncoTargets and Therapy: 2013. Ročník: 6. Strana: 4.*

378. **Gleave M, Miyake H.** *Use of antisense oligonucleotides targeting the cytoprotective gene, clusterin, to enhance androgen- and chemo-sensitivity in prostate cancer.* World J Urol.: 2005. Ročník: 23. Strana: 38–46. Převzato z: **Celestia S Higano.** *Potential use of custirsen to treat prostate cancer.* OncoTargets and Therapy: 2013. Ročník: 6. Strana: 4.
379. **Chi KN, Eisenhauer E, Fazli L, et al.** *A Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of OGX-011, a 2'-methoxyethyl antisense oligonucleotide to clusterin, in patients with localized prostate cancer.* J Natl Cancer Inst.: 2005. Ročník: 97. Strana: 1287–1296. Převzato z: **Celestia S Higano.** *Potential use of custirsen to treat prostate cancer.* OncoTargets and Therapy: 2013. Ročník: 6. Strana: 4.
380. **Chi KN, Siu LL, Hirte H, et al.** *A Phase I study of OGX-011, a 2'-methoxy-ethyl phosphorothioate antisense to clusterin, in combination with docetaxel in patients with advanced cancer.* Clin Cancer Res.: 2008. Ročník: 14. Strana: 833–839. Převzato z: **Celestia S Higano.** *Potential use of custirsen to treat prostate cancer.* OncoTargets and Therapy: 2013. Ročník: 6. Strana: 4.
381. **Saad F, Hotte S, North S, et al.** *Randomized Phase II trial of custirsen (OGX-011) in combination with docetaxel or mitoxantrone as second-line therapy in patients with metastatic castrate-resistant prostate cancer progressing after first-line docetaxel: CUOG Trial P-06.* Clin Cancer Res.: 2011. Ročník: 17. Strana: 5765–5773. Převzato z: **Celestia S Higano.** *Potential use of custirsen to treat prostate cancer.* OncoTargets and Therapy: 2013. Ročník: 6. Strana: 10.
382. **Celestia S Higano.** *Potential use of custirsen to treat prostate cancer.* OncoTargets and Therapy: 2013. Ročník: 6. Strana: 11.
383. **Detrick B, Nagineni CN, Grillone LR, et al.** *Inhibition of human cytomegalovirus replication in a human retinal epithelial cell model by antisense oligonucleotides.* Invest Ophthalmol Vis Sci: 2001. Ročník: 42. Strana: 163-9. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions.* Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 2.
384. **Anderson KP, Fox MC, Brown-Driver V, et al.** *Inhibition of human cytomegalovirus immediate-early gene expression by an antisense oligonucleotide complementary to immediate-early RNA.* Antimicrob Agents Chemother: 1996. Ročník: 40. Strana: 2004-11. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions.* Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 2.
385. **Azad RF, Driver VB, Tanaka K, et al.** *Antiviral activity of a phosphorothioate oligonucleotide complementary to RNA of the human cytomegalovirus major immediate-early region.* Antimicrob Agents Chemother: 1993. Ročník: 37. Strana: 1945-54. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions.* Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 2.
386. **Azad RF, Brown-Driver V, Buckheit Jr RW, et al.** *Antiviral activity of a phosphorothioate oligonucleotide complementary to human cytomegalovirus RNA when used in combination with antiviral nucleoside analogs.* Antiviral Res: 1995. Ročník: 28. Strana: 101-11. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen:*

- Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions*. Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 2.
387. **Askari FK, McDonnell WM.** *Antisense oligonucleotide therapy*. N Engl J Med: 1996. Ročník: 334. Strana: 316-8. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions*. Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 2.
388. **Cinatl Jr J, Bittoova M, Margraf S, et al.** *Cytomegalovirus infection decreases expression of thrombospondin-1 and -2 in cultured human retinal glial cells: effects of antiviral agents*. J Infect Dis: 2000. Ročník: 182. Strana: 643-51. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions*. Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 2.
389. **Cinatl Jr J, Kotchetkov R, Weimer E, et al.** *The antisense oligonucleotide ISIS 2922 prevents cytomegalovirus-induced upregulation of IL-8 and ICAM-1 in cultured human fibroblasts*. J Med Virol: 2000. Ročník: 60. Strana: 313-23. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions*. Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 2.
390. **Leeds JM, Henry SP, Truong L, et al.** *Pharmacokinetics of a potential human cytomegalovirus therapeutic, a phosphorothioate oligonucleotide, after intravitreal injections in the rabbit*. Drug Metab Dispos: 1997. Ročník: 25. Strana: 921-6. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions*. Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 3.
391. **Leeds JM, Henry SP, Bistner S, et al.** *Pharmacokinetics of an antisense oligonucleotide injected intravitreally in monkeys*. Drug Metab Dispos: 1998. Ročník: 26. Strana: 670-5. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions*. Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 3.
392. **Bejanian M, Lieberman RM, Goldstein DA, et al.** *A pharmacokinetic study of intravitreal fomivirsen (Vitravene™) in patients with CMVR*. ARVO Annual Meeting [1999 May 9-14; Fort Lauderdale (FL) IOVS]: 1999. Ročník: 40. Strana: 5874. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions*. Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 3, 4.
393. **Levin AA, Monteith DK, Leeds JM, et al.** *Toxicity of oligodeoxynucleotide therapeutic agents*. In: **Crooke ST**, editor. *Antisense research and applications*. Berlin: Springer-Verlag: 1998. Strana: 169-215. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions*. Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 3.
394. **Vitravene™ (fomivirsen sodium intravitreal injectable)** [informace o přípravku]. Duluth (GA): CibaVision: 1998. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone.** *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions*. Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 5.
395. **Nichols WG, Boeckh M.** *Recent advances in the therapy and prevention of CMV*

- infections*. J Clin Virol: 2000. Ročník: 16. Strana: 25-40. Převzato z: **Richard S. Geary, Scott P. Henry and Lisa R. Grillone**. *Fomivirsen: Clinical Pharmacology and Potential Drug Interactions*. Clin Pharmacokinet: 2002. Ročník: 41. Strana: 5.
396. **Berdeaux GH, Nordmann JP, Colin E, Arnould B**. *Vision-related quality of life in patients suffering from age-related macular degeneration*. Am. J. Ophthalmol.: 2005. Ročník: 139. Strana: 271-279. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang**. *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration*. Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 1.
397. **Tezel TH, Bora NS, Kaplan HJ**. *Pathogenesis of age-related macular degeneration*. Trends Mol. Med.: 2004. Ročník: 10. Strana: 417-420. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang**. *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration*. Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 1.
398. **Rowe-Rendleman C, Glickman RD**. *Possible therapy for age-related macular degeneration using human telomerase*. Brain Res. Bull.: 2004. Ročník: 62. Strana: 549-553. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang**. *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration*. Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 1.
399. **Schwartz SD**. *Pegaptanib in exudative age-related macular degeneration*. Drugs: 2005. Ročník: 65. Strana: 1578-1579. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang**. *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration*. Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 1.
400. **Kliffen M, Sharma HS, Mooy CM, Kerkvliet S, de Jong PT**. *Increased expression of angiogenic growth factors in age-related maculopathy*. Br. J. Ophthalmol.: 1997. Ročník: 81. Strana: 154-162. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang**. *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration*. Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 1.
401. **Kvanta A, Algvere PV, Berglin L, Seregard S**. *Subfoveal fibrovascular membranes in age-related macular degeneration express vascular endothelial growth factor*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.: 1996. Ročník: 37. Strana: 1929-1934. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang**. *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration*. Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 1.
402. **Ruckman J, Green LS, Beeson J, Waugh S, Gillette WL, Henninger DD, Claesson-Welsh L, Janjic N**. *2'-fluoropyrimidine RNA-based aptamers to the 165-amino acid form of VEGF. Inhibition of receptor binding and VEGF-induced vascular permeability through interactions requiring the exon 7-encoded domain*. J. Biol. Chem.: 1998. Ročník: 273. Strana: 20556-20567. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang**. *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration*. Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 2.
403. **Robinson CJ, Stringer SE**. *The slice variants of VEGF and their receptors*. J. Cell Sci.: 2001. Ročník: 114. Strana: 853-865. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang**. *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration*. Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 2.
404. **Waheed NK, Miller JW**. *Aptamers, intramers, and vascular endothelial growth factor*. Int. Ophthalmol. Clin.: 2004. Ročník: 44. Strana: 11-22. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang**. *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration*. Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 2.

405. **Bell C, Lynam E, Landfair DJ, Janjic N, Wiles ME.** *Oligonucleotide NX1838 inhibits VEGF 165 -mediated cellular responses in vitro.* In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.: 1999. Ročník: 35. Strana: 533-542. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang.** *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration.* Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 2.
406. **Eyetechnology Study Group.** *Preclinical and phase IA clinical evaluation of an anti-VEGF pegylated aptamer (EYE001) for the treatment of exudative age-related macular degeneration.* Retina: 2002. Ročník: 22. Strana: 143-152. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang.** *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration.* Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 2.
407. **Drolet DW, Nelson J, Tucker CE, Zack PM, Nixon K, Bolin R, Judkins MB, Farmer JA, Wolf JL, Gill SC, Bendele RA.** *Pharmacokinetics and safety of an anti-vascular endothelial growth factor aptamer (NX1838) following injection into the vitreous humor of rhesus monkeys.* Pharm. Res.: 2000. Ročník: 17. Strana: 1503-1510. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang.** *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration.* Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 2.
408. **Vinorez SA.** *Technology evaluation: pegaptanib, Eyetechnology/Pfizer.* Curr. Opin. Mol. Ther.: 2003. Ročník: 5. Strana: 673-679. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang.** *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration.* Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 2.
409. **Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham Jr ET, Feinsod M, Guyer DR.** *Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration.* N. Engl. J. Med.: 2004. Ročník: 351. Strana: 2805-2816. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang.** *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration.* Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 3.
410. **Schachat AP.** *New treatments for age-related macular degeneration.* Ophthalmology: 2005. Ročník: 112. Strana: 531-532. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang.** *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration.* Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 3.
411. **Siddiqui MA, Keating GM.** *Pegaptanib: in exudative age-related macular degeneration.* Drugs: 2005. Ročník: 65. Strana: 1571-1577. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang.** *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration.* Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 3.
412. **Carrasquillo KG, Ricker JA, Rigas IK, Miller JW, Gragoudas ES, Adamis AP.** *Controlled delivery of the anti-VEGF aptamer EYE001 with poly(lactic-co-glycolic)acid microspheres.* Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.: 2003. Ročník: 44. Strana: 290-299. Převzato z: **Bo Zhou, Bin Wang.** *Pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration.* Experimental Eye Research: 2006. Ročník: 83. Strana: 4.
413. **Goldberg AC, Hopkins PN, Toth PP, et al.** *Familial hypercholesterolemia: Screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients. Clinical guidance from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia.* J Clin Lipidol: 2011. Ročník: 5. Strana: 133-140. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug



Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.

414. **Hovingh GK, Davidson MH, Kastelein JJ, O'Connor AM.** *Diagnosis and treatment of familial hypercholesterolaemia.* Eur Heart J: 2013. Ročník: 34. Strana: 962–971. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.
415. **Ito MK, McGowan MP, Moriarty PM.** *Management of familial hypercholesterolemias in adult patients: Recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia.* J Clin Lipidol: 2011. Ročník: 5. Strana: S38–S45. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.
416. **Radar DJ, Hobbs HH.** *Disorders of lipoprotein metabolism.* In: **Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, et al. Eds.** *Harrison's Principles of Internal Medicine.* 18th ed. New York: McGraw-Hill; 2012. Strana: 3145–3161. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.
417. **Goldberg AC.** *Novel therapies and new targets of treatment for familial hypercholesterolemia.* J Clin Lipidol: 2010. Ročník: 4. Strana: 350–356. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.
418. **Genzyme Corp.** *Kynamro (mipomersen sodium) injection solution for subcutaneous injection [informace o přípravku].* Cambridge, Mass.: 2013. Dostupné z: [www.kynamro.com/~media/Kynamro/Files/kynamro-pi.pdf](http://www.kynamro.com/~media/Kynamro/Files/kynamro-pi.pdf). Navštíveno: March 23, 2013. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.
419. **FDA News Release:** *FDA approves new orphan drug Kynamro to treat inherited cholesterol disorder, January 29, 2013.* Dostupné z: [www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm337195.htm](http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm337195.htm). Navštíveno: April 2, 2013. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.
420. **FDA Regulatory Information:** *Orphan Drug Act.* Aktualizováno: July 18, 2013. Dostupné z: [www.fda.gov/RegulatoryInformation/Legislation/FederalFoodDrugandCosmeticActFDCAct/SignificantAmendmentstotheFDCAct/OrphanDrugAct/default.htm](http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Legislation/FederalFoodDrugandCosmeticActFDCAct/SignificantAmendmentstotheFDCAct/OrphanDrugAct/default.htm). Navštíveno: April 2, 2013. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.

421. **Davis RA.** *Cell and molecular biology of the assembly and secretion of apolipoprotein B containing lipoproteins by the liver.* Biochim Biophys Acta: 1999. Ročník: 1440. Strana: 1–31. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.
422. **Dias N, Stein CA.** *Antisense oligonucleotides: Basic concepts and mechanisms.* Mol Cancer Ther: 2002. Ročník: 1. Strana: 347–355. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.
423. **Ricotta DN, Frishman W.** *Mipomersen: A safe and effective antisense therapy adjunct to statins in patients with hypercholesterolemia.* Cardiol Rev: 2012. Ročník: 20. Strana: 90–95. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.
424. **Thomas T, Ginsberg H.** *Development of apolipoprotein B antisense molecules as a therapy for hyperlipidemia.* Curr Atheroscler Rep: 2010. Ročník: 12. Strana: 58–65. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 1.
425. **Kastelein JJ, Wedel MK, Baker BF, et al.** *Potent reduction of apolipoprotein B and low-density lipoprotein cholesterol by short-term administration of an antisense inhibitor of apolipoprotein B.* Circulation: 2006. Ročník: 114. Strana: 1729–1735. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 2.
426. **Genzyme Corp.** *Kynamro (mipomersen sodium) injection solution for subcutaneous injection, [informace o přípravku].* Cambridge, Mass.: 2013. Dostupné z: [www.kynamro.com/~media/Kynamro/Files/kynamro-pi.pdf](http://www.kynamro.com/~media/Kynamro/Files/kynamro-pi.pdf). Navštíveno: March 23, 2013. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 2, 3.
427. **Raal FJ, Santos RD, Blom DJ, et al.** *Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, for lowering of LDL cholesterol concentrations in patients with homozygous familial hypercholesterolemia: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial.* Lancet: 2010. Ročník: 375. Strana: 998–1006. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia.* Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 2.
428. **McGowan MP, Tardif J-C, Ceska R, et al.** *Randomized, placebo-controlled trial of mipomersen in patients with severe hypercholesterolemia receiving maximally tolerated lipid-lowering therapy [online].* PLoS One: November 13, 2012. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel*

- Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia*. Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 2.
429. **Stein EA, Dufour R, Gagne C, et al.** *Apolipoprotein B synthesis inhibition with mipomersen in heterozygous familial hypercholesterolemia: Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial to assess efficacy and safety as add-on therapy in patients with coronary artery disease*. Circulation: 2012. Ročník: 126. Strana: 2283–2292. Převzato z: **Elaine Wong PharmD BCPS, Tamara Goldberg PharmD BCPS.** *Mipomersen (Kynamro): A Novel Antisense Oligonucleotide Inhibitor for the Management of Homozygous Familial Hypercholesterolemia*. Drug Forecast: 2014. Ročník: 39. Strana: 2.
430. **Robinson HL, Pertmer TM.** *DNA vaccines for viral infections: basic studies and applications*. Advances in Virus Research. Pertmer: 2000. Ročník: 55. Strana: 1–74. Převzato z: **Anon.** *DNA vaccination [online]*. Wikipedia, The free encyclopedia: 2016. [vid. 25.července 2016]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/DNA\\_vaccination](https://en.wikipedia.org/wiki/DNA_vaccination).
431. **Halstead SB, Thomas SJ.** *New Japanese encephalitis vaccines: alternatives to production in mouse brain*. Expert Rev Vaccines: March 2011. Ročník: 10. Strana: 355–64. Převzato z: **Anon.** *DNA vaccination [online]*. Wikipedia, The free encyclopedia: 2016. [vid. 25.července 2016]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/DNA\\_vaccination](https://en.wikipedia.org/wiki/DNA_vaccination).
432. Fosforothioátový oligonukleotid. In: **Anon.** *Phosphorothioate Oligos - The Antisense Oligo [online]*. Eurofins Genomics: 2016. [vid. 26.července 2016]. Dostupné z: <https://www.eurofinsgenomics.eu/media/250802/pto.jpg>.
433. Methylfosfonátový oligonukleotid. In: **Anon.** *Methyl Phosphonate DNA [online]*. University of Pennsylvania Health System, Cancer Center: 2001. [vid. 26.července 2016]. Dostupné z: <http://www.med.upenn.edu/naf/catalog/methylphosphonatedna.html>.
434. Chiméerní řetězec. In: **Anon.** *Antisense Oligonucleotides [online]*. Gene Link: 2016. [vid. 26.července 2016]. Dostupné z: <http://www.genelink.com/newsite/products/images/chimeric.png>.
435. Monomerní jednotka uzamčené nukleové kyseliny. In: **Claes Wahlestedt.** *Potent and nontoxic antisense oligonucleotides containing locked nucleic acids*. PNAS: May 9, 2000. Ročník: 97. Strana: 5633-5638. [vid. 26.července 2016]. Dostupné z: <http://www.pnas.org/content/97/10/5633/F1.large.jpg>.
436. Odemčená nukleová kyselina. In: **Anon.** *Nucleic Acids Book: Nucleic Acid Analogues [online]*. ATDBio Ltd.: 2005-2016. [vid. 26.července 2016]. Dostupné z: <http://www.atdbio.com/img/articles/UNA-structure-large.png>.
437. Monomerní jednotky jednotlivých variant 2',4'-BNA<sup>NC</sup>. In: **S.M. Abdur Rahman Dr., Sayori Seki, Satoshi Obika Dr., Sunao Haitani, Kazuyuki Miyashita Prof., Takeshi Imanishi Prof.** *Highly Stable Pyrimidine-Motif Triplex Formation at Physiological pH Values by a Bridged Nucleic Acid Analogue*. Angewandte Chemie: June 4, 2007. Ročník: 46. Strana: 4306–4309. [vid. 26.července 2016]. Dostupné z: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8b/BNAH8.png>.
438. 2'-O-(2-methoxyethyl) oligodeoxyribonukleotid. In: **Anissa N. Elayadi, Andrea Demieville, Edward V. Wancewicz, Brett P. Monia and David R. Corey.** *Inhibition of telomerase by 2'-O-(2-methoxyethyl) RNA oligomers: effect of length, phosphorothioate*

- substitution and time inside cells*. *Nucleic Acids Res*: April 15, 2001. Ročník: 29. Strana: 1683-1689. Dostupné z: <http://nar.oxfordjournals.org/content/29/8/1683/F1.large.jpg>.
439. Peptidová nukleová kyselina. In: **Anon.** *peptide nucleic acid [online]*. Wiktionary, The free dictionary: 2016. [vid. 27.července 2016]. Dostupné z: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/10/PNA\\_en.svg/220px-PNA\\_en.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/10/PNA_en.svg/220px-PNA_en.svg.png).
440. Morfolinový oligonukleotid. In: **Anon.** *Morpholino [online]*. Wikipedia, Die freie Enzyklopädie: 2016. [vid. 11.srpna 2016]. Dostupné z: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/11/Morpholino-Monomer.svg/237px-Morpholino-Monomer.svg.png>.
441. H-fosfonátová metoda. In: **Anon.** *Oligonucleotide synthesis [online]*. Wikipedia, The free encyclopedia: 2016. [vid. 27.července 2016]. Dostupné z: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/61/Todd\\_synthesis.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/61/Todd_synthesis.png).
442. Fosfodiesterová metoda. In: **Anon.** *Oligonucleotide synthesis [online]*. Wikipedia, The free encyclopedia: 2016. [vid. 27.července 2016]. Dostupné z: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/15/Phosphodiester\\_method.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/15/Phosphodiester_method.png).
443. Fosfotriesterová metoda. In: **Anon.** *Oligonucleotide synthesis [online]*. Wikipedia, The free encyclopedia: 2016. [vid. 27.července 2016]. Dostupné z: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/43/Phosphotriester\\_method.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/43/Phosphotriester_method.png).
444. 2'-chráněné deoxynukleosid phosphoramiditové jednotky. In: **Anon.** *Oligonucleotide synthesis [online]*. Wikipedia, The free encyclopedia: 2016. [vid. 27.července 2016]. Dostupné z: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/dd/Phosphoramidite1.png>.
445. Cyklus syntézy fosforamiditové metody. In: **Anon.** *Oligonucleotide synthesis [online]*. Wikipedia, The free encyclopedia: 2016. [vid. 27.července 2016]. Dostupné z: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/38/Oligocycle1.png>.
446. Tvorba triplexu. In: **Anna Aviñó, Stefania Mazzini, Raimundo Gargallo, Ramon Eritja.** *The Effect of Small Cosolutes that Mimic Molecular Crowding Conditions on the Stability of Triplexes Involving Duplex DNA*. *Int. J. Mol. Sci.*: 2016. Ročník: 17. Strana: 211. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/17/2/211/ag>.
447. Mechanismus účinku splice-switching oligonukleotidů. In: **Peter Guterstam, Maria Lindgren, Henrik Johansson, Ulf Tedebark, Jesper Wengel, Samir El Andaloussi, Ülo Langel.** *Splice-switching efficiency and specificity for oligonucleotides with locked nucleic acid monomers*. *Biochemical Journal*: Jun 01, 2008. Ročník: 412. Strana: 307-313. Dostupné z: <http://d2q6k56aomjvqy.cloudfront.net/content/ppbiochemj/412/2/307/F1.large.jpg>.
448. Mechanizmy účinku antisense oligonukleotidů a siRNA. In: **David R. Corey.** *RNA learns from antisense*. *Nature Chemical Biology*: 2007. Ročník: 3. Strana: 8-11. Dostupné z: <http://www.nature.com/nchembio/journal/v3/n1/images/nchembio0107-8-F1.jpg>.
449. Mechanismus účinku siRNA. In: **Helge Großhans and Witold Filipowicz.** *small-interfering RNA (siRNA): basics and essential publication (1) [online]*. *siRNA.gene-quantification.info*: 2016. [vid. 27.července 2016]. Dostupné z: <http://www.gene-quantification.de/siRNA-mechanism.png>.

450. Mechanizmus účinku miRNA. In: **A.W. Tong and J. Nemunaitis**. *Modulation of miRNA activity in human cancer: a new paradigm for cancer gene therapy?*. Cancer Gene Therapy: 2008. Ročník: 15. Strana: 341–355. Dostupné z: <http://www.nature.com/cgt/journal/v15/n6/images/cgt20088f1.jpg>.
451. Mechanizmus účinku ribozymů. In: **Quan Du**. *Ribozyme Catalysis and Structure [online]*. Advanced Enzymology Class: 2016. [vid. 27.července 2016]. Dostupné z: <http://lithium.gsu.edu/faculty/Huang/turnover1.gif>.
452. Mechanizmus účinku ribopřepínačů na úrovni translace. In: **Anon**. *Riboswitches [online]*. The International Genetically Engineered Machine Competition: 2016. [vid. 27.července 2016]. Dostupné z: [http://2015.igem.org/wiki/images/c/c4/Exeter\\_translation\\_riboswitch.png](http://2015.igem.org/wiki/images/c/c4/Exeter_translation_riboswitch.png).
453. Princip “zámku a klíče”. In: **Hongguang Sun and Youli Zu**. *A Highlight of Recent Advances in Aptamer Technology and Its Application*. Molecules: 2015. Ročník: 20. Strana: 11959-11980. Dostupné z: [http://www.mdpi.com/molecules/molecules-20-11959/article\\_deploy/html/images/molecules-20-11959-g001-1024.png](http://www.mdpi.com/molecules/molecules-20-11959/article_deploy/html/images/molecules-20-11959-g001-1024.png).
454. Chemický vzorec eteplirsenu. In: **Anon**. *Navigate the Sarepta Therapeutics SSRPT and eteplirsen information pages [online]*. Biotech Due Diligence: 2016. [vid. 27.července 2016]. Dostupné z: [http://www.biotechduediligence.com/uploads/6/3/6/7/6367956/2977922\\_orig.jpeg](http://www.biotechduediligence.com/uploads/6/3/6/7/6367956/2977922_orig.jpeg).
455. Chemický vzorec pegaptanibu. In: **Anypodetos**. *File:Pegaptanib sodium skeletal.svg [online]*. Wikimedia Commons: 2013. [vid. 27.července 2016]. Dostupné z: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ee/Pegaptanib\\_sodium\\_skeletal.svg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ee/Pegaptanib_sodium_skeletal.svg).